



## اثرات مصرف باکتری آزوسپریلوم لیوفروم (*Azospirillum lipoferum*)، محصول قبلی و مقدار مصرف نیتروژن بر رشد و عملکرد برنج (*Oryza sativa* L.) در تنکابن

میلاذ جوادی<sup>۱</sup>، و هاشم امین پناه<sup>۲\*</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۴/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲۳

### چکیده

کشت گیاهان زمستانه خانواده بقولات در تناوب با برنج و استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند راهکار مناسبی در جهت افزایش پایداری تولید در مزارع برنج باشند. به منظور بررسی اثر باکتری آزوسپریلوم لیوفروم، محصول قبلی و مقدار نیتروژن بر رشد و عملکرد رقم شیروودی برنج، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات برنج تنکابن، استان مازندران، در سال ۱۳۹۳ انجام شد. گیاهان قبلی شبدر برسیم، باقلا و آیش به عنوان عوامل اصلی و دو سطح از مصرف باکتری آزوسپریلوم (تلقیح و عدم تلقیح) و سه سطح مقدار از کود نیتروژنه توصیه شده (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) به عنوان عوامل فرعی به صورت فاکتوریل در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از شبدر برسیم حدود سه درصد بیشتر از عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از آیش بود. در مقابل، عملکرد شلتوک در صورت کاشت آن پس از باقلا حدود ۱۶ درصد کمتر از عملکرد شلتوک در صورت کاشت آن پس از آیش بود. کاربرد باکتری آزوسپریلوم سبب افزایش عملکرد شلتوک به میزان ۱۴ درصد گردید. با افزایش مصرف نیتروژن از ۵۰ به ۷۵ کیلوگرم در هکتار، عملکرد شلتوک به میزان ۱۱ درصد افزایش یافت، در حالی که مصرف بیشتر نیتروژن اثر معنی‌داری بر عملکرد شلتوک نداشت. با توجه به نتایج این آزمایش، کاربرد باکتری آزوسپریلوم به همراه مصرف ۷۵ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده جهت دستیابی به حداکثر عملکرد برنج رقم شیروودی در تنکابن می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** باکتری‌های محرک رشد، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، تغذیه معدنی برنج، تناوب بقولات، برنج.

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

aminpanah@iaurasht.ac.ir

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران (\* نگارنده‌ی مسئول)

## مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) مهم‌ترین محصول زراعی در دنیا پس از گندم می‌باشد که غذای اصلی مردم آسیا و ماده غذایی حدود دو سوم از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهد. در ایران نیز بعد از گندم به عنوان دومین محصول زراعی در تامین کالری مردم نقش دارد. سطح زیر کشت برنج در ایران تقریباً ۵۰۰ هزار هکتار برآورد شده است (FAO, 2013) که قسمت عمده آن در دو استان شمالی کشور یعنی مازندران و گیلان قرار دارد. یکی از مهم‌ترین راه‌های افزایش عملکرد محصولات زراعی و از جمله برنج، تغذیه مناسب گیاه و کاربرد تکنیک‌های جدید می‌باشد. از بین عناصر مورد نیاز برنج، نیتروژن یکی از عناصر اصلی و پر مصرف است که در اغلب موارد کمبود آن مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد و عملکرد برنج می‌باشد. در نتیجه، جهت دستیابی به حداکثر عملکرد، مصرف کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن ضروری به نظر می‌رسد. کاربرد نیتروژن به مقدار مناسب سبب افزایش ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، سطح برگ، میزان کلروفیل، میزان فتوسنتز و در نهایت عملکرد شلتوک می‌گردد. منبع اصلی نیتروژن در شالیزارهای کشور، کود اوره می‌باشد که قسمت عمده آن پس از مصرف از طریق دنیتریفیکاسیون، فراریت به صورت گاز آمونیاک و آبشویی از دسترس گیاه خارج و ضمن کاهش کارایی مصرف نیتروژن (۳۰-۴۰ درصد) در مزارع برنج (Choudhury and Khanif 2001; Choudhury et al., 2002)، سبب آلودگی اتمسفر از طریق تولید گازهای گلخانه‌ای نظیر  $NH_3$  و  $N_2O$  (Reeves et al., 2002) و همچنین آلودگی آب‌های زیرزمینی به نترات می‌گردد (Shrestha and Ladha, 1998). این عوامل سبب شد که دانشمندان به فکر راه کارهای جایگزین تامین نیتروژن که مشکلات مذکور را به حداقل برساند،

بیفتند. استفاده از تکنولوژی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند نقش مهمی در مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهان زراعی جهت افزایش پایداری در نظام‌های کشاورزی ایفا کند. آزوسپریلوم‌ها گروهی از باکتری‌های هترتورف و غیرهوازی هستند که اغلب در اطراف ریشه گیاهان گرامینه دیده می‌شوند (Choudhury and Kennedy, 2004). تحقیقات انجام شده در موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج نشان داد که حدود ۸۵ درصد از باکتری‌های آزوسپریلوم جدا شده از ریشه برنج متعلق به گونه آزوسپریلوم لیپوفروم بود (Ladha et al., 1987). در طول مدت زمان حدود ۴۰ سال مطالعه درباره ارتباط بین آزوسپریلوم - گیاه پیشنهادهای متعددی درباره اثرات تحریک‌کنندگی رشد گیاهان به وسیله این باکتری‌ها ارائه شده است که از جمله مهم‌ترین آنها توانایی آزوسپریلوم در تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین، جیبرلین، سائوکینین و اتیلن، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، تولید مولکول‌های کوچک و آنزیم‌ها، افزایش فعالیت غشا، افزایش سیستم ریشه‌ای گیاهان و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی، افزایش تحرک و حلالیت عناصر غذایی، کاهش اثرات مضر تنش‌های محیطی و کنترل بیولوژیکی عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌باشد (Bashan and deBashan, 2010). گزارش شده است که به ترتیب حدود ۲۰ و ۵۸/۹ درصد از نیاز ارقام برنج باسماتی و سوپر باسماتی به نیتروژن به وسیله باکتری *A. lipoferum* از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن برآورده شده است (Mirza et al., 2000). در مطالعه دیگر، مشخص شد که تلقیح برنج با باکتری آزوسپریلوم سبب افزایش عملکرد دانه و تجمع نیتروژن در مرحله رسیدگی گیاه شد (Rodrigues et al., 2008). همچنین، گزارش شده است که تلقیح گیاهان برنج با باکتری آزوسپریلوم سبب افزایش

در خصوص اثر مقدار نیتروژن و کاربرد آزوسپریلوم بر عملکرد برنج در نظام کشت آیش- برنج منتشر شده است، ولی اثرات آنها بر رشد و عملکرد برنج در نظام‌های کشت بقولات - برنج مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، این آزمایش با هدف بررسی تاثیر مصرف مقادیر کود شیمیایی نیتروژن و استفاده از آزوسپریلوم بر رشد و عملکرد برنج در نظام کاشت با تناوب‌های مختلف کشت بقولات - برنج انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقات برنج تنکابن واقع در استان مازندران با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۵۱ دقیقه شمالی انجام شد. قبل از شروع آزمایش از خاک مزرعه جهت تعیین برخی از خصوصیات خاک نمونه‌برداری به عمل آمد که در جدول ۱ ارایه شده است. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اصلی محصول قبلی شامل (شیدر برسیم، باقلا و آیش به‌عنوان شاهد) بود. دو سطح باکتری آزوسپریلوم لیپوفروم (تلقیح و عدم تلقیح) و سه سطح کود نیتروژنه (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد از مقدار کود شیمیایی نیتروژن توصیه شده) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. در نتیجه تعداد کل کرت‌های مورد استفاده در این آزمایش برابر با ۵۴ کرت بود. در این بررسی مقدار کود نیتروژنه استفاده شده برابر با ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره بود. بذور شیدر برسیم، که از مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان رشت تهیه شده بودند، پس از آغشته شدن با باکتری *Rhizobium trifoli* در اوایل مهرماه ۱۳۹۲ در کرت‌های اصلی مورد نظر پاشیده شدند. همچنین، برای کشت باقلا زمین در اوایل آبان ماه ۱۳۹۲ آماده شد و در اواسط آبان بذور باقلا که با

مقاومت بوته‌های برنج در برابر برخی از بیماری‌های قارچی و باکتریایی گردید (Yasuda *et al.*, 2009). افزایش عملکرد برنج به میزان ۲۲ درصد در شرایط مزرعه‌ای (Balandreau, 2002) و به میزان ۸۱-۳۲ درصد در شرایط گلخانه‌ای (Mirza *et al.*, 2000; Malik *et al.*, 2002) در اثر کاربرد باکتری آزوسپریلوم نیز گزارش شده است.

یکی دیگر از راه‌کارهای کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن در مزارع برنج، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق کشت گیاهان تیره بقولات از قبیل شیدر برسیم، لوبیا و باقلا مازندرانی در تناوب با برنج می‌باشد. بسته به گونه گیاهی و شرایط محیطی، این گیاهان می‌توانند در صورت همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم نیتروژن هوا را به میزان زیادی تثبیت کنند. پس از مرگ این گیاهان، نیتروژن به تدریج از طریق فرآیند معدنی شدن در اختیار گیاه بعدی (غلات) قرار می‌گیرد و تا حدودی نیاز آنها به نیتروژن را برطرف می‌سازد (Hayat *et al.*, 2008 a, b). بنابراین می‌توان انتظار داشت که در صورت کشت بقولات قبل از برنج و مصرف کود شیمیایی به میزان کمتر از مقدار توصیه شده، ضمن بالا نگه داشتن عملکرد برنج، پایداری سیستم‌های کشاورزی را افزایش داد. محققان گزارش کردند که کشت گیاهان تیره بقولات در تناوب با غلات سبب افزایش عملکرد غلات گردیده است (Ahmad *et al.*, 2001; Evans *et al.*, 1991; Mann *et al.*, 2000). افزایش عملکرد غلات در این شرایط به عواملی از قبیل افزایش فراهمی نیتروژن، افزایش ماده آلی و بهبود ساختمان خاک، شکستن چرخه زندگی آفات، اثرات آللوپاتیک بقایای بقولات، افزایش فراهمی سایر عناصر غذایی از قبیل فسفر و پتاسیم و کاهش آلودگی مزرعه به علف‌های هرز سبب نسبت داده شده است (Fyson and Oaks, 1990; Peoples and Herridge, 1990). اگرچه تاکنون اطلاعات کافی

خوشه، پس از حذف حاشیه‌ها در مساحتی به اندازه یک متر مربع ( ۱ متر در ۱ متر) در هر کرت، نمونه برداری صورت گرفت و تعداد خوشه آن شمارش گردید. همچنین، با رعایت حاشیه تعداد ۱۰ خوشه ساقه اصلی در هر کرت به طور تصادفی انتخاب گردید و پس از آن تعداد کل دانه (TG) و تعداد دانه پر در هر خوشه (FG) شمارش شد و میانگین آنها به عنوان تعداد کل دانه و تعداد دانه پر در هر خوشه منظور گردید. همچنین، در بین توده بذر مذکور، تعداد ۱۰۰۰ عدد دانه به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن گردید و سپس وزن هزار دانه برای هر تیمار محاسبه شد. درصد باروری خوشه (PF) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$PF = (FG/TG) \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری عملکرد شلتوک (PY) پس از حذف حاشیه‌ها، از مساحتی به اندازه ۵ متر مربع (۲ متر در ۲/۵ متر) در هر کرت نمونه برداری صورت گرفت و پس از اندازه‌گیری رطوبت دانه هر کرت به وسیله دستگاه RISTER-L ساخت شرکت KIYA SEISAKUSHO توکیوی ژاپن، عملکرد شلتوک بر مبنای رطوبت ۱۴ درصد بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد. برای اندازه‌گیری زیست توده برنج، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای تعداد پنج بوته در هر کرت به طور تصادفی انتخاب و کف بر شدند، پس از آن دانه و اندام‌های هوایی به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار گرفته و سپس با توزین آن عملکرد بیولوژیک (BY) تعیین شد. شاخص برداشت (HI) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$HI = (PY/BY) \times 100 \quad (2)$$

مساحت برگ پرچم، پس از اندازه‌گیری طول برگ پرچم (L) و حداکثر پهنای برگ پرچم (W) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

باکتری *Rhizobium leguminosarumi* آغشته شده بودند، در کرت‌های اصلی مورد نظر کشت گردیدند. باکتری‌های مورد استفاده از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه شدند و تلقیح بذور بر اساس دستورالعمل مربوطه صورت گرفت. پس از دو چین برداشت شبدر برسیم، در اوایل اردیبهشت ۱۳۹۳ شبدر برسیم قبل از چین سوم به عنوان کود سبز به‌وسیله تراکتور به زمین برگردانده شد. باقلا نیز در اواخر اردیبهشت برداشت و بلافاصله پس از آن زمین زیر کشت باقلا شخم خورد. سپس بر اساس تیمارها، کرت‌بندی نهایی انجام شد. پس از آماده سازی خزانه، بذور رقم اصلاح شده شیروودی با باکتری آزوسپریلوم لیپوفروم، که از موسسه خاک و آب کرج تهیه شدند، بر اساس دستورالعمل مربوطه تلقیح و سپس در خزانه جداگانه کشت شدند. نشاها در مرحله ۵-۳ برگی به مزرعه منتقل و به تعداد ۳ گیاهچه در هر کپه با تراکم ۲۵×۲۵ سانتی‌متر در تاریخ ۴ خرداد ۱۳۹۳ نشاء گردیدند. ابعاد هر کرت اصلی ۵×۳۰ متر و ابعاد هر کرت فرعی ۵×۵ متر بود. نیمی از کود شیمیایی نیتروژن، تمامی مقدار فسفر (۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل) و پتاسیم (۱۰۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم) بلافاصله قبل از نشاکاری و باقیمانده نیتروژن در زمان تشکیل اولین جوانه خوشه در غلاف به صورت سرک به خاک داده شد. مرحله اول وجین دستی علف‌های هرز مزرعه در تاریخ ۲۶ خرداد و مرحله دوم آن در تاریخ ۱۳ تیرماه ۱۳۹۳ صورت گرفت. با توجه به عدم آلودگی مزرعه آزمایشی به بیماری‌ها و آفات، خصوصاً بلاست و کرم ساقه‌خوار برنج، از هیچ‌گونه مواد شیمیایی استفاده نگردید. در ضمن، آبیاری نیز بر طبق عرف رایج منطقه صورت گرفت. در پایان فصل رشد، اجزای عملکرد شامل تعداد خوشه در متر مربع، تعداد دانه در خوشه و وزن هزار دانه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری تعداد

دوگانه و سه‌گانه بر عملکرد و اجزای عملکرد معنی‌دار نبود (جدول ۲).

عملکرد شلتوک در تناوب کشت شبدر برسیم - برنج (۷۶۷۴ کیلوگرم در هکتار) و آیش- برنج (۷۴۷۰ کیلوگرم در هکتار) به‌طور معنی‌داری بیشتر از عملکرد شلتوک در تناوب کاشت باقلا- برنج (۶۲۶۹ کیلوگرم در هکتار) بود. عملکرد شلتوک در صورت کاشت برنج بعد از شبدر برسیم در مقایسه با کشت برنج پس از آیش افزایش یافت، هر چند که از لحاظ آماری این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۳). این نتایج نشان داد که عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از شبدر برسیم حدود سه درصد بیشتر از عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از آیش بود، در حالی‌که عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از باقلا حدود ۱۶ درصد کمتر از عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از آیش بود. به نظر می‌رسد که مناسب بودن میزان ماده آلی خاک، مصرف مناسب کودهای پتاسیم و فسفر، عدم آلودگی مزرعه به آفات و بیماری‌ها و کنترل مطلوب علف‌های هرز سبب شد که بین تناوب زراعی آیش - برنج و شبدر برسیم - برنج از لحاظ عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردد. برخلاف نتایج این آزمایش، برخی از محققان گزارش کردند که عملکرد برنج در تناوب کشت بقولات- برنج افزایش یافت (Ahmad *et al.*, 2001). افزایش عملکرد غلات در این شرایط به افزایش فراهمی نیتروژن و سایر عناصر غذایی از قبیل فسفر و پتاسیم، بهبود ساختمان خاک و کاهش آلودگی مزرعه به علف‌های هرز نسبت داده شد (Fyson and Oaks, 1990; Peoples and Herridge, 1990). تیریزی و همکاران (Tabrizi *et al.*, 2015) گزارش کردند که کشت بقولات در شالیزار منجر به افزایش ماده آلی خاک، نیتروژن کل و فسفر قابل جذب گردید. گزارش شده است که نیتروژن و فسفر موجود در بقایای باقلا

$$(۳) \quad L \times W \times 0.74 = \text{مساحت برگ پرچم}$$

درصد نیتروژن برگ پرچم و دانه به روش کجلدال اندازه‌گیری و سپس میزان نیتروژن جذب شده در دانه (Grain N Uptake) با حاصل‌ضرب درصد نیتروژن دانه در وزن خشک دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن انجام شد. رسم شکل‌ها نیز توسط نرم‌افزار Excel 2003 صورت گرفت. قبل از تجزیه واریانس، فرض نرمال بودن داده‌ها مورد آزمون قرار گرفت و نرمال بودن داده‌ها برای تمامی صفات تایید شد. با توجه به این که خطای کرت فرعی برای صفات تعداد دانه پر در خوشه، شاخص برداشت، درصد باروری خوشه، درصد نیتروژن برگ و مقدار نیتروژن جذب شده در دانه بزرگ‌تر از خطای کرت اصلی بود، اثر متقابل تکرار در عامل‌های فرعی از خطای آزمایشی جدا و عامل‌های فرعی با خطای آزمایشی جدید سنجیده شدند.

### نتایج و بحث

#### عملکرد و اجزای عملکرد

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای اصلی محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن بر عملکرد شلتوک به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). از بین اجزای عملکرد، تعداد خوشه در متر مربع تحت تاثیر معنی‌دار محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت، در حالی‌که تعداد دانه پر در خوشه فقط تحت تاثیر محصول قبلی ( $P = 0.05$ ) قرار گرفت. وزن هزار دانه تحت تاثیر هیچ‌کدام از اثرات اصلی عامل‌های مورد بررسی قرار نگرفت. در ضمن، کلیه اثرات متقابل

موجب افزایش میزان این دو عنصر در خاک گردیده و در نتیجه عملکرد برنج در زراعت بعدی افزایش یافت (Lifang *et al.*, 2000). به نظر می‌رسد که شخم دیر هنگام (اواخر اردیبهشت) زمین زیر کشت باقلا و آماده‌سازی سریع زمین جهت کشت برنج و در نتیجه عدم وجود فرصت کافی جهت تجزیه هوزی بقایای گیاهی باقلا منجر به ایجاد شرایط نامناسب برای رشد برنج گردید. این امر سبب باعث شد که عملکرد برنج در صورت کاشت پس از باقلا در مقایسه با عملکرد برنج در صورت کاشت پس از شبدر برسیم و نیز آیش کاهش یابد. همچنین، برخی از محققان گزارش کردند که در بقولات دانه‌ای از قبیل باقلا، قسمت اعظم نیتروژن تثبیت شده به دانه انتقال و در هنگام برداشت دانه از سیستم‌های کشاورزی خارج می‌گردد، در نتیجه فراهمی نیتروژن برای گیاه بعدی در تناوب کاهش می‌یابد (Kessel and Hartley, 2000). محققان گزارش کردند که اکثر بقولات دانه‌ای توانایی تثبیت نیتروژن به میزان کافی را ندارند و در نتیجه افزودن کود شیمیایی نیتروژن جهت دستیابی به حداکثر عملکرد دانه در غلات در صورت کشت آنها پس از بقولات دانه‌ای ضروری به نظر می‌رسد (Danga *et al.*, 2009). کاربرد باکتری آزوسپریلوم سبب افزایش عملکرد شلتوک به میزان ۱۴ درصد در مقایسه با عدم کاربرد آزوسپریلوم گردید (جدول ۳). افزایش عملکرد دانه پس از تلقیح گیاه با باکتری آزوسپریلوم می‌تواند به توانایی آزوسپریلوم در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و در نتیجه افزایش فراهمی نیتروژن برای گیاه، تولید انواع هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، جیبرلین و سائتوکینین، افزایش سیستم ریشه گیاهان تلقیح شده با آزوسپریلوم و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی، افزایش تحرک و حلالیت عناصر غذایی در اطراف ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت داده شود ( Bashan and de Bashan, 2008).

افزایش عملکرد برنج پس از کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه توسط سایر محققان هم گزارش شده است (Panahi *et al.*, 2015; Malik *et al.*, 2000; Mirza *et al.*, 2000; Rodrigues *et al.*, 2008). افزایش مصرف نیتروژن از ۵۰ به ۷۵ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده، سبب افزایش معنی‌دار عملکرد شلتوک از ۶۷۳۴/۶ به ۷۴۵۶ کیلوگرم در هکتار گردید (جدول ۳). با مصرف بیشتر نیتروژن (کل مقدار توصیه شده) عملکرد شلتوک از ۷۴۵۶ به ۷۲۲۳/۸ کیلوگرم در هکتار کاهش یافت، اگرچه مقدار این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳). نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (Nahvi *et al.*, 2012; Mostafavi, 2003; Rad and Tahmasbi Sarvastani, 2003). در مقابل، در برخی دیگر از محققان گزارش کردند که مقادیر کود نیتروژن بر عملکرد دانه برنج اثر معنی‌داری نداشت (Teimoorian *et al.*, 2009; Mobasser *et al.*, 2005). نیتروژن یک عنصر ضروری در رشد و نمو گیاهان است که کاربرد آن سبب افزایش تعداد پنجه، سطح برگ، میزان کلروفیل، میزان فتوسنتز و در نهایت عملکرد شلتوک می‌گردد. اگرچه مصرف زیاد نیتروژن می‌تواند از طریق افزایش رشد سبزینگی، افزایش تعداد پنجه‌های نابارور و پوکی دانه‌ها منجر به کاهش عملکرد گردد (Yoshida, 1981).

مقایسه میانگین نشان داد که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در تعداد خوشه در متر مربع در بین تناوب کشت آیش- برنج و شبدر برسیم - برنج وجود ندارد (جدول ۳)، در حالی که تعداد خوشه در متر مربع در صورت کشت برنج پس از باقلا به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳). تعداد خوشه در متر مربع با کاربرد باکتری آزوسپریلوم در مقایسه با عدم کاربرد آن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از ۳۰۰ خوشه در متر مربع به ۳۷۵ خوشه در متر مربع

مشاهده نشد (جدول ۳). برخلاف نتایج این آزمایش، برخی از محققان گزارش کردند که تعداد دانه پر در خوشه تحت تاثیر کود زیستی حاوی باکتری آزوسپریلوم قرار گرفت (Panahi *et al.*, 2015). همچنین، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی داری در تعداد دانه پر در خوشه در بین مقادیر مختلف نیتروژن مشاهده نشد (جدول ۳). مطابق با نتایج این آزمایش، گزارش شده است که تعداد دانه پر در خوشه برنج تحت تاثیر مقادیر مختلف نیتروژن قرار نگرفت (Nahvi *et al.*, 2010). در مقابل، برخی از محققان گزارش کردند که اثر مقدار نیتروژن بر تعداد دانه پر در خوشه برنج معنی دار بوده و حداکثر تعداد دانه پر در خوشه در صورت مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار مشاهده شد (Kazemi Poshtmassari *et al.*, 2007). همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی فاکتورها و نیز کلیه اثرات متقابل دوگانه و سه گانه بر درصد باروری خوشه معنی دار نبود، در نتیجه اختلاف معنی داری در درصد باروری خوشه در بین سطوح مختلف محصول قبلی، مقدار نیتروژن و نیز مصرف و عدم مصرف آزوسپریلوم مشاهده نشد (جداول ۱ و ۲).

اختلاف معنی داری در وزن هزار دانه در بین نظام‌های مختلف کشت بقولات- برنج، مقادیر نیتروژن و نیز در بین مصرف و عدم مصرف باکتری آزوسپریلوم مشاهده نشد (جدول ۳). وزن هزار دانه صفتی است که بیشتر تحت تاثیر عوامل ژنتیکی بوده و کمتر تحت تاثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای قرار می‌گیرد. گزارش شده است که در برنج، رشد دانه توسط پوسته دانه محدود می‌شود و در نتیجه در اغلب مناطق وزن هزار دانه برنج یکی از پایدارترین خصوصیات واریته‌ای به شمار می‌رود (Dowling *et al.*, 1998). نتایج مشابهی توسط نیز سایر محققان در خصوص عدم تاثیر کود زیستی حاوی باکتری آزوسپریلوم (Panahi *et al.*,

افزایش ۲۴ درصدی) رسید (جدول ۳). با توجه به معنی دار نشدن اثر باکتری آزوسپریلوم بر دیگر اجزای عملکرد (تعداد دانه در خوشه و وزن هزار دانه)، این امر نشان می‌دهد که باکتری آزوسپریلوم عمدتاً از طریق تاثیر بر تعداد خوشه در متر مربع، سبب افزایش عملکرد شلتوک گردید. افزایش تعداد خوشه در گیاهان تلقیح شده با آزوسپریلوم می‌تواند به علت افزایش توانایی این گیاهان در تولید پنجه بیشتر باشد (Nayak *et al.*, 1986). گزارش شده است که باکتری‌های آزوسپریلوم می‌توانند سبب افزایش سیستم ریشه‌ای گیاهان و در نتیجه افزایش جذب عناصر غذایی و نیز تولید انواع هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، جیبرلین و سایتوکینین در گیاهان گردند. در نتیجه، عوامل مذکور احتمالاً سبب افزایش تعداد خوشه در گیاه گردیدند (Bashan and de Bashan, 2010). حداکثر تعداد خوشه در متر مربع (۳۶۰ خوشه) با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و حداقل آن (۳۱۶ خوشه) با مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار حاصل شد (جدول ۳). مطابق با نتایج این آزمایش، فرجی و همکاران (Faraji *et al.*, 2000) گزارش کردند که اثر مقدار نیتروژن بر تعداد خوشه در متر مربع معنی دار بود. در مقابل، در برخی از آزمایشات مشاهده شد که مقدار نیتروژن تاثیر معنی داری بر تعداد خوشه در متر مربع نداشت (Teimoorian *et al.*, 2009; Weerakoon *et al.*, 2005).

اختلاف معنی داری در تعداد دانه در خوشه در صورت کاشت برنج پس از شبدر برسیم (۱۰۳/۴ دانه) و کاشت برنج پس از آیش (۹۸/۵ دانه) مشاهده نشد. حداقل تعداد دانه در خوشه در صورت کاشت برنج پس از باقلا (۹۴/۲ دانه) حاصل شد (جدول ۳). اختلاف معنی داری در تعداد دانه پر در خوشه در صورت مصرف و عدم مصرف باکتری آزوسپریلوم

(2005, *Mobasser et al.*) گزارش کرده‌اند با افزایش مصرف مقدار نیتروژن عملکرد بیولوژیک برنج به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. اختلاف معنی‌داری در شاخص برداشت در بین نظام‌های مختلف کشت، مقادیر نیتروژن و در بین مصرف و عدم مصرف باکتری آزوسپریلوم مشاهده نشد (جدول ۲). این موضوع نشان می‌دهد که عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه تقریباً به یک نسبت تحت تاثیر محصول قبلی، مقدار نیتروژن و باکتری آزوسپریلوم قرار گرفتند. برخلاف نتایج این آزمایش، پناهی و همکاران (2015, *Panahi et al.*) گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب افزایش شاخص برداشت در برنج گردید. همچنین، در یک تحقیق دیگر مشخص شد که حداکثر شاخص برداشت در صورت مصرف ۶۰ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده همراه با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه حاصل شده است (2013, *Mukhopadhyay et al.*). مطابق با نتایج این آزمایش، برخی محققان گزارش کردند که اثر مقادیر کود نیتروژن بر شاخص برداشت برنج معنی‌دار نبود (2007, *Kazemi Poshtmassari et al.*). در مقابل، برخی دیگر از محققان گزارش کردند که شاخص برداشت برنج تحت تاثیر معنی‌دار مقدار نیتروژن قرار گرفت (2007, *Faraji et al.*; 2011, *Mohammadian roshan*; 2015, *Panahi et al.*).

#### مساحت برگ پرچم

مساحت برگ پرچم به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲). حداکثر مساحت برگ پرچم در تناوب کشت شبدر برسیم - برنج (۲۴۸/۶ سانتی‌متر مربع در کپه) مشاهده شد، در حالی که، حداقل آن به‌ترتیب در تناوب کشت باقلا - برنج (۱۸۴/۸ سانتی‌متر مربع در کپه) و آیش - برنج

(2015, *Kazemi Poshtmassari et al.*) و مقدار نیتروژن (2007, *al.*) بر وزن هزار دانه گزارش شده است. به نظر می‌رسد که تفاوت در عواملی از قبیل رقم مورد بررسی در هر یک از آزمایش‌ها، شرایط اقلیمی سال انجام آزمایش، میزان مصرف نیتروژن و خصوصیات خاک از قبیل درصد ماده آلی و درصد نیتروژن خاک سبب شده است که نتایج متفاوتی توسط محققان در زمینه تاثیر نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد برنج گزارش شود.

#### عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت

اثر محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن بر عملکرد بیولوژیک در سطح یک درصد معنی‌دار بود. در مقابل، کلیه اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). عملکرد بیولوژیک برنج در تناوب کاشت شبدر برسیم - برنج و آیش - برنج به‌ترتیب ۲۶ و ۲۱ درصد بیشتر از عملکرد بیولوژیک در تناوب کشت باقلا - برنج بود (جدول ۳). البته اختلاف معنی‌داری در عملکرد بیولوژیک برنج در بین تناوب کشت شبدر برسیم - برنج و آیش - برنج از لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۳). عملکرد بیولوژیک برنج در اثر کاربرد باکتری آزوسپریلوم به میزان ۱۳ درصد افزایش یافت و از ۱۲۷۸۳ به ۱۴۴۳۳ کیلوگرم در هکتار رسید (جدول ۳). گزارش شده است که با کاربرد کود زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد گیاه، عملکرد بیولوژیک برنج به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (2015, *Panahi et al.*; 2015, *Mukhopadhyay et al.*). با افزایش مقدار نیتروژن از ۵۰ به ۷۵ درصد از مقدار توصیه شده، عملکرد بیولوژیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مصرف بیشتر نیتروژن اگرچه باعث افزایش عملکرد بیولوژیک گردید، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳). مطابق نتایج این آزمایش، مبصر و همکاران



معنی‌دار بود (جدول ۲). درصد نیتروژن برگ پرچم در صورت کاشت برنج پس از شبدر برسیم و آیش به‌طور معنی‌داری بیشتر از درصد برگ پرچم در صورت کشت برنج پس از باقلا بود (جدول ۳). حداکثر درصد نیتروژن برگ پرچم در صورت مصرف نیتروژن به میزان ۱۰۰ درصد از مقدار توصیه شده در هکتار و حداقل آن در صورت مصرف ۷۵ و ۵۰ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده در هکتار مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که افزایش فراهمی نیتروژن در اثر کشت شبدر برسیم و مصرف کود نیتروژنه سبب بهبود وضعیت نیتروژن در برگ پرچم گردید. با توجه به رابطه مثبت بین میزان نیتروژن برگ و سرعت فتوسنتز برگ (Gamier et al., 1999)، افزایش درصد نیتروژن برگ پرچم می‌تواند منجر به افزایش تولید ماده فتوسنتزی و در نهایت افزایش عملکرد دانه گردد. گزارش شده است که با افزایش مصرف نیتروژن، غلظت نیتروژن برگ پرچم در رقم خزر افزایش یافت (Ali abbasi et al., 2007).

#### درصد و میزان جذب نیتروژن در دانه

درصد نیتروژن دانه تاثیر معنی‌دار محصول قبلی و مقدار نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲). درصد نیتروژن دانه در صورت کاشت برنج پس از شبدر برسیم به‌طور معنی‌داری بیشتر از مقدار آن در صورت کاشت پس از باقلا و آیش بود. احمد و همکاران گزارش کردند که با کشت گندم پس از بقولات، درصد نیتروژن دانه افزایش یافت (Ahmad et al., 2001). همچنین، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی‌داری در درصد نیتروژن دانه در صورت کاربرد و عدم کاربرد باکتری آزوسپریلوم مشاهده نشد (جدول ۳). این نتایج، مطابق با نتایج دیگر محققان نبود (Panahi et al., 2015). اختلاف معنی‌داری در درصد نیتروژن دانه در مقادیر ۷۵ و ۵۰ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده مشاهده نشد، اما

(۲۰۸/۶ سانتی‌متر مربع در کپه) مشاهده شد (جدول ۳). در ضمن، اختلاف معنی‌داری در مساحت برگ پرچم در بین تناوب کشت باقلا - برنج و آیش - برنج مشاهده نشد. مصرف باکتری آزوسپریلوم سبب افزایش معنی‌دار مساحت برگ پرچم به میزان ۱۵ درصد گردید (جدول ۳). با افزایش مصرف نیتروژن از ۵۰ به ۷۵ درصد از مقدار توصیه شده، افزایش معنی‌داری در سطح برگ پرچم مشاهده نشد. با مصرف بیشتر نیتروژن (۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) مساحت برگ پرچم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳). برگ پرچم آخرین برگ است که در غلات ظاهر می‌شود و برخلاف برگ‌های دیگر گیاه تا زمان رسیدگی گیاه، سبز است و موجب می‌شود که مواد فتوسنتزی زیادی در هنگام رسیدگی برای گیاه فراهم شود. ضمن آن که موقعیت مکانی آن در گیاه در ارتباط با جذب نور و نیز نزدیکی آن به خوشه باعث می‌شود که قسمت اعظم مواد فتوسنتزی آن به خوشه منتقل شود. به‌طور کلی، برآورد شده است که حدود ۶۰ درصد از آسیمیلات مورد نیاز جهت پر شدن دانه به‌وسیله فرآیند فتوسنتز پس از گرده افشانی فراهم می‌شود که برگ پرچم نقش مهمی در این امر دارد (Liu et al., 2013). در نتیجه، با توجه به نقش مهم برگ پرچم در عملکرد غلات و از جمله برنج، افزایش سطح برگ پرچم در صورت کاشت پس از شبدر برسیم و نیز مصرف نیتروژن منجر به افزایش عملکرد برنج گردید. اثر مثبت برگ پرچم بر عملکرد دانه برنج قبلاً نیز گزارش شده است (Sabori et al., 2005). برخی محققان گزارش کردند که بین سطح برگ پرچم و عملکرد شلتوک برنج یک رابطه خطی وجود دارد (Ali abbasi et al., 2007).

#### درصد نیتروژن برگ پرچم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محصول قبلی و مقدار نیتروژن بر درصد نیتروژن برگ پرچم

با افزایش مصرف نیتروژن از ۵۰ به ۱۰۰ درصد از مقدار توصیه شده در هکتار مقدار نیتروژن جذب شده در دانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از ۴۳/۳ به ۵۱/۶ کیلوگرم در هکتار رسید. به‌طور مشابه، گزارش شده است که با افزایش مصرف نیتروژن، میزان نیتروژن جذب شده در دانه افزایش یافت (Choudhury and Khanif, 2004).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از شبدر برسیم نسبت به شرایط آیش معنی‌دار نبود، در حالی که عملکرد برنج در صورت کاشت آن پس از باقلا به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تلقیح برنج با باکتری‌های آزوسپریلوم لیپوفروم سبب افزایش معنی‌دار عملکرد شلتوک به میزان ۱۴ درصد گردید. با افزایش مصرف نیتروژن از ۵۰ به ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، عملکرد شلتوک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از ۶۷۳۴ به ۷۴۵۶ کیلوگرم در هکتار رسید. مصرف بیشتر نیتروژن اثر معنی‌داری بر عملکرد شلتوک نداشت. با توجه به نتایج این آزمایش، حداکثر عملکرد برنج با مصرف باکتری آزوسپریلوم به همراه مصرف ۷۵ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده به‌دست آمد.

### سپاس‌گزاری

مقاله حاضر، حاصل از طرح پژوهشی می‌باشد که اعتبار مالی آن توسط باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد رشت تامین شده است، که بدین وسیله سپاس‌گزاری می‌شود.

با افزایش مصرف مقدار نیتروژن از ۷۵ به ۱۰۰ درصد از مقدار نیتروژن توصیه شده، درصد نیتروژن دانه به میزان هشت درصد افزایش یافت (جدول ۳). این نتایج با نتایج سایر محققان (Lo'pez-Bellido *et al.*, 2004) مطابقت دارد. همچنین، در یک آزمایش دیگر مشخص شد که با افزایش مصرف نیتروژن از صفر به ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، غلظت نیتروژن دانه از ۱/۲۱ درصد به ۱/۳۶ درصد افزایش یافت (Weerakoon *et al.*, 2005). میزان جذب نیتروژن در دانه تحت تاثیر معنی‌دار محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲). حداکثر میزان جذب نیتروژن دانه نیز در صورت کاشت برنج پس از شبدر برسیم حاصل شد (جدول ۳). اگرچه درصد نیتروژن دانه تحت تاثیر معنی‌دار باکتری آزوسپریلوم قرار نگرفت، اما با کاربرد باکتری آزوسپریلوم میزان نیتروژن جذب شده در دانه به‌طور معنی‌داری (۱۸ درصد) افزایش یافت (جدول ۳). علت این امر افزایش عملکرد دانه در اثر مصرف باکتری آزوسپریلوم بود که این افزایش منجر به افزایش معنی‌دار میزان نیتروژن جذب شده در دانه گردید. برخی از محققان گزارش کردند که تغییرات مورفولوژیکی ایجاد شده در ریشه بوته‌های برنج تلقیح شده با آزوسپریلوم از قبیل افزایش تعداد، طول و ضخامت ریشه سبب افزایش جذب نیتروژن در گیاه و در نهایت منجر به افزایش نیتروژن جذب شده در دانه گردید (Biswas *et al.*, 2000). افزایش نیتروژن جذب شده در دانه در اثر مصرف کودهای زیستی توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Cong *et al.*, 2009; Panahi *et al.*, 2009).

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی (۰-۳۰ سانتی‌متر) خاک محل انجام آزمایش

Table 1- Some soil physico-chemical characteristics (0-30 cm depth) at the research location

ماده آلی OC (%)	اسیدیته pH	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	هدایت الکتریکی EC(dS m <sup>-1</sup> )	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر قابل جذب P (mg kg <sup>-1</sup> )	پتاسیم قابل جذب (mg kg <sup>-1</sup> )
2.2	7.6	19.6	50	30.4	2.49	0.138	6.1	88

جدول ۲- میانگین مربعات اثر محصول قبلی، باکتری آزوسپریلوم و مقدار نیتروژن بر صفات اندازه‌گیری شده در برنج

**Table 2-** Mean squares for the effect of previous crop, *Azospirillum* inoculation and N rate on measured traits in rice

منابع تغییرات (Source of Variance)	df	باروری خوشه (Panicle fertility)	تعداد دانه پر در خوشه (filled grain number per panicle)	تعداد خوشه در متر مربع (Panicle number per m <sup>2</sup> )	عملکرد شلتوک (Grain yield)	وزن هزار دانه (Thousand grain weight)	عملکرد بیولوژیک (Biological yield)
تکرار (Repeat)	2	11 <sup>ns</sup>	54 <sup>ns</sup>	373 <sup>ns</sup>	3110949 <sup>ns</sup>	2.63 <sup>ns</sup>	2374093 <sup>ns</sup>
محصول قبلی Previous crop (P)	2	12 <sup>ns</sup>	386 <sup>*</sup>	17359 <sup>**</sup>	10364497 <sup>*</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	47229567 <sup>**</sup>
خطای اصلی (Main error)	4	6	65	953	1119316	2.15	2369069
مقدار نیتروژن N rate (N)	2	24 <sup>ns</sup>	82 <sup>ns</sup>	8700 <sup>**</sup>	*2441242	0.07 <sup>ns</sup>	10611390 <sup>**</sup>
آزوسپریلوم Azospirillum (A)	1	24 <sup>ns</sup>	8 <sup>ns</sup>	75413 <sup>**</sup>	**12009576	0.17 <sup>ns</sup>	36771902 <sup>**</sup>
P × N	4	10 <sup>ns</sup>	251 <sup>ns</sup>	184 <sup>ns</sup>	162244 <sup>ns</sup>	0.35 <sup>ns</sup>	315912 <sup>ns</sup>
P × A	2	18 <sup>ns</sup>	6 <sup>ns</sup>	445 <sup>ns</sup>	730766 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	4215315 <sup>ns</sup>
A × N	2	13 <sup>ns</sup>	102 <sup>ns</sup>	870 <sup>ns</sup>	118269 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	998988 <sup>ns</sup>
P × N × A	4	19 <sup>ns</sup>	93 <sup>ns</sup>	229 <sup>ns</sup>	394186 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	2484799 <sup>ns</sup>
خطا (Error)	30	12	114	290	445150	0.41	1257358
ضریب تغییرات (%) CV		4.7	10.8	5.0	9.3	2.2	8.2

ns, \* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد است.

ns, \* and \*\* represent non-significant, significant at 5 and 1% probability level, respectively

### ادامه جدول ۲

**Table 2-** Continued

منابع تغییرات (Source of Variance)	df	نیتروژن جذب شده در دانه (Grain N Uptake)	غلظت نیتروژن دانه (Grain N Concentration)	غلظت نیتروژن برگ (Leaf N Concentration)	مساحت برگ پرچم (Flagleaf Area)	شاخص برداشت (Harvest index)
تکرار (Repeat)	2	860 <sup>ns</sup>	0.024 <sup>ns</sup>	0.062 <sup>ns</sup>	732 <sup>ns</sup>	54 <sup>ns</sup>
محصول قبلی Previous crop (P)	2	5080 <sup>**</sup>	0.254 <sup>**</sup>	0.120 <sup>**</sup>	18704 <sup>*</sup>	10 <sup>ns</sup>
خطای اصلی (Main error)	4	125	0.019	0.003	1663	18
مقدار نیتروژن N rate (N)	2	864 <sup>**</sup>	0.069 <sup>*</sup>	0.122 <sup>**</sup>	3177 <sup>*</sup>	44 <sup>ns</sup>
آزوسپریلوم Azospirillum (A)	1	3215 <sup>**</sup>	0.027 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	12726 <sup>**</sup>	7 <sup>ns</sup>
P × N	4	50 <sup>ns</sup>	0.008 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	1598 <sup>ns</sup>	10 <sup>ns</sup>
P × A	2	167 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	216 <sup>ns</sup>	5 <sup>ns</sup>
A × N	2	53 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	618 <sup>ns</sup>	29 <sup>ns</sup>
P × N × A	4	90 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	222 <sup>ns</sup>	19 <sup>ns</sup>
خطا (Error)	30	76	0.017	0.009	728	18
ضریب تغییرات (%) CV		12.9	9.1	7.1	12.6	8.7

ns, \* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد است.

ns, \* and \*\* represent non-significant, significant at 5 and 1% probability level, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر محصول قبلی، باکتری آزوسپیریلوم و مقدار نیتروژن بر صفات اندازه‌گیری شده در برنج  
**Table 3-** Mean comparison for the effect of previous crop, *Azospirillum* inoculation, and N rate on measured traits in rice

عملکرد دانه Grain yield (kg ha <sup>-1</sup> )	تعداد خوشه در متر مربع Panicle number per m <sup>2</sup>	تعداد دانه پر در خوشه Grain number per panicle	درصد باروری خوشه Panicle fertility (%)	وزن هزار دانه Thousand grain weight (g)	عملکرد بیولوژیک Biological Yield (kg ha <sup>-1</sup> )
محصول قبلی (previous crop)					
7674.1 a	359.2 a	103.4 a	77.1 a	28.1 a	14811 a
6269.8 b	302.3 b	94.2 b	78.2 a	28.3 a	11766 b
7470.4 a	352.5 a	98.5 ab	76.5 a	28.3 a	14246 a
<i>Azospirillum lipoferum</i>					
7609.7 a	375.4 a	98.3 a	77.9 a	28.3 a	14433 a
6666.5 b	300.6 b	99.1 a	76.6 a	28.2 a	12783 b
مقدار نیتروژن (درصد از مقدار توصیه شده) N rate (percent of the recommended rates)					
7223.8 a	360.4 a	101.1 a	78.3 a	28.1 a	14240 a
7456.0 a	337.1 b	97.8 a	76.0 a	28.2 a	13830 a
6734.6 b	316.5 c	97.1 a	77.5 a	28.3 a	12753 b

## ادامه جدول ۳-

Table 3- Continued

نیتروژن جذب شده در دانه Grain N Uptake (kg ha <sup>-1</sup> )	غلظت نیتروژن دانه Grain N Concentration (%)	غلظت نیتروژن برگ Leaf N Concentration (%)	مساحت برگ پرچم Flagleaf Area (Cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	شاخص برداشت Harvest index (%)
محصول قبلی (previous crop)				
109.4 a	1.58 a	1.35 a	248.6 a	51.9 a
76.0 b	1.43 b	1.23 b	184.8 b	53.4 a
96.2 b	1.34 b	1.39 a	208.6 b	52.4 a
<i>Azospirillum lipoferum</i>				
101.6 a	1.47 a	1.33 a	229.4 a	52.9 a
86.1 b	1.43 a	1.32 a	198.7 b	52.2 a
مقدار نیتروژن (درصد از مقدار توصیه شده) N rate (percent of the recommended rates)				
99.8 a	1.52 a	1.36 a	227.6 a	50.9 a
95.5 a	1.41 b	1.30 a	213.5 ab	54.0 a
86.2 b	1.41 b	1.28 b	201.0 b	52.8 a

## References

## منابع مورد استفاده

- 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: 245–248.
- Ali Abbasi H.R., M. Esfahani, B. Rabiei, and M. Kavousi. 2007. Effect of Nitrogen Fertilizing Management on Rice (Cv. Khazar) Yield and Its Components in a Paddy Soil of Guilan Province. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources - Isfahan University of Technol.* 10 (4): 293-307. (In Persian).
- Balandreau, J. 2002. The spermosphere model to select for plant growth promoting rhizobacteria. In: *Biofertilisers in action*. Kennedy, I.R., and A.T.M.A. Choudhury (eds.) pp: 55–63. Rural Industries Research and Development Corporation, Canberra.
- Bashan, Y., and L.E. de-Bashan .2020. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. *Advances in Agronomy*. 108:77-136.
- Biswas J.C., J.K. Ladha, F.B. Dazzo, Y.G. Yanni, and B.G. Rolfe. 2000. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal*. 92: 880–886.
- Choudhury, A.T.M.A., and I.R. Kennedy. 2004. Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. *Biology and Fertility of Soils*. 39: 219–227.
- Choudhury, A.T.M.A, and Y.M. Khanif. 2001. Evaluation of the effects of nitrogen and magnesium fertilization on rice yield and fertilizer nitrogen efficiency using <sup>15</sup>N tracer technique. *Journal of Plant Nutrition*. 24:855–871.
- Choudhury A.T.M.A., Y.M. Khanif, H. Aminuddin, and W. Zakaria. 2002. Effects of copper and magnesium fertilization on rice yield and nitrogen use efficiency: a 15N tracer study. In: *Proceedings of the 17<sup>th</sup> World Congress of Soil Science, Bangkok, Thailand Symposium no. 50, paper no. 226, pp 1–10.*
- Cong P.T., T.D. Dung, T.M. Hien, N.T. Hien, A.T.M.A. Choudhury, M.L. Kecskés, and I.R. Kennedy. 2009. Inoculant plant growth-promoting microorganisms enhance utilization of urea-N and grain yield of paddy rice in southern Vietnam. *European Journal of Soil Biology*. 45: 52–61.
- Danga, B.O., J.P. Ouma, I.I.C. Wakindiki, and A. Bar-Tal. 2009. Legume– wheat rotation effects on residual soil moisture, nitrogen and wheat yield in tropical regions. *Advances in Agronomy*. 101: 315-349.
- Dowling, N.G., S.M. Greenfield, and K.S. Fisher. 1998. Sustainability of rice the global food system. 1<sup>st</sup> Ed. Los Banos, Philippines.
- Evans, J., N.A. Fettell, D.R. Coventry, G.E. O'Connor, D.N. Walscott, J. Mahoney, and E.L. Armstrong. 1991. Wheat response after temperate crop legumes in southeastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. 42: 31–43.
- FAO (Food and Agricultural Organization). 2013. FAOSTAT statistics database [Online]. Available at <http://faostat.fao.org>
- Faraji, H., G.H. Siyadat, and A. Fathi. 2000. Effects of mode of application of nitrogen fertilizer on yield and yield components of two genotypes modify the conditions of Ahvaz. *Crop Science Congress*. 344-345. (In Persian).

- Fyson, A., and A. Oaks. 1990. Growth promotion of maize by legume in soils. *Plant and Soil*. 122: 259–266.
- Garnier, E., J.L. Salager, G. Laurent, and Â .L. Sonie. 1999. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *New Phytologist*. 143: 119-129.
- Hayat, R., S. Ali, M.T. Siddique, and T.H. Chatha. 2008a. Biological nitrogen fixation of summer legumes and their residual effects on subsequent rainfed wheat yield. *Pakistan Journal of Botany*. 40 (2): 711–722
- Hayat, R., S. Ali, S.S. Ijaz, T.H. Chatha, and M.T. Siddique. 2008b. Estimation of N<sub>2</sub>-fixation of mung bean and mash bean through xylem uriede technique under rainfed conditions. *Pakistan Journal of Botany*. 40 (2): 723–734.
- Kazemi Poshtmassari, H., H. Pirdashti, M.A. Bahmanyar, and M. Nasiri. 2007. Study the effects of nitrogen fertilizer rates and split application on yield and yield components of different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Pajouhesh & Sazandegi*. 75: 68-77. (In Persian).
- Kessel, C.V., and C. Hartley. 2000. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crops Research*. 65: 165-181.
- Ladha, J.K., R.B. So, and I. Watanabe. 1987. Composition of *Azospirillum* species associated with wetland rice plant grown in different soils. *Plant and Soil*. 102:127–129.
- Lifang, H., S. Fan, Z. Zongsheng, and F. Libo. 2000. A systematic approach to balancing soil in Broad bean-Rice rotation in Yunnan. *Bet. Better Crops- International Plant Nutrition Institute*. 14(2): 55-71.
- Liu, Q.H., X. Wu, T. Li, J.Q. Ma, and X.B. Zhou. 2013. Effects of elevated air temperature on physiological characteristics of flag leaves and grain yield in rice. *Chilean Journal Agricultural Research*. 73(2):85-90.
- Lo´pez-Bellido R.J., L. Lo´pez-Bellido, J.E. Castillo, and F.J. Lo´pez-Bellido. 2004. Chickpea response to tillage and soil residual nitrogen in a continuous rotation with wheat II. Soil nitrate, N uptake and influence on wheat yield. *Field Crops Research*. 88: 201–210.
- Malik, K.A., M.S. Mirza, U. Hassan, S. Mehnaz, G. Rasul, J. Haurat, R. Bally, and P. Normand. 2002. The role of plant-associated beneficial bacteria in rice-wheat cropping system. *Biofertilisers in action*, Kennedy, I.R., and A.T.M.A. Choudhury (eds.). pp: 73–83. Rural Industries Research and Development Corporation, Canberra.
- Mann, R.A., M.S. Zia, and M. Salim. 2000. New dimensions in green manuring for sustaining the productivity of rice wheat system. *Proc. Symp. Integrated Plant Nutrition Management*. Ahmad, N. and A. Hamid (eds.). November 8-10, 1999, pp: 166-185. NFDC, Islamabad, Pakistan.
- Mirza, M.S., G. Rasul, S. Mehnaz, J.K. Ladha, R.B. So, S. Ali, and K.A. Malik. 2000. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. In “The Quest for Nitrogen Fixation in Rice. Ladha, J.K., and P.M. Reddy (eds.). pp: 191–204. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Mobasser, H.R., G. Noor mohamadi, V.M. Fallah, F. Darvish, and E. Majidi. 2005. Effects of nitrogen rates and splitting on grain yield of rice (*oryza sativa* L.) Var. Tarom Hashemi. *Journal of Agricultural Science*. 11(3): 109-113. (In Persian).

- Mohammadian Roshan, N., E. Amiri, M. Sadeghi, M. Moradi, and A. Azarpour. 2011. Investigation the effect of N rate and N split application on yield and agronomic characteristics of rice (cv. Hashemi). *Bio-Science Journal*. 5(4): 131-144. (In Persian).
- Mostafavi Rad, M., and Z. Tahmasbi Sarvastani. 2003. Investigation of nitrogen fertilizer on yield, yield components and dry matter remobilization in three rice genotypes. *Journal of Agricultural Science and Natural Research*. 10(2), 21-31. (In Persian).
- Nahvi, M., N. Davatgar, F. Derighgoftar, A. Sheikhhosseinian, and M. Abbasian 2012. Determination of N fertilization demand in wheat by leaf color diagram. *Journal of Grain and Plant Improvement*. 28(2): 53-68. (In Persian).
- Nahvi, M., S. Babazadeh, and H. Sabouri. 2010. Effect of rate and split application of nitrogen fertilizer on yield and yield components in (Bahar) hybrid rice cultivar. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 8(5):845-854. (In Persian).
- Nayak, D.N., J.K. Ladha, and I. Watanabe. 1986. The fate of marker *Azospirillum lipoferum* inoculated into rice and its effect on growth, yield and N<sub>2</sub> fixation of plants studied by acetylene reduction, <sup>15</sup>N<sub>2</sub> feeding and <sup>15</sup>N dilution techniques. *Biology and Fertility of Soils*. 2:7-14.
- 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.
- Peoples, M.B., and D.F. Herridge. 1990. Nitrogen fixation by legumes in tropical and sub-tropical agriculture. *Advances in Agronomy*. 44: 155-223.
- Reeves T.G., S.R. Waddington, I. Ortiz-Monasterio, M. Bañziger, and K. Cassaday. 2002. Removing nutritional limits to maize and wheat production: A developing country perspective, Rural Industries Research and Development Corporation, Barton, ACT.
- Rodrigues, E.P., L.S. Rodrigues, A.L.M. de Oliveira, V.L.D. Baldani, K.R.D. Teixeira, S. Urquiaga, and V.M. Reis. 2008. *Azospirillum amazonense* inoculation: Effects on growth, yield and N<sub>2</sub>-fixation of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil*. 302: 249-261.
- Sabori, H., A. Rezai, S.A.M. Mirmohammady Maibody, and M. Esfahani. 2005. Path analysis for rice grain yield and related traits in tow planting patterns. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources - Isfahan University of Technol*. 9(1):113-129. (In Persian).
- Shrestha R.K., and J.K. Ladha. 1998. Nitrate in groundwater and integration of nitrogen-catch crop in rice-sweet pepper cropping system. *Soil Science Society of American Journal*. 62:1610-1619.
- Tabrizi, A.A., G. Nour Mohammadi, and H.R. Mobasser. 2015. Effects of different cropping systems on fertility of paddy soil. *Journal of Crop Ecophysiology*. 9(2): 191-202. (In Persian).
- Teimoorian, M., M. Galavi, H. Pirdashti, and M. Nasiri 2009. Yield and yield components of three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars in response to source-sink limitations and different nitrogen fertilizer. *Journal of Plant Production*. 16(3): 49-66. (In Persian).
- Weerakoon, W.M.W., K.T. Ingram, and D.N. Moss. 2005. At-mospheric CO<sub>2</sub> concentration effects on N partitioning and fertilizer N recovery in field grown rice (*Oryza sativa* L.). *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 108: 342-349.
- Yasuda, M., T. Isawa, S. Shinozaki, K. Minamisawa, and H. Nakashita. 2009. Effects of colonization of a bacterial endophyte, *Azospirillum* sp. B510, on disease resistance in rice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 73: 2595-2599.

## Effect of *Azospirillum lipoferum* Inoculation, Previous Crop, and Usage Nitrogen on Rice (*Oryza sativa* L.) Growth and Yield

Milad Javadi<sup>1</sup>, and Hashem Aminpanah<sup>2\*</sup>

Received: November 2015, Revised: 5 March 2016, Accepted: 9 March 2016

### Abstract

Incorporation of winter legume crops in rotation with rice and using plant growth-promoting rhizobacteria can be a proper alternative approach in increasing sustainable crop production in rice fields. A split factorial field experiment using randomized complete block design with three replications was conducted at the Rice Research Station of Tonekabon, Mazandaran province, Iran, in 2014 to evaluate the effects of previous crop, *Azospirillum lipoferum* inoculation, and N rate on growth and seed yield of rice (*Oryza sativa* L. cv. Shiroudi). Main plots were consisted of previous crop [berseem clover, faba bean, and control (fallow)] and subplots of *Azospirillum lipoferum* (Inoculated and Un-inoculated) and recommended rate of N applications (50, 75, and 100 kg.ha<sup>-1</sup>). Analysis of variance showed that rice paddy yield was significantly affected by previous crop, *Azospirillum lipoferum* and N rate. Result also showed that rice paddy yield was increased only by 3% when rice was planted after berseem clover as it compared with rice plant after fallow. However, rice paddy yield was significantly reduced by 16% when it was planted after faba bean as compared to that it was planted after fallow. Rice paddy yield was significantly increased by 14% after *Azospirillum lipoferum* inoculation. Rice paddy yield was significantly increased by 11% when N application increased from 50 to 75 kg N ha<sup>-1</sup>, and further N application (100 kg N ha<sup>-1</sup>) did not affect paddy yield significantly. Based on the result of this experiment, planting rice after berseem clover, *Azospirillum lipoferum* inoculation and application of kg N ha<sup>-1</sup> of recommended rates can be used to obtain highest paddy yield in the experimental site.

**Key words:** Biological N<sub>2</sub> fixation, Legume-rice rotations, Plant growth-promoting rhizobacteria, Sustainable crop production.

1- Young Researchers and Elite Club, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

\* Corresponding Author: haminpanah@yahoo.com & aminpanah@iaurasht.ac.ir