مقایسه میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی توسط باکتریهای *Sinorhizobium* مقاوم و حساس به شوری

محبوبه ابوالحسنی زراعتکار*[۱]، امیر لکزیان[۱و۲]، احمد تاج آبادی پور[۲و۱] و حمید محمدی[۳]

[۱] مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی

[۲] مشهد، دانشگاه ولیعصر (عج)

[۳] رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۸۶/۴/۲۴

چکیده

پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی جدایه‌ها، نقش مهمی در فرایند تشخیص لگوم- ریزوبیوم و همچنین بعنوان محافظ در برابر تنشهای محیطی برای سلول باکتری ایفا می‌کنند. بمنظور بررسی تاثیر میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی در مقاومت باکتریهای *Sinorhizobium* نسبت به شوری جدایه‌های سینوریزوبیومی مقاوم به شوری استان کرمان انتخاب شد. جهت مطالعه تحمل جدایه‌ها نسبت به شوری از محیط کشت TY با ٤ سطح شوری (کلرید سدیم) استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که بین جدایه‌های *Sinorhizobium* از نظر مقاومت به شوری تفاوت معنی‌داری وجود دارد و جدایه‌ها در دو گروه مقاوم و حساس به شوری گروه‌بندی می شوند. میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی باکتریهای *Sinorhizobium* نیز در ٤ سطح شوری (کلرید سدیم) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده شد که جدایه‌های مقاوم نسبت به جدایه‌های حساس ۱۰ برابر بیشتر پلی‌ساکارید تولید می کنند. از طرفی در غلظت ٤۰۰ میلی مولار نمک نسبت به غلظت پایینتر جدایه‌ها میزان پلی‌ساکارید بیشتری تولید کرده و باعث مقاومت جدایه‌ها در این غلظت نسبت به غلظت پایینتر شده است.

واژه های کلیدی: پلی‌ساکارید خارج سلولی، *Sinorhizobium*، یونجه، شوری

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۳۳۹۸۷۸۰۲، پست الکترونیک: mahboobeh_abolhasani@yahoo.com

مقدمه

پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (Extra cellular EPS polysaccharide) از ترکیبهای سطح سلول باکتری *Rhizobium* بوده و در تخصصی شدن آنها نقش دارند و شامل سه نوع متفاوت لیپو پلی‌ساکاریدها، اگزو پلی‌ساکاریدها و بتا ۱ و ۲ گلوکانهای خنثی می‌باشند (۲۱).

لکتین گیاهان و اگزو پلی‌ساکارید باکتریها در فرایند شناسایی میان لگومها و ریزوبیومها دخالت دارند (۳ و ۲۱). در این فرایند شناسایی علاوه بر اگزو پلی‌ساکاریدها ترکیباتی مانند لیپو پلی‌ساکارید، پلی‌ساکارید کپسولی و بتا ۱ و ۲ گلوکان نیز نقش دارند که جزء پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی می‌باشند (۷). تنشهای محیطی مختلف از جمله تنش شوری، خشکی و عناصر غذایی بر ترکیبهای سطح یاخته‌ای باکتریها بخصوص پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی تأثیر گذار هستند (۲، ٤، ۱۰ و ۱۷). بطوریکه جدایه‌های ریزوبیومی در شرایط نامساعد محیطی، برای مقاومت در برابر این شرایط میزان پلی‌ساکارید خارج سلولی بیشتری تولید می‌کنند (۱ و ٤). بین جدایه‌های

مختلف *Sinorhizobium* از نظر میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی تفاوت وجود دارد (۱۹). از طرفی ماندگاری جدایه‌های *Rhizobium* در خاک بستگی به توانایی این جدایه‌ها در اتصال به گیاه میزبان و ایجاد یک رابطه همزیستی سودمند دارد و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی اهمیت ویژه‌ای در تخصصی شدن ریزوبیومها در شناسایی این جدایه‌ها توسط گیاه میزبان دارد (۱۸ و ۲۱). پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی جدایه‌ها در فرایند تشخیص لگوم- ریزوبیوم و همچنین بعنوان محافظ در برابر تنشهای محیطی نقش مهمی را برای سلول باکتری ایفا می‌کنند (۲۱). بنابراین جدایه‌های مقاوم نه تنها شرایط تنش شوری و خشکی را بهتر می‌توانند تحمل کنند بلکه در ایجاد رابطه همزیستی مفید با گیاه میزبان نیز موفقتر از سایر جدایه‌ها عمل می‌کنند در آزمایشات متعددی که صورت گرفته در مناطق گرم و خشک با استفاده از ماده تلقیحی جدایه‌های *Rhizobium* بومی مقاوم به شوری و خشکی منطقه، مشاهده شد که این جدایه‌ها از کارآمدی قابل توجهی برخوردار هستند (۱۳، ۱٤ و ۱۵).

جدایه‌های ریزوبیومی مقاوم به تنش شوری میزان پلی‌ساکارید بیشتری تولید می‌کنند و با افزایش پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی شرایط نامساعد را تحمل نموده و به رشد خود ادامه می‌دهند (۱ و ٤). تا کنون مطالعات زیادی بر روی تأثیر میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی باکتریهای *Sinorhizobium* در مقاومت سلول باکتری تحت تنش درجه‌های مختلفی از شوری انجام نگرفته است. بنابراین مطالعه در این زمینه می‌تواند بعنوان گامی نخست در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روشها

از ۳٤ مزرعه استان کرمان به وسعت تقریبی ۳۳۰۰۰ هکتار، تعدادی گره از ریشه گیاه یونجه جمع‌آوری شد. گرهها بمدت ۱۰ ثانیه با الکل اتیلیک ۹٦ درصد و ۳ دقیقه با محلول هیپوکلریت ۵ درصد ضدعفونی و چندین مرتبه با آب مقطر سترون شسته شد. سپس با له کردن گرهها داخل سوسپانسیون یکنواخت از باکتری تهیه شد. از سوسپانسیون حاصل از هر گره یک لوپ روی محیط کشت TY (Trepton Yeast) حاوی معرف کنگورد با روش خطی کشت داده شد. بدین ترتیب ۱۱۵ جدایه جداسازی و خالص‌سازی شد. پس از آزمون گره‌زایی ۸۲ جدایه سینوریزوبیوم تأیید و بر اساس وضعیت رشد گیاه میزبان که نشان دهنده توانایی جدایه‌ها در انجام فرایند تثبیت نیتروژن بود، ۸ جدایه *Sinorhizobium* برای مطالعه انتخاب شد.

قبل از هر مرحله از آزمایش ابتدا عمل یکسان سازی تعدادی از سلول جدایه‌ها انجام شد. بدین ترتیب که جدایه‌های باکتری در لوله‌های درب‌دار ۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط TY (این محیط شامل ۵ گرم باکتو تریپتون، ۳ گرم باکتو اکسترکت و ۱/۳۲ گرم کلسیم کلرید می باشد که با هم مخلوط شده و حجم آن با آب مقطر به یک لیتر می رسد)، در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد در اینکوباتور چرخان با ۱۲۰ دور در دقیقه (rpm) و بمدت ۷۲ ساعت کشت شد. سوسپانسیون جدایه‌ها در شرایط سترون سانتریفوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه) و سه مرتبه با آب مقطر سترون شسته شد. سپس همه نمونه‌ها با آب مقطر سترون به حجم اولیه رسید و میزان چگالی نوری (OD) نمونه‌هادر طول موج ٦۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و در خاتمه با مبنا قرار دادن کمترین OD سایر نمونه‌ها را رقیق کرده و OD آنها یکسان شد که در آزمایشات بعدی بمقدار یکسان از این جدایه‌ها استفاده شد.

بمنظور تعیین تحمل به شوری جدایه‌ها از محیط کشت مایع TY با غلظتهای متفاوت شوری ۰، ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم با پتانسیلهای برابر ۰، ۱۰-، ۲۰- و ۳۲- بار، استفاده شد. پتانسیلهای مختلف شوری از معادله وانت هوف (۲۰) محاسبه شد. جدایه‌ها در ۲۵ میلی‌لیتر

محیط کشت مایع کشت شد. پس از ۷۲ ساعت از زمان رشد میزان چگالی نوری جدایه‌ها اندازه‌گیری و جدایه‌های حساس و مقاوم به شوری انتخاب شد (۱٦).

سپس بررسی تأثیر میزان پلی‌ساکارید خارج سلولی باکتریهای *Sinorhizobium*، بر مقاومت باکتری در شرایط شور انجام شد. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار روی جدایه‌ها *Sinorhizobium* در چهار غلظت ۰، ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم انجام گرفت. حجم مساوی از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها به ارلنهای ۵۰۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع YEM (Yeast Extract Monnitol) با غلظت شوری ۰، ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم انتقال داده شد. ارلنها در اینکوباتور چرخان با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از گذشت ۱۲۰ ساعت نمونه ها سانتریفوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، مدت ۱۰ دقیقه و دمای ۱۵ درجه سانتی گراد) شد. محلول رویی با نسبت ٤:۱ با الکل اتیلیک مخلوط شد و جدایه‌های ته‌نشین شده با محلول حاوی نسبت ۱:۲ کلرید کلسیم و سولفات پتاسیم شسته و به محلول رویی اضافه شد. سپس ٤ قطره اسید کلریدریک دو مولار نیز به محلول رویی اضافه وسرد (بمدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۵- درجه سانتی گراد) شد. نمونه‌ها دوباره سانتریفوژ (۲۸۰۰۰ دور در دقیقه، مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۱۵ درجه سانتی گراد) شدند. محلول رویی دور ریخته شد و مواد ته‌نشین شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. الکل اتیلیک با نسبت ۱/۵:۱ و ٦ قطره اسید کلریدریک دو مولار به محلول اضافه شد و مرحله سرد کردن و سانتریفوژ کردن مجدداً تکرار شد و مواد ته‌نشین شده خشک و توزین شدند (۹).

نتایج حاصل از هر مرحله با نرم‌افزار MINTAB بصورت فاکتوریل و بر مبنای طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفت. میانگینها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مقایسه شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel XP استفاده گردید و در نمودارها از حروف برای مشخص نمودن تفاوت بین میانگینها استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر تنش شوری با استفاده از غلظتهای متفاوت کلرید سدیم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده از این آزمون نشان داد که تنش شوری اثر منفی بر رشد جدایه‌های *Sinorhizobium* دارد بطوریکه رشد جدایه‌ها در غلظت ٦۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم ۹٦/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان می دهد (شکل ۱). مقاومت جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* در برابر تنش شوری متفاوت است. به احتمال زیاد دلیل آن افزایش فشار اسمزی محیط که باعث ایجاد تنش رطوبتی در جدایه‌ها می‌شود که خود مستلزم تنظیم اسمزی توسط جدایه‌ها می‌باشد، از طرفی نمک کلرید سدیم می تواند توسط جدایه‌ها جذب و مورد استفاده قرار گیرد و مقادیر زیاد کلر و سدیم اثرات سمّی بر سیستمهای غشایی و آنزیمی ایجاد می‌کند (۲۲).

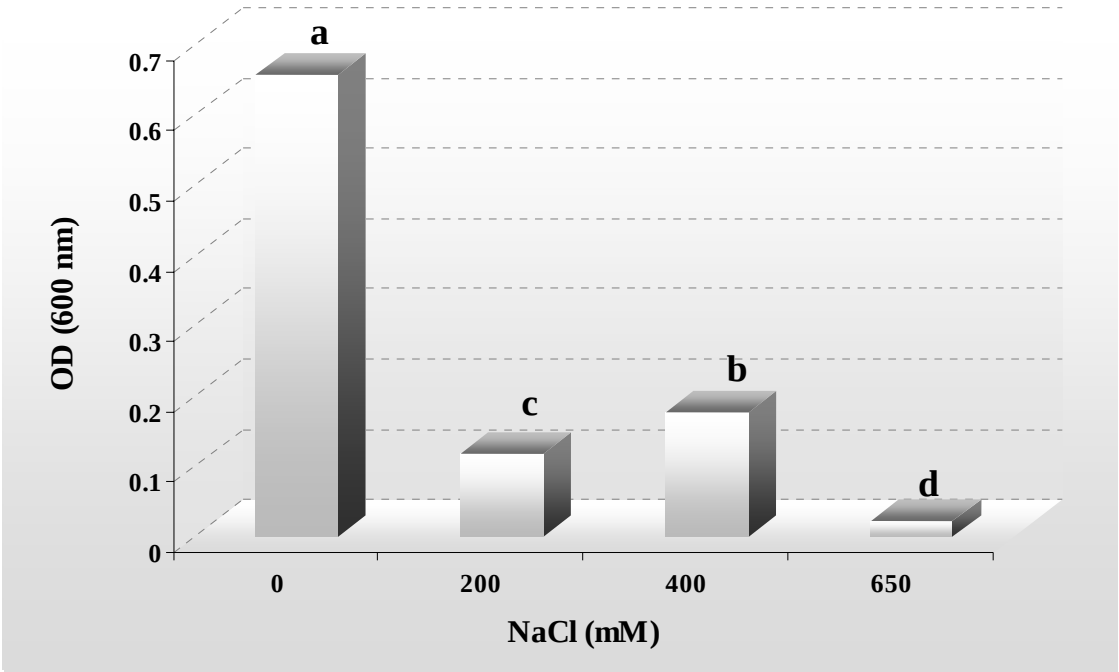
همچنین نتایج بدست آمده از آزمون بررسی مقاومت به شوری جدایه‌های *Sinorhizobium* نشان داد که شوری اثر منفی بر مقاومت جدایه‌های *Sinorhizobium* دارند اما این مقاومت در جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* نسبت به تنش شوری متفاوت است (شکل۲). نتایج حاصل از بررسیهای دیگران نیز این مطلب را نشان می‌دهد (٦ و ۱۲). جدایه‌های ریزوبیومی مقاوم به تنشهای آبی به احتمال زیاد با افزایش پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (۱)، تجمع برخی از آنزیمها مانند آنزیم آمینوپپتداز در سلولهای ریزوبیومی (۱۱) و تجمع اسیدآمینه گلوتامات و بتائین بمنظور تعدیل فشار اسمزی در سلولهای ریزوبیومی (۸)، شرایط نامساعد را تحمل نموده و به رشد خود ادامه می‌دهند.

در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین چگالی نوری (رشد) جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* در غلظتهای متفاوت نمک کلرید سدیم در مدت ۷۲ ساعت ۸ جدایه *Sinorhizobium* انتخاب که در دو گروه مقاوم و حساس قرار گرفتند. روند رشد هر جدایه در غلظتهای متفاوت نمک کلرید سدیم بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت جدایه‌هایی بعنوان مقاوم تشخیص داده شد که در غلظتهای زیاد نمک رشد بهتری نسبت به بقیه جدایه‌ها داشتند.

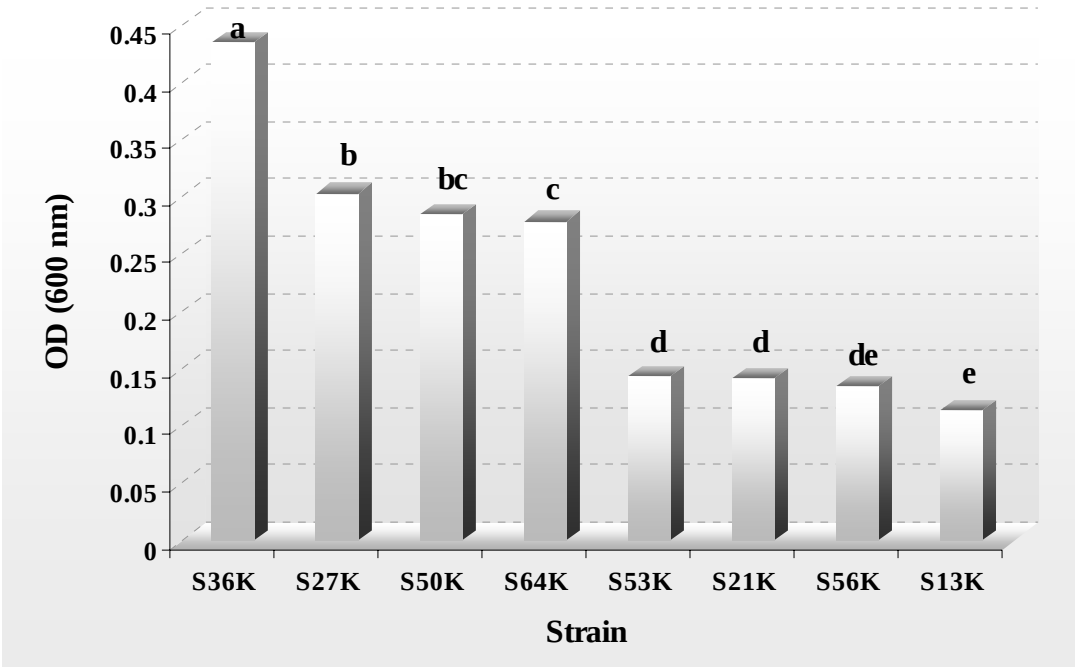
مطالعه میزان تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی جدایه‌های *Sinorhizobium* در شرایط شور نشان داد که بین جدایه‌های *Sinorhizobium* از نظر میزان تولید پلی‌ساکاریدها تفاوت معنی‌داری است. نتایج بدست آمده از مقایسه میانگینها نشان می دهد که چهار جدایه *Sinorhizobium* مقاوم به شوری بوده و از نظر مقدار پلی ساکارید بترتیب عبارتند از: S36K، S27K،S50K و S64K که در شکل ۳ مشاهده می شود. گزارش شده است که شرایط محیطی از جمله تنشها بر میزان تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی جدایه‌های ریزوبیومی مؤثر است، بطوریکه جدایه‌های ریزوبیومی در شرایط نامساعد محیطی، برای مقاومت در برابر این شرایط میزان پلی‌ساکارید خارج سلولی بیشتری تولید می‌کنند (۱). مطابق گزارش سایر پژوهشگران بین جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* از نظر میزان تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی تفاوت وجود دارد (۱۹). نتایج بدست آمده از بررسی حاضر نیز بیانگر این مطلب است. همانگونه که مشاهده می‌شود جدایه‌های مقاوم تقریباً ۱۰ برابر پلی‌ساکارید بیشتری نسبت به جدایه‌های حساس تولید می کنند (شکل ۳).

از طرفی با توجه به شکل ۱ مشاهده می شود که اگر چه رشد جدایه‌ها با افزایش غلظت نمک (کاهش پتانسیل آب) یک روند کاهشی دارد اما در غلظت ٤٠٠ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم رشد جدایه‌ها بطور ناگهانی افزایش پیدا کرده است و در نتایج پژوهشگران دیگر نیز این روند مشاهده شده است (۵). از این رو بنظر می‌رسد که در غلظتهای فوق مکانیسمهای دفاعی سلول در برابر تنش قدری فعال شده و سلول برای ادامه حیات تمام مکانیزمهای حفاظتی خود را بکار می‌گیرد. از جمله این مکانیزمها تولید پلی‌ساکارید بیشتر است که منجر به افزایش تحمل جدایه‌ها در برابر تنش می‌شود. نتایج حاصل از تولید میزان تولید پلی‌ساکارید در غلظتهای متفاوت نیز بیانگر این مطلب است (شکل ٤). لیکن از آنجا که وقتی این جدایه‌ها با غلظتهای بسیار زیاد نمک روبرو می‌شوند علاوه بر ایجاد پتانسیل اسمزی بسیار منفی در سلولها، سمیت در سلولها نیز ایجاد شده و در نهایت سلولها از بین می‌روند.

با بررسی کلی نتایج این پژوهش مشاهده شد که تنش شوری بر جدایه‌های *Sinorhizobium* تأثیر منفی دارد و بین جدایه‌های مختلف از نظر مقاومت در برابر تنشها تفاوت وجود دارد. همچنین مشخص شد که بین تحمل به تنش و میزان ترشح پلی‌ساکارید جدایه‌ها رابطه مستقیم وجود دارد. بطورکلی برخی از جدایه‌ها برای زنده ماندن در شرایط نامساعد محیطی پلی‌ساکارید بیشتری به سطح سلول ترشح می‌کنند و این جدایه‌ها به این طریق با شرایط نامساعد سازگاری بیشتری پیدا می‌کنند و می‌توانند مدت طولانی‌تری در این شرایط نسبت به سایر جدایه‌ها باقی بمانند.

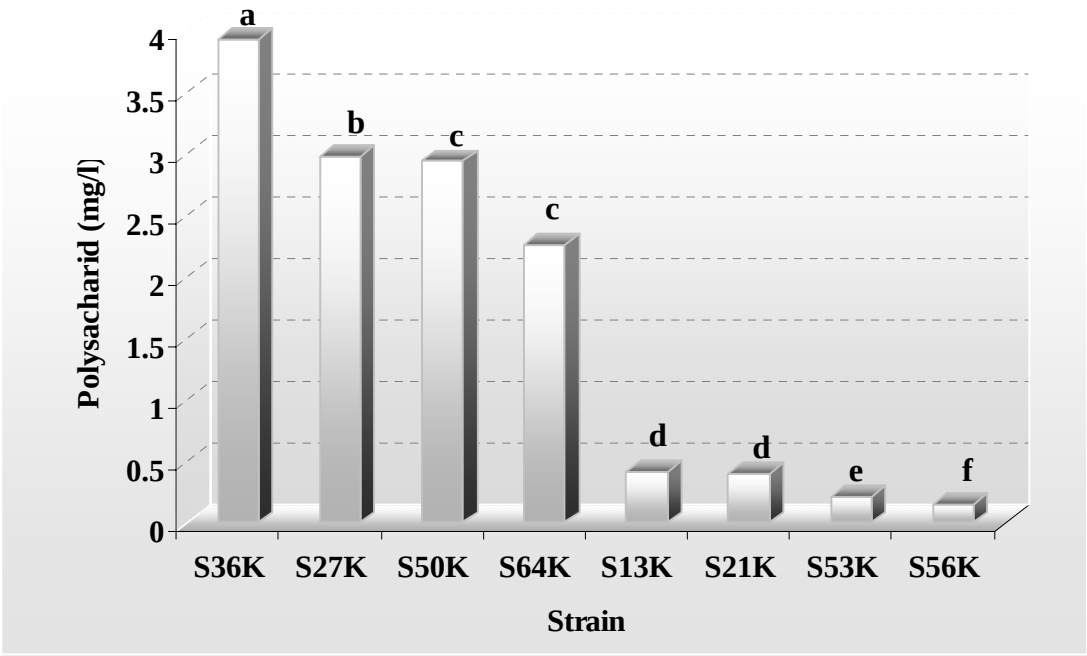


شکل ۱- مقایسه میانگین چگالی نوری (میزان رشد) جدایه‌های *Sinorhizobium* در غلظتهای متفاوت NaCl



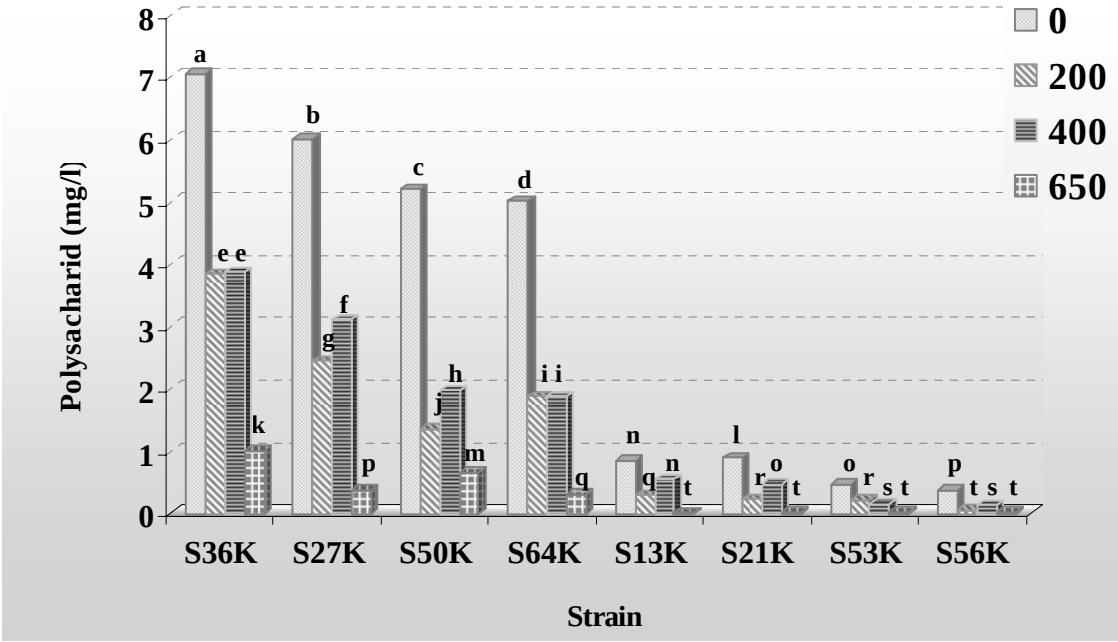
شکل ۲- مقایسه میانگین چگالی نوری (میزان رشد) جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* در میانگین چهار غلظت نمک کلرید سدیم

وجود حداقل یک حرف مشترک بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین آنها می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین میزان پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* در میانگین چهار غلظت کلرید سدیم

وجود حداقل یک حرف مشترک بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین آنها می‌باشد.



شکل ٤- مقایسه میانگین میزان پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی در جدایه‌های مختلف *Sinorhizobium* و غلظتهای مختلف نمک کلرید سدیم

وجود حداقل یک حرف مشترک بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بین آنها می‌باشد.

سپاسگزاری: بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی قدردانی می‌نماییم.

منابع

1-Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., and Mahmood, T. 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol. Fertil. Soils*. 40(3): 157-162.

2-Barbosa, F., Correa, N.S., and Rosas, S.B. 2000. Metabolic and physiological charactreristics of salt-tolerant strains of *Bradyrhizobium sp*. *Biol. Fertil. Soils*. 32: 368-373.

3-Becker, A., Kuster, H., Niehaus, K., and Puhler, A. 1995. Extention of the *Rhizobium meliloti* succinolycan biosynthesis gen cluster.: Indification of the encoding an ABC transporter protein, and the exs*B* gene which probably codes for a regulator of succinoglycan biosynthesis. *Molecul. General Genetic*. 294: 487-497.

4-Delavechia, C., Hampp, E., Fabra, A., and Castro, S. 2003. Influence of pH and calcium on the growth, polysaccharide production and symbiotic association of *Sinorhizobium melliloti* SEMIA 116 with alfalfa roots. *Biol. Fertil. Soils*. 38: 110-114.

5-Hashem, F.M., Swelim, D.M., Kuykendall, L.D., Mohammad, A.I., Abdel-Wahab, S.M., and Hegazi, N.I. 1998. Identification and characterization of salt- and thermo- tolerant Leucarna-nodulating *Rhizobium* strain. . *Biol. Fertil. Soils*. 27: 335-341.

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

7-Keyser, H.H. and Li, F. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. *Plant and Soil*. 141: 119-135.

8-Leena, A.R., Saijets, S., Jokinen, K., and Lindstrom, K. 2004. Evaluation of the roles of two compatible solutes, glycine betaine and trehalose, for the acacia senegal-sinorhizobium symbiosis exposed to drought stress. *Plant and Soil*. 260(1/2): 237-251.

9-Louch, H.A. and Miller, K.J. 2001. Synthesis of a low-molecular-weight from of exopolysacharide by *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110. *Appl. Environ. Microbiol*. pp: 1011-1014.

10-Mendrygal, K.E., and Gonzlez, J.E. 2000. Environmental regulation of exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*. *J. of Bacteriol*. 82(3): 599-606.

11-Mohammad, D.R., Akhavan Kharazian, M., Campbell, W.F., and Rumbaugh, M.D. 1991. Identification of salt and drought tolerant *Rhizobium melliloti* strains. *Plant and Soil*. 134: 271-276.

12-Rehman, A., and Nautiyal, C.S. 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.

13-Shamseldin, A. 2005. Improvement of common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodulation by selected rhizobial strains from Egyptian soils through genotypic characterization, symbiotic effectiveness and competitiveness under salt stress conditions. Thesis for degree of ph.D.

14-Shamseldin, A., and 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. Biotechnology*. 20: 377-382.

15-Shamseldin, A., and Werner, D. 2005. High salt and high pH tolerance of new isolated *Rhizobium etli* strains from Egyptian soils. *Curr. Microbiol*.50: 11-6.

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

17-Soussi, M., Santamaria, M., Ocana, A., and Lluch, C. 2001. Effects of salinity on protein and lipopolysaccharide pattern in a salt-tolerant strain of *Mesorhizobium ciceri*. *J. of Appl. Microbiol*. 90(3): 476-484.

18-Sylria, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., and Zuberer, D.A. 1999. Principles and applications of soil microbiology.

19-Tavernnier, P., Portais, J.C., Saucedo, J.E.N., Courtois, J., Courtois, B. and Barbotin, J.N. 1997. Exopolysaccharide and poly-b-hydroxybutyrate coproduction in two *Rhizobium*

meliloti strains. *Appl. Environ. Microbil*. 63(1): 21-26.

20-Van't Hoff, J.H. 1887. The role of osmotic pressure in the analogy between solution and gases. *Zeitschrift Physicalische Chemie*. 1: 481-508.

21-Werner, D. 1992. Symbiosis of plant and microbes. *Chapman and Hall*. pp. 49-167.

22-Whalley, W.A., Bengough, A.G., and Dexter, A.R. 1998. Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedling. *J. of Experiment. Botany*. 49(327):1689-1694.

Comparing extracellular polysaccharides production in resistance and sensitive of *Sinorhizobium* bacteria to salinity conditions

Abolhasani M.[1], Lakzian A.[1,2], Tajabadipour A.[1,2] and Mohammadi H.[3]

[1] Faculty of Agricultyre, Ferdowsi University, Mashhad, I.R. of Iran

[2] Valiasr University, Mashhad, I.R. of Iran

[3] Islamic Azad University, Rafsanjan, I.R. of Iran

Abstract

Extracellular polysaccharides of isolates play an important role in the process of legum-rhizobium identification and also as a protector against environmental tensions. To study the effects of production of extracellular polysaccharides of resistant *Sinorhizobium* to salinity conditions, some *Sinorhizobium* isolates which were resistant to salinity conditions were selected from Kerman province. TY medium with 4 salinity levels (sodium chloride) was used to study the tolerance of isolates to salinity conditions. Results showed that there was a meaningful difference between *Sinorhizobium* isolates considering resistance to salinity and isolates were classified into two groups: resistant and sensitive to salinity. The amount of production of extracellular polysaccharides of *Sinorhizobium* bacteria was also studied in 4 salinity levels. This study was performed randomly in a factorial form. According to the results, resistant isolates produced polysaccharides ten times more than sensitive ones. On the other hand, in concentration of 400 mM of salt, the isolates could produce more polysaccharides in compare to lower concentrations causing more resistance in these high concentrations.

Key words: Extracellular polysaccharides, *Sinorhizobium*, alfalfa, salinity