مقایسه توانایی گره‌سازی جدایه‌های ریزوبیومی توده‌های بومی عدس تحت تنش خشکی

مریم باقری مفیدی[۱]، مسعود بهار[۲]، حسین شریعتمداری[۱] و محمدرضا خواجه پور[۳]

چکیده

برای تعیین جدایه‌های متحمل به خشکی باکتری‌های ریزوبیومی هم‌زیست عدس، ۱۲ نمونه خاک ازمناطق مختلف استان‌های گلستان، چهار محال و بختیاری و اصفهان جمع آوری شد و ارقام محلی عدس بی نام دانه درشت، قزوینی و فریدنی در هر نمونه خاک در گلخانه کشت شد. پس از۱۰ هفته از گره‌های تشکیل شده روی ریشه گیاهان، ۳۲۴ سویه ریزوبیومی جداسازی شدند. در تعیین تحمل به شوری جدایه‌ها، مشخص شد که تمام جدایه‌های به دست آمده قدرت رشد در محیط کشت حاوی ۲۰۰ میلی‌مولار کلرور سدیم را دارند. در مقادیر بالای نمک (بیش از ۴۰۰ میلی مولار)، از نظر تحمل به شوری، تفاوت عمده‌ای در بین جدایه‌ها وجود داشت، به طوری که فقط ۲۰ درصد از آنها به عنوان متحمل به شوری ارزیابی گردید. جدایه‌های RL۲۴۹ و RL۲۱۱ با رشد در غلظت ۵۵۰ و ۶۰۰ میلی مولار نمک طعام به عنوان جدایه‌های برتر متحمل به شوری برگزیده شدند. نتایج بررسی تحمل به تنش پتانسیل ماتریک جدایه‌ها در سطوح مختلف PEG۶۰۰۰ با تحمل به شوری آنها مطابقت داشت. به طور کلی، جدایه‌های متحمل به شوری قادر به تحمل تنش خشکی در شرایط آزمایشگاهی نیز بودند، ولی این تحمل به شوری و خشکی ارتباطی با منشأ جغرافیایی این جدایه‌ها نداشت. در یک طرح فاکتوریل، کرت‌های خرد شده با سه تکرار، گره‌سازی جدایه‌های متحمل RL۲۱۱، RL۲۴۹ و نیز جدایه حساس RL۷۷ بر روی دو رقم عدس بی نام دانه درشت و فریدنی تحت تیمارهای مصرف ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۹۸ درصد آب قابل استفاده از خاک مقایسه شد. گرچه تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث کاهش گره‌سازی شد، اما رقم عدس بی نام دانه درشت به دلیل تراکم زیاد ریشه در واحد حجم، میزان گره سازی بیشتری داشت. با وجود این که، جدایه RL۲۴۹ در تحمل به شوری و خشکی در شرایط آزمایشگاهی و نیز آزمایش‌های گلخانه‌ای نسبت به سایر جدایه‌ها برتری نشان داد، ولی با افزایش تنش خشکی در سطح بالاتر از ۵۰ درصد مصرف آب قابل استفاده گره‌زایی کاهش معنی‌داری داشت.

واژه‌های کلیدی: عدس، ریزوبیوم، هم‌زیستی، مقاوم به شوری، مقاوم به خشکی

مقدمه

تثبیت بیولوژیک نیتروژن در هم‌زیستی ریزوبیوم و گیاهان لگومینوز به عنوان یکی از امکانات کم هزینه و بدون آلودگی برای تأمین نیاز نیتروژن محصولات زراعی گیاهان این خانواده، که از نظر تولید مواد غذایی و توسعهٔ مراتع، اهمیت دارند، مورد توجه عمومی قرار دارد(۲۷). ولی باید توجه داشت که مؤثر

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲. استادیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳. دانشیار زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

بودن جدایه‌های ریزوبیومی اختصاصی هر گونهٔ گیاهی، قدرت تثبیت نیتروژن و نیز سازگاری این ریزوبیوم‌ها به اقلیم‌های مختلف، از جمله عواملی است که در موفقیت هم‌زیستی ریزوبیوم – لگوم اثر می‌گذارند (۱۸). بنابراین برای کسب نتیجه مطلوب از این نوع هم‌زیستی باید به کارآیی جدایه‌های ریزوبیومی در واریته‌های گیاهی مناسب و در شرایط اقلیمی متفاوت، توجه نمود.

عدس از جمله گیاهان لگومینوز محسوب می‌شود که در رژیم غذایی مردم ایران اهمیت دارد و به دلیل مقاومت به خشکی و امکان کاشت دیم آن، در بعضی مناطق کشور به عنوان محصول دیم در تناوب با غلات کشت می‌شود (۲). این گیاه به دلیل داشتن توان هم‌زیستی با باکتری‌های ریزوبیوم، قادر است بخشی از نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق تثبیت بیولوژیک این عنصر تأمین نماید (۱)، ولی وقوع خشکی طی فصل رویشی و زایشی گیاه باعث محدودیت رشد گیاه می‌شود (۱۷) و فرایند گره‌سازی و تثبیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۶). شوری خاک نیز که ممکن است در بیشتر خاک‌ها همراه با خشکی باشد، اثر بازدارنده‌ای روی هم‌زیستی و در نتیجه منافع حاصل از آن دارد (۱۲). به طورکلی، شوری منجر به محدود شدن تشکیل تارهای کشنده و هم‌چنین کم شدن قدرت نفوذ ریزوبیوم‌ها به داخل تارهای کشنده می‌شود (۱۳، ۱۶، ۲۲ و ۳۰).

مطالعات بر روی ریزوبیوم یونجه (۵) و باقلا (۲۱) نشان داده است که با افزایش خشکی، تعداد گره‌ها، وزن خشک گیاه و مقدار نیتروژن اندام هوایی کاهش می‌یابد. پژوهش‌های دیگر (۲۴ و ۲۵) نیز مشخص نمودند که گره‌سازی یونجه و سویا تحت تنش خشکی تنزل پیدا می‌کند که این پدیده احتمالاً به خاطر تخریب پلاسمودسماتا می‌باشد که ارتباط گره‌ها را با سلول‌های گیاهی میسر می‌سازد. چنین عملی به چروکیدگی سطحی گره‌ها و تخریب فضای بین سلولی یا کورتیکول در بافت منجر می‌شود. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که تنش خشکی قادر است میزان تثبیت نیتروژن، تنفس گره‌ها، وزن خشک گیاه و بازده محصول را کاهش دهد (۱۶).

پژوهش‌ها (۱۶ و ۲۰) نشان داده‌اند که ریزوبیوم‌های متحمل به خشکی، در شرایط شور نیز توانایی رشد خوبی دارند. چنین یافته‌هایی نشان می‌دهد که احتمالاً پتانسیل ژنتیکی ریزوبیوم‌ها در تحمل به شوری و خشکی یکسان می‌باشد. تنش شوری، همانند تنش خشکی به نحوی به تنش آبی آنها منجر می‌شود. بنابراین ریزوبیوم‌هایی که تحمل تنش‌های شوری را دارند قادر خواهند بود در تنش رطوبتی نیز فعالیت مناسبی داشته باشند.

تاکنون کارایی جدایه‌های ریزوبیومی عدس در مناطق مختلف ایران که تحت تنش خشکی قرار دارند، مطالعه نشده و معلوم نیست که در هر یک از اقلیم‌های کشور چه سویه‌هایی، توانایی گره سازی و تثبیت نیتروژن مناسب برای افزایش رشد عدس را دارند. به این لحاظ تعیین مناسب‌ترین جدایه‌های ریزوبیومی عدس از نظر تحمل به خشکی در آزمایشگاه و گلخانه می‌تواند به انتخاب ریزوبیوم‌های مؤثر که هم‌زیستی مناسبی با توده‌های بومی عدس در مناطق دیم ایران دارند کمک نماید.

در این پژوهش برای جداسازی باکتری‌های ریزوبیومی هم‌زیست با عدس از خاک‌های استان‌های گلستان، اصفهان و چهارمحال و بختیاری نمونه برداری شد. با توجه به یافته‌های قبلی که پتانسیل ژنتیکی ریزوبیوم‌ها در تحمل به شوری و خشکی یکسان است (۱۶ و ۲۰) و به دلیل سهولت کار آزمایشگاهی در غربال کردن سویه‌ها از نظر تحمل به شوری، ابتدا رشد سویه‌های به دست آمده ریزوبیومی در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف کلرور سدیم ارزیابی شد و سپس جدایه‌های متحمل به شوری از نظر تحمل به تنش خشکی در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی شدند تا جدایه‌های مناسب با توده‌های بومی عدس دیم کاری شده در این مناطق معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

برای جداسازی ریزوبیوم‌های بومی و تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، از اراضی مختلف نواحی قوچ کرچی، سرخنکلاته و کمال آباد استان گلستان، فریدونشهر اصفهان و

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

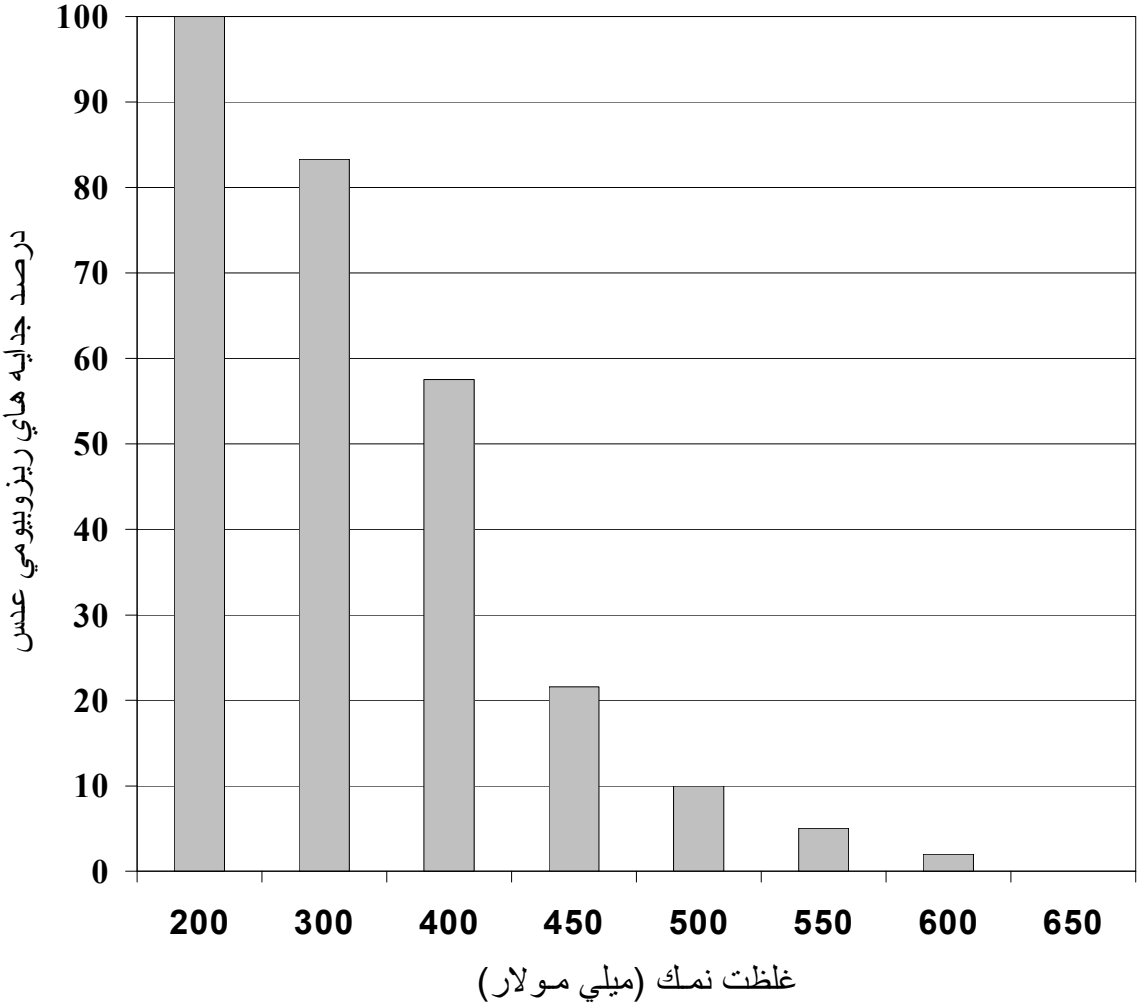
بن شهرکرد و معمورهٔ بروجن استان چهارمحال بختیاری نمونه برداری مرکب صورت گرفت. به این منظور پنج نمونه خاک به طور تصادفی از افق سطحی صفر تا بیست سانتی‌متر از سه مزرعه در هر محل برداشت گردید و پس از اختلاط مناسب، به عنوان نمونه آن محل در آزمایش‌ها به کار رفت. تمام نمونه‌های خاک از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و مقداری از هر نمونه خاک پس از خشک شدن در معرض هوا برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی استفاده شد (۸ و ۹). بقیه هر نمونه خاک به نسبت ۱:۱ با ماسه سترون مخلوط شد. مخلوط خاک حاصل در گلدان‌های با ظرفیت حدود سه کیلوگرم ریخته و در هر گلدان ۱۲ عدد بذر از سه توده محلی مختلف عدس به نام‌های بی نام دانه درشت، فریدنی و قزوینی کشت شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای حداکثر ۳۲ و حداقل ۱۵ °C و نور طبیعی نگه‌داری شدند. پس از ده هفته، گیاهان برداشت و ریشه‌ها به وسیله جریان آرام آب شسته شدند.

سه بوته از هر توده عدس در هر نمونه خاک انتخاب و تعداد گره‌های آنها شمارش شد. از بین گره‌های شمارش شده در هر بوته، سه گره سالم، درشت و صورتی رنگ برای جداسازی ریزوبیوم در نظر گرفته شد. به این منظور، پس از ضدعفونی گره‌ها با الکل اتیلیک ۷۰ درصد به مدت دو دقیقه و در ادامه با محلول هیپوکلرید سدیم تجارتی (وایتکس) ۶ در هزار به مدت سه دقیقه و سه بار شست‌وشو با آب مقطر سترون، هر گره به طور جداگانه درون یک چاهک پلیت ELISA محتوی ۵۰ میکرولیتر آب مقطر سترون قرار داده شد و به کمک میله فلزی سترون، له گردید. یک لوپ از سوسپانسیون تهیه شده از هر گره، بر روی محیط غذایی TY محتوی کلرورکلسیم با دو ملکول آب ۰/۹ گرم، تریپتون ۵ گرم، عصاره مخمر ۳ گرم و آگار ۱۵ گرم در یک لیتر آب مقطر (۷) به صورت خطی کشت شد. پس از نگه‌داری محیط‌های کشت در دمای ۲۸ °C به مدت ۷۲ ساعت، پرگنه‌های تشکیل شده بر روی محیط از لحاظ مرفولوژیکی بررسی شد و یک پرگنه شاخص ریزوبیومی سفید، لعاب‌دار و شفاف از هر نمونه انتخاب و مجدداً در محیط TY کشت خالص گردید. برای نگه‌داری طولانی مدت جدایه‌های ریزوبیومی عدس، هر جدایه پس از ۳۶ ساعت رشد در محیط TY مایع، به مقدار ۶۰۰ میکرولیتر به لوله‌های کرایو (Cryo tube Nunc Co.) محتوی ۳۰۰ میکرولیتر گلیسرین سترون منتقل شد. لوله‌های نمونه پس از انجماد ۳۰ ثانیه‌ای درون نیتروژن مایع، به فریزر ۸۰- °C انتقال یافت. در صورت نیاز به استفاده از این جدایه‌ها، مقدار کمی از سوسپانسیون یخ زده به سرعت برداشت شده و تکثیر مجدد آن در محیط TY انجام گرفت.

جهت تعیین مقاومت به شوری، جدایه‌های ریزوبیومی از روش اعمال تنش شوری روی ریزوبیوم‌ها در محیط TY مایع و جامد استفاده شد. به این منظور، ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی 10^8 واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر میلی‌لیتر (cfu/ml) هر جدایه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت TY سترون دارای غلظت‌های صفر، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۴۵۰، ۵۵۰ و ۶۰۰ میلی‌مولار کلرور سدیم اضافه گردید. محیط‌های کشت در دمای ۲۸ °C و در حال تکان خوردن (۱۰۰ دور در دقیقه) نگه‌داری شدند. پس از ۴۸ ساعت، تغییر نکردن شفافیت محیط کشت در حضور باکتری به منزله ناتوانی رشد جدایه‌های ریزوبیوم در محیط مایع حاوی غلظت خاصی از کلرور سدیم ارزیابی شد. در مواردی که باکتری رشد کرده بود، بر حسب مشاهده میزان کدورت محیط، توانایی رشد جدایه در هر محیط کشت، محتوی غلظت مشخصی از کلرور سدیم از یک تا سه درجه بندی شد. در این نوع ارزیابی مشاهده‌ای، تیمارهایی که میزان تراکم رشد در آنها معادل رشد باکتری در محیط بدون کلرور سدیم بود، درجه ۳ دریافت کردند و در مقابل تیمارهایی که حداقل تراکم رشد را نشان دادند، به عنوان درجه ۱ محسوب شدند. بقیه نمونه‌ها نیز که تراکم رشد بینابینی داشتند درجه ۲ ارزیابی شدند. به طور هم‌زمان ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده برای هر جدایه، روی محیط TY جامد محتوی همان غلظت‌های قبلی

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]



شکل ۱. گروه‌بندی جدایه‌های ریزوبیومی هم‌زیست با عدس از نظر تحمل به سطوح مختلف کلرور سدیم

کلرور سدیم به صورت لکه، مایه زنی شد و محیط‌های کشت در دمای ۲۸ °C نگه‌داری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، میزان رشد هر جدایه در غلظت‌های مختلف نمک در مقایسه با تیمار شاهد بر حسب مشاهده چشمی از صفر تا سه درجه بندی شد. براساس ارزیابی تراکم رشد در محیط TY حاوی غلظت‌های مختلف نمک، جدایه‌های ریزوبیومی عدس در چهار گروه حساس (قادر به رشد در غلظت‌های ۲۰۰-۰ میلی‌مولار کلرور سدیم)، نسبتاً متحمل (قادر به رشد در غلظت‌های ۴۰۰-۲۰۰ میلی‌مولار کلرور سدیم)، متحمل (قادر به رشد در غلظت‌های ۵۰۰-۴۰۰ میلی‌مولار کلرور سدیم) و بسیار متحمل (قادر به رشد در غلظت‌های ۶۰۰-۵۰۰ میلی مولار کلرور سدیم) دسته بندی شدند. نمودار فراوانی تعداد جدایه‌های ریزوبیومی جمع آوری شده که قادر به رشد در غلظت‌های مختلف نمک طعام بود با توجه به معادله

$Y=۵ e -۰/۶ x۳- ۰/۰۰۵۹x ۲+۱/۹۰۵ x -۸۵/۱۱ \quad R۲=۰/۹۸$

محاسبه و ترسیم شد (شکل ۱) که در آن Y تعداد جدایه‌های ریزوبیومی (درصد) و X غلظت کلرور سدیم بر حسب میلی مولار در نظر گرفته شد (۱۲).

پس از آزمایش‌های اولیه و بر اساس درجه‌بندی میزان رشد به صورت مشاهده‌ای، ۵۰ جدایه ریزوبیومی که بیشترین و کمترین رشد در سطوح مختلف شوری را داشت انتخاب و مقایسه تحمل به شوری در آنها مجدداً تکرار گردید. پس از

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

بررسی نتایج به دست آمده، ۱۴ جدایه ریزوبیومی عدس به عنوان سویه‌های متحمل به شوری تحت آزمایش‌های مربوط به تحمل به تنش رطوبتی قرار گرفت.

میزان تحمل به تنش خشکی ۱۴ جدایه ریزوبیومی انتخاب شده در آزمایش‌های تحمل به شوری، در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور از محیط‌های کشت مایع TY بدون کلرور کلسیم حاوی ۵۶، ۱۴۴، ۲۸۸، ۵۷۶ و ۷۲۰ گرم پلی اتیلن گلیکول (PEG ۶۰۰۰) در لیترکه به ترتیب پتانسیل ماتریک معادل ۰/۰۵-، ۰/۲۵-، ۰/۹-، ۳/۴- و ۵/۲ - مگاپاسکال در محیط ایجاد کردند (۱۹) استفاده شد. پس از اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی حدود 10^{8} واحد تشکیل دهنده پرگنه در میلی‌لیتر هر جدایه ریزوبیومی به محیط‌های کشت تهیه شده، نمونه‌ها در حال تکان خوردن (۱۰۰ دور در دقیقه) در شرایط آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت نگه‌داری شدند. سپس به دلیل عدم تشخیص صحیح تراکم جمعیت باکتری‌ها در محیط حاوی PEG ۶۰۰۰، یک لوپ از سوسپانسیون هر نمونه روی محیط TY بدون PEG ۶۰۰۰ جامد کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت، میزان رشد هر جدایه ریزوبیومی در غلظت‌های پلی اتیلن گلیکول بر حسب صفر تا سه درجه بندی شد. در این ارزیابی مشاهده‌ای، رشد کمتر از ۱۰ کلنی در محیط کشت با نمره یک و رشد غیر قابل شمارش باکتری با نمره ۳ درجه‌بندی شد. درجه ۲ به تیمارهایی تعلق گرفت که بیش از ۱۰ کلنی قابل شمارش داشت.

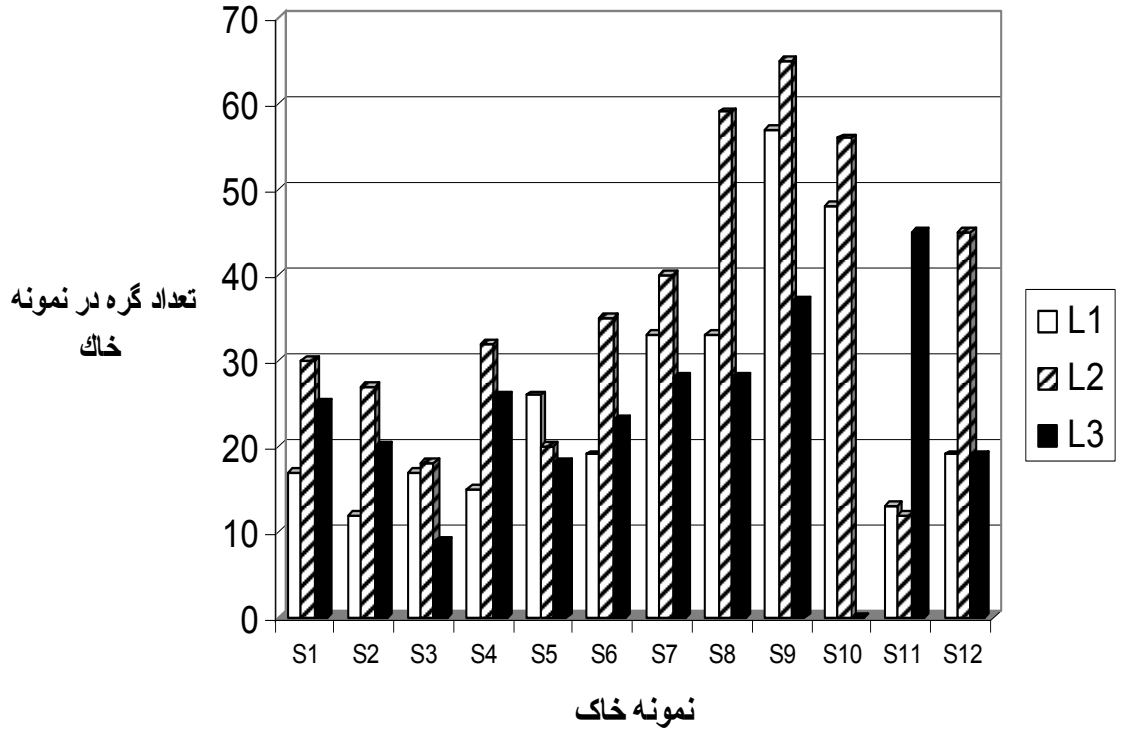
پس از انجام آزمایش‌ها، دو جدایه ریزوبیومی عدس که دارای بالاترین میزان تحمل به شوری و غلظت‌های پلی اتیلن - گلیکول درشرایط آزمایشگاهی بودند، برای تعیین مقاومت به خشکی در شرایط گلخانه انتخاب شدند. جدایه دیگری که حساسیت زیادی به شرایط تنش شوری و خشکی نشان داده بود نیز به عنوان شاهد استفاده شد. مقداری بذر عدس توده محلی فریدنی و بی نام دانه درشت، پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریدسدیم و الکل اتیلیک ۹۶ درصد به مدت دو دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون به طور جداگانه در تشتک‌های پتری سترون محتوی کاغذ صافی مرطوب کشت شدند. پس از دو روز، بذرهای جوانه زده با سوسپانسیون‌های حاوی حدود 10^{10} واحد تشکیل دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر تهیه شده از هر جدایه به مدت پنج دقیقه آغشته شده و سپس در گلدان‌های محتوی مخلوط خاک- ماسه (۱:۱) سترون کشت شدند، به طوری که بذرهای جوانه زده دو رقم عدس که با یک جدایه ریزوبیومی مایه زنی شده بودند در یک گلدان ولی به صورت مجزا شده توسط یک دیواره چوبی قرار داشتند. به این ترتیب تعداد ۳۶ گلدان در یک طرح فاکتوریل خردشده کاملاً تصادفی، با چهار سطح خشکی (مصرف ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۹۸ درصد آب قابل استفاده)، با سه نوع جدایه ریزوبیومی مایه زنی و دو توده عدس (دانه درشت و محلی فریدنی) و با سه تکرار آماده گردید. برای کاهش تبخیر از سطح خاک، روی خاک گلدان‌ها با پرلایت پوشانده شد.

برای اعمال تیمارهای تنش خشکی در گلدان‌ها، ابتدا منحنی مشخصه رطوبتی خاک تعیین شد. به این منظور نمونه‌های خاک که در ابتدا با آب اشباع شده بود در چهار تکرار و در فشارهای ۰/۰۳، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷ و ۱/۵ مگاپاسکال به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه صفحه فشاری (Pressure plate apparatus) به تعادل رسیده و سپس بر اساس این نمونه‌ها، منحنی رطوبتی خاک ترسیم شد. بر اساس این منحنی، حدود رطوبتی ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم به ترتیب در ۰/۰۳- و ۱/۵- مگاپاسکال انتخاب و رطوبت بین این دو حد به عنوان آب قابل استفاده در نظر گرفته شد. تنش‌های خشکی مصرف ۵۰ (شاهد)، ۷۵، ۹۰ و ۹۸ درصد آب قابل استفاده بر گلدان‌ها اعمال شد. با توجه به منحنی رطوبتی خاک، این مقادیر، استرس معادل پتانسیل‌های ماتریک ۰/۰۹-، ۰/۲۱-، ۰/۶۳- و ۱/۵- مگاپاسکال بودند.

برای اعمال تیمارهای خشکی، ابتدا وزن گلدان‌ها در حد رطوبت ظرفیت مزرعه و هم‌چنین سطوح مختلف مصرف آب قابل استفاده خاک محاسبه و سپس تمام گلدان‌ها با آب مقطر سترون، آبیاری شدند تا به رطوبت حد ظرفیت مزرعه رسیدند.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]



شکل ۲.تعداد گره‌های ارقام مختلف عدس در ۱۲ نمونه خاک (L_1 رقم عدس توده محلی فریدنی، L_2 رقم عدس بی نام دانه درشت و L_3 رقم عدس قزوینی)

S۱ = سرخنکلاته با سابقه کشت عدس
S۲= سرخنکلاته بدون سابقه کشت عدس
S۳ = قوچ کرچی با سابقه کشت عدس
S۴= قوچ کرچی بدون سابقه کشت عدس
S۵ = کمال آباد با سابقه کشت عدس
S۶= کمال آباد بدون سابقه کشت عدس
S۷ = فریدن با سابقه کشت عدس
S۸= فریدن بدون سابقه کشت عدس
S۹ = بن با سابقه کشت عدس
S۱۰= بن بدون سابقه کشت عدس
S۱۱ = بروجن با سابقه کشت عدس
S۱۲= بروجن بدون سابقه کشت عدس

پس از این مرحله و با توزین روزانه گلدان‌ها، مقدار آب مصرفی آنها محاسبه و پس از رسیدن رطوبت به حد مجاز تعیین شده در هر تیمار، آبیاری گلدان برای رسیدن به حد ظرفیت مزرعه انجام گرفت. افزایش وزن گلدان‌ها در اثر رشد گیاهان، با در نظر گرفتن وزن و تعداد گیاهان شاهد در محاسبهٔ میزان آب مورد نیاز تیمارهای مختلف ملحوظ شد و تصحیح مربوط انجام گرفت. پس از ۱۲ هفته، گیاهان، برداشت شده و پس از شستشوی ریشه‌ها، چهار بوته از هر تیمار به طور تصادفی انتخاب شد. پس از توزین ریشه‌ها، تعداد گره‌های ایجاد شده روی آنها شمارش گردید. اطلاعات حاصل از این آزمایش‌ها توسط نرم افزار آماری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن اثر عامل آزمایشی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن به عمل آمد.

نتایج

نتایج به دست آمده از کاشت سه رقم عدس بی نام دانه درشت، توده محلی فریدنی و توده محلی قزوینی در ۱۲ نمونه خاک جمع آوری شده از مناطق مختلف نشان داد که در خاک منطقه بن استان چهار محال و بختیاری دارای سابقه کاشت عدس،

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

بیشترین تعداد گره وجود داشت، ولی در خاک قوچ کرچی استان گلستان، بدون سابقه کاشت عدس، کمترین تعداد گره ثبت شد. در بقیه نمونه‌های خاک، میزان گره‌بندی در حد واسط این دو نمونه خاک قرار داشت (شکل ۲). در بررسی تعداد گره و اندازه‌گیری‌های مختلف فیزیکوشیمیایی نمونه‌های خاک، رقم عدس بی نام دانه درشت دارای تعداد فراوانی از گره‌های درشت بود، در حالی که اندازه و تعداد گره‌ها در توده‌های محلی عدس فریدنی و قزوینی در همه خاک‌های مشابه و متوسط ارزیابی شد. در هیچ کدام از موارد، اثر خصوصیات شیمیایی خاک مانند OM، ECe، pH، CaCO3، CEC، P و K قابل جذب و Na محلول خاک بر میزان گره‌سازی ریشه‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود.

پرگنه باکتری‌های ریزوبیوم جدا شده از تمام گره‌های مورد بررسی در محیط کشت TY جامد، از نظر مرفولوژیکی یکسان و به صورت شفاف، سفید و لعاب‌دار بود که پس از ۷۲ ساعت گرانول‌های کرم رنگی در مرکز پرگنه‌ها ظاهر شد. در مجموع ۳۲۴ جدایه ریزوبیومی از خاک‌های نمونه، جداسازی شده و در آزمایش‌های بعدی به کار گرفته شد.

تمام جدایه‌های ریزوبیومی عدس، قادر به تحمل ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرور سدیم بود، در حالی که فقط ۶۰ درصد از این جدایه‌ها براساس طبقه بندی انجام شده، جدایه‌های نسبتاً متحمل، نام‌گذاری شد. در این بررسی تقریباً ۲۰٪ نمونه‌ها متحمل به شوری تشخیص داده شد که از مناطق مختلف نمونه برداری شده بودند. در بین این جدایه‌های ریزوبیومی فقط دو جدایه RL۲۱۱, RL۲۴۹ که به ترتیب از مزارع بدون سابقه کشت عدس کمال آباد استان گلستان و فریدن اصفهان جداسازی شده بودند، میزان ۵۵۰ میلی‌مولار نمک طعام در محیط کشت را تحمل کردند که در آزمایش‌های مجدد، این تحمل به شوری برای RL۲۴۹ تا ۶۰۰ میلی‌مولار نیز برآورد شد. ارزیابی مقاومت به شوری جدایه‌های ریزوبیومی در محیط TY جامد، محتوی غلظت‌های مختلف کلرور سدیم نیز نتایج آزمایش قبلی را تأئید کرد و در مجموع RL۲۴۹ به عنوان قابل تحمل‌ترین و RL۷۷ به عنوان حساس‌ترین جدایه‌های ریزوبیومی عدس نسبت به شوری برگزیده شدند.

در بررسی مقاومت به تنش خشکی، ۱۴ جدایه ریزوبیومی که دارای کمترین و بیشترین تحمل به شوری بود، مشخص شد که تمام جدایه‌ها قدرت تحمل غلظت‌های ۵۶ و ۱۴۴ گرم PEG۶۰۰۰ در هر لیتر محیط TY را دارند. در تیمارهای ۲۸۸ و ۵۷۶گرم در لیتر، که به ترتیب پتانسیل ماتریکی معادل ۰/۹- و ۳/۴- ایجاد شد، جدایه‌های RL۲۱۱، RL۲۳۴ و RL۲۴۹ درجات بالای رشد را به خود اختصاص دادند، ولی دو جدایه RL۷۷ و RL۱۶۸ ضمن رشد محدود در ۲۸۸ گرم PEG ۶۰۰۰ در لیتر، در تیمارهای غلیظ تر این ماده هیچ‌گونه رشدی نداشتند. در ارزیابی نهایی، RL۲۴۹ به عنوان جدایه متحمل به کاهش پتانسیل ماتریک انتخاب شد و جدایه‌های RL۲۳۴ و RL۲۱۱ نیز در اولویت بعدی قرار گرفت.

در بررسی مقاومت به تنش خشکی در شرایط گلخانه‌ای، از جدایه‌های ریزوبیومی RL۲۱۱ و RL۲۴۹ که بیشترین و RL۷۷ کمترین تحمل به شوری و تنش خشکی را در شرایط محیط کشت نشان داده بودند استفاده شد. به منظور بررسی تأثیر سطوح تیمار خشکی بر گره‌بندی، ارقام عدس توسط جدایه‌های ریزوبیومی، آنالیز واریانس تیمارها بر اساس طرح فاکتوریل خردشده در قالب کاملاً تصادفی انجام گرفت (جدول ۱). براساس اطلاعات به دست آمده، بین میزان گره‌سازی و سطوح مختلف خشکی، تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود داشت (جدول ۲). به عبارت دیگر، هرچه شرایط خشکی حادتر شده بود، تعداد گره کاهش داشت. هم‌چنین ارقام عدس مورد آزمایش از نظر گره‌سازی تفاوت معنی‌داری نشان دادند، به طوری که حداکثر گره‌سازی در رقم بی نام دانه درشت دیده شد و تعداد گره‌های تشکیل شده در رقم فریدنی محدوتر بود. در تجزیه و تحلیل آماری، تأثیر جدایه‌های ریزوبیومی روی میزان گره‌زایی، قابل توجه نبود. هم‌چنین آثار متقابل جدایه‌های ریزوبیومی باتوجه به تنش خشکی روی ارقام عدس نیز بر میزان گره سازی ریشه در سطح پنج درصد معنی‌دار نشد،

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

جدول ۱. تجزیه واریانس، اثر تیمارهای مورد بررسی بر تعداد گره و وزن تر ریشه عدس

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات مورد بررسی	
		میانگین مربعات	
		تعداد گره	وزن تر ریشه
رژیم آبیاری	۳	۴۲۵/۰۵۱ **	۱/۲۲۵ ns
ایزوله ریزوبیومی	۲	۷۱/۰۵۶ ns	۵/۲۵۲ **
رژیم آبیاری × ایزوله ریزوبیومی	۶	۲۸/۲۰۴ ns	۰/۸۰۸ ns
خطا	۲۴	۷۱/ ۱۵۳ ns	۰/۷۵۵ ns
ارقام عدس	۱	۱۴۶۷/ ۰۱۴ *	۱۵/۳۰۹ **
رژیم آبیاری × ارقام عدس	۳	۹۵/۵۶۹ **	۰/۰۳۴ ns
ایزوله ریزوبیومی× ارقام عدس	۲	۲/۰۵۶ ns	۰/۰۹۳ ns
رژیم آبیاری× ایزوله ریزوبیومی × واریته عدس	۹	۲۲/۵۰۰ ns	۰/۳۹۶ ns
خطا	۲۴	۲۸/۱۵۳ ns	۰/۲۷۷ ns

* : در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشد. ** : در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲. مقایسه اثر تنش خشکی بر تعداد گره ارقام عدس دانه درشت (واریته ۱) و توده محلی فریدنی (واریته ۲)

میزان مصرف آب قابل استفاده	واریته	میانگین تعداد گره
مصرف ۵۰ درصد آب قابل استفاده	واریته ۱	۲۶/۳۳۳ a
	واریته ۲	۱۰/۶۶۷ bcd
مصرف ۵۰ درصد آب قابل استفاده	واریته۱	۱۴/۱۱۱ bc
	واریته ۲	۶/۴۴۴ de
مصرف ۵۰ درصد آب قابل استفاده	واریته ۱	۱۵/۴۴۴ b
	واریته ۲	۷/۶۶۷ de
مصرف ۵۰ درصد آب قابل استفاده	واریته ۱	۹/۴۴۴ cde
	واریته ۲	۴/۴۴۴ e

میانگین هر گروه که حد اقل دریک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های وزن تر ریشه (gr) گیاهان تلقیح شده باجدایه‌های ریزوبیومی

شماره جدایه ریزوبیومی	میانگین‌ها
RL۷۷	۱/۰۵۷[a]
RL۲۱۱	۱/۶۴۵[b]
RL۲۴۹	۱/۹۸۱[c]

حروف مشترک نمایانگر آن است که تفاوت آماری درآزمون دانکن در سطح یک درصد ملاحظه نشده است.

هرچند تعداد گره‌های مربوط به جدایه‌های RL۲۱۱ و RL۲۴۹ در تیمارهای مختلف نسبت به RL۷۷ بیشتر بود. به طور مثال در تنش خشکی مصرف ۷۵ درصد آب قابل استفاده، تعداد ۷۹ گره برای RL۲۴۹ شمارش شد، در حالی که برای RL۷۷ در همان تیمار خشکی فقط ۴۹ گره ثبت شد.

سطوح مختلف خشکی و نوع رقم عدس در ایجاد گره توسط ریزوبیوم در گیاهان مؤثر بود. برای نمونه می‌توان گفت هر چند که در سطح ۵۰ درصد مصرف آب قابل استفاده، میزان گره‌زایی واریته دانه درشت قابل توجه بود ولی با اعمال تنش مصرف ۷۵ درصد آب قابل استفاده، تعداد گره‌ها باتوجه به مقایسه میانگین‌ها تا ۵۴ درصد کاهش پیدا کرد و در تنش مصرف ۹۸ درصد آب قابل استفاده، گره‌زایی کاهش معنی‌دار داشت. چنین روندی در توده عدس فریدنی نیز مشاهده شد. در بررسی وزن تر ریشه ارقام عدس تحت تنش‌های خشکی، مشخص شد که بین سه نوع جدایه ریزوبیومی در سطح یک درصد، تفاوت معنی‌داری از نظر تأثیر روی وزن تر ریشه وجود دارد، به طوری که هر گاه از جدایه ریزوبیومی RL۲۴۹ به عنوان ریزوبیوم تلقیحی استفاده شد، وزن تر ریشه نسبت به بقیه جدایه‌های ریزوبیومی افزایش داشت. علی‌رغم تأثیر پذیری وزن تر ریشه‌ها از میزان تنش خشکی، در تمام تیمارها وزن تر ریشه عدس بی نام دانه درشت نسبت به واریته فریدنی بیشتر بود و مشاهدات ظاهری رشد حجمی رشد ریشه نیز با نتایج محاسبات آماری به طور کامل مطابقت داشت (جدول ۳).

بحث

به دلیل وجود درجات مختلف شوری و خشکی در اغلب خاک‌های ایران و میسر نبودن تأمین آب کافی برای آبیاری عدس در همه شرایط رشد، ضرورت دارد که ارقام عدس و نیز ریزوبیوم هم‌زیست آن توانایی سازگاری با شرایط خشکی را داشته باشند تا بهره کافی از این هم‌زیستی به دست آید. به این منظور بررسی جمعیت ریزوبیومی اقلیم‌های مختلف ایران که کاشت عدس در آنها متداول است، برای پیدا کردن جدایه‌های ریزوبیومی کارآمد و سازگار همزیست با عدس به منظور افزایش تولید این محصول اهمیت دارد.

در این بررسی ریزوبیوم‌های جمع آوری شده از مزارع مناطق مختلف اقلیمی ایران تفاوت قابل توجهی از نظر گره‌سازی روی ارقام مختلف عدس نشان ندادند و نقش منطقه جغرافیایی در پیدا کردن جدایه‌های برتر ریزوبیومی چندان مشهود نبود به طوری که با یافته‌های پژوهشگران دیگر نیز منطبق است (۱۲ و۲۸). احتمالاً که تحمل به شوری، به خصوصیات ژنتیکی جدایه‌ها مربوط می‌شود و منطقهٔ جغرافیایی، تأثیری روی این تنوع ایجاد نکرده است (۳).

هم‌چنین بین خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک‌های مورد بررسی و نیز میزان گره‌سازی ریزوبیوم‌های عدس رابطهٔ مستقیمی به دست نیامد و بر خلاف نظر سایر پژوهشگران (۴ و۱۸) جدایه‌های خاصی از نظر سازگاری به خصوصیات فیزیکو شیمیایی منطقه مشخصی غالبیت نداشت.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

در مقایسه تعداد گره‌های ایجاد شده بر روی ریشهٔ سه رقم عدس محلی، مشخص شد که توده بومی عدس بی نام دانه درشت، نسبت به سایر ارقام، گره‌زایی بیشتری داشته و اندازه گره‌ها نیز درشت‌تر بود. این نتیجه مؤید یافته‌های پژوهشگران دیگر نیز می‌باشد که وقتی گیاهان مختلف در معرض جمعیت متنوعی از ریزوبیوم‌های خاک قرار می‌گیرند، ممکن است جدایه‌های ریزوبیومی خاصی، به دلیل هم‌آهنگی بیشتر از نظر سیگنال‌های شیمیایی با گیاه میزبان مشخص، توانایی گره‌سازی بیشتری داشته باشند (۱۵). گزارش‌های دیگری (۱۰) نیز نشان داده است که در گیاه اسپرس، هنگامی که اندازه بذرها درشت‌تر بود، به دلیل جوانه زنی سریع‌تر، تعداد گره‌های ایجاد شده نیز بیشتر بود. تمام جدایه‌های ریزوبیومی عدس در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار کلرور سدیم قادر به رشد بودند، ولی از نظر تحمل به مقادیر بالاتر شوری، تفاوت قابل توجهی بین آنها وجود داشت، به طوری که ۶۰ درصد از جدایه‌ها نسبتاً متحمل به شوری و ۲۰ درصد آنها متحمل به شوری تشخیص داده شدند. تحمل به شوری برای اکثر ریزوبیوم‌ها گزارش شده است (۱۱). ظاهراً به دلیل تجمع سریع‌تر ترکیبات خاصی مانند گلوتامات و بتائین در سلول‌های ریزوبیومی تحت تأثیر شوری، تعدیلی در پتانسیل اسمزی باکتری به وجود می‌آید (۱۲) و باکتری را به میزان قابل قبولی به شوری متحمل می‌سازد. هم‌بستگی تحمل به شوری و خشکی در بین جدایه‌های مورد آزمایش عدس، قابل انتظار بود، زیرا در سایر ریزوبیوم‌های همزیست نیز چنین پدیده‌ای گزارش شده است. به طوری که جدایه‌های متحمل به خشکی باکتری *Sinorhizobium meliloti* نیز قادر به تحمل غلظت بالایی از کلرور سدیم بودند. ظاهراً تجمع آنزیم‌های مختلفی مانند آنزیم آمینوپپتداز در ریزوبیوم‌های متحمل به شوری، توانایی آنها را برای مقابله با تنش خشکی نیز افزایش می‌دهد (۲۰).

نتایج ارزیابی قدرت گره‌سازی در شرایط تنش خشکی جدایه‌های ریزوبیومی عدس نشان داد که ارقام مورد آزمایش، تحت شرایط مختلف تنش خشکی، واکنش‌های متفاوتی از نظر رشد دارند. با وجودی که در مشاهدات ظاهری به طور کلی سرعت رشد ساقه، برگ و نیز سبزینه گیاه عدس دانه درشت بیشتر از ارقام دیگر ارزیابی شد، ولی در سطوح خشکی مصرف ۹۰ و ۹۸ درصد آب قابل استفاده، رشد ارقام کاهش یافت و بسیاری از گیاهان پس از ۱۲ هفته خشک شدند که این تعداد برای رقم فریدنی بیشتر بود. مشخص شده است که تحت تنش خشکی، مواد قندی مانند گلوکز و فروکتوز در ساقه‌ها تجمع کرده و به همین دلیل رشد ریشه کاهش می‌یابد (۲۳). اعمال تنش خشکی در کاهش میزان گره زایی نیز مؤثر بود. این کاهش میزان گره سازی برای باقلا (۱۴) و یونجه (۵) نیز گزارش شده است. از عمده‌ترین دلایل محدود شدن تعداد گره‌ها طی هم‌زیستی، می‌توان به غیر معمول بودن و کوتاه ماندن تارهای کشنده گیاه و کاهش نفوذپذیری اکسیژن در گره‌ها اشاره نمود (۲۶ و۲۹). از طرف دیگر تنش خشکی، تقسیم سلولی را در مریستم گره، کند ساخته و بنابراین رشد گره و تعداد باکتری‌های گره‌زا کم می‌شود (۱۴ و ۲۶).

طی این پژوهش ملاحظه شد که جدایه RL۲۴۹ نسبت به سایر جدایه‌ها در تمام سطوح خشکی گره‌های بیشتری ایجاد می‌کند. گرچه تجزیه واریانس‌ها این ارجحیت گره‌سازی را برای RL۲۴۹ تأئید نکرد، ولی به استناد مشاهدات ظاهری، پتانسیل مناسب این جدایه برای گره‌سازی روی ارقام عدس در شرایط تنش خشکی قابل اغماض نیست. مخصوصاً تحمل این جدایه به تنش‌های شوری و خشکی در شرایط آزمایشگاه نیز بسیار قابل توجه بود و برای برتری این جدایه دلایل کافی ارائه کرد. اما به دلیل این که ایجاد گره یک فرایند هم‌زیستی محسوب می‌شود و تأثیر متقابل ریزوبیوم و گیاه در میزان نتیجه‌گیری از این فرایند اهمیت دارد، شاید بتوان با بررسی دقیق‌تر هم‌زیستی این جدایه با ارقام متنوع دیگر عدس، از این جدایه به عنوان هم‌زیست مفید گیاه میزبان ارزیابی بهتری به عمل آورد.

علی‌رغم مقاومت نسبی به تنش خشکی در عدس فریدنی، به دلیل حجم و وزن تر کم ریشه‌ها و محدودیت تشکیل گره

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

در آن، این عدس احتمالاً نمی‌تواند ظرفیت استفاده بهینه از فرایند تثبیت ملکولی نیتروژن را داشته باشد. در مقابل، رقم عدس بی نام دانه درشت با توجه به تراکم زیاد ریشه و میزان گره‌سازی بیشتر در هم‌زیستی با ریزوبیوم که مخصوصاً برای RL۲۴۹ محسوس بود، رقم مناسب‌تری از نظر تثبیت ازت ملکولی تشخیص داده شد. بنابراین توجه به واریته‌های مناسبی که خصوصیات نزدیک‌تری مانند حجم وزن تر ریشه‌ها نسبت به عدس بی نام دانه درشت دارند، برای استفاده بهینه از هم‌زیستی عدس و ریزوبیوم توصیه می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. باقری، م.ع. گلدانی و م. حسن‌زاده. ۱۳۷۶. *زراعت و اصلاح عدس*. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

۲. مهربخش، م. ۱۳۷۵. بررسی سازگاری خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، عملکرد و پروتئین لاین‌های عدس در اصفهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

3. Al-Rashidi, R.K. and N.Y. Aziz. 1990. Efficiency and persistance of alfalfa rhizobia in soils as affected by salinity and desication. J. Microbiol. 145:195- 202.
4. Athar, M. and D. A. Johnson. 1996. Nodulation, biomass production and nitrogen fixation in alfalfa under drought. J. Plant Nutr. 19:185-199.
5. Athar, M. and D. A. Johnson. 1996. Influence of drought on competition between selected *Rhizobium meliloti* strains and naturalized soil rhizobia in alfalfa. Plant Soil 184:231-241.
6. Balasunhramanian, V. and K. Sinha. 1976. Effect of salt stress on growth, nodulation and nitrogen fixation in cowpea and mungbean. Plant Physiol. 36:197-200.
7. Beringer, J. E. 1974. R factor transfer in *Rhizobium leguminosarum*. J. Gen. Microbiol. 84:188-198.
8. Black, A. C., D. Evans, L. E. Ensminger, J. L. White and F. E. Clark. 1965. Methods of Soil Analysis. part. I. Am. Soc. Agron. Inc., Madison, Wisconsin, USA.
9. Black, A. C., D. Evans, L. E. Ensminger, J. L. White and F. E. Clark. 1965. Methods of Soil Analysis. part II. Am. Soc. Agron. Inc., Madison, Wisconsin. USA.
10. Cash, S. D. and R. L. Ditterline. 1996. Seed size effect on growth and N_2 fixation of Jurenile sainfoin. Field Crops Res. 46:145-151.
11. Doura, C. E., A. C. Xenoulis and T. Paradellis. 1984. Salinity tolerance of a *Rhizobium meliloti* strain isolated from salt affected soil. Folia Microbiol. 29:316-324.
12. Elshiekh, A. 1998. Effect of salt on rhizobia and bradyrhizobia, A review. Ann. Appl. Biol. 132:507-524.
13. Feigfnbaum, S. and D. Mengel. 1979. The effect of reduced light intensity and suboptimal pottasium supply on N_2-Fixation and N turnover in *Rhizobium* infected lucerne. Physiol. Plant. 45:245-249.
14. Gallachel, A. E. and J. I. Sprent.1978. The effect of different water regimes and nodule development of greenhouse grown *Vicia faba*. J. Exp. Bot. 29:413-442.
15. Handley, B. A., J. A. Hedges and E. J. Beringes. 1998. Importance of host plants for detecting the population diversity of *Rhizobium leguminosarum* in soil. Soil. Biol. Biochem. 30:241-249.
16. Keck, T. J., P. Wagent., W. F. Campbell and R. E. Knighton. 1984. Effect of water and salt stress on growth and acetylene reduction in alfalfa. Soil. Sci. Soc. Am. J. 48:1310-1315.
17. Lazio, E. and J. C. Kuiper. 1979. The effect of salinity on growth control content, Na^+ - uptake and translocation in salt sensitivity and salt tolerance. Plant. Sci. 47: 95-99.
18. Mc Dermott, T. and P. H. Graham. 1990. Competitive ability and efficiency in nodule formation of strains of *Bradyrhizobium japonicum*. Appl. Environ. Microbiol. 56:3035-3039.
19. Michel, D. E. and R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylenglycol 6000. Plant Physiol. 51:914-916.
20. Mohamad, D.R., M. Akhavan Kharazian., W. F. Campbell and M. D. Rumbaugh. 1991. Identification of salt-and–drought- tolerant *Rhizobium meliloti* strains. Plant Soil 134:271-276.
21. Mylona, P., K. Pawlowski and T. Bisseling. 1995. Symbiotic nitrogen fixation. Plant Cell 7:869-885.
22. Pena-Cabriales, J. J. and J. Z. Castellans. 1993. Effect of water on N_2 fixation and grain yield of *Phaselous vulgaris*. Plant Soil 152:151-155.
23. Schubert, R., E. Serrag., E. Plies-Balzer and M. Mengel. 1995. Effect of drought stress on growth, sugar concentrations and amino acid accumulation in N_2 fixing alfalfa. Plant Physiol. 46:541-546.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]

24. Singelton, P. W. and B. B. Bohlool. 1984. Effect of salinity on nodule formation by soybean. Plant Physiol. 74:72-76.
25. Sprent, J. L. 1971. The effect of water stress on fixing root nodules. New Phytol. 70:9-11.
26. Sprent, J. I. 1972. The effect of water stress on fixing root nodules. New Phytol. 71: 603-611.
27. Sprent, J. I. and H. H. Zahran. 1988. Infection, development and functioning of nodules under drought and salinity. PP. 45-151. *In*: D. P. Beck and L. A. Materon (Eds.), Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture. Martinus Nijhof Pub., Dordrecht, The Netherlands.
28. Sprent, J. I. 1990. The biology of nitrogen transformation. Soil Use. Manage 6:74-77.
29. Zablotowicz, R. M., D. D. Focht and G. H. Cannell. 1981. Nodulation and N fixation of filed grown California cowpeas as influenced by well-irrigated and drought condition. Agron. J. 73:9-12.
30. Zahran. H. H. and J. L. Sprent. 1980. Effect of sodium chloride and polyethylenglycol on root- hair infection and nodulation of *Vicia faba* L., Plants by *Rhizobium leguminosarum*. Planta 167:303-309.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.2.6.3]