Archive of SID

بررسی میزان تثبیت نیتروژن در یونجه‌های یک‌ساله (M. rigidula و M. truncatula) در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از سوش‌های ریزوبیوم محلی

هوشنگ قلی پور[۱]، اسمعیل نبی زاده[۲] و علی نصرالله زاده[۳]

چکیده

برای ارزیابی میزان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در یونجه‌های یک‌ساله (M. truncatula و M. rigidula) آزمایشی با هشت سوش ریزوبیوم محلی و یک شاهد به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲ عاملی در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد با هدف تعیین میزان گرهک‌زایی و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در سال ۱۳۸۷ انجام گرفت. سوش‌های ریزوبیوم استفاده شده در این آزمایش از مناطقی به نام‌های، خاک مرز پیرانشهر، جلدیان و سوغانلو از شهرستان پیرانشهر، بیوران، نلاس و ربط از شهرستان سردشت، برهان و بیطاس از شهرستان مهاباد انتخاب شدند. سوش‌های ریزوبیوم سوغانلو از شهرستان پیرانشهر و بیوران از شهرستان سردشت بیشترین میزان تثبیت نیتروژن را در یونجه یک‌ساله مدیکاگو ترانکاتولا داشتند و سوش ریزوبیوم نلاس از شهرستان سردشت بیشترین میزان تثبیت نیتروژن را در یونجه یکساله مدیکاگو ریجیدولا داشت.

کلمات کلیدی: *تثبیت نیتروژن، ریزوبیوم،گرهک‌زایی، همزیستی، M .truncatula و M .rigidula .*

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۱۷

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی (نویسنده مسئول)

E- mail: Hoshang_golipur@yahoo.com

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد

۴- عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه و بررسی منابع

یونجه‌های یک‌ساله از گیاهان بومی ایران می‌باشند که با بهره‌گیری مناسب از آن‌ها می‌توان ضمن تولید علوفه باعث افزایش حاصل‌خیزی خاک نیز شد (ترک نژاد و همکاران، ۱۳۷۸). خاک‌های مناطق مختلف دارای فعالیت یکسانی نیستند. عوامل هیدروترمیکی، توازن غذایی و ترکیب خاک تاثیر مستقیم در فعالیت ریزاندامک‌ها می‌گذارد و فرسایش خاک فعالیت گروه‌های میکروبی خاک را به شدت تضعیف می‌کند (شکوری، ۱۳۷۸). از یونجه‌های یک‌ساله می‌توان در یک نظام مرتعی دایم استفاده کرد. یونجه‌های یک‌ساله با یک چین طی ۷۰-۶۰ روز بعد از کاشت تا ۵/۷ تن علوفه در هکتار تولید می‌کنند که این علوفه از نظر کیفی مشابه یونجه چند ساله است. همچنین یونجه‌های یک‌ساله نشان داده‌اند که در هر هکتار تا ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن آزاد جو را تثبیت می‌کنند. بنابراین می‌توان از آن‌ها به عنوان کود سبز یا گیاهان پوششی جهت جلوگیری از فرسایش استفاده نمود (با اوچان، ۲۰۰۰). از یونجه‌های یک‌ساله می‌توان در برابر عوامل فرسایش، مثل فرسایش آبی استفاده کرد، چرا که در فصل بارندگی یونجه‌های یک‌ساله نسبت به سایر حبوبات و سایر گراس‌ها، حجم ریشه زیادی نسبت به ساقه تولید می‌کنند (کروفورد و همکاران، ۱۹۹۷)، و همچنین می‌توان در اصلاح خاک استفاده کرد (شرستا و همکاران، ۲۰۰۱). کوچکی و بنایان (۱۳۷۳) اعلام کردند عملکرد علوفه رابطه نزدیکی با اندازه سیستم ریشه دارد. تثبیت نیتروژن در گیاهان شامل تبدیل نیتروژن موجود در اتمسفر به فرم آمونیوم می‌باشد. این واکنش تنها به وسیله ریزاندام‌گان پروکاریوت و با استفاده از آنزیم نیتروژناز صورت می‌گیرد و فقط تعداد کمی از باکتری‌ها وجود دارند که حاوی آنزیم نیتروژناز هستند و می‌توانند نیتروژن را زمانی که رشد توسط کمبود آن محدود می‌شود به آمونیوم تبدیل کنند و فقط تعدادی از گیاهان وجود دارند که به صورت همزیست با این باکتری‌ها زندگی می‌کنند و این باکتری‌ها برای آن‌ها آمونیوم تولید می‌کنند (داونی، ۲۰۰۵). نتایج تحقیقات نشان داده که مصرف مایه تلقیح با استفاده از سوش‌های برتر باکتری‌ها می‌تواند در تولید اقتصادی محصول موثر بوده و منجر به صرفه‌جویی در مصرف کودهای نیتروژن‌دار شود (خودشناس و همکاران، ۱۳۸۲). نتایج تحقیقات محققان مختلف نشان می‌دهد که ساکن شدن سوش‌های ریزوبیوم درون گرهک‌های ریشه به خصوصیات سوش‌های ریزوبیوم بستگی دارد و به رقابت بین سوش‌های ریزوبیوم بستگی ندارد. تلقیح اولیه بذر با سوش‌های ریزوبیوم اختلاف معنی‌داری در رقابت با سوش‌های ریزوبیوم ثانویه داشت که این موضوع می‌تواند در تثبیت نیتروژن وقتی که در زمان‌های مختلف، سوش‌های ریزوبیوم در تلقیح با یونجه‌های یک‌ساله به کار برده می‌شود، موثر و یا غیرموثر باشد (ماترون و زیبلیسکی، ۲۰۰۱). اثر ریزوبیوم‌های غیرموثر می‌تواند مهم‌ترین محدود کننده تناوب غلات و یونجه‌های یک‌ساله باشد. در برخی مواقع

www.SID.ir

Archive of SID

تلقیح با سوش‌های ریزوبیوم نمی‌تواند نتایج موثری در گره‌زایی ریشه داشته باشد، که نتیجه آن کاهش تولید علوفه می‌باشد (ماترون، ۱۹۹۳). اطلاعات موجود نشان می‌دهند که ارقام مختلف گونه‌های لگوم که در یک خاک یکسان رشد نموده‌اند می‌توانند به‌طور قابل توجهی از لحاظ پتانسیل تثبیت با هم تفاوت داشته باشند که این امر در واقع اساس معیارهای انتخاب ارقام در برنامه‌های اصلاحی به عنوان افزایش تثبیت نیتروژن است (هریج و دانسو، ۱۹۹۵). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که تفاوت در میزان نیتروژن تثبیت شده به وسیله چندین عامل ایجاد می‌شود. از جمله این عوامل سوش ریزوبیوم موجود در خاک و نیز گره‌های موجود در روی ریشه‌ها، مواد غذایی موجود در خاک و شرایط اقلیمی منطقه را می‌توان نام برد (ماترون، ۱۹۹۱). نتایج تحقیقات ملکی فراهانی و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان می‌دهد که یونجه یک‌ساله (ترانکاتولا) با بیشتر سوش‌های ریزوبیوم در تثبیت نیتروژن واکنش نشان می‌دهد و یونجه یک‌ساله (ریجیدولا) برای تثبیت نیتروژن به گونه‌های مخصوصی از سوش‌های ریزوبیوم نیاز دارد.

هدف از این تحقیق ارزیابی توان سوش‌های محلی ریزوبیوم در تثبیت نیتروژن توسط دو گونه یونجه یک‌ساله بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب کرت‌های کاملا تصادفی با ۸ سوش ریزوبیوم و ۱ شاهد، با ۳ تکرار انجام گرفت. تعداد تیمار برای هر گونه یونجه یک‌ساله ۲۷ تیمار و به‌طور کلی ٥٤ تیمار برای کل آزمایش در نظر گرفته شد.

به منظور اجرای آزمایش، استخراج ریزوبیوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است لذا جهت اجرای طرح، نمونه خاک‌هایی را برای استخراج سوش‌های *R. meliloti* از شهرهای مختلف استان آذربایجان غربی از جمله شهرهای پیرانشهر و مهاباد و سردشت از زمین‌های مرتعی که اجداد یونجه‌های یک‌ساله در آن‌ها دیده می‌شد، مورد بازدید قرار داده و نمونه خاک‌هایی را از مناطقی به نام‌های برهان و بیطاس از شهرستان مهاباد، بیوران، ربط، نلاس از شهرستان سردشت، جلدیان، سوغانلو و خاک مرز پیرانشهر از شهرستان پیرانشهر، حداقل از عمق ۳۰ سانتی‌متری برداشت و سپس نمونه‌ها، به گلدان‌های ۲ کیلوگرمی جهت استخراج باکتری‌های ریزوبیوم منتقل گردید و بذرهای یونجه بعد از ضد عفونی شدن در آن کشت شدند. برای ضدعفونی کردن بذرها ابتدا بذرها در محلول الکل اتیلیک ۹٦٪ به مدت ۱۰ ثانیه و کلرور جیوه ۲٪ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شد. سپس ۱۰ مرتبه با آب استریل شستشو داده شدند تا کلیه مواد شسته شوند. بذرهای ضدعفونی شده، پس از خشک شدن درون

www.SID.ir

Archive of SID

گلدان‌های مذکور در عمق ۲-۱/۵ سانتی‌متری کشت و آبیاری گردیدند. به مدت یک ماه عملیات داشت در گلخانه انجام گرفت (ترک نژاد و همکاران، ۱۳۷۸). پس از گذشت یک ماه گلدان‌ها را درون سطلی پر از آب واژگون کرده و گیاه همراه با ریشه از درون گلدان‌ها خارج گردید. در این مرحله دقت شد که به ریشه‌های گیاه آسیبی وارد نشود. سپس برای جدا کردن گرهک‌ها گیاهان به آزمایشگاه منتقل شدند. گرهک‌ها همراه ۲-۱ میلی‌متر ریشه توسط قیچی دستی جدا شدند. علت جدا کردن ریشه همراه گرهک این است که هنگام ضد عفونی کردن، گرهک‌ها آسیب نبینند. پس از جداسازی اقدام به ضد عفونی کردن گرهک‌ها نموده که برای این کار ابتدا یک لوله آزمایش که ته آن شکسته و به وسیله توری ظریف مسدود شده بود، تهیه شد. سپس گرهک‌ها را در درون لوله آزمایش قرار داده و مراحل زیر برای ضد عفونی کردن آنها انجام گرفت:

۱- قرار دادن گرهک‌ها در ظرف حاوی الکل اتیلیک ۹۶ درصد به مدت ۱۰ ثانیه .

۲- قرار دادن گرهک‌ها در ظرف حاوی کلرور جیوه ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه. شستشوی نمونه‌ها با آب مقطر استریل شده در پنج نوبت جداگانه (بک و همکاران، ۱۹۹۳).

بعد از ضدعفونی کردن گرهک‌ها آن‌ها را در درون شیشه ساعتی قرار داده و با اضافه کردن چند قطره آب مقطر، به‌وسیله میله شیشه‌ای گرهک‌ها را له کرده و به‌وسیله لوپ باکتری‌های ریزوبیوم به محیط کشت Nutrient–Agar انتقال داده شدند. سپس باکتری‌ها به درون دستگاه انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده و برای اطمینان از خالص شدن سوش‌های ریزوبیوم عمل کشت از باکتری‌های آماده ۳ بار تکرار شد. سپس باکتری‌ها به درون یخچال منتقل گردید. با این کار می‌توان باکتری‌ها را به مدت ٤-۳ ماه نگهداری کرد.

با توجه به این‌که هدف این آزمایش ارزیابی میزان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط سوش‌های ریزوبیوم مختلف در دو گونه یونجه یکساله M. rigidula و M. truncatula بود منبع غذایی مورد استفاده می‌بایست عاری از نیتروژن باشد. به همین دلیل اجرای آزمایش در محیط کوارتز و آبیاری با محلول غذایی هوگلند عاری از نیتروژن انجام گرفت، بدین منظور محلول هوگلند به شرح زیر تهیه شد.

ابتدا محلول‌های غذایی پایه به شرح زیر تهیه گردید.

- محلول C: $MgSO_4, 7H_2O$ به میزان ٤٩/٢٧٥ گرم در یک لیتر آب مقطر
- محلول D: KH_2PO_4 به میزان ٣/٤ گرم در ٢٥٠ سی سی آب مقطر
- محلول E عناصر میکرو شامل:

$Na_2 Mo O_4 , ZnH_2O$ – به میزان ٠/٤٨ گرم

$Cu SO_4 , 5 H_2O$ – به میزان ٠/٣٢ گرم

$Zn SO_4 , 7H_2O$ – به میزان ٠/٨٨ گرم

$MnCl_2 , 4H_2O$ – به میزان ٧/٢٤ گرم

HBO_3 – به میزان ١١/٤٤ گرم

www.SID.ir

Archive of SID

تمام اجزای محلول E در چهار لیتر آب مقطر حل شدند.

– محلول F شامل :

EDTA [CH_2-N (CH_2COOH) CH_2COO Na], $2H_2O$ به میزان ۲۳/۸۲ گرم.

$FeSO_4$, $7H_2O$ به میزان ۱۹/۹۲ گرم که در چهار لیتر آب مقطر حل شده و بعد به مدت ٦ ساعت به وسیله پمپ آکواریوم در آن هوا تزریق گردید و پس از تهیه در ظرف سیاه ریخته و در جای خنک و تاریک نگهداری شد.

– محلول G: K_2SO_4 به میزان ٤٣/٥٥ گرم در دو لیتر آب.

– محلول H: Ca SO_4 , ZH_2O به میزان ٨٦/٠٨ گرم در یک لیتر آب مقطر.

پس از تهیه محلول‌های شش گانه جهت آماده سازی آن به منظور آبیاری به روش زیر اقدام گردید.

برای تهیه ۲۰۰ لیتر محلول غذایی عاری از نیتروژن، ۱۰۰۰ سی سی از محلول (C)، ۲۵۰ سی سی از محلول (D)، ۱۰۰ سی سی از محلول (E)، ۸۰۰ سی سی از محلول (F)، ۱۰۰۰ سی سی از محلول (G) و ۱۰۰۰ سی سی از محلول (H) مورد استفاده قرار گرفت. بذر یونجه یک‌ساله *M. rigidula* و *M. truncatula* بعد از ضدعفونی با قرار دادن الگوی کاشت (الگوی کاشت از تخته‌ای تشکیل شده بود که دارای تعدادی سوراخ بود که با فاصله ۳ سانتی‌متری از هم‌دیگر قرار داشتند) در هر گلدان در عمق ۲– ۱/۵ سانتی‌متری به تعداد ۱۵ بذر در هر گلدان کشت گردید و با ظهور گیاهچه‌ها در مراحل ابتدایی (کوتیلدونی) ریزوبیوم‌ها همراه با آب به نسبت یکسان به همه گلدان‌ها اضافه شدند. برای این کار ابتدا به پتری‌دیش‌های حاوی ریزوبیوم ۵ سی سی آب اضافه شد، سپس با استفاده از میله شیشه‌ای ریزوبیوم‌ها را که به صورت لایه‌ای نازک بر روی محیط کشت Agar-Nutrient قرار داشتند، جدا کرده و به صورت محلول در آورده و سپس محلول به کمک سرنگ به میزان ۵ سی سی به هر گلدان اضافه گردید. باید توجه داشت که برای هر سوش باکتری سرنگی جداگانه مصرف کرد و یا وسایل قبلی را بعد از مصرف استریل نمود. بعد از اطمینان از سبز شدن یکنواخت بوته‌ها، اقدام به تنک کردن بوته‌ها در گلدان‌ها نموده به‌طوری در هر گلدان ۱۰ بوته نگهداری شد و سپس آبیاری گیاهان با محلول هوگلند به صورت دستی و روزانه یک بار شروع گردید که هر گلدان در هر بار آبیاری ۲۵۰ سی سی آب دریافت می‌نمود. این کار تا مرحله برداشت (ابتدای دوره گل‌دهی) ادامه یافت. بعد از گذشت دو ماه وقتی که گیاهان وارد مرحله گل‌دهی شدند، گلدان‌ها را در درون سطل پر از آب غوطه‌ور نموده و گیاهان همراه ریشه از گلدان بیرون آورده شد و گرهک‌های فعال[1] موجود بر روی ریشه‌ها شمارش گردید. از این طریق می‌توان به میزان همزیستی بین سوش‌های مختلف ریزوبیوم و گیاه مورد نظر پی برد. سپس ساقه گیاهان را توسط قیچی از محل

۱– گرهک‌هایی که دارای رنگ صورتی و قهوه‌ای بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

طوقه گیاه از ریشه جدا کرده و درون پاکت‌های جداگانه گذاشته و به مدت ۲٤ ساعت درون دستگاه آون، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از وزن کردن به آزمایشگاه تجزیه گیاه برای تجزیه میزان نیتروژن منتقل شدند و توسط دستگاه کجلدال مورد تجزیه قرار گرفتند. میزان نیتروژن تثبیت شده نیز به روش اختلاف میزان نیتروژن کل گیاه و میزان نیتروژن بذر تخمین زده شد.

صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش میزان گرهک‌های فعال موجود در روی ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه و برگ گیاه، درصد و میزان نیتروژن ریشه، درصد و میزان نیتروژن اندام‌های هوایی گیاه و درصد و میزان نیتروژن کل گیاه بودند. داده‌های به دست آمده از آزمایش به وسیله برنامه MSTAT-C تجزیه و تحلیل آماری شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که دو گونه یونجه یک‌ساله از لحاظ وزن خشک ریشه با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند. اما بین سوش‌های مختلف ریزوبیوم از لحاظ آماری در صفت وزن خشک ریشه اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. بقیه صفات اندازه‌گیری شده نیز دارای اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال یک درصد بودند و اثر متقابل آن‌ها نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

با توجه به معنی‌دار شدن F در مورد صفات اندازه‌گیری شده مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام گرفت

بررسی وزن خشک ریشه در بین سوش‌های مختلف ریزوبیوم در دو گونه یونجه یک‌ساله *M. rigidula* و *M. truncatula* نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک ریشه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش‌های ریزوبیوم خاک مرز از شهرستان پیرانشهر (۰/۸۵٦۰ گرم) و نلاس از شهرستان سردشت (۰/۸۵۰۰ گرم) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (۰/۲٦۸۰) داشت. از این ویژگی یونجه‌های یک‌ساله می‌توان در برابر عوامل فرسایش، مثل فرسایش آبی استفاده کرد. چرا که در فصل بارندگی یونجه‌های یک‌ساله نسبت به سایر حبوبات و سایر گراس‌ها، حجم ریشه زیادی نسبت به ساقه تولید می‌کنند (کروفورد و همکاران، ۱۹۹۷). کوچکی و بنایان (۱۳۷۳) نیز اعلام کردند عملکرد علوفه رابطه نزدیکی با اندازه سیستم ریشه دارد، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک ساقه یا اندام هوایی در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش‌های ریزوبیوم نلاس از شهرستان سردشت (۱/۹۵۷ گرم) و سوش ریزوبیوم بیطاس از شهرستان مهاباد (۱/۹۰٦ گرم) بود. که اختلاف معنی‌داری با تیمار

www.SID.ir

Archive of SID

شاهد (۰/۲۶۸۰ گرم) داشتند و نیز در گونه *M. rigidula* بیشترین میانگین وزن خشک ساقه اندام هوایی در همزیستی با سوش ریزوبیوم جلدیان از شهرستان پیرانشهر (۲/۳۶۸ گرم) به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (۰/۶۹۷ گرم) داشت. بدین ترتیب با استفاده از سوش ریزوبیوم مناسب می‌توان باعث افزایش تولید علوفه در این گیاهان گردید و مقدار قابل توجهی علوفه در مدت زمان کوتاه برداشت کرد (بائوچان و همکاران، ۲۰۰۰). علاوه بر این با توجه به ظرفیت بالای تولید علوفه در این گیاهان، یونجه‌های یک‌ساله می‌توانند نقش تعیین کننده‌ای در تولید علوفه و به طبع آن افزایش تولید پروتئین دامی داشته و باعث ارتقاء سطح امنیت غذایی گردند (ترک نژاد و همکاران، ۱۳۷۸).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان گره فعال بر روی ریشه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش ریزوبیوم خاک مرز پیرانشهر (۲۹/۶۷ عدد در بوته) بوده که اختلاف معنی‌داری با شاهد (۴/۳۳۳ عدد در بوته) داشت. همچنین در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان گره فعال در همزیستی با سوش ریزوبیوم بیوران از شهرستان سردشت (۳۴ عدد در بوته) به دست آمد. که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (۶/۳۳۳ عدد در بوته) داشت. سوش ریزوبیوم نیز می‌تواند نقش موثری در ایجاد گره روی ریشه داشته باشد. به طوری‌که با انتخاب سوش مناسب ریزوبیوم که دارای فعالیت مناسب نیز می‌باشند، می‌تواند گرهک‌زایی را تا حد زیادی افزایش دهد. اثر ریزوبیوم‌های غیرموثر می‌تواند مهم‌ترین محدود کننده تناوب غلات و یونجه‌های یک‌ساله باشد. در برخی مواقع تلقیح با سوش‌های ریزوبیوم نمی‌تواند نتایج موثری در گره‌زایی ریشه داشته باشد، که نتیجه آن کاهش تولید علوفه می‌باشد (ماترون، ۱۹۹۳).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان نیتروژن ریشه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش ریزوبیوم سوغانلو از شهرستان پیرانشهر (۱/۷۰۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) و خاک مرز پیرانشهر (۱/۶۰۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) حاصل شد که با تیمار شاهد (۰/۷۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان نیتروژن تثبیت شده در ریشه در همزیستی با سوش ریزوبیوم بیوران از شهرستان سردشت (یک میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) و خاک مرز پیرانشهر (یک میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) بود که با تیمار شاهد (۰/۵۳۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ریشه) اختلاف معنی‌داری داشت.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان نیتروژن ساقه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش ریزوبیوم بیوران از شهرستان سردشت (۲/۰۴۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ساقه) به‌دست آمد که با تیمار شاهد (۰/۷۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ساقه) اختلاف

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری داشت. همچنین در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان نیتروژن ساقه در همزیستی با سوش ریزوبیوم نلاس و ربط از شهرستان سردشت که به ترتیب (۱/۸۸۷ و ۱/۸۷۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ساقه) به‌دست آمد که با تیمار شاهد (۰/۵۸٦۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک ساقه) اختلاف معنی‌داری داشت.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان نیتروژن کل گیاه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش‌های ریزوبیوم سوغانلو از شهرستان پیرانشهر (۳/٦۱۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه) و بیوران از شهرستان سردشت (۳/۵۱ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه) حاصل شد که با تیمار شاهد (۱/۲۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه) اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان نیتروژن کل گیاه در همزیستی با سوش ریزوبیوم نلاس از شهرستان سردشت (۲/۸٤۳۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه) به‌دست آمد که با تیمار شاهد (۱/۱۱۹۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه) اختلاف معنی‌داری داشت. اختلاف در میزان نیتروژن کل گیاه در بین سوش‌های مختلف ریزوبیوم به کار برده شده را می‌توان چنین توجیه نمود که عوامل هیدروترمیکی، توازن غذایی و ترکیب خاک تاثیر مستقیم در فعالیت ریزاندامک‌ها می‌گذارد و فرسایش خاک فعالیت گروه‌های میکروبی خاک را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد (شکوری، ۱۳۷۸). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که تفاوت در میزان نیتروژن تثبیت شده به وسیله چندین عامل ایجاد می‌شود. از جمله این عوامل سوش ریزوبیوم موجود در خاک و نیز گره‌های موجود در ریشه‌ها، مواد غذایی موجود در خاک و شرایط اقلیمی منطقه را می‌توان نام برد (ماترون و دانسو، ۱۹۹۱).

با توجه به نتایج به دست آمده میزان علوفه خشک تولیدی در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش‌های ریزوبیوم نلاس از شهرستان سردشت (۲/۳۵ تن در هکتار) و با سوش ریزوبیوم بیطاس از شهرستان مهاباد (۲/۲۹ تن در هکتار) بود. در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان علوفه خشک تولید شده در همزیستی با سوش ریزوبیوم جلدیان از شهرستان پیرانشهر (۲/۸٤۱ تن در هکتار) بود. همچنین بیشترین میزان نیتروژن کل گیاه در گونه *M. truncatula* در همزیستی با سوش ریزوبیوم بیوران از شهرستان سردشت و خاک مرز پیرانشهر در هر دو به میزان (۲٦۹/۸٤ کیلوگرم در هکتار) به دست آمد و در گونه *M. rigidula* بیشترین میزان نیتروژن کل گیاه در همزیستی با سوش ریزوبیوم بیوران از شهرستان سردشت (۲۳۳/۱۹ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در قسمت گلخانه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		میزان ماده خشک ریشه گیاه	میزان ماده خشک اندام هوایی گیاه	تعداد گره	میزان نیتروژن ریشه	میزان نیتروژن ساقه	میزان نیتروژن کل گیاه
واریته A	۱	۰/۰۱۶ ns	۰/۹۰۴ **	۳۴۵/۶۰۰ **	۳/۸۴۱ ns	۰/۶۰۰ **	۶/۷۴۹ **
سوش ریزوبیوم (B)	۸	۰/۱۴۷ **	۱/۲۵۸ **	۲۶۵/۴۱۵ **	۰/۲۰۹ ns	۱/۱۰۶ **	۲/۴۲۴ **
اثر متقابل (AB)	۸	۰/۰۳۱ *	۰/۴۵۳ **	۶۰/۲۶۷ **	۰/۰۸۱ ns	۰/۲۰۱ **	۰/۴۵۳ **
خطای آزمایشی	۳۶	۰/۰۲۲	۰/۱۹۵	۱۵/۴۰۰	۰/۰۲۵	۰/۰۵۲	۰/۰۷۵
ضریب تغییرات (درصد)		۲۲/۱۷	۲۵/۸۴	۱۶/۸۶	۱۶/۲۲	۱۳/۷۹	۱۰/۱۳

** و * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و غیر معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین‌ها صفات آزمایشی در بخش گلخانه

گونه	سوش ریزوبیوم	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	تعداد گره	میزان نیتروژن ریشه (میلی‌گرم بر گرم)	میزان نیتروژن ساقه (میلی‌گرم بر گرم)	نیتروژن کل گیاه (میلی‌گرم بر گرم)
M. truncatula	برهان	۰/۵۹ ad	۱/۴۲ bg	۲۴/۰۰ bf	۱/۲۲ bc	۱/۵۱ cg	۲/۷۳ ac
M. rigidula	برهان	۰/۶۳ ac	۱/۷۷ ae	۳۲/۰۰ ab	۰/۹۴ cd	۱/۱۷ g	۲/۱۱ cg
M. truncatula	بیطاس	۰/۷۵ ab	۱/۹۱ ae	۲۴/۶۷ bf	۱/۴۷ ab	۱/۰۶ bg	۳/۱۰ ab
M. rigidula	بیطاس	۰/۷۸ ab	۲/۳۳ ab	۳۱/۳۳ ac	۰/۹۶ cd	۱/۴۷ cg	۱/۴۳ ad
M. truncatula	جلدیان	۰/۸۱ ab	۱/۳۷ cg	۲۱/۶۷ df	۱/۵۲ ab	۱/۸۴ ac	۳/۳۵ ab
M. rigidula	جلدیان	۰/۶۷ ab	۲/۳۷ a	۲۴/۳۳ bf	۰/۷۲ de	۱/۳۵ dg	۲/۰۷ dg
M. truncatula	سوغانلو	۰/۷۴ ab	۱/۶۰ bg	۲۰/۳۳ ef	۱/۷۱ a	۱/۹۱ ac	۳/۶۲ a
M. rigidula	سوغانلو	۰/۸۶ a	۱/۲۷ cf	۲۸/۶۷ ae	۰/۷۸ de	۱/۲۸ eg	۲/۰۶ dg
M. truncatula	خاک مرز	۰/۸۶ ab	۱/۷۷ ae	۲۹/۶۷ ad	۱/۶۱ a	۱/۹۰ ac	۳/۵۱ a
M. rigidula	خاک مرز	۰/۷۲ ab	۱/۲۱ dg	۲۱/۰۰ ef	۱/۰۰ cd	۱/۱۸ fg	۲/۱۸ cg
M. truncatula	بیوران	۰/۷۲ ab	۱/۳۳ dg	۲۱/۶۷ df	۱/۴۶ ab	۲/۰۵ a	۳/۵۱ a
M. rigidula	بیوران	۰/۶۵ ab	۱/۶۳ bf	۳۴/۰۰ a	۱/۰۰ cd	۱/۳۷ bd	۲/۳۷ bg
M. truncatula	نلاس	۰/۸۵ ab	۱/۹۶ ae	۱۸/۶۷ f	۱/۴۶ ab	۱/۸۰ bd	۳/۲۶ ab
M. rigidula	نلاس	۰/۵۱ bd	۱/۴۹ bg	۳۱/۶۷ ab	۰/۹۶ cd	۱/۸۸ ab	۲/۸۴ ac
M. truncatula	ربط	۰/۷۷ ab	۱/۴۲ bg	۲۳/۰۰ cf	۱/۵۲ ab	۱/۶۸ bf	۳/۱۹ ab
M. rigidula	ربط	۰/۹۰ a	۲/۲۵ ad	۲۴/۶۷ bf	۰/۹۹ cd	۱/۸۸ ab	۲/۰۳ eg
M. truncatula	شاهد	۰/۲۷ d	۰/۵۴ g	۴/۳۳ g	۰/۷۵ de	۰/۷۵ h	۱/۲۲ h
M. rigidula	شاهد	۰/۳۱ cd	۰/۷۰ fg	۶/۳۳ g	۰/۵۳ e	۰/۵۹ h	۱/۱۲ h

اعداد هر ستون که در یک حرف مشترک باشند در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

✓ ترک نژاد. ا.، ح. حیدری شریف آبادی.، د. مظاهری. و ا. قلاوند. ۱۳۷۸. ارزیابی کارائی یونجه‌های یک‌ساله در تولید بیولوژیکی نیتروژن و کارکرد آن در سیستم پایدار کشاورزی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۳. صفحات ۴۳- ۳۵.

✓ خودشناس. م.، م. دادیور. و ک. خاوازی. ۱۳۸۲ بررسی کارایی سوش‌های باکتری ریزوبیوم در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در خاک‌های زیر کشت لوبیا. هشتمین کنگره علوم خاک ایران. رشت. صفحه ۸ - ٦.

✓ شکوری، ب. ۱۳۷۸. اثر میکروارگانیزم‌ها در تشکیل خاک. مجله سنبله. شماره ۷۸. صفحات ۲۱- ۱۵.

✓ کوچکی، ع. و م. بنائیان اول. ۱۳۷۳. فیزیولوژی عملکرد گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱٥٤ صفحه.

✓ Bauchan, G. R., F. Veronesi., and D. Rosellini. 2000. Use of annual medics in sustainable agriculture systems. Lucern and Medics for the XXI century.

✓ Beck, D. P., L. A. Materon., and F. Afandi. 1993. Practical rhizobium – legume technology manual. International Center for Agricultural in the Dry Areas.

✓ Crawford, M. C., P. R. Grace., W. D. Bellotti., and J. M. Oades. 1997. Root production of a barrel medics (*medicago truncatula*) pasture and barley grass (*Hordeum leporinum)* crop in Southern Australia. Australian Journal of Agricultural Research, 48: 1139- 1150

✓ Downie. J. A. 2005. Legume hemoglobin's: Symbiosis nitrogen fixation needs bloody nodules. Current Biology. 15 (6): 196.

✓ Herridge, D. F., and S. k. A. Danso. 1995. Enhamcing crop legume N_2-fixation through selection and breeding. Plant and Soil. 174: 51- 82.

✓ Maleki Farahani. S., R. Tavakkol Afshari., H. Haydari Sharifabadi., and M. R. Chaichi. 2008. Effects of rhizobium strain on growth and nitrogen fixation of annual medics. Australian Agronomy Conference. Adelaide SA. 10- 15.

✓ Materon, L. A. 1991. Symbiotic characteristics of *Rhizobium meliloti* in West Asian soils. Soil Biol. Biochem. 23: 429- 434.

✓ Materon, L. A. 1993. Constraintsto nodulation of annual medics by indigenous populations of *Rhizobium meliloti* in West Asian soils. In: Christiansen, S., Materon, L.A., Falcinelli, M., Cocks, P.S. (Eds.), Introducing Ley Farming to the Mediterranean Basin. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria. pp. 192- 202.

✓ Materon, L. A., L. Zibilske. 2001. Delayed inoculation and competition of nitrogen-fixing strains in *M. rigidula* (L.) and *M. truncatula* (Gaertn.). Appl. Soil Ecol. 17: 175- 181.

✓ Shrestha, A., J. W. Fisk., P. Jeranyama., J. M. Squire., and O. B. Hesterman. 2001. Annual medics. Department of Crop and Soil Science, Michigan State University.

www.SID.ir