Archive of SID

بیابان (جلد ۸ شماره ۲ سال ۱۳۸۲)

بررسی تنوع زیستی باکتری های همزیست نخود (*Cicer arietinum* L.) از نظر توانایی تثبیت نیتروژن در استان خراسان

مهدی پارسا[۱]، علیرضا کوچکی[۲]، حسین حیدری شریف آباد[۳]

۱و۲- عضو هیأت علمی و استاد دانشکده کشاورزی علمی دانشگاه فردوسی مشهد ۳- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

تاریخ وصول : ۸۲/۳/۷

چکیده

به منظور بررسی تنوع زیستی باکتری های همزیست با نخود در استان خراسان، به عنوان یکی از مناطق بومی نخود، از ۱۱ شهرستان ۳۶ ایزوله باکتری از گره گیاهان نخود استخراج و خالص سازی شد. پس از انجام آزمون گره زایی با روش جار لئونارد، ۲٤ ایزوله مورد تأیید قرار گرفتند و در آزمایش بعدی (گلدان های دارای شن استریل با آبیاری محلول غذایی بدون نیتروژن در شرایط گلخانه) همراه با شاهد بدون نیتروژن و شاهد نیتروژن (محلول غذایی کامل)، از نظر درصد و میزان نیتروژن و مادهٔ خشک ریشه، مادهٔ خشک اندام هوایی، کارآیی همزیستی (نسبت نیتروژن کل بخش هوایی گیاه تلقیح شده با ایزوله به نیتروژن کل بخش هوایی گیاه شاهد نیتروژن) و تعداد و ماده خشک گره، مقایسه شدند. اختلاف بین ایزوله ها از نظر هر یک از این صفات، معنی دار بود. ($p<0/01$) مقدار نیتروژن ریشه در همه ایزوله ها کمتر از بخش هوایی بود که این موضوع حاکی از انتقال بیشتر نیتروژن تثبیت شده به بخش هوایی گیاه است. بین تعداد گره ها با مقدار نیتروژن بخش هوایی، همبستگی بالایی مشاهده نشد. در نهایت از میان ایزوله های مورد بررسی، پنج ایزوله (با شماره های ۱٦، ۲۷، ۲۹، ۳٤ و ۳٦) بر اساس بیشترین مقدار نیتروژن بخش هوایی و کارآیی همزیستی انتخاب شدند. در آزمایش بعدی (گلدان های حاوی خاک مزرعه در شرایط گلخانه)، کارآیی همزیستی ایزوله های منتخب به همراه ایزوله خارجی CP۳٦، با چهار رقم نخود (٤۸۲ ILC و فلیپ از تیپ کابلی، کاکا و پیروز از تیپ دسی) مورد ارزیابی قرار گرفت. همه ایزوله ها موجب افزایش تعداد گره در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد شدند ولی این افزایش فقط برای تعدادی از آنها معنی دار بود. ($p<0/05$) تعداد گره در ارقام کابلی نسبت به ارقام دسی، افزایش معنی داری نشان داد ($p<0/01$). کارآیی همزیستی (بر اساس مادهٔ خشک بوته) در بوته های تلقیح شده نسبت به شاهد نیتروژن (۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار)، بین ۲/۵ درصد در ایزوله خارجی CP ۳٦ تا ۱۹/۳ درصد در ایزوله شماره ۲۷، افزایش نشان داد. رقم فلیپ با ۳۱/۸ درصد افزایش نسبت به شاهد نیتروژن، بیشترین کارآیی همزیستی را در بین ارقام داشت. در مجموع، نتایج این بررسی نشان داد که تلقیح ارقام نخود با ایزوله های بومی، موجب افزایش گره زایی، مادهٔ خشک بخش هوایی، مادهٔ خشک کل گیاه و کارآیی همزیستی می شود.

واژه های کلیدی : تثبیت نیتروژن ، نخود، تنوع زیستی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نخود در بین حبوبات تولیدی در ایـران از نظر سطح زیر کشت و تولید، مقام اول را بـه خـود اختصاص داده است (۲). این محصول در بسـیاری از استان هـا و در اکـثر منـاطق دیـم کشـور، تنـها گیـاه تـیرهٔ بقـولات اسـت کـه بطـور گسـترده ای وارد تناوب شده است. باکتری های ریزوبیـوم کـه در نخود گره ایجـاد مـی کننـد بسـیار اختصـاصی هستند (۳) و بجـــز نخـــود گاهـــی گونـه هـای *Sesbania ispinosa* و *S. sesban* را نـیز تلقیـح می کنند (۹). این موضوع ممکـن اسـت از طرفـی موجب عـدم شـکل گیـری همزیسـتی در منـاطقی بشود که ریزوبیوم های اختصـاصی وجـود ندارنـد ولی از طرف دیگر امیدهای زیادی را بـرای تولیـد مایه تلقیح با کارآیی بالا و اختصـاصی بـرای انـواع ارقـام نخـود بوجـود آورده اسـت (۱۲). بدلیـل اختصاصی بودن این باکتری، رقم جدید نخـود کـه به یک منطقه معرفی می شود ممکن است نتواند بـا ریزوبیوم های بومی، همزیستی مؤثری تشکیل دهد. لذا درصورت وجود عامل تلقیحی مناسب، پتانسیل تثبیـت نیـتروژن افزایـش مـی یـابد (۳). جمعیـت ریزوبیوم های بومی در خاک بستگی به پـایداری و بقای این باکتری در خاک دارد. عوامل متعـددی از جملـه ویـژگی خـاک (فـیزیکی ،شـیمیایی و بیولوژیک)، شرایط اقلیمـی، وجـود گیـاه میزبـان و تاریخچه کشت در پایداری ریزوبیوم در خاک مؤثر هسـتند (۲۰). بررسـی ۳۱٤ مزرعـه در هنـد نشـان می دهد که در بیشتر مناطق زیر کشت نخـود، گره زایی ضعیف است و تنها در تعداد کمی از مـزارع، گره زایی در سطح بسیار خوب و خوب بوده است (۲۵). مطالعه جمعیت باکتری و تأثیر تلقیـح نخـود در ترکیه و هند نشان می دهد که حتی در بسـیاری از زمین های زیر کشت نخود نیز جمعیت ریزوبیوم و یا کارآیی تثبیت نیـتروژن، کـم اسـت (۱٤). اثـر متقـابل ریزوبیـوم و رقـم نخـود معمـولا از رونـد مشخصی برخـوردار نیسـت (۱۸). نـژاد ریزوبیـوم مؤثـر، ممکـن اسـت اختصـاصی بـوده و قـادر بـه همزیستی بـا تعـداد محـدودی از رقـم هـا باشـد. ترکیب نژاد اختصاصی و رقم میزبان، امکان افزایش عملکرد نخود را فراهم می آورد (۲۰) به طوری که تلقیح با باکتری بـه عنـوان یـک روش مطمئـن در زراعت نخود توصیه می شود و در آزمـایش هـای متعـددی کـه در نقـاط مختلـف از جملـه بنگلادش(۱۱)، هند(۱۵)، مصر(۱٦) و سـودان (۱۸) انجام شده است، تلقیح، با افزایش عملکـرد همـراه بوده است. اگرچه همزیستی بقولات-ریزوبیـوم تـا حد زیادی تکـامل یافتـه و خودتنظیـم اسـت ولـی نسبت به شرایط محیطی و انواع تنش ها، حسـاس می باشـد. دمـای بـالا (۷)، خشـکی (۱۲)، شـوری (۲۷) و میزان بالای نیـتروژن خـاک (۱۳) از جملـه عوامل مهم تاثیر گذار بر فعالیت بیولوژیـک تثبیـت نیتروژن و گره زایی نخود هستند. وجود این تنـش ها می تواند بر ترکیب اختصاصی نژاد باکتری ورقم

www.SID.ir

Archive of SID

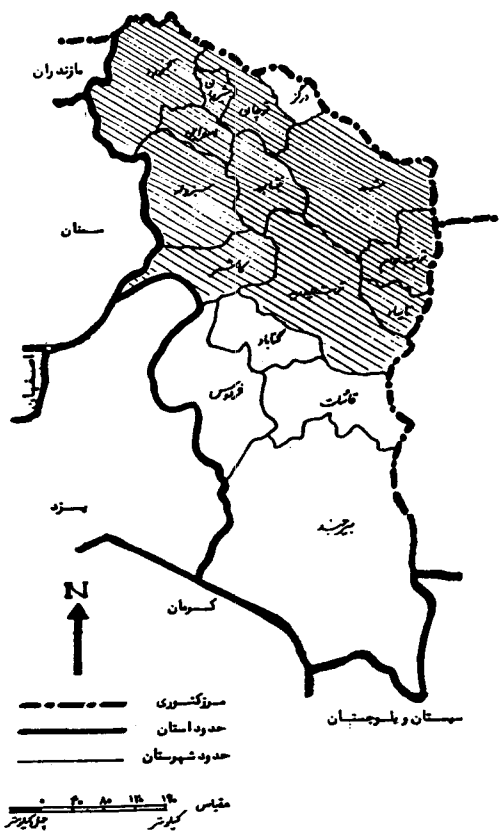
میزبان تاثیر بگذارد وبدون تردید نژادهای متحمل، همزیستی مؤثرتری را ایجاد می کنند (۱۹).

دستیابی به نژادهای مؤثر، مستلزم مطالعه ذخایر ژنتیکی آنها است و از طرفی باکتری های همزیست به دلیل سرعت زیاد رشد و تکثیر، از تنوع ژنتیک بالایی برخوردارند. همچنین شرایط متغیر محیطی و پراکنش بقولات با دامنه سازگاری گسترده، در افزایش این تنوع مؤثر بوده است و این تنوع، رابطه متقابل بین بقولات و باکتری ها را پیچیده و گسترده کرده است. در درون این ترکیبات ژنتیکی، ویژگی هایی وجود دارد که سودمندی آنها در زمان های طولانی آزمایش شده است. بنابراین شناخت تنوع زیستی این باکتری ها از نظر ژنتیک، اکولوژیک و رابطه همزیستی، به خصوص برای محصولات بومی این منطقه از جمله نخود از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف نهایی از این بررسی، جمع آوری ریزوبیوم های بومی نخود به عنوان بخشی از تنوع زیستی موجود در اکوسیستم های کشاورزی استان خراسان و نیز ارزیابی آنها از نظر قدرت گره زایی و توانایی تثبیت نیتروژن است.

مواد و روش ها

۱- جمع آوری و نگه داری گره ها

در سال (۱۳۷۹) ۱۱ منطقه در استان خراسان که دارای سطح زیر کشت بیشتر از ۱۵۰ هکتار کشت آبی یا ۵۰۰ هکتار کشت دیم نخود بودند، انتخاب شدند (شکل ۱). از این مناطق، ۳۶ نمونه گیاهی سالم و سبز با ریشهٔ کامل برداشت شد و گره های آن در ویال های شیشه ای حاوی سیلیکاژل (جاذب الرطوبه) به آزمایشگاه منتقل شد.



شکل ۱- شهرستان هایی از استان خراسان (هاشور خورده) که نمونه های گیاهی نخود از آنها انتخاب شد.

www.SID.ir

Archive of SID

۲- مراحل آزمایشگاهی و گلخانه ای

۲-۱- تهیه ایزوله از گره ها

گره ها پس از خیس ماندن در فاصله زمانی شب تا صبح، به مدت سه دقیقه در وایتکس غوطه ور شدند و پنج تا شش بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس گره ها به محیط کشت YMA[1] حاوی کنگورد[2] منتقل و به کمک پنس در داخل پتری دیش هایی پاره شدند تا محتوای آنها وارد محیط کشت شود. پتری دیش ها تا زمان ظهور کلنی های ریزوبیوم در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. به منظور دست یابی به کشت خالص، عمل کشت کلنی ها چند مرتبه تکرار شد.

۲-۲- آزمون آلوده سازی[3]

تنها راه برای تایید گونه ریزوبیوم در کشت خالص، تلقیح گیاه میزبان با باکتری های استخراج شده و تشکیل گره روی ریشه است. انجام این آزمون شامل مراحل زیر بود:

۲-۲-۱- تهیه مایه تلقیح ریزوبیوم

برای تهیه مایه تلقیح، به تعداد ایزوله ها محیط کشت مایع (YMB)[4] تهیه و استریل شد. سپس از کشت خالص هر ایزوله مقدار کمی به محیط کشت منتقل گردید و در بهم زن انکوباتور با سرعت ۱۰۰ دور دردقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد رشد داده شد.

۲-۲-۲- استریل کردن بذر و جوانه دار کردن آن

بذر های سالم و همسان نخود رقم ILC۴۸۲، با الکل استریل شدند و پس از پنج تا شش مرتبه آبشویی، در پتری دیش های حاوی ۰/۸ درصد آب- آگار قرار داده شدند تا جوانه بزنند.

۲-۲-۳- تهیه محلول غذایی بدون نیتروژن برای رشد گیاه

برای رشد گیاهچه های نخود، از محلول غذایی بدون نیتروژن طبق دستور العمل ایکاردا (٤)، استفاده شد با این تفاوت که مقدارآهن آن از طریق سکاسترن (نوعی کلات آهن) تأمین شد. سپس pH در محدوده ۷-۶/۸ تنظیم گردید.

۲-۲-٤- ایجاد سیستم جار لئونارد

به منظور ایجاد این سیستم از یک شیشه خالی مربا (۷۵۰ میلی لیتری) به عنوان ظرف حاوی محلول غذایی بدون نیتروژن استفاده شد و یک شیشه خالی الکل در حالی که ته آن بریده شده بود و فتیله ای از قسمت سر به داخل شیشه وارد شده بود به صورت واژگون بر روی شیشه مربا قرار گرفت (شکل ۲). پس از ریختن ماسه و شن (شسته شده با اسید و سپس آب مقطر) به داخل شیشه بالایی، درب آن با کاغذ آلومینیوم پوشانیده شد. شیشه های پایینی نیز با محلول غذایی بدون نیتروژن پر شدند. پس از قرار

1- Yest Extract Manitol Agar

2- Congo Red

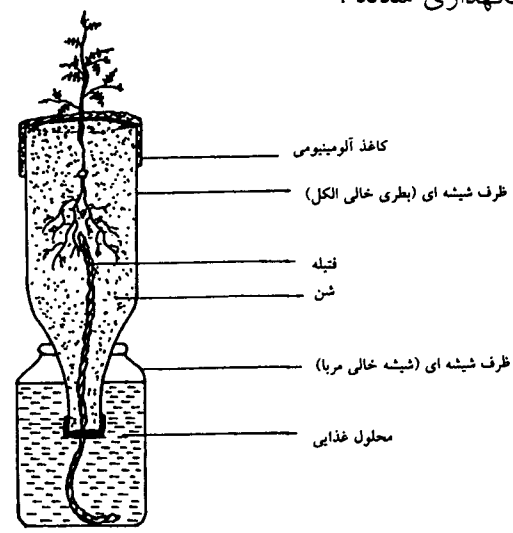
3- Infection test

4- Yeast Extract Manitol Broth

www.SID.ir

Archive of SID

دادن شیشه ها به صورت سیستم جار لئونارد، تمام آنها در اتوکلاوی با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت دو ساعت استریل شدند (٦). سپس در هر جار، یک بذر جوانه دار کاشته شد و پس از ریختن یک میلی لیتر از مایه تلقیح بر روی بذر و مجاور آن، روی بذر پوشانیده شد. این مراحل برای هر ایزوله در سه تکرار انجام شد. تعداد شش جار نیز به عنوان شاهد بدون تلقیح در بین جارها قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط گلخانه[۵] انجام شد. پس از شش هفته به منظور مشاهده گره، گیاهان با ریشه بیرون آورده شدند و ریشه ها پس از شستشو، مورد بررسی قرار گرفتند. از مجموع ایزوله ها، تعداد ۲٤ ایزوله گره تولید کردند که برای آزمایشات بعدی نگهداری شدند .



شکل ۲- نمایی از سیستم جار لئونارد

۵ - مجموعه آزمایش های این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

۲-۳- ارزیابی اولیه ایزوله ها از نظرتوانایی تثبیت نیتروژن (آزمایش اول)

بذرهای نخود رقم ILC ٤٨٢ که قبلا جوانه دار شده بودند به گلدان های حاوی شن استریل منتقل شدند. از هر یک از ۲٤ ایزوله، به روش ۲-۲-۱ مایه تلقیح تهیه شد و غلظت آنها از طریق اسپکتروفتومتر یکنواخت شد. سپس یک میلی لیتر از مایه تلقیح روی بذر جوانه دار و مجاور آن ریخته شد و بذرها توسط شن پوشانیده شدند. ضمنا شاهد بدون تلقیح وشاهد با نیتروژن نیز به جمع تیمار ها اضافه شد. مقدار نیتروژن بر حسب میزان نیتروژن محلول غذایی جانسون کامل (٦)، محاسبه شد و به محلول غذایی قبلی اضافه شد. گلدان های مربوط به شاهد با نیتروژن، با محلول غذایی نیتروژن دار و سایر گلدان ها با محلول غذایی بدون نیتروژن، آبیاری شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. پس از شش هفته تعداد گره، ماده خشک گره، نیتروژن اندام هوایی و ریشه، و ماده خشک ریشه و اندام هوایی اندازه گیری شد.

۲-۳-۱- تخمین جمعیت باکتری مایه تلقیح

برای شمارش جمعیت باکتری از روش سری های رقت استفاده شد (٤). به این ترتیب که یک میلی لیتر از مایه تلقیح به ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل در لوله آزمایش اضافه شد (ده برابر رقت). مجددا یک میلی لیتر از لوله آزمایش برداشته شد و به ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل در لوله آزمایش دیگر اضافه شد و این عمل تا تهیه ده سری رقت ادامه یافت. سپس از لوله

www.SID.ir

Archive of SID

عمل تا تهیه ده سری رقت ادامه یافت. سپس از لوله آزمایش دهم (۱۰ برابر رقت) یک میلی لیتر به محیط کشت YMAمنتقل شد و بعد از ۲٤ ساعت تعداد کلنی های تشکیل شده شمارش شدند. تعداد کلنی های شمارش شده، چهار کلونی بود که نشان می دهد در یک میلی لیتر مایه تلقیح ٤×١٠^{١٠} باکتری وجود دارد.

۲-۳-۲- کارآیی همزیستی[6]

کارآیی همزیستی، یکی از معیارهای مهم در انتخاب نژادهای ریزوبیوم به منظور تهیه مایه تلقیح است (٤). کارآیی همزیستی، بیانگر توانایی تثبیت نیتروژن یک گیاه گره دار شده است که با کمک آن رشد یا نیتروژن تثبیت شده در گیاهان گره دار شده با رشد یا مقدار نیتروژن گیاهانی که به اندازه کافی نیتروژن معدنی جذب کرده اند (به عنوان شاهد نیتروژن)، مقایسه می شوند (٤). شاهد نیتروژن، نشان دهندهٔ توانایی رشد یک گونه از بقولات در شرایط آزمایش است و بر این اساس رشد یا جذب نیتروژن گیاهان تلقیح شده بر حسب درصدی از گیاهان شاهد تحت عنوان کارآیی همزیستی بیان می شود. کارآیی همزیستی برای هر کدام از گیاهان تلقیح شده با ایزوله، از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۳):

$$SE=\frac{\text{مقدار نیتروژن بخش هوایی گیاه تلقیح شده با ایزوله}}{\text{مقدار نیتروژن بخش هوایی گیاه شاهد با نیتروژن}}\times ١٠٠$$

مجموعه آزمایش های انجام شده تا این مرحله، به منظور انتخاب ایزوله های برتر از میان ایزوله های مورد بررسی (با توجه به خصوصیات اندازه گیری شده شامل کارآیی همزیستی و قدرت گره زایی) انجام شد.

۲-٤- مقایسه ایزوله های منتخب از نظر تلقیح ارقام نخود در شرایط خاک (آزمایش دوم)

بدین منظور مقادیری خاک از مزرعه پردیس دانشگاه که به مدت دو سال در آن کشتی انجام نشده بود تا عمق ۲۰ سانتی متری برداشته شد. و پس از بهم خوردن و یکنواخت شدن مقدار پنج کیلوگرم از آن در داخل سطل های پلاستیکی بدون زهکش ریخته شد. بافت خاک، لوم و مقدار نیتروژن معدنی آن ١٤ قسمت در میلیون (پی پی ام) بود. در این آزمایش، فاکتور رقم نخود با چهار سطح (کاکا و پیروز از تیپ دسی، فلیپ و ٤٨٢ ILCاز تیپ کابلی) و فاکتور تلقیح با هشت سطح (پنج ایزولهٔ منتخب از آزمایش های قبلی، ایزوله ٣٦ CPبه عنوان ایزوله برتر خارجی از ایکاردا، شاهد بدون تلقیح و شاهد نیتروژن بر اساس ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار، مورد مقایسه قرار گرفتند. در هر سطل چهار بذر استریل شده در درون حفره ها قرار گرفتند و توسط ایزوله ها به روش۲-۲-٤ تلقیح شدند. آبیاری در زمان ۵۰ درصد ظرفیت زراعی[7] خاک و تا رسیدن رطوبت به ۷۰ یا ۸۰ درصد آن انجام شد. سطل ها در گلخانه در دمای حد اقل ۱۸ و حداکثر ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از دو ماه

6- *Symbiotic Effectiveness (S.E)*

7- *Field Capacity*

www.SID.ir

Archive of SID

گره و ماده خشک ریشه و بخش هوایی، اندازه گیری شد و کارآیی همزیستی بر اساس مـاده خشـک کـل گیاه محاسبه شد.

۲-٤-۱- تخمین جمعیت باکتری خاک

بمنظور برآورد جمعیت بـاکتری خـاک مـورد آزمایش، از روش سری های رقت (٤) استفاده شد. ابتدا ۱۰ گرم خاک خشک به ۹۰ میلی لیتر آب مقطـر استریل افزوده شد (۱۰ برابر رقت) و پس از بهم زدن مخلوط آب و خاک، یک میلی لیتر از این مخلوط بـه ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل در یـک لولـهٔ آزمـایش منتقل شد (۱۰۰ برابر رقت).

دوباره یک میلی لیتر از این لوله آزمایش برداشته شد و به ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل در لولـه آزمـایش دیگر اضافه شد و این عمل تا تهیه شش سری رقـت ادامه یافت.

یک میلی لیتر از هر کـدام از سـریهای رقـت، بـرای تلقیح یک بذر نخود (رقم ILC ٤٨٢) کاشته شـده در جار لئونارد (به روش ۲-۲-٤)، استفاده شد.

برای هر سری رقـت، چـهار تکـرار (جـار) در نظـر گرفته شد.

شش هفته پس از کاشت بذور در جارها، تعـداد گره هـای موجـود بـر روی ریشـهٔ بوتـه هـای حاصلـه، شمارش شد و بر این اساس با استفاده از جدول های استاندارد موجود (٤)، جمعیت باکتری خاک، بـرآورد گردید.

نتایج و بحث

۱- ارزیابی اولیه ایزوله ها از نظرتوانایی تثبیت نیتروژن (آزمایش اول)

۱-۱- گره زایی

ایزوله ها از نظر تعداد و ماده خشک گره، تفـاوت معنـی داری را نشان دادند ($p<۰/۰۱$) بر این اساس، ایزولـه ١٦ با ۵۲/۷ گره در بوته، بیشـترین و ایزولـه هـای ۸ و ٤ بـه ترتیب با ۱/۳ و ۲/٤ گره در بوته، کمـترین تعـداد گر، را ایجاد کردند (جدول ۱). پس از ایزوله ١٦، بیشترین تعداد گره در بوته را ایزوله های ۲۷ و ٢٦ بـه ترتیـب بـا ٤٥ و ۳۰/۳ گره ایجاد کردند به طوری که تفاوت میـان آنـها بـا ایزوله ١٦ از این نظر، معنی دار نشد (جـدول ۱). تفـاوت میان ایزوله هـا از نظـر مـاده خشـک گره نـیز معنـی دار شد($p<۰/۰۱$) در این مورد نیز ایزوله ١٦ نسبت به ایزوله های دیگر، برتری داشت و میزان ماده خشک گره مربوط به آن، ۰/٤۷ میلی گرم بود (جدول۱). پـس از آن، ایزولـه هـای ۱۷ و ۲۷ بـه ترتیـب بـا ۰/۳۸ و ۰/۳۵ میلـی گرم، بیشترین میزان ماده خشـک گره را دارا بودنـد و تفـاوت معنی داری با ایزولـه ١٦ نداشـتند. کمـترین مـیزان مـاده خشک نیز در مـورد ایزولـه هـای ٤ و ۳، بـه ترتیـب بـا ۰/۰۳۰ و ۰/۰۳٦ میلی گرم مشـاهده شـد. سـرعت بـالای رشد و تکثیر باکتری های ریزوبیوم موجب تنـوع فـروان آنها در خاک می شـود. از طرفـی ایجـاد یـک همزیسـتی کارآمد به عوامل ژنتیکی مؤثر در گیاه و بـاکتری بسـتگی دارد (٢٦). بنابراین تغییر در ژنتیـک هـر یـک از طرفیـن همزیستی ممکن است سبب ممانعت از رشد گره ها شده و در نتیجـه تعـداد و وزن گره و نـیز تثبیـت نیـتروژن را تحت تاثیر قرار دهد (۸). این موضوع در مورد نخود کـه نژادهای ریزوبیوم همزیست آن بسیار اختصـاصی هسـتند (۳ و ۲۲) از اهمیت بیشتری برخوردار است.

www.SID.ir

جدول ۱- تعداد و ماده خشک گره، مقدار نیتروژن ریشه، بخش هوایی و بوته، ماده خشک بخش هوایی گیاهان تلقیح شده و کارآیی همزیستی ایزوله ها (آزمایش اول)

ایزوله	تعداد گره		ماده خشک گره (میلی گرم)		مقدار نیتروژن ریشه (میلی گرم)		مقدار نیتروژن بخش هوایی (میلی گرم)		مقدار نیتروژن بوته (میلی گرم)		ماده خشک بخش هوایی (گرم)		کارایی همزیستی (درصد)	
شاهد نیتروژن	۰/۰	k	۰/۰۰۰	j	۴/۵۰	a	۱۱/۹۶	a	۱۶/۴۵	a	۰/۵۵۶	a	۱۰۰/۰	a
۱۶	۵۲/۷	a	۰/۴۷۰	a	۱/۸۶	b-d	۹/۸۴	b	۱۱/۷۰	b	۰/۵۵۹	a	۸۲/۳	b
۲۹	۱۰/۹	d-i	۰/۱۱۹	g-j	۲/۰۹	b-d	۸/۴۲	bc	۱۰/۵۱	bc	۰/۵۵۶	a	۷۰/۴	bc
۳۴	۱۴/۳	c-h	۰/۲۷۵	b-f	۲/۲۸	bc	۸/۱۴	cd	۱۰/۴۲	b-d	۰/۵۱۸	ab	۶۸/۱	cd
۳۶	۱۹/۳	c-f	۰/۲۸۳	b-e	۲/۱۷	b-d	۷/۷۳	c-e	۹/۹۰	b-d	۰/۵۱۰	ab	۶۴/۶	c-e
۱۷	۱۸/۶	c-f	۰/۳۸۴	ab	۱/۹۹	b-d	۷/۵۶	c-e	۹/۵۶	c-e	۰/۴۶۳	a-d	۶۳/۲	c-e
۲۷	۴۵/۰	ab	۰/۳۵۳	a-c	۲/۱۹	b-d	۷/۲۴	c-f	۹/۴۴	c-f	۰/۴۴۰	b-f	۶۰/۵	c-f
۳۱	۱۰/۳	d-i	۰/۲۸۰	b-e	۱/۳۳	e	۶/۹۸	c-g	۸/۳۱	d-j	۰/۴۳۱	c-f	۵۸/۴	c-g
۳۲	۱۵/۰	c-g	۰/۱۹۰	e-i	۲/۲۶	bc	۶/۹۳	c-h	۹/۱۹	c-g	۰/۴۶۳	b-f	۵۷/۹	c-h
۳۵	۲۳/۸	b-d	۰/۲۱۷	c-g	۲/۱۰	b-d	۶/۹۳	c-h	۹/۰۳	c-h	۰/۴۵۲	b-f	۵۷/۹	c-h
۲۶	۳۰/۳	a-c	۰/۲۳۴	c-g	۲/۳۵	bc	۶/۸۶	c-h	۹/۲۱	c-g	۰/۴۲۸	c-f	۵۷/۴	c-h
۱۳	۲۳/۳	c-e	۰/۳۳۶	a-d	۲/۰۶	b-d	۶/۸۵	c-h	۸/۹۱	c-i	۰/۴۴۴	b-f	۵۷/۳	c-h
۱۵	۱۴/۷	c-g	۰/۱۲۲	g-j	۲/۲۹	bc	۶/۷۰	d-i	۸/۹۹	c-i	۰/۴۵۸	b-f	۵۶/۰	d-i
۱۰	۹/۱	d-j	۰/۰۷۷	g-j	۲/۴۰	bc	۶/۵۷	d-i	۸/۹۷	c-i	۰/۴۹۲	a-d	۵۴/۹	d-i
۱۴	۱۶/۱	c-g	۰/۱۶۵	e-i	۲/۴۵	b	۶/۳۷	e-j	۸/۸۳	c-j	۰/۴۹۹	a-c	۵۳/۳	e-j
۵	۵/۶	g-k	۰/۰۴۲	ij	۲/۲۰	bc	۶/۲۴	e-j	۸/۵۶	c-j	۰/۴۵۹	b-f	۵۲/۲	e-j
۳۰	۷/۳	f-j	۰/۱۳۷	f-j	۱/۸۰	cd	۶/۲۱	e-j	۸/۰۱	d-j	۰/۴۹۸	a-c	۵۱/۹	e-j
۱۱	۱۶/۷	c-g	۰/۲۰۳	d-h	۲/۲۰	b-d	۶/۰۵	e-j	۸/۲۵	d-j	۰/۴۶۳	b-e	۵۰/۶	e-j
۲۴	۱۳/۰	d-h	۰/۲۱۶	c-g	۱/۹۶	b-d	۵/۷۳	f-j	۷/۷۲	e-j	۰/۴۱۲	ef	۴۷/۹	f-j
۸	۱/۳	jk	۰/۰۳۸	ij	۱/۸۱	cd	۵/۶۲	f-j	۷/۴۴	g-j	۰/۴۱۶	d-f	۴۷/۰	f-j
۲۵	۱۵/۵	c-g	۰/۰۹۹	g-j	۱/۶۳	d	۵/۴۸	g-j	۷/۱۱	g-j	۰/۴۳۰	c-f	۴۵/۸	g-j
۳	۳/۶	h-k	۰/۰۳۶	ij	۲/۲۱	b-d	۵/۳۳	g-j	۷/۵۳	f-j	۰/۳۸۸	ef	۴۴/۶	g-j
۲۱	۱۷/۰	c-g	۰/۲۸۵	b-e	۲/۱۷	b-d	۵/۲۵	g-j	۷/۴۲	g-j	۰/۴۲۴	c-f	۴۳/۹	h-j
شاهد	۰/۰	k	۰/۰۰۰	j	۲/۲۲	b-d	۵/۱۰	ij	۷/۳۳	g-j	۰/۳۹۴	ef	۴۲/۶	ij
۴	۲/۴	i-k	۰/۰۳۰	ij	۲/۱۷	b-d	۴/۸۳	j	۷/۰۰	ij	۰/۴۰۵	ef	۴۰/۴	j
۲۰	۸/۹	e-j	۰/۱۲۱	g-j	۲/۰۸	b-d	۴/۷۷	j	۶/۸۵	j	۰/۳۸۵	f	۳۹/۹	j
میانگین	۱۵/۲		۰/۱۸۱		۲/۱۸		۶/۷۶		۸/۹۵		۰/۴۵۹		۵۶/۵	
سطح معنی داری	**		**		**		**		**		**		**	

**: معنی دار با احتمال خطای کمتر از ۰/۰۱.

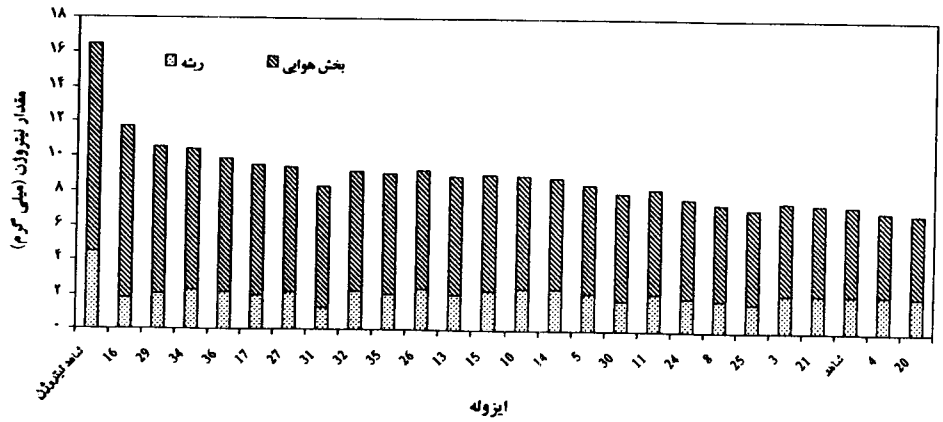
- میانگین هایی که در هر ستون، حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن ($p< ۰/۰۱$)، اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

۱-۲- مقدار نیتروژن ریشه و بخش هوایی و کارآیی همزیستی

مقدار نیتروژن ریشه در مورد تمام ایزوله ها نسبت به مقدار آن در بخش هوایی، کمتر بود ضمن اینکه تفاوت میان ایزوله ها از نظر مقدار نیتروژن ریشه، اندک بود (شکل ۳) به طوری که ۸۸ درصد آنها اختلاف معنی داری از این نظر، با شاهد بدون تلقیح نداشتند (جدول ۱).

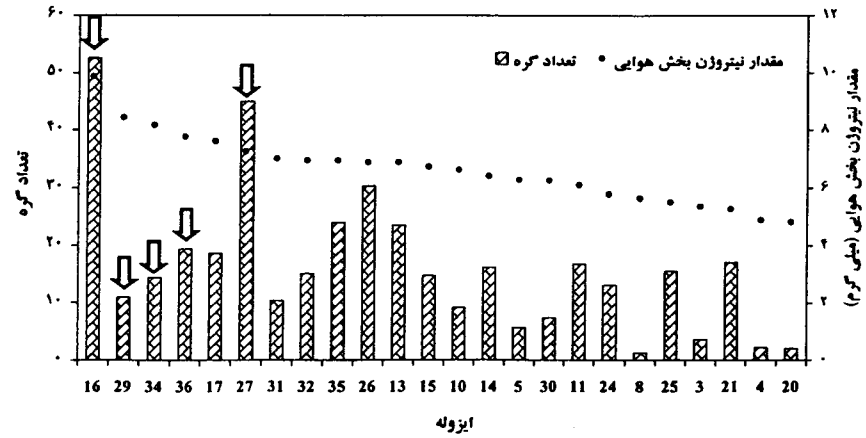


شکل ۳- مقدار نیتروژن ریشه، بخش هوایی و بوته در گیاهان تلقیح شده با هر یک از ایزوله ها (آزمایش اول)

براساس میانگین داده های حاصل از ایزوله ها، بیش از سه چهارم مقدار نیتروژن گیاه، به بخش هوایی اختصاص یافت (جدول ۱). این نکته نشان میدهد که نیتروژن تثبیت شده در ریشه ها، به محل های رشد یعنی مخازن رویشی گیاه منتقل می شود. تفاوت میان ایزوله ها از نظر مقدار نیتروژن بخش هوایی و نیز کارآیی همزیستی، معنی دار شد ($p<0/01$) و ایزوله های ۱۶ و ۲۹ به ترتیب با ۹/۸۴ و ۸/۴۲ میلی گرم نیتروژن در بخش هوایی، بر سایرین برتری نشان دادند. افزایش این ایزوله ها نسبت به شاهد بدون تلقیح، به ترتیب ۷۵ و ۵۰ درصد بود (جدول ۱). همچنین، ایزوله ۱۶ با ۸۲/۳ درصد، بیشترین درصد کارآیی همزیستی را درمیان ایزوله ها، داشت و پس از آن، ایزوله های ۲۹، ۳۴، ۳۶، ۱۷ و ۲۷ به ترتیب بیشترین مقدار کارآیی همزیستی را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). ایزوله ها از نظر میزان ماده خشک بخش هوایی نیز روند تقریبا مشابهی را نشان دادند (جدول ۱) که با نتایج تحقیقات بک (۳)، مشابه است. ایزوله های برتر، غالبا از تعداد و ماده خشک گره بالاتری برخوردار بودند، ولی بین تعداد گره و مقدار نیتروژن بخش هوایی، همبستگی بالایی مشاهده نشد ($p<0/01$، $r=0/58$) بطوریکه با وجود بالاتر بودن مقدار نیتروژن بخش هوایی در بعضی ایزوله ها، تعداد گره آنها نسبت به ایزوله های دارای نیتروژن پایینتر، کمتر بود (جدول ۱ و شکل ٤). بدین ترتیب، بنظر می رسد که مقدار نیتروژن تثبیت شده تا حد زیادی به کارآیی و فعالیت گره ها بستگی دارد (۱). بنابراین در مورد نخود نیز (مانند سایر بقولات)، یک گیاه برخوردار از تعداد زیاد گره، الزاما ظرفیت بالایی برای تثبیت نیتروژن ندارد (۲۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل٤- تعداد گره و مقدار نیتروژن بخش هوایی گیاه در گیاهان تلقیح شده با هر یک از ایزوله ها (آزمایش اول)

در انتهای این بخش از آزمایش ها و براساس نتایج بدست آمده، ایزوله های ١٦، ٢٧، ٢٩، ٣٤ و ٣٦، با توجه به برخورداری از برتری نسبی از نظر کارآیی همزیستی و تعداد گره (شکل٤)، انتخاب شدند. کارآیی همزیستی به عنوان شاخصی که توانایی تثبیت نیتروژن ایزوله را نشان می دهد و تعداد گره به عنوان قابلیت ایزوله در آلوده نمودن نقاطی از ریشه میزبان، تا حدی تعیین کننده موفقیت ایزوله در عرصه رقابت با باکتری های بومی میباشند.

۲-مقایسه ایزوله های منتخب از نظر تلقیح ارقام نخود در شرایط خاک (آزمایش دوم)

۲-۱- گره زایی

سطوح تلقیح از نظر تعداد گره، تفاوت معنی داری را نشان دادند ($p<0/05$) براین اساس، ایزوله ٣٤ با ٣٨/١ گره، بیشترین تعداد گره را در میان سطوح تلقیح دارا بود. کمترین تعداد گره نیز، همان گونه که انتظار می رفت، به شاهد نیتروژن (با ٢٤/٤ گره) و سپس به شاهد بدون تلقیح (با ٢٨/١ گره) تعلق داشت که تفاوت آنها با ایزوله ٣٤، معنی دار شد (جدول ٢). کمتر بودن تعداد گره در شاهد نیتروژن در مقایسه با شاهد بدون تلقیح را می توان به اثر بازدارندگی نیتروژن معدنی خاک بر گره زایی نسبت داد. این موضوع توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (١٠، ١٣ و ٢٣). تعداد گره در ایزوله های ١٦ و ٢٩ هر چند نسبت به تعداد گره در شاهد نیتروژن به طور معنی داری بیشتر بود اما نسبت به شاهد بدون تلقیح، تفاوت معنی داری نداشت. در این آزمایش، جمعیت باکتری خاک، حدود ١٠٠ باکتری در هر گرم خاک برآورد شد. روپلا و همکاران (٢١) گزارش کردند که به طور کلی گره بندی در خاک هایی که جمعیت باکتری در آنها کمتر از ١٠٠ سلول در گرم خاک بود، ضعیف و در حضور جمعیت حدود ١٠٠٠ سلول در گرم خاک، متوسط بود. معمولاً مقادیر پایین ریزوبیوم با نبودن نخود در

www.SID.ir

Archive of SID

سیستم کاشت رابطه دارد (۳ و ۲۱) و در زمینی که خاک مورد استفادهٔ این آزمایش از آنجا برداشت شد، به مدت چند سال نخود کشت نشده بود. به هر حال جمعیت ریزوبیوم بومی برای تشکیل همزیستی مؤثر، به مقدار کافی وجود داشته است (۲٤) و وجود دمای مناسب و رطوبت کافی در شرایط این آزمایش نیز به رشد و تکثیر باکتری ها و گره زایی، کمک نموده است. نتایج بررسی های پیتل و همکاران (۱۷) در گوجارات هندوستان نیز نشان داد که تعداد ۳۰-۲۰ گره در گیاه نخود برای آزمایشات مزرعه ای، کافی و قابل ملاحظه است.

جدول ۲ – میانگین تعداد گره، ماده خشک ریشه، بخش هوایی و بوته و نیز کارایی همزیستی در هریک از سطوح تلقیح و رقم نخود

فاکتور	تعداد گره	ماده خشک ریشه (گرم)	ماده خشک بخش هوایی (گرم)	ماده خشک کل گیاه (گرم)	کارآیی همزیستی (درصد)
تلقیح					
شاهد نیتروژن	۲۴/۴۰ c	۰/۴۷۹	۱/۸۶۳ bc	۲/۳۴۱ bc	۱۰۰/۰ bc
۱۶	۳۳/۷۳ ab	۰/۵۹۷	۲/۰۹۸ ab	۲/۶۹۵ ab	۱۱۵/۱ ab
۲۷	۳۰/۸۷ abc	۰/۵۵۷	۲/۲۲۹ a	۲/۷۸۶ a	۱۱۹/۳ a
۲۹	۳۳/۳۹ ab	۰/۵۴۸	۲/۰۹۲ ab	۲/۶۳۹ ab	۱۱۴/۵ ab
۳۴	۳۸/۱۱ a	۰/۵۵۴	۲/۱۹۷ ab	۲/۷۵۱ ab	۱۱۷/۷ ab
۳۶	۳۲/۰۰ abc	۰/۴۹۶	۱/۹۰۴ abc	۲/۳۹۹ abc	۱۰۳/۴ abc
CP ۳۶	۳۲/۷۳ abc	۰/۴۸۷	۱/۸۹۰ abc	۲/۳۷۷ abc	۱۰۲/۵ abc
شاهد	۲۸/۰۸ bc	۰/۴۷۶	۱/۷۳۵ c	۲/۲۱۱ c	۹۵/۱ c
رقم					
ILC۴۸۲	۳۷/۳۲ a	۰/۵۵۶ a	۲/۰۷۸ a	۲/۶۳۴ ab	۱۰۰/۱ b
فلیپ	۴۱/۵۳ a	۰/۵۹۵ a	۲/۳۳۸ a	۲/۹۳۳ a	۱۳۱/۸ a
کاکا	۲۱/۵۲ b	۰/۴۲۳ b	۱/۸۰۲ b	۲/۲۲۵ b	۹۳/۶ b
پیروز	۲۶/۲۹ b	۰/۵۵۲ ab	۱/۷۸۶ b	۲/۳۰۸ b	۱۰۸/۲ b
منبع تغییر					
تلقیح	•	NS	#	#	#
رقم	••	•	••	••	••
تلقیح×رقم	NS	NS	NS	NS	NS

#، • و •• به ترتیب معنی دار در سطح ۰/۱۰، ۰/۰۵ و ۰/۰۱

NS: غیر معنی دار

www.SID.ir

Archive of SID

سطوح رقم نخود از نظر تعداد گره، تفاوت معنی داری با یکدیگر داشتند ($p<0/10$) به طور کلی تعداد گره در رقم های کابلی نسبت به هر یک از رقم های دسی، به طور معنی داری بیشتر بود (جدول ۲).

۲-۲- ماده خشک ریشه و بخش هوایی و کارآیی همزیستی

سطوح تلقیح از نظر ماده خشک ریشه، تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، در صورتی که تفاوت آنها از نظر ماده خشک بخش هوایی، ماده خشک کل گیاه و نیز کارآیی همزیستی، معنی دار بود ($p<0/10$) بر اساس نتایج، سطوح تلقیح در مورد هر کدام از سه صفت اخیر، روند مشابهی را نشان دادند (جدول ۲). مقدار همبستگی میان ماده خشک کل گیاه با ماده خشک بخش هوایی ($p<0/01$، $r=0/96$)، نسبت به همبستگی آن با ماده خشک ریشه ($p<0/01$، $r=0/72$)، بیشتر بود که این موضوع را می توان به انتقال بخش عمده ای از نیتروژن تثبیت شده به اندام های هوایی، نسبت داد. در میان سطوح مختلف تلقیح، ایزوله ۲۷ بیشترین مقدار ماده خشک بخش هوایی (۲/۲۲۹ گرم)، ماده خشک کل گیاه (۲/۷۸۶ گرم) و نیز کارآیی همزیستی (۱۱۹/۳ درصد) را دارا بود و کمترین مقدار این صفات نیز در مورد شاهد بدون تلقیح و سپس شاهد نیتروژن بدست آمد، به طوری که تفاوت آنها با ایزوله ۲۷، در مورد هر یک از این صفات، معنی دار شد. سایر ایزوله ها تفاوت معنی داری از این نظر با شاهد نیتروژن نداشتند، ولی در مقایسه با شاهد بدون تلقیح، مقادیر مربوط به هر کدام از این صفتها در ایزوله های ۱۶، ۲۹ و ۳۴، به طور معنی داری بیشتر بود. در میان ایزوله ها کمترین درصد کارآیی همزیستی، در مورد ایزوله خارجی CP۳۶ (با ۱۰۲/۴۸ درصد) مشاهده شد که احتمال دارد، این امر از پایین تر بودن توان رقابتی آن در مقایسه با ایزوله های بومی ناشی شده باشد. تفاوت میان رقم های نخود از نظر ماده خشک ریشه (در سطح ۰/۰۵)، ماده خشک بخش هوایی، ماده خشک کل گیاه و نیز کارآیی همزیستی (هر سه در سطح ۰/۰۱)، معنی دار شد. رقم فلیپ در تمام موارد بیشترین مقادیر را در بین سایر رقمها دارا بود (جدول ۲). همچنین مقادیر مربوط به ماده خشک ریشه، بخش هوایی و کل گیاه، در هر یک از رقمهای کابلی نسبت به هر کدام از رقمهای دسی، افزایش داشت و این افزایش در بعضی از موارد، معنی دار بود (جدول ۲). بررسی بهلول و همکاران (۵) بر روی رقابت نژادهای ریزوبیوم در ژنوتیپ های کابلی و دسی نیز نشان داد که میانگین ماده خشک بخش هوایی ژنوتیپ های کابلی، ۳۶ درصد بیشتر ار دسی بود. همچنین در بررسی آنها، اثر متقابل نژاد ریزوبیوم × رقم، معنی دار نبود. سیلسبوری (۲۳) ضمن مطالعه اثرات تلقیح و نیتروژن معدنی روی چهار رقم نخود، گزارش کرد که ماده خشک بوته در رقم کابلی بیشتر از سه رقم دسی بود هر چند تعداد گره و ماده خشک بخش هوایی در رقم ILC۴۸۲ (از تیپ کابلی) نسبت به رقم پیروز (از تیپ دسی) به طور معنی داری بیشتر شد، ولی درصد کارآیی همزیستی آنها، تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشت. بنابراین،

www.SID.ir

Archive of SID

به نظر می رسد که فعالیت تثبیت نیتروژن در گره های رقم پیروز نسبت به رقم ILC٤٨٢، بیشتر بوده است. سیلسبوری (۲۳) نیز گزارش کرد که فعالیت احیای استیلن، به تعداد گره در گیاه واکنش نشان نداده است.

اثر متقابل سطوح تلقیح و رقم در مورد هیچ کدام از صفات معنی دار نشد که این موضوع، نشان دهنده تاثیر کم و بیش مشابه سطوح تلقیح در مورد رقمهای مختلف می باشد.

در مجموع، نتایج این آزمایش نشان داد که در میان جمعیت باکتری های بومی همزیست با نخود در استان خراسان، از نظر توانایی تثبیت نیتروژن، تنوع وجود دارد به طوری که این تنوع، تفاوت های معنی داری را از نظر آماری در سطوح مختلف تلقیح بر روی صفات گیاهی از جمله تعداد گره (در سطح ۰/۰۵)، ماده خشک بخش هوایی (در سطح ۰/۱۰) و نیز ماده خشک بوته (در سطح ۰/۱۰) ایجاد می کند. همچنین نتایج این آزمایش مشخص ساخت که در بین رقم های نخود تلقیح شده با ایزوله های مختلف نیز از نظر هر یک از صفات یاد شده، تفاوت های آماری معنی داری (در سطح ۰/۰۱) وجود دارد در این رابطه، رقم های کابلی نسبت به دسی، برتری قابل ملاحظه ای دارند، ولی اثر متقابلی بین سطوح تلقیح و رقم نخود، وجود ندارد.

با توجه به نتایج بدست آمده، بررسی تنوع موجود در بین جمعیت باکتری های همزیست نخود، در شرایط مزرعه و تاثیر آن بر عملکرد دانه در مورد هر دو تیپ کابلی و دسی، ضروری به نظر می رسد.

در این بررسی، با اینکه تنوع زیستی باکتری های همزیست نخود در حد مناطقی از استان خراسان و امکانات موجود انجام گرفت، ولی نتایج آن موفقیت تلقیح و برتری نسبی ایزوله های بومی نسبت به ایزوله خارجی را نشان داد. این امر، حاکی از وجود قابلیت ها و ویژگی های سودمند فراوان و ناشناخته در درون این تنوع زیستی است که لازم است برای شناخت و بهره برداری از آن تحقیقات منسجم و هدفداری انجام شود.

منابع

۱- اصغر زاده، ا. ۱۳۸۰. شناسایی سویه های باکتریهای همزیست نخود ایرانی با کارآیی تثبیت نیتروژن متفاوت با روشهای بیوشیمیایی و مولکولی. پایان نامه دکتری. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی.

۲ - باقری، ع، زند، ا. و پارسا، م. ۱۳۷٦. حبوبات، تنگناها و راهبردها. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

3- Beck, D.P.1992. Yield and nitrogen fixation of chickpea cultivars in response to inoculation with selected rhizobial strains. Agron. J. 84: 510-516.

4- Beck, D.P., L.A. Materon and F. Afandi. 1993. Practical Rhizobium-Legume Technology Manual. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) Aleppo, Syria. P: 5-10.

5- Bohlool, B.B., D.F. Bezdicek, P. Somasegaran and H. Moawad. 1988. Inter-strain competition for rhizosphere colonization and nodule occupancy in the pea, lentil and chickpea/Rhizobium symbioses In World Crops: Cool Season Food Legumes (Summerfield, R.J. ed.), pp. 675-689. Kluwer Academic Publisher.

www.SID.ir

Archive of SID

6- Brockwell J. 1980. Experiments with crop and pasture legumes, principles and practice. In Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation (Bergersen, F.J. ed.), pp. 414-482. Willey, New york, USA.
7- Dart, P.J., R. Islam, and A. Eaglesham. 1975. The root nodule symbiosis of chickpea and pigeonpea. In Proceeding International Workshop Grain Legumes, 13-16 Jan 1975, ICRISAT, Patancheru, A.p. India, pp. 63-83.
8- Evans, J. 1981. Symbiosis, dry matter and nitrogen distribution in chickpea. In Current Perspectives in Nitrogen Fixation (Gibson, A.H. and W.E. Newton, eds.). p.461. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Oxford. UK.
9- Gaur, Y. D. and A.N. Sen. 1979. Cross inoculation group specificity in Cicer-Rhizobium symbiosis. New Phytologist 83: 745-754.
10- Hernandez, L.G. and G.D. Hill. 1984. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to inoculation and nitrogen fertilizer application. In Proceeding Agronomy Society of N.Z.14. pp. 101-105.
11- Hoque, M.S. and M.A. Sattar. 1989. Status of microbiological research on pulses. Proceedings of the second national workshop on pulses, 6-8 Jun 1989. 103-110.
12- ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) .1984. Biological Nitrogen Fixation. In ICRISAT Annual Report 1983, pp. 129-133. ICRISAT Patancheru, India.
13- Jessop, R.S., S.J. Hetherington, and E.H. Houlr. 1984. The effect of soil nitrate on the growth, nodulation and nitrogen fixation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Plant and Soil 82:205-214.
14- Keatinge, J.D., D.P. Beck, L.A. Materon, N. Yurtsever, K. Karuc and S. Altuntas. 1995. The role of rhizobial biodiversity in the Asian highlands. IV. Rhizobium ciceri. Experimental Agriculture 31: 501-507.
15- Namdeo, S.L. and S.C. Gupta. 1994. Application and adoption of rhizobial inoculation in chickpea: On-farm experience in Madhya Pradesh, India. pp. 24-28. In Linking Biological Nitrogen Fixation Research in Asia: Report of a Meeting of the Asia Working Group on Biological Nitrogen Fixation in Legumes, 6-8 Dec, ICRISAT Asia center, India.
16- Papastylianou, I. 1992. Response of chickpea to Rizobium inoculation I. Nitrogen fixation. Mescellaneous Reports (Cyprus). No. 48.
17- Patel, K.S., N.P. Thakhar, S.M. Chandhari and R.M. Shah. 1986. Responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to rhizobial inoculation in soil sustaining a high native Rhizobium population. International Chickpea Newsletter 14: 22-23.
18- Phillips, D.A., E.J. Bedmar, C.O. Qualset, and L.R. Tauber. 1985. Host legume control of Rhizobium function. In Nitrogen Fixation and Co2 Metabolism (Ludden, P.W. and Byrris, J.E. eds.) pp. 203-213. Elsevier Science Publishing Co. Inc.
19- Rai, R. and R.P. Singh. 2000. Effect of salt stress on interaction between lentil (*Lens culinaris*) genotypes and Rhizobium spp. strains: Symbiotic N2 fixation in normal and sodic soils. Biol. Fertil. Soils 29: 187-190.
20- Rupela, O.P. and M.C. Saxena. 1987. Nodulation and N2-Fixation. pp. 141-206. In The Chickpea. (Saxena, M.C. and singh, K.B. eds.). Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
21- Rupela, O.P., B. Toomsan, S. Mittal, P.J. Dart, and J.A. Thomposon, .1987. Chickpea Rhizobium populations: Survey of influence of season, soil, depth and cropping pattern. Soil Biology and Biochemistry 19: 252-274.
22- Sibbal, A. and A.S. Khurana. 2002. Host cultivar–Rhizobium interaction in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Legume Res. 25 (2): 85-92.
23- Silsbury, J.H. 1989. Nodulation and nitrogen fixation (acetylene reduction) of four cultivars of chickpea. Australian J. of Exper. Agric. 29: 663-669.
24- Singleton, P.W. and J.S. Tavares. 1986. Inoculation response of legumes in relation to the number and ineffectiveness of indigenous Rhizobium populations. Appl. Environ. Microbiol. 51: 1013-1018.
25- Taure, P. and A.L. Khurana. 1986. Problems and prospects of growth, extension and promotion of biofertilizers. In Proceedings of the Fertilizer Association of India. Growth and Modernization of Fertilizer Industry. Ps III, FAT. India.
26- Vance, C.P., M.A. Egli, S.M. Griffith and S.S. Miller. 1988. Plant regulated aspects of nodulation and N2 fixation. Plant Cell Environ. 11: 413-427.
27- Zahran, H.H. 1991. Conditions for successful rhizobium-legume symbiosis in saline environment. Biol. Fertil. Soils 12: 73-80.

www.SID.ir

Archive of SID

BIODIVERSITY OF CHICKPEA (CICER ARIETINUM L.) RHIZOBIA IN KHORASAN PROVINCE BASED ON NITROGEN FIXATION ABILITIES

M. Parsa[1] , A. Koochaki[2] , H. Heydari Sharif Abad[3]

1,2- Assiciate Professor, Professor, Faculty of Agriculture, University of Ferdossi Mashhad , 3- Academy member of Ministry of Jahad-Agriculture

Received: 28.5.2003

Abstract

In order to study chickpea rhizobia biodiversity in Khorasan province as one of the major origins of chickpea, root nodules were collected from different parts of the province and a total 36 stains were isolated and purified. 24 isolates were confirmed after infection test, using Leonard jar system and tested with uninoculated and N controls (complete nutrient solution) for nitrogen percent and content, root and shoot dry weight, symbiotic effectiveness and the number and weight of nodules in aseptic N-free hydroponic sand culture system. Results indicated significant differences ($p< 0.01$) among isolates for all parameters studied. Root nitrogen content was lower than shoot in all isolates indicating transfer of nitrogen from root to shoot immediately after biological fixation. Regression coefficient for nodule numbers with shoot nitrogen content was low. Finally five superior isolates were selected in terms of shoot nitrogen content and symbiotic effectiveness. In the last trial, symbiotic effectiveness in four chickpea cultivars (two Kaboli and two Desi type) were evaluated by inoculating with selected isolates under soil conditions. In general, all isolates increased nodules in inoculated plants, although these differences were statistically significant only for few isolates. Nodule numbers in Kabuli cultivars were significantly higher than Desi cultivars. Dry weight of inoculated plants were higher from 2.5 percent in introduced isolate CP36 to 19.3 percent in isolate no. 27 as companed, Compared with control (80 kg N/ha). Simbiotic effectiveness in Flip chickpea cultivar was 31.8 percent higher than N control and this was the highest between chickpea cultivars. This study indicated that inoculation of chickpea cultivars with local isolates, increased shoot and plant dry weight, nodulation and symbiotic effectiveness.

Key words: Nitrogen fixation, Chickpea, Biodiversity

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir