**پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران**
۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

# تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح باکتری ریزوبیوم بر غلظت نیتروژن و کلروفیل یونجه رقم یزدی

محبوبه افخمی عقدا[۱] و سمیه قاسمی[۲]
[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه یزد، [۲]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه یزد

**چکیده**
به منظور بررسی تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح باکتری ریزوبیوم بر غلظت نیتروژن و کلروفیل یونجه رقم یزدی، آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل سطوح مختلف اسیدهیومیک (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و دو سطح باکتری (بدون تلقیح و تلقیح با ریزوبیوم) بودند. نتایج نشان داد که در شرایط عدم تلقیح باکتری، کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن و کلروفیل شد، اما در شرایط تلقیح باکتری کاربرد تیمارهای اسیدهیومیک در مقایسه با شاهد، تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن و کلروفیل نداشت. بیشترین غلظت نیتروژن و کلروفیل مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدهیومیک بدون تلقیح باکتری بود.

**واژه های کلیدی**: اسیدهیومیک، ریزوبیوم، غلظت نیتروژن.

**مقدمه**

مواد هیومیک یک مخلوط ناهمگن از مواد آلی طبیعی هستند که از تجزیه بقایای گیاهی و حیوانی بوجود می‌آیند. مواد هیومیک موجود در خاک معمولاً ماده آلی یا هوموس نامیده می‌شوند. هوموس از سه گروه مجزا شامل اسید هیومیک، اسید فولویک و هیومین تشکیل شده است (هوپکینس و استارک، ۲۰۰۳). اسیدهیومیک با وزن مولکولی ۳۰۰-۳۰ کیلو دالتن و اسیدفولویک با وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلو دالتن به ترتیب سبب تشکیل کمپلکس پایدار نامحلول و محلول با عناصر کم-مصرف می‌گردند (میکائیل، ۲۰۰۱). اسیدهیومیک خاصیت شبیه هورمون دارد و سبب افزایش حجم ریشه و در نتیجه جذب بیشتر عناصر غذایی می‌شود (جونز و همکاران، ۲۰۰۴).

شریف و همکاران (۲۰۰۲) در ارتباط با تأثیر سطوح مختلف اسیدهیومیک بر رشد ذرت مطالعه‌ای انجام دادند، نتایج نشان داد که کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم اسیدهیومیک بر کیلوگرم خاک، باعث افزایش وزن خشک ساقه و ریشه ذرت شد. همچنین افزایش معنی‌داری در غلظت نیتروژن خاک و نیتروژن گیاه نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید. در مطالعه‌ای خزاعی و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار نسبت سطح ریشه به سطح برگ و مقدار کلروفیل برگ در ارقام مختلف گندم شد. نتایج برخی تحقیقات نیز بیانگر افزایش عملکرد سیب‌زمینی و سویا در در اثر کاربرد اسیدهیومیک می‌باشد (فریمن، ۱۹۷۰).

اسیدهیومیک به‌سبب خاصیت کلات‌کنندگی عناصر معدنی مختلف از جمله پتاسیم، کلسیم، منیزیم، روی، آهن، مس و دیگر عناصر غذایی می‌تواند در تأمین نیاز غذایی گیاهان نقش مهمی داشته باشد (آیکن و همکاران، ۱۹۸۵). همچنین، اسید-هیومیک به‌سبب داشتن گنجایش تبادل کاتیونی زیاد، عناصر غذایی را در اختیار گیاه قرار داده و باعث دفع عناصر سمی و فلزات سنگین در ریشه گیاهان می‌شود (جونز و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به اینکه عوامل محیطی و تغذیه‌ای از طریق تأثیرگذاری بر مواد ساخته شده طی فرایند فتوسنتز، تثبیت زیستی نیتروژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین اسید هیومیک از طریق افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی و بهبود حاصلخیزی خاک می‌تواند باعث ایجاد محیط مناسب برای فعالیت باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن، شود.

## مواد و روش‌ها

اسیدهیومیک به روش آتیه و همکاران (۲۰۰۲) از لئوناردیت استخراج شد. باکتری ریزوبیوم ملیلوتی از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه گردید و بر روی محیط کشت اختصاصی YMA (Yeast Extract Mannitol Agar) فعال‌سازی و تکثیر شد. نمونه خاک نیز از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری مزرعه‌ای واقع در شهر یزد تهیه شد، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اندازه گیری شده در خاک مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه یزد، انجام شد. ابتدا وزن مشخصی از خاک‌های نمونه‌برداری شده، با تیمارهای اسیدهیومیک (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مخلوط شده و به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند. سپس بذرهای یونجه با آب اکسیژنه (یک درصد) ضدعفونی شدند. پس از آن، تیمارهای باکتری (بدون تلقیح و تلقیح با ریزوبیوم) بر روی بذرهای یونجه اعمال شده و درون گلدان‌های حاوی سطوح مختلف اسید-هیومیک کشت شدند. پس از گذشت حدود شش ماه از کشت گیاه، ریشه و شاخساره گیاه به‌طور جداگانه برداشت و با آب-مقطر شسته شدند. سپس پارامترهایی از قبیل غلظت نیتروژن شاخساره و کلروفیل اندازه‌گیری شد. غلظت نیتروژن با استفاده از دستگاه اتوکلتک مدل Behr distillation unit S4 بر اساس روش کلدال (بریمر و مولوانسی، ۱۹۸۲) و غلظت کلروفیل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (لایکینتالر، ۱۹۸۷) تعیین گردید.

**جدول۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه**

| ویژگی | واحد | مقدار |
|---|---|---|
| بافت | - | لومی شنی |
| pH | - | ۸/۱۷ |
| قابلیت هدایت الکتریکی | دسی‌زیمنس بر متر | ۲/۸۶ |
| ماده آلی | درصد | ۱/۱۷ |
| آهک | درصد | ۳۷/۵ |
| نیتروژن کل | درصد | ۰/۱۳ |
| فسفر قابل جذب | میلی‌گرم بر کیلوگرم | ۲۶ |
| پتاسیم قابل جذب | میلی‌گرم بر کیلوگرم | ۲۷۳ |

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس دو طرفه و آزمون مقایسه میانگین دانکن، در نرم‌افزار SPSS Statistics 22 انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excell 2013 استفاده شد.

## نتایج و بحث

-غلظت نیتروژن شاخساره

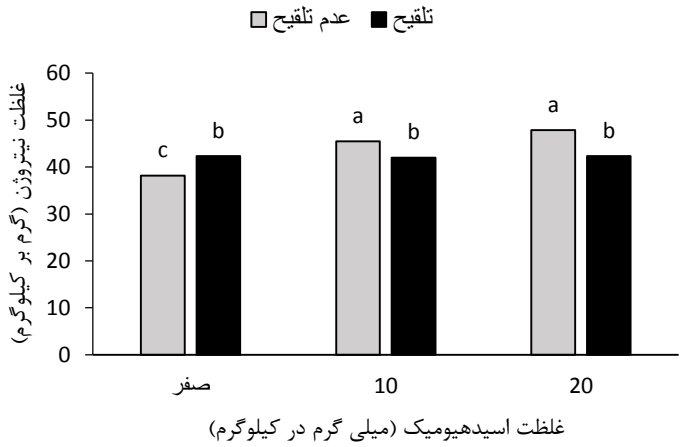
بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر تلقیح باکتری در سطح پنج درصد و تأثیر اسیدهیومیک و اثر متقابل تیمارها در سطح یک درصد بر غلظت نیتروژن شاخساره معنی‌دار بود (جدول۲).

**جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح باکتری بر غلظت نیتروژن وکلروفیل یونجه**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | غلظت نیتروژن | کلروفیل |
| تلقیح باکتری | ۱ | ۱۱/۹۴۸* | ۰/۰۱۳* |
| اسیدهیومیک | ۲ | ۳۷/۳۸۱** | ۰/۰۱۴* |
| تلقیح باکتری × اسیدهیومیک | ۲ | ۳۹/۳۵۵** | ۰/۰۱۳* |
| خطای آزمایش | ۱۲ | ۱/۹۴۲ | ۰/۰۰۲ |

*، **و ns به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری است.

در شرایط عدم تلقیح باکتری، کاربرد اسیدهیومیک اثر معنی‌داری بر افزایش غلظت نیتروژن شاخساره داشت. در شرایط تلقیح باکتری کاربرد اسیدهیومیک تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن شاخساره نداشت (شکل۱). بیشترین غلظت نیتروژن شاخساره مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدهیومیک بدون تلقیح باکتری بود. سلیک و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که اسید هیومیک سبب افزایش وزن خشک و جذب عناصر غذایی روی، مس، آهن، منگنز، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سایر عناصر غذایی می‌شود.

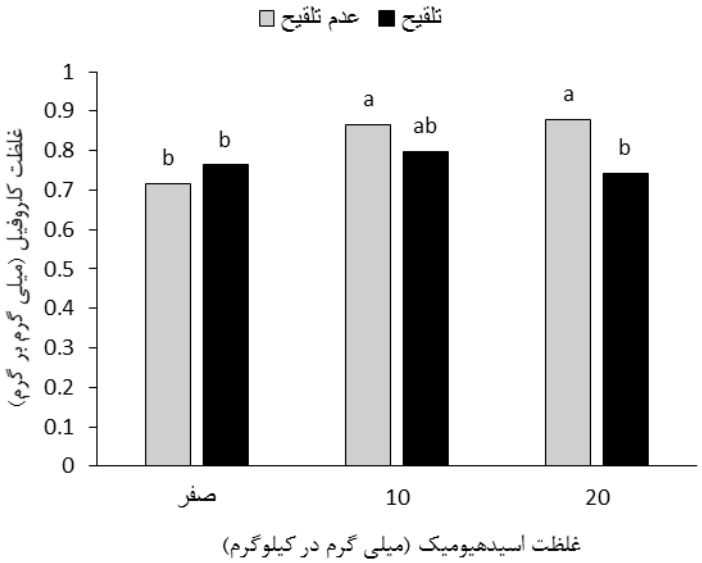



**شکل ۱- تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح باکتری برغلظت نیتروژن شاخساره یونجه.**

-غلظت کلروفیل

تأثیر تلقیح باکتری، اسیدهیومیک و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت کلروفیل در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول۲). در شرایط عدم تلقیح باکتری، کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل شد. در شرایط تلقیح باکتری کاربرد تیمارهای اسیدهیومیک در مقایسه با شاهد، تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلروفیل نداشت (شکل۲). بیشترین غلظت کلروفیل

مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدهیومیک بدون تلقیح باکتری بود. آستارایی و ایوانی (۲۰۰۸) مشاهده کردند که با کاربرد اسیدهیومیک سطح برگ و تولید کلروفیل در برگ‌های گیاه لوبیا افزایش می‌یابد.




**شکل ۲- تأثیر اسیدهیومیک و تلقیح باکتری برغلظت کلروفیل یونجه**

## منابع

Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L. and MacCarthy, P. 1985. Substances in soil, sediment and water. New Yourk. USA. John Wiley and Sons, Science.

Astaraei, A.R., and Ivani, R. 2008. Efect of organic sources as foliar spray and root media on nutrition if cowpea plant. Ame-Eurasian J. Agric Environ. Sci, 3: 3. 352-356.

Atiyeh, R.M., Lee, S., Edwards, C.A., Arancon, N.Q., and Metzger, J.D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology, 84: 7–14.

Bremmer, J.M., Mulvancey, C.S. 1982. Total Nitrogen. PP. 599-622. In: A. L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney (Eds.), Method of soil Analysis, Part II. Aragon Monogr, 9,ASA and SSSA, Madison, WI.

Celik, H., Katkat, A.V., Asik, B.B., and Turant, M.A. 2010. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. communications in soil science and plant analysis, 42:1, 29-3.

Freeman, P.S. 1970. The Use of Lignite Products as Plant Growth Stimulants. U.S. Bureau of Mines, Grand Forks, ND.

Hopkins, B., and Stark, J. 2003. Humic acid effects on potato response to phosphorus. Presented at the Idaho Potato Conference January, 22-23.

Jones, C.A., Jacobsen, J.S., and Mugaas, A., 2004. Effect of humic acid phosphorus availability and spring wheat yield. Fact. Fertilizer. 32.

Khazaee, H.R., Sabzevari, S., and Kafi, M. 2010. Effect of humic acid on root and shoot growth of wheat (*Triticum aestivum*. L.) Sabalan and Sayonez varieties. Journal of Water and Soil, 23(2): 87-94. (In Persian).

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.Michael, K. 2001. Oxidized lignites and extracts from oxidizwd lignites in agriculture. Soil. Sci. pp*:* 1-23.

Michael, K. 2001. Oxidized lignites and extracts from oxidizwd lignites in agriculture. Soil. Sci. pp*:* 1-23.

Sharif, M., Khattak, R.A., and Sarir, M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal drived humic acid on growth of maize plants. Communication in Soil Science and Plant Analysis Journal, 33(19820): 3567-3580.

# Effect of humic acid and rhizobium inoculation on the nitrogen and chlorophyll concentration in alfalfa (*Yazdi cultivar*)

M. Afkhami Aghda[1] and S. Ghasemi[2]
[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, University of Yazd,
[2]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Yazd.

**Abstract**
In this study, to investigate the effect of humic acid and rhizobium inoculation on the nitrogen and chlorophyll concentration in alfalfa (*Yazdi cultivar*), a pot experiment was set up in a completely randomized factorial design with three replication. Treatments were including different levels of humic acid (0, 10 and 20 mg/kg) and two levels of bacteria (not inoculated and inoculated with Rhizobium). Results indicated that in no bacteria inoculation conditions, application of humic acid caused an increase in nitrogen and chlorophyll concentrations , but in bacteria inoculation, application of humic acid treatments had no significant effect on the nitrogen and chlorophyll concentration compared with control. Maximum nitrogen and chlorophyll concentration was related to 20 mg humic acid /kg without bacteria inoculation.

**Keywords:** Humic acid, Nitrogen concentration, Rhizobium.