مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۱، سال ۱۳۸۲ (۱۰۴-۹۷)

مطالعه توان برخی سویه های باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم در تامین نیتروژن مورد نیاز ارقام سویا

نجات پیرولی بیرانوند[۱]، ناهید صالح راستین[۲]، حسین آفریده[۳] و نصرت اله ثاقب[٤]
۱ ، ۳، ٤، مربی، دانشیار و مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران
۲، دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی کرج، دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۸/۸

خلاصه

این تحقیق با هدف مطالعه اثر چند سویه کاملا موثر (SE>100) باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم روی کارایی سیستم همزیستی و همچنین سهم موجودی نیتروژن از تثبیت بیولوژیک نیتروژن در سه رقم سویا که کشت آنها در ایران بیشتر متداول است انجام پذیرفت. به این منظور، ۵ سویه خالص باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم شامل هلی نیترو، ریزوکینگ، بیودز، سی بی ۱۸۰۹وگلدکت به شکل کشت شده روی سطح شیبدار محیط غذایی ریزوبیوم (YMA) از موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید. پس از کسب اطمینان از خلوص و توانایی ایجاد همزیستی هریک از آنها (Infectiveness)، کارائی همزیستی (Symbiotic effectiveness) هر یک با ارقام سویا بررسی و سه سویه گلدکت، ریزوکینگ و هلی نیترو به عنوان سویه های برتر انتخاب شدند. برای انجام کشت گلدانی، یک نمونه خاک فاقد باکتری بومی همزیست و دارای نیتروژن کم انتخاب و به مقدار کافی جمع آوری شد. سپس آزمایشی فاکتوریل با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی در ٤ تکرار در آن صورت پذیرفت. در این آزمایش فاکتور رقم سویا شامل ارقام سحر، ویلیامز و کلارک۶۳ و فاکتور باکتری در٤ سطح شامل تلقیح با سه سویه برتر و تیمار بدون باکتری (شاهد) بود. در هر گلدان به میزان ۳/۵کیلوگرم خاک یکنواخت شده توزیع و با رعایت تیمارها هر بذر با یک میلی لیتر از مایه تلقیح سویه مورد نظر با غلظت شماره ۳ استانداردهای مک فارلند تلقیح گردید. در طی مدت ٤ ماه کشت، رطوبت گلدانها با آب مقطر در حدود ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) نگه داشته شد. پس از مدت مذکور در مرحله دانه بندی کامل سویا (R6) سیزده شاخص رشد گیاه اندازه گیری و با استفاده از نرم افزار کامپیوتری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج حاصل بیانگر آن است که اثرات ساده و متقابل تیماریهای مذکور بر روی شاخص های بررسی شده معنی دار هستند. در اکثر شاخص های مطالعه شده رقم سحر نسبت به دو رقم دیگر برتری محسوس ومعنی داری نشان داد که این موضوع احتمالا با دیررسی و همچنین خصوصیات ژنتیکی مطلوب آن از نظر سازگاری بهتر با باکتری همزیست و استفاده بهینه از شرایط محیطی مرتبط می باشد. تمامی تیمارهای تلقیح با باکتری نسبت به شاهد در شاخص های بررسی شده افزایش معنی دار نشان دادند. سویه هلی نیترو به رغم ایجاد همزیستی و توان گره زایی خوب، بطور ذاتی کارائی ضعیف تری برای انجام فرایند تثبیت نیتروژن مولکولی و همچنین تامین نیتروژن مورد نیاز گیاه نسبت به دو سویه دیگر که وضعیت تقریبا مشابه و مطلوبی داشتند، نشان داد. از طرف دیگر بررسی مقادیر نیتروژن جذب شده ازمنابع مختلف در ارقام مذکور به روش تفاوت نیتروژن نشان داد که حدود ۹۰-۸۰ درصدکل نیتروژن مورد نیاز سویا از طریق همزیستی با باکتری مذکور تامین شده است.

واژه‌های کلیدی: تثبیت بیولوژیک نیتروژن، سویه بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم، رقم سویا، روش تفاوت نیتروژن

مکاتبه کننده: نجات پیرولی بیرانوند

مقدمه

بدون شک تثبیت بیولوژیک نیتروژن (BNF) بهترین و مهمترین راهی است که خاک بطور طبیعی از نیتروژن سرشار می شود. در طی این فرآیند بیولوژیک که توسط گونه های متعددی از میکروارگانیسمهای پروکاریوت و به کمک سیستم آنزیمی نیتروژناز صورت می گیرد سالانه بطور طبیعی مقادیر زیادی نیتروژن اتمسفری (حدود ۱۷۰ میلیون تن) به اکوسیستمهای طبیعی وارد می شود. این نیتروژن عمدتا به فرم آلی می باشد که هیچ یک از مشکلات اقتصادی و زیست محیطی ناشی از مصرف نامتعادل کودهای شیمیایی نیتروژنه را به همراه ندارد. دراین میان سیستم همزیستی لگوم –ریزوبیوم از اهمیت ویژه ای برخوردار است زیراحدود ۵۰ درصد کل تثبیت نیتروژن را در سطح جهانی بر عهده دارد وارزش اقتصادی این مقدار نیتروژن را سالانه بالغ بر ۸۵ میلیارد دلار تخمین زده اند (۵، ۲۰، ۲۵).

مطالعات انجام گرفته توسط تعداد زیادی از دانشمندان بیانگر آن است که پتانسیل تثبیت نیتروژن مولکولی در حبوبات علاوه بر فاکتور های محیطی مثل خصوصیات خاک، اقلیم و مدیریت زراعی به مقدار زیاد تحت تاثیردو فاکتور نژاد باکتری و رقم گیاه قرار دارد و در صورتی که این دو فاکتور مهم به گونه ای مناسب انتخاب و بکار برده شوند، سیستم همزیستی بالاترین کارآئی را به لحاظ تثبیت نیتروژن دارا خواهد بود (۶، ۱۵، ۲۱). اثرات متفاوت ژنوتیپهای مختلف گیاه وسویه باکتری روی صفات مرتبط با تثبیت بیولوژیک نیتروژن مثل تعداد و وزن گره‌های ریشه‌ای و فعالیت سیستم آنزیمی نیتروژناز برای لگومهایی مثل نخود معمولی، بادام زمینی، لوبیا هندی، سویا، لوبیا و لوبیا سبز تا قبل از دهه هشتاد معلوم شده است (۲۷). علاوه بر این، اختلافات مذکور بین ارقام سویا در دهه نود نیز با استفاده از ایزوتوپ پایدار نیتروژن ۱۵ به خوبی مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است (۱۳، ۲۲). به عقیده سنار تن و همکاران اثرات متقابل گیاه لگوم و سویه باکتری همزیست بر روی توان سیستم همزیستی درتثبیت نیتروژن مولکولی به اندازه ای اختصاصی می باشد که ارزیابی دقیق تثبیت بیولوژیک نیتروژن یک لگوم یا یک سویه باکتری ریزوبیوم بدون در نظر گرفتن شرایط محیطی و مشخص بودن ژنوتیپ طرف همزیست با آن امکان پذیر نمی باشد (۲۳).

گیاه سویا از جمله لگوم های استراتژیک است که به دلیل ارزش غذایی زیاد (دانه آن محتوی ۲۰٪ چربی و ۴۰٪ پروتئین می باشد که پروتئین آن حدود ۲ برابر گوشت قرمز و پنیر و ۱۰ برابر شیر است)، استفاده های فراوان داروئی و صنعتی مورد توجه خاص محققین مختلف می باشد. افزون بر آن، از نقطه نظر زراعی سویا یکی از سرشارترین منابع پروتئین و روغن گیاهی است که بیشترین سطح زیر کشت دانه های روغنی را در دنیا (۶۲/۵میلیون هکتار) و ایران (۱۳۰ هزار هکتار) دارا می باشد (۳، ۴).

سویا از جمله گیاهانی است که برای تولید محصول احتیاج به مقادیر فراوانی نیتروژن دارد بطوریکه این نیاز برای هر تن محصول حدود ۱۰۰کیلو گرم در هکتار بر آورد شده است. به عقیده محققین در صورتیکه سیستم همزیستی در این گیاه به کارآیی بالایی رسانده شود، سویا از جمله لگومهایی است که به کود نیتروژنه پاسخ مثبت نشان نمی‌دهد. به عبارت دیگر این همزیستی توان لازم را داردکه بخش عمده نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن تامین نماید (۱۷). در برخی مطالعات توانایی این همزیستی در تامین نیتروژن مورد نیاز سویا تا ۹۵ درصد نیز گزارش شده است (۲۱). این در حالی است که امروزه در کشور سالانه مقادیر متنابعی کود نیتروژنه در زراعت گیاهان لگوم، از جمله سویا، بکار برده می شود که با توجه به مطالب فوق لازم است تداوم این امر، هر چه سریعتر از طریق بررسی و شناخت تنگناهای احتمالی و رفع آنها در کشت و زراعت این گیاهان، متوقف گردد.

این تحقیق، با توجه به مسایل ذکر شده و اهمیت توسعه کشت سویا در کشور با هدف مطالعه اثر سویه های تجاری کا ملا موثر (SE>100) باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم روی توان تثبیت نیتروژن سیستم همزیستی و همچنین سهم موجودی نیتروژن سه رقم سویا، که دارای بیشترین سطح کشت در کشور هستند، از تثبیت بیولوژیک نیتروژن در یک خاک فاقد باکتری بومی همزیست و با نیتروژن پایین در شرایط مناسب اتاق رشد انجام پذیرفته است.

مواد و روشها

به منظور انجام این تحقیق سویه های خالص باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم (*Bradyrhizobium japonicum*) تهیه شده از مایه تلقیح های ریزوکینگ (Rhizoking)، گلدکت (Goldcoat)، هلی نیترو (Helinitro)، بیودز (Biodoz) و سی بی۱۸۰۹ (Cb1809) به شکل کشت شده روی سطح شیبدار محیط غذایی ریزوبیوم (Yeast Extract Mannitol Agar) ازمؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید. کسب اطمینان از خلوص و توانایی برقراری همزیستی (Infectiveness) هر یک از سویه های مذکور با گیاه سویا براساس تلقیح گیاه میزبان در شرایط استریل با مایه تلقیح تهیه شده از سویه مورد نظر و مطالعه تشکیل گره های ریشه ای (Plant lnfection Test) انجام گرفت. سپس کارآئی تثبیت نیتروژن مولکولی هر یک از سویه های باکتری با ارقام سویا سحر، ویلیامز و کلارک ۶۳ نسبت به تیمارهای ۰، ۳۵، ۷۰ پی پی ام نیتروژن در آزمایشی فاکتوریل با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی (RCBD) در چهار تکرار در جارلئونارد مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت بر اساس نتایج حاصل از آن سه سویه گلدکت، ریزوکینگ وهلی نیترو به عنوان سویه های برتر جهت تلقیح سویا در کشت گلدانی انتخاب شدند (۵، ۶، ۲۴، ۲۶).

به منظور انجام کشت گلدانی، اقدام به نمونه برداری از خاکهای اطراف کرج گردید. پس از شمارش تعداد باکتری بومی همزیست در نمونه های خاک به روش محتمل ترین تعداد (MPN-PIT) و انتخاب یک نمونه خاک مناسب با مشخصات نیتروژن معدنی پایین (۱۲/۶پی پی ام) و فاقد هر گونه باکتری همزیست (جدول ۱)، به مقدار کافی از آن تا عمق ۳۰ سانتیمتری جمع آوری و از الک ۴ میلیمتری عبور داده شد. سپس مقدار ۳/۵ کیلو گرم از نمونه خاک مذکور به شکل یکنواخت و مخلوط شده در گلدانهای ۴ کیلوگرمی ریخته شد. قبل از کشت تجزیه های فیزیکی و شیمیایی خاک انجام و بر اساس آن کود هـــای سولفات آمونیوم و سولفـــات پتاسیـــم در مقادیر ۲۰ و ۱۵۰ کیلو گرم در هکتار به شکل محلول در اوایل کشت گیاهان به گلدانها اضافه شد. پس از آن به منظور بررسی اهداف مورد نظر، آزمایشی فاکتوریل با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی (RCBD) در ۴ تکرار با فاکتورهای رقم سویا در سه سطح شامل ارقام سحر(P1)، کلارک۶۳(P2) و رقم ویلیامز (P3) و تیمار باکتری در چهار سطح شامل شاهد تلقیح نشده با باکتری (bo) و تلقیح با سویه های گلدکت (b1)، هلی نیترو (b2) و ریزوکینگ (b3) انجام پذیرفت. در هر یک از گلدانها ۷ عدد بذر سویا پس از ضد عفونی سطحی و جوانه دار شدن روی سطح آب آگار استریل به فواصل مساوی در عمق ۲ سانتیمتری از سطح خاک کاشت شدند.

تلقیح هر بذر به میزان یک میلی لیتر از مایه تلقیح سویه مورد نظر در غلظت شماره ۳ استانداردهای مک فارلند صورت گرفت. گلدانها در شرایط اتاق رشد با درجه حرارت حداکثر روزانه ۲۸ وحداقل شبانه ۱۸ درجه سانتیگراد، شدت نور معادل ۳۰۰۰۰ لوکس (Lux) و طول روز حدود ۱۶ ساعت قرار داده شدند. یک هفته پس از استقرار کامل گیاهان، تعداد آنها به ۴ عدد در هر گلدان تقلیل داده شد. در طول دوره رشد گیاهان مراقبت های لازم اعم از آبیاری با آب مقطر برای حفظ رطوبت گلدان ها در حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)، مبارزه با آفات و علفهای هرز احتمالی و جمع آوری برگ های خشک شده به صورت مجزا صورت می گرفت. عملیات برداشت گیاهان به حالت سبز و در مرحله دانه بندی کامل سویا (R6) انجام گرفت (۲، ۹). در پایان یازده شاخص رشد گیاه شامل وزن خشک غلاف، برگ و دمبرگ، ساقه، کل اندام هوائی، ریشه، غده، کل سیستم ریشه ای وکل گیاه، درصد نیتروژن اندامهای هوائی (به روش کجلدال)، تعداد غده های ریشه ای و کل نیتروژن جذب شده در اندامهای هوائی تعیین و با برنامه MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. ضمنا مقادیر نیتروژن جذب شده از منابع مختلف برای هریک از ارقام سویا در همزیستی با سویه‌های مختلف باکتری‌به‌روش‌تفاوت‌نیتروژن

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیک و شیمیائی خاک استفاده شده در آزمایش

باکتری بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم (تعداد در گرم خاک)	پتاسیم قابل جذب	فسفر قابل جذب	آمونیم	نیترات	درصد کل نیتروژن خاک	درصد ماده آلی	pH عصاره گل اشباع	بافت خاک	عمق خاک (سانتی‌متر)
	میلی‌گرم در کیلوگرم خاک								
۰	۱۷۵/۲	۱۹/۲۶	۳/۱	۹/۵	۰/۰۵۳	۰/۶۷	۷/۹۷	لوم رسی	۰-۳۰

(N-difference Method) تعیین گردید. در این روش که در خاکهای فاقد باکتری بومی همزیست قابل استفاده است گیاه مرجع (تلقیح نشده با باکتری در این آزمایش) همه نیتروژن مورد نیاز را از منابع خاک و کود (احتمالی استفاده شده) جذب می نماید. با تفریق کل نیتروژن جذب شده گیاه شاهد (مرجع) از کل نیتروژن جذب شده گیاه تلقیح شده با باکتری، مقدار نیتروژن حاصل از همزیستی در گیاه تلقیح شده به دست می‌آید (۷، ۱۴).

نتایج و بحث

همانطور که جدول تجزیه واریانس ۲ نشان می دهد، اثر رقم (P)، تلقیح و عدم تلقیح با سویه های باکتری (B) و نیز اثرات متقابل آنها (P × B) بر روی تمامی شاخص های بررسی شده معنی دار شده است. در جدول مقایسه میانگین ها شماره ۳ مشاهده می شود که در غالب شاخص های رشدی مطالعه شده، نتایج آزمایش حاکی از برتری عملکرد رقم سحر (P1) نسبت به دو رقم ویلیامز و کلارک۶۳ است. این برتری ممکن است با توجه به گروه رشدی بالاتر آن نسبت به دو رقم دیگر، تا حدودی با دیر رس بودن رقم سحر ارتباط داشته باشد که در نتیجه زمان بیشتری برای انجام فعالیتهای متابولیک و تثبیت نیتروژن مولکولی خواهد داشت. علاوه بر این، احتمالا دارا بودن خصوصیات ژنتیکی مطلوب در جهت سازگاری بهتر با باکتری همزیست و استفاده بیشتر و بهتر از شرایط محیطی نیز می تواند در بالا بردن عملکرد آن مؤثر باشد. اختلافهای بین دو رقم دیگر، اگر چه از لحاظ آماری معنی دار نیستند، لیکن مقدار شاخص های اندازه گیری شده در اغلب موارد احتمالا به علت خصوصیات ذاتی رقم ویلیامز در جهت استفاده بهتر از شرایط فراهم شده، در ویلیامز بیشتر از کلارک شده است (جداول ۳ و ۵). در بسیاری از گزارشات موجود به تاثیر رقم لگوم بر شاخص‌های رشد و تثبیت نیتروژن اشاره شده است (۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۵، ۲۳). پاترسون و لارو (۱۹۸۵) در بررسی تثبیت نیتروژن ۲۱ رقم سویا در ۵ گروه رشدی مختلف دریافته اند که مقدار تثبیت نیتروژن سویا با گروه رشدی آن مرتبط است به طوریکه در ارقام دیررس (دارای گروه رشدی بالاتر) به دلیل وجود زمان بیشتر، تثبیت نیتروژن بیشتر می شود، همچنین در این بررسی اختلاف بین ارقام گروههای رشدی یکسان، اندک و غیر معنی دار ارزیابی شده است (۱۹). در همین ارتباط دانسو و همکاران (۱۹۸۷) گزارش کرده اند که واریته‌های سویا با عملکرد بالاتر، نیتروژن بیشتری از طریق همزیستی تثبیت می‌نمایند (۹). همچنین امین بیگی و همکاران (۱۳۷۶) در بررسی اثر رقم و تاریخ کاشت بر روی عملکرد سویا بالاترین عملکرد را در رقم سحر نسبت به دو رقم زودرس تر ویلیامز و هاگ گزارش نموده اند (۱).

گروه بندی تیمارهای تلقیح شده با باکتری (جدول ۴) نشان می دهد که از نظر پارامترهای بررسی شده، کمترین و بیشترین مقادیر عملکرد به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد (تلقیح نشده) و تلقیح با سویه های باکتری می باشد. مشاهدات گلخانه ای نیز بیانگر رشد بسیار ضعیف شاهد تلقیح نشده و همچنین زردی ناشی از کمبود نیتروژن است که تا آخر دوره رشد مشهود بوده است. اما در تیمارهای تلقیح با باکتری، هر چند که همه سویه ها کاملا موثر بوده اند، لیکن در اکثر پارامترهای رشدی مطالعه شده دو سویه گلدکت و ریزوکینگ (که نسبت به هم برتری معنی دار نداشته اند) نسبت به سویه هلی نیترو هر یک به طور جداگانه برتری معنی دار نشان داده اند. معهذا بررسی دو شاخص وزن خشک و تعداد غده های سیستم ریشه ای در جدول طبقه بندی تیمارهای تلقیح شده با باکتری (جدول ۴) بیانگر آن است که سویه هلی نیترو به رغم توان گره زایی بیشتر نسبت به دو سویه گلدکت و ریزو کینگ، بطور نسبی درجه تاثیر یا کارائی ضعیف تری برای انجام فرآیند تثبیت نیتروژن مولکولی با گیاه سویا داشته است. بنابراین سویه هلی نیترو جهت تلقیح ارقام سویای استفاده شده در این تحقیق توصیه نمی شود. نتایج مشابهی در گزارشات تعدادی از محققین که از سویه های مختلف ریزوبیوم جهت تلقیح گیاهان لگوم استفاده کرده اند نیز قابل مشاهده است (۷، ۸، ۲۰).

در مورد اثرات متقابل رقم گیاه و سویه باکتری همانطور که مشاهده می شود در همه شاخص های مطالعه شده ارقام، تلقیح و عدم تلقیح با سویه های مختلف تغییرات متفاوتی بجا گذاشته است (جدول۵). به عنوان مثال این موضوع در مورد معتبر ترین شاخص معمول برای ارزیابی تثبیت نیتروژن یعنی کل نیتروژن جذب‌شده‌درگیاه‌به‌این‌صورت‌است که تلقیح با سویه‌های گلدکت، ریزوکینگ و هلی نیترو در رقم سحر به ترتیب (۸۷۲، ۸۲۵ و۴۸۴/۵ درصد)در رقم کلارک (۹۲۶، ۸۱۴/۱ و ۴۵۹/۱ درصد) و

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده سویا

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات										
		عملکرد ماده خشک (گرم در گیاه)								تعداد غده در ریشه گیاه	درصد نیتروژن کل اندامهای هوائی	کل نیتروژن جذب شده در اندامهای هوائی گیاه (گرم در گیاه)
		برگ و دمبرگ	ساقه	غلاف	کل اندام هوائی	ریشه	غده	ریشه و غده	کل گیاه			
رقم سویا (P)	۲	۸/۵۲۵**	۴/۷۱۶**	۲/۳۵۵**	۴۳/۰۹۱**	۰/۱۵۴**	۰/۰۲۵**	۱/۱۴۹**	۵۸/۲۶۱**	۳۲۳۸/۵۲*	۱/۲۴۸**	۰/۱۲۶**
سویه باکتری (B)	۳	۱۰/۴۲۳**	۴/۱۱۴**	۱۹/۸۹**	۹/۲۷۷**	۰/۰۶۵**	۰/۲۹۶**	۰/۹۷۹**	۱۱۳/۶۷**	۵۶۴۹۹/۹۷**	۸/۵۰۹**	۱/۹۲۲**
P×B	۶	۰/۵۳۹**	۰/۲۶۸*	۰/۴۰۸**	۲/۹۳۳**	۰/۰۴۹**	۰/۰۱۴**	۰/۱۶۶**	۳/۸۳**	۲۰۸۸/۳۹*	۰/۱۸۸**	۰/۰۲۳*
خطای آزمایش (E)	۳۳	۰/۱۰۶	۰/۰۸۲	۰/۱۰۲	۰/۴۳۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۲۵	۰/۶۰۵	۶۲۶/۶۸۲	۰/۰۵۵	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات (C.V.)		۱۲/۳۴	۱۷/۱۲	۱۶/۴	۰/۵۶	۱۳/۷۵	۲۴/۹۴	۱۲/۱۶	۱۰/۲۷	۲۷/۴۳	۹/۸۳	۱۳/۴

۱- اثر بلوک فقط در مورد درصد نیتروژن جذب شده در گیاهان در سطح ۵٪ معنی‌دار شد ۲- عمل تجزیه واریانس برای وزن خشک ریشه بر روی ریشه سوم اعداد صورت پذیرفت.
** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪ است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ارقام بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده سویا

رقم سویا	عملکرد ماده خشک (گرم در گیاه)								تعداد غده در ریشه گیاه	درصد نیتروژن کل اندامهای هوائی	کل نیتروژن جذب شده در اندامهای هوائی گیاه (میلی‌گرم در گیاه)
	برگ و دمبرگ	ساقه	غلاف	کل اندام هوائی	ریشه	غده	ریشه و غده	کل گیاه			
سحر(P1)	۳/۴۸۶ a	۲/۲۶۴ a	۲/۳۸۸ a	۸/۱۳۷ a	۱/۳۳۶ a	۰/۲۷۶ a	۱/۶۱۲ a	۹/۷۴۹ a	۱۰۴/۶ a	۲/۰۸۶b	۷۵۶ a
کلارک۶۳ (P2)	۲/۱۹۲ b	۱/۱۹۳c	۱/۶۷۸ b	۵/۰۶۳ b	۰/۹۳ b	۰/۱۹۸ b	۱/۱۲۸ b	۶/۱۹۲ b	۷۶/۲۷ b	۲/۶۳۸ a	۶۰۲ b
ویلیامز(P3)	۲/۲۵۴ b	۱/۵۶۹ b	۱/۷۸۱ b	۵/۶۰۴ b	۰/۹۴۲ b	۰/۲۲۸ ab	۱/۱۷ b	۶/۷۷۳ b	۹۳ab	۲/۴۳۲ a	۶۰۲ b

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده سویا

سویه باکتری	عملکرد ماده خشک (گرم در گیاه)								تعداد غده در ریشه گیاه	درصد نیتروژن کل اندامهای هوائی	کل نیتروژن جذب شده در اندامهای هوائی گیاه (میلی‌گرم در گیاه)
	برگ و دمبرگ	ساقه	غلاف	کل اندام هوائی	ریشه	غده	ریشه و غده	کل گیاه			
بدون تلقیح (b0)	۱/۳۲۲c	۰/۸۴۹ c	۰/۱۶۲ c	۲/۳۳a	۰/۸۷۶b	۰/۰ b	۰/۸۷۶ b	۳/۲۰۹ c	۰/۰ c	۱/۱۵۷ c	۱۰۷ c
گلدکت (b1)	۳/۳۶۲ a	۲/۱۵۳ a	۲/۹۳۴ a	۸/۴۴۸ a	۱/۱۶ a	۰/۲۹۲ a	۱/۴۵۳ a	۹/۹۰۱ a	۱۰۱/۱ b	۳/۰۲۲ a	۹۹۷ a
هلی نیترو (b2)	۲/۶۶۲ b	۱/۶۸ b	۱/۸۵۶ b	۶/۱۹۸ b	۱/۰۸ a	۰/۳۳۴ a	۱/۴۱۵ a	۷/۶۱۳ b	۱۶۶/۵ a	۲/۵۴۱ b	۶۰۸ b
ریزوکینگ (b3)	۳/۲۲۸ a	۲/۰۲ a	۲/۸۴۴ a	۸/۰۹۲ a	۱/۱۶ a	۰/۳۰۹ a	۱/۴۶۹ a	۹/۵۶۲ a	۹۷/۵۴ b	۲/۸۲۲ a	۹۰۲ a

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و تلقیح با سویه‌های باکتری روی شاخص‌های اندازه‌گیری رشد سویا

تیمار	عملکرد ماده خشک (گرم در گیاه)								تعداد غده در ریشه گیاه	درصد نیتروژن کل اندامهای هوائی	کل نیتروژن جذب شده در اندامهای هوائی گیاه (میلی‌گرم در گیاه)
	برگ و دمبرگ	ساقه	غلاف	کل اندام هوائی	ریشه	غده	ریشه و غده	کل گیاه			
P1b0	۱/۵۴۱ef	۱/۰۵۱fg	۰/۱۷۲e	۲/۷۶۵f	۰/۹۷۸cd	۰/۰c	۰/۹۷۸def	۳/۷۴۳f	۰/۰ e	۱/۰۵۹ e	۱۱۷g
P1b1	۴/۵۱۱a	۲/۸۸۴ a	۳/۵۰۶ a	۱۰/۹ a	۱/۴۲۱ a	۰/۲۸۵	۱/۷۰۶b	۱۲/۶۱ a	۱۰۴/۳cd	۲/۶۲۵ c	۱۱۳۸ a
P1b2	۳/۶۷۹b	۲/۴۷۲ab	۲/۲۰۱bc	۸/۳۵۳ b	۱/۵۶۵ a	۰/۴۷۱ a	۲/۰۳۶ a	۱۰/۳۹ b	۲۱۷/۸ a	۲/۰۷۹d	۶۸۴de
P1b3	۴/۲۱۱ab	۲/۶۴۷ a	۳/۶۷۲ a	۱۰/۵۳ a	۱/۳۷۹ab	۰/۳۴۸ b	۱/۷۲۷ b	۱۲/۲۶ a	۹۶/۱۳cd	۲/۵۸ c	۱۰۸۴ a
P2b0	۱/۲۳f	۰/۶۹۵g	۰/۱۴۲ e	۲/۰۶۷f	۰/۹۰۹cd	۰/۰ c	۰/۹۰۹ ef	۲/۹۷۶f	۰/۰ e	۱/۱۳۸ e	۹۳g
P2b1	۲/۷۶۷cd	۱/۴۴۷def	۲/۶۱۹b	۶/۸۳۲cd	۰/۹۸۱cd	۰/۲۷۵ b	۱/۲۵۶cd	۸/۰۸۸cd	۸۶/۵۶d	۳/۴۶۴a	۹۵۱ b
P2b2	۲/۱۱۴de	۱/۰۹۹efg	۱/۴۷۸d	۴/۶۹۱ c	۰/۸۱cd	۰/۲۵ b	۱/۰۶cdef	۵/۷۵۲ e	۱۳۳/۲bc	۲/۷۶۵bc	۵۱۸f
P2b3	۲/۶۵۶cd	۱/۵۳۳de	۲/۴۷۴bc	۶/۶۶۳cd	۱/۰۲۲ c	۰/۲۶۶ b	۱/۲۸۸cd	۷/۹۵۱cd	۸۵/۳۱d	۳/۱۸۶ab	۸۴۸bc
P3b0	۱/۱۹۴f	۰/۸۰۲g	۰/۱۷۱ e	۲/۱۶۸f	۰/۷۴۱d	۰/۰ c	۰/۷۴f	۲/۹۰۹f	۰/۰ e	۱/۲۷۶ e	۱۱۱g
P3b1	۲/۸۰۹ c	۲/۱۲۷bc	۲/۶۷۶ b	۷/۶۱۱bc	۱/۰۷۹bc	۰/۳۱۷ b	۱/۳۹۷ c	۹/۰۱bc	۱۱۲/۳bcd	۲/۹۷۶bc	۹۰۲bc
P3b2	۲/۱۹۳cde	۱/۴۶۷def	۱/۸۹cd	۵/۵۵de	۰/۸۶۶cd	۰/۲۸۲ b	۱/۱۴۹cde	۶/۷de	۱۴۸/۵b	۲/۷۷۹bc	۶۲۰ef
P3b3	۲/۸۱۸ c	۱/۸۸cd	۲/۳۸۶bc	۷/۰۸۵bc	۱/۰۸bc	۰/۳۱۳ b	۱/۳۹۳ c	۸/۴۷۸ c	۱۱۱/۲bcd	۲/۶۹۹ c	۷۷۳cd

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

در رقم ویلیامز (۷۱۳/۸، ۵۹۷/۸ و ۴۵۹/۵ درصد)، مقدار کل نیتروژن جذب شده را نسبت به شاهد افزایش داده است. نکته قابل توجه دیگر، این است که در تیمارهای شاهد (تلقیح نشده) به دلیل عدم تامین نیتروژن مورد نیاز گیاه و در نتیجه کمبود نیتروژن که عامل محدود کننده رشد بوده، پتانسیل رشد ارقام نامشخص مانده است، بطوریکه رقم سحر که در سایر تیمارهای تلقیح با سویه های باکتری از لحاظ شاخص های اندازه گیری شده بر دو رقم دیگر برتری داشته، در این تیمار اختلاف معنی داری با سایر ارقام نشان نداده است.

مطالعه میانگین درصد نیتروژن حاصل از نیتروژن هوا در ارقام سویا (جداول ۶، ۷ ، ۸) علاوه بر تائید برتری دو سویه گلدکت و ریزوکینگ نسبت به سویه هلی نیترو، بیانگر توانائی بسیار بالای این همزیستی در تامین نیاز نیتروژنه گیاه سویا است. آنچنانکه در اثر همزیستی سویه های باکتری مذکور با رقم سحر، حدود ۸۳ تا ۹۰ درصد، با ویلیامز ۸۲ تا ۸۸ درصد و با رقم کلارک ۸۲ تا ۹۰ درصد نیتروژن گیاه از طریق همزیستی حاصل شده است. در این ارتباط اگر چه اکثر مطالعات انجام شده توسط دیگر محققان توانائی همزیستی سویا-بردی ریزوبیوم را در حد تامین ۲۵ تا ۷۵ درصد نیاز ازتی گیاه برآورد نموده اند، معهذا برخی محققین مثل پو پلز و همکاران (۱۹۹۵) این‌توانائی‌را تا سطح۹۵درصد نیز گزارش کرده اند (۱۶، ۱۷، ۲۰).

بطور کلی از این بررسی می توان چنین نتیجه گرفت که در خاکهای فاقد باکتری بومی همزیست و دارای نیتروژن کم (خاکهای مشابه خاک استفاده شده در آزمایش)، با توجه به توان بسیاربالای‌این‌همزیستی‌درتامین‌نیتروژن‌موردنیازسویا و همچنین تاثیر پذیری شدید آن از رقم گیاه و سویه باکتـــری، انتخـــاب و کاربرد رقم گیاه و سویه مناسب باکتری جهت تشدید فرآیند تثبیت نیتروژن سویا و در نتیجه افزایش عملکرد آن کاملا ضروری می باشد. علاوه بر این به دلیل اثر گذاری شرایط محیطی بر سیستم همزیستی، انجام آزمایشهای مشابه مزرعه ای بصورت منطقه‌ای قابل توصیه است.

جدول ۶- برآورد مقادیر نیتروژن جذب شده از منابع مختلف در رقم سحر به روش تفاوت نیتروژن

سویه	مقادیر نیتروژن جذب شده گیاه از منابع مختلف					
	خاک		هوا		خاک و هوا	
	%	mg/plant	%	mg/plant	%	mg/plant
Gold coat	۱۰/۲۸	۱۱۷	۸۹/۷۲	۱۰۲۱	۱۰۰	۱۱۳۸
Helinitro	۱۷/۱۰	۱۱۷	۸۲/۹۰	۵۶۷	۱۰۰	۶۸۴
Rhizoking	۱۰/۷۹	۱۱۷	۸۹/۲۱	۹۶۷	۱۰۰	۱۰۸۴

جدول ۷- برآورد مقادیر نیتروژن جذب شده از منابع مختلف در رقم کلارک ۶۳ به روش تفاوت نیتروژن

سویه	مقادیر نیتروژن جذب شده گیاه از منابع مختلف					
	خاک		هوا		خاک و هوا	
	%	mg/plant	%	mg/plant	%	mg/plant
Gold coat	۹/۷۸	۹۳	۹۰/۲۲	۸۵۸	۱۰۰	۹۵۱
Helinitro	۱۷/۹۵	۹۳	۸۲/۰۵	۴۲۵	۱۰۰	۵۱۸
Rhizoking	۱۰/۹۷	۹۳	۸۹/۰۳	۷۵۵	۱۰۰	۸۴۸

جدول ۸- برآورد مقادیر نیتروژن جذب شده از منابع مختلف در رقم ویلیامز به روش تفاوت نیتروژن

سویه باکتری	مقادیر نیتروژن جذب شده گیاه از منابع مختلف					
	خاک		هوا		خاک و هوا	
	%	mg/plant	%	mg/plant	%	mg/plant
Gold coat	۱۲/۳	۱۱۱	۸۷/۷۰	۷۹۱	۱۰۰	۹۰۲
Helinitro	۱۷/۹۰	۱۱۱	۸۲/۱۰	۵۰۹	۱۰۰	۶۲۶
Rhizoking	۱۴/۳۶	۱۱۱	۸۵/۶۴	۶۶۲	۱۰۰	۷۷۳

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱. امین بیگی، ع.، س. فتحی، ع. سیادت و س. جلالی هنرمند. ۱۳۷۷. بررسی اثرات رقم و تاریخ کاشت بر روی عملکرد و اجزاء عملکرد سویا. چکیده مقالات پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج.

۲. ایمان، غ. ع. ۱۳۶۵. مراحل نمو سویا (ترجمه). انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

۳. بی نام، ۱۳۷۶. بانک اطلاعات کشاورزی ایران. وزارت کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و پشتیبانی. نشریه شماره۷۶/۰۱ اداره کل آمار و اطلاعات.

۴. بی نام، ۱۳۷۶. شرکت سهامی خاص توسعه کشت دانه های روغنی. آمار سطح سبز و تولید دانه های روغنی در ایران.

۵. پیرولی بیرانوند، ن. ۱۳۷۸. بررسی اثرات متقابل رقم گیاه و سویه باکتری روی توان تثبیت نیتروژن سویا در خاکهای مختلف. پایان نامه فوق لیسانس خاکشناسی، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی کرج.

6. Anonymous. 1984. Legume lonculation on Their Use. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 63p.
7. Beck, D. P., L. A. Materon and F. Afandi. 1993. Practical *Rhizobium* – legume technology, Manual no. 19 ICARDA. 389 P.
8. Burias, N. and C. Plachon. 1990. Increasing soybean productivity through selection for nitrogen fixation. Agron. J. 82: 1031-1034.
9. Danso, S. K. A., C. Hera and C. Douka. 1987. Nitrogen fixation in soybean as influenced by cultivar and *Rhizobium* strain. Plant and soil, 99: 163-174.
10. Fehr, W. R., C. E. Caviness, D. T. Burmood and J. S. Pennington. 1971. State of development descriptions for soybeans. Crop Sci, 11: 929-931.
11. Giller, K. E., P. T. C. Nambiar, B. Strinivasa Rao, P. J. Dart and J. M. Day. 1987. A comparison of nitrogen fixation in genotypes of groundnut using 15N- isotope dilution. Biol. Fertil. Soils, 5: 23-25.
12. Guffy, R. D., R. M. Vanden Heuvel, B. L. Valsilas, R. L. Nelson, M. A. Frobish and J. D. Hesketh 1989. Evaluation of the N2-fixation capacity of four soybean genotypes by several methods. Plant and Soil 21(3):339-342.
13. Hardarson, G, F. Zapata and S. K. A. Danso. 1984. Field evaluation of symbiotic nitrogen fixation by rhizobial strains using 15 N methodology. Plant and Soil 82: 369-375.
14. Hardarson, G., 1990. Use of nuclear techniques in studies of soil- plant relationships. Training course series No. 2 Publishing IAEA, Vienna, Austria.
15. Hardarson, G., F. A. Blis, M. R. Cigales- Rivero, R. A. Henson, J. A. Kipe- Nolt, L. Longeri, A. Manrique, J. J. Pena- Cabriales, P. A. A. Pereira, C. A. Sanabria, S. M. Tsai. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. Plant and Soil, 152(1): 59-70.
16. Herridge, D. K. and S. K. A. Danso. 1995. Enhancing crop legume N2 fixation through selection and breeding. Plant and Soil, 174: 51- 82.
17. Keryser, H. H. and F. Li. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. Plant and Soil, 141: 119- 35.
18. MC Neil, D. 1982.Variation in ability of Brady*rhizobium japonicum* strains to nodulate soybeans and maintain fixation in the presence of nitrate. ppl. Environ. Microbiol.44:647-652.
19. Patterson, T. G. and T. A. Larue. 1985. Nitrogen fixation by soybeans: seasonal and cultivar effects and comparison estimates. Crop Sci, 23: 488-92.
20. Peoples, M. B., J. K. Ladha and D. F. Herridge. 1995. Enhancing legume N2 fixation through plant and soil management. Plant and Soil, 174: 83-101.
21. Peoples, M. B., D. F. Herridge and J. K. Ladha. 1995. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. Plant and Soil, 174:3-28.
22. Rennie, R. J., S. Dubetz, J. B. Bole and H. H. Muendel. 1995. Dinitrogen fixation measured by N isotope dilution in two Canadian soybean cultivars. Agron. J. 74: 725-730.
23. Senaratne, R., C. Amornpimol and G. Hardarson. 1987. Effect of combined nitrogen on nitrogen fixation of soybean as affected by cultivar and rhizobial strain. Palnt and Soil, 103: 45-50.
24. Somaseagran, P. and H. J. Hoben. 1994. Handbook for Rhizobia, Methods in legume-rhizobium technology, laboratory manual. Springer- Verlag New York, Inc. 450 P.
25. Stacey,G., H. B. Robert and J. E. Harold (eds.). 1992. Biological Nitrogen Fixation. Champan and Hall, Inc.
26. Vincent, J. M. 1982. Nitrogen Fixation in Legumes. (Chapters 6, 11, 12, 15 and 20). Academic Press, Australia.
27. 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.

An Evaluation of the N- Fixation Capacity of Some *Bradyrhizobium japonicum* Strains for Soybean Cultivars

N. PIERVALI BIERANVAND[1] , N. SALEH RASTIN[2], H. AFARIDEH[3] AND N.SAGHEB[4]

1, 3, 4, Nuclear Center for Agriculture & Medicine, Atomic Energy Organization of Iran, Karaj, Iran. 2, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.

Accepted Oct. 30, 2002

SUMMARY

This study was carried out to determine the influence of some *Bradyrhizobium japonicum* strains on amount and proportion of N fixed in three soybean cultivars most commonly cultivated in lran. For this purpose five strains of *Bradyrhizobium japonicum* namely Helinitro, Rhizoking, Biodoz, Gold Coat, and Cb1809 on YMA- slant, obtained from Soil and Water Research Institute of Iran, were used. These strains were tested for purity, infectiveness and their symbiotic effectiveness with soybean cultivars. Three strains namely Helinitro, Rhizoking and Gold Coat were selected. A factorial experiment in 4 replications was conducted under growth chamber conditions with RCBD on a soil with no indigenous bradyrhizobia and therefore in low nitrogen level. Treatments consisted of three soybean cultivars (Sahar, Williams and Clark 63), 3 bacterial strain inoculums (Goldcoat, Rhizoking, Helinitro) and a blank (with no inoculation). Each pot contained 3.5 Kg of homogenized soil and on planting, each seed was inoculated with l ml of inoculum containing about 1×10^8 cells per ml. During the 4 months of growth, plants were irrigated with distilled water to maintain the soil moisture around 0.8 FC. Plants were harvested at stage R6 while some important growth parameters being measured. The data were analyzed using the MSTATC statistical package. The results indicated that simple as well as interaction effects of bradyrhizobial strains and soybean cultivars were significant. Sahar cultivar, more prominent in lateness, had significantly the best growth characteristics as compared with other cultivars. In addition, all inoculated treatments exhibited a considerable increase in yield as compared with the non-inoculated control. Helinitro strain, despite good infectiveness showed a lower effect on amount as well as proportion of N2 fixed in soybean cultivars. Calculation of proportion of N2 fixed in soybean cultivars, using Nitrogen Difference Method, showed that 80-90% of soybean nitrogen demand was supplied through symbiosis.

Key words: Biological nitrogen fixation, *Bradyrhizobium japonicum* strains, Soybean cultivar, Nitrogen Difference Method