نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۲، ص. ۶۰-۵۴

Journal of Water and Soil
Vol. 27, No. 1, Mar.-Apr. 2013, p. 54-60

بررسی توان تثبیت بیولوژیک نیتروژن (BNF) توسط سویه های ریزوبیوم در مناطق زیر کشت لوبیا در قزوین

محمد علی خلج[1*]- فرهاد مشیری[2]- هادی اسدی رحمانی [3]

تاریخ دریافت:۱۳۹۰/۸/۹
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۱۲/۵

چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی توان تثبیت بیولوژیک نیتروژن در بین سویه های مختلف *ریزوبیوم* وکاهش مصرف کودهای نیتروژنه به صورت طرح آزمایشی بلوک های کامل تصادفی با۱۳ تیمار شامل سه سطح صفر،۲۰۰ و ۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار و ۱۰سطح سویه باکتری *ریزوبیوم* در ۴ تکرار و در ۲ سال به صورت مزرعه ای در ایستگاه اسماعیل آباد مرکز تحقیقات کشاورزی قزوین انجام شد. در ۲ مرحله(۵۰٪ گلدهی و زمان برداشت) صفات مورد نظر (وزن خشک اندام هوایی، تعداد و وزن غده ها، میزان جذب نیتروژن و عملکرد دانه) برای انتخاب سویه برتر اندازه گیری شد. نتایج حاصل از ۲ سال آزمایش مزرعه ای و بررسی صفات مورد نظر اندازه گیری شده نشان داد که سویه$L-75$ به عنوان سویه برتر در تثبیت نیتروژن بوده و باعث بیشترین اثر مثبت روی صفات مورد نظر گردید و می تواند برای تلقیح بذر لوبیا در منطقه قزوین به کشاورزان منطقه توصیه گردد. این سویه باعث بیشترین تعداد غده و وزن خشک بوته در دو سال شد. افزایش عملکرد، توسط این سویه در سال اول و دوم به ترتیب ۲۶درصد و ۴۰درصد بدست آمد. این مطالعه نشان داد که تلقیح بذر لوبیا با سویه های مؤثر *ریزوبیوم* موجب افزایش رشد گیاه و عملکرد دانه شده و اثر قابل توجه ای در کاهش مصرف کودهای نیتروژنی دارد.

واژه های کلیدی: لوبیا، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، ریزوبیوم، عملکرد

مقدمه

لوبیا یکی از مهمترین گیاهان خانواده لگومینوز (بقولات) است. این خانواده گیاهی از منابع مهم پروتئین و تولید انرژی برای انسان محسوب می‌شود. حبوبات با داشتن ۲۵- ۱۸ درصد پروتئین، نقش مهمی در تامین مواد پروتئینی و تولید کالری مورد نیاز انسان دارند (۳). مصرف متعادل کودهای شیمیایی باید بر اساس آزمون خاک و مقادیر توصیه شده باشد تا علاوه بر تولید مناسب، موجب کاهش هزینه تولید و همچنین جلوگیری از آلودگی محیط زیست گردد (۴). نیتروژن مهمترین عنصر مورد نیاز گیاهان بوده و خانواده بقولات قادر به تامین تمام یا بخشی از نیتروژن مورد نیاز خود از طریق تثبیت بیولوژیک در همزیستی با باکتری *ریزوبیوم* می باشند (۲و۲۴). *ریزوبیوم* ها بصورت طبیعی در خاکها وجود دارند ولی غالباً از حیث تعداد و یا موثر بودن برای برقراری یک همزیستی موفقیت آمیز کافی نیستند و لذا لازم است به هنگام کشت گیاهان لگوم جمعیت کافی از *ریزوبیوم* های همزیست به بذور آنها تلقیح گردد. این الزام به هنگام کشت یک لگوم جدید و یا وجود تنش های خاکی و محیطی که سبب کاهش تعداد ریزوبیوم ها در خاک می گردد، شدید تر می شود (۶). بهره گیری از تثبیت بیولوژیک نیتروژن بصورت تلقیح بذور سابقه ای بیش از یکصد سال دارد اما در دهه های اخیر بدلیل افزایش جهانی قیمت کودهای نیتروژن دار و به لحاظ زیست محیطی استفاده از آن مجدداً با اهمیت بیشتری مطرح شده است (۱۳). وجود سویه های بومی کم تاثیر ولی با قدرت رقابت بالا، عدم تطابق مناسب سویه *ریزوبیوم* با گیاه لگوم میزبان، تنش های خاکی و محیطی و مقدار زیاد نیتروژن معدنی در خاک موجب کاهش مقدار نیتروژن تثبیت شده می گردد (۱۲). باید خاطر نشان کرد که مصرف نیتروژن، مشکلات دیگری چون تصعید نیتروژن، آبشویی، تجمع نیترات، .... را در پی خواهد داشت. فرناندو و همکاران (۱۱) دریافتند که سویه های جدا

۱- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، ایستگاه ملی تحقیقات گل و گیاهان زینتی، محلات
(*- نویسنده مسئول: Email: khalaj56@yahoo.com)
۲- استادیار پژوهش، بخش تغذیه گیاه و حاصلخیزی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج
۳- استادیار پژوهش، بخش بیوتکنولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

شده از انواع تند رشد نسبت به انواع جداشده از گونه های کند رشد، در تشکیل غده و تثبیت بیولوژیک نیتروژن موثرتر هستند. کریستین و همکاران (۱۰) دریافتند که لگومهایی مثل لوبیا در شرایط کمبود نیتروژن نقش مهمی در تثبیت نیتروژن و افزایش مقدار آن در خاک دارند و به همین علت، لوبیا در برخی کشورها به عنوان تقویت کننده خاک کاشته می شود. باکتری همزیست گیاهان لگوم، اولین بار توسط بیجرینک (Beijerink) جدا و خالص سازی شد و Bacillus radicicola نام گرفت که در سال ۱۹۲۶ نام آن به *ریزوبیوم* (Rhizobium) تغییر یافت. امروزه شش گونه از ریزوبیومهای همزیست با لوبیا شامل: *Rhizobium tropici, R. etli, R. gallicum, R. giardini i, R. lusitanum* و *R. leguminosarum bv. Phaseoli* شناخته شده و در شرایطی که عوامل محیطی در حد بهینه باشند و لوبیا با *ریزوبیوم* موثر غده دار شده باشد، مقادیر قابل توجه ای نیتروژن تثبیت می شود (۹). مطالعه ای روی تاثیر سویه های مختلف ریزوبیوم در لوبیا در مرکز تحقیقات کشاورزی مناطق گرمسیری (CIAT) انجام گرفت. در این آزمایش، ۱۹ سویه مختلف موثر *ریزوبیوم* را در کشورهای آمریکای لاتین، انگلستان و کانادا با ۲ واریته لوبیا (Kentwood , Aurara) مورد بررسی قرار دادند. بیشترین مقدار تثبیت نیتروژن در واریته Aurara معادل ۱۲۱ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. در این آزمایش مشخص شد لوبیا می تواند حدود ۵۰ درصد نیازهای نیتروژنی خود را تامین نماید (۲۳). اسدی و همکاران (۱) سویه های مختلف ریزوبیوم را جهت مطالعه و انتخاب سویه مناسب و موثر در تثبیت نیتروژن را از مناطق مختلف تحت کشت لوبیا در سطح کشور جدا نمودند. برای بدست آوردن نتیجه مناسب از تلقیح لوبیا، باید از سویه های کارآمد *ریزوبیوم* و ارقام مناسب لوبیا استفاده گردد. در این مورد تحقیقات مختلفی در مناطق و کشورهای مختلف انجام شده است (۲۱ و ۲۵). در بسیاری از مناطق کشت لوبیا در کشور، مقادیر قابل توجهی از کودهای نیتروژنی مصرف می گردد و این امر سبب غیر فعال شدن ریزوبیومهای موثر بومی شده و در نتیجه غده بندی کاهش می یابد. این امر علاوه بر اینکه هزینه قابل توجهی را به کشاورزان تحمیل می‌کند، موجب آلودگی محیط زیست نیز می شود. در این تحقیق درجه کارایی ریزوبیومهای همزیست لوبیای انتخاب شده درکشور و همچنین استان قزوین مورد مطالعه قرار گرفته است تا بتوان از انواع موثر به عنوان مایه تلقیح برای کشت لوبیا در این استان استفاده نمود.

مواد و روش ها

این آزمایش در سالهای۱۳۸۰ و۱۳۸۱ در محل ایستگاه تحقیقات اسماعیل آباد و به صورت طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۱۳ تیمار (۱۰ تیمار ریزوبیومی و ۲ تیمار نیتروژنی ۲۰۰ و ۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار و یک تیمار شاهد بدون کود و باکتری ریزوبیوم) در چهار تکرار بر روی لوبیا (*Phasaeolous vulgaris* L.) رقم بهمن انجام شد. تیمارهای *ریزوبیوم* شامل: سویه های L-39، L-51، L-54، L-74، L-75، L-78، L-91، L-100، L-120 و L-125 بودند. این سویه ها از نوع *Rhizobium leguminosarum bv. Phaseoli* بوده و بر اساس منطقه جمع آوری، با کُد مشخص شده اند. این آزمایش در کرتهای ۵× ۲/۵ متر با چهار خط کشت با فاصله بذور ۱۰ سانتی متری انجام گردید. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. پس از شخم و دیسک مقدار ۱۵ کیلوگرم اوره به عنوان کود شروع کننده بطور یکنواخت برای تیمارهای تلقیحی مصرف گردید و در تیمارهای نیتروژنی مقدار ۲۰۰و۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار در۲ مرحله (نیمی به هنگام کشت و نصف دیگر هنگام گلدهی)، به تیمارهای مربوط داده شد. مقدار ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل و ۵۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم در هکتار نیز براساس آزمون خاک در تمام تیمارها به طور یکسان استفاده گردید. در تیمارهای تلقیحی، هر کیلوگرم از بذر مصرفی با ۱۵ میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد شکر مخلوط شده و سپس ۷ گرم مایه تلقیح (غلظت ^{8} ۱۰×۲ سلول در هر گرم) هر سویه به آن اضافه گردید و بخوبی مخلوط شد و پس از خشک کردن در سایه، اقدام به کشت گردید. لوبیای تلقیح شده یا بدون تلقیح در سوراخ هایی که به منظور کشت آماده شده بود قرار داده شد. آبیاری کرتها به صورت جوی وپشته ای انجام شده و مبارزه با علفهای هرز و همچنین آفات و بیماریها در طول مرحله داشت به صورت دستی انجام گردید. نمونه برداری از گیاهان در دو مرحله انجام شد. مرحله اول در زمان ۵۰ درصد گلدهی و مرحله دوم در زمان برداشت محصول، که در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، از هر کرت آزمایشی ۱۰ گیاه بصورت تصادفی از دو خط کشت وسط برداشت و فاکتورهای تعداد غده، وزن غده، وزن خشک و درصد نیتروژن جذب شده در اندام هوایی اندازه گیری شدند و در مرحله نهایی، برداشت از دو خط وسط انجام گردید و فاکتورهای مورد نظر مثل وزن هزار دانه، درصد نیتروژن دانه و عملکرد دانه اندازه گیری شد. داده های بدست آمده توسط نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

سال اول

نتایج آزمایش نشان داد که در هر دو مرحله نمونه برداری (۵۰ درصد گلدهی و زمان برداشت محصول) بین تیمارهای آزمایشی از نظر صفات مورد بررسی (وزن خشک اندام هوایی، تعداد و وزن غده‌ها، میزان جذب نیتروژن و عملکرد دانه) به جز درصد نیتروژن تفاوت معنی دار وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

نیتروژن (%)	کربن آلی (%)	پتاسیم (mg kg $^{-1}$)	فسفر (mg kg $^{-1}$)	SAR	CCE (%)	EC (dS m^{-1})	pH	بافت
۰/۰۶	۰/۵۸	۲۷۲	۷/۱	۳/۴	۸/۳	۰/۹۳	۸	لوم

جدول ۲- میانگین مربعات پارامترهای اندازه‌گیری شده در سال اول

		زمان ۵۰درصد گلدهی						زمان برداشت	
منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک گیاه	تعداد غده در هرگیاه	وزن خشک غده ×۱۰۰	درصد نیتروژن	نیتروژن جذب شده	درصد نیتروژن	نیتروژن جذب شده	عملکرد دانه
تکرار	۳	۹۱۰/۲ns	۸/۳ ns	۰/۳۷*	۰/۰۵ns	۳۰۲۵۳/۴ns	۰/۲۷۶ns	۱۲۳۹۱۶۳/۱*	۱۸۵۳۳/۶ns
تیمار	۱۲	۱۷۸۱۷/۸**	۸۴۵/۶**	۲۱/۴**	۰/۱۲ns	۲۴۲۰۹۸۷۲/۱**	۰/۲۳ns	۱۴۴۸۷۶۸**	۸۴۳۸۵/۶**
خطا	۳۶	۳۲۵۰/۸	۴/۶	۰/۰۹	۰/۱۴	۷۲۹۹۹۷۸/۸	۰/۱۴	۳۵۲۰۳۹/۱	۱۴۵۰۳/۹
%CV		۱۲/۲۹	۲۵/۶۷	۱۹/۶	۱۰/۴۲	۱۶/۴۹	۸/۳	۱۰/۴۶	۹/۴۳

*،** و ns- به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ ٪، ۱٪ و عدم اختلاف معنی دار می باشد.

در زمان ۵۰ درصد گلدهی، اکثر تیمارهای *ریزوبیوم* نسبت به تیمار شاهد نیتروژن از لحاظ صفات مورد نظر تفاوت معنی دار داشتند. سویه های L-51 ، L-75 , L-120 بیشترین تعداد و وزن غده در هر گیاه را تولید کردند (جدول۳). از لحاظ کل جذب نیتروژن، سویه های L – 75 , L – 100 , L – 74 با میزان ۲۲۴و ۱۸۱ و ۱۷۹ کیلوگرم در هکتار بیشترین جذب نیتروژن را داشتند (جدول ۳). این تیمارها به همین ترتیب بیشترین وزن خشک اندام هوایی را تولید نمودند. در مرحله برداشت دانه، تیمار L – 75 با ۱۵۵۰ کیلوگرم دانه در هکتار بیشترین دانه را تولید نمود که ۲۶ درصد بیشتر از شاهد (بدون کود و باکتری) بوده و از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی دار بود (جدول ۳). به طور کلی در سال اول در دو مرحله نمونه برداری، سویه L – 75 از لحاظ کلیه صفات مورد نظر و اندازه گیری شده، نسبت به سایر تیمارها ارجحیت داشت.

سال دوم

در مرحله نمونه برداری در ۵۰ درصد گلدهی، تیمارهای L – 100 L – 75 , L – 51 , بیشترین تاثیر را در تعداد و وزن غده داشتند جذب نیتروژن در اندام هوایی نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و سویه های L – 100 , L – 75 , L – 51 به ترتیب ۱۵۰و ۱۴۵ و ۱۴۳ کیلوگرم در هکتار نیتروژن جذب کردند که با هم تفاوت معنی داری نداشتند ولی نسبت به شاهد (بدون کود و باکتری) تفاوت قابل ملاحظه و معنی داری نشان دادند (جدول ۴ و ۵). وزن خشک اندام هوایی نیز در تیمارهای L – 100 , L – 51 , L – 75 به ترتیب ۵۸۲۰، ۵۰۶۰ و ۴۹۸۰ کیلوگرم در هکتار بود که نسبت به شاهد (بدون کود و باکتری) تفاوت معنی دار داشتند (جدول ۵). در مرحله برداشت، میزان کل جذب نیتروژن در تیمارهای L – 39 , L – 75 L– 100 بیشترین مقدار را داشت که به ترتیب ۷۲، ۷۸ و ۶۹/۵ کیلوگرم در هکتار بود که نسبت به شاهد (بدون کود و باکتری) تفاوت معنی دار داشتند (جدول ۵). عملکرد دانه در تیمارهای مختلف، تفاوت معنی دار نشان داد. تیمارهای L – 39 , L – 100 , L – 75 به ترتیب با میزان عملکرد ۱۶۴۳ و ۱۵۴۶ و ۱۴۸۹ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد را تولید نموده که نسبت به شاهد (بدون کود و باکتری) دارای افزایشی معادل ۴۰ و ۳۲ و ۲۷ درصد را داشتند (جدول ۵). داده های جدول نشان می دهد که تیمارهای L – 100 , L – 51 L – 75 , به ترتیب باعث تولید ۷۲/۵، ۲۱/۲، ۴۷/۵ گرم غده در هر گیاه و همچنین ۴۰/۳، ۱۱/۲۶،۸/۵ عدد غده در هر گیاه شدند (جدول ۵). با توجه به نتایج مربوط به سال دوم تیمار L – 75 کاراترین سویه تلقیحی برای لوبیا در منطقه قزوین شناخته شد.

بحث

سویه های ریزوبیومی مورد استفاده در این آزمایش صفات اندازه گیری شده گیاه لوبیا را در هر دو سال آزمایش افزایش دادند (جداول ۳ و ۵). این موضوع با نتایج آزمایشات متعددی که در کشورهای مختلف انجام شده است مطابقت دارد (۶ و ۷). بیشتر محققین، فواید تلقیح بذرهای لگومها بویژه لوبیا را با سویه های کارآمد *ریزوبیوم* گزارش کرده اند (۱۰، ۱۴، ۲۲ و ۲۳). وزن خشک اندام هوایی در مرحله ۵۰ درصد گلدهی در سال اول در تیمار L – 75 نسبت به تیمار شاهد تولید بیشتری داشت. این امر در سال دوم نیز مشاهده گردید و این تیمار نسبت به شاهد در سال اول و دوم به ترتیب مقدار ۳۰ درصد و ۶۱ درصد افزایش تولید در وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول۳ و ۵). این نتیجه یکی از نشانه های اثر مثبت و معنی دار تلقیح لوبیا با باکتری کارآمد و بومی (L – 75) در تثبیت نیتروژن می باشد و باکتریهای غیر بومی از این لحاظ کارآمد نبودند.

جدول۳- مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده گیاه لوبیا در سال اول

تیمارها	زمان ۵۰ درصد گلدهی				زمان برداشت	
	وزن خشک گیاه (kg ha $^{-1}$)	تعداد غده در هرگیاه	نیتروژن جذب شده (kg ha $^{-1}$)	وزن خشک غده درهر گیاه (g)	نیتروژن جذب شده (kg ha $^{-1}$)	عملکرد دانه (kg ha $^{-1}$)
شاهد	bcd۴۶۷۰	۰ e	۱۶۹ c	۰ e	cdef۵۴/۱	cdef۱۲۲۵
N-200	bcde۴۴۷۶	۰ e	۱۵۸ cd	۰ e	def۵۱/۳	def۱۱۹۲
N-400	bcde۴۴۰۹	۰ e	۱۶۶ c	۰ e	ab۶۵/۶	ab۱۴۸۷
L-39	bcd۴۵۶۸	۰ e	۱۶۰ c	۰ e	abc۶۰/۳	abc۱۴۱۲
L-51	abc۵۲۲۷	۱۳ c	۱۸۰ b	۲/۳ c	bcd۵۹/۲	bcd۱۳۶۵
L-54	de۴۱۵۵	۰ e	۱۴۸ e	۰ e	ef۴۹/۸	ef۱۱۵۰
L-74	abc۵۲۱۳	۴ d	۱۷۹ b	۱/۴ d	bcde۵۷/۳	bcde۱۲۶۵
L-75	a۶۰۶۶	۴۹ a	۲۲۴ a	۷/۳ a	a۶۸/۳	a۱۵۵۰
L-78	cde۴۳۵۹	۰ e	۱۶۱ c	۰ e	cdef۵۶/۳	cdef۱۲۲۵
L-91	e۳۵۹۱	۵ d	۱۳۶ f	۱/۱ d	abc۶۰	abc۱۱۸۷
L-100	Ab۵۳۰۸	۳ d	۱۸۱ b	۱ d	f۴۸/۶	f۰۵۰
L-120	bcde۴۴۴۷	۲۷ b	۱۵۰ de	۵/۵ b	cdef۵۶/۱	cdef۱۳۳۷
L-125	de۳۸۳۳	۶ d	۱۲۴ g	۱/۵ d	ef ۵۰/۱	۱۵۰

*- اعدادی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند، اختلاف میانگین آنها طبق آزمون دانکن، در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول ٤- میانگین مربعات پارامترهای اندازه‌گیری شده در سال دوم

منبع تغییرات	درجه آزادی	زمان ۵۰ درصد گلدهی					زمان برداشت		
		وزن خشک گیاه	تعداد غده	وزن غده×۱۰۰	درصد نیتروژن	نیتروژن جذب شده	درصد نیتروژن	نیتروژن جذب شده	عملکرد دانه
تکرار	۳	۱۴۰۸/ ۶ ns	۰/۰۲۲ns	۰/۰۰۷ ns	۰/۲۸۸ ns	۱۱/۴۹۳ ns	۰/۰۲۸ns	۵۸/۹۴۷ns	۲۵۸۱۹/۲ns
تیمار	۱۲	۱۵۴۲۱/۹**	۲/۱۵۴**	۰/۹۰۲**	۰/۳۷۱**	۱۶/۵۱۱ **	۰/۰۴۹ns	۱۸۸/۳۷۷**	۷۵۴۸۳/۲**
خطا	۳۶	۲۴۶۳/۸	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۱۵۶	۴/۳۶۱	۰/۰۴۹	۲۹/۶۴۹	۱۰۹۲۹/۹
%CV		۱۱/۱۳	۲۱/۸۳	۲۱	۱۴/۲۳	۱۶/۹۱	۴/۷۵	۸/۵۷	۷/۶۶

**،* و ns- به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ ٪، ۱٪ و عدم اختلاف معنی دار می باشد.

این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایش وانی و همکاران (۲۷) که روی مؤثر بودن سویه های مختلف بومی و غیر بومی انجام شد، مطابقت دارد. سویه L – 75 از لحاظ تعداد غده و وزن غده در سال اول و دوم بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است (جداول ۳ و ۵). این موضوع نشان از موثر بودن تلقیح دارد، چرا که در هیچ کدام از تیمارهای شاهد و کودی در دو سال، غده مشاهده نگردید که نشان از عدم وجود باکتریهای بومی در خاک می باشد این مورد می‌تواند به دلیل مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی نیتروژنه در مزارع کشت لوبیا و ازبین رفتن باکتریهای بومی تثبیت کننده نیتروژن باشد. بارون و همکاران (۸) در آزمایش خود دریافتند که نیتروژن بیش از حد موجب کاهش جمعیت باکتری های تثبیت کننده نیتروژن بومی شده و کارایی آنها را نیز کم می کند. برخی سویه ها مثل سویه های L – 75 و L – 39 در دو سال، نسبت به شاهد و همچنین تیمارهای کودی افزایش عملکرد بیشتری داشتند (جداول ۳ و ۵). محققان زیادی دریافتند که برخی از سویه های موثر موجب افزایش عملکرد دانه شده و مصرف کود بدون تلقیح باکتری موثر، موجب افزایش عملکرد کمتری نسبت به استفاده توام کود نیتروژنه به عنوان پایه و سویه موثر، حتی در شرایط بهینه خاکی شده است. این نتایج در تحقیقات آنیانگو و همکاران (۵)، هانگریا و همکاران (۱۶ و ۱۷)، ماستاسو و همکاران (۲۰) و همچنین گرانگ و همکاران (۱۳) مشاهده گردیده است. تیمارهای مختلف کودی و تلقیح با باکتری از جهت میزان برداشت نیتروژن با هم اختلاف معنی دار دارند (جداول۴، ۲، ۳ و ۵).

میزان نیتروژن برداشت شده در تیمارهای L – 75 و N – 400 در سال اول به ترتیب ۲۶ و ۲۱ درصد و در سال دوم ۴۸ و ۳۶ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جداول ۳ و ۵).

جدول۵- مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده گیاه لوبیا در سال دوم

تیمارها	زمان ۵۰ درصد گلدهی				زمان برداشت	
	وزن خشک گیاه (kg ha $^{-1}$)	تعداد غده در هرگیاه	نیتروژن جذب شده (kg ha $^{-1}$)	وزن خشک غده درهر گیاه (g)	نیتروژن جذب شده (kg ha $^{-1}$)	عملکرد دانه (kg ha $^{-1}$)
شاهد	۳۶۱۰de	۰ f	۸۹e	۰ f	۵۲/۸f	۱۱۷۵ f
N-200	۴۱۴۰cde	۰ f	۹۴de	۰ f	۵۸/۹def	۱۳۰۱def
N-400	۴۵۲۰ bc	۰ f	۱۳۳ab	۰ f	۶۷ bcd	۱۴۱۴bcd
L-39	۴۳۲۰bcde	۵/۸ c	۱۳۶ab	۱۰d	۶۹/۵ bc	۱۴۸۹abc
L-51	۴۹۸۰ b	۲۶/۵a	۱۴۳a	۲۱/۲c	۶۶/۸bcd	۱۴۴۱bcd
L-54	۴۰۴۰cde	۱/۵e	۱۲۶abcd	۳/۵ef	۶۱/۸cde	۱۲۵۹ef
L-74	۴۹۶۰B	۴/۵cd	۱۲۶abcd	۱۰d	۶۲/۲cde	۱۳۳۹cdef
L-75	۵۸۲۰A	۴۰/۳a	۱۴۵a	۷۲/۵a	۷۸a	۱۶۴۳a
L-78	۴۱۰۰cde	۳/۵cd	۱۲۸abc	۵de	def۵۹/۵	۱۳۰۱def
L-91	۴۲۲۰bcd	۵/۵c	۱۰۶bcde	۷/۵d	۶۰/۵def	۱۳۲۶cdef
L-100	۵۰۶۰B	۱۱/۸b	۱۵۰a	۴۷/۵b	۷۲Ab	۱۲۶۹ab
L-120	۴۴۱۰ bcd	۱/ ۸ e	۱۳۱abc	۳/۲f	Def۶۰/۳	۱۲۲۶ ef
L-125	۳۵۸۰e	۲de	۹۸cde	۲/۸ f	ef ۵۶/۳	۵۰

*- اعدادی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند، اختلاف میانگین آنها طبق آزمون دانکن، در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

در تحقیقات مختلف میزان تثبیت نیتروژن توسط *ریزوبیوم*ها، حدود ۵۰ درصد کل نیتروژن مورد نیاز گیاه، برآوردشده است. به دلیل کافی نبودن میزان تثبیت نیتروژن برای لوبیا، در کنار تلقیح، مصرف کمی کود نیتروژنی می تواند مؤثر باشد (۱۵ و ۲۱). سویه های استفاده شده در این تحقیق از نظر صفات اندازه گیری شده مورد نظر برای ارزیابی مؤثر بودنشان با هم اختلاف نشان دادند. این امر با نتایج آزمایشهای متفاوتی که در کشورهای مختلف توسط CIAT انجام شده است هماهنگی دارد. با توجه به تفاوت کارایی سویه های مورد نظر، برای بدست آوردن نتیجه مناسب از تلقیح بذر لوبیا، باید از انواع کارآمد برای تلقیح استفاده گردد (۱۷، ۱۸ و ۲۶). از بین سویه های استفاده شده، سویه L – 75 موجب افزایش برخی صفات مورد بررسی مانند : وزن و تعداد غده، عملکرد دانه و نیتروژن جذب شده گردید. این صفات توسط محققین زیادی برای غربالگری سویه های مختلف ریزوبیومی از لحاظ توان تثبیت بیولوژیک نیتروژن استفاده شده اند (۱۹). نتایج این تحقیق نشان داد با استفاده از روش غربالگری، سویه هایی از *ریزوبیوم* را می توان انتخاب نمود که به عنوان مایه تلقیح برای افزایش و بهبود کمیت و کیفیت لوبیا به کشاورزان و تولید کنندگان معرفی شوند. این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف کودهای نیتروژنی گردد، و علاوه بر کاهش هزینه تولید موجب کاهش آلودگی محیط زیست درمزرعه گردد. در این تحقیق سویه L – 75 با توجه به نتایج بدست آمده برای استفاده در مناطق مختلف تحت کشت لوبیا در منطقه قزوین معرفی می شود.

منابع

۱- اسدی رحمانی ه. و افشاری م. ۱۳۸۴ . کاهش مصرف کودهای ازته از طریق افزایش تثبیت بیولوژیک ازت در اراضی تحت کشت لوبیا. گزارش نهایی، تهران.

۲- افشاری م.، نوحی آ. و مجیدی هروان آ. ۱۳۷۵. ارزیابی تثبیت بیولوژیک ازت بوسیله *ریزوبیوم فازئولی* و تعیین حامل مناسب آن. پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه تهران.

۳- آمارنامه کشاورزی سال زراعی. ۱۳۸۱.جلد اول، محصولات زراعی و باغی، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، دفتر آمار و فن‌آوری اطلاعات، نشریه شماره ۸۱/۰۶. تهران.

۴- ملکوتی م.ج.، کریمیان ن. و کشاورز پ.۱۳۸۴.روش جامع تشخیص و مصرف بهینه کودهای شیمیایی.نشر آثار علمی دانشگاه تربیت مدرس. صفحه ۱۱۷.

5-Anyango B., Wilson K.J., Beynon J.L., and Giller K.E. 1995. Diversity of rhizobia nodulating *Phaseolus volgaris* L.

in two Kenyan soils of contrasting PHS. Applied and Environmental Microbiology, 61:4016-4021.
6- Ayanaba A., and Bromfield E.S.P. 1980. The efficacy of soybean inoculation on acid soil in tropical Africa. Plant and Soil. 54: 95–106.
7- Ayanaba A.1977. Towards better use of inoculants. In:Ayanaba, A., Dart, P.J. (Eds.), Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics. John Wiley & Sons, New York.
8- Barron J.E., Pasini R.J., Davis D.W., Stuthman D.D., and Graham P.H. 2000. Response to selection for seed yield and nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crop Research, 62: 119-128.
9- Bliss F.A. 1993. Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation. Plant and Soil, 152: 71–79.
10- Christiane I., and Graham P.H. 2002. Variation in di-nitrogen fixation among Andean bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes grown at low and high levels of phosphorus supply. Field Crops Research, 73: 133-143.
11- Fernando I., Taurian T., Angelini J., Tonelli M.L., and Fabra A. 2008. Rhizobia phylogenetically related to common bean symbionts *Rhizobium giardinii* and *Rhizobium tropici* isolated from peanut nodules in Central Argentina. Soil Biology and Biochemistry, 40 : 537–539.
12- Gamini S., Van Holm L.H.J., and Ekanayake E.M.H. 2000. Agronomic benefits of rhizobial inoculant use over nitrogen fertilizer application in tropical soybean. Field Crops Research, 68:199-203.
13- Grange L., Hungria M., Graham H., and Mart E. 2007. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. Soil Biology and Biochemistry, 39 : 867–876.
14- Hernandez R.H., Wien C., and Eagleshman A.R.J. 1989. Maximum temperature for nitrogen fixation in common bean. Crop Science, 29: 1260-1265.
15-Herridge D.F., and Danso S.K.O. 1995. Enhancing crop legume N_2 fixation through selection and breeding. Plant and Soil1, 74:51-82.
16- Hungria M., Campo R.J., and Mendes I.C. 2003. Benefits of inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. Biology and Fertility of Soils, 39: 88–93.
17- Hungria M., Andrade D.D.S., Chueire M.D.O., Probanza A., Gutierrez M., and Megas M. 2000. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean(*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. Soil Biology and Biochemistry, 32:1515-1528.
18- Hungria M., Franco A.A., and Sprent J.T. 1993. New sources of high- temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil, 149: 103-109.
19- Karanja N.K., and Wood M. 1988. Selecting *Rhizobium phaseoli* strains for use with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya: tolerance of high temperature and antibiotic resistance. Plant and Soil, 112: 15–22.
20-Mostasso L., Mostasso F.L., Dias B.G., Vargas M.A.T., and Hungria M. 2002. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. Field Crops Research, 73:121–132.
21- Redden R.J., and Herriage D.F. 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.
22-Rennie R.J., and Kemp G.A. 1983. N2-fixation in field beans quantified by N15 isotope dilution.2.Effect of cultivars of beans. Agronomy Journal, 75:645-649.
23-Robert F.M., and Schmidt E.L. 1993. Population changes and persistance of *Rhizobium Phaseoli* in soil and rhizosphere. Applied and Environmental Microbiology, 45: 550-556.
24- Singleton P.W., Bohlool B.B., and Nakao P.L. 1992. Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: myths and realities. In: Lal,R., Sanchez, P.A. (Eds.), Myths and Science of Soils of the Tropics. SSSA Special Publication, 29: 135–155.
25- Stacey G., Libault M., Brechenmacher L., Wan J., and May G.D. 2006. Genetics and functional genomics of legume nodulation. Current Opinion in Plant Biology, 9:110–121.
26- Vincent J.M. 1970. A Manual for Practical Study of the Root Nodule Bacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
27- Wani S.P., Rupela O.P., and Lee K.K. 1995. Sustainable agriculture in the tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and Soil, 174: 29–49.

Journal of Water and Soil
Vol. 27, No. 1, Mar.-Apr. 2013, p. 54-60

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۲، ص. ۶۰-۵۴

Evaluation of the N_2-fixing Ability of *Rhizobia* Strains in Common Bean Cultivated Region of Qazvin

M.A. Khalaj[1 *]- F. Moshiri [2]- H. Asadi Rahmani[3]

Received:31-10-2011
Accepted:23-02-2013

Abstract

This study was conducted to evaluate N_2-fixing ability of *rhizobia* strains inoculated with common bean. The experiment was carried out in a randomized complete block design (RCBD) with 13 treatments including 10 *Rhizobium* isolates, two nitrogen fertilizer levels (200 and 400 kg urea per ha) and one control (without Nitrogen and *rhizobium*) in four replications at Esmaeel Abad research station of Qazvin. Plant sampling was done in two growth stages and nodule number and dry weight, shoot dry weight and total N-uptake and seed yield were evaluated. Results of two years field experiment showed that isolate L-75 showed the superior N2-fixing performance and had the highest positive effect on growth factors and could be recommended to use as inoculants strain in Qazvin region. This isolate, produced highest nodule number and dry weight in both years of study. Seed yield production was promoted by 26 and 40% more than control by application of isolate L-75 in the first and second year, respectively. This study showed that inoculation of common bean with effective *rhizobia* strains resulted in promoting of plant growth and seed yield production and have the benefit to reduce nitrogen fertilizer application in bean cropping.

Keywords: Bean, Biological Nitrogen Fixation, *Rhizobium*, Yield

1- Associate Professor Research of Water and Soil Department, National Ornamental Plant Research Station, Mahallat, Iran
(*- Corresponding Author Email :khalaj56@yahoo.com)
2- Associate Professor Research, Department of Plant Nutrient, Soil and Water Research Institute,Karaj, Iran
3- Associate Professor Research, Department of Soil Biotechnology, Soil and Water Research Institute,Karaj, Iran