دو فصلنامه

نشریه علمی

زیست شناسی خاک

شاپا: ۲۵۳۶-۲۳۴۵

جلد ۹ شماره ۱ سال ۱۴۰۰

عنوان | فهرست | صفحه

بررسی تأثیر باکتری‌های مولد آنزیم ACCدآمیناز و شوری خاک بر شاخص‌های رشدی و تغذیه‌ای گندم ۱
احمدعلی پوربابایی، ابراهیم بهمنی، حسینعلی علیخانی و سمیه امامی

بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر خصوصیات رشدی و کلنیزاسیون پایه های متداول بادام در شرایط مطلوب و تنش کم آبی ۱۵
محمود محمدی و فرهاد رجالی

بررسی فلور جلبکی جامعه پریفایتون در اکوسیستم‌های آبی استان گیلان ۲۹
حسینعلی علیخانی، هادی احمدی، حسن اعتصامی، مصطفی نوروزی، هادی اسدی رحمانی و سمیه امامی

بررسی کربن آلی، نیتروژن، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان ۴۱
ابتسام حمید، خوشناز پاینده، محمد تحسین کریمی نژاد و نغمه سعادتی

بررسی تأثیر کشت چمن و کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های کیفی خاک ۶۱
نادیا امامی، اکبر حسنی، علی‌رضا واعظی و محمد بابا اکبری ساری

مطالعه اثر *Funneliformis mosseae* و *Pseudomonas fluorescens* بر برخی از مولفه های رشدی و تغذیه ای گیاه ماش (*Vigna radiata* L. Wilczek) تحت تنش خشکی در شرایط گلخانه ای ۷۳
محمد صالحی، علی فرامرزی، منوچهر فربودی، ناصرمحبعلی پور و جلیل اجلی

ارزیابی برخی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ساقه و برگ تعدادی از گیاهان دارویی ۸۵
علی اشرف سلطانی طولارود و اسماعیل گلی کلانپا

فراوانی و تنوع زیستی بندپایان مزوفون خاکزی در لایه‌های مختلف خاک جنگل‌های سوزنی‌برگان ۹۹
مجید میراب بالو و بهزاد میری

انجمن علوم خاک ایران **مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

نشریه علمی

زیست‌شناسی خاک

جلد 9 شماره (1)

1400

صاحب امتیاز: موسسه تحقیقات خاک و آب

تأییدیه درجه علمی

به استناد نامه شماره 3/18/77610 مورخ 1394/4/23 اعتبار علمی نشریه زیست شناسی خاک تمدید شده است

مدیر مسؤول: **دکتر منوچهر گرجی** **رئیس انجمن علوم خاک ایران و استاد دانشگاه تهران**

سردبیر: **دکتر هادی اسدی رحمانی** **استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

دکتر هادی اسدی‌رحمانی	**استاد موسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر حسین بشارتی	**استاد موسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر عبدالحسین ضیائیان	**دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس**
دکتر حسینعلی علیخانی	**استاد دانشگاه تهران**
دکتر ناصرعلی اصغرزاد	**استاد دانشگاه تبریز**
دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد	**دانشیار موسسه تحقیقات خاک وآب**
دکتر احمد گلچین	**استاد دانشگاه زنجان**
دکتر امیر لکزیان	**استاد دانشگاه فردوسی مشهد**
دکتر حبیب اله نادیان قمشه	**استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز**
دکتر فرشید نوربخش	**استاد دانشگاه صنعتی اصفهان**

مدیر داخلی ***دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد***

ویراستار انگلیسی: ***دکتر امیر لکزیان***

تایپ و صفحه آرایی **کبری علی نژاد**

تعداد انتشار در سال **دو شماره**

پایگاه الکترونیکی نشریه علمی زیست‌شناسی خاک: **www.sbj.areeo.ir**

پایگاه الکترونیکی انجمن علوم خاک ایران: **www.soiliran.org**

پایگاه الکترونیکی موسسه تحقیقات خاک و آب: **www.swri.ir**

آدرس الکترونیکی دفتر مجله: **jsb.soilbiology@yahoo.com**

این نشریه در پایگاه‌های علمی زیر نمایه می‌شود:

پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (**ISC**): **www.isc.gov.ir**

پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی: **www.sid.ir**

پایگاه سیویلیکا: **www.civilica**

آدرس: کرج - میدان استاندارد، جاده مشکین دشت، بعداز رزکان نو، بلوار امام خمینی – موسسه تحقیقات خاک و آب، کد پستی: 3177993545

تلفن و نمابر: 36208796 (026) ***آدرس پایگاه الکترونیکی مجله: www.journals.areo.ir***

عنوان **فهرست** **صفحه**

بررسی تأثیر باکتری‌های مولد آنزیم ACCدآمیناز و شوری خاک بر شاخص‌های رشدی و تغذیه‌ای گندم 1
احمدعلی پوربابایی، ابراهیم بهمنی، حسینعلی علیخانی و سمیه امامی

بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر خصوصیات رشدی و کلنیزاسیون پایه های متداول بادام در شرایط مطلوب و تنش کم آبی 15
محمود محمدی و فرهاد رجالی

بررسی فلور جلبکی جامعه پریفایتون در اکوسیستم‌های آبی استان گیلان 29
حسینعلی علیخانی، هادی احمدی، حسن اعتصامی، مصطفی نوروزی، هادی اسدی رحمانی و سمیه امامی

بررسی کربن آلی، نیتروژن، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان 41
ابتسام حمید، خوشناز پاینده، محمد تحسین کریمی نژاد و نغمه سعادتی

بررسی تأثیر کشت چمن و کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های کیفی خاک 61
نادیا امامی، اکبر حسنی، علی‌رضا واعظی و محمد بابا اکبری ساری

مطالعه اثر *Funneliformis mosseae* و *Pseudomonas fluorescens* بر برخی از مولفه های رشدی و تغذیه ای گیاه ماش (*Vigna radiata* L. Wilczek) تحت تنش خشکی در شرایط گلخانه ای..... 73
محمد صالحی، علی فرامرزی، منوچهر فربودی، ناصرمحبعلی پور و جلیل اجلی

ارزیابی برخی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ساقه و برگ تعدادی از گیاهان دارویی 85
علی اشرف سلطانی طولارود و اسماعیل گلی کلانپا

فراوانی و تنوع زیستی بندپایان مزوفون خاکزی در لایه‌های مختلف خاک جنگل‌های سوزنی‌برگان 99
مجید میراب بالو و بهزاد میری

راهنمای تهیه مقاله نشریه علمی زیست شناسی خاک

مجله زیست شناسی خاک اولین نشریهٔ تخصصی رشته علوم خاک در ایران می‌باشد که مقالات پژوهشی مرتبط با تحقیقات صورت گرفته در کلیه جنبه‌های زیست شناسی خاک را چاپ می‌نماید. هدف از انتشار این مجله ارتقاء دانش اساتید، محققان و دانشجویان علاقمند این گرایش و شناخت هر چه عمیق‌تر اززیست شناسی خاک برای حفظ و بهره‌برداری پایدار از خاک می‌باشد. از اهم زمینه‌های فعالیت این نشریه می‌توان به نقش موجودات زنده خاک در چرخه عناصر غذایی و فرآیندهای زیستی مرتبط با بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و ارتقاء سطح حاصلخیزی خاک، تغذیه گیاه و افزایش عملکرد، مدل‌سازی مکانیسم‌ها و فرآیندهای زیستی مربوط به پویاسازی، معدنی شدن و آلی شدن عناصر غذایی، جایگاه موجودات زنده خاکزی در ذخیره سازی و تغییر و تبدیلات مواد آلی خاک، تنوع زیستی و عملکردی بخش زنده خاک،آنزیم های خاک، روابط موجودات زنده خاک با یکدیگر و همچنین ریشه گیاهان و تبادلات مولکولی بین آنها، تشخیص، بیان و تبادل ژن در خاک، اثرات متقابل انواع آلودگی‌ها و بخش زنده خاک منجمله زیست پالایی خاک‌های آلوده، فرآیندهای زیستی خاک و نقش آنها در تولید و مصرف گازهای گلخانه‌ای، فناوری زیستی موجودات خاکزی برای تولید انواع مایه تلقیح‌ها و کودهای زیستی، فعال کننده-های تجزیه مواد آلی و پاک کننده‌های زیستی خاک‌های آلوده، استفاده از فناوری‌های مولکولی جدید برای شناسایی و همچنین ردیابی موجودات زنده در خاک و نقش آنها در پدیده‌های مختلف خاک اشاره کرد.

نکات مهم:

1- متن مقاله نباید در هیچ نشریه‌ای چاپ و یا همزمان به نشریه دیگری ارسال شده باشد.

2- مسئولیت صحت و سقم کلیه مطالب مندرج در مقاله بر عهده نویسندگان می‌باشد.

3- مسئولیت صحت و سقم ترتیب نام نویسندگان بر عهده شخصی است که مقاله را برای نشریه ارسال می‌کند.

4- مقالات صرفاً می‌بایستی منتج از تحقیقات نویسنده یا نویسندگان و فقط در زمینه زیست شناسی خاک باشد.

مقالات باید با استفاده از word 2007 و در محیط windows xp و با استفاده از قلم نازنین 14 تایپ شده باشند. نویسنده(گان) محترم می‌بایستی مقاله از طریق سایت نشریه **www.iranjsb.ir** ارسال نمایند. ذکر نام و نام خانوادگی نویسندگان، مرتبه علمی، آدرس پستی نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیک کلیه نویسندگان به صورت یک مقاله کامل در قسمت فایلهای با نام و فایل بدون نام نویسندگان در فایلهای بدون نام نویسنده، تکمیل و ارسال نسخه اصل تعهدنامه با امضاء خود نویسنده(گان) در فایلهای پیشنیاز سایت الزامی است.

نحوهٔ نگارش مقاله

1- مقاله حداکثر در 15 صفحهٔ A4 با فاصلهٔ خطوط 1/5 و حاشیه‌های 3 سانتی‌متر از هر طرف و به صورت تک ستونی در نرم افزارWord 2007 تایپ شود.

2- نوع قلم فارسی و انگلیسی و اندازهٔ آنها مطابق جدول زیر استفاده شود.

3- تمامی سطور در متن مقاله دارای شماره گذاری (Line numbering) باشد.

4- پیش از نقطه (.) و کاما (،) گذاشتن فاصله لازم نیست، لیکن پس از آنها، یک فاصله لازم است.

5- اصول نگارش زبان فارسی به طور کامل رعایت شده و حتی الامکان از به کاربردن اصطلاحات انگلیسی که معادل فارسی آنها در فرهنگستان زبان فارسی تعریف شده‌اند، پرهیز گردد.

6- برای ذکر جنس و گونه گیاه، جانور و یا میکروارگانیسم ها از حالت *ایتالیک* استفاده شود.
7- در صورت استفاده از واژه (های) مخفف باید در اولین استفاده، واژه مذکور تعریف و پس از آن واژه مخفف در مقاله استفاده گردد.
8- استفاده از پاورقی برای ارائه اطلاعات تکمیلی در مقاله بلامانع است. در صورت استفاده از پاورقی، باید به ترتیب شماره گذاری انجام گیرد.

جدول 1- نوع و اندازه قلم برای تهیه بخش های مختلف مقاله

موقعیت استفاده	نام قلم	اندازه قلم
عنوان مقاله	**BNazaninپر رنگ**	14
متن مقاله	BNazanin	12
عناوین بخش های مقاله	**BNazanin پر رنگ**	12
نام مؤلفان	**BNazanin پر رنگ**	12
کلمات کلیدی(Keywords)	**BNazanin پر رنگ**	12
عناوین جداول و اشکال	**BNazanin پر رنگ**	11
متن جداول و شکل ها و منابع	BNazanin	10 و یا 11 برحسب نیاز
متن انگلیسی	Times New Roman	یک واحد کمتر از اندازهٔ فارسی در هر موقعیت

ساختار مقاله

هر مقاله باید شامل برگ مشخصات ، عنوان ، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی فارسی، مقدمه، مواد و روش-ها، نتایج، بحث، سپاسگزاری، منابع مورد استفاده، چکیده انگلیسی و واژه‌های کلیدی انگلیسی باشد.

برگ مشخصات مقاله: این قسمت در یک صفحه مجزا تهیه شده و شامل عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده(گان) و شماره تماس نویسنده مسئول می‌باشد.

عنوان مقاله: عنوان مقاله حداکثر در 20 کلمه و منعکس کننده محتوای مقاله باشد.در زیر عنوان نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده(گان) ذکر گردد.

چکیده فارسی: چکیده مقاله در حداکثر 300 کلمه، بیانگر مسئله، هدف، روش و نتایج بدست آمده و نتیجه گیری کلی از پژوهش است. چکیده می‌بایستی ترجیحاً در یک پاراگراف تنظیم گردد.در زیر چکیده فارسی و در پاورقی آدرس پستی نویسنده مسئول ذکر گردد.

واژه‌های کلیدی:

واژه‌های کلیدی(**Keywords**) شامل حداقل 3 و حداکثر 6 کلمه مرتبط با پژوهش انجام شده باشد. این واژه‌ها می‌بایستی به گونه‌ای انتخاب گردد که در عنوان مقاله نبوده تا حداکثر استفاده از آنها برای تهیه فهرست موضوعی (index) امکان پذیر باشد. واژه های کلیدی بر اساس حروف الفبای فارسی مرتب شوند.

مقدمه

در این بخش بایستی موضوع پژوهش و فرضیه‌های موردنظر تعریف گردد. بـه مهـم‌تـرین تحقیقـات صـورت گرفته قبلی در داخل و خارج از ایران اشاره شود و سپس لزوم پژوهش موردنظر تشریح و با تأکید بر وجه تمایز ایـن پژوهش با مطالعات قبلی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

این قسمت شامل مواد مورد استفاده و شرح روش بکار رفته مانند جامعه آمـاری، روش‌هـای نمونـه گیـری، اندازه گیری‌ها و نحوه تجزیه و تحلیل آماری می‌باشد. برای روش‌های متداول و شناخته شده نیازی به ذکر جزئیـات وجود نداشته و فقط به منبع مورد استفاده اشاره شود.

نتایج

در این بخش، نتایج بدست آمده از پژوهش به همراه جدول و شکل (اعم از تصویر یا نمودار) بیان می‌شود. از تکرار داده‌ها به صورت چندگانه (جدول، نمودار و غیره) پرهیز گردد. ارسال فایل Excel مربوط به نمودارها الزامی است. از کلماتی نظیر گراف، نقشه، تصویر و نظایر آن خودداری شده و تنها از واژه «شکل» استفاده شود. هر جدول از شماره، عنوان، سرستون ها و متن جدول تشکیل می‌شود. یک جدول باید با خطی افقی از شماره و عنوان جدول متمایز شود. همچنین سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی رسم شود. عنوان جدول در بالای جدول درج و پس از کلمه جدول و شماره آن، خط تیره و سپس عنوان ذکر شود. در متن جدول تا جایی که ممکن است نباید از خطوط افقی و عمودی استفاده کرد. هر ستون جدول باید دارای عنوان و واحد مربوط به کمیّت آن ستون باشد. اگر همهٔ ارقام جدول دارای یک واحد مشترک باشند، آن واحد در عنوان اصلی جدول ذکر شود. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول به صورت زیرنویس ارائه شوند.

در نمودارها از نشانه‌های○□Δ●■▲ به صورت توپر و توخالی استفاده شود. برای درج عنوان هر شکل، پس از کلمهٔ شکل و شمارهٔ آن، نقطه و سپس عنوان ذکر شود. اختصارات موجود در شکلها و جداول باید در زیرنویس توضیح داده شوند. تمام اعداد متن و توضیحات جداول و شکلها باید به زبان فارسی ارائه گردد. از ارسال نمودارهای رنگی جداً اجتناب نموده و از رنگهای سفید، سیاه و هاشورهای کاملاً متفاوت استفاده شود..

تمامی جداول و اشکال باید به ترتیب شماره در مقاله آورده شوند و شماره مذکور نیز باید به همان ترتیـب در مـتن مقاله مورد اشاره قرار گیرد.

بحث

در این قسمت با استفاده از سایر منابع، یافته‌های پژوهش علت‌یابی شده و دلایل قبول و رد آنها مورد بحث قرار می‌گیرد. بنابراین قسمت عمده بررسی منابع در این قسمت مورد استناد قرار می‌گیرد.

* در صورت لزوم می‌توان نتایج و بحث را توأماً تحت عنوان «**نتایج و بحث**» ارائه کرد.

نتیجه گیری

در این بخش نویسنده از پژوهش انجام یافته نتیجه گیری کرده و کاربرد عملی و یا تئوری حاصل از تحقیق را بیان می‌نماید. ارائه پیشنهادات در این بخش انتهائی نیز بلامانع است.

سپاسگزاری:

در این بخش نویسنده(گان) از اشخاص و سازمان‌هایی که در اجرای تحقیق همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید. این بخش در حداکثر 50 کلمه تنظیم گردد.

منابع مورد استفاده:

فهرست منابع باید شامل منابعی باشد که در متن ذکر شده و انتشار یافته اند و نیز شامل منابعی می‌شوند که برای چاپ پذیرفته شده اند. مکاتبات شخصی و یا تحقیقات چاپ نشده فقط در متن مقاله قابل ذکر می باشند. در مورد منابعی که بصورت آنلاین چاپ شده اند و فاقد شماره جلد و یا صفحه می باشند، ذکر شناسه دیجیتال (DOI) ضروری است.

شیوهٔ ارجاع به منابع علمی در تمام متن مقاله بایستی به صورتی باشد که منبع مورد ارجاع(چه فارسی و چه انگلیسی) در پایان جمله در داخل پرانتز به فارسی ارائه شود. برای منابع دارای دو نویسنده، نام هر دو نویسنده و منابعی که بیش از دو نویسنده دارند، نخست نام نفر اول و سپس " همکاران" و تاریخ بیان شود. مثال:

..... نتایج مشابهی توسط برخی پژوهشگران نیز گزارش شده است (کریمی و احمدی، 1389).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010؛ کریمی و احمدی، 1389).

برای منابعی که لزوما در داخل پرانتز ارائه نمی شود بدین صورت عمل شود.

بای بوردی و همکاران (1382) گزارش کردند...

اسمیت (2002) گزارش کرد ...

اسمیت و جونز (2002) گزارش کردند...

اسمیت و همکاران (2002) گزارش کردند...

فهرست منابع مورد استفاده در پایان متن به صورت پیوسته و به ترتیب منابع فارسی و انگلیسی ارائه شوند. منابع مورد استفاده به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نگارنده، (یا اولین نگارنده برای منابعی که بیش از یک نگارنده دارند) زیر هم آورده شوند. چنانچه از یک نگارنده چندین منبع ذکر شود، ترتیب درج آن‌ها بر حسب سال انتشار، از جدید به قدیم است. اگر از نگارنده‌ای چندین منبع همسال وجود داشته باشد، با گذاشتن حروف a، b و c پس از سال انتشار منابع از یکدیگر متمایز شوند. چنانچه مقالات منفرد و مشترک در یک سال از یک نگارنده ارائه شود، نخست مقالات منفرد و سپس مقاله‌های مشترک به ترتیب حروف الفبای نام نگارندگان بعدی مرتب شوند.

برای یک مقاله یا کتاب به ترتیب نام خانوادگی نگارنده(گان)، حرف اول اسم کوچک نگارنده(گان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، عنوان کامل مجله، شماره جلد، و اولین و آخرین صفحه مقاله ارائه شود. برای یک کتاب به ترتیب نام خانوادگی و سپس حرف اول نام کوچک نگارنده، تاریخ انتشار، عنوان کامل کتاب، نام ناشر، محل انتشار ارائه شود.

در مورد مرجعی که نویسنده آن مشخص نیست به جای نام نگارنده از "Anonymous" برای منابع انگلیسی و (بی نام) برای منابع فارسی استفاده شود.

چنانچه منبع ترجمه شده باشد، در فهرست منابع باید نخست نام نویسنده(گان) کتاب اصلی، عنوان مشخصات آن (به زبان انگلیسی) و سپس نام مترجم (مترجمان) ذکر شود.

مثال‌هایی برای تنظیم منابع

1- مقاله از مجله

Brennan, E.W. and Lindsay, W.L.1998. Reduction and oxidation effect on the solubility and transformation of iron oxides. Soil Science Society of America Journal 62:930–937.

2- مقاله از کارگاه آموزشی یا علمی

Hanbury, A. 2002. The taming of the hue, saturation and brightness colour Space, 7th Computer Vision Winter Workshop, February 2002, Bad Aussee, Austria.

3- مطلب از کتاب

Lindsay, W.L. 1979. Chemical equilibrium in soils. John Wiley & Sons, New York.

4- مطلب نقل شده یک نویسنده در یک مجموعه مقالات

Logsdon, S.D. and Laird, D.A. 2003. Ranges of bound water properties associated with a smectite clay. p. 101–108. In: Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substance. Proc. of Conf., Rotorua, New Zealand. 23–26 Mar. 2003. Industrial Research, Auckland, New Zealand.

5- ذکر مطلب از نویسنده ای در یک کتاب که نام ویراستاران روی جلد آن است

Olsen, S.R. and Sommers, L.E.1982. Phosphorus. p. 403–427. In: Page, A.L. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. No. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

6- ذکر مطلب از اینترنت

Soil Survey Staff. 2004. NRCS soils [Online]. Available at http://soils. usda.gov [verified 23 Mar. 2005]. USDA-NRCS, Washington, DC.

چکیده انگلیسی

چکیده انگلیسی بایستی ترجمه دقیق چکیده فارسی باشد.

واژه‌های کلیدی انگلیسی: باید ترجمه دقیق واژه‌های کلیدی فارسی باشد. واژهای کلیدی بر اساس حروف الفبای انگلیسی مرتب شوند و حرف اول کلمات به صورت بزرگ (کاپیتال) نوشته شود.

کلیه مقالات پس از دریافت توسط سردبیر بررسی و پس از تایید با راهنمای تهیه مقاله تطبیق و در صورت رعایت فرمت نشریه، مقاله برای داوری ارسال خواهد شد. پس از اتخاذ رأی داوران و تأیید گروه دبیران (هیأت تحریریه)، مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت. چنانچه مقاله ارسالی با راهنمای تهیه مقاله تطبیق نداشته باشد به نویسنده مسئول عودت داده خواهد شد و مجدداً از زمان برگشت، تاریخ رسید مقاله منظور و برای داوری ارسال خواهد شد.

فرم تعهد نامه

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک

اینجانب ..... نویسنده مسئول مقاله زیر:

موارد زیر را به آگاهی می رسانم:

1. **کلیه تهیه کنندگان مقاله از ارسال آن به دفتر نشریه شما آگاهند**
2. **مقاله قبلاً در هیچ نشریه داخلی و خارجی منتشر نشده است**
3. **مقاله تا زمان پایان بررسی در آن نشریه به نشریه دیگری ارسال نخواهد شد.**
4. **هیچگونه تغییری در تعداد نویسندگان یا ترتیب ذکر اسامی انجام نخواهد شد.**

نام نام خانوادگی نویسنده اول: **امضاء نویسنده اول مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده دوم: **امضاء نویسنده دوم مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده سوم: **امضاء نویسنده سوم مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده چهارم: **امضاء نویسنده چهارم‌مقاله**

داوران مقالات واصله به دفتر نشریه علمی زیست‌شناسی خاک شش ماه اول سال 1400

دکتر احمد اصغرزاده	1 مقاله	دکتر پیمان عباس زاده دهجی	6 مقاله
دکتر حسین بشارتی	2 مقاله	دکتر ناصر علی اصغرزاد	4 مقاله
دکتر احمد علی پوربابایی	1 مقاله	دکتر علیرضا فلاح	1 مقاله
دکتر علیرضا توسلی	1 مقاله	دکتر رضا قربانی نصر آبادی	1 مقاله
دکتر هوشنگ خسروی	3 مقاله	دکتر حسین کاری دولت آباد	1 مقاله
دکتر مهدی زارعی	1 مقاله	دکتر امیر لکزیان	1 مقاله
دکتر علی اشرف سلطانی	2 مقاله	دکتر بابک متشرع زاده	1 مقاله
دکتر حسین صفاری	4 مقاله	دکتر فرشید نوربخش	1 مقاله
دکتر اکرم صادقی	1 مقاله	دکتر حبیب اله نادیان	2 مقاله
دکتر علی اکبر صفری سنجانی	2 مقاله	دکتر مژگان یگانه	1 مقاله
دکتر حسینعلی علیخانی	4 مقاله		

بررسی تأثیر باکتری‌های مولد آنزیم ACC دآمیناز و شوری خاک بر شاخص‌های رشدی و تغذیه‌ای گندم

احمدعلی پوربابایی[1]، ابراهیم بهمنی، حسینعلی علیخانی و سمیه امامی

دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران؛ **pourbabaei@ut.ac.ir**

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران؛ **bahmani.ebrahim@yahoo.com**

استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران؛ **halikhan@ut.ac.ir**

دانش‌آموخته دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران؛ **emamisomaye@ut.ac.ir**

دریافت: **98/11/26** و پذیرش: **99/7/23**

چکیده

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه که حاوی آنزیم 1- آمینوسیکلوپروپان 1-کربوکسیلیک اسید (ACC) دآمیناز هستند می‌توانند برای بهبود رشد گیاه به ویژه در شرایط نامساعد محیطی به کار روند. در مطالعه حاضر، جدایه‌های باکتری از ریزوسفر گندم در سه استان زنجان، کردستان و همدان جدا شده و از نظر توان تولید آنزیم ACCدآمیناز و مقاومت به شوری غربال شدند. از میان 167 جدایه، شش جدایه قادر به تجزیه ACC به آلفاکتوبوتیرات و آمونیوم بودند که جدایه K78 به دلیل رشد بیشتر در غلظت‌های بالاتر نمک جهت استفاده در کشت گلخانه‌ای انتخاب شد. آزمایش گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار روی گندم انجام گرفت. فاکتورها شامل شوری در پنج سطح (1/3، 8، 12، 14، 16 دسی‌زیمنس بر متر) و باکتری در سه سطح (بدون باکتری (B0)، جدایه مقاوم به شوری و تولید کننده ACCدآمیناز (B1)، جدایه مقاوم به شوری و فاقد توان تولید ACCدآمیناز (B2)) بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که شوری در تمامی سطوح تاثیر منفی و معنی‌داری بر رشد و جذب عناصر غذایی داشت و موجب کاهش طول اندام هوایی گندم شد. تأثیر تلقیح جدایه K78 نسبت به تیمار بدون باکتری معنی‌دار بوده و موجب افزایش طول اندام هوایی (21/5 درصد) و افزایش جذب پتاسیم (15 درصد) گردید؛ اما بر جذب سدیم تاثیری نداشت. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت استفاده از زادمایه جدایه K78 می‌تواند اثرات منفی شوری را بر شاخص‌های رشد و شرایط تغذیه‌ای گندم کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، *باسیلوس*، سدیم، تنش محیطی

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی خاک.

مقدمه

شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده‌ای است که باعث کاهش قابلیت تولید محصول در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود. مشخص شده است که گیاه گندم در مراحل رشد رویشی و اوایل رشد زایشی حساس، در مرحله گلدهی حساسیت متوسط و در مرحله پر شدن دانه حساسیت کمی به تنش شوری دارد. با افزایش سطوح شوری، سرعت تقسیم سلول‌های مریستمی ریشه ها کاهش می‌یابد (آولبو و همکاران، 2009). برخی از تنش‌ها از جمله کم آبی و شوری باعث تغییراتی در فیزیولوژی گیاهی می‌گردند که از جمله آنها افزایش بیوسنتز اتیلن و رسیدن غلظت آن در حد کاهش دهنده رشد گیاهی یا همان اتیلن تنشی می‌باشد. اتیلن تنشی باعث کاهش دوره رویشی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (مایاک و همکاران، 2004). گلیک و همکاران (2005) معتقدند که مقادیر کم اتیلن (در غلظت های کمتر از 0/05 میکرولیتر در لیتر عصاره گیاهی) برای جوانه زنی گندم لازم است اما افزایش بیشتر سطح اتیلن در اثر تنش‌های محیطی تحت عنوان اتیلن تنشی رشد گیاه را کاهش می‌دهد. سیداک و همکاران (2011) نیز اظهار داشتند که اتیلن تولید شده در پاسخ به تنش شوری، باعث کاهش رشد ریشه و در نتیجه کاهش جذب آب و عناصر غذایی و کاهش رشد گیاه می‌گردد.

کلاسن و بیگبی (2000) بیان کردند که غلظت اتیلن در حد 0/025 میلی‌گرم در کیلوگرم موجب کاهش 25 درصدی عملکرد گندم شد. بنابراین کاهش سطح اتیلن می‌تواند به کاهش برخی از اثرات مضر تنش در گیاهان منجر شود (گلیک، 2004). مکانیسم‌های شناخته شده برای کاهش اثرات منفی تنش شوری در محصولات کشاورزی که توسط ریزسازواره‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، شامل تولید ACC[1] دآمیناز، بهبود رشد و توسعه گیاه به وسیله باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد[2]، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها توسط برخی از باکتری‌ها و همچنین تنظیم اسمزی و تجمع پرولین توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌باشند که موجب افزایش مقاومت گیاهان در برابر شوری می‌شوند (کروور و همکاران، 2011). تعدادی از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد دارای توانایی تولید آنزیمی به نام ACCدآمیناز هستند که می‌تواند با تجزیه ACC (پیش ماده لازم برای تولید اتیلن در گیاهان) به آلفاکتوبوتیریک اسید و آمونیوم، تولید اتیلن را تنظیم کنند. تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد دارای آنزیم ACCدآمیناز باعث می‌شود که میزان تولید اتیلن در شرایط تنش کاهش یافته و به تبع آن رشد و نمو گیاه متعادل شود (اخگر و همکاران، 1390). کاملترین مدل برای توصیف نقش ACCدآمیناز در کاهش سطح اتیلن در گیاهان توسط گلیک و همکاران (1998) و اصلاح شده آن توسط گلیک و همکاران (2007) ارائه شده است. در این مدل، استدلال شده است که یک باکتری با توانایی تولید ACC دآمیناز پس از اتصال به بذر یا ریشه گیاه، حلقه مونومرهای ACC را در دو مرحله جدا کرده و موجب شکستن مولکول ACC به آلفا کتوبوتیرات و آمونیم می‌گردد. با کاهش غلظت ACC در سطح خارجی بافت‌های ریشه گیاه و برای برقراری تعادل بین سطح ACC در داخل و خارج از سلول‌های ریشه، مقدار بیشتری از ACC تولیدی گیاه به بیرون از ریشه (بدرون خاک) ترشح شده و ضمن ایجاد یک شیب غلظتی باعث کاهش غلظت ACC و درنتیجه غلظت اتیلن در درون بافت‌های ریشه گیاه می‌گردد. با این فرایند، باکتری‌های مولد آنزیم ACCدآمیناز باعث کاهش تولید اتیلن تنشی و اثرات سوء آن بر رشد گیاه می‌شوند؛ به طوری که بوته میری گیاهان به ویژه در اوایل رشد کاهش می‌یابد. ساراواناکومار و سمپایان (2007) با ارزیابی‌تأثیر چهار سویه *سودوموناس فلورسنس* بر ایجاد مقاومت گیاهان بادام زمینی در مقابل تنش شوری نشان داند که سویه *P. fluorescens* TDK1 که در بین سویه‌های دیگر *سودوموناس فلورسنس* مورد آزمایش تنها سویه دارای توان تولید ACCدآمیناز بود بیشترین‌تأثیر را بر افزایش پارامترهای رشد گیاهچه‌های بادام زمینی در شرایط آزمایشگاهی و پارامترهای محصول در کشت مزرعه‌ای و تحت شرایط خاک شور داشت.

آن‌ها در این تحقیق چنین نتیجه‌گیری کردند که احتمالاً توانایی سویه TDK1 نسبت به سایر سویه‌ها در افزایش مقاومت بادام‌زمینی مرهون توانایی آن در تولید آنزیم ACCدآمیناز بوده است. در تحقیقی دیگر مایاک و همکاران (2004) از باکتری *A. piechaudii* ARV8 جهت بررسی‌تأثیر آن بر ایجاد مقاومت به شوری در گیاهچه‌های گوجه فرنگی استفاده کردند. آن‌ها در این تحقیق تعدادی از گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی کاشته شده در ورمیکولیت را 10 روز پس از کشت با سوسپانسیون باکتریایی تیمار کردند و تعدادی را هم بعنوان شاهد در نظر گرفتند. سپس گیاهچه‌های گوجه-فرنگی را با محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت از سدیم کلرید (0، 43، 86، 120، 172، 207 میلی مولار)

[1] AminoCyclopropane-1-Carboxylic acid
[2] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

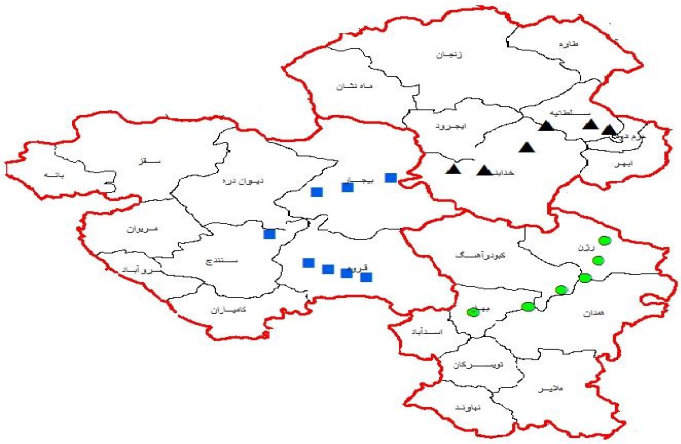
آبیاری نمودند. نتایج نشان داد که گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری، رشد بیشتری نسبت به تیمار بدون باکتری داشتند. به عبارت دیگر باکتری مذکور توانسته بود وزن خشک و تر گیاه را افزایش دهد.

تحقیقات زیادی در زمینه استفاده از ریزسازواره‌های مولد آنزیم ACCدآمیناز برای کاهش اتیلن تنشی ناشی از شوری در گیاه انجام گرفته است؛ با این وجود استفاده از باکتری‌های مقاوم به شوری مولد ACCدآمیناز بخصوص در شوری‌های نسبتاً بالا به دلیل رشد و پایداری بهتر آن‌ها در محیط‌های شور می‌تواند قابل توجه باشد (دین و همکاران، 2019). با توجه به اهمیت اقتصادی و راهبردی گندم و نقش برجسته آن در تغذیه مردم ایران و با توجه به محدودیت‌های موجود نظیر شوری و کمبود آب، ارائه راهکارهای مفید در افزایش رشد و عملکرد آن لازم و ضروری به‌نظر می‌رسد. لذا این پژوهش با هدف جداسازی باکتری‌های تولید کننده آنزیم ACCدآمیناز و مقاومت به شوری و بررسی نقش آنها در کاهش اثرات سوء تنش شوری در شرایط گلخانه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک ریزسفری

نمونه‌برداری از اراضی دیم زیر کشت گندم در سه استان زنجان، کردستان و همدان انجام شد (شکل 1). برای این منظور تعداد20 نمونه خاک ریزوسفری گندم از عمق 30-0 سانتی‌متری تهیه گردید. نمونه‌ها در فلاسک به آزمایشگاه انتقال داده شده و تا آغاز مراحل جداسازی در یخچال و در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند.



شکل 1- نقاط نمونه برداری شده در سه استان مورد مطالعه

جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری

جداسازی اولیه برمبنای شوری صورت گرفت؛ بدین صورت که ابتدا سری‌های رقت 10^{-1} تا 10^{-7} با استفاده از سرم فیزیولوژیک (0/85 درصد) تهیه شد و از هر یک از رقت‌ها یک میلی‌لیتر به محیط نوترینت آگار[1] حاوی 5 درصد نمک (ترکیبی از نمک‌های NaCl، $MgSO_4.7H_2O$، $MgCl_2.H_2O$، KCl، $CaCl_2.2H_2O$، NaBr و $NaHCO_3$) تلقیح شد و پلیت‌ها در گرمخانه با دمای 28 درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. کلنی‌های رشد یافته با ظاهر متفاوت، بصورت جداگانه در پلیت‌های حاوی نوترینت آگار حاوی 5 درصد نمک خالص‌سازی شدند. پس از رشد و خالص‌سازی، جدایه‌های باکتریایی کدگذاری و با تهیه لام و رنگ آمیزی گرم، خالص بودن آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (ژوهانسون و کارل، 1972).

غربالگری جدایه‌ها از حیث توانایی استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن

غربالگری جدایه‌ها از حیث توانایی استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن به صورت کمی با استفاده از محیط کشت DF^2 (شامل 4 گرم در لیتر KH_2PO_4، 6 گرم در لیتر Na_2HPO_4، 0/2 گرم در لیتر $MgSO_47H_2O$، 2 گرم در لیتر گلوکز، 2 گرم در لیتر گلوکونیک اسید، 2 گرم در لیتر اسید سیتریک و همچنین عناصر ریزمغذی شامل: 1 میلی‌گرم در لیتر $FeSO_47H_2O$، 10 میکروگرم در لیتر H_3BO_3، 10 میکروگرم در لیتر $MnSO_4H_2O$، 124/6 میکروگرم در لیتر $ZnSO_47H_2O$،

[1] Nutrient Agar

[2] Dworkin Foster

78/2 میکروگرم در لیتر $CuSO_4 5H_2O$، 10 میکروگرم در لیتر MoO_3 و در pH نهایی 7/2) تعیین شد. برای انجام این آزمایش از سه سری پلیت دارای محیط کشت DF که شامل ظروف پتری حاوی 20 میلی‌لیتر محیط کشت DF و 3 میلی‌مولار ACC؛ ظروف پتری حاوی 20 میلی‌لیتر محیط کشت DF و 2 گرم در لیتر سولفات آمونیوم به عنوان شاهد مثبت و ظروف پتری حاوی 20 میلی‌لیتر محیط کشت DF بدون هرگونه منبع نیتروژنی به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ACCدآمیناز

میزان فعالیت آنزیم ACCدآمیناز جدایه‌هایی که قادر به مصرف ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن بودند به روش پنروز و گلیک (2003) و از طریق اندازه‌گیری مقدار آلفا کتوبوتیرات تولید شده در عصاره باکتریایی تعیین گردید.

تعیین مقاومت جدایه‌های تولید کننده ACCدآمیناز به شوری

محیط کشت نوترینت براث دارای، 0، 5، 10، 15 و 20 درصد نمک NaCl تهیه شد و جدایه‌های باکتری‌هایی که دارای توان تولید آنزیم ACCدآمیناز بودند به این محیط‌های کشت تلقیح شده و به مدت 72 ساعت در دمای 28 درجه سلسیوس با 120 دور در دقیقه شیک و گرماگذاری شدند. سپس رشد و عدم رشد جدایه‌ها به روش کدورت سنجی جهت تعیین محدوده رشد در غلظت‌های مختلف نمک اندازه‌گیری شد.

شناسایی جدایه‌های استفاده شده در گلخانه

برای شناسایی ابتدا جدایه های مورد نظر در محیط کشت نوترینت براث در دمای 28 درجه سلسیوس کشت داده شدند. سپس DNA ژنومی جدایه‌ها با استفاده از کیت جداسازی استخراج گردید. تکثیر 16S rDNA بر طبق شرایط توصیف شده توسط ادوارد و همکاران (1989) انجام گرفت. 16S rDNA با استفاده از پرایمرهای باکتریایی عمومی 27F (-'5 AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-'3) و 1520R (-'5 AAGGAGGTGATCCAGCCGCA -'3) تکثیر شد. فرایند PCR با 5 تا 25 نانوگرم DNA ژنومی، 100 نانوگرم از پرایمرها، 1/2 میکرولیتر از dNTP 10 میلی مولار، 1/5 میکرولیتر از کلرید منیزیم 10 میلی مولار، 1/5 میکرولیتر از بافر PCR (×10)، 0/3 میکرولیتر از Taq پلیمراز (1U/µl) و آب مقطر انجام گردید. حجم نهایی محلول PCR در لوله‌های PCR با استفاده از آب مقطر به 25 میکرولیتر رسانده شد. توالی ژن‌های 16S rRNA بعد از خالص‌سازی محصولات PCR با کیت خالص سازی (Promega, Madison, WI, USA) توسط دستگاه سنجنش توالی DNA با پرایمر 27F توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی تعیین شدند. تمام اطلاعات مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA توسط نرم‌افزار Edit sequence (version 5.1) ویرایش گردید. توالی‌های نوکلئوتیدی تعیین شده در این مطالعه به پایگاه داده‌های GenBank ارسال شد و با شماره دسترسی‌های مختلف ثبت گردید.

آماده‌سازی مایه تلقیح

ابتدا جدایه‌های منتخب بر روی محیط نوترینت آگار رشد داده و جوان گردیدند. سپس کلونی‌های مجزای هر سویه در محیط نوترینت براث تلقیح و بر روی بهم زن دورانی با سرعت چرخش 120 دور در دقیقه درون گرمخانه با دمای 28 درجه سلسیوس به مدت 48 ساعت قرار داده شدند. برای یکسان کردن تراکم جدایه‌ها، جذب نوری حاصل از مایه تلقیح با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 600 نانومتر برابر یک تنظیم گردید.

آزمون گلخانه‌ای

آزمون گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار روی گندم رقم افق (رقم مقاوم به شوری) که از موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج تهیه شده بود انجام گرفت. فاکتورها شامل شوری در پنج سطح (1/3، 8، 12، 14، 16 دسی‌زیمنس بر متر) و باکتری در سه سطح (بدون باکتری (B0)، جدایه مقاوم به شوری و تولید کننده ACCدآمیناز (B1)، جدایه مقاوم به شوری و فاقد توان تولید ACCدآمیناز (B2)) بودند.

خاک مورد نیاز برای کشت گلدانی از منطقه کردان کرج، و به‌صورت نمونه مرکب از عمق 30-0 تهیه شد. برای رساندن شوری خاک‌ها به 8، 12، 14 و 16 دسی‌زیمنس بر متر در SAR 10، از سه نمک سدیم کلرید (NaCl)، منیزیم کلرید ($MgCl_2.6H_2O$) و کلسیم کلرید ($CaCl_2.2H_2O$) استفاده گردید. جهت کشت گیاه از گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع 19 و قطر دهانه 18 سانتی‌متر که با 4/5 کیلوگرم خاک هوا خشک عبور داده شده از الک چهار میلی‌متری پر شده بودند استفاده شد. اعمال تیمارهای شوری به خاک قبل از کشت گیاه صورت گرفت و بعد از رسیدن خاک گلدان‌ها به رطوبت مناسب (75 درصد ظرفیت زراعی) بذرها تلقیح و کشت شدند. جهت اعمال تیمارهای باکتری، مقداری خاک سطحی گلدان برداشته شد، سپس در هر گلدان 10 بذر گندم کشت و هر بذر با یک میلی‌لیتر از زادمایه جدایه باکتری مایه‌زنی و روی آنها با خاک پوشانده شد. پس از ظهور

گیاهچه‌های گندم، تعداد گیاهچه‌ها به پنج عدد در هر گلدان کاهش یافت. آبیاری گلدان‌ها در هفتهٔ اول هر دو روز یک بار و بعد از آن روزانه انجام گرفت. مقدار 66 میلی‌گرم کود اوره به ازای هرکیلوگرم خاک به همراه آب آبیاری و در دو مرحله به گلدان‌ها اضافه شد. همچنین مقدار 11 میلی‌گرم کود سکوسترین آهن 6 درصد به ازای هر کیلوگرم خاک در آب حل و به گلدان‌ها افزوده گردید. قبل از کشت نیز بر اساس آزمون خاک مقدار 6/7 میلی‌گرم سوپرفسفات تریپل به ازای هر کیلوگرم با خاک مخلوط گردید. گلدان‌های کشت شده در اتاقک رشد با دمای 20 تا 30 درجه سلسیوس و زمان روشنایی 12 ساعت با شدت نور 10000 لوکس نگهداری شدند.

پس از گذشت 70 روز از زمان کاشت، بخش هوایی در هر گلدان قطع و ریشه گیاهان نیز به دقت از خاک گلدان‌ها جدا گردید. پس از اندازه‌گیری ارتفاع گیاه، ابتدا بخش هوایی و ریشه نمونه‌های گیاهی به طور جداگانه به مدت 72 ساعت در دمای 65 درجه سانتی‌گراد خشک و سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب پودر و پس از تهیه عصاره گیاهی میزان عناصر غذایی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری فسفر از روش زرد (مولیبدووانادات) و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل؛ UnicoTM 1100,USA)، کلسیم و منیزیم از روش کمپلکسومتری و سدیم و پتاسیم با دستگاه نورسنج شعله‌ای (فلیم فتومتری) مدل ELE اندازه‌گیری شد (اسپارک، 1996).

تجزیه‌های آماری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه شیمیایی و زیستی خاک‌های نمونه‌برداری شده نشان داد که محدوده شوری خاک‌ها بین 2/6 تا 7/2 دسی زیمنس بر متر قرار داشت. همچنین جمعیت باکتری و تنفس خاک به طور میانگین به ترتیب $2/2\times10^5$ و 0/92 ($mgCO_2g^{-1}w^{-1}$) و میانگین pH خاک‌ها 8/3 بود (جدول 1). در مجموع تعداد 167 جدایه باکتری از محیط کشت نوترینت آگار حاوی 5 درصد نمک که از نظر شکل ظاهری کلنی‌ها با هم تفاوت داشتند، جداسازی گردید.

از راهکارهای مفید برای مقابله با تنش شوری در گیاهان و کاهش آثار زیان‌بار آن معرفی باکتری‌های مقاوم به شوری است که بهبوددهندهٔ رشد گیاه نیز هستند. جداسازی ریزسازواره‌های بومی از خاک‌های تحت تأثیر تنش و غربالگری بر اساس تحمل به تنش و ویژگی‌های محرک رشد گیاه ممکن است در انتخاب سریع سویه‌های کارآمد مفید باشد که می‌تواند به‌عنوان تلقیح زیستی برای محصولات تحت تأثیر تنش استفاده شود (ثقفی و همکاران، 1398؛ شیرواستا و کومار، 2015).

توانایی جدایه‌ها در استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن

از بین 167 جدایه که برای توانایشان در استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن مورد آزمایش قرار گرفتند تنها شش جدایه دارای توان استفاده از ACC بودند. بر اساس نتایج، فعالیت جدایه‌های انتخاب شده در محدوده 47 تا 275 نانومول آلفاکتوبوتیرات بر میلی گرم پروتئین در ساعت قرار داشت (جدول 2). جدایه Z53 دارای بیشترین فعالیت ACC دآمیناز (275 نانومول آلفاکتوبوتیرات بر میلی گرم پروتئین در ساعت) و جدایه H41 دارای کمترین فعالیت (47 نانومول آلفاکتوبوتیرات بر میلی گرم پروتئین در ساعت) بود. مقدار فعالیت آنزیم ACCدآمیناز در جدایه‌های مورد مطالعه در حد نسبتا کم تا متوسط می‌باشد.

هر ریزسازواره‌ای که بتواند در محیط حداقل از نظر مواد غذایی از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده کند به احتمال زیاد دارای ژن این آنزیم که بطور فعالی بیان می‌گردد، است. تحقیقات زیادی نشان دادند که توانایی استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژن یک امتیاز در رقابت بهتر نسبت به باکتری فاقد این توانایی بوده است. در غربالگری باکتری‌های ریزوبیومی از نظر توان تولید این آنزیم در یک مطالعه‌ای مشخص شد که فقط پنج جدایه از 13 جدایه ریزوبیومی قادر به تولید این آنزیم بودند. همچنین جدایه ریزوبیومی فقط تا زمانی که درون گره‌ها هستند قادر به تولید این آنزیم می‌باشند (ما و همکاران، 2003).

جدول 1- برخی خصوصیات خاک‌های مورد استفاده برای جداسازی باکتری

نمونه خاک	EC ($dS\ m^{-1}$)	pH	تنفس ($mgCO_2\ g^{-1}\ w^{-1}$)	جمعیت میکروبی در 5% نمک (CFU)
H1	3/3	7/9	0/737	5×10^4
H2	4/1	8	0/89	9×10^3
H3	4/3	8/4	1/23	$2/1\times10^5$
H4	3/7	8/1	0/946	$5/6\times10^4$
H5	2/6	8/3	0/802	$1/3\times10^5$
H6	5/8	8/5	0/64	2×10^5
Z1	3	8	0/981	7×10^4
Z2	2/7	8/3	1/01	4×10^4
Z3	7/1	8/4	0/85	1×10^5
Z4	6	8/3	0/77	8×10^4
Z5	4/7	8/3	0/642	2×10^4
Z6	5/5	8/5	1/1	9×10^5
K1	4	8/1	0/65	1×10^5
K2	7/2	8/4	0/592	2×10^6
K3	5/4	8/3	0/952	4×10^4
K4	3/6	8/5	0/873	$2/1\times10^4$
K5	3/5	8/5	1/73	3×10^5
K6	2/9	8/2	0/95	2×10^3
K7	6/8	8/5	0/734	7×10^4
K8	6/2	8/5	1/3	5×10^4

H: استان همدان، Z: استان زنجان، K: استان کردستان

در مطالعه‌ای دیگر بر روی 233 جدایه از نظر توان تولید این آنزیم مشخص گردید که 27 جدایه توانایی تولید این آنزیم را داشتند (دوان و همکاران، 2009). گزارش شده است که از چهار سویه *P. fluorescens* Pf1، *P. fluorescens* Pf2، *P. fluorescens* TDK1 و *P. fluorescens* RMD1 تنها سویه TDK1 دارای فعالیت ACCدآمیناز بود و فعالیت این آنزیم را برای این سویه 342 نانومول آلفاکتوبوتیرات بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت اندازه‌گیری کردند (ساراونکپور و سمیاپان، 2007). همچنین میزان فعالیت ACCدآمیناز را برای باکتری‌های تحمل کننده نمک *Brevibacterium iodinum*، *Bacillus licheniformis* و *Zhihengliuela alba* به ترتیب برابر 4/13 ، 3/06 و 1/38 میکرومول آلفا کتوبوتیرات در میلی-گرم پروتئین در ساعت گزارش کردند (سیداک و همکاران، 2011). حداقل فعالیت ACCدآمیناز برای اینکه یک باکتری به عنوان باکتری محرک رشد تلقی شود 20 نانومول آلفاکتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت است (پنروز و گلیک، 2003). باکتری دارای آنزیم ACCدآمیناز می‌توانند اثرات ناشی از تنش‌های مختلف از جمله تنش غرقابی، خشکی،شوری، فلزات سنگین، پاتوژن ها و غیره را بر روی گیاهان کاهش دهند (بلیموو و همکاران، 2002).

جدول 2- فعالیت آنزیم ACCدآمیناز جدایه‌ها

ردیف	جدایه	فعالیت ACC دآمیناز ($nmol\ \alpha KB\ mg^{-1}\ h^{-1}$)	ردیف	جدایه	فعالیت ACC دآمیناز ($nmol\ \alpha KB\ mg^{-1}\ h^{-1}$)
1	H41	47	4	Z53	275
2	H63	77	5	K78	253
3	Z57	98	6	K15	48

توان رشد جدایه‌های دارای توان تولید ACCدآمیناز در غلظت‌های مختلف NaCl

میزان رشد جدایه‌های تولید کننده آنزیم ACCدآمیناز در محیط کشت مایع با غلظت‌های مختلف NaCl در جدول 3 آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده جدایه K78 نسبت به بقیه جدایه‌ها رشد بیشتری در درصدهای بالاتر نمک داشت و جدایه H63 دارای کمترین رشد در درصدهای بالاتر نمک نسبت به سایر جدایه‌ها بود. در گزارشی بیان شده است که باکتری *P. trivialis* که از ACC به‌عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده می‌کرد، باعث افزایش تحمل به شوری و تحریک رشد ساقه و ریشه گیاه *goat's rue* در خاک شور شد (اگامبردیا و همکاران، 2013).

جدول 3- رشد جدایه‌های مولد ACC دآمیناز در غلظت‌های مختلف NaCl

OD در طول موج 600 نانومتر				
	درصد نمک NaCl			
جدایه	0	2/5	5	10
H41	1/056	0/721	0/086	0/012
H63	1/118	0/508	0/154	0/009
Z53	1/039	0/534	0/110	0/051
Z57	0/968	0/810	0/267	0/095
K15	0/038	0/760	0/520	0/024
K78	0/869	0/659	0/670	0/228

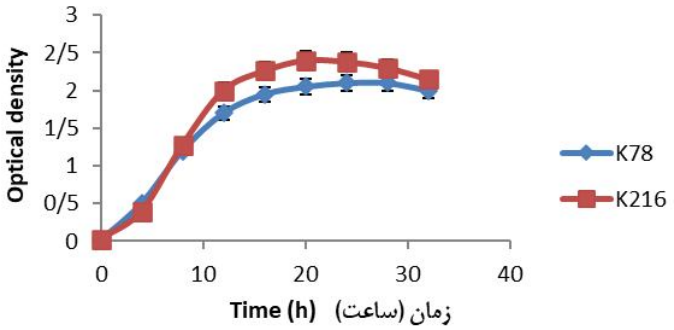
جدایه‌های مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای

جدایه های مورد استفاده در آزمایش گلخانه ای

هدف از کشت گلخانه‌ای در این تحقیق بررسی تأثیر باکتری تولید کننده آنزیم ACCدآمیناز مقاوم به شوری در بهبود رشد گیاه گندم بود. برای این منظور لازم بود تأثیر جدایه با توانایی تولید آنزیم ACCدآمیناز با جدایه فاقد این صفت مقایسه شود؛ از این رو جدایه K78 به عنوان جدایه تولید کننده ACCدآمیناز (B1) جهت کشت گلخانه‌ای انتخاب شد. اگرچه این جدایه دارای فعالیت ACCدآمیناز کمتری نسبت به جدایه Z53 بود، ولی جدایه K78 دارای رشد بهتری در غلظت‌های بالاتر نمک، بود. همچنین جدایه K216 که فاقد توانایی تولید ACCدآمیناز بود (B2) به عنوان جدایه شاهد که از لحاظ دامنه رشد در غلظت‌های مختلف نمک و میزان تولید اکسین، به جدایه K78 شباهت بیشتری داشت جهت کشت گلخانه‌ای انتخاب گردید (تهیه شده از بانک ژن گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران) (جدول 4). در این تحقیق سعی شده است دو جدایه مورد مقایسه از لحاظ برخی صفات مانند دامنه رشد در نمک‌های مختلف و نیز میزان تولید اکسین تا حد ممکن به هم نزدیک باشند. هر دو جدایه K78 و k216 گرم مثبت و به شکل باسیل بودند و واکنش گرم جدایه‌ها (KOH) بررسی و گرم مثبت بودن جدایه‌ها تایید شد. نتایج حاصل از توالی خوانی ژن 16S rRNA نشان داد که جدایه K78 به میزان 100 درصد (KP067954) و جدایه K216 به میزان 98/06 درصد (MT614592) با سویه *Bacillus mojavensis* قرابت فیلوژنی داشتند. منحنی رشد دو جدایه منتخب در محیط نوترینت براث در شکل 2 آورده شده است.

جدول 4- مشخصات جدایه‌های منتخب جهت مطالعه گلخانه‌ای

جدایه	درصد نمک (OD جدایه‌ها در طول موج 600 نانومتر در 24 ساعت)				فعالیت ACCدآمیناز nmol α-ketobutyrate mg^{-1} h^{-1}	تولید اکسین ($\mu g\ m^{-l}$)
	0	2/5	5	10		
K78	0/869	0/659	0/670	0/168	253	0/96
K216	1/058	0/876	0/914	0/123	0	1/12



شکل 2- منحنی رشد دو جدایه منتخب در محیط نوترینت براث

نتایج آزمون گلخانه‌ای

نتایج بررسی‌های انجام‌شده بر روی نمونه خاک تهیه شده جهت انجام آزمون گلخانه‌ای در جدول 5 ارائه شده است. بر اساس نتایج ارائه شده بافت خاک شنی لومی و درصد ماده آلی خاک زیر یک درصد بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، خاک مورد مطالعه دارای هدایت الکتریکی 1/3 دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد.

جدول 5- خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک استفاده شده در آزمایش گلخانه‌ای

برخی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی	مقادیر
قابلیت هدایت الکتریکی(dS/m)	1/3
pH	8/4
بافت خاک	شنی لومی
درصد حجمی رطوبت اشباع خاک (%SP)	46/5
رطوبت ظرفیت مزرعه (FC)	20
درصد ماده آلی	0/92
نیتروژن کل (%)	0/46
فسفر قابل جذب mg/kg	13/1
پتاسیم قابل استخراج با استات آمونیوم mg/kg	358
کلسیم meq/l	4/7
منیزیم meq/l	1/5
سدیم meq/l	1/4
آهن قابل استخراج با DTPA (mg/kg)	6/6
روی قابل استخراج با DTPA (mg/kg)	1/13
مس قابل استخراج با DTPA (mg/kg)	1/02
(cmol/kg) CEC	17/9
آهک(%)	7/3
تنفس (mg CO_2/g 24h)	0/83
تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلونی (cfu)	$3/6\times10^5$
تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلونی در 5% NaCl (cfu)	8×10^3
MPN (محتمل‌ترین جمعیت باکتری)	$1/4\times10^6$
MPN در 5% NaCl	$1/33\times10^4$

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر فاکتورهای شوری و باکتری در سطح یک درصد بر طول اندام هوایی و نسبت وزن ریشه به اندام هوایی معنی‌دار بود؛ اما اثرات متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر نسبت وزن ریشه به اندام

هوایی نداشت. همچنین شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان عناصر غذایی گیاه داشت؛ به نحوی که درصد فسفر، پتاسیم، سدیم، کلسیم و منیزیم گیاه را در سطح یک درصد تحت تأثیر قرار داد. همچنین تلقیح گیاهان با زادمایه باکتری تاثیر معنی‌داری بر درصد پتاسیم و کلسیم گیاه به ترتیب در سطح یک درصد و پنج درصد داشت، اما تأثیر معنی‌داری بر درصد فسفر، سدیم و منیزیم نداشت. اثر متقابل باکتری و شوری برای میزان پتاسیم گیاه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول 6).

جدول 6- تجزیه واریانس اثر فاکتورهای شوری و باکتری بر طول اندام هوایی و میزان کلروفیل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول اندام هوایی	نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی	فسفر	پتاسیم	سدیم	کلسیم	منیزیم
شوری	4	1123/29**	0/00021**	0/039**	5/71**	2/08**	3/08**	0/31**
باکتری	2	154/57**	0/00023**	0/0002^{ns}	0/24**	0/003^{ns}	0/088*	0/002^{ns}
شوری و باکتری	8	36/49**	0/00004^{ns}	0/00001^{ns}	0/01*	0/001^{ns}	0/014^{ns}	0/0004^{ns}
خطا	30	1/42	0/00002	0/0004	0/05	0/006	0/017	0/001

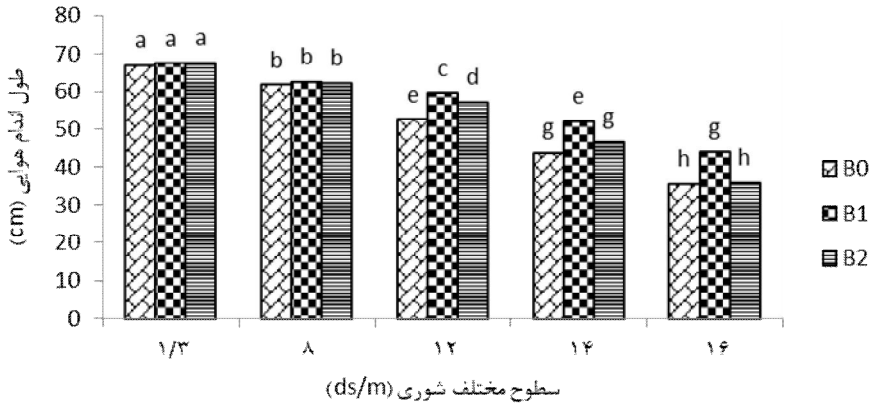
**: معنی‌دار در سطح یک درصد *: معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns: فاقد اثر معنی‌دار

طول اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شوری و باکتری‌های تیمار شده بر طول اندام هوایی در شکل 3 نشان داده شده است. شوری در تمامی سطوح تأثیر منفی و معنی‌داری بر طول اندام هوایی داشته است و موجب کاهش چشمگیر طول اندام هوایی بخصوص در سطوح بالای شوری شده است (شکل 2). کمترین کاهش طول اندام هوایی در شوری 8 دسی‌زیمنس بر متر (7/3 درصد) و بیشترین کاهش مربوط به شوری 16 دسی‌زیمنس بر متر (47/17 درصد) نسبت به تیمار بدون شوری بود. همچنین بر اساس مقایسه میانگین‌ها تلقیح جدایه K78 در سطوح شوری12 ،14 و 16 دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمار شاهد (تیمار بدون تلقیح) معنی‌دار بوده و موجب افزایش طول اندام هوایی شد؛ بطوری که این جدایه بیشترین تاثیر را در شوری 16 دسی‌زیمنس بر متر داشت که باعث افزایش طول اندام هوایی به میزان 21/5 درصد نسبت به تیمار شاهد و تیمار تلقیح با جدایه K216 در این شوری شده است. همچنین تلقیح جدایه K216 در شوری 12 دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش معنی‌دار (8/7 درصد) در طول اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شده است. که احتمالاً مربوط به سایر خصوصیات محرک رشدی جدایه K216 است.

مطالعات گذشته نشان داده است که تحت تنش شوری و خشکی رشد گیاهان مخصوصاً ارتفاع آن‌ها با محدودیت شدید رو به رو می‌شود. تلقیح گیاهان به‌وسیله‌ی باکتری‌های محرک رشد گیاه تحت شرایط تنشی ارتفاع گیاه را افزایش می‌دهند (ساپره و همکاران، 2018). همچنین در یک پژوهش، لی و همکاران (2017) اظهار داشتند که تلقیح گیاه کلزا با باکتری *انتروباکتر کلوسا* سویه HSNJ4 که دارای توان تولید IAA و آنزیم ACCدآمیناز بود؛ موجب کاهش اثرات تنشی در هر سه سطح شوری صفر، 50 و 100 میلی مولار شد و در نهایت موجب افزایش وزن تر، طول ریشه و اندام هوایی گیاه گردید. در یک مطالعه‌ی گلدانی و تحت تنش شوری صفر و 100، 200 و 300 میلی مولار نمک سدیم کلرید، ویمال و همکاران (2019) نیز بیان نمودند که *کورتوباکتریوم آلبیدیوم* سویه SRV4 با مکانیسم‌های افزایش پرولین، اسمولیت‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، کارایی رنگیزه‌های فتوسنتزی و جذب پتاسیم اثرات تنش شوری را در برنج کاهش داده

و باعث بهبود شاخص پایداری غشا و شاخص‌های رشد گیاه از جمله ارتفاع گیاه شد.



شکل 3- تأثیر سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر طول اندام هوایی گندم. B0: تیمار بدون باکتری، B1: تلقیح با جدایه K78، B2: تلقیح با جدایه K216. ستون‌های دارای یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد هستند

مقایسه میانگین اثر فاکتورهای شوری و باکتری بر نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در جدول 7 نشان داده شده است. شوری باعث کاهش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی شده است و این اثر کاهشی در شوری 12 دسی‌زیمنس بر متر معنی‌دار بود. کمترین میانگین نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در شوری 12 دسی‌زیمنس بر متر (0/084) بود و با افزایش شوری از 12 دسی‌زیمنس بر متر این نسبت افزایش نشان داد. بر اساس مقایسه میانگین‌ها تلقیح گیاهان با جدایه K78 باعث افزایش معنی‌دار نسبت وزن ریشه به اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تلقیح جدایه K216 میانگین بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشت. به نظر می‌رسد جدایه K78 و K216 که دارای توان تولید هورمون اکسین بوده و همچنین جدایه K78 که دارای فعالیت ACCدآمیناز بود موجب افزایش معنی‌دار نسبت وزن ریشه به اندام هوایی نسبت به تیمار بدون تلقیح باکتری شد.

جدول 7- بررسی اثرات ساده تیمار باکتری و شوری بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی و برخی عناصر در اندام هوایی گندم

تیمار باکتری	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی	فسفر	سدیم (%)	کلسیم	منیزیم
شاهد	0/088[b]	0/2[ns]	0/66[ns]	1/37[b]	0/41[ns]
K78	0/096[a]	0/21[ns]	0/67[ns]	1/47[a]	0/44[ns]
K216	0/092[a]	0/21[ns]	0/67[ns]	1/46[a]	0/43[ns]
تیمار شوری (ds/m)					
1/3	0/095[a]	0/277[a]	0/061[e]	0/55[d]	0/18[e]
8	0/095[a]	0/26[b]	0/27[d]	1/18[c]	0/33[d]
12	0/084[b]	0/22[c]	0/79[c]	1/62[b]	0/42[c]
14	0/093[a]	0/165[d]	1/04[b]	1/81[a]	0/52[b]
16	0/094[a]	0/125[e]	1/18[a]	1/98[a]	0/69[a]

* اعدادی که در هر ستون دارای یک حرف مشترک کوچک هستند، از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

در شرایط تنش شوری رشد ریشه‌ها در معرض آسیب بیشتری در مقایسه با اندام هوایی قرار می‌گیرد و در حضور غلظت‌های بالای نمک، ممکن است افزایش اتیلن ناشی از تنش، موجب اختلال در سوخت و ساز و فعالیت‌ها و فرآیندهای فیزیولوژیکی در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی شود (مایاک و همکاران، 2004). علاوه بر این

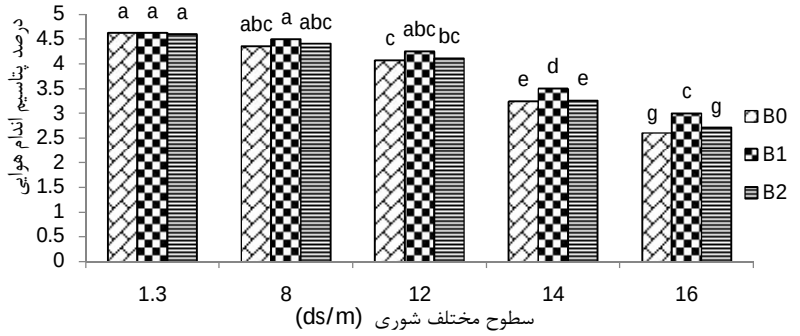
ممکن است به دلیل این‌که ریشه‌ها در تماس نزدیک با محلول نمک هستند نسبت به بخش هوایی که تماس کمتری با غلظت‌های بالای نمک دارد آسیب بیشتری ببیند. تلقیح گیاهان با باکتری‌های مولد ACCدآمیناز موجب افزایش توسعه ریشه در شرایط تنشی می‌شود که موجب توسعه بخش هوایی و افزایش وزن خشک گیاه می‌شود (سیداک و همکاران، 2011). کاربرد اتیلن و ACC در محیط ریشه سبب کاهش رشد ریشه می‌شود (مدهیان و همکاران، 2007). از طرف دیگر استفاده از مهار کننده‌های اتیلنی مانند AVG[1] رشد ریشه را بهبود می‌بخشد (مایاک و همکاران، 2004). علاوه بر این، باکتری‌های محرک رشد که در اثر جهش زایی فاقد توانایی تولید ACCدآمیناز شده‌اند، طول ریشه و وزن خشک را افزایش ندادند (مدهیان و همکاران، 2006). در حالی که تحمل به شوری در گیاهان کلزای تراریخته شده حاوی ژن ACCدآمیناز بهبود یافت (سرگوا و همکاران، 2006). غلظت ACC و اتیلن در ریشه‌ها به طور معمول نسبت به اندام هوایی بالاتر است که منجر به کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیک و متابولیک و همچنین تخصیص بیشتر مواد فتوسنتزی به سمت ریشه‌ها می‌شود (سیداک و همکاران، 2011). بنابراین، بر اساس نتایج و گزارش‌های قبلی می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های مولد ACCدآمیناز از طریق کاهش سطوح اتیلن تنشی باعث طویل شدن ریشه‌ها، بهبود رشد و افزایش ماده خشک گیاه تحت تنش شوری می‌شوند (دین و همکاران، 2019).

میزان عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه

مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار درصد فسفر گیاه شده است و با افزایش شوری کاهش درصد فسفر اندام هوایی چشمگیر بود (جدول 7). تلقیح گندم با جدایه‌های باکتری تأثیر معنی‌داری بر افزایش درصد فسفر نداشت. مقایسه میانگین درصد پتاسیم در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری‌های بیشتر از 8 دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش معنی‌دار درصد پتاسیم گیاه شده است و این اثر کاهشی در سطوح بالاتر شوری چشمگیرتر بود. بطوریکه کمترین درصد پتاسیم گیاه در شوری 16 دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. همچنین بر اساس نتایج، تیمار K78 بیشترین میانگین درصد پتاسیم گیاه را در سطوح شوری 8، 12، 14 و 16 دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمارهای شاهد و K216 داشت و تأثیر آن در شوری‌های 14 و 16 دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب معادل 8 و 15/3 درصد بود (شکل 4). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که شوری تأثیر معنی‌داری در افزایش درصد سدیم در اندام هوایی گیاه داشت و افزایش شوری سبب افزایش درصد سدیم شده است. بطوریکه بیشترین مقدار سدیم گیاه مربوط به شوری 16 دسی‌زیمنس بر متر و کمترین میانگین مربوط به تیمار بدون شوری (1/3 دسی‌زیمنس بر متر) است. تلقیح هیچ کدام از جدایه‌ها اثر معنی‌داری بر درصد سدیم اندام هوایی نداشت (جدول 7). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تمامی تیمارها با افزایش شوری درصد کلسیم اندام هوایی افزایش یافته است. بطوریکه بیشترین میانگین درصد کلسیم اندام هوایی مربوط به شوری 16 دسی‌زیمنس بر متر و کمترین میانگین آن مربوط به تیمار بدون شوری است. همچنین نتایج نشان داد که تلقیح جدایه‌های باکتری موجب افزایش معنی‌دار درصد کلسیم اندام هوایی شده است و بین دو جدایه باکتری در افزایش درصد کلسیم گیاه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. یکی از مکانیسم‌های اصلی جذب کلسیم، تماس ریشه‌ای است. می‌توان این افزایش جذب را به توسعه بیشتر ریشه‌ها در اثر تلقیح جدایه‌های باکتری در مقایسه با تیمار بدون تلقیح نسبت داد (جدول7). همچنین افزایش شوری باعث افزایش معنی‌دار درصد منیزیم اندام هوایی شد و با افزایش سطوح شوری تأثیر آن چشمگیرتر بود. همچنین تلقیح هر دو جدایه موجب افزایش درصد منیزیم گیاه نسبت به تیمار بدون تلقیح شد اگر چه این افزایش میانگین از نظر آماری معنی‌دار نبود. (جدول 7).

گزارش‌های متفاوتی در مطالعات مشابه انجام شده در بررسی تأثیر باکتری‌های مولد ACCدآمیناز وجود دارد. سیداک و همکاران (2011) بیان کردند اگرچه شوری اثرات سوءی بر جذب مواد غذایی از خاک دارد از طرف دیگر ممکن است با افزایش تولید اتیلن مهار کننده رشد ریشه‌ها، سبب ناکارآمدی ریشه‌ها در جذب مواد غذایی از خاک شود. با این وجود تلقیح باکتریای‌های تحمل کننده نمک *Bacillus licheniformis* و *Brevibacterium iodinum*، *Zhihengliuela alba*، مولد ACCدآمیناز تاثیر مثبتی در افزلیش جذب عناصر غذایی داشتند.

[1] Aminoethoxy Vinyl Glycine



شکل 4- تأثیر سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر درصد پتاسیم اندام هوایی: B0: تیمار بدون تلقیح باکتری، B1: تیمار تلقیح با جدایه باکتری K78 (+ACC)، B2: تیمار تلقیح با جدایه باکتری K216 (ACC). ستون‌های دارای حاقل یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد هستند.

آنها گزارش کردند که این باکتری‌ها با توسعه ریشه و افزایش سطح جذب، منجر به افزایش جذب مواد غذایی از خاک شدند. مایاک و همکاران (2004) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. در محیط‌های شور غلظت سدیم زیاد و به طور قابل توجهی بیشتر از پتاسیم است. بنابراین رقابت زیادی برای جذب این دو عنصر به وجود می‌آید و در غلظت‌های بالای سدیم جذب پتاسیم کم و تجمع زیاد سدیم در گیاه موجب بروز اثرات سمی می‌شود (سگیب و همکاران، 2000). همچنین سیداک و همکاران (2011) گزارش کردند، که تلقیح جدایه‌های مذکور موجب افزایش مقدار سدیم و پتاسیم در گوجه فرنگی شد و نیز مقدار سدیم در شوری‌های بالا نسبت به تیمار بدون تلقیح کاهش یافت. از طرفی مایاک و همکاران (2004) گزارش کردند که تلقیح باکتری‌های مولد ACCدآمیناز تاثیری در کاهش مقدار سدیم در شوری‌های بالا نداشته است.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، با استفاده از چندین مرحله آزمون و مقایسه جدایه‌ها، یک باکتری متعلق به گونه *باسیلوس موجاونسیس* از ریزوسفر گندم جداسازی شد که ویژگی‌های مناسبی برای حضور در شرایط شور داشت. این جدایه توانست اثرات منفی تنش شوری را بر گیاه گندم در شرایط گلخانه‌ای کاهش دهد و این امر با مکانیسم‌هایی مانند افزایش طول گیاه، وزن ریشه و اندام هوایی و بهبود جذب عناصر غذایی در اندام هوایی محقق شد. به علاوه، پاسخ‌های گیاه به تلقیح با جدایه K78 نشان داد که این جدایه پتانسیل استفاده به عنوان PGPR برای افزایش رشد و شرایط تغذیه‌ای گندم را تحت تنش شوری دارد. با این حال، پژوهش‌های بیشتری لازم است تا کارایی این جدایه تحت تنش‌های مختلف و شرایط مزرعه‌ای نیز مشخص شود.

فهرست منابع:

1. اخگر ع.، خاوازی ک.، خاکی‌پور ن. (1390). جداسازی، شناسایی و بررسی کارآیی باکتری های ریزوسفری دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد 25، شماره 1: 29-41.
2. ثقفی ک.، احمدی ج.، اصغرزاده ا.، رکنی‌زاده ح.، حسینی‌مزینانی س م. (1398). جداسازی، شناسایی و بررسی ویژگی‌های محرک رشدی *سودوموناس‌های فلورسنت* از ریزوسفر درختان زیتون در خاک‌های شور. زیست شناسی خاک، 7جلد 7، شماره 1: 13-27.

3. Avalbaev, A.M., Bezhorkov, M.V., Kildibekova, A.R. and Fatkutdinova, R.A. 2009. Wheat germagglutinin restores cell division and growth of wheat seedlings under salinity. Journal of Plant Physiology,1:257-263.
4. Belimov, A.A., Safronova, V.I. and Tetsuro, M. 2002. Response of spring rape (*Brassica napus* var. *oleifera* L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Canadian journal of microbiology, 48(3):189-199.
5. Din, B.U., Sarfraz, S., Xia, Y., Kamran, M.A., Javed, M.T., Sultan, T., Munis, M.F.H. and Chaudhary, H.J. 2019. Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC- deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 183:1-10.
6. Duan, J., Müller, K.M., Charles, T.C., Vesely, S. and Glick, B.R. 2009. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase genes in Rhizobia from southern Saskatchewan. Microbial Ecology, 57:423-436.
7. Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M. and Böttger, E.C. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. Nucleic Acids Research, 17(19):7843-7853.
8. Egamberdieva, D., Berg, G., Lindström, K. and Räsänen, L. A. 2013. Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (*goat's rue*) by co-inoculation of Rhizobium with root-colonizing *Pseudomonas*. Plant and soil, 369:453-465.
9. Glick, B.R. 2004. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. Advances in Applied Microbiology, 56:291-312.
10. Glick, B.R. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters, 25:1-7.
11. Glick, B.R., Penrose, D.M. and Li, J. 1998. A Model for the Lowering of Plant Ethylene Concentrations by Plant Growth promoting Bacteria. Journal of Theoretical Biology, 190:63-68.
12. Glick, B.R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J. and McConkey, B. 2007. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. Critical Reviews in Plant Sciences, 26:227-242.
13. Grover, G., Ali, S.K.Z., Sandhya, V., Rasul, A. and Venkateswarlu, B. 2011. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(5):1231-1240.
14. Johnson, L.F. and Curl, E.A. 1972. Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens. Burgess Publishing Company, Minneapolis, MN.
15. Klassen, S. and Bugbi, B. 2000. Differential sensitivity of crops to ethylene and interaction with elevated CO_2. Life support and biosphere science, 7:23-83.
16. Li, H., Lei, P., Pang, X., Li, S., Xu, H., Xu, Z. and Feng, X. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4. Applied Soil Ecology, 119:26-34
17. Ma, W., Sebestianova, S.B., Sebestian, J., Burd, G.I., Guinel, F.C. and Glick, B.R. 2003. Prevalence of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase in *Rhizobium* spp. Antonie Van Leeuwenhoek, 83:285-291.
18. Madhaiyan, M., Poonguzhali, S. and Sa, T. 2007. Characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase containing *Methylobacterium oryzae* and interactions with auxins and ACC regulation of ethylene in canola (*Brassica campestris*). Planta, 226(4):867-876.
19. Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Ryu, J. and Sa, T. 2006. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-containing *Methylobacterium fujisawaense*. Planta, 224(2):268-278.

20. Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B.R. 2004. Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 42:565-572.
21. Penrose, D.M. and Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth promoting rhizobacteria. Physiologia Plantarum, 118(1):10-15.
22. Sapre, S., Gontia-Mishra, I. and Tiwari, S. 2018. Klebsiella sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). Microbiological Research, 206:25-3.
23. Saqib, M., Akhtar, J., Qureshi, R.H. Aslam, M. and Nawaz, S. 2000. Effect of salinity and sodicity on growth and ionic relations of different wheat genotypes. Pakistan Journal of Soil Science, 18:99-104.
24. Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2007. ACC deaminase from Pseudomonas fluorescens mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. Journal of Applied Microbiology, 102:1283-1292.
25. Sergeeva, E., Saleh, Sh. and Glick, B.R. 2006. Growth of transgenic canola (*Brassica napus* cv. *Westar*) expressing a bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene on high concentrations of salt. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22(3):277-282.
26. Shrivastava, P., and Kumar, R. 2015. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. Saudi journal of biological sciences, 22(2):123-131.
27. Siddikee, M.A., Glick, B.R., Chauhan, P.S., Yim, W.J. and Sa, T. 2011. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. Plant Physiology and Biochemistry, 49(4):427-434.
28. Sparks, D.L. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods, Soil Science Society of American, Inc. American Society of Agronomy, Inc, Madison Wisconsin, USA.
29. Vimal, S.R., Patel, V.K. and Singh, J.S. 2019. Plant growth promoting *Curtobacterium albidum* strain SRV4: An agriculturally important microbe to alleviate salinity stress in paddy plants. Ecological Indicators, 105:553-562.

بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر خصوصیات رشدی و کلنیزاسیون پایه‌های متداول بادام در شرایط مطلوب و تنش کم آبی

محمود محمدی[1] و فرهاد رجالی

استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران؛ **m.mohamadi@areeo.ac.ir**

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **frejali@yahoo.com**

دریافت: **99/3/25** و پذیرش:**99/7/23**

چکیده

خشکی از جمله تنش‌های محیطی مهم است که بر رشد و نمو گیاهان اثر منفی می‌گذارد. قارچ‌های میکوریز آربسکولار در فراهم کردن آب و جذب مواد غذایی و افزایش تحمل به خشکی گیاهان به نفع میزبان خود عمل می‌کنند. در این پژوهش اثر قارچ‌های میکوریزی بر صفات رشدی و مقاومت به تنش کم آبی در پایه‌های متداول بادام در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای این تحقیق شامل فاکتور اول، قارچ میکوریز در دو سطح شامل M_0: بدون مصرف قارچ میکوریزی به‌عنوان شاهد و M_1: مصرف قارچ میکوریزی، فاکتور دوم پایه بادام در چهار سطح (GN، GF، محلی شوراب 2 و تلخ) و فاکتور سوم تنش کم آبی در چهار سطح (I_1: بدون تنش به‌عنوان شاهد، I_2: 20 درصد، I_3: 40 درصد و I_4: 60 درصد تخلیه رطوبت قابل استفاده گیاه بودند. نتایج نشان داد بین چهار پایه مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری بین صفات مورد بررسی وجود داشت. حداکثر مقادیر این صفات از پایه GF حاصل شد. تیمار تنش کم آبی منجر به تفاوت معنی‌دار در صفات مورد بررسی شد. با افزایش تنش کم آبی از تیمار بدون تنش (I1) به تیمار حداکثر تنش (I4)، میزان کلنیزاسیون و وزن خشک ریشه کاهش یافت. تلقیح قارچ‌های میکوریزی به‌ترتیب منجر به افزایش 27 و 40 درصدی وزن خشک و کلنیزاسیون ریشه شد. بیشترین میزان رشد طولی درخت، رشد قطری ساقه، وزن خشک اندام هوایی به ترتیب به میزان 55/1، 5/1 سانتیمتر و 71 گرم از تیمار ترکیبی GF+I1 بدست آمد. حداکثر میزان کلنیزاسیون ریشه از تیمار ترکیبی M_1 +I1 به میزان 74/5 درصد بدست آمد. بر اساس نتایج این پژوهش با تلقیح قارچ‌های میکوریزی، صفات رشدی افزایش و اثرات منفی تنش کم آبی کاهش یافتند.

واژه‌های کلیدی: بادام، تنش کم‌آبی، کلنیزاسیون ریشه، کلروفیل

[1]. نویسنده مسؤل، آدرس: شهرکرد، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، صندوق پستی: 415

مقدمه

بادام *Prunus dalcis* (Miller) D. Webb، بومی مناطق غرب آسیا تا حوزه دریای مدیترانه بوده و کشور ایران دارای مقام سوم پس از آمریکا و اسپانیا از نظر میزان تولید این محصول در جهان می‌باشد (تهرانی فر و همکاران، 1383). تنش خشکی از تنش‌هایی است که با تأثیر بر ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژی گیاهان، منجر به ایجاد خسارت کلان در محصولات کشاورزی می‌گردد. بسیاری از خصوصیات آناتومیکی، فیزیولوژیکی، آنزیمی، تغذیه‌ای و عملکرد کمی و کیفی بادام تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند (فلکساس و همکاران، 2009). علاوه بر سیستم‌های حفاظتی ذاتی گیاهان در مقابل تنش-های زیستی و غیر زیستی، تعدادی از ریز جانداران در خاک وجود دارند که برآیند اثرات متقابلشان با محیط خاک و ریشه موجب افزایش جذب عناصر غذائی، افزایش عملکرد، تعدیل اثرات نامطلوب انواع تنش‌ها و بهبود ویژگی‌های خاک می‌گردند. از جمله این ریز جانداران قارچ میکوریزا و همزیستی این قارچ‌های خاکزی با ریشه گیاهان است (اسمیت و رد، 2008).

همزیستی میکوریزی از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش تبادلات گازی برگ و میزان فتوسنتز، تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، اصلاح محیط ریزوسفر، بهبود ساختار خاک از طریق تشکیل خاکدانه-های پایدار، گسترش ریسه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه، باعث افزایش سطح و توان جذب ریشه شده که به گیاه میزبان کمک می‌کند تا میزان آب و مواد غذایی بیشتری از خاک جذب نماید (مارشنر و دل، 1994؛ اسمیت و رد، 2008؛ بارزانا و همکاران، 2015؛ یان و همکاران، 2016 ؛ مردحیاح و همکاران، 2016). قارچ-های میکوریزی در گیاهانی که دارای ریشه‌های فرعی کم انشعاب هستند از کارآیی بیشتری برخوردار هستند. (برندرت و همکاران، 1996). مطالعاتی که در زمینه کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی به وسیله میکروارگانیسمها صورت گرفته، بیانگر بهبود تبادلات گازی و روابط آبی گیاهان تلقیح شده با آنها نسبت به گیاهان تلقیح نشده است. تغییرات ناشی از تلقیح دو گونه قارچ گلوموس در رشد گیاه و مورفولوژی سیستم ریشه در *Prunus cerasifera* توسط برتا و همکاران (1995) مورد بررسی قرار گرفت و گزارش گردید کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریز آربسکولار منجر به افزایش وزن ریشه، ساقه، برگ، سطح برگ، طول ریشه و سطح مخصوص برگ می‌شود. بررسی‌های کفکاس و ابراهیم (2009) نشان داد تلقیح هشت گونه از قارچ میکوریزا با چهار گونه پسته باعث افزایش رشد رویشی و جذب عناصر غذایی فسفر و روی در گونه‌های دارای قارچ میکوریزا شده است. باقری و همکاران (1390) گزارش نمودند قارچ میکوریز باعث افزایش رشد رویشی و بهبود روابط آبی دو رقم پایه‌ای پسته در شرایط خشکی می‌شود. زارعی و همکاران (1392) گزارش نمودند در شرایط تنش کم آبی، رابطه همزیستی میکوریزی در مرکبات با پایه رافلمون درصد کلنیزاسیون ریشه، عملکرد ماده خشک ریشه و اندام هوایی، شاخص کلروفیل، وزن خشک گیاه و پتانسیل آب برگ گیاه را افزایش و رشد گیاه را بهبود بخشید. تحقیقات کالوت و همکاران (2004) بر روی پتانسیل کلنیزاسیون 18 واریته از پایه‌های مختلف گوجه‌سبز (آلوچه) شامل هیبرید بادام – هلو، هلو، آلو و گیلاس نشان داد کلنیزاسیون ریشه‌ای در پایه‌های تلقیح شده با *Rhizophagus intraradices* دارای بالاترین میزان درصد کلنیزاسیون می‌باشد.

برای اولین بار رلدان و همکاران(1982) امکان برقراری همزیستی درختان بادام وحشی را با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نشان دادند وگزارش نمودند، گونه *Funneliformiss mosseae* قادر است حداکثر 53 درصد و گونه بومی خاک‌های اسپانیا حداکثر61 درصد ریشه درخت بادام وحشی را کلنیزه نماید اما کالوت و همکاران (1995) گزارش نمودند درخت دو رگه هلو و بادام تا 90 درصد توسط گونه‌های قارچی *Clariodeoglumus etunicatum*، *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformiss mosseae* کلنیزه می‌شود. آقابابائی و همکاران (1390) گزارش نمودند تلقیح نهال‌های بادام توسط قارچ‌های میکوریزا، شاخص‌های رشد گیاه، سطح برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، طول ریشه، وزن تر و خشک و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه بادام شامل غلظت کلروفیل کل برگ، سرعت فتوسنتز خالص و بازده آب مصرفی در تیمارهای میکوریزی نسبت به گیاهان شاهد غیر میکوریزی افزایش، ولی سرعت تبخیر و تعرق از سطح برگ گیاه کاهش یافت. تحقیقات زیادی در خصوص تلقیح قارچ‌های میکوریزی با گیاهان زراعی و علفی انجام شده است، اما در تحقیقات اندکی به بررسی تلقیح درختان با این قارچ‌ها پرداخته شده است.

گیاهان دارای ریشه‌های چوبی در مرحله‌ای از چرخه زندگی خود که ریشه ترد و شکننده‌ای دارند، توانایی تلقیح با قارچ‌های میکوریز درونی را دارا می‌باشند (کالوت و همکاران، 2004). نهال‌های بادام در مقایسه با درخت آن حساس تر و ضعیف تر بوده و به بیماری‌ها و آفات حساس ترند اما به دلیل دارا بودن ریشه های ترد و

شکننده، پتانسیل لازم برای ایجاد همزیستی با قارچ‌های اندو میکوریز را دارند (برندرت و همکاران، 1996). از این رو قارچ‌های میکوریزی می‌توانند به استقرار بهتر آنها در محیط‌های جدید منجر شوند. یکی از مشکلات در تکثیر پایه‌های بادام تلفات آنها بعد از انتقال از گلخانه و خزانه به باغ است. یکی از اثرات مفید قارچ‌های میکوریزی کاهش تلفات نهال‌ها در اثر آسیب‌های ناشی از جابجائی مانند انتقال از خزانه به زمین اصلی می‌باشد که این مهم را می‌توان با استفاده از همزیستی میکوریزی کاهش داد (صالحی، 1385). با عنایت به ویژگی‌های متفاوت ظاهری، سرعت رشد و گسترش ریشه، حجم ریشه و صفات فیزیولوژیکی این چهار پایه با دیدگاه‌های متفاوتی در توسعه باغات استان مورد استفاده و مرسوم می‌باشد. از طرف دیگر با پروژه احداث و توسعه باغات بادام در اراضی شیبدار استان مواجه هستیم که اکثراً با مشکلات تغذیه‌ای و کم آبی مواجه هستند. امید است با استفاده از پتانسیل قارچ های میکوریزی پیشرفت باغات در حال احداث در زمان کمتر و با موفقیت بیشتری امکان‌پذیر شود. با توجه به اثرات مفید قارچ‌های میکوریزی در افزایش رشد، جذب عناصر غذایی و مقاومت به تنش کم آبی این امکان مهیا می‌شود که توسعه باغات افزایش و نهال‌های تلقیحی تولید شده در نهالستان-ها از کارآیی و دوأم بالاتری در عرصه برخوردار باشند. با توجه به اهمیت استراتژیک بادام و نقش‌های مفید قارچ-های میکوریز آربسکولار در همزیستی با گیاهان، ازجمله درخت بادام این پژوهش با هدف بررسی تأثیر استفاده از قارچ‌های میکوریزی بر میزان کلنیزاسیون ریشه، خصوصیات رشدی و میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی بر روی چهار پایه بادام مرسوم در استان چهارمحال و بختیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک‌ها کامل تصادفی در سه تکرار و سه گیاه در هر واحد آزمایشی در سال 1397 در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی شهرکرد انجام شد. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از فاکتور اول، قارچ میکوریزا در دو سطح شامل M_0: بدون مصرف قارچ میکوریزی به‌عنوان شاهد و M_1: مصرف قارچ میکوریزی، فاکتور دوم پایه بادام در چهار سطح (GN، GF، محلی شوراب 2 و تلخ) و فاکتور سوم تنش کم آبی در چهار سطح (I_1: بدون تنش به‌عنوان شاهد، I_2: تنش 20 درصد، I_3: تنش 40 درصد و I_4: تنش 60 درصد تخلیه رطوبت قابل استفاده گیاه). در این بررسی بعد از نمونه‌برداری مقدماتی ابتدا مقدار خاک کافی با میزان فسفر قابل جذب پائین به محل آزمایش انتقال داده شد و مراحل آماده‌سازی و عبور از الک بر روی آن اعمال و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن اندازه-گیری شد (جدول شماره 1) (امامی، 1375). برای تهیه پایه‌های بادام تلخ ابتدا تعداد کافی بذر بادام تلخ تهیه و پس از اعمال سرمادهی در اسفند ماه 96 با مساعد شدن هوا، بذرهای جوانه دار شده به گلدان‌های پلاستیکی دو کیلوگرمی انتقال داده شدند و مراقبت لازم از آنها به مدت سه ماه تا مرحله استقرار ریشه و رشد نهال و انتقال پایه-های بذری بادام به گلدان‌های 13 لیتری انجام شد.

در تهیه پایه‌های بذری بادام، بذرهای بادام تلخ ضدعفونی شده در بستر کشت استریل شامل ترکیب پرلیت + ماسه (1:1)که محیط خنثی و فاقد خاک کشت شدند. برای تهیه پایه‌های رویشیGF و GN نیز از طریق ریشه‌دار نمودن قلمه‌های آنها در بستر کشت استریل ترکیب پرلیت + ماسه (1:1) که محیط خنثی و فاقد خاک می‌باشد انجام شد. پس از ریشه دار شدن، نسبت به تلقیح آنها با قارچ‌های میکوریز اقدام شد. در ادامه قلمه‌های سه ماهه پایه‌های GF677 (هیبرید هلو و بادام)، GN 15 (هیبرید هلو و بادام) و پایه بومی شوراب 2 (هیبرید دیر گل هلو و بادام شاهرود 16) از نهالستان‌های سطح منطقه به گلخانه انتقال داده شد. سپس مراحل پر کردن خاک در گلدان‌های 13 لیتری انجام شد و پایه‌های مورد آزمایش به گلدان‌ها انتقال و آبیاری تا مرحله استقرار پایه‌ها به‌طور یکسان انجام شد. تلقیح قارچ میکوریزی به میزان100 گرم از مخلوط سه گونه قارچ میکوریزایی *Clariodeoglumus etunicatum*، *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformiss mosseae*

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

هدایت الکتریکی	pH	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	منگنز	مس	نیتروژن	کربن آلی	مواد خنثی شونده	رس	سیلت	شن	رطوبت F.C	رطوبت PWP
($dS\ m^{-1}$)										(%)					
0/88	7/81	6	311	4/1	0/58	8/9	0/93	0/073	0/92	24/5	26	54	20	33/5	15/67

برای هر پایه با جمعیت حداقل 100 اندام فعال قارچ شامل اسپور، وزیکول، هیف و قطعات ریشه حاوی اندام مختلف قارچ در هر گرم در زیر ریشه قرار داده شد. تعداد پروپاگول درزاد مایه قارچ با روش MPN شمارش شده بود. قارچ‌های میکوریزی از بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. بعد از مرحله استقرار، گلدان‌ها به فضای باز انتقال داده شده و تیمارهای تنش آبی اعمال شدند. افزایش آب به گلدان‌ها ازطریق اندازه‌گیری رطوبت خاک با استفاده از دستگاه رطوبت سنج TDR[1] و جبران آب کاهش یافته در هر یک از سطوح رطوبتی فوق انجام شد. جهت تعیین مقدار آب مورد نیاز تیمارهای تنش، ابتدا میزان رطوبت خاک در نقاط ظرفیت زراعی و پژمردگی دائم با استفاده از دستگاه صفحه فشاری[2] تعیین شد و با اندازه گیری رطوبت حجمی خاک در عمق توسعه ریشه با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج و با استفاده از فرمول عمق آب آبیاری محاسبه (علیزاده، 1394) و به گلدان‌ها اضافه شد.

در این مرحله پس از محاسبه میزان رطوبت در تیمارهای تنش آبیاری و محاسبه میزان آب در هر تیمار، روزانه رطوبت خاک در گلدان‌ها اندازه گیری و به محض رسیدن رطوبت گلدان به نقطه رطوبتی مورد نظر آبیاری گلدان‌ها انجام شد. اضافه کردن آب به گلدان‌ها در تیمارهای رطوبتی با استفاده از پیمانه‌های حجمی با توجه به میزان آب محاسبه شده برای هر تیمار و وزن کردن گلدان‌های اضافی برای هر تیمار در طول مرحله رشد انجام شد. طول دوره رشد گیاه از ابتدای انتقال نهال به گلدان‌ها تا مرحله برداشت گیاه 5 ماه بود. گیاهان به مدت شش هفته تحت تنش قرار داده شدند و خصوصیات رشدی پایه های بادام شامل صفات قطر ساقه و ارتفاع نهال درقبل و در انتهای تیمارهای تنش آبی با استفاده از کولیس دیجیتالی، خط‌کش و متر اندازه‌گیری شدند. شاخص کلروفیل برگی با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج اندازه‌گیری شد. همچنین غلظت کلروفیل a، b و کل پس از عصاره‌گیری و سانتریفیوژ، به روش طیف سنجی (اسپکتروفتومتری) قرائت و نهایتاً برحسب میلی‌گرم درگرم برگ تر برآورد گردید (ولبرن، 1994). در پایان آزمایش پایه‌ها را به طور کامل از خاک خارج نموده و ریشه را از ساقه از محل طوقه جدا نموده و و در ادامه وزن خشک ریشه با گذاشتن ریشه‌ها داخل پاکت و درون آون با دمای 70 درجه سلسیوس به مدت 72 ساعت اندازگیری شد. درصد کلنیزاسیون ریشه به روش تقاطع خطوط شبکه [3] اندازه‌گیری شد (کورمانیک و مک‌گراو، 1982). در پایان داده ها توسط نرم افزار SAS 9.2 تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

طول ساقه

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد اثر پایه، سطوح تنش کم آبی و قارچ میکوریزا بر افزایش طول ساقه معنی‌دار شد (جدول 2). بیشترین میزان افزایش طول ساقه از پایه GF حاصل شد که باعث افزایش 59 درصدی نسبت به پایه تلخ شد. با افزایش تنش کم آبی افزایش طول ساقه کاهش یافت به گونه‌ای‌که تیمار I_1 نسبت به تیمار I_4، 28/5 درصد افزایش نشان داد. صرف نظر از نوع پایه و سطح تنش کم‌آبی با مصرف قارچ های میکوریزی افزایش 30 درصدی طول ساقه پایه‌ها مشاهده شد (جدول 3). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل پایه در قارچ میکوریز معنی‌دار شد (جدول 2). مطابق شکل شماره یک حداکثر میزان طول ساقه به میزان 55/10 سانتیمتر از تیمار ترکیبی (GF+M1) بدست آمد که نسبت به تیمار حداقل (M0 + تلخ)، افزایش 50 درصد داشت. حسینی و قراقانی (2015) گزارش نمودند که تلقیح قارچ میکوریزی سبب افزایش ارتفاع ساقه، قطر ساقه، اندازه برگ و بیوماس در سه پایه درخت سیب در خاک آهکی شده است.

آقابابائی و همکاران (1390) افزایش شاخص-های رشدی نهال‌های بادام تلقیح شده بوسیله قارچ‌های میکوریزی را گزارش نمودند. همچنین بهرامی نژاد و همکاران افزایش شاخص‌های رشدی را در دوپایه تجاری بادام در شرایط تنش خشکی گزارش نمودند. افزایش طول ساقه با مصرف قارچ میکوریز در این تحقیق با نتایج آقابابائی و همکاران (1390) ؛ بهرامی نژاد و همکاران (1393) و حسینی و قراقانی (2015) مطابقت دارد. قارچ-های میکوریزایی می‌توانند از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی و ایجاد شرایط مطلوب رشد باعث افزایش طول ساقه و عملکرد در گیاهان شوند. پایه GF به دلیل داشتن حجم ریشه و سرعت رشد بیشتر از پتانسیل رشدی بالاتری نسبت به دیگر پایه‌ها برخوردار است. تأثیر قارچ‌های میکوریزی بر افزایش رشد و گسترش رشد ریشه در این رقم بیشتر می‌باشد و از این طریق دسترسی ریشه به حجم خاک و منافذ بیشتر شده و می‌تواند آب و مواد غذایی بیشتری را جذب و منجر به افزایش طول ساقه شود.

[1] Time Domain Reflectometry (TDR)
[2] Pressure plate
[3] Gridline intersection method

قطر ساقه

مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب اثر پایه، تنش کم آبی و قارچ میکوریزا بر رشد قطری ساقه معنی‌دار شد (جدول 2). بیشترین میزان افزایش قطر ساقه از پایه GF به میزان 4/6 میلیمتر بدست آمد که با پایه GN و شوراب 2 تفاوت معنی‌دار نشان نداد و در مقایسه با پایه تلخ افزایش 92 درصدی داشت (جدول 3). با افزایش تنش کم آبی میزان قطر ساقه کاهش یافت به گونه‌ای‌که حداکثر افزایش قطر ساقه از تیمار I1 به میزان 4/45 میلی‌متر حاصل شد که نسبت به تیمار (I4)، 27 درصد افزایش نشان داد. مصرف قارچ های میکوریزی در مقایسه با عدم مصرف باعث افزایش 17 درصدی قطر ساقه شدند (جدول 3). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل پایه در قارچ میکوریز معنی دار

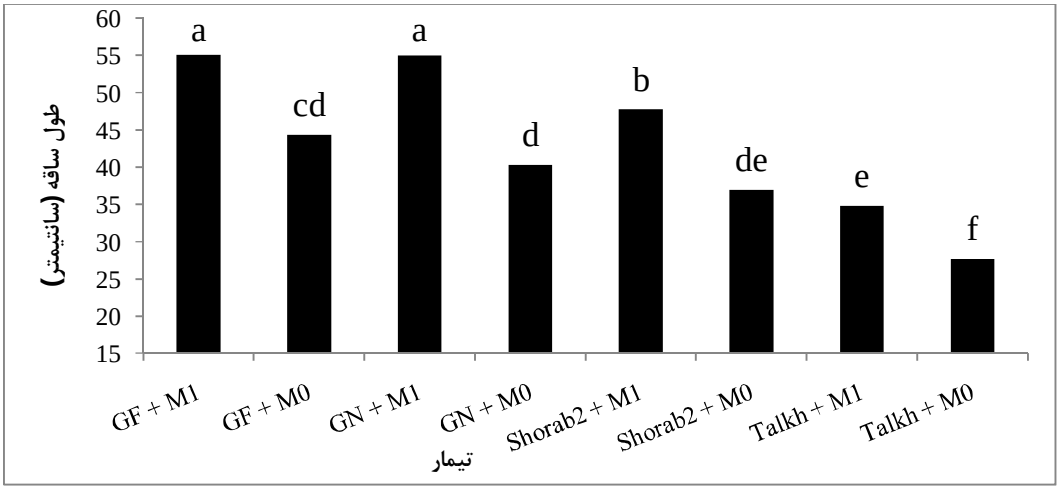
جدول 2- نتایج تجزیه واریانس تأثیر پایه، سطوح کم آبی و قارچ بر صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ساقه	قطر ساقه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	شاخص کلروفیل برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کلنیزاسیون
تکرار (رقم)	2	4565**	3**	718**	10^{ns}	7	0/47**	0/02**	0/28**	83^{ns}
پایه (A)	3	1646**	24/6**	2227**	99**	884**	0/42**	0/07**	0/78**	3118**
کم آبیاری (B)	3	498**	4/5**	171**	180**	842**	0/48**	0/03**	0/76**	2844**
قارچ (C)	1	2844**	8/5**	781**	400**	1018**	0/5**	0/04**	0/83**	6454**
پایه×کم آبیاری(A×B)	9	$6/3^{ns}$	$0/8^{ns}$	$5/3^{ns}$	$5/6^{ns}$	68**	0/01*	0/005**	0/02 ^{ns}	175*
پایه× قارچ (A×C)	3	59*	1/7*	48/7**	$5/5^{ns}$	$34/8^{ns}$	$0/003^{ns}$	$0/002^{ns}$	$0/01^{ns}$	58^{ns}
آبیاری× قارچ (B×C)	3	17^{ns}	$0/4^{ns}$	$0/53^{ns}$	$0/28^{ns}$	40^{ns}	$0/01^{ns}$	$0/009^{ns}$	$0/006^{ns}$	247*
پایه×کم آبیاری×قارچ(A×B×C)	9	$4/8^{ns}$	$0/4^{ns}$	$0/36^{ns}$	$0/48^{ns}$	$12/3^{ns}$	$0/003^{ns}$	$0/0001^{ns}$	$0/004^{ns}$	$29/8^{ns}$
خطا	62	20045	3/3	5/1	3/9	14/7	0/006	0/001	0/01	86/5
کل	95									
ضریب تغییرات		10/7	11/3	3/8	11/8	11/3	6/3	10	6	12/5

شد (جدول2). مطابق شکل شماره دو حداکثر افزایش قطر ساقه به میزان 5/11 میلمتر از تیمار (GF+M1) بدست آمد که نسبت به تیمار حداقل (Talkh + M0)، 134 درصد افزایش نشان داد. بررسی‌های زارعی و همکاران (1392) نشان داد رابطه همزیستی میکوریزی در مرکبات با پایه رافلمون در شرایط تنش کم آبی باعث افزایش صفات رشدی گیاه می‌شود. این نتایج با نتایج تحقیقات زارعی و همکاران (1392)، کفکاس و ابراهیم (2008) و حقیقت‌نیا و همکاران (2011) مطابقت دارد. بررسی‌های زمانی و همکاران (2002) نشان داد با افزایش دور آبیاری سطح مخصوص برگ، طول ساقه، وزن خشک ساقه و ریشه در پایه های مختلف بادام‌های ایرانی کاهش پیدا کرد. از دلایل افزایش قطر ساقه پتانسیل رشدی بالاتر پایه GF و تأثیرپذیری بیشتر آن به مصرف قارچ‌های میکوریزی می‌باشد.

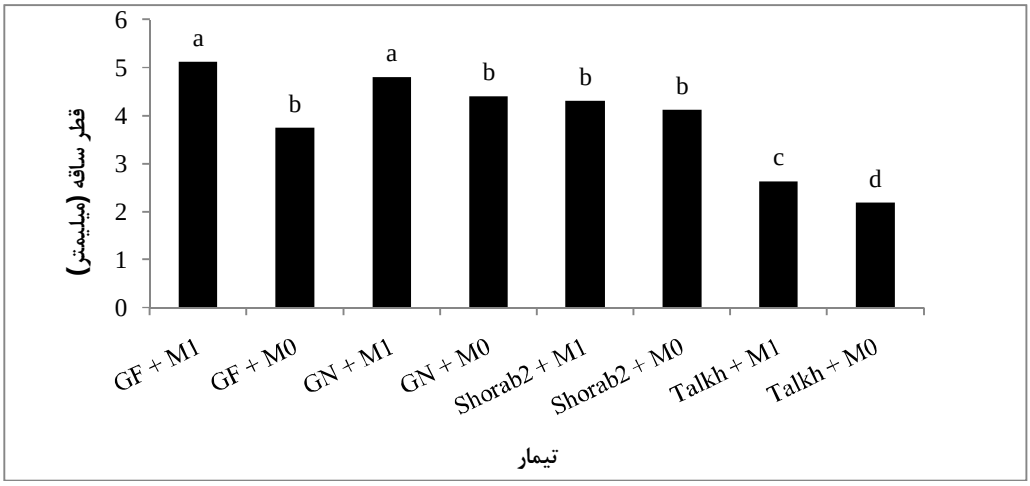
وزن خشک اندام هوایی

اثر اصلی پایه، تنش کم آبی و قارچ میکوریزا بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار شد (جدول 2). بیشترین میزان افزایش وزن خشک اندام هوایی در طول مدت این آزمایش از پایه GF به میزان 66/2 گرم حاصل شد که نسبت به پایه تلخ 53 درصد افزایش را نشان داد. پایه محلی شوراب 2 و GN اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (جدول 3). با افزایش تنش کم آبی میزان افزایش وزن خشک اندام هوایی کاهش یافت به گونه‌ایکه تیمار بدون تنش (تیمار I1)



شکل 1- مقایسه میانگین اثر متقابل پایه و قارچ میکوریز بر طول ساقه

به تیمار حداکثر تنش (تیمار I4)، 12 درصد اختلاف وجود داشت. مصرف قارچ‌های میکوریزی باعث افزایش 11 درصدی وزن خشک اندام هوایی شد (جدول 3). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل پایه در قارچ میکوریز بر روی این صفت معنی‌دار شد (جدول2). مطابق شکل شماره سه حداکثر میزان وزن خشک اندام هوایی به میزان 71 گرم از تیمار ترکیبی (GF+M1) بدست آمد که نسبت به تیمار حداقل (M0 +تلخ)، 66 درصد افزایش را نشان داد. این نتایج با نتایج باقری و همکاران (1390)، آقابابایی و همکاران (1390)، پیمانه و زارعی (1392)، کالوت و همکارن، (2004)، زمانی و همکاران (2002)، و لی و همکاران (2012) مطابقت دارد. از نظر میزان رشد رویشی و گسترش سیستم ریشه‌ای پایه GF از پتانسیل بالاتری برخوردار می‌باشد. پایه GN در رتبه بعدی و پایه بادام تلخ در آخرین رتبه قرار می‌گیرد. افزایش و گسترش رشد سیستم ریشه‌ای و دسترسی به منافذ و حجم بیشتر خاک و جذب آب و مواد غذایی بیشتر می‌تواند از دلایل افزایش بیشتر وزن ماده خشک اندام هوایی در پایه GF باشد.

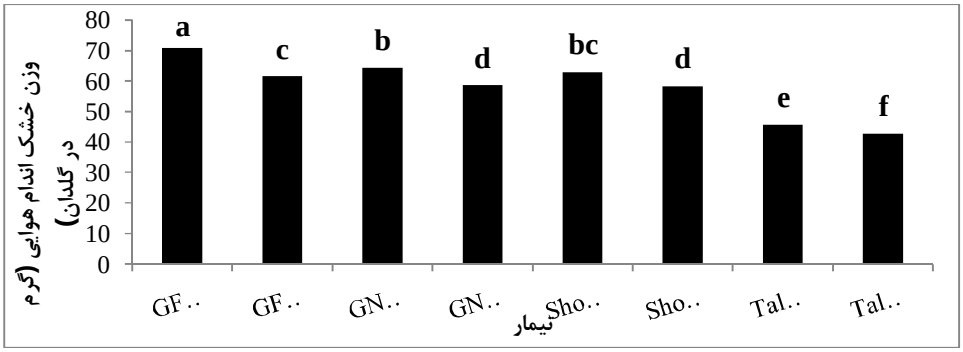


شکل 2- مقایسه میانگین اثر متقابل پایه و قارچ میکوریز بر افزایش قطر ساقه

جدول 3- مقایسه میانگین صفات تأثیر پایه، سطوح کم آبی و قارچ میکوریزا بر صفات رویشی پایه های مورد بررسی

رقم	طول درخت	قطر ساقه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	شاخص کلروفیل برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کلنیزاسیون ریشه
	سانتیمتر	میلیمتر	گرم	گرم		میلی‌گرم بر گرم برگ تازه			درصد
GF	49/6a	4/60a	66/2a	18/5a	31/97a	1/40a	0/47a	1/87a	62a
GN	47/6a	4/42a	61/4b	17/2b	21/57c	1/34b	0/42b	1/ 77b	56/2b
Shorab2	42/3b	4/20a	60/6b	17/2b	26/86b	1/34b	0/36c	1/71b	38/6c
Talkh	31/2c	2/40 b	44/1c	13/8c	18/12d	1/1c	0/35 c	1/45 c	41c
I_1	48a	4/45a	61/4a	20/1a	32/75a	1/46a	0/ 45a	1/91a	61/7a
I_2	44/5b	4/05b	58/8b	17/4b	24/63b	1/34b	0/42b	1/ 76b	53/6b
I_3	40/8c	3/64c	57/2c	15/7c	22/38c	1/26c	0/40c	1/ 65c	46/2c
I_4	37/4d	3/47c	55d	13/6d	18/77d	1/12d	0/36d	1/48d	36/2d
M_0	37/2b	3/60b	55/2b	14/7b	21/38b	1/22b	0/ 38b	1/ 61b	41/2b
M_1	48/2a	4/20a	61a	18/7a	27/90a	1/37a	0/42a	1/79a	57/7a

کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه، جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می‌دهد. همچنین تنش خشکی باعث کاهش فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در مراحل اولیه تنش می‌شود که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش ماده خشک می‌باشد (یوردانو و همکاران، 2003). در تحقیقات زیادی اثبات شده است که قارچ های میکوریزی بر رشد رویشی بسیاری از گیاهان همزیست خود تأثیر گذاشته و باعث افزایش رشد می‌شوند (باقری و همکاران، 1390؛ آقابابایی و همکاران، 1390؛ پیمانه و زارعی، 1392؛ کالوت و همکاران، 2004؛ اسمیت و رید، 2008؛ لی و همکاران، 2012). مکانیسم-های مختلفی در ارتباط با تأثیر میکوریز بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده است. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌ها، تأثیر قارچ میکوریز بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است. همچنین قارچ‌های میکوریزی با بهبود هدایت هیدرولیکی، خاصیت اسمزی و افزایش جذب آب، به بازماندن روزنه‌ها و واکنش بیوشیمیایی گیاه کمک می‌کنند که در نهایت باعث افزایش میزان فتوسنتز و پارامترهای مربوط به آن می‌شود (بارزانا و همکاران، 2015؛ یوردانو و همکاران، 2003). همچنین با افزایش سطح قابل دسترس خاک و سنتز آنزیم فسفاتاز، دسترسی به فسفر را که نقش مهمی در فتوسنتز گیاه ایفا می‌کند را افزایش می‌دهد (اسمیت و رید، 2008؛ مو و همکاران، 2016). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که ریشه گیاه در تیمار تلقیح با قارچ میکوریز در مقایسه با تیمار بدون تلقیح ریشه گیاه توانایی بیشتری در دسترسی به آب و مواد غذایی موجود در خلل و فرج بسیار ریز خاک و حجم بیشتری از خاک دارد. همچنین در شرایط اعمال تنش کم آبی موجب افزایش جذب آب موجود در خاک شده و با بهبود شرایط رشد و جذب بیشتر عناصر غذایی مفید برای گیاه باعث افزایش تولید ماده خشک بیشتری شده است (گلارتا و رئیسی، 2007).



شکل 3- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر وزن خشک اندام هوایی

وزن خشک ریشه

بررسی جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی پایه، تنش کم آبی و قارچ میکوریز بر وزن خشک ریشه معنی‌دار شد (جدول 2). الگوی اثر تیمارها بروزن خشک ریشه، تقریباً مشابه با وزن خشک اندام هوایی بود. در بین پایه‌های مورد بررسی بیشترین میزان وزن خشک ریشه از پایه GF بدست آمد که در مقایسه با پایه تلخ، 34 درصد افزایش را نشان داد. پایه‌های GN و محلی شوراب 2 تفاوت معنی‌دار با هم نداشتند و در یک گروه آماری مشترک قرار گرفتند. با افزایش تنش خشکی از تیمار I1 به تیمار I4 روند کاهش در میزان وزن خشک ریشه مشاهده شد. تلقیح پایه‌های بادام با قارچ، وزن خشک ریشه‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد (بدون تلقیح) 27 درصد افزایش داد (جدول 3). بررسی‌ها نشان می‌دهد که بادام با مکانیسم‌های متفاوتی شامل تغییرات فیزیولوژیکی و ساختاری در برابر تنش خشکی مقاومت می‌کند (یدالهی و همکاران، 2011). نتایج تحقیقات سردابی و همکاران (2005) نشان داد تنش آبی باعث تفاوت بیشتری در وزن خشک ریشه در مقایسه با وزن خشک اندام هوایی در پنج ژنوتیپ بادام و دو اکوتیپ بادام وحشی شده است. تنش خشکی منجر به کاهش فتوسنتز و کاهش رشد گیاه شده و متعاقب آن کاهش ماده خشک می‌شود.

کاهش در وزن خشک ریشه تحت تنش کم آبی ناشی از کاهش تجمع کربوهیدرات‌های ریشه می‌باشد. از این‌رو گیاهان با مقادیر بالاتر وزن خشک در شرایط تنش خشکی به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی معرفی می‌گردند (شائو و همکاران، 2008). یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر برای مقابله با کم آبی و تنش‌های خشکی در بسیاری از گیاهان موررد استفاده قرار گرفته استفاده از قارچ‌های میکوریزی می‌باشد. بر همکنش اثرات فیزیکی، تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی قارچ میکوریز روی گیاه باعث تحمل گیاه به شرایط خشکی می‌شود. افزایش رشد و گسترش ریشه از عوامل افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی می‌باشد که این مهم با استفاده از قارچ‌های میکوریزی افزایش می‌یابد. قارچ میکوریزی با بهبود وضعیت تغذیه‌ای و روابط آبی و تغییر در سطح ترکیبات هورمونی گیاه باعث تغییر و افزایش انشعابات و حجم ریشه گیاه شده و می‌توانند از این طریق باعث افزایش عملکرد مادهٔ خشک ریشه شود. پتانسل افزایش رشد و گسترش ریشه در پایه GF نسبت به دیگر پایه‌ها بیشتر است. افزایش شاخص سطح برگ یکی از عوامل افزایش‌دهنده تولید ماده خشک محسوب می‌گردد (رجالی، 1396؛ اسمیت و رد، 2008؛ بارزانا و همکاران، 2015؛ یان و همکاران، 2016؛ مردحیاح و همکاران، 2016؛). افزایش تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکنین به واسطه‌ی تلقیح با قارچ‌های میکوریز می‌تواند یکی از عوامل افزایش وزن خشک ریشه باشد. زیرا قارچ میکوریز با افزایش تولید این هورمون‌ها باعث افزایش ریشه‌زایی و رشد بیشتر ریشه‌های گیاه می‌شود (رجالی، 1396؛ اسمیت و رد، 2008).

شاخص کلروفیل، محتوای کلروفیل a، b و کل

نتایج تجزیه واریانس (جدول 2) نشان داد، اثر پایه، تنش کم آبی و قارچ میکوریز بر شاخص کلروفیل، محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل معنی‌دار شد. بیشترین میزان شاخص کلروفیل برگ، محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل از پایه GF حاصل شد(جدول 3). در خصوص تیمارهای تنش آبی حداکثر شاخص کلروفیل و محتوای کلروفیل a، b و کل از تیمار I1 حاصل شد که در مقایسه با تیمار I4 به ترتیب افزایش 74/5، 27، 34 و 29 درصدی حاصل نمود. با افزایش شدت تنش، شاخص کلروفیل و محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل روند کاهشی را نشان می‌دهند. با مصرف قارچ میکوریز این پارامترها افزایش یافتند (جدول 3). از بین اثرات متقابل تیمارهای مورد بررسی تنها اثر متقابل پایه در تنش کم آبی بر شاخص کلروفیل و محتوای کلروفیل a و b معنی‌دارشد (جدول 2). حداکثر شاخص کلروفیل، محتوی کلروفیل a و b از تیمار GF+I1 و حداقل از تیمار (I4 +تلخ) بدست آمد (جدول 4). کاهش در میزان کلروفیل برگ در نتیجه تنش خشکی در گونه‌های مختلف بادام (کریمی و همکاران، 2013؛ یدالهی و همکاران، 2011). و ارقام بادام (مرادی و همکاران، 1398؛ سرخه و همکاران، 2012؛ رجب پور و همکاران، 2014) گزارش شده است. غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی به عنوان نشانگری مهم در ارزیابی میزان تحمل به تنش خشکی می‌باشند (سرخه و همکاران، 2012).

کاهش میزان آب در برگ نه تنها از ساخته شدن کلروفیل جلوگیری می‌کند بلکه منجر به تجزیه رنگیزه‌های برگ نیز می‌شود. افزایش شاخص کلروفیل و محتوای کلروفیل با مصرف میکوریز با نتایج تحقیقات آقابابائی و رئیسی، 1390؛ زارعی و همکاران، 1392؛ رئیسی و گلاراتا، 2006 مطابقت دارد. بررسی‌های زارعی و همکاران، 1392 روی پایه رافلمون مرکبات نشان داد که در تیمارهای با مصرف قارچ‌های میکوریزی شاخص کلروفیل افزایش پیدا نمود. مقدار کلروفیل گیاه به ویژگی‌های ژنتیکی و ذاتی گیاه، شرایط تغذیه‌ای و محیطی

بستگی دارد. از این رو هر چه شرایط تغذیه‌ای و محیطی، مانند عنصرهای غذایی، نور، رطوبت، کنترل آفت و بیماری‌ها برای رشد گیاه مناسب‌تر باشد،توان گیاه در تولید کلروفیل بیشتر است. همزیستی مایکوریزایی از عامل‌هایی است که سبب بهبود برخی از این شرایط شده و بر میزان کلروفیل اثر می‌گذارد. افزایش قرائت کلروفیل‌سنج در تیمار میکوریزی به علت نقش مفید و مؤثر قارچ‌های میکوریزی در افزایش جذب عناصر غذایی گیاه از جمله فسفر، نیتروژن، منیزیوم، روی و آهن می‌باشد. این عناصر در ساخت کلروفیل نقش کلیدی داشته و با افزایش غلظت این عناصر در گیاه سنتز کلروفیل افزایش پیدا می‌کند (مارشنر، 1994). در این پژوهش پایه GF به‌دلیل داشتن پتانسل بالاتر در افزاش رشد ریشه و جذب عناصر غذایی از غلظت و شاخص کلروفیل بالاتری برخوردار بود.

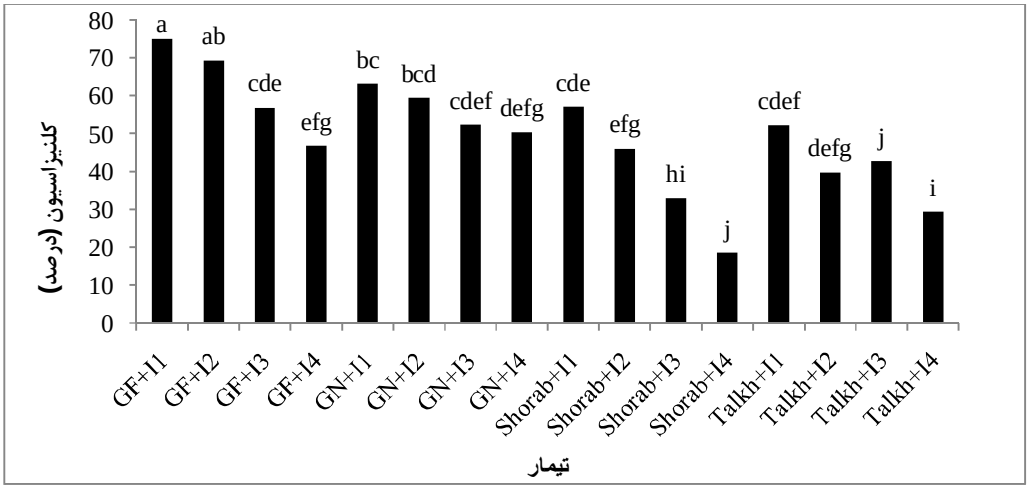
جدول 4- مقایسه میانگین اثرات متقابل پایه در سطوح تنش بر میزان کلروفیل a و کلروفیل b و شاخص کلروفیل

پایه	تنش	کلروفیل a	کلروفیل b	شاخص کلروفیل
		میلی‌گرم بر گرم برگ تازه		
GF	I1	1/56a	0/55a	37/8a
	I2	1/42cd	0/50ab	34/7b
	I3	1/37cde	0/46bc	30/2b
	I4	1/23fg	0/39ef	25/3c
GN	I1	1/53ab	0/49bc	32/2b
	I2	1/41cd	0/44cd	17/6cd
	I3	1/33def	0/40de	22/4bc
	I4	1/08hi	0/37efg	14/1d
شوراب 2	I1	1/45bc	0/40de	36/5b
	I2	1/38cde	0/36efg	30/4b
	I3	1/32def	0/37efg	21/4cd
	I4	1/23fg	0/33fg	19/3d
تلخ	I1	1/30fg	0/34ef	24/5cd
	I2	1/14hi	0/36efg	15/9d
	I3	1/01ij	0/34g	15/6d
	I4	0/94j	0/33g	16/6d

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد برای کلروفیل aو یک درصد برای کلروفیل b و شاخص کلروفیل می‌باشند.

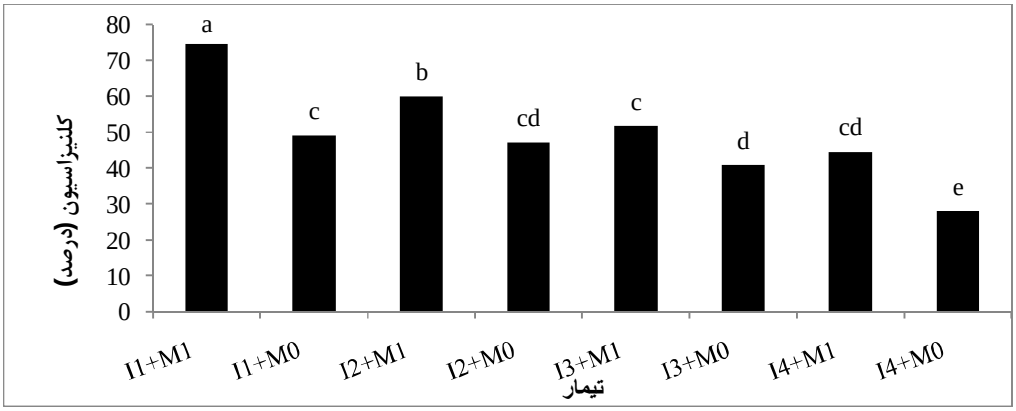
کلنیزاسیون ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی پایه، تنش کم آبی و قارچ میکوریز و اثر متقابل پایه در تنش کم آبیاری آبیاری و تنش کم آبیاری در قارچ میکوریز بر کلنیزاسیون ریشه معنی‌دار شد (جدول 2). در میان پایه‌ها حداکثر کلنیزاسیون ریشه به میزان 62 درصد از پایه GF حاصل شد. که نسبت به پایه بادام محلی شوراب 60/2 درصد افزایش نشان داد (جدول 3). بین پایه بادام تلخ و محلی شوراب 2 اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. تفاوت در درجه کلنیزاسیون ریشه‌ای در پایه‌های مورد بررسی می‌تواند به دلیل مورفولوژی ریشه، ترشحات ریشه‌ای و سازگاری آنها باگونه‌های قارچ میکوریزی باشد (کاوالازی، 2007). با افزایش شدت تنش خشکی کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت. درصد کلنیزاسیون در تیمار I1 نسبت به تیمار I4، 50 درصد افزایش داشت. تلقیح پایه های بادام با قارچ میکوریز منجر به افزایش 40 درصدی کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد شد. در خصوص اثر متقابل معنی‌دار تیمار پایه در سطوح تنش کم آبی، حداکثر میزان کلنیزاسیون ریشه از تیمارترکیبی GF+I1 به‌میزان 75 درصد حاصل شده که نسبت به تیمار حداقل (Talkh + I4)، 155 درصد افزایش نشان داد (شکل 4).



شکل 4- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی پایه در تنش کم آبی بردرصد کلنیزاسیون ریشه

از دلایل افزایش کلونیزاسیون ریشه در پایه GFمی‌تواند به دلیل سیستم ریشه‌ای و سرعت رشد بیشتر آن باشد. سیستم ریشه‌ای پایه GF نسبت به پایه بادام تلخ از سرعت رشد و ظرفیت گسترش بیشتری برخوردار می‌باشد. در تمام پایه‌های مورد آزمایش درصد کلنیزاسیون ریشه با افزایش شدت تنش کم آبی کاهش یافت که با نتایج تحقیقات عزیزی و همکاران (1398) و رامبرگ و همکاران (2015) وو و گزیا (2006) مطابقت دارد. حقیقت‌نیا و همکاران (2011) گزارش نمودند کلنیزاسیون میکوریزی پایه مرکبات ولکامرانیا، به‌ویژه تلقیح گیاه با گونه *Rhizophagus intraradices* به‌واسطه تأثیر مثبت بر پارامترهای مورفولوژیک، جذب عناصر غذایی (پتاسیم، فسفر و کلسیم)، مقدار کلروفیل و رطوبت نسبی آب برگ تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافته و سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی شده است. عزیزی و همکاران (1398) گزارش نمودند حداکثر کلنیزاسیون ریشه از تلقیح نهال مورد (*Myrtus communis* L.) با ترکیب دو قارچ *Rhizophagus intraradice* و *Funneliformis mosseae* در هر سه نوع رژیم کم آبی (بدون تنش، ملایم و شدید) حاصل شد. امیری و همکاران گزارش نمودند کلونیزاسیون ریشه، مقاومت به خشکی، پارامترهای رشدی و فیزیولوژیک در پایه های شمعدانی (*Pelargonium graveolens* L.) تلقیح شده با گونه های قارچی *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformis mosseae* در هر سه نوع رژیم کم آبی (بدون تنش، متوسط و شدید) بهبود یافت. وو و گزیا (2006) گزارش نمودند تنش خشکی کلنیزاسیون ریشه مرکبات را کاهش می‌دهد. با کاهش رطوبت میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد و این عامل بر روی کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای اثر گذاشته و بر روی جوانه‌زنی اسپور و گسترش هیف‌های میکوریزی نیز تأثیرگذار است.کاهش کلنیزاسیون تحت شرایط کمبود آب می‌تواند به علت مقاومت کم گیاه به تنش‌های غیر زیستی باشد (رامبرگ و همکاران، 2015). در خصوص اثر متقابل سطوح تنش و قارچ میکوریزا حداکثر درصد کلنیزاسیون ریشه از تیمار ترکیبی I1+M به میزان 74/5 درصد بدست آمد که نسبت به تیمار حداقل (تیمار I4 -M)، 148 درصد افزایش نشان داد (شکل 5). این نتیجه با نتایج یافته‌های عزیزی و همکاران (1398)، حقیقت‌نیا و همکاران (2011)، امیری و همکاران (2017) مطابقت دارد. میزان کمتر کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی در شرایط تنش آبی می‌تواند ناشی از کاهش کربن در دسترس گیاه میزبان و کاهش جوانه‌زنی اسپور قارچی باشد (وو و همکاران، 2013). با افزایش کلنیزاسیون ریشه‌ای، سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان توسعه یافته و در نتیجه سطح جذب ریشه‌ها به علت نفوذ هیف‌های قارچ در خاک و ایجاد پوشش میسلیومی در منطقه تارهای کشنده، افزایش یافته و ریشه به حجم بیشتری از خاک دسترسی پیدا کرده و کارآیی جذب آب و عناصر غذایی افزایش می‌یابد. همچنین تولید از طریق تولید پروتون، ترشح اسیدهای آلی، سیدروفورها، ترکیبات کلات‌کننده و فسفات‌آز باعث ایجاد شرایط مناسب جهت آزادسازی و تأمین عناصر غذایی برای گیاه میزبان در شرایط کمبود فسفر و نیتروژن می‌گردد.



شکل 5- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی سطوح تنش آبی و میکوریزا برکلنیزاسیون ریشه

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش تنش کم آبی، رشد و صفات رشدی، میزان و شاخص کلروفیل و درصد کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت. تأثیرپذیری پایه GF نسبت به تلقیح قارچ‌های میکوریزی به دلیل داشتن سیستم ریشه‌ای انبوه و با سرعت رشد بالا بیشتر بود و از صفات رشدی بالاتری برخوردار بود. صفات اندازه‌گیری شده در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزی بیشتر از گیاهان شاهد بدون تلقیح بود. تیمارهای تلقیح شده با قارچ میکوریزی منجر به افزایش صفات رشدی مورد بررسی و باعث کاهش اثرات تنش کم آبی شدند. تلقیح قارچ‌های میکوریز آربسکولار می‌تواند از طریق مکانیسم‌هایی از قبیل افزایش مؤثر سطح جذب ریشه، طول ریشه، تعداد ریشه‌های جانبی، تولید پروتون، ترشح اسیدهای آلی، سیدروفورها، ترکیبات کلات‌کننده، فسفات‌آز اسیدی منجر به افزایش کلنیزاسیون ریشه در شرایط طبیعی شود. افزایش همزیستی ایجاد شده باعث افزایش صفات رشدی و بهبود مقاومت پایه‌های بادام به تنش کم آبی شد.

سپاسگذاری

این پژوهش با حمایت و کمک مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فن‌آوران کشور با کد 94003139 انجام شده است که بدینوسیله از همکاری صندوق تشکر به‌عمل می‌آید.

فهرست منابع:

1. آقابابائی، ف.، رئیسی، ف.، و نادیان، ح. 1390. اثر همزیستی میکوریزایی بر میزان کلروفیل، فتوسنتز و راندمان مصرف آب در چهار ژنوتیپ بادام در استان چهارمحال و بختیاری. 56: 101-91.
2. امامی، ع. 1375. روش‌های تجزیه گیاه. جلد اول. موسسه تحقیقات آب و خاک. نشریه شماره 982.
3. باقری، و.، شمشیری، م.ح.، شیرانی، ح.، و روستا، ح. 1390. اثر قارچ میکوریزآربسکولار و تنش خشکی بر رشد، روابط آبی، تجمع پرولین و قندهای محلول در نهال‌های دو رقم پایه‌ای پسته اهلی (*Pistacia vera* L.). مجله علوم باغبانی ایران، 42(4): 377-365.
4. بهرامی‌نژاد، م.، ا. صداقتی، م.ح. شمشیری و ا. بهرامی نژاد. 1393 . بررسی نقش همزیستی میکوریزایی در افزایش مقاومت به خشکی دو پایه تجاری بادام. اولین همایش یافته های نوین در محیط زیست و اکوسیستم های کشاورزی. تهران، ایران. Agro congress.ir
5. پیمانه، ز.، و زارعی، م. 1392. اثر قارچ‌های میکوریز آربسکولار بر رشد و جذب عناصر غذایی پایه نارنج در شرایط کم آبی. مجله زیست‌شناسی خاک، 1: 24-13.
6. تهرانی‌فر، ع.، کافی م. و عدلی م. 1383. پرورش بادام . انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. 31 صفحه.

7. رجالی، ف. 1396. آشنایی با قارچ‌های میکوریزی و کاربرد آن در اکوسیستمهای مختلف. سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب. 154 صفحه.

8. زارعی، م.، پیمانه، ز.، رونقی، ع .ا.، کامکار حقیقی، ع.ا.، و شهسوار، ع. ر.1392. اثر قارچ مایکوریز آربوسکولاربررشد و پارامتر های فیزیولوژیک پایه رافلمون در شرایط تنش کم آبی. نشریه آب و خاک) علوم و صنایع کشاورزی (، 3 :485-49.

9. صالحی، ف. 1385. نشریه فنی قارچ ریشه و کاربرد آن در کشاورزی. انتشارات موسسه تحقیقات پسته کشور. 16 صفحه.

10. عزیزی، ص.، طبری کوچکسرایی، م.، هادیان، ج.، فلاح نصرت آبادی، ع.، و مدرس ثانوی، س.ع.م. 1398. پاسخ فیزیولوژیک نهال مورد (*Myrtus communis* L) به تلقیح با میکروارگانیسمها در شرایط تنش کم آبی نشریه زیست-شناسی: 7(2): 181-167.

11. علیزاده، 1. 1394. رابطه آب و حاک و گیاه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. چاپ چهارم، 472 صفحه.

12. مرادی، م.، اثنی عشری، م. و ارشادی، ا. 1398. ارزیابی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی پایه‌های پیوند شده و غیر پیوندی بادام به تنش خشکی. علوم باغبانی ایران. 5 (2): 323-311.

13. Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M. and Hosseini, H. 2017. Variation in theessential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of*Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. Journal of Plant Growth Regulation 58(1): 1-14
14. Bárzana, G., Aroca, R., and Ruiz-Lozano, J.M. 2015. Localized and nonlocalized effects ofarbuscular mycorrhizal symbiosis on accumulation of osmolytes and aquaporins and on antioxidant systems in maize plants subjected to total or partial root drying. Plant Cell Environment 38:1613–1627.
15. Berta, G., Trotta, A., Fusconi, A., Hooker, J., Munro, M., Atkinson, D., Giovannetti, M., and Morini, S. 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology. Tree Physiol. 15: 281-293.
16. Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996 .Working withmycorrhizas in forestry and agriculture. Australian centre for international agricultural research, Canberra. Pp 374.
17. Calvet, C., Estan, V., Camprub, A., Hernandez-Dorrego, A. Pinochet, J., and Moreno, M.A. 2004. Aptitude for mycorrhizal root colonization in Prunus rootstocks. Scientia Horticulturae, 100:39–49.
18. Cavallazzi, J.R.P., O.K. Filho, S.L. Stürmer, P.T. Rygiewicz, M. M. de Mendonça. 2007. Screening and Selecting Arbuscular Mycorrhizal Fungi Forinoculating Micropropagated Apple Rootstocks in Acid Soils. Plant Cell Tiss. Organ Cult, 90:117–129.
19. Flexas, J., Barón, M., Bota, J., Ducruet, J. M., Gallé, A., Galmés, J., Jiménez, M. Pou, A., Ribas-Carbó, M., ajnani, C., Tomàs M., and Medrano, H.. 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted Vitis hybrid Richter-110 (V. berlandierixV. rupestris). J. Exp. Bot, 60:2361-2377.
20. Ghollarata, M. and Raiesi, F. 2007. The adverse effects of soil salinization on the growth of *Trifolium alexandrinum* L. and associated microbial and biochemical properties in a soil from Iran. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(7): 1699-1702.
21. Haghighatnia H., Nadian, H.A., and Rejali, F. 2011. Effects of mycorrhizal colonization on growth, nutrients uptake and some other characteristics of Citrus volkameriana rootstock under drought stress. World Applied Sciences Journal, 13 (5):1077-1084.
22. Hosseini, A., and Gharaghani, A. 2015. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Nutrient Uptake of Apple Rootstocks in Calcareous Soil. International Journal of Horticultural Science and Technology, 2 (2): 173-185.

23. Kafkas, S., and Ibrahim, O. 2009. Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four Pistacia species. Plant Nutrition, 32: 146-159.
24. Karimi, S., Yadollahi, A., and Arzani, K. 2013. Responses of almond genotypes to osmotic stress induced in vitro. *Journal of Nuts*, 4(4): 1 -7.
25. Kormanik, P. P., and McGraw, A. C. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. IN: Methods and principles of mycorrhizal research (N. C. Schenck, Ed.), pp. 37-47. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn.
26. Lee, B. R., Muneer, S. J. Avice, C., Jung, W. J. and Kim, T. H. 2012. Mycorrhizal colonisation and P-supplement effects on N uptake and N assimilation in perennial ryegrass under well-watered and drought-stressed conditions. *Mycorrhiza*. 22(7): 525-534.
27. Mardhiah, U., Caruso, T., Gurnell, A., and Rillig, M. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. Applied Soil Ecology, 99:137–140.
28. Marschner, H., and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil 159: 89 – 102.
29. Mo, Y., Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., Ma, J., Zhang, Y., Wei, C. andZhang, X. 2016. Regulation of Plant Growth, Photosynthesis, Antioxidation and Osmosisby an Arbuscular Mycorrhizal Fungus in Watermelon Seedlings under Well-Watered andDrought Conditions. Frontiers in Plant Science 7: 1-15.
30. Raiesi, F. and M. Ghollarata. 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.
31. Rajabpoor, S., Kiani, S., Sorkheh, K., and Tavakoli, F. 2014. Changes induced by osmotic stress in the morphology, biochemistry, physiology, anatomy and stomatal parameters of almond species (*Prunus L*. spp.) grown in vitro. Forest Research, 25 (3):523-534.
32. Rincon, A., F. Valladares., T. E. Gimeno and J. J. Pueyo. 2008. Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. *Tree Physiology*. 28: 1693–1701.
33. Roldan-Fagardo, B.E., Barea, J. M., Ocampo, J. A. and Azcon-Aguilar, C. 1982. The effect of season on VA mycorrhiza of the almond tree and of phosphate fertilization and species of endophyte on its mycorrhizal dependency. Plant and Soil, 68:361–367.
34. Rümberg, B.C, Urcelay, C., Shroeder M. A., Vargas-Gil, S. and Luna C.M. 2015. The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. Biology and Fertility of Soils 51(1):1–10.
35. Shao, H.B., Chu, L.Y., Abdul-Jaleel, C., and.Zhao, C.X. 2008. Water-Deficit Stress-Induced Anatomical Changes in Higher Plants. Compt. Rend. Biol. 331:215-225.
36. Sardabi, H., Daneshvar, H. A., Rahmani, A., Assareh, M. H. 2005. Responses of cultivated and wild almond to water stress. Acta Hortic. 726, 311–316.
37. Smith, S. E., and Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis, third ed. Academic Press, London. UK.
38. Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambshi, M., Rouhi, V., and Ercisli, S. 2012. In vitro assay of native Iranian almond species (*Prunus* L. spp.) for drought tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 105(3): 395-404.
39. Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions. *Journal of Plant Physiology*, 144: 307-313
40. Wu, Q. S., Srivastava, A.K. and Zou, Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stressin citrus: a review. Scientia Horticulturae 164:77–87.

41. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163(4):417–425.
42. Yadollahi, A., K. Arzani, A. Ebadi, M. Wirthensohn, and S. Karimi, 2011. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae*, 129: 403-413
43. Yin, N., Zhang, Z., Wang, L., and Qian, K. 2016. Variations in organic carbon, aggregation, and enzyme activities of gangue-fly ash-reconstructed soils with sludge andarbuscular mycorrhizal fungi during 6-year reclamation. Environmental Science andPollution Research 23(17): 17840–17849.
44. Yordanov, I., Velikova, V., and Tsonev, T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. *Plant Physiology*, Special Issue, 187-206.
45. Zamani, Z., Taheri, A., Vezvaei, A. and Poustini. K. 2002. Proline content and stomata resistance of almond seedlings affected by irrigation intervals. Acta Hort, 591: 411-416.

بررسی فلور جلبکی جامعه پریفایتون در اکوسیستم‌های آبی استان گیلان

حسینعلی علیخانی[1]، هادی احمدی، حسن اعتصامی، مصطفی نوروزی،
هادی‌اسدی رحمانی و سمیه امامی

استاد دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir
دانشجوی دکتری دانشگاه تهران؛ hadi.ahmadi73@ut.ac.ir
استادیار دانشگاه تهران؛ hassanetesami@ut.ac.ir
استادیار دانشگاه الزهرا(س)؛ noroozi.mostafa@alzahra.ac.ir
دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ asadi_1999@yahoo.com
دانش‌آموخته دکتری دانشگاه تهران؛ emamisomaye@ut.ac.ir

دریافت: 98/10/23 و پذیرش: 99/7/23

چکیده

پریفایتون و یا بیوفیلم‌های پریفایتیک یکی از مهمترین جوامع زیستی به شمار می‌آیند که در زیستگاه‌های غرقاب می‌توان آن‌ها را یافت و نقش بسیار مهمی در بقای اکوسیستم دارند. پریفایتون ترکیبی از موجودات میکروسکوپی فتواتوتروف چند لایه (به طور مثال، سیانوباکترهای تک سلولی و رشته‌ای، دیاتومه‌ها و نیز جلبک‌های سبز میکروسکوپی) و انواع هتروتروف (باکتری و قارچ) هستند. با توجه به نقش پریفایتون در فرآیندهای تثبیت نیتروژن و حل کردن فسفر و پتاسیم نامحلول، هدف این تحقیق شناسایی و شمارش جلبک‌های سه برکه فشتام، تازه سل و قلعه ورسل واقع در استان گیلان است. در این پژوهش نمونه رسوبات بستر، آب و زیست توده پریفایتون در سه برکه فشتام، تازه سل و قلعه ورسل واقع در استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در برکه قلعه ورسل شاخه‌های کلروفیتا، باسیلاریوفیتا و سیانوباکتریا به ترتیب با 26/24 ، 56/06 و 17/69 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند. در برکه فشتام شاخه‌های کلروفیتا، کاروفیتا، اگلنوزوآ، اوکروفیتا، باسیلاریوفیتا و سیانوباکتریا به ترتیب با حدود 38/48 ، 20/58 ، 1/72، 1/74، 19/68 و 19/52 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند. همچنین در برکه تازه سل شاخه‌های کلروفیتا، اگلنوزوآ، باسلاریوفیسه و سیانوباکتریا به ترتیب حدود 13/93، 0/56، 51/9 و 33/6 درصد فراوانی اجزای پریفایتون را تشکیل می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: باسیلاریوفیتا، پریفایتون، کلروفیتا، شالیزار

[1] نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی خاک.

مقدمه

پریفایتون[1] یک جامعه با منشاء گیاهی در مقیاس میکرو می‌باشد که با چسبیدن و اتصال به بسترهای نسبتاً سخت در اکوسیستم‌های آبی به ویژه غرقاب ولی کم عمق زندگی می‌کند. بطور دقیق تر پریفایتون اجتماعی بسیار ناهمگن از مجموعه میکروفلور اتوتروف شامل جلبک‌ها، سیانوباکترها، دیاتومه‌ها و انواعی از هتروتروف شامل باکتری و قارچ‌ها است که در اکوسیستم‌های یوتروفیک قابل مشاهده هستند (گیلت و همکاران، 2016). پریفایتون یا بیوفیلم‌های پریفایتیک همچون پوشش لجن مانندی بر سطح گیاهان، سنگ‌ها، خاک بستر و چوب در آب برکه مستقر می‌شوند. لذا بر اساس نوع بستری که بر روی آن رشد می‌کنند تقسیم بندی می‌شوند. بسته به نوع بستر، بیوفیلم پریفایتیک را می‌توان به پریفایتون بستر طبیعی (مانند گیاهان، سنگ‌ها، رسوبات و غیره) و پریفایتون بستر مصنوعی (مانند شیشه حامل‌های نرم صنعتی، ورق‌های پلی اتیلن و غیره) تقسیم بندی کرد (وو و همکاران، 2016). برخی مطالعات نشان داده‌اند که پریفایتون بر روی بسترهای طبیعی دارای مزیتی در تولید اولیه نسبت به پریفایتون بر روی بسترهای مصنوعی می‌باشد (وو و همکاران، 2016).

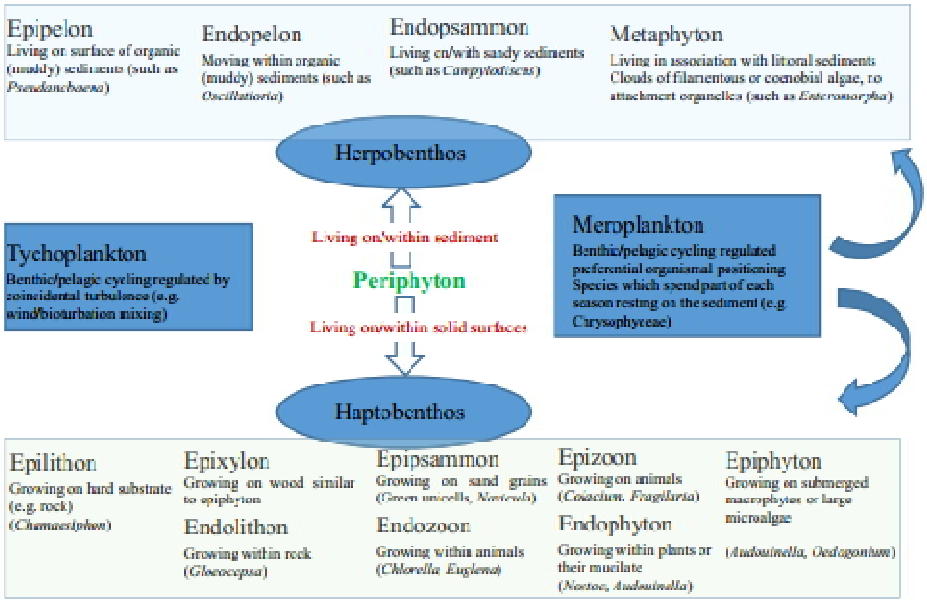
آلان و کاستیلو (2007) پریفایتون‌ها را بر اساس بستر آن‌ها در آب برکه‌ها به پنج دسته طبقه‌بندی کردند که این پنج دسته شامل اپی‌فیتون[2] (به گیاهان، قطعات گیاهی، ماکروفیت و یا میکروالگ‌های بزرگ متصل می‌شود)، اپی‌لیتون[3] (به مواد سختی مانند سنگ متصل می‌شوند)، اپی‌پلون[4] (در سطح رسوبات آلی گل آلود زندگی می‌کنند)، اپیزایمون[5] (بر روی دانه‌های شن و ماسه رشد می‌کند) و یا اپی زایلون[6] (به سطح چوب درختان متصل می‌شوند) می‌باشد. همچنین پولیکو و همکاران (2008) در طبقه بندی دیگر انواع پریفایتون را بر اساس بستر رشد آن به دو دسته کلی هرپوبنتوز[7] و هاپتوبنتوز[8] تقسیم بندی نموده است. انواع هرپوبنتوز بر و یا درون رسوبات کف برکه زندگی می‌کنند و شامل انواع: اپی‌پلون[9]، اندوپلون[10]، اندوپزامون[11] و متافیتون[12] می‌باشند.

در مقابل انواع هاپتوبنتوز در سطح و یا درون اجسام سخت رشد کرده و شامل فرم‌های: اپی لیتون[13]، اپی زایلون[14]، اپیزامون[15]، اپی زون[16] و اپی فایتون[17] می‌باشند (شکل1). یکی از مزایای مهم پریفایتون، توانایی آن در جذب مواد حل شده و معلق، شامل مواد آلی از پیکره آب، کاهش میزان انباشت رسوبات و به حداکثر رساندن درصد ماده آلی باقی مانده در معرض شرایط هوادهی در آب است. علاوه بر ذخیره ماده آلی، پریفایتون مواد مغذی را از پیکره آب حذف و به کنترل غلظت اکسیژن محلول و pH آب اطراف کمک می‌کند (نلسون و همکاران، 2013). پریفایتون قادر است نقش قابل توجهی به عنوان منبع غذا و انرژی برای سطوح کلان غذایی داشته باشد (سیکیا و همکاران، 2013)، همچنین در گردش و تغییر و تبدیل عناصر غذایی و نیز انتقال عناصر غذایی بین آب و سطح خاک در اکوسیستم‌های آبی تأثیرگذار باشد (باتین و همکاران، 2003).

در نتیجه، بیوفیلم‌های پریفایتیک به طور قابل ملاحضه‌ای جابجایی مواد غذایی (به ویژه فسفر) بین آب و کف بستر پدی سویل و از جمله شالیزارها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از طرفی پریفایتون در حکم یک زیست توده میکروبی خاک گسترده عمل نموده و بدلیل عمر کوتاه آن با جذب و واجذب عناصر غذایی در جلوگیری از هدر رفت عناصر غذایی و آزاد شدن کند آن‌ها در تغذیه گیاهان نقش مهمی دارند. بنابراین، بیوفیلم‌های پریفایتیک می‌توانند جذب مواد غذایی معدنی را افزایش داده، و به عنوان یک مخزن موقت عمل کنند و آزادسازی پایدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم را فراهم کنند و بر چرخه غذایی مؤثر باشند. عموماً، بیشتر تحقیقات در زمین‌های غرقاب مصنوعی مانند شالیزارها تنها بر دو فاز آبی و خاکی متمرکز شده است و اهمیت جامعه میکروبی (پریفایتون) بین آن‌ها به عنوان سومین فاز (لایه پریفایتیک) در این اراضی نادیده گرفته شده است. لایه پریفایتیک به عنوان لایه سوم بین آب پوشاننده و لایه خاک/رسوب در شالیزارها، نقش مهمی را در فرآیندهای تبدیل مواد مغذی از جمله جذب نیتروژن و فسفر قابل دسترس، تثبیت نیتروژن و حل کردن فسفر و پتاسیم

1. Periphyton
2. Epiphyton
3. Epilithon
4. Epipelon
5. Eppesammon
6. Epixylon
7. Herpobenthos
8. Haptobenthos
9. Epipelon
10. ndopelon
11. ndopsammon
12. Metaphyton
13. Epilithon
14. Epixylon
15. Eppesammon
16. Epizoon
17. Epiphyton

نامحلول ایفا می‌کند. بر این اساس، بیوفیلم‌های پریفایتیک می‌توانند کارایی استفاده از کودهای شیمیایی را بهبود بخشیده و فرآیند یوتریفیکیشن را تا حد قابل توجهی کاهش دهند. با توجه به اهمیت فراوان جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها در ساختار بیوفیلم‌های پریفایتیک، هدف از این پژوهش بررسی حضور یا عدم حضور و فراوانی آنها در برکه‌های استان گیلان است.



شکل 1- طبقه بندی پریفایتون براساس رشد آن در بسترهای مختلف

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

جهت بررسی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌های موجود در ساختار پریفایتون، نمونه‌برداری در آبان ماه سال 1397 از سه برکه و در هر برکه از سه نقطه در استان گیلان با مشخصات جغرافیایی مشخص شده در جدول (1) انجام گرفت. نمونه رسوبات بستر برکه با استفاده از رینگ فلزی، و نمونه پریفایتون و آب برکه (عمق20 تا50 سانتی‌متری برکه) با استفاده از بطری‌های نیم لیتری تمیز برداشته شد؛ قسمتی از هر نمونه جهت شناسایی و شمارش نمونه‌های اولیه در فرمالین چهار درصد تثبیت (پندیت و همکاران، 2014)، و بقیه نمونه‌ها داخل جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و در یخچال در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تعیین خصوصیات شیمیایی و زیستی رسوبات برکه‌های مورد مطالعه

در آزمایشگاه خصوصیات شیمیایی و زیستی نمونه رسوبات بستر مانند:

تنفس، قابلیت هدایت الکتریکی، pH، فسفر قابل جذب، فسفر کل، نیتروژن کل، شمارش میکروارگانیسم‌ها با روش حداکثر تعداد محتمل و خصوصیات آب و پریفایتون برکه مانند: pH و قابلیت هدایت الکتریکی، فسفر کل، فسفر محلول، شمارش میکروارگانیسم‌ها با روش حداکثر تعداد محتمل و دما (با ترمومتر جیوه‌ای) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (اسپارکس، 1996).

جدول 1- مختصات جغرافیایی نقاط نمونه برداری

ایستگاه	اسم برکه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
1-1	فشتام	37° 9′ 5/46 ″ N	49° 39′ 4/35 ″ E
2-1	فشتام	37° 9′ 18/55″ N	49° 38′ 55/18″ E
3-1	فشتام	37° 9′ 27/02″ N	49° 38′ 47/73″ E
1-2	تازه سل	37° 25′ 7/28″ N	49° 47′ 59/08″ E
2-2	تازه سل	37° 24′ 58/92″ N	49° 48′ 5/31″ E
3-2	تازه سل	37° 25′ 1/39″ N	49° 48′ 6/25″ E
1-3	قلعه ور سل	37° 24′ 56/08″ N	49° 48′ 2/88″ E
2-3	قلعه ور سل	37° 24′ 55/16″ N	49° 48′ 0/69″ E
3-3	قلعه ور سل	37° 24′ 59/57″ N	49° 47′ 56/77″ E

مشاهدات میکروسکوپی نمونه‌های طبیعی پریفایتون

برای مشاهدات میکروسکوپی نمونه‌های طبیعی پریفایتون از نمونه‌های حاوی فرمالین چهار درصد استفاده شد، به این صورت که پس از ته نشین شدن نمونه‌های پریفایتون در ته فالکون جهت تغلیظ نمونه‌ها نصف آب رویی را خالی کرده و پنج دقیقه شیک گردید، سپس یک الی دو قطره از نمونه با قطره چکان برداشته و بروی لام قرار داده شد و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی x400 عکسبرداری صورت گرفت. برای نمونه‌های آب هم همین مراحل انجام شد با این تفاوت که به دلیل جمعیت پایین نمونه‌های آب، سه چهارم آب بالایی را خالی نموده و بقیه مراحل بر روی یک چهارم باقی مانده صورت گرفت.

کشت نمونه‌ها در محیط‌های کشت مایع برای غنی‌سازی آن‌ها

برای غنی‌سازی نمونه‌ها ابتدا محیط کشت‌های مورد نیاز (BBM ،BG11 و f/2) آماده شد. برای کشت نمونه-های رسوب بستر 10 گرم از نمونه بستر را به داخل ارلن-های حاوی 90 میلی‌لیتر محیط کشت اضافه نموده و پس از هم زدن نمونه سری‌های رقت دهدهی[1] تا رقت 10^{-6} تهیه شد. برای کشت نمونه‌های پریفایتون و آب 10 میلی-لیتر از آن‌ها را برداشته و به ارلن حاوی 90 میلی‌لیتر محیط کشت (BBM،BG11 و f/2) اضافه نموده و سپس با دست کمی هم زده و بعد یک میلی‌لیتر از آن را برداشته و به لوله آزمایش منتقل شد و این روند تا رقت مورد نظر (10^{-6}) تکرار شد. به هر یک از لوله‌های آزمایش کشت شده حدود چند عدد کاه و کلش برنج خرد و ریز شده استریل به عنوان مواد بستر رشد پریفایتون اضافه گردید. در نهایت نمونه‌های کشت شده به اتاق فیتوترون با شرایط دمایی 25 تا 30 درجه سلسیوس با شدت نور2500 تا3000 لوکس و دوره نوری 16-8 ساعت (روشنایی/ تاریکی) به مدت 15-30 روز منتقل شدند. به منظور هوادهی نمونه‌ها لوله‌ها بصورت روزانه با دست شیک می‌شدند. بعد از رشد، نمونه‌ها به محیط کشت جامد مناسب برای جداسازی و خالص‌سازی انتقال داده شدند (بولد، 1949؛ بیسکوفت و بولد، 1963؛ ساتیر و همکاران، 1971؛ گیلارد، 1975).

جداسازی و خالص‌سازی اجزای قابل کشت پریفایتون

برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای قابل کشت پریفایتون؛ از محیط کشت BBM برای جداسازی جلبک‌ها، از محیط کشت BG11 برای جداسازی سیانوباکتری‌ها و از محیط کشت f/2 برای جداسازی دیاتومه‌ها استفاده شد. از هر کدام از نمونه‌های رسوبات بستر، آب و زیست لایه پریفایتون سری‌های رقت تا 10^{-6} را با استفاده از آب مقطر درست کرده و از هر کدام از لوله‌ها 100 میکرولیتر با سمپلیر برداشته و وسط هر ظرف پتری ریخته و با استفاده از میله شیشه‌ای استریل پخش گردید و دور پلیت‌ها با پارافیلم درزگیری شدند، در ضمن تمام مراحل بالا درون لامینار ضد عفونی شده با الکل 96 درصد و در کنار شعله انجام شد. سپس ظروف پتری کشت شده به اتاق فیتوترون انتقال داده شدند. بعد از رشد این اجزا بر روی هر ظرف پتری، تک کلنی‌ها را برداشته (هر تک کلنی که با بقیه از نظر رنگ، اندازه، شکل و ... فرق داشته باشد) و به ظرف پتری دیگر منتقل کرده و به این ترتیب جداسازی و خالص سازی صورت گرفت. تک کلنی‌های جلبک به محیط کشت جامد BBM، سیانوباکتری‌ها به محیط کشت جامد BG11 و دیاتومه‌ها به محیط کشت F/2 منتقل شدند تا در محیط جدید بصورت انبوه رشد کنند (بولد، 1949؛ بیسکوفت و بولد، 1963؛ ساتیر و همکاران، 1971؛ گیلارد، 1975). شناسایی

[1] Ten-fold

نمونه‌های خالص شده پریفایتون تا سطح جنس با استفاده از میکروسکوپ نوری و کارهای استاندارد انجام شد.

نتایج

خصوصیات زیستی و شیمیایی برکه‌های مورد مطالعه

نتایج بررسی‌های انجام شده بر خصوصیات رسوبات کف برکه‌های مورد مطالعه در جدول 2 گزارش شده است. بر این اساس، pH در نمونه‌های مورد مطالعه تفاوت چندانی نداشته و اکثر نمونه‌ها pH نسبتاً قلیایی دارند. قابلیت هدایت الکتریکی نمونه‌ها غیر شور، با دامنه بین 1/27 تا 1/69 دسی زیمنس بر متر است. میزان فسفر قابل دسترس رسوبات برکه‌ها بین دامنه 32/99 تا 42/64 میلی‌گرم بر کیلوگرم است که بیشترین مقدار آن مربوط به رسوبات برکه تازه سل و کمترین میزان مربوط به برکه قلعه ورسل است. دامنه میزان فسفر کل رسوبات برکه‌ها بین 406/63 تا 844/26 میلی‌گرم برکیلوگرم متغیر است که بیشترین مقدار مربوط به رسوبات برکه تازه سل است. دامنه مقدار نیتروژن کل رسوبات برکه‌ها نیز بین 0/221 تا 0/379 درصد است که بیشترین مقدار مربوط به رسوبات برکه فشتام است. میزان تنفس در نمونه‌ها در دامنه بین 0/189 تا 0/317 قرار دارد که کمترین میزان مربوط به نمونه رسوبات برکه فشتام است که با نتایج آزمون حداکثر تعداد محتمل همخوانی دارد.

جدول 2- خصوصیات شیمیایی و زیستی رسوبات کف برکه‌ها

منطقه	pH	EC (dSm^{-1})	تنفس ($mgCO_2g^{-1}\ 24h^{-1}$)	فسفر قابل دسترس ($mgkg^{-1}$)	فسفر کل ($mgkg^{-1}$)	نیتروژن کل (درصد)	جمعیت ($MPNg^{-1}$)
قلعه ور سل	8/4	1/28	0/317	32/99	619/7	0/221	1×10^{7}
فشتام	8/42	1/69	0/189	33/17	406/63	0/379	$7/3\times10^{6}$
تازه سل	8/4	1/27	0/274	42/64	844/26	0/312	$1/1\times10^{7}$

خصوصیات زیست توده پریفایتون و آب برکه در جدول 3 ذکر شده است. بر اساس این جدول، pH اکثر نمونه‌های آب و پریفایتون در حد خنثی است به جز چند نمونه که کمی اسیدی هستند و دامنه آن بین 6/2 تا 7/7 است. قابلیت هدایت الکتریکی از 0/261 تا 1/9 دسی زیمنس بر متر متغیر است که پریفایتون برکه تازه سل دارای بیشترین مقدار و آب برکه فشتام دارای کمترین میزان است. مطابق جدول 3 میزان اکسیژن محلول بین 9/72 تا 26/11 میلی گرم اکسیژن در لیتر قرار دارد. همان طور که مشاهده می‌گردد در تمام برکه ها میزان اکسیژن محلول در نمونه پریفایتون بیشتر از آب برکه است که دلیل آن هم به خاطر جمعیت زیاد جلبک‌ها و سیانوباکتری‌های فتوسنتز کننده (تولید کننده اکسیژن) در نمونه‌های پریفایتون نسبت به آب است. بیشترین میزان فسفر کل مربوط به پریفایتون تازه سل (49/39 میلی گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان مربوط به آب برکه فشتام (15/82 میلی گرم بر کیلوگرم) است. همان گونه که در جدول 3 نشان داده شده است میزان فسفر (کل و قابل دسترس) در نمونه‌های پریفایتون بیشتر از نمونه‌های آب همان منطقه است که نشانگر آن است که پریفایتون به عنوان یک مخزن برای فسفر عمل می‌کند و تمایل زیادی برای جذب و نگهداری فسفر دارد.

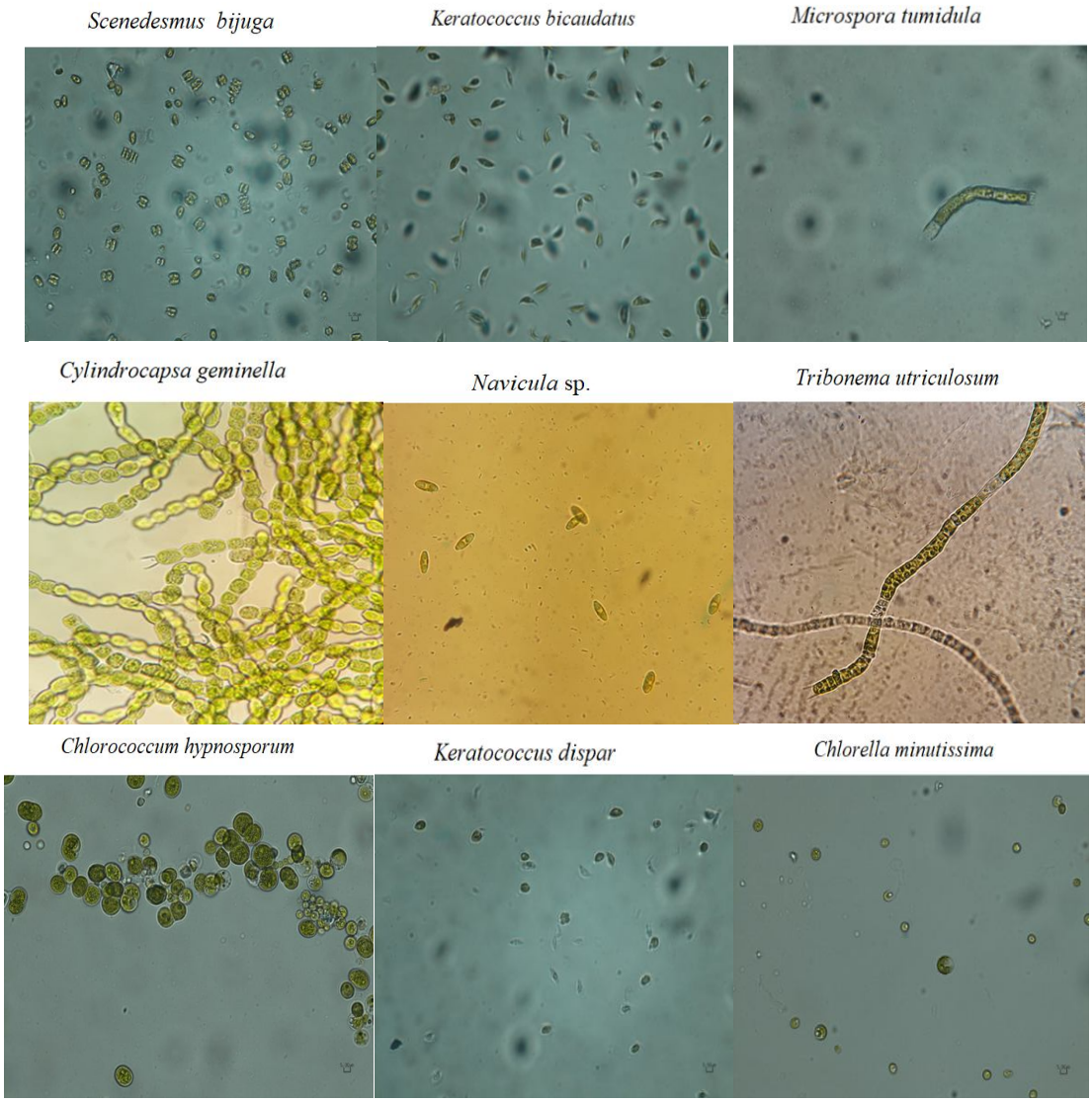
جدول 3- خصوصیات شیمیایی و زیستی زیست لایه پریفایتون و آب رویی مناطق نمونه برداری

منطقه	pH	EC (dSm^{-1})	دما (^oC)	اکسیژن محلول ($mg.l^{-1}$)	فسفر کل (mgl^{-1})	فسفر محلول (mgl^{-1})	جمعیت کل ($MPN\ ml^{-1}$)
آب فشتام	6/36	0/261	25/67	14/75	15/82	0/019	$2/7\times10^{4}$
پریفایتون فشتام	6/2	0/306	25/67	26/11	37/64	0/15	2×10^{6}
آب تازه سل	7/7	1/41	23/2	9/72	30/6	0/77	$2/6\times10^{6}$
پریفایتون تازه سل	6/8	1/9	23/2	19/7	49/39	1/57	$2/5\times10^{4}$
آب قلعه ورسل	6/9	1/256	23	10/28	18/04	0/079	$3/5\times10^{4}$
پریفایتون قلعه ورسل	6/7	1/424	22/8	15/22	48/65	0/82	$2/3\times10^{4}$

جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پریفایتون از برکه فشتام

در نمونه پریفایتون برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه کلروفیتا (66%) بوده و باسیلاریوفیتا (23%) و سیانوباکترها (4%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند (جدول 4). در نمونه آب برکه فشتام نیز کلروفیتا با 50 % بیشترین فراوانی را دارا هستند و شاخه غالب به شمار می‌روند، به دنبال آن باسیلاریوفیتا (32%)، کاروفیتا (10%) و سیانوباکتریا (7 %) در رتبه‌های بعدی قرار دارند. در نمونه‌های برکه فشتام 21 جنس جلبک مربوط به چهار شاخه مشاهده شد که تنوع جنس‌ها در این برکه از دو منطقه دیگر بیشتر است.

در این برکه 10 جنس جلبک *cosmarium*، *closterium*، *zygnema*، *epiplxis*، *oedogonium*، *spondylosium*، *eudorina*، *lepocinclis*، *staurastrum* و *pleurotaenium* و دو جنس سیانوباکتری *Anabaena* و *Merismopedia* مشاهده شد که فقط مختص به این برکه بودند (شکل 2و3). از روی جدول 4 می‌توان به این نتیجه رسید که در برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به کلروفیتا است که علت غالبیت کلروفیتا در این برکه نسبت به دو برکه دیگر می‌تواند به دلیل دمای بالاتر در این برکه باشد.

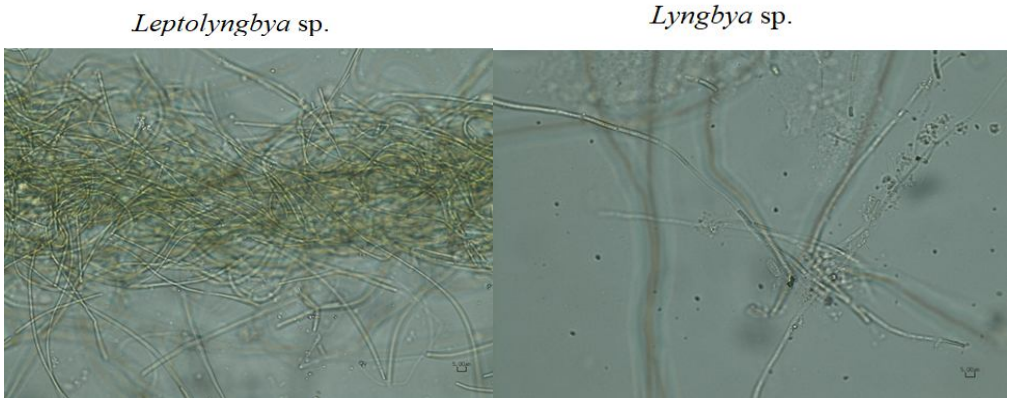


شکل 2- تصویر میکروسکوپی جلبک‌های جدا شده با بزرگ نمایی x400

جدول 4- درصد فراوانی جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها در نمونه پریفایتون و آب

قلعه ورسل		تازه سل		فشتام		
(%) gw	(%) gp	(%) tw	(%) tp	fw (%)	fp (%)	
						Chlorophyta
1	0/67	1/66	-	14/33	4/34	*Scenedesmus*
4/33	11/66	-	-	4	0/66	*Ulothrix*
-	-	-	-	1	2/67	*Oedogonium*
-	-	-	-	0/34	-	*Eudorina*
6/34	2/34	1/34	3/67	5/66	8	*Chlorococcum*
6/66	5/33	8/33	10/66	12/67	45/66	*Chlorella*
4	1	4/34	3/67	12	4/34	*Monoraphidium*
-	-	0/66	0/33	-	-	*Chlamydomonas*
-	3	-	-	-	-	*Microspora*
-	-	0/66	-	-	-	*Crucigenia*
-	-	0/33	-	-	-	*Ankistrodesmus*
						Charophyta
-	-	-	-	1	0/33	*Cosmarium*
-	-	-	-	1/66	0/34	*Closterium*
-	-	-	-	5	-	*Spondylosium*
-	-	-	-	2	-	*Staurastrum*
-	-	-	-	0/34	-	*Pleurotaenium*
-	-	-	-	-	5	*Zygnema*
						Ochrophyta
-	-	-	-	-	1	*Epipyxis*
						Euglonozoa
-	-	-	0/34	-	-	*Phacus*
-	-	-	-	1	-	*Lepocinclis*
						Bacillariophyta
5	20/67	5/67	3/33	-	-	*Tabellaria*
-	1	0/33	0/34	-	-	*Amphora*
13/34	10	2	8	2	9	*Navicula*
24/67	28/66	14	18/33	10	6/33	*Nitzschia*
14/34	1	-	-	15/33	7/67	*Pinnularia*
-	-	-	3	-	-	*Fragilaria*
-	-	1	0/34	-	-	*Cymatopleura*
-	-	3/34	1/66	-	-	*Synedra*
-	-	0/33	-	-	-	*Asterionella*
-	-	16	-	-	-	*Bacillaria*
1/34	3	2/34	3/34	1/34	0/33	*Cyclotella*
-	-	-	0/33	-	-	*Gomphonema*
-	-	-	0/67	-	-	*Cymbella*
10	4/67	12/33	17/66	3	-	*Melosira*
1	-	-	0/67	0/33	-	*Gyrosigma*
						Cyanobacteria
-	1/33	2/34	2/33	-	-	*Lyngbya*
6/34	2	10	8	-	1/67	*Leptolyngbya*
-	3/67	10	-	2	-	*Cyanobium*
1/34	-	3	13/33	4	-	*Oscillatoria*
-	-	-	-	-	2/66	*Anabaena*
-	-	-	-	1	-	*Merismopedia*

gp: پریفایتون قلعه ورسل؛ gw: آب قلعه ورسل؛ fp: پریفایتون فشتام؛ fw: آب فشتام؛ tp: پریفایتون تازه سل؛ tw: آب تازه سل



شکل 3- تصویر میکروسکوپی سیانوباکتری‌های جدا شده با بزرگ نمایی x400

جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پریفایتون از برکه تازه‌سل

در نمونه پریفایتون برکه تازه‌سل بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (58%) بوده و سیانوباکترها (24%) و کلروفیتا (18%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند (جدول 4). در این نمونه هیچ جنسی از اکروفیتا مشاهده نشد. در نمونه آب برکه تازه‌سل باسیلاریوفیتا با 57 درصد بیشترین فراوانی را دارا بوده و ردهٔ غالب به شمار می‌روند، به دنبال آن سیانوباکتریا با 25 درصد و کلروفیتا با 17 درصد در رده‌های بعدی قرار دارند. در برکه تازه‌سل هفت جنس جلبک کلروفیتا و یک جنس از شاخه اگلنوزوآ مشاهده گردید که دو جنس *Chlamydomonas* و *Phacus* مختص به این برکه هستند. همچنین در این برکه 14 جنس باسیلاریوفیتا مشاهده شد که جنس‌های *Synedra*، *Cymatopleura*، *Fragilaria*، *Cymbella*، *Gomphonema* و *Bacillaria* تنها در این برکه مشاهده شدند.

جداسازی و شناسایی فلور جلبکی قابل کشت پریفایتون از برکه قلعه ورسل

در نمونه پریفایتون برکه قلعه ورسل بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه باسیلاریوفیتا (69%) است و کلروفیتا (24%) در رتبه دوم قرار دارد (جدول 4). کمترین درصد مربوط به شاخه سیانوباکتریا (7%) است. در نمونه آب برکه نیز همانند زیست توده پریفایتون بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (70%) بوده و کلروفیتا (22%) در رتبه دوم قرار دارند. کمترین درصد فراوانی مربوط به سیانوباکتریا (8%) می‌باشد. از بین شش جلبک شاخه کلروفیتا مشاهده شده، چهار جنس آن (*Scenedesmus* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. و *Monoraphidium* sp.) در دو برکه دیگر نیز یافت شد. جنس *Ulothrix* sp. تنها در دو برکه قلعه ورسل و فشتام مشاهده گردید اما در برکه تازه سل مشاهده نشد. جلبک جنس *Microspore* sp. فقط مختص به برکه قلعه ورسل است و در دو برکه دیگر مشاهده نشد. از بین هشت جنس باسیلاریوفیتا مشاهده شده در این برکه پنج جنس *Navicula*، *Nitzschia*، *Cyclotella*، *Melosira* و *Gyrosigma* در هر سه برکه مشاهده شدند و جنس *Pinnularia* در برکه فشتام و جنس *Tabellaria* در برکه تازه‌سل نیز مشاهده گردید. از روی جدول 4 می‌توان به این نتیجه رسید که در برکه قلعه ورسل بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا است.

بحث

مطالعات فلوریستیک روی فلور میکروبی برکه‌ها، ترکیب گونه‌ای و تنوع تاکسونومیک جوامع زیستی اکوسیستم را آشکار و تغییرات فصلی، فرایندهای تکاملی، عملکردهای اکولوژیکی و پایداری اکوسیستم‌های آبی را منعکس می‌کنند. پریفایتون یک میکرواکوسیستم تشکیل شده از یک ماتریکس پیچیده موکوپلی‌ساکارید با میکروارگانیسم‌های اتوتروف و هتروتروف تعبیه شده است و دارای توانایی پاسخ به شرایط محیطی است (هونگ و همکاران، 2018). تنوع تاکسونومیک و فراوانی پریفایتون بستگی به طیف وسیعی از عوامل مانند؛ زیستگاه و نوع بستر، خصوصیات فیزیکی بستر مانند میکرو-توپوگرافی و جهت، شدت نور، فشار چرا، تغییرات فصلی، فراهمی مواد مغذی و دما دارد (گلزار و همکاران، 2017).

بر اساس نتایج حاصله در برکه فشتام، از رسوبات بستر جلبک‌های *Chlorella* sp.، *Ulothrix* sp.، *Scenedesmus* sp. و *Chlorococcum* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp. ؛ از پریفایتون برکه جلبک‌های *Ulothrix* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Nitzschia* sp.، *Scenedesmus bijug*، *Tribonema utriculosum* و *Microspora tumidula* و سیانوباکتری‌های جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Ulothrix* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. خالص‌سازی و شناسایی شدند. در برکه تازه سل نیز از رسوبات بستر برکه جلبک‌های جنس *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp.، *Nitzschia* sp. و *Navicula* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp. ؛ از پریفایتون برکه نمونه‌های جلبک *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. و *Navicula* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های جنس *Chlorococcum* sp.، *Navicula* sp.، *Chlorella* sp. و *Ulothrix* sp. و سیانوباکتری جنس *Lyngbya* sp. خالص‌سازی و شناسایی شد. در ارتباط با برکه قلعه ورسل، از رسوبات بستر برکه جلبک *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. و Keratococcus bicaudatus و سیانوباکتری جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. ، از پریفایتون برکه نمونه‌های جلبک *Ulothrix* sp.، *Keratococcus dispar*، *Keratococcus bicaudatus*، *Navicula* sp.، *Desmodesmus* sp.، *Chlorella* sp.، *Chlorococcum* sp.، *Cylindrocapsa* sp.، *Microspora* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Lyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. و از آب برکه جلبک‌های جنس *Chlorolobion* sp.، *Chlorella* sp. و *Nitzschia* sp. و سیانوباکتری‌های جنس *Leptolyngbya* sp. و *Lyngbya* sp. خالص‌سازی و شناسایی شد.

دو عامل مهم در نحوه ترکیب اجزای جلبکی پریفایتون وجود دارد: اول اینکه باسیلاریوفیتا گروهی از جلبک‌های تک سلولی هستند که در ساختمان پریفایتون با تراکم و فراوانی گونه‌ای بسیار بالایی حضور دارند و توان و قدرت رقابت زیادی در استفاده از منابع غذایی دارند و دوم اینکه بسیاری از جنس‌های باسیلاریوفیتا دارای ساختمان سلولی منحصر بفردی هستند که ساختارهای موسیلاژی، و نیز توان بالا در تولید این گونه ترکیبات موسیلاژی موجب می‌شود تا مجموعه‌ای از آن‌ها را به فرم کلنی در آورد و لذا آن‌ها را قادر می‌سازد تا در اکوسیستم های غرقاب جزو توانمندترین گروه به زمینه پریفایتون اتصال یافته و سریعتر از مابقی اجزاء زیستی در پریفایتون مستقر می‌شوند (فانستا و همکاران، 2008؛ روند، 2010). اگرچه باسیلاریوفیتا بعنوان جامعه غالب پریفایتون در برخی برکه‌ها هستند، ولی ترکیب پریفایتون بویژه باسیلاریوفیتا متاثر از تغییرات مکانی و دمایی می‌باشد. در طول یکسال، بیشترین فراوانی جنس‌ها در تابستان که وضعیت دمایی و غذایی مناسب می‌باشد مشاهده می‌شود و این فراوانی در زمستان و بهار کاهش و در پاییز به حداقل خود می‌رسد. عموماً باسیلاریوفیتا توانایی تطبیق دادن خود با درجه حرارت‌های پایین زودرس در بهار، پاییز و زمستان را دارند. در صورتی که سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های کلوروفیتا درجه حرارت‌های بالاتر در تابستان و پاییز را ترجیح می‌دهند (عظیم و وهاب، 2005). نیف و همکاران (2013) ساختار جامعه جلبک‌های اپیفیتیک را بر روی دو بستر Eichhornia Azurea و Egeria Najas مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بر روی بستر E. azurea، زیگنمافیاسه در ماه مارس و دسامبر، کلروفیتا در ماه ژوئن و باسیلاریوفیتا در سپتامبر به نوبه خود بیشترین تعداد را به خود اختصاص دادند.

در بستر E. najas، زیگنمافیاسه در ماه مارس و ژوئن و باسیلاریوفیتا در سپتامبر و دسامبر بیشترین کلاس را به خود اختصاص داد. با بررسی کلی ترکیب گونه‌ها و تراکم جامعه جلبک‌های پریفایتیک دریاچه دال واقع در دره کشمیر کشور هند، مجموع 31 تاکسون متعلق به 3 کلاس اصلی به نام‌های باسیلاریوفیتا، کلروفیتا و سیانوباکتری‌ها ثبت شد. شایع‌ترین گونه‌های پریفایتیک دیده شده در تمام مکان‌ها شامل: *Diatoma* sp.، *Fragillaria* sp.، *Synedra* sp.، *Cymbella* sp.، *Cosmarium* sp.، *Tabellaria* sp.، *Oedogonium* sp.، *Scendesmus* sp و *Oscillatoria* sp. بودند. باسیلاریوفیتا از نظر تعداد غالب بودند و به دنبال آن کلروفیتا و سیانوباکتری‌ها از لحاظ غنای گونه‌ای غالب بود. سهم کلی از نظر تراکم جمعیت از سه کلاس جلبک‌های پریفیتیک در چهار محل مورد مطالعه عبارت بودند از: باسیلاریوفیتا 45٪، کلروفیتا 36٪ و سیانوباکتری‌ها 19٪ (پندیت و همکاران، 2014). دیوتا و همکاران (2018) ترکیب جامعه پریفایتون رودخانه نامسونگ را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که در طول مطالعه، 47 جنس مختلف پریفایتون متعلق به 8 کلاس: باسیلاریوفیتا، کلروفیتا، میکسوفیاسه، رایزوپودا، نماتد، زوفلاگلا، ترتیگدرا و کوپپدا ثبت شد. آن‌ها نشان دادند که باسیلاریوفیتا (45٪) جامعه غالب و پس از آن

کلروفیتا (30٪)، میکسوفیاسه (13٪) و جانوران (12٪) در رتبه‌های بعدی بودند. لیانگ و لی (2008) نیز گزارش کردند که باسیلاریوفیتا در بیوماس پریفایتون پیکره غالب است. رسونو و خورمو (2016) در مطالعه‌ای در رودخانه مسکو نشان دادند جلبک‌های دیاتوم در ترکیب پریفایتون غالب هستند که شامل 87 تا 99 درصد (با میانگین 94 درصد) از کل زیست توده جلبک هستند. جلبک‌های سبز به طور متوسط 5٪ و سیانوباکتری‌ها، تا 1٪ از کل زیست توده پریفایتون را تشکیل می‌دهند. استونسون (2010) نیز عنوان کرد که غالبیت باسلاریوفیسه‌ها ممکن است به این دلیل باشد که آن‌ها در مقایسه با سیانوفیسه‌ها و کلروفیسه‌ها سخت‌تر به سطح بستر می‌چسبند و به وسیله حرکت آب به آسانی کنده نمی‌شوند. پندیت و همکاران (2014) نیز عنوان کردند که جمعیت کم سیانوفیسه‌ها ممکن است به این دلیل باشد که سیانوفیسه‌ها اغلب در سطوح تابش و درجه حرارت بالا غالب هستند.

نتیجه‌گیری

در برکه فشتام بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه کلروفیتا بوده و باسیلاریوفیتا و سیانوباکترها به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند. اما در برکه تازه سل بیشترین درصد فراوانی مربوط به باسیلاریوفیتا (58%) بوده و سیانوباکترها (24%) و کلروفیتا (18%) به ترتیب در رده دوم و سوم قرار دارند. در نمونه پریفایتون برکه قلعه ورسل نیز بیشترین درصد فراوانی مربوط به شاخه باسیلاریوفیتا (69%) است و کلروفیتا (24%) در رتبه دوم قرار دارد. به نظر می‌رسد باسیلاریوفیتا جمعیت غالب پریفایتون‌های جلبکی در اکثر برکه‌های استان گیلان است که می‌تواند نقش قابل توجهی در گردش و تغییر و تبدیل عناصر غذایی (به ویژه فسفر و نیتروژن) بین آب و سطح خاک داشته باشد. با توجه به اینکه باسیلاریوفیتا در ساختمان پریفایتون با تراکم و فراوانی گونه‌ای بالایی حضور دارند، توان و قدرت رقابت زیادی در استفاده از منابع غذایی دارند و آن‌ها در مقایسه با سیانوباکترها و کلروفیتا محکم‌تر به سطح بستر می‌چسبند و به وسیله حرکت آب به آسانی کنده نمی‌شوند. همچنین باسیلاریوفیتا توانایی تطبیق دادن خود با درجه حرارت‌های پایین را دارند، در صورتی که سیانوباکتری‌ها درجه حرارت‌های بالاتر در تابستان و پاییز را ترجیح می‌دهند.

فهرست منابع:

1. Allan, J.D. and Castillo, M.M. 2007. Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters. Springer.
2. Azim, M.E. and Wahab, M.A. 2005. Periphyton-Based Pond Polyculture. In: Periphyton: Ecology, Exploitation and Management, Azim, M.E., Verdegem, M.C.J., van-Dam, A.A. and Beveridge, M.C.M. (eds.) CABI Publishing, UK, 207-222.
3. Battin, T.J., Kaplan, L.A., Newbold, J.D. and Hansen, C.M. 2003. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. Nature 1: 426-439.
4. Bischoff, H.W. and Bold, H.C. 1963. Phycological Studies IV. Some Soil Algae From Enchanted Rock and Related Algal Specie. University of Texas, Austin, 6318: 1 - 95.
5. Bold, H.C. 1949. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. Bulletin of the Torrey Botanical Club 76: 101 - 108.
6. Dutta, R., Dutta, A., Bhagobaty, N. and Bhagabati, S.K. 2018. Periphyton community structure of Namsang stream, Arunachal Pradesh. Journal of Coldwater Fisheries 1(1): 113-120.
7. Fonseca, I.A., Siqueira, N.S. and Rodrigues, L. 2008. Algas perifíticas a montante e a jusante do local de instalação de tanques-rede em tributários do reservatório de Rosana, Estado do Paraná, Brasil. Acta Scientarium Biological Sciences 31 (2): 135–141.
8. Gillett, N.D., Pan, Y., Asarian, J.E. and Kann, J. 2016. Spatial and temporal variability of river periphyton below a hypereutrophic lake and a series of dams. Science of the Total Environment 541: 1382-1392.
9. Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W.L. and Chantey, M.H. (eds) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Publishers, New York: 29–60.

10. Gulzar, A., Mehmood, M.A. and Chaudhary, R. 2017. Stream periphyton community: a brief review on ecological importance and regulation.
11. Huang, W., Liu, X., Peng, W., Wu, L., Yano, S., Zhang, J. and Zhao, F. 2018. Periphyton and ecosystem metabolism as indicators of river ecosystem response to environmental flow restoration in a flow-reduced river. Ecological indicators 92: 394-401.
12. Liang, X. and Li, X. 2008. Responses of phytoplankton and periphyton to environmental variations in urbanizing tidal rivers. In: Paper Presented at the the 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering.
13. Neif, É.M., Behrend, R.D.L. and Rodriguez, L. 2013. Seasonal Dynamics of the structure of epiphytic algal community on different substrates from a Neotropical floodplain. Brazilian Journal of Botany 36: 169-175.
14. Nelson, C.E., Danuta, M.B. and Bradley, J.C. 2013. Consistency and sensitivity of stream periphyton community structural and functional responses to nutrient enrichment. Ecological Applications 23: 159-173.
15. Pandit, A.K., Farooq, S. and Shah, J.A. 2014. Periphytic Algal Community of Dal Lake in Kashmir Valley, India. Research Journal of Environmental Sciences 8: 391-398.
16. Poulıckova, A., Hasler, P., Lysa´kova´, M. and Spears, B. 2008. The ecology of freshwater epipelic algae: an update. Phycologia 47 (5): 437-450.
17. Round, F.E. 2010. Diatoms in river water-monitoring studies. Journal of Applied Phycology 3 (2): 129–145.
18. Rusanov, A.G. and Khromov, V.M. 2016. Longitudinal distribution of periphyton algae in the Moskva river under eutrophication. Water Resources 43: 513– 521.
19. Saikia, S., Nandi, S. and Majumder, S. 2013. A review on the role of nutrients in development and organization of periphyton. Journal of Research in Biology 3: 780-788.
20. Sparks, D.L. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods, Soil Science Society of American, Inc. American Society of Agronomy, Inc, Madison Wisconsin, USA.
21. Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). Bacteriological Reviews 35: 171-205.
22. Stevenson, R.J., Pan, Y. and van-Dam, H.E.R.M.A.N. 2010. Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. In The diatoms: applications for the environmental and earth sciences. Cambridge University Press Cambridge, 57-85.
23. Wu, Y. 2016. Periphyton: functions and application in environmental remediation. Elsevier.

بررسی کربن آلی، نیتروژن، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان

ابتسام حمید، خوشناز پاینده[1]، محمد تحسین کریمی نژاد و نغمه سعادتی

گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران؛ **ebtessam_h@yahoo.com**

گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران؛ **Payandeh426@gmail.com**

گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران؛ **tahsinkarimi@yahoo.com**

گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران؛ **Na_saadati@yahoo.com**

دریافت: **99/5/22** و پذیرش: **99/8/12**

چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی تغییرات غلظت آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز، کربن آلی، نیتروژن کل و فسفر کل در دو فصل زمستان و تابستان در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان در سال 98-1397 انجام شد. در این تحقیق دو منطقه نمونه‌برداری شامل منطقه A تحت پوشش گیاهی غالب و منطقه B خاک‌های مرطوب بدون پوشش گیاهی انتخاب شدند. نمونه‌برداری خاک با استفاده از استاندارد ASTM شماره D2488 انجام شد. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات فصلی، پوشش گیاهی و عمق خاک به ترتیب بر مقدار نیتروژن کل، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی داری داشته است (P<0.001). تغییرات فصلی اثر معنی داری بر مقدار ماده آلی خاک نداشته در صورتی که پوشش گیاهی و عمق خاک به طور معنی داری مقدار کربن آلی خاک در خاک ساحلی تالاب شادگان را تحت تأثیر قرار داده اند (P<0.001). پروفایل عمقی عناصر و آنزیم‌های مورد مطالعه با تغییر فصل و پوشش گیاهی به این‌صورت بوده که عناصر غذایی و همچنین فعالیت آنزیم‌های بیرون سلولی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های تحت پوشش گیاهی بیشتر از خاک‌های بدون پوشش بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده می توان چنین استباط کرد که فعالیت آنزیم های پروتئاز (2/69 µmol/gh) و آلکالین فسفاتاز (3/05 mgPNP/gh) در خاک های سطحی و عمق 15 سانتیمتری در مناطق دارای پوشش گیاهی در فصل تابستان بیشتر بوده که این موضوع ارتباط مستقیم و معنی‌دار با نیتروژن کل، فسفر و کربن آلی خاک داشت (P<0.05)، زیرا این عناصر غذایی در عمق 30-0 سانتیمتری خاک منطقه دارای پوشش گیاهی در فصل تابستان مقادیر بیشتری داشتند. در نهایت آنالیز مولفه اصلی و همبستگی اسپیرمن نیز ارتباط قوی و مثبت بین عناصر غذایی نیتروژن کل، فسفر کل و کربن آلی خاک (P<0.001) با فعالیت بیولوژیکی آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز را تأیید کردند.

واژه‌های کلیدی: پروتئاز، آلکالین فسفاتاز، ترکیبات معدنی، خاک های ساحلی، تالاب شادگان

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه خاکشناسی

مقدمه

تمامی موجودات زنده از جمله گیاهان برای رشد و نمو و ادامه حیات خود به عناصر ضوری نیاز دارند (فاسینلی و همکاران، 2001؛ گیلیان و دیک، 2010). در بیشتر خاک‌ها مقدار نسبی این عناصر، برابر نیازهای طبیعی گیاه نیست و مقدار عناصر در مناطق مختلف متفاوت است (لین و همکاران، 2010؛ هاله و همکاران، 2015). هر چند که عناصر معدنی مقدار کمی از وزن یک گیاه را تشکیل می‌دهد، اما هر کدام از این عناصر وظایفی را در انجام فعالیت‌های حیاتی گیاه و تعادل بین رشد رویشی و زایشی بر عهده دارند (اسوتلانا و اسلاوکووی، 2006؛ فائوکون و همکاران، 2009). نیتروژن جز اصلی پروتئین می‌باشد و برای رشد طبیعی گیاهان، به مقدار کافی مورد احتیاج است (خان و همکاران، 2004؛ ساتل، 2010). این عنصر برای تولید اسیدهای آمینه و پروتئین لازم است و مهمترین عامل رشد موجودات زنده محسوب می‌شود (کوی و همکاران، 2017؛ دای و همکاران، 2018). فسفر در خاک، بسته به ماهیت ترکیباتی که در آن یافت می‌شود، معمولاً به دو گروه معدنی و آلی تقسیم می‌شود. جزء آلی فسفر در هوموس و سایر مواد آلی که ممکن است با آن آمیخته شده یا نشده باشند، یافت می‌شود (وانگ و همکاران، 2018). فسفر آلی خاک-های معدنی، به دلیل انباشته شدن مواد آلی در قسمت فوقانی پروفیل خاک، معمولاً در افق‌های سطحی خاک بیش از خاک‌های زیرین است (ریدین و ژگلوم، 2013؛ کویزیمسکا و همکاران، 2020).

آنزیم‌ها یکی از ترکیبات مهم و حیاتی برای موجودات زنده هستند (باستیدا و همکاران، 2008؛ لی و همکاران، 2014) که در خاک ها نیز فعالیت می‌کنند و در دسترس گیاهان قرار می‌گیرند (سیکس و همکاران، 2000؛ لیو و همکاران، 2020). آنزیم‌ها به عنوان پروتئین‌های خارج سلولی فعالیت می کنند که به طور فعال به وسیله ریشه‌ها و قارچ‌ها وارد خاک می‌شوند (آلوارز و گوئررو، 2000؛ مورهد و همکاران، 2016). آنزیم‌های خاک نقش مهمی در باروری خاک و رشد و نمو گیاهان دارند (بارنس، 1983؛ سینسابو و همکاران، 1991). آن‌ها در فرآیندهای حیاتی میکروارگانیسم‌ها در خاک، تثبیت ساختار خاک، تجزیه مواد آلی، تشکیل ماده آلی و چرخه مواد غذایی اهمیت دارند (دیک و همکاران، 1994؛ ژینگ و همکاران، 2017)، بنابراین آنزیم‌ها نقش مهم در کشاورزی و به ویژه در چرخه مواد غذایی دارند (دیک، 1997؛ لاشرمز و همکاران، 2016).

فعالیت آنزیم‌ها در محیط خاک تحت تأثیر فرآیندهای بیوشیمیایی پیچیده متشکل از رفتار متقابل بوم‌شناسی و پایداری آنزیم‌ها در محیط خاک می‌باشد (خازیف و گولکه، 1991؛ دباروس و همکاران، 2020) که به خواص فیزیکی، شیمیایی، زیستی و بیوشیمیایی آن بستگی دارد (آلیسون و همکاران، 2007؛ سیلوا و همکاران، 2019). فعالیت‌های آنزیمی خاک اغلب به عنوان شاخص رشد گیاهان و فعالیت میکروبی در خاک استفاده می‌شود (مک‌لارن، 1975؛ متینی‌زاده و همکاران، 2008). اتصال آنزیم ها به سطوح خاک به ویژه مواد رس و خالص، می تواند از طریق واکنش-های یونی، پیوند کووالانسی، پیوند هیدروژنی، جذب آنزیم توسط کلوییدهای خاک انجام شود (باندیک و دیک، 1999؛ کویزیمسکا و همکاران، 2020).

پروتئازها در خاک نقش مهمی در تغییرات و تنظیم مقدار نیتروژن و رشد گیاه دارند. انواع آنزیم‌های پروتئاز را می توان با توجه به معیارهای مختلف از جمله نوع واکنش کاتالیز شده، نوع عملکردی، ساختار مولکولی پروتئازها طبقه‌بندی کرد (روتانوا و همکاران، 2004). پروتئازهای موجود در خاک از چندین منبع مختلف از جمله میکروارگانیسم‌ها، گیاهان، فضولات حیوانی (ادرار و مدفوع)، تجزیه و رسوب ساقه و برگ گیاهان منشا می-شوند (سینگ و همکاران ، 2011). فسفاتازها گروه وسیعی از آنزیم‌هایی هستند که می‌توانند کاتالیزوری هیدرولیز استرها و انیدریدهای اسید فسفریک را انجام داده و در اکوسیستم‌های خاکی نقش مهمی در چرخه فسفر ایفا می‌کنند که مطالعات نشان داده است که استرس و رشد گیاه با کاهش مقادیر فسفر همبستگی دارند (کالدول، 2005؛ کامنزیند و همکاران، 2018).

این تحقیق با هدف بررسی تغییرات غلظت عناصر فسفر کل و نیتروژن کل و نسبت آن‌ها در خاک-های هیدریک ساحلی، تعیین رابطه بین غلظت عناصر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز و ارزیابی تغییرات غلظت کربن آلی، نیتروژن کل و فسفر کل و استکیومتری این ترکیبات با عمق و فصول زمستان و تابستان در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان انجام شد. با توجه به تأثیر ریزوسفر گیاهان در فعالیت میکروبی و فرآیندهای بیوشیمیایی خاک، انتظار می رود که چرخه عناصر غذایی به ویژه عناصر کربن، نیتروژن و فسفر (غلظت و استکیومتری این عناصر) در خاک‌های ساحلی تحت پوشش و بدون پوشش گیاهی تفاوت معنی‌داری داشته باشند. تغییر عوامل محیطی به ویژه پارامترهای

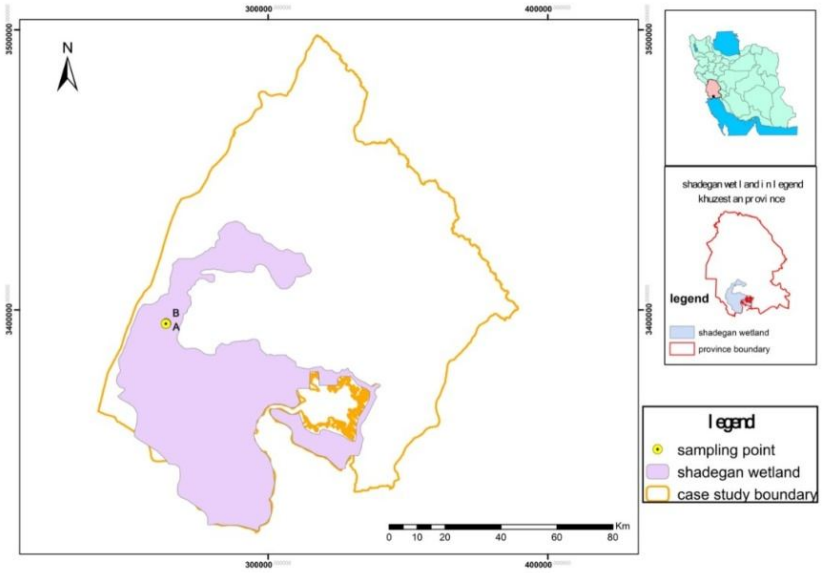
هواشناسی در قالب تغییر فصل بر فعالیت آنزیمی خاک‌های ساحلی تالاب و غلظت و استکیومتری ترکیبات معدنی معنی‌دار خواهد بود. تغییر فصل و تاثیر آن بر خصوصیات ژئوشیمیایی خاک سبب خواهد شد که عنصر محدود کننده فعالیت های بیوژئوشیمیایی فسفر و نیتروژن و نسبت استکیومتری این عناصر(N/P) در فصول سرد و مرطوب سال با فصل گرم و خشک سال متفاوت خواهد بود..

مواد و روش‌ها

تالاب شادگان یکی از تالاب‌های بین المللی کشور در جنوب غرب در جنوب شهرستان شادگان در استان خوزستان واقع شده است. این تالاب در 48 درجه و 20 دقیقه تا 49 درجه و 20 دقیقه طول شرقی و 30 درجه و 50 دقیقه تا 31 درجه عرض شمالی قرار دارد (خلفه نیل‌ساز و همکاران، 1395). در این تحقیق دو منطقه نمونه‌برداری با نوع پوشش گیاهی متفاوت شامل منطقه A تحت پوشش گیاهی غالب خط ساحلی تالاب و منطقه B خاک‌های مرطوب برهنه خط ساحلی تالاب انتخاب شدند (جدول 1). در منطقه A و B نمونه‌برداری (با پوشش و بدون پوشش گیاهی) نمونه‌های خاک از گوشه‌های یک پلات مثلث فرضی با اضلاع یک متری در سه عمق 15-0، 30-15 و 45-30 سانتیمتری در دو فصل زمستان و تابستان برداشت شدند. در هر سایت 3 مثلث فرضی با فواصل 200 متری در امتداد خط ساحلی برداشت شدند (شکل 1). تعداد نمونه‌های برداشت شده در قالب طرح کاملا تصادفی و آزمایش فاکتوریل به شرح زیر است: 3 تکرار × 3 عمق نمونه‌برداری× 2 فصل × 2 سطح پوشش گیاهی = 36 واحد آزمایشی.

جدول 1- مشخصات و موقعیت ایستگاه‌های محل نمونه‌برداری

منطقه	موقعیت محلی	ویژگی	مختصات جغرافیایی
A	عطیش	دارای پوشش گیاهی	30°39′56″ N, 48°31′56″ E
B	رگبه	بدون پوشش گیاهی	30°39′52″ N, 48°31′52″ E



شکل 1- موقعیت جغرافیایی نمونه برداری خاک های ساحلی شادگان

نمونه‌برداری خاک با استفاده از استاندارد American Society for Testing and Materials شماره D2488 تا عمق45 سانتیمتری بستر و در هر ایستگاه با سه تکرار در دو فصل تابستان و زمستان انجام شد. نمونه‌های خاک در سه عمق 15-0، 30-15 و 45-30 سانتیمتری برداشت شدند و درون پلاستیک‌های زیپ دار در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند (انجمن آزمایش و مواد آمریکا، 1991). برای هضم شیمیایی به نمونه‌های خاک، هفت میلی‌لیتر اسید کلریدریک (37 درصد) و اسید فلوئوریدریک (49 درصد) اضافه شد، سپس نمونه‌ها روی

حمام آب‌گرم در 100 درجه سانتیگراد تا مرحله نزدیک به خشک شدن حرارت داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، به هر یک هفت میلی‌لیتر اسید نیتریک و اسید کلریدریک اضافه گردید و توسط اسید کلریدریک یک نرمال در بالن ژوژه به حجم 50 میلی‌لیتر رسانده و سپس به دستگاه تزریق شدند (آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا، 1996).

نوع بافت خاک با استفاده از روش هیدرومتری، اسیدیته خاک با استفاده از pH متر Metrohm مدل 691، قابلیت هدایت الکتریکی با استفاده از دستگاه کنداکتومتر و مقدار کربن آلی از روش واکلی و بلاک تعیین شدند. فسفر کل با استفاده از روش جذب اتمی به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Shimadzu 160A-UVS تعیین شد. برای سنجش نیتروژن کل از روش کجلدال استفاده شد (پرویزی و رونقی، 1381). فعالیت‌های آنزیمی آلکالین فسفاتاز نمونه‌های خاک از روش استاندارد طباطبایی (1994) اندازه‌گیری شد و پروتئاز به کمک روش مقدار تیروزین آزاد شده سنجش گردید (آشا و پلانیسوامی، 2018).

برای آنالیز آماری و بررسی میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از نرم‌افزار SPSS 24 استفاده شد. رسم نمودارها و جداول با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد. برای مقایسه و یافتن اختلاف معنی‌دار در گروه های در نظر گرفته شده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) استفاده شد. برای تحلیل ارتباط داده های مورد مطالعه خاک از همبستگی اسپیرمن و آنالیز مولفه اصلی استفاده گردید.

نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول دو ارائه شده است. بافت خاک در خاک های ساحلی تالاب شادگان از نوع لومی، شنی ـ لومی و رسی ـ لومی ـ شنی تعیین شد. درصد ذرات شن در خاک های ساحلی بدون پوشش گیاهی و دارای پوشش گیاهی تالاب شادگان در عمق های مختلف مورد مطالعه بیشتر از درصد رس و سیلت بود (جدول 2).

نتایج تجزیه و تحلیل ANOVA نشان داد که تغییرات فصلی (S)، پوشش گیاهی (VC) و عمق خاک (D) به ترتیب بر مقدار نیتروژن کل، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در سطح اطمینان 99 تأثیر معنی‌داری داشته است ($P<0.001$). تغییرات فصلی اثر معنی‌داری بر مقدار ماده آلی خاک نداشته در صورتی که پوشش گیاهی و عمق خاک به طور معنی‌داری مقدار کربن آلی خاک در خاک ساحلی تالاب شادگان را تحت تأثیر قرار داده اند ($P<0.001$). لازم به ذکر است که اثرات متقابل فصل با عمق خاک ($P<0.05$)، سطح پوشش گیاهی با عمق خاک ($P<0.05$) و تغییرات فصل با پوشش گیاهی با عمق خاک ($P<0.05$) فقط برای نیتروژن کل و فسفر خاک (سطح پوشش گیاهی با عمق خاک) ($P<0.05$) معنی‌دار بوده است (جدول 3).

بین مقادیر فسفر، نیتروژن کل، آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان در فصل تابستان و فصل زمستان اختلاف معنی‌داری به دست آمد ($P<0.05$)، اما میزان کربن آلی خاک در دو فصل مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0.05$). فسفر، نیتروژن کل، کربن آلی خاک، آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در نواحی دارای پوشش گیاهی با مناطق بدون پوشش گیاهی نیز اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.05$). مقادیر فسفر، کربن آلی خاک، آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در اعماق مختلف خاک اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0.05$) (شکل 2). پروفایل عمقی عناصر و آنزیم‌های مورد مطالعه با تغییر فصل و پوشش گیاهی نوسانات مختلفی نشان داده است، روند کلی تغییرات مقدار فسفر کل، نیتروژن کل و کربن آلی خاک و همچنین آنزیم‌ها به این‌صورت بوده که عناصر غذایی و همچنین فعالیت آنزیم‌های بیرون سلولی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های تحت پوشش گیاهی بیشتر از خاک‌های بدون پوشش بوده است. همچنین ملاحظه می‌شود که روند کلی پروفایل عمقی عناصر و آنزیم‌ها با افزایش عمق خاک روندی کاهشی است. هرچند در شکل سه مشاهد می‌شود که بر خلاف روند کلی کاهشی عناصر و آنزیم‌ها، غلظت نیتروژن کل خاک در خاک‌های بدون پوشش و تحت پوشش گیاهی فصل زمستان و بدون پوشش فصل تابستان تا عمق میانی خاک (30-15 سانتی‌متری) افزایشی و سپس کاهشی است. اثر تغییرات فصلی بر روی پروفیل عمقی پارامترهای مورد مطالعه نیز مشهود است به نحوی که مقدار عناصر و فعالیت آنزیم‌ها در نمونه‌های فصل تابستان بیشتر از نمونه‌ای برداشت شده در فصل زمستان بوده است (شکل 3).

جدول 2- خصوصیات فیزیکی خاک‌های ساحلی تالاب شادگان در دو فصل زمستان و تابستان 98-1397

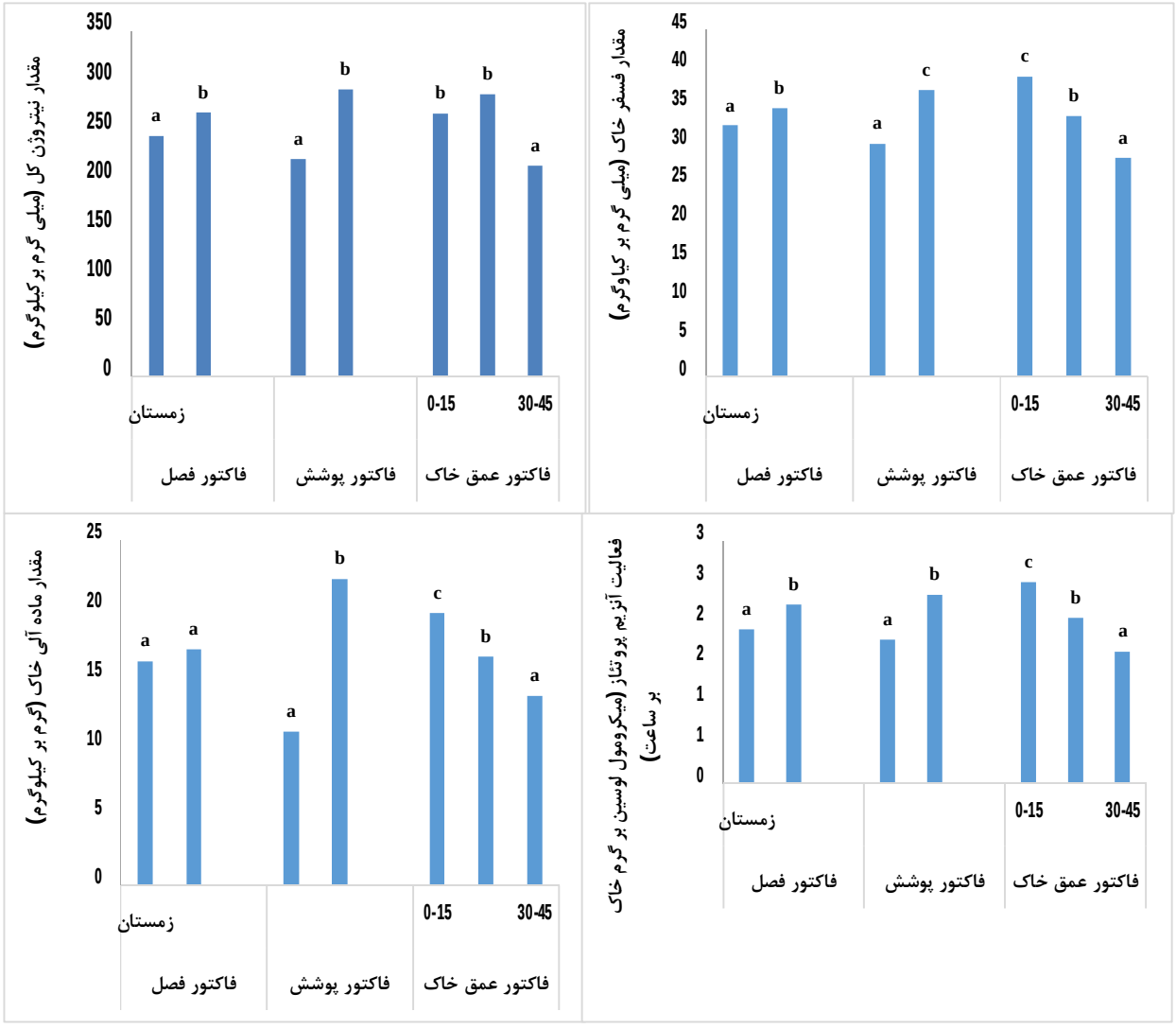
ناحیه	ایستگاه	عمق (سانتیمتر)	بافت خاک	درصد ذرات			اسیدیته	قابلیت هدایت الکتریکی (ds/m)
				شن	رس	سیلت		
بدون پوشش گیاهی	اول	0-15	شنی ـ لومی	64	8	28	7/24	11/39
		15-30	شنی ـ لومی	63	10	27	7/26	5/53
		30-45	شنی ـ لومی	60	8	32	7/40	5/03
	دوم	0-15	لومی	54	10	36	7/15	20/50
		15-30	رسی ـ لومی ـ شنی	58	21	21	7	8/23
		30-45	شنی ـ لومی	60	18	22	7/06	8/20
	سوم	0-15	لومی	56	10	34	6/86	29/80
		15-30	لومی	51	11	38	7/23	11/75
		30-45	شنی ـ لومی	70	18	12	7/18	7/09
دارای پوشش گیاهی	اول	0-15	لومی	50	12	38	7/06	8/92
		15-30	شنی ـ لومی	65	8	27	7/07	5/91
		30-45	شنی ـ رسی ـ لومی	70	22	8	7/03	9/35
	دوم	0-15	شنی ـ لومی	67	12	21	7/11	7/01
		15-30	شنی ـ لومی	69	20	11	7/14	7/26
		30-45	شنی ـ رسی ـ لومی	54	26	20	7/20	7/53
	سوم	0-15	شنی ـ لومی	62	10	28	7/08	2/38
		15-30	شنی ـ رسی ـ لومی	69	21	10	7/29	5/21
		30-45	شنی ـ لومی	70	16	14	7/36	1/88

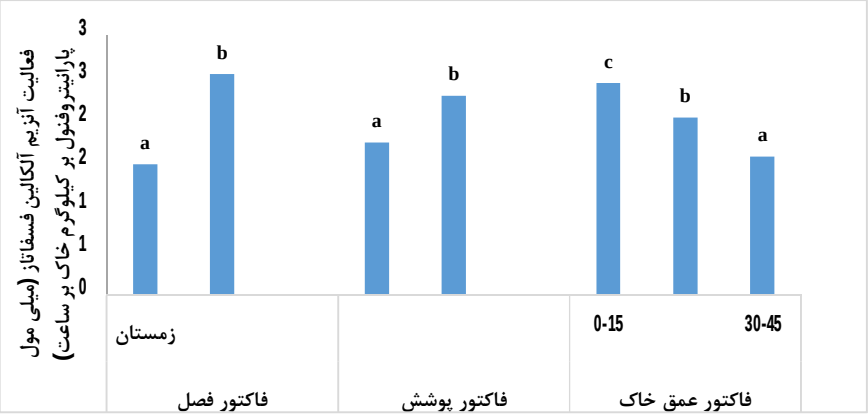
جدول 3- آنالیز واریانس مقدار ماده آلی، نیتروژن کل، فسفر و همچنین فعالیت آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک های ساحلی تالاب شادگان

متغیر	منبع	مجموع مربعات نوع سوم	درجه آزادی	مجموع مربعات	F Value	P Value
نیتروژن کل	فصل	5402/25	1	5402/25	16/26	0/000***
	پوشش گیاهی	44591/36	1	44591/36	134/25	0/000***
	عمق	34286	2	17143	51/61	0/000***
	فصلxپوشش گیاهی	793/36	1	793/36	2/38	0/135ns
	فصلxعمق	2428/66	2	1214/33	3/65	0/041*
	پوشش گیاهیxعمق	2560/88	2	1280/44	3/85	0/035*
	فصلxپوشش گیاهیxعمق	3250/88	2	1625/44	4/89	0/016*
فسفر	فصل	45/72	1	45/720	6/06	0/021*
	پوشش گیاهی	427/31	1	427/31	56/70	0/000***
	عمق	34286	2	17143	51/61	0/000***
	فصلxپوشش گیاهی	7/81	1	7/81	1/03	0/319ns
	فصلxعمق	0/24	2	0/121	0/016	0/984ns
	پوشش گیاهیxعمق	79/39	2	39/69	5/26	0/013*
	فصلxپوشش گیاهیxعمق	0/016	2	0/008	0/001	0/999ns
کربن آلی	فصل	6/37	1	6/37	1/97	0/173ns
	پوشش گیاهی	1103/01	1	1103/01	341/60	0/000***
	عمق	217/42	2	108/71	33/66	0/000***
	فصلxپوشش گیاهی	0/703	1	0/703	0/218	0/645ns
	فصلxعمق	0/559	2	0/280	0/087	0/917ns
	پوشش گیاهیxعمق	12/37	2	6/18	1/91	0/169ns
	فصلxپوشش گیاهیxعمق	0/463	2	0/231	0/072	0/931ns
	فصل	0/862	1	0/862	24/88	0/000***

آنزیم پروتئاز	پوشش گیاهی	2/80	1	2/80	81/009	0/000***
	عمق	4/40	2	2/20	63/59	0/000***
	فصلxپوشش گیاهی	0/014	1	0/014	0/404	0/531ns
	فصلxعمق	0/027	2	0/013	0/38	0/683ns
	پوشش گیاهیxعمق	0/137	2	0/069	1/98	0/159ns
	فصلxپوشش گیاهیxعمق	0/026	2	0/013	0/371	0/694ns
	فصل	9/86	1	9/86	160/37	0/000***
	پوشش گیاهی	2/62	1	2/62	42/68	0/000***
	عمق	4/38	2	2/19	35/64	0/000***
آنزیم آلکالین فسفاتاز	فصلxپوشش گیاهی	0/021	1	0/021	0/334	0/569ns
	فصلxعمق	0/193	2	0/096	1/56	0/229ns
	پوشش گیاهیxعمق	0/073	2	0/037	0/594	0/560ns
	فصلxپوشش گیاهیxعمق	0/031	2	0/015	0/249	0/782ns

***: **P<0.001**، **: **P<0.01**، *: **P<0.05**، **ns**: عدم وجود اختلاف معنی‌دار.



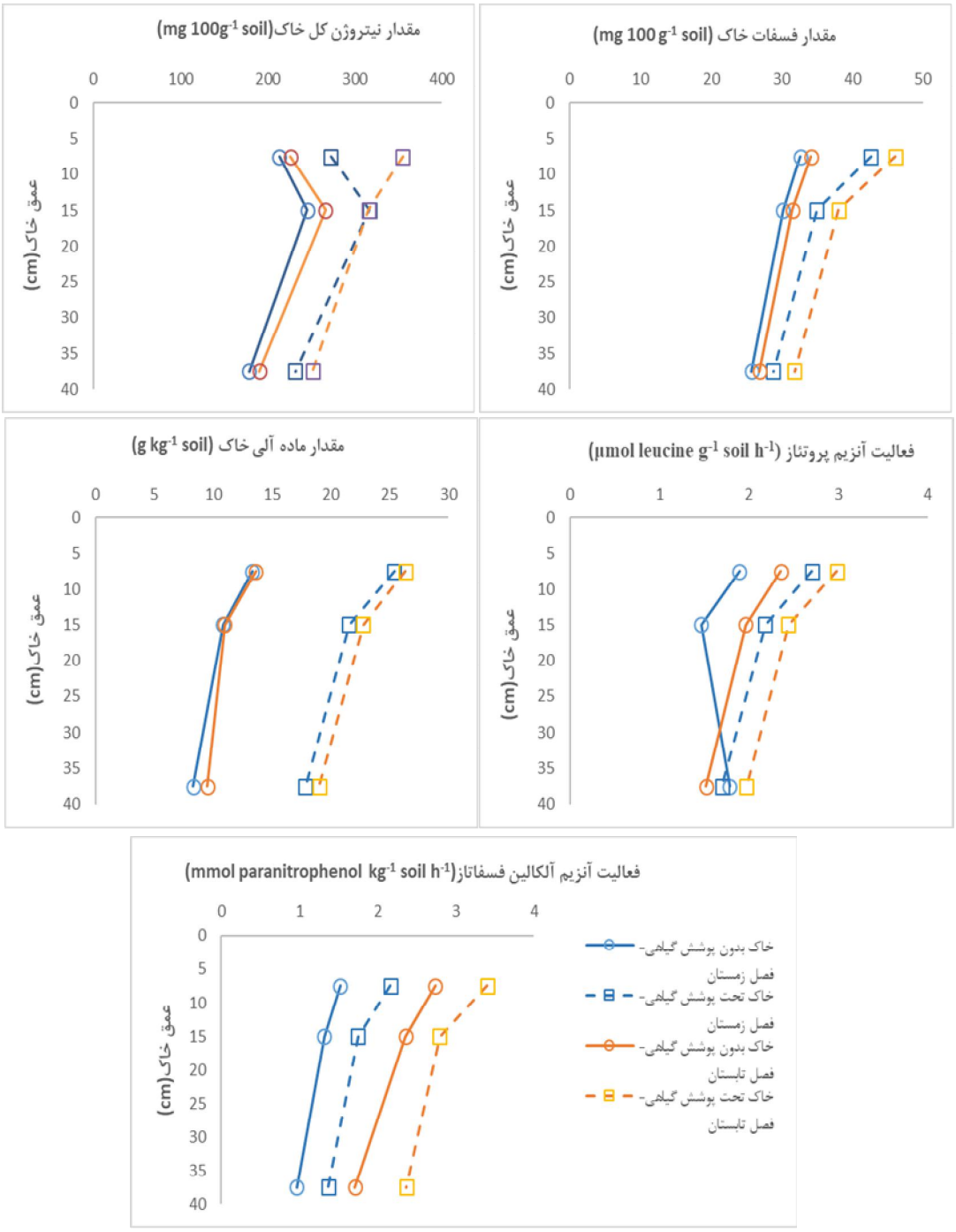


شکل 2- مقایسه مقادیر عناصر و فعالیت آنزیمی در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان در سطوح مختلف فاکتورهای محیطی (حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌دار را در سطح 5 درصد نشان می دهد (P<0.05))

نتایج ضریب همبستگی اسپیرمن بین عناصر، فعالیت آنزیمی و خصوصیات خاک (درصد ذرات شن، سیلت و رس، اسیدیته، کربن آلی خاک و قابلیت هدایت الکتریکی) در مجموعه داده‌های خاک برداشت شده در فصل زمستان در جدول چهار نشان داده شده است. هیچ ارتباط معنی‌داری بین ذرات خاک و فسفر، نیتروژن کل و ماده آلی خاک مشاهده نشد. کربن آلی خاک همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری با نیتروژن، فسفر و آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز خاک‌های ساحلی نشان داد (P<0.001). اسیدیته خاک با قابلیت هدایت الکتریکی همبستگی منفی معنی دار داشته است (P<0.05). روابط بین عناصر و خصوصیات خاک می‌تواند نتایج آموزنده‌ای در مورد رفتار ژئوشیمیایی عناصر ارائه دهد. ارتباط بسیار قوی و معنی‌دار بین نیتروژن و فسفر با ماده آلی خاک و همچنین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز نشان دهنده ذخیره بخش اعظم نیتروژن و فسفر به صورت آلی در خاک‌های مورد مطالعه بوده که غلظت کل این عناصر به نوبه خود تحت تأثیر فعالیت آنزیم‌های میکروبی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز خاک است. درمورد داده‌های خاک برداشت شده در فصل تابستان (جدول 5)، تقریباً نتایج مشابهی با داده‌های فصل زمستان (جدول 4) به دست آمد. ارتباط معنی‌داری بین عناصر مورد مطالعه و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز با ذرات شن، سیلت و رس خاک وجود نداشته است. همچنین همبستگی مثبت و بسیار قوی بین بخش آلی خاک و عناصر نیتروژن و فسفر و آنزیم‌های برون سلولی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز وجود داشت (P<0.001). تفاوت عمده نتایج آنالیز همبستگی داده های فصل تابستان با فصل زمستان، تأثیر منفی و معنی‌دار اسیدیته خاک بر روی ماده آلی خاک (P<0.001)، آنزیم‌های پروتئاز، آلکالین فسفاتاز، علاوه بر قابلیت هدایت الکتریکی خاک است (P<0.05).

آنالیز چند متغیره آنالیز مولفه اصلی (Principal Component Analysis/PCA) برای درک بیشتر روابط بین عناصر غذایی و خصوصیات خاک در خاک‌های تحت بررسی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج آنالیز مؤلفه اصلی برای عناصر و خصوصیات خاک برداشت شده در فصول زمستان و تابستان در جدول شش ارائه شده است.

در مجموعه داده‌های زمستان، مؤلفه اول (PC1) که 44/54 درصد از واریانس کل داده‌ها ر اتوضیح می‌دهد، شامل نیتروژن، فسفر، ماده آلی خاک و آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز است. ارزش بارگذاری (Loading value) قوی و مثبت نیتروژن (0/832)، فسفر (0/978)، کربن آلی خاک (0/951) و آنزیم‌های پروتئاز (0/952) و آلکالین فسفاتاز (0/971) ارتباط قوی عناصر نیتروژن و فسفر با ماده آلی و فعالیت بیولوژیک خاک را نشان می‌دهد. مؤلفه دوم (PC2) دومین عامل قوی است که25/33 درصد از کل واریانس داده ها را نشان می‌دهد.



شکل 3- پروفایل عمقی مقادیر نیتروژن کل، فسفات، ماده آلی خاک و فعالیت آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در دو فصل (زمستان و تابستان)، سه عمق خاک و دو سطح پوشش گیاهی در خاک‌های ساحلی تالاب شادگان

جدول 4- نتایج آنالیز همبستگی اسپیرمن (Spearman rank correlation) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک های ساحلی تالاب شادگان برداشت شده در فصل زمستان

متغیرها	فسفر	سیلت	رس	شن	اسیدیته (pH)	قابلیت هدایت الکتریکی	کربن آلی	پروتئاز	آلکالین فسفاتاز
نیتروژن	0/690**	-0/086	0/065	0/077	-0/011	-0/323	0/725***	0/725***	0/731***
فسفر		0/265	-0/400	-0/016	-0/161	-0/061	0/820***	0/880***	0/978***
سیلت			-0/718***	-0/792***	-0/062	0/377	-0/080	0/104	0/132
رس				0/215	-0/191	0/027	-0/005	-0/183	-0/299
شن					0/210	-0/502*	0/150	0/051	0/097
اسیدیته						-0/495*	-0/159	-0/187	-0/126
قابلیت هدایت الکتریکی							-0/230	-0/104	-0/144
کربن آلی								0/905***	0/901***
پروتئاز									0/915***

***: P<0.001، **: P<0.01، *: P<0.05.

جدول 5- نتایج آنالیز همبستگی اسپیرمن (Spearman rank correlation) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک های ساحلی تالاب شادگان برداشت شده در فصل تابستان

متغیرها	فسفر	سیلت	رس	شن	اسیدیته (pH)	قابلیت هدایت الکتریکی	کربن آلی	پروتئاز	آلکالین فسفاتاز
نیتروژن	0/812***	0/124	0/151	-0/298	-0/488*	0/215	0/829***	0/761***	0/719***
فسفر		0/241	0/010	-0/214	-0/652**	0/456	0/893***	0/938***	0/961***
سیلت			0/237	-0/475*	-0/205	0/090	0/400	0/221	0/286
رس				-0/792***	-0/108	0/042	0/190	-0/142	-0/071
شن					0/379	-0/121	-0/363	0/001	-0/113
اسیدیته (pH)						-0/505	-0/743***	-0/521*	-0/531*
قابلیت هدایت الکتریکی							0/432	0/317	-0/491*
کربن آلی								0/851***	0/808***
پروتئاز									0/909***

***: P<0.001، **: P<0.01، *: P<0.05.

این مؤلفه شامل شن (0/665-)، سیلت (0/957) و رس (0/852-) است. مؤلفه سوم (PC3) که 15/44 درصد از واریانس داده‌ها را توضیح می‌دهد خصوصیات قابلیت هدایت الکتریکی (0/824-) و اسیدیته (pH) خاک (0/843) را به هم مرتبط می‌کند. نتایج آنالیز مولفه اصلی برای فصل تابستان متفاوت از فصل زمستان بوده به نحوی که 73 درصد واریانس کل داده‌ها توسط دو مولفه بیان شد. مولفه اول (PC1) که 52/81 درصد وارانس داده‌ها را بیان می‌کند شامل مولفه بیوشمیایی خاک است که پارامترهای نیتروژن، فسفر، کربن آلی خاک، آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز، اسیدیته (pH) و قابلیت هدایت الکتریکی را شامل می‌شود. مولفه دوم (PC2) که 20/15 درصد واریانس داده‌ها را توضیح می‌دهد شامل ذرات شن (0/950-)، سیلت (0/550) و رس (0/888) می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز مولفه اصلی با نتایج آنالیز همبستگی مطابقت دارد.

جدول 6- ماتریس آنالیز مولفه اصلی به کمک روش چرخش یافته خاک های ساحلی تالاب شادگان

داده‌های فصل زمستان			
متغیرها	**PC1**	**PC2**	**PC3**
نیتروژن	0/832	-0/138	0/104
فسفر	0/933	0/265	-0/016
سیلت	0/035	0/957	-0/226
رس	-0/156	-0/852	-0/288
شن	0/115	-0/665	0/518
اسیدیته (pH)	-0/183	0/142	0/843
قابلیت هدایت الکتریکی	-0/194	0/254	-0/824
کربن آلی	0/951	-0/129	0/000
آنزیم پروتئاز	0/952	0/063	-0/055
آنزیم آلکالین فسفاتاز	0/971	0/132	0/038
مقدار ویژه*	4/45	2/53	1/54
درصد واریانس	44/53	25/33	15/43
درصد تجمعی	44/53	69/86	85/30
داده‌های فصل تابستان			
متغیرها	PC1	PC2	-
نیتروژن	0/814	0/178	-
فسفر	0/978	0/076	-
سیلت	0/238	0/550	-
رس	-0/087	0/888	-
شن	-0/123	-0/950	-
اسیدیته (pH)	-0/693	-0/290	-
قابلیت هدایت الکتریکی	0/515	0/082	-
کربن آلی	0/917	0/301	-
آنزیم پروتئاز	0/946	-0/106	-
آنزیم آلکالین فسفاتاز	0/944	-0/010	-
مقدار ویژه*	5/28	2/01	-
درصد واریانس	52/80	20/15	-
درصد تجمعی	52/80	72/95	-

*** مقدار ویژه که عددی بزرگتر از واحد (یک) می باشد و تعیین کننده تعداد مولفه های اصلی در آنالیز چند متغییره PCA است.**

بحث

در این پژوهش مقادیر فسفر، نیتروژن کل و کربن آلی خاک در خاک های ساحلی تالاب شادگان در فصل تابستان بالاتر از فصل زمستان به دست آمد. همچنین مقادیر فسفر و کربن آلی خاک در عمق 15-0 سانتیمتری خاک بالاتر از عمق های 30-15 و 45-30 سانتیمتری بود، اما میزان نیتروژن کل در عمق 30- 15 سانتیمتری بالاتر از سایر عمق های مورد مطالعه به دست آمد. همانند سایر اکوسیستم‌های تالابی، در خاک‌های تحت پوشش گیاهی، غلظت مواد آلی، نیتروژن کل و فسفات در خاک‌های سطحی بیشتر بوده که با افزایش عمق مقدار این عناصر روندی کاهشی دارد که می‌تواند در اثر برگشت بقایای گیاهی به خاک سطحی باشد (گائو و همکاران، 2007، مائو و همکاران، 2007، پراستی و همکاران، 2009، شیلینگ و همکاران، 2009). پوشش گیاهی می‌تواند پروفایل عمقی توزیع عناصر را در نتیجه تغییر محیط خاک توسط پوشش گیاهی (رطوبت خاک، اسیدیته (pH) و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک) تحت تأثیر قرار دهد (وو و همکاران، 2010). معمولاً فسفر آلی در سطح خاک بیشتر از لایه‌های زیرین خاک است، به طور کلی فسفر و نیتروژن خاک در ارتباط با مواد

آلی خاک است و خاک‌هایی که مواد آلی بیشتری دارند، در این خاک‌ها فسفر آلی نیز بیشتر است (سالار دینی، 1391؛ حسین پور، 1387؛ کامنزیند و همکاران، 2018). در تحقیقی تأثیر نوع خاک و عمق بر روی برخی از خصوصیات شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه شامل کربن آلی و نیتروژن کل بررسی شده است که در خاک‌های سطحی مقادیر آن ها بالاتر از افق‌های پایینی خاک بود (عباسیان و همکاران، 1394) که با نتایج این تحقیق همخوانی داد.

مقدار مواد آلی خاک تابعی از عوامل مختلف از جمله اقلیم، خصوصیات خاک و مدیریت زراعی می‌باشد. واقع شدن ایران در منطقه خشک و نیمه خشک سبب گردیده تا بخش قابل توجهی از اراضی کشور از نظر مواد آلی وضعیت مطلوبی نداشته باشند. میزان مواد آلی خاک-های ساحلی تالاب شادگان نیز پایین می‌باشد. در بسیاری از تحقیقات میزان مواد آلی خاک‌های کشور بسیار پایین بوده به‌طوری که بیش از 63 درصد خاک‌های ایران مقادیر کمتر از یک درصد مواد آلی دارند (علی احیایی، 1380؛ شهبازی، 1386؛ شهبازی و بشارتی، 1392؛ طهرانی و همکاران، 1390). تجزیه خاک منطقه شادگان کمبود معنی‌دار مواد آلی، فسفات، شوری زیاد و خاصیت قلیایی متوسط تا نسبتاً بالایی را نشان داده است (مصطفی طهرانی و حسینی، 1394). بنابراین به‌نظر می‌رسد محتوای عناصر غذایی خاک و میزان کربن آلی آن به‌وسیله عوامل مختلف داخلی و خارجی مانند نوع اثرات متقابل، اسیدیته، سنگ مادری، غلظت عناصر در محیط یون‌ها، دما، رطوبت و شدت بهره‌برداری تحت تأثیر قرار می‌گیرد (ولی‌زاده یونجالی و همکاران، 1394؛ حسن، 1996).

فسفر، نیتروژن کل و کربن آلی خاک در نواحی دارای پوشش گیاهی بالاتر از خاک های بدون پوشش گیاهی به دست آمد ($P>0.05$). به‌طورکلی فسفر در خاک-های سنگین بیشتر از خاک‌های سبک بوده و به‌صورت فعال و غیرفعال (تبادل یونی) به وسیله گیاه جذب می‌شود (تمرتاش و همکاران، 1392؛ هراسک و همکاران، 2000). گونه های گیاهان و پوشش گیاهی منطقه و اسیدیته نیز می توانند بر میزان ترکیبات معدنی خاک مؤثر باشند (شوکلا و همکاران، 2004؛ گیلیام و دیک، 2010). میزان اسیدیته موجود در خاک بر مقادیر ترکیبات معدنی خاک مؤثر می‌باشد. بر اساس گزارش‌های موجود عناصر فسفات و نیتروژن کل در اسیدیته خنثی خاک می-توانند دست یافتنی‌تر باشند (همیلتون، 1972؛ هوو و همکاران، 1998)، که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می-کنند و در این پژوهش نیز میزان اسیدیته خاک در محدوده هفت و خنثی می‌باشد.

از جمله عوامل مؤثر بر غلظت عناصر غذایی در خاک شرایط محیطی مانند سنگ مادری، وضعیت توپوگرافی، ارتفاع از سطح دریا، آب و هوا می‌باشند (فاسینلی و همکاران، 2001؛ کویین و ژانگ، 2002؛ گورلیر و همکاران، 2012). به عبارت دیگر خاک مناطق مرتفع به دلیل افزایش میزان نزولات دارای رطوبت بیشتری بوده و دارای ارزش غذایی بالاتری برای رویش گیاهان می‌باشند (ولی‌زاده یونجالی و همکاران، 1394؛ حسن، 1996).

اندازه‌گیری آنزیم‌های خاک یک شاخص معمول و برجسته برای بیان فعالیت میکروبی و سرعت تغییر واکنش‌های بیوشیمیایی خاک و در نهایت کیفیت آن است، زیرا اولاً با سایر شاخص‌های کیفیت خاک در ارتباط است و ثانیاً سریع‌تر از بقیه خصوصیات خاک اثر تغییرات مدیریتی و اقلیمی را نشان می‌دهد (وود و همکاران، 1990؛ دیک و همکاران، 1997).

در این پژوهش آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در عمق 15-0 سانتیمتری خاک بالاتر از عمق های 30-15 و 45-30 سانتیمتری به دست آمد. بهشتی و همکاران (1390) نیز به روند توزیع مشابهی برای میزان فعالیت آنزیم‌ها نسبت به عمق رسیدند. در این زمینه نیز کاهش میزان آنزیم ها در عمق خاک توسط برخی محققان دیگر گزارش شده است. آن‌ها نسبت های بالای آنزیم هایی مانند اوره‌آز، فسفاتاز، آریل سولفاتاز، بتاگلوکوسیداز و دهیدروژناز را در افق سطحی گزارش کردند (برگ-استروم و همکاران، 1998؛ واسکوئز- موریتا و همکاران، 2007) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارند. بررسی توزیع فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در دو نوع خاک و شش عمق مختلف نشان داد که در هر دو نوع خاک، با افزایش عمق نمونه‌برداری میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (عباسیان و همکاران، 1394).

آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در نواحی دارای پوشش گیاهی بالاتر از خاک‌های بدون پوشش گیاهی به دست آمد ($P>0.05$). آنزیم‌های فسفاتاز با تسریع هیدرولیز پیوندهای استر ـ فسفات، سبب آزاد شدن فسفات در خاک شده که می‌تواند توسط گیاهان یا میکروارگانیسم ها جذب شود (آکوستا ـ مارتینز و همکاران، 2003؛ کالدول، 2005). این آنزیم‌ها به طور معنی‌داری تحت تأثیر اسیدیته خاک قرار دارند و محتوای ماده آلی یا میزان اختلال و دستکاری در خاک، نیز سطح در دسترس بودن فسفات را کنترل می‌کنند (آکوستا ـ

مارتینز و همکاران، 2007؛ اهلرس و همکاران، 2010). به دلیل اهمیت آنزیم فسفاتاز در تغذیه گیاهان، این آنزیم بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از سوی دیگر وجود مقادیر زیاد ترکیبات آلی در خاک سبب افزایش مقدار ترکیبات استری فسفات شده و در نتیجه باعث القای تولید آنزیم آلکالین فسفاتاز در خاک می‌گردد (عباسیان و همکاران، 1393؛ اوداواتا و همکاران، 2009). میزان آنزیم‌های خاک تحت تأثیر نوع خاک، نوع کاربری، پوشش گیاهی و طرح مدیریتی خاک قرار دارد (سیلوا و همکاران، 2019؛ لیو و همکاران، 2020). یکی از دلایل عمده تفاوت در میزان فعالیت آنزیم ها در خاک‌های مختلف، نوع خاک است، زیرا این عامل به نوعی بر سطح مواد آلی خاک، ترکیب و فعالیت میکرواورگانیسم‌ها تأثیر دارد (دباروس و همکاران، 2020؛ کویزمسکا و همکاران، 2020).

آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک-های ساحلی تالاب شادگان در فصل تابستان بالاتر از فصل زمستان به دست آمد. در تحقیقی میزان آنزیم اسید و آلکالین فسفاتاز در فصل بهار بالاتر از فصل پاییز گزارش شده است (متینی زاده و همکاران، 1394) که نتایج این تحقیق را مبنی بر بالاتر بودن مقادیر آنزیم‌ها در فصل تابستان سال تأیید می‌کند. در مطالعات و تحقیقات دیگر نیز بالا بودن فعالیت آنزیمی در فصول بهار و تابستان نسبت به فصول پاییز و زمستان تأیید شده است (مقیمیان و همکاران، 1398؛ چتان‌کومار و همکاران، 2008؛ متینی-زاده و همکاران، 2008؛ فیدرمان و همکاران، 2010؛ کوتروکزو و همکاران، 2014) که احتمالاً دلیل این مسئله رشد و نمو گیاهان در فصول بهار و تابستان می‌باشد (متینی زاده و همکاران، 1394)، البته باید توجه داشت که برخی مطالعات نیز پایین بودن فعالیت آنزیم ها در فصل تابستان نسبت به فصل زمستان گزارش کردند (شریف پور و همکاران، 1397). تفاوت فعالیت آنزیمی در خاک در فصول مختلف سال به دلیل تغییرات شرایط اقلیمی نظیر دما و رطوبت می‌باشد (کوتروکزو و همکاران، 2014؛ هوو و همکاران، 2015؛ هندریکسن و همکاران، 2016). همچنین تغییرات فصلی در فعالیت آنزیمی را می‌توان به جمعیت زیاد میکروبی ریزوسفر ریشه گیاهان در طول دوره رشد نسبت داد (ریچاردسون و همکاران، 2009)، بنابراین مقادیر آنزیم ها با پوشش گیاهی موجود در خاک منطقه ارتباط مستقیم دارد (پیوتروسکا ـ دلوگوسزل و ویلزوسکی، 2014).

نتایج همبستگی اسپیرمن نشان داد کربن آلی خاک همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری با نیتروژن، فسفر و آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز خاک‌های ساحلی داشت ($P<0.001$). درمورد داده های خاک برداشت شده در فصل تابستان، تقریباً نتایج مشابهی با داده‌های فصل زمستان به دست آمد. ارتباط معنی‌داری بین عناصر مورد مطالعه و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز با ذرات شن، سیلت و رس خاک وجود نداشته است. همچنین همبستگی مثبت و بسیار قوی بین بخش آلی خاک و عناصر نیتروژن و فسفر و آنزیم‌های برون سلولی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز وجود داشت ($P<0.001$). تفاوت عمده نتایج آنالیز همبستگی داده های فصل تابستان با فصل زمستان، تأثیر منفی و معنی‌دار اسیدیته خاک (pH) بر روی ماده آلی خاک ($P<0.001$)، آنزیم‌های پروتئاز، آلکالین فسفاتاز، علاوه بر قابلیت هدایت الکتریکی خاک است ($P<0.05$). در تحقیقی گزارش شده که ضریب همبستگی مثبت بین کربن آلی، نیتروژن کل، فسفات و آنزیم‌ها در سطح یک درصد آماری در خاک-های کرمان و شهرکرد وجود داشته است (عباسیان و همکاران، 1393).

در مطالعات و تحقیقات دیگر نیز ارتباط مثبت و معنی‌دار بین کربن آلی، نیتروژن کل و فسفات با مقادیر و فعالیت آنزیم‌ها گزارش شده است (متینی زاده و همکاران، 1394؛ اسمیت و رید، 2008؛ شرما و همکاران، 2010؛ ژئوو و همکاران، 2012؛ کوجور و همکاران، 2012؛ وانگ و همکاران، 2013) که نتایج این تحقیق را تأیید می‌کنند. بررسی توزیع فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در دو نوع خاک و شش عمق مختلف نشان داد که در هر دو نوع خاک، با افزایش عمق نمونه برداری میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (عباسیان و همکاران، 1394). در تحقیقی بر روی تالاب‌های ساحلی دریاچه بزرگ لائورنتیان[1] گزارش شده است که فعالیت آنزیمی خاک-های ساحلی آن علاوه بر اینکه به مقادیر عناصر نیتروژن، فسفر و کربن بستگی دارد به سایر شرایط محیطی نظیر پوشش گیاهی، شیمی آب و رسوبات تالاب، شرایط اکولوژی و فیزیولوژیکی مجموعه میکروبی (باکتری‌ها و قارچ‌ها) و وضعیت متابولیکی آن‌ها نیز وابسته می‌باشد (هیل و همکاران، 2006). این مسئله در مطالعات و تحقیقات توسط پژوهشگران دیگر نیز تأیید شده است (وتزل، 1991؛ فورمان و همکاران، 1998؛ سینسابائو و فورمان، 2003).

آنالیز مولفه اصلی داده‌های مورد مطالعه نشان داد که ارتباط قوی و مثبت بین عناصر غذایی نیتروژن کل، فسفر کل و کربن آلی خاک با فعالیت بیولوژیکی آنزیم-

[1] Laurentian

های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در دو فصل زمستان و تابستان وجود داشت. همچنین یافته‌های آنالیز مولفه اصلی، نتایج همبستگی اسپیرمن را درمورد عناصر غذایی و فعالیت آنزیمی تأیید می‌کند. وجود مواد مغذی در زیست توده گیاهان و انتقال به خاک می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیمی شود (توراپ ـ کریستنسن و همکاران، 2003) که درمورد آنزیم آلکالین فسفاتاز اثبات شده است (توراپ ـ کریستنسن و درسبول، 2010). همچنین در تحقیق دیگری گزارش شده است که فعالیت آلکالین فسفاتاز در طول فصول مختلف سال به گیاهان موجود بستگی دارد (نانیپیری و همکاران، 2011). معمولا کاهش کربن آلی خاک موجب کاهش فعالیت آنزیمی می شود که نتیجه کاهش زیست توده میکروبی و تغییر در ترکیب رشد و توسعه ریشه و میکروفلور خاک می‌باشد. بنابراین افزایش مواد آلی نه تنها از طریق افزایش فعالیت میکروبی، بلکه از طریق پایدارسازی آنزیم فسفاتاز در خاک باعث افزایش فعالیت این آنزیم می ود. افزایش فعالیت آنزیمی با افزایش مواد آلی به علت وابستگی فعالیت میکروبی و آنزیم تولید شده به عرضه سوبسترای کربن می‌باشد (شیخلو و همکاران، 1395؛ خادمی و همکاران، 2006).

نتیجه‌گیری

تغییرات غلظت ماده آلی، نیتروژن کل، فسفات خاک و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز همراه با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (درصد ذرات شن، سیلت و رس، اسیدیته و قابلیت هدایت الکتریکی) در دو فصل زمستان 97 و تابستان 98 در سه عمق 15-0 ، 30-15 و 45-30 سانتی متری در خاک‌های ساحلی بدون پوشش و تحت پوشش گیاهی تالاب شادگان مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعه نشان داد که تغییرات فصلی، پوشش گیاهی و عمق خاک به ترتیب بر مقدار نیتروژن کل، فسفر و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز تأثیر معنی‌داری داشته است ($P<0.001$). تغییرات فصلی اثر معنی‌داری بر مقدار ماده آلی خاک نداشته در صورتی که پوشش گیاهی و عمق خاک به طور معنی‌داری مقدارکربن آلی خاک در خاک ساحلی تالاب شادگان را تحت تأثیر قرار داده‌اند ($P<0.001$). نتایج بررسی تغییرات پروفایل عمقی عناصر و آنزیم‌های مورد مطالعه نشان داد که غلظت عناصر غذایی و همچنین فعالیت آنزیم‌های بیرون سلولی پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌های تحت پوشش گیاهی بیشتر از خاک‌های بدون پوشش بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در خاک‌ها سطحی و میانی (30-15 سانتیمتری) در مناطق دارای پوشش گیاهی در فصل تابستان بیشتر بوده که این موضوع ارتباط مستقیم و معنی-دار با نیتروژن کل، فسفر و کربن آلی خاک داشت، زیرا این عناصر غذایی در عمق 30-0 سانتیمتری خاک منطقه دارای پوشش گیاهی در فصل تابستان مقادیر بیشتری داشتند. در نهایت آنالیز مولفه اصلی و همبستگی اسپیرمن نیز ارتباط قوی و مثبت بین عناصر غذایی نیتروژن کل، فسفر کل و کربن آلی خاک با فعالیت زیستی آنزیم های پروتئاز و آلکالین فسفاتاز را تأیید کردند.

فهرست منابع:

1. بهشتی، ع.، رئیسی، ف. و گلچین، ا. 1390. اثرات آشفتگی ناشی از تبدیل اراضی جنگلی به کشاورزی بر برخی شاخص های بیولوژیک کیفیت خاک در اکوسیستم های جنگلی شمال ایران. نشریه بوم شناسی کشاورزی، 3، 453-439.
2. پرویزی، ی. و رونقی، ع. 1381. تأثیر نیتروژن کل و منگنز بر قابلیت استفاده برخی عناصر غذایی خاک تحت کشت گیاهان مختلف. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، 6 (1)، 103-93.
3. تمرتاش، ر.، جعفری، م.، حیدری شریف آباد، ح.، زاهدی امیری، ق. و زهتابیان، غ.ر. 1392. تعیین رابطه عناصر تغذیه‌ای در برخی گونه‌های مرتعی و خاک اکوسیستم‌های مرتعی منطقه طالقان. نشریه حفاظت زیست بوم گیاهان، 1 (3)، 30-15.
4. حسین‌پور، ع.ر. 1387. شیمی و حاصلخیزی خاک. انتشارات دانشگاه پیام نور، 220 صفحه.
5. خلفه نیل ساز، م.، اسماعیلی، ف.، سبز علیزاده، س.، اسکندری، غ.ر.، انصاری، ه. و آلبوعبید، ص. 1395. پایش اکولوژی تالاب شادگان. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور -پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور، 116 صفحه.

6. سالار دینی، ع. 1391. کودها و حاصلخیزی خاک. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ نهم. 434 صفحه.
7. شریف پور، ی.، حبشی، ه. و علی‌عرب، ع.ر. 1397. تغییرات فصلی فعالیت مطلق و ویژه اسید فسفاتاز در رقابت ریزوسفری نهال‌های لندمازو و پلت در کشت خالص و آمیخته. مجله زیست شناسی خاک، 6 (1)، 75-65.
8. شهبازی، ک. 1386. گزارش نهایی تهیه بانک اطلاعات مکان‌دار حاصلخیزی خاک در کشور. مؤسسه تحقیقات خاک و آب، ایران. شماره 1354.
9. شهبازی، ک. و بشارتی، ح. 1392. بررسی اجمالی وضعیت حاصلخیزی خاک‌های کشاورزی ایران. نشریه مدیریت اراضی، 1 (1)، 15-1.
10. شیخلو، ف. و رسولی صدقیانی، م.ح. 1395. تأثیر کاربری های زراعی و جنگلی بر فعالیت برخی آنزیم‌های خاک. مجله تحقیقات آب و خاک ایران، 47 (1)، 216-205.
11. طهرانی، م.م.، پسندیده، م. و داودی، م.ح. 1390. گزارش نهایی تعیین پراکنش و توصیه عناصر کم مصرف در اراضی تحت کشت آبی استان‌های گیلان، مازندران، همدان، کرمانشاه، آذربایجان و اصفهان. موسسه تحقیقات خاک و آب ایران. شماره 1618.
12. عباسیان، ا.، گلچین، ا. و شکل آبادی، م. 1393. بررسی برخی از فعالیت های آنزیمی دو خاک هیستوسول و ارتباط آن‌ها با خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی خاک. نشریه زیست شناسی خاک، 2 (2)، 124-111.
13. عباسیان، ا.، گلچین، ا. و شکل آبادی، م. 1394. بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی و فعالیت‌های آنزیمی خاک تحت تأثیر نوع خاک و عمق نمونه‌برداری. نشریه زیست شناسی خاک، 3 (1)، 43-31.
14. علی احیایی، م. 1380. تهیه نقشه عناصر ریز مغذی در خاک‌های زراعی استان‌های کرمانشاه، تهران، قم و گرگان. موسسه تحقیقات خاک و آب، ایران. شماره 1265.
15. متینی زاده، م.، خوشنویس، م.، آرمند، ن.، علی زاده، ط. و شمس آبادی، ف. 1394. رابطهٔ همزیستی میکوریزی با عناصر غذایی نیتروژن کل، فسفات و پتاسیم و آنزیم‌های خاک ریزوسفر شن (*Lonicera nummulariifolia*) در رویشگاه چهارطاق اردل. مجله جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران، 7 (3)، 340-329.
16. مصطفی طهرانی، ع. و حسینی، س.م. 1394. بررسی وضعیت برخی عناصر معدنی در خاک، علوفه و خون دام‌های منطقه شادگان در استان خوزستان. فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی، 4 (15)، 90-81.
17. مقیمیان، ن.، حسینی، س.م.، کوچ، ی. و زارعی دارکی، ب. 1398. پویایی مشخصه‌های بیوشیمی و میکروبیولوژی خاک در مدیریت های مختلف اراضی ناحیه هیرکانی غربی. تحقیقات آب و خاک ایران، 50 (4)، 1021-1009.
18. ولی‌زاده یونجالی، ر.، میرزایی آقجه قشلاق، ف. و قربانی، ا. 1394. مقایسه عناصر غذایی خاک و گیاهان مرتعی بر اساس طبقات ارتفاعی و مراحل زیستگرد در دامنه‌های شمالی سبلان. نشریه علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، 19 (73)، 246-233.
19. Acosta-Martinez, V., Klose, S. and Zobeck, T.M. 2003. Enzyme activities in semiarid soils under conservation reserve program, native rangeland, and cropland. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 166: 699-707.
20. Acosta-Martinez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramirez, D. and Perez-Alegria, L. 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. Applied Soil Ecology, 35: 35–45.
21. Allison, V.J., Condron, L.M., Peltzer, D.A., Richardson, S.J., and Turner, B.L. 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and

nutrient gradients at the Franz Joseph chronosequence, New Zealand. Soil Biology and Biochemistry, 39: 1770–1781.
22. Alvarez, S., and Guerrero, M.C. 2000. Enzymatic activities associated with decomposition of particulate organic matter in two shallow ponds. Soil Biology Biochemistry, 32: 1941–1951.
23. Asha, B. and Palaniswamy, M. 2018. Optimization of alkaline protease production by Bacillus cereus FT 1 isolated from soil. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 8 (2): 119-127.
24. ASTM, 1991. Standard guide for collection, storage, characterization and manipulation of sediments for toxicological testing. Philadelphia, 1391-90.
25. Bandick, A.K. and Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. Soil Biology and Biochemistry, 31:1471–1479.
26. Bastida, F., Zsolnay, A., Hernandez T. and Garcia, C. 2008. Past present and future of soil quality indices: A biological perspective. Geoderma, 160-167.
27. Bergstrom, D.W, Monreal, C.M. and King, D.J. 1998. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. Soil Science Society of America Journal, 62: 1286–1295.
28. Burns, R.G. 1983. Extra cellular enzyme–substrate interactions in soil. In: Slater JH, Wittenbury R, Wimpenny JWT (eds) Microbes in their natural environment. Cambridge University Press, London, pp 249–298.
29. Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. Pedobiologia, 49: 637–644.
30. Camenzind, T., Hattenschwiler, S., Treseder, K.K., Lehmann, A. and Rillig, M.C. 2018. Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical forests. Ecological Monographs, 88 (1): 4–21.
31. Chethan Kumar, K.V., K.R. Chandrashekar, and R. Lakshmipathy, 2008. Variation in arbuscular mycorrhizal fungi and phosphatase activity associated with *Sida cardifolia* in Karnataka. World Journal of Agricultural Sciences, 4: 770-774.
32. Cui, J., Wang, J.J., Xu, J., Xu, C.H. and Xu, X. N. 2017. Changes in soil bacterial communities in an evergreen broad-leaved forest in east China following 4 years of nitrogen addition. Journal Soils Sediments, 17: 2156.
33. Dai, Z.M., Su, W.Q., Chen, H.H., Barberan, A., Zhao, H.C., Yu, M.J., et al. 2018. Long-term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of Actinobacteria and Proteobacteria in agro-ecosystems across the globe. doi: 10.1111/gcb.14163.
34. De Barros, J.A., De Medeiros, E.V., Da Costa, D.P., Duda, G.P., De Sousa Lima, J.R., Dos Santos, U.J., Dantas Antonino, A.C. and Hammecker, C. 2020. Human disturbance affects enzyme activity, microbial biomass and organic carbon in tropical dry sub-humid pasture and forest soils. Archives of Agronomy and Soil Science, 66 (4): 458-477.
35. Dick, R.P., Sandor, J.A. and Eash, N.S. 1994. Soil enzyme activities after 1500 years of terrace agriculture in the Colca Valley, Peru. Agriculture, Ecosystems & Environment, 50: 123–131.
36. Dick RP, Breakwell DP. and Turco, R.F. 1997. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: Methods for assessing soil quality. Soil Science Society of America. Madison, WI, pp 9–17.
37. Dick, R.P. 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) Biological indicators of soil health. CAB International, Wellingford, pp 121–156.
38. Ehlers, K., Bakken, L.R., Frostegard, A., Frossard, E. and Bunemann, E.K. 2010. Phosphorus limitation in a Ferralsol: impact on microbial activity and cell internal P pools. Soil Biology and Biochemistry, 42: 558-566.

39. Facchinelli, A., Sachi E. and Mallen, L. 2001. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. Environment Pollution, 114: 313-324.
40. Faucon, M.P., Colinet, G., Mahy, G., Ngongo Luhembwe, M., Verbruggen, N. and Meerts P. 2009. Soil influence on Cu and Co uptake and plant size in the cuprophytes *Crepidorhopalon perennis* and *C. tenuis* (Scrophulariaceae) in SC Africa. Plant Soil, 317: 201–212.
41. Feddermann, N., Finaly, R., Boller, T. and Elfstrand, M. 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza – the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency. Fungal Ecology, 3 (1): 1-8.
42. Foreman, C.M., Franchini, P. and Sinsabaugh, R.L. 1998. The trophic dynamics of riverine bacterioplankton: relationships among substrate availability, ectoenzyme kinetics and growth. Limnology and Oceanography, 43: 1344–1352.
43. Gao, J., Bai, F., Yang, G. and Ou, W. 2007. Distribution characteristics of organic carbon, nitrogen, and phosphor in sediments from differentecologic zones of tidal flats in north Jiangsu province. Quarter Science, 27: 756–765.
44. Gilliam, F.S. and Dick, D.A. 2010. Spatial heterogeneity of soil nutrients and plant species in herb-dominated communities of contrasting land use. Plant Ecology, 209: 83–94.
45. Gorlier, A., M. Lonatti, M. Renna, C. Lussiana, G. Lombardi and L. M. Battaglini. 2012. Changes in pasture and cow milk compositions during a summer transhumance in the western Italian Alps. Journal of Applied Botany and Food Quality, 85 (2): 216 -223.
46. Guo, H., X. He, and Y. Li, 2012. Spatial distribution of arbuscular mycorrhiza and glomalin in the rhizosphere of *Caragana korshinskii* Kom. in the Otindag sandy land, China, African Journal of Microbiology Research, 6 (28): 5745-5753.
47. Hale, R.L., Grimm, N.B., Vorosmarty, C.J. and Fekete, B. 2015. Nitrogen and phosphorus fluxes from watersheds of the northeast US from 1930 to 2000: role of anthropogenic nutrient inputs, infrastructure, and runo. Glob. Biogeochemistry Cycles, 29: 341-356.
48. Hamilton J.W. and Gilbert C.S. 1972. Composition of Wyoming range plant and soil. Agricultural Experiment Station. University of Wyoming. Research Journal, 55:1-14.
49. Hasan, R.1996. Phosphorus status of soils in India. Better Crops International, 10 (2): 1-4.
50. Hendriksen, N.B., Creamer, R.E., Stone, D.and Winding, A. 2016. Soil exo-enzyme activities across Europe the influence of climate, land-use and soil properties. Applied Soil Ecology 97: 44–48.
51. Hill, B.H., Elong, C. M., Jicha, T. M., Cotter, A. M., Trebitz, A. S., and Danz, N. P. 2006. Sediment microbial enzyme activity as an indicator of nutrient limitation in Great Lakes coastal wetlands. Freshwater Biology, 51 (9): 1670–1683.
52. Hou, E., Chen, C., Wen, D. and Liub, X. 2015. Phosphatase activity in relation to key litter and soil properties in mature subtropical forests in China. Science of the Total Environment, 515–516: 83–91.
53. Hrask J., Fugas M. and Vadjic V. 2000. Soil contamination by Pb, Zn and Cd from lead smeltery. Environmental Monitoring and Assessment, 60: 359–36.
54. Hue N.V., Uchida R., Ho M.C. 1998. Empirical models for the uptake of inorganic chemicals from soil by plants. U.S Department of Energy Office of Environmental Management. 120p.
55. Jing X, Chen X, Tang M, Ding Z, Jiang L, Li P, et al. 2017. Nitrogen deposition has minor affect on soil extracellular enzyme activities in six Chinese forests. Science of the Total Environment, 607–608: 806–815..
56. Khademi, H., mohammadi, J. and Nael, M. 2006. Comparison of selected soil quality indicators in different land use management systems in Boroojen, Chaharmahal Bakhtiari province, The Scientific Journal of Agriculture. 29: 111-124.

57. Khan, Z.I., Hussain, A., Ashraf, M., Ashraf, M.Y. and Yousaf, M. 2004. A review on mineral imbalance in grazing livestock and usefulness of soil, dietary components, animal tissue and fluid analysis in the assessment of these imbalances. Journal of Animal Veterinary advances, 3: 394-412.
58. Khaziyev, F.K. and Gulke, A.Y. 1991. Enzymatic activity of soils under agrocenosesa: status and problems. Pochvovedenie, 8: 88–103.
59. Kotroczo Z., Veres Z., Fekete I., Krakomperger Z., Toth J.A., Lajtha K., Tothmeresz B. 2014. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation. Soil Biology and Biochemistry, 70: 237–243.
60. Kujur, M., Gartia, S.K. and Patel, A.K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on enzyme activities in dry tropical ecosystems. Journal of Agricultural and Biological Science, 7: 763-772.
61. Kuziemska, B., Wysokinski, A. and Trebicka, J. 2020. The effect of different copper doses and organic fertilisation on soil's enzymatic activity. Plant, Soil and Environment, 66 (2): 93–98.
62. Lashermes G, Gainvors-Claisse A, Recous S, Bertrand I. 2016. Enzymatic Strategies and Carbon Use Efficiency of a Litter-Decomposing Fungus Grown on Maize Leaves, Stems, and Roots. Frontiers in Microbiology, p 7.
63. Li, Q., Liang, J.H., He, Y.Y., Hu, Q.J. and Yu, S. 2014. Effect of land use on soil enzyme activities at karst area in Nanchuan, Chongqing, Southwest China. Plant, Soil and Environment, 60 (1): 15–20.
64. Lin C., Zhu T., Liu L. and Wang D. 2010. Influences of major nutrient elements on Pb accumulation of two crops from a Pb-contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, 174: 202–208.
65. Liu, J., Chen, J., Chen, G., Guo, J. and Li, Y. 2020. Enzyme stoichiometry indicates the variation of microbial nutrient requirements at different soil depths in subtropical forests. PLoS ONE 15 (2): e0220599.
66. Mao, Z., Wang, G., Liu, J. and Ren, L. 2009. Influence of salt marsh vegetation on spatial distribution of soil carbon and nitrogen in Yanchengcoastal wetland. Chinese Journal of Applied Ecology, 20, 293–297.
67. Matinizadeh, M. S.A.A. Korori, M. Teimouri and W. Praznik. 2008. Enzyme Activities in Undisturbed and Disturbed Forest Soils Under Oak (*Quercus brantii* var. *persica*) as Affected by Soil Depth and Seasonal Varriation. Asian Journal of Plant Sciences, 7 (4): 368-374.
68. McLaren, A.D. 1975. Soil as a system of humus and clay immobilized enzymes. Chemica Scripta, 8: 97–99.
69. Moorhead, D.L., Sinsabaugh, R.L., Hill, B.H. and Weintraub, MN. 2016. Vector analysis of ecoenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics. Soil Biology and Biochemistry, 93: 1–7.
70. Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L. and Renella, G. 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. Soil Biology, 26: 215-243.
71. Piotrowska-Dlugosz, A. and Wilczewski, E. 2014. Soil Phosphatase Activity and Phosphorus Content as Influenced by Catch Crops Cultivated as Green Manure. Polish Journal Environmental Studies, 23 (1): 157-165.
72. Prusty, B. A. K., Chandra, R. and Azeez, P. A. 2009. Distribution of carbon, nitrogen, phosphorus, and sulfur in the soil in a multiple habitatsystem in India. Australian Journal of Soil Research, 47, 177–189.
73. Quine T.A. and Zhang Y. 2002. An investigation of spatial variation in soil erosion, soil properties and crop production within an agricultural field in Devon, U.K. J. Soil and Water Conserversation, 57: 50-60.

74. Richardson, A.E., Barea J.M., McNeill, A.M., Prigent-Combaret, C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by Microorganisms. Plant Soil, 321: 305.
75. Rotanova, T.V., Melnikov, E.E., Khalatova, A.G., Makhovskaya, O.V., Botos, I., Wlodawer, A., Gustchina, A. 2004. Classification of ATP-dependent proteases Lonand comparison of the active sites of their proteolytic domains. European Journal of Biochemistry, 271: 4865–4871.
76. Rydin, H. and Jeglum, J.K., 2013. The Biology of Peatlands. 2nd ed. Oxford University Press.
77. Schilling, K. E. et al. Vertical distribution of total carbon, nitrogen and phosphorus in riparian soils of Walnut Creek, southern Iowa.CATENA. 77, 266–273 (2009).
78. Sharma, C.M., Baduni, N.P., Gairola, S., Ghildiyal, S.K. and Suyal, S. 2010. Tree diversity and carbon stocks of some major forest types of Garhwal Himalaya, India. Forest Ecology and Management, 260: 2170-2179.
79. Shukla, M.K., Lal R. and Ebinger, M. 2004. Principal component analysis for predicting corn biomass and grian yield. Soil Science, 169: 215-224.
80. Silva, E.O., Medeiros, E.V., Duda, G.P., Lira-Junior, M.A, Brossard, M., Oliveira J.B., Santos, U.J. and Hammecker, C. 2019. Seasonal effect of land use type on soil absolute and specific enzyme activities in a Brazilian semi-arid region. Catena, 172:397–407.
81. Singh, S.K., Singh, S.K., Tripathi, V.R., Khare, S.K., Garg, S.K., 2011. A novel psychrotrophic, solvent tolerant Pseudomonas putida SKG-1 and solvent stabilityof its psychro-thermoalkalistable protease. Process Biochemistry, 46, 1430–1435.
82. Sinsabaugh, R.L., Antibus, R.K. and Linkins, A.E. 1991. An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. Agriculture, Ecosystems and Environment, 34: 43–54.
83. Sinsabaugh, R.L. and Foreman, C.M. 2003. Integrating dissolved organic matter metabolism and microbial diversity: an overview of conceptual models. In: Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter (Eds S.G. Findlay & R.L. Sinsabaugh), pp. 425–454. Academic Press, New York.
84. Six, J., Elliot, E.T. and Paustian, K. 2000. Soil macroaggregate turn over and microaggregate formation for C sequestration under no-tillage agriculture. Soil Biology and Biochemistry, 32: 2099-2103.
85. Smith, S.E., and D.J. Read, 2008. Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press, London, 800 pp.
86. Svetlana, L. and Slavkovi, L. 2006. Inorganic analysis of herbal drugs. Part II. Plant and soil analysis–diverse bioavailability and uptake of essential and toxic elements. Journal of the Serbian Chemical Society, 71 (10): 1095-1105.
87. Suttle, F.N. 2010. Mineral nutrition of livestock, 4th Edition. Midlothian CABI International, Wallingford, UK.
88. Tabatabai, M.A. 1994. Soil enzymes. PP: 775–833. In: R.W. Weaver, J.S. Angle and P.J. Bottomley (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Microbiological and Biochemical Properties. SSSA, Madison.
89. Thorup-Kristensen, K., Magid, J., Jensen L.S. 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. Advance Agronomy, 79: 227.
90. Thorup-Kristensen, K., Dresboll, D.B. 2010. Incorporation time of nitrogen catch crops influences the N effect for the succeeding crop. Soil Use Manage. 26: 27.
91. Udawatta, R.P., Kremer, R.J., Garrett, H.E. and Anderson, S.H. 2009. Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems. Agriculture, Ecosystems and Environment 131: 98-104.

92. United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1996. Method 3050B: Acid digestion of sediments sludges and soils (revision 2).
93. Vasquez-Murrieta, M.S., Govaerts, B. and Dendooven, L. 2007. Microbial biomass C measurements in soil of the central highlands of Mexico. Applied Soil Ecology 35: 432-444.
94. Wang, Q., Xiao, F., He, T. and Wang, S. 2013. Responses of labile soil organic carbon and enzyme activity in mineral soils to forest conversion in the subtropics. Annals of Forest Science 70: 579-587.
95. Wang, Q., Wang, C., Yu, W., Turak, A., Chen, D., Huang, Y., Ao, J., Jiangm, Y. and Huang, Z. 2018. Effects of Nitrogen and Phosphorus Inputs on Soil Bacterial Abundance, Diversity, and Community Composition in Chinese Fir Plantations. Front. Microbiol. 9: 1543.
96. Wetzel R.G. 1991. Extracellular enzymatic interactions: storage, redistribution, and interspecific communication. In: Chrost RJ (ed) Microbial enzymes in aquatic environments. Springer-Verlag, New York, p 6–28.
97. Wood C. W. Westfall D. G. Peterson G. A. and Bruke I. C. 1990. Impacts of cropping intensity on carbon and nitrogen mineralization under no-till dryland agro-ecosystems. Agronomy Journal, 82(6): 1115-1120.
98. Wu, G., Liu, Z. H., Zhang, L., Hu, T. and Chen, J. 2010. Effects of artificial grassland establishment on soil nutrients and carbon properties in a black-soil-type degraded grassland. Plant Soil, 333: 469–479.

بررسی تأثیر کشت چمن و کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های کیفی خاک

نادیا امامی، اکبر حسنی[1]، علی‌رضا واعظی و محمد بابا اکبری ساری

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی خاک، بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان؛ **nadiaemami52@gmail.com**

استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان؛ **Akbar.hassani@znu.ac.ir**

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان؛ **vaezi.alireza@znu.ac.ir**

استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان؛ **babaakbari@znu.ac.ir**

دریافت: **98/8/11** و پذیرش: **99/7/23**

چکیده

نوع پوشش گیاهی، بر برخی ویژگی‌های خاک مانند جرم مخصوص ظاهری، قابلیت جذب عناصر غذایی و کربن آلی خاک تأثیرگذار است. نوع مدیریت تغذیه چمن نیز عامل مهمی در نوع تأثیر چمن بر خاک زیرین آن می‌باشد. استفاده از کودهای زیستی در تغذیه چمن که هم‌زمان قادر به بهبود ویژگی‌های کیفی خاک و افزایش رشد چمن و باشد و از طرف دیگر تأثیر زیان‌بار بر محیط زیست نداشته باشد، نقش قابل توجهی در حفظ محیط زیست دارد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر کود اوره و کود زیستی محتوی باکتری تثبیت کننده نیتروژن (*Pantoea agglomerans*) بر کیفیت خاک زیر چمن بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش گلدانی و در گلخانه با 5 تیمار 1- خاک بایر (Br)، 2-کشت چمن رقم اسپیدی گرین به روش متعارف (Gr)، 3-کشت چمن + اوره (GrU)، 4-کشت چمن + کود زیستی محتوی باکتری*Pantoea agglomerans* (GrPA) و 5- کشت چمن + کود محتوی *Pantoea agglomerans* + کود محتوی باکتری‌های محرک رشد (GrPP) و سه تکرار انجام شد. وزن تر چمن همراه با برخی ویژگی‌های خاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که کشت چمن و کاربرد کود زیستی محتوی باکتری *Pantoea agglomerans* در تیمار چهار سبب تشکیل خاکدانه‌های بزرگتری نسبت به تیمار خاک بایر شد اما روی پایداری خاکدانه‌ها در روش الک تر تأثیر معنی‌دار نداشت. کودهای زیستی و کود اوره باعث چمن شدند. کشت چمن به تنهایی در خاک سبب افزایش غلظت کربن آلی خاک، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم قابل جذب در خاک شد اما تأثیر کودهای زیستی معنی‌دار نبود. بیشترین مقدار نیتروژن کل و کربن آلی خاک، در تیمار کود اوره دیده شد. به طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان کاربرد کودهای زیستی را حداقل در شرایط این پژوهش به عنوان بخشی از برنامه تغذیه چمن در افزایش رشد آن و بهبود برخی ویژگی‌های خاک توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: پایداری خاکدانه، کربن آلی خاک، نیتروژن خاک.

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک

مقدمه

خاک از منابع مهم در سیستم‌های تولید محصولات کشاورزی بوده و تخریب یا کاهش ویژگی-های کیفی آن در عملکرد و ایفای نقش آن از جنبه تولید اقتصادی محصولات، کارکرد صحیح اکوسیستم و حفظ محیط زیست قابل توجه است (سرچشمه پور و همکاران، 1395). تأثیر کشت گیاهان مختلف روی کیفیت خاک را می‌توان با اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک ارزیابی کرد؛ از سویی، درک مکانیسم صحیح اثر کشت گیاهان مختلف روی کیفیت خاک، می‌تواند راهکاری مناسب برای تصمیم‌گیری در مدیریت خاک و اراضی در مناطق مختلف باشد. نوع پوشش گیاهی بر کیفیت خاک زیرین تأثیرگذار است. به عنوان مثال اسدیان و همکاران (1392) گزارش نمودند که در بین جنگل کاج، جنگل ون و کشاورزی، پایین‌ترین شاخص کیفیت خاک در جنگل کاج دیده شد. وحدت خواه و همکاران (1392) نیز گزارش نمودند که کیفیت خاک در پوشش باغ میوه، زراعی و باغ پسته نسبت به خاک بایر بهتر بوده است. عسکری و هولدن (2014) کیفیت خاک زیرین چمنزارهای مرتعی ایرلند را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که نوع مدیریت مرتع بر هرکدام از شاخص‌های کیفیت خاک زیرین به نحو متفاوتی تأثیرگذار می‌باشد و تشدید مدیریتی مرتع روی کیفیت خاک تأثیر منفی می‌گذارد.

از طرف دیگر نیاز به توسعه فضای سبز، بوستان‌ها و پارک‌ها در جوامع شهری و صنعتی امروز بر هیچ کس پوشیده نیست. در این میان چمن مهم‌ترین گیاه پوششی در احداث فضاهای سبز، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. چمن نیز با تأثیر بر برخی ویژگی‌های خاک زیرین ممکن است کیفیت خاک را تحت تأثیر قرار دهد. گزارش شده است که چمن باعث افزایش نفوذپذیری آب در خاک زیرین می‌شود و با کاهش فرسایش خاک سطحی به حاصلخیزتر شدن تدریجی آن کمک می‌کند (گروس و همکاران، 1990). همچنین در خاک زیرین چمن‌زارها، تعداد کرم‌های خاکی (پوتر و همکاران، 1390) و جمعیت میکرواوگانیسم‌ها (اسمیت وهمکاران، 1390) نسبت به خاک بایر خیلی بیشتر می‌باشد که به بهبود کیفیت آن نیز کمک می‌کنند. چمن مانند سایر گیاهان، با فتوسنتز و تولید ترکیبات آلی و باقی گذاشتن آن در خاک، به مرور زمان به افزایش مواد آلی در خاک کمک می‌کند و با افزایش مواد آلی خاک، کیفیت آن نیز به تدریج افزایش می‌یابد (سیمز و سینگ، 1978). با این وجود به نظر می‌رسد تأثیر چمن زمین بر برخی ویژگی‌های خاک مانند تشکیل و پایداری خاکدانه‌ها هنوز به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است و نیاز به بررسی بیشتری دارد.

نوع مدیریت نگهداری چمن مانند نوع تغذیه، دور آبیاری و فاصله زمانی چمن‌زنی از عوامل مهمی است که تأثیر زیادی بر برخی مسائل جانبی مانند بهینه نمودن کارایی مصرف آب، کیفیت خاک زیرین و حفظ محیط زیست دارد. مشاهده شده است که مقدار کل کربن ترسیب شده در یک چمن‌زار با مقدار کربن رها شده به اتمسفر برابر بوده است (تاوزنداسمال و سیمزیک، 2010). کاربرد کودهای شیمیایی مانند اوره از یک طرف رشد چمن را زیاد کرده و سبب تولید ماده آلی بیشتری شده و کیفیت خاک را بهبود می بخشد اما از سمت دیگر ممکن است منجر به افزایش تولید گازهای گلخانه‌ای نیز گردد. براون و همکاران نیز (2017) تاثیر کشت چمن و کوددهی آن را در تولید گاز نیتروس‌کساید در چمن‌زار بررسی نموده و گزارش کردند که کاربرد کود اوره موجب افزایش تصاعد گاز نیتروزکساید نسبت به تیمار کنترل می‌شود. در این میان استفاده از کودهای زیستی که هم-زمان قادر به افزایش رشد چمن باشد، روی کیفیت خاک تأثیر مثبت داشته باشد و از طرف دیگر تأثیر زیان‌بار بر محیط زیست نداشته باشد نقش قابل توجهی دارد. کودهای زیستی از باکتری‌ها و همچنین قارچ‌های مفیدی تشکیل شده‌اند که هر یک به منظور خاصی، مانند تثبیت نیتروژن و رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آن‌ها تولید می‌شوند. این باکتری‌ها بیش از یک نقش داشته و علاوه برکمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌های گیاه و بهبود ساختمان خاک و در نتیجه تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول می‌شوند (مهدی و همکاران، 2010).

باکتری پانتوآ آگلومرانز (*Pantoea agglomerans*) به عنوان یک تثبیت کننده نیتروژن نوعی باکتری گرم منفی میله‌ای بدون اسپور متحرک، دارای بیش از یک تاژک با ابعاد بین 0/5 تا 3 میکرومتر متعلق به شاخه *Proteobacteria* وخانواده *Enterobacteriaceae* می‌باشد که با نام‌های *Enterobacter agglomerans* و همچنین *Erwinia herbicola* نیز شناخته می‌شود (دوتکیویز و همکاران، 2015). برای اولین بار دو سویه از این باکتری که قادر به تثبیت نیتروژن بودند در سال 1977 از روده موریانه‌ها جداسازی شدند (پورتیکس و برزناک، 1977). سویه‌های مختلف این باکتری به صورت اندوفیت

در داخل ریشه گیاهان و یا چسبیده به سطح ریشه و یا در خاک ریزوسفری زندگی کرده و با تثبیت نیتروژن به صورت آزادزی و یا تولید برخی هورمون‌های رشد مانند اکسین و جیبرلین به رشد گیاهان کمک می‌کند (فنگ و همکاران، 2006). همچنین گزارش شده است که این باکتری با تولید برخی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در مقابله با برخی بیماری‌ها به گیاهان کمک می‌کند (استوکول و همکاران، 2002). از این باکتری در این پژوهش به عنوان یک باکتری تثبیت کننده نیتروژن آزادزی استفاده شد. کود زیستی محتوی باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas koreensis*، *Pseudomonas vancouverensis* و *Pseudomonas putida* با داشتن ویژگی‌هایی مانند تولید سیدروفور، کاهش تولید اتیلن در گیاهان (جاکوبسون و همکاران، 1994) ، تولید هورمون رشد (پاتن و گلیک، 2002)، افزایش مقاومت گیاهان و مبارزه با عوامل بیماری‌زا (برنال و همکاران، 2017) باعث افزایش رشد در گیاهان می‌شوند.

بر این اساس هدف از این پژوهش در ابتدا تأثیر کشت گیاهی چمن بر کیفیت خاک زیرین و در مرحله بعدی تأثیر نوع مدیریت تغذیه چمن بر اساس جایگزینی کود زیستی محتوی باکتری تثبیت کننده نیتروژن *Pantoea Agglomerans* و محرک‌های رشد به‌جای اوره بر کیفیت خاک زیرین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تیمارها و نحوه آزمایش

برای بررسی تأثیر کود زیستی بر برخی از خصوصیات چمن مورد نظر، آزمایشی در محل گلخانه گروه علوم خاک دانشگاه زنجان انجام شد. خاک (لوم شنی) مورد استفاده از یک قطعه زمین بایر متعلق به مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه شد. برداشت خاک از زمینی انجام شد که تاکنون در آن هیچ‌گونه کود شیمیایی و آلی استفاده نشده بود. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول 1 دیده می‌شود. گلدان‌های استفاده شده در این تحقیق از جنس پلی اتیلن با قطر دهانه 20 سانتی‌متر و ارتفاع 25 سانتی‌متر بود. برای جلوگیری از خروج خاک و زهکشی مناسب، در سطح زیرین هر گلدان مقداری سنگریزه بادامی ریخته شد. مقداری از خاک انتخاب شده پس از کوبیدن و عبور از الک 2 میلی‌متری به شکل همگن به گلخانه منتقل شد. هر گلدان با 8 کیلوگرم خاک پر شد. پس از آماده شدن گلدان‌ها، کشت بذور چمن به مقدار 25 گرم در متر مربع در آنها انجام شد. طرح آزمایش مورد استفاده به شکل کاملاً تصادفی با 5 تیمار و سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش تیمار اول خاک بایر بدون کشت هیچگونه گیاهی بود ولی کلیه عملیات داشت مانند آبیاری روی آن انجام شد (Br). تیمار دوم شامل کشت چمن بدون کوددهی (Gr)، تیمار سوم شامل کشت چمن همراه با کاربرد کود اوره معادل 100 کیلوگرم در هکتار (0/26 گرم در هر گلدان) (GrU)، تیمار چهارم شامل کشت چمن + کاربرد کود زیستی محتوی فقط باکتری *Pantoea agglomerans* (GrPA) و تیمار پنجم شامل تیمار سوم + کاربرد باکتری‌های محرک رشد (GrPP) بود. هر تیمار در سه تکرار و در نهایت جامعه آماری شامل 15 گلدان بود. بذر مورد استفاده در این تحقیق بذر اسپیدی گرین مخلوط سه رقم بذری باربال، باراژ و بارتینگو با اختلاط برابر انتخاب گردید. کودهای زیستی مورد نظر از آزمایشگاه فنی شرکت زیست فناور سبز تهیه شد. کود زیستی تثبیت کننده نیتروژن محتوی باکتری *Pantoea agglomerans* با جمعیت 10^9 باکتری در هر گرم بود. مقدار توصیه شرکت سازنده هرکدام از این کودها برابر با یک بسته 100 گرمی در هر هکتار همراه با آب آبیاری و یا بذرمال می‌باشد. در این پژوهش مقدار معادل آن بر مبنای جرم خاک هر گلدان (8 کیلوگرم) محاسبه و مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور0/26 گرم از هر مایه تلقیح به یک لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و هر یک میلی‌لیتر از آن نیز به حجم 1000 میلی‌لیتر رسانده شد و از این محلول رقیق شده به مقدار مورد نیاز در آبیاری استفاده شد. برای اثربخشی بهتر، قبل از کاشت، بذرها با کود زیستی مورد نظر بذرمال نیز شدند. بدین منظور یک بسته 100 گرمی از کود زیستی مربوطه به یک لیتر آب مقطر استریل اضافه شده و 200 میلی لیتر از آن به اسپری منتقل شد. سپس به 100 گرم از بذور چمن حدود 20 میلی لیتر از محلول تهیه شده اسپری شد تا همه بذور کاملاً مرطوب شدند. بذرها بلافاصله بعد کشت شدند. کود زیستی محتوی باکتری‌های محرک رشد شامل باکتری‌های *Pseudomonas koreensis*، *Pseudomonas vancouverensis* و *Pseudomonas putida* بود که جمعیت هرگونه برابر با 10^8 باکتری در هر گرم بود.

پس از کاشت بذور، یک بار آبیاری (نیم لیتر در هر گلدان) با استفاده از اسپری مخصوص به نحوی که سطح خاک به هم نخورد انجام شد. مقدار هدایت الکتریکی آب مورد استفاده 385 میکروزیمنس بر سانتی‌متر بود. پس از سبز شدن چمن‌ها (10 روز پس از کاشت)، تیمارهای کود اوره و کود زیستی مورد نظر همراه با آب آبیاری اعمال شدند. در مورد کود اوره 0/26 گرم از آن در مقدار آب مورد نیاز حل شده و به گلدان‌ها

اضافه شد. آبیاری مجدد پس از رسیدن گلدان‌ها به کمتر از 60 درصد نقطه ظرفیت زراعی انجام می‌شد که این موضوع با تعیین درصد رطوبت در نقطه زراعی خاک قبل از آزمایش و توزین گلدانها در حین آزمایش مشخص می‌شد. کل دوره آزمایش شش ماه بود.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری

نمونه‌برداری از خاک گلدان قبل از آزمایش و در پایان ماه سوم و ششم برای بررسی روند تغییرات کیفیت خاک انجام شد. برای اندازه‌گیری چگالی ظاهری خاک از روش استوانه فلزی با حجم کم (25 سانتی‌متر مکعب) به نحوی که خاک را به هم نزند استفاده شد (مکنزی و همکاران، 2002). اندازه‌گیری تولید و تشکیل خاکدانه به روش الک خشک (کای، 2000) انجام شد. 75 گرم از نمونه پس از جداسازی ریشه روی سری الک‌هایی با قطر 6، 4، 2، 1 و 0/25 قرار داده شد. سپس با فرکانس یک بار در ثانیه به مدت 10 دقیقه نوسان داده شد. خاکدانه های باقی مانده روی هر الک توزین شده و میانگین وزنی قطر خاکدانه در حالت خشک (MWD_{dry}) از رابطه 1 به دست آمد.

رابطه 1

$$MDW_{dry} = \sum_{i=1}^{n} Wi\bar{X}i$$

در این رابطه $\overline{Xi}$ میانگین قطر خاکدانه‌های روی هر الک بر حسب میلی‌متر، Wi نسبت وزن خاکدانه‌های روی هر الک به وزن کل خاکدانه‌های خاک و n تعداد الک می‌باشد. برای اندازه گیری پایداری حاکدانه‌ها نیز از همین روش استفاده شد با این تفاوت که سری الک‌ها به مدت 10 دقیقه در داخل آب شهری نوسان داده شدند و نمونه‌ها پس از خشک شدن در آون توزین و از رابطه بالا میانگین وزنی قطر خاکدانه در حالت خیس (MWD_{wet}) محاسبه شد.

ویژگی‌های شیمیایی فقط در پایان دوره شش ماهه اندازه‌گیری شدند. کربن آلی به روش اکسیداسیون تر با دی کرومات پتاسیم (نلسون و سامرز، 1974) و نیتروژن کل به روش کجلدال (شومان و همکاران، 1973) اندازه‌گیری شدند. فسفر محلول و قابل جذب به ترتیب پس از عصاره‌گیری با آب و بی‌کربنات سدیم نیم مولار به روش رنگ سنجی اندازه گیری شد. پتاسیم محلول و قابل جذب نیز به ترتیب پس از عصاره‌گیری با آب و استات آمونیوم یک مولار با دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد (اسپارکز و همکاران، 1996).

جدول 1- برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در این آزمایش

ویژگی خاک	مقدار
شن (درصد)	61
رس (درصد)	11
نیتروژن کل (درصد)	0/021
فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	10/2
پتاسیم قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	285
هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	2/3
pH	7/45
کربن آلی خاک (درصد)	0/24
کربنات کلسیم معادل (درصد)	12/2

جامعه آماری در این پژوهش 15 گلدان کشت شده بود. مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون LSD در سطح 5 درصد با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel ورژن 2013 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به خاک زیرین چمن در تیمارهای مختلف در جدول 2 قابل مشاهده است. بیشترین وزن تر چمن در تیمار GrU (کود اوره) دیده شد (87/4 گرم در هر گلدان) که نشان‌دهنده تأثیر مثبت اوره بر رشد چمن می‌باشد. همچنین کاربرد کودهای زیستی در تیمارهای GrPA (56/1 گرم در هر گلدان) و GrPP (44/6 گرم در هر گلدان) باعث افزایش معنی‌دار وزن تر چمن نسبت به تیمار شاهد (35/1 گرم در هر گلدان) شد. در مورد خاک، نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار تیمارها بر برخی ویژگی‌های خاک می‌باشد. داده-های مربوط به عناصر غذایی پرمصرف فسفر، پتاسیم و

نیتروژن خاک در سطح یک درصد با هم اختلاف دارند؛ همچنین داده‌های کربن آلی خاک نیز در سطح یک درصد اختلاف دارند. نتایج تیمارها بر فاکتور تشکیل خاکدانه در هر دو زمان نمونه‌برداری در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما داده‌های به دست آمده از تیمارها در مورد پایداری خاکدانه‌ها و وزن مخصوص ظاهری خاک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند.

جدول 2- جدول تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر برخی ویژگی‌های خاک زیرین

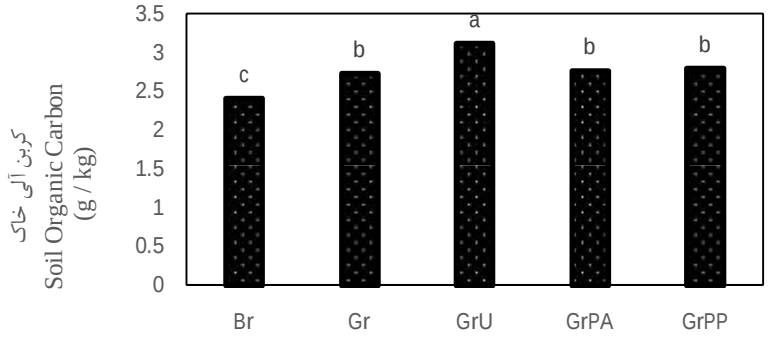
ضریب تغییرات	خطا	تیمار	منابع تغییرات	
-	10	4	درجه آزادی (df)	
18/8	400	1549/9	وزن تر	میانگین مربعات MS
13/45	0/37	1/86*	تشکیل خاکدانه سه ماهه اول	
12/57	0/25	5/87 **	تشکیل خاکدانه سه ماهه دوم	
17/12	0/024	0/0044 ns	پایداری خاکدانه سه ماهه اول	
17/57	0/073	0/086ns	پایداری خاکدانه سه ماه دوم	
17/61	0/084	0/021 ns	pb سه ماهه اول	
9/88	0/024	0/032 ns	pb سه ماهه دوم	
8/65	895/74	9927**	پتاسیم قابل جذب	
14/05	226/4	1643/4**	پتاسیم محلول	
7/61	0/92	6/53**	فسفر قابل جذب خاک	
13/33	0/02	0/26**	فسفر محلول خاک	
16/08	0/0068	0/078**	کربن آلی	
12/85	0/000046	0/0006 **	نیتروژن کل	

تأثیر تیمارها بر کیفیت خاک

تأثیر تیمارها بر غلظت کربن آلی خاک نیز در شکل 1 دیده می‌شود. کشت چمن در خاک سبب افزایش معنی‌دار غلظت کربن آلی در خاک نسبت به تیمار خاک بایر شد. همچنین در بین تیمارهای کودی نیز تیمار کاربرد کود اوره (GrU) بیشترین غلظت کربن آلی را نسبت به سایر تیمارها داشت.

به طور کلی کربن آلی خاک یکی از مهمترین عوامل موثر بر کیفیت خاک بوده و نسبت به مدیریت‌های مختلف اراضی از خود واکنش نشان می‌دهد. کشت گیاهان در یک خاک بایر در یک منطقه خشک به دلیل ترشحات ریشه و اضافه شدن بقایای ریشه به خاک در طول زمان به تدریج باعث افزایش کربن آلی خاک می‌شود و در این پژوهش نیز دیده شد که کربن آلی خاک تحت تأثیر کشت چمن بعد از 6 ماه نسبت به خاک بایر 13 درصد افزایش نشان داد. افزون بر این، افزودن کود اوره موجب افزایش رشد رویشی چمن شده و کربن آلی خاک را نسبت به تیمار شاهد 29 درصد افزایش داده است. در این مورد اضافه کردن کودهای زیستی تأثیر معنی‌دار نداشت. در تطابق با نتایج این پژوهش، در یک تحقیق توسط پژوهش‌گران پیشین مشخص شد که کاربرد کود نیتروژنی به مقدار 63 و 126 کیلوگرم نیتروژن در هکتار به ترتیب سبب افزایش 7 و 14 درصدی کربن آلی خاک شد (آکوستا مارتینز، 1999).

شکل 2 تأثیر تیمارها بر تشکیل خاکدانه‌ها در سه ماهه اول و دوم در طول دوره آزمایش را نشان می‌دهد. در سه ماهه اول، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار بین تیمارها دیده نشد. بیشترین قطر میانگین خاکدانه نیز اگرچه در تیمار چمن بدون کود به دست آمد اما اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار نبود. در سه ماهه دوم اما در تیمارهای زیر کشت چمن صرف نظر از نوع کود استفاده شده، خاکدانه‌های بزرگتری نسبت به تیمار خاک بایر تشکیل شد. در همه تیمارهای چمن، خاکدانه‌های سه ماهه دوم به طور معنی‌دار بزرگتر از سه ماهه اول بودند. این موضوع در مورد خاک بایر برعکس بود. در بین تیمارهای کودی، در تیمار GrPA که در آن باکتری *Pantoa agglomerans* به‌تنهایی استفاده شده بود، بزرگترین خاکدانه‌ها تشکیل شدند.

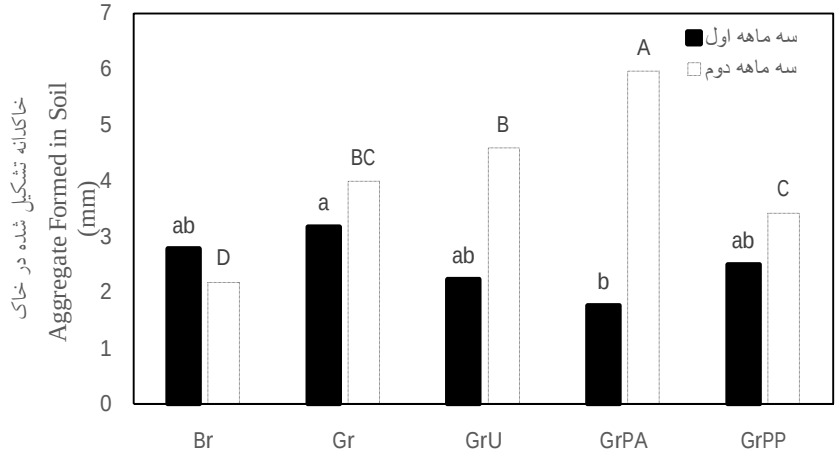


شکل 1- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت کربن آلی خاک. حروف متفاوت در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد اختلاف دارند.

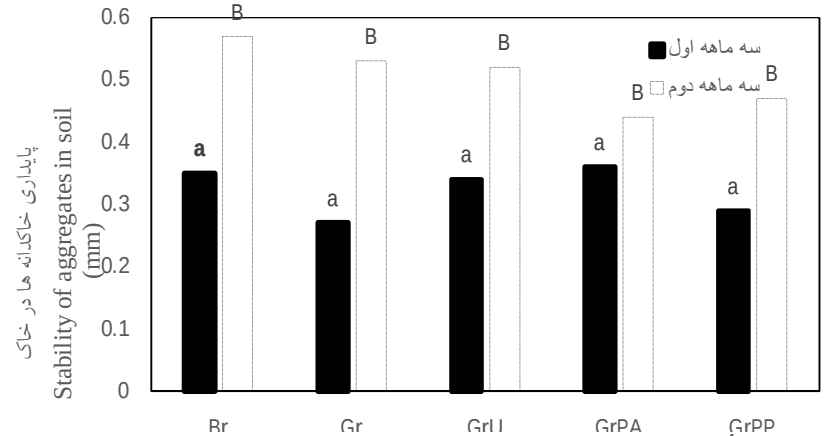
تأثیر نوع مدیریت خاک بر روی تشکیل خاکدانه توسط پژوهش‌گران پیشین نیز بررسی شده است. محمودی و شکل آبادی (1396) گزارش دادند که اضافه کردن بیوچار به خاک سبب تشکیل خاکدانه‌های بزرگتری نسبت به شاهد شدند. نصیری مقدم و همکاران (1390) نیز گزارش دادند که افزودن مواد آلی تازه و کمپوست شده سبب تشکیل خاکدانه‌های بزرگتری در خاک می‌شود. با توجه به اینکه در این پژوهش با کشت چمن، ماده آلی خاک افزیش یافته است؛ به نظر می‌رسد یکی از دلایل تشکیل خاکدانه بزرگتر در سه ماهه دوم در تیمارهای زیر کشت چمن، افزایش مقدار ماده آلی خاک باشد. اگرچه تأثیر کود زیستی استفاده شده نیز روی تشکیل خاکدانه‌های بزرگتر در تیمار GrPA نیز قابل چشم پوشی نیست. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن با همکاری با ریشه گیاهان باعث ایجاد پتانسیل لازم برای پایداری خاک می شود که می‌تواند در رفع دو نیاز اصلی خاک یعنی ماده آلی خاک و نیتروژن خاک مؤثر باشد. در همین مورد حیدری و همکاران (1397) گزارش دادن که کاربرد کود زیستی محتوی باکتری تثبیت کننده نیتروژن همزیست با ریشه نخود، در شرایط گلخانه باعث افزایش میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها نسبت به تیمار شاهد (بدون گیاه) شد که با نتایج این پژوهش مشابهت داشت اما در شرایط مزرعه تیمارهای مذکور تأثیر معنی‌داری بر میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها نداشتند اگرچه تیمارهای حاوی کود زیستی در هر دو شرایط مزرعه و گلخانه باعث افزایش میانگین هندسی قطر خاکدانه‌ها و پایداری ساختمان خاک شدند.

نتایج به دست آمده از پایداری خاکدانه‌ها در تیمارهای مختلف در شکل 3 نیز نشان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در آنها در سه ماهه اول دارد. در سه ماهه دوم نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت اما داده‌های سه ماهه دوم با سه ماهه اول با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان خاکدانه‌ها پایدارتر شده‌اند اما حداقل در طول دوره زمانی این آزمایش، به کشت چمن و کوددهی آن ارتباطی نداشتند. شاید با افزایش طول دوره کشت بتوان دقیقاً متوجه تأثیر تیمارها نیز شد.

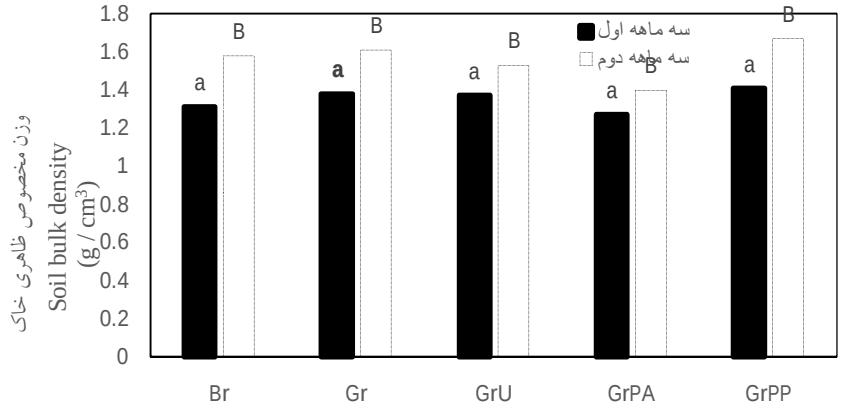
شکل 4 تأثیر تیمارها بر جرم مخصوص ظاهری در سه ماهه اول و دوم در طول دوره آزمایش را نشان می‌دهد. بر اساس این نتایج، تیمارهای مختلف در سه ماهه اول و همچنین سه ماهه دوم اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشتند اما بین داده‌های سه ماهه اول و سه ماهه دوم اختلاف معنی‌دار وجود داشت و این موضوع نشان می‌دهد با گذشت زمان، جرم مخصوص ظاهری خاک به تدریج افزایش یافته است. با توجه به اینکه در این آزمایش از خاک الک شده و دست خورده استفاده شده بود، افزایش تدریجی جرم مخصوص ظاهری خاک بر اثر تراکم و فشار در طول زمان به دلیل آبیاری منطقی به نظر می‌رسد و در این مورد کشت چمن و یا مدیریت کوددهی بر آن تأثیری نداشته است.



شکل 2- تأثیر تیمارهای مختلف بر تشکیل خاکدانه. حروف متفاوت در هر ستون مربوط به هر دوره سه ماهه در سطح آماری پنج درصد اختلاف دارند.



شکل 3- تأثیر تیمارهای مختلف بر پایداری خاکدانه‌ها. حروف متفاوت در هر ستون مربوط به هر دوره سه ماهه در سطح آماری پنج درصد اختلاف دارند.

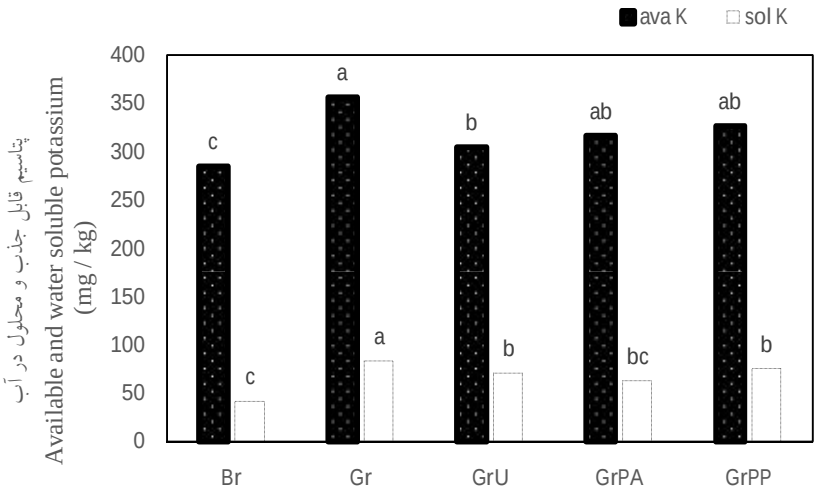


شکل 4- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن مخصوص ظاهری خاک. حروف متفاوت در هر ستون مربوط به هر دوره سه ماهه در سطح آماری پنج درصد اختلاف دارند.

تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر پرمصرف در خاک

تأثیر تیمارها بر غلظت پتاسیم محلول و قابل جذب خاک در شکل 5 دیده می‌شود. بر این اساس کشت چمن در خاک صرف نظر از نوع تیمار کودی، سبب افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم قابل جذب و پتاسیم محلول در خاک شد. بیشترین پتاسیم قابل جذب و محلول خاک در تیمار کشت چمن به روش متعارف (Gr) دیده شد. پس از آن نیز بیشترین پتاسیم قابل جذب در تیمار GrPP و بیشترین پتاسیم محلول نیز در تیمار GrU دیده شد.

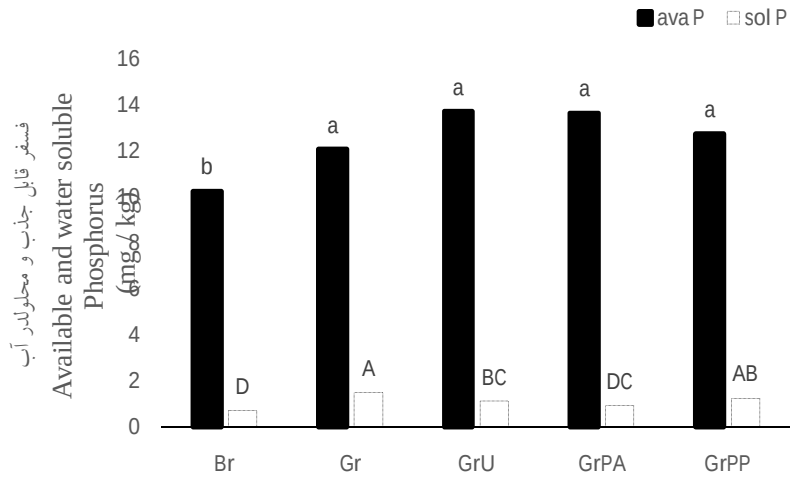
به نظر می‌رسد گیاه چمن با تأثیر بر برخی ویژگی‌های خاک سبب افزایش پتاسیم قابل جذب و محلول در خاک شده است. کاربرد کود اوره در کشت چمن نسبت به تیمار بدون کود، پتاسیم قابل جذب را به طور معنی‌دار در خاک کاهش داد ولی این کاهش در تیمارهای کود زیستی دیده نشد. در مورد پتاسیم محلول، کاربرد کود اوره و کودهای زیستی در چمن نسبت به تیمار بدون کود، پتاسیم محلول را به طور معنی‌دار در خاک کاهش داد. فلاح نصرت آباد و همکاران (1378) در پژوهشی کارآئی باکتری‌های سیلیکاتی در افزایش پتاسیم خاک گزارش نمودند که میانگین پتاسیم محلول خاک در تیمارهای تلقیح شده با باکتری نسبت به شاهد 16 تا 40 درصد افزایش یافت که در تناقض با نتایج این پژوهش می‌باشد. یکی از دلایل احتمالی کاهش غلظت پتاسیم در تیمارهای کودی این موضوع می‌تواند باشد که کود اوره و کودهای زیستی باعث افزایش رشد چمن شده و این موضوع جذب پتاسیم را از خاک افزایش داده و در نهایت سبب کاهش غلظت پتاسیم محلول و قابل جذب خاک شده است.



شکل 5- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت پتاسیم قابل جذب و محلول در آب. حروف متفاوت در هر ستون مربوط به هر ویژگی از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

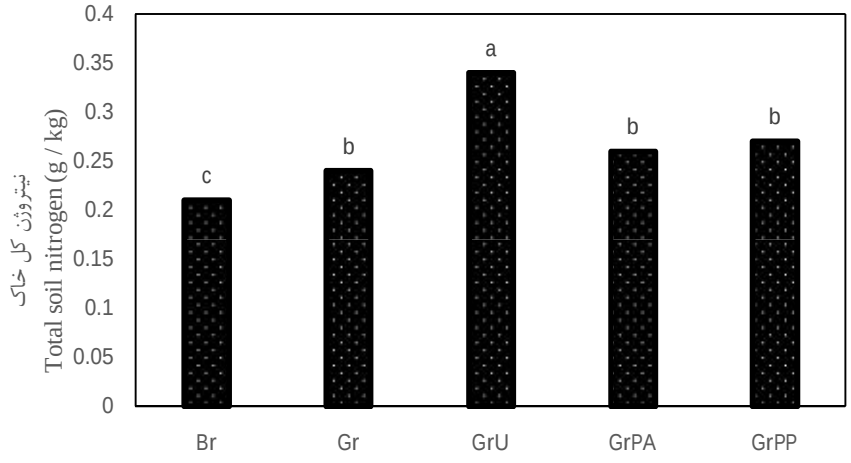
تأثیر تیمارها بر غلظت فسفر محلول و قابل جذب خاک در شکل 6 دیده می‌شود. طبق نتایج، کشت چمن صرف نظر از نوع تیمار، سبب افزایش معنی‌دار غلظت فسفر قابل جذب و فسفر محلول در خاک نسبت به تیمار خاک بایر شد. کوددهی چمن، تأثیر معنی‌دار روی فسفر قابل جذب خاک بین تیمارهای کشت چمن نداشت اگرچه بیشترین فسفر قابل جذب در تیمار GrU دیده شد. بیشترین مقدار فسفر محلول در تیمار کشت چمن به روش متعارف (Br) دیده شد. باکتری *Pantoa agglomerans* یک باکتری حل‌کننده فسفر محلول می‌باشد اگرچه در این تحقیق این باکتری در مقایسه با سایر تیمارها تأثیر چندانی بر فسفر محلول قابل جذب خاک نداشت و تأثیر کاشت گیاه چمن بیشتر بود. در تطابق با نتایج این پژوهش لائورته و همکاران (1988)

گزارش نمودند که کاربرد باکتری حل کننده فسفات *Enterobacter agglomerans* روی فسفر آزاد شده در ریزوسفر چندان قابل توجه نبود. یکی از دلایل احتمالی می‌تواند تغییر pH در منطقه ریزوسفر باشد که به آزاد شدن و در دسترس بودن فسفر می‌انجامد (شن و همکاران، 2011).



شکل 6- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر قابل جذب و محلول در آب، حروف متفاوت در هر ستون مربوط به هر ویژگی از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

تأثیر تیمارها بر غلظت نیتروژن کل خاک در شکل 7 دیده می‌شود. طبق نتایج، کشت چمن در خاک موجب افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن کل در خاک نسبت تیمار خاک بایر شد. در بین تیمارهای کودی نیز تیمار کاربرد کود اوره (GrU) بیشترین غلظت را نسبت به سایر تیمارها داشت. کیان و همکاران (2003) گزارش نمودند که در صورت حفظ چمن چیده شده، افزایش غلظت کربن و نیتروژن آلی در خاک زیرین چمن رخ می‌دهد. به نظر می‌رسد ترشحات ریشه و بقایای آن در خاک در طول مدت آزمایش به مرور غلظت نیتروژن کل را افزایش داده باشد.



شکل 7- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن کل حروف متفاوت در هر ستون از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که کاشت چمن در خاک صرف نظر از نوع مدیریت تغذیه، سبب بهبود برخی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت خاک می‌شود. پس از گذشت شش ماه، در تیمارهای محتوی چمن، خاکدانه‌های بزرگتری نسبت به تیمار خاک بایر تشکیل شد اگرچه این تیمارها روی پایداری خاکدانه‌ها تأثیر معنی‌دار نداشتند. کاربرد کود زیستی محتوی باکتری *پانتوآ آگلومرانز* سبب تشکیل خاکدانه‌های بزرگتری نسبت به سایر تیمارهای کودی شد و این نشان می‌دهد که کودهای زیستی افزون بر کمک به رشد گیاه، به بهبود برخی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت خاک نیز کمک می‌کنند. کشت چمن در خاک سبب افزایش معنی‌دار غلظت کربن آلی خاک، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم قابل جذب و محلول در خاک شد. به طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان کاربرد کودهای زیستی را به عنوان بخشی از برنامه تغذیه چمن و بهبود برخی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت خاک حداقل در شرایط گلخانه توصیه نمود.

فهرست منابع:

1. اسدیان، م.، س. م. حجتی، م.ر. پورمجیدیان و ا. فلاح. 1392. تأثیر انواع مختلف کاربری اراضی روی کیفیت خاک در جنگل الندان ساری. پژوهش‌های جغرافیای طبیعی. جلد 45، شماره3. ص. 65-76.
2. حیدری، لادن.، ح. بیات، ع. ا. صفری سنجانی و ج. حمزه‌ئی. 1397. تأثیر باکتری همزیست نخود و قارچ مایکوریزا گونه (Glomus mossea) بر روی برخی از خواص فیزیکی و مکانیکی خاک. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی.
3. سرچشمه‌پور،م.، م. حجازی، و.ر. جلالی و ف. مولایی. .1395. مروری برشاخص‌های کیفیت، سلامت و امنیت خاک. دومین همایش ملی مدیریت پایداری منابع خاک و محیط زیست. 17.18. دانشکده شهید باهنر کرمان.
4. فلاح نصرت آباد، ع.، ن. صالح راستین و ک. خاوازی. 1378. بررسی کارآئی باکتری‌های سیلیکاتی در افزایش پتاسیم قابل جذب برای گیاه ذرت. مجله علوم خاک و آب. جلد 13، شماره 2. ص. 120-131.
5. محمودی، ف. و م. شکل آبادی. 1396. سلسله مراتب خاکدانه‌سازی در خاک‌های تیمار شده با بیوچار. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی.
6. نصیری مقدم، ص.، ا. گلچین و م.ا. دلاور. 1390. تأثیر مواد آلی تازه، کمپوست و ورمی کمپوست‌شده بر خصوصیّات فیزیکوشیمیایی خاک. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی.
7. وحدت خواه، م.، م. ه. فرپور و م. سرچشمه پور. 1392. مقایسه برخی از شاخص‌های کیفیت خاک در انواع کاربری پوشش‌های اراضی دشت ماهان- جوپار. مجله علوم آب و خاک. جلد 17، شماره 64. ص. 107-117.
8. Acosta-Martinez, V., Reicher, Z., Bischoff, M. and Turco, R. 1999. The role of tree leaf mulch and nitrogen fertilizer on turfgrass soil quality. Biology and Fertility of soils 29: 55-61.
9. Askari, M.S. and Holden, N.M. 2014. Indices for quantitative evaluation of soil quality under grassland management. Geoderma 230: 131-142.
10. Bernal, P., Allsopp, L.P., Filloux, A. and Llamas, M.A. 2017. The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens. The ISME journal 11: 972.
11. Braun, R. and Bremer, D. 2017. Nitrous Oxide Emissions and Carbon Sequestration in Turfgrass: Effects of Irrigation and Nitrogen Fertilization (Year 2). Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports 3: 10-10.
12. Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M.K., Golec, M. and Milanowski, J. 2015. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part I. Deleterious

effects: Dust-borne endotoxins and allergens–focus on cotton dust. Ann Agric Environ Med 22: 576-588.
13. Feng, Y., Shen, D. and Song, W. 2006. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. Journal of applied microbiology 100: 938-945.
14. Gross, C.M., Angle, J. and Welterlen, M. 1990. Nutrient and sediment losses from turfgrass. Journal of Environmental Quality 19: 663-668.
15. Jacobson, C.B., Pasternak, J. and Glick, B.R. 1994. Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Canadian journal of microbiology 40: 1019-1025.
16. Kay, B.D. 2000. Soil Structure, in: Sumner, E.M. (Ed.), Handbook of Soil Science. CRC Press, USA: F.I., Boca Raton, pp. A229-A264.
17. Laheurte, F. and Berthelin, J. 1988. Effect of a phosphate solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of labile phosphorus. Plant and Soil 105(1): 11-17.
18. Mahdi, S.S., Hassan, G.I., Samoon, S.A., Rather, H.A., Dar, S.A. and Zehra, B. 2010. Bio-fertilizers in organic agriculture. Journal of Phytology 2(10): 42-54.
19. McKenzie, N., Coughlan, K. and Cresswell, H. 2002. Soil physical measurement and interpretation for land evaluation. Csiro Publishing.
20. Nelson, D.W. and Sommers, L. 1974. A rapid and accurate procedure for estimation of organic carbon in soils, Proceedings of the Indiana Academy of Science, pp. 456-462.
21. Patten, C.L. and Glick, B.R. 2002. Role of Pseudomonas *putida indoleacetic* acid in development of the host plant root system. Applied and environmental microbiology 68: 3795-3801.
22. Potrikus, C. and Breznak, J.A. 1977. Nitrogen-fixing *Enterobacter agglomerans* isolated from guts of wood-eating termites. Applied and environmental microbiology 33: 392-399.
23. Potter, D.A., Powell, A.J. and Scott Smith, M. 1990. Degradation of turfgrass thatch by earthworms (*Oligochaeta*: *Lumbricidae*) and other soil invertebrates. Journal of economic entomology 83: 205-211.
24. Qian, Y., Bandaranayake, W., Parton, W., Mecham, B., Harivandi, M. and Mosier, A. 2003. Long-term effects of clipping and nitrogen management in turfgrass on soil organic carbon and nitrogen dynamics. Journal of Environmental Quality 32: 1694-1700.
25. Schuman, G., Stanley, M. and Knudsen, D. 1973. Automated total nitrogen analysis of soil and plant samples 1. Soil Science Society of America Journal 37: 480-481.
26. Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., Zhang, W. and Zhang, F. 2011. Phosphorus dynamics: from soil to plant. Plant physiology, 156(3): 997-1005
27. Sims, P.L. and Singh, J. 1978. The structure and function of ten western North American grasslands: III. Net primary production, turnover and efficiencies of energy capture and water use. The Journal of Ecology: 573-597.
28. Smith, J., Paul, E., Bollag, J. and Stotzky, G. 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. Soil biochemistry 6: 357-396.
29. Sparks, D.L., Helmke, P. and Page, A. 1996. Methods of soil analysis: Chemical methods. SSSA.
30. Stockwell, V., Johnson, K., Sugar, D. and Loper, J. 2002. Antibiosis contributes to biological control of fire blight by *Pantoea agglomerans* strain Eh252 in orchards. Phytopathology 92: 1202-1209.
31. Townsend Small, A. and Czimczik, C.I. 2010. Carbon sequestration and greenhouse gas emissions in urban turf. Geophysical Research Letters 37.

مطالعه اثرات *Funneliformis mosseae* و *Pseudomonas fluorescens* بر برخی از مولفه‌های رشدی و تغذیه‌ای گیاه ماش (*Vigna radiata* L. Wilczek) تحت تنش خشکی در شرایط گلخانه‌ای

محمد صالحی، علی فرامرزی[1]، منوچهر فربودی، ناصرمحبعلی پور و جلیل اجلی

دانشجوی سابق دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران؛ **mohsale@gmail.com**

استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران؛ **aliifaramrzii52@gmail.com**

استادیار گروه خاک شناسی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران؛ **farboodi1962@gmail.com**

استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران؛ **n.mohebalipour@gmail.com**

استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران؛ **jalil.ajali@yahoo.com**

دریافت: **99/4/31** و پذیرش: **99/7/23**

چکیده

به منظور ارزیابی تلقیح فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169در تقلیل اثرات تنش خشکی بر روی ماش رقم پرتو، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در پاییز 1396 در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه اجرا شد. تیمارهای تنش خشکی در سه مرحله شامل آبیاری نرمال، قطع آبیاری موقع گل‌دهی و قطع آبیاری موقع غلاف بندی و تیمارهای تلقیح شامل: بدون تلقیح، تلقیح با فنلی فورمیس موسه، تلقیح با سودوموناس فلورسنس سویه 169 و تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169 بود. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه بغیر از میزان فسفر و طول غلاف معنی دار بوده و بین تیمارهای نوع تلقیح از لحاظ صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، میزان فسفر و تعداد دانه در غلاف اختلاف معنی دار وجود دارد. اثرات متقابل نوع تلقیح و تنش خشکی از لحاظ صفات ارتفاع بوته، میزان نیتروژن برگ و محتوی آب نسبی برگ به ترتیب در سطوح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار گردید. بر اساس مقایسه میانگین صفات کاهش در اکثر صفات مورد مطالعه با اعمال تنش مشهود بود. با اعمال تنش محتوی کلروفیل و میزان نیتروژن گیاه افزایش یافت. بیش ترین درصد کلونیزاسیون ریشه با 55/4 درصد در تلقیح با سودوموناس فلورسنس سویه 169 مشاهده شد که با تلقیح توأم باکتری و قارچ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. تیمارهای تلقیح نسبت به تیمار شاهد میانگین صفات بررسی شده بالاتری را نشان دادند. بیشترین مقدار فسفر دانه در گیاهان تلقیح شده با فنلی فورمیس موسه با 28/5 درصد و بیشترین میانگین تعداد دانه در غلاف در تیمار تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه + سودوموناس فلورسنس سویه 169 با 50/7 درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: تنش رطوبتی، تلقیح میکروبی، فسفر، ماش، نیتروژن

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: ایران، میانه، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه

مقدمه

پایداری اکوسیستم های مختلف با به کاربردن میکروارگانیسم های خاک جهت ایجاد شرایط لازم برای جذب عناصر معدنی (به ویژه عناصر با تحرک اندک در خاک) و آب توسط گیاهان به منظور بهبود شرایط تغذیه-ای گیاه و افزایش مقاومت آن در برابر تنش‌های محیطی از جمله کمبود آب قابل دسترس به طور گسترده‌ای مورد توجه قرار گرفته است (قربانیان و همکاران، 1393). آزمایشات نشان می‌دهد که این قارچ‌ها می‌توانند به خوبی با ریشه‌های گیاه همکاری داشته و شبکه میکوریزی[1] در درون و بیرون ریشه‌های گیاه تشکیل دهند و تولید محصول تحت شرایط کمبود آب را افزایش دهند (موکرجی وکاموﻻ، 2003; اگو، 2001). گزارش شده است که تلقیح ماش با قارچ میکوریزا تا 49/61 درصد باعث کاهش شدت خسارت تنش خشکی از طریق بهبود اجزای عملکرد می‌گردد (پیرزاد و همکاران، 1393). افزایش محتوای عناصر غذایی در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده می‌تواند یکی از دلایل افزایش مقاومت این گیاهان به تنش‌های محیطی باشد. بیان شده است که تلقیح باکتریایی در تقلیل اثرات تنش رطوبتی که از طریق اختلال در جذب عناصر غذایی و فرآیند رشدی گیاه باعث کاهش معنادار ضریب تخصیص مواد به غلاف و کارآیی مصرف نور می‌شود، اثر سینرژیک دارد (آروین و وفابخش، 1395).

در آزماشات جداگانه، تلقیح توأم بذرها با برادی ریزوبیوم و فنلی فورمیس موسه موجب افزایش قطر ساقه، وزن خشک ساقه، برگ و ریشه و تعداد برگ و گره سویا در شرایط تنش کم‌آبی گردید (تاجیک و همکاران،1390) و تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی ملایم یک رابطه هم‌افزایی بین قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescens* در اکثر صفات مورد بررسی ذرت وجود داشت (قورچیانی و همکاران، 1391). آزمایش‌های کوهلر و همکاران (2006) با تلقیح دوگانه قارچ میکوریز آربسکولار *Rhizophagus irregularis* و باکتری*Bacillus subtilis* در گیاه کاهو حداکثر رشد و عملکرد را نشان داد. حبیب زاده و همکاران (1389) گزارش کردند که هردوی قارچ‌های فنلی فورمیس موسه و گلوموس اینترارادیسه به طور معنی‌داری عملکرد و پروتئین دانه ماش را بهبود می‌بخشند و اثرات تنش آب را کاهش می‌دهند. تلقیح با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و قارچ‌های میکوریزا آربسکولار در افزایش تولید نخود تحت شرایط کمبود آب مفید بوده و توانست عملکرد دانه را افزایش دهد (اولیورا و همکاران، 2017). استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد جهت بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه و بهبود جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه و کمک به گیاه برای رشد در شرایط تنش‌های محیطی توسط سایر محققین (قربانی و همکاران، 1395; کرمی چمه، 1393) نیز گزارش‌شده است ولی مطالعات اندکی بر روی گیاه ماش به خصوص در شرایط گلخانه انجام شده است. پیش بینی شده که جمعیت جهان در سال 2050 به 9/7 بیلیون نفر برسد و ما نیاز به افزایش غذا برای مردم داریم. از طرفی تولید محصولات زراعی نیازمند افزایش نیتروژن خاک است و تقاضا برای کودهای شیمیایی در حال افزایش می‌باشد. باکتری های خاک می توانند منبع مناسبی برای تولید نیتروژن در اراضی خشک باشند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات تلقیح سودوموناس فلورسنس سویه 169 و فنلی فورمیس موسه بطور جداگانه و اثر تلفیقی آن دو به منظور توصیه تیمار بیولوژیکی مؤثر بر افزایش مقاومت به خشکی ماش در مراحل حساس رشدی تحت شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه آزمایشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه واقع در 37 درجه و 55 دقیقه شمالی و 47 درجه و 11 دقیقه غربی با ارتفاع از سطح دریا 1100 متر در پاییز 1396به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی در سه سطح [شاهد (آبیاری نرمال =I_n)؛ تنش رطوبتی اول (قطع آبیاری در مرحله گلدهی=I_1)؛ تنش رطوبتی دوم (قطع آبیاری در مرحله غلاف بندی=I_2)] و تلقیح در چهار سطح [شاهد=بدون تلقیح (B_0)، تلقیح با *Funneliformis mosseae* (B_1)، *Pseudomonas fluorescens* 169 (B_2) و تلقیح توأم *Pseudomonas* × *Funneliformis mosseae* *fluorescens* 169 (B_3)] بود.

در این آزمایش گلدان هایی به قطر 21 و ارتفاع 17سانتی متر انتخاب و داخل آنها با دو کیلوگرم خاکی که از لایه سطحی (عمق صفر تا 20 سانتی‌متری) خاک مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه (واقع در جاده تهران- میانه) تهیه شده بود بعد از عبور دادن از الک 4 میلی‌متری اتوکلاو (121 درجه سلسیوس، فشار یک اتمسفر، به مدت 2 ساعت)، استریل و پر شد. براساس آنالیز فیزیکوشیمیایی، ساختار خاک از نوع رسی و مقدار

[1] Common Mycorrhiza Network

کربن ارگانیک، نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک به ترتیب 1/5درصد، 0/1درصد، 5/70 میلی گرم برکیلوگرم و 301 میلی گرم برکیلوگرم بود. سپس بذور سالم‌تر، درشت‌تر و هم‌اندازه رقم پرتوی ماش تهیه‌شده از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتخاب، استریل و جوانه‌دار شد. در مرحله کاشت 5 حفره سطحی کوچک درون هر گلدان ایجاد و یک عدد بذر جوانه‌دار در داخل هر حفره قرار دادیم. سپس یک میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی مطابق تیمارهای موردنظر بر روی هر بذر و دیواره حفره اضافه و درنهایت روی بذر با مقدار کمی خاک پوشانده شد. لازم به ذکر است که محلول سوسپانسیون شده حاوی 10^8 تا 10^9 عدد باکتری زنده و فعال بود (جدایه منتخب به مدت 48 ساعت درون محیط کشت مایع TSB[1] کشت و پس از همسان نمودن تراکم سوسپانسیون با جمعیت 10^8-10^9cfu/ml به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت). قارچ فنلی فورمیس موسه مورد استفاده شامل قطعات ریز ریشه، میسلیوم ها، اسپورهای قارچ و خاک چسبیده به آن ها بودکه از شرکت زیست فناوران توران تهیه شده بود و حاوی تقریباً 330 اسپور (پروپاگول) در هر گرم خاک بود که از طریق کشت روی گیاه میزبان تکثیرشده بود در سه سانتی‌متری زیر بذور جوانه دار کشت شده قرار داده شد.

آبیاری تمام 48 گلدان‌ها تا شروع مرحله گلدهی به‌طور مرتب انجام شد، در شروع مرحله گلدهی تیمارهای رطوبتی با قطع آب آبیاری تا حدی که پتانسیل رطوبت خاک به مقدار مورد نظر برسد (رطوبت خاک در تیمار تنش منفی 10 بار (معادل 9 درصد وزنی خاک) بود که با استفاده از تانسیومتر اندازه‌گیری شد) اعمال گردید. در شروع غلاف بندی تنش رطوبتی در تیمارهای مورد نظر اعمال شد که رطوبت خاک در این مرحله رشدی گیاه در حد منفی 5 بار (معادل 15درصد وزنی خاک) بود. رطوبت خاک گلدان‌های شاهد هر سه روز یکبار از طریق آبیاری با آب مقطر استریل تا رسیدن به 70 درصد ظرفیت زراعی به روش فلاسک با در دست داشتن وزن مخصوص حقیقی خاک (Pp) و وزن فلاسک پر از آب (G)، بدین صورت که مقداری خاک مرطوب (A) را در فلاسک ریخته با آب به حجم رسانده وزن آن (H) را تعیین و با استفاده از فرمول1-1، درصد رطوبت نمونه خاک (Mp) محاسبه گردید (هاجرسولیها و همکاران، 1982).

(فرمول1-1) $Mp= ((A(Pp-1)/(H-G)Pp-1)-1)100$

گلدان‌ها در شرایط کنترل‌شده گلخانه (دارای نور طبیعی و دمای 1± 25 درجه سلسیوس) نگهداری و پس از پایان اعمال تیمارهای آزمایشی صفات مورفوفیزیولوژیکی زیر اندازه‌گیری شد: ارتفاع بوته: میانگین ارتفاع بوته‌های هرگلدان برحسب سانتی متر اندازه‌گیری و یادداشت گردید. تعداد برگ در بوته: میانگین تعداد برگ بوته‌های هر گلدان شمارش و یادداشت شد. محتوی نسبی آب برگ (%): اندازه گیری محتوی نسبی آب برگ (RWC) به روش ریچی و ناگیون (1990) بدین صورت انجام شد که نمونه‌برداری از آخرین برگ توسعه یافته تمامی تیمارهای آزمایشی انجام و در آزمایشگاه وزن تر آنها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شد و بعد از 24 ساعت وزن اشباع برگ ها اندازه‌گیری و برگ ها به مدت 24 ساعت دیگر در دمای70 درجه سلسیوس در آون قرار داده و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین با ترازوی دارای دقت یک ده هزارم در فرمول 1-2، محتوی نسبی آب برگ بدست آمد.

(فرمول1-2) $RWC=Fw-Dw/Sw-Dw \times 100$

Fw= وزن تر

Dw= وزن خشک

Sw= وزن اشباع

مقدار کلروفیل

میزان کلروفیل از آخرین برگ گیاه در هر گلدان با دستگاه Spad-502[2] محاسبه و یادداشت شد. دستگاه کلروفیل متر دستی میزان سبزی برگ را بر اساس میزان عبور نور از برگ در یک طول موج به خصوص نشان می دهد و با این وسیله می توان به تغییرات میزان سبزینگی برگ به عنوان یکی از مهم ترین صفات فیزیولوژی گیاه پی برد (جباری و همکاران، 1395). مقدار فسفر: جهت تعیین غلظت فسفر دانه از روش رنگ سنجی (رنگ زرد مولیبدوانادات) و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 470 نانومتر (امامی، 1375) استفاده شد. نهایتاً میزان فسفر برحسب گرم درصد از فرمول 1-3، بدست آمد (پگی، 1982; بنتون، 2001).

(فرمول 1-3)

$P (\%) = (a-b) \times (V /2000w) \times (100/D.M)$

a= غلظت فسفر در نمونه برحسب میلی‌گرم در لیتر، b = غلظت فسفر در شاهد برحسب میلی‌گرم در لیتر،V = حجم نهایی عصاره در مرحله هضم برحسب میلی‌لیتر، W

[1] Trypton Soya Bean

[2] MINOLTA-502, Japan

= وزن نمونه مورد استفاده جهت هضم برحسب گرم،
D.M= درصد ماده خشک بذر

مقدار نیتروژن: با استفاده از روش کجلدال که شامل سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون می باشد اندازه‌گیری شد. در این روش، ازت آمونیاکی ($N\text{-}NH_4$) ماده آلی بر اثر ترکیب با اسید سولفوریک غلیظ به صورت سولفات آمونیوم درآمده، آمونیوم حاصل پس از ترکیب با سود غلیظ در دستگاه تقطیر به گاز آمونیاک تبدیل گشته و گاز حاصل سپس به وسیله اسیدبوریک جمع آوری گردید. سرعت فعل و انفعالات فوق با افزایش دما و در حضور کاتالیزور فزونی می‌یابد. در عمل، به منظور افزایش دما، از سولفات پتاسیم و یا سولفات سدیم استفاده شد. در پایان باز تشکیل شده با کمک اسید سولفوریک رقیق (0/05) تیتر گردید و بدین ترتیب مقدار کل ازت گیاه تعیین شد (برمنر و مولوانی، 1982). طول غلاف: میانگین طول غلاف بوته‌های هر گلدان پس از اندازه‌گیری باخط کش برحسب سانتی متر یادداشت شد. و تعداد دانه در غلاف: میانگین تعداد دانه‌های موجود در غلاف بوته های هر گلدان بدست آمد.

کلونیزاسیون ریشه: برای تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه از روش گیووانتی و موس (1980) استفاده شد. ابتدا برای رنگ بری، ریشه ها در محلول 10% KOHبه مدت 20 دقیقه قرار داده شدند. بعد این مدت ریشه ها مجدد با آب مقطر شسته و به مدت 48 ساعت در محلول کاتن بلو قرار گرفتند. بعد از 48 ساعت ریشه ها با آب مقطر شسته شدند (فیلیپس و هیمن،1970) و در سطح پتری دیش هایی که دارای شبکه مربعی بودند، پخش گردید و زیر بینوکولار مشاهده شدند و تعداد تقاطع های آن ها با خطوط عمودی و افقی تعیین شد. از بین این برخوردها آنهایی که با بخش کلونیزه شده ریشه تقاطع داشتند نیز به طور جداگانه شمارش شدند و به صورت کسری از کل تقاطعات به دست آمدند. چنانچه این کسر در 100 ضرب شود، کلونیزاسیون ریشه به صورت درصد به دست می آید (فرمول1-4) (گیووانتی و موس،1980).

(فرمول1-4) 100× تعداد کل تقاطع‌های بین ریشه و شبکه/ تعداد تقاطع‌های ریشه میکوریزایی با شبکه = میزان کلونیزاسیون ریشه

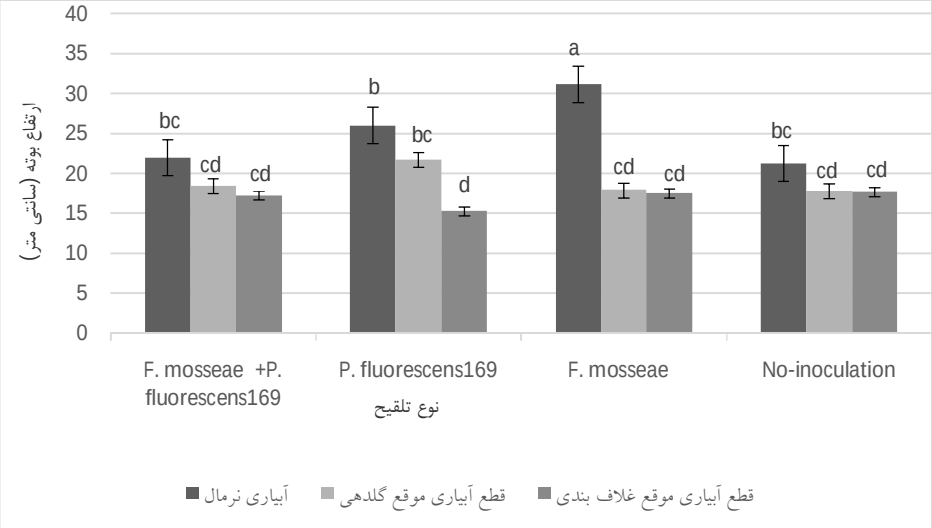
بعد از میانگین‌گیری جهت تجزیه واریانس داده‌ها از نرم افزار MSTAT_C و برای مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P\leq0.05$)، تجزیه عامل‌ها و ترسیم شکل‌ها به ترتیب از نرم افزارهای SPSS (ver16) و Excel استفاده شد. به منظور بررسی درصد کلونیزاسیون ریشه، آزمون تجزیه واریانس تک متغیره (Univarite) با استفاده از نرم افزار SPSS (ver16) انجام گردید.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین سطوح مختلف تنش و اثرات متقابل نوع تلقیح و تنش خشکی از لحاظ ارتفاع بوته می‌باشد. براین اساس بین سطوح مختلف تلقیح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده گردید (جدول 1).

بر اساس اثرات تیمار تنش خشکی، کمترین ارتفاع بوته در تیمار تنش خشکی در مرحله غلاف‌بندی حادث شد و بیشترین ارتفاع بوته در شرایط بدون تنش مشاهده شد (جدول 2). مقصود و همکاران (2000) نیز تأثیر سطوح مختلف آبیاری بر ارتفاع گیاه، تعداد نیام در بوته، تعداد شاخه در گیاه، تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت تحت تأثیر میزان آبیاری را معنی‌داری گزارش کردند. در حالی که صادقی پور (2009) نشان داد تحت شرایط تنش آبی در مراحل زایشی و رویشی ماش، زیست توده، شاخص برداشت و ارتفاع گیاه کاهش یافت. براساس مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و نوع تلقیح مشاهده گردید تلقیح *Funneliformis mosseae* در شرایط آبیاری نرمال بسیار مؤثر در افزایش ارتفاع بوته بود، به طوری که تیمار آبیاری نرمال + تلقیح فنلی فورمیس موسه موجب افزایش 46/5 درصدی میانگین ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد (شکل1). مطابق جدول تجزیه عاملی صفات، ارتفاع گیاه با ضریب عاملی 0/927 در گروه اول قرار گرفته است (جدول3). لذا تنش خشکی در مرحله گلدهی و غلاف بندی از طریق کاهش در آماس سلول‌ها موجب کاهش رشد خصوصاً در طویل شدن گیاه شده است. نتایج مشابه در سیب زمینی، سویا و ارزن نیز گزارش شده است (شائو و همکاران، 2008; هوور و نادلر، 1995). مطابق مقایسه میانگین صفات، گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان بدون تلقیح ارتفاع بیشتری را نشان دادند بطوریکه تلقیح با *Funneliformis mosseae* باعث افزایش 17/4درصدی ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار تلقیح با سودوموناس فلورسنس 169 نداشت (جدول 2).



شکل 1- اثرات متقابل تنش خشکی و نوع تلقیح بر ارتفاع بوته ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

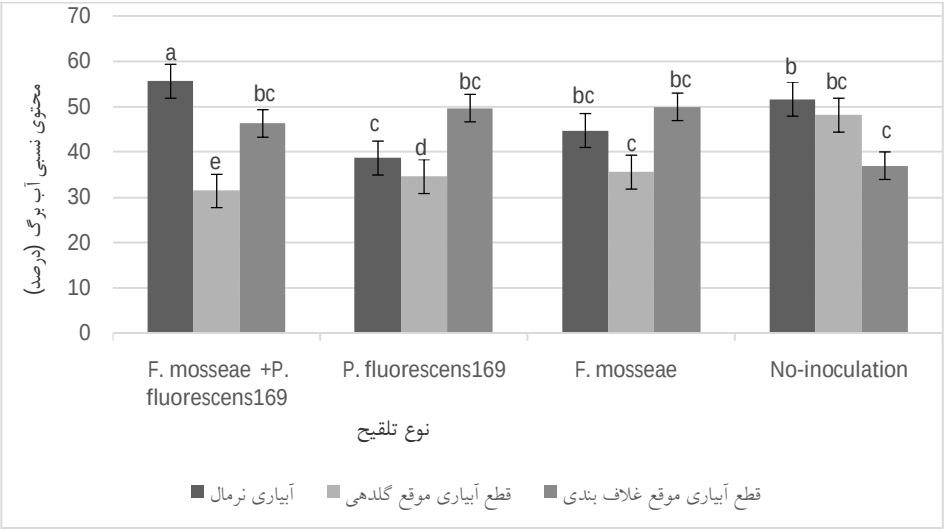
تعداد برگ در بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان می‌دهد بین تیمارهای مختلف تنش خشکی و نوع تلقیح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد در حالی که بین اثرات متقابل تنش و نوع تلقیح اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول 1). گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان بدون تلقیح تعداد برگ بیشتری داشتند و در این میان گیاهان تلقیح شده با *Funneliformis mosseae* 29/5 درصد تعداد برگ بیشتری نسبت به تیمار بدون تلقیح به خود اختصاص دادند (جدول2). نتایج مشابهی توسط کلیک و همکاران (2004)، لیو و همکاران (2000) و نادم و همکاران (2010) گزارش شده است. با اعمال تنش خشکی تعداد برگ بوته ها در مراحل مختلف رشدی گیاه کاهش یافت. بطوریکه بیش ترین کاهش با 36/72 درصد در مرحله غلاف بندی مشاهده شد (جدول2). چنین به نظر می‌رسد در زمان اعمال تنش خشکی در موقع گلدهی و غلاف‌بندی با توجه به اینکه گیاه وارد فاز زایشی می‌شود اسیمیلات ها و مواد ذخیره-ای در برگ ها و اندام‌های رویشی به سمت اندام‌های زایشی سرازیرشده و منجر به کاهش تعداد برگ که باعث در کاهش سطح فتوسنتزکننده است، می گردد. مطابق جدول تجزیه عاملی صفات، تعداد برگ در بوته با ضریب عاملی 0/899و میزان کلروفیل برگ را به عنوان شاخص-های رویشی دخیل در کاهش اثرات تنش خشکی در اثر هـمزیسـتی میـکوریزایی و سودوموناسی می‌توان نام برد.

محتوی نسبی آب برگ

بین سطوح مختلف تنش و اثرات متقابل تنش و نوع تلقیح از لحاظ محتوی نسبی آب برگ اختلاف معنی-دار به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد مشاهده شد (جدول 1). با اعمال تنش خشکی محتوی نسبی آب برگ کاهش یافت و گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد محتوی نسبی آب بیشتری را نشان دادند. مقدار کاهش محتوی نسبی آب برگ در تیمار قطع آبیاری موقع گلدهی21/4 درصد تیمار شاهد بود (جدول 2). لذا می‌توان بیان داشت که مرحله گلدهی از لحاظ محتوی نسبی آب برگ نسبت به تنش خشکی از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشد. مقایسه میانگین صفات نشان داد تیمار آبیاری نرمال + تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه169 نسبت به تیمار شاهد 7/73 درصد محتوی نسبی آب برگ بیشتری را به خود اختصاص داده است (جدول 2). کاهش در محتوی نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی در اثر کاهش پتانسیل اسمزی سلول های برگ می‌باشد (وو و همکاران، 2008). لذا میکوریزایی می‌تواند تعادل آبی[1] (وضعیت آب گیاه به میزان نسبی جذب آب و خارج شدن آب از گیاه بر اثر تعرق) گیاهان را در شرایط تنش خشکی بهبود دهد.

1. Water Balance



شکل 2- اثرات متقابل تنش و نوع تلقیح بر محتوی نسبی آب برگ ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

محتوی کلروفیل برگ

بین تیمارهای تنش خشکی از لحاظ محتوی کلروفیل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) وجود دارد (جدول1). بر اساس مقایسه میانگین صفات با اعمال تنش خشکی محتوی کلروفیل برگ در ماش کاهش یافت به طوری که اختلاف معنی-داری بین تیمارهای تنش در مرحله غلاف‌بندی و مرحله گلدهی مشاهده نشد (جدول2). احتمالاً افزایش در محتوی کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط نرمال به دلیل کاهش سطح برگ و تجمع کلروفیل در سطوح کمتر برگ باشد. تجزیه عاملی صفات نشان داد که صفت محتوی کلروفیل در عامل دوم با مقدار عددی 0/812دارای ضریب عاملی بالا و منفی است (جدول 3). لذا محتوی کلروفیل برگ به عنوان شاخصی مطمئن که بتواند نقش همزیستی *Funneliformis mosseae* و*Pseudomonas fluorescens* 169 را در افزایش مقاومت به تنش خشکی بیان کند زیاد موثر نبوده است. با این حال در بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های میکوریزا بر روابط آبی، تبادلات گازی و رشد رویشی گیاه رزماری نشان داده شد که بیوماس ریشه و قسمت هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بوده و پتانسیل آب برگ آن‌ها کمتر کاهش یافت. همچنین اثر مثبت قارچ‌های میکوریزا بر هدایت روزانه ای و محتوی کلروفیل برگ‌ها مشاهده گردید (سانچز- بلانکو و همکاران، 2004).

میزان فسفر

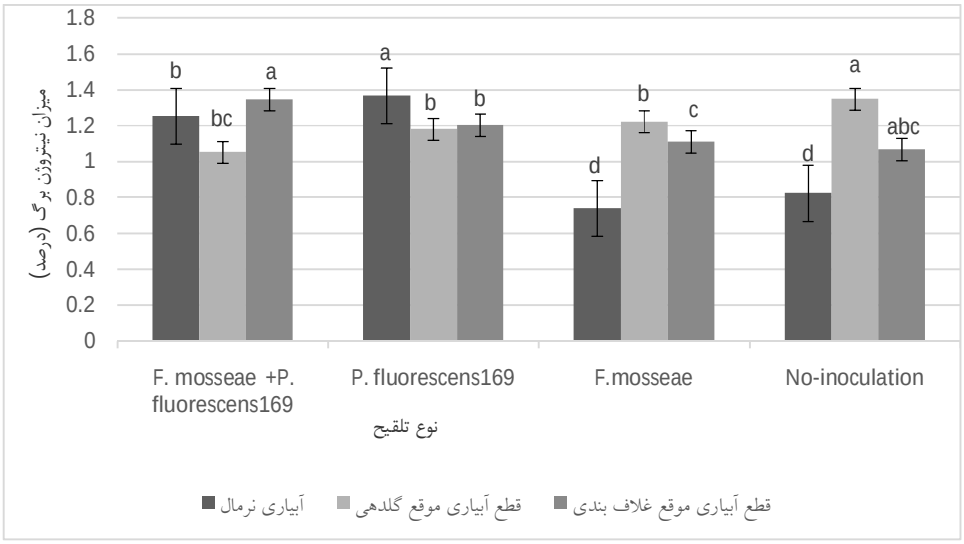
جدول تجزیه واریانس صفات حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) بین تیمارهای نوع تلقیح از لحاظ میزان فسفر می‌باشد (جدول 2). تیمار تلقیح با *Funneliformis mosseae* با افزایش نفوذ ریشه‌ها به منافذ بسیار ریز خاک و حتی افزایش قادر ساختن نفوذ تارهای کشنده به خاک باعث افزایش میزان جذب عناصر غذایی گردید. گیاهان تلقیح شده با *Funneliformis mosseae* میزان دریافت فسفر بیشتری داشته‌اند به طوری که 28/5 درصد بیشتر از گیاهان بدون تلقیح بود (جدول2). بهبود وضعیت جذب فسفر با تلقیح میکوریزایی توسط غلامی و محمودی (1393) در ذرت، محمد و همکاران (2003) در جو نیز گزارش شده است. حبیب‌زاده و همکاران (1389) جذب بیشتر فسفر و نیتروژن از خاک توسط میکوریزایی را عامل افزایش کارآیی مصرف آب و افزایش عملکرد دانه گزارش کردند.

میزان نیتروژن

نتایج نشان می‌دهد بین تیمارهای مختلف تنش و نیز اثرات متقابل نوع تلقیح و تنش خشکی به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد وجود دارد (جدول1). تنش خشکی منجر به افزایش میزان نیتروژن گیاه گردید. بیشترین افزایش به مقدار 14/8 درصد نسبت به تیمار شاهد در مرحله گلدهی مشاهده شد (جدول2). افزایش میزان نیتروژن در شرایط تنش خشکی توسط انصاری و همکاران (1394) نیز گزارش

شده است. بر اساس اثرات متقابل تلقیح و تنش خشکی تیمار تلقیح با سودوموناس فلورسنس + آبیاری نرمال 66/06 درصد نیتروژن گیاه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (جدول2). چنین به نظر می‌رسد باکتری سودوموناس فلورسنس سویه 169 در افزایش توانایی ریشه در تبادلات نیتروژن مؤثرتر بوده که با افزایش جذب آب و عناصر معدنی و کلونیزاسیون ریشه تأثیرات مفید در رشد و افزایش نیتروژن اندام‌های هوایی در شرایط کشت گلدانی داشته است.

سازوکار همزیستی میکوریزایی در افزایش غلظت نیتروژن دانه از طریق بهبود رشد و نمو و متعاقب آن افزایش وزن خشک گیاه بیان شده است (آریاگادا و همکاران، 2007; درزی و همکاران، 1388). در حالی که برخی محققین (تورو و همکاران، 1997; محمودی و همکاران، 1382) افزایش تغذیه فسفری گیاه به دلیل میکوریزایی را عامل افزایش غلظت نیتروژن گزارش کرده اند. تجزیه عاملی صفات نشان می دهد میزان نیتروژن برگ در گروه سوم دارای بیشترین ضریب عاملی (0/713) و مثبت بوده است (جدول3).



شکل 3- اثرات متقابل تنش خشکی و نوع تلقیح بر میزان نیتروژن برگ ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

طول غلاف و تعداد دانه در غلاف

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان می‌دهد بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ طول غلاف اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی از لحاظ تعداد دانه در غلاف بین تیمارهای تنش خشکی و نوع تلقیح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) مشاهده گردید (جدول1). مقایسه میانگین صفات نشان داد تنش خشکی تأثیر منفی روی تعداد دانه در غلاف داشت و تلقیح توأم سودوموناس فلورسنس سویه 169و فنلی فورمیس موسه منجربه افزایش50/7 درصدی تعداد دانه در غلاف نسبت به تیمار شاهد شد (جدول 2). در کـل در شرایط کشت گلدانی تعداد دانه در غلاف متأثر از نوع تلقیح بود. بطوریکه در گیاهان تلقیح شده تعداد دانه در غلاف بیشتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح مشاهده گردید (جدول 2). چنین به نظر می رسد تیمار تلقیح با بهبود توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی و افزایش نیتروژن و فسفر موجب افزایش سطح فتوسنتز کننده و توانایی گیاه در انتقال این عناصر به قسمت‌های زایشی شده و تعداد دانه در غلاف را افزایش داده است. بر اساس تجزیه عاملی، صفات تعداد دانه در غلاف با ضریب عاملی مثبت و بالا (0/740) بعنوان صفات مهم دخیل در افزایش مقاومت ماش به خشکی به عنوان عامل عملکرد دانه معرفی شد (جدول 3).

جدول 1- تجزیه واریانس مولفه های اندازه گیری شده ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		ارتفاع بوته	تعداد برگ در بوته	محتوی نسبی آب برگ	محتوی کلروفیل	میزان فسفر	میزان نیتروژن	طول غلاف	تعداد دانه در غلاف
تکرار	3	144/476**	89/014*	177/879*	1496/218**	39/495	264/515	0/357	5/799
تنش خشکی	2	290/515**	242/068**	471/313**	187/984*	11/482*	11/482*	1/532	28/288**
اشتباه آزمایش	6	11/817	13/176	20/536	46/150	118/904	118/904	1/811	2/283
نوع تلقیح	3	28/816*	48/165**	45/180	270/900	203/601**	14/156	0/948	20/045**
نوع تلقیح x تنش خشکی	6	36/395**	15/319	271/327*	344/718	19/710	18/311**	3/172	3/589
اشتباه آزمایش	27	11/180	9/006	83/733	215/223	34/94	20/263	1/645	3/016
کل	47								
درصد تغییرات		16/44	17/42	20/97	26/68	26/59	39/33	19/28	26/11

^{ns} ، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال5 % و1%.

جدول 2- مقایسه میانگین اثرات اصلی مولفه های اندازه‌گیری شده ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

تیمارها	تعداد برگ در بوته	محتوی کلروفیل	میزان فسفر (٪)	تعداد دانه در غلاف
آبیاری نرمال	21/188 ^{a}	51/155 ^{b}		80/155^{a}
قطع آبیاری موقع گلدهی	17/077 ^{b}	57/766 ^{a}		6/162 ^{b}
قطع آبیاری موقع غلاف بندی	13/413 ^{c}	56/033 ^{a}		5/634 ^{b}
بدون تلقیح	15/156 ^{b}		0/21^{b}	5/645 ^{ab}
تلقیح با فنلی فورمیس موسه	19/633 ^{a}		0/27 ^{a}	6/527 ^{b}
تلقیح با سودموناس فلورسنس سویه 169	18/053 ^{a}		0/17 ^{ab}	5/920 ^{ab}
تلقیح با فنلی فورمیس موسه + سودوموناس فلورسنس سویه 169	16/74 ^{b}		0/22 ^{b}	8/508 ^{a}

- در هر ستون بین میانگین‌هایی که با حروف مشابه نشان داده‌شده فاقد اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد به روش دانکن می‌باشند.

جدول 3- تجزیه عاملی مولفه های اندازه گیری شده ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

صفات	عامل ها		
	1	2	3
ارتفاع بوته (سانتی متر)	0/927	-0/085	0/036
تعداد برگ بوته	0/899	0/227	0/017
محتوی نسبی آب برگ(٪)	0/031	0/793	0/076
محتوی کلرو فیل(٪)	-0/002	0/812	-0/145
میزان فسفر(٪)	0/655	0/193	-0/008
میزان نیتروژن(٪)	-0/573	0/003	0/713
طول غلاف (سانتی متر)	0/350	0/049	0/8123
تعداد دانه غلاف	0/740	0/266	0/342
سهم کل عامل	3/596	1/457	1/329
درصد واریانس توجیهی	38/699	18/209	16/616
درصد واریانس تجمعی	38/699	56/908	73/525

درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد کلونیزاسیون ریشه نشان می‌دهد بین تیمارهای نوع تلقیح از لحاظ درصد کلونیزاسیون ریشه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد (جدول 4). بیش ترین میزان کلونیزاسیون ریشه مربوط به تیمار تلقیح با سودوموناس فلورسنس سویه 169 با 55/4 درصد بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169 نشان نداد (جدول5). مشاهده گردید که گیاهان تلقیح شده با هر دوی سودوموناس فلورسنس سویه 169 و فنلی فورمیس موسه با 54/9 درصد میزان کلونیزاسیون ریشه، دارای تعداد دانه در غلاف بیشتری نسبت به سایر تیمارهای تلقیح بودند بطوریکه نسبت به تیمار شاهد 33/6 درصد افزایش نشان دادند (جدول 2). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلفی بر همزیستی قارچ‌های میکوریز آربسکولار با گیاهان اثر می‌گذارند. این سازوکارها شامل تأثیر بر میزان تمایل و پذیرش ریشه نسبت به قارچ، رشد و جوانه زنی اسپورها و همچنین تغییر ترشحات ریشه‌ای در محیط ریزوسفر می‌باشند (سادات و همکاران، 2009). تلقیح با *Funneliformis mosseae* باعث 50/7 درصدی کلونیزاسیون ریشه شد (جدول 4). رودریگز و همکاران (2008) گزارش کرده‌اند که کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریزا آربسکولار هنگامی که گیاه فعالانه در حال رشد است افزایش می‌یابد. لذا در مرحله پرشدن دانه ها افزایش در تعداد دانه غلاف در گیاهان تلقیح شده با هردوی فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169 در اثر افزایش درصد کلونیزاسیون و ایجاد حالت هم افزایی در تولید دانه بیشتر می‌باشد.

جدول 4- تجزیه واریانس درصد کلونیزاسیون ریشه ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد کلونیزاسیون ریشه
تکرار	3	145/505
تنش	2	136/828
نوع تلقیح	3	346/004*
تنش × نوع تلقیح	6	86/660
اشتباه آزمایشی		109/692
کل	48	
درصد تغییرات		14/3

ns ، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی‌دار در سطح احتمال 5 % و1%.

جدول 5- مقایسه میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط گلخانه

تیمارها	درصدکلونیزاسیون ریشه (درصد)
بدون تلقیح	0/8[c]
فنلی فورمیس موسه	50/7[b]
سودوموناس فلورسنس سویه169	55/4[a]
فنلی فورمیس موسه + سودوموناس فلورسنس سویه169	54/9[a]

در هر ستون بین میانگین‌هایی که با حروف مشابه نشان داده‌شده فاقد اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد به روش دانکن می باشند.

نتیجه‌گیری

گیاهان تلقیح شده با پاسخ های فیزیولوژیکی که با مقاومت به خشکی افزایش یافته در ارتباط می‌باشند، با امکان فراهمی دسترسی به آب در زمان تنش، رشد بهتر گیاه در خاک را موجب شدند. بطوریکه اختلاف در تیمارهای نوع تلقیح و تنش خشکی به مقدار جذب آب و عناصر غذایی معدنی مربوط می‌شود. گیاهان تلقیح شده تعادل آبی در شرایط تنش خشکی را بهبود دادند. بطوریکه *Funneliformis mosseae* باعث افزایش31/1 درصدی فسفر، 29/5درصدی تعداد برگ در بوته و17/4درصدی ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد و تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169 موجب افزایش 50/7 درصدی تعداد دانه در غلاف و تلقیح به تنهایی سودوموناس فلورسنس 169 موجب افزایش 66/06 درصدی نیتروژن نسبت به تیمار شاهد گردید و با 55/4 درصد نسبت به شاهد بالاترین درصد کلونیزاسیون ریشه را موجب شد که با تلقیح توأم فنلی فورمیس موسه و سودوموناس فلورسنس سویه 169 اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جداول 5 و 2). لذا عوامل میکروبی و برهم کنش آنها کلونیزاسیون ریشه‌ها را افزایش می دهد. بر اساس اثرات متقابل تنش خشکی و نوع تلقیح محتوی نسبی آب برگ، درصد نیتروژن و ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد کاهش اندکی یافت. لذا تحت شرایط تنش خشکی، همزیستی میکوریزایی و سودوموناسی میزان رشد و جذب عناصر غذایی را نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بهبود بخشید. همچنین حساس ترین مرحله رشدی گیاه به تنش خشکی بر اساس محتوی نسبی آب برگ مرحله گلدهی تعیین شد. بطوریکه قطع آبیاری موقع گلدهی باعث کاهش 21/4 درصدی محتوی نسبی آب برگ نسبت به شاهد گردید. در حالی که از لحاظ سایر صفات مورد مطالعه مرحله غلاف بندی به عنوان حساس ترین مرحله رشدی گیاه به تنش خشکی بود.

سپاسگزاری

برخود وظیفه می‌دانیم از زحمات بی دریغ آقایان دکتر اصغری، دکتر علیخانی، دکتر رجالی و مسئولین محترم آزمایشگاه و گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه کمال تقدیر و قدردانی نماییم.

فهرست منابع:

1. ع. 1375. روش های تجزیه گیاه. نشریه فنی. انتشارات موسسه تحقیقات خاک و آب.2، (982): 128صفحه.
2. م.ح، اردکانی. م.ر، اسدی رحمانی. ه، پاک نژاد. ف و حبیبی. د. 1394. اثر سویه‌های فلورسنس سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) بر وضعیت هورمونی، قندهای محلول و پرولین ذرت تحت تنش خشکی. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره 39. صفحات:42 -54.
3. آروین. پ و وفابخش. ج. 1395. مطالعه اثر تنش خشکی و برخی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی برکارآیی مصرف نور و ضریب تخصیص مواد به غلاف در ارقام کلزا (*Brassica spp*. L.). فصلنامه بوم شناسی. جلد8. شماره1. صفحه: 134-152.
4. پیرزاد. ع، حبیب‌زاده. ی و جلیلیان. ج.1393. تغییرات عملکرد دانه ماش. (*Vigna radiata* L) در همزیستی با قارچ‌های میکوریزا تحت تنش رطوبتی. فصلنامه پژوهش در گیاهان زراعی. 2(2). ص: 33-34.
5. تاجیک خاوه. م، اله دادی. ا، دانشیان. ج و آرمندپیشه. ا.1390. بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر گره زایی و رشد سویا (*Glycine max* L.) تحت تنش کم آبی بذر. نشریه بوم شناسی کشاورزی. جلد3. شماره3. ص: 337-346.
6. جباری. ح، خوش خلق سیما. ن. ا، اکبری. غ. ع، الله دادی ا، شیرانی راد. ا. ح و حامد. ع. 1395. بررسی رابطه سیستم ریشه ای با روابط آبی کلزا در شرایط تنش خشکی. مجله به زراعی کشاورزی. سال هجدهم، شماره 1. ص: 1- 19.
7. حبیب زاده. ی، زردشتی. م.ر، پیرزاد. ع و جلیلیان. ج. 1389. اثر میکوریزا آربسکولار بر درصد عملکرد پروتئین ماش (*Vigna radiata* L. Wilczek) تحت تنش کم آبی. همایش ملی تنوع زیستی و اثر آن بر کشاورزی و محیط زیست: 5 ص

8. م.ت، فلاوند. ا و رجالی. ف. 1388. تأثیر معرف کودهای بیولوژیک بر روی جذب عناصر K,P,N و عملکرد دانه در گیاه دارویی رازیانه(*Foeniculum vulgare* mill). فصلنامه علمی ـپژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد 25. شماره 1. صفحه 19-1.

9. ع و محمودی. م. 1393. بررسی اثر قارچ میکوریزا (VAM) و مقادیر کود فسفر بر ویژگی های کمی و کیفی ذرت دانه ای سینگل کراس کارون. فصلنامه علمی- پژوهش فیزیولوژی گیاهان زراعی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز- سال61: شماره26. ص: 130-115.

10. ا، رضوی. س.م، قاسمی. ع.و.ا، پیردشتی. ه.ا و رمضانی. م. 1395. اثر هم زیستی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود صفات مورفولوژیک و رنگیزه های فتوسنتزی گیاهچه های گوجه فرنگی(*Solanum lycopersicum* L) مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی. دوره 6. شماره24. ص:57-63.

11. قربانیان. د، رجالی. ف و اسمعیلی زاد. ا.1393. بررسی کارآیی همزیستی قارچ های مایکوریزا با گیاه ذرت تحت شرایط تنش کم آبی و سطوح مختلف فسفر. مجله پژوهش آب در کشاورزی. جلد28. شماره4. ص: 677- 689.

12. قورچیانی.م ، علیخانی. ح، اکبری .غ.ع، زارعی. م و اله دادی. ا.1391. اثر باکتری حل کننده فسفات، قارچ میکوریز آربسکولار و کود شیمیایی فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه ذرت در شرایط آبیاری معمول و کم آبیاری در منطقه کرج. نشریه پژوهش های زراعی ایران. جلد 10. شماره1. ص:214-224.

13. کرمی چمه. س، نمروری. م، فتحی.ا، بهامین. ص و کردونی. ف.1393. ارزیابی اثر سودوموناس فلورسنس بر خصوصیات گیاهچه کلزا تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول. پژوهش های زراعی در حاشیه کویر. جلد11. شماره4. صفحه: 289-296.

14. م، فهیمی. ح و خوشرو. م.ر.1382. بررسی اثر تغذیه فسفری و قارچ میکوریزی وزیکولار - آربسکولار بر روی رشد، جذب عناصر N و P در گیاه پسته (*Pistacia vera* L). پژوهش و سازندگی. 29:58 – 23.

15. Arreiagada, C.A., Herrera, M.A. and Ocompo, J.A. 2007. Beneficial effect of saprobe and *arbuscular mycorrhizal* fungi on growth of Eucalyptus globules co-cultured with *Glycine max* in soil Contaminated with heavy metals. Journal of Environmental Management. 84: 93-99.

16. Auge, R.M. 2001. Water relations, drought and VA my corrhizal symbiosis my corrhizal.18:181-195.

17. Benton, J.J. 2001. Laboratory Guild for Conducting Soil Test and Plant Analysis.363 P.P. USA. CRC Press.

18. Bremner, J.M., and Mulvaney. C.S. 1982. Nitrogen-Total, P 595-624. In: Page, A.L. *et al.*, (eds.), and Methods of soil analysis. Agronomy Monograph 9, Part2, 2nd Ed. American society of Agronomy, Madison, WI.

19. Celik, I., Ortas, I. and Kilic, S. 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil. Soil and Tillage Research. 78(1), 59-67.

20. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques to measure vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.

21. Hajrasouliha, sh., Behran,sh and Mokhtarzade, E. A. 1982. Application fast method of soil moisture duration for some of iran soils. *Iranian Journal of Agriculture Sciences*, 13, 30-38.

22. Heuer, B. and Nadler, A. 1995. Growth, development and yield of potatoes under salinity and water deficit. Australian Journal of Agric. Research., 46: 1477–1486.

23. Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L. and Roldan, A. 2006. Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilization and promotion of biological fertility in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. Soil Use and Management, 22: 298-304.

24. Liu, R., Li, M. and Meng, X. 2000. Effects of AM fungi on endogenous hormones in corn and cotton plants. Mycosystem. 19: 91-96.
25. Magsood, M., Iqbal, J., Rafiq, K. and Yousef, N. 2000. Response of two cultivars of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) to different irrigation levels. Pakistan Journal of Biological Sciences. 3(6), 1006-1007.
26. 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. Journal of Plant Nutrition. 26 (1), 125-137.
27. Mukerji, K.G. and Chamola, B.P. 2003. Compendium of mycorrhizal research. A. P. H. Publisher. New Delhi. 310 P.
28. Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Ashraf, M. 2010. Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Science. 29, 360–393.
29. Oliveira, R.S., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M.F., Vosátka, M. and Freitas, H. 2017. Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with *arbuscular mycorrhizal* fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions. Journal of Science, Food and Agriculture, 97, 4379–4385. Doi:10.1002/jsfa. 8201
30. Page, A.L. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society or Agronomy, Madison WI.1159 PP.
31. Rodrıguez-Echeverrıa, S., Gera Hol, W.H., Freitas, H., Eason, W.R., and Cook, R. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi of *Ammophila arenaria* (L.) Link: Spore abundance and root colonization in six locations of the European coast, European Journal of Soil Biology, 44:30-36.
32. Phillips, J.M and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection transBrit. Mycological society, 55:158-161.
33. Ritchie, S.W. and Nguyen, H.T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30:105-111.
34. Sadat, A. Savaghebi, G.h. Rejali, F. Khavazi, K. and Shirmardi, M. 2009. Effects of some plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strains on root colonization of two wheat varieties (cistan and chamran). Proceeding of the 11th Iranian Soil Science Congress, 12-15 July, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.119-121.33.
35. Sadegipour, O. 2009. The influence of water stress on biomass and harvest index in three mung bean (*Vigna radiata* (L) Wilczek) cultivars. Asian Journal of Plant Science. 8(3), 245-249.
36. Sanches-Blanco, M., Ferrandez, M., Morales, A. Morte, A. and Alarcon, J. 2004. Variation in water status, gas exchang, and growth in *rosmarinus officinalis* plant infected with *Glomus desrticola* under drought condition. Journal of Plant Physiology.161: 675-682.
37. Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Abdul Jaleel, C. and Hong-Mei, M. 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comptes Rendus. Biology. 331: 433–441.
38. Toro, M., Azcon, R. and Barea, J.M. 1997. Improvement of arbnscular mycorrbiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32p) and nutrient cycling. Applied and Environmental Microbiology. 63(11), 4408-4412.
39. Wu, Q.S., Xia, R.X. and Zou, Y.N. 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three *arbuscular mycorrhizal* fungi under drought stress. European Journal of Soil Biology. 44: 122–128.

ارزیابی برخی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ساقه و برگ تعدادی از گیاهان دارویی

علی اشرف سلطانی طولارود[1] و اسماعیل گلی کلانپا

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ **ali_soltani_t@yahoo.com**

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ **goli@uma.ac.ir**

دریافت: **99/4/7** و پذیرش: **99/7/23**

چکیده

گیاهان دارویی نقش حیاتی در پیشبرد اهداف ملی، منطقه‌ای و جهانی برای تحقق سلامت، خودکفایی دارویی، ایجاد اشتغال و توسعه اقتصادی دارند. از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد، به نظر می‌رسد که تغذیه‌ی سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای میکروبی دارای بیشترین تطابق با هدف تولید گیاهان دارویی می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف جداسازی باکتری‌های اندوفیت از ساقه و برگ گیاهان دارویی و ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی آنها به‌منظور بررسی پتانسیل استفاده از این ریزجانداران به‌عنوان کودزیستی انجام شد. به‌منظور انجام این پژوهش، بوته‌های سالم گیاهان دارویی ریحان، پونه، رزماری و مرزه از مزارع و گلخانه‌های اطراف شهر اردبیل جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. عمل جداسازی باکتری‌های اندوفیت از ساقه و برگ گیاهان با تهیه سری‌های رقت روی محیط کشت آگار مغذی حاوی قارچ‌کش انجام شد. کلنی‌های رشد یافته‌ی متمایز از نظر شکل ظاهری کلنی، رنگ و حاشیه آن و همچنین سرعت رشد باکتری، پس از واکشت و خالص‌سازی، در یخچال با دمای چهار درجه سلسیوس نگه‌داری گردیدند. در مرحله‌ی بعد تولید ایندول استیک اسید، قدرت حل-کنندگی تری کلسیم فسفات، pH محیط کشت، تولید سیانید هیدروژن و پروتئاز در جدایه‌ها اندازه‌گیری گردید. در این پژوهش در مجموع 95 باکتری اندوفیت از گیاهان مذکور جداسازی و پس از بررسی صفات مرفولوژیک مذکور و سرعت رشد آنها در نهایت 52 جدایه (از هر گیاه 13 جدایه) متفاوت انتخاب شد. نتایج حاصل نشان داد که تمامی باکتری‌های اندوفیت مورد مطالعه قادر به تولید ایندول استیک اسید در غلظت 100 میلی گرم در لیتر ال- تریپتوفان بودند. توانمندترین باکتری‌ها از نظر تولید IAA در پونه (جدایه‌های P_4، P_3 با تولید به‌ترتیب 15/3 میلی‌گرم در لیتر، 11/6 میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید) و ریحان (جدایه B_1 با تولید 13/0 میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید) مشاهده شد. همه جدایه‌های این تحقیق توانایی انحلال تری کلسیم فسفات را داشتند. قوی‌ترین جدایه‌ی حل‌کننده فسفر (S_5 با میزان انحلال 646 میلی‌گرم در لیتر) در بین باکتری‌های جداسازی شده از گیاه مرزه مشاهده شد. کمترین مقدار توان حل‌کنندگی فسفر، در باکتری‌های جداسازی شده از رزماری (جدایه R_4 با میزان انحلال 100 میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد. در پژوهش حاضر همه ریزجانداران مورد ارزیابی قادر به تولید سیانید هیدروژن از مقدار کم تا خیلی زیاد بودند. در ارزیابی توانایی تولید آنزیم پروتئاز در باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده، تشکیل هاله شفاف تنها در اطراف کلنی باکتری‌های S_1، S_4، B_9، B_{12}، B_3، B_{11}، R_7، P_6 و P_4 مشاهده شد. با توجه به نتایج، پیشنهاد می‌گردد اثرات جدایه‌های برتر بر میزان رشد و عملکرد گیاهان دارویی مورد استفاده در این پژوهش در شرایط گلخانه و مزرعه بررسی گردد.

واژه‌های کلیدی: ایندول استیک اسید، انحلال فسفر، سیانید هیدروژن، پروتئاز، کودزیستی

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: اردبیل، بلوار دانشگاه، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم و مهندسی خاک

مقدمه

در کشاورزی مرسوم یکی از روش‌های سریع و به نوعی آسان افزایش تولید در واحد سطح محصولات زراعی، استفاده از سموم و کودهای شیمیایی است. اما این افزایش تولید به قیمت گرانی برای محیط‌زیست و انسان تمام می‌شود. مصرف زیاد این ترکیبات نه‌تنها باعث افت کیفیت محصولات زراعی می‌شود، بلکه اثرات سوء زیادی روی سلامت انسان و اجزای محیط‌زیست از جمله اکوسیستم خاک دارد. در مقابل، کودهای‌زیستی علاوه بر افزایش کیفیت و کمیت محصولات زراعی، با سازوکارهای مختلفی باعث بهبود هرچه بیشتر خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی اکوسیستم خاک به عنوان مهم‌ترین بستر تولید شده و موجب بقاء این اکوسیستم که یکی از مهم‌ترین ارکان کشاورزی پایدار می‌باشد، می‌گردد. کودزیستی یا میکروبی شامل مواد نگهدارنده‌ای با انبوه متراکم یک یا چند ریزموجود زنده مفید خاکزی می‌باشد که در صورت تلقیح به بذر، گیاه یا خاک، قسمت‌های داخلی گیاه را کلونیزه نموده و با افزایش زیست فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان، موجب افزایش حاصلخیزی خاک، رشد گیاه و عملکرد محصول می‌شوند (مالوسا و واسیلو، 2014؛ مزید و خان، 2015).

یکی از ریزجاندارانی که می‌توانند به‌عنوان محرک رشد گیاه در تهیه کودهای میکروبی مورد استفاه قرار گیرند باکتری‌های اندوفیت می‌باشند. اندوفیت‌ها، ریزجانداران باکتریایی و قارچی هستند که در قسمت‌های داخلی بافت‌های گیاهی بدون ایجاد علایم ظاهری در گیاه مستقر می‌شوند و اثرات مضری روی گیاه میزبان ایجاد نمی‌کنند (باکن و وایت، 2000؛ لاتا و همکاران، 2018؛ تاموسیون و همکاران، 2017). همه یا اکثر گیاهان دارای ریزجانداران اندوفیت بوده و باکتری‌های اندوفیت تقریباً از تمام ارگان‌های گیاهی (مانند ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها، دمبرگ‌ها، جوانه‌ها، گل‌ها، میوه‌ها، بذور، برگچه‌ها، مجاری رزین، بافت‌های مریستم، پوست) جداسازی شده‌اند (باکن و وایت، 2000؛ نیر و پدمواتی، 2014). سورت و همکاران (2003) بیش از 360 باکتری اندوفیت را از گیاه هویج وحشی جداسازی نمودند که در باکتری‌های جداسازی شده، جنس‌های *سودوموناس*، *استافیلوکوکوس* و *آگروباکتریوم* غالب بودند. چو و همکاران (2007) 63 باکتری اندوفیت متعلق به 13 جنس مختلف را از قسمت داخلی ریشه‌های جینسنگ رشد کرده در سه منطقه متفاوت را جداسازی نمودند. 77 باکتری اندوفیت از ریشه، ساقه و برگ گیاه بادنجان تاجریزی موجو در دو منطقه جنای آلمان توسط لونگ و همکاران (2008) جداسازی شد. آراویند و همکاران (2009) 80 جدایه باکتری اندوفیت متعلق به جنس‌های *باسیلوس*، *سودوموناس*، *سراشیا*، *میکروکوکوس*، *آرتروباکتر* و *کوتوباکتریوم* را از واریته‌های مختلف گیاه فلفل سیاه نمونه‌برداری شده از نقاط مختلف هند جداسازی نمودند. یانگ و همکاران (2011) و پاتل و همکاران (2012) به‌ترتیب 72 و 18 جدایه باکتری اندوفیت از ساقه و برگ گیاه گوجه‌فرنگی جداسازی نمودند.

دقیقاً مشخص نشده است که گیاهان بیشتر از یک باکتری اندوفیت سود می‌برند یا یک باکتری ریزوسفری، با این وجود مزایای فراوان باکتری‌های اندوفیت برای گیاهان به وسیله محققین مختلف تأیید و اثبات شده است. ظاهراً تعدادی از باکتری‌های مستقر در ریشه، ساقه، برگ، بذر و میوه گیاهان از نظر تأثیر بر سلامت گیاه خنثی هستند، اما چندین مطالعه پیشنهاد کرده است که بسیاری از همیاری‌های اندوفیتی به هیچ وجه خنثی نبوده بلکه برای گیاهان مفید هستند و این باکتری‌ها به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاهی عمل می‌کنند (بارکا و همکاران، 2002).

تحریک و افزایش رشد گیاهان به وسیله باکتری‌های اندوفیت می‌تواند نتیجه تثبیت نیتروژن مولکولی، افزایش زیست فراهمی ترکیبات معدنی، تولید فیتوهورمون‌های گیاهی، تولید ترکیبات فرار مانند 2-3 بوتاندیل و آسئوتین و بیوکنترل عوامل بیمارگر از طریق تولید ترکیبات ضد باکتری و قارچ، رقابت غذایی، تولید سیدروفور، مقاومت سیستمیک القایی و مصونیت توسط این ریزجانداران باشد (اینوگوز و همکاران، 2004؛ ریو و همکاران،a2003؛ سسیتچ و همکاران، 2002؛ استوزو همکاران، 2000). در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل اثبات اثرات مفید آن، ارزان بودن، نداشتن اثرات جانبی و همچنین سازگار بودن با محیط‌زیست روزبه‌روز در حال افزایش است و این گیاهان نقش حیاتی در پیشبرد اهداف ملی، منطقه‌ای و جهانی برای تحقق سلامت، خودکفایی دارویی، ایجاد اشتغال و توسعه اقتصادی دارند (خسروی‌پور و همکاران، 1394). از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه‌ی سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی دارای بیشترین تطابق با هدف تولید گیاهان دارویی می‌باشد (کاپور و همکاران، 2002). مطالعه پژوهش‌های انجام‌شده حاکی از آن است که استفاده از باکتری‌های همراه یک گیاه (موجود در ریزوسفر، ریشه،

بافت‌ها و اندام‌های هوایی آن) که با شرایط زیست-محیطی آن گیاه سازگاری پیدا کرده‌اند، برای تولید کود زیستی جهت افزایش رشد از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به محدود بودن اطلاعات در خصوص توانایی محرک رشد بودن باکتری‌های اندوفیت همزیست با گیاهان دارویی در کشور، این تحقیق با هدف جداسازی باکتری‌های اندوفیت از ساقه و برگ گیاهان دارویی و ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی آنها به‌منظور بررسی پتانسیل استفاده از این ریزجانداران به‌عنوان کودزیستی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این پژوهش، بوته‌های سالم گیاهان دارویی ریحان، پونه، مرزه (از باغات سبزی اردبیل و شش عدد به ازای هر گیاه) و رزماری (به تعداد شش عدد از باغ سبزی و گلخانه واقع در اردبیل) با دقت لازم جمع‌آوری گردید. نمونه‌های تهیه شده تا شروع آزمایش در شرایط مناسب در آزمایشگاه نگه‌داری و ساقه و برگ این گیاهان به‌عنوان منبعی برای جداسازی باکتری‌های اندوفیت استفاده شدند.

جداسازی باکتری‌های اندوفیت

بدین‌منظور، ساقه و برگ گیاهان دارویی پس از شستشوی کامل با آب مقطر، به مدت یک دقیقه در الکل اتیلیک 70 درصد و 5 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 2 درصد غوطه‌ور شدند. اندام‌های هوایی استریل سطحی شده پس از چندین‌بار شستشو با آب مقطر استریل (حدوداً شش بار)، تحت شرایط اسپتیک با استفاده از یک هاون استریل به‌خوبی له گردید. سوسپانسیون تهیه شده به محیط کشت نوترینت براث تلقیح و پس از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 27-26 درجه سلسیوس، از محیط کشت کدرشده رقت متوالی تهیه و در سطح پلیت حاوی محیط کشت مایع مغذی محتوی قارچ‌کش‌های سیکلوهگزیمید، بنومیل و متالاکسیل تلقیح شدند. پلیت‌ها به مدت 24 تا 72 ساعت در دمای 27-26 درجه سلسیوس انکوبه شده و بعد کلونی‌های باکتریایی متفاوت از نظر اندازه، رنگ و سرعت رشد طی چند مرحله واکشت خالص‌سازی گردیدند (هونگ و آناپورنا، 2004). برخی از خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده شامل واکنش گرم، رشد در شرایط هوازی، کاتالاز، اکسیداز و اوره‌آز بر اساس کتاب راهنمای برگی اندازه-گیری شد (گریتی و همکاران، 2005).

اندازه‌گیری صفات محرک رشد گیاهی

اندازه‌گیری میزان تولید ایندول استیک اسید

به‌منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت 48 ساعت در محیط کشت NB کشت و سپس 50 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به 25 میلی لیتر محیط کشت NB حاوی 100 میلی‌گرم در لیتر ال – تریپتوفان منتقل شد. بعد از 48 ساعت سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با 2 میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی (شامل 150 میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، 250 میلی‌لیتر آب مقطر و 7/5 میلی‌لیتر $FeCl_3.6H_2O$ 0/5مولار) مخلوط گردید. سپس به مدت 25 دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج 535 نانومتر قرائت شد (بنت و همکاران، 2001). مقدار تولید اکسین با مقایسه این جذب با نمودار استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه گردید.

اندازه‌گیری توان حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی در محیط مایع

برای بررسی توان حلالیت فسفر معدنی نامحلول باکتری‌ها، از روش اسپربر (1958) استفاده گردید. در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت 48 ساعت در محیط NB کشت داده شدند، سپس 100 میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی باکتری به 25 میلی‌لیتر محیط اسپربر مایع (شامل 10 گرم در لیتر گلوکز، 0/5 گرم در لیتر عصاره مخمر، 0/32 گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$، 0/14 گرم در لیتر $CaCl_2$، 2/5 گرم در لیتر$Ca_3(PO_4)_2$ و (pH=7/2) حاوی 5 گرم در لیتر تری‌کلسیم فسفات) منتقل شد. سپس ارلن‌های تلقیح شده همراه با یک شاهد به مدت 5 روز داخل انکوباتور شیکر شده و بعد از آن pH آن‌ها قرائت شد. هم‌زمان با عملیات فوق سوسپانسیون حاوی باکتری سانتریفوژ (با دور 10000 به مدت 15 دقیقه) شده و 0/2 میلی‌لیتر از محلول رویی با 3/8 میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات- وانادات مخلوط شد. پس از 10 دقیقه خواباندن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول 470 نانومتر قرائت شده و میزان حلالیت فسفر با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده با استفاده از KH_2PO_4 محاسبه شد.

اندازه‌گیری نیمه کمی توان تولید آنزیم پروتئاز

بدین‌منظور، جدایه‌ها بر روی محیط اسکیم میلک آگار (شامل پنج گرم اسکیم میلک، پنج گرم عصاره مخمر، چهار گرم بلاد آگار و 14 گرم آگار) کشت و برای 48 ساعت در دمای 29 درجه سلسیوس در

انکوباتور قرار داده شدند. سپس پیدایش هاله در پیرامون کلنی همانند شناسه ساخت آنزیم پروتئاز آزمایش شد (مورفر و همکاران، 1995).

اندازه‌گیری توان تولید سیانید هیدروژن

توانمندی جدایه‌های مورد مطالعه در سنتز سیانید هیدروژن به روش دونیت-کورئا و همکاران (2004) ارزیابی شد. بدین‌منظور ابتدا جدایه‌ها در پلیت-های حاوی محیط NB[1] غنی شده با گلایسین (4/4 گرم در لیتر) کشت داده شدند. سپس یک کاغذ صافی آغشته به محلول معرف شامل کربنات سدیم دو درصد و اسید پیکریک 0/5 درصد در قسمت داخلی درب پلیت قرار داده شد. پلیت‌های درز بندی شده با استفاده از پارافیلم، به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای 28 درجه سلسیوس نگه‌داری و براساس تغییر رنگ کاغذ صافی از رنگ زرد اولیه (عدم تولید) به کرم (کم)، نارنجی (متوسط)، قهوه‌ای تیره (زیاد) و آجری (خیلی زیاد) که به‌ترتیب از صفر تا چهار درجه‌بندی شدند میزان تولید سیانید هیدروژن تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این پژوهش، صفات محرک رشد 13 سویه جداسازی شده از هر کدام از گیاهان دارویی نعناع، مرزه، رزماری و پونه در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

جداسازی، خالص‌سازی و برخی صفات بیوشیمیایی جدایه‌های باکتری

در تحقیق حاضر در مجموع 95 باکتری اندوفیت از ساقه و برگ گیاهان دارویی ریحان، پونه، رزماری و مرزه جداسازی شد. پس از بررسی دقیق اندازه کلنی، رنگ و حاشیه آن و همچنین سرعت رشد، در نهایت 52 جدایه (از هر گیاه 13 جدایه) متفاوت انتخاب گردید. باکتری‌های انتخابی پس از اطمینان از خالص بودن آنها، روی پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار برای استفاده‌های بعدی در یخچال با دمای 4 درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. نتایج اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی جدایه‌های مورد بررسی در جدول 1 نشان داده شده است.

ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های اندوفیت جداسازی‌شده

در این پژوهش به‌منظور بررسی پتانسیل محرک رشد گیاهی بودن اندوفیت‌های باکتریایی جداسازی شده، تولید ایندول استیک اسید[2]، میزان افزایش زیست فراهمی ترکیبات معدنی کم‌محلول فسفر (تری‌کلسیم فسفات)، تولید سیانید هیدروژن و آنزیم پروتئاز توسط این ریزجانداران مورد ارزیابی قرار گرفت که در ادامه به تفکیک بررسی خواهند شد.

توان تولید ایندول استیک اسید

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تمام جدایه‌های (13 جدایه برای هر گیاه) اندوفیت انتخابی گیاهان دارویی مورد بررسی، تاثیر معنی‌داری روی توان تولید ایندول استیک اسید در غلظت 100 میلی گرم در لیتر ال- تریپتوفان در سطح احتمال 1 % داشتند (جدول 2).

مقایسه میانگین توانایی باکتری‌های جداسازی شده از چهار گیاه دارویی در تولید ایندول استیک اسید در شکل 1 نشان داده شده است. بر اساس این شکل، توانایی باکتری‌های جداسازی شده از گیاهان دارویی مختلف در تولید این متابولیت با همدیگر متفاوت بود. در بین چهار گیاه دارویی مورد بررسی، باکتری‌های جداسازی شده از گیاه رزماری و مرزه به ترتیب با میانگین تولید 8/00 و 3/58 میلی‌گرم در لیتر اسید ایندول استیک بیشترین و کمترین مقدار این ویژگی را به خود اختصاص دادند. میانگین تولید IAA در باکتری‌های جداسازی شده از گیاه پونه و ریحان به ترتیب 6/73 و 4/79 میلی‌گرم در لیتر بدست آمد.

---

1. Nutrient Broth

2. Indole Acetic Acid; IAA

جدول 1- نتیجه اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی جدایه‌های مورد مطالعه

جدایه	واکنش گرم	کاتالاز	اکسیداز	رشد در شرایط هوازی	اوره آز
R1	+	+	-	+	+
R2	+	_	+	+	-
R3	_	+	+	+	+
R4	_	+	-	+	+
R5	_	+	-	+	_
R6	_	+	+	+	-
R7	+	+	_	+	+
R8	+	-	-	+	+
R9	+	+	+	+	-
R10	+	+	-	+	-
R11	+	_	-	+	-
R12	-	+	+	+	+
R13	-	+	-	+	_
B1	+	+	-	+	+
B2	-	-	+	+	-
B3	-	+	+	+	-
B4	-	+	-	+	+
B5	+	+	-	+	-
B6	-	+	+	+	-
B7	+	+	+	+	-
B8	+	+	-	+	+
B9	-	+	-	+	+
B10	+	-	+	+	_
B11	+	-	+	+	+
B12	-	+	+	+	-
B13	-	+	+	+	+
P1	+	+	-	+	+
P2	+	+	-	+	-
P3	+	+	+	+	-
P4	-	+	+	+	-
P5	-	+	+	+	+
P6	+	+	-	+	+
P7	-	+	-	+	+
P8	+	+	-	+	+
P9	+	+	+	+	-
P10	-	+	+	+	+
P11	-	-	-	+	+
P12	+	+	-	+	-
P13	-	+	+	+	-
S1	_	+	+	+	+
S2	_	_	+	+	-
S3	+	+	-	+	-
S4	_	+	+	+	+
S5	-	+	+	+	+
S6	-	+	+	+	-
S7	+	-	-	+	+
S8	-	+	-	+	+
S9	+	-	+	+	+
S10	+	+	-	+	-
S11	-	+	-	+	+
S12	-	+	+	+	-
S13	+	+	-	+	+

جدول 2- تجزیه واریانس توانایی باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ساقه و برگ گیاهان دارویی ریحان، رزماری، مرزه و پونه در تولید ایندول استیک اسید و حل‌کنندگی تری‌کلسیم فسفات

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		ریحان		رزماری		مرزه		پونه	
		TCPS[1]	IAA[2]	TCPS	IAA	TCPS	IAA	TCPS	IAA
تیمار	12	162881**	265**	154784**	284**	469847**	45/4**	113852**	613**
اشتباه آزمایشی	26	63197	0/442	89779	2/15	68206	0/310	66185	0/870
ضریب تغییرات (CV) (%)		26	54	43	34	26	30	19	59

1 توان حل کنندگی تری‌کلسیم فسفات (Tricalcium phosphate solubilization ability)

2 ایندول استیک اسید (Indole Acetic Acid production, IAA)

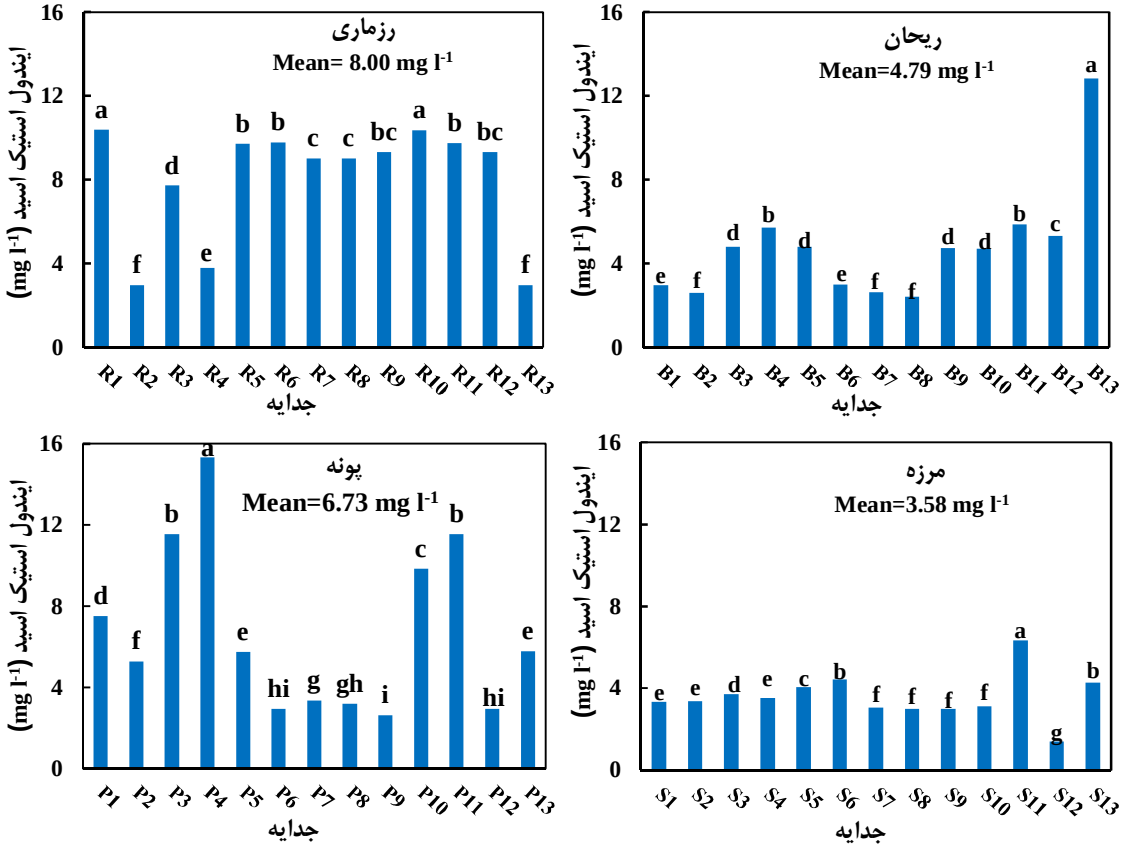
**نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن.

باکتری‌های اندوفیت گیاه رزماری اکثراً توانایی خوبی در تولید فیتوهورمون ایندول استیک اسید داشتند. دامنه‌ی تولید این فیتوهورمون در اندوفیت‌های باکتریایی جداسازی شده از رزماری 2/97-10/39 میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین میزان IAA تولیدی به جدایه R_1 (10/4 میلی‌گرم در لیتر) تعلق داشت که با جدایه R_{10} (10/4 میلی‌گرم در لیتر) تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل 1). کمترین میزان IAA تولیدی به مقدار 2/97 میلی گرم در لیتر در جدایه‌های R_2 و R_{13} مشاهده شد. در گیاه ریحان، جدایه‌های B_{13} و B_8 به ترتیب با تولید 12/81 میلی‌گرم در لیتر و 2/41 میلی‌گرم در لیتر IAA قوی‌ترین و ضعیف‌ترین جدایه‌ها از نظر سنتز این متابولیت بودند (شکل 1). در باکتری‌های جداسازی شده از گیاه مرزه جدایه‌ی S_{11} بیشترین و S_{12} کمترین توانایی را از نظر تولید فیتوهورمون مذکور دارا بودند و سه جدایه‌ی S_1، S_2 و S_4 و همچنین جدایه‌های S_7، S_8، S_9 و S_{10} توانایی خیلی نزدیک به هم از نظر تولید IAA داشتند (شکل 1). مقدار تولید ایندول استیک اسید در اکثر اندوفیت‌های ایزوله شده از پونه با همدیگر اختلاف نسبتاً بالایی داشتند. دامنه تولید در این باکتری‌ها 2/63-15/32 میلی‌گرم در لیتر بود (شکل 1).

در میان همه باکتری‌های مورد مطالعه در این تحقیق، توانمندترین باکتری‌ها از نظر تولید IAA در جدایه‌های P_4، P_3 جداسازی شده از گیاه پونه (به‌ترتیب با تولید 15/3 و 11/6 میلی‌گرم در لیتر IAA) و جدایه B_{13} جداسازی شده از گیاه ریحان (13/0 میلی‌گرم در لیتر IAA) مشاهد شد. همچنین جدایه‌های R_1 و R_{10} (10/4 میلی‌گرم در لیتر و 10/4 میلی‌گرم در لیتر) توانایی نسبتاً بالایی را در تولید فیتوهورمون مورد بررسی نشان دادند. ضعیف‌ترین جدایه از نظر تولید ایندول استیک اسید، در میان باکتری‌های جداسازی شده از گیاه مرزه مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت در مقایسه با دیگر باکتری‌های مورد مطالعه، اکثر جدایه‌های این گیاه توانایی پایینی در تولید متابولیت مورد ارزیابی داشتند.

یکی از مکانیسم‌هایی که توسط آن باکتری‌های اندوفیت باعث افزایش رشد گیاهان میزبان خود می‌شوند تولید IAA است (لی و همکاران، 2004). ایندول استیک اسید مهمترین نوع اکسین و یکی از انواع مهم هورمون-های محرک رشد می‌باشد. این فیتوهورمون در غلظت کم می‌تواند فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل تقسیم و توسعه یافتگی سلول، تمایز بافت‌ها را در گیاه تحت تأثیر قرار داده و به‌ویژه با افزایش چشم‌گیر زیتوده ریشه، موجب افزایش سطح جذب آب و عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه گردد (راجا و همکاران، 2008؛ اسپائپن و همکاران، 2007). توانایی باکتری‌های اندوفیت در تولید ایندول استیک اسید توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است. در تحقیق انجام شده‌ی جئها و کومار (2007)، 7 جدایه اندوفیت از 10 جدایه جداسازی شده از گیاه *Typha australis* از نظر تولید IAA مثبت بودند. وندان و همکاران (2010)، گزارش نمودند که 12 جدایه اندوفیت جداسازی شده از گیاه جینسینگ توانایی بالایی در تولید IAA در محیط کشت نوترینت براث حاوی پیش‌ماده ال-تریپتوفان داشتند. در مطالعه هانگ و همکاران (2007)، تولید اکسین در 56 باکتری اندوفیت جداسازی شده از ساقه، برگ و گره‌های گیاه سویا مشاهده شد که 15 جدایه از آنها بیش از 25 میکروگرم در میلی‌لیتر IAA در حضور ال-تریپتوفان تولید نمودند. در مطالعه حاضر جدایه‌های جداسازی شده از گیاهان دارویی مختلف تفاوت قابل توجه در تولید IAA داشتند، در حالی که به استثنای گیاه پونه (که تفاوت بین برخی جدایه‌ها از نظر سنتز متابولیت

مورد ارزیابی نسبتاً بالاست)، در سه گیاه ریحان، رزماری و مرزه اختلاف چندانی بین اکثر گونه‌های جداسازی شده از یک گیاه از نظر تولید ایندول استیک اسید وجود نداشته و این جدایه‌ها مقادیر خیلی نزدیک به هم از فیتوهورمون مزبور را تولید نمودند. تولید مقادیر متفاوت IAA توسط انواع مختلف سویه‌های باکتریایی در تحقیقات گزارش شده توسط محققین به چشم می‌خورد. تفاوت در تولید اکسین در ریزجانداران مختلف می‌تواند به دلیل میزان در دسترس بودن سوبسترا و توانایی خود ریزجاندار در استفاده از منابع موجود در محیط باشد. با توجه به این نکته و شرایط آزمایش می‌توان اظهار داشت که باکتری-های دارای توانمندی یکسان از نظر تولید ایندول استیک اسید در این پژوهش، توانایی فیزیولوژیکی و ژنتیکی مشابهی در استفاده از ترکیبات موجود جهت سنتز فیتوهورمون مزبور را دارند. اختلاف در ویژگی‌های ژنوتیپی باکتری‌ها، منجر به تولید مقادیر متفاوت از متابولیت‌های سلولی از قبیل IAA خواهد شد.



شکل 1- میزان ایندول استیک اسید تولید شده توسط باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از برگ و ساقه گیاهان دارویی ریحان، رزماری، مرزه و پونه. حروف متفاوت در هر جدایه مورد بررسی بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد است.

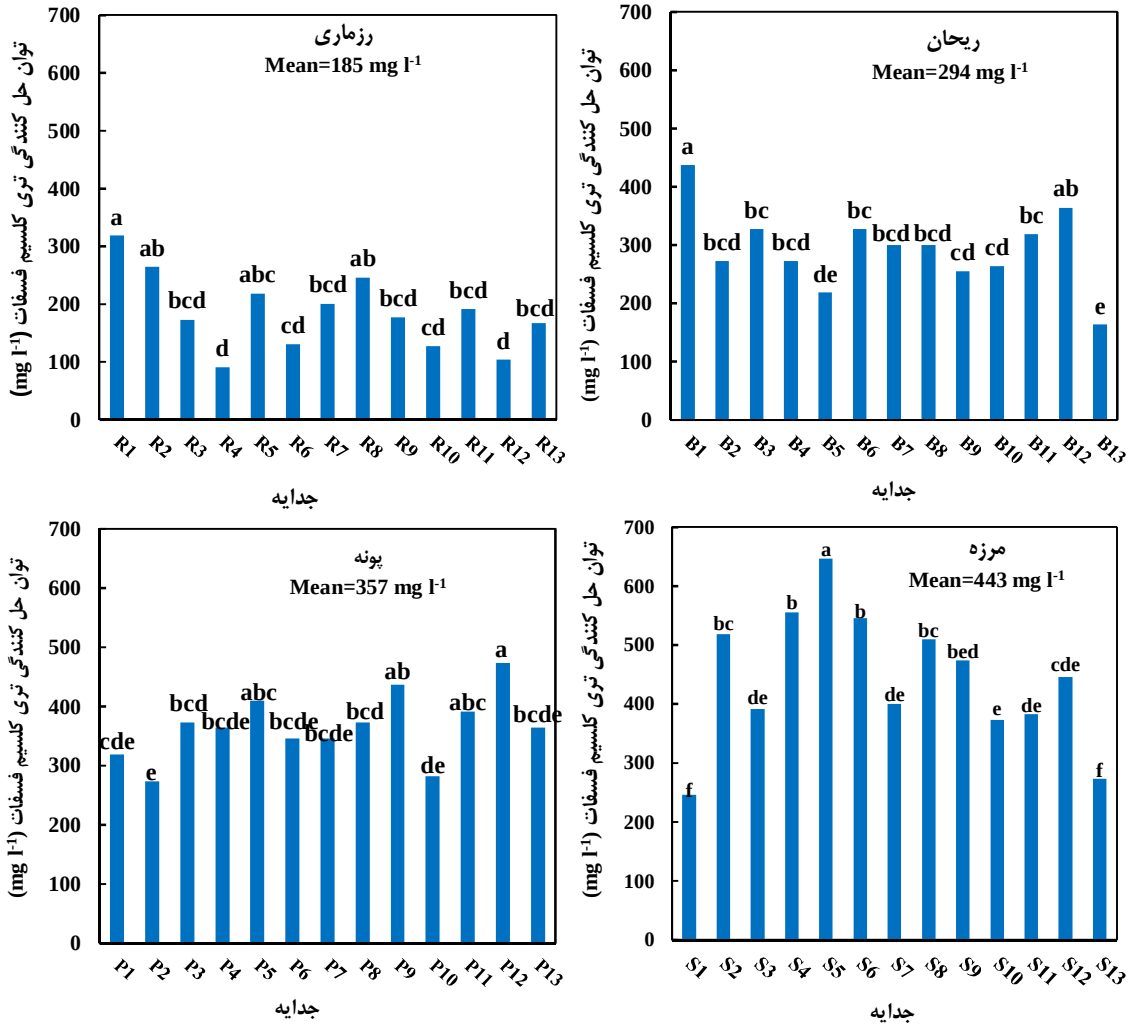
توان حل کنندگی تری‌کلسیم فسفات و تغییرات pH محیط کشت

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی انحلال تری‌کلسیم فسفات توسط جدایه‌های اندوفیت مورد مطالعه و همچنین تغییرات pH محیط کشت در سطح 1 درصد معنی‌دار بود (جدول‌های 2 و 3). همه جدایه‌های این تحقیق توانایی انحلال ترکیب کم‌محلول مذکور را داشتند. قوی‌ترین جدایه‌ی حل‌کننده ترکیب کم-محلول فسفر در بین باکتری‌های جداسازی شده از گیاه مرزه در جدایه S_5 با میزان انحلال 646 میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. اکثر جدایه‌های اندوفیت این گیاه توانایی بالایی را در حل کردن تری‌کلسیم فسفات نشان دادند. مقدار متوسط انحلال توسط اندوفیت‌های گیاه مرزه 443 میلی‌گرم در لیتر بود (شکل 2). در این پژوهش، کمترین مقدار حل‌کنندگی ترکیب معدنی کم‌محلول فسفات با میانگین 185 میلی گرم در لیتر در باکتری‌های جداسازی شده از گیاه رزماری مشاهده شد. در این گیاه، جدایه R_1 با میزان انحلال 319 میلی‌گرم در لیتر توانمندترین باکتری در حل کردن تری‌کلیسم فسفات بود که با تیمارهای R_2، R_5 و R_8 تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل 2). اختلاف نسبتاً کمی بین جدایه‌های اندوفیت گیاه پونه از نظر میزان انحلال ترکیب معدنی کم‌محلول مذکور وجود داشت. در باکتری‌های جداسازی شده از این گیاه، دامنه انحلال تری کلسیم فسفات از 273-473 میلی‌گرم در لیتر بود (شکل 2). در میان باکتری‌های جداسازی شده از گیاه ریحان، جدایه‌های B_1 و B_{13} به ترتیب با میزان انحلال 437 میلی‌گرم در لیتر و 164 میلی‌گرم در لیتر بالاترین و کمترین توانایی را در انحلال تری‌کلیسم فسفات داشتند (شکل 2).

بررسی نتایج پژوهش محققین مختلف نشان می‌دهد که باکتری‌های اندوفیت توانایی انحلال ترکیبات معدنی کم‌محلول را دارند. لونگ و همکاران (2008) گزارش نمودند که تعدای از باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ریشه، ساقه و برگ گیاه بادنجان تاجریزی توانایی انحلال فسفر معدنی کم‌محلول را داشتند. وندان و همکاران (2010)، انحلال فسفات کم-محلول توسط 9 باکتری اندوفیت جداسازی شده از گیاه جینسینگ را مشاهده نمودند. در پژوهش انجام شده توسط پاتل و همکاران (2012)، 9 باکتری جداسازی شده از گیاه گوجه‌فرنگی توانایی انحلال فسفات کم‌محلول را داشتند. زمانی که باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان کودزیستی استفاده می‌شوند، این ریزجانداران با افزایش میزان انحلال ترکیبات معدنی و در نتیجه افزایش زیست فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه موجب افزایش رشد می‌شوند. یکی از مهم‌ترین این عناصر فسفر است که باکتری‌های حل‌کننده ترکیبات معدنی کم‌محلول فسفر[1] موجب افزایش شکل قابل جذب این عنصر برای گیاه می‌گردند. توانایی گونه‌های مختلف باکتریایی در انحلال فسفات‌های معدنی کم‌محلول از قبیل تری کلسیم فسفات، دی‌کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و سنگ فسفات توسط محققین مختلف گزارش شده است (گلداستین، 1986). ریزجانداران حل‌کننده فسفر در خاک با استفاده از فرآیند اسیدی کردن[2]، تولید ترکیبات کلات کننده[3] و واکنش‌های تبادلی[4] باعث افزایش حلالیت ترکیبات معدنی کم‌محلول فسفر می‌شوند (بانیک، 1983؛ رودریگوز و همکاران، 2000؛ سون و همکاران، 2006).

با توجه به داده‌های تجزیه واریانس، تأثیر باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از گیاهان دارویی مورد مطالعه بر pH محیط کشت پنج روز پس از تلقیح باکتری‌ها، در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار بود (جدول 3). بیشترین (5/92) و کمترین (4/65) مقدار pH محیط کشت به ترتیب در تیمار شاهد (بدون ریزجاندار) و تیمار باکتری‌های جداسازی شده از گیاه ریحان مشاهده شد. به عبارت دیگر، باکتری‌های جداسازی شده از گیاه ریحان به طور میانگین 1/27 واحد pH محیط کشت را کاهش داده است. این تأثیر در باکتری‌های جداسازی شده از گیاه مرزه کمترین (0/80 واحد کاهش نسبت به شاهد) و در باکتری‌های جداسازی شده از پونه و رزماری به ترتیب برابر 1 و 0/86 واحد بود. در بین جدایه‌های مورد بررسی نیز کمترین مقدار pH محیط کشت (بیشترین تأثیر در کاهش pH) در جدایه B_9 گیاه ریحان به میزان 4/0 مشاهده شد (جدول 4).

1. Phosphate Solublizing Bacteria; PSB
2. acidification
3. chelation
4. exchange reactions



شکل 2- توان حل کنندگی تری کلسیم فسفات باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از برگ و ساقه گیاهان دارویی ریحان، رزماری، مرزه و پونه. حروف متفاوت در هر جدایه مورد بررسی بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد است.

مقایسه pH مربوط به محیط کشت حاوی جدایه‌های مورد مطالعه با تیمار شاهد بدون ریزجاندار نشان داد که رشد و نمو اکثر جدایه‌ها موجب کاهش این ویژگی در سطح احتمال 1 درصد شدند (جدول 3). البته، آزمون مقایسه میانگین نشان داد که در خصوص برخی باکتری‌ها این کاهش‌معنی‌دار نبود (جدول 4).

بررسی همبستگی پیرسون بین کاهش pH محیط و انحلال تری کلسیم فسفات توسط جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که بجز در باکتریهای جداسازی شده از ریحان ($r=0.513^{**}$)، در سایر گیاهان همبستگی قابل توجهی بین کاهش pH توان حل‌کنندگی فسفات کم-محلول مشاهد نشد ($r=0.287$ برای رزماری، $r=-0.046$ برای مزره و $r=0.18$ برای پونه). هر چند کاهش pH محیط‌کشت حاوی باکتری‌های PSB، تولید اسید آلی توسط این باکتری‌ها را نشان می‌دهد (شارما و همکاران، 2013؛ وایت‌لو، 2000). اما، به نظر می‌رسد اسیدی نمودن[1] محیط کشت تنها مکانیسم انحلال ترکیبات ن کم-محلول فسفر معدنی توسط ریزجانداران PSMs[2] نیست، چون مطالعه تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که در برخی پژوهش‌ها همبستگی بین کاهش pH و انحلال وجود ندارد (ساباروِ، 1982). در یک پژوهش آلتومار همکاران (1999) توانایی قارچ *تریکودرما هارزیانوم* سویه T-22 را در انحلال سنگ فسفات تحت شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. این قارچ قادر به انحلال ترکیب کم‌محلول فسفر بود، اما هیچ‌گونه اسید آلی در محیط کشت این ریزجاندار شناسایی نشد. لذا این

1. Acidification
2. Phosphate Solublizing Microorganisms; PSMs

محققین نتیجه‌گیری کردند که مکانیسم اصلی مورد استفاده توسط قارچ مذکور در انحلال تولید اسید آلی نبوده، چون pH محیط‌کشت کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان نداد. این پژوهشگران کلات‌سازی و فرایند احیا را به عنوان سازوکار انحلال فسفات معدنی کم‌محلول توسط این قارچ ذکر کردند. در پژوهش حاضر نیز همبستگی معنی‌داری بین کاهش pH محیط‌کشت و میزان انحلال تری کلسیم فسفات وجود نداشت. این یافته نشان می‌دهد که تولید اسید آلی توسط اندوفیت‌های جداسازی شده مکانیسم اصلی و در مورد برخی از جدایه‌ها مکانیسم مورد استفاده نیست.

جدول 3- تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده از ساقه و برگ گیاهان دارویی ریحان، رزماری، مرزه و پونه بر pH محیط کشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		ریحان	رزماری	مرزه	پونه
تیمار	13	7/86**	26/60**	6/30**	9/36**
اشتباه آزمایشی	28	0/013	0/007	0/672	0/182
ضریب تغییرات (CV) (%)		6	16	7	8

**نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن.

توان تولید سیانیدهیدروژن (HCN)

در این پژوهش همه ریزجانداران مورد مطالعه قادر به تولید سیانید هیدروژن از مقدار کم تا خیلی زیاد بودند (جدول 4). در گیاه ریحان % 30/8 و % 23/1 جدایه‌ها به ترتیب توانایی خیلی بالا و کمی در تولید این متابولیت داشتند. % 46/1 از باکتری‌های اندوفیت مورد مطالعه مقادیر متوسط و زیاد از HCN را تولید نمودند. در اکثر باکتری‌های جداسازی شده از گیاه رزماری (61/5 درصد)، توانایی تولید با درجه متوسط سیانید هیدروژن مشاهده شد. حداقل مقدار تولید متابولیت مزبور در جدایه‌های جداسازی شده از گیاه مرزه و پونه متوسط بود. در جدایه‌های اندوفیت متعلق به این گیاهان، به ترتیب % 61/5 و % 23/1 جدایه‌ها توانمندی خیلی زیاد در تولید سیانید هیدروژن نشان دادند. در مجموع جدایه‌های جداسازی شده از مرزه در مقایسه با جدایه‌های اندوفیت دیگر گیاهان دارویی مورد مطالعه در این تحقیق، توانایی زیادتری در تولید HCN داشتند.

بررسی نتایج حاصل از توانایی تولید آنزیم پروتئاز در باکتری‌های اندوفیت جداسازی شده نشان داد که همه باکتری‌ها قادر به رشد در محیط کشت اسکیم میلک آگار نبودند. در بین جدایه‌های رشد کرده در محیط مزبور تشکیل هاله شفاف تنها در اطراف کلنی باکتری‌های S_1، S_4، B_9، B_{12}، B_3، B_{11}، R_7، P_6 و P_4 مشاهده شد.

باکتری‌های اندوفیت به‌طور غیرمستقیم و با کنترل عوامل بیمارگر گیاهی موجب تأمین سلامت و افزایش رشد گیاهان مستقر در آن می‌شوند. اولین بار پژوهشگری به نام شیمانوکی (1987) تأثیر اندوفیت‌ها بر قارچ‌های بیمارگر را گزارش نمود. این محقق نشان داد که تلقیح گیاه تیموتی با قارچ *اپیکولی تیفینا* موجب مقاومت این گیاه علفی نسبت به قارچ *کلادوسپوریوم* فلی شد. کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی توسط ریزجانداران اندوفیت توسط محققین مختلف گزارش شده است (آراویند و همکاران، 2009؛ پاتل و همکاران، 2012؛ سئو و همکاران،2010؛ یانگ و همکاران، 2011).

باکتری‌های اندوفیت با تولید متابولیت‌های ضد میکروبی (همچون، آنزیم‌های هیدرولیتیک (سلولاز، پکتیناز، پروتئاز، لامیناریناز)، ترکیبات سمی (سیانید هیدروژن و برخی اسیدهای آلی))، رقابت در جذب عناصر غذایی به‌خصوص آهن و کاهش جذب آن توسط بیمارگر از طریق تولید سیدروفور و اشغال آشیان‌های اکولوژیکی مناسب در گیاه موجب سرکوبی و یا تعدیل اثرات پاتوژن‌های گیاهی می‌شوند. در تحقیق حاضر اکثر جدایه‌های اندوفیت جداسازی شده از گیاهان داوریی توانایی خوبی در تولید سیانید هیدروژن نشان دادند. همچنین تعداد محدودی از باکتری‌ها از توانایی تولید آنزیم پروتئاز برخوردار بودند. لذا انتظار می‌رود که باکتری‌های مورد ارزیابی در این پژوهش (به‌ویژه جدایه-هایی که از نظرستز هر دو متابولیت ضد میکروبی توانمند

بودند) با محدود کردن رشد باکتری‌ها و قارچ‌های بیمارگر باعث بهبود رشد گیاه مستقر در آن شوند.

جدول 4- توانایی باکتری‌های اندوفیت جداشده از ساقه و برگ گیاهان دارویی ریحان، رزماری، مرزه و پونه در تولید سیانید هیدروژن و تغییر pH محیط کشت

ریحان			رزماری			مرزه			پونه		
جدایه	pH	HCN	جدایه	pH	HCN	جدایه	pH	HCN	جدایه	pH	HCN
B_1	4/81de	1	R_1	4/65c	2	S_1	5/48b	4	P_1	4/47f	3
B_2	4/80de	1	R_2	5/39g	2	S_2	5/29b	4	P_2	5/33c	2
B_3	4/82d	2	R_3	5/43f	1	S_3	6/00c	4	P_3	5/15d	2
B_4	4/70f	2	R_4	4/66i	2	S_4	5/97a	3	P_4	5/55b	3
B_5	4/56g	4	R_5	6/43a	2	S_5	4/98c	2	P_5	4/58f	4
B_6	4/92c	4	R_6	4/41g	3	S_6	4/98c	4	P_6	4/56f	4
B_7	4/98b	2	R_7	5/56e	3	S_7	5/77b	4	P_7	4/44f	4
B_8	4/78e	1	R_8	6/20b	1	S_8	4/75c	2	P_8	5/31c	3
B_9	4/00j	3	R_9	4/10l	2	S_9	4/71c	3	P_9	5/00e	3
B_{10}	4/21i	4	R_{10}	4/71h	2	S_{10}	5/28b	3	P_{10}	4/20g	3
B_{11}	4/59g	4	R_{11}	4/41g	1	S_{11}	5/31b	4	P_{11}	5/29cd	2
B_{12}	4/99b	3	R_{12}	4/21k	2	S_{12}	4/70c	4	P_{12}	4/90e	2
B_{13}	4/31h	3	R_{13}	6/00c	2	S_{13}	4/90c	4	P_{13}	5/21cd	3
شاهد	5/92a	0	شاهد	5/92d	0	شاهد	5/92a	0	شاهد	5/92a	0

اعداد 0، 1، 2، 3 و 4 به ترتیب بیانگر عدم تولید، تولید کم، متوسط، زیاد و خیلی زیاد هیدروژن سیانید توسط جدایه‌های می‌باشد. حروف متفاوت در هر خصوصیت مورد بررسی بیانگر معنی داری در سطح احتمال 5 درصد است.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های این تحقیق، می‌توان اظهار نمود که باکتری‌های اندوفیت تولیدکننده‌ی متابولیت‌های محرک رشد و سرکوب‌گر عوامل بیمارگر گیاه، از بافت‌ها و اندام‌های ریحان، پونه، رزماری و مرزه قابل جداسازی هستند. تعدادی از جدایه‌های مورد بررسی در آزمایش حاضر، به دلیل تولید مقادیر زیادی ایندول استیک اسید، تـوانمندی قابل توجه در انحلال ترکیب معدنی کم‌محلول فسفر و تولید بالای ترکیبات ضد میکروبی می‌توانند به‌عنوان کود زیستی فسفاته، فزآینده‌ی (محرک) رشد زیستی و آفت‌کش زیستی در زراعت گیاهان مختلف عمل نمایند. پیشنهاد می‌گردد اثرات جدایه‌های برتر این تحقیق بر میزان رشد و عملکرد گیاهان مورد استفاده در این پژوهش و همچنین دیگر گیاهان در شرایط گلخانه و مزرعه بررسی گردد.

فهرست منابع:

1. خسروی پور، ب.، سیاهپوش، ع.ب.، مهمدی کربلایی، ز. 1394. اهمیت کشت گیاهان دارویی و تولید فرآورده‌های آن در کشاورزی، اولین همایش گیاهان دارویی و داروهای گیاهی، تهران، مرکز توسعه پایدار علم و صنعت فرزین.
2. Altomare, C., Norvell, W.A., Borjkman. T. and Harman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum Rifai* 1295–22. Applied and Environmental Microbiology. 65:2926–2933.
3. Aravind, R., Antony, D., Eapen, S. J., Kumar, A. and Ramana, K.V. 2009. Isolation and Evaluation of Endophytic Bacteria Against Plant Parasitic Nematodes Infesting Black Pepper (*Piper nigrum* L.). Indian Journal of Nematology. 39 (2): 211-217.
4. Bacon, C.W. and White, J.F. Microbial Endophytes; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 2000.

5. Banik, S. 1983. Variation in potentiality of phosphate solubilizingsoil microorganisms with phosphate and energy source. Zentralblatt für Mikrobiologie. 138: 209-216.
6. Barka, E.A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J.C. and Belarbi, A. 2002. Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. Biological Control. 24: 135-142.
7. Bent, E., Tvzun, S., Chanway, C.P. and Enebak, S. 2001. Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology. 47: 793-800.
8. Cho, K.M., Hong, S.Y. and Lee, S.M. 2007. Endophytic bacterial communities in Ginseng and their antifungal activity against pathogens. Microbial Ecology. 54: 341-351.
9. Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M. and Perez, G. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in Chamaecytisus proligerus, a forage tree- shrub legume endemic to the Canary Island. Plant and Soil. 226: 967-978.
10. Garrity, G.M., Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., editors. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. New York: Spriger; 2005. P . 323-84.
11. Goldstein, A. H. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspectives and future prospects. American Journal of Alternative Agriculture. 1:57–65.
12. Hung, P.Q. and Annapurna, K. 2004. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria in Soybean (*Glycine* sp.). Omonrice, 12 (4): 92-101.
13. Hung, P.Q., Kumar, S.M., Govindsamy, V. and Annapurna, K. 2007. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties. Biology and Fertility of Soils. 44: 155–162.
14. Iniguez, A.L., Dong, Y. and Triplet, E.W. 2004. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumonia* 342. Molecular Plant-Microbe Interactions. 17: 1078-1085.
15. Jha, P.N. and Kumar A. October 2007. Endophytic colonization of *Typha australis* by a plant growth-promoting bacterium *Klebsiella oxytoca* strain GR-3. Journal of Applied Microbiology. 103(4): 1311–1320.
16. Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.J. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum*) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82 (4): 339- 342
17. Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S.K. and White. J.r. J.F. 2018. Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. Letters in Applied Microbiology. 66 (4): 268-276.
18. Lee, S., Flores-Encarnacion, M., Contreras-Zentella, M., GarciaFlores, L., Escamilla, J.E. and Kennedy, C. 2004. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome C biogenesis genes. Journal of Bacteriology. 186: 5384–5391.
19. Long, H.H., Schmidt, D.D. and Baldwin I.T. 2008. Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result incommon growth responses. Plos One. 3: e2702.
20. Malusa. E., Vassilev, N. 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. Applied Microbiology and Biotechnology. 98 (15): 6599–6607.
21. Maurhofer, M., Keel, C., Haas, D. and Defago, G. 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* Strain CHA0 with enhanced antibiotic production. Plant Pathology. 44: 40-50.
22. Mazid, M., Khan, T.A. 2015. Future of bio-fertilizers in Indian agriculture: an overview. International Journal of Agricultural and Food Research. 3 (3):10–23.
23. Nair, D.N. and Padmavathy, S. 2014. Impact of Endophytic Microorganisms on Plants, Environment and Humans. The Scientific World Journal. Volume 2014, Article ID 250693, 11 pages.

24. Patel, H.A., Patel, R.K., Khristi, S.M., Parikh, K. and Rajendran, G. 2012. Isolation and Characterization of Bacterial Endophytes From *Lycopersicon esculentum* Plant and Their Plant Growth Promoting Characteristics. Nepal Journal of Biotechnology. 2(1): 37-52.
25. Raja, D., Sivasankari, B. and Daniel, T. 2008. Bioefficacy of Methylobacterium spp. Isolated from various leaf samples on the growth performance of black gram, (L.) Vigna mungo L. walp. Current science. 12: 735-740.
26. Rodriguez, H.; Gonzalez, T. and Selman, G. 2000. Expression of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola* in two rhizobacterial strains. Journal of Biotechnology. 84: 155-161.
27. Ryu, C.M., Farag M.A., Hu, C.H., Reddy, M.S., Wei, H.X., Pare, P.W. and Kloepper, J.W. 2003a. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 100: 4927-4932.
28. Seo, J.H., Leem, J.H., Ha, E.H., Kim, O.J. and Kim, B.M. 2010. Population-attributable risk of low birthweight related to PM10 pollution in seven Korean cities. Paediatric and Perinatal Epidemiology. 24 (2):140–148.
29. Sessitsch, A., Reiter, B., Pfeifer, U. and Wilhelm, E. 2002. Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. FEMS Microbiology Ecology. 39: 23-32.
30. Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. and Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus. 2: 1-14.
31. Shimanuki, H. and Vandenberg, J.D. 1987. Technique for rearing worker honeybees in the laboratoryJournal of Apicultural Research. 26 (2):90–97.
32. Son, H.J.; Park, G.T.; Cha, M.S. and Heo, M.S. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. Bioresource Technology. 97: 204-210.
33. Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. FEMS Microbiology Reviews. 31: 425–448.
34. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere. Australian Journal of Agricultural Research. 9: 778-781.
35. Sturz, A.V., Christie, B.R. and Nowak, J. 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. CRC Crit. Critical Reviews in Plant Sciences. 19: 1–30.
36. SubbaRao, N.S. 1982. Advances in agricultural microbiology. Oxford and IBH Publications Company, India. pp: 229–305.
37. Surette, M. A., Sturz, A. V., Lada, R. R. and Nowak, J. 2003. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. sativus): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. PLant Soil. 253: 381–390, 2003
38. Tamosiune, I., Baniulis, D. and Stanys, V. 2017. Role of endophytic bacteria in stress tolerance of agricultural plants: Diversity of microorganisms and molecular mechanisms. In: Kumar V, Kumar M, Sharma S, Prasad R (Eds). Probiotics in Agroecosystem. Springer, Singapore pp 26-42.
39. Vendan, R.T., Yu, Y.J., Lee, S.H. and Rhee, Y.H. 2010. Diversity of endophytic bacteria in ginseng and their potential for plant growth promotion. Journal of Microbiology. 48:559–565.
40. Whitelaw, M.A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Advances in Agronomy. 69: 99-151.

41. Yang, C., Zhang, X. and Shi, G. 2011. Isolation and identification of endophytic bacterium W4 against tomato *Botrytis cinerea* and antagonistic activity stability. African Journal of Microbiology Research. 5(2):131-136.
42. Yasari, E., Patwardhan, A.M., Ghole, V.S., Ghasemi Chapi, O. and Asgarzadeh, A. 2007. Biofertilizers impact on canola (*Brassica napus* L.) seed yield and quality. Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences. 9(3): 701-707.

فراوانی و تنوع زیستی بندپایان مزوفون خاکزی در لایه‌های مختلف خاک جنگل‌های سوزنی‌برگان

مجید میراب بالو[1] و بهزاد میری

دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران؛ m.mirabbalou@ilam.ac.ir

دانشجوی دکتری گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران؛ behzadmiri664@gmail.com

دریافت: 99/2/6 و پذیرش: 99/7/23

چکیده

به منظور بررسی تنوع زیستی و تغییرات جمعیت مزوفون خاک (کنه‌ها و پادمان) خاک سوزنی‌برگان (شامل درختان سرو و کاج) در ایلام، نمونه‌برداری‌ها به صورت ماهیانه و به مدت یک سال (مهر ماه 1397 تا شهریور 1398) از خاکبرگ (0-5 سانتی‌متر) و خاک سطحی (5-10 سانتی‌متر) انجام شد. بندپایان موجود در خاک با استفاده از قیف برلیز استخراج و در نهایت نسبت به شمارش و شناسایی آن‌ها اقدام گردید. تنوع زیستی بندپایان با استفاده از شاخص-های تنوع زیستی محاسبه شد. در این تحقیق، حضور بندپایان در لایه‌های مختلف خاک و هم‌چنین فصول مختلف سال با یکدیگر مقایسه شدند. آزمون تجزیه واریانس نشان داد که اثر لایه‌های خاک و فصول مختلف در هر دو منطقه (درختان سرو و کاج) معنی‌دار می‌باشد ($P\leq0/01$)، اما اثر متقابل این دو برای تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/01$). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تغییرات فصلی تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار متعلق به درختان سرو با مقادیر عددی 8/22±26/50 (فصل پاییز) و 0/15±0/74 (فصل تابستان) بود. هم‌چنین بر اساس مقایسه میانگین، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار تراکم جمعیت بندپایان در خاک درختان کاج به ترتیب با مقادیر 1/26±4/31 (فصل پاییز) و 0/14±0/63 (فصل بهار) مشاهده شد. در خصوص شاخص‌های تنوع زیستی نیز نتایج بدست آمده نشان داد که بیش‌ترین میزان تنوع گونه‌ای بر اساس شاخص‌های شانون – وینر و سیمپسون به تفکیک فصول و مناطق نمونه‌برداری (درختان سرو و کاج) به ترتیب با مقادیر عددی 3/77 و 0/97 مربوط به درختان کاج و فصل تابستان و کم‌ترین مقدار این شاخص‌ها به ترتیب با مقدار عددی 2/44 و 0/83 مربوط به درختان سرو و فصل بهار به دست آمد. هم‌چنین بیش‌ترین مقدار غنای گونه‌ای مارگالف مربوط به خاک درختان کاج با مقدار 11/68 در فصل پاییز و کم‌ترین مقدار آن مربوط به خاک درختان سرو با مقدار7/89 در فصل بهار بود. بیش‌ترین میزان شاخص یکنواختی پیلو با مقدار عددی 0/97 مربوط به خاک درختان کاج و فصل تابستان و کم‌ترین مقدار این شاخص با مقدار عددی 0/64 مربوط به درختان سرو و فصل بهار بود. به طور کلی شاخص‌های تنوع زیستی محاسبه شده در خاک درختان کاج نسبت به خاک درختان سرو بالاتر بود که می‌توان از این درختان استفاده بیش‌تری در سیستم جنگلکاری شود.

واژه‌های کلیدی: سرو، کاج، شاخص‌های زیستی، مزوفون، ایلام.

[1] نویسنده مسئول، آدرس: ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی

مقدمه

واژه تنوع زیستی یا گوناگونی زیستی در برگیرنده تمامی مراحل تنوع و تغییرپذیری موجودات زنده، درون جوامع و بین آن‌هاست. امروزه تنوع زیستی به عنوان یکی از اساسی ترین موضوعات در بوم‌شناسی مطرح است. حضور گونه‌های مختلف در یک زیست‌بوم به عنوان یک خصوصیت کیفی مطرح بوده و بوم‌شناسان به منظور کمی کردن و تفسیر هرچه بهتر آن، شاخص‌های متعددی را ابداع کرده‌اند که هریک از آن‌ها به نحوی در تحلیل زیست‌بوم و تنوع زیستی دارای کاربرد هستند (باند و چیس، 2002). انواعی از تنوع در سطوح ژن، گونه و زیست‌بوم وجود دارد که هریک بیانگر جنبه‌ای از سیستم-های حیات‌اند که به ترتیب تنوع ژنتیکی، تنوع گونه‌ای و تنوع زیست‌بومی نام دارند. سه واژه برای اندازه‌گیری تنوع زیستی به کار می‌رود که عبارتند از تنوع آلفا یا تنوع درون زیستگاهی، تنوع بتا یا تنوع بین زیستگاهی و تنوع گاما یا تنوع منطقه‌ای (مگوران، 1988). آنچه امروزه بر اهمیت تنوع زیستی می‌افزاید نقش آن در حفظ و ثبات زیست-بوم‌ها است، چون حضور گونه‌های بیش‌تر در یک منطقه سبب پیچیده‌تر شدن ساختار زیست‌بوم و حفظ ثبات در آن می‌شود.

موجودات خاکزی خصوصاً بی‌مهرگان در تجزیه مواد آلی، چرخه نیتروژن و کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌ها نقشی مثبت دارند. این موجودات بر اساس نحوه‌ی تغذیه، میزان فراوانی و عناصر معدنی حاصل از تجزیه بدن خود در بهبود خصوصیات خاک به صورتی مستقیم و یا غیرمستقیم دخالت می‌نمایند. هم‌چنین بی-مهرگان خاکزی تأثیری مثبت بر ترکیب و تراکم پوشش گیاهی داشته و مراحل مختلف توالی را تقویت می‌بخشند (کیاسری و همکاران، 2011).

خاک غنی‌ترین و متنوع ترین جامعه زنده هر زیست‌بوم را در خود جای داده است. این جامعه زنده طیف وسیعی از موجودات اعم از ماکروفون‌ها، مزوفون‌ها، میکروفون‌ها و میکروفلور را در بر می‌گیرد (باریوس، 2007). مزوفون به گروهی از موجودات خاکزی اطلاق می‌شود که اندازه طول بدن آن‌ها از نیم تا دو میلی‌متر می-باشد (بریوالت و همکاران، 2007). مطالعات اندکی در مورد تنوع جمعیت بندپایان خاک سوزنی و پهن‌برگان صورت گرفته است. سنجی و همکاران (1396) در مطالعات خود نتیجه گرفتند که جمعیت کرم خاکی و نماتدها در خاک درختان پهن‌برگ بیش‌تر از سوزنی‌برگ-ها می‌باشد. هم‌چنین مصلحی و نظری (1391) در تحقیق خود نشان دادند که کرم‌های خاکی در جنگل‌های سوزنی-برگ به دلیل اسیدی بودن خاک دارای جمعیت پایینی هستند. اسمیت و همکاران (2008) در مطالعه خود تعداد کل کرم‌های خاکی را در جنگل‌های پهن‌برگ بیش‌تر از جنگل‌های سوزنی‌برگ به دست آوردند. هم‌چنین جانگ و همکاران (2012) در مطالعه خود نتیجه گرفتند که تعداد نماتدها در توده مخلوط پهن برگ‌ها و سوزنی برگ‌ها به دلیل حاصلخیزی خاک و مواد غذایی بیش‌تر است؛ و در مطالعه آن‌ها جمعیت نماتدها در خاک درختان توس بیش‌تر از از خاک درختان کاج بود.

مطالعه‌ی تراکم و ساختار جمعیت جانوران خاکزی از این جهت از اهمیت بالایی برخوردار است که هرچه تنوع گونه‌ای بیش‌تر باشد زنجیره‌های غذایی طولانی‌تر خواهند بود و شبکه‌های حیاتی پیچیده‌تری در زیست‌بوم ایجاد می‌شود (فروز و جیلکوآ، 2008). از آن‌جا که نقش مزوفون خاک در ایجاد تغییرات خاک و تجزیه بسیار مهم است در این تحقیق به بررسی تنوع زیستی و تغییرات جمعیت بندپایان مزوفون خاک سوزنی‌برگان پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این مطالعه، سوزنی‌برگان موجود در دانشگاه ایلام انتخاب شدند. در انجام این تحقیق ابتدا سوزنی‌برگان موجود در دانشگاه ایلام که شامل درختان سرو و درختان کاج بودند شناسایی شدند؛ سپس به مدت یک سال (مهر 1397 تا شهریور 1398) و به صورت ماهیانه، 12 نمونه خاک با سطح مقطع 314 سانتی‌متر مربع و به عمق 10 سانتی‌متر برداشت شد که در دو عمق (خاکبرگ 5-0 سانتی‌متر و عمق 10-5 سانتی‌متر)، و برای هر عمق و هر درخت سه تکرار و در چهار فصل انجام گرفت و نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. جداسازی گروه بی‌مهرگان خاکزی نیز توسط قیف برلیز صورت گرفت. نمونه‌ها به مدت 48 ساعت در قیف برلیز دارای لامپ 40 وات که فاصله لامپ از سطح خاک حدود 25 سانتی‌متری بود قرار داده شدند. کلیه موجودات جداسازی شده پس از شمارش در اتانول 70% نگهداری شدند. کنه-ها و پادمان‌های استخراج شده توسط قیف پس از جداسازی، جهت شفاف‌سازی به محلول نسبیت و لاکتوفنول منتقل شدند. پس از شفاف سازی از نمونه‌ها اسلاید میکروسکوپی در چسب هویر(میراب بالو و چن، 2010) تهیه گردید و با استفاده از منابع موجود و ارسال به متخصصان، نسبت به شناسایی آن‌ها اقدام گردید(جانسون و تری پلهورن، 2004: کرانتز و والتر، 2009). مقایسات میانگین تغییرات جمعیت بندپایان مزوفون خاک سوزنی‌برگان با استفاده از تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون دانکن در سطح پنج

درصد صورت پذیرفت. نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از آزمون شاپیرو – ویلک (Shapiro – Wilk) بررسی شد و به دلیل نرمال بودن داده‌ها، از تبدیل داده استفاده نشد. هم‌چنین به منظور اندازه‌گیری تنوع زیستی بندپایان مزوفون خاک سوزنی‌برگان از شاخص‌های معتبر زیستی استفاده گردید.

الف) شاخص تنوع گونه‌ای شانون–وینر: این شاخص از رابطه‌ی 1 محاسبه می‌شود که در آن: 'H: تابع شانون–وینر، S: تعداد گونه‌ها و Pi: نسبت یا وفور گونه‌ی iام که بر حسب نسبتی از کل افراد می‌باشد (شانون و وینر، 1949).

رابطه‌ی 1: $H' = -\sum_{i=1}^{s} Pi\ Ln\ Pi$

ب) شاخص تنوع گونه‌ای سیمپسون: این شاخص از رابطه‌ی 2 محاسبه می‌شود (سیمپسون، 1949) که در آن 1-D: شاخص تنوع سیمپسون Pi: نسبت افراد گونه‌ی iام در جامعه

رابطه‌ی 2: $1 - D = 1 \sum_{i=1}^{s} (Pi)^2$

ج) شاخص غنای مارگالف: این شاخص از رابطه 3 محاسبه می‌شود که در آن S تعداد گونه‌ها و N فراوانی تمام گونه‌ها می‌باشد (مارگالف، 1958).

رابطه‌ی 3: $D_{Mg} = \frac{S-1}{LnN}$

د) شاخص یکنواختی پیلو: شاخص یکنواختی نحوه‌ی پراکنش و توزیع جمعیت افراد گونه‌ها را نشان می‌دهد. هرچه توزیع گونه‌ها یکنواخت‌تر باشد(تعداد افراد یا وفور گونه‌ها یکسان باشد) میزان پایداری و ثبات بیشتر بوده، در نتیجه تنوع زیستی نیز بیشتر خواهد بود. در این تحقیق برای بررسی شاخص یکنواختی از توابع یکنواختی پیلو (رابطه‌ی 4) استفاده شد (مگوران، 1988):

رابطه‌ی 4: $J = \frac{H}{\ln S}$

که در آن S: تعداد گونه و H: شاخص تنوع شانون - وینر می‌باشد.

از نرم افزارPAST جهت محاسبه شاخص‌های تنوع زیستی (غنای گونه‌ای مارگالف، تنوع گونه‌ای سیمپسون و شانون – وینر و هم‌چنین شاخص یکنواختی پیلو) مورد استفاده قرار گرفت (هامر و همکاران، 2001). هم‌چنین از نرم افزار SPSS 23 جهت انجام آنالیزهای آماری و از نرم‌افزار Excel 2007 نیز جهت رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

در این پژوهش در مجموع 9 گونه متعلق به 7 خانواده‌ی مختلف از پادمان و کنه‌ها جمع‌آوری و شمارش گردید (جدول 1) که از بین آنها 5 گونه متعلق به کنه‌ها بوده و 4 گونه نیز از پادمان می‌باشند.

جدول 1- گونه‌های شناسایی شده در مزوفون خاک درختان سوزنی‌برگ (کاج و سرو)، ایلام

Table 1- Mesofauna species identified in soil under conifers (pine and cypress), Ilam

Order راسته	Family خانواده	Species گونه
Acari	Ascidae	*Arctoseius cetratus* (Sellnick, 1940)
-	Laelapidae	*Gaeolaelaps asperatus* (Berlese, 1904)
-	Laelapidae	*Haemolaelaps casalis* (Berlese, 1887)
-	Macrochelidae	*Macrocheles glaber* (Müller, 1860)
-	Pachylaelapidae	*Onchodellus karawaiewi* (Berlese, 1920)
Collembola	Entomobryidae	*Pseudosinella octopunctata* Börner, 1901
-	Hypogastruridae	*Ceratophysella denticulata* (Bagnall, 1941)
-	Isotomidae	*Folsomides marchicus* (Frenzel, 1941)
-	Isotomidae	*Folsomia binoculata* (Wahlgren, 1899)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر لایه‌های خاک و فصول مختلف در زیر درختان سرو و کاج معنی‌دار می‌باشد، اما اثر متقابل این دو برای تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک اختلاف معنی‌داری نداشت (جداول 2 و 3). تغییرات فصلی تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک در ارتباط با هر یک از لایه‌های خاک بر اساس مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین مقدار تراکم جمعیت بندپایان در خاک درختان سرو مربوط به لایه خاکبرگ (5–0 سانتی‌متری) در فصل پاییز و کم‌ترین میزان تراکم مربوط به لایه (10-5 سانتی‌متری) در فصل تابستان می‌باشد. هم‌چنین در لایه خاکبرگ، مقدار تراکم در بین فصول بهار و تابستان معنی‌دار نبود اما در لایه 10–5 سانتی‌متری مقدار تراکم در بین فصول پاییز و بهار برای درختان سرو معنی‌دار نبود (جدول 4). هم‌چنین با توجه به جدول مقایسه میانگین، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار تراکم جمعیت بندپایان، در خاک درختان کاج مربوط به لایه (10-5 سانتی‌متری) و به ترتیب مربوط به فصل پاییز و بهار مشاهده شد. با توجه به مقدار تراکم، در لایه‌های خاکبرگ و سطحی بین فصول بهار و تابستان برای درختان کاج معنی‌دار نبود (جدول 4).

جدول 2- تجزیه واریانس سالیانه تراکم جمعیت مزوفون خاک درختان سرو
Table 2- Annual variance analysis of soil mesofauna densities of cypress trees

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	F	P
لایه‌های خاک Soil layers	1	5881/56	4/62	0/000 **
فصول Seasons	3	9808/27	7/71	0/000 **
اثر متقابل لایه‌های خاک و فصول Soil layers × seasons	3	2107/10	1/65	0/17 ns
خطا Error	424	1271/78		

ns= غیرمعنی‌دار *= معنی‌دار در سطح 5 درصد **= معنی‌دار در سطح 1 درصد

جدول 3- تجزیه واریانس سالیانه تراکم جمعیت مزوفون خاک درختان کاج
Table 3- Annual variance analysis of soil mesofauna densities of pine trees

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	F	P
لایه‌های خاک Soil layers	1	219/593	10/055	0/000 **
فصول Seasons	3	183/451	8/400	0/000 **
اثر متقابل لایه‌های خاک و فصول Soil layers × seasons	3	45/599	2/088	0/10 ns
خطا Error	424	21/840		

ns= غیرمعنی‌دار *= معنی‌دار در سطح 5 درصد **= معنی‌دار در سطح 1 درصد

جدول 4- مقایسه میانگین سالیانه تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک درختان سرو و کاج
Table 4- Comparison of annual average density of soil mesofauna population under cypress and pine trees

	سرو (cypress trees)		کاج (pine trees)	
	خاکبرگ (0-5 سانتی‌متر) Depth, 0-5 cm	(5-10 سانتی‌متر) Depth, 5-10 cm	خاکبرگ (0-5 سانتی‌متر) Depth, 0-5 cm	(5-10 سانتی‌متر) Depth, 5-10 cm
پاییز Autumn	26/50±8/22a	7/57±1/93ab	1/94±0/51a	4/31±1/26a
زمستان Winter	24/19±8/74ab	14/54±6/04a	2/17±0/55ab	2/06±0/81ab
بهار Spring	2/52±1/18b	2/39±1/60ab	0/72±0/14b	0/63±0/14b
تابستان Summer	1/56±0/35b	0/74±0/15b	0/70±0/15b	0/89±0/13b

حروف کوچک نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد.

نتایج بدست آمده در طول یک سال، نشان دهنده آن است که مقادیر شاخص‌های تنوع زیستی در فصول گرم نسبت به فصول سرد بیش‌تر می‌باشد. شاخص غنای گونه‌ای مارگالف به تفکیک فصول و مناطق نمونه‌برداری (درختان سرو و کاج) بیانگر بیش‌ترین غنای گونه‌ای با مقدار عددی 11/68 در درختان کاج و فصل پاییز و کم-ترین مقدار غنای گونه‌ای با مقدار عددی 7/89 در درختان سرو و فصل بهار مشاهده شد (جدول 5). هم‌چنین بیش-ترین تنوع گونه‌ای بر اساس شاخص‌های شانون – وینر و سیمپسون به تفکیک فصول و مناطق نمونه‌برداری

(درختان سرو و کاج) به ترتیب با مقادیر عددی 3/77 و 0/97 مربوط به درختان کاج و فصل تابستان و کم‌ترین مقدار این شاخص‌ها به ترتیب با مقدار عددی 2/44 و 0/83 مربوط به درختان سرو و فصل بهار به دست آمد (جدول 5). مقدار عددی شاخص یکنواختی پیلو نشان داد که بیش‌ترین مقدار این شاخص به تفکیک فصول و مناطق نمونه‌برداری با مقدار عددی 0/97 مربوط به درختان کاج و فصل تابستان و کم‌ترین مقدار یکنواختی پیلو با مقدار عددی 0/64 مربوط به درختان سرو و فصل بهار مشاهده شد (جدول 5).

جدول 5- شاخص‌های تنوع زیستی بندپایان مزوفون خاک درختان سرو و کاج

Table 5- Biodiversity indices of soil mesofauna population under cypress and pine trees

کاج (pine trees)				سرو (cypress trees)				
Pielou evenness	Margalef	Simpson	Shannon H'	Pielou evenness	Margalef	Simpson	Shannon H'	Season
0/82 b	11/68 a	0/94 ab	3/46 a	0/74 b	8/91 b	0/93 ab	3/12 ab	پاییز Autumn
0/83 b	9/94 c	0/94 ab	3/31 a	0/69 b	8/37 b	0/92 ab	2/87 b	زمستان Winter
0/96 a	10/26 b	0/96 a	3/64 a	0/64 b	7/89 c	0/83 b	2/44 bc	بهار Spring
0/97 a	10/78 ab	0/97 a	3/77 a	0/91 a	10/79 a	0/96 a	3/61 a	تابستان Summer

حروف کوچک نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد.

بحث

انجام این تحقیق نشان داد که میزان بارندگی فصول مختلف سال بر تراکم جمعیت بندپایان مزوفون خاک تأثیر دارد و خشکی تابستان، کاهش تراکم بندپایان خاک را در بر دارد (استایلی و همکاران، 2007).

شاخص غنای گونه‌ای مارگالف نشان دهنده تعداد گونه‌های موجود در یک جامعه بوده و ساده ترین مفهوم زیستی را بیان می‌کند. این شاخص مناسب بودن زیستگاه را برای گونه‌های مختلف بیان می‌کند. مقدار عددی این شاخص در شرایط نامساعد زیستی و یا استرس‌های محیطی کاهش می‌یابد و با افزایش تعداد گونه و تراکم هرگونه افزایش می‌یابد (گامیتو، 2010). در این مطالعه بیش‌ترین غنای گونه‌ای مربوط به درختان کاج و فصل پاییز بود که علت آن شرایط محیطی مناسب از جمله دمای مساعد خاک در این فصل است.

محدوده تغییرات شاخص تنوع شانون – وینر از صفر تا پنج و به طور معمول بین 1/5 تا 3/5 قرار دارد. مقادیر کم‌تر از این محدوده بیانگر وجود تنش در محیط و عدم پایداری و مقادیر بیش‌تر از آن بیانگر فزونی تنوع زیست در منطقه است (اجمل خان، 2004). در این مطالعه میزان هر دو شاخص تنوع شانون – وینر و شاخص سیمپسون در هر چهار فصل نمونه برداری و در دو منطقه (درختان سرو و کاج) مورد مطالعه اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده‌ی تنوع گونه‌ای مطلوب در درختان کاج و فصل تابستان بود. زیرا، در شرایط تحقیق حاضر حتی اگر افراد گونه‌ها دارای توزیع کاملاً یکسانی بودند میزان شاخص تنوع سیمپسون حداکثر برابر یک و شاخص شانون – وینر به 4 نزدیک می‌شد که در حال حاضر نیز این دو شاخص با مقدار 0/97 و 3/76 در درختان کاج به این اعداد نزدیک هستند. البته مقدار شاخص تنوع شانون – وینر از نظر تئوری می تواند به مقادیر بسیار زیادی برسد ولی در عمل از 4/5 تجاوز نمی کند. هم‌چنین بیش-ترین مقدار شاخص یکنواختی پیلو مربوط به خاک درختان کاج و در فصل تابستان بود که نشان دهنده میزان پایداری و ثبات بیش‌تر بندپایان مزوفون خاک در این منطقه می‌باشد.

تعداد گروه بی مهرگان خاکزی که در هریک از لایه‌های خاک حضور دارند، نشانگر تنوع بی مهرگان است. تنوع در لایه‌های خاکبرگ بیش‌تر از لایه‌های پایین-تر است. این لایه دارای موادآلی بیش‌تر و محیط مساعدتری است. تخریب لایه سطحی خاک جنگل باعث از بین رفتن تنوع بی‌مهرگان خاکزی شده که این کار باعث برهم زدن تعادل زیست‌بوم جنگل می‌شود. هم‌چنین با توجه به نتایج شاخص‌های تنوع زیستی، که بیش‌ترین مقدار در خاک درختان کاج محاسبه شد می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از درختان کاج نسبت به درختان سرو در سیستم جنگلکاری مناسب‌تر باشد. هم‌چنین برای

تکمیل نتایج، پیشنهاد می‌شود که تحقیق را در مساحت بزرگتر و با شرایط آب و هوایی مختلف انجام شود.

نتیجه گیری

تنوع زیستی و فراوانی بندپایان در زمان‌ها و موقعیت‌های متفاوت می‌توانند مثل یک شاخص برای پایش محیط زیست عمل کنند. با توجه به اینکه مطالعه مشابه‌ای در این زمینه انجام نشده که بتوان نتایج این تحقیق را با آن‌ها مقایسه کرد اما با توجه به اینکه بندپایانی مثل کنه‌ها و پادمان‌ها را به عنوان شاخص‌های زیستی در زیست‌بوم‌ها می‌دانند می‌توان نتیجه گرفت که بین دو پوشش گیاهی کاج و سرو از لحاظ تعداد و مقادیر شاخص‌های تنوع زیستی تفاوت وجود دارد. به‌طوری که مقادیر شاخص‌های تنوع شانون – وینر، تنوع سیمپسون، غنای مارگالف و شاخص یکنواختی پیلو در خاک درختان کاج در تمام فصول مختلف سال بیش‌تر از خاک درختان سرو بود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر امید جوهرچی و خانم دکتر معصومه شایان‌مهر بخاطر شناسایی نمونه‌ها، و از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله بخشی از طرح پژوهشی دانشگاه ایلام می‌باشد.

فهرست منابع:

1. Ajmal khan, S., 2004. *Methodology for Assessing Biodiversity, Annamalai University*. Centre of Advanced Study in Marine Biology. 12 p.
2. Balla, S.A. and Davis, J.A., 1995. Seasonal variation in the macroinvertebrate fauna of wetlands of differing water regime and nutrient status on the Swan Coastal plain, Western Australia. Hydrobiologia. 299(2): 147–161.
3. Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. Ecological Economics. 64: 269–285.
4. Bond, E.M. and Chase, J.M., 2002. Biodiversity and ecosystem functioning at local and regional spatial scales. Ecology Letters. 5: 467–470.
5. Brevault, T., Bikay, S., Maldes, J.M. and Naudin, K., 2007. Impact of a no-till with mulch soil management strategy on soil macrofauna communities in a cotton cropping system. Soil & Tillage Research. 97: 140–149.
6. Frouz, J. and Jilkova, V., 2008. The effect of ants on soil properties and processes (Hymenoptera: Formicidae). Myrmecological News. 11: 191–199.
7. Gamito, S., 2010. Caution is needed when applying Margalef diversity index. Ecological Indicators. 10: 550–551.
8. Hammer, O., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D., 2001. PAST - *PAlaeontological STatistics*. Chapman & Hall. 31 p.
9. Johnson, N. F., and Triplehorn, C. A., 2004. *Borror and Delong,s introduction to the study of insects*. Thomson Press, Califofornia.
10. Kiasari, S.H.M., SaghebTalebi, K.H., Rahmani, R. and Amoozad, M., 2011. Invertebrates diversity at natural and planted forests in sari region (in the depth of 0-10 cm of soil). Journal of Sciences and Techniques in Natural Resources. 6(2): 55–69. (In Persian).
11. Krantz, G. W., and Walter, D. E., 2009. *A Manual of Acarology*. Third Edition, Texas Technology University Press, Texas, USA. 807 p.
12. Krebs, C.J., 2001. *Ecology, The experimental analysis of distribution and abundance*. 5th ed. Benjamin Cummings, Menlo Park. 801p.
13. Lamb, E.G., Bayne, E., Holloway, G., Schieck, J., Boutin, S., Herbers, J. and Haughland, D. L, 2009. Indices for monitoring biodiversity change: Are some more effective than others?. Ecological Indicators. 9: 432–444.
14. Magurran, A.E., 1988. *Ecological diversity and its measurement*, First ed., Princeton University Press, New Jersey. 179 p.
15. Margalef, M., 1958. Information theory in ecology. General Systematics. 3: 36–71.

16. Mirab-balou, M., and Chen, X.X., 2010. A new method for preparing and mounting thrips for microscopic examination. Journal of Environmental Entomology. 32(1): 115–121
17. Moslehi, M., and Nazari, J., 2012. Relations between earthworms and trees and its effects on forest soils. Human and Environmental. 20(1): 108-113. (In Persian).
18. Sanji, R., Kooch. Y., and Tabari Kouchaksaraei, M., 2017. Comparison of fine root biomass, earthworms and nematodes populations in topsoil of natural forest and plantations. J. of water and soil conservation. 24(3): 219-234. (In Persian).
19. Shannon, C.E. and Weaner, A., 1949. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. 350 pp.
20. Simpson, E.H., 1949. Measurement of diversity. Nature. 12: 1–20.
21. Smith, R.G., McSwiney, C.P., Grandy, A.S., Suwanwaree, P., Snider, R.M., and Robertson, G.P., 2008. Diversity and abundance of earthworms across an agricultural land-use intensity gradient. Soil and Tillage Research. 100(1): 83-88.
22. Staley, J., Hodgson, C., Mortimer, S., Morecroft, M., Masters, G., Brown, V. and Taylor, M., 2007. Effect of summer rainfall manipulations on the abundance and vertical distribution of herbivorous soil macro invertebrates. European Journal of Soil Biology. 43(3): 189–198.
23. Zhang, M., Liang, W.J., and Zhang, X.K., 2012. Soil nematode abundance and diversity in different forest types at Changbai Mountain, China. Zoological Studies. 51(5): 619-626.

Abundance and biodiversity of soil mesofauna in different layers of conifers forest soils

M. Mirab-balou[1] and B. Miri

Associate Professor., Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran; E-mail: m.mirabbalou@ilam.ac.ir

Ph.D. student of Entomology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran; E-mail: behzadmiri664@gmail.com

Received: April, 2020 & Accepted: October, 2020

Abstract

In order to investigate the diversity and population fluctuations of soil mesofauna (Acari and Collembola) of conifers (cypress and pine trees) at Ilam province, Iran, soil samples monthly (0–5 and 5–10 cm) were collected during September 2018 to September 2019. The soil mesofauna were extracted using a Berlese funnel and they were counted and identified. The number of arthropods was compared in different soil layers and in different seasons of the year. The analysis of variance of data showed that soil layers and seasons had significant effect on the population densities of soil mesofauna in both cypress and pine trees ($P \leq 0.01$), but their interaction did not vary significantly. Based on the means comparisons, the highest and the lowest values of population density of soil mesofauna were belonged to cypress trees with values of 26.5±8.22 (at autumn) and 0.74±0.15 (at summer). In addition, based on the mean comparison, the highest and the lowest amount of population density of soil mesofauna in pine trees were 4.31±1.26 (at autumn) and 0.63±0.14 (at spring). Diversity of arthropods was calculated by using biodiversity indices. The results showed that the most diversity of species based on Shannon-Wiener and Simpson indices observed in seasons and sampling area (cypress and pine trees) with values of 3.77 and 0.97 for pine and summer time and the least diversity detected with 2.44 and 0.83 for cypress and spring time, respectively. Also, the highest amount of species richness of Margalef (11.68) related to the soil of pine trees in autumn season and lowest amount (7.89) related to the soil of cypress trees in spring season. The highest values of Pielou evenness index (0.97) related to soil of pine trees in summer time and lowest value (0.64) related to the soil of cypress trees in spring time. Generally, the calculated biodiversity indices in the soil of pine trees were higher than in the soil of cypress trees, which could be more widely used in the forestry system.

Keywords: Cypress, Pine, Biodiversity indices, Mesofauna, Ilam.

[1.] Corresponding author: Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

Evaluation of plant growth promotion characteristics of endophytic bacteria isolated from leaves and stems of some medicinal plants

A. A. Soltani Toularoud[1], and E. Goli Kalanpa

Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: ali_soltani_t@yahoo.com

Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: goli@uma.ac.ir

Received: June, 2020 & Accepted: October, 2020

Abstract

Medicinal plants have an important role in advancing national, regional and global goals for achieving health, drug self-sufficiency, employment creation and economic development. Since, quality and quantity improving of medicinal plants is aimed therefore it seems that the application of biofertilizers is the most compatible with that purpose. The objectives of this research were to isolate endophytic bacteria from leaves and stems of medicinal plants and to evaluate their growth promoting traits and assess their potential as biofertilizers. Healthy basil, rosemary, savory and pennyroyal plants were collected from area around Ardabil city and transferred to the laboratory. The endophytic bacteria isolated using serial dilution technique on the nutrient agar. Different colonies according to the appearance, color, margin and growth rate were selected, purified and kept at 4 °C. Then, the ability of the isolates to produce Indole Acetic Acid (IAA), solubilization of tricalcium phosphate, hydrogen cyanide and protease were evaluated. In this study, 99 endophytic bacteria were isolated from the medicinal plants. Finally, According to the morphological properties and growth rate, 53 different isolates (13 isolates from each plant) were selected. Results revealed that all the endophytic bacteria were able to produce IAA at 100 mg l^{-1} L-tryptophan. The most potent bacteria in terms of IAA production were P_4, P_3 and B_1 isolates (with production of 15.31 mg l^{-1}, 11.55 mg l^{-1} and 12.97 mg l^{-1}, respectively). All of the examined isolates had the ability to dissolve tricalcium phosphate. The highest ability of solubility (646.52 mg l^{-1}) was observed in S_5 isolated from Savory. The bacteria isolated from Rosemary had the lowest ability to dissolve tricalcium phosphate. All bacterial isolates were able to produce hydrogen cyanide. In assessing the ability of isolated endophytic bacteria to produce protease enzyme, clear zone formation was observed only around the colonies of S_1, S_4, B_9, B_{12}, B_3, B_{11}, R_7, P_6 and P_4. It is suggested that the effects of superior isolates on growth and yield of medicinal plants used in this study should be investigated in greenhouse and field conditions before any recommendation.

Keywords: Indole acetic acid, Phosphorus, Hydrogen cyanide, Protease, Biofertilizer

[1]. Corresponding author: Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil.

Effects of *Funneliformis mosseae* and *Pseudomonas fluorescens* on some growth and nutritional parameters of Mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) under drought stress in a greenhouse condition

M. Salehi, A. Faramarzi[1], M. Farboodi, N. Mohebalipour, and J. Ajalli

Former PhD student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran; E-mail: mohsale@gmail.com

Assistance professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran; E-mail: aliifaramrzii52@gmail.com

Assistance professor, Department of Soil Science, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran; E-mail: farboodi@gmail.com

Assistance professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran; E-mail: n.mohebalipour@gmail.com

Assistance professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran; E-mail: jalil.ajali@yahoo.com

Received: July, 2020 & Accepted: October, 2020

Abstract

To evaluate the effects of *Pseudomonas fluorescens* strain 169 and *Funneliformis mosseae* on drought resistance of mung bean a Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replications conducted in a greenhouse condition at Islamic Azad University of Miyaneh branch, Iran, in 2016. The drought stress treatments included: normal irrigation (control), stopping irrigation in flowering stage, stopping irrigation in pods formation stage. Inoculation treatments included: non-inoculation (control), inoculation with *Funneliformis mosseae*, *Pseudomonas fluorescens* strain169 and *Funneliformis mosseae* + *Pseudomonas fluorescens* strain169. According to variance analysis of data, effects of drought stress on the majority of morphophysiological traits except phosphorous content, the number of seeds per pod were significant. Interaction effects of inoculation and drought stress based on plant height, relative water content and amount of nitrogen were significant respectively in statistical levels of $P\leq0.01$, $P\leq0.05$ and $P\leq0.01$ respectively. High amount of root colonization percentage (55.4%) observed in plants inoculated with *Pseudomonas fluorescens* strain169 which was non-significant with co-inoculated ones. Based on mean comparison, drought stress reduced the majority of morphophysiological traits significantly. All inoculation treatments had the highest value in comparison with control. Co-inoculation of *Funneliformis mosseae* and *Pseudomonas fluorescence* 169 was more effective in improving the number of seeds per pod. *Funneliformis mosseae* inoculated plants had 17.4%, 29.5% and 28.5% enhancement in plant height, the number of leaves for each plant and phosphorous amount in comparison with control respectively.

Keywords: Drought stress, Mung bean, Nitrogen, Phosphorous, Symbiosis

[1] Corresponding author: Department of Agronomy and Plant Breeding, Islamic Azad University, Miyaneh Branch, Miyaneh, Iran.

Effects of lawn plant and biofertilizers on some quality characteristics of soil

N. Emami, A. Hassani[1], A. R. Vaezi, and M. BabaAkbari sari
M.Sc. graduate, Soil Sci. Dept., Faculty of Agriculture, Univ. of Zanjan, Iran;
E-mail: nadiaemami52@gmail.com
Assist. Professor., Soil Sci. Dept., Faculty of Agriculture, Univ. of Zanjan, Iran;
E-mail: Akbar.Hassani@znu.ac.ir
Professor., Soil Sci. Dept., Faculty of Agriculture, Univ. of Zanjan, Iran;
E-mail: vaezi.alireza@znu.ac.ir
Assist. Professor., Soil Sci. Dept., Faculty of Agriculture, Univ. of Zanjan, Iran;
E-mail: babaakbari@znu.ac.ir
Received: November, 2019 & Accepted: October, 2020

Abstract

Vegetation type changes some soil properties such as bulk density, nutrient absorption and soil organic carbon. Nutrition management of lawn plant is an important factor which affects soil properties in lower layers. The application of biofertilizers enhance the quality of soil and enhance the growth of lawn plant and in addition they are ecofriendly. The purpose of this study was to investigate the effect of urea and biofertilizer containing nitrogen-fixing bacteria (Pantoea agglomerans) on some quality characteristics of soil under lawn plant cultivation. This experiment was conducted in a completely randomized design in a greenhouse condition with three replications. Treatments include: 1-Control (Br), 2- lawn plant cultivation (Speedy Green) by conventional method (Gr), 3- lawn plant + urea (GrU), 4- lawn plant + bio-fertilizer containing Pantoea agglomerans (GrPA), and 5- lawn plant + Pantoea agglomerans + growth promoting bacteria (GrPP). The fresh weight of lawn plant was measured along with some soil properties. The results showed that lawn plant and application of biofertilizer containing *Pantoea agglomerans* shaped larger soil aggregates than control but they had no significant effect on aggregate stability. Biofertilizers and urea increased the growth of lawn plant. Cultivation of lawn plant increased soil organic carbon, total nitrogen, phosphorus and potassium uptake, but the effect of biofertilizers was not significant. The highest amount of total nitrogen and soil organic carbon observed in urea fertilizer treatment. In general, the use of biofertilizers in lawn plant cultivation is recommended.

Keywords: Aggregate stability, Soil Nitrogen, Soil organic carbon.

[1]. Corresponding author: Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

Investigation of protease and alkaline phosphatase activities, organic carbon, nitrogen and phosphorus of Shadegan coastal soils

E. Hamid, K .N. Payandeh[1], M. T. Kariminejad, and N. Saadati

Department of Soil, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran;
E-mail: ebtessam_h@yahoo.com
Department of Soil, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran;
E-mail: Payandeh426@gmail.com
Department of Agriculture and Plant Breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj;
E-mail: Iran; tahsinkarimi@yahoo.com
Department of Soil, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran;
E-mail: Na_saadati@yahoo.com

Received: Aujust, 2020 & Accepted: December, 2020

Abstract

The aim of this study was to evaluate the changes in proteases and alkaline phosphatase activities, organic carbon content, total nitrogen and phosphorus in winter and summer time in the coastal soils of Shadegan wetland in 2019-2020. Two sampling sites including site A with dominant vegetation and site B wetlands without vegetation were selected. Soil samples were colected using ASTM standard number D2488. The results of analysis of variance showed that seasonal changes, vegetation and soil depth had a significant effect on total nitrogen, phosphorus and protease and alkaline phosphatase activity ($P<0.001$). Seasonal changes did not have a significant effect on the amount of soil organic matter, while vegetation and soil depth significantly affected the amount of soil organic carbon in the coastal soil of Shadegan wetland ($P<0.001$). Nutrient elements and activity of extracellular enzymes (protease and alkaline phosphatase) in vegetated soils were higher than bare soils. According to the results, the activity of protease (2.69 µmol/gh) and alkaline phosphatase (3.5 mg/PNP/gh) enzymes in topsoil (0-15 cm) with vegetation was higher in summer time compare to the bare soils. These results can be related to total nitrogen, phosphorus and soil organic carbon ($P<0.05$) which had higher values in the summer time. Finally, principal component analysis and Spearman correlation confirmed a strong and positive relationship between total nitrogen, total phosphorus and soil organic carbon ($P<0.001$) with the biological activity of protease and alkaline phosphatase enzymes.

Keywords: Protease, akaline phosphatase, mineral compounds, coastal soils, shadegan wetland

[1.] Corresponding author: Department of Soil, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran;

Study of algal flora periphyton community in aquatic ecosystems of Gillan province

H. A. Alikhani[1], H. Ahmadi, H. Etesami, M. Noroozi, H. A. Rahmani, and S. Emami

Full professor, University of Tehran; E-mail: halikhan@ut.ac.ir
Ph. D. Student, University of Tehran; E-mail: hadi.ahmadi73@ut.ac.ir
Associate Professor, University of Tehran; E-mail: hassanetesami@ut.ac.ir
Associate Professor, Alzahra University; E-mail: noroozi.mostafa@alzahra.ac.ir
Assistant professor, Soil and Water Research Institute of Iran; E-mail: asadi_1999@yahoo.com
PhD, University of Tehran; E-mail: emamisomaye@ut.ac.ir

Received: January, 2020 & Accepted: Ocober, 2020

Abstract

Periphytons are the most important microorganism communities which can be found almost in all aquatic systems. Periphytons play important roles in ecological functions of an ecosystem. They are composed of multilayered consortia of photoautotrophs (e.g. unicellular and filamentous cyanobacteria, benthic diatoms and green microalgae) and heterotrophs (bacteria, fungi and protozoa). Due to the role of periphytons in the processes of nitrogen fixation and dissolution of insoluble phosphorus and potassium, Samples of sediment, water and periphytons collected and investigated from three lagoons in Fashtam, Tazesel and Qalewersel in Gillan province. Results showed that Chlorophyta, Bacillariophyta and Cyanobacteria constituted 26.24%, 56.06% and 17.69% of the periphyton components in Qalewersel lagoon, respectively. In the Fashtam lagoon, the Chlorophyta, Charophyta, Euglenozoa, Ochrophyta, Bacillariophyta, and cyanobacteria species formed 38.48%, 20.58%, 1.72%, 1.74%, 19.68% and 19.52% of the periphyton components, respectively. Also, in the Tazesel lagoon, Chlorophyta, Euglenozoa, Bacillariophyta and Cyanobacteria constituted about 13.93%, 0.56%, 51.9% and 33.6% of components of periphyton, respectively.

Keywords: Bacillariophyta, Chlorophyta, Paddy soil, Periphyton

[1.] Corresponding author: Karaj, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Soil Science Department.

Effect of mychorhizal symbiosis on growth properties and colonization of common Almond rootstock at water deficit conditions

M. Mohammadi[1], and F. Rejali

Assistant Professor, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center; Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shahrekord, Iran; E-mail: m.mohamadi@areeo.ac.ir

Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization, Karaj, Iran; E-mail: frejali@yahoo.com

Received: June, 2019 & Accepted: Ocober, 2020

Abstract

Drought is one of the most important environmental stresses that adversely affect the plant growth and crop production. Arbuscular mycorrhizae fungi help their host by absorption of water and mineral nutrition. In order to evaluate mycorrhizal fungus and water deficit stress on growth characteristics, chlorophyll content and root colonization percentage of almond (*Prunus amygdalus*) rootstock, a completely randomized design with factorial arrangement was conducted with three replications in agricultural and natural research center of Shahrekoard. The treatments consist of two levels of mycorrhizal fungus (with (M1) and without (M0) mycorrhizal fungus), four types of rootstock (bitter, local Shorab 2, GF and GN) and four levels of water deficit stresses (Control (I0), slight (I1), moderate (I2) and severe (I3)). The results revealed that the rootstock types had significant effects on studied parameters and the maximum measured parameters was observed in GF rootstock treatment. Water deficit stress also had significant effects on examined parameters. With increasing water deficit stress, root colonization percentage and root dry weight decreased significantly. Mycorrhizae fungi treatments increased root dry weight and root colonization percentage 27 and 40 percent respectively. The maximum stem length, stem diameter and plant dry weight were observed in GF +I1 treatment. The highest amount of root colonization percentage (74.5 %) was achieved in I1 + M1 treatment. Therefore, based on the results, the mycorrhizal fungus increased the growth properties of almond rootstock and reduced the harmful effects of water deficit stress.

Keywords: Almond (*Prunus amygdalus),* Drought stress, Root Colonization, Chlorophyll

[1]. Corresponding author: Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Shahrekoard. P.O.Box: 415

Effect of ACC deaminase-producing bacteria and soil salinity on growth and nutritional indices of wheat

A. A. Pourbabaee[1], E. Bahmani, H. A. Alikhani, and S. Emami

Associate professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran;
E-mail: pourbabaei@ut.ac.ir

MSC student, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran;
E-mail: bahmani.ebrahim@yahoo.com

Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran;
E-mail: halikhan@ut.ac.ir

PhD graduated, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran;
E-mail: emamisomaye@ut.ac.ir

Received: February, 2020 & Accepted: Ocober, 2020

Abstract

Plant growth promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity can be applied for stimulating plant growth under tension situations. In the present study, bacterial isolates were isolated from wheat rhizosphere in three provinces of Zanjan, Kurdistan and Hamedan and then screened for ACC deaminase production and salinity tolerance. Six isolates out of 167 isolates were able to degrade ACC to alpha-keto-butyrate and ammonia and the K78 isolate was selected as superior isolate. A completely randomized design with factorial arrangement was carried out on wheat plant in a greenhouse experiment. Experimental factors include: five salinity levels (1.3, 8, 12, 14, and 16 $dS.m^{-1}$), three bacterial inoculation levels (no inoculation (B0), inoculation with salinity-resistant isolate and ACC deaminase production capacity (B1), inoculation with salinity-resistant isolate without ACC deaminase production capacity (B2). The results showed that salinity had a significant and negative effects on growth and nutrient uptake and decreased shoot length. The K78 isolate increased shoot length (21.5 %) and potassium uptake (15 %) significantly compare to B0 treatment but had no significant effect on sodium uptake. Overall, it can be concluded that inoculation of K78 isolate can reduce the negative effects of salinity on growth indices and the nutritional conditions of wheat.

Keywords: *Bacillus*, Sodium, Environmental stress, PGPR

[1] Corresponding author: Karaj, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Soil Science Department.

Subject **Page**

Effect of ACC deaminase-producing bacteria and soil salinity on growth and nutritional indices of wheat **1**
A. A. Pourbabaee, E. Bahmani, H. A. Alikhani, and S. Emami

Effect of mychorhizal symbiosis on growth properties and colonization of common Almond rootstock at water deficit conditions..... **2**
M. Mohammadi, and F. Rejali

Study of algal flora periphyton community in aquatic ecosystems of Gillan province **3**
H. A. Alikhani, H. Ahmadi, H. Etesami, M. Noroozi, H. A. Rahmani, and S. Emami

Investigation of protease and alkaline phosphatase activities, organic carbon, nitrogen and phosphorus of Shadegan coastal soils..... **4**
E. Hamid, K .N. Payandeh, M. T. Kariminejad, and N. Saadati

Effects of lawn plant and biofertilizers on some quality characteristics of soil ***5***
N. Emami, A. Hassani, A. R. Vaezi, and M. BabaAkbari sari

Effects of *Funneliformis mosseae* and *Pseudomonas fluorescens* on some growth and nutritional parameters of Mung bean *(Vigna radiata* L. Wilczek) **under drought stress in a greenhouse condition**..... **6**
M. Salehi, A. Faramarzi, M. Farboodi, N. Mohebalipour, and J. Ajalli

Evaluation of plant growth promotion characteristics of endophytic bacteria isolated from leaves and stems of some medicinal plants **7**
A. A. Soltani Toularoud, and E. Goli Kalanpa

Abundance and biodiversity of soil mesofauna in different layers of conifers forest soils..... **8**
M. Mirab-balou and B. Miri

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

Vol. 9, No 1

2021

Manager-in–Charge **M. Gorji, PhD**

Professor, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University

Professor, University of Tehran

Editor-in–Chief: Hadi Asadi Rahmani, **PhD**

Professor (Research), Soil and Water Research Institute

Editorial Board

Hadi Asadi Rahmani, PhD	**Professor (Research), Soil and Water Research Institute**
Hossein Ali Alikhani, phD	**Professor, University of Tehran**
Naser Aliasgharzad, PhD	**Professor, University of Tabriz**
Hossein Besharati, PhD	**Professor, Soil and Water Research Institute**
Alireza Fallah Nosratabad, PhD	**Associate Professor, Soil and Water Research Institute**
Ahmad Golchin, PhD	**Professor, University of Zanjan**
Amir Lakzian, PhD	**Professor, Ferdowsi University of Mashhad**
Habibollah Nadian Ghomshe, PhD	**Professor, Ramin Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan**
Farshid Norbakhsh, PhD	**Professor, Isfahan University of Technology**
Abdol Hossein. Ziaeian, PhD	**Associate Professor of Agricultural and Natural Resources Research Center of Fars**

Executive Manager:	**Alireza Fallah Nosratabad**
English Editor:	**Amir Lakzian**
Type and design:	**Kobra Alinezhad**

Address: P. O. Box: 31785-311, Karaj – IRAN

Tel / Fax: 026-36208796

SSSI Website: www.soiliran.org

Soil and Water Research Institute Website: www.swri.ir

Journal Website: www.sbj.areeo.ir

E-mail: jsb.soilbiology@yahoo.com

Semiannual

Journal of Soil Biology

ISSN: 2345-2536

Vol. 9, No. 1 2021

Subject **Page**

Effect of ACC deaminase-producing bacteria and soil salinity on growth and nutritional indices of wheat 1
A. A. Pourbabaee, E. Bahmani, H. A. Alikhani, and S. Emami

Effect of mychorhizal symbiosis on growth properties and colonization of common Almond rootstock at water deficit conditions 2
M. Mohammadi, and F. Rejali

Study of algal flora periphyton community in aquatic ecosystems of Gillan province 3
H. A. Alikhani, H. Ahmadi, H. Etesami, M. Noroozi, H. A. Rahmani, and S. Emami

Investigation of protease and alkaline phosphatase activities, organic carbon, nitrogen and phosphorus of Shadegan coastal soils 4
E. Hamid, K .N. Payandeh, M. T. Kariminejad, and N. Saadati

Effects of lawn plant and biofertilizers on some quality characteristics of soil 5
N. Emami, A. Hassani, A. R. Vaezi, and M. BabaAkbari sari

Effects of *Funneliformis mosseae* and *Pseudomonas fluorescens* on some growth and nutritional parameters of Mung bean *(Vigna radiata* L. Wilczek) **under drought stress in a greenhouse condition** 6
M. Salehi, A. Faramarzi, M. Farboodi, N. Mohebalipour, and J. Ajalli

Evaluation of plant growth promotion characteristics of endophytic bacteria isolated from leaves and stems of some medicinal plants 7
A. A. Soltani Toularoud, and E. Goli Kalanpa

Abundance and biodiversity of soil mesofauna in different layers of conifers forest soils 8
M. Mirab-balou and B. Miri