جداسازی باکتریهای مقاوم به شوری و خشکی و مطالعه سازگاری جدایه‌ها با شرایط قلیایی

محبوبه ابوالحسنی[۱]، امیر لکزیان[۲]، احمد تاج آبادی‌پور[۳]، غلامحسین حق‌نیا[۴] و فرشته غفاری[۵]

[۱و۵] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد و شهرکرد- [۲و۳و۴] عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان

مقدمه:

تنش‌های شوری، خشکی و قلیائیت از جمله مهمترین تنش‌های طبیعی در مناطق خشک و نیمه خشک هستند که باعث کاهش عملکرد گیاه در مناطق خشک و نیمه خشک می‌شوند(۵). وسعت مناطق خشک و نیمه خشک در ایران بیش از ۱/۵ میلیون کیلومتر مربع است، که معادل ۳ درصد وسعت مناطق خشک و نیمه خشک جهان است (۱). وسعت زمینهای شور در ایران بیش از ۱۶۵ هزار هکتار است که دو سوم آن در مناطق گرم و خشک قرار دارد (۱). از سوی دیگر نیتروژن به عنوان محدود کننده‌ترین عنصر غذایی در خاکهای این مناطق مطرح است. لذا استفاده از گیاهان مقاوم به شوری و خشکی که قادر به میزبانی میکروارگانیسمهای تثبیت کننده نیتروژن باشند به عنوان بهترین راه حل این مشکل مطرح می‌باشد (۵). تثبیت زیستی نیتروژن، از طریق فرایند همزیستی ریزوبیوم و گیاهان لگومینوز به عنوان یکی از روشهای کم هزینه و بدون آلودگی برای تامین نیاز نیتروژن گیاهان علوفه‌ای تیره بقولات است که از نظر تولید مواد غذایی و توسعه مراتع اهمیت دارند (۲). تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه‌های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری در شرایط نامساعد قلیایی، تاثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم - ریزوبیوم دارد و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه را بدنبال دارد (۵).

مواد و روشها:

از مزارع زیر کشت یونجه در استان کرمان نمونه‌برداری از خاک و گیاه صورت گرفت. از گره‌های ریشه و خاک این مزارع ۶۰۰ جدایه جداسازی و خالص‌سازی شدند. بعد از آزمون گره‌زایی تعدادی جدایه جهت مطالعه انتخاب شدند. قبل از هر مرحله از آزمایش ابتدا عمل یکسان سازی تعداد سلول جدایه‌ها انجام شد. به منظور مطالعه تحمل به شوری جدایه‌ها از محیط کشت **YEB** با غلظت‌های ۴/۵ و ۲/۵، ۱، ۰ درصد کلرید سدیم و جهت مطالعه تحمل به خشکی از محیط کشت **YEB** با غلظتهای متفاوت پلی اتیلن گلیکول با پتانسیل آبی معادل ۳/۵- و ۲-، ۱-، ۰ مگاپاسکال در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت استفاده شد. نتایج نشان داد که بین جدایه‌ها از نظر مقاومت به شوری و خشکی تفاوت معنی داری وجود دارد. همه جدایه‌ها بر اساس مقاومت به شوری و خشکی در دو گروه مقاوم و حساس گروه‌بندی شدند. جهت مطالعه جدایه‌های مقاوم به شرایط قلیایی بالا (۹-۷ **pH>**) از محیط کشت **YEB** با بافر **AMPD** و شرایط قلیایی پایین (۵-۴ **pH<**) از بافر **HOMOPIPES** استفاده شد (۴).

نتایج و بحث:

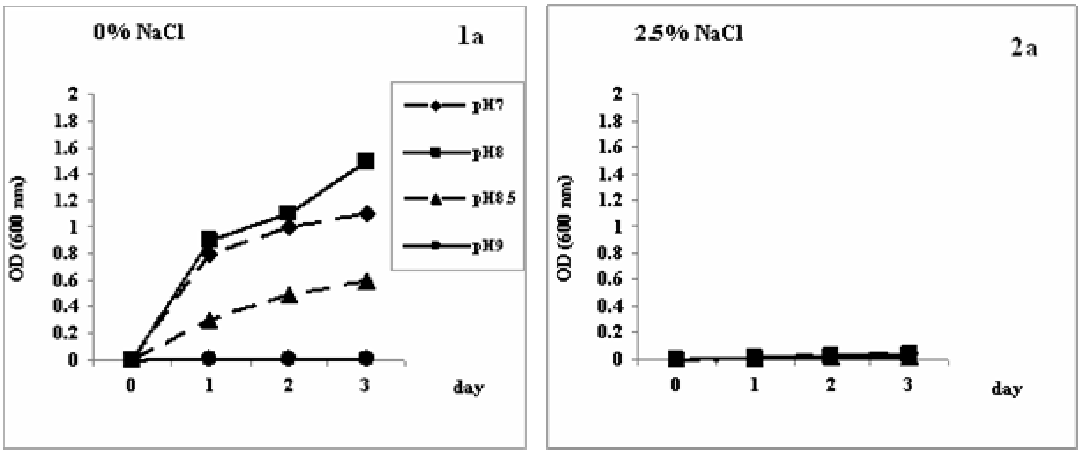
در جدول ۱ مشاهده می‌شود که بین جدایه‌ها از نظر مقاومت به شوری و خشکی تفاوت وجود دارد. دو جدایه**SK27** و **SK36** تا غلظت ۴،۵ درصد کلریدسدیم و پتانسیل آبی ۳/۵- را بخوبی تحمل کردند. دو جدایه نیمه مقاوم **SK50** و **SK53** تا غلظت ۲،۵ درصد کلریدسدیم و پتانسیل آبی ۲- را تحمل کردند. رشد جدایه‌های حساس**SK56, SK13, SK21,** و **SK64** در غلظت ۱ درصد کلریدسدیم و پتانسیل آبی ۱- متوقف شد (جدول ۱). بر اساس نتایج مشاهده می‌شود که همبستگی بالایی بین مقاومت به شوری و خشکی جدایه‌ها وجود دارد. با توجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود که جدایه‌های مقاوم به شوری و خشکی شرایط قلیایی را بهتر از جدایه‌های حساس تحمل می‌کنند. منحنی رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم حساس **SK64** و مقاوم **SK36** به شوری نشان می‌دهد که بین مقاومت به شوری و تحمل

شرایط قلیایی جدایه‌ها همبستگی بالایی وجود دارد (شکل ۱ و ۲). این همبستگی در تحقیقات شمس‌الدین و ورنر (۵) و کوکارنی (۳) نیز مشاهده شده است.

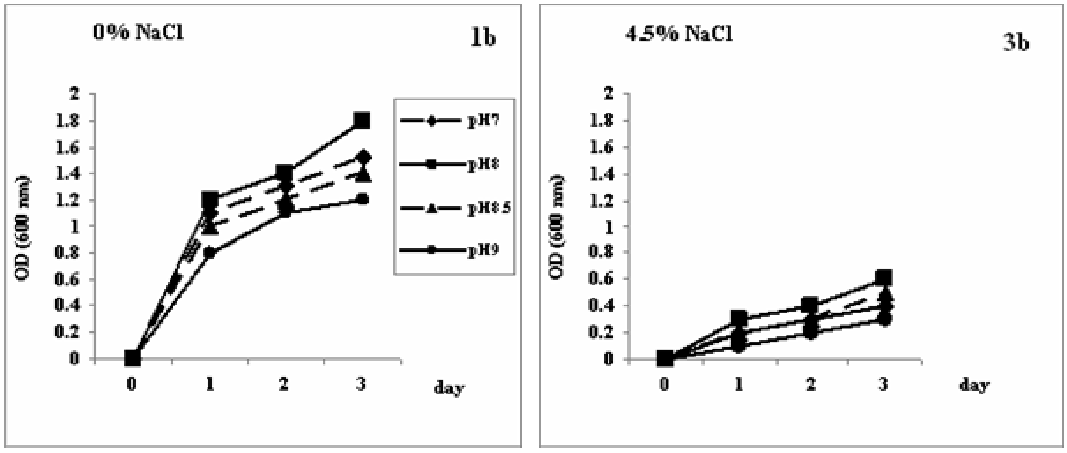
جدول ۱. خصوصیات فنوتیپی جدایه‌های سینوریزوبیوم جداسازی شده از گره‌های ریشه یونجه تحت تنشهای محیطی

Strain	NaCl % inhibiting the growth	Water potential with PEG_{6000} (MPa)	Low pH values tolerated	High pH values tolerated
SK 13	1.0	-1.0	5.5	8.5
SK 21	1.0	-1.0	5.0	8.5
SK 27	4.5	-3.5	5.5	9.0
SK 36	4.5	-3.5	5.0	9.0
SK 50	2.5	-2.0	5.5	8.5
SK 53	2.5	-2.0	5.5	9.0
SK 56	1.0	-1.0	5.5	8.5
SK 64	1.0	-1.0	5.5	9.0

SK, Sinorhizobium Kerman



شکل ۱. منحنی رشد جدایه سینوریزوبیوم حساس **SK64** در غلظتهای متفاوت شوری و **pH**



شکل ۲. منحنی رشد جدایه سینوریزوبیوم مقاوم **SK36** در غلظتهای متفاوت شوری و **pH**

منابع

۱- آروین، م. و ن. کاظمی پور. ۱۳۸۰. آثار تنشهای شوری و خشکی بر رشد و ترکیب بیوشیمیایی چهار رقم پیاز خوراکی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۵. شماره ۴. صفحه ۵۲-۴۱.

[2] D.F. Herridge, J.E. Turpin, and M.J. Robertson, Improving nitrogen fixation of crop legumes through breeding and agronomic management: analysis with simulation modelling. Aust. J. Exp Agric. 41 (2001) 391–401.

[3] S. Kulkarni, S. Surange, S.C. Nautiyal, Crossing the limits of *Rhizobium* existence in extreme conditions, Curr Microbiol. 41 (2000) 402-409.

[4] U.B. Priefer, J. Aurag, B. Boesten, I. Bouhmouch, R. Defez, A. Filali-Maltouf, M. Miklis, H. Moawad, B. Mouhsine, J. Prell, A. Schluter, B. Senatore, Characterization of *Phaseolus* symbionts isolated from Mediterranean soils and analysis of genetic factors related to pH tolerance, J Biotechnol. 91 (2001) 223-236.
[5] A. Shamseldin, D. Werner, Selection of competitive strains of *Rhizobium* nodulating *Phaseolus vulgaris* and adapted to environmental conditions in Egypt, using the gus-reporter gene technique, World J Microbiol Biotechnol. 20 (2004) 377-382.