اثرات تلقیح با ریزوبیوم بر افزایش مقاومت شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum*) به آلودگی گاز دی‌اکسید گوگرد

لادن بیات و مهری عسکری*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۱۴)

چکیده:

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان باکتری‌های مفیدی هستند که سبب افزایش رشد گیاهان و القاء مقاومت نسبت به تنش‌های مختلف می‌شوند. یکی از این تنش‌ها آلودگی دی‌اکسید گوگرد (SO_2) است که به عنوان یک آلاینده آسیب‌رسان قوی هوا شناخته شده است. شبدر ایرانی یکی از گیاهان خانواده بقولات است که به عنوان یک گیاه علوفه‌ای مطرح می‌باشد و با باکتری ریزوبیوم همزیست می‌شود. در این مطالعه اثرات ریزوبیوم (سویه بومی و استاندارد) بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر پتاسیم و فسفر شبدر ایرانی تحت غلظت‌های مختلف گاز دی‌اکسید گوگرد (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تلقیح ریزوبیوم اثرات مفیدی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پتاسیم و فسفر در مقایسه با گیاهان تلقیح نیافته دارد. غلظت‌های بالای SO_2 (۱، ۱/۵ و ۲ ppm) سبب کاهش معنی‌دار میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر پتاسیم و فسفر در مقایسه با گیاهان کنترل می‌شود ولی غلظت پایین SO_2 (۰/۵ ppm) بر شاخص‌های فوق تأثیر مثبتی می‌گذارد. تلقیح شبدر ایرانی با دو سویه ریزوبیوم اثرات منفی غلظت‌های بالای گاز SO_2 را بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر پتاسیم و فسفر کاهش داد. بیشترین مقدار تمامی این شاخص‌ها در ترکیب سویه بومی و غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 اندازه‌گیری شد. بنابراین ریزوبیوم می‌تواند مقاومت و تحمل گیاه را در برابر تنش‌های غیر زیستی مثل آلودگی SO_2 هوا افزایش دهد.

کلمات کلیدی: آلودگی SO_2، پتاسیم، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ریزوبیوم، شبدر، فسفر

مقدمه:

ریزوبیوم مشهورترین باکتری محرک رشد گیاه و آندوفیت طبیعی گیاهان خانواده بقولات است. این باکتری در تنش‌های غیر زیستی می‌تواند سبب القای مقاومت سیستمیک در گیاهان شود (Dimkpa *et al.*, 2009). از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به تولید آنزیم ACC-دآمیناز اشاره کرد. این آنزیم با تجزیه ACC از تولید هورمون اتیلن جلوگیری می‌کند در نتیجه اثرات اتیلن که موجب رشد ضعیف ریشه و کاهش توانایی ریشه در اکتساب آب و مواد غذایی می‌شود را کاهش می‌دهد. القاء تولید هورمون‌هایی مثل آبسیزیک‌اسید در گیاهان که موجب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود و آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل سوپراکسیددیسموتاز که باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند از جمله سازوکارهای دیگر به کار رفته توسط این باکتری‌ها است. تولید ترکیبات اسمولیت که در هنگام تنش منجر به ایجاد تعادل اسمزی در گیاه

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m-askary@araku.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

می‌شوند نیز از دیگر سازوکارها می‌باشد (Yang *et al.*, 2009).

در بین آلاینده‌های اتمسفری، دی‌اکسید گوگرد (SO_2) یکی از سمی‌ترین آلاینده‌ها برای گیاهان است که از طریق روزنه‌ها و کوتیکول جذب می‌شود (Tatsumoto and Yoshinari, 1991). SO_2 گازی بی‌رنگ و خورنده است که از سوختن سوخت‌های فسیلی غنی از گوگرد مثل زغال‌سنگ و نفت، آتش‌سوزی جنگل، فوران‌های آتشفشانی، ذوب سنگ معدن و تولید آهن، فولاد، آلومینیم، مس، سرب، روی و طلا ایجاد می‌شود و سلامت انسان، حیوانات و گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rakwal *et al.*, 2003). میزان طبیعی SO_2 در مناطق شهری ppm ۰/۵– ۰/۰۵ و در مکان‌های با هوای آلوده به میزان ppm ۲ یا بیشتر است (Khan *et al.*, 2006). گسترش اقتصاد پس از جنگ جهانی دوم، منجر به افزایش بی‌سابقه انتشار گاز SO_2 به محیط شد. در حال حاضر ۴۰٪ انتشار جهانی این گاز از منطقه آسیا، به خصوص چین نشأت می‌گیرد و انتشار جهانی آن به محیط همچنان رو به افزایش است (Smith *et al.*, 2011). آسیب‌هایی که توسط SO_2 به گیاهان وارد می‌شود یا به صورت آسیب برگی (بافت‌های نکروزه یا مرده و کلروز) بروز می‌کنند یا منجر به اختلال در فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی می‌شود که این خود باعث کاهش رشد و محصول می‌شود و یا باعث تجمع گوگرد اضافی در بافت‌های گیاهی می‌شود (Hijano *et al.*, 2005). غلظت‌های بالا گاز SO_2 اثرات منفی بر متابولیسم و فرآیندهای رشد و نموی گیاه دارد. گاز دی‌اکسید گوگرد می‌تواند از طریق روزنه‌ها وارد برگ شود و روی ساختار کلروپلاست اثر گذارد و در نهایت رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Sha *et al.*, 2010). حتی وقتی که روزنه‌ها بسته باشند این گاز می‌تواند با آب واکنش داده و به بی‌سولفیت تبدیل شده و از طریق کوتیکول وارد برگ شود. در کلروپلاست، SO_2 به سولفیت تبدیل می‌شود و باعث کاهش تثبیت CO_2، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و کاهش نرخ انتقال الکترون فتوسنتزی می‌شود (Sha *et al.*, 2010, Swanepoel, *et al.*, 2007). کاهش ماده خشک می‌تواند ناشی از بازدارندگی فعالیت فتوسنتزی و کاهش ماده‌سازی در گیاهان (Wali *et al.*, 2007) و یا ناشی از کاهش سطح سبز برگ گیاهان در معرض تنش SO_2 باشد (Kropff, 1990). تنش دی‌اکسید گوگرد سبب تولید رادیکال‌های آزاد نیز می‌شود که سبب تخریب پراکسیداتیو اجزای سلولی می‌شود. از جمله اثرات سمیت SO_2 و SO_3^{-2} روی گیاهان شامل تخریب پیگمان‌ها، کاهش لیپیدهای سلولی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع نیز گزارش شده است (Sha *et al.*, 2010).

شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum* L.) از خانواده بقولات و یک ساله است (Erdemli *et al.*, 2007) که می‌تواند با باکتری ریزوبیوم ارتباط همزیستی برقرار کند (Abbas and Kamel, 2004). این گیاه از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای است که از ارزش غذایی بالایی برخوردار است و در کشور می‌تواند در تولید و جبران کمبود علوفه نقش مهمی داشته باشد (عباسی، ۱۳۸۷). با توجه به صنایع پتروشیمی و پالایشگاه شازند که منبع تولید آلاینده SO_2 در هوای شهرهای صنعتی اراک و شازند می‌باشد، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات گاز SO_2 هوا به عنوان یک آلاینده بر جذب عناصر فسفر و پتاسیم و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه شبدر ایرانی و ارزیابی اثرات دو سویه باکتری ریزوبیوم بر کاهش اثرات منفی آلودگی گاز SO_2 هوا، به منظور پیشنهاد کشت شبدر در مناطق آلوده و صنعتی نظیر اراک صورت گرفت.

مواد و روش‌ها:

تهیه باکتری و آماده‌سازی مایه تلقیح: ریزوبیوم بومی از ریشه گیاه شبدر جمع‌آوری شده از زمین‌های مزروعی اطراف اراک استخراج شد (Molla *et al.*, 2001). ریزوبیوم استاندارد ۱۶۸۴ (*Rhizobium meliloti* PTCC) به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

شد و فعال‌سازی باکتری در محیط کشت مایع YMA انجام گردید. از آنجا که غلظت بهینه ریزوبیوم جهت تحریک رشد شبدر $۱۰^{۵}$ cfu mL^{-1} گزارش شده است (Caetano-Anolles *et al.*, 1988)، غلظت فوق از هر دو سویه ریزوبیوم بومی و ریزوبیوم ملیلوتی استاندارد (Bai *et al.*, 2003) تهیه گردید.

تهیه و تلقیح بذر: بذرهای شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum* L. cv. Alashtar Lorestan) از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اراک تهیه شد. پس از سترون‌سازی (Wang and Oyaizu, 2009)، بذرهای سترون شده به سه گروه تقسیم شدند. یک گروه از بذرها در مایه تلقیح باکتری بومی با غلظت $۱۰^{۵}$ cfu mL^{-1} تحت خلأ و در درجه‌حرارت محیط به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. یک گروه مایه تلقیح باکتری استاندارد *R. meliloti* با غلظت $۱۰^{۵}$ cfu mL^{-1} را با همان شرایط بالا دریافت کردند و گروه سوم شاهد در همان شرایط و در بافرفسفات استریل (بدون باکتری) قرار گرفتند (Bashan *et al.*, 1989). بعد از جوانه‌زنی، بذرها به میکروتیوب‌های استریل درون گلدان (۲۲ در ۳۱ سانتی‌متر) و حاوی دو لیتر محلول غذایی منتقل شدند. اکسیژن‌دهی به وسیله پمپ هوا انجام شد. هر گلدان محتوی بذرهای شبدر شاهد یا تلقیح شده، یک تیمار در نظر گرفته شد. این ظروف در شرایط محیط در درجه حرارت ۲۰°C در شب و ۲۵°C در روز و فتوپریود ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند (Bashan *et al.*, 1989).

تزریق گاز SO_2: گاز دی‌اکسید گوگرد ۰/۱٪ از پتروشیمی شازند اراک تهیه شد. ۳۱ روز پس از رشد گیاهان، تزریق گاز SO_2 در غلظت‌های مختلف ۰ (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm به ظروف محتوی گیاهان تلقیح‌نشده، گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی و استاندارد انجام شد. تزریق گاز به وسیله سرنگ به مدت ۵ روز و هر روز ۲ ساعت با بستن کامل درب ظروف پلاستیکی به فضای بالای گلدان‌ها، با توجه به فضای هوای بالای هر ظرف انجام شد (Agrawal *et al.*, 1985). در طی این مدت، هوا دهی با پمپ هوا انجام شد. پس از دو ساعت انکوباسیون با باز کردن درب ظروف، گیاهان به هوای معمولی انتقال یافتند. در طی این مدت درب ظروف شاهد (۰ppm) هم بسته بودند و جریان هوای معمولی را نداشتند.

سنجش کلروفیل *a*، *b* کلروفیل کل و کارتنوئیدها: برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش آرنون (۱۹۴۹) و کاروتنوئید از روش (Lichtenthaler and Welbum, 1983) استفاده شد. مقدار کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل C_{x+c}) برحسب میلی‌گرم کلروفیل یا کاروتنوئید در گرم بافت تر برگ محاسبه گردید.

$$\text{Chlorophyll}_a\ (\text{Chl}_a) = 12.9A_{663} - 2.9A_{645}$$
$$\text{Chlorophyll}_b\ (\text{Chl}_b) = 22.9A_{645} - 4.68A_{663}$$
$$\text{Total Chlorophyll (Tchl)} = 20.2A_{645} + 8.02A_{663}$$
$$C_{x+c} = (1000\ A_{470} - 3.27\ \text{chl}a - 104\ \text{chl}b)/229$$

اندازه‌گیری یون‌های پتاسیم و فسفر بخش هوایی: اندازه‌گیری پتاسیم به روش فلیم‌فوتومتری (Wang and Zhao, 1995) و فسفر به روش اسپکتروفتومتری (Creus *et al.*, 2004, Kohler *et al.*, 2007) انجام شد.

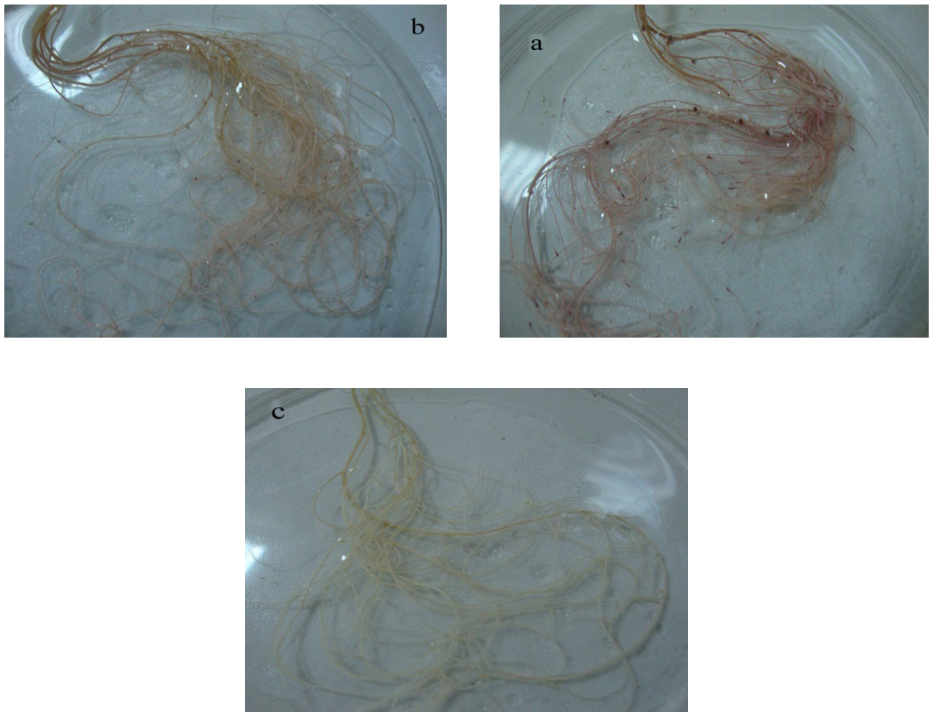
آزمایش‌ها در طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل در ۳ تکرار انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج:

بررسی مورفولوژی ریشه گیاهان شبدر تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی و استاندارد وجود گرهک‌های صورتی رنگ و فعال را در ریشه این گیاهان نشان داد که چنین گرهک‌هایی روی ریشه گیاهان تلقیح‌نشده مشاهده نشدند (شکل ۱).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]



شکل ۱- مقایسه ریشه و گرهک‌ها در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری بومی (a)، باکتری استاندارد (b) و تلقیح‌نشده (شکل c).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر متقابل گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) و تلقیح باکتریایی بر مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئید، میزان پتاسیم و فسفر گیاهان ۴۱ روزه.

منابع تغییر	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پتاسیم	فسفر
تیمارتلقیح باکتریایی	۱۴۰/۶۹**	۲۵۱/۹۲**	۲۵۷/۴۸**	۵۴/۰۲**	۲۸۶/۵۴**	۵۳۳/۳۶**
تیمار گاز SO_2	۱۱۳/۶**	۴۸۷/۳۲**	۱۶۸/۸**	۶۱۱/۸۲**	۴۹۵/۰۱**	۱۳۱/۹۰**
اثر متقابل تلقیح باکتری و SO_2	۷/۵۴**	۱۷/۳۵**	۲۹**	۳/۳۱**	۲۹/۹۸**	۱۳/۶۲**

ns: معنی‌دار نیست ***: معنی‌دار در سطح ۵٪** ****: معنی‌دار در سطح ۱٪**

اثر تلقیح باکتریایی و گاز SO_2 بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شبدر ایرانی: تلقیح باکتریایی، غلظت‌های مختلف گاز SO_2 و اثر متقابل تلقیح و SO_2 بر میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید گیاهان ۴۱ روزه اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان دادند (جدول ۱).

بیشترین میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاهان ۴۱ روزه تلقیحی با ریزوبیوم بومی مشاهده شد. میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب ۱/۲۶، ۱/۱۷، ۱/۲۴ و ۱/۱۹ برابر میزان این رنگیزه‌ها در گیاهان شاهد است. میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید گیاهان ۴۱ روزه تلقیح‌شده با ریزوبیوم استاندارد به ترتیب ۱/۱۲، ۱/۴۳، ۱/۰۸ و ۱/۱۷ برابر میزان این رنگیزه‌ها در گیاهان شاهد است (جدول ۲).

میزان تمامی رنگیزه‌ها در گیاهان ۴۱ روزه در غلظت پایین گاز SO_2 (۰/۵ ppm) افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. به‌طوری‌که میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در این غلظت گاز به ترتیب ۱/۱۹، ۱/۲۷،۱/۲۲ و ۱/۲۸ برابر میزان این رنگیزه‌ها در گیاهان شاهد است. افزایش غلظت گاز SO_2 باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها تا ۶۴٪، ۴۳٪،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های تأثیر تلقیح بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، کاروتنوئید (mg/g وزن‌تر برگ) و مقدار عناصر پتاسیم و فسفر (mg/g وزن خشک برگ) گیاهان ۴۱ روزه

شاخص	تلقیح باکتریایی		
	بدون تلقیح R-	تلقیح با ریزوبیوم بومی	تلقیح با *R. meliloti*
کلروفیل *a* (mg/g FW)	۱/۴۱^{c} ± ۰/۱۵	۱/۷۹^{a} ± ۰/۱۹	۱/۵۹^{b} ± ۰/۱۶
کلروفیل *b* (mg/g FW)	۰/۶۹^{c} ± ۰/۰۵	۰/۹۹^{a} ± ۰/۰۸	۰/۸۱^{b} ± ۰/۰۶
کلروفیل کل (mg/g FW)	۲/۲۶^{c} ± ۰/۱۸	۲/۸۱^{a} ± ۰/۳	۲/۴۵^{b} ± ۰/۲
کاروتنوئید (mg/g FW)	۰/۹۸^{b} ± ۰/۰۹	۱/۱۷^{a} ± ۰/۱۱	۱/۱۵^{a} ± ۰/۱
پتاسیم (mg/g DW)	۱۵/۲^{c} ± ۱/۴	۲۶/۷۳^{a} ± ۳/۳	۲۰/۶۳^{b} ± ۲/۱
فسفر (mg/g DW)	۲/۲۵^{c} ± ۰/۲	۳/۶۹^{a} ± ۰/۳۹	۲/۹۷^{b} ± ۰/۳

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار SE ± و مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف گاز SO_2 بر مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید (mg/g وزن‌تر برگ) و مقدار عناصر پتاسیم و فسفر (mg/g وزن خشک برگ) شبدر ایرانی.

شاخص	غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (ppm)				
	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۲
کلروفیل *a*(mg/g FW)	۲/۰۷^{b} ± ۰/۰۴	۲/۴۸^{a} ± ۰/۱	۱/۵۳^{c} ± ۰/۰۵	۱/۱۴^{d} ± ۰/۰۵	۰/۷۵^{e} ± ۰/۰۳
کلروفیل *b*(mg/g FW)	۰/۹۸^{b} ± ۰/۰۵	۱/۲۵^{a} ± ۰/۰۹	۰/۷۴^{c} ± ۰/۰۳	۰/۶۴^{d} ± ۰/۰۹	۰/۵۶^{e} ± ۰/۰۳
کلروفیل کل (mg/g FW)	۳/۰۶^{b} ± ۰/۰۸	۳/۷۶^{a} ± ۰/۱۸	۲/۳۲^{c} ± ۰/۱۶	۱/۸۸^{d} ± ۰/۱۱	۱/۵۱^{e} ± ۰/۱۶
کاروتنوئید (mg/g FW)	۱/۳۵^{b} ± ۰/۰۳	۱/۷۴^{a} ± ۰/۰۶	۰/۹۷^{c} ± ۰/۰۱	۰/۷۹^{d} ± ۰/۰۲	۰/۶۵^{e} ± ۰/۰۳
پتاسیم (mg/g DW)	۲۵/۴۴^{b} ± ۲/۶	۳۵^{a} ± ۲/۹	۱۹/۶۱^{c} ± ۱/۶	۱۴/۱^{d} ± ۰/۷	۱۰/۱۴^{e} ± ۰/۴
فسفر (mg/g DW)	۳/۷۱^{b} ± ۰/۲	۵/۰۶^{a} ± ۰/۳	۲/۸۵^{c} ± ۰/۲	۱/۹۴^{d} ± ۰/۱	۱/۳۱^{e} ± ۰/۱

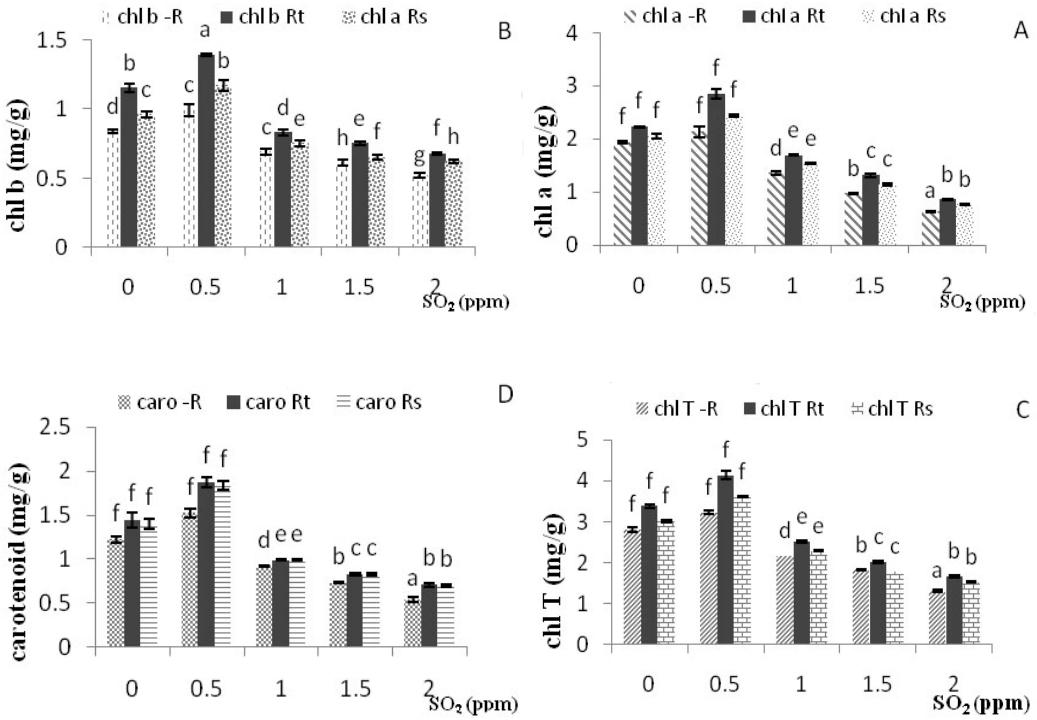
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار SE ± و مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

۵۱٪ و ۵۷٪ به ترتیب شد (جدول ۳).

بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تلقیحی با باکتری بومی و غلظت ۰/۵ ppm SO_2 مشاهده شد. میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها به ترتیب ۱/۴۶، ۱/۹۱، ۱/۵۸ و ۱/۵۳ برابر میزان این رنگیزه‌ها در گیاهان شاهد است. میزان کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل در تلقیح با باکتری استاندارد به ترتیب ۱/۲۵، ۱/۴۰، ۱/۲۸ و ۱/۵ برابر میزان آن‌ها در گیاهان شاهد است. کم‌ترین میزان رنگیزه‌ها در گیاهان تلقیح‌نشده و غلظت۲ ppm SO_2 مشاهده شد. کاهش ۶۸، ۴۵، ۵۳ و ۵۶ درصدی کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها که در گیاهان بدون تلقیح و ۲ ppm گاز به ترتیب مشاهده شد در همان تیمار گازی در گیاهان تلقیح با ریزوبیوم بومی ۵۶، ۱۸، ۴۰ و ۴۳٪ و در گیاهان تلقیح با ریزوبیوم استاندارد ۶۱، ۳۴، ۴۵ و ۴۳٪ اندازه‌گیری شد (شکل ۲).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]



شکل ۲- اثرات متقابل غلظت‌های مختلف گاز SO_2 و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی Rt و استاندارد Rs) بر میزان A) کلروفیل a، B) کلروفیل b، C) کلروفیل کل و D) کاروتنوئید برگ شبدر ایرانی. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) است. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها برای هر شاخص می‌باشد.

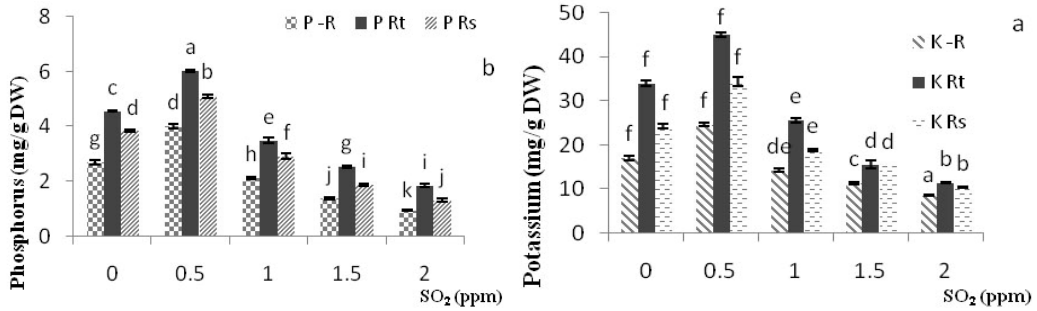
اثر تلقیح باکتریایی و SO_2 بر مقدار پتاسیم و فسفر شبدر ایرانی: تلقیح باکتریایی، گاز SO_2 و اثر متقابل تلقیح باکتریایی و گاز SO_2 بر مقدار پتاسیم و فسفر گیاهان ۴۱ روزه اثر معنی‌داری (سطح ۰/۰۱) نشان داد (جدول ۱).

بیشترین مقدار پتاسیم و فسفر در گیاهان ۴۱ روزه تلقیح با ریزوبیوم بومی به ترتیب با ۷۵/۸۵٪ و ۶۴٪ افزایش نسبت به شاهد تلقیح‌نشده مشاهده شد. مقدار پتاسیم و فسفر گیاهان تلقیح با ریزوبیوم استاندارد نیز به ترتیب ۳۵/۷۲٪ و ۳۲٪ افزایش را نسبت به شاهد نشان دادند (جدول ۲).

در غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 به ترتیب افزایش معنی‌دار ۳۷/۵۷٪ و ۳۶/۳۸٪ در میزان پتاسیم و فسفر نسبت به گیاهان شاهد (۰ppm) مشاهده شد ولی در غلظت‌های ۱، ۱/۵ و۲ ppm گاز SO_2با افزایش شدت تنش میزان پتاسیم و فسفر نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. کاهش میزان پتاسیم در غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ ppm به ترتیب ۲۲/۹۱٪، ۴۴/۶۹٪ و ۶۰/۱۴٪ نسبت به گیاهان شاهد محاسبه شد. کاهش میزان فسفر در همین غلظت‌ها به ترتیب ۲۳/۱۸٪، ۴۷/۷۰٪ و ۶۴/۶۹٪ اندازه گیری شد (جدول۳).

بیشترین مقدار پتاسیم و فسفر در گیاهان تلقیحی با باکتری بومی و غلظت SO_2 ۰/۵ ppm مشاهده شد. کم‌ترین مقدار پتاسیم و فسفر در گیاهان بدون تلقیح و غلظت SO_2 ۲ppm به ترتیب با ۴۹٪ و ۶۴/۴۴٪ کاهش نسبت به گیاهان شاهد (گیاهان بدون تلقیح و غلظت ۰ppm) مشاهده شد. گیاهان تلقیح یافته تحت ۲ ppm گاز SO_2 کاهش کمتری را در میزان پتاسیم و فسفر نشان دادند، در این غلظت گاز گیاهان تلقیح‌یافته با ریزوبیوم بومی ۳۲/۹۴٪ و گیاهان تلقیح‌یافته با *R.meliloti* میزان ۳۸/۶۴٪ کاهش پتاسیم را نسبت به شاهد نشان دادند. در همین غلظت گاز گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی ۳۱/۱۱٪و گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]



شکل ۳- اثرات متقابل غلظت‌های مختلف گاز SO_2 و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R، تلقیح با ریزوبیوم بومی Rt و استاندارد Rs) بر میزان پتاسیم (a) و فسفر (b) برگ شبدر ایرانی. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) است. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها برای هر شاخص می‌باشد.

تلقیح‌شده با *R. meliloti* ۵۸/۵۱٪ کاهش فسفر را نسبت به شاهد نشان دادند (شکل ۳a, b).

بحث:

در بررسی حاضر مقدار تمامی رنگیزه‌ها در اثر تلقیح با ریزوبیوم نسبت به گیاهان تلقیح‌نیافته افزایش معنی‌داری یافتند. مقدار این رنگیزه‌ها در تلقیح با باکتری بومی نسبت به باکتری استاندارد افزایش بیشتری را نشان داد. نتایج مشابه در تلقیح *Phaseolus vulgaris* با ریزوبیوم (Bambara and Ndakidemi, 2009) و تلقیح *Cicer arietinum* با ریزوبیوم لگومینوزاروم (Bejandi *et al.*, 2012) مشاهده شد. پاسخ گیاه میزبان در تلقیح با برخی از باکتری‌های محرک رشد از جمله ریزوبیوم به صورت افزایش مقدار کلروفیل و سایر رنگیزه‌ها ظاهر می‌شود که سبب افزایش فتوسنتز شده و به دنبال آن افزایش رشد و محصول گیاه رخ می‌دهد (Alam *et al.*, 2001). افزایش این رنگیزه‌ها به افزایش تثبیت نیتروژن توسط این باکتری‌ها بر می‌گردد. ترکیبات نیتروژنه حاصل از تثبیت نیتروژن در گرهک‌های ریشه به شکل آلانتوئین و اسیدهای آلانتوئیک به ریشه ترشح و به برگ‌ها منتقل می‌شوند و در بیوسنتز کلروفیل و پروتئین‌های ضروری برای فتوسنتز استفاده می‌شوند (Bejandi *et al.*, 2012). همچنین به دنبال تلقیح باکتریایی، به دلیل افزایش سطح ریشه ناشی از هورمون اکسین تولیدی توسط باکتری، جذب برخی عناصر مثل منیزیم (Creus *et al.*, 2004) که در ساختمان کلروفیل وجود دارد افزایش می‌یابد (Bai *et al.*, 2003). با توجه به نقش نیتروژن و منیزیم در بیوسنتز کلروفیل، بنابراین مقدار کلروفیل برگ گیاهان تلقیح شده افزایش می‌یابد و این هم سازوکاری جهت افزایش محصولات فتوسنتزی و در نتیجه رشد بهتر گیاه تلقیح‌شده، می‌باشد (Bashan and de-Bashan, 2005).

تلقیح باکتریایی بر مقدار پتاسیم و فسفر نیز اثر معنی‌داری داشت. مقدار پتاسیم و فسفر در تلقیح با باکتری بومی نسبت به باکتری استاندارد افزایش بیشتری را نشان داد. نتایج مشابه در تلقیح *Arachis hypogaea* (Basu, 2011) و برنج (Hussain *et al.*, 2009) با ریزوبیوم مشاهده گردید. باکتری‌های ریزوبیوم با ترشح ترکیباتی مثل اسیدهای آلی (نگه‌داشتن شکل معدنی فسفر در خاک)، آنزیم‌هایی مثل فیتاز و اسیدفسفاتاز (معدنی‌کردن فسفر آلی)، ترشح پروتون (کاهش pH و ایجاد pH اسیدی مناسب برای محلول‌ترین شکل فسفر $H_2PO_4^-$) و ترکیبات اگزوپلی‌ساکاریدی (جدا نگه‌داشتن شکل محلول فسفر از شکل غیرمحلول آن) سبب افزایش فسفر معدنی محلول و در دسترس برای گیاهان می‌شوند (Bashan and de-Bashan, 2005). باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد مثل ریزوبیوم جذب یون‌های معدنی مثل فسفر و پتاسیم توسط گیاه را از طریق تحریک پمپ پروتون-ATPase نیز افزایش می‌دهند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

(Mantelin and Touraine, 2004). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که یکی دیگر از مکانیسم‌های این باکتری‌ها برای افزایش جذب یون‌ها، تحریک نمو ریشه می‌باشد که این کار را با تولید هورمون‌هایی مثل ایندول‌استیک‌اسید انجام می‌دهد (Kloepper, *et al*., 2007). توانایی تثبیت N_2 توسط ریزوبیوم و افزایش حجم و سطح ریشه به دنبال تلقیح گیاهان با باکتری‌های PGPR مثل ریزوبیوم، سبب افزایش جذب عناصری مثل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم می‌شود، سازوکاری که توسط بسیاری از محققان گزارش شده است (Askary *et al*., 2009; Bai *et al*., 2003). مهم‌ترین مکانیسم تحریک رشد توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون‌های ایندولی می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، به دنبال آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (فسفر، نیتروژن و پتاسیم) توسط گیاه و افزایش رشد می‌باشد. باکتری‌های ریزوبیومی توانایی تولید این فیتوهورمون‌ها را دارند اما این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در بین سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست. بنابراین اثر گونه‌ها و سویه‌های مختلف ریزوبیومی روی گیاهان متفاوت است (اعتصامی و علی خانی، ۱۳۹۰) همان‌طور که در این تحقیق نیز اثر سویه بومی و استاندارد ریزوبیوم ملیلوتی روی گیاه متفاوت بود. مشابه اثرات مثبت تلقیح گندم و ذرت با سویه‌های همولوگ (ایزوله شده از ریشه‌های استریل همان گیاه) که بیشتر از اثرات سویه‌های هترولوگ (ایزوله شده از ریشه سایر گیاهان) بر گیاهان تلقیح یافته است و به همین علت محققین مطرح می‌کنند که ژنوتیپ گیاهی و سویه همولوگ باکتری نقش مهمی در برقراری جریان تثبیت بیولوژیک نیتروژن بازی می‌کنند (Askary *et al*., 2009; Bashan and de - Bashan 2005).

از نظر محققین وقتی غلظت گاز SO_2 از حد طبیعی که بین ۰/۰۵–۰/۵ppm می‌باشد، بیشتر شود آلودگی گاز SO_2 رخ می‌دهد (Wali *et al*., 2007; Khan *et al*., 2006). بنابراین غلظت ۰/۵ppm غلظت سمی برای گیاه نمی‌باشد. از طرفی تأثیر گاز SO_2 بر گیاهان وابسته به گونه گیاهی، مدت زمان در معرض SO_2 قرار گرفتن و غلظت SO_2 متفاوت است (Hijano *et al*., 2005). دی‌اکسید گوگرد هوا در غلظت‌های پایین دارای اثرات مثبت بر رشد و نمو گیاه می‌باشد و به عنوان یک منبع تأمین‌کننده گوگرد مورد نیاز گیاه محسوب می‌شود. گوگرد یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاهان است. ریشه گیاهان می‌توانند آنیون‌های سولفات SO_4^{2-} را از خاک جذب کنند؛ برگ‌ها نیز می‌توانند SO_2 را از جو جذب کنند. دی‌اکسید گوگرد پس از ورود به گیاه، در فاز آبی دیواره سلولی حل می‌شود و بی‌سولفیت HSO_3^- و سولفیت را تشکیل می‌دهد، که این مواد تحت واکنش آنزیمی به SO_4^- تبدیل می‌شوند. SO_4^- به داخل سلول‌های برگ منتقل می‌شود و در آن‌جا برای ساخت مولکول‌های آلی شامل آمینواسیدهایی مثل سیستئین و متیونین که سپس پروتئین را تشکیل می‌دهند، استفاده می‌شود (Swanepoel *et al.,* 2007). در بسیاری از کشورهای صنعتی و آلوده مثل چین که از آلوده‌ترین کشورهای جهان است، گوگرد مورد نیاز گیاهان زراعی (مثل کلم چینی) از سولفور اتمسفری تأمین می‌شود (De Kok *et al*., 2000) ولی جذب اضافه و زیاد گوگرد از خاک یا اتمسفر می‌تواند باعث آسیب به گیاهان شود (Swanepoel *et al.,* 2007). در غلظت‌های بالای SO_2، سولفیت‌های حاصل از SO_2 با کلروفیل واکنش داده و تولید رادیکال‌های سوپراکسید می‌کنند (Shimazaki *et al*., 1980). همچنین SO_2 با آزاد کردن یون منیزیم از کلروفیل *a* باعث تبدیل‌شدن کلروفیل *a* به می‌شود و SO_2 با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز با دفع گروه فیتول از کلروفیل *b* باعث تبدیل کلروفیل b به کلروفیلاید b می‌شود (Malhotra, 1977). کاهش در محتوای کاروتنوئیدی می‌تواند به علت تشکیل سولفوریک‌اسید پس از ترکیب SO_2 با آب در بافت‌های گیاهی و تجزیه بعدی این اسید به یون‌های H^+ و HSO_3^- که باعث تجزیه رنگیزه‌ها می‌شود، باشد (Irshad *et al*., 2011). اثر SO_2 روی محتوای کاروتنوئیدی به گونه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

گیاهی و غلظت گاز SO_2 بستگی دارد (Bhardwaj *et al.*, 2012). غلظت پایین SO_2 (۰/۵ ppm) در محتوای کاروتنوئیدی همیشه‌بهار اثرات تحریک‌کنندگی داشت، اما غلظت‌های بالاتر SO_2 (۱، ۱/۵ و ۲ ppm)در مقایسه با نمونه‌های شاهد موجب کاهش محتوای کاروتنوئیدی شد (Wali *et al.*, 2007).

در مطالعه حاضر در غلظت ۰/۵ ppm SO_2 میزان پتاسیم و فسفر افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد و همراه با افزایش غلظت گاز میزان پتاسیم و فسفر کاهش معنی‌داری یافت. نتایج مشابه در *Vicia faba* مشاهده شد (Agrawal *et al.*, 1985). گیاهان عالی قادر به تنظیم مقدار سولفور کلی خود از طریق ایجاد یک تعادل بین غلظت سولفیت و سولفات هستند. این تعادل از طریق تشکیل سولفیت در نور و سولفات در تاریکی ایجاد می‌شود، قسمتی از SO_2 که به سولفات تبدیل می‌شود در ساختار ذرات آلی مثل آمینواسیدها و پروتئین‌های گوگرد دار استفاده می‌شود و قسمتی به فرم SO_2 یا SH_2 در عمل تبادل گازی طبیعی حذف می‌شود. زمانی که غلظت SO_2 اتمسفری به مقادیر سمی بالای ۰/۵ ppm می‌رسد آسیب‌های نکروزه و فیزیولوژیک ایجاد می‌شوند (Hijano *et al.*, 2005). بنابراین افزایش عناصر در غلظت پایین گاز ناشی از افزایش پروتئین‌سازی و در نتیجه رشد بیشتر ریشه (سطح جذب عناصر) (Swanepoel *et al.*, 2007) است و کاهش میزان عناصر که در غلظت‌های بالای رخ می‌دهد می‌تواند به علت کاهش کلروفیل و فتوسنتز گیاه (Irshad *et al.*, 2011) و در نتیجه کاهش رشد و نمو گیاه (Sha *et al.*, 2010) باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده افزایش مقاومت شبدر تلقیح‌یافته به غلظت‌های بالای SO_2 است. بیشترین میزان رنگیزه‌ها در گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی و غلظت ۰/۵ppm SO_2 و کم‌ترین میزان در گیاهان تلقیح‌نشده و غلظت ۲ ppm SO_2 مشاهده شد. میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید که در غلظت‌های بالای SO_2 کاهش نشان دادند در تلقیح با باکتری کاهش کمتری را نسبت به گیاهان تلقیح‌نیافته نشان دادند. اثر باکتری بومی نسبت به استاندارد در کاهش اثرات SO_2 بر مقدار رنگیزه‌ها مؤثرتر بود. کاهش شرایط تنش ناشی از تلقیح ریزوبیومی در مورد رنگیزه‌ها در گزارشات مختلفی ذکر شده است. نتایج مشابه برای نخود (Ogutcu *et al.*, 2010) و *Lactuca sativa* تلقیح‌شده با ریزوبیوم (Han and Lee, 2005) تحت تنش شوری گزارش شده است.

در بررسی حاضر بیشترین مقدار پتاسیم و فسفر در گیاهان تلقیح‌یافته با ریزوبیوم و کم‌ترین مقدار در گیاهان بدون تلقیح و ۲ppm SO_2 مشاهده شد. تلقیح با ریزوبیوم بومی و استاندارد کاهش مقدار پتاسیم و فسفر که در غلظت‌های بالای SO_2 ایجاد شد، را بهبود بخشید و میزان کاهش جذب دو عنصر را کاهش داد. نتایج مشابه در تلقیح *Lactuca sativa* (Han and Lee, 2005) و گیاه *Acacia saligna* با ریزوبیوم تحت تنش شوری (Soliman *et al.*, 2012) مشاهده شده است. افزایش سطح ریشه که به دنبال تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد انجام می‌شود، سبب افزایش جذب عناصری مثل پتاسیم و فسفر از محیط ریشه، هم در گیاهان تحت تنش و هم در گیاهان بدون تنش، می‌شود و این می‌تواند دلیلی بر رشد بهتر و بقا بیشتر گیاهان تلقیح شده باشد (Bashan and de-Bashan, 2005). توانایی باکتری برای تولید محرک‌های رشد مثل اکسین که با افزایش سطح ریشه، جذب عناصری مثل نیتروژن و منیزیم را که برای بیوسنتز کلروفیل ضروری هستند افزایش می‌دهد (Bagheri, 2011) و همچنین لومیکروم سنتزی توسط باکتری ریزوبیوم که در افزایش مقدار کلروفیل نقش دارند سبب می‌شود که تلقیح باکتریایی در جبران اثرات منفی تنش‌ها بر مقدار کلروفیل نقش مهمی ایفا کند(Matiru and Dakora, 2005) . از آن جایی که افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل پارامتری است که با افزایش فتوسنتز همراه است بنابراین افزایش تولیدات فتوسنتزی ناشی از افزایش رنگیزه‌ها، سبب افزایش رشد گیاه و محصول می‌شود (Alam *et al.*, 2001,).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

نتیجه‌گیری:

غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر پتاسیم و فسفر برگ شبدر ایرانی اثر مثبت داشته و سبب افزایش این شاخص‌ها شده است ولی غلظت‌های بالاتر روی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر پتاسیم و فسفر اثر منفی گذاشته و شرایط تنش‌زا برای گیاه ایجاد می‌نماید. با برقراری یک همزیستی مفید و کارآمد بین گیاهان و ریزوباکترهای محرک رشد می‌توان اثر آلودگی SO_2 را کاهش داد و در این راستا باکتری بومی تأثیر بیش‌تری بر کاهش اثرات تنش SO_2 دارد. افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش جذب عناصر ضروری مثل فسفر و پتاسیم به دنبال تلقیح ریزوبیومی از ساز و کارهای گیاهان تلقیح شده برای رشد و مقاومت بیشتر در تنش‌ها است.

تشکر و قدردانی:

از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک که حمایت مالی و اجرایی این تحقیق را به عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

اعتصامی، ح. و علی خانی، ح. (۱۳۹۰) ارزیابی توان تولید هورمون‌های اکسینی (IAA) توسط سویه‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران و اثرات کاربرد سویه های برتر بر شاخص‌های رشد گیاه گندم و هدرروی کودهای شیمیایی. زراعت (پژوهش و سازندگی) ۵۳:۲۴-۶۲.

عباسی، م. (۱۳۸۷) بررسی تنوع در خزانه‌های ژنتیکی شبدر ایرانی(*Trifolium resupinatum* L.) موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران. دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۶: ۴۹-۳۷.

Abbas, S. M. and Kamel, E. A. (2004) *Rhizobium* as a biological agent for preventing heavy metal stress. Asian Journal of Plant Science 3: 416-424.

Agrawal, M., Nandi, P. K. and Rao, D. N. (1985) Effects of sulphur dioxide fumigation on soil system and growth behaviour of *Vicia faba* plants. Plant and Soil 86: 69-78.

Alam, M. S., Cui, Z. J., Yamagishi, T., and Ishii, R. (2001) Grain yield and related physiological characteristics of rice plants (*Oryza sativa* L.) inoculated with free-living rhizobacteria. Plant Production Science 4: 126-130.

Askary, M. Mostajeran, A., Amooaghaei,R. and Mostajeran, M. (2009) Influence of the co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on grain yield and N, P, K content of *Triticum Arestivum* (cv. Baccross and Mahdavi). American-Eurasian Journal Agricultural& Environmwntal Science 5: 296-307.

Bagheri, A. R. (2011) Effect of salinity and inoculation with Azosprillium on carbohydrate production, nitrogen status and yield of barley. African Journal of Biotechnology 10: 9089-9096.

Bai, Y., Zhou, X. and smith, D. L. (2003) Crop ecology, management and quality: enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum*. Crop Science 43: 1774-1781.

Bambara, S. and Ndakidemi, P. A. (2009) Effects of *Rhizobium* inoculation, lime and molybdenum on photosynthesis and chlorophyll content of *Phaseolus vulgaris* L. African Journal of Microbiology Research 3: 791-798.

Bashan, Y., and de-Bashan, L.E. (2005) Bacteria/Plant growth-promotion. In: Encyclopedia of soils in the environment (ed. Hillel, D.) PP.103-115. Elsevier, Oxford, U.K.

Bashan, Y., Levanony, H. and Mitiku, G. (1989) Changes in proton efflux of intact wheat roots induced by *Azospirillum brasilense* Cd. Canadian Journal of Microbiology 35: 691-697.

Basu, T. K. (2011) Effect of cobalt, *Rhizobium* andphosphobacterium inoculations on growth, yield, quality and nutrient uptake of summer groundnut (*Arachis hypogaea*). American Journal of Experimental Agriculture 1: 21-26.

Bejandi, T. K., Sharifii, R. S., Sedghi, M. and Namvar, A. (2012) Effects of plant density, *Rhizobium* inoculation and microelements on nodolation, chlorophyll cotent and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Annals of Biological Research 3:951-958.

Bhardwaj, M. K., Chaudhary, R. and Bhardwaj, A. (2012) Studies on growth and biochemical responses in *Solanum melongena* cv. Pusa Purple Round under sulphur dioxide stress. Indian

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591 – 592.

Malhotra, S. S. (1977) Effects of aqueous sulphur dioxide on chlorophyll destruction in *Pinus contorta*. New Phytologist 78: 101-109.

Mantelin, S. and Touraine, B. (2004) Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability impacts on root development and nitrate uptake. Experimental Botany 55: 27–34.

Matiru, V. N. and Dakora, F. D. (2005) Xylem transport and shoot accumulation of lumichrome, a newly recognized rhizobial signal, alerts root respiration, stomatal conductance, leaf transpiration and photosynthetic rates in legumes and cereals. New Phytologist 165: 847-855.

Molla, A. H., Shamsuddin, Z. H., Halimi, M. S., Morziah, M. and Puteh, A. B. (2001) Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. Soil Biology and Biochemestry 33: 457-463.

Ögutcu, H., Kasimoglu, C. and Elkoca, E. (2010) Efects of rhizobium strains isolated from wild chickpea on the growth and symbiotic performance of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 34: 361-371.

Rakwal, R., Agrawal, G. K., Kubo, A., Yonekura, M., Tamogami, S., Saji, H. and Iwahashi, H. (2003) Defense/stress responses elicited in rice seedlings exposed to the gaseous air pollutant sulfur dioxide. Environmental and Experimental Botany 49: 223-235.

Sha, C., Wang, T. and Lu, J. (2010) Relative sensitivity of Wetland plants to SO_2 pollution. Wetlands 30: 1023- 1030.

Shimazaki. K. I., Sakaki, T., Kondo, D. and Sugahara, K. (1980) Active O_2 participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO_2 fumigated leaves of spinach. Plant Cell Physiology 21:1193-1204.

Smith, S. J., Aardenne, J. V., Klimont, Z., Andres, R. J., Volke, A. and Delgado Arias, S. (2011) Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. Atmospheric Chemistry and Physics 11: 1101–1116.

Soliman, A. Sh., Shanan, N. T., Massoud, O. N. and Swelim, D. M. (2012) Improving salinity tolerance of *Acacia saligna* (Labill.) plant by arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation. African Journal of Biotechnology 11: 1259-1266.

Swanepoel, J. W., Kruger, G. H. J. and Heerden, , P. D. R. (2007) Effects of sulphur dioxide on photosynthesis in the succulent Augea capensis Thunb. Journal of Arid Environments 70: 208-221.

Journal of Applied and Pure Biology. 27: 17-23.

Caetano-Anolles, G., Wall. L. G., De Micheli, A. T., Macchi, E. M. Bauer, W. D. and Favelukes, G. (1988) Role of motility and chemotaxis in efficiency of nodulation by *Rhizobium meliloti*. Plant Physiology 86: 1228-1235.

Creus, C. M., Sueldo, R. J. and Barassi, C. A. (2004) Water relations in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings under osmotic stress.Canadian Journal of Botany. 76: 238-244.

De Kok, L. J., Westerman, S., Stuiver, C. E. E. and Stulen, I. (2000) Atmospheric H_2S as plants sulfur source: interaction with pedospheric sulfur nutrition – a case study with *Brassica oleracea* L. In: Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants; molecular, biochemical and physiological aspects (eds. Brunold, C., Rennenberg, H., De Kok, L. J., Stulen, I. and Davidian, J-C.) 41-56. Paul Haupt, Bern.

Dimkpa, C., Weinand, T. and Asch, F. (2009) Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant, Cell and Environment 32: 1682–1694.

Erdemli, S., Colak, E. and Kendir, H. (2007) Determination of some plant and agricultural characteristics in Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.).Tarım Bilimleri Dergisi 13: 240-245.

Han, H. S. and Lee K. D. (2005) Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under Soil Salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 1: 210-215.

Hijano, C. F., Dominguez, M. D. P., Gimenez, R. G., Sanchez, P. H. and Garcia, I. S. (2005) Higher plants as bioIndicators of sulphur dioxide emissions in urban environments. Environmental Monitoring and Assessment 111: 75–88.

Hussain, M. B., Mehboob, I., Zahir, Z. A., Naveed, M. and Asghar, H. N. (2009) Potential of *Rhizobium* spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.).Soil and Environment 28: 49-55.

Irshad, A. H., Fayaz Ahmad, S. and Sultan, P. (2011) Effect of sulphur dioxide on the biochemical parameters of spinach (*Spinacea oleracia*). Trakia Journal of Sciences 9: 24-27.

Khan, I., Ahmad, A. and Iqbal, M. (2006) Sulphur in theenvironment. In: Biodiversity and its significance (eds. Tandon, P., Khatri, S., Abrol, Y. P. IK) Pp.90-99. International, New Delhi.

Kloepper, J.W., Gutierrez-Estrada, A. and Mclnroy, J. A. (2007) Photoperiod regulates elicitation of growthpromotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology 53, 159–167.

Kropff, M. J. (1990) The effects of long-term open-air fumigation with SO_2 on a field crop of broad bean (*Vicia faba* L.). Quantitative analysis of damage components. New Phytologist 115: 357-365.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]

Wang, B. S. and Zhao, K. F. (1995) Comparison of extractive methods of Na^+, K^+ in wheat leaves. Plant Physiol Communications 31: 50–52.

Wang, Y. X. and Oyaizu, H. (2009) Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofu-ran-contaminated soil. Journal of Hazardous Materials 168: 760-764.

Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. (2009) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Plant Science 14: 1-4.

Tatsumoto, H. and Yoshinari, H. (1991) Correlation between sulfur oxide concentration and sulfur content in the leaves of woody plants. Taiki Osen Gakkaishi 26: 165–170.

Wali, B., Iqbal, M. and Mahmooduzzafar (2007) Anatomical and functional responses of *Calendula officinalis* L. to SO_2 stress as observed at different stages of plant development. Flora 202: 268–280.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.3.4.2]