

"مجله علوم زراعی ایران"

جلد ششم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۳

بررسی اثرات تلقیح سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) با سویه‌های مختلف باکتری
(Bradyrhizobium japonicum) بر گره‌بندی و میزان تثبیت نیتروژن
Evaluation of soybean inoculation with different strains of *Bradyrhizobium*
japonicum on nodulation and nitrogen fixation

مهراب یادگاری^۱، غلامعباس اکبری^۲، ایرج الله‌دادی^۳، جهانفر دانشیان^۴ و هادی اسدی رحمانی^۵

چکیده

به منظور مطالعه اثرات تلقیح یک رقم و یک لاین سویا با سویه‌های مختلف باکتری همزیست و تعیین بهترین ترکیب باکتری و رقم طرحی در شرایط گلخانه به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در کرج به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از یک رقم سویا به نام ویلیامز و یک لاین به نام لاین ۱۱ (L_{۱۱}) و چهار سویه باکتری برادی ریزوبیوم به نام‌های هلی نیترو (Helinitro)، خاک و آب (SWRI = Soil and Water Research Institute)، های استیک (Highstick) و سویا به همراه یک تیمار بدون تلقیح (شاهد). آزمایش فوق در شرایط مزرعه‌ای نیز با تیمارهای یاد شده با سه تکرار و در قالب طرح کرت‌های خرد شده اجرا شد. در هر دو آزمایش گیاهان تا مرحله ظهور غلاف نگهداری شدند. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل تعداد گره، وزن خشک گره، وزن تک گره، نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه، وزن خشک اندام هوایی، درصد نیتروژن در خاک و میزان تثبیت نیتروژن به روش تعادل نیتروژن (N-difference) بودند. نتایج نشان دادند که سویه های استیک نسبت به سایر سویه‌ها از کارایی گره‌بندی و تثبیت نیتروژن بیشتری برخوردار بود و لاین ۱۱ نیز به دلیل همزیستی و سازگاری بهتر در منطقه نسبت به رقم ویلیامز برتر بود. بیشترین مقادیر در خصوص تعداد گره (۱۰/۳)، میزان وزن خشک گره در گیاه (۰/۱۹ گرم)، وزن خشک گیاه در مرحله برداشت (۳۴/۷ گرم) و نسبت اندام‌های هوایی به ریشه (۵/۹) در شرایط مزرعه و بیشترین مقادیر در خصوص تعداد گره در گیاه (۱۳/۲)، میزان وزن خشک گره (۰/۱۸ گرم در گیاه)، وزن خشک گیاه در مرحله ظهور غلاف (۳۳/۱۶ گرم) و نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه (۶/۶) در شرایط گلخانه مربوط به ترکیب باکتری های استیک و لاین ۱۱ بود. به طور کلی این ترکیب به عنوان بهترین ترکیب برای سویا در منطقه کرج تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: گره‌بندی، ماده خشک، همزیستی، تثبیت نیتروژن، سویه.

مقدمه

کشاورزی پایدار مطابقت ندارد. این در حالی است که بیش از یکصد سال است که رابطه همزیستی تثبیت کننده نیتروژن بین انواع لگوم و باکتری‌های خانواده ریزوبیاسه

امروزه در کشور ایران برای کشت انواع لگوم از کودهای نیتروژنه استفاده می‌گردد که این امر با اصول

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۳/۲/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۱۱/۲

۲- استادیار دانشگاه تهران- مجتمع آموزش عالی ابوریحان

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه تهران

۴- استادیار پژوهش- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر- کرج

۳- استادیار دانشگاه تهران

۵- عضو هیأت علمی- مؤسسه تحقیقات خاک و آب

توجه خاصی به این امر معطوف گردیده است. در رابطه با بررسی ژرم پلاسما لگوم‌های مختلف زراعی از نظر تطابق با سویه‌های همزیست، مطالعات انگشت شماری در مورد سویا در ایران انجام شده است که از آن جمله می‌توان به گزارش دانشیان (۱۳۷۴) اشاره کرد. مطالعه حاضر با هدف معرفی بهترین ترکیب رقم سویا و باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در منطقه کرج انجام یافته است.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای: به منظور بررسی تأثیر چهار سویه ریزوبیومی پس از تلقیح با یک رقم و یک لاین سویا، آزمایش گلخانه‌ای به شرح زیر انجام شد. برای کشت گیاه از ماسه شسته شده استفاده گردید که در گلدان‌های چهار کیلوگرمی ریخته شده و آماده آزمایش گردید. جهت رفع کمبود عناصر غذایی گلدان‌ها از محلول غذایی بدون نیتروژن (Broughton and Dilworth, 1970) استفاده گردید (اسدی رحمانی ۱۳۷۸). برای تهیه ۱۰ لیتر از محلول غذایی بدون نیتروژن، ۵ میلی‌لیتر از هر استوک را به پنج لیتر آب مقطر افزوده و پس از به هم زدن، پنج لیتر آب مقطر دیگر به آن اضافه شد و توسط NaOH یک نرمال، pH آن بین ۶/۸-۶/۶ تنظیم گردید. فرمول تهیه این محلول غذایی طبق جدول ۱ می‌باشد.

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار شامل یک رقم و بیلایمز (W) و یک لاین L_{۱۱} (L) و چهار سویه باکتری به نام‌های هلی نیترو (B_۱)، سویار (B_۲)، SWRI (B_۳)، های استیک (B_۴) به اضافه یک سطح شاهد بدون تلقیح اجرا گردید. سویه هلی نیترو محصول کشور ایتالیا بوده، میزان مصرف باکتری یک پاکت ۳۰۰ گرمی به ازاء ۶۰ کیلوگرم بذر می‌باشد. سویه های استیک محصول کشور انگلستان بوده، میزان مصرف مشابهی نسبت به هلی نیترو دارد. سویه سویار محصول شرکت بهدانه ناب بوده که این مایه تلقیح جهت حصول چسبندگی بهتر به بذر، نیازمند میزان کمی رطوبت بر روی سطح بذر می‌باشد. سویه

(Rhizobiaceae) شناسایی شده و سال‌های متمادی است که مایه تلقیح‌های تولید شده ریزوبیومی جهت افزایش عملکرد و کاهش مصرف کودهای نیتروژنی در کشت انواع لگوم استفاده می‌گردد. سویا از لگوم‌هایی است که از نقطه نظر محتوای روغن و پروتئین از محصولات ارزشمند محسوب می‌گردد و با در نظر گرفتن وابستگی شدید کشور به روغن خوراکی اهمیت توجه به توسعه کشت این گیاه مهم در کشور بیش از پیش مشخص می‌گردد.

مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط سویا متغیر بوده و به عوامل خاکی و محیطی، سویه باکتری مورد استفاده و رقم سویای کشت شده بستگی دارد. الکساندر (Alexander, 1997) مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط سویا را ۱۱۵-۶۵ کیلوگرم در هکتار در سال و هاردی و همکاران (Hardy et al., 1976) این مقدار را ۹۴-۵۷ کیلوگرم در هکتار در سال گزارش کرده‌اند (اسدی رحمانی ۱۳۷۸). کیزر و لی (Keyser and Li, 1992) حداکثر مقدار تثبیت نیتروژن در سویا را ۲۳۷ کیلوگرم در هکتار در سال ذکر کرده‌اند.

کارشناسان میکروبیولوژی خاک همواره سعی خود را معطوف به جداسازی و شناسایی سویه‌های ریزوبیوم همزیست سویا کرده‌اند که کارایی مناسبی در تثبیت نیتروژن داشته باشند، در حالی که محققین علوم زراعت بیشتر در پی یافتن ارقام مناسب بوده‌اند، ولی راه صحیح‌تر آن است که برای هر منطقه آب و هوایی ارقام مناسب سویا و سویه‌های کارآمد باکتری آزمایش شده و بهترین ترکیب رقم - باکتری معرفی گردد. براساس نظر المریچ و همکاران (Elmerich et al., 1997) تعداد گره‌های ریشه‌ای و الگوی پراکنش آن‌ها بر روی ریشه‌های سویا بستگی به ارقام دارد و در هر رقم با دیگری متفاوت است.

در ایران مطالعات اندکی بر روی تثبیت بیولوژیک نیتروژن صورت گرفته است، ولی در سال‌های اخیر

”بررسی اثرات تلقیح سویا ...“

جدول ۱- فرمول غذایی بدون نیتروژن

Table 1- Nutrition formulation without Nitrogen

Stock	Chemicals	Amount (g/l)
1	CaCl ₂ .2H ₂ O	294.1
2	KH ₂ PO ₄	136.1
3	Fe Citrate	5.4
	MgSO ₄ .7H ₂ O	123.3
	K ₂ SO ₄	87.0
	MnSO ₄	0.338
4	H ₃ BO ₃	0.247
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.288
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.100
	CoSO ₄ .7H ₂ O	0.056
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.048

کرت‌های اصلی دو ردیف بذر تلقیح نشده با باکتری به عنوان محافظ و برای جلوگیری از عمل تداخل و آلودگی باکتری‌ها کشت گردید. فاصله بین تکرارها نیز سه متر در نظر گرفته شد. جوی‌های آبیاری به نحوی تعبیه شد که آب آبیاری اضافی هر تکرار توسط یک جوی خروجی در انتهای کرت‌ها از مزرعه خارج شود.

قطعه زمین مورد استفاده به مدت چهار سال قبل از اجرای آزمایش زیر کشت گیاهان غیر لگوم بود که در پائیز سال ۱۳۷۹ شخم خورده و در بهار ۱۳۸۰ مجدداً شخم سطحی در آن انجام گرفت. سپس با دستگاه کودپاش سانتریفوژ متصل به تراکتور ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع فسفات آمونیوم و ۲۳ کیلوگرم نیتروژن در هکتار از منبع اوره به عنوان کود استارتر به زمین اضافه شد. تلقیح بذور مشابه آزمایش گلخانه‌ای انجام گردید، بدین صورت که ابتدا بذور با محلول ۲۰ درصد شکر آغشته شده و سپس مایه تلقیح‌های مورد نظر به آن‌ها افزوده شده و پس از مخلوط کردن در سایه خشک شده و سپس کاشته شدند. بافت خاک محل آزمایش لومی بود و میزان نیتروژن کل خاک ۰/۰۶ درصد برآورد گردید.

گیاهان در این آزمایش در مرحله رسیدگی برداشت شدند و عواملی نظیر میزان تثبیت نیتروژن در خاک و در

خاک و آب محصول مؤسسه تحقیقات خاک و آب بوده که این مایه تلقیح نیز جهت حصول چسبندگی بهتر به بذر، نیازمند میزان کمی رطوبت بر روی سطح بذر می‌باشد. بذور سویا با مایه تلقیح‌های پودری حاوی سویه‌های یاد شده تلقیح شدند. در هر گلدان تعداد هشت بذر کشت و پس از جوانه‌زنی تعداد آن‌ها به چهار عدد تقلیل یافت. هم‌چنین در این آزمایش یک تیمار شاهد (بدون تلقیح با باکتری (B₀)) نیز در نظر گرفته شد.

گیاهان در مرحله شروع غلاف‌بندی به دلیل حداکثر شدن فعالیت گره‌بندی برداشت شده و صفات تعداد گره، وزن خشک گره، نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه و وزن خشک کل گیاه برآورد شد (Elmerich et al., 1997 and Hafeez et al., 2000).

آزمایش مزرعه‌ای: آزمایش با شرایطی مشابه با تیمارهای ذکر شده و در قالب طرح کرت‌های یک بار خرد شده (Split-plot) و در سه تکرار (R) در مزرعه چهارصد هکتاری مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. تعداد کرت‌های آزمایشی مجموعاً ۳۰ کرت و ابعاد هر کرت ۲/۵×۵ متر بود که دارای چهار ردیف کشت با فواصل ۶۰ سانتیمتر بین ردیف‌ها و فاصله هفت سانتیمتر بین بذور روی ردیف‌ها بود. بین

اندام هوایی و عملکرد و هم‌چنین سایر صفات بررسی شده در گلخانه، برآورد شدند. مقدار تثبیت نیتروژن در خاک از طریق تفاضل نیتروژن خاک قبل از کشت و نیتروژن خاک پس از برداشت گیاه از روش آزمایشگاهی کجلدال محاسبه گردید. تثبیت نیتروژن توسط گیاهان با روش N-difference محاسبه گردید (Peoples and Faizah, 1989;)

کل نیتروژن تثبیت‌شده در تیمار شاهد در هر گیاه - کل نیتروژن جذب شده در تیمار تلقیحی در هر گیاه = مقدار نیتروژن تثبیت شده در هر گیاه

نتایج و بحث

شرایط گلخانه

تعداد گره

تعداد گره در گیاه در شرایط گلخانه تحت تأثیر ارقام و سویه‌های باکتری اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان دادند (جدول ۲). در این خصوص لاین ۱۱ و سویه‌های استیک مقادیر بیشتری گره داشتند و در گروه‌های برتر قرار گرفتند (جدول ۳) که نتایج حاصله در بخش مزرعه (جدول ۶) راتا حدزایدی تأیید می‌نماید. اثرات متقابل ارقام و باکتری به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان دادند (جدول ۲) و در بین اثرات مذکور، لاین ۱۱ و باکتری‌های استیک بیشترین تعداد گره را به خود اختصاص داد. در این خصوص ترکیبات شاهد (ویلیامز و لاین ۱۱ بدون تلقیح با باکتری) فاقد گره بودند (جدول ۳).

وزن خشک گره

وزن خشک گره تحت تأثیر ارقام و سویه‌های باکتری اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۲)، به طوری که لاین ۱۱ به دلیل طول دوره بیشتر، همزیستی با باکتری و خصوصیات مطلوب گیاهی و باکتری‌های استیک به دلیل خصوصیات مطلوب مطرح در یک سویه کارآمد نظیر رقابت و ایجاد گره‌های بزرگتر در مکان بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها قرار گرفتند (Subbba Rao, 1999) (جدول ۳).

اثرات متقابل سویه‌های باکتری و ارقام به لحاظ آماری تفاوت چشم‌گیری داشتند (جدول ۲) و ترکیب لاین ۱۱ و باکتری‌های استیک در مکان بالاتری نسبت به سایرین قرار گرفت (جدول ۳) که نتایج به دست آمده در بخش مزرعه راتأیید می‌نماید (جدول ۶).

متوسط وزن خشک گیاه در مرحله تشکیل غلاف

وزن خشک گیاه در شرایط گلخانه در زمان تشکیل غلاف تحت تأثیر باکتری و رقم اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۲). به طوری که لاین ۱۱ و سویه‌های استیک بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). اثرات متقابل ارقام و باکتری نیز به لحاظ آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند و در گروه‌بندی‌های متفاوتی قرار گرفتند. کمترین میزان وزن خشک گیاهی مربوط به ترکیب ویلیامز بدون تلقیح بود که در حدود یک سوم متوسط وزن خشک گیاهی در ترکیب لاین ۱۱ و های استیک بود. به نظر می‌رسد دلیل این امر عدم فراهم بودن نیتروژن کافی در ریزوسفر گیاهی و هم‌چنین طول دوره رشد کمتر باشد (جدول‌های ۲ و ۴).

متوسط نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه

نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه تحت تأثیر ارقام و سویه‌های باکتری تفاوت معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۲)، در تقسیم‌بندی میانگین اثرات باکتری و رقم، گروه‌های مختلفی به وجود آمد

سویا و جمعیت‌هایی از سه باکتری برادی ریزوبیوم الکانی (*Bradyrhizobium elkanii* bv SEMIA 587, SEMIA 5019, SEMIA 566) به اثر متقابل معنی دار رقم و باکتری اشاره نمودند.

در مطالعه‌ای که توسط زنگی و مکنزی (Zhengqi and Mackenize, 1992) بر روی تأثیر سویه‌های باکتری برادی ریزوبیوم جاپونیکوم بر عملکرد ارقام زودرس سویا (آپاچی و مپل آرو) انجام دادند، نتیجه گرفتند که کاربرد باکتری اثر معنی‌داری را بر گره‌زایی در ارقام سویا داشته و رقم آپاچی با ۱۵/۳، بیشترین تعداد گره را داشته است. حفیظ و شاه (Hafeez et al., 2000) نیز طی آزمایشی بر روی میزان گره‌بندی ارقام مختلف عدس (پریکوز، پی‌ال ۴۰۶ و ام ۸۵) توسط سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم لگومینوزارم (*Rhizobium leguminosarum* bv viciae) نشان دادند که سویه‌ها و ارقام اثر معنی‌داری در خصوص صفت تعداد گره داشته‌اند و رقم ام ۸۵ با شش گره، بیشترین تعداد گره را در بین ارقام مختلف عدس به وجود آورد. هم‌چنین دشتی و خدابنده (۱۳۷۸) در مطالعه بر روی تأثیر همزیستی سویه‌های سینوریزوبیوم ملیپوتی بر سه گونه یونجه یک ساله به اثر معنی‌دار باکتری در رقم اشاره نمودند. طی این آزمایش گونه *M. truncatula* با سویه باکتری WSM540 بیشترین میزان گره‌بندی را حاصل نمود.

وزن خشک گره

وزن خشک گره تحت تأثیر سویه‌های مختلف باکتری و ارقام مورد آزمایش قرار گرفت (جدول ۵). به طوری که سویه‌های استیک وزن خشک گره بیشتری را نسبت به سایر باکتری‌ها تولید نمود (جدول ۶). لاین ۱۱ وزن خشک گره بیشتری را با اختلاف معنی‌دار به خود اختصاص داد و در بین ترکیبات باکتری و رقم نیز تفاوت قابل ملاحظه مشاهده گردید (جدول‌های ۵ و ۶). در این خصوص، بیلی (Bailey, 1988) در طی یک آزمایش اثر سویه‌های مختلف برادی ریزوبیوم

(جدول ۴) به طوری که لاین ۱۱ و باکتری‌های استیک در گروه‌های برتر قرار گرفتند.

اثرات متقابل باکتری و رقم به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۲)، به طوری که گروه‌بندی‌های متفاوتی به وجود آمد و نشان داد که ترکیب باکتری‌های استیک و لاین ۱۱ نسبت وزنی اندام هوایی به ریشه بیشتری دارد. در خصوص این صفت نیز همچون متوسط وزن خشک گیاهی، کمترین میزان متعلق به ترکیب ویلیامز بدون تلقیح بود (جدول ۴).

شرایط مزرعه

تعداد گره

در این آزمایش سویه‌های مختلف باکتری دارای اختلاف معنی‌داری از لحاظ تعداد گره بودند (جدول ۵). که در این بین سویه‌های استیک تعداد گره بیشتری را در گیاه به وجود آورد (جدول ۶). به نظر می‌رسد اختلاف ژنتیکی و توان رقابتی بالای بعضی سویه‌ها و سازگاری بهتر در ریزوسفر گیاهی باعث برتری آن‌ها می‌شود (Suba Rao, 1999).

ارقام نیز از لحاظ صفت یاد شده متفاوت بودند، به طوری که لاین ۱۱ به میزان بیشتری گره‌زایی نمود (جدول‌های ۵ و ۶). به نظر می‌رسد که این لاین توان همزیستی و گره‌زایی بهتری را از خود نشان داده است. دانشیان (۱۳۷۴) در مطالعه بر روی اثر متقابل سویه‌های باکتری برادی ریزوبیوم (هلی نیترو، گلدکت و ریزو کینگ) و ارقام مختلف سویا (ویلیامز، سنچوری و هارکور) به اثر معنی‌دار رقم اشاره نمود که در این بین، رقم ویلیامز به دلیل دارا بودن طول دوره رشد بیشتر از گره‌زایی بیشتری برخوردار بود.

در مطالعه اثرات متقابل باکتری و رقم نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۵)، به طوری که ترکیب لاین ۱۱ با سویه‌های استیک تعداد گره بیشتری را تولید نمود (جدول ۶). هانگریا و بوهرر (Hungria and Bohrer, 2000) نیز در مطالعه بر روی ارقام

متوسط وزن خشک گیاه در مرحله برداشت

وزن خشک گیاه تحت تأثیر ارقام و سویه‌های مختلف باکتری اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۵) به طوری که در بین سویه‌های باکتری سویه‌های استیک و در بین رقم ویلیامز و لاین ۱۱، لاین ۱۱ وزن خشک بیشتری به وجود آوردند (جدول ۷). هم‌چنین بین اثرات متقابل باکتری و رقم به لحاظ آماری اثر معنی‌داری به دست آمد (جدول ۵) به طوری که ترکیب باکتری‌های استیک و لاین ۱۱، بیشترین و ترکیب ویلیامز بدون تلقیح، کمترین میزان وزن خشک را به وجود آوردند (جدول ۷) که نتایج حاصله در بخش گلخانه را تا حد زیادی تأیید می‌کند (جدول ۴). نتایج تحقیقات مانجاناتا و لوینچان (Manjanatha and Loynachan, 1992) نیز مؤید وجود اختلاف معنی‌دار بین ارقام و سویه‌های باکتری است. این تحقیق بر روی ارقام مختلف سویا و سویه‌های مختلف ریزوبیوم صورت پذیرفت و برطبق نتایج آن بیشترین میزان وزن خشک کل گیاهی به میزان ۱/۳ گرم گره در گیاه در سویه VSDA₁₁₀ و رقم ویلیامز به دست آمد.

دشتی و همکاران نیز در مطالعه گلخانه‌ای در سال ۱۳۷۸ بر روی سه گونه یونجه یک ساله و سه تیمار باکتری به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص صفت وزن خشک اندام هوایی اشاره نمودند. برطبق نتایج ایشان رقم *M. scutellata* در ترکیب با سویه تجارتنی WSM₅₅₄₀، بیشترین میزان وزن خشک گیاهی را به وجود آورد. در آزمایش‌های مشابهی که توسط اسدی رحمانی و صالح راستین (Rahmani and Saleh-Rastin, 2000) بر روی سویا و سویه‌هایی از باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم صورت گرفت ایشان نیز به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص وزن خشک ارقام سویا اشاره نمودند. رودریگوئزناوارو و همکاران (Rodriguez Navarro et al., 2000) گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در خصوص مقادیر وزن خشک اندام هوایی رقم لویا کانلینی در تلقیح با سویه‌های مختلف

جاپونیکوم را بر وزن خشک گره ارقام سویا، معنی‌دار گزارش کرد. در طی آزمایش وی بیشترین وزن خشک گره متعلق به رقم Maple Arrow به میزان ۰/۵ گرم در گیاه در مرحله R₄ (پایان غلاف‌بندی) بود. در همین ارتباط هانگریا و بوهرر (Hungria and Bohrer, 2000) در مطالعه بر روی میزان گره‌بندی و تثبیت نیتروژن ارقام سویا توسط سویه‌های باکتری برادی ریزوبیوم جاپونیکوم به اثر معنی‌دار باکتری در رقم اشاره نمودند، ضمن آن که ویدیرا و همکاران (Videira et al., 2001) نیز در مطالعه بر روی اثر متقابل گونه سینوریزوبیوم فردی (*Sinorhizobium fredii*) و ارقام سویا گزارش نمودند که رقم AS₄₇₀₂ در تلقیح با SMH₁₂ بیش از ۲۰۰ میلیگرم در گیاه وزن خشک گره پدید آورد.

حفیظ و همکاران (Hafeez et al., 2000) نیز در آزمایش بر روی مقادیر گره‌بندی ارقام عدس تلقیح شده با سویه باکتری ریزوبیوم لگومینوزارم نتیجه گرفتند که باکتری اثر معنی‌داری بر روی این صفت داشته است و رقم M-85 با وزن خشک ۹/۷ میلیگرم در گیاه، بیشترین میزان را داشته است. دشتی و خدابنده (۱۳۷۸) در مطالعه بر روی تأثیر همزیستی سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی (*Sinorhizobium meliloti*) بر سه گونه یونجه یک ساله نتیجه مشابهی گرفتند و در این خصوص گونه *M. scutellata* وزن خشک گره بیشتری به وجود آورد.

ماریانجلا هانگریا و همکاران (Marriangela Hungria et al., 2000) در آزمایش روی اثر متقابل سویه‌های ریزوبیوم فازئولی (*Rhizobium phaseoli*) و رقم لویا زراعی (*Phaseolus vulgaris*) به وجود اختلاف معنی‌دار در این خصوص اشاره کردند و طی این تحقیق سویه باکتری PRF₈₁ با میزان ۲۲۴ میلیگرم وزن خشک گره بیشترین وزن خشک گره را به وجود آورد.

مربوط به ریزش برگ‌ها پس از رسیدگی فیزیولوژیکی و زرد شدن کل گیاه می‌باشد (جدول ۷).

متوسط نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه

متوسط نسبت وزنی اندام‌های هوایی به ریشه تحت تأثیر ارقام و سویه‌های باکتری تغییرات معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۵). تغییرات بین ارقام احتمالاً مربوط به تفاوت آن‌ها در طول دوره رشد و نیز در خصوص لاین ۱۱ تغییرات اصلاحی است که منجر شده است این لاین نسبت اندام‌های هوایی به ریشه بیشتری به وجود آورد (جدول ۷).

هم‌چنین تغییرات بین سویه‌ها به دلیل ساختار و خصوصیت ژنتیکی آن‌ها بوده است که باعث شده است سویه‌های استیک بالاتر از سایر سویه‌ها قرار گیرد (جدول ۷). اثرات متقابل ارقام و سویه‌های باکتری به لحاظ آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان داد و در طبقه‌بندی میانگین اثرات متقابل ترکیب لاین ۱۱ و باکتری‌های استیک بالاتر از همه قرار گرفت، دلیل این امر را می‌توان فعالیت مطلوب باکتری و تثبیت نیتروژن بیشتر و نقش نیتروژن در ریشه و توسعه اندام‌های هوایی بیان نمود (جدول‌های ۵ و ۷).

میزان نیتروژن تثبیت شده در هکتار

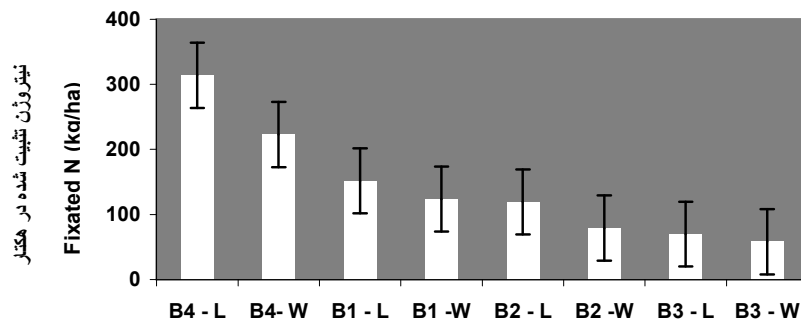
میزان نیتروژن تثبیت شده گیاه در زمان برداشت تحت تأثیر ارقام و سویه‌های باکتری تغییرات معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). در بین سویه‌ها نیز اختلاف در گروه‌بندی مشاهده گردید (جدول ۵). اثرات متقابل ارقام و سویه‌های باکتری نیز به لحاظ آماری اختلاف چشم‌گیری نشان داد و میانگین این اثرات در گروه‌های متفاوتی قرار گرفت. در بین تیمارهای شاهد، نه تنها نیتروژنی تثبیت نگردید بلکه به دلیل استفاده گیاه و آبشویی از میزان نیتروژن اولیه کاسته شد (جدول ۵ و نمودار ۱).

در مطالعات مشابهی، هانگریا و بوهرر (Hungria and Bohrer, 2000) در آزمایش بر روی میزان گره‌بندی و تثبیت نیتروژن ارقام سویا گزارش

ریزویوم وجود دارد. برطبق این گزارش، سویه *Rhizobium etli* 21PR₂ با میزان ۱۱/۷ گرم وزن خشک در چهار گیاه موجود در گلدان بیشترین وزن خشک را به خود اختصاص داده است.

حفیظ و همکاران (Hafeez et al., 2000) در بررسی ارقام عدس تلقیح شده با سویه‌های مختلف باکتری ریزویوم لگومینوزارم *R. leguminosarum* bv *Viciae* به وجود اختلاف معنی‌دار در بیوماس کل ارقام عدس اشاره نمودند و بیشترین میزان در این خصوص متعلق به سویه LC₂₆ به میزان ۲۸۴۹ کیلوگرم در هکتار و در بین ارقام متعلق به رقم M-85 به میزان ۳۳۴۷ کیلوگرم در هکتار بود. کارانکا و همکاران (Carranca et al., 1999) در مطالعه بر روی باقلا، نخود و نخود فرنگی تلقیح شده با سویه‌های باکتریایی در مناطق مختلف و در دو سال متمادی گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری در میزان وزن خشک ارقام تلقیح شده و تلقیح نشده باقلا، نخود و نخود فرنگی مشاهده نشد.

واسیلاس و نلسون (Vasilas and Nelson, 1992) در مطالعات مشابهی که بر روی ارقام سویا تلقیح شده با سویه‌های مختلف باکتری انجام دادند، گزارش کردند که بیشترین میزان متعلق به لاین LG81-2300 به میزان ۴۲۳۳ کیلوگرم در هکتار بود. رودریگوئزناوارو و همکاران (Rodriguez Navarro et al., 1999) نیز در تحقیق بر روی مقادیر تثبیت نیتروژن در ارقام لوبیا (کانلنی، پرنستا، فابا، بنیا، رلاتور و مورادا) تحت تأثیر سویه‌های مختلف باکتری گزارش نمودند که اختلاف معنی‌دار در بین ترکیب ارقام و سویه‌های باکتری در خصوص صفت وزن خشک گیاه وجود دارد و ترکیب رقم Faba و باکتری CIAT-899 بیشترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی را به وجود آورد. نتایج این تحقیق در گلخانه نیز مؤید نتایج حاصل در مزرعه می‌باشد (جدول‌های ۲ و ۴). کاهش قابل ملاحظه در متوسط وزن خشک این دو مرحله (زرد شدن و برداشت نهایی) بیشتر



نمودار ۱- مقادیر نیتروژن تثبیت شده تیمارهای مختلف در آزمایش مزرعه

Fig. 1. Fixated N in different treatments in farm

(L) لاین ۱۱، (W) ویلیامز، (B1) هلی نیترو، (B2) سویار، (B3) SWRI، (B4) های استیک

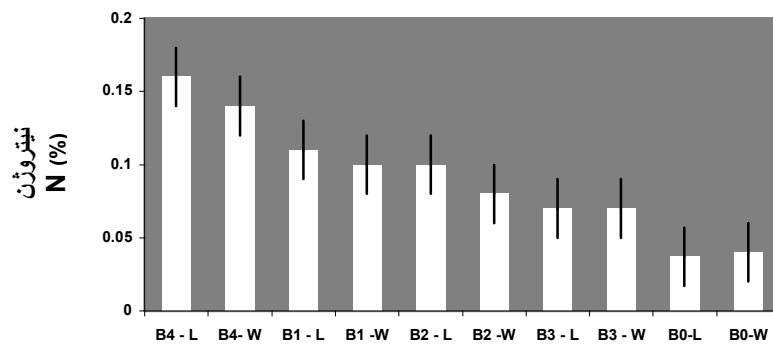
لوینچان (Manjanatha and Loynachan, 1992) در بررسی ارقام مختلف سویا (کورسوی ۷۹، هاردین، ویلیامز ۸۲ و لاین ۴۱۰۴) و سویه‌های مختلف ریزوبیوم فردی به اثر معنی‌دار سویه‌های ریزوبیوم فردی بر میزان نیتروژن گیاه اشاره نمودند و بیشترین میزان نیتروژن در رقم کورسوی در ترکیب با سویه USDA₁₁₀ به میزان ۴۱ میلیگرم به دست آمد.

دستی و همکاران (۱۳۷۸) در بررسی تأثیر همزیستی سویه‌های سینوریزوبیوم میلیوتی (*Sinorhizobium meliloti*) بر سه گونه یونجه یک ساله گزارش نمودند که بین سویه‌های باکتری و ارقام در خصوص میزان تثبیت نیتروژن در اندام‌های هوایی اختلاف معنی‌دار وجود دارد. از میان ترکیبات به وجود آمده ترکیب گونه *M. truncatula* با سویه تجاری WSM540 بیشترین میزان تثبیت را انجام داد، ولی میزان آن گزارش نشده است. حفیظ و شاه (Hafeez et al., 2000) نیز در مطالعات مشابهی که روی ارقام عدس تلقیح شده با *R. leguminosarum* bv *viciae* انجام دادند به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص مقادیر نیتروژن اندام‌های هوایی اشاره نمودند که بیشترین میزان در سویه LC6 و رقم PL-406 به میزان ۳۵ کیلوگرم در هکتار بود.

نمودند که تفاوت معنی‌داری در خصوص کل نیتروژن جذبی در گیاه دیده شد. ارقام از ۹۶/۶ میلیگرم نیتروژن در گیاه تا ۴۲/۱ میلیگرم نیتروژن در گیاه تجمع داشتند. نیتروژن جمعی به ازاء گرم گره از ۴۶۰ میلیگرم به ازاء گرم گره در رقم RS₆ تا ۲۴۶ میلیگرم نیتروژن در گرم گره در رقم EMG₃₀₆ متغیر بود.

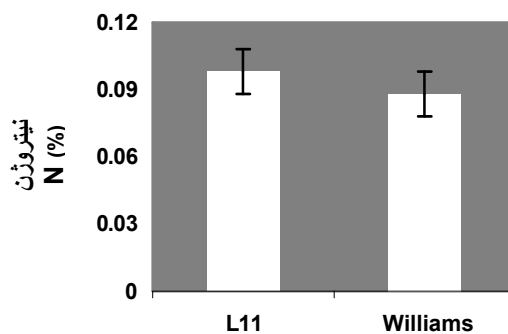
هم‌چنین در آزمایش‌های دیگری که بر روی مقادیر تثبیت نیتروژن سویا، رقم Maple Amber و آپاچی توسط بیلی (Bailey, 1988) صورت گرفت. ایشان به وجود اختلاف معنی‌دار در بین ارقام و سویه‌های باکتری اشاره نمود که بیشترین میزان نیتروژن متعلق به ترکیب رقم سویا Maple Amber و سویه 61A₁₅₅ به میزان ۱۷۰ میلیگرم نیتروژن در اندام هوایی بود.

ودریا و همکاران (Vederia et al., 2001) نیز در آزمایشگاه بر روی توان تثبیت نیتروژن و عملکرد ارقام سویا در تلقیح با سه سویه سینوریزوبیوم فردی (*Sinorhizobium fredii*) و یک سویه برادی ریزوبیوم جاپونیکوم، به اختلاف معنی‌دار در خصوص مقدار نیتروژن اندام هوایی در بین سویه‌ها و ارقام مختلف سویا اشاره نمودند که برطبق این گزارش سویه SMH₁₂ و رقم Calland به میزان ۲۳۰۰ nmol C₂H₄ plant⁻¹ h⁻¹ *¹ دارای نیتروژن بودند. هم‌چنین مانجاناتا و



نمودار ۱-۲- درصد نیتروژن خاک در تیمارهای مختلف

Fig. 2.1. % N in different treatments of soil



نمودار ۲-۲- درصد نیتروژن در ارقام مختلف سویا تلقیح شده با باکتری

Fig. 2.2. % N in different inoculated soybean varieties

ترکیبات رقم و باکتری در گروه‌های متفاوتی قرار گرفتند.

درصد نیتروژن خاک موجود در کرت‌های آزمایشی در زمان برداشت

درصد نیتروژن خاک کرت‌های ارقام سویا تلقیح شده با سویه‌های مختلف باکتری در پایان فصل تحت تأثیر سویه‌های باکتری اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). اثرات متقابل ارقام و سویه‌های باکتری به لحاظ آماری اختلاف چشم‌گیری را نشان داد (جدول ۵)، و در ترکیبات یاد شده همان‌طور که مورد انتظار بود ترکیب لاین ۱۱ و باکتری

کارانکا و وارنز (Carranca and Varennes, 1999) در تحقیق خود که در خصوص میزان تثبیت نیتروژن در باقلا، نخود و نخودفرنگی تحت مناطق و سال‌های متمادی صورت پذیرفت، گزارش کردند که بین انواع لگوم، منطقه و سال اختلاف معنی‌دار به دست نیامد، ولی در عین حال کمترین و بیشترین میزان تثبیت نیتروژن به ترتیب در باقلا تلقیح شده و نخود تلقیح نشده به میزان ۷۹/۴ و ۳/۸ کیلوگرم در هکتار بود. هم‌چنین بیشترین و کمترین میزان نیتروژن اندام‌های هوایی به ترتیب در باقلا تلقیح شده و نخود تلقیح نشده به میزان ۱۱۴/۳ و ۲۶/۴ کیلوگرم در هکتار بود که از این لحاظ

های استیک بیشترین میزان را به خود اختصاص داد که اما در بین ارقام اختلاف آماری چشم گیری مشاهده نشان دهنده میزان تثبیت نیتروژن بیشتر و باقی گذاشتن نگرديد هرچند لاین ۱۱ درصد نیتروژن بیشتری در خاک میزان نیتروژن بیشتری در خاک می باشد (نمودار ۲-۲)، باقی گذاشت (جدول ۵ و نمودار ۲-۲).

References

منابع مورد استفاده

- اسدی رحمانی، ه. ۱۳۷۸. بررسی امکان پیش بینی ضرورت تلقیح سویا بر اساس تعیین تعداد باکتری برادی ریزوبیوم جاپونیکوم و سنجش پتانسیل معدنی شدن ازت در خاک های زیر کشت سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران.
- دانشیان، ج. ۱۳۷۴. اثرات تلقیح بذور ارقام سویا توسط باکتری های *B.japonicum* بر خصوصیات کیفی و کمی ارقام سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس.
- دشتی، م. و ن. خدابنده. ۱۳۷۸. بررسی تأثیر همزیستی سویه های سینوریزوبیوم میلیوتی بر سه گونه یونجه یک ساله. ششمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه مشهد. ۳۳۰-۳۳۲.
- Bailly. L. D. 1988. Influence of single strains and a commercial mixture of *Bradyrhizobium japonicum* on growth, nitrogen accumulation and nodulation of two early maturing soybean cultivars. Canadian Journal of Plant Science, **68**: 411-418
- Carranca. C., A. de Varennes and D. Rolston. 1999. Biological nitrogen fixation by fababeans, pea and chickpea, under field conditions, estimated by the N isotope dilution technique. European Journal of Agronomy, **10**: 49-56.
- Elmerich. C, A. Kondorski and W.E.Newton. 1997. Biological nitrogen fixation for the 21st century. Klawer Academic Publishers, 207-237.
- Hafeez F. Y, N. H. Shah and K. A. Malik. 2000. Field evaluation of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv.viciae strains for nitrogen fixation using nitrogen -15-isotope dilution. Biology and Fertility of Soils, **31**: 65-69.
- Herridge, D. F. and Danso, S. K. A. 1995. Enhancing crop legume-N₂ fixation through selection and breeding. Plant and Soil, **174**: 51-82.
- Hungria. M and T. R. J. Bohrer. 2000. Viability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. Biology and Fertility of Soils, **31**: 45-52.
- Keyser and Hand Li, F. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. Plant and Soil, **141**: 119-135.
- Manjanatha. M. G. and T. E. Loynachan. 1992. Efficiency, competitiveness and persistency of Chinese *Rhizobium ferredii* in Iowa soils. Agronomy Journal, **84**: 677-681.
- Mariangella Hungria and Diva de S. Andrade. 2000. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean *Rhizobia* from Brazil. Soil Biology and Biochemistry, **32**: 1515-1528.

- Peoples. M. B and A. W. Faizah. 1989. Methodes for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Australian Center for International Agricultural Research.
- Rahmani H. A and N. S. Rastin. 2000. Prediction the necessity of soybean inoculation based on the numbers of *Bradyrhizobium japonicum* and evaluation of N availability .9th congress of the african assosiation for biological nitrogen fixation . 65.
- Rodriguez Navarro. D. N, C.Santamaria and F. Temperano. 1999. Interaction effects between *Rhizobium* strain and bean cultivars on nodulation, plant growth, biomass partitioning and xylem sap composition. European Journal of Agronomy, **11**: 131-143
- Rodriguez Navarro. D. N and A. M. Buendia, M. Camacho, M. M. Lucas. 2000. Characterization of *Rhizobium* spp. Bean isolates from southwest Spain. Soil Biology and Biochemistry, **32**: 1601 –1613.
- Subba Rao. N. S. 1999. Soil microbiology. Science publishers. Inc P. 165 –225.
- Vasilas B. L and Nelson R. L.1992. N₂ fixation and dry matter and N accumulation in soybean lines with different seed fill periods. Canadian Journal of Plant Science, **72**: 1067-1074.
- Vederia. L. B, G. N.Pastorino and P. A. Balatti. 2001. Incompatibility may not be the rule in the *Sinorhizobium fredii* –soybean interaction. Soil Biology and Biochemistry, **33**: 837-840.
- Zhengqi. C and A. F. Mackenize. 1992. Soybean nodulation and grain yield as influenced by N-fertilizer rate. Canadian Journal and Plant Science, **72**: 1049-1056.