تأثیر شوری بر برخی شاخص‌های رشد و پروتئین کل یونجه تلقیح شده با جدایه‌های باکتری *Sinorhizobium meliloti* در شرایط گلخانه

عاطفه فضائلی[۱*] و حسین بشارتی[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۱۷)

چکیده

این آزمایش گلخانه‌ای با هدف بررسی اثرهای شوری و تلقیح باکتریایی بر برخی شاخص‌های رشد و پروتئین کل یونجه (*Medicago sativa*) به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تأثیر سه سطح شوری آب (صفر ، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) ناشی از نمک‌های کلرید سدیم، کلرید منیزیم و کلرید کلسیم بر شاخص‌های رشد و پروتئین کل سه رقم یونجه (همدانی، قره یونجه و قارقالوق) در سه سطح تلقیح با باکتری ریزوبیوم (بدون باکتری، باکتری مقاوم به شوری و باکتری حساس به شوری) بررسی شد. 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 جزو باکتری‌های بسیار مؤثر از لحاظ همزیستی بودند، انتخاب شدند. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده نشان داد که با افزایش شوری، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال و غلظت نیتروژن به طور معنی‌داری در سطح ۱٪ کاهش یافت. تلقیح باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی (*Sinorhizobium meliloti*) مقاوم به شوری باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال و غلظت نیتروژن گیاه شد. هم‌چنین در شرایط شور، سویه باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری، اکثر شاخص‌های رشد و عملکرد یونجه را در مقایسه با تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری) و تیمار تلقیح با باکتری حساس به شوری، به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بین ارقام مختلف یونجه از لحاظ عملکرد و سایر شاخص‌ها در شرایط شور تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در مجموع، به نظر می‌رسد که از بین جدایه‌های جمع‌آوری شده، جدایه R59 مناسب‌ترین جدایه برای تلقیح یونجه رشد یافته در گلخانه در شرایط شور باشد.

واژه‌های کلیدی: تثبیت نیتروژن، سینوریزوبیوم ملیلوتی، شوری

مقدمه

امروزه از کشت هیدروپونیک در بسیاری از شرایط، از کشت مزرعه‌ای تا کشت گلخانه‌ای، برای کشت گیاهان در مناطق غیر زراعی، از طریق شیرین کردن آب‌های شور استفاده می‌کنند. این طرز کشت در کشورهای در حال توسعه توانست تولید متمرکز محصولات را در مناطق با امکانات محدود فراهم کند. هم‌چنین با توجه به محدودیت منابع آب و خاک و کیفیت آنها در بسیاری از کشورها، تولید علوفه از جمله یونجه در شرایط هیدروپونیک مورد توجه بوده و رو به گسترش می‌باشد (۲۵). یکی از عوامل مؤثر در کاهش تولید یونجه، شوری منابع آب و

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشگاه زنجان

۲. مؤسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: atefehfazaeli@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

خاک می‌باشد که بر کیفیت علوفه اثر می‌گذارد (۹). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های جهان، ۲۰٪ از زمین‌های کشاورزی و بیش از نیمی از اراضی تحت کشت آبی تحت تأثیر شوری قرار دارند (۴). در ایران، مساحت خاک‌هایی که به نوعی تحت تأثیر شوری قرار دارند بالغ بر ۳۲ میلیون هکتار است که نزدیک به ۱۹٪ از سطح کل کشور و ۵۵٪ از اراضی قابل کشت را شامل می‌شود (۳۱). مهمترین واکنش گیاه به شوری خاک یا آب، کاهش رشد است. اگر غلظت املاح به بیش از آستانه تحمل گیاه برسد، به موازات افزایش غلظت املاح محلول (شوری)، رشد گیاه کاهش می‌یابد، که البته آهنگ کاهش رشد در گیاهان مختلف متفاوت است (۲۷).

یونجه از مهمترین گیاهان علوفه‌ای است که از وسعت پراکندگی آن می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه قابلیت محصول‌دهی زیاد را در دامنه وسیعی از نظر خاک و شرایط اقلیمی دارا می‌باشد و حتی در شرایط سخت آب و هوایی نیز می‌تواند علوفه‌ای با کیفیت خوب تولید کند (۳). یونجه به دلیل دارا بودن سیستم ریشه‌ای 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 زیرزمینی را کاهش می‌دهد (۲۰). هم‌چنین به دلیل همزیستی با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در خاک، باعث حاصلخیزی و تقویت خاک می‌شود (۵). یونجه از جمله گیاهان نسبتاً حساس به شوری است، اما این لگوم تحمل کمتری به تنش شوری نسبت به ریزوبیوم همزیست خود دارد (۳۷). آستانه تحمل به شوری یونجه ۲ دسی‌زیمنس‌بر متر (معادل ۲۰ mM کلرید سدیم) و بیشینه تحمل به شوری آن ۱۶ دسی‌زیمنس‌بر متر (معادل ۱۶۰ mM کلرید سدیم) است (۳۲). ولی باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی ۳۰۰ تا ۷۰۰ میلی‌مولار NaCl (معادل ۳۰ تا ۷۰ دسی‌زیمنس بر متر) را تحمل می‌کند (۲۱).

دجیلیانوف و همکاران (۱۹) در مطالعه‌ای روی گیاه یونجه نشان دادند که زیست‌توده گره در شوری بیش از حد تحمل یونجه در تمام ژنوتیپ‌ها کاهش یافت و این کاهش با تغییرات در تسهیم کربوهیدرات و تعادل هورمونی همراه بود. تجرا و همکاران (۳۵) اظهار داشتند شوری، محتوای لگ هموگلوبین را در گره کاهش می دهد و سبز شدن درون گره را تسریع می‌کند که به عنوان شاخصی از پیری محسوب می گردد. زهران (۳۷) اظهار داشت که گره‌ها بیشترین تأثیر را از شوری می‌پذیرند. به طوری که در اثر شوری، تعداد و فعالیت آنها کاهش می‌یابد. تغییر شکل در ساختار گره و کوچک شدن آن در اثر تنش شوری می‌تواند از دلایل کاهش سرعت تثبیت نیتروژن در لگوم‌های تحت تنش شوری باشد (۳۷). فوگر و همکاران (۲۲) پی بردند که غلظت شوری ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl سبب کاهش تعداد، اندازه و تثبیت نیتروژن در گره می‌شود. به طور کلی رشد گیاه، جذب عناصر غذایی، سوخت و ساز و تولید پروتئین به میزان زیادی تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد (۱۷). گیاهان برای مقابله با تنش شوری، مواد تنظیم کننده فشار اسمزی ساخته و در سلول‌ها انباشته می‌نمایند که این مواد شامل اسیدهای آمینه (مانند پرولین)، قندها (نظیر مالات) و هورمون‌ها (مثل آبسیزیک اسید) می‌باشند (۱۱).

امروزه در برنامه‌ریزی برای سیستم‌های 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 مؤثر ریزوبیوم را در اختیار داشته باشد. به طوری که سیستم همزیستی بتواند با حداکثر توان و ظرفیت خود تثبیت نیتروژن را انجام دهد. برای نیل به این هدف، در صورتی که تعداد باکتری‌های ریزوبیوم در خاک کافی نباشد و یا انواع بومی از کارایی مناسبی برخوردار نباشند، تلقیح ریزوبیوم با بذر ضروری است. به طور مثال، نتایج حاصل از یک آزمایش نشان داد که تلقیح ریزوبیوم با گیاه لوبیا به بروز آثار مثبت ناشی از همزیستی ریزوبیوم- گیاه منجر نگردید، که این امر به وجود باکتری‌های بومی در محیط کشت گیاه و کاربرد نیتروژن زیاد نسبت داده شد (۲۳).

www.SID.ir

جدول ۱. نتایج رشد باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی در محیط‌های کشت با شوری متفاوت

شماره جدایه	میزان شوری محیط کشت YMA (دسی‌زیمنس بر متر)		
	۲۰	۴۰	۶۰
۵۹	+	+	+
۵۶	+	ضعیف	ضعیف
۵۱۰۱	+	+	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

تثبیت زیستی نیتروژن، علاوه بر نبودن معایب ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، دارای این مزیت است که در اکثر موارد انرژی فوق‌العاده زیاد مورد نیاز برای تبدیل N_2 به NH_3 از نور خورشید تأمین می‌گردد (۳۳). پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرهای شوری بر جذب نیتروژن، تولید پروتئین، برخی ویژگی‌های زراعی ارقام یونجه و وضعیت گره‌های تثبیت کننده نیتروژن در سه سطح باکتری در شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

کشت یونجه در گلخانه‌ای با دمای ۲±۲۸ سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد، در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه سطح شوری (صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شامل مخلوط نمک‌های $NaCl + CaCl_2 + MgCl_2$)، سه سطح باکتری (بدون باکتری، باکتری مقاوم به شوری و باکتری حساس به شوری)، سه رقم یونجه (*Medicago sativa*) (همدانی، قره‌یونجه و قارقالوق) در سه تکرار انجام گرفت، به طوری که در هر تکرار ۲۷ گلدان بود. قبل از شروع آزمایش مراحل زیر به ترتیب انجام شد:

۱. جداسازی و خالص سازی جدایه‌های باکتری همزیست با یونجه از خاک‌های مختلف مزارع زیر کشت ارقام مختلف یونجه در استان تهران. از مزارع مذکور، بوته‌های سالم انتخاب و کل سیستم ریشه‌ای گیاهان از خاک خارج و پس از شستشو، غده‌ها از ریشه جدا و در ظروف حاوی سیلیکاژل به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، گره‌های ریشه پس از استریل سطحی در سرم فیزیولوژیک له شده و تعلیق حاصل از گره‌ها در سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت اختصاصی ریزوبیوم‌ها پخش شده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند (۱۲).

۲. برای 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 صفر، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در سه تکرار کشت شده و در شرایط مناسب (۳۰-۲۸ درجه سلسیوس) انکوباسیون شدند. پس از گذشت ۵-۷ روز، قطر کلونی‌ها با شاهد (بدون NaCl) مقایسه شده و به صورت کیفی به سه گروه حساس (باکتری‌هایی که قادر به رشد در ۴۰۰ میلی‌مولار NaCl نبودند)، نیمه مقاوم و مقاوم (باکتری‌هایی که تا ۷۰۰ میلی‌مولار NaCl را تحمل نمودند) گروه‌بندی شدند (۲۹) (جدول ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای آزمایش گلخانه‌ای

عمق (cm)	EC (dS/m)	pH	N_t	آهک معادل	کربن آلی	رس	سیلت	شن	بافت خاک	Fe	Zn	Cu	Mn	P	K
					درصد					میلی‌گرم در کیلوگرم خاک					
۰-۳۰	۱/۴	۸	۰/۰۶۴	۹	۱/۱۵	۲۲/۷	۴۵/۲	۳۲/۱	لوم	۱/۵۸	۰/۲۲	۱/۲۴	۱/۶۴	۳/۲۰	۲۱۶

۳. تعیین میزان مؤثر بودن همزیستی (Symbiotic Effectiveness, SE) بر اساس روش بک و همکاران (۱۲).

این مرحله در چهار تکرار انجام شد و گیاهان (یونجه رقم بمی) کشت شده به مدت یک دوره رویشی (حداقل سه ماه) در شرایط مناسب (در اتاقک رشد با دمای بیشینه ۲۸ درجه و کمینه ۱۸ درجه سلسیوس و شدت نور حدود ۱۰ هزار لوکس) و در لوله آزمایش تحت تأثیر تیمار نیتروژن و باکتری قرار گرفتند. سپس گیاهان برداشت شده و وزن خشک بخش هوایی آنها اندازه‌گیری گردید. میزان SE ازرابطه زیر محاسبه شد:

$$SE = ((d_2 - d_0) / (d_1 - d_0)) \times 100 \qquad [1]$$

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 کیلوگرم

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

داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد و درجه‌بندی کارایی همزیستی جدایه‌های ریزوبیومی مطابق روش پیشنهادی وینسنت (۳۵) انجام شد.

۴. با توجه به نتایج دو آزمون انجام شده روی جدایه‌ها (جدول ۱)، دو جدایه حساس و مقاوم به شوری که جزو باکتری‌های خیلی مؤثر از نظر کارایی همزیستی (SE ٪۱۰۰ <) بودند، انتخاب گردیدند تا در آزمایش گلخانه‌ای به بذرهای یونجه تلقیح شوند. پس از بررسی وضعیت رشد ۱۰ جدایه سینوریزوبیوم ملیلوتی در محیط کشت TY 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 ۱ آمده است. از بین ۱۰ جدایه باکتری فوق دو جدایه ۵۹ و ۳۶ انتخاب و در محیط کشت YMA (Yeast Manitol Agar) تکثیر شدند تا به بذرها تلقیح شوند. جدایه‌ها در محیط TY حاوی مقادیر مختلف نمک بررسی شدند و از محیط کشت YMA برای تکثیر باکتری‌ها استفاده شد (باکتری‌ها در محیط YMA حاوی نمک بررسی نشدند). کارایی همزیستی جدایه‌های شماره ۵۹ و ۳۶ به ترتیب ۱۱۰/۷٪ و ۱۲۲/۳٪ بود.

۵. بذرهای سالم و هم‌اندازه یونجه انتخاب و با محلول اتانول ۹۵٪ و هیپوکلرید سدیم ۵٪ استریل سطحی شدند (۳۰). بذرهای استریل یونجه در انکوباتور جوانه‌دار شدند (۷).

خاک جمع‌آوری شده از ۲۰ منطقه 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 (جدول ۲) با توجه به نتایج تجزیه خاک، معادل ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود سوپر فسفات تریپل در گلدان‌ها به صورت محلول در آب مصرف شد و باتوجه به اینکه کمبودی در خاک وجود نداشت، سایر عناصر مصرف نشدند. لازم به ذکر است که معادل ۲۰ کیلوگرم در هکتار اوره به عنوان آغاز کننده نیز به‌صورت محلول مصرف گردید.

پس از آماده سازی گلدان‌های سه کیلوگرمی، به هر بذر ۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح ریزوبیومی (جمعیت باکتریایی ۱۰۸ Cfu/ml بود) تلقیح شد. گلدان‌ها تا مرحله ظهور برگ‌ها با آب معمولی

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	نسبت وزن خشک ریشه به ساقه	تعداد گره‌های فعال در گلدان	غلظت نیتروژن	میزان پروتئین
باکتری (R)	۲	۲/۶۷۵ **	۰/۴۴۹**	۰/۷۴۴**	۱/۷۸۳**	۳/۶۴۸**	۲۱۸۲۱/۱۲۳**	۷/۱۴۷**	۲۷۹/۲**
رقم (V)	۲	۰/۰۳۵^{ns}	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۱۵^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۸۷^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۰/۱۶^{ns}
شوری (S)	۲	۳/۳۴۸**	۰/۳۷۹**	۱/۶۳۷**	۰/۴۲۶**	۱/۳۱۷*	۲۷۱۰/۰۱۲**	۲/۸۳۷**	۱۱/۸۲**
V × R	۴	۰/۰۳۴^{ns}	۰/۰۲۳^{ns}	۰/۰۲۱^{ns}	۰/۰۲۵^{ns}	۰/۸۲۶^{ns}	۰/۵۳۱^{ns}	۰/۰۳۶^{ns}	۱/۵۲^{ns}
R × S	۴	۰/۹۸۴**	۰/۱۱۱**	۰/۴۷۱**	۰/۲۰۷**	۱/۰۰۱^{ns}	۱۵۴۴/۶۰۵**	۰/۹۴۸**	۳۷/۰۳**
V × S	۴	۰/۰۸۴^{ns}	۰/۰۱۶^{ns}	۰/۰۲۲^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۲۵۹^{ns}	۱/۰۸۶^{ns}	۰/۰۴۸^{ns}	۱/۸۶^{ns}
R ×V × S	۸	۰/۱۶۶^{ns}	۰/۰۲۵^{ns}	۰/۰۵۱^{ns}	۰/۰۱۵^{ns}	۰/۰۳۷^{ns}	۰/۷۹^{ns}	۰/۰۲۷^{ns}	۱/۰۵^{ns}
خطا	۵۲	۱/۰۸۲	۰/۳۴۹	۰/۳۳۵	۰/۲۰۱	۱/۷۹۵	۳/۸۹۷	۰/۰۲۰	۰/۰۸
CV (٪)		۷/۲	۷/۴۳	۳/۵	۵/۰۷	۱۰/۴۲	۵/۲۳	۴/۳۵	۴/۳۵

** ، * به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ ، ns عدم معنی‌داری است.

آبیاری شدند و سپس تیمار شوری اعمال شد. هر بار با در نظر گرفتن نیاز آبی و آبشویی، گلدان‌ها آبیاری می‌شدند تا EC آب خروجی از گلدان‌ها تقریباً برابر EC ورودی (تیمار مورد نظر) باشد (۲). مقدار آب آبیاری استفاده شده با لحاظ کردن در حدود ۱۵٪ جزء آبشویی محاسبه شد تا EC آب خروجی تقریباً برابر با EC آب آبیاری باشد. قابل ذکر است که نسبت سدیم جذب سطحی شده (SAR) در محلول با شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر برابر ۹/۵۲ (مقدار NaCl، $CaCl_2$ و $MgCl_2$ به ترتیب ۴/۲۱، ۲/۶۶ و ۴/۸۸ گرم در لیتر) و در محلول با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر برابر با ۹/۴۷ (مقدار NaCl، $CaCl_2$ و $MgCl_2$ به ترتیب ۶/۹، ۸/۶ و ۱۲/۵ گرم در لیتر) بود. به دلیل اینکه بیشترین میزان تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه گل‌دهی در گیاه یونجه رخ می‌دهد (۱۹)، گیاهان در مرحله شروع گل‌دهی در گیاه شاهد برداشت و وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد گره‌های فعال، غلظت نیتروژن و پروتئین آنها اندازه‌گیری شد. غلظت نیتروژن به روش کجلدال به دست آمد (۱۸) و محتوی پروتئین با ضرب کردن نیتروژن کل در ۶/۲۵ محاسبه شد (۳۵). گره‌های فعال دارای رنگ صورتی می‌باشند. لذا بعد از جدا کردن گره از ریشه، برشی در آن ایجاد و رنگ گره بررسی شد (۲۷). نتایج آزمایش توسط نرم‌افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

از آنجا که بین میانگین ارقام مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطوح مختلف شوری و باکتری در مورد ویژگی‌های بررسی شده مشاهده نشد (جدول ۳)، لذا در تفسیر نتایج، از عنوان کلی یونجه استفاده می‌گردد.

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه یونجه با افزایش شوری، کاهش معنی‌داری یافت. به‌طوری که میانگین وزن خشک اندام هوایی در شوری‌های ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۴ و ۱۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۴). وزن خشک ریشه تحت تأثیر شوری حدود ۸/۷ تا ۱۳/۲۲ درصد (به ترتیب در سطوح ۶ و ۱۲

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴. اثر شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه یونجه

سطح شوری (dS/m)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گلدان)	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)
۰	۱/۱۷a	۱/۳۲a
۶	۱/۱۲b	۱/۲۱b
۱۲	۱/۰۱c	۱/۱۵c
میانگین	۱/۱	۱/۲

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۵. اثر باکتری بر وزن خشک ریشه به ساقه در گیاه یونجه

سطح باکتری	وزن خشک ریشه به ساقه (گرم در گلدان)
بدون باکتری	۱/۳۶b
باکتری حساس	۱/۲۸b
باکتری مقاوم	۱/۷۷a
میانگین	۱/۴۷

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

دسی‌زیمنس بر متر) کاهش یافت. مس و هافمن (۲۸) اظهار داشتند یونجه گیاهی است نسبتاً حساس به شوری و آستانه تحمل آن شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر است. این پژوهشگران هم‌چنین عنوان نمودند که در شوری‌های ۳/۴، ۵/۴، ۸/۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر عملکرد یونجه به ترتیب ۹۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۵٪ می‌باشد. گالشی (۶) اظهار نمود که 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 نفوذ باکتری به ریشه و گره‌بندی و هم‌چنین کاهش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها، در کاهش رشد ریشه در خاک‌های شور مؤثر می‌باشند.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) اثرهای اصلی باکتری و شوری بر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود. ولی اثرهای متقابل باکتری و شوری بر صفت مذکور معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین سطوح باکتری (جدول ۵) نشان داد که 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 نشان دهنده این است که باکتری R59 نسبت به باکتری R36 مقاومت به شوری بیشتری را در گیاه ایجاد می‌کند.

با افزایش شوری از ۶ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۶). گراهام و وانس (۲۴) اظهار داشتند که رشد گیاه وابسته به فشار تورژسانس سلولی است و چنانچه 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 (۳۵) بیان کردند که اثر منفی شوری بر وزن خشک شاخساره بیشتر از وزن خشک ریشه است. بنابراین شاخساره به شوری حساستر از ریشه است.

تلقیح باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی بر درصد وزن

www.SID.ir

جدول ۶. اثر شوری بر وزن خشک ریشه به ساقه در گیاه یونجه

سطح شوری (dS/m)	وزن خشک ریشه به ساقه (گرم در گلدان)
۰	۱/۵۰ab
۶	۱/۳۰b
۱۲	۱/۶a
میانگین	۱/۵

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

جدول ۷. اثر باکتری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه یونجه

سطح باکتری	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گلدان)	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)
بدون باکتری	۱/۰۱ c	۱/۰۸ c
باکتری حساس	۱/۱۲ b	۱/۱۷ b
باکتری مقاوم	۱/۱۷a	۱/۴۳ a
میانگین	۱/۱	۱/۲۲

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

خشک اندام هوایی و ریشه مؤثر بود (جدول ۷). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های باکتری از لحاظ تأثیر بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه به‌دست آمد. کاربرد باکتری R59 میانگین وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به ترتیب ۱۸/۰۵ و ۳۲/۶۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. در صورتی که این افزایش با کاربرد باکتری R36 به ترتیب ۱۱/۳۶ و ۸/۹۱ درصد بود. در نتیجه، همانطور که ملاحظه می‌شود باکتری R59 وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به‌طور معنی‌داری بیشتر از باکتری R36 افزایش می‌دهد. مطهری (۸) با مطالعه آثار تلقیح شش سویه متفاوت از باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی به دو رقم گیاه یونجه بمی و آمریکایی گزارش داد که بیشترین وزن خشک ریشه گیاه مربوط به هر دو رقم بمی و آمریکایی تلقیح شده با سویه‌های *nifk(pSRK9)* و *W.T(pSRK9)* بود و گیاهان تلقیح شده با این سویه‌ها به مراتب وزن خشک بیشتری را نسبت به گیاهان تلقیح شده با سویه‌های *W.T*، *nifH*، *nifK* و *nifH(pSRK9)* نشان دادند.

تأثیر متقابل باکتری و شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه معنی‌دار گردید ($P<0/01$) (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸) نشان می‌دهد 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 معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با سویه‌های R36 و R59 مشاهده نشد. ولی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، باکتری R59 بیشترین وزن خشک ریشه و اندام هوایی را به خود اختصاص داد. هم‌چنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و باکتری بر وزن خشک ریشه (جدول ۸) نشان داد که 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 (بدون تلقیح باکتری) عمل کرده است. ولی این کاهش در گیاهان

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۸. اثرهای متقابل باکتری و شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه یونجه

سطح باکتری	وزن خشک اندام هوایی				وزن خشک ریشه			
	سطح شوری (dS/m)				سطح شوری (dS/m)			
	۰	۶	۱۲	میانگین	۰	۶	۱۲	میانگین
بدون باکتری	۱/۰۹ bc	۱/۰۴ cd	۰/۸۸ e	۱/۰	۱/۲۳ c	۱/۰۵ e	۰/۹۶ f	۱/۰۸
باکتری حساس	۱/۲۲ a	۱/۱۵ ab	۰/۹۸ d	۱/۱۲	۱/۳۱ b	۱/۱۵ d	۱/۰۶ e	۱/۱۷
باکتری مقاوم	۱/۲۱ a	۱/۱۸ a	۱/۱۶ ab	۱/۱۸	۱/۴۳ a	۱/۴۳ a	۱/۴۳ a	۱/۴۳
میانگین	۱/۱۷	۱/۱۲	۱/۰	۱/۱	۱/۳۲	۱/۲۱	۱/۱۵	۱/۲۳

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (اعداد تا ۲ رقم بعد از اعشار گرد شده‌اند).

جدول ۹. اثر شوری بر تعداد گره‌های فعال در گلدان در گیاه یونجه

سطح شوری (dS/m)	تعداد گره‌های فعال
۰	۴۷/۷۴ a
۶	۳۷/۷ b
۱۲	۲۷/۷ c
میانگین	۳۷/۷۱

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

تلقیح شده با باکتری R59 معنی‌دار نبود. کوردوویا و همکاران (۱۶) با مطالعه روی چهار گیاه لگوم شامل باقلا، نخود، لوبیا و سویا گزارش نمودند که تنش شوری از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار روی رشد گیاه میزبان و باکتری تأثیر منفی گذاشته و همزیستی بین آنها، تثبیت نیتروژن و در آخر عملکرد را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌دهد.

تعداد گره‌های فعال در گلدان

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۹) نشان می‌دهد که با افزایش شوری، تعداد گره‌های فعال به طور معنی‌داری کاهش یافت. 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. کوردوویا و همکاران (۱۷) در آزمایشی روی گیاه باقلا بیان کردند که تنش شوری فعالیت کاهندگی استیلن و تعداد ریشه‌های موئی دارای رشته آلودگی را کاهش داد. آنها هم‌چنین اظهار داشتند که تمایز سلولی گره به وسیله 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 (۲۶) نشان دادند که تعداد گره‌های فعال و فعالیت نیترات ریداکتاز در ارقام یونجه با افزایش شوری کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. آنتراپر و دوبویس (۱۰) نشان دادند که تنش شوری باعث توقف رشد گیاه، کاهش فتوسنتز و کاهش گره‌زایی می‌شود.

تلقیح باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی بر تعداد گره‌های فعال در گلدان مؤثر بود (جدول ۱۰). 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. این امر ناشی از توان بالای باکتری در تلقیح ریشه می‌باشد. نژادهای مختلفی از باکتری ریزوبیوم در خاک وجود دارند که تأثیر آنها برمیزبان، توانایی آنها در تثبیت زیستی نیتروژن و مقابله با تنش‌های محیطی یکسان نیست. ابوالحسنی (۱) اظهار داشت تلقیح گیاهان

www.SID.ir

جدول ۱۰. اثر باکتری بر تعداد گره‌های فعال در گلدان در گیاه یونجه

سطح باکتری	تعداد گره‌های فعال در گلدان
بدون باکتری	۹/۵۱ c
باکتری حساس	۳۷/۲۶ b
باکتری مقاوم	۶۶/۳۷ a
میانگین	۳۷/۷۱

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۱۱. اثرهای متقابل باکتری و شوری بر تعداد گره‌های فعال در گلدان در گیاه یونجه

سطح باکتری	تعداد گره‌های فعال در گلدان سطح شوری (dS/m)			
	۰	۶	۱۲	میانگین
بدون باکتری	۱۲/۵۶ e	۱۱/۸۹ e	۴/۱۱ f	۹/۵۲
باکتری حساس	۶۳/۳۳ c	۳۴/۷۸ d	۱۳/۶۷ e	۳۷/۲۶
باکتری مقاوم	۶۷/۳۳ a	۶۶/۴ ab	۶۵/۳۳ b	۶۶/۳۵
میانگین	۴۷/۷۴	۳۷/۶۹	۲۷/۷۰	۳۷/۷۱

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

لگومینوز با جدایه‌های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی، تأثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم ریزوبیوم داشته و در نتیجه افزایش تعداد گره‌های فعال، تثبیت زیستی نیتروژن و افزایش عملکرد گیاه را به دنبال دارد.

اثر متقابل باکتری و شوری از نظر تأثیر بر تعداد گره اختلاف معنی‌داری (در سطح احتمال ۵٪) نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۱۱) نشان داد که با افزایش شوری در تیمار بدون تلقیح و گیاهان تلقیح شده با باکتری R36، تعداد گره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. ولی در گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 تفاوت معنی‌داری در سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر 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. بوردلو و پرووست (۱۵) 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.

غلظت نیتروژن و پروتئین کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد که تأثیر شوری بر غلظت نیتروژن و پروتئین در اندام هوایی معنی‌دار (در سطح احتمال ۱٪) گردید. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱۲) نشان داد که با افزایش شوری از صفر به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت نیتروژن و پروتئین در اندام هوایی به ترتیب ۸/۵ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. برنشتاین و اگاتا (۱۴) اظهار داشتند که با افزایش شوری، درصد نیتروژن در گیاهان سویا و یونجه کاهش می‌یابد.

با تلقیح باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی، غلظت نیتروژن و پروتئین در اندام هوایی گیاه یونجه افزایش یافت. ولی اختلاف معنی‌داری بین دو سویه باکتری تلقیح شده مشاهده

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱۲. اثر شوری بر غلظت نیتروژن و میزان پروتئین در گیاه یونجه

سطح شوری (dS/m)	غلظت نیتروژن (٪)	غلظت پروتئین (٪)
۰	۳/۵۹ a	۲۲/۴۱ a
۶	۳/۲۸b	۲۰/۵۱ b
۱۲	۲/۹۴ c	۱۸/۳۷ c
میانگین	۳/۲۷	۲۰/۴۳

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۱۳. اثر باکتری بر غلظت نیتروژن و میزان پروتئین در گیاه یونجه

سطح باکتری	غلظت نیتروژن (٪)	غلظت پروتئین (٪)
بدون باکتری	۲/۶۸ b	۱۶/۷۳ b
باکتری حساس	۳/۵۳ a	۲۲/۰۵ a
باکتری مقاوم	۳/۶۰ a	۲۲/۵۱ a
میانگین	۳/۲۷	۲۰/۴۳

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۱۴. اثرهای متقابل باکتری و شوری بر غلظت نیتروژن و میزان پروتئین در گیاه یونجه

سطح باکتری	غلظت نیتروژن (٪)* سطح شوری (dS/m)				غلظت پروتئین (٪) سطح شوری (dS/m)			
	۰	۶	۱۲	میانگین	۰	۶	۱۲	میانگین
بدون باکتری	۳/۴۱ bc	۲/۵۸ d	۲/۰۴ e	۲/۶۸	۲۱/۳۰ bc	۱۶/۱۳ d	۱۲/۷۵ e	۱۶/۷۳
باکتری حساس	۳/۶۶ a	۳/۶۲ a	۳/۳۰ c	۳/۵۲	۲۲/۸۷ a	۲۲/۶۴ a	۲۰/۶۴ c	۲۲/۰۵
باکتری مقاوم	۳/۶۹ a	۳/۶۴ a	۳/۴۷ b	۳/۶	۲۳/۰۸ a	۲۲/۷۵ a	۲۱/۷ b	۲۲/۵۱
میانگین	۳/۵۹	۳/۲۸	۲/۹۴	۳/۲۷	۲۲/۴۲	۲۰/۵۱	۱۸/۳۶	۲۰/۴۳

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

* با توجه به اهداف پژوهش، چون اندازه‌گیری نیتروژن خاک ضرورتی نداشته، لذا به اندازه‌گیری نیتروژن در گیاه اکتفا گردید.

نگردید (جدول ۱۳). به عبارت دیگر، سویه‌های R36 و R59 به یک میزان غلظت نیتروژن و پروتئین را افزایش دادند، گرچه از نظر عددی، سویه R59، غلظت نیتروژن و پروتئین کل بیشتری داشت که دلیل آن را می‌توان به مقاومت بیشتر این باکتری به شوری (جدول ۱) مربوط دانست. تافیک (۳۴) گزارش داد که ریزوباکترین، تحمل به شوری را در لوبیا چشم بلبلی به دلیل افزایش تجمع متابولیت‌های غیر سمی از قبیل قندها، پرولین، گلیسین و بتائین بهبود بخشید.

اثر متقابل تلقیح باکتری و کاربرد شوری بر غلظت نیتروژن و پروتئین کل (در سطح احتمال ۱٪) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین سطوح مورد بررسی بود (جدول ۳). در تیمار بدون تلقیح باکتری، با افزایش شوری غلظت نیتروژن به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۱۴). در گیاهان تلقیح شده با باکتری R36 با افزایش شوری از صفر به ۶ دسی‌زیمنس بر متر کاهش غلظت نیتروژن معنی‌دار نبود. ولی وقتی شوری از ۶ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت، کاهش معنی‌داری در

www.SID.ir

مقدار نیتروژن مشاهده شد. بیشترین درصد نیتروژن در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مربوط به باکتری R59 بود. این سویه از باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی توان تحمل شوری بالاتری نسبت به باکتری R36 داشته و لذا در شرایط شور برای تلقیح به ریشه یونجه قابل پیشنهاد است. بکی و همکاران (۱۳) ملاحظه نمودند که 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 شرایط شور، باکتری‌های جدا شده از گونه *M.ciliaris* برای تلقیح توصیه شدند.

نتیجه‌گیری

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 گره‌های فعال و غلظت نیتروژن و پروتئین یونجه به طور معنی‌داری کاهش یافت. باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی R59 باعث افزایش معنی‌دار ویژگی‌های فوق شد. تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه‌های بومی ریزوبیوم مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی علاوه بر کاهش آلودگی محیط زیست، باعث بهبود رشد گیاه می‌شود. طبق نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، تحت شرایط شوری، گیاهان تلقیح شده با باکتری R59 از رشد بهتر و درصد نیتروژن و پروتئین کل بیشتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند. لذا در شرایط شور، برای تلقیح به ریشه یونجه به ویژه در کشت‌های گلخانه‌ای که در سال‌های اخیر رو به گسترش است، این سویه پیشنهاد می‌شود.

منابع مورد استفاده

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. برین، م.، ن. علی اصغرزاده و ع. صمدی. ۱۳۸۵. اثر شوری حاصل از کلرید سدیم و مخلوط املاح بر غلظت پرولین و برخی شاخص‌های رشد گوجه‌فرنگی در همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۷(۱): ۱۳۹-۱۴۷.

۳. حیدری شریف‌آباد، ح. ۱۳۸۰. گیاه و شوری. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ۱۹۹ صفحه.

۴. رحیمی، ز.، م. کافی.، ا. نظامی و ح. ر. خزائی. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر سطوح شوری و سیلیسیم بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه گیاه خرفه. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۸(۳): ۴۸۲-۴۸۸.

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 ۱۵(۲): ۳-۱۱.

۷. لاله، س.، م. جامی‌الاحمدی.، ز. شریفی و و. اسلامی. ۱۳۹۰. تأثیر تنش شوری کلرید سدیم با سه روش آزمایشگاهی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۹(۱): ۱۹-۲۸.

۸. مطهری، م. ۱۳۸۳. مطالعه اثرات شوری روی تثبیت ازت آگروباکتریوم تومافاشینس در دو رقم گیاه یونجه بمی و آمریکایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۹. یارنیا، م.، ح. حیدری‌شریف‌آباد، ا. هاشمی دزفولی، ف. رحیم‌زاده خویی و ا. قلاوند. ۱۳۸۰. ارزیابی تحمل به شوری لاین‌های یونجه (*Medicago sativa*). مجله علوم زراعی ایران ۳(۲): ۱۲-۲۶.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Anthraper, A. and J. D. Dubois. 2003. The effect of NaCl on growth, N_2 fixation (acetylene reduction), and percentage of total nitrogen in *Leucaena leucocephala (Leguminosae)* Var. K. 81. J. Bot. 90(5): 683-692.
11. Aziz, A., J. Martin-Tanguy and F. Larher. 1999. Salt stress-induced proline accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf. J. Plant. Sci. 145: 83-91.
12. Beck, D. P., L. A. Materon and F. Afandi. 1993. Practical rhizobium–legume technology manual. Technical Manual No. 19, ICARDA, Aleppo.
13. Bekki, A., J. C. Trinchant and J. Rigaud. 2006. Nitrogen fixation (C_2H_2 reduction) by *Medicago* nodules and bacteroids under sodium chloride stress. J. Plant Physiol. 71: 61-67.
14. Bernstein, L. and G. Ogata. 1966. Effects of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean and alfalfa. Agron. J. 58: 201-203.
15. Bordeleau, L. M. and D. Provest. 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. Plant Soil. 161: 115-125.
16. 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.
17. Cordovilla, M. D. P., A. Ocana, F. Ligero and C. Lluch. 2003. Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-rhizobium symbiosis. J. Plant Nutr. 18: 1595-1609.
18. Cottenie, A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendation. FAO, Land and Water Development Division, Rome, Italy.
19. 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.
20. 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.
21. Embalomatis, A., D. K. Papacosta and P. KatinaKis. 1994. Evaluation of *Rhizobium meliloti* strains isolated from indigenous populations in northen Greece. J. Crop Sci. 172: 73-80.
22. 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.
23. Graham, P. H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: A review. Field Crops Res. 4: 93-112.
24. Graham, P. H. and C. P. Vance. 1999. Nitrogen fixation in perspective: An overview of research and extension needs. Field Crops Res. 65: 93-106.
25. Howard Resh, M. 2002. Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower. 6th ed. Newconcept Press, Inc. New Jersey 07430.USA.
26. 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.
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. J. Plant Physiol. 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. Namaki Shoshtari, A. 1997. Genetics and Molecular Characterisation of the *Agrobacterium* Nitrogen Fixation System. PhD Thesis, School of Biology, University of Leeds, England.
31. Pazira, E. and M. Homaee. 2003. Salt affected resources in Iranian extension and reclamation. Proc. Intl. Conf. on Water-saving Agric. and Sust. Use of Water and Land Resour. (ICWSAWLR), Oct. 26-29, Yangling, China.
32. Shannon, M. 1984. Breeding selection and genetics of salt tolerance. PP. 300-308. *In:* Staples, R. C. and G. H. Toenniessen (Eds.), Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement, Wiley, New York.
33. Sprent, J. I. and P. Sprent. 1990. Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects. Chapman and Hall, London.
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. Vincent, J. M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. IBP Handbook No. 15, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
37. Zahran, H. H. 1999. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbiol. Mol. Biol. 63: 968-989.

Archive of SID

www.SID.ir