نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد هشتم، شماره سوم، ۱۳۹۷
http://ejsms.gau.ac.ir

بررسی تأثیر مصرف تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی بر خصوصیات ظاهری رشد و گره‌زایی در دو رقم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

محمود محمدی*

استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۲۸

چکیده

سابقه و هدف: لوبیا یکی از حبوبات تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد. اثرات ساده و متقابل میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص قارچ‌های میکوریزی، ریزجانداران حل‌کننده فسفات و روی و باکتری‌های ریزوبیومی می‌تواند نقش بسیار مؤثری بر جذب عناصر غذائی، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، جوانه‌زنی، رشد گیاه، گره‌بندی، تثبیت زیستی نیتروژن، کلونیزاسیون ریشه و عملکرد گیاهان مختلف داشته باشد. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر مصرف تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی بر خصوصیات ظاهری رشد، گره‌زایی، تثبیت زیستی نیتروژن و کلونیزاسیون ریشه‌ای در دو رقم لوبیا چیتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل دو رقم لوبیا چیتی (تلاش و صدری)، چهار سطح فسفر (P_0: شاهد، P_1: مصرف سوپرفسفات‌تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2: مصرف کود زیستی فسفاتی (شامل مایه تلقیح حاوی باکتری حل‌کننده فسفات از جنس *Azotobacter chroococcum* strain 5 و مخلوط قارچ‌های میکوریزی از جنس *Clariodeoglomus etunicatum*، *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformiss mosseae*) و سوپرفسفات‌تریپل به‌میزان ۵۰ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک و P_3: کود زیستی فسفاتی)، سه سطح نیتروژن (N_0: شاهد، N_1: مصرف کود اوره و N_2: مصرف مایه تلقیح ریزوبیومی (*Rhizobium legominosarium bv. phaseoli* strain 133-136-111)) و سه سطح روی (Zn_0: شاهد، Zn_1: مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی و Zn_2: کود زیستی روی حاوی باکتری‌هایی از جنس *Pseudomonas aeruginosa* strain MPFM و *Pseudomonas fluorescens* strain 187) بود. صفات اندازه‌گیری‌شده شامل خصوصیات ظاهری رشد، گره‌زایی، تعداد گره، تثبیت زیستی نیتروژن و کلونیزاسیون ریشه بود.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد اثر رقم، تیمار فسفری، نیتروژنی و روی بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار شد. بیش‌ترین مقادیر این صفات از رقم صدری، تیمارهای زیستی P_2، P_3، N_2 و Zn_2 به‌دست آمد. در بین اثرات متقابل دو گانه بیش‌ترین صفات مطالعه شده از تیمارهای ترکیبی P_2Zn_2، P_2N_2 و N_2Zn_2 حاصل شد. مایه‌زنی

* مسئول مکاتبه: m.mohamadi@areeo.ac.ir

هم‌زمان لوبیا با ترکیب قارچ میکوریزی و باکتری *Azotobacter*، *Rhizobium legominosarium* و *Pseudomonas* به‌طور معنی‌داری وزن تر گیاه و تعداد گره در بوته را افزایش داد. تأثیر اثرات متقابل سه‌گانه تنها بر وزن تر و تعداد گره معنی‌دار شد. حداکثر مقدار وزن تر گیاه (٤٥/٣ گرم در گلدان) از تیمار ترکیبی $P_2N_2Zn_1$ و حداکثر تعداد گره در بوته (۲۸ عدد) از تیمار $P_3N_2Zn_2$ حاصل شد. با وجود معنی‌دار نشدن اثرات متقابل تیمارهای سه‌گانه حداکثر درجه‌بندی گره، درصد کلونیزاسیون ریشه و تثبیت زیستی نیتروژن به‌ترتیب به‌میزان ٤/١٦، ٤٤/٩ درصد و ٦٤/٤ کیلوگرم در هکتار از تیمار $P_3N_2Zn_2$ حاصل شد. همچنین بیش‌ترین میزان وزن خشک گیاه، تعداد بوته جوانه‌زده شده و سرعت سبزشدن به‌ترتیب به‌میزان ۲۲/۵ گرم در گلدان، ٤/٣ بوته در گلدان و ۰/٥٤ بوته در روز از تیمارهای ترکیبی $P_2N_2Zn_2$ و $P_2N_2Zn_3$ به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: حداکثر صفات بررسی شده از تیمارهای زیستی P_2، P_3، N_2 و Zn_2 حاصل شد که نشان‌دهنده نقش مؤثر قارچ‌های میکوریزی، باکتری‌های حل‌کننده فسفات، روی و تثبیت‌کننده نیتروژن در افزایش خصوصیات ظاهری رشد، وزن تر و خشک گیاه، گره‌زایی، کلونیزاسیون ریشه، تثبیت زیستی نیتروژن و کاهش مصرف کودهای فسفره و نیتروژنه می‌باشد. با مصرف تیمارهای تلفیقی دوگانه و سه‌گانه تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی صفات بررسی شده افزایش یافت. جهت افزایش خصوصیات ظاهری رشد، گره‌زایی و دیگر صفات بررسی شده در این آزمایش مصرف تلفیقی تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی (تیمار $P_2N_2Zn_2$) توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرعت رشد، کلونیزاسیون، گره، میکوریزا، وزن خشک

مقدمه

عوارض و پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی، افزایش هزینه‌های تولید و تخریب منابع آب و خاک، منجر به ترغیب تولید و مصرف کودهای زیستی و به‌کارگیری نظام‌های زراعی سالم و پایدار شده است (۳۱ و ٣٤). از جمله این کودها می‌توان به کودهای زیستی حاوی قارچ‌های میکوریزی (۱۷)، باکتری‌های حل‌کننده اشکال نامحلول فسفر و روی (١٤ و ٢٤) و باکتری‌های ریزوبیومی تثبیت‌کننده نیتروژن اتمسفر (٣٤) اشاره نمود. قارچ‌های میکوریزا از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک و گیاه محسوب می‌شوند که با ریشه بیش از ۹۷ درصد گیاهان همزیستی دارند (٢٦). از مهم‌ترین اثرات مثبت همزیستی میکوریزی می‌توان به افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه عناصر با تحرک‌پذیری پائین در خاک مانند فسفر و روی، بهبود تغذیه گیاه، افزایش کارآیی و بهره‌وری مصرف آب و افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری و آفات و بیماری‌ها اشاره نمود (۱۷ و ٢٦). باکتری‌های حل‌کننده فسفات گروهی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که توانایی تبدیل فسفات‌های معدنی نامحلول را به ترکیبات معدنی محلول و قابل‌دسترس گیاهان را دارند (۱۳ و ٢٤). استفاده از باکتری‌های حل‌کننده روی[1] یکی از راه‌کارهای مفید در آزادسازی روی از ترکیبات نامحلول روی در خاک‌های آهکی و قلیایی می‌باشد (٢٤). در بین باکتری‌های حل‌کننده روی جنس *Pseudomonas* یکی از مهم‌ترین باکتری‌های حل‌کننده فسقات و روی در گیاهان است که به‌دلیل تولید طیف

1- Zinc Solubilizing Bacteria

گسترده‌ای از ترکیبات تحریک‌کننده رشد گیاه مانند تولید اکسین، سیدروفور، اسید سالیسیک و کیتیناز به‌طور غیرمستقیم باعث افزایش جذب روی و دیگر عناصر غذایی می‌شود (۱۳).

لوبیا یکی از حبوبات تثبیت‌کننده نیتروژن (*Phaseolus vulgaris* L.) می‌باشد. مقدار تثبیت نیتروژن در لوبیا ۱۶۲-۱۵ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (۳۵). مطالعه واسل و همکاران (۲۰۰۲) در سویا نشان داد، تلقیح هم‌زمان باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas striata*) و باکتری همزیست (*Bradyrhizobium japonicum*) سبب افزایش معنی‌دار صفاتی مانند گره‌زایی، وزن خشک گره‌ها، وزن خشک گیاه و عملکرد شده است (۳۳). گال و همکاران (۲۰۰٤) گزارش نمودند استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات و باکتری‌های ریزوبیومی باعث افزایش ۱/۵ تا ۲ برابری تعداد گره در نخود شدند (۱۱). پژوهش‌های ردریش و همکاران (۲۰۰۵) نشان می‌دهد، استفاده از ریزجانداران حل‌کننده فسفات باعث افزایش جوانه‌زنی بذور، جذب عناصر غذایی، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، گره‌بندی، کارآیی تثبیت زیستی نیتروژن، رشد و عملکرد گیاه نخود نسبت به شاهد شده است (۲۳). بررسی‌های جنوا و همکاران (۲۰۰٦) نشان می‌دهد مصرف میکوریزا و ریزوبیوم در محیط کشت نخود سبب افزایش وزن خشک گیاه، سرعت فتوسنتز، تولید غده‌های همزیست در ریشه و افزایش فعالیت تثبیت نیتروژن می‌شود (۹). سون و همکاران (۲۰۰٦) در بررسی اثر *Bradyrhizobium japonicum* و *Pseudomonas* spp بر رشد سویا گزارش نمودند استفاده از این دو گونه موجب افزایش رشد گیاه، تعداد گره، وزن گره، عملکرد دانه و جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر شده است (۲۷). بررسی‌های شبلین و هجدین (۲۰۰٦) نشان می‌دهد استفاده از قارچ‌های میکوریزی باعث افزایش ۵ تا ۷٤ درصدی کلونیزاسیون گره‌های ریشه در سه گونه متفاوت از لگوم‌ها شده است (۲۵). مطالعه وانگ و همکاران (۲۰۱۱) در خصوص تلقیح هم‌زمان قارچ *Arbuscular mycorrhizal* و *Rhizobia* در سویا نشان داد، تلقیح هم‌زمان باعث افزایش وزن خشک ریشه و افزایش معنی‌دار رشد سویا در شرایط فسفر و نیتروژن کم در خاک می‌گردد. همچنین در ژنوتیپ‌های با سیستم ریشه‌ای عمیق‌تر، مقدار کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریزی در شرایط با فسفر پائین خاک بیش‌تر است و گره‌زایی بیش‌تری در شرایط فسفر کافی نسبت به ژنوتیپ‌های با سیستم ریشه‌ای کم‌عمق وجود دارد (۳۲). پژوهش‌های تجینی و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد، تلقیح هم‌زمان *Glomus intarardices* و *Rhizobium tropici* CIAT 899 باعث افزایش گره‌زایی، جذب بیش‌تر نیتروژن و فسفر در اندام هوایی، بهبود کارآیی مصرف فسفر، افزایش تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش کلونیزاسیون ریشه لوبیا به‌خصوص در شرایط کمبود فسفر شده است (۲۹). زایدی و همکاران (۲۰۰۳) در آزمایشی اثر قارچ‌ها حل‌کننده فسفات، ریزوبیوم و مایکوریزا را بر گره‌زایی ریزوبیوم در نخود مطالعه کرده و گزارش نمودند تعداد گره ریزوبیوم در تلقیح دوگانه ریزوبیوم و مایکوریزا نسبت به تلقیح جداگانه آن‌ها بیش‌تر بود (دو برابر نسبت به ریزوبیوم تنها). همچنین تلقیح سه‌گانه ریزوبیوم، مایکوریزا و قارچ‌های حل‌کننده فسفات باعث افزایش تعداد گره (سه برابر نسبت به ریزوبیوم تنها) نسبت به تلقیح دوگانه شد (۳٦). ناظری و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند کاربرد کود زیستی فسفاتی حاوی روی در لوبیا باعث افزایش وزن خشک گیاه، سرعت رشد محصول، سرعت رشد نسبی گیاه و سرعت جذب خالص در

این گیاه شد (۱۹). ابوالفضلی و همکاران (۲۰۱٦) گزارش نمودند در اثر کاربرد میکوریزا در عدس تعداد گره، نیتروژن اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، کلروفیل و درصد کلونیزاسیون ریشه افزایش یافت (۲). این پژوهش با هدف افزایش رشد، خصوصیات رشدی و گره‌زایی در دو رقم لوبیا چیتی با مصرف کودهای زیستی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد اجرا شد. تیمارهای این آزمایش عبارت بودند از فاکتور اول ارقام لوبیا چیتی شامل C_1: تلاش و C_2: صدری، فاکتور دوم مصرف فسفر در چهار سطح (P_0: شاهد، P_1: مصرف سوپرفسفات‌تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2: مصرف کود زیستی فسفاتی (شامل مایه تلقیح حاوی باکتری حل‌کننده فسفات از جنس *Azotobacter chroococcum* strain 5 و مخلوط قارچ‌های میکوریزی از جنس *Clariodeoglomus etunicatum*، *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformiss mosseae*) و سوپرفسفات‌تریپل به‌میزان ۵۰ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک و P_3: مصرف کود زیستی فسفاتی، فاکتور سوم کاربرد نیتروژن در سه سطح (N_0: شاهد، N_1: مصرف کود اوره و N_2: مصرف مایه تلقیح ریزوبیومی حاوی *Rhizobium legominosarium* (*bv. phaseoli* strain 133-136-111) و فاکتور چهارم روی در سه سطح (Zn_0: شاهد، Zn_1: مصرف سولفات روی مطابق نتایج آزمون خاک و Zn_2: تیمار زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده روی شامل مایه تلقیح حاوی باکتری‌هایی از جنس *Pseudomonas aeruginosa* strain MPFM و *Pseudomonas fluorescens* strain 187) بود. قبل از اجرای آزمایش نمونه مرکب خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری از اراضی لوبیا کاری منطقه کیار استان چهارمحال و بختیاری برداشت و جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیائی به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش.

Table 1. Soil chemical and physical characteristics of the research site.

Sand	Silt	Clay	TNV	OC	N	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	EC
شن	سیلت	رس	مواد خنثی‌شونده	کربن آلی	نیتروژن	مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	هدایت هیدرولیکی
			(%)						(mg Kg^{-1})			($dS\ m^{-1}$)
20	54	26	24.5	0.92	0.073	0.93	8.96	0.58	4.11	311	6	0.88

سپس خاک به اندازه کافی برداشت و به گلخانه انتقال داده شد و پس از عبور از الک ٤ میلی‌متری، با تراکم مناسب در گلدان‌های پنج کیلوگرمی (گلدان ۲۱٦ = تکرار ۳ × تیمار ۷۲ =۳ × ۳ × ٤ × ۲) ریخته شد. میزان کود فسفاتی نیتروژنی، روی و دیگر عناصر غذایی بر مبنای آزمون خاک محاسبه و قبل از کشت با خاک گلدان‌ها مخلوط شد. فسفر از منبع سوپرفسفات‌تریپل به میزان ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم برای تیمار P_1 و P_2، نیتروژن از منبع اوره و روی از منبع سولفات روی از هر کدام به‌میزان ۱۲/۵

میلی‌گرم در کیلوگرم در تیمار N_1 و Zn_1 به خاک اضافه شد. کود زیستی فسفاتی به‌صورت دانه‌ای شامل قارچ‌های میکوریزی (با جمعیت حداقل ۷۰ اسپور در هر گرم) و باکتری‌های حل‌کننده فسفات از جنس *Azotobacter* حاوی $۱/۸ \times ۱۰^{۸}$ سلول باکتری در هر گرم به‌صورت مایه تلقیح بود. برای هر ۱۰ کیلوگرم قارچ‌های میکوریزی، یک کیلوگرم مایه تلقیح *Azotobacter* استفاده شد و به‌خوبی به‌هم زده شد. سپس به‌ازای هر بذر مقدار دو گرم از این کود در سوراخ زیر بذر قرار داده شد. از این دو گرم ۱/۸ گرم قارچ‌های میکوریزی و ۰/۲ گرم مایه تلقیح *Azotobacter* بود. در مورد کودزیستی روی، بذرها قبل از کشت با مایه تلقیح حاوی باکتری‌های حل‌کننده ترکیبات نامحلول روی با CFU، $۲/۳×۱۰^{۸}$ باکتری در هر گرم مایه تلقیح و کود زیستی نیتروژن با مایه تلقیح ریزوبیومی *Rhizobium legominosarium bv. phaseoli* strain 133-136-111 از سوش‌های سازگار با مناطق سرد و معتدل کشور با جمعیت حداقل $۵×۱۰^{۷}$ باکتری در هر گرم مایه تلقیح با نسبت پنج درصد به‌صورت بذرمال تلقیح شدند. بعد از تلقیح بذری و اندکی هوا خشک شدن سطوح بذور بلافاصله اقدام به کشت گردید. بذور مورد استفاده در این آزمایش از مرکز تحقیقات ملی لوبیا (ایستگاه تحقیقات کشاورزی خمین) و مایه‌های تلقیح و کودهای زیستی ازکلکسیون میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. در هر گلدان ابتدا پنج بذر لوبیا کشت شد و پس از رسیدن بوته‌ها به مرحله دوبرگی تنک‌شده و در نهایت سه بوته در هر گلدان باقی ماند. گلدان‌ها در گلخانه با نور طبیعی و دمای ۱۵ تا ۳۰ درجه سیلسیوس و طول روز ۱٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی قرار داده شدند. همچنین در طول دوره رشد مراقبت‌های لازم مانند آبیاری، تنظیم نور و رطوبت در حد ٦۰ درصد ظرفیت مزرعه، مبارزه با آفات و امراض برای تمامی تیمارها به‌طور یکسان اعمال شد. در شروع غلاف‌بندی یعنی در اوج گلدهی آبیاری قطع گردید و اندام هوایی لوبیاهای خارج شده از گلدان از محل طوقه جدا شده و مراحل شستشو و خشک نمودن در آون جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر انجام شد. در این آزمایش صفاتی شامل سرعت سبز شدن بوته، متوسط تعداد بوته‌های جوانه‌زده شده، وزن تر و خشک اندام هوایی و تعداد گره (۵) اندازه‌گیری شدند. برای به‌دست آوردن وزن تر اندام هوایی سه بوته برداشت‌شده از گلدان‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ وزن شده و میانگین آن‌ها به‌عنوان وزن تر و در ادامه نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال گرم اندازه‌گیری شد و به‌عنوان وزن خشک محسوب شد. برای شمارش تعداد گره پس از برداشت گیاه ریشه را به آرامی در آب قرار داده و پس از شستشو کامل سیستم ریشه‌ای تعداد گره‌ها شمارش شدند. درجه‌بندی گره به روش کوربین و همکاران (۱۹۹۷) مطابق جدول ۲ اندازه‌گیری شد (۸). جهت تعیین میزان نیتروژن زیستی تثبیت‌شده با استفاده از تفاوت نیتروژن تثبیت‌شده به روش چیکوو و همکاران (۲۰۰٤)، محاسبه شد (۷). نمونه خاک و نمونه گیاه از داخل هر گلدان برداشت شد و میزان نیتروژن موجود در آن‌ها اندازه‌گیری شد. در این روش از یک گیاه لگوم تثبیت‌کننده نیتروژن و یک گیاه غیرلگوم یا گیاه لگومی که قادر به تثبیت زیستی نیتروژن نیست، استفاده می‌شود. گیاه غیرلگوم استفاده شده در این آزمایش ارزن بود.

N2fixed = (NLeg - Nnonfix) + (Soil NLeg – Soil Nnonfix)

که در آن، N2fixed میزان نیتروژن تثبیت‌شده بر حسب کیلوگرم در هکتار که با احتساب وزن یک هکتار خاک محاسبه شد، Nleg نیتروژن تجمع‌یافته در گیاه لگوم، Nnonfix نیتروژن تجمع‌یافته در گیاه غیر لگوم، Soil Nleg میزان نیتروژن در خاک ناحیه ریشه گیاه لگوم و Soil Nnonfix میزان نیتروژن در خاک ناحیه ریشه غیرلگوم.

جدول ۲- روش درجه گره‌بندی برای لگوم‌ها (Corbin et al., 1977).

Table 2. Method of nodule scoring for food legumes.

درجه گره‌بندی	توزیع و تعداد گره‌های مؤثر Distribution and number of effective nodules	
	در ناحیه تاج ریشه* Crown	در سایر قسمت‌های ریشه Elsewhere
0	0	0
1	<5	0
2	5-10	0
3	>10	0
4	>10	<5
5	>10	>10

* تاج ریشه عبارت است از ۷ سانتی‌متر بالایی ابتدای ریشه.

* Crown regarded as top 7 cm of root system.

درصد کلونیزاسیون ریشه به روش تقاطع خطوط شبکه[1] تعیین شد. به‌منظور رنگ‌آمیزی ریشه‌ها حدود پنج گرم ریشه به‌صورت تصادفی برداشت و در ظرف آبی خاک آن‌ها به‌خوبی شستشو داده شد و به روش فیلیپ و هایمن (۱۹۷۰) رنگ‌آمیزی شدند. ابتدا ریشه در محلول ۱۰ درصد هیدروکسید پتاسیم قرار داده شده و پس از رنگ‌بری، با محلول یک درصد اسید کلریدریک شستشو و به‌مدت ۲٤ ساعت در محلول ۰/۰۱ درصد تریپان بلو در لاکتوگلیسرول قرار داده شد. سپس درصد کلونیزاسیون با روش خطوط متقاطع محاسبه شد (۲۲). در پایان داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد انجام شد.

1- Gridline intersection method

نتایج و بحث

تعداد بوته سبز شده و سرعت سبزشدن: نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد بین ارقام به‌کار رفته در این آزمایش، اختلاف معنی‌داری در تعداد بوته‌های جوانه‌زده و سرعت سبزشدن وجود داشت (جدول ۳). بیش‌ترین تعداد بوته سبزشده (۳/۷۳ بوته) و سرعت سبزشدن (۰/٤٦ بوته در روز) از رقم صدری به‌دست آمد (جدول ٤). اثر تیمارهای فسفری، نیتروژنی و روی بر این صفت تفاوت معنی‌دار ایجاد نمود (جدول ۳). حداکثر تعداد بوته سبزشده در تیمار فسفری از تیمار P_3 به‌میزان ۳/۹۲ بوته حاصل شد که با تیمار P_2 اختلاف معنی‌دار نشان نداد. در تیمار نیتروژنی، بیش‌ترین تعداد بوته از تیمار N_2 با ۳/٦۲ بوته بود که با تیمار N_1 تفاوت معنی‌دار نشان نداد. در تیمار روی، بیش‌ترین تعداد بوته از تیمار زیستی Zn_2

با ۳/۸۳ بوته حاصل شد (جدول ٤). در بین اثرات متقابل، برهمکنش رقم در فسفر در روی بر این صفت معنی‌دار شد. سرعت سبزشدن بوته‌ها با مصرف تیمار فسفری، نیتروژنی و روی تفاوت معنی‌دار نشان داد. حداکثر سرعت سبزشدن در تیمار فسفری از تیمار P_3 به‌میزان ۰/٤۹ بوته در روز به‌دست آمد که افزایش ۳۲/۵ درصدی نسبت به شاهد نشان داد (جدول ٤). در تیمار نیتروژنی و روی، بیش‌ترین میزان سرعت سبزشدن از تیمار زیستی N_2 و Zn_2 به‌ترتیب به‌میزان ۰/٤۵و ۰/٤۷ بوته در روز به‌دست آمد (جدول ٤). در بین اثرات متقابل، تنها برهمکنش رقم در فسفر در روی بر این صفت معنی‌دار شد. حداکثر سرعت سبزشدن از رقم صدری و تیمار P_2Zn_2 به‌میزان ۰/۵۳ بوته در روز به‌دست آمد. با وجود معنی‌دار نشدن اثرات متقابل تیمارها، حداکثر سرعت سبزشدن از تیمار $P_2N_2Zn_2$ با ۰/۵٤ بوته در روز به‌دست آمد که با تیمار $P_3N_2Zn_2$ در یک گروه آماری مشترک قرار گرفتند. حداقل سرعت جوانه‌زنی از تیمار شاهد به‌دست آمد. سبزشدن بذر به فاکتورهای مختلف از جمله دما، رطوبت و اکسیژن خاک بستگی دارد. توانایی ظهور گیاهچه، جنبه مهمی از کیفیت بذر است که بستگی به‌سرعت جوانه‌زنی بالا دارد. بذرهایی که سریع‌تر جوانه می‌زنند و گیاهچه‌های آن‌ها زودتر ظاهر می‌شوند، دارای دوره فتوسنتزی طولانی‌تری، توسعه ریشه سریع‌تر، امکان رهایی از خطر بیماری‌های گیاهچه، بهره‌برداری بیش‌تر از فصل رشد و شانس تولید محصول بیش‌تری می‌باشند (۱۵). افزایش تعداد بوته‌های جوانه‌زده شده و سرعت جوانه‌زنی در این پژوهش در تیمارهای زیستی با نتایج پژوهش‌های زایدی و همکاران (۲۰۰۳)، حمیدی و همکاران (۲۰۰۹)، ناظری و همکاران (۲۰۱۲) و زهیر و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت می‌کند. قارچ‌های میکوریزی می‌توانند سرعت جوانه‌زنی را از طریق افزایش جذب مواد غذایی، بهبود ساختار فیزیکی خاک، افزایش محتوای ماده آلی و نیتروژن قابل‌دسترس، افزایش مقدار سیتوکنین و کلروفیل، تولید اکسین بیش‌تر و افزایش سطح فعال سیستم ریشه‌ای افزایش دهند (۱۷، ۲۵، ۲٦ و ۲۹).

باکتری‌های سودوموناس و ریزوبیومی مورد استفاده نیز باعث افزایش تعداد بوته‌های جوانه‌زده و سرعت سبزشدن شدند (تیمارهای N_2 و Zn_2). پژوهش‌های بهل و همکاران (۲۰۰٦) نشان داد اثر مثبت کاربرد هم‌زمان باکتری ازتوباکتر و قارچ میکوریزا در افزایش رشد گیاه، درصد جوانه‌زنی بذرها، ریشه‌زایی و گسترش ریشه ناشی از تأثیر ازتوباکتر در افزایش رشد ریشه‌های مویی، افزایش رشد طولی میسیلیوم‌های قارچ و نفوذ آن‌ها به لایه‌های زیرین خاک و سنتز هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول‌استیک اسید، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها می‌باشد، که این امر امکان دسترسی گیاه به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (٦).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر استفاده از تیمارهای فسفری، نیتروژنی و روی بر صفات مورد مطالعه در دو رقم لوبیا.

Table 3. Anova table for the effects of Phosphorus, Nitrogen and Zinc treatments on the studied parameters of two bean cultivars.

تثبیت زیستی نیتروژن Biological Nitrogen Fixation	درصد کلونیزاسیون Colonization percent	درجه گره‌بندی Nodulation grade	تعداد گره Nodule number	وزن خشک Dry weight	وزن تر Wet weight	سرعت سبزشدن Emergency speed	تعداد بوته جوانه‌زده Number of plant emergency	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variation
میانگین مربعات Means of squares									
1482**	413*	5*	376**	1050**	332**	0.18**	12**	1	رقم Cultivar
4866**	1270**	9.6**	372**	161**	122**	0.13**	9**	3	فسفر (P)
6952**	1319**	7.3**	388**	75**	131*	0.03**	2.3**	2	نیتروژن (N)
9153**	271^{ns}	4.8**	239**	91**	303**	0.19**	12.5**	2	روی (Zn)
287**	22^{ns}	1.4*	67**	2^{ns}	38^{ns}	0.002^{ns}	0.15^{ns}	6	فسفر × روی (P×Zn)
109*	27^{ns}	1^{ns}	26^{ns}	3.6^{ns}	6.7^{ns}	0.002^{ns}	0.14^{ns}	6	فسفر × نیتروژن (P×N)
410**	18^{ns}	0.8^{ns}	20^{ns}	2.8^{rs}	16.6^{ns}	0.009^{ns}	0.6^{ns}	4	نیتروژن × روی (N×Zn)
63^{ns}	180^{ns}	0.7^{ns}	24.5^{ns}	12^{ns}	161**	0.01^{ns}	0.8^{ns}	3	رقم × فسفر Cultivar×P
66^{ns}	11.4^{ns}	0.6^{ns}	30^{ns}	5.4^{rs}	21.5^{ns}	0.01^{ns}	0.6^{ns}	2	رقم × روی Cultivar×Zn
377**	25^{ns}	0.6^{ns}	25^{ns}	5.3^{ns}	0.5^{ns}	0.01^{ns}	0.6^{ns}	2	رقم × نیتروژن Cultivar×N
46^{ns}	9.2^{ns}	0.8^{ns}	50*	1.6^{rs}	15^{ns}	0.02**	1.6**	6	رقم × روی × فسفر Cultivar×P×Zn
61^{ns}	17.4^{ns}	0.2^{ns}	12.5^{ns}	4.3^{rs}	27.3^{ns}	0.005^{ns}	0.3^{ns}	6	رقم × نیتروژن × فسفر Cultivar×P×N
35^{ns}	34.6^{ns}	0.2^{ns}	4.5^{ns}	0.5^{ns}	9.4^{ns}	0.002^{ns}	0.15^{ns}	4	رقم × روی × نیتروژن Cultivar×N×Zn
32^{ns}	52^{ns}	0.6^{ns}	28*	1.4^{rs}	45*	0.006^{ns}	0.4^{ns}	12	روی × نیتروژن × فسفر P×N×Zn
29^{ns}	52.6^{ns}	0.9*	34*	1.6^{rs}	28^{ns}	0.003^{ns}	0.24^{ns}	12	رقم × روی × نیتروژن × فسفر Cultivar×P×N×Zn
28.7	92	0.5	14.6	5.5	28	0.006	0.4	142	خطا Error
								215	کل Total
12.3	10.5	12	8	12.6	14	10.3	11		ضریب تغییرات CV%

^{ns}، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}, * and ** Non significant and significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$ respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای فسفری، نیتروژنی و روی بر صفات مورد مطالعه دو رقم لوبیا.

Table 4. Mean comparison of simple effects of phosphorus, Nitrogen and Zinc treatments on studied parameters of two cultivars of bean.

تثبیت زیستی نیتروژن Biological Nitrogen Fixation	کلونیزاسیون Colonization percent	درجه گره‌بندی Nodulation grade	تعداد گره Nodule number	وزن خشک Dry weight	وزن تر Wet weight	سرعت سبزشدن Emergency speed	**بوته** جوانه‌زده Number of plant emergency	
کیلوگرم در هکتار ($Kg\ ha^{-1}$)	درصد (٪)		تعداد در بوته Number per shrub	گرم در گلدان Gram per pot		بوته در روز Plant per day	تعداد در گلدان Number per pot	رقم Cultivar
40.6^{b}	30.5^{b}	2^{b}	15^{b}	16.3^{b}	28.3^{b}	0.4^{b}	3.25^{b}	تلاش (C_1-Talash)
45.9^{a}	33.3^{a}	2.3^{a}	17.7^{a}	20.7^{a}	30.7^{a}	0.46^{a}	3.73^{a}	صدری (C_2-Sadri)
								فسفر (P)
29^{d}	28.7^{c}	1.8^{c}	13.4^{c}	16.7^{b}	24.3^{c}	0.37^{c}	3^{c}	P_0
39.9^{c}	26.8^{b}	2^{b}	16^{b}	17.5^{b}	28.4^{b}	0.41^{b}	3.31^{b}	P_1
54^{a}	35.4^{a}	2.2^{b}	16.6^{b}	20^{a}	35.8^{a}	0.46^{a}	3.72^{a}	P_2
50.3^{b}	36.7^{a}	2.8^{a}	19.8^{a}	20^{a}	29.5^{b}	0.49^{a}	3.9^{a}	P_3
								نیتروژن (N)
32.2^{c}	27^{b}	1.9^{c}	14.2^{c}	17.3^{b}	28.1^{b}	0.41^{b}	3.29^{b}	N_0
46.5^{b}	33.2^{a}	2^{b}	16.2^{b}	$0/19^{a}$	29.5^{a}	0.44^{a}	3.56^{a}	N_1
51^{a}	35.4^{a}	2.5^{a}	18.9^{a}	19.2^{a}	30.8^{a}	0.45^{a}	3.62^{a}	N_2
								روی (Zn)
30.4^{c}	30^{a}	1.9^{b}	14.3^{b}	17.2^{b}	27.8^{b}	0.37^{c}	3^{c}	Zn_0
48^{b}	32^{a}	2.3^{a}	17.5^{a}	19.2^{a}	31.8^{a}	0.45^{b}	3.62^{b}	Zn_1
51.4^{a}	33.8^{a}	2.4^{a}	17.5^{a}	19.1^{a}	28.9^{b}	0.47^{a}	3.83^{a}	Zn_2

در هر ستون میانگین‌هایی که در هر قسمت حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

C_1: رقم تلاش، C_2:رقم صدری، P_0: شاهد، P_1: مصرف سوپرفسفات‌تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2: مصرف کود زیستی فسفاتی و سوپرفسفات‌تریپل به‌میزان ۵۰ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک، P_3: مصرف کود زیستی فسفاتی، N_0: شاهد، N_1: مصرف کود اوره، N_2: مصرف مایه تلقیح ریزوبیوم، Zn_0: شاهد، Zn_1: مصرف سولفات روی و Zn_2: کود زیستی روی.

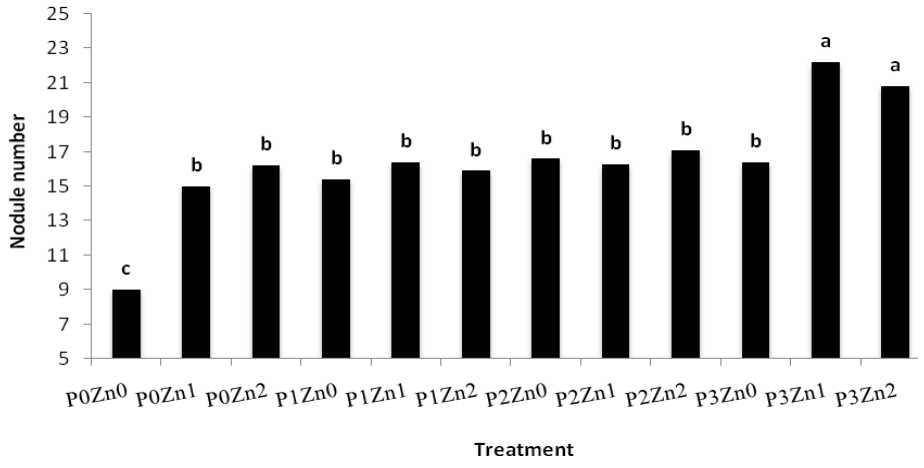
Means in an each column by a different letter are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple range test.
C_1: Talash cultivar, C_2: Sadri cultivar, P_0: Blank, P_1: Use of TSP on the basis of soil test, P_2: Use of 50 percent of TSP on the basis of soil test+ Phosphate bio-fertilizer P_3: Use of phosphate bio-fertilizer, N_0: Blank, N_1: use of Urea fertilizer, N_2: use of rhizobium inoculum, Zn_0: Control, Zn_1: use of $ZnSO_47H_2O$ and Zn_3: Use of Zn bio-fertilizer.

وزن خشک و تر گیاه: بین دو رقم استفاده تفاوت معنی‌داری از نظر وزن خشک و تر اندام هوایی مشاهده شد (جدول ۲). رقم صدری وزن خشک و تر بیش‌تری در مقایسه با رقم تلاش داشت (جدول ٤). این از ویژگی‌های ژنتیکی رقم‌ها می‌باشد (۳٤). رقم صدری از درصد شاخ و برگ بیش‌تری درمقایسه با رقم تلاش برخوردار بود. کاربرد تیمار فسفری باعث تفاوت معنی‌دار وزن‌تر و خشک اندام هوایی شد (جدول ۳). حداکثر وزن‌تر و خشک از تیمار P_2 به‌ترتیب به‌میزان ۳۵/۸ و ۲۰ گرم در گلدان به‌دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد ٤۷/۳ و ۱۹/۷ درصد افزایش را نشان داد (جدول ٤). تأثیر تیمار نیتروژنی و تیمار روی در وزن تر و خشک اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول ۳). حداکثر مقدار وزن تر و خشک اندام هوایی از تیمار N_2 به‌ترتیب به‌میزان ۳۰/۸ و ۱۹/۲ گرم در گلدان به‌دست آمد (جدول ٤). بیش‌ترین میزان وزن تر اندام هوایی از تیمار Zn_1 به‌میزان ۳۱/۸ گرم در گلدان به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۱٤/۵ درصد افزایش داشت (جدول ٤). در بین اثرات متقابل، اثر رقم در فسفر و اثر فسفر در نیتروژن در روی فقط بر وزن تر اندام هوایی معنی‌دار شد (جدول ۳). حداکثر میزان وزن‌تر اندام هوایی از رقم صدری و تیمار P_2 (تیمار C_2P_2) به‌میزان ۳۹/۳ گرم در گلدان و حداقل مقدار آن از رقم تلاش و تیمار فسفری P_0 (تیمار C_1P_0) به‌میزان ۲٤/۷ گرم در گلدان حاصل شد. از بین اثرات متقابل سه‌گانه بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی از تیمار ترکیبی $P_2N_2Zn_1$ به‌میزان ٤۵/۳ گرم در گلدان حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۱٤۳ درصد افزایش را نشان داد. با نفوذ ریسه‌های قارچ‌های میکوریزی به درون سیستم گیاه، ریشه گیاه به حجم بیش‌تری از خاک دسترسی پیدا کرده و به‌دلیل تولید سطح برگ بیش‌تر جذب آب و مواد غذایی افزایش یافته و تثبیت CO_2 و تجمع ماده خشک برای گیاه افزایش می‌یابد (۲٦). همچنین استفاده از قارچ میکوریزی سرعت رشد گیاه را افزایش داده و بر تخصیص و انتقال بیوماس بین ریشه و ساقه اثر می‌گذارد به‌طوری‌که با جذب بیش‌تر عناصر غذایی و انتقال آن‌ها ارتفاع گیاه و وزن خشک و تر اندام‌های هوایی افزایش می‌یابد (۱۷). افزایش شاخص سطح برگ یکی از عوامل افزایش‌دهنده تولید ماده خشک محسوب می‌گردد. پژوهش‌های زیادی مبنی بر افزایش نیتروژن گیاه غلظت کلروفیل در برگ و افزایش فتوسنتز و بالارفتن تولید ماده خشک در گیاه شده است (۲۳). باربارا و رابسون (۱۹۹٤) نشان دادند قارچ‌های میکوریزا در شرایط طبیعی می‌توانند با جذب بیش‌تر آب و عناصر غذایی، میزان فتوسنتز خالص و تولید ماده خشک گیاه را افزایش دهند. به‌طوری‌که کاربرد *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* و ترکیب این دو گونه به‌ترتیب باعث افزایش ۵۵/۲، ٤۷/۳ و ۲۹/۷ درصدی ماده خشک شاخساره عدس نسبت به شاهد شده است (٤). مصرف تیمارهای زیستی در این پژوهش در ارتباط با بهبود جذب آب و مواد غذایی مانند نیتروژن، فسفر و عناصر غذایی کم‌تحرک از خاک است. با تأمین عناصر غذایی و آب برای گیاه، می‌تواند باعث افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه، شاخص سطح برگ، سرعت فتوسنتز، سرعت رشد محصول شود و متعاقب آن ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک اندام هوایی افزایش می‌یابد.

تعداد گره و درجه‌بندی گره: بین ارقام مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در تعداد گره و درجه‌بندی گره مشاهده شد (جدول ۳). تعداد گره و درجه‌بندی گره در رقم صدری بیش‌تر از رقم تلاش بود (جدول ٤). کاربرد تیمار فسفری باعث تفاوت معنی‌دار در این دو صفت شد (جدول ۲). حداکثر تعداد گره و درجه‌بندی گره از تیمار زیستی P_3 به‌ترتیب به‌میزان ۱۹/۸ گره در بوته و ۲/۸ به‌دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد ٤۷/۷ و ۵۵/۵ درصد افزایش را نشان

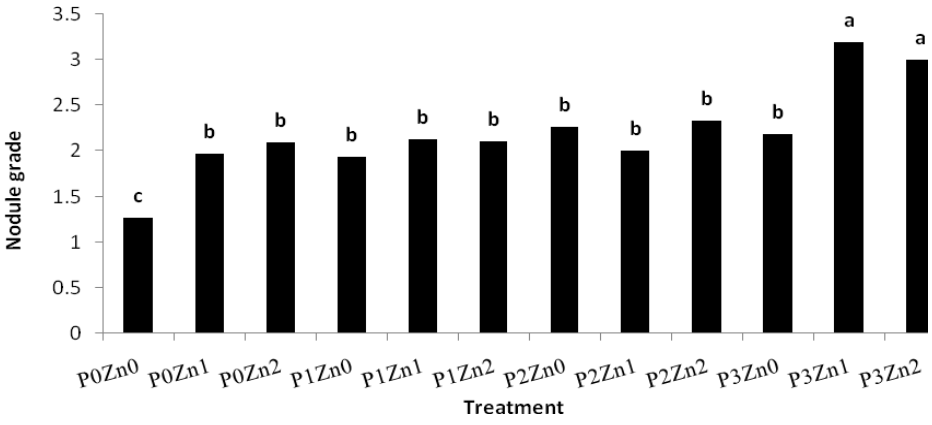
داد (جدول ٤). در لوبیا مقدار کافی فسفر برای رشد گیاه و تشکیل گره و تثبیت نیتروژن ضروری است. گره‌زایی به منابع فسفر بالائی نیاز دارد و تشکیل گره نیازمند اختصاص منابع فسفر بیش‌تری از طرف گیاه است (١٦). بررسی‌های کواس و همکاران (٢٠٠٨) نشان داد یک همبستگی مثبتی بین تعداد گره و در دسترس بودن فسفر وجود دارد، به‌طوری‌که غلظت فسفر در گره سه برابر بیش‌تر از دیگر اندام‌های گیاه است (١٦). پژوهش‌های اولیورا و همکاران (٢٠٠٤) نشان داد، افزایش در ذخیره فسفر برای گیاه میزبان باعث افزایش چهار برابری تعداد و اندازه گره می‌شود. با توجه به این‌که تشکیل گره ریزوبیوم نیاز شدیدی به فسفر دارد، فایده مهم آربسکولار میکوریزا برای همزیستی ریزوبیوم فراهم کردن فسفر است (٢٠). علاوه بر فسفر، عناصری مانند کلسیم، مولیبدون مس و روی که به‌وسیله آربسکولار میکوریزا جذب می‌گردند، در تشکیل و فعالیت گره مؤثر می‌باشند. گره‌ها معمولاً دو تا سه برابر ریشه به فسفر نیاز دارند، از این‌رو به تلقیح با آربسکولار میکوریزا واکنش نشان می‌دهند (١٤). بهبود تغذیه فسفر در تیمار فسفری نتیجه‌اش افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن و بهبود رشد گیاه میزبان است. کاربرد تیمار نیتروژنی باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در تعداد گره و درجه‌بندی گره شد. استفاده از باکتری‌های ریزوبیوم تعداد گره‌های بیش‌تری بر روی ریشه ایجاد کرد. حداکثر تعداد گره و درجه‌بندی گره از تیمار N_2 به‌ترتیب به‌میزان ١٨/٩ گره در بوته و ٢/٥ به‌دست آمد که نسبت به شاهد به‌ترتیب ٣٣ و ٣١/٥ درصد افزایش داشت (جدول ٤). کاربرد تیمار روی باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در تعداد گره و درجه‌بندی گره شد (جدول ٣). بیش‌ترین تعداد گره از تیمار Zn_1 و Zn_2 به‌میزان ١٧/٥ گره در بوته به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد، ٢٢/٣ درصد افزایش نشان داد. حداکثر درجه‌بندی گره از تیمار Zn_2 با درجه ٢/٤ حاصل شد (جدول ٤). نقش سودوموناس در افزایش گره، به‌دلیل تأثیر هورمون‌های گیاهی در افزایش رشد و توسعه گره‌ها و یا از طریق ایجاد تغییراتی در توازن هورمونی در داخل گیاه است (٢١). از بین اثرات متقابل، اثر متقابل فسفر در روی، اثر رقم در فسفر در روی، اثر فسفر در نیتروژن در روی و اثر رقم در فسفر در نیتروژن در روی بر تعداد گره و اثر متقابل فسفر در روی و اثر رقم در فسفر در نیتروژن در روی بر درجه‌بندی گره معنی‌دار شدند (جدول ٣). با توجه به معنی‌دار شدن اثر فسفر در روی، بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد گره در بوته از تیمار P_3Zn_1 و P_0Zn_0 به‌ترتیب به‌میزان ٢٢/٢ و نه گره در بوته به‌دست آمد (شکل ١). بالاترین و کم‌ترین درجه گره‌بندی از تیمار P_3Zn_1 و P_0Zn_0 به‌ترتیب به‌میزان ٣/٢ و ١/٢٧ حاصل شد (شکل ٢). در ضمن حداکثر این صفات در هر یک از ارقام از رقم صدری به‌دست آمد. در مورد معنی‌دار شدن برهمکنش فسفر در نیتروژن در روی و برهمکنش رقم در فسفر در نیتروژن در روی، بیش‌ترین تعداد گره درمجموع دو رقم از تیمار $P_3N_2Zn_2$ به‌میزان ٢٨/٣ گره در بوته و در هر یک از ارقام از رقم صدری و همین تیمار به‌میزان ٣٥ گره در بوته حاصل شد. بیش‌ترین درجه گره‌بندی در مجموع دو رقم، از تیمار $P_3N_2Zn_2$ به‌میزان ٤/١٦ و در هر یک از ارقام از رقم صدری با درجه گره‌بندی پنج به‌دست آمد. سیستم گیاه و ریزوبیوم از حضور قارچ آربسکولارمیکوریزا سود می‌برد. زیرا قارچ میکوریزی نه‌تنها باعث تعدیل کمبود فسفر می‌گردند بلکه دیگر عناصر غذایی که برای ریزوبیوم محدودکننده هستند را تأمین و تعدیل می‌کند. افزایش مقدار عناصر غذایی در گیاهان نه تنها مستقیماً به ریزوبیوم سود می‌رساند، بلکه باعث افزایش فتوسنتز و باعث نسبت بالاتر فتوسینتتاز قابل‌دسترس برای گره‌های ریزوبیومی می‌شود (١٨).

نیتروژن تثبیت‌شده توسط همزیستی ریزوبیومی برای حفظ تعادل وضعیت فیزیولوژیکی گیاه ضروری است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند تلقیح همزمان باکتری‌های محرک رشد گیاه با ریزوبیوم، موجب افزایش گره‌زایی در لگوم‌ها می‌شود (۳۲). این باکتری‌ها همراه با قارچ‌های میکوریزی موجب بهبود زیست‌فراهمی عناصر غذایی، افزایش شاخص‌های رشد گیاهی، تأمین سلامت اکولوژیک گیاه و در نتیجه افزایش تولید در واحد سطح می‌شوند. بهبود گره‌بندی می‌تواند ناشی از بهبود تغذیه معدنی و افزایش جذب عناصر غذایی باشد (۱۸). قارچ‌های میکوریزی با افزایش جذب آب و عناصر غذایی فتوسنتز را افزایش می‌دهند و سبب افزایش گره‌بندی می‌گردند (۳، ۱۰ و ۳۲). تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی مورد استفاده در این پژوهش از طریق افزایش جذب و ایجاد تعادل در عناصر غذایی و با ترشح هورمون‌های رشد باعث افزایش تعداد و درجه‌بندی گره شدند.



شکل ۱- مقایسه میانگین‌های تیمارهای آزمایشی بر تعداد گره در بوته.

Figure 1. Comparison of the mean of the experimental treatments on the number of nodules per plant.



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های تیمارهای آزمایشی بر درجه‌بندی گره.

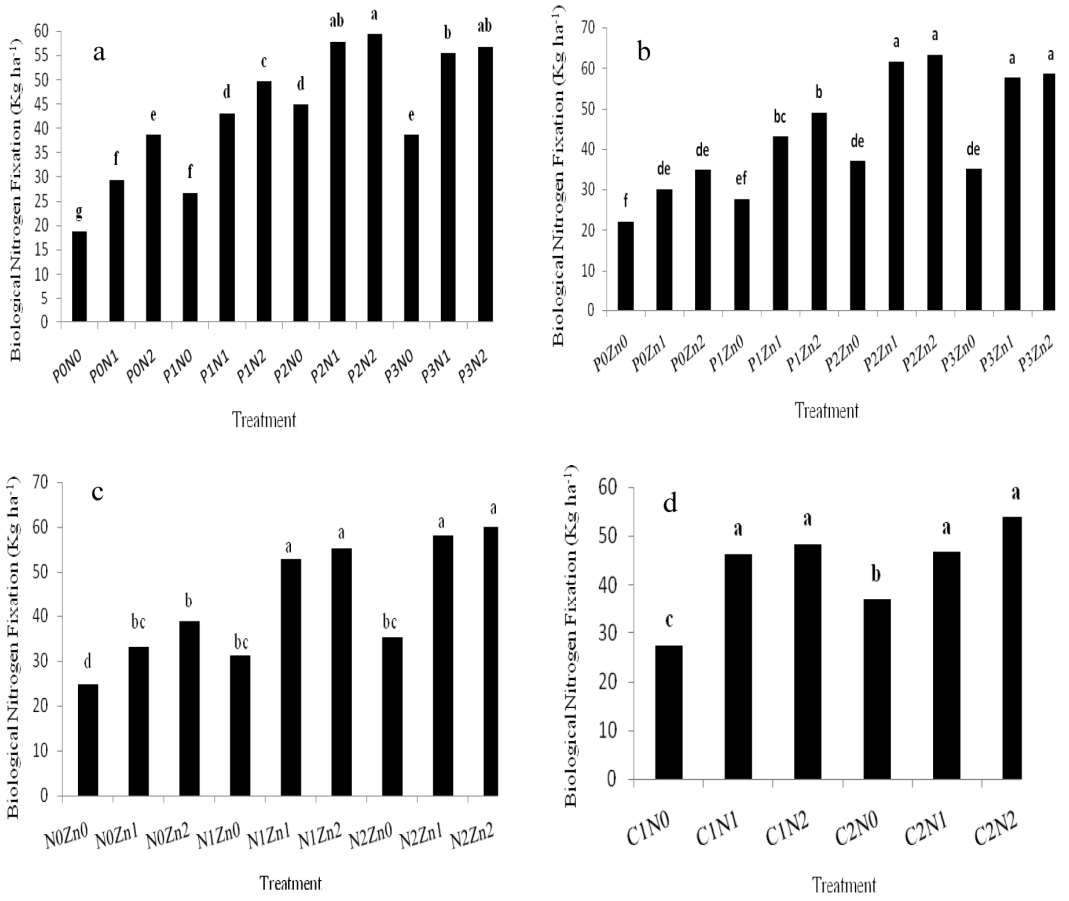
Figure 2. Comparison of the mean of the experimental treatments on the nodulation grade.

درصد کلونیزاسیون: بین ارقام مورد استفاده در این پژوهش اختلاف معنی‌داری در درصد کلونیزاسیون ریشه وجود داشت (جدول ۳). رقم صدری از درصد کلونیزاسیون بالاتری در مقایسه با رقم تلاش برخوردار بود (جدول ٤). تیمار فسفری باعث تفاوت معنی‌دار در این صفت شد. حداکثر درصد کلونیزاسیون ریشه از تیمار P_3 به‌میزان ۳٦/۷ درصد به‌دست آمد که افزایش ۲۷/۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. کم‌ترین درصد کلونیزاسیون از تیمار P_1 (مصرف کود شیمیایی فسفاتی) به‌میزان ۲٦/۸ درصد حاصل شد (جدول ٤). با افزایش فسفر خاک کلونیزاسیون ریشه‌ای کاهش می‌یابد. کلونیزاسیون میکوریزایی علاوه بر نوع گیاه و سیستم ریشه‌ای به غلظت فسفر خاک نیز بستگی دارد. سطوح بیش از مقدار مورد نیاز فسفر خاک، سبب حذف آربسکول‌ها در همزیستی قارچ‌های میکوریزا آربسکولار می‌شود (۲٦). اگر در محیط ریشه گیاه فسفر قابل‌دسترس فراوان باشد، گیاه جهت تأمین نیاز فسفاتی خود نیازی به ایجاد همزیستی نداشته و نتیجه آن کاهش کلونیزاسیون ریشه می‌باشد (۱۷ و ۲٦). تیمار نیتروژنی تفاوت معنی‌دار بر درصد کلونیزاسیون ریشه ایجاد نمود (جدول ۳). حداکثر درصد کلونیزاسیون از تیمار N_2 به‌میزان ۳۵/٤ درصد به‌دست آمد (جدول ٤). تیمار روی مصرفی تفاوت معنی‌داری بر درصد کلونیزاسیون ریشه نداشت اما حداکثر مقدار کلونیزاسیون ریشه از تیمار Zn_2 به‌میزان ۳۳/۸ درصد حاصل شد (جدول ٤). در بین اثرات متقابل، هیچ‌یک از این اثرات تفاوت معنی‌داری بر درصد کلونیزاسیون نداشت. یکی از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ میکوریزی، میزان کلونیزاسیون سیستم ریشه‌ای است که به‌وسیله عوامل مختلفی از جمله خصوصیات ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای، مصرف کودهای شیمیایی فسفری و غلظت‌های بالای عناصر سنگین تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (۳). بررسی‌های عبدل‌فتاح و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد، تلقیح گیاه باقلا با قارچ میکوریزی، کلونیزاسیون ریشه، تولید ماده خشک و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت، ولی این اثرات سودمند، با افزایش فسفر خاک کاهش پیدا کرد (۱). والنتین و کلینرت (۲۰۰٦) گزارش نمودند در گیاهان میکوریزی شده، تنفس افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش کلونیزاسیون ریشه در شرایط کمبود فسفر در خاک می‌باشد (۳۰). بنابراین اضافه کردن همزیست‌های بیش‌تر مانند ریزوبیوم‌های تولیدکننده گره و باکتری‌های سودوموناس منجر به نیاز تنفسی بالاتر گیاه میزبان و زمینه برقراری تعادل در جذب و انتقال عناصر غذایی می‌گردد. همچنین با تأمین عناصر غذایی مانند نیتروژن و روی، رشد و گسترش ریشه بهبود یافته و زمینه برای افزایش کلونیزاسیون ریشه‌ای فراهم می‌گردد. با افزایش کلونیزاسیون ریشه‌ای، سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان توسعه یافته و در نتیجه سطح جذب ریشه‌ها به‌علت نفوذ هیف‌های قارچ در خاک، افزایش یافته و ریشه به حجم بیش‌تری از خاک دسترسی پیدا کرده و کارآیی جذب آب و عناصر غذایی افزایش می‌یابد. این مزیت منجر به تأمین عناصر غذایی برای گیاه میزبان در شرایط کمبود فسفر و نیتروژن می‌گردد.

تثبیت زیستی نیتروژن: بین رقم‌های مورد استفاده اختلاف معنی‌داری در میزان تثبیت زیستی نیتروژن وجود داشت (جدول ۳). رقم صدری از میزان تثبیت بیش‌تری در مقایسه با رقم تلاش برخوردار بود، که نشان‌دهنده همزیستی بهتر آن با مایه تلقیح ریزوبیومی است (جدول ٤). از دلایل بیش‌تر بودن تثبیت نیتروژن در این رقم، علاوه بر ویژگی‌های ژنتیکی رقم می‌توان

به بهبود و افزایش جذب عناصر غذایی به‌خصوص فسفر و تأمین و جذب دیگر عناصر غذایی مانند روی و مولیبدون که برای فعالیت ریزوبیوم محدودکننده هستند اشاره نمود (۱۹ و ۲۷). همچنین سطح برگ مناسب و بیش‌تر در این رقم باعث جذب نور کافی و افزایش توان فتوسنتزی آن می‌شود. زیرا انتقال کربوهیدرات به ریشه‌ها و گره‌ها موجب افزایش فعالیت باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن شده و با رشد بهتر گره‌ها، وزن آن‌ها نیز افزایش یافته و موجب تثبیت بیش‌تر نیتروژن می‌شود (۳٤). تیمار فسفری، باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در میزان تثبیت نیتروژن شد (جدول ۳). بیش‌ترین میزان تثبیت از تیمار P_2 به‌میزان ٥٤ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد ۸٦ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۳). لگوم‌ها باید از تغذیه فسفر کافی برخوردار باشند، زیرا در تثبیت نیتروژن برای احیاء نیتروژن مولکولی به آمونیم نیاز به ATP است. برای احیاء یک مولکول نیتروژن ۲۱ مولکول ATP به ADP تبدیل می‌گردد (۲۹). بنابراین کمبود فسفر و عناصر غذایی روی، مس و مولیبدون در خاک رشد ریزوبیوم و گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را کاهش می‌دهد (۱۹، ۲۸، ۲۹، ۳۰ و ۳۵). استفاده از تیمار نیتروژنی، اختلاف معنی‌داری بر میزان تثبیت زیستی داشت (جدول ۲). بیش‌ترین میزان تثبیت از تیمار N_2 به‌میزان ۵۱ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد که در مقایسه با شاهد ۵۸ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۳). کاربرد تیمار روی باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان تثبیت شد. بیش‌ترین میزان تثبیت از تیمار Zn_2 به‌میزان ٥۱/٤ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد که افزایش ٦۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۳). از میان برهمکنش‌های متقابل، اثر متقابل فسفر در روی، فسفر در نیتروژن، نیتروژن در روی و اثر رقم در نیتروژن بر میزان تثبیت نیتروژن معنی‌دار شد (جدول ۳). با توجه به معنی‌دار شدن اثر فسفر در روی، بیش‌ترین میزان تثبیت به‌میزان ٦۳/۳ کیلوگرم در هکتار از تیمار P_2Zn_2 و کم‌ترین میزان تثبیت نیز از تیمار P_0Zn_0 به‌میزان ۲۲ کیلوگرم در هکتار حاصل شد (شکل ۳a). در خصوص معنی‌دارشدن برهمکنش فسفر در نیتروژن، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان تثبیت به‌ترتیب از تیمار P_2N_2 و P_0N_0 به‌میزان ۵۹/۲ و ۱۸/۷ کیلوگرم در حاصل شد (شکل ۳b). میزان بیش‌تر تثبیت زیستی نیتروژن در تیمار توأم فسفر و نیتروژن نسبت به تیمار نیتروژن و روی به‌دلیل افزایش گره‌زایی، بهبود جذب عناصر غذایی به‌خصوص عناصر غذایی مؤثر در تثبیت مانند فسفر، روی و مولیبدون و بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه می‌باشد (۱۰، ۲۳، ۲۵ و ۲۹). قارچ‌های میکوریزی استفاده شده در تیمار زیستی فسفاتی و باکتری سودوموناس استفاده شده در تیمار زیستی روی توان بیش‌تری در جذب عناصر غذایی مفید و مؤثر در تثبیت زیستی نیتروژن دارد (۹ و ۲۸). در مورد معنی‌دارشدن برهمکنش نیتروژن در روی حداکثر و حداقل میزان تثبیت از تیمارهای N_2Zn_2 و N_0Zn_0 به‌دست آمد (شکل ۳c). همچنین در خصوص معنی‌دارشدن اثر رقم در تیمار نیتروژنی بیش‌ترین میزان تثبیت از رقم صدری و مصرف مایه تلقیح ریزوبیومی (تیمار C_2N_2) به‌دست آمد (شکل ۳d). جنوا و همکاران (۲۰۰٦) نشان دادند مصرف میکوریزا و ریزوبیوم در نخود سبب افزایش وزن گیاه، سرعت بهبود رشد گیاه و افزایش عناصر غذایی مؤثر در تثبیت زیستی نیتروژن شدند و از این طریق میزان تثبیت زیستی را افزایش دادند (۹). مقایسه میزان تثبیت در تیمار توأم نیتروژن و روی (شکل ۳c) با تیمار فسفر در روی (شکل ۳b) نشان می‌دهد حداکثر میزان تثبیت از تیمارهای زیستی N_2Zn_2 و P_2Zn_2 حاصل شد که بیانگر تأثیر متقابل مثبت مصرف

تیمارهای زیستی می‌باشد. میزان بیش‌تر تثبیت در تیمار P_2Zn_2 نسبت به تیمار N_2Zn_2 ناشی از تأثیر مثبت مصرف قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های حل‌کننده فسفات و باکتری‌های سودوموناس در بهبود زیست فرآهمی عناصر غذایی، افزایش رشد و گره‌زایی و در نهایت افزایش تثبیت زیستی نیتروژن می‌باشد (۹، ۲۳ و ۲۸). میزان تثبیت نیتروژن در لوبیا به ارقام و شرایط محیطی بستگی دارد (۳٤). سیستم گیاه و ریزوبیوم از حضور قارچ آربسکولار میکوریزا سود می‌برد، زیرا میکوریزا نه تنها باعث تعدیل کمبود فسفر می‌شود بلکه دیگر عناصر غذایی که برای ریزوبیوم محدودکننده هستند را تأمین و تعدیل می‌کند. افزایش مقدار عناصر غذایی در گیاهان نه تنها مستقیماً به ریزوبیوم سود می‌رساند، بلکه باعث افزایش فتوسنتز و باعث نسبت بالاتر فتوسینتتاز قابل‌دسترس برای گره‌های ریزوبیومی و افزایش تثبیت نیتروژن می‌شود (۱۸). مشارکت و توان بیش‌تر تیمارهای ترکیبی زیستی در فراهمی عناصر غذایی مؤثر در تثبیت نیتروژن مانند فسفر، روی، مولیبدون و دیگر عناصر غذایی و ترشح هورمون‌های رشد از دلایل افزایش تثبیت نیتروژن در این تیمارها می‌باشد (۱۰، ۲۳، ۲۵ و ۲۸).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر تثبیت زیستی نیتروژن.

Figure 3. Comparison of the interaction effect means of the experimental treatments on the biological nitrogen fixation.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد تأثیر مصرف تیمارهای زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی بر خصوصیات ظاهری رشد و دیگر صفات مطالعه شده معنی‌دار بود. این بیانگر نقش مؤثر و کاربردی این میکروارگانیسم‌ها در کشاورزی می‌باشد. بنابراین با مصرف تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی فسفاتی، نیتروژنی و روی می‌توان خصوصیات ظاهری رشد، گره‌زایی، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و کلونیزاسیون ریشه‌ای را در لوبیا افزایش داد. تأثیر تیمارهای زیستی و سویه‌های باکتری استفاده شده در افزایش صفات مورد مطالعه در رقم صدری بیش‌تر از رقم تلاش بود. در این پژوهش مایه‌زنی با قارچ میکوریزی و باکتری ازتوباکتر و ۵۰ درصد مصرف کودهای شیمیایی فسفری بر مبنای آزمون خاک همراه با سویه‌های باکتری ریزوبیوم و سودوموناس باعث افزایش معنی‌دار صفات مورد مطالعه شد. حداکثر صفات معنی‌دارشده از تیمارهای دوگانه P_2Zn_2، P_2N_2 و N_2Zn_2 و در تیمار سه‌گانه $P_2N_2Zn_2$ می‌باشد. جهت افزایش خصوصیات ظاهری رشد، گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن مصرف ۵۰ درصد کود فسفری بر مبنای آزمون خاک و تلقیح بذری با قارچ میکوریزی و باکتری‌های ازتوباکتر، ریزوبیوم و سودوموناس پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Abdel-Fattah, G.M., Migaher, F.F., and Ibrahim, A.H. 2002. Interactive effects of endomycorryhizal fungus *Glomus etunicatum* and phosphorus fertilization on growth and metabolic activities of broad bean plants under drought stress conditions. Pakis. J. Biol. Sci. 5: 835-841.
2. Abolfazli, B., Alikhani, H.A., and Rejali, F. 2016. Evaluating synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi on symbiotic nitrogen fixation in lentil plant under water stress conditions. Iran J. Soil Biol. 4: 20. 123-134. (In Persian)
3. Al-Karaki, G.N., and Clark, R.B. 1998. Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Plant Nut. 21: 263-276.
4. Barbara, B., and Robson, A. 1994. 65 Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. Soil Biol. Biochem. 26: 9. 1117-1124.
5. Beck, D.P., Materon, L.A., and Afandi, F. 1993. Practical *Rhizobium*-Legume Technology ManualmTechical Manual No. 19. ISBN 92-9127-001-6.l ICARDA, Aleppo, Syria. 54p.
6. Behl, R.K., Narula, N., Vasudeva, M. Sato, A., Shinano, T., and Osaki, M. 2006. Harnessing wheat genotype × Azotobacter strain interactions for sustainable wheat production in semi-arid tropics. Tropics. 15: 123-133.
7. Chikowo, R., Mapfuno, P., Nyamugafata, P., and Giller, K.E. 2004. Maize productivity and mineral N dynamics following different soil fertility management practices on a depleted sandy soil in Zimbabwe. Agric. Ecol. Environ. 102: 119-131.
8. Corbin, E.J., Brockwell, J., and Gault, R.R. 1977. Nodulation studies on chickpea (*Cicer arietinum*). Aust. J. Exp. Agric. Ani Husb. 17: 126-134.
9. Geneva, M., Zehirov, G., Djonova, E., Kaloyanova, N., Georgiev, G., and Stancheva, I. 2006. The effect of inoculation of pea plants with mycorrhizal fungi and Rhizobium on nitrogen and phosphorus assimilation. Plant Soil Environ. 52: 435-440.
10. Gracia de Salamone, I.E.G. 2000. Direct beneficial effects of cytokinin producing rhizobacteria onplant growth. Ph.D. Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada.

11. Gull, F.Y., Hafeez, I., Saleem, M., and Malik, K.A. 2004. Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and mixed rhizobial culture. Aust. J. Exp. Agric. 44: 623-628.
12. Hamidi, A., Chogan, R., Asgharzade, A., Dehghan-Shar, M., Ghalavand, A., and Malakouti, M.J. 2009. Effect of Application of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seedling Emergence and Establishment and Grain Yield of Late MaturityMaiz (*Zea mays* L.) Hybrids in Field Conditions. Iran J. Seed Plant Prod. 25: 2. 183-207. (In Persian)
13. Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Naqvi, S.M.S., and Rasheed, M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. Agric. Biol. Sci. 1: 48-58.
14. Khan, M.S., and Zaidi, A. 2007. Synergistic effects of the inoculation with plant growth promoting rhizobacteria and an Arbuscular mycorrhizal fungus on the performance of wheat. Agric. For. 31: 355-362.
15. Kloepper, J.W., Zablotowicz, R.M., Tipping, E.M., and Lifshitz, R. 1991. Plantgrowth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers. P 315-326. In: The rhizosphere and plant growth., D.L. Keister and P.B. Cregan, (Eds), Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
16. Kouas, S., Alakama, N., Abdelly, C., and Drevon, J.J. 2008. Proton release by nodulated roots varies among common bean genotypes (*Phaseolus Vulgaris*) under phosphorus deficiency. Plant Nutr. 171: 242-478.
17. Marschner, H., and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil. 159: 89-102.
18. Mortimer, P.E., Pe´rez-Ferna´ndez, M.A., and Valentine, A.J. 2008. The role of arbuscular mycorrhizal colonization in the carbon and nutrient economy of the tripartite symbiosis with nodulated Phaseolus vulgaris. Soil Biol. Biochem. 40: 1019-1027.
19. Nazeri, P., Kashani, A., Khavazi, K., Ardakani, M., and Mirakhondi, M. 2012. Effect of Use Microbial Zinc Granulated Phosphorous Bio fertilizer on Growth Indices of Bean. Iran J. Agro. Plant Breed. 8: 111-126. (In Persian)
20. Olivera, M., Tejera, N., Iribarne, C., Ocana, A., and Lluch, C. 2004. Growth, nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of phosphorous. Physic. Plant. 121: 498-505.
21. Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., and Robaglia, C. 2003. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. Plan Cell Environ. 26: 189-199.
22. Philips, J.M., and Haymay, D.S. 1970. Methods for studying vesicular arbuscular mycorrhizal root colonization and related root physical properties. In: J.R. Norris, D.J. Read, and A.K. Varma, (eds), Methods in Microbiology, Volume 24, Academic Press. USA.
23. Rudresh, D.L., Shivaprakash, M.K., and Prasad, R.D. 2005. Effect of combined application of rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and Trichoderma spp. On growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicerаritenium* L.). Appl. Soil Ecol. 28: 139-146.
24. Sarathambalm, C., Thangaraju, M., Paulraj, C., and Gomathy, M. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of Gluconacetobacterdiazotrophicus in maize rhizosphere using ^{65}labelled Zn compounds. Ind. J. Microbiol. 50: 1. 103-109.
25. Scheublin, T.R., and Heijden, G.A. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi colonize nonfixing root nodules of several legume species. New Phytol. 172: 732-738.
26. Smith, S.E., and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, London. UK. 815p.
27. Son, T.T.N. Diep, C.N., and Giang, T.T.M. 2006. Effect of bradyrhizobia and phosphate solubilizing bacteria application on Soybean in rotational system in the Mekong delta. Omonrice. 14: 48-57.

28. Subramanian, K.S., Bharathi, C., and Jegan, R.A. 2008. Response of maize to mycorrhizal colonization at varying levels of zinc and phosphorous. Biol. Fert. Soil. 45: 133-144.
29. Tajini, F., Trabelsi, M., and Drevon, J.J. 2011. Combined inoculation with *Glomus intraradices* and Rhizobium tropici CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Symbi. 53: 123-129.
30. Valentine, A.J., and Kleinert, A. 2006. Respiratory metabolism of root-zone CO_2 in mycorrhizal plants with NH_4^+ and NO_3^- nutrition. Symbi. 41: 119-126.
31. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255: 571-586.
32. Wang, X., Pan, Q., Chen, F., Yan, X., and Liao, H. 2011. Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on soybean growth as related to root architecture and availability of N and P. Mycor. 21: 173-181.
33. Wasule, D.L., Wadylkar, S.R., and Buldo, A.N. 2002. Effect of phosphate solubilizing bacteria on role of Rhizobium on nodulation by soybean. Proceeeding of the 15th meeting on microbial phosphate solubilization. Salamanca University. 16-19 July, Salamanca, Spain.
34. Werner, D. 2005. Production and biological nitrogen fixation of tropical legumes. P 1-13. In: D. Werner and W.E. Newton, (eds). Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment. Springer, the Netherlands.
35. Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Adv. Agro. 81: 97-168.
36. Zaidi, A., Khan, M.S., and Amil, M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Euro. J. Agro. 19: 15-21.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 8(3), 2018
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Effect of Phosphate, Nitrogen and Zinc biological treatments on growth morphological characteristics and nodulation in two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

***M. Mohammadi**
Research Assistant Prof., Soil and Water Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran
Received: 11.05.2017; Accepted: 06.18.2018

Abstract

Background and Objectives: Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the Biological Nitrogen Fixation (BNF) in pulse crops. The simple and interaction effects between microorganisms, especially fungi, phosphate and Zinc (Zn) solubilizing microorganisms and *Rhizobium* bacteria can have very effective impacts on nutrient uptake, plant height, branch number, germination, plant growth, nodulation, BNF, colonization and yield in different plants. This study was done to evaluate the effect of Phosphate, Nitrogen (N) and Zn bio-fertilizers on growth morphological characteristics, nodulation, BNF and root colonization in two cultivars of bean.

Materials and Methods: This experiment was carried out as a factorial in a randomized complete design (RCD) with three replications. The research treatments consisted of two cultivars of Pinto bean (Talash and Sadri), four levels of Phosphurus (P) (P_0: Control, P_1: Use of triple super phosphate (TSP) fertilizer on the basis of soil test, P_2: 50 percentage of TSP recommendation and phosphate bio-fertilizer that consist of of inoculum of *Funneliformiss mosseae*, *Rhizophagus intraradices* and *Clariodeoglomus etunicatum* with *Azotobacter* bacteria and P_3: Use of P bio-fertilizer), three levels of N (N_0: Control, N_1: Use of urea and N_2: Use of biological Nitrogen that consist of *Rhizobium legominosarium bv. phaseoli* strain 133-136-111 inoculation) and Zn (Zn_0: Control, Zn_1: 50 kg ha^{-1} $ZnSO_4$ and Zn_2: Use of biological Zn consist of *Pseudomonas aeruginosa* strain MPFM and *Pseudomonas fluorescens* strain 187 inoculum). Grain inoculation was done in shadow and after drying, inoculated grains were immediately cultivated. The measured properties consist of morphological growth characteristics, nodulation, nodule number and root colonization.

Results: The results of experiment indicated that the effect of cultivar, P, N and Zn treatments was significant on studied parameters. The maximum of these parameters was obtained from Sadri cultivar, P_2, P_3, N_2 and Zn_2 bio treatments. The highest of studied parameters was obtained from P_2Zn_2, P_2N_2 and N_2Zn_2 treatments among the dual interaction effects. The concurrent inoculation of bean with mixture of mycorhizae + *Azetobacter* + R. *leguminosarum* + *Pseudomonas* significantly increased plant wet weight and nodule number. The triple interaction effect was significance on plant wet weight and nodule number only. The maximum amount of plant wet weight (45.3 gram per pot) and nodule number per shrub (28 nodules) were obtained from $P_2N_2Zn_1$ and $P_3N_2Zn_2$ treatments respectively. Despite the lack of significance difference interactions between triplicate treatments, the maximum amount of nodule grade, colonization percentage and BNF, 16.4, 44.9 percent and 64.4 Kg ha^{-1} respectively were obtained from

* Corresponding Author; Email: m.mohamadi@areeo.ac.ir

$P_3N_2Zn_2$ treatment. Also, the highest amount of plant dry weight, the number of germinated shrub and emergency speed, 22.5 g pot^{-1}, 4.3 shrub pot^{-1} and 0.54 shrub day^{-1} respectively were obtained from the combined treatments of $P_2N_2Zn_2$ and $P_2N_2Zn_3$.

Conclusion: The maximum of studied parameters was obtained from P_2, P_3, N_2 and Zn_2 which represents the effective role of mycorrhizae fungi, phosphate and Zn solubilizing bacteria in increasing growth morphological properties, wet and dry weight, nodulation, colonization, BNF and reduction of P and N fertilizers. The studied parameters were increased with ombined using of double and triple of phosphate, nitrogen and zinc biotreatments. The combined use of phosphate, nitrogen and zinc, $P_2N_2Zn_2$ treatment, is recommended to increase the morphological growth characteristics, nodulation and other studied parameters in this experiment.

Keywords: Colonization, Dry weight, Growth velocity, Mycorrhiza, Nodule