محیط های کشت بدون خاک
در مطالعات تغذیه گیاه

انواع محیط های کشت بدون خاک :

۱-محیط کشت محلول یا آبکشت **(Hydroponic)**

۲-محیط کشت شن **(Inert sand)** یا سنگریزه **(Gravel)**

۳- محیط کشت آئروپونیک **(Aeroponic)** یا مه

فواید محیط کشت بدون خاک

- ایجاد یک محیط کشت قابل کنترل و همگن با ترکیب و غلظت مشخص عناصر
- امکان برداشت کامل ریشه ها از محیط کشت و مطالعه دقیق ویژگی های مختلف ریشه
- امکان کاهش جمعیت عوامل بیماریزا و میکروبها به کمترین مقدار
- امکان ایجاد شرایط کمبود و سمیت عناصر

مشکلات محیط های کشت بدون خاک

شرایط رشد گیاه در خاک را به طور کامل شبیه سازی نمی کنند

- نیاز به قیم برای استقرار گیاه
- تفاوت در وضعیت تهویه و در پی آن، تفاوت رشد ریشه با ریزوسفر خاک (عدم امکان مطالعه پخشیدگی آب, اکسیژن و عناصر غذایی همانند خاک)
- تفاوت شکل ظاهری گیاهان در محیط های کشت بدون خاک با خاک
- تفاوت در بعضی ویژگی های فیزیولوژیکی ریشه با خاک (مقدار ترشح ترکیبات آلی ریشه)
- جمعیت های میکروبی در کشت های بدون خاک نیز کمتر از شرایط مزرعه است.

مشکلات و محدودیت های خاک

- پیچیدگی خاک و ناهمگنی آن: مشکل کنترل دقیق محیط رشد
- متغیر بودن ترکیب محلول خاک به ویژه در اطراف ریشه
- تفاوت ترکیب ریزوسفر با توده خاک
- تفاوت محیط اطراف یک ریشه با ریزوسفر ریشه های دیگر
- تغییر ترکیب محلول خاک با زمان
- تأثیر فعالیت میکروبها در محیط اطراف ریشه
- تنفس ریشه و تغییر هوای خاک
- تبادل مواد بین فازهای محلول و جامد

نتیجه گیری

- به طور کلی کنترل دقیق بسیاری از متغیرهای آزمایش در خاک امکان پذیر نبوده در حالی که در کشت های بدون خاک امکان کنترل نسبی ترکیب شیمیایی و سایر ویژگی های محیط وجود دارد.

- با وجود تفاوت های بین محیط های کشت بدون خاک با خاک, نباید از فواید کشت های بدون خاک چشم پوشی کرد

محلول خاک

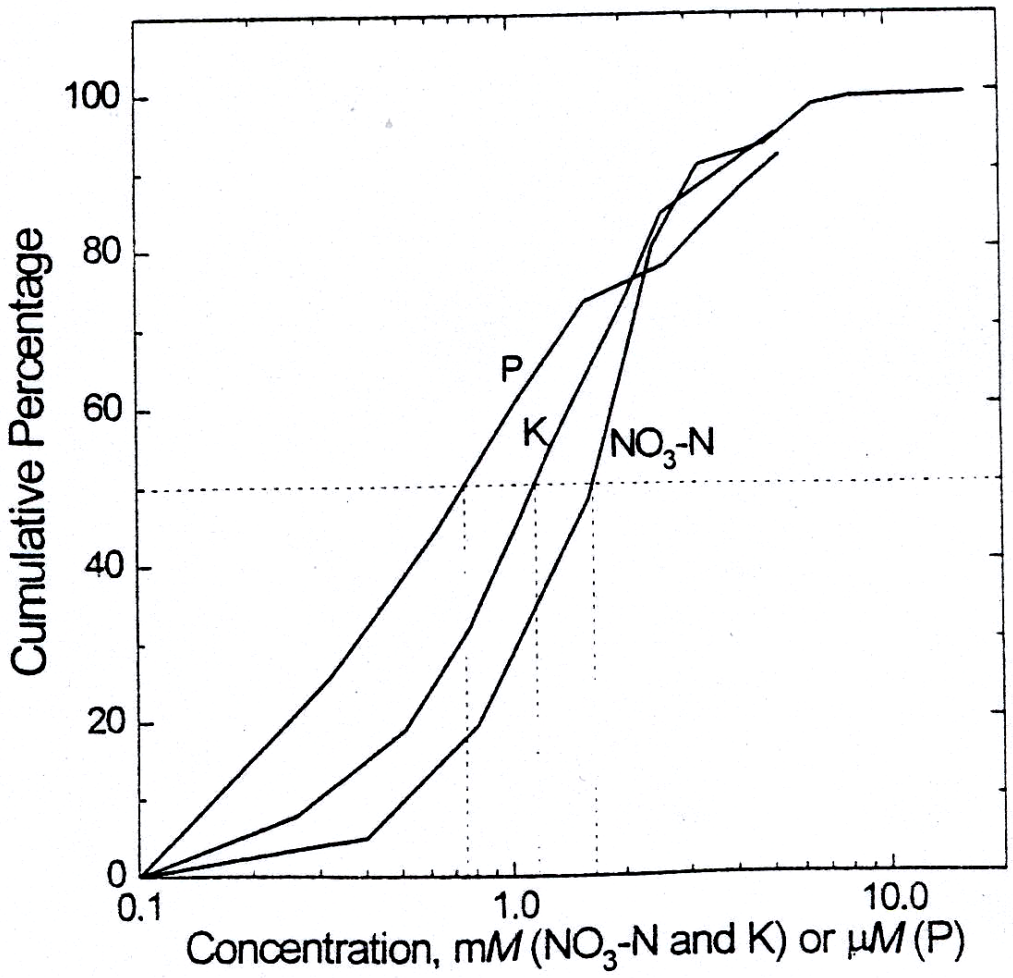
- ترکیب شیمیایی یک محلول غذایی ایده ال باید کاملاً شبیه ترکیب محلول خاک مورد مطالعه باشد.

- ایجاد غلظت های کم و پایدار عناصر (در محدوده کمبود عنصر برای رشد طبیعی گیاه) و شبیه سازی محلول خاکهای فقیر از عناصر غذایی, مورد توجه پژوهشگران بوده است.

- تغییرات غلظت عناصر غذایی در محلول خاکهای مختلف بسیار گسترده می باشد.

- روش های عصاره گیری محلول خاک نیز بر ترکیب عناصر غذایی تأثیر دارد.

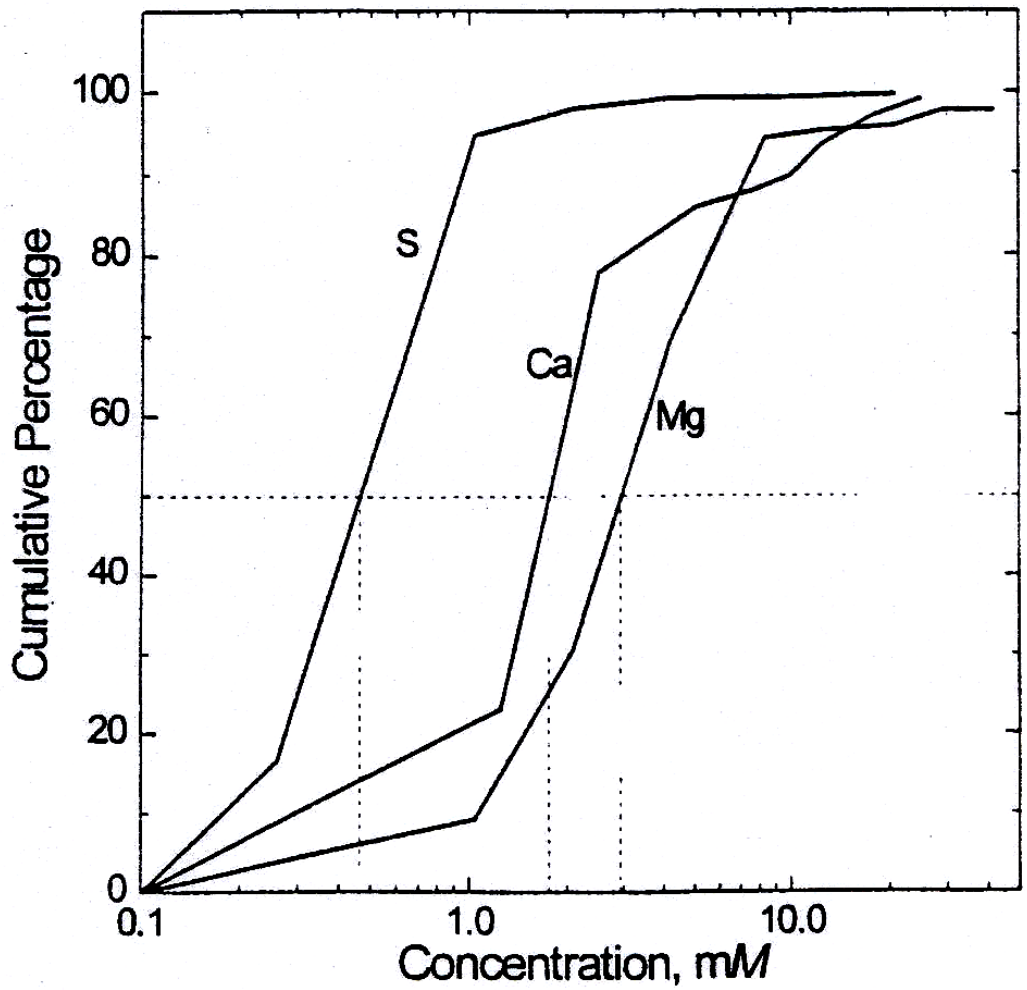
ترکیب محلول خاکهای مختلف (ریسونوئر ,۱۹۶۶):



توزیع غلظت نیترات, فسفر و پتاسیم در محلول خاک

خطوط نقطه چین نشان دهنده میانگین تخمین زده شده برای هر یک از عناصر است

ترکیب محلول خاکهای مختلف (ریسونوئر ,۱۹۶۶):



توزیع غلظت گوگرد, کلسیم و منیزیم در محلول خاک

خطوط نقطه چین نشان دهنده میانگین تخمین زده شده برای هر یک از عناصر است

عناصر کم مصرف

- اطلاعات کم مربوط به عناصر کم مصرف (آهن، روی، مس، منگنز و نیکل)

دلایل:

I. پایین بودن غلظت آنها
II. مشکل اندازه گیری این عناصر در خاک های غیرآلوده

- مطابق لیندسی (۱۹۹۱) و ولچ (۱۹۹۵):

- غلظت کل روی، آهن، مس و نیکل در بیشتر خاک های غیرآلوده کمتر از یک میکرومولار
- غلظت منگنز در محلولِ بیشتر خاک ها, کمتر از ۱۰۰ میکرومولار
- حد کمبود عناصر کم مَصرف برای گیاهان خیلی کمتر از غلظتهای اشاره شده می باشد.

غلظت بحرانی برخی عناصر کم مصرف
(به شکل یون آزاد دوظرفیتی)

با استفاده از محلول های غذایی بافرشده با کلات

یون	غلظت (مولار)
Cu^{2+}	10^{-15}
Fe^{2+}	10^{-17}-10^{-28}
Mn^{2+}	10^{-9}
Ni^{2+}	10^{-15}
Zn^{2+}	10^{-10}

ترکیب محلول های غذایی

- هوگلند (هوگلند و آرنون, ۱۹۵۰)
- جانسون (جانسون, ۱۹۵۷)
- محلول غذایی لانگ آشتون [Rich Long Ashton Solution] در انگلستان، به وسیله هویت (۱۹۶۶)
- محلول هوهنهایم [Hohenheim Solution]
- محلولهای غذایی در محیط کشت گردشی

رقیق (شبیه محلول خاکهای غیرحاصلخیز) جهت تشخیص حدود کمبود، کفایت و سمیت عناصر

ترکیب شیمیائی برخی محلولهای غذائی رایج

عنصر	هوگلند یک‌دوم*	جانسون یک- دوم**	هوهنهایم شماره1 ***	محلول غذائی در کشت گردشی (شماره 1)****	محلول غذائی در کشت گردشی (شماره 2) *****
نیترات	7000	7000	4000	750	700
آمونیوم	500	1000	-	100	-
فسفر	500	1000	100	04/0-25	50
پتاسیم	3000	3000	1600	250	1-33
کلسیم	2000	2000	2000	250	420-470
منیزیم	1000	500	500	100	100
گوگرد	1000	500	1200	100	100
کلر	9	25	100	100	125
مس	15/0	25/0	2/0	1/0	02/0
آهن	5/12	2	4-100	2	5
منگنز	5/4	5/2	5/0	1	5/0
روی	4/0	1	5/0	5/0	05/0
بور	23	5/12	1-10	3	5/2
مولیبدن	05/0	05/0	01/0	02/0	005/0

مقایسه محلول خاک با محلول های غذایی

- غلظت عناصر در محلول های غذایی بالاتر از محلول خاک می باشد.
- در مورد فسفر, غلظت در محلول غذایی دهها برابر بیشتر از محلول خاک است . (شکل ۳-۱ و جدول ۳-۳)
- از تفاوتهای قابل توجه بین ترکیب شیمیایی محلول غذایی با محلول خاک غلظت عناصر کم مصرف است.
- نسبت کلسیم به منیزیم در اغلب محلول های غذایی همانند برخی محلولهای خاک, بین ۲ تا ۴ متغیر می باشد.
- به کارگیری نسبت های بسیار پایین کلسیم به منیزیم سبب کمبود کلسیم و سمیت منیزیم در گیاه می شود .

استفاده از غلظت های بالاتر عناصر در محلول های غذایی

- عدم دلیل منطقی برای بکارگیری فرمول محلول های غذاییِ رایج در مطالعات تغذیه گیاهی
- ترکیب محلولهای غذایی بهتر از محلول خاک منعکس کننده ترکیب شیمیایی گیاه می باشد .
- سرعت تخلیه عناصر غذایی از محلولهای غذایی رقیق
- به دلیل نبودن توان بافری از غلظت های بالا و مصنوعی جهت جلوگیری از کمبود ناخواسته عناصر استفاده می شود.
- استفاده از سه یا چهار نمک برای تأمین عناصر غذایی : عدم امکان ایجاد غلظتهای مختلف عناصر

- تنظیم جذب عناصر غذایی از محیط به وسیله گیاهان
- احتمال سمیت عناصر به ویژه در مورد گیاهان حساس
- سمیت غلظت های بالای عناصر کم مصرف (مس، منگنز و روی)
- کاهش سمیت با بکارگیری کلاته کردن با FeEDTA در $pH \geq 6$
- کاهش سمیت با غلظت های بالای کلسیم و منیزیم در محیط

نتیجه: بکارگیری غلظت های بالاتر فلزات در محلول غذایی حاوی کلات های آهن مشکلی ایجاد نمی کند.

سمیت عناصر در گیاهان حساس

عنصـــر	غلظت سمی	جنس گیـــاه
فسفر	۱۶۰۰	*Glycin max* (L.) Merr.
فسفر	۲۵	*Lypinus digitatus* Forsk, *Trifolium subterraneum* *Vulpia myuoros* Gmel.
فسفر	۵/۲	*Trifolium subterraneum*
بُـر	۴۶	*Hordeum vulgare* L.
مـس	۵/۲	*Zea mays* L.
مـس	۲/۰	*Triticum aestivum* L.
منگنـز	۹	*Hodeum vulgare* L.
منگنز	۹/۰	*Hordeum vulgar* L.
منگنز	۳/۰	*Medicago trunculatea*, *M. tornata*
روی	۵/۰	*Arachis hypogaea* L.
روی	۱	*Trifolium subterraneum*

تحقیقات دودهه گذشته برای بهبود روش های کلاسیک کشت بدون خاک

- شبیه سازی واقعی یک محلول خاک
- جلوگیری از سمیت و برهم خوردن تعادل عناصر غذایی (که بسیاری از آنها در خاک مشاهده نمی شود)
- جلوگیری از تغییرات ناخواسته در وضعیت تغذیه ای (سمیت، کمبود و کفایت) به دلیل نبودن توان بافری
- ایجاد کمبود برخی عناصر غذایی که در غلظت های بسیار پایین برای گیاهان لازم می باشند (نظیر مس و نیکل) و یا به دلیل اضافه شدن به محیط از طریق آلودگی های موجود در ظروف و یا محیط آزمایشگاه (نظیر روی) کمبود آنها به سادگی بر روی گیاه ایجاد نمی شود.
- توسعه محیط های کشت های بدون خاک به منظور مطالعه فرایندهای پیچیده تر نظیر همزیستی مایکوریزا یا تثبیت نیتروژن به وسیله ریزوبیوم که نیاز به کنترل بیشتر محیط دارند.

توسعهٔ سیستم های کشت بدون خاک

- **توان بافری و پایدار نگهداشتن غلظت عناصر غذایی**

1. **محیط های کشت بدون خاک با محلول غذایی جایگزین شونده**

Periodic Replacement or Addition of Nutrients

الف-سیستم جایگزینی دوره ای

- انتقال دوره ای گیاهان به یک گلدانهای جدید حاوی محلول غذایی تازه و دورریختن محلول قبلی

متغیرهای کلیدی:

- سرعت رشد گیاه
- حجم محلول برای هر گیاه
- زمان جایگزینی محلول غذایی
- غلظت عنصر

آشر و ادوارد (۱۹۸۳): زمان جایگزینی محلولها و کنترل مقدار کاهش غلظت عنصر تا یک آستانهٔ مشخص (۵ تا ۱۰ درصد غلظت اولیه):

$$F = (D/100)\ (V/WR)\ (Ci/U)$$

F: زمان تخلیه عنصر از محلول تا آستانهٔ (ساعت)

D: آستانهٔ مجاز تخلیه عنصر غذایی از محیط (درصد)

V: حجم محلول برای هر گلدان یا هر گیاه (لیتر)

WR: وزن تازهٔ ریشه در هر گلدان یا برای هر گیاه

Ci: غلظت اولیه عنصر غذایی (میکرومولار)

U: مقدار جذب مورد انتظار برای هر عنصر غذایی (میکرومول در گرم وزن تر گیاه در هر ساعت)

ب- سیستم افزودن برنامه ریزی شده عنصر غذایی (Programmed Nutrient Addition: PNA)

- آشر و کووی (۱۹۷۰) در دانشگاه کوییزلند استرالیا
- با پیش بینی مقدار رشد گیاه و در نظرگرفتن دامنهٔ کفایت غلظت عنصر در بافت گیاهی, مقادیر مختلف (کمبود,کفایت و یا سمیت) یک یا چند عنصر در هر روز به گلدان ها اضافه می شود
- غلظت عنصر در محلول کشت مشخص نبوده و کنترل نمی شود.
- عنصر مورد نظر در زمان های مختلف در طی دوره رشد به محیط اضافه می شود.

مقادیر عناصر اضافه شده به محلول غذایی برای طالبی

Table 1
Programmed weekly supply of N, P and K to melon plants grown with the NFT

Weeks from planting	(mg/plant)		
	N	P	K
1	14	16	15
2	42	16	30
3	140	31	195
4	210	31	312
5	560	62	975
6	700	124	1170
7	980	124	1560
8	980	124	1560
9	980	124	1560
10	980	124	1560
11	700	62	975
12	420	6	390
13	140	31	195
14	70	16	78

تغییرات EC محلول غذایی در دو سیستم مختلف

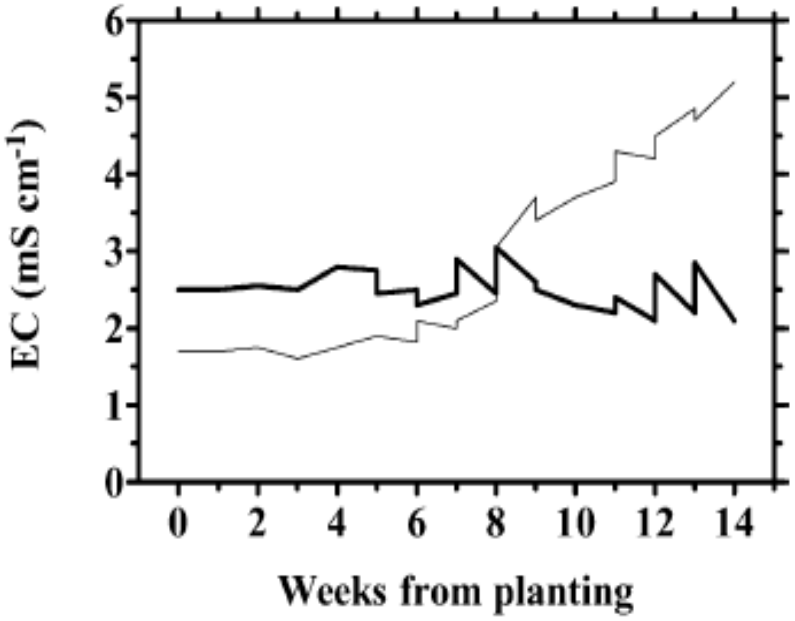
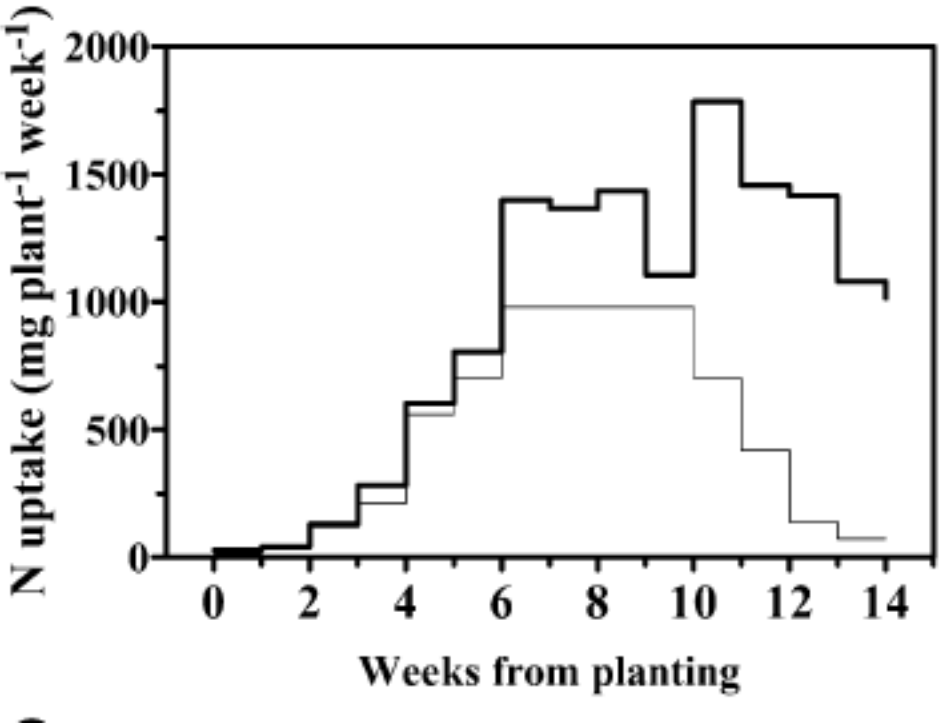
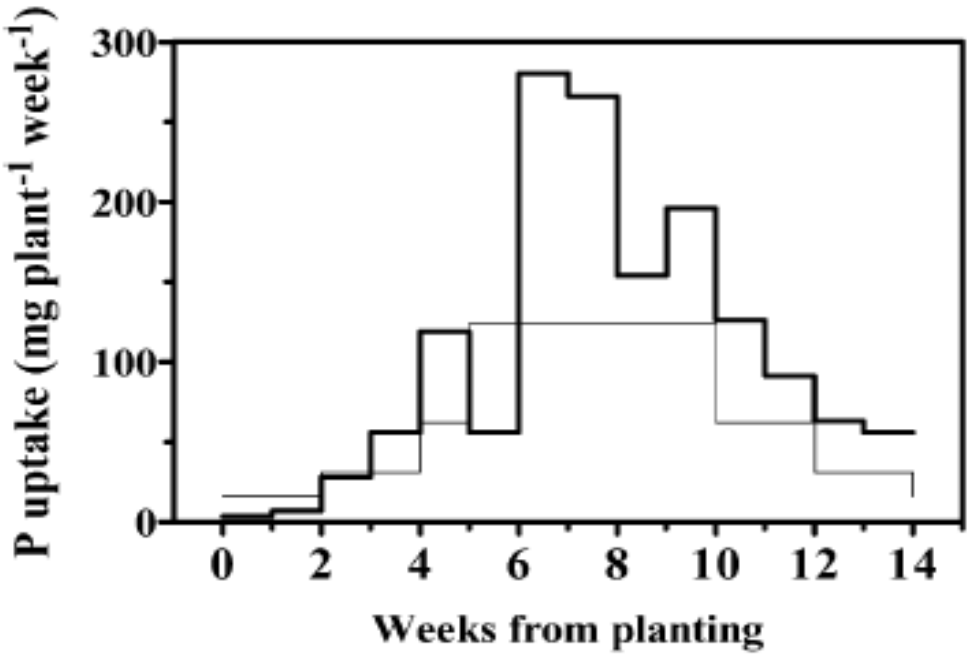


Fig. 1. Changes in EC of the recirculating nutrient solution in two NFT cultures of melon. In T1 (thick line) an EC-based control of the recirculating nutrient solution was adopted, while in T2 (thin line) mineral supply was based on programmed nutrient addition (see text for details). Mean values of three replicates (the variation coefficients of the means ranged between 9 and 13%).

روند جذب نیتروژن و فسفر توسط گیاه





سیستم اضافه کردن مقادیر نسبی (Relative Addition Rate: RAR)

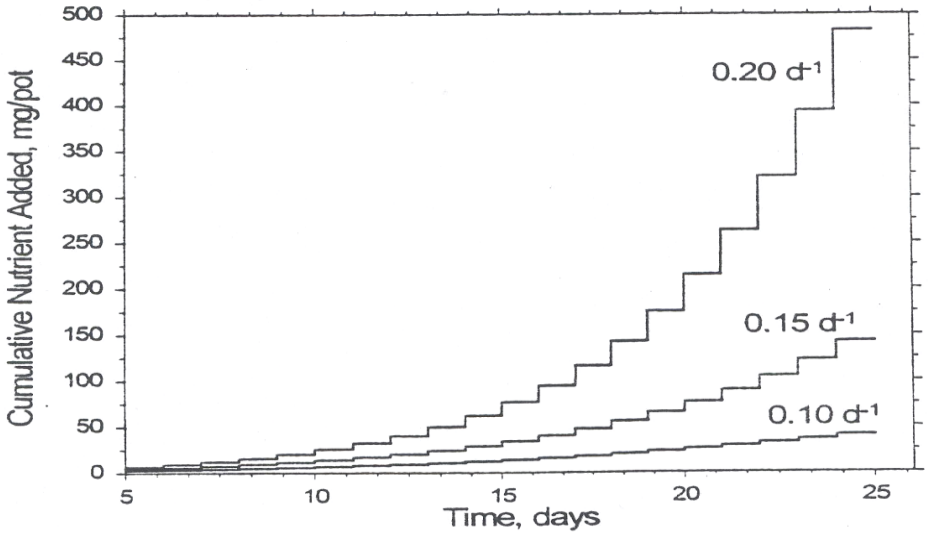
اینگستاد و همکاران (۸۸-۱۹۷۹) در سوئد

- مقدار عنصر افزوده به محلول متناسب با مقدار انباشت عنصر در گیاه وافزایش مقدار افزوده شده به محلول طی دوره رشد نمایی
- بجای تعیین شدت جذب گیاه, سطح مشخص از عنصر بر اساس تیمارهای مورد نظر, به طور دایم به محلول اضافه می شود.
- در اکثر مطالعات نیتروژن به عنوان عنصر غذایی محدود کننده رشد مورد نظر بوده است.

مشکلات:

1. در این سیستم محلول خاک به خوبی شبیه سازی نمی شود.
2. در محلول خاک برخی عناصر در شرایط کمبود و برخی در شرایط زیادبود هستند.
3. در این روش برهمکنش عناصر, نظیر رقابت یون ها برای جذب, نیز به خوبی شبیه سازی نمی شود.

مقادیر نسبی 10/0، 015/0 یا 20/0 در روز به هر یک از گلدانها اضافه شده است. مقدار عنصر غذایی در بوته های گیاه در زمان صفر حدود 4 میلی گرم در گلدان در نظر گرفته شده است و مقدار عناصر نیز بر اساس همین مقدار به محیط اضافه شده اند .



۲-سیستم کشت بدون خاک با محلول های غذایی رقیق

الف- بکارگیری حجم های بزرگ محلول غذایی

- بکارگیری حجم بسیار بزرگ محلول غذایی نسبت به اندازهٔ مورد انتظار گیاه در زمان برداشت

مشکل:

- اغلب اتاق های رشد محدود بوده و امکان استفاده از گلدان های بزرگتر از ۱۰ لیتر وجود ندارد.

ب-سیستم کشت گردشی
Flowing Solution Culture (FSC)

- همزمان از مزایای محلول های با حجم بسیار بزرگ (گاهی بیش از ۱۰۰۰ لیتر) و سیستم های جایگزینی دوره ای محلول غذایی

- حجم قابل ملاحظه ای از محلول غذایی بسیار رقیق به طور خودکار به گلدان هایی با حجم متوسط (بین ۱تا ۴ لیتر) پمپ می شود.

- شدت جریان بستگی به طراحی سیستم داشته اما اغلب در حدود یک لیتر در دقیقه برای هر گلدان

- هر یک تا ۵ دقیقه محلول غذایی اطراف ریشه به طور کامل جایگزین می شود.

طبقه بندی سیستم های FSC

الف- ادوارد و آشر (۱۹۷۴ و ۱۹۷۸):

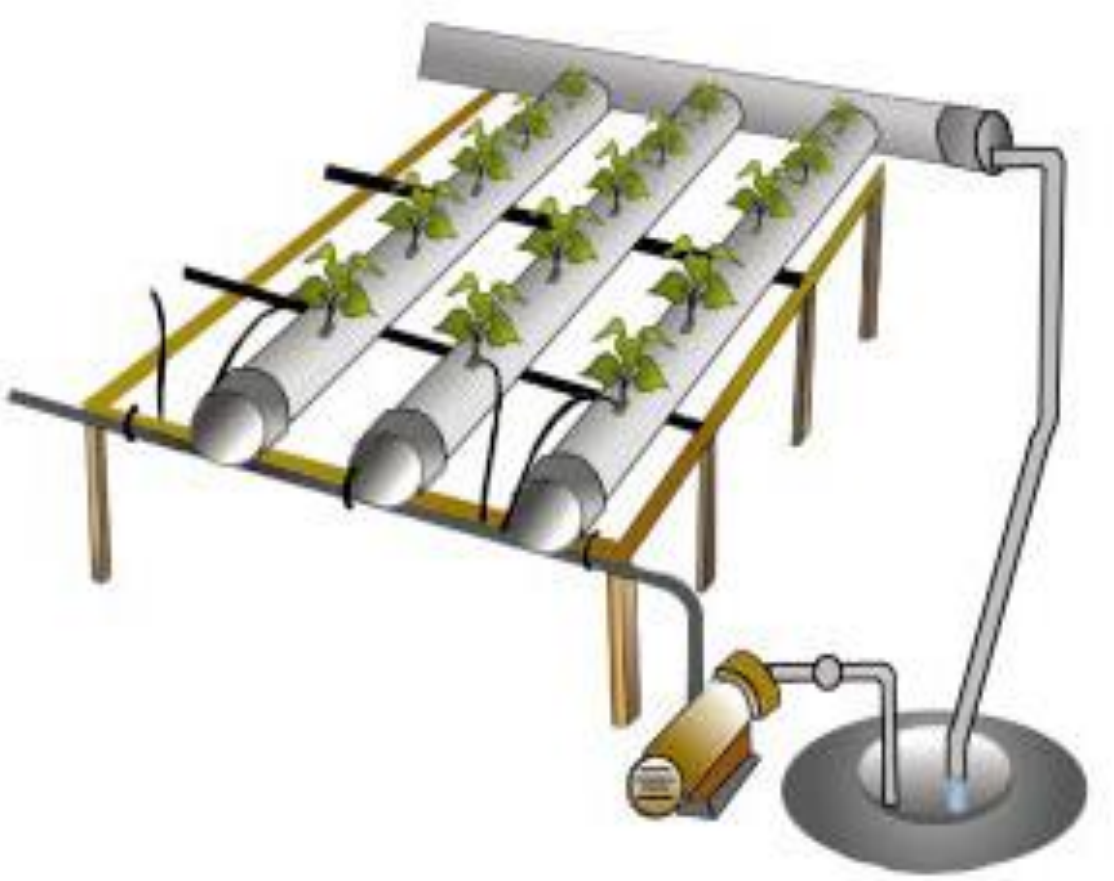
بر اساس نحوه تغذیه سیستم

- سیستم نوع اول: کاهش غلظت هر یک از عناصر غذایی در گلدان ها که ناشی از جذب به وسیله گیاه و یا سرریز از گلدان می باشد, با به کارگیری جریان دایمی محلول مادری غلیظ[Stock] جبران می شود.

- سیستم نوع دوم: غلظت ورودی عنصر به سادگی در یک سطح مشخص (هدف) ثابت نگهداشته می شود.

طبقه بندی سیستم های FSC

ب-ویلد و همکاران (۱۹۸۷)



سیستم های غیرچرخه ای
Non-Recycling
Open Systems

سیستم چرخه ای بازیافتی
Recycling
Close Systems

محاسن سیستم:

- ریشه ها در معرض غلظتهای بسیار کم و پایدار عناصر
- برای مطالعات طولانی و هنگامی که بیومس بزرگ گیاه نیاز است مفید هستند
- شبیه سازی بهتری از محلولهای رقیق خاک بخصوص خاکهای غیر حاصلخیز دارد
- یکی از مصارف اصلی این سیستم تعریف حداقل فیزیولوژیکی (کمبود-سمیت) عناصر
- جریان چرخشی لایه های مانع پخش و تخلیه عنصری اطراف ریشه را کاهش میدهد.

مشکلات سیستم:

- هزینه بالا و خارج از عرف سیستم
- تعداد کم واحدهای آزمایشی و مخزن محلول قابل اجراست که ارزش آماری ندارد.
- اگر غلظت عناصر در محلول کم باشد آنالیز مشکل می شود و نیاز به تیمارهای اولیه نظیر عصاره گیری و تغلیظ است که هزینه بر و زمان بر است
- بکارگیری آنالیز اتوماتیک سبب افزایش هزینه ها و پیچیدگی سیستم می شود
- برخلاف محلولهای سنتی یک حالت افراطی در بافر کردن محلول وجود دارد (غلظت بسیار کم وپایدار عناصر)

بافر کردن پ-هاش سیستم

۱-اندازه گیری متناوب یا اتوماتیک pH

- مشکل و هزینه بردار

۲-افزودن غلظت بالای فسفر بعنوان بافرکننده pH

مشکلات:

- **افزایش جذب فسفر توسط گیاه و کاهش بافری محلول**
- **احتمال مسمومیت گیاه به فسفر اضافی**
- **تغییر در قابلیت جذب سایر عناصر بواسطه فسفر اضافی**
- **ممانعت از تشکیل ریشه های موئین**
- **احتمال رسوب فسفر با کلسیم و منیزیم بخصوص در پ-هاش بالاتر از 5/7**
- **بکارگیری غلظت فسفر دهها برابر بالاتر از محلول خاک**

۳-لیگاندهای محلول

۳-۱-بافرهای Good

توسط گود و همکاران (۱۹۶۶)

بافرهای غیر فعال از لحاظ بیولوژیکی

محاسن:

- حلالیت بالا در آب و حلالیت کم در محلولهای آلی (حداقل عبور و پخش از غشاء)
- واکنش پذیری کم با کاتیونها
- مقاوم به تخریب آنزیمی

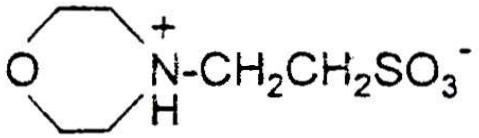
محدوده کاربرد بافرهای گود در محلولهای غذایی: در حال حاضر pH ۶ تا ۱۰

ظرفیت بافر کنندگی مواد گود:

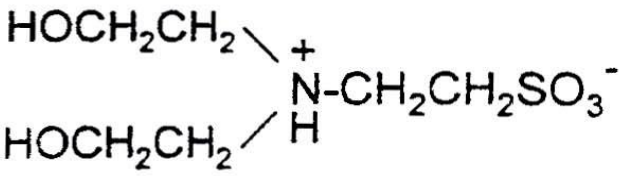
- **خاصیت پروتونه شدن گروه آمین –NHx**
- **برخی نیز حاوی گروه سولفونات –SO3 که اسیدی قوی است.**

MES
2-(*N*-Morpholoneo)ethanesulfonate

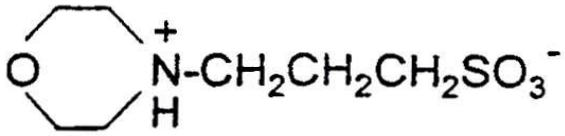
- در بسیاری مطالعات تغذیه گیاهی کاربرد داشته است.
- در محدوده پ–هاش ۵/۵ تا ۵/۶ عالی است.
- اثر سمی نداشته و غلظت های ۱ تا ۵ میلی مولار قابل استفاده است اما ۱۰ میلی مولار سمی گزارش شده.
- جذب عناصر را تغییر نمی دهد اگر چه در غلظت های بالا (۵–۱۰ میلی مولار) سبب افزایش غلظت گوگرد شده.
- مقاوم به تجزیه میکروبی



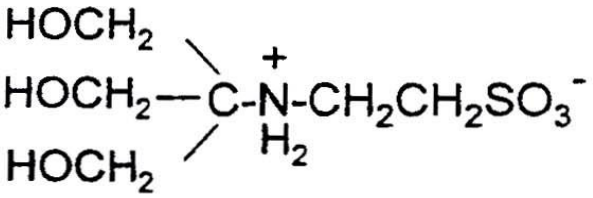
MES (pK_a = 6.1)



BES (pK_a = 7.1)

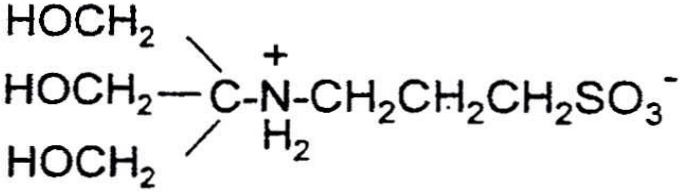


MOPS (pK_a = 7.2)

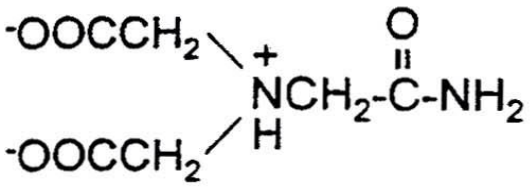


TES (pK_a = 7.4)

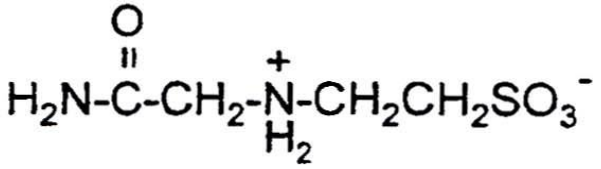
HEPES (pK_a = 7.5)



TAPS (pK_a = 8.4)



ADA (pK_a = 6.6)



ACES (pK_a = 6.8)

۳-۲-بیکربنات (HCO_3^-)

- وجود بیکربنات در همه محلولهای معدنی در معرض هوا

$$CO_2\ (g) + H_2O \longrightarrow H_2CO_3 \qquad \log K = -1.46$$
$$H_2CO_3 \longrightarrow H^+ + HCO_3^- \qquad \log K = -6.36$$

- غلظت بالای بیکربنات بافر مهم در آبها از جمله محلول خاکهای قلیائی و نزدیک خنثی
- احتمالاً کلروز آهن در گیاهان حساس در حضور بیکربنات
- از عوامل کلروز ناشی از آهک (lime-induced chlrosis) درخاکهای قلیایی
- بکارگیری بیکربنات همراه با فشار کنترل شده دی اکسید کربن به عنوان بافر pH

۳-۳-بافر کردن pH با رزین های تبادل یونی مصنوعی

❖ رزین های Ca-form, Na-form بصورت مخلوط می باشند.

مثال: Amberlite IRC-50 مخلوط H-forms , Ca جهت کنترل پ-هاش در طی دوره رشد ذرت بکارگرفته شده و مناسب بوده است.

روش های بکارگیری رزین:

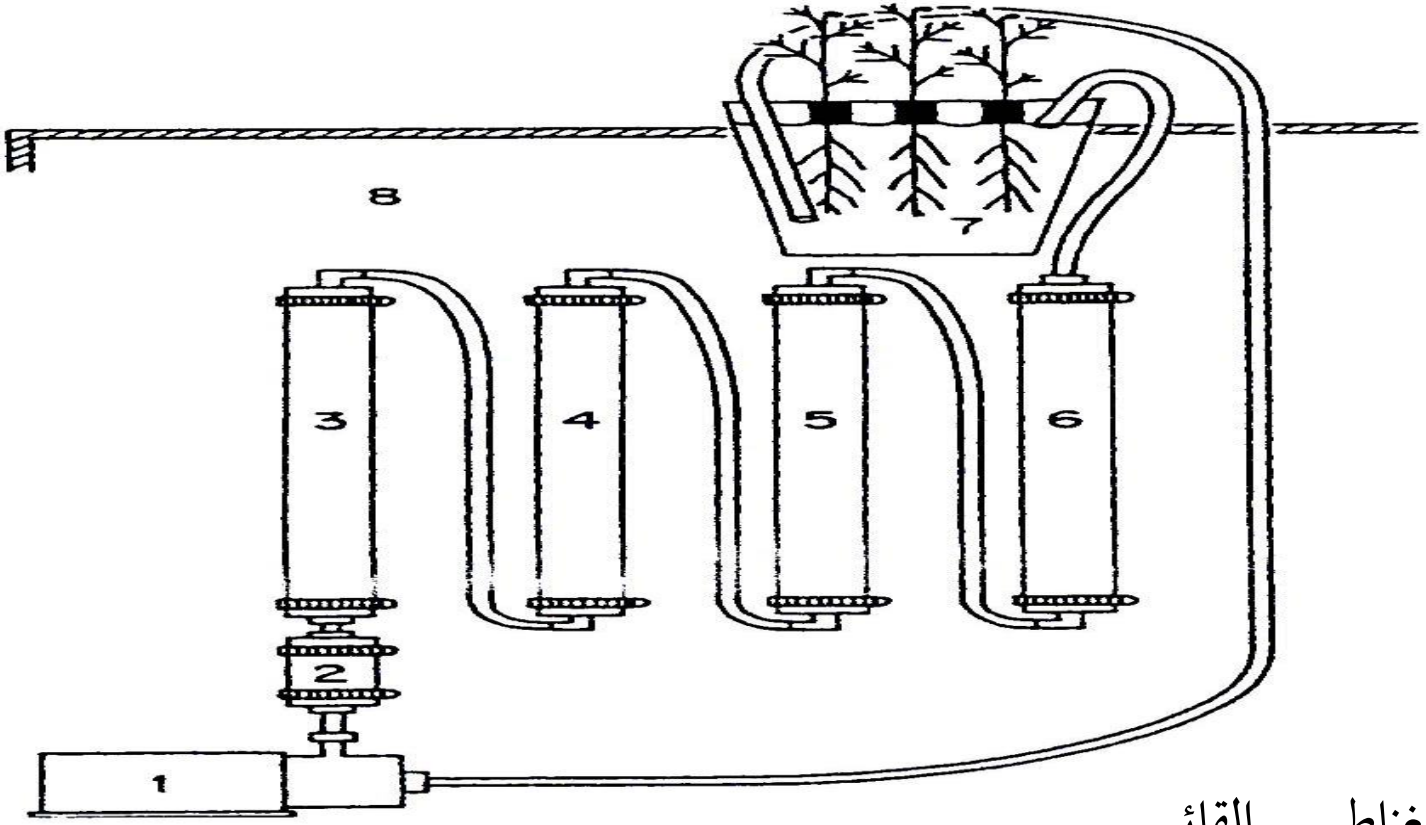
-قرار دادن رزین ها بطور مستقیم داخل محلول

-قرار دادن رزین در بسته های غشاء صافی جهت جدا کردن ریشه از رزین

-قرار دادن ستون رزین داخل محلول کشت و عبور چرخشی محلول غذائی از ستون

-قرار دادن ستون رزین خارج از گلدان جهت افزایش حجم محلول و کنترل بهتر pH

-تولید رزین های بافر آمبرومتریک که دارای گروههای اسید و باز



(۱) پمپ مغناطیسی القائی,
(۲)ستون محافظ,
(۳)ستون رزین اسیدی قوی برای کاتیونهای تبادلی,
(۴) ستون اسیدی ضعیف برای بافرکردن پ-هاش,
(۵) ستون رزین تیمارشده با آلومینیوم برای آزاد کردن فسفر جذب شده,
(۶) ستون رزین کلات کننده برای تبادل فلزات کم مصرف,
(۷)ظرف حاوی محلول غذائی و بوته های سیب زمینی
(۸) کابینت کنترل کننده دمای منطقه ریشه.

۳-۴-بافر کردن pH با فازهای جامد معدنی

۳-۴-۱-کربنات کلسیم

کاربرد:

-برای تنظیم تغییرات pH (اغلب بین ۵/۶ تا ۰/۸)

-کاهش سمیت آمونیاک

- مقدار اضافه شده به محلول غذائی: ۱/۰ تا ۰/۱ گرم $CaCO_3$ در لیتر
- وجود $CaCO_3$ در محیط کشت مانع کاهش pH می شود(بافر سریع الواکنش در محیط)

-انحلال $CaCO_3$: تولید آلکالینیتی (یون کربنات) در محلول : مصرف H^+ و افزایش pH

-رسوب $CaCO_3$: کاهش بیکربنات: تولید H^+ و در نهایت کاهش pH

مشکل:

پیچیدگی سیستم و تاثیر بر سایر اجزای محلول

مثال: -رسوب فسفات و برخی فلزات -جذب سطحی -اکسیداسیون در سطوح کربنات

۳-۴-۲-بی کربنات سدیم یا پتاسیم $NaHCO_3$, $KHCO_3$

5–بافر کردن Eh (pe)

5-بافر کردن غلظت عناصر کم مصرف