تأثیر شوری بر کارایی همزیستی سینوریزوبیوم‌ملیلوتی با ارقام مختلف یونجه

عاطفه فضائلی[۱*]، حسین بشارتی و نجات پیرولی بیرانوند

دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد دانشگاه زنجان؛ **atefehfazaeli@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران؛ **besharati1350@yahoo.com**

عضو هیأت علمی پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای؛ **npirvali@nrcam.org**

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر شوری بر جذب برخی عناصر غذایی و همزیستی سینوریزوبیوم‌ملیلوتی با سه رقم یونجه (*Medicago sativa*) به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد تا اثرات شوری-های مختلف نمک‌های کلرید سدیم، کلرید منیزیم و کلرید کلسیم (۰، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بر شاخص‌های رشد و جذب برخی عناصر غذایی سه رقم یونجه (همدانی، قره‌یونجه و قارقالوق) در سه سطح تلقیح (بدون باکتری، باکتری مقاوم به شوری و باکتری حساس به شوری) مورد تحقیق قرار گیرد. سطوح باکتری پس از جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های همزیست یونجه از مزارع زیر کشت ارقام یونجه در استان تهران دو جدایه مقاوم و حساس به شوری که جزء باکتری‌های خیلی مؤثر از لحاظ همزیستی بودند، انتخاب شد. تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده نشان داد که با افزایش شوری، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال، غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم به طور معنی‌داری (در سطح ۱٪) کاهش یافت در حالی‌که مقدار سدیم گیاه افزایش معنی‌دار (در سطح ۱٪) را نشان داد. تلقیح با باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال، غلظت نیتروژن، پتاسیم، فسفر و کاهش معنی‌دار سدیم در گیاه یونجه شد. بین ارقام مختلف از لحاظ عملکرد و سایر شاخص‌ها در شرایط شور تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: شوری، یونجه، سینوریزوبیوم ملیلوتی، برخی عناصر غذایی

مقدمه

آب و خاک شور از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصول در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شوند (همایی و همکاران، ۲۰۰۲). از کل اراضی زیر کشت دنیا ($۱۰^۹ \times$ ۱/۵ هکتار) حدود ۲۳ درصد مشکل شوری دارند، که تقریباً حدود ۴۰۰ تا ۹۵۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی دنیا را شامل می‌شود (شانون، ۱۹۸۴). در ایران مساحت خاک‌هایی که به نوعی تحت تأثیر شوری قرار دارند بالغ بر ۳۲ میلیون هکتار است که نزدیک به ۳۰ درصد از سطح کل کشور و ۵۵ درصد از اراضی قابل کشت را شامل می‌شود (پزیرا و همایی، ۲۰۰۳).

یونجه از مهمترین گیاهان علوفه‌ای است که از وسعت پراکندگی آن می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه قابلیت محصول‌دهی بالا را در دامنه وسیعی از نظر خاک و شرایط اقلیمی دارا می‌باشد و حتی در شرایط سخت آب و هوایی می‌تواند علوفه‌ای با کیفیت بالا تولید کند (حیدری‌شریف-آباد، ۱۳۸۰). یونجه به دلیل دارا بودن سیستم ریشه ای عمیق و دوره رشد طولانی سبب از دست رفتن آب کمتری از خاک سطحی نسبت به گیاهان یکساله می‌شود و خطر بالا آمدن سفره آب زیر زمینی را کاهش می‌دهد (دونین و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین به دلیل همزیستی

۱- نویسنده مسئول، آدرس: اصفهان، بلوار امیریه، خیابان دکتر حسابی، مجموعه مسکونی گلها، بن‌بست ارغوان، پلاک ۳۷۸، کد پستی ۸۱۷۴۸

* دریافت: آذر، ۱۳۸۹ و پذیرش: اسفند ۱۳۸۹

Archive of SID

www.SID.ir

با باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن در خاک، باعث حاصلخیزی و تقویت خاک می‌شود (رستگار، ۱۳۸۴).

مهمترین واکنش گیاه به شوری خاک یا آب، کاهش رشد است. اگر غلظت نمک‌ها به بیش از آستانه تحمل گیاه برسد، به موازات افزایش غلظت نمک‌های محلول (شوری) رشد گیاه کاهش می‌یابد، که البته آهنگ کاهش رشد در گیاهان مختلف متفاوت است (مس و هافمن، ۱۹۷۷). یونجه از جمله گیاهان نسبتاً حساس به شوری است، به گونه‌ای آستانه تحمل شوری آن ۲ دسی-زیمنس بر متر است. اگر شوری خاک به بیش از ۲ دسی-زیمنس افزایش یابد، رشد و عملکرد آن کاهش می‌یابد. بر اساس آزمایش‌های انجام شده، در شوری های ۳/۴، ۵/۴، ۸/۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر عملکرد یونجه به ترتیب ۹۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۵٪ می باشد (مس و هافمن، ۱۹۷۷).

گزارش شده که شوری محتوای لگ هموگلوبین را در گره کاهش می دهد، که به عنوان شاخصی از پیری محسوب می گردد (تجرا و همکاران، ۲۰۰۶). محققان در مطالعه اثر غلظت های شوری ۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl بر گیاه یونجه پی بردند که غلظت ۱۵۰ میلی مولار NaCl تعداد، اندازه گره و تثبیت نیتروژن را کاهش داد (فوگر و همکاران، ۱۹۹۱). عوامل مؤثر در کاهش قابلیت استفاده نیتروژن توسط گیاه در شرایط شور عبارتند از:۱) جذب کمتر نیتروژن در محیط شور به علت کاهش تراوایی ریشه گیاه۲) کاهش فعالیت میکروبی خاک و بدنبال آن کاهش معدنی شدن ترکیبات آلی۳) کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های تثبیت کننده در خانواده بقولات۴) کاهش جذب نیترات در اثر عرضه زیاد آنیون کلر در محیط ریشه گیاه۵) کاهش فعالیت نیترات‌سازی در خاک (حیدری‌شریف‌آباد، ۱۳۸۰). در بسیاری از مطالعات مزرعه-ای متخصصین کشاورزی این فرضیه را اثبات کرده‌اند که استفاده از کودهای نیتروژنی تا حدی می‌تواند تأثیر زیان‌آور شوری بر گیاهان را تسکین دهد. تعدادی از مطالعات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای نشان داده است که شوری باعث کاهش تجمع نیتروژن در گیاه می‌شود (توران و سزن، ۲۰۰۲). در شرایط شور، بدلیل وجود بیش از اندازه Na^+ قابل تبادل، نسبت‌های بالایی از Na^+/K^+ در خاک ایجاد می‌شود. گیاهان در چنین محیط‌هایی مقدار زیادی Na^+ جذب می‌کنند، در حالی‌که جذب K^+ به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (اشرف، ۲۰۰۴). وجود غلظت بالای Na^+ برای رشد گیاه مضر است، K^+ یک عنصر پرمصرف می‌باشد که برای تعادل اسمزی، فعال کردن بسیاری آنزیم‌ها و تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها مورد نیاز است (تاوفیک، ۲۰۰۸). نسبت بالای K^+/Na^+ در گیاهان تحت تنش شوری به عنوان یک معیار انتخابی مهم در تعیین مقاومت به شوری پیشنهاد شده است، در نتیجه گیاهانی که تحت تنش شوری دارای جذب K^+ بیشتر و در نتیجه دارای نسبت بالای K^+/Na^+ هستند نسبت به شوری مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهند (اشرف، ۲۰۰۴). شوری جذب و تجمع فسفات در گیاه را کاهش می‌دهد، چرا که قابلیت در دسترس بودن فسفات در خاک شور کاهش می‌یابد (توران و سزان، ۲۰۰۲)

امروزه در برنامه‌ریزی برای نظام‌های کشاورزی پایدار استفاده از همزیستی ریزوبیوم-لگومینوز ضرورتی اساسی تلقی می‌شود. تمام فواید این همزیستی و شرط اصلی برای این که بتوان از آن به عنوان جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی نیتروژنی استفاده کرد، این است که گیاه از ابتدای رویش در خاک تعداد کافی از سویه‌های فعال و کاملاً موثر ریزوبیوم را در اختیار داشته باشد، به-گونه‌ای سیستم همزیستی بتواند با حداکثر توان و ظرفیت خود تثبیت نیتروژن را انجام دهد. برای رسیدن به این هدف، در صورتی‌که تعداد باکتری‌های ریزوبیوم در خاک کافی نباشد و یا انواع بومی از کارایی مناسبی برخوردار نباشند، تلقیح بذر با ریزوبیوم ضروری است (گراهام، ۱۹۸۱). مطالعات اخیر در مورد همزیستی‌های ریزوبیوم-لگوم معیارهای متعددی را برای تعیین میزان تحمل سیستم‌های همزیست در برابر شرایط شور فراهم کرده است این شاخص‌ها که به خوبی می‌توان از آنها برای انتخاب یک همزیستی مقاوم به شوری استفاده کرد عبارتند از: ۱)کلنی‌زاسیون موفق ریشه‌های گیاه لگوم بوسیله ریزوبیوم ۲) تشکیل غده‌های موثر و مقاوم به شوری ۳) آلودگی موفق ریشه‌های گیاه بوسیله ریزوبیوم.

ریزوبیوم‌های جدا شده از خاک‌های شور، سطوح بسیار بالا و بازدارنده شوری را بیشتر از سویه‌هایی تهیه شده از مناطق غیر شور تحمل کرده و قادرند تا در شرایط شور کلنی‌زاسیون موفق‌تری داشته باشند. توانایی سویه‌های ریزوبیوم برای ایجاد غده و تثبیت نیتروژن در شرایط شور و خشک بسیار متفاوت گزارش شده است (زهران، ۱۹۹۲). پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر شوری بر جذب برخی عناصر غذایی و همزیستی سینوریزوبیوم‌ملیلوتی با ارقام مختلف یونجه در شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای جداسازی و خالص سازی جدایه‌های باکتری همزیست با یونجه از خاک‌های مختلف مزارع زیر کشت ارقام مختلف یونجه در استان تهران، بوته‌هایی به

Archive of SID

www.SID.ir

صورت تصادفی برداشت شدند. پس ازجداسازی و تهیه ایزوله های خالص باکتری سینوریزوبیوم‌ملیلوتی از غده‌های ریشه‌ای گیاه یونجه (۲۰ ایزوله) میزان مؤثر بودن همزیستی(*SE*[1]) سویه‌ها بر اساس روش بک و همکاران (۱۹۹۳) تعیین گردید. این مرحله در ۴ تکرار انجام شد و گیاهان کشت شده به مدت یک دوره رویشی (حداقل۳ ماه) در شرایط مناسب و در لوله آزمایش قرار گرفتند. سپس گیاهان برداشت شده و وزن خشک بخش هوایی گیاهان اندازه‌گیری گردید *SE* ازرابطه زیر قابل محاسبه خواهد بود:

$$S.E = d_2-d_0/\ d_1-d_0 \times 100$$

تیمار شاهد(d_0): وزن خشک اندام هوایی یونجه در لوله آزمایش حاوی تمام عناصر مورد نیاز گیاه بجز نیتروژن

تیمار نیتروژن(d_1): وزن خشک اندام هوایی یونجه در لوله آزمایش حاوی تمام عناصر مورد نیاز گیاه و نیتروژن در سطح ۷۰ میلی‌گرم در لیتر

تیمار تلقیح(d_2): خشک اندام هوایی یونجه در لوله آزمایش حاوی تمام عناصر مورد نیاز گیاه بجز نیتروژن و گیاهچه‌ها با سویه باکتری مورد نظر تلقیح گردیدند.

داده ها با نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد و درجه‌بندی کارایی همزیستی سویه‌های ریزوبیومی مطابق روش پیشنهادی وینسنت، ۱۹۸۲ انجام شد.

در مرحله بعد میزان مقاومت آنها به شوری تعیین گردید. تعیین مقاومت به شوری جدایه‌ها روی محیط کشت *TY* (محیط *TY* حاوی ۸ گرم تریپتون، ۵ گرم عصاره مخمر، ۵ گرم NaCl و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با pH=۷) حاوی مقادیر ۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (NaCl) در ۳ تکرار کشت شده و در شرایط مناسب (۲۸–۳۰°c) انکوباسیون شدند. پس از گذشت ۷–۵ روز قطر کلونی‌ها با شاهد (بدون NaCl) مقایسه شده و به صورت کیفی به سه گروه حساس (باکتری‌هایی که قادر به رشد در ۴۰۰ میلی مولار NaCl نبودند)، نیمه مقاوم و مقاوم (باکتری‌های که تا ۶۰۰ میلی مولار NaCl را تحمل نمودند) گروه‌بندی شدند (مرچان و همکاران، ۲۰۰۳). سپس ۲ سویه حساس و مقاوم به شوری که جزء باکتری‌های خیلی مؤثر (*SE*>۱۰۰٪) بودند، انتخاب گردید. دو سویه انتخاب شده در شرایط استریل و در محیط کشت *TY* در انکوباتور به عنوان مایع تلقیح تکثیر داده شد. آزمایش گلخانه‌ای کشت یونجه در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه سطح شوری (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شامل مخلوط نمک‌های $NaCl+CaCl_2+MgCl_2$ به نسبتی که نسبت سدیم جذب سطحی شده (*SAR*) در محلول با شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر برابر ۹/۵۲ و در محلول با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر برابر با ۹/۴۷ بود)، سه سطح باکتری (بدون باکتری، باکتری مقاوم به شوری، باکتری حساس به شوری)، سه سطح رقم یونجه (همدانی، قره‌یونجه و قارقالوق) و سه تکرار انجام گرفت برای بررسی اثر مقدار نمک بر جذب برخی عناصر غذایی و همزیستی سینوریزوبیوم‌ملیلوتی با سه رقم یونجه (*Medicago sativa*) ، کشت گلخانه ای یونجه بصورت زیر انجام شد: بذور سالم و هم‌اندازه انتخاب و با محلول اتانول ۹۵٪ و هیپوکلریدسدیم ۵٪ استریل سطحی شدند. بذور استریل یونجه در انکوباتور جوانه‌دار شدند. خاک جمع‌آوری شده از منطقه ۲۰ مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران به نحوی انتخاب شد که از لحاظ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بدون محدودیت شوری، گچی و با بافت متوسط باشد (جدول۱). پس از آماده سازی و پرکردن ۸۱ گلدان با خاک مذکور، به هر بذر ۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح ریزوبیومی افزوده شد. گلدان‌ها تا مرحله ظهور برگ‌ها با آب معمولی آبیاری شدند و سپس تیمار شوری اعمال شد. هر بار با در نظر گرفتن نیاز آبشویی گلدان‌ها آبیاری می‌شد تا EC آب خروجی از گلدان‌ها تقریباً برابر EC ورودی (تیمار مورد نظر) باشد (برین و همکاران، ۱۳۸۵).

در طی مرحله رشد گیاه مراقبت های لازم (آبیاری، مبارزه با آفات و ...) در تمام گلدانها به طور یکنواخت انجام شد. دما در این مدت ۲±۲۸ نگهداشته شد.گلدان‌ها به مدت ۹ ماه نگهداری شد و یک چین آن در اواخر ماه ۶ ام برداشت شد. در اواخر ماه ۹ شدت روشنایی ۴۵۰۰ لوکس و دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود. به دلیل اینکه بیشترین میزان تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه گلدهی در گیاه یونجه رخ می‌دهد (دجیلیانو و همکاران، ۲۰۰۳)، گیاهان در مرحله شروع گلدهی در گیاه شاهد، برداشت و وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال، غلظت نیتروژن، فسفر، سدیم و پتاسیم آنها اندازه‌گیری شد. غلظت نیتروژن از روش کجلدال اندازه‌گیری شد، جذب نیتروژن نیز از حاصلضرب وزن خشک اندام هوایی در غلظت نیتروژن بدست آمد (کجلدال، ۱۸۸۳). بعد از تهیه عصاره گیاهی غلظت فسفر به روش زرد (کتنی، ۱۹۸۰) و غلظت سدیم و پتاسیم گیاه با دستگاه شعله – نورسنج اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵). گره‌های فعال، گره‌های دارای رنگ صورتی می‌باشند لذا بعد از جدا کردن گره از ریشه، برشی در آن ایجاد و رنگ گره بررسی شد (معبود و اسمیت، ۲۰۰۵). نتایج بدست آمده به روش آزمون چند دامنه‌ای

1- Symbiotic Effectivness(SE)

Archive of SID

www.SID.ir

دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند. نتایج آزمایش توسط نرم‌افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

پس از بررسی وضعیت رشد ۱۰ جدایه سینوریزوبیوم ملیلوتی در محیط کشت YMA[1] دارای شوری‌های مختلف (EC معادل ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دسی‌زیمنس بر متر)، در نهایت دو جدایه انتخاب شدند. نتایج بررسی رشد جدایه‌ها در محیط شور در جدول ۲ آمده است.

در نهایت دو جدایه ۳۶ (باکتری خیلی موثر با SE برابر، ۱۲۲/۳) و ۵۹ (باکتری خیلی موثر با SE برابر ۱۱۰/۷) از بین ۱۰ جدایه فوق انتخاب و در محیط کشت YMB[2] تکثیر شدند تا در مرحله کشت گلخانه‌ای برای تلقیح بذرهای یونجه بکار روند.

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه گیری شده در گیاه یونجه در جدول ۳ ارائه شده است.

از آنجا که نیتروژن عنصری ضروری در رشد گیاه است لذا بین گیاهان تلقیح شده با باکتری سینوریزوبیوم‌ملیلوتی و گیاهان تلقیح نشده با این باکتری (شاهد) از لحاظ وزن خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد غده تفاوت معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) وجود داشت (جدول۳). از طرف دیگر بین سویه‌های مختلف باکتری سینوریزوبیوم‌ملیلوتی نیز از نظر وزن خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد غده تفاوت وجود داشت (جدول۴). باکتری R59 بیشترین وزن خشک ریشه و اندام هوایی را به خود اختصاص داده و با باکتری R36 تفاوت معنی‌دار داشت. کاهش وزن خشک اندام هوایی درگیاهان بدون تلقیح باکتری کاملاً طبیعی به نظر می‌رسد زیرا گیاهانی که باکتری تثبیت کننده دریافت نکرده‌اند، نیتروژن کمتری در اختیار داشته و کاهش وزن‌تر و خشک اندام هوایی را نسبت به تیمارهای تلقیح شده نشان می‌دهند (جدول۴). نتایج یک تحقیق در دو خاک با سابقه و بدون سابقه کشت یک لگوم نشان داد در خاک با سابقه کشت که دارای جمعیت ریزوبیوم بومی بوده، تلقیح تأثیری در مقدار محصول نداشته است، در خاک دوم که تعداد باکتری بومی بسیار کمتر از حد معمول بود، تلقیح سبب افزایش عملکرد محصول گردید و مصرف کود نیتروژنی تأثیری در مقدار محصول نداشت (دجیلیانو و همکاران، ۲۰۰۳).

غلظت فسفر در مورد گیاهان بدون تلقیح و گیاهان تلقیح شده با باکتری R36 به طور معنی‌داری کمتر از غلظت فسفر در گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 بوده (جدول ۴) که علت این امر احتمالاً این است که فسفر عنصری غیر متحرک در خاک است در نتیجه مکانیسم جذب فسفر در خاک بیشتر تماس ریشه‌ای می‌باشد و از آنجایی که تلقیح باکتری R59 وزن خشک ریشه را به‌طور معنی‌داری افزایش داده است در نتیجه غلظت فسفر بیشتر در گیاهان تلقیح شده با باکتری مذکور به دلیل پراکنش و توزیع بیشتر ریشه این گیاهان در مقایسه با ریشه گیاهان تلقیح شده با باکتری R36 می‌باشد.

در بررسی اثر سطوح مختلف باکتری بر نسبت غلظت سدیم به پتاسیم، ملاحظه می‌شود که این نسبت در باکتری *R59* به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری *R36* و گیاه بدون تلقیح باکتری می‌باشد. همچنین این نسبت در باکتری *R36* نیز به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان بدون تلقیح مشاهده شد (جدول ۴). تأثیر مثبت توانایی باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی بر افزایش غلظت پتاسیم گیاه را می‌توان به سازوکارهای زیر نسبت داد. ۱) تولید هورمون‌های گیاهی و توسعه ریشه و افزایش سطح جذب، ۲) تولید پروتون و ۳) اسیدهای آلی که ممکن است در رهاسازی K^+ از کانی‌ها موثر باشند.

بررسی میانگین عامل باکتری نشان می‌دهد تلقیح باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی بر تعداد گره‌های فعال در گلدان مؤثر بودند (جدول ۴). همچنین بین سطوح باکتری تلقیح شده، تعداد گره‌های فعال با تلقیح باکتری R59 به طور معنی‌داری بیشتر از تعداد گره‌های فعال گیاهانی بود که با باکتری R36 تلقیح شده بودند، که این امر ناشی از توان بالای باکتری در تلقیح ریشه می‌باشد. نژادهای مختلفی از باکتری ریزوبیوم در خاک وجود دارند که تأثیر آنها بر میزبان، توانایی آن‌ها در تثبیت زیستی نیتروژن و مقابله با تنش‌های محیطی یکسان نیست. ابوالحسنی (۱۳۸۶) اظهار داشت تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه-های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی، تأثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم –ریزوبیوم دارد و در نتیجه افزایش تعداد گره‌های فعال، تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش عملکرد گیاه را بدنبال دارد.

مقایسه میانگین عامل باکتری نشان می‌دهد (جدول ۴) با تلقیح باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی غلظت نیتروژن در اندام هوایی گیاه یونجه افزایش می‌یابد ولی اختلاف معنی‌داری بین سطح دوم و سوم باکتری تلقیح شده مشاهده نگردید ولی از نظر جذب نیتروژن، گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهانی بود که با باکتری R36 تلقیح شدند و این احتمالاً به دلیل افزایش یافتن تجمع متابولیت‌ها در اثر

1- Yeast Manitol Agar
2- Yeast Manitol Broth

Archive of SID

www.SID.ir

تلقیح باکتری R59 و افزایش مقاومت به شوری گیاه می‌باشد. توفیک (۲۰۰۸) گزارش داد ریزوباکترین تحمل شوری را در لوبیا چشم بلبلی با افزایش تجمع متابولیت‌های غیر سمی از قبیل قندها، پرولین، گلیسین-بتائین بهبود بخشید.

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۵) نشان دادند که وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه یونجه با افزایش شوری، کاهش معنی‌داری می‌یابد، به طوری که میانگین وزن خشک اندام هوایی در شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۴ و ۱۴ درصد نسبت به شاهد کاستی یافت. وزن خشک ریشه تحت تأثیر شوری حدود ۸/۷ تا ۱۳/۲۲ درصد (به ترتیب در سطح ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) کاهش یافت. مس و هافمن (۱۹۷۷) اظهار داشتند یونجه گیاهی است نسبتاً حساس به شوری، به طوری که آستانه تحمل آن شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر است. همچنین بر اساس آزمایش‌هایشان عنوان نمودند، در شوری‌های ۳/۴، ۵/۴، ۸/۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر عملکرد یونجه به ترتیب ۹۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۵٪ می‌باشد. گالشی (۱۳۸۰) اظهار نمود افزایش فشار اسمزی محیط ریشه و بدنبال آن کاهش جذب آب، برهم خوردن تعادل تغذیه‌ای و سمیت یون‌های ویژه، کاهش تعداد تارهای کشنده و چروکیدگی سطح آن-ها، کاهش نفوذ باکتری به ریشه و گره‌بندی و همچنین کاهش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها، در کاهش رشد ریشه در خاک‌های شور موثر است. همچنین سینگلتون و بهلول (۱۹۸۴) اظهار داشتند اختلالات تغذیه-ای، کاهش جذب آب و عناصر، کاهش رشد ریشه‌ها، کاهش سطح برگ و کاهش فتوسنتز از اثرات شوری بر گیاهان می‌باشد.

مقایسه میانگین تیمارها نشان می‌دهد (جدول۵) با افزایش شوری تعداد گره‌های فعال به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد به طوری که تعداد میانگین گره‌های فعال با افزایش شوری از صفر به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۲۶ و ۴۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. کردویلا و همکاران (۱۹۹۹) در آزمایشی بر روی گیاه باقلا بیان کردند تنش شوری فعالیت اسیتلن‌ریداکشن و تعداد ریشه‌های موئی دارای رشته آلودگی را کاهش داد همچنین اظهار داشتند تمایز سلولی گره بوسیله تیمار شوری تحت تأثیر قرار گرفت و در نتیجه گره‌ها رنگ صورتی خود (محتوی لگ‌هموگلوبین) را از دست دادند و سفید و غیرفعال شدند. خان و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند تعداد گره‌های فعال و فعالیت نیترات ریداکتاز در ارقام یونجه با افزایش شوری کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. گزارشات آنتراپر و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند تنش شوری باعث توقف رشد گیاه، کاهش فتوسنتز و کاهش گره‌زایی می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نسبت وزن خشک ریشه به ساقه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در اثرات باکتری و شوری به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد وجود داشت ولی اثرات متقابل باکتری و شوری بر روی صفت مذکور معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین سطوح باکتری‌ها (جدول ۴) نشان دادند بیشترین نسبت ریشه به ساقه، مربوط به باکتری R59 می‌باشد و از آنجایی که گیاهان مقاومتر در شرایط شور برای جذب آب و عناصر غذایی بیشتر، رشد ریشه‌شان را افزایش می‌دهند نسبت مذکور در آن‌ها افزایش می‌یابد، این موضوع تأکیدی دیگر بر این ادعاست که باکتری R59 نسبت به سطح باکتری R36 مقاومت بیشتری را در گیاه ایجاد می‌کند. مقایسه میانگین سطوح شوری بر وزن خشک ریشه به ساقه (جدول ۵) نشان می‌دهد با افزایش شوری از ۶ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به طور معنی‌داری افزایش یافت. گراهام و ونس (۱۹۹۹) اظهار داشتند رشد گیاه مستلزم داشتن فشار تورژسانس است، اگر این فشار به حد بحرانی برسد تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها صورت می‌گیرد. این فشار بحرانی در ریشه خیلی کمتر از ساقه است یعنی در حالت‌های منفی‌تر پتانسیل آب، ریشه می‌تواند به رشد خود ادامه دهد، اما ساقه نمی‌تواند رشد کند. تجرا و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که اثر منفی شوری بر وزن خشک شاخساره بیشتر از وزن خشک ریشه است، بنابراین شاخساره به شوری حساستر از ریشه است.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد (جدول ۵) با افزایش شوری از صفر به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر جذب و غلظت نیتروژن در اندام هوایی کاهش معنی‌داری را از خود نشان داد. برنستین و همکاران (۱۹۶۶) اظهار داشتند که با افزایش شوری، درصد نیتروژن در گیاهان سویا و یونجه کاهش می‌یابد.

با افزایش شوری از صفر به ۶ دسی‌زیمنس بر متر غلظت فسفر اندام هوایی کاهش معنی‌داری را نشان داد، اما زمانی که شوری از ۶ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت، کاهش غلظت فسفر معنی‌دار نبود (جدول ۵). اختلالات تغذیه‌ای ممکن است نتیجه‌ای از تأثیر شوری بر قابلیت در دسترس بودن عناصر غذایی، جذب رقابتی، انتقال یا جزءبندی یون‌ها در گیاه باشد. مثلا شوری جذب و تجمع فسفات در گیاه را کاهش می‌دهد، چرا که قابلیت در دسترس بودن فسفات در خاک شور کاهش می‌یابد (توران و سزن، ۲۰۰۲).یکی از دلایل کاهش قابلیت در

Archive of SID

www.SID.ir

دسترس بودن فسفات در خاک شور وجود املاح بویژه نمک کلریدکلسیم است که تمایل زیاد فسفات به ترکیب شدن با یون کلسیم باعث رسوب و کاهش حلالیت فسفات شده در نتیجه از قابلیت جذب آن توسط گیاه کاسته می‌شود.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش شوری از ۰ به ۶ و از ۶ به ۱۲ دسی‌زیمنس نسبت سدیم به پتاسیم افزایش معنی‌داری یافت (جدول ۵). گزارش شده است گیاهانی که تنش شوری را کمتر تحمل می‌کنند در شرایط غلظت بالای سدیم ریشه، کاهش شدیدی در جذب پتاسیم و افزایش جذب سدیم در اندام-های هوایی نشان می‌دهند که این امر باعث کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه می‌شود. این الگوی توزیع یون‌ها بیشتر از آنکه راهی برای سازگاری تلقی شود، نشانگر علائم خسارت در مقابل شوری است. زیرا این حالت با کاهش سرعت رشد و نشانه خسارت نمک به اندام‌های هوایی است (گالشی و سلطانی، ۱۳۸۱). نتایج پژوهش حاضر، افزایش نسبت سدیم به پتاسیم را تحت شرایط شوری نشان داد که با نتایج تحقیقات مشابه مطابقت داشت (توفیک، ۲۰۰۸).

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که وزن خشک اندام هوایی با افزایش شوری در هر دو تیمار تلقیح شده با باکتری R36 و شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی در گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 کاهش وزن خشک اندام هوایی با افزایش شوری معنی‌دار نبود. در شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌دار بین سویه R36و R59 مشاهده نشد. ولی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باکتری R59 بیشترین عملکرد را به خود اختصاص داد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و باکتری بر وزن خشک ریشه (جدول ۶) نشان داد، هم در تیمار بدون تلقیح و هم تیمار تلقیح شده با باکتری R36 با افزایش شوری وزن خشک ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت، در واقع باکتری R36 همانند شاهد عمل کرده است ولی این کاهش در گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 معنی‌دار نبود. لکزیان و همکاران (۲۰۰۷) در آزمایشی بر روی گیاه یونجه که با سه دسته از سویه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم، نیمه مقاوم و حساس به شوری تلقیح شد نشان دادند، کاربرد سویه‌های نیمه مقاوم ۱/۵ برابر و کاربرد سویه‌های مقاوم ۲/۷ برابر افزایش عملکرد را نسبت به شاهد ایجاد کرد. کردویلا و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه روی ۴ نمونه لگوم گزارش نمودند که تنش شوری از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار با تأثیر منفی در رشد گیاه میزبان، باکتری، همزیستی بین آنها و بالاخره تثبیت نیتروژن عملکرد را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌دهد.

همانگونه که در جدول ۶ ملاحظه می‌شود بیشترین نسبت ریشه به ساقه در سطوح شوری، مربوط به باکتری R59 می‌باشد و از آنجایی که گیاهان مقاومتر در شرایط شور برای بدست آوردن عناصر و جذب آب بیشتر رشد ریشه‌شان را افزایش می‌دهند و نسبت مذکور در آن‌ها افزایش می‌یابد، این موضوع تأکیدی دیگر بر این ادعاست که باکتری R59 نسبت به باکتری R36 مقاومت بیشتری را در گیاه ایجاد می‌کند.

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۶) نشان دادند که با افزایش شوری در تیمار بدون تلقیح و گیاهان تلقیح شده با باکتری R36، تعداد گره بطور معنی‌داری کاهش یافت ولی در گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همزیستی موفق باکتری R59 در شرایط شور با گیاه یونجه از یک طرف و مقاومت باکتری نسبت به تنش شوری از طرف دیگر از دلایل احتمالی این نتایج می‌باشد (جدول۲). بوردلو و پروست (۱۹۹۴) با بررسی مقاومت به شوری سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیومی نشان دادند که این سویه‌ها از نظر مقاومت به شوری بسیار متفاوتند و سویه‌های حساس به شوری در مراحل اولیه آلودگی ریشه توسط باکتری دچار مشکل می‌شوند.

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۶) نشان دادند در تیمار بدون تلقیح باکتری، با افزایش شوری جذب و غلظت نیتروژن به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در گیاهان تلقیح شده با باکتری R36 با افزایش شوری از ۰ به ۶ دسی‌زیمنس بر متر کاهش غلظت نیتروژن معنی‌دار نبود ولی جذب نیتروژن این گیاهان با افزایش شوری از ۰ به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس کاهش معنی‌داری را نشان داد که بیشترین درصد نیتروژن در ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مربوط به باکتری R59 بود، این سویه از باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی توان تحمل شوری بالاتری نسبت به باکتری R36 داشت. بکی و همکاران (۲۰۰۶) ملاحظه نمودند با افزایش نمک، تثبیت نیتروژن توسط باکتروئیدهای جدا شده از گره‌های دو گونه یونجه *M.Ciliaris* و *M.Sativa* کاهش یافت، باکتروئیدهای جدا شده از گره‌های گونه *M.Ciliaris* نسبت به شوری مقاومتر از گونه *M.Sativa* بودند بنابراین در شـرایط شور باکتری‌های جدا شده از گونه *M.Ciliaris* برای تلقیح توصیه کردند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در سطح گیاهان بدون تلقیح باکتری و سطح گیاهان با تلقیح باکتری *R36* با افزایش شوری نسبت *Na/K* افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری می‌یابد. ولی در سطح گیاهان با تلقیح باکتری *R59* با افزایش شوری، افزایش نسبت *Na/K* معنی‌دار نبود (جدول۶). یکی از روش‌های تحمل به شوری در گیاهان کاهش جذب یون سدیم و یا به عبارت دیگر کاهش اندک نسبت *Na/K* در تیمارهای شوری نسبت به شاهد می‌باشد. در بسیاری از گیاهان متحمل به شوری این نسبت در شرایط شور نسبت به گیاهان حساس کمتر است و یا اینکه سدیم جذب شده، در ریشه نگهداشته شده (در واکوئل) و جهت تنظیم اسمزی از آن استفاده می‌شود (بسرا و بسرا، ۱۹۹۷). سینگلتون و بهلول (۱۹۸۴) پیشنهاد کردند که حفظ نسبت *K/Na* بالای بافت به عنوان معیاری برای تحمل به شوری است. از طرف دیگر، ارتباط بین تحمل شوری و تجمع عناصر ماکرو در اندام‌های لگوم گزارش شده است.

نتیجه‌گیری کلی

با افزایش شوری از صفر به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، تعداد گره های فعال، غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم به طور معنی‌داری کاهش ولی غلظت سدیم افزایش معنی‌دار می‌یابد. تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه-های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی علاوه بر کاهش آلودگی محیط زیست، باعث بهبود رشد گیاه می‌شود. اختلاف درغده‌بندی گیاهان لگوم در شرایط شور که موجب بروز تفاوت‌های معنی‌داری در میزان نیتروژن تثبیت شده و میزان عملکرد گیاه می‌شود می‌تواند بعنوان یکی از معیارهای اساسی برای انتخاب لگوم‌ها و ریزوبیوم‌های مقاوم به شوری در نظر گرفته شود. طبق نتایج حاصله تحت شرایط شور، گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 (سویه مقاوم به شوری) باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، تعداد گره های فعال، غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کاهش معنی‌دار غلظت سدیم می‌شوند، لذا در شرایط شور برای تلقیح به ریشه یونجه این سویه پیشنهاد می‌شود.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

عمق (cm)	EC ($dS.\ m^{-1}$)	pH	Nt	T.N.V	O.C	رس	لای	شن	بافت خاک	Fe	Zn	Cu	Mn	P	K
			درصد							میلی‌گرم در کیلوگرم خاک					
۳۰	۱/۴	۸	۰/۰۶۴	۹	۱/۱۵	۲۲/۷	۴۵/۲	۳۲/۱		۱/۵۸	۰/۲۲	۱/۲۴	۱/۶۴	۳/۲۰	۲۱۶

جدول ۲- نتایج رشد باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی در محیط کشت‌هایی با شوری متفاوت

شماره جدایه	میزان شوری محیط کشت YMA (دسی‌زیمنس)		
	۲۰	۴۰	۶۰
۵۹	+	+	+
۵۶	+	ضعیف	ضعیف
۵۱	+	+	ضعیف
۳۶	+	خیلی ضعیف	-
۶	+	+	+
۵۵	+	+	خیلی ضعیف
۴۰	+	+	-
۴۳	+	+	ضعیف
۵۲	+	+	ضعیف
۴۶	+	+	+

+ : رشد باکتری‌ها برابر با تیمار شاهد

ضعیف: رشد باکتری‌ها حدود نصف رشد شاهد

خیلی ضعیف: رشد باکتری‌ها کمتر از نصف رشد شاهد

- : هیچ رشدی مشاهده نشد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه یونجه

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت وزن خشک ریشه به ساقه	تعداد گره های فعال در گلدان	جذب نیتروژن	غلظت نیتروژن	غلظت فسفر	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	K/Na
باکتری	۲	۰/۴۵**	۱/۷۸**	۳/۶۵**	۸۸۴۳/۹۰**	۲۵/۱۴**	۷/۱۵**	۰/۰۶۳**	۰/۰۳**	۰/۰۲**	۰/۱**
رقم	۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۱۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸
باکتری× رقم	۴	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۸۳	۰/۰۱	۰/۰۳۱	۰/۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
شوری	۲	۰/۳۸**	۰/۴۳**	۱/۳۲*	۷۶۳۱/۲**	۱۴/۰۱**	۲/۸۴**	۰/۰۵**	۰/۰۴**	۰/۰۷**	۰/۱۸**
شوری× باکتری	۴	۰/۱**	۰/۲۱**	۱/۰	۱۶۹۱/۶**	۱/۷۵**	۰/۹۵**	۰/۱۳**	۰/۰۰۹*	۰/۰۱۳*	۰/۰۴**
شوری × رقم	۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۲۶	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳
شوری × رقم × باکتری	۸	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶
خطا	۵۲	۰/۳۵	۰/۲۰	۱/۸	۳/۶	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۹
%CV		۷/۴۳	۵/۰۷	۱۰/۴۲	۴/۱۵	۷/۸۰	۴/۳۵	۴/۴۱	۲/۸۴	۳/۱۳	۴/۲۴

**،*: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ ٪

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی بر برخی شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه یونجه

تیمار باکتری	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت ریشه به ساقه	تعداد گره های فعال در گلدان	جذب نیتروژن	غلظت نیتروژن	غلظت فسفر	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	Na/K
	گرم در گلدان				درصد					
بدون باکتری R0	۱/۰ c	۱/۰۷ c	۱/۳۶ b	۹/۵۱ c	۱/۴۹ c	۲/۶۸ b	۰/۹۹۴ b	۰/۹۱ a	۱/۰۸ b	۰/۹۹ a
باکتری حساس به شوری R36	۱/۱۲ b	۱/۱۷ b	۱/۲۸ b	۳۷/۲۶ b	۲/۷۴ b	۳/۵۳ a	۰/۹۹۷ b	۰/۸۸ b	۱/۰۹ b	۰/۹۵ b
باکتری مقاوم به شوری R59	۱/ ۱۸a	۱/۴۳ a	۱/۷۶ a	۶۶/۳۷ a	۳/۳۹ a	۳/۶۰ a	۱/۰۵ a	۰/۸۷ b	۱/۱۲ a	۰/۹۱ c

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌دار ندارند (دانکن)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر سطح مختلف شوری بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه یونجه

تیمار شوری (دسی‌زیمنس بر متر)	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت ریشه به ساقه	تعداد گره های فعال در گلدان	جذب نیتروژن	غلظت نیتروژن	غلظت فسفر	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	Na/K
	گرم در گلدان				درصد					
۰	۱/۱۷ a	۱/۳۲ a	۱/۵۰ ab	۴۷/۷۴ a	۳/۱۸ a	۳/۵۹ a	۱/۰۵ a	۰/۸۶ c	۱/۱۴ a	۰/۸۹ c
۶	۱/۱۲ b	۱/۲۱ b	۱/۳ b	۳۷/۷ b	۲/۶۸b	۳/۲۸b	۰/۹۹ b	۰/۸۹ b	۱/۰۹ b	۰/۹۶ b
۱۲	۱/۰۱ c	۱/۱۵ c	۱/۶۰ a	۲۷/۷ c	۱/۷۶ c	۲/۹۴ c	۰/۹۹ b	۰/۹۱ a	۱/۰۷ c	۱/۰۱ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌دار ندارند (دانکن)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و شوری بر شاخص های اندازه گیری شده در گیاه یونجه

سطوح باکتری	سطوح شوری EC(s/m)	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	تعداد گره های فعال در گلدان	نسبت ریشه به ساقه	جذب نیتروژن	غلظت نیتروژن	غلظت فسفر	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	Na/K
		گرم در گلدان				درصد					
Ro بدون باکتری	۰	۱/۰۹ bc	۱/۲۳ c	۱۲/۵۶ e	۱/۵۱ ab	۲/۳۴ c	۳/۴۱ bc	۰/۹۹ b	۰/۸۸ bc	۱/۱۴ ab	۰/۹۳ def
Ro بدون باکتری	۶	۱/۰۴ cd	۱/۰۵ e	۱۱/۸۹ e	۱/۰۴ c	۱/۵۱۰ d	۲/۵۸ d	۰/۹۹۸b	۰/۹۱ ab	۱/۰۷ de	۱/۰۱ bc
Ro بدون باکتری	۱۲	۰/۸۸ e	۰/۹۶ f	۴/۱۱ f	۱/۵۴ ab	۰/۶۳ e	۲/۰۴ e	۱/۱۷ a	۰/۹۳ a	۱/۰۴ e	۱/۰۶ a
باکتری حساس به شوری R36	۰	۱/۲۱ a	۱/۳۱ b	۶۳/۳۳ c	۱/۳۲ bc	۳/۶۴ a	۳/۶۶ a	۰/۹۹۵ b	۰/۸۴e	۱/۱۵ a	۰/۸۶ g
باکتری حساس به شوری R36	۶	۱/۱۵ ab	۱/۱۵ d	۳۴/۷۸ d	۱/۰۵ c	۳/۰۳ b	۳/۶۲ a	۰/۹۹۵ b	۰/۸۹bc	۱/۰۹ cd	۰/۹۶ cd
باکتری حساس به شوری R36	۱۲	۰/۹۸ d	۱/۰۶ e	۱۳/۶۷ e	۱/۴۶ abc	۱/۵۶ d	۳/۳۰ c	۰/۹۹۶ b	۰/۹۲ a	۱/۰۶ de	۱/۰۳ ab
باکتری مقاوم به شوری R59	۰	۱/۲۱ a	۱/۴۳ a	۶۷/۳۳ a	۱/۶۷ ab	۳/۵۶ a	۳/۶۹ a	۰/۹۹۶ b	۰/۸۵ de	۱/۱۳ ab	۰/۸۸ fg
باکتری مقاوم به شوری R59	۶	۱/۱۸ a	۱/۴۳ a	۶۶/۴ ab	۱/۸ a	۳/۵۱ a	۳/۶۴ a	۰/۹۹۹ b	۰/۸۷ cd	۱/۱۲ b	۰/۹۲ ef
باکتری مقاوم به شوری R59	۱۲	۱/۱۶ ab	۱/۴۳ a	۶۵/۳۳ b	۱/۸۱ a	۳/۱۰ b	۳/۴۷ b	۰/۹۸b	۰/۸۸cd	۱/۱۱ bc	۰/۹۴ de

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌دار ندارند (دانکن)

Archive of SID

فهرست منابع:

۱. ابوالحسنی، م. ۱۳۸۶. مطالعه جدایه‌های بومی سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری و خشکی در خاک‌های استان کرمان، دهمین کنگره علوم خاک ایران، کرج.

۲. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. نشریه فنی شماره ۹۸۲. جلد اول. موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران. ایران.

۳. برین، م.، ن. علی اصغرزاده و صمدی، ع. ۱۳۸۵. اثر شوری حاصل از کلرید سدیم و مخلوط املاح بر غلظت پرولین و برخی شاخص های رشد گوجه فرنگی در همزیستی با قارچ های میکوریز آربوسکولار. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۷، شماره ۱، صفحات ۱۴۷-۱۳۹.

۴. حیدری‌شریف‌آباد، ح. ۱۳۸۰. گیاه و شوری. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. تهران. ایران. ۱۹۹ صفحه. ۱۵

www.SID.ir

۵. رستگار، م.ع. ۱۳۸۴. زراعت نباتات علوفه‌ای. انتشارات برهمند، تهران.

۶. گالشی، س. ۱۳۸۰. تأثیر تنش شوری بر کارایی تثبیت بیولوژیکی ازت در یونجه (*Medicago sativa*). مجله علوم و صنایع کشاورزی، شماره ۱۰، صفحات ۱۱-۳.

۷. گالشی، س. و ا. سلطانی. ۱۳۸۱. ارزیابی رشد و تثبیت بیولوژیک نیتروژن و تحمل به شوری پنج رقم شبدر زیرزمینی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال نهم، شماره سوم، صفحات ۸۳-۷۱.

8. Anthraper. A., and J. D. Dubois. 2003. The effect of NaCl on growth, N_2 fixation (acetylene reduction), and percentage total nitrogen in *Leucaena leucocephala* (Leguminosae) Var. K. 8[1]. J. Bot. 90(5): 683-692.
9. Ashraf, M. 2004. Som important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora. 199:361-376.
10. Basra, A. S. and R. K. Basra. 1997. Mechanism of environmental stress resistance in plants. Harward Academic Publishers. p: 83-111.
11. Beck, D. P., L. A. Materon, and F. Afandi. 1993. Practical Rhizobium–legume Technology Manual. Technical Manual. No.19. ICARDA, Aleppo.
12. Bekki, A., J. C. Trinchant, and J. Rigaud. 2006. Nitrogen fixation (C2H2 reduction) by Medicago nodules and bacteroids under sodium chloride stress. J. Plant Physiol. 71:61 – 67.
13. Bernstein, L. and G. Ogata. 1966. Effects of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybeans and alfalfa. Agron. J. 58:201-203.
14. Bordeleau, L. M. and D. Provest. 1994. Nodulation and nitrogen fixation in exzeme environments. Plant. Soil. 161:pp. 115-125.
15. Cordovilla, M. D. P., F. Ligero and C. Lluch. 1999. Effect of salinity on growth, nodulation and nitrogen assimilaton in nodules of faba bean *(Vicia faba L.)*. J. Appl. Ecol. 11: 1-7.
16. Cordovilla, M. D. P., A. Ocana, F. Ligero and C. Lluch. 2003. Salinity on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-Rhizobium symbiosis. J. Plant Nutr. 18: 1595-6109.
17. Cottenie, A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer Recommendation.
18. Djilianov, D., E. Prinsen, S. Oden, H. V. Onckelen, and J. Muller. 2003. Nodulation under salt stress of alfalfa lines obtained after in vitro selection for osmotic tolerance. J. Plant Physiol. 165: 887-894.
19. Dunin, F. X., C. J. Smith, S. J. Zegelin, R. Leuning, O. T. Denmead, and R. Poss. 2001. Water balance changes in a crop sequence with lucerne. Aust. J. Agric. Res, 52: 247-261.
20. Fougere, F., D. L. Rudulier, and J. G. Streeter. 1991. Effect of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of Alfalfa (*Medicago sativsa L.*). J. plant physiol. 96: 1228-1236.
21. Graham, P. H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in Phaseolus vulgaris L.: a review. Field Crops Res. 4:93-112.
22. Graham, P. H., and C. P. Vance. 1999. Nitrogen fixation in perspective :an overview of research and extension needs. Field Crops Res. 65: pp. 93-106.
23. Homaee, M., R. A. Feddes, and C. Dirksen. 2002. A macroscopic water extraction model for non uniform transient salinity and water stress. Soil Sci. Soc. Am. J. 66: 1764-1772.
24. Kjeldahl. J. 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic bodies. Anal. Chem. 22: 366.
25. Khan, M. G., M. Silberbush, and S. H. Lips. 1998. Response of alfalfa to potassium, calcium and nitrogen under stress induced by sodium chloride. Biol. Plant . 40:251-259.

Archive of SID

www.SID.ir

26. Lakzian, A., P. Murphy, and K. E. Giller. 2007. Transfer and loss of naturally-occurring plasmids among isolates of *Rhizobium leguminosarum bv*. viciae in heavy metal contaminated soils. Soil Biol. Biochem. 39, 1066–1077.
27. Mabood, F., and D. L. Smith. 2005. Pre-incubation of Bradyrhizobium japonicum with jasmonates accelerates nodulation and nitrogen fixation in soybean (Glycine max L.) at optimal and suboptimal root zone temperatures. Physiologia Plantarum, 125: 311-323.
28. Mass, E. V., and G. J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance-current assessment. J. Irrig. Drain. Eng. 103: 115-134.
29. Merchan, F., C. Breda, J. Perez Hormaeche, C. Sousa, A. Kondorosi, O. Mario Aguilar, M. Megias, and M. Crespi. 2003. A kruppel- like transcription factor gene is involved in salt stress responses in Medicago spp. Plant. Soil. 257: 1-9.
30. Pazira, E., and M. Homaee. 2003. Salt affected resources in Iranian extension and reclamation. Water-Saving Agriculture and Sustainable Use of Water and Land Resources. 855-865.
31. Shannon, M., 1984. Breeding selection and genetics of salt tolerance. In: Staples, R. C., Toenniessen, G. H. (eds.), Salinity tolerance in plants. Strategies for Crop Improvement. Wiley, New York. pp. 300-308.
32. Singleton, D. W., and B. B. Bohlool. 1984. Effect of salinity on the nodule formation by soybean. Plant. Physiol. 74:pp. 72-76.25
33. Sprent, J. I. and P. Sprent. 1990. Nitrogen fixing organism pure and applied aspects. Chapman and Hall, London.
34. 34. Tawfik, K. M. 2008. Evaluating the Use of Rhizobacterin on Cowpea Plants Grown under Salt Stress.Biol.Sci.,4(1):26-33.
35. Tejera, N. A., M. Soussi, and C. Lluch. 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. Environ. Exp. Bot., 58: 17-24.
36. Turan, M. and Y. Sezen. 2002. Effect of salt stress on on plant nutrition uptake. Univrsity of atatturk, Turkey.
37. Vincent, J. M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. IBP Handbook no. 15. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
38. Zahran, H. H., 1992. Conditions for successful Rhizobium legume symbiosis in saline environments. Biol. Fert. Soils, 12: pp. 73-80.

Archive of SID

www.SID.ir