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

عبدالله قاسمی پیر بلوطی[1] ، ایرج اله دادی [2]، غلامعباس اکبری[3] ، احمد گل پرور[4]

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. بطورکلی سویه‌های تلقیح شده با بذر ارقام مختلف لوبیا قابلیت تولید گره و تثبیت نیتروژن را داشتند. با این حال تیمار تلقیح بذر با سویهٔ *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 (*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 (۱۲و ۲۱). هانگریا و همکاران (۱۷) یکی از دلایل پایین بودن عملکرد 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

۱- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد ، ۲ و۳ – اعضای هیات علمی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران ، ۴- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان).

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 رایزوبیوم همزیست با بقولات *R. leguminosarum* می‌باشد که دارای واریته‌ها 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. leguminosarum* biovar *phaseoli* و *R. etli* را از مهمترین و کارآمدترین سویه‌ها در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در لوبیا در خاکهای تانزانیا معرفی کردند. نتایج شناسایی و جداسازی رایزوبیوم 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 و۱۷) 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 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 رایزوبیوم 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 کشاورزان 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

این تحقیق در تابستان سال۱۳۸۱ در مزرعه ای واقع در ۱۵ کیلومتری شمال غربی شهرکرد 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 ۱۱/۹درجه سانتیگراد گزارش شده است. اقلیم منطقه بر 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.

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

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 رایزوبیوم (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 شهرکرد و لوبیا قرمز بومی شهرکرد. 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 کیسهٔ پلاستیکی با حجم حداقل ۲ برابر حجم آنها قرار داده شدند و سپس به آن محلول شکر ۲۰ درصد اضافه گردید. آنگاه محتویات کیسهٔ پلاستیک پس از اضافه نمودن پودر باکتری به بذر به خوبی تکان داده شد (۱). سپس بذرهای 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 برگردان‌دار 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 ۵-۳ سانتیمتر انجام شد. اولین آبیاری بصورت نشتی، یک هفته پس از کشت و آبیارهای بعدی با توجه به شرایط اقلیمی و وضعیت

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.

جدول۲- 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)

۱۰۰ × (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 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 کجلدال 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 مقایسهٔ 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 ($P\leq0.01$) وجود دارد (جدول ۳). بیشترین میانگین عملکرد دانه از تلقیح بذر با سویهٔ *L-125* منطقه الشتر به میزان ۲۵۰۶ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن از شاهد به میزان ۱۴۴۱ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (جدول۴). 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 و۲۳) مطابقت دارد. بین ارقام مورد بررسی نیز از لحاظ صفت مذکور اختلاف بسیار معنی داری ($P\leq0.01$) بدست آمد (جدول ۳). تغییرات عملکرد دانه بین ارقام مورد بررسی نیز دارای اختلاف بسیار معنی دار ($P\leq0.01$) بود. در این بین لوبیا چیتی رقم تلاش با ۲۱۳۴ کیلوگرم در هکتار و توده بومی لوبیا قرمز با ۱۹۸۶ کیلوگرم

در هکتار به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میانگین عملکرد دانه بودند (جدول۵).

اثر متقابل ارقام و تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری از لحاظ عملکرد دانه اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول۳). 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 لوبیای معمولی* سویه *CIAT-899* و رقم فابا * سویه *TAL-1121* دارای بیشترین عملکرد دانه نسبت به سایر ترکیبات در شرایط مورد آزمایش بودند.

جدول۳- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تلقیح بذور با سویه‌های مختلف باکتری رایزوبیوم

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

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

جدول۴- مقایسه میانگین برخی صفات مهم در لوبیا تحت تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری رایزوبیوم 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 معنی‌دار ندارد.

اجزای عملکرد

سویه‌های مختلف باکتری از نظر تعداد غلاف در بوته اختلاف بسیار معنی داری ($P\leq0.01$) را نشان داد (جدول۳). تلقیح بذر ارقام لوبیا با سویهٔ *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 (جدول۴). در بررسی شیزانیا (۲۲) لوبیا تپاری (*Phaseolus acutifolius* A. Gray var. latifolius) تلقیح شده با سویهٔ *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 (جدول۳). 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($P\leq0.01$) 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 مناسب نیتروژن برای گیاه و اثر مثبت آن بر طول دورهٔ 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 ($P\leq0.01$) 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 ($P \leq ۰/۰۵$) بین سطوح عامل فرعی مشاهده شد (جدول۳). رقم تلاش لوبیا چیتی 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 ژنیتکی ارقام در طول دورهٔ 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 (جدول۳).

نتایج آزمایش تفاوت بسیار معنی داری ($P \leq ۰/۰۵$) را از نظر وزن خشک غلاف در بوته بین سطوح عامل اصلی نشان داد (جدول۳). 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 بدون‌تلقیح در حدود۱۱/۶۷گرم بدست آمد (جدول۵). البته سایر تیمارهای مورد آزمایش به جز سویهٔ *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 رایزوبیوم 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 کانیلینی گزارش نمودند. همچنین آنها در آزمایش دوم نیز اختلاف معنی داری ($P \leq ۰/۰۵$) 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 سویهٔ *R3254* لوبیا تپاری در هر ۲ منطقه پرباران و کم باران کنیا و کمترین میزان آنرا از سویهٔ *R446* لوبیا تپاری در منطقه پرباران و تیمار شاهد در منطقه کم باران گزارش داد.

اثر متقابل رقم و سویه باکتری از نظر وزن خشک غلاف در بوته نیز دارای اختلاف بسیار معنی دار ($p<۰/۰۱$) بود (جدول۳) 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 تویسرکان کمترین وزن خشک غلاف در بوته را دارا بودند (جدول۵). در حالی که در بررسی رودریگوئز ناوارو و همکاران (۲۰) ترکیبات مختلف سویه * رقم لوبیا از این نظر اختلاف معنی داری نشاندادند.

جدول۵- اثر تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری رایزوبیوم 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	تثبیت 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 شهرکرد	*L-109*	۲۶۶۸/۲	۷/۸۷	۰/۰۱۹۱	۳	۴۱/۸۱	۱۹/۰۲	۱۴/۱۰	۱۱/۹۷
	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	$p<۰/۰۱$	ns	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	ns	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$
	سویه .St	$p<۰/۰۱$	$p<0.05$	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	$p<۰/۰۱$	ns
	سویه * رقم Cv. * St	ns	ns	ns	ns	ns	$p<۰/۰۱$	ns	ns

ضریب تغییرات C.V%	۳۵/۰۲	۲۸/۱	۲۸/۰۱	۱۲/۱۷	۹/۸۲	۲۵/۴۳	۲۳/۵۹	۲۵/۷۸

n.s، $p<$ ۰/۰۵ و $p<$ ۰/۰۱ به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

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

وزن خشک گره در ۵۰ درصد گلدهی تحت تأثیر ($p<$ ۰/۰۱) کاربرد سویه‌های مختلف باکتری قرار گرفت (جدول ۳) و بیشترین وزن خشک گره از تیمار تلقیح بذور با سویهٔ *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 (جدول۳). در حالی که هانگریا و همکاران (۱۶) ملاحظه کردند که بین گیاهان تلقیح شده با ۸ سویه مختلف باکتری رایزوبیوم 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 کاریوکا با سویهٔ *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 تپاری 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 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 ($P\leq0.01$) 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 (جدول۳).

درصد تثبیت نیتروژن

سطوح عامل اصلی از نظر میزان تثبیت نیتروژن اختلاف بسیار معنی داری ($P\leq0.01$) را نشان داد (جدول ۳). بیشترین میزان درصد تثبیت نیتروژن مربوط به تلقیح بذور با سویهٔ *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 (جدول۳). تمیمی(۲۳) در بررسی میزان تثبیت نیتروژن واریتهٔ هاروستر لوبیا تلقیح شده با ۱۰ جدایه مختلف رایزوبیوم در ۳ منطقه شمالی، جنوبی و مرکزی اردن به این نتیجه رسید که جدایه *JOV1* 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

نتایج این آزمایش نشان داد که تلقیح بذرهای 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 درصد 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. بطورکلی گیاهان ارقام مختلف لوبیا تلقیح شده با سویه‌های مختلف قابلیت تولید گره و تثبیت نیتروژن را داشتند. با این حال تیمار تلقیح بذر با سویهٔ *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 فرزان 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 ۲۳-۲۱.

۲. اسدي رحماني، ه. ۱۳۷۸. بررسي كارآيي تثبيت نيتروژن سويه ريزوبيوم بومي ايران همزيست با گياه لوبيا. مجله علوم خاك و آب. موسسه تحقيقات خاك و آب وزارت جهاد كشاورزي، صفحات ۹۷-۹۳.

۳. غفاري خليق، ح. ۱۳۷۹. پراكنش لوبيا در ايران. نشريه ترويجي. موسسه تحقيقات اصلاح و تهيه نهال و بذر، بخش تحقيقات حبوبات. نشر آموزش.

۴. مجنون جسيني، ن. ۱۳۷۵. حبوبات در ايران. انتشارات جهاد دانشگاهي دانشگاه تهران.

۵. يادگاري، م.، غ. ع. اكبري، ه. اسدي رحماني و ج. دانشيان. ۱۳۸۲. بررسي اثر تلقيح بذور سويا با سويه‌هاي مختلف باكتري برادي ريزوبيوم ژاپونيكوم بر عملكرد و اجزاي عملكرد جهت انتخاب بهترين تركيب. پايان نامه كارشناسي ارشد زراعت. مجتمع آموزش عالي ابوريحان، دانشگاه تهران.

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. 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.

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). Ivao watanabe (JICA/ cantho university expert mar-apr). Wells. R, Burton.

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

A.Ghasemi Pirbalouti, I. Alahdadi, GH. Akbari, A. R. Golparvar[1]

Abstract

In order to evaluate inoculation effects on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars with different strains of *Rhizobium legominosarum* 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 N_2. 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 legominosarum* biovar *phaseoli* and Yield.

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