اثر سویه های باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم بر تثبیت بیولوژیک ازت و غده بندی زود هنگام ارقام گیاه سویا به روش ایزوتوپی ازت ۱۵

نجات پیرولی بیرانوند، گودنی هاردارسون، مارتینا ایگنر، نصرت‌اله ثاقب، سعداله تیموری و میراحمد موسوی شلمانی

به ترتیب : بخش کشاورزی هسته‌ای، مرکزتحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران، و واحد خاک لابراتوار سایبرزدورف، بخش همکاریهای مشترک FAO / IAEA، آژانس بین المللی انرژی اتمی، اتریش

مقدمه

با اینکه ازت ۷۸ درصد حجم هوا را تشکیل می دهد اما همچنان از محدود کننده ترین فاکتورهای رشد گیاه بوده که برای رفع کمبود آن معمولاً از کود های ازته استفاده می شود و این مسئله نیز به نوبه خود باعث افزایش هزینه تو لید است. تثبیت بیولوژیک ازت دیگر راه تامین ازت مورد نیاز گیاهان زراعی می باشد که از جمله مزیت های آن می توان به کاهش هزینه تولید، کاهش آلودگی آبهای زیرزمینی، افزایش تولید پروتئین گیاهی (آنچنان که اکثر بقولات نسبت به غلات حاوی پروتئین بیشتری می باشند)، افزایش ازت باقی مانده در خاک برای محصولات بعدی و افزایش حاصلخیزی خاک اشاره نمود (۶ و۷). زاپاتا و همکاران (۱۹۸۷ b) گزارش نموده اند که باقلا عمده ازت تثبیت شده (حدود ۷۵ درصد ازت تثبیت شده و به مقدار ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) را در مرحله ۶۰ تا ۱۱۰ روزی بعد از کشت انجام داده است (۱۴). مطالعات گلخانه ای و مزرعه ای مراحل مختلف تثبیت ازت لو بیا سبز نشلن داده است که این گیاه در ۷۷ روز بعد از کشت حدود ۱۳۰ کیلو گرم ازت تثبیت نموده است که نصف آن از طر یق همزیستی با باکتری بوده است (۱۱). زاپاتا و همکاران (۱۹۸۷a) در مطالعه تثبیت ازت گیاه سویا رقم چیپوا دریافته اند که این گیاه در مراحل اولیه رشد دارای تثبیت ازت ناچیز بوده و تنها در مرحله زایشی R1 (۴) یعنی ۷۴ روز بعد از کشت مقدار قابل توجه ازت مولکولی (۳ کیلوگرم ازت در هکتار در روز) تثبیت نموده است. بعلاوه تثبیت ازت مولکولی در مقادیر قابل توجه در حدود ۲۰ روز یعنی تا مرحله R5 ادامه داشته ودر انتهای فصل رشد، ۵۰ درصد ازت گیاه سویا (حدود ۱۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار) از طریق سیستم همزیستی تامین شده است (۱۳). لذا می‌توان اذعان نمود که سویا در ابتدای فصل رشد، مقدار بسیار کمی ازت تثبیت نموده و این مسئله می تواند تداعی کننده امکان (احتمال) افزایش تثبیت بیولوژیک ازت این گیاه، بالاخص در ابتدای فصل رشد باشد. این احتمال ممکن است که از طریق اصلاح عملیات تلقیح و عوامل موثر در آن و یا اصلاح (breeding) گیاه سویا برای تشکیل غده های موثر زودتر از موعد مقرر عملی گردد. تحقیق حاضر در راستای بررسی احتمال اول یعنی امکان تشکیل غده های زودتر از موعد مقرر در ارقام گیاه سویا در تلقیح منفرد با سه سویه کاملاً موثر باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم انجام گرفته است.

مواد و روشها

آزمایش حاضر بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی درسه تکرار در۹۰ گلدان محتوی ۱/۵ کیلوگرم مخلوط خاک وکوارتز(نسبت ۳ به ۱) در شرایط گلخانه آزمایشگاه بیوتکنولوژی وکشاورزی بخش همکاریهای مشترک FAO / IAEA واقع در سایبرزدورف (Seibersdorf) اتریش درطی۴۰ روز صورت گرفته است. تیمارها شامل زمان برداشت (در سه زمان یک، دو و سه هفته بعد از گلدهی)، رقم سویا (سه رقم چیپوا، M129 و کلی) و سویه‌های باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم (سه سویه J1، J3 و J43) بود. قبل از کشت گیاه تثبیت کننده خاک هرگلدان با ۱۰ میلی لیتر مایه تلقیح (YMB) مورد نظر درغلظت تقریبی ۹×۱۰^{۸} سلول درمیلی لیتر مخلوط گردید. برای سنجش مقدار ازت حاصل ازهمزیستی به روش ایزوتوپی ازت ۱۵(A-value)(۵)، بترتیب دو محلول کود سولفات آمونیم نشاندار با اتم درصد ازت ۱۵ اضافی ۱۰/۱۶ و ۲ تهیه و در مقادیر ۵ و ۲۵ میلی گرم ازت در کیلوگرم خاک با خاک گلدانهای گیاهان تثبیت کننده و مرجع، قبل از انجام کشت گیاه، مخلوط

گردید. گیاه مرجع بکار رفته دراین آزمایش، برای تمامی ارقام سویا، ایزولاینی بدون غده ازسویا رقم M129 بود. بذورجوانه دار شده سویا به تعداد۳ عدد درهرگلدان کشت و بعد از یک هفته به دو عدد تنک گردید. در طی دوره رشد گیاهان مبارزه با علفهای‌هرز، آبیاری با آب‌مقطر فاقد املاح‌معدنی درموقع نیاز و اضافه کردن۵ میلی لیتر ازیک محلول محتوی کلیه عناصرغذائی به استثنای نیتروژن به تمامی گلدانها در هر دو هفته یک بار صورت می پذیرفت. برداشت اول گیاهان در ۲۵ روز پس از کشت (یک هفته بعد ازگلدهی(R1)) وبرداشتهای دوم وسوم به ترتیب در یک و دو هفته بعد از برداشت اول انجام گرفت. پارامترهائی از قبیل وزن خشک اندامهای هوائی، ریشه و غده، تعداد غده های ریشه ای و نسبت و مقدار ازت حاصل از فرآیند همزیستی در اندامهای هوائی گیاه به روش A-value تعیین گردید. ازت نشاندار نمونه های گیاهی به وسیله طیف‌سنج جرمی اندازه گیری شد. عملیات آماری با برنامه MSTATC انجام و مقایسات میانگین ها به روش چند دامنه ای دانکن صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش بیانگر آن است که اکثرشاخص های مطالعه شده در برداشت سوم نسبت به دو برداشت دیگر به صورت معنـی داری بیشترشده است. بدین‌معنی‌که، توانائی ارقام سویا درسه هفته بعد از گلدهی نسبت به یک و دو هفته بعد از گلدهی درتثبیت بیولوژیک ازت، عملکرد ماده خشک وغده‌بندی‌گیاه بالاترمی‌باشد. ارقام سویا بکار رفته در آزمایش با اینکه درغده‌بندی اختلاف معنی دار نشان دادند لیکن در تثبیت بیولوژیک ازت اختلاف معنی داری نداشتند. توضیح این مطلب آن است که چون ایـن ارقـام در یـک گـروه رشـدی مـی باشند بنابراین تفاوت معنی داری درتثبیت ازت نشان نداده و این نتیجه مطابق با اغلب گزارشات موجود مبنی بر ارتباط اختلاف تثبیت مقادیر ازت ارقام سویا با تفاوت در گروه های رشدی انها می باشد(۱، ۲ و ۱۰). سویه های بکار رفته باکتری در شاخص های مطالعه شده برای غده بندی و تثبیت ازت اختلاف معنی دار نشان دادند. بطوریکه سویه J3 در تعداد و وزن خشک غده، درصد و مقدار ازت حاصل از هوا نسبت به سویه J2 و در تعداد و وزن خشک غده نسبت بـه J43 بـه صورت معنـی داری موثـر تر نشان داد. اثر متقابل زمان برداشت و سو یه باکتری بر غده بندی و تثبیت ازت ارقام سـویا معنی دار بود. معهذا این اختلافات در برداشت اول معنی دار نشده و مبین عدم تفاوت سویه های بکار رفته در غده بندی و تثبیت ازت در مراحل اولیه تثبیت ازت می باشد. اثرات متقابل رقم گیاه و سویه باکتری بر غده بندی و تثبیت ازت ارقام سویا معنـی دار گـردید که این موضوع تاکیدی بر لزوم توجه جدی به انتخاب مناسب دو طرف همزیست برای ایجاد و استفاده بهینه از فوایـد همزیسـتی را نشان می دهد. به طور کلی اگر چه نتایج حاصله بیانگر عدم وجود تفاوت و توان سویه های بکار رفته در ایـن آزمـایش در غـده بـندی و تثبیـت ازت زودتـر از موعـد در ارقام سویا می‌باشد. لیکن به نظر می رسد که موضوع همچنان قابلییت بررسی و مطالعه خصوصاً با ارقام و سویه های بیشتر، نمونه برداری های زودتر از زمانهای منظور شده در این آزمایش و دیگـر راههای احتمالی را دارا باشد. چرا که در صورت تحقق موضوع، یعنی انتخاب سویه و یا روشی که منجر به تشکیل غده و همچنین تثبیت ازت زودتردر سویا شود، می توان از فواید این همزیستی در جهت کشاورزی پایدار بیشتر استفاده نمود.

منابع مورد استفاده

۱- پیرولـی بـیرانوند، نجـات. ۱۳۷۸. بررسـی اثرات متقابل رقم گیاه و سویه باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم روی توان تثبیت ازت ارقام سویا در خاکهای مختلف. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

2- Beck, D.P., L. A. Materon and F. Afandi. (1993). Practical rhizobium legume technology, Manual no. 19 ICARDA. 389 P.

3- Hardarson, G. and S.K.A. Danso. (1990). Use of 15N methodology to assess biological nitrogen fixation. In: use of Nuclear Techniques in Studies of Soil- Plant relationship, IAEA, Vienna, Austria. P:129- 160.

4- Hardarson G. (1993). Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. Plant & Soil, 152(1): 1- 17.

5- Hardarson G., (1994). International FAO/IAEA programmes on biological nitrogen fixation. In: Symbiotic nitrogen fixation. P. H. Graham, M. J. Sadowsky (eds.) klumer Academic Pub. 189-202.

6- Ladha, J. K. and M. B. Peoples. (1994). Management of biological nitrogen fixation for the development of more productive and sustainable agricultural systems. Klumer Academic Publishers. 287p.

7- Zapata, F., S. K. A. Danso, G. Hardarson and M. Fried. (1987a). Time course of nitrogen fixation in Field- grown soybean using N-15 methodology. Argon. J. 79: 172-176.