

ارزیابی رشد، تثیت بیولوژیک نیتروژن و تحمل به شوری پنج رقم شبدر زیرزمینی (*Trifolium subterraneum* L.)

سرا ... گالشی و افشنین سلطانی

دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۸۰/۸/۹؛ تاریخ پذیرش: ۸۱/۳/۱۰

چکیده

تأثیر شوری (کلرورسدیم) بر رشد و تثیت بیولوژیک نیتروژن و همچنین ارزیابی تحمل به شوری پنج رقم شبدر زیرزمینی به نامهای گاس، یورک، ریورینا، دانمارک و گلبورن در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوكهای کامل تصادفی همراه با ۳ تکرار و تیمارهای صفر، ۰/۰۲ و ۰/۰۱ مولار کلرورسدیم مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در محیط کشت شن و آبیاری با محلول غذایی هوگلند بدون نیتروژن انجام شد. گیاهچه بعد از ۶۰ روز برداشت و تعداد گره، وزن خشک ریشه و پخش هواپی، برگ، سطح برگ هر بوته، نسبت K^+/Na^+ درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن اندازه گیری شد. نتایج نشان می دهد با افزایش شوری تعداد گره، سطح برگ، وزن خشک کل بوته، درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن و نسبت K^+/Na^+ کاهش می یابد. در حالیکه وزن مخصوص برگ روند افزایشی را نشان می دهد، بین تیمار ۰/۰۱ و صفر مولار کلرورسدیم از نظر تولید ماده خشک هر بوته اختلاف معنی داری وجود نداشت. مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده ارقام نشان داد که رقم گاس از نظر تولید گره، سطح برگ، ماده خشک هر بوته، درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن بهتر از سایر ارقام است، در حالیکه رقم گلبورن کمترین مقادیر را دارا بود. ارقام گاس و گلبورن نیز در مقایسه با شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین درصد کاهش نسبت K^+/Na^+ را در تیمار ۰/۰۲ مولار کلرورسدیم داشتند. بررسی میزان تحمل به شوری ارقام از طریق محاسبه شاخص حساسیت هر رقم نشان داد که رقم یورک، بیشترین و گلبورن کمترین تحمل را نسبت به شوری دارند. بنظر می رسد با توجه به تولید ماده خشک زیاد رقم گاس و کمتر بودن میزان حساسیت رقم یورک می توان از این دو رقم در برنامه های اصلاحی استفاده نمود. نتایج نشان داد که بین صفات اندازه گیری شده و نسبت K^+/Na^+ یک رابطه قوی مثبت وجود دارد. ولی به نظر می رسد رقم یورک در رابطه با تحمل به شوری از مکانیسم تنظیم نسبت K^+/Na^+ جهت تحمل به شوری کمتر استفاده کرده است.

واژه های کلیدی: شبدر زیرزمینی، شوری، تثیت بیولوژیک نیتروژن.

بر جوانه زنی و رشد ۱۵ رقم شبدر زیرزمینی مورد بررسی قرار دادند و دریافتند از این نظر بین ارقام اختلاف وجود دارد . شانون و نوبل (۱۹۹۵) دریافتند که با افزایش شوری از حد شاهد (بدون نمک) وزن خشک هوایی و سرعت رشد نسبی گیاه شبدر زیرزمینی کاهش می باید . بسیاری از گیاهان تحت شرایط شوری مقدار زیادی یون Na^+ از خاک دریافت می کنند که این امر موجب تغییر نسبت K^+/Na^+ در گیاه می شود . گیاهانی که تحمل بیشتری نسبت به شوری دارند از جذب بیش از حد یون Na^+ که باعث آسیب غشاء و کاهش نسبت K^+/Na^+ می شود ممانعت بعمل می آورند که این امر می تواند در شناسایی ارقام متتحمل به شوری مناسب باشد . (بسراویسرا ۱۹۹۷). گالشی و همکاران (۱۳۷۹) نشان دادند که با افزایش شوری از حد NaCl شاهد (بدون نمک) وزن خشک ریشه ، بخش هوایی ، تعداد گره ، سطح برگ ، درصد نیتروژن ریشه و بخش هوایی در شبدر زیرزمینی کاهش می باید که نشان از حساسیت این گیاه نسبت به شوری است . بطور کلی بررسی ها نشان می دهد که شوری باعث کاهش وزن خشک ، تعداد گره ، وزن گره و قدرت ثبات بیولوژیک نیتروژن در گیاهان تیره بقولات می شود (ایکدا ۱۹۹۴ ، اسپرنت و اسپرنت ۱۹۹۰ ، زهران و اسپرنت ۱۹۸۶ ، گالشی و اخوان ۱۳۷۷ ، بوردیلو و پرووست ۱۹۹۴) .

برای سنجش شدت تنش باید عملکرد حاصل از کشت در محیط تشن را با حداقل عملکرد که معمولاً از کشت در محیط عاری از تنش حاصل می شود ، مقایسه کرد . برای انجام این کار در مراکز پژوهشی با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه سطوح مختلف تنش در نظر گرفته می شود . از مقایسه میانگین عملکرد هر آزمایش در شرایط سطوح تنش (YD) با میانگین عملکرد آزمایش در شرایط بدون تنش (ND)

مقدمه

یکی از منابع عمده تامین غذای بشر ، دام و فرآورده های دامی می باشد . مجموع تولید علوفه حاصل از مراعع تنها تامین کننده بخشی از غذای مورد نیاز دام است . علاوه بر این فشار بیش از حد دام بر مراعع کشور منجر به فقر پوشش گیاهی و افزایش فرسایش خاک خواهد شد لذا تولید علوفه اهمیت زیادی در تأمین غذای دام دارد .

شبدر زیرزمینی (*Trifolium subterraneum* L)

Trifolium subterraneum L یکی از گیاهان تیره بقولات می باشد که می توان از آن در مراعع جهت تأمین علوفه دام استفاده کرد . این گیاه در مناطقی که بارندگی بیشتر از ۴۰۰ میلی متر در سال وارتفاع منطقه کشت پائین تر از ۱۰۰۰ متر باشد $\frac{3}{5}$ تن ماده خشک در هکتار تولید می کند . علاوه بر آن ، این گیاه قادر است از طریق هم زیستی با باکتری ریزوبیوم تریفولی (*Rhizobium trifolii*) سالانه به مقدار ۵۵ الی ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن اتمسفری را ثابت نماید (۲) .

وجود شرایط محیطی مناسب برای رشد ، عامل مهمی در تولید و قدرت ثبات بیولوژیک نیتروژن توسط این گیاه محسوب می شود . وجود اراضی شور و ضرورت بهره برداری از این اراضی می تواند در تولید گیاه شبدر زیرزمینی تأثیرگذار باشد . شوری از طریق تأثیر بر رشد گیاه ، باکتری و هم زیستی گیاه باکتری بر رشد و ثبات نیتروژن گیاه شبدر زیرزمینی اثر ممی گذارد . اسپرنت و اسپرنت (۱۹۹۰) اعتقاد دارند گره بندی در گیاهان تیره بقولات حساسیت بیشتری به نمک نسبت به رشد گیاه دارد . ایکدا (۱۹۹۴) بیان می دارد هر مرحله از مراحل گره بندی در گیاه تیره بقولات تحت تأثیر شوری قرار می گیرد . تحقیقات کمتری اثرات شوری را بر رشد و ثبات بیولوژیک نیتروژن در گیاه شبدر زیرزمینی مورد بررسی قرار داده اند . وست و تابلور (۱۹۸۱) اثر شوری (NaCl) را





شد. بذور ارقام شبدر زيرزميني به نامهای يورك،
گلبورن، گاس، دانمارک و ريوپرينا پس از ۳ روز
خيساندن در پيرى ديش با تراكم ۲۶ بذر در هر
گلدان كشت با محلول هوگلنڈ بدون نيتروژن
شامل ۲۴/۶۳ گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ۱۳/۶ گرم
 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ۰/۶ ، KH_2PO_4 ۰/۴
 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ۰/۱۱ ، $CuSO_4 \cdot 2H_2O$ ۰/۱۱ گرم
 H_3BO_3 ۰/۹ گرم ، $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ ۱/۴۳ گرم
۳، ۲/۴۹ گرم EDTA ۲/۴۹ گرم
 K_2SO_4 ۲۱/۷۷ گرم $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ۴۳،
 $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ در ۱۰۰ لیتر محلول غذايی
واسيدите ۶/۸ با تيمار هاي صفر، ۰/۰۲ و ۰/۰۱
مولار نمک كلورور سدیم آبياري شدند.
باكتري ريزوبیوم تریفولی از گره شبدر هاي
بومی منطقه گرگان در محیط كشت (Y.M) که
شامل K_2HPO_4 به مقدار ۰/۵ گرم
 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ به مقدار ۰/۲ گرم، $NaCl$ به
مقدار ۰/۱ گرم، D-Manitol به مقدار ۱۰ گرم،
به مقدار ۰/۸ گرم، Agar به
مقدار ۱۵ گرم در لیتر و اسیدите ۷/۷ جداسازی
و خالص سازی شد. ده روز بعد از كشت،
گياهچه هاي ارقام مختلف شبدر زيرزميني با
سوپاپسيون يکتواخت شده باكتري همراه با
محلول غذايی تلقيح شدند. گياهچه ها روزانه
با ۱۰۰ ميلی لیتر محلول غذايی همراه با تيمار هاي
موردنظر آبياري شدند. هر ۳ روز يکبار گلدانها با
آب مقطر شستشو شدند. بعد از ۶۰ روز گياهچه ها
از گلدان خارج و تعداد، وزن گره، وزن خشك
ريشه، بخش هوائي و كل بوته و سطح برگ،
درصد نيتروژن كل بوته از طريق ميكرو گلدا
(تلسون و سامرز ۱۹۷۳) و مقدار سدیم، پتاسیم
گياه (روش فلييم فوتومتری) اندازه گيري شد.
همچنین ميزان حساسیت به تنش هر رقم از رابطه:

$$Si = (1 - Y_{di}) / Y_{pi} / D$$

شدت تنش (D) محیط آن آزمایش اندازه گيري
می شود. بنابراین، شدت تنش یا سختی محیط
آزمایش عبارت است از:

$$D = 1 - Y_{di} / Y_{pi}$$

ميزان حساسیت ارقام به تنش را از مقایسه
عملکرد هر رقم در محیط تنش
(YDi) با عملکرد همان رقم در محیط بدون
تنش (YPi) در ارتباط با شدت تنش محیط
آزمایش اندازه گيري می کنند. بنابراین، ميزان
حساسیت به تنش هر رقم عبارت است از:

$$Si = (1 - Y_{di}) / Y_{pi} / D$$

هر اندازه مقدار (YDi) (YPi) به (NzDikter)
باشد به همان اندازه حساسیت رقم به تنش کمتر
خواهد بود در نتیجه Si آن رقم کوچکتر خواهد
شد. مقدار Si کوچکتر از يك نشان دهنده
 مقاومت بيشتر به تنش است. مقاومت و يا
حساسیت نسبی ارقام به تنش را می توان از
مقایسه مقادیر Si ارقام تعیین کرد (اهدائی
(۱۳۷۲)

در اين مطالعه اثر شوري بر رشد و ثبيت
بيولوژيک نيتروژن ۵ رقم شبدر زيرزميني وارداتي
و همچنین رابطه بين ثبيت بيولوژيک نيتروژن،
رشد گياه و نسبت K^+ / Na^+ در شرایط سور مورد
بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

اين آزمایش در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان
زراعی دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم
کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.
نخست ماسه کوارتز به ابعاد ۲×۲ ميلی متر با
ظرفیت نگهداری آب ۱۴ درصد شسته شد
و بدون مواد آلی به مدت ۲۴ ساعت در کوره با
درجه حرارت ۱۲۰ درجه سانتی گراد استریل
و سپس کوارتز استریل شده در گلدانها يي با قطر
دهانه ۱۷ سانتي مترو ارتفاع ۳۰ سانتي مترو ریخته

تنوع ژنتیکی موجود بین ارقام نقش بسیار مهمی در تفاوت عمل گردهبندی درین آنها دارد. در این رابطه رقم گاس در تمام سطوح تیمارهای شوری برتری نشان داد.

سطح و وزن برگ: با افزایش تنش شوری متوسط سطح برگ گیاهان کاهش یافت (جدول ۲). متوسط سطح برگ هر بوته در تیمار ۰/۰۱۲ و ۰/۰۱۰ مولار کلوروسدیم به ترتیب به مقدار ۴/۹۳، ۲/۶۳ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۳). همچنین با افزایش شوری وزن خشک برگ هر بوته کاهش یافت که این کاهش درین تیمار شاهد و ۰/۰۱ مولار کلوروسدیم از نظر آماری معنی دار نبود. بنظر می‌رسد با افزایش تیمار شوری هر چند سطح برگ کاهش می‌یابد اما به ضخامت برگ اضافه می‌شود. بررسی وزن مخصوص برگ (جدول ۳) این مسئله را نشان می‌دهد. بررسی منابع نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری به دلیل ایجاد تنش ثانوی خشکی گیاهان جهت کاهش میزان تعرق از سطح برگ خود می‌کاهند اما ضخامت لایه پارانشیمی و درنهایت ضخامت برگ افزایش می‌یابد (بسرا و بسرا ۱۹۹۷).

مقایسه ارقام از نظر تولید سطح برگ در شرایط تنش شوری (جدول ۲) نشان می‌دهد که رقم گاس با ۳/۵۴ سانتی مترمربع در هر بوته و رقم گلبورن با ۱/۱۹ سانتی متر مربع در هر بوته به ترتیب دارای بیشترین و کمترین سطح برگ بودند. بین ارقام دانمارک، بورک و ریورینا از این نظر اختلاف معنی داری وجود نداشت. می‌توان نتیجه گیری نمود که ارقام مورد آزمایش از نظر تولید سطح برگ در شرایط تنش دارای تنوع ژنتیکی می‌باشند. چنانچه ارتباط بین تولید گره و سطح برگ را از دیدگاه رشد و تثیت بیولوژیک نیتروژن مورد بررسی قرار دهیم درمی‌یابیم که وجود سطح برگ بیشتر همگام با کارانی بالای

مجاپیه گردید (اهدائی ۱۳۷۲). اطلاعات جمع آوری شده در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD و دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

تعداد گره: میانگین مربعات تاثیر شوری و رقم بر صفات اندازه گیری شده در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصله نشان می‌دهد که رقم و شوری بر تعداد گره در هر بوته اثرات معنی داری داشته است. آزمون مقایسه میانگین‌های تعداد گره در هر بوته تحت تاثیر رقم (جدول ۲) نشان می‌دهد که ارقام مختلف اثرات متفاوتی را داشته‌اند. متوسط تعداد گره در هر بوته در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که ارقام گاس و گلبورن به ترتیب دارای بیشتری و کمترین گره در هر بوته می‌باشند. همچنین با افزایش شوری از حد شاهد تعداد گره در هر بوته کاهش یافت (جدول ۳). با افزایش شوری از حد شاهد تا ۰/۰۲ مولار کلوروسدیم تعداد گره در هر بوته به مقدار ۵۰/۹ درصد کاهش یافت. ایکدا (۱۹۹۴) بیان کرد که تعداد ریشه‌های موئین و میزان خمنش آنها در شبدر سفید تحت تنش شوری کاهش می‌یابد. علاوه بر این، تعداد باکتری چسبیده به ریشه و در نهایت تعداد گره درین بوته کاهش می‌یابد. گالشی و همکاران (۱۳۷۹) نشان دادند با افزایش شوری تعداد گره در شبدر زیرزمینی کاهش می‌یابد. زهران (۱۹۹۱) اعتقاد دارد که رقم میزان، نژاد باکتری و اثرات متقابل آنها می‌تواند بر روی تحمل به شوری و ایجاد گره در گیاه اثر بگذارد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد ارقام مختلف عکس العمل‌های متفاوتی از نظر گردهبندی در شرایط شور از خود نشان می‌دهند. با توجه به یکسان بودن شرایط آزمایش می‌توان بیان کرد که

۷۴



جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربمات) تاثیر شودی و رقم بر روی صفات اندازه‌گیری شده گیاه شبدار زیرزمینی.										
		مطابق با تغییر درجه	مقدار هر بونه	سطح برگ	وزن خشک	وزن خشک ساقه	وزن خشک	درصد نیتروزن	میانگین نیتروزن	میانگین مربمات
۰/۰۱۶	* / ۰/۹۷۷	*	*	*	۳۷/۲۶	۳۷/۲۶	۳۷/۲۶	۰/۲۹	۳۷/۲۹	۰/۲۹
۰/۱۲۵	** / ۰/۸۵	**	**	**	۰/۰۵/۰۶	۰/۰۵/۰۶	۰/۰۵/۰۶	۰/۰۵/۰۶	۰/۰۵/۰۶	۰/۰۵/۰۶
۰/۰۰۹	** / ۰/۰۴۳	**	**	**	۰/۰۰/۰۷	۰/۰۰/۰۷	۰/۰۰/۰۷	۰/۰۰/۰۷	۰/۰۰/۰۷	۰/۰۰/۰۷

+ معنی دار در سطح ۵ درصد، * معنی دار در سطح ۱ درصد، NS معنی دار نمی‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر رقم گیاه شبدار زیرزمینی.													
		رقم	تعداد گره سطح برگ	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک	درصد کاهش NaCl ⁺ درصد کاهش K ⁺ /Na ⁺	درصد کاهش NaCl ⁺ مو لار (mg)	درصد کاهش NaCl ⁺ مو لار (mg)	کل هر بونه (mg)	وزن خشک (mg)	هر بونه (mg)	در بونه cm ³
۰/۰۸۳۹	۰/۰۹۳۹ a	۰/۰۸/۰	۰/۰۱۱ a	۰/۰۷/۰ e	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a
۰/۰۴۳۴	۰/۰۵۰۹ b	۰/۰۸/۰	۰/۰۱۱ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ d	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b
۰/۰۹۷۹	۰/۰۲۴۲ c	۰/۰۹/۰	۰/۰۱۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c
۰/۰۳۸۷	۰/۰۵۰۹ d	۰/۰۹/۰	۰/۰۱۰ d	۰/۰۷/۰ d	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c
۰/۰۷۰۱	۰/۰۸۷۶ e	۰/۰۹/۰	۰/۰۱۱ e	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر رقم گیاه شبدار زیرزمینی.

		گرس
۰/۰۷۰۱	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a
۰/۰۴۳۴	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b
۰/۰۹۷۹	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c
۰/۰۳۸۷	۰/۰۷/۰ d	۰/۰۷/۰ d
۰/۰۷۰۱	۰/۰۷/۰ e	۰/۰۷/۰ e

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر رقم گیاه شبدار زیرزمینی.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر رقم گیاه شبدار زیرزمینی.		گرس
		گرس
۰/۰۷۰۱	۰/۰۷/۰ a	۰/۰۷/۰ a
۰/۰۴۳۴	۰/۰۷/۰ b	۰/۰۷/۰ b
۰/۰۹۷۹	۰/۰۷/۰ c	۰/۰۷/۰ c
۰/۰۳۸۷	۰/۰۷/۰ d	۰/۰۷/۰ d
۰/۰۷۰۱	۰/۰۷/۰ e	۰/۰۷/۰ e

میانگین هایی که حروف یکسان دارند از نظر آماری بین آنها اختلاف معنی داری وجود ندارد.

بیشترین تعدادگره و سطح برگ نسبت به سایر ارقام از توان تولید فتوسترزی بالاتری برخوردار می باشد. بنابراین این رقم توانسته است در شرایط سوری مختلف متوسط وزن خشک بیشتری نسبت به سایر ارقام تولید نماید، در حالیکه رقم گلبورن با داشتن کمترین تعداد گره و سطح برگ در هر بوته کمترین ماده خشک را تولید کرده است.

در صد و عملکرد نیتروژن: با توجه به اینکه محلول غذایی مورد استفاده در این آزمایش جهت تغذیه گیاه عاری از نیتروژن بود بنابراین نیتروژن موجود در بوته را می توان به فعالیت ثبت بیولوژیک نیتروژن گیاه که حاصل همیستی گیاه با باکتری ریزوپیوم تریفولی می باشد، مرتبط دانست. نتایج نشان می دهد (جدولهای ۲ و ۳) که بین ارقام از نظر قدرت ثبت بیولوژیک نیتروژن اختلاف وجود دارد. مقایسه میانگین های درصد نیتروژن بافت گیاه نشان می دهد که ارقام گاس و گلبورن به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار می باشند. با توجه به اینکه ریزوپیوم تریفولی استفاده شده در این آزمایش درین تمام ارقام یکسان بوده است بنابراین اختلاف موجود مربوط به انرقم می باشد. تحمل ارقام نسبت به سوری و رشد مناسب آنها می تواند در رابطه همیستی اثرات مثبتی بگذارد. رقم گاس قادر بوده است با معدل بالاتر از نظر تعدادگره، سطح برگ و وزن خشک بوته شرایط تش شوری را بهتر تحمل نماید و در این شرایط از سوری و سایر شرایط محیطی استفاده بهتر نموده و ماده خشک بیشتری تولید نماید، بنابراین در چنین شرایط تولید و ارسال کربوهیدرات به ریشه در این رقم از سایر ارقام بهتر بوده این مسئله در وزن خشک ریشه این رقم کاملاً مشهود می باشد که نسبت به سایر ارقام بیشتر می باشد. در نتیجه این عمل باکتری ثبت کننده نیتروژن توانسته است فعالیت بهتری بنماید و با ثبت نیتروژن اتمسفری در صد نیتروژن گیاه را افزایش دهد. در حالیکه رقم

فتوسترز گیاه می تواند نقش مسهمی در تولید کربوهیدرات لازم جهت باکتریهای ثبت کننده نیتروژن داشته باشد.

وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل بوته: با اعمال تنفس شوری وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل بوته کاهش یافت (جدول ۲). با افزایش شوری از حد شاهد تا ۰/۰۲ مولار کلرورسدیم به ترتیب به مقدار ۴/۷/۷، ۴۰/۶۵، ۳۷/۹ درصد وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل بوته کاهش یافت (جدول ۳). کاهش وزن خشک کل کاهش پافت اما بمنظور مولار کلرورسدیم معنی دار نبود. به عبارت دیگر با آنکه وزن خشک کل کاهش پافت اما بمنظور می رسید گیاه بتواند بدون اینکه کاهش معنی داری دروزن خشک خود ایجاد نماید شوری تا ۰/۰۱ مولار را تحمل کند. با توجه به اینکه افزایش شوری باعث کاهش تعداد گره و سطح برگ هر بوته شده است (جدول ۲) بنظر می رسد که با کاهش سطح برگ میزان دریافت نور در نتیجه میزان فتوسترز رو به کاهش گذاشته و در نهایت فتوستراخالص و تجمع ماده خشک کاهش یافته است. کاهش وزن خشک بوته تحت تأثیر نمک قبل توسط تو (۱۹۸۱) در سویا، گالشی و اخوان خرازیان (۱۳۶۷) در یونجه، شانون و نوبل (۱۹۹۵) و گالشی و همکاران (۱۳۷۹) در شبدر زیر زمینی گزارش شده است.

بین ارقام از نظر تولید ماده خشک اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۲). که رقم گاس بیشترین و رقم گلبورن کمترین وزن خشک بوته را داشتند. بنابراین با توجه به اطلاعات موجود در جدولهای ۲ و ۳ می توان نتیجه گیری نمود که در بین ارقام از نظر تولید ماده خشک اختلاف معنی داری وجود داشته است. همانگی بین تولید و سطح برگ، تعداد گره و ماده خشک تولیدی هر بوته نشان می دهد که رقم گاس با داشتن



شوری علاوه بر کاهش وزن خشک بوته (درصد نیتروژن) هم کاهش یافته و درنتیجه منجر به کاهش عملکرد نیتروژن هر بوته خواهد شد. درصد کاهش عملکرد نیتروژن در تیمار ۲۰/۱۰ مولار کلوروسدیم ۵۴/۷ درصد نسبت به شاهد می‌باشد. با توجه به کاهش درصد نیتروژن در این تیمار نسبت به شاهد (۲۶/۵ درصد) می‌توان نتیجه‌گیری نمود که کاهش وزن خشک هر بوته عملکرد نیتروژن هر بوته را بیشتر تحت تأثیر قرار داده است، زیرا درصد کاهش وزن خشک هر بوته در تیمار ۰/۱۰ مولار کلوروسدیم ۳۸ درصد است در حالیکه کاهش درصد نیتروژن همین تیمار نسبت به شاهد ۲۶/۵ درصد می‌باشد. گزارش‌های متعددی بیان می‌دارند که حساسیت گیاه میزبان به شوری بیشتر از باکتری می‌باشد (گالشی و اخوان خرازیان ۱۳۹۷، اسپرن و اسپرن ۱۹۹۰).

بررسی اثرات متقابل رقم و شوری بر میانگین تعداد گره، مساحت برگ وزن خشک هر بوته، درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن هر بوته نشان می‌دهد (جدول ۴) رقم گاس در تیمار شاهد و رقم گلبورن در تیمار ۰/۲ مولار کلوروسدیم بیشترین و کمترین مقدار صفات ذکر شده را دارا می‌باشد.

درصد کاهش K^+/Na^+ و شاخص حساسیت به تنش: یکی از روشهای تحمل به شوری در گیاهان کاهش جذب یون سدیم و یا به عبارت دیگر کاهش انداز نسبت K^+/Na^+ در تیمارهای شور نسبت به شاهد می‌باشد. در بسیاری از گیاهان متتحمل به شوری نسبت K^+/Na^+ در شرایط شور نسبت به گیاهان حساس کمتر است و یا اینکه سدیم جذب شده در ریشه نگه داشته و یا در واکوئل خود تجمع داده و جهت تنظیم اسمزی از آن استفاده می‌شود (بسرا و بسرا ۱۹۹۷).

اندازه‌گیری میزان یون سدیم و پتانسیم و محاسبه درصد کاهش K^+/Na^+ درین ارقام مورد آزمایش و مقایسه میانگین‌های آنها (جدول ۲) نشان

گلبورن درین ارقام کمترین درصد نیتروژن را دارد می‌باشد. نگرش دقیق به جدول ۲ و اطلاعات موجود در مورد تعداد گره، سطح برگ و ماده خشک بوته این رقم این کاهش را توجیه می‌نماید. هر چند افزایش تعداد گره به این دلیل که شاید همه گره‌ها فعال نبوده‌اند نمی‌تواند بیان کننده افزایش درصد نیتروژن باشد. اما بطورنسبی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش درصد نیتروژن بافت گیاه نتیجه فعالیت بیشتر باکتریهای ثبیت کننده نیتروژن درون این گره‌ها می‌باشد.

بالافزایش شوری درصد نیتروژن بافت گیاه کاهش یافت (جدول ۳) که این کاهش از نظر آماری معنی دارمی باشد. درصد نیتروژن موجود در بافت گیاه در تیمار ۰/۰ مولار کلوروسدیم نسبت به شاهد حدود ۲۷/۵ درصد کاهش نشان می‌دهد. در حالیکه این کاهش برای تیمار ۰/۰۱ مولار نسبت به شاهد ۱۴/۷ درصد می‌باشد. با افزایش شوری تاثیر بازدارندگی کلوروسدیم بر درصد نیتروژن افزایش می‌یابد. زهران و اسپرات (۱۹۸۶)، سینگلتون و بلهول (۱۹۸۴) و بوردیلو و پرووسن (۱۹۹۴) اعتقاد دارند با افزایش تنش شوری تعداد تارهای کشنده، قدرت چسبندگی باکتری به تارهای کشنده، نفوذ اکسیژن به گره‌ها و نفوذ باکتری به تارهای کشنده کاهش می‌یابد. علاوه براین، در شرایط تنش شوری با ایجاد تنش ثانویه خشکی، سمیت یونی و کاهش فعالیت آنزیمی رشدگیاه چهارمشکل شده و فعالیت ثبیت نیتروژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش درصد نیتروژن در شبدر زیرزمینی توسط گالشی و همکاران (۱۳۷۹) نیز گزارش شده است.

عملکرد نیتروژن هر بوته که حاصل ضرب درصد نیتروژن در وزن خشک کل هر بوته می‌باشد (جدولهای ۲ و ۳) همان روند موجود در رابطه با درصد نیتروژن در بین ارقام و تیمارهای شوری را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، با افزایش



جدول ۳ - مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده گیاه شبد رزیزمنی تحت تأثیر شرطی (NaCl).

باتوجه به کاهش تعداد گره، سطح برگ، وزن خشک، درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن هر بوته تحت تاثیر تیمار شوری در این آزمایش می‌توان توجیه نمود که با کاهش نسبت K^+/Na^+ در گیاه و ایجاد تغییراتی در غشاء سلول و سمیت یونی گیاه در رابطه همزیستی با باکتری شدیداً تحت تاثیر قرار می‌گیرد.

در این بین رقم گاس با تنظیم مناسب ترجذب سدیم نسبت به سایر ارقام از عملکرد بهتری برخوردار می‌باشد. در حالیکه برای رقم گلبورن و سایر ارقام این وضعیت مناسب وجود ندارد.

دفع نمک، گوشتی شدن و کنترل بازخوری تعرق از راه اثرات سدیم بر روزنه‌ها صفات ثانویه ویژه‌ای هستند که به گیاهان شوری و یا متحمل به شوری اجازه مصرف کلرورسدیم را به عنوان یک منبع اسمرزی ارزان می‌دهد. در حالیکه گیاهان حساس قادر نخواهند بود جذب بیش از حد سدیم را تحمل نمایند بنابراین گیاهانی که در شرایط شوراز K^+/Na^+ بالاتری برخوردار باشند و یا اینکه درصد کاهش این نسبت در تیمارهای شوری کمتر باشد مناسب‌تر می‌باشند (بسراویسرا ۱۹۹۷).

بررسی تغییرات وزن مخصوص برگ تحت تاثیر شوری (جدول ۳) نشان می‌دهد که با اعمال تنفس وزن مخصوص برگ افزایش می‌یابد به عبارت دیگر برگها ضخیم تر می‌شوند. همچنین با اعمال تنفس شوری (جدول ۳) نسبت K^+/Na^+ در گیاه کاهش می‌یابد. که این کاهش با شروع تیمار ۱۰/۰۱ مولار کلرورسدیم بسیار شدیدتر از زمانی است که گیاهان تحت تاثیر ۱۰/۰۲ مولار کلرورسدیم قرار می‌گیرند.

باتوجه به اطلاعات موجود هرچند بین ارقام مورد آزمایش از نظر کاهش K^+/Na^+ نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد اما بطورکلی

می‌دهد که از این نظرین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود دارد. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که رقم گاس در بین ارقام کمترین درصد کاهش نسبت به شاهد داشته است. در حالیکه رقم گلبورن بیشترین کاهش را نشان می‌دهد. درصد کاهش نسبت K^+/Na^+ در تیمار ۱۰/۰۱ مولار کلرورسدیم نسبت به شاهد نشان می‌دهد که بین ارقام گاس و ریورینا اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. در حالیکه با افزایش شوری (تیمار ۱۰/۰۲ مولار کلرورسدیم) حتی بین این دو رقم اختلاف معنی‌دار می‌شود به عبارت دیگر، با افزایش شوری رقم گاس توانسته است کنترل دقیق‌تری نسبت به جذب سدیم داشته باشد. همچنین بین ارقام دانمارک، یورک و گلبورن در تیمار ۱۰/۰۱ مولار کلرورسدیم از نظر درصد کاهش K^+/Na^+ نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، اما با افزایش شوری تمام ارقام مورد آزمایش پتانسیل تنظیم جذب یون سدیم نسبت به پتانسیل خود را نشان داده و اختلاف در بین تمام ارقام معنی‌دار می‌شود. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که بیشترین درصد کاهش K^+/Na^+ نسبت به شاهد در تیمار ۱۰/۰۱ مولار کلرورسدیم بوده است و با افزایش شوری ازشدت کاهش کاسته می‌شود. اشرف و همکاران (۱۹۸۶) بیان می‌دارند گیاهانی که شوری را کمتر تحمل می‌کنند در شرایط غلظت بالای سدیم محیط ریشه کاهش شدیدی در جذب پتانسیم و افزایش جذب سدیم در اندازهای هوایی نشان می‌دهند که این امر باعث کاهش نسبت K^+/Na^+ در گیاه می‌شود. این الگوی توزیع یونها بیشتر از آنکه مکانیسم سازگاری تلقی شود نشانگر علامت خسارت در مقابل شوری است، زیرا در این حالت با کاهش سرعت رشد و علائم خسارت نمک به اندازهای هوایی همراه است (گرین وی و ما نس



جدول ۵ - مقادیر شاخص حساسیت (Si) ارقام مختلف شبدر زیر زمینی بر اساس تولید ماده خشک.

ردیف	رقم	شاخص حساسیت (Si)
۱	بورک	۰/۶۴۸
۲	گاس	۰/۸۳۹
۳	ریورینا	۰/۸۴۴
۴	دانمارک	۰/۹۷۹
۵	گلپورن	۱/۷۵۱

بیشترین حساسیت را دارا می‌باشد. با توجه به عمکرده ماده خشک و کاهش نسبت K^+ / Na^+ ارقام می‌توان نتیجه‌گیری نمود هر چند ارقام گاس، ریورینا، دانمارک، گلپورن از این دیدگاه همبستگی مناسبی با شاخص حساسیت Si داشته‌اند اما رقم یورک این همبستگی را نشان نمی‌دهد. به عبارت دیگر کاهش میانگین عملکرد ماده خشک رقم یورک در تیمارهای تنش زا نسبت به بدون تنش کمتر از سایر ارقام بوده و این رقم جهت تحمل به شوری کمتر از مکانیسم تنظیم نسبت Na^+ / K^+ استفاده نموده است. با وجود اینکه این رقم از نظر درصد کاهش نسبت K^+ / Na^+ در تیمارهای ۰/۰۱ و ۰/۰۲ مولار کلرور سدیم در مقام چهارم قرار دارد و درصد کاهش K^+ آن زیاد می‌باشد اما قادر بوده است از نظر شاخص حساسیت به شوری در مقام اول قرار گیرد. بنظر می‌رسد این رقم از مکانیسم‌های دیگری جهت تحمل به شوری استفاده نموده است. به عبارت دیگر، با اینکه این رقم در شرایط شور یون سدیم بیشتری را جذب نموده است اما این جذب به دلایلی که برای ما روشن نمی‌باشد تاثیری زیادی بر تولید ماده خشک نداشته است. بطور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که بالا بودن عملکرد رقم گاس در تیمارهای شوری به دلیل تسویلید ماده خشک زیاد این رقم در تیمار

اعمال تیمارشوری شرایط را برای جذب یون سدیم مساعد نموده و این یون قادر است در جذب جایگزین یون پتاسیم شود. نسبت K^+ / Na^+ در تیمار ۰/۰۲۰ به ترتیب به مقدار ۰/۰۵۴ و ۰/۰۶۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان می‌دهد. بنابراین با افزایش تیمار شوری از ۰/۰۱ به ۰/۰۲ مولار کلرور سدیم از شدت کاهش K^+ / Na^+ نسبت به شاهد کاسته می‌شود. برای سنجش شدت تنش شوری بر عملکرد و میزان حساسیت ارقام مورد مطالعه نسبت به این تنش از شاخص حساسیت به تنش (Si) (اهمانی ۱۳۷۲) استفاده شد. هر چه مقدار (Si) کمتر باشد نشان دهنده تحمل بیشتر رقم به تنش مورد نظر می‌باشد. بنابراین مقاومت یا حساسیت نسبی ارقام به تنش را می‌توان از مقایسه مقادیر (Si) ارقام تعیین کرد.

در این مطالعه متوسط عملکرد ارقام در محیط بدون تنش (بدون نمک) و میانگین عملکرد ارقام در محیط‌های تنش زا (معدل ۰/۰۲۰/۰۱ مولار کلرور سدیم) جهت محاسبه (Si) استفاده شد. نتایج بدست آمده در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به کمتر بودن مقدار Si رقم یورک نسبت به سایر ارقام می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این رقم تحمل بیشتری نسبت به شوری از خود نشان داده است، در حالیکه رقم گلپورن



حساسیت) پارامترهای مهمی در برنامه‌های اصلاحی و تولید علوفه گیاه شبدر زیرزمینی می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به دلیل تأمین هزینه‌های انجام طرح پژوهشی این مقاله تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

شاهد می‌باشد هر چند از نظر شاخص حساسیت بین این رقم و رقم یورک اختلاف اندکی مشاهده می‌شود اما با توجه به این شاخص درصد کاهش عملکرد رقم گاس در تیمار شوری نسبت به رقم یورک بیشتر می‌باشد، در حالیکه پتانسیل تولید ماده خشک بیشتر این رقم نسبت به رقم یورک توانسته است میانگین عملکرد ماده خشک این رقم را در تیمارهای شوری نسبت به یورک در سطح بالاتری نگه دارد. بنابراین توان تولید بالای ماده خشک رقم گاس و زیاد بودن تحمل به شوری رقم یورک (با توجه به شاخص

منابع

۱. اهدائی، ب. ۱۳۷۲. انتخاب برای مقاومت به خشکی در گندم. مقالات کلیدی اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران - کرج. انتشارات دانشگاه تهران دانشکده کشاورزی. ص. ۶۲-۴۳.
۲. دری، م. خدابنده، ن و ح. حیدری شریف آباد. ۱۳۷۶. مقایسه عملکرد ارقام شبدر زیرزمینی با تراکم‌های مختلف در منطقه گرگان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
۳. گالشی، س و م . اخوان خرازیان . ۱۳۷۶. بررسی کارآئی ثبیت ازت باکتری ریزوبیوم ملیلوتی در شرایط شور. پایان نامه کارشناسی ارشد . دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.
۴. گالشی، س. حیدری شریف آباد، ح. طهماسبی سروستانی ، ذ و س.ع. مدرس ثانوی . ۱۳۷۹. تاثیر شوری بر رشد و ثبیت نیتروژن در شبدر زیرزمینی (*Trifolium subterraneum L.*). پژوهش و سازندگی شماره ۴۶ - ص. ۵۱-۴۸.

5. Ashraf, M., T. Mcaeilly, and A.D. Bradshaw. 1986. The potential for evolution of salt (NaCl) tolerance in seven grass species. *New Physiologist*. 103: 299-309.
- 6.Basra, A.S., and R.K. Basra. 1997. Mechanisms of environmental stress resistance in plants. Harwood Academic Publishers. p: 83-111.
- 7.Bordeleau, L.M., and D. Provost. 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant Soil*. 161: 115- 125.
- 8.Greenway, H., and R. Munns. 1980. Mechanisms of salt tolerance in non halophytes. *Annual. Review Plant Physio*. 31: 149-190.
- 9.Ikeda, J. 1994. The effect of short term withdrawal of NaCl stress on nodulation of white clover. *Plant Soil*. 158: 23- 27.
- 10.Nelson, D.W., and L.E. Sommers. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. *Agron. J*. 65: 109-111.
- 11.Shannon, M.C., and C.L. Noble. 1995. Variation in salt tolerance and ion accumulation among subterranean clover cultivars. *Crop. Sci*. 35: 798- 804.
- 12.Singleton P.W., and B. Bohlool. 1984. Root- hair interaction and growth of soybean. *Can. J. Plant. Sci*. 61: 231-239.
- 13.Sprent, J.I., and P. Sprent. 1990. Nitrogen fixing organisms pure and applied aspects. Chapman and Hall. London.



14. West, D.W., and J.A. Taylor. 1981. Germination and growth of cultivars of *Trifolium subterraneum*, L in the presence of sodium chloride salinity. Plant Soil 62: 221-230.
15. Zahran, H.H. 1991. Condition for successful rhizobium legume symbiosis in saline environments. Biol. Ferteli. Soil. 12: 73-80.
16. Zahran, H.H., and J. Sprent. 1986. Effects of sodium choloride and polyethylene glycol on root- hair infection and nodulation of *vicia faba* L. Plant by *Rhizobium Leyuminosarom*. Planta. 167: 303-309.

۸۲



Evaluation of growth, biological nitrogen fixation and salinity tolerance in five subterranean clover cultivars (*Trifolium subterraneum* L.)

S. Galeshi and A. Soltani

Department of Agronomy Gorgan University of Agricultural Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Effect of salinity (sodium chloride) on growth, biological nitrogen fixation (BNF) and salinity tolerance of five *Subterranean clover* cultivars (Goss, York, Riverina, Denmark, and Golburn) was investigated using a factorial experiment in randomized complete blocks with three replicates. Salinity treatments were 0, 0.01, 0.02 m sodium chloride solutions. Sand culture with combination of Haugeland nutrient solution without nitrogen was used. Seedlings were harvested after 60 days and nodule number, leaf, root and shoot dry weights, leaf area, K^+/Na^+ ratio, nitrogen percentage and nitrogen yield were measured. Results showed that with increasing salinity, all the traits decrease, but specific leaf weight increases. Similar dry matter production was observed in salinity treatments of 0 and 0.01 m sodium chloride. Mean comparison showed that cv. Goss is better than other cultivars with respect to nodule number, leaf area, dry weights, nitrogen percentage and nitrogen yield. Golburn was the worst. Highest and lowest decrease in K^+/Na^+ ratio was observed in Goss and Golburn, respectively. Calculation of sensitivity index showed that York and Golburn have the lowest tolerance to salinity. It seems that cv. Goss (with highest dry matter production) and York (with lowest sensitivity index) are promised for breeding efforts. A positive correlation was observed between all the traits and K^+/Na^+ ratio. It was concluded that regulation of K^+/Na^+ ratio is not the mechanism of salinity tolerance in cv. York.



Keywords: Subterranean clover; Salinity; Biological nitrogen fixation.