بررسی تأثیر سویه‌های ریزوبیومی بومی خاکهای ایران بر عملکرد و خصوصیات کیفی لوبیا

هادی اسدی رحمانی، میترا افشاری، کاظم خاوازی، فریدون نورقلی‌پور و اکرم اوتادی[1*]

چکیده

به منظور بررسی کارآیی ریزوبیوم‌های همزیست لوبیا بر رشد و عملکرد لوبیا چیتی رقم COS-16، آزمایشی با استفاده از ده سویه ریزوبیوم، دو تیمار نیتروژنی 35 و 70 میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن (به ترتیب معادل 200 و 400 کیلوگرم اوره در هکتار) و یک تیمار شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مزرعه ایستگاه تحقیقات خاک و آب کرج انجام گردید. سویه‌های مورد استفاده ابتدا به محیط کشت YMB تلقیح و تا رسیدن به جمعیت 5×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بر روی شیکر دورانی تکثیر شده و به بسته‌های 25 گرمی پرلیت تزریق و بسته‌بندی شدند. پس از شخم و آماده‌سازی زمین یک نمونه خاک مرکب از آن تهیه و مشخصات فیزیکی، شیمیایی و تعداد باکتری ریزوبیوم بومی در این خاک تعیین گردید. در عملیات کشت ابتدا بذرها با محلول 20 درصد شکر مرطوب شده و سپس با مایه تلقیح سویه‌های موردنظر تلقیح و به صورت دستی کشت شدند. تیمارهای نیتروژنی نیز در دو تقسیط اعمال شدند. نمونه‌برداری از گیاهان در دو مرحله یکی به هنگام 50% گلدهی و دیگری در پایان فصل رشد انجام شد. در مرحله اول فاکتورهای تعداد و وزن گره، وزن خشک قسمت هوایی و کل جذب نیتروژن در قسمت هوایی و در مرحله دوم وزن هزاردانه، عملکرد دانه و درصد پروتئین دانه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تلقیح گیاهان سبب افزایش تمامی ویژگیهای مورد اندازه‌گیری شد، هرچند برخی از این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نشدند. برترین تیمار ریزوبیومی سبب افزایش حدود 87% در عملکرد دانه نسبت به شاهد گردید. با توجه به نتایج بدست آمده، تلقیح گیاهان لوبیا با سویه‌های ریزوبیومی مؤثر می‌تواند سبب افزایش عملکرد و بهبود صفات کیفی از جمله درصد پروتئین دانه گردد.

واژه های کلیدی: ریزوبیوم، تثبیت نیتروژن، لوبیا، تلقیح بذر.

مقدمه

لوبیا (Common bean) با نام علمی *Phaseolus vulgaris* گیاهی است یکساله، دولپه‌ای و علفی از خانواده بقولات که امروزه در سطح وسیعی از مناطق گرم و معتدل از جمله ایران کشت می‌شود. مبدأ پیدایش این گیاه آمریکای مرکزی و جنوبی و به احتمال زیاد مکزیک می‌باشد (سمیعی،1379). سطح زیرکشت این گیاه در دنیا حدود 24 میلیون هکتار است. در ایران سطح زیرکشت لوبیا بالغ بر 120 هزار هکتار است که متوسط عملکردی حدود 1470 کیلوگرم در هکتار را دارد (غفاری خلیق، 1379). لوبیا از مهم‌ترین منابع غذایی در آمریکا، آسیا و آفریقاست که دارای حدود 25 درصد پروتئین و 60 درصد کربوهیدرات می‌باشد (Navarro و همکاران، 2000).

نیتروژن مهم‌ترین عنصری است که مورد نیاز لوبیا بوده و تغذیه بهینه نیتروژنی اثر مشهودی بر رشد و عملکرد آن دارد. از اختصاصات مهم گیاهان این خانواده و از جمله لوبیا، داشتن رابطه همزیستی تثبیت‌کننده نیتروژن با باکتری خاکزی از جنس ریزوبیوم می‌باشد (Giller، 2001). در شرایطی که عوامل محیطی بهینه هستند، گیاهان لوبیا که با ریزوبیوم‌های مؤثر گره‌دار شده‌اند می‌توانند مقادیر قابل توجهی نیتروژن تثبیت نمایند (Bliss، 1993). به اعتقاد برخی محققین تثبیت نیتروژن یک صفت کمّی وراثتی است (St.Clair و Bliss، 1991 ;

۱- به ترتیب اعضای هیأت علمی و کارشناس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

* - وصول: 83/9/14 و تصویب: 84/6/7

Graham، 1981) و لوبیا از گیاهانی است که ارقام آن از نظر ژنتیکی دارای تفاوت زیادی در تثبیت بیولوژیک نیتروژن هستند (St. Clair، 1977; Graham ; 1986 و Rosas; Barron و همکاران، 1999; Chaverra و Graham،1992; Bliss و Miller، 1986 و Attewel و Bliss، 1985). بطور کلی باورهای اولیه مبنی بر اینکه گیاه لوبیا تثبیت‌کننده نیتروژن خوبی نیست بر اساس روش‌های غیردقیق و یا غیرمستقیم اندازه‌گیری تثبیت بیولوژیک نیتروژن مانند روش احیای استیلن[1] (ARA) بوده است (Bliss، 1993). بر اساس این قبیل مطالعات انجام شده در آمریکا، کانادا و کشورهای آمریکای جنوبی، لوبیا گیاهی است که کارآیی زیادی از نظر تثبیت نیتروژن ندارد (La Rue و Patterson، 1981; Herridge و Danso، 1995و Hardarson و همکاران، 1993) و گره‌بندی ضعیف و یا عدم پاسخ به تلقیح نیز تردیدهایی رادر این رابطه بوجود آورده است (Graham، 1981 و Buttery و همکاران، 1987). برخی محققین عقیده دارند که این امر به دلیل وجود عوامل محدودکننده گره‌زایی مانند وجود بیش از حد نیتروژن در خاک‌ها است (Giller، 2001).

استفاده از روش‌های دقیق‌تر و کمّی‌تر مانند روش‌های ایزوتوپی مشخص ساخته که برخی از سویه‌های ریزوبیوم یا ارقام لوبیا مقادیر زیادی نیتروژن تثبیت می‌کنند (Bliss،1993). در شرایط مطلوب مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط لوبیا به حدود 100 کیلوگرم در هکتار می‌رسد که حدود 70 درصد نیاز نیتروژنی این گیاه را تأمین می‌نماید (Pena-Cabriales و همکاران، 1993). گزارشات زیادی در رابطه با تأثیر تلقیح لوبیا با سویه‌های ریزوبیوم وجود دارد. برای مطالعه تأثیر سویه‌های ریزوبیوم همزیست لوبیا، مرکز تحقیقات CIAT[2] آزمایشهای سه ساله‌ای (81-1979) را با 19 سویه ریزوبیوم برتر همزیست لوبیا در هفت کشور آمریکای لاتین، انگلستان و کانادا انجام داد. در این تحقیق از دو واریته لوبیا (Aurora و Kentwood) استفاده شد. در این آزمایشها عملکرد همه سویه‌ها بهتر از تیمار شاهد بود و حتی اکثراً بیشتر از 40 کیلوگرم نیتروژن تثبیت کردند. بیشترین مقدار تثبیت با واریته Aurora معادل 121 کیلوگرم در هکتار بدست آمد. بر اساس نظر CIAT سویه‌های ریزوبیوم همزیست لوبیا از نظر تثبیت نیتروژن با یکدیگر تفاوت دارند و لذا تأثیرات متفاوتی را در عملکرد بر جای می‌گذارند. در این آزمایشات مقدار نیتروژن بدست آمده از راه تثبیت توسط لوبیا (%Ndfa) [3]حدود 50 درصد برآورد شده است (Rennie و Kemp، 1983). Herridge و Redden (1999) در یک جمع‌بندی اعتقاد دارند که به دلیل کافی نبودن مقدار تثبیت نیتروژن در لوبیا، در کنار تلقیح کوددهی نیتروژنی نیز می‌تواند مفید واقع گردد (Redden و Herridge، 1999). در کامرون در طی آزمایشات سه ساله انجام شده در مورد تلقیح ریزوبیومی لوبیا، با وجود گره‌بندی مناسب گیاهان تلقیح شده در تمام سال‌های آزمایش، فقط در یکسال در اثر تلقیح، محصول افزایش یافت (Giller، 2001). در کلمبیا و شرق آفریقا نشان داده شده است با وجود گره‌بندی ضعیف لوبیا، اغلب خاک‌ها دارای جمعیت ریزوبیوم بومی بیشتر از 10^3 باکتری در هر گرم بودند و لذا گره‌بندی ضعیف به شرایط محیطی یا خاکی نامساعد نسبت داده شده است. برای مثال کاربرد فسفر در این خاک‌ها سبب افزایش گره‌بندی و تثبیت نیتروژن شده است (Ssali، 1988; Giller و همکاران، 1988 و Amijee و Giller، 1998). در تانزانیا نیز کاربرد پتاسیم سبب افزایش تثبیت نیتروژن در لوبیا شده است (Smithson و همکاران، 1993).

برای بدست آوردن نتیجه مناسب از تلقیح لوبیا باید از سویه‌های کارآمد ریزوبیوم یا ارقام مناسب لوبیا استفاده کرد. تحقیقات عمده‌ای برای انتخاب سویه‌های مناسب و کارآمد ریزوبیوم در گلخانه و مزرعه انجام شده است (Singleton و Tavares، 1986). اصلاح گیاهان و انتخاب ارقام مناسب هم در افزایش تثبیت نیتروژن مؤثر بوده است (Graham، 1981). تحقیقات در کنیا مشخص کرده است که اکثر ریزوبیوم‌های جدا شده از خاک‌های این کشور از سویهٔ تجاری CIAT 899 مؤثرتر هستند و پس از جداسازی قابل استفاده بصورت مایه تلقیح می‌باشند (Anyango و همکاران، 1995).

پس از گذشت 15 سال از اجرای برنامه اصلاح نژاد لوبیا در استرالیا که حدود 1500 ژنوتیپ مورد بررسی قرار گرفته، مشخص شده است که دو ژنوتیپ از نظر تثبیت نیتروژن مؤثرتر از سایرین هستند که بطور عمده شامل ارقام با دوره رشد کوتاه می‌باشند (Redden و Herridge، 1999). نتایج تلقیح گیاهان لوبیا به دلیل تأثیر شرایط محیطی، وجود باکتری‌های بومی و کاربرد بیش از حد نیتروژن ضد و نقیض است (La Rue و Patterson، 1981; Graham، 1981). با اینحال استفاده از روش‌های انتخاب (selection) سویه‌های برتر ریزوبیوم هنوز هم بطور وسیع کاربرد دارند (Karanja و

[1] Acetylene Reduction Assay

[2] Centro Internacional de Agriculture Tropical, Cali, Colombia

[3] N-derived from atmosphere

Hernandez-1993 و همکاران، Hungria; 1988،Wood ;Armanta و همکاران، 1989; Barron و همکاران، 2000).

Vargas و همکاران (2000) پاسخ به تلقیح را در دو خاک با سابقه و بدون سابقه کشت لوبیا مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که در خاک دارای سابقه کشت لوبیا با جمعیت بومی ریزوبیوم معادل 6×10^2 باکتری در گرم خاک، تلقیح تأثیری در مقدار محصول نداشته است ولی برای بدست آوردن حداکثر محصول، استفاده از کود نیتروژنی مؤثر بوده است. در خاک دوم که جمعیت باکتری کمتر از 10 سلول در هر گرم خاک بوده است، به دلیل اشغال گره‌ها توسط سویه‌های موجود در مایه تلقیح، عمل تلقیح سبب افزایش عملکرد شده است ولی کاربرد نیتروژن تأثیری نداشته است (Vargas و همکاران، 2000). در هر حال با وجود مطالب فوق، همواره نیاز به دستیابی به سویه‌های برتر برای افزایش تثبیت بیولوژیک نیتروژن وجود دارد و مقالاتی که اخیراً در این رابطه منتشر شده‌اند مؤید این نظریه می‌باشند (Hungria و همکاران، 2000 و Ferreira و Marques، 2000).

مواد و روش‌ها

ده سویهٔ ریزوبیوم همزیست لوبیا که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند پس از انجام آزمایشهای گلخانه‌ای در طول سال 79 و از بین 83 سویه جدا شده از خاک‌های ایران انتخاب شدند (جدول 1).

هر یک از سویه‌های مورد استفاده ابتدا توسط حلقه پلاتین و از کشت خالص باکتری به درون ارلن حاوی محیط مایع YMB [1]تلقیح شده و بر روی شیکر دورانی با 180 دور در دقیقه و دمای 28̊C به مدت سه روز رشد داده شدند. جمعیت باکتریهای داخل ارلن‌ها پس از این مدت توسط روش شمارش کلونی باکتری بر روی پلیت حاوی محیط کشت YMA برآورد گردید و سپس مقدار 75 میلی‌لیتر از کشت هر سویه به داخل 25 گرم از پرلیت استریل با درجه‌بندی Ro (شرکت رز گرانیت، شهرک صنعتی لیا، قزوین) تزریق و بسته‌بندی شد. برای حصول حداکثر جمعیت در داخل بسته‌های مایه تلقیح، این بسته‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور با دمای 28̊C قرار داده شدند به نحوی که پس از این مدت جمعیت ریزوبیوم در هیچ یک از بسته‌ها کمتر از 4×10^8 سلول در هر گرم نبود. برای آماده‌سازی مزرعه آزمایشی، ابتدا خاک موردنظر شخم و دیسک‌زده شد و سپس یک نمونه مرکب از آن تهیه و برای انجام تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی و همچنین شمارش تعداد ریزوبیوم همزیست لوبیا به آزمایشگاه منتقل گردید.

بر اساس نتایج تجزیه خاک، قبل از کشت مقدار 50 کیلوگرم سولفات پتاسیم و 100 کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار اضافه شد. کرت‌های آزمایشی به ابعاد 2/5×4 متر و دارای چهار خط کشت به فاصله 50 سانتی‌متر از هم بودند. بذور لوبیا چیتی رقم COS-16 (تهیه شده از بخش تحقیقات حبوبات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال) برای کشت استفاده شدند. در تیمارهای تلقیحی هر کیلوگرم از بذر مصرفی با 15 میلی لیتر از محلول 20 درصد شکر مرطوب شده و سپس 7 گرم از مایه تلقیح هر سویه به آن اضافه گردید و بخوبی بهم زده شد و پس از خشک شدن در سایه اقدام به کشت گردید. برای تیمارهای تلقیحی و شاهد مقدار 50 کیلوگرم اوره در هکتار به هنگام کشت و در تیمارهای نیتروژنی مقدار 200 و 400 کیلوگرم اوره در هکتار بصورت نیمی به هنگام کشت و نیمی دیگر به هنگام گلدهی مصرف گردید.

آبیاری کرت‌ها با استفاده از سیفون و مبارزه با علف‌های هرز بصورت دستی انجام گردید. 45 روز پس از کشت و در 50% گلدهی از هر کرت آزمایشی 10 گیاه بصورت تصادفی از دو خط کشت وسط برداشت و فاکتورهای وزن خشک قسمت هوایی، درصد نیتروژن و کل جذب نیتروژن در بخش هوایی اندازه‌گیری و محاسبه شدند. همچنین تعداد و وزن گره نیز در این گیاهان اندازه‌گیری شدند.

برداشت نهایی گیاهان 120 روز پس از کشت انجام شد و عملکرد دانه در دو خط وسط اندازه‌گیری شد. همچنین وزن هزاردانه و درصد نیتروژن دانه اندازه‌گیری و درصد پروتئین دانه محاسبه (درصد پروتئین = درصد نیتروژن * 6/25) شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5% و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 97 انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه خاک محل آزمایش در جدول 2 ذکر شده است.

1- مرحله 50% گلدهی

نتایج اندازه‌گیری‌های انجام شده در این مرحله نشان داد که تلقیح گیاهان سبب افزایش معنی‌دار تعداد و وزن گره‌ها نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده گردیده است (جدول3). دو سویهٔ L-51 و L-100 به ترتیب با ایجاد بیشترین تعداد و وزن گره برترین سویه‌ها تشخیص داده شدند. گیاهان مربوط به تیمارهای شاهد و نیتروژنی نیز

[1] Yeast Extract Mannitol Broth

دارای تعدادی گره فعال بودند که این امر بـه دلیـل وجـود تعداد کمی از باکتری‌های بـومی در خـاک مـورد آزمـایش می‌باشد. تیمارهای باکتریایی مورد استفاده تأثیر معنـی‌داری در افزایش وزن خشک اندام‌های هـوایی گیاهـان از خـود نشان دادند. در این قسمت نیـز سـویهٔ L-100 بـا افـزایش حدود 45 درصد در وزن خشک اندام هوایی گیاهان نسبت به تیمـار شـاهد بـالاتر از تمـامی تیمارهـا و حتـی تیمـار 70mg/kg نیتروژن قرار گرفت ولی از نظر آمـاری تفـاوت معنی‌داری با این تیمار نداشت. همچنین تیمارهای تلقیحی سبب افزایش نیتروژن جذب شده توسط اندام‌های هـوایی گیاهان شدند. در این قسـمت نیـز سـویهٔ L-100 بیشـترین مقدار نیتروژن جذب شده را سبب گردید.

2- مرحله برداشت گیاهان

نتایج این مرحله از برداشت گیاهان نشان داد کـه سویه‌های ریزوبیوم مورد اسـتفاده سـبب افـزایش عملکـرد دانه شده‌انـد (جـدول4). سـویه‌هـای L-177 و L-100 بـه ترتیب با افزایش 87 و 82 درصد در عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری از خود نشان دادند (شکل1). با وجود اینکه این بـاکتری‌هـا سـبب افـزایش وزن هزاردانـه نسبت به تیمارهـای شـاهد و نیتروژنـی شـدند ولـی ایـن تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند. تیمارهای تلقیحـی همچنین در بیشتر حالات سبب افزایش درصد پروتئین دانه شدند به نحوی که سویهٔ L-195 با حدود 7/7% افزایش در پروتئین دانه برترین تیمار از این نظر بود.

بحث

سویه‌های مورد استفاده در این آزمایش از نظر افزایش عملکرد و سایر صفات زراعی با یکدیگر تفاوت داشتند. این امر با نتایج آزمایشات انجام شده در کشورهای مختلف توسط CIAT هماهنگی دارد. در این آزمایش‌ها مقدار نیتروژن بدست آمده لوبیا از راه تثبیت بیولوژیک (Ndfa) حدود 50% محاسبه شده است (Rennie و Kemp، 1983). با توجه به تفاوت کارآیی سویه‌های مورد استفاده، برای حصول نتیجه مناسب از تلقیح لوبیا باید از انواع کارآمد برای تلقیح استفاده کرد (Singleton و Tavares، 1986). برخی از سویه‌های استفاده شده مانند L-100 سبب افزایش عملکرد و برخی صفات دیگر مورد اندازه‌گیری شدند و بنابراین می‌توانند برای تولید مایه تلقیح مورد استفاده قرار گیرند. این نتیجه در مطالعات Anyango و همکاران (1995) نیز بدست آمده است. برای ارزیابی کارآیی سویه‌ها در این تحقیق از صفاتی مانند وزن خشک اندام هوایی، درصد نیتروژن و کل جذب نیتروژن توسط اندام هوایی و عملکرد دانه استفاده شد که نشان داد می‌توان با اطمینان کافی و قابل اعتماد از این صفات استفاده کرد. محققین دیگری مانند St. Clair (1986) نیز از این صفات در ارزیابی همزیستی تثبیت‌کننده نیتروژن در لوبیا در آمریکا بهره گرفته‌اند. تعداد و وزن گره‌های ریشه‌ای از صفاتی هستند که بسیاری از محققین آنها را دارای قابلیت اعتماد کافی برای ارزیابی کارآیی ریزوبیوم‌ها نمی‌دانند. Herridge و Danso (1995) عنوان کرده‌اند که برخی سویه‌ها با وجود تولید گره‌های بیشتر و با وزن زیادتر، عملکرد دانه کمتری تولید می‌کنند که این امر را به کارآیی نسبی کم گره‌ها (R.E) [1]نسبت داده‌اند و عنوان کرده‌اند که تعداد و وزن گره‌ها معیار مناسبی برای ارزیابی سویه ها نیست و فقط برای تأیید توان گره زایی آنها است. در این تحقیق سویه‌های برتر انتخاب شده مانند L-100 بالاترین وزن گره را تولید نمودند که این روند برای صفات دیگر مانند وزن خشک اندام هوایی، کل نیتروژن جذب شده و عملکرد دانه برای این سویه تکرار شده است. خاک مورد استفاده در این آزمایش دارای جمعیت بومی ریزوبیوم‌های همزیست لوبیا معادل $7/5\times10^2$ بود. بر اساس نظر Vargas و همکاران (2000) وجود جمعیت بومی معادل 6×10^2 در خاک سبب عدم پاسخ به تلقیح می‌شود. سویه‌های برتر در تحقیق حاضر با وجود جمعیت بومی خاک سبب افزایش عملکرد شدند که نشانهٔ مؤثر بودن آنهاست. این امر از نظر محققینی مانند Singleton و Tavares (1986) حائز اهمیت است زیرا این محققین عقیده دارند برای انتخاب سویه‌های برتر برای تهیه مایه تلقیح باید آزمایشهای مزرعه‌ای و در حضور جمعیت بومی ریزوبیوم در خاک انجام شود. در هر حال با وجود روشهای جدید مولکولی، نتایج این تحقیق نشان داد که هنوز هم می‌توان با روش‌های انتخاب (Selection) سویه‌هایی از ریزوبیوم را یافت که سبب افزایش عملکرد لوبیا شوند و سویه های برتر این تحقیق میتوانند به عنوان مایه تلقیح استفاده شوند. مقاله های متعدد انتشار یافته در این زمینه نیز مؤید این نظریه هستند(Karanja و Wood 1988; Hungria و همکاران 1993; Armenta – Hernandez و همکاران، 1989 و Barron و همکاران، 2000) نتایج این تحقیق نیز نشان داد که تلقیح ریزوبیومی لوبیا سبب افزایش عملکرد و بهبود سایر صفات زراعی آن گردید.

1-Relative Efficiency

جدول 1ـ سویه‌های ریزوبیوم مورد استفاده در آزمایش و محل نمونه برداری آنها.

نام سویه	محل برداشت نمونه
L-51	استان زنجان ـ محوطه مرکز تحقیقات کشاورزی زنجان
L-52	استان زنجان ـ محوطه مرکز تحقیقات کشاورزی زنجان
L-54	استان زنجان ـ کیلومتر 15 جاده قزوین به زنجان
L-75	استان قزوین ـ روستای معلم کلایه
L-78	استان چهارمحال و بختیاری ـ شهرستان گندمان
L-100	استان همدان ـ شهرستان لالجین ـ ده فامن
L-121	استان لرستان ـ شهرستان خرم‌آباد ـ روستای رباط نمکی
L-125	استان لرستان ـ شهرستان الشتر ـ روستای کهمان
L-177	استان خراسان ـ شهرستان بجنورد ـ جاده بجنورد ـ اسفراین
L-195	استان فارس ـ شهرستان اقلید

جدول 2ـ نتایج تجزیه خاک محل آزمایش

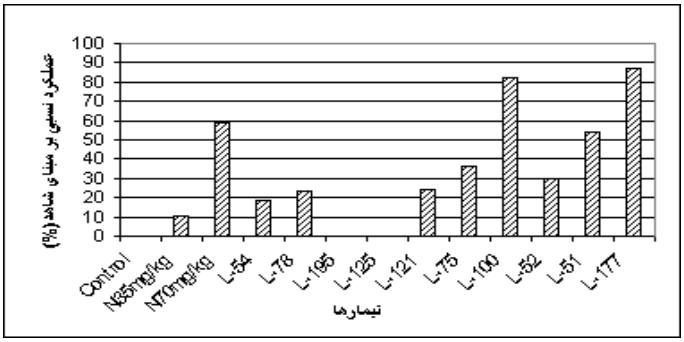
Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	N(total) (%)	P(ava) (mg/kg)	K(ava) (mg/kg)	TNV (%)	OM (%)	EC (dS/m)	pH	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	جمعیت ریزوبیوم بومی در خاک cells/gr
23	42	35	0/058	11	195	8	0/55	1/3	7/6	2/62	2/92	0/96	1/12	750

جدول 3ـ تأثیر سویه‌های ریزوبیومی بر تعداد و وزن گره‌ها، وزن خشک اندام هوایی و کل نیتروژن جذب شده توسط این اندام در مرحله 50% گلدهی.

تیمار	تعداد گره /plant	وزن گره (mg/plant)	وزن خشک اندام هوایی (g/plant)	کل نیتروژن جذب شده (mg/plant)
شاهد	2/5 G	7/3 F	30/5 D	643 B
N35mg/kg	1/7 G	7 F	39/1 ABCD	814 AB
N70mg/kg	3/5 FG	10 F	43/7 A	873 AB
L-54	33/3 E	135 CD	36/7 ABCD	873 AB
L-78	44/3 CDE	156 C	41/4 ABC	806 AB
L-195	16 F	49/5 EF	35/5 ABCD	843 AB
L-125	12/3 FG	41/8 EF	31/5 CD	711 AB
L-121	35 DE	92 DE	35/1 ABCD	735 AB
L-75	46/8 BCD	169 BC	41/9 ABC	810 AB
L-100	58/8 AB	233 A	43/8 A	973 A
L-52	38/8 DE	161/8 BC	32/7 BCD	669 B
L-51	62/5 A	223/3 AB	43/3 AB	970 A
L-177	55/8 ABC	170 BC	41/5 ABC	830 AB
LSD (0.05)	12/03	58/82	9/26	245/3

جدول 4ـ تأثیر سویه‌های ریزوبیومی بر عملکرد دانه، وزن هزاردانه و درصد پروتئین دانه در مرحله برداشت نهایی گیاهان.

تیمار	عملکرد دانه (kg/ha)	وزن هزاردانه (gr)	پروتئین دانه (%)
شاهد	886 B	244/1 A	23/5 AB
N35mg/kg	976 AB	241/8 A	23/9 AB
N70mg/kg	1409 AB	231/4 A	23/9 AB
L-54	1050 AB	259/3 A	24/40 AB
L-78	1094 AB	256 A	23/7 AB
L-195	868 B	257/5 A	25/3 A
L-125	826 B	224/2 A	24/6 AB
L-121	1097 AB	271/9 A	22/5 B
L-75	1210 AB	256/8 A	22/9 AB
L-100	1615 A	266/6 A	25 AB
L-52	1151 AB	236/9 A	24/4 AB
L-51	1364 AB	249/9 A	23/9 AB
L-177	1655 A	268/3 A	24/3 AB
LSD (0.05)	610/4	46/42 A	2/25



شکل 1ـ تأثیر تیمارهای مورد استفاده بر عملکرد نسبی دانه لوبیا نسبت به شاهد

فهرست منابع:

1. سمیعی، د. 1379. لوبیا سبز. نشریه ترویجی، دفتر تولید و برنامه‌های ترویجی و انتشارات فنی معاونت ترویج وزارت جهاد کشاورزی.
2. غفاری خلیق، ح. 1379. پراکنش لوبیا در ایران. نشریه ترویجی، دفتر تولید و برنامه‌های ترویجی و انتشارات فنی معاونت ترویج وزارت جهاد کشاورزی.
3. Amijee, F. and K. E. Giller. 1998. Environmental constraints to nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L., in Tanzania. 1. A survey of soil fertility and root nodulation. African Journal of Crop Science 6: 159-169.
4. Anyango, B., K. J. Wilson, J. L. Beynon and K. E. Giller. 1995. Diversity of *rhizobia* nodulating *phaseolus vulgaris* L., in two Kenyan soils of contrasting pHs. Appl. Environ. Microbiol. 61: 4016-4021.

5. Attewell, J. and F. A. Bliss. 1985. Host plant characteristics of common bean lines selected using indirect measures of N_2 fixation. In: Evans, H. J., Bottomley, P. J. and Newton, W. E. (eds.), Nitrogen Fixation: Research progress, Martinus Nijhoff, Dordrecht, the Netherlands, pp. 3-9.
6. Barron, J. E., R. J. Pasini, D. W. Davis, D. D. Stuthman and P. H. Graham. 2000. Response to selection for seed yield and nitrogen (N_2) fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crops Research 62: 119-128.
7. Bliss, F. A. 1993. Utilizing the potential for increased nitrogen fixation in common bean. Plant and Soil 152: 157-160.
8. Bliss, F. A. and J. C. Miller. 1986. Selecting and breeding grain legumes for enhanced nitrogen fixation. In: Summerfield, R. J. (ed.), World Crops: Cool Season Food Legumes, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp. 1001-1012.
9. Buttery, B. R., S. J. Park and W. J. Findlay. 1987. Growth and yield of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer and to inoculation with *Rhizobium*. Can. J. Plant Sci. 67: 425-432.
10. Chaverra, M. H. and P. H. Graham. 1992. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. Crop Sci. 32: 1432-1436.
11. Elizondo Barron, J., R. J. Pasini, D. W. Dawis, D. D. Stuthman and P. H. Graham. 1999. Response to selection for seed yield and nitrogen (N_2) fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crops Res. 62: 119-128.
12. Ferreira, E. M. and J. F. Marques. 1992. Selection of Portuguese *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* strains for production of legume inoculants. Plant and Soil 147: 151-158.
13. Giller, K. E. 2001. Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems. CAB international. UK. 423 p.
14. Giller, K. E., S. P. Wani, J. M. Day and P. J. Dart. (1988). Short term measurements of uptake of nitrogen fixed in the rhizospheres of sorghum and millet using $^{15}N_2$. Biol. Fertil. Soils 7: 11-15.
15. Graham, P. H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. A review. Field. Crops. Res. 4: 93-112.
16. Graham, P. H. and J. C. Rosas. 1977. Growth and development of indeterminate, bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. J. Agric. Sci. Camb. 88: 503-508.
17. Hardarson, G., F. A. Bliss, M. R. Cigales-Rivero, R. A. Henson, J. A. Kipe-Nolt, L. Longeri, A. Manrique, J. J. Pena Cabriales, P. A. A. Periera, C. A. Sanabria, and S. M. Tsai. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. Plant and Soil 152: 59-70.
18. Hernandez-Armenta, R., H. C. Wien and A. R. J. Eaglesham. 1989. Maximum temperature for nitrogen fixation in common bean. Crop Sci. 29: 1260-1265.
19. Herridge, D. F. and S. K. A. Danso. 1995. Enhancing crop legume N_2 fixation through selection and breeding. Plant and Soil 174: 51-82.
20. Hungria, M., A. A. Franco and J. I. Sprent. 1993. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil 149: 103-109.
21. Hungria, M., D. D. S. Andrade, L. M. D. O. Chueire, A. Probanza, F. J. Guttierrez-Manero and M. Megas. 2000. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseslus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. Soil Biol. Biochem. 32: 1515-1528.
22. Karanja, N. K. and M. Wood. 1988. Selecting *Rhizobium phaseoli* strains for use with beans (*Phoseolus vulgaris* L.) in Kenya: Tolerance of high temperature and antibiotic resistance. Plant and Soil 112: 15-22.

23. La Rue, T. A. and T. G. Patterson. 1981. How much nitrogen do legumes fix? Advances in Agronomy 34: 15-38.
24. Pena-Cabriales, J. J., O. A. Grageda-Cabrera, V. Kola and G. Hardarson, 1993. Time course of N_2 fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.,). Plant and Soil 152: 115-121.
25. 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. Aust. J. Exp. Agric. 39: 975-980.
26. Rennie, R. J. and G. A. Kemp. 1983. N_2-fixation in field beans quantified by ^{15}N isotope dilution. II. Effect of cultivars of beans. Agron. J. 75: 645-649.
27. Rodriguez Navarro, D. N., A. M. Buendia, M. Camacho, M. M. Lucas and C. Santamaria. 2000. Characterization of *Rhizobium* spp. bean isolates from South-West Spain. Soil Biol. Biochem. 32: 1601-1613.
28. Singleton, P. W. and J. S. Tavares. 1986. Inoculation response of legumes in relation to the number and ineffectiveness of indigenous *Rhizobium* populations. Appl. Environ. Microbiol. 51: 1013-1018.
29. Smithson, J. B., O. T. Edje and K. E. Giller. 1993. Diagnosis and correction of soil nutrient problems of common bean (*Phaseolus vulgaris)* in the Usambara Mountains of Tanzania. J. Agric. Sci., Cambridge 120: 233-240.
30. Ssali, H. (1988). *Rhizobium phaseoli* inoculation trails of farmers fields in Kenya. East African Agricultural and Forestry Journal 153: 151-157.
31. St. Clair, D. A. 1986. Segregation, selection, and population improvement for ^{15}N-determined dinitrogen fixation ability in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph.D. dissertation, University of Wisconsin, Madison, WI, USA.
32. St. Clair, D. A. and F. A. Bliss. 1991. Intrapopulation recombination for ^{15}N-determined dinitrogen fixation ability in common bean. Plant Breeding 106: 215-225.
33. Vargas, M. A. T., L. C. Mendes and M. Hungria. 2000. Response of field-grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization in two Cerrados soils. Biol. Fertil. Soils. 32: 228-233.

Effects of Common Bean Nodulating *Rhizobia* Native to Iranian Soils on the Yield and Quality of Bean

Asadi Rahmani, M. Afshari, K. Khavazi, F. Nourgholipour H. and A. Otadi[1]

Abstract

A field study was conducted to evaluate the effects of bean nodulating rhizobia on the growth and yield of bean. The experiment was carried out in Karaj Soil and Water Research Station using ten strains of native rhizobia, two nitrogen levels (35 and 70 mg N/kg soil) and a control treatment in a randomized complete block design (RCBD) with four replicates. The strains were grown in YMB until the population density of 5×10^8 cfu/ml was measured then packed following the injection into 25 g samples of powdered perlite. The field soil was analyzed for chemical and physical properties as well as the number of native rhizobia. Seeds of bean (Cv Cos-16) were moistened with a 20% sugar solution and treated with the inocula before planting. N-fertilizer was used in two split applications. Plants were sampled at 50% flowering and at the end of the growth stage. The number and the dry weight of nodules, the shoot dry matter and total N-uptake of the shoots were measured at the first sampling time. With the second sampling, the seed yield, thousand kernel weight and protein content of the seeds were measured. Results showed that the inoculations increased the measured characteristics of plants. The superior strain improved the seed yield by 87% compared to the control.

Keywords: Rhizobium, Nitrogen fixation, Common bean, Seed inoculation.

[1]. Soil and Water Research Institute, Tehran, Iran