



## بررسی توان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن ارقام متفاوت لوبیا با سوش‌های مختلف باکتری ریزوبیوم در منطقه شهرکرد

- عبدالله قاسمی پیربلوطی، عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
- ایرج اله دادی و غلامعباس اکبری، اعضاء هیأت علمی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران
- احمدرضا گل پرور، عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آذرماه ۱۳۸۴

E-mail: ghasemi955@yahoo.com

### چکیده

به منظور بررسی توان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط نژادهای مختلف باکتری ریزوبیوم، آزمایشی در سال ۱۳۸۱ به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در منطقه شهرکرد به مرحله اجرا در آمد. نژادهای مختلف باکتری ریزوبیوم به نام‌های L-۷۸، L-۴۷، L-۱۲۵، L-۱۰۹ جمع آوری شده توسط موسسه خاک و آب به همراه یک تیمار مصرف کود نیتروژن به میزان ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و شاهد (بدون مصرف کود و عدم تلقیح) به عنوان عامل اصلی و ارقام لوبیا شامل چیتی رقم تلاش، چیتی توده بومی و قرمز توده بومی منطقه شهرکرد به عنوان عامل فرعی در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس آزمایش مشخص کرد که بین سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم تلقیح شده با بذر لوبیا اختلاف معنی داری از لحاظ صفات: درصد تثبیت نیتروژن، نیتروژن اندام هوایی، تعداد و وزن گره در ۵۰ درصد گلدهی، پروتئین دانه، عملکرد کل ماده خشک اندام هوایی و عملکرد دانه وجود داشت. تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم منجر به افزایش میزان تثبیت نیتروژن، تعداد و وزن گره روی ریشه، نیتروژن کل اندام هوایی، پروتئین دانه، عملکرد ماده خشک اندام هوایی و عملکرد دانه در مقایسه با شاهد گردید. در این بین تیمار تلقیح بذر با سویه L-۱۰۹ منطقه تویسرکان همدان با حداکثر وزن گره، نیتروژن اندام هوایی و درصد تثبیت نیتروژن در مقایسه با سایر سویه‌های به کار برده شده با توجه به شرایط آب و هوایی و سال آزمایش به عنوان کارآمدترین سویه باکتری ریزوبیوم جهت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن معرفی می شود.

کلمات کلیدی: ارقام لوبیای معمولی، *Rhizobium leguminosarum*، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، عملکرد دانه و ماده خشک اندام هوایی

Pajouhesh & Sazandegi No 69 pp: 62-68

Evaluation of nitrogen fixation ability with different strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars in Shahrekord

By: A. Ghasemi Pirbalouti, Scientific Member, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Shahrekord.

I. Allahdadi and G. A. Akbari, Scientific Members, Aboorayhan Education Campus, University of Tehran.

A. R. Golparvar, Scientific Member, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Khorasgan.

In order to evaluate nitrogen fixation ability of different strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* in common bean cultivars, 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, one nitrogen fertilizer treatment (100 kg Nitrogen/ha) and a control plot (without seeds inoculated and fertilizer) as main plots and three bean cultivars: Local Shahrekord (spotted bean), Talash (spotted bean) and local shahrekord (red bean) in subplots. The results showed that significant difference in seed yield, nitrogen fixation percentage, nitrogen percent per plants, seed protein percentage, number and weight of nodules at 50% flowering (50 days after emergence), seed and dry matter yield were observed among seed inoculated with different strains and non-inoculated controls (N fertilizer treatment and without N fertilizer treatment). Seed inoculation with L-125 strain showed higher yield than other treatments. The results showed that seed inoculation with different rhizobia strains increased nodule dry weight, total shoot nitrogen and percent of fixed  $N_2$  in comparison to control and N fertilizer treatment. However, strains L-109 gave highest nodule dry weight, total shoot nitrogen and percent of fixed  $N_2$ .

**Keywords:** Common Bean, Cultivars, Biological nitrogen fixation, Seed yield, Total dry weight.

#### مقدمه

منافع حاصل از گنجاندن گیاهان زراعی خانواده بقولات در تناوب‌های زراعی در بهبود حاصلخیزی خاک، مدیریت نیتروژن، کاهش آلودگی آب‌های زیر زمینی بر اثر آبشویی نیترات‌ها، صرفه جویی در مصرف انرژی در جهت کشاورزی ارگانیک از دیرباز تاکنون به اثبات رسیده است. لوبیای معمولی با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L مانند سایر بقولات با همزیستی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تولید گره در ریشه سبب تثبیت نیتروژن مولکولی می‌شود (۴، ۱۰). در خاک‌های که برای اولین بار لوبیا یا سایر بقولات کشت می‌شود به منظور تثبیت مقدار کافی از جمعیت نژاد موثر باکتری و بروز آلودگی در ریشه‌های آنها نیاز به تلقیح با باکتری مناسب است (۱۳). Giller یکی از مهمترین برنامه‌های اصلاحی در لوبیا را افزایش توان تثبیت و گره زایی لوبیا بیان کرده و از عوامل موثر بر میزان گره زایی و تثبیت نیتروژن را تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و سوش‌های مختلف ریزوبیوم، اثرات متقابل بین ارقام لوبیا و سویه‌های مختلف باکتری، میزان کود نیتروژن مصرفی در خاک، عوامل محیطی، وجود تنش‌های محیطی مانند خشکی، سرما و گرما دانسته است (۷).

Mhamdi و همکاران (۲۰۰۲) ایزوله‌های دو زیر گونه *R. leguminosarum* biovar *phaseoli* و *R. etli* را از مهمترین و کارآمدترین ایزوله‌های موثر در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در لوبیا معرفی کرده‌اند. لوبیا در شرایط محیطی مناسب و وجود ریزوبیوم کارآمد، به تلقیح بذور با باکتری واکنش نشان داده، در حالی که در اغلب خاک‌ها، باکتری کارآمد وجود نداشته یا تعداد آنها کم می‌باشد (۷). اسدی رحمانی و راستین (۲) در بررسی میزان تثبیت نیتروژن توسط سویه‌های مختلف باکتری *R. phaseoli* در ارقام مختلف لوبیا گزارش دادند که اختلاف معنی داری از لحاظ وزن خشک ارقام لوبیا بین سویه‌های مختلف باکتری وجود دارد. همچنین ایشان بیان نمودند که سویه شماره ۱۰۰ جداسازی شده از استان همدان (منطقه لالچین) دارای

بیشترین کارایی در تولید ماده خشک بوده است. همچنین نتایج آزمایشی گلخانه‌ای (۱) بر روی ۱۳ سویه مختلف باکتری سویا در دو تیمار ۳۵ و ۷۰ قسمت در میلیون نیتروژن در مقایسه با تیمار شاهد مؤید این مطلب بود که بین تیمارهای مورد بررسی و شاهد اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد ایشان سویه‌های با میزان تولید گره و کارایی همزیستی بالا را جزء سویه‌های بسیار موثر طبقه بندی کرده است.

نتایج تحقیقات Tamimi حاکی از آن بود که تعداد گره، وزن گره، وزن اندام هوایی و درصد نیتروژن تثبیت شده در سه منطقه اردن (شمال، جنوب و مرکز اردن) تحت تاثیر ایزوله‌های مختلف تلقیح شده با بذور لوبیا قرار گرفت که در این بین ایزوله JOV-۱ از منطقه جنوب اردن دارای بیشترین میزان تثبیت نیتروژن، ماده خشک اندام هوایی، وزن گره و تعداد گره بود طی ۱۵ سال غربال ۱۵۰۰ ژنوتیپ لوبیا در منطقه کوئین لندز<sup>۱</sup> در استرالیا ۲ ژنوتیپ با توان بالای تثبیت نیتروژن در حدود ۳۰ درصد نسبت به ارقام تجاری شناسایی شد. این در حالی بود که این ۲ ژنوتیپ مقاومت چندانی به بیماری‌ها و همچنین واکنش مناسبی به کود نیتروژن نداشتند (۲۰). نتایج شناسایی و جداسازی ریزوبیوم جدید و کارآمد در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در لوبیا در خاک‌های برزیل توسط Hungria و همکاران نشان داد که سویه‌های PRF۵۴، PRF۸۱ و PRF۳۵ از ایالت Parana برزیل دارای عملکرد، سازگاری و میزان تثبیت نیتروژن بیشتری در شرایط دمای بالا نسبت به ۴ سویه دیگر می‌باشند. همچنین آنها معتقد بودند که شناسایی و جداسازی سویه‌های خاک‌های مناطق مختلف می‌تواند کمک زیادی به انتخاب در برنامه‌های آینده اصلاحی داشته باشد. لذا به منظور بررسی توان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط همزیستی سویه‌های مختلف باکتری *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* در چند رقم مختلف لوبیا و تعیین سویه مناسب و کارآمد جهت تلقیح تجاری با بذور لوبیا در منطقه شهرکرد تحقیق حاضر به مرحله اجرا در آمد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان سال ۱۳۸۱ در مزرعه ای واقع در ۱۵ کیلومتری غرب شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی با ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا به اجراء درآمد. میانگین بارندگی سالیانه در این منطقه حدوداً ۳۳۷/۲ میلی متر با متوسط درجه حرارت ۱۱/۹ درجه سانتیگراد گزارش شده است. اقلیم منطقه بر اساس روش آمبرژه نیمه خشک سرد می باشد. خاک محل مورد آزمایش دارای بافت سیلتی شنی، اسیدیته حدود ۷/۶۸، هدایت الکتریکی ۰/۶۶ دسی زیمنس بر متر، درصد کل نیتروژن ۰/۱۶ و مقدار فسفر و پتاسیم قابل جذب تا عمق ۳۰ سانتی متری خاک به ترتیب ۲۴/۴ و ۳۷۱ قسمت در میلیون و جمعیت طبیعی باکتری ریزوبیوم در حدود ۱۰۲ برآورد گردید.

آزمایش به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اجراء شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل تلقیح بذر با ۴ سویه مختلف باکتری ریزوبیوم، تیمار مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود نیتروژن خالص بدون تلقیح بذر و شاهد عدم مصرف کود نیتروژن و عدم تلقیح به عنوان عامل اصلی و ۳ رقم مختلف لوبیا شامل رقم تلاش و بومی شهرکرد از ارقام لوبیای چیتی و لوبیای قرمز بومی شهرکرد به عنوان عامل فرعی بودند. هر کرت فرعی به ابعاد ۵ × ۲/۵ متر مربع، شامل ۵ ردیف کاشت 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. برخی از مشخصات نژادهای مختلف باکتری ریزوبیوم مورد بررسی در این آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت تلقیح بذر ارقام مختلف لوبیا با نژادهای مختلف باکتری از روش تلقیح مایع استفاده شد بدین صورت که هر کیلوگرم بذر لوبیا با ۷ میلی گرم از باکتری مورد نظر تلقیح گردید (۱، ۱۵). لازم به ذکر است که کود نیتروژن در تیمار مصرف نیتروژن و عدم تلقیح بذر به میزان یک سوم در مرحله کاشت و باقیمانده به صورت سرک پس از وجین در مرحله ۴ تا ۶ برگی به فرم اوره ۴۶٪ نیتروژن به خاک اضافه گردید.

زمین محل انجام آزمایش در پاییز سال قبل و در بهار سال ۱۳۸۱ بعد از برداشت گندم با گاو آهن برگرداندار شخم زده شد سپس مقدار ۲۵۰ کیلوگرم کود فسفوره به صورت سوپر فسفات تریپل (۴۷ درصد اکسید فسفر) در سطح مزرعه پخش و توسط دیسک با خاک مخلوط گردید. کشت بذر لوبیا توسط دست به صورت ردیفی با فواصل ۵۰ سانتی متر بین ردیف‌ها و فاصله روی ردیف‌ها به ترتیب برای رقم قرمز ۱۵ و ارقام چیتی ۲۰ سانتی متر در نظر گرفته شد (۱۳). کاشت در تاریخ ۲۵ خرداد به روش نمک‌کاری به عمق ۵-۳ سانتی متر و اولین آبیاری به صورت نشتی پس از خروج گیاهچه از خاک و آبیاری بعدی با توجه به شرایط اقلیمی و وضعیت رطوبتی خاک هر ۷ الی ۸ روز یکبار انجام شد. جهت رفع نیاز غذایی به عناصر میکرو یکبار محلول‌پاشی به نسبت ۱ در هزار در مرحله اواسط گلدهی بر اساس علائم کمبود مشاهده شده این عناصر در مزرعه انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به صورت مکانیکی توسط وجین دستی انجام شد. صفات مورد ارزیابی در این آزمایش شامل درصد تثبیت نیتروژن، نیتروژن اندام هوایی، تعداد و وزن گره (در حدود ۵۰ روز پس از سبز شدن)، پروتئین دانه، عملکرد کل ماده خشک اندام هوایی و عملکرد دانه بودند.

جهت تعیین میزان تثبیت نیتروژن از دو روش استفاده گردید: ۱-

روش اختلاف نیتروژن و ۲-تعداد و وزن گره در ۵۰ درصد گلدهی. در روش اول میزان تثبیت نیتروژن از رابطه ۱- به دست می آید (۲۴):

$$100 \times \left[ \frac{\text{نیتروژن کل اندام هوایی گیاه تلقیح شده}}{\text{نیتروژن کل اندام هوایی شاهد}} - \text{درصد تثبیت نیتروژن} \right]$$

به منظور تعیین تعداد و وزن گره تشکیل شده روی ریشه لوبیا دو روز پس از آبیاری مزرعه در مرحله ۵۰ درصد گلدهی اقدام به نمونه برداری از ۲ بوته به طور تصادفی (پس از حذف اثر حاشیه) به همراه ۳۰ سانتی متر مکعب حجم خاک پیرامون آن شد. سپس در آزمایشگاه پس از شستن خاک تعداد گره‌های موجود در آن و سطح ریشه و همچنین وزن خشک گره‌ها با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم تعیین گردید. برداشت نهایی جهت تعیین عملکرد و اجزاء آن در تاریخ ۲۰ مهر و توسط دست صورت گرفت؛ به این ترتیب که از ۳ خط میانی هر پلات 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 نمونه‌ها، از هر کرت نمونه کوچکتی برداشت و توزین شدند و در آن (۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت) خشک گردیدند. پس از تعیین وزن خشک و درصد رطوبت نمونه‌ها، 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 کج‌دلال<sup>۲</sup> میزان درصد نیتروژن کل اندام‌های هوایی و خاک در زمان برداشت تعیین گردید. همچنین تعداد ۲۰ عدد بذر از هر تیمار به طور تصادفی جهت اندازه‌گیری میزان تثبیت نیتروژن و عملکرد پروتئین به روش مذکور به آزمایشگاه ارسال گردید. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده و مقایسه میانگین تیمارها به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد از برنامه‌های آماری SAS و MSTAT-C استفاده شد.

## نتایج و بحث

### درصد تثبیت نیتروژن

میزان محاسبه شده تثبیت نیتروژن اختلاف بسیار معنی داری را بین سطوح عامل اصلی نشان داد (جدول ۲). بیشترین میزان تثبیت نسبت به شاهد مربوط به تلقیح بذر با سویه L-۱۰۹ منطقه تویسرکان همدان و کمترین آن مربوط به تیمار مصرف کود نیتروژن بود (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس آزمایش از نظر این صفت بین سطوح عامل فرعی و اثرات متقابل اختلاف قابل ملاحظه‌ای را نشان نداد (جدول ۲). Tamimi (۲۰) در بررسی میزان تثبیت نیتروژن ۱۰ ایزوله مختلف ریزوبیوم در لوبیا واریته Harvester در ۳ منطقه شمالی، جنوبی و مرکزی اردن به این نتیجه رسید که ایزوله JOV۱ از منطقه جنوبی اردن دارای درصد تثبیت نیتروژن بیشتری در مقایسه با سایر ایزوله‌ها نسبت به شاهد می باشد. ایشان در ادامه ابراز داشتند که این ایزوله به دلیل توان بالا در تثبیت نیتروژن توانسته تولید ماده خشک اندام هوایی لوبیا را نسبت به دیگر تیمارها افزایش دهد. یادگاری (۴) گزارش داد که متوسط نیتروژن تثبیت شده در هکتار تحت تاثیر سویه‌های مختلف باکتری Bradyrhizobium، ارقام سویا و اثرات متقابل آنها قرار گرفت؛ به طوری که ترکیب لاین ۱۱ با سویه

جدول ۱- نام و محل جمع آوری سوش‌های مختلف باکتری

نام سویه	سال و محل جمع آوری شده	تکثیر و جمع آوری
L-۷۸	شهرکرد (چهارمحال و بختیاری) - ۱۳۸۱	موسسه خاک و آب بخش بیولوژی خاک
L-۱۰۹	تویسرکان (همدان) - ۱۳۸۱	"
L-۴۷	فریدون شهر (اصفهان) - ۱۳۸۱	"
L-۱۲۵	الشتر (لرستان) - ۱۳۸۱	"

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تاثیر تلقیح بذور با سویه‌های مختلف باکتری

میانگین مربعات M.S								
منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی d.f	عملکرد دانه (kg/ha)	عملکرد ماده خشک اندام هوایی (kg/ha)	نیترژن اندام هوایی (درصد نیترژن کل)	پروتئین دانه (درصد)	تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی	وزن گره در ۵۰٪ گلدهی (g)	ثبیت نیترژن نسبت به شاهد (درصد)
بلوک	۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۱۳/۲۸	۹/۰۶	۶۶/۶۲	۰/۰۰۸	۵۲۴/۶۸
عامل اصلی	۵	۰/۰۱۶**	۰/۲۲**	۸۸/۱*	۲۵/۱۶*	۱۴/۵۸ n.s	۰/۰۱۳*	۲۱۷/۷۱**
خطا a	۱۵	۰/۰۰۶	۰/۰۵۱	۰/۳۵	۵/۵۱	۲۳/۳۳	۰/۰۰۵	۴۳/۵۸
عامل فرعی	۲	۰/۰۵۳**	۰/۰۲۸**	۸۴/۶*	۸/۵۳ n.s	۸۴/۱۲**	۰/۰۴۴**	۲/۵۴ n.s
اثرات متقابل	۱۰	۰/۰۰۲ n.s	۰/۰۴۳**	۰/۳۷ n.s	۱۳/۶۶ n.s	۶/۲۰ n.s	۰/۰۰۲ n.s	۲۴/۸۹ n.s
خطا	۳۶	۰/۰۰۳	۰/۰۱۹	۰/۶۶	۸۵	۱۹/۰۰	۰/۰۰۳	۴۳/۷۶

n.s, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

تیمار تلقیح بذور لوبیا رقم Carioca با سویه PRF۸۱ نسبت به تلقیح با سایر سویه‌ها و تیمار شاهد و مصرف ۶۰ کیلوگرم نیترژن به فرم اوره (۳۰ کیلوگرم نیترژن خالص در زمان کاشت و ۳۰ کیلوگرم در ۳۵ روز پس از کاشت) دارای بیشترین میزان وزن گره و تعداد گره در مرحله اوایل گلدهی (۴۲ روز پس از سبز شدن) بود. Tamimi (۲۰) بیشترین میزان تعداد گره در بوته و وزن خشک گره را از ایزوله طبیعی JOV۳ موجود در خاک‌های مرکز اردن گزارش داد.

نتایج تجزیه واریانس آزمایش بین سطوح عامل فرعی از نظر تعداد گره در ۵۰ درصد گلدهی تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان نداد (جدول ۲ و ۳) اما از نظر وزن گره بین ارقام اختلاف معنی داری به دست آمد؛ آنچنانکه لوبیا چیتی توده بومی شهرکرد دارای بیشترین وزن گره و تعداد گره و لوبیا قرمز محلی دارای کمترین میزان وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی بودند (جدول ۳). شاید بتوان علت این امر را به دلیل سازگاری بیشتر رقم محلی چیتی با شرایط محیطی و خاکی منطقه و روابط متقابل بهتر این رقم با سویه باکتری‌های مورد تلقیح بیان نمود. وزن گره و تعداد گره در این مطالعه تحت تاثیر اثرات متقابل رقم و سویه باکتری قرار نگرفت (جدول ۲).

Highstick در مقایسه با شاهد دارای بیشترین میزان تثبیت نیترژن در حدود ۲۶۸ کیلوگرم در هکتار بود.

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

در این بررسی وزن گره در ۵۰ درصد گلدهی تحت تاثیر کاربرد سویه‌های مختلف باکتری قرار گرفت (جدول ۲) و بیشترین وزن گره از تیمارهای تلقیح بذر با سویه L-۱۰۹ منطقه تویسرکان همدان و سویه L-۷۸ منطقه شهرکرد و کمترین آن از تیمار مصرف کود نیترژن به دست آمد (جدول ۳). از نظر تعداد گره در ۵۰ درصد گلدهی اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین سطوح عامل اصلی مشاهده نشد (جدول ۲). در حالی که Hungria و همکاران (۱۳) بیان نمودند که بین تلقیح بذور با ۸ سویه مختلف باکتری ریزوبیوم از نظر تعداد گره در بوته و وزن گره تفاوت معنی داری وجود دارد و بیشترین تعداد و وزن گره را از تیمار PRF۸۱ و کمترین میزان آنها را از تیمارهای شاهد (-N) و تیمار مصرف نیترژن (+N) در شرایط کنترل شده دمایی (۲۸ درجه سانتیگراد در روز و ۲۳ درجه سانتیگراد در شب) گزارش دادند. همچنین آنها طی ۲ سال و ۲ منطقه آزمایش به این نتیجه رسیدند که

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی صفات مهم در لوبیا تحت تأثیر تلقیح بذر با سویه های مختلف باکتری ریزوبیوم (آزمون L.S.D در سطح احتمال ۵٪)

عامل اصلی	تثبیت نیتروژن نسبت به شاهد (درصد)	نیتروژن اندام هوایی (درصد نیتروژن کل)	پروتئین دانه (درصد)	وزن گره در ۵۰٪ گلدهی (g)	عملکرد ماده خشک اندام هوایی (kg/ha)	عملکرد دانه (kg/ha)
شاهد	۰/۰۰	۵/۵۳	۱۸/۲۳	۰/۰۰۵۵	۳۷۴۰	۱۴۴۱
سویه L-۴۷	۷/۶۲	۵/۹۱	۲۰/۰۴	۰/۰۸۶۰	۳۹۶۰	۱۷۷۱
مصرف نیتروژن ۱۰۰ N	۵/۲۹	۶/۲۱	۱۸/۳۷	۰/۰۵۰۰	۶۵۳۰	۲۱۲۱
سویه L-۱۰۹	۱۱/۹۰	۶/۳۲	۲۰/۱۹	۰/۱۲۶۰	۴۲۸۰	۲۱۰۳
سویه L-۱۲۵	۱۰/۷۱	۵/۹۸	۲۱/۴۷	۰/۱۱۲۰	۵۱۲۰	۲۵۰۶
سویه L-۷۸	۹/۸۲	۶/۱۸	۱۹/۶۷	۰/۱۲۱۰	۵۱۱۰	۲۲۰۲
L.S.D (۰/۰۵)	۵/۷۴۱	۰/۶۲۱	۲/۴۶۳	۰/۰۶۲	۰/۲۳۷	۰/۰۶۷
عامل فرعی	نیتروژن اندام هوایی (درصد نیتروژن کل)	وزن گره در ۵۰٪ گلدهی (g)	تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی	عملکرد ماده خشک اندام هوایی (kg/ha)	عملکرد دانه (kg/ha)	
لوبیا قرمز رقم محلی شهرکرد	۸/۸۶	۰/۰۵	۴/۴۵	۳۶۴۳/۷۵	۱۴۷۷	
لوبیا چیتی رقم تلاش	۸/۸۰	۰/۰۹	۴/۳۹	۵۳۷۰	۲۲۷۸	
لوبیا چیتی رقم محلی شهرکرد	۹/۷۶	۰/۱۳	۷/۶۶	۵۳۵۸/۳۳	۲۳۱۶	
L.S.D (۰/۰۵)	۱/۰۰۹	۰/۰۶۸	۵/۴۱۴	۰/۱۷۲	۰/۰۶۸	

\* در هر ستون میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد فاقد تفاوت معنی دار می باشند

نیتروژن تثبیت شده به طور معنی داری تحت تأثیر ژنوتیپ سویا و نژاد باکتری تثبیت کننده *Bradyrhizobium japonicum* قرار گرفت.

#### میزان نیتروژن اندام هوایی

در این آزمایش، اختلاف قابل ملاحظه‌ای از نظر میزان نیتروژن اندام هوایی به جز دانه در اثر کاربرد سویه های مختلف باکتری مشاهده گردید (جدول ۲)؛ به طوری که تیمارهای تلقیح بذر با سویه L-۱۰۹ و مصرف کود نیتروژن دارای بیشترین و شاهد دارای کمترین میزان نیتروژن اندام هوایی بودند (جدول ۳). همچنین تفاوت بسیار معنی داری بین سطوح عامل فرعی حاصل شد (جدول ۲)؛ به طوری که لوبیا چیتی محلی دارای بیشترین و سایر ارقام دارای کمترین میزان نیتروژن اندام هوایی بودند (جدول ۳). اختلاف اخیر احتمالاً مربوط به تنوع ژنتیکی ارقام در جذب و تثبیت نیتروژن در طول دوره رشد می باشد. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد در بین ارقام رقم چیتی محلی قابلیت تولید ماده خشک گره بیشتری در مقایسه با سایر ارقام داشت.

#### پروتئین دانه

نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد که بین سطوح اصلی یا کاربرد سویه های مختلف باکتری از لحاظ پروتئین دانه اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۲). به طوری که بیشترین درصد پروتئین دانه از تلقیح بذور با سویه L-۱۲۵ منطقه الشتر به میزان ۲۱/۴۷ درصد و کمترین آن از تیمار شاهد به میزان ۱۸/۳۷ درصد به دست آمد (جدول ۳). البته سویه L-۱۲۵ با سایر سویه ها در یک گروه آماری قرار گرفتند. Shisanya (۱۹) گزارش داد که سویه TB+R۳۲۵۴ در هر ۲ منطقه آزمایش کم باران و پر باران دارای حداکثر میزان نیتروژن در دانه و تیمار شاهد دارای حداقل میزان نیتروژن در دانه در لوبیا تپاری بود. ایشان در ادامه ابراز داشتند که سویه R۳۲۵۴ دارای کارایی زیادی در تثبیت نیتروژن تحت شرایط نیمه خشک کنیا می باشد.

نتایج تجزیه واریانس پروتئین دانه سطوح عامل فرعی و اثرات متقابل رقم و باکتری اختلاف معنی داری را نشان ندادند (جدول ۲). نتایج مطالعات Hum و Ravari (۱۵) نشان داد که عملکرد نیتروژن و درصد

### عملکرد ماده خشک اندام هوایی

در این مطالعه بین اثرات عامل اصلی اختلاف بسیار معنی داری از نظر عملکرد بیولوژیکی مشاهده شد (جدول ۲)؛ به طوری که حداکثر و حداقل عملکرد ماده خشک به ترتیب از تیمارهای مصرف کود نیتروژن به میزان ۶۵۳۰ کیلو گرم در هکتار و تیمار شاهد به میزان ۳۷۴۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (جدول ۳). اسدی رحمانی و راستین (۲) در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که بین تیمار تلقیح بذور لوبیا با سویه های مختلف باکتری از نظر وزن خشک اندام هوایی لوبیا اختلاف معنی داری وجود دارد. در ادامه ایشان بیان نمودند که سویه شماره ۱۰۰ جداسازی شده از استان همدان (منطقه لالچین) دارای بیشترین تولید ماده خشک بوده است. Tamimi (۲۰) بیشترین وزن خشک اندام هوایی را از تلقیح لوبیا با ایزوله طبیعی موجود در خاک اردن به نام JOV۱ از منطقه جنوب اردن گزارش داد. نتایج آزمایش گلخانه ای Rodriguez-Navarro و همکاران (۱۷) حاکی از آن بود که تفاوت قابل ملاحظه ای بین سویه های مختلف باکتری همزیست با یک رقم لوبیا از لحاظ وزن خشک اندام هوایی وجود دارد؛ به طوری که سویه IPR-2 از گونه *R. etli* با میزان ۱۱/۷ گرم دارای بیشترین وزن خشک اندام هوایی بود. در تحقیق دیگر نیز مشخص شد که تلقیح بذور با سویه های مختلف باکتری اثر معنی داری را بر بیوماس اندام هوایی دارد. آنها حداکثر و حداقل وزن خشک اندام هوایی را به ترتیب از تیمارهای مصرف ۷/۵ گرم نیتروژن در گلدان و تیمار شاهد (عدم تلقیح و عدم کاربرد کود) به دست آوردند (۱۹).

نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد که بین ارقام مورد بررسی از لحاظ عملکرد ماده خشک اندام هوایی اختلاف بسیار معنی داری وجود دارد (جدول ۲). در این بین لوبیا چیتی تلاش دارای حداکثر تولید ماده خشک اندام هوایی بود (جدول ۳). همچنین در این مطالعه تفاوت قابل ملاحظه ای نیز بین اثرات متقابل رقم × باکتری از نظر این صفت مشاهده شد. نتایج مطالعات Shisanya (۱۹) نشان داد که بین کاربرد سویه های مختلف باکتری در لوبیا تپاری از نظر وزن خشک اندام هوایی تفاوت معنی داری وجود دارد. ایشان بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی را به ترتیب از تیمارهای سویه R۳۲۵۴ و شاهد در آزمایش گلخانه ای گزارش داد. Rodriguez-Navarro و همکاران (۱۸) نتیجه گرفتند که وزن خشک اندام هوایی در لوبیا تحت تاثیر ترکیبات مختلف باکتری × رقم قرار گرفته و بیشترین وزن خشک اندام هوایی از ترکیب مصرف کود نیتروژن × رقم Bina و کمترین آن از ترکیب شاهد × رقم Presenta به دست آمده است.

### تشکر و قدردانی

در پایان از زحمات کلیه عزیزانی که ما را در اجرای طرح بالاخص معاونت محترم پژوهشی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران، یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین از آقایان مهندس فرزاد و مهندس محنت کش کارشناسان محترم 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.

نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل این صفت اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). در بررسی میزان تثبیت نیتروژن در سویه های مختلف باکتری ریزوبیوم در رقم Carioca لوبیا در شرایط گلخانه ای توسط Hungria و همکاران (۱۳) بیشترین و کمترین میزان نیتروژن کل (نیتروژن ریشه، گره و اندام هوایی به جز دانه) به ترتیب از سویه PRF۸۱ و شاهد تحت دو شرایط متفاوت دمایی روز و شب (۲۸ درجه سانتیگراد روز و ۲۳ درجه سانتیگراد در شب -۳۷ درجه سانتیگراد روز و ۲۳ درجه سانتیگراد شب) حاصل شد. همچنین آنها بیشترین میزان نیتروژن کل گیاه به جز دانه و تعداد گره را از سویه PRF۸۱ در مخلوط با سویه CIAT۸۹۹ به نسبت ۱:۱ گزارش دادند. در مطالعه ای دیگر (۱۹) بیشترین میزان غلظت نیتروژن در ریشه و اندام هوایی به جز دانه از سویه TB+R۳۲۵۴ در دو منطقه کم باران و پر باران کنیا و کمترین آن از تیمار شاهد در لوبیا تپاری به دست آمد. Hafeez و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه خود در خصوص میزان تثبیت نیتروژن توسط سویه های مختلف باکتری *R. leguminosarum* biovar *vicia* در ارقام عدس به وجود اختلاف معنی دار از نظر مقادیر نیتروژن اندام هوایی اشاره نمودند، آنها بیشترین میزان را از ترکیب سویه LC۹ و رقم PL-۴۰۶ گزارش دادند.

### عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح عامل اصلی یا کاربرد سویه های مختلف باکتری از لحاظ عملکرد دانه اختلاف بسیار معنی داری وجود دارد (جدول ۲). بیشترین عملکرد دانه از تلقیح بذر با سویه L-۱۲۵ منطقه الشتر به میزان ۲۵۰۶ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن از شاهد به میزان ۱۴۴۱ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (جدول ۳). تغییرات در عملکرد احتمالاً مربوط به اختلاف در میزان توان تثبیت نیتروژن و فراهمی میزان نیتروژن برای گیاه توسط سویه های مختلف باکتری می باشد (۱۶). نتیجه اخیر با نتایج سایر محققان (۸، ۱۱، ۱۷، ۱۹) مشابهت دارد. نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه سطوح عامل فرعی نیز مؤید اختلاف معنی دار بین ارقام مورد بررسی بود. لوبیا چیتی رقم محلی با عملکرد ۲۳۱۶ کیلوگرم در هکتار دارای بیشترین عملکرد و توده بومی لوبیا قرمز منطقه شهرکرد با عملکرد حدود ۱۴۷۷ کیلوگرم در هکتار دارای کمترین عملکرد دانه بودند (جدول ۳) علت اختلاف مذکور را احتمالاً می توان دلیل تنوع ژنتیکی ارقام در قابلیت جذب، تثبیت نیتروژن، گره زایی و سازگاری با شرایط آب و هوایی منطقه مورد آزمایش دانست.

نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل ارقام و تلقیح بذر با سویه های مختلف باکتری از لحاظ عملکرد دانه اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج تحقیقات Buttery و همکاران (۶) نیز حاکی از عدم اختلاف معنی دار اثر متقابل رقم و سویه بر عملکرد دانه لوبیا بود. در حالیکه نتایج بررسی های Rodriguez-Navarro و همکاران (۱۸) حاکی از اختلاف معنی دار بین اثرات متقابل رقم و سویه بود به طوری که ترکیب رقم فابا لوبیایی معمولی × سویه CIAT-۸۹۹ و رقم فابا × سویه TAL-۱۱۲۱ دارای بیشترین عملکرد دانه نسبت به سایر ترکیبات در شرایط مورد آزمایش بودند.

vicia strains for nitrogen fixation using nitrogen 15-Isotope dilution. *Biology & Fertility of Soils*. 31: 65-69.

11-Handeson, G. 1993. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil*. 152: 1-17.

12-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.

13-Hungria, M., D. de S. Andrade, L. M. de O. Chueire, A. Probanza, F. J. Guttierrez-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.

14-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.

15-Ravari. V., and D. J. Hum. 1992; Performance of a superior *Bradyrhizobium japonicum* & selected *Sinorhizobium fredii* strain with soybean cultivar. *Agronomy Journal*. 84: 1051-1056.

16-Redden R. J., and D. F. Herridge. 1999; Evaluation of genotypes of navy and culinary bean (*Phaseolus vulgaris* L.) selected for superior growth and nitrogen fixation. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 39: 975-980.

17-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.

18-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.

19-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.

20-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.

## پاورقی‌ها

- 1 - Queensland
- 2 - Kejlidal

## منابع مورد استفاده

- ۱ - اسدی رحمانی، ه. ۱۳۷۸؛ بررسی امکان پیش بینی ضرورت تلقیح سویا بر اساس تعیین تعداد باکتری برادی ریزوبیوم جاپونیکوم و سنجش پتانسیل معدنی شدن ازت در خاک‌های زیر کشت سویا. ششمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۳-۲۱.
- ۲ - اسدی رحمانی، ه. و ن. صالح راستین. ۱۳۷۸؛ بررسی کارآیی تثبیت ازت سویه ریزوبیوم بومی ایران همزیست با گیاه لوبیا. مجله علوم خاک و آب. موسسه تحقیقات خاک و آب وزارت جهاد کشاورزی، ۹۷-۹۳.
- ۳ - کافی، م.، ا. زند، ب. کامکار، ح.ر. شریفی و م. گلدانی. ۱۳۷۹؛ فیزیولوژی گیاهی. جلد دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- ۴ - یادگاری، م. ۱۳۸۱؛ بررسی اثر تلقیح بذور سویا با سویه های مختلف باکتری برادی ریزوبیوم جاپونیکوم بر عملکرد و اجزای عملکرد جهت انتخاب بهترین ترکیب. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت. مجتمع آموزش عالی ابوریحان. دانشگاه تهران.
- 5-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 fixation (N<sub>2</sub>) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*. 62:119-128.
- 6-Buttery B., 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.
- 7-Giller, K. E. 2001; Nitrogen fixation in tropical cropping systems. 2nd edsn. CABI publishing.
- 8-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.
- 9-Graham. P. H. 1990; Problemas de la nudulacion y la fijacion de nitrogeno en *Phaseolus vulgaris* L. : Una reevaluacion. Terra, 8: 71-82.
- 10-Hafeez. F. Y., N. H. Shah, and K. A. Malik. 2000; Field evaluation of lens cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum* biovar

