Al-Mukhtar Journal of Agricultural, Veterinary and Environmental Science 02 (2): 87-94, 2024
Doi: https://doi.org/10.54172/rnv7qn51

**Research Article** **Open Access**

# تقدير معدل الجرعة المحفزة من سماد كبريتات الأمونيوم لتثبيت النيتروجين حيوياً بواسطة Rhizobium Bacteria في نبات الفول تحت الظروف المحلية

فاطمة إبراهيم بن عامر[1] هدى أحمد سعيد الحديدي[2*]

**الباحث الاول[1]:** قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا.

**الباحث الثاني*:** قسم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا.

**المستخلص :** أجريت الدراسة لتحديد الجرعة المحفزة من سماد كبريتات الأمونيوم وذلك بإضافة المعدلات [0 – 20 – 25 – 50 – 100] كجم ن/هـ مع صنفين من نبات الفول المتداول محليا [ الصنف المغربي، والصنف المصري] ، وقد تفاوتت استجابة الصنفين عند إضافة لقاح Rhizobium المعزول والمعدّ محليا مع المعدلات المحددة من النيتروجين، وكان التجانس في النتائج ملحوظا في [النسبة المئوية للنيتروجين في النبات، وزن العقد البكتيرية، عدد العقد البكتيرية، وزن الجذور] والذي كان متفقا مع نتائج العديد من الدراسات السابقة سواء في النبات المعامل وغير المعامل، مع وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.01 في النبات المعامل بلقاح Rhizobium المعدّ محليا في هذه الدراسة تحت مسمى [F2k22]، وقد أوضحت النتائج المتحصل عليها من التجربة قيد الدراسة لموسمين متتالين أن أنسب معدل محفز وأفضل معاملة لكل العوامل المدروسة هي إضافة [25 كجم ن/هـ] في وجود لقاح Rhizobium، وهذا يؤكد أن معدل الجرعة المتعارف عليها 20 كجم ن/هـ غير كافية وغير فعالة لتثبيت النيتروجين حيوياً تحت الظروف المحلية.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا Rhizobium، تثبيت النيتروجين حيوياً، الجرعة المحفزة، كبريتات الأمونيوم، Vicia faba، التجفيد.

## The Determination of The Initiative Amount of Ammonium Sulfate Fertilizer Rates for Biological Nitrogen Fixation by Rhizobium Bacteria on Vicia Faba Plant Under Local Condition

[1] Department of Soil and Water, Faculty of Agriculture, Tripoli University, Tripoli, Libya.

***Corresponding author:** hodaalhadede1983@gmail.com
Department of Soil and Water, Faculty of Agriculture, Tripoli University, Tripoli, Libya

**Received:**
13 May 2024

**Accepted:**
21 September 2024

**Publish online:**
05 October 2024

**Abstract:** In order to determine the rate of initiative amount of ammonium sulfate fertilizer (0,20,25,50,100) Kg N/ha. The experiment was conducted using phenomena of biological nitrogen fixation, two cultivars of broad bean( vicia faba) were used "Egyption and Moroccian" In this study ,the response of the two cultivars were variable when locally isolated Rhizobium bacteria F2K22 was added as an inoculum in combination with different ammonium sulfate fertilizer rates. The results obtained showed remarkable homogeneity in the studied parameters [ percent of nitrogen in plant, Wight of root nodules, number of root nodules and root Wight ] ,which was agreed with previous studies either inoculated and non-inoculated plants with the significant difference at 0.01 in an inoculated plants with Rhizobium inoculum locally isolated F2k22. Finally the result obtained from the two season experiments showed that the addition of 25 kg N/ha in combination with Rhizobium inoculum was the proper promotive rate, this indicates that the known rate 20 kg N/ha is not the proper rate under local conditions to fix nitrogen biologically .

**Keywords:** Rhizobium; Biological Nitrogen Fixation; Initiative Amount; Ammonium Sulfate; Vicia Faba; Lypholization.

*The Author(s) 2024.* This article is distributed under the terms of the *Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License* ([http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/ ]( http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/ )), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, *for non-commercial purposes only*, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

**المقدمة**

إن التزايد الملحوظ والمتفاقم للتعداد السكاني وعدم تكافئه مع مصادر الغذاء وكمياته المحدودة وخاصة مصادر البروتين النباتي، ونظراً للحاجة الملحة لمصادر الغذاء فإن الاستخدام الجائر وغير المشروط للأسمدة المعدنية كان لازماً لتوفير الطلب الملح للغذاء عالمياً. وحيث إن النبات يحتاج بصفة عامة للعناصر السمادية الكبرى والصغرى، فإن النيتروجين يعد حاجة ضرورية للنباتات البقولية وبكميات وفيرة، وخاصةً في الترب خفيفة القوام الفقيرة في محتواها من النيتروجين، وقد كان لهذه الإضافات الجائرة للأسمدة المعدنية تأثير مباشر على تلوث المياه الجوفية مسبباً بذلك العديد من الأمراض منها: سرطان الأمعاء، ومرض الطفل الأزرق blue baby disease ( FAO, 1984 ).

وللعديد من المنظمات الدولية مثل ( WHO, FAO, ECARDA, NIFTAL, AFRA ) دور أساسي ومهم في إيجاد حلول بديلة للأسمدة المعدنية عن طريق التعريف بالتقنيات والدراسات الحديثة في المجال، وذلك باعتماد سبل البحث في التثبيت الحيوي للنيتروجين باعتباره الحل الأمثل لإنتاج النباتات البقولية، وهي مصدر مهم للبروتين النباتي، ويمثل وحدات إنتاجها (بكتيريا Rhizobium والنبات البقولي والبيئة المحيطة ).

وترتبط رؤوس هذا المثلث علاقة تكافلية منظمة تحكمها بكتيريا Rhizobium بسلالاتها المتوافقة مع النبات البقولي المزروع، وظروف بيئية مناسبة تشمل الرطوبة، درجة الحرارة، تركيز أيون الهيدروجين، والجرعة المحفزة من النيتروجين المعدني لعملية التثبيت، وخاصة في الترب ذات المحتوى المنخفض من النيتروجين.

العلاقة التكافلية المنظمة بين بكتيريا Rhizobium، والنبات البقولي هي أبدع نموذج حي من الخالق لمصنع نيتروجين في أدق وحدات إنتاجه بقدرة على تثبيت حوالي 450–550 كجم ن /هـ/لسنة بالنسبة لنبات الفول ( FAO, 1984 ) وهذا المصنع الرباني كان مصدراً لكثير من الأفكار والأبحاث للعديد من الشركات المتخصصة، والمعامل في تصنيع لقاح بكتيريا Rhizobium واختيار الحامل المناسب لها مثل الفحم، البيتموس، نشارة الخشب، بقايا النباتات وغيرها من الأوساط الحاملة المناسبة لمختلف الترب والبيئات.

يوزع اللقاح في الأوساط الحاملة المصنعة بنسب معلومة وأعداد بكتيرية مدروسة حسب احتياجات (النبات البقولي)، والذي يتكافل مع البكتيريا لتثبيت النيتروجين الجوي في وجود جرعة محفزة محسوبة من سماد النيتروجين المعدني لغرض إضافتها مع اللقاح، وهي تعمل كمنشط للبكتيريا في بداية عملية التثبيت الحيوي للنيتروجين الجوي.

وقد أجريت دراسات كثيرة في محاولة لتحديد الجرعات المحفزة، والتي تتأثر بالعديد من العوامل مما يجعل المعدل المتعارف عليه 20 كجم/هـ جرعة غير ثابتة لكل الظروف المتفاوتة من التوافق بين النبات البقولي، وسلالة البكتيريا، وأعدادها، وكذلك قوام التربة، ومحتواها من النيتروجين ( Jacob & Duque, 1982 ).

- **أهداف الدراسة :**

1. محاولة لتحديد الجرعة المحفزة من سماد النيتروجين في عملية التثبيت.
2. التأكيد على وجوب توافق اللقاح المحلي مع النبات البقولي المزروع في نجاح عملية التثبيت.

**مواد و طرائق البحث**

- **موقع التجربة :** محطة أبحاث كلية الزراعة، المساحة المزروعة 340م$^2$.
- 240 م$^2$ مزروعة فعلياً، وفرق المساحة فواصل بين المعاملات ولم يسبق زراعة القطعة وتسميدها كيميائياً لمدة 3 سنوات متتالية.
- **تصميم التجربة :** تحت نظام القطع المنشقة مرتين بطريقة القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD)، وتم تقسيم المكرر إلى 5 قطع، ومن ثم توزيع التركيزات الخمس عشوائياً.

مساحة القطعة 6 م$^2$ قسمت بالتساوي إلى قطع منشقة أصغر =2م$^2$، زرع في كل قطعة 3 صفوف من كل صنف 7 حبات لكل صنف، أي عدد 21 نبات لكل صنف، ولكل معاملة في القطعة المزروعة.

- **خواص التربة بمنطقة الدراسة :** أخذت عينات من موقع الدراسة بتوزيع منسق كما هو مبين بالجدول 1 للتعرف على درجة التوصيل الكهربي$^{o}$EC dS/m at 25c لمستخلص تربة (1:1)، درجة التفاعل pH، نسبة النيتروجين المتيسر، نسبة الفسفور المتيسر، والبوتاسيوم المتيسر بالجزء في المليون (ppm ) ( Black, 1965 ).

وتعتمد كفاءة تثبيت النيتروجين في التربة على العديد من العوامل، بما في ذلك البقوليات والهواء والتربة فوجد أن تثبيت النيتروجين في البرسيم الأحمر يمكن أن يتراوح من 50–200 رطل/فدان أي ما يقارب من 100–400 كجم/هكتار سنوياً اعتماداً على هذه المتغيرات ( Bergman et,.al 2012).

**جدول : (1)** . بعض الخواص الكيميائية للتربة المستعملة في التجربة.

| الموقع | PH | EC dS/m at 25c$^{o}$ (1:1) | النيتروجين المتيسر ppm | الفسفور المتيسر | البوتاسيوم المتيسر |
|---|---|---|---|---|---|
| التربة | 7.8 | 0.37 | 9.8 | 41.9 | 184 |

- **إعداد موقع الدراسة:** حراثة وقلب التربة في منطقة الدراسة مع إضافة الفسفور، والبوتاسيوم في صورة سماد فوسفات البوتاسيوم درجة تحليله (45 – 55 – 0) الذي يحتوي على ما نسبته 55% $P_2O_5$ و45% $K_2O$ وذلك لتهيئة التربة للزراعة، وتفادي ظهور أعراض النقص على النبات مع إضافة المعدلات من النيتروجين بتركيزات ( 0 – 20 – 25 – 50 – 100 ) كجم/هـ باستعمال سماد كبريتات الأمونيوم مع متابعة نسبة الرطوبة.
- **إعداد البذور :** أعدت البذور، وعقمت مع التأكيد على التعريف الصحيح للأصناف المستعملة من الفول الاسم العلمي ( Vicia faba) وفق استشارة الاختصاصيين في وزارة الزراعة .

وكانت الأنواع المستخدمة الحبة الكبيرة والمعروفة بالصنف Moroccian ($V_1$)، والصنف Egyption ذو الحبة الصغيرة ($V_2$) نسبة الإنبات كانت 100 % للمغربي و 97% للصنف المصري.

أضيف اللقاح المعدّ محلياً للبذور بعد تعقيمها في مجمل عددها 2520 بذرة .

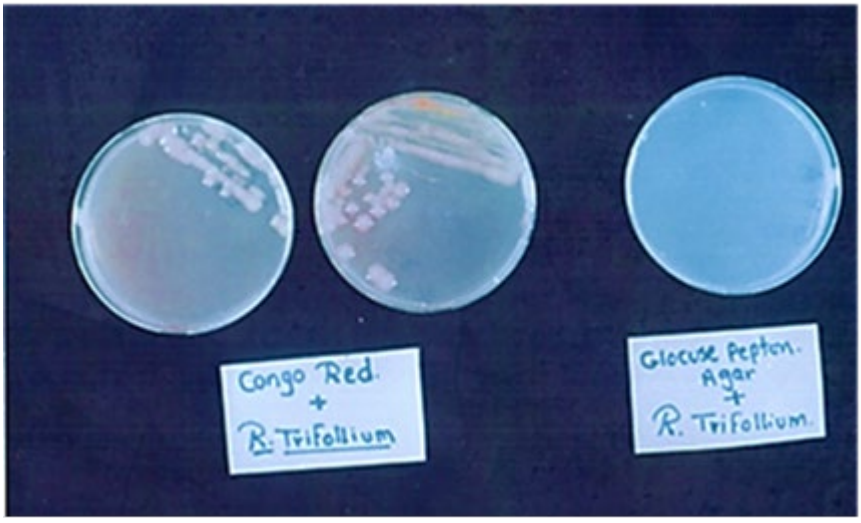
- **إعداد اللقاح البكتيري المحلي:** تم تجميع بكتيريا Rhizobium من نبات الفول المزروع محلياً من 10 مواقع غرب ليبيا وأعد اللقاح، واستخدم لمدة موسمين في الصوبة الزجاجية لمعرفة أفضل طرق الإضافة، ومن النتائج أن الإضافة للبذور أفضل من الإضافة للتربة.

وأعيد تجهيز اللقاح بعد استكمال الاختبارات المتعارف عليها ( الشريك، 2009 )، كما هو مبين بالجدول 2، وتنميتها على وسط غذائي انتقائي مثل آجار بيبتون عبارة عن وسط فاصل، أي عدم نمو مستعمرات عليه يؤكد أن المزروع هو بكتيريا

Rhizobium كما هو موضح بالشكل 1، وهذا متوافق مع طرائق عزل بكتيريا Rhizobium من العقد الجذرية لنبات اللوبيا (Jumaah et al., 2022).

**جدول :(2)**. الاختبارات الحيوية لبكتيريا Rhizobium .

| الاختبار | صبغة جرام G | بروموثيمول بلو BTB | كونجو رد CR | آجار البيبتون GPA |
|---|---|---|---|---|
| المشاهدة | لون أحمر | لون برتقالي | لا يوجد لون أحمر | لا يوجد نمو |
| النتيجة | جرام سالب | سريعة النمو | Rhizobium | Rhizobium |




**شكل: (1)** . الاختبارات الحيوية لتأكيد نمو بكتيريا Rhizobium .

بعد التأكد من فاعلية اللقاح مع الأصناف المزروعة تحت الظروف المحلية من خلال التطبيق لمدة موسمين زراعيين سميت Rhizobium (F2K22 ) وحفظت في معامل كلية العلوم بجامعة قاريونس لزيادة دراستها وتصنيفها.
حفظت Rhizobium F2K22 في أجار مائل غطي بالزيت لإعادة حفظها بالتجفيد Lypholization.

**الزراعة :** عند نقل اللقاح للحقل روعي فيه ضوابط حفظ اللقاح من التلوث. غمرت البذور باللقاح لمدة 6 ساعات متواصلة ثم زرعت بعدد 21 حبة لكل معاملة في القطع الثانوية لكل صنف، وأضيف اللقاح الذي يحتوي كل ملي منه على $10^9$ خلية Rhizobium مباشرة فوق البذرة، والبذور غير المعاملة وضعت في أماكنها دون معاملة وفق التوزيع العشوائي حسب التصميم مع تركيز السماد المستخدم، والمتابعة الدورية من الري والتعشيب .

**إعداد ووزن العينات :** تم جني المحصول عند نهاية مرحلة التزهير وبداية الإثمار، ثم التجميع وفق آلية محددة مع أخذ الوزن الرطب، وزن الجذور، وزن العقد الرطبة، وعدد العقد. تم تجفيف كل ذلك في فرن درجة حرارته 65– 70م° لمدة 18 ساعة، طحنت العينات، وجُمعت في أنابيب محكمة الإغلاق جاهزة للتحليل، وقدَرت في العينات % النيتروجين باستخدام جهاز كلداهل ( Black, 1965 ).

**التحليل الإحصائي :** استخدم برنامج Costat في تحليل النتائج، حيث قورنت المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي L.S.D، وعلى مستوى احتمال 0.01، وذلك لزيادة الدقة؛ لمعرفة مقدار الجرعة المحفزة.

**النتائج والمناقشة**

تأثير السماد الكيميائي والمعاملة ببكتيريا Rhizobium على نسبة النيتروجين بالنبات المعامل وغير معامل لكلا الصنفين كما هو موضح بالجدول 3، تبين أن هناك فروقاً معنوية ناتجة عن إضافة لقاح Rhizobium وهذا يتوافق مع ( Santra, 2015) بأن في حالة معاملة البذور ببكتيريا Rhizobium قبل زراعتها يزيد من إنتاجية المحصول البقولي بزيادة قدرها 15−20 % ،وإشارة لدراسة (Wu et al., 2005) في استخدام السماد الحيوي بديلاً عن الأسمدة الكيميائية ساهم في زيادة خصوبة التربة وتحسين معدل نمو النبات وإنتاجيته.

ومن المقارنة الأفقية في حالة عدم إضافة سماد معدني للنبات المعامل وغير معامل بـ Rhizobium يتضح تأثير اللقاح مفرداً بدون وجود سماد معدني، وتثبيت النيتروجين حيوياً من الفروق بين نسبة النيتروجين للنبات المعامل وغير معامل بـRhizobium مع الأخذ في الاعتبار تشابه الظروف لكلا المعاملتين .

**جدول :(3)**. تأثير المعاملة بـ Rhizobium والسماد الكيميائي في النسبة المئوية للنيتروجين بالنباتات ( % ن ).

| المعاملة السمادية كجم ن/هـ | النبات المعامل | النبات غير المعامل |
|---|---|---|
| 0 | 0.76 | 0.41 |
| 20 | 0.64 | 0.44 |
| 25 | 1.29 | 0.50 |
| 50 | 0.72 | 0.51 |
| 100 | 0.46 | 0.64 |
| المتوسط العام | a0.77 | b 0.50 |

متوسط موسمين متتالين

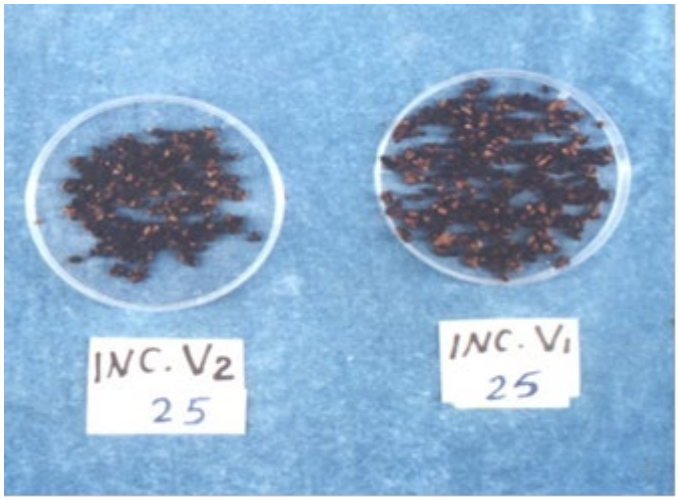
a ,b المتوسطات التي تشترك في حرف واحد لا يوجد بينهما فروق معنوية عند مستوى معنوية L.S.D 0.01

كما يوضح جدول 4 أن للتسميد تأثيراً واضحاً على متوسط وزن العقد البكتيرية لنبات الفول، وبالمقارنة نجد أن معدل 25 كجم ن/هـ أدى إلى الحصول على أعلى وزن لعقد البكتيريا، وهذا يدل على أن نشاط بكتيريا Rhizobium في علاقتها التكافلية مع نبات الفول ملحوظ كما هو موضح بالشكل 2، وهذا متوافق مع ما أدلت به نتائج التلقيح ببكتيريا العقد الجذرية بالسلالة المحلية EN12 على المستجلبة TLA380 و SUDA1021 مع إضافة 20 كجم نيتروجين مع اللقاح، و50 كجم نيتروجين في عدم إضافة اللقاح. المقارنة أدت إلى زيادة معنوية في عدد ووزن العقد، ومستوى التربة من النيتروجين في معدل 20 كجم نيتروجين للهكتار(أسامة وآخرون.، 2021)، بينما نجد أن معدل 100 كجم ن/هـ المضاف أدى إلى الحصول على أقل وزن لجذور نبات الفول المعامل بهذا المعدل، وهنا نستدل على تنشيط عمل Rhizobium في وجود المعدلات.

**جدول :(4)** . متوسط وزن العقد البكتيرية على النبات الواحد لكل من الصنفين (جم/ نبات).

| المعاملة السمادية كجم ن/هـ | الصنف المعامل | | الصنف غير المعامل | |
|---|---|---|---|---|
| | V1 | V2 | V1 | V2 |
| 0 | 1.50 | 2.10 | 1.00 | 1.20 |
| 20 | 2.15 | 2.15 | 0.60 | 1.60 |
| 25 | 3.15 | 2.75 | 2.10 | 1.00 |
| 50 | 2.30 | 2.25 | 0.55 | 1.20 |
| 100 | 1.60 | 0.90 | 1.40 | 1.30 |

متوسط موسمين متتالين



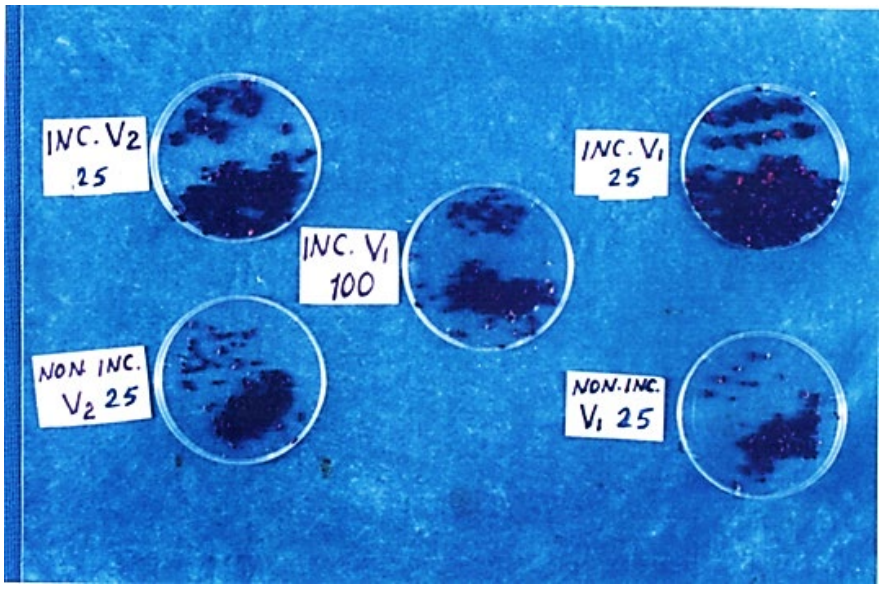

**شكل : (2).** مقارنة وزن العقد البكتيرية على صنفي الفول المعامل بـ Rhizobium عند 25 كجم ن /هكتار.

يوضح الجدول 5 وشكل 3 الذي يعكس أن إضافة 25 كجم ن/هـ هي المعاملة الأفضل بين المعدلات المضافة الأخرى بالنسبة لمتوسط أعداد العقد البكتيرية، حيث إن أعداد العقد في 25 كجم ن/هـ أكبر من عددها عند إضافة 100 كجم ن/هـ رغم أن العدد لا يعني أن كل العقد فاعلة في تثبيت النيتروجين.

**جدول :(5).** متوسط عدد العقد البكتيرية لكلا صنفي الفول (عقدة/نبات).

| المعاملة السمادية كجم ن/هـ | الصنف المعامل | | الصنف غير المعامل | |
|---|---|---|---|---|
| | V1 | V2 | V1 | V2 |
| 0 | 300 | 220 | 162 | 110 |
| 20 | 240 | 148 | 182 | 90 |
| 25 | 400 | 250 | 252 | 120 |
| 50 | 361 | 285 | 265 | 258 |
| 100 | 286 | 244 | 259 | 160 |

متوسط موسمين متتالين




**شكل : (3)** . يوضح مقارنة عدد العقد الجذرية لصنفي الفول المعامل باللقاح Rhizobium وغير المعامل

أما تأثير المعاملة بـ Rhizobium، والتسميد الكيميائي على وزن الجذور كما هو موضح بالجدول 6 كانت هناك فروق معنوية بين الفول المعامل باللقاح Rhizobium وغير المعامل للصنفين، بينما لم يكن للسماد الكيميائي تأثير معنوي رغم الاختلاف في الأوزان، فبدون إضافة السماد كان وزن الجذور 17.5 جم/نبات معامل و12جم/نبات غير معامل، و كذلك في المقارنة الأفقية عند إضافة 25 كجم ن/هـ نجد وزن الجذور للنبات المعامل 18جم/نبات بينما غير المعامل 14 جم/نبات وعند 100 كجم ن/هـ للنبات سواء كان معامل أو غير معامل لم يسجل أية فورقات معنوية، يرجع ذلك للإضافة الكبيرة للسماد الذي بدوره يؤدي إلى تثبيط نشاط الـ Rhizobium عند مقارنة النبات المعامل بـRhizobium في وجود 100 كجم ن/هـ عن النبات غير المسمد يتضح تأثير التسميد المعدني كما هو مبين في الشكل 4.

**جدول :(6).** تأثير التسميد في متوسط وزن الجذور لصنفي النباتات المعاملة وغير المعاملة ( جم/نبات) .

| المعاملة السمادية كجم ن/هـ | النبات المعامل | النبات غير المعامل |
|---|---|---|
| 0 | 17.5 | 12 |
| 20 | 19 | 12 |
| 25 | 18 | 14 |
| 50 | 16 | 11 |
| 100 | 14 | 14 |
| المتوسط العام | a 17.03 | b 12.6 |

متوسط موسمين متتالين

a ,b المتوسطات التي تشترك في حرف واحد لا يوجد بينهما فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.01 L.S.D

التقارب في وزن الجذور عند معدل 100كجم ن/هـ والنبات المعامل بـRhizobium دون إضافة سماد معدني؛ يرجع سببه لتكوين عدد أكبر من عقد الجذور نتيجة نشاط الـRhizobium في النبات المعامل، وعدم تكوين العقد بعدد كافي من هذه البكتيريا عند إضافة 100كجم ن/هـ قد يكون ناتج عن التركيز العالي للنيتروجين الذي يفوق الجرعة المحفزة مما يؤدي إلى تثبيط نشاط Rhizobium وهذا يؤكد دور بكتيريا Rhizobium الفعال على عدد العقد الجذرية، ووزنها للنبات المعامل عنها من النبات غير المعامل.

**شكل:( 4).** تأثير التسميد و لقاح Rhizobium من عدمه على وزن الجذور.

**الخلاصة**

بعد إجراء الدراسة اتضح أن التسميد الحيوي باستخدام لقاح Rhizobium المعد محلياً للتثبيت الحيوي للنتروجين في التربة في وجود الجرعة المحفزة المدروسة تحت الظروف المحلية له نتائج معنوية مشجعة ومؤثر إيجابي لتثبيت النتروجين في التربة والنبات، والذي قد يكون بديلاً للأسمدة الكيميائية وخاصةً النيتروجينية منها، والتأكيد على وجود لقاح معد محلياً وجرعة محفزة محددة محلياً من السماد النيتروجيني وأصناف جيدة من النبات البقولي يؤدي كل ذلك إلى تربة تحتوي على معدلات مناسبة من النيتروجين المثبت حيوياً وأعداد وافرة من بكتيريا Rhizobium وبالتالي إنتاج وافر من البقوليات.

**ازدواجية الاهتمام:** لا يوجد تضارب في المصالح.

**مساهمات المؤلف:** متساوية بين المؤلفين.

**التمويل:** لا يوجد تمويل لدعم هذه المخطوطة

**المراجع**

أسامة حامد، محمد عبد الله، محي الدين جمعة، عمر أحمد محمد، وكمال الدين الأمين أحمد.( 2021 ). أثر التلقيح بسلالات مختلفة من بكتيريا العقد الجذرية و التسميد النيتروجيني على نبات الحلبة. المجلة العربية للنشر العلمي، العدد 29 ص 289.

يوسف محمد الشريك ( 2009 ). أساسيات علوم الأحياء الدقيقة – عملي – كلية الزراعة جامعة الفاتح.

Bergman, B., Sandh, G., Lin, S., Larsson, J., & Carpenter, E. J. J. F. m. r. (2012). Trichodesmium–a widespread marine cyanobacterium with unusual nitrogen fixation properties. *37*(3), 286-302.

Black, C. J. I. p., Madison Wisconsin, USA. (1965). Methods of soil analysis part 1 physical properties Am. Soc. Agron.

FAO, (1984). Legume Inoculate and their use.

Jacob Neto, J., & Duque, F. J. D.-C. N. d. P. d. S. (1982). Analysis of morphological components, yield components and biological nitrogen fixation in soybean cultivars (Glycine max (L.) Merrill). (1).

Jumaah, O. H., Sultan, R. H., Assafi, M. S. J. J. o. E., & Science. (2022). Antimicrobial Activity of Local Rhizobial Isolates Against Some fungi. *31*(2), 141-149.

Santra, S. C., Mallick, A., & Samal, A. C. J. R. t. i. b. I. I. P. H. P. L. (2015). Biofertilizer for bioremediation. 205-234.

Wu, S. C., Cao, Z., Li, Z., Cheung, K., & Wong, M. H. J. G. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *125*(1-2), 155-166.