نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد پنجم، شماره دوم، ۱۳۹٤
http://ejsms.gau.ac.ir

اثر باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* بر رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جذب عناصر غذایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط تنش شوری

مژگان سپهری[۱]، *وحیداله جهاندیده‌مهجن‌آبادی[۲]، هادی اسدی‌رحمانی[۳] و علی صادقی‌حصنی[۴]
[۱]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه شیراز، [۲]دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه شیراز،
[۳]دانشیار پژوهشی مؤسسه خاک و آب، [٤]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان
تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۳۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/٦

چکیده

سابقه و هدف: شوری از شایع‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی را بـه مخـاطره انداخته است. با توجه به این‌که بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی در مناطق خـشک و نیمه‌خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی قرار دارند، افزایش تـوان گیاهـان جهت تحمل تنش‌های محیطی ناشی حضور املاح اضافی در خاک، از نظر تقلیل افت عملکرد مهم می‌باشد. روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ارگانیسم‌های مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، مـی‌توانـد بـا تغییر ساختار ژنتیکی محصولات زراعی و سایر گیاهان، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش دهد و امکان توسـعه کشت آن‌ها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیرزیستی و زیستی فراهم آورد. ایـن پـژوهش بـه بررسی توان باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در بهبود رشـد، وضـعیت تغذیـه‌ای و افـزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) گیاه لوبیا (رقم اختر) در شرایط تنش شوری می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و با اسـتفاده از بـستر کشت مخلوط شن و پرلیت (v/v ۲:۱) در سـه سـطح شـوری S_0، S_1 و S_2 (بـه‌ترتیـب صـفر، ۳۵ و ۷۰ میلـی‌مـولار کلریدسدیم یا صفر، ۳ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر) در مرکز پژوهش کشت بدون خاک واقع در دانشگاه صنعتی اصـفهان انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تنش شوری صرف‌نظر از تیمار میکروبی و سطح تـنش، رشـد لوبیـا را کـاهش داد. گیاهـان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم، وزن خشک شاخساره و ریشه بیش‌تری را در تمام سـطوح شـوری نـسبت بـه گیاهـان فاقد تلقیح دارا بودند. تنش شوری، به‌ویژه در گیاهان فاقد تلقیح باکتری ریزوبیـوم، فعالیـت آنـزیم کاتـالاز و غلظـت پتاسیم و نیتروژن شاخساره را کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت سدیم شاخساره را افـزایش داد. در سـطوح شوری S_1 و S_2 فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم به‌ترتیب ۱۹٦ و ۲۵۹ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب ۷۳ و ۷ درصد نسبت به گیاهان فاقد تلقیح افزایش یافت. تلقیح باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S_1 و S_2 موجب افزایش غلظت پتاسیم شاخساره به‌ترتیب ۸٤ و ۱۰ درصد و کاهش غلظت سدیم به‌ترتیـب ۵۰ و ۷۰

* مسئول مکاتبه: vahid.jahandideh67@gmail.com

درصد شد. همچنین، گیاهان تلقیح‌شده با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری .S و S_2 از نیتروژن بیش‌تری نسبت به گیاهان فاقد تلقیح برخوردار بودند. غلظت فسفر شاخساره گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم نسبت به گیاهان فاقد تلقیح ۵۵ درصد افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی تلقیح گیاه لوبیا رقم اختر با زادمایه باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در این پژوهش، می‌تواند به‌عنوان روشی مفید جهت کاهش اثرات مضر تنش شوری، استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: ارقام گندم، *P. indica*، عناصر غذایی، کلروفیل

مقدمه

شوری و تجمع املاح در سطح خاک، از مهم‌ترین مشکلات کشاورزی و کاهش شدید رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد (۳۰). شوری، حداقل ۲۰ درصد از اراضی قابل کشت جهان و بیش از ٤۰ درصد زمین‌های تحت آبیاری را به درجات مختلف متأثر ساخته است. در ایران، سطح کل خاک‌های شور حدود ٢٤ میلیون هکتار است که نزدیک به ۳۰ درصد مساحت دشت‌ها و متجاوز از ۵۰ درصد اراضی تحت کشت آبی کشور را تشکیل می‌دهد (۲۵). خسارات ناشی از تنش شوری بر رشد و متابولیسم گیاهان را می‌توان به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه در اثر تجمع املاح و به دنبال آن خشکی فیزیولوژیک و نیز اثرات سمی یون‌های مربوطه دانست. به‌طورکلی در شرایط شور، غلظت بیش از حد برخی یون‌ها از جمله سدیم در داخل گیاه، ممکن است موجب بروز آسیب به غشاء سلولی و همچنین عدم تعادل یونی شود (۲۹). همچنین تنش شوری علاوه بر ایجاد اختلالات متابولیسمی، به‌دلیل تأثیر در ایجاد تنش اکسیداتیو، موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن[1] در سلول‌های گیاهی نیز می‌شود. سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرهای منفی گونه‌های فعال اکسیژن از مکانیسم‌های دفاعی ویژه آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز) بهره می‌گیرند (۲۸).

بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی از جمله بقولات در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری قرار دارند. از این‌رو، افزایش توان گیاهان جهت تحمل حضور املاح اضافی در خاک، از نظر تقلیل افت عملکرد مهم می‌باشد. مقاومت به شوری در گیاهان فرایندی بسیار پیچیده است، به‌طوری‌که واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی به بروز تغییرات ظاهری و رشدی گیاه منجر می‌گردند. غلظت و ترکیب یونی شوری و نوع واریته گیاه از مهم‌ترین عوامل مؤثر در بروز پاسخ‌های متفاوت گیاهان از نظر کاهش رشد و عملکرد به‌شمار می‌آیند (١٦). بقولات نیز همانند گیاهان دیگر، بسته به عواملی همچون شرایط آب و هوایی، خواص خاک و مرحله رشد گیاه عکس‌العمل‌های متفاوتی در پاسخ به تنش شوری اعمال می‌نمایند (۱۵). بعضی از بقولات مانند باقلا، لوبیا و سویا نسبت به سایر بقولات مانند خلر، مقاومت بیش‌تری به شوری دارند (۲).

شناسایی مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان، غربال‌گری و اصلاح واریته‌های جدید، از مهم‌ترین راهکارها جهت کاهش اثرات مضر شوری در کشاورزی محسوب می‌شوند (۷ و ۳۲). شناخت جامع مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان و همچنین نحوه تأثیر شوری بر عملکرد و اجزاء آن، امکان

1- Reactive Oxygen Species

دستیابی به روش‌های جدیدتر برای مقابله با این تنش را هموارتر می‌نماید.

روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی بر عهده دارند. باکتری‌های همزیست که از مهم‌ترین ریزموجودات خاک محسوب می‌شوند با ایجاد تغییر در ساختار ژنتیکی و فیزیولوژیکی محصولات زراعی و سایر گیاهان، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌های شور فراهم می‌آورند. گزارش‌های متعددی نشان داد که باکتری‌ها از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف می‌شوند (۲۲ و ۳٦). ریزوبیوم‌ها از مفیدترین باکتری‌های همزیست خاکزی هستند که به‌دلیل توان تثبیت نیتروژن، توان تولید عوامل محرک رشد گیاه و همچنین به‌علت وجود فناوری تولید انبوه زادمایه آن‌ها به‌عنوان یک کود زیستی در سطح جهانی شناخته شده‌اند (۱۸). با وجود اهمیت زیاد سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگوم در سیستم‌های کشاورزی پایدار، وجود سویه فعال و کاملاً مؤثر ریزوبیوم، اساسی‌ترین شرط موفقیت این سیستم می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که سویه‌های ریزوبیوم مقاوم به شوری در خاک‌های با شوری متوسط قادر به ایجاد گره‌زایی و همزیستی مؤثر با بقولات می‌باشند. بنابراین تلقیح بقولات با سویه‌های ریزوبیوم مقاوم به شوری، باعث توسعه تثبیت نیتروژن در مناطق شور می‌شود (۳۷). نتایج مطالعات صورت گرفته بر گیاهان سویا و نخود دارای همزیستی ریزوبیومی نشان می‌دهد که این سیستم‌های همزیستی حتی در غلظت ۳٤۰ میلی‌مول NaCl پایدار و مقاوم بودند اگرچه سویه‌های سریع‌الرشد نسبت به سویه‌های کند رشد مقاومت بیش‌تری در برابر شوری داشتند (۱۷). از طرف دیگر، در خاک‌های خیلی شور، مقاومت گیاه میزبان در برابر شوری مهم‌ترین عامل مؤثر در ایجاد سازگاری موفق و همزیستی مفید ریزوبیوم با میزبان گیاهی خود به‌شمار می‌آید. بنابراین، وجود ژنوتیپ‌های گیاهی مقاوم به شوری و دارای توان سازگاری با باکتری‌های مقاوم به شوری، شرط اصلی موفقیت سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگوم است (۲۹).

توجه به نقش مهم بقولات از جمله لوبیا در تأمین نیازهای تغذیه‌ای بشر، کاهش رشد، عملکرد و کیفیت آن در خاک‌های شور و هزینه زیاد اصلاح واریته‌های جدید، ضرورت دستیابی به روش‌های جایگزین افزایش عملکرد این گیاه را بیش از پیش روشن می‌سازد. بنابراین این پژوهش با هدف به‌کارگیری باکتری همزیست *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* در بهبود رشد، وضعیت تغذیه‌ای و افزایش تحمل گیاه لوبیا در شرایط تنش شوری انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی تأثیر باکتری *ریزوبیوم لگومینوزاروم بیوار فازئولی* بر گیاه لوبیا در تنش شوری، آزمایشی در گلخانه مرکز کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو سطح باکتری ریزوبیوم (تلقیح و عدم تلقیح) و سه سطح شوری .S، S_1 و S_2 (به‌ترتیب صفر، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم در آب آبیاری یا صفر، ۳ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر) بودند.

تهیه و تکثیر باکتری ریزوبیوم: جدایه باکتری ریزوبیوم به‌صورت کشت خالص از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه گردید. جهت اطمینان از خالص بودن جدایه مذکور، کشت مجدد آن بر روی محیط

کشت Y.M.B[1] انجام گرفت و پتری‌دیش‌های تلقیح شده با جدایه باکتری به‌مدت ٤ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور قرار داده شدند. رشد روزانه باکتری کشت داده شده به‌منظور تشخیص آلودگی‌ها بررسی شد تا در صورت بروز آلودگی، کشت مجدد بر روی محیط مذکور انجام و کلونی‌های خالص ریزوبیوم به‌صورت مجزا، درشت، لعابی و شیری‌رنگ انتخاب شوند. تعداد کافی ارلن‌های کوچک ۱۰۰ میلی‌لیتری آماده و به هر کدام ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت Y.M.B اضافه و در اتوکلاو استریل گردیدند. سپس محتوی هر ارلن با سویه باکتری مورد نظر تلقیح شده و پس از پوشاندن ارلن‌های مذکور با فویل آلومینیومی به‌مدت ۳ شبانه‌روز در دمای محیط بر روی همزن با حرکات دورانی (150RPM[2]) قرار داده شدند.

کشت گیاه و اعمال تیمارها: جهت بررسی تأثیر باکتری ریزوبیوم در افزایش مقاومت گیاه لوبیا به تنش شوری در شرایط گلخانه از گلدان‌های ۵ کیلوگرمی حاوی مخلوط ماسه و پرلیت استریل استفاده شد. بذور لوبیای قرمز رقم اختر (*Phaseolus vulgaris*) از مؤسسه تحقیقاتی خمین تهیه گردید. بذرهای لوبیا با استفاده از الکل ۹٦ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و جهت حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند (۵). محیط کشت حاوی آب- آگار ۱ درصد تهیه و استریل شد و بذور ضدعفونی شده بر روی این محیط پخش و پس از چند روز خوابانیدن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (درون انکوباتور) جوانه‌دار شدند. سپس تعداد ٤ گیاهچه لوبیا در داخل هر گلدان کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه با طول دوره روشنایی ۱٦ ساعته و با حداکثر دمای روزانه ۲۲ تا ۲٤ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ٦۰٪، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس منتقل و طی دوره رشد به‌مدت ۸ هفته با محلول غذایی جانسون تغذیه (۲٦) و به‌صورت روزانه با آب مقطر آبیاری شدند. به‌دلیل این‌که وجود نیتروژن زیاد یکی از عوامل منفی در برقراری رابطه همزیستی باکتری‌های ریزوبیوم با لگوم‌ها است، بنابراین قبل از انجام آزمایش اصلی با انجام یک پیش آزمایش مشخص گردید که اگر میزان نیتروژن محلول غذایی را به نصف مقدار اصلی تقلیل دهیم نتیجه بهتری حاصل می‌گردد، بنابراین در آزمایش اصلی از تیمار نیتروژنی نصف برای همه گیاهان (تلقیح‌شده و شاهد) استفاده شد. دو روز پس از انتقال جوانه‌های لوبیا به گلدان‌ها، به ریشه‌چه هر گیاه مقدار ۲ میلی‌لیتر مایه تلقیح اضافه شد. حدود دو هفته پس از کشت گیاهان تیمار شوری اعمال شد. بدین صورت که ابتدا تعیین شد که اگر گیاه لوبیا در معرض شوری آب آبیاری به مقدار صفر و ۳۵، ۷۰ میلی‌مولار قرار داده شود چه مقدار نمک باید به‌ازای مقدار آب آبیاری مورد نیاز اضافه شود (مقدارهای صفر، ۳ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر) و سپس براساس مقدار نمک در آب تنظیم و برای جلوگیری از تنش ناگهانی به‌صورت تدریجی و در سه نوبت همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه شد.

اندازه‌گیری وزن خشک: شش هفته پس از اعمال تنش شوری و پس از پایان مرحله رویشی گیاه و مشاهده اختلاف ظاهری در رشد گیاهان تلقیح‌شده با سویه باکتری ریزوبیوم در شرایط نرمال و تنش، نمونه‌برداری از اندام‌های گیاه (برگ و ریشه) انجام شد. نمونه‌های مذکور به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آن‌ها تعیین گردید.

1- Yeast Extract Manital Broth
2- Round per minute

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: قبل از برداشت گیاهان، از برگ‌های میانی و سالم گیاه برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برداشت شد. ابتدا برگ‌های گیاهان با آب مقطر شسته شدند و بلافاصله ۰/۱ گرم نمونه برگ پودر شده با نیتروژن مایع درون یک میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (۵۰ میلی‌مولار و pH= ۷/۸) محتوی EDTA[1] ۲ میلی‌مولار، DTT[2] ۲ میلی‌مولار، Tris-HCL ۵۰ میلی‌مولار، Trition-X100 ۲ درصد و PVP[3] ۲ درصد وارد و همگن شد. نمونه‌های همگن شده به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس با شدت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس عصاره استخراجی برای تخمین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جمع‌آوری و در ویال‌های جداگانه نگهداری شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌ترتیب با استفاده از روش‌های ابی (۱۹۷٤) (۳) و رائو و همکاران (۱۹۹٦) (۳۳) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی شاخساره: غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر، فسفر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج و غلظت نیتروژن گیاهان با دستگاه کجلدال قرائت شد (١٤).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک شاخساره و ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثرات ساده عامل‌های باکتری و شوری در سطح ۱ درصد و اثر برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۵ درصد بر وزن خشک شاخساره و ریشه معنی‌دار بودند (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه گیاهان تلقیح‌شده با باکتری ریزوبیوم و گیاهان فاقد تلقیح، بیانگر آن است که با افزایش شوری تا سطح شوری متوسط (S_1) وزن خشک شاخساره گیاهان نسبت به شرایط عدم تنش شوری (S_0) تغییر معنی‌داری را نشان نداد، اما، با افزایش شوری تا سطح شوری زیاد (S_2) شاخص مذکور نسبت به سطوح شوری S_0 و S_1 کاهش یافت (شکل ۱). کاهش وزن خشک شاخساره با افزایش سطوح شوری ممکن است به‌دلیل کاهش فتوسنتز در اثر کاهش سطح برگ، کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمع سدیم و کلر در اندام‌ها و یا تخریب ساختمان کلروپلاست باشد. شوری ممکن است از طریق به هم زدن تعادل یونی و اثر بر تغذیه نیز رشد گیاه را محدود کند (۳۰). کاهش وزن خشک شاخساره گیاهان با افزایش شوری نیز گزارش شده است (۱۱). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح نشده با افزایش شوری از سطح S_0 به سطح S_1 کاهش معنی‌داری یافت، اگرچه بین این دو سطح شوری در گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این در حالی است که افزایش شوری تا سطح S_2 موجب کاهش وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده نسبت به سطوح شوری S_0 و S_1 شد (شکل ۲). عواملی مانند افزایش فشار اسمزی محیط ریشه و در نتیجه کاهش جذب آب، برهم‌خوردن تعادل تغذیه‌ای و سمیت یون‌های ویژه، کاهش تعداد تارهای کشنده و چروکیدگی سطح آن‌ها، کاهش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها در کاهش رشد ریشه در خاک‌های شور مؤثر می‌باشند (۳۰). در این پژوهش سویه ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری وزن خشک شاخساره گیاهان را در هر سه سطح شوری به‌ترتیب به مقدار ۲۹، ۲۸ و ٢٤ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب به مقدار ۵۱، ۷۳ و ۱۱٤ درصد افزایش داد

1- Ethylenediaminetetraacetic acid
2- Dithiothreitol
3- Polyvinylpyrrolidone

(شکل‌های ۱ و ۲). این مشاهدات بیانگر آن است که سویه ریزوبیوم انتخاب شده می‌تواند موجب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر تولید ماده خشک شود. می‌توان افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان تلقیح‌شده با باکتری ریزوبیوم را به توانایی این باکتری در تثبیت نیتروژن و تولید عوامل محرک رشد گیاه نسبت داد (۱۸).

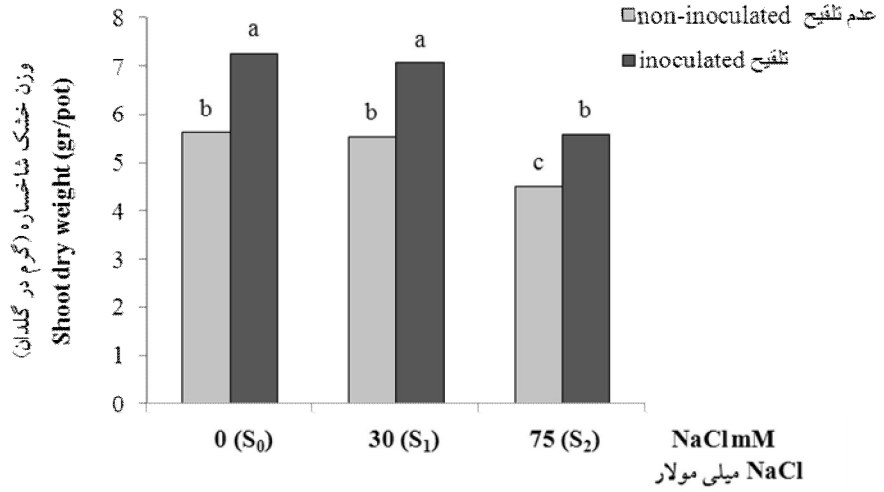
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک شاخساره و ریشه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز.

Table 1. The variance analysis effect of different treatments on root and shoot dry weight and activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidas.

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Average of squares			
		وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان) Shoot dry weight (gr/pot)	وزن خشک ریشه (گرم بر گلدان) Root dry weight (gr/pot)	کاتالاز Catalase ($\Delta A_{290}.\ min^{-1}.\ mg^{-1}_{protein}$)	پراکسیداز Peroxidas ($\Delta A_{290}.\ min^{-1}.\ mg^{-1}_{protein}$)
باکتری (Bacteria)	1	9.1**	3.43**	0.001**	67.2**
شوری (Salinity)	2	3.5**	0.97**	0.031**	9.5*
باکتری × شوری (Bacteria× Salinity)	3	0.13*	0.02*	0.007**	13**
خطای آزمایش (Experiment error)	10	3	0.005	0.00004	0.002

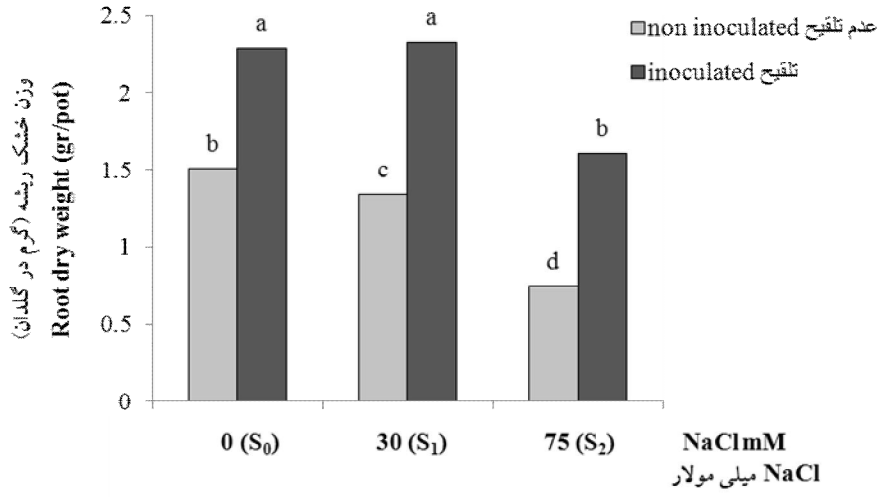
**، * و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**, * and ns significant at the 1%, 5% and no significant, Respectively.



شکل ۱- مقایسه وزن خشک شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 1. Comparison shoot dry weight of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

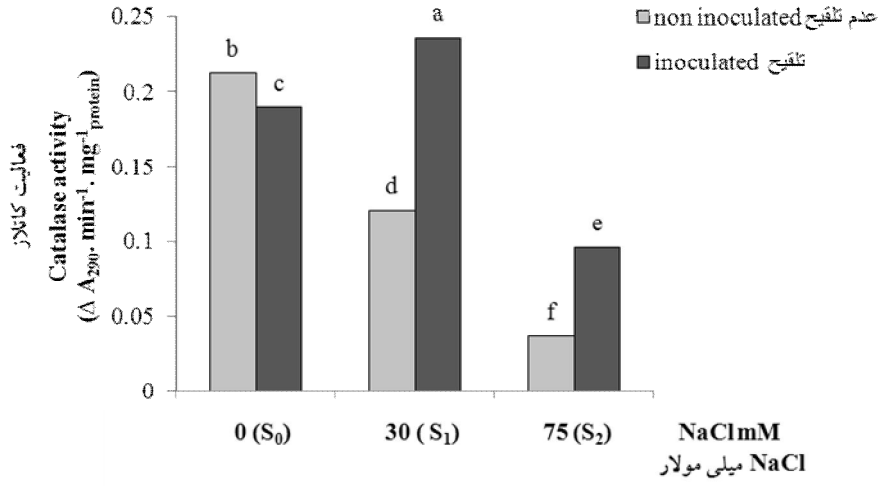


شکل ۲- مقایسه وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 2. Comparison root dry weight of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

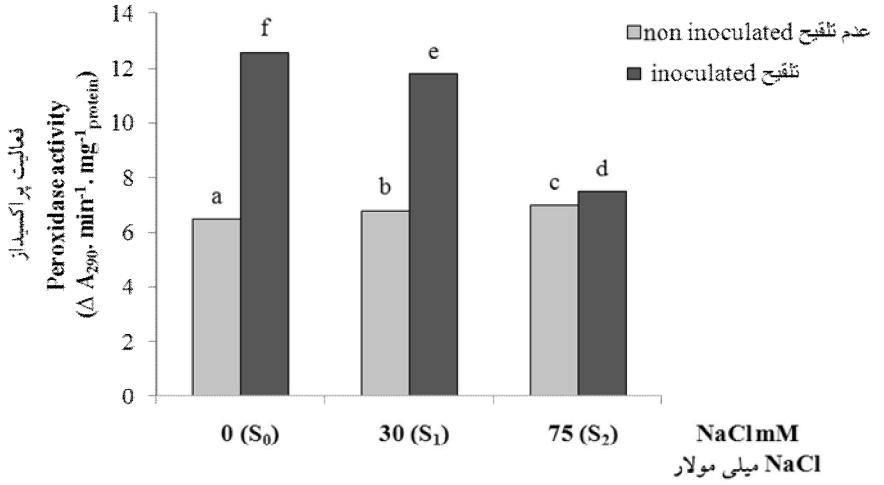
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل‌های باکتری، شوری و برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۱ درصد بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شدند (جدول ۱). آنزیم کاتالاز به‌طور منحصر به فردی تبدیل رادیکال پراکسیدهیدروژن به آب و اکسیژن را انجام می‌دهد و بدین ترتیب گیاه را در برابر آسیب‌های ناشی از تنش محافظت می‌کند (۳۹). آنزیم پراکسیداز نیز یکی از آنزیم‌های مهم از بین برنده پراکسید هیدروژن در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌باشد (٦). نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که در گیاهان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش سطح شوری فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل‌های ۳ و ٤). تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور گسترده در بسیاری از گیاهان تحت تنش گزارش شده است. به‌طوری‌که بسته به گونه گیاهی و نوع تنش، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خاصی جهت تحمل فعال می‌شوند (٤). مطالعات نشان می‌دهد که افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۲۱). این امر نشان می‌دهد که به‌علت رابطه ضعیف آنزیم کاتالاز با پیش ماده خود، عاملی در جهت محدود نمودن عمل محافظتی کاتالاز دخالت نموده و باعث غیرفعال شدن فعالیت آنزیم کاتالاز گردیده است (۲۰). مطابق با نتایج این پژوهش، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش سطح شوری در ارقام مختلف گندم گزارش شده است (٢٤). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S_1 و S_2 نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی ریزوبیومی به‌ترتیب به مقدار ۱۹٦ و ۲۵۹ درصد افزایش یافت، اما تلقیح باکتریایی در سطح شوری S_0 موجب کاهش ۱۲ درصدی فعالیت این آنزیم شد (شکل ۳). این در حالی است که باکتری ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان را در هر سه سطح شوری به‌ترتیب به مقدار ۹۳، ۷۳ و ۷ درصد نسبت به گیاهان فاقد تلقیح افزایش داد (شکل ٤). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه چغندر تلقیح‌شده با باکتری محرک رشد گیاه در شرایط تنش شوری گزارش شده است (۲۲).

تـوران و همکـاران (۲۰۱۳) شـان دادنـد کـه تلقـیح PGPRها با گیاهان گنـدم و بـرنج، موجـب افـزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شـرایط تـنش سـرما شـد (۳٦). احتمالاً تولید متابولیت‌هـا توسـط بـاکتری‌هـای محرک رشد از جمله هورمون‌های محرک رشد نقـش ویژه‌ای در تحریک و بیـان پـروتئین‌هـای آنـزیم‌هـای آنتی‌اکسیدان ایفا مـی‌کنـد. تـنش اکـسیداتیو ناشـی از افزایش گونه‌هـای فعـال اکـسیژن در سـلول، یکـی از مهم‌ترین اثـرات نـامطلوب تـنش شـوری بـر گیـاه و فرایندهای فیزیولوژیکی مهم گیاهی می‌باشد. با توجـه به نقش مهم آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در حـذف رادیکال سمی پراکسیدهیدروژن در شرایط تـنش‌هـای مختلـف، بنـابراین افـزایش فعالیـت ایـن آنـزیم در تیمارهای ریزوبیومی، می‌تواند عاملی مؤثر در حـذف گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجـه افـزایش مقاومـت گیاهان به تنش شوری باشد.



شکل ۳- مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 3. Comparison enzyme activity catalase of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



شکل ٤- مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 4. Comparison enzyme activity peroxidase of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

غلظت سدیم و پتاسیم شاخساره: نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان‌دهنده آن است که اثـرات سـاده بـاکتری، شوری و برهمکنش باکتری و شوری بر غلظت پتاسیم و سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم در سـطح ۱ درصـد معنی‌دار است (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر سدیم، پتاسیم، نیتروژن و فسفر.

Table 2. The variance analysis effect of different treatments on element concentrations of sodium, potassium, nitrogen and phosphorous.

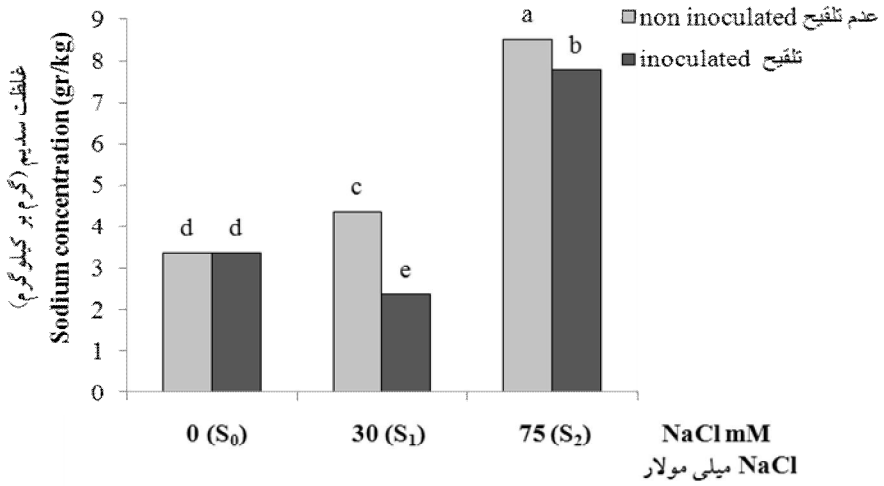
منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Average of squares				
		سدیم (گرم بر کیلوگرم) Sodium (gr/kg)	پتاسیم (گرم بر کیلوگرم) Potassium (gr/kg)	نسبت پتاسیم به سدیم Potassium/ Sodium	نیتروژن (گرم بر کیلوگرم) Nitrogen (gr/kg)	فسفر (گرم بر کیلوگرم) Phosphorous (gr/kg)
باکتری (Bacteria)	1	3.7**	197**	38**	12**	348**
شوری (Salinity)	2	45**	13**	38**	87**	0.16ns
باکتری × شوری (Bacteria× Salinity)	2	1.5**	19**	16**	7*	0.8ns
خطای آزمایش (Experiment error)	10	0.1	2	0.4	1.1	368

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**, * and ns significant at the 1%, 5% and no significant, Respectively.

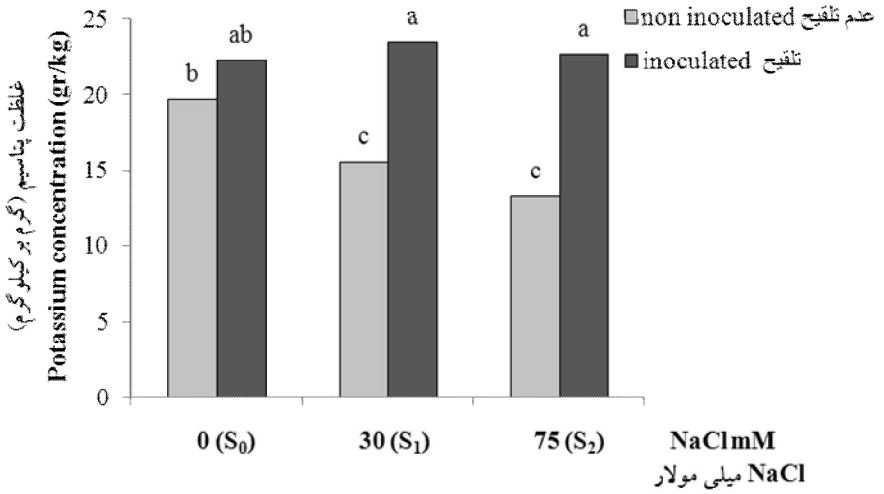
نتایج مقایسه میانگین‌ها نـشان داد کـه در گیاهـان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش سطح شـوری غلظـت سدیم افزایش یافت (شکل ۵). افزایش غلظت سـدیم می‌تواند به‌دلیل فراوانی یون‌های سدیم در محیط ریشه و کاهش رشـد گیـاه در اثـر سـمیت یـون سـدیم در سطوح شوری بالا (عکس اثر رقـت) باشـد. افـزایش سطح شوری در گیاهان فاقد تلقیح، منجر بـه کـاهش غلظت پتاسیم و به دنبال آن نسبت پتاسـیم بـه سـدیم شد اگرچه کاهش غلظت پتاسیم بین سـطوح شـوری S_1 و S_2 معنی‌دار نبـود (شـکل‌هـای ٦ و ٧). غلظـت بیش‌تر سدیم نسبت به پتاسیم در محیط‌هـای شـور و رقابت این یون بـا پتاسـیم در فراینـد جـذب، سـبب کاهش جذب پتاسیم و در نتیجه افزایش غلظت سدیم تا حد سمیت و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و نهایتاً کاهش رشد گیاه می‌شود (٤٠). نتایج بـه‌دسـت آمـده نشان می‌دهد که باکتری ریزوبیوم در سـطوح شـوری S_1 و S_2 نسبت به تیمار عـدم تلقـیح بـاکتری غلظـت سدیم را به‌ترتیب به مقـدار ٨٤ و ١٠ درصـد کـاهش، غلظت پتاسیم را به‌ترتیب به مقدار ٥٠ و ٧٠ درصـد و نیز نسبت پتاسیم به سدیم را به‌ترتیب به مقدار ١٩١ و ٩٣ درصد افزایش داد (شکل‌های ٥، ٦ و ٧). گیری و همکـاران (٢٠٠٧) نـشان دادنـد کـه افـزایش غلظـت پتاسیم در شرایط تنش شوری می‌توانـد اثـرات مـضر شوری بر رشد و عملکرد گیاه را کـاهش دهـد (١٩). باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله ریزوبیـوم‌هـا از طریق تغییر در انتخاب‌پذیری یون‌های سدیم و پتاسیم جهت جذب توسط گیاه و در نتیجـه محـدود نمـودن جذب سدیم، موجب افزایش جذب پتاسیم می‌شـوند

(۲۳). همچنین جذب ترجیحی پتاسیم در برگ‌ها می‌تواند به‌دلیل تغییرات ایجاد شده در فعالیت غشاء و در نتیجه ترشح پروتون از ریشه‌ها باشد (۲۷). کاهش غلظت سدیم در شاخساره نیز به کاهش میزان انتقال سدیم از ریشه‌ها به شاخساره و همچنین تولید پلی‌ساکاریدهای بروم سلولی توسط باکتری همزیست نسبت داده می‌شود. اشرف و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که افزایش جمعیت باکتری‌های مولد پلی‌ساکاریدهای برون سلولی در منطقه ریشه، مقدار سدیم قابل دسترس برای جذب گیاه را کاهش و در نتیجه سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری می‌گردند (۷). همچنین باکتری‌های مقاوم به شوری از طریق برقراری پیوند سدیم با پلی‌ساکاریدهای سطحی، جذب این عنصر را کاهش می‌دهند (۳۵).



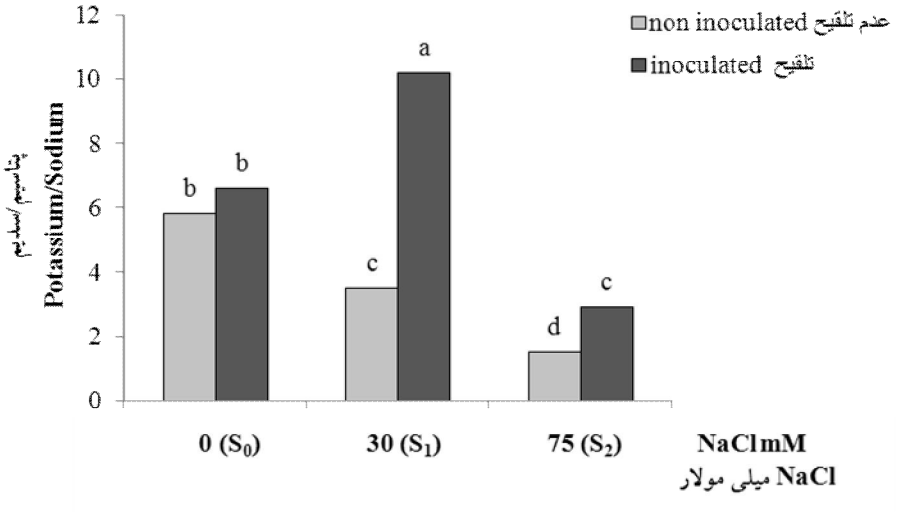
شکل ۵- مقایسه غلظت سدیم شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 5. Comparison sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.



شکل ٦- مقایسه غلظت پتاسیم شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 6. Comparison potassium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

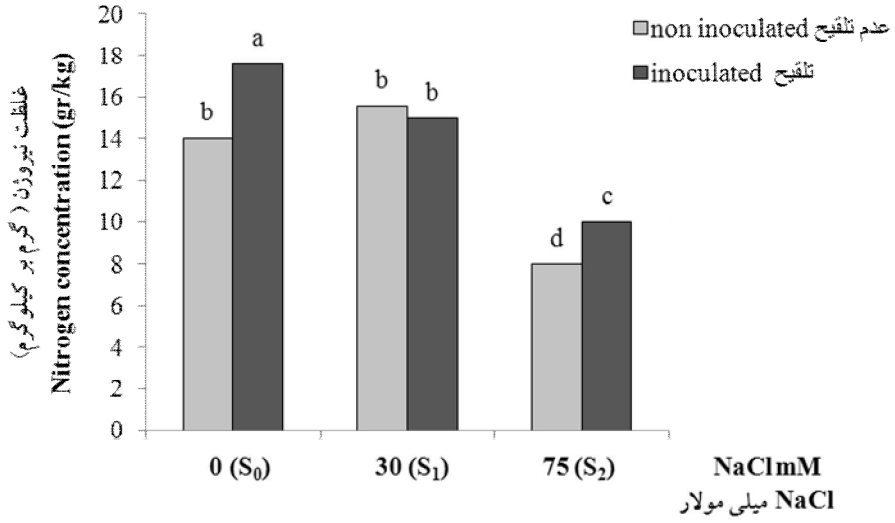


شکل ۷- مقایسه غلظت پتاسیم به سدیم شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 7. Comparison potassium concentration to sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

غلظت نیتروژن شاخساره: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل‌های باکتری و شوری در سطح ۱ درصد و برهمکنش باکتری و شوری در سطح ۵ درصد بر غلظت نیتروژن معنی‌دار شدند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که در گیاهان فاقد تلقیح ریزوبیوم، با افزایش شوری از سطح S_0 به S_1 غلظت نیتروژن تغییری نکرد اما، با افزایش شوری تا سطح S_2 شاخص مذکور نسبت به سطوح شوری S_0 به S_1 کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۸). برنشتاین و اگاتا (۱۹٦٦) گزارش کردند که با افزایش شوری، درصد نیتروژن در گیاهان سویا و یونجه کاهش می‌یابد. در شرایط شور یون کلر مانع از جذب نیترات می‌شود (۱۲). برخی از پژوهشگران رقابت یون‌های کلر و نیترات جهت جذب توسط گیاه را بررسی و بیان نمودند که رقابت موجود بین یون‌های مذکور به پتانسیل منفی سلول‌های ریشه، بار منفی این یون‌ها (کلر و نیترات) و جذب یون‌ها توسط سیستم‌های ناقل یکسان مربوط می‌گردد (۳۱). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش شوری، غلظت نیتروژن شاخساره گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۸). تاکنون مطالعات متعددی در مورد اثر تنش شوری بر فرایند گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در بقولات، انجام گرفته است که نتایج آن‌ها نشان‌دهنده اثر سوء تنش شوری بر فرایند تثبیت نیتروژن در اثر کاهش تنفس گره‌ها و کاهش تولید پروتئین‌های سیتوسولیک به‌خصوص لگ هموگلوبین می‌باشد (۱ و ۳۸). کاهش مقدار نیتروژن در بقولات، از اثرات مستقیم تنش املاح در فرایند تثبیت نیتروژن می‌باشد (۱٦). نتایج نشان می‌دهد که غلظت نیتروژن گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری ریزوبیوم در سطوح شوری S_0 و S_2 نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی ریزوبیومی به‌ترتیب به مقدار ۲۵/۷ و ۲۵ درصد افزایش یافت، اما اثر تلقیح باکتریایی در سطح شوری S_1 بر شاخص مذکور معنی‌دار نشد (شکل ۸). نتایج به‌دست آمده از یک پژوهش نشان داد که تلقیح باکتری ریزوبیوم در گیاه سویا موجب افزایش محتوای نیتروژن، وزن خشک گیاه و عملکرد دانه شد (۹).

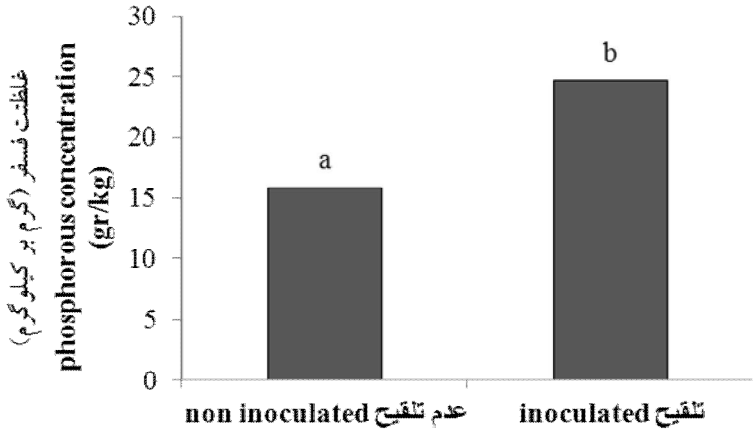
اهمیت ریزوبیوم بر زی‌توده شاخساره، فعالیت آنزیم نیترات‌رداکتار و گره‌زایی توسط پژوهشگران گزارش شده است (۳٤). کاکماکی و همکاران (۲۰۰۷) افزایش فعالیت نیترات‌رداکتاز توسط باکتری‌های محرک رشد را عامل افزایش جذب نیتروژن در گیاهچه‌های گندم و اسفناج مطرح کردند (۱۳). همچنین کارلیداگ و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که در شرایط تنش شوری، باکتری‌های محرک رشد از طریق محدود نمودن جذب کلر موجب افزایش جذب نیترات در گیاه می‌شوند (۲۷). گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق افزایش تارهای کشنده و در نتیجه افزایش سطح ریشه‌ای نقش مهمی در عرضه عناصر متحرک مثل نیترات برای گیاه بر عهده دارند (۱۰). این نتیجه با نتایج حاصل از وزن خشک ریشه در این پژوهش هم‌خوانی دارد.



شکل ۸- مقایسه غلظت نیتروژن شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم در سطوح مختلف شوری.

Figure 8. Comparison nitrogen concentration to sodium concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium* bacteria in salinity different levels.

غلظت فسفر شاخساره: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر باکتری بر غلظت فسفر در سطح ۱ درصد معنی‌دار است، اما عامل شوری و نیز برهمکنش باکتری و شوری فاقد تأثیر معنی‌دار بر شاخص مذکور بودند (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که تلقیح باکتری ریزوبیوم، غلظت فسفر را به‌میزان ۵۵ درصد نسبت به تیمار فاقد تلقیح باکتری افزایش داد (شکل ۹). باکتری‌های ریزوبیومی با تولید عوامل محرک رشد گیاه (۱۸) و در نتیجه تأثیر مثبت بر توسعه سیستم ریشه‌ای می‌توانند موجب افزایش جذب فسفر توسط گیاه شوند که نتایج مربوط به وزن خشک ریشه نیز به خوبی تأییدکننده این موضوع است.



شکل ۹- مقایسه غلظت فسفر شاخساره گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری ریزوبیوم.

Figure 9. Comparison phosphorous concentration concentration of non-inoculated and inoculated plants with *rhizobium*.

نتیجه‌گیری کلی

شوری از مهم‌ترین تنش‌های محیطی مؤثر در کاهش رشد و عملکرد محصولات کشاورزی به‌ویژه بقولات محسوب می‌شود. از این‌رو، پیشنهاد روش‌های کم‌هزینه و قابل اجرا مانند بهره‌گیری از سیستم همزیستی ریزوبیوم- لگومینوز به‌عنوان روشی جایگزین با روش‌های پرهزینه مانند مصرف کودهای شیمیایی در راستای نیل به کشاورزی پایدار از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری سبب کاهش رشد گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز و غلظت عناصر پتاسیم و نیتروژن و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت عنصر سدیم شد. تلقیح گیاه با باکتری ریزوبیوم موجب کاهش اثرات مضر شوری بر گیاه لوبیا گردید به‌طوری‌که، در سطوح مختلف شوری باعث افزایش تولید ماده خشک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت عناصر پتاسیم، نیتروژن و فسفر و کاهش غلظت سدیم موجود در شاخساره گیاه شد. به‌طورکلی می‌توان چنین بیان نمود که استفاده از زادمایه باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* به‌عنوان یک روشی اقتصادی می‌تواند در جهت بهبود رشد، تغذیه و افزایش توان تحمل گیاه لوبیا به تنش شوری معرفی گردد.

منابع

1.Abdel-Wahab, H.H., and Zahran, H.H. 1979. Salt tolerance of *Rhizobium* species in broth culture. Z. Allg. Mikrobiol. 19: 681-685.
2.Abdel-Wahab, H.H., and Zahran, H.H. 1981. Effects of salt stress on nitrogenase activity and growth of four legumes. Biol. Plant (Praque). 23: 16-23.
3.Aebi, H. 1974. Catalase, P 673-677. In: H.U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York.
4.Appel, K., and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
5.Arzanesh, M.H., Alikhani, H.A., Khavazi, K., Rahimian, H.A., and Miransari, M. 2011. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum sp.* under drought stress. World J. Microbiol. Biotechnol. 27: 197-205.

6.Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. Physiol. Plantarum. 85: 235-241.
7.Ashraf, M., and McNielly, T. 2004. Salinity tolerance in *Brassica* oil seeds. Crit. Rev. Plant Sci. 23: 157-174.
8.Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., and Mahmood, T. 2004. Inoculation wheat seedlings with exopolysaccharides producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. Biol. Fertil. Soils. 40: 157-162.
9.Bagyaraj, D.J., Manjunath, A., and Patil, R.B. 1979. Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. New Phytol. 82: 141-145.
10.Baset Mia, M.A., Shamsuddin, Z.H., and Maziah, M. 2010. Use of plant growth promoting bacteria in banana: A new insight for sustainable banana production. Int. J. Agri Biol. 12: 459-467.
11.Ben-Gal, A., and Shani, U. 2002. Yield, transpiration and growth of tomatoes under combined excess boron and salinity stress. Plant soil. 247: 211-221.
12.Bernstein, L., and Ogata, G. 1966. Effects of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean and alfalfa. Agron. J. 58: 201-203.
13.Cakmakci, R., Erat, M., Erdog, U., and Donmez, M.F. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. J. Plant Nutr. Soil Sci. 170: 288-295.
14.Chapman, H.D., and Pratt, P.F. 1961. Methods of analysis for soil, plant and water, Univ. of Calif., Div. of Agric. Sci., Riverside, CA.
15.Cordovilla, M.P., Ligero, F., and Liuch, C. 1995. Influence of host genotypes on growth, symbiotic performance and nitrogen assimilation in Faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. Plant Soil. 172: 289-297.
16.Cordovilla, M.P., Ocana, A., Ligero, F., and Liuch, C. 1995. Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-*Rhizobium* symbiosis. J. Plant Nutr. 18: 1595-1609.
17.El-sheikh, E.A.E., and Wood, M. 1995. Nodulation and fixation by soybean inoculated with salt-tolerant rhizobia or salt-sensitive *bradyrhizobia* in saline soil. Soil Biol. Biochem. 27: 657-661.
18.Fuentes-Ramirez, L.E., and Caballero-Mellado, J. 2005. Bacterial biofertilizers, P 143-172. In: Z.A. Siddiqui (Ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Netherlands.
19.Giri, B., Kapoor, R., and Mukerji, K.G. 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhizal, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. Microb. Ecol. 54: 753-760.
20.Gramer, G.R. 2002. Response of absisic acid mutant of Arabidopsis to salinity. Functuinal Plant Biol. 29: 561-567.
21.Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A., and Coban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought and salt stress, I: Growth, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. Commun. Soil Sci. Plant Nutr. 39: 1885-1903.
22.Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Nookaraju, A., Venkatesh, J., and Park, S.W. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. J. Plant Growth Regul. 32: 245-258.
23.Hamdia, M.A., Shaddad, M.A.K., and Doaa, M.M. 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. Plant Growth Regul. 44: 165-174.
24.Heidari, M., and Mesri, F. 2008. Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. Pakistan J. Biol. Sci. 11: 1385-1389.
25.Hosseini, Y., Homaee, M., Karimian, N., and Saadat, S. 2009. Modeling of canola response to combined salinity and nitrogen stresses. J. Sci. Technol. Agri. Nat. Res. 12: 721-734. (In Persian)

26.Johnson, C., Stout, P., Broyer, T.C., and Carlton, A.B. 1957. Comparative chlorine requirements of different plant species. Plant Soil. 8: 337-353.
27.Karlidag, H., Esitken, A., Yildirim, E., Figen-Donmez, M., and Turan, M. 2011. Effects of plant growth promoting bacteria on yield, growth, leaf water content, membrane permeability and ionic composition of strawbwrry under saline conditions. J. Plant Nutr. 34: 34-45.
28.Kohlera, J., Hernandezb, J.A., Caravacaa, F., and Roldana, A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environ. Exp. Bot. 65: 245-252.
29.Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.
30.Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60: 324-349.
31.Pope, A.L., and Leigh, R.A. 1990. Characterization of chloride transport at the tonoplast of higher plants using a chloride-sensitive huorescet probe. Effects of other anions, membrane potential and transport inhibitors. Planta. 181: 406-413.
32.Poustini, K., and Siosemardeh, A. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. Field Crops Res. 85: 125-133.
33.Rao, M.V., Paliyath, G., and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 110: 125-136.
34.Scheublin, T.R., Ridgway, K.P., Young, J.P.W., and Van Der Heijden, M.G.A. 2004. Non legumes, legumes and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. Appl. Environ. Microbiol. 70: 6240-6246.
35.Siddikee, A., Glick, B.R., Chauhan, S., Yim, W., and Sa, T. 2011. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halo tolerant bacteria containing 1 aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. Plant Physiol. Biochem. 49: 427-434.
36.Turan, M., Güllüce, M., Çakmak, R., and Şahin, F. 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. J. Plant Nutr. 36: 731-748.
37.Vazquez, M.M., Barea, J.M., and Azcon, R. 2001. Impact of soil nitrogen concentration on *Glomus spp. Sinorhizobium* interactions as affecting growth nitrate reductase activity and protein content of *Medicago sativa*. Biol. Fertil. Soils. 34: 57- 63.
38.Walsh, K.B. 1995. Physiology of the legume nodule and its response to stress. Soil Biol. Biochem. 27: 637-655.
39.Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D., and Van Camp, W. 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants. EMBO J. 16: 4806-4816.
40.Zahir, Z.A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S.M., and Asghar, H.N. 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia sp*. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. Arch. Microbiol. 191: 415-424.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 5(2), 2015
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Influence of *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria on growth, activity of antioxidant enzymes and nutrient uptake of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under salinity stress

M. Sepehri[1], *V. Jahandideh Mahjen Abadi[2], H. Asadi Rahmani[3] and A. Sadeghi Hosni[4]

[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Shiraz University, [2]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science, Shiraz University, [3]Research Associate Prof., Soil and Water Research Institute, [4]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Isfahan University of Technology

Received: 04/20/2014; Accepted: 10/28/2014

Abstract

Background and Objectives: Salinity is the most common environmental stress which have endangered successful crops production. The vast cultivated areas in Iran are located in arid and semi-arid parts and these plants are subject to adverse environmental conditions, hence to increase plants tolerance to environmental stresses mostly due to exceeding soil salts mineral is important in terms of yield losses. Biological methods based on soil useful microorganisms' potentials in creating symbiosis relationship to plants can increase crops yields per unit area by changing their genetic structure, improving their cultivation in saline, dry soils or biotic and abiotic stresses. This research investigate the potential of *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria to improve growth, nutritional status and increase antioxidant enzyme activities (catalase and peroxidase) of common bean (*Akhtar cultivar*) in salinity stress condition.

Materials and Methods: The greenhouse experiment was conducted as a factorial design in completely randomized with three replications by using the sterile sand-perlite (2:1 v/v) as a culture substrate at three levels of salinity of S_0, S_1 and S_2 (0, 35 and 70 mM sodium chloride, or 0, 3 and 6 ds/m, respectively) in soilless research center located in Isfahan university of technology.

Results: The results showed that salinity stress decreased plant growth, regardless of microbial treatment and stress level. The inoculated plants with *rhizobium* bacteria had greater shoot and root biomass than the non-inoculated plants at all salinity levels. Salinity stress decreased antioxidant enzyme activity catalase and potassium and nitrogen concentrations of shoot and increased antioxidant enzyme activity peroxidase sodium concentration of shoot, particularly in non-inoculated plants with *rhizobium* bacteria. At salinity levels of S_1 and S_2, antioxidant enzyme activity catalase of inoculated plants with *rhizobium* bacteria about 196% and 259% and antioxidant enzyme activity peroxidase about 93%, 73% and 7% was increased than the non-inoculated plants, respectively. Inoculation of *rhizobium* bacteria at salinity levels of S_1 and S_2, resulted in increasing potassium concentration about 84% and 10% and decreasing sodium concentration about 50% and 70%, respectively. Also, the inoculated plants with *rhizobium* bacteria had higher nitrogen concentrations at S_0 and S_2 compared to the non-inoculated one. Shoot phosphorous concentration of inoculated plants with *rhizobium* bacteria was higher about 55% than the non-inoculated plants.

Conclusion: In general, inoculation of common bean (*Akhtar cultivar*) with *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* bacteria in this research, can serve as a useful method for alleviating deleterious effects of salinity stress.

Keywords: Antioxidant enzymes, *Rhizobium*, Salinity, Nutrients, Bean

* Corresponding Authors; Email: vahid.jahandideh67@gmail.com