

تأثیر چند مایه تلقیح حاوی باکتری *Rhizobium leguminosarum*; bv. *phaseoli*

بر جذب عناصر غذایی در سه رقم لوبیا

مهدی مهرپویان^{۱*}، قربان نورمحمدی^۲، محمدجواد میرهادی^۳، حسین حیدری شریف‌آباد^۴ و امیرحسین شیرانی‌راد^۵

۱-استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، دانشکده کشاورزی، میانه، ایران

۲ و ۳- به ترتیب، استاد و استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی، تهران، ایران

۴ و ۵- به ترتیب، استاد و دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۰۷/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۱۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر سوش‌های مختلف باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بر عملکرد و میزان جذب عناصر در ارقام مختلف لوبیا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در منطقه خرمدره استان زنجان انجام شد. در این تحقیق، سطوح تلقیح و عدم تلقیح با سویه‌های مختلف در ۶ سطح شامل بدون تلقیح و بدون کود (شاهد)، تلقیح با سویه Rb117، تلقیح با سویه Rb123، تلقیح با سویه Rb136، تلقیح با مایه تلقیح صنعتی ویژه لوبیا با نام ریزوبین سوپرپلاس و نیز بدون تلقیح همراه با کود (۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص از منبع کود اوره) بر روی سه رقم لوبیا با تیپ رشدی ایستاده شامل چیتی COS16 و دو رقم قرمز اختر و درخشان، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، به طور کلی تلقیح ارقام مختلف لوبیا با سویه‌های باکتری موجب برتری صفات کمی و کیفی آن نسبت به حالت بدون تلقیح و در بعضی موارد نسبت به مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود خالص نیتروژن گردید. در بین سویه‌های مورد استفاده، سوش باکتری Rb117 و در بین ارقام مورد استفاده، رقم لوبیاچیتی COS16 نسبت به سایرین برتری نشان دادند. کاشت بذور پرایمینگ شده توانست محصول را نسبت به شاهد، حدود ۴۳ درصد افزایش دهد و در بین انواع مایه تلقیح، Rb117 با ۵۸ درصد و Rb123 با ۳۲ درصد تأثیر بر عملکرد دانه نسبت به شاهد، به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر عملکرد دانه داشتند. بالاترین و پایین‌ترین فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز به میزان ۱۰۹۹/۱۸ و ۷۲۰/۳ نانومول برگرم وزن تر گیاه در ساعت، به ترتیب به تیمار مصرف کود اوره و نیز تیمار شاهد اختصاص داشت. بالاترین میانگین پتاسیم و فسفر جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک اندام‌های هوایی، از تیمارهای تلقیح و کودی به دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. باکتری‌های ریزوبیومی علاوه بر نقش بسیار بااهمیت خود در تثبیت نیتروژن، می‌توانند با تأثیر بر جذب بهتر سایر عناصر ضروری نیز افزایش رشد و عملکرد گیاهان را موجب شوند.

واژه‌های کلیدی: ارقام لوبیا، عملکرد، Rb117 و COS16

مقدمه

یکی از مهم‌ترین راه‌های بهره‌گیری از برهم‌کنش‌های مفید ریزجانداران و حفظ تنوع در بوم‌سامانه‌های زراعی، وارد کردن ریزجانداران خاک‌زی مفید می‌باشد که در محیط ریزوسفر به سر می‌برند و از ویژگی‌های مرتبط با بهبود تغذیه گیاهی و حاصل‌خیزی خاک مانند تثبیت زیستی نیتروژن^۱، حل‌کردن فسفات و به طور کلی افزایش رشد گیاه برخوردار می‌باشند. در حال حاضر از باکتری‌های محیط اطراف ریشه به عنوان کودهای زیستی استفاده می‌گردد. آنچه امروزه کشورهای توسعه‌یافته را تشویق به تولید و مصرف کودهای بیولوژیک می‌نماید توجه جدی به عوارض زیست‌محیطی ناشی از به‌کارگیری بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی است. به

با توجه به مصرف سالانه بیش از ۸۵۰۰۰ تن کود شیمیایی در اراضی تحت کشت گیاهان تیره لگوم در ایران، ضرورت دارد تا با یک برنامه‌ریزی صحیح، مایه‌های تلقیح کارآمد و مؤثری برای هریک از لگوم‌های زراعی مهم کشور از جمله لوبیا که یکی از مهم‌ترین حبوبات مصرفی انسان می‌باشد، تولید شده و در اختیار زارعین قرار گیرد (Khavazi et al., 2005).

* نویسنده مسئول: زنجان، کوی قائم، خیابان خیبر، خیبر ۶، پلاک ۳۲۰۲.

کد پستی: ۴۵۱۴۹۱۸۳۷۳، تلفن: ۰۲۴۱۴۲۴۳۳۱۲

پست الکترونیک: mtaherkhani_2000@yahoo.com

¹ Biological Nitrogen Fixation

هدف این آزمایش، بررسی واکنش ارقام مختلف لوبیا در کاربرد سویه‌های مختلف و کارایی جذب سایر عناصر توأم با میزان تثبیت نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش طی دو سال زراعی ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در محل مزرعه تحقیقاتی کشت و صنعت خرمدره واقع در کیلومتر ۴ شمال شهرستان خرمدره و جنوب اتوبان زنجان-تهران با ۱۵۷۴ متر ارتفاع از سطح دریا انجام شد. این طرح به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح تلقیح و عدم تلقیح با سویه‌های مختلف در ۶ سطح عبارت بودند از بدون تلقیح و بدون کود (شاهد)، تلقیح با سویه Rb117، تلقیح با سویه Rb123، تلقیح با سویه Rb136 (تهیه شده در مؤسسه تحقیقات بیولوژی خاک)، تلقیح با مایه تلقیح صنعتی ویژه لوبیا با نام ریزوبین سوپر پلاس (Rhizobean Super Plus) و بدون تلقیح (استفاده از ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص از منبع کود اوره) به همراه سه رقم لوبیا با تیپ رشدی I به نام چیتی امیدبخش COS16 و دو رقم قرمز اختر و درخشان. بدین ترتیب در هر بلوک آزمایشی از ترکیب سطوح تلقیح و ارقام، ۱۸ کرت آزمایشی ایجاد شد و تعداد کل واحدهای آزمایشی ۵۴ و مساحت زمین آزمایشی حدود ۱۸۰۰ مترمربع بود. هر کرت آزمایشی دارای ۱۲ خط کاشت با فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته ۱۰ سانتی‌متر روی ردیف بود (دو بوته در روی پشته کشت شد) که تراکم ثابت ۳۰۰-۴۰۰ بوته در هر متر مربع رعایت شد. نتایج حاصل از آزمایش خاک قطعات تحت کشت در جدول ۱ آمده است.

جهت تهیه سوش‌های ریزوبیوم در آزمایشگاه از محیط کشت YMB^۱ (شامل دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات ۰/۵، سولفات منیزیم ۰/۱، کلرید سدیم ۰/۱، مانیتول ۱۰، و عصاره مخمر ۰/۵ گرم در یک لیتر آب مقطر و pH محیط معادل ۷) استفاده شد (Beck et al., 1993). پس از قرار دادن محیط‌های کشت شده در داخل انکوباتور (۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته) سوش‌های سفید رنگ ظاهر گردیدند. یک کلنی توسط لوپ ضدعفونی شده از نمونه درون شیشه بر روی محیط Y.M.A درون پتری‌دیش تحت شرایط فوق کشت داده شد. در نهایت پس از ۱-۲ روز، کلنی خالص شده به دست آمد. جمعیت در هیچ یک از بسته‌ها کمتر از

اعتقاد برخی از محققین، تثبیت نیتروژن، یک صفت کمی وراثتی است و لوبیا از گیاهانی است که ارقام آن از نظر ژنتیکی دارای تفاوت زیادی در تثبیت بیولوژیک نیتروژن هستند (Graham & Rondi, 1997; Bliss & Miller, 1986; Barron et al., 2000). با کاربرد سویه‌های مختلف باکتری به نام‌های L-78، L-47 و L-109 به همراه یک تیمار مصرف کود نیتروژن به میزان ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و شاهد (بدون مصرف کود و بدون تلقیح) بر ارقام لوبیا شامل چیتی رقم تلاش، چیتی توده بومی و قرمز توده بومی منطقه شهرکرد، نتیجه گرفته شد که بین سویه‌های مختلف باکتری، اختلاف معنی‌داری از لحاظ عملکرد دانه وجود داشت (Yadegari et al., 2005).

برهم‌کنش همزیستی بین دو جزء همزیست لگوم و ریزوبیوم، بسیار اختصاصی است و به وسیله تغییرات سیگنال بین گیاه و باکتری در مراحل مختلف تعیین می‌شود. در ابتدا لگوم میزبان، ترکیب سیگنال (عمدتاً فلاونوئیدها) را در ریزوسفر آزاد می‌کند و ریزوبیوم با تولید ترکیباتی که فاکتورهای گره‌زایی گفته می‌شود، به این سیگنال‌ها واکنش نشان می‌دهد. پس از آن، فاکتورهای گره‌زایی، نمو گره‌ها در گیاهان را به عهده می‌گیرند (Fisher & Long, 1992; Schultze, 1998). آنزیم نیترات ریداکتاز همواره در سلول فعال است، حتی وقتی گیاه، نیتراتی دریافت نکرده باشد. ولی برای القای سنتز آنزیم، یعنی افزایش فعالیت آن، لازم است که گیاه در معرض نیترات قرار گیرد (Taghavii 2004; Nakamura et al., 1993). باکتری‌های ریزوبیوم همزیست لوبیا، موجب افزایش جذب برخی عناصر نیز می‌شوند (Yahyaabadi, 2008). این نتایج با گزارشاتی که برخی از محققین ارائه کرده‌اند، همخوانی دارد (Biswas et al., 2000).

گزارش‌های گوناگونی وجود دارد که توانایی سویه‌های مختلف باکتریایی را برای انحلال ترکیب‌های معدنی فسفات‌های نامحلول نشان می‌دهد (Goldstein, 1986). ساز و کار اصلی انحلال فسفات‌های معدنی در نتیجه اثر اسیدهای آلی تولید شده به وسیله باکتری‌های خاک، تشخیص داده شده است. تولید اسیدهای آلی موجب اسیدی شدن محیط اطراف سلول‌های باکتری شده و در نتیجه، فسفر عنصری می‌تواند در اثر جایگزینی یون H^+ با یون‌های کلسیم در محیط، آزاد گردد. از میان اسیدهای آلی به نظر می‌رسد که اسید گلوکونیک، فراوان‌ترین عامل در انحلال فسفات‌های معدنی باشد (Illmer & Schinner, 1995).

¹ Yeast Manitol Broth

گرم در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه گرفتند. آزمایش با قرار دادن نمونه‌ها داخل حمام آب گرم آغاز شد. پس از خروج، یک میلی‌لیتر از نمونه، داخل لوله آزمایش دیگری منتقل شده و روی آن، دو میلی‌لیتر معرف سولفانیل آمید و ۲ میلی‌لیتر معرف ان-نفتیل دی آمید اضافه گردید. پس از چند دقیقه، نیتريت حاصل از احیای نیتريت توسط آنزیم نیتريت ریدوکتاز با معرف‌ها تشکیل کمپلکس به رنگ ارغوانی دادند. رنگ ارغوانی در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. مقدار نیتريت بر حسب نانومول بر گرم ماده تازه در ساعت (nmol/g/Fw/h) بیان می‌شود که معرف فعالیت آنزیم نیتريت ریدوکتاز است. میزان فسفر در عصاره به روش کالیمتری و با دستگاه اسپکتروفوتومتر و میزان پتاسیم به روش شعله سنجی و با دستگاه فلیم فتومتر تعیین گردید (Kalera, 2004).

4×10^8 سلول در هر گرم نبود (10^8 CFU/ml). مقدار ۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به عنوان نیتروژن شروع کننده مصرف گردید. بذرها به صورت دستی در محل مورد نظر به صورت جوی پشته‌ای کشت شدند. برای اندازه‌گیری آنزیم نیتريت ریدوکتاز از هر گیاه، سه نمونه ۰/۳ گرمی از برگ به قطعات کوچک برش داده شده و داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات به لوله آزمایش اضافه گردید. محلول بافر فسفات حاوی ۰/۱ مول بافر فسفات پتاسیم با $pH=7.5$ و ۰/۱ مول نیتريت پتاسیم بود. سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر الکل ان-پروپانل به لوله آزمایش اضافه گردید و درب لوله‌ها با درپوش لاستیکی بسته و هوای موجود در لوله آزمایش با تزریق گاز نیتروژن از طریق سوزن خارج شد. پس از پُر کردن لوله‌های آزمایش توسط گاز نیتروژن، با فویل آلومینیمی پوشیده شده و داخل حمام آب

جدول ۱- مشخصات خاک مزرعه قبل از کاشت (عمق نمونه‌برداری ۰-۴۰ سانتی‌متر) در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

Table1. Results of soil analysis (0-40 cm) in 2006 and 2007

مشخصات نمونه	درصد اشباع	هدایت الکتریکی	واکنش گل اشباع	درصد مواد خنثی شونده	درصد کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
Sample	S.P.%	EC*1000	pH	T.N.V%	OC%	N%	(P) ppm	(K) ppm	Clay%	Silt%	Sand%
R1	44.5	1.37	7.1	3.3	1.53	0.076	13	433	30	31	39
R2	46	1.03	7.2	3.4	1.38	0.090	10	445	29	30	41
R3	40.7	1.15	7.1	3.3	1.39	0.087	16	404	34	26	40
مشخصات نمونه	درصد اشباع	هدایت الکتریکی	واکنش گل اشباع	درصد مواد خنثی شونده	درصد کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
Sample	S.P.%	EC*1000	pH	T.N.V%	OC%	N%	(P) ppm	(K) ppm	Clay%	Silt%	Sand%
R1	40.5	1.5	7.4	3.6	1.43	0.086	12	418	32	38	31
R2	44	1.2	7.3	3.4	1.54	0.091	11.5	429	32	39	29
R3	41.2	1.1	7.1	3.46	1.71	0.079	15.3	414	33	40	27

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب دو ساله نشان داد که عملکرد دانه لوبیا در دو سال اجرایی، در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند (جدول ۲ ج). با توجه به اهمیت اثر سال و مکان در تعیین عملکرد پتانسیل محصول می‌توان افزایش محصول را در سال ۸۶، ناشی از مناسب‌تر بودن شرایط جوی در طی طول دوره رویش به حساب آورد. همچنین طول دوره رشد در سال ۱۳۸۶ بیشتر از سال ۱۳۸۵ برای این محصول بود.

عامل مایه‌ی تلقیح و تیمار کودی بر عملکرد دانه در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول تجزیه واریانس ۲ ج). در

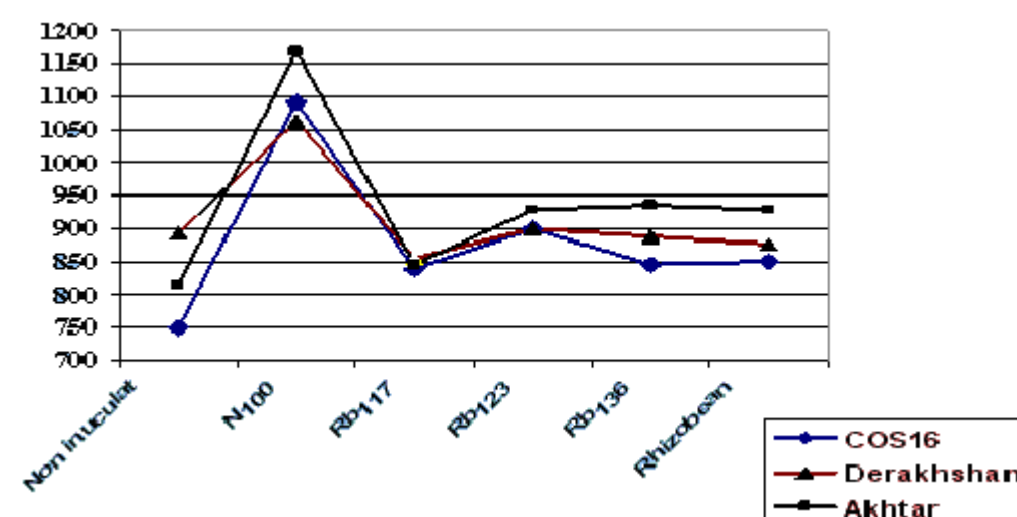
مجموع کاشت بذور پرایمینگ شده با انواع مایه‌ی تلقیح^۱ توانست حدود ۴۳ درصد محصول را نسبت به شاهد (بدون تلقیح و بدون کود) افزایش دهد و در بین انواع مایه‌ی تلقیح، مایه‌ی تلقیح Rb117 با تأثیر حدود ۵۹ درصدی بر عملکرد دانه نسبت به شاهد (۲۲۳۰/۴ کیلوگرم در هکتار)، بیشترین عملکرد (۲۹۴۷/۴ کیلوگرم) و Rb123 با تأثیر ۳۲ درصدی (۳۵۵۷/۷ کیلوگرم) بر عملکرد، کمترین تأثیر را بر عملکرد دانه داشتند. مایه‌ی تلقیح صنعتی Rhizobean و عامل کودی ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به یک اندازه بر عملکرد مؤثر واقع شدند (به طور متوسط ۴۴ درصد افزایش عملکرد را نسبت به شاهد، ایجاد کردند). مایه‌ی تلقیح Rb136، افزایش ۳۷/۵ درصدی را شامل شد (جدول ۳ ج).

¹ Inoculants

آنزیم نیترات ریداکتاز

تلقیح و کود) به میزان $720/3$ nmol/gFW/h بود. سایر تیمارها با میانگین حدود 880 nmol/gFW/h در کلاس‌های آماری یکسان یا بسیار نزدیک به هم قرار گرفتند. اثرات متقابل نشان داد که کلیه ارقام در سطح 100 کیلوگرم نیتروژن خالص، بالاترین میانگین را نسبت به سطوح مایه تلقیح و شاهد دارند و همچنین در بین انواع مایه تلقیح مورد آزمایش، مایه‌ی تلقیح Rb117، کمترین میانگین را داراست. همچنین در بین ارقام، رقم لوبیاقرمز اختر در کلیه‌ی سطوح شاهد، کود و مایه‌ی تلقیح نسبت به ارقام دیگر میانگین بالاتری داشت (شکل ۱).

نتایج تجزیه مرکب دو ساله نشان داد که اثر رقم، اثر مایه‌ی تلقیح و اثر متقابل مایه‌ی تلقیح در رقم، در سطح یک درصد بر این صفت معنی‌دار گردید اما سایر اثرات متقابل بر این صفت، معنی‌دار نشد (جدول ۲ ج). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر تیمار مایه‌ی تلقیح بر فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز، معنی‌دار بوده است و آنها را در کلاس‌های آماری متفاوت قرار داده است (جدول ۳ ج). بالاترین فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز به میزان $1099/18$ nmol/gFW/h به تیمار مایه‌ی تلقیح کودی (100 کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص) و کمترین آن مربوط به تیمار مایه تلقیح تیمار شاهد (بدون



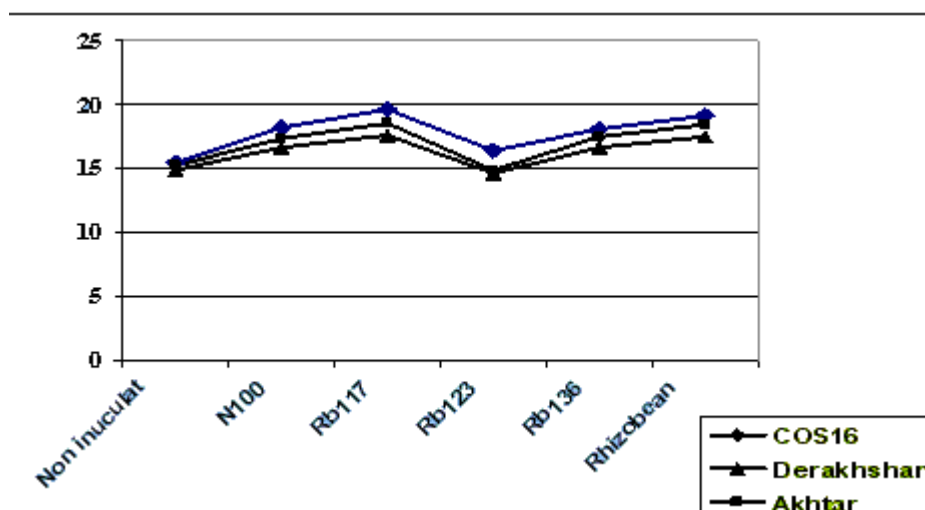
شکل ۱- اثر متقابل مایه تلقیح و رقم بر فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در برگ لوبیا

Fig. 1. Effect of inoculation and variety interaction on nitrate reductase enzyme activity in leaves

آن مربوط به تیمار شاهد بود. تیمار شاهد دارای میانگین $15/2$ و تیمارهای ریزوبین سوپرپلاس و Rb117 دارای میانگین $18/4$ گرم پتاسیم در هر کیلوگرم ماده خشک بذر برداشت بودند (جدول ۳ ج). با توجه به شکل ۲ که اثر متقابل رقم و مایه تلقیح را نشان می‌دهد، بیشترین پتاسیم تجمع یافته در بذر از رقم COS16 تلقیح شده با مایه تلقیح Rb117 (با میانگین $19/6$ گرم در کیلوگرم ماده خشک بذر) به دست آمد که به طور متوسط 33% از میانگین کمترین مقادیر حاصله (رقم درخشان تلقیح شده با Rb123 و بدون تلقیح، با میانگین حدود $14/7$ گرم) بیشتر است (شکل ۲).

پتاسیم جذب شده هر کیلوگرم بذر (در مرحله برداشت)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم و مایه‌ی تلقیح در سطح یک درصد و اثر سال به همراه اثر متقابل مایه‌ی تلقیح در رقم $(A \times B)$ ، در سطح 5 درصد بر این صفت معنی‌دار گردید اما اثر متقابل رقم در سال، مایه تلقیح در سال و اثرات متقابل سال در رقم در مایه تلقیح $(A \times B \times C)$ بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۲ ج). نتایج مقایسات میانگین نشان داد که تأثیر تیمار کودی و مایه‌ی تلقیح بر میانگین پتاسیم جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک بذر، معنی‌دار بوده است و آنها را در کلاس‌های آماری متفاوت قرار داده است. طوری که بالاترین میانگین‌ها از تیمارهای تلقیح به دست آمد و کمترین



شکل ۲- اثر متقابل مایه تلقیح و رقم بر تجمع پتاسیم در بذر

Fig. 2. Effect of inoculation and variety interaction on potassium concentration in seeds

در سطح یک درصد معنی‌دار شده است اما اثر سال به همراه اثر متقابل رقم در سال ($Y \times B$)، مایه تلقیح در سال ($Y \times A$) و اثرات متقابل سال در رقم در مایه‌ی تلقیح ($A \times B \times C$) بر این صفت معنی‌دار نشد. میانگین پتاسیم جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک اندام هوایی در طی دو سال آزمایش از لحاظ آماری تفاوتی نشان نداد.

تأثیر تیمار مایه‌ی تلقیح بر میانگین پتاسیم جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک اندام‌های هوایی، معنی‌دار بود (جدول ۲) به طوری که بالاترین میانگین‌ها از تیمارهای تلقیح به دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. تیمار شاهد دارای میانگین ۱۷/۴۸، تیمار Rb123 دارای میانگین ۱۹/۹۲، تیمار Rb136 دارای میانگین ۲۱/۲، تیمار N100 دارای میانگین ۲۰/۹ و تیمارهای ریزوبین سوپرپلاس و تیمار مایه‌ی تلقیح Rb117 دارای میانگین ۲۱/۸ و تیمار ریزوبین دارای میانگین ۲۲/۴ گرم پتاسیم در هر کیلوگرم ماده خشک اندام هوایی بودند.

فسفر جذب شده هر کیلوگرم بذر

کلیه اثرات ساده و متقابل رقم و مایه‌ی تلقیح بر میزان فسفر جذب شده در بذر معنی‌دار گردید (جدول ۲ ج). نتایج مقایسات میانگین نیز نشان داد که میانگین فسفر جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک بذر لوبیای برداشت شده، معنی‌دار می‌باشد به طوری که بالاترین میانگین‌ها از تیمارهای تلقیح به دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. تیمار شاهد دارای میانگین ۶/۳، تیمار Rb123 دارای میانگین ۵/۵، تیمار

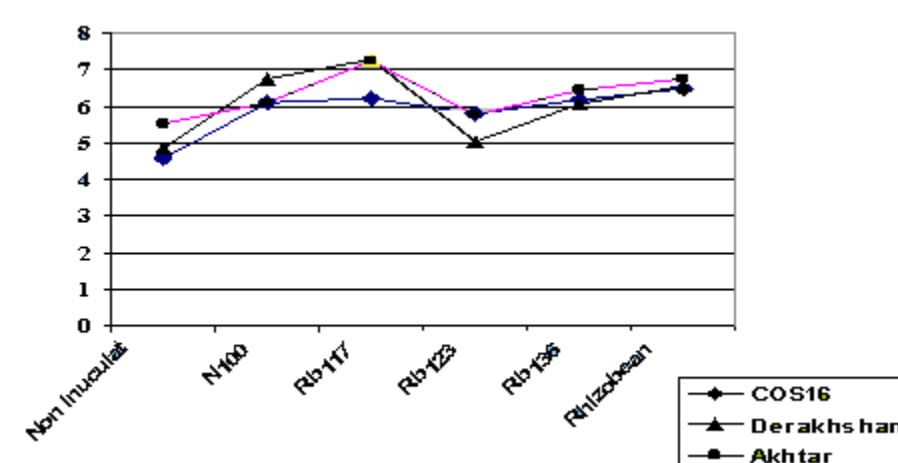
باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) موجود در مایه تلقیح بیولوژیک سوپر نیتروپلاس اثر مثبت و معنی‌داری بر عملکرد لوبیا و جذب عناصر غذایی در لوبیا داشتند (Taherkhani, 2008). عوامل زنده مفید موجود در کود سوپرنیتروپلاس با اثر محرک رشد و تشدیدکننده بر یکدیگر موجب افزایش تولید انواع هورمون‌ها، سیدروفورها، آنتی بیوتیک‌ها و مواد بازدارنده عوامل بیماری‌زا گردیده و موجب حفاظت ریشه از عوامل بیماری‌زای خاکزی می‌گردد. اندازه‌گیری‌های پس از برداشت محصول و نتایج آزمایشات نشان داد که درصد پروتئین و نیتروژن دانه، درصد فسفر و پتاسیم موجود در دانه بالاتر از شاهد بوده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تفاوت معنی‌داری در حد ۵٪ را بین میانگین‌های اثرات متقابل مایه‌ی تلقیح و رقم نشان داد (جدول ۲ ج) و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد که بیشترین پتاسیم تجمع یافته در بذر از رقم COS16 تلقیح شده با مایه تلقیح Rb117 (با میانگین ۱۹/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک بذر (کلاس آماری a) به دست آمده که به طور متوسط ۳۳٪ از میانگین کمترین مقادیر حاصله (رقم درخشان تلقیح شده با Rb123 و بدون تلقیح و کود، با میانگین حدود ۱۴/۷ گرم که در کلاس آماری I قرار گرفته است) بیشتر است.

پتاسیم جذب شده در کیلوگرم ماده خشک اندام هوایی در مرحله ابتدای غلاف بندی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲ ج) نشان داد که اثر ارقام، اثر مایه تلقیح و اثر متقابل مایه‌ی تلقیح در رقم ($A \times B$)

ارقام COS16 و درخشان بدون تلقیح (شاهد) به دست آمد. در مجموع، هر سه رقم در شرایط بدون تلقیح، میزان کمتری فسفر را برداشت نمودند و با دادن کود نیتروژنه و یا تلقیح بذور با مایه تلقیح، میزان برداشت این عنصر افزایش یافت (شکل ۳). همچنین تغییرات میزان برداشت فسفر در رقم درخشان نسبت به سایر ارقام در سطوح مختلف مایه تلقیح شدیدتر بود و واکنش محسوس تری داشت (شکل ۳).

Rb136 و تیمار N100 دارای میانگین ۶/۲۵ و تیمار ریزوبین سوپرپلاس دارای میانگین ۶/۵ و تیمار مایه‌ی تلقیح Rb117 دارای میانگین ۶/۹ گرم فسفر در هر کیلوگرم ماده خشک بذر برداشت شده بودند (جدول ۳ ج). نتایج مقایسات میانگین اثرات متقابل رقم و مایه‌ی تلقیح نشان داد که بیشترین فسفر تجمع یافته در بذر از رقم اختر و درخشان تلقیح شده با مایه‌ی تلقیح Rb117 (با میانگین ۷/۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به دست آمد و کمترین مقادیر با میانگین حدود ۴/۸ گرم از



شکل ۳- اثر متقابل مایه‌ی تلقیح و رقم بر تجمع فسفر در بذر

Fig. 3. Effect of inoculation and variety interaction on seed phosphorus concentration

شده است که انحلال فسفات‌های معدنی، یک فرایند آنزیمی نمی‌باشد. از جمله فعالیت‌های مفید این باکتری‌ها که آنها را در گروه باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)^۱ قرار می‌دهد، می‌توان به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه به‌ویژه اکسین‌ها، توانایی حل فسفات‌های آلی و معدنی، تولید یونوفورها به‌خصوص سیدروفور، اثرات مثبت روی رشد و مورفولوژی ریشه، بهبود رابطه همزیستی با گیاه لگوم میزبان و تحریک ایجاد همزیستی میکوریزی اشاره کرد (Vessey, Rmazaniyan, 2005).

فسفر جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک اندام هوایی

نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب دو ساله (جدول ۲ ج) نشان داد که اثر سال، اثر مایه‌ی تلقیح، اثر متقابل مایه تلقیح در سال ($Y \times A$) در سطح یک درصد معنی‌دار شدند اما اثر رقم، اثر متقابل رقم در سال ($Y \times B$) و اثر متقابل مایه‌ی تلقیح در رقم ($A \times B$) و اثرات متقابل سال در رقم در مایه تلقیح

گزارشات متعددی وجود دارد که توانایی سویه‌های مختلف باکتریایی را برای انحلال ترکیبات معدنی فسفات‌های نامحلول نشان می‌دهد (Goldstein, 1986). مکانیزم اصلی انحلال فسفات‌های معدنی در نتیجه اثر اسیدهای آلی تولید شده به وسیله باکتری‌های خاک تشخیص داده شده است. تولید اسیدهای آلی موجب اسیدی شدن محیط اطراف سلول‌های باکتری شده و در نتیجه فسفر عنصری می‌تواند در اثر جایگزینی یون H^+ با یون‌های کلسیم در محیط آزاد گردد. از میان اسیدهای آلی به نظر می‌رسد که اسید گلوکونیک فراوان‌ترین عامل در انحلال فسفات‌های معدنی باشد (Illmer & Schinner, 1995). اسیدهای آلی جدا شده از محیط کشت باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم موجب انحلال فسفات‌های معدنی می‌گردد در ضمن مقدار فسفات‌های محلول شده در نتیجه‌ی اثر این اسیدها در محلول‌های فاقد سلول باکتری تقریباً مشابه مقدار فسفات‌های انحلال یافته در محیط‌های کشت حاوی سلول‌های باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بوده است (Halder, 1990). با توجه به نتایج تحقیقات، مشخص

¹ Plant Growth-promoting Rhizobacteria

در ارقام مختلف از نظر تجمع فسفر در اندام‌های هوایی اختلافی مشاهده نشد (جدول ۳ ج). نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تفاوت معنی‌داری را بین میانگین‌های اثرات متقابل مایه‌ی تلقیح و رقم نشان نداد (جدول ۲ ج). مقایسه میانگین‌های مربوط به این اثر نشان داد که بیشترین فسفر تجمع یافته در اندام هوایی از مایه تلقیح Rb117 در همه‌ی ارقام و کمترین تجمع فسفر در تمام ارقام از تیمار شاهد (بدون مایه‌ی تلقیح و کود) حاصل شد. هر سه رقم در شرایط بدون کود و مایه‌ی تلقیح، میزان کمتری فسفر را جذب نمودند و با دادن کود نیتروژنه و یا تلقیح بذور با مایه تلقیح، میزان برداشت این عنصر افزایش یافت.

(A×B×C) بر این صفت، معنی‌دار نبود. میانگین فسفر جذب شده در هر کیلوگرم ماده خشک اندام‌های هوایی لوبیای برداشت شده در طی دو سال آزمایش از لحاظ آماری، تفاوت نشان داد (جدول ۳ ج). بالاترین میانگین فسفر جذب شده در هر کیلوگرم ماده‌ی خشک اندام هوایی از تیمار تلقیح به دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. تیمار شاهد دارای میانگین ۲/۶۳، تیمار Rb123 دارای میانگین ۳/۳۸، تیمار Rb136 و تیمار N100 دارای میانگین حدود ۴ و تیمار ریزوبین سوپرپلاس دارای میانگین ۴/۱۱ و تیمار مایه‌ی تلقیح Rb117 دارای میانگین ۴/۷۹ گرم فسفر در هر کیلوگرم ماده خشک اندام هوایی بودند.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر مایه تلقیح (سوش باکتری) و رقم بر صفات کیفی لوبیا در سال ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

Table 2. Analysis of variance for some traits in Common Bean cultivars under different inoculants application

الف-۱۳۸۵		A-2006					
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	پتاسیم جذب شده اندام هوایی K uptake in foliage	فسفر جذب شده در بذر P uptake in seed	فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز Nitrate reductase enzyme activity	فسفر جذب شده اندام هوایی P uptake in foliage	پتاسیم جذب شده در بذر K uptake in seed	عملکرد دانه Seed yield
تکرار (R)	2	2.53 *	3.4	3478.4 ^{n.s}	0.533	5.86 *	401811.2*
مایه تلقیح (A)	5	28.79**	2.2**	113591.1**	3.34**	18.1**	1933035/1**
ارقام (B)	2	14.4**	0.079 ^{n.s}	41987.8**	0.418**	7.8**	1426488**
اثر متقابل A×B	10	2.1**	0.054 ^{n.s}	8316.7**	0.077 ^{n.s}	0.3 ^{n.s}	195707**
اشتباه آزمایشی Error	34	0.7	0.124	2052.3	0.046	0.16	23572.7
(/.) CV		4.08	6.8	4.97	6.372	2.4	5.27
ب-۱۳۸۶		B-2007					
تکرار (R)	2	1.47*	1.65*	906.4 ^{n.s}	0/24 ^{n.s}	4.87 *	204974 ^{n.s}
مایه تلقیح (A)	5	28.07**	8.83**	133227.9**	8.0**	20.8 **	1768567**
ارقام (B)	2	9.9**	4.07 **	56066.9**	0.013 ^{n.s}	12.1**	1330267**
اثر متقابل A×B	10	0.77 ^{n.s}	1.52**	21206.5**	0.352 ^{n.s}	0.58 ^{n.s}	255753**
اشتباه آزمایشی (E)	34	0.46	0.516	7323	0.394	0.33	28370.7
ضریب تغییرات (/.)		3.27	10.25	8.93	14.6	3.53	5.48
ج-دوساله C-		Combined analysis					
سال (Y)	1	1.53 ^{n.s}	98.25**	59053**	22.4**	4.55*	592889.0**
سال (تکرار) R	4	2.004*	2.51**	2192.6 ^{n.s}	0.338 ^{n.s}	5.33**	303392.7**
مایه تلقیح (A)	5	56.25**	9.1**	245463**	9.64**	38.71**	3651492.2**
ارقام (B)	2	24.0**	1.6**	94006**	0.29 ^{n.s}	19.58**	2737721**
اثر متقابل A×B	10	2.3**	0.871**	22920.4**	0.16 ^{n.s}	0.527*	437916.9**
اثر متقابل Y×A	5	0.648 ^{n.s}	1.9**	1355.9 ^{n.s}	1.74**	0.135 ^{n.s}	50110 ^{n.s}
اثر متقابل Y×B	2	0.253 ^{n.s}	2.55**	4052.32 ^{n.s}	0.14 ^{n.s}	0.36 ^{n.s}	19034 ^{n.s}
اثر متقابل Y×A×B	10	0.605 ^{n.s}	0.71*	6602.9 ^{n.s}	0.27 ^{n.s}	0.327 ^{n.s}	13543.7 ^{n.s}
اشتباه آزمایشی (E)	68	0.58	0.32	4687.7	0.22	0.252	25971.7
ضریب تغییرات (/.)		3.7	9.26	7.37	12.38	2.9	5.3

n.s, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح $\alpha=0.05$ و $\alpha=0.01$ ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha=0.05$ & $\alpha=0.01$, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات تأثیر مایه تلقیح (سوش باکتری) و رقم بر صفات کیفی لوبیا در سال ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

Table 3. Mean comparison for some traits in Common Bean cultivars under different inoculants application

	فسفر جذب شده اندام هوایی P uptake in foliage	پتاسیم جذب شده اندام هوایی K uptake in foliage	فسفر جذب شده هر کیلوگرم بذر P uptake in seed (g/kg)	فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز Nitrate reductase activity	عملکرد دانه Seed yield (Kg)	پتاسیم جذب شده هر کیلوگرم بذر K uptake in seed (g/kg)
الف - ۱۳۸۵ A-2006						
Inoculants	LSD=0.24	LSD= 0.8	LSD=0.33	LSD=43.3	LSD=147	LSD=0.38
N0	2.33 d	17.38 e	4.38 d	809.7 d	2121.4 d	15 c
N100	3.3 b	20.58 cd	5.17b	1078.2 a	3120.2 b	B17.2
Rb117	3.77a	21.5b	5.5 b	820.7d	3427.2 a	18.2 a
Rb123	2.98 c	19.8d	4.75c	1023.1b	c2857.7	15 c
Rb136	3.9 a	21.24bc	5.31b	865.0 c	3016.78 b	17.2 b
Rhizobean	3.8 a	22.57a	5.77a	865.5 c	3297.9 a	18.2 a
Cultivar	LSD=0.14	LSD=0.57	LSD=0.238	LS D=30.7	LSD =104	LSD=0.27
COS16	3.5 a	21.4a	51.2 a	858.8 c	3253.5 a	17.5 a
Akhtar	3.37 a	19.6c	5.1a	954.6 a	2690.5c	16.9 b
Derakhshan	3.2b	20.6b	5.08 a	917.6b	2976.6 b	16.2 c
ب- ۱۳۸۶ B-2007						
Inoculants	LSD=0.60	LSD=0.65	LSD=0.68	LSD=82	LSD =161	LSD=0.55
N0	2.9 d	17.6d	5.6d	830.9 b	2339.3 d	15.3 c
N100	4.5 b	21.3b	7.4 b	1120 a	3277.33 b	17.6 b
Rb117	5.8a	22.2 a	8.4 a	871 b	3688.1 a	18.9 a
Rb123	3.8 c	20c	6.3 c	1098 a	3037.2 c	15.6 c
Rb136	4.2 bc	b 21	7.1b	909 b	3131.9 bc	17.7b
Rhizobean	4.4 b	22.3 a	7.4b	912.8 b	3256.4 b	18.5 a
Cultivar	LSD=0.42	LSD=0.46	LSD=0.46	LSD=56	LSD =114	LSD=0.39
COS16	4.26 a	21.5a	6.5 b	911 b	a3362.7	18 a
Akhtar	4.26 a	20b	7.5 a	1019a	2827 c	17 b
Derakhshan	4.23 a	20.7 c	7.0 a	940.9 b	3175.5 b	16.5 c
ج-دوساله C=2006-2007						
Year سال	LSD=0.18	LSD=0.3	LSD= 0.22	LSD=26.3	LSD =62	LSD=0.19
2006	3.4 b	20.5a	5.1b	910.3b	2973.54 b	16.85 b
2007	4.3a	20.75a	7.0a	a957.1	3121.7 a	17.3a
Inoculant	LSD= 0.3	LSD= 0.5	LSD= 0.37	LSD= 45.5	LSD =107.2	LSD=0.33
N0	2.6 d	17.5e	5d	720.3c	2230.44e	15.2 c
N100	3.9 b	21c	6.3b	1099 a	3198.8b	b17.4
Rb117	4.8 a	22b	6.9a	846bc	3557.7 a	18.6 a
Rb123	3.4 c	20d	5.5c	900.6 b	2947.4 d	15.3 c
Rb136	4 b	21.1c	6.2 b	887 b	3074.3c	b17.4
Rhizobean	4.1 b	22.5a	6.6 ab	889.2 b	3277.2 b	b18.4
Cultivar	LSD= 0.2	LSD=0.36	LSD=0.26	LSD= 32	LSD =58	LSD=0.20
COS16	3.9 a	21.4a	5.8 b	885 c	3308.08 a	17.8a
Akhtar	3.8a	19.8 c	6.3 a	986.9a	2758.75 c	17.0 b
Derakhshan	3.7 a	20.7b	6.1 ab	929b	3076.06 b	16.3c

نتیجه گیری

مختلف لوبیا و سوش‌های مختلف باکتری، اثرات متفاوتی را از خود در این زمینه بر جای می‌گذارند. به طوری که در این تحقیق جذب سایر عناصر در حضور مایه تلقیح، با رقم COS16 نسبت به ارقام درخشان و اختر، بهتر بوده و همچنین سوش‌های باکتری بومی (Rb117) در مقایسه با سایر سوش‌ها نتیجه‌ی بهتری خواهند داد.

باکتری‌های ریزوبیومی علاوه بر نقش بسیار بااهمیت خود در موازنه نیتروژن بیوسفر می‌توانند به صورت‌های متفاوت دیگری نیز افزایش رشد و عملکرد گیاهان را موجب شوند به طوری که باعث افزایش جذب سایر عناصر اعم از پتاسیم و فسفر از خاک می‌شوند. اگرچه تلقیح لوبیا با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌تواند باعث بهبود شرایط ریزوسفری برای جذب سایر عناصر علاوه بر تثبیت نیتروژن گردد، اما ارقام

سیاس‌گزاری

بدین‌وسیله از زحمات بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب و همچنین زحمات بخش خاک و آب مرکز تحقیقات زنجان و مسئولین کشت و صنعت بنیاد خرم‌دره و

آقای مهندس اصغر جعفری رئیس اداره تولیدات گیاهی مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان خرم‌دره، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم.

منابع

1. 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.) Filed Crops Research 62: 119-128.
2. 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.
3. Bliss, F.A., and Miller, J.C. 1986. Selecting and breeding grain legumes for enhanced nitrogen fixation. In: R.J. Summerfield (Ed.). World Crops: Cool Season Food Legumes, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 1001-1012.
4. Fisher, R.F., and Long, S.R. 1992. *Rhizobium*-plant signal exchange. Nature (London) 357: 655-660.
5. Goldstein, A. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates. American Journal of Alternative Agriculture 1: 51- 57.
6. Graham, P. and Rondi, P. 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris*). Field Crop Research 53: 131-146.
7. Halder, A.K. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. Journal of Application Microbial. 36: 81-92.
8. Illmer, P., and Schinner, F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates. Soil Biology & Biochemistry 46: 257-263.
9. Kalera, Y. 2004. (Translated by Hejazii, A., Shahverdi, M., and Ardforush, H.). Methods of plant analysis (first edition). Tehran university press. p. 301.
10. Khavazi, K., Assadi Rahmani, H., and Malakouti, M.J. 2005. Necessity for the production of biofertilizers in Iran. A compilation of papers 2nd edition with complete revision. Ministry of Jihad-e-Agriculture. Agricultural Research and Education Organization. Soil and Water Research Institute. p. 440. (In Persian).
11. Nakamura, Y., and Ikawa, T. 1993. Purification and properties of NADH: nitrate reductase for the red Algae. Plant Cell Physiology 34: 1239-1249.
12. Ramazanian, A. 2005. Introduction of rhizobium bacteria as Plant Growth Promoting Regulators (PGPR). (abstracts). In: Abstract Book of First Iranian Pulse Crop Symposium, November 20, 2005. Ferdowsi University of Mashhad. p. 233. (In Persian with English Summary).
13. Schultze, M. 1998. Regulation of symbiotic root nodule development. Annu. Rev. Genet. 32: 33-57.
14. Taghavi, T. 2004. Effect of different nitrate to ammonium concentration and different levels of iron and bore on quantity and quality of strawberry and nitrate reductase activity. Dissertation of Ph.D. Faculty of Horticultural of Tehran University. (In Persian with English Summary).
15. Taherkhani, M. 2008. Effect of Super Nitro Plus as a PGPR on grain yield and micronutrients uptake in different cultivars of common bean. (abstracts). In: Abstract Book of the second Iranian Pulse Crop Symposium, September 12, 2007. Islamic Azad University, Science and Research Branch. Tehran. p. 178. (In Persian with English Summary).
16. Vessey, K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil. 255: 571-586.
17. Yadegari, M., Ghasemi Pirbaloty, A., Dadi, A., Akbari, G.A., and Golparvar, A.R. 2005. Study the nitrogen fixation ability of two varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by different strains of *Rhizobium phaseoli* in Shahrekord region. (abstracts). In: Abstract Book of First Iranian Pulse Crop Symposium, November 20, 2005. Ferdowsi University of Mashhad . p. 381. (In Persian with English Summary).
18. Yahyaabadi, M. 2008. Evaluation of nitrogen fixation potential and nutrients uptaking in some common bean symbiosis bacteria. (abstracts). In: Abstract Book of 10th Iranian Congress of Crop Production and Plant Breeding. August 19-21, 2008. Karaj. Iran, p. 75.

Effect of some inoculants containing *Rhizobium leguminosarum*; *bv. phaseoli* on nutrients elements uptake in three cultivars of common bean

Mehrpouyan^{1*}, M., Noormohammadi², Gh., Mirhadi³, M.J., Heidari Sharifabad⁴, H.
& Shirani Rad⁵, A.H.

1- Assistant Professor, Islamic Azad University, Miyaneh Branch, Department of Agriculture, Miyaneh, Iran

2&3- Professor and Assistant Professor, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

4&5- Professor and Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

Received: 27 September 2009

Accepted: 6 March 2010

Abstract

In order to evaluate nitrogen fixation ability and nutrients uptake in three cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculating with some types of inoculants containing different strains of *Rhizobium leguminosarum*; *bv. phaseoli* an experimental design was conducted in Khoramdarah region in 2006 and 2007. In this investigation three types of biological fertilizers including Rb117, Rb123, Rb136 and a commercial inoculants (Rhizobean super plus) with two treatment N100 (use of 100 Kg nitrogen/ha) and control (without seeds inoculated and fertilizer) and three common bean cultivars including COS16, Derakhshan and Akhtar (red skin) were used. The experiment was factorial in a randomized complete block design. The strains were provided by Soil and Water Research Institute Laboratory. Rb117 strain showed 58 percent increase in seed yield compared to non inoculants treatment. Among inoculants, the effect of Rb123 strain was 32% compared to others. The highest rate of nitrate reductase enzyme activity was at fertilizer treatment (100 Kg net N per ha) as 1099.18 n mol/g FW/h and the lowest enzyme activity was observed at control (720.3 n mol /g FW/h). Influence of inoculants on potassium and phosphorus absorption by plant, was significant. The highest means were obtained in inoculants treatments. The strain of Rb117 was more effective on common bean compared to other strains. In three cultivars, the COS16 was successful compared to other cultivars. High seed yield and many evaluated traits achieved by COS16 (spotted bean), second year of experiment and Rb117 strain.

Key words: Common bean varieties, Inoculants, RB117 and COS 16, Seed yield

* Corresponding Author: E-mail: mtaherkhani_2000@yahoo.com, Tel.: 02414243312