

بررسی کارایی تثبیت بیولوژیک ازت سویه های ریزوبیوم در همزیستی با دو رقم لوبیا به روش رقت ایزوتوپی ازت-۱۵

نجات پیرولی بیرانوند^۱، هادی اسدی رحمانی^۲، علی خراسانی^۱، حسین عباسعلیان^۱، میراحمد موسوی^۱ و ویدا همتی^۲

۱- اعضاء هیئت علمی و کارشناسان بخش کاربرد تکنیکهای هسته ای در مطالعات خاک، آب و تغذیه گیاهی، گروه کشاورزی هسته ای، پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی کرج، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران npiervali@yahoo.com

۲- اعضاء هیئت علمی و کارشناس موسسه تحقیقات خاک و آب، وزارت جهاد کشاورزی

مقدمه

منافع حاصل از گنجاندن گیاهان زراعی خانواده بقولات (leguminosae) در تناوبهای زراعی در بهبود حاصلخیزی خاک و مدیریت ازت از دیرباز شناخته شده است. گیاهان این خانواده می توانند در همزیستی با باکتریهای خاکریزی با نام عمومی ریزوبیوم ازت اتمسفری را تثبیت کرده و در اختیار گیاه قرار دهند. حتی در بیشتر موارد گیاهان بعدی که در تناوب با لگوم ها قرار می گیرند می توانند از این موهبت بهره مند شوند. لوبیا از گیاهان مهم این خانواده است که از منابع مهم کالری و پروتئین در تغذیه انسان محسوب می شود بطوریکه دانه لوبیا دارای ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و ۵۶-۵۰ درصد هیدرات کربن می باشد. لوبیا قادر است در همزیستی با ریزوبیوم ها مقادیری تا بیش از ۱۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار را که بیش از ۷۰٪ نیاز ازتی خود است را تثبیت نماید [۵، ۶ و ۷]. برای سنجش مقدار ازت تثبیت شده که می تواند در مطالعات انتخاب سویه ها و ارقام لوبیا کمک نموده و بعلاوه در مدیریت مقدار و نحوه استفاده از کودهای ازتی مؤثر باشد از روشهای متعددی استفاده می شود. روشهایی مانند احیای استیلین بدلیل عدم دقت کافی فقط می توانند در غربال نمودن اولیه تعداد زیاد سویه ها یا ارقام مورد استفاده قرار گیرند. روش سنجش اورئید ها در آوند ها نیز بدلیل وقت گیر بودن و صرف هزینه از استقبال زیادی برخوردار نیست. در حال حاضر روشهایی مانند محتوای ازت گیاه و یا تفاوت مقدار ازت در گیاهان تلقیح شده و شاهد در کشور ایران و بسیاری از کشورهای دنیا برای انتخاب رقم و یا سویه های مؤثر استفاده میشوند. برای تعیین مقدار دقیق ازت تثبیت شده هیچیک از روشهای ذکر شده از کارایی لازم برخوردار نیستند. استفاده از روشهای ردیابی به کمک ایزوتوپهای ازت میتواند در این قسمت بسیار سودمند باشد. روش رقت ایزوتوپی که بر پایه کاربرد مواد غنی شده از ایزوتوپ ۱۵ ازت و سنجش نهایی نسبت ازت ۱۴ به ۱۵ در گیاهان لگوم است از حدود سی سال پیش در مطالعات تثبیت بیولوژیک ازت به طور گسترده ای به کار گرفته شده است [۱، ۲ و ۳]. در این مطالعه با استفاده روش رقت ایزوتوپی ازت ۱۵، توان تثبیت ازت دو سویه ریزوبیومی بومی منتخب در همزیستی با دو رقم لوبیا در مقایسه با دو سویه ریزوبیوم شناخته شده بین المللی در مزرعه تعیین شده است.

مواد و روشها

در این تحقیق که در مزرعه آزمایشی بخش تحقیقات خاک و آب کرج، موسسه تحقیقات خاک و آب، در یک خاک لوم انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل لوبیا چیتی رقم تلاش و لوبیا قرمز رقم ناز و چهار سویه ریزوبیوم همزیست لوبیا (اتالی، گالیکم، L-177 و L-100) و یک تیمار شاهد بدون تلقیح بود. همچنین از یک تیمار شاهد بدون تلقیح از ایزولاین های غده بند سویا رقم چیپوا با دریافت کود نشاندار بعنوان گیاه رفانس تکمیلی استفاده گردید تا در صورت وجود باکتری بومی ریزوبیوم و یا آلودگی های جانبی تیمار تلقیح نشده با ریزوبیوم، غده دار و در نتیجه تثبیت ازت نمود، بتوان برآورد تثبیت ازت به روش رقت ایزوتوپی نمود. آزمایش در قالب کرتهای خرد شده و بصورت بلوکهای کامل تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. کرت اصلی شامل دو رقم لوبیا و تیمارهای ریزوبیوم آزمایشی در کرتهای فرعی قرار گرفتند. روش تلقیح بذور بصورت افزودن ماده چسباننده به بذور و سپس اختلاط آنها با مایه تلقیح پودری هر کدام از سویه ها بود.

ابعاد کرت‌های آزمایشی 3×10 متر و بذور با فاصله ۵ سانتی متر روی پشته‌هایی به فاصله ۶۰ سانتی متر کشت شد. بر اساس نتایج آزمون خاک، کمبودهای خاک مزرعه با استفاده از کودهای شیمیایی سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم هر یک به مقدار ۱۵۰ کیلو در هکتار مرتفع شد. ابعاد کرتچه‌های ایزوتوبی (جهت اضافه نمودن کود نشاندار و انجام تکنیک هسته ای ازت ۱۵) 1×0.9 متر بوده است [۱]. برای اندازه گیری مقادیر ازت تثبیت شده در آزمایش به روش رقت ایزوتوبی ازت ۱۵ به کرت‌های تلقیح شده مقدار ۲۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم نشاندار با اتم درصد ازت ۱۵ اضافی $9/367$ به کرت‌های گیاهان رفرانس و تثبیت کننده اضافه شد. گیاهان بصورت سبز و قبل از مرحله رسیدن کامل (در مرحله پر شدن کامل غلاف) برداشت و به دو قسمت کاه و غلاف (دانه) تقسیم و نمونه گیری شدند، پس از توزین آسیاب شده و مقدار ازت آنها با روش کج‌دال (دستگاه اتوآنالایزر) و نسبت ایزوتوبی ازت ۱۵ به ۱۴ با دستگاه امیشن اسپکترومتری $NOI7$ تعیین شد. درصد و مقدار ازت تثبیت شده در اثر فرایند همزیستی دو ارگانسیم به ترتیب با استفاده از معادلات فراید و میدلبو محاسبه شد [۴ و ۵]. آنالیز آماری شاخص‌ها با برنامه $MSTATC$ و مقایسات میانگین به روش دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

در این بررسی که با استفاده از روش رقت ایزوتوبی، توان تثبیت ازت دو سویه ریزوبیومی بومی منتخب در همزیستی با دو رقم لوبیا در مقایسه با دو سویه ریزوبیوم شناخته شده بین المللی در مزرعه تعیین گردید. ارقام از نظر شاخص‌های اندازه گیری شده تفاوت نشان ندادند. اگر چه همه سویه‌ها بیشتر از ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار تثبیت ازت مولکولی در همزیستی با ارقام لوبیا نشان دادند لیکن تفاوت معنی داری میان سویه‌های باکتری ریزوبیوم و همچنین ارقام لوبیا به لحاظ تثبیت بیولوژیک لزت مشهود نشد. سویه‌های بومی جدا شده در مقایسه با سویه‌های شناخته شده بین المللی مقدار بیشتری (غیر معنی دار) تثبیت ازت انجام دادند. عملکرد دانه رقم لوبیا قرمز ناز بیشتر از رقم لوبیا چیتی بود. تلقیح با برخی سویه‌ها نسبت به عدم تلقیح عملکرد دانه معنی دار بیشتری حاصل نمود. به طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش معلوم شد اگر حتی سویه‌های بومی موجود در خاک در حد تلقیح با سویه‌های کاملاً موثر دارای توان تثبیت بیولوژیک ازت هستند، برای عملکرد بالاتر محصول در گیاه لوبیا (دانه)، ضروری است که عملیات تلقیح همچنان با یک مایه تلقیح مناسب انجام گیرد.

منابع

- [1] Beck, D P L A Materon and F Afandi. 1993 Practical rhizobium-Legume Technology. Manual No.19 ICARDA.
- [2] Bergersen, F. G. 1980. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. John Wiley and Sons, 702 pp.
- [3] Hardarson G and S K A Danso. 1993. Methods for measuring biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and soil, 152 (1), 19-23.
- [4] Hardarson, G and S K A Danso. 1990. Use of $15N$ methodology to assess biological nitrogen fixation. Pages: 129- 160 in use of Nuclear Techniques in Studies of Soil- Plant relationship, training course series No. 2. IAEA, vienna , Austria.
- [5] Pena-cabriales, J. J., O. A. Grageda-Cabrara, V. Kola and G. Hardarson. (1993). Time course of N_2 fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). Plant and Soil, 152: 115-121.
- [6] Peoples, M. B., J. K. Ladha and D. F. Herridge. 1995. Enhancing legume N_2 fixation through plant and soil management. Plant and Soil, 174: 83-101.
- [7] Wani, S. P., O. P. Ruple and K. K. Lee. 1995. Sustainable agriculture in the semi- arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and Soil, 174: 29-49.