

## تأثیر تاریخ کاشت و غلظت‌های مختلف جنس‌تین روی تثبیت نیتروژن و گره‌زایی سه گونه یونجه یک‌ساله

مجید امینی دهقی<sup>۱\*</sup>، علی سپهری<sup>۲</sup> و خسرو عزیزی<sup>۳</sup>

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر تاریخ کاشت و جنس‌تین روی تثبیت نیتروژن و گره‌زایی، سه گونه یونجه یک‌ساله، آزمایشی در شرایط مزرعه در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ انجام گرفت. گونه‌های مورد مطالعه شامل *M. Medicago polymorpha*، *M. rigidula* و *M. radiata* بودند که با مناطق سرد و معتدله سازگاری دارند. آزمایش در قالب طرح اسپلیت اسپلیت پلات بر پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. تاریخ کشت در سه سطح اول و دوم و بیستم اسفندماه به عنوان کرت‌های اصلی و گونه‌های یونجه یک‌ساله به عنوان کرت‌های فرعی و جنس‌تین در دو سطح صفر و ۲۰ میکرومول در لیتر در کرت‌های فرعی در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که در سال اول، رشد و نمو، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن بیش‌تری نسبت به سال دوم به دلیل شرایط دمای مناسب اوایل فصل رشد مشاهده شد. گونه‌ها از لحاظ تثبیت نیتروژن، گره‌زایی و سایر صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشتند. گونه‌ی *M. polymorpha* نسبت به دو گونه دیگر از نظر میزان تثبیت نیتروژن و گره‌زایی، میزان ماده‌ی خشک ریشه و درصد نیتروژن برتر بود. در تاریخ کشت سوم با مطلوب‌تر شدن دمای هوا و خاک، بیش‌ترین مقدار گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در گونه‌ها مشاهده گردید، اما در تاریخ کشت اول به دلیل تأثیر دمای پایین هوا و خاک، کم‌ترین میزان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن ایجاد شد. استفاده از جنس‌تین تأثیر افزایش‌دهنده‌ی روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در هر سه گونه داشت که حاکی از اثر تعدیل‌کنندگی جنس‌تین و کاهش تأثیر منفی دمای پایین محیط روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن یونجه یک‌ساله بود. بررسی اثرات متقابل تیمارهای اعمال شده نشان داد که استفاده از جنس‌تین در تاریخ کشت اول باعث افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن شده که این امر بیان‌گر تأثیر جنس‌تین در ایجاد مقاومت به سرما برای بهبود گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در هر سه گونه یونجه یک‌ساله در شرایط مزرعه بود.

کلمات کلیدی: یونجه یک‌ساله، تاریخ کشت، تثبیت نیتروژن، جنس‌تین، گره‌زایی

۱. استادیار گروه زراعت، دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران

۲. استادیار گروه زراعت، دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۳. استادیار گروه زراعت، دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

\*: نویسنده مسوول

## مقدمه

تامین می‌گردد (کروکر و هولفورد، ۱۹۹۶). همین توانایی سبب بهبود حاصل‌خیزی خاک شده و باعث افزایش عملکرد گندم در سیستم غله-لگوم به میزان بیش از ۵۰ درصد می‌شود (کاونتری، ۱۹۹۳). در استرالیا با استفاده از یونجه‌های یک‌ساله حدود ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به خاک اضافه می‌شود (ماترون و کوکس، ۱۹۸۸). یونجه‌های یک‌ساله علاوه بر ازدیاد نیتروژن آلی خاک، باعث افزایش کربن آلی خاک نیز می‌شوند (دالال و همکاران، ۱۹۹۵).

رشد رویشی یونجه‌های یک‌ساله از اواخر پاییز با اولین بارندگی زمستانه و جوانه‌زدن بذر شروع و تا فصل بهار ادامه می‌یابد، سپس گیاه وارد مرحله‌ی زایشی می‌شود ولی در مناطق با زمستان سرد و داشتن دوره‌های یخبندان شروع رشد و جوانه‌زدن بذر به اوایل فصل بهار موکول می‌گردد (والش و همکاران، ۱۹۹۸). درجه حرارت مناسب خاک برای جوانه‌زنی بذر یونجه‌های یک‌ساله حدود ۱۰ تا ۱۶ درجه سانتی‌گراد و دمای هوا حدود ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است (مویکو، ۱۹۹۳). تحمل یونجه‌های یک‌ساله نسبت به سرمای زمستان کم است و نمی‌توانند یخبندان‌های شدید و طولانی را تحمل کنند. دمای مطلوب دوره‌ی رشد رویشی یونجه ۲۱ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و در مرحله گلدهی ۱۵ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (هانسون، ۱۹۸۸). این گیاه صفر درجه سانتی‌گراد را حداکثر تا ۸ ساعت به طور ممتد تحمل کرده و بعد از بین می‌رود (پوکریج و فرنچ، ۱۹۸۳).

یونجه‌های یک‌ساله از نظر نیاز رطوبتی، بسیار کم توقع بوده و در بسیاری از نقاطی که بارندگی سالیانه کم‌تر از ۲۵۰ میلی‌متر داشته اقدام به کشت آن‌ها گردیده است (برهیم و اسمیت، ۱۹۹۳). کشت یونجه‌های یک‌ساله در سیستم تناوبی غله-لگوم به‌طور گسترده در مناطق دارای آب و هوای مدیترانه‌ای در بسیاری از نقاط جهان توسعه یافته و موفقیت‌آمیز بوده است (هولفورد و همکاران، ۱۹۹۷). حضور و فراوانی یونجه‌های یک‌ساله در هر محیط می‌تواند مبنای انتخاب گونه‌های سازگار با آن محیط باشد (اهرمن و کوکس، ۱۹۹۰).

یونجه‌های یک‌ساله می‌توانند جایگزین آیش شده و ضمن حاصل‌خیز نمودن خاک، از فرسایش آن جلوگیری نمایند (بایدربک و همکاران، ۱۹۹۳). در سیستم تناوبی گندم - یونجه یک‌ساله، میزان نیتروژن تثبیت شده به حدی است که نیاز نیتروژنه، گندم تامین می‌شود (داگتون و همکاران، ۱۹۹۶). یونجه‌های یک‌ساله از جهاتی نسبت به گونه‌های چند ساله برتری دارند. بیشتر گونه‌های یونجه یک‌ساله، سریع‌تر از یونجه‌های چند ساله رشد کرده (شرستا و همکاران، ۲۰۰۱) و دارای سازگاری وسیع با شرایط آب و هوایی مختلف هستند، این ویژگی‌ها آن‌ها را جای‌گزین گونه‌های دائمی یونجه نموده است (مویکو، ۱۹۹۳). در بعضی کشورهای پیشرفته یونجه‌های یک‌ساله جزء جدائی‌ناپذیر سیستم‌های زراعی محسوب می‌شوند و به دلیل توانایی در تثبیت نیتروژن و حاصل‌خیز کردن خاک و نسبت پایین کربن به نیتروژن نقش مهمی در نظام‌های کشاورزی پایدار دارند (کاترتون و کاترتون، ۱۹۹۴).

یونجه‌های یک‌ساله یکی از اجزای اصلی در کشاورزی پایدار هستند و قادرند با یک چین‌علوفه در مرحله‌ی ۶۰ تا ۷۰ روز بعد از کاشت حدود ۵ تا ۶ تن علوفه‌ی خشک در هکتار تولید نمایند (باوچان و همکاران، ۲۰۰۰). گزارش شده که اجرای سیستم تناوبی گندم- یونجه یک‌ساله به مراتب از سایر سیستم‌های زراعی اقتصادی‌تر است و هم‌چنین با استفاده از این سیستم نه تنها میزان پروتئین گندم افزایش می‌یابد بلکه در گسترش بیماری‌های قارچی نیز وقفه ایجاد می‌کند (دالال و همکاران، ۱۹۹۵). تعداد زیادی از گونه‌های یونجه یک‌ساله به‌عنوان کود سبز نیز مورد کشت قرار می‌گیرند (سیمس و همکاران، ۱۹۸۵). اجرای سیستم تناوبی غله-لگوم در زمین‌های تحت کشت غلات دیم در کشور استرالیا باعث افزایش حاصل‌خیزی خاک، افزایش تولید علوفه دام و بهبود و توسعه مراتع شده است.

یونجه‌های یک‌ساله منبع بسیار خوبی برای تثبیت بیولوژیکی نیتروژن هوا ( $N_2$ ) هستند. ۶۵٪ از کل نیتروژن مصرفی در کشاورزی از طریق تثبیت بیولوژیکی

سرما، گرما و تنش‌های رطوبتی نیز تا اندازه زیادی موجب کاهش جمعیت ریزوبیومها در حوزه فعالیتشان روی ریشه یونجه‌های یکساله می‌گردند. اثر دما بر تثبیت نیتروژن در لگومها تا حدود زیادی تابع شرایط عمومی محیط بوده، بهترین دمای برای فعالیت ریزوبیومها در مناطق معتدله  $25^{\circ}\text{C}$  -  $20^{\circ}\text{C}$  و در مناطق گرمسیری  $35^{\circ}\text{C}$  -  $45^{\circ}\text{C}$  می‌باشد (حیدری شریف آباد و ترک نژاد، ۱۳۷۹). حرارت کمتر از ۳ درجه سانتی‌گراد خاک سبب توقف فعالیت باکتری‌ها می‌شود. به علاوه باعث تاخیر نفوذ باکتری به ریشه گیاه و کاهش فعالیت نیتروژناز می‌گردد. حرارت ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای فعالیت باکتری‌های ریزوبیوم مناسب است (کلارسون و روسل، ۱۹۷۹).

اولین اثر دماهای پایین بر گیاهان کاهش در سرعت رشد و متابولیسم می‌باشد. دمای پایین رشد گیاهان تثبیت کننده نیتروژن را بیشتر از گیاهانی که از ترکیبات نیتروژن دار استفاده کرده محدود می‌کند (لیندمن و هام، ۱۹۷۹؛ لگروس و اسمیت، ۱۹۹۴). در دمای کم، نیتروژن بیشتر از کربن رشد را محدود می‌نماید (توماس و سپریت، ۱۹۸۴). مطالعه تاثیر دمای منطقه ریشه پایین‌تر از حد مطلوب بر روی تثبیت نیتروژن در سویا و سایر لگوم‌های علوفه‌ای نیمه گرمسیری مشخص نمود که دمای پایین سبب کاهش گره‌زایی، کاهش فعالیت و کارایی آنها می‌شود (روگلی و داتا، ۱۹۸۶؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ الف؛ لگروس و اسمیت، ۱۹۹۴).

پیشرفت مراحل آلودگی و ایجاد برآمدگی‌های اولیه گره‌ها روی ریشه سویا بیشترین حساسیت را نسبت به دمای پایین منطقه ریشه نشان داده‌اند (لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). تمام مراحل شکل‌گیری و عملکرد گره، تحت تاثیر کاهش دمای منطقه ریشه می‌باشد (لی، ۱۹۸۱). آزمایش‌ها نشان داده‌اند که انتقال لگومها در مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی‌شان از دمای مناسب به دمای پایین‌تر منطقه ریشه، توسعه گره در تمام مراحل را با حساسیت بیش‌تری نشان دادند (لیندرمن و هام، ۱۹۷۹؛ ماتوز و هایز، ۱۹۸۲؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳). طبق

کاهش دمای منطقه ریشه تاثیر شدیداً کاهنده‌ای بر روی رشد و نمو و عملکرد ارقام یونجه یکساله مقاوم به سرما داشته است (امینی و همکاران، ۱۳۸۲). به منظور بهره‌برداری حداکثر از اولین باران‌های پاییز و در عین حال امکان بهره‌برداری از تمام فصل رویشی در مناطقی با زمستان‌های معتدل، مانند خوزستان، بوشهر و گرگان باید کشت بلافاصله پس از نزول اولین بارندگی مطمئن پاییزی انجام شود. اگر خطر سرمازدگی وجود نداشته باشد کشت پاییزی موفق‌تر از کشت بهاری خواهد بود (پيله وری و حسینی عراقی، ۱۳۵۹). در چنین شرایطی کشت زود پاییزی نتیجه بهتری می‌دهد، چرا که بذرها سریع‌تر جوانه زده و به دلیل وجود گرمای بیش‌تر؛ سریع‌تر رشد کرده و ریشه خود را در خاک مستقر می‌کنند و در برابر سرمای زمستان از مقاومت بیش‌تری برخوردار هستند (خلیلی، ۱۳۷۰). در مناطقی که خطر یخبندان زمستان وجود دارد مانند بسیاری از نقاط سردسیر شمال شرق و غرب کشور، کشت پاییزی موفقیت آمیز نبوده و بوته‌ها در اثر سرمای زمستان از بین می‌روند (میرنژاد، ۱۳۷۶).

زمان کاشت در یونجه‌های یکساله حتی هنگامی که به صورت مخلوط کاشته شوند در عملکرد یونجه یکساله تاثیر زیادی دارد. به طوری که کاشت زودتر این گونه‌ها موجب افزایش عملکرد آنها می‌گردد. کاشت زودتر آنها موجب افزایش طول دوره رشد شده و ماده‌ی خشک بیش‌تری در گیاه ذخیره می‌شود (جرانیامن و همکاران، ۱۹۹۸). از آنجا که دوره‌ی رشد یونجه‌های یکساله با فرا رسیدن فصل گرم به شدت کاهش یافته و محدود می‌گردد، کشت پاییزه و بهاره نسبت به کشت تابستانه آنها، فرصت بیش‌تری را جهت فعالیت گیاه و ریزوبیوم‌های همزیست جهت تثبیت نیتروژن به گیاه می‌دهد. گزارش شده که در کشت بهاره چندین گونه یونجه یکساله با دوره رشد ۶۰ روز بین ۴۰ تا ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تثبیت شده است. در حالی که در کشت تابستانه آنها با دوره‌ی رشد ۴۳ روز بین ۲۰ تا ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در خاک تثبیت شده است (زهو و همکاران، ۱۹۹۸).

می‌گویند را فعال می‌کنند (لونگ، ۱۹۸۹؛ پیترز و ورما، ۱۹۹۰).

مبادله سیگنال‌های مولکولی بین ریزوبیوم‌ها و گیاهان میزبان برای رشد گره در ریشه لگوم ضروری می‌باشد (ورما، ۱۹۹۲). ایزوفلاون دیادزین و جنس‌تین اجزای اصلی عصاره‌ی ریشه سویا بوده که مسئول القاء ژن‌های گره برادی ریزوبیوم می‌باشند (کوساک و همکاران، ۱۹۸۷). ایزوفلاون‌ها به‌عنوان یک ترکیب مهم در بافت نخود و سویا مشخص شده‌اند (بارز و ولا، ۱۹۹۲). این ترکیبات مشخص به‌وسیله بخش‌هایی از تارهای کشنده ریشه ترشح شده که ناحیه‌ای با قابلیت بسیار بالا برای عفونت ریزوبیوم است (ورما، ۱۹۹۲). میزان فلاونوئیدها تاثیر مستقیمی بر گره‌زایی و تثبیت نیتروژن دارد (اپلاوم، ۱۹۹۰). این ترکیبات آزاد شدن کروموزم‌ها را در ریزوبیوم فعال کرده و باعث تحریک و تولید فاکتورهای باکتریایی می‌شود. این فاکتورها به‌عنوان لیپوالیگوساکارید شناخته شده‌اند (لروگ و همکاران، ۱۹۹۰) که توانایی القاء بسیاری از مراحل اولیه در تکامل گره‌ها را دارا هستند (استیسی و همکاران، ۱۹۹۲) و شامل تغییر شکل و پیش‌تارهای کشنده، شروع تقسیمات سلولی پوست ریشه و القاء گره می‌شوند (دناریا و روچ، ۱۹۹۲). سرایت و فرایندهای تکامل گره‌های اولیه حساس‌ترین مراحل همزیستی می‌باشد (گیسون، ۱۹۷۱). حرارت‌های زیر حد معمول، سرایت تارهای کشنده ریشه را بیشتر از شروع گره‌زایی و تکامل گره و تثبیت نیتروژن به تاخیر می‌اندازد (لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). سطح فلاونوئیدها در گیاهان میزبان همزیست میزان تحت تاثیر قرار گرفتن گره‌زایی لگوم‌ها و تثبیت مستقیم نیتروژن را نشان می‌دهد (آپلبائوم، ۱۹۹۰). حرارت‌های کم از بیوسنتز جنس‌تین در سویا جلوگیری می‌کند (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶). که یکی از مهم‌ترین دلایل برای کاهش گره‌زایی و ایجاد تاخیر در آغاز تثبیت نیتروژن در دمای کم منطقه ریشه است. (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). دماهای پایین منطقه ریشه، تجمع جنس‌تین را در ریشه‌های سویا کاهش می‌دهد (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

بررسی‌های انجام شده روی گیاهان مناطق معتدل نظیر *Trifolium parviflorum* و *T. glomeratum* مدت زمان تلقیح در دمای پایین منطقه ریشه طولانی‌تر می‌شود (کوماراسینگ و نومن، ۱۹۷۹). تحقیقات نشان می‌دهد گره‌هایی که در دمای زیر حد مناسب منطقه ریشه تشکیل شده‌اند کم بازده هستند (میلولون و ویلیامز، ۱۹۸۶).

دمای منطقه ریشه پایین‌تر از سطح مطلوب، تمام مراحل سرایت باکتری را کاهش داده و زمان بین تلقیح و پیش‌تارهای کشنده را افزایش می‌دهد (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). تاثیر دمای پایین منطقه ریشه روی تثبیت نیتروژن و سنتز  $\text{NO}_3$  ممکن است بر روی انتقال مواد فتوسنتزی نیز اثر بگذارد و در نتیجه فتوسنتز، فعالیت نیتروژن‌ناز را محدود کند (میلولون و ویلیامز، ۱۹۸۶). کاهش مشابهی در توسعه گره و تعداد گره در دمای پایین منطقه‌ی ریشه در *Vicia faba* L. مشاهده کرده‌اند (فیسون و سپرنت، ۱۹۸۲). کاهش دمای منطقه ریشه موجب تاخیر در تلقیح، توسعه گره و جذب  $\text{N}_2$  در هم‌زیستی ریزوبیوم با لگوم‌ها می‌شود (گیسون، ۱۹۷۱). فرایندهای نفوذ و سرایت و نیز فرایندهای رشد سریع گره‌ها حساس‌ترین مراحل در مقابل دمای پایین منطقه‌ی ریشه می‌باشند. تمامی مراحل همزیستی ایجاد شده (پیچیدگی - تارهای کشنده ریشه، عفونت‌های آلوده‌کننده، شکل‌گیری و نفوذ آن‌ها، رشد گره و عملکرد آن‌ها) نشان داده‌اند که تحت تاثیر دماهای پایین منطقه ریشه قرار گرفته و باز داشته می‌شوند، دماهای منطقه ریشه پایین‌تر از حد معمول عفونت تارهای کشنده را بیش‌تر از آغاز گره‌بندی، رشد گره‌ها و یا ترکیب نیتروژنی به تاخیر می‌اندازد (والش و لیزل، ۱۹۸۶).

تثبیت همزیستی  $\text{N}_2$  یک فرآیند پیچیده‌ای است که شامل جنبه‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی هر دو شریک همزیست می‌باشد. یکی از مراحل ابتدایی در فرآیند گره‌زایی شامل پیوستگی انتخابی و نیز نفوذ به ریشه گیاه توسط باکتری‌ها می‌باشد. اولین گام این مرحله احتمالاً پیام‌های مولکول‌های فلاونوئید که هم‌زیست باکتریایی را ممکن ساخته و یکسری از ژن‌های گره‌زایی باکتریایی که به آن‌ها ژنهای گره (node)

می تواند مبنای انتخاب گونه‌های سازگار با محیط باشند (اهرمن و کوکس، ۱۹۹۰).

نتایج تحقیقات نشان داده است که گونه *M. rigidula* بیشترین پتانسیل زنده ماندن در زمستان را نسبت به گونه‌های *M. polymorpha* و *M. truncatula* دارد (کرال و همکاران، ۱۹۹۶). محققین دیگر دریافتند که در زمستان‌های خیلی سخت گونه *M. rigidula* نسبت به سایر گونه‌های یونجه یکساله مقاومت زیادتری نسبت به سرما نشان داده است (عبدالمونیم و کوکس، ۱۹۸۶؛ کوکس و اهرمن، ۱۹۸۷).

استفاده از گونه‌های یونجه یکساله سازگار با مناطق سرد و معتدل، با توجه به وجود دمای پایین هوا و خاک در اواخر فصل زمستان و اوایل بهار در دیمزارهای کشور، جایگزینی آن‌ها را در سال آیش در این مناطق با مشکل مواجه ساخته و موجب کاهش رشد و نمو و تولید علوفه و تثبیت نیتروژن می‌شود. برای رفع این معضل و انتخاب جایگزین مناسب در سال آیش، به گونه‌های مقاوم و سازگار به کاهش دمای هوا و خاک در اوایل فصل کشت نیاز می‌باشد، تا علاوه بر افزایش محصول غله و علوفه باعث افزایش حاصل‌خیزی خاک با افزایش تثبیت نیتروژن در دیم‌زارها گردد. لذا این پژوهش به منظور افزایش تثبیت نیتروژن و گره‌زایی جهت افزایش حاصل‌خیزی دیم‌زارها و مراتع و تولید علوفه لازم، انجام گرفت.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط مزرعه‌ای در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در پیکان‌شهر کرج انجام گرفت. در این آزمایش از سه گونه یونجه یکساله *M. Medicago polymorpha* cv. Santiago، *M. rigidula* cv. Radiata و *M. rigidula* که با مناطق سرد و معتدل سازگاری دارند استفاده شد. تاریخ کشت در سه سطح اول و دهم و بیستم اسفند ماه به عنوان کرت‌های اصلی و گونه‌های یونجه یکساله به عنوان کرت‌های فرعی و محلول جنستین در دو سطح صفر و ۲۰ میکرو مول در لیتر

یکی از عوامل مؤثر بر تثبیت نیتروژن در یونجه‌های یکساله گونه و رقم می‌باشد. به عبارت دیگر ارقام و گونه‌های مختلف یونجه یکساله توان متفاوتی در تشکیل گره بر روی ریشه و تثبیت نیتروژن دارند. مطالعه‌ای بر روی ۳۸ رقم یونجه یکساله نشان داد که در زمان گلدهی وزن خشک گره‌های روی ریشه ارقام مذکور بین ۰/۲ تا ۱۸/۴ میلی‌گرم در هر بوته بود که کمترین آن به گونه *M. polymorpha* و رقم SA-4408 و بیشترین آن به گونه *M. Arabica* و رقم SA-2334 تعلق داشت (محمد و کامار، ۱۹۸۸).

تحمل در برابر سرمای گونه‌های *M. orbicularis*، *M. rigidula*، *M. polymorpha* و *M. rotata* مورد تأیید قرار گرفته است (اهرمن و کوکس، ۱۹۸۷). گیاهچه‌های گونه *Medicago truncatula* در شرایط دمای ۲- تا ۵- درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته صدمه دیده و از بین رفتند (حیدری شریف‌آبادی، ۱۳۸۱). گونه *Medicago radiata* می‌تواند زمستان را با دوره یخبندان بدون آسیب‌پذیری سپری کند. احتمالاً گیاهچه‌های گونه *Medicago rigidula* نیز مانند *Medicago rotata* و *Medicago polymorpha* تعداد زیادی اکوتیپ در نواح سردسیر داشته باشد. گونه‌های *Medicago scutellata*، *Medicago tornata* و *Medicago truncatula* نسبت به سرما حساسیت زیادی دارند (ترک نژاد، ۱۳۷۸).

گونه *Medicago Polymorpha* نسبت به سایر یونجه‌های یکساله بیشترین سطح پراکنش را در ایران دارد و در ارتفاع کمتر از ۲۰۰۰ متر در انواع خاک‌ها دیده می‌شود (سندگل و ملک‌پور، ۱۳۷۳). گونه *Medicago polymorpha* دارای گسترده‌ترین پراکنش است (اهرمن و کوکس، ۱۹۹۰). گونه *Medicago radiata* محدود به مناطق سرد بوده (کوکس و اهرمن، ۱۹۸۷) و بعضی از گونه‌های یونجه یکساله مثل *Medicago rigidula* و *Medicago noeana* در مناطق سرد ترکیه و ایران یافت می‌شوند (کوکس، ۱۹۹۲). حضور و فراوانی یونجه‌های یکساله در هر محیط

نمی‌باشند. بنابراین بررسی نتایج بر اساس تجزیه مرکب داده‌ها انجام گرفت.

اثرات اصلی سال، ارقام یونجه یکساله، تاریخ کشت و غلظت‌های مختلف جنسیتین و همچنین اثرات متقابل مرتبه‌ی اول، ارقام × تاریخ کشت، تاریخ کشت × جنسیتین، ارقام × جنسیتین و مرتبه دوم ارقام × تاریخ کشت × جنسیتین در سطح یک درصد بر روی اکثر صفات مورد بررسی تاثیر معنی‌داری داشته، اما اثرات متقابل مرتبه سوم در اکثر صفات مورد بررسی تاثیر معنی‌داری نداشته‌اند. با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و متقابل مرتبه اول از ذکر آن‌ها خودداری شده و اثرات متقابل مرتبه‌ی دوم توضیح داده می‌شود.

حداکثر میزان ماده‌ی خشک گره در گونه‌ی *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنسیتین (۶۰/۳ میلی‌گرم در هر گیاه) و کمترین آن (۱/۳ میلی‌گرم در هر گیاه) در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت صفر میکرومول در لیتر جنسیتین حاصل گردید (جدول ۱). نتایج حاصل با نتایج سایر پژوهش‌گران در رابطه با تاثیر افزایشی جنسیتین بر روی مقدار ماده خشک گره مشابه می‌باشد. استفاده از جنسیتین تعداد گره و مقدار 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 درجه حرارت پایین، از بیوسنتز جنسیتین در گیاهان سویا جلوگیری می‌کند (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶). در درجه حرارت کم منطقه‌ی ریشه جنسیتین بالاتری نیاز دارد. تحت این شرایط مداومت تلقیح گیاه با جنسیتین، ممکن است بر تاثیرات منفی ناشی از درجه حرارت بر روی گره‌زدایی و تثبیت نیتروژن غلبه کند (اسمیت و زانگ، ۱۹۹۴؛ اسمیت و زانگ، ۱۹۹۵).

ماکزیمم تعداد گره در ریشه به ترتیب با ۱۳۹/۷ و ۱۳۹/۱ گره در گونه *M. polymorpha* در غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنسیتین و در تاریخ کشت‌های سوم و دوم و مینیمم آن با ۶/۷ عدد در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت صفر میکرومول در لیتر جنسیتین حاصل شد (جدول ۱). نتایج حاکی از تاثیر

(امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵) در کرت‌های فرعی فرعی با ابعاد ۲×۲ متر اعمال شد. آزمایش در قالب طرح اسپلیت اسپلیت پلات بر پایه‌ی بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. کشت به صورت خطی و با فاصله پنجاه سانتی‌متر از یکدیگر انجام گرفت.

جهت تلقیح گیاهان از باکتری *Rhizobium meliloti* که در محیط کشت استریل بدون آگار کشت داده شده بود استفاده گردید (امینی-دهقی و همکاران، ۱۳۸۲ الف). قبل از کاشت، بذور با باکتری و جنسیتین تلقیح شدند. جنسیتین (Trihydroxyisoflavon-7,5,4- با خلوص ۹۹٪ Acros, New Jersey USA) به میزان ۲۰ میکرومول در لیتر به سوسپانسیون ضد عفونی شده باکتری اضافه گردید. تلقیح بذرها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انجام شد (هالورسون و استیسی، ۱۹۸۴). هم‌چنین محلول ۲۰ میکرومول در لیتر جنسیتین همراه با آب مقطر روی بذور کشت شده در داخل شیارها پاشیده شد (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

در مرحله ۵۰٪ گلدهی نمونه‌برداری در سطح ۰/۵ مترمربع از کرت‌های آزمایشی انجام گردید. عواملی که در این آزمایش مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفتند عبارتند از: میزان ماده‌ی خشک ریشه و گیاه، میزان ماده‌ی خشک گره ریشه (در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت در اون)، تعداد گره در ریشه، تعداد گره در هر کلون، تعداد دسته گره در ریشه، طول و قطر دسته گره، طول و قطر گره (با کولیس)، طول پراکنش گره در ریشه، درصد و مقدار نیتروژن گیاه (با استفاده از دستگاه اتوکجلدال). تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS انجام گرفت (انستیتو ساس، ۱۹۹۷) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد (استل و توری، ۱۹۸۰) صورت پذیرفت.

## نتایج

در ابتدا 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 F به عمل آمده و نتیجه گرفته شد که در اکثر آن‌ها F محاسبه شده از F جدول کمتر بوده و معنی‌دار

۲۰ میکرومول در لیتر جنستین و حداقل تعداد دسته گره (۱/۴ و ۱/۳ عدد) در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت‌های صفر و ۲۰ میکرومول در لیتر جنستین به دست آمد (جدول ۱). جنستین تولید لیپو الیگوساکارید را تحریک کرده و فاصله زمانی بین تلقیح و پیچیدگی تارهای کشنده‌ی ریشه را یک تا دو روز کوتاه‌تر کرد (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). جنستین می‌تواند سرعت آلودگی *B. japonicum* را افزایش داده و در نتیجه گره‌دار شدن و تثبیت  $N_2$  را زیاد می‌کند. تمامی مراحل هم‌زیستی در طول زمان (پیچیدگی تارهای کشنده‌ی ریشه، ایجاد آلودگی‌ها، شکل‌گیری و نفوذ آن‌ها، رشد گره و عملکرد آن‌ها) نشان داده‌اند که توسط دماهای پایین‌تر از حد معمول منطقه‌ی ریشه باز داشته می‌شوند (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

بیشترین تعداد گره در طول ریشه در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و در غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنستین و کمترین تعداد گره در طول ریشه در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت‌های ۲۰ و صفر میکرومول در لیتر جنستین مشاهده شد (جدول ۱). دمای منطقه‌ی ریشه پایین‌تر از حد مطلوب (کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد) (امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۲ الف)، همه مراحل آلودگی را به تأخیر می‌اندازد (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). کاربرد جنستین تعداد گره و ماده خشک گره را به ازای هر گیاه افزایش داد و زمان آغاز تثبیت نیتروژن را به‌خصوص برای گیاهان سویای کشت زود هنگام به جلو انداخت (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶). مداومت تلقیح گیاه با جنستین ممکن است بر تائیرات منفی ناشی از درجه حرارت پایین بر روی گره‌زدایی و تثبیت نیتروژن غلبه کند (زانگ و همکاران، ۱۹۹۵ و ۱۹۹۶). کاهش حساسیت *B. japonicum* به سیگنال‌ها در دماهای پایین یکی دیگر از دلایل مهم تأخیر در گره‌زدایی است. بنابراین درجه حرارت‌های پایین از بیوسنتز جنستین در بافت سویا جلوگیری کرده و هم حساسیت *B. japonicum* نسبت به علامت‌های فلانویید را کاهش می‌دهد (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

دمای مناسب محیط و جنستین در افزایش گره‌زدایی و توسعه گره‌ها می‌باشد. استفاده از جنستین در دوره پیش از جوانه زنی یا کاربرد مستقیم جنستین، بر روی محیط ریشه گیاه، گره‌زدایی و تثبیت نیتروژن سویا را افزایش داد (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶). سطح فلاونین‌ها تأثیر مستقیم بر گره‌زدایی و تثبیت نیتروژن داشته و سطح فلاونوئید در گیاهان میزبان هم‌زیست میزان تحت تأثیر قرار گرفتن گره‌زدایی لگوم‌ها و تثبیت مستقیم نیتروژن را نشان می‌دهد (آپلبائوم، ۱۹۹۰). تمام مراحل استقرار ریزوبیوم (موجدار شدن ریشه‌های مویی، عبور از مرحله سرایت به مرحله شکل‌گیری و نفوذ، توسعه گره و عملکرد آن) به وسیله حرارت‌های پایین‌تر از معمول باز داشته می‌شوند (لیندرمن و هام، ۱۹۷۹؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ هایز و ماتوز، ۱۹۸۲). ایجاد آلودگی و توسعه‌ی سریع گره‌ها از حساس‌ترین مراحل چرخه ایجاد هم‌زیستی است (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). بنابراین فرآیندهای آلودگی و ایجاد گره بسیار حساس و تحریک پذیر است (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). جنستین در محیط‌های استریل تعداد گره را به ازای هر گیاه افزایش داد که این امر ممکن است به افزایش در تعداد آلودگی‌ها و یا افزایش در مقدار آلودگی‌هایی که منجر به تشکیل گره شده مربوط باشد، فرآیندهای نفوذ، سرایت و نیز رشد سریع گره‌ها حساس‌ترین مراحل در مقابل دمای پایین‌تر از حد معمول منطقه‌ی ریشه می‌باشند (زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

بیشترین تعداد گره در هر کلون (۴/۲) در گونه *M. polymorpha* و در تاریخ کشت سوم و در غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنستین و کمترین تعداد گره در هر کلون (۱/۶) در گونه *M. rigidula* در تاریخ کشت دوم در غلظت صفر میکرومول در لیتر جنستین مشاهده گردید (جدول ۱)، که حاکی از تأثیر دما بر روی رشد و توسعه گره‌ها می‌باشد. تمام مراحل استقرار ریزوبیوم، به وسیله حرارت‌های پایین‌تر از مطلوب جلوگیری می‌شوند (لیندرمن و هام، ۱۹۷۹؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ هایز و ماتوز، ۱۹۸۲).

حداکثر تعداد دسته گره در ریشه (۱۰/۲ عدد) در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت

جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین‌های اثرات متقابل جنسیتین و تاریخ کاشت و گونه بر صفات مختلف گونه‌های یونجه یکساله در دو سال

تعداد دسته گره ریشه			ماده خشک ریشه (gr/plant)			ماده خشک بخش هوایی (gr/plant)			ماده خشک گره (mg/plant)			جنسیتین μmol/lit	گونه
تاریخ کاشت			تاریخ کاشت			تاریخ کاشت			تاریخ کاشت				
سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول		
۱۰/۲ a	۶/۸ b	۲/۸ ef	۱۵۹ def	۱۰۹ hij	۷۶ jk	۳۸۸۸ efg	۳۳۷۵ fgh	۱۹۲۵ i	۶۰/۳ a	۲۷/۶ b	۱۸/۰ c	۲۰	<i>M. polymorpha</i>
۳/۵ e	۱/۳ i	۲/۸ ef	۳۳۹ a	۲۳۳ c	۱۴۴ fgh	۱۱۳۲۵ a	۴۴۳۵ def	۳۷۵۰ efg	۴/۰ ghi	۱/۵ jk	۳/۵hij	۲۰	<i>M. radiata</i>
۵/۵ c	۱/۹ ghi	۴/۴ d	۲۳۰ c	۲۸۶ b	۱۵۸ defg	۱۲۰۳۰ a	۱۰۱۲۵ b	۵۱۵۰ d	۵/۹ efg	۶/۹ ef	۴/۶ gh	۲۰	<i>M. rigidula</i>
۴/۵ d	۵/۷ c	۲/۱ fgh	۱۲۰ ghi	۸۹ ijk	۵۴ k	۳۱۵۰ gh	۲۵۳۸ hi	۱۵۲۵ i	۱۸/۱ c	۹/۹ d	۸/۰ de	۰	<i>M. polymorpha</i>
۲/۸ ef	۱/۴ hi	۱/۷ ghi	۱۹۴ d	۱۸۱ def	۱۴۸ fg	۹۵۷۵ b	۴۷۵۲ de	۳۸۸۸ efg	۳/۱ hijk	۱/۳ l k	۲/۷ hijk	۰	<i>M. radiata</i>
۳/۵ e	۲/۲۳ fg	۳/۲ e	۱۸۹ de	۱۹۵ d	۱۵۵ efg	۷۶۶۳ c	۷۶۰۰ c	۴۵۸۸ de	۴/۹ fgh	۲/۲ ijk	۴/۸ gh	۰	<i>M. rigidula</i>
تعداد گره در طول ۵ تا ۱۰ (cm)			تعداد گره در طول صفر تا ۵			تعداد گره ریشه			تعداد گره در هر کلون ریشه				
ریشه			ریشه (cm)			تاریخ کاشت			تاریخ کاشت				
سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول	سوم	دوم	اول		
۲۵/۷ a	۴/۶ hi	۱۶/۷ b	۱۵۹ def	۱۰۹ hij	۷۶ jk	۱۳۹/۷ a	۱۳۹/۱ a	۷۲/۹ c	۴/۲ a	۳/۱ b	۲/۷ bc	۲۰	<i>M. polymorpha</i>
۸/۳ de	۴/۲ i	۴/۹ hi	۳۳۹ a	۲۳۳ c	۱۴۴ fgh	۲۴/۳ g	۱۰/۴ hi	۱۹/۵ g	۱/۸ fgh	۱/۸ fgh	۱/۹ efg	۲۰	<i>M. radiata</i>
۱۲/۵ c	۶/۳ fgh	۹/۴ d	۲۳۰ c	۲۸۶ b	۱۵۸ defg	۶۲/۰ d	۲۳/۱ g	۳۷/۶ f	۲/۴ cde	۲/۰ defgh	۲/۲ cdefg	۲۰	<i>M. rigidula</i>
۱۱/۸ c	۵/۸ ghi	۱۶/۴ b	۱۲۰ ghi	۸۹ ijk	۵۴ k	۶۳/۳ d	۸۸/۷ b	۴۸/۳ e	۳/۲ b	۳/۱ b	۲/۷ bc	۰	<i>M. polymorpha</i>
۶/۳ fgh	۲/۲ j	۶/۵ efg	۱۹۴ d	۱۸۱ def	۱۴۸ fg	۱۹/۹ g	۶/۷ i	۱۶/۴ gh	۲/۱ defgh	۱/۸ fghi	۱/۷ gh	۰	<i>M. radiata</i>
۷/۸ def	۴/۳ i	۷/۵ defg	۱۸۹ de	۱۹۵ d	۱۵۵ efg	۴۳/۸ ef	۱۹/۲ gh	۴۱/۳ ef	۲/۵ cd	۱/۶ h	۲/۳ cdef	۰	<i>M. rigidula</i>

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی‌دار ندارند



نیتروژن و سنتر  $\text{NO}_3$  ممکن است به دلیل اثر بر فتوسنتز و انتقال مواد باشد (میلهلون و ویلیامز، ۱۹۸۶). این امر با اثر محدود کننده فتوسنتزی بر فعالیت آنزیم نیتروژناز ثابت شده است (سولگر و همکاران، ۱۹۷۵). کاهش درجه حرارت منطقه ریشه، اثر معکوس و شدیدی بر روی گره‌زایی لگوم‌ها و تثبیت نیتروژن می‌گذارد (هاردی و همکاران، ۱۹۶۸؛ روگلی و داتا، ۱۹۸۶؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۴). مطالعات آثار درجه حرارت‌های پایین‌تر از حد معمول منطقه ریشه بر روی سویا نشان داده‌اند که این شرایط فعالیت تثبیت  $\text{N}_2$  را با کاهش مستقیم فعالیت آنزیم‌های پیچیده و مرکب تثبیت نیتروژن، کاهش می‌دهند و نیز با ممانعت ساختن و یا با به تاخیر انداختن عفونت ریشه و گره‌سازی این فعالیت را کاهش می‌دهند (والش و لایزل، ۱۹۸۶).

بیشترین قطر گره در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت ۲۰ میکرومول جنستین و کمترین قطر گره در گونه‌های *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت‌های ۲۰ و صفر میکرومول در لیتر جنستین به دست آمد. کاهش درجه حرارت منطقه ریشه، اثر معکوس و شدیدی بر روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن لگوم‌ها می‌گذارد (جونز و تیزدل، ۱۹۲۱؛ هاردی و همکاران، ۱۹۶۸؛ روگلی و داتا، ۱۹۸۶؛ لینچ اسمیت، ۱۹۹۴). تمام مراحل زندگی هم‌زیست (پیچیدگی ریشه‌های موئین، رشته‌های آلوده، توسعه گره‌ها و عملکرد آن‌ها) به وسیله کم‌ترین دمای منطقه ریشه محدود می‌شود (لیندرمن و هام، ۱۹۷۹؛ ماتوس و هایز، ۱۹۸۲؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳).

بیشترین قطر دسته گره ریشه با ۴/۳ میلی‌متر متعلق به گونه *M. polymorpha* در غلظت صفر میکرومول جنستین و کم‌ترین قطر دسته گره را با ۱/۴ میلی‌متر در گونه *M. radiata* و در غلظت‌های صفر و ۲۰ میکرومول جنستین دارا بودند. بیشترین طول و قطر دسته گره در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت اول و در غلظت ۲۰ میکرومول جنستین و کمترین طول و قطر دسته گره در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت دوم و در غلظت صفر میکرومول جنستین مشاهده شد. استفاده از جنستین سرعت تشکیل گره را در دمای

بیش‌ترین درصد و مقدار نیتروژن گیاه در گونه *M. rigidula* در تاریخ کشت دوم در غلظت‌های صفر و ۲۰ میکرومول بر لیتر جنستین و نیز در تاریخ کشت سوم در غلظت صفر میکرومول بر لیتر جنستین و گونه *M. radiata* در تاریخ کشت‌های دوم و سوم در غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر جنستین و نیز در تاریخ کشت سوم در غلظت صفر میکرومول بر لیتر جنستین و کم‌ترین درصد و مقدار نیتروژن گیاه در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت اول در غلظت‌های ۲۰ و صفر میکرومول بر لیتر جنستین و نیز در تاریخ کشت دوم و در غلظت صفر میکرومول بر لیتر جنستین حاصل شده است (جدول ۲). نتایج حاصله نشان می‌دهند که در دمای مناسب (بیش‌تر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد) (امینی-دهقی و همکاران، ۱۳۸۴)، استفاده از جنستین تاثیر زیادی در افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نداشته و گونه‌های یونجه یک‌ساله عکس‌العملی به مصرف آن نشان نمی‌دهند. اما در دمای پایین (کم‌تر از ۵ درجه سانتی‌گراد) موجب افزایش گره‌زایی در گونه‌ها شده و بر روی میزان و درصد نیتروژن تثبیت شده اثر مثبت و فزاینده‌ای داشته است. کاربرد جنستین در سویا منجر به افزایش ۲ تا ۴ روزه در مدت تثبیت نیتروژن شد و کل نیتروژن تثبیت شده تقریباً ۴۰٪ افزایش یافت. به نظر می‌رسد که مقداری از این افزایش تثبیت نیتروژن تحت شرایط فصلی کوتاه، به دلیل افزایش در تعداد گره در مراحل اولیه‌ی رشد رویشی بوده است (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). کارایی و تعداد بیش‌تر گره‌ها که در نتیجه کاربرد جنستین حاصل شده، به وسیله درجه حرارت محدود نشده و نیتروژن تثبیت شده کل و عملکرد نیتروژن گیاهانی که با *B. japonicum* و جنستین در دوره قبل از جوانه‌زنی تیمار شده بیش‌تر از آن‌هایی بود که به‌طور منظم، ماده‌ی تلقیحی باکتری را دریافت کرده بودند (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). گزارش شده که افزایش ده درصد در دوره‌ی فعالیت گره یک لگوم دانه‌ای، خصوصاً در فاصله زمانی بین آغاز تثبیت نیتروژن و رسیدن به حداکثر مقدار تثبیت، می‌تواند میزان نیتروژن تثبیت شده‌ی فصلی را دو برابر کند (سپرنت، ۱۹۷۹). گزارش کرده‌اند که اثر درجه حرارت پایین بر تثبیت

افزایش رشد و نمو آن گشته و ماده‌ی خشک بیشتری برای رشد ریشه‌ها مهیا گردیده، که در نتیجه، موجب افزایش وزن و طول ریشه گیاه شده است. دمای منطقه ریشه پایین‌تر از حد مطلوب، همه مراحل آلودگی را به تاخیر می‌اندازد (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۴). تمام مراحل استقرار ریزوبیوم (موجدارشدن ریشه‌های موئین، نفوذ و ایجاد مرحله شکل‌گیری آلودگی، توسعه گره و عملکرد آن) به‌وسیله حرارت‌های پایین‌تر از معمول بازداشته می‌شوند (لیندرمن و هام، ۱۹۷۹؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۳؛ هایز و ماتوز، ۱۹۸۲).

بیشترین میزان ماده‌ی خشک گیاه در گونه‌های *M. radiata* و *M. rigidula* در تاریخ کشت سوم و غلظت ۲۰ میکرومول در لیتر جنس‌تین به ترتیب با ۱۲۰۳۰ و ۱۱۳۲۵ میلی‌گرم در هر گیاه و کمترین آن به ترتیب با ۲۵۳۸، ۱۹۲۵ و ۱۵۲۵ میلی‌گرم در هر گیاه در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت دوم با غلظت صفر میکرومول در لیتر جنس‌تین و در تاریخ کشت اول در غلظت‌های ۲۰ و صفر میکرومول در لیتر جنس‌تین حاصل شد (جدول ۱). دماهای پایین در تاریخ کشت اول (کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد)، باعث کاهش تثبیت نیتروژن و فتوسنتز شده و موجب کاهش میزان ماده‌ی خشک تولیدی در هر گیاه شده است (امینی-دهقی و همکاران، ۱۳۸۵). اولین اثر دماهای پایین بر روی گیاهان، کاهش در سرعت فرآیند رشد و متابولیسم می‌باشد. گزارش شده که اثر درجه حرارت پایین بر روی تثبیت نیتروژن، ممکن است به‌دلیل اثر بر فتوسنتز و انتقال مواد باشد که این امر از محدودیت فتوسنتزی در فعالیت نیتروژناز ثابت شده است (سلوگر و همکاران، ۱۹۷۵). ممکن است دمای پایین‌تر از مطلوب منطقه ریشه، سرعت خروج نیتروژن تثبیت شده را از گره‌ها محدود کرده باشد (میلهویون و ویلیامز، ۱۹۸۶)، در نتیجه فعالیت نیتروژناز کاهش یافت است (سپرنت و سپرنت، ۱۹۹۰) گزارش کرده‌اند که اثر درجه حرارت پایین بر روی تثبیت نیتروژن و سنتز  $\text{NO}_3$  ممکن است به دلیل اثر بر روی فتوسنتز و انتقال مواد باشد (میلهویون و ویلیامز، ۱۹۸۶).

پایین افزایش داده (کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد)، لذا گره‌ها زودتر تشکیل شده و رشد بیشتری نموده و فعال‌تر هستند. جنس‌تین تعداد گره‌ها در دمای پایین منطقه ریشه (کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد) را افزایش می‌دهد و با افزایش دمای خاک تاثیر آن بر تعداد گره و تثبیت نیتروژن کاهش یافت (امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵). جنس‌تین افزوده شده تولید لیپولیگوساکارید را تحریک کرده و دوره زمانی بین تلقیح و پیچیدگی تارهای کشنده‌ی ریشه، را یک تا دو روز کوتاه‌تر نمود (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵).

بیش‌ترین میزان ماده‌ی خشک ریشه با ۳۳۹ میلی‌گرم در هر بوته در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت سوم و غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر جنس‌تین و کمترین میزان ماده‌ی خشک ریشه با ۵۴ میلی‌گرم در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت اول و غلظت صفر میکرومول بر لیتر جنس‌تین مشاهده شد (جدول ۱). در تاریخ کشت اول با کاهش دما، میزان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن کاهش یافته و ماده‌ی خشک کمتری سنتز و به ریشه انتقال پیدا نموده، اما در دمای بالاتر و مصرف جنس‌تین، موجب تحریک گره‌زایی و افزایش تثبیت نیتروژن گردیده و رشد و نمو گیاه فعال‌تر شده و ماده‌ی خشک بیشتری ساخته و به بخش‌های مختلف گیاه از جمله ریشه‌ها اختصاص داده است. سطح فلاونوئیدها تاثیر مستقیم بر گره‌زایی و تثبیت نیتروژن دارند (آپلبائوم، ۱۹۹۰). کاهش درجه حرارت منطقه ریشه، اثر معکوس و شدیدی بر روی گره‌زایی لگوم‌ها و تثبیت نیتروژن می‌گذارد (هاردی و همکاران، ۱۹۶۸؛ روگلی و داتا، ۱۹۸۶؛ لینچ و اسمیت، ۱۹۹۴).

حداکثر طول ریشه با ۲۷ سانتی‌متر در گونه *M. radiata* در تاریخ کشت سوم و در غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر جنس‌تین و کمترین آن به ترتیب با ۱۹/۸ و ۱۹ سانتی‌متر در گونه *M. polymorpha* در تاریخ کشت سوم و غلظت‌های صفر و ۲۰ میکرومول بر لیتر جنس‌تین حاصل شد (جدول ۲). با افزایش دما گره‌زایی تسریع شده و تثبیت نیتروژن بیش‌تر شده لذا نیتروژن زیادتری در اختیار گیاه قرار گرفته و باعث

جدول ۲: مقایسه‌ی میانگین‌های اثرات متقابل جنستین و تاریخ کاشت و گونه بر صفات مختلف گونه‌های

یونجه یکساله در دو سال

گونه	جنستین μmol/lit	مقدار نیتروژن گونه‌ها (mg/g)			طول ریشه (cm)		
		تاریخ کاشت			تاریخ کاشت		
		اول	دوم	سوم	اول	دوم	سوم
<i>M. polymorpha</i>	۲۰	۳۱/۶ ef	۳۲/۱ de	۳۲/۳ de	۲۲/۱ bcdef	۲۵/۳ ab	۱۹/۱ f
<i>M. radiate</i>	۲۰	۳۳/۰ cd	۳۴/۱ ab	۳۴/۱ ab	۲۰/۲ def	۲۴/۵ ab	۲۷/۰ a
<i>M. rigidula</i>	۲۰	۳۲/۳ de	۳۴/۱ ab	۳۳ cd	۲۰/۵ def	۲۲/۵ bcd	۲۲/۳ bcdef
<i>M. polymorpha</i>	۰	۳۱/۱ f	۳۱/۷ ef	۳۱/۹ ef	۲۰/۱ ef	۲۴/۰ abc	۱۹/۹ ef
<i>M. radiata</i>	۰	۳۲/۴ de	۳۳/۸ bc	۳۳/۹ abc	۲۰/۷ def	۲۱/۱ cdef	۲۰/۸ cdef
<i>M. rigidula</i>	۰	۳۲/۲ de	۳۴/۹ a	۳۴/۵ ab	۲۳/۴ bcd	۲۴/۳ ab	۲۲/۶ bcde

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی‌دار ندارند.

### بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده مشخص می‌گردد: در سال اول با توجه به مناسب‌تر بودن شرایط دمایی در آغاز فصل رشد، گونه‌های یونجه یکساله رشد و نمو، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن بهتر و بیشتری نسبت به سال دوم که در ابتدای فصل رشد دمای نامناسب در مدت طولانی‌تری حاکم بوده، داشته است.

ارقام از لحاظ تثبیت نیتروژن و گره‌زایی و سایر صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشته و گونه *M. polymorpha* نسبت به گونه‌های دیگر از نظر میزان تثبیت نیتروژن و گره‌زایی، میزان ماده‌ی خشک ریشه و درصد نیتروژن برتر بوده و توانایی بیشتری در تثبیت نیتروژن دارا است. افزایش تعداد و سطح برگ در اثر استعمال جنستین، باعث گسترش سطح فتوسنتز کننده گیاه در شرایط تنش دمای پایین منطقه ریشه شده و ماده خشک بیشتری در گیاه ساخته و به بخش‌های مختلف گیاه نظیر ریشه، برگ و ساقه اختصاص می‌یابد (امینی‌دهقی و همکاران، الف ۱۳۸۲؛ امینی‌دهقی و مدرس ثانوی، ۲۰۰۳؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴).

در تاریخ کشت سوم با مطلوب‌تر شدن دمای هوا و خاک، بیشترین مقدار گره‌زایی و تثبیت نیتروژن، در گونه‌های یونجه یکساله مشاهده گردید اما در تاریخ کشت اول به دلیل تاثیر دمای پایین هوا و خاک بر روی رشد و نمو، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن، کمترین میزان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را گونه‌های یونجه یکساله داشته‌اند. یکی از مهم‌ترین دلایل برای کاهش گره‌زایی،

ایجاد تاخیر در آغاز تثبیت نیتروژن در دمای کم منطقه ریشه است (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴).

استفاده از جنستین (۲۰ میکرومول در لیتر) در مقایسه با شاهد (صفر میکرومول در لیتر) تاثیر افزایش‌دهی بر روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در گونه‌های یونجه یکساله داشته است (امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵). که حاکی از اثر تعدیل‌کنندگی جنستین و کاهش تاثیر منفی دمای پایین محیط بر روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن یونجه یکساله می‌باشد. اثبات شده است که در شرایط دمایی پایین دوران کمون *B. japonicum* تلقیح سویا با جنستین کمتر شده و منجر به کاهش مدت زمان سپری شده قبل از مراحل اولیه موجدار شدن ریشه‌های موئی و آغاز تثبیت نیتروژن و افزایش مقدار کل نیتروژن تثبیت شده در هر گیاه می‌شود (زانگ و اسمیت، ۱۹۹۵؛ زانگ و همکاران، ۱۹۹۶).

بررسی اثرات متقابل تیمارهای اعمال شده، نشان داد که استفاده از جنستین در تاریخ کشت اول در تمام گونه‌های مورد بررسی باعث افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن شده، که این امر موید تاثیر جنستین در ایجاد مقاومت به سرما، برای بهبود گره‌زایی و تثبیت نیتروژن گونه‌های یونجه یکساله در شرایط مزرعه می‌باشد (امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵) نتایج حاصل با نتایج سایر پژوهش‌گران در رابطه با تاثیر افزایشی جنستین بر روی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن مشابه است. استفاده از

همكاران، ۱۹۶۸؛ روگه‌لی و داتا، ۱۹۸۶؛ لينچ واسمیت، ۱۹۹۵).

در تاريخ كشت‌های دوم و سوم با بهبود شرایط دمایی محیط و خاک، میزان گره‌زایی و تثبيت نيتروژن گونه‌های يونجه يكساله نسبت به تاريخ كشت اول افزایش یافت. با این اوصاف در تاريخ كشت‌های دوم و سوم نیز به دليل تغییرات شدید دمای هوا (fluctuation) که در ابتدای فصل رویش رخ می‌دهد رشد و نمو يونجه‌های يكساله را با مشکل مواجهه ساخته است لذا گونه‌های يونجه يكساله كشت شده در این تاريخ كشت‌ها هم به مصرف جنسيتين، عكس‌العمل مثبتی در جهت افزایش گره‌زایی و تثبيت نيتروژن، در شرایط زراعی نشان داده‌اند. برای تاثیر تحريك كندگی جنسيتينی که مستقیماً بر روي خاک و یا بذر به‌كار رفته، در افزایش گره‌زایی و تثبيت نيتروژن يونجه‌های يكساله در دمای پايين هوا و خاک، می‌توان گفت که کاهش بيوسنتز جنسيتين در شرایط دمای پايين در بافت گیاهان ممکن است به وسیله کاهش ارتباط فعاليت آنزيم در روند سنتز آن باشد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶).

گیاهانی که به دمای منطقه‌ی ریشه زیر حد مناسب منتقل شده، از سنتز جنسيتين و هم از برون تراوایی آن جلوگیری می‌کنند. اولین دليل ممکن برای کاهش غلظت جنسيتين می‌تواند، کاهش برون تراوایی جنسيتين از سلول‌های ریشه به محیط اطراف ریشه باشد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۵). اختلال در سرعت برون تراوایی که با کاهش دما بوجود می‌آید، بیشتر از سرعت بيوسنتز جنسيتين است. در سطح غشاء هنگامی که سلول‌های گیاهان با قسمت‌های مجزا برای اولین بار با شرایط دمای پايين روبرو می‌شوند، انعطاف پذیری غشاء و عمل آن کاهش می‌یابد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶). انعطاف پذیری سطح غشاء در ابتدا به وسیله‌ی دمای منطقه ریشه زیر حد مناسب، کاهش می‌یابد و این منجر به کاهش سرعت برون تراوایی جنسيتين می‌گردد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶).

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان این‌گونه اظهار نظر نمود که:

جنسيتين تعداد گره و مقدار ماده خشك گره را در گیاه افزایش داده و زمان شروع تثبيت نيتروژن را در سويا در طول فصل رشد و زمانی که خاک هنوز سرد است جلو می‌اندازد. درجه حرارت پايين از بيوسنتز جنسيتين در گیاهان سويا جلوگیری می‌کند (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶). نظر به این‌که در درجه‌ی حرارت کم منطقه ریشه جنسيتين بالاتری نیاز دارد. تحت این شرایط شاید این غیر مترقبه نباشد که مداومت تلقيح جنسيتين گیاه، ممکن است بر تائثيرات منفی ناشی از درجه حرارت بر روی گره‌زایی و تثبيت نيتروژن غلبه کند (زانگ واسمیت، ۱۹۹۴؛ زانگ واسمیت، ۱۹۹۵). استفاده از جنسيتين در دوره‌ی پيش از جوانه زنی یا کاربرد مستقیم جنسيتين، بر روي محیط ریشه گیاه، گره‌زایی و تثبيت نيتروژن سويا را افزایش داد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶). سطح فلاونوئیدها تاثیر مستقیم برگره‌زایی و تثبيت نيتروژن داشته و در گیاهان ميزبان هم‌زیست میزان تحت تاثیر قرار گرفتن گره‌زایی لگوم‌ها و تثبيت مستقیم نيتروژن را نشان می‌دهد (آپلیاوم، ۱۹۹۰). جنسيتين در محیط‌های استریل تعداد گره را به ازاء هر گیاه افزایش داد که این امر ممکن است به افزایش در تعداد آلودگی‌ها و یا افزایش در مقدار آلودگی‌هایی که منجر به تشكيل گره شده مربوط باشد (زانگ و همكاران، ۱۹۹۶؛ امینی دهقی و همكاران، ۱۳۸۵) کاربرد جنسيتين در سويا منجر به افزایش ۲ تا ۴ روزه در مدت زمان تثبيت نيتروژن شد و کل نيتروژن تثبيت شده تقریباً ۴۰٪ افزایش یافت. به نظر می‌رسد که مقداری از این افزایش تثبيت نيتروژن تحت شرایط فصلی کوتاه، به دليل افزایش در تعداد گره در مراحل اولیه رشد رویشی بوده است (زانگ واسمیت، ۱۹۹۵). گزارش شده است تاثیر درجه‌ی حرارت پايين بر روی تثبيت نيتروژن و سنتز  $NO_3$  به دليل اثر آن بر فتوسنتز و انتقال مواد باشد (میلهولون و ویلیامز، ۱۹۸۶)، این امر با اثر محدود کننده‌ی فتوسنتزی بر فعاليت آنزيم نيتروژناز ثابت شده است (سلوگر و همكاران، ۱۹۷۵). کاهش درجه حرارت منطقه ریشه، اثر معکوس و شدیدی بر روی گره‌زایی لگوم‌ها و تثبيت نيتروژن می‌گذارد (ج.ن.ز و تیزدال، ۱۹۲۱؛ هاردی و

الف- کشت گونه‌های یونجه یکساله در شرایط دمائی و اقلیمی مناسب و مشابه، باعث افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن شده و در نتیجه موجب استقرار بهتر گیاهچه، افزایش رشد و نمو، تولید علوفه‌ی بیشتر و افزایش حاصل‌خیزی دیمزارها و مراتع می‌گردد، که از این لحاظ گونه *M. polymorpha* نسبت به سایر گونه‌های مورد بررسی برتر بوده است (امینی‌دهقی و مدرس ثانوی، ۲۰۰۳؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴).

ب- با توجه به محدود بودن دوره رویشی یونجه‌های یکساله و این‌که افزایش دمای محیط باعث کوتاه شدن فاز رویشی و تسریع در رسیدن به فاز زایشی و تولید بذر و تکمیل چرخه زندگی گیاه می‌گردد لذا دوره رویشی و مدت زمان فعالیت تثبیت نیتروژن گیاه محدود گشته و تولید علوفه و نیز میزان تثبیت نیتروژن آن کاهش شدیدی می‌یابد (عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴؛ امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵). پس نمی‌توان از آن‌ها در جهت تولید علوفه و اصلاح دیمزارها استفاده مناسبی نمود. برای استفاده از توانائی‌های بالقوه‌ی یونجه‌های یکساله، لازم است در جهت افزایش دوره‌ی رویشی آن‌ها تلاش کرد. تنها راه ممکن، برای وصول به اهداف مذکور، کشت زودتر یونجه‌های یکساله می‌باشد که علاوه بر طولانی‌تر شدن دوره‌ی رویشی گیاه، از بارندگی‌های اول فصل استفاده بهتری برای تولید علوفه بیشتر و افزایش حاصل‌خیزی دیمزارها نماید لذا لازم است از گونه‌های مقاوم به سرما که امکان کشت زودتر آن‌ها مقدور است، استفاده شود. با توجه به عدم مقاومت گونه‌های یونجه یکساله استرالیائی وارداتی به سرما، نیاز به شناسایی گونه‌های بومی مقاوم به سرما برای شرایط اقلیمی سرد و معتدل مناطق مستعد کشت یونجه یکساله در کشور می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله در این آزمایش، گونه *M. rigidula* نسبت به سایر گونه‌ها مقاومت بیشتری به سرمای نشان داده اما عملکرد علوفه و تثبیت نیتروژن کمتری از گونه *M. polymorpha* داشته است. پس می‌توان از گونه *M. rigidula* در شرایط دمایی نامناسب و پایین که رشد و نمو گونه *M. polymorpha* خوب نمی‌باشد، استفاده نمود.

ج- با توجه به محدود و کم بودن میزان مقاومت، حتی در گونه‌های یونجه یکساله مقاوم به سرما، و نیز

برای استفاده بهتر و بیشتر از ارقام پرمحصول، لازم است عواملی که منجر به کاهش رشد و نمو در دماهای نامناسب شده را شناسایی و در جهت بر طرف نمودن آن‌ها گام برداشت. کاهش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن از مهم‌ترین عواملی است که منجر به کاهش رشد و نمو گیاهان تحت تنش سرما شده و حساسیت زیاده‌تری نسبت به آن‌ها در برابر سرما نشان می‌دهد (امینی‌دهقی و مدرس ثانوی، ۲۰۰۳؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴؛ امینی‌دهقی و همکاران، ۱۳۸۵). بنابراین اگر بتوان در جهت ایجاد هم‌زیستی موثر و گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در شرایط دمایی پایین اقدام نمود، قطعاً گامی موثر در جهت استفاده مطلوب‌تر از یونجه‌های یکساله در مناطق سرد و معتدل کشور برداشته می‌شود.

د- با توجه به نتایج آزمایش‌های انجام شده در شرایط کنترل شده (امینی‌دهقی و مدرس ثانوی، ۲۰۰۳؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۴) و مزرعه‌ای، می‌توان از ارقام پرمحصول که مقاومت کمی به سرما دارند، نظیر گونه *M. polymorpha* برای کشت زودتر در مناطق سرد و معتدل استفاده نمود و برای تقویت و تشدید گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در دماهای پایین می‌توان بذور آن‌ها را قبل از کشت با جنستین تلقیح نمود که در این صورت آغاز آلودگی و گره‌زایی و در نتیجه تثبیت نیتروژن در گیاه تسریع می‌شود و مقدار و درصد نیتروژن تثبیت شده افزایش یافته و باعث رشد و نمو بیشتر، افزایش عملکرد علوفه یونجه یکساله زود کشت شده می‌گردد. هم‌چنین سبب حاصل‌خیزی دیمزارهای مناطق سرد و کوهستانی کشور شده و گامی موثر در اجرای سیستم لی فارمینگ و افزایش تولید گندم دیم و علوفه و کاهش تخریب مراتع و تحقق اهداف کشاورزی پایدار می‌باشد.

لذا استفاده از یونجه‌های یکساله در سیستم *Ley-farming* در مناطقی که در فصل رویش دمای هوا و خاک پایین بوده به شرط تلقیح آن‌ها با جنستین، بسیار مناسب بوده زیرا رشد و تثبیت نیتروژن و گره‌زایی مناسبی در صورت فراهم بودن سایر شرایط خواهند داشت. در این مناطق سیستم *Ley-farming* تناوبی غله- لگوم می‌تواند جایگزین مناسبی برای سیستم‌های تناوبی رایج غله- آیش باشد.

## منابع

- امینی‌دهقی، م.، مدرسی ثانوی، ع. و حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۸۲. بررسی تثبیت نیتروژن و گره‌زایی سه رقم یونجه یکساله در دمای مختلف منطقه ریشه و دمای پائین هوا. مجله علمی کشاورزی. ۲۶: ۱، ۲۷-۴۵ ص.
- امینی‌دهقی، م.، مدرسی ثانوی، ع.، حیدری شریف آباد، ح. و قلاوند، ا. ۱۳۸۲. اثرات دمای منطقه ریشه بر روی صفات مرفولوژیکی یونجه یکساله. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۳، ۱۸۳-۱۹۴ ص.
- امینی‌دهقی، م. و مدرسی ثانوی، ع. ۱۳۸۴. رشد و نمو سه گونه یونجه یکساله در دمای مختلف منطقه ریشه و دمای پائین هوا. مجله دانش کشاورزی. ۴: ۱۵، ۱۸۵-۱۹۵ ص.
- امینی‌دهقی، م.، مدرسی ثانوی، ع. و حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۸۵. تاثیر جنس‌تین بر روی رشد و نمو سه گونه یونجه یکساله تحت تنش دمای پایین خاک. مجله علمی کشاورزی. ۴: ۲۹، ۱۵-۳۳ ص.
- پیلهوری، م و حسینی عراقی، ه. ۱۳۵۹. تناوب زراعی مرتع و غله. گزارش دفتر فنی مرتع، سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور، ۱۲۵ ص.
- ترک‌نژاد، ا. ۱۳۷۸. بررسی پتانسیل‌های اکولوژیکی یونجه‌های یکساله ایران، پایان‌نامه دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۲۱۲ ص.
- حیدری شریف‌آبادی، ح. و ترک‌نژاد، ا. ۱۳۷۹. یونجه‌های یکساله، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۱۶۷ ص.
- حیدری شریف‌آبادی، ح. ۱۳۸۱. نباتات علوفه‌ای (نیام داران) جلد اول، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۳۱۱ ص.
- خلیلی، ق. ۱۳۷۰. اثر مقادیر مختلف میزان بذر و کود ازته بر عملکرد و برخی خصوصیات کمی و کیفی یونجه یکساله کولتیوار snail از گونه *Medicago scutellata*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۵۷ ص.
- سندگل، ع. و ملک‌پور، ب. ۱۳۷۳. مروری بر تحقیقات انجام شده و در حال اجرا در رابطه با یونجه‌های یکساله در ایران و تدوین برنامه کاری آینده، نشریه موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۱۰۳: ۲۲ ص.
- میرزایی ندوشن، ح. ۱۳۸۰. یونجه‌های یکساله (ژنتیک و اصلاح)، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ۲۱۳ ص.
- میرنژاد، م. ۱۳۷۶. اثر تراکم کاشت بر عملکرد بذر دو گونه یونجه یکساله، پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۶۱ ص.
- Abd El Moneim, A. M. and Cocks, P. S. 1986. Adaptation of *Medicago rigidula* to a cereal-pasture rotation in north-west Syria. Journal Agricultural Science Camb, 107:179-186.
- Amini Dehaghi, M. and Modarres, S. A. M. 2003. Effect of root-zone temperature on morphology, growth and development, yield and components of annual medics. Australian Journal of Agricultural Research, 54: 917-921.
- Appelbaum, E. 1990. The Rhizobium/ Bradyrhizobium-legume symbiosis. In P.M. Gresshof, ed., Molecular Biology of symbiotic Nitrogen Fixation, pp. 131-158. CRC press, Boca Raton, FL.
- Azizi, K., Amini Dehaghi, M. and Abbasipour, H. 2004. Effect of different air and root- zone tempratures on nitrogen fixation and nodulations of annual medics. Journal of Agronomy, 3 (2): 131-136.
- Barz, W. And welle, R. 1992. Biosynthesis and metabolism of isoflavones and pterocarpan phytoalexins in chickpea, soybean and phytopathogenic fungi. In H.A. Stafford, and R.K. Ibrahim, eds., Recent Advances in Phytochemistry 26: Phenolic Metabolism in plants, pp. 139-164. Plenum press, New Rork, NY.
- Bauchan, G. R., Veronesi, F., and Rosellini, D. 2000. Use of annual medics in sustainable agriculture systems. Lucern and medics for the XXI cenury. Proceeding XII Eucarpia *Medicago* spp. University di prugia, Italy: 146-153.

- Biderbeck, V. O., Bouman, D. T., Looman, J., Slinkard, A. E., Bailey, L. D., Rice, W. A., and Janzen, H. H. 1993. Productivity of four annual legumes as green manure in dryland cropping systems. *Agronomy Journal*, 85: 1035-1043.
- Chatterton, L. and Chatterton, B. 1996. Sustainable dryland farming: Combining farmer innovation and pasture in a Mediterranean Climate. Cambridge, UK, Cambridge University press, 217 P.
- Clarkson, N. M. and Russel, J. S. 1979. Effect of temperature on the development of two annual medics. *Australian Journal of Agriculture Research*, 30: 909-916.
- Cocks, P. S. 1992. Plant attributes leading to persistence in grazed annual medics (*Medicago* spp.) growing in rotation with wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43: 7, 1559-1570.
- Cocks, P. S. 1993. Seed and seeding dynamic over four consecutive years from a single seed set of six annual medics (*Medicago* spp. ) in North Syria. *Experimental Agriculture*, 29: 421-422.
- Cocks, P. S. and Ehrman, T. A. M. 1987. The effect of geographic origin on frost tolerance of pasture legumes in Syria. *Journal of Application Ecology*, 24: 673- 683.
- Coventry, D. 1993. Improving Wheat –Belt pastures in Southern Australia. Final Report Summaries, 1993-1994. WWW.grdc.com.au/growers/res\_summ/dav.
- Crocker, G. T. and Holford, R. 1996. Effects of fallow management and cropping sequences on production and residual N uptake in wheat. Proceeding of the 8th Australian Agronomy Conference , Toowoomba, Queensland, Australia, 30 January, 2 Februry, 176-179.
- Dalal, R. C., strong, W. M., Weston, E. J., Cooper, J. E., Lahance, K. J., King, A. J. and Chiken, C. J. 1995. Sustaining productivity of a Vertisol at Wara, Queensland with fertilisers, no-tillage, or legumes 1. Organic matter status. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35: 903-913.
- Denarie, R. M. and Roche, P. 1992. Rhizobium nodulation signals. In: *Molecular Signals in Plant Microb Communication*, ed. Verma D. P. S., pp. 295-324. CRC Press, Boca Raton, FRL.
- Doughton, J. A., McNamara, G., Strong, M. W. G., Saffigna, P. G. and Mohammad, A. 1996. Managing nitrogen in cropping systems following legume leys. Proceeding of the 8th Australian Agronomy Conference. Toowoomba, Queensland, Australian Society of Agronomy Inc.: 215-218.
- Ehrman, T. A. M. and Cocks, P. S. 1990. Ecogeography of annual legumes in dryland. *Agronomy Journal*, 63: 359-362.
- Elias, K. S. and Safir, G. R. 1987. Hyphal elongation of *Glomus fasciculatus* in response to root exudates. *Applied Environment Microbiology*. 53:1928-1933.
- Francis, C. M. 1988. Selection and agronomy of medics for dryland pasture in Iran. Project Tcp/IRAN/6652.
- Fyson, A. and sprent, J. I. 1982. The development of primary root nodule on *Vicia faba* L. grown at two root temperatures. *Annual Botany*, 50:681-692.
- Gibson, A. H. 1971. Factors in the physical and biological environment affecting nodulation and nitrogen fixation by legume, Plant soil, Special Vol.:139-152.
- Glasziou, K. T. 1969. Control of enzyme formation and inactivation in plants. *Annual Revue Plant Physiology*, 20:63-88.
- Graham, D. and Patterson, B. D. 1982. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: Protein, metabolism, and acclimation. *Annual Revue Plant Physiology*. 33:347-372.
- Halverson, L. J. and Stacey, G. 1984. Host recognition in the Rhizobium soybean symbiosis: Detection of a protein factor in soybean root exudates which is involved in the nodulation process. *Plant Physiology*, 74: 84-89.
- Hanson, C. H. 1988. Alfalfa improvement and production. *Journal of the American Society of Agronomy*, 39: 350-353.
- Hardy, R. W., Holstein, W. F., Jackson, E. K. and Burns, R. C. 1968. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: Laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*. 43: 1185-1207.
-

- Holford, I. C. R. and Crocker, G. J. 1997. A comparison of chickpeas and pasture legumes for sustaining yield and nitrogen status of subsequent wheat. *Australian Journal of Agriculture Research*, 48: 305-315.
- Jeranyma, P., Hesterman, O. B. and Sheaffer, C. C. 1998. Planting date effect on dry matter and nitrogen accumulation when clear seeded or intercropping with corn. *Agronomy Journal*, 90: 616 – 622.
- Jones, F. R. and Tisdale, W. B. 1921. Effect of soil temperature upon the development nodules on the root certain legumes. *Journal of Agriculture Research*, 22: 17-37.
- Krall, J., Groose, R. W. and Sobels, J. 1996. Winter survival of Australian winter pea and annual medic on the Western High Plains. p. 237-240. In: J. Janick (ed.), *Progress in new crops*. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Kumarasinghe, R. M. K. and Nutman, P. S. 1979. The influence of temperature on root hair infection of *Trifolium parviflorum* and *T. glomeratum* by root nodule bacteria. I. The effects of constant root temperature on infection and related aspects of nodule development. *Journal of Experimental Botany*, 30: 503-515.
- Lal, R., Regnier, E., Eckert, D. J., Edward, W. M. and Hammond, R. 1991. Expectation of cover crops for sustainable agriculture. In: Hargrove, W. L. *cover crops for clean water*. Ankeny, IA: Soil and Water conservation society.
- Lane, G. A., Sutherland, O. R. W. and Skipp, R. A. 1987. Isoflavonoids as insect feeding deterrents and antifungal components from root of *Lupinus angustifolius*. *Journal of Chemo Ecology*. 13:771-783.
- Legros, P. and Smith, D. L. 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. *Environment Experimental Botany*, 34: 117-784.
- Lerouge, L., Roch, P., Faucher, C., Mailet, F., Truchet, G., Prome, J. C. and Denarie, J. 1990. Symbiotic host-specificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal. *Nature*. 344:781-784.
- Lie, T. A. 1981. Environmental physiology of the legume-rhizobium in nitrogen fixation. In: *Ecology*, Vol. 1, ed. Brogton, W. J., pp. 104-134. Clarendon press Oxford, London, England.
- Lindemann, W. C. and Ham. G. E. 1979. Soybean plant growth, nodulation, and nitrogen fixation as affected by root temperature. *Soil Science Society American Journal*, 43:1134-1137.
- Long, S. R. 1989. Rhizobium-legum nodulation: Life together in the underground. *Journal Cell*. 56:203-214.
- Lynch, D. H. and Smith, D. L. 1993. Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and N<sub>2</sub> fixation as affected by period of exposure to a low root zone temperature. *Plant Physiology*, 88:212-223.
- Materon, L. A. and Cocks, P. S. 1988. Constraints to biological nitrogen fixation in ley – farming systems designed for west Asia. In: Murrel, W. G., and Kennedy, I. R. *Microbiology in Letchworth Hertfordshire, England: Research studies press LTD*: 93: 205 P.
- Matthews, D. J. and Hayes, P. 1982. Effect of root zone temperature on early growth, nodulation and nitrogen fixation in soybeans. *Journal of Agricultural Science Camb*. 98:371-376.
- Millhollon, E. P. and Williams, L. E. 1986. Carbohydrate partitioning and the capacity of apparent nitrogen fixation of soybean plants grown outdoors. *Plant Physiology*, 81: 280-284.
- Muyekho, F. J. N. 1993. Environmental and Agronomic factors affecting seed production in annual medics. Ph. D. Thesis university of Adelaide. 232 P.
- Peters, N. K. and Verma, D. P. S. 1990. Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interactions. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 3: 4-8.
- Puckridge, D. W. and French, R. J. 1983. The annual Legume pasture in cereal- Ley farming systems of southern Australia: a review. *Agriculture Ecosystems and Environment* 9: 229-267.
- Radwan, M. S., AL-fakhry, A. M., and AL – Hassan, A. M. 1978. Some observations on the performance of annual medics in north Iraq. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, 13: 55 – 67.
-



- Roughly, R. J. and Date, R. A. 1986. The effect of strain of Rhizobium and of temperature on nodulation and early growth of *Trifolium semipilosum*. *Experimental of Agriculture*, 22: 123-131.
- Rumbaugh, M. D., and Johnson, D. A., 1986. Annual medics and related species as reseeding legume for north Utah pasture. *Journal Range Management* , 39: 52 – 58.
- SAS Institute Inc. 1997. SAS User's Guide. Statistical Analysis Institute Inc. Cary, North Carolina.
- Shrestha, A., Fisk, J. W., Jeranyama, P., Squire, J. M., and Hesterman, O. B., 2001. Annual Medics. Department of crop and soil science Michigan State University.
- Sims, J. R, S. Koala, R. L. Ditterline and L. E. Wiesner, 1985. Registration of 'George' blak medic (*Medicago polymorpha*) *Crop Science*, 25: 709-710.
- Sloger, C., Bezdicek, D., Milberg, R. and Boonkerd, N. 1975. Seasonal and diurnal variation in N<sub>2</sub> (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)-fixing activity in field soybean. In W. D. P. Steward, ed., *Nitrogen Fixation by Free-Living Microorganisms*, pp. 271-284. Cambridge University Press, London.
- Sprent, J. I. and Minchin. F. R. 1985. Rhizobium, nodulation and nitrogen fixation. In: *Grain Legume Crops*, eds. Summerfield R. J. and Robert E. H. pp.115-143. Collins and Sons, London.
- Sprent, J. I. and Sprent, P. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms*. Chapman and Hall, New York. 249p.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. *Principles and procedures of statistics: a Biometric Approach*. 2nd Edition, McGraw-Hill, New York, NY. 633p.
- Thomas, R. J. and Sprent, J. I. 1984. The effects of temperature on vegetative and early reproductive growth on a coil-tolerant and a cold-sensitive line of *Phaseolus vulgaris* L. 1. Nodulation, growth and partitioning of dry matter, carbon and nitrogen. *Annul Botany*. 53: 579-588.
- Verma, D. P. S. 1992. Signals in root nodule organogenesis and endocytosis of rhizobium. *Plant Cell*, 4: 372-382.
- Walsh, K. B. and Layzel, D. B. L. 1986. Carbon and nitrogen assimilation and partitioning in soybeans exposed to low root temperatures. *Plant Physiology*, 80: 249-255.
- Walsh, M. J., Krall, J. M. and Groose, R. W. 1998. Effect of time of planting on the growth and development of annual medics (*Medicago spp*) in Eastern Wyoming. Department of plant science , university of Wyoming , Laramie, 82071-3354.
- White, P. F., Nersoyan, N. K. and Christiansen, S. 1994. Nitrogen Cycling in a semi – arid mediterranean region: changes in soil N and organic matter under several crop / livestock production systems. *Australian Journal of Agriculture Research*, 45: 1293 –1307.
- Willemot, C. 1975. Stimulation of phospholipid biosynthesis during frost hardening of winter wheat. *Plant Physiology*, 55:356-359.
- Zhang, F. and Smith, D. L. 1994. Effects of low root zone temperature on the early stages of symbiosis establishment between soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and *Bradyrhizobium japonicum*, *Journal of Experimental Botany*, 279:1467-1473.
- Zhang, F. and Smith, D. L. 1995. Preincubation of *Bradyrhizobium japonicum* with genistein accelerates nodule development of soybean [*Glycin max* (L.) Merr.] at suboptimal root zone temperatures. *Plant Physiology*. 108:961-968.
- Zhang, F., Lynch, D. H. and Smith, D. L. 1995. Impact of low root temperatures on soybean [*Glycin max* (L.) Merr.] on nodulation and nitrogen fixation. *Journal of Environmental and Experimental Botany* 35: 276-285.
- Zhang, F., Dashti, N., Hynes, R. K. and Smith, D. L. 1996. Plant growth promoting rhiobacteria and soybeab [*Glycin max* (L.) Merr.] nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root temperatures. *Annual Botany*, 35:279-285.
- Zhu, Y. Sheaffer, C. C., Russel, M. P. and Vance, C. P. 1998. Dry matter accumulation and dinitrogen fixation of annual *Medicago* species . *Agronomy Journal*, 90: 103 –108.
-

## Effect of Different Planting Date and Genestine Concentrations on Nodulation and Nitrogen Fixation of Three Annual Medics

Amini Dehaghi<sup>1\*</sup>, M., Sephari<sup>2</sup>, A. and Azizi<sup>3</sup>, K.

### Abstract

An experiment was conducted in farm condition to study the effect of different planting dates and genestine concentrations on nodulation and nitrogen fixation of three medicago species for two years, (2004 - 2005). Three medicago species, including *Medicago polymorpha*, *M. radiata*, *M. rigdula* which are suitable for cold and temperate zone were used. Planting dates on three levels, 20<sup>th</sup> of Feb, first and 10<sup>th</sup> of March was considered as main plot, the medicago species as sub plot and genestine concentration in 2 levels of 0 and 20 Micromole/Liter in secondary plot considered as sub sub plot. The experiment performed with four replications in split-split-plot base on the complete randomized blocks design. The result showed that at first year, in accordance with more suitable temperature at the beginning of growing season, the medicago species had better growth, nodulation and nitrogen fixation than the second year which unsuitable temperature at the beginning of growing season was more long. The result in according to nodulation, nitrogen fixation and all other searchable characteristics have significant difference and *M. polymorpha* has better ability in nitrogen fixation and is better from the point of nodulation, nitrogen fixation, nitrogen percent and quantity of dry matters of root than other species. On third planting date, because of favorite air and soil temperature, nodulation and nitrogen fixation was at highest level in Medicago species, but in first planting date measure of nodulation and nitrogen fixation was at the lowest level in Medicago species because of the bad effect of low temperature of air and soil on growing, nodulation and nitrogen fixation. The use of genestine has a significant improving effect on nodulation and nitrogen fixation in medicago species. It represents the moderating mark of genestine and its role in declining the negative effect of low environmental temperature on nodulation and nitrogen fixation of medicago species. The study of corresponding effects of care and attendance showed that the use of genestine in the first planting date on all species under test causes the goosing rate in nodulation and nitrogen fixation. It represents the effect of genestine to make the plant withstanding toward cold for improving nodulation and nitrogen fixation of medicago species in farming conditions.

**Keywords:** Annual medicago, Planting date, Nitrogen fixation, Genestine concentration, Nodulation

---

1. Assistant Professor, Agronomy Department, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran

2. Assistant Professor, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan

3. Assistant Professor, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad

\*: Corresponding Author

---