

تأثیر تلقیح ارقام لوبیا با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بیوار فازئولی (*R. leguminosarum biovar phaseoli*) بر عملکرد دانه و تثبیت نیتروژن در منطقه شهرکرد

عبدالله قاسمی پیر بلوطی^۱، ایرج اله دادی^۲، غلامعباس اکبری^۳، احمد گل پرور^۴

چکیده:

به منظور بررسی اثر تلقیح بذر ارقام رایج لوبیا با سویه‌های مختلف باکتری، آزمایشی در سال ۱۳۸۱ بصورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در منطقه شهرکرد اجرا شد. سویه‌های مختلف باکتری به نامهای *L-109*, *L-125*, *L-47*, *L-78* به همراه تیمارهای شاهد با نیتروژن (مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و بدون تلقیح) و شاهد بدون مصرف کود و تلقیح به عنوان عامل اصلی و ارقام لوبیا شامل چیتی رقم تلاش، چیتی توده بومی شهرکرد و قرمز توده بومی شهرکرد به عنوان عامل فرعی در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که اختلاف معنی داری بین اثر سطوح عامل اصلی از لحاظ صفات عملکرد دانه، وزن خشک غلاف در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، تعداد و وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی (۵۰ روز پس از سبز شدن) و درصد تثبیت نیتروژن وجود داشت در حالی که تفاوت معنی داری از لحاظ وزن ۱۰۰ دانه حاصل نشد. بیشترین و کمترین میزان عملکرد دانه به ترتیب از تیمار تلقیح بذر با سویه *L-125* (جمع آوری شده از منطقه الشتر) به میزان ۲۵۰۶ کیلوگرم در هکتار و شاهد (عدم تلقیح بذر و عدم مصرف کود) به میزان ۱۴۴۱ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. بطور کلی سویه‌های تلقیح شده با بذر ارقام مختلف لوبیا قابلیت تولید گره و تثبیت نیتروژن را داشتند. با این حال تیمار تلقیح بذر با سویه *L-109* منطقه تویسرکان همدان توانست در شرایط آب و هوایی و سال آزمایش جدایه کارآمدی در جهت تثبیت نیتروژن باشد.

واژه‌های کلیدی: ارقام، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، تلقیح، سویه‌های مختلف باکتری، لوبیا و عملکرد دانه.

مقدمه

لوبیا در آمریکا و آفریقا (در حدود ۵۰۵ کیلوگرم در هکتار) را عدم مدیریت صحیح زراعی بویژه استفاده نامناسب و ناکارآمد بودن کودهای نیتروژن در خاکهای این مناطق گزارش کرده اند. آنها در ادامه بیان داشتند که با قرار دادن گیاهان خانواده بقولات مانند لوبیا در تناوبهای زراعی، امکان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط جنسها و گونه‌های مختلف باکتری همزیست با ریشه آنها فراهم می‌شود که

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهمترین گیاهان زراعی خانواده بقولات و یکی از منابع مهم پروتئینی و کالری در تغذیه انسان محسوب می‌شود (۴ و ۷). بر اساس آمار انتشار یافته متوسط عملکرد لوبیای معمولی در جهان پایین و در حدود ۶۰۰ کیلوگرم در هکتار است (۱۲ و ۲۱). هانگریا و همکاران (۱۷) یکی از دلایل پایین بودن عملکرد

۱- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ۲ و ۳- اعضای هیات علمی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران، ۴- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

چهارمحال و بختیاری بعد از استان مرکزی با سطح زیر کشت بیش از ۱۲ هزار هکتار و به دلیل متوسط عملکرد بیشتر نسبت به سایر استانها معادل ۲۷۶۴ کیلوگرم در هکتار یکی از مستعدترین مناطق کشت و کار لوبیا در ایران محسوب می‌شود (۳). همانطور که قبلاً اشاره شد در اغلب خاکهای مناطق کشت و کار لوبیا در ایران و سایر کشورها باکتری کارآمد وجود نداشته یا جمعیت طبیعی آنها کم می‌باشد، بنابراین در این شرایط نیاز به مایه تلقیح است (۵، ۲، ۱، ۱۱، ۱۲ و ۱۶). در بسیاری از کشورهای گرمسیری مانند برزیل مایه تلقیح‌های دارای باکتری‌های همزیست با لوبیا، سویا و سایر لگومها تولید می‌شود که در شرایط مختلف آب و هوایی، خاکی و گیاهی رقابت و کارآیی متفاوتی در تثبیت نیتروژن دارند. در سالهای اخیر بخش بیولوژی خاک موسسه خاک و آب وزرات جهاد کشاورزی فعالیت‌های زیادی را در جهت جمع آوری و شناسایی جدایه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم همزیست با لگومها انجام داده است.

اسدی رحمانی (۱۳۱۸) جدایه‌های مختلفی از باکتری *R. leguminosarum biovar phaseoli* را از مناطق مختلف کشت و کار لوبیا در ایران جمع آوری و شناسایی کرد و مایه‌های تلقیح آنها را جهت استفاده محققان و کشاوران تهیه نمود. روشهای مختلفی جهت تلقیح لگومها گزارش شده است که در این ارتباط روش استفاده از محلول شکر با غلظت ۱۵ تا ۲۵ درصد یکی از مناسبترین روشهای پیشنهاد شده است (۲۴).

باتوجه به مطالب فوق این آزمایش به منظور رسیدن به اهداف زیر انجام شد:

۱. بررسی اثرات تلقیح بذر ارقام لوبیا با سویه‌های مختلف باکتری بر عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مهم لوبیا.
۲. بررسی توان تثبیت نیتروژن سویه‌های مختلف باکتری در ارقام مختلف لوبیا.

مواد و روشها

علاوه بر رفع کمبود نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک سبب افزایش عملکرد و کاهش آلودگی منابع آبی بر اثر استفاده از کودهای نیتروژن می‌شود (۱۷). مهمترین گونه شناخته شده باکتری ریزوبیوم همزیست با بقولات *R. leguminosarum* می‌باشد که دارای وارته‌ها و سویه‌های مختلف است که از نظر توان گره زایی و تثبیت نیتروژن تنوع ژنتیکی زیادی دارند (۱۰). م حمدی و همکاران (۱۸) دو گونه *R. etli* و *R. leguminosarum biovar phaseoli* را از مهمترین و کارآمدترین سویه‌ها در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در لوبیا در خاکهای تازانیا معرفی کردند. نتایج شناسایی و جداسازی ریزوبیوم همزیست با لوبیا در خاکهای برزیل توسط هانگریا و همکاران (۱۶) نشان داد که سویه *PRF81* از ایالت پارانا به دلیل توانایی بالا در تثبیت نیتروژن و تولید عملکرد بیشتر در لوبیا نسبت به سایر سویه‌ها و تیمار شاهد (جمعیت طبیعی باکتری در خاک)، سویه ای مناسب برای تلقیح تجاری لوبیا در برزیل می‌باشد. رودریگوئز ناوارو و همکاران (۲۰) اثرات متقابل معنی داری بین سویه‌های مختلف باکتری و رقم از نظر گره زایی، رشد گیاه، بیوماس و ترکیب شیره گیاهی آوند چوبی لوبیا مشاهده نمودند. تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری اثر معنی داری بر بیوماس اندام هوایی، وزن خشک غلاف و میزان غلظت نیتروژن در آوند چوبی داشت. گراهام (۱۳) میزان تثبیت نیتروژن در لوبیا را کمتر از سویا و برخی بقولات و بین ۳ تا ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار گزارش کرده است. لوبیا در شرایط محیطی مناسب به تلقیح با باکتری همزیست واکنش نشان می‌دهد ولی اغلب خاکها فاقد باکتری کارآمد هستند یا اینکه تعداد آنها کم می‌باشد (۶ و ۱۹). بررسی دیگری (۱۴ و ۱۷) نشان داد که استفاده نامناسب از کودهای نیتروژن در شرایط مزرعه یکی از عوامل مهم محدود کننده عملکرد لوبیا در جهان است.

سطح زیر کشت لوبیا در ایران ۱۲۵ هزار هکتار با میانگین عملکردی بیشتر از متوسط عملکرد جهانی در حدود ۱۴۷۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (۳). در این بین استان

اساس روش آمبرژه نیمه خشک سرد می‌باشد. برای تعیین خصوصیات خاک نمونه‌های تصادفی از چندین نقطه مزرعه از عمق صفر الی ۳۰ سانتیمتری تهیه شد و جهت تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه ارسال گردید که نتایج حاصله در جدول ۱ نشان داده شده است.

این تحقیق در تابستان سال ۱۳۸۱ در مزرعه ای واقع در ۱۵ کیلومتری شمال غربی شهر کرد با عرض جغرافیایی ۴۴° و ۳۲° شمالی به مرحله اجرا درآمد. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا در حدود ۲۱۰۰ متر و میانگین بارندگی سالیانه در این منطقه حدوداً ۳۳۷/۲ میلیمتر با متوسط درجه حرارت ۱۱/۹ درجه سانتیگراد گزارش شده است. اقلیم منطقه بر

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	pH	هدایت الکتریکی EC(ds/m)	پتاسیم قابل جذب (PPM)	کربن آلی (%)	نیتروژن کل (%)	فسفر قابل جذب (PPM)
47	40	13	7.68	0.66	371.4	1.47	0.163	24.4

حجم حداقل ۲ برابر حجم آنها قرار داده شدند و سپس به آن محلول شکر ۲۰ درصد اضافه گردید. آنگاه محتویات کیسه پلاستیک پس از اضافه نمودن پودر باکتری به بذر به خوبی تکان داده شد (۱). سپس بذرها را تلقیح شده در سایه در یک سطح تمیز به مدت کمتر از ۱ روز نگهداری شدند و در نهایت پس از خشک شدن، سریعاً کشت انجام شد. لازم به ذکر است که به ازای هر کیلوگرم بذر لوبیا ۷ میلی گرم باکتری جهت تلقیح مصرف گردید و هیچ گونه آفت کش و علف کشی قبل و بعد از کاشت استفاده نشد (۲). زمین محل انجام طرح در پاییز سال قبل و در بهار سال ۱۳۸۱ با گاو آهن برگردان دار شخم زده شد. سپس مقدار ۲۵۰ کیلوگرم کود فسفره بصورت سوپر فسفات تریپل (۴۷ درصد اکسید فسفر) به خاک اضافه و توسط دیسک با خاک مخلوط گردید. کشت بذر لوبیا با دست، بصورت ردیفی با فاصله ۵۰ سانتیمتر بین ردیفها و فاصله روی ردیف ۱۵ سانتیمتر برای رقم قرمز و ۲۰ سانتیمتر برای ارقام چیتی انجام شد. کاشت در تاریخ ۲۵ خرداد به روش نمکاری در عمق ۳-۵ سانتیمتر انجام شد. اولین آبیاری بصورت نشتی، یک هفته پس از کشت و آبیاری بعدی با توجه به شرایط اقلیمی و وضعیت

آزمایش بصورت کرت‌های یکبار خرد شده بر پایه بلوکهای کامل تصادفی با ۴ تکرار در زمینی به مساحت ۱۵۰۰ متر مربع انجام شد. عامل اصلی در ۶ سطح شامل تلقیح بذر لوبیا با ۴ سویه مختلف باکتری ریزوبیوم (مراجعه به جدول ۲) به همراه تیمار شاهد با نیتروژن (۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و شاهد بدون تلقیح در کرت‌های اصلی و عامل فرعی شامل ارقام لوبیا در سه سطح لوبیا چیتی رقم تلاش و توده محلی شهر کرد و لوبیا قرمز بومی شهر کرد. در کرت‌های فرعی قرار داده شدند. هر کرت فرعی به عرض ۲/۵ متر و طول ۵ متر مشتمل بر ۵ ردیف کشت در نظر گرفته شد. هر بلوک نیز دارای ۶ کرت اصلی به ابعاد ۱۵*۵ با فاصله حاشیه ۲ متر بین کرت‌های اصلی و ۲/۵ متر بین بلوکها در نظر گرفته شد. به منظور کاهش اختلاط بین تیمارهای آزمایش برای کرت‌های اصلی یک نهر جداگانه جهت انتقال آب مازاد به خارج از مزرعه ایجاد شد. در تیمار شاهد با نیتروژن، کود نیتروژن به میزان یک سوم در مرحله کاشت و باقیمانده بصورت سرک پس از وجین در مرحله ۴ تا ۶ برگی از منبع کود اوره دارای ۴۶٪ نیتروژن به خاک اضافه گردید. جهت عمل تلقیح بذرها، ابتدا بذور درون کیسه پلاستیکی با

ساعت) خشک گردیدند. پس از تعیین وزن خشک و درصد رطوبت نمونه ها، مقدار کل ماده خشک تولیدی در واحد سطح با توجه به سطح برداشت نمونه‌ها در کرتها تصحیح شدند. تعداد ۲ بوته تصادفی از هر نمونه گیاهی و مقدار کمی خاک جهت تعیین غلظت نیتروژن به آزمایشگاه ارسال گردید و توسط روش کج‌دال میزان درصد نیتروژن کل اندامهای هوایی و خاک در زمان برداشت تعیین گردید. همچنین تعداد ۲۰ عدد بذر از هر تیمار بطور تصادفی جهت اندازه گیری میزان تثبیت نیتروژن و عملکرد پروتئین به روش مذکور به آزمایشگاه ارسال گردید. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع آوری شده و مقایسه میانگین تیمارها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد از برنامه‌های آماری MSTAT-C و SAS (Release 6.12) استفاده شد.

نتایج و بحث

۱- عملکرد دانه:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح عامل اصلی با کاربرد سویه‌های مختلف باکتری از لحاظ عملکرد دانه اختلاف بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) وجود دارد (جدول ۳). بیشترین میانگین عملکرد دانه از تلقیح بذر با سویه L-125 منطقه الشتر به میزان ۲۵۰۶ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن از شاهد به میزان ۱۴۴۱ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (جدول ۴). تغییرات در عملکرد احتمالاً مربوط به اختلاف در میزان توان تثبیت نیتروژن و فراهمی میزان نیتروژن برای گیاه توسط سویه‌های مختلف باکتری می‌باشد (۱۶). نتیجه اخیر با نتایج سایر محققان (۲۲ و ۲۳) مطابقت دارد. بین ارقام مورد بررسی نیز از لحاظ صفت مذکور اختلاف بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) بدست آمد (جدول ۳). تغییرات عملکرد دانه بین ارقام مورد بررسی نیز دارای اختلاف بسیار معنی دار ($P \leq 0.01$) بود. در این بین لوبیا چیتی رقم تلاش با ۲۱۳۴ کیلوگرم در هکتار و توده بومی لوبیا قرمز با ۱۹۸۶ کیلوگرم

رطوبتی خاک هر ۶ الی ۷ روز یکبار انجام می‌شد. جهت رفع نیاز غذایی لوبیا به عناصر کم مصرف یکبار محلول پاشی به نسبت ۱ در هزار در مرحله اواسط گلدهی انجام شد.

جدول ۲- سویه‌های مختلف باکتری در این آزمایش

سویه	سال و محل جمع آوری شده	تکثیر و جمع آوری
L-78	شهرکرد-۱۳۸۱	موسسه خاک و آب بخش بیولوژی خاک
L-109	تویسرکان-۱۳۸۱	"
L-47	فریدون شهر-۱۳۸۱	"
L-125	الشتر-۱۳۸۱	"

صفات مورد ارزیابی در این آزمایش شامل عملکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد و وزن خشک غلاف در متر مربع، تعداد دانه در غلاف، تعداد و وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی و میزان تثبیت نیتروژن بودند. جهت تعیین میزان تثبیت نیتروژن از دو روش اختلاف نیتروژن و تعیین تعداد و وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی استفاده گردید. در روش اول میزان تثبیت نیتروژن از رابطه زیر بدست می‌آید (۲۳):

= درصد تثبیت نیتروژن

(نیتروژن کل اندام هوایی شاهد - نیتروژن کل اندام هوایی گیاه تلقیح شده)

$$100 \times (\text{نیتروژن کل اندام هوایی گیاه تلقیح شده})$$

برداشت نهایی جهت تعیین عملکرد و اجزاء آن در تاریخ ۲۰ مهر و توسط دست صورت گرفت؛ به این ترتیب که از ۳ ردیف میانی هر کرت بعد از حذف ۰/۵ متر اول (اثر حاشیه)، سطحی معادل ۶ متر مربع برداشت شد. نمونه‌های برداشت شده برای تعیین میزان وزن تر توزین گردیدند. جهت تعیین وزن خشک، از هر کرت نمونه‌های کوچکتری برداشت و توزین شدند و در آون (۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲

در هکتار به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میانگین عملکرد دانه بودند (جدول ۵).
 اثر متقابل ارقام و تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری از لحاظ عملکرد دانه اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۳). نتایج تحقیقات باتری بریان و همکاران (۸) نیز حاکی از عدم اختلاف معنی دار اثر متقابل رقم و سویه بر عملکرد دانه لوبیا بود. در حالیکه نتایج بررسی های رودریگوئز ناوارا و همکاران (۲۰) حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین اثر متقابل رقم و سویه بود؛ بطوریکه ترکیب رقم فابا لویای معمولی* سویه CIAT-899 و رقم فابا* سویه TAL-1121 دارای بیشترین عملکرد دانه نسبت به سایر ترکیبات در شرایط مورد آزمایش بودند.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تلقیح بذور با سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم

میانگین مربعات M.S							منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	وزن ۱۰۰ دانه	وزن خشک غلاف	تعداد غلاف در بوته	تعداد گره در بوته	وزن خشک گره در بوته	تثبیت نیتروژن
۵۲۸/۶۸	۰/۰۰۸	۶۶/۶۲	۵/۸۱	۳۷/۱۷	۱۳/۶۰	۰/۲۷	۰/۰۰۵	۴	۰/۰۰۵	۳۷/۱۷	۵/۸۱	۶۶/۶۲	۰/۰۰۸	۵۲۸/۶۸	تثبیت نیتروژن
۲۱۷/۷۱**	۰/۰۱۳**	۱۴/۵۸ ^{n.s}	۳۸/۴۲**	۱۱۱/۸۲**	۱۶/۸۶ ^{n.s}	۰/۴۹**	۰/۰۱۶**	۵	۰/۴۹**	۱۱۱/۸۲**	۳۸/۴۲**	۱۴/۵۸ ^{n.s}	۰/۰۱۳**	۲۱۷/۷۱**	عملکرد دانه
۴۳/۵۸	۰/۰۰۵	۲۳/۲۳	۹/۹۹	۳۵/۳۱	۱۶/۴۹	۰/۱۶	۰/۰۰۶	۱۵	۰/۱۶	۳۵/۳۱	۹/۹۹	۲۳/۲۳	۰/۰۰۵	۴۳/۵۸	وزن خشک غلاف
۲/۵۴ ^{n.s}	۰/۰۴۴**	۸۴/۱۲*	۲۳/۶۸*	۵۶۱/۹۱**	۲۱۹۶/۲۰**	۲/۱۷**	۰/۰۵۳**	۲	۲/۱۷**	۵۶۱/۹۱**	۲۳/۶۸*	۸۴/۱۲*	۰/۰۴۴**	۲/۵۴ ^{n.s}	وزن خشک گره در بوته
۲۴/۸۹ ^{n.s}	۰/۰۰۲ ^{n.s}	۶/۲۰ ^{n.s}	۷/۰۹ ^{n.s}	۴۷/۴۶**	۱۹/۵۱ ^{n.s}	۰/۲۳ ^{n.s}	۰/۰۰۲ ^{n.s}	۱۰	۰/۲۳ ^{n.s}	۴۷/۴۶**	۷/۰۹ ^{n.s}	۶/۲۰ ^{n.s}	۰/۰۰۲ ^{n.s}	۲۴/۸۹ ^{n.s}	تعداد غلاف در بوته
۴۳,۷۶	۰/۰۰۳	۱۹	۵/۹۷	۱۶/۲۱	۱۵/۲۹	۰/۱۳	۰/۰۰۳	۳۶	۰/۱۳	۱۶/۲۱	۵/۹۷	۱۹	۰/۰۰۳	۴۳,۷۶	تثبیت نیتروژن

^{n.s}، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی صفات مهم در لوبیا تحت تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم به روش آزمون L.S.D در سطح احتمال ۵٪

تیمار	عملکرد kg/ha	وزن خشک گره در بوته (g)	تعداد دانه در غلاف	وزن خشک غلاف (g)	تعداد غلاف در بوته	تثبیت نیتروژن (%)
شاهد	۱۴۴۱ f	۰/۰۵۵ bc	۲/۶۷ c	۱۱/۶۷ b	۷/۸۸ c	۰/۰۰ c
مصرف نیتروژن N 100	۲۱۲۱ c	۰/۰۵۰ c	۳/۲۵ a	۱۹/۴۴ a	۹/۳۳ bc	۵/۲۹ bc
سویه L-47	۱۷۷۱ e	۰/۰۸۶ abc	۲/۹۲ abc	۱۳/۵۱ b	۹/۴۲ bc	۷/۶۲ ab
سویه L-109	۲۱۰۳ d	۰/۱۲۶۰ a	۲/۸۳ bc	۱۴/۹۲ ab	۱۱/۲۱ ab	۱۱/۹۶ a
سویه L-125	۲۵۰۶ a	۰/۱۱۲۰ ab	۳/۰۸ ab	۱۸/۹۲ a	۱۲/۷۷ a	۱۰/۷۱ ab
سویه L-78	۲۲۰۲ b	۰/۱۲۱۰ a	۳/۰۱ abc	۱۶/۵۳ ab	۱۱/۵۵ ab	۹/۸۲ ab
L.S.D (0.05)	۰/۰۶۷	۰/۰۶۲	۰/۳۸۴	۵/۱۷۱	۲/۷۵	۵/۷۴

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح ۵٪ اختلاف معنی دار ندارد.

اجزای عملکرد

دارای حداکثر وزن ۱۰۰ دانه در حدود ۴۴ گرم و رقم توده بومی لوبیا قرمز دارای حداقل وزن ۱۰۰ دانه معادل ۳۵ گرم بود. تنوع موجود در بین ارقام از لحاظ وزن هزار دانه احتمالاً مربوط به اختلاف ژنتیکی ارقام در طول دوره پرشدن دانه (از زمان گلدهی تا رسیدگی دانه) می‌باشد. اثر متقابل رقم * سویه باکتری از لحاظ وزن ۱۰۰ دانه اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۳).

نتایج آزمایش تفاوت بسیار معنی داری ($P \leq 0.05$) را از نظر وزن خشک غلاف در بوته بین سطوح عامل اصلی نشان داد (جدول ۳). احتمالاً اختلاف اخیر مربوط به میزان فراهمی نیتروژن و توان تثبیت نیتروژن توسط سویه‌های مختلف می‌باشد. نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میانگین وزن خشک غلاف در بوته از تیمار شاهد با نیتروژن در حدود ۱۹/۴۳ گرم در بوته و کمترین وزن خشک غلاف از شاهد بدون تلقیح در حدود ۱۱/۶۷ گرم بدست آمد (جدول ۵). البته سایر تیمارهای مورد آزمایش به جز سویه L-47 از منطقه فریدونشهر اصفهان با تیمار شاهد با نیتروژن در یک گروه آماری قرار گرفتند. رودریگوئز ناوارو و همکاران (۲۰) نیز اختلاف معنی داری را بین سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم از نظر وزن خشک غلاف در بوته در آزمایش اول مشاهده نمودند. آنها بیشترین وزن خشک غلاف را از سویه‌های ISP-1 و CIAT-899 و کمترین وزن خشک غلاف را از تیمار شاهد بدون تلقیح در رقم کانلینی گزارش نمودند. همچنین آنها در آزمایش دوم نیز اختلاف معنی داری ($P \leq 0.05$) را از لحاظ وزن خشک غلاف بین ۲۶ ایزوله مختلف مشاهده نمودند. نتایج تحقیقات شیزانیا (۲۲) نیز مؤید این مطلب بود که صفت وزن خشک غلاف در بوته تحت تأثیر کاربرد سویه‌های مختلف باکتری قرار گرفت؛ بطوریکه وی بیشترین میزان وزن خشک غلاف در بوته را از سویه R3254 لوبیا تپاری در هر ۲ منطقه پرباران و کم باران کنیا و کمترین میزان آنرا از سویه R446 لوبیا تپاری در منطقه پرباران و تیمار شاهد در منطقه کم باران گزارش داد.

سویه‌های مختلف باکتری از نظر تعداد غلاف در بوته اختلاف بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) را نشان داد (جدول ۳). تلقیح بذر ارقام لوبیا با سویه L-125 منطقه الشتر با میانگین ۱۲/۷۷ غلاف در بوته بیشترین و شاهد بدون تلقیح با میانگین ۷/۸۸ غلاف در بوته کمترین تعداد غلاف را دارا بودند (جدول ۴). در بررسی شیزانیا (۲۲) لوبیا تپاری (*Phaseolus R3254*) بیشترین تعداد غلاف در بوته و تیمار شاهد کمترین تعداد غلاف در بوته را در ۲ منطقه کم باران و پرباران کنیا دارا بودند. اثر متقابل ارقام و تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری از نظر صفت فوق به لحاظ آماری اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۳). نتیجه اخیر با نتایج بعضی از محققان (۲۰ و ۲۲) مطابقت ندارد ولی با نتیجه بررسی باتری بریان و همکاران (۸) مشابهت دارد.

تعداد دانه در غلاف نیز به عنوان یکی از اجزای مهم عملکرد دانه تحت تاثیر سطوح عامل اصلی ($P \leq 0.01$) قرار گرفت (جدول ۳)؛ بطوریکه حداکثر و حداقل تعداد دانه در غلاف به ترتیب از تیمارهای شاهد با نیتروژن و شاهد به میزان ۳/۲۵ و ۲/۶۷ دانه در غلاف حاصل شد (جدول ۴). تیمار شاهد با نیتروژن احتمالاً به دلیل فراهمی میزان نیتروژن برای گیاه و اثر مثبت آن بر طول دوره پرشدن دانه از طریق افزایش دوام شاخص سطح برگ و تخصیص بیشتر مواد به دانه منجر به افزایش تعداد دانه در شرایط آزمایش شده است (۱۲). ارقام نیز از این نظر اختلاف بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) را نشان دادند (جدول ۳). اثر متقابل رقم * باکتری از لحاظ تعداد دانه در غلاف معنی داری نشد (جدول ۳). یادگاری و همکاران (۵) در بررسی ۲ رقم سویا تلقیح شده با سویه‌های مختلف باکتری *Bradyrhizobium japonicum* نیز اختلاف معنی داری را بین اثر متقابل سویه و رقم از لحاظ تعداد دانه در غلاف مشاهده نکردند.

تغییرات وزن ۱۰۰ دانه در سویه‌های مختلف باکتری معنی دار نبود. ولی اختلاف معنی داری ($P \leq 0.05$) بین سطوح عامل فرعی مشاهده شد (جدول ۳). رقم تلاش لوبیا چیتی

بوته را دارا بودند (جدول ۵). در حالی که در بررسی رودریگوئز ناوارو و همکاران (۲۰) ترکیبات مختلف سویه * رقم لوبیا از این نظر اختلاف معنی داری نشانندادند.

اثر متقابل رقم و سویه باکتری از نظر وزن خشک غلاف در بوته نیز دارای اختلاف بسیار معنی دار ($p < 0.01$) بود (جدول ۳) و ترکیب رقم تلاش و شاهد با نیتروژن با میانگین ۲۸/۴۰ گرم در بوته بیشترین و ترکیب لوبیا چیتی توده بومی * L-109 منطقه تويسرکان کمترین وزن خشک غلاف در

جدول ۵- اثر تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم بر برخی صفات مهم در سه رقم لوبیا

رقم	تیمار	عملکرد (Kg/ha)	تعداد گره در بوته	وزن خشک گره (g)	تعداد دانه در غلاف	وزن ۱۰۰ دانه (g)	وزن خشک غلاف (g)	تعداد غلاف	نسبت نیتروژن (%)
	شاهد	۱۴۱۶/۷	۵/۴۵	۰/۰۵	۳/۰۰	۴۴/۷۰	۸/۶۳	۷/۰۲	۰/۰۰
	N 100	۲۶۵۱/۶	۱/۹۸	۰/۰۳۱	۳/۰۰	۴۹/۳	۲۸/۴۰	۸/۹۱	۴/۶۳
لوبیا چیتی	L-47	۱۹۴۶/۷	۶/۷۳	۰/۰۱۰	۳/۰۰	۴۳/۵	۱۷/۴۰	۹/۹۲	۷/۲۲
رقم تلاش	L-109	۲۳۷۰/۱	۴/۴۵	۰/۱۲۱	۳/۰۰	۴۹/۶۰	۱۸/۱	۱۰/۷۴	۱۱/۶۰
	L-125	۲۷۰۱/۷	۴/۱۲	۰/۱۳۲	۳/۲۵	۴۷/۸	۲۱/۸۳	۱۱/۹۱	۹/۱۰
	L-78	۱۷۱۸/۴	۵/۲۰	۰/۰۷۱	۲/۵۰	۲۹/۹	۱۱/۶۳	۱۰/۹۳	۹/۴۱
میانگین		۲۱۳۴/۲	۴/۶	۰/۰۶۹	۲/۹۶	۴۴/۱۳	۱۷/۶۷	۹/۹۱	۶/۹۹
	شاهد	۱۹۹۵/۱	۶/۱۱	۰/۰۸۱	۳/۰۰	۴۵/۲۰	۱۷/۱۳	۹/۷۲	۰/۰۰
	N 100	۲۱۷۲/۲	۱/۶۳	۰/۰۹۱	۲/۵۰	۴۵/۵۰	۱۸/۴۵	۱۰/۵۷	۷/۱۱
لوبیا چیتی	L-47	۲۰۶۵/۳	۵/۲۰	۰/۰۸۵	۳/۰۰	۴۶/۸	۱۵/۲۴	۹/۸۶	۱۱/۵۸
توده بومی	L-109	۱۲۷۱/۷	۵/۹۶	۰/۰۵۲	۳/۰۰	۲۹/۶	۷/۵۸	۸/۷۶	۱۲/۳
شهرکرد	L-125	۲۱۲۳/۳	۴/۴۹	۰/۰۴۱	۳/۰۰	۲۷/۵	۱۳/۶۸	۱۲/۸۳	۱۰/۴۶
	L-78	۲۱۸۸/۹	۹/۷۵	۰/۰۱۴۲	۳/۲۵	۴۳/۶	۱۸/۱۹	۱۰/۴۰	۷/۴۹
میانگین		۱۹۶۹/۴۲	۵/۵۲	۰/۰۸۲	۲/۹۶	۳۹/۷	۱۵/۰۴	۱۰/۳۶	۸/۱۶
	شاهد	۹۱۲/۸	۴/۵۱	۰/۰۳۱	۲	۲۶/۳۱	۹/۲۳	۶/۸۹	۰
	N 100	۱۵۳۸/۳	۰/۸۱	۰/۰۲۱	۳/۷۵	۳۰/۱۱	۱۱/۴۵	۸/۵۰	۱۰/۱۲
لوبیا قرمز	L-47	۱۳۰۱/۷	۵/۷۳	۰/۰۶۳	۲/۷۵	۲۹/۹۱	۷/۸۹	۸/۴۶	۴/۰۴
توده بومی	L-109	۲۶۶۸/۲	۷/۸۷	۰/۰۱۹۱	۳	۴۱/۸۱	۱۹/۰۲	۱۴/۱۰	۱۱/۹۷
شهرکرد	L-125	۲۶۹۴/۴	۷/۸۸	۰/۱۵۲	۳	۴۴/۴	۲۱/۲۵	۱۳/۵۵	۱۲/۳۹
	L-78	۲۶۹۸/۳	۵/۱۳	۰/۱۴۴	۳/۲۵	۴۱/۴	۱۹/۷۷	۱۳/۳۰	۱۲/۷۴
میانگین		۱۹۶۸/۹۵	۵/۳۲	۰/۰۷۲	۲/۹۶	۳۵/۶۶	۱۴/۷۷	۱۰/۸	۸/۵۴
تجزیه واریانس	رقم Cv.	$p < 0.01$	ns	$p < 0.01$	$p < 0.01$	ns	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.01$
	سویه St.	$p < 0.01$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.01$	ns
	سویه * رقم Cv. * St	ns	ns	ns	ns	ns	$p < 0.01$	ns	ns

۲۵/۷۸	۲۳/۵۹	۲۵/۴۳	۹/۸۲	۱۲/۱۷	۲۸/۰۱	۲۸/۱	۳۵/۰۲	ضریب تغییرات C.V%
n.s. ۵٪ < p و ۱٪ < p به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪								

تعداد گره در ۵۰ درصد گلدهی تفاوت معنی داری را نشان نداد (جدول ۳). ولی از نظر وزن خشک گره بین ارقام اختلاف معنی داری ($P \leq 0.01$) وجود داشت؛ بطوریکه لوبیا چیتی توده بومی شهرکرد دارای بیشترین وزن خشک و تعداد گره و لوبیا قرمز محلی و تلاش به ترتیب دارای کمترین میزان وزن خشک و تعداد گره در ۵۰ درصد گلدهی بودند. همچنین وزن خشک و تعداد گره در این مطالعه تحت تأثیر اثر متقابل رقم و سویه باکتری قرار نگرفت (جدول ۳).

درصد تثبیت نیتروژن

سطوح عامل اصلی از نظر میزان تثبیت نیتروژن اختلاف بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) را نشان داد (جدول ۳). بیشترین میزان درصد تثبیت نیتروژن مربوط به تلقیح بذور با سویه L-109 منطقه تویسرکان همدان و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با نیتروژن بود. سطوح عامل فرعی و اثر متقابل رقم * سویه باکتری از این نظر اختلاف معنی داری را نشان ندادند (جدول ۳). تمیمی (۲۳) در بررسی میزان تثبیت نیتروژن وارینه هاروستر لوبیا تلقیح شده با ۱۰ جدایه مختلف ریزوبیوم در ۳ منطقه شمالی، جنوبی و مرکزی اردن به این نتیجه رسید که جدایه JOVI از منطقه جنوبی اردن دارای درصد تثبیت نیتروژن بیشتری در مقایسه با سایر ایزوله‌ها نسبت به شاهد بود. وی همچنین ملاحظه کرد که این ایزوله به دلیل توان بالا در تثبیت نیتروژن توانسته تولید ماده خشک اندام هوایی لوبیا را نسبت به دیگر تیمارها افزایش دهد.

نتیجه گیری

تعداد و وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی (۴۵ روز پس از سبز شدن)

وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی تحت تأثیر ($p < 0.01$) کاربرد سویه‌های مختلف باکتری قرار گرفت (جدول ۳) و بیشترین وزن خشک گره از تیمار تلقیح بذور با سویه L-109 منطقه تویسرکان همدان و کمترین آن از تیمار شاهد با نیتروژن بدست آمد (جدول ۳). کم بودن وزن خشک گره در تیمار شاهد با نیتروژن نسبت به شاهد بدون نیتروژن احتمالاً شاید مربوط به اثر منفی غلظت زیاد نیتروژن بر فعالیت باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن می‌باشد (۱۱). از نظر تعداد گره در ۵۰ درصد گلدهی اختلاف معنی داری بین سطوح عامل اصلی مشاهده نشد (جدول ۳). در حالی که هانگریا و همکاران (۱۶) ملاحظه کردند که بین گیاهان تلقیح شده با ۸ سویه مختلف باکتری ریزوبیوم از نظر تعداد و وزن خشک گره در بوته تفاوت معنی داری وجود داشت. در بررسی آنها که در ۲ منطقه و به مدت ۲ سال انجام شد تیمار تلقیح بذور لوبیا رقم کاریو کا با سویه PRF81 نسبت به تلقیح با سایر سویه‌ها و همچنین تیمار شاهد با نیتروژن (۳۰ کیلوگرم نیتروژن در زمان کاشت و ۳۰ کیلوگرم در ۳۵ روز پس از کاشت) بیشترین میزان وزن خشک و تعداد گره در مرحله اوایل گلدهی (۴۲ روز پس از سبز شدن) را دارا بود. تمیمی (۲۳) بیشترین تعداد و وزن خشک گره در بوته را از جدایه بومی JOV3 موجود در خاکهای مناطق مرکزی اردن گزارش داد. نتایج تحقیقات شیزانیا (۲۲) نشان داد که تلقیح لوبیا تباری با سویه R3254 در شرایط گلخانه ای و مزرعه ای در دو منطقه پرباران و کم باران طی مراحل مختلف رشد (۲۱، ۴۲ و ۷۰ روز پس از سبز شدن) دارای حداکثر وزن خشک و تعداد گره در بوته بود. سطوح عامل فرعی از نظر

نتایج این آزمایش نشان داد که تلقیح بذره‌های ارقام لوبیا با سویه‌های مختلف باکتری *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* اثرات معنی داری بر صفاتی از جمله عملکرد دانه، وزن خشک غلاف در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، تعداد و وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی (۵۰ روز پس از سبز شدن) و میزان در صد تثبیت نیتروژن دارد اما اختلاف معنی داری از لحاظ وزن ۱۰۰ دانه حاصل نشد. بیشترین و کمترین میزان عملکرد دانه به ترتیب مربوط به گیاهان تلقیح شده با سویه *L-125* به میزان ۲۵۰۶ کیلوگرم در هکتار و شاهد بدون تلقیح به میزان ۱۴۴۱ کیلوگرم در هکتار بود. بطور کلی گیاهان ارقام مختلف لوبیا تلقیح شده با سویه‌های مختلف قابلیت تولید گره و تثبیت نیتروژن را داشتند. با این حال تیمار تلقیح بذر با سویه *L-109* منطقه تویسرکان همدان توانست در شرایط آب و هوایی و سال آزمایش بیشترین میزان تثبیت نیتروژن را دارا باشد.

قدردانی و تشکر

در پایان از زحمات کلیه عزیزانی که ما را در اجرای طرح یاری نمودند بویژه معاونت محترم پژوهشی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران، کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین از آقای دکتر هادی اسدی رحمانی عضو هیئت علمی بخش بیولوژی خاک موسسه خاک و آب، آقایان مهندس فرزاد و مهندس محنت کش اعضای هیئت علمی بخش خاک و آب مجتمع تحقیقات جهاد کشاورزی استان چهارمحال و بختیاری، آقای مهندس احمدی مسئول آزمایشگاه تکنوتست شهرکرد و آقای مهندس یادگاری به جهت همفکری سپاسگزاریم.

منابع مورد استفاده:

۱. اسدی رحمانی، ه. ۱۳۷۸. بررسی امکان پیش بینی ضرورت تلقیح سویا بر اساس تعیین تعداد باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم و سنجش پتانسیل معدنی شدن نیتروژن در خاکهای زیر کشت سویا. ششمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات ۲۱-۲۳.
6. Amijee, F., and K. E. Giller. 1998. Environmental constrains to nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in Tanzania. I. A survey of soil fertility and root nodulation. *African Journal of Agriculture research*. 6: 159-169.
7. Barron, J. E., R. J. Pasini, D. W. Davis, D. D. Stuthman, and P. H. Graham. 1999. Response to selection for seed yield and nitrogen (N₂) fixation in Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*. 62:119-128.
8. Buttery Brian, R., P. Soont, and B. Van Berkum Peter. 1998. Effects of cultivar and strain of *rhizobium* on growth, bean yield and nitrogen content of Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Tektran. Agriculture Research Service.
9. Chirstianse, I., and P. H. Graham. 2002. Variation in di-nitrogen fixation among Andean bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes grown at low and high levels phosphorus supply. *Field Crops Research*. 73: 133-143.
10. Giller, K. E. 2001. Nitrogen fixation in tropical cropping systems. 2nd edn. CABI publishing.
11. Giller, K. E., F. Amijee, S. J. Brodrich, and O. T. Edje. 1998. Environmental constrains to nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in Tanzania. II. Response to N and P fertilizer and inoculation. *African Journal of Agriculture research*. 6: 171-178.
12. Graham, P. H., and P. Ranalli. 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Field Crops Research*. 53: 131-146.
13. Graham, P. H. 1990. Problemas de la nudulacion y la fijacion de nitrogeno en *Phaseolus vulgaris* L. Una reevaluacion. *Terra*, 8: 71-82.
14. Handeson, G. 1993. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil*. 152: 1-17.
15. Hungria, M., L. H. Boddy. 1998. Nitrogen fixation capacity & nodule occupancy by *Brady Rhizobium japonicum* & *B. elkani* strain. *Biology & Fertility of Soils*. 27: 393-399.
16. Hungria, M., D. de S. Andrade, L. M. de O. Chueire, A. Probanza, F. J. Gutierrez-Manero, M. Megias. 2000. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 1515-1528.

17. Hungria, M., D. S. Andrade, A. Colozzi-Filho, and E. L. Balota. 1997a. Interacao entre microrganismos do solo, feijoeiro e milho em monocultura consorcio. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 32: 807-818.
18. Mhamdi, R., G. Laguerre, M. E. Aouani, M. Mars, and N. Amarger. 2002. Different species and symbiotic genotypes of field rhizobia can nodulate *Phaseolus vulgaris* in Tunisian soils. *FEMS. Microbiology Ecology*. 41: 77-84.
19. Rodriguez-Navarro. D. N., A. M. Buendia, M. Camacho, and M. M. Lucas. 2000. Characterization of *Rhizobium spp* bean isolates from southwest Spain. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 1601-1613.
20. Rodriguez-Navarro. D. N., C. Santamaria, F. Temprano, and E. O. Leidi. 1999. Interaction effects between *Rhizobium* strain and bean cultivar on nodulation, plant growth, biomass partitioning and xylem sap composition. *European Journal of Agronomy*. 11: 131-143.
21. Sanchez, P. A., T. T. Cochran. 1980. Soil constrains in relation to major farming systems of tropical America. In: Priorities for alleviating soil-related constrains to food production in the tropics. IRRI, Los Banos, Philippines. pp, 107-139.
22. Shisanya, C. A. 2002. Improvement of drought adapted tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray var latifolius) yield through biological nitrogen fixation in semi-arid SE-Kenya. *European Journal of Agronomy*. 16: 13-24.
23. Tamimi, S. M. 2002. Genetics diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the soils of the Jordan valley. *Applied Soil Ecology*. 19: 183-190.
24. Vietnam and Iwao Watanabe, 2000. Biological nitrogen fixation & its use in agriculture (out line). Iwao watanabe (JICA/ cantho university expert mar-apr). Wells. R, Burton.

Archive of SID

Effects of inoculation of bean cultivars with *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* on yield and nitrogen fixation in Shahrekord condition

A.Ghasemi Pirbalouti, I. Alahdadi, GH. Akbari, A. R. Golparvar¹

Abstract

In order to evaluate inoculation effects on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars with different strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, a spilt plot experiment in randomized complete block design was conducted in the field at ShahreKord in 2002. The factors were four bacterial strains: *L-78*, *L-47*, *L-125*, *l-109* and plus nitrogen control (100 kg Nitrogen/ha) and a control plot (without inoculation) in main plots and three cultivars bean: local shahrekord (spotted bean), Talash (spotted bean) and local shahreKord (red bean) in subplots. The results revealed that there were significant differences among factor A in grain yield, weight of pod per plants, number of pods per plants, number of seeds per pods, number and weight nod at 50% flowering (50 days after emergence), nitrogen concentration of leaf and stem and percent of nitrogen fixation. Treatment of inoculated seeds with *L-125* strain and control demonstrated the highest and lowest grain yield, respectively. The results showed that all treatments were capable of nodulation. However, strains *L-109* gave highest nodule dry weight and percent of fixed N₂. An efficient symbiotic was achieved with strain *L-109*, since total N content of plants inoculated with these strains was similar to that of plants supplied with N –fertilizer treatment.

Key words: Bean (*phasolus vulgaris* L.), Cultivars, Nitrogen fixed rate, Inoculation, *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* and Yield.

¹ - Contribution from Shahrekord Azad University, Aboreihan Institute of Tehran University and Khorasgan Azad University, respectively.