اثرات آلودگی دی‌اکسیدگوگرد بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی یونجه (*Medicago sativa*) تلقیح شده با ریزوبیوم

مهری عسکری[۱*]، شیما حسین‌خانی هزاوه[۲]، فریبا امینی[۱]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۱۲/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۱)

چکیده

دی‌اکسیدگوگرد (SO_2) یکی از آلاینده‌های مهم اتمسفر است که سبب القاء اثرات منفی در فیزیولوژی و بیوشیمی سلولی گیاهان می‌شود. از طرفی تلقیح ریزوبیومی می‌تواند سبب افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی شود. در این مطالعه، اثرات غلظت‌های مختلف گاز دی‌اکسیدگوگرد (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، پروتئین، گوگرد، پتاسیم و فسفر گیاه یونجه تلقیح‌یافته با ریزوبیوم (سویه بومی و استاندارد) در شهر اراک ارزیابی شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های بالای دی‌اکسیدگوگرد (۱، ۱/۵ و ۲ppm) سبب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم، فسفر و افزایش مقدار گوگرد و پرولین در مقایسه با گیاهان کنترل شد. در غلظت پایین گاز SO_2 (۰/۵ ppm) افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم و فسفر مشاهده شد. تلقیح ریزوبیومی به‌تنهایی سبب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم و فسفر شد ولی بر مقدار پرولین و جذب عنصر گوگرد تأثیر معنی‌داری نداشت. تلقیح یونجه با دو سویه ریزوبیوم تغییرات ناشی از غلظت‌های بالای گاز SO_2 را بر این شاخص‌های بیوشیمیایی به‌طور معنی‌داری (در سطح ۰/۰۱) در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش داد. بنابراین مایه تلقیح ریزوبیومی می‌تواند مقاومت گیاهان میزبان را نسبت به تنش آلودگی SO_2 هوا افزایش دهد و به‌عنوان کود زیستی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی هوا، پروتئین، پرولین، رنگیزه فتوسنتزی، عناصر ضروری، مایه تلقیح ریزوبیومی

۱ و ۲. به ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m-askary@araku.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

مقدمه

کاربرد شایع زغال‌سنگ و نفت خام به‌عنوان منبع انرژی برای صنایع، آتش‌سوزی جنگل‌ها، فوران‌های آتشفشانی، ذوب سنگ معدن و تولید آهن، فولاد، آلومینیم، مس، سرب، روی و طلا منجر به نشر حجم زیادی آلاینده گاز دی‌اکسیدگوگرد SO_2 به اتمسفر می‌شود (۲۹ و ۳۷). با وجود تنوع زیاد منابع تولید کننده این آلاینده در طبیعت، محققین معتقدند که به‌دلیل استفاده از نفت و زغال به‌عنوان منبع انرژی در بخش صنایع، ۹۰٪ از SO_2 منتشر شده به هوا نتیجه فعالیت‌های انسانی می‌باشد (۲۳). گاز دی‌اکسید گوگرد در غلظت‌های پایین به‌عنوان یک ماده‌ی غذایی تأمین‌کننده گوگرد مورد نیاز گیاه دارای اثرات مثبتی در رشد و نمو گیاه می‌باشد (۲۷). اما غلظت‌های بالا، اثرات منفی بر متابولیسم و فرایندهای رشد و نموی گیاه دارد. اثرات منفی SO_2 بر گیاهان بسیار گسترده است. SO_2 به‌طور طبیعی به میزان ۰/۵ ppm – ۰/۰۵ در مناطق شهری وجود دارد و به‌میزان ۲ ppm یا بیشتر در مکان‌های با هوای آلوده وجود دارد که منبع اصلی گوگرد اتمسفری می‌باشد، بنابراین زمانی‌که غلظت این گاز از حد طبیعی خود که بین ۰/۵ ppm – ۰/۰۵ می‌باشد، بیشتر شود آلودگی گاز SO_2 رخ می‌دهد (۲۴). این گاز به‌آسانی از طریق روزنه‌ها وارد برگ شده و بر ساختار کلروپلاست اثر گذاشته و در نهایت رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۳). تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از تنش SO_2 شامل کاهش فعالیت فتوسنتزی، افزایش تنفس، تغییر تولید آنزیم‌ها، تغییر رشد و تغییر جذب عناصر غذایی می‌باشد. میزان تغییرات، به غلظت گاز SO_2، مدت زمان قرار گرفتن در معرض گاز، حساسیت نسبی گیاه نسبت به گاز و مکانیسم‌هایی که گیاه برای زدودن این گاز به‌کار می‌گیرد یا توانایی گیاه برای ترمیم آسیب‌های ناشی از تنش این گاز، بستگی دارد (۲۱ و ۲۵).

ریزوباکترهای محرک رشد گیاه مثل ریزوبیوم ضمن افزایش رشد گیاهان همزیست با آنها می‌توانند از اثرات زیان‌آور عوامل تنش‌زای محیطی جلوگیری کنند (۳۴ و۴۳). ریزوبیوم مشهورترین باکتری محرک رشد گیاه و آندوفیت طبیعی گیاهان خانواده بقولات است. در هنگام تنش‌های غیرزیستی، ریزوبیوم با القای یکسری تغییرات فیزیکی و شیمیایی در گیاهان، سبب افزایش مقاومت به تنش می‌شود، فرآیندی که به‌عنوان مقاومت سیستمیک القایی (Induced Systemic Resistance) مطرح می‌شود (۱۸). از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به تولید آنزیم ای سی‌سی- دآمیناز (ACC deaminase)، تولید هورمون‌هایی مثل آبسیزیک‌اسید که موجب بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شود و آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل سوپراکسیددیسموتاز اشاره کرد. تولید ترکیبات اسمولیت که در هنگام تنش منجر به ایجاد تعادل اسمزی در گیاه می‌شوند نیز از دیگر سازوکارها می‌باشد (۳۵). به‌همین علت همزیستی لگوم- ریزوبیوم به‌عنوان کاندیدای خوب در زیست پالایی آلاینده‌ها پیشنهاد شده است (۱۸).

گیاه یونجه (*Medicago sativa*) به‌عنوان ملکه نباتات علوفه‌ای با سطح زیر کشت ۳۲ میلیون هکتار در جهان، علوفه غالب در مناطقی با آب و هوای معتدل است (۲۰). مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی اثرات گاز SO_2 هوا بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه یونجه و ارزیابی اثرات دو سویه باکتری ریزوبیوم (استاندارد و بومی) بر کاهش اثرات منفی آلودگی گاز SO_2 هوا در سال ۹۱-۱۳۹۰ و در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اراک صورت گرفت تا در صورت بقاء و تولید زیست‌توده کافی در حضور آلاینده SO_2، کاشت گیاه علوفه‌ای یونجه در اطراف شهرهای آلوده مثل اراک پیشنهاد گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری و آماده‌سازی مایه تلقیح: ریزوبیوم بومی از ریشه گیاه یونجه جمع‌آوری شده از زمین‌های مزروعی اطراف اراک استخراج شد (۳۹). ریزوبیوم استاندارد (*Rhizobium meliloti* PTCC 1684) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. از آنجا که غلظت بهینه ریزوبیوم جهت تحریک رشد یونجه 10^5 سی‌اف‌یو بر میلی‌لیتر ($cfu\ mL^{-1}$) گزارش شده (۱۳)، غلظت فوق از هر دو سویه ریزوبیوم (*Rhizobium*

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

meliloti) بومی و استاندارد تهیه گردید.

تهیه و تلقیح بذر: بذر یونجه رقم همدانی (*Medicago sativa* cv. Hamedani) از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اراک تهیه شد. پس از سترون‌سازی (۴۱)، بذرها به سه گروه تقسیم شدند. یک گروه از بذرها در مایه تلقیح باکتری بومی تحت خلاء و درجه حرارت محیط به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. گروه دوم مایه تلقیح باکتری استاندارد را با همان شرایط بالا و گروه سوم (شاهد) در همان شرایط و در بافر فسفات استریل (بدون باکتری) قرار گرفتند. بعد از جوانه‌زنی، بذرها به میکروتیوب‌های استریل درون گلدان (۲۲ در ۳۱ سانتی‌متر) و حاوی دو لیتر محلول غذایی منتقل شدند. اکسیژن‌دهی به‌وسیله پمپ هوا انجام شد. هر گلدان محتوی بذرهای یونجه 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.

تزریق گاز SO_2: گاز دی‌اکسیدگوگرد ۰/۱ درصد از پتروشیمی شازند اراک تهیه شد. ۳۵ روز پس از رشد گیاهان، تزریق گاز SO_2 در غلظت‌های مختلف ۰ (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ppm ۲ به ظروف محتوی گیاهان تلقیح نشده، گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم بومی و استاندارد انجام شد (۱). تزریق گاز به‌وسیله سرنگ به‌مدت ۶ 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 (۲۲).

سنجش فاکتورهای فیزیولوژیک و عناصر: اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل به‌روش آرنون (۴)، کاروتنوئید به روش لیچنتالر و ولبورن (۲۶)، پرولین به‌روش بتز (۹)، پروتئین کل به‌روش برادفورد (۱۲)، گوگرد به‌روش وزن‌سنجی (۱۵) پتاسیم به‌روش فلیم‌فوتومتری (۴۰) و فسفر به‌روش اسپکتروفتومتری (۱۶) در گیاهان یونجه ۴۵ روزه انجام شد. آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی گیاهان یونجه ۴۵ روزه، اثر معنی‌دار (سطح ۰/۰۱) تلقیح باکتریایی را بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، فسفر و پتاسیم نشان داد. اما تلقیح اثر معنی‌داری بر میزان پرولین و گوگرد نداشت (جدول ۱). میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، پروتئین، فسفر و پتاسیم در گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم ملیلوتی نسبت به گیاهان تلقیح نشده بیشتر بود و اثر سویه بومی ریزوبیوم نسبت به سویه استاندارد بر میزان این شاخص‌ها چشمگیرتر بود. سویه بومی ریزوبیوم ملیلوتی به‌ترتیب باعث افزایش ۲۶/۷۱، ۳۲/۹۴، ۲۴/۷۹ و ۳۶/۶۶ درصدی و سویه استاندارد باعث افزایش ۱۱/۶۴، ۱۶/۴۷، ۱۰/۰۸ و ۳۱/۱۱ درصدی میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد (تلقیح نشده) شد. تلقیح یونجه با سویه بومی ریزوبیوم به‌ترتیب سبب افزایش ۳۸/۴۶، ۷۸/۱۶ و ۵۳/۶۱ درصدی و تلقیح با سویه استاندارد افزایش ۲۵/۶۴، ۶۶/۴۱ و ۲۵/۲۶ درصدی میزان پروتئین، پتاسیم و فسفر شد (جدول ۲).

تیمار گاز SO_2 بر تمامی شاخص‌های بیوشیمیایی مورد بررسی اثر معنی‌داری (سطح ۰/۰۱) داشت (جدول ۱). اما اثر گاز SO_2 بر شاخص‌های بیوشیمیایی مورد بررسی وابسته به غلظت متفاوت بود. به‌طوری‌که غلظت ppm ۰/۵ گاز SO_2 باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، پروتئین، پتاسیم و فسفر به‌ترتیب به‌میزان ۳۴/۹۲٪، ۱۸/۷۵٪، ۳۰/۸۲٪، ۱۷/۰۲٪، ۱۹٪، ۳۸/۶۷٪ و ۳۱/۳۱٪ نسبت به گیاهان شاهد شد. میزان پرولین و گوگرد در گیاهان تحت غلظت ppm ۰/۵ گاز SO_2 تغییر معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نداشت. ولی با افزایش غلظت گاز SO_2 کاهش معنی‌داری در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم و فسفر نسبت به شاهد مشاهده شد. به‌طوری که در غلظت

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0] [Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

جدول ۱. آنالیز واریانس اثر تلقیح ریزوبیومی، تیمار SO_2 و اثر برهمکنش آنها بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان یونجه ۴۵ روزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات							
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل‌کل	پرولین	کاروتنوئید	پروتئین	گوگرد	پتاسیم	فسفر
تیمار تلقیح ریزوبیوم	۲	۰/۵۶۹**	۰/۲۹۳**	۱/۳۵۵**	۱۵/۸۵۱^{ns}	۰/۴۱۴**	۴۶/۲۲۲**	۰/۱۶۰^{ns}	۲۴۱۴/۱۱۱**	۳/۸۰۲**
تیمار SO_2	۴	۳/۰۸۵**	۰/۵۱۷**	۵/۸۱۲**	۱۰۳/۳۱۳**	۱/۹۶۵**	۱۹۰/۶۶۲**	۱۱/۲۷۱**	۲۱۹۲/۷۲۲**	۹/۱۶۷**
اثر برهمکنش تلقیح باکتری- SO_2	۸	۰/۰۱۹**	۰/۰۰۸**	۰/۰۷۴**	۴/۳۰۳**	۰/۰۱۹**	۱۳/۵۰۱**	۰/۰۲۹*	۱۲۸/۸۶۶**	۰/۰۵۸*
خطا	۳۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۱۱۹	۰/۰۰۴	۰/۰۴۱	۰/۰۰۶	۴/۵۴۰	۰/۰۱۵

*: معنی‌دار در سطح پنج درصد **: معنی‌دار در سطح یک درصد ns : معنی‌دار نیست

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های اثر تلقیح باکتریایی بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه یونجه ۴۵ روزه براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}\ FW$) و وزن خشک ($mg\ g^{-1}\ DW$) برگ

شاخص	بدون تلقیح R-	تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n	تلقیح با ریزوبیوم استاندارد R_s
کلروفیل a ($mg\ g^{-1}\ FW$)	۱/۴۶^{c}±۰/۱۲	۱/۸۵^{a}±۰/۱۵	۱/۶۳^{b}±۰/۱۴
کلروفیل b ($mg\ g^{-1}\ FW$)	۰/۸۵^{c}±۰/۰۵	۱/۱۳^{a}±۰/۰۷	۰/۹۹^{b}±۰/۰۵
کلروفیل کل ($mg\ g^{-1}\ FW$)	۲/۳۸^{c}±۰/۱۵	۲/۹۷^{a}±۰/۲۲	۲/۶۲^{b}±۰/۲
کاروتنوئیدها ($mg\ g^{-1}\ FW$)	۰/۹۰^{c}±۰/۱۲	۱/۲۳^{a}±۰/۱۵	۱/۱۸^{b}±۰/۱۴
پروتئین ($mg\ g^{-1}\ FW$)	۸/۹۷^{c}±۰/۹۴	۱۲/۴۲^{a}±۱/۳	۱۱/۲۷^{b}±۱/۱۷
پتاسیم ($mg\ g^{-1}\ DW$)	۲۲/۵۱^{c}±۲/۰۳	۴۲/۱۳^{a}±۴/۰۱	۳۷/۴۶^{b}±۴/۵
فسفر ($mg\ g^{-1}\ DW$)	۱/۹۴^{b}±۰/۲۲	۲/۹۸^{a}±۰/۲۵	۲/۴۳^{ab}±۰/۲۰

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. هر عدد میانگین ۳ تکرار ± SE است. مقایسه ردیفی انجام شده است.

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه یونجه ۴۵ روزه براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}\ FW$) و وزن خشک ($mg\ g^{-1}\ DW$) برگ

شاخص	غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (ppm)				
	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۲
کلروفیل *a* ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۱/۸۹^{b}\pm۰/۰۸$	$۲/۵۵^{a}\pm۰/۰۷$	$۱/۴۲^{c}\pm۰/۰۵$	$۱/۲۵^{d}\pm۰/۰۳$	$۱/۱۲^{e}\pm۰/۰۴$
کلروفیل *b* ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۱/۱۲^{b}\pm۰/۰۴$	$۱/۳۳^{a}\pm۰/۰۶$	$۰/۹۶^{c}\pm۰/۰۴$	$۰/۸۳^{d}\pm۰/۰۳$	$۰/۷۲^{e}\pm۰/۰۳$
کلروفیل کل ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۳/۰۵^{b}\pm۰/۱۳$	$۳/۹۹^{a}\pm۰/۱$	$۲/۴۳^{c}\pm۰/۰۸$	$۲/۱^{d}\pm۰/۰۵$	$۱/۹۸^{e}\pm۰/۰۴$
کاروتنوئیدها ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۱/۴۱^{b}\pm۰/۰۴$	$۱/۶۵^{a}\pm۰/۰۹$	$۱/۰۹^{c}\pm۰/۰۳$	$۰/۸۷^{d}\pm۰/۰۳$	$۰/۴۵^{e}\pm۰/۰۵$
پرولین ($\pi mol\ g^{-1}\ FW$)	$۲/۰۵^{d}\pm۰/۰۹$	$۲/۰۷^{d}\pm۰/۱۴$	$۳/۷۲^{c}\pm۰/۸۴$	$۷/۵۲^{b}\pm۰/۳۴$	$۹/۵۵^{a}\pm۰/۳۳$
پروتئین ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۱۴/۳۴^{b}\pm۰/۹$	$۱۷/۰۷^{a}\pm۰/۴۵$	$۹/۱۷^{c}\pm۰/۱۳$	$۷/۴^{d}\pm۰/۱۹$	$۵/۴۷^{e}\pm۰/۲۸$
گوگرد ($mg\ g^{-1}\ FW$)	$۱/۲^{d}\pm۰/۰۱$	$۱/۴^{d}\pm۰/۰۳$	$۲/۵۱^{c}\pm۰/۰۵$	$۳/۲۳^{b}\pm۰/۰۳$	$۴/۰۲^{a}\pm۰/۰۷$
پتاسیم ($mg\ g^{-1}\ DW$)	$۴۲/۲۲^{b}\pm۴/۸$	$۵۸/۵۵^{a}\pm۵/۰۷$	$۳۴/۶۷^{c}\pm۴/۰۵$	$۲۶/۲۲^{d}\pm۲/۷$	$۱۷/۸۳^{e}\pm۱/۶۴$
فسفر ($mg\ g^{-1}\ DW$)	$۲/۹۷^{b}\pm۰/۱۵$	$۳/۹^{a}\pm۰/۱۹$	$۲/۲۳^{c}\pm۰/۱۰$	$۱/۷۶^{d}\pm۰/۱۲$	$۱/۳۶^{d}\pm۰/۱۰$

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. هر عدد جدول میانگین ۳ تکرار ± SE است. مقایسه برای هر شاخص ردیفی انجام شده است.

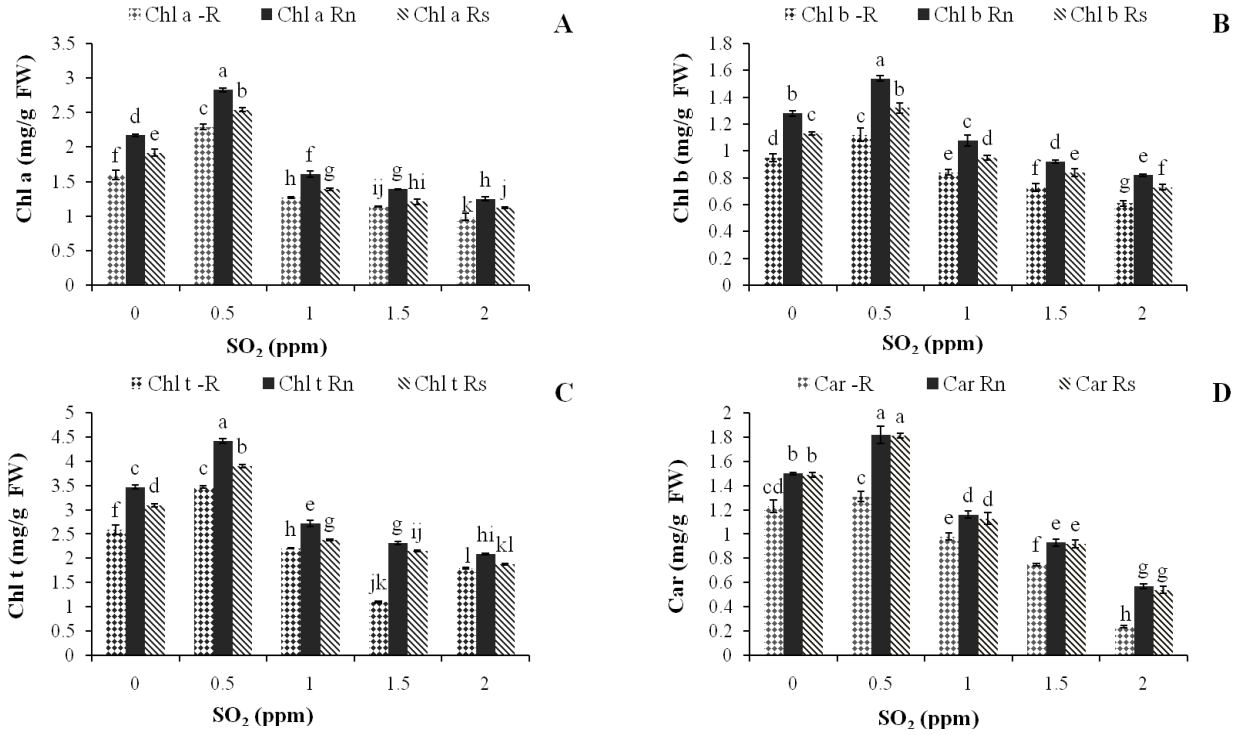
ppm ۲ گاز SO_2 میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها به‌ترتیب کاهش ۴۰/۷۴، ۳۵/۷۱، ۳۵/۰۸ و ۶۸/۰۹ درصدی را نسبت به شاهد (ppm ۰) از خود نشان دادند. غلظت ppm ۲ گاز SO_2 باعث کاهش ۶۱/۸۵، ۵۷/۷۶ و ۵۴/۲۱ درصدی میزان پروتئین، پتاسیم و فسفر به‌ترتیب نسبت به شاهد شد. افزایش غلظت گاز SO_2 (۱، ۱/۵ و ۲ ppm) باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین و گوگرد شد به‌طوری‌که در گیاهان تحت غلظت ۱/۵ و ۲ ppm گاز SO_2 به‌ترتیب میزان پرولین افزایش ۳/۶۶ و ۴/۷ برابری و میزان گوگرد افزایش ۲/۶۹ و ۳/۴ برابری نسبت به شاهد را از خود نشان دادند (جدول ۳).

اثر برهمکنش تلقیح باکتریایی و گاز SO_2 بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، پروتئین، پتاسیم (سطح ۰/۰۱) گوگرد و فسفر (سطح ۰/۰۵) اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). به‌دنبال تلقیح باکتریایی تأثیرات ناشی از غلظت‌های مختلف گاز SO_2 بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان یونجه تغییر کرد. بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، عناصر فسفر و پتاسیم در گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم بومی در معرض غلظت ppm ۰/۵ گاز و کمترین این شاخص‌ها در گیاهان تلقیح نشده تحت غلظت ppm ۲ گاز مشاهده شد. در گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم بومی تحت غلظت ppm ۰/۵ گاز به‌ترتیب افزایش ۷۶/۸۷، ۶۲/۱۱، ۷۱/۰۹ و ۴۷/۹۷ درصدی میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۱). میزان پروتئین در گیاهان تلقیح نشده، تلقیح شده با ریزوبیوم استاندارد و بومی در معرض غلظت ppm ۰/۵ گاز به‌ترتیب افزایش ۱/۷، ۱/۹۱ و ۲/۱۴ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۲). افزایش ۵۱/۳۷ و ۸۴/۲۱ درصدی به‌ترتیب در میزان پتاسیم و فسفر گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی تحت غلظت ppm ۰/۵ گاز مشاهده شد (شکل ۳). میزان پرولین و گوگرد در گیاهان تحت غلظت ppm ۰/۵ تغییر معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت.

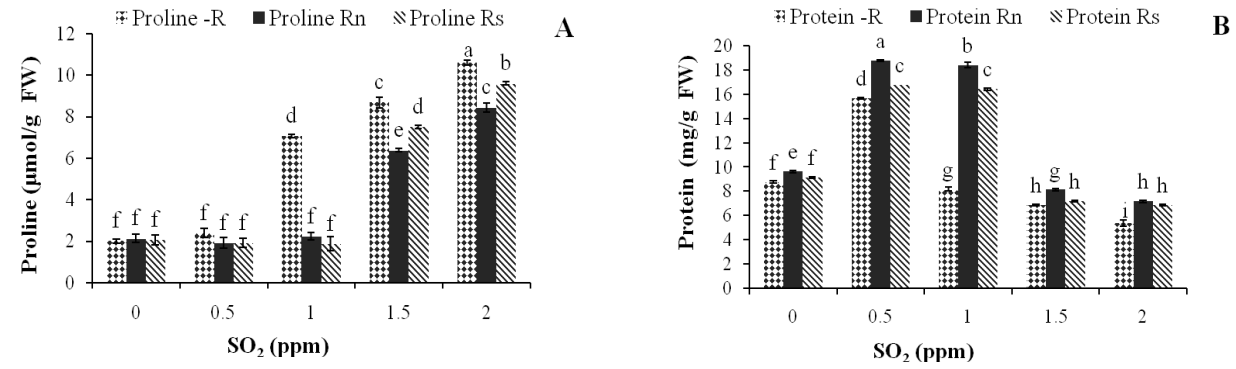
در گیاهان تحت غلظت‌های بالاتر گاز SO_2 (۱، ۱/۵ و ppm ۲)، تلقیح باکتریایی اثرات بازدارندگی تنش گازی را کمتر نمود. به‌طوری‌که در گیاهان تلقیح‌نشده در معرض ppm ۲ گاز دی‌اکسیدگوگرد میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها به ترتیب کاهش ۴۰/۷۴، ۳۵/۷۱، ۳۵/۰۸ و ۶۸/۰۹ درصدی را نسبت به گیاهان شاهد داشتند اما در گیاهان

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]



شکل ۱. اثر متقابل گاز SO_2 و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و استاندارد R_s) بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان یونجه ۴۵ روزه. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن براساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۱) می‌باشد.

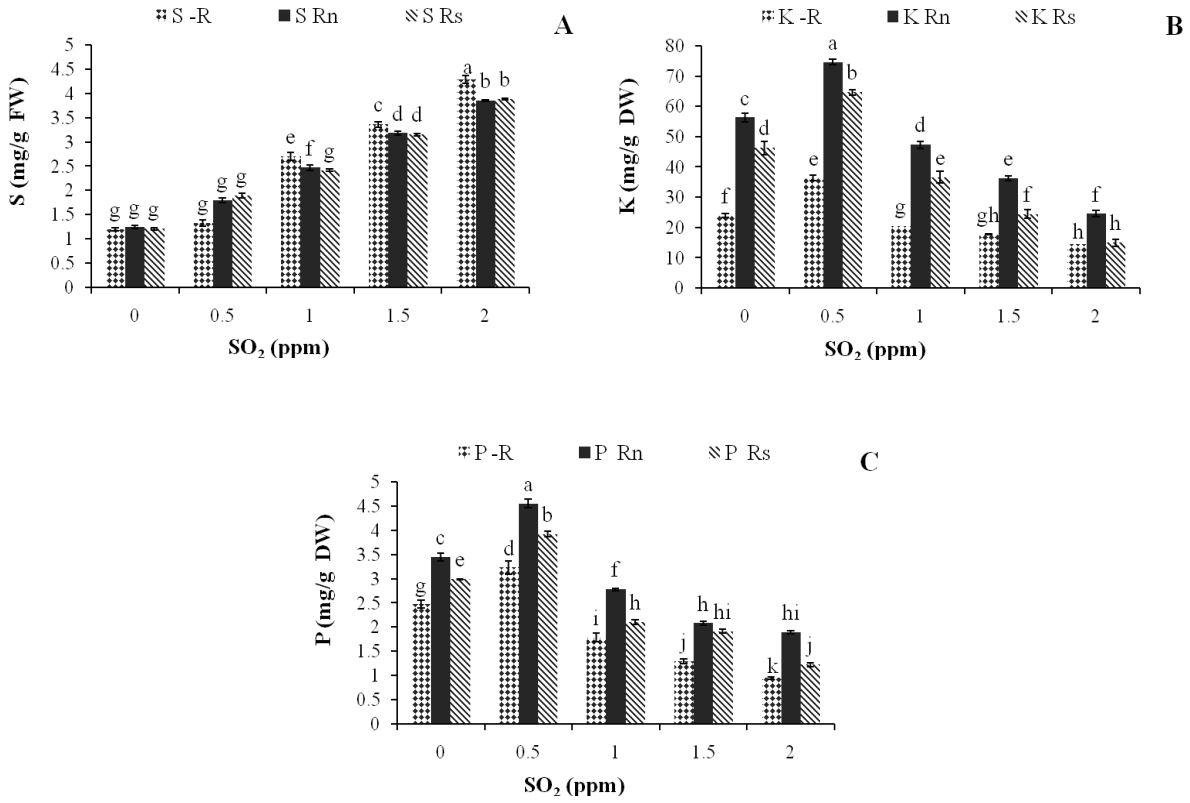


شکل ۲. اثر متقابل گاز SO_2 و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و استاندارد R_s) بر میزان پرولین و پروتئین گیاهان یونجه ۴۵ روزه. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن براساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۱) می‌باشد.

تلقیح‌یافته با ریزوبیوم بومی تحت همین غلظت گاز، میزان کاهش رنگیزه‌های فوق به‌ترتیب تنها ۲۱/۸۷، ۱۳/۶۸، ۱۹/۳۱ و ۵۳/۶۶ درصد مشاهده گردید (شکل ۱). کاهش ۶۱/۸۵ درصدی میزان پروتئین در گیاهان تلقیح نشده در معرض ۲ ppm SO_2، به‌دنبال تلقیح با ریزوبیوم استاندارد و بومی به‌ترتیب به ۲۱/۷۷ و ۱۸/۲۴ درصد تغییر نمود (شکل ۲). هم‌چنین کاهش ۵۴/۲۱٪ مقدار فسفر در این گیاهان در اثر تلقیح با ریزوبیوم بومی و استاندارد به‌ترتیب به ۲۰/۲۰ و ۲۳/۰۸ درصد رسید (شکل۳).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]



شکل ۳. اثر متقابل گاز SO_2 و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و استاندارد R_s) بر میزان گوگرد، پتاسیم و فسفر گیاهان یونجه ۴۵ روزه. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن براساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۱) می‌باشد.

در گیاهان یونجه تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی در غلظت ppm ۲ نسبت به شاهد اصلاً کاهش پتاسیم مشاهده نشد. درحالی‌که در گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با ریزوبیوم استاندارد در معرض همین غلظت گاز میزان پتاسیم به‌ترتیب کاهش ۵۷/۷۶، ۳۷/۵ درصدی را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند (شکل ۳). بیشترین و کمترین میزان پرولین و گوگرد به‌ترتیب در گیاهان تلقیح نشده تحت غلظت ppm ۲ گاز و گیاهان تلقیح نشده تحت غلظت صفر ppm گاز مشاهده شد. در غلظت ppm ۲ گاز، میزان پرولین در گیاهان تلقیح نشده، تلقیح شده با ریزوبیوم استاندارد و بومی به‌ترتیب افزایش ۴/۷، ۴/۷ و ۴/۲۲ برابری (شکل ۲) و میزان گوگرد در گیاهان فوق به‌ترتیب افزایش ۳/۴، ۳/۲ و ۳/۲ برابری را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (شکل ۳).

بحث

در این پژوهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، فسفر و پتاسیم در گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم ملیلوتی سویه بومی و استاندارد نسبت به گیاهان تلقیح نشده بیشتر بود و اثر سویه بومی ریزوبیوم ملیلوتی نسبت به سویه استاندارد بر افزایش این شاخص‌ها چشمگیرتر بود. یکی از پاسخ‌های گیاهان تلقیح شده با باکترهای محرک رشد از جمله ریزوبیوم به‌صورت افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش فتوسنتز و در نهایت افزایش رشد و محصول گیاه است (۲) که مشابه افزایش ۲۵ درصدی رنگیزه‌های فتوسنتزی در ذرت تلقیح یافته با آزوسپیریلوم برازیلنس (۳۸)، افزایش کلروفیل و شدت فتوسنتز در برنج تلقیح یافته با تعدادی ریزوباکترهای آزاد دارای فعالیت تثبیت‌کنندگی نیتروژن (۲) و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

شبدر ایرانی تلقیح یافته با ریزوبیوم ملیلوتی است (۱۰). افزایش این رنگیزه‌ها به افزایش تثبیت نیتروژن توسط این باکتری‌ها برمی‌گردد. 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 (۱۱). به‌دنبال تلقیح باکتریایی جذب برخی عناصر مثل منیزیم (۱۶) که در ساختمان کلروفیل، وجود دارد افزایش می‌یابد. با توجه به نقش نیتروژن و منیزیم در بیوسنتز کلروفیل، بنابراین مقدار کلروفیل برگ گیاهان تلقیحی افزایش می‌یابد و این هم سازوکاری جهت افزایش محصولات فتوسنتزی و در نتیجه رشد بهتر گیاه میزبان است (۸). تلقیح ریزوبیومی یونجه باعث افزایش میزان پروتئین گیاه یونجه شد اما بر میزان پرولین این گیاه تأثیری نداشت. نتایج مشابه افزایش محتوای پروتئینی دانه سویا (۳۰) را در اثر تلقیح باکتریایی نشان می‌دهد. باکتری با افزایش جذب نیتروژن توسط ریشه و هم‌چنین افزایش تثبیت نیتروژن باعث افزایش میزان پروتئین و در نهایت افزایش رشد گیاه می‌شود (۳۱). هم‌چنین عدم تغییر میزان پرولین در اثر تلقیح بیانگر این امر است که تلقیح ریزوبیومی برای گیاه یک تنش محسوب نمی‌شود. تلقیح باکتریایی به‌تنهایی بر میزان گوگرد گیاه تأثیری نداشت ولی بر میزان پتاسیم و فسفر گیاه تأثیر معنی‌داری داشت. مقدار پتاسیم و فسفر در تلقیح با باکتری بومی نسبت به باکتری استاندارد افزایش بیشتری را نشان داد. نتایج مشابه در گیاهان گندم (۳۱) و ستاریا (۴۲) مشاهده گردید. به عقیده برخی محققین اثرات سودمند تلقیح باکتریایی اساساً ناشی از تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک ریشه مثل افزایش تعداد تارهای کشنده و ریشه‌های جانبی گیاهان تلقیح شده می‌باشد که سبب افزایش کارایی جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه می‌شود (۱۷). باکتری با تأثیر بر روی پمپ‌های الکتروژنیک و یا ازدیاد تراوش پروتونی از ریشه نیروی محرک لازم جهت جذب فسفر و پتاسیم را فراهم می‌کند (۱۴). مهم‌ترین مکانیسم تحریک توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون‌های ایندولی می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، به‌دنبال 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 بر گیاه متفاوت است (۱۹) همان‌طورکه در این تحقیق نیز اثر سویه بومی و استاندارد ریزوبیوم ملیلوتی روی گیاه یونجه 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 بود و به همین علت محققین مطرح می‌کنند که ژنوتیپ گیاهی و سویه همولوگ باکتری نقش مهمی در برقراری جریانات تثبیت زیستی نیتروژن بازی می‌کنند (۵ و ۷).

در این تحقیق گاز SO_2 اثر معنی‌داری بر شاخص‌های بیوشیمیایی یونجه داشت. غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 باعث افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم و فسفر نسبت به گیاهان شاهد شد ولی تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین و گوگرد نداشت. برعکس تحت غلظت ۱، ۱/۵ و ۲ ppm کاهش معنی‌داری در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پتاسیم و فسفر و افزایش معنی‌داری در میزان پرولین و گوگرد نسبت به شاهد مشاهده شد. نتایج مشابه در گیاهان اسفناج (۲۳) و همیشه بهار (۳۶) مشاهده شده است. از نظر محققین وقتی غلظت گاز SO_2 از حد طبیعی که بین ppm ۰/۵ – ۰/۰۵ می‌باشد، بیشتر شود آلودگی گاز SO_2 رخ می‌دهد (۲۴). بنابراین غلظت ۰/۵ ppm غلظت سمی برای گیاه نمی‌باشد. از طرفی تأثیر گاز SO_2 بر گیاهان وابسته به گونه گیاهی، مدت زمان در معرض گاز قرار گرفتن و غلظت گاز متفاوت است (۲۱). دی‌اکسید گوگرد هوا در غلظت‌های پایین دارای اثرات مثبت بر رشد و نمو گیاه می‌باشد و به‌عنوان یک منبع تأمین کننده گوگرد مورد نیاز گیاه محسوب می‌شود. گوگرد از عناصر ضروری برای

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

رشد گیاهان است. گیاه می‌تواند آنیون‌های سولفات را از خاک جذب کند یا مستقیماً از طریق برگ‌ها SO_2 را از جو دریافت کند و پس از طی کردن مسیرهای آنزیمی عنصر گوگرد را در ساخت مولکول‌های آلی، آمینواسیدهایی مثل سیستئین و متیونین که سپس پروتئین را تشکیل می‌دهند، به‌کار برد. جذب اضافه و زیاد گوگرد از خاک یا اتمسفر می‌تواند باعث آسیب به گیاهان شود (۳۲). گاز SO_2 در غلظت‌های بالا درون سلول با آب واکنش می‌دهد و به سولفیت تبدیل می‌شود. سولفیت به‌عنوان یک رادیکال آزاد عمل کرده، به سوبستراهای متعددی حمله می‌کند و باعث تخریب کلروپلاست، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنزیم‌های فتوسنتزی، بازدارندگی سنتز پروتئین و یا افزایش تجزیه پروتئین، کاهش رشد و در نتیجه کاهش جذب عناصر مختلف از جمله فسفر و پتاسیم می‌شود (۳۲ و ۳۶). تحت غلظت‌های بالای گاز میزان پرولین افزایش یافت. پرولین به عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی و عامل حفاظت‌کننده ماکرومولکول‌ها و ساختمان غشاء در مقابل تخریب القا شده بوسیله رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۲۸).

نتایج مشابه در شلغم هندی (*Brassica juncea*) و ترب سفید (*Raphanus sativus*) در معرض گاز SO_2 مشاهده شد (۳). تحقیقات نشان داده که گیاهان محتوای کلی گوگردشان را با قرار گرفتن مداوم در معرض SO_2 اتمسفری افزایش می‌دهند. گیاهان عالی قادر به تنظیم محتوای گوگرد کلی خود از طریق ایجاد یک تعادل بین غلظت سولفیت و سولفات هستند. این تعادل از طریق تشکیل سولفیت در حضور نور و یا تشکیل سولفات در تاریکی با روشی مشابه ایجاد می‌شود، قسمتی از SO_2 تجمع یافته توسط گیاه با ذرات معدنی ترکیب شده و به سولفات تبدیل می‌شود که قسمتی از آن در ساختار ذرات آلی مثل آمینواسیدها و پروتئین‌های محتوی گوگرد استفاده می‌شود و قسمتی دیگر به عنوان SO_2 یا SH_2 توسط عمل تبادل گازی طبیعی حذف می‌شود (۲۳). در گیاه باقلا (*Vicia faba*) در معرض SO_2 افزایش محتوای گوگرد و کاهش میزان فسفر و پتاسیم در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد (۱).

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده افزایش مقاومت گیاه یونجه در معرض غلظت‌های بالای SO_2 به‌دنبال تلقیح ریزوبیومی است. بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و عناصر فسفر و پتاسیم به‌ترتیب در گیاهان تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی و غلظت ppm ۰/۵ گاز و کمترین میزان شاخص‌های فوق در گیاهان تلقیح نشده و غلظت ppm ۲ گاز مشاهده شد. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و عناصر فسفر و پتاسیم که در غلظت‌های بالای SO_2 کاهش نشان دادند در تلقیح با باکتری کاهش کمتری را نسبت به گیاهان تلقیح نیافته نشان دادند. کاهش شرایط تنشی به‌دنبال تلقیح باکتریایی در گزارشات مختلفی ذکر شده است (۶). هم‌چنین افزایش مقدار پرولین و گوگرد ناشی از تنش گاز SO_2 در گیاهان تلقیح یافته با ریزوبیوم به‌میزان کمتری مشاهده شد. تلقیح میکروارگانیسم‌های همزیست در شرایط تنش میزان عملکرد و تغذیه معدنی گیاهان را بهبود می‌بخشد و باعث کاهش و بهبود شرایط تنشی می‌شود (۴۴). باکتری ریزوبیوم همزیست با لگوم‌ها در کاهش شرایط تنشی نقش مهم و مؤثری را ایفا می‌کند. ریزوبیوم با تولید ترکیباتی همچون انواع هورمون‌ها، ویتامین‌ها، ترکیبات اسمولیت مثل پرولین، تولید ACC–دآمیناز و تولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی تحت شرایط تنش، در کاهش شرایط تنش برای گیاهان مؤثر است. درواقع ریزوبیوم در هنگام تنش سبب القای سازوکارهای دفاعی گیاه و ایجاد مقاومت در گیاه می‌شود (۱۸).

نتیجه‌گیری

غلظت ppm ۰/۵ گاز SO_2 برای گیاه تنش محسوب نمی‌شود و گیاه به‌عنوان منبع گوگرد از آن استفاده می‌کند؛ اما غلظت‌های بالاتر گاز با ایجاد شرایط تنشی اثرات منفی بر گیاه می‌گذارد. با برقراری یک رابطه همزیستی موفق و کارا بین یونجه – ریزوبیوم می‌توان علاوه بر رشد گیاه، اثر آلودگی SO_2 را کاهش داد و در این راستا باکتری بومی به‌دلیل همزیستی کارآمدتر، تأثیر بیشتری بر کاهش اثرات تنش SO_2 بر رشد گیاه یونجه

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

دارد. باکتری با اثر بر شاخص‌های رشد گیاه مثل افزایش سطح خود را برگیاه یونجه اعمال می‌نماید. جذب ریشه، هم‌چنین افزایش کلروفیل و پروتئین اثرات مثبت

منابع

1. Agrawal, M., P. K. Nandi and D. N. Rao. 1985. Effects of sulphur dioxide fumigation on soil system and growth behaviour of *Vicia faba* plants. *Plant and Soil* 86(1): 69-78.
2. Alam, M. S., Z. J. Cui, T. Yamagishi and R. Ishii. 2001. Grain Yield and related physiological characteristics of rice plant (*Oriza sativa* L.) inoculated with free-living rhizobacteria. *Plant Production Science* 4(2): 126-130.
3. Anjali, M. N. Kumar, Singh and K. Pal. 2012. Effect of sulphur dioxide on plant biochemicals. *International Journal Of Pharma Professional's Research* 3(2): 627-633.
4. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chlorolplasts polyphenyloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1–15.
5. Askary, M., A. Mostajeran, R. Amooaghaei and M. Mostajeran. 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 aestivum*. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environmntal Science* 5(3): 296-307.
6. 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(45): 9089-9096.
7. Baldani, J. I. and V. L. D. Baldani. 2005. History on the biological nitrogen fixation research in gramiaceous plants: special amphasis on the brazilian experience. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 77(3):1-50.
8. Bashan, Y., J. J. Bustillos, L. A. Leyva, J. P. Hernandez and M. Bacilio. 2006. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils* 42: 279-285.
9. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water stress stydies. *Plant and Soil* 29: 205-207.
10. Bayat, L. and M. Askari. 2013. Inoculation effects of *Rhizobium* on the tolerance increase of Persian clover (*Trifolium resupinatum*) under SO_2 pollution. *Plant Process and Function* 2 (1) :35-46 (In Farsi).
11. Bejandi, T. K., R. S. Sharifii, M. Sedghi and A. Na-var. 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.
12. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
13. Caetano-Anolles, G., L. G. Wall, A. T. De-Micheli, E. M. Macchi, W. D. Bauer and G. Favelukes. 1988. Role of motility and chemotaxis in efficiency of nodulation by *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology* 86: 1228-1235.
14. Carrillo, A. E., C. Y. Li and Y. Bashan. 2002. Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brazilense*. *Naturwissenschaften* 89: 428-432.
15. Chapman, H. D. and P. F. Pratt. 1973. Métodos de Análisis Para Suelos, Plantas y Aguas. Trillas, Mexico.
16. Creus, C. M., R. J. Sueldo and C. A. Barassi. 2004. Water relations and yield in *Azospirillum* inoculated Wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany* 82: 273-281.
17. Dalla-Santa, O. R., R. F. Hornandez, G. L. M. Alvarez, P. R. Junior and C. R. Soccol. 2004. Azospirillum sp. Inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. *Brazilian Archive of Biology and Technology* 47(6): 843-850.
18. Dimkpa, C., T. Weinand and F. Asch. 2009. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant, Cell and Environment* 32: 1682–1694.
19. Etesami, H. and H. Alikhani 2011. Evaluation of plant growth hormones production (auxins) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes and the loss of chemical fertilizers. *Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* 92: 53-62.
20. Graham, P. H. and C. P. Vance. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131: 872–877.
21. Hijano, C. F., M. D. P. Dom´inguez, R. G. Gim´enez, P. H. S ´anchez and I. S. Garc´ia. 2005. Higher plants as bioindicators of sulphur dioxide emissions in urban environments. *Environmental Monitoring and Assessment* 111: 75–88.
22. Hosseinkhani Hezave, Sh. and M. Askari. 2013. Effects of rhizobia inoculation on anatomical indexes of alfalfa leaf (*Medicago sativa*) under SO_2 pollution. *Plant Process and Function* 2(2): 41-52 (in Farsi).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]

23. Irshad, A. H., S. Fayaz Ahmad and P. Sultan. 2011. Effect of sulphur dioxide on the biochemical parameters of spinach (*Spinacea oleracia*). *Trakia Journal of Sciences* 9(1): 24-27.
24. Khan, I., A. Ahmad and M. Iqbal. 2006. Sulphur in the environment. PP. 90-99. *In*: P. Tandon, S. Khatri and Y.P. Abrol (Ed.), Biodiversity and its Significance. IK International, New Delhi.
25. Lang, C., J. Popko, M. Wirtz, R. Hell, C. Herschbach, J. Kreuzwieser, H. Rennenberg, R. R. Mendel and R. Hansch. 2007. Sulphite oxidase as key enzyme for protecting plants against sulphur dioxide. *Plant, Cell and Environment* 30: 447–455.
26. Lichtenthaler, H. K. and A. R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591–592.
27. Li, L. and H. Yi. 2012. Effect of sulfur dioxide on ROS production, gene expression and antioxidant enzyme activity in Arabidopsis plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 58: 46-53.
28. López-Carrion, A. I., R. Castellano, M. A. Rosales, J. M. Ruiz and L. Romero. 2008. Role of nitric oxide under saline stress: Implications on proline metabolism. *Biologia Plantrum* 52: 587-591.
29. Rakwal, R., G. K. Agrawal, A. Kubo, M. Yonekura, S. Tamogami, H. Saji and H. Iwahashi. 2003. Defense/stress responses elicited in rice seedlings exposed to the gaseous air pollutant sulfur dioxide. *Environmental and Experimental Botany* 49: 223-235.
30. Regitano, M. A., S. M. Carpi, G. M. Camara, C. E. Bagio and E. A. Marcos. 1995. Effects of nitrogen sources on soybean (*Glycine max* (L) Merill) oil characteristics and seed storeability. *Tropical Science* 35: 135-140.
31. Saubidet, M. I., N. Fatta and A. J. Barneix. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil* 245: 215-222.
32. Sha, C., T. Wang, T. J. Lu. 2010. Relative sensitivity of Wetland plants to SO_2 pollution. *Wetlands* 30: 1023- 1030.
33. Silva, A. A. E., E. M. Varanda and J. Barosela. 2006. Resistance and susceptibility of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars to the aphid Therioaphis maculate (Homoptera: Aphididae): insect biology and cultivar evaluation. *Insect Science* 13: 55-60.
34. Singh, J. S. 2013. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Resonance* 18(3): 275-281.
35. Smith, S. J., J. V. Aardenne, Z. Klimont, R. J. Andres, A. Volke and S. Delgado Arias. 2011. Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmospheric Chemistry and Physics* 11: 1101–1116.
36. Sighn, S. N., M. Yunus, K. Srivastava, K. Kulshreshtha and J. Ahmad. 1985. Response of *Calendula officinalis* L. to long- term fumigation with SO_2. *Environmental Pollution* 39: 17-25.
37. Swain, S. C. and S. K. Padhi. 2013. Effect of sulphur dioxide on growth, chlorophyll and sulphur contents of pomegranate. *Tropical Agricultural Research & Extension* 16(1): 21-24.
38. Swedrzynska, D. and A. Sawicka. 2000. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of mize (*Zea mays* ssp. Saccharata L.) under different cultivation conditions. *Polish Journal of Environmental Studies* 9: 505-509.
39. Swift, M. and D. Bignell. 2001. Standard methods for assessment of soil biodioversity and land use practice. International centre for research in Agroforestry (ICRAF) Southeast Asia. Retrieved from http://www.icraf.cgiar.org/sea. Accessed 15 September 2009.
40. Wang, B. S. and K. F. Zhao. 1995. Comparison of extractive methods of Na^+ ,K^+ in wheat leave. *Plant Physiology Comunication* 31(1): 50–52.
41. Wang, Y. X. and H. Oyaizu. 2009. Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofuran-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 168: 760-764.
42. Wu, S. C., Z. H. Caob, Z. G. Lib, K. C. Cheunga and M. H. Wonga. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
43. Yang, J., J. W. Kloepper and C. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Plant Science* 14(1): 1-4.
44. Yue, H., W. Mo, C. Li, Y. Zheng and H. Li. 2007. The salt stress relief and growth promoting effect of Rs-5 on cotton. *Plant and Soil* 297: 139-145.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.14.20.0]