بررسی کارایی همزیستی سویه‌های مختلف ریزوبیومی با دو رقم اختر و گلی لوبیا قرمز در راستای بهبود شرایط تغذیه نیتروژنی

پیمان عباس‌زاده دهجی[1] غلامرضا ثواقبی[2]، هادی اسدی رحمانی[3]، فرهاد رجالی[4]

1- دانشجوی دکتری گروه مهندسی خاک پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه تهران

2- دانشیار گروه مهندسی خاک پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه تهران

3 و 4- استادیار بخش بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب

(dahaji@ut.ac.ir, asadi_1999@yahoo.com)

چکیده

تحقیقات نشان داده است که بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و رقم‌های مختلف گیاهان، کارایی همزیستی متفاوت می‌باشد به همین منظور در این پژوهش کارایی همزیستی 47 سویه ریزوبیومی با 2 رقم لوبیای اختر و گلی بررسی شد. نتایج نشان داد که کارایی همزیستی این دو رقم با سویه‌های ریزوبیومی متفاوت بود. در رقم گلی سویه‌های Rb148، Rb141 و Rb123 به ترتیب با 140، 137 و 131 درصد همزیستی بالاترین کارایی را داشتند. در رقم اختر سویه‌های Rb122A، Rb151 و Rb147 به ترتیب با 162، 160 و 159 درصد همزیستی بالاترین کارایی را داشتند. همچنین میانگین کارایی همزیستی دو رقم اختر وگلی با کلیه سویه‌های ریزوبیومی به ترتیب 80/36 و 66/08 بود که نشان می‌دهد رقم اختر توانست همزیستی بهتری را با ریزوبیوم‌های استفاده شده داشته باشد.

کلمات کلیدی: **اختر، ریزوبیوم، کارایی همزیستی و گلی**.

مقدمه:

نیتروژن جز اصلی و اساسی پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و کلروفیل می‌باشد. بنابراین نیتروژن یک عنصر ضروری برای رشد گیاه می‌باشد. مشخص شده است که نیتروژن به صورت فرم‌های معدنی NH_4^+ و NO_3^- وارد گیاه می‌شود. همچنین جذب به صورت مولکول‌های اوره نیز می‌تواند انجام شود (Urzua, 2005). در کشاورزی مدرن از گیاهان با پتانسیل تولید بالا و تقاضای زیاد برای نیتروژن استفاده می‌شود در نتیجه مقداری زیادی این عنصر نسبت به آنچه توسط خاک تأمین می‌شود، مورد نیاز است. بنابراین برای رشد اکثر گیاهان نیاز به استفاده از کودهای نیتروژنی می‌باشیم و این باعث افزایش هزینه‌های تولید می‌شود. خوشبختانه تثبیت زیستی نیتروژن (Biological Nitrogen Fixation (BNF)) یک روش بسیار مطلوب برای اضافه کردن نیتروژن به سیستم می‌باشند. در این روش گیاهان مشخصی که با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن خصوصاً گونه‌های جنس ریزوبیوم همزیستی دارند می‌توانند نیتروژن را با قیمت ارزانتری بدست آورند(Urzua, 2005) . اصولاً گونه‌های مختلف حبوبات جزء گیاهانی هستند که توانایی ایجاد همزیستی با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن را دارند. این گیاهان مانند گیاهان دیگر می‌توانند نیتروژن معدنی را از خاک جذب کنند اما این گیاهان همچنین توانایی جذب نیتروژن از اتمسفر را نیز دارند (Twomlow, 2004) .گره‌زایی ضعیف و پاسخ کم به زادمایه در مزارع تحقیقاتی سراسر دنیا گزارش شده است و این مسئله باعث ایجاد شک در مورد کارایی مایه‌کوبی کردن لوبیا معمولی با ریزوبیوم‌ها شده است (Hungria

and Vargas, 2000). کمی پاسخ به زادمایه می‌تواند ناشی از عواملی مانند خصوصیات ذاتی گیاه میزبان و باکتری؛ همچنین حساسیت بالای همزیستی به تنش های محیطی مانند دمای بالا، خشکی خاک و کمی حاصلخیزی خاک باشد (Hungria and Vargas, 2000). تحقیقات نشان داد که بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و رقم‌های مختلف گیاهان کارایی همزیستی متفاوتی است (Handley *et al.*, 1998). به همین منظور بررسی کارایی همزیستی قبل استفاده ریزوبیوم به عنوان کود بیولوژیک یک امر ضروری می‌باشد.

مواد و روشها

کارایی همزیستی سویه‌های مختلف ریزوبیوم در شرایط گلخانه:
آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های یک کیلوگرمی پلاستیکی پر شده از ماسه استریل و اسید شسته شده انجام شد. در این آزمایش2 رقم لوبیا قرمز به نام‌های اختر و گلی که در مزارع ایران کشت می‌شوند و 47 سویه ریزوبیوم جدا شده از گره‌های روی ریشه لوبیا که در کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب نگهداری می‌شود، استفاده شد. سویه در محیط مایع مانیتول مخمر ((Yeast Manotol Broth (YMB) کشت داده شد و به مدت 48 ساعت روی شیکر قرار گرفت. به منظور استریل سطحی بذرها به مدّت 1 دقیقه در الکل 96 درصد و 3 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 3 درصد قرارداده شدند و به دنبال آن با مقادیر زیادی آب مقطر استریل حدود 10 بار شستشو گردیدند. سپس در شرایط استریل بذرها به تعداد 4 عدد درهرگلدان کاشته شدند و در هنگام کاشت، هر بذر با مقدار 1 میلی‌لیتر باکتری موردنظر (با جمعیت 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری) تلقیح گردید. برا ی هر سویه 4 گلدان درنظر گرفته شد همچنین یک تیمار تلقیح نشده شاهد (N0) و یک تیمار تلقیح نشده نیتروژنه (70 میلی‌گرم نیتروژن در گیلوگرم) در چهار تکرار درنظر گرفته شد (مجموعاً 400 گلدان). گیاهان در گلدان پس از 1 هفته به 2 گیاه کاهش یافت و هر هفته با محلول عاری از نیتروژن آبیاری شدند. گیاهان پس از 2 ماه برداشت شدند و وزن خشک اندام هوایی و تعداد گره‌ها روی ریشه اندازه‌گیری شد. میانگین وزن خشک اندام هوایی برای محاسبه شاخص کارایی (Ei=(Xi-Xc/XN-Xc استفاده شد (Xi، Xc و XN به ترتیب وزن خشک اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده، گیاهان شاهد تلقیح نشده و گیاهان دریافت کننده نیتروژن به میزان 70 میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد) (Baraibar *et al.*, 1999).

نتایج و بحث

هر در رقم گلی سویه‌های Rb148، Rb141، Rb123، Rb107 و Rb127 به ترتیب با 140، 137، 131، 121 و 119 درصد همزیستی بالاترین کارایی را داشتند. همچنین سویه‌های 102، 113، 114، 134، 137، 149، 150 و 155 نتوانستند با رقم ذکر شده همزیستی ایجاد کنند و گره‌ای تشکیل دهند (جدول 1). در رقم در رقم اختر سویه‌های Rb122A، Rb151، Rb147، Rb148 و Rb146 به ترتیب با 162، 160، 159، 156 و 153 درصد همزیستی بالاترین کارایی را داشتند. در رقم اختر که بیشترین کارایی همزیستی را با سویه‌های مختلف ریزوبیومی داشت (80/36 درصد) تنها دو سویه 134 و 140 نتوانستند با رقم ذکر شده همزیستی ایجاد کنند و گره‌ای تشکیل دهند. همچنین میانگین کارایی همزیستی دو رقم اختر وگلی با کلیه سویه‌های ریزوبیومی به ترتیب 80/36 و 66/08 بود. نتایج نشان داد که بین ارقام ذکر شده و سویه‌های ریزوبیومی کارایی همزیستی مختلفی وجود دارد و همچنین تعدادی از سویه‌ها نتوانستند گره‌ای ایجاد کنند. تحقیقات نشان داد که بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و رقم‌های مختلف گیاهان کارایی

همزیستی متفاوتی است (Handley *et al*., 1998). در رقم اختر سویه Rb146 با تولید 132 گره بیشترین میزان گره را روی ریشه رقم مورد نظر ایجاد کرد در حالی بیشترین میزان تولید گره در رقم گلی مربوط به سویه Rb148 با تولید 105 گره بود. تحقیقات شمس‌الدین و همکاران (2005) نشان داد کارایی سویه‌های مختلف ریزوبیوم با لوبیا متفاوت بود و سویه EBRI3 با تولید 129 گره در هر گیاه و وزن تر گره 907 میلی گرم در هر گیاه بیشترین کارایی را داشت (Shamseldin *et al*., 2005). تفاوت بین کارایی‌های همزیستی در سویه‌ها و ارقام مختلف را می‌توان به تفاوت ژنتیکی ارقام و سویه‌ها و همچنین تعمل این دو موجود زنده مربوط دانست. محققین دریافتند که تثبیت زیستی نیتروژن (symbiotic nitrogen fixation (SNF)) در لگوم‌ها به انتخاب همزمان ژنوتیپ‌های باکتری و گیاه بستگی دارد (Appunu and Dhar, 2006; Appunu *et al*., 2008).

جدول 1- کارایی همزیستی سویه‌های مختلف ریزوبیومی با دو رقم لوبیا (قرمز)

رقم اختر		رقم گلی	
نام سویه	تعداد گره	کارایی همزیستی (درصد)	تعداد گره	کارایی همزیستی (درصد)
Rb102	48	99 IJ	-	0 W
Rb104	13	35 STUV	25	52 MNOP
Rb106	65	130 EFG	20	60 KLMNO
Rb107	85	144 BCDE	75	121 BCD
Rb108	22	62 MNOP	35	54 LMNOP
Rb109	8	37 STUV	48	77 HIJK
Rb111	43	118 GH	70	90 FGH
Rb112	5	39 RBSTUV	19	72 HIJKL
Rb113	59	86 JK	-	17 TUVW
Rb114	3	32 TUV	-	27 RBST
Rb115	5	32 TUV	5	33 QRBST
Rb116	4	37 STUV	23	97 EFG
Rb117	45	96 IJ	50	106 DEF
Rb119	15	35 STUV	38	79 GHIJ
Rb120	93	149 ABCD	38	49 NOPQ
Rb122A	69	162 A	15	52 MNOP
Rb122	8	44 RBSTU	11	39 PQRBS
Rb123	9	44 RBSTU	82	131 ABC
Rb124	8	53 OPQRB	18	62 JKLMNO
Rb127	59	141 CDE	51	119 BCD
Rb128	29	68 LMNO	18	61 JKLMNO
Rb129	26	46 QRBST	68	113 CDE
Rb130	49	111 HI	58	119 BCD
Rb131	11	36 STUV	4	22 STU
Rb133	15	64 LMNO	42	105 DEF
Rb134	-	26 V	-	0 W

21 STV	8	124 FGH	49	Rb135
65 IJKLMN	28	48 PQRBS	8	Rb136
3 UVW	-	27 V	4	Rb137
69 IJKLM	38	64 LMNO	36	Rb138
30 RBST	14	30 UV	-	Rb140
137 AB	92	77 KLM	69	Rb141
108 DEF	39	75 KLMN	39	Rb142
111 DE	85	100 IJ	39	Rb143A
105 DEF	53	150 ABC	68	Rb143B
81 GHI	62	121 FGH	103	Rb144
116 CD	35	153 ABC	132	Rb146
82 GHI	36	159 AB	98	Rb147
140 A	105	156 ABC	69	Rb148
3 UVW	-	60 NOPQ	29	Rb149
16 TUVW	-	43 RBSTU	13	Rb150
44 OPQRB	18	160 AB	55	Rb151
36 PQRBS	19	80 KL	37	Rb152
78 HIJK	38	134 DEF	65	Rb153
16 TUVW	-	31 TUV	8	Rb155
102 DEF	25	64 LMNO	12	Rb156
38 PQRBS	12	37 STUV	5	Rb157
-	-	-	-	+N
-	-	-	-	-N
66/08		80/36		متوسط همزیستی

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح 1 درصد ندارند

N+: بدون تلقیح و70 میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن دریافت کرده N-: بدون تلقیح و کود نیتروژنه

منابع

Appunu, C. and Dhar, B. 2006. Differential symbiotic response of ***Bradyrhizobium japonicum*** phage-typed strains with soybean cultivars. J. Microbiol. 44(3): 363-368.

Appunu, C., Sen, D., Singh, M.K. and Dhar, B. 2008. Variation in symbiotic performance of ***bradyrhizobium japonicum*** strains and soybean cultivars under field conditions. J. Eur. Cent. Agr. 9(1): 185-190

Baraibar, A., Frioni, L., Guedes, M.E. and and Ljunggren, H. 1999. Symbiotic effectiveness and ecological characterization of indigenous ***rhizobium*** loti populations in Uruguay. Pesq. agropec. bras. Brasília. 34: 1011-1017

Handley, B.A., Hedges, A.J. and Beringer, J.E. 1998. Importance of host plants for detecting the population diversity of ***Rhizobium leguminosarum*** biovar ***viciae*** in soil. Soil Biol. Biochem. 30:241–249.

Hungria. M. and Vargas, M.A.T. 2000. Environmental factors affecting N2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. Field Crops Res. 65:151–164.

Shamseldin, A.A.Y., Vinuesa, P., Thierfelder, H. and Werner, D. 2005. Rhizobium etli and *Rhizobium gallicum* Nodulate *Phaseolus vulgaris* in Egyptian Soils and Display Cultivar-Dependent Symbiotic Efficiency. Symbiosis 38:145–161

Twornlow, S. 2004. Increasing the role of legumes in smallholder farming systems. The future challenge. En: Rachid Serraj (ed.) Simbiotic Nitrogen Fixation. Sci. Publ. Inc. USA. 382 pp.

Urzua, H. 2005. Benefits of symbiotic nitrogen fixation in chile. Cien. Inv. Agr. 32(2): 109-124