

بررسی پتانسیل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و جذب برخی عناصر ریزمغذی توسط سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم همزیست لوبیا در دو منطقه از استان اصفهان

• مجتبی یحیی‌آبادی، عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان (نویسنده مسئول)
• هادی اسدی رحمانی، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب

تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۰۹۲۳۵۸

پست الکترونیک نویسنده مسئول: Mo_yahya@yahoo.com

چکیده:

اکثر تحقیقات انجام شده در زمینه باکتری‌های دیازوتروف آزادی بوده و تعداد کمی نیز روی باکتری‌های همزیست ریزوبیوم، متمرکز بوده است. به منظور بررسی پتانسیل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم، آزمایشی در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۸ تیمار و ۴ تکرار، انجام شد که در آن اثر ۶ سویه باکتری ریزوبیوم همزیست لوبیا بر پارامترهای مختلف گیاه لوبیا چیتی در دو منطقه از استان اصفهان (دهاقان و اسفرجان) بررسی شد. تیمارها شامل سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم به نام‌های L-139, L-54, L-216, L-76, L-41, L-100 که توسط بخش تحقیقات بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب از استان‌های مختلف جمع‌آوری شده بود به همراه یک تیمار مصرف کود نیتروژن به میزان ۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار و شاهد (بدون مصرف کود و عدم تلقیح) بودند. نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد که بین سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم تلقیح شده با بذر لوبیا اختلاف معنی‌داری از لحاظ صفات وزن خشک اندام هوایی، مقدار کل جذب ازت، تعداد غده‌ها، وزن غده‌ها و عملکرد دانه وجود داشت. در منطقه دهاقان تلقیح بذر با سویه L-75 و در منطقه اسفرجان تلقیح بذر با سویه‌های L-139 و L-154 باعث افزایش در صفات مورد نظر شدند. نتایج همچنین نشان دادند که تلقیح سویه‌های مختلف باکتری با بذر لوبیا موجب افزایش در جذب برخی عناصر ریزمغذی شده است. در منطقه دهاقان سویه‌های L-216 و L-75 باعث افزایش در جذب عناصر مس و روی شدند. همچنین بعضی از سویه‌های ریزوبیوم بکار گرفته شده در تلقیح بذور لوبیا، تأثیر معنی‌داری بر افزایش جذب ازت نداشته‌اند.

کلمات کلیدی: تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، لوبیا، غده ریشه، عناصر ریزمغذی

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:104 pp: 75-80

Potential of Biological Nitrogen Fixation and Micro-nutrients Absorbed by some strains of Rhizobium bacteria coexist in Beans in two Regions of Isfahan Province

By:

- M. Yahyaabadi, (Corresponding Author; Tel: 09123093582), Scientific Staff of Isfahan Agricultural Research Center
- H. Asadi Rahmani, Scientific Staff of soil and water Research Institute

Received: July 2011

Accepted: July 2012

Most inoculation studies have focused on free-living diazotrophs, although a few reports indicate rhizobia can act as PGPR. In order to evaluate nitrogen fixation ability of different strain of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* in common bean, a randomized complete block design including 6 rhizobial isolates (L-100, L-41, L-75, L-216, L-54 and L-139 selected from different provinces by soil & water research institute), one nitrogen fertilizer (400 kg Urea per ha) and one control plot (without seeds inoculated and fertilizer) in four replication was carried out in two field (Dehaghan & Esfarjan) at Isfahan province in 2003. Results showed that significant differences were observed in seed and dry matter yield, total nitrogen absorption, number and weight of nodules and seed yield among seed inoculated with different strains and non-inoculated controls. In Dehaghan field, seed inoculation with L-75 strain and in Esfarjan field, seed inoculation with L-54 and L-139 strains increased dry matter yield, total nitrogen absorption, number and weight of nodules and seed yield. Results also showed that seed inoculation with some rhisobia isolates increased micronutrients absorption. In Dehaghan field, inoculation of L-216 and L-75 strains led to higher absorption of Cu and Zn. Some isolates could not promote nitrogen absorbtion.

key Words: Biological nitrogen fixation, Common Bean, Root nodules, Micronutrients

مقدمه

برای جذب عناصر غذایی خاک و افزایش کارایی جذب در گیاهان، از روشهای مختلفی همچون استفاده از منابع کودی، استفاده از مواد آلی و تلقیح گیاهان با باکتری‌های تشدید کننده رشد (PGPR)، (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) می‌توان سود برد. اکثر تحقیقات انجام شده روی باکتری‌های دیازوتروف آزادی بوده و تعداد کمی نیز روی باکتری‌های همزیست ریزوبیوم، متمرکز بوده است (۱۱). باکتری‌های PGPR با تاثیر بر فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده، موجب افزایش جذب عناصر و رشد بیشتر گیاهان می‌شوند. اثرات تشدید کننده رشد گیاهانی که با باکتری‌های ریزوبیوم تلقیح شده‌اند عمدتاً بدلیل تولید فیتوهورمون، محدود شدن رشد قارچ‌های پاتوژن، تثبیت ازت مولکولی، افزایش کارایی منابع ازت‌دار و سایر عناصر دیگر (۶)، تولید آنتی‌بیوزهای ضدپاتوژن، تولید و ترشح سیدروفورها (۱۰) و القاء سیستمیک مقاومت در برابر بیماری در گیاهان، بوده‌اند. کاربرد تلفیقی از مایه تلقیح ریزوبیوم-آزوسپریلوم و ریزوبیوم-آزتوباکتر برای جذب عناصر میکرو و ماکرو در آزمایشی که رودلاس و همکاران به انجام رساندند، صورت گرفته است (۱۴). استفاده از سویه‌های آزوسپریلوم و ازتوباکتر به همراه ریزوبیوم، تغییرات زیادی در جذب عناصر غذایی خاک نسبت به کاربرد تنه‌ای ریزوبیوم ایجاد کرد. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که سویه‌های مختلف ریزوبیوم و برادی ریزوبیوم، آثاری مشابه با باکتری‌های PGPR را در همزیستی با گیاهان غیر لگوم مثل تربچه از خود بروز داده‌اند (۳) و غده‌های تشکیل شده از

این باکتری‌ها، تولید فیتوهورمون، سیدروفور و سیانید هیدروژن (HCN) کرده‌اند. این باکتری‌ها همچنین از خود آثار آنتاگونیستی در برابر قارچ‌های پاتوژن نشان داده‌اند. گیوکوچی و همکاران در آزمایشی به بررسی اثرات قارچ میکوریزا و ریزوبیوم بر میزان عناصر جذب شده و روابط آبی در یونجه در شرایط تنش خشکی پرداختند (۷). تنش خشکی موجب کاهش مقدار عناصر غذایی میکرو و ماکرو در برگ و ریشه گیاهان تلقیح نشده (شاهد) گردید. اما تنش باعث کاهش میزان عناصر موجود در برگ گیاهانی که فقط با ریزوبیوم تلقیح شده بودند گردید و میزان این عناصر در ریشه تغییر نیافت. در نهایت در شرایط خشکی، جذب عناصر غذایی در یونجه‌هایی که توسط میکوریزا تلقیح شده بودند افزایش معنی‌داری یافته بود. افشاری و همکاران پس از جمع‌آوری برخی از سویه‌های بومی همزیست لوبیا به شناسایی آنها از طریق روشهای بیوشیمیایی و ویژگی میزبانی پرداخته‌اند و سپس کارائی سویه‌های مورد نظر را در شرایط مزرعه‌ای در مقایسه با برخی سویه‌های خارجی مورد ارزیابی قرار داده‌اند (۱). رابرت و همکاران با مطالعه تغییرات جمعیتی و دوام باکتریهای همزیست لوبیا در خاک و ریزوسفر دریافتند که دوام این باکتریها در ریزوسفر بهتر می‌باشد و ضمناً نشان دادند که سویه‌های کارآمدی که به عنوان مایه تلقیح استفاده می‌شوند حتی در حضور جمعیت بالای بومی خاک قدرت آلوده‌سازی غده‌ها را دارند (۱۳). به دلیل اینکه در بسیاری از مناطق کشت لوبیا در کشور مقادیر قابل توجهی از کود نیتروژنی مصرف می‌گردد و این امر سبب غیر فعال شدن ریزوبیوم‌های بومی شده و گره‌بندی ریشه را کاهش می‌دهد و هزینه‌ی قابل

مایه تلقیح توسط محلول شکر ۲۰٪ انجام گرفت و بلافاصله اقدام به کشت بذور شد. کاشت به صورت نم‌کاری (روش مرسوم منطقه) انجام گرفت، به این صورت که پس از کرت‌بندی، اقدام به آبیاری زمین شده و پس از دو روز، کف کرت‌ها با استفاده از عصای چوبی، حفره‌گذاری شد و در هر حفره یک بذر لوبیا قرار داده شد. پس از جوانه‌زنی و چهار برگی شدن، اولین آبیاری انجام گرفت. مبارزه با علف‌های هرز به صورت مکانیکی و توسط وجین دستی انجام شد. برداشت اول در ۵۰٪ گلدهی از دو ردیف میانی و به طول یک متر و برداشت نهایی نیز از دو ردیف میانی و به طول یک متر انجام گرفت و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد و توسط روش کج‌دال میزان درصد نیتروژن کل اندام‌های هوایی و همچنین میزان غلظت عناصر آهن، منگنز، روی و مس توسط دستگاه جذب اتمیک تعیین گردید. پس از اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی، اقدام به محاسبه مقدار کل جذب نیتروژن شد. به منظور تعیین تعداد و وزن گره تشکیل شده روی ریشه لوبیا در مرحله ۵۰ درصد گلدهی اقدام به نمونه‌برداری از ۲ بوته بطور تصادفی (پس از حذف اثر حاشیه) به همراه حجم خاک پیرامون آن شد. سپس در آزمایشگاه پس از شستن خاک، تعداد گره‌های موجود در سطح ریشه و وزن خشک گره‌ها با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم تعیین شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده و مقایسه میانگین، از برنامه آماری SAS استفاده شد.

نتایج

جدول ۲ نتایج تجزیه خاک در دو منطقه مورد بررسی را نشان می‌دهد. بر این اساس، خصوصیات خاک در هر دو منطقه برای کاشت لوبیا مناسب بوده (شوری و pH) اما درصد کربن آلی در منطقه اسفرجان بیش از دهقان می‌باشد.

جدول ۱- سوبه های باکتری مورد استفاده در آزمایش و محل جداسازی آنها

ردیف	کد سوبه	محل جدا سازی
۱	L-100	استان همدان-شهرستان لاله جین
۲	L-41	استان اصفهان-شهرستان دهقان
۳	L-75	استان قزوین-روستای معلم کلاهی
۴	L-216	استان مرکزی-شهرستان خمین
۵	L-54	استان زنجان-شهرستان زنجان
۶	L-139	استان لرستان-شهرستان الیگودرز

جدول ۲- نتایج تجزیه خاک تحت کشت لوبیا در دو منطقه

منطقه	EC	pH	OC	N	P	K	Fe	Mn	Zn	Cu
	dS/m		-----%					ppm		
دهقان	۰/۳۹	۷/۹	۰/۴۹	۰/۰۵	۴/۷	۱۸۵	۸/۷	۱۰/۶	۰/۶۲	۱/۱۴
اسفرجان	۰/۵۲	۷/۴	۱/۱۱	۰/۱۳	۲۰/۷	۱۷۴	۱۴/۲	۱۹	۵/۱	۵/۵

توجهی را نیز به کشاورزان تحمیل می‌کند، در این تحقیق سعی گردید با بررسی پتانسیل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، سوبه‌های کارآمد ریزوبیوم، معرفی شوند تا بتوان از آنها به عنوان مایه تلقیح برای کشت لوبیا در کشور استفاده کرد.

روش بررسی

تحقیق فوق در استان اصفهان در مناطق دهقان و اسفرجان از توابع شهرستان شهرضا به اجرا درآمد. اداره کل هوا شناسی استان، میانگین بارندگی سالیانه در دهقان را ۱۶۰ میلیمتر با متوسط درجه حرارت ۱۴/۴ درجه سانتیگراد گزارش کرده است. خاک مورد آزمایش در این محل دارای بافت لوم سیلتی، اسیدیته حدود ۷/۹، هدایت الکتریکی ۰/۳۹ دسی زیمنس بر متر، درصد کل نیتروژن ۰/۰۵ و مقدار فسفر و پتاسیم قابل جذب تا عمق ۳۰ سانتیمتری خاک به ترتیب ۴/۷ و ۱۸۵ قسمت در میلیون و جمعیت بومی باکتری ریزوبیوم در هر گرم خاک در حدود ۸۸ برآورد شد (۲). همچنین میانگین بارندگی سالیانه در اسفرجان ۱۷۶ میلیمتر با متوسط درجه حرارت ۱۵/۲ درجه سانتیگراد گزارش شده است. خاک در این محل دارای بافت لوم شنی، اسیدیته حدود ۷/۴، هدایت الکتریکی ۰/۵۲ دسی زیمنس بر متر، درصد کل نیتروژن ۰/۱۳ و مقدار فسفر و پتاسیم قابل جذب تا عمق ۳۰ سانتیمتری خاک به ترتیب ۲۰/۷ و ۱۸۵ قسمت در میلیون و جمعیت بومی باکتری ریزوبیوم در هر گرم خاک در حدود ۱۴۵ تعیین گردید (۲). پس از جداسازی و تهیه سوبه‌های موثر باکتری در استانه‌های مختلف (جدول ۱) و ارسال مایه تلقیح باکتریهای ریزوبیوم از طرف مؤسسه تحقیقات خاک و آب و انتخاب زمین آزمایش در مناطق مزبور، نقشه طرح در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی پیاده شد. کرت‌های آزمایشی به ابعاد ۲/۵ × ۵ متر مربع شامل چهار ردیف کاشت در نظر گرفته شد. در هر کرت فاصله خطوط کشت از هم ۶۰ سانتیمتر و روی هر خط کشت فاصله بذور از هم ۱۰ سانتیمتر تعیین شد. به منظور جلوگیری از آلودگی های باکتریایی بین تیمارهای آزمایش، آبیاری کرت‌ها توسط سیفون‌های جداگانه انجام شد. همچنین دور آبیاری با توجه به عرف منطقه (پنج روز یکبار) انجام گرفت. تعداد تیمارها ۸ و در ۴ تکرار بوده که ۶ تیمار شامل سوبه های برتر انتخاب شده بود (سوبه‌های برتر توسط بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب معرفی شده‌اند) (۲). دو تیمار دیگر شامل تیمار ۷۰ میلی گرم در کیلوگرم ازت (معادل ۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار تا عمق ۲۰ سانتیمتر) که بدون تلقیح بوده و یک تیمار شاهد که بدون ازت و بدون تلقیح در نظر گرفته شد. خاک زمین انتخاب شده پس از شخم و دیسک از نظر فیزیکی و شیمیایی تجزیه شده و به غیر از ازت، مصرف سایر کودهای شیمیایی بر اساس آزمون خاک برای لوبیا تعیین گردید. مقدار ۱۵ کیلوگرم ازت در هکتار بعنوان استارتر استفاده گردید. بذر لوبیای مورد آزمایش، از رقم تلاش انتخاب شد. تلقیح بذور با

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای مورد نظر در تیمارهای مختلف در منطقه دهقان

تیمارها	وزن خشک اندام هوایی (g)	(g) کل جذب ازت	تعداد غده‌ها	(g) وزن غده‌ها	برداشت در ۵۰ درصد گلدهی		
					وزن خشک اندام هوایی (g)	کل جذب (g)	عملکرد دانه (g)
L-100	۲۸۵ ab	۷/۲۱ bc	۱۱۷ a	۱/۲۸ ab	۷۰۷ b	۱۲/۲ bc	۸۰۲ a
L-41	۲۵۷ abc	۷/۳۴ b	۱۰۰ abc	۱/۱۶ bcde	۷۲۳ ab	۱۴/۵ b	۶۳۳ abcd
L-75	۲۷۹ abc	۹/۵۷ a	۱۲۹ a	۱/۶۷ a	۷۰۵ b	۱۵/۴ b	۷۱۱ abc
L-216	۲۸۷ ab	۷/۱۰ bc	۱۰۸ ab	۱/۱۴ bcde	۷۸۱ ab	۱۴/۹ b	۴۸۸ de
L-54	۲۴۶ bc	۶/۷۵ bc	۹۸ abc	۱/۴۴ ab	۶۶۰ bc	۱۳/۵ bc	۴۳۷ e
L-139	۲۹۷ a	۷/۶۰ b	۹۹ abc	۱/۱۱ bcdef	۸۳۳ a	۲۰/۴ a	۵۳۰ cde
N-400	۲۳۵ cd	۷/۵۱ b	۶۷ c	۰/۸۳ ef	۵۶۸ c	۱۳/۸ bc	۵۴۳ bcd
شاهد	۱۹۷ d	۵/۵۸ c	۷۹ bc	۰/۷۸ f	۵۵۰ c	۹/۷ c	۴۵۷ e

اعدادی که در یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

نتایج در منطقه دهقان

نتایج نشان داد که در دهقان و در زمان ۵۰٪ گلدهی بیشترین افزایش در وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد بر اثر تیمار سویه L-139 بدست آمد، با این حال اختلاف معنی‌داری بین شاهد با سایر سویه‌ها مشاهده نشد. میزان کل جذب نیتروژن در تیمار تلقیحی L-75 (روستای کلاهی قزوین)، بیشترین اختلاف را با شاهد و با سایر تیمارهای تلقیحی داشته است و باعث افزایش ۷۰٪ در کل جذب ازت گیاه نسبت به شاهد گردید، با این حال اثر این تیمار در وزن خشک اندام هوایی با تیمارهای L-100، L-41، L-216 و L-139، تفاوت معنی‌داری نداشت.

از نظر تعداد غده، اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین سویه‌ها مشاهده نشد. بیشترین وزن غده از تیمارهای تلقیح بذریه L-75 و سویه L-54 منطقه زنجان و کمترین آن از تیمارهای مصرف نیتروژن و شاهد بدست آمد (جدول ۳)، بطوریکه تیمار L-75 باعث افزایش حدود ۱۰۰ درصدی در وزن غده‌ها نسبت به تیمار شاهد شد. Hungria و همکاران (۹) نیز به این نتیجه رسیدند که بین تلقیح بذریه با ۸ سویه مختلف باکتری ریزوبیوم از نظر تعداد گره در بوته و وزن گره تفاوت معنی‌داری وجود دارد و بیشترین تعداد و وزن گره را از تیمار PRF81 و کمترین میزان آنها را از تیمارهای شاهد و تیمار مصرف نیتروژن گزارش کرده است. Tamimi بیشترین میزان تعداد گره در بوته و وزن خشک گره را از ایزوله طبیعی JOV3 موجود در خاکهای مرکز اردن گزارش داده است (۱۶). در تحقیق حاضر، مقایسه میانگین مقادیر عناصر میکرو اندازه‌گیری شده در برگ لوبیا نشان داد که در میان تیمارهای مطالعه شده، تیمار سویه باکتری L-216 باعث افزایش ۸۵ درصد در جذب عنصر مس نسبت به شاهد شده و بیشترین اختلاف معنی‌دار را با شاهد دارا است (جدول ۴). پس از تیمار فوق، سویه L-75 جذب مس بیشتری داشته است. در جذب عنصر روی، نیز تیمار سویه L-216 بیشترین اختلاف معنی‌دار را با شاهد دارد بطوریکه باعث افزایش ۶۰ درصدی نسبت به شاهد داشته است. کمترین مقدار جذب عنصر روی حاصل تیمار L-54 بود. از میان سویه‌های مورد مطالعه، سویه L-75 بیشترین اثر را در جذب عنصر منگنز داشته و بیشترین اختلاف معنی‌دار را با شاهد و تیمار نیتروژن (+N) داشته است، این در حالیست که سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمار نیتروژن نداشتند. در بررسی انجام شده

مشخص شد که تیمار سویه L-139 موجب افزایش بیشترین جذب آهن از خاک شده به نحوی که نسبت به شاهد ۹۴ درصد و نسبت به تیمار نیتروژن ۵۰ درصد، جذب آهن را افزایش داده است. نتایج برداشت نهایی لوبیا در منطقه دهقان نشان داد که تیمار L-139 بیشترین اختلاف معنی‌داری با شاهد در وزن خشک اندام‌های هوایی و کل جذب ازت اندام‌های هوایی داشته اما در میزان وزن خشک دانه، تیمار L-100 بهترین اثر را داشته است، با این حال تیمار L-100 از این نظر اختلاف معنی‌داری با تیمار سویه های L-41 و L-75 نداشته است. بطور کلی در برداشت نهایی اگر چه تیمار L-139 بیشترین اثر را در جذب نیتروژن داشته اما از نظر عملکرد دانه با شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار است (جدول ۳).

نتایج در منطقه اسفرجان

در منطقه اسفرجان، مقایسه میانگین پارامترهای اندازه‌گیری شده نشان داد که در مرحله ۵۰٪ گلدهی، بیشترین افزایش در وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد بر اثر تیمار سویه L-139 بدست آمد، اما این تیمار، اختلاف معنی‌داری با سویه های L-41، L-216، L-54 و تیمار نیتروژن (+N) نداشت (جدول ۵).

جدول ۴- نتایج تجزیه برگ لوبیا در منطقه دهقان

تیمار	Cu	Zn	Mn	Fe
				ppm
L-100	۴/۸bc	۲۹b	۲۱۴b	۳۱۶c
L-41	۵/۲b	۳۱b	۲۱۶b	۳۹۸bc
L-75	۵/۳b	۳۶b	۳۰۶a	۵۲۴ab
L-216	۷/۸a	۴۸a	۱۸۵bc	۳۴۲c
L-54	۵/۲b	۲۷b	۲۲۰b	۴۳۴b
L-139	۵/۱b	۳۴b	۲۹۵ab	۶۰۶a
N-400	۴/۴bc	۳۱b	۱۷۶bc	۴۰۲bc
شاهد	۴/۲c	۳۰b	۱۶۲c	۳۱۲c

*اعدادی که در یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین پارامترهای مورد نظر در تیمارهای مختلف در اسفرجان

تیمارها	برداشت در ۵۰ درصد گلدهی			برداشت نهایی		
	وزن خشک اندام (g) هوایی	کل جذب (g) ازت	تعداد غده‌ها	(g) وزن غده‌ها	وزن خشک اندام (g) هوایی	عملکرد دانه (g)
L-100	۳۲۳ b	۸/۵۹ abc	۱۳۳/۲ ab	۱/۳۵ bc	۶۷۰ a	۷۶۶ bcd
L-41	۳۵۱ ab	۸/۲۴ abc	۱۴۷/۵ ab	۱/۴۹ abc	۷۳۵ a	۸۲۱ ab
L-75	۳۱۷ b	۶/۸۳ c	۱۳۱/۲ ab	۱/۵۶ abc	۷۵۳ a	۹۸۵ a
L-216	۳۳۵ ab	۸/۴۳ abc	۱۰۹/۰ ab	۱/۴۱ abc	۶۶۶ a	۵۶۸ d
L-54	۳۴۰ ab	۱۰/۱۳ a	۱۶۴/۵ a	۲/۰۸ a	۷۷۱ a	۸۴۹ ab
L-139	۴۱۱ a	۱۰/۱۶ a	۱۵۹/۵ a	۱/۹۸ ab	۷۹۰ a	۷۹۸ abc
N-400	۳۶۱ ab	۹/۰۵ abc	۹۳/۷ b	۱/۱۲ c	۷۰۵ a	۵۸۷ d
شاهد	۲۸۹ b	۶/۹۹ c	۱۱۵/۷ ab	۱/۲۸ bc	۵۳۲ b	۵۸۰ d

* اعدادی که در یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

نتایج همچنین نشان داد میزان کل جذب نیتروژن تحت تاثیر کاربرد سویه های مختلف باکتری قرار گرفت و تیمارهای تلقیحی L-139 و L-54 بیشترین اختلاف معنی‌دار را با شاهد و تیمار تلقیحی L-75 داشته‌اند و باعث افزایش حدود ۴۵٪ در کل جذب ازت گیاه نسبت به شاهد گردیدند. از نظر تعداد غده در زمان ۵۰ درصد گلدهی، نه تنها اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین سویه‌ها مشاهده نشد بلکه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تلقیحی و شاهد نیز حاصل نشد با این حال بین تیمار نیتروژن (+N) با سایر تیمارها در تعداد غده، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین وزن غده از تیمارهای تلقیح بذر با سویه L-54 منطقه زنجان و کمترین آن از تیمارهای مصرف نیتروژن و شاهد بدست آمد (جدول ۵)، بطوریکه تیمار L-54 باعث افزایش حدود ۶۲ درصدی در وزن غده‌ها نسبت به تیمار شاهد شد.

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 توسط Rennie و همکاران هماهنگی دارد (۱۲). با توجه به تفاوت کارایی سویه‌های مورد استفاده، برای حصول نتیجه مناسب از تلقیح لوبیا باید از انواع کارآمد برای تلقیح استفاده کرد (۱۵). برخی از سویه‌های استفاده شده مانند L-54 و L-75 و L-139 سبب افزایش عملکرد و برخی صفات دیگر مورد اندازه‌گیری شدند و می‌توانند برای تولید مایه تلقیح مورد استفاده قرار گیرند. این نتیجه در مطالعات Anyango و همکاران نیز بدست آمده است (۴). برای ارزیابی کارایی سویه‌ها در این تحقیق از صفاتی مانند وزن خشک اندام هوایی، 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. بر اساس نظر Vargas و همکاران، وجود جمعیت بومی ریزوبیوم در خاک سبب عدم پاسخ به تلقیح میشود (۱۷). سویه‌های برتر در این تحقیق با وجود جمعیت بومی خاک موجب افزایش عملکرد شدند که نشانه مؤثر بودن آنها است. نتایج نشان میدهند که برخی از سویه‌های مختلف ریزوبیوم تلقیح شده در این تحقیق (L-75 و L-54) علاوه بر اثری که روی وزن خشک اندام هوایی گیاه و کل جذب نیتروژن در بخش هوایی گیاه داشته‌اند، موجب افزایش بیشتر جذب برخی عناصر نیز شده‌اند. این نتایج با سایر گزارشاتی که برخی محققین ارائه کرده‌اند همخوانی دارد (۴). نکته مهم در نتایج حاصله آنست که بعضی از سویه‌های ریزوبیوم بکار گرفته شده در تلقیح بذور لوبیا، مانند L-216 اگرچه تأثیر معنی‌داری بر افزایش جذب ازت نداشته‌اند، با این حال جذب عناصر غذایی از خاک را افزایش داده‌اند. این مهم نشان می‌دهد که در بررسی کارایی سویه‌های باکتریایی، لازم است عوامل و صفات بیشتری مورد آزمایش قرار گیرند.

مقایسه میانگین مقادیر عناصر میکرو اندازه‌گیری شده در برگ لوبیا در زمان ۵۰ درصد گلدهی نشان داد که هیچیک از تیمارهای تلقیحی با سویه‌های باکتری نتوانستند اثر معنی‌داری بر جذب عناصر مس، روی و آهن در منطقه اسفرجان ایجاد کنند (جدول ۶).

از میان سویه‌های مورد مطالعه، سویه L-75 بیشترین اثر را در جذب عنصر منگنز داشته و بیشترین اختلاف معنی‌دار را با شاهد و تیمار نیتروژن (+N) داشته است.

جدول ۶- نتایج تجزیه برگ لوبیا در منطقه اسفرجان

تیمار	Fe Mn Zn Cu			
	ppm			
L-100	۴۰۲a	۱۵۵c	۳۸a	۵/۰a
L-41	۴۱۰a	۱۵۳c	۴۲a	۵/۲a
L-75	۴۰۸a	۱۹۲a	۴۲a	۵/۳a
L-216	۴۱۰a	۱۶۰bc	۳۹a	۵/۵a
L-54	۴۱۱a	۱۷۸b	۴۱a	۵/۴a
L-139	۴۱۵a	۱۶۱bc	۳۹a	۵/۵a
N-400	۴۰۹a	۱۵۵c	۴۰a	۵/۲a
شاهد	۴۰۸a	۱۵۴c	۳۹a	۵/۴a

* اعدادی که در یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

208.

11. Noel, T.C., Sheng, C., Yost, C.K., Pharis, R.P. and Hynes, M.F. 1996. *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium: Direct growth promotion of canola and lettuce. Can. J. Microbiol. 42: 279-283.
12. Rennie, R. J. and G. A. Kemp. 1983. N₂-fixation in field beans quantified by 15N isotope dilution. 2-Effect of cultivars of beans. Agron. J. 75: 645-649.
13. Robert, F. M. and E.L. Schmidt. 1983. Population changes and persistence of *Rhizobium Phaseoli* in soil and rhizospheres. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 45. Np.2: 550-556.
14. Rodelas, B., Gonzalez, J., Martinez, M. V. and Pozo, C. 1999. Influence of *Rhizobium/Azotobacter* and *Rhizobium/Azospirillum* combined inoculation on mineral composition of faba bean. Biology and Fertility of Soils. Volum 29 (2): 165-169.
15. 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.
16. Tamimi, S. M. 2002. Genetics diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the soil of the Jordan valley. Applied soil Ecology. 19: 183-190.
17. 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.

با بررسی نتایج حاصله از تجزیه برگ لوبیا در هر دو منطقه دهقان و اسفرجان این موضوع آشکار می‌شود که تلقیح بذور با مایه تلقیح باکتری باعث افزایش جذب عناصر میکرو در منطقه دهقان شده است در حالیکه تیمارهای تلقیحی اثر معنی‌داری بر جذب عناصر (بجز منگنز) در منطقه اسفرجان نداشته‌اند. بطور کلی عناصر میکرو اندازه‌گیری شده در خاک منطقه اسفرجان بیش از خاک منطقه دهقان است و به نظر می‌رسد به دلیل وجود عناصر میکرو در حد نیاز گیاه در خاک، سیستم ریشه‌ای تلقیح شده تمایلی به جذب بیشتر این عناصر نداشته است. از طرفی ممکن است جمعیت بومی باکتری کمتر در خاک دهقان باعث شده است تا تلقیح باکتری اثر معنی‌دارتری بر جذب عناصر داشته باشد.

منابع مورد استفاده

۱. افشاری علی آباد، میترا، اشرف السادات. نوحی و اسلام مجیدی هروان. (۱۳۷۵). ارزیابی تثبیت بیولوژیک ازت بوسیله ریزوبیوم فازئولی (*Rhizobium phaseoli*) و تعیین حامل مناسب برای آن. پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه تهران. ۲۰۱ صفحه.
۲. اسدی رحمانی، هادی. ۱۳۸۵. کاهش مصرف کودهای ازتی از طریق افزایش پتانسیل تثبیت بیولوژیک ازت در مناطق زیر کشت لوبیا. نشریه فنی شماره ۱۲۲۷، موسسه تحقیقات خاک و آب.
3. Antoun, H. and Beauchamp, C. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes. Plant and Soil, 204: 57-67.
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. Biswas, J.C., Ladha, J.K. and Dazzo, F.B. 2000. Rhizobia Inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. Soil Science Society of American Journal. 64: 1644-1650.
6. Chabot, R., and Antoun, H. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. Plant and Soil. 184: 311-321.
7. Goicoechea, N., Antolin, M.C., and Sanchez, M. 1997. Influence of *arbuscular mycorrhizae* and *Rhizobium* on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa. Plant and Soil, 192(2): 261-268.
8. Hafeez, F.Y., Safdar, M.E., Chaudhury, A.U. and Malik, K.A. 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Australian Journal of Experimental Agriculture. Volum 44, 6: 617-622.
9. Hungria, M., L. H. Boddy. 1998. Nitrogen Fixation capacity and nodule occupancy by *Brady Rhizobium Japonicum*. Biology and Fertility of soils. 27: 393-399.
10. Neiland, J.B. and Leong, S.A. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. Ann. Rev. Plant Physiol. 37: 187-