تاثیر زمان کاربرد و غلظت هیومیک اسید بر تغییرات غلظت کلروفیل برگ درختان پرتقال (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel)

عباس میرسلیمانی[۱*]، علیرضا غفوری[۲]، مهدی نجفی قیری[۳]، حسین امین[٤]، سارا فر خزاده [٥]

[۱و۲و۴و۵] بخش تولیدات گیاهی، دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، داراب، ایران

[۳] بخش علوم خاک، دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، داراب، ایران

*نویسنده مسئول: Soleiman@shirazu.ac.ir

چکیده

هیومیک اسید نوعی ترکیب آلی پلیمری است که سبب بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، تولید خاک‌دانه و در نتیجه افزایش نفوذ پذیری خاک شده و می‌تواند سبب افزایش جذب بعضی عناصر و رشد ریشه شود. به منظور بررسی اثر زمان کاربرد و غلظت‌های مختلف کاربرد خاکی و محلول‌پاشی هیومیک اسید بر تغییرات غلظت کلروفیل برگ درختان واشنگتن ناول آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار روی درختان ۱۰ ساله پرتقال در شهرستان داراب در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای به‌کار رفته شامل هیومیک اسید (شاهد، کاربرد خاکی با غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کاربرد محلول‌پاشی با *غلظت‌های* ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و زمان‌های مختلف (اوایل اردیبهشت ماه، اواخر شهریور ماه و ترکیب دو زمان) بودند. نتایج نشان داد که اثر زمان، تیمارهای مختلف هیومیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت کلروفیل a، b و کل معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل a و کل مربوط به تیمار کاربرد خاکی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان اول بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر تیمارها نشان داد. همچنین بیشترین میزان کلروفیل b در زمان اول و تیمار کاربرد خاکی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که با تیمار کاربرد محلول‌پاشی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان اول اختلاف معنی داری نشان نداد در حالی‌که با شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت. بر اساس نتایج به دست آمده هیومیک اسید با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت کاربرد خاکی و محلول‌پاشی در زمان اول (اردیبهشت ماه) بیشترین اثر را بر افزایش میزان کلروفیل برگ درختان پرتقال واشنگتن ناول داشت.

واژه‌های کلیدی : پرتقال واشنگتن ناول، کلروفیل، محلول پاشی، هیومیک اسید

مقدمه

مرکبات یکی از مهمترین میوه‌های نیمه گرمسیری می باشد که موطن آن را آسیای جنوب شرقی می‌دانند. مرکبات در محدوده ۴۰ درجه عرض جغرافیایی در بالا و پایین خط استوا به شرط مناسب بودن سایر شرایط نظیر خاک و رطوبت کشت می‌شود (Davies and Alberigo, 1994). بر اساس آمار سازمان خوار و بار و کشاورزی ملل متحد (فائو) سطح زیر کشت مرکبات در دنیا در سال ۲۰۱۶ میلادی بالغ بر ۹۴۵۳۴۷۸ هکتار با تولیدی معادل ۱۴۶۴۲۹۰۱۸ تن از انواع مرکبات بوده است. در همین بازده زمانی سطح زیر کشت مرکبات در ایران ۲۱۴۷۴۶ هکتار و تولید آن معادل ۳۷۴۴۷۴۵ تن بوده است (FAO, 2016).

در خاکهایی که دارای مقادیر زیادی کربنات کلسیم هستند و pH آنها بالا است با وجود مقادیر کافی عناصر کم مصرف در خاک، ریشه قابلیت جذب این عناصر نظیر آهن و منگنز را ندارد و لذا در چنین شرایطی گیاه علایم کمبود را به شکل ظهور رنگ زرد روشن در برگهای جوان و سبز باقی ماندن رگبرگ‌ها نشان می‌دهد و در کمبود شدید، برگها

کوچک و نازک شده بافت آنها نرم شده و معمولاً ریزش می‌کنند و بدنبال آن میوه کوچک شده، عملکرد کاهش یافته و همچنین مواد جامد محلول و اسیدیته آب میوه کاهش می‌یابد (Zekri, 2003).

هیومیک اسید نوعی ترکیب آلی پلیمری است که در اثر تجزیه مواد آلی خاک بوجود می‌آید. وجود هیومیک اسید در خاک سبب بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، تولید خاک‌دانه و در نتیجه افزایش نفوذپذیری خاک شده و به این ترتیب به ترتیب به صورت غیر مستقیم بر رشد و نمو گیاه تاثیر دارد. از سوی دیگر هیومیک اسید به صورت مستقیم می‌تواند سبب افزایش جذب بعضی عناصر غذایی و افزایش رشد ریشه شود (Aiken, 1985) . هیومیک اسید ترکیبی است از مخلوطی از اسیدهای آلی آروماتیک و گروههای واکنش‌گر ناهمگن بی شمار با وزن مولکولی پایین که میتوانند با بسیاری از یونهای فلزی نظیر منیزیوم، کلسیم، مس و روی برهمکنش آبگریز داشته باشد (Piccolo, 2012). همچنین نشان داده شده که کاربرد مواد هیومیکی در خاک‌های قلیایی میزان جذب برخی از عناصر غذایی توسط گیاه را افزایش می‌دهد (Fathy *et al.*, 2010). بر این اساس پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر کاربرد خاکی و محلول‌پاشی هیومیک اسید با غلظتهای مختلف در زمانهای متفاوت بر غلظت کلروفیل برگ درختان پرتقال واشنگتن ناول اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل یک درخت ۱۰ ساله) در یک باغ تجاری در منطقه جنت شهر شهرستان داراب در سال‌های ۱۳۹۸و ۱۳۹۹ انجام شد. تیمارها شامل سه زمان کاربرد: اوایل اردیبهشت ماه (مرحله اول رشد میوه)، اواخر شهریور ماه (مرحله سوم رشد مصادف با تغییر رنگ میوه) و ترکیب دو زمان قبلی و هفت تیمار هیومیک اسید شامل: شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید)، کاربرد خاکی با غلظت ۵۰۰، کاربرد خاکی با غلظت ۱۰۰۰، کاربرد خاکی با غلظت ۲۰۰۰، کاربرد محلول پاشی با غلظت ۲۵۰، کاربرد محلول‌پاشی با غلظت ۵۰۰ و کاربرد محلول‌پاشی با غلظت ۱۰۰۰ بود. هیومیک اسید مورد استفاده در این پژوهش از نوع هیومکس ۹۵ درصد (HUMAX95-WSG) ساخت شرکت جی اچ بیوتیک کشور آمریکا و عرضه شده توسط شرکت بازرگان کالا در ایران می‌باشد. این محصول شامل هیومیک اسید گرانوله شده محلول در آب است که حاوی ۸۰ درصد هیومات پتاسیم (Potassium humate)، ۱۵ درصد فولویک اسید (Fulvic acid) و ۱۲ درصد اکسید پتاسیم (K_2O) می‌باشد. برای تهیه هر محلول با غلظت مشخص برای هر تیمار و هر درخت، میزان مورد نیاز محاسبه و وزن شده و سپس در ۵ لیتر آب حل شد. پس از افزودن چند قطره مویان برای کاربرد محلول‌پاشی، محلول آماده شده با یک دستگاه سم‌پاش پشتی روی درخت تا حد آبچک پاشیده شد. برای کاربرد خاکی نیز محلول مورد نظر در سایه انداز درخت ریخته شد. برای درختان شاهد نیز از آب با اضافه کردن چند قطره مویان استفاده شد.

برای تعیین غلظت کلروفیل a، b و کل نمونه‌های تصادفی از برگ‌های بالغ (برگ شماره ۴ و ۵ از نوک شاخه‌های رشد بهاره) از چهار سمت درخت تهیه با متانول عصاره گیری شد و میزان جذب محلول‌های به‌دست آمده با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شدند (Waren, 2008). تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و میانگین‌های حاصله با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر زمان کاربرد و تیمارهای مختلف هیومیک اسید و اثر متقابل آنها بر غلظت کلروفیل a، b و کل نشان داد که هم اثرات ساده و هم اثر متقابل این فاکتورها معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل زمان کاربرد و تیمارهای مختلف کاربرد هیومیک اسید بر غلظت کلروفیل a، b و کل در جدول ۲ آمده است. نتایج این جدول نشان داد که در اردیبهشت ماه کاربرد خاکی هیومیک اسید با غلظتهای ۵۰۰ و ۲۰۰۰ و کاربرد محلول‌پاشی آن با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل a و کل در برگ درختان پرتقال شده است و این در حالی است که در همین زمان غلظت کلروفیل b در اثر کاربرد خاکی با غلظت ۵۰۰ و کاربرد محلول‌پاشی با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت. تیمار درختان در شهریور ماه (زمان ۲) در هیچکدام از سطوح تاثیری بر غلظت کلروفیل a، bو کل برگ درختان نداشت. این نتایج نشان داد در درختانی که در هر دو مرتبه (زمان ۳) با هیومیک اسید تیمار شدند کاربرد خاکی با غلظت ۵۰۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل a و کل در برگ شد و محلول‌پاشی درختان با غلظت ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید باعث افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل b برگ شد (جدول ۲).

در تایید نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر نشان داده شده که مصرف هیومیک اسید در درختان ترنج (*Citrus medica*) با غلظت ۱۱۵۰میلی‌گرم در لیتر سطح برگ، محتوای کلروفیل، محتوای پروتئین و محتوای مواد جامد محلول آب میوه را به میزان معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد (Wang *et al.*, 2010). کاربرد هیومیک اسید روی درختان نارنگی کینو به صورت محلول‌پاشی سه مرتبه در سال (قبل از گلدهی، زمان تشکیل میوه و زمان بلوغ میوه) باعث افزایش غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلروفیل برگ این درختان شد (Hameed *et al.*, 2018). قلیایی بودن خاک باعث تسریع در کلات شدن یونهای فلزی با هیومیک اسید و افزایش راندمان مصرف عناصر غذایی می‌شود. از سوی دیگر سبب تبدیل عناصری چون نیتروژن، فسفر، منیزیوم، آهن و مس به اشکال قابل جذب ریشه شده و به این ترتیب به صورت مستقیم باعث افزایش حاصلخیزی خاک می‌شود (Tittonell *et al.*, 2014).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس داده‌های غلظت کلروفیل a، b و کل در برگ پرتقال واشنگتن ناول در تیمارهای مختلف هیومیک اسید.

	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
۳	۲/۷۳$^{n.s}$	۰/۳۴$^{n.s}$	۴/۹۶$^{n.s}$
۲	۲۱۴/۲۱**	۳۳/۵۳**	۴۱۷/۲۵**
۶	۲۷/۶۴**	۳/۲۳**	۴۹/۴۹**
۱۲	۱۷/۳۱**	۲/۰۱**	۳۰/۸۰**
۶۰	۲/۶۵	۰/۳۷	۴/۸۰
-	۱۳/۸۵	۱۶/۷۲	۱۴/۲۲

$^{n.s}$، * و** به ترتیب معنی‌دار (α=٪۵)، بسیار معنی‌دار (α=٪۱) و غیر معنی‌دار.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان × تیمارهای مختلف هیومیک اسید بر صفات کلروفیل a، b و کل برگ پرتقال واشنگتن ناول.

تیمار هیومیک اسید	کلروفیل a (mg/g f.w.)			کلروفیل b (mg/g f.w.)			کلروفیل کل (mg/g f.w.)		
	زمان ۱	زمان ۲	زمان ۳	زمان ۱	زمان ۲	زمان ۳	زمان ۱	زمان ۲	زمان ۳
شاهد	۱۱/۱۹^{gh}	۱۰/۱۴$^{g-i}$	۹/۴۰$^{h-j}$	۳/۹۰^{ef}	۲/۹۵$^{g-k}$	۲/۷۴$^{h-k}$	۱۵/۰۹$^{f-h}$	۱۳/۰۹$^{g-i}$	۱۲/۱۴$^{h-i}$
کاربرد خاکی ۵۰۰	۱۹/۹۹^{a}	۱۰/۰۸$^{g-j}$	۱۱/۸۵$^{e-g}$	۶/۴۹^{a}	۲/۷۳$^{i-k}$	۳/۶۰$^{e-h}$	۲۶/۴۹^{a}	۱۲/۸۱$^{g-i}$	۱۵/۴۵$^{e-g}$
کاربرد خاکی ۱۰۰۰	۱۰/۹۵^{gh}	۱۰/۰۳$^{g-j}$	۷/۸۴^{j}	۳/۴۰$^{f-i}$	۳/۰۲$^{g-k}$	۲/۱۸^{k}	۱۴/۳۴^{gh}	۱۳/۰۴$^{g-i}$	۱۰/۰۱^{i}
کاربرد خاکی ۲۰۰۰	۱۴/۳۵^{cd}	۱۰/۰۵$^{g-j}$	۱۱/۵۹$^{f-h}$	۴/۸۸^{cd}	۲/۹۸$^{g-k}$	۳/۴۲$^{f-i}$	۱۹/۲۳^{cd}	۱۳/۰۳$^{g-i}$	۱۵/۰۰$^{f-h}$
کاربرد محلول‌پاشی ۲۵۰	۱۳/۵۷$^{d-f}$	۸/۲۷^{ij}	۱۱/۷۵$^{e-g}$	۴/۰۷$^{d-f}$	۲/۴۳^{k}	۳/۶۸$^{e-g}$	۱۷/۶۴$^{d-f}$	۱۰/۶۹^{i}	۱۵/۴۳$^{e-g}$
کاربرد محلول‌پاشی ۵۰۰	۱۷/۵۶^{b}	۹/۳۱$^{h-j}$	۱۰/۷۸^{gh}	۵/۷۵^{ab}	۲/۷۰$^{i-k}$	۳/۳۵$^{f-j}$	۲۳/۳۱^{b}	۱۲/۰۰^{hi}	۱۴/۱۳^{gh}
کاربرد محلول‌پاشی ۱۰۰۰	۱۶/۱۲^{bc}	۸/۱۸^{ij}	۱۳/۹۴^{ce}	۵/۶۱^{bc}	۲/۵۱^{jk}	۴/۳۲^{de}	۲۱/۷۴^{bc}	۱۰/۶۹^{i}	۱۸/۲۶^{de}

میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شده‌اند (α=٪۵) و تفاوت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک معنی‌دار نیست.

بطور کلی به نظر می‌رسد کاربرد خاکی هیومیک اسید با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و محلول‌پاشی آن با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش هر سه صفت اندازه‌گیری شده در برگ درختان پرتقال واشنگتن ناول شد اما با توجه به اینکه نتایج مربوط به کاربرد ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری نداشتند می‌توان توصیه کرد که کاربرد هیومیک اسید به غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به صورت خاکی و محلول‌پاشی می‌تواند زردی و کلروز برگ‌ها را کاهش داده و افزایش غلظت کلروفیل در این برگ‌ها را بدنبال داشته باشد.

منابع

Aiken, G.R. 1985. Humic substances in soil, sediment, and water: geochemistry, isolation, and characterization.

Davies, F.S., Albrigo, L.G. 1994. Citrus: CAB international.

FAO 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO), FAOSTAT. Available at: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.

Fathy, M., Gabr, M., El Shall, S. 2010. Effect of humic acid treatments on'Canino'apricot growth, yield and fruit quality. New York Science Journal, 3(12): 109-115.

Hameed, A., Fatma, S., Wattoo, J. I., Yaseen, M., Ahmad, S. 2018. Accumulative effects of humic acid and multinutrient foliar fertilizers on the vegetative and reproductive attributes of citrus (Citrus reticulata cv. kinnow mandarin). Journal of Plant Nutrition, 41(19): 2495-2506.

Piccolo, A. 2012. The nature of soil organic matter and innovative soil managements to fight global changes and maintain agricultural productivity. In Carbon sequestration in agricultural soils (pp. 1-19). Springer, Berlin, Heidelberg.

Tittonell, P. 2014. Ecological intensification of agriculture—sustainable by nature. Current Opinion in Environmental Sustainability, 8: 53-61.

Wang, L., Chen, X., Dong, Y., Lu, H. 2010. Effects of humic acid on the growth and quality of Citrus medica. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 22(2): 229-233 .

Warren, C. 2008. Rapid measurement of chlorophylls with a microplate reader. Journal of Plant Nutrition, 31: 1321-1332.

Effect of application time and humic acid concentration on changes in leaf chlorophyll concentration of orange (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel) trees

Abbas Mirsoleimani[1*], Ali-Reza Ghafori[2], Mahdi Najafi-Ghiri[3], Hossein Amin[4], Sara Farokhzadeh[5]

[1*, 2, 4, 5] Department of plant production, Shiraz university, College of agriculture and natural resources of Darab, Darab, Iran.

[3] Department of soil science, Shiraz University, College of agriculture and natural resources of Darab, Darab, Iran.

Corresponding Author: soleiman@shirazu.ac.ir

Abstract

Humic acid is an organic polymer compound that improves soil structure, increases cation exchange capacity and thus increases soil permeability and can increase the absorption of some elements and root growth. In order to investigate the effect of application time and different concentrations of soil application and foliar application of humic acid on changes in leaf chlorophyll concentration of orange (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel) trees, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design with four replications on 10-year-old orange trees in Darab in 2019. Treatments used included without humic acid (control), soil application at concentrations of 500, 1000 and 2000 mg/l and foliar application at concentrations of 250, 500 and 1000 mg/l and different times (Early May, late September and the combination of the two times). The results showed that the effect of time, different treatments of humic acid and their interaction on chlorophyll a, b and total were significant. The highest amount of chlorophyll a and total was related to soil application treatment with a concentration of 500 mg/l in the first time, which showed a significant difference with the control and other treatments. Also, the highest amount of chlorophyll b was observed in the first time and soil application treatment with a concentration of 500 mg/l, which did not show a significant difference with the application of foliar application at a concentration of 500 mg/l in the first time, while there was a significant difference with control and other treatments. According to the results, humic acid with a concentration of 500 mg/l in the form of soil application and foliar application in the first time (May) had the greatest effect on increasing the chlorophyll content of the leaves of Washington Navel orange trees.

Keywords: Chlorophyll, Foliar application, Humic acid, Orange (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel).