اثر باکتری‌های *Rhizobium trifolii*، *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* بر رشد و عملکرد شبدر لاکی و برنج در تناوب زراعی برنج- شبدر

عباس شهدی کومله[1*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۹)

چکیده

کشت دوم گیاهان زمستانه خانواده بقولات در تناوب با برنج و استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند راهکار مناسبی برای افزایش پایداری تولید در مزارع برنج باشد. این پژوهش با هدف بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر تسریع رشد رویشی و عملکرد محصول شبدر لاکی (رقم البرز ۱) و برنج (رقم هاشمی) در سیستم کشت بر پایه برنج به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های‌کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور در سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح تلقیح با باکتری همزیست *Rhizobium trifolii* و چهار سطح تلقیح با باکتری‌های محرک رشد غیرهمزیست شامل شاهد، تلقیح با باکتری *Pseudomonas fluorescens*، *Azotobacter chroococcum* و مخلوط دو باکتری با بذر شبدر بود. طبق نتایج به‌دست آمده تیمار ترکیبی سویه‌های همزیست موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته (۶۸/۳ سانتی‌متر)، عملکرد علوفه تر (۳۲۷۰۴/۴ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد علوفه خشک (۷۷۸۳/۷ کیلوگرم در هکتار) شبدر نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (۶۱/۸ سانتی‌متر، ۲۸۲۴۸/۲ و ۶۷۶۵ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب برای ارتفاع بوته، عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک) شد. بررسی اثر تلقیح بذر شبدر با باکتری‌های غیرهمزیست و پس از آن کشت برنج نشان داد که تیمار ترکیبی، میانگین تعداد دانه پر (۱۱۲/۸ عدد) و عملکرد شلتوک (۳۳۳۶/۴ کیلوگرم در هکتار) بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت. یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش صفات زراعی شبدر و درنهایت افزایش عملکرد برنج در سیستم‌های کشت بر پایه برنج شد.

واژه‌های کلیدی: البرز ۱، باکتری غیرهمزیست، باکتری محرک رشد، باکتری همزیست

۱. استادیار، مؤسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: shahdiabbas8@gmail.com

مقدمه

برنج غذای اصلی حدود نیمی از مردم جهان به‌ویژه کشورهای در حال توسعه است. این محصول یک سوم کل سطح زیرکشت جهانی غلات را دارد و حدود ۳۵ تا ۶۵ درصد کالری مصرفی ۲/۷ میلیارد نفر در جهان را تأمین می‌کند که همانند سایر گیاهان زراعی تولید بهینه محصول برنج توسط برخی از عوامل محیطی و مدیریتی محدود می‌شود (۱۵). اراضی شالیزاری شمال کشور تنها یک‌بار در سال به زیر کشت برنج می‌روند و در نیمه دوم سال، بدون استفاده می‌مانند این عدم استفاده از اراضی شالیزاری در مدت طولانی از سال (حدود ۷ ماه)، باعث پایین آمدن سطح درآمد کشاورزان و سختی امرار معاش آنها شده، که دلسردی کشاورزان و تغییر کاربری اراضی را در پی دارد. بنابراین برای استفاده بهینه از منابع موجود خاک، حفظ اراضی شالیزاری برای کشت برنج، جلوگیری از تغییر کاربری آنها و از طرف دیگر بهبود وضع معیشتی کشاورزان، باید به کشت دوم بعد از برداشت برنج روی آورد تا به‌عنوان یکی از روش‌های افزایش درآمد، ضمن ایجاد اشتغال، موجب افزایش تولید و پایداری درآمد اراضی شالیزاری شود (۲۷). شبدر از جمله گیاهان علوفه‌ای بقولاتی است که قابلیت کشت دوم بعد از برداشت سایر گیاهان را دارد و می‌توان انتظار تولید حداقل یک چین علوفه را از آن داشت (۲۵). شبدر یکی از گیاهان سازگار با شرایط آب و هوایی معتدل و مرطوب گیلان است که می‌تواند از بارندگی‌های مؤثر استان در طی فصول پاییز و زمستان به‌خوبی استفاده کند. مطابق آمار منتشر شده از سوی وزارت جهاد کشاورزی سطح زیرکشت این گیاه در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در کل کشور، ۵۹۷۵۰۳ هکتار، در استان گیلان ۲۲۰۰۱۹ هکتار و در استان مازندران ۲۱۱۳۵۹ هکتار گزارش شده است (۶). آنچه امروزه کشورهای توسعه یافته را به تولید و مصرف کودهای بیولوژیک تشویق می‌کند، توجه جدی آنها به عوارض زیست‌محیطی ناشی از به‌کارگیری بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی است (۳۷). از بین عناصر مورد نیاز برنج، نیتروژن یکی از عناصر اصلی و پرمصرف است که در اغلب موارد کمبود آن مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد و عملکرد برنج است. درنتیجه، برای دستیابی به حداکثر عملکرد، مصرف کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن ضروری است. کاربرد نیتروژن به مقدار مناسب سبب افزایش ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، سطح برگ، میزان کلروفیل، میزان فتوسنتز و درنهایت عملکرد شلتوک می‌شود. منبع اصلی نیتروژن در شالیزارهای کشور، کود اوره است که قسمت عمده آن پس از مصرف از طریق دنیتریفیکاسیون، فراریت به‌صورت گاز آمونیاک و آبشویی، از دسترس گیاه خارج و ضمن کاهش کارایی مصرف نیتروژن (۳۰ تا ۴۰ درصد) در مزارع برنج سبب آلودگی اتمسفر از طریق تولید گازهای گلخانه‌ای نظیر N_2O و NH_3 و همچنین آلودگی آب‌های زیرزمینی به نیترات می‌شود. این عوامل سبب شده که دانشمندان به راهکارهای جایگزین تأمین نیتروژن که مشکلات مذکور را به حداقل برساند، بیندیشند. یکی از مهم‌ترین این راهکارها استفاده از تکنولوژی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد گیاه است که می‌تواند نقش مهمی در مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهان زراعی برای افزایش پایداری در نظام‌های کشاورزی ایفا کند (۱۶). استفاده از پدیده تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، به‌عنوان یکی از ضرورت‌های حیاتی در تحقق نظام‌های کشاورزی پایدار مورد تأکید قرار گرفته است. آنچه که از دیدگاه کشاورزی پایدار مهم است، اعمال روش‌هایی است که بر اساس آنها بتوان از طریق تلقیح خاک و بذر یا گیاهچه عملکرد را افزایش داد (۱۹). کلوپر (۲۰) برای اولین بار اصطلاح "ریزوباکتری" را به جامعه‌ای از باکتری‌های خاک نسبت دادند که در محیط ریشه گیاه تجمع یافته، باعث تحریک رشد شده و بیماری‌های گیاهی را کاهش می‌دهند. این ریزوباکتری‌های مفید را به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاهی (PGPR) نامیدند. باکتری‌های محرک رشد گیاهی را می‌توان به‌عنوان بخشی ضروری از زیستگاه محیط رشد ریشه تعریف کرد که وقتی که در ارتباط با گیاه میزبان رشد کنند، می‌توانند رشد میزبان را تحریک کنند. باکتری محرک رشد گیاهی ویژگی‌هایی از جمله

سازگاری بالا با محدوده وسیعی از شرایط محیطی و همچنین سرعت رشد و تطبیق بیوشیمیایی سریع دارند و همین ویژگی‌ها باعث موفقیت این باکتری‌ها در کمک به رشد و توسعه گیاه میزبان می‌شود (۱۱). باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند به‌طور مستقیم با تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاهی، تولید آنزیم ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلات (ACC) دی‌آمیناز، افزایش قابلیت جذب عناصر مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاهی و یا به‌طور غیرمستقیم با تولید پادزیست یا آنتی‌بیوتیک، تخلیهٔ فرا ریشه (ریزوسفر) از آهن، رقابت با گونه‌های زیان‌آور برای سرایت به ریشه، تولید آنزیم‌های متلاشی کننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد مقاومت نظام یافته (سیستمیک) در گیاه و نیز با افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزنده موجب افزایش رشد گیاه شوند (۲۹). باکتری‌های محرک رشد همچنین میزان بالایی ویتامین B، اسید نیکوتینیک، هتروکسین‌ها و دیگر ترکیبات را در خاک آزاد می‌کنند که منجر به افزایش رشد گیاهان می‌شود (۲۹). کاربرد کودهای زیستی به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه، مهم‌ترین راهبرد در مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهی برای سیستم کشاورزی پایدار با نهاده کافی به‌صورت تلفیق مصرف کودهای شیمیایی با کاربرد باکتری‌های مذکور است (۳۳). انصاری و قدیمی (۷) با بررسی اثر کود فسفاته بر کمیت و کیفیت علوفه شبدر برسیم تحت تلقیح با سویه‌های *Pseudomonas*، گزارش کردند که اثر متقابل باکتری در کود فسفاته بر عملکرد علوفه تر و پروتئین خام معنی‌دار بود. به‌طوری که بیشترین عملکرد علوفه تر و پروتئین خام در کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم کود سوپرفسفات تریپل و سویه M5 به‌دست آمد. اعظمی و همکاران (۹) با بررسی خصوصیات کمی و کیفی دو توده شبدر ایرانی (*Trifolium sp*) در تلقیح با باکتری *Rhizobium* و *Pseudomonas* گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های *Rhizobium* و *Pseudomonas* تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های کمی رشد داشت و باعث افزایش عملکرد علوفه تر و خشک، افزایش ارتفاع ساقه، افزایش میزان نسبت برگ به ساقه و تعداد غدد تشکیل شده روی ریشه شد. نتایج بررسی کاربرد سویه‌های مختلف باکتری *Rhizobium trifolii* (سازگار با برنج) در تولید برنج در مصر، نشان داد که کاربرد *Rhizobium* باعث افزایش عملکرد دانه تا ۴۷ درصد شد و نیاز به مصرف کودهای شیمیایی ازته را کاهش داد (۳۹). جوادی و امین‌پناه (۱۶) با بررسی اثرات مصرف باکتری *Azospirillum lipoferum*، محصول قبلی و مقدار مصرف نیتروژن بر رشد و عملکرد برنج گزارش کردند که اثرهای اصلی محصول قبلی، باکتری *Azospirillum lipoferum* و مقدار نیتروژن بر عملکرد شلتوک معنی‌دار بود به‌طوری که عملکرد شلتوک در تناوب کشت شبدر برسیم- برنج و آیش- برنج به‌طور معنی‌داری بیشتر از عملکرد شلتوک در تناوب کاشت باقلا- برنج بود. همچنین کاربرد باکتری سبب افزایش عملکرد شلتوک به‌میزان ۱۴ درصد در مقایسه با عدم کاربرد *Azospirillum lipoferum* شد. گزارش شده است که استفاده از کودهای زیستی حاوی *Azospirillum* و *Azotobacter* به‌جای کودهای شیمیایی موجب فراهم کردن مواد غذایی مورد نیاز گیاه و افزایش رشد می‌شوند و درنهایت افزایش عملکرد گیاه را به‌دنبال دارند (۱۳). با توجه به مطالب مذکور این تحقیق به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر تسریع رشد رویشی و عملکرد محصول علوفه شبدر و درنهایت افزایش عملکرد کمی محصول برنج در سیستم کشت بر پایه برنج انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور- رشت (شامل دو دوره کشت شبدر و دو دوره کشت برنج) به‌منظور بررسی تأثیر چند سویه باکتری همزیست و غیرهمزیست بر عملکرد شبدر لاکی (رقم البرز ۱) و برنج (رقم هاشمی) در سیستم کشت بر پایه برنج اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح تلقیح بذر شبدر با باکتری‌های محرک رشد

جدول ۱. خصوصیات شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه

خصوصیات خاک	pH	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر	پتاسیم
		(درصد)		(mg/kg)	
سال اول	۶/۸۷	۱/۵۴	۰/۱۳۱	۹/۷	۱۳۴
سال دوم	۷/۲۸	۱/۲۶	۰/۱۳۷	۱۱/۳	۱۲۸/۴

همزیست *Rhizobium trifolii* شامل شاهد بدون باکتری، تلقیح با سویه شبدر ۳، تلقیح با سویه شبدر ۱۳، تلقیح با مخلوط دو سویه ۳ و ۱۳ و چهار سطح تلقیح بذر شبدر با باکتری‌های محرک رشد غیرهمزیست شامل شاهد بدون باکتری، تلقیح با باکتری *Pseudomonas fluorescens* P169، تلقیح با باکتری *Azotobacter chroococcum* و مخلوط دو باکتری فوق بودند و برای گیاه برنج، رقم هاشمی درنظر گرفته شد. باکترهای محرک رشد برای تشکیل گره روی ریشه شبدر و تثبیت نیتروژن هوا به نیتروژن نیاز دارند، به‌همین جهت یک‌سوم کود نیتروژن و تمامی کود فسفر و پتاس بر اساس نتایج آزمون خاک (۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن از منبع اوره، ۷۰ کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع سوپرفسفات تریپل و ۷۵ کیلوگرم در هکتار پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم) به‌طور یکنواخت قبل از کاشت به تمام کرت‌ها اضافه شد (نتایج آزمون خاک سال اول و دوم آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است).

همچنین، در هر تکرار یک کرت به‌عنوان نکاشت (بدون کاشت شبدر و تنها کاشت برنج) برای مقایسه با بهترین سطوح تیمارهای تلقیح باکتری، درنظر گرفته شد. باکتری‌های همزیست گیاه شبدر از کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شدند. پس از تلقیح باکتری‌های همزیست با گیاه شبدر در محیط کشت YMB (Yeast Malt Broth) جمعیت سوسپانسیون در حدود ۱۰۸ cfu در میلی‌لیتر (Colony Forming Units Per Milliliter) تنظیم شد. باکتری‌های محرک رشد غیرهمزیست گیاه که ویژگی‌های تولید مواد اکسینی، حل‌کنندگی فسفات و... دارند، از کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند و پس از تکثیر در محیط کشت Nutrient Broth جمعیت آنها در حدود ۱۰۸ cfu در میلی‌لیتر تنظیم شد و به بذور شبدر تلقیح شدند. در تیمارهای تلقیح مشترک، ابتدا باکتری‌های غیرهمزیست و همزیست به نسبت مساوی مخلوط و سپس بذور در سوسپانسیون باکتری ریخته شده و به مدت یک ساعت شیکر شدند و سپس نسبت به کشت آنها اقدام شد. مقدار مصرف کود بیولوژیک مایع برای تلقیح بذر شبدر بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج (۱۸) بود. عملیات کاشت بذر شبدر در اواخر مهرماه و به‌صورت خطی در ۱۵ ردیف کاشت به‌فاصله ۲۰ سانتی‌متر انجام شد. ابعاد کرت‌های آزمایشی ۴ × ۳ متر درنظر گرفته شد. مقدار بذر مصرفی ۳۰ کیلوگرم در هکتار درنظر گرفته شد. برداشت شبدر در یک چین و در اواسط فروردین‌ماه هر سال، از ۱۰ سانتی‌متری بالای سطح خاک انجام شد. قبل از برداشت شبدر، با درنظر گرفتن حاشیه، ابتدا ۱۰ بوته به‌طور تصادفی از فضای عملکردی (۴ متر مربع) انتخاب شد و ارتفاع بوته‌ها اندازه‌گیری شد، سپس برای تعیین عملکرد، پس از حذف حاشیه، برداشت از ۴ متر مربع در هر کرت انجام شد. پس از برداشت، بلافاصله وزن مرطوب بر حسب کیلوگرم در هکتار تعیین شد. مقدار مشخصی از علوفه (یک کیلوگرم) برداشت شده، در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در آون به‌مدت ۴۸ ساعت برای تعیین وزن خشک قرار داده شد. کرت‌های آزمایشی پس از برداشت آخرین چین شبدر در اواخر فروردین، شخم زده شدند. پس از آن، عملیات غرقاب و شخم ثانویه انجام شد تا کلوخه‌های موجود کاملاً خرد شوند و گل‌آب اولیه حاصل شود. تقریباً یک هفته قبل از نشاکاری نسبت به عملیات آماده‌سازی نهایی زمین از جمله گلخراب کردن، جابجایی خاک و تسطیح اقدام شد. کشت

نشاهای برنج در همان کرت‌های آزمایشی (شبدر کشت و برداشت شده) به‌فواصل ۲۰×۲۰ سانتی‌متر از یکدیگر انجام گرفت. در طول دوره کشت برنج از هیچ گونه کود و نهاده شیمیایی استفاده نشد. جایگذاری تریکوکارت‌های زنبورتریکوگراما به‌منظور مبارزه بیولوژیک با کرم ساقه‌خوار برنج در دو مرحله انجام شد. در طول دوره رشد، در زمان‌های مناسب طبق دستورالعمل مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج، ارزیابی‌های لازم برای صفات مختلف انجام گرفت. الگوی تغییرات اقلیمی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و۹۷-۱۳۹۶ در جدول ۲ ارائه شده است. بررسی جدول داده‌های هواشناسی در ایستگاه مؤسسه تحقیقات برنج کشور طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ نشان داد که بهمن‌ماه سال ۱۳۹۵ با میانگین دمای حداقل ۰/۳ درجه سانتی‌گراد و مردادماه سال ۱۳۹۶ با میانگین دمای حداکثر ۳۳/۸ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب سردترین و گرم‌ترین ماه‌های دوره رشد بودند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که مهرماه سال ۱۳۹۵ با ۲۳۹/۹ میلی‌متر بارندگی، پرباران‌ترین ماه در طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ بوده است (جدول ۲). برای ارزیابی یکنواختی اشتباهات آزمایشی در تجزیه واریانس ساده صفات برای همه سال‌ها قبل از تجزیه واریانس مرکب، آزمون بارتلت به‌روش کای دو انجام شد. تجزیه واریانس مرکب در دو سال برای بررسی اثرات اصلی تیمارها و سال‌ها و همچنین اثرات متقابل انجام شد. آزمون F در تجزیه واریانس مرکب براساس امید ریاضی میانگین مربعات و با فرض تصادفی بودن سال‌ها و ثابت بودن تیمارهای آزمایشی انجام شد. تجزیه مرکب داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۳۱) و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون LSD پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شبدر

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر باکتری‌های همزیست بر صفت ارتفاع بوته شبدر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر باکتری‌های همزیست بر صفت ارتفاع بوته نشان داد که کاربرد ترکیبی سویه‌های شبدر ۳ و ۱۳ با میانگین ارتفاع بوته ۶۸/۳ سانتی‌متر اثر بیشتری بر ارتفاع بوته نسبت به کاربرد هر یک از آنها به‌تنهایی و تیمار شاهد (۶۱/۸ سانتی‌متر) داشت (جدول ۴). برقراری رابطه همزیستی ریشه گیاه شبدر و باکتری‌های همزیست که با تشکیل گره قادر به تثبیت نیتروژن مولکولی هوا و تبدیل آن به فرم قابل دسترس گیاه (NH_4^+، NO_3^-) هستند، می‌تواند از دلایل احتمالی افزایش نیتروژن خاک و افزایش صفات رویشی گیاه شبدر باشد. ترشح هورمون‌های رشد نظیر اکسین و سیتوکینین توسط باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر (۱۲) که می‌تواند موجب تحریک رشد بافت‌های رویشی گیاه شود، از دلایل احتمالی دیگر افزایش ارتفاع بوته‌های شبدر است. گزارش شده است که افزایش جذب نیتروژن سبب افزایش جذب عناصر فسفر، پتاسیم، آهن، روی، مس و منگنز می‌شود (۱). با توجه به نتایج به‌دست آمده اثر سینرژیستی (هم‌افزایی) باکتری‌ها بیشتر از کاربرد هر یک از این سویه‌ها به‌تنهایی بود.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد شاخه فرعی شبدر معنی‌دار نبود (جدول ۳). نتایج نشان داد که تیمارهای ترکیبی شبدر ۳ و ۱۳ (۶/۱ عدد) و *Pseudomonas* + *Azotobacter* (۶/۲ عدد) میانگین تعداد شاخه فرعی بیشتری نسبت به سایر تیمارهای همزیست و غیرهمزیست داشتند، گرچه این اختلاف نیز معنی‌دار نبود.

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر سال بر وزن برگ شبدر در سطح احتمال پنج درصد و اثر باکتری‌های همزیست بر صفت وزن برگ شبدر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین سال بر وزن برگ شبدر نشان داد که سال دوم آزمایش با میانگین وزن برگ ۱۲۴۴۵/۹ کیلوگرم در هکتار میانگین وزن برگ بیشتری نسبت به سال اول (۱۱۱۹۹ کیلوگرم در هکتار) داشت (جدول ۴). همچنین مطابق نتایج مقایسه میانگین اثر باکتری‌های همزیست بر وزن برگ شبدر، تیمار ترکیبی شبدر ۳ و ۱۳ با میانگین ۱۲۷۵۸/۷ کیلوگرم در هکتار میانگین وزن برگ

جدول ۲. آمار هواشناسی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور- رشت

سال زراعی	ماه	میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)		مجموع میزان بارندگی (میلی‌متر)	مجموع ساعات آفتابی
		حداقل	حداکثر		
۹۶ -۱۳۹۵	مهر	۱۵/۵	۲۳/۸	۲۳۹/۹	۱۰۸/۶
	آبان	۹/۴	۱۶/۳	۲۰۰/۳	۷۱/۳
	آذر	۲/۳	۱۲/۱	۲۱۹/۴	۱۲۹/۸
	دی	۳/۵	۱۱/۵	۳۸	۹۰/۹
	بهمن	۰/۳	۸/۶	۲۱۶/۷	۹۲/۴
	اسفند	۴/۱	۱۴/۵	۴۴/۸	۱۳۴/۵
	فروردین	۸/۵	۱۸/۶	۸۶/۲	۱۴۰
	اردیبهشت	۱۴/۳	۲۴/۱	۲۷/۸	۱۶۹/۲
	خرداد	۱۸/۷	۲۸/۲	۱۸/۶	۲۲۹/۱
	تیر	۲۰/۶	۳۱/۱	۱۳/۸	۲۳۲/۵
	مرداد	۲۲	۳۳/۸	۰	۲۳۹/۷
۹۷ -۱۳۹۶	مهر	۱۴/۱	۲۲/۱	۲۳۸/۸	۱۳۰/۱
	آبان	۱۲/۷	۲۷/۴	۲۵/۹	۹۷/۴
	آذر	۵/۴	۱۴/۸	۷۱/۴	۱۱۵/۸
	دی	۵/۳	۱۲/۹	۶۶/۷	۷۷/۸
	بهمن	۳/۶	۱۰/۷	۱۸۵/۶	۶۸/۵
	اسفند	۷/۳	۱۵/۱	۸۶	۵۶/۹
	فروردین	۸/۵	۱۸/۷	۲۰/۴	۱۴۵/۹
	اردیبهشت	۱۴/۲	۲۴/۵	۳۷/۲	۱۷۰/۴
	خرداد	۱۸/۱	۲۷/۸	۴۸/۷	۲۳۰/۳
	تیر	۲۲/۹	۳۳/۳	۳۰/۸	۲۹۵/۴
	مرداد	۲۲/۷	۳۱/۳	۶۸/۴	۱۶۴/۹

بالاتری نسبت به تیمار شاهد (۱۰۶۷۰ کیلوگرم در هکتار) و کاربرد سویه شبدر ۳ (۱۱۴۶۷/۵ کیلوگرم در هکتار) به‌تنهایی داشت (جدول ۴).

اثر سال و باکتری‌های همزیست بر عملکرد علوفه تر در شبدر به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر سال بر عملکرد علوفه تر، سال دوم با میانگین عملکرد علوفه تر ۳۱۷۰۰/۳ کیلوگرم در هکتار میانگین عملکرد علوفه تر بالاتری نسبت به سال اول آزمایش (۲۹۸۸۵/۴ کیلوگرم در هکتار) داشت (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد که بهبود وضعیت حاصلخیزی خاک یکی از دلایل احتمالی افزایش عمکلرد علوفه تر در سال دوم باشد. طبق نتایج مقایسه میانگین باکتری‌های همزیست، تیمار ترکیبی شبدر ۳ و ۱۳ با میانگین عملکرد علوفه تر ۳۲۷۰۴/۴ کیلوگرم در هکتار

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه شبدر در تیمارهای باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	وزن برگ	عملکرد علوفه تر	عملکرد علوفه خشک
سال	۱	۲۱۸/۲۵^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۳۷۳۱۷۵۱۰/۰۶**	۷۹۰۵۴۶۸۴/۶**	۹۳۵۳۲۶۲/۶۲**
تکرار (سال)	۴	۲۹/۸۸	۰/۳۴	۲۸۲۰۷۷۸/۲۳	۹۹۴۵۹۷۱/۳	۳۸۱۴۵۴/۲
همزیست	۳	۱۸۱/۴۹**	۰/۷۳^{ns}	۲۱۲۵۴۶۹۱/۰۹**	۸۹۸۱۳۰۲۳/۲**	۴۶۴۲۷۹۲/۳۱**
غیرهمزیست	۳	۲۲/۱^{ns}	۰/۹۷^{ns}	۵۲۲۱۴۰۸/۱۲^{ns}	۲۴۸۷۹۴۶۲/۲^{ns}	۱۳۷۲۰۱۵/۹۲^{ns}
همزیست × غیرهمزیست	۹	۲۰/۸۳^{ns}	۰/۸۳^{ns}	۳۶۱۰۳۳۳/۹^{ns}	۶۵۷۶۶۴۸/۳^{ns}	۳۸۹۲۲۷/۲۳^{ns}
سال × همزیست	۳	۳۶/۳۷^{ns}	۰/۲۲^{ns}	۳۸۵۳۳۲۷/۱۶^{ns}	۴۳۵۸۲۶۵/۹^{ns}	۱۹۵۴۵۹/۵۳^{ns}
سال × غیرهمزیست	۳	۳۹/۷۷^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۱۲۵۷۸۳۹/۸^{ns}	۲۵۳۵۹۳۵/۷^{ns}	۳۳۴۹۲۷/۹۳^{ns}
سال × همزیست × غیرهمزیست	۹	۱۸/۶۹^{ns}	۰/۳۶^{ns}	۱۳۰۲۳۸۸/۶۳^{ns}	۲۵۰۸۷۷۹^{ns}	۶۴۲۱۷۰/۹۴^{ns}
خطا	۶۰	۳۲/۶۳	۰/۵۷	۳۹۷۶۱۹۷/۱	۱۱۱۱۶۵۱	۸۸۲۲۹۷/۲۳
درصد ضریب تغییرات		۸/۸	۱۲/۶۶	۱۶/۸۶	۱۰/۸۲	۱۲/۷۷

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد است.

جدول ۴. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه شبدر در تیمارهای باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

تیمار		ارتفاع بوته	وزن برگ	عملکرد علوفه تر	عملکرد علوفه خشک
		(سانتی‌متر)	(کیلوگرم در هکتار)		
سال	سال اول	۶۳/۳	۱۱۱۹۹	۲۹۸۸۵/۴	۷۰۳۸/۴
	سال دوم	۶۶/۳	۱۲۴۴۵/۹	۳۱۷۰۰/۳	۷۶۶۲/۷
	$LSD_{5\%}$	۳/۰۹	۹۵۱/۸۵	۱۷۸۷/۳	۳۵۰/۰۳
باکتری‌های همزیست	بدون باکتری	۶۱/۸	۱۰۶۷۰	۲۸۲۴۸/۲	۶۷۶۵
	سویه شبدر ۳	۶۳/۶	۱۱۴۶۷/۵	۳۰۴۳۹/۶	۷۲۸۸/۵
	سویه شبدر ۱۳	۶۵/۵	۱۲۳۹۳/۵	۳۱۷۷۹	۷۵۶۵
	سویه شبدر ۳+ شبدر ۱۳	۶۸/۳	۱۲۷۵۸/۷	۳۲۷۰۴/۴	۷۷۸۳/۷
	$LSD_{5\%}$	۳/۲۹	۱۱۵۱/۴	۱۹۲۴/۸	۵۴۲/۳

۲۸۲۴۸/۲ کیلوگرم در هکتار) و تیمار شبدر ۳ (۳۰۴۳۹/۶ کیلوگرم در هکتار) و شبدر ۱۳ (۳۱۷۷۹ کیلوگرم در هکتار) داشت (جدول ۴). نتایج پژوهشی دیگر به‌منظور ارزیابی پنج سویه *Rhizobium trifolii* در رقابت با جمعیت بومی آن بر تشکیل گره شبدر لاکی (*Trifolium incarnatum* L.) نشان داد که با انتخاب سویه‌های با عملکرد مؤثرتر و سازگاری بالاتر می‌توان عملکرد علوفه شبدر و تثبیت نیتروژن را افزایش داد (۲۱). اعظمی و همکاران (۹) با بررسی خصوصیات کمی و کیفی دو توده شبدر ایرانی (*Trifolium* sp) نیز نتایج مشابهی گزارش کردند. برای صفت عملکرد علوفه خشک شبدر، نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر سال و باکتری‌های همزیست در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

مطابق نتایج مقایسه میانگین باکتری‌های همزیست، تیمار ترکیبی شبدر ۳ و ۱۳ با میانگین عملکرد علوفه خشک ۷۷۸۳/۷ کیلوگرم در هکتار میانگین عملکرد علوفه خشک بالاتری نسبت به تیمار شاهد (۶۷۶۵ کیلوگرم در هکتار) و تیمار سویه‌های شبدر ۳ (۷۲۸۸/۵ کیلوگرم در هکتار) و شبدر ۱۳ (۷۵۶۵ کیلوگرم در هکتار) داشت (جدول ۴). اسمیت و همکاران (۳۴) با بررسی اثر سویه‌های *Rhizobium trifolii* و ژنوتیپ‌های شبدر لاکی بر تثبیت نیتروژن گزارش کردند که لاین‌های گیاه، سویه‌های *Rhizobium* و اثر متقابل لاین در سویه، منابع مهم تغییر برای عملکرد ماده خشک بودند.

برنج

نتایج تجزیه مرکب نشان داد که اثر سال بر صفت ارتفاع بوته در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). مقایسه میانگین ارتفاع بوته در طی دو سال زراعی نشان داد که سال دوم کشت با ارتفاع بوته (۱۳۱/۹ سانتی‌متر) میانگین ارتفاع بوته بالاتری نسبت به سال اول (۱۲۷/۵ سانتی‌متر) داشت (جدول ۶). به‌نظر می‌رسد افزایش میزان نیتروژن خاک در سال دوم کشت برنج از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن هوا با تحریک رشد بافت‌های رویشی گیاه برنج موجب استفاده مطلوب‌تر از نور خورشید و تولید مواد فتوسنتری بیشتر و افزایش قابل توجه ارتفاع بوته شده باشد. اصغری و همکاران (۸) و امین دلدار و همکاران (۴) نیز نتایج مشابهی برای صفت ارتفاع بوته در برنج گزارش کردند.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد پنجه بارور معنی‌دار نبود (جدول ۵). به‌نظر می‌رسد مصرف نیتروژن طی مراحل رشد رویشی یکی از دلایل عدم معنی‌داری اختلاف میانگین این صفت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی بوده باشد. از دلایل محتمل دیگر در توجیه نتایج به‌دست آمده می‌توان به شرایط غرقابی کشت برنج اشاره کرد که موجب آبشویی نیتروژن به لایه‌های پایین‌تر خاک و از دسترس خارج شدن آن برای استفاده گیاه در طی مراحل زایشی می‌شود.

طبق نتایج به‌دست آمده اثر تیمارهای آزمایشی بر صفت تعداد خوشه در متر مربع در برنج غیرمعنی‌دار بود (جدول ۵). امین‌پناه و عباسیان (۵) نیز با بررسی اثر تناوب زراعی، تلقیح با *Azotobacter chroococcum* و مقدار نیتروژن بر عملکرد برنج گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری در تعداد خوشه در مترمربع بین دو تناوب کشت آیش- برنج و شبدر برسیم- برنج مشاهده نشد. اثر باکتری‌های غیرهمزیست بر تعداد دانه پر در خوشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین باکتری‌های غیرهمزیست بر تعداد دانه پر در خوشه نشان داد که تیمار ترکیبی *Pseudomonas + Azotobacter* با میانگین تعداد دانه پر ۱۱۲/۸ و تیمار *Pseudomonas* با میانگین ۱۱۰/۹ بیشترین تعداد دانه پر در خوشه را داشتند (جدول ۶). دو فرایند فیزیولوژیکی فتوسنتز جاری و انتقال مجدد قبل از مرحله گرده‌افشانی و پس از مرحله گرده‌افشانی در رشد و نمو دانه دخالت دارند (۱۰). نقش باکتری‌های غیرهمزیست در افزایش تعداد دانه پر در خوشه را می‌توان به فعالیت باکتری‌های آزادزی نظیر *Pseudomonas* با قابلیت حل‌پذیری فسفر و *Azotobacter* با قابلیت تثبیت نیتروژن و فراهمی بیشتر این عناصر در خاک نسبت داد. فراهم بودن فسفر برای رشد گیاه ضروری بوده و مهم‌ترین نقش آن شرکت در سازوکارهای ذخیره و انتقال انرژی در گیاه است (۱، ۱۴ و ۳۸). به‌طوری که این عنصر نقش مهمی در مراحل حساس رشد و پر شدن دانه از طریق افزایش انتقال مواد فتوسنتزی دارد. فسفر باعث افزایش رشد و قوی‌تر شدن ریشه‌ها، قوی و ضخیم شدن ساقه‌ها، پرحجم شدن دانه‌ها، افزایش میزان عملکرد و زودرسی محصول شده و در عمل تلقیح گل‌ها دخالت دارد (۱). موسوی و همکاران (۲۲) گزارش کردند که یکی از فاکتورهای تأمین شیره پرورده کافی برای گیاهان، نیتروژن است که این عامل باعث پر شدن تمامی دانه‌ها درنتیجه تقسیط بیشتر شیره پرورده به دانه می‌شود. نتایج یک بررسی نشان داد که جذب نیتروژن در مرحله آغازین خوشه‌دهی سبب افزایش تعداد خوشه‌چه در خوشه می‌شود، همچنین طبق نتایج این پژوهش، نیتروژن جذب شده باکتری‌های محرک رشد گیاه بر تعداد دانه پر در خوشه توسط در

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه برنج در تیمارهای کشت پس از شبدر تلقیح شده با باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		ارتفاع بوته	تعداد پنجه بارور	تعداد خوشه در مترمربع	تعداد دانه پر در هر خوشه	وزن هزاردانه	عملکرد شلتوک
سال	۱	۴۷۲/۵۹*	۷/۷۶ns	۲۸۱/۸۷ns	۲۸/۲۷ns	۰/۵۸ns	۱۸۷۱۳۲۴/۰۶*
تکرار (سال)	۴	۵۰/۴۳	۱/۱۳	۵۹/۹۱	۱۵/۷۸	۲/۴۲	۱۰۶۵۴۶/۷۸
کشت شبدر تلقیح شده با باکتری همزیست	۳	۴۷/۷۵ns	۷/۰۶ns	۷۲/۱۷ns	۳۶/۶ns	۱/۰۹ns	۹۷۵۵۹/۵۴ns
کشت شبدر تلقیح شده با باکتری غیرهمزیست	۳	۱۴۳/۰۳ns	۳/۹۴ns	۹۵/۷۵ns	۱۶۰/۰۷**	۰/۲۸ns	۷۷۳۲۹۱/۴۳**
همزیست × غیرهمزیست	۹	۶۲/۴۴ns	۰/۵۳ns	۴۵۱/۷ns	۳۱/۶۵ns	۱/۲۳ns	۴۵۲۹۱/۸۷ns
سال × همزیست	۳	۱۵۶/۳۷ns	۰/۳۵ns	۱۵/۳۶ns	۲/۴ns	۰/۴۴ns	۲۶۸۸۹۹/۳۴ns
سال × غیرهمزیست	۳	۶۳/۸۵ns	۱/۶۸ns	۹۹/۳ns	۵۴/۸ns	۱/۷ns	۳۸۴۳/۷۱ns
سال × همزیست × غیرهمزیست	۹	۶۲/۹۶ns	۰/۲۷ns	۱۹۸/۷۹ns	۵۷/۸ns	۰/۹۲ns	۲۴۱۹۲/۵ns
خطا	۶۰	۱۱۵/۹۲	۴/۶۳	۴۹۳/۴۳	۳۶/۹	۱/۲۷	۱۰۶۳۱۰/۲
درصد ضریب تغییرات		۸/۲۹	۲۰/۴۲	۹/۷۸	۵/۵۳	۴/۸	۱۰/۴۸

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد است.

جدول ۶. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه برنج در تیمارهای کشت پس از شبدر تلقیح شده با باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

تیمار		ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد دانه پر در هر خوشه	عملکرد شلتوک (کیلوگرم در هکتار)
سال	سال اول	۱۲۷/۵	۱۰۹/۲	۲۹۷۱/۱
	سال دوم	۱۳۱/۹	۱۱۰/۳	۳۲۵۰/۳
	$LSD_{5\%}$	۳/۹	۲/۱۸	۱۸۴/۹۶
باکتری‌های غیرهمزیست	بدون باکتری	۱۲۶	۱۰۷/۱	۲۹۱۳/۵
	Azotobacter chroococcum	۱۳۰/۹	۱۰۸/۲	۳۰۳۹/۸
	Pseudomonas fluorescens	۱۳۰/۵	۱۱۰/۹	۳۱۵۲/۹
	Pseudomonas + Azotobacter	۱۳۱/۲	۱۱۲/۸	۳۳۳۶/۴
	$LSD_{5\%}$	۶/۲۱	۳/۵	۱۸۸/۲۷

مرحله رسیدگی در شرایطی که نور خورشید به‌مقدار کافی باشد سبب افزایش فرایند پر شدن دانه می‌شود (۳۰). اثر مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه بر تعداد دانه پر در خوشه توسط محققین دیگری گزارش شده است (۲۳ و ۲۶).

برای صفت وزن هزار دانه برنج طبق نتایج به‌دست آمده اثر هیچ یک از تیمارهای آزمایشی معنی‌دار نبود (جدول ۵). در بین اجزای عملکرد غلات، وزن هزار دانه یکی از پایدارترین خصوصیات رقم به‌شمار می‌رود که بیشتر تحت تأثیر عوامل ژنتیکی بوده و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای قرار می‌گیرد (۵، ۲۸ و ۳۰). طبق نتایج پژوهشگران، پوشیده بودن دانه برنج توسط گلوم‌های خارجی و داخلی که باعث محدود کردن رشد دانه به‌علت وجود این پوشش مستحکم خارجی

می‌شود را به‌عنوان عدم تأثیرپذیری وزن هزار دانه برنج از تیمارهای کودی دانسته‌اند (۲۱). در نتایجی مشابه گزارش شده است که در برنج، رشد دانه توسط پوسته دانه محدود می‌شود (۵ و ۲۷). همچنین، شهبازی و همکاران (۳۲) بیان داشتند که وزن دانه بیشتر تحت تأثیر ژنتیک است. به‌نظر می‌رسد علت معنی‌دار نبودن تیمار باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست بر صفت وزن هزار دانه در این آزمایش نیز به‌دلیل تأثیر بیشتر عوامل ژنتیکی نسبت به عوامل محیطی در این صفت است.

برای صفت عملکرد شلتوک، طبق نتایج به‌دست آمده اثر سال و باکتری‌های غیرهمزیست به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین سال دوم آزمایش با میانگین عملکرد شلتوک ۳۲۵۰/۳ کیلوگرم در هکتار، میانگین عملکرد شلتوک بالاتری نسبت به سال اول (۲۹۷۱/۱ کیلوگرم در هکتار) داشت (جدول ۶).

نتایج تجزیه واریانس مرکب برای مقایسه تیمار شاهد نکاشت شبدر با بهترین سطوح تیمارهای کود زیستی نشان داد که اثر فاکتورهای آزمایشی بر صفات تعداد پنجه بارور، وزن هزار دانه و عملکرد شلتوک در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۷).

نتایج مقایسه میانگین تیمار شاهد نکاشت شبدر با بهترین سطوح تیمارهای کود زیستی نشان داد که برای صفت تعداد پنجه بارور در برنج، تیمارهای تلقیح ترکیبی بذور شبدر با باکتری‌های همزیست شبدر ۳ و ۱۳ (با میانگین تعداد پنجه بارور ۱۱/۳) و غیرهمزیست ازتوباکتر و سودوموناس (با میانگین تعداد پنجه بارور ۱۱) و همچنین تیمار بدون باکتری (با میانگین تعداد پنجه بارور ۹/۵) دارای تعداد پنجه بارور بیشتری نسبت به تیمار نکاشت شبدر (با میانگین تعداد پنجه بارور ۸/۹) بودند. همچنین، نتایج این آزمایش نشان داد که برای صفت وزن هزار دانه در برنج تیمارهای تلقیح ترکیبی بذور شبدر با باکتری‌های همزیست شبدر ۳ و شبدر ۱۳ (با میانگین وزن هزار دانه ۲۳/۹ گرم) و باکتری‌های غیرهمزیست ازتوباکتر و سودوموناس (با میانگین وزن هزار دانه ۲۳/۶ گرم) و همچنین تیمار بدون باکتری (با میانگین وزن هزار دانه ۲۳/۲ گرم) دارای وزن هزار دانه بالاتری نسبت به تیمار نکاشت شبدر (با میانگین وزن هزار دانه ۲۲/۴ گرم) بودند. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی برای صفت عملکرد شلتوک نشان داد که تیمار تلقیح ترکیبی بذور شبدر با باکتری‌های غیرهمزیست ازتوباکتر و سودوموناس (۳۲۲۰ کیلوگرم در هکتار) دارای بیشترین مقدار عملکرد شلتوک بود (جدول ۸).

پژوهش‌ها نشان می‌دهد که وارد کردن بقولات در تناوب زراعی با غلات منجر به افزایش عملکرد غلات در صورت کاشت پس از بقولات (۲) و میزان درصد ماده آلی خاک (۳۶) می‌شود. بر اساس یافته‌ها، کشت بقولات قبل از برنج منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد برنج می‌شود (۲). رضایی‌نوپاشانی و امین‌پناه (۲۸) با بررسی تأثیر تناوب محصولات مختلف با برنج در شرایط کاربرد نیتروژن و تقسیط آن بر رشد و عملکرد محصول گزارش کردند که حداکثر عملکرد شلتوک با کشت برنج پس از شبدر برسیم حاصل شد. افزایش عملکرد برنج در این شرایط را می‌توان به افزایش قابلیت دسترسی نیتروژن به‌دلیل توانایی بقولات در تثبیت نیتروژن هوا، افزایش فراهمی سایر عناصر غذایی مثل فسفر و پتاسیم، افزایش ماده آلی خاک، بهبود ساختمان خاک، شکستن چرخه زندگی آفات و بیماری‌ها، اثرات آللوپاتیک بقایای بقولات و کاهش آلودگی مزرعه غلات به علف‌های هرز در نظام کشت بقولات- غلات نسبت داد. با توجه به اینکه باکتری‌های محرک رشد گیاه انرژی مورد نیاز برای فعالیت خود را از طریق تجزیه مواد آلی خاک به‌دست می‌آورند، به‌نظر می‌رسد تناوب کشت بقولات- برنج در طی دو سال زراعی علاوه بر افزایش درصد کربن آلی خاک، موجب افزایش فعالیت باکتری‌های محرک رشد در طی دوره رشد برنج و افزایش عملکرد برنج در سال دوم آزمایش شده باشد.

مقایسه میانگین باکتری‌های غیرهمزیست نشان داد که تیمار ترکیبی *Pseudomonas* + *Azotobacter* با میانگین ۳۳۳۶/۴ کیلوگرم در هکتار و تیمار شاهد با میانگین ۲۹۱۳/۵ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار عملکرد شلتوک را داشتند (جدول ۶). افزایش عملکرد برنج در اثر کاربرد

جدول ۷. تجزیه واریانس مرکب اثر تیمار شاهد نکاشت شبدر و بهترین سطوح تیمارهای کود زیستی شبدر برای صفات زراعی برنج طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		ارتفاع بوته	تعداد پنجه بارور	تعداد خوشه در مترمربع	تعداد دانه پر در خوشه	وزن هزار دانه	عملکرد شلتوک
سال	۱	۴۷۱/۷^{ns}	۳/۲۲^{ns}	۴۷/۶^{ns}	۴/۴۲^{ns}	۰/۰۷۷^{ns}	۱۴۳۱۲۱/۰۹^{ns}
تکرار (سال)	۴	۲۷۰/۹۶	۵/۱۹	۶۵۵/۳۶	۵۶/۴۷	۱/۳۸	۲۰۸۹۲۲/۵۳
تیمار	۳	۳۱۲/۲^{ns}	۸/۰۳*	۲۰۷/۲۳^{ns}	۶/۰۳^{ns}	۲/۵۵*	۲۵۷۱۲۲/۵۸*
سال × تیمار	۳	۲۵۲/۱۸^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۹۷/۳۸^{ns}	۱۳/۸^{ns}	۰/۴^{ns}	۴۸۶۲۶/۶۵^{ns}
خطا	۱۲	۳۵۹/۱۲	۲/۰۲	۳۲۹/۶۲	۱۸/۲۹	۰/۶۵	۶۷۲۱۶/۳۶
درصد ضریب تغییرات		۱۵/۲۷	۱۳/۹۱	۸/۳۱	۳/۹۵	۳/۴۷	۸/۰۹

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد است.

جدول ۸ میانگین اثر تیمار کودهای زیستی و شیمیایی در کشت شبدر بر صفات زراعی برنج در طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

تیمار	تعداد پنجه بارور	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد شلتوک (کیلوگرم در هکتار)
کشت شبدر بدون تلقیح باکتری	۹/۵	۲۳/۲	۲۸۰۷/۷
کشت شبدر تلقیح شده با باکتری‌های *Azotobacter* + *Pseudomonas*	۱۱	۲۳/۶	۳۲۲۰
کشت شبدر تلقیح شده با باکتری همزیست شبدر ۳ و شبدر ۱۳	۱۱/۳	۲۳/۹	۲۸۲۵/۳
عدم کشت شبدر	۸/۹	۲۲/۴	۲۷۸۸/۱
$LSD_{5\%}$	۱/۷۹	۱/۰۲	۳۲۶/۱۳

باکتری‌های محرک رشد توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۵، ۲۳ و ۲۶). باکتری‌های جنس *Azotobacter*، *Azospirillum* و *Pseudomonas* از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه محسوب می‌شوند که از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تثبیت بیولوژیک نیتروژن و انحلال فسفات خاک (افزایش جذب فسفر)، تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی به‌ویژه اکسین، جیبرلین و سیتوکینین و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند و رشدونمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۳ و ۸). امین‌دلدار و همکاران (۴) با بررسی تأثیر سویه‌های باکتری *Pseudomonas* بر صفات مرفوفیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی در برخی ارقام برنج گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد تمام ویژگی‌های مورد ارزیابی برنج را در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند. استفاده از این ریزجانداران باعث افزایش نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و آهن در بافت‌های گیاه شد اما بر روی جذب منیزیم تأثیری نداشت. نیک‌نژاد و همکاران (۲۴) با ارزیابی کارایی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر عملکرد و اجزای عملکرد برنج در شرایط کم آبی و مقادیر کاهش یافته نیتروژن گزارش کردند که سطوح مختلف باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد شلتوک داشتند به‌طوری که تیمار ترکیبی *Azospirillum* و *Pseudomonas* بیشترین عملکرد شلتوک را دارا بود. اصغری و همکاران (۸) با مقایسه محلول‌پاشی و تلقیح ریشه‌ای باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas*) بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک، صفات کیفی و عملکرد برنج رقم

هاشمی، نتایج مشابهی را گزارش کردند. همچنین جها و همکاران (۱۷) افزایش عملکرد برنج به‌میزان ۲۳ درصد را در اثر تلقیح با *Pseudomonas* گزارش کرده‌اند. امین‌پناه و عباسیان (۵) با بررسی اثر تناوب زراعی، تلقیح با *Azotobacter chroococcum* و مقدار نیتروژن بر عملکرد برنج گزارش کردند که تلقیح با *Azotobacter chroococcum* سبب افزایش عملکرد شلتوک به‌میزان هشت درصد در مقایسه با عدم کاربرد *Azotobacter chroococcum* شد. تصور می‌شود که توانایی *Azotobacter* در تثبیت نیتروژن سبب بهبود وضعیت نیتروژن در گیاه و افزایش عملکرد شلتوک شده باشد. گزارش شده است که کاربرد *Azotobacter* در برنج سبب افزایش ۲۰-۷ درصدی عملکرد شلتوک و افزایش جذب نیتروژن به‌میزان ۱۵-۱۱ کیلوگرم در هکتار می‌شود (۴۰). با توجه به نقش مثبت و مؤثر هر یک از باکتری‌های محرک رشد *Azotobacter* و *Pseudomonas* در بهبود شرایط رشدی برنج از طریق افزایش فراهمی عناصر غذایی، حاصلخیزی خاک و تولید هورمون‌های محرک رشد، آنتی بیوتیک‌ها و سیدروفورها (۳۵) می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاربرد ترکیبی و همزمان باکتری‌ها موجب اثرگذاری مثبت آنها روی یکدیگر و افزایش عملکرد برنج شده باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که تلقیح باکتری‌های محرک رشد همزیست بر صفات زراعی شبدر تأثیر مثبت دارد و در پی آن در نظام‌های کشت بر پایه برنج باعث بهبود صفات زراعی برنج می‌شود. با توجه به مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و مشکلات ناشی از آن، استفاده از این باکتری‌های محرک رشد در کنار استفاده از سایر کودها منجر به کاهش مصرف کودهای شیمیایی شده، در پی آن مشکلات و خطرات ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهد.

منابع مورد استفاده

1. Abbasian, A. and H. Aminpanah. 2018. Effects of previous crop and rate of phosphorous fertilizer application on yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Shiroudi. *Journal of Crop Ecophysiology* 11(4): 889-904. (In Farsi).
2. Ahmad, T., F. Y. Hafeez, T. Mahmood and K. A. Malik. 2001. Residual effect of nitrogen fixed by mungbean (*Vigna radiata*) and blackgram (*Vigna mungo*) on subsequent rice and wheat crops. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41(2): 245- 248.
3. Amin Deldar, Z. and M. R. Ehteshami. 2013. The effects of different strains of *Pseuodomonas* on uptake efficiency, yield. *Journal of Plant Process and Function* 1(2): 73-85. (In Farsi).
4. Amin Deldar, Z., S. M. R. Ehteshami, A. Shahdi Komleh and K. Khavazi. 2012. Effect of *Pseudomonas fluorescens* strains on morphophysiologic traits and nutrients uptake in some of rice cultivars. *Electronic Journal of Crop Production* 5(1): 141-149. (In Farsi).
5. Aminpanah, H. and A. Abbasian. 2016. Effect of crop rotation, *Azotobacter chroococcum* inoculation and nitrogen rate on rice (*Oryza sativa* L.) paddy yield. *Electronic Journal of Crop Production* 9(3): 211-230. (In Farsi).
6. Anonymous. 2018. Agricultural Statistics, First Volume, Agricultural Crop Years of 2016-17. Information and Communication Technology Center. Deputy of Planning and Economic Affairs. Ministry of Agriculture Publications. (In Farsi).
7. Ansari, M. H. and S. Ghadimi. 2015. Effect of phosphate fertilizer on quality and quantity of berseem clover forage under Pseudomonas strains inoculations. *International Journal of Biosciences* 6(3): 162-171.
8. Asghari, J., S. M. R. Ehteshami, Z. Rajabi Darvishan and K. Khavazi. 2013. Investigation of spraying or root inoculation by Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) and their metabolits on morphophysiological indices, qualitative indices and yield in Hashemi cultivar of rice. *Journal of Plant Process and Function* 2(2): 25-40. (In Farsi).
9. Azamei, R., M. R. Ardakani and M. Gomarian. 2015. Assessment of qualitative and quantitative characters of two persian clover ecotypes inoculated by *Rhizobium leguminosarum biovartrifoli* and *Pesudomonas putida* Bacteria. *Iranian Journal of Field Crops Research* 13(3): 513-523. (In Farsi)
10. Bahrani, A., H. H. Sharif Abad, Z. T. Sarvestani, G. H. Moafpourian and A. A. Band. 2011. Remobilization of dry matter in wheat: effects of nitrogen application and post-anthesis water deficit during grain filling. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 39(4): 279-293.

11. Bhattacharyya, P. N. and D. K. Jha. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28(4): 1327-1350.
12. Boivin, S., C. Fonouni- Farde and F. Frugier. 2016. How Auxin and Cytokinin phytohormones modulate root microbe interactions. *Frontiers in Plant Science* 7(1240): 1- 12.
13. Dey, R., K. K. Pal, D. Batt and S. M. Chauhan. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobactria. *Microbiology Research* 159(3): 371- 394.
14. Fageria, N. K. 2016. The Use of Nutrients in Crop Plants. CRC Press.
15. Faraji, F., M. Esfahani, M. R. Alizadeh and A. Aalami. 2014. Evaluation of morphological characteristics related to lodging in selected local and improved rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences* 16(3): 250-264. (In Farsi).
16. Javadi, M. and H. Aminpanah. 2016. Effect of *Azospirillum lipoferum* inoculation, previous crop, and usage nitrogen on rice (*Oryza sativa* L.) growth and yield. *Journal of Crop Ecophysiology* 10(2): 311-326. (In Farsi).
17. Jha, B., M. C. Thakur, I. Gontia, V. Albrecht, M. Stoffels, M. Schmid and A. Hartmann. 2009. Isolation, partial identification and application of *diazotrophic rhizobacteria* from traditional Indian rice cultivars. *European Journal of Soil Biology* 45(1): 62-72.
18. Khavazi, K. 2013. Biofertilizer Inspection Guidelines. Soil and Water Research Institute Publications, Iran. (In Farsi).
19. Khodarahmi, M., S. H. Sabaghpour and A. Farnia. 2013. Effect of different strains of rhizobium on seed yield and its components of improved chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Seed and Plant Production Journal* 29(3): 403-412. (In Farsi).
20. Kloepper, J. W. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: Proceeding of 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacter, Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie. INRA, Angers, France.
21. Materon, L. A. and C. Hagedorn. 1982. Nodulation of crimson clover by introduced rhizobia in mississippi soils. *Soil Science Society of America Journal* 46(3): 553- 556.
22. Moosavi, S. Gh., O. L. Mohamadi, R. Baradaran, M. Seghatoleslami and E. Amiri. 2014. Effect of nitrogen fertilizer rates on morphological traits, yield and yield components of three cultivars of rice. *Iranian Journal of Field Crops Research* 13(1): 146-152. (In Farsi).
23. Moslehi, N., Y. Niknejad, H. Fallah Amoli and N. Kheyri. 2016. Effect of integrated application of chemical, organic and biological fertilizers on some of the morphophysiological traits of rice (*Oryza sativa* L.) Tarom Hashemi cultivar. *Crop Physiology Journal* 8(30): 87-103. (In Farsi).
24. Niknejad, Y., J. Daneshian, A. Shirani Rad, H. Pirdashti and M. Arzanesh. 2016. Evaluation the efficiency of growth promoting bacteria on yield and yield components of rice under deficit irrigation and reduced rates of nitrogen. *Applied Field Crops Research* 29(3): 9-19. (In Farsi).
25. Noorbakhshian, S. 2015. Effect of planting dates and different rates of seed on forage yield of berseem clover in double cropping system in Shahrekord region. *Applied Field Crops Research* 28(107): 200-207. (In Farsi).
26. Panahi, A., H. Aminpanah and P. Sharifi. 2015. Effect of nitrogen, bio-fertilizer, and silicon application on yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L.). *Philippine Journal of Crop Science* 40(1): 76-81.
27. Rabiee, M., M. M. Karimi and F. Safa. 2004. Effect of planting dates on grain yield and agronomic characteristics of rapeseed cultivars as a second crop after rice at Kouchesfahan. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 35(1): 177-187. (In Farsi).
28. Rezaei Noupashani, S. and H. Aminpanah. 2018. Effect of different crops rotation with rice, N rate and N split application on crop grain yield. *Journal of Plant Ecophysiology* 9(31): 95-106. (In Farsi).
29. Saadat, F., S. Ehteshami, J. Asghari and M. Rabiee. 2015. Effect of seed coating with growth promoting bacteria and micronutrients on quantitative and qualitative yield of forage corn (*Zea mays* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science* 46(3): 485-496. (In Farsi).
30. Salehi Far, M., J. Asghari, S. H. Payman, H. Samizadeh and H. Dorosti. 2012. Effects of planting distance, nitrogen and phosphorus fertilizers on yield and yield component of hybrid rice (Bahar 1). *Electronic Journal of Crop Production* 4(2): 155-168. (In Farsi).
31. SAS Institute. 2011. SAS/IML 9.3 user's guide. Sas Institute.
32. Shahbazi, M., E. Zeinali, S. Galeshi, M. R. Eehteshami and H. Dorosti. 2017. Response of grain yield and other agronomic characteristics of two native and high- yield rice (*Oryza sativa* L.) cultivars to nitrogen fertilizer rate in Rasht. *Journal of Soil Management and Sustainable Production* 7(1): 21-38. (In Farsi).
33. Sharma, A. K. 2003. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India.
34. Smith, G. R., W. E. Knight, H. L. Peterson and C. Hagedorn. 1982. The effect of *Rhizobium trifolii* strains and crimson clover genotypes on N_2 fixation. *Crop Science* 22(5): 970-972.
35. Stefan, M., N. Munteanu, V. Stoleru and M. Mihasan. 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting

rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. *Romanian Biotechnological Letters* 18(2): 8132- 8143.

36. Tabrizi, A., G. Nour Mohammadi and H. Mobasser. 2015. Effects of different cropping systems on fertility of paddy soil. *Journal of Crop Ecophysiology* 9(2): 191-202. (In Farsi).
37. Taherkhani, M., G. Mirhadi, M. Mirhadi and R. Alimohammadi. 2007. Evaluation of nitrogen fixation ability of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars with three types of inoculants which contain different strains of Rhizobium phaseoli. *Agroecology Journal* 3(2): 79-88. (In Farsi).
38. Vahabzadeh, M., M. Esfahani, A. Aalami, A. Shhadi-Koumlh, S. A. Fallah-Shamsi and S. Hemmati. 2016. Effect of phosphorus fertilizer levels and parboiling of paddy on phytic acid and mineral content of three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences* 17(4): 258 -272. (In Farsi).
39. Yanni, G. Y. and F. B. Dazzo. 2010. Enhancement of Rice production using endophytic strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii in extensive field inoculation trials within the Egypt Nile delta. *Plant and Soil* 336(1): 129- 142.
40. Yanni, Y. G. and F. K. A. El- Fattah. 1999. Towards integrated biofertilization management with free living and associative dinitrogen fixers for enhancing rice performance in the Nile delta. *Symbiosis* 27(3): 319-331.

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 10, No. 4, Winter 2021, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Effect of *Rhizobium trifolii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Azotobacter chroococcum* on Growth and Yield of Crismon Clover and Rice in a Rice-Clover Rotation

A. Shahdi Kumleh[1*]

(Received: February 16-2019; Accepted: February 18-2020)

Abstract

Cultivation of legume species as the second crop in rotation with rice and using plant growth promoting bacteria can be a good approach to improve rice production sustainability. This experiment was carried out to evaluate the effect of plant growth promoting bacteria on accelerating vegetative growth of crimson clover (Alborz 1) and rice (Hashemi) yield in a rice-based cropping system. A factorial experiment in randomized complete block design with three replications at Rice Research Institute of Iran was conducted during 2015-2017. Experimental factors included four inoculation levels of clover seeds with *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii and four inoculation levels of clover seeds with non-symbiotic plant growth promoting Rhizobacteria including control, *Pseudomonas fluorescence*, *Azotobacter chroococcum* and combined treatment of these bacteria. The combined treatment of symbiotic strains led to significant increase in plant height (68.3 cm), fresh forage yield (32704.4 kg/ha) and dry forage yield (7783.7 kg/ha) of clover compared to the control treatment (61.8 cm, 28248.2 and 6765 kg/ha, for plant height, fresh forage yield and dry forage yield, respectively). Assessing inoculation of clover seeds with non-symbiotic bacteria and subsequent rice cultivation showed that the combined treatment led to increase in number of filled grains (112.8) and paddy yield (3336.4 kg/ha) relative to the other treatments. The findings of this research showed that the application of plant growth promoting bacteria is potent to increase the clover's agronomic performance and rice yield in a rice-based cropping system.

Keywords: Non-symbiotic bacteria, Symbiotic bacteria, Growth promoting bacteria

1. Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
*: Corresponding Author, Email: shahdiabbas8@gmail.com