

## تأثیر تنش خشکی بر گره‌بندی و تثبیت نیتروژن نژادهای مختلف باکتری

### ریزوبیوم ژاپونیکوم در سویا

امین فرنیا\*، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد  
قربان نورمحمدی، استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات  
احمد نادری، استادیار پژوهشی سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی

#### چکیده

به منظور ارزیابی گره‌بندی و میزان تثبیت نیتروژن در رقم کلارک سویا در شرایط تنش خشکی و تعیین باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم برتر، تحقیقی در دو سال زراعی ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ انجام گرفت. آزمایش‌ها به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آبیاری شامل سه سطح خشکی، تنش ملایم (۸۵٪ نیاز آبی گیاه)، تنش متوسط (۷۰٪ نیاز آبی گیاه)، تنش سخت (۵۵٪ نیاز آبی گیاه) و آبیاری مطلوب (شاهد) به عنوان فاکتور اصلی در نظر گرفته شدند. سه نژاد باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم به نام‌های هلی‌نیترو، ریزوکینگ، نیتراژن و یک تیمار بدون تلقیح با باکتری (شاهد) به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. مقدار آب آبیاری به روش برآورد نیاز آبی گیاه و تشنگ تبخیر، محاسبه و اعمال گردید. در زمان کاشت تلقیح بذور با باکتری انجام گرفت. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل تعداد گره، وزن خشک گره، اندازه گره، میزان تثبیت نیتروژن و عملکرد نیتروژن تثبیت شده در واحد سطح بودند. نتایج نشان داد تفاوت میزان تثبیت نیتروژن و عملکرد نیتروژن تثبیت شده در شرایط مطلوب آبیاری و تنش خشکی، معنی‌دار گردید. نژادهای مختلف باکتری دارای کارایی متفاوتی بودند، در شرایط مطلوب آبیاری نژاد هلی‌نیترو با تثبیت بیشتر نیتروژن، ماده خشک بالاتری را تولید نمود. با اعمال تنش خشکی، نژاد ریزوکینگ از کارایی بیشتری برخوردار بود و در شرایط تنش خشکی، افزایش تولید تعداد گره فعال موجود روی ریشه و تثبیت نیتروژن بیشتر منجر به تولید ماده خشک بالاتری گردید. بنابراین دستیابی به ماده خشک بالا، در شرایط آبیاری مطلوب با استفاده از نژاد هلی‌نیترو و در شرایط تنش خشکی با استفاده از نژاد ریزوکینگ میسر می‌باشد. نتایج نشان داد اندازه و وزن گره معیار مناسبی برای سنجش میزان تثبیت نیتروژن نمی‌باشد.

واژه های کلیدی: سویا، تنش خشکی، تثبیت نیتروژن، نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم

\* نویسنده رابط: Email: afarnia@yahoo.com

## مقدمه

اهمیت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در سویا و باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم توسط تعداد زیادی از محققین که جنبه های مختلف این ارتباط را بررسی می کنند شناخته شده است، بعد از آلوده شدن ریشه سویا به وسیله ریزوبیوم ژاپونیکوم، گره ها در پوسته خارجی ریشه به وجود می آیند (۶). باکتری ها با تولید اکسین و سیتوکنین، موجب ایجاد و رشد گره می شوند (۶). درون گره تشکیل شده باکتریوئیدهای حاوی آنزیم تثبیت کننده نیتروژن یعنی نیتروژناز وجود دارد که با محلول قرمز رنگ لگ هموگلوبین احاطه شده است، نقش آن تسهیل انتشار اکسیژن به باکتریوئیدها است (۵). عوامل محیطی مختلفی از قبیل درجه حرارت خاک، غلظت اکسیژن خاک، طول روز بر تشکیل گره تاثیر می گذارند، چندین ماده غذایی نیز بر تشکیل گره تاثیر می گذارد که کودهای نیتروژنه بیشترین اثر را بر تشکیل گره دارند (۴). چهار ژن گیاه میزبان که بر تشکیل گره تاثیر می گذارند توسط ویبر و همکاران (۱۹۷۱) شناسایی شده اند، در بین نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم توانایی رقابت نژادها در تشکیل گره تحت تاثیر ژنوتیپ گیاه، تاریخ کاشت، درجه حرارت و تعداد نسبی باکتری در ریزوسفر ریشه قرار می گیرد.

هارد و دروم (۱۹۸۸) مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط سویا را ۶۵ تا ۱۱۵ کیلوگرم در هکتار در سال و المریچ و همکاران (۱۹۹۷) این مقدار را ۵۷ تا ۹۴ کیلوگرم در هکتار در سال گزارش کرده اند. اسلام و افندی (۱۹۹۰) حداکثر مقدار تثبیت نیتروژن در سویا را ۲۳۷ کیلوگرم در هکتار در سال ذکر کرده اند. ویبر (۱۹۷۶) گزارش داد که، در زراعت سویا با تولید ۲۸۰۰ کیلوگرم در هکتار دانه، ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار تثبیت نیتروژن، انجام گرفت. کارشناسان میکروبیولوژی خاک همواره سعی خود را معطوف به جداسازی و شناسایی نژادهای ریزوبیوم همزیست سویا کرده اند که کارآیی مناسبی در تثبیت نیتروژن داشته باشند، در حالی که محققین علوم زراعی بیشتر در پی یافتن ارقام مناسب بوده اند، ولی راه صحیح تر آن است که برای هر منطقه ارقام مناسب سویا و نژادهای کارآمد باکتری آزمایش شوند و بهترین ترکیب رقم-باکتری معرفی گردد. بر اساس نظر المریچ و همکاران (۱۹۹۷) تعداد گره های ریشه و الگوی پراکنش آنها روی ریشه های سویا بستگی به رقم داشته و در هر رقم با دیگری متفاوت است. مطالعات نشان داده که گیاه میزبان و نژادهای ریزوبیوم از نظر میزان تثبیت نیتروژن با هم اختلاف دارند و اثرات متقابل معنی داری بین نژادهای باکتری و نیز نژادهای ریزوبیوم و ژنوتیپ گیاه سویا وجود دارد (۲۲ و ۲۱). مؤثرترین ارقام سویا جهت همزیستی با باکتری، گروهی هستند که درصد بیشتری از اسیمیلات تولید شده را جهت استفاده باکتری های تثبیت کننده نیتروژن به ریشه منتقل نمایند (۱۵). تعداد ۲۸ نژاد باکتری ریزوبیوم سویا شناسایی شدند که دارای کارآیی متفاوتی در تثبیت نیتروژن بودند (۸). ابل و اردمن (۱۹۶۴) نژادهای متفاوت باکتری را روی ارقام سویا مورد بررسی قرار دادند، در این آزمایش ریزوبیوم های بومی روی ارقامی که با آن منطقه سازگاری داشته اند از نظر تولید گره دارای تاثیر بیشتری بوده اند. عکس العمل

نژادهای باکتری از نظر میزان تثبیت نیتروژن، تشکیل گره، سازگاری به محیط خاک، شرایط اقلیمی منطقه و برخی عوامل دیگر متفاوت می باشد و پتانسیل تشکیل گره با توجه به نوع نژاد باکتری مورد استفاده، تعیین می شود (۲۵). یک عامل مهم در تراکم جمعیت باکتری ها در ریزوسفر ریشه سویا، رطوبت خاک است، کمبود رطوبت خاک خطرناک تر از آب اضافی خاک به شمار می آید و در صورتی که این مشکل به همراه درجه حرارت بالا باشد خطر بیشتر می شود (۱۹). اسپرنت (۱۹۷۶) اثرات تنش خشکی را بر ساختمان و فعالیت گره ها مطالعه نمود و بیان کرد که با کاهش مقدار رطوبت خاک، از فعالیت باکتری های تثبیت کننده نیتروژن به شدت کاسته می شود و نژادهای مختلف باکتری در برخورد با این مشکل، عکس العمل های متفاوتی از خود نشان می دهند. باتملی (۱۹۹۱) بیان نمود که در خاک های با رطوبت کم و حرارت بالا و هم چنین خاک هایی با فقر غذایی و ظرفیت پایین نگهداری آب، مهم ترین مشکل و محدودیت برای ریزوبیوم و تثبیت نیتروژن به شمار می روند.

یک هدف مهم در تحقیقات تلقیح گیاهان لگوم، انتخاب نژادهای مؤثر ریزوبیوم برای میزبان است، این نژادها باید بتوانند خود را در ریزوسفر گیاه مستقر نموده و در تشکیل گره قادر باشند به خوبی با ریزوبیوم های بومی خاک رقابت نمایند، مکانیزم هایی که برتری رقابت را در یک نژاد ایجاد می کنند پیچیده می باشند، در حال حاضر مطالعات اندکی روی تثبیت نیتروژن در کشور صورت گرفته ولی در سال های اخیر توجه خاصی به این امر معطوف گردیده است. مطالعه حاضر با هدف معرفی بهترین نژاد باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم تحت شرایط مطلوب آبیاری و تنش خشکی انجام یافته است.

## مواد و روش ها

این تحقیق به صورت آزمایش اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در سال های زراعی ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد، اجرا گردید. تیمارهای اصلی آزمایش شامل آبیاری مطلوب و سه سطح تنش خشکی، تنش ملایم (۸۵٪ نیاز آبی گیاه)، تنش متوسط (۷۰٪ نیاز آبی گیاه)، تنش سخت (۵۵٪ نیاز آبی گیاه) به عنوان فاکتور اصلی و سه نژاد باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم به نام های هلی نیترو، ریزو کینگ، نیتراژن و تیمار بدون تلقیح با باکتری (شاهد) به عنوان فاکتور فرعی روی رقم کلارک سویا، اعمال گردیدند. مقدار آب آبیاری و تیمارهای تنش خشکی از طریق برآورد نیاز آبی گیاه و تشنگ تبخیر و با استفاده از روابط زیر محاسبه و اجرا شد (جدول ۱).

$$ET_o = E_p \cdot K_p$$

که در این فرمول:

$$ET_o = \text{تبخیر و تعرق گیاه مرجع}$$

$$K_p = \text{تبخیر روزانه از طشت تبخیر}$$

$$E_p = \text{ضریب طشت تبخیر (معادل } 0/75)$$

$$ET_c = K_c \cdot ET_o$$

$$ET_c = \text{مصرف روزانه آب سویا}$$

$$K_c = \text{ضریب گیاه زراعی که مقدار آن از شکل ۱ به دست می آید.}$$

$$AW = FC - PWP$$

$$AW = \text{رطوبت قابل استفاده گیاه یا رطوبت سهل الوصول}$$

$$FC = \text{ظرفیت زراعی خاک}$$

$$PWP = \text{نقطه پژمردگی دائم}$$

$$RAW = f \cdot AW$$

$$RAW = \text{رطوبت خاک قبل از آبیاری}$$

$$F = \text{آب موجود در خاک که حداکثر محصول به دست می آید، برای سویا } 70\% \text{ رطوبت قابل استفاده خاک است.}$$

$$dn = \frac{(FC - RAW)As \cdot D}{100}$$

$$Dn = \text{آب مورد نیاز گیاه}$$

$$As = \text{جرم مخصوص ظاهری خاک}$$

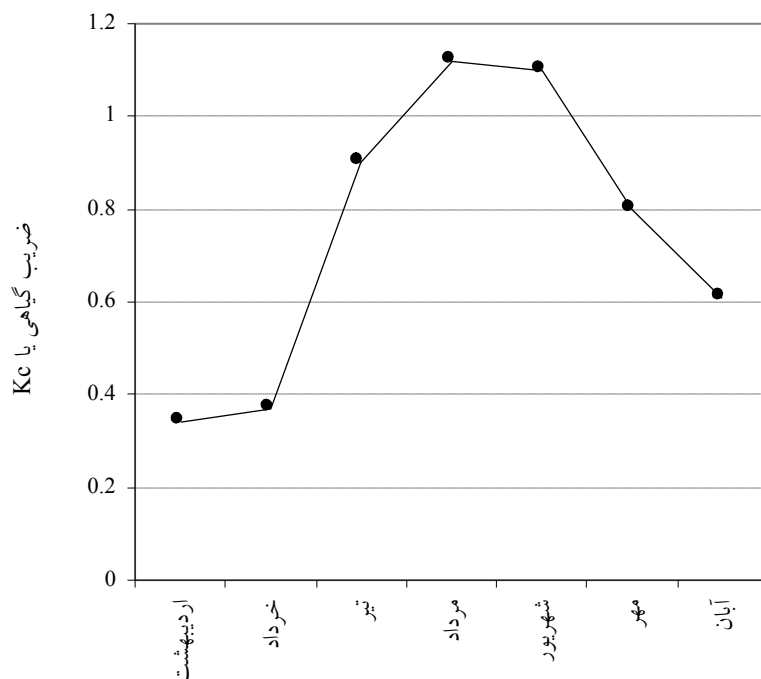
$$D = \text{عمق نفوذ ریشه (بر اساس نمونه برداری های صورت گرفته } 60 \text{ سانتی متر منظور شد)}$$

$$N = \frac{dn}{ET_c}$$

$$N = \text{دور آبیاری}$$

جدول ۱: مقدار آب مورد نیاز هر پلات آزمایشی در سالهای زراعی ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳

نیاز آبی ( $m^3 \cdot ha^{-1}$ )	آبیاری مطلوب هر پلات ( $m^3 \cdot 18m^{-2}$ )	۸۵٪ نیاز آبی هر پلات ( $m^3 \cdot 18m^{-2}$ )	۷۰٪ نیاز آبی هر پلات ( $m^3 \cdot 18m^{-2}$ )	۵۵٪ نیاز آبی هر پلات ( $m^3 \cdot 18m^{-2}$ )	سال زراعی
۷۶۶۶	۱۶/۵۵	۱۴/۵۱	۱۲/۴۶	۱۰/۴۲	۱۳۸۲
۷۷۳۴	۱۷/۵۹	۱۴/۹۵	۱۲/۳۱	۹/۶۸	۱۳۸۳



شکل ۱- منحنی Kc سویا

آبیاری کلیه تیمارها تا ۳۰ روز پس از کاشت به طور یکنواخت انجام شد، بعد از این زمان، تیمار تنش اعمال گردید. تلقیح بذر با باکتری در زمان کاشت صورت گرفت. میزان مصرف باکتری یک پاکت ۳۰۰ گرمی به ازای ۶۰ کیلوگرم بذر می‌باشد و برای نژادهای مورد استفاده، یکسان بود. تاریخ کاشت هر دو سال آزمایش ۲۰ اردیبهشت بود. تراکم گیاه ۳۳ بوته در هر مترمربع بوده و هر کرت شامل پنج خط کشت به طول شش متر و فاصله ۰/۶ متر بود. کلیه مراقبت‌های زراعی به صورت یکنواخت روی کرت‌های آزمایشی اعمال گردید. با توجه به نتایج المریج و همکاران (۱۹۹۷) و حفیظ و همکاران (۲۰۰۰) که حداکثر فعالیت گره‌بندی را در مرحله شروع غلاف‌بندی سویا گزارش دادند، جهت ارزیابی فعالیت گره‌بندی و تثبیت نیتروژن، بوته‌ها در این مرحله برداشت شدند. صفات تعداد گره، وزن خشک گره، اندازه گره و مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره با استفاده از روش احیای استیلن (شول هورن و بوریس ۱۹۶۶، کوچ و ایوانز ۱۹۶۶ و دیلورث ۱۹۶۶) و عملکرد نیتروژن تثبیت شده در هر مترمربع، محاسبه گردید. در زمان رسیدگی محصول، خط وسط هر پلات با حذف حواشی در سطح یک مترمربع از سطح خاک قطع و در آون با ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت و کل ماده خشک اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS و Minitab انجام گرفت، اثرات تنش خشکی، نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم و اثر متقابل آنها ارزیابی گردید.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب ماده خشک کل، گره بندی و صفات وابسته به آن، مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره و عملکرد تثبیت نیتروژن در واحد سطح، تحت تاثیر تیمارهای آبیاری و نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم در جدول ۲ نشان داده شده است. در این آزمایش اثر نژادهای مختلف باکتری بر روی تعداد گره معنی دار بود. تاثیر تیمارهای آبیاری روی این فاکتور نیز اختلاف معنی داری را در سطح احتمال ۱٪ نشان داد (جدول ۲). نژاد هلی نیترو تعداد گره بیشتری را در گیاه به وجود آورد (جدول ۴). به نظر می رسد که علت آن اختلاف ژنتیکی و توان رقابتی بالای نژادهای مختلف باکتری و سازگاری بهتر در ریزوسفر گیاهی است. نژادهای باکتری از لحاظ تولید تعداد گره تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند، به طوری که تحت شرایط آبیاری مطلوب نژاد هلی نیترو بیشترین تعداد گره ریشه را تولید نمود، اما با اعمال تنش خشکی از کارآیی همه نژادهای باکتری مخصوصا نژاد هلی نیترو کاسته شد، تحت شرایط تنش خشکی ملایم و تنش خشکی متوسط، نژاد ریزوکینگ برتری یافت و در تنش خشکی شدید تعداد گره های تولید شده توسط نژادهای باکتری تفاوت معنی داری را نشان ندادند (جدول های ۳، ۴ و ۵). در شرایط تنش خشکی نژاد ریزوکینگ از توان همزیستی و گره زایی بهتری برخوردار است و قدرت سازگاری بهتری نسبت به شرایط سخت محیطی دارد و می تواند از شرایط موجود و با توجه به کاهش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه، استفاده بیشتری نماید. دانشیان (۱۳۷۴) در مطالعه بر روی اثر متقابل نژادهای باکتری ریزوبیوم (هلی نیترو، گلدکت و ریزوکینگ) و ارقام مختلف سویا (ویلیامز، سنچوری و هارکور) به اثر معنی دار نژاد باکتری تحت تاثیر عوامل محیطی اشاره نمود که در این بین نژاد گلدکت از گره زایی بیشتری برخوردار بود. هوبل و الکان (۱۹۷۷) در یک مطالعه روی ارقام سویا و جمعیت هایی از سه نژاد باکتری ریزوبیوم در شرایط تنش رطوبتی، بر اثر متقابل معنی دار تنش خشکی و نژاد باکتری اشاره نمودند. در مطالعه ای که توسط زنگی و مکنزی (۱۹۹۲) روی تاثیر تنش خشکی بر کارآیی نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم انجام دادند نتیجه گرفتند که، نژادهای باکتری دارای عکس العمل های متفاوتی هستند، بعضی از نژادها از مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی و شرایط نامساعد محیطی برخوردارند. حفیظ و همکاران (۲۰۰۰) در آزمایشی روی میزان گره بندی ارقام مختلف عدس توسط نژادهای مختلف باکتری *Rhizobium leguminosarum* نشان دادند که نژادها و ارقام، اثر معنی داری در تعداد گره داشته اند. هم چنین اسپرنت و اسپرنت (۱۹۹۰) در مطالعه روی تاثیر همزیستی نژادهای *R. meliloti* گونه های یونجه یک ساله تحت تاثیر تنش خشکی، بر اثر متقابل معنی دار نژاد و تنش اشاره نمودند. هم چنین در این تحقیق تعداد گره موجود روی ریشه با مقدار نیتروژن تثبیت شده همبستگی مثبت و معنی دار ( $r=0/99$ ) داشت (شکل های ۲، ۳ و ۴) و می تواند به عنوان معیار مناسبی جهت تخمین کارآیی نژادهای باکتری مورد استفاده قرار بگیرد.

جدول ۲: نتایج تجزیه مرکب گره‌بندی و صفات وابسته به آن، مقدار تثبیت نیتروژن، عملکرد تثبیت

نیتروژن در هر مترمربع و ماده خشک گیاه

صفات مورد بررسی							منابع تغییرات
ماده خشک گیاه	عملکرد تثبیت نیتروژن	مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره	اندازه گره	وزن خشک گره در بوته	تعداد گره در بوته	درجه آزادی	
$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	$P \leq \alpha$	
ns	ns	*	ns	ns	ns	۱	سال
-	-	-	-	-	-	۴	سال بلوک
**	**	*	ns	**	**	۳	تیمار آبیاری
ns	ns	ns	ns	ns	*	۳	تیمار آبیاری سال
-	-	-	-	-	-	۱۲	تیمار آبیاری سال بلوک
**	**	**	*	*	**	۳	نژاد باکتری
**	**	**	*	*	**	۹	باکتری تیمار آبیاری
ns	ns	ns	ns	ns	ns	۹	باکتری سال
ns	*	ns	ns	ns	ns	۹	باکتری تیمار آبیاری سال
-	-	-	-	-	-	۴۸	باکتری تیمار آبیاری سال بلوک
۸/۸	۳/۰۸	۵/۰۱	۱۴/۰۸	۳/۲۶	۶/۰۳		ضریب تغییرات (%)

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی دار

وزن خشک گره، تحت تأثیر نژادهای مختلف باکتری و تیمارهای آبیاری قرار گرفت (جدول های ۳ و ۴)، به طوری که نژاد هلی نیترو، وزن خشک گره بیشتری را نسبت به سایر نژادهای باکتری تولید نمود و پس از آن نژاد ریزوکینگ در رده بعدی قرار گرفت (جدول های ۳، ۴ و ۵). در این خصوص، برگرسن و همکاران (۱۹۷۳) در یک آزمایش اثر نژادهای مختلف ریزوبیوم ژاپونیکوم را بر وزن خشک گره ارقام سویا، معنی دار گزارش کرد، در آزمایش وی، بیشترین وزن خشک گره، در مرحله R<sub>4</sub> (پایان غلاف بندی) بود. در همین ارتباط هارد و دروم (۱۹۸۸) در مطالعه روی میزان گره بندی و تثبیت نیتروژن سویا توسط نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم به اثر معنی دار نژادهای باکتری اشاره نمودند. همان طور که در جدول ۵ مشاهده می شود با افزایش تنش خشکی، وزن خشک گره کاهش یافت که در نژاد ریزوکینگ و نیتراژن این کاهش شدیدتر بود، در تنش سخت رطوبتی اختلاف وزن خشک گره در بین نژادهای باکتری به حداقل خود رسید که دلیل آن را می توان به کاهش تولید مواد فتوسنتزی و هم چنین کاهش

تثبیت نیتروژن در گیاه مرتبط دانست. در بررسی اثر متقابل تیمارهای آبیاری و نژادهای باکتری، نژاد هلی نیترو در تیمارهای مختلف آبیاری بیشترین وزن خشک را به خود اختصاص داد و این در حالی بود که تحت تاثیر تنش خشکی، از تثبیت نیتروژن نژاد هلی نیترو به مقدار قابل ملاحظه ای کاسته شد، بنابراین به نظر می رسد باکتری های موجود در گره های روی ریشه این نژاد، توانسته اند با تولید اکسین و سیتوکینین، گره بزرگ تری را به وجود آوردند اما در مرحله بعدی، که انجام فرآیند تثبیت نیتروژن بوده از کارایی کمی نسبت به نژاد ریزوکنینگ برخوردار بوده اند (شکل ۷). حفیظ و همکاران (۲۰۰۰) در آزمایش نژادهای باکتری ریزوبیوم لگومینوزارم روی عدس نتیجه گرفتند که نژادهای باکتری اثر معنی داری بر وزن خشک گره دارند و اعمال تنش رطوبتی تأثیر معنی داری روی این صفت می گذارد. اوهاما (۱۹۸۴) در آزمایش روی اثر متقابل نژادهای *R. phaseoli* و تنش خشکی بر رقم لوبیا، به وجود اختلاف معنی دار در این خصوص اشاره کردند، عکس العمل نژادهای باکتری در برخورد با تنش متفاوت بود.

جدول ۳: میانگین گره بندی و صفات وابسته به آن در رقم کلارک سویا تحت تاثیر تیمارهای آبیاری

صفات مورد بررسی						
تیمارهای آبیاری	تعداد گره در بوته	وزن خشک گره در بوته (gr)	اندازه گره در بوته (mm)	مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره ( $\mu\text{molN.Plant}^{-1}.\text{d}^{-1}$ )	عملکرد نیتروژن تثبیت شده ( $\text{gr.m}^{-2}$ )	ماده خشک گیاه ( $\text{gr.m}^{-2}$ )
آبیاری مطلوب	۲۰/۹a	۳/۱a	۴/۶a	۲/۲a	۱۸/۳a	۸۱۰a
تنش ملایم	۲۰/۲b	۳/۰a	۴/۵a	۱/۹b	۱۷/۱b	۷۶۱b
تنش متوسط	۱۸/۲c	۲/۱b	۴/۴a	۱/۷bc	۱۴/۹c	۷۴۲c
تنش سخت	۱۵/۰d	۱/۶bc	۴/۴a	۱/۶c	۱۲/۶d	۶۳۰d

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد

تحت تأثیر تنش خشکی اندازه گره معنی دار نبود که دلیل آن را می توان تخصیص بیشتر مواد فتوسنتزی به ریشه جهت رشد و گسترش ریشه و دست یابی به منابع جدید آب مرتبط دانست، اما این فاکتور تحت تاثیر نژادهای باکتری معنی دار گردید، که قدرت تولید باکتریوئیدها در تولید اکسین و سیتوکینین از دلایل تفاوت نژادهای مختلف باکتری در اندازه گره است (۱۶ و ۲۳).



جدول ۴: میانگین گره بندی و صفات وابسته به آن در سویا تحت تاثیر نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم

صفات مورد بررسی						
نژادهای باکتری	تعداد گره در بوته	وزن خشک گره در بوته (gr)	اندازه گره در بوته (mm)	مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره ( $\mu\text{molN.Plant}^{-1}.\text{d}^{-1}$ )	عملکرد نیتروژن تثبیت شده ( $\text{gr.m}^{-2}$ )	ماده خشک گیاه ( $\text{gr.m}^{-2}$ )
هلی نیترو	۲۲/۱۸a	۳/۴۰a	۴/۸۸a	۲/۳۵a	۲۰	۸۳۰
ریزوکینگ	۲۱/۵۱ab	۳/۳۰ab	۴/۸۰ab	۲/۰۵b	۱۸/۷۵	۷۸۰
نیتراژن	۱۸/۷۸c	۲/۴۹c	۴/۶۸bc	۱/۷۶c	۱۶/۲۵	۷۴۲
بدون باکتری	۰/۰۱d	۰/۰۱d	۰/۰۱d	۰/۰۱d	۰/۰۱	۶۴۶

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد

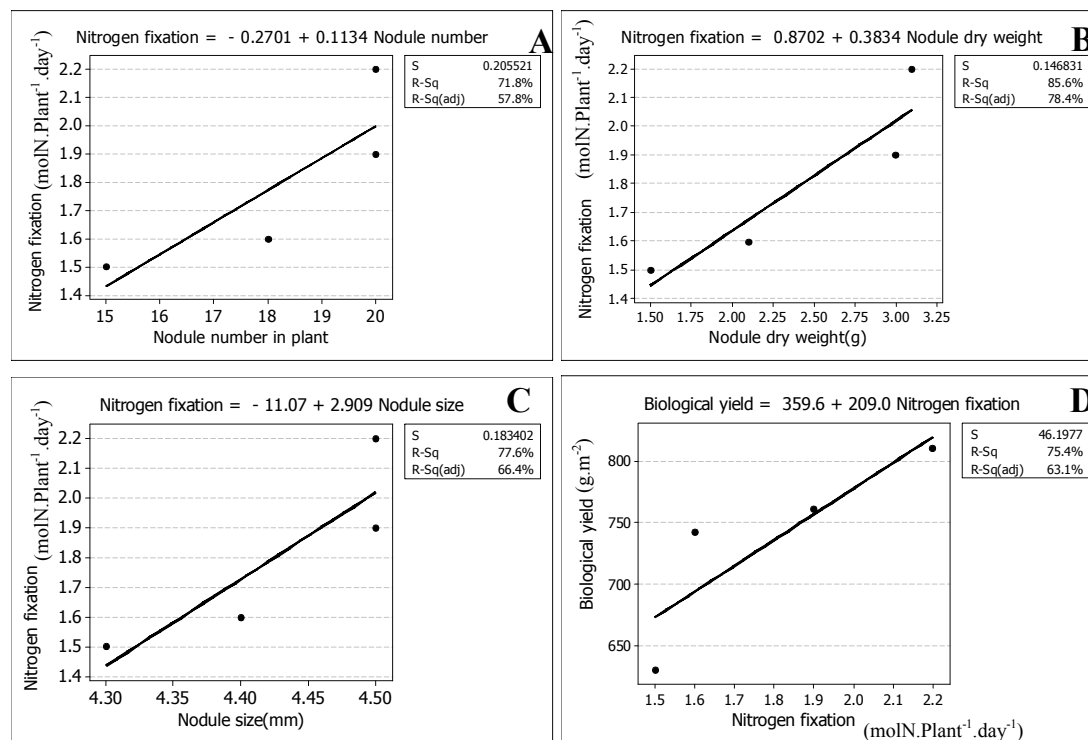
جدول ۵: میانگین گره بندی و صفات وابسته به آن در رقم کلارک سویا تحت تاثیر اثر متقابل تنش خشکی و

نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم

صفات مورد بررسی						
تیمارهای آزمایشی	تعداد گره در بوته	وزن خشک گره در بوته (gr)	اندازه گره در بوته (mm)	مقدار نیتروژن تثبیت شده در گره ( $\mu\text{molN.Plant}^{-1}.\text{d}^{-1}$ )	عملکرد نیتروژن تثبیت شده ( $\text{gr.m}^{-2}$ )	ماده خشک گیاه ( $\text{gr.m}^{-2}$ )
هلی نیترو	۲۶/۹a	۴/۱a	۵/۲a	۲/۹a	۲۴/۰a	۸۷۰a
ریزوکینگ	۲۳/۲b	۳/۴a	۵/۲a	۲/۵b	۲۱/۹b	۸۵۳b
نیتراژن	۲۲/۳c	۳/۱a	۵/۲a	۲/۳bc	۲۰/۲c	۸۴۸b
بدون باکتری	۰/۱d	۰/۱b	۰/۱b	۰/۱d	۰/۱d	۷۷۰c
هلی نیترو	۲۰/۳b	۴/۰a	۵/۱a	۲/۲b	۲۰/۰a	۸۲۲a
ریزوکینگ	۲۳/۲a	۳/۲a	۵/۱a	۲/۶a	۲۱/۰a	۸۳۰a
نیتراژن	۱۹/۲c	۳/۰a	۵/۱a	۲/۰bc	۱۸/۹b	۷۹۵b
بدون باکتری	۰/۱d	۰/۱b	۰/۱b	۰/۱d	۰/۱c	۷۵۹c
هلی نیترو	۱۸/۱b	۳/۱a	۵/۰a	۱/۹a	۱۸/۴a	۷۸۰b
ریزوکینگ	۱۹/۵a	۲/۵a	۵/۰a	۲/۰a	۱۹/۱a	۷۹۰a
نیتراژن	۱۷/۹b	۲/۲a	۴/۹a	۱/۹a	۱۶/۹b	۷۶۰c
بدون باکتری	۰/۱c	۰/۱b	۰/۱b	۰/۱b	۰/۱c	۷۰۰d
هلی نیترو	۱۶/۲b	۲/۲a	۵/۰a	۱/۹a	۱۵/۸a	۶۷۰b
ریزوکینگ	۱۶/۷a	۱/۸a	۵/۰a	۱/۹a	۱۶/۶a	۶۸۵a
نیتراژن	۱۵/۹b	۱/۵a	۴/۹a	۱/۷ab	۱۳/۳b	۶۱۰c
بدون باکتری	۰/۱c	۰/۱b	۰/۱b	۰/۱c	۰/۱c	۵۲۵d

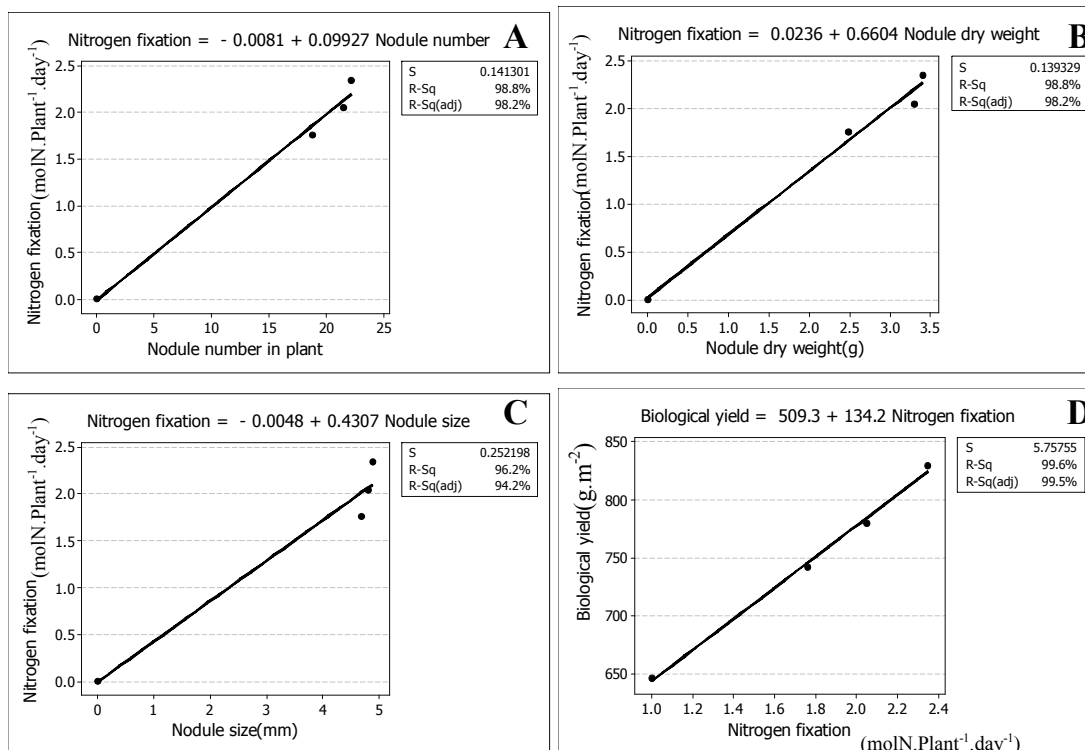
حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد

اندازه گره در مراحل اولیه تشکیل گره مشخص می گردد که به توانایی باکتری در تولید هورمون هایی از جمله اکسین و سیتوکینین بستگی دارد، ممکن است فعالیت باکتری ها پس از این زمان کاهش و یا متوقف گردد، به همین دلیل تثبیت نیتروژن کاهش می یابد.



شکل ۲- روابط رگرسیونی بین گره بندی و صفات وابسته به آن، تحت تاثیر تیمارهای آبیاری  
 A=رابطه رگرسیونی بین تعداد گره با تثبیت نیتروژن B=رابطه رگرسیونی بین وزن خشک گره با تثبیت نیتروژن  
 C=رابطه رگرسیونی بین اندازه گره با تثبیت نیتروژن D=رابطه رگرسیونی بین تثبیت نیتروژن با عملکرد دانه

بر اساس نتایج به دست آمده، اندازه گره معیار مناسبی جهت سنجش توان تثبیت نیتروژن توسط نژاد باکتری نمی باشد زیرا همان طور که در جدول های ۴ و ۵ مشاهده می گردد اندازه گره در نتیجه فعالیت باکتری نیتراژن بیشتر از نژادهای هلی نیترو و ریزوکینگ بود در حالی که حداکثر مقدار نیتروژن تثبیت شده در شرایط آبیاری مطلوب توسط هلی نیترو و در شرایط تنش رطوبتی توسط نژاد ریزوکینگ، تولید شد. نتایج حاصل از آزمایش واسیلاس و نلسون (۱۹۹۲) و گارنر (۱۹۹۸) روی سویا نشان داد که همبستگی مثبت جزئی بین اندازه گره و مقدار نیتروژن تثبیت شده وجود دارد. گزارش های کمی در ارتباط با رابطه بین اندازه گره و مقدار نیتروژن تثبیت شده وجود دارد، اما آنچه مسلم است ارتباط اندازه گره، نشان دهنده توانایی باکتری جهت تثبیت نیتروژن نمی باشد (۱۱ و ۲۷).



شکل ۳- روابط رگرسیونی بین گره‌بندی و صفات وابسته به آن، تحت تاثیر نژادهای باکتری

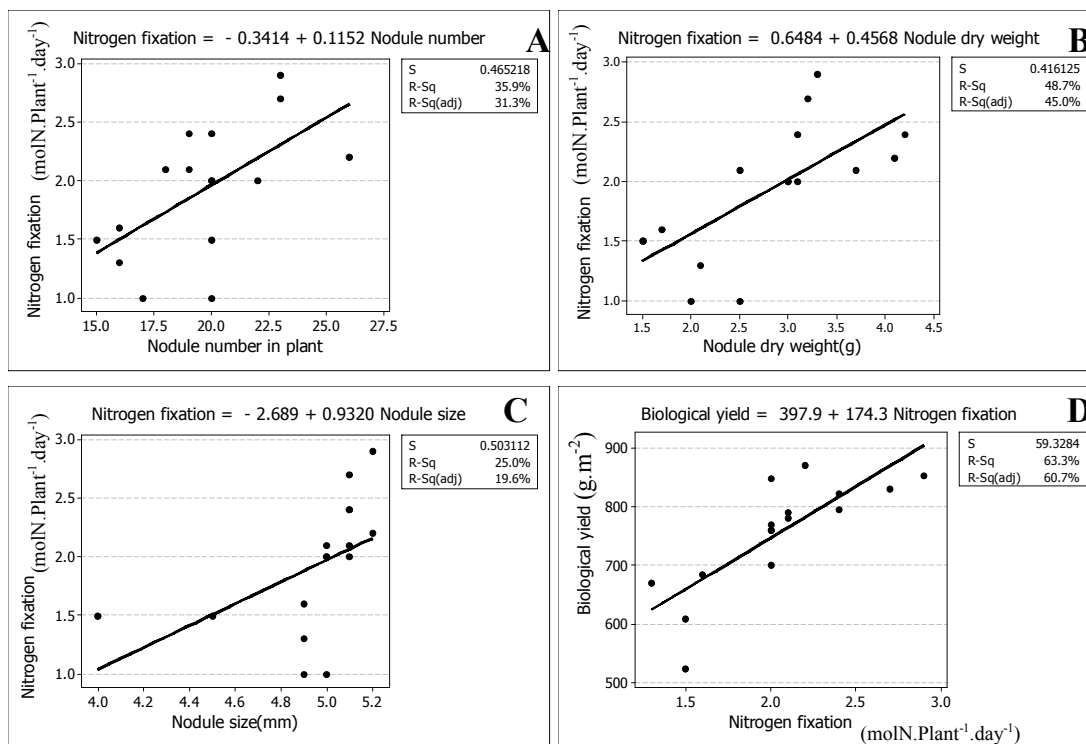
A=رابطه رگرسیونی بین تعداد گره با تثبیت نیتروژن B=رابطه رگرسیونی بین وزن خشک گره با تثبیت نیتروژن

C=رابطه رگرسیونی بین اندازه گره با تثبیت نیتروژن D=رابطه رگرسیونی بین تثبیت نیتروژن با عملکرد دانه

مقدار تثبیت نیتروژن، عملکرد تثبیت نیتروژن و تولید ماده خشک توسط سویا برای سطوح تنش خشکی و نژادهای مختلف باکتری، اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان دادند (جدول ۱). باکتری نژاد هلی نیترو در شرایط آبیاری مطلوب، بیشترین تثبیت نیتروژن و تولید ماده خشک را دارا بود و با اعمال تنش از توانایی آن نسبت به نژاد ریزوکینگ کاسته شد، در تنش‌های ملایم و متوسط نژاد ریزوکینگ برتری یافت و در تنش سخت همه نژادها در یک گروه قرار گرفتند که می‌تواند به دلیل کاهش شدید تولید و انتقال مواد فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی سخت و تخصیص مقدار کمتری از مواد فتوسنتزی به گره‌ها و در نتیجه باکترئوئیدها باشد. در تیمار شاهد با توجه به عدم تلقیح با باکتری و عدم تثبیت نیتروژن، کمترین ماده خشک به دست آمد (جدول‌های ۳، ۴ و ۵). در مطالعات مشابه، کوچ و ایوانز (۱۹۹۶) در آزمایش روی میزان گره‌بندی و تثبیت نیتروژن سویا، گزارش نمودند که تفاوت معنی داری در کل نیتروژن تثبیت شده وجود دارد. در آزمایش دیگری که روی مقادیر تثبیت نیتروژن سویا صورت گرفت مشاهده شد که نژادهای مختلف دارای توان متفاوت تثبیت نیتروژن می‌باشند که با توجه به مقادیر نیتروژن تثبیت شده ماده خشک تولیدی گیاه نیز متفاوت می‌باشد (۱۳ و ۲۵). در این تحقیق، تثبیت نیتروژن با تولید ماده خشک همبستگی مثبت و معنی دار ( $r=0.99$ ) داشت (شکل ۳)، به طوری که با

افزایش مقدار نیتروژن تثبیت شده تقریباً به طور خطی مقدار ماده خشک تولید شده افزایش یافت که به دلیل تولید سطح فتوسنتزکننده بیشتر و تولید و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه می باشد و این خود بر تثبیت نیتروژن اثر تشدیدکننده می تواند داشته باشد. همبستگی مثبتی بین توان تثبیت نیتروژن و تولید ماده خشک گیاه گزارش شده است (۲۹). توان تثبیت نیتروژن و تولید ماده خشک گیاه، تحت تاثیر عوامل مختلفی از قبیل ژنوتیپ گیاه، نژاد باکتری، رطوبت خاک، نیتروژن خاک و ... قرار می گیرد (۳ و ۱۱). به طوری که تحت تاثیر تیمارهای آبیاری رابطه همبستگی ( $r=0/66$ ) تثبیت نیتروژن با عملکرد بیولوژیکی کاهش یافت (شکل های ۲ و ۴). با اعمال تنش خشکی کاهش مقدار تثبیت نیتروژن و ماده خشک در گیاهانی از قبیل سویا، باقلا، نخود و نخود فرنگی گزارش شده است (۱۵).

کاهش تثبیت نیتروژن در نژادهای مختلف باکتری تحت تاثیر سطوح تنش خشکی و به خصوص در تنش شدید می تواند عمدتاً مربوط به آنزیم موجود در برگ باشد که مسئول تجزیه محصولات تثبیت نیتروژن انتقال یافته به گره ها در برگ ها می باشد این آنزیم دارای حساسیت زیادی نسبت به کمبود آب است و فعالیت آن دچار اختلال می گردد، با کاهش فعالیت این آنزیم، اثر بازخوری منفی بر روی فعالیت تثبیت نیتروژن دارد، در نتیجه تثبیت نیتروژن کاهش می یابد (جدول ۵)، اما مکانیزم آن به طور کامل مشخص نشده است (۲۸). دلیل دیگری که می توان علت کاهش تثبیت نیتروژن با کاهش رطوبت خاک را توجیه نمود کاهش تنفس سلول های ریشه و مخصوصاً تنفس گره های موجود روی ریشه می باشد، با کاهش تنفس گره، انرژی مورد نیاز تثبیت نیتروژن کاهش می یابد و سبب کاهش تثبیت نیتروژن می گردد (۲۷). بر اساس گزارش واسیلاس و نلسون (۱۹۹۲) کاهش بیش از ۲۰ درصد رطوبت گره، سبب توقف تثبیت نیتروژن می گردد و تنفس گره را به شدت کاهش می دهد، با کاهش رطوبت میزان تثبیت نیتروژن و تنفس گره به کمتر از ۲۰ درصد تنزل می یابد. هم چنین تغییرات روزانه قابل توجهی در میزان تثبیت نیتروژن به وسیله گره سویا در رابطه با تغییرات مقدار رطوبت گزارش شده است (۱۵). به نظر می رسد که کاهش تثبیت نیتروژن در اثر خشکی گره، مربوط به کاهش تنفس گره به دلیل کمبود اکسیژن در باکتری ها می باشد، چنین کمبودی در اثر ایجاد یک مانع فیزیکی در ورود اکسیژن به گره به وجود می آید که در اثر بی میلی لگ هموگلوبین گره خشک نسبت به اکسیژن پدید می آید. این نظریه با توجه به این که اثرات منفی کمبود رطوبت بر تثبیت نیتروژن و تنفس گره با افزایش غلظت اکسیژن در اطراف گره برطرف می شود مطرح می گردد (۱۵). تنش خشکی ملایم باعث کاهش تثبیت نیتروژن گردید اما در تنش های متوسط و سخت، تثبیت نیتروژن کاهش شدیدی را نشان داد (جدول ۵). به نظر می رسد کمبود رطوبت در حد متوسط سبب تغییرات ساختمانی از قبیل پارگی پلاسمودسماتا در بخش خارجی سلول های کورتکس گره های سویا می شود، این خسارت نه تنها در اثر تعرق بیش از حد گره به دلیل خشکی هوای خاک، بلکه در اثر جذب مواد مضر مانند نمک های در تماس با ریشه ایجاد می گردد (۲۷).



شکل ۴- روابط رگرسیونی بین گره‌بندی و صفات وابسته به آن، تحت تاثیر اثر متقابل تیمارهای آبیاری و نژادهای باکتری

A=رابطه رگرسیونی بین تعداد گره با تثبیت نیتروژن B=رابطه رگرسیونی بین وزن خشک گره با تثبیت نیتروژن  
 C=رابطه رگرسیونی بین اندازه گره با تثبیت نیتروژن D=رابطه رگرسیونی بین تثبیت نیتروژن با عملکرد دانه

به طور کلی، معیار تعداد گره همبستگی مثبت و معنی دار با توان تثبیت نیتروژن نژاد باکتری دارد، در صورتی که اندازه گره معیار مناسبی به شمار نمی‌آید و از این فاکتور نمی‌توان جهت تعیین کارایی نژاد باکتری برتر استفاده نمود. هم چنین آب مهم‌ترین عامل محیطی مؤثر بر تثبیت نیتروژن است. کافی نبودن آب از دو طریق فعالیت گره‌ها را کاهش و یا متوقف می‌کند، یکی اثر غیرمستقیم تنش خشکی است که در مراحل اولیه باعث کاهش فتوسنتز گیاه می‌شود، زیرا روزنه‌ها بسته شده و کاهش ورود دی‌اکسیدکربن به برگ باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌گردد، چنانچه این شرایط به مدت طولانی ادامه یابد انتقال کربوهیدرات‌ها به گره‌ها کاهش می‌یابد، که دلیل آن کاهش میزان تولید مواد فتوسنتزی و هم چنین مصرف مواد فتوسنتزی جهت رشد و توسعه ریشه به منظور دستیابی به منابع جدید آب، می‌باشد. این عامل باعث کاهش تثبیت نیتروژن شده و با کاهش نیتروژن مورد نیاز گیاه، فرایند تولید و توسعه برگ‌ها و اندام‌های رویشی کند می‌شود که خود منجر به کاهش فتوسنتز گیاه می‌گردد و در تنش سخت این عامل تشدید می‌گردد. هم چنین اثر مستقیم تنش خشکی بر تثبیت نیتروژن، از طریق کاهش انتشار اکسیژن به گره و در

نتیجه کاهش تنفس گره است. با توجه به این که تثبیت نیتروژن واکنشی انرژی خواه می باشد، محدودیت تولید انرژی در گره های موجود بر روی ریشه، تثبیت نیتروژن را کاهش می دهد. همان طور که ذکر شد عکس العمل نژادهای باکتری نسبت به تیمارهای متفاوت بود، نژاد هلی نیترو با تولید تعداد گره های فعال بیشتر در شرایط آبیاری مطلوب تثبیت بیشتر نیتروژن را سبب گردد که منجر به تولید ماده خشک بالاتر شد اما تحت شرایط تنش های ملایم و متوسط، نژاد باکتری ریزوکینگ با سازگاری بهتر به شرایط تنش، نیتروژن بیشتری را تثبیت و در اختیار گیاه قرار داد و در تنش سخت، تفاوتی بین نژادهای باکتری مشاهده نشد. بنابراین می توان توصیه نمود که مناطق شرایط مساعد زراعی در طول دوره رشد گیاه وجود دارد از نژاد هلی نیترو و در مناطقی که ممکن است تنش خشکی اتفاق بیافتد از نژاد ریزوکینگ استفاده نمود. هم چنین لازم است عکس العمل نژادهای باکتری و قدرت سازگاری آنها را تحت شرایط مختلف و تنش های دیگر مورد ارزیابی قرار داد.

## منابع

- ۱- آینه بند، ا. ۱۳۷۲. تعیین منحنی رشد بررسی اثر تاریخ کشت بر عملکرد و ارقام کلزا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس تهران، دانشکده کشاورزی.
- ۲- انوری، م. ت. ۱۳۷۶. اثرات تاریخ کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام کلزا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- ۳- حاج محمدنیا قالی بافت، ک. ۱۳۷۶. بررسی اثر تاریخ کاشت بر روی رشد، عملکرد و اجزای محدود ارقام کلزای پاییزه در شرایط محیطی تبریز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی.
- ۴- خواجه پور، م. ۱۳۸۳. گیاهان صنعتی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان، ۵۶۴ صفحه.
- ۵- شیرانی راد، ا. ح. ۱۳۷۳. بررسی اثر تاریخ کاشت و تراکم بوته بر روند رشد و صفات زراعی دو رقم کلزا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس تهران، دانشکده کشاورزی.
- ۶- شیرانی راد، ا. ح. و دهشیری، ع. ۱۳۸۱. راهنمای کلزا (کاشت، داشت و برداشت). سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی نشر آموزش کشاورزی، ۱۱۶ صفحه.
- ۷- عزیزی، م. ا. سلطانی و خاوری خراسانی، س. (۱۳۷۸) کلزا. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد، ۲۳۰ صفحه
- ۸- کوچه باغی، ا. ح. ۱۳۸۳. تاثیر سه تاریخ کاشت بر روی عملکرد و صفات قابل اندازه گیری در رقم سرز. خلاصه مقالات اولین همایش ملی دانه های روغنی در گرگان.
- ۹- ناصر قدیمی، ف. ۱۳۸۳. بررسی اثر تاریخ های کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام کلزای زمستانه. نتایج تحقیقات به زراعی کلزا در سال ۸۳-۱۳۸۲.
- ۱۰- ناصری، ف. ۱۳۷۰. دانه های روغنی. انتشارات آستان قدس رضوی مشهد، ۵۷۲ صفحه.
- ۱۱- نبوی محلی، آ. ۱۳۷۶. بررسی اثر تاریخ کاشت بر عملکرد، اجزا عملکرد و خصوصیات رشد سه رقم کلزای پاییزه در منطقه مشهد. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی.

- 12-David, E., Anway, H. and Harbans, L. 1999.** Canola oil yield and quality as affected in Virginia. Crop.sci., 39: 254-256.
- 13-Guardia, M. D. and Perez-torrez, E. B. 1978.** Growth and development of spring varieties in autumn sowing in southern Spain. Proc 5 th rapeseed conf, Malmo, Sweden, pp:245-249.
- 14-Jenkins, P. D. and Leitch, M. H. 1989.** Effect of sowing date on the growth and yield of winter oilseed rape. Agr.j.Sci.,105:405-420
- 15-Mendham, N. J. and Scott, R. K. 1975.** The limiting effect of plant size at inflorescence initiation on subsequent growth and yield of oilseed rape. J. Agric.Sci.,84:487-502.
- 16-Mendham, N. J. and Shipway, P. A. 1981.** The effect of delay sowing and weather on growth, development and yield of winter oilseed rape (*brassica napus*). J.Agric. sci., 96:389-416.
- 17- Mukurasi, N. J. 1978.** Research on rapeseed and fodder rape at uyole, Tanzania proc. 5 th. Int. Rapeseed Conf. Sweden,pp:280-288.
- 18-Ozer, H. 2003.** Sowing date and nitrogen rate effects on growth, yield and yield components of two summer rapeseed cultivars. Eurorop .J.Agric.,19:453-463
- 19-Potts, M. J and Gardiner,W. 1980.** The potential of spring oilseed rape in the west of Scotland. Exol, Husb, 36:64-74
- 20-Thurling, N. 1974.** Morphophysiological determination of yield in rapeseed. Aust .J. Agric.Res.,75:711-721

