بررسی کارآیی همزیستی باکتری‌های بومی همزیست عدس

الهام شمشیری‌پور[۱]، کاظم خاوازی[۲] و شکوفه رضایی[۳*](نویسنده مسئول)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، eshamshiripour@gmail.com

۲- استاد پژوهش، موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران، khavazik@yahoo.com

۳*- استادیار، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، Rezaee_sh@yahoo.com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۹

Symbiotic efficiency of native *Rhizobium leguminosarum* b.v *viciae* of lentil

Elham Shamshiripour[1], Kazem Khavazi[2] and Shekoofeh Rezaei[3*](Corresponding author)

1- M.Sc Student, Department of Soil Science, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, eshamshiripour@gmail.com

2- Professor, Soil and Water Research Institute, Tehran, Iran, khavazik@yahoo.com

3*- Assistant Professor, Soil Science Department, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, Rezaee_sh@yahoo.com

Received: August 2020 Accepted: November 2020

چکیده

با در نظر گرفتن پیامدهای مخرب کاربرد یک‌جانبه کودهای نیتروژنه بر منابع آب و خاک، کودهای زیستی از اهمیت ویژه ای برخوردار خواهند بود. با توجه به اینکه سویه‌های باکتری بومی توان ماندگاری بیشتری داشته و کارایی بهتری دارند، تحقیق حاضر بر روی ۹۵ جدایه باکتری همزیست با گیاه عدس موجود در کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب انجام شد. آزمون کارآیی همزیستی به همراه تست آلوده‌سازی گیاه با باکتری صورت گرفت. بذرهای عدس رقم بیله‌سوار در لوله‌های آزمایش حاوی محلول غذایی فاقد منبع نیتروژن و آگار، کشت و در سه تکرار با هریک از جدایه‌های باکتری تلقیح شد. سپس گیاهان در گلخانه قرار گرفتند و پس از گذشت ۲ ماه وزن خشک اندام هوایی، طول ساقه، تعداد گره اندازه‌گیری و کارآیی همزیستی جدایه‌ها با استفاده از وزن خشک اندام هوایی محاسبه شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمارهای باکتریایی بر روی وزن خشک و طول اندام هوایی، تعداد گره تشکیل شده در ریشه و کارآیی همزیستی در سطح یک درصد تأثیر معنی‌دار داشت. تمام جدایه‌های باکتری توانایی ایجاد گره بر روی گیاه عدس داشتند. کارآیی همزیستی در ۸۷/۳ درصد از جدایه‌های استفاده شده، خیلی خوب و خوب اندازه‌گیری شد، در حالیکه ۱۲/۷ درصد همزیستی متوسط و ضعیف داشتند. جدایه‌های BK11-1 و GL10-1 با کارآیی همزیستی ۲۵۰/٤ و ۲٤۷/۱٦ دارای بیشترین کارایی همزیستی بودند. با در نظر گرفتن پراکندگی استانی، ۱۹ جدایه که تأثیر بیشتری در وزن خشک اندام هوایی و کارآیی همزیستی داشتند، به‌عنوان جدایه برتر انتخاب شدند..

کلمات کلیدی: ریزوبیوم، عدس، وزن خشک، همزیستی

Abstract

Considering the destructive consequences of unilateral application of nitrogen fertilizers on water and soil resources, biofertilizers will be of special importance. Regarding that native bacterial strains are capable of sustainability and efficiency, the present study was conducted on 95 isolates of bacteria in the microbial collection of Soil and Water Research Institute. Symbiotic efficiency (S.E) and plant infection tests were carried out. Lentil seeds of Bilesavar cultivar were cultured in test tubes containing nutrient solution without nitrogen and agar in three replications and inoculated with each bacterial isolate. Inoculated Seeds were grown under controlled greenhouse conditions for two months then measured in terms of dry weight of shoot, length of shoot and number of nodules as well as isolates SE using shoot dry weight. Results of analysis of variance showed that bacterial inoculation had a significant effect on shoot dry weight and length, number of root nodules and symbiotic efficiency ($p < 0.01$). All isolates were able to form root nodules on lentil. Symbiosis efficiency was measured very well and well in 87.3% of the isolates, while 12.7% were moderate to poor. Isolates BK11-1 and GL10-1 had the highest measured SE (250.4 and 247.16, respectively). Finally 19 superior isolate were selected in terms of shoot dry weight and symbiotic efficiency according to distribution of provinces.

Keywords: Dry weight, Lentil, *Rhizobium*, Symbiotic

مقدمه و کلیات

یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی با هدف کاهش مصرف کودهای شیمیائی است (Elkoca *et al*., 2008). کودهای زیستی نقش مهمی را در فراهم کردن عناصر غذایی ضروری گیاه، توسعه‌ی سیستم ریشه‌ای و بهبود جوانه‌زنی بذور (Chen *et al*., 2006)، کاهش هزینه‌ها و حفظ محیط‌زیست ایفا می‌کنند (Gandhi and Sivakumar, 2010). این کودها از انواعی از موجودات مفید خاک تهیه می‌شوند که بالاترین کارآیی و بازدهی را از نظر تولید عوامل محرک رشد گیاه و فراهم‌سازی عناصر غذایی به شکل قابل جذب دارا هستند. کاربرد مایه‌ی تلقیح تهیه شده با این انواع، ضمن وارد کردن جمعیت انبوهی از یک میکروارگانیسم فعال و مؤثر در حوزه‌ی فعالیت سیستم ریشه‌ای، توان گیاه را برای جذب بیش‌تر عناصر غذایی، افزایش می‌دهد (خاوازی و همکاران، ۱۳۸٤). در میان انواع مختلف کودهای زیستی، مایه تلقیح باکتریایی، گروه بزرگ‌تری است که شامل باکتری‌های ریزوبیومی، باکتری‌های فراریشه‌ای تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن، باکتری‌های فراریشه‌ای محرک رشد گیاه، باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفر و غیره می‌باشد. تثبیت زیستی نیتروژن یک رابطه همزیستی بین ریزوبیوم‌های مؤثر با ریشه گیاهان میزبان (لگومینوزها) است. عدس از خانواده لگومینوز و قادر به ایجاد همزیستی با باکتری *Rhizobium leguminosarum* bv. *Bviciae* می‌باشد (Weir, 2011)، بسته به نوع لگوم، بیش از ٦۰٪ از نیاز نیتروژنی گیاه از طریق تبدیل نیتروژن مولکولی به فرم قابل جذب گیاه تأمین می‌شود. این امر مستلزم آن است که جمعیت قابل قبولی از ریزوبیوم‌های با کارآیی بالا در امر تثبیت نیتروژن در ناحیه ریشه‌های مویین گیاه میزبان وجود داشته باشد و یا اینکه به‌طور مصنوعی جمعیت مناسبی از آن‌ها را در ناحیه ریشه‌های مویین عرضه نمود تا بتوان از نتایج حاصل از آن بهره‌مند شد (Vessey *et al*., 2005). در مناطقی که عدس در تناوب زراعی با گیاهان دیگر قرار می‌گیرد قادر است بیش از ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به خاک اضافه نماید که می‌تواند در تأمین مقداری از نیاز نیتروژنی محصول بعدی بسیار مفید باشد (Laguerre *et a.l*, 2003; Martinez-Romero, 2009). استفاده از مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به‌طور متوسط باعث افزایش عملکرد دانه به میزان ۲۹ تا ۳٤ درصد می‌شود (Toklu *et al*., 2009). کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش تعداد غلاف، شاخص برداشت و سطح برگ، ارتفاع بوته و وزن هزاردانه، گره‌زایی و کارآیی همزیستی عدس گردید (Krishnareddy and Ahlawat, 2008; Rajeswari *et a.l*, 2017). تلقیح باقلا با باکتری‌های ریزوبیوم غیربومی سبب افزایش عملکرد دانه، نیتروژن تثبیت‌شده، وزن خشک اندام هوایی شد (Abdel-Aziz *et al*., 2016). سویه‌هایی که از محیط‌های طبیعی مانند خاک یا غده پس از انجام آزمایش‌های لازم، تهیه شوند از شانس بیشتری برای موفقیت در تلقیح برخوردار هستند؛ علاوه بر این تعیین جدایه‌های بومی با حداکثر کارآیی همزیستی برای تهیه بهترین کود زیستی عدس ضروری است. بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی کارآیی

همزیستی ۹۵ جدایه باکتری همزیست عدس و تعیین بهترین جدایه‌ها انجام شد.

فرآیند پژوهش

در این تحقیق از ۹۵ جدایه باکتری که از ریشه گیاه عدس مزارع استان‌های فارس، کهگیلویه، لرستان، خراسان شمالی، سمنان، قزوین، اردبیل و آذربایجان شرقی جداسازی و در کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب، موجود می‌باشد، استفاده شد. همچنین بذر عدس رقم بیله‌سوار به دلیل دارا بودن بیشترین سطح کشت در کشور انتخاب شد. کارآیی همزیستی (Symbiosis Efficiency) جدایه‌های ریزوبیوم با استفاده از آلوده‌سازی گیاه توسط باکتری (Plant Infection Test) انجام‌شد.

الف- تهیه محلول غذایی فاقد نیتروژن: ابتدا محلول غذایی مناسب و فاقد نیتروژن (Beck *et al*, 1993) برای رشد گیاه تهیه گردید. pH محلول غذایی با استفاده از HCl و NaOH یک نرمال روی ۶/۵ تا ۶/۸ تنظیم و پس از افزودن آگار به مدت ۵ دقیقه داخل اتوکلاو قرار داده شد. پس از حل شدن آگار، محلول در لوله‌هایی با ارتفاع ۲۰ و عرض ۲ سانتی‌متر توزیع گردید(داخل هر لوله ۳۵ میلی‌لیتر). لوله‌های حاوی محلول غذایی بعد از استریل شدن داخل اتوکلاو به‌صورت خوابیده (Slant) آماده شدند.

ب- آماده‌سازی باکتری‌ها جهت تلقیح: محیط کشت YMB (Yeast Mannitol Broth)تهیه شده و پس از توزیع در ارلن‌های ۵۰ سی‌سی (به تعداد جدایه‌های باکتری مورد بررسی) استریل گردید. به میزان یک لوپ از هر یک از جدایه‌ها داخل هریک از ارلن‌ها اضافه و به مدت ۴۸ ساعت داخل شیکر انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۴۸ ساعت و مشاهده کدورت، کشت باکتری مورد استفاده قرار گرفت.

ج- کاشت: بذور سالم عدس پس از استریل شدن (۳۰ ثانیه داخل الکل ۹۶ درصد، شستشو با آب مقطر استریل، دو دقیقه داخل کلرید جیوه ۰/۱ درصد، و ۱۲-۱۰ مرتبه شستشو با آب مقطر استریل) در داخل پلیت‌های حاوی واترآگار به دستگاه ژرمیناتور منتقل شدند تا جوانه بزنند. پس از رویش، گیاهچه‌های عدس تحت شرایط استریل در داخل لوله‌های حاوی محلول غذایی و آگار کاشته شدند. پس از گذشت یک شبانه‌روز، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با جمعیت بالای 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر که قبلاً به روش Plate count شمارش شده‌اند به لوله‌ها اضافه شدند. برای هر جدایه سه تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌هایی نیز به‌عنوان شاهد بدون تلقیح در سطوح نیتروژن ۰ ppm، ۲۰ ppm، ۳۵ ppm و ۷۰ ppm در نظر گرفته شد. سپس گیاهان تلقیح شده به گلخانه با شرایط مناسب رشد گیاه عدس (دمای ۲۶°C، رطوبت ۸۰ درصد و شدت نور ۱۲۰۰۰ لوکس) انتقال یافت. این گیاهچه‌ها به‌صورت روزانه بررسی و در صورت نیاز به آبیاری با محلول غذایی استریل فاقد منبع نیتروژن آبیاری شدند.

د- برداشت گیاهان و تعیین کارآیی همزیستی (S.E): پس از گذشت دو ماه، زمانی که گیاهان در مرحله گلدهی یا غلاف‌دهی بودند از گلخانه خارج شدند. بدین منظور قسمت‌های هوایی گیاه از ناحیه طوقه قطع و قسمت‌های ریشه نیز پس از شستشو و خشک کردن در پاکت‌های جداگانه قرار داده شدند. طول

اندام هوایی، وزن‌تر اندام هوایی، وزن‌تر ریشه و تعداد گره‌ها اندازه‌گیری شدند. همچنین خصوصیات ظاهری گیاه از نظر تشکیل یا عدم تشکیل گل و بذر بررسی شد. میزان کارآیی همزیستی با استفاده از وزن خشک اندام هوایی و فرمول زیر محاسبه گردید (Somasegaran and Hoben, 1994).

$$SE=\frac{I-C}{N-C}\times 100$$

در این فرمول I: وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار تلقیح شده، C: وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح و N: وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار شاهد نیتروژنی است. در ارزیابی کارآیی همزیستی از جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱- طبقه‌بندی کارآیی همزیستی باکتری

Table 1- Classification of bacteria symbiotic efficiency

محدوده SE	کارآیی جدایه
S.E.≤۵۰	نسبتاًمؤثر (ضعیف)
=S.E.۷۰-۵۰	مؤثر (متوسط)
=S.E.۱۰۰-۷۰	خوب
S.E.≥۱۰۰	بسیار خوب (جدایه برتر)

نتایج و بحث

انتخاب بهترین سطح نیتروژن به‌منظور برآورد کارآیی همزیستی جدایه‌ها: پس از مقایسه تیمارهای شاهد نیتروژنی، شاهد نیتروژنی ppm ۷۰ به دلیل دارا بودن بیشترین وزن خشک اندام هوایی به‌عنوان شاهد برتر در محاسبه کارآیی همزیستی استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه اثر تیمارهای شاهد نیتروژن بر رشد گیاه عدس

Table 2- Comparison of the effect of nitrogen control treatments on lentil growth

شاهد نیتروژنی	میانگین وزن خشک اندام هوایی ($gr.pot^{-1}$)	میانگین طول گیاه (cm)
N control 70 ppm	۰/۱٤۸	۲۳/۳۰
N control 35 ppm	۰/۰۸۲	۱۹/۹۳
N control 0 ppm	۰/۰۸۲	۱۷/٦٦
N control 20 ppm	۰/۰٤٤	۱٦/٦۰

تأثیر تیمارهای باکتریایی بر ویژگی‌های رشدی گیاه: جداول تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمارهای باکتریایی بر وزن خشک اندام هوایی، کارآیی همزیستی، طول اندام هوایی و تعداد گرهک تشکیل شده در ریشه گیاه عدس در سطح یک درصد معنی‌داربود (جداول ۳ و ٤). تمام جدایه‌های باکتری بر روی گیاه میزبان ایجاد گره کردند که به معنی تایید باکتری‌های ریزوبیوم بود. تعداد و اندازه گره‌های ایجاد شده در تیمارهای مختلف، متفاوت بود. باکتری ریزوبیوم به‌طور مؤثری ریشه گیاه را آلوده کرده و با

تولید هورمون‌های مختلف، افزایش فعالیت حل‌کنندگی فسفات، تثبیت N_2 و کنترل بیولوژیکی به رشد گیاه کمک می‌کنند (Deshwal *et al*., 2011).

در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های بومی و غیربومی ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری تعداد گره، وزن خشک گره، عملکرد دانه و اجزای عملکرد نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت (Tena *et al*., 2016)

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتریایی بر وزن خشک، کارآیی همزیستی و طول اندام هوایی گیاه عدس

Table 3- Analysis of variance of the effect of bacterial treatments on lentil dry weight, symbiotic efficiency and length of shoot

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن خشک اندام هوایی (gr)	کارآیی همزیستی	طول اندام هوایی
تیمار	۹۵	۰/۰۰۲۵۱**	۶۸۹۳**	۲۶/۳۹**
خطا	۱۹۸	۰/۰۰۰۹۵	۲۸۱۳	۱۷/۶۸

*و **به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns نشان دهنده عدم معنی‌دارمی‌باشند.

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتریایی بر تعداد گره در ریشه گیاه عدس

Table 4- Analysis of variance of the effect of bacterial treatments on number of lentil root nodules

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		تعداد گره
تیمار	۹٤	٤٥/٦٩**
خطا	۱۹۳	۲۸/۱۱

*و **به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns نشان دهنده عدم معنی‌دارمی‌باشند.

جدایه BA3-1 با ۲۵/۳ گره، بیشترین و BL7-2 با ۳/٦ گره کمترین تعداد گره را تولید کردند. جدایه BK11-1 و GL10-1 دارای بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۰/۲۱٦ گرم در گلدان) بودند در حالی‌که کمترین وزن خشک اندام هوایی (۰/۰۷۸۷ گرم در گلدان) مربوط به جدایه RB-176 بود.۵۱/۵ درصد از تیمارهای باکتریایی دارای وزن خشک اندام هوایی بیشتر از شاهد ppm ۷۰ (۰/۱٤۸ گرم) بودند. همچنین طول اندام هوایی ۵۳/۷ درصد تیمارها بیشتر از شاهد ppm ۷۰ (۲۳/۳۰ سانتی‌متر) بود (جداول ٤ و ۵). در بین ۹۵ جدایه مورد آزمون، جدایه BK11-1 دارای بیشترین وزن خشک اندام هوایی و کارآیی همزیستی بود. این جدایه در رتبه هشتم از نظر تعداد گره و در رتبه چهارم از نظر طول اندام هوایی بود. جدایه GL10-1 نیز از نظر وزن خشک اندام هوایی و کارآیی همزیستی در رتبه دوم، از نظر تعداد گره در رتبه ٤۳ و از نظر طول اندام هوایی در رتبه ۱۸ قرار داشت. همچنین جدایه GK7-1 از نظر وزن خشک اندام هوایی و کارآیی همزیستی در رتبه سوم، از نظر تعداد گره در رتبه ۳۰ و از نظر طول اندام هوایی در رتبه ۱۳ قرار داشت (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتریایی بر کارآیی همزیستی

Table 5- Mean comparison of the effect of bacterial treatments on symbiotic efficiency

ردیف	تیمار	وزن خشک ($gr.pot^{-1}$)	SE (%)	طول اندام هوایی (cm)	تعداد گرهک	اندازه گرهک‌ها (کیفی)	گل	بذر
۱	A1	۰/۱۸۱۰	۱۵۰/۶۹	۳۳/۲۳	۱۱/۷	بزرگ	✓	×
۲	A10	۰/۱۸۱۳	۱۵۳/٦٤	۲۵/٦۰	۹/۰	متوسط	×	×
۳	A12-1	۰/۱۲۰۰	۹۸/۳۹	۲۱/٤۰	۱۲/۰	کوچک	×	×
٤	A2	۰/۱٤۷۰	۹۸/۲۲	۲۳/۰۰	۸/۳۳	کوچک	✓	×
۵	A3-1	۰/۱٦۵۳	۱۲٦/۱۱	۲۳/۰٦	۹/۷	متوسط	×	×
٦	A3-2	۰/۱٦۰۰	۱٦۱/۲۱	۲٦/٦۰	۷/۷	متوسط	✓	×
۷	BA10-1	۰/۱۵۹۰	۱۵٤/۵۸	۲۳/۷۰	٦/۰	متوسط	×	×
۸	BA11-1	۰/۱٦۸۷	۱۳۱/۳۷	۲٤/٤٦	۱٤/۷	متوسط	✓	×
۹	BA13-1	۰/۱٤٤۷	۱۳۷/٦٦	۲۱/۹٦	۹/۳	بزرگ	✓	×
۱۰	BA14-1	۰/۱٦۳۳	۱٦۳/۰۲	۲۲/۰٦	۱٤/۳	بزرگ	✓	×
۱۱	BA17-2	۰/۱٤٤۰	۹۲/۸٦	۲۱/۳۰	۱۰/۰	متوسط	✓	×
۱۲	BA19-1	۰/۲۰۳۳	۲۲٤/۷۵	۲٦/۷۰	۱۱/۷	متوسط	✓	×
۱۳	BA22-1	۰/۱٦٦۷	۱٦٦/۲٦	۲۷/۱٦	۱۰/۰	متوسط	×	×
۱٤	BA23-1	۰/۱۵۳۳	۱۰٦/۱۳	۲۳/۱٦	۱۰/۰	متوسط	✓	✓
۱۵	BA23-2	۰/۱۱۵۳	۸۸/۱٦	۲۰/۸۳	۱۰/۳	متوسط	×	×
۱٦	BA28-1	۰/۱٤٤۷	۹٦/۰۵	۳۲/۱۳	۱۲/۷	متوسط	✓	×
۱۷	BA28-2	۰/۲۰۰۰	۲۱۹/۹۷	۲٦/۹٦	۱۲/۷	متوسط	✓	×
۱۸	BA29-2	۰/۱٤۹۳	۱۰٤/۷۳	۲۱/۳۳	۱۸/۰	بزرگ	✓	×
۱۹	BA3-1	۰/۱٦۲۷	۱۲۱/۳۸	۲۵/۸۰	۲۵/۳	متوسط	✓	×
۲۰	BA5-1	۰/۱۵۳۳	۱٤۸/۷۰	۲۸/۳۰	۱۱/۷	بزرگ	✓	×
۲۱	BA6-1	۰/۱۷۳۳	۱۷۷/۵٦	۲۸/۱۳	۹/۰	بزرگ	✓	×
۲۲	BA8-1	۰/۱٤۳۳	۹۰/۲۹	۲۳/۵۳	۱۵/۳	کوچک	×	×
۲۳	BA9-2	۰/۱۷٦۷	۱٤۳/۷۰	۲٤/۸٦	۱۱/۰	متوسط	✓	×
۲٤	BA9-3	۰/۱۷۱۳	۱۳۸/۷٤	۲٤/۳۳	۱۱/۷	کوچک	×	×
۲۵	BK11-1	۰/۲۱٦۰	۲۵۰/٤۰	۳۰/۰٦	۱۷/۰	متوسط	✓	×
۲٦	BK12-2	۰/۱۹۳۳	۲۰۸/۳۳	۲٤/۲۵	۱۲/٦	متوسط	✓	×
۲۷	BK2-3	۰/۱۹۵۳	۲۱۲/۹۱	۲۳/۸۰	۱۵/۳	متوسط	✓	×
۲۸	BK4-1	۰/۱۲٤۷	۱۰۲/۹۹	۲۳/۰۳	۱۵/۳	متوسط	×	×
۲۹	BK5-1	۰/۱۷٦۰	۱٤۱/۳۵	۲٦/٦۰	۹/۷	متوسط	✓	×
۳۰	BK6-3	۰/۱۹٦۷	۲۱٤/۹۱	۲۵/۲٦	۱۰/۳	بزرگ	✓	×
۳۱	BK9-3	۰/۱٤۵۳	۱۳٦/۸٦	۲۲/۲۳	۸/۳	متوسط	×	×
۳۲	BK9-4	۰/۱۲٦۷	۱۰۳/۲۵	۲۸/٦٦	۱۱/۳	بزرگ	×	×
۳۳	BL7-2	۰/۱۲۰۷	۹۹/۱۰	۲۳/٤٦	۳/٦	کوچک	×	×
۳٤	BQ4-1	۰/۱٤۱۳	۹۱/۷۰	۲۵/۸۳	۱۳/۰	متوسط	×	×
۳۵	F7	۰/۱٤۷۳	۱۰۱/۳۲	۲٤/۷	٦/۳	متوسط	×	×
۳٦	GA11-1	۰/۱۷۰۰	۱۳۳/۵۹	۲۸/۸۳	۱۰/۳	متوسط	✓	×
۳۷	GA12-1	۰/۱٦۰۲	۱۵٤/۹۵	۲۷/۳۸	۱۵/۰	بزرگ	✓	✓
۳۸	GA17-1	۰/۱٦۲۰	۱٦۲/۳۱	۲۲/۸٦	۱۱/۳	بزرگ	✓	×
۳۹	GA17-2	۰/۱۳٤۳	۱۲۲/۲۱	۲۳/۵٦	۷/۰	متوسط	✓	×
٤۰	GA19-2	۰/۱٤۵۳	۹٤/۱۳	۲۲/۰٦	۷/۰	متوسط	✓	×
٤۱	GA23-1	۰/۱٤۸۰	۹۷/٦٦	۲۲/۸۰	۷/۰	بزرگ	✓	×
٤۲	GA24-1	۰/۱۲۱۳	۵۲/۹۱	۲٦/۵٦	۱۰/۷	متوسط	✓	×
٤۳	GA25-1	۰/۱۸۰۰	۱۸۹/۸۰	۲۵/٦٦	۱۳/۰	متوسط	×	×

٤٤	GA27-1	۰/۱٦۷۳	۱۲٦/۳۹	۲٦/۲۰	۷/٦	بزرگ	✓	×
٤٥	GA29-2	۰/۱۷٤۷	۱۷٦/۵۲	۲۲/۰۳	۱۱/۷	متوسط	✓	×
٤٦	GA6-1	۰/۲۰۲۰	۱۸٤/۹٤	۲٤/٤٦	۱۲/۰	بزرگ	✓	×
٤۷	GA8-1	۰/۰۸٤۰	۳۷/۱٦	۲۹/٦٦	۱۱/۰	متوسط	✓	×
٤۸	GA9-2	۰/۱۳۰۰	۷۳/۳۷	۲۱/۳۰	٦/۷	کوچک	✓	×
٤۹	GF5-1	۰/۱۸۷۰	۱۵۷/٤٤	۲٤/۰٦	۱٤/۰	بزرگ	✓	×
۵۰	GF8-1	۰/۱۹۳۳	۲۰٦/٤٦	۲۵/۷٦	۸/۰	بزرگ	✓	×
۵۱	GK1-1	۰/۱٦۳۰	۱٦۵/۹٦	۲۳/۰۳	۸/۷	متوسط	×	×
۵۲	GK1-2	۰/۱٦۰۰	۱۵۹/۸٤	۲۱/۳۳	۱۵/۰	متوسط	✓	×
۵۳	GK11-1	۰/۱۸۲۷	۱۹۳/٤۹	۲۹/٦۳	۱٤/۰	بزرگ	✓	×
۵٤	GK12-1	۰/۰۹۸۰	۲۳/٦۹	۲٤/۰۰	۲۱/۷	متوسط	×	×
۵۵	GK7-1	۰/۲۰٦۷	۲۳۱/۸۰	۲۷/۷۳	۱۲/۰	بزرگ	✓	×
۵٦	GK8-2	۰/۱۲٤۷	٦٦/۳٦	۲۳/۵۳	۹/۳	متوسط	×	×
۵۷	GL10-1	۰/۲۱٦۰	۲٤۷/۱٦	۲۷/۲٦	۱/۰	متوسط	✓	✓
۵۸	GL5-1	۰/۱۲۷۳	٦۹/۸۳	۲۱/۲٦	۵/۷	کوچک	×	×
۵۹	GL7-1	۰/۱٦٤۰	۱٦٦/۰۹	۲٤/۲۰	۱۰/۷	متوسط	×	×
٦۰	GL8-1	۰/۱۵٤۰	۱۰۷/۸٤	۲۰/۳۳	۹/۷	متوسط	×	×
٦۱	GQ1-1	۰/۱۲۸۰	۱۱۰/٦۰	۲۲/۰۳	۱۲/۰	متوسط	✓	×
٦۲	GQ5-3	۰/۱۱۹۳	۹٤/۲۱	۲۲/۲٦	٦/٦	متوسط	×	×
٦۳	GQ9-3	۰/۱٦٤۰	۱۲۵/۰۳	۲٦/۷۳	۷/٦	متوسط	✓	×
٦٤	KA1-1	۰/۱٤۹۳	۱۳٤/۹٤	۲٦/۱۳	۹/۳	کوچک	×	×
٦۵	KA10-2	۰/۱٦۵۳	۱۲٦/۰۰	۲٤/۸٦	۷/۷	متوسط	✓	×
٦٦	KA13-1	۰/۱٤۰۷	۱۲۹/۰۷	۲۳/۵۰	۷/۷	کوچک	×	×
٦۷	KA22-1	۰/۱۰۳۷	۳۱/۲۲	۲۳/۳۰	۲۲/٦	کوچک	×	×
٦۸	KA6-1	۰/۱۷۰۷	۱۳٦/۷۹	۲۱/۰۳	۷/۳	متوسط	✓	×
٦۹	KA6-2	۰/۱۷٦۷	۱٤۰/۷۹	۲٦/۰۰	٦/۰	متوسط	×	×
۷۰	KA7-1	۰/۱۳۸۰	۸۵/۳٦	۲٤/۵٦	۱۲/۳	متوسط	×	×
۷۱	KA9-1	۰/۱۷۲۷	۱۳۷/٤۳	۲۲/۳٦	۱۱/۰	متوسط	✓	×
۷۲	KA9-2	۰/۱۳۳۳	۱۱۷/۳۲	۲٤/۸۰	۵/۷	متوسط	✓	×
۷۳	KB4-1	۰/۱٦٤۷	۱٦٦/۷٤	۳۲/٦٦	۱۳/۰	بزرگ	✓	×
۷٤	KK11-1	۰/۱۷٦۰	۱٤۱/۵۱	۲٦/۲۳	۱۲/۳	بزرگ	✓	×
۷۵	KK4-2	۰/۱۵۰۰	۱۰۵/۳۸	۲۲/۱۰	۱۹/۳	بزرگ	×	×
۷٦	KK5-1	۰/۱۸۱۳	۱۵۲/۱۰	۲۲/۲٦	۹/۷	بزرگ	✓	×
۷۷	KK7-1	۰/۱٦۷۳	۱۲۵/۹٦	۲۷/۲٦	۱۳/۳	بزرگ	✓	✓
۷۸	KK7-2	۰/۱۷٤۰	۱٤۰/۷۵	۲۳/۳۳	۹/٤	متوسط	×	×
۷۹	KL2-1	۰/۱۱۳۳	٤۵/۷۲	۱۹/۵۰	٤/۳	کوچک	×	×
۸۰	KL5-2	۰/۱۷٤۷	۱٤۱/۱۸	۲٦/٤۰	۱۵/۰	کوچک	✓	×
۸۱	KL5-3	۰/۱۸۲۷	۱۵۲/۱۷	۲٦/۹۰	۷/٦	متوسط	✓	×
۸۲	KL7-1	۰/۱۱٦۷	۹۱/۳۹	۲۳/۸۳	۱۸/۰	متوسط	×	×
۸۳	RB-166	۰/۱۲۸۰	۷۱/٤٤	۲۹/٤٦	۵/۰	متوسط	✓	×
۸٤	RB-176	۰/۰۷۸۷	۳۳/۷۵	۲۰/۱۳	۵/۰	کوچک	×	×
۸۵	S2	۰/۱۱٤۷	۸۵/٦۲	۲۱/۲۰	۱۰/۰	کوچک	×	×
۸٦	Z11	۰/۱۲٦۰	٦۵/۷٦	۲۵/۰۳	۱۰/۰	متوسط	×	×
۸۷	Z12	۰/۱٤۲۷	۹۲/۷۵	۲۳/۰۳	۹/٦	متوسط	✓	×
۸۸	Z13	۰/۱۲۷۳	۱۰۹/۳٤	۲۲/۸٦	۱۱/۷	بزرگ	✓	×
۸۹	Z14	۰/۱۳٦۰	۱۲۲/۷۳	۲۰/۰۳	۹/۳	بزرگ	✓	×
۹۰	Z16	۰/۱۲۵۳	۵۹/۷٦	۲۳/٤٦	٦/۳	کوچک	✓	×

۹۱	Z17	۰/۱۵۷۳	۱۱٤/٦۳	۲۵/۵٦	۷/۰	متوسط	×	×
۹۲	Z18	۰/۱۳٦۷	۱۲۰/۵۹	۲٦/۵۰	۹/۷	بزرگ	×	×
۹۳	Z19	۰/۱۲۲۰	۱۰۱/۰۰	۲۰/۱۰	۱۱/۱	کوچک	×	×
۹٤	Z2	۰/۱۲٤۷	٦۲/۷۷	۲۳/۷۰	۸/۰	کوچک	×	×
۹۵	Z8	۰/۱۱٦۰	۸۹/۰٦	۱۹/۳۳	۹/۲	متوسط	×	×
LSD		۰/۰٤۳۵	۷٦/۸۵	۵/۹۲	۷/٦۷	–	–	–

*LSD: حداقل اختلاف معنی‌دار. در صورتی که اختلاف دو تیمار، مساوی و یا بیش از LSD باشد این دو تیمار باهم اختلاف معنی‌دار دارند.

مقایسه توان همزیستی و انتخاب جدایه های برتر: نتایج نشان داد باکتری‌های مورد مطالعه از دامنه متنوعی از کارآیی همزیستی برخوردار بودند (جدول ۵). ۷۰/۵ درصد از باکتری‌های مورد آزمایش کارآیی همزیستی بالای ۱۰۰ (کارآیی بسیار خوب)، ۱٦/۸ درصد کارآیی همزیستی خوب، ٦/۳ درصد کارآیی همزیستی متوسط و ٦/۳ درصد کارآیی همزیستی ضعیف داشتند که با نتایج Laguerre همکاران (۲۰۱٤) مبنی بر اینکه ۷٤ درصد از جدایه‌های ریزوبیومی جداشده از باقلا دارای همزیستی خوب بودند، مشابهت دارد. با توجه به اهمیت وزن خشک اندام هوایی در تعیین کارآیی همزیستی، شاخص فوق به‌عنوان مؤلفه اصلی در مقایسه جدایه‌ها در نظر گرفته شد. به نظر می‌رسد کارآیی همزیستی و تثبیت نیتروژن کمتر تحت تأثیر تعداد گره بوده و بیشتر به فعالیت گره‌ها بستگی دارد و می‌توان نتیجه گرفت در گیاه عدس تعداد گره زیاد نشان دهنده کارآیی همزیستی بالا نیست که با نتایج پارسا و همکاران (۱۳۸۲) در مورد گیاه نخود مطابقت دارد. بنابراین با توجه به وزن خشک اندام هوایی و کارآیی همزیستی و همچنین پراکندگی استانی، ۱۹ باکتری به عنوان جدایه برتر انتخاب شدند (جدول ٦). وزن خشک تمامی جدایه‌های برتر انتخاب شده از وزن خشک تیمار شاهد نیتروژنی ۷۰ ppm بالاتر بود. این امر می‌تواند علاوه بر تثبیت نیتروژن، به دلیل خاصیت محرک رشدی باکتری‌های ریزوبیوم باشد. هرچه میزان نیتروژن حاصل از تثبیت بالاتر باشد، میزان عملکرد ماده خشک بیشتر است (Hafeez *et al.*, 2000).

جدول ٦- مشخصات جدایه‌های برتر منتخب

Table 6- Properties of selected superior isolated bacteria

ردیف	نام جدایه	استان	SE%	کارآیی همزیستی
۱	BK11-1	کهگیلویه	۲۵۰/٤۰	بسیار خوب
۲	GL10-1	لرستان	۲٤۷/۱٦	بسیار خوب
۳	GK7-1	کهگیلویه	۲۳۱/۸۰	بسیار خوب
٤	BA19-1	اردبیل	۲۲٤/۷۵	بسیار خوب
۵	BA28-2	اردبیل	۲۱۹/۹٤	بسیار خوب
٦	BK6-3	کهگیلویه	۲۱٤/۹۱	بسیار خوب
۷	BK2-3	کهگیلویه	۲۱۲/۹۱	بسیار خوب
۸	BK12-2	کهگیلویه	۲۰۸/۳۳	بسیار خوب
۹	GF8-1	فارس	۲۰٦/٤٦	بسیار خوب
۱۰	GK11-1	کهگیلویه	۱۹۳/٤۹	بسیار خوب
۱۱	GA25-1	اردبیل	۱۸۹/۸۰	بسیار خوب
۱۲	GA6-1	آذربایجان شرقی	۱۸٤/۹٤	بسیار خوب
۱۳	KB4-1	خراسان شمالی	۱٦٦/۷٤	بسیار خوب
۱٤	GF5-1	فارس	۱۵۷/٤٤	بسیار خوب
۱۵	KL5-3	لرستان	۱۵۲/۱۷	بسیار خوب
۱۷	KK5-1	کهگیلویه	۱۵۲/۱۰	بسیار خوب
۱۷	A1	آذربایجان شرقی	۱۵۰/٦۹	بسیار خوب
۱۸	GQ9-3	قزوین	۱۲۵/۰۳	بسیار خوب

نتیجه‌گیری کلی

باکتری‌های ریزوبیومی همزیست عدس استفاده شده در این تحقیق موجب افزایش کارآیی همزیستی نسبت به تیمار شاهد و تیمار نیتروژنی شد. تعداد ۱۹ جدایه برتر با کارآیی همزیستی خیلی خوب و خوب از جدایه‌های مورد مطالعه انتخاب شدند که می‌توانند برای ادامه بررسی‌ها در شرایط طبیعی مزرعه و ارائه مایه تلقیح ریزوبیوم برای گیاه عدس مورد استفاده قرار گیرند و بر این اساس کود زیستی مناسب هر استان را تهیه و به کشاورزان توصیه نمود. با توجه به اینکه ممکن است در همه مزارع و استان‌های کشور، باکتری ریزوبیوم همزیست با عدس به مقدار مناسب و یا کارآیی خوب وجود نداشته باشد، تلقیح مزارع با سویه‌های برتر به منظور افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی ضروری است و این امر موجب کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن و آلودگی محیط زیست و در نتیجه توسعه کشاورزی پایدار می‌گردد.

منابع

۱) پارسا، م.، کوچکی، ع.، حیدری شریف‌آباد، ح. ۱۳۸۲. بررسی تنوع زیستی باکتری‌های همزیست نخود (*Cicer arietinum* L.) از نظر توانایی تثبیت نیتروژن در استان خراسان شمالی. بیابان ۸ (۲):۲۳٤ -۲۲۱.

۲) خاوازی، ک.، اسدی‌رحمانی، ه.، ملکوتی، م. ج. ۱۳۸٤. مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کود های بیولوژیک در کشور (چاپ دوم با بازنگری بنیادی)، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، انتشارات سنا. ٤۳۵ صفحه

۳) خسروی، ه. ۱۳۹٤. بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیک *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* بومی ایران. نشریه پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۸ (٤): ۵۲۳ -۵۱۳.

4) Abdel-Aziz, R. A., El-Sebai, T. N., El-Din, S. M. B. and Abo-Sedera, S. A. 2016. Field application of bio-fertilizers technology on *Faba Bean* growth and yeild. Research Journal of pharmaceutical biological and chemical sciences. 7 (3): 2481-2487.

5) Beck, D. P., Materon, L. A. and Afandi, F. 1993. Practical *Rhizobium*-legome technology manual. ICARDA. Technical Manual, 19.

6) Chen, J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizers for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. October, 16-20. Thailand. 11 pp.

7) Deshwal, V. K., Vig, K., Amisha, D. M., Yadav, P., Bhattacharya, D. and Verma, M. 2011. Synergistic effects of the inoculation with plant growth-promoting *Rhizobium* and *Pseudomonas* on the performance of *Mucuna*. *Ann*. Forestry. 19 (1): 13-20.

8) Elkoca, E., Kantar, F. and Sahin, F. 2008. Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, plant growth, and yield of Chickpea. Journal of Plant Nutrition. 31: 157-171.

9) Gandhi, A. and Sivakumar, K. 2010. Impact of vermicompost carrier based bioinoculants on the growth, yield and quality of rice (*Oryza sativa* L.) CV NLR 145. The Ecoscan. 4 (1): 83-88.

10) Hafeez, F. Y., Shah, N. H. and Malik, K. A. 2000. Field evaluation of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum bv. viciae* strains for nitrogen fixation using nitrogen-15 isotope dilution. Biology and fertility of soils. 31 (1): 65-69.

11) Krishnareddy, S. V. and Ahlawat, I. P. S. 2008. Growth and yield response of lentil cultivars to phosphorus, zinc and biofertilizers. Journal of agronomy and crop science. 177 (1): 49-59.
12) Laguerre, G., Louvrier, P., Allard, M. R. and Amarger, N. 2003. Compatibility of rhizobial genotypes within natural populations of *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae for nodulation of host legumes.Applied and environmental microbiology. 69 (4): 2276-2283.
13) Legesse, S. and Assefa, F. 2014. Symbiotic and phenotypic characteristics of Rhizobia nodulating fababean (*Vicia faba*) from Tahtay Koraro, northwestern zone of Tigray Regional state, Ethiopia. International Journal of Technology Enhancements and Emerging Research. 2 (11): 15-23.
14) Martínez-Romero, E. 2009. Coevolution in *Rhizobium*-legume symbiosis? DNA and Cell biology. 28 (8): 361-370.
15) Rajeswari, P., Aishwaryaalakshmi, B. and Jeyagowri, C. 2017. Isolation, identification and screening of *Rhizobium* for plant growth promotion. International journal of applied research. 3 (1): 732-733.
16) Somasegaran, P andology. Springer-Verlay. U.S.A.
17) Tena, W., Wolde-Meskel, E. and Walley, F. 2016. Symbiotic efficiency of native and exotic *Rhizobium* strains nodulating lentil (*Lens culinaris* Medik.) in soils of southern Ethiopia. Agronomy. 6 (1): 11.
18) Toklu, F., Karaköy, T., Haklı, E., Bicer, T., Brandolini, A., Kilian, B. and Özkan, H. 2009. Genetic variation among lentil (*Lens culinaris* Medik) landraces from Southeast Turkey. Plant breeding. 128 (2): 178-186.
19) Vessey, J. K., Pawlowski, K. and Bergman, B. 2005. Root-based N 2-fixing symbioses: legumes, actinorhizal plants, Parasponia sp. and cycads. InRoot physiology: from gene to function (pp. 51-78). Springer, Dordrecht
20) Weir, B. S. 2011. The current taxonomy of Rhizobia.New Zealand Rhizobia website. http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia.html.