اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گره‌زایی ژنوتیپ‌های دسی و کابلی نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی

حمیدرضا خزاعی[۱]، مهدی پارسا[۱]، فرزاد حسین‌پناهی[۲]

چکیده

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تلقیح دو ایزوله از ریزوبیوم‌های بومی خراسان روی گره‌زایی ژنوتیپهای دسی و کابلی نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی خاک، انجام گرفته است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: رژیم‌های رطوبتی خاک در ۴ سطح، FC (ظرفیت زراعی)، ۷۵٪ FC، ۵۰٪FC و ۲۵٪FC و ژنوتیپ در دوسطح، ژنوتیپ MCC۸۷۶ از تیپ دسی و ژنوتیپ MCC۱۸۰ از تیپ کابلی(به ترتیب مقاوم و حساس به خشکی) و تلقیح ریزوبیوم در ۳ سطح، ایزوله شماره ۱۶، ایزوله شماره۲۷ و شاهد (بدون تلقیح) بودند. تفاوت بین رژیم‌های مختلف رطوبتی، ایزوله‌های تلقیح شده و ژنوتیپ‌های آزمایش، برای تمام صفات مورد مطالعه، مثل تعداد گره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره، زیست‌توده بخش هوایی، زیست‌توده بخش زیرزمینی و نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی معنی‌دار($p < ۰/۰۱$) بود. از نظر وضعیت گره‌زایی، ایزوله ۱۶ در رژیم‌های مختلف رطوبتی خاک، موثرتر از ایزوله ۲۷ نشان داد وتفاوت بین ایزوله ۲۷ و شاهد معنی‌دار نبود ($p < ۰/۰۱$). ژنوتیپ مقاوم نیز بیشترین تعداد گره و وزن خشک گره را نسبت به ژنوتیپ حساس داشت و نشان داد که گره‌زایی ژنوتیپ‌های مقاوم، کمتر تحت تاثیر شرایط خشکی قرار می گیرد.

واژه‌های کلیدی: نژادهای ریزوبیوم، تلقیح، تنش خشکی، گره‌زایی.

مقدمه

در ایران ، در بین حبوبات سرمادوست، نخود بیشترین سطح زیر کشت و تولید را به خود اختصاص داده است(۲)، در حالیکه از نظر عملکرد در واحد سطح به همراه کشور تانزانیا با عملکرد حدود ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار در آخرین رده کشورهای تولیدکننده قرار دارد(۱۰).

تفاوت بین عملکرد بالقوه و عملکرد واقعی بیش از هر عاملی به تنش‌های محیطی مربوط می شود (۷). استان خراسان نیز یکی از مناطقی است که در اکثر نقاط آن تنش خشکی بخصوص در کشت‌های بهاره، عملکرد نخود را شدیداً تحت تاثیر قرار می‌دهد. نظامی و باقری(۴) گزارش کردند که در خراسان کاشت نخود در بهار به علت بارندگی کم و گرمای هوا موجب تشدید تنش خشکی شده که در این شرایط عملکرد گیاه کاهش می‌یابد. ساکسینا و همکاران (۱۳) از بین تنش‌های زیستی و غیر زیستی، خشکی را به تنهایی عامل ۴۵ درصد کاهش عملکرد محصول نخود دانسته‌اند. اثرات تنش خشکی در بقولات نسبت به سایر گیاهان پیچیده‌تر به نظر می‌رسد زیرا استقرار گیاه و فعالیت همزیستی ریزوبیوم و گیاه میزبان به تنش خشکی حساس هستند(۱۵،۱۷). در مکانیزم فیزیولوژیکی ممانعت از تثبیت نیتروژن در نتیجه کمبود آب در گره‌های تثبیت کننده نیتروژن بقولات، اختلاف نظر وجود دارد (۱۵). سراج و همکاران (۱۶) تجمع ترکیبات نیتروژنه در اندام‌های گیاه، تحت شرایط خشکی و ایجاد حالت پس خور در فعالیت آنزیم نیتروژناز را، دلیل عمده برای این مسئله دانسته‌اند. گرچه اکثر مطالعات در این زمینه روی فعالیت آنزیم نیتروژناز متمرکز شده، اما اطلاعات مربوط به اثرات تنش خشکی روی تشکیل و رشد گره‌ها کمتر می باشد (۱۵).

۱- اعضای هیأت علمی، ۲- دانشجوی دکترای زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

اسمیت و همکاران (۱۸) مشاهده کردند که زیست‌توده گره‌های لوبیا و سویا تحت شرایط تنش خشکی به شدت کاهش یافت. اما در آزمایش سینکلر و همکاران (۱۷) کاهش در تعداد گره‌های سویا و وزن خشک آن فقط در تنش شدید خشکی اتفاق افتاد.

بعلاوه رابطه همزیستی ریزوبیوم – بقولات تحت تاثیر عوامل دیگری نیز قرار دارد که از مهم‌ترین آنها وجود نژاد موثر باکتری جهت ایجاد رابطه همزیستی است. کسل و همکاران (۱۱) ابراز داشتند ریزوبیوم‌ها قادر به حفظ زندگی ساپروفیتی برای دوره‌های طولانی در خاک هستند. ریزوبیوم موثر در نخود شامل نژادهای *Mesorhizobium ciceri* است که اغلب برای نخود اختصاصی بوده و استخراج آنها معمولاً خیلی کم صورت گرفته است (۹).

توجه به عوامل زیست محیطی ناشی از مصرف بی رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی ونیز قیمت بالا و رو به افزایش این کودها در بازارهای جهانی، انگیزه استخراج، انتخاب نژادهای موثر باکتری و تلقیح مناسب آن را بیش از پیش آشکار می سازد. تلقیح بذر نخود با مایه تلقیح مناسب در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت آن تاثیر بسزایی دارد. تلقیح با نژادهای موثر و سازگار به عنوان روش مطمئنی در زراعت نخود توصیه شده است و در مطالعات متعدد، اغلب تلقیح با افزایش عملکرد همراه بوده است(۱ و ۹). در ۲۲۸ آزمایش استاندارد مزرعه‌ای که در بیش از ۲۰ کشور و روی ۸ گیاه از بقولات مختلف انجام شد، نتایج امیدوارکننده‌ای در خصوص اثرات مثبت تلقیح در بهبود عملکرد گیاه، هم در شرایط آزمایشی وهم در مزارع کشاورزان بدست آمد(۱۱).

در ایران هنوز هیچ برنامه مدونی در زمینه توسعه و مصرف کودهای بیولوژیک وجود ندارد و توجه بیشتر به انواع مایه‌های تلقیح ریزوبیومی در این زمینه، ضمن صرفه‌جویی ارزی حاصل از کاهش مصرف کودهای نیتروژنه، موجبات کاهش غلظت نیترات در محصولات کشاورزی و آبهای زیرزمینی، حفظ محیط‌زیست و اشتغال‌زایی در زمینه صنعت کودهای بیولوژیک را فراهم می آورد. با این حال حساسیت این ریزجانداران نسبت به تغییرات محیطی و انواع تنش‌ها خصوصاً تنش خشکی(۱۲، ۱۳ و ۱۴)، همچنین وجود جمعیت ریزوبیومی بومی مشابه و پیچیدگی روابط متقابل بین میکروارگانیسم‌ها و گیاهان، تعداد وتنوع واکنش‌های آنتاگونیستی در خاک و وجود بسیاری از نکات ناشناخته بویژه در بخش ریزوسفر، عوامل مهمی هستند که واکنش بقولات به تلقیح را محدود می کنند (۱).

از طرفی اختصاصی بودن باکتریهای ریزوبیوم همزیست با نخود (۱)، روابط همزیستی نژادهای باکتری و ارقام نخود را پیچیده‌تر کرده است، لذا تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تلقیح دو ایزوله از ریزوبیوم‌های بومی خراسان بر روی گره‌زایی تیپ‌های دسی و کابلی نخود(*Cicer arietinum* L.) تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی خاک، انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: رژیم‌های رطوبتی خاک در ۴ سطح، ظرفیت زراعی(FC) ، ۷۵٪ ظرفیت زراعی ، ۵۰٪ ظرفیت زراعی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی، ژنوتیپ در دوسطح، ژنوتیپ MCC۸۷۶ از تیپ دسی و ژنوتیپ MCC۱۸۰ از تیپ کابلی(به ترتیب مقاوم و حساس به خشکی) (۳) و تلقیح ریزوبیوم در ۳ سطح، شاهد (بدون تلقیح) و ایزوله‌های شماره ۱۶ و ۲۷ (استخراجی پارسا(۱)) بودند،که بر اساس گزارش پارسا(۱) جزء موثرترین ایزوله‌ها بوده و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

در این بررسی از محیط کشت بدون آگار YMB (Yeast mannitol broth)که به صورت مایع است برای تکثیر باکتری استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح دو ایزوله فوق، دو ارلن مایر۱۵۰ میلی‌لیتری آماده شد و در هر یک ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت YMB ریخته شد. پس از گذاشتن درپوش، ارلن‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. از کشت خالص هر ایزوله به میزان یک حلقه (لوپ)، در شرایط استریل و مجاورت شعله به ارلن‌ها منتقل و خوب به هم زده شد. سپس ارلن‌ها به شیکر انکوباتور با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه دردمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد (۱) منتقل شدند. زمانی که در اثر رشد باکتری‌ها محیط کشت کدر شد، به منظور یکنواخت کردن جمعیت باکتری‌ها در ارلن‌ها، غلظت آنها از طریق

اسپکتروفتومتر یکنواخت شد (۱).

جهت اعمال رژیم‌های مختلف رطوبتی از روش وزنی استفاده شد. ابتدا یکی ازگلدان‌های آزمایش حاوی ۳ کیلوگرم خاک، شامل مخلوطی از خاک مزرعه، گیاخاک و ماسه آماده شده، و در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس گلدان از آب اشباع شد، و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طور مرتب کم شد تا زمانیکه وزن آن ثابت ماند (نشاندهنده رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی). با تفاضل وزن اخیر و وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک هر گلدان به حد ظرفیت زراعی مشخص و سطوح ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ این مقدار آب نیز محاسبه شد و در طول دوره آزمایش برای سطوح مختلف رطوبتی گلدان‌ها مورد استفاده قرار گرفت بدین منظور گلدان‌ها روزانه وزن می شد و مقدار آب لازم برای رسیدن به هر کدام از سطوح اضافه می شد.

جهت کاشت از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر، استفاده شد. در هر گلدان ۳ کیلوگرم خاک (با ترکیب فوق) ریخته شد. بذور سالم وهمسان هر دو ژنوتیپ به مدت ۱۰-۱۵ ثانیه در الکل ۹۵٪ غوطه ور، سپس به مدت ۳-۵ دقیقه در محلول وایتکس۲/۵٪ نگه داشته شدند تا سطح بذور استریل شود(۱) سپس بذور را ۵ تا ۶ مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند، تا اثر الکل و وایتکس کاملاً حذف شود. در هر گلدان سه بذر جهت حصول اطمینان از سبز شدن، کاشته شدند و بر روی هر بذر یک میلی‌متر از مایه تلقیح آماده شده ریخته شد (۱) و بلافاصله روی بذرها پوشانده شد. بعد از سبز شدن، گیاهچه‌های هر گلدان تنک، و در هرگلدان فقط یک بوته نگه‌داشته شد. از زمان کاشت تا سبز شدن همه بوته‌ها، گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند و از این مرحله به بعد رژیم‌های مختلف رطوبتی اعمال شد. در طول دوره آزمایش کود نیتروژن به کار گرفته نشد اما بعد از سبز شدن ۳۰۰ میلی لیتر محلول فسفات پتاسیم با غلظت۲/۵ قسمت در میلیون به هر گلدان داده شد. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد شب قرار داده شدند (۱).

۳۰ روز پس از کاشت، هنگامی که گیاهچه‌ها به اندازه کافی رشد کرده، و هنوز وارد مرحله گلدهی نشده بودند، بوته‌ها ازگلدان‌ها خارج شدند، و برای هر بوته صفاتی مانند: تعداد گره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره (نسبت وزن کل گره‌های هر بوته به تعداد گره‌های همان بوته (۱۵)، زیست‌توده بخش هوایی، زیست‌توده بخش زیرزمینی و نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی آن اندازه گیری شد. جهت شمارش تعداد گره، هر بوته به دقت از گلدان خارج، و در داخل الک ۱ میلی‌متری (۱۵) قرار گرفت سپس به آرامی توسط آب شسته شده و گره‌ها جدا و شمارش شدند.

برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار MSTAT-C 2.0 استفاده گردید.آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

رژیم‌های مختلف رطوبتی از نظر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری($p < ۰/۰۱$) با هم داشتند (جدول ۱). در مورد تمام صفات به غیر از نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی، با افزایش تنش خشکی روند نزولی مشاهده شد(جدول۲). بیشترین تعداد گره درشرایط ظرفیت زراعی(۶۱/۰۵ گره) و کمترین آن در سطح ۲۵٪ ظرفیت زراعی (۱۸/۶۶ گره) بدست آمد که حدود ۷۰ درصد کاهش نشان داد. سراج و سینکلر(۱۵) در آزمایش خود بر روی سویا نتیجه گرفتند که تعداد گره در تیمار خشکی نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. سطح رطوبتی ظرفیت زراعی بیشترین وزن خشک گره (۱۰۱/۳۵ میلی‌گرم) و بیشترین وزن ویژه گره(۱/۳۰ میلی‌گرم) را به خود اختصاص داد و کمترین وزن خشک گره (۱۸/۰۴ میلی‌گرم) و وزن ویژه گره (۰/۸۰ میلی‌گرم) مربوط به سطح ۲۵٪ ظرفیت زراعی بود. کل زیست‌توده تولیدی در سطح ۲۵٪ ظرفیت زراعی (۸۹۰/۲ میلی‌گرم) نسبت به ظرفیت زراعی (۱۸۵۲/۴ میلی‌گرم) ۵۲ درصد کاهش نشان داد و مقدار این کاهش برای سطوح ۷۵٪ ظرفیت زراعی و۵۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب ۱۵ درصد و ۲۹ درصد بود. وزن خشک بخش هوایی در سطح ۲۵٪ ظرفیت زراعی (۶۱۴/۱ میلی‌گرم) نسبت به ظرفیت زراعی (۱۱۸۳/۲ میلی‌گرم) ۴۰ درصد کاهش داشت، در حالیکه وزن خشک بخش

جدول۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تعدادگره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک بخش زیرزمینی، نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیر زمینی آبیاری، ژنوتیپها وایزوله‌های مختلف در نخود

منابع تغییر	درجه آزادی	تعدادگره	وزن خشک گره(mg)	وزن ویژه گره(mg)	وزن خشک بخش هوایی(mg)	وزن خشک بخش زیرزمینی(mg)	S/R
آبیاری	۳	۵۵۰۳/۲**	۲۲۳۱۷/۴۹**	۱/۱۶۳**	۱۱۱۸۸۵۶/۴۴**	۵۸۶۲۳۵/۵۹**	۱/۰۰۲**
ژنوتیپ	۱	۲۸۶۲/۷۲**	۲۲۳۱۶/۸۰**	۴/۵۴۵**	۷۶۹۱۳۰/۶۳**	۳۱۲۱۹۴/۸۴**	۰/۰۱۴ns
آبیاری*ژنوتیپ	۳	۱۴۵۵/۶۴**	۷۴۹۱/۸۰**	۰/۰۹۹*	۵۵۶۴۷/۶۸**	۶۰۵۱۷/۱۵**	۰/۲۹۹**
ایزوله	۲	۴۶۹۴۷/۰۴**	۱۳۷۷۹۳/۶۷**	۲/۳۱۶**	۴۴۵۶۸/۶۵**	۸۴۰۹۲/۰۲**	۱/۸۸۱**
آبیاری*ایزوله	۶	۳۴۹۴/۷۴**	۱۵۳۴۸/۹۳**	۰/۴۵۹**	۱۰۷۲۱/۷۷**	۲۵۲۷۴/۹۶**	۰/۲۳۱**
ایزوله*ژنوتیپ	۲	۲۵۸۶/۰۱**	۱۲۴۳۶/۵۴**	۰/۱۳۴*	۶۵۸۵/۳۶*	۱۹۷۰۹/۴۹**	۰/۰۱۱ns
آبیاری*ایزوله*ژنوتیپ	۶	۱۲۲۶/۱۶**	۷۴۲۴/۲۹۵**	۰/۸۰۰**	۵۷۹۷۹/۴۴**	۲۴۳۸۵/۲**	۰/۲۲۷**
خطا	۴۸	۱۰۰/۲۶	۱۰۲/۳۱	۰/۰۱۷	۱۳۳۱/۸۷	۶۱۴/۶۳	۰/۰۰۹
کل	۷۱						

mg : میلی‌گرم R/ نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی

ns: غیر معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

زیرزمینی آن (۲۷۵/۳ میلی‌گرم برای ۲۵٪ ظرفیت زراعی در مقابل ۶۶۹/۲ میلی‌گرم برای ظرفیت زراعی) ۶۰ درصد کاهش نشان داد. این مسئله باعث شد که تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی بیشترین نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی (۲/۲۵)را داشته باشد.

ایزوله‌های آزمایش نیز از نظر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری($p < ۰/۰۱$) با هم داشتند(جدول ۲). ایزوله ۱۶ بیشترین تعداد گره (۹۰/۱۲ گره)، وزن خشک گره (۱۴۵/۳۵ میلی‌گرم) و وزن ویژه گره (۱/۴۵ میلی‌گرم) را داشت. در مقابل ایزوله ۲۷، از نظر تعداد گره و وزن خشک گره با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. گره‌دار شدن ریشه‌ها در تیمار شاهد، دلالت بر وجود نژادهای ریزوبیوم بومی موجود در خاک دارد، که این مسئله باعث شد که نتایج این آزمایش با نتیجه آزمایش پارسا (۱) که از همین ایزوله‌ها در محیط عاری از ریزوبیوم استفاده کرد متفاوت باشد. در آزمایش وی تفاوت ایزوله‌های ۱۶ و ۲۷ از نظر تولید گره معنی‌دار نبود، اما در این آزمایش وضعیت گره‌زایی ایزوله ۲۷ مشابه با شاهد بود. کسل و همکاران

جدول ۲: اثر آبیاری، ایزوله و ژنوتیپ روی تعداد گره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک بخش زیرزمینی و نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی دو تیپ نخود

تیمار	تعدادگره	وزن خشک گره (mg)	وزن ویژه گره (mg)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	وزن خشک بخش زیرزمینی (mg)	S/R
رژیمهای رطوبتی						
FC	۶۱/۰۵a	۱۰۱/۳۵a	۱/۳۰a	۱۱۸۳/۲a	۶۶۹/۲a	۱/۸۵c
FC٪۷۵	۴۱/۱۶b	۶۶/۸۷b	۱/۳۵a	۹۷۳/۵b	۵۸۳/۴b	۱/۷d
FC٪۵۰	۳۵/۴۴b	۴۵/۱۶c	۱/۱۷b	۷۵۵/۲c	۳۸۳/۳c	۲b
FC٪۲۵	۱۸/۶۶c	۱۸/۰۴d	۰/۸۰c	۶۱۴/۹d	۲۷۵/۳d	۲/۲۵a
سطوح تلقیح ریزوبیوم						
شاهد (بدون تلقیح)	۱۲/۰۸b	۱۴/۹۳b	۱/۲۱b	۸۸۸/۱b	۴۳۵/۵c	۲/۰۵b
ایزوله ۲۷	۱۵/۰۴b	۱۳/۲۹b	۰/۸۳c	۹۲۱/۲a	۴۵۲/۵b	۲/۱۷a
ایزوله ۱۶	۹۰/۱۲a	۱۴۵/۳۵a	۱/۴۵a	۸۳۵/۸c	۵۴۵/۴a	۱/۶۳c
ژنوتیپ‌های نخود						
ژنوتیپ MCC876	۴۵/۳۸a	۴۵/۴۶a	۱/۴۱a	۹۸۵/۱a	۵۴۳/۷a	۱/۹۷a
ژنوتیپMCC180	۳۲/۷۷b	۴۰/۲۵b	۰/۹۱b	۷۷۸/۳b	۴۱۲b	۱/۹۴a

mg : میلی‌گرم S/R : نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی FC : ظرفیت زراعی

میانگین‌هایی که در هر ستون وبرای سطوح هر تیمار، دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P< ۰/۰۵$) اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

(۱۱) اظهار کردند که وجود باکتری‌های مقیم در خاک واکنش بقولات به تلقیح را محدود می کند. بنابراین به احتمال زیاد ریزوبیومهای بومی موجود در خاک آزمایش باعث محدودیت بیشتری در کارکرد ایزوله ۲۷ نسبت به ایزوله ۱۶ شدند، که دلیل این مسئله به احتمال زیاد تفاوت در سرعت رشد کلنی ایزوله‌ها می باشد. بروکول و راولی (۸) گزارش کردند که در صورت رقابت بین نژادهای باکتری در خاک، رقیبی گره بیشتر ایجاد می کند که زودتر از دیگری در محل تشکیل گره کلنی ایجاد کند. بنابراین احتمالاً ایزوله ۱۶ سرعت تولید کلنی بالایی دارد و ریزوبیومهای بومی قادر به رقابت با آن نیستند. یک شاهد برای این قضیه سرعت بیشتر رشد ایزوله ۱۶ در محیط کشت، نسبت به ایزوله ۲۷ در همان شرایط بود، که هنگام تهیه مایه تلقیح ایزوله‌ها در آزمایشگاه مشاهده شد. ایزوله ۱۶ با وجود داشتن بیشترین تعداد گره، کمترین وزن خشک بخش هوایی را تولید کرد اما در مقابل بیشترین وزن خشک بخش زیرزمینی مربوط به این ایزوله بود که باعث کاهش شدید نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی، در مقایسه با ایزوله ۲۷ و شاهد شد(جدول ۱). هر چند دلیل اصلی این نکته دقیقاً مشخص نیست، ولی احتمالاً تفاوت در تخصیص مواد فتوسنتزی می‌تواند یکی از دلایل آن باشد. گیاهانی که با ایزوله ۱۶ تیمار شدند، به امید دستیابی به نیتروژن زیستی بیشتر بخش بیشتری از مواد فتوسنتزی خود را صرف ساخت و فعالیت گره‌ها کردند، و به همین دلیل وزن خشک بخش هوایی آنها کاهش، اما وزن خشک بخش زیرزمینی آنها افزایش پیدا کرد. بنابراین به نظر میرسد که تولید تعداد زیادی گره در گیاهان تیمار شده با ایزوله ۱۶ (۹۰/۱۲ گره درمقابل ۱۵/۰۴ گره برای ایزوله ۲۷) همراه با وزن خشک بیشترگره (۱۴۵/۳۵ میلی‌گرم برای ایزوله ۱۶ درمقابل ۱۳/۲۹ میلی‌گرم برای ایزوله۲۷، جدول۲) باعث مصرف بیشتر تولیدات فتوسنتزی شده، و وزن خشک بخش هوایی دچار کاهش شده است. این نتیجه‌گیری از آنجا ناشی شد که، زیست توده کل گیاهان تلقیح شده با هر دو ایزوله اختلاف معنی‌داری($p < ۰/۰۱$) با هم نداشتند(۱۳۸۰ میلی‌گرم برای ایزوله ۱۶ و ۱۳۷۳ میلی‌گرم برای ایزوله ۲۷). بنابراین نحوه‌ی تخصیص مواد فتوسنتزی، می تواند این مسئله را توضیح دهد. از طرفی تولید زیست‌توده برابر در گیاهان تلقیح شده با این دو ایزوله، ممکن است ناشی از تفاوت در کارایی همزیستی آنها باشد، که یکی از معیارهای مهم در انتخاب نژادهای ریزوبیوم به منظور تهیه مایه تلقیح است و بیانگر توانایی تثبیت نیتروژن یک گیاه گره‌دار شده در جهت رشد آن می باشد (۶). در واقع تولید زیست‌توده در گیاه ارتباط تنگاتنگی با میزان نیتروژن آن دارد و به احتمال زیاد کارایی همزیستی بالاتر ایزوله ۲۷ در مقایسه با ایزوله ۱۶ و باکتری‌های بومی خاک (شاهد)، موجب شد که زیست‌توده گیاهان تلقیح شده با این ایزوله، با وجود داشتن گره‌های کمتر، با زیست‌توده گیاهان تیمار شده با ایزوله ۱۶ اختلاف معنی‌داری نداشته باشد. کارایی همزیستی بالاتر ایزوله ۲۷ در مقایسه با ایزوله ۱۶، در آزمایش پارسا (۱) نیز گزارش شده است.

ژنوتیپ‌های آزمایش از نظر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری($p < ۰/۰۱$) با هم داشتند(جدول ۲). ژنوتیپ مقاوم به خشکی نسبت به ژنوتیپ حساس، تعداد گره بیشتری تولید کرد و گره‌های این ژنوتیپ وزن ویژه گره بالاتری نیز داشتند، که انتظار می رود از نظر تثبیت نیتروژن موثرتر باشد.

همچنین میزان تولید زیست‌توده بخش هوایی وبخش زیرزمینی ژنوتیپ مقاوم بیشتر از ژنوتیپ حساس بود. این موضوع در بررسی سراج و سینکلر (۱۵)، برای رقم‌های مقاوم و حساس به خشکی سویا نیز گزارش شده است.

مقایسه میانگین مربعات صفات نشان داد، که برای اغلب صفات، اثر متقابل بین تیمارهای آزمایش معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) بود (جدول ۱). اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و تلقیح ایزوله برای تمام صفات در سطح اطمینان ۹۹٪ معنی‌دار بود. این موضوع نشان می دهد که واکنش ایزوله‌ها در سطوح مختلف رطوبتی برای تمام صفات، متفاوت بوده است. داده‌های مربوط به این اثر متقابل در جدول ۳ آمده است. در هر سطح تیمار رطوبت، بیشترین تعداد گره مربوط به ایزوله ۱۶ بود و تفاوت بین ایزوله ۲۷ و شاهد از این نظر معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) نبود. در هر سطح رطوبتی بیشترین وزن خشک بخش هوایی مربوط به ایزوله ۲۷ و کمترین آن مربوط ایزوله ۱۶ بود که دلیل آن در بحث قبلی توضیح داده شد. وزن ویژه گره‌ها در گیاهان تلقیح شده با ایزوله ۱۶، با کم شدن رطوبت خاک کاهش یافت،

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های اثرمتقابل آبیاری و ایزوله روی تعداد گره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک بخش زیرزمینی و نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی نخود

تیمارها	تعداد گره	وزن خشک گره (mg)	وزن ویژه گره (mg)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	وزن خشک بخش زیرزمینی (mg)	S/R
FC						
شاهد(بدون تلقیح)	۱۳/۵ef	۱۸/۸ef	۱/۲۱cd	۱۲۱۶a	۵۴۰d	۲/۲۳c
ایزوله ۲۷	۲۵de	۲۰/۶e	۰/۸۴f	۱۲۳۸/۶a	۶۵۶/۶b	۱/۹۷d
ایزوله ۱۶	۱۴۴/۶a	۲۶۴/۶a	۱/۸۵a	۱۰۹۴/۹ b	۸۱۱/۱a	۱/۳۵g
٪۷۵FC						
شاهد(بدون تلقیح)	۱۱/۵f	۱۹/۸e	۱/۷۴a	۹۴۷/۹c	۵۲۲/۴d	۱/۸۱ef
ایزوله ۲۷	۱۴/۵ef	۱۵/۹efg	۰/۹۹e	۱۰۶۱/۱b	۵۸۱c	۱/۸۴ef
ایزوله ۱۶	b۹۷/۵	۱۶۴/۹b	۱/۴۱b	۹۱۱/۵c	۶۴۶/۸b	۱/۴۵g
٪۵۰FC						
شاهد(بدون تلقیح)	۱۴/۳ef	۱۴/۹efg	۱/۰۵de	۷۵۶/۷d	۴۰۵/۶e	۱/۸۶e
ایزوله ۲۷	۹f	۱۳/۱efg	۱/۱۵cde	۷۵۴/۸d	۳۱۱/۵f	۲/۴۰ab
ایزوله ۱۶	۸۳c	۱۰۷/۴c	۱/۳۰bc	۷۵۴/۱d	۴۳۲/۹e	۱/۷۳f
٪۲۵FC						
شاهد(بدون تلقیح)	۹f	۶/۱fg	۰/۸۴f	۶۳۱/۷e	۲۷۳/۹g	۲/۳۱bc
ایزوله ۲۷	۱۱f	۳/۵g	۰/۳۴g	۶۳۰/۶e	۲۶۱/۱g	۲/۴۵a
ایزوله ۱۶	۳۵ d	۴۴/۴d	۱/۳۳ c	۵۸۲/۶f	۲۹۱fg	۲d

S/R : نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی FC : ظرفیت زراعی، mg میلی‌گرم

میانگین‌هایی که برای هر صفت دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (P< ۰/۰۵) اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند .

اما در مورد ایزوله ۲۷ تا سطح ۵۰ ٪ ظرفیت زراعی افزایش و فقط در سطح ۲۵٪ ظرفیت زراعی بود که کاهش اساسی نشان داد. دلیل اصلی این تفاوت در واکنش ایزوله‌ها کاملاً مشخص نیست، اما شاید بتوان گفت که ایزوله ۲۷ شدتهای بیشتری از خشکی را تحمل می‌کند. البته فعالیت گره‌ها در مراحل بعدی رشد نیز تحت تاثیر خشکی خاک قرار گرفت و این مسئله باعث شد که وزن خشک گره‌ها، با افزایش شدت خشکی روند نزولی پیدا کند (جدول ۳).

معنی‌دار بودن($P < ۰/۰۱$) اثر متقابل سطوح مختلف رطوبتی و ژنوتیپ (جدول ۱) نیز نشان می دهد که واکنش ژنوتیپ‌ها نسبت به خشکی، متفاوت است و وضعیت گره‌زایی آنها نیز در سطوح مختلف رطوبتی خاک تفاوت معنی داری($P < ۰/۰۱$) دارد. این مسئله توسط دیگران نیز تایید شده است (۱۵، ۱۶).

جدول ۴ داده های مربوط به اثر متقابل ایزوله و ژنوتیپ را نشان می دهد، که این اثر متقابل هم معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) بود. در مورد تمام صفات و در هر سطح ایزوله، ژنوتیپ مقاوم MCC876 بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. این تفاوت آشکار به طبیعت اختصاصی بودن ریزوبیوم نخود بر می‌گردد که بک (۵) دامنه این روابط اختصاصی را به رابطه نژاد با رقم، گسترش داد.

در کل نتایج آزمایش ما نشان می دهد که:

استخراج و خالص‌سازی نژادهای موثر باکتری و تلقیح مناسب آن، اثرات مثبتی در گره‌زایی نخود دارد. نژادهای مختلف باکتری اثرات متفاوتی بسته به شرایط محیط و ویژگی‌های گیاه بر جای می‌گذارند و شناسایی نژاد موثر بر اساس مطالعات گسترده ضرورت دارد. بین نژادهای تلقیح شده و نژادهای مقیم در خاک تداخل وجود دارد، و این مسئله واکنش گیاه به تلقیح را محدود می کند. تنش خشکی به طور معنی‌داری، پاسخ به تلقیح را محدود می کند بنابراین وجود رطوبت کافی برای اثربخشی بهتر تلقیح باکتری، ضروری است.

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثرمتقابل ایزوله و ژنوتیپ روی تعداد گره، وزن خشک گره، وزن ویژه گره، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک بخش زیرزمینی و نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی نخود

	شاهد (بدون تلقیح)		ایزوله ۲۷		ایزوله ۱۶	
صفات مورد مطالعه	MCC 876	MCC 180	MCC 876	MCC 180	MCC 876	MCC 180
تعداد گره	۱۲/۱۴c	۱۱/۷۵c	۱۵/۳c	۱۴/۷۵c	۱۰۸/۴۱a	۷۱/۸۳b
وزن خشک گره (mg)	۱۸/۸۵c	۱۱/۰۱cd	۱۸/۳۰c	۸/۲۸d	۱۸۹/۲۳a	۱۰۱/۴۶b
وزن ویژه گره (mg)	۱/۴۷b	۰/۹۵e	۱/۱۵d	۰/۵۱e	۱/۶۲a	۱/۲۸c
وزن خشک بخش هوایی (mg)	۹۷۸/۲۷b	۷۹۷/۹۷c	۱۰۱۹/۲۶a	۸۲۳/۲۱c	۹۵۷/۷۵b	۷۱۳/۸۷d
وزن خشک بخش زیرزمینی(mg)	۴۷۳/۰۷c	۳۹۷/۹۴e	۵۱۷/۶۷b	۳۸۷/۴۵e	۶۴۰/۳۵a	۴۵۰/۶۲d
S/R	۲/۰۶a	۲/۰۵a	۲/۲۰a	۲/۱۳a	۱/۶۳b	۱/۶۴b

mg : میلی‌گرم S/R : نسبت وزن خشک بخش هوایی به بخش زیرزمینی

میانگین‌هایی که برای هر صفت دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (P< ۰/۰۵) اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند .

منابع

۱- زند، ا.، م. ع. باغستانی، پ. شیمی، س. ا. فقیه، م. ر. موسوی. ۱۳۸۱. علف هرز تلخه. انتشارات فنی معاونت ترویج وزارت جهاد کشاورزی.

۱. پارسا، م. ۱۳۸۲. بررسی تنوع زیستی باکتری‌های همزیست نخود (*Cicer arietinum* L.) از نظر توانایی تثبیت نیتروژن در استان خراسان. پایان‌نامه دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. کانونی، ه.، ح. کاظمی، م. مقدم، و م. نیشابوری. ۱۳۸۱. گزینش لاینهای نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) برای مقاومت به خشکی. مجله دانش کشاورزی.۱۲(۲): ۱۲۱-۱۰۹.

۳. گنجعلی، ع.، م. کافی، ع. باقری، و ف. شهریاری. ۱۳۸۴. گزینش برای تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های *نخود* (*Cicer arietinum* L.). مجلهٔ پژوهشهای زراعی ایران. ۳ (۱): ۱۲۲-۱۰۳.

۴. نظامی، ا.، و ع. باقری. ۱۳۷۹. ارزیابی کلکسیون نخود (*Cicer arietinum* L.) مشهد برای تحمل به سرما در شرایط مزرعه. مجله علوم و صنایع کشاورزی. ۱۵ (۲): ۱۶۲-۱۵۲.

5. Beac, D.P. 1992. Yield and nitrogen fixation of chickpea cultivars in response to inoculation with selected rhizobial strains. Agronomy Journal. 84: 510-516.
6. Beac, D.P., L.A. Materon and F. Afani. 1993. Practical rhizobium_legume technology manual. ICARDA. Aleppo, Syria.
7. Bindiger, F. R., V. Mahalakshmi, and G. D. P. Rao. 1987. Assessment of drought resistance in pearl millet [*Pennisetum americanum* (L.)Leeke] . II. Estimation of genotype response to stress. Australian Journal of Agriculture Research. 38: 49-59.
8. Brocwell, J., and R.J. Roughley. 1984. Involvement of *Rhizobium trifolii* in the declining productivity of clover pastures on acidifying soils. In Proccedings of the Seventh Australian Nodulation Conference. Kennedy I.R. and L. Copeland. (Eds.). AIAS Occasional Publication No. 12. pp. 131-133. Australian Institue of Agricultural Science, Sydney.
9. Elhadi, E.A. and E.A. E. Elsheikh. 1999. Effect of rhizobium inoculation and nitrogen fertilizeration on yield and protein content of six chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars in marginal soils under irrigation. Nutrient Cycling in Agroecosystems. 54: 57-63.
10. FAO. 2004. Agricultural production year book. Rome. Italy.
11. Kessel, C.V. and C. Hartely. 2000. Agricultural management of grain legumes : has it led to an increase in nitrogen fixation? Field Crops Research. 65: 165-181.
12. Rupela, O.P. and M. Saxena. 1987. Nodulation and nitrogen fixation in chickpea. In: The Chickpea. Saxena, M.C. and K.B. Singh (Eds.). C.A.B. International, U. K.
13. Saxena, M.C. 1993. The challenge of developing biotic and abiotic stress resistance in cool season food legumes. In : Breeding for stress tolerance in cool season food legumes. (Eds.). Singh, K.B., and M.C. Saxena. John Wiley and

Sons, New York, NY. pp. 3-14.
14. Saxena, N.P., C. Johansen, M.C. Saxena, and S.N. Silim.1993. Selection for drought and salinity tolerance in cool season food legumes. In : Breeding for stress tolerance in cool season food legumes. (Eds.). Singh, K.B., and M.C. Saxena). John Wiley and Sons, Chichester, U. K. pp. 245-270.
15. Serraj, R. and T.R. Sinclair. 1998. Soybean cultivar variability for nodule formation and growth under drought. Plant and Soil. 202: 159-166.
16. Serraj, R., V. Vadez, R.F. Denison, and T.R. Sinclair. 1999. Involvement of ureides in nitrogen fixation inhibition in soybean. Plant Physilogy. 119: 289-296.
17. Sinclair, T.R., A.R. Zimet, and R.C. Muchow. 1998. Changes in soybean nodule number and dry weight in response to drought. Field Crops Research. 18: 197-202.
18. Smith, D.L., M. Dijak, and D.J. Hume. 1988. The effect of water deficit on N2 fixation by white bean and soybean. Canadian Journal of Plant Science. 68: 957-967

Effects of inoculation of Rhizobium native strains on nodulation of Kabuli and Dessi chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in different moisture levels in vegetative stage.

H.R. Khazaie, M. Parsa, F. Hosseinpanahi.

Abstract

In order to study the influence of inoculating two native rhizobium isolates on nodulation in Kabuli and Dessi chickpea(*Cicer arietinum* L.) genotypes in different soil moisture regimes, a greenhouse experiment was carried out as a completely randomized design in a factorial arrangement of treatments with three replications. Treatments included soil moisture levels, FC(Field capacity), 75%FC, 50%FC and 25%FC, variety, MCC876 and MCC180 from Dessi and Kabuli genotypes, (drought resistant and susceptible, respectively) and rhizobium inoculation, number 16 isolate, number 27 isolate and control (not inoculated). Among different moisture levels, inoculated isolates and different varieties, significant differences ($p<0.01$) were observed for all studied factors such as number of nodules, nodule dry weight, nodule specific weight, shoot and root biomass and chickpea shoot/root ratio. Number 16 isolate was more effective than number 27 in regard to nodulation status, while difference between number 27 isolate and control was not significant ($p<0.01$). Moreover, number of nodules and nodule dry weight was higher in resistant than susceptible variety, indicating less susceptibility of resistant varieties to dry conditions.

Keywords: Rhizobium strains, inoculation, drought stress, nodulation

1- Contribution from college of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.