



## مروری بر کاربرد محرک های زیستی با منشا هیومیکی در کشاورزی مدرن و پایدار

### احسان سرلکی\*

دانش آموخته ی کارشناسی ارشد مهندسی مکانیک بیوسیستم، گروه فن آوری کشاورزی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران  
(e.sarlaki685@ut.ac.ir)

### علی شریف پاقلعه

عضو هیئت علمی گروه فن آوری صنایع غذایی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران  
(alisharif@ut.ac.ir)

### امید نیکوصفت

انیستیتو آب و انرژی، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران  
(nikousefat.omid@gmail.com)

### سعید نوروزی

دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران  
(Saeed.Norouzi@ut.ac.ir)

### چکیده

امروزه، استفاده از کودهای شیمیایی در کشاورزی مدرن خیلی کارآمد نیستند و مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی، در محیط زیست رها شده که باعث آلودگی می شوند. یک راه برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی بدون تغییر در نیاز عناصر غذایی گیاهان، افزایش بهره وری عناصر غذایی گیاهان از طریق استفاده از محرک های زیستی است. محرک های زیستی که گاهی در قالب کودهای زیستی یا پستیسایدهای زیستی قرار می گیرند، موادی به غیر از عناصر غذایی و پستیسایدها هستند که وقتی به گیاهان، دانه ها و یا در مراحل رشد گیاه در فرمولاسیون های مشخص اعمال می شوند، توانایی بالقوه ای برای اصلاح فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان در یک روشی که فواید بالقوه ای برای توسعه و رشد گیاهان و یا در پاسخ به تنش های آبی و یا غیر آبی دارند، فراهم می کنند. این تعریف شامل انواع مختلفی از محرک های زیستی از جمله: مواد هیومیکی، استخراج های دریایی (جلبک و خزهای دریایی)، آمینو اسیدها و باکتری های محرک رشد گیاه (PGPB) می شوند. در این تحقیق، ما بروی کاربرد و اثرات مثبت محرک های زیستی با منشا هیومیکی، بروی بهره وری عناصر غذایی گیاه متمرکز می شویم و مکانیسم های اساسی که شامل تغییرات مثبت در ساختار خاک یا در حلالیت عناصر غذایی، مورفولوژی ریشه و فیزیولوژی گیاه هستند، مورد بحث و بررسی قرار خواهند گرفت.

**واژگان کلیدی:** محرک های زیستی، مواد هیومیکی، بهره وری عناصر غذایی، کشاورزی پایدار.

## مقدمه

استفاده از کودهای شیمیایی یک روش ساده، موثر و ارزان برای تامین گیاه به عناصر غذایی معدنی شان است (Chen, 2006). بهر حال، کودهای شیمیایی اغلب در خاکها در شرایط runoff، شستشو شده (Daverede et al., 2004; Moe et al., 1967) و یا برای گیاهان از طریق تجزیه های شیمیایی، فیزیکی و یا بیولوژیکی غیر قابل دسترس می شوند (Sanchez et al., 2001; Schachtman et al., 1998). برای جبران چنین فرآیندهایی، کشاورزان نیاز به مصرف کودهای شیمیایی، بیش تر از آنچه گیاهان نیاز دارند هستند و اضافه های آنها اغلب به محیط زیست رها شده که باعث آلودگی هوا و آب می شوند (Vance, 2001). از این گذشته، تولیدات صنعتی کودهای شیمیایی یک فرآیند هزینه بر مصرف انرژی هستند که به طور معنی داری انتشار کربن دی اکسید جهانی را تحت تاثیر قرار می دهند (Vance, 2001). کودهای ارگانیک، مانند کمپوست، لجن و یا کود حیوانی، فوایدی را در بهره وری عناصر غذایی دارند که در اکثر اکوسیستم های کشاورزی موجود هستند و ورودی خیلی کمی از انرژی را برای تولید نیاز دارند. به علاوه، عناصر غذایی معدنی وقتی که به مواد ارگانیک متصل می شوند، ممکن است پایدارتر گردند و بنابراین ممکن است که خیلی دیرتر در اتمسفر شسته و یا رها شوند (Estavillo et al., 1994; King and Torbert, 2007). یک روش برای غلبه بر این مشکلات، کشت گیاهان با سیستم ریشه قوی و راندمان بالا بهره وری عناصر غذایی است که مطمئن می سازد که آنها عناصر غذایی را دریافت می کنند. روش دوم اینکه عناصر غذایی می توانند بیش تر در دسترس انواع محرکها از ارگانیسیم های موجود در جمعیت میکروبی خاک باشند (Vessey, 2003). هردوی این روشها، می توانند با بکارگیری محرک های زیستی<sup>۱</sup> برای برگ های گیاه، دانه ها و یا خاک به عنوان یک محرک رشد ریشه (Canellas et al., 2002; Khan et al., 2007; Zandonadi et al., 2009) بهبود بهره وری ریشه (Pinton et al., 1999a) و بهبود جمعیت میکروبی (Chen, 2006; Vessey, 2003) محقق شوند.

عنوان محرک های زیستی نسبتا جدید است و در جامعه علمی هنوز بخوبی روشن و مشخص نشده اند (du Jardin, 2012). یک تعریف استاندارد کلی توسط du Jardin برای محرک های زیستی وجود دارد که بیان می کند: محرک های زیستی گیاهی، موادی به غیر از عناصر غذایی یا پستیساید ها هستند که وقتی به گیاهان، دانه ها و یا در مراحل رشد گیاه در فرمولاسیون های مشخص اعمال می شوند، توانایی بالقوه ای برای اصلاح فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان به طوری که فواید بالقوه ای برای توسعه و رشد گیاهان و یا در پاسخ به تنش های آبی و یا غیر آبی دارند، فراهم می کنند (du Jardin, 2012). دیگر محققان تفاوتی بین محرک های زیستی، کودهای زیستی و پستیساید های زیستی<sup>۲</sup> را توسط اثرات مستقیم هورمونی شان (محرک های زیستی) (Subler et al., 1998)، اثرات غیر مستقیم بروی دسترسی عناصر غذایی (کودهای زیستی) (Orhan et al., 2006) و افزایش کنترل پاتوژن ها و یا آفت ها<sup>۳</sup> (پستیساید های زیستی) (Copping and Menn, 2000) تمایز ایجاد می کنند. چهار گروه مهم از محرک های زیستی موثر بر رشد ریشه و بهره وری عناصر غذایی عبارتند از: (۱) مواد هیومیکی<sup>۴</sup> (HS)، (۲) آب کافت های پروتئینی و فرمولاسیون های آمینو اسید<sup>۵</sup> (AA)، (۳) استخراج های دریایی<sup>۶</sup> (SE) و باکتری های محرک رشد گیاه<sup>۷</sup> (PGPB). محرک های زیستی گیاهی اثرات سودمندی بروی رشد گیاهان، کمیت و کیفیت محصولات گیاهان و درختان مختلف (Paradikovic et al., 2011, 2013; Bulgari et al, 2015; Sea et al, 2015) دارند. فعالیت ها و اثرات ویژه محرک های زیستی گیاهی شامل افزایش رشد ریشه و ساقه، تلرانس و مقاومت گیاهان به تنش های آبیوتیک، بهره وری و دسترسی بیش تر آب و کاهش شوک انتقال گیاهی هستند (Povero et al, 2016).

<sup>1</sup> biostimulants

<sup>2</sup> pesticides

<sup>3</sup> biostimulants, biofertilizers, and biopesticides

<sup>4</sup> pathogens or pests

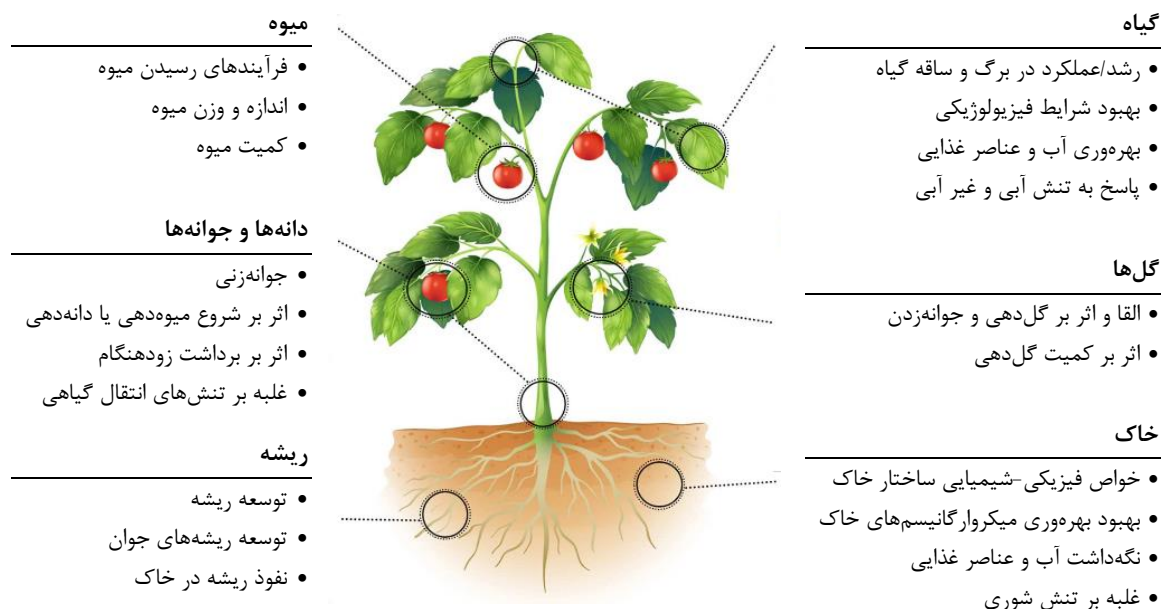
<sup>5</sup> Humic Substances

<sup>6</sup> Protein Hydrolysate and Amino Acid Formulations

<sup>7</sup> Seaweed Extract

<sup>8</sup> Plant- Growth-Promoting Bacteria

محرك های زیستی همچنین می توانند استفاده از کودها و محلول های غذایی گیاهان را در سامانه های هیدروپونیک کاهش دهند (Varnieri et al, 2006). خلاصه ای از اثرات سودمند محرك های زیستی گیاهی در شکل ۱ گزارش شده است (Povero et al, 2016).



شکل ۱- مهم ترین اثرات و عمل های فیزیولوژیکی در گیاه تحت تاثیر محرك های زیستی گیاهی (Povero et al, 2016)

از آنجایی که مکانیسم های مختلف زیادی برای واکنش های مثبت گیاهان به مواد مختلف پیشنهاد شده است، بنابراین ما تعاریف گسترده تری را برای محرك های زیستی برمی گزینیم که توسط (du Jardin, 2012) ارائه شده اند. اگرچه این تعاریف موادی را که در غلبه گیاه به تنش های آبی و غیر آبی کمک می کند را شامل می شوند، در این تحقیق، ما فقط محرك های زیستی را در نظر می گیریم که اثرات مثبتی بر روی رشد ریشه، عملکرد ریشه یا بهره وری عناصر غذایی دارند. در این تحقیق، ما بروی کاربرد و اثرات مثبت محرك های زیستی با منشا هیومیکی بروی بهره وری عناصر غذایی گیاه متمرکز می شویم و مکانیسم های اساسی که شامل تغییرات مثبت در ساختار خاک یا در حلالیت عناصر غذایی، مورفولوژی ریشه و فیزیولوژی گیاه هستند و در اثر تحریک مواد هیومیکی پاسخ داده می شوند، مورد بحث و بررسی قرار خواهند گرفت.

## مواد هیومیکی

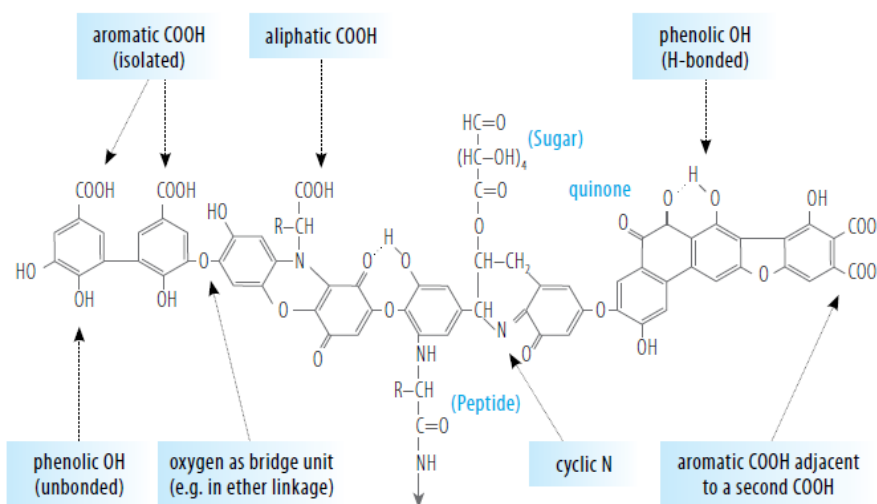
### معرفی مواد هیومیکی

مواد هیومیکی مولکول های ارگانیک ناهمگنی هستند که در خاک به عنوان محصول فرعی متابولیسم میکروبی مواد ارگانیک مرده تشکیل و سنتز می شوند (Nardi et al., 2007). مواد هیومیکی یکی از بیشترین مواد ارگانیک رایج بروی کره زمین (Sutton and Sposito, 2005) هستند که ۶۰ درصد مواد ارگانیک از خاک های جهان را تشکیل داده اند (Muscolo et al., 2007). در گذشته، گمان می شد که مواد هیومیکی پلیمرهای اتصال یافته بزرگ از مولکول های ارگانیک بودند. بهرحال، این نکته پذیرفته شده است که مواد هیومیکی از تعداد بیشماری از مولکول های ارگانیک کوچکتر تشکیل شده اند که در کنار یکدیگر توسط واکنش های آبریز و پیوندهای هیدروژنی نگه داشته شده اند (شکل ۲) (Piccolo, 2002; Simpson et al., 2002; Sutton and Sposito, 2000). مواد هیومیکی می توانند از منابع مختلف زیادی شامل خاک ها (Nardi et al., 2000; Varanini et

<sup>1</sup> biotic or abiotic stresses



Canellas et al., 2007; Zandonadi et al., 2007; Russell et al., 2006; Ayuso et al., 1996; Nikbakht et al., 2008) استخراچ شوند. مواد هیومیکی به روش های زیادی از جمله: روش اسپری برگ پاشی (Yildirim, 2007; Katkat et al., 2009), همراه با آب آبیاری (Salman et al., 2005) و روش مستقیم افزودن به خاک (Katkat et al., 2009) می توانند به گیاهان اعمال شوند.



شکل ۲- ساختار بیوپلیمری مواد هیومیکی (Muscolo et al., 2007)

### خصوصیات مواد هیومیکی

مواد هیومیکی اغلب به اجزای مختلفی براساس وزن مولکولی شان تقسیم بندی می شوند (Nardi et al., 2007; Quaggiotti et al., 1993; Varanini et al., 2006; Russell et al., 2004). اجزای با وزن مولکولی پایین تر تمایل دارند که اثرات بیولوژیکی موثرتری بروی گیاهان بگذارند (Piccolo et al., 1992; Varanini et al., 1993). در حالیکه فقط این مورد نبوده است (Muscolo et al., 2007; Nardi et al., 2007). بنابراین، وزن مولکولی حقیقی آن ها به آسانی قابل مشخص شدن نیست زیرا مواد هیومیکی مشخص شده است که از تعدادی مولکول های با اندازه های مختلف تشکیل شده اند که با یکدیگر در یک مقیاس ابرمولکولی نگاه داشته شده اند (Sutton and Sposito, 2005; Simpson et al., 2002; Piccolo, 2002). روش های مختلفی برای بررسی خصوصیت سنجی مواد هیومیکی بکار گرفته شده اند از جمله: سه نوع طیفسنجی  $^1\text{H-NMR}$ , DRIFT (Muscolo et al., 2007) و  $^{13}\text{C-NMR}$  (Canellas et al., 2010). در مطالعات اخیر، ساختار شیمیایی مواد هیومیکی نسبت به اندازه های مولکولی شان برای اثرات فعالیت بیولوژیکی مواد هیومیکی مورد بحث و بررسی قرار گرفته اند (Canellas et al., 2010; Muscolo et al., 2007).

### اثرات مواد هیومیکی بروی رشد گیاه

مواد هیومیکی اثرات مثبت زیادی بروی رشد گیاه دارند از جمله: افزایش بیوماس (Ayuso et al., 1996; Lee and Bartlett, 1976), افزایش کمی میوه و گل (Arancon et al., 2006) و بهبود کیفیت میوه (Yildirim, 2007). در ادامه در مورد این اثرات بحث خواهیم نمود.

<sup>1</sup> Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform

<sup>2</sup>  $^1\text{H}$  Nuclear Magnetic Resonance

**اثرات مواد هیومیکی بر بهره‌وری عناصر غذایی**

مواد هیومیکی اثرات مثبتی بر بهره‌وری عناصر غذایی<sup>۱</sup> دارند (جدول ۱). مطالعات بسیار بیشماری اثرات مواد هیومیکی بروی افزایش بهره‌وری نیتрат ( $\text{NO}_3$ ) (Albuzio et al., 1986; Nardi et al., 2000; Piccolo et al., 1992; Quaggiotti et al., 2004) را نشان داده‌اند. این مطالعات نسبتاً کوتاه مدت، با آزمون‌های بهره‌وری نیترات، رونویسی ژن<sup>۲</sup> و فعالیت پروتئین‌های درگیر در بهره‌وری نیترات و جذب آن در مدت ۱۶ تا ۴۸ ساعت در گیاهان خیلی جوان بوده است.

**جدول ۱- اثرات مثبت مواد هیومیکی با منشاهای گوناگون بروی بهره‌وری عناصر غذایی گیاهان**

مرجع	منبع اولیه مواد هیومیکی	عناصر غذایی تحت تاثیر مواد هیومیکی	گیاه
Albuzio et al. (1986)	خاک	$\text{NO}_3$	جو
Piccolo et al. (1992)	زغال سنگ	$\text{NO}_3$	جو
Nardi et al. (2000)	خاک	$\text{NO}_3$	جو
Quaggiotti et al. (2004)	پسماند ورمی کمپوست	$\text{NO}_3$	ذرت
Ayuso et al. (1996)	لجن فعال، کمپوست، لئوناردیت و پیت	N, P, Mn, Cu, Zn, Fe	جو
Lee and Bartlett (1976)	کود گاوی، کمپوست، پیت و خاک	P, Fe	ذرت
Tan and Nopamornbodi (1979)	خاک	N, Zn	ذرت
Chen et al. (2004)	پیت و لئوناردیت	Zn, Fe	خریزه، سویا و چاودار
Celik et al. (2011)	لئوناردیت	Cu, Zn, Mn	ذرت
Sanchez-Sanchez et al. (2005)	لیگنایت (زغال سنگ قهوه‌ای)	Fe	گوجه
Sanchez-Sanchez et al. (2006)	مشخص نشده	Fe	انگور

تان و نوپامورنبدی در سال ۱۹۷۹ اثرات مواد هیومیکی استخراج شده از خاک را بروی بهره‌وری عناصر غذایی گیاهان ذرت در طول فصل رشد را ارزیابی کردند (Tan and Nopamornbodi, 1979). درحالیکه بهره‌وری نیتروژن و روی در مقادیر مطمئن بهبود یافته بودند، بهره‌وری فسفر معکوساً تحت تاثیر مواد هیومیکی قرار گرفتند و دیگر عناصر معدنی اثر معنی‌داری را از خود نشان ندادند. آیوسو در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که مواد هیومیکی استخراج شده از منابع مختلف، می‌توانند بهره‌وری نیتروژن کل و همچنین دیگر عناصر مانند فسفر، منگنز، مس، روی و آهن را در گیاه جو در طول فصل رشد را بهبود بخشند (Ayuso et al. 1996) و نشان دادند که جذب گیاه از هر یک از این عناصر غذایی تحت تاثیر دوزهای مختلف از مواد هیومیکی متفاوت بودند. لی و بارتلت در سال ۱۹۷۶ یافتند که مواد هیومیکی به‌طور معنی‌داری بهره‌وری فسفر و آهن را در گیاه ذرت وقتی که در غلظت‌های پایین به خاک اعمال می‌شوند را بهبود می‌دهند درحالیکه وقتی به خاک در غلظت‌های بالای از مواد ازگانیکی اعمال شدند، اثرات مثبت ناچیز و کم بودند که شاید احتمالاً دلیل آن عدم کمبود مواد هیومیکی در خاک مورد بررسی بود (Lee and Bartlett, 1976). بعضی مطالعات نیز یافته‌اند که اثرات مثبت مواد هیومیکی بروی بهره‌وری میکروعناصر غذایی مخصوصاً در خاک‌های قلیایی که کمبود عناصر غذایی در آن‌ها به‌چشم می‌خورد، کارآمدتر و موثرتر است (Calvo et al, 2014; Celik et al., 2011; Chen et al., 2004; Sanchez Sanchez et al., 2005, 2006).

**مکانیسم اثرات مواد هیومیکی بروی بهره‌وری عناصر غذایی**

مواد هیومیکی عناصر غذایی گیاهان را با اثر بر فرآیندهای خاک و با اثرات مستقیم بر فیزیولوژی گیاهان بهبود می‌بخشند. مکانیسم‌هایی که شامل اثرات بر فرآیندهای خاک می‌شوند: (۱) بهبود ساختار خاک، (۲) و بهبود حلالیت و دسترسی

<sup>1</sup> nutrient uptake<sup>2</sup> gene transcription

میکروعنصر غذایی در خاک هستند و اثرات مستقیم بروی فیزیولوژی گیاهان شامل: (۳) تغییرات مورفولوژی ریشه، (۴) افزایش فعالیت آنزیمهای  $H^+ATPase$ ، و (۵) افزایش فعالیت آنزیمهای جذب-نیترا<sup>۱</sup> هستند.

#### بهبود ساختار خاک توسط مواد هیومیکی

مواد هیومیکی عناصر غذایی گیاه را با اصلاح ساختار خاک بهبود می بخشد. پیکولو و همکاران در سال ۱۹۹۷ یافتند که اصلاح و بهبود خاک با مواد هیومیکی، پایداری توده ای خاک را افزایش می دهند. آن ها این پدیده را به توانایی مواد هیومیکی به تشکیل کمپلکس های رس-هیومیک با اجزای آبدوست متمایل شده به مرکز توده و اجزای آبریزی که به سمت خارج سو گرفته اند نسبت دادند. این عمل نفوذ آب به توده را کاهش می دهد که باعث می شود که آن ها بیش تر در شرایط رطوبت و خشکی پایدارتر باشند. بهبود پایداری توده منجر به بهبود هوادهی<sup>۳</sup> خاک، تسهیل کردن نفوذ ریشه در خاک، دسترسی آب بیش تر برای گیاهان و فرسایش کمتر خاک می شود که به طور غیرمستقیم در افزایش بهره وری عناصر غذایی خاک تاثیر می - گذارند (Amezket, 1999; Bronick and Lal, 2005). بهر حال، بهبودی پایداری توده ای ساختار خاک به طور مشخص بهبود دسترسی عناصر غذایی را در سیستم های هیدروپونیک (Chen et al., 2004) یا وقتی که به برگ گیاهان نسبت به خاک اعمال می شوند (Katkat et al., 2009) هنوز معلوم نشده است.

#### بهبود حلالیت و دسترسی میکروعنصر غذایی و فسفر توسط مواد هیومیکی

تحت بعضی شرایط محیطی، میکروعنصر و فسفر خیلی نامحلول هستند. مواد هیومیکی اضافه شده به محلول عناصر غذایی، حلالیت عناصر آهن و روی را با تشکیل کمپلکس های فلز-هیومیک<sup>۴</sup> افزایش می دهند. کمپلکس های هیومیکی آهن<sup>۵</sup> در دسترس گیاه هستند، صرف نظر اینکه آن ها از استراتژی اولیه (گیاهان دولپه و گیاهان غیرغلات تک لپه) و یا استراتژی ثانویه (گیاهان تک لپه ای غلات) برای تحریک و دسترسی آهن استفاده می کنند (Cesco et al., 2000; Chen et al., 2004; Pinton et al., 1999b). در حقیقت، رشد افزایش یافته ی مشاهده شده در گیاهان تیمار شده با مواد هیومیکی، ممکن است ناشی از افزایش دسترسی آهن باشد (Chen et al., 2004; Pinton et al., 1999b). کاربرد جز محلول در آب از مواد هیومیکی، حلالیت هیدروکسیدهای آهن و همچنین حرکت و پویایی شان در خاک را افزایش می دهند (Cesco et al., 2000). مواد هیومیکی نشان داده اند که می تواند جایگزین مناسبی برای کیلیت کننده های مصنوعی آهن مانند  $EDDHA$  در گیاهانی مانند گوجه، درختان لیمو و درختان انگور در خاک های کلسیمی<sup>۶</sup> باشند (Sanchez-Sanchez et al., 2002, 2005, 2006). مواد هیومیکی همچنین فعالیت غشای پلاسمای<sup>۹</sup>  $H^+ATPase$  را افزایش می دهند (Pinton et al., 1999a) که می تواند منجر به اسیدی شدن ناحیه ریزوسفر ریشه شود که به همین دلیل حلالیت میکروعنصر غذایی افزایش می یابد. مواد هیومیکی دسترسی فسفر را توسط مداخله در تشکیل فسفات های-کلسیم نامحلول افزایش می دهند (Delgado et al., 2002).

#### تغییرات مورفولوژی ریشه توسط مواد هیومیکی

مالیک و اعظم در سال ۱۹۸۵ توسعه رشد ریشه های گیاه گندم را با آب مقطر مکمل شده با مواد هیومیکی و آب مقطر به-تنهایی را بررسی کردند (Malik and Azam, 1985). کانلاس و همکاران در سال ۲۰۰۲ (Canellas et al. 2002) و زاندونادی و

<sup>1</sup>  $NO_3$ -Assimilation Enzymes

<sup>2</sup> Aggregate Stability

<sup>3</sup> Aeration

<sup>4</sup> Metal-Humic Complexes

<sup>5</sup> Fe-Humic Complexes

<sup>6</sup> water-soluble fraction

<sup>7</sup> Ethylenediamine-*N*, *N*-bis (2-hydroxyphenylacetic acid)

<sup>8</sup> calcareous

<sup>9</sup> Plasma Membrane

<sup>1</sup> nonsoluble Ca-phosphates <sup>0</sup>

همکاران در سال ۲۰۰۷ (Zandonadi et al. 2007) نشان دادند که مواد هیومیکی استخراج شده از کمپوست کرم خاکی، تکثیر و پخش شدگی ریشه های جانبی<sup>۱</sup> را در ذرت افزایش می دهند. آن ها این پدیده را به اثر فعالیت های شبه اکسینی مواد هیومیکی نسبت دادند که فعالیت آنزیم H<sup>+</sup>ATPase را تحریک می بخشد که نهایتا باعث افزایش رشد سلولی می شوند. اشمیت و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که جز محلول در آب از مواد هیومیکی استخراج شده از زغال سنگ پیت، باعث افزایش دانسته ریشه در گیاهان Arabidopsis می شوند اما آن ها نشان دادند که فعالیت شبه اکسینی را که در موتانت کمبود اکسین در ریشه است را ذخیره نمی کنند (Schmidt et al. 2007). افزایش توسعه ریشه های جانبی و مویچه های ریشه، مساحت سطح ریشه را افزایش می دهد که می تواند بهره وری میکرو عناصر غذایی تحت تاثیر مواد هیومیکی را نشان دهند.

### تحریک آنزیم های H<sup>+</sup>ATPase و جذب-نیترا ت توسط مواد هیومیکی

همان طور که قبلا اشاره شد، مواد هیومیکی به عنوان تحریک کننده های غشای پلاسمای آنزیم H<sup>+</sup>ATPase شناخته می شوند (Canellas et al., 2008; Nardi et al., 2000; Pinton et al., 1999a; Quaggiotti et al., 2004). زاندونادی و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که این نوع تحریک بخشی شامل فعالیت شبه اکسینی مواد هیومیکی و سیگنالینگ (پیام رسانی) نیتریک اکسید<sup>۲</sup> (NO) توسط مهار بازدارنده های اکسین<sup>۳</sup> و مولکول های مهار کننده<sup>۴</sup> NO<sup>۴</sup> که تحریک بخشی فعالیت غشای پلاسمایی آنزیم H<sup>+</sup>ATPase را افزایش می دهند، هستند (Zandonadi et al. 2010). با تحریک غشای پلاسمای آنزیم H<sup>+</sup>ATPase، مواد هیومیکی ناحیه ریزوسفر ریشه را اسیدی می کنند که باعث می شود سیستم ساپورت NO<sub>3</sub>H<sup>+</sup> برای فعالیت و عمل با راندمان بالاتری کار کند. نتیجه آن باعث جذب و دریافت بیش تری از NO<sub>3</sub> توسط گیاه می شود (Pinton et al., 1999a; Quaggiotti et al., 2010). مواد هیومیکی همچنین نرخ جذب NO<sub>3</sub> را با سازگاری گیاه به آنزیم های درگیر در این فرآیند افزایش می دهد.

آلبوزیو و همکاران در سال ۱۹۸۶ یافتند که گیاهان جو تحت تاثیر مواد هیومیکی استخراج شده از خاک و تفکیک شده به روش های مختلف، فعالیت آنزیم های ریداکتاز نیترا ت<sup>۵</sup> (NR)، دی هیدروژناز گلو تامات<sup>۶</sup> (GDH) و سینتتاز گلو تامات<sup>۷</sup> (GS) را افزایش می دهند (Albuzio et al. 1986). در حالیکه بعضی از اجزا اثرات محرک بیش تری نسبت به دیگری دارند، اثرات نسبتا با اندازه اجزا همبستگی نداشتند. ماسکولو و همکاران در سال ۱۹۹۹ یافتند که افزایش در فعالیت GDH، GS و دی هیدروژناز مالیک<sup>۸</sup> (MDH) در سلول های هویج تیمار شده با مواد هیومیکی استخراج شده از ورمی کمپوست مشاهده شده است (Muscolo et al. 1999). آن ها این پدیده را ناشی از اثرات تحریک بخشی به مواد شبه اکسینی در ورمی کمپوست دانستند.

واکارو و همکاران در سال ۲۰۰۹ یافتند که کمپلکس های ساختاری آبدوست مواد هیومیکی استخراج شده از کمپوست، اثرات تحریک بخشی بروی تعدادی از آنزیم های جذب-نیترا ت مانند NR، ریداکتاز نیتريت (NiR)، GS، سینتاز گلو تامات (GOGAT) و آمینوترانسفراز آسپاراتات (AspAT) دارند (Vaccaro et al. 2009). در جدول ۲ مطالعاتی که مکانیسم های مختلفی را برای محرک های زیستی با منشا هیومیکی نشان داده اند، آورده شده است. این مکانیسم ها همان طور که اشاره شد، شامل بهبود ساختار یا فعالیت میکروبی خاک، کی لیت کردن یا محلول کردن عناصر غذایی، افزایش فعالیت آنزیم H<sup>+</sup>ATPase، افزایش فعالیت آنزیم جذب نیترا ت و تغییرات در مورفولوژی ریشه هستند.

<sup>1</sup> lateral-root proliferation and elongation

<sup>2</sup> Nitric Oxide (NO) signaling

<sup>3</sup> Auxin inhibitors

<sup>4</sup> NO-Scavenging

<sup>5</sup> Nitrate Reductase

<sup>6</sup> Glutamate Dehydrogenase

<sup>7</sup> Glutamate Synthetase

<sup>8</sup> Malic Dehydrogenase



جدول ۲- مطالعات پیشنهاددهنده مکانیسم های مختلف برای محرک های زیستی با منشا هیومیکی

تغییرات در مورفولوژی ریشه	افزایش فعالیت آنزیم جذب نیترات	افزایش فعالیت آنزیم H <sup>+</sup> ATPase	کیلیت کردن یا محلول کردن عناصر غذایی	بهبود ساختار یا فعالیت میکروبی خاک	محرک زیستی
Malik and Azam (1985)	Albuzio et al. (1986); Muscolo et al. (1999); Vaccaro et al. (2009)	Pinton et al. (1999a); Canellas et al. (2008); Zandonadi et al. (2010); Quaggiotti et al. (2004)	Chen et al. (2004); Cesco et al. (2000); Pinton et al. (1999b); Sanchez-Sanchez et al. (2006); Sanchez-Sanchez et al. (2005); Sanchez-Sanchez et al. (2002)	Piccolo et al. (1997)	مواد هیومیکی

## نتیجه گیری

محرک های زیستی با منشا هیومیکی نشان داده اند که می توانند با افزایش بهره وری عناصر غذایی و با بهبود ساختار خاک و مورفولوژی ریشه در شرایط بالقوه برای گیاهان، جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی بدون کاهش عملکرد در کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی باشند. لذا برای آگاهی و دانش از چگونگی اثرات و مکانیسم محرک های زیستی بروی بهره وری عناصر غذایی و یا بر فعالیت آنزیم های گیاهی لازم است که کاربرد انواع مختلف از محرک های زیستی از جمله مواد هیومیکی در آزمون های آزمایشگاهی با مقیاس کوچک، سپس در آزمایش های گلخانه ای و نهایتاً در شرایط مزرعه مورد آزمون و بهره برداری قرار بگیرند و بدین ترتیب گامی نو در نیل به کشاورزی های مدرن و پایدار با بهره برداری از انواع محرک های زیستی برداشته شود.

## منابع

- Albuzio, A., Ferrari, G., Nardi, S., 1986. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. *Can. J. Soil Sci.* 66, 731–736.
- Amezketta, E., 1999. Soil aggregate stability: a review. *J. Sustain. Agric.* 14, 83–151.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Lee, S., Byrne, R., 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *Eur. J. Soil Biol.* 42, S65–S69.
- Ayuso, M., Hernandez, T., Garcia, C., Pascual, J.A., 1996. Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. *Bioresour. Technol.* 57, 251–257.
- Bronick, C.J., Lal, R., 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124, 3–22.
- Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., and Ferrante, A. (2015). Biostimulants and crop responses: a review. *Biol. Agric. Hortic.* 31, 1–17.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J. W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*. DOI 10.1007/s11104-014-2131-8
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., Okorokova, F.A.L., Façanha, A.R., 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* 130, 1951–1957.
- Canellas, L.P., Piccolo, A., Dobbss, L.B., Spaccini, R., Olivares, F.L., Zandonadi, D.B., Façanha, A.R., 2010. Chemical composition and bioactivity properties of size fractions separated from a vermicompost humic acid. *Chemosphere*, 78, 457–466.
- Canellas, L.P., Teixeira Junior, L.R.L., Dobbss, L.B., Silva, C.A., Medici, L.O., Zandonadi, D.B., Façanha, A.R., 2008. Humic acids cross interactions with root and organic acids. *Ann. Appl. Biol.* 153, 157–166.
- Celik, H., Katkat, A.V., Asik, B.B., Turan, M.A., 2011. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 42, 29–38.
- Cesco, S., Reomheld, V., Varanini, Z., Pinton, R., 2000. Solubilization of iron by water extractable humic substances. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, 285–290.
- Chen, J., 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility 20. In: *International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use*, vol.16. Land Development Department, Bangkok, Thailand.





- Chen, Y., Clapp, C.E., Magen, H., 2004. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50, 1089–1095.
- Copping, L.G., Menn, J.J., 2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag. Sci.* 56, 651–676.
- Daverede, I.C., Kravchenko, A.N., Hoefft, R.G., Nafziger, E.D., Bullock, D.G., Warren, J.J., Gonzini, L.C., 2004. Phosphorus runoff from incorporated and surface-applied liquid swine manure and phosphorus fertilizer. *J. Environ. Qual.* 33, 1535–1544.
- Delgado, A., Madrid, A., Kassem, S., Andreu, L., del Carmen del Campillo, M., 2002. Phosphorus fertilizer recovery from calcareous soils amended with humic and fulvic acids. *Plant Soil* 245, 277–286.
- Du Jardin, P., 2012. The Science of Biostimulants-A Bibliographic Analysis. (Final report for EU). Contract 30-CEO455515/00-96. p. 37.
- Estavillo, J.M., Rodriguez, M., Domingo, M., Munoz-Rueda, A., Gonzalez-Murua, C., 1994. Denitrification losses from a natural grassland in the Basque country under organic and inorganic fertilization. *Plant Soil* 162, 19–29.
- Katkat, A.V., Celik, H., Turan, M.A., Boulet, B., 2009. Effects of soil and foliar applications of humic substances on dry weight and mineral nutrients uptake of wheat under calcareous soil conditions. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 3, 1266–1273.
- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B., 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Plant Growth Regul.* 28, 386–399.
- King, K.W., Torbert, H.A., 2007. Nitrate and ammonium losses from surface-applied organic and inorganic fertilizers. *J. Agric. Sci.* 145, 385–393.
- Kulikova, N.A., Perminova, I.V., 2002. Binding of atrazine to humic substances from soil, peat, and coal related to their structure. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3720–3724.
- Lee, Y.S., Bartlett, R.J., 1976. Stimulation of plant growth by humic substances. *Soil Sci. Am. J.* 40, 876–879.
- Malik, K.A., Azam, F., 1985. Effect of humic acid on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling growth. *Environ. Exp. Bot.* 25, 245–252.
- Moe, P.G., Mannerling, J.V., Johnson, C.B., 1967. Loss of fertilizer nitrogen in surface runoff water. *Soil Sci.* 104, 389–394.
- Muscolo, A., Bovalo, F., Gionfriddo, F., Nardi, S., 1999. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1303–1311.
- Muscolo, A., Sidari, M., Attin\_a, E., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S., 2007. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. *Soil Sci. Am. J.* 71, 75–85.
- Nardi, S., Muscolo, A., Vaccaro, S., Baiano, S., Spaccini, R., Piccolo, A., 2007. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem.* 39, 3138–3146.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Gessa, C., Ferrarese, L., Trainotti, L., Casadoro, G., 2000. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem.* 32, 415–419.
- Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Xia, Y.P., Luo, A., Etemadi, N.A., 2008. Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake, and postharvest life of gerbera. *J. Plant Nutr.* 31, 2155–2167.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., Sahin, F., 2006. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Hortic. Amst.* 111, 38–43.
- Paradikovic, N., Vinkovic, T., Vinkovic Vrcek, I., Žuntar, I., Bojic, M., and Medicšaric, M. (2011). Effect of natural biostimulants on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (*Capsicum annum* L.) plants. *J. Sci. Food Agric.* 91, 2146–2152.
- Piccolo, A., 2002. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Adv. Agron.* 75, 57–134.
- Piccolo, A., Nardi, S., Concheri, G., 1992. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. *Soil Biol. Biochem.* 24, 373–380.
- Piccolo, A., Pietramellara, G., Mbagwu, J.S.C., 1997. Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. *Geoderma* 75, 267–277.
- Pinton, R., Cesco, S., Iacoletti, G., Astolfi, S., Varanini, Z., 1999a. Modulation of NO uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H ATPase. *Plant Soil* 215, 155–161.
- Pinton, R., Cesco, S., Santi, S., Agnolon, F., Varanini, Z., 1999b. Water-extractable humic substances enhance iron deficiency responses by Fe-deficient cucumber plants. *Plant Soil* 210, 145–157.
- Povero G, Mejia JF, Di Tommaso D, Piaggese A and Warrior P (2016) A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants. *Front. Plant Sci.* 7:435. doi: 10.3389/fpls.2016.00435.



- Quaggiotti, S., Ruperti, B., Pizzeghello, D., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S., 2004. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 55, 803–813.
- Russell, L., Stokes, A.R., Macdonald, H., Muscolo, A., Nardi, S., 2006. Stomatal responses to humic substances and auxin are sensitive to inhibitors of phospholipase A2. *Plant Soil* 283, 175–185.
- Saa, S., Olivos-Del Rio, A., Castro, S., and Brown, P. H. (2015). Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] D.A. Webb). *Front. Plant Sci.* 6:87.
- Salman, S.R., Abou-Hussein, S.D., Abdel-Mawgoud, A.M.R., El-Nemr, M.A., 2005. Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. *J. Appl. Sci. Res.* 1, 51–58.
- Sanchez, L., Diez, J.A., Vallejo, A., Cartagena, M.C., 2001. Denitrification losses from irrigated crops in central Spain. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1201–1209.
- Sanchez-Sanchez, A., Juarez, M., Sanchez-Andreu, J., Jorda, J., Bermudez, D., 2005. Use of humic substances and amino acids to enhance iron availability for tomato plants from applications of the chelate Fe-EDDHA. *J. Plant Nutr.* 28, 1877–1886.
- Sanchez-Sanchez, A., Sanchez-Andreu, J., Juarez, M., Jorda, J., Bermudez, D., 2002. Humic substances and amino acids improve effectiveness of chelate Fe-EDDHA in lemon trees. *J. Plant Nutr.* 25, 2433–2442.
- Sanchez-Sanchez, A., Sanchez-Andreu, J., Juarez, M., Jorda, J., Bermudez, D., 2006. Improvement of iron uptake in table grape by addition of humic substances. *J. Plant Nutr.* 29, 259–272.
- Schachtman, D.P., Reid, R.J., Ayling, S.M., 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116, 447–453.
- Schmidt, W., Santi, S., Pinton, R., Varanini, Z., 2007. Water-extractable humic substances alter root development and epidermal cell pattern in *Arabidopsis*. *Plant Soil* 300, 259–267.
- Simpson, A.J., Kingery, W.L., Hayes, M.H., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., Kerssebaum, R., Godejohann, M., Hofmann, M., 2002. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89, 84–88.
- Subler, S., Dominguez, J., Edwards, C.A., 1998. Assessing biological activity of agricultural biostimulants: bioassays for plant growth regulators in three soil additives. *Commun. Soil Sci. Plant Anal* 29, 859–866.
- Sutton, R., Sposito, G., 2005. Molecular structure in soil humic substances: the new view. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9009–9015.
- Tan, K.H., Nopamornbodi, V., 1979. Effect of different levels of humic acids on nutrient content and growth of corn (*Zea mays* L.). *Plant Soil* 51, 283–287.
- Vaccaro, S., Muscolo, A., Pizzeghello, D., Spaccini, R., Piccolo, A., Nardi, S., 2009. Effect of a compost and its water-soluble fractions on key enzymes of nitrogen metabolism in maize seedlings. *J. Agric. Food Chem.* 57, 11267–11276.
- Vance, C.P., 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. *Plant nutrition in a world of declining renewable resources.* *Plant Physiol.* 127, 390–397.
- Varanini, Z., Pinton, R., De Biasi, M.G., Astolfi, S., Maggioni, A., 1993. Low molecular weight humic substances stimulate H-ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from oat (*Avena sativa* L.) roots. *Plant Soil* 153, 61–69.
- Vernieri, P., Borghesi, E., Tognoni, F., Serra, G., Ferrante, A., and Piaggese, A. (2006). Use of biostimulants for reducing nutrient solution concentration in floating system. *ISHS* 718, 477–484.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571–586.
- Yildirim, E., 2007. Foliar and soil fertilization of humic acid affect productivity and quality of tomato. *Acta Agric. Scand. B.* 57, 182–186.
- Zandonadi, D.B., Canellas, L.P., Façanha, A.R., 2007. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H pumps activation. *Planta* 225, 1583–1595.
- Zandonadi, D.B., Santos, M.P., Dobbss, L.B., Olivares, F.L., Canellas, L.P., Binzel, M.L., Okorokova, F.A., Façanha, A.R., 2010. Nitric oxide mediates humic acids induced root development and plasma membrane H<sup>+</sup>ATPase activation. *Planta* 231, 1025–1036.