Archive of SID

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 3, Fall. 2015, p. 513-523

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴، ص. ۵۲۳-۵۱۳

بررسی خصوصیات کمی وکیفی دو توده شبدر ایرانی (*Trifolium* sp.) در تلقیح با باکتری‌های *ریزوبیوم و سودوموناس*

رضا اعظمی[1*]- محمدرضا اردکانی[2]- مسعود گماریان[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۲۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات تلقیح دو اکوتیپ شبدر ایرانی با سویه‌های مختلف باکتری *Rhizobium leguminosarum biovar trifoli* توأم با باکتری افزایش‌دهنده رشد (PGPR) *Pseudomonas putida* بر روی برخی از خصوصیات کمی و کیفی دو اکوتیپ شبدر ایرانی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و دامپروری شهرستان گلپایگان در سال زراعی۹۰- ۱۳۸۹ انجام شد. عوامل اصلی این آزمایش عبارت بودند از دو اکوتیپ محلی شبدر ایرانی به‌نام هفت چین اصفهان (V_2) و هفت چین مرکزی (V_1) و عوامل فرعی شامل دو سویه باکتری *ریزوبیوم* (Rb-13 و Rb-3)، و یک سویه باکتری *سودوموناس پوتیدا* (PS-168) و در کل چهار چین برداشت شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تلقیح با باکتری‌های *ریزوبیوم و سودوموناس* تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های کمی رشد داشت و باعث افزایش عملکرد علوفه تر و خشک، افزایش ارتفاع ساقه، افزایش میزان نسبت برگ به ساقه و تعداد غدد تشکیل شده بر روی ریشه شدند، اما تأثیری بر روی صفات کیفی و صفت کمی عمق نفوذ ریشه نداشت. باکتری افزایش‌دهنده رشد (PGPR) منجر به افزایش صفات کمی رشد شد. همچنین در غالب موارد تلقیح توام به‌وسیله *ریزوبیوم* و *سودوموناس پوتیدا* بیشترین شاخص‌های رشد و تیمارهای بدون تلقیح (شاهد) کمترین شاخص‌های رشد را به همراه داشته است.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، علوفه، عملکرد علوفه، کود بیولوژیک

مقدمه

تولید علوفه در کشور از اهمیت فراوانی برخوردار است (۱۱). شبدر (*Trifolium* sp.) بعد از یونجه مهمترین جنس لگوم علوفه‌ای در ایران می‌باشد. گیاهان این گونه همگی علفی و خوش خوراک بوده و از ارزش غذایی بالایی برای دام‌ها برخوردار هستند (۹). از بین ۲۵ گونه زراعی، در سیستم کشاورزی ایران تنها دو گونه، شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum*) با سطح زیرکشت ۶۰٪ در مناطق معتدله و سرد و شبدر برسیم (*Trifolium. alexandrinum*) با سطح زیر کشت ۴۰ ٪ مناطق گرمسیری و شمالی کشور را به‌خود اختصاص داده‌اند (۱ و ۲). شبدر ایرانی گیاهی است علوفه‌ای یکساله، از نظر ارزش غذایی یکی از بهترین گیاهان جهت تغذیه دام و طیور به‌شمار می‌رود و علاوه بر تولید علوفه، از آن به‌عنوان کود سبز برای بهبود کیفیت خاک و ایجاد پوشش گیاهی جهت جلوگیری از فرسایش خاک استفاده می‌کنند. از نظر رشد مجدد، میزان پروتئین و پوشش سطح سبز برتر از بسیاری از لگوم‌ها می‌باشد. شبدر گیاهی پاییزه است، اما کاشت آن در بهار امکان دارد ولی موجب رکود رشد و کوتاه شدن و عدم توانایی تولید بذر کافی می‌گردد (۱۱). با این همه، در مکان‌های متعدد و به علل مختلف از جمله محدودیت زمین و سپری شدن فصل کاشت علوفه در آخر فصل و از طرفی نیاز مبرم به علوفه در فصل بهار، زارعین مبادرت به کشت این گیاه در فصل بهار دارند.

سازمان خوار و بار جهانی (FAO)[4] کود را کلید امنیت غذایی می‌داند و افزایش۳۳ الی ۵۵ درصدی عملکرد محصولات کشاورزی در کشورهای مختلف را مرهون مصرف کود می‌داند (۱۵). اما در بسیاری از موارد کاربرد کودهای شیمیایی باعث آلودگی محیطی و

۱- کارشناس ارشد زراعت، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان (*- نویسنده مسئول: (Email: r.azami@yahoo.com
۲- استاد، اکولوژی کشاورزی (با تخصص کشاورزی ارگانیک)، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک

4- Food and Agriculture Organization of the United Nations

www.SID.ir

Archive of SID

صدمات اکولوژیکی می‌شود که خود هزینه تولید را افزایش می‌دهد (۷). امروزه کودهای بیولوژیک به‌عنوان یک جایگزین برای کودهای شیمیایی با هدف افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند (۲۰). کودهای بیولوژیک در مقایسه با کودهای شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند ازجمله این که در چرخه غذایی، تولید مواد سمی و میکروبی نمی‌نمایند، قابلیت تکثیر خودبه‌خودی دارند و باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند (۱۶). فاتما و همکاران (۶) گزارش دادند که کودهای بیولوژیک می‌توانند به جای کودهای معدنی نیتروژن و فسفر مورد استفاده قرار گیرند تا ضمن کاهش هزینه تولید ناشی از مصرف این قبیل کودها، از وارد شدن آسیب به محیط زیست در اثر نیتروژن به‌صورت نیتراتی جلوگیری به‌عمل آید.

امروزه در برنامه‌ریزی برای سیستم‌های کشاورزی پایدار، استفاده از همزیستی *ریزوبیوم* – لگومینوز، ضرورتی اساسی تلقی می‌شود. برنامه‌های دقیق تناوب زراعی با منظور کردن لگومینوزهای مناسب در گردش کشت، پس از سال‌ها دوباره جایگزین سیستم‌های یک کشتی متکی به مصرف کود شیمیایی می‌شوند (۱۹).کودهای نیتروژنه و گیاهان خانواده بقولات دو منبع تهیه نیتروژن در خاک به حساب می‌آیند و عوامل جبران‌کننده نیتروژن در مقابل برداشت آن توسط محصولات می‌باشند (۳). این تحقیق با هدف بررسی اثرگذاری باکتری‌های *ریزوبیوم و پسودوموناس* بر صفات کمی و کیفی رشد در کشت بهاره دو اکوتیپ شبدر ایرانی در شرایط آب و هوایی گلپایگان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در اراضی ایستگاه تحقیقات کشاورزی و دامپروری شهرستان گلپایگان با موقعیت جغرافیایی ´۱۵ و °۵۰ طول شرقی و ۲۶ و °۳۳ عرض شمالی در سال زراعی سال۹۰- ۱۳۸۹ انجام شد. مشخصات خاک مزرعه در جدول ۱ ذکر گردیده است.

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. هر تکرار دارای ۱۲ تیمار بود که به‌صورت تصادفی در کرت‌ها قرار گرفتند و در کل چهار چین برداشت شد. عامل‌های باکتریایی عبارت بودند از باکتری سویه ۱ *ریزوبیوم* (*biovar trifoli*) *Rhizobium leguminosarum* (R1) با کد شناسایی شماره ۳، باکتری سویه ۲ *ریزوبیوم* (*biovar trifoli* *Rhizobium* (R2) با کد شناسایی شماره ۱۳، باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* (PGPR) (P1) با کد شناسایی شماره Ps 168. و دو اکوتیپ شبدرایرانی شامل: اکوتیپ مرکزی (V1) و اکوتیپ اصفهانی (V2) بود.

براساس عرف زارعین منطقه بذر مورد نیاز برای هر هکتار برابر با ۶۰ کیلوگرم است و مایه تلقیح پودری نیز براساس توصیه موسسه خاک و آب برابر ۵ گرم مایه تلقیح به‌ازاء هر ۱۰۰ گرم بذر می‌باشد (هر گرم حاوی ۵×۱۰^{۸} باکتری) را برای هر تیمار به‌صورت جداگانه توزین نموده و برای تلقیح و چسبندگی بهتر این باکتری‌ها بر روی سطوح بذور از محلول ۲۰٪ آب و شکر استفاده شد (۵).

در هر بلوک، ۱۲کرت آزمایشی به ابعاد ۲/۵ × ۵ با مساحت ۱۲/۵متر مربع ایجاد نموده، فاصله بین بلوک‌ها ۲متر و بین هر بلوک یک جوی آب برای آبیاری ایجاد شد بین هر کرت با کرت مجاور مرزی بلند برای جلوگیری از تداخل ورود آب آبیاری در یکدیگر احداث شد. کاشت به‌صورت نواری و فاصله بین نوارها ۳۵ سانتی‌متر در هرکرت بود. برای کاشت، در امتداد طولی کرت‌ها با ابزاری دستی شیاری به عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متر ایجاد نموده و بذور را درون شیارها قرار داده و روی آن‌را با کمی خاک پوشانده شدند.

جدول ۱- مشخصات خاک زراعی مزرعه اجرای طرح تحقیقاتی
Table 1- Properties of research project farm soil

عمق خاک Soil depth (cm)	Ec ($ds\ m^{-1}$)	pH	ازت کل Total N	کربن آلی OC	فسفر P	پتاسیم K	مس Cu	آهن Fe	روی Zn	ماسه Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	کلاس بافت خاک Soil texture class
						میلی‌گرم بر کیلوگرم $mg\ kg^{-1}$							
0 -30	1.57	7.8	0.1	1.01	14.4	380	1.6	6.98	1.42	24.2	46.2	29.6	لومی رسی Loamy Clay

www.SID.ir

Archive of SID

بلافاصله بعد از کاشت، مزرعه آبیاری شد و در طول فصل رویش هم در فاصله‌های منظم نسبت به آبیاری آن اقدام گردید، مبارزه با علف‌های هرز بین خطوط و روی مرزها به‌صورت دستی و به‌طور منظم انجام داده و در طول مدت داشت، یادداشت‌برداری‌های لازم انجام شد. نمونه‌گیری داده‌ها به این ترتیب بود که در هر چین قبل از برداشت ابتدا ارتفاع بوته‌ها اندازه‌گیری می‌شد و بعد برای تعیین عملکرد در هر کرت از یک فرم ۲ متر مربعی استفاده شد و پس از برداشت و توزین آن، مقدار مشخصی از علوفه برداشت شده را به‌منظور تعیین میزان ماده خشک به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۲ سانتی‌گراد قرار دادیم. همچنین از هر کرت مقداری از علوفه را انتخاب کرده، برگ و ساقه‌ها از هم جدا شدند و به همان روش قبل خشک و سپس توزین گردیدند و بعد نسبت برگ به ساقه محاسبه شد. در نهایت علوفه خشک هر کرت جهت تجزیه کیفی به آزمایشگاه ارسال گشت.

میزان پروتئین خام از حاصل ضرب نیتروژن در ضریب تصحیح (۶/۲۵) به‌دست آمد. در انتهای فصل چند بوته از هر کرت را انتخاب و آنها را سالم از خاک بیرون آورده و تعداد گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه‌ها را شمارش و بلندترین ریشه‌های فرعی که بیشترین عمق نفوذ داشتند را به‌وسیله خط کش مدرج اندازه‌گیری شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ساده تیمارها با استفاده از نرم افزار SAS و میانگین اثر متقابل تیمارها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی اثرات ساده

در این آزمایش صفات مؤثر درکیفت تحت تأثیر باکتری *ریزوبیوم* و *سودوموناس* قرار نگرفتند و اختلاف تیمارهای استفاده کننده از این کودهای بیولوژیک با تیمار شاهد (بدون تلقیح با این باکتری) در حد بسیار ناچیز بود و از لحاظ آماری هم معنی‌دار نشدند. اما کلیه صفات کمی به‌جز صفت عمق نفوذ ریشه، کاملاً تحت تأثیر این باکتری‌ها قرار گرفته و نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار پیدا نمودند ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌که باکتری *ریزوبیوم* باعث افزایش میانگین عملکرد علوفه خشک به میزان ۰/۲ تن در هکتار در طی هر چین شده بود (جدول ۲). این اختلاف برای تیمارهای استفاده‌کننده از باکتری *سودوموناس* برای علوفه خشک نسبت به تیمار شاهد برابر ۰/۱۸ تن در هکتار برای هر چین بود (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر هر یک از باکتری‌های *ریزوبیوم* (جدول ۲) و *سودوموناس* (جدول ۴) بر روی دیگر صفات کمی مورد بررسی نشان می‌دهد که این باکتری‌ها بر روی صفت ارتفاع ساقه، نسبت برگ به ساقه و تعداد گره تشکیل شده بر روی ریشه‌ها نسبت به تیمار شاهد تأثیر داشته‌اند به‌طوری‌که میانگین تیمارهای استفاده‌کننده از *ریزوبیوم* و *سودوموناس* دارای بیشترین مقدار و میانگین عدم مصرف این باکتری‌ها در گروه پایین‌تر قرار گرفته‌اند. در جدول ۲ ارزیابی اکوتیپ‌ها طی چین‌های مختلف هم نشان داد که تنها دو صفت کمی ارتفاع ساقه و عملکرد علوفه خشک با هم اختلاف معنی‌دار دارند و در هر دو صفت برتری با اکوتیپ اصفهانی بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عامل چین بر روی کلیه صفات مؤثر بر کیفیت علوفه تأثیرگذار بوده است. به قسمی که در چین‌های اول و دوم کیفت علوفه در بالاترین سطح و در چین‌های سوم و چهارم کیفت علوفه در سطوح پایین‌تر قرار گرفته‌اند.

انتظار این بود که استفاده از این نوع کودهای بیولوژیک باعث بالاتر رفتن کیفیت علوفه شده و میزان تجمع عناصر مؤثر در کیفیت در گیاه بالاتر روند. اما بررسی جدول میانگین مربعات این گونه نبود. در این رابطه نظرات مختلفی وجود دارد ازجمله روبرت و همکاران (۱۷) گزارش دادند که با تأخیر در کاشت، به دلیل مواجه شدن رشد گیاه با درجه حرارت بالا و طول روز بلند، دیواره سلولی تحریک به ساختن فیبر شده (افزایش فیبر) و تولید پروتئین و قابلیت هضم گیاه کاهش می‌یابد. همچنین کاکمز و همکاران (۱۴) از بررسی تأثیر سیستم‌های کاشت و تاریخ‌های برداشت بر روی کیفیت علوفه شبدر ایرانی در ترکیه گزارش دادند که برداشت‌های زود هنگام باعث کمبود مس در علوفه می‌گردد. اما جهان و همکاران (۱۰) گزارش دادند که با مقایسهٔ عملکرد مادهٔ خشک و تغییرات درصد نیتروژن، فسفر و پتاس گیاه در اثر کاربرد انواع میکروارگانیزم‌ها، درصد کمتر نیتروژن در تلقیح دوگانه و تلقیح میکوریزایی نسبت به تیمار شاهد، را می‌توان به رقیق شدن نیتروژن در اثر رشد بیشتر گیاه در تلقیح دوگانه نسبت داد.

بررسی اثرات عامل‌های دوگانه

ریزوبیوم و سودوموناس

در این آزمایش اثرات متقابل عوامل دوگانه باکتری *ریزوبیوم* و *سودوموناس* بر روی صفات کیفی معنی‌دار نشده بود اما اثرات این عوامل بر روی صفات کمی به‌جز صفت عمق نفوذ ریشه در سطح احتمال ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار شده بودند. جدول ۳ نشان داد که اثر متقابل عوامل دوگانه باکتریایی نسبت به تیمار شاهد، تأثیر مثبتی بر روی شاخص‌های رشد داشته است به قسمی که تیمار استفاده‌کننده از باکتری *سودوموناس* و سویه ۲ باکتری *ریزوبیوم* دارای بیشترین سطح تولید و تیمار *سودوموناس* و سویه ۱ باکتری *ریزوبیوم* در سطح پایین‌تر تولید قرار داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات ساده صفات اندازه‌گیری شده در بررسی اثرات متقابل باکتری‌های همزیست ریزبیوم و محرک رشد بر روی خصوصیات کمی وکیفی در دو اکوتیپ شبدر ایرانی (اصفهانی و مرکزی)

Table 2- Mean comparison of simple effect of measure traits in assessment of qualitative and quantitative characterization of two Persian clover ecotypes inoculated by *Rhizobium leguminosa rumbiovartrifoli* and *Pesudomonas putida* bacteria

تیمار Treatment	میانگین صفات Mean traits										
	تعداد گره Number of Nudes	عمق نفوذ ریشه Depth of root penetration (cm)	عملکردتر Fresh Weight Yield (Ton ha^{-1})	نسبت برگ به ساقه Leaf to Stem Ratio	ارتفاع ساقه Height Stem (cm)	عملکردخشک Dry Weight Yield (ton ha^{-1})	پروتیین خام Crude protein (mg kg^{-1})	مس Cu (mg kg^{-1})	آهن Fe (mg kg^{-1})	فسفر P (mg kg^{-1})	نیتروژن N (mg kg^{-1})
ریزوبیوم Rhizubium											
بدون مصرف (R_0) Without used	12.750b	17.3167a	11.1288b	1.38792b	42.177b	1.57917b	20.5063a	11.3896a	512.69a	0.33396a	3.28083a
سویه۱ (R_1) race 1	34.5a	17.6a	12.4640a	1.45854a	46.042a	1.78667a	20.6813a	11.3396a	482.93a	0.34208a	3.30875a
سویه۲ (R_2) race 2	32.333a	17.625a	12.4608a	1.46792a	47.858a	1.77979a	20.3373a	11.3004a	599.61a	0.34208a	3.25375a
سودوموناس Psudoumonas											
بدون مصرف (P_0) Without used	22.556b	17.4333a	11.4178b	1.41042b	43.1528b	1.62806b	20.6874a	11.3597a	481.97a	0.34306a	3.30972a
سویه۱ (P_1) race 1	30a	17.5938a	12.6179a	1.46583a	47.5653a	1.80236a	20.2292a	11.3267a	581.51a	0.33569a	3.25250a
اکوتیپ Ecotype											
مرکزی (v1) Markazi	26.294a	17.5529a	11.8714b	1.44514a	43.402b	1.71292a	20.7344a	11.4733a	536.32a	0.34500a	3.31736a
اصفهانی (v2) Esfehani	25.824a	17.4647a	12.1643	1.43111a	47.3153a	1.71750a	20.2821a	11.2131a	527.16a	0.33375a	3.24486a
چین (H) Harvest											
چین۱ (H_1) Harvest 1	-	-	12.09556b	1.201111d	45.7639ab	1.746667b	22.0450a	12.3783a	878a	0.38139a	3.52694a
چین۳ (H_2) Harvest 2	-	-	12.35194a	1.448889c	46.0833a	1.773889a	22.2078a	12.0722a	847.92a	0.37278a	3.55306a
چین۳ (H_3) Harvest 3	-	-	11.86139c	1.515000b	45.2833b	1.684167c	17.9825c	9.5111c	195.60b	0.31139b	2.87694c
چین۴ (H_4) Harvest 4	-	-	11.76250d	1.587500a	44.3056c	1.656111d	19.7978b	11.4111b	205.44b	0.29194b	3.16750b

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly difference ($P<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

ریزوبیوم و اکوتیپ

اثرات متقابل عوامل دوگانه باکتری *ریزوبیوم* واکوتیپ بر روی صفات کیفی در این آزمایش معنی‌دار نشده بود. اما اثرات این عوامل بر روی صفات کمی به‌جز صفت عمق نفوذ ریشه در سطح احتمال ($p\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار شده بود. طبق جدول ۳ اثر متقابل عوامل دوگانه اکوتیپ و *ریزوبیوم* نشان از برتری اکوتیپ اصفهانی در بیشتر صفات کمی نسبت به اکوتیپ مرکزی بود

سودوموناس و اکوتیپ

در طی این تحقیق اثرات متقابل عوامل دوگانه باکتری *سودوموناس* و اکوتیپ بر روی صفات کیفی معنی‌دار نشده بود. اما اثرات این عوامل بر روی صفات کمی به‌جز صفت عمق نفوذ ریشه و تعداد گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه‌ها در انتهای فصل در سطح احتمال ($p\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار شده بود. جدول ۳ نشان داد که هر اکوتیپ نسبت به تیمارهای شاهد خود تحت تأثیر تلقیح با *سودوموناس* قرار گرفته و درنتیجه صفات کمی در بالاترین سطح خود قرار می‌گیرند و عدم به‌کار بردن باکتری *سودوموناس* (شاهد) در هر اکوتیپ باعث می‌شود کلیه این صفات در پایین‌ترین سطح قرار گیرند.

مهراب یادگاری و همکاران (۲۱) گزارش کردند که باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد منجر به افزایش صفات زراعی در گیاه لوبیا شدند. در غالب موارد، ارقام تلقیح شده توأم، *ریزوبیوم* و *سودوموناس* بیشترین صفات برآورد شده را دارا بودند و پیشنهاد دادند که برای بالا بردن افزایش عملکرد، از باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه در ترکیب با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن استفاده شود.

چین و ریزوبیوم

بررسی جدول ۴ نشان داد که اثرات متقابل چین و *ریزوبیوم* برروی کلیه صفات کیفی و کمی در سطح احتمال ($p\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار شده است اما این اثرات متفاوت بوده است مثلاً بیشترین اثر متقابل این دو عامل روی صفات کیفی به‌ترتیب برای فاکتورهای نیتروژن در چین اول و *ریزوبیوم* ۱، آهن در چین دوم و *ریزوبیوم* ۱ و پروتیئن خام در چین اول و *ریزوبیوم* ۱ و برای صفات کمی عملکرد علوفه خشک در چین سوم و *ریزوبیوم* ۱، علوفه تر چین اول و *ریزوبیوم* ۱ و برای نسبت برگ به ساقه مربوط به چین چهارم با باکتری *ریزوبیوم* سویه ۲ بوده است. ضمن آنکه در اثرات متقابل باکتری سویه ۲ و ۱ نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب در چین‌های مختلف بیشترین نسبت برگ به ساقه به‌دست آمده بود.

بررسی اثرات متقابل این دو عامل بر روی صفات تولید علوفه‌تر، ارتفاع ساقه و نسبت برگ به ساقه هم مشابه و به همان ترتیب بالا بود و برای کلیه این صفات تیمار شاهد در پایین‌ترین سطح قرار داشت. بررسی اثرات این دو عامل نشان‌دهنده تأثیرگذاری در تشکیل و افزایش تعداد گره برروی ریشه‌ها در انتهای فصل بوده است. این درحالی بود که در تیمارهای شاهد یا عدم استفاده از این دو باکتری تمامی این صفات در پایین‌ترین سطح خود قرار داشتند. هرچند که تأثیر متقابل دو سوش باکتری *ریزوبیوم* با *سودوموناس* متفاوت بود و تأثیر سویه ۲ باکتری *ریزوبیوم* بیشتر مشاهده شد، اما درمجموع اثر متقابل این دو نوع عامل باکتریایی بر روی صفات کمی مثبت بوده است. در این رابطه رودریگوئزناوارو و همکاران (۱۸) گزارش دادند که در تلقیح سویه‌های مختلف باکتری *ریزوبیوم* با نوعی لوبیا در رابطه با وزن خشک اندام‌های هوایی مقادیر معنی‌داری به‌دست آمد. دلیپ کومار و همکاران (۵) نشان دادند که تلقیح توام بذور نخود (*Cicer arietinum*) با *سودوموناس فلورسنس* و *ریزوبیوم* منجر به افزایش ارتفاع ساقه، طول ریشه و وزن خشک گیاه نسبت به تیمارهای شاهد شد.

چین و سودوموناس

طبق جدول ۴ بررسی اثرات متقابل دوگانه عوامل چین و باکتری *سودوموناس* بر روی کلیه صفات در سطح احتمال ($p\leq ۰/۰۵$) تأثیر معنی‌دار شده است. اما بررسی این عوامل بر روی صفات کیفی و کمی نشان می‌دهد که بالاترین صفات کیفی مربوط به تیمارهای است که در آنها از باکتری *سودوموناس* استفاده نشده بود. هرچند در بررسی صفات مختلف نشان از تأثیرگذاری این دو فاکتور برهم می‌باشد و به‌خصوص در صفت نسبت برگ که از مهمترین شاخص‌های رشد است اثر این دو عامل کاملاً مشهود است اما غالباً عدم استفاده از باکتری *سودوموناس* در چین‌های مختلف تأثیرگذاری بیشتری داشته است این مطلب نیاز به بررسی بیشتری دارد.

چین و اکوتیپ

جدول ۴ نشان داد که صفات کمی در اکوتیپ مرکزی بیشتر تحت تأثیر اثر متقابل عوامل دوگانه چین و اکوتیپ قرار گرفته‌اند و در کل چهار چین صفات کمی در اکوتیپ ۱ برتری نسبی به اکوتیپ ۲ دارند. بررسی اثر متقابل عوامل دوگانه چین و اکوتیپ بر روی عملکرد علوفه خشک و تر در این جدول نشان می‌دهد که اکوتیپ مرکزی برای عملکرد علوفه خشک در چین‌های سوم و چهارم و برابر با عدد مشترک ۱/۷۷ و برای علوفه تر فقط در چین چهارم و برابر با ۱۲/۵ تن در هکتار بیشترین تأثیر را داشته است. به‌علاوه، تأثیر دوگانه این دو عامل بر روی افزایش ارتفاع ساقه با اکوتیپ ۱ در چین‌های دوم و چهارم است و به‌ترتیب برابر با ۴۷/۸۳ و ۴۸/۱۶ سانتی‌متر و همچنین اثر دوگانه این عوامل برروی صفت نسبت برگ به ساقه در اکوتیپ ۲ در چین‌های سوم و چهارم و برابر با رقم مشترک نسبت ۱/۵۸ به‌دست

www.SID.ir

Archive of SID

آمده است.

جدول۳- مقایسه میانگین اثرات دوگانه صفات اندازه‌گیری شده در بررسی اثرات متقابل باکتری‌های همزیست ریزوبیوم و محرک رشد بر روی خصوصیات کمی و کیفی در دو اکوتیپ شبدر ایرانی (اصفهانی و مرکزی)

Table 3- Mean comparison of double interaction effect of measure traits in assessment of qualitative and quantitative characterization of two Persian clover ecotypes inoculated by *Rhizobium leguminosarum biovartrifoli* and *Pesudomonas putida* bacteria

تیمار Treatment	میانگین صفات Mean of Traits										
	تعداد گره Number of nudes	عمق نفوذ ریشه Depth of root penetration (cm)	عملکرد تر Fresh Weight Yield (Ton ha^{-1})	نسبت برگ به ساقه Leaf to Stem Ratio	ارتفاع ساقه Height Stem (cm)	عملکرد خشک Dry Weight Yield (Ton ha^{-1})	پروتئین خام Crude protein (mg kg^{-1})	مس Cu (mg kg^{-1})	آهن Fe (mg kg^{-1})	فسفر P (mg kg^{-1})	نیتروژن N (mg kg^{-1})
ریزوبیوم× سودوموناس											
Rhizobium*Psudomounas Pesudomonas*Rhizubium											
P_0R_0	9.5 d	17.5 a	10.6463c	1.37375c	41.063c	1.51292c	20.4913a	11.3958a	465.8a	0.32375a	3.2783a
P_0R_1	16 cd	17.133a	11.6113b	1.40208bc	43.292bc	1.64542b	20.5213a	11.3833a	559.5a	0.34417a	3.2833 a
P_0R_2	31.167ab	16.817 a	11.8933b	1.41625bc	43.792bc	1.70500b	21.875a	11.1750a	444.9a	0.35833a	3.3738 a
P_1R_0	39.5 a	18.775 a	13.0346a	1.50083a	48.292a	1.86833a	20.2750a	11.5042a	520.9a	0.25583a	3.2438a
P_1R_1	27 bc	17.983 a	11.7138b	1.44125b	44.604b	1.66625b	204833a	11.5083a	535.1a	0.34708a	3.2771 a
P_1R_2	37.667ab	17.267a	13.2079a	1.49458a	51.113a	1.89333a	20.1913a	11.0625a	664.1a	0.33708a	3.2304a
ریزوبیوم× اکوتیپ											
V_1R_0	13.167 b	17a	10.9579b	1.37958b	40.063d	1.58208b	20.5088a	11.0875a	495.4a	0.33750a	3.2813a
V_1R_1	12.333b	17.633 a	11.2996b	1.39625b	44.292bc	1.57625b	20.5038a	11/6917	529.9a	0.33042a	3.2804a
V_1R_2	31.8 a	18.04 a	12.1858a	1.46542a	43.146dc	1.78000a	21.1650a	11.7167a	532.9a	0.35917a	3.3863a
V_2R_0	37.2a	17.16 a	12.7421a	1.45167a	48.937a	1.79333a	20.1975a	10.9625a	433a	0.32500a	3.2313a
V_2R_1	34.833 a	17.7 a	12.4704a	1.49042a	47ab	1.77667a	20.5296a	11.6158	580.6a	0.33833a	3.2846a
V_2R_2	29.833a	17.55a	12.4512a	1.44542a	48.717a	1.78292a	20.1450a	10985a	618.6a	0.34583a	3.2229a
سودوموناس× اکوتیپ											
Psudoumonas*Ecotype											
V_1P_0	23.333a	18.044a	11.3672c	1.42861b	41.927c	1.64194b	20.7667a	11.6111a	498.1a	0.33944a	3.3225a
V_1P_1	21.778a	16.822a	11.4683c	1.39222c	44.333bc	1.61417b	20.6081a	11.1083a	465.8a	0.34667a	3.2969a
V_2P_0	29.625a	17.a	12.3756b	1.46167ab	44.833b	1.78389a	20.7022a	11.3356a	574.5a	0.35056a	3.3122a
V_2P_1	30.375a	18.188a	12.8603a	1.47a	50.297a	1.82083a	19.9561a	11.3178a	588.5a	0.32083a	3.1928a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly difference ($P<0.05$)

www.SID.ir

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرات دوگانه صفات اندازه‌گیری شده در بررسی اثرات متقابل باکتری‌های همزیست ریزوبیوم و محرک رشد بر روی خصوصیات کمی و کیفی در دو اکوتیپ شبدر ایرانی (اصفهانی و مرکزی)

Table 4- Mean comparison of double interaction effect of measure traits in assessment of qualitative and quantitative characterization of two Persian clover ecotypes inoculated by *Rhizobium leguminosarum biovartrifoli* and *Pesudomonas putida* bacteria

تیمار Treatment	میانگین صفات Mean of traits								
	عملکرد تر Fresh Weight Yield (Ton he^{-1})	نسبت برگ به ساقه Leaf to Stem Ratio	ارتفاع ساقه Height Stem (cm)	عملکرد خشک Dry Weight Yield (Ton he^{-1})	پروتئین خام Crude Protein (mg kg^{-1})	مس Cu (mg kg^{-1})	آهن Fe (mg kg^{-1})	فسفر P (mg kg^{-1})	نیتروژن N (mg kg^{-1})
Harvest*Pesudomonas	11.20917g	1.125g	45.5f	1.605g	21.9333a	12.2250a	880.4ab	0.37833a	3.5092a
R_0H_1	12.52c	1.23333f	46.2083cd	1.819167b	22.1575a	12.5917a	755.9ab	0.38333a	3.5450a
R_0H_2	12.55750c	1.245f	48.5833a	1.815833b	22.0442a	12.3183a	997.7a	0.38250a	3.5267a
R_0H_3	11.48333f	1.37917e	42.9583f	1.6475f	22.2867a	11.85abc	838.1ab	0.37ab	3.5658a
R_0H_4	12.82667a	1.48417d	47.0417bc	1.848333a	22.4342a	12.2333a	698.8b	0.36667ab	3.5892a
R_1H_1	12.74583b	1.48333d	48.25a	1.825833b	21.9025a	12.1333ab	1006.9a	0.38167a	3.5042a
R_1H_2	10.96167h	1.47833d	42.0833f	1.546667h	18.3775bcd	9.0667e	172.5c	0.29917c	2.94bcd
R_1H_3	12.28083de	1.52167c	46.0417d	1.7475cd	18.065cd	9.7667de	211.4c	0.325bc	2.89cd
R_1H_4	12.34167d	1.545c	47.7250ab	1.758333c	17.505d	9.7de	203c	0.31c	2.8008d
R_2H_1	10.86083i	1.56917ab	41.1667g	1.5175i	19.4275bc	12.4167a	159.8c	0.28833c	3.1083bc
R_2H_2	12.22833e	1.595a	44.8750e	1.731667de	20.0683b	10.7667dc	265.7c	0.29333c	3.2108b
R_2H_3	12.19833e	1.59833a	46.8750bcd	1.719167e	19.8975b	11.05bc	190.9c	0.29417c	3.1833b
Harvest*Pesudomonas	11.485f	1.15278f	43.5556d	1.654667f	22.1511a	12.5278a	809a	0.38556a	3.5439a
P_0H_1	12.70611b	1.24944e	47.9722ab	1.841667b	21.9389a	12.2289ab	947a	0.37722a	3.51a
P_0H_2	11.78167e	1.42611d	43.75d	1.69e	22.4872a	12.1111ab	738a	0.37556a	3.5978a
P_0H_3	12.92222a	1.47167c	48.4167a	1.857778a	21.9283a	12.0333ab	912a	0.37a	3.5083a
P_0H_4	11.25389g	1.48778c	43.2222d	1.599444g	18.1478c	9.4111c	186.3b	0.31944b	2.9033c
P_1H_1	12.46889c	1.54222b	47.3444b	1.768889c	17.8172c	9.6111c	204.9b	0.30333b	2.8506c
P_1H_2	11.15056h	1.575a	42.0833e	1.571111h	19.9633b	11.3889b	149.6b	0.29222b	3.1939b
P_1H_3	12.37444d	1.6a	46.5278c	1.741111d	19.6322b	11.4333b	261.3b	0.29167b	3.1411b
Harvest*Ecotype	11.95222cd	1.21889d	43.6944d	1.746667b	22.2333a	12.5044a	897.8a	0.38889a	3.5572a
V_1H_1	12.23889b	1.18333e	47.8333a	1.746667b	21.8567a	12.2522ab	858.2a	0.37389a	3.4967a
V_1H_2	12.20167b	1.455c	44d	1.77a	22.6156a	12.3889ab	855.5a	0.37722a	3.6183a
V_1H_3	12.50222a	1.44278c	48.1667a	1.777778a	21.8a	11.7556abc	840.4a	0.36833a	3.4878a
V_1H_4	11.715e	1.52111b	43.5d	1.681111c	18.3589c	9.7222d	192.2b	0.32611b	2.9372c
V_2H_1	12.00778c	1.50889b	47.0667b	1.687222c	17.6061c	9.3d	199b	0.29667b	2.8167c
V_2H_2	11.61667f	1.58556a	42.4167e	1.653889d	19.73b	11.2778c	199.9b	0.28778b	3.1567b
V_2H_3	11.90833d	1.58944a	46.1944c	1.658333d	19.8656b	11.5444bc	211b	0.29611b	3.1783b

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$).

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از اهداف این آزمایش بررسی اثر کودهای بیولوژیک برروی شاخص‌های رشد بود. در این طرح آزمایشی کودهای بیولوژیک به تنهایی و یا در اثر متقابل با عوامل دیگر، تأثیر مثبت خود را برروی شاخص‌های کمی رشد نشان دادند. در آزمایش‌های مشابه نیز چنین نتایجی به‌دست آمده بود. در این رابطه در آزمایشی که توسط اسدی رحمانی و راستین (۴) بر روی ارقام مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و سویه‌ای از باکتری *ریزوبیوم فازئولی* صورت گرفت ایشان به وجود اختلاف معنی‌دار در خصوص افزایش وزن خشک ارقام لوبیا اشاره نمودند. همچنین خرم‌دل و همکاران (۱۳) در آزمایشی نشان دادند که تلقیح بذر سیاهدانه (*Nigella Sativa*) با کودهای بیولوژیک باعث افزایش معنی‌داری در ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و سرعت رشد محصول با شاهد شد. *سودوموناس* کود بیولوژیکی است که به تنهایی یا در اثر متقابل با عوامل دیگر روی صفات کمی تأثیرگذار بوده و در آزمایش‌های دیگر نیز نتایج مشابه به‌دست آمد، ازجمله در آزمایش‌های هوفت و همکاران (۸) گزارش شد تلقیح بذر و یا خاک زیر کشت محصول با سویه‌های *سودوموناس* باعث افزایش عملکرد غلات شد. زاهیر و همکاران (۲۲) افزایش وزن تر و خشک بوته، تعداد برگ و ارتفاع بوته ذرت (*Zea mays*) با تلقیح بذر با باکتری *سودوموناس* را گزارش نمودند.

نتیجه‌گیری

امروزه دیدگاه و نگرش جهانی مبتنی بر کاهش آلاینده‌های محیطی می‌باشد. اثرات زیان‌بار کودهای شیمیایی بر محیط‌زیست تا حدودی مشخص شده است. از طرفی کودهای زیستی و بیولوژیکی نه تنها تأثیر مخربی بر محیط زیست ندارند بلکه می‌توانند بر روی فرآیند رشد در گیاهان تأثیر مطلوبی داشته باشند. این تحقیق به نوعی تأثیر مثبت این نوع کودها را در بعضی از شاخص‌های رشد نشان داد اما نکته مهم استفاده صحیح از کودهای بیولوژیکی می‌باشد. همچنین این آزمایش نشان داد که زمان کاشت گیاهان علوفه‌ای در فصل بهار بسیار مهم است و تأخیر در زمان کاشت می‌تواند بر کیفیت علوفه تأثیرگذار باشد.

References

1. Abasi, M. 2006. Collection, identification and assessment of genetic reserves to protect and use Trifolium. Final Report Project, Department of Plant Genetics and Genetic Resources, Seed and Plant Improvement Institute. Number of registration 85.681. (in Persian).
2. Asadi, H., and Zamznian, M. 2007. Iinvestigation the effects of planting date and seed density in Persian clover forage production in both mechanized and traditional culture. Pajouhesh-Va-Sazandegi in Agriculture and Horticulture.No. 74. Spring 2007. (in Persian with English abstract).
3. Asadi Rahmani, H. 2000. Symbiotic Nitrogen Fixation Technology (Guidance and Applications). Publication of Research Institute of Forests and Rangelands. Page 129. (in Persian).
4. Asadi Rahmani, H., and Rastin, N. S., 2000. Prediction of the necessity of soybean inoculation based on the numbers of *Bradyrhizobium japonicum*. Ninth Congress of African Association for Biological N2 Fixation, 65.
5. Dileep Kumar, S. B., Berggren, I., and Martensson, A. M. 2001. Potential for improving pea production by coinoculation with Fluorescent *Pseudomonas* and *Rhizobium*. Plant and Soil 229: 25-34.
6. Fatma, E. M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H. I. Abd El-Fattah, L., and Seham Salem, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments app.lication on growth and essential oil pf marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous .Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt.
7. Ghost, B. C. and Bhat, R. 1998. Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields. Environ. Pollut. 102: 123-126.
8. Hoft, M., Seong, K. Y., Jurkevitch, E., and Verstraete, W. 1991. Pyoverdin production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain $7SNK_2$: Ecological significance in soil. Plant and Soil 130: 249- 257.
9. Jahan, M., Kochaki, E., Ghorbani, R., Rejali, F., Ariaei, M., and Ebrahimi, A. 2009. The effect of organic fertilizers on corn Agroecological characteristics in common and ecological farming systems. Iranian Journal of Field Crops Research 7 (3): 375-390. (in Persian with English abstract).
10. Javadi, H. 1999. The Evaluation of Vigor of Seeds and Seedlings in Three Species of Clover. Pajouhesh-Va-Sazandegi 1 (40): 4-17. (in Persian with English abstract).
11. Karimi, H. 1988. Agronomy of Forage Plants. Published by Tehran University. Third Edition. No.1566. page414. (in Persian).
12. Khavazi, K., and Malakoti, M. J. 2001. The Need to Produce Bio-Fertilizers in the Country. Research Institute of Water and Soil, page 130.
13. Khoramdel, S., Kocheki, A., Nasiri Mahalati, M., and Ghorbani, R. 2010. Effects of Biological Fertilizers on Yield and Yield Component of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 8 (5): 758-766. (In Persian with English abstract).

www.SID.ir

Archive of SID

14. Kokmaz, A., Gulser, G., Manga, M. L., Sancak, C. 1993; effect of cropping system and cutting date for various forage crops on the mineral content and quality of hay produced in Samsun province.
15. Malakoti, J. A., and Malakoti, A. 2003. The role of balanced fertilization in improving the bread wheat quality. Technical publication No. 321. Agricultural research and education organization. (in Persian).
16. Moalem, A. H., and Eshghizadeh. 2007. Biofertilizer applications. Advantages and Limitations. Proceedings of the 2th National Conference on Ecological Iran. Gorgan, page: 47. (in Persian).
17. Robert, J. V. S. 2006. What is forage quality and how does it affect a feeding program. 391P.
18. Rodriguez –Navarro, D. N., Buendia, A. M., Camacho, M., and Lucas, M. M. 2000. Characterization of Rhizobium spp. bean isolates from southwest Spain. Soil Biology and Biochemistry 32: 1601-1613.
19. Sarrantonio, M. 1991. Methodologies for screening soil -improving Legumes, Rodale Institute, USA, 310 p.
20. Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G. Cheung, K. C., and Wong, M. H. 2005. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trail. Geoderma 125: 155-166.
21. Yadegari, M., Noormohamadi, Gh., and Asadi Rhmani, H. 2009. Evaluation of growth indices in red beans inoculated with Rhizobium and Rhizosphere bacteria plant growth promoting rhizobacteria. Agroecologi Journal 5 (15): 153-163.
22. Zahir, A. Z., Abbas, S. A., Khalid, A., and Arshad, M. 2000. Substrate depended microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. Pakistan Journal of Biological Science 3: 289-291.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 3, Fall. 2015, p. 513-523

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴، ص. ۵۲۳-۵۱۳

Assessment of Qualitative and Quantitative Characters of Two Persian Clover Ecotypes Inoculated by *Rhizobium leguminosarum biovartrifoli* and *Pesudomonas putida* Bacteria

R. Azamei[1*]- M. R. Ardakani[2]- M. Gomarian[3]

Received: 22-09-2013
Accepted: 18-11-2014

Introduction

Over the past decades, world attitude has changed towards the reduction of environmental pollutants. Harmful effects of synthetic fertilizers on environment have been identified**.** Bio-fertilizers are not harmful to the environment, but also they have favorable effects on plant growth processes. Soil biotechnology can be defined as the study of soil organisms and their metabolic processes which may have positive effects on plant yields. The main goal of this study is to asess the biotechnology fertilizers beneficial effects on soil organisms and their subsequently to maximize the yield. It is also our desire conside the soil quality, hygiene and environmental protection along this process. Among the strain of nitrogen-fixing bacteria, symbiotic bacteria such as rhizobium bacteria are important and essential in planning the sustainable farming systems. Several studies have shown that crop varieties which inoculated with rhizobium and pseudomonas were superior in yield production and performance.

Material and Methods

An experiment was designed as factorial performed in randomized complete block design (RCBD) with three replications in Agricultural Research Center of Golpayegan (Isfahan) during 2010 – 2011. the purpose of this study was to evaluate the effects of inoculation of two ecotypes of Persian clover by various strains of *Rhizobium leguminosarum.* Biovar *trifoli* bacteria accompanied with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) *Pseudomonas putida* was employed to find certain qualitative and quantitative characteristics of clover yield, The main plots included two local ecotypes of Persian clover; Arak Haft Chin (V_1) and Isfahan Haft Chin (V2)), the subplots included inoculation by two strain of *Rhizobium;* Rb-3, Rb-13 and one strain of Pseudomonas; PS - 168.4 cuts were performed during the experiment and 60 kg/ha seed was used for cultivation based on local knowledge. According to recommendations of the Institute of Soil and Water the powder used for inoculum was 5 gram from every bacterium seed (Containing 108 × 5 bacteria per gram) for 100 kg seed. For better adhesion of the bacteria on the surface of seed, water with 20% sugar solution was used. (2) Sampling performed by harvesting 2 meter of every plot and 2 kg of fresh yield was transferred to oven (48 hours) with (72 °C) to determine dry matter. The crude protein content was determined by multiplying nitrogen content by the correction factor (6.25). At the end of the season a few plants from each plot were selected, and the number of nodules formed on the roots were counted and secondary roots with the highest penetration depth were measured by ruler. Analysis of variance and the means of treatments were performed using SAS software. Average interaction MSTAT- C treatments were performed using the software and the treatments were compared based on Duncan method.

Results and Discussion

The results showed that the qualitative factors have not been affected by *Rhizobium* and *Pseudomonas* bacteria so that the differences between treated plots with control were not significant. The quantitative factors except for depth of root penetration were affected by inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas* bacteria and a significant difference between treated plots and control was obtained. Roberts et al. (3) reported that delay in planting caused plant growth exposure to high temperatures and long days, thus cell walls were stimulated to increase fiber and protein content and consequently digestibility was extremely reduced. The results indicated that inoculation by both bacteria (*Rhizobium* and *Pseudomonas*) has affected quantitative indicators of growth

1- MSc in Agriculture, Isfahan Research Center for Agriculture and Natural Resources
2- Professor of Ecological Agriculture (organic farming expertise), Islamic Azad University, Karaj
3- Assistant Prof, Department of Agronomy and Plant Breeding, Arak Branch. Islamic Azad University, Arak
(*- Corresponding Author Email: r.azami@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

significantly and increased fresh and dry yield, plant height, leaf/stem ratio and the number of nodes on roots. However the results showed that the qualitative characteristics and root infiltration did not change significantly by inoculation of both bacteria. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) leaded to an increase in the growth of quantitative traits. Inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas putida* in most of the cases combined with the highest growth and treatments without inoculation (control) had the lowest growth as well. Dilip Kumar et al. (1) demonstrated that the combined inoculation of pea seeds with Rhizobium and Pseudomonas leads to an increase in plant height, root length and dry weight compared to control treatments. However the present study has shown the positive impacts of biological fertilizers on some of the growth parameters, but the important thing is the proper use of biological fertilizers. It was also concluded that the date of planting in spring is very important and delayed planting can affect forage quality.

Conclusions

This study showed that biofertilizers can have positive effects on growth characters of clover, and requires more research.

Keywords: Biological fertilizer**,** Forage yield, Plant growth promoting rhizobacteria

www.SID.ir