

بررسی اثرات سویه‌های باکتری ریزوبیوم در عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris L.*) در شرایط تنش خشکی

محمد فیضیان¹، اکبر همتی، هادی اسدی رحمانی و خسرو عزیزی

استادیار دانشگاه لرستان؛ m-feizian@yahoo.com

دانشجوی دکتری دانشگاه لرستان؛ Hemati16@chmail.ir

دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ Asadi_1999@yahoo.com

دانشیار دانشگاه لرستان؛ Azizi_kh44@yahoo.com

دریافت: 94/12/5 و پذیرش: 95/7/12

چکیده

امروزه تنش خشکی مهمترین تنش غیر زیستی برای گیاهان است. در مناطق خشک، جهت افزایش تثبیت زیستی نیتروژن و عملکرد گیاه، استفاده از باکتری‌های ریزوبیوم مقاوم به خشکی در زراعت لوبیا ضروری است. جهت بررسی این موضوع اقدام به اجرای آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی سال‌های 1393 و 1394 گردید. در سطوح اصلی این آزمایش تیمارهای تنش خشکی شامل آبیاری بر اساس 30، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده خاک (به ترتیب تنش شدید، متوسط و بدون تنش) و در سطوح فرعی تیمارهای باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم فازئولی شامل سویه‌های R58، R54، R160 و R177 قرار داشت. حجم آب مصرفی، کارایی مصرف آب، مقدار نیتروژن گیاه، عملکرد و برخی از اجزای عملکرد صفات مورد اندازه‌گیری در این آزمایش بودند. در مجموع دو سال نتایج نشان داد، تنش آبی و سویه‌های باکتری اثرات معنی‌داری در سطح پنج درصد در عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا داشتند. بیشترین مقدار عملکرد برابر 3066 کیلوگرم در هکتار با مصرف آب آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده خاک و استفاده از باکتری ریزوبیوم سویه R160 به دست آمد که با تیمار 80 درصد آب قابل استفاده، تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج این تحقیق نشان داد در صورت استفاده از باکتری ریزوبیوم سویه R160، گیاه لوبیا قادر به تحمل تنش خشکی متوسط بدون افت عملکرد است.

واژه‌های کلیدی: ریزوبیوم، تنش آبی، عملکرد، لوبیا

¹ نویسنده مسئول، آدرس: خرم‌آباد، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، گروه علوم و مهندسی خاک

(کیشور، 1991). به نظر می‌رسد این باکتری‌ها قادرند حتی در شرایط تنش خشکی نسبت به جذب عناصر غذایی اقدام کنند. متقابلاً، عناصر غذایی نیز در تثبیت نیتروژن و کارایی باکتری مؤثرند (صحراوات و راثو، 1988). علاوه بر عناصر غذایی، تنش آبی نیز در تثبیت نیتروژن مؤثر است. گرچه چگونگی این تأثیر متفاوت بوده و به مرحله رشد گیاه بستگی دارد ولی در هر حال کمبود رطوبت خاک در تشکیل، رشد و فعالیت گره تأثیر انکارناپذیری دارد. گزارش شده که میزان تثبیت نیتروژن اندازه‌گیری شده به روش احیاً استیلن، در شرایط تنش رطوبتی خاک 26% کاهش یافته است (زهران، 1999). در یک آزمایش مشاهده شد با کاهش آب خاک، از تعداد و وزن گره‌ها کاسته شده در حالی که وزن خشک گیاه تغییری نکرده است. با کاهش آب خاک، فعالیت آنزیم نیتروژناز، پتانسیل آب برگ، مقدار پروتئین و نشاسته و مقدار لگ هموگلوبین و فعالیت سایر آنزیم‌های مهم در ساخت کربن در گیاه کاهش یافته است (راموس و همکاران، 1999). محققین تغییرات ژنتیکی و فیزیولوژیکی ایجاد شده در گره ناشی از تنش خشکی را عامل کاهش تثبیت نیتروژن و عملکرد دانسته از این رو پیشنهاد نمودند باید در روش‌های به نژادی و انتخاب، با بهره‌گیری از این تغییرات نسبت به معرفی سویه‌های مقاوم به خشکی اقدام نمود (سراج و همکاران، 1999). در همین راستا، گزارش شده تلقیح لوبیا بانوعی باکتری ریزوبیوم باعث افزایش 50 درصدی عملکرد در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد شده است. در یک آزمایش 7200 غده تثبیت کننده نیتروژن مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد ژنهایی در این گره‌ها وجود دارند که باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی می‌شوند (سوارز و همکاران، 2008).

در آزمایشی دیگر مشاهده شد که تلقیح گیاه آکاسیا² با قارچ باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی شده است. علت افزایش مقاومت به خشکی، بالا بودن مقدار مقدار نسبی آب سلول (RWC³) و بیشتر بودن پتانسیل فشار در آوند چوبی بود (اسنوبی و همکاران، 1991). در آزمایشی دیگر مشاهده شد از ده سویه ریزوبیوم که تحت تنش‌های رطوبتی 0/03، -1، و -1/5 میلی پاسکال آب قابل استفاده قرار گرفته اند، 5 سویه باکتری 35 روز تنش را تحمل نموده و 2 سویه دارای جمعیتی به مقدار 10⁷ ریزوبیوم در هر گرم خاک بودند که توصیه شد از آنها برای تلقیح عدس در مناطق خشک استفاده شود (آنهر، 1998). با توجه به موارد فوق الذکر و به منظور

متوسط بارش در ایران در سال زراعی 92-93 برابر 234/7 میلیمتر بوده که این میزان بارندگی، کشور ما را در زمره مناطق خشک جهان قرار می‌دهد (سازمان هواشناسی کشور، 1393). 65 درصد کشور ما را مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می‌دهد که به طور متوسط مقدار بارندگی در آنها از 150 میلیمتر در سال کمتر است. در 23 سال گذشته فقط 2 سال تر سالی وجود داشته در حالی که 9 سال آن خشکسالی بوده است (کشاورز و صادق زاده، 1379). با در نظر گرفتن این که مقدار بارش نرمال کشور کمتر از یک سوم میانگین جهانی آن است، بایستی در حوزه کشاورزی و آب و خاک توجه ویژه‌ای به آن نمود. از طرفی در ایران سالانه حدود 110 الی 120 هزار هکتار لوبیا کشت می‌شود که سطح زیر کشت آن هر ساله رو به فزونی است (همتی، 1391). با توجه به حساسیت گیاه لوبیا به تنش خشکی، عملکرد و تثبیت نیتروژن در این گیاه در شرایط کمبود آب شدیداً تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در راستای کشاورزی پایدار یکی از راهکارهای افزایش عملکرد در گیاهان بهره‌گیری از توان ریز موجودات زنده مانند باکتری‌های ریزوبیوم در شرایط کمبود آب است. تحقیقات نشان داده در شرایط مناسب، مانند وجود سویه کارآمد باکتری ریزوبیوم و شرایط محیطی مطلوب، گیاه لوبیا توانایی تثبیت زیستی نیتروژن را دارد. گزارش شده در صورت تلقیح بذر لوبیا با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم فازئولی¹ سویه R54 و مصرف 50 کیلو گرم کود اوره در هکتار حداکثر عملکرد در لوبیا به دست آمد (همتی و اسدی رحمانی، 1384).

در یک آزمایش تحقیقی - ترویجی با تلقیح بذر لوبیا با یک کیلوگرم مایه تلقیح ریزوبیوم بدون استفاده از کود نیتروژن 3990 کیلوگرم دانه در هکتار حاصل گردید، در حالی که در تیمار شاهد (عدم تلقیح) با مصرف 600 کیلوگرم کود اوره عملکرد کمتر از این مقدار بود (همتی، 1389). گزارش شده در صورت تلقیح بذر با باکتری مناسب و فعال ضمن افزایش عملکرد، بیش از 100 کیلو گرم نیتروژن در هکتار تثبیت شده است (پیرولی، 1386). باکتری همزیست ریزوبیوم علاوه بر تثبیت نیتروژن، چون در فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاه تأثیر گذار است، موجب رشد و افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود. گزارش شده اثرات تحریک کنندگی رشد، به دلیل تولید فیتو هورمون، محدود شدن رشد قارچ‌های پاتوژن، تولید آنتی بیوتیک‌ها، سیدروفورها و یونوفورها است

² Acacia spp

³ Relative Water Content

¹ leguminosarum bv. phaseoli

تعیین اثرات باکتری‌های ریزوبیوم در عملکرد لوبیا در شرایط تنش خشکی، در این تحقیق اثرات چهار سویه‌ی باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم فازئولی در عملکرد، اجزای عملکرد و کارآیی نسبی آب در گیاه لوبیا در شرایط تنش خشکی در قالب دو آزمایش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور مقایسه و انتخاب سویه‌ی برتر باکتری ریزوبیوم همزیست با گیاه لوبیا که در شرایط خشک ضمن حفظ همزیستی منجر به افزایش عملکرد گیاه گردد، اقدام به اجرای یک آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار گردید. این آزمایش در سال اول در گلخانه و در سال دوم در مزرعه اجرا شد. در کرت‌های اصلی رژیم‌های رطوبتی خاک شامل آبیاری در 30 درصد آب قابل استفاده خاک (تنش زیاد)، آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده (تنش متوسط) و آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده (بدون تنش=شاهد) بود و در کرت‌های فرعی تیمارهای باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم فازئولی شامل سویه‌های R54، R160، R58 و R177 قرار داشت. این سویه‌های باکتری، طی آزمایش‌های انجام شده در استان‌های مختلف کشور توسط بخش تحقیقات بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب به عنوان سویه‌های برتر شناخته شده‌اند. آزمایش دارای 12 تیمار و 3 تکرار بود.

ارزیابی گلخانه‌ای

این ارزیابی در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس انجام گرفت. ابتدا مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش از قبیل بافت به روش هیدرومتری، رطوبت در نقطه پژمردگی دائمی (PWP¹) و ظرفیت مزرعه‌ای (FC²)، اسیدیته، شوری عصاره اشباع، میزان کربنات کلسیم معادل به روش کلسیمتری حجمی (لوپرت و سواز،³ 1996)، نیتروژن به روش کج‌جدال (برمر،⁴ 1996)، فسفر قابل جذب به روش اولسن (کیو،⁴ 1996)، پتاسیم قابل جذب به روش استات آمونیوم (همکه و اسپارکس،⁵ 1996)، و روی به روش عصاره‌گیری با DTPA (رد و مارتنز،⁶ 1996)، در صد کربن آلی خاک به روش والکلی - بلک (نلسون و سامر،⁷

1996)، اندازه‌گیری گردید. لذا کودهای شیمیایی مورد نیاز بر اساس آزمون خاک و توصیه موسسه تحقیقات خاک و آب در هر تیمار مصرف شد. برای این منظور بر اساس جدول یک، مقدار 30 کیلوگرم در هکتار نیتروژن از منبع اوره به عنوان شروع کننده، 75 کیلوگرم در هکتار پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم و 50 کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل قبل از کشت مصرف شد (همتی، 1391). هر تیمار شامل شش گلدان هشت کیلوگرمی خاک غیر استریل بود. سپس در هر گلدان 5 عدد بذر لوبیا چیتی رقم صدری تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم قرار داده شد. جمعیت باکتری ریزوبیوم در زاد مایه مصرفی برابر 2×10^8 سلول در هر گرم زاد مایه بود. به منظور تلقیح بذر با باکتری، ابتدا بذر جهت ضد عفونی به مدت 3 دقیقه در محلول هیپوکلراید سدیم 2% قرار داده سپس 5 مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. به منظور چسبندگی بیشتر، قبل از تلقیح، بذر با محلول آب و شکر آغشته آنگاه بذر هر تیمار با زاد مایه باکتری مربوطه به میزان 2 کیلوگرم زاد مایه به ازای 200 کیلوگرم بذر در هکتار پوشانده شد. سپس به مدت 2 ساعت در سایه نگهداری و بلافاصله اقدام به کشت در گلدان گردید. برای شمارش باکتری‌های بومی خاک از روش MPN plant infection test استفاده شد.

پس از کاشت بذر در هر گلدان به منظور استقرار گیاه، آبیاری با آب معمولی تا حد ظرفیت مزرعه‌ای طی دو هفته در تمام تیمارها انجام شده و حجم آب مصرفی نیز اندازه‌گیری گردید. بعد از استقرار یافتن گیاه، تعداد دو بوته نگه داشته، مابقی حذف شدند. آبیاری از هفته دوم به بعد با داشتن مقادیر FC و PWP بترتیب برابر 28/4 و 18 درصد، حجم آب آبیاری هر تیمار بر اساس درصد تخلیه آب (AW) تعیین و به تیمار داده شد. در واقع حجم آب مصرفی در هر تیمار بر اساس وزن گلدان قبل و بعد از آبیاری مورد نظر تعیین گردید. در مرحله 50% گل دهی (حدود 2 ماه پس از کشت)، وزن خشک و تر اندام هوایی، مقدار نیتروژن گیاه به روش کج‌جدال (برمر،⁸ 1996)، ارتفاع بوته و سطح برگ (cm²) در گلدان اول اندازه‌گیری شد. در زمان برداشت (حدود صد روز بعد از کشت) نیز در گلدان دوم، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، حجم آب مصرفی و درصد نیتروژن اندام هوایی گیاه به روش کج‌جدال اندازه‌گیری شد.

1. Permanent Wilting Point

2. Field Capacity

3. Loppert and Suarez

4. kuo

5. Hemke and Sparks

6. Reed and Martens

7. Nelson and Sommer

8. Bremner

ارزیابی مزرعه‌ای

آزمایش همانند گلخانه دارای 12 تیمار و 3 تکرار بود. طول هر کرت 10 متر و عرض آن با در نظر گرفتن 4 ردیف کشت و یک خط نکاشت 2 متر بود. قبل از اجرا، نمونه مرکب خاک تهیه و در آزمایشگاه، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن به روش‌های فوق‌الذکر در ارزیابی گلخانه‌ای اندازه‌گیری شد. خاک مورد استفاده در ارزیابی گلخانه و مزرعه‌ای یکسان بود. لذا همانند ارزیابی گلخانه‌ای، مقدار 30 کیلوگرم در هکتار نیتروژن از منبع اوره به عنوان شروع کننده، 75 کیلوگرم در هکتار پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم و 50 کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل قبل از کشت مصرف شد (همتی، 1391). بذر لوبیا چیتی رقم صدری با زاد مایه باکتری ریزوبیوم همانند روش گلخانه که شرح آن گذشت تلقیح شده و در عمق 3-5 سانتی متری خاک قرار گرفت. به منظور استقرار گیاه، آبیاری مزرعه تا حد ظرفیت مزرعه‌ای طی دو مرتبه انجام شد. با نصب کنتور حجمی میزان آب مصرفی اندازه‌گیری گردید. به منظور تعیین حجم آب مصرفی هر تیمارد در مراحل بعدی، پس از استقرار یافتن گیاه، با داشتن مقادیر FC برابر 27/5 درصد و وزن مخصوص ظاهری خاک برابر 1/6 گرم بر سانتی متر مکعب، با اندازه‌گیری رطوبت وزنی خاک و تبدیل آن به رطوبت حجمی، حجم آب مورد نیاز هر تیمار بر اساس رسانیدن عمق توسعه ریشه به حد ظرفیت زراعی به شرح زیر تعیین و مصرف گردید.

رطوبت وزنی خاک - رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه‌ای = کمبود رطوبت خاک
 $1000 \times \text{عمق ریشه (mm)} \times \text{وزن مخصوص ظاهری} \times$
 کمبود رطوبت خاک = عمق خالص آبیاری (mm)
 عرض کرت \times عمق خالص آبیاری = عمق آب آبیاری (m^3/m^2)

زمان آبیاری نیز با اندازه‌گیری روزانه رطوبت وزنی تیمارهای تنش خشکی و داشتن رطوبت نقطه پژمردگی برابر 18 درصد، مقدار آب قابل دسترس (AW) هر تیمار کنترل و به محض رسیدن رطوبت خاک به تیمارهای مورد نظر (30، 60 و 80 درصد) مقدار آب آبیاری به شرح فوق محاسبه و اعمال گردید. در مرحله داشت سایر عملیات زراعی از قبیل مبارزه با آفات و علف‌های هرز طبق عرف محل انجام شد. در زمان گل دهی یعنی حدود 60 روز پس از کشت، از هر کرت یک بوته انتخاب و تعداد و وزن گره‌های تثبیت کننده نیتروژن در ریشه، وزن خشک وتر و مقدار نیتروژن در اندام هوایی گیاه به روش کج‌دال اندازه‌گیری شد. در زمان برداشت

نیز عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و وزن صد دانه اندازه‌گیری شد. کارایی مصرف آب (WUE^1) در هر تیمار تعیین گردید. داده‌های آزمایش در پایان هر سال بر اساس برنامه آماری SAS تجزیه آماری شد و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج

همان طور که در جدول یک ملاحظه می‌شود، خاک محل آزمایش آهکی و دارای بافت لوم می‌باشد. خاک غیر شور بوده و از نظر اسیدیته کمی قلیایی است. فسفر، پتاسیم و روی آن کمتر از حد بحرانی است. حد بحرانی این عناصر برای گیاه لوبیا بترتیب برابر 15، 250 و 1 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است (اندرسون، 1997). جمعیت باکتری بومی ریزوبیوم همزیست لوبیا در نمونه خاک محل آزمایش به روش MPN plant infection test برابر $10^2 \times 0/7$ سلول باکتری در یک گرم خاک بود.

نتایج ارزیابی گلخانه‌ای

حجم آب مصرفی

تجزیه واریانس نتایج آزمایش در سال اول (جدول 2) نشان داد اثرات تیمارهای تنش خشکی در حجم آب مصرفی در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار بود در حالی که تیمارهای باکتری تأثیر معنی‌داری در حجم آب مصرفی نداشتند. اثرات متقابل آبیاری و باکتری نیز معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که بیشترین مقدار آب مصرفی مربوط به تیمار آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده بود. کمترین مقدار آب مصرفی نیز مربوط به تیمار آبیاری در 30 درصد آب قابل استفاده بود که از نظر آماری با تیمار آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده تفاوت معنی‌داری نداشت. بین سوبه‌های باکتری ریزوبیوم در حجم آب مصرفی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت در عین حال مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد نشان داد که بیشترین حجم آب مصرفی به میزان 4788 متر مکعب در هکتار در تیمار آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده و سوبه باکتری R177 و کمترین مقدار آب مصرفی در تیمار 30 درصد آب قابل استفاده و سوبه باکتری R54 به میزان 3322 متر مکعب در هکتار بود (جدول 4).

¹ Water Use Efficiency

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در گلخانه و مزرعه

هدایت الکتریکی	اسیدیته	رطوبت اشباع	کربنات کلسیم معادل	کربن آلی	فسفر	پتاسیم	روی	شن	سیلت	رس
dSm^{-1}		%	%	$mgkg^{-1}$					%	
0/8	7/7	41	34	0/53	5	225	0/6	38/4	40	21/6

وزن صد دانه

همانطور که در جدول 2 ملاحظه می‌شود در وزن صد دانه اثرات تیمارهای آبیاری در سطح 5 درصد و تیمارهای باکتری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار است. اثرات اصلی این دو تیمار در وزن صد دانه نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول 2). بیشترین وزن صد دانه به مقدار 46 گرم در تیمار آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و سویه ی باکتری R160 حاصل گردید که البته از نظر آماری با تیمارهای AW60% & R177 و R160 & AW80% تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول 4).

تعداد دانه در بوته

تجزیه واریانس آزمایش (جدول 2) نشان داد اثرات تیمارهای آبیاری و باکتری و اثرات متقابل آنها در تعداد دانه در بوته در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار دارند. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن حاکی از افزایش تعداد دانه در بوته با آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و تلقیح با باکتری ریزوبیوم سویه ی R54 است (جدول 4).

تعداد غلاف در بوته

نتایج این آزمایش در سال اول نشان داد تیمارهای آبیاری و باکتری تأثیر معنی‌داری در تعداد غلاف در بوته نداشتند (جدول 2). در عین حال مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن (جدول 4) نشان داد بیشترین تعداد غلاف در بوته (7 عدد) در تیمار آبیاری 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R54 بدست آمد.

سطح برگ

از آنجا که سطح برگ نشان دهنده توانایی در انجام فتوسنتز و نهایتاً عملکرد محصول می‌باشد به عنوان یک معیار در این آزمایش اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد، تیمارهای آبیاری در سطح پنج درصد تأثیر معنی‌داری در سطح برگ نداشتند. در حالی که تیمارهای باکتری و اثرات متقابل باکتری و آبیاری تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول 2). بیشترین سطح برگ در بوته، به میزان 616 سانتی متر مربع در تیمار آبیاری 60 درصد آب قابل

استفاده و تلقیح باکتری سویه ی R54 حاصل شد (جدول 3).

تعداد برگ در بوته

تیمارهای آبیاری در سطح پنج درصد در تعداد برگ در بوته تأثیر معنی‌داری نداشتند. اثرات متقابل نیز معنی‌دار نبود (جدول 2). مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد بیشترین تعداد برگ در تیمار آبیاری 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R177 بدست آمد (جدول 3).

وزن تر و خشک بوته

تجزیه واریانس نتایج نشان داد تیمار آبیاری در سطح پنج درصد هم در وزن تر و هم در وزن خشک گیاه تأثیر معنی‌داری داشت. ولی تیمار باکتری تأثیر معنی‌دار نداشت. اثرات متقابل نیز معنی‌دار نبود (جدول 2). بیشترین وزن تر و خشک در تیمار آبیاری 60 درصد آب قابل استفاده همراه با تلقیح بذر لوبیا با سویه‌های باکتری R160 و R177 بدست آمد (جدول 3).

ارتفاع بوته

تیمار آبیاری در سطح پنج درصد تأثیر معنی‌دار در ارتفاع گیاه داشته در حالی که از نظر آماری تیمار باکتری تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول 2). بیشترین ارتفاع گیاه به مقدار 134 سانتی متر در تیمار آبیاری 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R160 بدست آمد.

درصد نیتروژن

تجزیه واریانس آزمایش نشان داد، اثرات تیمار باکتری و اثر متقابل باکتری و آبیاری در مقدار نیتروژن گیاه در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشد در حالی که اثرات تیمارهای آبیاری در نیتروژن اندام هوایی گیاه اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین‌ها در آزمون دانکن نشان داد بیشترین مقدار نیتروژن به میزان 4.1 درصد در تیماری آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R160 بدست آمد که تفاوتی با سویه R177 نداشت (جدول 2 و 4).

جدول 2- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات اندازه‌گیری شده در گلخانه

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات										
		درصد نیترژن (%)	ارتفاع گیاه (cm)	وزن تر گیاه (gplant ⁻¹)	وزن خشک گیاه (gplant ⁻¹)	وزن تر برگ (gplant ⁻¹)	تعداد برگ در بوته	سطح برگ (cm ²)	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن صد دانه (g)	حجم آب مصرفی (m ³ ha ⁻¹)
تکرار(rep)	2	2/46 n.s	1588/02 **	35/46 n.s	1/87 n.s	9/60 n.s	88/58 n.s	43841 n.s	12/33 n.s	0/52 ns	41/6 n.s	273918 *
آبیاری (a)	2	0/01 n.s	2432/84 *	225/56 *	12/20 *	59/55 *	1467/25 *	187120 *	8/58 n.s	12/02 **	96/77*	5478239 **
خطای (a)	4	0/77	87/61	29/18	1/44	6/10	204/58	20929	16/79	0/31	27/94	60093
باکتری (b)	3	0/27*	349/71 n.s	0/91 n.s	0/09 n.s	1/61 n.s	7/29 n.s	2740 n.s	1/13 n.s	16/25 **	94/59 **	65159 n.s
باکتری*آبیاری (a*b)	6	0/22 *	708/91 n.s	2/50 n.s	0/18 n.s	2/08 n.s	7/87 n.s	3252 n.s	2/13 n.s	14/47 **	135/70 **	61965 n.s
خطا	18	0/44	361/91	6/24	0/36	2/73	71/76	10185	2/86	2/53	22/08	75169
	19/6	12/3	24/3	20/7	24/0	23/4	29/4	33/1	12/4			

** و * به ترتیب در سطح 1 و 5 درصد معنی دار است. n.s از لحاظ آماری معنی دار نیست.

جدول 3- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در اثر اعمال تیمارهای مختلف در گلخانه

تیمار باکتری - تنش خشکی	ارتفاع بوته (cm)	وزن تر بوته (g)	وزن خشک بوته (g)	وزن تر برگ در بوته (g)	تعداد برگ در بوته	سطح برگ (cm ²)
AW30% & R54	86b*	11/3b	1/9b	7/5bc	27/6b	380b
AW30% & R160	84b	10bc	1/7b	6/8bc	27/6b	361b
AW30% & R177	88b	9/5bc	1/6b	6c	26b	354b
AW30% & R58	90b	10/2bc	1/8b	6/3c	26/6b	356b
AW60% & R54	86b	18/2a	3/5a	10/3ab	45/6ab	551ab
AW60% & R160	134a	16/3ab	3/2Ab	9b	48/6ab	531ab
AW60% & R177	105ab	18/6a	3/8a	11/1a	50a	632a
AW60% & R58	127a	18/5a	3/9a	11/6a	46/6ab	616a
AW80% & R177	100ab	10/3bc	1/9b	6/8bc	31/3b	334b
AW80% & R54	96b	11/1bc	1/2ab	6/5bc	33b	360b
AW80% & R160	86b	10/7bc	1/8b	6/3c	29b	365b
AW80% & R54	78bc	10/1bc	2/1ab	7/1bc	29/6b	388b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری ندارند.

جدول 4- مقایسه میانگین برخی دیگر از صفات اندازه‌گیری شده در اثر اعمال تیمارهای مختلف در گلخانه

تیمار باکتری - تنش خشکی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن صد دانه (g)	حجم آب مصرفی (m ³ /ha)	ازت در بوته (%)
AW30% & R54	5b	2/3c	38b	3322 b	3/4b
AW30% & R160	6ab	5/3b	43ab	3421 b	3/6ab
AW30% & R177	5/6b	3c	35b	3344 b	3/1bc
AW30% & R58	5/6b	4/3bc	41ab	3522 b	3/4b
AW60% & R54	6ab	10/3a	29c	3833 b	3/3b
AW60% & R160	7/3a	5/3b	46a	3488 b	4/1a
AW60% & R177	6/6ab	3c	45a	3855 b	3/9a
AW60% & R58	7a	5/3b	39b	3677 b	3/3b
AW80% & R177	5/6b	4/3bc	34b	4877 a	3/7ab
AW80% & R54	4/6b	4bc	35b	4566 a	3/7ab
AW80% & R160	6ab	2c	45a	4788 a	3/4b
AW80% & R54	3/3c	8ab	28c	4555 a	3/6ab

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری ندارند.

نتایج ارزیابی مزرعه‌ای

حجم آب مصرفی

تجزیه واریانس آزمایش در مزرعه (جدول 5) نشان داد، اثرات تیمارهای آبیاری در حجم آب مصرفی در سطح یک درصد معنی‌دار بود، ولی اثرات تیمارهای باکتری در حجم آب مصرفی اختلاف معنی‌دار نبود. اثر متقابل این دو تیمار نیز معنی‌دار نشد. بیشترین حجم آب آبیاری مصرفی (4523 متر مکعب در هکتار) در تیمار آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده و کمترین حجم آب آبیاری مصرفی (3288 متر مکعب در هکتار) در تیمار آبیاری در 30 درصد آب قابل استفاده بود (جدول 7).

کارایی مصرف آب

مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که اثرات تیمارهای آبیاری در کارایی مصرف آب در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین کارایی مصرف آب به مقدار 810 گرم در متر مکعب آب توسط تیمار آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و تلفیح با سویه‌ی باکتری R160 بدست آمد (جدول 7). در کل کارایی مصرف آب برابر 640، 782 و 615 گرم در متر مکعب آب بترتیب در تیمارهای 30، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده حاصل گردید.

وزن صد دانه

نتایج آزمایش نشان داد اثرات تیمارهای آبیاری و باکتری در وزن صد دانه اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند.

(جدول 5). در عین حال مقایسه میانگین وزن صد دانه در آزمون دانکن (جدول 6)، نشان داد بیشترین وزن صد دانه به مقدار 44/2 در تیمار آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R160 بدست آمد.

درصد نیتروژن گیاه

تجزیه واریانس آزمایش حاکی از معنی‌دار شدن اثرات تیمارهای باکتری در نیتروژن اندام هوایی گیاه در سطح پنج درصد ب. در حالی که اثرات تیمارهای آبیاری در نیتروژن گیاه اختلاف معنی‌داری نداشته است (جدول 5). مقایسه میانگین بود. بر اساس آزمون دانکن، بیشترین مقدار نیتروژن اندام هوایی گیاه در تیمار آبیاری 80 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R160 به میزان 3/5 درصد بدست آمد (جدول 6).

وزن تر و خشک بوته

بر اساس تجزیه واریانس آزمایش مشاهده شد اثرات تیمارهای آبیاری در وزن تر و خشک گیاه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود، در حالی که تیمار باکتری تأثیر معنی‌داری روی این دو صفت نداشت (جدول 5). اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و باکتری در سطح پنج درصد در وزن تر و خشک معنی‌دار گردید. بیشترین وزن تر در تیمار آبیاری 30 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R54 و بیشترین وزن خشک در تیمار آبیاری 30 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R177 بدست آمده است (جدول 6).

جدول 5- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات اندازه‌گیری شده در مزرعه

وزن صد	میانگین مربعات					عملکرد کاه (kg/ha)	عملکرد دانه (kg/ha)	عملکرد بیولوژیک (kg/ha)	درجه آزادی (df)	منابع تغییر (S.O.V.)
	وزن تر (g/plant)	وزن خشک (g/plant)	تعداد غده (g/plant)	وزن غده (g/plant)	عملکرد غده (kg/ha)					
4/64 ^{n.s}	0/13 ^{n.s}	23/3 ^{n.s}	6/8 ^{n.s}	0/24 [*]	0/9 ^{n.s}	1836196 ^{n.s}	1280618 ^{n.s}	5844948 ^{n.s}	2	تکرار (rep)
12/33 ^{n.s}	0/20 ^{n.s}	2/65 [*]	26/72 [*]	0/37 [*]	9/2 ^{n.s}	1772099 [*]	2427274 [*]	80836664 [*]	2	آبیاری (a)
9/02	0/39	11/77	9/12	0/03	1/71	740154	357547	1815833	4	خطای (a)
2/76 ^{n.s}	0/20 [*]	12/20 ^{n.s}	13/28 ^{n.s}	0/01 ^{n.s}	3/91 [*]	55862 ^{n.s}	179921 ^{n.s}	382882 [*]	3	باکتری (b)
0/96 ^{n.s}	0/12 ^{n.s}	2/37 [*]	15/31 [*]	0/02 ^{n.s}	1/41 [*]	120358 ^{n.s}	118250 ^{n.s}	445138 [*]	6	آبیاری*باکتری (a*b)
4/5	0/06	5/48	15/21	0/01	2/05	89713	84511	189927	18	خطا
5/0	9/8	24/4	28	26	25	8/9	11	7/2		ضریب تغییرات (c.v.)

** و * به ترتیب در سطح 1 و 5 درصد معنی‌دار است. ns از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

جدول 6- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در اثر اعمال تیمارهای مختلف در مزرعه

تعداد غده ریزوبیوم در بوته	وزن غده ریزوبیوم در بوته (g)	نیترژن در بوته (%)	وزن 100 دانه (g)	وزن تر بوته (g)	وزن خشک بوته (g)	تیمار باکتری - تنش خشکی
2ef	0/1223b	2/9 ab	41/7a	62a	21ab	AW30% & R54
1ef	0/1000b	3/1 ab	42/2a	93a	22ab	AW30% & R160
9d	0/1693b	2/6bc	40/9a	110a	25a	AW30% & R177
3ef	0/1187b	2/3 c	41/6a	111a	22 ab	AW30% & R58
25bc	0/1777 b	2/5 bc	42/4a	60a	12b	AW60% & R54
35b	0/1893b	3/1 ab	44/2a	78a	14 ab	AW60% & R160
16cd	0/2397ab	2/8ab	43a	82a	16 ab	AW60% & R177
13cd	0/2083ab	2/4 b	43/3a	91a	23 ab	AW60% & R58
63a	0/4583a	2/8ab	43/8a	76a	16 ab	AW80% & R177
33b	0/3357ab	2/8 ab	43/6a	77a	18 ab	AW80% & R54
19bcd	0/2090ab	3/5 a	42/3a	83a	16 ab	AW80% & R160
34b	0/2640ab	2/4 b	44a	98a	21 ab	AW80% & R54

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

تعداد و وزن غده ریزوبیوم در ریشه

نبود ولی در تعداد غده در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول 5). با افزایش آب مصرفی تعداد و وزن غده‌ها افزایش یافته است، به طوری که بیشترین تعداد و وزن غده در تیمار آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده و استفاده از سویه‌ی باکتری R177 بدست آمده است (جدول 6).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تعداد و وزن غده‌های تثبیت‌کننده نیترژن در ریشه گیاه در مزرعه نشان داد، اثرات تیمارهای آبیاری در وزن غده در سطح پنج درصد معنی‌دار بود ولی در تعداد غده معنی‌دار نبود. در همین حال اثرات تیمارهای باکتری در وزن غده معنی‌دار

جدول 7 - مقایسه میانگین برخی دیگر از صفات اندازه‌گیری شده در اثر اعمال تیمارهای مختلف در مزرعه

کارایی مصرف آب (gm ⁻³)	حجم آب مصرفی (m ³ ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (kg ha ⁻¹)	عملکرد دانه (kg ha ⁻¹)	تیمار باکتری - تنش خشکی
520c	3288 c	4495c	1733c	AW30% & R54
660b	3288 c	4991c	2177bc	AW30% & R160
770 ab	3288 c	5890b	2551ab	AW30% & R177
610b	3288 c	4961c	1996c	AW30% & R58
770 ab	3798 b	6603ab	2908a	AW60% & R54
810 a	3798 b	6882a	3066a	AW60% & R160
790ab	3798 b	6594ab	2991a	AW60% & R177
760ab	3798 b	6728ab	2895a	AW60% & R58
610b	4523 a	5983b	2743a	AW80% & R177
650b	4523a	6495ab	2968a	AW80% & R54
590 c	4523 a	5921b	2700a	AW80% & R160
610c	4523 a	6138ab	2759a	AW80% & R54

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

عملکرد تولید دانه

تجزیه واریانس آزمایش نشان داد اثرات تیمار-های آبیاری در عملکرد دانه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اثرات تیمارهای باکتری و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و باکتری در عملکرد دانه معنی‌دار نبود (جدول 5). بین تیمارهای آبیاری در 60 درصد و 80 درصد آب قابل استفاده تفاوت معنی‌دار در عملکرد دانه مشاهده نشد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد بیشترین مقدار عملکرد دانه به میزان 3066 کیلوگرم در هکتار در تیمار آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و استفاده از باکتری ریزوبیوم سویه‌ی R160 بدست آمد (جدول 7).

عملکرد بیولوژیک

تجزیه واریانس عملکرد بیولوژیک آزمایش نشان داد که اثرات تیمارهای آبیاری و باکتری و اثرات متقابل آنها در عملکرد بیولوژیک در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول 5). مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد مصرف آب آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده و سویه باکتری R160 منجر به حصول حداکثر عملکرد بیولوژیک به مقدار 6882 کیلوگرم در هکتار شده است (جدول 7).

بحث

مدیریت مصرف آب در عملکرد لوبیا بسیار حائز اهمیت است به طوری که در صورت وجود تنش خشکی، عملکرد کاهش چشمگیری خواهد یافت (سینکلایر¹ و همکاران، 2001). در عین حال بر اساس یافته‌های جدید، یکی از راهکارهای کاستن از اثرات منفی تنش خشکی، افزایش سازگاری گیاه لوبیا بوسیله باکتری‌های ریزوبیوم در شرایط تنش خشکی می‌باشد (فیگوریدو² و همکاران، 2008). از آنجا که بقولات در دامنه‌های وسیع رطوبتی خاک قادر به تثبیت نیتروژن می‌باشند می‌توان سویه‌هایی با دامنه‌های حساسیت متنوع انتخاب و مصرف نمود. چرا که حساسیت به تنش رطوبتی از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است (ونکاتسوارلو³ و همکاران، 1999). وجود توده‌های ریزوبیوم در خاک‌های صحرایی و تشکیل غده-های مؤثر در این اراضی مبین توانایی کارکرد این باکتری-ها در خاک‌های با رطوبت کم می‌باشد (یانکین و همکاران، 1999). گزارش شده باکتری‌ها با ایجاد تغییرات ژنتیکی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها و محلول‌های

اسمزی سلولی باعث افزایش مقاومت گیاه لوبیا در برابر خشکی شده‌اند (شارما و سایکیا، 2013، استنفان و همکاران، 2013).

نتایج این تحقیق نشان داد باکتری‌های ریزوبیوم سویه‌ی R177 یا سویه‌ی R160، سبب حصول بیشترین کارایی مصرف آب آبیاری در لوبیا شده‌اند (جدول 7). بر اساس نتایج مزرعه‌ای این آزمایش، بیشترین عملکرد دانه به میزان 3066 کیلوگرم در هکتار در تیمار تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم سویه‌ی R160 و آبیاری در 60 درصد آب قابل استفاده خاک (تنش خشکی متوسط) بدست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار آبیاری در 80 درصد آب قابل استفاده وجود نداشت. بدیهی است این نتیجه به معنی آن نیست که آب بیشتر باعث کاهش عملکرد لوبیا شده است، بلکه مبین این موضوع است که در شرایط تنش خشکی متوسط در صورت استفاده از باکتری ریزوبیوم، سبب جلوگیری از افت عملکرد در لوبیا خواهد شد. تلقیح بذر لوبیا با باکتری ریزوبیوم سویه‌ی R160 احتمالاً از طریق افزایش اجزای عملکرد و جذب بیشتر عناصر غذایی خصوصاً نیتروژن باعث افزایش عملکرد شده است. گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش وزن صد دانه لوبیا توسط باکتری ریزوبیوم ارائه شده است (دادیور و همکاران 1386، طاهر خانی و همکاران 1386، همتی 1391). همچنین عدم کاهش عملکرد لوبیا تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم در شرایط تنش خشکی توسط محققین متعددی گزارش شده که در زیر به تعدادی از آنها اشاره می‌شود.

گزارش شده تلقیح لوبیا بانوعی باکتری ریزوبیوم باعث افزایش 50 درصدی عملکرد در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد (عدم تنش) شده است. علت این افزایش احتمالاً بهبود شرایط جذب عناصر غذایی توسط باکتری در ریزوسفر بوده، لذا عملکرد گیاه کمتر تحت تأثیر تنش آبی قرار گرفته است (سوارز، 2008). در یک آزمایش گلخانه‌ای نیز مشاهده شد در صورت تلقیح بذر لوبیا با باکتری‌های ریزوبیوم خصوصاً به صورت ترکیبی باعث کاهش اثرات منفی تنش خشکی در گیاه شده است (مارشیا و همکاران، 2008). در آزمایشی دیگر که به صورت گلخانه‌ای و مزرعه‌ای انجام شده ملاحظه گردید سویه‌های باکتری سودوموناس (*Pseudomonas aeruginosa*) از طریق افزایش آنتی‌اکسیدانها و اسمولایت‌های سلولی سبب افزایش مقاومت به خشکی در لوبیا شده‌اند (روپاک و راتول، 2014).

علاوه بر باکتری، گونه گیاه نیز در تحمل تنش آبی حائز اهمیت می‌باشد. اصولاً بقولاتی که به تنش آبی

1. Sinclair

2. Figueiredo

3. Venkateswarlu

200 کیلوگرم بذر لوبیا چیتی در هر هکتار، می‌توان از افت عملکرد محصول در تنش‌های خشکی متوسط جلوگیری نمود.

سپاسگزاری

از گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه لرستان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس و بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب که در اجرای این تحقیق اینجانب را یاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدر دانی می‌نمایم.

مقاومت زیادی دارند در درون سلول‌های خود یک سری تنظیمات اسمزی ایجاد می‌نمایند. این تنظیمات در تغییر فشار سلولی و تجمع املاح فعال اسمزی در سلول خلاصه می‌شود. یکی از این املاح پرولین می‌باشد که در لوبیا مشاهده شده بین تجمع پرولین و مقاومت به تنش رطوبی ارتباط نزدیکی وجود دارد (کاپویا، 1985).

نتیجه‌گیری

در صورت تلقیح باکتری ریزوبیوم خصوصاً سویه *R160* به مقدار 2 کیلوگرم زاد مایه باکتری با

فهرست منابع:

1. پیرولی بیرانوند ن، 1386، بررسی کارایی تثبیت بیولوژیکی ازت سویه‌های ریزوبیوم در همزیستی با دو رقم لوبیا به روش رقت ایزوتوپی ازت 15، دهمین کنگره علوم خاک ایران، کرج، ص. 22.
2. دادپور م، محمد علی خودشناس و عادل غدیری، 1386، بررسی تأثیر سویه‌های ریزوبیوم بر عملکرد و اجزاء عملکرد لوبیا قرمز، چکیده مقالات دومین همایش ملی حبوبات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران، ص. 44.
3. سازمان هواشناسی کشور 1393. اطلاعات میانگین ارتفاع بارش کشور و استان‌ها در بازه زمانی 1392/7/1 لغایت 1393/6/31، مرکز ملی پایش و هشدار خشکسالی، 17 صفحه.
4. طاهرخانی م، قربان نور محمدی، محمد جواد میر هادی و رحیم علیمحمدی، 1386، بررسی تأثیر سه نوع مایه تلقیح صنعتی بر عملکرد ارقام مختلف لوبیا در منطقه خرمدره استان زنجان، چکیده مقالات دومین همایش ملی حبوبات ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران، ص 79.
5. کشاورز ع. و کورش صادق زاده، 1379. برآورد و تقاضای آب برای آینده، بحران‌های خشکسالی، وضعیت موجود، چشم اندازهای آینده و راهکارهایی جهت بهینه سازی مصرف آب. موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، کرج، 29 صفحه.
6. همتی ا و هادی اسدی رحمانی، 1384، بررسی اثرات تلقیح سویه‌های ریزوبیوم و مصرف ازت در عملکرد و پروتئین لوبیا چیتی، اولین همایش ملی حبوبات ایران، مشهد، ایران، ص. 112.
7. همتی ا، 1389، اثر کود های بیولوژیک ریزوبیومی در کاهش مصرف کودهای ازتی و افزایش محصول لوبیا، گزارش نهایی طرح تحقیقی - ترویجی شماره 215-253-84/095 مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس
8. همتی ا، 1391، مدیریت مصرف کودهای شیمیایی در زراعت حبوبات (لوبیا)، انتشارات نشر نصوص اصفهان، 192ص.
9. Anderson, F.N. 1997. Fertilizing edible dry beans. Nebguide.G86-13. Agriculture University of Nebreska-Lincoln. 5P
10. Athar, M. 1998. Drought tolerance by lentil rhizobia from arid and semiarid areas of Pakestan .Letters In Applied Microbiology 26(1):38-42
11. Bremner, JM. 1996. Nitrogen-total. In Sparks, D.L. et al., Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 1085-1122.
12. Figueiredo, M.R., Burity, H.A., Martí'nez, C.R. , Chanway, C. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) by co-inoculation with

- Paenibacillus polymyxa and Rhizobium tropici. Applied soil ecology 40: 182 – 188.
13. Hemke, P.H. and Sparks, D.L. 1996. Potassium. In Sparks, D.L. et al., Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 1996: 551-574.
 14. Jenkins, M.B., Virginia, R.A. and Jarrel, W.M. 1999. Ecology of fast-growing and slow-growing mesquite-nodulating rhizobia in Chihuahua and Sonoran desert ecosystems. Soil Science Society of American Journal 53: 543-549.
 15. Kapuya, J. A., Barendse, G. W. M and Linskens, H.F. 1985. Water stress tolerance and proline accumulation in Phaseolus vulgaris. Acta Botanica Neerlandica 34(3): 293-300.
 16. Kishor, K. 1991. Effect of iron and molybdenum nutrients on nodulation, symbiotic N₂-fixation and grain yield of urd bean. Journal of Agricultural Research. 1: 186-193.
 17. Kuo, S. 1996. Phosphorus. In Sparks, D.L. et al., Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 869-920.
 18. Loeppert, R.H. and Suarez, D.L. 1996. Carbonate and gypsum, In: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnson, C.T. and Sumner, M.E (Eds.). Method of soil analyses part 3 chemical methods. SSSA Special publication No. 5. Madison, W.I. 437-474. I. 639-664.
 19. Marcia, V.B., Burity, H.A., Marti'nez, C.R., Chanway, C. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (Phaseolus vulgaris L.) by co-inoculation with Paenibacillus polymyxa and Rhizobium tropici. Applied Soil Ecology, 40: 182 – 188.
 20. Nelson, E.W. and Sommers, L.E. 1996. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. In Methods of Soil Analysis: Chemical Methods. Part 3. D.L. Sparks, editor. Soil Sciences Society of America.
 21. Osonubi, O., Mulongy, K., Awotoye, O., Atayese, M.O. and Okali, D.U. 1991. Effects of ectomycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on drought tolerance of four leguminous woody seedlings. Plant and Soil 136: 131-143.
 22. Ramos, M. L. G., Gordon, A.G., Minchin, F.R., Sprent, J.I. and Parsons, R. 1999. Effects of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (Phaseolus vulgaris L.). Annals of Botany 83(1): 57-63.
 23. Reed, S.T. and Martens, D.C. 1996. Copper and Zinc, In: Sparks, D.L., editor, Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods: Madison, Wisconsin, Soil Sciences Society of America, Inc.
 24. Rupak, K.S., & Ratul, S. 2014. Alleviation of drought stress in mung bean by strain Pseudomonas aeruginosa GGRJ21. Plant and Soil 377: 111-126.
 25. Sahrawat, K.L. and Rao, B.S. 1988. Macro and micronutrient uptake by nodulating and non-nodulating peanut lines. Plant and Soil 109: 291-293.
 26. Sarma, R. and Saikia, R. 2013. Alleviation of drought stress in mung bean by strain Pseudomonas aeruginosa GGRJ21. Plant Soil, The online version of this article (doi:10.1007/s11104-013-1981-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.
 27. Serraj, R., Sinclair, T. and Purcell, L. 1999. Review article. Symbiotic N₂ fixation response to drought. Journal of Experimental Botany, 50(331): 143-155.
 28. Sinclair, T.R., Purcell, L.C., Vadez, V., Serraj, R., 2001. Selection of soybean (Glycine max) lines for increased tolerance of N₂ fixation to drying soil. Agronomie 21: 653–657.
 29. Stefan M., Neculai M., Vasile, S. and Stolera, M. 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. Romanian Biotechnological Letters Vol. 18, No.2, pp.8132-8143.

30. Suarez, R.; Wong, A., Ramirez, M., Barraza, A., Orozco, M., Cevallos, M., Lara, M., Hernandez, G. and Iturriaga, G. 2008. Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia. *Molecular plant – microb interactions*. Published by APS PRESS in cooperation with the International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions 21(7): 958-966.
31. Venkateswarlu, B., Maheswari, M. and Karan, N.S. 1999. Effects of water deficits on N₂ (C₂H₂) fixation in cowpea and groundnut. *Plant and Soil* 114: 69-74.
32. Zahran, H.H. 1999. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe condition and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(4): 968-989.