تاثیر تلقیح جدایه‌های مقاوم به خشکی بر سیستم تثبیت نیتروژن باکتری سینوریزوبیوم و عملکرد گیاه یونجه در شرایط خشکی

محبوبه ابوالحسنی[۱]، امیر لکزیان[۲]، احمد تاج آبادی‌پور[۳] و حمید محمدی[۴]

[۱]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی، ولیعصر (عج) و دانشگاه آزاد رفسنجان

مقدمه

یکی از عوامل کاهش عملکرد در شرایط کمبود آب را می‌توان به کاهش دسترسی گیاه به نیتروژن نسبت داد (۱). اگر چه خشکی بسیاری از جنبه‌های گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد، اما حساسیت تثبیت نیتروژن به کمبود آب بیشتر است، زیرا بسیاری از فرآیندهای زیست‌شیمیایی گیاه تا تخلیه ۷۰ تا ۸۰ درصد رطوبت قابل استفاده خاک تحت تاثیر قرار نمی‌گیرند، در حالی‌که تخلیه ۵۰ درصد از رطوبت قابل استفاده خاک موجب کاهش تثبیت نیتروژن می‌گردد (۴). در مورد علت کاهش تثبیت نیتروژن در اثر تنش آبی نظرات متفاوتی وجود دارد. برخی علت آن را کاهش فتوسنتز و میزان کربوهیدراتها، کاهش تعداد گره‌های ریشه و یا کاهش انتقال دهنده‌های اکسیژن در گره می‌دانند، که سبب تجمع اکسیژن در گره‌ها و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم نیتروژناز می‌شود (۲). گیاهان هنگام تنش خشکی با مکانیسم‌های خاصی شرایط خشکی را تحمل می‌کنند، با این حال کاهش رشد در آنها دیده می‌شود. یکی از دلایل کاهش رشد در اثر کاهش جذب عناصر غذایی به ویژه نیتروژن و فسفر است و گیاهانی که دارای مقادیر کافی نیتروژن و فسفر باشند توانایی تحمل بیشتری نسبت به تنش آبی دارند (۱). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در شرایط نامساعد محیطی تلقیح گیاهان با جدایه‌های بومی مقاوم تاثیر مثبتی در همزیستی لگوم - ریزوبیوم داشته و این گیاهان از رشد و عملکرد بیشتری نسبت به سایر گیاهان برخوردار بوده‌اند (۵ و ۴).

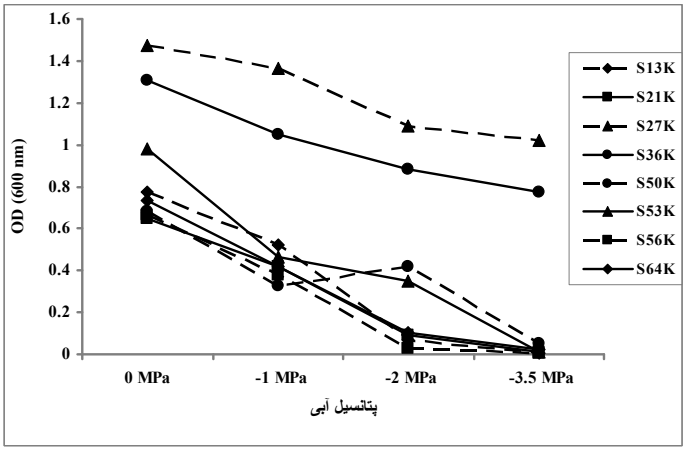
مواد و روش‌ها

از سطح استان کرمان تعدادی جدایه جداسازی و خالص‌سازی شدند. پس از آزمون گره‌زایی ۸۰ جدایه تایید شدند. قبل از آزمایش ابتدا عمل یکسان سازی تعداد سلول جدایه‌ها انجام شد. به منظور تعیین تحمل خشکی جدایه‌ها از محیط کشت مایع **TY** با پتانسیل‌های آبی ۰، ۱-، ۲-، و ۳/۵- مگاپاسکال (توسط پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰) استفاده شد. پس از گذشت مدت زمان ۷۲ ساعت میزان چگالی نوری جدایه‌ها اندازه‌گیری و جدایه‌های حساس و مقاوم به خشکی انتخاب شدند. در شرایط گلخانه از تلقیح دو جدایه سینوریزوبیوم مقاوم به خشکی (**S27K, S36K**) و دو جدایه سینوریزوبیوم حساس به خشکی (**S56K, S64K**) بر روی گیاه یونجه (رقم بمی) در سه سطح خشکی (شاهد، خشکی متوسط و خشکی شدید به ترتیب ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) استفاده شد. در پایان دوره آزمایش فعالیت آنزیم نیتروژناز (به روش **Bender and Rolfe**) و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد (۳). نتایج حاصل با نرم‌افزار **MINITAB** مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مقایسه شدند.

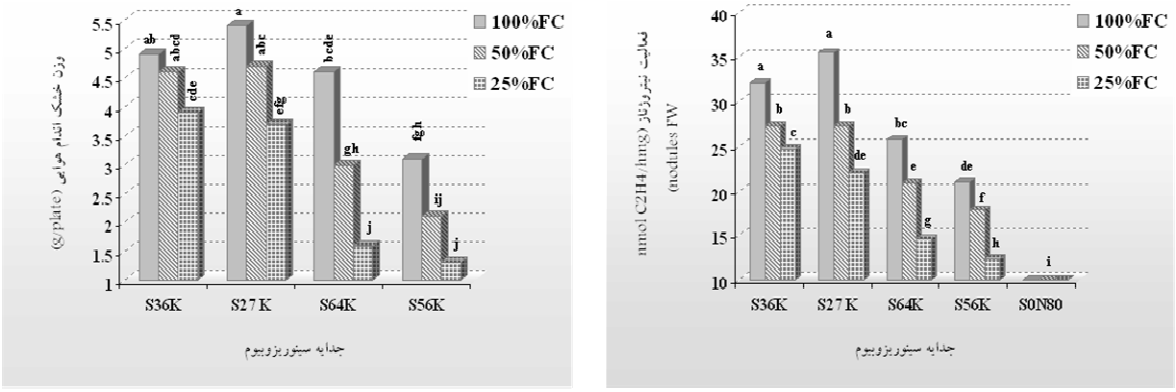
نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از این آزمون نشان داد که که تنش خشکی اثر منفی بر رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم داشته و مقاومت جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم در برابر تنش خشکی متفاوت است و برخی از جدایه‌ها در شرایط تنش مقاوم‌تر هستند و می‌توانند رشد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشته باشند (شکل ۱). دو جدایه **S27K** و **S36K** تا پتانسیل آبی ۳/۵- مگاپاسکال و دو جدایه **S50K** و **S53K** نیز تا پتانسیل آبی ۲- مگاپاسکال رشد کردند، بنابراین این

چهار جدایه در گروه مقاوم به خشکی گروه‌بندی شدند. اما رشد چهار جدایه حساس**S13K, S21K, S56K S64K** در پتانسیل آبی ۱- مگاپاسکال متوقف شد (شکل ۱). پژوهشگران دیگر نیز گزارش کردند که بین جدایه‌های سینوریزوبیوم از نظر میزان رشد در سطوح مختلف پتانسیل آبی تفاوت وجود دارد (۴). نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد میزان فعالیت آنزیم نیتروژناز تحت شرایط خشکی کاهش پیدا کرده است و بین اثر جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم بر گیاه در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد (شکل ۲). بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌ها مشاهده شد که در سطح خشکی شدید وزن خشک اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم **S36K** و **S27K** به ترتیب ۲ و ۱/۸ برابر، گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس **S56K** بود (شکل ۲). شمس الدین و ورنر (۵) نیز گزارش کردند که به‌طور معمول تلقیح جدایه ریزوبیومی مقاوم باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم نیتروژناز می‌شود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها مشاهده شد که در سطح خشکی شدید وزن خشک اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم حدود ۳ برابر نسبت به جدایه حساس **S56K** افزایش یافته است (شکل ۳).



شکل ۱- منحنی رشد جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم در سطوح مختلف پتانسیل آبی



شکل ۲ و ۳- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم نیتروژناز (گره‌های تازه) و وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در سطوح مختلف خشکی

منابع

1-Boutraa T, Sanders FE (2001) Effects of interactions of moisture regime and nutrient addition on nodulation and carbon partitioning in two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J Agron Crop Science186:229-232

2-Gordon AJ, Minchin FR, Skot L, James CL (1997) Stress-induced declines in soybean N_2 fixation are related to nodule sucrose synthase activity. Plant Physiol 114:937-946

3-Horwiz W, Latimer J (2005) Official method of analysis AOAC international. Maryland. USA.

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

5-Shamseldin A, Werner D (2004) Selection of competitive strains of *Rhizobium* nodulating *Phaseolus vulgaris* and adapted to environmental conditions in Egypt, using the gus-reporter gene technique. World J.of Microbiol. Biotechnol 20:377-382