

دو فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران

جلد ۲۴، شماره ۱، صفحه ۱۶۴-۱۵۶ (۱۳۹۵)

بررسی اثرات همزیستی سینوریزوبیوم (*SinoRhizobium sp.*) بر رشد و تولید عملکرد علوفه اسپرس زراعی (*Onobrichis vicifolia*)

حیدر پناه پور^۱، علی اشرف جعفری^{۲*} و محمد رضا پهلوانی^۳

۱- مربی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

پست الکترونیک: aaajafari@rifr-ac.ir

۳- کارشناس، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴

چکیده

به منظور مطالعه تاثیر همزیستی سویه‌های سینوریزوبیوم (*SinoRhizobium sp.*) بر تثبیت ازت و رشد اسپرس زراعی *Onobrichis vicifolia* تعداد ۶ سویه از مناطق اسپرس خیز کشور شامل اردبیل، شهرکرد، سمیرم، کرج، سقز، خرم‌آباد جمع‌آوری شد و بر روی بذر ۴ اکوتیپ اسپرس با منشاء قزوین، کرمانشاه، الیگودرز و فریدون‌شهر تلقیح شدند. طرح آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا سویه‌های سینوریزوبیوم استخراج و در محیط کشت YAM تکثیر شدند. بذر اکوتیپ‌های اسپرس با سویه‌ها تلقیح شدند و در گلدان‌های پلاستیکی متوسط محتوی ماسه کوآرتریت استریل کشت شدند. اکوتیپ‌ها با محلول غذائی هوگلند بدون ازت آبیاری شدند. آزمایش به مدت ۹۰ روز در گلخانه و محیط طبیعی ادامه یافت. پس از رشد کافی از صفات تعداد ساقه، طول ساقه، وزن خشک ساقه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک گیاه، اندازه گره یادداشت‌برداری به عمل آمد. نتایج نشان داد که اثر همزیستی سویه‌های سینوریزوبیوم بر روی کلیه صفات به جز طول ریشه معنی‌دار بود. ضمناً اثر اکوتیپ و اثر متقابل اکوتیپ با سویه‌های سینوریزوبیوم هم بر روی تمام صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در مقایسه میانگین تیمارها، سویه خرم‌آباد در اکثر صفات از میانگین بیشتری برخوردار بود و سویه‌های البرز، اردبیل و بستان‌آباد در مرتبه بعدی قرار داشتند. در مقایسه میانگین اثرات متقابل بیشترین سازگاری بین یونجه اکوتیپ الیگودرز با سویه سینوریزوبیوم بستان‌آباد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، تثبیت ازت، رشد، سینوریزوبیوم.

مقدمه

می‌توانند با ممانعت از فرسایش خاک و تثبیت بیولوژیکی ازت، علوفه بیشتر و با کیفیت بهتر را تأمین کرده و با افزایش بهره‌وری از اراضی به تأمین مواد آلی خاک نیز کمک نمایند. همزیستی بین ریزوبیوم با لگوم‌ها یک روش ارزان بوده و معمولاً عملیات زراعی خیلی مناسب برای تضمین و تأمین

توسعه پایدار کشاورزی از مباحث اصلی پیش روی کشورها می‌باشد که از اهداف مهم آن نیل به کشاورزی پایدار بوده و در درازمدت به کشت ارگانیک و حذف سموم می‌انديشد. در این زمینه گیاهان علوفه‌ای به‌ویژه لگوم‌ها

۳۰۰ کیلوگرم در هکتار برآورد شده است (Tate, 1995; Wani et al., 1995). گرچه مقدار ازت تثبیت شده هم با سیستم‌های همزیست بر اساس روش‌ها و یا متدهای اندازه‌گیری فرق می‌کند (Sellstedt et al., 1993).

در مقایسه بین ارگانسیم‌ها بیشترین تثبیت ازت در لگوم‌های گرمسیری با مقدار ۷۵ تا ۹۷ کیلوگرم ازت در هکتار برای ۹۷ روز رشد گیاه در همزیستی گونه *Stylosanthes guianensis* برآورد شده است (Viera-Vargas et al., 1995). ازت‌های تثبیت شده در لگوم‌ها علاوه بر افزایش رشد لگوم‌ها موجب افزایش رشد گیاهان همراه نیز می‌گردد تحقیقات نشان داده است که بیش از ۳۰٪ از ازت تثبیت شده در گراس‌های مخلوط کشت شده با گیاهان علوفه‌ای می‌تواند ناشی از ازت تثبیت شده به واسطه لگوم‌ها باشد (Brockwell et al., 1995). در کشت ردیفی بادام زمینی *Arachis hypogaea* و ذرت مقدار تثبیت نیتروژن در بادام زمینی که در اختیار ذرت قرار گرفته معادل ۹۶ کیلوگرم ازت در هکتار بوده است (Mandimba, 1995).

هدف از این تحقیق بررسی اثرات سوبیه‌هایی از سینوریزوبیوم (*SinoRhizobium sp.*) اقلیم‌های مختلف ایران بر روی رشد گیاه، تثبیت ازت و عملکرد علوفه دراکوتیپ‌هایی از اسپرس زراعی (*Onobrichis vicifolia*) بوده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سوش‌های ریزوبیوم بر روی تثبیت نیتروژن در اسپرس زراعی آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام گرفت. چهار سوش سینوریزوبیوم (*SinoRhizobium sp.*) از مناطق اسپرس خیز کشور (اردبیل، شهرکرد، سمیرم، کرج، سقز، خرم‌آباد) جمع‌آوری و خالص‌سازی و در محیط کشت YMA (جدول ۱) تکثیر شدند (Vincent, 1970). بذرهای چهار اکوتیپ اسپرس با منشاء قزوین، کرمانشاه، الیگودرز و فریدون قبل از کاشت با قارچ‌کش ویتاواکس ۲ الی ۵ درصد ضدعفونی شدند و سپس در گلدان‌های حاوی کوآرتر کاشته شدند و با

ازت به گیاه لگوم و تولید چراگاه به‌جای استفاده از کود ازت می‌باشد. در این مورد معرفی لگوم‌ها به مراتع بهترین استراتژی برای بهبود تغذیه از گراس‌ها می‌باشد.

اسپرس از لگوم‌هایی است که با ریزوبیوم سایر لگوم‌ها به‌ویژه از تیره Hedysare و گونه‌های وابسته به تیره Galegae نیز تلقیح می‌شود و به‌همین دلیل تلقیح بذر اسپرس با ریزوبیوم برای کشت در اراضی که قبلاً زیر کشت اسپرس یا سایر لگوم‌ها نبوده ضروری می‌باشد

تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در کشاورزی سابقه طولانی دارد و استفاده از این علم در تغذیه گیاهان کاربرد گسترده‌ای دارد (Burris, 1994). افزایش میزان پروتئین گیاه و کاهش ازت ذخیره شده در خاک از علائم مشخص تثبیت ازت به‌واسطه لگوم‌ها می‌باشد. کمبود ازت معدنی اغلب رشد گیاه را محدود می‌نماید و بنابراین همزیستی بین گیاهان و اورگانسیم‌های تثبیت‌کننده ازت مهم و مفید می‌باشد (Freiberg et al., 1997). توانایی ریزوبیوم‌ها در تثبیت ازت در لگوم‌ها کمکشان به سیستم‌های تولید کشاورزی یکپارچه در اقلیم‌های معتدل و گرمسیر شده است (Peoples et al., 1995). همزیستی ریزوبیوم با لگوم‌ها موجب تثبیت ازت در اراضی دست‌نخورده شده است و تحقیقات نشان داده است که می‌توان بیش از نیمی از منابع بیولوژیکی تثبیت ازت را از این طریق تامین کرد (Tate, 1995). همزیستی لگوم ریزوبیوم در اکوسیستم‌های خاک به‌طور نامحدودی می‌تواند توسعه بیابد و ازت اتمسفری تثبیت شده برای کشاورزی تامین گردد (Peoples et al., 1995). تخمین مقادیر تثبیت ازت برای لگوم‌های زراعی مختلف و گونه‌های مرتعی مشکل بوده و معمولاً سالانه حدود ۲۰۰ الی ۳۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار برآورد شده است (Peoples et al., 1995). ناگفته نماند عملکرد اسپرس در تثبیت ازت از یونجه کمتر بوده و علت آن تفاوت در تثبیت نیتروژن بین این دو گیاه می‌باشد (Heidari & Dorry, 2001). افزایش محصول گیاهان کشت شده در مزارع لگوم بعد از برداشت معادل مصرف ۳۰ الی ۸۰ کیلو گرم ازت در هکتار می‌باشد. بازده تثبیت ازت برای یونجه، شبدر قرمز، نخود، سویا، ماش و گاودانه سالانه حدود ۶۵ الی ۳۳۵ و یا ۲۳ الی

لازم به عمل آمد. نمود روز پس از کاشت گیاهان برداشت شدند و صفات تعداد ساقه در بوته، وزن خشک گیاه به گرم در بوته، وزن خشک ریشه به گرم در بوته، وزن خشک ساقه گرم در بوته، طول ساقه و ریشه به سانتی متر و تعداد گره در ریشه بوته انجام گرفت. در پایان داده‌ها با نرم افزار SAS تجزیه واریانس شده و میانگین‌ها برای اثرات اصلی و متقابل با روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند.

محلول غذایی هوگلند بدون ازت آبیاری شدند (جدول ۱). وقتی که برگهای لپه‌ای ظاهر شدند گیاهان با محلول سوسپانسیون ریزوبیوم تلقیح شدند. تیمار شاهد (بدون تلقیح) فقط با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. گلدان‌ها ابتدا در گلخانه و سپس در محیط طبیعی رشد داده شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار پیاده شد. از موقع کاشت تا برداشت مراقبت‌های

جدول ۱- ترکیب شیمیایی محیط کشت باکتری‌های سینوریزوبیوم (YAM) و محلول غذایی هوگلند جهت رشد اکوتیپ‌های اسپرس

محلول غذایی هوگلند (محلول بدون ازت) گلدان‌ها			محیط کشت باکتری‌های سینوریزوبیوم (YAM)		
ردیف	ترکیبات شیمیایی	مقدار در لیتر	ردیف	ترکیبات شیمیایی	مقدار در لیتر
۱	Mg SO ₄ , 7H ₂ O	۵ ml	۱	Manitole	۹ g/l
۲	KOH ₂ Po ₄	۱/۲۵ ml	۲	Mg so ₄ 7H ₂ O	۱ g/l
۳	NA ₂ MO O ₄ , 2 H ₂ O	۰/۵ ml	۳	K ₂ PO ₄	۰/۴ g/l
۴	EDTA, FeSO ₄	۴ ml	۴	NaCl	۰/۴ g/l
۵	K ₂ SO ₄	۳/۳۳ g/l	۵	H ₂ O	۹۰۰ ml
۶	KNO ₃	۱/۶۶ g/l	۶	Yeast extract	۰/۵ g/l
۷	Ca(NO ₃), 4 H ₂ O	۱/۶۶ g/l			

نتایج

الف) تجزیه واریانس:

سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اثر سویه‌های سینوریزوبیوم به جز طول ریشه بر روی بقیه صفات در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل بین اکوتیپ در سویه هم بر روی وزن خشک ساقه در سطح ۵٪ و بر روی سایر صفات در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه به جز تعداد گره در اکوتیپ‌های اسپرس، سویه‌های سینوریزوبیوم و اثر متقابل سویه در اکوتیپ در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد اثر اکوتیپ‌های اسپرس بر روی همه صفات در

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مختلف در ۴ اکوتیپ اسپرس.

منابع تغییر	DF	طول ریشه	طول ساقه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک	تعداد ساقه
سینوریزوبیوم	۶	۱۳/۹۷	۴۷۰/۱۶**	۱۰۶/۱۸**	۱۴۴/۲۲**	۴۷۸/۷۶**	۱۰/۸۸**
اکوتیپ	۳	۳۳/۴**	۳۳/۹۷**	۲۳/۰۱**	۴۰/۲۰**	۸۹/۳۹**	۲/۴۲**
اکوتیپ × سویه	۱۸	۲۸/۸۶**	۵۴/۱۹**	۶/۰۱*	۲۱/۰۰**	۳۸/۶۰**	۲/۳۹**
خطا	۵۶	۱۲/۷	۱۲/۵۵	۳/۲۲	۳/۸۹	۹/۴	۰/۶
ضریب تغییرات		۳۰/۴	۱۱/۸	۲۰/۸۶	۲۰/۸۷	۱۶/۹۹	۱۷/۰۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

گرفتند. از لحاظ وزن خشک، عملکرد سویه خرم‌آباد با ۱۲/۳۷ گرم در بوته از بقیه بیشتر بود. کمترین وزن ریشه با ۱۲/۱۵ در شاهد (بدون سوش) به دست آمد. از نظر تعداد ساقه در بوته عملکرد سوش‌های البرز بستان‌آباد و شهر کرد بیشتر از بقیه و در گروه a قرار گرفتند. میانگین شاهد با تولید ۲/۵ ساقه در بوته از همه تیمارها کمتر بود. عکس‌العمل همه اکوتیپ‌ها برای همه صفات یکسان نبود و با انتخاب اکوتیپ‌های مناسب می‌توان از آنها برای افزایش ریشه‌دهی و تولید علوفه استفاده کرد (جدول ۳).

ب) مقایسه بین سویه‌های سینوریزوبیوم: نتایج مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های سینوریزوبیوم بر اساس آزمون دانکن در جدول ۳ آمده است. برای میانگین طول ریشه در بین سویه‌های سینوریزوبیوم و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ولی برای سایر صفات تفاوت معنی‌دار بود. برای طول و وزن خشک ساقه تفاوت بین همه سویه‌ها با شاهد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ولی در بین سویه‌های مناطق مختلف تفاوت معنی‌دار نبود. برای وزن خشک گیاه هم سوش خرم‌آباد با ۲۲/۳۴ گرم در بوته در گروه a و شاهد با ۴/۰۶ گرم در گروه d قرار

جدول ۳- مقایسه میانگین ۷ سویه سینوریزوبیوم برای صفات مورد مطالعه

منشاء سویه سینوریزوبیوم	طول ریشه سانتی متر	طول ساقه سانتی متر	وزن خشک ساقه گرم/بوته	وزن خشک ریشه گرم/بوته	وزن خشک گیاه گرم بوته	تعداد ساقه در بوته
البرز	۱۳/۰۰ a	۳۳/۰۰ a	۹/۴۸ a	۸/۷۰ d	۱۸/۱۸ c	۵/۰۸ a
اردبیل	۱۱/۸۳ a	۳۱/۸۵ a	۹/۷۱ a	۱۰/۳۵ bcd	۲۰/۰۶ abc	۴/۹۲ ab
بستان‌آباد	۱۱/۶۷ a	۳۳/۵۸ a	۱۰/۳۴ a	۱۱/۰۱ abc	۲۱/۳۴ ab	۵/۰۸ a
خرم‌آباد	۱۰/۹۲ a	۳۲/۱۷ a	۹/۹۷ a	۳۷ ۱۲/a	۲۲/۳۴ a	۴/۵۸ ab
شهر کرد	۱۲/۹۲ a	۳۱/۸۳ a	۹/۷۳ a	۹/۵۴ cd	۱۹/۲۷ bc	۵/۲۵ a
سمیرم	۹/۹۲ a	۳۲/۰۸ a	۹/۰۵ a	۱۲/۰۰ ab	۲۱/۰۵ ab	۴/۳۳ b
شاهد	۱۱/۷۵ a	۱۵/۹۲ b	۱/۹۱ b	۲/۱۵ e	۴/۰۶ d	۲/۵۰ c

میانگین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

۲۰/۵۲ و ۱۸/۹۶ گرم در بوته نسبت به بقیه بیوماس بیشتری تولید کردند. از لحاظ تعداد ساقه اکوتیپ‌های قزوین و فریدونشهر با میانگین ۴/۹ و ۴/۱۴ به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد ساقه را تولید کردند. نتایج اندازه‌گیری ابعاد گره در جدول ۳ آمده است. این نتایج نشان داد که اکوتیپ‌های الیگودرز، قزوین و کرمانشاه دارای گره‌های متوسط و فریدونشهر دارای گره‌های کوچکتر بودند. اکوتیپ فریدونشهر از لحاظ کلیه صفات به جز طول ریشه در مرتبه آخر قرار گرفت و بر این اساس می‌توان گفت که اکوتیپ‌هایی که دارای گره‌های کوچکتری هستند میزان رشد کمتری در مقایسه با اکوتیپ‌های دارای گره‌های بزرگ دارند.

ب) مقایسه بین اکوتیپ‌ها: در مقایسه بین اکوتیپ‌ها نتایج نشان داد که تفاوت بین آنها از لحاظ همه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. از لحاظ طول ریشه اکوتیپ فریدونشهر با طول ۱۶/۲۴ سانتی‌متر از بقیه بیشتر و برتر بود. از نظر طول ساقه هم اکوتیپ قزوین با میانگین ۳۶/۰۵ سانتی‌متر از بقیه بیشتر بود. از نظر وزن خشک ساقه، اکوتیپ الیگودرز با میانگین ۹/۹۹ گرم از بقیه برتر بود. در زمینه وزن خشک ریشه عملکرد اکوتیپ‌های قزوین و الیگودرز با میانگین ۱۰/۵۳ و ۱۰/۵۵ گرم در بوته وزن ریشه بیشتری نسبت به بقیه اکوتیپ‌ها داشتند (جدول ۴). به همین ترتیب از نظر وزن خشک گیاه نیز اکوتیپ‌های الیگودرز و قزوین به ترتیب با

جدول ۴ مقایسه میانگین چهار اکوتیپ اسپرس برای صفات مورد مطالعه

منشاء اکوتیپ‌ها	طول ریشه سانتی متر	طول ساقه سانتی متر	وزن خشک ساقه گرم	وزن خشک ریشه گرم	وزن خشک گیاه گرم بوته	تعداد ساقه در بوته	ابعاد گره
الیگودرز	۱۳/۹۵ b	۲۸/۰۵ b	۹/۹۹ a	۱۰/۵۳ a	۲۰/۵۲ a	۴/۷۱ ab	متوسط
فریدون شهر	۱۶/۲۴ a	۲۶/۸۶ b	۸/۵۴ b	۷/۶۶ c	۱۶/۲ b	۴/۱۴ c	ریز
قزوین	۸/۰۵ c	۳۶/۰۵ a	۸/۴۱ b	۱۰/۵۵ a	۱۸/۹۶ a	۴/۹ a	متوسط
کرمانشاه	۸/۶۲ c	۲۹/۱۴ b	۷/۴۵ b	۹/۰۴ b	۱۶/۴۹ b	۴/۳۸ bc	متوسط

میانگین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند

• در مقایسه اثرات متقابل برای وزن خشک گیاه نتایج نشان داد که اکوتیپ الیگودرز با سوش‌های بوستان آباد و سمیرم به ترتیب با میانگین ۲۸/۲۸ و ۲۵/۰۴ گرم در بوته و اکوتیپ کرمانشاه با سوش خرم آباد با ۲۷/۱۸ گرم در بوته نسبت به بقیه تیمارها وزن خشک علوفه بیشتری داشتند

• از لحاظ تعداد ساقه در بوته اکوتیپ‌های الیگودرز (با سوش اردبیل)، فریدون شهر (با سوش سمیرم)، قزوین (با سوش اردبیل) و کرمانشاه (با سوش سمیرم) با ۶ الی ۶/۶ ساقه در بوته نسبت به بقیه تیمارها تعداد ساقه بیشتری داشتند (جدول ۵).

• از لحاظ تعداد گره اکوتیپ فریدون شهر نسبت به سایر اکوتیپ‌ها کوچکتر و کمتر بود. در مقایسه بین سوش‌ها سوش شهرکرد نسبت به بقیه تعداد گره کمتری تولید کرد. در بررسی اثرات متقابل اکوتیپ با سوش نتایج نشان داد که اکوتیپ کرمانشاه با سوش سمیرم و اکوتیپ الیگودرز با سوش البرز تعداد گره بیشتری داشتند.

یا توجه به نتایج کلیه ترکیب‌های مفید و سودمند بین سویه‌های سینوریزوبیوم و سوش‌ها بر روی صفات مطالعه شده مشاهده شد که سازگاری خوبی بین برخی اکوتیپ‌ها با سوش‌های ریزوبیومی وجود داشت که به تناسب اهداف می‌توان از آنها در برنامه‌های کشت و توسعه گیاه اسپرس استفاده کرد.

(د) مقایسه اثرات متقابل: با توجه به معنی دار بودن اثرات متقابل سویه در اکوتیپ برای کلیه صفات (جدول ۲)، مقایسه اثرات متقابل دارای اولویت بیشتری بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل برای کلیه صفات در جدول ۵ درج شده است. نتایج مقایسه بین اثرات ترکیبی دو فاکتور به صورت خلاصه به شرح زیر است.

• در مقایسه اثرات متقابل برای طول ریشه، اکوتیپ فریدون شهر با سویه‌های خرم آباد، سمیرم و شهرکرد با دامنه ۱۸ الی ۲۰ سانتی‌متر و اکوتیپ الیگودرز با سویه اردبیل با ۱۸ سانتی‌متر طول ریشه بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند (جدول ۵).

• در مقایسه اثرات متقابل برای وزن خشک ریشه نتایج نشان داد که اکوتیپ کرمانشاه با سوش‌های خرم آباد و سمیرم به ترتیب با ۱۷/۵ و ۱۵/۳ گرم در بوته و اکوتیپ الیگودرز با سوش بوستان آباد با میانگین ۱۴/۱۵ گرم در بوته نسبت به بقیه وزن ریشه بیشتری داشتند.

• در مقایسه اثرات متقابل برای طول ساقه، اکوتیپ قزوین با همه سویه‌ها با دامنه ۳۶/۳ الی ۴۲ سانتی‌متر طول ریشه بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند (جدول ۵).

• از لحاظ وزن خشک ساقه اکوتیپ الیگودرز با سوش‌های بوستان آباد و سمیرم به ترتیب با ۱۴/۱۳ و ۱۲/۳۵ گرم در بوته نسبت به بقیه تیمارها وزن خشک ساقه بیشتری داشتند

جدول ۵ مقایسه میانگین اثرات متقابل ۷ سویه سینوریزوبیوم با ۴ اکوتیپ اسپرس ابرای صفات مورد مطالعه

منشاء	منشاء	طول ریشه	وزن خشک	طول ساقه	وزن خشک	وزن خشک	تعداد ساقه	ابعاد
اکوتیپ	سویه	سانتی متر	ریشه گرم	سانتی متر	ساقه گرم	گیاه گرم بوته	دربوته	گره
البرز	۱۲/۰۰bc	۱۰/۶۲c-g	۲۸/۰۰ef	۱۰/۶۴ abc	۲۱/۲۶b-f	۴/۳۳cd	متوسط	
اردبیل	۱۸/۰۰ ab	۱۰/۷۲c-g	۲۷/۳۳ef	۱۰/۷۶ abc	۲۱/۴۸ b-f	۶/۶۷ a	متوسط	
الیگودرز	بستان آاد	۱۴/۶۷ bc	۱۴/۱۵ abc	۳۳/۶۷ cd	۱۴/۱۳ a	۵/۶۷ abc	متوسط	
	خرم آباد	۱۴/۰۰ bc	۱۰/۴۳c-g	۲۷/۶۷ ef	۸/۵۲ bc	۴/۳۳ b-e	متوسط	
	سمیرم	۱۲/۰۰ bc	۱۲/۶۹ bc	۳۳/۰۰ bcd	۱۲/۳۵ ab	۵/۳۳ abc	متوسط	
	شهرکرد	۱۲/۶۷ bc	۱۲/۳۲ cef	۲۹/۳۳ cef	۱۰/۴۴ abc	۴/۰۰ cde	متوسط	
	شاهد	۱۴/۳۳ bc	۲/۷۷ ijk	۱۷/۳۳ hji	۳/۰۷ d	۲/۶۷ def	متوسط	
البرز	۱۵/۰۰bc	۸/۷۴ ef	۲۶/۰۰ fg	۱۰/۸۱abc	۱۹/۵۵ cde	۴/۳۳ be	ریز	
اردبیل	۱۳/۳۳bc	۹/۲۴ef	۲۷/۳۳ ef	۹/۸۲ abc	۱۹/۰۶ cde	۲/۶۷ def	ریز	
فریدونشهر	بستان آاد	۱۶/۰۰abc	۷/۱۰ gh	۳۱/۰۰cef	۸/۰۲ bc	۳/۶۷ de	ریز	
	خرم آباد	۱۸/۰۰ ab	۷/۲۹ gh	۲۶/۰۰ fg	۸/۷۱ bc	۴/۳۳ cd	ریز	
	سمیرم	۲۱/۳۳ a	۷/۰۲ hi	۲۹/۰۰de	۹/۸۱abc	۶/۰۰ ab	ریز	
	شهرکرد	۲۰/۰۰ a	۱۲/۹۱ bc	۳۱/۳۳ de	۱۱/۵۱abc	۵/۶۷ abc	ریز	
	شاهد	۱۰/۰۰bcd	۱/۳۲ k	۱۷/۳۳hji	۱/۱۱ d	۲/۳۳ ef	ریز	
البرز	۶/۰۰d	۱۱/۳۷c-f	۴۲/۰۰ a	۱۰/۷۲ abc	۲۲/۰۹ b-f	۵/۰۰ abc	متوسط	
اردبیل	۷/۳۳ cd	۱۲/۶۶ bcd	۴۲/۰۰ a	۹/۸۰ abc	۲۲/۴۶bcd	۶/۰۰ ab	متوسط	
قزوین	بستان آاد	۶/۶۷ cd	۱۲/۷۸ bcd	۴۰/۶۷ ab	۱۰/۸۹ abc	۵/۰۰ abc	متوسط	
	خرم آباد	۸/۶۷ bcd	۱۲/۴۶ bcd	۳۸/۳۳abc	۸/۸۲ bc	۵/۳۳ abc	متوسط	
	سمیرم	۶/۶۷ cd	۱۱/۱۵ c-f	۳۶/۳۳ bc	۸/۰۷ bc	۴/۶۷ bc	متوسط	
	شهرکرد	۶/۶۷ cd	۱۱/۳۷ c-f	۴۱/۰۰ a	۹/۰۷ bc	۵/۶۷ abc	متوسط	
	شاهد	۹/۳۳ bcd	۲/۰۵ kj	۱۲/۰۰ j	۱/۵۳ d	۲/۶۷ def	متوسط	
البرز	۱۲/۰۰ bc	۵/۶۲ hij	۳۱/۶۷cde	۸/۴۲ bc	۱۴/۰۴ g	۵/۰۰ abc	متوسط	
اردبیل	۶/۰۰ d	۷/۵ fgh	۲۸/۳۳edf	۷/۱۸ c	۱۴/۶۸ gf	۴/۳۳ cd	متوسط	
کرمانشاه	بستان آاد	۷/۳۳ cd	۷/۸۳ efg	۳۳/۰۰bcd	۹/۴ abc	۴/۳۳ cd	متوسط	
	خرم آباد	۸/۰۰ cd	۱۷/۵۳ a	۳۴/۳۳ bc	۹/۶۴ abc	۴/۶۷ de	متوسط	
	سمیرم	۷/۰۰ cd	۱۵/۲۹ ab	۳۵/۳۳ bc	۷/۸۶ bc	۶/۰۰ ab	متوسط	
	شهرکرد	۱۱/۶۷ bc	۷/۰۶ ghi	۲۴/۳۳gh	۷/۷ bc	۴/۰۰ cde	متوسط	
	شاهد	۸/۲۵ cd	۲/۶۶ kj	۱۷/۵ hji	۲/۰۴ d	۲/۲۵ f	متوسط	

میانگین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند

بحث

ارزیابی شده بر اهمیت فوق‌العاده این نوع همزیستی تاکید دارد. به عبارت دیگر اثر مثبت و معنی‌دار سوش‌ها در افزایش عملکرد صفات مختلف بیانگر این است که به تناسب اهداف و برنامه‌های تولید علوفه می‌توان از آنها استفاده کرد. در مقایسه میانگین عملکرد صفات مختلف تفاوت بین اکوتیپ‌های اسپرس بسیار معنی‌دار بود و در میان آنها هم عملکرد اکوتیپ قزوین برای صفات طول بوته، طول ساقه، تعداد گره، وزن خشک ریشه در مقایسه با بقیه اکوتیپ‌ها بیشتر و معنی‌دار بود. با این وصف می‌توان از این اکوتیپ به عنوان اکوتیپ‌های مطلوب در برنامه‌های به‌نژادی و به زراعی استفاده کرد.

در این ارزیابی، طول ریشه در اکوتیپ فریدون‌شهر و الیگودرز، وزن خشک بوته و ساقه در اکوتیپ الیگودرز در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها بیشتر و معنی‌دار بود و لذا از این اکوتیپ‌ها هم به تناسب اهداف مورد نظر می‌توان در برنامه‌ریزی برای استقرار و تولید علوفه بیشتر کمک گرفت.

با توجه به نتایج، عملکرد سویه‌های خرم‌آباد، البرز، اردبیل و بستان‌آباد برای اکثر صفات از میانگین بیشتری برخوردار بود و در مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها بیشترین رشد رویشی به اکوتیپ الیگودرز تعلق داشت. در مقایسه عملکرد اثرات متقابل هم اکوتیپ الیگودرز با سویه بستان‌آباد از رشد رویشی بیشتری برخوردار بود. مشابه این تحقیق منابع متعددی بر موثر بودن تثبیت ازت توسط ریزوبیوم‌های همزیست اسپرس و سایر لگوم‌ها تاکید شده است (Peoples *et al.*, 1995; Sellstedt *et al.*, 1993; Brockwell, *et al.*, 1995; Tate, 1995; Wani *et al.*, 1995; Viera-Vargas *et al.*, 1995; Heidari & Dorry, 2001)

با عنایت به نتایج متنوع و گسترده این طرح تحقیقاتی می‌توان با ترویج این نوع همزیستی در کنار افزایش تولید علوفه، حاصلخیزی خاک را افزایش داده و ظرفیت تولید در عرصه‌ها را افزایش داد.

وزن خشک بوته در اسپرس مورد توجه دامداران و بهره‌برداران است تا با استفاده از اکوتیپ‌های مناسب به عملکرد بالاتری دست یابند. نتایج نشان داد که اکوتیپ الیگودرز با بیشترین عملکرد نسبت به بقیه برتر و اکوتیپ‌های فریدون‌شهر و کرمانشاه دارای عملکرد کمتری بودند از طرف دیگر سوش‌های خرم‌آباد، سمیرم، بوستان‌آباد بیشترین بیوماس را داشتند. در مقایسه اثر متقابل بین سوش و اکوتیپ به ترتیب اکوتیپ‌های کرمانشاه، الیگودرز با سوش اردبیل و اکوتیپ فریدون‌شهر با سوش بوستان‌آباد بر روی این صفت تاثیر مثبت و معنی‌داری داشتند.

در این بررسی یکی از نکات مهم در تجزیه واریانس داده‌ها معنی‌دار نشدن تفاوت بین سوش‌ها برای صفت طول ریشه بود (جدول ۲) که علت آن به احتمال زیاد محدود بودن جا برای گسترش ریشه‌ها در گلدان بوده است که با تکرار آزمایش در ظروف بزرگتر و یا در مزرعه می‌توان در این مورد به اطلاعات و نتایج دقیق‌تری دست یافت.

در مقایسه میانگین عملکرد برای کلیه صفات گرچه بین سوش‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت اما عملکرد شاهد بدون استثناء در تمام موارد با کمترین مقدار رتبه آخر را به خود اختصاص داد و این نکته بیانگر این است که همزیستی سوش‌های مختلف بر روی عملکرد صفات اثر مثبت و معنی‌داری دارد.

نتایج حاصل از این تحقیق برای کشاورزان و بهره‌برداران این امکان را فراهم می‌نماید که به تناسب اهداف خود از میان اکوتیپ‌های گیاهی و سویه‌های مختلف سینوریزوبیوم و اثرات متقابل بین آنها بهترین‌ها را برای تولید علوفه و یا بذر در مزارع و یا چراگاه‌ها استفاده نمایند تا به عملکرد مطلوب دست یابند. با تکرار این آزمایش در شرایط مزرعه و نقاط آب و هوایی مختلف می‌توان به پایداری پتانسیل اکوتیپ‌ها، سوش‌های سینوریزوبیوم و اثرات متقابل بین آنها پی برد و از آنها در افزایش تولید علوفه و پایداری عملکرد استفاده کرد. در این بررسی عملکرد کم و معنی‌دار شاهد (بدون سوش) در تمام صفات

- منابع مورد استفاده**
- Sellstedt, A., Staahl, L., Mattsson, M., Jonsson, K. and Hoegberg, P., 1993. Can the ^{15}N dilution technique be used to study N_2 fixation in tropical tree symbioses as affected by water deficit J. Exp. Bot., 44: 1749-1755.
 - Tate, R.L., 1995. Soil microbiology (symbiotic nitrogen fixation), John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y. p. 307-333.
 - Viera-Vargas, M.S., Souto, C.M., Urquiaga, S. and Boddey, R.M., 1995. Quantification of the contribution of N_2 fixation to tropical forage legumes and transfer to associated grass. Soil Biol. Biochem., 27: 1193-1200.
 - Vincent, J.M., 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria. Blackwell Scientific Publications: Oxford
 - Wani, S.P., Rupela, O.P. and Lee, K.K., 1995. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and Soil, 174: 29-49.
 - Brockwell, J., Bottomley, P.J. and Thies, J.E. 1995. Manipulation of *rhizobia microflora* for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. Plant Soil, 174: 143-180.
 - Burris, R.H., 1994. Biological nitrogen fixation past and future, p. 1-11. In N.A. Hegazi, Fayez, M. and Monib, M. (ed.), Nitrogen fixation with non-legumes. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt.
 - Freiberg, C., Fellay, R., Bairoch, A., Broughton, W.J., Rosenthal, A. and Perret, X., 1997. Molecular basis of symbiosis between *Rhizobium* and legumes. Nature, 387: 394-401.
 - Heidari Shariabad, H. and Dorry, M.A., 2001. Forage Crops (Leguminosae), First edition, Research Institute of Forest and Rangelands publication, Tehran, Iran.
 - Mandimba, G.R., 1995. Contribution of modulated legumes on the growth of *Zea mays* L. under various cropping systems. Symbiosis, 19: 213-222.
 - Peoples, M.B., Ladha, J.K. and Herridge, D.F., 1995. Enhancing legume N_2 fixation through plant and soil management. Plant Soil, 174: 83-101.

Study of symbiosis effects of *Sinorhizobium* sp. on growth and forage production of sainfoin ecotypes (*Onobrichis vicifolia*)

H. Panapour¹, A.A Jafari^{*2} and M.R Pahlavani³

1-, M.Sc. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran,

2*- Corresponding author, Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran

Email : aajafari@rifr-ac.ir

3- B.Sc. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran

Received: 18.05.2014 Accepted: 15.03.2015

Abstract

In order to study symbiosis effects of *Sinorhizobium* sp. on sainfoin (*Onobrichis vicifolia*) growth, 6 strains of *Sinorhizobium* sp. were collected from sainfoin fields in (Ardabil, Shahrekord, Samirom, Karaj, Khorramabad). The strains were inoculated on four sainfoin ecotypes originated from Ghazvin, Kermanshah, Aligoodarz and Fridonshahr, Iran. A factorial experiment on the basis of completely randomized design with four replications was conducted at Research Institute of Forests and Rangelands of Iran during 2012. The strains were propagated with YAM solution and then were inoculated on seeds of the sainfoin ecotypes. Seeds were sown in pots and treated with Hoagland solution (without N) in glasshouse and outdoor for 90 days. On the harvest date, data were collected on root and stem length, fresh and dry weight of roots, stems and node number of root. Data were analyzed and means were classified using Duncan method. Results showed significant effects of ecotypes, *Sinoryzobium* sp. and their interaction effects ($P < 0.01$). The higher mean values for the strain collected from Khoramabad fields ranked in the first class followed by Alborz, Ardebil and Bostanabad for most of the traits. Regarding interaction effects, Aligoodarz ecotype and good adaptability with Bostanabad strain was noticeable.

Keywords: Growth, nitrogen fixation, Sainfoin, *Onobrichis vicifollia*, *Sinorhyzobium*.