

بررسی تأثیر کاربرد سویه‌های همزیست ریزوبیومی و کود نیتروژن بر میزان کلروفیل برگ، عملکرد دانه و اجزای عملکرد در سه رقم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

مراد محمدی^{۱*}، ناصر مجنون حسینی^۲، علیرضا اسماعیلی^۳، محمد دشتکی^۴ و هادی محمدعلی پور^۵
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشجویان سابق کارشناسی
ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۴ - تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر سویه‌های مختلف ریزوبیومی شامل دو سویه ۱۳۳، ۱۱۶ و ترکیب آنها (۱۳۳ و ۱۱۶) به همراه مصرف و عدم مصرف کود شیمیایی نیتروژن (شاهد) بر روی خصوصیات زراعی و فیزیولوژیک سه رقم لوبیا شامل بهمن، درخشان و صیاد آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۸۹ اجرا شد. صفات مورد بررسی شامل عملکرد دانه، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، درصد پروتئین دانه، میزان کلروفیل a و b و پروتئین برگ بودند. تیمار تلقیح باکتری با سویه ۱۱۶ بیشترین مقدار عملکرد دانه (۴۴/۹۱ گرم در بوته) را تولید کرد. رقم بهمن با تلقیح ترکیب دو سویه ۱۳۳ + ۱۱۶ بیشترین تعداد غلاف در بوته (۵۷/۹ غلاف در بوته) را نشان داد. رقم صیاد با تیمار بدون تلقیح و تلقیح با سویه ۱۱۶ به ترتیب با متوسط ۲۸/۰۷ و ۲۸/۰۵ درصد بیشترین مقدار پروتئین دانه را نسبت به سایر ترکیبات تیماری تولید نمودند. با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل ارقام لوبیا و تیمارهای کاربرد ریزوبیوم برای تمامی صفات مورد بررسی، مقایسه میانگین برای شناسایی بهترین ترکیب تیمارها انجام گرفت، که در حالت کلی رقم صیاد با تلقیح سویه ۱۱۶ بیشترین مقادیر عملکرد اقتصادی و سایر صفات مرتبط را نشان داد و به عنوان بهترین ترکیب بجای استفاده از کود شیمیایی نیتروژن می‌تواند معرفی شود. یکی از شاخص‌های خوب برای تعیین وضعیت گیاه از نظر میزان تثبیت نیتروژن، میزان پروتئین برگ است که این صفت در تیمارهایی که حاوی کلروفیل برگ بالاتری بودند وضعیت مطلوب‌تری داشت. رقم درخشان توأم با تلقیح سویه ۱۱۶ به طور متوسط بیشترین مقدار پروتئین برگ (۲۷/۶۸ درصد) را نسبت به سایر ترکیبات تیماری نشان داد، همچنین بیشترین مقادیر کلروفیل a و b برای رقم درخشان با تلقیح سویه ۱۳۳ مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: ارقام لوبیا، سویه‌های ریزوبیوم، کلروفیل و پروتئین برگ، عملکرد دانه.

مقدمه

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی خانواده بقولات و یکی از منابع مهم کالری و پروتئینی در تغذیه انسان محسوب می‌شود. دانه لوبیا دارای ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و ۵۶-۵۰ درصد کربوهیدرات بوده و در مقایسه با غلات دارای ۲ تا ۳ برابر پروتئین است (Majnoun Hosseini, 2008). بر اساس آمار انتشار یافته، متوسط عملکرد لوبیای معمولی در جهان پایین و حدود ۶۰۰ کیلوگرم در هکتار است (Graham & Ranalli, 1997)، که یکی از دلایل پایین بودن عملکرد آن عدم مدیریت صحیح زراعی بویژه استفاده نامناسب و ناکارآمدی کودهای نیتروژن‌دار در خاک‌های این مناطق (در آمریکا و آفریقا حدود ۵۰۵ کیلوگرم در هکتار) گزارش شده است (Hungria et al., 1997). نیتروژن یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی است. میانگین مقدار نیتروژن در ماده خشک گیاهان ۱-۲ درصد و گاهی به ۴-۶ درصد می‌رسد و بعنوان عنصر اصلی در ساختار و ترکیب بیومولکول‌هایی نظیر اسیدهای نوکلئیک، مولکول‌های آدنوزین تری فسفات (ATP)، نیکوتین آمید دی‌نوکلوئید (NAD) و پروتئین‌ها وجود دارد (Stacey et al., 1992). در حال حاضر بخش زیادی از تولید محصولات کشاورزی از طریق مصرف کودهای شیمیایی (بویژه نیتروژن) صورت می‌گیرد که متأسفانه اثرات سوئی بر خاک، محیط زیست و آب‌های زیرزمینی دارد و هزینه بسیار بالایی را در تولید نیز به وجود می‌آورد. مطالعه و بررسی توان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط پروکاریوت‌ها از جمله باکتری‌های ریزوبیوم موجود در خاک مدتی است که مورد علاقه دانشمندان قرار گرفته است. مهم‌ترین و موثرترین گونه شناخته شده باکتری همزیست با بقولات باکتری ریزوبیوم لگومینوزارم (*Rhizobium leguminosarum*) می‌باشد که سویه‌های مختلفی دارد (Giller, 2001). به اعتقاد برخی محققان، تثبیت نیتروژن یک صفت کمی وراثتی است و لوبیا جز گیاهانی است که ارقام آن از نظر ژنتیکی دارای تفاوت‌های زیادی در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن هستند (Anyango et al., 1995). در شرایط مطلوب مقدار تثبیت نیتروژن توسط لوبیا

به حدود ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار می‌رسد که حدود ۷۰ درصد نیاز این گیاه را به نیتروژن تأمین می‌نماید (Pena-Cabriales et al., 1993). گیاه زراعی لوبیا در شرایط محیطی مناسب به تلقیح با باکتری همزیست واکنش نشان می‌دهد، ولی اغلب خاک‌ها فاقد باکتری‌های کارآمد هستند (Rodriguez-Navarro et al., 2000) و این مسأله لزوم استفاده از سویه‌های مناسب ریزوبیومی، به ویژه در خاک‌هایی که تا به حال در آنها لوبیا کشت نشده را می‌رساند. گزارش نتایج تلقیح گیاه لوبیا با سویه‌های ریزوبیومی و کاربرد بیش از حد نیتروژن متناقض است (Graham, 1981)، با این حال استفاده از سویه‌های برتر ریزوبیومی هنوز هم کاربرد وسیعی دارد (Barron et al., 2000). Tang et al. (2001) اظهار داشتند که استفاده از کود نیتروژن و فسفر در مقادیر کم در اوایل دوره رشد (۱۰ روز پس از سبز شدن) به همراه تلقیح باکتریایی می‌تواند گره‌زایی ریشه را تحریک کرده و موجب تثبیت بالای نیتروژن گردد. نتایج بررسی کارآیی ریزوبیوم‌های همزیست لوبیا (۱۰ سویه) بر رشد و عملکرد لوبیا چیتی رقم Cos-16 نشان داد که تلقیح با سویه مناسب باعث افزایش ۷۸٪ میزان عملکرد دانه گردیده است (Asadi Rahmani et al., 2005). اثرات متقابل معنی‌داری بین سویه‌های مختلف باکتری و رقم از نظر گره‌زایی، رشد گیاه، بیوماس و ترکیب شیره گیاهی آوند چوبی در لوبیا گزارش شده است (Rodriguez-Navarro, 2000). تلقیح بذر با سویه‌های مختلف باکتری اثر معنی‌داری بر بیوماس اندام هوایی، وزن خشک غلاف و میزان غلظت نیتروژن در آوند چوبی داشت. با کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بومی ایران در شرایط گلخانه و مزرعه روی گیاه لوبیا تعداد و وزن گره، وزن خشک قسمت هوایی، کل نیتروژن جذب شده و عملکرد دانه نسبت به شاهد (بدون تلقیح) افزایش یافت (Asadi Rahmani et al., 2005). یکی از شاخص‌های میزان نیتروژن گیاه میزان کلروفیل برگ است (Kumawat et al., 2000) و میزان تثبیت نیتروژن در تیمارهای تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم نسبت به تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) به اثبات رسیده است (Yaman & Cinsoy, 1996). هدف مطالعه حاضر نیز ارزیابی مزرعه‌ای تأثیر سویه‌های

سپس ۷ گرم از مایه تلقیح مورد نظر به ازای هر کیلوگرم بذر به آن اضافه گردید و به خوبی مخلوط شد و پس از خشک کردن در سایه اقدام به کشت بذرها شد (Subba Rao, 1988). عملیات کاشت پس از نم‌کاری و گاوروشدن زمین در اواخر اردیبهشت ۱۳۸۹ انجام شد. کرت‌های آزمایشی به ابعاد $3 \times 2/5$ متر به صورت جوی و پشته آماده گردید که هر کدام دارای ۵ خط کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر از هم بودند، و بذور با فاصله ۱۵ سانتی‌متر از هم روی پشته‌ها کشت شدند. آبیاری مزرعه به صورت جوی و پشته و مبارزه با علف‌های هرز به صورت دستی طی دو مرحله (۲۵ و ۵۰ روز بعد از کاشت) انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل موجود در برگ دو نمونه‌گیری انجام شد، نمونه‌برداری اول از گره سوم ساقه از سمت بالای گیاه و به صورت تصادفی از کرت‌های آزمایشی در زمان شروع گلدهی و نمونه‌برداری دوم همانند نمونه‌برداری اول، در اواسط مرحله غلاف‌دهی (۵۰ درصد غلاف دهی) انجام گرفت. اندازه‌گیری کلروفیل به کمک روش آرنون (Aron, 1949) انجام شد، به این صورت که $0/5$ گرم از هر نمونه برگ تر در ۵ میلی لیتر استن ($0/8$) هموزن گردید و سپس عصاره به دست آمده صاف شد و حجم آن با اضافه کردن استن به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس میزان جذب نور توسط عصاره حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV 180) و در طول موج ۶۶۳ (کلروفیل a) و ۶۴۵ (کلروفیل b) تعیین گردید. غلظت کلروفیل a و b و مجموع آنها از طریق روابط زیر به دست آمد که در این روابط V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه است.

$$\begin{aligned} &= \text{میلی گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر برگ} \\ &= \frac{V}{(1000 \times W)} \times 645 \text{ (جذب در ۶۴۵ نانومتر)} - 2/69 \\ &\text{(جذب در ۶۶۳ نانومتر)} \times 12/7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \text{میلی گرم کلروفیل b در هر گرم وزن تر برگ} \\ &= \frac{V}{(1000 \times W)} \times 663 \text{ (جذب در ۶۶۳ نانومتر)} - 4/69 \\ &\text{(جذب در ۶۴۵ نانومتر)} \times 22/9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \text{میلی گرم کلروفیل a و b در هر گرم وزن تر برگ} \\ &= \frac{V}{(1000 \times W)} \times 663 \text{ (جذب در ۶۶۳ نانومتر)} + 8/02 \\ &\text{(جذب در ۶۴۵ نانومتر)} \times 20/2 \end{aligned}$$

ریزوبیومی همزیست بر ۳ رقم لوبیا و به دست آوردن بهترین ترکیب سوبه-رقم و بررسی تغییرات میزان پروتئین و کلروفیل برگ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه آموزشی و پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۱۱۲/۵ متر از سطح دریا، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۸۹ انجام شد. ارقام اصلاح شده لوبیا شامل: رقم صیاد (ایستاده و نیمه رونده- مبدأ کلمبیا)، رقم درخشان (تیپ رشدی ایستاده± مبدأ کلمبیا) و رقم بهمن به عنوان عامل اول و سوبه‌های ریزوبیومی شامل سوبه‌های ۱۳۳، ۱۱۶ و ترکیب دو سوبه ۱۳۳ و ۱۱۶ و تیمارهای شاهد (بدون تلقیح و کود) و تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی نیتروژن از منبع اوره (به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص معادل ۲۱۷ کیلوگرم اوره) به عنوان عامل دوم مورد بررسی قرار گرفتند. سوبه‌های ریزوبیومی توسط مؤسسه تحقیقات خاک و آب معرفی شده که به صورت آماده از همان مؤسسه تهیه شدند. یک نمونه مرکب از خاک مزرعه برای انجام تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال شد. ویژگی‌های شیمیایی خاک محل آزمایش عبارت بودند از: بافت لومی، ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ازت کل، ۱۴/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم فسفر، ۱۵۱ میلی‌گرم در کیلوگرم پتاسیم قابل جذب و $\text{pH} = 8$. برای آماده‌سازی بستر کاشت، ابتدا زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شد و در اردیبهشت ماه دو هفته قبل از عملیات کشت با علفکش ترفلان به منظور مبارزه با بانک علف‌های هرز موجود در خاک سم‌پاشی انجام گرفت، سپس دیسک زده شد. بر اساس نتایج آزمون خاک تیمار نیتروژن شیمیایی میزان ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص (از منبع اوره) تأمین شد. در تیمارهای ریزوبیومی در موقع کاشت ۲۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به عنوان کود آغازگر (استارتر) استفاده شد. بذر مصرفی با ۱۵ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد صمغ عربی مرطوب شد و

رقم صیاد در تلقیح با سویه ۱۱۶ در مقایسه با سایر ترکیبات تیماری دارای بیشترین میزان عملکرد در بوته (۴۷/۸۵ گرم) بود (جدول ۳). اگرچه نتایج تحقیقات Buttery et al. (1997) حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار اثر رقم و سویه باکتری بر عملکرد دانه لوبیا بود، ولی نتایج بررسی‌های Rodriguez-Navaro et al. (2000) حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین اثرات متقابل رقم و سویه بود، به طوری‌که ترکیب رقم فابا با لوبیای معمولی×سویه CIAT-899 و رقم فابا×سویه TAL-1121 دارای بیشترین عملکرد دانه نسبت به سایر ترکیبات در شرایط مورد آزمایش بود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. تغییرات عملکرد دانه در آزمایش حاضر احتمالاً مربوط به اختلاف در میزان توان تثبیت نیتروژن و فراهمی آن برای گیاه توسط سویه‌های مختلف باکتری می‌باشد که با نتایج سایر محققان (Shisanya, 2002; Tamimi, 2002) نیز مطابقت دارد.

تعداد غلاف در بوته

در بین ارقام لوبیا تعداد غلاف در بوته در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱)، به طوری‌که رقم بهمن با متوسط ۵۰/۹۳ غلاف در بوته بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۲). در بین تیمارهای کودی هم اختلاف معنی‌دار بود و تلقیح با سویه ۱۱۶ بیشترین تعداد غلاف در بوته را داشت (۴۳/۸۹۱) (جدول ۲). همچنین بین اثرات متقابل ارقام و تیمارهای کودی در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و رقم بهمن با تلقیح ترکیب سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶ با متوسط ۵۷/۹ بیشترین تعداد غلاف در بوته را نشان داد (جدول ۳) که این نتیجه با نتایج Buttery et al. (1997) مطابقت دارد. در بررسی

جهت اندازه‌گیری میزان نیتروژن موجود در برگ نمونه‌گیری در مرحله شروع گلدهی و از گره سوم ساقه از سمت بالای گیاه انجام شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن کل دانه و برگ از روش کج‌دال و توسط دستگاه Kjeltac 1030 Autoanalyzer (ساخت کشور سوئد) استفاده شد. همچنین درصد پروتئین خام با ضرب عدد نیتروژن کل به عدد ۶/۲۵ به دست آمد. مرحله بعدی نمونه‌برداری در پایان دوره رسیدگی فیزیولوژیک و در زمانی که ۵۰ درصد غلاف‌ها زرد شده بودند انجام گرفت. در این مرحله از هر کرت آزمایشی ۱۰ بوته به صورت تصادفی با رعایت حاشیه برداشت شد و میانگین عملکرد دانه در هر بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه و درصد پروتئین دانه محاسبه گردید. پس از آزمون همگنی واریانس‌ها محاسبات آماری مربوطه با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و SPSS نسخه ۱۸ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد دانه در بوته

عملکرد دانه در بوته برای تیمارهای کودی و اثر متقابل بین ارقام لوبیا و تیمارهای کودی به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند، هر چند در بین ارقام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱) ولی رقم بهمن بیشترین مقدار عملکرد دانه در بوته (۴۳/۲۷ گرم) را دارا بود (جدول ۲). تیمار تلقیح با سویه ۱۱۶ بیشترین مقدار عملکرد دانه در بوته (۴۴/۹۱ گرم) به دست آورد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در تیمار کودی نشان داد که

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سویه‌های ریزوبیومی بر روی صفات زراعی و فیزیولوژیکی در ارقام لوبیا

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه در بوته	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صدانه	پروتئین دانه (%)	مرحله گلدهی			مرحله غلاف دهی		
							کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پروتئین برگ	کلروفیل a	کلروفیل b
تکرار	۲	۴/۴۶ ^{NS}	۱۳/۳۹ ^{NS}	۰/۰۸۲ ^{NS}	۶/۴۵ ^{NS}	۰/۰۱۱ ^{NS}	۰/۰۰۷۳ ^{NS}	۰/۰۳۲۴۶*	۰/۰۳۶۷۵ ^{NS}	۰/۰۰۵۹۷ ^{NS}	۰/۰۰۲۸۸ ^{NS}	۰/۰۰۱۲۳ ^{NS}
رقم	۲	۲۲/۸۷ ^{NS}	۱۷۲/۵۹**	۳/۲۸**	۹۲۸/۳۲**	۴/۸۸۳**	۰/۱۲۱۲۵**	۰/۳۳۵**	۴۰/۱۰۹۳**	۰/۰۳۴۵۷**	۰/۰۲۸۶۴**	۰/۱۲۵۶**
تیمارهای کودی	۴	۳۳/۸۰**	۶۰/۰۴*	۰/۱۷۲ ^{NS}	۶/۵۱ ^{NS}	۰/۹۹۸ ^{NS}	۰/۰۲۴۲**	۰/۰۰۸۸۶**	۰/۰۶۱۳۹**	۰/۰۰۳۶۱**	۰/۰۰۷۸۷**	۰/۰۰۳۶۱**
رقم × تیمارهای کودی	۸	۱۸/۱۲*	۸۱/۵۹**	۰/۳۷۲*	۱۳/۳۹*	۱/۰۳۸*	۰/۱۱۲**	۰/۰۰۳۶۷**	۰/۰۲۷۶۶**	۰/۰۰۷۰۴**	۰/۰۰۱۷۳**	۰/۰۰۲۶۲**
اشتباه	۲۸	۷/۳۴	۱۸/۹۶	۰/۱۱۹	۴/۶۸	۰/۳۹۸	۰/۰۰۳۱۹۹	۰/۰۰۰۸۸۷	۰/۰۴۲۶۲۸	۰/۰۰۰۸۳۹	۰/۰۰۰۶۴۴	۰/۰۰۱۸۸
ضریب تغییرات %	-	۶/۴۶	۱۰/۷۳	۹/۳۱	۷/۲۷	۲/۳۶	۷/۰۲	۵/۰۱	۲/۶۶	۶/۲۲	۱۰/۵۴	۶/۰۸

NS * و ** نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

لوبیا رقم مورادا و سویه باکتری Semia-481 بیشترین تعداد غلاف (۹۱/۲۲) در گیاه را به وجود آورد. افزایش تعداد غلاف و عملکرد دانه به واسطه تأثیر ریزوبیوم بر ماش سیاه نیز گزارش شده است (Sharma et al., 2000).

تعداد دانه در غلاف

تعداد دانه در غلاف در ارقام لوبیای مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱) و رقم صیاد با متوسط ۴/۱۹ دانه در هر غلاف

Upadhyay et al. (1999) نیز تیمار تلقیح به طور معنی‌داری موجب افزایش تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه ماش (۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار) نسبت به شاهد (بدون تلقیح) گردید. در آزمایشاتی که روی ارقام لوبیا (کانیلنی، پرستتا، بینا، رلاتور، مورادا) تلقیح شده با سویه‌های مختلف باکتری توسط Rodriguez-Navarro et al. (2000) انجام شد به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص صفت تعداد غلاف در بوته نیز اشاره شده که از میان ترکیبات رقم-باکتری، ترکیب

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات زراعی و فیزیولوژیک مربوط به ارقام لوبیا

تیمارها	عملکرد دانه در بوته (گرم)	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صدانه (گرم)	پروتئین دانه (%)	مرحله گلدهی			مرحله غلاف دهی		
						کلروفیل a گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل b گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل کل گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل a گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل b گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل کل گرم بافت/ میلی گرم
ارقام لوبیا											
بهمن	۴۳/۲۶۷a	۵۰/۹۲۹A	۲/۲۵۶c	۲۶/۴۲۲b	۰/۷۶۵۸b	۰/۳۶۰۳b	۱/۱۲۶۱b	۲۴/۱۵۹b	۰/۴۴۰۵b	۰/۲۱۹۷b	۰/۶۶۰۳b
درخشان	۴۱/۶۹۲ab	۲۹/۴۹۴c	۳/۶۹۸b	۲۶/۴۷۲b	۰/۹۷۱۲a	۰/۵۰۱۲a	۱/۴۷۲۴a	۲۶/۳۸۱a	۰/۵۲۱a	۰/۲۹۸۵a	۰/۸۱۹۵a
صیاد	۴۰/۸۳۲b	۴۱/۲۷۵b	۴/۱۹۱a	۲۷/۴۳۴a	۰/۶۸۰۴c	۰/۳۳۳۹c	۱/۰۱۴۴c	۲۳/۱۹۴c	۰/۴۳۵۴b	۰/۲۲۶۴b	۰/۶۶۱۸b
تیمارهای کودی											
شاهد (بدون تلقیح و کود)	۴۰/۱۶۰b	۳۷/۶۹۲c	۳/۹۳۷a	۲۸/۶۸a	۲۶/۹۵۴ab	۰/۳۵۹۶d	۱/۱۱۸۳b	۲۴/۲۵۰۳cd	۰/۴۴۲۱c	۰/۳۳۶۵b	۰/۶۷۸۶b
۱۰۰ درصد کود شیمیایی	۴۰/۷۵۱b	۴۰/۱۱۹abc	۳/۷۱۶ab	۲۹/۲۲۵a	۲۶/۸۲۴ab	۰/۴۱۷۴ab	۱/۲۶۱۹a	۲۵/۱۳۲۷ab	۰/۴۷۹۷ab	۰/۲۴۴۱ab	۰/۷۲۳۸ab
نیتروژن	۴۱/۰۱۷b	۳۸/۶۷۰bc	۳/۶۷۸ab	۳۰/۳۵۶a	۲۶/۶۳۱ab	۰/۷۶۸۷b	۱/۱۵۰۱b	۲۴/۵۱۳۲bc	۰/۴۹۲۲۴a	۰/۲۶۵۹a	۰/۷۵۸۱a
سویه ۱۳۳	۴۳/۸۹۱a	۴۴/۹۱۱a	۳/۵۵۶b	۳۰/۷۹۶a	۲۷/۱۷۴a	۰/۸۷۶۷۱A	۱/۳۱۷۱a	۲۵/۳۸۸۷a	۰/۴۵۷۷bc	۰/۲۴۹۶ab	۰/۷۰۷۴b
سویه ۱۱۶	۴۲/۸۱۳ab	۴۲/۴۵۷ab	۳/۶۹ab	۲۹/۶۴۹a	۲۶/۲۹۶b	۰/۷۸۰۴۲B	۱/۱۷۳۹۷b	۲۳/۶۹۳d	۰/۴۵۶۴bc	۰/۲۴۵۰ab	۰/۷۰۱۴b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای سویه‌های مختلف ریزوبیوم و کود نیتروژن بر روی صفات فیزیولوژیک ارقام لوبیا

تیمارها	عملکرد دانه بوته (گرم)	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صدانه (گرم)	پروتئین دانه (%)
شاهد (بدون تلقیح و کود)	۴۱/۴۲۳bcd	۴۶/۷۴bc	۳/۶۷۵bcd	۲۴/۰۹۵de	۲۶/۰۵۰cd
۱۰۰ درصد کود نیتروژن	۴۳/۲۲abc	۵۴/۱۷ab	۳/۲۶۴de	۲۴/۵۱۸de	۲۶/۶۰۶bcd
سویه ۱۳۳	۴۱/۸۳۶bcd	۴۳/۵۵cd	۳/۲۶۵de	۲۹/۵۸۸b	۲۶/۰۹cd
سویه ۱۱۶	۴۳/۴۵abc	۵۲/۲۸ab	۳/۲۹۲de	۲۵/۲۸۷cde	۲۷/۵۳۳ab
ترکیب سویه ۱۳۳ + ۱۱۶	۴۶/۴۰۷ab	۵۷/۹۰۴a	۲/۷۸۳e	۲۸/۹۷۲bc	۲۵/۰۸۳
شاهد (بدون تلقیح و کود)	۴۱/۵۴bcd	۳۰/۲۰۳e	۳/۶۰۵bcd	۳۸/۸۷۷a	۲۶/۷۴۶bcd
۱۰۰ درصد کود نیتروژن	۴۱/۸۱bcd	۲۹/۸۶۶e	۳/۶۷۴bcd	۳۸/۶۹۸a	۲۷/۰۱۶ad
سویه ۱۳۳	۴۰/۵۱cd	۲۸/۸۶۶e	۳/۶۵۶bcd	۳۸/۷۴۴a	۲۶/۶۲۶bcd
سویه ۱۱۶	۴۳/۴۲abc	۲۸/۱۳۳e	۳/۸۷۷bcd	۴۰/۰۶۹a	۲۵/۹۳۶d
ترکیب سویه ۱۳۳ + ۱۱۶	۴۱/۱۶۶bcd	۳۰/۴e	۳/۶۷۶bcd	۳۷/۱۷۱a	۲۶/۰۳۲cd
شاهد (بدون تلقیح و کود)	۳۷/۵۱۶d	۳۶/۱۳۳de	۴/۵۲۸a	۲۳/۰۶۵de	۲۸/۰۶۶a
۱۰۰ درصد کود نیتروژن	۳۷/۲۲۳d	۳۶/۳۲de	۴/۲۰۹ab	۲۴/۴۵۷de	۲۶/۸۵bcd
سویه ۱۳۳	۴۰/۷۰۲cd	۴۳/۵۹۳cd	۴/۱۱۳abc	۲۲/۷۳۵e	۲۷/۱۷۶ad
سویه ۱۱۶	۴۷/۸۵۳a	۵۱/۲۶ab	۳/۴۹۶cd	۲۷/۰۳۲bcd	۲۸/۰۵۱a
ترکیب سویه ۱۳۳ + ۱۱۶	۴۰/۸۶۶cd	۳۹/۰۶۶cd	۴/۶۰۹a	۲۲/۸۰۴e	۲۷/۰۲۶ad

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

بیشترین مقدار را نسبت به سایر ارقام داشت (جدول ۲). در بین تیمارهای کودی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی اثرات متقابل ارقام و تیمارهای کودی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱)، به طوری که رقم صیاد با تلقیح ترکیب دو سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶ با متوسط ۴/۶۱ بیشترین تعداد دانه در غلاف را تولید کرد (جدول ۳). تعداد دانه در غلاف در رقم صیاد با ترکیب دو سویه ریزوبیومی با تیمار شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت، دلیل این موضوع شاید به خاطر این باشد که تعداد دانه در غلاف یک صفت ژنتیکی است.

وزن صد دانه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، ارقام مورد بررسی از نظر وزن صد دانه در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱) و رقم درخشان با متوسط ۳۸/۷۱ گرم بیشترین مقدار را نشان داد و ارقام بهمن و صیاد از نظر این صفت تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند (جدول ۲). همانطور که ملاحظه می‌گردد بین تیمارهای کودی مختلف برای این صفت تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد (جدول ۱) ولی اثرات متقابل رقم و تیمارهای کودی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند و رقم درخشان نسبت به دو رقم دیگر بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۳). بنابراین به نظر می‌رسد که این صفت بیشتر تحت کنترل ژنتیکی بوده است و تأثیر کمتری از محیط می‌پذیرد.

درصد پروتئین دانه

ارقام مورد بررسی از نظر میزان پروتئین دانه در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). رقم صیاد با ۲۷/۴۳٪ پروتئین دانه تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر ارقام را نشان داد ولی بین ارقام درخشان و بهمن از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). تیمارهای کودی مختلف از نظر این صفت تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ولی بین اثرات متقابل ارقام و تیمارهای کودی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۱) به طوری که رقم صیاد با تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با سویه ۱۱۶ به ترتیب با متوسط ۲۸/۰۷ و ۲۸/۰۵ درصد

بیشترین مقدار پروتئین دانه را نسبت به سایر ترکیبات تیماری نشان دادند (جدول ۳). بررسی اثر متقابل تیمارهای کودی در ارقام نشان داد که بین اثر متقابل تیمار کودی سویه ۱۱۶ در دو رقم صیاد و درخشان با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ولی در رقم بهمن پاسخ مناسبی به تلقیح با سویه ۱۱۶ مشاهده شده است. در آزمایشی که روی سویه‌های مختلف برادی ریزوبیوم جاپونیکوم و سطوح مختلف کوددهی نیتروژن در ارقام سویا انجام شد بیشترین درصد نیتروژن دانه به گروه تلقیح شده و کوددهی شده تعلق داشت (GaminiSenevirante & Ekanayake, 2000).

درصد پروتئین برگ

صفت درصد پروتئین برگ در بین ارقام لوبیا، تیمارهای کودی مورد بررسی و اثرات متقابل ارقام و تیمارهای کودی در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). رقم درخشان با متوسط ۲۶/۳۸ درصد بیشترین مقدار پروتئین برگ را نسبت به سایر ارقام لوبیا نشان داد (جدول ۲). در بین تیمارهای کودی نیز تلقیح با سویه ۱۱۶ با متوسط ۲۵/۲۹ درصد، بیشترین مقدار پروتئین برگ را تولید کرد (جدول ۲) و رقم درخشان توأم با تلقیح سویه ۱۱۶ به طور متوسط بیشترین مقدار پروتئین برگ (۲۷/۶۸ درصد) را نسبت به سایر ترکیبات تیماری نشان داد (جدول ۴). در آزمایشی که توسط Vederia et al. (2001) در آزمایشگاه بر روی توان تثبیت نیتروژن و عملکرد ارقام سویا در تلقیح با سه سویه سینوریزوبیوم فردی و یک سویه برادی ریزوبیوم جاپونیکوم انجام شد، آنها به وجود اختلاف معنی‌دار بین سویه‌ها و ارقام سویا در خصوص مقدار نیتروژن اندام هوایی در بین سویه‌ها و ارقام مختلف سویا اشاره کردند. همچنین در آزمایش دیگری که بر روی ارقام عدس تلقیح شده با *R. leguminosarum* bv. *viciae* توسط Hafeez et al. (2000) انجام شد آنها به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص میزان نیتروژن اندام‌های هوایی اشاره نمودند که بیشترین میزان در سویه LC6 و رقم PL-406 به میزان ۳۵ کیلوگرم در هکتار بود.

میزان کلروفیل برگ

میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در بین

میلی گرم در گرم برگ به ترتیب بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را داشت (جدول ۴) که علت آن شاید جذب سریع‌تر نیتروژن به صورت شیمیایی باشد. اگرچه در سایر مطالعات افزایش میزان کلروفیل در تیمارهای تلقیح شده با ریزوبیوم نسبت به تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) اثبات شده است (Matos & Schroder 1989; Yaman & Cinsoy, 1996) می‌توان بیان داشت که رشد سبزینه‌ای مطلوب در تیمارهای باکتریایی، با توجه به نتایج و مشاهدات مزرعه‌ای، حاکی از فعالیت مطلوب سیستم تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بوده و تأثیرات آن را در صفات دیگر ظهور کرده است.

ارقام لوبیای مورد بررسی، تیمارهای کودی و همچنین اثرات متقابل ارقام و تیمارهای کودی در دو مرحله گلدهی و غلاف دهی در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱). در مرحله گلدهی، مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در رقم درخشان به ترتیب با متوسط ۰/۹۷، ۰/۵ و ۱/۴۷ میلی‌گرم در گرم برگ نسبت به سایر ارقام در هر دو مرحله رشدی بیشترین مقدار بود (جدول ۲). در بین تیمارهای کودی، تیمار ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و تلقیح با سویه ۱۱۶ بیشترین مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را نشان دادند (جدول ۴) رقم درخشان در تیمار با ۱۰۰ درصد کود نیتروژن با متوسط ۱/۰۴، ۰/۵۶ و ۱/۶

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای سویه‌های مختلف ریزوبیوم و کود نیتروژن بر روی صفات فیزیولوژیک ارقام لوبیا

مرحله غلاف دهی			مرحله گلدهی			تیمارها	
کلروفیل کل گرم	کلروفیل b گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل a گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل کل گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل b گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیل a گرم بافت/ میلی گرم		
۰/۶۵۸۹ defg	۰/۲۱۲ ef	۰/۴۴۶۸ def	۲۴/۳۴۳۲def	۱/۰۰۰۲ g	۰/۳۱۳۶ de	۰/۶۸۶۶ d	شاهد (بدون تلقیح و کود)
۰/۶۳۳۶ fg	۰/۲۰۷۶ ef	۰/۴۲۶ ef	۲۵/۱۳۳۳cd	۱/۱۴۵۴ e	۰/۳۶۵۹ d	۰/۷۷۹۴ d	۱۰۰ درصد کود نیتروژن
۰/۶۵۲۹ efg	۰/۲۱۶۴ def	۰/۴۳۶۴ def	۲۳/۹۴۶۷def	۱/۰۷۳۸ efg	۰/۳۴۶۹ d	۰/۷۲۶۹ d	بهمن سویه ۱۳۳
۰/۷۴۰۳ cd	۰/۲۵۴۳bcde	۰/۴۸۵۹ bcd	۲۴/۷۵۹۴ de	۱/۳۳۸۲ d	۰/۴۳۰۹ c	۰/۹۰۷۳ c	سویه ۱۱۶
۰/۶۱۵۸ g	۰/۲۰۸۳ ef	۰/۴۰۷۵ f	۲۲/۵۷۶۷ gh	۱/۰۷۲۸ efg	۰/۳۴۴۳ d	۰/۷۲۸۵ d	ترکیب سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶
۰/۸۵۶۳ ab	۰/۳۲۵۵ a	۰/۵۳۰۹ abc	۲۵/۹۴۷۵ bc	۱/۳۳۹۷ d	۰/۴۳۳۵ c	۰/۹۰۶۲ c	شاهد (بدون تلقیح و کود)
۰/۸۲۵۱ ab	۰/۲۹۱۳ ab	۰/۵۳۳۸ ab	۲۶/۶۸۴۷ ab	۱/۵۹۹۸ a	۰/۵۵۵۷ a	۱/۰۴۴۱ a	۱۰۰ درصد کود نیتروژن
۰/۸۹۸۶ a	۰/۳۲۴۸ a	۰/۵۷۳۸ a	۲۵/۱۱۹۷ cd	۱/۵۳۱۹ ab	۰/۵۱۹۲ ab	۱/۰۱۲۷ab	درخشان سویه ۱۳۳
۰/۷۰۵۵ def	۰/۲۶۵۳ bcd	۰/۴۴۰۲ def	۲۷/۶۸۳۳ a	۱/۴۸۹۲ bc	۰/۵۲۱۵ ab	۰/۹۶۷۷ abc	سویه ۱۱۶
۰/۸۱۲ bc	۰/۲۸۵۷ abc	۰/۵۲۶۳ abc	۲۶/۴۷ b	۱/۴۰۱۲ cd	۰/۴۷۵۹ bc	۰/۹۲۵۳ bc	ترکیب سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶
۰/۵۲۰۶ h	۰/۱۷۲ f	۰/۳۴۸۶ g	۲۲/۴۶ gh	۱/۰۱۵۱ fg	۰/۳۳۱۷ de	۰/۶۸۳۴ d	شاهد (بدون تلقیح و کود)
۰/۷۱۲۸ def	۰/۲۳۳۴ de	۰/۴۷۹۳ cde	۲۳/۵۸ efg	۱/۰۴۰۴ efg	۰/۳۳۰۴ de	۰/۷۰۹۹ d	۱۰۰ درصد کود نیتروژن
۰/۷۲۲۹ de	۰/۲۵۴۳ bcde	۰/۴۶۶۵ de	۲۴/۴۷۳۳ def	۰/۸۴۴۶ h	۰/۲۷۸۱ e	۰/۵۶۶۵ e	صیاد سویه ۱۳۳
۰/۶۷۶۳ defg	۰/۲۲۹۲ de	۰/۴۴۷۱ def	۲۳/۴۲۳۳ fg	۱/۱۲۳۹ ef	۰/۳۶۸۸ d	۰/۷۵۵۱ d	سویه ۱۱۶
۰/۶۷۶۴ defg	۰/۲۴۰۹ cde	۰/۴۳۵۵ def	۲۲/۰۳۳۳ h	۱/۰۴۷۹ efg	۰/۳۶۰۵ d	۰/۶۸۷۴ d	ترکیب سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند.

تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی نیتروژن حائز این شرایط بود. در مرحله غلاف‌دهی رقم درخشان با تلقیح سویه ۱۳۳ بیشترین مقادیر کلروفیل‌ها را نشان داد (جدول ۴). در تیمارهایی که حاوی کلروفیل بالاتری بودند میزان پروتئین برگ نیز وضعیت مطلوب‌تری داشت و این موضوع یکی از شاخص‌های خوب برای تعیین وضعیت گیاه از نظر میزان تثبیت نیتروژن است. مقایسه درصد افزایش عملکرد در اثر تلقیح نسبت به

در مرحله غلاف‌دهی، در بین تیمارهای کودی، تلقیح با سویه ۱۳۳ بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل را به دست آورد (جدول ۲)، و این مسئله بسیار حائز اهمیت است، زیرا که این مرحله مصادف با مرحله اساسی رشد یعنی مرحله پرشدن دانه و شکل‌گیری عملکرد نهایی است و میزان مطلوب کلروفیل و پایداری آن در این مرحله به منظور انجام فتوسنتز و در نهایت پرکردن دانه‌ها مهم است. در حالی که در مرحله گلدهی

جدول ۵- مقایسه درصد افزایش عملکرد دانه لوبیا در اثر تلقیح ریزوبیومی نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی نیتروژن در هکتار

کود ۱۰۰٪ نیتروژن	شاهد (بدون تلقیح)	سویه ۱۳۳	سویه ۱۱۶	ترکیب سویه ۱۳۳ و سویه ۱۱۶	
۵۴۲۱/۹	۵۳۴۳/۳	۵۴۵۷/۴	۵۹۷۵/۴	۵۶۹۶/۴	میانگین عملکرد در هر تیمار (کیلوگرم در هکتار)
۱/۴۷	-	۲/۱۲	۱۱/۸	۶/۶۰	درصد افزایش عملکرد نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح)
-	-	۰/۶۵	۱۰/۲۰	۵/۰۶	درصد افزایش عملکرد نسبت به تیمار ۱۰۰٪ کود نیتروژن

بوته و درصد نیتروژن دانه بیشتری تولید کردند و درحالت کلی رقم صیاد با تلقیح سویه ۱۱۶ بیشترین مقادیر را برای عملکرد اقتصادی و سایر صفات مرتبط با آن به غیر از صفت تعداد دانه در غلاف، نشان داد و می‌تواند به عنوان بهترین ترکیب به جای استفاده از کود شیمیایی نیتروژن معرفی شود. از دیدگاه کاهش مصرف کودهای شیمیایی این مسئله بسیار مهم می‌باشد و می‌تواند به عنوان یکی از راه‌حل‌های کاهش مصرف کودهای شیمیایی مطرح باشد.

تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تیمار ۱۰۰٪ کود نیتروژن نشان داد که سویه‌های مورد استفاده در این آزمایش قابلیت بیشتری نسبت به تیمار کود شیمیایی نیتروژن از خود نشان دادند، به طوری که تیمار سویه ریزوبیومی ۱۱۶ بیشترین میزان افزایش عملکرد را نسبت به تیمارهای مذکور از خود نشان داد (جدول ۵).
به طور کلی تلقیح سویه‌های ریزوبیومی نسبت به تیمار بدون تلقیح (شاهد) و حتی ۱۰۰٪ کود شیمیایی نیتروژن عملکرد دانه، تعداد غلاف در بوته، تعداد بذر در

REFERENCES

- Anyango, B., Wilson, K. J., Beynon, J. L. & Giller, K. E. (1995). Diversity of rhizobia nodulating *Phaseolus vulgaris* L., in two Kenyan soils of contrasting PHS. *Appl Environ Microbiol*, 61, 4016-4021.
- Arnon, D. T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in (*Beta vulgaris* L.). *Plant Physiology*, 24, 1-15.
- Asadi Rahmani, H., Afshar, M., Khavazi, K., Nourgholipour, F. & Otadi, A. (2005). Effect of Common bean nodulating rhizobia native to Iranian soils on the yield and quality of bean. *Journal of Water and Soil*, 19(2), 215-223. (In Farsi).
- Barron, J. E., Pasini, R. J., Davis, D. W., Stuthman, D. D. & Graham, P. H. (2000). Response to selection for seed yield and nitrogen (N₂) fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 62, 119-128.
- Buttery, B. R., Parks, S. T. & Van Berkum, P. (1997). Effect of cultivar and strain of rhizobium on growth, bean yield and nitrogen content of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Canadian Journal of Plant Sciences*, 77, 347-351.
- GaminiSenevante, L. G. & Ekanayake, S. (2000). Agronomic benefits of rhizobial inoculants use over nitrogen fertilizer application in tropical soybean. *Field Crop Research*, 68, 199-203.
- Giller, K. E. (2001). *Nitrogen fixation in cropping systems*. (2nd ed.) CAB, publishing.
- Graham, P. H. (1981). Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. (A review). *Field Crops Research*, 4, 93-112.
- Graham, P. H. & Ranalli, P. (1997). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 53, 131-146.
- Hafeez, F. Y., Shah, N. H. & Malik, K. A. (1995). Field evaluation of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* strains for nitrogen fixation using N₁₅ isotope dilution. *Biology and Fertility of Soils*, 31, 65-69.
- Hungria, M., Andrade, D. S., Colozzi-Filho, A. & Balota, E. L. (1997). Interação entre microrganismos do solo, feijoeiro e milho em monocultura consorcio. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 32, 807-818.
- Kumawat, S. M., Dhakar, L. L. & Maliwal, P. L. (2000). Effect of irrigation regimes and nitrogen on yield, oil content and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.). *Indian Journal of Agronomy*, 45, 361-366.
- Majnoun Hosseini, N. (2008). *Grain legume production*. Jihad-Daneshgahi Pub. University of Tehran. 283 pages. (In Farsi).
- Matos, I. & Schroder, E. C. (1989). Strain selection for pigeon pea rhizobium under greenhouse

- conditions. *Plant and Soil*, 116, 19-22.
15. Pena-Cabriales, J. J., Grageda-Cabrera, O. A., Kola, V. & Hardarson, G. (1993). Time course of N₂ fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil*, 152, 115-121.
 16. Rodriguez-Navarro, D. N., Buendia, A. M., Camacho, M. & Lucas, M. M. (2000). Characterization of *Rhizobium spp* bean isolates from southwest Spain. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1601-1613.
 17. Sharma, S., Upadhyay, R. G. & Sharma, C. R. (2000). Effect of Rhizobium inoculation and nitrogen on growth, dry matter accumulation and yield of black gram (*Vigna mungo*). *Legume Research*, 23(1), 64-66.
 18. Shisanya, C. A. (2002). Improvement of drought adapted tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray var latifolius) yield through biological nitrogen fixation in semi-arid. SE-Kenya *European Journal of Agronomy*, 16, 13-24.
 19. Stacey, G., Burris, R. H. & Evans, H. J. (1992). *Biological nitrogen fixation*. Chapman and Hall, New York.
 20. Zahran, H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol Mol Rev*, 63(4), 968-989.
 21. Subba Rao, N. S. (1988). *Soil microorganisms and plant growth*. Oxford and LBH Publication. Co., New Delhi. pp. 289-295.
 22. Tamimi, S. M. (2002). Genetics diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the soils of the Jordan valley. *Applied Soil Ecology*, 19, 183-190.
 23. Tang, C., Hinsinger, P., Dervon, J. J. & Jaillard, B. (2001). Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances release in roots of (*Medicago truncatula* L.). *J Annals of Botany*, 88, 131-138.
 24. Upadhyay, R. G., Sharma, S. & Daramwal, N. S. (1999). Effect of Rhizobium and graded levels of phosphorus on the growth and yield of summer green gram (*Phaseolus radiates*). *Legume Research*, 22(4), 277-279.
 25. Vederia, L. B., Pastorino G. N. & Balatti, P. A. (2001). Incompatibility may not be the rule in the Sinorhizobium fredii-soybean interaction. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1601-1074.
 26. Yaman, M. & Cinsoy, A. S. (1996). Determination of the most effective Rhizobium strain (*Rhizobium japonicum* L.) in soybean. *Journal Aegean Agriculture Research Institute*, 6, 84-96.