مجله کشاورزی، دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۳۸۷، صص ۲۰-۹

تأثیر گوگرد بر میزان تثبیت ازت و برخی صفات رشد دو رقم سویا با استفاده از روش رقت ایزوتوپی ^{15}N

فاطمه امانی *، فایز رئیسی **، نجات پیرولی بیرانوند *** و احمد موسوی شلمانی ***

تاریخ وصول مقاله : ۸۶/۴/۱۰ و تاریخ پذیرش مقاله : ۸۷/۴/۳۱

چکیده

معمولاً در خاک‌های آهکی با کربنات کلسیم و اسیدیته زیاد، رشد و نمو گیاه به‌دلیل کاهش جذب برخی عناصر غذایی مطلوب نیست. همچنین فرآیند تثبیت بیولوژیک ازت در لگوم‌های مورد کشت و رشد و عملکرد گیاه در این نوع خاک‌ها کمتر است. لذا استفاده از مواد تولیدکننده اسید (نظیر گوگرد) و کاهش اسیدیته خاک سبب بهبود رشد گیاه و تثبیت بیولوژیک ازت می‌شود. این تحقیق به صورت فاکتوریل درقالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشکده کشاورزی، پزشکی سازمان انرژی اتمی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح گوگرد (صفر، یک، دو، پنج، ۱۰ و ۱۵ تن در هکتار) و دو رقم سویا (سحر و ویلیامز) بود. براساس نتایج حاصل افزایش گوگرد موجب کاهش اسیدیته خاک و افزایش هدایت الکتریکی خاک شد ($P<0/01$). استفاده از گوگرد تا پنج و ۱۰ تن در هکتار به‌ترتیب برای رقم سحر و ویلیامز سبب افزایش وزن خشک گیاه گردید. اما مصرف مقادیر بیشتر گوگرد، سبب کاهش وزن خشک گیاه شد که می‌تواند به دلیل زیاد شدن هدایت الکتریکی خاک ناشی از مصرف گوگرد باشد. علی‌رغم زیاد شدن هدایت الکتریکی خاک در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار، میزان تثبیت ازت توسط هر دو رقم سویا به دلیل مساعد شدن واکنش خاک ناشی از اکسایش گوگرد، افزایش یافت.

کلمات کلیدی: اسیدیته، تثبیت بیولوژیک ازت، سویا، گوگرد، هدایت الکتریکی

* - کارشناسی ارشد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، استان چهارمحال بختیاری - ایران (**amani_fatemeh@yahoo.com**)

** - دانشیار، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، استان چهارمحال بختیاری - ایران

*** - عضو هیأت علمی، مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، تهران - ایران

مقدمه

رابطه همزیستی لگوم‌هایی نظیر سویا با باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت مولکولی و مصرف بسیار کم کود ازته سبب افزایش بازده محصول می‌شود. از نظر اقتصادی و زیست محیطی نیز استفاده از این توانایی سویا - ریزوبیوم قابل توجیه است (۲ و ۵). تثبیت بیولوژیک ازت[1] (BNF) بهترین و پایدارترین روش برای تقویت طبیعی خاک از این عنصر غذایی می‌باشد. توانایی این سیستم در تثبیت ازت مولکولی تحت تأثیر عوامل متعدد (نظیر ژنوتیپ گیاه میزبان و باکتری همزیست، خصوصیات خاک، شرایط اقلیمی و مدیریت زراعی) است که اسیدیته یکی از مهمترین عوامل محسوب می‌شود (۳ و ۱۴). در خاک‌های آهکی کارایی این سیستم همزیستی به علت زیاد بودن اسیدیته خاک محدود است (۱۴). گوگرد به عنوان یک عنصر غذایی ضروری برای گیاهان و همچنین به عنوان ماده تولیدکننده اسید در خاک می‌تواند با اصلاح واکنش خاک شرایط را برای رشد ارقام سویا و تثبیت ازت فراهم کند (۱۰). گوگرد در ساختمان آنزیم نیتروژناز نقش داشته و از طریق تأثیر بر متابولیسم گیاه میزبان موجب افزایش جذب ازت مولکولی توسط گره‌های ریشه‌ای و همچنین افزایش روغن در لگوم‌های روغنی (نظیر سویا) می‌گردد (۱۹). در یک تحقیق، برای بررسی اثر متقابل تغذیه گوگرد بر ترکیبات غذایی سویا، در شرایط گلدانی مقادیر متفاوت فسفر و گوگرد برای گیاه تأمین شد. نتایج نشان داد که غلظت نیترات در گیاه با ازدیاد میزان گوگرد افزایش یافت (۶). همچنین در بررسی اثر مصرف مقادیر مختلف گوگرد بر عملکرد و کیفیت دانه رقم کلارک سویا ملاحظه شد مصرف ۱۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار باعث افزایش عملکرد سویا نسبت به تیمار شاهد (حدود ۶۵۰ کیلوگرم در هکتار) می‌گردد (۱۷). آزمایشات گلدانی بر روی بادام‌زمینی نشان داد که در حضور تیوباسیلوس‌ها، وزن کل اندام هوایی، تعداد غده و وزن خشک گیاه افزایش یافت (۱). به نظر می‌رسد مصرف گوگرد همراه با تلقیح تیوباسیلوس با کاهش اسیدیته و افزایش قابلیت دسترسی گوگرد همراه است. اثر گوگرد عنصری بر کاهش اسیدیته و جذب عناصر غذایی سنگین در ذرت بررسی شد و نتایج حاکی از کاهش اسیدیته خاک در حدود ۰/۳ به ازای افزایش گوگرد به میزان ۲۰۰ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک بود (۲۰). در یک آزمایش گلخانه‌ای نیز تأثیر مصرف ۰/۵ درصد گوگرد تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس در گیاه ذرت بر کاهش اسیدیته خاک آهکی معنی‌دار گزارش شد (۳). همچنین مصرف گوگرد ۳۶/۵ و مصرف گوگرد همراه با مایه تلقیح تیوباسیلوس ۱۳۷/۲ درصد، مقدار آهن جذب شده توسط ذرت را درمقایسه با شاهد افزایش یافت.

در یک آزمایش، مزرعه‌ای در هندوستان در خاکی با اسیدیته ۷/۵، اثر مقادیر مختلف گوگرد از منابع مختلف بر تثبیت ازت مولکولی توسط

1 - Biological Nitrogen Fixation

سویا، وزن خشک گیاه و تعداد غده در گیاه مثبت گزارش شد (۵). در یک مطالعه گلدانی، اثر مقادیر گوگرد بر عملکرد اندام هوایی، کل ازت جذب شده و مقدار احیاء استیلن در لگوم‌هایی از قبیل ماش، شبدر، نخود و یونجه مثبت ارزیابی شد (۱۶). همچنین همبستگی وزن خشک گره‌ها و افزایش تثبیت ازت تأثیر مثبت گوگرد بر افزایش گره‌زایی و تثبیت ازت در لگوم‌ها را نشان می‌دهد. در یک آزمایش گزارش شد در صورت وجود سوپر فسفات، ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار بهترین مقدار برای افزایش عملکرد سویا است (۱۸). در یک مطالعه گلخانه‌ای، در سه خاک آهکی نقش گوگرد بر تثبیت ازت و شاخص‌های رشد در گیاه سویا مثبت گزارش شد (۸). پس گوگرد به عنوان عنصر ضروری به همراه تیوباسیلوس با بهبود اسیدیته خاک باعث افزایش فعالیت باکتری ریزوبیوم و تثبیت ازت می‌شود. با این حال، نتایج اغلب تحقیقات براساس روشهای کلاسیک اندازه‌گیری میزان تثبیت ازت است که دقت کافی را ندارند. استفاده از روش ازت نشان‌دار (N^{15}) و تعیین دقیق میزان ازت حاصل از هوا، خاک و کود در این شرایط می‌توان مشخص نمود که آیا گوگرد با بهبود شرایط واکنش خاک (درنتیجه جذب بیشتر ازت معدنی توسط گیاه) یا از طریق بهبود فعالیت ریزوبیوم‌ها و افزایش تثبیت ازت و یا تلفیقی از هر دو روش در جذب بیشتر ازت و بهبود رشد و عملکرد گیاه نقش دارد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر گوگرد بر میزان تثبیت ازت و برخی صفات رشد در دو رقم سویا با استفاده از روش رقت ایزوتوپی N^{15} بود.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت فاکتوریل درقالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور شامل دو رقم سویا (سحر و ویلیامز) و شش سطح گوگرد (صفر، یک، دو، پنج، ۱۰ و ۱۵ تن گوگرد در هکتار)، در سه تکرار اجرا شد. تعداد ۳۶ واحد آزمایشی (گلدان) برای اجرای این آزمایش تهیه گردید. به علت استفاده از روش ایزوتوپی علاوه بر ۳۶ گلدان اصلی (گیاه تثبیت‌کننده)، شش گلدان شاهد (شامل سه گلدان از رقم سحر و سه گلدان از رقم ویلیامز و بدون تلقیح با ریزوبیوم) به عنوان گیاهان مرجع (گیاه غیر تثبیت‌کننده) در شرایط مشابه با تیمارها کشت شدند.

از خاک مورد آزمایش چهار کیلوگرم، برای هر گلدان توزین و تیمارهای گوگرد به صورت پودر کاملاً ریز، دو میلی‌لیتر مایه تلقیح ریزوبیوم با غلظت درجه سه محلول‌های مک فارلند* (حاوی $۱۰^{۸}$ ۹ سلول در هر میلی‌لیتر)، به‌جز گلدان‌های حاوی گیاه مرجع، ۵۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح تیوباسیلوس* (مخلوطی از گونه‌های اجباری و اختیاری حاوی $۱۰^{۶}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) و پنج میلی‌لیتر از کود نشان‌دار نیترات آمونیوم ($^{15}NH_4{}^{15}NO_3$) با فراوانی ۱۰ اتم درصد ^{15}N) با خاک به‌طور کامل مخلوط گردید و به داخل هر گلدان ریخته و ۲۴ ساعت پس از آبیاری گلدان‌ها، شش عدد از بذرهای جوانه‌دار شده سویا با

* – کود میکروبی گوگرد و مایه تلقیح ریزوبیوم به صورت آماده از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید و جزئیات آن در اختیار تهیه‌کنندگان است.

فواصل مساوی در عمق سه تا پنج سانتی‌متری خاک هر گلدان کاشته شد (جدول ۱).

گیاهان هر گلدان را پس از ۱۰ روز (در مرحله دو برگی) تنک کرده و سه عدد گیاهچه نگه داشته شد. در طی عملیات داشت، رطوبت گلدان‌ها در حدود ۰/۸ ظرفیت زراعی (F.C) و دمای روز گلخانه ۲۸ و دمای شب ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید (۸). عملیات برداشت در مرحله پر شدن غلاف‌ها انجام شد. گیاهان از محل طوقه قطع و اندام‌های هوایی (شامل ساقه، برگ، غلاف و دانه) در دمای ۷۰ درجه خشک و توزین شد. پس از نمونه‌برداری از خاک هر گلدان (همانند نمونه‌برداری با اگر) ریشه‌ها شسته و تعداد غده‌های جدا شده شمارش و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. اندام هوایی گیاهان (شامل ساقه، برگ، غلاف و دانه) به طور مرکب آسیاب و درصد ازت کل آنها به روش کلدال تعیین شد. سپس با استفاده از دستگاه امیشن اسپکترومتر NOI 7 میزان ازت نشان‌دار نیز در آنها تعیین و با استفاده از روش رقت ایزوتوپی درصد و میزان ازت تثبیت شده از هوا محاسبه شد (۱۲ و ۱۵). سپس اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک در عصاره ۱:۱ اندازه‌گیری شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Statistica و در سطح پنج درصد انجام شد.

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1 - Physical and chemical properties of the soil

پارامتر	شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	مس (mg/kg)	منگنز (mg/kg)	آهن (mg/kg)	روی (mg/kg)	NH_4^+ (mg/kg)
مقدار	۳۲/۱	۴۵/۲	۲۲/۷	۳/۲۰	۲۱۶	۱/۲۴	۱/۶۴	۱/۵۸	۰/۲۲	۱/۹۶

ادامه جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

پارامتر	NO_3^- (mg/kg)	EC (dS/m)	pH	TNV (%)	CEC (Cmol(+)/kg)	ازت کل (%)	مواد آلی (%)	*B. Japonicum* cell. g^{-1} soil	*Thiobacillus* cells.g^{-1} soil
مقدار	۴/۷۶	۱/۴	۸/۰	۹/۰۰	۱۴	۰/۰۶۴	۱/۱۵	۱۵۰	<۱۰۰۰

عناصر غذایی اندازه‌گیری شده به صورت قابل جذب می‌باشد.

The measurement nutrient elements are available.

نتایج و بحث

اثر گوگرد بر تغییرات اسیدیته خاک معنی‌دار بود ($p<0/01$). استفاده از پنج و ۱۰ تن گوگرد در هکتار باعث کاهش اسیدیته خاک (حدود ۰/۷ واحد) شد (جدول ۲). در خاک مورد آزمایش با استفاده از مقدار زیاد گوگرد (۱۵ تن در هکتار) اسیدیته به اندازه یک واحد کاهش یافت. این امر نشان می‌دهد که خاصیت بافری خاک بسیار زیاد بوده است. لذا فرآیند کاهش اسیدیته خاک باید در دراز مدت انجام شود. پس در خاک‌هایی با ظرفیت بافری زیاد برای کاهش دایم اسیدیته، باید گوگرد به مقدار زیاد و در دفعات به خاک اضافه شود (۱۳). کم بودن کاهش واکنش خاک را می‌توان چنین توجیه کرد که قسمت اعظم آهک با ذرات درشت که توسط عوامل پوشش‌دهنده مثل رس و مواد آلی پوشیده شده است، در واکنش خنثی شدن شرکت نکرده است. در اثر حذف عوامل پوشش‌دهنده، مقداری از اسید تولید شده با آهک واکنش داده و اسیدیته خاک تا حدی کم می‌شود. یک دلیل دیگر مربوط به گچ حاصل از واکنش اسید با آهک موجود در خاک می‌باشد. چون حلالیت گچ خیلی بیشتر از حلالیت آهک است، با زیاد شدن غلظت یون کلسیم در محلول، این یون جانشین هیدروژن و آلومینیوم موجود در سطح کلوییدهای خاک می‌شود و درنتیجه اسیدیته خاک تا حدودی کاهش می‌یابد (۳).

اثر گوگرد بر هدایت الکتریکی خاک نیز معنی‌دار بود ($p<0/01$) (جدول ۲). استفاده از گوگرد سبب افزایش هدایت الکتریکی خاک از $1/59\ dSm^{-1}$ (تیمار شاهد) به $4/69\ dSm^{-1}$ (تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار) شد (جدول ۲). علت افزایش هدایت الکتریکی را می‌توان ناشی از تجمع نمک‌های حاصل از اکسایش گوگرد (یکی از یون‌های مؤثر در شوری خاک) دانست. معمولاً تجمع نمک‌های حاصل از افزایش گوگرد در سطوح فوقانی خاک باعث شوری آن می‌شود (۷). باتوجه به آهکی بودن خاک مورد آزمایش، عناصر کلسیم و منیزیم در آن به وفور وجود دارند. استفاده از گوگرد و اکسایش تدریجی آن در خاک منجر به تولید یون سولفات (SO_4^{2-}) می‌شود. افزایش غلظت این سه یون در خاک باعث افزایش قابلیت هدایت الکتریکی خاک می‌گردد (۷). استفاده از مقادیر زیاد گوگرد در این خاک باعث زیاد شدن هدایت الکتریکی شده و در بیشترین تیمار گوگرد، هدایت الکتریکی خاک به حدود $4/7\ dS/m$ می‌رسد. در آزمایشی گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در خاک‌های آهکی نیز نشان داده شده که مصرف گوگرد، باعث کاهش اسیدیته و افزایش هدایت الکتریکی خاک می‌شود (۹).

جدول ۲ – مقایسه میانگین اثرات اصلی گوگرد و رقم بر pH و EC خاک مورد آزمایش

Table 2 - Comprison of mean results of main effects of Sulfure and cultivar on pH and EC of experimenting soil (value is F)

تیمار	اسیدیته	هدایت الکتریکی(dS/m)
سطح گوگرد (تن در هکتار)		
۰	۸/۰۰(±۰/۰۸) [a]	۱/۵۹ (±۰/۲۴) [e]
۱	۸/۰۴ (±۰/۰۵) [a]	۲/۲۶ (±۰/۱۴) [d]
۲	۷/۹۶ (±۰/۰۵) [a]	۲/۳۴ (±۰/۱۵) [d]
۵	۷/۵۲ (±۰/۰۶) [b]	۲/۹۴ (±۰/۰۹) [c]
۱۰	۷/۴۵ (±۰/۱۰) [b]	۳/۸۰ (±۰/۱۵)[b]
۱۵	۷/۰۹ (±۰/۰۶)[c]	۴/۶۹ (±۰/۱۹) [a]
رقم سویا		
سحر	۷/۷۲ (±۰/۱۰) [a]	۲/۸۸ (±۰/۲۴) [a]
ویلیامز	۷/۶۷ (±۰/۰۹) [a]	۳/۰۰ (±۰/۲۹) [a]

تفاوت میانگین‌هایی با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P< ۰/۰۵).

Differences of values followed by different letters are significant (P < 0.05).

اثر تیمارهای گوگرد، ارقام سویا و اثر متقابل آن‌ها بر رشد گیاه

کاهش اسیدیته و درنتیجه آزاد شدن عناصر غذایی تثبیت شده و نامحلول، می‌تواند باعث افزایش قابلیت جذب آنها شده و سبب بهبود رشد و نمو گیاه شود (۱۱). اثر گوگرد بر وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک کل گیاه (مجموع وزن ریشه و اندام هوایی) معنی‌دار بود (جدول ۳). در تیمار پنج تن گوگرد در هکتار وزن خشک اندام هوایی گیاه بیشترین مقدار بود. ولی در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار وزن کل گیاه و وزن خشک اندام هوایی کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳ – مقایسه میانگین اثر گوگرد و رقم بر رشد و غده‌بندی در گیاه

Table 3 - The effect of Sulfure and cultivar on growth and nodulation in plants

تیمار	وزن خشک اندام هوایی (گرم/گیاه)	وزن خشک کل گیاه (گرم/گیاه)	تعداد غده (در گیاه)	وزن خشک غده (میلی‌گرم در هکتار)
سطح گوگرد (تن/هکتار)				
۰	۳/۴۳ (±۰/۱۷) bc	۴/۱۸ (±۰/۱۸) cd	۱/۸۰ (±۰/۸۱) d	۲۵/۲۰ (±۱۰/۶۰) c
۱	۳/۷۸ (±۰/۱۲) b	۴/۶۳ (±۰/۱۲) bc	۱/۶۵ (±۰/۲۲) d	۳۲/۲۰ (±۴/۷۴) c
۲	۴/۳۳ (±۰/۱۷) a	۵/۱۸(±۰/۲۱) ab	۴/۳۸ (±۰/۹۵) c	۷۹/۰۰ (±۱۶/۴۷) b
۵	۴/۵۲ (±۰/۱۹) a	۵/۳۸ (±۰/۲۴) a	۲۷/۱۱ (±۰/۹۲) a	۱۴۲/۰۰ (±۱۰/۶۰) a
۱۰	۴/۳۶ (±۰/۱۵) a	۵/۱۷ (±۰/۱۸) ab	۱۹/۱۲ (±۰/۴۱) b	۱۳۶/۷۰ (±۶/۶۱) a
۱۵	۳/۱۳ (±۰/۱۹) c	۳/۷۳ (±۰/۲۴) d	۲۰/۲۸ (±۱/۱۶) b	۱۲۹/۲۰ (±۳/۰۰) a
رقم سویا				
سحر	۳/۸۰ (±۰/۱۵) a	۴/۵۳ (±۰/۱۷) b	۱۱/۸۶ (±۲/۳۹) b	۸۷/۴۰ (±۱۰/۷۰) a
ویلیامز	۴/۰۵ (±۰/۱۶) a	۴/۸۸ (±۰/۱۸) a	۱۲/۹۲ (±۲/۵۹) a	۹۴/۰۰ (±۱۴/۷۰) a

تفاوت میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

Differences of values followed by different letters are significant (P<0.05).

درحالتی‌که هدایت الکتریکی خاک از دامنه تحمل گیاه به شوری بیشتر است، رشد گیاه کاهش می‌یابد. با ازدیاد شوری خاک، فشار اسمزی خاک افزایش یافته و گیاه برای جذب آب به مصرف انرژی بیشتر نیاز دارد. چون گیاه نمی‌تواند کل انرژی خود را صرف غلبه بر فشار اسمزی نماید، بخشی از آب موجود در خاک را جذب و مابقی انرژی خود را صرف فعالیت‌های متابولیکی می‌کند و درنتیجه رشد و نمو گیاه محدود و عملکرد آن کاهش می‌یابد (۱۰). گیاه سویا از ارقام نیمه مقاوم به شوری است (EC= ۴–۵) و اثر افزایش هدایت الکتریکی تا سطح ۴/۷ dS/m بر رشد گیاه نامطلوب بوده و علی‌رغم مساعد بودن شرایط خاک در تیمار ۱۰ و

۱۵ تن گوگرد در هکتار برای رقم سحر و ۱۵ تن گوگرد در هکتار برای رقم ویلیامز در اثر زیاد شدن شوری خاک و فشار اسمزی، اگرچه آب به قدر کافی در محیط ریشه وجود داشته ولی میزان جذب آب توسط گیاه کاهش یافته است (جدول ۳).

وزن کل گیاه در رقم ویلیامز بیشتر از رقم سحر بود سازگار بودن رقم ویلیامز با شرایط اعمال شده در خاک را نشان می‌دهد (جدول ۳).

جدول ۴ – اثر متقابل گوگرد و رقم بر صفات مؤثر در رشد

Table 4 – The effect of Sulfur and cultivar on growth index

رقم سویا	سطح گوگرد (تن/هکتار)	وزن خشک اندام هوایی (گرم/گیاه)	وزن خشک کل گیاه (گرم/گیاه)	تعداد غده (در گیاه)	ازت کل (درصد)
سحر	۰	۳/۳۸ (t ۰/۱۰)^{cd}	۴/۱۳ (t ۰/۱۱)^{de}	۳/۵۰ (t ۰/۶۳)^{e}	۲/۵۲ (t ۰/۲۷)^{f}
	۱	۳/۷۴ (t ۰/۳۰)^{bc}	۴/۵۷ (t ۰/۲۷)^{bcd}	۱/۵۵ (t ۰/۲۲)^{ef}	۲/۶۸ (t ۰/۲۵)^{def}
	۲	۴/۲۹ (t ۰/۳۰)^{ab}	۵/۰۶ (t ۰/۳۴)^{abc}	۲/۳۲ (t ۰/۱۹)^{ef}	۲/۹۰ (t ۰/۳۵)^{cdef}
	۵	۴/۴۱ (t ۰/۲۰)^{ab}	۵/۲۳ (t ۰/۲۵)^{ab}	۲۶/۷۸ (t ۱/۲۰)^{a}	۳/۳۱ (t ۰/۲۱)^{bcde}
	۱۰	۴/۰۹ (t ۰/۱۰)^{abc}	۴/۸۲ (t ۰/۱۶)^{abcd}	۱۸/۹۰ (t ۰/۵۹)^{c}	۲/۹۱ (t ۰/۰۷)^{cdef}
	۱۵	۲/۹۱ (t ۰/۲۰)^{d}	۳/۴۲ (t ۰/۲۸)^{e}	۱۸/۱۱ (t ۰/۵۹)^{c}	۲/۶۳ (t ۰/۲۹)^{ef}
ویلیامز	۰	۳/۴۹ (t ۰/۴۰)^{cd}	۴/۲۲ (t ۰/۴)^{cde}	۰/۱۱ (t ۰/۱۱)^{f}	۲/۴۶ (t ۰/۲۲)^{f}
	۱	۳/۸۲ (t ۰/۰۴)^{bc}	۴/۷۰ (t ۰/۰۵)^{abcd}	۱/۷۵ (t ۰/۴۲)^{ef}	۲/۸۵ (t ۰/۱۳)^{cdef}
	۲	۴/۳۸ (t ۰/۳۰)^{ab}	۵/۳۱ (t ۰/۳۱)^{ab}	۶/۴۴ (t ۰/۴۴)^{d}	۳/۴۱ (t ۰/۲۱)^{bc}
	۵	۴/۶۲ (t ۰/۴۰)^{a}	۵/۵۴ (t ۰/۴۴)^{a}	۲۷/۴۴ (t ۱/۷۰)^{a}	۳/۶۳ (t ۰/۲۱)^{b}
	۱۰	۴/۶۳ (t ۰/۲۰)^{a}	۵/۵۳ (t ۰/۱۵)^{a}	۱۹/۳۳ (t ۰/۶۷)^{c}	۴/۳۱ (t ۰/۱۷)^{a}
	۱۵	۳/۳۶ (t ۰/۳۰)^{cd}	۴/۰۴ (t ۰/۳۴)^{de}	۲۲/۴۴ (t ۱/۳۰)^{b}	۳/۳۶ (t ۰/۱۰)^{bcd}

تفاوت میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P< ۰/۰۵).

Differences of values followed by different letters are significant (P < 0.05).

اثر تیمارهای گوگرد، ارقام سویا و اثر متقابل آنها بر جذب و غلظت ازت گیاه

عنصر غذایی ازت موجب افزایش کمی و کیفی محصول گیاه می‌شود. اثر گوگرد و رقم بر درصد ازت کل معنی‌دار بود ($p<0/01$) و با مصرف گوگرد و مساعد شدن شرایط خاک غلظت ازت کل نیز افزایش یافته است (جدول ۵). اثر متقابل نشان می‌دهد که این افزایش برای رقم سحر و ویلیامز به‌ترتیب تا تیمار پنج و ۱۰ تن گوگرد در هکتار ادامه داشته است (جدول ۴). در یک آزمایش مشخص شده که مصرف گوگرد تا سه تن در هکتار در یک نوع خاک، موجب افزایش معنی‌دار جذب ازت در گیاه سویا می‌شود (۸).

جدول ۵ – اثرات اصلی گوگرد و رقم بر ازت کل و پارامترهای جذب ازت از منابع مختلف

Table 5 – The effect of Sulfur and cultivar on total N and parameters of uptake N from various sources

تیمار	ازت	Ndff	Ndfs	Ndfa	ازت	Ndff	Ndfs	Ndfa
	(mg/plant)				(٪)			
سطح گوگرد (ton/ha)	*	*	*	*	*	*	*	*
۰	۸۴/۵(t ۳/۳۰) ^{b}	۳/۱۷ (t ۰/۲۹) ^{ab}	۱۳/۷ (t ۱/۳۴) ^{ab}	۶۷/۶ (t ۴/۴۸) ^{b}	۲/۴۹ (t ۰/۱۵) ^{d}	۳/۸۲ (t ۰/۴۳) ^{a}	۱۶/۵۵ (t ۱/۹۱) ^{a}	۷۹/۶ (t ۲/۳۴) ^{c}
۱	۱۰۴/۴ (t ۵/۴۳) ^{b}	۳/۴۶(t ۰/۲۸) ^{a}	۱۵/۰۰ (t ۱/۱۷) ^{a}	۸۶/۰ (t ۵/۸۳) ^{b}	۲/۷۶ (t ۰/۱۳) ^{dc}	۳/۳۸(t ۰/۳۴) ^{a}	۱۴/۵۸ (t ۱/۴۱) ^{a}	۸۲/۰ (t ۱/۷۵) ^{c}
۲	۱۳۷/۴ (t ۱۱/۷۵) ^{a}	۳/۲۰ (t ۰/۱۵) ^{ab}	۱۳/۸ (t ۰/۶۸) ^{ab}	۱۲۰/۳ (t ۱۱/۳۸) ^{a}	۳/۱۶ (t ۰/۲۲) ^{abc}	۲/۴۰ (t ۰/۲۱) ^{b}	۱۰/۳۶ (t ۰/۸۳) ^{b}	۸۷/۲ (t ۱/۰۳) ^{b}
۵	۱۵۷/۷(t ۱۲/۶۴) ^{a}	۳/۰۷ (t ۰/۴۱) ^{ab}	۱۳/۳ (t ۱/۷۵) ^{ab}	۱۴۱/۳(t ۱۲/۶۳) ^{a}	۳/۴۷ (t ۰/۱۵) ^{ab}	۲/۰۰ (t ۰/۳۳) ^{bc}	۸/۶۴(t ۱/۳۹) ^{bc}	۸۹/۴ (t ۱/۷۲) ^{ab}
۱۰	۱۵۹/۷ (t ۱۹/۳۵) ^{a}	۲/۳۱ (t ۰/۵۸) ^{b}	۱۰/۱ (t ۲/۶۰) ^{b}	۱۴۷/۳ (t ۱۸/۲۷) ^{a}	۳/۶۱ (t ۰/۳۲) ^{a}	۱/۴۵ (t ۰/۳۱) ^{bc}	۶/۲۸ (t ۱/۳۷) ^{bc}	۹۲/۳ (t ۱/۶۷) ^{ab}
۱۵	۹۵/۵(t ۱۱/۲۰) ^{b}	۵/۱۷ (t ۰/۲۹) ^{c}	۵/۱ (t ۱/۳۱) ^{c}	۸۹/۳ (t ۱۱/۴۵) ^{b}	۳/۰ (t ۰/۲۱) ^{bc}	۱/۳۳ (t ۰/۳۳) ^{c}	۵/۷۵ (t ۱/۴۹) ^{c}	۹۲/۹ (t ۱/۸۲) ^{a}
رقم سویا	*	NS	*	*	*	NS	NS	NS
سحر	۱۰۸/۹ (t ۷/۲۷) ^{b}	۲/۵۳ (t ۰/۲۸) ^{a}	۱۰/۷ (t ۱/۱۷) ^{b}	۹۵/۷ (t ۷/۰۷) ^{b}	۲/۸۳ (t ۰/۱۱) ^{b}	۲/۴۳(t ۰/۲۹) ^{a}	۱۰/۲۲ (t ۱/۲۱) ^{a}	۸۷/۳ (t ۱/۵۰) ^{a}
ویلیامز	۱۳۷/۵ (t ۱۰/۴۹) ^{a}	۲/۹۲ (t ۰/۲۶) ^{a}	۱۳/۰ (t ۱/۱۴) ^{a}	۱۲۱/۵۳ (t ۱۰/۶۳) ^{a}	۳/۳۴ (t ۰/۱۵) ^{a}	۲/۳۶ (t ۰/۲۹) ^{a}	۱۰/۵۰ (t ۱/۲۸) ^{a}	۸۷/۱(t ۱/۵۷) ^{a}

تفاوت میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه معنی‌دار است ($P< ۰/۰۵$).

Differences of values followed by different letters are significant ($P < 0.05$).

مقدار ازت کل تابع غلظت ازت و وزن خشک اندام هوایی است. با زیاد شدن وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای دو، پنج و ۱۰ تن گوگرد در هکتار، مقدار آن بیشتر بود (P< ۰/۰۵). ولی در سطح ۱۵ تن گوگرد در هکتار همراه با کاهش وزن خشک اندام هوایی، ازت کل هم کاهش یافته است (جدول ۵).

چون ازت موجود در سویا از سه منبع هوا، کود و خاک ذخیره می‌شود لذا جذب ازت از هر یک از منابع مزبور به تفکیک شد در جدول (۵) ارایه شده است. اثر اصلی گوگرد بر مقدار و درصد ازت تثبیت شده از هوا، خاک و کود معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). مساعد شدن اسیدیته خاک و بهبود جذب عناصر غذایی و مساعد شدن محیط رشد سبب افزایش فعالیت باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت و میزان غده‌بندی شده است (جدول ۵). به نظر می‌رسد باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت در شرایط کاهش اسیدیته خاک و بهبود قابلیت جذب عناصر غذایی تأثیر منفی افزایش هدایت الکتریکی را کم کرده و لذا تثبیت ازت محدود نشده است. نتایج مشابه نیز برای این مورد گزارش شده است (۲۱). در یک آزمایش گلخانه‌ای نشان داده شد باکتری برادی ریزوبیوم از ارقام نیمه مقاوم به شوری بوده و بیشتر از گیاه میزبان (سویا) در برابر شوری از خود مقاومت نشان می‌دهد (۲۱). لذا فعالیت باکتری در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار افزایش داشته و تثبیت ازت افزایش یافته است. ولی گیاه نتوانسته اثر منفی افزایش هدایت الکتریکی را خنثی کند و رشد آن کاهش یافته است. تثبیت ازت در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار نسبت به تیمار شاهد حدود ۱۳ درصد افزایش داشته است. تثبیت ازت مولکولی رقم ویلیامز بهتر بوده و این مطلب موید این است که رقم ویلیامز با شرایط به وجود آمده در خاک سازگاری بیشتری دارد (جدول ۵). اثر تیمارهای گوگرد بر جذب ازت از خاک و کود نیز معنی‌دار بوده (P< ۰/۰۵) و با افزایش سطح گوگرد، جذب ازت از این دو منبع کاهش یافته است (جدول ۵). تثبیت بیشتر ازت در اثر کاهش اسیدیته باعث کم شدن نیاز گیاه به ازت حاصل از کود و خاک شده و لذا با افزایش سطح گوگرد، جذب ازت از این منابع کاهش می‌یابد.

با بررسی نتایج، سایر مشخصات گیاه از جمله رشد گیاه، مشخص شد علی‌رغم درصد بیشتر تثبیت ازت در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار، مقدار ازت (میلی‌گرم/گیاه) تثبیت شده به عنوان تابعی از رشد و مقدار کل ازت در گیاه در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار درمقایسه سایر با تیمارها کاهش یافته است. مقدار ازت جذب شده از خاک و کود در رقم ویلیامز نسبت به رقم سحر بیشتر است (جدول ۵). اثر مثبت مصرف گوگرد بر جذب عناصر غذایی و تثبیت ازت توسط محققین مختلف گزارش شده است و اغلب مشاهده شده که مصرف گوگرد باعث تحریک رشد گیاه شده و بدین‌ترتیب میزان گره‌زایی و تثبیت ازت افزایش می‌یابد (۱۰ و ۱۵). اما مطالعات دیگر اثر گوگرد بر گره‌بندی و تثبیت ازت را غیرمستقیم دانسته و آن را ناشی از افزایش قندها و متابولیسم ازت می‌دانند (۲۲). با مصرف گوگرد، وزن خشک گره‌ها و تثبیت ازت در لگوم‌های دانه‌ای افزایش می‌یابد، که علت این امر درنتیجه کاهش اسیدیته خاک است (۱۶). علت افزایش تثبیت ازت در گیاه را می‌توان چنین توضیح داد که در تیمارهای گوگرد، ارقام سویا با

در اختیار داشتن میزان زیاد سولفات به عنوان یک عنصر ضروری، قادر به افزایش جذب ازت هستند، اما کاهش نسبی اسیدیته خاک ناشی از افزایش گوگرد نیز تا حدودی در این امر مؤثر است. پس گوگرد نه تنها از طریق تغذیه بهتر به‌طور مستقیم سبب بهبود رشد سویا می‌شود، بلکه در اثر کاهش اسیدیته خاک و ایجاد شرایط مناسب برای جذب عناصر غذایی و تثبیت ازت توسط این گیاه رشد و عملکرد را افزایش می‌دهد.

اثر تیمارهای گوگرد، رقم و اثر متقابل آنها بر غده‌بندی ریشه

در آزمایشات گلدانی و صحرایی، تعداد غده‌های تشکیل شده و وزن خشک آنها به عنوان یک معیار کیفی برای تعیین میزان تثبیت ازت توسط گیاه استفاده می‌شود. وزن خشک غده درمقایسه با تعداد غده برای برآورد کیفی تثبیت ازت هوا قابل اطمینان‌تر است (جدول‌های ۳ و ۴). زیرا در شمارش، غده‌هایی که نقشی در تثبیت ازت ندارند، نیز شمارش می‌شوند.

نتیجه‌گیری

در مصرف ۱۵ تن گوگرد در هکتار علی‌رغم افزایش تثبیت ازت، به دلیل زیاد شدن یون سولفات و EC خاک، رشد سویا کاهش یافت و لذا این سطح گوگرد گیاه سویا مناسب نیست. براساس نتایج مربوط به تثبیت بیولوژیک ازت و رشد در ارقام سویا، سطح پنج و ۱۰ تن گوگرد در هکتار به‌ترتیب برای رقم سحر و ویلیامز توصیه می‌شود. چون دو رقم مزبور از ارقام اصلی سویا کشت شده در کشور هستند، لذا برای توسعه بیشتر کشت سویا به‌ویژه در مناطق شور کشت رقم ویلیامز نسبت به رقم سحر برتری دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج برای تأمین هزینه‌های این تحقیق و مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور برای تأمین کود میکروبی گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس تشکر می‌شود.

References

1 . Anandham R, Stridar R, Nalayini P, Poonguzhali S, Madhaiyan M and Tongmin S (2006) Potential for plant growth promotion in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cv. ALR-2 by co-inoculation of sulfur-oxidizing bacteria and *Rhizobium*. Microbiol Res. in Press.

2 . Asadi Rahmani H (1996) Prediction of the necessity of soybean inoculation based on the numbers of *Bradyrhizibium japonicum* and evaluation of N-mineralization potential, Tehran University, Thesis of Master of Soil Science.

3 . Besharati H and Saleh Rastin N (2000) Effect of sulfure and thiobacillus inoculation on uptake of Fe and Zn by Corn under green house condition, Journal Soil and Water 12: 63-72.

4 . Collins M, Lange DJ and Kelling KA (1986) Effect of phosphorous, potassium and sulfur on alfalfa nitrogen fixation under field conditions. Agron Journal 78: 959-963.

5 . Dubey SK and Billore SD (1995) Effect of level and source of sulphur on symbiotic and biometrical parameters of soybean (*Glycine max*), Indian Journal of Agricultural Sciences 65: 140-144.

6 . Dwiuedi AK and Bapat PN (1998) Interaction of sulfur and phosphorus nutrition on major nutrient composition of soybean. Jawaharlal Nehru Krishi Viswa Vidyalaya Research Journal 30: 19-23.

7 . Finch C, Grant G, Patersons J and Extension BC (2004) Sulfur and Soil pH, Http://www.plantansewers.com. garden column.

8 . Ghorbani Nasrabadi R (2001) Effect of microbial sulfur fertilizer on nitrogen fixation by Bradyrhizibium japonicum-soybean symbiosis, Tehran University, Thesis of Master of Science in Soil Science.

9 . Kaplan M and Orman S (1998) Effect of elemental sulfur and sulfur containing wastes in a calcareous soil in Turkey. Journal of Plant Nutrition 21: 1655-1665.

10 . Malakouti MJ (2004) Soil fertility of arid and semi-arid regions, Tarbiat Modarres University 482 pp.

11 . Modaihsh AS, Al-Mustafa WA and E.Metwallv A (1989) Effect of elemental sulfur on chemical changes and nutrient availability in calcareous soils. Plant and Soil 116: 95-101.

12 . Mousavi Shalmani A and Khorasani E (2002) Amission spectrometry, (Educational Booklet).

13 . Patrici I (2000) Integrated nutrient management for sustaining crop yield in calcareous soils of India. GAU-PRII-International Potash Institute. National Symposium. Junagadh. Gujarat. India.

14 . Peoples MB and Herridge DF (1995) Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agriculture production. Plant and Soil 174: 3-28.

15 . Raiesi F (2005) Isotopic application in soil science. Shahrekord University. 150 pp.

16 . Scherer HW and Lange AN (1996) Fixation and growth of legumes as affected by sulfur fertilization. Biology and Fertility of Soils 23: 449-453.

17 . Sepahvand M (2004) Effect of sulfure on yield and quality of soybean grain, Proceeding of 3rd national conference on the development in the application of biological products & optimum utilization of chemical fertilizers & pesticides in agriculture, Bureau of Educational Tech. Services Agricultural Education Puplication Unitublication Unit., Karaj, Tehran, 24 PP.

18 . Sharma NK, Khaddar VK, Misra SY, Sharma OR and Yadav RA (2001) Agronomic efficiency of sulphur fertilizers and its effect on seed yield and chemical composition of soybean in black clay soil under rained conditions. Research on Crops 2: 25-29.

19 . Yadegari M (2001) Evaluation of Soybean [*Glycine Max* (L.) Merr] Seeds Inoculation with Bradyrhizobium japonicum on Yield and Yield Components, to select the Best Combination (Inoculant-Cultivar), Tehran University, Thesis of Master of Science in Agriculture.

20 . Yanshan C, Yiting D, Haifeng Li and Wang Q (2004) Effect of elemental sulphur on solubility of soil heavy metals and their uptake by maize, Environment International 30: 323-328.

21 . Zahran HH (1999) *Rhizobium*-Legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbiology and Molcular Biology Reviews 63: 968-989.

22 . Zaroug MG and Maunns DN (1979) Nodulation, nitrogen fixation, leaf area and sugars content in *Lablab pursuers* as affected by sulfur nutrition. Plant and Soil 53: 319-328.

Effect of Biological Nitrogen Fixation and Plant Growth in two Soybean Cultivars using ^{15}N Isotopic Dilution Technique

F. Amani [*], F. Raiesi [**], N. Pirvali Bieranvand [***] and A. Mousavi [***]

Abstract

In calcareous soils with high calcium carbonate contents and pH, the growth and development of plant might undergo nutritional disorders. The process of biological nitrogen fixation in legumes cultivated and plant growth in these soils could be limite. The use of acid-producing materials like sulfur and a reduction in soil pH improves plant growth and increase the biological nitrogen fixation. A 2 × 5 factorial experiment consisting of two soybean cultivars (Sahar and Williams) and six levels of sulfur (0, 1, 2, 5, 10 and 15 ton/ha) arranged in a completely randomized design with three replicates was conducted under greenhouse conditions in Nuclear Center for Agriculture & Medicine Atomic Energy Organization, Iran. Results showed that the accumulation of sulfate resulted from sulfur additions decreased soil pH and increased EC ($p<0.01$). Sulfur additions up to 5 and 10 ton/ha respectively for Sahar and Williams cultivars increased the plant dry weight. However, further increase of sulfur levels affected the plant dry weights negatively, due most likely to the increase in soil EC values. In spite of the increased soil EC, increasing sulfur levels resulted in enhanced nitrogen fixation, probably due to favorable soil reaction caused by sulfur oxidation.

Keywords: Biological Nitrogen fixation, EC, pH, Soybean, Sulfur

[*] - MSc., Soil Science Department, Agriculture Faculty, Shahrekord university, Chaharmahal-Bakhtiyari – Iran (**amani_fatemeh@yahoo.com**)

[**] - Associate Professor, Soil Science Department, Agriculture Faculty, Shahrekord University, Chaharmahal-Bakhtiyari - Iran

[***] - Nuclear Center for Agriculture & Medicine, Atomic Energy Organization, Tehran - Iran