نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۸، شماره۵ ، آذر - دی ۱۳۸۹، ص ۸۱۱-۸۰۴

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 8, No. 5, Nov. – Dec. 2010, p. 804-811

بررسی ممانعت از نیتریفیکاسیون توسط ترشحات ریشه ای و مواد گیاهی گراس *Brachiaria humidicola*

محمد کاظم سوری[۱*]- مصطفی عرب[۲] - گونتر نیومن[۳]

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۹
تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۴

چکیده

ممانعت کننده‌های نیتریفیکاسیون مواد مصنوعی و یا طبیعی هستند که از اکسید شدن آمونیم به نیترات در خاک جلوگیری کرده و از اینرو استفاده وسیعی در ترکیب با کودهای آمونیمی دارند. در بین گیاهان، گراسها همواره از نظر کنترل فرآیند نیتریفیکاسیون مورد توجه بوده اند و اخیراً شکل نیتروژن (آمونیم در مقابل نیترات) به عنوان عامل مهمی در ترشح مواد کنترل کننده نیتریفیکاسیون در گراسها مطرح شده است. در این مطالعه تولید و انتشار مواد طبیعی ممانعت کننده نیتریفیکاسیون در گیاه *Brachiaria humidicola* مورد مطالعه قرار گرفت. جهت بررسی اثرات شکل نیتروژن بر تولید و آزاد سازی (ریشه ای) مواد طبیعی ممانعت کننده نیتریفیکاسیون، دانهال‌های گیاه با استفاده از دو منبع نیتروژن در محلول غذایی حاوی آمونیم یا نیترات تحت شرایط کنترل شده اتاقک رشد تیمار گردیدند. ترشحات ریشه گیاهان در دو محیط متفاوت از نظر ترکیب شیمیایی (آب مقطر و یا کلرید آمونیم) جمع آوری شدند و همراه پودر برگ و ریشه گیاهان که به صورت همگن و جداگانه تهیه شده بودند جهت بررسی اثر آنها بر نیتریفیکاسیون در تست خاکی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاکی از اثرات متفاوت شکل نیتروژن و محیط جمع آوری ترشحات ریشه بر فرایند نیتریفیکاسیون در خاک بود. در بررسی زیست آزمون (Bioassay) وقتی ترشحات ریشه در آب مقطر جمع آوری شد، هیچ گونه اثرات ممانعت کنندگی بر فرآیند نیتریفیکاسیون توسط ترشحات ریشه مشاهده نگردید. اما جمع آوری ترشحات ریشه در محیط حاوی یک میلی مولار کلرید آمونیم بیانگر اثرات ممانعت کنندگی آن بر فرآیند نیتریفیکاسیون در گیاهانی بود که تحت شرایط تغذیه آمونیمی و نه نیترات رشد کرده بودند. از سویی دیگر اثرات مواد همگن برگی بر فرآیند نیتریفیکاسیون در خاک بیانگر اثرات ممانعت کنندگی این مواد جدا از شکل نیتروژن کاربردی بود بطوری که مواد همگن برگ تمام گیاهان تغذیه شده با آمونیم و یا نیترات این ممانعت را نشان دادند. مواد همگن ریشه ای هیچ گونه تأثیر معنی داری بر فرایند نیتریفیکاسیون نشان ندادند. این نتایج بیانگر تولید مواد ممانعت کننده نیتریفیکاسیون مستقل از نوع منبع نیتروژنی در این گیاه می‌باشد.

واژه های کلیدی: نیتریفیکاسیون، ترشحات ریشه، نیترات، آمونیم، *Brachiaria humidicola*، همگن برگ و ریشه

مقدمه

نیتریفیکاسیون اکسید شدن میکروبی شکل آمونیمی نیتروژن (پایدار) به نیترات (متحرک) در خاک است. این فرآیند منبع و اساس تمام آلودگیهای زیست محیطی و مشکلات مربوط به نیترات در خاک می‌باشد. نیتریفیکاسیون به سبب همین آلودگی‌های منابع آب و خاک اصولاً با تولید پایدار منطبق نمی باشد، بعلاوه اینکه گازهای بسیار خطرناکی که در طی این فرآیند آزاد می‌شود نقش مهمی در اثر گلخانه ای و گرم شدن کره زمین، و همچنین تخریب لایه ازن دارند.

به هر حال فرآیند نیتریفیکاسیون می‌تواند تا حدودی توسط ترکیبات شیمیایی مصنوعی و یا طبیعی ممانعت گردد. ممانعت از اکسید شدن آمونیم به نیترات میتواند اثرات سوء نیترات و مواد حدواسطی را که در طی تغییرو تبدیل نیترات به وجود می‌آیند کاهش داده و راندمان کودهای نیتروژنه را به طور چشمگیری افزایش دهد (۵ و ۹).

Brachiaria گونه‌های گراس با متابولیسم چهار کربنه می‌باشند که سازگاری وسیعی با نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری مخصوصاً در آمریکای جنوبی دارند. گونه‌های مختلف *Brachiaria* از نظر حفظ حاصلخیزی خاک در مناطق گرمسیری پرباران و همچنین تغذیه دام با ارزش بوده و حدود ۸۵٪ کل علوفه زارهای آمریکای جنوبی را شامل می‌شود، بعلاوه اینکه آنها در مقایسه با دیگر گیاهان تحت شرایط خاکهای فقیر این نواحی تولید بیوماس بیشتری دارند (۶). بررسی‌های اخیر تحت شرایط آزمایشگاهی و مزرعه ای نشان می‌دهد

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
(*- نویسنده مسئول: Email: mk.souri@modares.ac.ir)
۲- استادیار گروه باغبانی دانشگاه تهران (پردیس ابوریحان)
۳- استاد انستیتو تغذیه گیاهی دانشگاه هوهنهایم آلمان

کـه ترشـحات ریـشه گیـاه *Brachiaria humidicola* accession 26159 به طور مؤثری می‌تواند از فرآینـد نیتریفیکاسـیون جلـوگیری نماید (۲، ۱۰، ۱۱ و۱۳). این نتایج بیـان میدارنـد کـه اثـرات ممانعـت کنندگی ترشحات ریشه ناشی از تغذیه گیاه تحت شرایط وجود آمونیم و نه نیترات در محیط ریشه اسـت، بطـوری کـه ترشـحات ریـشه ای گیاهان تغذیه شده با آمونیم چندین برابر گیاهان تغذیه شده با نیتـرات از فرآیند نیتریفیکاسیون ممانعت مـی‌کنـد. شـکل نیتـروژن مـصرفی ممکن است اثرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مهمی بر گیاه داشـته باشد (۴)، لذا همانطور که تحقیقـات مـذکور نـشان مـی‌دهـد آمـونیم ممکن است در آزاد سازی مواد ممانعت کننده در ترشـحات ریـشه ای توسط مکانیسمهای فعال هماننـد آنچـه در فایتوسـیدروفورها[1] اتفـاق می‌افتد و یا مکانیسمهای غیر فعال مانند انتشار مواد به محیط ریـشه دخالت داشته باشد. از سویی دیگر توانایی ممانعـت از نیتریفیکاسـیون ممکن است یک واکنش خاص گیاه بـه شـرایط تـنش باشـد (مقـدار عناصر غذایی کم در خاک و pH پایین خاک). تحقیقات و مطالعات در مورد ویژگیهای مـواد طبیعـی ممانعـت کننـده نیتریفیکاسـیون بـسیار محدود می‌باشد، بعلاوه اینکه در مورد گراس مورد مطالعه هـیچ گونـه گزارشـی در مـورد نحـوه و مکـان تولیـد ترکیبـات ممانعـت کننـده نیتریفیکاسیون وجود ندارد. لذا در ایـن مطالعـه اثـرات فـرم نیتـروژن، محیط جمع آوری ترشحات ریشه و همچنین شدت‌های مختلـف نـور در اطاقـک رشـد بـر تولیـد و ترشـح ترکیبـات ممانعـت کننـده نیتریفیکاسیون در ترشحات ریشه ای و مواد گیـاهی (همگـن بـرگ و ریشه) گراس مذکور مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۶ در دانشگاه هوهنهایم آلمان بر اساس طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و تحت سیـستم آب کـشت انجـام شد. بـذور گیـاه *Brachiaria humidicola* accession 26159 از CIAT[2] در کشور کلمبیا خریـداری و در بـستر شـن ریـز (۰/۵-۰/۰۲ میلیمتر) در°C ۲۵ جوانه دار شدند. در مرحله دو برگی دانهال ها تحت شرایط کنترل شده ابتدا برای مدت ۲ هفته در محلول غذایی با شـکل نیتروژن نیتراتی رشد کرده و سپس به شرایط تیمارها (محلول غـذایی حاوی آمونیم یا نیترات بـا یـا بـدون شـدتهای مختلـف نـور) منتقـل گردیدند. محلول غذایی طبق روش والش لیو و همکـاران (۱۴) تهیـه گردید. نیتروژن به فرم نیترات کلسیم و یا سولفات آمونیم به میـزان ۲ میلی مول نیتروژن (۲۸ میلیگرم نیتروژن بر لیتـر) بکـار رفـت. بـرای کنترل pH از مورفولینواتان سولفونیک اسید (MES) بـه میـزان یـک غلظت نهایی ۳ میلی مول در محلول غذایی استفاده شد. علاوه بر آن تغییرات جزئی در pH محلـول غـذایی دو بـار در طـی شـبانه روز بـا استفاده از هیدروکسید پتاسیم، هیدروکسید کلسیم و اسید سـولفوریک اصلاح گردید. گیاهان در اطاقک رشد در یک رژیم نوری ۱۶/۸ (شب/ روز) و دمـای °C ۲۸/۲۴ (شـب/ روز) و شـدت نـور ۴۰۰-۳۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه با چهار تکرار و ۱۰ گیاه در گلدان رشد نمودند. موقعیت گیاهان به طور مرتب هر روز در اطاقک رشد عـوض می‌شد تا از تغییرات جزیی مرتبط با اطاقک رشد ممانعت گردد.

جهت مطالعه اثرات شدت نور در تولید و آزادسازی مـواد ممانعـت کننده در ترشحات ریشه ای، سه سطح نـور ۱۸۰، ۲۴۰ و ۴۰۰ میکـرو مول بر متر مربع بر ثانیه ($\mu mol/m^2s^{-1}$) که در این آزمایش به ترتیب بیانگر شدت نور کم، متوسط و زیاد می‌باشند در شرایط رشدی یکسان در اطاقک رشد بکار رفت. این تیمارها و شـرایط نـوری بـا قـراردادن گلدان ها ی پلاستیکی سیاه رنگ (حاوی محلـول غـذایی همـراه بـا گیاهان موجود در آن) در قسمت‌هـای مرکـزی و حاشـیه ای اطاقـک رشد به ترتیب برای شدت نور زیـاد و متوسـط، و اسـتفاده از پوشـش پلاستیکی برای شدت نور کـم ایجـاد گردیدنـد. طـول مـدت اعمـال تیمارها همواره ۲ هفته بود که بعد از آن ویژگیهای رشد و نمو گیاهان و ترشحات ریشه ای آنها جمع آوری گردید.

شاخص کلروفیل گیاهان در پایان دوره تیمارهـا بوسـیله دسـتگاه کلروفیل سنج مدل (SPAD-502) اندازه گیری گردید. مـواد همگـن برگ یا ریشه نیز بعد از جمع آوری ترشحات ریـشه، بـا هـاون کـردن برگ و ریشه تازه در نیتروژن مایع تهیه شد. مقادیر ۰/۲۵ یا ۰/۵ گـرم پودر برگی و یا ۰/۵ گرم پودر ریشه در زیـست آزمـون (اینکوباسـیون برای مدت ۵۰ ساعت در مقابل ۲۴ ساعت برای ترشـحات ریـشه ای) جهت بررسی پتانسیل ممانعت کنندگی آنهـا بـر نیتریفیکاسـیون بکـار رفت.

بعد از چهار هفته رشد و نمو در شرایط کنترل شـده، ابتـدا ریـشه گیاهان قبل از جمع آوری ترشحات ریشه ای برای حدود دو دقیقـه در آب مقطر شستشو گردید. ترشحات ریشه برای مدت ۲۴ ساعت در نیم لیتر آب مقطر و یا نیم لیتر محلول ۱ میلی مول کلریـد آمـونیم تحـت هوادهی دائمی جمع آوری شد (۹). سـپس محلـول جمـع آوری شـده فوراً بـه دمـای ۲۰- درجـه سـانتیگراد منتقـل و بـه صـورت منجمـد نگهداری گردید. در زمان کاربرد محلول منجمد شده در دمـای اطـاق ذوب شـده و در دمـای ۳۵ درجـه سـانتیگراد بـا اسـتفاده از دسـتگاه تبخیرکن روتاری تا خشک شدن متراکم و سپس به ترتیب با متـانول و دی متیل سولفوکسید (۰/۶٪) عصاره گیری شد (۱۱). عصاره بدست آمده را با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۵ میلی لیتر رسـانده و مقـدار ۲/۵ میلی لیتر برای هر تکرار (نمونه) در تست نیتریفیکاسیون (زیـست آزمون) بکار برده شد. تست مذکور شامل چهار نمونه به عنوان تکرار و دو نمونه نگهداری شده در شرایط انجماد جهـت تعـین میـزان زمینـه

1- Phytosidrophores
2- Centro Internacional de Agricultura Tropical

ای[1] نیتریت در نمونه، می‌باشد. میزان نیتریفیکاسیون از میزان نیتریت تولید شده در نمونه ها منهای میانگین نیتریت دو نمونه نگهداری شده در شرایط انجماد به صورت میلیگرم بر لیتر بدست می‌آید که سپس بر اساس میزان خاک بکار رفته در زیست آزمون به صورت میلی گرم نیتریت تولید شده در ۱۰۰ گرم خاک خشک ارائه شده است. تست نیتریفیکاسیون یا میکرو تست کاربردی اندازه گیری سریع میزان نیتریفیکاسیون بر اساس تولید نیتریت در طول یک زمان محدود در نمونه‌های خاکی طبق روش کاندلر (۳) میباشد. در این تست از دو نوع کنترل استفاده گردید: یکی آب مقطر به جای ترشحات ریشه ای یا مواد گیاهی، که بیانگر پتانسیل نیتریفیکاسیون تحت شرایط آزمایشی است، و دیگری دی متیل پیرازول فسفات[2] که به عنوان یک ممانعت کننده مصنوعی و استاندارد فرآیند نیتریفیکاسیون مطرح است (۱۵). داده ها و میانگین تیمارها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون دانکن در سطح ۵٪ تجزیه و مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

گیاهان جنس *Brachiaria* از معدود گیاهانی هستند که سازگاری خوبی با تغذیه هر دو شکل نیتروژن آمونیمی و نیتراتی نشان می‌دهند، ولی آنها شرایط اسیدی (تغذیه آمونیمی) را بهتر از شرایط pH بالای خاک تحمل میکنند (۹). تغییرات شدید pH محلول غذایی وقتی شکل نیتروژن کاربردی آمونیم (کاهش pH) یا نیترات (افزایش pH) باشد واقعیتی انکار نشدنی است که در این آزمایش نیز مشاهده گردید (شکل ۱). البته این تغییرات بسته به سن گیاه و بویژه گونه گیاهی فرق میکند (۹). ترشحات ریشه گیاه در شرایط تغذیه نیترات و یا آمونیم و بدون کنترل pH محلول غذایی (شکل ۲A)، پس از جمع آوری در آب مقطر هیچ گونه اثرات ممانعت کنندگی بر فرآیند نیتریفیکاسیون در تست خاکی نشان نداد. به نظر نمی رسد که pH محلول غذایی در مرحله رشد و نمو گیاه در میزان تأثیر ترشحات ریشه ای بر فرآیند نیتریفیکاسیون مؤثر باشد، چون کنترل pH محلول غذایی هیچ گونه اثر معنی داری را نشان نداد (شکل ۲B). به هر حال وقتی ترشحات ریشه در محلول یک میلی مول در لیتر کلرید آمونیم جمع آوری گردید (شکل ۳) اثرات ممانعت کنندگی معنی داری در تیمار آمونیم بر فرایند نیتریفیکاسیون در تست خاکی مشاهده گردید (شکل ۳). در شرایط تغذیه گیاه با نیترات و جمع آوری ترشحات ریشه ای در محلول ۱ میلی مول بر لیتر کلرید آمونیم، با وجود کاهش قابل ملاحظه میزان نیتریفیکاسیون ناشی از ترشحات ریشه ای، کاهش معنی داری در نیتریفیکاسیون در مقایسه با کنترل مشاهده نگردید (شکل ۳). نتایج مشابهی توسط (۱، ۱۰ و ۱۱) گزارش شده است. این محققان همچنین بیان میدارند که اثر ممانعت کنندگی ترشحات ریشه گیاه در شرایط تغذیه با آمونیم چندین برابر بیشتر از گیاهان با تغذیه نیتراتی می‌باشد. در این مطالعه نیز اختلاف اثرات تغذیه آمونیم با نیترات مشاهده گردید با این تفاوت که میزان ممانعت نیتریفیکاسیون در ترشحات ریشه گیاهان تغذیه شده با آمونیم چندین برابر گیاهان تغذیه شده با نیترات نبود و تنها به طور معنی داری بیشتر از کنترل (آب مقطر به جای ترشحات ریشه) بود و حتی با گیاهان تغذیه شده با نیترات تفاوت معنی داری نشان ندادند (شکل ۳). در تمام اندازه گیری‌های نیتریفیکاسیون، تیمار DMPP همواره میزان بسیار کم تولید نیتریت (ممانعت مؤثر) را نشان داد (شکل ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶)، زیرا آن یکی از کارآمدترین ممانعت کننده‌های مصنوعی نیتریفیکاسیون است که استفاده وسیعی در ترکیب با کودهای آمونیمی دارد (۱۵).

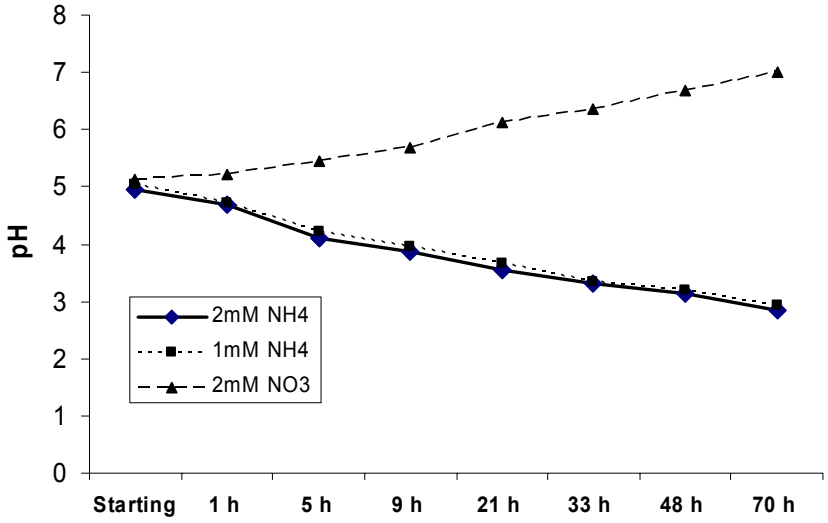
مشاهده تفاوت در ممانعت از فرآیند نیتریفیکاسیون پس از جمع آوری ترشحات ریشه در آب مقطر و یا محلول یک میلی مول بر لیتر کلرید آمونیم، بدان معناست که روند انتشار ترکیبات ممانعت کننده نیتریفیکاسیون از ریشه‌های این گیاه احتمالاً یک فرایند فعال نیست چون در این صورت، ترشح این مواد می‌بایست در آب مقطر نیز وجود داشته باشد و حتی به سبب خاصیت اسمزی، بیشترین باشد (۷). از طرفی دیگر وقتی مواد گیاهی به صورت پودر همگن برگ و یا ریشه در تست اینکوباسیون خاک بکار رفتند (شکل ۴ و ۵) اثرات معنی دار ممانعت کنندگی از فرآیند نیتریفیکاسیون در برگ (و نه ریشه) جدا از شکل نیتروژن کاربردی مشاهده گردید. به نظر میرسد که مقادیر مشخصی از مواد همگن برگی جهت ممانعت مؤثر از فرآیند نیتریفیکاسیون لازم است. همانطور که در شکل ۴ مشخص است در زیست آزمون کاربردی وقتی مواد همگن برگی به میزان ۰/۲۵ گرم بر نمونه (بطری حاوی ۲/۵ گرم خاک مرطوب + ۱۰ میلی لیتر محلول ۱۰میلی مول سولفات آمونیم) بکار رفت کاهش معنی داری در میزان نیتریفیکاسیون وجود نداشت، ولی وقتی مواد همگن برگی به میزان ۰/۵ گرم بر نمونه بکار رفت میزان نیتریفیکاسیون به طور معنی داری در مقایسه با کنترل کاهش نشان داد. مواد همگن ریشه ای حتی به میزان ۰/۵ گرم نیز تأثیری بر میزان نیتریفیکاسیون در تست خاکی نشان نداد (شکل ۴ و ۵). این نتایج بیانگر آن است که تولید ترکیبات مذکور تحت کنترل شکل نیتروژن کاربردی نیست چرا که گیاهان روئیده با نیترات نیز به طور مشابهی این ممانعت از نیتریفیکاسیون را نشان دادند، گرچه انتقال و آزادسازی آنها ممکن است متأثر از شکل نیتروژنی باشد. هنوز ماهیت مواد ممانعت کننده ترشحی در این گراس به خوبی مشخص نیست. سوباراوو و همکاران (۱۲) طی انتشار یک اختراع ثبت شده بیان داشتند که برخی ایزومرهای اسیدهای چرب غیر اشباع لینولئیک و لینولنیک از گیاه *Brachiaria humidicola* دارای فعالیت شدید ممانعت کنندگی نیتریفیکاسیون میباشد، از طرفی دیگر

1- Background nitrite
2- DMPP

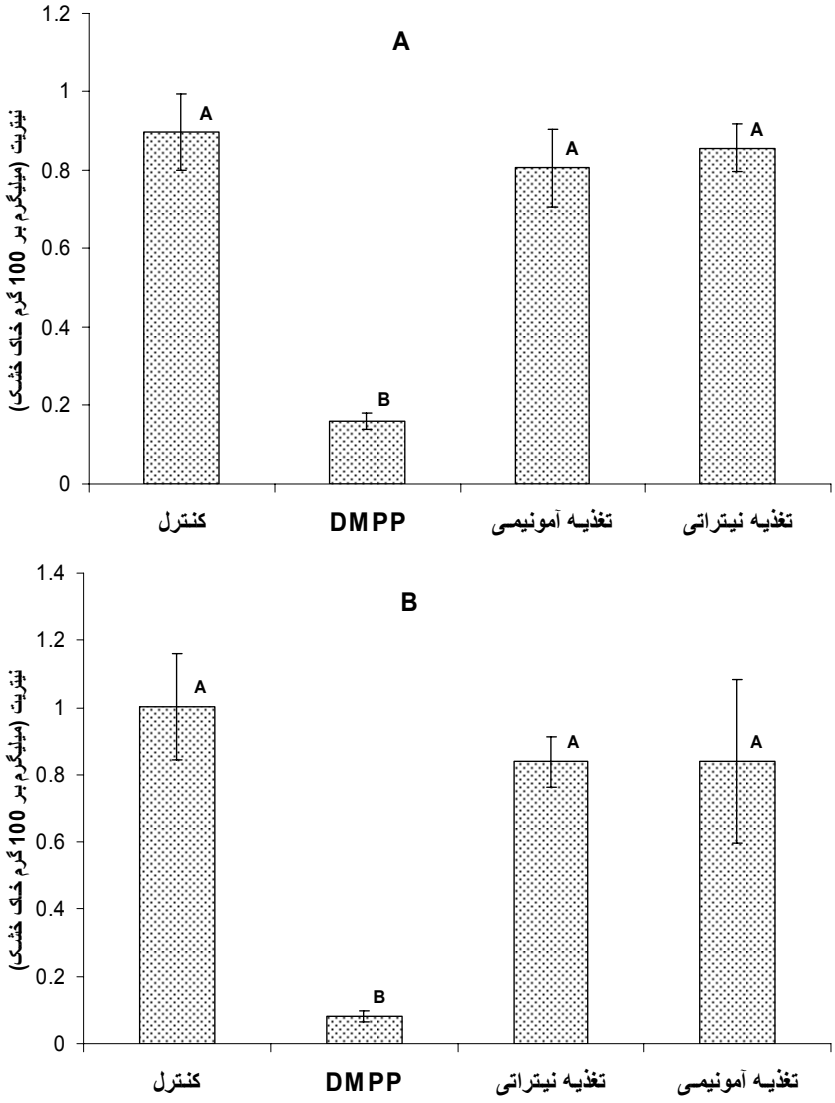
فعالیت ممانعت کنندگی اسید لینولئیک خالص نیز به خوبی نشان داده شده است (۹). واضح است که ترشح فعال اسیدهای چرب از ریشه مخصوصاً آنهایی که غیر اشباع با زنجیره بلند هستند تقریباً غیر ممکن می‌باشد. لذا اثرات ممانعت کنندگی ترشحات ریشه از فرآیند نیتریفیکاسیون در نتیجه این مواد، تنها از طریق صدمات فیزیکی و مکانیکی و جدا شدن دبریس ریشه ای (۷) امکان پذیر می‌باشد، و یا اینکه موادی غیر از اسیدهای چرب مسئول عمده فعالیت ممانعت کنندگی هستند. احتمالاً pH پایین در محلول غذایی (شکل ۱) و مهمتر از آن در محیط جمع آوری ترشحات ریشه، از طریق صدمه به غشاها و دیواره‌های سلولی ریشه، ممکن است در این امر دخالت داشته باشند.

وقتی پودر همگن برگ از گیاهان تیمار شده با آمونیم (شکل ۵ و۶) و یا نیترات (شکل ۵) تحت شرایط نوری بالا (حدود ۴۰۰ ماکرومول بر سانتیمتر مربع بر ثانیه) در تست نیتریفیکاسیون بکار رفت نتایج بیانگر کاهش میزان نیتریفیکاسیون در مقایسه با گیاهان کنترل بود. به هر حال مواد برگی گیاهان تغذیه شده با آمونیم تفاوت معنی داری بر ممانعت از نیتریفیکاسیون بر اساس شدت نور نشان دادند (شکل ۶) به طوری که مواد همگن برگی گیاهان تغذیه شده با آمونیم در شدت نور کم به خوبی از فرآیند نیتریفیکاسون ممانعت نمود ولی این ممانعت در نور شدید به مراتب کمتر بود. به نظر میرسد نور شدید در میزان ممانعت کنندگی مواد برگی بر نیتریفیکاسیون اختلال ایجاد میکند (شکل ۵ و ۶). مواد همگن ریشه گیاهان تیمار شده با آمونیم و یا نیترات در شدتهای مختلف نور تأثیر معنی داری بر نیتریفیکاسیون نشان ندادند (شکل ۵ و ۶). اندازه گیری شاخص کلروفیل این گیاهان بیانگر محتوای بیشتر کلروفیل در گیاهان روئیده با آمونیم تحت شرایط نوری بالاتر در مقایسه با نور کمتر و یا نیترات با نور زیاد میباشد (شکل ۷) که احتمالاً به سبب غلظت بیشتر کلروفیل بر واحد سطح برگ در اثر فتوسنتز بیشتر است (۴). به طور مشابهی میزان زیست توده ریشه و شاخسار در گیاهان روئیده با آمونیم بیشتر از گیاهان روئیده با نیترات تحت شرایط نور زیاد بود (داده نشان داده نشده است). میزان تغییرات pH محلول غذایی (کاهش pH) تحت تغذیه آمونیمی در شدت نور بالا بیشتر و سریعتر از شدت نور پایین میباشد (۹). ممکن است جذب لوکس نیتروژن (آمونیم) در برگها و متعاقباً اختلال آن در تست نیتریفیکاسیون مواد همگن برگی دلیل اختلاف زیاد بین داده ها (انحراف استاندارد زیاد) در شدت نور بالا باشد (شکل ۵ و ۶). گیاهان بر اساس تواناییشان می‌توانند ویژگیهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خود را در پاسخ به تنشها و محرکات محیطی تغییر دهند و ماهیت این تغییرات تعیین کننده توانایی یک گونه جهت موفقیت تحت چنین شرایط استرسی موقت یا دائمی می‌باشد. نیتریفیکاسیون در مناطق اصلی رشد و نمو گیاهان *Brachiaria* یعنی خاکهای اسیدی آمریکای جنوبی و آفریقا (۸)، همانند شرایط موجود در این آزمایش (نور کم) به طور قابل ملاحظه ای ممانعت می‌گردد. به هر حال برهمکنش بین فاکتورهای تنشی که تحت شرایط مختلف روی میدهد بایستی همیشه مد نظر باشد، لذا همواره پاسخ گیاهان به معنای یک فرآیند صددرصد فعال نمی باشد.

به طور خلاصه میتوان نتیجه گیری نمود که تولید ترکیبات ممانعت کننده نیتریفیکاسیون در برگهای این گیاه تحت تأثیر شکل نیتروژن نمی باشد، زیرا مواد برگی تمام گیاهان تیمار شده با آمونیم و نیترات از نیتریفیکاسیون طی یک دوره ۵۰ ساعته اینکوباسیون ممانعت نمودند (شکل ۴، ۵ و ۶). از طرف دیگر آزادسازی این ترکیبات از طریق ترشحات ریشه ممکن است تحت شرایط صدمه ریشه ای در اثر pH پایین (تغذیه آمونیمی) صورت گیرد (شکل ۳) که این خود بیانگر نیاز به مطالعات جامع تری در این زمینه می‌باشد.

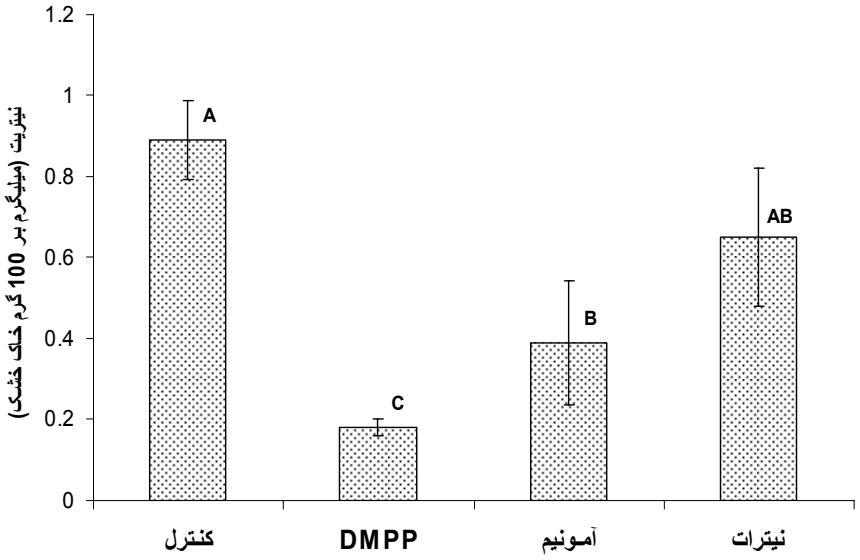


شکل ۱- تغییرات pH محلول غذایی در طول زمان (ساعت) بوسیله گیاهان نسبتاً جوان *Brachiaria humidicola* که تحت شرایط آمونیم یا نیترات در محلول غذایی رشد کردند. داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد می‌باشد.



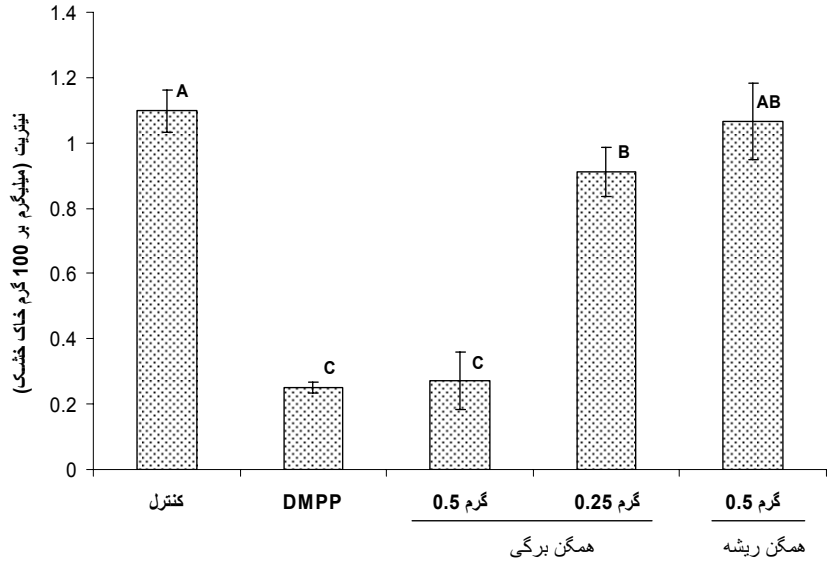
شکل ۲- اثرات ترشحات ریشه ای گیاهان تیمار شده با نیترات و یا آمونیم بر فرایند نیتریفیکاسیون: (A) بدون کنترل pH محلول غذایی و (B) با کنترل pH محلول غذایی برابر

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



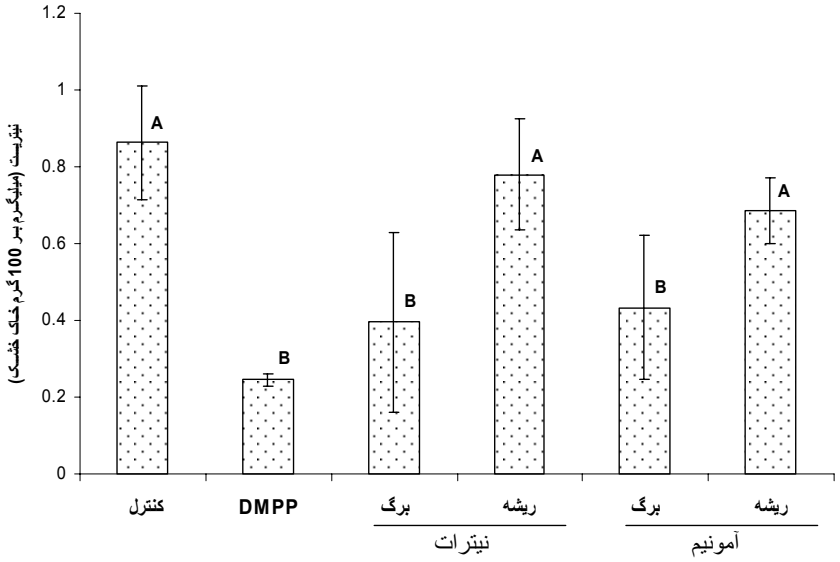
شکل ۳- اثرات ممانعت کنندگی ترشحات ریشه ای گیاهان پیش تیمار شده با آمونیم یا نیترات در کشت هیدروپونیک که در محلول ۱ میلی مول کلرید آمونیم برای مدت ۲٤ ساعت جمع آوری گردیدند

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



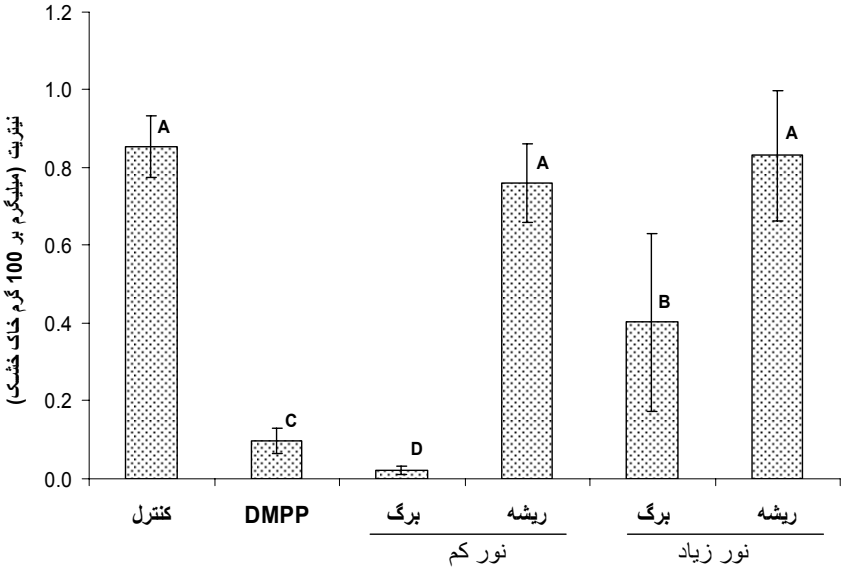
شکل ٤- اثرات ممانعت کنندگی مواد همگن ریشه ای و یا برگی گیاهان تیمار شده با نیترات در کشت هیدروپونیک، بر میزان نیتریفیکاسیون طی یک مدت ۵۰ ساعت اینکوباسیون

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



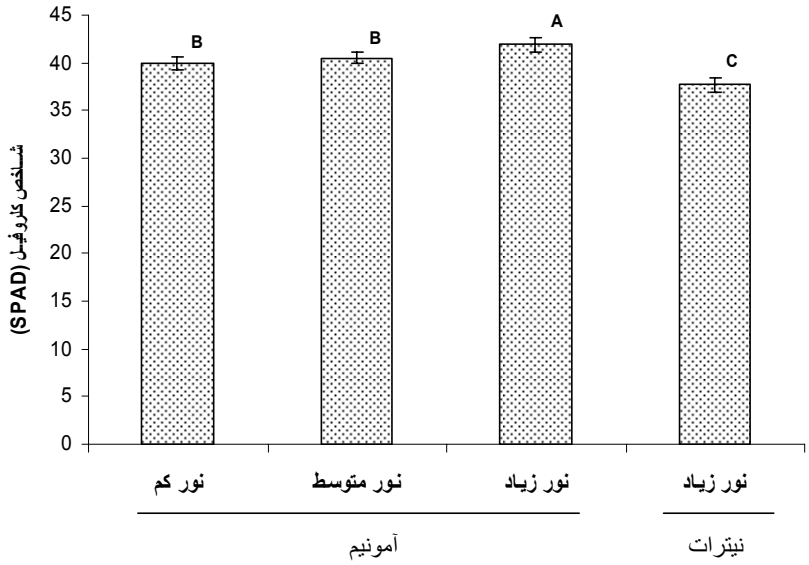
شکل ۵- اثرات همگن برگ و ریشه گیاهان روئیده با نیترات یا آمونیم در کشت هیدروپونیک بر میزان نیتریفیکاسیون در تست خاکی

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ٦- اثرات مواد همگن (ریشه و برگ) گیاهان تغذیه شده با آمونیم در محلول غذایی تحت شرایط نوری متفاوت بر فرآیند نیتریفیکاسیون در خاک

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



شکل۷- شاخص کلروفیل گیاهان تغذیه شده با آمونیم یا نیترات تحت شرایط نوری متفاوت اطاقک رشد

داده ها میانگین چهار گلدان ± انحراف استاندارد است و مقایسه میانگین داده ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

منابع

1- Gopalakrishnan, S., Subbarao, G.V., Nakahara, K., Yoshihashi, T., Ito, O., Meada, I., Ono, H., and M. Yoshida. (2007). Nitrification inhibitors from the root tissues of Brachiaria. J. Agric. Food Chem., 55: 1385–1388.

2- Ishikawa T., Subbarao, G.V., Ito, O., and K. Okada. 2003. Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. Plant and Soil, 255: 413-419.

3- Kandeler, E. 1993. Bodenbiologische Arbeitsmethoden, Springer- Verlag, Heidelberg, Germany. 163-167.

4- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.

5- McCarty G.W. 1999. Modes of action of nitrification inhibitors. Biol. and Fertil. of Soil, 29: 1-9.

6- Nakamura, T., Kanno, T., Miranda, C.H.B, Ohwaki, Y., and M.C.M. Macedo. 2005. Characterization of nitrogen utilization by Brachiara grasses in Brazilian savannas, (Cerrados). Soil Sci. Plant Nutr., 51: 973-979.

7- Neumann G., and V. Römheld. 2000. The release of root exudates as affected by the plant physiological status, In: R. Pinton, Z. Varanini, Z. Nannipieri (eds.) The Rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. Marcel Dekker 2000.

8- Rao I. M., Plazas C., and J. Ricaurte. 2001. Root turnover and nutrient cycling in native and introduced pastures in tropical savannas. Development in Plant and Soil Science, 92: 976-977.

9- Souri M.K. 2008. Characterization of natural and synthetic nitrification inhibitors and their potential use in tomato culture, PhD dissertation, University of Hohenheim, Stuttgart-Germany.

10- Subbarao G.V., Ito O., Wang H.Y., Nakahara K., Suenaga K., and Rondon M., Rao I.M., Carlos Lascano, and M. Ishitani. 2005. Root exudates of Brachiaria humidicola inhibt nitrification characterization and quantification of this unique biological phenomenon. Plant nutrition for food security, human health and environmental protection, 444-445.

11- Subbarao G.V., Wang H.Y., Ito O., Nakahara K., and W.L. Berry. 2006. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. Plant and Soil, 290: 245-257.

12- Subbarao G.V., Nakahara, K., Ishikawa, T., Ito, O., Ono H., Kameyama, M., Yoshida, M., Rondon, M., Rao, I.M., Lascano, C., and M. Ishitani 2007. Nitrification inhibitor and soil improver and fertilizer containing the same, United States Patent 20070028659. http://www.freepatentsonline.com/20070028659.html

13- Sylvester-Bradley R., Mosquera D., and J.E., Mendez. 1988. Inhibition of nitrate accumulation in tropical grassland soils: effect of nitrogen fertilization and soil disturbance. J. Soil Science, 39: 407 – 416.

14- Walch-Liu P., Neumann, G., Bangerth F., and C. Engels. 2000. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. J. of Exp. Botany, 51: 227-237.

15- Zerulla, W., Barth, T., Dressel, J., Erhardt K., von Locquenghien, K.H., Pasda, G., Rädle, M., and A. Wissemeier. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) - a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. Biol. and Fertil. of Soils, 34: 79-84.