

شناسایی جدایه های سینوریزوبیوم ملیوتی متحمل به شوری در یونجه های یکساله و چند ساله

مجید دشتی*، استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
حسین حیدری شریف آباد، استاد موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال
امیر لکزیان، استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
الهه بینش، کارشناس میکروبیولوژی مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی مشهد

چکیده

به منظور شناسایی و جداسازی باکتری های سینوریزوبیوم ملیوتی متحمل به شوری، نمونه های مختلف خاک و گره های ریشه از مناطق مختلف استان خراسان بزرگ به همراه جدایه هایی از مؤسسه تحقیقات خاک و آب و یک جدایه استاندارد مورد مطالعه قرار گرفت. تیمارهای شوری با افزودن غلظت های مختلف کلرید سدیم (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میلی مولار) به محیط کشت اختصاصی اعمال گردید و سپس جدایه های موفق در تست گره زایی، در حرارت ۲۸ درجه سانتی گراد به تیمارهای فوق تلقیح شدند. تیرگی رشد باکتری ها در محیط کشت مایع پس از ۷۲ ساعت در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد کلیه جدایه ها در تیمار شاهد به خوبی رشد نموده و تحت این شرایط شش جدایه دارای تیرگی رشد بیشتر از یک بودند. اختلاف معنی داری در تیرگی رشد ۴۴ جدایه تحت شرایط شوری مشاهده گردید به طوری که در غلظت های بالای ۶۰۰ میلی مولار، رشد باکتری ها به شدت تحت تأثیر قرار گرفت و تیرگی رشد تنها هشت جدایه در محیط کشت از ۱/۱ بیشتر شد. این جدایه ها به عنوان متحمل به شوری در نظر گرفته شدند. از بین جدایه های متحمل، جدایه M32 با اختلاف معنی داری در سطح ۰.۵ برتری نشان داد. هیچیک از جدایه ها در غلظت ۷۵۰ میلی مولار کلرید سدیم رشد نکردند.

واژه های کلیدی: یونجه، سینوریزوبیوم ملیوتی، تیرگی رشد، تنش شوری

* نویسنده مسئول: E-mail :Majiddashti46@gmail.com

مقدمه

کمبود مواد غذایی و نیاز روزافزون به نیتروژن جهت تولید غذا و علوفه در جهان باعث توجه فراوان به امکان تثبیت نیتروژن توسط گیاهان خانواده بقولات شده است. از سوی دیگر تقاضا برای کودهای شیمیایی همواره افزوده شده و تولید آن نیز متکی به منابع انرژی حاصله از سوخت های فسیلی است که خود صدمات جبران ناپذیری بر طبیعت وارد ساخته است (۲). بر خلاف این واقعیت که گاز نیتروژن بیش از ۷۸٪ اتمسفر را تشکیل می دهد اما اکثر گیاهان مستقیماً قادر به استفاده از آن نمی باشند. گیاهان خانواده بقولات نه تنها می توانند از نیتروژن خاک استفاده کنند بلکه قادرند توسط رابطه همزیستی باریزوبیوم ها، نیتروژن اتمسفری را به شکل قابل استفاده برای گیاه تثبیت کنند (۸).

یونجه به ملکه نباتات علوفه ای مشهور است و به طور کلی یکی از بهترین نباتات علوفه ای است که امروز کشت آن به سرعت توسعه یافته و سطح زیر کشت زیادی را اشغال نموده است. این گیاه یکی از مهم ترین گیاهان سازگار به تنش های محیطی همچون خشکی، شوری و حرارت های نامطلوب بوده و بزرگترین سهم را در سطح ۷۰۰ هزار ایکر تحت تولید علوفه به خود اختصاص داده است (۴).

سطح قابل توجهی از مساحت ایران را خاک های شور و خشک تشکیل می دهد، شوری در اراضی کشاورزی در اثر عواملی چون آبیاری با آب های شور و استفاده غیر علمی از کودهای شیمیایی تشدید می شود، علاوه بر این سطوح بسیار پائین مواد آلی و نیتروژن در خاک ها بزرگترین عوامل برای عملکرد پائین در خاک های شور ایران می باشند. کودهای شیمیایی به طور معمول به منظور جبران کمبود نیتروژن استفاده می شوند، اما این امر علاوه بر افزایش مشکلات شوری خاک، باعث غیر اقتصادی شدن تولید علوفه می شود. بهترین شیوه جهت رفع این مشکلات استفاده از موجودات ریز تثبیت کننده نیتروژن سازگار به شرایط شوری خاک است که ضمن بهبود باروری، شرایط مناسبی برای خاک در چرخه تولید گیاهان زراعی مختلف فراهم می سازند (۴). گره بندی و تثبیت نیتروژن در جامعه ریزوبیوم - لگوم بطور قابل توجهی تحت تأثیر خشکی و شوری واقع می شود که این امر ممکن است رشد و استقرار لگوم ها را تحت الشعاع قراردادده و یا عملکرد محصول را کاهش دهد (۱۰ و ۱۴). تأثیر نژادهای مختلف ریزوبیوم بر میزبان همیشه یکسان نیست، برخی از نژادها نیتروژن بیشتری از سایرین تثبیت می کنند. دلیل این امر پیچیده بوده و عدم کارآئی ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد (۷). نژادهای مختلف سینوریزوبیوم ملیوتی از جمله باکتری های سریع رشد بوده که قادرند گونه های مختلف یونجه، سنبله و شبدر شیرین را تلقیح نموده و در تشکیل گره های تثبیت کننده نیتروژن مؤثر باشند (۷ و ۱۵). بر خلاف این پتانسیل، عملکرد و ظرفیت تثبیت نیتروژن در شرایط شوری کاهش می یابد. شوری خاک بر روی روابط همزیستی در شروع رشد یونجه و باکتری تأثیر گذاشته و نیز مانع از جوانه زنی و رشد سالم

گیاهچه‌ها می‌گردد. این امر همچنین در همزیستی، باعث جلوگیری از تشکیل گره و تثبیت نیتروژن می‌شود (۱۳ و ۱۶).

اختلاف زیادی در عکس العمل رشد ریزوبیوم های مختلف به شرایط شوری وجود دارد بطوری که برخی از جدایه‌ها در غلظت های بالای شوری بخوبی عمل می‌کنند (۱۴). برخی از گزارش ها همچنین نشان دادند که جدایه‌های ریزوبیوم جدا شده از خاک های شور زمانیکه تحت تنش شوری قرار می‌گیرند در تولید گره مستعدتر می‌باشند (۱۸). گالشی و اخوان (۱۳۶۷) نیز نتیجه گرفتند که باکتری‌های سینو ریزوبیوم ملیوتی در محیط کشت کنترل شده آگار، تا حدود ۲٪ کلور سدیم افزایش رشد نشان دادند ولی پس از آن رشد آنها کاهش یافت. علیخانی و صالح راستین (۲۰۰۲) با مطالعه ۳۹ جدایه مورد مطالعه سینو ریزوبیوم ملیوتی در مقایسه با شوری خاک های تحت رشدشان (۰/۸۳ تا ۲۲ دسی زیمنس برمتر)، نشان دادند که تمام جدایه‌های حساس از خاک های با شوری کمتر از ۲ دسی زیمنس برمتر حاصل شده‌اند.

سوبارائو و همکاران (۱۹۹۰) نیز گزارش نمود که جدایه‌های ریزوبیوم متحمل به شوری که در شرایط شور زنده می‌مانند، ضرورتاً از خاک های شور منشأ نمی‌گیرند. گزارش های دیگر حاکی از آن است که ایزوله‌های ریزوبیوم متحمل به خشکی و شوری در خاک های شور از توانائی همزیستی بیشتری برخوردارند (۴). محمد و همکاران (۱۹۹۱) از بین ۹۲ جدایه سنیوریزوبیوم ملیوتی، ۴۹ جدایه را به‌عنوان متحمل به شوری در ۷۰۴ میلی مولار کلرید سدیم گزارش نمود. جدایه‌های تجاری ریزوبیوم معمولاً قادر به تحمل سطوح بالای تنش اسمزی حاصل از خشکی یا شوری نمی‌باشند با وجود این ممکن است میزان تثبیت نیتروژن بیشتری در شرایط بدون تنش داشته باشند (۱).

محمد و همکاران (۱۹۸۵) در طی مطالعات مختلف نشان دادند که حساسیت جدایه‌های *S. meliloti* L. جدا شده از یونجه، شبدر شیرین زرد (*Melilotus officinalis* L.)، شبدر شیرین سفید (*M. alba*) به سطوح مختلف شوری از ۴۴ تا ۶۱۶ میلی مولار تغییر می‌کند. این تحقیق با هدف جداسازی، شناسائی و خالص سازی جدایه‌های سینو ریزوبیوم ملیوتی متحمل به شوری جهت تلقیح به بستر کشت وارسته‌های یونجه محلی در مناطق انجام گردید.

مواد و روش‌ها

جدا سازی باکتری ها از گره‌های ریشه و آزمون شناسائی اولیه جدایه‌ها با استفاده از روش‌های معمول صورت گرفت (۱۷). به منظور استخراج باکتری از گره‌ها، ابتدا گره‌ها توسط هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت دو الی سه دقیقه ضد عفونی و سپس چند بار با آب مقطر استریل کاملاً شسته شدند. گره‌های

استریل بر روی ظروف پتری محتوی محیط کشت جامد YEM^۱ توسط پنس استریل له شدند و بلافاصله به انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، باکتری های مشکوک به ریزوبیوم جدا گردیدند. در این مرحله از آزمایش ۸۰ جدایه باکتری جمع‌آوری و نگهداری شدند. به منظور اثبات گره زائی، بذور گونه‌های یکساله یونجه (*M. truncatula cv. Jemalong*) و چند ساله (*M. sativa L.*) پس از جوانه زنی در شرایط کاملاً استریل به لوله های آزمایش محتوی محلول غذائی فاقد ازت هویت (همراه آگار) منتقل شدند (۵). یک سی‌سی از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها، در زمان ظهور برگ‌های لپه‌ای، روی سطح محلول غذائی ریخته شد. پس از خاتمه تلقیح باکتری‌ها، به دلیل حساسیت بالای باکتری‌ها به تابش مستقیم نور در محیط ریشه، هر لوله آزمایش در یک ورقه آلومینومی پیچانده شده و گیاهچه‌ها در محل مناسبی که نور کافی دریافت کنند قرار گرفتند. نمونه‌ها جهت نگهداری طولانی مدت لیوفیلیزه شدند. در مورد جدایه های مشکوک آزمایش تا سه بار تکرار شد. به منظور تلقیح باکتری‌ها با شدت تیرگی تقریباً مساوی، به کلیه جدایه‌ها در این مرحله به مدت ۷۲ ساعت اجازه داده شد تا به مرحله رشد ثابت برسند. این مدت زمان در آزمایش های قبل برای چند جدایه سینوریزوبیوم میلیوتی با شمارش تعداد باکتری ها (حدود 10^7 تا 10^9 سلول در هر میلی‌لیتر) به روش رقیق سازی تدریجی^۲ تعیین گردید (۱). تیمارهای شوری با استفاده از کلرید سدیم با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میلی مولار) در لوله‌های آزمایش (۱۵۰ * ۱۴ میلی‌متری) محتوی سه میلی لیتر محیط کشت مایع YEM اعمال گردید. پس از تلقیح جدایه‌ها، لوله‌های آزمایش به دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. رشد باکتری ها در تیمارهای فوق پس از ۷۲ ساعت، با اندازه‌گیری تیرگی رشد^۳ توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر تعیین گردید (۱۲). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید و داده‌ها توسط نرم افزار SAS 6.0 مورد تجزیه و تحلیل آماری و میانگین داده ها توسط آزمون چند دامنه ای مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند که پس از آزمون گره‌زائی تنها ۴۴ جدایه از ۸۰ جدایه مورد مطالعه موفق به تشکیل گره در حضور میزبان شدند. جدایه‌های فوق شامل ۳۰ جدایه از ۱۱ نمونه خاک از مناطق مختلف استان خراسان، ۱۳ جدایه از مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهران و یک جدایه استاندارد (Rm1021) بودند (جدول ۱). بین جدایه‌های مورد مطالعه، سطوح مختلف شوری و نیز اثر متقابل شوری و جدایه تفاوت معنی داری ($p \leq 0/50$) در طول موج ۴۲۰ نانومتر مشاهده شد (جدول ۲). کلیه جدایه‌ها در تیمار

1 - Yeast Extract Manitol

2 - Serial dillution

3 - Growth tubidity

شاهد به خوبی رشد کردند ولی در غلظت های بالاتر از ۶۰۰ میلی مولار تنها تعداد معدودی از جدایه ها موفق به رشد شدند (نمودار ۱).

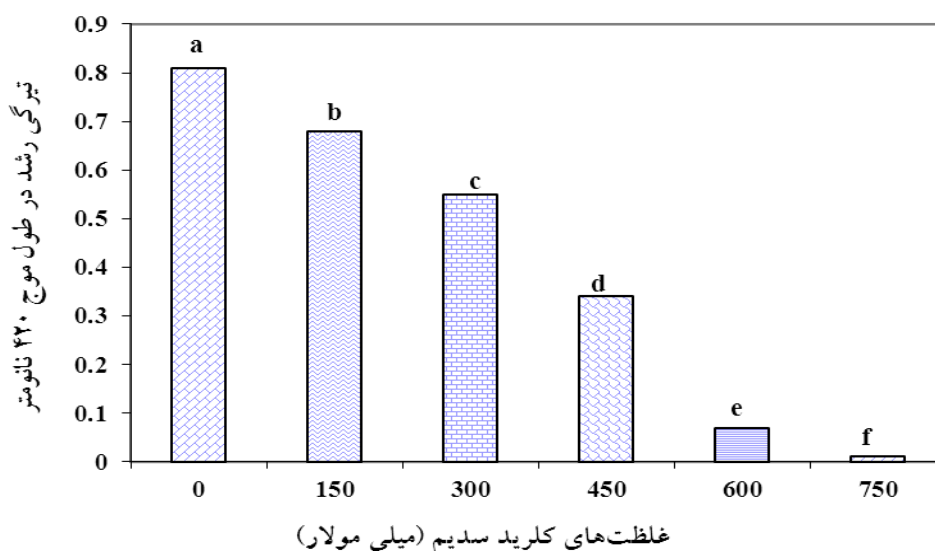
جدول ۱: مشخصات جدایه های سینوریزویوم ملیوتی جمع آوری شده از مناطق مختلف

ردیف جدایه	کد جدایه	نام منطقه جمع آوری	EC	میزبان	ردیف جدایه	کد جدایه	نام منطقه جمع آوری	EC	میزبان
1	M1	سیساب بجنورد	51/0	<i>M .trunatula</i>	24	M36			
2	M3	چمن بید	32/1	<i>M .trunatula</i>	25	M37			
3	M4	دوراهی صالح آباد	46/1	<i>M .trunatula</i>	26	M38	کاشمر - کوه سرخ روستای خضر بیگ		<i>M . sativa</i> رقم مائوپا
4	M5	سرخص			27	M39			
5	M13	گیسور گناباد			28	M40			
6	M14				29	M41			
7	M16			<i>M . sativa</i>	30	M48	سرخص		
8	M17	کوه بزق تربت حیدریه		<i>M .trunatula</i>	31	Rml021	ایزوله وارداتی از کالیفرنیا		
9	M18				32	M7			
10	M21				33	M53			
11	M22	مشهد		<i>M . sativa</i>	34	M59			
12	M23		35	<i>Trigonella</i>	M60				
13	M24		<i>sp .</i>	36	M61				
14	M27			37	M63				
15	M28	روستای دلقند سبزوار	۴/۵۶	<i>M . sativa</i> رقم یزدی	38	M65	مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهران		<i>M .trunatula</i>
16	M42				39	M67			
17	M29				40	M69			
18	M30	جاده تربت حیدریه	۷/۷	<i>M . sativa</i> رقم یزدی	41	M72			
19	M31	رشتخوار سچاه 1			42	M74			
20	M32				43	M75			
21	M33	جاده تربت حیدریه	۷/۵	<i>M . sativa</i> رقم یزدی	44	M77			
22	M34	رشتخوار سچاه 2							

جدایه های ۲۰ و ۲۱ در سطوح مختلف شوری از تیرگی رشد مطلوبی برخوردار بودند اما میانگین تیرگی رشد جدایه های ۳ و ۶ بیشتر بود. جدایه های شماره ۱، ۲، ۳، ۵، ۶، ۱۹ و ۳۳ با میانگین تیرگی رشد بیش از ۰/۵ و جدایه های ۲۴، ۲۷، ۲۵، ۳۴ و ۳۹ با میانگین تیرگی رشد کمتر از ۰/۳ از بیشترین و کمترین میزان رشد در کلیه غلظت های شوری برخوردار بودند (نمودار ۲). نتایج همچنین نشان داد که تحت

شرایط بدون تنش (تیمار شاهد) شش جدایه دارای تیرگی رشد بالای یک بودند که از این میان جدایه شماره ۳ با جدایه های ۲۹، ۳۳ و ۳۵ اختلاف معنی داری در سطح ۰.۵٪ نشان داد اما با جدایه های ۱۵ و ۲۶ در یک سطح قرار گرفت (نمودار ۳).

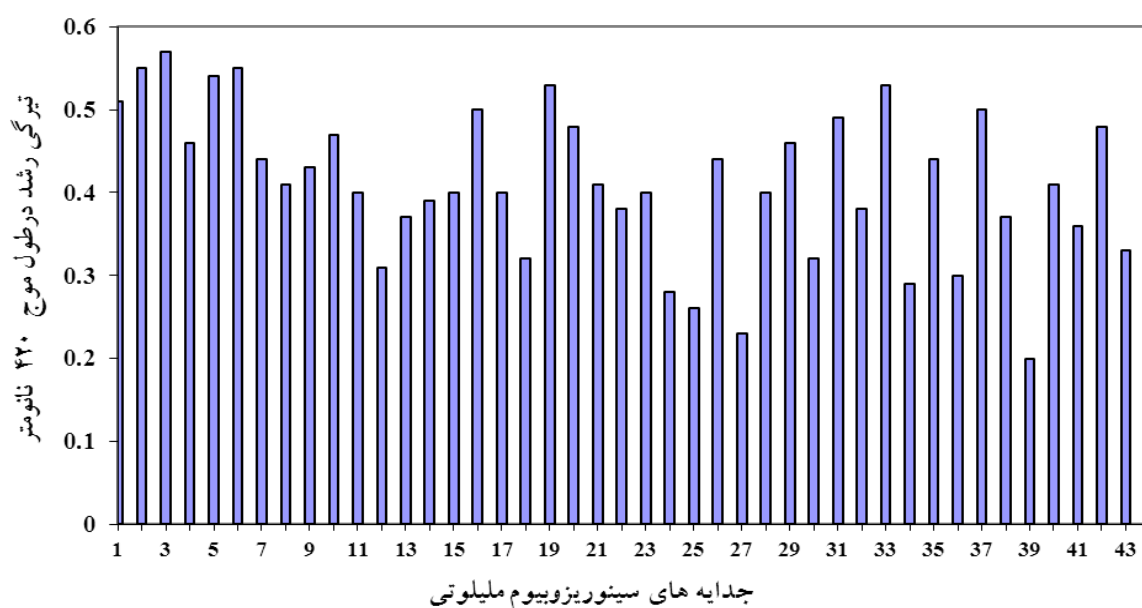
نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه های متحمل به شوری همیشه از خاک های شور منشأ نمی گیرند. به عنوان مثال جدایه شماره ۳ که در غلظت ۶۰۰ میلی مولار دارای تیرگی رشد بالای ۰/۱۱ است از خاکی با شوری معادل ۱/۴۶ دسی زیمنس بر متر منشأ گرفته است. این نتایج با یافته های سوبارائو و همکاران (۱۹۹۰) موافقت دارد. لذا به نظر می رسد تفاوت بین جدایه های ریزوبیوم استخراج شده از منابع و مکان های متفاوت، به علت تفاوت های ژنتیکی آنها باشد (۱۲).



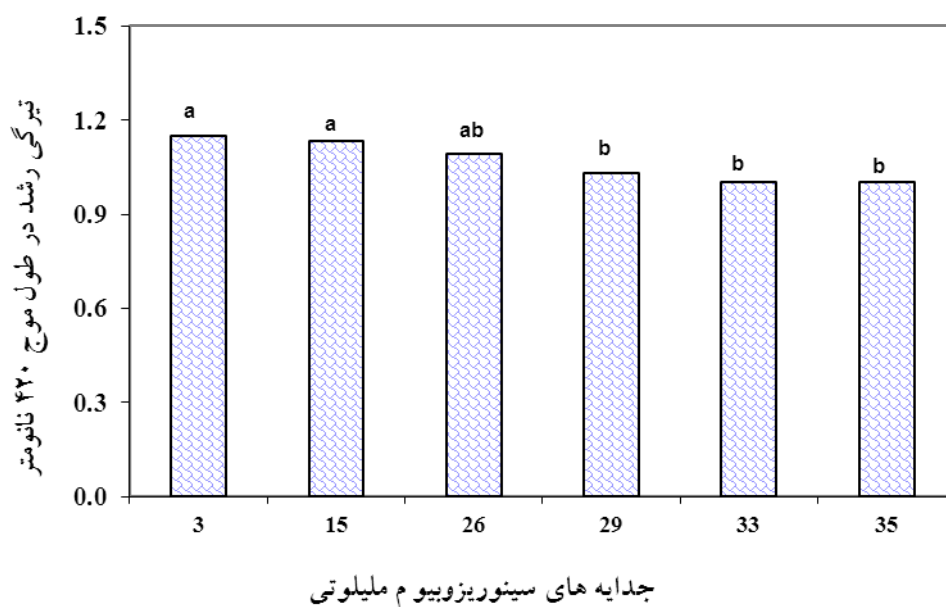
نمودار ۱- تأثیر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر رشد جدایه های سینوریزوبیوم میلیوتی

جدول ۲: تجزیه واریانس و میانگین مربعات رشد جدایه های باکتری تحت شرایط شوری

F	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۵۱۸۴/۵	۱۳/۸۵**	۵	شوری
۵۵/۸۶	۰/۱۴۹**	۴۳	جدایه باکتری
۱۳/۸۱	۰/۰۳۷**	۲۱۵	شوری × جدایه
	۰/۰۰۲۶**	۵۲۸	خطا



نمودار ۲- مقایسه جدایه‌های سینوریزوبیوم میلیوتی در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم



نمودار ۳- مقایسه جدایه‌های برتر سینوریزوبیوم میلیوتی در تیمار شاهد

جدول (۳) حداکثر و حداقل تیرگی رشد جدایه‌های فوق را در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان می‌دهد. همچنان که ملاحظه می‌شود در غلظت ۶۰۰ میلی مولار، جدایه‌ها به شدت تحت تأثیر قرار گرفته و تیرگی رشد تعداد معدودی از آنها در محیط کشت از ۰/۱ تجاوز نمود. این جدایه‌ها به عنوان حساس به شوری در نظر گرفته شدند. بر این اساس تنها هشت جدایه متحمل به شوری انتخاب گردید. رشد

جدایه ها با افزایش سطوح کلرید سدیم کاهش یافته و تعدادی از آنها حتی پس از انتقال به محیط کشت مایع YEM بدون نمک نتوانستند رشد کنند.

جدول ۳: حداکثر و حداقل تیرگی رشد جدایه های سینوریزوبیوم ملیوتی در غلظت های مختلف کلرید سدیم

میلی مولار کلرید سدیم						جدایه ها
۷۵۰	۶۰۰	۴۵۰	۳۰۰	۱۵۰	شاهد (صفر)	
حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	
۰ - ۰/۰۲	۰/۱۱ - ۰/۴۳	۰/۳۹ - ۰/۶۱	۰/۴۵ - ۰/۷۵	۰/۴۷ - ۰/۹۸	۰/۵۷ - ۱	گروه متحمل (۸ جدایه)
۰ - ۰/۰۳	۰ - ۰/۰۹	۰ - ۰/۵۸	۰/۱۷ - ۰/۷۹	۰/۳۲ - ۱	۰/۵۱ - ۱/۱	گروه حساس (۳۶ جدایه)

جدول ۴ مقایسه رشد جدایه های متحمل به شوری را در غلظت های مختلف کلرید سدیم نشان می دهد همانطور که ملاحظه می شود تیرگی رشد قرائت شده برای هر جدایه، به صورت منفی ولی معنی داری وابسته به غلظت های مختلف شوری است. جدایه های شماره ۲۰ و ۲۱ در غلظت ۶۰۰ میلی مولار از تیرگی رشد بالاتری نسبت به سایر جدایه ها برخوردار بودند. هیچیک از جدایه ها در غلظت ۷۵۰ میلی مولار کلرید سدیم رشد نکردند. جدایه شماره ۳ با میانگین تیرگی رشد ۰/۷۳، و جدایه های ۲۲ و ۲۳ با میانگین تیرگی رشد ۰/۳۸ در غلظت های مختلف شوری، بالاترین و پایین ترین تیرگی رشد را بین جدایه های متحمل داشتند.

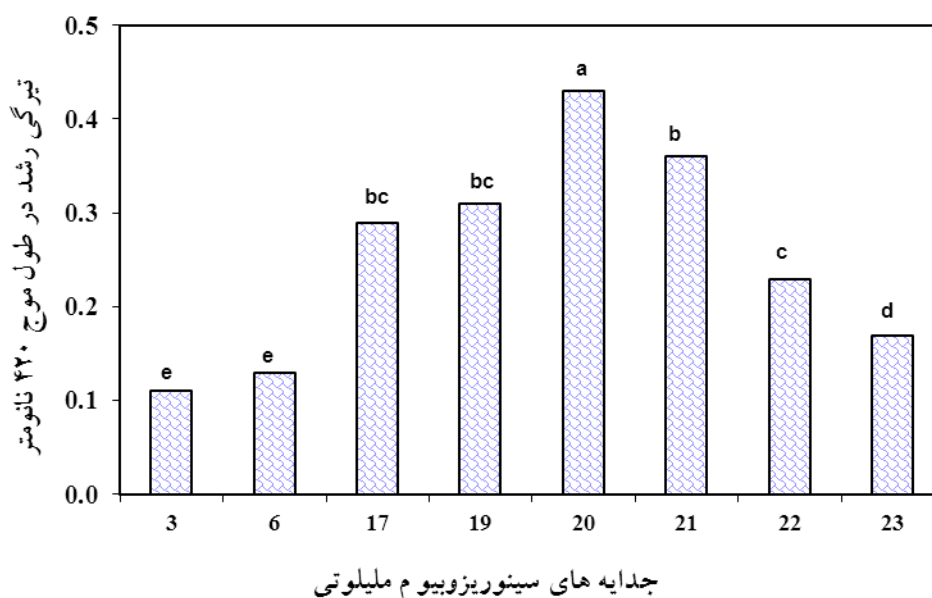
با دقت در نمودار ۴ نیز مشاهده می شود که از بین هشت جدایه متحمل به شوری در ۶۰۰ میلی مولار کلرید سدیم، جدایه شماره ۲۰ اختلاف معنی داری در سطح ۰/۵٪ با سایر جدایه ها داشت. این جدایه به همراه جدایه ۲۱ در کلیه سطوح شوری از تحمل به شوری خوبی برخوردار بودند.

ضرایب کورولاسیون برای هر جدایه نشان داد که احتمال بقاء باکتری ها در شوری های بالاتر از ۷۸۰ میلی مولار بعید به نظر می رسد. محمد و همکاران (۱۹۹۱) نیز معتقدند آستانه رشد جدایه های سینوریزوبیوم ملیوتی تا ۸۰۰ میلی مولار کلرید سدیم می باشد. نتایج آزمایش نشان دادند که جدایه های متحمل حداکثر تا ۳/۵٪ نمک کلرید سدیم را تحمل کردند (شوری آب دریا حدود ۳٪ کلرید سدیم است).

لاکشمی و همکاران (۱۹۷۴) نیز محدوده تحمل برای *S. meliloti* را کمتر یا برابر با ۳٪ نمک (۵۲۸ میلی مولار) گزارش نمودند در حالی که گالشی و اخوان (۱۳۶۷) نشان دادند که باکتریهای *S. meliloti* در

محیط کشت کنترل شده آگار، تا حدود ۲٪ کلرور سدیم افزایش رشد نشان دادند ولی پس از آن رشدشان کاهش یافت.

بر اساس نتایج این تحقیق تیرگی رشد باکتری ها در غلظت ۴۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، در مقایسه با تیمار شاهد به میزان ۵۷٪ کاهش یافت. بوسفورد (۱۹۸۴) نیز نتیجه گرفت که در غلظت ۲۹۱ میلی مولار جمعیت *S. meliloti* به میزان ۵۰٪ کاهش می یابد. آزمایش ثابت کرد جدایه های استخراج شده از گره های ریشه یک گیاه در یک منطقه یا خاک مشخص نیز با هم متفاوتند، بطوری که تفاوت قابل ملاحظه ای بین تحمل آنها به شوری نیز مشاهده می شود. به عنوان مثال تیرگی رشد جدایه های شماره ۳ و ۴، در غلظت ۶۰۰ میلی مولار به ترتیب ۱۱٪ و ۰٪ می باشد (جدول ۴). با وجود این سه جدایه ۱۷، ۱۹ و ۲۰ که از یک منطقه با شوری نسبتاً بالا جدا شدند به ترتیب با تیرگی های رشد ۲۹٪، ۳۱٪ و ۳۶٪ از مقاومت بالایی برخوردار بودند.



نمودار ۴- مقایسه جدایه های سینوریزوبیوم ملیلوتی متحمل به شوری در غلظت ۶۰۰ میلی مولار کلرید سدیم

بر خلاف مقاومت نسبتاً بالای جدایه های مورد آزمایش به شوری، گیاهان میزبان در شوری های بسیار پایین تر از آنچه جدایه ها تحمل می کنند قادر به رشد می باشند، لذا جدایه های باکتری در مقایسه با گیاه میزبان، قادر به تحمل شوری های بالاتر می باشند. محمد و همکاران (۱۹۸۹) نیز معتقدند در شوری های بالاتر از ۱۳۲ میلی مولار کلرید سدیم، تشکیل تارهای کشنده در یونجه متوقف می شود، لذا چنین به نظر می رسد که جدایه هایی که در غلظت های بالای شوری مقاومت نشان می دهند احتمالاً نتوانند با گیاه میزبان سازگاری یابند اما بقاء آنها در شوری های بالا، زیاد خواهد بود. علیخانی و صالح راستین (۲۰۰۲)

نیز نشان دادند تحمل به شوری جدایه های باکتری بیشتر از گیاه میزبان است به طوری که تمام جدایه ها قادرند در شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر رشد کنند.

با توجه به اینکه در مناطق خشک و نیمه خشک، شوری در ارتباط با خشکی می باشد، لذا تلقیح جدایه های سینوریزوبیوم بومی مقاوم به شوری و خشکی یونجه به عنوان یکی از روش های بیولوژیک عرضه نیتروژن و مواد آلی به وارسته های مقاوم یونجه جهت اصلاح و باروری خاک پیشنهاد می شود. این امر ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی و جلوگیری از آلودگی های آب و خاک، گام مؤثری در جهت نیل به کشاورزی پایدار خواهد بود.

جدول ۴: مقایسه رشد جدایه های متحمل به شوری سینوریزوبیوم ملیوتی در غلظت های مختلف کلرید سدیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر پس از ۷۲ ساعت

شماره جدایه	شماره شاهد	میلی مولار کلرید سدیم					ضریب کورولاسیون	
		۷۵۰	۶۰۰	۴۵۰	۳۰۰	۱۵۰	میانگین تیرگی رشد	تیرگی رشد
۳	۱	۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۵۸	۰/۷۳	۰/۹۸	۰/۷۳	-۰/۹۷
۶	۰/۹۳	۰/۰۲	۰/۱۳	۰/۶۱	۰/۷۵	۰/۸۵	۰/۵۴	-۰/۹۵
۱۷	۰/۷۵	۰/۰	۰/۲۹	۰/۳۹	۰/۴۵	۰/۴۷	۰/۳۹	-۰/۹۵
۱۹	۰/۹۹	۰/۰	۰/۳۱	۰/۵۳	۰/۶۵	۰/۶۶	۰/۵۲	-۰/۹۷
۲۰	۰/۶۹	۰/۰۲	۰/۴۳	۰/۴۹	۰/۶۱	۰/۶۳	۰/۴۷	-۰/۸۹
۲۱	۰/۶۴	۰/۰۱	۰/۳۶	۰/۴۲	۰/۴۸	۰/۵۵	۰/۴۱	-۰/۹۲
۲۲	۰/۵۷	۰/۰	۰/۲۳	۰/۴۳	۰/۴۹	۰/۵۷	۰/۳۸	-۰/۹۳
۲۳	۰/۶۶	۰/۰	۰/۱۷	۰/۴۳	۰/۵	۰/۵۷	۰/۳۸	-۰/۹۷

منابع

- ۱- دشتی، م. ۱۳۷۵. تأثیر سوش های سینوریزوبیوم ملیوتی بر تثبیت ازت و خصوصیات رشد سه گونه یونجه یکساله. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.
- ۲- کوچکی، ع.، راشد محصل، م. ح.، نصیری محلاتی، م. و صدرآبادی، ر. ۱۳۶۷. مبانی فیزیولوژیکی رشد و نمو گیاهان زراعی. بنیاد فرهنگی آستان قدس رضوی مشهد.
- ۳- گالشی علی آبادی، س. ا. ۱۳۶۷. بررسی کارائی تثبیت ازت باکتری ریزوبیوم ملیوتی در شرایط شور. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

4- Alikhani, H. A. and Saleh Rastin, N. 2002. Symbiotical characteristics of indigenous *Sinorhizobium meliloti* strains from some Iranian soils and their variations in the different levels of salinity. 17th WCSS, Thailand.

5- Beck, D. P., Materon, L. A. and Afandi, F. 1993. Practical Rhizobium-legume Technology. Manual No. 19. ICARDA. Syria.

6- Bostford, J. L. 1984. Osmoregulation in *Rhizobium meliloti* L., Inhibition of growth by salts. Arch. Microbiology. 137:124-127.

7- Dixcon, R. O. D. and wheeler, C. T. 1985. Nitrogen fixation in plants. Chapman and Hall. Landon.

- 8- **Heidari S. A. H. 1994.** Variation in sensivity of nodulation and nitrogen fixation to nitrate in annual Medicago species. Department of Plant Science, Waite Agriculture Research Institute, Glen Osmond, South Australia, PHD Thesis.
- 9- **Lakshmi-Kumari, M., Singh, C. S. and Subba Rao, N. S. 1974.** Root hair infection and nodulation of Lucerne as influence by salinity and alkalinity. *Plant and Soil*. 40:1310-316.
- 10- **Mohammad R. M., Campbell, W. F. and Rumbaugh, M. D. 1989.** Variation in salt tolerance of alfalfa. *Arid Soil Res. Rehab.* 3:11-20.
- 11- **Mohammad R. M. and Campbell, W. F. 1985.** The search for salt-tolerant Alfalfa/ Rhizobium. *Utah Science*. 46:36-37.
- 12- **Mohammad, R. M., M. Akhbavan-Kharazian, W. F. Campbell, and Rambaugh, M. D. 1991.** Identification of salt and drought tolerant Rhizobium meliloti L. strain. *Plant and soil*. 134:271-276.
- 13- **Singleton, P.W., Elswalby, S. A. and Bohlool, B. B. 1982.** Effect of salinity on Rhizobium growth and survival. *Appl. Environ. Microbiology*. 44:884-890
- 14- **Singleton, P.W. and Bohlool, B. B. 1984.** Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiology*. 74:72-76.
- 15- **Sprent, J. I. and P. Sprent. 1990.** Nitrogen fixing organisms. Chapman and Hall. London.
- 16- **Subba Rao, N. S., Johansen C., Kumar Rao J.V. and Jana, M. K. 1990.** Response of the pigeon pea-Rhizobium symbiosis on salinity stress variation among Rhizobium strain in symbiotic ability. *Biol. Fertil. soil* . 9:49-53
- 17- **Vincent, J. M. 1982.** Nitrogen fixation in legumes. Academic press. London.
- 18- **Zahran, H. H. 1990.** Conditions for successful Rhizobium-legum-symbiosis in saline environment. *Biol. Fert. Soils*. 12:73-80.

