

تأثیر تعامل قارچ *Funneliformis mosseae* و باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Rhizobium leguminosarum* (biovar *phaseoli*) بر تغذیه و عملکرد لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)

*علی اشرف سلطانی طولارود^۱، پیمان عباس‌زاده دهجی^۲، فرهاد رجالی^۳ و مهتاب امیدواری^۴

^۱استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه محقق اردبیلی، ^۲استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ^۳دانشیار پژوهش گروه میکروبیولوژی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، ^۴دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۲۲

چکیده

سابقه و هدف: اثرات متقابل میکروارگانیسم‌ها به خصوص قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌تواند نقش بسیار مؤثری بر رشد و تغذیه و بهبود عملکرد گیاهان داشته باشد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر اثر متقابل قارچ میکوریزی آربوسکولار و باکتری‌های سودوموناس و ریزوبیوم بر رشد، عملکرد و تغذیه گیاه لوبیا انجام شد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی تأثیر تلقیح قارچ *F. mosseae* و باکتری‌های *P. putida* و *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) بر تغذیه و عملکرد لوبیا، یک آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار شامل الف: ریزوموجود (بدون تلقیح، باکتری *P. putida*، قارچ *F. mosseae* و کاربرد هم‌زمان باکتری و قارچ)، ب: سولفات روی (صفر و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و ج: نیتروژن (تلقیح با باکتری *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) و اضافه کردن ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن به صورت نترات آمونیوم) در چهار تکرار اجرا شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که غلظت عناصر غذایی فسفر، پتاسیم، روی، مس و منگنز در اندام هوایی گیاه و همچنین، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک دانه، تعداد دانه و وزن هزاردانه تحت تأثیر تلقیح هم‌زمان لوبیا با قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* قرار گرفت. مایه‌زنی هم‌زمان لوبیا با باکتری‌های *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) و *P. putida* و قارچ *F. mosseae* به طور معنی‌داری غلظت عنصر غذایی منگنز در اندام هوایی گیاه و تعداد دانه را افزایش داد. مقدار جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی، مس و منگنز توسط لوبیا تحت تأثیر کاربرد توأم *P. putida* و *F. mosseae* به طور معنی‌داری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: بیش‌ترین وزن هزاردانه در تیمار ریزوبیوم، به دست آمد، که نشان‌دهنده نقش مؤثر باکتری‌های مؤثر و کارا ریزوبیوم در کاهش مصرف کودهای نیتروژنه بدون کاهش عملکرد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آهن، تعداد دانه، روی، مس، منگنز، شاخص‌های رشدی

* مسئول مکاتبه: ali_soltani_t@yahoo.com

مقدمه

جوامع میکروبی موجود در ریزوسفر در نتیجه کنش متقابل با یکدیگر و گیاه به طور قابل ملاحظه‌ای رشد و نمو پاتوژن‌های گیاهی (۲۱)، شکل‌های مختلف شیمیایی^۱ عناصر غذایی در خاک و فراهمی آن‌ها برای گیاه (۳۹)، سلامت اکولوژیک گیاهان (۳۴) و در نتیجه کیفیت و کمیت محصولات گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. یکی از مهم‌ترین ریزوموجودات موجود در ریزوسفر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار^۲ هستند. این قارچ‌ها از فراوان‌ترین قارچ‌ها در خاک‌های کشاورزی هستند و در حدود ۵ تا ۵۰ درصد زیست توده میکروبی خاک ریزوسفری را تشکیل می‌دهند (۱۴). اکثر گیاهان با قارچ‌های میکوریزی همزیستی دارند که این همزیستی موجب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک (به ویژه عناصری که تا حدودی غیرمتحرک هستند مانند فسفر و تعدادی از عناصر کم‌مصرف) و به تبع آن افزایش رشد و محصول دهی گیاهان می‌شود (۲۳). باکتری‌های محرک رشد گیاه^۳ گروه دیگری از ریزوموجودات مهم موجود در ریزوسفر هستند. این باکتری‌ها گروه از باکتری‌های ریزوسفری به شمار می‌آیند که با استفاده از یک یا چند مکانیسم مختلف مانند سنتز مواد محرک رشد، تسهیل جذب عناصر غذایی و کنترل عوامل بیمارگر گیاهی موجب بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه می‌گردند (۶).

گونه‌های مختلف بقولات جزو گیاهانی هستند که علاوه بر جذب نیتروژن معدنی از خاک به دلیل همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم، توانایی تثبیت نیتروژن اتمسفری و استفاده از آن را نیز دارند (۴۳). جذب نیتروژن از اتمسفر توسط این گیاهان نیازمند وجود باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (باکتری‌های

ریزوبیومی) و ایجاد همزیستی بین این باکتری‌ها و گیاه میزبان است (۴۴). باکتری‌های ریزوبیومی موجود در ریزوسفر بقولات می‌توانند ضمن رشد، فعالیت و کلونیزه کردن ریشه گیاه با دیگر ریزوموجودات مهم ریزوسفری از جمله قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد در تعامل باشند که نتیجه آن بهبود میزان جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، افزایش رشد و تولید در واحد سطح است. نتایج پژوهش‌های خسروجردی و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که تعامل قارچ‌های میکوریزی و باکتری ریزوبیومی باعث افزایش جذب عناصر غذایی و عملکرد نخود در مقایسه با تلقیح تنهایی این سویه‌ها شد (۲۷). در تعامل بین قارچ‌های میکوریزی و همزیستی ریزوبیومی، به دلیل نیاز بالای فسفر برای تشکیل گره (مقدار فسفر در گره‌ها اغلب دو تا سه برابر فسفر موجود در ریشه است)، مهم‌ترین نقش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تأمین مقدار زیاد فسفر مورد نیاز برای تشکیل گره در همزیستی ریزوبیومی است (۹، ۳۳). میناکسی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که باکتری‌های مختلف حل‌کننده فسفات توانستند به طور مثبتی با قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار تعامل داشته باشند و این تعامل موجب افزایش رشد و عملکرد گندم شد (۳۱). توسلی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تراکم قارچ‌های *F. mosseae* و *Glomus intraradices* در گره‌های نخود سه برابر ریشه بود (۴۲). نیتروژن تثبیت‌شده توسط همزیستی ریزوبیومی برای حفظ تعادل وضعیت فیزیولوژیکی گیاه ضروری است. پژوهشگران معتقدند که حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه در ریزوسفر می‌تواند تشکیل گره در بقولات را بهبود بخشد (۵، ۱۱). پژوهش‌های مختلفی نشان دادند که تلقیح هم‌زمان باکتری‌های محرک رشد گیاه با ریزوبیوم موجب افزایش گره‌زایی در لگوم‌ها می‌شود (۳۵، ۴۵). این باکتری‌ها همراه با قارچ‌های میکوریزی موجب

1- Fractionation

2- Arbuscular Mycorrhiza

3- Plant growth promoting bacteria; PGPB

جهت انجام این آزمون، یک نمونه خاک با ویژگی‌های ذکر شده در جدول ۱ انتخاب شد. دارا بودن غلظت کم روی قابل جذب و آهکی بودن خاک ویژگی‌های مورد نظر برای انتخاب خاک مناسب جهت انجام این آزمایش بود.

تهیه ریزموجودات استفاده شده در این پژوهش:
برای انجام این پژوهش بر اساس نتایج آزمایش‌های سنجش صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های محرک رشد (از قبیل میزان تولید هورمون اکسین، آنزیم ACC-دآمیناز، تولید سیدروفور، قدرت حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول و قدرت حل‌کنندگی ترکیبات نامحلول روی)، آزمایش تعیین کارایی همزیستی سویه‌های مختلف ریزوبیومی با لوبیا و آزمون تعیین کارایی همزیستی سویه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، باکتری *P. putida* سویه P19 به‌عنوان سویه برتر باکتری محرک رشد گیاه (۲)، باکتری *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) سویه Rb۱۲۲A به‌عنوان سویه برتر همزیست با گیاه لوبیا (۱) و قارچ *F. mosseae* به‌عنوان قارچ میکوریز آربوسکولار برتر از کلکسیون میکروبی بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور انتخاب گردید.

کشت گیاه و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و غلظت عناصر غذایی در گیاه: از گلدان‌های چهار کیلوگرمی حاوی خاک استریل با مشخصات بالا (جدول ۱) استفاده شد. قبل از انجام کشت، ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم فسفر به‌صورت KH_2PO_4 بر اساس آزمون خاک به تمامی گلدان‌ها اضافه گردید و غلظت فسفر در خاک به ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم رسانیده شد. در تیمار روی ۱۰ میلی‌گرم روی به‌صورت سولفات روی در هر کیلوگرم خاک و در

بهبود زیست‌فراهمی عناصر غذایی، افزایش رشد شاخص‌های رشد گیاهی، تأمین سلامت اکولوژیک گیاه و در نتیجه افزایش تولید در واحد سطح می‌شوند (۱۰). کریمی و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی تأثیر باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ‌های میکوریزی را بر گیاه لوبیا سبز بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد تیمارها اثر معنی‌داری بر پارامترهای رویشی، عملکرد و کیفیت لوبیا سبز داشتند (۲۵).

بررسی پژوهش‌های صورت گرفته در کشور نشان می‌دهد پژوهش‌های نادری در مورد ارزیابی برهم‌کنش باکتری‌های ریزوسفری حل‌کننده روی با قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های ریزوبیومی در بهبود میزان جذب عناصر غذایی، شاخص‌های رشد و افزایش تولید در واحد سطح صورت گرفته است. بنابراین، با توجه به نقش مهم و مفید این ریزموجودات در بهبود رشد گیاهان زراعی، این پژوهش با هدف بررسی تعامل سه گانه قارچ *F. mosseae*، باکتری *P. putida* و *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) بر جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن و روی و همچنین عملکرد گیاه لوبیا در شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

یک آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. تیمارها شامل ریزموجود در چهار سطح (بدون تلقیح، تلقیح باکتری *P. putida*، تلقیح قارچ *F. mosseae* و تلقیح باکتری و قارچ به‌طور هم‌زمان)، روی در دو سطح (صفر و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و نیتروژن در دو سطح (تلقیح با باکتری *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) و ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن به‌صورت نترات آمونیوم) بود.

گیاهان برداشت و برخی از شاخص‌های رشد مانند وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد دانه در هر گلدان، وزن خشک دانه، وزن هزاردانه، شاخص کلروفیل و میزان برخی از عناصر غذایی از قبیل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، منگنز، مس و روی اندازه‌گیری شد. شاخص کلروفیل گیاه به‌وسیله دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 اندازه‌گیری گردید (۱۸). به‌منظور اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی ابتدا مواد گیاهی خاکستر و عصاره گیاهی تهیه شد (۱۶). اندازه‌گیری نیتروژن خاک با روش کج‌دال انجام شد (۱۳) و فسفر به روش اولسن و با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV3100 در طول موج ۷۲۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۲۹). پتاسیم قابل‌جذب به روش استات آمونیوم اندازه‌گیری گردید (۲۴). عناصر آهن (۳۰) روی، مس (۳۷) و منگنز (۱۹) به روش عصاره‌گیری با DTPA و با دستگاه جذب اتمی Shimadzu مدل ۶۷۰ اندازه‌گیری شد. با توجه به این‌که در کشت‌های قبلی از همین سویه‌ها، رقم لوبیا و همچنین همین خاک استفاده و درصد کلونیزاسیون قارچ (۳) و کارایی میزان گره‌بندی باکتری (۱) اندازه‌گیری شده بود، در این پژوهش پارامترهای ذکر شده (کلونیزاسیون قارچ و میزان گره‌بندی باکتری) اندازه‌گیری نشدند و تفسیر نتایج بر مبنای یافته‌های قبلی است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید. میانگین‌ها به روش دانکن گروه‌بندی (در سطح ۱ درصد) و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم گردید.

تیمار نیتروژن ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن به‌صورت نیترات آمونیوم در هر کیلوگرم خاک افزوده شد. بذور لوبیای قرمز (*Phaseolus vulgaris*) رقم اختر از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید. بذورهای لوبیا با استفاده از الکل ۹۶ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول رقیق (۱/۵ درصد) هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و جهت حذف هیپوکلریت سدیم باقی‌مانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. محیط کشت حاوی آب-آگار یک درصد تهیه و استریل شد و بذور ضدعفونی شده بر روی محیط پخش و پس از چند روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور جوانه‌دار شدند. سپس، تعداد ۶ گیاهچه لوبیا در داخل هر گلدان کاشته شد. در تیمارهای دارای باکتری بذر با مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر باکتری مورد نظر (با جمعیت 5×10^7 سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری) تلقیح شدند و در تیمارهای دارای قارچ ۲۵ گرم مایه تلقیح (دارای ۷۵ عامل قارچی فعال به‌ازای هر گرم مایه تلقیح) به هر گلدان اضافه گردید. گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و با حداکثر دمای روزانه ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰٪، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس منتقل و پس از گذشت ۱۰ روز تعداد سه گیاه در هر گلدان نگه‌داشته شد. گیاهان به‌مدت ۶۰ روز در گلخانه نگه‌داری و مراقبت‌های داشت شامل آبیاری در حد ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه با آب مقطر و مبارزه با علف‌های هرز بر روی آن‌ها صورت گرفت. در پایان دوره کشت،

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایشی در گلخانه.

Table 1. Some physicochemical properties of tested soil.

مقدار	ویژگی
28	رس (درصد) Clay (%)
25	سیلت (درصد) Silt (%)
47	شن (درصد) Sand (%)
لوم رسی شنی (Sandy clay loam)	کلاس بافت Texture
8.2	pH
1.75	EC (دسی‌زیمنس بر متر) EC(dS.m ⁻¹)
3.2	کربن آلی (گرم در کیلوگرم) Organic carbon (g.kg ⁻¹)
158	کربنات کلسیم معادل (گرم در کیلوگرم) Carbonate Calcium Equivalent (g.kg ⁻¹)
229	پتاسیم قابل استفاده (میلی‌گرم در کیلوگرم) Available K (mg.kg ⁻¹)
7.2	فسفر قابل استفاده (میلی‌گرم در کیلوگرم) Available P (mg.kg ⁻¹)
0.25	روی قابل استخراج با DTPA (میلی‌گرم در کیلوگرم) DTPA-extractable Zn (mg.kg ⁻¹)
5.40	آهن قابل استخراج با DTPA (میلی‌گرم در کیلوگرم) DTPA-extractable Fe (mg.kg ⁻¹)
6.70	منگنز قابل استخراج با DTPA (میلی‌گرم در کیلوگرم) DTPA-extractable Mn (mg.kg ⁻¹)
1.20	مس قابل استخراج با DTPA (میلی‌گرم در کیلوگرم) DTPA-extractable Cu (mg.kg ⁻¹)

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی نیتروژن (نیترات آمونیوم و *R. leguminosarum* (biovar *phaseoli*) و قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* و برهم‌کنش این تیمارها بر وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تیمارهایی که

روی و نیترات آمونیوم دریافت کردند، بیش‌ترین وزن تر و خشک اندام هوایی را به خود اختصاص دادند. بیش‌ترین وزن تر و خشک به‌ترتیب با ۳۳/۹ و ۴/۶۹ گرم در گلدان مربوط به تیماری بود که نیترات آمونیوم، روی، باکتری *P. putida* و قارچ *F. mosseae* به آن اضافه شده بود (جدول ۳). تمام تیمارهای اصلی و اثرات متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری

بالتر بود. دامنه تغییرات منگنز در تیمارهای مختلف بین ۳۲ تا ۷۲ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر بود (جدول ۵). تیمارهای نیتروژن، روی و قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد و همچنین، برهم‌کنش تیمارها تأثیر معنی‌داری در سطح پنج درصد بر غلظت مس اندام هوایی داشتند (جدول ۴). تیمار روی موجب کاهش غلظت مس اندام هوایی شد، در حالی‌که اضافه کردن نیترات آمونیوم غلظت مس اندام هوایی را افزایش داد. بیش‌ترین غلظت مس اندام هوایی ۹۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۵). تنها تیمار نیتروژن اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر غلظت نیتروژن اندام هوایی داشت (جدول ۴) و گلدان‌هایی که نیترات آمونیوم به آن‌ها اضافه شده بود در مقایسه با تیمار *R. leguminosarum* نیتروژن بیش‌تری داشتند. بیش‌ترین میزان نیتروژن اندام هوایی ۲/۵۷ درصد گزارش شد (جدول ۵). اضافه کردن قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* نقش مؤثرتری در افزایش غلظت فسفر اندام هوایی داشت (جدول ۵) و این تیمار در سطح یک درصد معنی‌دار بود. سایر تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری در سطح پنج درصد بر غلظت فسفر اندام هوایی داشتند (جدول ۴). اضافه کردن روی و نیترات آمونیوم موجب افزایش غلظت فسفر اندام هوایی شد (جدول ۵). تمام تیمارها (به‌جز تیمار روی) و اثرات متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت پتاسیم داشتند (جدول ۴). گلدان‌های تلقیح شده با باکتری *P. putida* و قارچ میکوریزی، دارای غلظت بالاتری از پتاسیم اندام هوایی بودند. تیمار *R. leguminosarum*، روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* با ۲/۵۰ درصد پتاسیم بهترین تیمار بود (جدول ۵).

بر وزن خشک دانه، تعداد دانه و وزن هزاردانه داشتند (جدول ۲). بیش‌ترین وزن دانه مربوط به تیمار نیترات آمونیوم + روی + باکتری *P. putida* و قارچ *F. mosseae* با ۶/۵۵ گرم در گلدان بود (جدول ۳). بیش‌ترین تعداد دانه تولید شده در گلدان ۱۷ دانه بود (جدول ۳). گلدان‌هایی که *R. leguminosarum* دریافت کردند در مقایسه با گلدان‌هایی که نیترات آمونیوم به آن‌ها اضافه شد، وزن هزاردانه بیش‌تری داشتند. اضافه کردن روی و همچنین، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* نیز موجب افزایش وزن هزاردانه شد (جدول ۳). میزان کلروفیل برگ تنها تحت تأثیر تیمار نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲) و گیاهانی که نیترات آمونیوم دریافت کردند کلروفیل بیش‌تری داشتند (جدول ۳). تیمارها تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن اندام هوایی نداشتند (جدول ۴). غلظت آهن اندام هوایی بین ۹۹ تا ۱۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر بود (جدول ۵). تیمارهای روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* و همچنین، برهم‌کنش نیتروژن و روی بر غلظت روی اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). غلظت روی در گلدان‌هایی که نیترات آمونیوم به آن‌ها اضافه شده بود در مقایسه با ریزوبیوم بیش‌تر بود. همچنین، تعامل قارچ میکوریزی با سویه *P. putida* موجب افزایش غلظت روی اندام هوایی شد. تیمار نیترات آمونیوم + روی + قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* با ۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بیش‌ترین غلظت روی اندام هوایی را به خود اختصاص داد. غلظت منگنز اندام هوایی تحت تأثیر تمام تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۴). غلظت منگنز اندام هوایی در گلدان‌های حاوی نیترات آمونیوم، قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida*

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات اندازه گیری شده در لوبیا در آزمون گلخانه ای.

Table 2. The variance analysis of the effect of experiment treatment on traits of beans in greenhouse tests.

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات Sources of variations
Average of Squares							
شاخص کلروفیل	وزن هزاردانه	تعداد دانه	وزن خشک دانه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	Degree of freedom	
Chlorophyll index	weight of one thousand seeds	Seed number	Seed dry weight	Shoot wet weight	Shoot dry weight		
224**	9801**	23.7**	0.17*	80.1*	1.56**	1	نیتروژن Nitrogen
6.82 ^{ns}	2575*	2.64**	1.39**	323**	6.18**	1	روی Zinc
6.25 ^{ns}	5058**	6.68**	3.78**	37.4**	2.06**	3	قارچ و باکتری سودوموناس Fungi and Pseudomonas bacterium
0.30 ^{ns}	0.56*	5.64**	0.80**	17.8*	0.33*	1	نیتروژن × روی Nitrogen × Zinc
0.37 ^{ns}	344*	2.47**	0.14*	0.01*	0.003*	3	نیتروژن × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Fungi and Pseudomonas bacterium
0.21 ^{ns}	148*	0.76**	0.19*	3.74*	0.213*	3	روی × قارچ و باکتری سودوموناس Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
0.91 ^{ns}	188*	0.76**	0.13*	1.79*	0.099*	3	نیتروژن × روی × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
3.51	410	0.082	0.012	5.46	0.104	45	خطا Error
5.46	5.42	1.95	5.25	8.12	8.10		ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیرمعنی دار.

** , * and ^{ns} Significant at 1 and 5% probability level, and not significantly, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر فاکتورهای رویشی و عملکردی گیاه لوبیا در آزمون گلخانه‌ای (اثر متقابل سه گانه).

Table 3. Average Comparison of the effect of different treatments on average bean yield and vegetative factors in greenhouse experiment (triple interaction).

شاخص کلروفیل	وزن هزار دانه	تعداد دانه	وزن خشک خشک دانه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	تیمار
Chlorophyll index	weight of one thousand seeds	Seed number	Seed dry weight	Shoot wet weight	Shoot dry weight	Treatment
	g	Number.Pot ⁻¹		g.Pot ⁻¹ ₀		
36.1 ^{AB}	346 ^F	14.1 ^{DE}	4.86 ^G	4.30 ^{A-D}	31.0 ^{A-D}	(N)+(Zn)
36.9 ^A	358 ^{EF}	16.2 ^B	5.79 ^{B-D}	4.62 ^{AB}	33.4 ^{AB}	(N)+(Zn)+(My)
36.0 ^{AB}	374 ^{C-F}	16.0 ^B	5.93 ^{BC}	4.49 ^{A-C}	32.5 ^{A-C}	(N)+(Zn)+(P)
37.5 ^A	390 ^{A-D}	17.0 ^A	6.55 ^A	4.69 ^A	33.9 ^A	(N)+(Zn)+(My+P)
34.6 ^{A-C}	349 ^F	14.1 ^{DE}	4.90 ^G	3.55 ^{G-I}	25.6 ^{G-I}	(N)+(-Zn)
35.9 ^{AB}	348 ^F	14.4 ^D	5.00 ^{FG}	3.61 ^{F-I}	26.0 ^{F-I}	(N)+(-Zn)+(My)
36.2 ^{AB}	359 ^{EF}	15.0 ^C	5.38 ^{D-F}	3.73 ^{F-I}	26.9 ^{F-I}	(N)+(-Zn)+(P)
36.7 ^A	363 ^{D-F}	16.0 ^B	5.77 ^{B-D}	4.15 ^{B-E}	30.0 ^{B-E}	(N)+(-Zn)+(My+P)
31.8 ^C	371 ^{C-F}	13.4 ^E	4.99 ^{FG}	3.84 ^{E-H}	27.7 ^{E-H}	(Rh)+(Zn)
32.8 ^C	378 ^{C-F}	13.4 ^E	5.07 ^{E-G}	4.03 ^{C-F}	29.1 ^{C-F}	(Rh)+(Zn)+(My)
33.1 ^{BC}	400 ^{A-C}	14.4 ^D	5.73 ^{B-D}	4.11 ^{B-E}	29.7 ^{C-F}	(Rh)+(Zn)+(P)
33.2 ^{BC}	419 ^A	14.4 ^D	6.02 ^B	4.28 ^{A-D}	31.0 ^{A-D}	(Rh)+(Zn)+(My+P)
31.6 ^C	357 ^{EF}	14.1 ^{DE}	5.02 ^{FG}	3.37 ^I	24.4 ^I	(Rh)+(-Zn)
32.2 ^C	362 ^{D-F}	14.1 ^{DE}	5.09 ^{E-G}	3.57 ^{G-I}	25.8 ^{G-I}	(Rh)+(-Zn)+(My)
32.3 ^C	393 ^{A-D}	14.1 ^{DE}	5.51 ^{C-E}	3.47 ^{HI}	25.1 ^{HI}	(Rh)+(-Zn)+(P)
32.9 ^C	405 ^{AB}	14.7 ^C	5.90 ^{BC}	3.95 ^{D-G}	28.6 ^{D-G}	(Rh)+(-Zn)+(My+P)

N: نیترات آمونیوم (Ammonium nitrate)، My: *F.mosseae*، P: *P. putida*، Rh: *R. leguminosarum*

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن ندارند.

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range tests.

جدول ۴- تجزیه واریانس غلظت عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه لوبیا در آزمون گلخانه‌ای.

Table 4. The variance Analysis of nutrient concentrations in shoots bean in greenhouse experiment.

میانگین مربعات							درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیترژن		
Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N		
3555**	3451**	25.0*	2364 ^{ns}	0.029*	0.001*	3.37**	1	نیترژن Nitrogen
1472**	14.1*	5292**	805 ^{ns}	0.013 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.17*	1	روی Zinc
576**	794**	2137**	2597 ^{ns}	0.16**	0.016**	0.16*	3	قارچ و باکتری سودوموناس Fungi and Pseudomonas bacterium
375*	42.2*	473**	1.89 ^{ns}	0.097*	0.004*	0.061*	1	نیترژن × روی Nitrogen × Zinc
4.22*	199*	44.1*	27.0 ^{ns}	0.022*	0.001*	0.016*	3	نیترژن × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Fungi and Pseudomonas bacterium
76.4*	187*	172*	63.4 ^{ns}	0.028*	0.001*	0.005*	3	روی × قارچ و باکتری سودوموناس Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
5.31*	19.7*	17.8*	97.7 ^{ns}	0.001*	0.001*	0.035*	3	نیترژن × روی × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
89.1	70.4	56.9	59.1	0.024	0.001	0.065	45	خطا Error
12.8	16.5	11.3	12.2	6.82	16.3	12.0		ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیرمعنی دار.

** , * and ^{ns} Significant at 1 and 5% probability level, and not significantly, respectively.

جدول ۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه لوبیا در آزمون گلخانه‌ای (اثر متقابل سه گانه).

Table 5. The effect of different treatments on shoots nutrient concentrations in bean in greenhouse tests (triple interaction).

مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	تیمار
Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N	Treatment
mg.kg ⁻¹				%			
67 ^{CD}	47 ^{D-F}	68 ^{CD}	119 ^A	2.02 ^C	0.17 ^{CD}	2.20 ^{B-D}	(N)+(Zn)
72 ^{BC}	50 ^{D-F}	79 ^{A-C}	123 ^A	2.21 ^{BC}	0.21 ^{BC}	2.21 ^{B-D}	(N)+(Zn)+(My)
74 ^{BC}	59 ^{BC}	80 ^{AB}	135 ^A	2.30 ^{AB}	0.24 ^{AB}	2.31 ^{BC}	(N)+(Zn)+(P)
83 ^{AB}	72 ^A	85 ^A	138 ^A	2.39 ^{AB}	0.26 ^A	2.37 ^{BC}	(N)+(Zn)+(My+P)
79 ^{BC}	53 ^{CD}	50 ^{EF}	99 ^A	2.16 ^{BC}	0.16 ^D	2.25 ^{B-D}	(N)+(-Zn)
91 ^A	59 ^{BC}	50 ^{EF}	121 ^A	2.32 ^{AB}	0.18 ^{CD}	2.57 ^A	(N)+(-Zn)+(My)
91 ^A	56 ^{CD}	52 ^{EF}	130 ^A	2.24 ^{A-C}	0.17 ^{CD}	2.43 ^{AB}	(N)+(-Zn)+(P)
93 ^A	70 ^{AB}	63 ^{DE}	137 ^A	2.38 ^{AB}	0.25 ^A	2.52 ^A	(N)+(-Zn)+(My+P)
59 ^D	32 ^G	62 ^{D-F}	125 ^A	2.25 ^{A-C}	0.16 ^D	1.71 ^E	(Rh)+(Zn)
61 ^D	41 ^{E-G}	75 ^{A-C}	135 ^A	2.32 ^{AB}	0.23 ^{AB}	2.03 ^{B-E}	(Rh)+(Zn)+(My)
63 ^D	55 ^{CD}	76 ^{A-C}	149 ^A	2.32 ^{AB}	0.19 ^{CD}	1.82 ^{DE}	(Rh)+(Zn)+(P)
72 ^{BC}	48 ^{D-F}	81 ^{AB}	155 ^A	2.50 ^A	0.23 ^{AB}	1.95 ^{C-E}	(Rh)+(Zn)+(My+P)
59 ^D	37 ^{FG}	52 ^{EF}	120 ^A	2.20 ^{BC}	0.17 ^{CD}	1.82 ^{DE}	(Rh)+(-Zn)
73 ^{BC}	47 ^{D-F}	61 ^{D-F}	128 ^A	2.29 ^{AB}	0.21 ^{BC}	2.00 ^{C-E}	(Rh)+(-Zn)+(My)
69 ^{B-D}	43 ^{E-G}	61 ^{D-F}	138 ^A	2.14 ^{BC}	0.20 ^{CD}	1.86 ^{DE}	(Rh)+(-Zn)+(P)
74 ^{BC}	46 ^{D-F}	70 ^{B-D}	150 ^A	2.34 ^{AB}	0.24 ^{AB}	2.00 ^{C-E}	(Rh)+(-Zn)+(My+P)

N: نیترات آمونیوم (Ammonium nitrate)، My: *F. mosseae*، P: *P. putida*، Rh: *R. leguminosarum*

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن ندارند.

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range tests.

در گلدان‌ها افزایش داد. بالاترین میزان جذب مس ۰/۳۹ میلی‌گرم در گلدان بود (جدول ۷). سه تیمار نیتروژن، روی و قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر جذب نیتروژن داشتند (جدول ۶). اضافه کردن روی و نیترات آمونیوم و همچنین، تلقیح با قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* نقش مؤثری در افزایش جذب نیتروژن داشت و میزان جذب را ۱۱۲ میلی‌گرم در گلدان افزایش داد (جدول ۷). جذب فسفر در گلدان‌ها تحت تأثیر یک درصد تیمارهای روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* و برهم‌کنش نیتروژن با روی قرار گرفت در سایر تیمارها و اثرات متقابل در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). اضافه کردن روی، نیترات آمونیوم و قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* جذب فسفر را افزایش داد. مقدار جذب فسفر در تیمارهای مختلف بین ۵/۶ تا ۱۲/۰ میلی‌گرم در گلدان متغیر بود (جدول ۷). جذب پتاسیم تحت تأثیر تیمارهای مختلف و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۶) و تیمار نیترات آمونیوم، روی، قارچ میکوریز و سویه *P. putida* با جذب ۱۱۲ میلی‌گرم پتاسیم در گلدان بهترین تیمار بود (جدول ۷).

تنها تیمار باکتری *P. putida* و قارچ *F. mosseae* تأثیر معنی‌داری در سطح پنج درصد بر میزان جذب آهن اندام هوایی داشت (جدول ۶). میزان جذب آهن بین ۰/۳۵ تا ۰/۶۸ میلی‌گرم در گلدان متغیر بود. تیمار *R. leguminosarum* روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* بهترین تیمار در جذب آهن بود (جدول ۷). تمام تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها به‌جز تیمار نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر جذب روی داشتند (جدول ۶). تیمار نیتروژن، روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* با میزان جذب ۰/۴۰ میلی‌گرم روی در گلدان بهترین تیمار بود (جدول ۷). سه تیمار نیتروژن، روی و قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر جذب منگنز داشتند (جدول ۶).

اضافه کردن روی و نیترات آمونیوم به گلدان‌ها موجب افزایش میزان جذب منگنز در گلدان‌ها شد. بالاترین جذب منگنز (۰/۳۴ میلی‌گرم در هر گلدان) مربوط به تیمار نیتروژن، روی، قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* بود (جدول ۷). تمام تیمارها و اثرات متقابل تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر جذب مس داشتند (جدول ۶). اضافه کردن نیترات آمونیوم در گلدان‌ها و تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* جذب مس را

جدول ۶- تجزیه واریانس مقدار جذب عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه لوبیا در آزمون گلخانه‌ای.

Table 6. The variance Analysis of shoots nutrient uptake in bean in greenhouse experiment.

میانگین مربعات							درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن		
Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N		
0.010**	0.085**	0.005 ^{ns}	0.001 ^{ns}	441*	2.29 ^{ns}	9717**	1	نیتروژن Nitrogen
0.001*	0.013**	0.21**	0.187 ^{ns}	3618**	55.6**	1337**	1	روی Zinc
0.025*	0.024**	0.025**	0.093*	1273**	48.4**	1050**	3	قارچ و باکتری سودوموناس Fungi and Pseudomonas bacterium
0.001*	0.001*	0.017**	0.003 ^{ns}	0.040*	14.5**	62.0*	1	نیتروژن × روی Nitrogen × Zinc
0.001*	0.004*	0.001**	0.001 ^{ns}	35.4*	2.67*	40.7*	3	نیتروژن × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Fungi and Pseudomonas bacterium
0.001*	0.003*	0.002*	0.001 ^{ns}	64.7*	3.13*	28.7*	3	روی × قارچ و باکتری سودوموناس Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
0.001*	0.001*	0.001*	0.002 ^{ns}	13.1*	1.50*	23.6*	3	نیتروژن × روی × قارچ و باکتری سودوموناس Nitrogen × Zinc × Fungi and Pseudomonas bacterium
0.002	0.001	0.001	0.024	92.2	2.06	146	45	خطا Error
17.3	14.8	14.2	15.6	10.6	17.5	14.2		ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation

***، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیرمعنی دار.

***, * and ^{ns} Significant at 1 and 5% probability level, and not significantly, respectively.

جدول ۷- تأثیر تیمارهای مختلف بر مقدار جذب عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه لوبیا در آزمون گلخانه‌ای (اثر متقابل سه‌گانه).

Table 7. The effect of different treatments on shoots nutrient uptake in bean in greenhouse tests (triple interaction).

مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	تیمارها
Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N	Treatment
mg.Pot ⁻¹							
0.29 ^{B-D}	0.20 ^{C-E}	0.29 ^{C-E}	0.51 ^{A-C}	86 ^{D-F}	7.4 ^{DE}	95 ^{B-D}	(N)+(Zn)
0.33 ^{A-C}	0.23 ^{CD}	0.37 ^{AB}	0.56 ^{A-C}	101 ^{AB}	9.8 ^{A-C}	102 ^{A-C}	(N)+(Zn)+(My)
0.33 ^{A-C}	0.27 ^{BC}	0.36 ^{AB}	0.60 ^{A-C}	103 ^{AB}	10.7 ^{AB}	103 ^{AB}	(N)+(Zn)+(P)
0.39 ^A	0.34 ^A	0.40 ^A	0.65 ^{AB}	112 ^A	12.0 ^A	112 ^A	(N)+(Zn)+(My+P)
0.28 ^{B-E}	0.19 ^{D-F}	0.18 ^{HI}	0.35 ^C	77 ^F	5.6 ^E	80 ^{D-G}	(N)+(-Zn)
0.33 ^{A-C}	0.21 ^{C-E}	0.19 ^{HI}	0.44 ^{A-C}	84 ^{D-F}	6.3 ^E	92 ^{B-D}	(N)+(-Zn)+(My)
0.34 ^{AB}	0.21 ^{C-E}	0.19 ^{HI}	0.48 ^{A-C}	83 ^{D-F}	6.2 ^E	90 ^{B-E}	(N)+(-Zn)+(P)
0.39 ^A	0.29 ^{AB}	0.26 ^{D-F}	0.57 ^{A-C}	99 ^{A-C}	10.5 ^{AB}	105 ^{AB}	(N)+(-Zn)+(My+P)
0.23 ^{DE}	0.12 ^F	0.24 ^{E-G}	0.48 ^{A-C}	86 ^{D-F}	6.2 ^E	65 ^{FG}	(Rh)+(Zn)
0.25 ^{C-E}	0.16 ^{D-F}	0.30 ^{B-D}	0.54 ^{A-C}	93 ^{C-E}	9.3 ^{B-D}	81 ^{D-F}	(Rh)+(Zn)+(My)
0.26 ^{B-E}	0.23 ^{CD}	0.31 ^{B-D}	0.60 ^{A-C}	95 ^{B-D}	7.8 ^{C-E}	75 ^{D-G}	(Rh)+(Zn)+(P)
0.31 ^{A-C}	0.20 ^{C-E}	0.35 ^{BC}	0.68 ^A	107 ^{AB}	10.1 ^{A-C}	83 ^{C-F}	(Rh)+(Zn)+(My+P)
0.20 ^E	0.12 ^F	0.18 ^{HI}	0.40 ^{BC}	74 ^F	5.9 ^E	61 ^G	(Rh)+(-Zn)
0.26 ^{B-E}	0.17 ^{D-F}	0.22 ^{F-H}	0.46 ^{A-C}	84 ^{EF}	7.5 ^{DE}	71 ^{E-G}	(Rh)+(-Zn)+(My)
0.24 ^{DE}	0.15 ^{EF}	0.21 ^{G-I}	0.48 ^{A-C}	74 ^F	7.0 ^E	65 ^{FG}	(Rh)+(-Zn)+(P)
0.29 ^{B-D}	0.18 ^{D-F}	0.27 ^{D-F}	0.58 ^{A-C}	92 ^{C-E}	9.3 ^{B-D}	79 ^{D-G}	(Rh)+(-Zn)+(My+P)

N: نیترات آمونیوم (Ammonium nitrate)، My: *F. mosseae*، P: *P. putida*، Rh: *R. leguminosarum*

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن ندارند.

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range tests.

بحث

چانوی و همکاران (۱۹۸۹) نشان دادند که سویه‌های سودوموناس فلورسنس محرک رشد گیاه در ترکیب با سویه‌های ریزوبیوم، رشد و تثبیت نیتروژن در عدس و ارقام نخودفرنگی در شرایط مزرعه و گلخانه را افزایش دادند (۱۵). دشتی و همکاران (۱۹۹۸) افزایش تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در سویا به وسیله باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بر اثر کاربرد هم‌زمان با باکتری‌های محرک رشد گیاه را گزارش کردند (۱۷). در این پژوهش اضافه کردن روی به خاک تأثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر در اندام هوایی نداشت، ولی جذب فسفر در اندام هوایی را کاهش داد. پژوهشگران متعددی روابط رقابتی بین فسفر و روی را گزارش کرده‌اند که با افزایش فراهمی یک عنصر در خاک فراهمی و جذب عنصر دیگر توسط گیاه کاهش می‌یابد (۲۰، ۳۲، ۴۶). نتایج نشان داد که سویه‌های مختلف ریزوبیوم و باکتری محرک رشد گیاه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی تعداد غلاف در بوته، عملکرد دانه و شاخص برداشت داشتند (۴).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها در این پژوهش نشان داد که کاربرد توأم قارچ میکوریزی و باکتری سودوموناس تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای رویشی و عملکردی لوبیا داشت و موجب افزایش این شاخص‌ها گردید. این نتایج نشان می‌دهد که این ریزوموجودات دارای برهم‌کنش مثبت در ریزوسفر هستند که نتیجه آن بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه، افزایش رشد و افزایش میزان تولید محصول در واحد سطح است. همچنین، نتایج بررسی فاکتورهای رویشی نشان داد که استفاده هم‌زمان از قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* در کشت لوبیای مایه‌زنی شده با باکتری همزیست می‌تواند دارای اثرات مثبت بر شاخص‌های رشد گیاه باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تلقیح گیاه لوبیا با جدایه‌های انتخاب شده قارچ میکوریزی و باکتری *P. putida* نقش مؤثری در افزایش غلظت و جذب عناصر غذایی در اندام هوایی داشت. قارچ‌های میکوریزی قابلیت افزایش جذب عناصر غذایی معدنی مانند نیتروژن، فسفر، مس، آهن، روی و منگنز را در گیاهان دارند (۳۶). پژوهشگران مختلفی تأثیر باکتری‌های محرک رشد را بر رشد و جذب عناصر غذایی در گیاهان مختلف گزارش کرده‌اند (۷، ۸، ۱۲، ۲۸). هنگامی که تعامل بین قارچ‌های میکوریزی با باکتری‌های محرک رشد گیاه اتفاق می‌افتد، زیست‌فراهمی عناصر غذایی در ریزوسفر گیاهان افزایش می‌یابد و این تعامل نقش مؤثری در غنی‌سازی عناصر غذایی در گیاهان دارد (۱۰). در این آزمایش اندازه‌گیری غلظت نیتروژن در لوبیا نشان داد که غلظت این عنصر در اندام هوایی گیاهانی که با باکتری *R. leguminosarum* تلقیح شده بودند بین ۶۶-۷۹ درصد حداکثر غلظت نیتروژن در اندام هوایی در شرایطی که نترات آمونیوم اضافه گردید، بود. سیلوا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که گره‌های لوبیا می‌تواند ۴۰ تا ۵۰ درصد نیتروژن مورد نیاز گیاه را تثبیت کند (۴۱). داده‌های حاصل در این پژوهش بیانگر آن بود که تلقیح گیاهان با قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. putida* چه در شرایطی که نترات آمونیوم به خاک اضافه شده بود و چه در شرایطی که لوبیا با باکتری *R. leguminosarum* تلقیح شده بودند، موجب افزایش غلظت نیتروژن در اندام هوایی شد. بنابراین، به نظر می‌رسد که تشکیل گره ریزوبیومی و تشکیل همزیستی میکوریزی به‌طور مفیدی به همدیگر کمک می‌کنند (۲۲، ۳۳). همچنین، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌توانند گره‌زایی ریشه‌های بقولات را بهبود بخشند (۱۱).

نتیجه گیری نهایی

نتایج نشان داد که اثر تیمار قارچ میکوریزی و باکتری سودوموناس بر اکثر پارامترهای رویشی، عملکرد، غلظت و جذب عناصر در سطح پنج و یک درصد معنی دار بود. که این نتایج بیانگر نقش مؤثر و کاربردی این ریزموجودات در کشاورزی می باشد. با توجه به این که سویه های استفاده شده قارچ و باکتری سویه های برتر آزمایش های قبلی بودند، می توان نتیجه گرفت که کاربرد سویه های برتر می تواند نقش بسیار مؤثری بر افزایش عملکرد و بهبود تغذیه گیاهان داشته باشند. گیاهانی که با ریزوبیوم تلقیح شده بودند علائم کمبود نیتروژن را نشان ندادند و غلظت نیتروژن در این گیاهان ۷۰ تا ۸۰ درصد غلظت نیتروژن در گیاهان تیمار شده با نیترات آمونیوم بود. با توجه به این نتایج و این که بیشترین وزن هزاردانه در تیمار ریزوبیوم، به دست آمد، می توان نتیجه گرفت که کاربرد سویه های برتر ریزوبیوم می تواند نقش مؤثری در کاهش مصرف کودهای نیتروژنه بدون کاهش عملکرد داشته باشد.

روزاس و همکاران (۲۰۰۲) در آزمایش مزرعه ای بر روی سویا، اثر متقابل بین باکتری همزیست سویا و سویه ای از باکتری *P. putida* را بررسی و گزارش کردند که تلقیح توأم این باکتری ها افزایش معنی داری را در وزن خشک بخش هوایی گیاه به وجود آورد (۳۸). خان و زیدی (۲۰۰۷) نشان دادند که کاربرد همزمان مایه تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم، باسیلوس و قارچ *Glomus fasciculatum* سبب افزایش عملکرد دانه در گندم گردید (۲۶). شوتا و همکاران (۲۰۱۱) افزایش رشد و میزان بیوماس کنجد در نتیجه تلقیح همزمان با باکتری های *P. fluorescens* ازتوباکتر کروکوکوم و قارچ *G. fasciculatum* را گزارش کردند (۴۰). این پژوهشگران اظهار کردند که این نتایج وجود رابطه هم افزایی بین باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ های میکوریزی را تأیید و نشان می دهد که این همکاری مفید بین این ریزموجودات موجب بهبود رشد گیاه و میزان تولید محصول در واحد سطح می گردد.

منابع

1. Abaszadeh Dahaji, P., Savaghebi, G.R., Asadi-Rahmani, H., Rejali, F., Frahbakhsh, M., Moteshrehzadeh, B., Omidvari, M., and Lindstrom, K. 2012a. Symbiotic effectiveness and plant growth promoting traits in some Rhizobium strains isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Growth Regul.* 68: 361-370.
2. Abaszadeh Dahaji, P., Savaghebi, G.R., Asadi-Rahmani, H., Rejali, F., Frahbakhsh, M., Moteshrehzadeh, B., and Omidvari, M. 2012b. Effect of fluorescent Pseudomonas on improving Zinc compounds solubility and zinc uptake by Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iran. J. Soil Water Sci.* 26: 2. 195-206.
3. Abaszadeh Dahaji, P., Savaghebi, G.R., Asadi-Rahmani, H., Rejali, F., Frahbakhsh, M., and Moteshrehzadeh, B. 2012c. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobium and fluorescent pseudomonads on the chemical changes of zinc in the rhizosphere and biofortification of common bean seeds. PhD thesis, Tehran University, 195p.
4. Afshari, A., Sabaghpour, S.H., Hajseyedhadi, M., and Asadi-rahmani, H. 2014. Effect of Rhizobium and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Yield and Yield Components of Common Bean. *Iran. J. Plant Prod. Technol.* 5: 1. 71-81.
5. Andrade, G., deLeij, F.A.A.M., and Lynch, J.M. 1998. Plant mediated interactions between *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* and arbuscular mycorrhizae on pea. *Letters. In. Appl. Microbiol.* 26: 311-316.
6. Arzansh, M.H., Benny Aghil, N., Ghorbanly, M.L., and Shahbazi, M. 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters and levels of micronutrient on rapeseed cultivars under salinity stress. *Iran. J. Soil Manage. Sust. Prod.* 2: 2. 153-163.

7. Asghar, H.N., Zaeir, Z.A., and Arshad, M. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil content of canola (*Brassicinapus* L.). *Aust. J. Agric. Res.* 55: 187-194.
8. Asghar, H.N., Zahir, Z.A., Arshad, M., and Khaliq, A. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. *Biol. Fertil. Soils.* 35: 231-237.
9. Barea, J.M., Azcon, R., and Azcon-Aguilar, C. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems, P 391-416. In: J.R. Norris, D. Read and A. Varma (Eds.), *Methods in Microbiology. Techniques for the Study of Mycorrhizae* London, UK: Academic Press.
10. Barea, J.M., Azcon, R., and Azcon-Aguilar, C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antoine van Leeuwenhoek.* 81: 343-351.
11. Barea, J.M., Azcon-Aguilar, C., and Azcon, R. 1997. Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems, P 65-77. In: A.C. Grange and V.K. Brown (Eds.), *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems* Cambridge, UK: Blackwell Science.
12. Biswas, J.C., Ladha, J.K., and Dazzo, F.B. 2000. Rhizobial inoculation improves nutrient uptake and growth of low land rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1644-1650.
13. Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total, P 1085-1122. In: D.L. Sparks (Eds.), *Method of soil analysis.* Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
14. Cardoso, I.M., and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agri. Ecosys. Environ.* 116: 72-84.
15. Chanway, C.P., Hynes, R.K., and Nelson, L.M. 1989. Plant growth-promoting rhizobacteria: effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lensesculenta Moench*) and pea (*Pisum sativum* L.). *Soil Biol. Biochem.* 21: 511-517.
16. Cottenie, A. 1980. *Methods of Plant Analysis. Soil and Plant Testing,* FAO Soils Bulletin. 38: 2. 64-100.
17. Dashti, N., Zhang, F., Hynes, R., and Smith, D.L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field Plant grown soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under short season conditions. *Plant Soil.* 200: 205-213.
18. Fox, R.H., Piekielek, W.P., and Macneal, K.M. 1994. Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25: 171-181.
19. Gambrell, R.P. 1996. Manganese. *Methods of Soil Analysis: Part3. Chemical Methods - Soil Science Society of America Book Series No 5,* Madison, USA.
20. Gianquinto, G., Abu-Rayyan, A., Tola, L.D., Piccotino, D., and Pezzarossa, B. 2000. Interaction effects of phosphorus and zinc on photosynthesis, growth and yield of dwarf bean grown in two environments. *Plant Soil.* 220: 219-228.
21. Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by- free- living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109-117.
22. Hayman, D.S. 1986. Mycorrhizae of nitrogen-fixing legumes. *MIRCEN J.* 2: 121-145.
23. He, X., and Nara, K. 2007. Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition. *Trends Plant Sci.* 12: 8. 331-333.
24. Hemke, P.H., and Sparks, D.L. 1996. Potassium, P 551-574. In: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston, M.E. Sumner, (Eds.), *Method of soil analysis.* Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
25. Karimi, K., Bolandnazar, S., and Ashoori, S. 2013. Effect of Bio-fertilizer and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Yield, Growth Characteristics and Quality of Green Bean (*Phaseolous vulgaris* L.). *Iran J. Sust. Agric. Prod. Sci.* 23: 3. 157-167.
26. 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: 6. 355-362.
27. Khosrojerdi, M., Shahsavani, S., Gholipor, M., and Asghari, H.R. 2013. Effect of rhizobium and mycorrhizal fungi inoculation on some nutrient uptake by chickpea at different levels of iron sulfate fertilizer. *Iran. Elec. J. Crop Prod.* 6: 2. 71-87.

28. Klopffer, J.W., Leong, J., Teuntze, M., and Schroth, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophore produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*. 286: 885-886.
29. Kuo, S. 1996. Phosphorus, P 869-920. In: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, (Eds.), *Method of soil analysis*. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
30. Loeppert, R.H., and Inskeep, W.P. 1996. Iron Methods of Soil Analysis, Part 3, Soil Science Society of America Inc., and American Society of Agronomy Inc., Madison, WI, Pp: 639-664.
31. Minaxi, I., Saxena, J., Chandra, S., and Nain, L. 2013. Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. *J. Soil Sci. Plant Nut.* 13: 2. 511-525.
32. Mishra, L.K., and Abidi, A.B. 2010. Phosphorous-Zinc interaction: effect on yield components and biochemical composition and bread making qualities of wheat. *World Appl. Sci. J.* 10: 5. 568-573.
33. Mosse, B. 1986. Mycorrhiza in a sustainable agriculture. *Biol. Agric.* 3: 191-209.
34. Parker, M.A. 1995. Plant fitness variation caused by different mutualist genotypes. *Ecology*. 76: 1525-1535.
35. Parmar, N., and Dadarwal, D.K.R. 1999. Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid like compounds by rhizobacteria. *J. Appl. Microbiol.* 86: 36-44.
36. Paymaneh, Z., and Zarei, M. 2013. Mycorrhizal fungi effect on growth and nutrient uptake base orange under water stress. *Iran. J. Soil Biol.* 1: 1. 13-24.
37. Reed, S.T., and Martens, D.C. 1996. Copper and Zinc, P 703-722. In: D.L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods*: Madison, Wisconsin, Soil Sci. Soc. of America, Inc.
38. Rosas, S., Rovera, M., Anders, J., and Correa, N. 2002. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on the rhizobia-legume symbiosis. *Proceeding of the 15th International Meeting on Microbial phosphate Solubilization*. Salamanca University, 16-19 July, Salamanca, Spain.
39. Shuman, L.M., and Wang, J. 1997. Effects of rice variety on zinc, cadmium, iron and manganese content in rhizosphere and non-rhizosphere soil fractions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 28: 23-36.
40. Shweta, T.S., and Lakshman, H.C. 2011. Synergistic Interactions among *Azotobacter*, *Pseudomonas*, and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Two Varieties of *Sesamum Indicum* L. *Commun. Soil Sci. Plant.* 42: 2122-2133.
41. Silva, C., Vinuesa, P., Eguiarte, L.E., Esperanza-Martinez, R., and Souza, V. 2003. *Rhizobium etli* and *Rhizobium gallicum* nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in a traditionally managed milpa plot in Mexico, population genetics and biographic implications. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 884-893.
42. Tavasolee, A., Aliasghar zad, N., Salehi, G.R., Mardi, M., Asgharzadeh, A., and Akbarivala, S. 2011. Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on fungal occupancy in chickpea root and nodule determined by real-time PCR. *Curr. Microbiol.* 63: 2. 107-114.
43. Twornlow, S. 2004. Increasing the role of legumes in smallholder farming systems. The future challenge. P 29-46, In: R. Serraj (Ed.), *Symbiotic Nitrogen Fixation*. Sci. Publ. Inc. USA, 382p.
44. Watanabe, I. 2000. Biological nitrogen fixation and its use in Agriculture (outline). www.osahi-net.or/~it6i-wtnb/BNF.html. J.ICA/Cantho Univ. Expert. Mar – Apr. Vietnam.
45. Younesi, O., Baghbani, A., and Namdari, A. 2013. The effects of *Pseudomonas fluorescence* and *Rhizobium meliloti* co-inoculation on nodulation and mineral nutrient contents in alfalfa (*Medicago sativa*) under salinity stress. *Int. J. Agri. Crop Sci.* 5: 14. 1500-1507.
46. Zhu, Y.G., Smith, S.E., and Smith, F.A. 2001. Zinc (Zn)-phosphorus (P) Interactions in Two Cultivars of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Differing in P uptake Efficiency. *Ann. Bot.* 88: 941-945.



**The interaction effects of *Pseudomonas putida*,
Rhizobium leguminosarum bv. *phaseoli* and *Funneliformis mosseae*
on the nutrition and yield of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)**

***A.A. Soltani Tolarod¹, P. Abbaszadeh Dahaji², F. Rejali³ and M. Omidvari⁴**

¹Assistant Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil,

²Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, ³Research Associate Prof. of Soil and Water Institute of Iran, ⁴M.Sc. Graduate, Dept. of Plant Pathology, University of Tehran

Received: 04/29/2015; Accepted: 12/13/2015

Abstract

Background and Objectives: The interaction between microorganisms, especially fungi and bacteria can have very effective impacts on the growth and nutrition and improve the plants yield. This study was done to investigate the effect of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria *Pseudomonas*, *Rhizobium* interaction on growth, yield and plant nutrition of common beans.

Materials and Methods: In order to investigate the effects of the inoculation with *P. putida*, *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* and *F. mosseae* on yield and nutrient uptake of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), a greenhouse experiment in a completely randomized factorial design with 3 treatments including a: microorganism in four levels (no inoculation, *P. putida*, *F. mosseae* and mix inoculation of fungi and bacteria), B: Zn in two levels (0 and 10 mg.kg⁻¹) and C: Nitrogen in two levels (inoculation with *R. leguminosarum* and adding 70 mg.kg⁻¹ nitrogen in form of NH₄NO₃) with four replications was conducted.

Results: The results of experiment indicated that the concentration of P, K, Zn, Cu and Mn in shoots of plants and shoot dry matter, shoot wet matter, seed dry weight, seed number and thousand seed weight affected by simultaneous inoculation of *F. mosseae* and *P. putida*. The concurrent inoculation of *F. mosseae* + *P. putida* + *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* significantly increased the Mn concentration in shoots of plants and seed number. Uptake of N, P, K, Fe, Zn, Cu and Mn significantly affected by synchronous inoculation of *F. mosseae* and *P. putida*. The concurrent inoculation of *F. mosseae* + *P. putida* + *R. leguminosarum* bv. *Phaseoli* had no significant effect on nutrient uptake.

Conclusion: Maximum thousand seed weight was obtained in rhizobium treatment which represents the role of effective and efficient rhizobium bacteria in reduction of nitrogen fertilizers use without yield loss.

Keywords: Iron, Seed number, Zinc, Copper, Manganese, Growth indices

* Corresponding Authors; Email: ali_soltani_t@yahoo.com