



## اثر باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* بر رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جذب عناصر غذایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط تنش شوری

مژگان سپهری<sup>۱</sup>، \* وحیداله جهان‌دیده‌مهجن‌آبادی<sup>۲</sup>، هادی اسدی‌رحمانی<sup>۳</sup> و علی صادقی‌حصنی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه شیراز، دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه شیراز،

<sup>۲</sup>دانشیار پژوهشی مؤسسه خاک و آب، <sup>۳</sup>دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۳۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۶

### چکیده

**سابقه و هدف:** شوری از شایع‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی را به مخاطره انداخته است. با توجه به این‌که بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی قرار دارند، افزایش توان گیاهان جهت تحمل تنش‌های محیطی ناشی حضور املاح اضافی در خاک، از نظر تقلیل افت عملکرد مهم می‌باشد. روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ارگانسیم‌های مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، می‌تواند با تغییر ساختار ژنتیکی محصولات زراعی و سایر گیاهان، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش دهد و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیرزیستی و زیستی فراهم آورد. این پژوهش به بررسی توان باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در بهبود رشد، وضعیت تغذیه‌ای و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) گیاه لوبیا (رقم اختر) در شرایط تنش شوری می‌پردازد.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و با استفاده از بستر کشت مخلوط شن و پرلیت (۲:۱ v/v) در سه سطح شوری S<sub>۰</sub>، S<sub>۱</sub> و S<sub>۲</sub> (به ترتیب صفر، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم یا صفر، ۳ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر) در مرکز پژوهش کشت بدون خاک واقع در دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد که تنش شوری صرف‌نظر از تیمار میکروبی و سطح تنش، رشد لوبیا را کاهش داد. گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم، وزن خشک شاخساره و ریشه بیش‌تری را در تمام سطوح شوری نسبت به گیاهان فاقد تلقیح دارا بودند. تنش شوری، به‌ویژه در گیاهان فاقد تلقیح باکتری ریزوبیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز و غلظت پتاسیم و نیتروژن شاخساره را کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت سدیم شاخساره را افزایش داد. در سطوح شوری S<sub>۱</sub> و S<sub>۲</sub> فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم به ترتیب ۱۹۶ و ۲۵۹ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب ۷۳ و ۷ درصد نسبت به گیاهان فاقد تلقیح افزایش یافت. تلقیح باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S<sub>۱</sub> و S<sub>۲</sub> موجب افزایش غلظت پتاسیم شاخساره به ترتیب ۸۴ و ۱۰ درصد و کاهش غلظت سدیم به ترتیب ۵۰ و ۷۰

\* مسئول مکاتبه: vahid.jahandideh67@gmail.com

درصد شد. همچنین، گیاهان تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S<sub>۰</sub> و S<sub>۲</sub> از نیتروژن بیشتری نسبت به گیاهان فاقد تلقیح برخوردار بودند. غلظت فسفر شاخساره گیاهان تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم نسبت به گیاهان فاقد تلقیح ۵۵ درصد افزایش یافت.

**نتیجه گیری:** به طور کلی تلقیح گیاه لوبیا رقم اختر با زادمایه باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در این پژوهش، می تواند به عنوان روشی مفید جهت کاهش اثرات مضر تنش شوری، استفاده شود.

**واژه های کلیدی:** ارقام گندم، *P. indica*، عناصر غذایی، کلروفیل

### مقدمه

بخش وسیعی از زمین های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی از جمله بقولات در مناطق خشک و نیمه خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری قرار دارند. از این رو، افزایش توان گیاهان جهت تحمل حضور املاح اضافی در خاک، از نظر تقلیل افت عملکرد مهم می باشد. مقاومت به شوری در گیاهان فرایندی بسیار پیچیده است، به طوری که واکنش های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی به بروز تغییرات ظاهری و رشدی گیاه منجر می گردند. غلظت و ترکیب یونی شوری و نوع وارسته گیاه از مهم ترین عوامل مؤثر در بروز پاسخ های متفاوت گیاهان از نظر کاهش رشد و عملکرد به شمار می آیند (۱۶). بقولات نیز همانند گیاهان دیگر، بسته به عواملی همچون شرایط آب و هوایی، خواص خاک و مرحله رشد گیاه عکس العمل های متفاوتی در پاسخ به تنش شوری اعمال می نمایند (۱۵). بعضی از بقولات مانند باقلا، لوبیا و سویا نسبت به سایر بقولات مانند خلر، مقاومت بیشتری به شوری دارند (۲).

شناسایی مکانیسم های تحمل به شوری در گیاهان، غربالگری و اصلاح وارسته های جدید، از مهم ترین راهکارها جهت کاهش اثرات مضر شوری در کشاورزی محسوب می شوند (۷ و ۳۲). شناخت جامع مکانیسم های تحمل به شوری در گیاهان و همچنین نحوه تأثیر شوری بر عملکرد و اجزاء آن، امکان

شوری و تجمع املاح در سطح خاک، از مهم ترین مشکلات کشاورزی و کاهش شدید رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد (۳۰). شوری، حداقل ۲۰ درصد از اراضی قابل کشت جهان و بیش از ۴۰ درصد زمین های تحت آبیاری را به درجات مختلف متأثر ساخته است. در ایران، سطح کل خاک های شور حدود ۲۴ میلیون هکتار است که نزدیک به ۳۰ درصد مساحت دشت ها و متجاوز از ۵۰ درصد اراضی تحت کشت آبی کشور را تشکیل می دهد (۲۵). خسارات ناشی از تنش شوری بر رشد و متابولیسم گیاهان را می توان به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه در اثر تجمع املاح و به دنبال آن خشکی فیزیولوژیکی و نیز اثرات سمی یون های مربوطه دانست. به طور کلی در شرایط شور، غلظت بیش از حد برخی یون ها از جمله سدیم در داخل گیاه، ممکن است موجب بروز آسیب به غشاء سلولی و همچنین عدم تعادل یونی شود (۲۹). همچنین تنش شوری علاوه بر ایجاد اختلالات متابولیسمی، به دلیل تأثیر در ایجاد تنش اکسیداتیو، موجب تشکیل گونه های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> در سلول های گیاهی نیز می شود. سلول های گیاهی جهت مقابله با اثرهای منفی گونه های فعال اکسیژن از مکانیسم های دفاعی ویژه آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز) بهره می گیرند (۲۸).

1- Reactive Oxygen Species

بیش‌تری در برابر شوری داشتند (۱۷). از طرف دیگر، در خاک‌های خیلی شور، مقاومت گیاه میزبان در برابر شوری مهم‌ترین عامل مؤثر در ایجاد سازگاری موفق و همزیستی مفید ریزوبیوم با میزبان گیاهی خود به‌شمار می‌آید. بنابراین، وجود ژنوتیپ‌های گیاهی مقاوم به شوری و دارای توان سازگاری با باکتری‌های مقاوم به شوری، شرط اصلی موفقیت سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگوم است (۲۹).

توجه به نقش مهم بقولات از جمله لوبیا در تأمین نیازهای تغذیه‌ای بشر، کاهش رشد، عملکرد و کیفیت آن در خاک‌های شور و هزینه زیاد اصلاح واریته‌های جدید، ضرورت دستیابی به روش‌های جایگزین افزایش عملکرد این گیاه را بیش از پیش روشن می‌سازد. بنابراین این پژوهش با هدف به‌کارگیری باکتری همزیست *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در بهبود رشد، وضعیت تغذیه‌ای و افزایش تحمل گیاه لوبیا در شرایط تنش شوری انجام پذیرفت.

### مواد و روش‌ها

جهت بررسی تأثیر باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم *بیوار فازئولی* بر گیاه لوبیا در تنش شوری، آزمایشی در گلخانه مرکز کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو سطح باکتری ریزوبیوم (تلقیح و عدم تلقیح) و سه سطح شوری  $S_0$ ،  $S_1$  و  $S_2$  (به ترتیب صفر، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در آب آبیاری یا صفر، ۳ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر) بودند.

**تهیه و تکثیر باکتری ریزوبیوم:** جدایه باکتری ریزوبیوم به صورت کشت خالص از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه گردید. جهت اطمینان از خالص بودن جدایه مذکور، کشت مجدد آن بر روی محیط

دستیابی به روش‌های جدیدتر برای مقابله با این تنش را هموارتر می‌نماید.

روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی بر عهده دارند. باکتری‌های همزیست که از مهم‌ترین ریزموجودات خاک محسوب می‌شوند با ایجاد تغییر در ساختار ژنتیکی و فیزیولوژیکی محصولات زراعی و سایر گیاهان، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌های شور فراهم می‌آورند. گزارش‌های متعددی نشان داد که باکتری‌ها از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف می‌شوند (۲۲ و ۳۶). ریزوبیوم‌ها از مفیدترین باکتری‌های همزیست خاکزی هستند که به دلیل توان تثبیت نیتروژن، توان تولید عوامل محرک رشد گیاه و همچنین به‌علت وجود فناوری تولید انبوه زادمایه آن‌ها به‌عنوان یک کود زیستی در سطح جهانی شناخته شده‌اند (۱۸). با وجود اهمیت زیاد سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگوم در سیستم‌های کشاورزی پایدار، وجود سویه فعال و کاملاً مؤثر ریزوبیوم، اساسی‌ترین شرط موفقیت این سیستم می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که سویه‌های ریزوبیوم مقاوم به شوری در خاک‌های با شوری متوسط قادر به ایجاد گره‌زایی و همزیستی مؤثر با بقولات می‌باشند. بنابراین تلقیح بقولات با سویه‌های ریزوبیوم مقاوم به شوری، باعث توسعه تثبیت نیتروژن در مناطق شور می‌شود (۳۷). نتایج مطالعات صورت گرفته بر گیاهان سویا و نخود دارای همزیستی ریزوبیومی نشان می‌دهد که این سیستم‌های همزیستی حتی در غلظت ۳۴۰ میلی‌مول NaCl پایدار و مقاوم بودند اگرچه سویه‌های سریع‌الرشد نسبت به سویه‌های کند رشد مقاومت

دوره روشنایی ۱۶ ساعته و با حداکثر دمای روزانه ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰٪، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس منتقل و طی دوره رشد به مدت ۸ هفته با محلول غذایی جانسون تغذیه (۲۶) و به صورت روزانه با آب مقطر آبیاری شدند. به دلیل این‌که وجود نیتروژن زیاد یکی از عوامل منفی در برقراری رابطه همزیستی باکتری‌های ریزوبیوم با لگوم‌ها است، بنابراین قبل از انجام آزمایش اصلی با انجام یک پیش آزمایش مشخص گردید که اگر میزان نیتروژن محلول غذایی را به نصف مقدار اصلی تقلیل دهیم نتیجه بهتری حاصل می‌گردد، بنابراین در آزمایش اصلی از تیمار نیتروژنی نصف برای همه گیاهان (تلقیح شده و شاهد) استفاده شد. دو روز پس از انتقال جوانه‌های لوبیا به گلدان‌ها، به ریشه‌چه هر گیاه مقدار ۲ میلی‌لیتر مایه تلقیح اضافه شد. حدود دو هفته پس از کشت گیاهان تیمار شوری اعمال شد. بدین صورت که ابتدا تعیین شد که اگر گیاه لوبیا در معرض شوری آب آبیاری به مقدار صفر و ۳۵، ۷۰ میلی‌مولار قرار داده شود چه مقدار نمک باید به‌ازای مقدار آب آبیاری مورد نیاز اضافه شود (مقدارهای صفر، ۳ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر) و سپس براساس مقدار نمک در آب تنظیم و برای جلوگیری از تنش ناگهانی به صورت تدریجی و در سه نوبت همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه شد.

**اندازه‌گیری وزن خشک:** شش هفته پس از اعمال تنش شوری و پس از پایان مرحله رویشی گیاه و مشاهده اختلاف ظاهری در رشد گیاهان تلقیح شده با سویه باکتری ریزوبیوم در شرایط نرمال و تنش، نمونه‌برداری از اندام‌های گیاه (برگ و ریشه) انجام شد. نمونه‌های مذکور به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آن‌ها تعیین گردید.

کشت Y.M.B<sup>۱</sup> انجام گرفت و پتری‌دیش‌های تلقیح شده با جدایه باکتری به مدت ۴ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور قرار داده شدند. رشد روزانه باکتری کشت داده شده به منظور تشخیص آلودگی‌ها بررسی شد تا در صورت بروز آلودگی، کشت مجدد بر روی محیط مذکور انجام و کلونی‌های خالص ریزوبیوم به صورت مجزا، درشت، لعابی و شیری‌رنگ انتخاب شوند. تعداد کافی ارلن‌های کوچک ۱۰۰ میلی‌لیتری آماده و به هر کدام ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت Y.M.B اضافه و در اتوکلاو استریل گردیدند. سپس محتوی هر ارلن با سویه باکتری مورد نظر تلقیح شده و پس از پوشاندن ارلن‌های مذکور با فویل آلومینیومی به مدت ۳ شبانه‌روز در دمای محیط بر روی همزن با حرکات دورانی (150RPM)<sup>۲</sup> قرار داده شدند.

**کشت گیاه و اعمال تیمارها:** جهت بررسی تأثیر باکتری ریزوبیوم در افزایش مقاومت گیاه لوبیا به تنش شوری در شرایط گلخانه از گلدان‌های ۵ کیلوگرمی حاوی مخلوط ماسه و پرلیت استریل استفاده شد. بذور لوبیای قرمز رقم اختر (*Phaseolus vulgaris*) از مؤسسه تحقیقاتی خمین تهیه گردید. بذورهای لوبیا با استفاده از الکل ۹۶ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و جهت حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند (۵). محیط کشت حاوی آب-آگار ۱ درصد تهیه و استریل شد و بذور ضدعفونی شده بر روی این محیط پخش و پس از چند روز خوابانیدن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (درون انکوباتور) جوانه‌دار شدند. سپس تعداد ۴ گیاهچه لوبیا در داخل هر گلدان کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه با طول

1- Yeast Extract Manital Broth

2- Round per minute

۱). نتایج حاصل از مقایسه گیاهان تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم و گیاهان فاقد تلقیح، بیانگر آن است که با افزایش شوری تا سطح شوری متوسط ( $S_1$ ) وزن خشک شاخساره گیاهان نسبت به شرایط عدم تنش شوری ( $S_0$ ) تغییر معنی داری را نشان نداد، اما، با افزایش شوری تا سطح شوری زیاد ( $S_2$ ) شاخص مذکور نسبت به سطوح شوری  $S_0$  و  $S_1$  کاهش یافت (شکل ۱). کاهش وزن خشک شاخساره با افزایش سطوح شوری ممکن است به دلیل کاهش فتوسنتز در اثر کاهش سطح برگ، کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمع سدیم و کلر در اندام‌ها و یا تخریب ساختمان کلروپلاست باشد. شوری ممکن است از طریق به هم زدن تعادل یونی و اثر بر تغذیه نیز رشد گیاه را محدود کند (۳۰). کاهش وزن خشک شاخساره گیاهان با افزایش شوری نیز گزارش شده است (۱۱). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح نشده با افزایش شوری از سطح  $S_0$  به سطح  $S_1$  کاهش معنی داری یافت، اگرچه بین این دو سطح شوری در گیاهان تلقیح یافته با باکتری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. این در حالی است که افزایش شوری تا سطح  $S_2$  موجب کاهش وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده نسبت به سطوح شوری  $S_0$  و  $S_1$  شد (شکل ۲). عواملی مانند افزایش فشار اسمزی محیط ریشه و در نتیجه کاهش جذب آب، برهم خوردن تعادل تغذیه‌ای و سمیت یون‌های ویژه، کاهش تعداد تارهای کشنده و چروکیدگی سطح آن‌ها، کاهش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها در کاهش رشد ریشه در خاک‌های شور مؤثر می‌باشند (۳۰). در این پژوهش سوبه ریزوبیوم به‌طور معنی داری وزن خشک شاخساره گیاهان را در هر سه سطح شوری به ترتیب به مقدار ۲۹، ۲۸ و ۲۴ درصد و وزن خشک ریشه را به ترتیب به مقدار ۵۱، ۷۳ و ۱۱۴ درصد افزایش داد

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: قبل از برداشت گیاهان، از برگ‌های میانی و سالم گیاه برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برداشت شد. ابتدا برگ‌های گیاهان با آب مقطر شسته شدند و بلافاصله ۰/۱ گرم نمونه برگ پودر شده با نیتروژن مایع درون یک میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (۵۰ میلی‌مولار و  $\text{pH} = 7/8$ ) محتوی EDTA<sup>۱</sup> ۲ میلی‌مولار، DTT<sup>۲</sup> ۲ میلی‌مولار، Tris-HCL ۲ میلی‌مولار، Triton-X100 ۲ درصد و PVP<sup>۳</sup> ۵۰ درصد وارد و همگن شد. نمونه‌های همگن شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با شدت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس عصاره استخراجی برای تخمین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جمع‌آوری و در ویال‌های جداگانه نگهداری شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب با استفاده از روش‌های ابی (۱۹۷۴) (۳) و رائو و همکاران (۱۹۹۶) (۳۳) اندازه‌گیری شدند.

**اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی شاخساره:** غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فوتومتر، فسفر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج و غلظت نیتروژن گیاهان با دستگاه کج‌دال قرائت شد (۱۴).

**تجزیه و تحلیل آماری:** تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

**وزن خشک شاخساره و ریشه:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثرات ساده عامل‌های باکتری و شوری در سطح ۱ درصد و اثر برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۵ درصد بر وزن خشک شاخساره و ریشه معنی دار بودند (جدول

- 1- Ethylenediaminetetraacetic acid
- 2- Dithiothreitol
- 3- Polyvinylpyrrolidone

تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم را به توانایی این باکتری در تثبیت نیتروژن و تولید عوامل محرک رشد گیاه نسبت داد (۱۸).

(شکل های ۱ و ۲). این مشاهدات بیانگر آن است که سویه ریزوبیوم انتخاب شده می تواند موجب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر تولید ماده خشک شود. می توان افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان

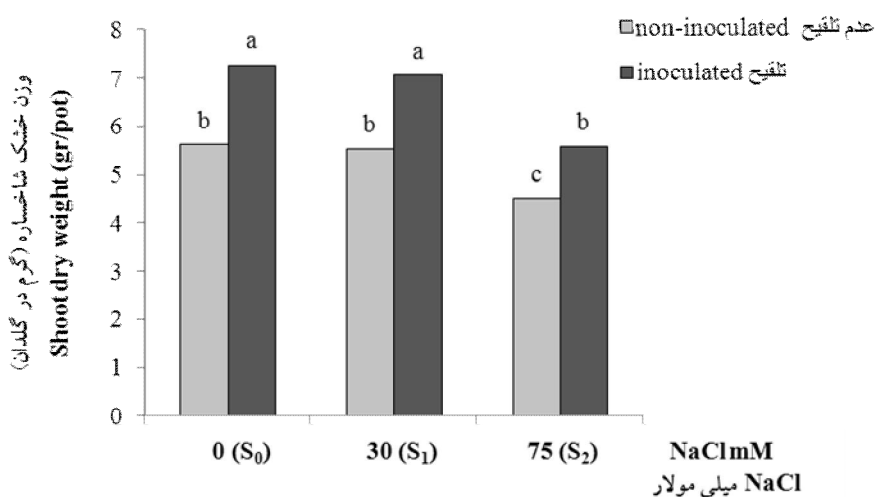
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک شاخساره و ریشه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز.

**Table 1. The variance analysis effect of different treatments on root and shoot dry weight and activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidase.**

میانگین مربعات Average of squares				درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
پراکسیداز Peroxidas ( $\Delta A_{290} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}_{\text{protein}}$ )	کاتالاز Catalase ( $\Delta A_{290} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}_{\text{protein}}$ )	وزن خشک ریشه (گرم بر گلدان) Root dry weight (gr/pot)	وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان) Shoot dry weight (gr/pot)		
67.2**	0.001**	3.43**	9.1**	1	باکتری (Bacteria)
9.5*	0.031**	0.97**	3.5**	2	شوری (Salinity)
13**	0.007**	0.02*	0.13*	3	باکتری × شوری (Bacteria × Salinity)
0.002	0.00004	0.005	3	10	خطای آزمایش (Experiment error)

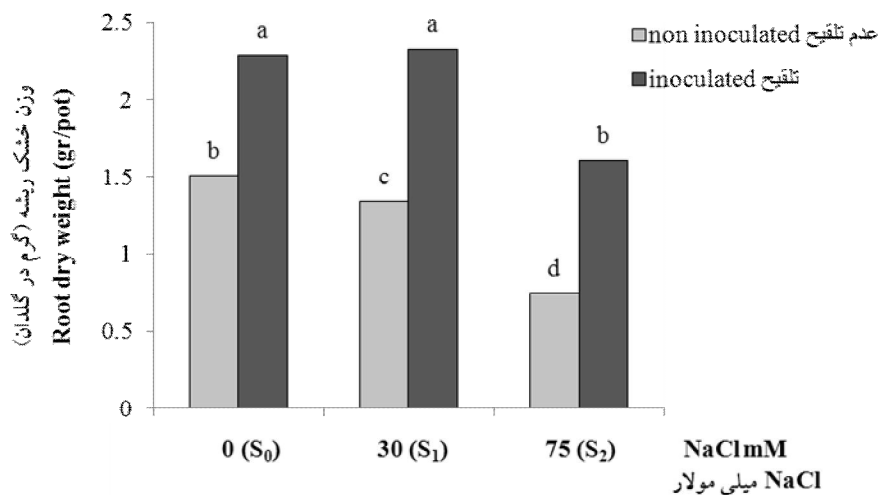
\*\*، \* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی داری.

\*\*، \* and <sup>ns</sup> significant at the 1%, 5% and no significant, Respectively.



شکل ۱- مقایسه وزن خشک شاخساره گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

**Figure 1. Comparison shoot dry weight of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.**



شکل ۲- مقایسه وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

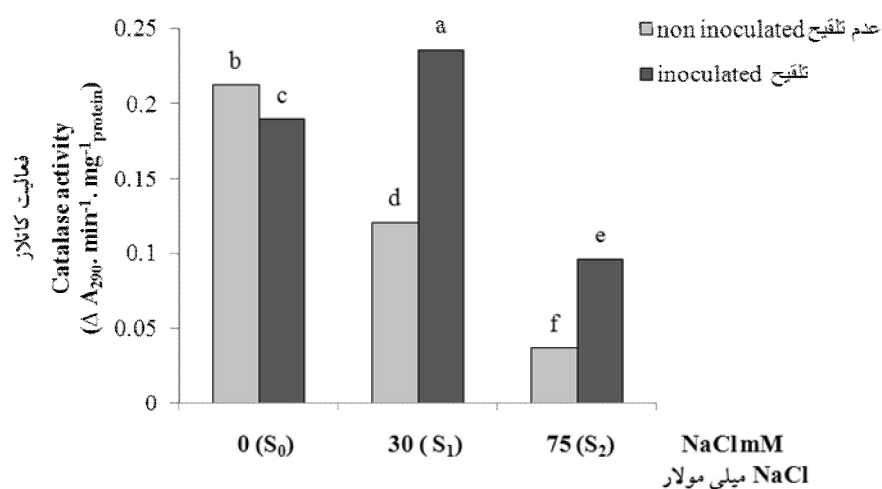
Figure 2. Comparison root dry weight of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

فعالیت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۲۱). این امر نشان می‌دهد که به‌علت رابطه ضعیف آنزیم کاتالاز با پیش ماده خود، عاملی در جهت محدود نمودن عمل محافظتی کاتالاز دخالت نموده و باعث غیرفعال شدن فعالیت آنزیم کاتالاز گردیده است (۲۰). مطابق با نتایج این پژوهش، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش سطح شوری در ارقام مختلف گندم گزارش شده است (۲۴). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub> نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی ریزوبیومی به‌ترتیب به مقدار ۱۹۶ و ۲۵۹ درصد افزایش یافت، اما تلقیح باکتریایی در سطح شوری S<sub>0</sub> موجب کاهش ۱۲ درصدی فعالیت این آنزیم شد (شکل ۳). این در حالی است که باکتری ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان را در هر سه سطح شوری به‌ترتیب به مقدار ۹۳، ۷۳ و ۷ درصد نسبت به گیاهان فاقد تلقیح افزایش داد (شکل ۴). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه چغندر تلقیح‌شده با باکتری محرک رشد گیاه در شرایط تنش شوری گزارش شده است (۲۲).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل‌های باکتری، شوری و برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۱ درصد بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شدند (جدول ۱). آنزیم کاتالاز به‌طور منحصر به فردی تبدیل رادیکال پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را انجام می‌دهد و بدین ترتیب گیاه را در برابر آسیب‌های ناشی از تنش محافظت می‌کند (۳۹). آنزیم پراکسیداز نیز یکی از آنزیم‌های مهم از بین برنده پراکسید هیدروژن در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌باشد (۶). نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که در گیاهان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش سطح شوری فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل‌های ۳ و ۴). تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور گسترده در بسیاری از گیاهان تحت تنش گزارش شده است. به‌طوری‌که بسته به گونه گیاهی و نوع تنش، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خاصی جهت تحمل فعال می‌شوند (۴). مطالعات نشان می‌دهد که افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار

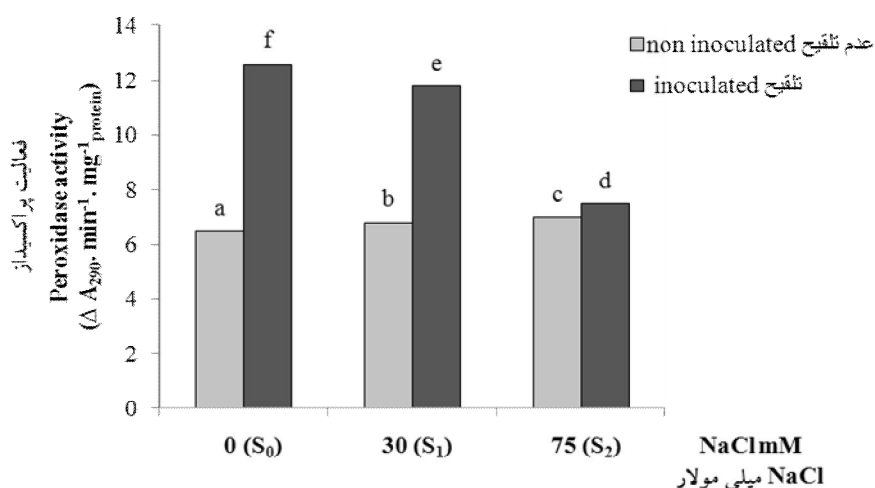
مهم‌ترین اثرات نامطلوب تنش شوری بر گیاه و فرایندهای فیزیولوژیکی مهم گیاهی می‌باشد. با توجه به نقش مهم آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در حذف رادیکال سمی پراکسید هیدروژن در شرایط تنش‌های مختلف، بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در تیمارهای ریزوبیومی، می‌تواند عاملی مؤثر در حذف گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری باشد.

توران و همکاران (۲۰۱۳) شان دادند که تلقیح توران و همکاران (۲۰۱۳) با گیاهان گندم و برنج، موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش سرما شد (۳۶). احتمالاً تولید متابولیت‌ها توسط باکتری‌های محرک رشد از جمله هورمون‌های محرک رشد نقش ویژه‌ای در تحریک و بیان پروتئین‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفا می‌کند. تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در سلول، یکی از



شکل ۳- مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 3. Comparison enzyme activity catalase of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



شکل ۴- مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 4. Comparison enzyme activity peroxidase of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



غلظت سدیم و پتاسیم شاخصاره: نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان‌دهنده آن است که اثرات ساده باکتری، شوری و برهمکنش باکتری و شوری بر غلظت پتاسیم و سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم در سطح ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر سدیم، پتاسیم، نیتروژن و فسفر.

**Table 2. The variance analysis effect of different treatments on element concentrations of sodium, potassium, nitrogen and phosphorous.**

میانگین مربعات Average of squares					درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
فسفر (گرم بر کیلوگرم) Phosphorous (gr/kg)	نیتروژن (گرم بر کیلوگرم) Nitrogen (gr/kg)	نسبت پتاسیم به سدیم Potassium/ Sodium	پتاسیم (گرم بر کیلوگرم) Potassium (gr/kg)	سدیم (گرم بر کیلوگرم) Sodium (gr/kg)		
348**	12**	38**	197**	3.7**	1	باکتری (Bacteria)
0.16ns	87**	38**	13**	45**	2	شوری (Salinity)
0.8ns	7*	16**	19**	1.5**	2	باکتری × شوری (Bacteria × Salinity)
368	1.1	0.4	2	0.1	10	خطای آزمایش (Experiment error)

\*\*، \* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

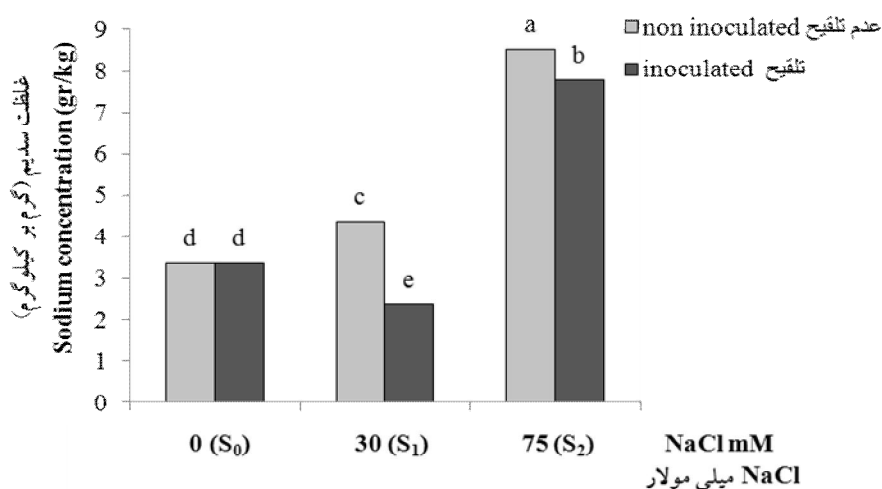
\*\*، \* and <sup>ns</sup> significant at the 1%, 5% and no significant, Respectively.

کاهش رشد گیاه می‌شود (۴۰). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری  $S_1$  و  $S_2$  نسبت به تیمار عدم تلقیح باکتری غلظت سدیم را به ترتیب به مقدار ۸۴ و ۱۰ درصد کاهش، غلظت پتاسیم را به ترتیب به مقدار ۵۰ و ۷۰ درصد و نیز نسبت پتاسیم به سدیم را به ترتیب به مقدار ۱۹۱ و ۹۳ درصد افزایش داد (شکل‌های ۵، ۶ و ۷). گیری و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزایش غلظت پتاسیم در شرایط تنش شوری می‌تواند اثرات مضر شوری بر رشد و عملکرد گیاه را کاهش دهد (۱۹). باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله ریزوبیوم‌ها از طریق تغییر در انتخاب‌پذیری یون‌های سدیم و پتاسیم جهت جذب توسط گیاه و در نتیجه محدود نمودن جذب سدیم، موجب افزایش جذب پتاسیم می‌شوند

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در گیاهان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش سطح شوری غلظت سدیم افزایش یافت (شکل ۵). افزایش غلظت سدیم می‌تواند به دلیل فراوانی یون‌های سدیم در محیط ریشه و کاهش رشد گیاه در اثر سمیت یون سدیم در سطوح شوری بالا (عکس اثر رقت) باشد. افزایش سطح شوری در گیاهان فاقد تلقیح، منجر به کاهش غلظت پتاسیم و به دنبال آن نسبت پتاسیم به سدیم شد اگرچه کاهش غلظت پتاسیم بین سطوح شوری  $S_1$  و  $S_2$  معنی‌دار نبود (شکل‌های ۶ و ۷). غلظت بیش‌تر سدیم نسبت به پتاسیم در محیط‌های شور و رقابت این یون با پتاسیم در فرایند جذب، سبب کاهش جذب پتاسیم و در نتیجه افزایش غلظت سدیم تا حد سمیت و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و نهایتاً

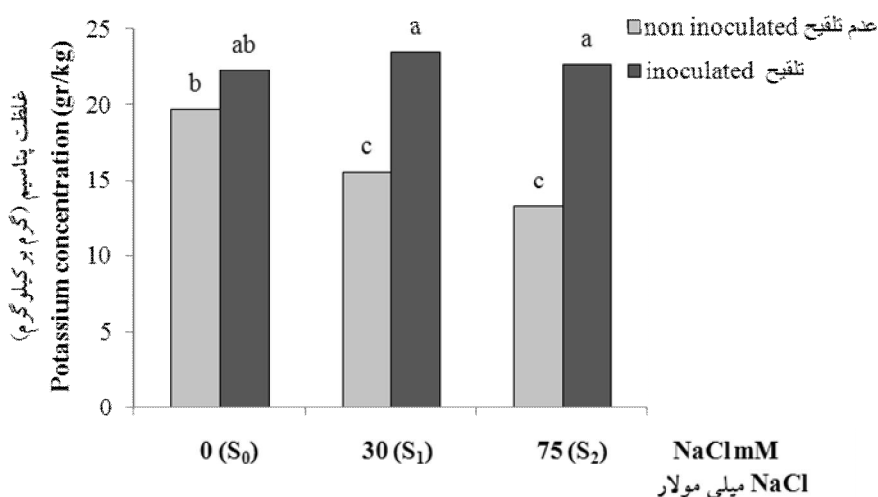
گزارش کردند که افزایش جمعیت باکتری‌های مولد پلی‌ساکاریدهای برون سلولی در منطقه ریشه، مقدار سدیم قابل دسترس برای جذب گیاه را کاهش و در نتیجه سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری می‌گردند (۷). همچنین باکتری‌های مقاوم به شوری از طریق برقراری پیوند سدیم با پلی‌ساکاریدهای سطحی، جذب این عنصر را کاهش می‌دهند (۳۵).

(۲۳). همچنین جذب ترجیحی پتاسیم در برگ‌ها می‌تواند به دلیل تغییرات ایجاد شده در فعالیت غشاء و در نتیجه ترشح پروتون از ریشه‌ها باشد (۲۷). کاهش غلظت سدیم در شاخساره نیز به کاهش میزان انتقال سدیم از ریشه‌ها به شاخساره و همچنین تولید پلی‌ساکاریدهای برون سلولی توسط باکتری همزیست نسبت داده می‌شود. اشرف و همکاران (۲۰۰۴)



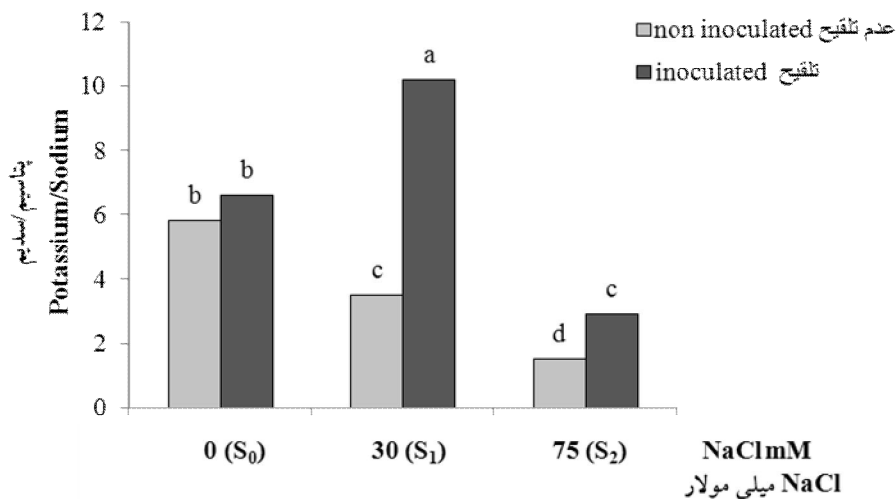
شکل ۵- مقایسه غلظت سدیم شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 5. Comparison sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



شکل ۶- مقایسه غلظت پتاسیم شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 6. Comparison potassium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



شکل ۷- مقایسه غلظت پتاسیم به سدیم شاخساره گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

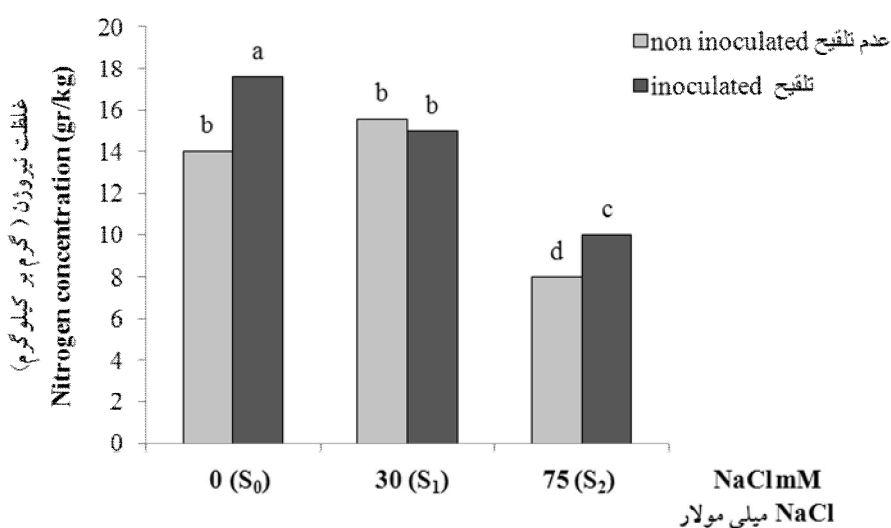
Figure 7. Comparison potassium concentration to sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

نشان داد که با افزایش شوری، غلظت نیتروژن شاخساره گیاهان تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم کاهش معنی داری یافت (شکل ۸). تاکنون مطالعات متعددی در مورد اثر تنش شوری بر فرایند گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در بقولات، انجام گرفته است که نتایج آن‌ها نشان‌دهنده اثر سوء تنش شوری بر فرایند تثبیت نیتروژن در اثر کاهش تنفس گره‌ها و کاهش تولید پروتئین‌های سیتوسولیک به‌خصوص لگ هموگلوبین می‌باشد (۱ و ۳۸). کاهش مقدار نیتروژن در بقولات، از اثرات مستقیم تنش املاح در فرایند تثبیت نیتروژن می‌باشد (۱۶). نتایج نشان می‌دهد که غلظت نیتروژن گیاهان تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S<sub>0</sub> و S<sub>2</sub> نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی ریزوبیومی به‌ترتیب به مقدار ۲۵/۷ و ۲۵ درصد افزایش یافت، اما اثر تلقیح باکتریایی در سطح شوری S<sub>1</sub> بر شاخص مذکور معنی دار نشد (شکل ۸). نتایج به‌دست آمده از یک پژوهش نشان داد که تلقیح باکتری ریزوبیوم در گیاه سویا موجب افزایش محتوای نیتروژن، وزن خشک گیاه و عملکرد دانه شد (۹).

غلظت نیتروژن شاخساره: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل‌های باکتری و شوری در سطح ۱ درصد و برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۵ درصد بر غلظت نیتروژن معنی دار شدند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که در گیاهان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش شوری از سطح S<sub>0</sub> به S<sub>1</sub> غلظت نیتروژن تغییری نکرد اما، با افزایش شوری تا سطح S<sub>2</sub> شاخص مذکور نسبت به سطوح شوری S<sub>0</sub> به S<sub>1</sub> کاهش معنی داری یافت (شکل ۸). برنشتاین و آگاتا (۱۹۶۶) گزارش کردند که با افزایش شوری، درصد نیتروژن در گیاهان سویا و یونجه کاهش می‌یابد. در شرایط شور یون کلر مانع از جذب نیترات می‌شود (۱۲). برخی از پژوهشگران رقابت یون‌های کلر و نیترات جهت جذب توسط گیاه را بررسی و بیان نمودند که رقابت موجود بین یون‌های مذکور به پتانسیل منفی سلول‌های ریشه، بار منفی این یون‌ها (کلر و نیترات) و جذب یون‌ها توسط سیستم‌های ناقل یکسان مربوط می‌گردد (۳۱). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش

نمودن جذب کلر موجب افزایش جذب نیترات در گیاه می‌شوند (۲۷). گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق افزایش تارهای کشنده و در نتیجه افزایش سطح ریشه‌ای نقش مهمی در عرضه عناصر متحرک مثل نیترات برای گیاه بر عهده دارند (۱۰). این نتیجه با نتایج حاصل از وزن خشک ریشه در این پژوهش هم‌خوانی دارد.

اهمیت ریزوبیوم بر زی‌توده شاخساره، فعالیت آنزیم نیترات‌رداکتاز و گره‌زایی توسط پژوهشگران گزارش شده است (۳۴). کاکماکی و همکاران (۲۰۰۷) افزایش فعالیت نیترات‌رداکتاز توسط باکتری‌های محرک رشد را عامل افزایش جذب نیتروژن در گیاهچه‌های گندم و اسفناج مطرح کردند (۱۳). همچنین کارلیداگ و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که در شرایط تنش شوری، باکتری‌های محرک رشد از طریق محدود

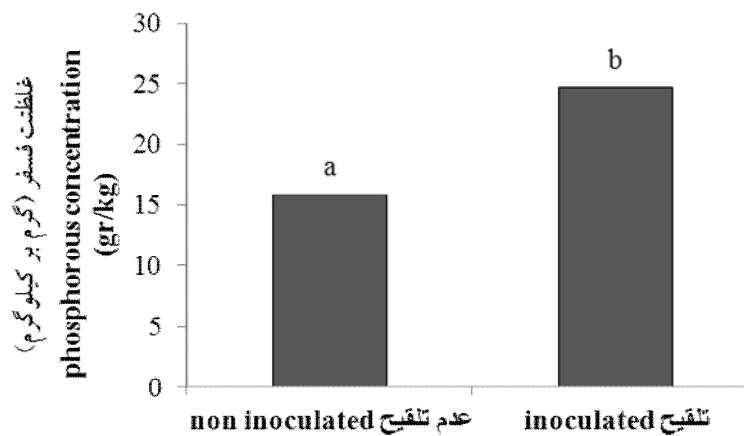


شکل ۸- مقایسه غلظت نیتروژن شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 8. Comparison nitrogen concentration to sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

۵۵ درصد نسبت به تیمار فاقد تلقیح باکتری افزایش داد (شکل ۹). باکتری‌های ریزوبیومی با تولید عوامل محرک رشد گیاه (۱۸) و در نتیجه تأثیر مثبت بر توسعه سیستم ریشه‌ای می‌توانند موجب افزایش جذب فسفر توسط گیاه شوند که نتایج مربوط به وزن خشک ریشه نیز به خوبی تأییدکننده این موضوع است.

غلظت فسفر شاخساره: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر باکتری بر غلظت فسفر در سطح ۱ درصد معنی‌دار است، اما عامل شوری و نیز برهمکنش باکتری و شوری فاقد تأثیر معنی‌دار بر شاخص مذکور بودند (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که تلقیح باکتری ریزوبیوم، غلظت فسفر را به‌میزان



شکل ۹- مقایسه غلظت فسفر شاخساره گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری ریزوبیوم.

Figure 9. Comparison phosphorous concentration concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium*.

تلقیح گیاه با باکتری ریزوبیوم موجب کاهش اثرات مضر شوری بر گیاه لوبیا گردید به طوری که، در سطوح مختلف شوری باعث افزایش تولید ماده خشک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت عناصر پتاسیم، نیتروژن و فسفر و کاهش غلظت سدیم موجود در شاخساره گیاه شد. به طور کلی می‌توان چنین بیان نمود که استفاده از زادمایه باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* به عنوان یک روشی اقتصادی می‌تواند در جهت بهبود رشد، تغذیه و افزایش توان تحمل گیاه لوبیا به تنش شوری معرفی گردد.

### نتیجه‌گیری کلی

شوری از مهم‌ترین تنش‌های محیطی مؤثر در کاهش رشد و عملکرد محصولات کشاورزی به‌ویژه بقولات محسوب می‌شود. از این رو، پیشنهاد روش‌های کم‌هزینه و قابل اجرا مانند بهره‌گیری از سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگومینوز به عنوان روشی جایگزین با روش‌های پرهزینه مانند مصرف کودهای شیمیایی در راستای نیل به کشاورزی پایدار از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری سبب کاهش رشد گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز و غلظت عناصر پتاسیم و نیتروژن و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت عنصر سدیم شد.

### منابع

1. Abdel-Wahab, H.H., and Zahran, H.H. 1979. Salt tolerance of *Rhizobium* species in broth culture. Z. Allg. Mikrobiol. 19: 681-685.
2. Abdel-Wahab, H.H., and Zahran, H.H. 1981. Effects of salt stress on nitrogenase activity and growth of four legumes. Biol. Plant (Praque). 23: 16-23.
3. Aebi, H. 1974. Catalase, P 673-677. In: H.U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York.
4. Appel, K., and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
5. Arzanesh, M.H., Alikhani, H.A., Khavazi, K., Rahimian, H.A., and Miransari, M. 2011. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum sp.* under drought stress. World J. Microbiol. Biotechnol. 27: 197-205.

6. Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plantarum*. 85: 235-241.
7. Ashraf, M., and McNielly, T. 2004. Salinity tolerance in *Brassica* oil seeds. *Crit. Rev. Plant Sci*. 23: 157-174.
8. Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., and Mahmood, T. 2004. Inoculation wheat seedlings with exopolysaccharides producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol. Fertil. Soils*. 40: 157-162.
9. Bagyaraj, D.J., Manjunath, A., and Patil, R.B. 1979. Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. *New Phytol*. 82: 141-145.
10. Baset Mia, M.A., Shamsuddin, Z.H., and Maziah, M. 2010. Use of plant growth promoting bacteria in banana: A new insight for sustainable banana production. *Int. J. Agri Biol*. 12: 459-467.
11. Ben-Gal, A., and Shani, U. 2002. Yield, transpiration and growth of tomatoes under combined excess boron and salinity stress. *Plant soil*. 247: 211-221.
12. Bernstein, L., and Ogata, G. 1966. Effects of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean and alfalfa. *Agron. J*. 58: 201-203.
13. Cakmakci, R., Erat, M., Erdog, U., and Donmez, M.F. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci*. 170: 288-295.
14. Chapman, H.D., and Pratt, P.F. 1961. *Methods of analysis for soil, plant and water*, Univ. of Calif., Div. of Agric. Sci., Riverside, CA.
15. Cordovilla, M.P., Ligerio, F., and Liuch, C. 1995. Influence of host genotypes on growth, symbiotic performance and nitrogen assimilation in Faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Plant Soil*. 172: 289-297.
16. Cordovilla, M.P., Ocana, A., Ligerio, F., and Liuch, C. 1995. Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-*Rhizobium* symbiosis. *J. Plant Nutr*. 18: 1595-1609.
17. El-sheikh, E.A.E., and Wood, M. 1995. Nodulation and fixation by soybean inoculated with salt-tolerant rhizobia or salt-sensitive *bradyrhizobia* in saline soil. *Soil Biol. Biochem*. 27: 657-661.
18. Fuentes-Ramirez, L.E., and Caballero-Mellado, J. 2005. Bacterial biofertilizers, P 143-172. In: Z.A. Siddiqui (Ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Netherlands.
19. Giri, B., Kapoor, R., and Mukerji, K.G. 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhizal, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microb. Ecol*. 54: 753-760.
20. Gramer, G.R. 2002. Response of abscisic acid mutant of *Arabidopsis* to salinity. *Functional Plant Biol*. 29: 561-567.
21. Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A., and Coban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought and salt stress, I: Growth, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Commun. Soil Sci. Plant Nutr*. 39: 1885-1903.
22. Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Nookaraju, A., Venkatesh, J., and Park, S.W. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *J. Plant Growth Regul*. 32: 245-258.
23. Hamdia, M.A., Shaddad, M.A.K., and Doaa, M.M. 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regul*. 44: 165-174.
24. Heidari, M., and Mesri, F. 2008. Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. *Pakistan J. Biol. Sci*. 11: 1385-1389.
25. Hosseini, Y., Homae, M., Karimian, N., and Saadat, S. 2009. Modeling of canola response to combined salinity and nitrogen stresses. *J. Sci. Technol. Agri. Nat. Res*. 12: 721-734. (In Persian)

26. Johnson, C., Stout, P., Broyer, T.C., and Carlton, A.B. 1957. Comparative chlorine requirements of different plant species. *Plant Soil*. 8: 337-353.
27. Karlidag, H., Esitken, A., Yildirim, E., Figen-Donmez, M., and Turan, M. 2011. Effects of plant growth promoting bacteria on yield, growth, leaf water content, membrane permeability and ionic composition of strawberry under saline conditions. *J. Plant Nutr.* 34: 34-45.
28. Kohlera, J., Hernandezb, J.A., Caravacaa, F., and Roldana, A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 65: 245-252.
29. Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
30. Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.
31. Pope, A.L., and Leigh, R.A. 1990. Characterization of chloride transport at the tonoplast of higher plants using a chloride-sensitive fluorescent probe. Effects of other anions, membrane potential and transport inhibitors. *Planta*. 181: 406-413.
32. Poustini, K., and Siosemardeh, A. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Res.* 85: 125-133.
33. Rao, M.V., Paliyath, G., and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 110: 125-136.
34. Scheublin, T.R., Ridgway, K.P., Young, J.P.W., and Van Der Heijden, M.G.A. 2004. Non legumes, legumes and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 6240-6246.
35. Siddikee, A., Glick, B.R., Chauhan, S., Yim, W., and Sa, T. 2011. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halo tolerant bacteria containing 1 aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiol. Biochem.* 49: 427-434.
36. Turan, M., Güllüce, M., Çakmak, R., and Şahin, F. 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. *J. Plant Nutr.* 36: 731-748.
37. Vazquez, M.M., Barea, J.M., and Azcon, R. 2001. Impact of soil nitrogen concentration on *Glomus spp. Sinorhizobium* interactions as affecting growth nitrate reductase activity and protein content of *Medicago sativa*. *Biol. Fertil. Soils*. 34: 57- 63.
38. Walsh, K.B. 1995. Physiology of the legume nodule and its response to stress. *Soil Biol. Biochem.* 27: 637-655.
39. Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D., and Van Camp, W. 1997. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16: 4806-4816.
40. Zahir, Z.A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S.M., and Asghar, H.N. 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia sp.* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch. Microbiol.* 191: 415-424.



**Influence of *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria on growth,  
activity of antioxidant enzymes and nutrient uptake of common bean  
(*Phaseolus vulgaris*) under salinity stress**

**M. Sepehri<sup>1</sup>, \*V. Jahandideh Mahjen Abadi<sup>2</sup>, H. Asadi Rahmani<sup>3</sup>  
and A. Sadeghi Hosni<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Shiraz University, <sup>2</sup>Ph.D. Student, Dept. of Soil Science,  
Shiraz University, <sup>3</sup>Research Associate Prof., Soil and Water Research Institute, <sup>4</sup>M.Sc. Graduate,  
Dept. of Soil Science, Isfahan University of Technology

Received: 04/20/2014; Accepted: 10/28/2014

**Abstract**

**Background and Objectives:** Salinity is the most common environmental stress which have endangered successful crops production. The vast cultivated areas in Iran are located in arid and semi-arid parts and these plants are subject to adverse environmental conditions, hence to increase plants tolerance to environmental stresses mostly due to exceeding soil salts mineral is important in terms of yield losses. Biological methods based on soil useful microorganisms' potentials in creating symbiosis relationship to plants can increase crops yields per unit area by changing their genetic structure, improving their cultivation in saline, dry soils or biotic and abiotic stresses. This research investigate the potential of *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria to improve growth, nutritional status and increase antioxidant enzyme activities (catalase and peroxidase) of common bean (*Akhtar cultivar*) in salinity stress condition.

**Materials and Methods:** The greenhouse experiment was conducted as a factorial design in completely randomized with three replications by using the sterile sand-perlite (2:1 v/v) as a culture substrate at three levels of salinity of S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub> and S<sub>2</sub> (0, 35 and 70 mM sodium chloride, or 0, 3 and 6 ds/m, respectively) in soilless research center located in Isfahan university of technology.

**Results:** The results showed that salinity stress decreased plant growth, regardless of microbial treatment and stress level. The inoculated plants with *rhizobium* bacteria had greater shoot and root biomass than the non-inoculated plants at all salinity levels. Salinity stress decreased antioxidant enzyme activity catalase and potassium and nitrogen concentrations of shoot and increased antioxidant enzyme activity peroxidase sodium concentration of shoot, particularly in non-inoculated plants with *rhizobium* bacteria. At salinity levels of S<sub>1</sub> and S<sub>2</sub>, antioxidant enzyme activity catalase of inoculated plants with *rhizobium* bacteria about 196% and 259% and antioxidant enzyme activity peroxidase about 93%, 73% and 7% was increased than the non-inoculated plants, respectively. Inoculation of *rhizobium* bacteria at salinity levels of S<sub>1</sub> and S<sub>2</sub>, resulted in increasing potassium concentration about 84% and 10% and decreasing sodium concentration about 50% and 70%, respectively. Also, the inoculated plants with *rhizobium* bacteria had higher nitrogen concentrations at S<sub>0</sub> and S<sub>2</sub> compared to the non-inoculated one. Shoot phosphorous concentration of inoculated plants with *rhizobium* bacteria was higher about 55% than the non-inoculated plants.

**Conclusion:** In general, inoculation of common bean (*Akhtar cultivar*) with *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria in this research, can serve as a useful method for alleviating deleterious effects of salinity stress.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, *Rhizobium*, Salinity, Nutrients, Bean

\* Corresponding Authors; Email: vahid.jahandideh67@gmail.com