مطالعه‌جدایه‌های‌بومی‌سینوریزوبیوم‌ملیلوتی‌مقاوم‌به‌شوری‌و خشکی‌در خاکهای‌استان‌کرمان

محبوبه ابوالحسنی‌زراعتکار[۱]، امیر لکزیان[۲]، غلامحسین حق‌نیا[۳]، علیرضا آستارایی[۴]و مهدی سرچشمه‌پور[۵]

۱- دانشجوی‌سابق‌کارشناسی ارشد دانشگاه‌فردوسی‌مشهد. mahboobeh_abolhasani@yahoo.com

۲و۳و۴- عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان.

مقدمه

اهمیت این فرایند صرفه‌جویی در مصرف کودهای شیمیایی، تامین نیتروژن متناسب با نیاز گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه است. امروزه در برنامه‌ریزی برای سیستمهای کشاورزی پایدار استفاده از این نوع همزیستی یک ضرورت اساسی تلقی می‌شود.تنشهای محیطی بر تعداد جدایه‌های ریزوبیوم و توان تثبیت زیستی نیتروژن تاثیر منفی دارند [۱]. نژادهای مختلفی از باکتری ریزوبیوم در خاک وجود دارند که تاثیر آنها برمیزبان از نظر تثبیت زیستی نیتروژن و مقابله با تنشهای محیطی یکسان نیست [۳]. تلقیح گیاهان لگومینه با جدایه‌های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی، تاثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم - ریزوبیوم دارد و در نتیجه افزایش تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش عملکرد گیاه را بدنبال دارد [۲].

مواد و روشها

چهار جدایه برای مطالعه شوری و خشکی انتخاب شدند و قبل از هر مرحله از آزمایش ابتدا عمل یکسان سازی تعداد سلول جدایه‌ها انجام شد. به منظور تعیین تحمل به شوری و خشکی جدایه‌ها از محیط کشت مایع TY با غلظتهای متفاوت شوری ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۶۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و سطوح مختلف خشکی حاوی ۰، ۲۰۳/۳۶۲، ۲۹۸/۵۸۷، ۳۷۳/۸۰۴، ۴۳۸/۴۰، ۴۹۶/۱۰۱، ۵۴۸/۸۳۸ و ۵۷۳/۷۲۸ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد. پس از گذشت مدت زمان ۷۲ ساعت از زمان رشد میزان چگالی نوری جدایه‌ها اندازه‌گیری شد و جدایه‌ها گروه بندی شدند[۴]. آزمایش گلخانه ای با استفاده از چهار جدایه سینوریزوبیوم (دو جدایه سینوریزوبیوم S27K و S36K به عنوان جدایه‌های مقاوم، S109K به عنوان جدایه نیمه حساس و S56K به عنوان جدایه سینوریزوبیوم حساس به خشکی و شوری) به همراه دو تیمار شاهد مثبت S0N80 (بدون جدایه همراه با ۸۰ پی‌پی‌ام نیتروژن) و شاهد منفی S0N0 (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) بر روی گیاه یونجه (رقم بمی) در سه سطح خشکی (شاهد، خشکی متوسط و خشکی شدید) در قالب طرح کاملا تصادفی به صورت فاکتوریل در چهار تکرار بر روی یک خاک شور با هدایت الکتریکی انجام گرفت. تعداد گره، عملکرد گیاه و کارآیی سیستم همزیستی این جدایه‌ها تعیین گردید. داده‌های جمع آوری شده از هر مرحله با نرم‌افزار MINTAB مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میزان رشد جدایه‌های مختلف در تنش شوری و خشکی متفاوت است و برخی از جدایه‌ها در شرایط تنش مقاومتر هستند و می‌توانند رشد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشته باشند (جدول ۱ و ۲). دو جدایه S27K و S36K بیشترین رشد را در غلظتهای متفاوت هر دو نمک نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین مشاهده شد در سطح خشکی شدید تعداد گره در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۷/۲ و ۴/۲ برابر و گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۱/۷ برابر نسبت به جدایه حساس (S56K) افزایش یافته است (جدول ۴).بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین مشاهده شد که در سطح خشکی شدید وزن خشک اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۳/۵ و ۳/۶ برابر، گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۱/۹ برابر، گیاهان تلقیح شده با جدایه

حساس (S56K) ۱/۴ برابر و تیمار شاهد مثبت (S0N80) ۳/۱ برابر نسبت به تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) افزایش یافته است (جدول ۵). مقایسه میانگین کارآیی همزیستی چهار جدایه انتخاب شده سینوریزوبیوم ملیلوتی در شرایط تنش شوری و خشکی نشان داد که دو جدایه مقاوم S27K و S36K بیشترین درصد کارآیی همزیستی (بیشتر از صد درصد) و جدایه حساس S56K کمترین درصد کارآیی همزیستی (۳۲ درصد) را داشتند (جدول ۳). بطوریکه مشاهده شد کارآیی همزیستی جدایه مقاوم (S27K) و (S36K) ۳/۴ برابر و جدایه نیمه حساس S109K تنها ۱/۸ برابر جدایه حساس(S56K) بوده است. این نشان‌دهنده توان زیاد جدایه‌های مقاوم به شوری و خشکی در انجام فرایند زیستی تثبیت نیتروژن مولکولی تحت شرایط نامساعد محیطی است و استفاده از این جدایه‌ها در منطقه گرم و خشک کرمان باعث بالابردن پتانسیل تثبیت زیستی‌نیتروژن آن منطقه توسط‌گیاه یونجه می‌شود.

جدول ۱- مقایسه میانگین چگالی نوری (میزان رشد) جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم در تنش شوری

جدایه	S36K	S27K	S109K	S56K
میانگین	۰,۴۳a	۰,۳۰a	۰,۱۷b	۰,۱۳d

جدول ۲- مقایسه میانگین چگالی نوری (میزان رشد) جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم در تنش خشکی

جدایه	S36K	S27K	S109K	S56K
میانگین	۱,۲۵a	۱,۰۴a	۰,۳۰b	۰,۳۴b

جدول ۳- مقایسه میانگین کارآیی همزیستی چهار جدایه انتخاب شده سینوریزوبیوم ملیلوتی در شرایط تنش خشکی

جدایه	S36K	S27K	S109K	S56K
میانگین	۱۰۹/۲۰a	۱۱۰/۶۰a	۵۷/۲۸b	۳۲/۲۰c

جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد گره ایجاد شده بر ریشه گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی

جدایه / خشکی	S36K	S27K	S109K	S56K	S0N80	S0N0	میانگین
شاهد	۱۸۶ a	۱۵۱ b	۱۳۹bc	۷۱de	۰g	۰g	۹۱a
خشکی متوسط	۱۲۰ c	۷۶ d	۵۳ef	۲۰g	۰g	۰g	۴۵b
خشکی شدید	۷۲ de	۴۲f	۱۷g	۱۰g	۰g	۰g	۲۳c
میانگین	۱۲۶ a	۸۹ b	۶۹c	۳۴d	۰e	۰e	

جدول ۵- مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه (گرم) در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی

جدایه / خشکی	S36K	S27K	S109K	S56K	S0N80	S0N0	میانگین
شاهد	۳/۶۱۷b	۴/۱۴۲a	۲/۹۱۶c	۲/۳۱۶de	۳/۷۱۸b	۱/۴۵۲h	۳/۰۲۷a
خشکی متوسط	۲/۵۳۹d	۲/۳۳۴de	۱/۸۸۷fg	۱/۵۵۹gh	۲/۵۸۱d	۰/۹۴۵i	۱/۹۷۴b
خشکی شدید	۱/۹۳۸f	۱/۹۸۹ef	۱/۰۶۸i	۰/۷۹۹۵ij	۱/۷۲۰fgh	۰/۵۴۷j	۱/۳۴۴c
میانگین	۲/۶۹۸a	۲/۸۲۲a	۱/۹۵۷b	۱/۵۵۸c	۲/۶۷۳a	۰/۹۸۲d	

منابع

[1] Duzan, H.M., X. Zhou, A. Souleimanov, and D.L. Smith. 2004. Perception of *Bradyrhizobium japonicum* nod factor by soybean [*Glycine max* (L.) *Merr*.] root hairs under a biotic stress conditions. J. of Experimental Botany. 55(408): 2641-2646.

[2] Jebara, M., M. Elarbi, A. Ridha Mhamdi, R. Ghrir, and M. Mars. 2000. Effect of salt on *Sinorhizobium sp*. isolates from Tunisia either in vitro or in association with *Medicado sp*. Agricultures. 9(2): 99-102.

[3] Rehman, A. and C.S. Nautiyal. 2002. Effect of drought on the growth and survival of the stress-tolerant bacterium *Rhizobium sp*. NBRI2505 sesbania and its drought-sensitive transpose Tn5 mutant. Springer-Verlag. New York. LLC. 45(5): 368-377.

[4] Somasegaran, P. and H.j. Hoben. 1994. Handbook for rhizobia: Methods in legume-rhizobium technology. Springer-Verlay. New York. p: 450.