



برهم کنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت و روی بر توزیع شکل‌های شیمیایی و فراهمی روی در ریزوسفر نهال‌های پسته (*Pistacia Vera L.*) تحت تنش شوری

*فرهاد آذر می^۱، وحید مظفری^۲، محسن حمیدپور^۲ و پیمان عباس‌زاده دهجی^۳

^۱دانش آموخته دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ^۲دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان،

^۳استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۹

چکیده

سابقه و هدف: شوری خاک و کمبود روی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد درختان پسته در بسیاری از مناطق پسته‌کاری ایران، از جمله منطقه رفسنجان می‌باشند. استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه یکی از راهکارهای نوین برای افزایش فراهمی عناصر غذایی در خاک و در نتیجه افزایش رشد گیاهان در شرایط شور است. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی برهم‌کنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت و روی بر تغییرات شکل‌های مختلف روی در ریزوسفر و هم‌چنین غلظت و جذب آن در نهال‌های پسته تحت تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر برهم‌کنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت (شاهد و سه جدایه pf_1 ، pf_2 و pf_3) و روی (۰ و ۵ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم) بر توزیع شکل‌های شیمیایی روی در خاک ریزوسفری در سطوح مختلف شوری {۰ ($1/46 \text{ dS m}^{-1}$)، ۱۰۰۰ ($7/32 \text{ dS m}^{-1}$) و ۲۰۰۰ ($12/0 \text{ dS m}^{-1}$) میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم} خاک و ارتباط آن با غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته (*Pistacia Vera L. cv. Badami*)، مطالعه‌ای گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که شوری و تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت موجب افزایش روی قابل عصاره‌گیری با DTPA و شکل‌های تبادلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با مواد آلی و کاهش شکل‌های متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده در خاک ریزوسفری شد. تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت به‌طور متوسط، روی قابل عصاره‌گیری با DTPA و شکل‌های تبادلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با مواد آلی را به‌ترتیب ۵۲، ۲۶، ۲۹ و ۳۵ درصد افزایش و از طرف دیگر شکل‌های متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده را به‌ترتیب ۲۴ و ۳ درصد کاهش داد. کاربرد روی نیز تمام شکل‌های روی (به‌جز باقی‌مانده) را افزایش داد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری، غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته کاهش یافت، ولی تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و کاربرد روی موجب افزایش آن‌ها در تمام سطوح شوری شد. به هر حال، کاربرد همزمان جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و روی تأثیر بیشتری بر افزایش غلظت و جذب روی در شاخساره داشت. بین جذب روی در شاخساره نهال‌ها و روی قابل عصاره‌گیری با DTPA و شکل‌های تبادلی و

* مسئول مکاتبه: farhadazarmi@yahoo.com

محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد. نتایج تجزیه خاک ریزوسفری نیز نشان داد که شوری و تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت، pH خاک ریزوسفری را از ۷/۷۳ به ترتیب به ۷/۴۶ و ۷/۵۹ کاهش دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که هر چند شوری موجب افزایش فراهمی روی در خاک ریزوسفری شد، اما غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌ها را به دلیل کاهش حجم ریشه، کاهش فراهمی آب و همچنین غلظت بالای یون‌های سدیم کاهش داد. بنابراین، استفاده از جدایه‌های مؤثر به خصوص جدایه‌های حل‌کننده ترکیبات روی می‌تواند علاوه بر افزایش فراهمی روی در خاک، با افزایش رشد ریشه دسترسی گیاه را به آب و عناصر غذایی افزایش داده و موجب افزایش جذب آن‌ها توسط گیاه شود. با توجه به نتایج، شکل‌های تبدالی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز می‌توانند به‌عنوان روی قابل استفاده برای نهال‌های پسته در خاک‌های شور قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، روی قابل استفاده، عصاره‌گیری دنباله‌ای، کلرید سدیم

مقدمه

یک عنصر در خاک نیاز به استفاده از روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای می‌باشد (۳۷). یکی از مهم‌ترین روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای توسط تسیر و همکاران (۱۹۷۹) ارائه شد که براساس آن شکل‌های مختلف یک عنصر در خاک به صورت تبدالی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، پیوند شده با مواد آلی و باقی‌مانده تقسیم‌بندی می‌شوند (۴۸). شکل‌های تبدالی و محلول برای گیاه قابل جذب می‌باشند، در حالی که شکل متصل به اکسیدها و کانی‌های اولیه و ثانویه تقریباً غیرقابل دسترس هستند (۲۵). پژوهشگران گزارش کردند که روی پیوند شده با مواد آلی قابلیت استفاده زیادی برای گیاه ندارد، زیرا اجزا مواد آلی با وزن مولکولی زیاد مقدار کمی از عناصر پیوند شده را آزاد می‌کنند (۱۵). براساس مطالعات، حدود ۹۰ درصد روی کل خاک (به‌خصوص در خاک‌های آهکی) در بخش باقی‌مانده قرار داشته و به دلیل واکنش با اجزای خاک تثبیت شده و به شکل غیرقابل استفاده برای گیاه تبدیل می‌شود (۲۱). کالا-ریورو (۱۹۹۹) نیز گزارش کرد که در خاک‌های آهکی روی بیش‌تر به‌فرم باقی‌مانده بوده و پس از آن شکل‌های کربناتی و

روی در خاک‌های آهکی بیش‌تر به شکل ترکیبات بسیار کم محلول هیدروکسید و یا کربنات روی وجود دارد که بخش عمده آن‌ها به شکل غیرقابل استفاده برای گیاهان می‌باشند. بیش از ۵۶ درصد خاک‌های زراعی ایران، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA کم‌تر از ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشته و تنها ۳۱ درصد از خاک‌ها بیش‌تر از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی قابل جذب دارند. حد بحرانی روی در خاک‌های ایران بین ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (۴۲). در مطالعات مربوط به سیستم خاک-گیاه، آگاهی از چگونگی توزیع عناصر غذایی بین اجزای مختلف خاک، در شناخت رفتار شیمیایی و برهم‌کنش آن‌ها با ریشه گیاه در محیط ریزوسفر و در نتیجه فراهمی آن‌ها برای گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. فراهمی شکل‌های مختلف عناصر در خاک برای گیاه متفاوت بوده و قابلیت استفاده آن‌ها برای گیاه ارتباط زیادی با نحوه توزیع آن عنصر در اجزای مختلف خاک دارد. هر چند استفاده از عصاره‌گیرهای تک‌مرحله‌ای اطلاعاتی در رابطه با فراهمی عناصر در خاک ارائه می‌کنند اما برای آگاهی از توزیع شکل‌های مختلف

اسیدهای آلی و سیانید هیدروژن موجب افزایش انحلال و فراهمی عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن و روی در خاک شده و از طرف دیگر مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌دهند (۲). آنزیم ACC دآمیناز نقش مهمی در تنظیم تولید هورمون‌های گیاهی و اتیلن در گیاهان، به‌ویژه در شرایط تنشی، ایفا می‌کند. این آنزیم، ACC را که پیش‌ماده مستقیم تولید اتیلن در گیاهان است را به آمونیاک و آلفا-کتوتیرات تجزیه کرده و در نتیجه سطح اتیلن تنشی را در گیاه کاهش می‌دهد (۴۰). توانایی سودوموناس‌های فلوروسنت برای بقا و هم‌چنین افزایش رشد و عملکرد گیاهان در خاک‌های مناطق خشک و شور گزارش شده است (۳۲). مطالعات مربوط به تأثیر فعالیت‌های میکروبی بر تحرک و فراهمی عناصر غذایی در توده خاک نشان داده است که فرآیندهای میکروبی می‌توانند بر واکنش‌های مختلف عناصر از قبیل جذب زیستی، کمپلکس شدن، انحلال و اکسید و احیا تأثیر بگذارند (۱۶). باکتری‌های *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus edaphicus* و *Bacillus megaterium* توانایی افزایش فراهمی روی در محیط خاک را نشان دادند (۵۲). هوانگ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تلقیح با باکتری *Rhizobium fredii* مقدار روی کل پیوند یافته با ترکیبات جامد خاک را ۱۰ درصد کاهش داد. به‌طوری‌که مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای منگنز و پیوند شده با مواد آلی از ۹ تا ۲۶ درصد پس از تلقیح کاهش ولی روی تبدلی افزایش یافت (۲۴). هم‌چنین در پژوهشی مشخص شد که باکتری *Gluconacetobacter diazotrophicus* ترکیبات کم‌محلول روی را با تولید اسید گلوکونیک به‌صورت محلول درآورده و تلقیح این باکتری در خاک، کمبود روی را کاهش داد (۴۱). عباس‌زاده (۲۰۱۲) نشان داد که بیش‌ترین روی قابل عصاره‌گیری با DTPA با کاربرد هم‌زمان روی،

اکسیدهای آهن و منگنز بیش‌تر مشاهده می‌شوند (۱۰). قرار گرفتن مقدار بیش‌تر روی در بخش باقی‌مانده در خاک‌های آهکی می‌تواند به‌دلیل تمایل آن به قرارگیری به شکل غیرقابل استفاده در این خاک‌ها باشد (۳۵). درصد بالای روی در بخش اکسیدها نشان‌دهنده جذب روی بر روی سطوح سزکویی اکسیدها و یا محبوس شدن آن در ساختار اجزای خاک می‌باشد (۴۵). علاوه بر برهم‌کنش‌های عناصر با اجزای آلی و غیرآلی خاک، برهم‌کنش‌های بیولوژیک و ارتباط بین فعالیت‌های میکروبی با سیستم خاک- گیاه بر فراهمی عناصر در خاک مؤثر است (۴). ریزوسفر، لایه نازکی از خاک اطراف ریشه است (۱ تا ۳ میلی‌متر) که موجودات زنده در آن ناحیه از نظر کمی و کیفی تحت تأثیر فعالیت ریشه مانند تنفس و ترشحات ریشه‌ای قرار دارند (۸). هم‌چنین pH ریزوسفر یک تا دو واحد با توده خاک تفاوت دارد. ریزوسفر نقش مهمی در تغییر شکل‌های شیمیایی عناصر در خاک و فراهمی آن‌ها برای گیاه ایفا می‌کند (۹).

یکی از روش‌های افزایش فراهمی روی در خاک استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه^۱ (PGPR) است. سودوموناس‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری هستند که به‌دلیل توانایی بالای آن‌ها در رقابت با سایر ریزجانداران برای عناصر غذایی و سازگاری سریع با شرایط محیطی مختلف، در بیش‌تر محیط‌ها مشاهده می‌شوند. این باکتری‌ها توانایی استفاده از منابع متنوع کربنی را دارا هستند. مؤثرترین گروه از سودوموناس‌ها، سودوموناس‌های فلوروسنت هستند که به‌دلیل خصوصیات متابولیکی و عملکردی متنوع، نقش بارزی در بهبود باروری و سلامت خاک ایفا می‌کنند (۳۹). این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، آنزیم ACC^۲ دآمیناز، سیدروفور،

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

2- 1-aminocyclopropane-1-carboxylate

رفسنجان، به دلیل بالا بودن pH، مقدار زیاد کربنات کلسیم و شور بودن خاک و آب آبیاری، جذب عناصر کم مصرف، از جمله روی، با مشکل مواجه بوده و در نتیجه درختان پسته با کمبود این عناصر مواجه هستند (۳۳). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی برهم کنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت و روی بر توزیع شکل‌های شیمیایی و فراهمی روی در ریزوسفر و غلظت و جذب آن در شاخساره نهال‌های پسته (رقم بادامی) تحت تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت: به منظور جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت، ۸۰ نمونه خاک از ناحیه ریزوسفر (خاک اطراف ریشه) درختان پسته مناطق مختلف رفسنجان و حومه با درجات شوری مختلف (۱۸-۲ دسی‌زیمنس بر متر) جمع‌آوری شد (سال ۱۳۹۳). پس از کشت بر روی محیط کشت King B (شامل ۲۰ گرم در لیتر Proteose peptone، ۱/۵ گرم در لیتر $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۱/۵ گرم در لیتر K_2HPO_4 ، ۱۰ میلی‌لیتر گلیسرول و ۱۶ گرم در لیتر آگار)، ۳۲ جدایه سودوموناس فلوروسنت براساس پرتوافشانی زیر نور UV انتخاب و خالص‌سازی شدند. سپس برای انتخاب جدایه‌های برتر، برخی از خصوصیات محرک رشدی آن‌ها از قبیل تولید اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، انحلال فسفر $(Ca_3(PO_4)_2)$ ، انحلال روی $(ZnCO_3)$ و فعالیت آنزیم ACC دآمیناز اندازه‌گیری شد (۲). در نهایت ۳ جدایه با خصوصیات محرک رشدی بالا برای آزمون گلخانه‌ای انتخاب شدند (جدول ۱).

قارچ‌های میکوریزی، سودوموناس‌های فلوروسنت و ریزوبیوم به دست آمد که برابر ۲/۶۹ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. هم‌چنین کاربرد قارچ و باکتری باعث کاهش انتقال روی به بخش باقی‌مانده و انتقال آن به بخش کربناتی شد (۱).

به‌طور کلی رابطه بین شوری و عناصر کم مصرف بسیار پیچیده بوده و شوری می‌تواند باعث افزایش و یا کاهش فراهمی این عناصر برای گیاه شود (۲۰). کشاورز و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که با افزایش شوری خاک، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA، روی تبدلی و محلول و روی پیوند شده با مواد آلی افزایش، ولی روی باقی‌مانده کاهش یافت. به عبارت دیگر، شوری موجب انتقال و توزیع مجدد روی از بخش باقی‌مانده به بخش‌های محلول و تبدلی و آلی شد. این پژوهشگران دلیل افزایش روی قابل عصاره‌گیری با DTPA با افزایش شوری خاک را جایگزینی روی قابل‌تبادل با یون‌های سدیم و هم‌چنین کاهش مقدار pH عنوان کردند (۲۹). بنابراین، به نظر می‌رسد که کاهش جذب عناصر غذایی در شرایط شور بیش‌تر به دلیل کاهش حجم ریشه، کاهش فراهمی آب و اثر آنتاگونیستی بین عناصر غذایی و سمیت یون‌ها می‌باشد. اگرچه مطالعات مختلفی در رابطه با ارتباط اجزای مختلف عناصر در خاک با پاسخ‌های گیاهی انجام شده است (۱۸، ۵۱)، با این وجود تعیین اجزای روی که قابلیت استفاده زیادی برای گیاه به‌ویژه در خاک‌های شور دارند هنوز مشخص نشده است، زیرا قابلیت استفاده عناصر به‌وسیله گیاه به نوع گیاه و نوع خاک بستگی دارد.

غلظت بالای املاح و شوری خاک در بسیاری از باغات پسته توسط پژوهشگران گزارش شده است (۳۴). از طرف دیگر، بر اساس مطالعات مختلف در خاک‌های مناطق پسته‌خیز ایران، به‌ویژه منطقه

جدول ۱- برخی خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت مورد استفاده.

Table 1. Selected plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads isolates.

آنزیم ACC دآمیناز***	تولید سیانید هیدوژن**	انحلال روی Zn Solubility	انحلال فسفر P Solubility	تولید اکسین* IAA Production	تولید سیدروفور Siderophore Production	جدایه‌ها Isolates
ACC deaminase Activity	HCN Production	(میلی گرم بر لیتر) (mg L ⁻¹)			نسبت هاله به کلنی Halo to colony diameter	
+	3	0	705	2.99	2.09	pf ₁
-	1	40.9	412	1.21	2.67	pf ₂
+	1	2.58	404	16.6	1.47	pf ₃

* (در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر ال-تریپتوفان)، ** (۱): عدم تولید و (۳): تولید متوسط، *** (+) دارا بودن و (-) دارا نبودن فاکتور مورد نظر.
* (at tryptophan concentration of 100 mg L⁻¹), ** score: 1 (no production) and 3 (Relatively little), *** (+) containing (-) not-containing ACC deaminase activity.

به‌روش عصاره‌گیری با DTPA (۳۱) به‌وسیله دستگاه جذب اتمی تعیین شد. مقدار روی کل خاک نیز با استفاده از اسید نیتریک ۴ مولار در دمای ۸۰ درجه سلسیوس عصاره‌گیری و تعیین شد (۴۶) (جدول ۲). پس از گذراندن خاک تهیه شده از الک ۴ میلی متری، در هر گلدان ۵ کیلوگرم خاک همگن ریخته شد. عناصر غذایی نیتروژن از منبع اوره (۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)، فسفر از منبع KH₂PO₄ (۲۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم)، آهن از منبع Fe-EDTA (۱۰ میلی گرم آهن در کیلوگرم) و منگنز از منبع MnSO₄.H₂O (۵ میلی گرم منگنز در کیلوگرم) بر اساس آزمون خاک به هر گلدان اضافه شد. پس از ضدعفونی کردن بذور پسته، در هر گلدان ۸ بذر جوانه‌دار کشت شده و برای تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت در تیمارهای مورد نظر، هر بذر با ۱۰۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با جمعیت ۵×۱۰^۸ سلول در میلی لیتر تلقیح گردید. چهار هفته پس از کشت، تعداد نهال‌ها در هر گلدان به ۵ عدد تقلیل یافت. تیمار شوری نیز در هفته پنجم در سه نوبت و به فاصله دو روز از هم همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه شد. در طول دوره رشد، آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر انجام و پس از طی دوره

آزمون گلخانه‌ای: به‌منظور بررسی برهم‌کنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت (pf₀) (شاهد تلقیح نشده)، pf₁، pf₂ و pf₃ و روی (۰ و ۵ میلی گرم روی در کیلوگرم از منبع ZnSO₄.7H₂O) بر توزیع شکل‌های شیمیایی روی در ریزوسفر و غلظت و جذب آن در شاخساره نهال‌های پسته (رقم بادامی) در سطوح مختلف شوری (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. شوری نهایی گلدان‌ها با استفاده از این سطوح به ترتیب به ۱/۴۶، ۷/۳۲ و ۱۲/۰ دسی‌زیمنس بر متر رسید. پس از تهیه یک خاک با مقدار شوری نسبتاً پایین، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن شامل بافت به روش هیدرومتر (۷)، pH در گل اشباع به‌وسیله الکتروود شیشه‌ای (۳۸)، قابلیت هدایت الکتریکی (EC) در عصاره گل اشباع با هدایت سنج، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به‌روش جان‌شین کاتیون‌ها با استات سدیم (۱۱)، مواد آلی به روش والکی و بلک (۱۹۳۴) (۵۰)، فسفر قابل‌استفاده با عصاره‌گیری به‌روش اولسن و همکاران (۱۹۵۴) (۳۶)، پتاسیم قابل‌تبادل از طریق عصاره‌گیری به‌روش استات آمونیوم (۳۰) و آهن، منگنز، مس و روی

(۱۲). غلظت روی در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین شد. جذب روی در شاخساره نیز از حاصل ضرب غلظت روی در عملکرد ماده خشک و بر حسب میکروگرم در گلدان محاسبه شد.

رشد (۲۴ هفته) و برداشت نهال‌ها، ریشه‌ها از خاک خارج و خاک چسبیده به ریشه به‌عنوان خاک ریزوسفری در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری غلظت روی در شاخساره نیز از روش خشک‌سوزانی و عصاره‌گیری با اسید کلریدریک ۲ نرمال استفاده شد.

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از کاشت.

Table 2. Selected physical and chemical properties of the soil used in the experiment.

مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	روی کل	OM	CEC	EC _c	pH	بافت
Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	Total Zn	%	cmol _c kg ⁻¹	dS m ⁻¹		Texture
mg kg ⁻¹											
1.44	3.14	0.35	1.67	147	9.16	66	0.34	11.3	1.07	7.82	لوم‌شنی Sandy Loam

شد (۳۱). هم‌چنین، شکل‌های شیمیایی روی در خاک ریزوسفری با استفاده از روش تیسیر و همکاران (۱۹۷۹) تعیین شد (۴۸) (جدول ۳).

تعیین شکل‌های شیمیایی روی در خاک: برای تعیین روی قابل‌استفاده در خاک ریزوسفری از عصاره‌گیر تک‌مرحله‌ای (0.005 M, pH=7.3) DTPA استفاده

جدول ۳- روش عصاره‌گیری دنباله‌ای برای تعیین شکل‌های شیمیایی روی در خاک ریزوسفری (۴۸).

Table 3. Sequential extraction procedure for the chemical fraction of Zn in the rhizosphere soil (48).

روش کار	جزء عصاره‌گیری شده
Procedure	Fractions
۸ میلی‌لیتر محلول کلرید منیزیم ۱ مولار (pH=7) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شیکر به مدت ۱ ساعت 1 M MgCl ₂ (pH 7.0) and shaking for 1 h at 25 °C	تبادلی و محلول Water-soluble plus exchangeable (WSEX-Zn)
۸ میلی‌لیتر محلول استات سدیم ۱ مولار (pH=5) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شیکر به مدت ۵ ساعت 1 M NaOAc (pH 5.0) and shaking for 5 h at 25 °C	پیوند شده با کربنات‌ها Carbonate bound (CA-Zn)
۲۰ میلی‌لیتر هیدروکسیل آمین هیدروکلراید ۰/۰۴ مولار تهیه شده در اسید استیک ۲۵ درصد (v/v) (pH=2) در دمای ۹۶ درجه سلسیوس (درون حمام آب) و شیکر به مدت ۲ ساعت 0.04 M NH ₂ OH. HCl in 25% (v/v) acid acetic (pH 2.0) and shaking for 2 h at 96 °C	متصل به اکسیدهای آهن و منگنز Fe and Mn oxide Bound (FeMnOX-Zn)
الف- ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۰/۰۲ مولار + ۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد در دمای ۸۵ درجه سلسیوس (درون حمام آب) و شیکر به مدت ۲ ساعت A: 0.02 M HNO ₃ + H ₂ O ₂ 30% (v/v) and shaking for 2 h at 85 °C	پیوند شده با مواد آلی Organic matter bound (OM-Zn)
ب- ۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد در دمای ۸۵ درجه سلسیوس (درون حمام آب) و شیکر به مدت ۳ ساعت. B: H ₂ O ₂ 30% (v/v) and shaking for 3 h at 85 °C	
ج- ۵ میلی‌لیتر استات آمونیوم ۳/۲ مولار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شیکر به مدت ۳۰ دقیقه C: 3.2 M C ₂ H ₃ O ₂ NH ₄ shaking for 30 min at 25 °C	
۷/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱۲ مولار + ۲/۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱۶ مولار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت نگهداری، سپس به مدت ۲ ساعت تیخیر و تقطیر ملایم (gentle reflux) و در نهایت سرد و صاف گردید (بدون سانتریفیوژ)	باقی مانده Residual (RES-Zn)
12 M HCl + 16 M HNO ₃ and incubation for 16 h, and then gentle reflux for 2 h	

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

توزیع شکل‌های شیمیایی روی در خاک ریزوسفری: به‌طور کلی نتایج نشان داد که بخش اعظم روی در خاک مورد مطالعه در بخش باقی‌مانده قرار داشت و توزیع شکل‌های مختلف روی در آن به‌صورت زیر بود: باقی‌مانده << متصل به اکسیدهای آهن و منگنز < پیوند شده با کربنات‌ها < پیوند شده با مواد آلی < تبدالی و محلول. با کاربرد جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری شکل‌های متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده کاهش ولی شکل‌های تبدالی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با مواد آلی افزایش یافت. همچنین کاربرد ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم همه شکل‌های روی در خاک به‌جز شکل باقی‌مانده را افزایش داد. تجزیه خاک پس از کشت نشان داد که کاربرد کلرید سدیم و جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت، pH خاک ریزوسفری را از ۷/۷۳ به‌ترتیب به ۷/۴۶ و ۷/۵۹ کاهش دادند. همچنین شوری (EC) خاک در تیمارهای صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به‌ترتیب برابر با ۱/۴۶، ۷/۳۲ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود.

روی قابل عصاره‌گیری با DTPA: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی × شوری بر مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA معنی‌دار شد (جدول ۴). بر اساس نتایج، شوری موجب افزایش روی قابل عصاره‌گیری با DTPA شد. به‌طوری‌که مقدار روی در سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک به‌ترتیب ۴۶ و ۱۰۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۵). از طرفی کاربرد روی و تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت روی قابل عصاره‌گیری با DTPA را در تمام سطوح شوری افزایش داد. کاربرد ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم روی قابل عصاره‌گیری با DTPA در سطوح شوری صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک را به‌ترتیب ۳/۴، ۲/۸ و ۲/۳ برابر نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. همچنین کاربرد هم‌زمان روی و جدایه‌های pf_1 ، pf_2 و pf_3 در سطح شوری ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA را به‌ترتیب ۱۲، ۳۲ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. بیش‌ترین مقدار روی از مصرف هم‌زمان جدایه pf_2 و ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم در سطح شوری ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک به‌دست آمد (۳/۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (جدول ۵).

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد اندازه گیری.

Table 4. Analysis of variance (mean of square) for measurement traits.

CV	جدایه × روی شوری × Isolate × Zn × Salinity	روی × شوری Zn × Salinity	جدایه × روی Isolate × Zn	جدایه × شوری Isolate × Salinity	روی Zn	شوری Salinity	جدایه Isolate	متغیر Variable
-	6	2	3	6	1	2	3	درجه آزادی df
4.46	0.54*	3.46**	0.57 ^{ns}	1.13**	52.6**	142**	55.2**	غلظت روی در شاخساره Zn Concentration in Shoot
5.39	33.4**	1763**	87.4**	107**	10012**	15513**	3077**	جذب روی در شاخساره Zn Uptake by Shoot
4.51	0.021*	0.41**	0.097**	0.027*	56**	4.24**	1.13**	DTPA-Zn
5.16	0.0017 ^{ns}	0.019**	0.026**	0.0024 ^{ns}	0.52**	0.27**	0.20**	WSEXC-Zn
4.29	0.0049 ^{ns}	0.68**	1.11**	0.051 ^{ns}	143**	11.2**	16.8**	CA-Zn
4.58	0.0040 ^{ns}	0.58**	0.064 ^{ns}	0.14**	13.4**	4.60**	4.58**	FeMnOX-Zn
8.60	0.0022 ^{ns}	0.096**	0.21**	0.0044 ^{ns}	22.3**	2.16**	1.20**	OM-Zn
1.15	0.16 ^{ns}	1.91**	2.13**	0.17 ^{ns}	2695**	10.47**	18.26**	RES-Zn

*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد، معنی دار در سطح ۱ درصد و غیرمعنی دار.*، ** and ^{ns} P≤0.05, P≤0.01 and no significant, respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل جدایه های سودوموناس فلوروسنت، روی و شوری بر مقدار روی قابل عصاره گیری با DTPA در ریزوسفر نهال های پسته.

Table 5. Mean comparison of interactive effects of fluorescent pseudomonads isolates, Zn and salinity on the DTPA extractable Zn content in the rhizosphere soil of pistachio seedlings.

کلرید سدیم (میلی گرم در کیلوگرم) NaCl (mg kg ⁻¹)			روی (میلی گرم در کیلوگرم)	جدایه ها Isolates
2000	1000	0	Zn (mg kg ⁻¹)	
روی قابل عصاره گیری با DTPA (میلی گرم در کیلوگرم)				
DTPA extractable Zn (mg kg ⁻¹)				
1.29 ± 0.03 ^{lm}	0.92 ± 0.02 ^{op}	0.63 ± 0.31 ^q	0	pf ₀
2.91 ± 0.14 ^f	2.58 ± 0.15 ^g	2.11 ± 0.16 ⁱ	5	
1.41 ± 0.12 ^l	1.07 ± 0.14 ^{no}	0.87 ± 0.04 ^p	0	pf ₁
3.27 ± 0.19 ^{cd}	3.09 ± 0.18 ^e	2.23 ± 0.19 ^{hi}	5	
1.84 ± 0.08 ^j	1.22 ± 0.04 ^{mn}	1.06 ± 0.04 ^{no}	0	pf ₂
3.85 ± 0.22 ^a	3.41 ± 0.24 ^{bc}	2.69 ± 0.23 ^g	5	
1.59 ± 0.03 ^k	1.12 ± 0.03 ⁿ	0.94 ± 0.07 ^{op}	0	pf ₃
3.44 ± 0.15 ^b	3.17 ± 0.16 ^{de}	2.36 ± 0.24 ^h	5	

* در هر عنصر میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه ای دانکن می باشند.

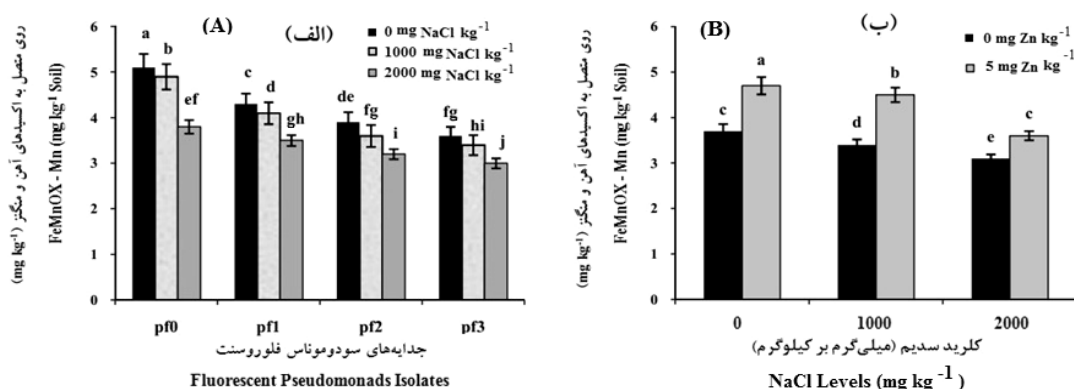
* For each parameter, values having a common letter are not significantly different (P≤0.05) according to Duncan's multiple range test.

معنی داری در هر دو سطح روی نشان داد. به طوری که مصرف ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم در هر دو سطح ۰ و ۵ میلی گرم روی در کیلوگرم، روی پیوند شده با کربنات‌ها را به ترتیب ۲۶ و ۲۴ درصد نسبت به شاهد بدون شوری افزایش داد (جدول ۷).

روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز: نتایج نشان داد که اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × شوری و روی × شوری بر مقدار روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز معنی دار شد (جدول ۴). با توجه به نتایج، با افزایش شوری مقدار روی متصل به اکسیدها به‌طور معنی داری کاهش یافت. به طوری که مقدار روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در سطوح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۴ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. به همین ترتیب کاربرد جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت نیز در تمام سطوح شوری میزان روی را نسبت به همان سطح شوری کاهش داد. تلقیح با جدایه‌های pf_1 ، pf_2 و pf_3 مقدار روی متصل به اکسیدها را در سطح صفر شوری به ترتیب ۱۶، ۲۴ و ۲۹ درصد، در سطح ۱۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۱۶، ۲۷ و ۳۱ درصد و در سطح ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۸، ۱۶ و ۲۱ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری کاهش داد. بیش‌ترین روی متصل به اکسیدها مربوط به تیمار شاهد (۵/۱۰ میلی گرم در کیلوگرم) بود (شکل ۱- الف). از طرف دیگر، مصرف روی موجب افزایش ۲۷، ۳۲ و ۱۶ درصدی روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به ترتیب در سطوح شوری ۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم نسبت به همان سطح شوری شد (شکل ۱- ب).

روی تبدلی و محلول: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی و روی × شوری بر مقدار روی تبدلی و محلول معنی دار شد (جدول ۴). براساس نتایج حاصله، تلقیح با جدایه‌های pf_1 ، pf_2 و pf_3 مقدار روی تبدلی و محلول را به‌طور متوسط به ترتیب ۳۸، ۲۳ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. هم‌چنین کاربرد روی موجب افزایش ۷۲ درصدی روی تبدلی و محلول شد. بیش‌ترین مقدار روی تبدلی و محلول از کاربرد هم‌زمان جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و روی به‌دست آمد (جدول ۶). از طرفی افزایش شوری مقدار روی تبدلی و محلول را افزایش داد. به طوری که مقدار روی در سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۱۴ و ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جدول ۷).

روی پیوند شده با کربنات‌ها: براساس نتایج، اثرات اصلی و برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی و روی × شوری بر مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها معنی دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح با هر سه جدایه سودوموناس فلوروسنت در هر دو سطح روی، تأثیر معنی داری بر مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها داشت. کاربرد این جدایه‌ها به‌طور متوسط روی پیوند شده با کربنات‌ها را در سطوح ۰ و ۵ میلی گرم روی در کیلوگرم، به ترتیب ۳۱ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. کاربرد روی نیز موجب افزایش مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها شد. کاربرد هم‌زمان جدایه‌ها و روی، به‌طور متوسط مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها را ۱۰۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۶). از طرفی با افزایش سطح شوری مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها افزایش



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری (الف) و روی و شوری (ب) بر مقدار روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در ریزوسفر نهال‌های پسته.

Figure 1. Mean comparison of interactive effects of fluorescent pseudomonads isolates and salinity (A) and Zn and salinity (B) on the Fe and Mn oxide bound Zn content in the rhizosphere soil of pistachio seedlings.

میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۱۷ و ۲۹ درصد افزایش داد (جدول ۷).

روی باقی مانده: براساس نتایج، اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی و شوری × بر مقدار روی باقی مانده معنی دار شد (جدول ۴). نتایج نشان داد که که تلقیح با سودوموناس‌های فلوروسنت مقدار روی باقی مانده را کاهش داد. به‌طور متوسط مقدار روی باقیمانده در اثر تلقیح با جدایه‌های pf₁، pf₂ و pf₃، به ترتیب حدود ۴، ۳/۵ و ۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. از طرفی کاربرد روی تأثیر معنی داری بر روی باقی مانده نداشت (جدول ۶). هم‌چنین با افزایش شوری مقدار روی باقی مانده کاهش یافت. مقدار روی باقی مانده به‌طور متوسط در سطوح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب حدود ۲ و ۲/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (جدول ۷).

روی پیوند شده با مواد آلی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی و شوری × شوری بر مقدار روی پیوند شده با مواد آلی معنی دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح با سودوموناس‌های فلوروسنت، کاربرد روی و افزایش شوری موجب افزایش روی پیوند شده با مواد آلی شد. جدایه‌های pf₁، pf₂ و pf₃ به‌طور متوسط روی پیوند شده با مواد آلی را به ترتیب ۳۷، ۲۷ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. هم‌چنین کاربرد ۵ میلی گرم روی در کیلوگرم، مقدار روی پیوند شده با مواد آلی را ۹۶ درصد نسبت به شاهد بدون مصرف افزایش دادند (جدول ۶). در شرایط بدون مصرف روی، مقدار روی پیوند شده با مواد آلی در سطوح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم کلرید سدیم در کیلوگرم به ترتیب ۱۸ و ۶۹ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. کاربرد روی نیز، مقدار روی پیوند شده با مواد آلی را سطوح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و روی بر مقدار روی تبادل و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها، پیوند شده با مواد آلی و باقی مانده در ریزوسفر نهال‌های پسته.

Table 6. Mean comparison of main and interactive effects of fluorescent pseudomonads isolates and Zn on the WSEX-C-Zn, CA-Zn, OM-Zn and RES-Zn content in the rhizosphere soil of pistachio seedlings.

میانگین Mean	روی (میلی گرم در کیلوگرم) Zn (mg kg ⁻¹)		میانگین Mean	روی (میلی گرم در کیلوگرم) Zn (mg kg ⁻¹)		جدایه‌ها Isolates
	5	0		5	0	
	تبادل و محلول (میلی گرم در کیلوگرم) WSEX-C-Zn (mg kg ⁻¹)					
5.1 ^D	6.1 ± 0.28 ^d	3.9 ± 0.19 ^b	0.69 ^D	0.87 ± 0.04 ^d	0.52 ± 0.04 ^g	pf ₀
6.7 ^B	8.2 ± 0.23 ^b	5.2 ± 0.14 ^f	0.95 ^A	1.21 ± 0.02 ^a	0.68 ± 0.03 ^e	pf ₁
7.2 ^A	8.9 ± 0.27 ^a	5.6 ± 0.17 ^e	0.85 ^B	1.08 ± 0.03 ^b	0.62 ± 0.04 ^f	pf ₂
5.8 ^C	7.2 ± 0.25 ^c	4.5 ± 0.18 ^g	0.81 ^C	1.03 ± 0.03 ^c	0.60 ± 0.04 ^f	pf ₃
	7.6 ^A	4.8 ^B		1.05 ^A	0.61 ^B	میانگین Mean
	باقی مانده (میلی گرم در کیلوگرم) RES-Zn (mg kg ⁻¹)					
51.9 ^A	52.3 ± 0.26 ^a	51.6 ± 0.18 ^b	1.37 ^D	1.77 ± 0.10 ^c	0.96 ± 0.10 ^e	pf ₀
50.0 ^C	49.7 ± 0.24 ^d	50.4 ± 0.22 ^c	1.85 ^B	2.47 ± 0.08 ^a	1.24 ± 0.10 ^d	pf ₁
50.1 ^C	49.6 ± 0.32 ^d	50.5 ± 0.24 ^c	1.74 ^C	2.30 ± 0.09 ^b	1.18 ± 0.09 ^d	pf ₂
51.5 ^B	51.5 ± 0.31 ^b	51.4 ± 0.21 ^b	1.96 ^A	2.60 ± 0.10 ^a	1.31 ± 0.11 ^d	pf ₃
	50.8 ^A	51.0 ^A		2.29 ^A	1.17 ^B	میانگین Mean

* For each parameter, values having a common letter are not significantly different (P≤0.05) according to Duncan's multiple range test. در هر عنصر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشند.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل روی و شورری بر مقدار روی تبادل و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها، پیوند شده با مواد آلی و باقی مانده در ریزوسفر نهال‌های پسته.

Table 7. Mean comparison of main and interactive effects of Zn and salinity on the WSEX-C-Zn, CA-Zn, OM-Zn and RES-Zn content in the rhizosphere soil of pistachio seedlings.

میانگین Mean	کلرید سدیم (میلی گرم در کیلوگرم) NaCl (mg kg ⁻¹)			میانگین Mean	کلرید سدیم (میلی گرم در کیلوگرم) NaCl (mg kg ⁻¹)			روی (میلی گرم در کیلوگرم) Zn (mg kg ⁻¹)
	2000	1000	0		2000	1000	0	
4.8 ^B	5.3 ± 0.17 ^d	4.9 ± 0.22 ^e	4.2 ± 0.21 ^f	0.61 ^B	0.75 ± 0.02 ^d	0.57 ± 0.02 ^e	0.50 ± 0.01 ^f	0
7.6 ^A	8.3 ± 0.31 ^a	7.8 ± 0.34 ^b	6.7 ± 0.32 ^c	1.05 ^A	1.13 ± 0.03 ^a	1.06 ± 0.04 ^b	0.95 ± 0.05 ^c	5
	6.8 ^A	6.4 ^B	5.4 ^C		0.94 ^A	0.82 ^B	0.72 ^C	میانگین Mean
	باقی مانده (میلی گرم در کیلوگرم) RES-Zn (mg kg ⁻¹)			پیوند شده با مواد آلی (میلی گرم در کیلوگرم) OM-Zn (mg kg ⁻¹)				
51.0 ^A	50.3 ± 0.19 ^e	51.1 ± 0.18 ^b	51.6 ± 0.19 ^a	1.17 ^B	1.54 ± 0.06 ^d	1.07 ± 0.04 ^e	0.91 ± 0.05 ^f	0
50.8 ^A	50.4 ± 0.36 ^c	50.3 ± 0.45 ^c	51.7 ± 0.35 ^a	2.29 ^A	2.55 ± 0.10 ^a	2.32 ± 0.10 ^b	1.98 ± 0.11 ^c	5
	50.4 ^C	50.7 ^B	51.6 ^A		2.04 ^A	1.70 ^B	1.45 ^C	میانگین Mean

* For each parameter, values having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test. در هر عنصر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشند.

غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و هم‌چنین برهم‌کنش جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت × روی × شوری بر غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته معنی‌دار ($P \leq 0/05$) شد (جدول ۴).

با توجه به نتایج به‌دست آمده (جدول ۸)، با افزایش غلظت کلرید سدیم به ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، غلظت روی در شاخساره نهال‌ها به ترتیب ۹ و ۴۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرف دیگر، تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و کاربرد روی موجب افزایش غلظت این عنصر در شاخساره شد. به‌طوری‌که کاربرد ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم در سطوح شوری ۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم، غلظت روی شاخساره را به ترتیب ۲۹، ۱۰ و ۲۶ درصد در مقایسه با شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. در بین جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت نیز جدایه pf_2 نقش بیش‌تری در افزایش غلظت روی در نهال‌ها داشت، به‌طوری‌که غلظت روی در شاخساره نهال‌های تلقیح شده با این جدایه در سطوح شوری ۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم، به ترتیب ۴۱، ۴۴ و ۶۵ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش نشان داد. به هر حال، کاربرد هم‌زمان جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و روی نقش بیش‌تری در افزایش غلظت روی شاخساره داشت (جدول ۸). هم‌چنین نتایج مربوط به جذب روی در نهال‌های پسته نشان داد که شوری موجب کاهش جذب روی در شاخساره شد. به‌طوری‌که کاربرد ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم جذب روی را به ترتیب ۱۵ و ۶۰ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. از طرفی، کاربرد روی باعث افزایش جذب آن در تمام سطوح شوری شد.

به‌طوری‌که، مصرف ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم در سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم، جذب روی در شاخساره را ۴۸ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. هم‌چنین تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت در سطوح شوری ۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک، جذب روی را به‌طور متوسط ۵۰، ۶۰ و ۷۳ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. بیش‌ترین مقدار جذب روی از کاربرد هم‌زمان روی (۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم) و جدایه pf_2 در سطح شوری صفر برابر با ۱۲۷ میکروگرم در گلدان به‌دست آمد (جدول ۸).

ارتباط شکل‌های مختلف روی در خاک ریزوسفری با جذب آن در شاخساره نهال‌های پسته: با توجه به نتایج به‌دست آمده (جدول ۹)، بین جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته و روی قابل‌عصاره‌گیری با DTPA و هم‌چنین شکل‌های تبدلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری وجود داشت. در حالی‌که همبستگی معنی‌داری بین جذب روی و شکل‌های پیوند شده با مود آلی و باقی‌مانده روی مشاهده نشد. بالاترین همبستگی بین جذب روی در شاخساره با مقدار روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ($r=0/48$) به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج نشان داد بین روی قابل‌عصاره‌گیری با DTPA و شکل‌های تبدلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با مواد آلی همبستگی مثبت و با روی باقی‌مانده همبستگی منفی معنی‌داری وجود داشت. با توجه به معادلات رگرسیونی و همبستگی بین جذب روی در نهال‌ها و شکل‌های مختلف آن در خاک می‌توان نتیجه گرفت که سه جزء تبدلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز می‌توانند به‌عنوان منبع تغذیه‌ای روی در خاک باشند.

جدول 8- مقایسه میانگین اثر متقابل جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت، روی و شوری بر غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته.
Table 8. Mean comparison of interactive effects of fluorescent pseudomonads isolates, Zn and salinity on concentration and uptake of Zn in the pistachio seedlings shoot.

جدولها Isolates	کلرید سدیم (میلی‌گرم در کیلوگرم) NaCl (mg kg ⁻¹)			غلظت روی در شاخساره (میکروگرم بر گرم وزن خشک) Zn concentration in shoot (μg g ⁻¹ DW)	روی Zn (mg kg ⁻¹)	
	2000	1000	0			
	کلرید سدیم (میلی‌گرم در کیلوگرم) NaCl (mg kg ⁻¹)					
	جذب روی در شاخساره (میکروگرم در گلدان) Zn uptake by shoot (μg pot ⁻¹)					
	2000	1000	0	2000	1000	0
	18.3 ± 0.94 ^l	38.9 ± 0.53 ^j	45.9 ± 1.80 ⁱ	5.33 ± 0.22 ^l	8.61 ± 0.24 ^{ij}	9.49 ± 0.12 ^{hi}
	27.1 ± 0.79 ^k	50.4 ± 1.4 ^{hi}	81.4 ± 2.4 ^d	6.69 ± 0.24 ^k	9.45 ± 0.29 ^{hi}	12.2 ± 0.42 ^{ef}
	33.2 ± 0.70 ^j	66.8 ± 1.3 ^{fg}	70.5 ± 1.3 ^{ef}	7.96 ± 0.10 ^j	12.5 ± 0.40 ^{de}	12.5 ± 0.43 ^{de}
	45.7 ± 0.67 ⁱ	85.7 ± 0.67 ^d	118 ± 3.8 ^b	9.89 ± 0.11 ^b	13.6 ± 0.08 ^{bc}	14.3 ± 0.24 ^b
	35.3 ± 0.87 ^j	66.0 ± 0.67 ^{fg}	72.9 ± 2.1 ^e	8.80 ± 0.10 ^{ij}	12.4 ± 0.11 ^{de}	13.4 ± 0.14 ^e
	50.4 ± 1.2 ^{hj}	81.2 ± 0.23 ^d	127 ± 3.2 ^a	11.5 ± 0.12 ^{fg}	13.1 ± 0.07 ^{cd}	16.8 ± 0.12 ^a
	26.5 ± 1.3 ^k	53.9 ± 0.87 ^h	63.1 ± 1.6 ^g	6.98 ± 0.27 ^k	10.7 ± 0.30 ^g	12.0 ± 0.34 ^{ef}
	36.9 ± 1.0 ^j	71.5 ± 2.6 ^{ef}	99.0 ± 2.0 ^e	8.89 ± 0.45 ⁱ	11.6 ± 0.62 ^{ef}	13.4 ± 0.28 ^e

* For each parameter, values having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test. در هر عنصر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشند.

جدول ۹- معادلات رگرسیونی و ضرایب همبستگی (r) بین شکل‌های مختلف روی در خاک ریزوسفری و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته.

Table 9. Regression equations and correlation coefficients (r) between Zn fractions in the rhizosphere soil and Zn uptake by pistachio seedlings shoot.

معادلات رگرسیونی	RES-Zn	OM-Zn	FeMnOX-Zn	CA-Zn	WSEXC-Zn	DTPA-Zn	Zn _{up}	Zn _{up}
Zn _{up} = 4.91 DTPA-Zn + 51.1						1	0.27*	Zn _{up}
Zn _{up} = 26.9 F ₁ + 38.8					1	0.92**	0.25*	DTPA-Zn
Zn _{up} = 4.6 F ₂ + 32.5				1	0.93**	0.93**	0.29*	WSEXC-Zn
Zn _{up} = 17.7 F ₃ - 6.8			1	0.17 ^{ns}	0.25*	0.22 ^{ns}	0.48**	CA-Zn
Zn _{up} = 7.4 F ₄ + 48.4		1	0.15 ^{ns}	0.88**	0.94**	0.93**	0.18 ^{ns}	FeMnOX-Zn
Zn _{up} = 0.11 F ₅ + 55.1	1	-0.44**	0.21 ^{ns}	-0.64**	-0.53**	-0.39**	0.01 ^{ns}	OM-Zn
								RES-Zn

Zn_{up}: Zn uptake by shoot; *, ** and ^{ns} P ≤ 0.05, P ≤ 0.01 and no significant, respectively. جذب روی در شاخساره نهال، **، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد، معنی دار در سطح ۱ درصد و غیر معنی دار.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش شوری، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA، تبادلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده به مواد آلی افزایش ولی روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده کاهش یافت. روی قابل عصاره‌گیری با DTPA شاخص مهمی برای ارزیابی روی قابل استفاده خاک برای گیاه است (۱۳). افزایش مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA با افزایش شوری را می‌توان به جایگزینی سدیم به جای روی در سطوح تبادلی و هم‌چنین کاهش pH خاک ارتباط داد. کشاورز و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که با افزایش شوری خاک، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA افزایش یافت (۲۹). گزارش شده است که در خاک‌های آهکی پس از شکل باقی‌مانده، شکل‌های کربناتی و اکسیدهای آهن و منگنز بیش‌ترین مقدار روی خاک را تشکیل می‌دهند (۱۰). قرار گرفتن مقدار بیش‌تر روی در بخش باقی‌مانده در خاک‌های آهکی می‌تواند به دلیل تمایل آن به قرارگیری به شکل غیرقابل استفاده در این خاک‌ها باشد (۳۵). درصد بالای روی در بخش اکسیدها نشان‌دهنده جذب روی بر روی سطوح سزکویی اکسیدها و یا محبوس شدن آن در ساختار اجزای خاک می‌باشد (۴۵). از طرفی آدهیکاری و راتان (۲۰۰۷) گزارش کردند که pH و مقدار مواد آلی خاک نقش مهمی در توزیع و فراهمی روی برای گیاه دارند (۳). افزایش مقدار روی قابل عصاره‌گیری با عصاره‌گیرهای مختلف مورد استفاده با افزایش شوری می‌تواند به دلیل جایگزینی روی قابل تبادل با یون‌های سدیم و کلسیم و هم‌چنین کاهش pH محلول خاک باشد. نتایج مشابهی توسط کشاورز و همکاران (۲۰۰۶) در خاک شور گزارش شده است (۲۹). بر اساس نتایج با افزایش شوری، pH خاک کاهش یافت. در بین عوامل مؤثر بر فراهمی روی در

خاک، pH نقش مهم‌تری ایفا می‌کند. تأثیر شوری بر فراهمی عناصر غذایی به pH، قدرت یونی محلول و هم‌چنین ضریب فعالیت عناصر بستگی دارد (۲۹). تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت روی تبادلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و پیوند شده با مواد آلی را افزایش ولی روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و باقی‌مانده را کاهش داد. ریزجانداران خاک، به‌عنوان کلویدهای آلی فعال خاک، ترکیبات آلی متنوعی مانند اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم، کربوهیدرات‌ها و آنزیم‌ها را ترشح می‌کنند (۲۴) که این امر موجب می‌شود تا pH ریزوسفر یک تا دو واحد با توده خاک متفاوت باشد. به‌طور کلی با کاهش pH حلالیت روی افزایش یافته و رسوب آن بر روی هیدروکسیدها، فسفات‌ها، کربنات‌ها و سیلیکات‌ها در pH کمی اسیدی تا قلیایی کاهش می‌یابد (۶). باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus edaphicus* و *Bacillus megaterium* توانایی افزایش فراهمی روی را در محیط خاک نشان دادند (۵۲). هوانگ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تلقیح با باکتری *Rhizobium fredii* مقدار روی کل پیوند یافته با ترکیبات جامد خاک را ۱۰ درصد کاهش داد. به‌طوری‌که، مقدار روی پیوند شده با کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای منگنز و پیوند شده به مواد آلی ۹ تا ۲۶ درصد پس از تلقیح کاهش، ولی روی تبادلی افزایش یافت (۲۴). مهم‌ترین دلایل تأثیر باکتری‌ها بر توزیع شکل‌های شیمیایی عناصر در خاک عبارتند از کاهش pH در اثر ترشح پروتون، آمینواسید و اسیدهای آلی و ترکیب شدن عناصر فلزی، کانی‌های رسی و اکسیدهای فلزی با لیگاندهای آلی ترشح شده توسط باکتری‌ها (۱۶). باکتری *Gluconacetobacter diazotrophicus* توانست ترکیبات کم‌محلول روی را با تولید اسید گلوکونیک به‌صورت محلول درآورده و تلقیح این باکتری در خاک، کمبود روی را کاهش

داد هرچند شکل‌های پیوند شده با کربنات‌ها و باقی‌مانده بیش‌ترین افزایش را نشان دادند (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شوری، غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته کاهش یافت. به‌طورکلی رابطه بین شوری و عناصر کم‌مصرف بسیار پیچیده بوده و شوری می‌تواند باعث افزایش یا کاهش فراهمی این عناصر برای گیاه شود (۲۰). به‌دلیل تجمع مقادیر زیاد سدیم در بافت‌های گیاه و رقابت آن با دیگر عناصر از جمله روی، این عامل می‌تواند منجر به ایجاد اختلالات تغذیه‌ای در گیاه شود. کاهش غلظت روی در نهال‌های پسته تحت تنش شوری می‌تواند به غلظت بالای سدیم و هم‌چنین کاهش فراهمی آب در اثر شوری مربوط باشد (۴۷). به‌نظر می‌رسد که غلظت بالای املاح در محیط ریشه از جذب و انتقال روی به شاخساره ممانعت می‌کند. کاهش فراهمی آب در خاک‌های شور نیز از مهم‌ترین دلایل کاهش جذب عناصر غذایی توسط ریشه گیاهان می‌باشد. غلظت بالای یون‌های سدیم، به‌دلیل اثر رقابتی آن با دیگر کاتیون‌ها، نقش مهمی در کاهش جذب عناصر مختلف از جمله روی ایفا می‌کند. از طرفی، در شرایط شور مقدار جذب عناصر غذایی به‌دلیل کاهش حجم ریشه و اثر آنتاگونیستی بین عناصر غذایی و سمیت یون‌ها کاهش می‌یابد. کاهش جذب عناصر غذایی کم‌مصرف از جمله روی در اثر شوری توسط اسکندری و مظفری (۲۰۱۳) در مورد نهال‌های پسته گزارش شده است (۱۴).

از طرف دیگر، تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و کاربرد روی موجب افزایش غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته شد. افزایش غلظت روی در شاخساره نهال‌های پسته تلقیح‌شده با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت را می‌توان به افزایش رشد ریشه و هم‌چنین انحلال ترکیبات روی

داد (۴۱). تلقیح با قارچ‌های میکوریزی موجب افزایش شکل‌های پیوند شده با کربنات‌ها، پیوند شده با مواد آلی و متصل به اکسیدهای آهن بلورین و کاهش شکل‌های متصل به اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی‌شکل و باقی‌مانده شد (۱۸). عباس‌زاده (۲۰۱۲) با مطالعه تأثیر قارچ‌های میکوریزی، باکتری‌های ریزوبیومی و حل‌کننده نمک‌های کم‌محلول روی بر شرایط بیوشیمیایی ریزوسفر لوبیا نشان داد که بیشترین روی قابل‌استفاده با کاربرد هم‌زمان روی، قارچ‌های میکوریزی، سودوموناس‌های فلوروسنت و ریزوبیوم به‌دست آمد (۲/۶۹ میلی‌گرم در کیلوگرم). کاربرد قارچ و باکتری باعث کاهش انتقال روی به بخش باقی‌مانده و انتقال آن به بخش کربناتی شد (۱). گیاهان نیز می‌توانند با ترشح ترکیبات مختلف ریشه‌ای از قبیل اسیدهای آلی بر تحرک و فراهمی عناصر غذایی در خاک تأثیر بگذارند. این ترکیبات با تغییر pH ریزوسفر از یک‌طرف و تأثیر بر فعالیت میکروبی در ناحیه ریزوسفر از طرف دیگر، موجب تغییر اشکال مختلف عناصر در خاک می‌شوند (۴۹).

بر اساس نتایج این مطالعه، کاربرد روی تمام شکل‌های روی (به‌جز شکل باقی‌مانده) در خاک را افزایش داد. وانگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که کاربرد روی مقدار روی محلول و تبادلی، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز را در خاک افزایش داد (۵۱). نتایج مطالعات کلباسی و همکاران (۱۹۷۸) نشان داد که افزودن روی به خاک‌های آهنی موجب رسوب آن به شکل پیوند شده با کربنات‌ها می‌شود (۲۶). غلامی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که افزودن روی موجب افزایش همه شکل‌های روی به‌جز شکل محلول و تبادلی شد (۱۸). کمالی و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که افزودن روی، همه شکل‌های روی در خاک را افزایش

خاک‌های آهکی شور گسترده است. جنس و همکاران (۲۰۰۵) بیان داشتند که آثار زیان‌آور کمبود روی تحت تنش شوری ممکن است به‌عنوان عامل محدودکننده مهم‌تری نسبت به سمیت کلرید سدیم در کاهش رشد عمل کند (۱۷). افزایش غلظت روی در نهال‌های پسته تحت تنش شوری توسط پژوهشگران مختلف نشان داده شده است (۴۷، ۴۳).

در این مطالعه همبستگی مثبتی بین جذب روی در شاخساره نهال‌های پسته و روی قابل عصاره‌گیری با DTPA، شکل‌های تبدلی و محلول، پیوند شده با کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز مشاهده شد که نشان دهنده نقش مهم آن‌ها به‌عنوان منبع ذخیره روی برای گیاه است. اجزای مختلف عناصر در خاک قابلیت استفاده متفاوتی برای گیاه دارند. هر چند جزء باقی‌مانده معمولاً برای گیاه قابل استفاده نیست، اما اجزای محلول و تبدلی به‌راحتی توسط گیاه جذب می‌شوند و اجزای پیوندیافته با کربنات‌ها و اکسیدها نیز می‌توانند برای گیاه قابل استفاده باشند (۲۳). هم‌چنین فیلگویراس و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که روی پیوندیافته با مواد آلی قابلیت استفاده زیادی برای گیاه ندارد، زیرا اجزاء مواد آلی با وزن مولکولی زیاد مقدار کمی از عناصر پیوند شده را با سرعت کم آزاد می‌کنند (۱۵). گونزالز و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که غلظت روی کل در گیاه لوبیا رابطه مثبت معنی‌داری با روی محلول و تبدلی، پیوندیافته با کربنات‌ها و متصل به مواد آلی داشت، اما ضریب همبستگی آن با روی باقی‌مانده منفی بود (۱۹).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، هر چند کاربرد کلرید سدیم موجب افزایش روی قابل عصاره‌گیری با DTPA و شکل‌های قابل استفاده روی مانند شکل تبدلی و محلول در خاک شد اما غلظت و جذب روی در شاخساره و

در خاک نسبت داد. جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت مورد استفاده در این پژوهش توانایی تولید اکسین، سیانید هیدروژن، آنزیم ACC دآمیناز و هم‌چنین انحلال ترکیبات کم‌محلول فسفر و روی را در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند. باکتری‌های مفید خاک می‌توانند با مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی و ترشح پروتون موجب کاهش pH ریزوسفر شده و فراهمی عناصر غذایی از جمله روی را برای گیاه افزایش دهند (۲۲). افزایش غلظت روی در گیاهان مختلف تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه توسط پژوهشگران گزارش شده است (۴۴). هم‌چنین مصرف روی می‌تواند جذب بیش از حد سدیم و تجمع آن در گیاه را کاهش داده و بدین‌ترتیب غلظت و جذب سایر عناصر غذایی و رشد آن را بهبود بخشد. افزایش غلظت روی و بهبود رشد نهال‌های پسته در شرایط تنش شوری با مصرف روی توسط توللی و همکاران (۲۰۰۹) (۴۷) و شهریاری‌پور و همکاران (۲۰۱۰) (۴۳) گزارش شده است. توانایی انحلال روی جدایه در شرایط آزمایشگاهی بیش‌تر از دیگر جدایه‌ها بود. افزایش رشد و عملکرد و هم‌چنین جذب عناصر غذایی در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های مفید خاکزی در گیاهان مختلف توسط پژوهشگران گزارش شده است (۵). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌توانند از طریق توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی، بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب، کاهش جذب سدیم و افزایش بیان ژن‌های مسئول ایجاد مقاومت در مقابل تنش‌های شوری و خشکی باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی شوند (۲۸). باکتری‌های محرک رشد گیاه با توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز نقش مهمی در جذب عناصر غذایی و بهبود رشد گیاهان در شرایط تنشی دارند (۴۰). کمبود روی در

انحلال ترکیبات روی و فسفر، تولید اکسین و سیدروفور و هم‌چنین داشتن آنزیم ACC دآمیناز، افزایش غلظت و جذب روی در شاخساره نهال‌های تلقیح شده با این جدایه‌ها در شرایط شور را می‌توان به افزایش شکل قابل استفاده عناصر در خاک، افزایش رشد ریشه و در نتیجه دسترسی به آب و عناصر غذایی بیش‌تر و هم‌چنین متعادل کردن وضعیت عناصر غذایی در خاک نسبت داد. بنابراین استفاده از باکتری‌های مؤثر بومی خاک می‌تواند نقش مهمی در افزایش جذب عناصر غذایی از جمله روی، بهبود تغذیه گیاه و کاهش تنش شوری برای پسته داشته باشد.

رشد نهال‌ها به دلایل مختلفی از جمله غلظت بالای سدیم در خاک و اثر منفی آن بر جذب سایر یون‌ها، ایجاد فشار اسمزی، کاهش رشد ریشه و کاهش فراهمی آب کاهش یافت. از طرفی کاربرد باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت با کاهش pH ریزوسفر، فراهمی روی و دیگر عناصر در خاک را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش جذب آن‌ها توسط نهال‌ها شد. هم‌چنین تلقیح با این جدایه‌ها موجب انتقال روی از بخش‌های باقی‌مانده و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به سایر بخش‌های قابل جذب گیاه مانند تبادل و محلول و پیوند شده با کربنات‌ها شد. با توجه به توانایی جدایه‌های مورد استفاده در این پژوهش در

منابع

1. Abbaszadeh Dahaji, P. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobium and fluorescent pseudomonads on the chemical changes of zinc in the rhizosphere and biofortification of common bean seeds. PhD thesis, soil science, University of Tehran, Iran.
2. Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R., and Miransari, M. 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads isolated from the Iranian soils. *Acta Physiol Plant.* 32: 281-288.
3. Adhikari, T., and Rattan, R.K. 2007. Distribution of zinc fractions in some major soils of India and the impact on nutrition of rice. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 38: 2779-2798.
4. Adriano, D.C. 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals, 2nd edn. Springer, New York.
5. Azarmi, F., Mozaffari, V., Abbaszadeh Dahaji, P., and Hamidpour, M. 2015. Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from Pistachio rhizosphere. *Soil Bio. J.* 2: 173-186.
6. Baurah, T.C., and Barthakur, H.P. 1999. A textbook of soil analysis. Vikas Publishers, New Delhy, 334p.
7. Bouyoucos, G.H. 1951. A recalibration of the hydrometer for making mechanical analysis of soils. *Agron. J.* 43: 434-438.
8. Boven, G.D., and Rovira, A.D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Adv. Agron.* 66: 1-102.
9. Bucio, L.J., Nieto-Jacobo, M.F., Ramirez-Rodriguez, V., and Herrera-Estrella, L. 2000. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Sci.* 160: 1-13.
10. Cala-Rivero, V., Flor-Masedo, M., and Vigil, R. 1999. Effect of soil properties on zinc retention in agriculture calcareous soils. *Agrochimica.* 43: 46-54.
11. Chapman, H.D. 1965. Cation exchange capacity, P 891-901. In: C.A. Black (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. Number 9 in the *series Agronomy*: Am. Inst. Agronomy, Madison, Wisconsin.
12. Chapman, H.D., and Pratt, P.F. 1961. *Methods of analysis for soils, plants, and waters*. Riverside: University of California.

13. Cheng, M., and Ma, L.Q. 2001. Comparison of three aqua -regia digestion methods for twenty florida soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 491-499.
14. Eskandari, S., and Mozaffari, V. 2013. Effect of salinity and Cu on total uptake of micronutrient in shoot and root of pistachio cultivars. *ejgest.* 5: 29-43.
15. Filgueiras, A.V., Lavilla, I., and Bendicho, C. 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *J. Environ. Monit.* 4: 823-857.
16. Gadd, G.M. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma.* 122: 109-119.
17. Genc, Y., McDonald, G.K., and Graham, R.D. 2005. The interactive effects of zinc and salt on growth of wheat, P 548-549. In: C.J. Li et al. (Eds.), *Plant Nutrition for Food Security, Human Health and Environmental Production*, Tsinghua University Press, Beijing, China.
18. Gholami, L., Yasrebi, J., Karimian, N.A., Zarei, M., and Ronaghi, A. 2015. Effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis, organic matter and zinc rates on chemical forms of zinc in a calcareous soil under corn cultivation. *ejgest.* 3: 139-151.
19. Gonzalez, D., Obrador, A., Lopez-Valdivia, L.M., and Alvarez, J.M. 2007. Effect of zinc source applied to soils on its availability to navy bean. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 641-649.
20. Grattan, S.R., and Grieve, C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci. Hort.* 78: 127-157.
21. Hamidpour, M., Afyuni, M., Khadivi, E., Zorpas, A., and Inglezakis, V. 2012. Composted municipal waste effect on chosen properties of calcareous soil. *Internation. Agrophysics.* 26: 365-374.
22. Hariprasad, P., and Niranjana, S.R. 2009. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant and Soil.* 316: 13-24.
23. He, Z.L.L., Yang, X.E., and Stoffella, P.J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J. Trace Elements in Med. & Biol.* 19: 125-140.
24. Huang, Q., Chen, W., and Guo, X. 2004. Chemical fractionation of copper, zinc and cadmium in two Chinese soils as influenced by rhizobia. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 35: 947-960.
25. Johnson, C.E., and Petras, R.J. 1998. Distribution of zinc and lead fractions within a forestspodosol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 782-789.
26. Kalbasi, M., Racz, J.G., and Loewn-Rudgers, L.A. 1978. Reaction products and solubility of applied zinc compounds in some Monitoba soils. *Soil Sci.* 125: 55-64.
27. Kamali, S., Ronaghi, A., and Karimian, N. 2010. Zinc transformation in a calcareous soil as affected by applied zinc sulfate, vermicompost, and incubation time. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 41: 2318-2329.
28. Karlidag, H., Esitken, A., Turan, M., and Sahin, F. 2007. Effects of root inoculation of plantgrowth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient elements contents ofleaves of apple. *Scientia Hort.* 114: 16-20.
29. Keshavarz, P., Malakouti, M.J., Karimian, N., and Fotovat, A. 2006. The effects of salinity on extractability and chemical fractions of zinc in selected calcareous soils of Iran. *J. Agric. Sci. Technol.* 8: 181-190.
30. Knudsen, D., Peterson, G.A., and Pratt, P.F. 1982. Lithium, sodium and potassium, P 225-246. In: A.J. Page (Ed.), *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological. Proponies. Agronomy Series Number 9 (Part 2)*. American Society of Agronomy. Inc. Soil Science Society of America. Inc. Madison. Wisconsin. USA.
31. Lindasy, W.L., and Norwell, W.A. 1978. Department of a DTPA soil test for zinc, iron and manganese and copper. *Soil Sci. Am. J.* 42: 421-428.
32. Mishra, M., Kumar, U., Mishra, P.K., and Prakash, P. 2010. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of *Cicer arietinum* L. growth and germination under salinity. *Adv Biol Res.* 4: 92-96.
33. Mozaffari, V., and Malakouti, M.J. 2006. An investigation of some causes of die-back disorder of Pistachio trees and its control through balanced fertilization in Iran. *Acta Hort.* 726: 247-252.

34. Nourmandipour, F., Farpoor, M.H., and Sarcheshmehpour, M. 2013. Physicochemical properties and micromorphology of pistachio orchards compared to adjacent non-cultivated soils in Bayaz area. *J. Water Soil.* 27: 169-179.
35. Obrador, A., Novillo, J., and Alvarez, J.M. 2003. Mobility and availability to plants of two zinc sources applied to a calcareous soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67: 564-572.
36. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watnab, F.S., and Decan, L.A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extra action with sodium bicarbonate U.S. Department of Agric., 939p.
37. Quevauviller, Ph. 2001. Methodologies in soil and sediment fractionation studies: Single and sequential extraction procedure. RSC press, Manchester.
38. Richards, L.A. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *Agric. Handb.* No. 60. (U.S. Dep. Agric.: Washington.)
39. Saharan, B.S., and Nehra, V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sci. Med. Res.* 21: 1-30.
40. Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., and Bhatti, A. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34: 635-648.
41. Sarathambalm, C., Thangaraju, M., Paulraj, C., and Gomathy, M. 2010. Assessing the zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using labelled ⁶⁵Zn compounds. *Indian J. Microbiol.* 50: 103-109.
42. Shahbazi, K., and Besharati, H. 2013. Overview of agricultural soil fertility status of Iran. *Land Manage. J.* 1: 1-15.
43. Shahriaripour, R., Tajabadi Pour, A., Mozaffari, V., Dashti, H., and Adhami, E. 2010. Effects of salinity and soil zinc application on growth and chemical composition of pistachio seedlings. *J. Plant Nutr.* 33: 1166-1179.
44. Sharma, A., Shankhdhar, D., Sharma, A., and Shankhdhar, S.C. 2014. Growth promotion of the rice genotypes by pgprs isolated from rice rhizosphere. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 14: 505-517.
45. Siddiqui, S., and Khattak, R.A. 2010. Trace elements fractionation in calcareous soils of Peshawar-Pakistan. *Soil & Environ.* 29: 148-158.
46. Sposito, G., Lund, L.J., and Chang, A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge, I: Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 260-264.
47. Tavallali, V., Rahemi, M., Maftoun, M., Panahi, B., Karimi, S., Ramezani, A., and Vaezpour, M. 2009. Zinc influence and salt stress on photosynthesis, water relations and carbonic anhydrase activity in pistachio. *Scientia Hort.* 123: 272-279.
48. Tessier, A., Campbell, P.G.C., and Bisson, M. 1979. Sequential extraction procedure for speciation of particular trace elements. *Anal. Chem.* 51: 844-851.
49. Van der Heijden, M.G. 2010. Mycorrhizal fungi reduce nutrient loss from model grassland ecosystems. *Ecology.* 91: 1163-1171.
50. Walkey, A., and Black, T.A. 1934. An examination of the Degtjaref method for determining organic matter and a proposed modification of chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
51. Wang, H., Gao, X., Cheng, M., and Jin, J. 2010. Change of zinc forms in rhizosphere and nonrhizosphere soils of maize (*Zea mays* L.) plants as influenced by soil drought condition. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 41: 2233-2246.
52. Wu, S.C., Luo, Y.M., Cheng, K.C., and Wong, M.H. 2006. Influence of bacteria on Pb and Zn speciation, mobility and bioavailability in soil: A laboratory study. *Environ. Pollut.* 144: 765-773.



Interactive effect of fluorescent pseudomonads rhizobacteria and Zn on the fractionation and availability of Zn in the rhizosphere soil of pistachio seedlings (*Pistacia Vera* L.) under salinity condition

*F. Azarmi¹, V. Mozafari², M. Hamidpour² and P. Abbaszadeh Dahaji³

¹Ph.D. Graduate, Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan,

²Associate Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan,

³Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

Received: 05/23/2015; Accepted: 10/11/2015

Abstract

Background and Objectives: Soil salinity and Zn deficiency are among the most important limiting factors for growth and yields of pistachio trees in many regions of Iran, especially in the Rafsanjan area. The use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is new strategies to reduce destructive effects of salinity and improvement of nutrient availability. This study investigated the interactive effect of the fluorescent pseudomonads rhizobacteria and Zn on the fractionation and availability of Zn in the rhizosphere soil and uptake of Zn by shoot of pistachio seedlings (cv. Badami) under salinity condition.

Materials and Methods: A greenhouse experiment was conducted in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications in order to evaluate the interactive effect of fluorescent pseudomonads rhizobacteria (pf₀ (non-inoculated control), pf₁, pf₂ and pf₃) and Zn application (0 and 5 mg Zn kg⁻¹) on the Zn fractionation in the different levels of soil salinity (0 (1.46 dS m⁻¹), 1000 (7.32 dS m⁻¹) and 2000 (12.0 dS m⁻¹) mg NaCl kg⁻¹ soil) and its relationship with concentration and uptake of Zn in the pistachio seedlings (*Pistacia Vera* L. cv. Badami) shoot.

Results: The results indicated that salinity and inoculation with fluorescent pseudomonads increased the DTPA- extractable Zn (DTPA-Zn) content and the forms of water soluble plus exchangeable (WSEXC) Zn, carbonate-bound (CA) Zn and organic matter-bound (OM) Zn, while decreased Fe-Mn oxide-bound (FeMnOX) Zn and residual (RES) Zn in the rhizosphere soil. Inoculation by fluorescent pseudomonads increased the DTPA-Zn, WSEXC-Zn, CA-Zn and OM-Zn contents by 52, 26, 29 and 35%, respectively but decreased FeMnOX-Zn and RES-Zn contents by 24 and 3%, respectively. Also, Zn application significantly increased all forms of Zn (except residual form) in the soil. The results showed that salinity reduced the concentration and uptake of Zn in the pistachio seedlings shoot, while inoculation with fluorescent pseudomonads and treatment with Zn increased its contents at all salinity levels. However, the combined application of the fluorescent pseudomonads and Zn were more effective. There was a positive and significant correlation between Zn uptakes by shoot and DTPA-Zn, WSEXC-Zn, CA-Zn and FeMnOX-Zn. As well as, soil salinity and inoculation by fluorescent pseudomonads reduced pH value of rhizosphere soil from 7.73 to 7.46 and 7.59, respectively.

Conclusion: The results showed that soil salinity increased Zn availability in the rhizosphere soil, while reduced the concentration and uptake of Zn by pistachio seedlings shoot due to reduction of root volume, water availability and high content of Na⁺ ion. Thus, the use of superior isolates-especially Zn solubilizing bacteria- can effectively increase the availability of Zn in soil and uptake of Zn by plants through increasing root growth. However, WSEXC-Zn, CA-Zn and FeMnOX-Zn could be used as available fractions of pistachio seedlings.

Keywords: PGPR, Zn availability, Sequential extraction, NaCl

* Corresponding Authors; Email: farhadazarmi@yahoo.com