

## ارزیابی استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم در مقایسه با مصرف کود نیتروژن در زراعت لوبیا در استان مرکزی

محمدعلی خودشناس<sup>۱</sup>، مسعود دادیور<sup>۱</sup>، هادی اسدی رحمانی<sup>۲</sup> و میترا افشاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، <sup>۲</sup>اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب

تاریخ دریافت: ۸۳/۸/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۸۴/۶/۲۳

### چکیده

با توجه به توانایی گیاه لوبیا در تأمین قسمتی از نیتروژن مورد نیاز خود از طریق تثبیت بیولوژیکی، ارزیابی کارایی سوش‌های مختلف ریزوبیوم جمع‌آوری شده از اکثر مناطق لوبیا کاری کشور و مقایسه آن با سطوح بالای مصرف کود نیتروژن از اهداف این طرح تحقیقاتی می‌باشد. در این آزمایش ۱۰ تیمار باکتریایی شامل سویه‌های ریزوبیوم جدا شده از غده‌های ریشه لوبیا در نواحی مختلف کشور و دو سطح مصرف نیتروژن (تیمارهای ۱۱ و ۱۲ شامل ۲۰۰ و ۴۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره) و تیمار شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۳ تیمار و ۴ تکرار به مدت سه سال در ایستگاه تحقیقات لوبیا خمین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که در مرحله ۵۰ درصد گلدهی اثر تیمارهای باکتریایی بر تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده معنی‌دار بوده است. حداکثر تولید ماده خشک و غلظت نیتروژن، از تیمار باکتریایی L-۲۱۶ و حداکثر تعداد و وزن غده ناشی از تیمار باکتریایی L-۱۲۰ بود. تیمارهای کودی ۱۱ و ۱۲ دارای کمترین وزن و تعداد گره بودند. اما در این مرحله حداکثر جذب کل نیتروژن از تأثیر تیمار کودی ۱۱ به‌دست آمد. نتایج انتهایی فصل نشان می‌دهد که اثر تیمارها بر روی عملکرد دانه معنی‌دار بوده و بر سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده در این مرحله معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان‌دهنده این است که تیمارهای باکتریایی L-۵۸ و L-۳۰ به ترتیب دارای بیشترین عملکرد دانه (۲۵۳/۵ گرم بر مترمربع) و وزن خشک اندام هوایی (۵۵۱/۴ گرم بر مترمربع) می‌باشند، حداکثر غلظت و جذب کل نیتروژن دانه از تیمار کودی ۱۲ (به میزان ۳/۴۲ درصد و ۶/۳۱ گرم بر مترمربع) ناشی شده است. می‌توان گفت توانایی رقابت سوش‌های باکتریایی نسبت به تیمارهای مصرف کود نیتروژن بر روی عملکرد دانه و سایر اجزای مورد بررسی، قابل توجه می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لوبیا، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، ریزوبیوم، کود نیتروژن

### مقدمه

از: وجود تعداد کافی سویه‌های فعال و مؤثر ریزوبیوم، عدم کمبود عناصر غذایی به‌ویژه مولیبدن و بر، وجود نیتروژن پایین در خاک، ساختمان مناسب خاک، شرایط مطلوب آب و خاک، روش‌های مناسب کشت و گونه‌های گیاهی سازگار (صالح‌راستین، ۱۳۷۷؛ دینون و ویلر، ۱۹۸۶).

لوبیا جزء گیاهان خانواده لگومینوز می‌باشد. ارزش غذایی این محصول به‌علت دارا بودن حدود ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و ۶۰-۵۵ درصد کربوهیدرات است. این گیاه قادر است قسمت عمده‌ای از ازت مورد نیاز خود را از طریق رابطه همزیستی با باکتری ریزوبیوم به‌دست آورد. راه‌های بالا بردن ضریب موفقیت این روش بیشتر عبارتند

ریشه از عوامل بسیار مهم کارآیی سیستم تثبیت بیولوژیک لوبیا می‌باشند.

ایگلشام (۱۹۸۹) در آفریقا مشاهده کرد اگرچه بر اثر استفاده از مایه تلقیح وزن گره‌ها افزایش می‌یابد اما استفاده از مایه تلقیح تنها در تیمار مصرف کافی کود فسفر می‌تواند منجر به تولید عملکرد اقتصادی گردد.

با توجه به اهمیت استفاده از پتانسیل تثبیت بیولوژیک نیتروژن در کاهش مصرف کود شیمیایی نیتروژن‌دار این طرح به منظور مقایسه سویه‌های باکتری ریزوبیوم همزیست با لوبیا و شناسایی سویه‌های برتر از لحاظ تأمین نیتروژن مورد نیاز لوبیا و مقایسه با تیمارهای کودی نیتروژن اجرا گردیده است.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۳ تیمار و ۴ تکرار در محل ایستگاه تحقیقات لوبیا خمین با مشخصات جغرافیایی ۳۴° ۳۹' ۳۳" عرض شمالی و ۴۰° ۵۷' ۴۹" طول شرقی با خصوصیات اقلیمی مطابق جدول ۱، طی سال‌های ۸۲-۱۳۸۰ انجام گردید. ارتفاع ایستگاه از سطح دریا ۱۸۵۰ متر می‌باشد. سیزده تیمار عبارتند از: ۱۰ تیمار تلقیح باکتری (۱ - ۱۲۰، L، ۲) - ۱۰۹ (۳، L، ۳۹ - ۴، L، ۵۸ - ۵، L، ۱۰۰ - ۶، L، ۳۰ - ۷، L، ۷۰ - ۸، L، ۲۱۶ - ۹، L، ۴۷ - ۱۰، L، ۷۸ - ۱۱، L، ۲۰۰ و ۱۲ - تیمار ۴۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار به صورت ۳ تقسیط و ۱۳ - تیمار شاهد (بدون مصرف کود ازته و تلقیح میکروبی).

جهت اجرای طرح، زمین انتخاب شده پس از شخم و دیسک در بهار از نظر فیزیکی و شیمیایی تجزیه گردید (جدول ۲). فسفر به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپر فسفات تریپل، پتاسیم به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات پتاسیم، آهن و روی از منبع سولفات آنها به صورت محلول پاشی اعمال شد. جهت تلقیح بذور در تیمارهای باکتریایی میزان ۷ گرم مایه تلقیح تهیه شده در بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب

در اکثر خاک‌های زیرکشت، به‌ویژه در چند حالت زیر استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم ضرورت دارد: ۱- نبود ریزوبیوم اختصاصی گیاه به دلیل کشت گونه یا وارته جدید (غیربومی) ۲- کمبود تعداد ریزوبیوم‌ها به دلیل تنش‌های محیطی ۳- فراوانی نسبی ریزوبیوم‌های کم اثر یا بی اثر (بلاپلک، ۱۹۹۵؛ ردن و هریج، ۱۹۹۹؛ ساراتونیو، ۱۹۹۱).

رابرت و اشمیت (۱۹۸۳) با مطالعه تغییرات جمعیتی و دوام باکتری‌های همزیست لوبیا در خاک و ریزوسفر دریافتند که دوام در ریزوسفر بهتر می‌باشد و در ضمن نشان دادند که سویه‌های کارآمدی که به‌عنوان مایه تلقیح استفاده می‌شوند حتی در حضور جمعیت بالای بومی خاک قدرت اشغال غده‌ها را دارند.

وارگاس و همکاران (۲۰۰۰) پاسخ به تلقیح را در دو خاک با و بدون سابقه کشت لوبیا مطالعه کردند. در خاک دارای سابقه کشت لوبیا که دارای جمعیت بومی ریزوبیوم معادل  $6 \times 10^2$  باکتری در هر گرم خاک بوده تلقیح تأثیری در مقدار محصول نداشته است ولی برای محصول حداکثر، استفاده از کود نیتروژنه مؤثر بوده است. در خاک دوم که کمتر از ۱۰ باکتری در گرم خاک داشته، به دلیل اشغال غده توسط سویه‌های استفاده شده در مایه تلقیح، عمل تلقیح سبب افزایش محصول گردیده ولی نیتروژن تأثیری در مقدار محصول نداشته است.

هاردارسون و همکاران (۱۹۹۳) در خاک‌های اسیدی گواتمالا با استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم توانستند حدود ۷۳ درصد معادل ۱۲۵ کیلوگرم نیتروژن خالص مورد نیاز لوبیا را تأمین نمایند. این محققین عنوان نمودند که ۱- طول دوره‌ای که گیاه یکساله می‌تواند فعالانه نیتروژن تثبیت نماید ۲- خصوصیات گره‌بندی شامل تعداد گره‌ها، اندازه، تناسب میزبان و ریزوبیوم، توانایی گره‌بندی در شرایط وجود ترکیبات نیتروژن‌دار خاک ۳- فیزیولوژی تثبیت نیتروژن شامل کارآیی استفاده از کربن برای سیستم تثبیت نیتروژن، فعالیت آنزیم نیتروژنار در گره‌ها و مکانیسم انتقال اکسیژن ۴- مصرف کود و خصوصیات

نیترژن و جذب کل نیترژن توسط دانه بودند. این نتایج با نرم افزار MSTATC مورد بررسی و تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت.

### نتایج و بحث

۱- نتایج در مرحله ۵۰ درصد گلدهی: نتایج تجزیه واریانس سه ساله طرح در مرحله ۵۰ درصد گلدهی نشان می‌دهد که اثر تیمارهای باکتریایی بر روی پارامترهای وزن ماده خشک، غلظت نیترژن، جذب کل نیترژن و تعداد و وزن گره در این مرحله معنی‌دار بوده است (جدول ۴). همچنین تأثیر سال نیز بر روی تمام پارامترها معنی‌دار است، اما اثر متقابل سال در تیمار بر روی غلظت نیترژن معنی‌دار و بر سایر پارامترها بی‌معنی می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارها در مرحله ۵۰ درصد گلدهی در جدول ۲ نشان داده شده است.

به همراه ۲۰ میلی‌لیتر آب شکر ۲۰ درصد به ازاء هر کیلوگرم بذر مصرف گردید. پس از مخلوط کردن مایه تلقیح با بذرها و خشک نمودن آنها در سایه به سرعت اقدام به کاشت گردید. در کرت‌های تیمارهای باکتریایی مقدار ۱۵ کیلوگرم نیترژن در هکتار به‌عنوان شروع کننده<sup>۱</sup> مصرف گردید. ابعاد هر کرت در تیمار آزمایش ۶×۲ متر می‌باشد. در هر کرت فاصله خطوط کشت از هم ۵۰ سانتی‌متر و روی هر خط کشت، فاصله بذور از هم ۱۰ سانتی‌متر بود. نمونه‌برداری‌ها از دو ردیف وسط هر کرت پس از حذف نیم‌متر از طرفین از سطح یک مترمربع در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و دو مترمربع در مرحله برداشت، انجام گردید. پارامترهای اندازه‌گیری شده، در مرحله اول نمونه‌برداری شامل وزن خشک اندام هوایی، درصد نیترژن، جذب کل نیترژن، تعداد و وزن گره‌های ریشه (بر روی ۴ بوته) و در مرحله برداشت عبارت از مقدار محصول دانه، وزن خشک کل اندام هوایی، درصد

جدول ۱- خصوصیات اقلیمی محل اجرای طرح طی سال‌های ۸۲-۱۳۸۰.

ماه	میانگین دما (سانتی‌گراد)			بارندگی (میلی‌متر)			میانگین تبخیر (میلی‌متر)			میانگین رطوبت نسبی (درصد)		
	۸۰	۸۱	۸۲	۸۰	۸۱	۸۲	۸۰	۸۱	۸۲	۸۰	۸۱	۸۲
خرداد	۱۹/۴	۲۰/۳	۱۹/۳	۱۵/۳	۰	۱/۲	۱۰/۷	۱۰/۶	۹/۵	۳۶	۳۰	۵۰
تیر	۲۶/۰	۲۳/۸	۲۵/۳	۰	۰	۰	۱۲/۹	۱۲/۲	۱۲/۳	۲۵	۲۹	۳۲
مرداد	۲۴/۱	۲۳/۶	۲۵/۳	۰	۰	۰	۱۱/۸	۱۱/۹	۱۱/۶	۲۳	۴۳	۲۹
شهریور	۲۱/۹	۲۱/۲	۲۱/۴	۰/۳	۰	۰	۱۰/۰	۱۰/۱	۱۰/۱	۲۷	۳۹	۳۰

جدول ۲- خصوصیات خاک محل اجرای طرح.

سال	نیترژن (درصد)	پتاسیم $\text{mgkg}^{-1}$	فسفر $\text{mgkg}^{-1}$	کربن آلی (درصد)	بافت خاک	هدایت الکتریکی ( $\text{dsm}^{-1}$ )	pH	مواد خشتی شونده (درصد)
۱۳۸۰	۰/۰۵	۲۶۰	۱۲/۲	۰/۵۱	لوم	۱/۶۳	۸/۳۰	۱۸/۸
۱۳۸۱	۰/۰۵	۲۴۲	۱۶/۱	۰/۵۴	رسی	۱/۱۰	۸/۲۰	۲۰/۰
۱۳۸۲	۰/۰۶	۲۵۰	۱۷/۱	۰/۵۴	رسی	۱/۰۴	۸/۲۰	۱۶/۰

۱-۱- وزن ماده خشک: تأثیر تیمارها بر روی میانگین سه ساله وزن ماده خشک نشان می‌دهد که تیمار ۸ با ۱۴۹/۴ گرم بر مترمربع بیشترین و تیمار ۱۳ با ۱۱۳/۳ گرم بر مترمربع دارای کمترین وزن ماده خشک می‌باشد (جدول ۳). تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. ملاحظه می‌شود که تیمارهای کودی ۱۱ و ۱۲ به ترتیب بعد از تیمار ماکزیمم واقع شده‌اند. بنابراین، می‌توان اظهار کرد که اگرچه تنها تیمار باکتریایی ۸ نسبت به تیمارهای کودی برتری دارد اما سایر تیمارهای باکتریایی نیز قابلیت رقابت با تیمار ۸ و تیمارهای کودی را دارند. تأثیر تیمارها در سال ۱۳۸۰ مشابه نتایج سه ساله بوده اما در سال ۱۳۸۱ تیمار ۱۲ با بیشترین و تیمار ۵ با ۷۷/۳ گرم بر مترمربع کمترین تولید وزن ماده خشک را به خود اختصاص داده‌اند. می‌توان گفت که مصرف کود نیتروژن در مراحل ابتدای رشد، عملکرد سبزینه‌ای را افزایش می‌دهد در حالیکه تثبیت بیولوژیک نیتروژن در غده‌های در حال تشکیل شروع شده و با توجه به کم بودن مقدار آن در این مرحله رشد سبزینه‌ای کمتر صورت گرفته است. در سال ۱۳۸۲ تیمار ۷ با ۱۵۹/۸ گرم بر مترمربع بیشترین و تیمار ۱۳ با ۱۲۰/۷ گرم بر مترمربع کمترین مقدار را داشتند. می‌توان گفت رشد سبزینه‌ای مطلوب در تیمارهای باکتریایی، با توجه به نتایج و مشاهدات مزرعه‌ای حاکی از فعالیت مطلوب سیستم تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بوده است.

۱-۲- غلظت نیتروژن: میانگین سه ساله نتایج (جدول ۳) نشان می‌دهد که تیمار باکتریایی ۱ با ۲/۶۲ درصد بیشترین و تیمار شاهد با ۲/۰۱ درصد کمترین غلظت نیتروژن را بخود اختصاص داده‌اند. بین تیمارها تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در سطح ۵ درصد مشاهده نمی‌شود. تیمارهای ۱۲ و ۱۱ به ترتیب بعد از تیمار شماره ۱ قرار گرفته‌اند. با توجه به اینکه در تیمارهای کودی جذب نیتروژن قابل استفاده برای گیاه آسان می‌باشد، با این حال کارایی سوشهای مورد استفاده در رقابت با تیمارهای کودی در تامین نیتروژن، قابل توجه است. البته محققین استفاده از مقادیر غلظت نیتروژن را در صورتی راهنمای خوبی جهت ارزیابی کارایی سیستم تثبیت بیولوژیکی فرض می‌نمایند که تنش‌های محیطی و کمبودهای عناصر غذایی

وجود نداشته باشد (کادیش و همکاران، ۱۹۸۹؛ چینگ و کریج، ۱۹۸۲). تحقیقات دونگ و همکاران (۱۹۸۴) نشان داد که مقدار نیتروژن اندام هوایی سویا در تیمار ماکزیمم مصرف کود و مایه تلقیح مشابه می‌باشد.

۱-۳- جذب کل نیتروژن: نتایج میانگین سه ساله (جدول ۳) نشان می‌دهد که تیمار ۱۱ با ۳/۷۶ گرم بر مترمربع دارای بیشترین و تیمار شاهد با ۲/۲۶ گرم بر مترمربع دارای کمترین مقدار جذب کل نیتروژن می‌باشند. به رغم برتری تیمارهای کودی به علت زیاد بودن فراهمی نیتروژن قابل جذب از منبع کود، با توجه به اینکه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای باکتری و کودی مشاهده نمی‌شود، می‌توان گفت که از نظر جذب کل نیتروژن در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، توان رقابتی قابل ملاحظه‌ای از سوی تیمارهای باکتریایی مشاهده می‌شود. در بین تیمارهای باکتریایی، تیمار ۸ ماکزیمم و تیمار ۵ از نظر جذب کل نیتروژن حداقل می‌باشد.

گیلر (۲۰۰۱) معتقد است که فعالیت حاصل از سیستم تثبیت بیولوژیک نیتروژن در لگوم‌ها سبب همبستگی زیاد جذب کل نیتروژن با وضعیت تولید ماده خشک گیاهی می‌گردد، چنانچه ملاحظه می‌شود در این تحقیق تیمار باکتریایی ۸ از لحاظ این دو پارامتر دارای وضعیت خوبی است. در سال ۱۳۸۰ بیشترین جذب کل مربوط به تیمار باکتری ۸ با مقدار ۵/۳، سال ۱۳۸۱ تیمار ۱۲ با ۴/۰۱ و سال ۱۳۸۲ تیمار ۴ با ۳/۴۶ گرم نیتروژن بر مترمربع بیشترین جذب کل نیتروژن را داشتند.

۱-۴- وزن و تعداد غده: میانگین نتایج سه ساله تأثیر تیمارها بر روی تعداد و وزن گره‌ها نشان می‌دهد که تیمار ۱ با ۲۹ گره و وزن ۰/۲۷۷ گرم دارای بیشترین و تیمار کودی ۱۲ با ۵ گره و وزن ۰/۰۲۷ گرم دارای کمترین تعداد گره و به همراه تیمار ۱۱ دارای کمترین وزن گره می‌باشد. نتایج هر سه سال آزمایش روی غده مشابه با میانگین می‌باشد. اما در سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۲ تیمار باکتریایی ۸ دارای بیشترین تعداد غده می‌باشد.

افزایش وزن گره‌ها بر اثر مصرف مایه تلقیح توسط محققین گزارش شده است. گیلر و همکاران (۱۹۹۸) در تحقیقی در شرق آفریقا نشان دادند که اگرچه وزن

غده‌های گیاه با مصرف مایه تلقیح افزایش یافته، اما کاربرد فسفر توانست تثبیت نیتروژن و عملکرد دانه را افزایش دهد. گاهی شرایط محیطی در مزرعه توانایی گره‌بندی را حتی در سوش‌های بسیار مؤثر کاهش می‌دهد که این موضوع مسلماً مربوط به ضعف ژنتیکی گیاه نیست. در کلمبیا و شرق آفریقا مشاهده شده است که حتی در خاک‌هایی که گره‌بندی بسیار ضعیف است، تعداد زیادی سوش فعال (در گرم خاک  $10^3$ ) موجود بوده است (گیلر، ۲۰۰۱؛ گیلر و همکاران، ۱۹۹۸). نتایج آماری نشان می‌دهد که تیمارهای باکتریایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد از نظر تعداد گره با یکدیگر و با تیمار ماکزیمم نشان نمی‌دهند، که این نتیجه حاکی از توانایی قابل قبول سوش‌های مختلف در تولید گره در ریشه لوبیا می‌باشد. از سویی دیده می‌شود که سوش‌های بومی در تیمار شاهد دارای ۲۶ گره با وزن  $0/13$  گرم می‌باشد که در رده سوم از نظر وزن و تعداد گره در بین سایر تیمارها قرار دارد که این مساله نشان می‌دهد که سوش‌های بومی توانایی بالایی در ایجاد گره داشته‌اند. سینگلتن و تاوارز (۱۹۸۶) عنوان کرده‌اند که یک سوش موجود در مایه تلقیح زمانی بخوبی غده‌ها را اشغال می‌نماید که جمعیت ریزوبیوم‌های بومی کمتر از  $10^6$  عدد در هر گرم خاک باشد. در حالیکه بعضی از تحقیقات دیگر اشغال غده‌ها را در شرایطی که جمعیت ریزوبیوم بومی خاک تا حدود  $10^6$  در هر گرم خاک می‌باشد، موفقیت‌آمیز گزارش کرده‌اند. با توجه به اینکه در تیمار شاهد گره‌بندی خوبی مشاهده می‌شود، بنابراین می‌توان نظریه اخیر را پذیرفت. همچنین نتایج نشان می‌دهد که مصرف کود نیتروژن کاهش قابل ملاحظه‌ای در گره‌بندی ریشه لوبیا ایجاد می‌کند، به طوری که در تیمارهای مصرف کود کمترین تعداد و وزن گره دیده می‌شود. عمده‌ترین دلایل این موضوع به افزایش غلظت نترات خاک مربوط می‌شود (آمیجی و گیلر، ۱۹۹۸؛ کارول و ماتیوس، ۱۹۹۰).

**۲-نتایج مرحله برداشت:** تجزیه واریانس سه ساله حاکی است که اثر تیمار باکتریایی تنها بر روی عملکرد دانه معنی‌دار بوده و بر سایر پارامترها معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۵). اثر سال بر روی وزن ماده خشک، عملکرد دانه

و غلظت نیتروژن معنی‌دار بوده و بر جذب کل نیتروژن معنی‌دار نیست. اثر بر همکشتن سال در تیمار بر روی پارامترها بی‌تأثیر بوده است (جدول ۵).

**۱-۲-وزن ماده خشک:** میانگین نتایج سه ساله تأثیر تیمارها بر روی وزن ماده خشک نشان می‌دهد که تیمار ۶ با  $551/4$  گرم در مترمربع دارای حداکثر و تیمار شاهد با  $450/7$  گرم در مترمربع دارای حداقل وزن ماده خشک می‌باشد (جدول ۴). تیمارها تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در سطح ۵ درصد ندارند. در سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ به ترتیب تیمارهای ۶ و ۳ و سال ۱۳۸۲ تیمار ۱۲ حداکثر وزن ماده خشک را تولید نمودند. تحقیقات محققین در چین (یو و همکاران، ۲۰۰۲) نشان داد که تولید ماده خشک اندام هوایی در سویا در مرحله گلدهی و در مرحله رسیدن تحت تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی بود. وضعیت مناسب رشد و تولید ماده خشک اندام هوایی با توانایی سیستم تثبیت بیولوژیک همبستگی مثبت دارد، به طوری که می‌توان آن را ناشی از فعالیت مناسب گره‌ها در جهت تثبیت نیتروژن دانست (گیلر، ۲۰۰۱؛ گیلر، ۱۹۹۰).

**۲-۲-غلظت نیتروژن:** تجزیه واریانس نتایج سه ساله نشان می‌دهد که تأثیر تیمارها باعث تفاوت معنی‌دار بر روی غلظت نیتروژن دانه نشده است، اما تیمار ۱۲ با  $3/42$  درصد دارای بالاترین و تیمار ۱۰ با  $2/92$  درصد دارای کمترین غلظت نیتروژن می‌باشد (جدول ۴). سال ۱۳۸۱ تیمار باکتریایی ۴ با  $3/56$  درصد بالاترین و تیمار شاهد با  $2/91$  درصد دارای کمترین غلظت نیتروژن دانه می‌باشند اما سال ۱۳۸۲ تیمار ۱۲ با  $3/42$  درصد بالاترین و تیمار ۱۰ با  $2/58$  درصد دارای کمترین غلظت نیتروژن دانه می‌باشد. نتایج تحقیقات دونگ و همکاران (۱۹۸۴) نیز نشان می‌دهد که به رغم موفقیت سیستم تثبیت بیولوژیک با استفاده از مایه تلقیح بر روی عملکرد سویا، مقدار نیتروژن در اندام هوایی مشابه می‌باشد. همچنین هنزل (۱۹۶۸) و کادیش و همکاران (۱۹۸۹) عنوان می‌نمایند که مقدار نیتروژن تجمع یافته، جهت ارزیابی کمی تثبیت نیتروژن در صورتی می‌تواند راهنمای خوبی باشد که گیاه تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار نگیرد.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی ( نتایج سه ساله).

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات نتایج در مرحله ۵ درصد گلدهی			میانگین مربعات نتایج آخر فصل		
		وزن ماده خشک	غلظت نیتروژن	جذب کل نیتروژن	وزن ماده خشک	غلظت نیتروژن	جذب کل نیتروژن
سال	۲	۳۶۹۵۹**	۴/۰۵۱**	۲۰/۸**	۶۴۲۷۶۰**	۳۰۱۷*	۴۳۵۰۷۰**
خطا	۹	۳۲۳۹ n.s	۰/۰۵۷ n.s	۱/۷ n.s	۳۲۳۱۰ n.s	۴۱۶ n.s	۱۱۳۴۲ n.s
تیمار	۱۲	۱۶۲۵**	۰/۲۴۰*	۲/۱۲**	۱۰۰۳۳ n.s	۶۶۴**	۵۶۰۸*
تیمار × سال	۲۴	۱۰۲۶ n.s	۰/۲۹۷**	۱/۲۵ n.s	۱۲۴۱۳ n.s	۱۹۳ n.s	۳۴۷۰ n.s
خطا	۱۰۸	۶۶۴	۰/۱۳۰	۱۹/۰۵	۱۲۳۲۶	۲۵/۶	۲۷۵۶
ضریب تغییرات		۱۹/۱۱	۱۵/۰۴	۱۹/۰۵	۲۱/۷	۲۹/۰۶	۱۹/۹

\* در سطح ۵ درصد معنی دار است، \*\* در سطح یک درصد معنی دار است، n.s معنی دار نیست

**۳-۲- جذب کل نیتروژن:** تأثیر تیمارها بر روی جذب کل نیتروژن (میانگین سه ساله در جدول ۴) نشان می‌دهد که تیمار کودی ۱۲ با ۶/۳۱ گرم بر مترمربع دارای حداکثر و تیمار شاهد با ۴/۳۸ گرم بر مترمربع دارای حداقل مقدار می‌باشند. تیمارهای تلقیح شده به لحاظ جذب کل نیتروژن از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با تیمارهای کودی نداشته، اما دارای مقدار پائینتری می‌باشند. نتایج سال ۱۳۸۱ نیز مشابه نتایج ذکر شده بود اما در سال ۱۳۸۲ تیمار ۷ با ۶/۲۳ گرم بر مترمربع بالاترین و تیمار ۵ با ۴/۰۵ گرم بر مترمربع کمترین جذب کل نیتروژن را داشتند. دونگ و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که جذب کل نیتروژن توسط دانه سویا در تیمار تلقیح شده ۱۸۵ کیلوگرم در هکتار و در تیمار مصرف ۸۰ کیلوگرم کود اوره، ۳۲ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. میزان پروتئین دانه در تیمارهای تلقیح شده ۴۰ درصد و در تیمار مصرف کود ۲۸ درصد بوده است.

**۴-۲- عملکرد دانه:** نتایج سه سال تأثیر تیمارها بر روی عملکرد دانه نشان می‌دهد که حداکثر عملکرد دانه از تیمار باکتری ۴ با ۲۵۳/۵ گرم بر مترمربع حاصل شده است (جدول ۴). تیمار شاهد با ۱۷۳/۹ گرم بر مترمربع دارای کمترین مقدار عملکرد دانه می‌باشد. بین تیمارها تفاوت آماری معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده نمی‌شود، اما تیمار ۱۲ بعد از تیمار ماکزیمم با ۲۴۶/۱ گرم بر مترمربع دارای حداکثر تولید دانه است. تیمار ۷ نیز دارای کمترین عملکرد دانه در بین تیمارهای تلقیح شده می‌باشد. در سال ۱۳۸۰ بالاترین سطح عملکرد مربوط به

تیمار باکتری ۴ با ۴۱۳/۳ گرم بر مترمربع و کمترین مربوط به شاهد می‌باشد. در سال ۱۳۸۱ تیمار ۱۱ با ۲۰۷/۹ گرم بر مترمربع دارای بیشترین و تیمار شاهد با ۱۳۱/۸ گرم بر مترمربع دارای کمترین مقدار می‌باشد، در حالیکه تأثیر تیمارها روی وزن محصول دانه در سال ۱۳۸۲ نشان می‌دهد که تیمار باکتری ۲ با ۱۹۸/۴ گرم بر مترمربع بالاترین و تیمار ۵ با ۱۴۶/۱ گرم بر مترمربع پائین‌ترین مقدار را دارا می‌باشند. ملاحظه می‌شود مصرف بسیار کمتر نیتروژن به‌عنوان شروع کننده در تیمارهای تلقیح شده نسبت به تیمارهای کودی در عملکرد دانه حائز اهمیت بوده است. نتایج مشابهی نیز توسط محققین دیگر به‌دست آمده است (دونگ، ۱۹۸۴؛ هاردارسون و همکاران، ۱۹۹۳؛ ردن و هریچ، ۱۹۹۹). در تحقیقی در خاک‌های اسیدی تایلند با ۵ سطح کود اوره و یک سطح مصرف مایه تلقیح بر روی سویا نشان داد که مصرف مایه تلقیح عملکرد دانه را نسبت به تیمار ماکزیمم مصرف کود، ۲ برابر و نسبت به شاهد ۱۰ برابر افزایش داده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق سه ساله می‌توان گفت که سوش‌های برتر به‌دلیل سازگار شدن به شرایط خاک، مؤثر بودن در تثبیت نیتروژن در لوبیا و توانایی رقابت با سوش‌های بومی قابل استفاده هستند. از دیگر مزایای مصرف ریزوبیوم به غیر از تأمین نیتروژن ترشح ماده رشد گیاهی و کاهش فعالیت عوامل بیماری‌زا در ریزوسفر می‌باشد. بنابراین، با توجه به محاسن ذکر شده استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم در مزارع لوبیا در استان مرکزی قابل توصیه می‌باشد.

## منابع

۱. صالح راستین، ن. ۱۳۷۷. کودهای بیولوژیک. نشریه خاک و آب، جلد ۱۲ شماره ۳. صفحه ۱ تا ۳۶.
2. Amijee, F., and Giller, K.E. 1998. Environmental constraints to nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in Tanzania. I. A survey of soil fertility and root nodulation. *African journal of crop science*. 6:159-169.
3. Blaylock, A.D. 1995. Nutrient management for dry bean production. University of Wyoming. B-1016.
4. Cadisch, G., Sylvester-Bradley, R., and Nosberger, J. 1989. 15N- Based Estimation of nitrogen fixation by eight tropical forage – Legumes at two levels of p:K supply. *Field Crops Research*. 22:181-197.
5. Carroll, B.J., and Mathews, A. 1990. Nitrate inhibition of nodulation in legumes. p. 159-180. In P. M. Greshoff (ed.) *Molecular Biology of symbiotic Nitrogen Fixation*. CRC. Press, Boca Raton, Florida.
6. Cheng, T.K., and Kerridge, P.C. 1982. Responses to lime, K, Mo and Cu by grass Legume pasture on some Ultisols and Oxisols of peninsular Malaysia. *MARDI Research Bulletin*. 10:350-369.
7. Dinno, R.O.D., and Wheeler, C.T. 1986. *Nitrogen Fixation in Plants*. Blackie, London.
8. Duong, T.P., Diep, V.C.N., Khiem, N.T., Hiep, N.H., Toi, N.V., and Nhan, L.T.K. 1984. Rhizobium inoculant for soybean [*Glycine max* L. Merrill] in Mekong Delta. II. Response of Soybean to chemical nitrogen fertilizer and rhizobium inoculation. *Plant and Soil*. 79:241-247.
9. Eaglesham, A.R.J. 1989. Global importance of rhizobium as an inoculant. p. 29-48 In R. Campbell, and R. M. Macdonald (eds.) *Microbial Inoculation of crop Plants*. IRI. Press, Oxford, UK.
10. Giller, K.E. 2001. *Nitrogen Fixation in Cropping Systems*. 2nd Edition. CAB, Publishing.
11. Giller, K.E., Amijee, F., Brodrick, S. j., and Edje, O.T. 1998. Environmental constraints to nodulation and nitrogen Fixation of (*Phaseolus vulgaris* L.) in Tanzania. II. Responses to N and P fertilizers and inoculation. *African journal of crop Science*. 6:171-178.
12. Giller, K.E. 1990. Assessment and improvement of nitrogen Fixation in tropical *Phaseolus vulgaris* L. *Soil Use and Management*. 6:82-84.
13. Hardarson, G., Bliss, F.A., Cigales-Rivero, M.R., Henson, R.A., Kipe-Nolt, J.A., Longeri, L., Manrique, A., Pena-Cabriaes, J.J., Pereira, P.A.A., Sanabria, C.A., and Tsa, S.M. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by Common bean. *Plant and Soil*. 152:59-70.
14. Henzell, E.F. 1968. Sources of nitrogen for Queensland pastures. *Tropical Grasslands*. 2:1-17.
15. Redden, R.J., and Hrridge, 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*. 39:974-980.
16. Robert, F.M., and Schmidt, E.L. 1983. Population changes and persistence of rhizobium phaseoli in soil and rhizospheres. *Appl. Environ. Microbial*. 45:550-556.
17. Sarrantonio, M. 1991. Methodologies for screening soil- improving legumes, Rodale institute, USA.
18. Singleton, P.W., and Tavares, J.S. 1986. Inoculation response of legumes in relation to the number and ineffectiveness of indigenous Rhizobium population. *Applied and Environmental Microbiology*. 51:1013-1018.
19. Vargas, M.A.T., Mendes, L.C., and Hungria, M. 2000. Response of field grow bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to rhizobium inoculation and nitrogen fertilization in two cerrados soils. *Biol. Fertil. Soils*. 32:228-233.
20. Yu, M., Gao, Q., and Shaffer, M.J. 2002. Simulating interactive effects of Symbiotic nitrogen Fixation, Carbon dioxide elevation, and Climatic change on Legume growth. *J. Environ. Quality*. 31 : 634-641.

---

## **Evaluation of using rhizobium inoculation in comparison with nitrogen fertilizer under bean cultivation at Markazi province**

**M.A. Khodshenas<sup>1</sup>, M. Dadivar<sup>1</sup>, H. Asadi Rahmani<sup>2</sup> and M. Afshari<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Academic members of Agriculture and Natural Resource research center of Markazi Province, <sup>2</sup>Academic members of Soil and Water Research Institute

---

### **Abstract**

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) can be supplied part of nitrogen by biological nitrogen fixation. The object of this study is evaluating efficient strains in comparison with N fertilizer in randomized complete block design with four replicates and 13 treatments used in this experiment in Khomein Bean Station. Treatments included ten different *Rhizobium* strains, two levels of nitrogen fertilizer (200 and 400 kg urea ha<sup>-1</sup>) and control (without inoculation and fertilizer). The results showed that treatments were significantly effective on dry matter, N concentration, N uptake, number and weight of nodules in the first stage sampling (50% flowering). The maximum dry matter and N concentration were obtained with bacterial treatment No 8 and weight of nodules with bacterial treatment No 1. But maximum N uptake was obtained from fertilizer treatment No 11 (3.765 m<sup>-2</sup>). Results at the end of the season showed that treatments were significantly effective only on yield but not significant on dry matter, N concentration and N uptake. The maximum yield and dry matter were obtained from bacterial treatments No 6 and 4, but maximum N concentration (3.432%) and uptake (6.314 grm<sup>-2</sup>) resulted from fertilizer treatment No 12 (400 kg urea ha<sup>-1</sup>). There was no significant difference between treatments. Therefore based on the information of this research and other useful aspects, effective rhizoidal strains can be successfully used for bean cultivation.

**Keywords:** Bean; Biological nitrogen fixation; *Rhizobium*; Nitrogen fertilizer