نشریه تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک ـــــــ

مقدمه

یکی از گیاهان مهم برای اقلیم کشور، آفتابگردان می‌باشد که با کیفیت بالای روغن دانه، تحمل زیاد نسبت به تنش کم آبی سهم بسزایی در زراعت کشور ما دارد (Karimzadeh Asl *et al*., 2003). در بین عوامل موثر بر رشد گیاهان، تأمین عناصر غذایی نقش ویژه‌ای در افزایش کمی و کیفی محصولات دارد. یکی از راههای تأمین عناصر غذایی برای گیاهان استفاده از کودهای شیمیایی است؛ ولی افزایش بی‌رویه‌ی مصرف کودهای شیمیایی به منظور افزایش تولید محصولات زراعی و باغی، دنیا را با خطر آلودگی هرچه بیشتر محیط زیست روبه‌رو کرده است، زیرا قسمت عمده کودهای شیمیایی مصرف شده باعث آلوده شدن آب‌های زیرزمینی و خاک می‌شود؛ ولی کودهای آلی و زیستی علاوه بر بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات تولید شده، باعث حاصلخیزی و سلامت خاک نیز می‌شوند (Amal *et al*., 2010, Ahmed *et al*., 2013, Rahi, 2013). امروزه متخصصان کشاورزی استفاده از کودهای زیستی و آلی را راهکاری مناسب برای کشاورزی پایدار می‌دانند. چندین نوع میکروارگانیسم در فعالیتهای زراعی رایج مورد استفاده قرار می‌گیرند و بسیاری نیز پتانسیل بکارگیری در آینده را دارند. بیشتر آنها توانایی تشکیل کلونی را در محیط ریشه داشته و قادر به برقراری ارتباط با گیاهان در جهت افزایش بیوماس، رشد ریشه و عملکرد اقتصادی را دارند که این موجودات را اصطلاحاً باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه[1](PGPR) می‌نامند (Andres, 2009). در پژوهشی بیان نمودند که تلقیح گیاه لوبیا با باکتری محرک رشد در شرایط تنش، غلظت کلروفیلa ، کلروفیلb و کلروفیل کل را به ترتیب ۳۴، ۴۸ و ۳۹ درصد افزایش داد و همچنین متناسب با افزایش سنتز کلروفیل، میزان کلروز در برگها نیز کاهش یافت (Sharma *et al*., 2003). هورمون‌های گیاهی (فیتوهورمونها) عواملی بسیار مهم در رشد و نمو گیاهان می‌باشند. آنها در واکنش گیاهان به عوامل محیطی نیز دخالت دارند. این مواد در مقادیر بسیار کم فعال بوده و در برخی قسمت‌های گیاه تولید و به نقاط دیگر گیاه منتقل می‌شوند که به واسطه آن سبب بروز واکنش‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و یا مورفولوژیکی می‌شوند (Moore, 1989). بعضی از هورمون‌ها و محرک‌های رشد گیاهان بصورت صنعتی تولید و خالص‌سازی می‌شوند؛ که تریاکونتانول[2] یکی از این ترکیبات می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۷۷ از یونجه استخراج و خالص‌سازی شد و بعنوان محرک رشد گیاهان مورد استفاده قرارگرفت (Ries *et al*., 1977a, Ries *et al*., 1977b). این ماده قسمتی از موم‌های گیاهی است که عامل رشد گیاهان می‌باشد؛ که حتی غلظت‌های نانو مولار این ماده می‌تواند رشد و بهره‌وری محصولات را افزایش دهد (Ries *et al*., 1977b). تریاکونتانول جداسازی شده از یونجه و تریاکونتانول ساخته شده، هر دو در غلظت‌های بسیار پایین فعال می‌باشند (Reiley and Shry, 2000). یافته‌ها نشان می‌دهد تریاکونتانول با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و تجمع محصولات فتوسنتزی عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد (Ries, 1985; Houtz *et al*., 1985; Swamy, 2004; Giridhar *et al*., 2005) زیرا غلظت رنگیزه‌های برگی (مخصوصاً کلروفیل) به عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت غذاسازی و رشد و نمو گیاه شناخته شده است. این ماده برای افزایش محصولات میلیون‌ها هکتار از اراضی در آسیا، مخصوصاً در چین استفاده شده است (Ries, 1991; Ries *et al*., 1984). همچنین نتایج

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

2- Triacontanol

مطالعه‌ای نشان داد که پس از ۲۶ روز کاربرد ۱۱۷ کیلوگرم در هکتار یونجه در قسمت زیر و کنار بذور گوجه‌فرنگی، ارتفاع گیاه نزدیک به ۱۷ درصد نسبت به شاهد افزایش معنادارداشت(Ries, 1978). آنها همچنین نشان دادند که زمانی‌که مقدار یونجه به کاربرده شده دو برابر شد (۲۳۴ کیلوگرم در هکتار) ارتفاع گیاهان نسبت به شاهد نزدیک به ۲۵ درصد افزایش یافت و زمانی‌که مقدار کاربردی به ۴۷۰ کیلوگرم در هکتار رسید میزان افزایش به ۴۲ درصد رسید. با توجه به اینکه گیاه یونجه دارای مقادیر قابل توجهی تریاکونتانول است و همچنین سرشار از ویتامین‌های A, E, C, K ، پروتئین و عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان نیز می‌باشد(Ries *et al*., 1977b; Chopra *et al.,* 1986)، پس می‌توان از عصاره این گیاه بعنوان ماده مغذی و محرک رشد گیاهان بهره جست(Shikur, 2012). با این راهکار می‌توان کشاورزان را به کاهش مصرف کودهای شیمیایی ترغیب کرده و در نتیجه از آلودگی محیط زیست جلوگیری کرد. علی‌رغم تحقیقات گسترده در زمینه تغذیه گیاهان، اثرات استفاده توأم از عصاره گیاه یونجه و میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاهان بر ویژگی‌های گیاهان مورد توجه قرار نگرفته است؛ بنابراین انجام تحقیقات در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره گیاه یونجه و باکتری‌های محرک رشد گیاهان بر غلظت عناصر پرمصرف و کم مصرف و رنگیزه‌های برگی آفتابگردان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آماده کردن بسترکشت

خاک مورد استفاده در این آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل تهیه و بطور کامل بهم زده شد. سپس نمونه دو کیلوگرمی از این خاک انتخاب و پس از هوا خشک نمودن و عبور از الک دو میلی‌متری، برخی از مشخصات فیزیکی و شیمیایی آن تعیین گردید (جدول ۱). بافت خاک به روش هیدرومتری (Day, 1965)، کربن آلی به روش والکلی‌بلک[3] (Nelson and Sommers, 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع خاک با هدایت سنج الکتریکی و pH خاک به روش الکترود شیشه‌ای در عصاره اشباع خاک(Thomas, 1996)، نیتروژن کل به روش کجلدال (Page *et al*., 1982)، فسفر قابل جذب به روش عصاره‌گیر اولسن (Olsen and Sommers, 1982) و قرائت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-2100) و پتاسیم قابل جذب با استفاده از روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم (Helmke and Sparks, 1996) و قرائت با دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد. همچنین عناصر آهن، روی، منگنز و مس قابل جذب خاک با DTPA عصاره‌گیری و سپس با دستگاه جذب اتمی غلظت این عناصر قرائت شد (Lindsay and Norvell, 1987).

آماده کردن عصاره یونجه

جهت تهیه عصاره یونجه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درجه به ۲۰۰ گرم پودر آسیاب شده گیاه یونجه اضافه و ۲۴ ساعت با شیکر دورانی هم زده شد سپس از کاغذ صافی عبور داده شد (Bahraminejad *et al*.,) 2008. غلظت عناصر موجود در عصاره نیز با استفاده از روش آنالیز چند عنصری با دستگاه ICP-MS مدل Agilent series 4500اندازه‌گیری شد .(Sobin *et al*., 2011) همچنین قابلیت هدایت الکتریکی و اسیدیته عصاره نیز به ترتیب با هدایت سنج الکتریکی و pH متر اندازه‌گیری شد (Thomas, 1996). نتایج خصوصیات شیمیایی عصاره یونجه در جدول۲ ذکر شده است.

3- Walkley-Black

جدول۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table1- Selected physical and chemical characteristics of the studied soils

بافت خاک Soil texture	شن Sand	رس Clay	سیلت Silt	کربن آلی OC	EC	pH	فسفر P	پتاسیم K	آهن Fe	روی Zn	منگنز Mn	مس Cu
	%				dS m^{-1}*		(mg L^{-1})					
Sandy-loam	69	13	18	1.98	1.32	7.2	12	430	2.20	4.80	5.60	1.65

*دسی‌زیمنس بر متر

جدول ۲- برخی ویژگی‌های شیمیایی عصاره یونجه تازه و کهنه

Table 2- Selected chemical characteristics of the new and old alfalfa extract

عصاره alfalfa extract	pH	EC	فسفر P	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mn	سدیم Na	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu	مولیبدن Mo
	-	dS m^{-1}*	(mg L^{-1})									
تازه New	6.66	0.57	3.20	480	1.60	19.70	4.50	0.10	0.10	1.17	0.98	0.025
کهنه Old	6.85	0.51	3.10	250	1.50	19.60	2.70	0.10	0.10	1.08	0.93	0.018

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی و در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتور اول در دو سطح شامل بستر کشت تلقیح نشده و تلقیح شده با کودهای زیستی ازتو بارور۱ و فسفات بارور۲؛ فاکتور دوم نیز شامل مصرف محلول پاشی و خاکی عصاره‌های تهیه شده از گیاه یونجه تازه برداشت شده و برداشت شده از سال گذشته با سطوح دو در هزار (دو میلی‌لیتر عصاره اتانولی یونجه با آب مقطر به حجم هزار میلی‌لیتر رسانده شد) و چهار در هزار، که به همراه شاهد مجموعاً ۹ سطح شاهد: Control، محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه:$MT_{0.002}$ ، محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.004}$، محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.002}$، محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.004}$، مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.002}$، مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.004}$، مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.002}$، مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.004}$ را تشکیل دادند. ابتدا به هر یک از واحدهای آزمایشی ۴ کیلوگرم خاک استریل نشده اضافه گردید و در هر گلدان شش عدد بذر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم آذرگل کشت شد. بعد از استقرار گیاهان، شمار بوته‌ها به سه عدد تنک گردید و تیمارهای آزمایشی اعمال شدند. نحوه اعمال تیمارها نیز بدین صورت بود که برای ایجاد بسترهای تلقیح شده با باکتری محرک رشد، نیم گرم از هر یک از کودهای زیستی ازتو بارور۱

(حاوی میکروارگانیسم *Azeotobacter*) و فسفات بارور۲ (حاوی *Pantoea*، *Pseudomonas putida* *agglomrans*) تولید شده در شرکت زیست فناور سبز در ۶ لیتر آب معمولی بصورت سوسپانسیون تهیه شد و۲۰۰ میلی لیتر از آن به خاک هرگلدان اضافه شد. همچنین تیمارهای عصاره تهیه شده از یونجه تازه و کهنه نیز یک هفته پس از تلقیح با کودهای زیستی در سه مرحله با فواصل زمانی ۱۵ روز و با غلظت‌های صفر (شاهد)، دو و چهار در هزار بصورت محلول‌پاشی (در هر مرحله شش بار اسپری معادل ۵ میلی‌لیتر در هر گلدان) و مصرف خاکی (هر مرحله ۱۰۰ میلی‌لیتر در هر گلدان) اعمال شد. برای تأمین شرایط رشد گیاه دمای شب و روز به ترتیب ۲±۲۵ و ۲±۳۳ درجه سلسیوس، طول دوره روشنایی ۱۷ ساعت در گلخانه برقرارگردید. همچنین رطوبت گلدانها روزانه به طریق وزنی در ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) تنظیم شدند. هفتاد و پنج روز پس از کشت اندام هوایی گیاهان از محل طوقه برداشت شد و پس از شستشو با آب مقطر، در آون به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک گردیدند (Black and Evans, 1965)، سپس وزن خشک اندام هوایی گیاهان با استفاده از ترازوی حساس (۰/۰۰۱ گرم) اندازه گیری شد. پس از هضم نمونه‌های گیاهی به روش خشک سوزانی (Westerman, 1990) برای تعیین غلظت عناصر آهن، روی، منگنز و مس از دستگاه جذب اتمی مدل UNICAM-919AA استفاده شد. برای اندازه‌گیری فسفر از روش رنگ‌سنجی (روش مولیبدات- وانادات) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۱۰ نانومتر (Chapman and Pratt, 1961) و اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر انجام شد (Gupta, 2000). همچنین ۰/۵ گرم ماده تر پهنک برگ آفتابگردان را جدا کرده و پس از تهیه عصاره و قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان کلروفیل a، b، کارتنویید در بافت تازه برگی محاسبه شد (Arnon, 1967). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارSAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

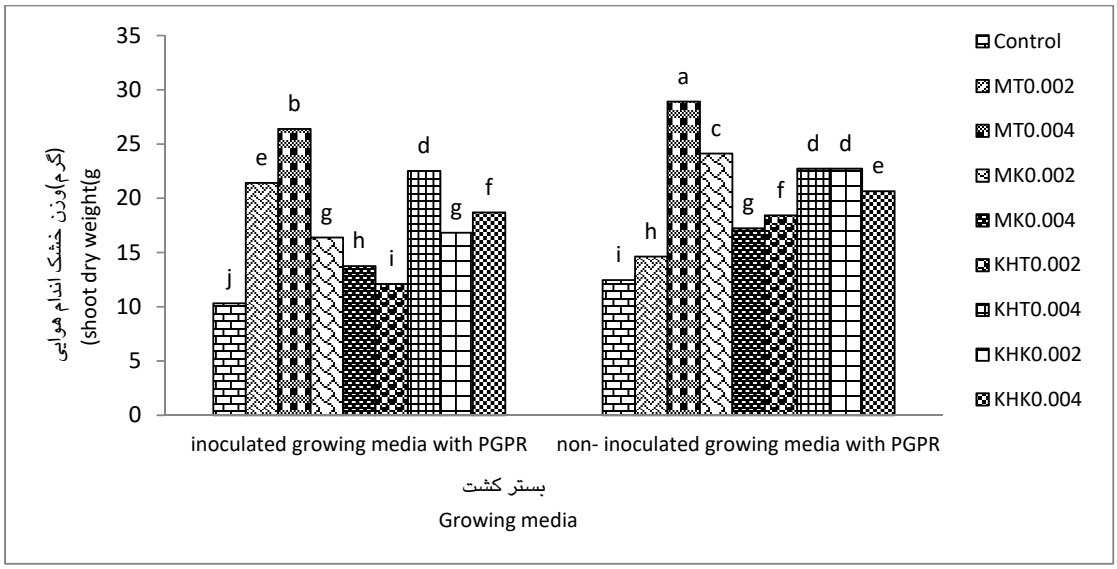
نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثرات ساده نوع بستر کشت گیاه، عصاره یونجه و همچنین اثرات متقابل آنها بر وزن خشک، غلظت‌های آهن، منگنز، مس، پتاسیم و فسفر در اندام هوایی و بر میزان کلروفیل a وb و کارتنوئید آفتابگردان در سطح احتمال یک درصد معنادار می‌باشد (جدول۳). برگ‌پاشی نسبت به مصرف خاکی و عصاره‌های تهیه شده از یونجه تازه نسبت به یونجه کهنه با سطح چهار در هزار باعث افزایش معنادار وزن خشک شد (شکل ۱). بطوریکه بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه (۲۸/۹۳ گرم در گلدان) نیز در بستر تلقیح نشده با کودهای زیستی و برگ‌پاشی سطح چهار در هزار عصاره تازه یونجه حاصل شد که ۲/۳ برابر وزن خشک اندام هوایی گلدان شاهد بود (شکل۱). میری و همکاران (Miri *et al*., 2015) بیان نمودند که با افزایش غلظت عصاره یونجه مصرفی تا سطح چهار در هزار، وزن خشک اندام هوایی سورگوم نیز افزایش می‌یابد. با توجه به جدول ۲، عصاره گیاه یونجه حاوی غلظت‌های قابل توجهی از عناصر ضروری و مفید برای رشد گیاهان می‌باشد که غلظت اغلب این عناصر در عصاره یونجه

تازه بیشتر از عصاره یونجه کهنه است. همچنین شهرکی‌زاد و همکاران (Shahrekizad *et al*.,2015) اظهار می‌دارند که برگ‌پاشی نسبت به مصرف خاکی کودها باعث افزایش وزن خشک گیاه آفتابگردان شد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین عصاره گیاه یونجه حاوی ماده‌ای بنام تریاکونتانول است که بعنوان محرک رشد گیاهان از آن استفاده می‌شود (Ries *et al*., 1991; Muthuchelian *et al*., 2003; Jain *et al*., 2015 بنابراین افزایش وزن خشک اندام هوایی آفتابگردان با افزایش غلظت عصاره یونجه مصرف شده منطقی به نظر می‌رسد.

در بسترهای تلقیح شده با کود زیستی نسبت به بسترهای تلقیح نشده، غلظت آهن اندام هوایی گیاهان شاهد (بدون مصرف عصاره یونجه) به‌طور معناداری افزایش یافت؛ ولی بیشترین غلظت آهن گیاهان نیز در بستر تلقیح شده با کودهای زیستی و برگ‌پاشی شده با سطح چهار در هزار عصاره تازه یونجه مشاهده شد که غلظت آهن اندام هوایی گیاهان را ۲/۳ برابر نسبت به شاهد افزایش داد (شکل۲). در بستر تلقیح نشده با کودهای زیستی نیز محلول‌پاشی سطح دو در هزار عصاره تازه یونجه بیشترین غلظت آهن (۱۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) را دارا می‌باشد که در مقایسه با شاهد ۷۵ درصد افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل۲).

سیدروفورها، کلات ها یا ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین و با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای کمپلکس شدن با برخی کاتیون ها از جمله آهن هستند (Arzanesh *et al*., 2011). تولید سیدروفور



شکل۱- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر وزن خشک اندام هوایی آفتابگردان

Figure1- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on the sunflower shoot dry weight

شاهد Control،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.004}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.002}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.002}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.004}$

جدول۳- تجزیه واریانس اثرات فاکتورهای نوع، غلظت و روش مصرف عصاره گیاه یونجه در بسترهای تلقیح شده و نشده با کودهای زیستی بر غلظت عناصر پرمصرف،کم مصرف و رنگیزه‌های فتوسنتزی درآفتابگردان

Table 3- Analysis of variance effects type, concentration and alfalfa extraction consumption method in inoculated and not inoculated substrates with biofertilizers on concentration of macronutrients, micronutrients and photosynthetic pigments in sunflower

		میانگین مربعات Mean of Squares								
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی D.F	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	آهن Iron	منگنز Manganese	مس Cupper	پتاسیم Potassium	فسفر Phosphorus	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoids
BF	1	91.780**	892.25**	642.87**	1052.19**	0.144**	0.026**	0.002**	0.034**	0.067**
AE	8	122.870**	1332.25**	506.34**	603.39**	0.165**	0.007*	0.452**	0.104**	0.071**
BF× AE	8	36.491**	924.00**	389.89**	716.06**	0.089**	0.004**	0.412**	0.098**	0.071**
خطا Error	36	0.42	0.43	0.068	5.45	0.001	0.002	0.002	0.001	0.003
ضریب تغییرات C.V٪		3.46	0.74	0.46	6.75	2.95	5.49	0.36	1.64	0.54

**، * و ns به ترتیب بیانگر معنادار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیر معنادار

BF : تلقیح بستر کشت با کودهای زیستی،

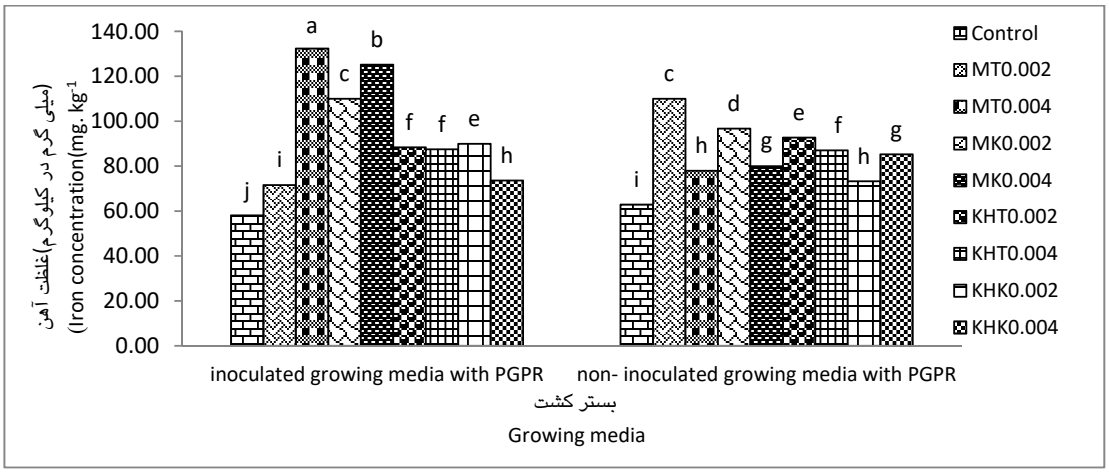
BF× AE : اثر متقابل تلقیح بستر کشت با کودهای زیستی و نوع، غلظت و روش مصرف عصاره یونجه

**,*, ns Represent a significant at the 1% and 5% and non-significant

BF: growing media with biofertilizer

AE: type, concentration and usage way of alfalfa extract

BF×AE: The interaction effect of growing media inoculated with biofertilizers and type, concentration and usage way of alfalfa extract



شکل۲- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر غلظت آهن اندام هوایی آفتابگردان

Figure2- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on iron concentration in sunflower shoot

شاهدControl،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.004}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.002}$،

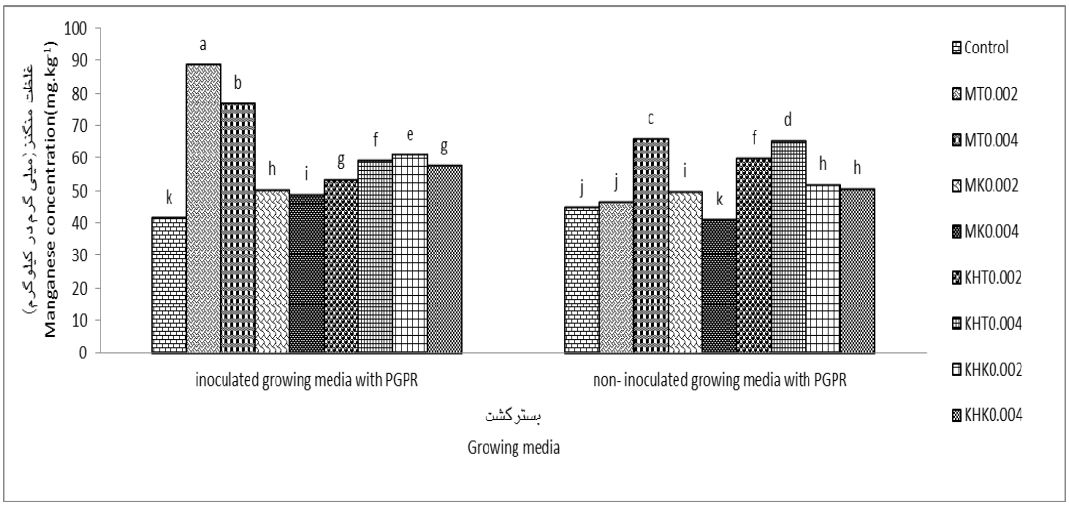
مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.002}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.004}$

در باکتریهای محرک رشد گیاه مانند جنس *سودوموناس* (Yang *et al*., 2009; Yang *et al*., 2011) و *ازتوباکتر* (Ahmad *et al*., 2006) اثبات شده است. گیاهان می‌توانند از سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری‌ها به عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند (Ahmad *et al*., 2006). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد کاربرد عصاره جلبک دریایی به صورت برگپاشی می‌تواند سبب افزایش غلظت آهن شود (Milton, 1962). مطابق با شکل۳، در بسترهای تلقیح شده با کود زیستی نسبت به بسترهای تلقیح نشده، غلظت منگنز اندام هوایی گیاه شاهد (بدون مصرف عصاره یونجه)، به‌طور معناداری افزایش یافت. بیشترین غلظت منگنز (۸۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) در بستر تلقیح شده با کودهای زیستی و محلول پاشی با سطح دو درهزار عصاره تازه یونجه مشاهده شد که ۲/۱ برابر غلظت شاهد بود.

در بستر تلقیح نشده نیز بیشترین غلظت منگنز (۶۶/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) در محلول پاشی با سطح چهار هزارم عصاره تازه یونجه مشاهده شد. غلظت منگنز در سطح مذکور نسبت به شاهد، ۴۲/۲ درصد افزایش نشان داد (شکل۳). میکروارگانیسم‌های محرک رشد در اغلب موارد باعث افزایش جذب عناصر ضروری برای گیاهان می‌شوند. توران و همکاران (Turan *et al*., 2014) اظهار داشتند باکتری گرم منفی *Pantoea agglomerans* باعث افزایش ۲۱/۷ درصدی غلظت منگنز کلم شد. همچنین دارسون و همکاران (Dursun *et al*., 2010)، بیان نمودند که *Pantoea agglomerans* باعث افزایش معنادار منگنز میوه گوجه فرنگی می‌شود. با توجه به اینکه *Pantoea agglomerans* در ترکیب کود زیستی



شکل۳- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر غلظت منگنز اندام هوایی آفتابگردان

Figure3- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on manganese concentration in sunflower shoot

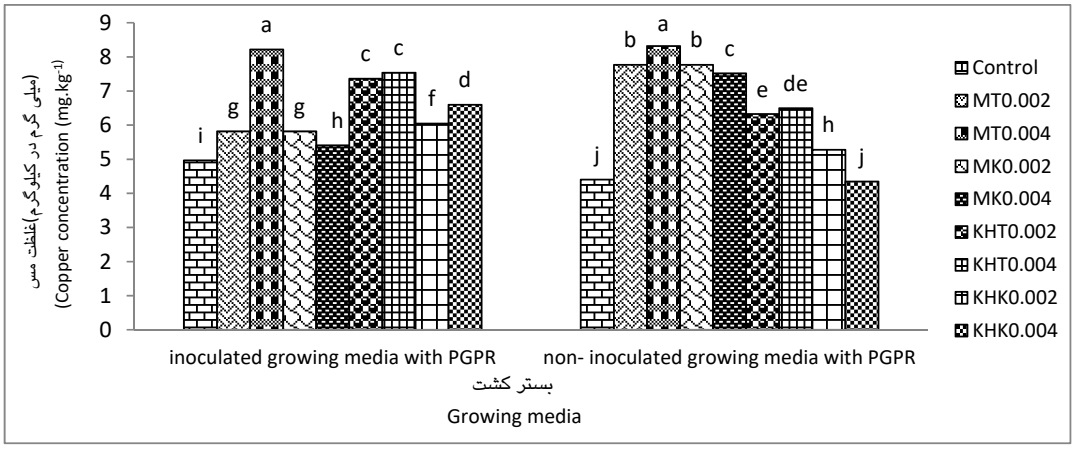


Figure 4- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on copper concentration in sunflower shoot

شاهدControl،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $MT_{0.004}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.002}$،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $MK_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.002}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: $KHT_{0.004}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.002}$،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: $KHK_{0.004}$

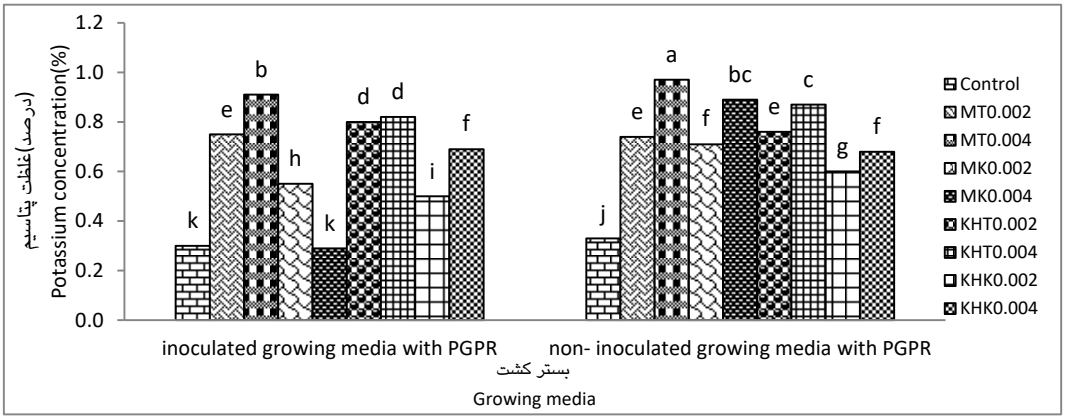
استفاده شده برای تلقیح خاک وجود دارد، به نظر می‌رسد که تلقیح بستر با کودهای زیستی و محلولپاشی با سطح دو هزارم عصاره تازه یونجه اثر هم‌افزایی بر افزایش جذب منگنز و در نتیجه افزایش غلظت این عنصر در اندام هوایی آفتابگردان دارد. در بسترهای تلقیح نشده نیز با افزایش غلظت منگنز در عصاره یونجه برگ‌پاشی شده (سطح چهار در هزار)، افزایش غلظت منگنز در اندام هوایی گیاهان طبیعی به نظر می‌رسد.

در مقایسه غلظت مس اندام هوایی گیاهان

شاهد در دو بستر تلقیح شده و تلقیح نشده، در بسترهای تلقیح شده با کودهای زیستی غلظت مس اندام هوایی افزایش معنادار نسبت به بسترهای تلقیح نشده نشان داد؛ که این نتیجه بیانگر آن است که تلقیح خاک با کود زیستی توانسته غلظت مس را در گیاهان به طور معناداری افزایش دهد (شکل۴). همچنین مصرف سطوح مختلف عصاره یونجه تازه و کهنه (به جز مصرف چهار هزارم عصاره کهنه یونجه) در بسترهای تلقیح نشده بصورت مصرف خاکی و برگ‌پاشی غلظت مس اندام هوایی گیاهان را افزایش دادند. برگ‌پاشی سطح چهار هزارم عصاره یونجه تازه نیز در بسترهای تلقیح نشده و تلقیح شده با کودهای زیستی تفاوت معناداری از نظر این صفت ندارند؛ و در بین تیمارهای اعمال شده بیش‌ترین تأثیر را در افزایش غلظت مس اندام هوایی گیاهان داشتند (شکل۴). جنسن (Jensen, 2004) گزارش کرد عصاره جلبک دریایی حاوی عناصر کم مصرف مانند روی و مس می‌باشد که می‌تواند به عنوان محرک رشد باشد. اسلانتاس و کاراکورت (Karakurt and Aslantas, 2010) بیان کردند که باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش جذب عناصر در گیاهان می‌شوند.

به نظر می‌رسد که تولید هورمون‌های گیاهی و تأثیر باکتری بر رشد و توسعه سیستم ریشه‌ای، عامل مؤثر در افزایش جذب عناصر غذایی باشد. نتایج تحقیقات اسپاپن و همکاران (Spaepen *et al*., 2007; Spaepen *et al*., 2008) نشان داد که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد، موجب تسهیل جذب عناصر ضروری، مقاومت بهتر در برابر تنش‌ها، افزایش سرعت رشد ریشه‌هایی قرار گرفته در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و یا فقیر از نظر عناصر غذایی می‌شود.

مطابق با شکل ۵، در مقایسه دو بستر تلقیح



شکل۵- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر غلظت پتاسیم اندام هوایی آفتابگردان

Figure 5- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on potassium concentration in sunflower shoot

شاهدControl،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: MT0.002،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: MT0.004،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: MK0.002،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: MK0.004،

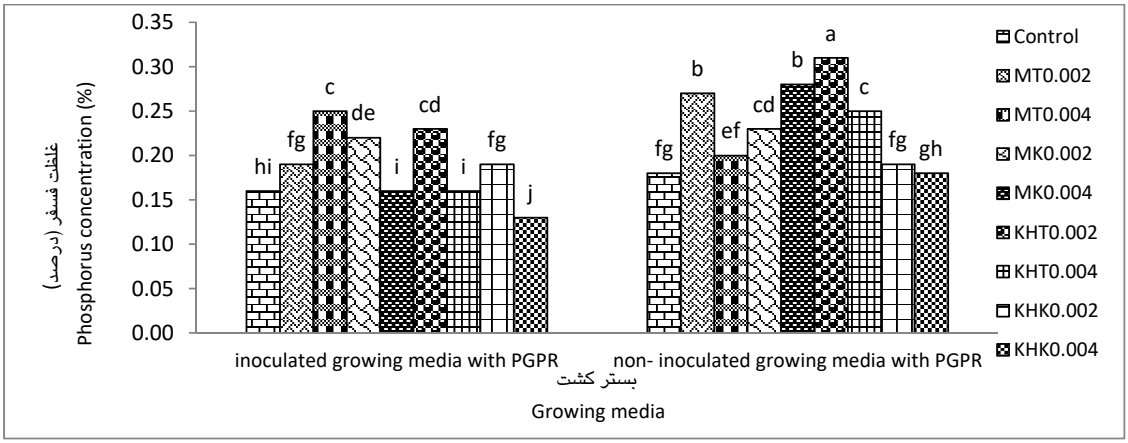
مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: KHT0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: KHT0.004،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: KHK0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: KHK0.004

شده و تلقیح نشده، بیشترین غلظت پتاسیم در بستر تلقیح نشده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد و در سطح چهار در هزار عصاره تازه یونجه و در روش برگ‌پاشی مشاهده شد که ۲/۹ برابر غلظت پتاسیم در سطح شاهد بود (شکل۵). در بستر تلقیح شده نیز همانند بستر تلقیح نشده بیشترین غلظت پتاسیم در همان سطح مذکور دیده شد که ۳ برابر غلظت در سطح شاهد بود (شکل۵). با افزایش غلظت عصاره یونجه مصرفی غلظت پتاسیم اندام هوایی آفتابگردان افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد غلظت چهار در هزار عصاره



شکل۶- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر غلظت فسفر اندام هوایی آفتابگردان

Figure 6- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on phosphorus concentration in sunflower shoot

شاهدControl،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: MT0.002،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: MT0.004،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: MK0.002،

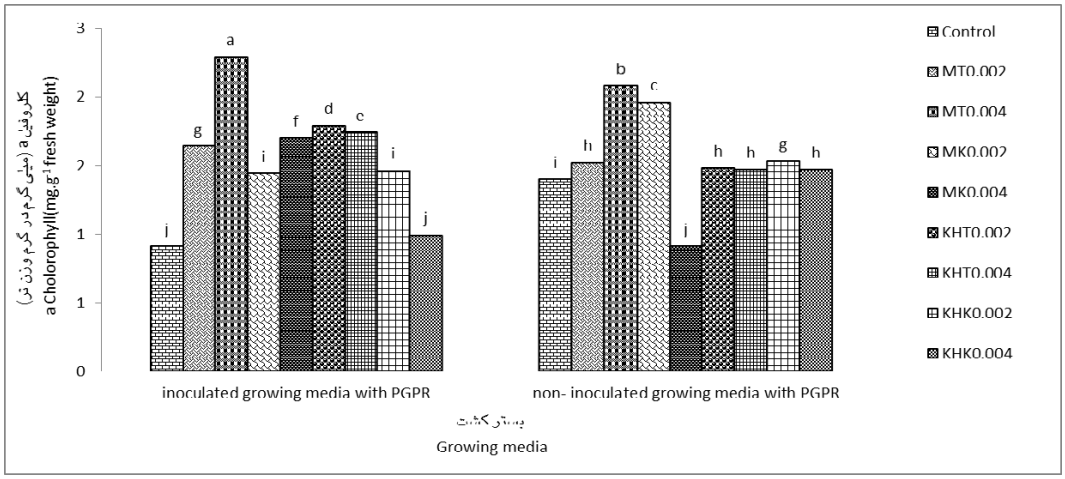
محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: MK0.004،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: KHT0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: KHT0.004،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: KHK0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: KHK0.004



شکل۷- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر میزان کلروفیل a اندام هوایی آفتابگردان

Figure 7- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on chlorophyll a in sunflower shoot

یونجه علاوه بر دارا بودن مقادیر بیشتری پتاسیم نسبت به سطوح دو در هزار و شاهد (جدول۲)، احتمالاً حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات هستند که در جذب و انتقال پتاسیم از ریشه به اندام هوایی گیاهان نقش دارد.

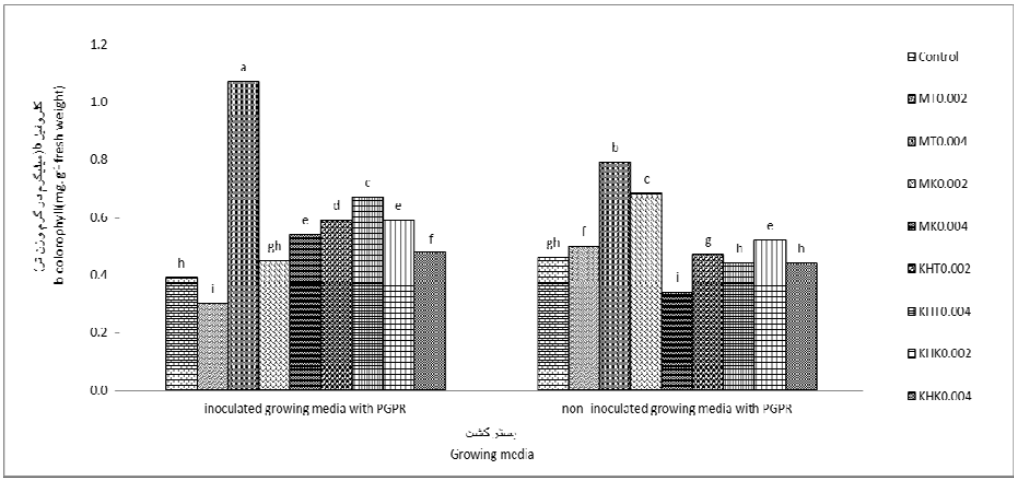
در مقایسه دو نوع بستر کشت، بیشترین غلظت فسفر در بستر تلقیح نشده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد و در سطح دو در هزار عصاره تازه یونجه و در روش مصرف خاکی بدست آمد که ۱/۷ برابر غلظت در سطح شاهد می‌باشد. بیشترین غلظت فسفر در بستر تلقیح شده با میکروارگانیسم‌ها نیز در سطح چهار در هزار عصاره تازه یونجه و در روش برگ‌پاشی حاصل شد که نسبت به سطح شاهد ۱۱ درصد افزایش معنادار نشان داد که البته مقدار فسفر در این سطح با سطح دو در هزار عصاره تازه یونجه و در روش مصرف خاکی تفاوت معناداری نداشت (شکل۶). کود زیستی فسفات بارور۲ منجر به کاهش pH خاک شده و با افزایش میزان فسفر در دسترس باعث افزایش ۱۰ تا ۵۴ درصدی عملکرد سورگوم نسبت به شاهد شده است (Khalili *et al*., 2008). علی‌رغم این گزارش همیشه و در همه شرایط میکروارگانیسم‌ها تأثیر مثبت در بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاهان ندارند؛ حتی در بعضی مواقع ممکن است اثرات منفی یا خنثی بر روی خصوصیات گیاهان داشته باشند (Nazari *et al*., 2008; Abbasnia *et al*., 2012; Miri *et al*., 2015) این موضوع به طبیعت زیستی میکروارگانیسم‌ها برمی‌گردد. به‌عبارت دیگر شرایط مختلف محیطی (از نظر pH، رطوبت، دما، فراوانی عناصر غذایی در خاک و غیره) ممکن است بر ابراز یا عدم ابراز بعضی ژنها در این موجودات اثر گذاشته که در این‌صورت شاهد رفتارهای متفاوتی از میکروارگانیسم‌ها خواهیم بود.

مطابق با شکل ۷، در مقایسه دو نوع بستر کشت (تلقیح شده و تلقیح نشده)، بیشترین میزان کلروفیل a گیاه در بستر تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد و در سطح چهار در هزار عصاره تازه یونجه و در روش مصرف محلول‌پاشی مشاهده شد که ۲/۵ برابر سطح شاهد است. در بستر تلقیح نشده نیز بیشترین میزان کلروفیلa گیاه همانند بستر تلقیح شده در سطح چهار هزارم عصاره تازه یونجه و در روش مصرف محلول‌پاشی بدست آمد. محققان در یک بررسی گلخانه‌ای نشان دادند که پاسخ ذرت به تیمار باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده‌های فسفر در بیشتر شاخص‌های رشد مثبت بوده است (Wue *et al*., 2005).

احتمالاً وجود تریاکونتانول طبیعی در ترکیب عصاره گیاه یونجه عامل افزایش کلروفیل a برگی در گیاهان است. زیرا تریاکونتانول با افزایش سریع در آسیمیلاسیون فتوسنتزی عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد (Ries, 1985). باکتری *سودوموناس* نیز بر میزان کلروفیل تأثیر معناداری داشته است. این افزایش کلروفیل را به افزایش فعالیت آنزیم‌هائی مانند کاتالاز و پراکسیداز نسبت داده‌اند. نقش این آنزیمها در سنتز کلروفیل یک فاکتور مهم محسوب می‌شود (Kavino *et al*., 2010). محققان عنوان کردند که تلقیح بذر ریحان *Ocimum basilicum* با *سودوموناس* باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود (Heidari *et al*., 2011).

در مقایسه دو نوع بستر کشت، بیشترین میزان کلروفیل b گیاه (۱/۰۷) در بستر تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد و در سطح چهار هزارم عصاره تازه یونجه و در روش مصرف برگ‌پاشی حاصل شد که ۲/۷ برابر میزان کلروفیل b در سطح شاهد بود (شکل۸). همچنین بیشترین مقدار کلروفیل b گیاه

(۱/۰۷) در بستر تلقیح نشده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد، در سطح چهار هزارم عصاره تازه یونجه و در روش مصرف برگ‌پاشی مشاهده شد. حال با توجه به ماکزیمم میزان کلروفیل b در هر دو بستر کشت (تلقیح شده و نشده) می‌توان گفت تلقیح بستر کشت با میکروارگانیسم‌های محرک رشد میزان کلروفیل b را ۳۵ درصد افزایش می‌دهد که این افزایش از لحاظ آماری معنادار است (جدول ۳).



شکل۸- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر میزان کلروفیل b اندام هوایی آفتابگردان

Figure 8- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on chlorophyll b in sunflower shoot

شاهدControl،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: MT0.002،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: MT0.004،

محلول پاشی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: MK0.002،

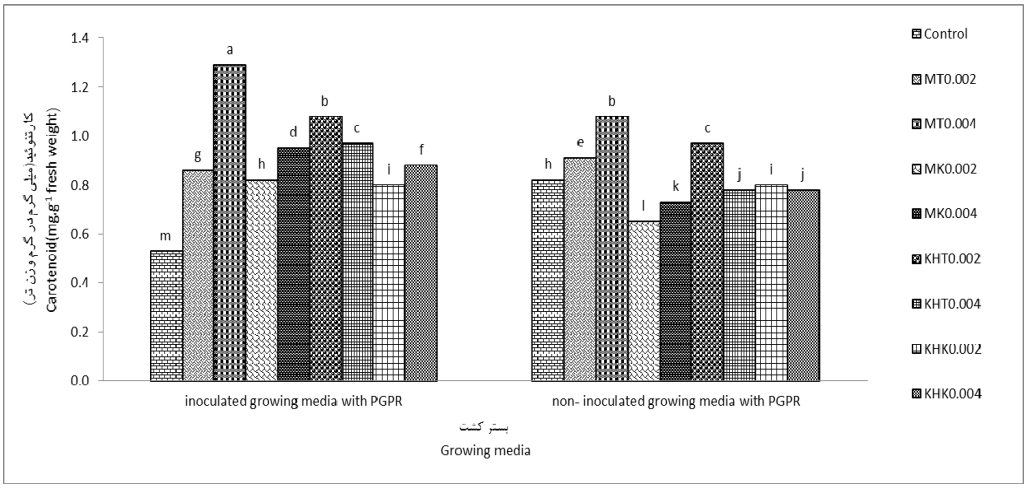
محلول پاشی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: MK0.004،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره تازه یونجه: KHT0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره تازه یونجه: KHT0.004،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۲ عصاره کهنه یونجه: KHK0.002،

مصرف خاکی سطح ۰/۰۰۴ عصاره کهنه یونجه: KHK0.004



شکل۹- تأثیر تلقیح بستر با کودهای زیستی و عصاره یونجه بر میزان کارتنوئید اندام هوایی آفتابگردان

Figure 9- The effects of inoculating the substrate with the use of bio-fertilizers and alfalfa extract on carotenoids in sunflower shoot

نتایج بلاندن و همکاران (Blunden *et al*., 1997) نشان می‌دهد که خوشه‌های موز با کاربرد محرک‌های رشد جلبکی، ۱۴ تا ۱۸ درصد افزایش یافته و در مورد ذرت نیز میزان افزایش محصول قابل توجه بوده است و همچنین سبب افزایش کلروفیل و فتوسنتز در برگ‌ها می‌گردد (Blunden *et al*., 1997; Whapham *et al*., 1993).

مطابق با شکل ۹ در مقایسه دو نوع بستر کشت، بیشترین میزان کارتنوئید (۱/۲۹) در بستر تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های محرک رشد و در سطح چهار هزارم عصاره تازه یونجه و در روش برگ‌پاشی مشاهده شد که ۲/۴ برابر میزان کارتنوئید در سطح شاهد بود. در بستر تلقیح نشده نیز همانند بستر تلقیح شده بیشترین میزان کارتنوئید نیز در همان سطح مذکور دیده شد که ۱/۳ برابر میزان کارتنوئید در سطح شاهد بود. تریاکونتانول، ترکیبات بهبود دهنده رشد یونجه، به عنوان موم در بسیاری از گیاهان یافت می‌شود (Chibnall *et al*.,1993). در پژوهشی سلول جلبک آزمایش شده *Chlamydomouas* با تریاکونتانول، ۷ درصد افزایش در کلروفیل و ۴۱ درصد افزایش در آسیمیلاسیون فتوسنتزی CO_2 در طول ۳ روز اول تیمارشدن نشان داد (Houtz *et al*., 1985). گزارش شده است که تریاکونتانول سبب افزایش سطوح گلیکولیپیدها (Shripathi and Swamy, 1994)، تغییر غشای پروتوپلاست (Shripathi *et al*., 1997) و تا اندازه‌ای ترمیم و حفظ اندام‌های فتوسنتزی بر گیاهچه می‌شود (Muthuchelian *et al*., 2003). اعتقاد بر این است که نقش تریاکونتانول در بهبود فتوسنتز در ارتباط با قابلیت آن در بهبود سطوح MGDG [4] (Shripathi and Swamy, 1994; Ramanarayan *et al*., 2000) و حفاظت از غشاهای تیلاکوئید از آسیب پراکسیداتیو می‌باشد (Shripathi and Swamy, 1994). MGDG گالاکتولیپیدی با درجه بالایی اسیدهای چرب می‌باشد که به نظر می‌رسد در بسته بندی پروتئین‌های فتوسیستم I دخالت دارد (Shripathi and Swamy, 1994; Dominy and Williams, 1987).

4- monogalactosyldiacylglycerol

نتیجه گیری

می‌توان نتیجه گرفت که افزودن ترکیب کودهای زیستی ازتو بارور۱ و فسفات بارور۲ به بسترهای کشت، باعث کاهش اغلب صفات کمی و کیفی آفتابگردان شد. همیشه میکروارگانیسم‌ها تأثیر مثبت در بهبود صفات گیاهان ندارند. در بعضی مواقع ممکن است بی‌اثر یا حتی اثرات منفی بر روی خصوصیات کمی و کیفی گیاهان داشته باشند. در هر دو بستر کشت تلقیح نشده و تلقیح شده با کودهای زیستی، مصرف عصاره‌های تازه و کهنه یونجه در سطوح دو و چهار در هزار نسبت به شاهد باعث بهبود صفات کمی و کیفی گیاهان شد. همچنین جهت افزایش وزن خشک، غلظت عناصر پرمصرف و کم مصرف و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه آفتابگردان کاربرد عصاره تازه یونجه نسبت به عصاره کهنه ارجحیت دارد. به استثنای فسفر برای بالا بردن غلظت مابقی عناصر اندازه‌گیری شده در اندام هوایی آفتابگردان می‌توان عصاره یونجه را به صورت برگ‌پاشی به کار برد. اما توصیه می‌گردد آزمایشهای مزرعه‌ای برای رسیدن به نتایج واقعی‌تر انجام گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از دانشگاه زابل به جهت حمایت کامل مالی از این تحقیق اعلام می‌نمایند. شماره گرنت: ۷۹.

REFERENCES

Abbasnia, Y., Zare, S.K., Sedaghathoor, S. and Padasht, D.M.N. 2012. Effect of biofertilizer application on growth parameters of spathiphyllum illusion. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 12 (5): 669-673.

Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M.S. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 36: 1-9.

Ahmed, S.H., Gendy, A.H., Hussein, A.A.M., Said-Al, A.H.L. and Mohamed Hanaa, F.Y. 2013. Effect of Some Nitrogen Sources, Bio-Fertilizers and Their Interaction on the Growth, Seed Yield and Chemical composition of guar plants. *Life Science*, 10(3):389-402.

Amal, G., Ahmed, S., Orabi, A.M. and Gomaa, M. 2010. Bio-Organic Farming of Grain Sorghum and its Effect on Growth, Physiological and Yield Parameters and Antioxidant Enzymes Activity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3): 270-279.

Andres, D.N., Latronico, A., Ines, E. and Salamone, D.G. 2009. Inoculation of Wheat with Azospirillum brasilense and Pseudom onas fluorescens: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology*, 45(1): 44 -51.

Arnon, A.N. 1967. Method & of extraction of chlorophyll in the plant. *Agronomy Journal*, 23:112-121.

Arzansh, M.H., Benny Aghil, N., Ghorbanly, M.L. and Shahbazi, M. 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters and levels of micronutrient on rapeseed cultivars under salinity stress. *Journal of Soil Management and Sustainable*, 2(2): 153-164. (In Persian)

Bahraminejad, S., Asenstorfer, R.E., Riley, I.T. and Schultz, C.J. 2008. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots oats (*Avena sativa* L.). *Phytopathology Journal*, 156: 1 – 7.

Black, C.A. and Evans, D.D. 1965. Methods of soil analysis, Part 1 and 2. Agronomy 9.AM.Soc. Agron. Madison, WI. USA.

Blunden, G., Jenkins, T. and Liu, Y. 1997. Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *Journal of Applied Phycology*, 8: 535–543.

Chapman, H.D. and Pratt, D.F. 1961. Methods of Analysis for Soil, Plant, and Water. University of California division of agricultural sciences. 60 p.

Chibnall, A.C., Williams, E.F., Latner, A.L. and Piper, S.H. 1933. The isolation of triacontanol from lucerne wax. *Biochemical Journal*, 27: 1885-1888.

Chopra, N., Nayar, L. and Chopra, C. 1986. Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.pp: 16-35.

Dominy, P.J. and Williams, W.P. 1987. Is a mono galactosyl diacylglycerol involved in the packaging of light harvesting chlorophyll proteins in the thylakoid membrane. In: Stump F, P.K., Mudd J.B. and Nes, W.D. (eds). The metabolism, structure and function of plant lipids. Plenum Press, New York. pp: 185-187

Day, P.R. 1965. Particle fractionation and particle size analysis., In: Black, C.A., Evans, D.D., White, L.J., Ensminger, L.E. and Clark, F.E. (eds). Methods of Soil Analysis. Part 1, American Society of Agronomy, Madison, WI. Page AL, *et al*.,eds. American Society Agronomy. Madison,WI,pp: 545-567

Giridhar, P., Rajasekaran, T. and Ravishankar, G.A. 2005. Improvement of growth and root specific flavour compound 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde of micropropagated plants of Wight & Arn., under triacontanol treatment, *Scientia Horticulturae*,106: 228-236.

Gupta, P.K. 2000. Soil plant water and fertilizer Analysis. Agrobios pub.Bikaner.India.

Heidari, M. and Golpayegani, A. 2011. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 23: 1-5.

Helmke, P.A. and Sparks, D.L. 1996. Lithium, sodium, potassium, cesium, and rubidium. In: Sparks, D.L. (ed). Methods of soil analysis: Part 3. Chemical methods and processes. Madison, Soil Science Society, pp:551-574.

Houtz, R.L., Ries, S.K. and Tolbert, N.E. 1985. Effect of Triacontanol on Chlamydomonas: I.

Stimulation of growth and photosynthetic CO2 assimilation. *Plan Physiology*, 79: 357-364.

Jain, M.C., Choudhary, H.D., Sharma, M.K., Bhatnagar, P. and Gupta, N.K. 2015. Effect and economic feasibility of plant growth regulators on yield of Nagpur mandarin (*Citrus reticulate* Blanco.). *International Journal of Advanced Biological Research*, 5(1): 1- 4.

Jensen, E. 2004. Seaweed, Fact or Fanc. From the Organic Broadcaster, Published by Moses the Midwest Organic and Sustainable Education. *Broadcast*,12(3): 164-170.

Karakurt, H. and Aslantas, R. 2010. Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple. *Journal of Fruit Ornamental Plant Research*, 18(1): 101-110.

Karimzadeh Asl, K.H., Mazaheri, D. and Pieghambari, S.A. 2003. Effect of four irrigation interval on the seed yield on the quantities characteristics of the three sunflower cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 24: 293-300.

Khalili, A., Akbari, N. and Chaichi, M.R. 2008. Limited irrigation and phosphorus fertilizer effects on yield and yield components of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. var. Kimia). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 3(5): 697-702.

Kavino, M., Harish, S. Kumar, N. Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2010. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa spp.*) under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 45: 71–77.

Lindsay, W.L. and Norvell, W.A.1987. Development of DTPA Soil test for Zinc, Iron, Mangnese and Copper. *Soil Science Society American Journal*, 42: 421-428.

Milton, R.F. 1962. The production of compounds of heavy metals with organic residues. British Patient No.902, pp: 563.3.

Miri, A., Gholamalizadeh Ahangar, A., Shirmohammadi, E. and Ghorbani, M. 2015. The effects of alfalfa extract and plant growth promoting rhizobacteria on growth and uptake of micronutrients in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Var. Speedfeed). *Azarian Journal of Agriculture*, 2(4): 108-114.

Moore, T.C. 1989. Biochemistry and physiology of plant hormones. Springer Verlag New York. pp:94-150.

Muthuchelian, K., Velayutham, M. and Nedunchezhian, N. 2003. Ameliorating effect of Triacontanol on acidic mist-treated Erythrina variegate seedlings changes in growth and photosynthetic activities. *Plant Science*, 165:1253-1257.

Nazari, F., Farahmand, H., Eshghi, S., Niki, M., and Eslamzade M. 2008. The effect of different soil amendments on growth and flowering of African marigold (*Tagetes erecta* L.) 'Queen'. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16: 403-415.

Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In D. L. Sparks et al (eds.). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society American Book Series No. 5, SSSA and ASA, Madison, WI. pp: 961-1010.

Olsen, S.R. and Sommers, L.E.1982. Phosphorus. In: Page AL et al (eds). Methods of soil analysis, Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr, ASA and Soil. Science Society American Madison, Wisconsin. pp: 403–427.

Page, A.L., Miller, R.H. and Do Keeney, R. 1982. Method of soil and Microbiological properties. Second Edition, USA: American Society Agronomy Science America Publisher.

Rahi, A.R. 2013. Effect of nitroxin biofertilizer on morphological and physiological traits of Amaranthus retroflexus. Iranian. *Journal of Plant Physiology*, 4(1): 899-905.

Ramanarayan, K., Bhat, A. Shripathi, V., Swamy, G.S. and Rao, K.S. 2000. ffriacontanol inhibits both enzymatic and nonenzymatic lipid peroxidation. *Photochemistry*, 55:59-66**.**

Reiley, H.E and Shry, C.L. 2000. Introductory Horticulture (6th ed.). Delmaralbany.

Ries, S. 1991.Triacontanol and its secondary messenger 9-Adenosine as plant growth substances. *Plant Physiology*, 95:986-989.

Ries, S.K. 1985. Regulation of plant growth with triacontanol.*Critical Reviews in Plant Sciences,* 2(3):239-285.

Ries, S.K., Wert, V. and Biernbaum, J.A. 1984. Interference of Triacontanol activity by

chemical constituents present in experimental and field sprayers. *Journal of American Society Horticulture Science*, 109: 145-150.

Ries, S.K., Bittenbender, H., Hangarter, R., Kolker, L., Morris, G. and Wert, V. 1977a. Improved growth and Yield of crops from organic supplements. In: Energy and Agriculture. Academic Press, New York. pp: 377-384 .

Ries, S.K., Wert, V.F., Sweeley, C.C. and Leavitt, R.A.1977b. Triacontanol: a new naturally occurring plant drowth regulator. *Science*, 195:1339-41.

Shahrekizad, M., Gholamalizadeh Ahangar, A. and Mir, N. 2015. EDTA-coated Fe_3O_4 nanoparticles: a novel biocompatible fertilizer for improving agronomic traits of sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Nanostructure*, 5: 117-127.

Sharma, A., Johri, B.N., Sharma, A.K. and Glick, B.R. 2003. Plant growth promoting bacterium Pseudomonos sp. Strain GRP3 influences iron acquisition in mungbean. *Soil Biology*, 35: 887-894.

Shikur, T.K. 2012. Alfalfa extract as a plant growth regulator: Response of Troyer Citrange(*Citrus sinensis X Poncirus trifoliata*)seedlings to Alfalfa (*Medicago sativa* L.) crude extract. LAP LAMBERT Academic Publishing.

Shripathi, V., Swamy, G.S. and Chandrasekhar, K.S. 1997. Microviscosity of cucumber (*Cucumis sativus L.*) fruit protoplast membranes is altered by triacontanol and abscisic acid. *Biochimical and Biophysical Acta*. 1323:263-271.

Shripathi, V. and Swamy, G.S.1994. Effect of triacontanol on the lipid composition of cotton (*Gossypium hirsutum* L .) leaves and its interaction with indole-3-acetic acid and benzyl adenine. *Plant Growth Regulation,* 14:45-50.

Sobin, C., Parisi, N. and Schaub, T. 2011. Bland–Altman Comparison of the Lead Care® System and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Detecting Low-Level Lead in Child Whole Blood Samples. *Journal of Method Toxicology*, 7:24–32.

Spaepen, S., Dobbelaere, S., Croonenborghs, A. and Vanderleyden, J. 2008. Effects of Azospirillum brasilense indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. Plant Soil, 312: 15-23.

Spaepen S, Vanderleyden, J. and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *Microbology Review*s, 31: 425-448.

Swamy, G.S. 2004.Triacontanol negatively modulates the jasmonic acid- stimulated proteinase inhibitors in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of Plant Physiology*, 161:489-492.

Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks, DL (ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3 chemical methods, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. pp: 475-491P.

Whapham, C.A., Blunden, G., Jenkins, T. and Hankins, S.D. 1993. Significance of betaines in the increased chlorophyll content of plants treated with seaweed extract. *Journal of Applied Phycology*, 5: 231–234.

Westerman, L.R. 1990 . Soil Testing and Plant Analysis. Soil Science Society of America, INC. Madison, Wisconsin, USA.

Wue, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C. and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125: 155-166.

Yang, W., Xu, H.H., Wang, L.L. Liu, J.D., Shi, C. and Wang, D.L. 2009. Comparative effects of Salt stress sand alkali-stress on the growth, photosynthesis solute accumulation, and ion balance of barley plant. *Photosynthetic*, 47: 79-86.

Yang, M.M., Mavrodi, D.V., Mavrodi, O.V., Bonsall, R.F., Parejko, J.A., Paulitz, T.C., Thomashow, L.S., Yang, H.T., Weller, D.M. and Guo, J.H. 2011. Biological Control of Take-all by *Fluorescent Pseudomonas* spp. from Chinese Wheat Fields. *Phytopathology*, 101 (14): 81-91.

Effect of usage way of alfalfa extract and bio-fertilizers on concentration of macronutrients, micronutrients and photosynthetic pigments in sunflower

Asma Miri[1], Ahmad Gholamalizadeh Ahangar[2], Maryam Ghorbani[3]*, Ebrahim Shirmohammadi[3]

1- M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Sciences, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Iran
2- Associate. Prof., Department of Soil Sciences, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Iran
3- Lecturer, Department of Soil Sciences, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Iran

*Corresponding Author Email: *maryamghorbani56@yahoo.com*

Receive: January 10, 2017; Revise: May 31, 2017; Accept: July 16, 2017

ABSTRACT

Application of bio-fertilizers as plant nutrition is one of the vital solutions to increase plant yield and its quality. Therefore, pot experiment with factorial of completely randomized design with three replications was conducted in the research greenhouse of Zabol University. The first factor was bio-fertilizers which contains two levels of non-inoculated and non-sterile (control) and inoculated soil growing media with bio-fertilizers: Nitrogen fertilizer 1 (microorganism *Azeotobacter*) and phosphate fertilizer 2 (containing microorganisms *Pseudomonas putida, Pantoea agglomrans*) and the second factor was alfalfa extract from freshly harvested alfalfa and last year harvested alfalfa (old) which was used as foliar and soil application with two levels of concentrations 2 and 4 per thousand with control(total 9 levels). In this experiment, the sunflower (*Helianthus annuus* L.) was cultivated in non-sterile soil growing media. Pots field capacity was kept at 70% by weighting. The results showed that the highest concentrations of Fe (132.35 mg kg^{-1}), Mn (89 mg kg^{-1}), chlorophyll a (2.29 mg g^{-1}), chlorophyll b (1.07 mg g^{-1}) and carotenoids (1.29 mg g^{-1}) in sunflower shoot belonged to inoculated growing media with bio-fertilizers and the foliar consumption fresh extracts of alfalfa. The highest potassium concentration was seen in shoot (0.97 percent) in non-inoculated growing media and the foliar consumption fresh extracts of alfalfa was observed at four per thousand level. Resulted also indicated that the maximum dry weight (28.93 g.pot^{-1}) belonged to non-inoculated with bio fertilizers and fresh foliar application at four per thousand level.

Keywords: *Carotenoids; Dry weight; Foliar consumption*

How to cite this article
Miri A, Gholamalizadeh Ahangar A, Ghorbani M, Shirmohammadi E. Effect of Usage Way of Alfalfa Extract and Bio fertilizers on Concentration of Macronutrients, Micronutrients and Photosynthetic Pigments in Sunflower. J Crop Sci Res Arid Reg, 2017; 1(2):204-220. DOI: 10.22034/csrar.01.02.07

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the CSRAR Journal.
The content of this article is distributed under CSRAR open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0) License. For more information, please visit http://cropscience.uoz.ac.ir/?lang=en.