

BİOLOGİYA

BİRİLLİK YONCA KÖKLƏRİNDƏ AZOTUN MƏNİMSƏNİLMƏSİ

ƏMİR HÜSEYN QURBANİ¹, N.A.QASIMOV²*İran İslam Respublikası¹, Bakı Dövlət Universiteti²*

Tədqiqatlar, birillik yoncanın Medicago rigidula növündə müxtəlif ştamlı (MR, M3, M15, M29, WSM54) rizobiumların atmosfer azotunun mənimsənilməsində effektivliyinin öyrənilməsinə həsr olunmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, İranın soyuq bölgələrində bu növdən olan yoncanın otlaqlarının yaradılması üçün ən əlverişli rizobium-MR hesab olunur.

Atmosferdə çox böyük miqdarda ehtiyat halında olan azotdan (N_2) bitkilərin əksəriyyəti istifadə edə bilmir. Ondan, ancaq sərbəstyaşayan, yaxud ali bitkilərlə simbiotrof münasibətdə olan bakteriyalar, aktinomisetlər, həmçinin bəzi göy-yaşıl yosunlar və maya göbələkləri istifadə edir [2]. Bu orqanizmlər müxtəlif metabolik tiplərə məxsusdur. Göy-yaşıl yosunlar və fotosintezedicilə bakteriyalar avtotrof, Azotobakter Chroococcum heterotrof və aerob, Clostridium pasteurianum isə heterotrof və anaerobdur. Bakteriyalardan Rhizobium, demək olar ki, bütün paxlalı bitkilərlə simbiotik əlaqədə olur. Hər il orta hesabla hər hektarda 20-40 kq N_2 sərbəstyaşayan, 200 kq azot isə simbiotik bakteriyalar tərəfindən mənimsənilir [1].

Azotun bitkilər tərəfindən mənimsənilməsi bir sıra endogen və ekzogen amillərin təsirindən asılıdır. Belə ki, torpaqda NaCl-un miqdarının artması ($\geq 0,25$ M/l) bitkilərin böyüməsinə və N_2 -nin təsbitinə ləngidici təsir edir [8]. Bununla belə, atmosfer azotunun paxlalılarda mənimsənilməsini sitokininin sintetik analoqu olan DQ-480 ($5 \cdot 10^{-5}$ q/l) maddəsi və fenollu birləşmələr sürətləndirir [4,6].

Müxtəlif cür bioloji aktivliyə malik olan ştamlar da bitkilərin kökündə N_2 -nin mənimsənilməsində müxtəlif dərəcədə iştirak edirlər [3,5]. Azotun bitkilər tərəfindən mənimsənilməsi prosesinə mühitin temperaturunun da xeyli təsiri vardır [6].

İranın qərb bölgəsinin ən əlverişli yem bitkilərindən biri də birillik yoncadır. Birillik yoncalar «kəpənəkçiçəklilər» fəsiləsinə aid olub, torpaqdakı mikroorqanizmlərlə birgəyaşayışı təmin etmək üçün torpaqdakı azotdan başqa, həm də atmosfer azotundan da kökyumruları vasitəsilə istifadə edir və torpağın məhsuldarlığını artırır. Odur ki, bu növ bitkilərin əkin sahələrində istifadəsinin genişlənməsi, otlaqların sıradan çıxmasının qarşısını alır, dəmyə şəraitdə otlaqların yaradılmasına, torpaq sürüşməsinin qarşısının alınmasına və bütövlükdə torpağın münbitliyinin artırılmasına da imkan verir.

«Cinerasens, Submitis, Rigidula, Agriestis» yonca növləri, İran ərazisində geniş yayılmış bitkilər olub, hündürlüyü 10-40 sm-ə qədərdir. Yarpaqları yumurtavarı, çiçəkləri narıncı, genetik baxımdan «diploid» və $2n=2x=16$ xromosomludur. Bu növlər İranın əsasən qərb bölgələrində daha çox əkilir. Birillik yoncalardan «Medicago rigidula» növü, çox otarılmış otlarlarda, yol kənarlarında, dəniz səviyyəsindən 1500 m hündürlüklərdə yerləşən ərazilərdə, həmçinin iqlim şəraiti soyuq olan bölgələrdə daha çox istifadə olunur.

Aparılan bu tədqiqat işinin əsas məqsədi, birillik yonca köklərində rizobium ştamlarının simbiotik yaşayışına əsaslanaraq, İranın şimal və soyuq bölgələrində məhsuldar otların yaradılması üçün əlverişli ştamların seçilməsidir.

Tədqiqatın obyektləri və metodları

Tədqiqat işləri iki variantda: çöldə və istixana şəraitində 5 rizobium ştamları ilə (yerli-MR, M15, M3, M29, WSM54) aparılmış və əsasən birillik yoncanın Medicago rigidula- növündən istifadə olunmuşdur. Tədqiqat zamanı köklərdə əmələ gələn yumruların miqdarı, həmçinin bitkinin kök və gövdəsinin quru çəkisi hesablanmışdır.

a) Yerli –MR rizobiumların alınması və çoxaldılması:

Birillik yoncanın 4 növünün (M.oragusa, M.rigidula, M.polymorpha, M.sutellata) toxumları əvvəlcə 95% etanolda 10 saniyə müddətində, sonra isə 3 saniyə ərzində 2%-li HgCl-məhlulunda sterilləşdirilir, 4-5 dəfə su ilə yuyulur və yaxşıca qurudulur. Sonra, 8 ədəd təmiz və sterilləşdirilmiş qabların içərisi, şəhərdən 45 km aralı olan otlarlardan gətirilmiş torpaqla doldurulur. Torpaqla doldurulmuş hər bir qaba steril toxumlardan 25 ədəd basdırılır. Toxum əkilən qablar suvarılır və rütubət 70%, temperatur isə 25°C-də saxlanılır. 30 gündən sonra cücərtilər torpaqla birlikdə qablardan çıxarılır və bitkilərin kökləri su ilə yuyulur. Bundan sonra kök sistemindəki yumruları- rizobiumları kökdən ayırırlar. Kökdən ayrılmış rizobiumları qidalı mühitdə yetişdirmək üçün 0,2q MgSO₄, 1q KHPO₄, 10q mannit, 0,1q NaCl, 15q aqar 900 ml təmiz suda həll edilir və 15 dəqiqə avtoklavda sterilləşdirildikdən sonra soyuq halda rizobiumlarla birlikdə sınaq şüşəciyinə əlavə olunur. Sınaq şüşəciyinin ağzı bağlanır və 4 gün müddətində 28°C-də inkubatorada saxlanılır və bu şəraitdə rizobiumlar inkişaf edirlər.

b) İstixana şəraitində azotun mənimsənilməsinə rizobium ştamlarının təsirinin öyrənilməsi:

Bu məqsədlə aparılan təcrübələrdə 2,5 l-lik 15 qaba sterilə edilmiş kvars qumu doldurulur. «M.rigidula» yonca növünün steril toxumları hər bir qaba 2 sm dərinliyində basdırılır və hər gün bir dəfə azotsuz Hoaqland qidalı məhlulu əlavə olunur. Azotsuz Hoaqland məhlulunun tərkibi əvvəlcədən müəyyən edilir. Təcrübələrdə 5 rizobium ştamının: 1) mahabad-MR; 2)WSM54; 3)M29; 4)M3; 5)M15 üç təkrarla 3 qablarda cücərdilən «M.rigidula» yonca növünə təsirini öyrənmək üçün steril şəraitdə 5 ml təmiz su(distillə) sınaq şüşələrinə tökülür və bakteriya ştamları əlavə olunur. Beləliklə də, bakteriyalı sudan, pipetka vasitəsilə bir damla götürülür və toxumlar basdırılan qablarda gündə 2 dəfə olmaqla 60 gün müddətində əlavə edilir. 60 gündən sonra kök boğazından yuxarı bitkinin gövdəsini

kəsdikdən sonra kökünü ehtiyatla torpaqdan təmizləyib, kökyumrularını sayıb xüsusi paketlərə qablaşdırırlar. Bu qaydada kökləri 48 saat ərzində 72°C temperaturda qurudub çəkirlərini təyin edirlər.

c) Çöl təcrübələri:

Birillik yonca üçün ölçüləri 1,5-2m² olan sahə nəzərdə tutulmuşdur. Bitki toxumları 4 sırada 4 təkrarla səpilmiş və yoncanın 2 sırası arasında məsafə 25 sm, hər təkrarın uzunluğu 1m olmuşdur. İlk 2 həftədə hər gün 1 dəfə, sonralar isə, hər 5 gündə 1 dəfə sahələrdə suvarma aparılmışdır. Sentyabr ayının sonunda əkin sahəsindəki hər sıranın orta hissəsindən 40 sm seçilərək, təxminən 25 sm-ə çatmış bitkilər torpaqdan çıxarılıb, kökləri ehtiyatla su ilə yuyularaq 75°C-də 48 saat müddətində qurudulmuşdur. Bundan sonra həmin köklərdə azotun miqdarı Keldal, zülal isə Lauri [7] metodu ilə təyin edilmişdir.

Təcrübə nəticələri statistik işlənmiş, orta kvadratik kənarlanmalar 5%-dən çox olmamışdır.

Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi

Bəzi rizobiumların ştamları başqa ştamlara görə azotu daha çox mənimsəyə bilir. Mənimsənilən azotun miqdarı mühitin bir sıra amillərindən də asılıdır, lakin bu məsələ hələlik tam öyrənilməmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, birillik yoncanın hər bir növü özünə məxsus rizobium ştamı ilə simbiotik əlaqədə ola bilir və bu da onlarda atmosfer azotunun mənimsənilməsinə bilavasitə təsir edir (cədvəl 1).

Cədvəl 1

Birillik yoncanın –*M.rigidula* növünün köklərində rizobiumlarla simbiotik fəaliyyət zamanı azotun və zülalın miqdarı

Azot %-lə		Zülal %-lə		Rizobium ştamları
çöldə	istixanada	çöldə	istixanada	
2,134±0,10	2,216±0,11	13,34±0,70	14,350±0,71	MR
1,675±0,08	2,212±0,12	10,470±0,52	13,825±0,69	M3
2,763±0,14	2,016±0,10	17,275±0,86	12,600±0,63	M15
1,677±0,08	1,036±0,05	10,480±0,52	6,475±0,32	M29
—	1,372±0,07	—	8,575±0,43	WSM54
—	1,960±0,09	—	12,250±0,60	kontrol

1-ci cədvəldən aydın olur ki, birillik yoncanın *M.rigidula* növünün rizobium ştamları ilə simbiotik fəaliyyəti nəticəsində çöl və istixana şəraitində azotun və zülalların miqdarı arasında xeyli fərq olmuşdur. Belə ki, çöl şəraitində azotun mənimsənilməsi ən çox M15 ştamlı rizobiumda nəzərə çarpır. Yerli ştam olan MR isə M15-dən bir qədər geri qalır. Digər ştamlarda (M3, m29, WSM54) isə azotun mənimsənilməsi xeyli aşağıdır. Lakin istixana şəraitində azotun mənimsənilməsində daha yüksək nəticələr MR, M3 və M15 ştamları ilə alınmışdır. Zülalların miqdarına gəldikdə, çöl şəraitində ən yaxşı nəticələr M15, MR, istixanada isə daha yüksək miqdar MR, M3 və M15-də nəzərə çarpır. Maraqlıdır ki, soyuq iqlim şəraitinə uyğunlaşmış ştamlar çox nadir hallarda isti zonalarda bitən yonca növləri ilə simbiotik əlaqəyə girirlər və azotun

mənimsənilməsini həyata keçirirlər. Bunu 1-ci cədvəldən də görmək mümkündür. Məsələn, çöl və istixana şəraitində WSM54, M29 ştamları həm azotun, həm də zülalların miqdarı baxımından digər ştamlardan xeyli geri qalır. Beləliklə də, sahibkar bitkilər kimi bakteriya ştamları da isti və soyuq iqlim şəraitinə görə qruplara bölünür. Lakin bu cür bölgü nisbidir. Bəzi bitkilər soyuq və isti iqlim şəraitlərdə bir tip ştamlardan istifadə edə bilirlər.

Birillik yoncanın *M.rigidula* növü yerli mühitdə daha yaxşı uyğunlaşdığından odur ki, yerli rizobiumla çoxlu kökyumruları əmələ gətirir və atmosfer, həm də torpaqdakı azotdan daha yaxşı istifadə edə bilir (cədvəl 2).

Cədvəl 2

Yoncanın *M.rigidula* növündə müxtəlif ştamların, rizobiumların sayına, kök və gövdənin quru çəkisinə təsiri

Kökün quru çəkisi (q-la)	Gövdənin quru çəkisi (q-la)	Rizobiumların sayının orta qiyməti	Rizobium ştamları
12,833 ± 0,64	24,000 ± 1,50	6,433 ± 0,32	MR
13,916 ± 0,70	26,750 ± 1,20	1,900 ± 0,09	M3
14,733 ± 0,58	25,933 ± 1,30	1,260 ± 0,06	M15
7,166 ± 0,36	17,233 ± 0,76	0,746 ± 0,04	M29
16,666 ± 0,90	20,166 ± 0,98	1,500 ± 0,07	WSM54
9,500 ± 0,45	10,833 ± 0,54	0,883 ± 0,04	kontrol

Belə ki, MR-tipli rizobiumun əmələ gətirdiyi kökyumrularının sayı, qalan 4 ticarət markalı: M3, M15, M29 və WSM54 ştamların hər birinin əmələ gətirdiyi yumruların sayından bir neçə dəfə, kontrola nisbətən isə təxminən 7,3 dəfə çoxdur. Buradan belə nəticəyə gəlmək olar ki, soyuq iqlim şəraitində olan otlaqlarda yoncanın köklərində yumruların artırılması və azotun daha effektiv mənimsəməsi üçün yerli MR rizobiumlardan istifadə etmək əlverişli sayıla bilər.

Azotəsbətləşdirici rizobiumların müxtəlif ştamları yoncanın *M.rigidula* növündə kökyumrularının miqdarından başqa, kökün və gövdənin çəkisinə də müxtəlif cür təsir edirlər (cədvəl 2). Göründüyü kimi, kökün quru çəkisi ən çox WSM54 ştamında, gövdənin quru çəkisi isə M3 ştamında nəzərə çarpır. Yoncanın kök və gövdəsinin quru çəkisinin ən az miqdarı M29 ştamındadır.

Beləliklə, rizobiumların müxtəlif ştamları (MR, M3, M15, M29 və WSM54) ilə çöl və istixana şəraitində aparılan tədqiqatlar, İranın hündür və soyuq bölgələrində birillik yonca otlaqlarının yaradılmasında yerli torpaq-iqlim şəraitinə daha yaxşı uyğunlaşmış MR-ştamından istifadə olunmasına əsas verir.

ƏDƏBİYYAT

1. Qasımov N.A. Bitki fiziologiyası. Bakı, Maarif nəşr.,1986. s.280-281.
2. Либберт Э. Физиология растений. Изд. Мир. М.:1976. стр.263-264.

3. Жизневская Г.Я. и др. Симбиотическая азотфиксация и ассимиляция аммонийного азота у *rrbrb*, *rrRbRb* и *RRrbrb* – мутантов гороха. Физиол. раст. 50, №2. 2003, с.296-301.
4. Кругова Е.Д., Дульнев П.Г. Оптимизация симбиотической азотфиксации гороха синтетическим аналогом цитокинина. Физиол. и биохимия культ. раст. 33, №6, 2001, с. 522-528.
5. Маличенко С.М., Маменко П.М., Коць С.Я. Влияние различных по активности штаммов рода *M.radyrhizobium* на динамику лектиновой активности корневых клубеньков и функционирование азотфиксирующего аппарата люпина. Физиол. и биохимия культ.раст., 34, №6, 2002, с.511-516.
6. Макарова Л.Е., Латышева С.Е., Екимова Е.Г. Участие эндогенных фенольных соединений в реакции корней проростков гороха на инокуляцию *Rhizobium Leguminosarum* при разных температурах. Физиол.раст.2003, 50, №2, стр.291-295.
7. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. М.: 1975. стр.70-75.
8. Anthaper Annie, Du Bois John D. The effect of NaCl on growth N₂ fixation (Acetylene reduction) and percentage total nitrogen in *Leucaena leucocphala* (Leguminosae) var. K-8. Amer.J.Bot. 2003. 90. №5. 683-692.

АССИМИЛЯЦИЯ АЗОТА В КОРНЯХ ОДНОЛЕТНЕЙ ЛЮЦЕРНА

АМИР ГУСЕЙН КУРБАНИ, Н.А.КАСУМОВ

РЕЗЮМЕ

Исследование посвящено изучению эффективности разных штамм (MR, M3, M15, M29 и WCM54) ризобиев фиксирующих атмосферный азот у однолетнего вида люцерны (Медицаго ризидула). Установлено, что для создания пастбищ этого вида люцерны в холодных регионах Ирана более эффективным считается ризобиум-MR.

ASSIMILATION OF NITROGEN IN ROOTS ANNUAL PLANT OF LUCERNE

AMIR HUSEYN GURBANI, N.A.GASIMOV

ABSTRACT

The present research work dedicated to studying of effectiveness of different strains of risobiums fixed atmospheric nitrogen from annual species of Lucerne (*Medicago rigidula*). It was established that with purpose to create pastures of that species of Lucerne in cold regions of Iran, risobium-MR is considered more effective.