

مقایسه گلخانه ای گیاهان مختلف مرجع (رفرنس) در برآورد تثبیت بیولوژیک ازت ارقام سویا به روش رقت ایزوتوپی ازت ۱۵

نجات پیرولی بیرانوند، ناهید صالح راستین، نصرت اله ثاقب و حسین آفریده

به ترتیب اعضای هیئت علمی (به ترتیب مربی، مربی و دانشیار) مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران، عضو هیئت علمی (دانشیار) گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی کرج، دانشگاه تهران.

مقدمه

برای شناخت بهتر اثرات متقابل بین گیاه لگوم، باکتری همزیست و شرایط محیطی، برآورد دقیق تثبیت ازت از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. در این زمینه تکنیک‌های متعددی معرفی و بکار رفته است که مهم‌ترین آنها روشهای تفاوت نیتروژن، روش سنجش احیاء استیلن، ارزیابی محتویات آوندهای چوبی و روشهای استفاده از ایزوتوپ پایدار ازت ۱۵ می باشند. هر یک از این روشها با توجه به هزینه های کاربرد و همچنین تجهیزات و لوازم مورد نیاز برای آنالیز نمونه ها دارای محاسن و معایب خاص خود می باشند (۲، ۳ و ۷). اما در این بین تنها روشهای تفاوت نیتروژن و رقت ایزوتوپی ازت ۱۵ دارای توان برآورد تثبیت ازت در طی فصل رشد می باشند (۸، ۹ و ۱۱). یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در برآورد دقیق ازت تثبیت شده توسط این روشها انتخاب یک گیاه مرجع (رفرنس) مناسب می باشد به طوری که این گیاه، علاوه بر عدم توانایی تثبیت ازت مولکولی، در رشد سیستم ریشه ای و جذب ازت در طول فصل زراعی مشابه گیاه تثبیت کننده باشد و در نسبتی یکسان با گیاه لگوم از منابع ازت خاک و کود موجود در دسترس استفاده نماید (۴، ۵ و ۷). مناسب ترین گیاه مرجع در اینگونه مطالعات یک گیاه تلقیح نشده از همان لگوم تثبیت کننده در شرایط مطالعه می باشد. اما با توجه به وجود باکتری بومی همزیست در محیط خاک، دانشمندان متعددی در مطالعاتشان از گیاهان مرجع غیرلگوم و یا ایزولاینی فاقد توان ایجاد گره (از همان لگوم) استفاده نموده اند (۳، ۴ و ۱۱). در همین راستا به منظور بررسی و تعیین تناسب گیاهان مختلف مرجع در برآورد تثبیت ازت مولکولی به روش ایزوتوپی A-value، آزمایش glandانی حاضر در یک خاک با سطح پائین ازت و همچنین بدون باکتری بومی همزیست انجام پذیرفته است.

مواد و روشها

تحقیق حاضر در یک خاک لوم رسی فاقد باکتری بومی همزیست با مقادیر پائین ازت کل و معدنی (به ترتیب ۵۳۰ و ۱۲/۶ پی پی ام) در اتاق رشد با شرایط حرارتی حداکثر روزانه ۲۸ و حداقل شبانه ۱۸ درجه سانتی گراد، شدت نور تقریبی ۳۰۰۰۰ لوکس (Lux) و طول روز ۱۶ الی ۱۲ ساعت در گلدانهای حاوی ۲/۵ کیلوگرم خاک در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در ۴ تکرار انجام پذیرفت. تیمارها شامل سه رقم سویا سحر، ویلامز و کلارک ۶۳ بود. هر بذر سویا در تیمارها با یک میلی لیتر از مایه تلقیح کاملاً مؤثر باکتری بردی ریزوبیوم زاپنیکوم گلدکت در غلظت شماره ۳ استانداردهای مک فارلند تلقیح شد (۱ و ۱۰). گیاهان مرجع برای هر رقم سویا شامل دو رقم گندم امید و طبس، جو رقم والفجر، ایزولاینی فاقد توان گره بندی از سویا رقم چیبوا و سویا بکار رفته در آزمایش (بدون تلقیح با باکتری) بودند. تعداد گیاهان در هر گلدان برای گندم و جو ۸ عدد و سویا ۴ عدد منظور شد. برای ارزیابی مقادیر ازت حاصل از همزیستی به روش ایزوتوپی A-value، کوددهی ایزوتوپی بامحلولی از کود سولفات آمونیم نشاندار با درصد ازت ۱۵ اضافی (%at.exe) و ۹/۶۱۶ و ۲/۰۸۶ به ترتیب برای گیاهان تثبیت کننده (در مرحله V₁) و مرجع (در مراحل V₁، R₂ و R₅) در مقادیر ۲۰ و ۱۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار صورت گرفت. قبل از انجام کشت آنالیز فیریکو شیمیائی خاک انجام و توصیه های کودی لازم صورت پذیرفت. عملیات برداشت گیاهان به صورت سبز در مرحله R₆ صورت گرفت. گیاهان مختلف مرجع نیز همزمان

با سویا رقم کلاک ۶۳ برداشت شدند. تجزیه های ازت معمولی و ایزوتوپی به کمک دستگاههای کجلدال و امیشن اسپکترومتر مدل JASCO N-150 تعیین و ضمن آنالیز آماری اطلاعات با برنامه MSTATC میانگین ها به روش دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بطور کلی نتایج به دست آمده نشان داد که در اکثر موارد شاخص های مطالعه شده ارقام یعنی درصدهای ازت حاصل از منابع هوا، کود و خاک با استفاده از گیاهان مختلف مرجع اختلاف معنی داری نشان نداده اند (جدول ۱). به عبارت دیگر توانایی همه گیاهان رفرنس بکار رفته در آزمایش جهت برآورد تثبیت ازت گیاه سویا در این آزمایش مشابه و قابل توجه بوده است. در این زمینه نتایج بسیار متفاوتی در منابع مختلف وجود دارد (۴، ۵ و ۱۱). شونبرگر و همکاران (۱۹۸۹) در مطالعه ای جهت انتخاب روش و گیاه مرجع مناسب برای برآورد ازت تثبیت شده در شبدر تلقیح شده با قارچ میکوریز با استفاده از روش رقت ایزوتوپی ازت ۱۵، گیاه چاودار و شبدر تلقیح نشده را یکسان ارزیابی نموده اند (۸). علاوه بر این همبستگی بالای شاخص های مطالعه شده، با استفاده از گیاهان مرجع بکار رفته نیز مؤید این موضوع است. نکته قابل توجه دیگر در این آزمایش توان بسیار زیاد این همزیستی در تأمین ازت مورد نیاز ارقام سویا می باشد به طوری که بالغ بر ۹۰ درصد ازت گیاه از طریق تثبیت تأمین شده است. بطور کلی بر اساس نتایج حاصل، گیاهان مرجع بکار رفته در این آزمایش را جهت بررسی تثبیت ازت به دو روش تفاوت نیتروژن و رقت ایزوتوپی ازت ۱۵ توصیه می نماید.

جدول ۱- مقایسات میانگین شاخص های مطالعه شده در آزمایش به روش آزمون چند دامنه ای دانکن*

رقم سویا	سویا تلقیح نشده			ایزولاین چیبوا			گندم رقم امید			جو رقم والفجر		
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₁	V ₂	V ₃	V ₁	V ₂	V ₃	V ₁	V ₂	V ₃
سحر	۹۲/۲۲۷	۱/۶۰۹	۵/۱۹۴	۹۲/۶۸۸	۱/۶۰۹	۵/۶۱۲ab	۹۵/۰۲	۱/۶۰۹	۲/۳۷۲	۹۴/۳۸۵	۱/۶۰۹	۲/۹۹۶
کلاک ۶۳	۹۱/۳۰۱	۲/۰۶۷	۶/۶۱۷	۹۱/۰۰۸	۱/۸۰۳	۷/۱۹۱a	۹۲/۹۰۳	۲/۰۴۹	۴/۲۹۶	۹۲/۱۸۱۶	۲/۰۴۹	۵/۱۳۳
ویلیامز	۹۲/۲۷۱	۱/۹۴۲	۵/۷۵	۹۲/۹۵۰	۱/۹۴	۵/۲۱۳b	۹۴/۰۱۷	۱/۹۴	۴/۰۳۵	۹۳/۲۹۴	۱/۹۴	۴/۷۳۹

(ادامه جدول ۱)

رقم سویا	گندم رقم طیس			کل ازت جذب شده در گیاه (گرم در گلدان)		
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₁	V ₂	V ₃
سحر	۹۴/۴۵۸	۱/۶۰۹	۳/۷۱۶b	۱۰۹/۵۰۳		
کلاک ۶۳	۹۳/۳۱۶	۲/۰۴۹	۵/۳۳	۹۰/۶۶۹		
ویلیامز	۹۳/۳۸	۱/۹۴	۵/۰۵۹a	۹۵/۷۰۲		

* تمام میانگین های بدون حرف، دارای درجه a می باشند. V₂ درصد ازت حاصل از کود در گیاه (در گلدان)
V₁ درصد ازت حاصل از هوا در گیاه (در گلدان) V₃ درصد ازت حاصل از خاک در گیاه (در گلدان)

منابع مورد استفاده

- ۱- پیرولی بیرانوند، ن. ۱۳۷۸. بررسی اثرات متقابل رقم گیاه و سویه باکتری روی توان تثبیت ازت گیاه سویا در خاکهای مختلف، پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
- ۲- پیرولی بیرانوند، ن. ۱۳۷۹. بررسی اجمالی روشهای هسته ای سنجش تثبیت بیولوژیک ازت. مقاله ارائه شده به ششمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات، بابل، ایران.

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

- 4- Chalk, P.M. 1985. Estimation of N₂ fixation by isotope dilution: An appraisal of techniques involving ¹⁵N enrichment and their application .Soil Biol. Biochem. 23: 389-410.
- 5- Chaiwanakupt, P., C. Siripaibool and P. Snitwongse. 1990. Evaluation of the appropriate nonN₂-fixing crops to quantify nitrogen fixation by soybean using the ¹⁵N isotope dilution method. P:88-99, in Use of nuclear techniques in studies of soil – plant relationship» IAEA, Vienna, Austria.
- 6- Hardarson, G. and S.K.A. Danso. 1990. Use of ¹⁵N methodology to assess biological nitrogen fixation. PP: 129- 160 in «use of Nuclear Techniques in Studies of Soil- Plant relationship», IAEA, Vienna, Austria.
- 7- Hardarson G. and S.K.A. Danso. 1993 Methods for measuring biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant & Soil, 152(1): 19- 24.
- 8- Schoeneberger, M.M., R.J. Volk, and C.B. Davey. 1989. Selection of reference plants and methods for estimating N₂ fixation in mycorrhizal leguminous plants. Soil Sci. Am. J. 53: 1425-29.
9. Senaratne , S. 1993. Effect of nitrogen application on the AN value of soil. Biol. Fertil. Soils. 16: 299-301.
- 10- Somasegaran, P. and H.J. Hoben. 1994. Handbook for rhizobia, methods in legume rhizobium technology, laboratory manual. Springer- verlage, New York, Inc. 450 P.
- 11- Wagner, G.H. and F. Zapata. 1982. Field evaluation of reference crops in the study of nitrogen fixation by legumes using isotope techniques. Agron. J. 74: 607-612.