مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۱، ۱۳۸۹ (۱۵۳-۱۴۱)

بررسی کارایی همزیستی و مقاومت به شوری سویه‌های ریزوبیومی همزیست با یونجه بومی خاک‌های استان تهران و زنجان

فیروزه قاسم[1]*، کاظم پوستینی[2]، حسین بشارتی[3] و ولی اله محمدی[4]
۱، ۲، ۴، دانشجوی دکتری، استاد و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳، استادیار مؤسسه تحقیقات آب و خاک
(تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۲۹- تاریخ تصویب: ۸۸/۷/۸)

چکیده

به منظور ارزیابی کارایی همزیستی و مقاومت به شوری سویه‌های باکتری *Sinorhizobium meliloti* بومی خاک‌های استان تهران و زنجان تعداد ۵۰ سویه باکتری ریزوبیوم از گره‌های ریشه گیاه یونجه چندساله در مزارع مختلف استان تهران و زنجان جمع‌آوری شد. به منظور تعیین کارایی همزیستی، آزمایش گلخانه‌ای کشت یونجه (رقم بمی) در سال ۸۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، با در نظر گرفتن تیمارهای باکتری همراه با دو تیمار شاهد بدون تلقیح و بدون نیتروژن و تیمار نیتروژن در دو سطح (۳۰ و ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن در لیتر) انجام شد. پس از رشد کافی، گیاهان در دو چین برداشت و شاخص‌های وزن خشک شاخساره، تعداد و وزن خشک گره اندازه گیری و کارایی همزیستی محاسبه گردید. مقاومت به شوری سویه‌ها در محیط YMA (Yeast Manitol Agar) حاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم (۷۰۰ و ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۰ میلی‌مولار) بر اساس قطر کلونی ارزیابی شد. این نتایج نشان داد که تنوع زیادی بین سویه‌های جمع‌آوری شده از خاک‌های مناطق مختلف از نظر وزن خشک شاخساره، تعداد و وزن خشک گره و تحمل به مقادیر مختلف شوری وجود دارد. از بین۵۰ سویه باکتری ریزوبیوم، سویه شماره ۳۰ با میانگین وزن خشک شاخساره حدود ۱/۳۱ گرم به دلیل دارا بودن بیشترین میزان وزن خشک شاخساره دارای بیشترین کارایی همزیستی و سویه شماره ٦ با میانگین وزن خشک شاخساره حدود ۰/٦۹ گرم به دلیل دارا بودن کمترین میزان وزن خشک شاخساره دارای کمترین کارایی همزیستی بود. ٤۸ سویه دیگر دارای وزن خشک شاخساره بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد بودند. کارایی همزیستی همبستگی زیادی با وزن خشک شاخساره، تعداد و وزن خشک گره داشت، که نشان‌دهنده اهمیت صفات تعداد گره و وزن خشک شاخساره در ارزیابی تلقیح موفق و تثبیت نیتروژن در گیاه یونجه است. شوری سبب کاهش قطر کلونی در تمام سویه‌ها شد. سویه شماره ٤۹ با میانگین قطر کلونی حدود ۰/۸ سانتیمتر دارای بیشترین قطر کلونی در سطح شوری ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. سویه‌های با کارایی همزیستی بالا و میزان تحمل به سطوح شوری بالا می‌توانند به عنوان سویه‌ای مناسب برای تلقیح با گیاه یونجه در خاک‌های شور پیشنهاد شوند، بنابراین، ارزیابی گلخانه‌ای برای سنجش بهبود عملکرد یونجه بوسیله تلقیح با سویه‌های مورد نظر تحت شرایط تنش شوری کار ساز است ولی، تکرار چنین آزمایشاتی تحت شرایط مزرعه‌ای نیز لازم به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: *Sinorhizobium meliloti*، یونجه، کارایی همزیستی، شوری.

* نویسنده مسئول: فیروزه قاسم تلفن: ۰۹۱۲-۲۳۶۹۲۰۵ E-mail: ghasem@ut.ac.ir

مقدمه

گیاهان خانواده لگومینوز به دلیل نقش مهمی که در تبدیل نیتروژن اتمسفر به فرم تثبیت شده آن (آمونیوم و نیتروژن آلی) دارند، از نظر اکولوژیک و کشاورزی بسیار مهم هستند (Brockwel et al., 1995). میزان تثبیت بیولوژیک نیتروژن در سیستم همزیستی ریزوبیوم-لگومینوز به نوع گیاه میزبان، سویه باکتری همزیست و شرایط محیطی بستگی داشته و در گیاهان علوفه‌ای حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار در یک سال است (Peoples et al., 1989). یونجه یک نیام دار چند ساله است که با زمستان های سرد و تابستان های گرم و خشک سازگار است و بصورت مرتع و یا علوفه کشت می‌شود، سطح زیر کشت آن در دنیا حدود ۳۰ میلیون هکتار (Munns, 2007) و در ایران حدود ۶۳۹ هزار هکتار است (Vezarat Jahad Keshavarsi, 2009). یونجه به دلیل دارا بودن سیستم ریشه‌ای عمیق و دوره رشد طولانی نسبت به گیاهان یکساله سبب از دست رفتن آب کمتری از خاک سطحی می‌شود و خطر بالا آمدن سفره آب زیر زمینی را کاهش می‌دهد (Halvorson & Reule, 1980; Dunin et al., 2001).

همچنین این گیاه به دلیل همزیستی با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در خاک باعث حاصلخیزی و تقویت خاک می‌شود (Karimi, 2005; Rastegar, 2005). باکتری همزیست با یونجه عمدتاً *Sinorhizobium meliloti* است و ایجاد فرآیند همزیستی بین این باکتری و گیاه یونجه فرآیندی پیچیده بوده و شامل تبادل یکسری سیگنال‌ها بین گیاه و باکتری است (Long, 1989; Brewin, 1991; Denarie & Cullimore, 1993; Rhijin & Vanderleyden, 1995).

آب و خاک شور از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصول در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می شوند (Homaee et al., 2002). از کل اراضی زیر کشت دنیا ($۱۰^۹ \times ۱/۵$ هکتار) حدود ۲۳ درصد مشکل شوری دارند (Shanon, 1984b). براساس آمار موجود حدود ۴۰۰ تا ۹۵۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی دنیا متأثر از شوری هستند که معادل $\frac{۱}{۳}$ اراضی کشاورزی تحت آبیاری در جهان می‌باشد (Shanon, 1984a, b). سرزمین پهناور ایران منابع آبی و خاکی فراوانی را در خود جای داده است که بخش وسیعی از خاک‌ها و حجم چشمگیری از منابع آبی کشور به درجات مختلف مبتلا به شوری هستند (Pazira & Homaee, 2003). در بسیاری از مناطق خشک و نیمه خشک دنیا مانند ایران، اراضی شور در اثر بهره‌برداری بی رویه و غیر اصولی پیوسته در حال گسترش است. در این مساحت خاک‌هایی که به نوعی تحت تأثیر شوری قرار دارند بالغ بر ۳۲ میلیون هکتار است که نزدیک به ۳۰ درصد از سطح کل کشور و ۵۵ درصد از اراضی قابل کشت را شامل می‌شود (Food and Agriculture Organization, 1994; Pazira & Homaee, 2003). یونجه از جمله گیاهان نسبتاً حساس به شوری است، بطوریکه آستانه تحمل به شوری آن ۲ دسی‌زیمنس بر متر (معادل ۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) است. اگر شوری خاک به بیش از ۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یابد، رشد و عملکرد آن کاهش می‌یابد (Mass & Hoffman, 1977).

بطور کلی باکتری‌های ریزوبیومی همزیست با گیاهان لگوم، نسبت به گیاهان لگوم تحمل بیشتری به تنش شوری دارند. همزیستی لگوم-ریزوبیوم و تشکیل گره نسبت به تنش شوری و اسمزی بسیار حساس‌تر از خود ریزوبیوم و گیاه لگوم است. تنش شوری مراحل اولیه همزیستی لگوم-ریزوبیوم را متوقف می‌کند (Zahran & Sprent, 1986; Zahran, 1991; Zahran, 1999; Wei et al., 2004). حداکثر شوری قابل تحمل یونجه ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر (معادل ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) است (Shanon, 1984 a, b). ولی باکتری *Sinorhizobium meliloti* ۳۰۰ تا ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را تحمل می‌کند (Embalomatis et al., 1994; Wei et al., 2004). اطلاعات کمی در مورد شناسایی سویه‌های با کارایی همزیستی بالا برای گیاه یونجه وجود دارد، شناسایی سویه‌های با کارایی همزیستی بالا سبب بهبود عملکرد یونجه می‌شود (Zhao-Hai et al., 2007). نتایج بدست آمده از تحقیقات مختلف حاکی از آن است که وزن خشک شاخساره یکی از معیارهای پذیرفته شده برای تعیین کارایی همزیستی لگوم-ریزوبیوم است (Hungria & Bohrer, 2000; Hefny et al., 2001; Appunu & Dhar, 2006). Zhao-Hai et al. (2007)،

۱۷ سویه باکتری *Sinorhizobium meliloti* همزیست با گیاه یونجه را از منطقه ای در چین جمع‌آوری کردند و سویه‌های با کارایی همزیستی بالا را شناسایی کردند. این بررسی مشابه بررسی Chen et al. (2002) برروی گیاه یونجه بود. Mrabet et al. (2005) در بررسی خود بر روی کارایی همزیستی *Rhizobium gallicum* با گیاه لوبیا بیان کردند، سویه‌های بومی با کارایی همزیستی بالا سازگاری بالایی با شرایط محیطی نسبت به سویه‌های تجاری دارند و عملکرد گیاه را در گلخانه یا مزرعه برابر یا حتی بیشر از کاربرد کود نیتروژن افزایش می‌دهند. مشابه این بررسی توسط Mahdhi et al. (2008) برروی گیاه لگوم *Retama raetam* انجام شد و به منظور بررسی خصوصیات فنوتیپی سویه‌های همزیست با آن، تحمل به شوری آنها در محیط YMA حاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم ارزیابی شد. Mnasri et al. (2007) به منظور بررسی خصوصیات فنوتیپی سویه‌های *Rhizobium elti*، *Rhizobium gallicum* و *Sinorhizobium meliloti* مقامت به شوری آنها را در محیط کشت با غلظت‌های ۳۲/۸ تا ۸۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بررسی نمودند. Geogiev & Atkias (1993) و Zou et al. (1995) گزارش کردند که تلقیح لگوم‌ها با سویه‌های مقاوم به شوری تثبیت نیتروژن را در محیط‌های شور افزایش می‌دهد. هدف از این پژوهش بررسی توانایی سویه‌های ریزوبیوم جمع‌آوری شده از خاک‌های زیر کشت یونجه در استان‌های تهران و زنجان در تثبیت نیتروژن (کارایی همزیستی) و میزان تحمل آنها به سطوح مختلف شوری بود.

مواد و روش‌ها

به منظور جداسازی و خالص‌سازی سویه‌های ریزوبیومی همزیست با یونجه از مزارع مختلف زیر کشت یونجه در استان های تهران و زنجان در سال ۱۳۸۶، بصورت تصادفی تعداد زیادی بوته در طی فصل رشد جمع‌آوری شدند. پس از شستشوی کامل سیستم ریشه‌ای گیاه، گره‌ها از سیستم ریشه‌ای گیاه، جدا و در ظروف درب دار مناسب که دارای سیلیکاژل (جاذب الرطوبه) و یک لایه دستمال کاغذی بود، قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه گره‌ها ابتدا به مدت ۵-۳ ثانیه با الکل اتیلیک ۹۶ درصد و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس گره‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل له شدند. سپس مقادیر کافی محیط کشت اختصاصی باکتری‌های ریزوبیوم (YMA) (۱۰ گرم مانیتول، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۰/۲ گرم NaCl ، ۰/۲ گرم $MgSO_4$، ۰/۵ گرم K_2HPO_4، ۱۵ گرم آگار، ۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر کانگورد یک درصد و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) تهیه و در اتوکلاو استریل گردید. سوسپانسیون گره‌ها در پلیت‌های حاوی محیط YMA کشت شده در دمای مناسب (۲۸-۳۰ $^{\circ}C$) قرار داده شدند (Vincent, 1970). پس از رشد باکتری در سطح پلیت‌ها، بعد از چندین بار تجدید کشت تعداد ۵۰ ایزوله خالص‌سازی شد (Vincent, 1970).

تعیین میزان کارایی همزیستی سویه‌های بدست آمده براساس روش Beck et al. (1993) انجام شد.

مقادیر کافی بذور گیاه میزبان (یونجه رقم بمی) پس از استریل سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد در شرایط استریل روی پلیت های حاوی آب و آگار ۱ درصد در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد جوانه دار شدند (Howieson et al., 2000). سپس تعداد ۱۰ عدد بذر جوانه دار در هر گلدان یک کیلوگرمی حاوی پرلیت استریل شده در سه تکرار و بصورت طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۸۷ در فصل بهار با سیکل نوری ۸/۱۶ ساعت روشنایی/ تاریکی، درجه حرارت روز/ شب ۱۵/۲۸ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۶۵-۵۵ درصد در گلخانه کشت شد. تمام سویه‌های ریزوبیومی خالص سازی شده به محیط کشت YMB (محیط YMA فاقد آگار) استریل شده، تلقیح و در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد در شیکر با چرخش ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. به هر گیاهچه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه سویه مورد نظر (کشت دو روزه) اضافه شد (Beck et al., 1993). سطوح تیمار بصورت زیر برای تعیین کارایی همزیستی سویه‌ها در کشت گلدانی یونجه اعمال شدند:

شاهد (T_0): گلدان حاوی ۱۰ عدد گیاه یونجه که به آن محلول غذایی هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950)

دارای تمام عناصر مورد نیاز گیاه بجز نیتروژن داده شد.

نیتروژن (T_1): گلدان حاوی ۱۰ عدد گیاه یونجه که به آن محلول غذایی هوگلند دارای تمام عناصر مورد نیاز گیاه و نیتروژن (در دو سطح ۳۵ و ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن در لیتر) داده شد.

تلقیح (T_2): گلدان حاوی ۱۰ عدد گیاه یونجه که به آن محلول غذایی هوگلند دارای تمام عناصر مورد نیاز گیاه بجز نیتروژن داده شد و گیاهچه‌ها با سویه باکتری مورد نظر تلقیح شدند.

بوته‌های یونجه در چین اول در زمان شروع گلدهی که حدود ۶۰ روز به طول انجامید برداشت شدند و وزن خشک شاخساره اندازه گیری شد، در چین دوم نیز که حدود ۶۰ روز به طول انجامید، صفات وزن خشک شاخساره، تعداد و وزن خشک گره اندازه گیری شدند. کارایی همزیستی بر اساس وزن خشک شاخساره در چین اول، برای ۵۰ سویه باکتری در هر سه تکرار و از رابطه زیر محاسبه شد:

$$SE = \frac{T2-T0}{T1-T0} \times ۱۰۰$$ [1]

که در آن:

SE: کارایی همزیستی

T_2: وزن خشک شاخساره بوته‌های تلقیح شده با ۵۰ سویه باکتری ریزوبیوم

T_0: وزن خشک شاخساره بوته‌های شاهد

T_1: وزن خشک شاخساره بوته‌های تیمار ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن در لیتر).

اگر SE کوچکتر و مساوی با ۵۰ درصد باشد، باکتری "غیر مؤثر"، بین ۷۵-۵۰ درصد "نسبتاً مؤثر"، بین ۱۰۰-۷۵ "مؤثر" و بزرگتر از ۱۰۰ باشد باکتری "خیلی مؤثر" است. باتوجه به شاخص SE، باکتری‌ها گروه‌بندی شدند (Beck et al.,1993).

برای تعیین مقاومت به شوری سویه‌ها در محیط YMAحاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم، ابتدا محیط YMA حاوی مقادیر مختلف کلرور سدیم (۰، ۲۰۰، ۴۰۰ ، ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) تهیه و پس از استریل کردن توسط اتوکلاو، در پلیت ها توزیع شد. باکتری‌های مورد نظر بر روی محیط کشت‌های حاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم در ۳ تکرار به صورت لکه‌گذاری کشت شدند و در شرایط مناسب ($28-30^{\circ}C$) انکوباسیون شدند. پس از گذشت ۳ روز قطر کلونی‌ها اندازه‌گیری شد (Appunu et al., 2007) و داده‌ها بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS و MSTATC انجام شد. با توجه به اهمیت صفات، تعداد گره و وزن خشک شاخساره در ارزیابی تلقیح موفق و تثبیت نیتروژن (Smith et al., 1988) همبستگی این صفات با کارایی همزیستی محاسبه گردید. به دلیل عدم رشد تعدادی از سویه‌ها در سطوح بالای شوری به منظور آنالیز داده‌ها، تبدیل داده‌ها صورت گرفت و برای جدول میانگین‌ها از داده‌های تبدیل نشده استفاده شد. برای گروهبندی سویه‌های ریزوبیومی از لحاظ صفات مورد مطالعه، تجزیه کلاستر یا خوشه‌ای بر روی نمره استاندارد (Z) داده‌ها به روش وارد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک شاخساره، تفاوت معنی‌داری را در سطح یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم نشان داد (جدول۱). نتایج مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در جدول ۲ نشان داده شده است.

1. Symbiotic effectiveness

جدول ۱- میانگین مربعات اثر سویه‌های ریزوبیومی بر شاخص‌های اندازه گیری شده در چین اول و دوم یونجه

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک شاخساره در چین اول	وزن خشک شاخساره در چین دوم	درجه آزادی	کارایی همزیستی (چین اول)	تعداد گره (چین دوم)	وزن خشک گره (چین دوم)
تیمار	۵۲	۰/۱۱**	۰/۹۱**	۴۹	۱۵۸۲۵/۵۵**	۱۲۷/۷۴**	۱۷۶/۷۹**
خطا	۱۰۶	۰/۰۱۹	۰/۱۰۶	۱۰۰	۵۳۵۴/۵۸	۹/۶۳	۳/۸۲

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

وزن خشک شاخساره در تمام تیمارها در چین اول نسبت به تیمار شاهد (تلقیح نشده با باکتری و فاقد کود) بطور معنی‌داری بیشتر بود (جدول۲). سویه ریزوبیومی شماره ۱۳، وزن خشک شاخساره‌ای حدود ۲/۴۱ برابر تیمار شاهد و ۱/۶۴ برابر تیمار ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن در لیتر تولید کرد. سویه‌های ریزوبیومی شماره ۱۳، ۳۰ و ۳ دارای میانگین وزن خشک شاخساره بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها بودند و سویه‌های ریزوبیومی شماره ۳۱، ۴۰ و ۶ دارای میانگین وزن خشک شاخساره پایین تری نسبت به سایر سویه‌ها بودند. در چین دوم نیز وزن خشک شاخساره در تمام تیمارها نسبت به تیمار شاهد بطور معنی‌داری بیشتر بود (جدول۳). سویه‌های ریزوبیومی شماره ۳۰، ۳ و ۱۱ دارای میانگین وزن خشک شاخساره بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها بودند و سویه‌های ریزوبیومی شماره ۳۱، ۴۶، ۴۰ و ۶ دارای میانگین وزن خشک شاخساره پایین تری نسبت به سایر سویه‌ها بودند. تلقیح با سویه مناسب می‌تواند سبب افزایش بیوماس تولیدی گیاه لگوم میزبان شود (Zahran & Sprent, 1986). این نتایج مشابه نتایج Zhao-Hai et al. (2007) بر روی گیاه یونجه بود، آنها در مطالعه بر روی *Sinorhizobium meliloti* سویه‌ای را که دارای بیشترین وزن خشک شاخساره بود، به عنوان سویه‌ای با کارایی همزیستی بسیار بالا معرفی کردند. نتایج تجزیه واریانس کارایی همزیستی تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم نشان داد (جدول۱). سویه‌های ریزوبیومی شماره ۱۳، ۳۰ و ۳ بطور معنی‌داری دارای کارایی همزیستی بیشتری نسبت به سایر سویه‌ها بودند (جدول۲). سویه‌های ریزوبیومی از لحاظ کارایی همزیستی به ۴ گروه تقسیم شدند (جدول۲). از بین ۵۰

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر سویه‌های ریزوبیومی بر صفات مختلف یونجه بومی

سویه باکتری ریزوبیوم	منطقه نمونه گیری سویه‌های ریزوبیوم	چین اول			چین دوم		
		وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	کارایی همزیستی (درصد)		وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	تعداد گره (تعداد در بوته)	وزن خشک گره (میلی‌گرم در بوته)
۱	زنجان	۰/۷۵^{hijklm}	۷۰/۲۵^{defg}	نسبتاً مؤثر	۱/۸۵^{ghijklm}	۹/۶۷^{jklmnop}	۴/۲۰^{ghij}
۲	زنجان	۰/۹۱^{defghijklm}	۱۴۰/۳^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۳۰^{cdefghijkl}	۱۳ ^{fghijklmnop}	۵/۰۷^{efghij}
۳	زنجان	۱/۳۰^{abc}	۲۸۹/۸^{ab}	خیلی مؤثر	۳/۲۱^{ab}	۳۳/۶۷^{ab}	۳۰/۹۷^{b}
۴	زنجان	۱/۲۰^{abcde}	۲۵۷/۴^{abcd}	خیلی مؤثر	۲/۹۰^{abcdef}	۱۶^{defghijkl}	۷/۳۷^{cdefghij}
۵	زنجان	۱/۲۱^{abcde}	۲۴۹/۲^{abcde}	خیلی مؤثر	۲/۸۶^{abcdef}	۱۴/۳۳^{efghijklm}	۶/۴۳^{defghij}
۶	زنجان	۰/۶۹^{klm}	۴۶/۱۲^{g}	غیر مؤثر	۱/۳۳^{m}	۶/۶۷^{mnop}	۳/۴۳^{ij}
۷	زنجان	۰/۹۴^{defghijkl}	۱۴۸/۷^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۳۰^{cdefghijkl}	۱۶^{defghijkl}	۷/۰۳^{defghij}
۸	زنجان	۰/۷۴^{hijklm}	۶۵/۷۱^{defg}	نسبتاً مؤثر	۱/۷۳^{ijklm}	۶/۶۷^{mnop}	۳/۷۷^{hij}
۹	زنجان	۰/۷۸^{ghijklm}	۸۵/۹۰^{cdefg}	مؤثر	۱/۸۰^{hijklm}	۹/۳۳^{klmnop}	۳/۵۰^{ij}
۱۰	زنجان	۰/۸۵^{efghijklm}	۱۱۶/۲^{bcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۲۳^{defghijkl}	۱۴/۶۷^{efghijklm}	۶/۹۰^{defghij}
۱۱	زنجان	۱/۲۵^{abcd}	۲۶۷/۸^{abc}	خیلی مؤثر	۳/۱۴^{abc}	۱۸/۶۷^{defghi}	۸/۸۷^{cdefgh}
۱۲	زنجان	۱/۰۷^{abcdefgh}	۲۰۱/۹^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۶۰^{abcdefgh}	۲۰/۶۷^{cdef}	۹/۷۰^{cde}
۱۳	زنجان	۱/۳۵^{a}	۳۱۶/۷^{a}	خیلی مؤثر	۲/۹۳^{abcde}	۱۹^{defgh}	۸/۵۳^{cdefghi}
۱۴	زنجان	۱/۰۹^{abcdefgh}	۲۰۷^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۸۷^{abcdef}	۱۶/۳۳^{defghijkl}	۹/۵۰^{cdef}
۱۵	زنجان	۰/۷۷^{ghijklm}	۸۲/۷۶^{cdefg}	مؤثر	۲/۱۱^{defghijklm}	۹/۳۳^{klmnop}	۴/۰۳^{hij}
۱۶	زنجان	۰/۹۵^{cdefghijkl}	۱۵۵/۳^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۴۰^{bcdefghijkl}	۱۳/۶۷^{fghijklmn}	۵/۶۳^{efghij}
۱۷	زنجان	۱/۱۲^{abcdefg}	۲۱۷/۳ ^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۷۷^{abcdef}	۱۹/۳۳^{defg}	۹/۳۰^{cdefg}
۱۸	زنجان	۱^{abcdefghijkl}	۱۷۶/۳ ^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۱^{abcdefghijk}	۱۲^{ghijklmnop}	۵/۰۷^{efghij}
۱۹	زنجان	۱/۰۶^{abcdefghij}	۱۹۴/۴^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۶۴^{abcdefgh}	۱۶/۳۳^{defghijkl}	۶/۹۳^{defghij}
۲۰	زنجان	۰/۹۷^{bcdefghijkl}	۱۶۳/۱^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۴۵^{abcdefghijk}	۱۳/۳۳^{fghijklmno}	۶/۲۷^{defghij}
۲۱	رباط کریم	۰/۹۸^{bcdefghijkl}	۱۶۵/۷ ^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۱^{abcdefghij}	۸/۶۷^{lmnop}	۴/۴۳^{fghij}
۲۲	نظر آباد	۰/۷۷^{ghijklm}	۸۲/۷۶^{cdefg}	مؤثر	۱/۸۵^{ghijklm}	۱۶^{defghijkl}	۷^{defghij}
۲۳	فشاپویه	۰/۸۰^{fghijklm}	۹۰/۴۱^{cdefg}	مؤثر	۲/۲۵^{defghijkl}	۱۲/۶۷^{fghijklmnop}	۵/۶۰^{efghij}
۲۴	نظر آباد	۱/۲۵^{abcd}	۲۷۶/۹^{abc}	خیلی مؤثر	۲/۸۹^{abcdef}	۲۳^{cd}	۱۲/۱۳^{c}
۲۵	محمود آباد	۱/۱۵^{abcdef}	۲۳۴/۳^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۸۹^{abcdef}	۲۷/۳۳^{bc}	۱۱^{cd}

ادامه جدول ۲

سویه باکتری ریزوبیوم	منطقه نمونه‌گیری سویه‌های ریزوبیوم	چین اول			چین دوم	
		وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	کارایی همزیستی (درصد)		وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	تعداد گره (تعداد در بوته)	وزن خشک گره (میلی‌گرم در بوته)
۲۶	فشاپویه	۰/۸۷^{efghijklm}	۱۲۶/۲^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۲۵^{defghijkl}	۱۱^{hijklmnop}	۴/۶۰^{efghij}
۲۷	ساوجبلاغ	۱/۰۶^{abcdefghi}	۱۹۶^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۶۲^{abcdefgh}	۱۱^{hijklmnop}	۴/۷۰^{efghij}
۲۸	نظر آباد	۰/۹۵^{bcdefghijkl}	۱۵۴/۸^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۳۲^{cdefghijkl}	۱۰/۶۷^{ijklmnop}	۳/۸۷^{hij}
۲۹	نظر آباد	۱/۰۱^{abcdefghijkl}	۱۷۳/۸^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۳^{abcdefghi}	۱۷/۶۷^{defghij}	۷/۶۳^{cdefghij}
۳۰	ساوجبلاغ	۱/۳۱^{ab}	۳۰۰/۹^{ab}	خیلی مؤثر	۳/۲۸^{a}	۴۰^{a}	۵۲/۹۰^{a}
۳۱	فشاپویه	۰/۷۰^{jklm}	۵۳/۵۸^{efg}	نسبتاً مؤثر	۱/۶۰^{klm}	۵/۳۳^{op}	۳/۵۰^{ij}
۳۲	ساوجبلاغ	۰/۷۴^{hijklm}	۷۱/۰۸^{defg}	نسبتاً مؤثر	۱/۷۹^{hijklm}	۵^{p}	۲/۶۷^{j}
۳۳	محمود آباد	/۷۴^{hijklm}	۷۱/۷۶^{defg}	نسبتاً مؤثر	۱/۶۶^{jklm}	۶/۶۷^{mnop}	۳/۵۷^{ij}
۳۴	محمود آباد	۱/۱۲^{abcdefg}	۲۱۷^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۷۷^{abcdef}	۱۳/۶۷^{fghijklmn}	۵/۹۷^{defghij}
۳۵	رباط کریم	۰/۹۹^{bcdefghijkl}	۱۶۶/۷^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۳^{bcdefghi}	۱۲/۶۷^{fghijklmnop}	۵/۷۳^{efghij}
۳۶	محمود آباد	۰/۹۰^{defghijklm}	۱۲۶/۵^{abcdefg}	خیلی مؤث	۲/۲۸^{defghijkl}	۱۵^{efghijkl}	۶/۴۰^{defghij}
۳۷	محمود آباد	۰/۹۵^{bcdefghijkl}	۱۵۳/۵^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۳۷^{bcdefghijkl}	۱۷/۳۳^{defghijk}	۸/۴۷^{cdefghi}
۳۸	کرج	۰/۹۱^{defghijklm}	۱۳۵/۴^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۲۶^{defghijkl}	۱۵/۳۳^{defghijkl}	۷/۴۰^{cdefghij}
۳۹	کرج	۱/۰۴^{abcdefghijkl}	۱۸۶/۱^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۳^{abcdefghi}	۱۶/۳۳^{defghijkl}	۸/۸۰^{cdefgh}
۴۰	رباط کریم	۰/۷۰^{jklm}	۵۴/۸۱^{efg}	نسبتاً مؤثر	۱/۵۶^{lm}	۵/۶۷^{nop}	۳/۲۳^{j}
۴۱	محمود آباد	۰/۹۸^{bcdefghijkl}	۱۶۶^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۴۱^{bcdefghijkl}	۱۶/۳۳^{defghijkl}	۶/۸۷^{defghij}
۴۲	محمود آباد	۱/۰۷^{abcdefgh}	۲۰۶/۶^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۸۳^{abcdef}	۱۱/۳۳^{ghijklmnop}	۶^{defghij}
۴۳	فشاپویه	۰/۸۱^{fghijklm}	۹۴/۷۳^{cdefg}	مؤثر	۲/۰۶^{fghijklm}	۱۲/۶۷^{fghijklmnop}	۷/۳۳^{cdefghij}
۴۴	نظر آباد	۱/۱۹^{abcde}	۲۴۳/۸^{abcdef}	خیلی مؤثر	۲/۸۷^{abcdef}	۱۷^{defghijk}	۷/۴۳^{cdefghij}
۴۵	نظر آباد	۱/۰۲^{abcdefghijkl}	۱۸۸/۳^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۵۹^{abcdefgh}	۱۵^{efghijkl}	۶/۳۳^{defghij}
۴۶	محمود آباد	۰/۷۰^{ijklm}	۵۱/۸۷^{fg}	نسبتاً مؤثر	۱/۵۸^{lm}	۱۲/۶۷^{fghijklmnop}	۵/۴۷^{efghij}
۴۷	رباط کریم	۰/۷۳^{hijklm}	۶۴/۲۷^{defg}	نسبتاً مؤثر	۱/۶۱^{klm}	۱۵/۶۷^{defghijkl}	۶/۴۷^{defghij}
۴۸	شهریار	۱/۰۴^{abcdefghijk}	۱۹۹/۱^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۶۸^{abcdefg}	۱۳/۳۳^{fghijklmno}	۶/۸۰^{defghij}
۴۹	محمود آباد	۱/۰۸^{abcdefgh}	۲۰۳/۹^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۹۵^{abcd}	۲۲^{cde}	۸/۵۰^{cdefghi}
۵۰	محمود آباد	۰/۹۰^{defghijklm}	۱۳۶/۲^{abcdefg}	خیلی مؤثر	۲/۳۶^{bcdefghijkl}	۱۱/۳۳^{ghijklmnop}	۴/۹۷^{efghij}
شاهد	-	۰/۵۷^{m}	-		۰/۲۶^{n}	۰	۰
۷۰ ppm N	-	۰/۸۲^{fghijklm}	-		۲/۳۹^{bcdefghijkl}	۰	۰
۳۰ ppm N	-	۰/۶۸^{lm}	-		۲/۰۸^{efghijklm}	۰	۰

* حروف مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف میانگین‌ها بر اساس روش دانکن در سطح یک درصد می باشد.

سویه باکتری ریزوبیوم ۷۲ درصد سویه‌ها خیلی مؤثر، ۱۰ درصد سویه‌ها مؤثر، ۱۶ درصد سویه‌ها نسبتاً مؤثر و ۲ درصد سویه‌ها غیر مؤثر بودند (جدول۳). این نتایج مشابه نتایج Baraibar et al. (1999) بر روی سویه‌های *Rhizobium loti* در اروگوئه بود، در بررسی آنها از بین ۵۰ سویه ریزوبیومی ۶ درصد دارای کارایی همزیستی حدود ۱۱۹-۱۰۰ درصد و ۶ درصد دارای کارایی همزیستی حدود ۴۰-۰ درصد بودند. این نتایج همچنین مشابه نتایج Öğütçü et al. (2008) در بررسی کارایی همزیستی بر روی سویه‌های ریزوبیومی همزیست با نخود در ترکیه بود.

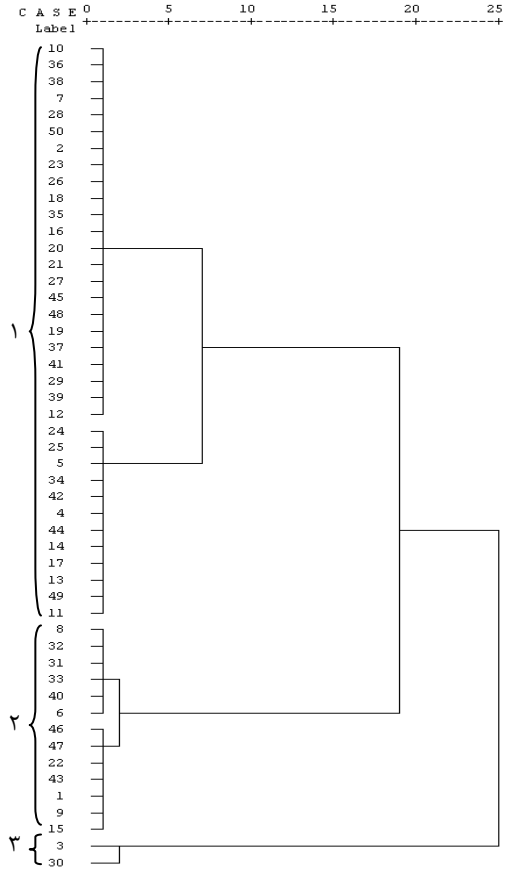
نتایج تجزیه واریانس تعداد گره تفاوت معنی‌داری را در سطح یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم نشان داد (جدول ۱). سویه‌های شماره ۳۰، ۳، ۲۴ و ۲۵ دارای بیشترین تعداد گره و سویه‌های شماره ۶، ۳۳، ۴۰، ۳۱ و ۳۲ دارای کمترین تعداد گره بودند (جدول۲). بطور کلی تعداد زیاد گره برای هر لگومی سودمند (Fyson & Sprent, 1982) و نشانه گره‌بندی موفق است و برای تثبیت نیتروژن کافی در طول دوره رشد گیاه ضروری می‌باشد (Sheehy, 1988). Zhao-Hai et al. (2007) در بررسی بر روی گیاه یونجه تفاوت‌های معنی‌داری در میان سویه‌های ریزوبیوم بر روی صفت تعداد گره گزارش نمودند. Pereira et al. (1993) بیان کردند که گره‌های بیشتر احتمالاً از توانایی بیشتر در

گره‌بندی نتیجه می‌شوند، که یک عامل مهم و ارثی در همزیستی ریزوبیوم- لگوم است، تعداد گره بیشتر گیاه را قادر می‌سازد تا نیتروژن اتمسفری بیشتری را تثبیت کند. این نتایج مشابه نتایج Aouani et al. (2001) بر روی گیاه نخود و Mrabet et al. (2005) بر روی گیاه لوبیا بود.

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک گره در چین دوم تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم نشان داد (جدول۱). سویه‌های شماره ۳۰، ۳ ،۲۴ و ۲۵ دارای بیشترین وزن خشک گره و سویه‌های شماره ۳۱، ۹ ، ۶، ۴۰ و ۳۲ دارای کمترین وزن خشک گره بودند (جدول۲). Naeem et al. (2004) در مطالعه بر روی گیاه یونجه، تفاوت‌های معنی‌داری در میان سویه‌های ریزوبیوم بر روی صفت وزن خشک گره گزارش نمودند. تفاوت‌های معنی‌داری در میان سویه‌های ریزوبیوم برای صفات مختلف مانند وزن خشک شاخساره، تعداد و وزن خشک گره در مطالعات مختلف گزارش شده است. برای مثال تفاوت‌های معنی‌داری در میان سویه‌های ریزوبیوم تحت شرایط اتاق رشد، گلخانه و مزرعه برای سویا (Hungria et al., 2001; Musiyiwa et al., 2005; Appunu & Dhar, 2006) عدس (Bremer et al., 1990)، شبدر (Ferreira & Marques, 1992) و نخود (Chandra & Pareek, 1985) گزارش شده است. نتایج جدول همبستگی (جدول۳) نشان می‌دهد که همبستگی بالایی بین وزن خشک شاخساره و تعداد گره (r^2=۰/۷۲۵**) وجود داشت. Romdhane et al. (2007) در بررسی خود بر روی سویه‌های *Mesorhizobium ciceri* همزیست با گیاه نخود بیان کردند که افزایش تعداد گره همراه با افزایش معنی‌دار در وزن خشک اندام هوایی کولتیوارهای مختلف بود.

کارایی همزیستی همبستگی زیادی با وزن خشک شاخساره (r^2 =۰/۹۹۹**)، تعداد گره (r^2 =۰/۷۲۶**) و وزن خشک گره (r^2 =۰/۵۳۱**) داشت. این نتایج مشابه نتایج Baraibar et al. (1999) بر روی سویه‌های *Rhizobium loti* و گیاه شبدر بود، آنها نیز همبستگی بالایی بین صفات کارایی همزیستی، وزن خشک شاخساره و تعداد گره گزارش کردند.

شکل۱، دندوگرام مربوط به تجزیه خوشه‌ای ۵۰ سویه باکتری از لحاظ مؤثر بودن همزیستی را نشان می‌دهد. در نتیجه این تجزیه تعداد سه کلاستر تعیین گردیده که در کلاستر اول سویه‌هایی مشاهده می‌شوند که در جدول میانگین‌ها (جدول۲) دارای میانگین‌های نسبتاً بالایی از صفات و در واقع دارای کارایی همزیستی بالایی هستند. در کلاستر دوم سویه‌های شماره ۸، ۳۲، ۳۱، ۳۳، ۴۰، ۶، ۴۶، ۴۷، ۲۲، ۴۳، ۱، ۹ و ۱۵ مشاهده می‌شوند که در جدول میانگین‌ها (جدول۲) دارای میانگین‌های پایین‌تری از صفات هستند. در کلاستر سوم سویه‌هایی شماره ۳ و ۳۰ مشاهده می‌شوند که دارای میانگین‌های بالاتری از صفات و در واقع دارای کارایی همزیستی بالاتری هستند (جدول۲). در مجموع نتایج بدست آمده از تجزیهٔ خوشه‌ای را می‌توان تا حد زیادی منطبق با نتایج بدست آمده در آزمون کارایی همزیستی دانست.



شکل ۱- دندوگرام مربوط به تجزیه خوشه‌ای۵۰ سویه باکتری در آزمون کارایی همزیستی

جدول ۳- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده

	وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	کارایی همزیستی	تعداد گره (تعداد در بوته)	وزن خشک گره (میلی‌گرم در بوته)
وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	۱			
کارایی همزیستی	۰/۹۹۹**	۱		
تعداد گره (تعداد در بوته)	۰/۷۲۵**	۰/۷۲۶**	۱	
وزن خشک گره (میلی‌گرم در بوته)	۰/۵۲۷**	۰/۵۳۱**	۰/۸۵۱**	۱

** معنی‌دار در سطح یک درصد.

نتایج تجزیه واریانس قطر کلونی سویه‌های رشد یافته در محیط YMAحاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم نشان داد که از نظر مقاومت به شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم وجود دارد (جدول۴). اثر متقابل بین سویه باکتری و تیمار شوری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول۴). نتایج مقایسه میانگین قطر کلونی باکتری‌ها، نشان داد که با افزایش سطوح شوری قطر کلونی ها کاهش یافت، سویه‌های شماره ۳۹، ۴۱ و ۴۶ دارای قطر کلونی بیشتری در سطوح مختلف شوری نسبت به سایر سویه‌ها بودند (جدول ۵).

نتایج تجزیه واریانس درصد کاهش قطر کلونی سویه‌های رشد یافته در محیط YMAحاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری را در سطح یک درصد بین سویه‌های باکتری ریزوبیوم نشان داد (جدول۴). نتایج مقایسه میانگین درصد کاهش قطر کلونی باکتری‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. درصد کاهش قطر کلونی سویه‌ها در سطح ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به سایر سطوح شوری بیشتر بود (جدول۶). سویه‌های شماره ۳۹ و ۴۱ دارای درصد کاهش قطر کلونی کمتری نسبت به سایر سویه‌ها در سطح ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بودند (جدول ۶). از ۵۰ سویه باکتری ریزوبیومی مورد آزمایش، در سطوح شوری ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب ۴۲ درصد در سطح شوری ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۵۲ درصد در سطح شوری ۶۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۹۰ درصد در سطح شوری ۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۹۸ درصد در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ درصد در سطح شوری ۰ میلی‌مولار کلرید سدیم رشد کردند (جدول۵). بنابراین سویه‌ها به صورت کیفی به سه گروه حساس (باکتری‌هایی که قادر به رشد در ۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و بالاتر نیستند)، نیمه مقاوم (باکتری‌هایی که قادر به رشد در ۶۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نیستند) و مقاوم (باکتری‌های که تا ۷۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را تحمل نمایند) (Merchan et al., 2003; Wei et al., 2004) گروه‌بندی شدند (جدول۵). Singleton et al. (1982) در مطالعه اثر شوری بر روی ریزوبیوم‌ها بیان کردند که شوری سبب کاهش رشد ریزوبیوم‌ها می‌شود.

بسیاری از گونه‌های باکتری بوسیله تجمع درون سلولی مواد محلول آلی با وزن مولکولی پایین که اسمولیت نامیده می‌شوند در مقابل تنش شوری مقاومت می‌کنند (Csonka & Hanson, 1991). در حضور غلظت‌های زیاد شوری (حدود ۳۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) سطح گلوتامات آزاد داخل سلولی و یا

جدول ۴- میانگین مربعات اثر سطوح شوری بر قطر کلونی سویه‌های ریزوبیومی

منابع تغییرات	درجه آزادی	قطر کلونی سویه‌های ریزوبیومی	درجه آزادی	درصد کاهش قطر کلونی سویه‌های ریزوبیومی
سطح شوری	۴	۱/۶۳**	۳	۴۴۸/۷۳**
۵۰ سویه باکتری	۴۹	۰/۱۷**	۴۹	۲۰/۵۶**
سطح شوری x ۵۰ سویه باکتری	۱۹۶	۰/۰۰۹**	۱۴۷	۲/۵۸**
خطا	۵۰۰	۰/۰۰۱	۴۰۰	۱/۹۸

**معنی‌دار در سطح یک درصد.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل قطر کلونی سویه‌ها و مقادیر مختلف کلرید سدیم

سویه باکتری ریزوبیوم	قطر کلونی سویه‌ها درمحیط YMA حاوی مقادیر مختلف کلرید سدیم (سانتی متر)					طبقه بندی باکتری‌ها بر اساس میزان رشد
	۰ میلی‌مولار	۲۰۰ میلی‌مولار	۴۰۰ میلی‌مولار	۶۰۰ میلی‌مولار	۷۰۰ میلی‌مولار	
۱	۰/۴^{stuvw}	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۳^{vwxyz}	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۲	۰/۴۷^{qrstu}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۳	۰/۶۷^{jklmno}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۱۳$^{[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۴	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۵	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۶	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	مقاوم
۷	۰/۴۷^{qrstu}	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۸	۰/۷^{ijklmn}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۹	۰/۷^{ijklmn}	۰/۴۳^{rstuv}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۱۰	۰/۴^{stuvw}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۱۱	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۲	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	حساس
۱۳	۰/۵۳^{nopqrs}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۴	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۵	۰/۹۳^{defg}	۰/۵^{opqrst}	۰/۴^{stuvw}	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۶	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۷	۰/۷۷^{ghijkl}	۰/۳^{vwxyz}	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	حساس
۱۸	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۱۹	۰/۸۳^{efghij}	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	حساس
۲۰	۰/۸^{fghijk}	۰/۷^{ijklmn}	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲$^{yz[\]}$	مقاوم
۲۱	۰/۴۷^{pqrstu}	۰/۴^{stuvw}	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	مقاوم
۲۲	۰/۱۳$^{[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	حساس
۲۳	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۲۴	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۲۵	۰/۵^{opqrst}	۰/۴۳^{rstuv}	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۱۳$^{[\]}$	۰$^{\^}$	مقاوم
۲۶	۰/۵۳^{nopqrs}	۰/۴^{stuvw}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	مقاوم
۲۷	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	مقاوم
۲۸	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۲۹	۰/۴^{stuvw}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۳۰	۰/۹۷^{def}	۰/۷۳^{hijklm}	۰/۵^{opqrst}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰$^{\^}$	مقاوم
۳۱	۰/۶^{lmnopq}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲۷$^{wxyz[}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۳۲	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۰۷ $^{]\^}$	۰$^{\^}$	مقاوم
۳۳	۰/۷^{ijklmn}	۰/۴۷^{pqrstu}	۰/۴^{stuvw}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲$^{yz[\]}$	مقاوم
۳۴	۰/۷^{ijklmn}	۰/۴^{stuvw}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰	مقاوم
۳۵	۱/۱۷^{bc}	۱^{cde}	۰/۵۷^{mnopqr}	۰/۵۷^{mnopqr}	۰/۴۳^{rstuv}	مقاوم
۳۶	۰/۷۳^{hijklm}	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۳۷	۰/۶^{lmnopq}	۰/۳^{vwxyz}	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	حساس
۳۸	۰/۴^{stuvw}	۰/۱۳$^{[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۳۹	۱/۲۷^{ab}	۰/۹^{efgh}	۰/۸۳^{efghij}	۰/۷۷^{ghijkl}	۰/۶^{lmnopq}	مقاوم
۴۰	۰/۵۷^{mnopqr}	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۴۱	۱^{cde}	۰/۸۷^{efghi}	۰/۷۳^{hijklm}	۰/۶۳^{efghi}	۰/۵۳^{nopqrs}	مقاوم
۴۲	۰/۴^{stuvw}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱۳$^{[\]}$	مقاوم
۴۳	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۲$^{yz[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۴۴	۰/۸^{fghijk}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
۴۵	۰/۹۳^{defg}	۰/۷۳^{hijklm}	۰/۵^{opqrst}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	مقاوم
۴۶	۰/۳۳^{uvwxy}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰/۱۳$^{[\]}$	۰	مقاوم
۴۷	۰/۵^{opqrst}	۰/۳^{vwxyz}	۰/۲۳$^{xyz[\}$	۰/۱۷$^{z[\]}$	۰/۱$^{\]\^}$	مقاوم
۴۸	۰/۸۷^{efghi}	۰/۵۳^{nopqrs}	۰/۴۷^{pqrstu}	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۳۳^{uvwxy}	مقاوم
۴۹	۱/۴^{a}	۱/۱۷^{bc}	۱/۱^{bcd}	۰/۹^{efgh}	۰/۸^{fghijk}	مقاوم
۵۰	۰/۵^{opqrst}	۰/۳۷^{tuvwx}	۰/۱$^{\]\^}$	۰$^{\^}$	۰$^{\^}$	نیمه مقاوم
LSD	–	–	–	–	–	–

* حروف مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف میانگین‌ها بر اساس روش دانکن در سطح یک درصد می‌باشد.

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل درصد کاهش قطر کلونی ها و سطوح مختلف شوری

سویه باکتری	درصد کاهش قطر کلونی‌ها در سطوح مختلف شوری			
ریزوبیوم	۲۰۰ میلی‌مولار	۴۰۰ میلی‌مولار	۶۰۰ میلی‌مولار	۷۰۰ میلی‌مولار
۱	۸/۳۳	۲۱/۶۷	۱۰۰	۱۰۰
۲	۴۱/۶۷	۷۸/۳۳	۱۰۰	۱۰۰
۳	۵۱/۴۸	۷۸/۵۲	۱۰۰	۱۰۰
۴	۴۱/۶۷	۵۰	۱۰۰	۱۰۰
۵	۳۳/۳۳	۵۰	۱۰۰	۱۰۰
۶	۱۱/۱۱	۳۳/۳۳	۴۴/۴۴	۴۴/۴۴
۷	۷۸/۳۳	۷۸/۳۳	۱۰۰	۱۰۰
۸	۵۵/۱۶	۸۵/۵۲	۱۰۰	۱۰۰
۹	۳۶/۵۱	۶۲/۱۰	۸۱/۳۵	۸۵/۵۲
۱۰	۲۵	۵۵/۵۶	۶۹/۴۴	۶۹/۴۴
۱۱	۲۷/۷۸	۵۵/۵۶	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	۲۲/۲۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۳	۵۵/۵۶	۸۱/۱۱	۱۰۰	۱۰۰
۱۴	۱۶/۶۷	۵۵/۵۶	۱۰۰	۱۰۰
۱۵	۴۶/۶۷	۵۷/۰۴	۱۰۰	۱۰۰
۱۶	۳۳/۳۳	۳۳/۳۳	۱۰۰	۱۰۰
۱۷	۶۰/۷۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۸	۱۳/۳۳	۷۱/۱۱	۱۰۰	۱۰۰
۱۹	۷۹/۶۳	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۰	۱۲/۶۳	۵۳/۶۴	۶۲/۱	۷۴/۷۴
۲۱	۱۵	۲۸/۳۳	۵۶/۶۷	۷۱/۶۷
۲۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۳	۲۷/۷۸	۳۸/۸۹	۶۹/۴۴	۶۹/۴۴
۲۴	۱۱/۱۱	۳۳/۳۳	۶۶/۶۷	۶۶/۶۷
۲۵	۱۲/۲۲	۲۴/۴۴	۷۲/۷۸	۱۰۰
۲۶	۲۵/۵۶	۵۵/۵۶	۶۱/۱۱	۶۷/۷۸
۲۷	۸/۳۳	۲۵	۴۷/۲۲	۵۲/۷۸
۲۸	۳۸/۸۹	۳۸/۸۹	۶۹/۴۴	۶۹/۴۴
۲۹	۳۳/۳۳	۳۳/۳۳	۷۵	۷۵
۳۰	۲۴/۰۷	۴۷/۷۸	۷۹/۶۳	۱۰۰
۳۱	۵۰	۵۶/۶۷	۱۰۰	۱۰۰
۳۲	۲۷/۷۸	۳۸/۸۹	۷۷/۷۸	۱۰۰
۳۳	۳۱/۷۵	۴۱/۲۷	۵۶/۵۵	۷۱
۳۴	۴۳/۴۵	۶۶/۲۷	۸۰/۷۵	۱۰۰
۳۵	۱۴/۱۴	۵۱/۲۶	۵۱/۲۶	۶۲/۸۸
۳۶	۵۴/۱۷	۷۲/۰۲	۱۰۰	۱۰۰
۳۷	۴۶/۰۳	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۳۸	۵۲/۷۸	۶۹/۴۴	۱۰۰	۱۰۰
۳۹	۲۷/۲۶	۳۰/۹۴	۳۷/۲۶	۵۱/۶۲
۴۰	۷۰/۴۸	۸۱/۹۰	۱۰۰	۱۰۰
۴۱	۱۳/۱۰	۲۶/۸۷	۳۶/۲	۴۵/۵۹
۴۲	۲۶/۱۱	۴۱/۱۱	۴۱/۱۱	۶۷/۲۲
۴۳	۳۱/۱۱	۳۱/۱۱	۶۵/۵۶	۶۵/۵۶
۴۴	۶۲/۴۸	۸۶/۶۵	۱۰۰	۱۰۰
۴۵	۲۱/۴۸	۴۷/۰۴	۶۷/۷۸	۷۵/۱۹
۴۶	۲۵	۵۰	۵۸/۳۳	۱۰۰
۴۷	۳۸/۳۳	۵۳/۳۳	۶۷/۲۲	۷۹/۴۴
۴۸	۳۸/۴۳	۴۶/۳	۵۷/۸۷	۶۱/۵۷
۴۹	۱۵/۸۷	۲۰/۶۳	۳۵/۵۲	۴۲/۷۶
۵۰	۲۸/۸۹	۷۹/۴۴	۱۰۰	۱۰۰
LSD	۲/۹۷۳	۲/۹۷۳	۲/۹۷۳	۲/۹۷۳

پتاسیم در سلول‌های *Rhizobium meliloti* افزایش (Lerudulier & Bernard, 1986; Botsford & Lewis, 1990; Jian et al., 1993) و اسمولیت N–استیل گلوتامیل-گلوتامین آمید (Smith & Smith, 1989; Smith et al., 1994) در سلول تجمع می‌یابد. یک واکنش شناخته شده به تنش شوری تجمع درون سلولی گلایسین بتائین است (Lerudulier & Bernard, 1986; Smith et al., 1988). غلظت گلایسین بتائین در سویه‌های مقاوم به شوری *Rhizobium meliloti* بسیار بیشتر از سویه‌های حساس می‌باشد (Lerudulier & Bernard, 1986; Smith et al., 1988). در غلظت‌های زیادتر شوری (۵۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) محافظ اسمزی اکتوین[۲] در رشد *Rhizobium meliloti* نقش دارد (Talibort, 1994). این نتایج مشابه Mnasri et al. (2007) بر روی سویه‌های *Rhizobium elti*، *Rhizobium gallicum* و *Sinorhizobium meliloti* در محیط کشت با غلظت‌های ۳۲/۸ تا ۸۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود، آنها در بررسی خود سویه‌ای را که قادر به رشد در سطوح بالای شوری بود، به عنوان سویه‌ای مناسب جهت کشت لوبیا در خاک‌های شور معرفی نمودند. همچنین مشابه نتایج Chen et al. (2002) در بررسی بر روی سویه‌های مقاوم به شوری همزیست با سویا در محیط YMA حاوی مقادیر ۵۰۰-۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود.

سویه شماره ۴۹ به دلیل کارایی همزیستی بالا و تحمل به شوری بالا به عنوان سویه‌ای مناسب برای تلقیح با گیاه یونجه در خاک‌های شور پیشنهاد می‌شود. بنابراین ارزیابی گلخانه‌ای برای سنجش بهبود عملکرد یونجه بوسیله تلقیح با سویه مورد نظر تحت شرایط تنش شوری کارساز است. انجام و تکرار چنین آزمایشاتی تحت شرایط مزرعه برای اطمینان از اثر بخشی سویه‌ها تحت شرایط طبیعی نیز لازم به نظر می‌رسد.

2. Ectoine

REFERENCES

1. Aouani, E. A., Mhamdi, R., Jebara, M. & Amarger, N. (2001). Characterization of *rhizobia* nodulating chickpea in Tunisia. *Agronomie*, 21, 577- 581.
2. Appunu, C. & Dhar, B. (2006). Differential symbiotic response of *Bradyrhizobium japonicum* phage-typed strain with soybean cultivars. *Journal of Microbiology*, 44, 4186-4190.
3. Appunu, C., Sen, D., Singh, M. K. & Dhar. (2007). Variation in symbiotic performance of *Bradyrhizobium japonicum* strains and soybean cultivars under field conditions. *Journal of Central European Agriculture*, 9, 185-190.
4. Baraibar, A., Frioni, L., Guedes, M. E. & Ljunggren, H. (1999). Symbiotic effectiveness and ecological characterization of indigenous *Rhizobium Loti* populations in Uruguay. *Pesq Agropec Bras Brasilia*, 34, 1011-1017.
5. Beck, D. P., Materon, L. A. & Afandi, F. (1993). *Practical Rhizobium–legume technology manual*. Technical manual no.19. ICARDA, Aleppo, Syria, 75–103.
6. Botsford, J. L. & Lewis, T. A. (1990). Osmoregulation in *Rhizobium meliloti*: production of glutamic acid in response to osmotic stress. *Applied Environmental Microbiology*, 56, 488-494.
7. Bremer, E., Kessel, C. V., Nelson, L., Rennie, R. J. & Rennie, D. A. (1990). Selection of *Rhizobium leguminosarum* strains for lentil (*Lens culinaris*) under growth room and field conditions. *Plant and Soil*, 121, 47- 56.
8. Brewin, N. J. (1991). Development of the root nodule. *Annual Review of Cell Biology*, 44, 363-368.
9. Brockwel, J., Bottomley, P. J. & Thies, J. E. (1995). Manipulation of *rhizobia* microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. *Plant and Soil*, 174, 143-180.
10. Chandra, R. & Pareek, R. P. (1985). Role of host genotype in effectiveness and competitiveness of chickpea (*Cicer arientinum* L.) *Rhizobium*. *Tropical Agriculture*, 62, 90- 94.
11. Chen, D. M., Zang, Z. H., Sui, X. H., Hu, Y. G. & Chen, W. X. (2002). Screening of high efficient symbiotic *rhizobium* on alfalfa. *Pratacultural Science*, 19, 27- 31.
12. Chen, L. S., Figueredo, A., Villani, H., Michajluk, J. & Hungria, M. (2002). Diversity and symbiotic effectiveness of *rhizobia* isolated from field-grown soybean nodules in Paraguay. *Biology and Fertility Soils*, 35, 448-457.
13. Csonka, L. N. & Hanson, A. D. (1991). Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. *Annual Review of Plant Physiology*, 45, 569- 606.

14. Denarie, J. & Cullimore, J. (1993). Lipo-chetooligosaccaride nodulation factors: A new class of signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Cell*, 74, 951-954.
15. Dunin, F. X., Smith, C. J., Zegelin, S. J., Leuning, R., Denmead, O. T. & Poss, R. (2001). Water balance changes in a crop sequence with lucerne. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52, 247-261.
16. Embalomatis, A., Papacosta, D. K. & Katinakis, P. (1994). Evaluation of *Rhizobium meliloti* strains isolated from indigenous population northen Greece. *Crop Science*, 172, 73-80.
17. Food and Agriculture Organization. (1994). *Land degradation in south Asia: Its sensivity causes and effects upon the people*. W. S. R. R. No.78. Rome. Retrieved March 6, 2010, from *http://www.fao.org/docrep/V4360E/V4360E00.HTM*.
18. Ferreira, E. M. & Marques, J. F. (1992). Selection for Purtuguese *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strains for production of legume inoculans. *Plant and Soil*, 147, 151- 158.
19. Fyson, A. & Sprent, J. I. (1982). The development of primary root nodules on *Vicia faba* L. growth and two temperatures. *Annual of Botany*, 50, 681-692.
20. Geogiev, G. I. & Atkias, C. A. (1993). Effect of salinity on N_2 fixation, nitrogen metabolism and export and diffusive conductance of cowpea root nodules. *Symbiosis*, 15, 239- 255.
21. Halvorson, A. D. & Reule, C. A. (1980). Alfalfa for hydrologic control of saline seeps. *American Journal of Soil Science Society*, 44, 370-374.
22. Hefny, M., Dolinsky, R. & Malek, W. (2001). Variation in symbiotic characters of alfalfa cultivars inoculated with *Sinorhizobium meliloti* strains. *Biology and Fertility Soils*, 33, 435-437.
23. Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. California Agricultural Experiment Station Circular, 374, 1-32.
24. Homaee, M., Feddes, R. A. & Dirksen, C. (2002). A macroscopic water extraction model for non uniform transient salinity and water stress. *American Journal of Soil Science Society*, 66, 1764-1772.
25. Howieson, J. G., Nutt, B. & Evans, P. (2000). Estimation of host-strain compatibility for symbiotic N-fixation between *Rhizobium meliloti*, several annual species of *Medicago* and *Medicago astiva*. *Plant and Soil*, 219, 49- 55.
26. Hungria, M. & Bohrer, T. R. J. (2000).Variability on nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. *Biology and Fertility Soils*, 31, 45-52.
27. Hungria, M., Campo, R. J., Chueire, L. M. O., Grange, L. & Megias, M. (2001). Symbiotic effectiveness of fast-growing *rhizobia* strains isolated from soybean nodules in Brazil. *Biology and Fertility Soils*, 33, 387- 394.
28. Jian, W., Susheng, Y. & Jilun, L. (1993). Studies on the salt tolerance of *Sinorhizobium meliloti*. *Acta Microbiologica Sinica*, 33, 260- 267.
29. Karimi, H. (2005). *Agronomy and breeding of forage plants*. Tehran University Press. (In Farsi).
30. Lerudulier, D. & Bernard, T. (1986). Salt tolerance in *Rhizobium*: a possible roles for betaines. *FEMS Microbiology of Review*, 39, 67- 72.
31. Long, S. R. (1989). *Rhizobium*- legume nodulation: life together in the under- ground. *Cell*, 56, 203-214.
32. Mahdhi, M., Nzoue, A., Lajudie, P. D. & Mars, M. (2008). Characterization of root-nodulating bacteria on *Retama raetam* in arid Tunisian soils. *Progress in Natural Science*, 18, 43- 49.
33. Mass, E. V. & Hoffman, G. J. (1977). Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of Irrigation and Drainage*, 103, 115-134.
34. Merchan, F., Breda, C., Hormaeche, J. P., Sousa, C., Kondorosi, A., Aguilar, O. M., Megias, M. & Crespi, M. (2003). A kruppel-like transcription factor gene is involved in salt stress responses in *Medicago* spp. *Plant and Soil*, 257, 1- 9.
35. Mnasri, B., Merabet, M., Laguerre, G., Elarbi, M. & Mhamdi, R. (2007). Salt-tolerant *rhizobia* isolated from a Tunisian oasis that are highly effective for symbiotic N_2-fixation with *Phaseolus vulgaris* constitute a novel biovar (bv. *Mediterranense*) of *Sinorhizobium meliloti*. *Archives of Microbiology*, 187, 79- 85.
36. Mrabet, M., Mhamdi, R., Tajim, F., Tiwari, R., Trabelsi, M. & Aouani, M. E. (2005). Competitiveness and symbiotic effectiveness of a *R. gallicum* strain isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris*. *European Journal of Agronomy*, 22, 209- 216.
37. Munns, R. (2007). Utilizing genetic resources to enhance productivity of salt- prone land. *Nutrition and Natural Resources*, 2, 1-11.
38. Musiyiwa, K., Mpepereki, S. & Giller, K. E. (2005). Symbiotic effectiveness and host ranges of indigenous *rhizobia* nodulating promiscuous soybean varieties in Zimbabwean soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 1169- 1176.
39. Naeem, F., Ashraf, M., Malik, K. A. & Hafeez, F. Y. (2004). Competitiveness of introduced *rhizobium* strains for nodulation in fodder legumes. *Pakistanian Journal of Botany*, 36, 159- 166.

40. Öğütçü, H., Algur, O. F., Elkoca, E. & Kantar, F. (2008). The determination of symbiotic effectiveness of *rhizobium* strains isolated from wild chickpeas collected from high altitudes in Erzurum. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32, 241- 248.
41. Peoples, M. B., Ladha, J. K. & Herridge, D. F. (1995). Enhancing legume N_2 fixation through plant and soil management. *Plant and Soil*, 174, 83-101.
42. Peoples, M. B., Faizah, A.W., Rerkasem, B. & Herridge, D. F. (1989). Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. *Australian Center for International Agricultural Research*, 11: 1-76.
43. Pazira, E. & Homaee, M. (2003). *Salt affected resources in Iranian extension & reclamation*. Water-Saving Agriculture and Sustainable Use of Water and Land Resources. 855-865. (In Farsi).
44. Pereira, P. A. A., Miranda, B. D., Attewell, J. R., Miecik, K. A. K. & Bliss, F. A. (1993). Selection for increased nodule number in common bean (*Phseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil*, 148, 203-209.
45. Rastegar, M. A. (2005). *Agronomy of Forage Plants*. Berahmand Press, Tehran. (In Farsi).
46. Rhijin, P. V. & Vanderleyden, J. (1995). The *rhizobium*- plant symbiosis. *Microbial Reviews*, 59, 124-142.
47. Romdhane, S. B., Tajini, F., Trabelsi, M., Aouani, M. E. & Mhamdi, R. (2007). Competition for nodule formation between introduced strains of *Mesorhizobium ciceri* and the native population of *rhizobia* nodulating chickpea (*Cicer arientinum*) in Tunisia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1195- 1201.
48. Shannon, M. (1984a). *Breeding selection and genetics of salt tolerance*. In: Staples, R. C., Toenniessen, G. H. (eds.), Salinity Tolerance in Plants. Strategies for Crop Improvement. Wiley, New York, pp. 300-308.
49. Shannon, M. (1984b). *Adaptation of plants to salinity*. Unted States Department of agriculture.
50. Sheehy, J. E., Holloway, T., Woodward, F. I. & Gosse, G. (1988). Nitrogen fixation, nodule numbers per unit ground area and bioenergetic. *Annual of Botany*, 62, 531-536.
51. Singleton, P. W., Elswalfy, S. A. & Bohlool, B. (1982). Effect of salinity on *Rhizobium* growth and survival. *Applied and Environmental Microbiology*, 44, 884-890.
52. Smith, L. T., Allaith, A. M. & Smith, G. M. (1994). Mechanism of osmotically-regulated N-acetyl glutaminyl glutamine amide production in *Rhizobium meliloti*. *Plant and Soil*, 161, 103- 108.
53. Smith, L. T., Pocard, J. A., Bernard, T. & Le Rudulier, D. (1988). Osmotic control of glycine betaine biosinthesis and degradation in *Rhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*, 170, 3142- 3149.
54. Smith, L. T. & Smith, G. M. (1989). An osmoregulated dipepyid in stressed *Rhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*, 171, 4714- 4717.
55. Talibort, R., Mohamed, J., Goouesbet, G., Himidi-Kabbab, S., Wrolewski, H., Blanco, C. & Bernard, T. (1994). Osmoregulation in *Rhizobia*: ectoine-induced salt tolerance. *Journal of Bacteriology*, 176, 5210-5217.
56. Vezarat Jahad Keshavarsi. (2009). *Statistical data of crop production from 2004-2005*. Retrieved March 6, 2010, from *http://www.maj.ir/portal/Home/Default.aspx?CategoryID=20ad5e49-c727-4bc9-9254-de648a5f4d52*. (In Farsi).
57. Vincent, J. M. (1970). *Manual for practical study of root nodule bacteria*. Blackwel Scientific Publication, Oxford, 142pp.
58. Wei, W., Jiang, J., Li, X., Wang, L. & Yang, S. S. (2004). Isolation of salt-sentitive mutants from *Sinorhizobium meliloti* and characterization of genes involved in salt tolerance. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 278-283.
59. Zahran, H. H. (1999). *Rhizobium*-legum symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology*, 63, 968-989.
60. Zahran, H. H. (1991). Condition for successful *Rhizobium*-legum symbiosis in saline environment. *Biology and Fertility of Soils*, 12, 73-80.
61. Zahran, H. H. & Sprent, J. I. (1986). Effect of sodium chloride and polyethylene glycol on root hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*. *Planta*, 167, 303-309.
62. Zhao-Hai, Z., Wen-Xin, C., Yue-Gao, H., Xin-Hua, S. & Dan-Ming, C. (2007). Screening for highly effective *Sinorhizobium meliloti* strains for Vector Alfalfa and testing of its competitive nodulation ability in the field. *Pedosphere*, 17, 219- 228.
63. Zou, N., Dort, P. J. & Marcar, N. E. (1995). Interaction of salinity and rhizobial strains on growth and N_2 fixation by Acacia ampliceps. *Soil Biology and Biochemistry*, 27, 409- 413.