یافته های نوین کشاورزی
سال نهم- شماره۱- پاییز ۱۳۹۳

شناسایی جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی متحمل به شوری در یونجه‌های 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 باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی متحمل به شوری، نمونه‌های مختلف خاک و گره های ریشه از مناطق مختلف استان خراسان بزرگ به همراه جدایه‌هایی از مؤسسه تحقیقات خاک وآب و یک جدایه استاندارد مورد مطالعه قرار گرفت. تیمارهای شوری با افزودن غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (صفر ،۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰و ۷۵۰ میلی‌مولار) به محیط کشت اختصاصی اعمال گردید و سپس جدایه‌های موفق در تست گره زایی، در حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد 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 جدایه‌ها در تیمار شاهد به خوبی رشد نموده و تحت این شرایط شش جدایه دارای تیرگی رشد بیشتر از یک بودند. اختلاف معنی‌داری در تیرگی رشد ۴۴ جدایه تحت شرایط شوری مشاهده گردید به‌طوری که در غلظت‌های بالای۶۰۰ میلی‌مولار، رشد باکتری ها به شدت تحت تأثیر قرار گرفت و تیرگی رشد تنها هشت جدایه در محیط کشت از ۰/۱ بیشتر شد. این جدایه‌ها به عنوان متحمل به شوری در نظر گرفته شدند. از بین جدایه‌های متحمل، جدایه M32 با اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ برتری نشان داد. هیچیک از جدایه ها در غلظت ۷۵۰ میلی مولار کلرید سدیم رشد نکردند.

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

---

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

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۶/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۳/۲۵

مقدمه

کمبود مواد غذائی 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 نمی‌باشند. گیاهان خانواده بقولات نه تنها می‌توانند 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 علوفه‌ای مشهوراست و به‌طورکلی یکی از بهترین نباتات علوفه‌ای است که امروز کشت آن به سرعت توسعه یافته و سطح زیر کشت زیادی را اشغال نموده است .این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان سازگار به تنش‌های محیطی همچون خشکی، شوری و حرارت‌های نامطلوب بوده و بزرگترین سهم را در سطح ۷۰۰ هزار ایکر تحت تولید علوفه به خود اختصاص داده است (٤).

سطح قابل توجهی از مساحت ایران را خاک های شور و خشک تشکیل می‌دهد، شوری در اراضی کشاورزی در اثر عواملی چون آبیاری با آب های شور و استفاده غیر علمی از کودهای شیمیایی تشدید می‌شود، علاوه براین سطوح بسیار پائین مواد آلی و نیتروژن در خاک ها بزرگترین عوامل برای عملکرد پائین در خاک‌های شور ایران می‌باشند. کودهای شیمیایی به‌طور معمول به منظور جبران کمبود نیتروژن استفاده می‌شوند، اما این امر علاوه بر افزایش مشکلات شوری خاک، باعث غیر اقتصادی شدن تولید علوفه‌می‌شود. 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 می‌سازند (٤). گره‌بندی و تثبیت نیتروژن در جامعه ریزوبیوم- لگوم بطور قابل توجهی تحت تأثیر خشکی و شوری واقع می‌شود که این امر ممکن است رشد و استقرار لگوم ها را تحت الشعاع قرارداده و یا عملکرد محصول را کاهش دهد (۱۰ و ١٤). تأثیر نژادهای مختلف ریزوبیوم بر میزبان همیشه یکسان نیست، برخی از نژادها نیتروژن بیشتری از سایرین تثبیت می‌کنند. دلیل این امر پیچیده بوده و عدم کارآئی ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد (۷). نژادهای مختلف سینوریزوبیوم ملیلوتی از جمله باکتری‌های سریع الرشد بوده که قادرند گونه های مختلف یونجه، شنبلیله و شبدر شیرین را تلقیح نموده و در تشکیل گره‌های تثبیت کننده نیتروژن مؤثر باشند (۷ و ۱۵). بر خلاف این پتانسیل، عملکرد و ظرفیت تثبیت نیتروژن در شرایط شوری کاهش می‌یابد. شوری خاک برروی 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 ۱٦).

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 (۱٤). 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 (۱۳٦۷) نیز نتیجه گرفتند که باکتری‌های سینو ریزوبیوم ملیلوتی در محیط کشت کنترل شده آگار، تا حدود ۲٪ کلرور 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 ملیلوتی 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 (٤). محمد و همکاران (۱۹۹۱) از بین ۹۲ جدایه سنیوریزوبیوم ملیلوتی، ٤۹ جدایه را به‌عنوان متحمل به شوری در ۷۰٤ 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 ٤٤ تا ٦۱٦ میلی مولار تغییر می‌کند. این تحقیق با هدف جداسازی، شناسائی و خالص سازی جدایه‌های سینو ریزوبیوم ملیلوتی متحمل به شوری جهت تلقیح به بستر کشت واریته‌های یونجه محلی در مناطق انجام گردید.

مواد و روش‌ها

جدا سازی باکتری ها از گره‌های ریشه وآزمون 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[1] توسط پنس استریل له شدند و بلافاصله به انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت ٤٨ 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 ملیلوتی با شمارش تعداد باکتری ها (حدود $۱۰^{۷}$ تا $۱۰^{۹}$ سلول در هرمیلی‌لیتر) به روش رقیق سازی تدریجی[2] تعیین گردید (۱). تیمارهای شوری با استفاده از کلرید سدیم با غلظت‌های صفر(شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰، ٤٥٠، ٦۰۰و۷۵۰میلی مولار) در لوله‌های آزمایش(۱۵۰ * ١٤ میلی‌متری) محتوی سه میلی لیتر محیط کشت مایع YEM اعمال گردید. پس از تلقیح جدایه‌ها، لوله‌های آزمایش به دمای ۲۸±۱ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. رشد باکتری ها درتیمارهای فوق پس از ۷۲ ساعت، با اندازه‌گیری تیرگی رشد[3] توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۲۰ نانومترتعیین 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 ٤٤ 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 ($p\leq ۰/۵۰$) درطول موج ٤۲۰ نانومتر مشاهده شد (جدول۲). کلیه جدایه‌ها در تیمار

1 -Yeast Extract Manitol
2 -Serial dillution
3 -Growth tutbidity

شاهد به‌خوبی رشد کردند ولی در غلظت‌های بالاتر از ٦٠٠ میلی مولار تنها تعداد معدودی از جدایـه هـا موفق به رشد شدند (نمودار۱).

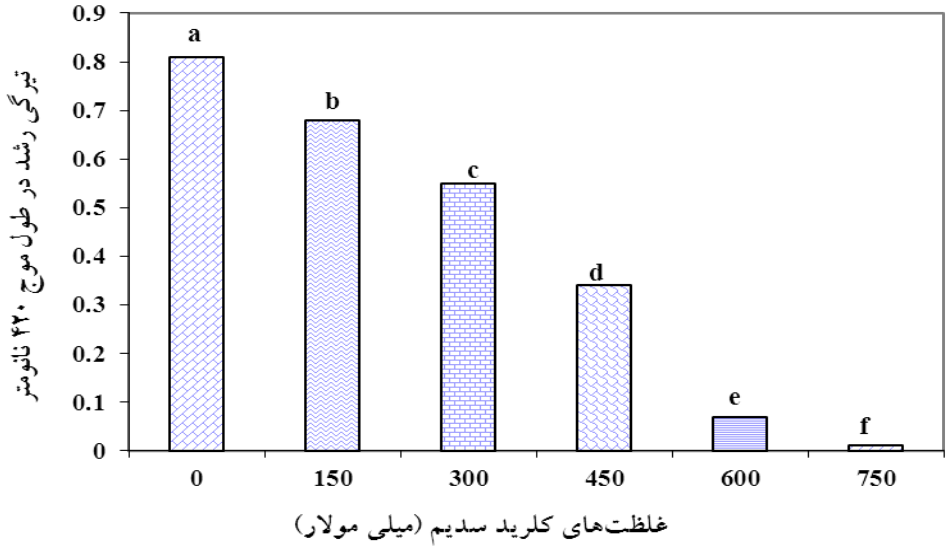
جدول۱: مشخصات جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی جمع آوری شده از مناطق مختلف

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	*M .trunatula*	24	M36			
2	M3	چمن بید	32/1	*M .trunatula*	25	M37			
3	M4	دوراهی صالح آباد	46/1	*M .trunatula*	26	M38	کاشمر ـ کوه سرخ		*M . sativa*
4	M5	سرخص			27	M39	روستای خضر بیگ		رقم مائوپا
5	M13	گیسور گناباد		*M .trunatula*	28	M40			
6	M14				29	M41			
7	M16				30	M48	سرخس		*M . sativa*
8	M17	کوه بزق تربت حیدریه		*M .trunatula*	31	Rml021	ایزوله وارداتی از کالیفرنیا		
9	M18				32	M7			
10	M21	مشهد		*M . sativa*	33	M53			
11	M22				34	M59			
12	M23			*Trigonella sp .*	35	M60			
13	M24				36	M61			
14	M27				37	M63	مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهران		*M .trunatula*
15	M28	روستای دلقند سبزوار	٤/٥٦	*M . sativa* رقم یزدی	38	M65			
16	M42				39	M67			
17	M29				40	M69			
18	M30	جاده تربت حیدریه	٧/٧	*M . sativa* رقم یزدی	41	M72			
19	M31	رشتخوار *-چاه 1*			42	M74			
20	M32				43	M75			
21	M33	جاده تربت حیدریه	٧/٥	*M . sativa* رقم یزدی	44	M77			
22	M34	رشتخوار *-چاه 2*							

جدایه‌های ۲۰ و ۲۱ در سطوح مختلف شوری از تیرگی رشد مطلوبی برخوردار بودند اما میانگین تیرگی رشد جدایه های ۳ و ٦ بیشتر بود. جدایه های شماره ۱،۲، ۳، ٥، ٦، ۱۹ و۳۳ با میانگین تیرگی رشد بیش از ۰/٥ و جدایه های ٢٤، ٢٥،٢٧، ٣٤ و ۳۹ با میانگین تیرگی رشد کمتر از ۰/۳ از بیشترین و کمترین میزان رشد در کلیه غلظت‌های 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 ۵٪ نشان داد اما با جدایه های ۱۵ و ۲۶ در یک سطح قرار گرفت (نمودار۳).

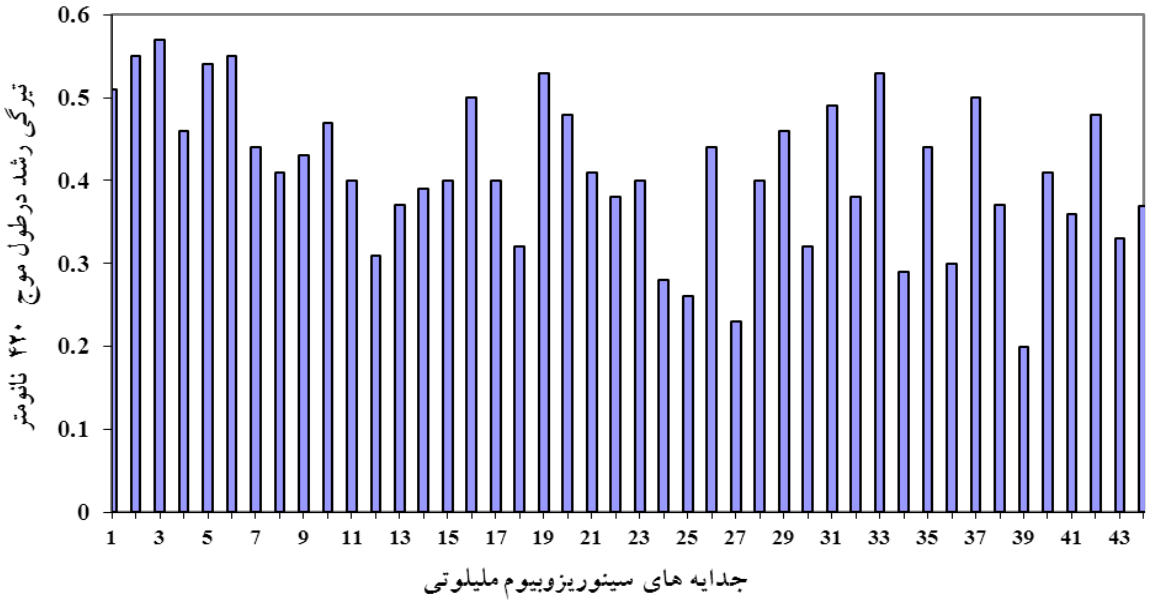
نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه‌های متحمل به شوری همیشه از خاک های شور منشأ نمی‌گیرند. به‌عنوان مثال جدایه شماره ۳ که در غلظت ۶۰۰ میلی مولار دارای تیرگی رشد بالای ۰/۱۱ است از خاکی با شوری معادل ۱/۴۶ دسی زیمنس بر متر منشأ گرفته است. این نتایج با یافته‌های سوبارائو و همکاران (۱۹۹۰) موافقت دارد. لذا به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



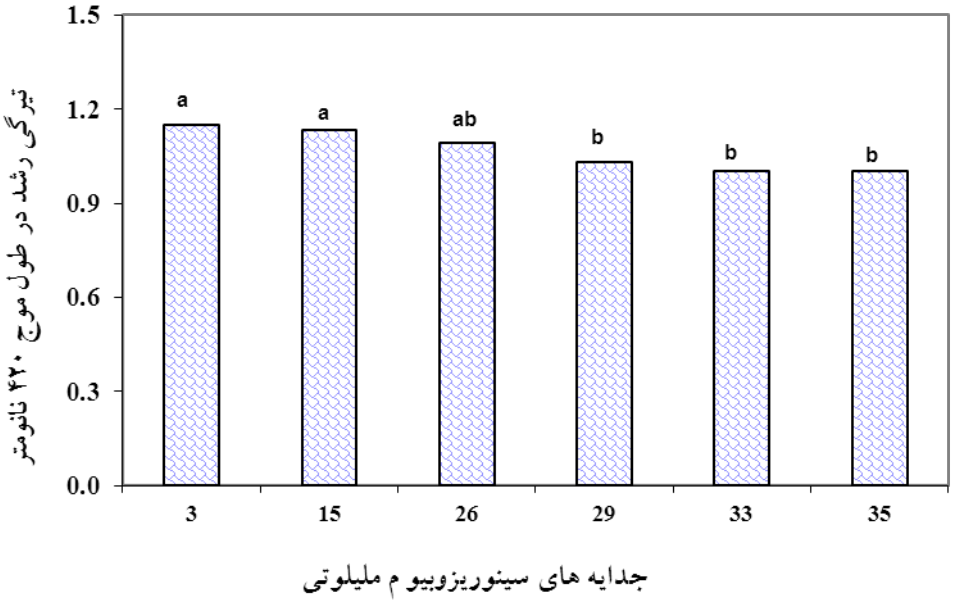
نمودار ۱- تأثیرغلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی

جدول۲: تجزیه واریانس و میانگین مربعات رشد جدایه‌های باکتری تحت شرایط شوری

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



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



نمودار ۳- مقایسه جدایه‌های برترسینوریزوبیوم ملیلوتی در تیمار شاهد

جدول (۳) حداکثر و حداقل تیرگی رشد جدایه‌های فوق را در غلظت های 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

جدایه‌ها 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.

جدول۳: حداکثر و حداقل تیرگی رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی درغلظت های مختلف کلرید سدیم

جدایه ها	میلی مولار کلرید سدیم					
	شاهد (صفر)	۱۵۰	۳۰۰	٤٥٠	٦۰۰	۷٥۰
	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر - حداقل	حداکثر -حداقل	حداکثر -حداقل	حداکثر - حداقل
گروه متحمل (۸ جدایه)	۱- ۰/٥۷	۰/٤۷ -۰/۹۸	۰/٤٥-۰/۷٥	۰/۳۹ -۰/٦۱	۰/۱۱ -۰/٤۳	۰ -۰/۰۲
گروه حساس (۳٦ جدایه)	۱/۱- ۰/٥۱	۱- ۰/۳۲	۰/۱۷-۰/۷۹	۰ -۰/٥۸	۰ -۰/۰۹	۰ -۰/۰۳

جدول ٤ مقایسه رشد جدایه‌های متحمل به شوری را در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان می‌دهد همانطور که ملاحظه می‌شود تیرگی رشد قرائت شده برای هر جدایه، به صورت منفی ولی معنی‌داری وابسته به غلظت‌های مختلف شوری است. جدایه‌های شماره ۲۰ و ۲۱ در غلظت ٦۰۰ میلی مولار ازتیرگی رشد بالاتری نسبت به سایر جدایه ها برخورداربودند. هیچیک از جدایه ها در غلظت ۷٥۰ میلی مولار کلرید سدیم رشد نکردند. جدایه شماره ۳ با میانگین تیرگی رشد ۰/۷۳، و جدایه‌های ۲۲ و ۲۳ با میانگین تیرگی رشد ۰/۳۸ درغلظت های مختلف شوری، بالاترین وپایین‌ترین تیرگی رشد را بین جدایه‌های متحمل داشتند.

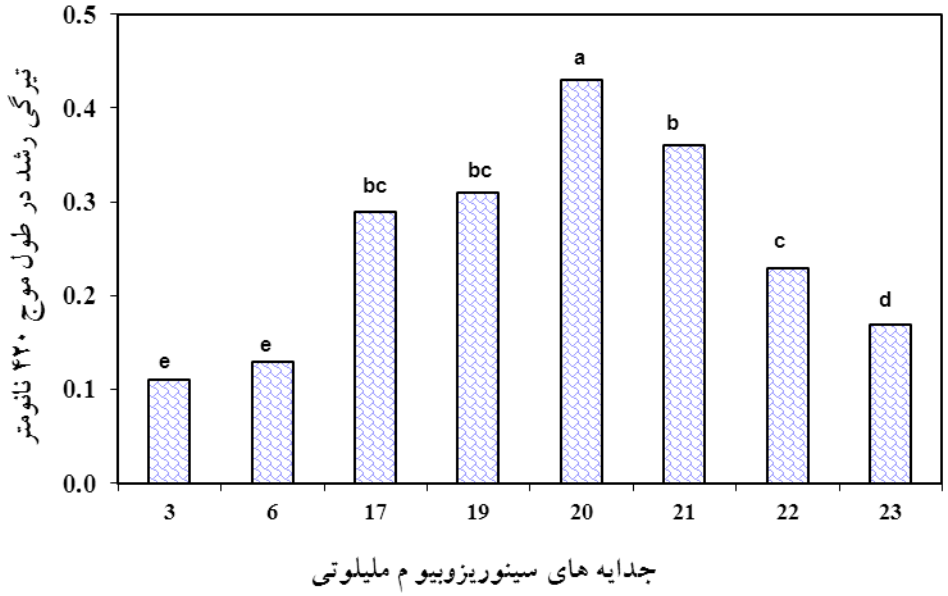
با دقت در نمودار ٤ نیز مشاهده می‌شود که از بین هشت جدایه متحمل به شوری در ٦۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، جدایه شماره ۲۰ اختلاف معنی‌داری در سطح ٥٪ با سایر جدایه‌ها داشت. این جدایه به همراه جدایه ۲۱ درکلیه سطوح شوری از تحمل به شوری خوبی برخورداربودند.

ضرایب کورولاسیون برای هر جدایه نشان داد که احتمال بقاء باکتری ها در شوری‌های بالاتر از ۷۸۰ میلی مولار بعید به‌نظر می رسد. محمد و همکاران (۱۹۹۱) نیز معتقدند آستانه رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی تا ۸۰۰ میلی مولار کلرید سدیم می باشد. نتایج آزمایش نشان دادند که جدایه‌های متحمل حداکثر تا ۳/٥٪ نمک کلرید سدیم را تحمل کردند (شوری آب دریا حدود ۳٪ کلرید سدیم است).

لاکشمی و همکاران (۱۹۷٤) نیز محدوده تحمل برای *S.meliloti* راکمتر یا برابر با ۳ ٪ نمک (٥۲۸ میلی مولار) گزارش نمودند در حالی‌که گالشی و اخوان (۱۳٦۷) 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 ٤٥٠ میلی مولار کلرید سدیم، در مقایسه با تیمار شاهد به میزان ۵۷٪ کاهش یافت. بوسفورد (۱۹۸٤) نیز نتیجه گرفت که در غلظت ۲۹۱ میلی مولار جمعیت *S. meliloti* به میزان ۵۰٪ کاهش می‌یابد. آزمایش ثابت کرد جدایه های استخراج شده از گره‌های ریشه یک گیاه در یک منطقه یا خاک مشخص نیز با هم متفاوتند، بطوری که تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین تحمل آنها به شوری نیز مشاهده می‌شود. به عنوان مثال تیرگی رشد جدایه های شماره ۳ و ٤، در غلظت ٦۰۰ میلی مولار به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۰ می‌باشد (جدول ٤) . با وجود این سه جدایه ۱۷، ۱۹ و ۲۰ که از یک منطقه با شوری نسبتاً بالا جدا شدند به ترتیب با تیرگی‌های رشد ۰/۲۹، ۰/۳۱ و ۰/۳٦ از مقاومت بالایی برخوردار بودند.



نمودار ٤- مقایسه جدایه های سینوریزوبیوم ملیلوتی متحمل به شوری در غلظت ٦۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم

بر خلاف مقاومت نسبتاً بالای جدایه‌های مورد آزمایش به شوری، گیاهان میزبان در شوری‌های بسیار پایین تر ازآنچه جدایه‌ها تحمل می کنند قادر به رشد می باشند، لذا جدایه‌های باکتری در مقایسه با گیاه میزبان، قادر به تحمل شوری‌های 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 می‌شود، لذا چنین به‌نظر می‌رسد که جدایه‌هایی که در غلظت‌های بالای شوری مقاومت نشان می‌دهند احتمالاً نتوانند با گیاه میزبان سازگاری یابند اما بقاء آنها در شوری‌های بالا، زیاد خواهد بود. علیخانی و صالح راستین (۲۰۰۲)

نیز نشان دادند تحمل به شوری جدایه های باکتری بیشتر از گیاه میزبان است به‌طوری‌که تمام جدایه ها قادرند درشوری 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 جدایه‌های سینوریزوبیوم بومی مقاوم به شوری و خشکی یونجه به عنوان یکی ازروش‌های بیولوژیک عرضه نیتروژن و مواد آلی به واریته های مقاوم یونجه جهت اصلاح و باروری خاک پیشنهاد می‌شود. این امر ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی و جلوگیری از آلودگی‌های آب و خاک، گام مؤثری در جهت نیل به کشاورزی پایدار خواهد بود.

جدول٤: مقایسه رشد جدایه‌های متحمل به شوری سینوریزوبیوم ملیلوتی در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم در طول موج ٤٢٠ نانومتر پس از ۷۲ ساعت

شماره جدایه	میلی مولار کلرید سدیم						ضریب کورولاسیون بین شوری و تیرگی رشد	میانگین تیرگی رشد
	شاهد	۱۵۰	۳۰۰	٤٥٠	٦۰۰	۷۵۰		
۳	۱	۰/۹۸	۰/۷۳	۰/۵۸	۰/۱۱	۰/۰۲	−۰/۹۷	۰/۷۳
٦	۰/۹۳	۰/۸۵	۰/۷۵	۰/٦۱	۰/۱۳	۰/۰۲	−۰/۹۵	۰/٥٤
۱۷	۰/۷۵	۰/٤۷	۰/٤٥	۰/۳۹	۰/۲۹	۰/۰	−۰/۹٥	۰/۳۹
۱۹	۰/۹۹	۰/٦٦	۰/٦٥	۰/٥۳	۰/۳۱	۰/۰	−۰/۹۷	۰/٥۲
۲۰	۰/٦۹	۰/٦۳	۰/٦۱	۰/٤۹	۰/٤۳	۰/۰۲	−۰/۸۹	۰/٤۷
۲۱	۰/٦٤	۰/٥٥	۰/٤۸	۰/٤۲	۰/۳٦	۰/۰۱	−۰/۹۲	۰/٤۱
۲۲	۰/٥۷	۰/٥۷	۰/٤۹	۰/٤۳	۰/۲۳	۰/۰	−۰/۹۳	۰/۳۸
۲۳	۰/٦٦	۰/٥۷	۰/٥	۰/٤۳	۰/۱۷	۰/۰	−۰/۹۷	۰/۳۸

منابع

۱- دشتی، م. ۱۳۷۵. تأثیر سوش‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی 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. ۱۳٦۷. مبانی فیزیولوژیکی رشد و نمو گیاهان زراعی . بنیاد فرهنگی آستان قدس رضوی مشهد.

۳- گالشی علی آبادی، س. ا. ۱۳٦۷. بررسی کارآئی تثبیت ازت باکتری ریزوبیوم ملیلوتی در شرایط شور .پایان نامه کارشناسی ارشد .دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

4- Alikhani, H. A. and Saleh Rastin, N. 2002 . Symbioticical 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 faxation 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 Rambough, M. D. 1991. Identification of salt and drought tolerant Rhizobium meliloti L. strain.Plant and soil. 134:271-276.
13- Singleton, P.W., Elswalfy, 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. Landon.
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.