

## مقایسه اندام‌های مختلف درخت اقاچیا از نظر میزان نیتروژن دریافتی از طریق فرایند تثبیت

## نیتروژن بیولوژیکی

علیرضا مشکی<sup>۱\*</sup> و ندا بخشنده<sup>۲</sup><sup>۱</sup> سمنان، دانشگاه سمنان، دانشکده کویرشناسی، گروه جنگل‌داری مناطق خشک<sup>۲</sup> سمنان، مرکز آموزش عالی علمی و کاربردی جهاد کشاورزی سمنان

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۶

## چکیده

درخت اقاچیا یکی از شناخته‌شده‌ترین گونه‌های گیاهی جهان از نظر میزان تثبیت نیتروژن بوده، که بطور وسیعی در پروژه‌های جنگلکاری در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. سؤال اصلی این تحقیق این بود که آیا قسمتهای مختلف درخت اقاچیا (ریشه، ساقه و برگ) به نسبت مساوی نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق نیتروژن تولید شده از فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی تأمین می‌کنند. بدین منظور، بذرهاى جمع‌آوری شده اقاچیا، تحت شرایط مشابه گلخانه‌ای کاشته شدند. پس از ۲ ماه، ریشه تمامی نهالهای اقاچیا با محلولی مختلط از چند جنس باکتریهای ریزوبیوم آغشته گردیدند. بعد از ۶ ماه از شروع آزمایش، هر کدام از نهالهای اقاچیا مقدار مساوی (۱۰۰ سی سی) محلول سولفات آمونیوم  $(NH_4)_2 SO_4$  حاوی 11.03 درصد ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ را دریافت نمودند و بعد از گذشت یک هفته تمامی نهالهای اقاچیا قطع شده و به برگ، ساقه و ریشه تفکیک شدند. نمونه‌ها بعد از خشک شدن، توزین شده و درصد ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ در آنها تعیین گردید. درصد ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ به‌عنوان شاخصی برای مقایسه نسبت نیتروژن دریافتی از فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی توسط هر یک از اندامهای گیاه اقاچیا مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که تفاوت معناداری از لحاظ میزان نیتروژن دریافتی از فرایند تثبیت نیتروژن بین برگ، ساقه و ریشه اقاچیا وجود ندارد. بنابراین سهل‌الوصول‌ترین بخش گیاه یعنی برگ آن، می‌تواند برای محاسبه درصد نیتروژن جذب شده کل گیاه از فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اقاچیا، تثبیت نیتروژن، روش رقیق سازی نیتروژن

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳۳۲۵۲۴۳۲۲، پست الکترونیکی: alireza\_moshki@semnan.ac.ir

## مقدمه

افزایش بازدهی کشاورزی در این مناطق گردد (۱۰، ۱۵ و ۲۰). میزان کربن و نیتروژن خاک در مناطق خشک و نیمه خشک بشدت به نوع پوشش گیاهی مستقر بر روی آن بستگی داشته و تفاوت این عناصر در چنین مناطقی عموماً در ۵ سانتیمتر اول خاک دیده می‌شود (۲۵ و ۲۶).

روشهای مختلفی مانند اندازه گیری ماده خشک گیاه (Dry matter yield)، تفاوت نیتروژن کل (Total N difference) و احیای استیلن (Acetylene reduction assay) برای

درخت اقاچیا (*Robinia pseudoacacia L.*) بومی آمریکای شمالی بوده و یکی از کارآمدترین درختان جهان از نظر توانایی تثبیت نیتروژن موجود در اتمسفر محسوب می‌شود (۱۹). کاشت این درخت در مناطق خشک که عموماً دارای خاکهای فقیر از نیتروژن می‌باشند دارای سازگاری بسیار خوب بوده و به‌عنوان گونه پیشرو در این اکوسیستم‌ها می‌تواند باعث احیای بیولوژیکی خاک، افزایش مواد آلی، افزایش نسبت کربن به نیتروژن و کربن به فسفر و در نتیجه

تمامی بذرهای درخت اقاچیا با استفاده از تیمار کاغذ سنباده و بعد قرار گرفتن در آب به مدت یک شب آماده کاشت گردیدند. بذرها در آبان ماه سال ۱۳۸۷، ابتدا در ظرفهای مخصوصی کاشته شده و بعد از ۳ هفته، به گلدانهای مخصوصی انتقال پیدا کردند. پس از ۲ ماه، ریشه تمامی نهالهای اقاچیا با محلولی مختلط از چند جنس باکتریهای ریزوبیوم آغشته شدند. دمای گلخانه بصورت پیوسته بر روی ۲۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید و تمامی نهالها ۸ ساعت نور روزانه و مقدار مساوی آب را بصورت هفتگی دریافت نمودند.

در مجموع ۱۵ نهال اقاچیا و ۱۵ نهال گیاه مرجع (*vulgare Syringa*) در قالب طرح آماری برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۸ و بعد از گذشت ۶ ماه از شروع آزمایش، هر کدام از نهالهای اقاچیا و گیاه مرجع مقدار مساوی (۱۰۰ سی سی) محلول سولفات آمونیوم  $(NH_4)_2 SO_4$  حاوی ۱۱/۰۳ درصد ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ را از طریق خاک دریافت نمودند. بعد از گذشت یک هفته، تمامی نهالهای اقاچیا و نهالهای گیاه مرجع قطع شده و به برگ، ساقه و ریشه تفکیک گردیدند. سپس نمونه‌ها با آب مقطر شسته شده، و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند (۱). در ادامه تمامی نمونه‌ها وزن شده و بعد برای انجام مراحل آزمایشگاهی آسیاب شدند. برای بدست آوردن قابلیت تثبیت ازت کل گیاه، نمونه‌های پودر شده قسمتهای مختلف گیاه به نسبت وزن خشک هر یک از اندامهای گیاه با هم مخلوط گردیدند و بعد میزان ایزوتوپ ۱۵ نمونه ترکیبی تعیین گردید. تعیین درصد ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ ریشه، ساقه و برگ اقاچیا و گیاه مرجع در آزمایشگاه مرکز تحقیقات ایزوتوپهای پایدار دانشگاه زورژ-آگوست گوتینگن با استفاده از دستگاه *isotope ratio mass spectrometer* انجام شد.

اندازه‌گیری قابلیت تثبیت نیتروژن گیاهان وجود دارد که میزان تثبیت نیتروژن اتمسفری را به صورت غیرمستقیم اندازه‌گیری می‌کند (۱۲،۱۴). با وجود این، تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که روش رقیق سازی ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ ( $N^{15}$  Isotope dilution) دقیق‌ترین روش برای اندازه‌گیری قابلیت تثبیت نیتروژن گیاهان می‌باشد که قابلیت اندازه‌گیری مستقیم نیتروژن تثبیت شده توسط گیاه را دارد (۹). تنها عیب استفاده از این روش هزینه بالای تهیه ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ و آزمایش‌های تعیین مقدار این ایزوتوپ در اندامهای مختلف گیاه می‌باشد. سؤال اصلی این تحقیق این بود که آیا قسمتهای مختلف درخت اقاچیا (ریشه، ساقه و برگ) به نسبت مساوی نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق نیتروژن تولید شده از فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی تأمین می‌کنند. در صورت مثبت بودن پاسخ این سؤال، می‌توان برای بررسی درصد نیتروژن دریافتی اقاچیا از طریق منبع تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، فقط از یکی از اندامهای گیاه که معرف گیاه کامل بوده، نمونه برداری کرد و نتیجه آن را به کل گیاه تعمیم داد. این کار باعث صرفه جویی در وقت و هزینه و همچنین تسریع در روند تحقیقات علمی می‌گردد.

#### مواد و روشها

برای انجام این مطالعه، توده خالص درخت اقاچیا در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور واقع در پیکان شهر کرج انتخاب شد. ۱۵ درخت اقاچیا، بصورت تصادفی انتخاب و از هر درخت در قسمتهای بالایی، میانی و پایین تاج اقدام به جمع آوری بذر گردید. بذرهای جمع آوری شده از قسمتهای مختلف هر درخت برای بدست آوردن نمونه ترکیبی با هم مخلوط شدند. نمونه‌های جمع آوری شده، به کشور آلمان منتقل شده و انجام مطالعات گلخانه ای و آنالیزهای آزمایشگاهی در دانشگاه جورج - آگوست شهر گوتینگن انجام شد.

درصد نیتروژن ایزوتوپ ۱۵ در گیاه مرجع (گیاهی که قابلیت  $Rp_{Nae}$  تثبیت نیتروژن ندارد)

بعد از تجزیه واریانس داده‌های آماری، مقایسه میانگین نیتروژن ایزوتوپ ۱۵ بین اندام‌های مختلف با استفاده از روش دانکن در سطح ۹۵٪ انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری STATISTICA انجام شد.

### نتایج

بر اساس نتایج، وزن خشک کل بصورت برگ: ۲۳،۸۷، ساقه ۲۴،۴۸ و ریشه ۱۶،۸۰ گرم در کل گیاه اقلایا توزیع شده است (جدول ۱).

برای مقایسه قابلیت تثبیت نیتروژن قسمت‌های مختلف گیاه (ریشه، ساقه و برگ) و گیاه کامل از میزان موجودی ایزوتوپ ۱۵ در این اندام‌ها استفاده شد. میزان درصد تثبیت نیتروژن هر یک از اندام‌های گیاه از فرمول شماره یک محاسبه شد. از آنجا که عدد مخرج کسر بدلیل همسان بودن گیاه مرجع برای تمامی نمونه‌ها ثابت است، بنابراین میزان کمتر ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ به معنای درصد بیشتر نیتروژن کسب شده آن اندام از طریق فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی می‌باشد (۸).

$$N_{dfa} = (1 - (Fp_{Nae} / Rp_{Nae})) \times 100 \quad (۴)$$

درصد نیتروژن کسب شده از طریق فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی

درصد نیتروژن ایزوتوپ ۱۵ در اقلایا  $Fp_{Nae}$

جدول ۱- وزن ماده خشک، نیتروژن کل، درصد نیتروژن ۱۵ در اقلایا و گیاه مرجع، درصد و مقدار نیتروژن جذب شده از طریق فرایند تثبیت نیتروژن در درخت اقلایا ۶ ماه بعد از کاشت در گلخانه.

اندام‌های مختلف گیاه	وزن ماده خشک (گرم)	نیتروژن کل (گرم در گیاه)	درصد نیتروژن ۱۵ در گیاه مرجع	درصد نیتروژن ۱۵ در گیاه اقلایا	درصد نیتروژن جذب شده از فرایند تثبیت نیتروژن (گرم در گیاه)	مقدار نیتروژن جذب شده از فرایند تثبیت نیتروژن (گرم در گیاه)
برگ	۲۳/۸۷ <sup>b</sup> (۴/۲۱)	۰/۷۲ <sup>b</sup> (۰/۰۴)	۱/۰۱ <sup>a</sup> (۰/۳۷)	۰/۵۷ <sup>a</sup> (۰/۱۲)	۵۳/۶۶ <sup>a</sup> (۵/۲۸)	۰/۴۰ <sup>b</sup> (۰/۰۲)
ساقه	۲۴/۴۸ <sup>b</sup> (۳/۵۴)	۰/۳۲ <sup>d</sup> (۰/۰۲)	۱/۰۶ <sup>a</sup> (۰/۱۷)	۰/۵۶ <sup>a</sup> (۰/۱۴)	۴۹/۸۰ <sup>a</sup> (۷/۷۰)	۰/۱۶ <sup>a</sup> (۰/۰۹)
ریشه	۱۶/۸۰ <sup>c</sup> (۲/۳۳)	۰/۵۰ <sup>c</sup> (۰/۰۸)	۱/۲۳ <sup>a</sup> (۰/۱۹)	۰/۵۹ <sup>a</sup> (۰/۱۱)	۴۸/۲۷ <sup>a</sup> (۸/۸۸)	۰/۲۴ <sup>a</sup> (۰/۰۸)
گیاه کامل	۶۵/۱۵ <sup>a</sup> (۱۲/۵۸)	۱/۵۴ <sup>a</sup> (۰/۰۶)	۱/۱۱ <sup>a</sup> (۰/۲۵)	۰/۵۵ <sup>a</sup> (۰/۱۲)	۵۰/۸۱ <sup>a</sup> (۵/۱۷)	۰/۷۸ <sup>c</sup> (۰/۰۴)

\*حروف متفاوت در ستون‌های عمودی بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین اندام‌های مختلف گیاه می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

\*اعداد داخل پرانتز، انحراف معیار هر یک از داده‌های ارائه شده در جدول می‌باشند.

فرایند تثبیت نیتروژن نسبت به کل نیتروژن جذب شده در اندام‌های مختلف گیاه بین ۴۸،۲۷ درصد تا ۵۳،۶۶ درصد تغییر می‌کند ( $P < 0/05$ ، جدول ۱). بنابراین تفاوت معناداری بین اندام‌های مختلف درخت اقلایا از نظر نسبت تثبیت نیتروژن اتمسفر نسبت به نیتروژن کل وجود ندارد.

بر همین اساس، تفاوت معناداری از نظر وزن خشک اندام‌های مختلف گیاه و به تبع آن نیتروژن کل اندام‌های مختلف گیاه اقلایا وجود دارد ( $P < 0/05$ ، جدول ۱). میزان نیتروژن ۱۵ در گیاه بین ۰،۵۵ تا ۰،۵۹ درصد در کل گیاه متغیر است و بدین ترتیب نسبت نیتروژن جذب شده از

دیگر از تحقیقات ثابت شده است که هیچکدام از اندامها در گیاهانی مانند *Medicago littoralis*, *leucocephala* و *Leucouena* نمی‌توانند به تنهایی به عنوان شاخصی برای محاسبه درصد نیتروژن کسب شده کل گیاه از فرایند تثبیت نیتروژن بیولوژیکی مورد استفاده قرار بگیرند. بنابراین در این گیاهان باید نمونه ترکیبی از تمامی اندامهای گیاهی (به نسبت وزن خشک هر اندام گیاهی در کل گیاه) تهیه شده و بعد به بررسی درصد نیتروژن جذب شده این گیاهان طی فرایند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن پرداخت (۲۴، ۱۴، ۶).

همچنین نتایج این تحقیق، بیانگر قابلیت فوق‌العاده افاقیا در تثبیت نیتروژن می‌باشد. چنانکه تنها ۶ ماه پس از کاشت، افاقیا حدود ۵۰٪ از نیتروژن مصرفی خود را از فرایند تثبیت نیتروژن تأمین می‌کند (جدول ۱). همچنین آزمایشها در مورد درخت ۲ ساله افاقیا نشان می‌دهد که این درخت تا حدود ۹۰٪ از نیتروژن مصرفی خود را از فرایند تثبیت نیتروژن تأمین می‌کند (۸). همچنین نشان داده شده که این گیاه قابلیت تثبیت نیتروژن ۳۷ کیلوگرم اتمسفری را در ماه دارد (۱۸). این در حالیست که تحقیقات گذشته نشان می‌دهد که گونه‌های *Acacia Senegal*، *Faidherbia albida* و *Casuarina cunninghamiana* با توجه به پرونانس بذر، به ترتیب فقط ۲۴ تا ۶۱٪ (۲۱)، ۵ تا ۳۸٪ (۱۱) و ۱۴ تا ۷۶٪ (۲۳) نیتروژن مصرفی خود را از فرایند تثبیت نیتروژن تأمین می‌کنند. قابلیت تثبیت نیتروژن درخت افاقیا به فاکتورهایی همانند سن، مقدار نیاز گیاه به مواد مغذی، شرایط آب و هوایی و تعداد درخت در هکتار وابسته بوده و مقدار آن بین ۳۰ تا ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار متغیر است (۵ و ۴). افزایش تثبیت نیتروژن در گیاه سبب افزایش نیتروژن احیایی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه می‌شود. نیتروژن تأمین شده از طریق این فرایند باعث صرفه‌جویی انرژی در کشاورزی می‌گردد (۲). بعنوان مثال بر اساس نتایج این تحقیق و با فرض کاشت ۱۰۰۰۰ نهال درخت افاقیا در هکتار و مقدار ۰/۷۸ گرم نیتروژن تثبیت شده توسط هر نهال (جدول ۱) مقدار ۷/۸ کیلوگرم

بیشترین میزان درصد تثبیت نیتروژن اتمسفری در برگها اتفاق افتاده است، اگرچه تفاوت معنادار آماری با سایر اندامها نشان نمی‌دهد. اما در مقابل، به دلیل تفاوت در وزن خشک هریک از اندامها، مقدار نیتروژن جذب شده توسط این فرایند در اندامهای مختلف درخت افاقیا تفاوت معنا داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ، جدول ۱). بدین صورت که بیشترین مقدار تثبیت نیتروژن بر حسب گرم در برگها بوده است (۰،۴ گرم)، در صورتی که بین اندامهای دیگر تفاوت معناداری از این نظر دیده نمی‌شود (۰،۱۶ تا ۰،۲۴ گرم برای ساقه و برگ، جدول ۱).

### بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، وزن خشک برگ و ساقه درخت افاقیا تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد، در صورتی که میزان نیتروژن در برگها تقریباً بیش از دو برابر نیتروژن موجود در ساقه درخت افاقیا می‌باشد (جدول ۱). با توجه به نقش اساسی نیتروژن در فرایند فتوسنتز گیاه (۷)، و نقش کلیدی برگ در این فرایند، این نتیجه دور از انتظار نمی‌باشد.

با وجود این، نسبت نیتروژن کسب شده از طریق فرایند فتوسنتز، تفاوت معناداری را در بین اندامهای مختلف افاقیا نشان نمی‌دهد (جدول ۱). با این نتایج، سؤال اصلی این تحقیق مبنی بر برابر یا برابر نبودن نسبت دریافت نیتروژن اندامهای درخت افاقیا از فرایند تثبیت نیتروژن پاسخ داده می‌شود. نتایج این مطالعه، موافق با نتایج آن دسته از تحقیقاتی است که نشان می‌دهد، درصد نیتروژن دریافتی از فرایند تثبیت بیولوژیکی تمامی اندامها در گیاهانی مانند *Faidherbia albida*، *Pterocarpus erinaceus* و *Pterocarpus lucens* با هم برابر بوده، بنابراین سهل‌الوصول‌ترین بخش گیاه یعنی برگ یا هر اندام دیگر آن، می‌تواند برای ارزیابی قابلیت تثبیت نیتروژن با استفاده از روش رقیق سازی ایزوتوپ نیتروژن ۱۵ مورد استفاده قرار گیرد (۱۱، ۲۱ و ۲۲). در حالیکه در بعضی

نیتروژن و در نتیجه مقدار نیتروژن ناشی از این فرایند دارد (۱).

### سپاسگزاری

این تحقیق در دانشگاه زورژ- آگوست گوتینگن آلمان و با حمایت مالی بنیاد تبادلات علمی آلمان (DAAD) انجام شده است.

نیتروژن از طریق فرایند تثبیت نیتروژن در مدت ۶ ماه ابتدایی کاشت نهالها به خاک اضافه خواهد شد. دلیل تفاوت موجود میان این تحقیق و تحقیق‌های فوق از نظر میزان قابلیت تثبیت نیتروژن افاقیا، ممکن است به دلیل تفاوت سن درخت‌های استفاده شده و تعداد درخت موجود در هکتار و همچنین مقدار عناصر مغذی در خاک باشد. البته میزان عناصر غذایی و به ویژه نیتروژن خاک رابطه معکوسی با میزان فعالیت باکتریهای تثبیت کننده

### منابع

- ۱- شریفی، م. م. قربانلی و م. براتی (۱۳۸۶) بررسی پارامترهای خاک و عوامل زیستی در ریزوسفر درختان کاج و افاقیا در پارکهای طالقانی و چیتگر استان تهران. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۰: ۴۹-۴۲.
- ۲- مهدوی، ب. س. مدرس ثانوی و م. آقا علیخانی (۱۳۸۸) بررسی اثر سویه و دماهای مختلف منطقه ریشه بر صفات مورفولوژیکی و تثبیت نیتروژن سه رقم خلر (*Lathyrus sativus*). مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۲: ۶۸۱-۶۷۲.
- 3- Berthold D (2005) Soil chemical and biological changes through the N<sub>2</sub> fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia L.*) - A contribution to the research of treeneophytes. Dissertation, University of Göttingen.
- 4 - Boring LR, Swank WT. (1984) The role of black locust (*Robinia pseudoacacia L.*) in forest succession. *Journal of Ecology* 72: 749-766.
- 5 - Boring LR, Swank WT. (1984) Symbiotic nitrogen fixation in regenerating black locust (*Robinia pseudoacacia L.*) stands. *Forest Science*. 30:528-537.
- 6 - Butler, JHA. (1987). The effect of defoliation on growth and N<sub>2</sub> fixation by *Medicago sp* grown alone or with ryegrass. *Soil Biol. Biochem.* 19: 273- 279.
- 7 - Cao B, Dang QL, Zhang S, (2007) Relationship between photosynthesis and leaf nitrogen concentration in ambient and elevated [CO<sub>2</sub>] in white birch seedlings. *Tree Physiology* 27: 891-899.
- 8 - Danso SKA, Zapata F, Awonaike KO. (1995) Measurement of biological N fixation in field-grown *Robinia Pseudoacacia L.* *Soil Biology and Biochemistry* 27: 415-419.
- 9 - Fried, M. and Middelboe, V. (1977). Measurement of amount of nitrogen fixed by a legume crop. *Plant and Soil*. 47: 713- 715.
- 10 - Giller, KE. and Wilson, KJ. (1991). Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Wallingford, UK. Pp:85-87
- 11 - Gueye, M. Ndoye, I. Dianda, M. Danso, SKA. and Dreyfus, B. (1997). Active N<sub>2</sub> fixation in several *Faidherbia albida* provenances. *Arid soil res. rehabil.* 11: 63-70.
- 12 - Hardarson, G. Danso, SKA. (1993). Methods for measuring biological nitrogen fixation in grain legumes. *Plant Soil* .152: 19-23.
- 13 - Hardarson, G. Zapata, F. and Danso, SKA. (1984). Field evaluation of symbiotic nitrogen fixation by rhizobial strains using <sup>15</sup>N methodology. *Plant Soil*. 82: 369-375.
- 14- Ladd, JN. (1981). The use of <sup>15</sup>N in following organic matter turnover, with specific reference to rotation systems. *Plant Soil* .58: 401-411.
- 15 - Lv, H. Liang Z. (2012) Dynamics of soil organic carbon and dissolved organic carbon in *Robinia pseudoacacia* forests. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 12 (4) : 763- 774
- 16 - Martensson, AM. and Ljunggren, HD. (1984). A comparison between the acetylene reduction method, the isotope dilution method and the total nitrogen difference method for measuring nitrogen fixation in lucerne (*Medicago sativa L.*). *Plant Soil*. 81:177-184.
- 17 - Minchin, FR. Witty, JF. Sheehy, JE. and Muller, M. (1983). A major error in the acetylene reduction assay: decreases in nodular nitrogenase

- activity under assay conditions. J Exp. Bot. 34: 641-649
- 18 -Noh, NJ. Son, Y., Koo JW. Seo, KW. Kim, RH. Lee, YY, Yoo, KS. (2010) Comparison of nitrogen fixation for North –and South-facing Robinia pseudoacacia Stands in central Korea. J Plant Biol 53:61-69.
- 19 - Olesniewicz, KS. and Thomas, RB. (1999). Effects of mycorrhizal colonization on biomass production and nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia*) seedlings grown under elevated atmospheric carbon dioxide. New Phytol. **142**: 133-140.
- 20 - Qiu, L. Zhang, X. Cheng, J. Yin, X. (2010) Effects of black locust (*Robinia pseudoacacia*) on soil properties in the loessial gully of the Loess Plateau, China. Plant Soil.322: 207-217
- 21 - Raddad, EAY. Salih, AA. El Fadl, MA. Kaarakka, V. Luukkanen, O. (2005). Symbiotic nitrogen fixation in eight *Acacia senegal* provenances in dryland clays of the Blue Nile Sudan estimated by the N-15 natural abundance method. Plant Soil 275: 261-269.
- 22 - Sylla, SN. Ndoeye, I. Ba, AT. Gueye, M. and Dreyfus B. (1998). Assessment of nitrogen fixation in *Pterocarpus erinaceus* and *P. lucens* using the 15N labeling methods. Arid soil Res. Rehabil. 12: 257-253.
- 23- Sanginga N, Bowen G D and Danso S K .(1990) Genetic variability for symbiotic N<sub>2</sub> fixation within and between provenances of two Casuarina species using the 15N labelling methods. Soil Biology and Biochemistry 22: 539-547.
- 24- Sanginga, N. Zapata, F. Danso, SKA. and Bowen, G D. (1990). Effect of successive cuttings on uptake and partitioning of <sup>15</sup>N among plant parts of *Leucaena leucocephala*. Biology and Fertility of Soils. 9: 37-42.
- 25- Wang, Y.F. Fu, B.J. Lü, Y.H. Song, C.J. Luan, Y. (2010). Local-scale spatial variability of soil organic carbon and its stock in the hilly area of the Loess Plateau, China. Quatern Res. 73 : 70-76.
- 26- Wang, Y.F., Fu, B.J., Lv, Y.H. et al. 2011. Effects of vegetation restoration on soil organic carbon sequestration at multiple scales in semi-arid Loess Plateau, China. Catena. 85: 58-66.

Archive

## The comparison of different *Robinia pseudoacacia* organs regarding amount of deriving nitrogen from biological nitrogen fixation process

Moshki A.R.<sup>1</sup> and Bakhshandeh N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Forestry in Arid regions Dept., Faculty of Desert Sciences, Semnan University, Semnan, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Applied Agriculture Branch, Applied Science and Technology University, Semnan, I.R. of Iran

### Abstract

The comparison of different *Robinia pseudoacacia* organs regarding amount of deriving nitrogen from biological nitrogen fixation process. Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) is one of the most famous plant species in the world, regarding nitrogen fixation ability. It is widely used in reforestation projects in the world. The main question of this study was that, whether the different parts of *Robinia* (i.e. roots, stems and leaf) derived same proportion of their required nitrogen from biological nitrogen fixation process. The collected seeds of *Robinia* were planted in similar greenhouse conditions. After 2 months, the seedlings of *Robinia* were inoculated with a suspension of mixed Rhizobium. At six months from the start of the greenhouse trials, the seedlings received the equal amount of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> (100 cc) contain 11.03 N<sup>15</sup>. After one week, they were harvested and separated into leaves, stems, and roots. The samples were dried, weighed, and the N<sup>15</sup> excess was measured. The N<sup>15</sup> excess concentration was used as an index for comparison the amount of nitrogen derived from biological nitrogen fixation for each plant organs. The results did not show any significant difference amongst leaf, stem and roots of *Robinia* in terms of the nitrogen derived from biological nitrogen fixation procedure. Therefore, the most accessible part of plant (i.e. leaf) can be used for calculating the nitrogen proportion of nitrogen derived from biological nitrogen fixation process.

**Key words:** Nitrogen fixation, N<sub>15</sub> Isotope dilution method, *Robinia pseudoacacia*