

بررسی اثر همزیستی سویه های مختلف *Mesorhizobium Ciceri* بر تحمل به تنش خشکی ارقام نخود

• مریم نصر اصفهانی، عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی- دانشکده علوم- دانشگاه لرستان (نویسنده مسئول)
• اکبر مستاجران، عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی- دانشکده علوم- دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۱۱۰۳۸۷۰

پست الکترونیک نویسنده مسئول: Esfahani_nm@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی نقش سویه های مختلف ریزوبیوم و تاثیر آن ها بر تحمل گیاه نخود به تنش خشکی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. در بخش اول آزمایش، پنج رقم نخود بومی ایران (بیونج، آرمان، گریت، جم و هاشم) با هشت سویه *M. ciceri* شامل سویه های بومی (SWRI4, SWRI9, SWRI7, C-15, C-22) و غیر بومی (CP-31, CP-36, IC-59) تلقیح شدند. پس از گذشت چهار هفته از زمان کاشت، صفات رویشی شامل تعداد گرهک، وزن خشک گرهک، ساقه و ریشه اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که در همزیستی رقم بیونج با سویه های مختلف ریزوبیوم، صفات رشدی اندازه گیری شده دارای بیشترین میزان بودند و به این ترتیب، رقم بیونج با سویه های ریزوبیوم مورد بررسی بهترین همزیستی را نشان داد. در مرحله دوم آزمایش، رقم بیونج تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم، به مدت ۴ هفته در شرایط کنترل شده رشد نگهداری شدند و سپس برای مدت ۱۵ روز تحت تنش خشکی اعمال شده توسط PEG6000 (پتانسیل اسمزی ۳/۰- مگاپاسگال) قرار داده شدند. نتایج آزمایش نشان داد که در همزیستی رقم بیونج با سویه C-15 صفات وزن خشک ساقه و گرهک در شرایط تنش خشکی کاهش کمتری را در مقایسه با سایر سویه های ریزوبیوم نشان داد که از نظر آماری معنی دار بود در حالیکه در همزیستی نخود با سویه های CP-31 و CP-36 صفات بررسی شده تحت تنش خشکی در مقایسه با سایر سویه ها به میزان بیشتری کاهش نشان داد. بطو کلی نتایج این آزمایش نشان داد که انتخاب سویه های ریزوبیوم کارآمد میتواند به افزایش تولید در گیاه نخود و نیز به افزایش تحمل همزیستی نخود-ریزوبیوم در شرایط تنش خشکی کمک کند.

کلمات کلیدی: ریزوبیوم، لگوم، تنش خشکی، همزیستی، نخود

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:103 pp: 123-131

Evaluation of symbiotic effects of different strains of Mesorhizobium cicer on drought stress tolerance of chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.)

- By: M. Nasr Esfahani, (Corresponding Author; Tel: 09131103870), Assistant Professor of Lorestan University
- A. Mostajeran, Professor of Isfahan University

Received: October 2011

Accepted: June 2012

A factorial experiment based on completely randomized design with three replications was carried out in order to study the effect of different strains of *Mesorhizobium ciceri* on chickpea tolerance under drought stress. In the first step of experiment, five native cultivars of chickpea (bivanij, arman, greet, jam and hashem) were inoculated with eight native (C-15, C-22, SWRI7, SWRI9 and SWRI4) and non-native (CP-31, CP-36 and IC-59) strains of *M. ciceri*. Growth traits (nodule number, dry weight of nodules, shoot and root) were measured four weeks after inoculation. The results showed that symbiosis of bivanij cultivar with considered Rhizobium strains is the most effective symbiosis according to the evaluated growth indicators.

In the next stage of experiment, different strains of *M. ciceri* were inoculated with bivanij cultivar and drought stress was imposed by using PEG6000 (-0.3Mpa) on four-week-old plants for 15 days. Results showed that growth traits such as nodule and shoot dry weight of chickpea plants inoculated with C-15 strain had lower reduction than those inoculated with other strains at stress conditions. Thus it can be concluded that the selection of effective strains could lead to the enhancement of chickpea production. Moreover, the tolerance of chickpea plants to drought stress could be enhanced by selection of effective strains.

Keywords: Rhizobium, Legume, Drought stress, Symbiosis, Chickpea

مقدمه

تثبیت بیولوژیکی نیتروژن یک روش بسیار مناسب برای فراهم کردن نیاز نیتروژنی لگوم هایی است که از نظر تولید مواد غذایی و توسعه مراتع دارای اهمیت هستند. پتانسیل تولید محصول در لگوم ها به نوع رقم، سویه ریزوبیوم و تاثیر متقابل بین رقم و سویه همزیست با آن بستگی دارد که هر دو عامل از طریق بهبود فرایند تثبیت نیتروژن و عملکرد همزیستی، میزان تولید محصول لگوم ها را افزایش می دهند. تنوع در عملکرد سیستم های همزیست به واسطه نوع سویه ریزوبیوم مورد استفاده و همچنین رقم لگوم در چندین مطالعه تایید شده است (۲۳). به این ترتیب با انتخاب رقم های مناسب لگوم و سویه های مطلوب ریزوبیوم می توان از طریق افزایش تثبیت نیتروژن، تولید محصول را به میزان قابل ملاحظه ای افزایش داد. اخیراً در چندین کشور نظیر تونس اثرات مثبت سویه های مختلف ریزوبیوم در جهت بالا بردن تولید محصولات در همزیستی نخود- ریزوبیوم مورد بررسی قرار گرفته و اهمیت سویه ریزوبیوم در بهبود پتانسیل محصولات از طریق فرایند تثبیت نیتروژن پیشنهاد شده است (۲۴). نقش سویه ریزوبیوم و نوع رقم گیاه میزبان در بهبود عملکرد همزیستی در مورد سایر لگوم ها نظیر نخود فرنگی (۷) و Lupinus (۱۸) نیز گزارش شده است. خشکی یکی از مهمترین تنش های محیطی است که منجر به کاهش تولید محصولات زراعی در اکثر نقاط جهان به ویژه مناطق خشک و نیمه خشک می شود. حدود ۶۰ درصد کشت لگوم در جهان تحت شرایط کم آبی صورت می گیرد (۸) و لذا کم آبی یکی از مهمترین تنش های محیطی است که با تاثیر

روی همزیستی لگوم-ریزوبیوم و قدرت تثبیت نیتروژن سبب کاهش تولید محصول در لگوم ها می شود. تنش خشکی با تاثیر روی استقرار ریزوبیوم ها در ریزوسفر و همچنین مراحل آلودگی لگوم توسط ریزوبیوم باعث عدم موفقیت تشکیل همزیستی بین لگوم- ریزوبیوم می شود (۱). از طرف دیگر تنش خشکی فرایند تثبیت نیتروژن در لگوم ها را تحت تاثیر قرار می دهد. چندین فرضیه برای تفسیر تاثیر منفی تنش خشکی روی تثبیت نیتروژن پیشنهاد شده است مانند کاهش در میزان ترکیبات فتوسنتزی گرهنک، کاهش قابلیت دسترسی باکتریوئید به سوبستراهای تنفسی و تغییرات در سد انتشار اکسیژن (۲۲). در چندین تحقیق اهمیت انتخاب سویه ریزوبیوم موثر و رقم مناسب گیاه میزبان که می تواند از طریق بهبود تثبیت نیتروژن و احتمالاً افزایش سطح تحمل همزیستی به شرایط تنش به افزایش بهره وری در بخش کشاورزی کمک کند بیان شده است (۶). در مطالعه ای همزیستی بین سویه های مختلف *M. ciceri* (C11 و CMG6) و *M. med-* (SMCP) *Sinorhizobium meliloti* و *(itraneum (CTM266,48.2,C11* با رقم های مختلف نخود تحت شرایط تنش اسمزی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که تحمل به تنش اسمزی در همزیستی رقم های مختلف نخود با سویه های *M. ciceri* (835 و CMG6) و *M. mediterraneum* (C11) در مقایسه با سایر سویه های بررسی شده بالاتر است (۱۳). چندین تحقیق در زمینه نقش سویه ریزوبیوم و رقم لگوم مناسب در بالا بردن تحمل عملکرد همزیستی به شرایط تنش شوری و افزایش تولید محصول انجام شده است که مشارکت سویه ریزوبیوم و رقم لگوم را در تنوع پاسخ

بر متر مربع بر ثانیه، با رژیم دمایی 25°C در روز و 18°C در شب و رطوبت نسبی ۷۰٪ در طول دوره رشد نگهداری شدند و در هفته چهارم کشت، برداشت شده و تعداد گرهک در هر گیاه شمارش گردید. سپس بخش های ساقه، ریشه و گرهک جدا شدند و برای اندازه گیری وزن خشک آنها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای 70°C درجه سانتی گراد خشک شدند. وزن خشک نمونه ها اندازه گیری شد و بر مبنای صفات اندازه گیری شده، یک رقم نخود که بهترین همزیستی را با سویه های مختلف ریزوبیوم نشان داد انتخاب و برای انجام مرحله دوم آزمایش استفاده گردید. در مرحله دوم آزمایش، رقم نخود انتخاب شده از مرحله اول آزمایش با سویه های مختلف ریزوبیوم تلقیح شده و به مدت ۴ هفته در شرایط کنترل شده که در بالا اشاره شده نگهداری شدند. بعد از ۴ هفته رشد گیاهان در شرایط کنترل شده، گیاهان به دو گروه تقسیم شدند: یک گروه از گیاهان برای مدت ۱۵ روز با محلول غذایی دارای پلی اتیلن گلیکول 6000 PEG در لیتر محلول غذایی (۱۴) -۰.۳ - مگاپاسگال (۱۵۰ گرم PEG 6000 در لیتر محلول غذایی) (۱۴) آبیاری شدند. گروه دوم با محلول غذایی فاقد پلی اتیلن گلیکول 6000 آبیاری شدند. در چندین گزارش بیان شده است که پتانسیل اسمزی -۰.۳ مگاپاسگال برای نشان دادن پاسخ های سیستم همزیستی لگوم - ریزوبیوم به عنوان تنش خشکی کافی است (۶). بعد از ۱۵ روز اعمال تنش خشکی گیاهان برداشت شدند و وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک و همچنین تعداد گرهک در گیاهان اندازه گیری شد.

این آزمایش در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13.0 و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5% ($P \leq 0.05$) انجام گرفت.

نتایج

بر اساس نتایج جدول آنالیز واریانس ۱، رقم های مختلف نخود و همچنین سویه های ریزوبیوم تلقیح شده روی صفات تعداد گرهک، وزن خشک کل گیاه و همچنین وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک تاثیر معنی داری ($P < 0.05$) نشان دادند (جدول ۱). همچنین، اثر متقابل بین رقم های نخود و سویه های ریزوبیوم تلقیح شده روی صفات مورد مطالعه نیز از نظر آماری معنی دار ($P < 0.05$) بود (جدول ۱). مقایسه مقادیر میانگین وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک در رقم های نخود تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم نشان داد که این میانگین ها در رقم نخود مورد بررسی در سطح 5% متفاوت است و بیشترین مقادیر میانگین های اندازه گیری شده در این شاخص ها در همزیستی بین رقم بیونینج با سویه های مختلف ریزوبیوم مشاهده شد (جدول ۲). بعد از رقم بیونینج، رقم های گریت، آرمان، هاشم و جم به ترتیب با سویه های مورد مطالعه ریزوبیوم بیشترین مقادیر میانگین ها را در شاخص های اندازه گیری شده (وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک) نشان دادند. نتایج جدول ۲ همچنین نشان می دهد که میانگین وزن خشک کل گیاه در رقم های بیونینج، گریت، آرمان، جم و هاشم که با سویه های مختلف ریزوبیوم تلقیح شده اند به ترتیب 2728 ، 1824 ، 1556 ، 927 و 1011 میلی گرم در هر گیاه است که بر اساس این داده ها، بیونینج در همزیستی با سویه های مختلف ریزوبیوم بیشترین وزن خشک کل را در مقایسه با سایر رقم های نخود مورد

همزیستی به شرایط تنش تایید می کند (۳). 64% درصد از سطح زیر کشت حبوبات در ایران مربوط به کشت نخود است که در بین محصولات از نظر سطح زیر کشت بعد از گندم و جو رتبه سوم را در کشور دارد و ایران به لحاظ سطح زیر کشت این لگوم، رتبه چهارم را بعد از هند، ترکیه و پاکستان در دنیا به خود اختصاص داده است (۲۱). نخود غالباً در شرایط دیم کشت می شود و عملکرد این محصول نسبت به میانگین عملکرد جهانی کشورهای تولید کننده نخود بسیار پایین (نصف میانگین جهانی) است که تنش خشکی یکی از عوامل مهم کاهش دهنده محصول در این گیاه است (۲۰). در این تحقیق به منظور بررسی نقش سویه ریزوبیوم تلقیح شده با نخود در افزایش به تحمل خشکی، همزیستی بین رقم های مختلف نخود که در ایران کشت می شوند با سویه های مختلف *M. ciceri* مورد بررسی قرار گرفت تا اولاً تاثیر رقم نخود و سویه ریزوبیوم تلقیح شده روی عملکرد گیاه تحت شرایط کنترل رشد ارزیابی شود و به دنبال آن بهترین رقم نخود در همزیستی با سویه های مختلف ریزوبیوم انتخاب شود و ثانیاً تاثیر سویه ریزوبیوم در همزیستی با رقم نخود انتخاب شده برای افزایش تحمل به خشکی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

در این تحقیق سویه های مختلف *M. ciceri* شامل سویه های C-15، C-22، CP-36، IC-59، SWR14، SWR19 و SWR17 از موسسه تحقیقات خاک و آب ایران و سویه CP-31 از مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی مناطق خشک^۱ (ICARDA) در سوریه تهیه گردید. به منظور تکثیر و نگهداری سویه های مختلف ریزوبیوم از محیط کشت YAM^۲ استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون ریزوبیومی به عنوان مایه تلقیح، قسمتی از کلنی رشد یافته روی محیط جامد به محیط YAM فاقد آگار منتقل گردید. بعد از ۴ تا ۵ روز، سلول های ریزوبیوم رشد یافته و به غلظت مورد نظر برای تلقیح یعنی غلظت 10^9 سلول در هر میلی لیتر رسیدند. برای تعیین غلظت مورد نظر سوسپانسیون باکتریایی از محلول مک فارلند استفاده و برای اطمینان از رشد باکتری تا غلظت مناسب جهت تلقیح، جذب سوسپانسیون ریزوبیومی در طول موج 600 نانومتر قرائت شد که حدود 0.669 بود. آزمایش در دو مرحله انجام گرفت. در مرحله اول آزمایش، رقم های مختلف نخود شامل بیونینج، گریت، آرمان، هاشم و جم که از موسسه دیم کشور فراهم شده بود با سویه های مختلف ریزوبیوم تهیه شده تلقیح شدند و یک رقم نخود که با سویه های مختلف ریزوبیوم مورد بررسی بهترین همزیستی را از نظر صفات اندازه گیری شده (تعداد گرهک، وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک و وزن خشک کل گیاه) نشان داد انتخاب گردید. برای این منظور سطح خارجی رقم های مختلف بذر نخود با اتانل 80% درصد برای 30 ثانیه و هیپوکلریت سدیم 5% درصد برای 2 دقیقه ضد عفونی شدند و 10 مرتبه با آب مقطر استریل آب شویی گردیدند و در گلدان های پر شده با پرلیت کشت شدند. گلدان ها، روزانه با محلول غذایی فاقد نیتروژن آبیاری شدند. برای آبیاری گلدان ها از محلول پیشنهاد شده توسط وادز و همکاران (۲۴) استفاده شد. گیاهچه های 3 روزه با سوسپانسیون تهیه شده از سویه های مختلف ریزوبیوم به صورت مجزا تلقیح شدند. سوسپانسیون به پایه ساقه هر گیاهچه اضافه گردید و این کار در روز ششم (گیاهچه ها 6 روزه) نیز تکرار گردید. گیاهان در شرایط محیطی کنترل شده با سیکل نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی در شدت نور 360 میکرومول

داد که بر اساس این نتایج کمترین کاهش در وزن خشک کل گیاه تحت تنش خشکی مربوط به همزیستی با سویه C-15 و بیشترین کاهش در همزیستی با سویه های CP-31 و CP-36 مشاهده شد.

بحث

لگوم ها برای تامین بخش زیادی از نیازهای نیتروژن خود به منظور رشد مطلوب و تولید وزن خشک کافی به ایجاد رابطه همزیستی با سویه باکتریایی مناسب نیاز دارند و به این ترتیب موفقیت این محصول به همزیستی مناسب با باکتری های تثبیت کننده نیتروژن وابسته است. تنوع در میزان تثبیت نیتروژن توسط رقم های مختلف گونه لگوم به اختلافات در عملکرد همزیستی سویه های مختلف ریزوبیوم مربوط می شود. از طرف دیگر نوع رقم لگوم در همزیستی با سویه ریزوبیوم نیز نقش مهمی در عملکرد همزیستی دارد و به این ترتیب انتخاب رقم و سویه ریزوبیوم مناسب برای ایجاد یک رابطه همزیستی کارآمد به عنوان یک روش مهم برای بالابردن تثبیت نیتروژن پیشنهاد شده است (۱۲). بر اساس نتایج این تحقیق، ایجاد یک رابطه همزیستی کارآمد به تاثیر متقابل بین سویه های ریزوبیوم و رقم های نخود و همچنین انتخاب سویه مناسب ریزوبیوم وابسته است. در این مطالعه، پنج رقم نخود و هشت سویه ریزوبیوم بررسی شده تاثیرات متقابل رقم \times ریزوبیوم را در ارتباط با عملکرد همزیستی نشان دادند (جدول ۱). برای مثال سویه C-15 برای بیونج، سویه IC-59 برای گریت، سویه CP-36 برای هاشم و جوم و سویه های SWRI4، SWRI9 و SWRI7 برای آرمان در مقایسه با سایر سویه ها موثرتر بودند (جدول ۲). در بین ارقام نخود بررسی شده، بیشترین وزن خشک کل گیاه در همزیستی رقم بیونج با سویه های مختلف ریزوبیوم مشاهده شد (جدول ۲). تعداد گرهک نیز در بین همزیستی های مورد بررسی، متفاوت بود که به نوع رقم نخود و سویه ریزوبیوم وابسته است به نحوی که در همزیستی رقم بیونج با سویه های مختلف مورد بررسی بیشترین تعداد گرهک مشاهده شد که این افزایش در تعداد گرهک با افزایش در وزن خشک ساقه همراه بود. نتایج این تحقیق با یافته های رومدان و همکارانش (۱۹) مطابقت داشت. از آنجایی که یک ارتباط مثبت بین تثبیت نیتروژن و وزن خشک گرهک وجود دارد و تاثیر متقابل بین سویه و ریزوبیوم یک فاکتور مهم در این ارتباط محسوب می شود زیرا گرهک های حاصل از همزیستی رقم ها و سویه های مختلف دارای فعالیت های ویژه متفاوتی هستند (۹). به این ترتیب در بسیاری از مطالعات وزن خشک بالای گرهک و میزان تثبیت نیتروژن به عنوان صفت همزیستی کارآمد استفاده می شود (۱۱). نتایج این مطالعه نشان داد که وزن خشک گرهک در بین رقم های نخود تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم متفاوت بود و بیشترین وزن خشک گرهک در رقم بیونج تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم مشاهده شد. مطالعات پشین ما، همبستگی مثبت بین میزان تثبیت نیتروژن (که توسط تخمین میزان H_2 اندازه گیری شد) و وزن خشک گرهک را تایید کرد (۱۶ و ۱۷). به این ترتیب تفاوت در صفات رشدی ارزیابی شده در همزیستی بین رقم های مختلف نخود با سویه های ریزوبیوم به تنوع در عملکرد همزیستی آنها نسبت داده می شود که این نتایج با مطالعات انجام شده روی ارقام مختلف نخود تلقیح شده با سویه های ریزوبیوم هماهنگ است (۱۹). همچنین نتایج این مطالعه این نظر را تایید می کند که افزایش محصول از طریق تثبیت نیتروژن در لگوم ها به انتخاب مناسب رقم گیاه

بررسی نشان داد (جدول ۲). گروه بندی ارقام مختلف نخود تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم بر اساس تغییرات وزن خشک گیاه نیز انجام شد (شکل ۱). دندروگرام حاصله نشان می دهد که سه خوشه اصلی در آن از هم قابل تفکیک می باشند. خوشه ۱ شامل همزیستی رقم بیونج با هشت سویه مختلف ریزوبیوم، خوشه ۲ شامل همزیستی رقم های گریت و آرمان با هشت سویه مختلف ریزوبیوم و خوشه ۳ شامل رقم های هاشم و جوم با هشت سویه مختلف ریزوبیوم است. در بررسی تاثیر سویه های ریزوبیوم روی افزایش مقاومت گیاه نخود به تنش خشکی، رقم بیونج تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم، تحت تنش تیمار خشکی قرار گرفتند و آنالیز واریانس تیمارها برای صفات های تعداد و وزن خشک گرهک و همچنین مقادیر وزن خشک ساقه، ریشه، و کل گیاه به صورت آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت (جدول ۳). بر اساس اطلاعات به دست آمده، نوع سویه ریزوبیوم تلقیح شده روی صفات بررسی شده تاثیر معنی دار ($P < 0.05$) داشت. تاثیر تنش خشکی نیز روی وزن خشک کل گیاه، ساقه، ریشه و گرهک در سطح ۵٪ معنی داری بود ولی روی تعداد گرهک تاثیر معنی داری نداشت که احتمالاً می تواند به دلیل این باشد که اعمال تنش خشکی در هفته چهارم رشد صورت گرفته است یعنی زمانی که تشکیل گرهک ها کامل شده است. تاثیر متقابل سویه ریزوبیوم و تنش خشکی روی شاخص های اندازه گیری شده نظیر وزن خشک کل گیاه، ساقه و گرهک معنی دار ولی روی شاخص های وزن خشک ریشه و تعداد گرهک معنی دار نبود. با اعمال تنش خشکی، میانگین های وزن خشک ساقه و گرهک در همزیست های تشکیل شده بین رقم بیونج و سویه های ریزوبیوم مورد بررسی در مقایسه با مقادیر شاهد ها کاهش معنی داری را نشان دادند (جدول ۴) ولی میزان کاهش بسته به نوع سویه ریزوبیوم تلقیح شده متفاوت بود. در همزیستی رقم بیونج با سویه C-15 وزن خشک ساقه و گرهک به ترتیب ۳۵ و ۵۱ درصد در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد که این کاهش در مقایسه با سطح کاهش یافته این پارامترها در همزیستی بیونج با سایر سویه های ریزوبیوم به طور معنی داری ($P < 0.05$) پایین تر بود. به این ترتیب در همزیستی بیونج با سویه C-15 کمترین میزان کاهش در این دو پارامتر مشاهده شد (جدول ۴). در مقابل، وزن خشک ساقه و گرهک در همزیستی این رقم با سویه های CP-31 و CP-36 به میزان بالاتری در مقایسه با سایر سویه های ریزوبیوم مورد بررسی کاهش نشان داد به طوری که در همزیستی با سویه CP-31، وزن خشک ساقه و گرهک تحت تنش خشکی به ترتیب ۵۳ و ۷۵ درصد و در همزیستی با سویه CP-36 به ترتیب ۵۷ و ۷۶ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴).

تحت شرایط تنش خشکی، وزن خشک ریشه در همزیست های بررسی شده در مقایسه با میزان آن در همزیست شاهد به طور معنی دار کاهش نشان داد ولی میزان کاهش در همزیست های بررسی شده تقریباً یکسان بود (جدول ۴). همچنین، بر اساس نتایج جدول آنالیز واریانس (جدول ۳) اثر متقابل خشکی و سویه ریزوبیوم روی وزن خشک ریشه معنی دار نبود. میزان کاهش وزن خشک کل گیاهان تحت تنش خشکی، بسته به همزیستی رقم بیونج با سویه ریزوبیوم متفاوت است (جدول ۴). میزان وزن خشک کل گیاه در بیونج تلقیح شده با سویه های IC-59، CP-31، CP-36، C-22، C-15، SWRI7، SWRI9، SWRI4 تحت تنش خشکی به ترتیب ۴۱، ۵۰، ۵۲، ۴۵، ۴۲، ۴۰، ۴۳ درصد کاهش نشان

گرهک به عنوان همزیستی های نخود-ریزوبیوم حساس به خشکی انتخاب شدند. این نتایج گزارشات ارائه شده مبنی بر این که تاثیر تنش خشکی روی همزیستی با وضعیت رشدی گیاه در شرایط غیر مرتبط می باشد، تایید می کند (۲۳). به علاوه در مطالعات دیگری پیشنهاد شده است که ریزوبیوم هایی که در فاز آزاد زندگی شان سطح تحمل بالایی به شرایط تنش نشان می دهند، مقاوم ترین جمعیت همزیستی را با رقم لگوم ایجاد می کنند (۱۵). نقش سویه ریزوبیوم در پاسخ متفاوت عملکرد همزیستی به شرایط تنش در چندین گزارش ذکر شده است. در یک مطالعه بررسی تاثیر تنش اسمتیک روی رقم های نخود که با سویه های مختلف ریزوبیوم تلقیح شده بودند پیشنهاد شد که انتخاب سویه ریزوبیومی مناسب برای تلقیح می تواند میزان تولید محصول وابسته به تثبیت همزیستی نیتروژن را افزایش دهد (۱۳). وزن خشک ریشه در رقم بیونینج تلقیح شده با سویه های مختلف ریزوبیوم مورد مطالعه تحت تنش خشکی به میزان معنی داری کاهش نشان داد ولی تفاوت بین میزان کاهش وزن خشک ریشه در بین همزیستی رقم بیونینج با سویه های مختلف ریزوبیومی مشاهده نشد. بنابراین وزن خشک ریشه به طور مستقل از سویه ریزوبیومی تلقیح شده عمل می کند که این نتیجه با مطالعه انجام شده روی نقش سویه ریزوبیوم در عملکرد همزیستی تحت تنش شوری مشابه بود (۳). از مجموع مطالب فوق می توان چنین نتیجه گیری کرد که اولاً، نوع سویه ریزوبیوم، رقم نخود و اثرات متقابل آنها در عملکرد همزیستی (که در شاخص های رشدی شامل تعداد گرهک، وزن خشک ساقه، ریشه، گرهک و همچنین وزن خشک کل گیاه مشاهده شد) موثر است. دوماً، تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 در دوره رشد گرهک و شروع تثبیت نیتروژن، رشد گیاه و فرایند تثبیت نیتروژن را تحت تاثیر قرار می دهد. با این وجود یک تنوع در حساسیت گرهک به تنش خشکی اعمال شده در میان جمعیت های همزیستی بررسی شده وجود دارد. نتایج نشان می دهد که همزیستی نخود با سویه C-15 به عنوان همزیستی مقاوم به خشکی است به نحوی که قادر است سطح بالاتری از وزن خشک کل گیاه، وزن خشک ساقه و وزن خشک گرهک را تحت تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 حفظ کند و همزیستی بین نخود با سویه های CP-31 و CP-36 به عنوان جمعیت های همزیستی حساس به تنش خشکی شناخته شدند.

جدول ۱- آنالیز واریانس تاثیر رقم نخود و سویه ریزوبیوم و اثر متقابل آنها بر صفات وزن خشک کل گیاه، تعداد گرهک، وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک.

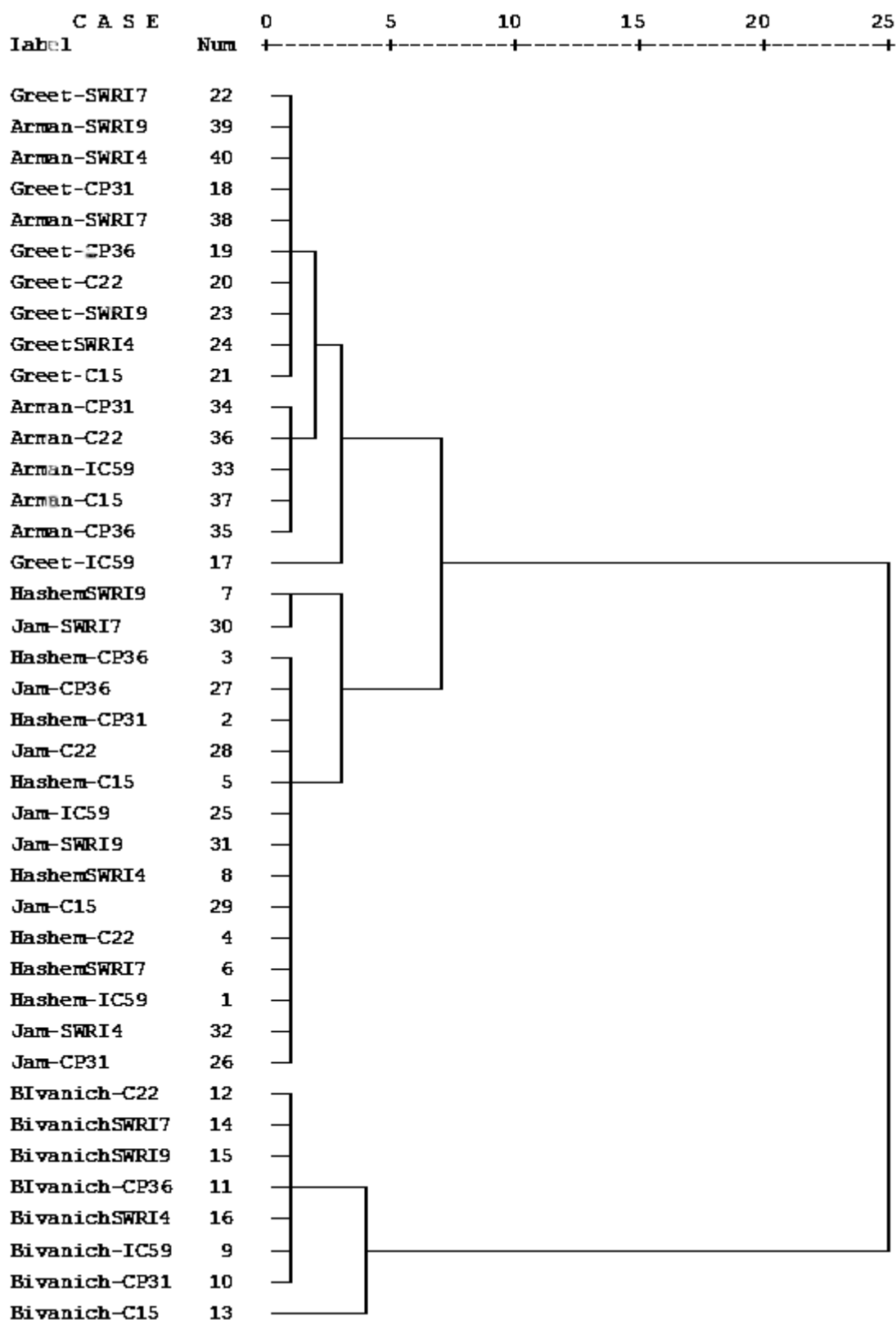
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک کل	تعداد گرهک	وزن خشک گرهک	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه
اثر رقم نخود	۴	۱۱۶۵*	۵۸۵۵*	۲۱۸۳*	۱۱۷۹۸*	۳۸۲۷*
اثر سویه ریزوبیومی	۷	۳/۰۹*	۱۰/۶۲*	۱۵/۷۲*	۱۷/۸۴*	۲/۳۲*
اثر متقابل رقم × سویه	۲۸	۱۰/۶*	۱۰/۱۷*	۲۶/۲۶*	۲۴/۹*	۷/۴۵*
خطا	۸۰					
کل	۱۲۰					

* معنی داری در سطح ۵٪

لگوم و سویه باکتریایی وابسته است که قبلاً در گزارشاتی پیشنهاد شده است (۴ و ۱۰). اثرات تنش روی لگوم ها نسبت به سایر گیاهان پیچیده تر به نظر می رسد زیرا فرایندهای استقرار گیاه و فعالیت زیستی ریزوبیوم با گیاه میزبان به تنش بسیار حساس هستند. سطح تحمل گیاه به شرایط تنش بسته به نوع سویه ریزوبیوم تلقیح شده، رقم گیاه و تاثیر متقابل رقم و سویه متفاوت است (۱۲). در گزارشات مربوط به همزیستی بین گیاه نخود با سویه های ریزوبیوم (۱) و همچنین همزیستی بین لوبیا با سویه های مختلف *Rhizobium tropici* (۲۳) اهمیت سویه ریزوبیوم در افزایش تحمل به شرایط تنش تایید شده است. نتایج مطالعه اخیر نشان داد که تنش خشکی صفات رشدی (وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک) را در همزیستی رقم بیونینج با سویه های مختلف ریزوبیوم به طور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش می دهد (جدول ۴). در حقیقت تحت شرایط تنش خشکی، روزنه های برگ در وضعیت نیمه بسته قرار می گیرند که در این حالت تبادلات گازی گیاه محدود و سرعت فتوسنتز کاهش می یابد که با کاهش وزن خشک گیاه همراه می شود. به این ترتیب تنش خشکی به دو طریق باعث کاهش در تولید ماده خشک گیاهی می شود: ۱- با بسته شدن روزنه ها و کاهش تبادلات گازی میزان فتوسنتز کاهش می یابد و ۲- با کاهش در انتقال ترکیبات حاصل از فتوسنتز به ریشه و گرهک های تثبیت کننده نیتروژن، میزان تثبیت نیتروژن کاهش پیدا می کند که به دنبال آن کاهش میزان تولید ماده خشک گیاهی تشدید می شود (۵). در مطالعات متعددی گزارش شده است که واکنش سویه های ریزوبیوم به رطوبت های مختلف خاک متفاوت است و برخی از سویه ها از قدرت سازگاری و ثبات بیشتری در شرایط کمبود رطوبت خاک برخوردارند (۲). نتایج این مطالعه این نظر را تایید می کند که میزان تاثیر تنش خشکی روی وزن خشک کل گیاه، ساقه و گرهک بسته به نوع سویه ریزوبیوم تلقیح شده به نخود متفاوت است (جدول ۴). با توجه به این که بین میزان تثبیت نیتروژن و وزن خشک گرهک ارتباط وجود دارد بنابراین اعمال تنش خشکی باعث کاهش قابل ملاحظه ای روی بیوماس گرهک و فعالیت نیتروژناز می شود و به این ترتیب به کاهش قابل ملاحظه ای در تثبیت نیتروژن منجر می گردد. در چندین تحقیق نتایج مشابهی گزارش شده است (۵). نتایج ما در مطالعات دیگری (۱۶ و ۱۷)، یک کاهش معنی دار در فعالیت نیتروژناز و بیوماس گرهک در گیاه نخود تلقیح شده با سویه های ریزوبیوم تحت تنش خشکی نشان دادند که میزان کاهش در این پارامترها بسته به نوع سویه تلقیح شده به رقم نخود متفاوت بود. چنین بازدارندگی در فعالیت نیتروژناز تحت تنش خشکی ممکن است با یک افزایش در مقاومت در برابر سد انتشار اکسیژن به درون کورتکس گرهک همراه باشد (۲۲). همزیستی رقم بیونینج با سویه C-15 که بهترین عملکرد همزیستی را از لحاظ صفات رشدی تحت شرایط غیرتنش نشان داد، با کمترین میزان کاهش در وزن خشک کل گیاه، ساقه و گرهک تحت تنش خشکی در مقایسه با سایر سویه های ریزوبیوم همراه بود و به عبارت دیگر سطح بالایی از کارایی، تحت تنش خشکی در این همزیستی حفظ گردید و به این ترتیب به عنوان همزیستی نخود-ریزوبیوم مقاوم به تنش خشکی انتخاب شد. بنابراین می توان پیشنهاد کرد که پاسخ همزیستی به شرایط تنش به پتانسیل رشد اولیه شان در شرایط غیرتنش بستگی دارد. از طرف دیگر، همزیستی رقم بیونینج با سویه های CP-31 و CP-36 با بیشترین کاهش در شاخص های وزن خشک کل گیاه، ساقه و

جدول ۲- میانگین تعداد گرهک، وزن خشک کل گیاه، وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک در رقم های بیونج، گریت، آرمان، جم و هاشم تلقیح شده با سویه های SWRI4 و SWRI9، SWRI7، C-15، C-22، CP-36، IC-59

رقم نخود	سویه ریزوبیوم	تعداد گرهک	وزن خشک اجزاء گیاه (mg. Plant ⁻¹)			
			گرهک	ساقه	ریشه	
بیونج	IC-59	۱۳. d	۲۲. ef	۱۵۱. cde	۸۳۹. b	
	CP-31	۱۳. d	۲۳. bc	۱۵۰. cde	۸۷۴. a	
	CP-36	۱۲. def	۲۱. fg	۱۴۷. cde	۸۶۴. a	
	C-22	۱۵. c	۲۴. bc	۱۶۹. b	۸۶۵. a	
	C-15	۱۹. a	۲۹. a	۲۰۵. a	۸۷۵. a	
	SWRI7	۱۸. b	۲۸. a	۱۶۵. bc	۸۶. ab	
	SWRI9	۱۶. bc	۲۵. b	۱۶۳. bcd	۸۵۵. ab	
	SWRI4	۱۴. d	۲۲. def	۱۴۵. cde	۸۵۴. ab	
	IC-59	۱۲. de	۲۳. cd	۱۴۵. def	۳۹۵. c	
	CP-31	۱۰. ۲ghij	۱۸. ۵h	۱۲۳. ghi	۳۳. gh	
	CP-36	۱۰. ۵fghi	۱۸. ۵h	۱۱۱. hijkl	۳۶. de	
	گریت	C-22	۱۰. hij	۱۶. e	۱۱۰. hijkl	۳۸. cd
C-15		۱۱. ۹defg	۲۰. ۲g	۱۲۸. fgh	۳۶. de	
SWRI7		۱۲. ۵def	۱۸. ۸h	۱۱۶. ghijk	۳۷. de	
SWRI9		۱۰. hij	۱۷. ۴hi	۱۴۲. ef	۳۶. def	
SWRI4		۱۱. ۸defg	۲۱. ۶fg	۱۳۳. efg	۳۷. de	
IC-59		۹. ۱ij	۱۱. ۶k	۱۰۰. ۱jklm	۳۱. ۷hi	
CP-31		۸. ۶j	۱۱. ۴k	۱۰۵. ijklm	۳۴. ۳fg	
CP-36		۶. ۹kl	۱۰. ۲k	۹۳. ۳lmn	۳۰. ۳ij	
C-22		۱۱. ۷defg	۱۴. ۴j	۱۱۳. hijk	۲۹. ۳jk	
C-15		۹. ۰ij	۱۳. ۱j	۹۹. ۷klm	۳۰. ۰ij	
آرمان		SWRI7	۱۰. ۹efgh	۱۸. ۴h	۱۲۱. ghij	۳۵. ۰efg
		SWRI9	۱۱. ۶defgh	۱۷. ۴hi	۱۱۷. ghijk	۳۵. ۰efg
	SWRI4	۱۰. ۰hij	۱۷. ۴hi	۱۱۸. ۶ghijk	۳۵. ۷ef	
	IC-59	۵. ۴kl	۴. ۸qr	۵۵. ۰stu	۲۵. ۷lm	
	CP-31	۵. ۰lm	۵. ۲pqr	۶۳. ۰qrst	۲۴. ۷mno	
	CP-36	۵. ۹kl	۷. ۹lm	۸۸. ۰mno	۲۵. ۰mno	
	C-22	۶. ۱kl	۸. ۶l	۷۷. ۰nopqr	۲۶. ۰lm	
	C-15	۶. ۳kl	۷. ۷lm	۷۵. ۰nopqr	۱۸. ۰q	
	SWRI7	۵. ۳kl	۲. ۸s	۴۰. ۷tu	۱۳. ۰r	
	SWRI9	۵. ۰lm	۴. ۶r	۵۹. ۳tu	۱۳. ۰r	
	جم	SWRI4	۵. ۴kl	۶. ۰mnopq	۶۸. ۰pqrst	۲۳. ۰no
		IC-59	۵. ۵kl	۵. ۴pqr	۶۶. ۳qrst	۲۶. ۳lm
CP-31		۵. ۸kl	۷. ۵lmn	۸۰. ۰nopq	۲۷. ۶kl	
CP-36		۵. ۸kl	۷. ۲klmn	۸۷. ۳mnop	۲۸. ۵jk	
C-22		۴. ۷lm	۵. ۷opqr	۶۶. ۰qrst	۲۴. ۷mno	
C-15		۵. ۵kl	۶. ۴mnopq	۷۰. ۳opqrs	۲۹. ۰jk	
SWRI7		۳. ۲n	۵. ۹opqr	۶۹. ۳opqrs	۲۱. ۳lm	
SWRI9		۳. ۶mn	۲. ۷s	۴۹. ۰st	۲۱. ۳op	
SWRI4		۶. ۰kl	۶. ۷mnop	۷۴. ۰opqrs	۲۰. ۳p	
هاشم						



شکل ۱- دندروگرام حاصل از بررسی شباهت بین همزیستی‌های تشکیل شده بین ارقام مختلف نخود (بیونچ، گریت، آرمان، هاشم و جو) با سویه های مختلف ریزوبیوم (IC-59 و CP-36, CP-31, SWRI4, C-22, SWRI9, SWRI7, C-15) بر اساس وزن خشک گیاه

جدول ۳- آنالیز واریانس تاثیر سویه ریزوبیوم و تنش خشکی و اثر متقابل آنها بر مقادیر وزن خشک کل گیاه، تعداد گرهک، وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک .

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک گرهک	تعداد گرهک	وزن خشک کل
اثر سویه	۷	۵۰/۹۲*	۲/۱۹*	۹۲/۰۸*	۷/۹*	۵۲/۵۸*
اثر تیمار (خشکی)	۱	۱۶۵۳/۱۷*	۱۴۴۱/۶*	۷۲/۷۰*	۰/۱۷۹	۴۰۲۸/۶۲*
اثر متقابل خشکی × سویه	۷	۴/۵۴*	۱/۴۸	۹/۰۸*	۱/۸۱	۵/۷۶*
خطا	۳۲					
کل	۴۸					

* معنی داری در سطح ۵٪

جدول ۴- میانگین وزن خشک ساقه، ریشه و گرهک و تعداد گرهک در رقم بیونج تلقیح شده با سویه های SWRI4 و SWRI9، SWRI7، C-15، C-22، CP-36، CP-36، IC-59 در گیاهان رشد یافته تحت شرایط کنترل (شاهد) و تنش خشکی.

سویه باکتری	تعداد گرهک		وزن خشک اجزاء گیاه (mg. Plant ⁻¹)							
	شاهد	خشکی	گرهک	ساقه	ریشه	وزن خشک کل	شاهد	خشکی		
IC-59	۱۱.۱ ^f	۱۲۴ ^{ef}	۲۳.۰ ^d	۹۴ ^{gh}	۱۵۹۶ ^{de}	۹۲۵ ^{gh}	۱۲۹۷ ^{abc}	۸۲۵ ^d	۳۱۲۳ ^d	۱۸۴۴ ^g
CP-31	۱۲۲ ^{ef}	۱۲۹ ^{def}	۲۴۵ ^c	۶۲ ⁱ	۱۶۳.۰ ^{cd}	۷۶۶ ^e	۱۲۶۹ ^{abc}	۷۵۳ ^{de}	۳۱۴۴ ^d	۱۵۸۱ ^h
CP-36	۱۴۵ ^{abcde}	۱۲۵ ^{def}	۲۱۹ ^d	۵۲ ⁱ	۱۷۵.۰ ^b	۷۵۳ ⁱ	۱۲۲۸ ^c	۷۳۳ ^e	۳۱۹۷ ^{cd}	۱۵۳۷ ^h
C-22	۱۶۶ ^a	۱۴۴ ^{abcde}	۲۵۳ ^{bc}	۹۱ ^h	۱۸۱۶ ^b	۹۹۷ ^{gh}	۱۳۳۴ ^a	۷۹۴ ^{de}	۳۴۰۳ ^b	۱۸۸۲ ^g
C-15	۱۵۸ ^{ab}	۱۵۳ ^{abc}	۲۹۳ ^a	۱۴۱ ^e	۲۱۶۶ ^a	۱۴۱۵ ^f	۱۳۱۰ ^{abc}	۸۰۷ ^{de}	۳۷۶۸ ^a	۲۳۶۳ ^g
SWRI7	۱۴۱ ^{bcde}	۱۴۸ ^{abcd}	۲۸۸ ^a	۱۱۲ ^f	۱۷۹۷ ^b	۱۰۱۹ ^g	۱۲۴۹ ^{bc}	۷۸۵ ^{de}	۳۳۳۴ ^{bc}	۱۹۱۶ ^g
SWRI9	۱۳۵ ^{cde}	۱۳۷ ^{bcde}	۲۶۱ ^b	۹۹ ^{gh}	۱۷۱۰ ^{bc}	۹۵۶ ^{gh}	۱۳۲۱ ^{ab}	۷۹۸ ^{de}	۳۲۹۵ ^{bc}	۱۸۵۳ ^g
SWRI4	۱۲۸ ^{def}	۱۳۳ ^{cde}	۲۴۷ ^c	۱۰۴ ^{fg}	۱۵۱۰ ^{cd}	۸۹۰ ^h	۱۲۲۸ ^c	۸۱۱ ^{de}	۲۹۸۵ ^c	۱۸۰۵ ^g

در هر ستون حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار در میان سویه های مختلف در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن می باشد

منابع مورد استفاده

۱. خزاعی، ح. ر.، پارسا، م.، حسینپناهی، ف. ۱۳۸۷. اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گرهزایی ژنوتیپهای دسی و کابلی نخود (*Cicer arietinum* L) تحت رژیمهای مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی. مجله پژوهشهای زراعی ایران. (۱): ۹۶-۸۹.
۲. فرنیاء، ا. ق. نورمحمدی، ا. نادری، ف. درویشو. ا. مجیدی هروان. ۱۳۸۵. تاثیر تنش خشکی و نژادهای باکتری *Bradyrhizobium japonicum* بر عملکرد دانه و صفات وابسته به آن در سویا (رقم کلارک) در بروجرد. مجله علوم زراعی ایران. جلد هشتم، شماره ۳، صفحه: ۲۱۴-۲۰۱
3. Aouani, M.E., Mhamdi, R., Jebara, M., Amarger, N., (2001) Characterization of rhizobia nodulating chickpea in Tunisia. *Agronomie* 21: 577-581
4. Appunu, C., Sen, D., Singh, M., K., Dhar, B., (2008) Variation in symbiotic performance of *Bradyrhizobium japonicum* strains and soybean cultivars under field conditions. *J. Cent. Eur. Agr.* 9(1): 185-190
5. Aydi, S.S., Aydi, S., Gonzalez, E., Abdelly, C., (2008) Osmotic stress affects water relations, growth and nitrogen fixation in

پاورقی ها

1. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA)
2. Yeast Agar Manitol
Phaseolus vulgaris plants. *Acta Physiol. Plant.* 30(4): 441-449.
6. Aydi, S., Drevon, J.J., Abdelly, C., (2004) Effect of salinity on root-nodule conductance to the oxygen diffusion in the *Medicago truncatula*- *Sinorhizobium meliloti* symbiosis. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 833-840
7. Fesenko, A.N., Provorov, N.A., Orlova, I.F., Simarov, B.V., (1994) the role of the pea (*Pisum sativum* L.) cultivar genotype and the *Rhizobium leguminosarum* strain in the effectiveness of symbiosis. *Russ. J. Genet.* 30: 725-729.
8. Graham, P.H., Vance, C.P., (2003) Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131: 872-877
9. He, Y., Guo, L., Zhang, H., Huang, G., (2011) Symbiotic effectiveness of pea-rhizobia associations and the implications for farming systems in the western loess plateau, China. *Afr. J.*

- Biotechnol.* 10(18): 3540-3548
10. Hefny, M., Doliński, R., MaBek, W., (2001) Variation in symbiotic characters of alfalfa cultivars inoculated with *Sinorhizobium meliloti* strains. *Biol. Fertil. Soils.* 33: 435-437
 11. Laguerre, G., Depret, G., Bourion, V., Duc, G., (2007) *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* genotypes interact with pea plant in developmental responses of nodules roots and shoots. *New Phytol.* 100: 589-598.
 12. Mhadhbi, H., Fotopoulos, V., Djebali, N., Polidoros, A.N., Aouani, M.E., (2009) Behaviours of *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti* symbioses under osmotic stress in relation with the symbiotic partner input: effects on nodule functioning and production. *J. Agro. Crop Sci.* 195: 225-231
 13. Mhadhbi, H., Jebara, M., Zitoun, A., Limam, F., Aouani, M.E., (2008) Symbiotic effectiveness and response to mannitol mediated osmotic stress of various chickpea-rhizobia associations. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 1027-1035
 14. Michel, B.E., Kaufmann, M.R., (1973) the osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916
 15. Mnasri, B., Aouani, M.E., Mhamdi, R., (2007) Nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under water deficiency. *Soil Biol. Biochem.* 39: 1744-1750
 16. Nasr Esfahani, M., Mostajeran, A., (2011) Rhizobial strain involvement in symbiosis efficiency of chickpea-rhizobia under drought stress: plant growth, nitrogen fixation and antioxidant enzyme activities. *Acta Physiol. Plant.* 33:1075-1083.
 17. Nasr Esfahani, M., Mostajeran, A., Emtiazi, G., (2010) The effect of drought stress on nitrogenase and antioxidant enzymes activities in nodules formed from symbiosis of chickpea with two strain of *Mesorhizobium ciceri*. *World App. Sci. J.* 10(6): 621-626.
 18. Robinson, K.O., Beyene, D.A., van Berkum, P., Knight-Mason, R., Bhardwaj, H.L., (2000) Variability in plant-microbe interaction between Lupinus lines and *Bradyrhizobium* strains. *Plant Sci.* 159: 257-264
 19. Romdhame, S.B., Tajini, F., Trabelsi, M., Aouani, M.E., Mhamdi, R., (2007) Competition for nodule formation between introduced strains of *Mesorhizobium ciceri* and the native populations of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) in Tunisia. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23: 1195-1201
 20. Sabaghpour, S.H., Malhotra, R.S., Banai, T., (2005) Registration of 'Hashem' Kabuli Chickpea. *Crop Sci.* 45: 2651
 21. Sabaghpour, S.H., Mahmodi A.A., Saeed A., Kamel M., Malhotra R.S. (2006) Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian J. Crop Sci.* 1(1-2): 70-73.
 22. Serraj, R., Sinclair T.R., Purcell L.C. (1999) Symbiotic N₂ fixation response to drought. *J. Exp. Bot.* 50(331): 143-155
 23. Tejera, N.A., Campos, R., Sanjuan, J., Lluch, C. (2004) Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by *Rhizobium tropici* isogenic strains with varying tolerance to salt stress. *J. Plant physiol.* 161: 329-338.
 24. Vadez, V., Sinclair, T.R., Serraj, R., (2000) Asparagine and ureide accumulation in nodules and shoots as feedback inhibitors of N₂ fixation in soybean. *Physiol. Plant.* 110: 215-223