تلقیح گیاه یونجه با جدایه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری و خشکی در شرایط تنش آبی در گلخانه

محبوبه ابوالحسنی زراعتکار[1]، امیر لکزیان[2]، غلامحسین حق نیا [3] و مهدی سرچشمه پور[4]

چکیده

در شرایط نامساعد محیطی تلقیح گیاهان لگومینه با جدایه‌های بومی باکتریهای ریزوبیومی مقاوم تاثیر مثبتی در همزیستی لگوم - ریزوبیوم و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه دارد. در راستای این اصل از چهار جدایه سینوریزوبیوم ملیلوتی جداسازی شده از خاکهای استان کرمان (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) برای تلقیح گیاه یونجه (رقم بمی) در شرایط تنش خشکی استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که در شرایط خشک و شور تلقیح گیاه یونجه با جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به خشکی و شوری بطور معنی‌داری عملکرد گیاه، کارآیی همزیستی و درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه را نسبت به گیاهان تلقیح شده با سایر جدایه‌ها افزایش داد و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین این دو جدایه مقاوم (S27K و S36K) با تیمار شاهد مثبت (بدون باکتری همراه با ۸۰ پی‌پی‌ام نیتروژن) وجود نداشت. تلقیح گیاه یونجه با دو جدایه مقاوم (S27K و S36K) توانایی تثبیت زیستی نیتروژن را ۳/۴ برابر نسبت به جدایه حساس (S56K) افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: سینوریزوبیوم ملیلوتی، یونجه، خشکی، شوری، کارآیی همزیستی، پروتئین خام

مقدمه

در اکثر نقاط کره زمین کمبود آب و شوری منابع آب و خاک از جمله مهمترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید فرآورده‌های کشاورزی بشمار می‌رود. حدود یک سوم کره زمین را مناطق خشک و نیمه خشک در بر می‌گیرد، که وسعت این مناطق بیش از ۴۵ میلیون کیلومتر مربع تخمین زده شده است (۱). 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). از سوی دیگر یک سوم زمینهای جهان که آبیاری می‌شوند، شور هستند. وسعت این زمینها در جهان حدود ۹۵۰-۴۰۰ میلیون هکتار (۱۴) و در ایران بیش از ۱۶۵ هزار هکتار است که دو سوم آن در مناطق گرم و خشک قرار دارد (۱). مشکل دیگر در کشور ایران علاوه بر مواجه بودن با کمبود بارش، توزیع و پراکنش نامناسب زمانی و مکانی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد
۲ و ۳- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
۴- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

بارشها می‌باشد. بنابراین مشکل کمبود آب و شوری منابع آب و خاک در ایران یک واقعیت مهم و غیرقابل انکار محسوب می‌شود.

حاصلخیزی بسیار کم خاکهای این مناطق بعنوان محدودکننده‌ترین عامل در بهره‌وری خاکهای این مناطق مطرح است. زیرا خشکی و شوری باعث کمبود ماده آلی، کاهش معدنی شدن ترکیبهای آلی نیتروژن‌دار، کاهش تعداد میکروارگانیسمهای تثبیت کننده نیتروژن، کاهش جذب نیترات در اثر عرضه زیاد آنیون کلر و در نتیجه موجب کاهش نیتروژن در گیاه می‌شوند. بدین جهت به منظور تامین نیتروژن مورد نیاز گیاهان همه ساله مقادیر زیادی کود نیتروژنه مصرف می‌شود که نه تنها هزینه‌های زیادی را به زارعین تحمیل می‌کند، بلکه مشکلات زیست محیطی و افزایش شوری خاک را بدنبال دارند. لذا استفاده از گیاهان مقاوم به شوری و خشکی که قادر به میزبانی میکروارگانیسمهای تثبیت کننده نیتروژن باشند به عنوان یکی از راه‌حلهای این مشکل مطرح می‌باشد (۲). یونجه یکی از گیاهان علوفه‌ای مقاوم است که در تنشهای محیطی مختلف از جمله خشکی، شوری و دماهای نامناسب می‌تواند رشد و نمو کند (۲). از طرفی تثبیت زیستی نیتروژن در اثر همزیستی با باکتریهای سینوریزوبیوم از دیگر ویژگیهای مطلوب این گیاه است و تثبیت زیستی نیتروژن، از طریق فرایند همزیستی ریزوبیوم و گیاهان لگومینه 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 (۵). 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 (۸).

با توجه به اینکه استان کرمان جزء مناطق خشک و نیمه خشک کشور محسوب می‌شود، سطح گسترده‌ای از زمینهای زیر کشت این استان شور و خشک هستند و شوری آب آبیاری این مناطق نیز معمولا زیاد است، بنابراین شناسایی و مطالعه جدایه‌های بومی مقاوم به خشکی و شوری از خاکهای این استان و استفاده از آن به عنوان یک کود زیستی را می‌توان یک گام اساسی در بهبود کشاورزی این منطقه دانست. به یقین این امر می‌تواند افزایش عملکرد در واحد سطح را به ارمغان بیاورد و گام مهمی در جهت پایداری سیستمهای زراعی منطقه باشد. بنابراین در این پژوهش از چهار سویه متفاوت سینوریزوبیوم ملیلوتی که از خاکهای استان کرمان جداسازی شده بود (دو سویه مقاوم، دو سویه نیمه مقاوم و حساس به شوری و خشکی) استفاده شد. این پژوهش با هدف بررسی اثرات تنش آبی و تاثیر تلقیح گیاه با جدایه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری و خشکی در شرایط تنش آبی بر عملکرد گیاه، توانایی تثبیت زیستی نیتروژن (کارآیی همزیستی)، درصد نیتروژن کل و درصد پروتئین خام اندام هوایی انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه 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) جداسازی شده از خاکهای استان کرمان 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 به ترتیب رطوبت ظرفیت زراعی، ۵۰ و ۲۵ درصد آب قابل دسترس) در قالب طرح کاملا تصادفی به صورت فاکتوریل در چهار تکرار بر روی

یک خاک شور با هدایت الکتریکی ۷/۲ دسی‌زیمنس بر متر، pH حدود ۷/۹، نیتروژن کل ۰/۰۴ درصد و دارای بافت شنی انجام گرفت. جمعیت باکتریهای سینوریزوبیوم خاک از روش بیشترین تعداد محتمل (MPN) برآورد شد (۱۶).

داخل هر گلدان ۴۲۰۰ گرم خاک ریخته و رطوبت گلدانها به مدت یک هفته در حد ظرفیت زراعی نگهداری شدند. سپس بذور سترون و جوانه‌دار شده یونجه در گلدانها کشت و یک میلی‌لیتر از مایه تلقیح جدایه‌های سینوریزوبیوم به بذرها اضافه و سطح خاک داخل گلدانها با پرلیت پوشانده شد و گلدانها در گلخانه با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (دمای ۲۳ درجه سانتیگراد و شدت نور ۱۴۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی (دمای ۲۰ درجه سانتیگراد) و رطوبت ۴۴٪ به مدت ۷۰ روز نگهداری شدند. پس از دو هفته تعداد گیاهچه‌ها به ۵ عدد تقلیل و تیمارهای خشکی اعمال گردید. در طول مدت رشد رطوبت گلدانها در تیمار شاهد در حد ظرفیت زراعی، در تیمار خشکی متوسط در حد ۵۰ درصد آب قابل دسترس و در خشکی شدید در حد ۲۵ درصد آب قابل دسترس نگهداری شدند. آبیاری گلدانها با آب مقطر استریل دارای هدایت الکتریکی حدود ۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر انجام شد و جهت تامین عناصر مورد نیاز گیاه از محلول غذایی FP (فاقد نیتروژن) استفاده شد (۱۰). در پایان دوره آزمایش تعداد گره، طول اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و گره اندازه‌گیری شد. درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه یونجه با استفاده از نیتروژن کل اندازه‌گیری شده توسط روش کجلدال و اعمال ضریب پروتئین گیاه یونجه (۶/۲۵) محاسبه و بر حسب درصد گزارش شد (۶) و کارآیی سیستم همزیستی این جدایه‌ها با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$S.E = (W_B-W_C)/(W_N-W_C)\times 100$$

S.E = کارآیی سیستم همزیستی

W_B = وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه تلقیح شده با هر جدایه

W_C = وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی)

W_N = وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمار شاهد مثبت (بدون جدایه همراه با ۸۰ پی‌پی‌ام نیتروژن)

داده‌های جمع آوری شده از هر مرحله با نرم‌افزار MINTAB در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کامل تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که بین شاخصهای رشد گیاه پس از تلقیح با جدایه‌های سینوریزوبیومی مقاوم به شوری و خشکی در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخصهای رشد گیاه پس از تلقیح

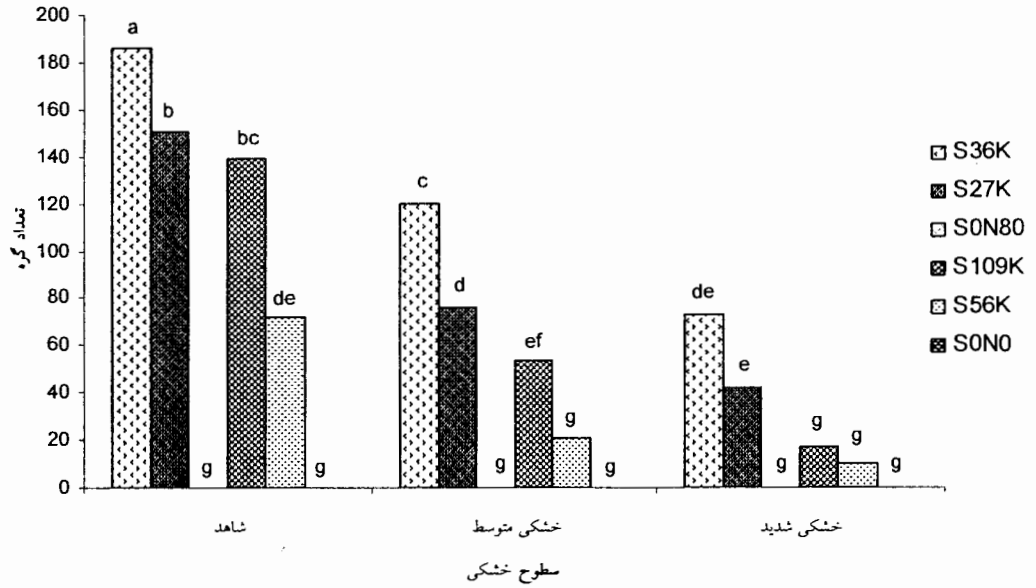
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تعداد گره	وزن خشک
جدایه	۵	۳۱۰۷۴*	۶/۶۴۵۳*
تنش	۲	۲۸۷۸۲*	۱۷/۳۵۲۷*
جدایه × تنش	۱۰	۳۳۶۰*	۰/۲۹۱۵*
خطای آزمایش	۵۴	۱۹۶	۰/۰۵۵

* در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

مطالعه مقایسه میانگین تعداد گره ایجاد شده بر روی ریشه گیاهان یونجه (یک گلدان) در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی نشان داد که میانگین تعداد گره‌ها در بیشترین سطح خشکی نسبت به رطوبت ظرفیت زراعی ۷۵٪ کاهش یافته است (شکل ۱). پژوهشگران دیگر نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (۴، ۸ و۱۷) بطوریکه گزارشها نشان

می‌دهند که با افزایش تنش آبی تعداد گره و توان تثبیت زیستی نیتروژن در گیاهان خانواده بقولات کاهش می‌یابد. ایریگوین و همکاران (۷) گزارش کرده‌اند که حساسیت گره‌ها به تنش آبی بیشتر از سایر بخشهای گیاه است و تنش آبی با تاثیر مستقیم بر متابولیسم گره‌ها باعث کاهش تعداد گره و فعالیت آنها می‌شود. جبرا و همکاران (۸) نیز بیان کرده‌اند که رشد گیاه تلقیح شده با باکتری به مقدار نیتروژن تثبیت شده بستگی دارد و تثبیت نیتروژن هم از طریق گره‌ها انجام می‌شود. از سوی دیگر مقدار آب خاک با تاثیر بر تعداد گره، تثبیت نیتروژن را تغییر می‌دهد. 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 (شکل ۱). در رطوبت FC تعداد گره‌ها در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۲/۶ و ۲/۱ برابر و گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۱/۹ برابر نسبت به جدایه حساس (S56K) افزایش یافته است (شکل ۱). عمده گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم درشت و صورتی رنگ بودند اما عمده گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس S56K کوچک و سفید رنگ بودند. در منابع آمده است که این گره‌ها در مقایسه با گره‌های درشت و صورتی رنگ از فعالیت کمتری برخوردارند (۱۲). سلسباری (۱۵) نشان داد که وجود تعداد زیاد گره بر روی ریشه گیاه به تنهایی دلیلی بر ظرفیت بالای گیاه برای تثبیت نیتروژن نیست و فعالیت گره از اهمیت بیشتری برخوردار است. مریما و همکاران (۹) گزارش کردند جدایه‌هایی که بیشترین وزن خشک و تعداد گره را تولید می‌کنند می‌تواند دلیلی بر همزیستی موثر بین جدایه و گیاه میزبان در شرایط محیطی موجود باشد. بنابراین بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگر چه هر چهار جدایه قادر بودند ریشه گیاه یونجه را گره‌دار کنند اما تاثیر همزیستی متفاوتی از خود نشان دادند.

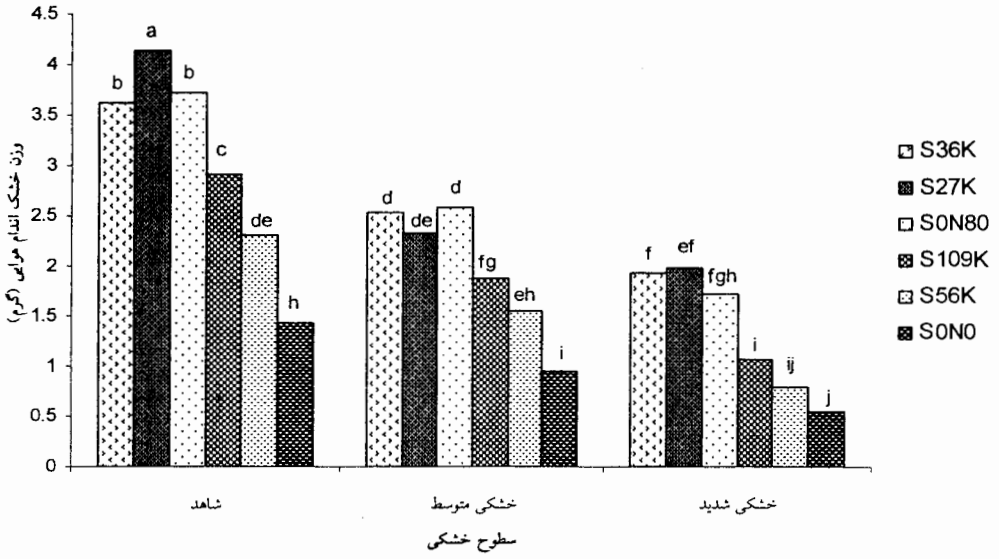
مطالعه مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی نشان داد که با افزایش تنش خشکی (کاهش پتانسیل آب) وزن خشک اندام هوایی ۵۵/۶٪ نسبت به شاهد (رطوبت ظرفیت زراعی) کاهش یافته است (شکل ۲). مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی نشان داد، بیشترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به یونجه تلقیح شده با جدایه‌های سینوریزوبیومی مقاوم به شوری و خشکی S27K و S36K و شاهد مثبت S0N80 (دارای کود نیتروژن) در رطوبت FC بود. وزن خشک اندام هوایی در این دو جدایه در تمام سطوح خشکی نسبت به سایر جدایه‌ها بیشتر بود (شکل ۲). 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 (شکل ۲ و ۴). در رطوبت FC وزن خشک اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۲/۵ و ۲/۸ برابر، گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۲/۰ برابر، گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس(S56K) ۱/۶ برابر و تیمار شاهد مثبت (S0N80) ۲/۶ برابر نسبت به تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) افزایش یافته است (شکل ۲ و ۳).



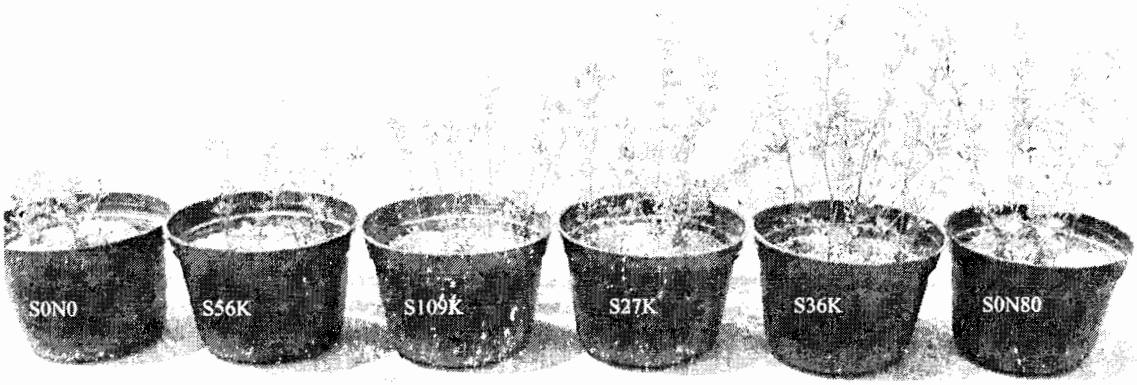
شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد گره ایجاد شده بر روی ریشه گیاه یونجه (یک گلدان) در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی

پژوهشگران دیگر نیز گزارش کرده‌اند که تنش آبی باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی در گیاه می‌شود و این مورد در گیاهان خانواده بقولات گزارش شده است (۹ و ۱۷). اورکت و نیلسن (۱۱) دلیل آن را کاهش سطح برگ دانستند که باعث کاهش دریافت نور و میزان فتوسنتز می‌شود. رحمن و نوتایل (۱۳) گزارش کردند که بطور معمول تلقیح جدایه زیزوبیومی مناسب باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی می‌شود.

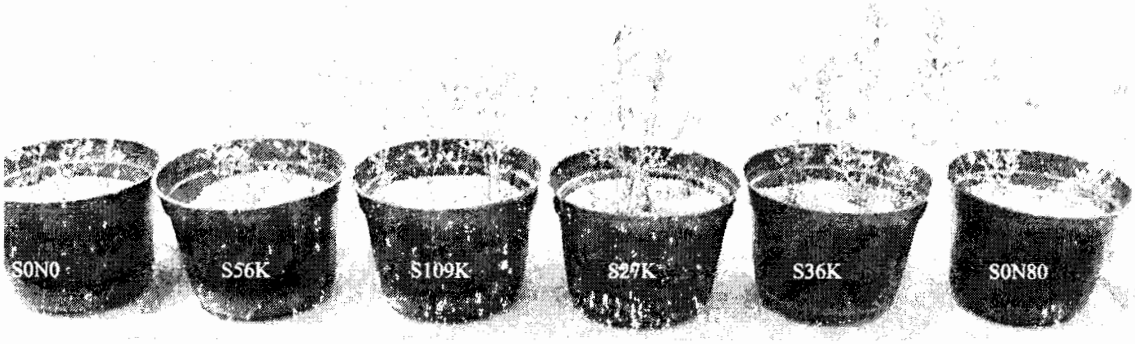
نتایج حاصل از مطالعه درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی نیز نشان داد که بین جدایه‌های مختلف سینوریزوبیوم تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه (یک گلدان) در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی



شکل ۳- مقایسه رشد گیاهان یونجه رقم بمی پس از اعمال تیمارهای آزمایشی در رطوبت FC



شکل ۴- مقایسه رشد گیاهان یونجه رقم بمی پس از اعمال تیمارهای آزمایشی در رطوبت ۲۵٪ آب قابل دسترس

جدول ۲- تجزیه واریانس آزمون تعیین پروتئین خام بخش هوایی گیاه

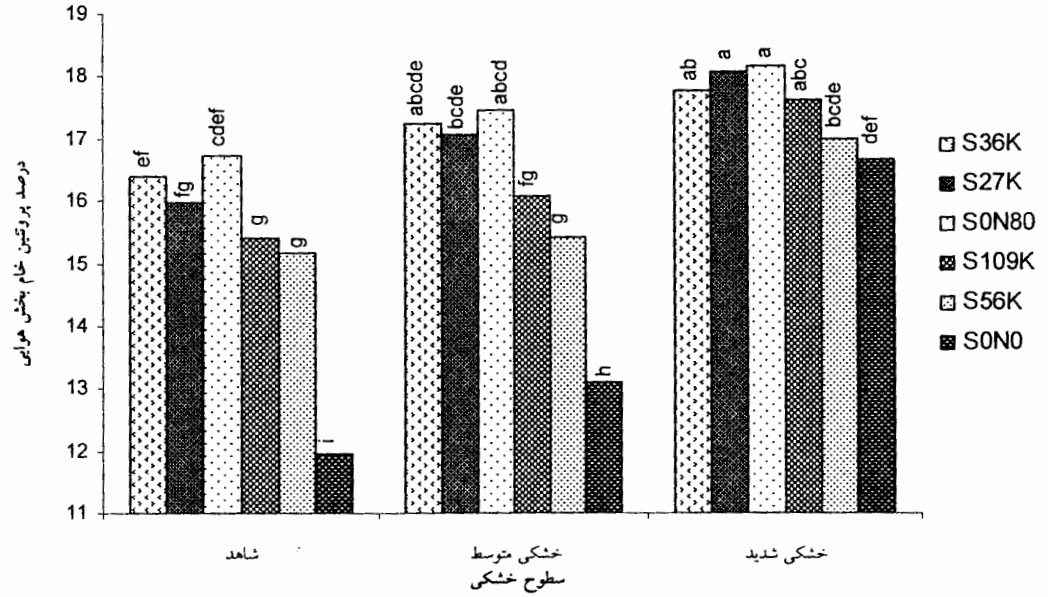
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		درصد پروتئین خام
جدایه	۵	۲۰/۲۳۶*
تنش	۲	۳۱/۴۶۰*
جدایه * تنش	۱۰	۱/۸۹۵*
خطای آزمایش	۵۴	۰/۳۳۲

* در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

با توجه به شکل ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین دو جدایه مقاوم (S27K و S36K) و شاهد مثبت (بدون جدایه همراه با ۸۰ پی‌پی‌ام نیتروژن) وجود ندارد ولی بین دو جدایه مقاوم و جدایه‌های نیمه حساس، حساس و شاهد منفی تفاوت معنی‌دار وجود دارد. بطوریکه درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۲۳/۱٪ و ۲۲/۴٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۱۷/۵٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس (S56K) ۱۳/۹٪ و تیمار شاهد مثبت (S0N80) ۲۵/۴٪ نسبت به تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) افزایش یافته است. می‌توان نتیجه‌گیری نمود که جدایه‌های مقاوم در شرایط تنش شوری و خشکی میزان پروتئین گیاه را افزایش می‌دهند. تنش خشکی نیز اثر معنی‌داری بر درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه یونجه داشته است. مشاهده شد که با افزایش تنش خشکی (کاهش پتانسیل آب) درصد پروتئین خام ۱۴/۸٪ نسبت به شاهد (رطوبت ظرفیت زراعی) افزایش یافته است (شکل ۵). کوردولا (۳) گزارش کرد که رشد گیاه، جذب مواد غذایی، متابولیسم و سنتز پروتئین به میزان زیادی زیر تاثیر تنش آبی قرار می‌گیرد. از طرفی در منابع آمده است که محلولهای سازگار در گیاهان در پاسخ به تعدادی از عوامل محیطی مانند خشکی، سرما و شوری تجمع می‌یابند از جمله این ترکیبات سازگار قندهای کاهنده و اسیدهای‌آمینه (واحدهای تشکیل دهنده پروتئینها) هستند (۱۱). بسیاری از این محلولهای سازگار به عنوان ترکیبات اسمولیت هستند که غلظت سلولی زیاد آنها پتانسیل اسمزی را بطور قابل توجهی کاهش می‌دهد و منجر به توازن اسمزی می‌گردند. محلولهای سازگار ممکن است دارای نقشهای مهمی مانند حفاظت آنزیمها، ساختمان غشاء و از بین بردن رادیکالهای آزاد اکسیژن فعال نیز باشند (۱۱).

مقایسه میانگین درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی نشان داد که در رطوبت FC درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۳۶/۹٪ و ۳۳/۵٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۲۸/۶٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس (S56K) ۲۶/۶٪ و تیمار شاهد مثبت (S0N80) ۳۹/۶٪ نسبت به تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) افزایش یافته است (شکل ۵). در سطح خشکی شدید درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم (S36K) و (S27K) به ترتیب ۶/۶٪ و ۸/۴٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه نیمه حساس (S109K) ۵/۶٪، گیاهان تلقیح شده با جدایه حساس (S56K) ۱/۹٪ و تیمار شاهد مثبت (S0N80) ۸/۹٪ نسبت به تیمار شاهد منفی (بدون جدایه و بدون کود شیمیایی) افزایش یافته است (شکل ۵). مشاهده شد که در تمام سطوح خشکی گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم دارای درصد پروتئین بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های حساس و شاهد منفی است که احتمالا افزایش پروتئین در گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم ناشی از همزیستی موثر بین این جدایه‌ها و گیاه میزبان در شرایط تنش شوری و خشکی و در نتیجه افزایش فرایند تثبیت نیتروژن است.

نتایج حاصل از مطالعه کارآیی همزیستی جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی نشان داد که اختلاف معنی داری بین جدایه‌های سینوریزوبیوم از لحاظ راندمان تثبیت بیولوژیکی وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۵- مقایسه میانگین درصد پروتئین خام اندام هوایی گیاه یونجه (در یک گلدان) در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی

جدول ۳- تجزیه واریانس آزمون تعیین کارآیی همزیستی جدایه‌ها

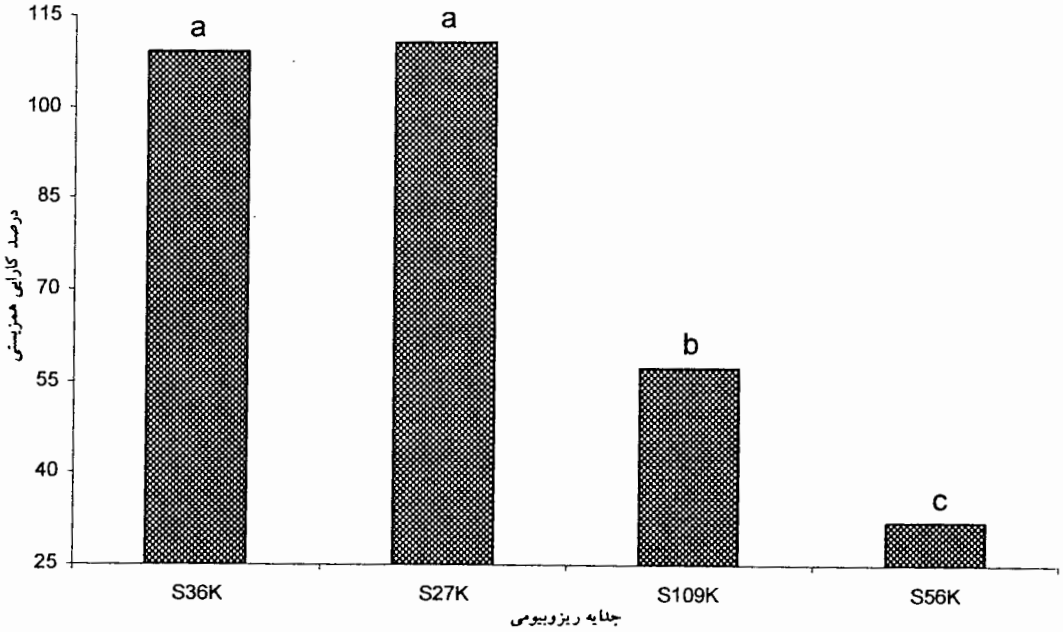
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات کارآیی
جدایه	۳	۵۴۷۵۱/۲*
تنش	۲	۱۱۴۲/۱ns
جدایه * تنش	۶	۶۷۳۱/۴ns
خطای آزمایش	۳۶	۲۲۷۷۰/۵

* در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است و ns از نظر آماری معنی‌دار نیست.

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 (شکل ۶). 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 نشان دهنده توان زیاد جدایه‌های مقاوم به شوری و خشکی در انجام فرایند زیستی تثبیت نیتروژن مولکولی تحت شرایط نامساعد محیطی است. به گفته دیگر این جدایه‌ها در شرایط نامساعد محیطی از توان همزیستی بسیار زیادی برخوردارند و استفاده از این جدایه‌ها در منطقه گرم و خشک کرمان باعث بالا بردن پتانسیل تثبیت زیستی نیتروژن (BNF) آن منطقه توسط گیاه یونجه می‌شود. از نظر موثر بودن همزیستی، جدایه‌هایی که دارای کارآیی همزیستی بالای صد در صد باشند جزء مناسبترین جدایه‌ها در نظر گرفته می‌شوند، بعبارتی برای انتخاب بهترین جدایه ریزوبیومی بالا بودن کارآیی همزیستی در مرتبه اول اهمیت قرار دارد زیرا کارآیی همزیستی توان سیستم همزیستی برای

تثبیت نیتروژن مولکولی را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد پروتئین خام بخش هوایی گیاه (شکل ۵) نشان داد که این پارامتر در گیاهانی که با جدایه‌های مقاوم به شوری و خشکی تلقیح شده بودند بطور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح شده با سایر جدایه‌ها بود و نشان دهنده بالا بودن کارآیی همزیستی این جدایه‌ها است.

با بررسی کلی نتایج این پژوهش مشاهده شد که تنش خشکی بر رشد گیاه میزبان و همزیستی لگوم - ریزوبیوم تاثیر منفی دارد و تلقیح گیاهان با جدایه‌های بومی مقاوم به شوری و خشکی در شرایط خشک تاثیر مثبتی در کلیه شاخصهای رشد، کارآیی تثبیت زیستی نیتروژن و درصد پروتئین خام اندام هوایی به همراه داشته است. در مجموع نتایج حاصل نشان داد که می‌توان از همزیستی رقم یونجه بمی با دو جدایه مقاوم به شوری و خشکی S27K و S36K در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد و باعث افزایش تولید و عملکرد این گیاه در استان کرمان شد.



شکل ۶- مقایسه میانگین کارآیی همزیستی چهار جدایه انتخاب شده سینوریزوبیوم ملیلوتی در شرایط تنش شوری و خشکی

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد، مرکز تحقیقات استان کرمان، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، کلیه پرسنل گروه خاکشناسی و گلخانه دانشگاه فردوسی مشهد قدردانی می‌نماییم.

منابع

۱- کامیاب مقدس، ر. ۱۳۷۹. مجموعه مقالات اولین کنفرانس ملی بررسی راهکارهای مقابله با کم آبی و خشکسالی. کرمان.

2-Alikhani, H.A. and N. Saleh Rasttin. 2002. Symbiotical characteristics of indegenous *sinorhizobium meliloti* strain from some Iranian soils and their variations in the different levels of salinity. Soil Scince Departman. Agricultural College. Tehran University. Tehran. Iran. 17th WCSS. Thailand.

3-Cordovilla, M.D.P. 1999. Effect of salinity on growth, nodulation and nitrogen assimilation in nodules of faba bean (*Vicia Faba L.*). Applied Soil Ecology. 11: 1-7.

4-Elshiekh, E.A.E. and M. Wood. 1995. Nodulation and N_2 fixation by soybean inoculated with salt-tolerant Rhizobia or salt-sensitive Bradyrhizobia in saline soil. Soil Biology and Biochemistry. 27(4/5): 657-661.

5-Herridge, D.F., J.E. Turpin, and M.J. Robertson. 2001. Improving nitrogen fixation of crop legumes through breeding and agronomic management: analysis with simulation modelling. Australian Journal of Experimental Agriculture. 41: 391–401.

6-Horwiz, W. and J. Latimer. 2005. Official method of analysis AOAC internatinal. Maryland. USA. 4:27.

7-Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa L.*) plants. Physiologia Plantarum. 84: 55-60.

8-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.

9-Mrema, A.F., U. Granhall, and L. Sennerby-Forsse. 1997. Plant growth, leaf water potential, nitrogenase activity and nodule anatomy in *Leucaena leucocephala* as affected by water stress and nitrogen availability. Trees. 12: 42-48.

10-Namaki Shoshtari, A. 1997. Genetics and molecular characteriesation of the agrobacterium nitrogen fixation systeme. Thesis for degree of Ph.D.University of England.

11-Ourcut, D.M. and E.T. Nilsen. 2000. Salinity stress. In: Phisiology of Plants under Stress. KA/PP. pp: 177-235.

12-Purdom, D. and A.T. Trese. 1995. Morphological and molecular characteristics of host-conditioned ineffective root nodules in cowpea. Plant Physiology. 109(1): 239-24.

13-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 transposon Tn5 mutant. Springer-Verlag. New York. LLC. 45(5): 368-377.

14-Shannon, M. 1984. Breeding, selection and the genetics of salt tolerance. In: Salinity Tolerance in Plants, Strategies for Crop Improvement. Staples, R.C. and G.H. Toennissen (Eds.). Wiley. New York. pp. 300-308.

15-Silsbury, J.H. 1989. Nodulation and nitrogen fixation (acetylene reduction) of four cultivars of chickpea. Australian Journal of Experimental Agriculture. 29: 663-669.

16-Somasegaran, P. and H.j. Hoben. 1994. Handbook for Rhizobia: Methods in Legume-rhizobium Technology. Springer-Verlay. New York. 450 p.

17-Yousef, A.N. and J.I. Sprent. 1983. Effect of NaCl on growth, nitrogen incorporation and chemical composition of inoculated and NH_4NO_3 fertilized *Vicia faba L.* plants. Journal of Experimental. Botany. 34: 941-950.

The study of salinity and drought tolerance of *Sinorhizobium meliloti* isolated from province of Kerman in vivo condition

M. Aboulhasani, A. Lakzian, G.H. Haghnia, M. Sarcheshmehpoor

Abstract

It is well known that the host plant inoculation by native strains with high efficiency has a positive effect on plant yield and biological nitrogen fixation process. The main aim of this investigation was to based on salinity and drought experiments, four isolates of *Sinorhizobium meliloti* (S27K and S36K tolerant isolates, S109K semi-sensitive isolate, S56K sensitive isolate) were selected for plant inoculation which was under drought stress in greenhouse condition. This experiment was carried out by using a factorial model in completely randomized design. Results showed that inoculation of alfalfa plants with high salinity and drought tolerant of *Sinorhizobium meliloti* bacteria could increased biological nitrogen fixation process (symbiotic efficiency), percent crude protein and yield of alfalfa under salinity and drought conditions significantly. There were not any significant differences between S27K and S36K isolates and positive control (no nitrogen limitation). Symbiotic efficiency increased 3.4 times higher than alfalfa plants were inoculated by sensitive isolates S56K when alfalfa plants were inoculated by S27K and S36K isolates.

Key word: *Sinorhizobium meliloti*, alfalfa, salinity, drought, symbiotic efficiency, crude protein

Contributions from Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Masshad and Faculty of Agriculture, Kerman Shahid Bahonar University.