Archive of SID

نشریه زیست‌شناسی خاک / جلد 3 / شماره 1 / 1394

بررسی اثربخشی برخی از جدایه‌های ریزوبیوم بومی بر عملکرد باقلا در ایران

هوشنگ خسروی[1]، کامران میرزاشاهی، محمودرضا رمضانپور،

منوچهرکلهر و اسماعیل میررسولی

استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **hkhosravi@swri.ir**

مربی پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران؛ **kamranmirzashahi@yahoo.com**

استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران؛ **Mrramezanpour@yahoo.com**

مربی پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم‌آباد، ایران؛ **mkalhor25@yahoo.com**

کارشناس مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران؛ **e_mirrasouli@yahoo.com**

دریافت: **93/1/18** و پذیرش: **94/5/12**

چکیده

باکتری همزیست تثبیت کننده نیتروژن با باقلا *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* می‌باشد. در این پژوهش اثرتلقیح جدایه‌های بومی این باکتری بر رشد و عملکرد باقلا مورد بررسی قرار گرفت. مایه تلقیح به شکل پودری در حامل پرلیت و به روش تلقیح بذرمال استفاده شد. طرح‌های آزمایشی به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار مایه تلقیح، دو تیمار کود نیتروژنی100 و 200 کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و تیمار شاهد بدون تلقیح اجرا شد. آزمون‌ها به مدت دو سال در مزارع تحقیقاتی مراکز تحقیقات کشاورزی استان‌های خوزستان، لرستان، مازندران و گلستان انجام شد. باکتری‌های منتخب از این آزمون‌ها در سال سوم در مزارع کشاورزان نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در مناطق مختلف عملکرد محصول در اثر تلقیح حداکثر تا 69 درصد و به طور میانگین در کل مناطق، حدود 20 درصد افزایش نشان داد. استفاده از مایه‌تلقیح در مزارع کشاورزان موجب افزایش30 درصدی در عملکرد بذر و 65 درصدی در جذب نیتروژن اندام هوایی شد. در جمع‌بندی نتایج این بررسی دو جدایه از باکتری *R. leguminosarum* bv. *viciae* برای تهیه مایه تلقیح *Rhizobium* برای مناطق مختلف تحت کشت باقلا در ایران توصیه شد.

واژه‌های کلیدی: کود زیستی، همزیستی، تثبیت نیتروژن

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، مشکین دشت، بلوار امام خمینی، ص. پ. 311-31785.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ثبیت بیولوژیک نیتروژن مولکولی پدیده‌ای منحصر به فرد است که در اختیار گروه خاصی از ریزجانداران به نام دی‌ازوتروف‌ها (تغذیه کنندگان از نیتروژن) می‌باشد. مهمترین سیستم تثبیت کننده نیتروژن، همزیستی لگوم ـ ریزوبیوم است (رویمامو و کوندرا، 1989). باقلا (*Vicia faba* L.) گیاهی یکساله از خانواده لگومینوز می‌باشد. باکتری اختصاصی همزیست با باقلا *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* می‌باشد. سویه‌های برتر این باکتری در گره‌های فعال موجود در ریشه به شکل باکتروئید بوده و می‌توانند مقادیر قابل توجهی نیتروژن ملکولی هوا را تثبیت کنند (رودلاس و همکاران، 1999). دانه خشک باقلا حدود 25-23 درصد پروتئین دارد و امروزه به عنوان یکی از حبوبات عمده در بسیاری از کشورها شامل چین، اتیوپی، فرانسه، مصر و استرالیا به عنوان یک تامین کننده پروتئین کشت می‌شود. مطابق آمار سازمان خوار و بار و کشاورزی جهانی، کشور چین با تولید 1/4 میلیون تن باقلا در سال 2012 در مقام اول می‌باشد (بی نام1، 2013).

در ایران متوسط عملکرد باقلای خشک حدود دو تن و به صورت باقلای سبز پنج تن در هکتار می‌باشد. بیشترین سطح زیر کشت باقلا در ایران مربوط به استان‌های خوزستان، لرستان، گلستان و مازندران می‌باشد. همزیستی *Rhizobium* با گیاه باقلا علاوه بر تثبیت نیتروژن و در نتیجه کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی، سبب افزایش عملکرد نیز می‌شود (بابیکر و همکاران، 1995). نتایج بررسی‌ها در سودان نشان داد که تلقیح باقلا با ریزوبیوم، عملکرد و وزن صد دانه باقلا را به طور قابل توجهی افزایش داده است (الشیخ و الزیدانی، 1997). در پژوهشی جمعیت باکتری ریزوبیوم همزیست با باقلا در مناطق مختلف کشاورزی جنوب بریتانیا حدود $4/5\times10^3$ تا $1/7\times10^5$ سلول باکتری در هر گرم خاک و پتانسیل تثبیت در مقادیر متفاوت و حداکثر تا 30 درصد کل نیتروژن جذب شده گزارش شده است (سورلی و میتون،1986). زاپاتا و همکاران (1987) گزارش دادند که باقلا 79 درصد نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق تثبیت بیولوژیک، 20 درصد از طریق خاک و فقط یک درصد آن را از طریق کود به دست می‌آورد. هابر و همکاران (1987) نیز گزارش دادند که حدود 80 درصد از نیتروژن مورد نیاز باقلا از طریق تثبیت نیتروژن به دست می‌آید. مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی سبب کاهش توان تثبیت نیتروژن در سیستم همزیستی ریزوبیوم- باقلا می‌شود. در این رابطه اندازه‌گیری تثبیت نیتروژن در باقلا در سطوح مختلف کود نیتروژنی با دو روش رقت ایزوتوپی نیتروژن و روش A-value انجام و هر دو روش نشان دادند که با افزایش سطح کود نیتروژنی، سهم تثبیت نیتروژن در مقدار کل نیتروژن جذب شده کاهش می‌یابد (هاردارسون و همکاران، 1991). در یک آزمایش گلدانی بر روی بستر شن، چهار ترکیب نیتروژنی اوره، نیترات، آمونیوم و ترکیب آمونیوم و نیترات دارای اثرات منفی برگره‌بندی و تثبیت نیتروژن در باقلا بودند، در این میان آمونیوم بیشترین اثرات منفی را نشان داد (گیو و همکاران، 1992). گزارش شده که غلظت یک میلی‌مول نیترات در متر مکعب آب آبیاری، تثبیت نیتروژن را 16 درصد کاهش داده است (هنینگ، 1995). هدف از این تحقیق ارائه یک مایه تلقیح حاوی باکتری‌های ریزوبیوم بومی مناطق مختلف ایران برای محصول باقلا بود. بدیهی است نتیجه مصرف مایه تلقیح ریزوبیومی افزایش عملکرد محصول، کاهش مصرف یا حذف کود شیمیایی نیتروژنی برای کشت این محصول و در نتیجه حفظ سلامت محیط زیست و در نهایت سلامت انسان خواهد شد.

مواد و روش‌ها

مایه تلقیح مورد استفاده در این پژوهش دارای یک بخش سوسپانسیون باکتری و یک بخش حامل باکتری بود. باکتری‌های استفاده شده در این تحقیق از بانک ریزجانداران مفید مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند. باکتری‌های *Rhizobium leguminosarom* bv *viciae* مورد استفاده، در پژوهش‌های قبلی از بین 168 نمونه گره جمع‌آوری شده در ایران جداسازی، شناسایی و در بررسی های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای غربالگری شده بودند (خسروی، 1388). تعداد و محل جداسازی باکتری‌ها در جدول یک ارائه شده است.

محیط کشت مورد استفاده برای رشد *Rhizobium* محیط Y.M.A.[1] حاوی دی‌پتاسیم‌هیدروژن-فسفات 0/5، سولفات‌منیزیم 0/1، کلریدسدیم 0/1، مانیتول 10، عصاره مخمر 0/5 و آگار 15 گرم در یک لیتر آب مقطر بود. پ‌هاش محیط کشت روی هفت تنظیم شد. پس از پخش سوسپانسیون بوسیله حلقه (لوپ) بر روی پلیت، پلیت‌های تلقیح شده در انکوباتور و دمای 28 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. با توجه به نوع سویه باکتری، بین 24 تا 72 ساعت کلنی‌ها ظاهر شدند (بک و همکاران، 1993). از تک کلنی‌های مشخص و تیپیک یک حلقه داخل لوله‌های اسلنت حاوی Y.M.A با سه درصد آهک کشت شدند. این اسلنت‌ها جهت ادامه پژوهش‌های

1. Yeast Manitol Agar

www.SID.ir

Archive of SID

مربوطه در یخچال نگهداری شدند. از پرلیت با درجه R_0 برای تهیه حامل باکتری استفاده شد. نسبت سوسپانسیون باکتری به حامل یک به سه در نظر گرفته شد. برای تهیه مایه تلقیح جهت اجرای آزمون‌های مزرعه‌ای از بسته‌های 100 گرمی مایه تلقیح استفاده شد. بسته‌های تهیه شده به مدت دو هفته در دمای 28 درجه سانتیگراد در انکوباتور نگهداری شدند. در پایان هفته دوم میانگین تقریبی جمعیت باکتری در هر بسته 10^8سلول درهر گرم مایه تلقیح بود.

جدول 1- تعداد نمونه و جدایه‌های خالص شده به تفکیک استان

استان	تعداد نمونه	تعداد جدایه خالص شده	تعداد جدایه دارای توان ایجاد گره	تعداد جدایه انتخاب شده برای مقایسه کارآیی تثبیت نیتروژن (در شرایط گلخانه‌ای)
گلستان	28	27	16	16
مازندران	48	42	25	8
گیلان	34	25	15	6
لرستان	18	16	7	6
خوزستان	40	40	38	6
جمع	168	150	101	42

طرح‌های مزرعه‌ای به صورت بلوک‌های کامل تصادفی شامل هفت تیمار مایه تلقیح باکتری، دو تیمار کود نیتروژنی 100 و 200 کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و یک تیمار شاهد (بدون کود و بدون تلقیح) و در چهار تکرار اجرا شد. ابعاد کرت‌ها 3×5 متر با فاصله هر کرت یک متر و هر بلوک سه متر در نظر گرفته شدند. هر کرت آزمایشی دارای چهار ردیف کاشت بود که دو ردیف ابتدا و انتها به عنوان محافظ[1] در نظر گرفته شدند. تیمارها بر روی دو ردیف وسط هر کرت اعمال شدند (سوماسگاران و هوبن، 1994). قبل از کاشت، کودهای فسفر، پتاسیم و عناصر کم مصرف در صورت لزوم بر اساس نتایج آزمون خاک محاسبه و به خاک مزرعه مورد نظر برای همه تیمارها استفاده شد. نوع بذر مورد استفاده در استان‌های گلستان، مازندران و لرستان رقم برکت و در استان خوزستان رقم محلی سرازیری بود. کودهای شیمیایی نیتروژنی به شکل اوره در دو قسط، یکی در هنگام کاشت به مقدار 22 کیلوگرم اوره معادل 10 کیلوگرم N به عنوان شروع کننده[2] در هکتار و دیگری یک ماه پس از کاشت به صورت سرک و به همان مقدار مصرف شد. مایه تلقیح به شکل مصرف بذر مال استفاده شد. برای این منظور ابتدا با محلول شکر 15 درصد سطح بذور مرطوب و سپس یک بسته مایه تلقیح مورد نظر بر روی بذور لازم برای چهار تکرار یک تیمار اضافه و به طور یکنواخت مخلوط شد. پس از حدود یک ساعت هوادهی بذور تلقیح شده، نسبت به کاشت آنها اقدام شد. عملیات تلقیح در سایه و دور از نور مستقیم خورشید انجام شد. برداشت در پایان دوره رشد انجام و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. داده‌های بدست آمده با برنامه MSTAT-C از نظر آماری بررسی و میانگین‌ها با روش آزمون دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج

اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان خوزستان (صفی آباد دزفول)

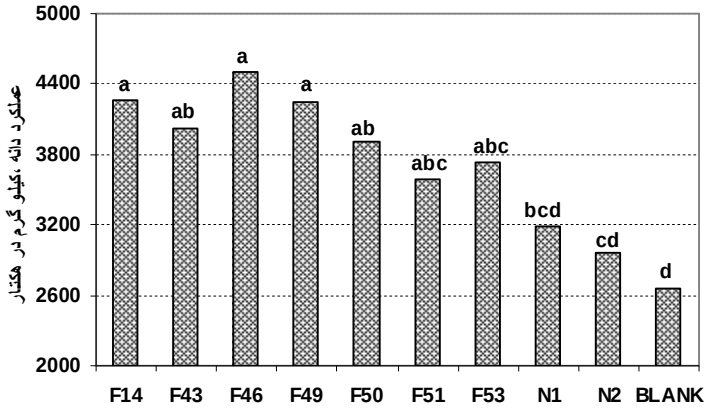
نتایج سال اول آزمایش در صفی‌آباد دزفول نشان داد که همه مایه تلقیح‌ها با شاهد بدون تلقیح اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در اثر تلقیح با مایه تلقیح‌های مختلف بین 35 تا 69 درصد افزایش در عملکرد دانه نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین تیمارهای تلقیحی با سطوح کود نیتروژنی نیز اختلاف معنی‌داری نشان دادند. تیمار F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها بود (نمودار 1).

در سال دوم در این منطقه نیز نتایج مشابهی بدست آمد و تیمار F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها بود (نمودار 2)

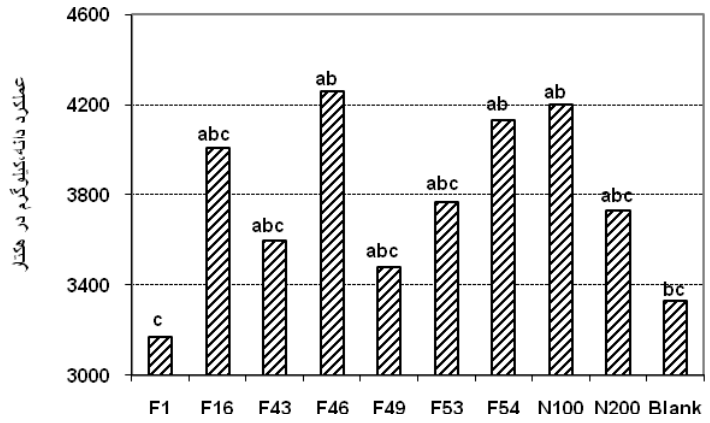
1. Guard
2. Starter

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 1- اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان خوزستان (صفی آباد دزفول) در سال اول



شکل 2- اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان خوزستان (صفی آباد دزفول) در سال دوم

اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان مازندران

نتایج سال اول آزمایش در استان مازندران نشان داد که تیمار F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها در مورد اثر بر عملکرد دانه بود (نمودار 3)

همچنین نتایج سال دوم آزمایش در استان مازندران نشان داد که تیمار F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها در مورد اثر بر عملکرد دانه بود (نمودار 4).

اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان لرستان

نتایج سال اول آزمایش در استان لرستان نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری در مورد اثر بر عملکرد دانه وجود دارد . تیمار F43 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها در مورد اثر بر عملکرد دانه بود (نمودار 5).

نتایج سال دوم آزمایش در استان لرستان نشان داد که تیمار F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارهای تلقیح شده در مورد اثر بر عملکرد دانه بود (نمودار 6).

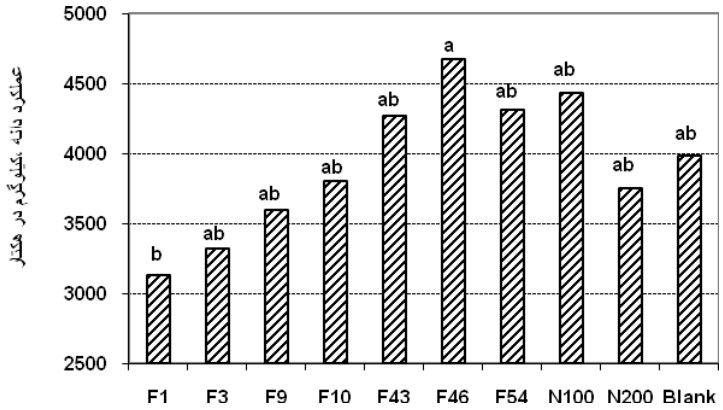
اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان گلستان

نتایج سال اول آزمایش در استان گلستان نشان داد که اکثر تیمارها اختلاف معنی‌داری در مورد اثر بر عملکرد دانه نشان دادند (نمودار7).

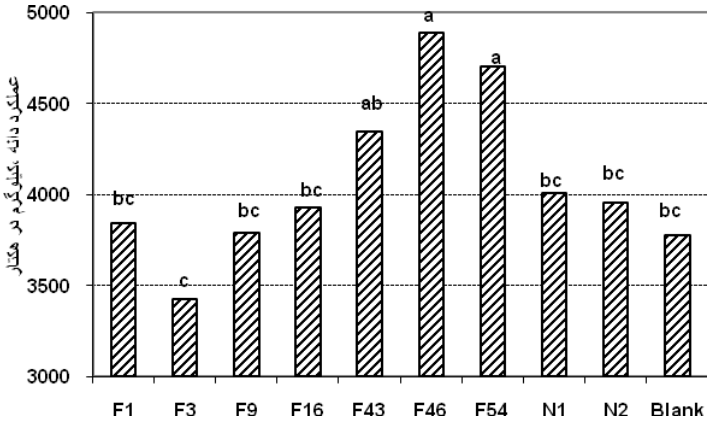
نتایج سال دوم آزمایش در استان گلستان نشان داد که تیمارهای F1، F43 و F46 دارای بیشترین میانگین در بین تیمارها در مورد اثر بر عملکرد دانه بودند (نمودار 8).

www.SID.ir

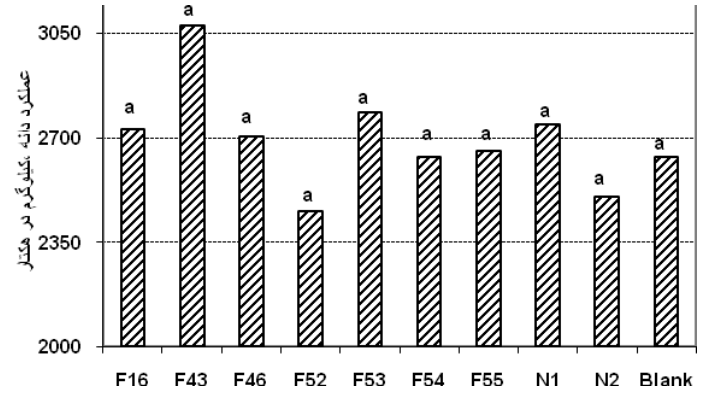
Archive of SID



شکل 3- اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان مازندران در سال اول



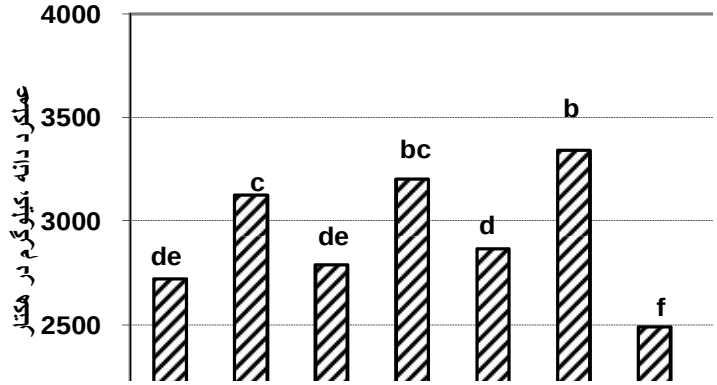
شکل 4 - اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان مازندران در سال دوم



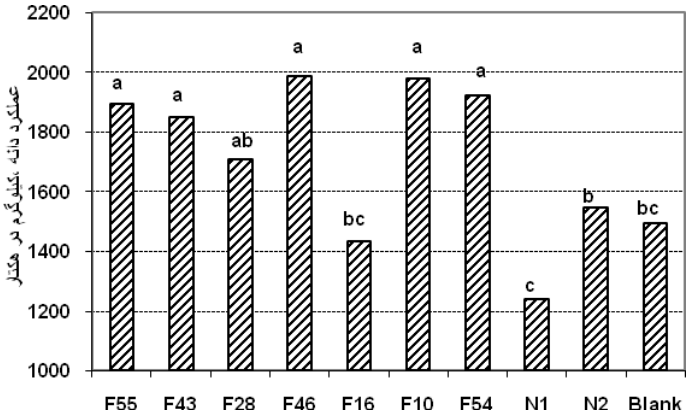
شکل 5 - اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان لرستان در سال اول

www.SID.ir

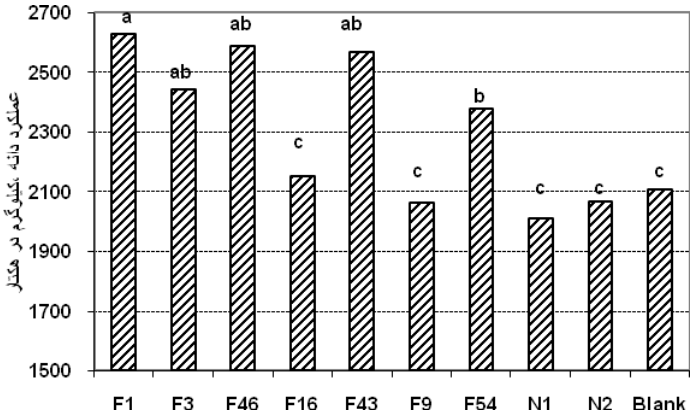
Archive of SID



شکل 6 - اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان لرستان در سال دوم



شکل 7 - اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان گلستان در سال اول



شکل 8 - اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد دانه در استان گلستان در سال دوم

ارزیابی مایه تلقیح ها در مزارع کشاورزان در سال سوم

علیرغم تهیه مایه تلقیح و انجام هماهنگی‌های لازم با مراکز تحقیقات در استان‌های گلستان، لرستان، خوزستان و مازندران برای بررسی مایه‌تلقیح در مزارع کشاورزان به دلایل مختلف این موضوع فقط در استان گلستان عملیاتی شد. برای انجام آزمایشات تکمیلی

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون‌های مزرعه‌ای در شرایط زارع، دو مزرعه یک هکتاری در استان گلستان انتخاب شدند. در مزرعه الف مایه تلقیح F43 و در مزرعه ب F46 مورد استفاده قرار گرفت. در نیمی از هر مزرعه بذور تلقیح شده و در نیمی دیگر بذور تلقیح نشده کشت شدند. نتایج حاصل از تأثیر این مایه تلقیح‌ها در جداول دو و سه خلاصه شده است. نتایج نشان داد تیمارهای F46 و F43 به ترتیب موجب افزایش 29 و 10/5 درصد در عملکرد دانه، 65 و 16/5 درصد عملکرد کلش و 65 و 58 کیلوگرم در هکتار در جذب نیتروژن کلش شدند.

جدول 2- اثر مایه تلقیح حاوی باکتری F43 در مزرعه کشاورز الف در استان گلستان

	عملکرد دانه	افزایش عملکرد دانه	عملکرد کلش	افزایش عملکرد کلش	نیتروژن کلش	جذب نیتروژن کلش	افزایش جذب نیتروژن کلش
	(کیلوگرم در هکتار)	درصد	(کیلوگرم در هکتار)	درصد	درصد	(کیلوگرم در هکتار)	درصد
+ F43	2655	10/5	2438	16/5	6/6	161	58
- F43	2402	-	2092	-	4/95	103	-

جدول 3- اثر مایه تلقیح حاوی باکتری F46 در مزرعه کشاورز ب در استان گلستان

	عملکرد دانه	افزایش عملکرد دانه	عملکرد کلش	افزایش عملکرد کلش	نیتروژن کلش	جذب نیتروژن کلش	افزایش جذب نیتروژن کلش
	(کیلوگرم در هکتار)	درصد	(کیلوگرم در هکتار)	درصد	درصد	(کیلوگرم در هکتار)	درصد
+ F46	2236	29	2514	65	6/6	166	65
- F46	1733	-	1523	-	4/02.	61	-

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج متفاوتی از اثر تلقیح *Rhizobium* بر عملکرد دانه باقلا بدست آمد. این اختلاف بر روی شاخص عملکرد محصول در جدول چهار خلاصه شده است. از جمع بندی داده‌های مختلف که از اثر مایه تلقیح ها بر شاخص‌های مختلف رشد بدست آمد، دو جدایه باکتری F46 و F43 برای مناطق مختلف توصیه شدند. در جدول چهار افزایش عملکرد محصول در اثر تلقیح در مناطق مختلف آورده شده است.

جدول 4- افزایش عملکرد دانه در اثر تلقیح با مایه تلقیح‌های *Rhizobium* نسبت به شاهد درمناطق مختلف

	خوزستان		گلستان		لرستان		مازندران		میانگین کل
	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	
حداکثر درصد افزایش	69	27	33	25	17	24	29	18	30
میانگین درصد افزایش	52	16	26	17	5	12	11	13	19

نتایج اثر تلقیح از سال اول و دوم برای هر منطقه نیز متفاوت بود. پژوهش‌ها نشان داده است که مقدار تثبیت نیتروژن ملکولی با توجه به نوع سویه همزیست، جمعیت باکتری‌های همزیست بومی، میزان کود شیمیایی مصرفی، رقم بذر و به طور کلی شرایط خاکی و اقلیمی بسیار متفاوت می‌باشد. در تحقیقی که در سال‌های 1982 و 1985 در آلبرتای کانادا انجام شد، مقدار تثبیت نیتروژن توسط باقلا 34/8 و 127/5 کیلوگرم نیتروژن در هکتار گزارش شد (رویمامو و کوندرا، 1989). همچنین بک و همکاران (1991) نشان دادند که همزیستی باقلا با یک

www.SID.ir

Archive of SID

سویه معین از *R. leguminosarum* bv. *viciae*، در شرایط اقلیمی و خاکی فرانسه و سوریه به ترتیب 90 و 69 درصد از کل نیتروژن جذب شده توسط گیاه را از طریق تثبیت نیتروژن تامین نمود. گزارش شده است که در کل، باقلا نسبت به لوبیا و نخود مقادیر بیشتری نیتروژن از اتمسفر جذب می‌کند و مقدار نیتروژن بدست آمده از اتمسفر توسط باقلا حداکثر به 82 درصد می‌رسد (کارانکا و همکاران، 1999). گزارش شده که نیتروژن مشتق شده از اتمسفر توسط باقلا برای یک سویه معین *R. leguminosarum* bv. *viciae* S8 بین 66 تا 74 درصد می‌باشد (آمانوئل و همکاران، 2000).

اثر تلقیح *Rhizobium* بر باقلا در شرایط نیمه خشک سودان بر عملکرد، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک گره و مقدار نیتروژن اندام هوایی معنی‌دار و قابل توجه ذکر شده است (الختیم محمد و بابیکر، 2012). نشریه GRDC که در مورد تحقیق و توسعه لگوم‌های دانه‌ای می‌باشد در شماره ژانویه 2013 خود با عنوان مایه تلقیح‌های *Rhizobium* گزارش داد در مناطقی که جمعیت باکتری کم و یا در مناطقی که باکتری وجود ندارد تلقیح باقلا با *R. leguminosarum* bv. *viciae* موجب افزایش 100 درصدی در عملکرد دانه شده است و این در حالی بود که در مناطق غنی از *Rhizobium* تلقیح اثر قابل توجهی بر عملکرد نداشته است (بی نام2، 2013). همچنین نتایج یک آزمایش مزرعه‌ای که در شش منطقه از ویکتوریای استرالیا انجام گرفت نشان داد که عملکرد دانه در تمام تیمارهای تلقیحی افزایش یافته است (کارتر و همکاران، 1995).

در نهایت از نتایج این پژوهش دو جدایه ریزوبیوم F46 و F43 برای مناطق مختلف زیر کشت باقلا در ایران پیشنهاد شدند. همچنین پیشنهاد می‌شود یک پژوهش تکمیلی برای بررسی مخلوط دو جدایه انجام شود که ممکن نتایج بهتری نیز کسب شود.

سپاسگزاری

از کلیه کارشناسان و تکنسین‌های آزمایشگاه‌های بیولوژی و شیمی خاک ستاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب و مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان‌های خوزستان، لرستان، مازندران و گلستان و همچنین مدیران وقت این مجموعه‌ها که به نحوی ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع:

1. خسروی، ه.1388. دستیابی به دانش فنی تولید مایه‌تلقیح *Rhizobium* باقلا. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. انتشارات مؤسسه تحقیقات خاک و آب، نشریه شماره 1452.

2. Amanuel, G., Kuhne, R.F. Tanner ,D.G. and Vlek, P.L.G. 2000. Biological nitrogen fixation in fababean (*Vicia faba* L.) in the Ethiopian highlands as affected by P fertilization and inoculation. Biology and Fertility of Soils, 32: 353-359.
3. Anonymous1. 2013. FAO Statistics. http://data.fao.org/.
4. Anonymous2. 2013. *Rhizobium* inoculants. GRDC; www .coretext.com.au
5. Babiker, E.E., EL-sheikh, E.A.E. Osman A.J. and El -Tinay A.H. 1995. Effect of nitrogen fixation, nitrogen fertilization and viral infection on yield, tannin and protein contents and *in vitro* protein digestibility of fababean. Plant Foods for Human Nutrition, 47: 257-263.
6. Beck, D.P., Wery J., Saxena, M.C. and Ayadi A. 1991. Dinitrogen fixation and nitrogen balance in cool-season food legumes. Agronomy Journal, 83: 334-341.
7. Beck, D.P., Materon, L.A. and Afandi, F. 1993. Practical *Rhizobium*-Legume Technology Manual. ICARDA, Technical Manual No. 19.
8. Carranca, C. de Varennes, A .and Rolston, D. 1999. Biological nitrogen fixation by fababean, pea and chickpea, under field conditions, estimated by the ^{15}N, isotope dilution technique. European Journal of Agronomy, 10: 49-96.
9. Carter, J.M., Tiemun, J.S. and Gibson, A.H. 1995. Competitiveness and persistence of strains of Rhizobia for fababean in acid and alkaline soils. Soil Biology and Biochemistry, 27: 617-623.

www.SID.ir

Archive of SID

10. Elkhatim Mohamed, S. and Babiker, H.M. 2012. Effects of *Rhizobium* inoculation and urea fertilization on fababean (*Vicia faba* L.) production in a semi-desert zone. Advances in Environmental Biology, 6(2): 824- 830.
11. Elsheikh, E.A.E. and Elzidany, A.A. 1997. Effects of Rhizobium inoculation, organic and chemical fertilizers on yield and physical properties of fababean seeds. Plant Foods for Human Nutrition, 51: 137-144.
12. Guo, R., Silsbury, H. and Graham, R.D. 1992. Effect of four nitrogen compounds on nodulation and nitrogen fixation in fababean, white lupine and medic plants. Australian Journal of Plant Physiology, 19: 501-508.
13. Hardarson, G., Davso, S.K.A., Zapata, F. and Reichardt, K. 1991. Measurements of nitrogen fixation in fababean at different N fertilizer rates using the ^{15}N isotope dilution and 'A-Value' methods. Plant and Soil, 131: 161-168.
14. Hening, K. 1995. Interaction of nitrogen fixation in fababeans. Plant and Soil, 176(2):189-196.
15. Huber, R., Keller E.R. and chwendiman F.S. 1987. Effects of biological nitrogen fixation by fababean(*vicia faba* L.) on the nitrogen economy of the soil. FABIS-Newsletter (ICARDA),17:14-20.
16. Rodelas, B., Gonzalez-Lopez, J., Martinez-Toledo, M.V., Pozo, C., and Salmeron, V. 1999. Influence of *Rhizobium / Azotobacter and Rhizobium/ Azospirillum* combined inoculation on mineral composition of fababean (*Vicia faba* L.). Plant and Soil, 29: 165-169.
17. Rweyemamu, C.L. and Kondra, Z.P. 1989. Nitrogen fixation in fababean (*vicia faba* L.) and its economic benefit in central Alberta, Canada. FABIS-Newsletter (ICARDA), 25: 14-18.
18. Somasegaran, P. and Hoben H.J. 1994. Handbook for Rhizobia, methods in legume-*Rhizobium* Technology, Springier-verlag. New York .
19. Sorwli, F.K. and Mytton, L.R. 1986. The nitrogen fixing potential of *vicia faba* rhizobia (*R. leguminosarum*) form different agricultural locations. Plant and Soil, 92: 249-254.
20. Zapata. F.S., Danso, K.A., Hardarson, G. and Fried, M. 1987. Nitrogen fixation and translocation in field grown fababean. Agronomy Journal, 79:505-509.

www.SID.ir