

تأثیر تاریخ‌های مختلف کاشت و کاربرد جنیستین بر مقدار نیتروژن و گره‌زایی سه گونه یونجه یک‌ساله

مجید امینی دهقی، سید علی محمد مدرس ثانوی* و فرهاد فتاحی نیسیانی^۱

(تاریخ دریافت: ۸۵/۱۰/۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۸/۱۴)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تاریخ کاشت و جنیستین (Genistein) بر مقدار نیتروژن و گره‌زایی سه گونه یونجه یک‌ساله، آزمایشی در شرایط مزرعه‌ای به صورت فاریاب در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس (طول ۵۱ درجه و ۸ دقیقه و عرض ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه) انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در چهار تکرار انجام شد. تاریخ‌های کاشت (اول، دهم و بیستم اسفند) در کرت‌های اصلی و گونه‌های یونجه یک‌ساله (*Medicago polymorpha cv.*) (لیتر) در کرت‌های فرعی فرعی قرار گرفتند. محتوی نیتروژن گیاه، گره‌زایی و سایر صفات در گونه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشتند و گونه *M. polymorpha* در تاریخ کاشت سوم (بیستم اسفند) نسبت به گونه‌های دیگر از نظر وزن خشک گره، تعداد گره، تعداد کاشت نشان داد، هم‌چنین ۲۰ میکرومول در لیتر جنیستین تأثیر افزایش‌دهنده‌ای بر گره‌زایی و محتوی نیتروژن در تمامی گونه‌های یونجه یک‌ساله داشت. جنیستین در تاریخ کشت اول در تمام گونه‌ها باعث افزایش گره‌زایی و محتوی نیتروژن گیاه شد که این امر مؤید تأثیر این ماده در بهبود گره‌زایی و افزایش محتوی نیتروژن یونجه‌های یک‌ساله در شرایط مزرعه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تاریخ کاشت، محتوی نیتروژن، جنیستین، گره‌زایی، یونجه یک‌ساله

مقدمه

M. polymorpha, *M. rigidula* از امید بخش‌ترین گونه‌ها در نواحی سرد ایران به شمار می‌آیند. در آب و هوای مناطقی با زمستان‌های ملایم، گونه‌های *M. rigidula*, *M. truncatula* و *M. scutellata* از وضعیت بهتری برخوردار بوده و موفقیت نسبی آنها به سیستم مدیریت صحیح منوط می‌گردد. گونه *M. polymorpha* نسبت به سایر یونجه‌های یک ساله بیشترین سطح پراکنش را در ایران دارد و در ارتفاع کمتر

نظر به وسعت زیاد مزارع در نواحی سرد ایران (بالغ بر ۴ میلیون هکتار) انتخاب گونه‌های مقاوم در برابر سرما امری ضروری است. یونجه‌های یک‌ساله از جهاتی نسبت به گونه‌های چند ساله برتری دارند. بیشتر گونه‌های یونجه یک‌ساله، سریع‌تر از یونجه‌های چند ساله رشد کرده و دارای سازگاری وسیع با شرایط آب و هوایی مختلف هستند، گونه‌های *M. rotata*

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Modaresa@modares.ac.ir

ریشه سویا بوده که مسئول القای ژن‌های گره برای ریزوبیوم می‌باشند (۸). در مناطقی با رطوبت نسبی پایین، عامل اصلی محدود کننده رشد و تثبیت نیتروژن درجه حرارت پایین فصل رشد می‌باشد (۱۷). سیگنال‌های ملکولی بین گیاه و باکتری، نظیر جنیستین ممکن است عامل مهم محدود کننده تشکیل گره در گیاهان لگوم در دمای پایین منطقه ریشه باشد (۱۹). جنیستین تولید الیگوساکارید را تحریک کرده و فاصله زمانی بین تلقیح و ایجاد پیچیدگی تارهای کشنده ریشه را یک تا دو روز کوتاه‌تر نمود (۲۰). جنیستین می‌تواند سرعت آلودگی را به وسیله *B. japonicum* افزایش داده و در نتیجه گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را بیشتر نماید (۱۹). مقدار جنیستین بالای ریشه در دماهای پایین منطقه ریشه منجر به افزایش رشد ریشه گیاه شده و این فاکتور ممکن است نقش مهمی در افزایش گره‌زایی و گسترش زود هنگام گره در دمای منطقه ریشه زیر حد متعادل نسبت به دمای مناسب آن داشته باشد (۱۹). مقادیر فلاونوئیدها در گیاهان میزبان هم‌زیست میزان تحت تأثیر قرار گرفتن گره‌زایی لگوم‌ها و تثبیت مستقیم نیتروژن را به وسیله آنها نشان می‌دهد (۲). کاهش سیگنال‌های ملکولی بین گیاه و باکتری مانند جنیستین ممکن است عامل مهم محدود کننده تشکیل گره در گیاهان لگوم در دمای پایین منطقه ریشه باشد. جنیستین موجب کاهش اثر جلوگیری کننده دمای پایین منطقه ریشه شده و گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را در سویا افزایش می‌دهد. هنگامی که در مزرعه به منطقه ریشه (ریزوسفر) جنیستین اضافه گردید، اثر جلوگیری کننده دمای سرد بهاره خاک را روی تشکیل گره و تثبیت نیتروژن کاهش داد (۱۹).

به منظور انتخاب گونه‌های مناسب و سازگار به پایین بودن دمای هوا و خاک در اوایل فصل کشت و هم‌چنین افزودن حاصل‌خیزی خاک با افزایش تثبیت نیتروژن در دیمزارها و مراتع و تولید علوفه مورد نیاز، این تحقیق انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تاریخ کشت و جنیستین بر گره‌زایی،

از ۲۰۰۰ متر در انواع خاک‌ها دیده می‌شود (۱). تحمل در برابر سرمای گونه‌های *M. rigidula* و *M. polymorpha* مورد تأیید قرار گرفته است (۴).

در استرالیا با استفاده از یونجه‌های یک‌ساله حدود ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به خاک اضافه می‌شود (۱۰). یونجه‌های یک‌ساله علاوه بر ازدیاد نیتروژن آلی خاک، در افزایش کربن آلی خاک نیز تأثیر دارند (۵). حضور و فراوانی یونجه‌های یک‌ساله در هر محیطی می‌تواند مبنای انتخاب گونه‌های سازگار با آن محیط باشد (۶). زمان کاشت در یونجه‌های یک‌ساله حتی هنگامی که به صورت مخلوط کاشته شوند در عملکرد آنها تأثیر زیادی دارد، به طوری که کاشت زودتر این گونه‌ها موجب افزایش عملکرد، طول دوره رشد و ماده خشک آنها می‌گردد (۷). در نواحی دارای زمستان سرد، خروج جوانه‌ها از خاک، زنده ماندن بوته‌ها، رشد زودرس و تولید بذر معمولاً در یونجه‌های یک‌ساله زود کشت شده که به اندازه کافی از بارندگی‌های اول فصل استفاده کرده‌اند، بهتر انجام می‌گیرد (۱). حرارت کمتر از ۳ درجه سانتی‌گراد خاک سبب توقف فعالیت باکتری‌ها می‌شود. به علاوه باعث تأخیر نفوذ باکتری به ریشه گیاه و کاهش فعالیت نیتروژن‌ناز می‌گردد. حرارت ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای فعالیت باکتری‌های ریزوبیوم مناسب است (۳). اولین اثر دماهای پایین روی گیاهان، کاهش در سرعت رشد و متابولیسم می‌باشد. دمای پایین، رشد گیاهان تثبیت کننده نیتروژن را بیشتر از گیاهانی که از ترکیبات نیتروژنه استفاده کرده، محدود می‌کند (۹). تمامی مراحل هم‌زیستی (پیچیدگی - تارهای کشنده ریشه، رشته سرایت کننده، شکل‌گیری و نفوذ آنها، رشد گره و عملکرد آنها) نشان داده‌اند که تحت تأثیر دماهای پایین منطقه ریشه متوقف می‌شود و عفونت تارهای کشنده را بیشتر از آغاز گره‌بندی، رشد گره‌ها و یا ترکیب نیتروژنی به تأخیر می‌اندازد (۱۵). مبادله سیگنال‌های مولکولی بین ریزوبیوم‌ها و گیاهان میزبان برای رشد گره در ریشه لگوم ضروری است (۱۴). ایزوفلاون دیازین (Isoflavones daidzein) و جنیستین اجزای اصلی عصاره

تأثیر تاریخ‌های مختلف کاشت و کاربرد جنیستین بر مقدار نیتروژن و...

گردید. قبل از کاشت، بذور با باکتری و جنیستین تلقیح شدند. جنیستین (Trihydroxyisoflavon-7,5,4- با خلوص ۹۹٪ Acros, New Jersey USA) به میزان $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ به سوسپانسیون ضد عفونی شده باکتری اضافه گردید. تلقیح بذور در دمای 20°C به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. با توجه به این که در آزمایش‌های قبلی مشاهده شده بود که اضافه نمودن جنیستین به خاک مزرعه باعث افزایش عملکرد سویا در شرایط دمای پایین منطقه ریشه می‌گردد بنابراین در تمام تیمارهای دارای جنیستین محلول $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ جنیستین همراه با آب مقطر روی بذور کشت شده در داخل شیارها پاشیده شد (۱۸). در مرحله 10% گل‌دهی اقدام به نمونه‌برداری در سطح $0/5$ مترمربع از کرت‌های آزمایشی گردید. عوامل مورد بررسی و اندازه‌گیری عبارت از: میزان ماده خشک گره، ریشه و گیاه، تعداد گره و کلون (دسته گره) در ریشه، قطر گره و دسته گره و مقدار نیتروژن گیاه بودند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS انجام گرفت (۱۱)، و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد، صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

به دلیل معنی‌دار شدن عامل سال در تعدادی از صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از واریانس خطای آزمایشی صفات مذکور در دو سال آزمایش، آزمون بارتلت به عمل آمده و در ۴ مورد از صفات (ماده خشک بخش هوایی، ماده خشک گره، تعداد دسته گره و ماده خشک ریشه) χ^2 معنی‌دار شد (جدول ۱)، لذا تجزیه واریانس این صفات به صورت سالیانه انجام گرفت. اثر تاریخ کاشت، گونه و جنیستین و آثار متقابل آنها روی چهار صفت مورد بررسی (به جز اثر متقابل گونه در جنیستین بر صفت ماده خشک ریشه) در دو سال متوالی معنی‌دار بود (جدول ۲). در مورد ۵ صفت دیگر (طول ریشه، قطر گره، مقدار نیتروژن، تعداد گره ریشه، تعداد گره در هر کلون ریشه) χ^2 معنی‌دار نشد (جدول ۱). بنابراین بررسی نتایج مربوط به این ۵ صفت بر اساس تجزیه مرکب داده‌ها صورت پذیرفت (جدول ۳). اثرات سال، تاریخ کاشت، گونه‌های

محتوی نیتروژن گیاه و سایر صفات سه گونه یونجه یک‌ساله، آزمایشی در شرایط مزرعه‌ای به صورت فاریاب در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس (طول ۵۱ درجه و ۸ دقیقه و عرض ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه) انجام گرفت. در این آزمایش از سه گونه یونجه یک‌ساله *Medicago polymorpha* cv. Santiago, *M. rigidula* cv. Rigidula, *M. radiata* cv. Radiata که با مناطق سرد و معتدله سازگاری دارند استفاده شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در چهار تکرار انجام شد. تاریخ کشت‌های اول، دهم و بیستم اسفندماه در کرت‌های اصلی و گونه‌های یونجه یک‌ساله به عنوان کرت‌های فرعی و جنیستین در دو سطح ۰ و $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. در فصل پاییز برای آماده سازی زمین یک شخم به عمق ۲۵ سانتی‌متر زده شد سپس جهت خرد شدن کلوخه‌ها و مسطح شدن زمین یک نوبت دیسک زده و بعد کود فسفات آمونیوم به میزان ۷۰ کیلوگرم در هکتار پخش گردید. در این تحقیق به علت پایین بودن ظرفیت نگه‌داری آب خاک، زمین مورد نظر هر سه روز در میان آبیاری می‌شد. به دلیل پایین بودن حاصل‌خیزی خاک، کود اوره به میزان $12/5$ کیلوگرم در هکتار به عنوان استارتر به زمین داده شد. هر کرت متشکل از شش خط 120 سانتی‌متری بود که فواصل خطوط از یکدیگر 50 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. میزان تراکم برای همه واریته‌های یونجه یکسان و به مقدار 20 کیلوگرم در هکتار در نظر گرفته شد. در طی دوره رشد عملیات وجین توسط کارگر به دقت صورت گرفت.

به منظور تلقیح گیاهان از باکتری *Rhizobium meliloti* کشت شده در محیط سترون بدون آگار استفاده شد. برای تهیه باکتری، گره‌های فعال از ریشه جدا و پس از شستشو سترون شده (به مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلریت ۳ درصد) به محیط کشت بدون آگار که در دمای 20°C به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ضد عفونی شده بود اضافه گردیدند (۱۳). برای تکثیر سریع باکتری محیط کشت به مدت ۴ روز در دمای 25°C قرار داده شد. پس از سپری شدن این مدت جهت تلقیح از آنها استفاده

جدول ۱. تعیین همگونی واریانس خطاهای مختلف آزمایش برای صفات مورد بررسی

صفات اندازه‌گیری شده	χ^2 برای خطای کرت فرعی			نتیجه نهایی
	CHISQ	CHISQ	CHISQ	
مقدار ماده خشک گره ریشه هر گیاه	۶/۶۰۶۷*	۶/۱۱۸۰*	۱۵/۴۳۸۸**	ناهمگون
تعداد گره ریشه	۰/۳۳۹۸	۰/۰۶۹۴	۰/۰۱۸۴	همگون
تعداد گره در هر کلون ریشه	۰/۶۴۰۶	۰/۳۷۲۵	۰/۱۰۱۲	همگون
تعداد دسته گره در ریشه	۷/۰۵۵۱**	۰/۹۹۹۳	۷/۷۹۱۹**	ناهمگون
مقدار نیتروژن	۱/۶۳۰۱	۳/۷۴۲۳	۱/۴۸۸۵	همگون
قطر گره	۰/۰۲۹۲	۰/۸۰۹۷	۰/۲۱۵۳	همگون
مقدار ماده خشک ریشه هر گیاه	۰/۱۲۱۰	۷/۷۹۷۲**	۸/۸۱۶۰**	ناهمگون
طول ریشه	۰/۳۹۹۶	۰/۰۰۰۹	۰/۳۵۲۲	همگون
مقدار ماده خشک	۱۴/۰۳۶۵	۰/۳۸۶۳	۵/۵۰۰۲*	ناهمگون

گره در هر دو سال در گونه *M. polymorpha* با غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنیستین در تاریخ کشت سوم حاصل گردید (جدول ۴). نتایج حاصل با نتایج سایر محققین در رابطه با تأثیر افزایشی جنیستین بر مقدار ماده خشک گره مشابه می‌باشد. استفاده از جنیستین تعداد گره و ماده خشک گره را در گیاه افزایش داده و زمان شروع تثبیت نیتروژن را در سویا در طول فصل رشد و زمانی که خاک هنوز سرد است جلو می‌اندازد (۱۹).

در هر دو سال مصرف جنیستین بر مقدار ماده خشک بخش هوایی هر سه گونه مورد بررسی در تاریخ کاشت سوم تأثیر معنی‌داری داشت و باعث افزایش مقدار آن نسبت به عدم کاربرد آن در همان تاریخ کاشت شد (جدول ۴). دماهای پایین در تاریخ کشت اول، ممکن است به دلیل تأثیر منفی بر مقدار فتوسنتز و انتقال مواد، باعث کاهش ماده خشک بخش هوایی شده باشد. این نکته توسط محققین دیگر مبنی بر تأثیر دمای پایین بر فتوسنتز نیز گزارش شده است (۱۲). در هر دو سال گونه ریجیدولا در تاریخ کاشت سوم همراه با تلقیح بذر آن با جنیستین مقدار ماده خشک بیشتری تولید نمود اما ماده خشک ریشه آن در این تاریخ کاشت کمتر از رادپاتا بود و برعکس

یونجه یک‌ساله و هم‌چنین اثرات متقابل گونه \times تاریخ کشت، تاریخ کشت \times جنیستین، گونه‌ها \times جنیستین و گونه \times تاریخ کشت \times جنیستین روی اکثر صفات تأثیر معنی‌داری داشته ($P < 0/01$)، اثرات متقابل سال \times گونه \times تاریخ کشت \times جنیستین در تمام صفات معنی‌دار نبودند. ضمناً غلظت‌های مختلف جنیستین فقط بر تعداد گره در ریشه معنی‌دار بود ($P < 0/01$)، (جدول ۳). هم‌چنین باید خاطر نشان کرد که معنی‌دار شدن آزمون بارتلت در مورد بعضی صفات می‌تواند مربوط به اختلاف دما در اوایل فصل رشد در دو سال باشد. در سال اول با توجه به مناسب‌تر بودن شرایط دمایی در آغاز فصل رشد (میانگین دمایی در دو ماه اول فصل رشد در سال اول ۱۶ و در سال دوم ۱۳/۱ درجه سانتی‌گراد)، گونه‌های یونجه یک‌ساله رشد و نمو و گره‌زایی بهتر و بیشتری نسبت به سال دوم که در ابتدای فصل رشد دمای نامناسب در مدت طولانی‌تری حاکم بوده، داشته است (جدول ۶).

در هر دو سال آزمایش مصرف جنیستین در گونه پلی‌مورفا باعث افزایش ماده خشک گره نسبت به عدم مصرف آن شد ولی در دو گونه دیگر مصرف یا عدم مصرف جنیستین تأثیر معنی‌داری در اکثر موارد نداشت، در کل بیشترین ماده خشک

جدول ۲. تجزیه واریانس سالانه آثار تاریخ کشت روی صفات مختلف گونه‌های یونجه یک‌ساله تحت تأثیر غلظت‌های مختلف جنیستین

سال دوم		سال اول		میانگین مربعات		منابع تغییر
ماده خشک (g/plant)	ریشه (g/plant)	ماده خشک (g/plant)	ریشه (g/plant)	ماده خشک (kg/ha)	ریشه (kg/ha)	
۰/۰۰۱۱	۱/۸۰۰	۷۹۲۵۷	۵/۶۹۶	۰/۰۰۱۳	۰/۲۹۰	تعداد دسته
۰/۰۴۹۸**	۳۷/۱۰**	۸۱۶۷۷۰۷**	۷۰/۱۲**	۰/۰۳۸۰**	۲۹/۴۱**	ماده خشک بخش
۰/۰۰۰۵	۱/۴۴۵	۲۳۹۱۴*	۲۴/۹۰**	۰/۰۰۱۴	۰/۶۱۰	تعداد دسته
۰/۰۶۰۱**	۶۹/۶۱**	۴۰۸۶۰۳۸۲**	۳۴۳۹**	۰/۱۱۴۵**	۵۰/۳۲**	ماده خشک بخش
۰/۰۰۴۰*	۲۲/۲۲**	۱۱۱۸۹۷۳*	۵۴۹/۲**	۰/۰۰۷۵**	۱۸/۴۴**	تعداد دسته
۰/۰۰۱۹	۱/۹۵۲*	۱۰۰۳۱	۱۷/۵۶**	۰/۰۰۱۸	۰/۴۸۹	ماده خشک بخش
۰/۰۳۸۷**	۳۱/۸۶**	۲۱۳۸۳۱۲**	۱۲۸۲**	۰/۰۳۵۵**	۳۴/۷۲**	تعداد دسته
۰/۰۰۶۴**	۱۱/۳۳**	۳۶۳۱۰۶۵**	۲۰۰/۴**	۰/۰۰۸۱**	۱۰/۴۳**	ماده خشک بخش
۰/۰۰۲۰	۵/۹۳**	۸۱۲۹۶۵**	۹۴۴/۹**	۰/۰۰۲۱	۵/۸۲**	تعداد دسته
۰/۰۰۳۸*	۴/۰۵۱**	۳۷۸۵۱۹**	۱۹۷/۴*	۰/۰۰۴۴*	۴/۲۹۳**	ماده خشک بخش
۰/۰۰۱۰	۰/۸۴۱۲	۱۳۱۶۷/۸	۵/۶۹۶	۰/۰۰۱۲	۰/۲۵۸۱	تعداد دسته

بدون علامت: معنی دار نیست

*: معنی دار در سطح ۵٪

** : معنی دار در سطح ۱٪

جدول ۳. تجزیه واریانس مرکب اثرات سال و تاریخ کشت بر صفات مختلف گونه‌های یونجه یک‌ساله تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت جینیستین

میانگین مربعات							منابع تغییر
طول ریشه	قطر گره	مقدار نیروزن	مقدار ریشه	تعداد گره در کلون ریشه	تعداد گره در ریشه	درجه آزادی	
۲۳/۴**	۰/۲**	۱۵۱/۷**	۱/۲**	۱۸۵/۹**	۱	سال	
۱۵/۴۰۳۰	۰/۰۴۹۵	۲/۲۳۷۶	۰/۰۱۸۴	۳/۰۸۶۹	۶	خطای اول	
۷۵/۵**	۰/۰۹**	۲۶/۹**	۳/۳**	۴۵۳/۵**	۲	تاریخ کشت	
۲	۰/۰۷**	۱۶/۸**	۰/۹**	۱۹۷/۹	۲	سال × تاریخ کشت	
۹/۲	۰/۰۰۷	۲/۹	۰/۰۹	۸۴/۰	۱۲	خطای دوم	
۹/۵	۳/۳**	۵۰/۲**	۲۳/۲**	۷۳۱۹۷/۶**	۲	گونه	
۴/۲	۰/۰۹	۱/۱	۰/۴	۶۰/۸	۲	سال × گونه	
۴۷/۴**	۰/۱**	۳/۰	۱/۴*	۶۳۴۴/۲**	۴	گونه × تاریخ کشت	
۲/۴	۰/۰۳	۱۳/۲**	۰/۲	۲۷/۵	۴	گونه × تاریخ کشت × سال	
۱۳/۳	۰/۰۴	۱/۶	۰/۵۴	۱۳۸/۱	۳۶	خطای سوم	
۱۹/۱	۰/۰۹	۱/۶	۰/۷	۱۴۵۶/۴**	۱	جینیستین	
۲/۶	۰/۰۰۳	۰/۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۱	سال × جینیستین	
۱۴/۶	۰/۲**	۰/۳	۰/۰۵	۱۸۸۱/۹**	۲	جینیستین × تاریخ کشت	
۶۷/۰**	۰/۱**	۲/۷*	۰/۴	۸۳۲۶/۹**	۲	گونه × جینیستین	
۰/۸	۰/۰۰۰۶	۲/۶*	۰/۰۱	۳/۷	۲	جینیستین × تاریخ کشت × سال	
۱/۷	۰/۰۰۰۸	۰/۷	۰/۰۰۴	۶/۰	۲	جینیستین × سال × گونه	
۲۳/۳**	۰/۰۷*	۲/۱*	۰/۹**	۶۵۰/۱**	۴	جینیستین × تاریخ کشت × گونه	
۳/۶	۰/۰۰۰۲	۱/۸	۰/۰۲	۱۳/۲	۴	جینیستین × سال × گونه × تاریخ کشت	
۷/۶	۰/۰۲	۰/۸	۰/۲۴	۶۵/۸	۵۴	خطای آزمایش	

** معنی در درسطح ۱٪

* معنی در درسطح ۵٪

بدون علامت: معنی دار نیست.

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل جینیستین، تاریخ کاشت و گونه بر صفات مختلف گونه‌های پونجه‌ی یک‌ساله

تعداد دسته گره ریشه		ماده خشک ریشه (g/plant)		ماده خشک بخش هوایی (kg/ha)		ماده خشک گره (mg/plant)		مقایسه میانگین‌ها		
تاریخ کاشت		تاریخ کاشت		تاریخ کاشت		تاریخ کاشت		جینیستین $\mu\text{mol/lit}$		
سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	مقایسه میانگین‌ها	
۱۰/۱۰ ^a	۶/۵۰ ^b	۲/۹۷ ^{fg}	۰/۱۴۷۵ ^{ghe}	۰/۰۹۷۵ ^{gh}	۰/۰۸۲۵ ^h	۲۶۶۷ ^c	۲۲۲۴ ^{fg}	۱۷۱۷ ^{hij}	۲۰/۲۵ ^c	<i>M. polymorpha</i>
۳/۶۷ ^{fe}	۱/۳۷ ^j	۳/۰۰ ^{fg}	۰/۳۵۵۰ ^a	۰/۲۲۵۰ ^c	۰/۱۵۰۰ ^{ghe}	۳۲۵۳ ^d	۱۳۴۸ ^{kj}	۱۲۸۹ ^k	۲۰	<i>M. radiata</i>
۵/۶۲ ^c	۲/۱۲ ^{hij}	۴/۹۲ ^{de}	۰/۲۴۰۰ ^c	۰/۳۰۰۰ ^b	۰/۱۷۰۰ ^{de}	۶۴۲۵ ^a	۳۳۴۹ ^b	۴۸۱۳ ^b	۲۰	<i>M. rigidula</i>
۴/۴۰ ^{de}	۵/۴۷ ^c	۲/۲۰ ^{hgi}	۰/۱۰۰۰ ^{fgh}	۰/۰۸۲۵ ^h	۰/۰۶۰۰ ^h	۱۹۴۰ ^{hg}	۲۵۶۳ ^{fe}	۱۷۸۰ ^{hi}	۰	<i>M. polymorpha</i>
۲/۹۲ ^{fg}	۱/۵۰ ^{ji}	۱/۸۲ ^{hji}	۰/۲۰۷۵ ^{de}	۰/۱۹۲۵ ^{dce}	۰/۱۶۲۵ ^{dte}	۲۴۰۰ ^{fe}	۱۶۳۰ ^{hijk}	۱۴۱۴ ^{kij}	۰	<i>M. radiata</i>
۳/۶۲ ^f	۲/۳۷ ^{hg}	۳/۴۷ ^f	۰/۱۹۵۰ ^{dce}	۰/۲۱۰۰ ^{cd}	۰/۱۶۷۵ ^{de}	۳۹۸۶ ^c	۴۲۵۹ ^c	۵۰۸۸ ^b	۰	<i>M. rigidula</i>
سال دوم										
۱۰/۳۷ ^a	۷/۰۵ ^b	۲/۵۷ ^{fghiei}	۰/۱۷۰۰ ^{dce}	۰/۱۲۰۰ ^{fe}	۰/۰۷۰۰ ^g	۳۰۴۵ ^d	۲۵۶۷ ^e	۱۶۵۰ ^b	۲۹/۲۵ ^b	<i>M. polymorpha</i>
۳/۴۰ ^{edf}	۱/۱۲ ^j	۲/۵۵ ^{fghiei}	۰/۳۲۲۵ ^a	۰/۲۲۰۰ ^c	۰/۱۳۷۵ ^{dte}	۳۰۱۱ ^d	۱۱۵۴ ^j	۱۰۶۴ ^j	۱/۴۲ ⁱ	<i>M. radiata</i>
۵/۴۵ ^c	۱/۸۲ ^{hij}	۳/۹۵ ^{cd}	۰/۲۲۰۰ ^c	۰/۲۷۲۵ ^b	۰/۱۴۵۰ ^{dte}	۵۹۳۹ ^a	۴۰۷۹ ^b	۳۷۵۵ ^c	۶/۳۲ ^{fg}	<i>M. rigidula</i>
۴/۶۷ ^{cd}	۵/۹۷ ^{bc}	۱/۹۵ ^{ghij}	۰/۱۳۰۰ ^{dte}	۰/۰۹۵۰ ^{gf}	۰/۰۴۷۵ ^g	۲۳۵۲ ^f	۲۸۷۷ ^d	۱۷۲۳ ^h	۱۰/۵۰ ^e	<i>M. polymorpha</i>
۲/۶۵ ^{fghiei}	۱/۲۵ ^{ji}	۱/۵۰ ^{hji}	۰/۱۸۰۰ ^{de}	۰/۱۷۰۰ ^{dce}	۰/۱۳۲۵ ^{dte}	۲۱۶۸ ^g	۱۴۰۲ ^j	۱۲۲۷ ^j	۲/۴۰ ^{igh}	<i>M. radiata</i>
۳/۲۷ ^{egf}	۲/۰۲ ^{fghiei}	۲/۹۰ ^{fghie}	۰/۱۸۲۵ ^{cd}	۰/۱۸۰۰ ^{de}	۰/۱۴۲۵ ^{dte}	۳۷۴۹ ^c	۳۷۲۲ ^c	۳۹۴۲ ^b	۲/۰۲ ^{hi}	<i>M. rigidula</i>

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (P ≤ ۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.

$20 \mu \text{mol l}^{-1}$ جنیستین و در تاریخ کشت‌های دوم و سوم و کمترین آن در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت‌های $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ و $0 \mu \text{mol l}^{-1}$ جنیستین حاصل شد (جدول ۵). کاربرد جنیستین تنها در گونه پلی‌مورفا در تاریخ کشت سوم باعث افزایش تعداد گره در هر کلون نسبت به عدم مصرف آن شد. هم‌چنین بیشترین تعداد گره در هر کلون در همین تاریخ کاشت، گونه و غلظت $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ جنیستین مشاهده گردید (جدول ۵)، که حاکی از تأثیر دما بر رشد و توسعه گره‌ها در این گونه می‌باشد. یکی از مهم‌ترین دلایل برای کاهش گره‌زایی، دمای کم منطقه ریشه است (۲۰). کاهش درجه حرارت منطقه ریشه، اثر معکوس و شدیدی بر گره‌زایی لگوم‌ها و تثبیت نیتروژن می‌گذارد (۷). اثرات درجه حرارت پایین روی عمل فرایند تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه هم‌چنین ممکن است به علت تغییر در نفوذپذیری غشا نسبت به اکسیژن باشد (۱۶). نتایج دیگر محققین نیز بر تأثیر مثبت جنیستین بر گره‌زایی تأکید دارد. استفاده از جنیستین در دوره پیش از جوانه‌زنی یا کاربرد مستقیم جنیستین روی محیط ریشه گیاه، گره‌زایی سویا را افزایش می‌دهد (۱۹).

مصرف جنیستین در گونه پلی‌مورفا در تاریخ کشت سوم باعث افزایش قطر گره نسبت به عدم مصرف آن شد. هم‌چنین در شرایط عدم مصرف جنیستین در هر سه گونه، اختلافی بین تاریخ‌های مختلف کشت از نظر قطر گره حاصل نشد و بیشترین قطر گره در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ جنیستین به‌دست آمد. به‌نظر می‌رسد که استفاده از جنیستین سرعت تشکیل گره را در دمای پایین افزایش داده، لذا گره‌ها زودتر تشکیل شده و رشد بیشتری نموده و فعال‌تر هستند (جدول ۵). این امر احتمالاً می‌تواند نشان دهنده تأثیر جنیستین در بهبود گره‌زایی گونه‌های یونجه یک‌ساله در شرایط مزرعه باشد و نتایج حاصل با نتایج سایر محققین در رابطه با تأثیر افزایشی جنیستین بر گره‌زایی مشابه است. سطح فلاونوئیدها تأثیر مستقیم بر گره‌زایی ریشه گیاه داشته و مقدار فلاونوئیدها در گیاهان میزبان هم‌زیست، میزان تحت تأثیر قرار گرفتن گره‌زایی لگوم‌ها را نشان می‌دهد (۲۰).

رادیاتا ماده خشک اندام هوایی آن در همین تاریخ کاشت کمتر از ریجیدولا بوده است. ریجیدولا حداکثر ماده خشک اندام هوایی را در تاریخ کاشت سوم تولید نموده است، هم‌چنین در تاریخ‌های کاشت دیگر نیز میزان عملکرد علوفه آن بیش از دو یونجه یک ساله بین این سه گونه به سرما بوده و می‌تواند حداکثر تولید اندام هوایی را در تاریخ کاشت سوم داشته باشد و بعد از آن رادیاتا قرار دارد و در انتها پلی‌مورفا حداقل ماده خشک بخش هوایی را تولید کرد (جدول ۴). اگرچه گونه پلی‌مورفا دارای حداکثر تعداد گره، تعداد دسته گره و ماده خشک گره در هر دو سال بود، ولی ماده خشک ریشه و ساقه در این گونه نسبت به دو گونه دیگر کاهش یافته است. به‌نظر می‌رسد که گونه پلی‌مورفا بیشترین توان خود را صرف گسترش واحدهای مربوط به تثبیت نیتروژن می‌نماید هم‌چنین ممکن است، گره‌های تشکیل شده روی ریشه گونه‌های ریجیدولا و رادیاتا فعال باشند ولی با این‌که تعداد گره‌ها در گونه پلی‌مورفا نسبت به دو گونه دیگر بیشتر است. این گره‌ها فعالیت چندانی از نظر تثبیت نیتروژن نداشته باشند (جدول ۴ و ۵).

در گونه پلی‌مورفا در هر دو سال آزمایش، در تاریخ‌های کاشت دوم و سوم مصرف جنیستین نسبت به عدم مصرف آن باعث افزایش تعداد دسته گره‌ها شد، که احتمالاً می‌تواند نشان دهنده اثر مثبت جنیستین در افزایش تعداد دسته گره‌ها باشد، هم‌چنین بیشترین تعداد دسته گره در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت $20 \mu \text{mol l}^{-1}$ در لیتر جنیستین حاصل شد (جدول ۴).

مصرف جنیستین در هر سه تاریخ کاشت در گونه پلی‌مورفا باعث افزایش معنی‌دار تعداد گره شد (جدول ۵)، هم‌چنین در همین گونه دیده شد که در شرایط مصرف جنیستین در تاریخ کاشت دوم و سوم تعداد گره بیشتری نسبت به تاریخ کاشت اول تولید کرد. در تاریخ‌های کاشت اول و دوم در گونه‌های رادیاتا و ریجیدولا کاربرد جنیستین اثر معنی‌داری بر تعداد گره‌ها نداشت. هم‌چنین بیشترین تعداد گره در گونه *M. polymorpha* در غلظت

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل جنیستین و تاریخ کاشت و گونه بر صفات مختلف گونه‌ها یونجه‌های یک‌ساله در دو سال

قطر گره (mm)			تعداد گره در هر کلون ریشه			تعداد گره ریشه			جنیستین μmol/lit	مقایسه میانگین‌ها
تاریخ کاشت			تاریخ کاشت			تاریخ کاشت				
سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول		
۱/۳ ^a	۱/۰۸ ^b	۱/۰۸ ^b	۴/۲ ^a	۳/۱ ^b	۲/۷ ^{bc}	۱۳۹/۷ ^a	۱۳۹/۱ ^a	۷۲/۹ ^c	۲۰	<i>M. polymorpha</i>
۰/۵۷ ^{fg}	۰/۴۲ ^g	۰/۸۶ ^{de}	۱/۸ ^{fgh}	۱/۸ ^{fgh}	۱/۹ ^{efgh}	۲۴/۳ ^g	۱۰/۴ ^{hi}	۱۹/۵ ^g	۲۰	<i>M. radiata</i>
۰/۷۰ ^f	۰/۵۵ ^{fg}	۰/۶۳ ^f	۲/۴ ^{cde}	۲ ^{Defgh}	۲/۲ ^{cdefg}	۶۲ ^d	۲۳/۱ ^g	۳۷/۶ ^f	۲۰	<i>M. rigidula</i>
۱/۰۵ ^{bc}	۱/۰۳ ^{bc}	۰/۹۱ ^{dc}	۳/۲ ^b	۳/۱ ^b	۲/۷ ^{bc}	۶۳/۳ ^d	۸۸/۷ ^b	۴۸/۳ ^e	۰	<i>M. polymorpha</i>
۰/۶۶ ^f	۰/۵۶ ^{fg}	۰/۵۸ ^{fg}	۲/۱ ^{defgh}	۱/۸ ^{Fgh}	۱/۷ ^{gh}	۱۹/۹ ^g	۶/۷ ⁱ	۱۶/۴ ^{gh}	۰	<i>M. radiata</i>
۰/۶۰ ^f	۰/۷۲ ^{fe}	۰/۶۳ ^f	۲/۵ ^{cd}	۱/۶ ^h	۲/۳ ^{cdef}	۴۳/۸ ^{ef}	۱۹/۲ ^g	۴۱/۳ ^{ef}	۰	<i>M. rigidula</i>
			طول ریشه (cm)			مقدار نیتروژن گونه‌ها (mg/g)				
			۱۹/۱ ^f	۲۵/۳ ^{ab}	۲۲/۱ ^{bcdef}	۳۲/۳ ^{de}	۳۲/۱ ^{de}	۳۱/۶ ^{ef}	۲۰	<i>M. polymorpha</i>
			۲۷ ^a	۲۴/۵ ^{ab}	۲۰/۲ ^{def}	۳۴/۱ ^{ab}	۳۴/۱ ^{ab}	۳۳/۰ ^{cd}	۲۰	<i>M. radiata</i>
			۲۲/۳ ^{bcdef}	۲۲/۵ ^{Bcd}	۲۰/۵ ^{def}	۳۴/۱ ^{ab}	۳۴/۱ ^{ab}	۳۲/۳ ^{de}	۲۰	<i>M. rigidula</i>
			۱۹/۹ ^{ef}	۲۴ ^{abc}	۲۰/۱ ^{ef}	۳۱/۹ ^{ef}	۳۱/۷ ^{ef}	۳۱/۱ ^f	۰	<i>M. polymorpha</i>
			۲۰/۸ ^{cdef}	۲۱/۱ ^{cdef}	۲۰/۷ ^{def}	۳۳/۹ ^{abc}	۳۳/۸ ^{bc}	۳۲/۴ ^{de}	۰	<i>M. radiata</i>
			۲۲/۶ ^{bcde}	۲۴/۳ ^{ab}	۲۳/۴ ^{bed}	۳۴/۵ ^{ab}	۳۴/۹ ^a	۳۲/۲ ^{de}	۰	<i>M. rigidula</i>

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن ($P \leq 0/05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

جدول ۶. مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی سال بر صفات مختلف گونه‌ها یونجه‌های یک‌ساله در دو سال

طول ریشه (cm)	مقدار نیتروژن گونه‌ها (mg/g)	قطر گره (mm)	تعداد گره		تعداد دسته گره ریشه	ماده خشک ریشه (g/plant)	ماده خشک بخش هوایی (kg/ha)	ماده خشک گره (mg/plant)	
			در هر کلون ریشه	تعداد گره ریشه					
۲۲/۶۳ ^a	۳۳/۹۷ ^a	۰/۸۱۲۵ ^a	۲/۴۸۳ ^a	۴۹/۸۰ ^a	۳/۷۸۳ ^a	۰/۱۷۶۳ ^a	۲۹۵۲ ^a	۱۰/۵۵ ^a	سال اول
۲۱/۸۲ ^a	۳۱/۹۲ ^b	۰/۷۴۳ ^a	۲/۳۰۴ ^b	۴۷/۵۳ ^b	۳/۵۷۶ ^a	۰/۱۶۳۱ ^a	۲۷۴۶ ^b	۱۰/۲۵ ^a	سال دوم

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن ($P \leq 0/05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

طول ریشه اثری نداشت و گونه‌ها نیز طول ریشه یکسانی داشتند. تغییرات زیادی در طول ریشه در بین تیمارها به چشم نمی‌خورد و احتمالاً طول ریشه تابع عوامل دیگری به غیر از تیمارهای مورد کاربرد در این آزمایش می‌باشد (جدول ۵).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این آزمایش، گونه *M. Rigidula* نسبت به سایر گونه‌ها مقاومت بیشتری به سرما نشان داده و عملکرد علوفه و مقدار نیتروژن اندام هوایی بیشتری نسبت به گونه *M. polymorpha* تولید کرد. پس می‌توان از گونه *M. rigidula* در شرایط دمایی نامناسب و پایین که رشد و نمو سایر گونه‌ها مناسب نمی‌باشد، استفاده نمود. استفاده از گونه *M. polymorpha* و *M. radiate* در مناطق معتدل توصیه می‌شود زیرا از نظر مقاومت به سرما بعد از گونه *Medicago rigidula* قرار می‌گیرد. با توجه به نتایج آزمایش‌های انجام شده در شرایط مزرعه‌ای، می‌توان از گونه‌های پرمحصولی مثل گونه *M. rigidula* که مقاومت خوبی به سرما هم داشته باشند، برای کشت زودتر در مناطق سرد استفاده نمود و برای تقویت و تشدید گره‌زایی در ماه‌های پایین، تلقیح بذور آنها با جنیستین قبل از کشت لازم بوده که می‌تواند موجب تسریع در آغاز آلودگی و گره‌زایی و در نتیجه افزایش مقدار نیتروژن گیاه شود. این عمل در نهایت منجر به افزایش عملکرد علوفه در واحد سطح خواهد شد. بنابراین استفاده از یونجه‌های یک‌ساله مانند *M. rigidula* در مناطقی که در فصل رویش دمای هوا و خاک پایین بوده به شرط تلقیح آنها با جنیستین، بسیار مناسب بوده زیرا رشد اندام هوایی مناسبی در صورت فراهم بودن سایر شرایط خواهد داشت.

در سطح غشا زمانی که سلول‌های مجزا شده گیاهان برای اولین بار با شرایط دمای پایین رو به رو می‌شوند، انعطاف‌پذیری غشا و عمل آن کاهش می‌یابد. انعطاف‌پذیری سطح غشا در ابتدا به‌وسیله دمای پایین منطقه ریشه، کاهش می‌یابد و این منجر به کاهش سرعت برون‌تراوایی جنیستین می‌گردد (۱۹).

کاربرد جنیستین در تاریخ‌های مختلف کاشت در هر سه گونه تأثیری بر مقدار نیتروژن نداشت. گونه‌های رادیاتا و ریجیدولا با مصرف جنیستین در تاریخ‌های کاشت دوم و سوم نسبت به تاریخ کاشت اول مقدار نیتروژن بیشتری در اندام‌های هوایی ذخیره کردند (جدول ۵). ضمناً دو گونه رادیاتا و ریجیدولا از گونه پلی‌مورفا مقدار نیتروژن بیشتری جذب نموده‌اند که این وضعیت می‌تواند احتمالاً به دلیل مقاومت بیشتر این گونه‌ها به سرما و در نتیجه تولید بیشتر اندام هوایی و تقاضای بیشتر برای نیتروژن باشد. گونه‌های مختلف یونجه یک‌ساله توان متفاوتی در تشکیل گره روی ریشه و جذب نیتروژن دارند.

به نظر می‌رسد که افزایش تعداد گره، دسته و قطر گره تشکیل شده در اثر تلقیح گیاه با جنیستین در دمای پایین منطقه ریشه جهت افزایش مقدار نیتروژن اندام هوایی گیاه ناکارآمد باشد. از آنجایی که گونه *M. polymorpha* مقاومت کمی به سرما نسبت به سایر گونه‌ها دارد لذا باید در تاریخ کاشت سوم که هوا گرم‌تر است، کاشته شود، احتمالاً به دلیل فعال نبودن گره‌ها یا کوتاه‌تر بودن طول دوره رشد، این گیاه نسبت به سایر گونه‌ها، تولید ماده خشک کمتری تولید کرده و در نتیجه جذب نیتروژن توسط گیاه از خاک کمتر خواهد بود که نتایج این آزمایش نیز همین مورد را تأیید می‌کنند (جدول ۴ و ۵). مصرف جنیستین در گونه رادیاتا در تاریخ‌های کاشت دوم و سوم باعث افزایش طول ریشه شد. در اکثر موارد جنیستین بر

منابع مورد استفاده

۱. سنگدل، ع. و ب. ملک‌پور. ۱۳۷۳. مروری بر تحقیقات انجام شده و در حال اجرا در رابطه با یونجه‌های یک‌ساله در ایران و تدوین برنامه کاری آینده. نشریه مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.

2. Appelbaum, E. 1990. The *Rhizobium/ Bradyrhizobium* – legume symbiosis. PP. 131-158. In: P.M. Gresshof. (Ed.), Molecular Biology of symbiotic Nitrogen Fixation. CRC Press, Boca Raton, FL.
3. Clarkson, N. M. and J. S. S. Russel. 1979. Effect of temperature on the development of two annual medics. Aust. J. Agric. Res. 30: 909-916.
4. Cocks, P. S. and T. A. M. Ehrman, 1987. The effects of geographic origin on frost tolerance of pasture legumes in Syria. J. Appl. Ecol. 24: 673- 683.
5. Dalal, R. C., W. M. Strong, E. J. Weston, J. E. Cooper, K. J. Lahance, A. J. King and C. J. Chiken. 1995. Sustaining productivity of a Vertisol at Wara, Queensland with fertilisers, no-tilage, or legumes 1. Organic matter status. Aust. J. Experim. Agric. 35: 903-913.
6. Ehrman, T. A. M. and P.S. Cocks. 1990. Ecogeography of annual legumes in dryland. Agron. J. 63: 359-362.
7. Jeranyma, P., O. B. Hesterman and C. C. Sheaffer. 1998. Planting date effect on dry matter and nitrogen accumulation when clear seeded or intercropping with corn. Agron. J. 90: 616 – 622.
8. Kosslak, R.M., R. Bookland, J. Barkei, H. Paaren and E. R. Appelbaum. 1987. Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common nod genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 7428-7432.
9. Legros, P. and D. L. Smith. 1994. Root zone temperature sensitivity of nitrogen fixing and nitrate supplied soybean [*Glycin max* (L.) Merr. Cv. Maple Arrow] and lupin (*Lupinus albus* L. cv. Illtra) plants. Environ. Exp. Bot. 34: 117-784.
10. Materon, L. A. and P. S. Cocks. 1988. Constraints to biological nitrogen fixation in ley – farming systems designed for west Asia. In: Murrel, W. G. and I. R. Kennedy (Eds.), Microbiology in Letchworth Hertfordshire. Research studies Press LTD England.
11. SAS Institute Inc. 1997. SAS User's Guide. Statistical Analysis Institute Inc. Cary, North Carolina.
12. Sloger, C., D. Bezdicek, R. Milberg and N. Boonkerd. 1975. Seasonal and diurnal variation in N₂ (C₂H₂)-fixing activity in field soybean. PP. 271-284. In: W. D. P. Steward (Ed.), Nitrogen Fixation by Free-Living Microorganisms Cambridge University Press, London.
13. Somasegaren, P. H., J. Hoben. 1994. Handbook for Rhizobia (Method in Legume- Rhizobium Technology). Springer Verlag. Pub., New York.
14. Verma, D. P. S. 1992. Signals in root nodule organogenesis and endocytosis of rhizobium. Plant Cell 4: 372-382.
15. Walsh, K. B. and D. B. L. Layzel. 1986. Carbon and nitrogen assimilation and partitioning in soybeans exposed to low root temperatures. Plant Physiol. 80: 249-255.
16. Weisz, P.R. and T. R. Sinclair. 1988. Soybean nodoule gas permeability, nitrogen fixation and diurnal cycles in soil temperature. Plant Soil. 109: 227-234.
17. Whigham, D. K. and H. C. Minor. 1978. Agronomic characteristics and environmental stree. PP. 77-118. In: G. A. Norman (Ed.), Soybean Physiology, Agronomy, and Utilization, Academic Press, New York.
18. Willemot, C. 1975. Stimulation of phospholipid biosynthesis during frost hardening of winter wheat. Plant Physiol. 55:356-359.
19. Zhang, F., N. Dashti, R. K. Hynes and D. L. Smith. 1996. Plant growth promoting rhizobacteria and soybeab [*Glycin max* (L.) Merr.] nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root temperatures. Ann. Bot. 35:279-285.
20. Zhang, F. and D. L. Smith. 1995. Preincubation of *Bradyrhizobium japonicum* with genistein accelerates nodule development of soybean [*Glycin max* (L.) Merr.] at suboptimal root zone temperatures. Plant Physiol. 108:961-968.