نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد هفتم، شماره اول، بهار ۹۳
۱۰۹-۱۲۹
http://ejcp.gau.ac.ir

پاسخ فیزیولوژیک و تغذیه‌ای گیاه یونجه (*Medicago sativa. cv hamedani*) در تلقیح با قارچ درون زی *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum Spp* تحت تنش شوری

علی کرمی[۱] و *محمدجواد زارع[۲]

[۱و۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد زراعت و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۵

چکیده

به‌منظور بررسی پاسخ گیاه یونجه تحت شرایط شوری به تلقیح با قارچ درون‌زی *Piriformospora indica* و باکتری جنس *Azospirillum* آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی ایلام اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد و عدم کاربرد قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا*، تلقیح و عدم تلقیح با باکتری *آزوسپیریلوم*، استفاده توأم قارچ و باکتری و نیز شاهد تحت اعمال سه سطح شوری خاک (۰، ۲، ٤ گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک) بود. پاسخ تغذیه‌ای شامل جذب عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، سدیم و کلر و نیز پاسخ‌های فیزیولوژیک یونجه شامل میزان تجمع پرولین و غلظت کلروفیل به‌همراه عملکرد علوفه اندازه‌گیری گردید. *قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا* تأثیر مثبت و معنی‌داری بر رشد، میزان وزن تازه و خشک علوفه، رنگریزه‌های فتوسنتزی، پرولین و جذب عناصر غذایی تحت شرایط شور داشت به‌طوری‌که کاربرد قارچ منجربه کاهش اثرات سوء شوری از طریق کاهش جذب سدیم و کلر و افزایش رنگریزه‌های کلروفیلی گردید. یونجه تلقیح شده با باکتری از تجمع پرولین و غلظت کلروفیل بیشتری نسبت به تیمار قارچ برخوردار بود. تلقیح با باکتری *آزوسپیریلوم* تأثیر مطلوب‌تری بر محتوای کلروفیل، پرولین و عناصر غذایی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد ریزسازواره‌ها تحت شرایط شوری می‌تواند از اثرات سوء شوری بر گیاه کم نماید.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد گیاهی، تنش شوری، یونجه، قارچ درون‌زیست

*مسئول مکاتبه: mj.zarea@ilam.ac.ir

مقدمه

تنش‌های غیرزنده عامل مهم کاهش ۷۱ درصدی عملکرد محصولات زراعی در سطح جهان است که برای تنش خشکی ۱۷ درصد، شوری ۲۰ درصد، دمای بالا ٤٠ درصد، دمای پایین ۱۵ درصد و سایر عوامل ۸ درصد تخمین زده می‌شوند (کافی و خان، ۲۰۰۸). شوری ۷ درصد از زمین‌های دنیا، حدود ۹۳۰ میلیون هکتار، را تحت تأثیر قرار داده و روز به روز بر وسعت آن افزوده می‌گردد. مطالعات جهانی نشان داد که بهره‌برداری از زمین‌ها طی ٤٥ سال گذشته موجب شور شدن ٦ درصد از اراضی جهان گردیده است. به‌عنوان مثال در طی قرن گذشته از ۷۷ میلیون هکتار اراضی استرالیا تنها ۲ میلیون هکتار شور اما پیش‌بینی می‌شود در ۵۰ سال آینده این وسعت به ۱۵ میلیون هکتار افزایش یابد. براساس آمار موجود (در سطح جهانی) ایران پس از چین، هند و پاکستان بیشترین درصد اراضی شور را دارد (کافی و خان، ۲۰۰۸). تأثیر محیط‌های شور بر گیاهان شامل کاهش پتانسیل آب ناشی از وجود نمک‌ها در محیط ریشه، اثر سمیت یون‌ها به‌ویژه یون‌های سدیم و کلر (نادیو و روگانانه، ۱۹۹۰) و عدم تعادل یونی بین یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم، نیترات و فسفات می‌باشد. به‌طورکلی در شرایط شور قابلیت جذب عناصر غذایی در محلول خاک به‌دلیل غلظت زیاد یون‌های کلر و سدیم کاهش، که نتیجه آن اختلال در امر تغذیه گیاهان است (گرهام و همکاران، ۱۹۸۵). پژوهشگران برای مقابله با پدیده شوری و به حداقل رساندن اثرات شوری و از دست رفتن کمتر محصول به دنبال راه‌کارهای نوین مانند معرفی محصولات متحمل به شوری از طریق به‌نژادی می‌باشند (گالاگر، ۱۹۸۵). شوری زدایی از آب دریا برای استفاده آن در کشاورزی (مولر، ۲۰۰۱) روش دیگری است که برای بهره‌برداری از آب شور به‌کار می‌رود. اگر چه روش اخیر موفقیت‌آمیز اما پرهزینه و فراتر از هزینه‌های اقتصادی به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه است (سنترال و لیندرمن، ۲۰۰۱). یکی دیگر از این روش‌های نوین استفاده از ریزسازواره‌ها (میکروارگانسیم‌ها) جهت بهبود رشد و افزایش عملکرد در گیاهان می‌باشد. گیاهان در طبیعت توسط ریزسازواره‌های داخلی و خارجی کلونیزاسیون می‌شوند. برخی از ریزسازواره‌ها به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریزا می‌توانند موجب بهبود عملکرد گیاهان تحت شرایط تنش گردند (برون، ۱۹۷٤).

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR[1]) گروهی از باکتری‌های ریزوسفری مفید می‌باشند که می‌توانند به‌طور مستقیم از طریق تثبیت نیتروژن، تولید ترکیبات تنظیم کننده رشد گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر ترکیبات مواد محرک رشد گیاه و یا غیرمستقیم به واسطه تولید آنتی‌بیوتیک، تخلیه ریزوسفر از آهن، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه، کنترل قارچ‌های بیماریزای گیاهی، القاء سیستم دفاعی گیاه به تنش‌های غیرزنده و زنده موجب افزایش رشد گیاه گردند (گلیک و همکاران، ۱۹۹۵). قارچ‌های آربسکولار میکوریز نیز نقش مهمی در بهبود تغذیه و رشد گیاهان تحت شرایط شور دارند به‌نحوی‌که بعضی از آن‌ها را به‌عنوان اصلاح کنندگان زیستی خاک‌های شور می‌نامند (سینگ و همکاران، ۱۹۹۷). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاهی و قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش جوانه‌زنی و ظهورگیاهچه‌ها و نیز افزایش عملکرد در غلات و سایر گیاهان می‌گردند (زهیر و همکاران، ۲۰۰٤). باکتری جنس *Azospirillum* به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه غیر از تثبیت نیتروژن مولکولی قادر به تولید اکسین‌هایی نظیر ایندول استیک اسید (IAA) می‌باشد. این هورمون موجب افزایش تولید تارهای کشنده ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی از خاک می‌گردد.

وارما و همکاران (۱۹۹۸) یک نوع جدید از قارچ‌های اندوفیت (درون‌زیست) ریشه به نام *Piriformospora indica* را معرفی کردند. *P. indica* متعلق به خانواده بازیدیومایست‌ها و دارای خصوصیاتی مشابه قارچ‌های آربسکولار میکوریزا است (وارما و همکاران، ۲۰۰۱). علاوه‌بر این در مقایسه با قارچ‌های میکوریزی که همراه با میزبان رشد می‌کنند این قارچ مزیت‌های دیگری از جمله توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابل کشت بودن در محیط درون شیشه‌ای را دارد (وارما و همکاران، ۱۹۹۹). رارئا و همکاران (۲۰۱۲b) گزارش دادند که قارچ *P.indica* علاوه‌بر این‌که سطوح شوری زیاد را تحمل می‌کند بلکه تحمل به تنش شوری در گیاه میزبان را افزایش و بنابراین از اثرات سوء شوری می‌کاهد. رارئا و همکاران (۲۰۱۲c) بیان کردند که این قارچ از راه‌های مختلف نظیر افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت‌ها، اسمولیت‌ها (به‌خصوص پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل به شوری در گیاه میزبان می‌گردد و بنابراین از این نظر راه‌کارهای

1- Plant growth promoting bacteria

اتخاذ شده توسط این قارچ همانند قارچ‌های میکوریزی در کاهش اثر سوء تنش شوری در گیاه میزبان است (زارع و همکاران، ۲۰۱۲c).

بنابراین با توجه به مشکل شوری در ایران که در کمربند خشک و نیمه خشک جهان قرار گرفته و نیز گستره وسیع خاک‌های شور و اهمیّت تولید محصول در این شرایط و با توجه به این‌که نقش ریزوسازواره‌ها در رشد و نمو گیاه تحت شرایط شور به بررسی بیشتری نیاز دارد، این پژوهش با هدف ارزیابی اثر ریزوسازواره‌ها (قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* و باکتری محرک رشد گیاهی جنس *آزوسپیریلوم*) در کاهش اثرات شوری بر رشد گیاه علوفه یونجه اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر قارچ درون‌زیست (اندوفیت) ***P. indica*** و باکتری جنس ***Azospirillum*** بر رشد گیاه علوفه یونجه تحت شرایط تنش شوری آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل قارچ اندوفیت *پیریفورموسپورا ایندیکا* (تلقیح و عدم تلقیح)، باکتری *آزوسپیریلوم* (تلقیح و عدم تلقیح)، تلقیح توأم قارچ و باکتری و شاهد و سه سطح شوری خاک (۰، ۲، ٤ گرم کلریدسدیم بر کیلوگرم خاک) بود.

جهت آماده‌سازی باکتری و تلقیح نمودن بذر ابتدا بذرهای یونجه (***Medicagosativa cv. Hamedani***) را به‌ترتیب در الکل ۷۰ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه و سپس توسط هیپوکلریت سدیم ۰/۲ درصد به‌مدت دو دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردیدند تا اثر هیپوکلریت سدیم حذف گردد. سپس باکتری *آزوسپیریلوم* و قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* را به ماسه الک شده استریل جهت استفاده به‌عنوان مایه تلقیح اضافه شد.

جمعیت باکتری $۱/۳\times۱۰^{۸}$ سلول باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود. باکتری‌های موردنظر در آزمایشگاه گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تکثیر شدند (زارع و همکاران، ۲۰۱۲). مایه تلقیح قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* در کلکسیون قارچ‌شناسی گروه بیمارشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه و سپس جهت آزمایش آماده گردید (زارع و همکاران، ۲۰۱۲).

بذرهای استرسل شده در گلدان‌های با ۲۱ سانتی‌متر قطر دهانه و ۲۲ سانتی‌متر ارتفاع که با مخلوطی از رس، ماسه و کود دامی استریل به نسبت ۲:۱:۱ پر شده بود کشت گردیدند و همزمان با پر

کردن گلدان ها تیمار شوری نیز به مقدار صفر، ۲ و ٤ گرم کلرید سدیم به هر کیلو گرم خاک گلدان‌ها اضافه گردید (زارع و همکاران، ۲۰۱۲). عمل استریل رس، ماسه و کود دامی با استفاده از آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت چهار ساعت و در سه روز متوالی انجام گرفت. جهت یکنواختی پس از چند روز تعداد گیاهان به ۸ گیاه در هر گلدان کاهش یافت. از آب معمولی جهت آبیاری استفاده گردید. جهت اطمینان از همزیستی باکتری کود نیتروژن یک ماه بعد از رشد به گلدان‌ها اضافه گردید. همچنین جهت تثبیت همزیستی گیاه با قارچ فسفر نیز با فاصله زمانی یک ماه با خاک گلدان‌ها مخلوط شد (زارع و همکاران، ۲۰۱۲). رشد گیاهچه‌های یونجه در گلخانه در طی ۱۰۰ روز تحت شرایط ۱۲-۱۰ ساعت دوره روشنایی رشد نمودند. در مرحله ۲۵ تا ۳۰ درصد گلدهی نسبت به برداشت یونجه جهت ثبت عملکرد تازه و خشک و جذب عناصر اقدام گردید. صفات فیزیولوژیک مانند محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین (بیتز و همکاران، ۱۹۷۳) نیز اندازه‌گیری گردید. در پایان آزمایش وزن زیتوده خشک و تازه اندازه‌گیری شد. برای تعیین محتوای کلروفیل a و b برگ در مرحله گلدهی از استون استفاده شد و میزان جذب نور عصاره با استفاده از دستگاه اسپکترفتومتر که روی طول موج‌های ٦٦٣ و ٦٤٥ نانومتر تنظیم شده بود اندازه‌گیری شد (استرین و همکاران، ١٩٦٦). جهت اندازه‌گیری فسفر از روش خاکستر، جهت اندازه‌گیری سدیم، کلسیم و پتاسیم از فلیم فتومتر و همچنین برای اندازه‌گیری کلر از تیتیراسیون با نمک نقره استفاده گردید. غلظت پرولین برگ به‌صورت میکرومول در هر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD, $P\leq0.05$) محاسبه گردید.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر متقابل تیمارها (قارچ × باکتری، شوری × باکتری و قارچ × شوری) و اثر سه گانه تیمارها بر محتوای کلروفیل a برگ یونجه در سطح ۵ و ۱ درصد آماری معنی‌دار و هچنین اثر تیمارهای قارچ و قارچ × باکتری بر محتوای کلروفیل b برگ یونجه معنی‌دار (در سطح ۵) بود و مابقی تیمارها تأثیری معنی‌دار نداشتند (جدول ۱).

همچنین نتایج داده‌های آزمایش نشان داد که اثر متقابل تیمارها (قارچ × باکتری، قارچ × شوری) و اثر سه گانه آن‌ها بر محتوای مجموع رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ گیاه علوفه یونجه معنی‌دار بود. اثرهای

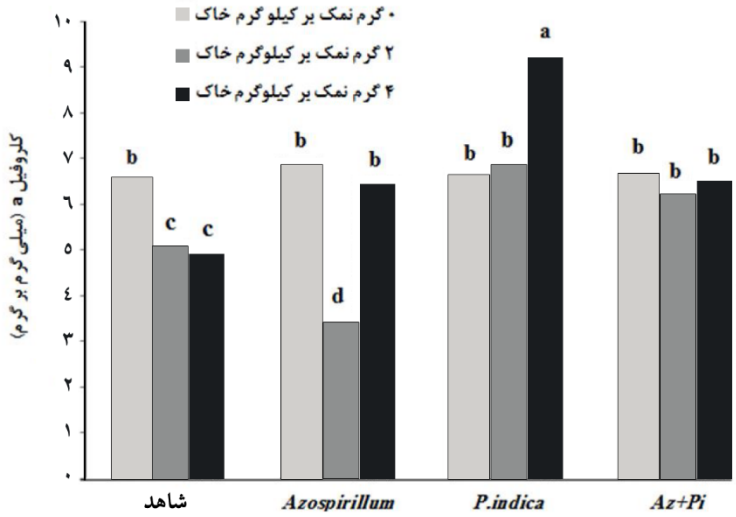
ساده تیمارها (قارچ و شوری) به تنهایی، اثر دوگانه تیمارها (قارچ × باکتری و قارچ × شوری) و نیز اثر سه گانه تیمارها بر محتوای کلروفیل $a\times b$ برگ علوفه یونجه معنی‌دار گردید (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرهای قارچ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*، باکتری*آزوسپیریلوم* و سطوح مختلف شوری خاک بر کلروفیل و پرولین گیاه علوفه یونجه

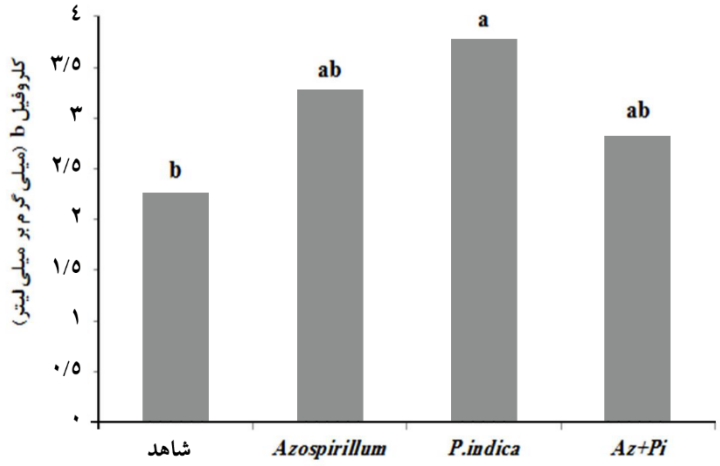
منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	مجموع رنگیزه‌های فتوسنتزی	کلروفیل $a\times b$	پرولین
بلوک	۲	۰/۰۷^{ns}	۰/۳۲^{ns}	۰/۵۶^{ns}	٤٦/٤۲^{ns}	۰/۰۰۲۵^{ns}
باکتری	۱	۱/۸۵**	۰/۰۱۵^{ns}	۱/۵۲^{ns}	٦٦/۷۰^{ns}	۰/۱۳۸**
قارچ	۱	۱۸/۳٤**	۲/٦۳*	۳٤/۸۷**	٦٤۷/۷۸**	۰/۲۰۵**
شوری	۲	۷/۹٤**	۰/۱۱^{ns}	۹/۹٦*	۱٦۸/٦٦*	۰/۰۲۸**
قارچ×باکتری	۱	۲/٦۷**	۸/۱۵*	۲۰/۱٤**	٤۷٦/۱٦**	۰/۰۰٦٦^{ns}
باکتری×شوری	۲	۱/۱۹**	۰/۷۸^{ns}	۰/۰۸٦^{ns}	۵/۹۵^{ns}	۰/۰۷۹**
قارچ×شوری	۲	٤/۸۹**	۰/٦٦^{ns}	۷/۱۷**	۱۲۱/۳٦*	۰/۰۵۱**
قارچ×باکتری×شوری	۲	٦/۰۵**	۱/۳۵^{ns}	۹/٤**	۱۸۷/۱۹**	۰/۱٤٤**
خطای آزمایش	۲۲	۰/۹٤	۱/۷۱	۱/۵۱	٦/۰۰۱	۰/۰۰۵۵
ضریب تغییرات (درصد)	–	٦/۹٤	۱۳/۲۹	۱۳/۱۷	۲۰/۸۷	۷/٤۱

*، **، به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ns: غیر معنی‌دار

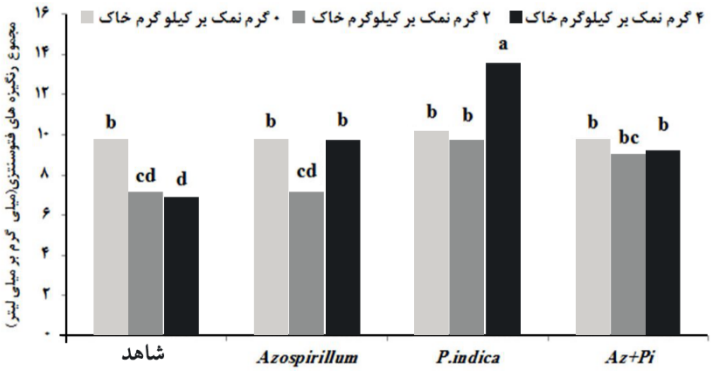
در شرایط عدم تنش شوری و شوری شدید (٤ گرم نمک در کیلو گرم خاک) بیشترین محتوای کلروفیل a به‌ترتیب در اثر کاربرد تیمار باکتری *آزوسپیریلوم* و تلقیح با قارچ *پیریفورمواسپورا ایندیکا* حاصل شد (شکل ۱). بیشترین محتوای کلروفیل b در علوفه یونجه از تیمار کاربرد قارچ ایجاد گردید (شکل ۲). بیشترین مجموع رنگریزه‌های فتوسنتزی از تلقیح گیاهان با قارچ حاصل شد (شکل ۳). بیشترین محتوای کلروفیل $a\times b$ نیز از کاربرد تیمار قارچ حاصل گردید (شکل ٤).



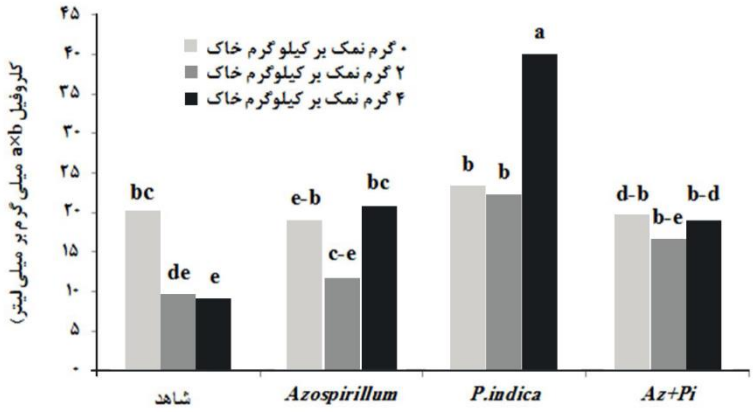
شکل ۱- محتوای کلروفیل *a* گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ آزوسپیریلوم، *Pi*؛ پیریفورمواسپورا ایندیکا



شکل ۲- محتوای کلروفیل*b* گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ آزوسپیریلوم، *Pi*؛ پیریفورمواسپورا ایندیکا



شکل ۳- محتوای مجموع رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

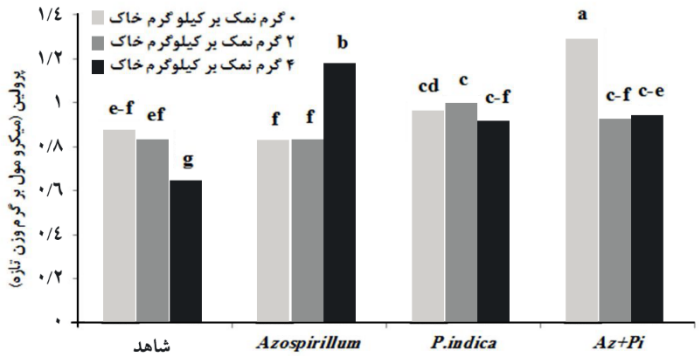


شکل ٤- محتوای کلروفیل*a*×*b* گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

تجمع یون‌های کلر و سدیم در تنش شوری منجربه بسته شدن روزنه‌های برگ و در نتیجه محدود شدن فرایند فتوسنتز می‌گردد. شوری موجب کاهش هدایت مزوفیل برگ گردیده و بنابراین موجب کاهش فوسنتز می‌گردد. همچنین شوری زوال رنگریزه‌های کلروفیلی را تسریع می‌نماید و نیز موجب کاهش هدایت دی‌اکسیدکربن و میزان کلروپلاست، کوچکتر شدن فضای بین سلولی و در نهایت کاهش فتوسنتز در گیاهان می‌گردد. شوری موجب اختلال در فعالیت آنزیم‌های سازنده رنگریزه‌های کلروفیلی می‌گردد. کاهش در جذب عناصر معدنی (به‌عنوان مثال منیزیم) موردنیاز جهت بیوسنتز کلروفیل از دیگر تأثیرهای تنش شوری است. در شرایط تنش شوری کاهش غلظت پروتئین غشایی

(آلبرت و همکاران، ۱۹۷۷)، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (ماجمادر، ۱۹۹۱) و نیز افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز (اشرف، ۱۹۹۷) منجربه کاهش کلروفیل می‌گردند. از طرفی سمیت بیش از حد یون‌های سدیم و کلر موجب آسیب به غشاء پلاسما، اندامک‌های سلولی و اختلال در فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین‌ها (فنگ، ۲۰۰۲: جونیپر و ابوت، ۱۹۹۸) و نیز موجب عدم پایداری ترکیب رنگیزه-پروتئین در گیاه می‌گردد (سینگ و همکاران، ۱۹۹٤). میزان محتوای بالای کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزی تحت تنش شوری توسط بسیاری از محققین گزارش گردیده است (سانازارو و همکاران، ۲۰۰٦؛ شنگ و همکاران، ۲۰۰۸؛ گری و موکرمی، ۲۰۰٤).

پرولین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای دوگانه تیمارها (باکتری × شوری و قارچ × شوری) و اثرهای سه گانه آن‌ها بر میزان پرولین یونجه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان پرولین در شرایط عدم تنش شوری و شوری شدید به‌ترتیب از کاربرد دوگانه قارچ× باکتری و تلقیح به تنهایی باکتری حاصل شد (شکل ۵). پرولین متداولترین تنظیم کننده اسمزی در اغلب گیاهان است که حتی در سایر ریزسازواره‌ها نیز تجمع می‌یابد. تحت شرایط تنش تجمع اسید آمینه پرولین در ریزسازواره‌ها افزایش می‌یابد. اسید آمینه پرولین به غیر از تنظیم اسمزی نقش حفاظتی از دیواره سلولی را نیز بر عهده دارد. انواع اکسیژن‌های فعال تحت شرایط تنش در سلول تشکیل می‌گردد که به‌سرعت باعث تخریب دیواره سلولی و ترکیب‌های سیتوپلاسمی می‌شود. بنابراین تحت تنش ریزوسازواره‌ها کارائی تنظیم اسمزی گیاه را افزایش و بنابراین در حفظ و بقاء گیاه کمک می‌نمایند. پژوهشگران دیگر از جمله حاجی‌نیا و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش میزان پرولین در گیاهان گندم تلقیح شده با قارچ *پیریفورمواسپورا ایندیکا* تحت تنش شوری را گزارش دادند.



شکل ۵- میزان پرولین گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ آزوسپیریلوم، *Pi*؛ پیریفورمواسپورا ایندیکا

جذب عناصر غذایی

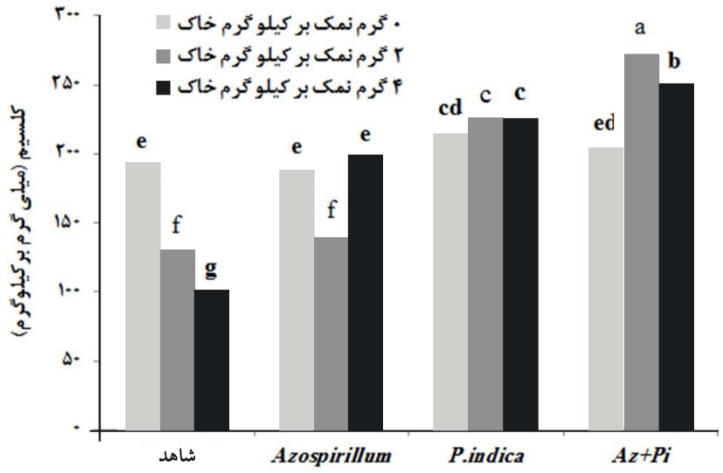
کلسیم: نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اثرات دوگانه قارچ × باکتری، شوری × باکتری و قارچ × شوری و نیز اثر سه‌گانه تیمارها بر میزان محتوای کلسیم علوفه یونجه در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*، باکتری *آزوسپیریلوم* و سطوح مختلف شوری خاک بر عملکرد یونجه و وزن خشک علوفه آن.

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلسیم	فسفر	پتاسیم	کلر	سدیم	وزن خشک علوفه
بلوک	۲	٤٥/٦^{ns}	۰/۰۰۰۲۳^{ns}	۳٤٦/۰۹^{ns}	۱۹۳/۷۷^{ns}	۲۱/۷٥^{ns}	٥۰/۱۸*
باکتری	۱	٦۷۷٤/۰۳**	۰/۰۰۱۱**	۳٥٦/٤٦^{ns}	۸۲۱/۷۷**	۱۱/٦۲^{ns}	۸/٥٥ ^{ns}
قارچ	۱	٤۹۹۹٤/۲٦**	۰/۰۰۱٦**	۳٥۰۰/۸۱**	۱۱۸۰۸/٤٤**	۱۲٥/٤٤**	۱٤٦/۰٤**
شوری	۲	۱۹۸/۰٤^{ns}	۰/۰۰۰۰۸^{ns}	۸۰٤/۰٥^{ns}	۳٤٦۸/۱۱**	۷٤/۹۳**	۱۰٥/۲۰**
قارچ×باکتری	۱	٤۲۳/۳۷**	۰/۰۰۲۲**	۱۹۲۲۹/۸۸**	۱۷٤٦/۰۰**	۱٦۰/۳۰**	۱۱٤/٥۲**
باکتری×شوری	۲	۳٤۰۰/۳٦**	۰/۰۰۰۳٤*	٦٤۳/۸۳^{ns}	۲٤/۱۰^{ns}	٦/٦٤^{ns}	۲۲/٤٦ ^{ns}
قارچ×شوری	۲	۷۱٤۹/۹۰**	۰/۰۰۰۳٥**	٥۲۱٦/۳۸**	٤۰٦/۷۷^{ns}	۸۱/۳٤**	۹/٤۸ ^{ns}
قارچ×باکتری×شوری	۲	۲۳٤۱/۲۷**	۰/۰۰۰۷٤**	۲۱۱٤/٦۱**	۸۱/۰۰^{ns}	۲۱/٥۸^{ns}	۱۷/۱۷ ^{ns}
خطای آزمایش	۲۲	۹۹/٥۱	۰/۰۰۰۰۷	۳٤۱/۸۹	۱۳۰/٥٥	۹/۲۱	۷/۳۷
ضریب تغییرات	-	٥/۰۷	٥/۸٥	۹/٦٦	۱٦/٦٦	۲۰/٥٤	٦/۹۹

*، **، به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰٥، ۰/۰۱ و ns: غیر معنی‌دار

بیشترین میزان کلسیم گیاه یونجه تحت عدم شوری از گیاهان تلقیح شده با قارچ و در شوری شدید از تلقیح توأمان باکتری و قارچ حاصل گردید (شکل ٦).

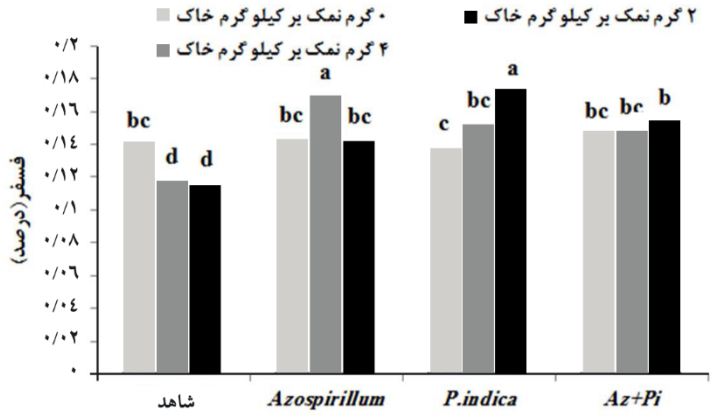


شکل ٦- محتوای کلسیم گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

کلسیم به‌عنوان یک پیامرسان ثانویه تحت تنش شوری عمل می‌کند. برخی از تحقیق‌های انجام گرفته تأیید کرده‌اند که رابطه میکوریزی موجب افزایش جذب کلسیم توسط گیاه می‌گردد (سنترال و لیندرمن، ۲۰۰۱). غلظت بالای کلسیم اثرات سودمندی بر اثرات سوء شوری جهت انتخاب بیشتر نسبت پتاسیم به سدیم که منجربه سازگاری تحت شوری می‌گردد، دارد. مقدار کلسیم بالا جهت افزایش میزان کلونیزاسیون و تولید هاگ برای گیاهان میکوریز ضروری است.

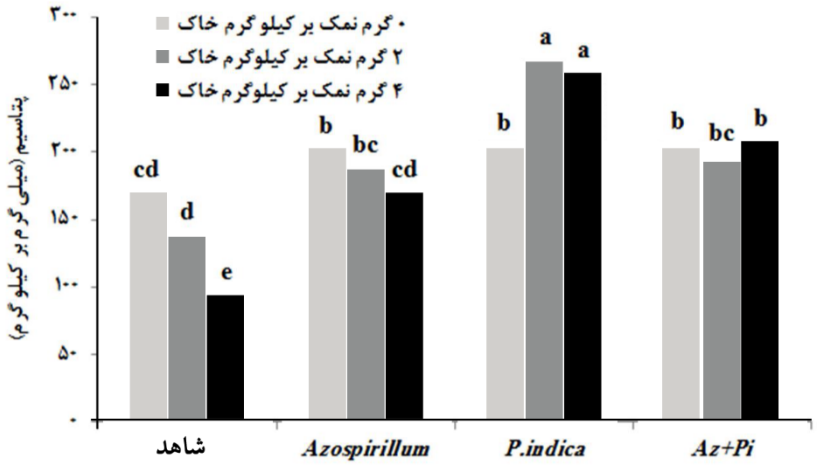
فسفر: نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثرات ساده تیمار باکتری و قارچ و اثرهای دوگانه آن‌ها (قارچ × باکتری، شوری × باکتری و قارچ × شوری) و نیز اثر سه گانه تیمارها بر میزان فسفر گیاه یونجه معنی‌دار (در سطح ۵ و ۱ درصد) بود (جدول ۲).

بیشترین درصد فسفر گیاه یونجه در شرایط شوری شدید به‌ترتیب از تلقیح با قارچ و سپس از تلقیح توأمان قارچ و باکتری حاصل شد (شکل ۷).



شکل ۷- مقدار فسفر گیاه علوفه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ آزوسپیریلوم، *Pi*؛ پیریفورمواسپورا ایندیک

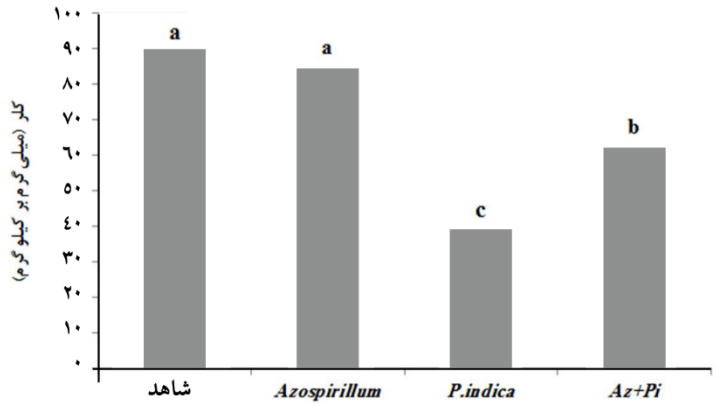
شوری خاک موجب کاهش قابل توجه عناصر غذایی به‌خصوص فسفر می‌شود. تحت شوری فسفات با Ca^{2+}، Mg^{+2+} و $Zn^{۲+}$ رسوب و غیرقابل استفاده برای گیاه می‌گردد. بنابراین جهت جلوگیری ازتثبیت فسفر در تنش شوری کوددهی جهت رشد گیاه ضروری است (سنترال و لیندرمن، ۲۰۰۱). میکوریزا غلظت فسفر در گیاهان را به واسطه دارا بودن شبکه گسترده‌ای از هیف افزایش می‌دهد. تخمین زده شده که در حدود ۸۰ درصد از فسفر موردنیاز گیاه توسط میکوریز تأمین می‌گردد. **پتاسیم**: نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اثرات دوگانه تیمارها (قارچ×باکتری و قارچ×شوری) و نیز اثر سه‌گانه آن‌ها بر میزان محتوای پتاسیم یونجه در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین میزان پتاسیم گیاه یونجه در شرایط عدم تنش شوری از تلقیح توأمان و به‌تنهایی قارچ و باکتری و در شرایط تنش شوری شدید از تلقیح با قارچ حاصل شد (شکل ۸).



شکل ۸- مقدار پتاسیم گیاه علوفه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ آزوسپیریلوم، *Pi*؛ پیریفورمواسپورا ایندیکا

تحت شوری نسبت پایین K^+ به Na^+ در گیاهان میکوریزی با افزایش جذب پتاسیم به سود سدیم شکسته و جذب پتاسم در این گیاهان بیشتر از عنصر مضر سدیم می‌شود. قارچ‌های میکوریزی قادرند جذب K^+ را تحت شرایط شور افزایش (شریفی و همکاران، ۲۰۰۷؛ گری و همکاران، ۲۰۰۷؛ آلگاسیل و همکاران، ۲۰۰۳) و از انتقال Na^+ به گیاه جلوگیری کنند. قارچ‌های میکوریز توانایی افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز را دارند. نیترات ردوکتاز آنزیم اصلی احیاء نیترات است. افزایش نیترات احیاء شده می‌تواند عامل بالقوه‌ای جهت افزایش پروتئین باشد (هاریل و گردمن، ۱۹۸۰). جذب Na^+ نیز ممکن است تحت تأثیر سنتز و ذخیره‌سازی پلی‌فسفات (الوریچ و اشفورد، ۱۹۹۳) و نیز توسط سایر کاتیون‌ها مخصوصاً K^+ قرار گیرد (گری و همکاران، ۲۰۰٤). نسبت بالای K^+ به Na^+ بر تعادل یونی سیتوپلاسم یا پخش سدیم به خارج از گیاه اثر دارد (آلن و سونینگام، ۱۹۸۳).

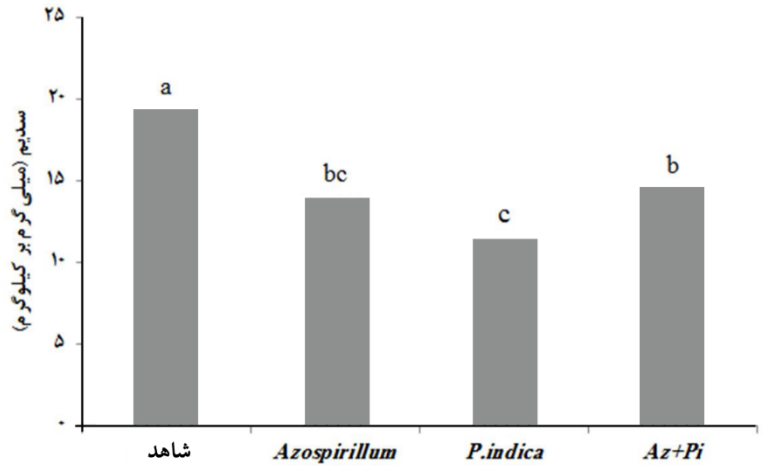
کلر: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثرات دوگانه تیمار قارچ × باکتری بر میزان کلر معنی‌دار و بقیه تیمارها تأثیری نداشتند (جدول ۲). کمترین میزان عنصر کلر در گیاه یونجه از تلقیح گیاهان با تیمار قارچ حاصل گردید (شکل ۹).



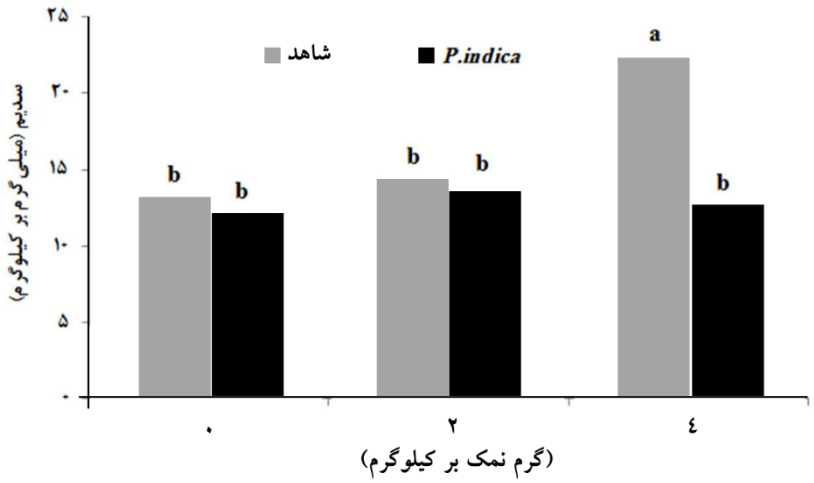
شکل ۹- محتوای کلر یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

بنا به گزارش ماشنر (۱۹۹۵) کلر به‌سهولت توسط گیاه جذب و در مسافت‌های کوتاه و طولانی درون گیاه از تحرک زیادی برخودار است. علاوه‌بر این کلر به‌سهولت از برگ‌های بالغ خارج می‌گردد. غلظت بالای کلر در بافت می‌تواند برای گیاهان زراعی سمی و برای کشاورزی در مناطق شور محدودیت ایجاد نماید (ژو همکاران، ۲۰۰۰). این مشکلات با کاربرد ریزسازواره‌ها و از طریق عدم جذب کمتر کلر تا حدی مرتفع می‌گردد (زوکارینی و اکوروسکا، ۲۰۰۸).

سدیم: نتایج حاصل از داده‌های آزمایش نشان داد که اثراهای دوگانه تیمارها (قارچ × باکتری، قارچ × شوری) بر میزان سدیم یونجه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). کمترین میزان عنصر سدیم در شرایط تنش و عدم تنش شوری از تلقیح گیاه یونجه با کاربرد قارچ حاصل گردید (شکل ۱۰ و شکل ۱۱).



شکل ۱۰- مقدار جذب سدیم گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

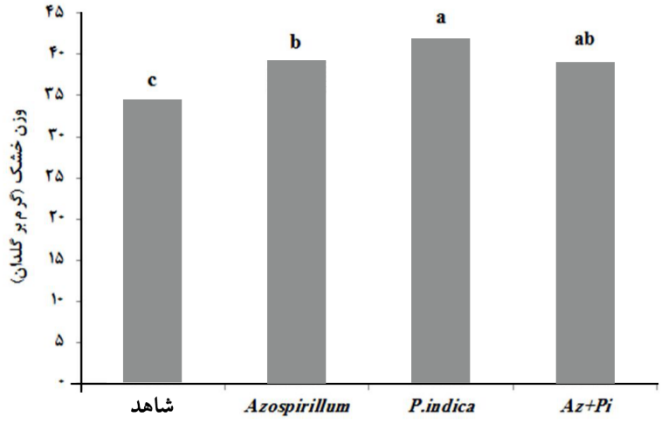


شکل ۱۱- میزان جذب سدیم گیاه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

سدیم موجب کاهش جذب پتاسیم و نیز کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد. با این‌که غلظت‌هایی از سدیم در برگ جهت حفظ فشار آماس سلول‌های گیاه مفید است اما سدیم نمی‌تواند

جانشین مناسبی برای پتاسیم محسوب گردد زیرا پتاسیم برای سنتز پروتئین و فعالیت آنزیم اختصاصی عمل می‌کند (مارشنر، ۱۹۹۵). گزارش گردیده که گیاهان میکوریزی سطح‌های پایین‌تری از Na^+ را دارا بودند (شریفی و همکاران، ۲۰۰۷؛ دیکسون و همکاران، ۱۹۹۳). نتایج این آزمایش نشان داد که قارچ *P.indica* موجب کاهش جذب سدیم به گیاه یونجه گردید.

وزن خشک: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده قارچ و شوری و اثر دوگانه تیمار قارچ × باکتری بر وزن خشک علوفه یونجه در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین مقدار وزن خشک علوفه یونجه از تلقیح گیاهان با قارچ حاصل گردید (شکل ۱۲).



شکل ۱۲- مقدار وزن خشک گیاه علوفه یونجه تحت تأثیر قارچ *P. indica* و باکتری *Azospirillum* در شرایط تنش شوری خاک. *Az*؛ *آزوسپیریلوم*، *Pi*؛ *پیریفورمواسپورا ایندیکا*

رشد گیاه و زیست‌توده آن تحت شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد که علت آن از دسترس خارج شدن عناصر مغذی و هزینه‌کرد انرژی برای مقابله با اثرهای سمی نمک توسط گیاه است. افزایش عملکرد تازه و خشک علوفه یونجه تحت تنش و غیر تنش شوری می‌تواند مربوط به جذب کم سدیم و افزایش جذب عناصری مثل فسفر، کلسیم، نیتروژن و پتاسیم و نیز حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی در شرایطی که گیاه با باکتری و قارچ تلقیح شده بودند باشد. بسیاری از محققین گزارش دادند که گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیر میکوریزی تحت شرایط تنش شوری از رشد بهتری برخوردار بودند (آل-کراکی، ۲۰۰۰؛ سنترال و لیندرمن، ۲۰۰۱؛ سانازارو و همکاران، ۲۰۰۷؛ زاکارینی و اکوروسکا،

۲۰۰۸). افزایش رشد گیاهان میکوریزی را ناشی از افزایش جذب عناصرغذایی به‌خصوص فسفر بیان می‌نمایند (شریفی و همکاران، ۲۰۰۷).

نتیجه‌گیری کلی

کاربرد ریزسازواره‌ها اثر مثبتی بر وزن تازه و خشک علوفه یونجه تحت شرایط تنش و عدم تنش شوری خاک داشت. تحت شرایط شور بهبود رشد گیاه یونجه تلقیح شده با ریزسازواره‌ها به واسطه افزایش تنظیم کننده‌های اسمزی و افزایش محتوای کلروفیل و کاهش اثرات سوء سدیم و کلر و افزایش پتاسیم و نیتروژن بود. در کشور ایران که سطح وسیعی از اراضی کشاورزی متأثر از پدیده شوری است استفاده از این ریزموجودات مفید می‌تواند راه‌کاری جهت افزایش تحمل گیاه یونجه به شوری باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان به‌خصوص نویسنده دوم از زحمات و مشاوره‌های آقایان دکتر ابراهیم محمدی گل تپه و دکتر آجیت وارما تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1.Alberte, R.S., and Throner, J.P. 1977. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. Plant Physiol., 59:351-353.
2.Alguacil, M.M., and Hernandez, J.A., Caravaca F., Portillo B., and Roldan A. 2003. Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. Physiologia. Plantarum., 118: 562–570.
3.Al-Karaki, G.N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza online J., 10: 51–54.
4.Allen, E.B., and Cunningham, G.L. 1983. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Distichlis spicata* under three salinity levels. New Phytologist., 93: 227–236.
5.Ashraf, A. 1997. Changes in soluble carbohydrares and soluble proteins in three and Zone grass species under salt stress, trop. Agric., 74:234-237.
6.Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil., 39:205-207.

7.Brown, M.E. 1974. Seed and root bacterization. Ann. Rev. of Phytopathol., 12: 181–197.
8.Cantrell, I.C., and Linderman, R.G. 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. Plant and Soil., 233:269–281.
9.Dixon, R.K. Garg, V.K. and Rao, M.V. 1993. Inoculation of Leucaena and Prosopis seedlings with *Glomus* and *Rhizobium* species in saline soil: rhizosphere relations and seedlings growth. Arid Soil Res. Rehab., 7:133–144.
10.Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.l, Tian, C.Y., Tang C., and Rengel, Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by *arbuscular mycorrhiza* is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza, 12:185–190.
11.Gallagher, J.K. 1985. Halophytic crops for cultivation at seawater salinity. Plant and Soil., 89: 323–336.
12.Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbaniaaegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza, 14: 307–312.
13.Giri, B., Kapoor, R., and Mukerji, K.G. 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stressbyarbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum*, may be partly related to elevated K^+/Na^+ ratios in root and shoot tissues. Microbial Ecol., 54: 753–760.
14.Glick, B., Karaturovic, M., and Newell, P.C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *pseudomonads*. Can. J. Microbiol., 41, 533-536.
15.Gorham, R.G., Jones, W., and Donnell, E.M. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. Plant and Soil., 6: 15-40.
16.Hajinia S., Zarea M.J., Mohammadi., Goltapeh, E., and Rejali, F.A. 2010. Effect of *Piriformosporaindica* and *Azospirillum*strains on alleviation detrimental effect of salt stress on wheat. Environ. Stre. Crop. Sci., 4: 169-181.
17.Hirrel, M.C., and Gerdemann, J.W. 1980. Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soci. of American. J., 44: 654–665.
18.Juniper, S., and Abbott, L.K. 1998. Inhibition of hyphal growth of a vesicular-*arbuscular mycorrhizal* fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. Soil Biol. and Biochem., 30:1639–1646.
19.Kafi, M., and Khan, M.A. 2008. Relatve salt tolerance of south Khorasan millets. Desert., 14: 63-71.
20.Majumdar, S., Ghosh, S., Glick, B.R., and Dumbroff, E.B. 1991. Activities of chlorophylase, phosphoenolpyrovate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. Plant., 81:473-480.
21.Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press.

22.Møller, I.M. 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol., 52:561–591.
23.Naidoo, G., and Rughunanen, R. 1990. Salt tolerance in the succulent coastal halophytes, *Sarcocarnia natalensis*. J. Exp. Bot., 41:497-502.
24.Olrovich, D.A., and Ashford, A.E. 1993. Polyphosphate granules are artifact of specimen preparation in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Protoplasma., 173:91–102.
25.Sannazzaro A.I., Ruiz O.A., Albetro´ E.O., and Mene´ndez, A.B. 2006. Alleviation of salt stress in *Lotus glaber* by *Glomus intraradies*. Plant and Soil., 285: 279–287.
26.Sannazzaro A.I., Echeverria, M., Alberto´ E.O., Ruiz O.A., and Mene´ndez A.B. 2007. Modulation of polyamine balance in *Lotus glaber* by salinity and arbuscular mycorrhiza. Plant. Physiol. and Biochem., 45:39-46.
27.Sharifi, M., Ghorbanli, M., and Ebrahimzadeh, H. 2007. Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with pre-treated mycorrhizal fungi. J. of Plant. Physiol., 164:1144-1151.
28.Sheng, M., Tang, M., Chan, H., Yang, B., Zhang, F., and Huang, Y. 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. Mycorrhiza., 18: 287–296.
29.Singh, R.P., Choudhary, A., Gulati, A., Dahiya, H.C., Jaiwal, P.K., and Sengar, R.S. 1997. Response of plants to salinity in interaction with other abiotic and factors. In: Jaiwal, P.K., Singh, R.P., Gulati, A. (Eds.), Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants. Science Publishers, Enfield, N.H., pp: 25-39.
30.Singh, S.P., Singh, B.B., Maharaji, S., and Singh, M. 1994. Effect of kinetin on chlorophyll, nitrogen and prolinein *Vigna radiate* under saline condition. J. Plant Physiol., 37: 37-47.
31.Strain, H.H., and Svec, W.A. 1966. Extraction, separation, estimation and isolation of chlorophylls. In: Vernon LP, Seely GR (eds) The Chlorophylls. Academic Press, New York, pp: 21–66.
32.Varma, A., Singh, A., Sahay, N., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharati, K., Franken, P., Hurek, T., Blechert, O., Rexer, K.H., Kost, G., Hahn, A., Hock, B., Maier, W., Walter, M., Strack, D., and Kranner, I. 2001. *Piriformospora indica*: A cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Hock B (ed) Mycota IX. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 123–150.
33.Varma, A., and Hock, B. 1999. Mycorrhiza. Springer Verlag Belin, Hiedelbery. New York, PP: 704.
34.Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Hasselm, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Buetehorn, B., and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica* gen. nov; a new root-colonizing fungus. Mycologia., 90: 895–909.

35.Xu, G., Magen, H., Tarchitzky, J., and Kafkaki, U. 2000. Advances in chloride nutrition. Adv. in Agron., 68: 96–150.
36.Zahir, Z.A., Arshad, M., and Frankenberger, W.T. 2004. Plant growth promotion rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Adv. Agron., 81:97-168.
37.Zarea, M.J., Chordia, P., and Varma A. 2012c. *Piriformospora indica* versus Salt Stress, IN: Sebacinales (A. Varma, G. Kost and R. Oelmüller), Sringer-Verlag, in press.
38.Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., and Varma, A. 2012a. Effect of *Piriformospora indica* and*Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biol. Biochem., 45:139-146.
39.Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., Varma, A., 2012b. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biol. and Biochem., 45, 139-146.
40.Zuccarini, P., and Okurowska, P. 2008. Effects of mycorrhizal colonization and fertilization on growth and photosynthesis of sweet basil under salt stress. J. Plant Nut., 31: 497–513.

EJCP., Vol. 7 (1): 109-129
http://ejcp.gau.ac.ir

Physiological and nutritional responses of inoculated Alfalfa (*Medicago sativa. cv hamedani*) with the fungus *Piriformospora indica* and bacterium *Azospirillum Spp* under salt stress

A. Karami[1] and *M.J. Zarea[2]

[1]M.Sc. Graduated of Agronomy, Faculty of Agriculture, University, Ilam, Iran,
[2]Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, University, Ilam, Iran

Accepted: 2012/10/28 ; Received: 2013/11/26

Abstract

In order to investigate the effects of inoculation of fungal endophytes *Piriformospora indica* and bacteria symbiosis *Azospirillum Spp* on growth and physiological characterization of alfalfa forage under salt stress, an experiment was conducted in a factorial arrangement in a completely randomized block design with three replications in the Agricultural Research greenhouse of Ilam University. The treatments were two levels of application of fungal endophytes (fungi *P.indica* bacteria *Azospirillum Spp* (inoculated and non- inoculated), inoculated with fungus and bacteria and integrated control of soil salinity levels (0, 2, 4 g cholorid sodium/ kg soil), respectively. Nutritional response included nitrogen, phosphor, potash, calcium, sodium and chloride absorption and physiological responses of alfalfa included proline and chlorophyll concentration and biomass production. *P.indica* fungi had positive and statistically significant effect on growth, fresh and dry weight of forage, photosynthesis pigment, proline and nutrient uptake under saline conditions. Fungi inoculation reduced the adverse effects of salinity by reducing toxic absorption of sodium and chloride and increased chlorophyll content of alfalfa hay. Alfalfa inoculated with bacteria produced more proline and chlorophyll content. Inoculation with Rhizobium bacteria had more favorable effect on chlorophyll content, proline and nutrient. The results showed that application of these microorganisms reduced salinity effect on plant.

Keywords: Salinity, Alfalfa, Fungi endophyte, Bacterial PGPR

*Corresponding author; mj.zarea@ilam.ac.ir