

بررسی تغییرات جمعیت ریزوبیوم لگومینوزاروم بیووار تریفولی و نیاز به تلقیح آن در چند ایستگاه زیر تناوب برنج - شبدر در استان مازندران

فرهاد رجالی و ناهید صالح راستین

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله ۲۸/۲/۲۹

خلاصه

مشکلات اقتصادی و زیست محیطی ناشی از اتلاف کودهای شیمیایی از تی در نتیجه فرآیندهایی چون تصعید آمونیاک، دنیتریفیکاسیون و آبشویی یون نیترات، در طی دوره غرقاب شالیزارها به اوج می‌رسد. در چنین شرایطی، استفاده از سیستم‌های بیولوژیک تثبیت‌کننده ازت به منظور جایگزین کردن آنها با کودهای شیمیایی، ضرورت بیشتری پیدا می‌کند. در سالهای اخیر، کشت شبدر بر سیم در تناوب با زراعت برنج در استان مازندران رایج شده است. ریزوبیوم تریفولی که در همزیستی با شبدر، انجام تثبیت ازت مولکولی را بعهده دارد، از نوع باکتریهای هوازی است که آسیب‌پذیری آن در طی دوره غرقاب خاک، در نتیجه کاهش تثبیت ازت توسط این سیستم همزیستی، بسیار محتمل است. به منظور مطالعه دامنه تاثیر شرایط غرقاب شالیزارها بر فراوانی جمعیت این باکتری و بررسی ضرورت تلقیح شبدر در هنگام کاشت آن، ۶ زمین شالیزاری که چند سال متوالی زیر تناوب برنج - شبدر بودند، انتخاب و نمونه برداری از خاک هر مزرعه از عمق صفر تا ۲۰ سانتیمتر در فواصل زمانی مشخص انجام گرفت. در هر نمونه، جمعیت باکتری و همبندطور برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مهم خاک در هر نوبت، اندازه گیری شدند. بعلاوه، در زمان شروع کاشت شبدر با برداشت نمونه‌های کافی از خاک این مزارع، پتانسیل تثبیت ازت باکتریهای بومی و ضرورت تلقیح شبدر طی یک آزمایش گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، بصورت فاکتوریل با ۴ تکرار، روی ۶ نوع خاک شالیزاری، با منظور کردن ۳ تیمار تلقیح با باکتری و دو سطح کود ازتی، به اجرا درآمد. نتایج حاکی از این هستند که در کلیه موارد، جمعیت باکتری ریزوبیوم تریفولی، در طی دوره غرقاب بتدریج کاهش یافته و در انتهای این دوره به پائین‌ترین سطح، تنزل پیدا می‌کند. این کاهش بطور متوسط معادل ۲ واحد لگاریتمی و از لحاظ آماری نیز در سطح ۵ درصد، معنی دار است. باکتریهای بومی منطقه اکثراً از انواع موثر و کاملاً موثر، ارزیابی شدند که تاثیر دو سوبه برتر آنها، حدود ۱۸۰ کیلوگرم ازت در هکتار، تعیین گردید. بررسی نتایج تلقیح حاکی از این است که به رغم افت شدید تعداد باکتری در طی دوره غرقاب، معهداً در برخی از خاکها، پس از پایان این دوره، جمعیت باکتری افزایش یافته و تلفات قبلی، جبران شده است. در خاکهایی که تعداد ریزوبیوم بومی به بیش از ۱۰۰۰ در هر گرم خاک بالغ گشته، نتیجه تلقیح از لحاظ آماری، معنی دار نشده است. در سایر خاکها که تعداد باکتری کمتر و در محدوده ۱۰۰ تا ۳۰۰ در هر گرم خاک بوده، تلقیح جواب بهتری داشته و برخی از تیمارهای تلقیح شده با شاهد تلقیح نشده، اختلاف معنی دار نشان داده‌اند. براساس نتایج این بررسی، استفاده از این سیستم همزیستی در تناوب با برنج و در صورت محدودیت جمعیت باکتریهای موثر در خاک، بکارگیری روش‌های تلقیح، با استفاده از سوبه‌های برتر ریزوبیوم تریفولی، توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ریزوبیوم لگومینوزاروم بیووار تریفولی، شبدر بر سیم، تناوب برنج - شبدر

مقدمه

صورت ترکیبهای آلی ازتی، در اندام خود ذخیره می‌نماید. با پایان یافتن دوره کشت شبدر و شخم زدن آن در زمین، ازت ذخیره شده، بتدریج در اثر فرآیند معدنی شدن آزاد گردیده و در اختیار گیاه برنج قرار می‌گیرد. با استفاده صحیح از پتانسیل سیستم همزیستی ریزوبیوم تریفولی و شبدر که قادر به تثبیت مقدار قابل توجهی ازت، بطور متوسط حدود ۲۵۰ کیلو در هکتار در سال است (۲۰)، می‌توان بخش مهمی از ازت مورد نیاز گیاه برنج را تأمین نمود. بعلاوه چون ازتی که به این ترتیب به خاک اضافه می‌شود به فرم آلی است اتلاف آن به مراتب کمتر از کودهای شیمیایی است. در ضمن، اصلاح خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک در بلند مدت، موجبات ارتقاء سطح حاصلخیزی خاک و بهبود کیفیت محصول را فراهم خواهد آورد.

شرط اصلی کارآیی یا بازدهی سیستم همزیستی ریزوبیوم تریفولی با گیاه شبدر، وجود تعداد کافی از ریزوبیوم فعال و مؤثر در حوزه فعالیت سیستم ریشه‌ای گیاه است. به دلیل اینکه در طی چند ماه غرقاب زمین‌های شالیزاری، احتمال از بین رفتن این باکتری هوازی وجود دارد، بنابراین تغییرات جمعیت این باکتری در خاک، در طول دوره کشت برنج، مورد مطالعه قرار گرفته است. بعلاوه، با استفاده از مایه تلقیح تهیه شده از سویه‌های مؤثر بومی، پاسخ به تلقیح با باکتری در خاکهای مختلف شالیزاری مورد بررسی قرار گرفته تا موارد ضرورت تلقیح بنحوی که سیستم همزیستی، حداکثر کارآیی را از نظر تثبیت ازت داشته باشد، مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

با توجه به وسعت اراضی زیرکشت برنج در استان مازندران، برای انجام این بررسی، ۶ ایستگاه بر اساس معیارهای زیر، در نظر گرفته شدند.

- رعایت تناوب برنج - شبدر به مدت چند سال متوالی در محل نمونه برداری
- وجود اراضی غیرشالیزاری در کنار مزارع انتخاب شده، به منظور مقایسه جمعیت طبیعی باکتری در شرایط غیر غرقاب
- پراکندگی مناسب اراضی انتخاب شده برای مطالعه منطقه، بطوریکه تنوع کیفی محل‌های نمونه برداری منظور شده باشد.

برنج به دلیل ارزش غذایی و همینطور به دلیل میزان مصرف و سطح زیر کشت وسیعی که به آن اختصاص دارد، بعد از گندم در درجه دوم اهمیت قرار می‌گیرد. سطح زیر کشت این گیاه در ایران طبق آمار وزارت کشاورزی (۱۳۷۲)، بالغ بر ۵۹۰ هزار هکتار گزارش شده است.

در سالهای اخیر به منظور تأمین مصرف داخلی کشور، افزایش سطح زیرکشت این گیاه و همینطور استفاده بیشتر از واریته‌های پرمحصول بجای واریته‌های محلی، مورد توجه قرار گرفته است. واریته‌های جدید نسبت به انواع محلی نیاز بیشتری به عنصر ازت دارند که پاسخ به این نیاز به صورت مصرف بی‌رویه کودهای ازتی، اعمال شده است. هم اکنون در استان مازندران، متوسط مقدار کود ازتی مصرفی به ازاء هر هکتار زمین شالیزاری، حدود ۲۰۰ کیلوگرم اوره و ۱۵۵ کیلوگرم فسفات آمونیوم می‌باشد. کاربرد این قبیل کودهای شیمیایی برای زراعت برنج که لزوماً با یک دوره نسبتاً طولانی از غرقاب خاک همراه است، مشکل آفرین خواهد بود. در طی این دوره فرآیندهایی چون تصعید آمونیاک، دنیتریفیکاسیون و آبشویی یون نترات شدت می‌یابند (۴، ۷، ۹ و ۱۲). تنها برای اتلاف ازت از طریق دنیتریفیکاسیون، رقمی حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد کود نیتراتی در طی ۷ تا ۱۲ روز پس از شروع غرقاب گزارش شده و رقم کل هدر رفت ازت گاهی اوقات به بیش از ۷۰ درصد نیز بالغ می‌شود (۳، ۹ و ۱۲).

با توجه به افزایش بهای کودهای شیمیایی در سالهای اخیر، روشن است که هدر رفتن بیش از نیمی از این مواد در شرایط غرقاب خاک، زیان اقتصادی قابل توجهی به همراه خواهد داشت. مزید بر آن، به منظور جلوگیری از آلودگی محیط زیست، کنترل اتلاف کودهای ازتی، ضرورت کامل پیدا می‌کند. بنابراین تحقیق در مورد جایگزینی کودهای شیمیایی ازتی با استفاده از سیستم‌های بیولوژیک تثبیت کننده ازت، کاملاً ضروری بنظر می‌رسد. (۷، ۱۵ و ۱۹)

در سالهای اخیر، استفاده از کشت شبدر برسیم در تناوب با گیاه برنج در اراضی شالیزاری شمال کشور رایج شده است. شبدر برسیم با برقراری رابطه همزیستی با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بیوواتریفولی^۱ ازت مولکولی موجود در آتمسفر را تثبیت کرده و به

با در نظر گرفتن تیمارهای تلقیح با هر یک از ایزوله‌ها، تیمار شاهد تلقیح نشده و سه سطح تیمار ازتی (صفر، ۳۵ و ۷۰ پی پی ام ازت) در ۴ تکرار در داخل ظروف مخصوص کشت (جارلئونارد)، به مدت دو ماه در شرایط کشت گلخانه‌ای انجام گرفت. شاخص‌های وزن خشک بخش هوایی گیاه، مقدار کل ازت جذب شده، کارآیی سیستم همزیستی و همینطور فعالیت نیتروژناز غده‌های ریشه‌ای که با استفاده از روش احیای استیلین به اتیلین به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی انجام گرفت، بعنوان معیاری برای انتخاب سویه‌های برتر به منظور تولید مایه تلقیح، مورد استفاده قرار گرفتند. کارآیی سیستم همزیستی (SE)^۳ براساس درصد عملکرد تیمار تلقیح شده با سویه مورد نظر، نسبت به تیمار ۷۰ پی پی ام ازت، محاسبه گردید (۲).

در آزمون نهایی، شیدر کشت شده روی خاکهای مختلف شالیزاری، از نظر نیاز به تلقیح با باکتری ریزوبیوم تریفولی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، بصورت فاکتوریل با سه سطح تلقیح، دو سطح کود ازتی، ۶ نوع خاک از ۶ ایستگاه مختلف مورد مطالعه، با در نظر گرفتن ۴ تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. سطوح تلقیح شامل R_0 (تیمار تلقیح نشده)، R_6 (تلقیح با سویه جداسازی شده از خاک ایستگاه شماره ۶) و R_m (تلقیح با مخلوطی از چند سویه برتر) و دو سطح کود ازتی شامل صفر (N_0) و ۳۵ پی پی ام ازت (N_1) بودند.

خاکهای برداشت شده از هر ایستگاه پس از هوا خشک شدن، غربال شده و بطور یکنواخت مخلوط و در گلدانهای پلاستیکی به مقدار ۴ کیلوگرم در هر گلدان توزیع شدند. با برداشت نمونه از خاکهای یکنواخت شده، تعداد باکتری و همینطور مقدار ازت کل و ازت معدنی آنها، اندازه‌گیری شدند تا از وضعیت این عوامل مهم، در ابتدای رویش گیاه اطلاع دقیقی در اختیار باشد. در هر گلدان ۱۵ بذر ضد عفونی سطحی شده و جوانه زده در شرایط استریل، کاشته شد. در تیمارهای تلقیح، هر بذر با ۱ میلی‌لیتر از مایه تلقیح حاوی 10^9 باکتری در هر میلی‌لیتر، تلقیح گردید. گلدانهای آماده شده، در اطاق رشد با درجه حرارت ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتیگراد و طول روز مناسب (۱۶ ساعت روشنائی، ۸ ساعت تاریکی) قرار

در هر یک از این ایستگاهها، کرت‌های مشخصی برای نمونه‌برداری انتخاب شدند. با استفاده از مته‌های مخصوص، از کل سطح کرت مورد نظر، حدود ۱۵ تا ۲۰ نمونه فرعی از عمق صفر تا ۲۰ سانتیمتر برداشت گردید و پس از مخلوط و یکنواخت کردن نمونه‌های فرعی، مقداری حدود یک کیلوگرم خاک برای تعیین جمعیت باکتری و همینطور اندازه‌گیری سایر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی، به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌برداری از خاک از ابتدای دوره غرقاب زمین تا بعد از برداشت برنج با فاصله زمانی ۳۰ روز و همینطور در پایان دوره رشد شیدر در زمین، انجام گرفت. جمعیت باکتری ریزوبیوم تریفولی در نمونه‌های خاک، بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه و براساس روش تلقیح گیاه میزبان کشت شده در شرایط استریل با سری رقت‌های خاک (روش MPN-PIT)^۱ تعیین گردید (۱۷ و ۱۸). بعلاوه در هر یک از نمونه‌های برداشت شده، برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، مانند بافت، pH، EC، ازت کل، ازت آمونومی، ازت نیتراتی، فسفر قابل جذب، پتاسیم قابل جذب، مواد خنثی شونده بر حسب کربنات کلسیم و مواد آلی نیز اندازه‌گیری شدند.

به منظور مطالعه پاسخ گیاه به تلقیح با باکتری ریزوبیوم تریفولی، به دلیل اینکه مایه تلقیح مناسب برای شیدر در ایران تولید نمی‌شود، لذا سویه‌های ریزوبیوم تریفولی بومی منطقه جمع‌آوری و از نظر توان تثبیت ازت مورد مطالعه قرار گرفتند. به این منظور، غده‌های ریشه‌ای درشت و فعال، از سیستم ریشه‌ای گیاهان شیدر جدا شده و پس از استریل کردن سطحی و کشت روی محیط غذایی ریزوبیوم (YMA)^۲ حاوی کنگوردوان انتخاب کلنی‌های تسیک ریزوبیوم، اقدام به خالص سازی باکتری گردید. آزمایش‌های تشخیصی شامل بررسیهای میکروسکوپی، کشت و مطالعه نحوه تغییر pH محیط کشت و بالاخره بررسی توان ایزوله‌ها برای تولید گره در ریشه گیاه میزبان کشت شده در شرایط استریل، انجام گرفت (۲، ۵، ۱۷ و ۱۸). سپس ایزوله‌های خالص شده، از نظر کارآیی در تثبیت ازت مولکولی مورد مقایسه قرار گرفتند. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی

1 - Most probable Number- plant infection Test

2 - Yeast - Mannitol Agar

3 - SE : Symbiotic Effectiveness

ماه خاک تقریباً خشک می‌گردد. شمارش باکتری در این مرحله نشاندهنده افزایش جمعیت تقریباً به اندازه ۰/۵ واحد لگاریتمی است. با بررسی رابطه همبستگی بین جمعیت باکتری در طول دوره کشت برنج و زمان نمونه‌برداری بر حسب روز، مشخص گردید که تغییر جمعیت باکتری در طی این مدت از یک معادله‌نمایی پیروی کرده و کاهش مشاهده شده در جمعیت این باکتری در ۵ مورد از ۶ نوع خاک بررسی شده، در سطح ۵ درصد، معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). در ضمن، با افزایش عمق نمونه‌برداری، از جمعیت باکتری در خاک، کاسته می‌شود. (شکل‌های ۱ تا ۶).

در آزمون مقایسه توان تثبیت ازت سویه‌های بومی ریزوبیوم تریفولی مشاهده گردید که شاخص‌های وزن خشک بخش هوایی، کل وزن خشک گیاه و مقدار کل جذب ازت توسط گیاه در تمام تیمارهای تلقیح با سویه‌های باکتری با تیمار شاهد تلقیح نشده و بدون ازت (N_0) و یا با ۳۵ پی‌پی‌ام ازت (N_1)، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان می‌دهند (شکل‌های ۷ تا ۹). جذب ازت در تیمارهای تلقیح با سویه‌های R_1 ، R_5 و R_6 معادل جذب ازت در تیمار ۷۰ پی‌پی‌ام ازت می‌باشد و حتی سویه R_6 مقدار ازت جذبی بیشتری را نشان می‌دهد (نمودار ۹).

کارآیی سیستم همزیستی توسط سویه‌های مورد مطالعه، در جدول زیر نشان داده شده است:

براساس این جدول سویه‌های R_2 ، R_7 و R_8 که SE آنها کمتر از ۷۵ درصد است در گروه نسبتاً موثر و بقیه سویه‌ها در گروه موثر طبقه‌بندی شدند (۲). مایه تلقیح مورد استفاده در آزمون نهایی از سویه R_6 که بالاترین میزان تثبیت ازت را نشان می‌داد و همینطور از مخلوط سویه‌هایی که کارآیی موثر داشتند تهیه گردید. در هر یک از خاکهای مورد مطالعه، پاسخ گیاه شبدر به تلقیح با سویه‌های ریزوبیوم

گرفتند و هر دو روز یکبار، با آب مقطر استریل، تارسیدن به حدود ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. در تیمار ازتی، مقدار ۳۵ پی‌پی‌ام ازت در سه نوبت و با فاصله زمانی یک هفته، به گلدانهای مشخص شده برای این تیمار اضافه گردید. به منظور جلوگیری از آلودگی‌های جنبی، سطح خاک هر گلدان توسط سنگریزه استریل پوشانده شد. یک هفته پس از شروع آزمایش، از ۱۵ بذر کاشته شده، ۱۰ گیاهچه که رشد بهتری داشتند، انتخاب و مابقی حذف گردیدند. آزمایش به مدت ۸۰ روز تا هنگامی که اکثریت گیاهان وارد مرحله گلدهی شده بودند، ادامه یافت.

وزن خشک بخش هوایی گیاه و ریشه‌ها، همینطور درجه غده بندی ریشه‌ها تعیین گردید. بعلاوه با استفاده از دستگاه میکروکلدال، مقدار ازت جذب شده توسط گیاه اندازه‌گیری شد.

در ضمن، در پایان دوره کشت شبدر برسیم (اواخر اسفند)، با مراجعه به ایستگاههای مورد مطالعه و با تعیین پلاتهای یک متر مربعی، متوسط مقدار علوفه‌ای که به ازاء هر متر مربع به صورت کود سبز در خاک شخم زده می‌شود، اندازه‌گیری شد. سپس با تعیین وزن خشک و درصد ازت نمونه‌ها، مقدار ازتی که از این طریق می‌تواند به خاک اضافه شود، محاسبه گردید.

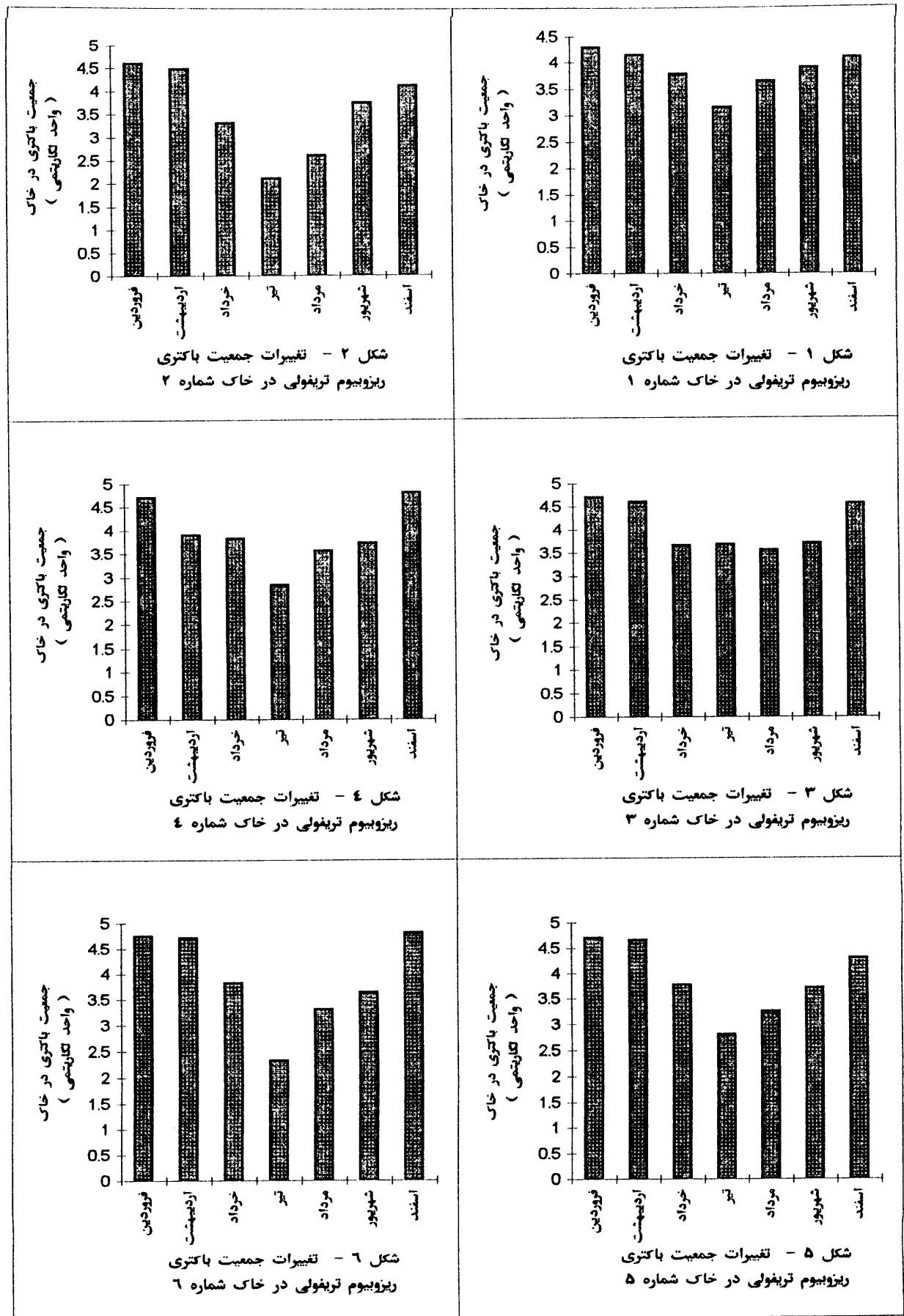
نتایج

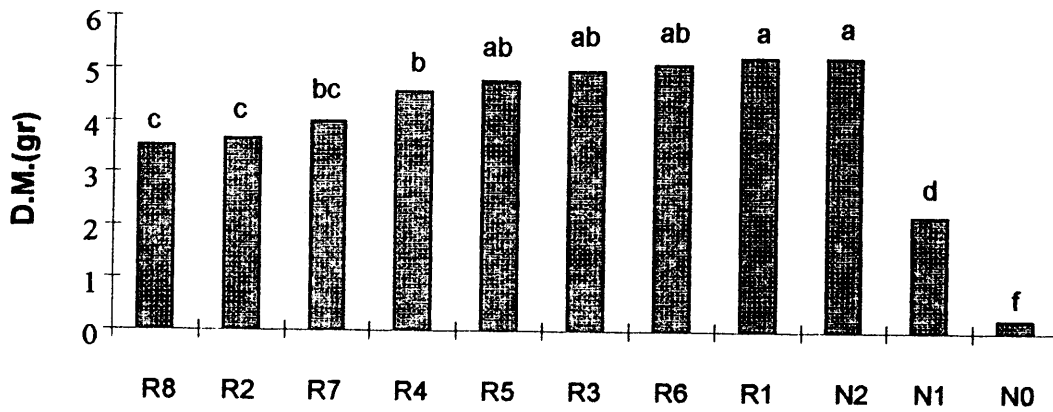
براساس نتایج بدست آمده از شمارش باکتری ریزوبیوم تریفولی در زمانهای مختلف در خاک ایستگاههای مورد نظر (شکل‌های ۱ تا ۶) مشخص می‌شود که در تمام موارد جمعیت باکتری در فروردین ماه که همزمان با پایان دوره کشت شبدر می‌باشد به بیشترین مقدار خود رسیده و در طی دوره غرقاب به تدریج کاهش یافته و در اواخر تیرماه که مصادف با اواخر دوره غرقاب زمین

| نوع سویه | R_1 | R_2 | R_3 | R_4 | R_5 | R_6 | R_7 | R_8 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| SE/. | ۹۸/۸ | ۶۶/۷۹ | ۹۳/۶۷ | ۸۵/۷۷ | ۸۹/۵۲ | ۹۶/۳۵ | ۷۴/۱۱ | ۶۴/۸۲ |

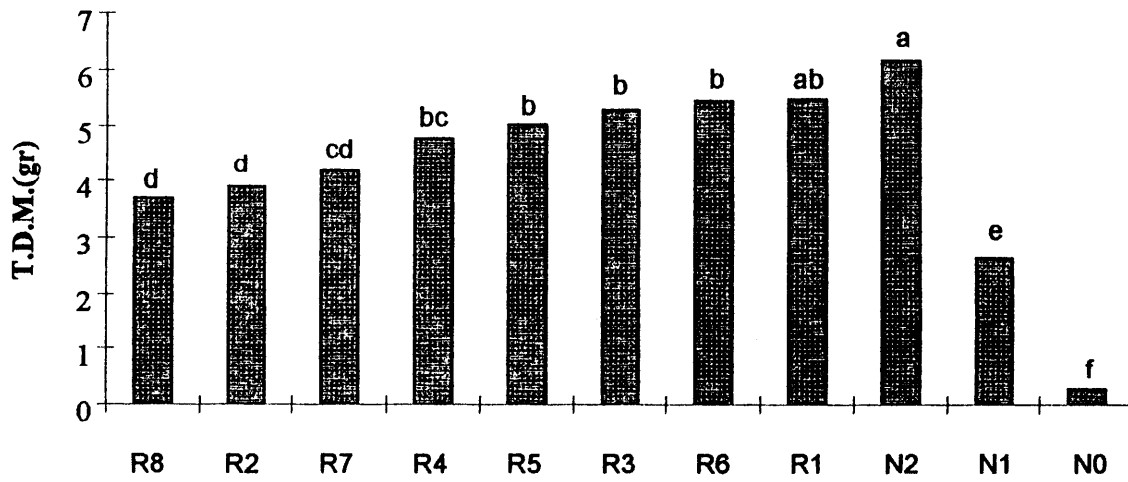
تریفولی، براساس وزن خشک گیاه، درجه گره بندی سیستم ریشه‌ای و ازت جذب شده توسط گیاه، مورد بررسی قرار گرفت. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی از این آزمایش، می‌توان موارد زیر را ذکر نمود:

می‌باشد به کمترین مقدار می‌رسد. جمعیت باکتری نسبت به قبل از شروع دوره غرقاب در غالب ایستگاهها تقریباً به اندازه ۲ واحد لگاریتمی کاهش نشان می‌دهد (شکل‌های ۱ تا ۶). از اواسط مردادماه، زمین‌های زیرکشت برنج زهکشی می‌شوند و در اواخر این

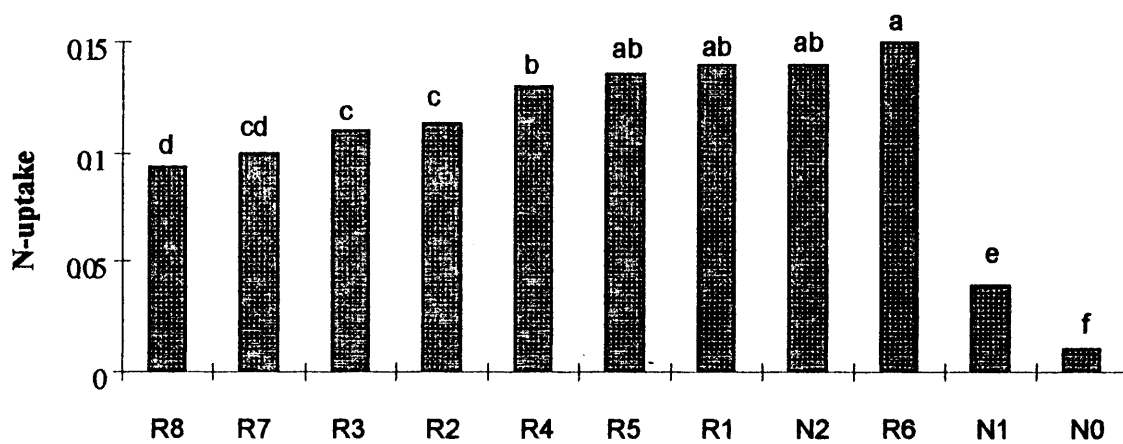




شکل ۷- تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک اندام هوایی شبدر در جارلنونارد



شکل ۸- تاثیر تیمارهای مختلف بر کل وزن خشک شبدر در جارلنونارد



شکل ۹- تاثیر تیمارهای مختلف بر کل ازت جذب شده توسط شبدر در جارلنونارد

- برای خاکهای شماره ۴ و ۶ که تعداد باکتری بومی در ابتدای رویش گیاه بیش از هزار در هر گرم خاک خشک می باشد (جدول ۲) پاسخ گیاه به تلقیح از نظر وزن خشک تولیدی، معنی دار نیست (شکل ۱۱ مربوط به خاک شماره ۴، خاک ۶ نیز جواب مشابه داشته است).

- از نظر مقدار کل ازت جذب شده توسط گیاه، در اکثر موارد مایه تلقیح تهیه شده از مخلوط چند سویه در تیمار بدون کود (R_mN_0) نسبت به مایه تلقیح تک سویه ای (R_1N_0) موثرتر بوده است (شکل های ۱۲ و ۱۳).

مقدار ازتی که توسط علوفه شیدر می تواند به خاکهای مورد بررسی اضافه گردد، با برداشت نمونه از پلاتهای تعیین شده در هر ایستگاه و پس از تعیین وزن خشک گیاه و درصد ازت آن، محاسبه و نتایج برحسب کوده اوره معادل در جدول ۳، ارائه شده است.

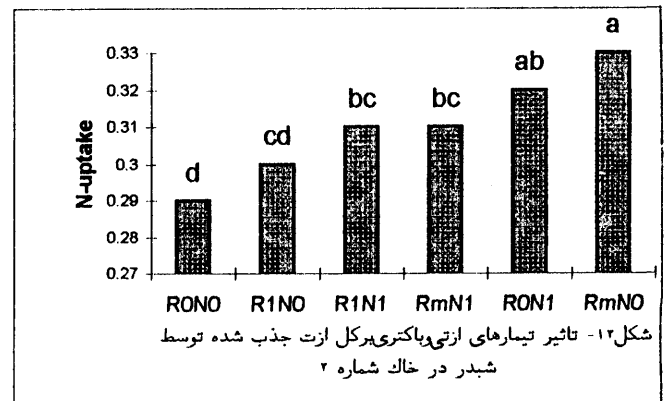
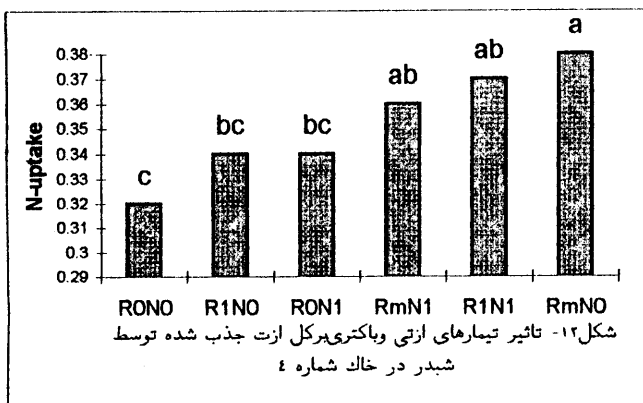
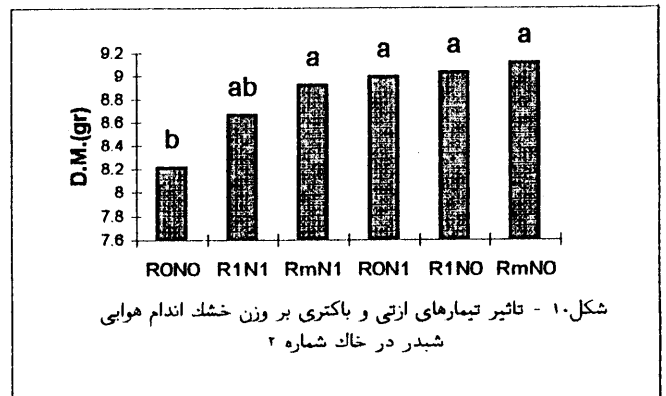
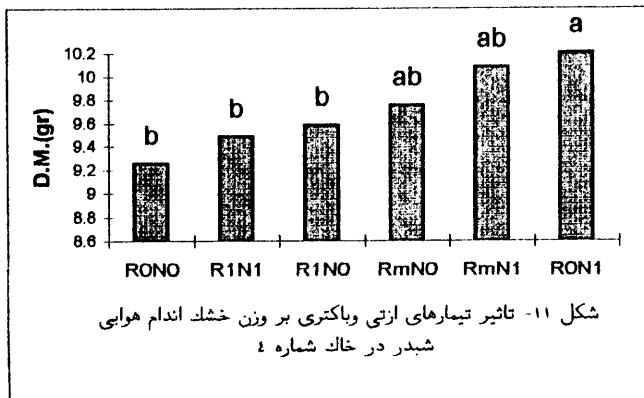
بحث

نتایج شمارش باکتری ریزوبیوم تریفولی در خاکهای مورد

- تیمار شاهد (R_0N_0) از نظر وزن خشک قسمت هوایی گیاه و کل ازت جذب شده، در پائین ترین سطح قرار می گیرد و اکثراً در هر مورد با چند تیمار، اختلاف معنی دار نشان می دهد (شکل های ۱۳ تا ۱۰).

- بین تیمارهای آزمایشی اکثراً تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد آماری وجود ندارد، بنابراین می توان نتیجه گرفت که تیمار تلقیح شده به اندازه تیمار ۳۵ پی پی ام ازت (معادل ۱۸۰ کیلو اوره در هکتار)، موثر بوده است. (شکل های ۱۰ تا ۱۳)

- برای خاکهایی که تعداد باکتری آنها در شروع کشت گلدانی کمتر از هزار در هر گرم خاک خشک می باشد (خاکهای ۱، ۲، ۳، ۵ و ۶ در جدول ۲)، جواب گیاه به تلقیح از نظر وزن خشک تولیدی، برای تیمار تلقیح شده با مخلوط سویه های باکتری و بدون ازت R_mN_0 و در بعضی موارد تیمار R_1N_0 نسبت به شاهد تلقیح نشده (R_0N_0)، معنی دار می باشد و عملکردی معادل مصرف کود ازتی بدون تلقیح با باکتری (R_0N_1)، نشان می دهند. (شکل ۱۰ مربوط به خاک شماره ۲، خاکهای ۱، ۳ و ۵ هم وضعیت مشابه داشته اند).



جدول ۱ - روابط همبستگی بین جمعیت ریزوبیوم و زمان نمونه برداری از خاکهای مورد بررسی

| شماره خاک | روابط همبستگی | ضریب همبستگی |
|-----------|-------------------------------|------------------|
| ۱ | $y = 18450 / 367 (0 / 982)^x$ | $r = -0 / 810^*$ |
| ۲ | $y = 48752 / 849 (0 / 952)^x$ | $r = -0 / 912^*$ |
| ۳ | $y = 47863 / 009 (0 / 975)^x$ | $r = -0 / 900^*$ |
| ۴ | $y = 40926 / 065 (0 / 974)^x$ | $r = -0 / 760$ |
| ۵ | $y = 60813 / 502 (0 / 964)^x$ | $r = -0 / 893^*$ |
| ۶ | $y = 68865 / 229 (0 / 960)^x$ | $r = -0 / 819^*$ |

* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۲ - تعداد باکتری ریزوبیوم تریفولی، ازت کل و ازت معدنی خاکهای مورد بررسی در زمان شروع کشت

| شماره خاک | تعداد باکتری در گرم خاک | ازت کل (%) | ازت نیتراتی | | ازت آمونومی mg.kg^{-1} |
|-----------|----------------------------|---------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | | ازت نیتراتی mg.kg^{-1} | ازت آمونومی mg.kg^{-1} | |
| ۱ | ۱۳۸ | ۰/۱۵ | ۱۵ | ۲۳ | |
| ۲ | ۱۷۷ | ۰/۱۶ | ۱۴ | ۲۱ | |
| ۳ | ۱۹۹ | ۰/۲۳ | ۱۵ | ۲۶ | |
| ۴ | ۱۹۹۵ | ۰/۲۴ | ۱۵ | ۲۲ | |
| ۵ | ۳۱۶ | ۰/۲۵ | ۱۳ | ۲۵ | |
| ۶ | ۲۱۳۷ | ۰/۱۹ | ۱۵ | ۲۹ | |

جدول ۳ - میزان کود سبز اضافه شده به خاکهای مورد بررسی و کود اوره معادل آن

| شماره خاک | وزن علوفه تر Kg.ha^{-1} | وزن علوفه خشک Kg.ha^{-1} | ازت ماده خشک (%) | ازت اضافه شده Kg.ha^{-1} | کود اوره معادل Kg.ha^{-1} |
|-----------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| ۱ | ۶۴۲۰ | ۹۳۶ | ۳/۱۲ | ۲۹/۲ | ۶۳ |
| ۲ | ۱۱۸۶۰ | ۱۴۸۷ | ۳/۱۷ | ۴۷/۱۴ | ۱۰۰ |
| ۳ | ۷۳۵۰ | ۹۶۰ | ۳/۳۸ | ۳۲/۴۴ | ۷۰ |
| ۴ | ۹۳۵۰ | ۹۸۰ | ۳/۲۹ | ۳۲/۲۴ | ۷۰ |
| ۵ | ۱۰۶۸۰ | ۲۵۶۰ | ۳/۲۵ | ۸۳/۲ | ۱۸۰ |
| ۶ | ۱۰۰۰۰ | ۲۵۱۰ | ۳/۴۳ | ۸۶/۱ | ۱۸۶ |

جدول ۴ - تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۱ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه | خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|-----|----------------------------|
| ۲۲ | ۳۰ | ۲۳ | ۳۸ | ۴۹ | ۵۵ | ۵۰ | ۳۰ | | رطوبت (درصد) |
| ۰,۱۶ | ۰,۱۷ | ۰,۱۳ | ۰,۱۵ | ۰,۲۰ | ۰,۱۸ | ۰,۲۲ | ۰,۱۹ | | ازت کل (درصد) |
| ۲۱ | ۲۶ | ۲۸ | ۲۴ | ۲۷ | ۲۸ | ۳۳ | ۱۴ | | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۲۲ | ۲۸ | ۱۶ | ۱۰ | ۸ | ۱۱ | ۱۶ | ۲۵ | | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۵ | ۹ | ۱۰ | ۹ | ۱۳ | ۱۱ | ۱۵ | ۱۰ | | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۴۲۰ | ۳۶۰ | ۴۰۰ | ۴۱۰ | ۴۰۰ | ۴۱۰ | ۳۶۰ | ۳۷۵ | | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲,۷ | ۳ | ۲,۴ | ۲,۳ | ۲,۷ | ۲,۵ | ۲,۵ | ۳ | | مواد آلی (درصد) |
| ۱۰ | ۸ | ۹ | ۷ | ۹ | ۸ | ۱۰ | ۱۲ | | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۷,۹ | ۷,۹ | ۸ | ۷,۸ | ۷,۵ | ۷,۴ | ۷,۴ | ۷,۵ | | واکنش گل اشباع |
| ۲,۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲,۵ | ۱,۷ | | هدایت الکتریکی |
| | | | | | | | | | (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۶۱,۸۴ | | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۳۰,۷۲ | | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۷,۴۴ | | شن (درصد) |

جدول ۵ - تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۲ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه | خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|-----|----------------------------|
| ۲۲ | ۳۸ | ۳۳ | ۴۴ | ۵۷ | ۵۴ | ۴۹ | ۳۶ | | رطوبت (درصد) |
| ۰,۱۳ | ۰,۱۴ | ۰,۱۶ | ۰,۱۵ | ۰,۱۴ | ۰,۱۵ | ۰,۱۳ | ۰,۱۲ | | ازت کل (درصد) |
| ۱۹ | ۲۳ | ۲۷ | ۲۵ | ۳۱ | ۲۲ | ۲۰ | ۱۵ | | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۲۴ | ۲۴ | ۱۴ | ۱۱ | ۸ | ۱۰ | ۱۲ | ۲۳ | | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۸ | ۱۰ | ۱۱ | ۹ | ۱۱ | ۱۶ | ۱۴ | ۱۲ | | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۳۳۰ | ۳۵۰ | ۳۵۰ | ۳۶۰ | ۳۵۰ | ۳۴۰ | ۳۵۰ | ۳۶۰ | | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲,۰ | ۲,۵ | ۲,۲ | ۲,۲ | ۲,۰ | ۱,۴ | ۱,۸ | ۱,۷ | | مواد آلی (درصد) |
| ۲۵ | ۱۷ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۵ | ۱۷ | ۱۸ | ۲۰ | | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۷,۹ | ۸,۴ | ۸,۰ | ۸,۱ | ۸,۰ | ۸,۲ | ۸,۱ | ۸,۲ | | واکنش گل اشباع |
| ۲,۶ | ۲,۳ | ۲,۰ | ۲,۴ | ۲,۴ | ۲,۲ | ۲,۴ | ۲,۰ | | هدایت الکتریکی |
| | | | | | | | | | (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۶۵,۸۴ | | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۲۶,۷۲ | | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۷,۴۴ | | شن (درصد) |

جدول ۶ - تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۳ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه | خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|-----|----------------------------|
| ۳۳ | ۴۱ | ۳۴ | ۴۴ | ۵۲ | ۵۸ | ۵۶ | ۴۷ | | رطوبت (درصد) |
| ۰,۲۷ | ۰,۲۴ | ۰,۲۳ | ۰,۲۵ | ۰,۲۳ | ۰,۲۴ | ۰,۳۴ | ۰,۱۷ | | ازت کل (درصد) |
| ۲۱ | ۲۳ | ۲۸ | ۲۹ | ۳۳ | ۳۲ | ۲۵ | ۱۰ | | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۲۲ | ۲۷ | ۱۶ | ۱۰ | ۹ | ۱۳ | ۱۴ | ۲۹ | | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۱۰ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۸ | ۱۲ | ۱۰ | ۹ | | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۳۳۰ | ۳۱۰ | ۳۲۰ | ۳۰۰ | ۳۰۰ | ۲۸۰ | ۲۲۰ | ۳۰۰ | | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲,۰ | ۲,۳ | ۲,۰ | ۲,۶ | ۲,۲ | ۲,۵ | ۲,۰ | ۲,۴ | | مواد آلی (درصد) |
| ۲۲ | ۲۳ | ۲۵ | ۲۰ | ۲۱ | ۲۴ | ۲۴ | ۲۱ | | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۷,۸ | ۸,۵ | ۸,۳ | ۸,۲ | ۷,۶ | ۷,۹ | ۷,۹ | ۸,۲ | | واکنش گل اشباع |
| ۲,۵ | ۲,۰ | ۲,۶ | ۲,۷ | ۲,۸ | ۲,۵ | ۲,۰ | ۲,۲ | | هدایت الکتریکی |
| | | | | | | | | | (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۵۹,۸۴ | | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۲۷,۴۴ | | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۱۲,۷۲ | | شن (درصد) |

جدول ۷- تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۴ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه / خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|--------------------------------------|
| ۳۵ | ۲۶ | ۵۱ | ۵۸ | ۵۷ | ۵۲ | ۵۵ | ۳۱ | رطوبت (درصد) |
| ۰,۱۹ | ۰,۲۴ | ۰,۳۱ | ۰,۲۵ | ۰,۲۴ | ۰,۲۵ | ۰,۲۱ | ۰,۱۸ | ازت کل (درصد) |
| ۱۹ | ۲۵ | ۲۹ | ۲۸ | ۳۱ | ۲۴ | ۲۱ | ۱۵ | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۲۴ | ۲۱ | ۱۴ | ۱۱ | ۱۱ | ۱۰ | ۱۲ | ۲۳ | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۸ | ۱۰ | ۱۱ | ۹ | ۱۱ | ۱۲ | ۸ | ۹ | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۳۵۰ | ۳۶۰ | ۳۳۰ | ۳۴۰ | ۳۷۰ | ۳۵۰ | ۳۵۰ | ۳۶۰ | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲,۰ | ۳,۱ | ۲,۸ | ۲,۸ | ۳,۱ | ۲,۹ | ۲,۸ | ۳,۱ | مواد آلی (درصد) |
| ۲۵ | ۱۷ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۵ | ۱۷ | ۱۸ | ۲۰ | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۷,۹ | ۸,۱ | ۸,۰ | ۷,۹ | ۸,۰ | ۷,۸ | ۸,۰ | ۷,۹ | واکنش گل اشباع |
| ۲,۶ | ۲,۳ | ۲,۰ | ۲,۴ | ۲,۴ | ۲,۲ | ۲,۴ | ۲,۰ | هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۴۹,۸۴ | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۳۸,۷۲ | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۱۱,۴۴ | شن (درصد) |

جدول ۸- تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۵ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه / خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|--------------------------------------|
| ۲۰ | ۲۸ | ۲۴ | ۳۸ | ۵۳ | ۵۵ | ۵۱ | ۲۳ | رطوبت (درصد) |
| ۰,۲۰ | ۰,۲۴ | ۰,۲۶ | ۰,۲۴ | ۰,۲۳ | ۰,۲۶ | ۰,۲۸ | ۰,۲۰ | ازت کل (درصد) |
| ۲۲ | ۲۷ | ۳۱ | ۳۵ | ۳۱ | ۲۰ | ۲۳ | ۱۱ | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۱۷ | ۳۰ | ۱۵ | ۱۳ | ۱۰ | ۹ | ۱۴ | ۳۳ | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۱۷ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۶ | ۱۸ | ۲۰ | ۱۷ | ۱۵ | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۵۳۰ | ۴۷۰ | ۵۰۰ | ۴۸۰ | ۵۰۰ | ۵۱۵ | ۵۱۰ | ۵۰۰ | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲۶ | ۳,۲ | ۲,۹ | ۳,۰ | ۲,۹ | ۲,۸ | ۳,۰ | ۳,۵ | مواد آلی (درصد) |
| ۱۸ | ۲۲ | ۱۹ | ۲۲ | ۲۲ | ۲۱ | ۲۳ | ۲۰ | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۸,۰ | ۷,۸ | ۸,۰ | ۷,۸ | ۷,۸ | ۸,۰ | ۷,۹ | ۷,۹ | واکنش گل اشباع |
| ۲,۸ | ۲,۰ | ۲,۴ | ۲,۶ | ۲,۵ | ۲,۴ | ۲,۳ | ۲,۲ | هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۵۳,۸۴ | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۳۳,۴۴ | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۱۲,۷۲ | شن (درصد) |

جدول ۹- تغییرات خصوصیات شیمیایی خاک شماره ۶ در طول زمان نمونه برداری

| نمونه شاهد | اسفند | شهریور | مرداد | تیر | خرداد | اردیبهشت | فروردین | ماه / خصوصیات خاک |
|------------|-------|--------|-------|------|-------|----------|---------|--------------------------------------|
| ۲۷ | ۳۳ | ۲۲ | ۳۴ | ۵۴ | ۵۶ | ۵۳ | ۲۵ | رطوبت (درصد) |
| ۰,۱۷ | ۰,۲۳ | ۰,۲۰ | ۰,۲۳ | ۰,۲۴ | ۰,۳۱ | ۰,۲۰ | ۰,۱۹ | ازت کل (درصد) |
| ۲۲ | ۲۵ | ۳۰ | ۲۵ | ۲۴ | ۲۸ | ۲۴ | ۱۵ | ازت آمونیومی (درصد) |
| ۱۳ | ۲۴ | ۱۳ | ۱۶ | ۱۳ | ۸ | ۲۰ | ۲۷ | ازت نیتراتی (درصد) |
| ۸ | ۶ | ۷ | ۶ | ۹ | ۹ | ۱۰ | ۷ | فسفر قابل جذب (پی پی ام) |
| ۳۲۰ | ۳۱۰ | ۳۰۸ | ۳۱۰ | ۲۹۰ | ۳۰۰ | ۲۹۰ | ۳۲۰ | پتاسیم قابل جذب (پی پی ام) |
| ۲,۳ | ۲,۸ | ۲,۷ | ۲,۸ | ۲,۶ | ۲,۵ | ۲,۷ | ۲,۴ | مواد آلی (درصد) |
| ۱۲ | ۱۳ | ۱۱ | ۹ | ۹ | ۱۲ | ۱۰ | ۱۱ | کربنات کلسیم (درصد) |
| ۷,۷ | ۸ | ۸,۱ | ۷,۹ | ۷,۸ | ۷,۷ | ۷,۸ | ۷,۹ | واکنش گل اشباع |
| ۲,۳ | ۲,۰ | ۱,۹ | ۲,۱ | ۲,۳ | ۲,۴ | ۲,۲ | ۱,۸ | هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) |
| | | | | | | | ۵۵,۸۴ | رس (درصد) |
| | | | | | | | ۳۱,۴۴ | سیلت (درصد) |
| | | | | | | | ۱۲,۷۲ | شن (درصد) |

می‌باشد، پاسخ گیاه به تلقیح، معنی‌دار نیست. برتری رقابتی ریزوبیوم موجود در خاک نسبت به باکتری وارد شده توسط مایه تلقیح، در موارد دیگر هم گزارش شده است (۶ و ۷). در سایر خاکها که جمعیت باکتری در سطح پائین‌تری است، پاسخ گیاه به تیمارهای تلقیح با باکتری بهتر از تیمارهای ازتی می‌باشد.

عامل مهمی که پاسخگویی گیاه به تلقیح را تحت تأثیر قرار می‌دهد، مقدار ازت معدنی موجود در خاک می‌باشد. معمولاً افزایش ازت معدنی در خاک موجب کاهش درجه گره‌بندی در سیستم ریشه‌ای لگوم‌ها می‌شود و کارآیی فرآیند تثبیت ازت را بشدت کاهش می‌دهد (۸ و ۱۵). نتایج تجزیه خاکهای مورد استفاده در کشت گلدانی حاکی است که در این خاکها درصد ازت کل بین ۱۵/۰ تا ۲۴/۰ درصد و مجموع ازت آمونیومی و نیتراتی بین ۳۵ تا ۴۴ پی پی ام می‌باشد (جدول ۲). بنابراین موارد عدم پاسخ گیاه به تلقیح را، علاوه بر تأثیر جمعیت باکتریهای بومی، می‌توان تا حدودی مربوط به فراوانی مقدار ازت معدنی در خاک دانست. با توجه به اینکه در خاکهایی که جمعیت باکتری در سطح پایین بوده، گیاه به تلقیح جواب مثبت داده است و تأثیر تلقیح معادل اثر ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار، اوره برآورد شده است، لذا با مطالعه وضعیت منطقه زیر کشت از لحاظ جمعیت باکتری و در صورت نیاز، استفاده از روشهای تلقیح گیاه با باکتری به جای مصرف کود شیمیایی می‌توان از حداکثر توانایی این سیستم همزیستی در تثبیت ازت مولکولی بهره جست. بدین صورت هم بخشی از علوفه دامداریهای منطقه فراهم می‌شود و هم با استفاده از باقیمانده این گیاه بعنوان کود سبز، بخشی از نیاز ازتی برنج تأمین می‌گردد و در نتیجه، خطر آلودگی‌های محیطی ناشی از مصرف غیراصولی کودهای شیمیایی نیز کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از اعتبارات شورای پژوهشی دانشگاه تهران انجام گردیده است که بدین وسیله سپاسگزاری می‌شود. از ریاست محترم مؤسسه تحقیقات خاک و آب نیز که با انجام قسمتی از تجزیه‌های شیمیایی مربوط به این تحقیق در مؤسسه مذکور موافقت فرمودند، قدردانی می‌گردد.

بررسی، بیانگر جمعیت نسبتاً زیاد این باکتری در خاکهای منطقه می‌باشد. تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاکها، وجود شرایط مساعد برای رشد و تکثیر باکتری را نشان می‌دهد (جدول ۴ تا ۹). بافت خاک در تمام موارد، رسی است و همینطور میزان کربن آلی در کلیه موارد حدود ۲ درصد و یا بیشتر است که تأثیر مساعد هر دو عامل بر جمعیت ریزوبیوم و بقاء این باکتری در خاک، گزارش شده است (۸، ۱۰، ۱۴). همینطور وجود بیش از ۲۰۰ پی پی ام پتاسیم قابل استفاده، بیش از ۱۰ پی پی ام فسفر قابل دسترس، pH، EC و مقدار کربنات کلسیم مناسب در این خاکها، از عوامل موثر در حفظ تعداد زیاد این باکتری در خاکهای مورد مطالعه می‌باشند. شمارش باکتری در فروردین ماه در تمامی خاکها جمعیت بیشتری را نسبت به اسفندماه، نشان می‌دهد که علت آنرا می‌توان افزایش درجه حرارت و تحریک رشد و تکثیر باکتری دانست. تأثیر فصول سال، مقدار رطوبت خاک و غرقاب بر جمعیت این باکتری، در گزارش محققین مختلف، دیده می‌شود (۷، ۱۰، ۱۳). کاهش جمعیت باکتری در طی دوره غرقاب، به دلایل مختلف می‌تواند صورت گیرد که پر شدن منافذ خاک با آب و در نتیجه کاهش مقدار اکسیژن خاک و همینطور عدم حضور گیاه میزبان را می‌توان از عمده‌ترین دلایل محسوب داشت (۱۰، ۱۴ و ۱۶).

سرعت نفوذ اکسیژن در آب، 10^4 بار کمتر از سرعت نفوذ آن در هوای خاک می‌باشد (۹) و کاهش فشار نسبی اکسیژن می‌تواند برای ریزوبیوم تریفولی که یک باکتری هوازی است، بعنوان عامل بازدارنده رشد محسوب گردد. در عین حال این باکتری قادر است که کمبود مقدار اکسیژن تا حدود یک صدم اتمسفر را هم تحمل نماید. به همین دلیل در طی دوره غرقاب هرچند جمعیت آن بطور معنی‌دار و در حدود ۲ واحد لگاریتمی کاهش می‌یابد ولی به کلی از خاک حذف نمی‌شود و همین جمعیت باقیمانده، پس از طی دوره غرقاب خاک و بخصوص با شروع کشت گیاه شبدر، شروع به رشد و تکثیر می‌کنند.

در مورد نیاز گیاه شبدر کشت شده در تناوب با برنج به مایه تلقیح ریزوبیوم، نتایج بررسی نشان می‌دهند که در خاکهای ۴ و ۶ که جمعیت باکتری موجود در خاک بیش از هزار در هر گرم خاک

REFERENCES

- 1- Balandrew , J.1986.Ecological factors and adaptive processes in N₂ - fixing bacterial population of the plant environment , Plant and Soil , 90 : 73 - 92.
- 2- Beck , D.P .,L.A.Materon & F.Afandi .1993.Practical Rhizobium - Legume Technology , Manual No. 19 , ICARDA , Syria , 389 P.
- 3- Brodbent ,F .E .1978.Nitrogen transformation in flooded soil , in "Soils and Rice" , International Rice Research Institute , philipine.
- 4- De Datta ,S.K.1987.Nitrogen transformation processes in relation to improved cultural practices for lowland rice , Plant and Soil , 100 : 47-69.
- 5- Elkan , G.H. Ed . 1987 . Symbiotic Nitrogen Fixation Technology , Marcel Dekker , New york , 440 P.
- 6 - Fabiano , E.& A.Arias .1991. Competition between a native isolate of Rhizobium leguminosarum bv. trifolii and two commercial inoculant strains for nodulation of clover , Plant and Soil , 137 : 293 - 296.
- 7- George , T. , J.K.Ladha,R.J.Buresh & D.P.Garrity .1992. Managing native and legume - fixed nitrogen in lowland rice - based cropping systems , Plant and Soil , 141 : 69-91
- 8 - Hagedorn, C.1978. Effectiveness of Rhizobium trifolii populations associated with Trifolium subterraneum L. in southwest Oregon soils , Soil Sci.Soc. Am. J.,42:447-451.
- 9- International Rice Research Institute.1979. Nitrogen and Rice , Los Banos , Laguna , philipine.
- 10- Mahler, R .L.& A.G.wollum .1981. Seasonal variation of Rhizobium trifolii in clover pasture and cultivated fields in north carolina,Soil Sci., 132: 240-246.
- 11- Mahler, R. L. & A.G.wollum .1981. The influence of soil water potential and soil texture of the survival of Rhizobium japonicum and Rhizobium leguminosarum isolates in the soil , Soil Sci.Soc. Am. J.,45:761-799
- 12- Mikkelsen,D. S.1987.Nitrogen budgets in flooded soils used for rice production , Plant and Soil , 100:71-97.
- 13- Postma, J. & J.A.Van Veen .1989.Influence of different initial soil moisture contents on the distribution and population dynamics of introduced Rhizobium leguminosarum bv. trifolii,Soil Biol. Biochem.,21:437-442.
- 14- Richardson, A.E. & R.J.Simpson.1988.Enumeration and distribution of Rhizobium trifolii under a subterranean clover - based pasture growing in an acid soil, Soil Biol . Biochem.,20 : 431-438.
- 15-Roger, P.A. & J.K.Ladha .1992. Biological N₂ fixation in wetland rice field , Plant and Soil,141:41-55
- 16-Rupla,O.P. & B.Toomson .1987. Chickpea Rhizobium population : Survey of influence of season, soil depth and cropping pattern, Soil Biol. Biochem., 19:247-252
- 17- Vincent, J.M.1970.A Manual for the Practical Study of the Root-Nodule Bacteria , Blackwell,Oxford,164 P.

- 18- Vincent, J. M. Ed.1982. Nitrogen Fixation in Legumes , Academic press, London , 288 P.
- 19-Watanabe ,I. & C.C.Liu.1992. Improving nitrogen- fixing systems and integrating them into sustainable rice farming , Plant and Soil,141: 57- 67.
- 20- Werner, D.1992.Physiology of nitrogen - fixing legume nodules , in "Biological Nitrogen Fixation" Stacey , G. et al. Eds.,Chapman and Hall , London, 399-431.

**Population Dynamics of *Rhizobium l. bv. trifolii* in Some
Soils of Mazandaran Under Rice - Clover Rotation and
Clover Responses to Rhizobial Inoculation**

F. REJALI AND N. SALEH RASTIN

Former Graduate Student and Associate Professor, Department of Soil Science

Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.

Accepted May 19, 1999

SUMMARY

Ammonia volatilization, denitrification and leaching of nitrate ions result in increasing economical and bioenvironmental problems during flooding of paddy soils. Therefore, using biological nitrogen fixing systems to replace chemical fertilizers become more urgent. In recent years, berseem clover - rice rotation has been practiced in Mazandaran province. *Rhizobium trifolii* which lives in symbioses with clover, is an aerobic nitrogen fixing bacteria and the harmful effects of flooding on its survival and consequently decrease in N_2 - fixation could be expected. To determine flooding effects on population of *R. trifolii*, six paddy soils in areas where berseem clover-rice rotation was practiced, were sampled in monthly intervals. Population densities of *R. trifolii* and some important physical and chemical characteristics of the soil samples were measured in every interval. Adequate soil samples were also prepared at the beginning of clover cultivation to determine the nitrogen fixing potential of native rhizobia and the necessity for rhizobial inoculation. A completely randomized design factorial experiment with 3 rhizobial and 2 nitrogen treatments and 4 replicates was conducted in greenhouse conditions on soil samples. The results indicate that during flooding period, the population density of *R. trifolii* decreased gradually and was lowest at the end of this period. The average reduction was 2 log units and was statistically significant at 5% level. Regional indigenous bacteria were classified as effective and highly effective, and the effect of 2 superstrains of them were equated to 180 kg Nha^{-1} . The results of inoculation experiment indicate that in spite of sever reduction in bacterial population during flooding

period, the Rhizobial population increased after this period and in some soils the former damage has been repaired. In soils containing more than 1000 native *R. Trifolii* per gram of soil, response of plant to inoculation was not significant. In soils, with lower number of indigenous Rhizobia ($100-300 \text{ g}^{-1}$ soil), however better results were obtained from inoculation and some inoculated treatments had significant differences with non - inoculated control. On the basis of these results the use of Clover - Rhizobium symbioses in rotation with rice and also, inoculation with highly effective Rhizobial strains in the case of bacterial limitation will be recommended.

Keywords: Rhizobium Leguminosarum bV. Trifolii, Berseem clover, Clover-Rice Rotation