

## جمع آوری و شناسایی جدایه‌های ریزوبیوم بومی و ارزیابی همزیستی آنان با لاین‌های پیشرفته شبدر ایرانی

محمد شاهوردی<sup>۱</sup>، بهرام میر شکاری<sup>۲\*</sup>، هادی اسدی رحمانی<sup>۳</sup>، محمدرضا اردکانی<sup>۴</sup>، و بهرام رشیدی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳- دانشیار، بخش تحقیقات بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، کرج، ایران

۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۵- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

\*مسئول مکاتبه E-mail: mirshekari@iaut.ac.ir

### چکیده

به منظور معرفی پتانسیل‌های ژنتیکی برتر گیاه - جدایه بومی (رقم اکولوژیک-ریزوبیوم بومی) در شبدر ایرانی، این تحقیقات از سال ۹۰-۱۳۸۱ به اجرا درآمدند. سال ۸۱ تا ۱۳ جمع‌آوری توده‌های بومی از استان لرستان شروع و طی آزمایشات انجام شده تعداد ۱۵ لاین امیدبخش انتخاب شدند. سال ۸۹ تا ۱۳ تعداد ۱۵ جدایه ریزوبیوم بومی از سطح مزارع شبدر کاری استان جمع آوری و شناسایی شدند. سال ۱۳۸۹ آزمایش فاکتوریل گلخانه‌ای بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۲۴۰ تیمار (۱۵ لاین × ۱۶ جدایه) در ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد اجرا شد. صفات شاخص همزیستی، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی، نسبت ریشه به ساقه، ارتفاع ساقه، تعداد گرهک روی ریشه و درصد نیتروژن بافت گیاهی ارزیابی شدند. گروه بندی لاین‌ها و جدایه‌ها با استفاده از تجزیه کلاستر به روش وارد انجام شد. بر اساس نتایج حاصله اثر متقابل لاین × جدایه در مورد کلیه صفات مورد ارزیابی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تجزیه تابع تشخیص گروه بندی‌های انجام شده را مورد تأیید قرار داد. با استفاده از نتایج تجزیه کلاستر لاین شماره ۱۳ با جدایه RTB<sub>2</sub> به عنوان گروه و ترکیب برتر از نظر شاخص‌های همزیستی و صفات مورد نظر انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: رقم اکولوژیک، ریزوبیوم بومی، شبدر ایرانی، نیتروژن، همزیستی

## Collection and Identification of Native Rhizobium Strains and Assessment of their Symbiosis with Progressive Persian Clover Lines

Mohammad Shahverdi<sup>1</sup>, Bahram Mirshekari<sup>1</sup>, Hadi Asadi Rahmani<sup>3</sup>, Mohammad Reza Ardakani<sup>4</sup>  
Varhram Rashidi<sup>5</sup>

Received: June 2, 2016 Accepted: January 2, 2018

1-PhD. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Assoc. Prof., Dept. of Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran.

4- Prof., Dept. of Agronomy and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj Branch, Karaj, Iran.

5- Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

\*Corresponding Author: E-mail: mirshekari@iaut.ac.ir

### Abstract

In order to introducing efficient ecological genotype and native rhizobium strains in persian clover (*Trifolium resupinatum* L.) this study was conducted during 2003-2011. Since 2003, native persian clover populations were collected in Lorestan province, Iran, and after different studies 15 promising lines were selected. Then, 15 native *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strains were collected and identified from the same area. In 2010, a greenhouse factorial experiment based on randomized complete design in three replications was conducted with 240 treatments (15 line × 16 strain) in research station of Borujerd. In this study symbiosis index, root and above-ground dry matters, root:shoot proportion, stem height, nodule number and nitrogen content of plant tissue were assessed. Grouping lines and strains was performed by cluster analysis under Ward method. Results showed that interaction of line × strain were significant ( $p < 0.01$ ) on all of studied traits. Canonical discriminate analysis was useful in describing the variation among genotypes and strains. Cluster analysis was successful in differentiating the varieties into similar sub-groups based on the measured traits. Regarding to cluster analysis the RTB<sub>2</sub> and line No.13 were determined as a better selection with view to studied traits.

**Keywords:** Ecological Genotype, Native Rhizobium, Nitrogen, Persian Clover, Symbiosis

### مقدمه

نموده است. با وجود اینکه برفراز هر هکتار زمین حدود ۷۸۰۰۰ تن نیتروژن مولکولی (N<sub>2</sub>) وجود دارد، ولی همچنان بعد از آب، نیتروژن مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید محصول در دنیا به شمار می رود. مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی یکی از راه‌های معمول

استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی در کشاورزی به‌ویژه نیتروژن علاوه بر تحمیل هزینه بر تولید، سلامت و امنیت غذایی انسان، دام، محیط زیست و بوم نظام کشاورزی به‌ویژه آب و خاک را نیز تهدید

اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها در افزایش تقسیم سلولی و افزایش طول سلول‌ها به وسیله باکتری افزاینده رشد گیاه (زهیرو همکاران ۲۰۰۴)، تحریک رشد کولئوپتیل ذرت در اثر تولید ایندول استیک (هگا و همکاران ۱۹۹۸)، افزایش طول ساقه اولیه برنج در اثر تلقیح بذر به وسیله باکتری ریزوبیوم (بیسواز و همکاران ۲۰۰۰)، افزایش تعداد غلاف و وزن خشک گیاه و عملکرد دانه و نیز درصد و میزان نیتروژن کل دانه در سویا و بهبود گره بندی در ریشه (اکرک و همکاران ۲۰۰۰) به این فعالیت‌های همزیستی نسبت داده شده است.

در صورت عدم وجود ریزوبیوم اختصاصی گیاه به دلیل کشت گونه یا واریته جدید (غیر بومی) و همچنین کمبود تعداد ریزوبیوم اختصاصی به دلیل تنش‌های محیطی و در آخر فراوانی نسبی ریزوبیوم‌های کم تأثیر و یا بی تأثیر در منطقه استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم ضرورت پیدا می‌کند. کریمر (۲۰۰۱) پیشنهاد کرده که توانایی تولید HCN توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه یک قابلیت بالقوه و مکانیسمی مناسب برای کنترل بیولوژیک علف‌های هرز می‌باشد که باید به عنوان یک جنبه جدید در روش‌های تقویت و تحریک رشد گیاه و افزایش عملکرد محصول مورد توجه بیشتر قرار گیرد. آنتون و همکاران (۲۰۰۲) برخی از سویه‌های ریزوبیومی را نیز به عنوان باکتری‌های مولد سیانید معرفی نموده‌اند. باگناسکو (۱۹۹۸) پیشنهاد نمود که سویه‌های مولد HCN می‌توانند به صورت مطمئن در کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای خاکزی مورد استفاده قرار گیرند. زیرا بر دیگر جوامع میکروبی خاک و یا بر رشد گیاهان تأثیر سوء ندارند. همچنین گزارش شده است که افزایش شدید تولید اتیلن در ریشه‌های گیاه یونجه بلافاصله پس از تلقیح با باکتری سینوریزوبیوم *Sinorhizobium meliloti* باید نشانه‌ای از پاسخ دفاعی گیاه لگوم در مقابله با

برطرف کننده این محدودیت می‌باشد که از یک سو مهم‌ترین نهاده کشاورزی مؤثر در افزایش تولید بوده و از سوی دیگر از پتانسیل آلوده سازی بالایی برخوردار است (اسدی رحمانی و همکاران ۲۰۰۷).

گیاهان علوفه‌ای به‌ویژه لگوم‌ها به دلیل توان همزیستی با میکروارگانیسم‌ها، تثبیت نیتروژن هوا و حل کردن عناصر تثبیت شده‌ای چون فسفر و پتاسیم جایگاه ویژه‌ای در پایداری کشاورزی و سلامت بوم نظام‌های زراعی دارند. شبدر ایرانی یکی از گیاهان علوفه‌ای بومی افغانستان، ایران، ترکیه و عراق است که به دلیل دارا بودن تعادل نسبی علوفه از نظر صفات کمی و کیفی در بین سایر بقولات علوفه‌ای یکساله گیاهی ممتاز محسوب می‌شود (اریک و ترسز ۱۹۸۷، گوتو و مینسون ۱۹۷۷، ویلسون ۱۹۹۴). سطح کشت آن در ایران حدود ۴۲۰۰۰ هکتار بوده که بیشترین آن مربوط به استان لرستان می‌باشد (شاهوردی و زمانیان ۲۰۰۹). مقدار تثبیت نیتروژن در شبدرها تا ۲۹۰ کیلوگرم و تولید سیدروفور و ریزوبیوتوکسین (مانع بیماری‌های قارچی) تا ۱۷۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است. مقدار تثبیت نیتروژن مولکولی با توجه به نوع سویه همزیست، جمعیت باکتری‌های همزیست بومی، میزان کود مصرفی، رقم و به طور کلی شرایط خاکی و اقلیمی بسیار متفاوت می‌باشد (اسدی رحمانی و از نظر سازگاری و میزان تثبیت نیتروژن می‌توانند به لحاظ کاهش مصرف کودهای شیمیایی از نظر اقتصادی به صرفه و از نظر سلامت محیط زیست مؤثرتر باشند (قلی‌پور و همکاران ۲۰۰۷). همچنین اثر مثبت کودهای زیستی به صورت منفرد و تلفیقی بر کیفیت گیاهان علوفه‌ای گزارش شده است (پانوار ۱۹۹۱). نتایج مطالعه اثر چند نوع مایه تلقیح ریزوبیوم روی باقلا در خوزستان نشان داد که عملکرد تیمارهای تلقیحی بین ۳۵ تا ۶۹ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (خسروی و همکاران ۲۰۰۱). افزایش رشد گیاه به دلیل نقش هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد از قبیل

استان لرستان (۶۶ درجه و ۵۱ دقیقه الی ۵۰ درجه و ۲۲ دقیقه طول شرقی و ۳۲ درجه و ۳۸ دقیقه الی ۳۴ درجه و ۲۲ دقیقه عرض شمالی) به مساحت تقریبی ۱۶۰۰۰ هکتار به ازای هر ۷۰۰ هکتار یک نمونه به طور تصادفی از مزارع هر منطقه انتخاب شد (شکل ۱). در هر نمونه تعدادی شبدر با ریشه از عمق صفر تا ۵۰ سانتیمتری برداشت و پس از شستشو با آب و خشک کردن در دمای معمولی اتاق، به بخش بیولوژی موسسه تحقیقات آب و خاک ارسال شدند. پس از جداسازی (بیک و همکاران ۱۹۹۳) گروه بندی جدایه ها بر اساس آزمون گره زایی در گیاه میزبان تعداد ۱۵ جدایه شناسایی شدند (جدول ۱).

تهاجم باکتری به سلول های ریشه گیاه باشد (لیجرو و همکاران ۱۹۸۶). هدف از انجام این پژوهش، شناسایی سویه های بومی موثر ریزوبیوم شبدر ایرانی در استان لرستان به عنوان قطب تولید این محصول و یافتن ترکیبی موثر از سویه - لاین برتر از نظر شاخص های همزیستی به ویژه مقدار تثبیت نیتروژن، عملکرد علوفه و در نهایت حرکت به سمت کشاورزی پایدار کم‌نهاده می‌باشد.

### مواد و روش ها

#### الف: جمع آوری جدایه های بومی

از سال ۱۳۸۱ برای تهیه جدایه های بومی به روش پیمایشی از کل مناطق زیر کشت شبدر ایرانی



شکل ۱- مناطق عمده کشت شبدر ایرانی (هاشور خورده) در استان لرستان

جدول ۱- لیست جدایه های باکتری ریزوبیوم جدا شده از نمونه های جمع آوری شده بومی لرستان

| ردیف | نام نمونه         | نام ایزوله       | ردیف | نام نمونه          | نام ایزوله       | ردیف | نام نمونه | نام ایزوله       |
|------|-------------------|------------------|------|--------------------|------------------|------|-----------|------------------|
| ۱    | بروجرد            | RTB              | ۶    | ایستگاه تحقیقات II | RTE <sub>2</sub> | ۱۱   | سیلاخور   | RTC              |
| ۲    | بروجرد I          | RTB <sub>1</sub> | ۷    | الشتر I            | RTA <sub>1</sub> | ۱۲   | دورود I   | RTD <sub>1</sub> |
| ۳    | بروجرد II         | RTB <sub>2</sub> | ۸    | الشتر II           | RTA <sub>2</sub> | ۱۳   | دورود II  | RTD <sub>2</sub> |
| ۴    | بروجرد III        | RTB <sub>3</sub> | ۹    | الشتر III          | RTA <sub>3</sub> | ۱۴   | خرم آباد  | RTK <sub>3</sub> |
| ۵    | ایستگاه تحقیقات I | RTE <sub>1</sub> | ۱۰   | الشتر IV           | RTA <sub>3</sub> | ۱۵   | نورآباد   | RTN <sub>1</sub> |

#### ب: آزمایش گلخانه ای

این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۹ در گلخانه ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد اجرا شد. در این آزمایش گلدان های به حجم ۷۵۰ گرم از ماسه بادی شسته پر شده و در هر گلدان ۱۰ عدد بذر

شبدر آغشته شده به باکتری (جمعیت باکتری های به کار رفته  $10^8 \text{ cFu/ml}$ ) کاشته شد. تعداد لاین های مورد استفاده در این آزمایش ۱۵ عدد بودند. این لاینها حاصل نتایج آزمایشات جمع آوری توده های بومی از سال ۱۳۸۱ بودند که طی یکسری آزمایشات منجر به انتخاب

گروه بندی لاین‌ها و جدایه‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای به روش Ward پس از استاندارد کردن داده‌ها انجام شدند. برای بررسی صحت گروه بندی از روش تابع تشخیص استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SAS ver.9 انجام شد. رسم نمودارها با نرم افزار SPSS ver.13 انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل لاین در جدایه روی صفات تعداد کل گره روی ریشه، ارتفاع گیاه، نسبت بخش هوایی به ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و شاخص همزیستی معنی‌دار بود (جدول ۲).

به دلیل حجم بالای مقایسات میانگین، نتایج مقایسه میانگین ۳۰ ترکیب برتر لاین × جدایه در جدول ۳ آمده است. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که ترکیب S15-L5 و L6-S6 با شاخص همزیستی ۱/۹۷ درصد بالاترین مقدار کارایی را نشان دادند که در مقایسه با شاهد ۲۶/۷ درصد برتری داشت. در مطالعه انجام شده روی کارایی همزیستی توسط باکتری‌های *Rhizobium leguminosarum* sp. bv viciae جدا شده از دو منطقه گرگان و نیشابور در شرایط آزمایشگاهی، نتایج حاکی از تفاوت بین جدایه‌های ریزوبیوم مورد بررسی بود. به طوری که کارایی همزیستی بین ۵-۵۰۰ درصد در بین جدایه‌های گرگان و نیشابور مشاهده شد. در این آزمایشات با توجه به نتایج توان حل فسفات معدنی و آلی بالاترین کارایی همزیستی جدایه‌های R65G و R59G از گرگان و R30N از نیشابور به عنوان جدایه‌های برتر انتخاب شدند. در غربالگری ۲۸۵ سویه بومی ریزوبیوم شبدر سفید در مقایسه با یک سوش استاندارد بین سه تا ۱۷۰ درصد برتری کارایی نشان دادند. این جدایه‌ها روی درصد جوانه‌زنی، تعداد گره، مقدار تثبیت نیتروژن، وزن

لاین‌های برتر در سال ۱۳۹۰ گردید (شاهوردی و همکاران ۲۰۰۷، ۲۰۰۹ و ۲۰۱۲).

جدایه‌ها شامل ۱۵ جدایه باکتری ریزوبیوم شناسایی شده در بخش پیمایشی به همراه شاهد بود. تغذیه گلدان‌ها با استفاده از محلول بدون نیتروژن (دلورث ۱۹۷۰) هر هفته ۲۰ میلی لیتر در هر گلدان انجام شد (یادگاری و همکاران ۱۳۸۳). پس از رشد کافی بوته‌ها و تشکیل گرهک روی ریشه صفات زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تعداد گرهک روی ریشه بوته‌های شبدر پس از خارج کردن از گلدان و شستشو در آب تشتت به دقت بررسی شده و تعداد گرهک‌ها مورد شمارش قرار گرفتند. طول ساقه در زمان برداشت از سطح گلدان اندازه گیری شد.

وزن خشک اندام هوایی و ریشه بعد از خشک کردن در آون در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت محاسبه شدند.

شاخص همزیستی یا سودمندی نسبی یا وابستگی نسبی همزیستی لاین - ریزوبیوم با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (داعی و همکاران ۲۰۰۹).

$$\text{Rhizobium benefit on shoot dry weight} = (W_c - W_i) / W_c * 100$$

$W_i$ : وزن خشک اندام هوایی در حالت همزیستی،  $W_c$ : وزن خشک اندام هوایی در حالت بدون همزیستی (شاهد)

برای مقایسه جدایه‌ها از نظر مقدار تثبیت نیتروژن، درصد نیتروژن بافت گیاهی برای توده بومی به روش کجدال انجام شد. جهت کلاستر بندی دقیق تر لاین‌ها از صفات عملکرد علوفه تر و خشک، نسبت برگ به ساقه، درصد پروتئین و سرعت رشد مجدد حاصل از نتایج آزمایشات مزرعه‌ای (شاهوردی ۲۰۱۲) استفاده گردید.

در این مطالعه برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از روش کلموگراف-اسمیرنوف استفاده شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش توکی انجام شد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تعداد کل گره روی ریشه، ارتفاع گیاه، نسبت بخش هوایی به ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و شاخص همزیستی

| میانگین مربعات   |            |                       |             |                        |              |                     |              |
|------------------|------------|-----------------------|-------------|------------------------|--------------|---------------------|--------------|
| منابع تغییر      | درجه آزادی | تعداد کل گره روی ریشه | ارتفاع ساقه | نسبت بخش هوایی به ریشه | وزن خشک ریشه | وزن خشک اندام هوایی | شاخص همزیستی |
| لاین             | ۱۴         | ۸۴۰/۳۶**              | ۳۷۲/۹۰**    | ۴/۶۶**                 | ۱۳۳/۸۰**     | ۶۷۴/۴۸**            | ۰/۵۵**       |
| جدایه            | ۱۵         | ۲۹۳/۰۳**              | ۴۱/۹۳**     | ۰/۳۰**                 | ۶/۹۹**       | ۲۵/۸۴**             | ۱/۲۸**       |
| جدایه×لاین       | ۲۱۰        | ۱۲۰/۵۸**              | ۲۴/۹۳**     | ۰/۳۸**                 | ۵/۲۲**       | ۲۲/۶۰**             | ۰/۸۳**       |
| خطا              | ۴۸۰        | ۲/۴۶                  | ۱/۷۰        | ۰/۰۰۰۴                 | ۰/۰۲۴        | ۱/۳۳                | ۰/۰۲         |
| ضریب تغییرات (%) |            | ۹/۶۰                  | ۶/۸۰        | ۳/۹۹                   | ۵/۳۰         | ۱۵/۸۰               | ۱۲/۱۴        |

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد.

گیاهچه، رشد گیاه و محتوای نیتروژن در گیاه مؤثر بودند (اکبری و همکاران ۲۰۱۲).

بیشترین مقدار تولید ماده خشک در هر گلدان مربوط به ترکیب تیماری L1-S13 با ۲۶/۲۷ گرم بود که در مقایسه با شاهد (۸/۶۵ گرم) ۳۹/۷ درصد برتری نشان دادند. در یک آزمایش مزرعه‌ای که توسط هوفلیچ و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد، مشخص گردید که تلقیح با *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* با R39 باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی باقلا گردید. خسروی و همکاران (۱۳۸۰) چند مایه تلقیح حاوی باکتری های بومی ریزوبیوم را بر رشد و عملکرد باقلا در مناطق مختلف عمده تحت کشت این محصول بررسی و نتیجه گیری کردند که در مناطق مختلف بین ۱۰ تا ۶۹ درصد و در کل کشور به‌طور میانگین ۲۰ درصد افزایش عملکرد باقلا در اثر تلقیح حاصل شد. گونزالس لویز و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کرده اند *Azotobacter chroococcum* می‌تواند جیبرلین،

اکسین و سیتوکنین تولید کند. در گزارش دیگری تلقیح توام باکتری *Bradyrhizobium japonicum* و *Azotobacter chroococcum* باعث افزایش وزن بخش هوایی سویا گردید (وسی ۲۰۰۳).

تعداد گره از صفاتی است که همبستگی زیادی با میزان تثبیت نیتروژن در گیاهان مختلف دارد. از نظر تعداد گره برترین لاین-جدایه به ترتیب مربوط به ترکیب تیماری L13-S10 و L11-S15 با ۴۱ و ۳۷ گره بود که در مقایسه با شاهد (۱۰/۹۵) ۲۷/۳۷ درصد برتری نشان دادند. بررسی‌های اکبرک و همکاران (۲۰۰۰) مشخص ساخت که تلقیح بذر سویا با باکتری *Bradyrhizobium japonicum* قبل از کاشت سبب افزایش تعداد غلاف و وزن خشک گیاه و عملکرد دانه گردید. همچنین در این گزارش افزایش درصد و میزان نیتروژن کل دانه به افزایش گره‌بندی ریشه ناشی از تلقیح نسبت داده شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری مربوط به لاین‌های شنبدر ایرانی و جدایه‌های ریزوبیوم بومی (۵۰ ترکیب برتر بر حسب صفات مختلف)

| ردیف | لاین-جدایه | شاخص همزیستی        | لاین-جدایه | وزن خشک هر گلدان (گرم) | لاین-جدایه | وزن ریشه (گرم)     | لاین-جدایه | نسبت ریشه به بخش هوایی | لاین-جدایه | ارتفاع (سانتیمتر)    | لاین-جدایه | تعداد گره            |
|------|------------|---------------------|------------|------------------------|------------|--------------------|------------|------------------------|------------|----------------------|------------|----------------------|
| ۱    | ۱۵-۵       | ۱/۹۷ <sup>a</sup>   | ۱۳-۱       | ۲۶-۶۶ <sup>a</sup>     | ۹-۶        | ۱۱/۰۸ <sup>a</sup> | ۱-۱۴       | ۲/۲۳ <sup>a</sup>      | ۱۳-۱       | ۳۲/۳۳ <sup>a</sup>   | ۱۰-۱۳      | ۴۱/۰۰ <sup>a</sup>   |
| ۲    | ۶-۶        | ۱/۹۶ <sup>a</sup>   | ۹-۶        | ۲۱/۹۳ <sup>b</sup>     | ۱۳-۱       | ۱۰/۸۰ <sup>a</sup> | ۹-۱۴       | ۳/۰۵ <sup>b</sup>      | ۷-۶        | ۳۰/۶۷ <sup>ab</sup>  | ۱۵/۱۱      | ۳۷/۰۰ <sup>b</sup>   |
| ۳    | ۱۲-۲       | ۱/۹۵ <sup>ab</sup>  | ۴-۶        | ۱۹/۵۹ <sup>b-c</sup>   | ۱۲-۱       | ۹/۵۸ <sup>b</sup>  | ۸-۱۱       | ۲/۶۳ <sup>c</sup>      | ۱۵-۱۵      | ۲۸/۳۳ <sup>a-c</sup> | ۲-۵        | ۳۵/۳۳ <sup>bc</sup>  |
| ۴    | ۲-۷        | ۱/۹۵ <sup>ab</sup>  | ۸-۶        | ۱۸/۶۷ <sup>b-d</sup>   | ۱۲-۶       | ۹/۲۳ <sup>b</sup>  | ۱۴-۱۱      | ۲/۲۶ <sup>d</sup>      | ۵-۷        | ۲۸/۳۳ <sup>b-d</sup> | ۱۳-۸       | ۳۵/۰۰ <sup>bc</sup>  |
| ۵    | ۱۵-۱۳      | ۱/۹۳ <sup>ab</sup>  | ۷-۶        | ۱۸/۴۹ <sup>b-e</sup>   | ۸-۶        | ۹/۱۵ <sup>c</sup>  | ۷-۱۴       | ۲/۲۵ <sup>d</sup>      | ۱۱-۱       | ۲۷/۰۰ <sup>b-e</sup> | ۵-۱۳       | ۳۴/۳۳ <sup>cd</sup>  |
| ۶    | ۱۴-۶       | ۱/۹۳ <sup>ab</sup>  | ۱۳-۶       | ۱۸/۱۷ <sup>b-f</sup>   | ۳-۶        | ۸/۴۱ <sup>c</sup>  | ۴-۱۰       | ۲/۲۰ <sup>e</sup>      | ۵-۱۳       | ۲۶/۶۷ <sup>b-f</sup> | ۱۳-۹       | ۳۴/۳۳ <sup>d</sup>   |
| ۷    | ۷-۵        | ۱/۹۳ <sup>ab</sup>  | ۷-۱        | ۱۷/۲۷ <sup>c-g</sup>   | ۵-۱۳       | ۸/۳۰ <sup>c</sup>  | ۸-۱۴       | ۲/۰۳ <sup>f</sup>      | ۳-۱        | ۲۶/۳۳ <sup>b-f</sup> | ۲-۱۳       | ۳۴/۰۰ <sup>de</sup>  |
| ۸    | ۸-۵        | ۱/۹۳ <sup>ab</sup>  | ۱۲-۱       | ۱۷/۰۴ <sup>C-h</sup>   | ۱۱-۱       | ۸/۲۹ <sup>c</sup>  | ۵-۱۱       | ۲/۰۰ <sup>f</sup>      | ۷-۱۲       | ۲۶/۳۳ <sup>b-g</sup> | ۱-۸        | ۳۳/۵۰ <sup>de</sup>  |
| ۹    | ۷-۹        | ۱/۹۳ <sup>ab</sup>  | ۱-۱۳       | ۱۶/۹۷ <sup>c-h</sup>   | ۱۳-۶       | ۸/۰۷ <sup>cd</sup> | ۶-۱۰       | ۱/۶۸ <sup>g</sup>      | ۴-۱۳       | ۲۶/۳۳ <sup>b-g</sup> | ۸-۵        | ۳۳/۳۳ <sup>d-f</sup> |
| ۱۰   | ۷-۱۴       | ۱/۹۲ <sup>ab</sup>  | ۵-۶        | ۱۶/۸۵ <sup>c-j</sup>   | ۲-۶        | ۷/۵۴ <sup>cd</sup> | ۱۳-۱۴      | ۱/۶۰ <sup>h</sup>      | ۱۱-۱۳      | ۲۶/۰۰ <sup>c-i</sup> | ۳-۱۳       | ۳۲/۶۷ <sup>d-g</sup> |
| ۱۱   | ۸-۶        | ۱/۹۲ <sup>a-c</sup> | ۵-۱۳       | ۱۶/۴۰ <sup>c-j</sup>   | ۳-۲        | ۷/۲۹ <sup>e</sup>  | ۳-۱۴       | ۱/۵۶ <sup>i</sup>      | ۱۰-۱       | ۲۵/۶۷ <sup>c-i</sup> | ۳-۵        | ۳۰/۶۷ <sup>d-h</sup> |
| ۱۲   | ۲-۱۳       | ۱/۹۱ <sup>a-d</sup> | ۱-۶        | ۱۶/۳۳ <sup>c-j</sup>   | ۱-۶        | ۷/۱۰ <sup>ef</sup> | ۴-۱۴       | ۱/۴۱ <sup>j</sup>      | ۶-۲        | ۲۵/۵۰ <sup>c-j</sup> | ۷-۱۳       | ۳۰/۳۳ <sup>d-i</sup> |
| ۱۳   | ۶-۳        | ۱/۹۱ <sup>a-d</sup> | ۲-۶        | ۱۶/۱۴ <sup>c-j</sup>   | ۱۱-۶       | ۷/۱۰ <sup>ef</sup> | ۸-۱۰       | ۱/۳۶ <sup>k</sup>      | ۹-۱        | ۲۵/۳۳ <sup>c-k</sup> | ۱۵-۵       | ۳۰/۳۳ <sup>d-i</sup> |
| ۱۴   | ۱۰-۳       | ۱/۹۱ <sup>a-d</sup> | ۱۴-۱       | ۱۶/۰۶ <sup>c-j</sup>   | ۷-۱        | ۷/۰۴ <sup>ef</sup> | ۵-۱۴       | ۱/۲۸ <sup>l</sup>      | ۶-۱۳       | ۲۵/۰۰ <sup>c-k</sup> | ۱۴-۱۰      | ۲۸/۶۷ <sup>e-j</sup> |
| ۱۵   | ۲-۱        | ۱/۹۱ <sup>a-d</sup> | ۱۲-۶       | ۱۵/۵۲ <sup>c-k</sup>   | ۶-۶        | ۷/۰۳ <sup>ef</sup> | ۶-۱۴       | ۱/۱۹ <sup>m</sup>      | ۱۵-۱       | ۲۴/۶۷ <sup>c-k</sup> | ۱-۱۳       | ۲۷/۶۷ <sup>f-k</sup> |
| ۱۶   | ۱۲-۱       | ۱/۹۱ <sup>a-d</sup> | ۳-۲        | ۱۵/۲۷ <sup>c-i</sup>   | ۸-۱۴       | ۶/۶۰ <sup>fg</sup> | ۱۰-۱۴      | ۱/۱۴ <sup>n</sup>      | ۶-۱۲       | ۲۴/۶۷ <sup>c-k</sup> | ۸-۱۳       | ۲۷/۶۷ <sup>f-k</sup> |
| ۱۷   | ۱۵-۱۱      | ۱/۹۰ <sup>a-d</sup> | ۳-۶        | ۱۵/۱۶ <sup>c-m</sup>   | ۷-۶        | ۶/۵۷ <sup>fg</sup> | ۱-۱۰       | ۱/۰۸ <sup>o</sup>      | ۲-۱۲       | ۲۴/۳۳ <sup>c-k</sup> | ۱۴-۵       | ۲۷/۳۳ <sup>g-l</sup> |
| ۱۸   | ۱۵-۱۴      | ۱/۹۰ <sup>a-d</sup> | ۱۴-۶       | ۱۵/۱۵ <sup>c-m</sup>   | ۹-۱        | ۶/۴۳ <sup>fg</sup> | ۵-۸        | ۱/۰۸ <sup>o</sup>      | ۱۶-۵       | ۲۴/۳۳ <sup>c-k</sup> | ۱۳-۱       | ۲۷/۱۷ <sup>g-m</sup> |

## ادامه جدول ۳

| ردیف | لاین-<br>جدایه | تعداد<br>گره                         | لاین-<br>جدایه | ارتفاع<br>(سانتیمتر)  | لاین-<br>جدایه | نسبت<br>ریشه به<br>بخش<br>هوایی | لاین-<br>جدایه | وزن<br>ریشه<br>(گرم) | لاین-<br>جدایه | وزن<br>خشک هر<br>گلدان<br>(گرم) | شاخص<br>همزیستی | لاین-<br>جدایه      |
|------|----------------|--------------------------------------|----------------|-----------------------|----------------|---------------------------------|----------------|----------------------|----------------|---------------------------------|-----------------|---------------------|
| ۱۹   | ۴-۱۵           | <sup>g-</sup><br>/.. <sup>m</sup>    | ۸-۱۲           | ۲۴/۰.۰ <sup>c-k</sup> | ۱۲-۷           | ۱/۰.۵ <sup>o</sup>              | ۱۴-۶           | ۶/۰.۸ <sup>g-i</sup> | ۷-۱۳           | ۵/۱۵ <sup>c-n</sup>             | ۲-۱۱            | ۱/۸۹ <sup>a-f</sup> |
| ۲۰   | ۵-۱۱           | <sup>h-</sup><br>۲۶/۶۷ <sup>n</sup>  | ۷-۱۳           | ۲۴/۰.۰ <sup>c-k</sup> | ۱۳-۱۱          | ۰/۹۷ <sup>p</sup>               | ۷-۱۴           | ۵/۹۷ <sup>h-i</sup>  | ۸-۱۳           | ۱۴/۹۷ <sup>d-o</sup>            | ۷-۱۳            | ۱/۸۹ <sup>a-f</sup> |
| ۲۱   | ۸-۸            | <sup>h-</sup><br>۲۶/۳۳ <sup>o</sup>  | ۸-۱۳           | ۲۴/۰.۰ <sup>c-k</sup> | ۱۶-۱۱          | ۰/۹۶ <sup>p</sup>               | ۸-۱            | ۵/۸۸ <sup>h-j</sup>  | ۹-۱            | ۱۴/۴۰ <sup>d-p</sup>            | ۱-۹             | ۱/۸۷ <sup>a-g</sup> |
| ۲۲   | ۹-۵            | <sup>h-</sup><br>۲۵/۶۷ <sup>o</sup>  | ۱۶-۱۳          | ۲۴/۰.۰ <sup>c-k</sup> | ۳-۱۰           | ۰/۹۳ <sup>pq</sup>              | ۴-۱            | ۵/۸۷ <sup>h-j</sup>  | ۶-۶            | ۱۴/۳۹ <sup>d-p</sup>            | ۱۵-۶            | ۱/۸۶ <sup>a-h</sup> |
| ۲۳   | ۳-۸            | <sup>h-</sup><br>۲۵/۶۷ <sup>o</sup>  | ۲-۵            | ۲۴/۰.۰ <sup>c-k</sup> | ۱۰-۱۱          | ۰/۹۲ <sup>gr</sup>              | ۱۵-۶           | ۵/۷۶ <sup>j-k</sup>  | ۲-۱۲           | ۱۴/۲۵ <sup>d-q</sup>            | ۱۱-۱۱           | ۱/۸۴ <sup>a-i</sup> |
| ۲۴   | ۷-۱۵           | <sup>h-</sup><br>۲۵/۳۳ <sup>p</sup>  | ۹-۲            | ۲۳/۸۳ <sup>c-k</sup>  | ۱۲-۱۱          | ۰/۸۹ <sup>rs</sup>              | ۱۶-۱           | ۵/۷۶ <sup>j-k</sup>  | ۴-۱۲           | ۱۴/۰.۰ <sup>e-r</sup>           | ۱-۲             | ۱/۸۴ <sup>a-i</sup> |
| ۲۵   | ۳-۴            | <sup>h-</sup><br>۲۵/۳۳ <sup>p</sup>  | ۱۰-۲           | ۲۳/۷۵ <sup>c-k</sup>  | ۲-۱۰           | ۰/۸۸ <sup>s</sup>               | ۷-۲            | ۵/۷۱ <sup>i-m</sup>  | ۱۱-۱           | ۱۳/۷۱ <sup>f-s</sup>            | ۱۱-۸            | ۱/۸۴ <sup>a-i</sup> |
| ۲۶   | ۸-۹            | <sup>h-</sup><br>۲۵/۳۳ <sup>p</sup>  | ۷-۱            | ۲۳/۶۷ <sup>c-k</sup>  | ۲-۱۱           | ۰/۸۶ <sup>st</sup>              | ۳-۱۴           | ۵/۷۱ <sup>i-m</sup>  | ۶-۱۳           | ۱۳/۴۹ <sup>g-t</sup>            | ۱۲-۸            | ۱/۸۴ <sup>a-i</sup> |
| ۲۷   | ۱-۱۰           | <sup>h-</sup><br>۲۵/۰.۰ <sup>p</sup> | ۳-۱۳           | ۲۳/۶۷ <sup>c-k</sup>  | ۱۵-۱۴          | ۰/۸۴ <sup>t</sup>               | ۱۰-۶           | ۵/۵۹ <sup>j-n</sup>  | ۷-۱۲           | ۱۳/۴۲ <sup>u</sup>              | ۵-۲             | ۱/۸۳ <sup>a-i</sup> |
| ۲۸   | ۱۰-۱۵          | <sup>h-</sup><br>۲۵/۰.۰ <sup>p</sup> | ۱۶-۸           | ۲۳/۶۷ <sup>c-k</sup>  | ۱۳-۸           | ۰/۸۳ <sup>t</sup>               | ۱۲-۷           | ۵/۵۲ <sup>j-n</sup>  | ۱۱-۶           | ۱۳/۳۲ <sup>g-v</sup>            | ۷-۲             | ۱/۸۳ <sup>a-i</sup> |
| ۲۹   | ۱۱-۱۵          | <sup>h-</sup><br>۲۵/۰.۰ <sup>p</sup> | ۱۱-۱۵          | ۲۳/۵۰ <sup>c-k</sup>  | ۴-۱۱           | ۰/۷۸ <sup>u</sup>               | ۶-۸            | ۵/۳۴ <sup>j-o</sup>  | ۶-۸            | ۱۲/۹۰ <sup>g-w</sup>            | ۹-۳             | ۱/۸۳ <sup>a-i</sup> |
| ۳۰   | ۴-۵            | <sup>h-</sup><br>۲۵/۰.۰ <sup>p</sup> | ۱۲-۲           | ۲۳/۵۰ <sup>c-k</sup>  | ۹-۱۱           | ۰/۷۷ <sup>uw</sup>              | ۷-۷            | ۵/۲۰ <sup>k-p</sup>  | ۶-۱۲           | ۱۲/۸۳ <sup>g-x</sup>            | ۱۵-۱            | ۱/۸۳ <sup>a-i</sup> |

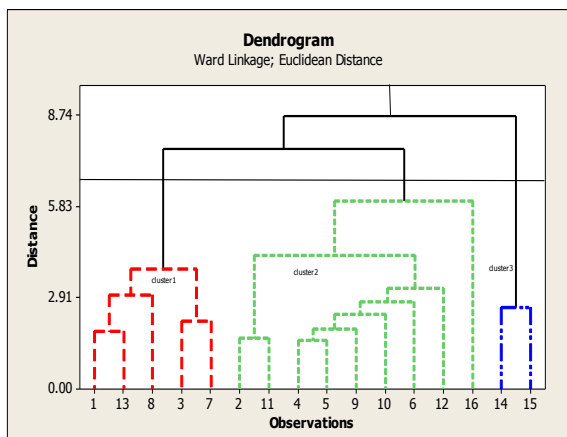
ریزوبیوم‌ها عامل‌های گره‌زا مانند لیبوکیوتو-  
الیگوساکارید آزاد می‌کنند که به عنوان تحریک کننده  
جوانه زنی طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی شناخته  
شده‌اند. اما هنوز مکانیسم عمل آن شناخته نشده است.  
کانشیرو و کولک (۱۹۸۵) گزارش نمودند که تلقیح سویا  
با *Brady rhizobium japonicum* جهش یافته که  
این‌دول استیک اسید تولید می‌کند، باعث افزایش گره  
بندی در ریشه گردید. کمبود *Brady rhizobium*  
*alkani* جهش یافته در تولید بیشتر این‌دول استیک اسید  
موثر بوده و در نتیجه تعداد گره در ریشه‌ها افزایش  
یافت. تلقیح با سویه‌های برادی ریزوبیوم باعث بهبود  
گره زایی، رشد رویشی و جذب نیتروژن در سویا می  
شود (مقوانسی ومهنا ۲۰۰۵).

بالاترین ارتفاع (۳۲/۳۳ سانتی متر) در ترکیب  
تیماری L1-S13 مشاهده شد که نسبت به شاهد

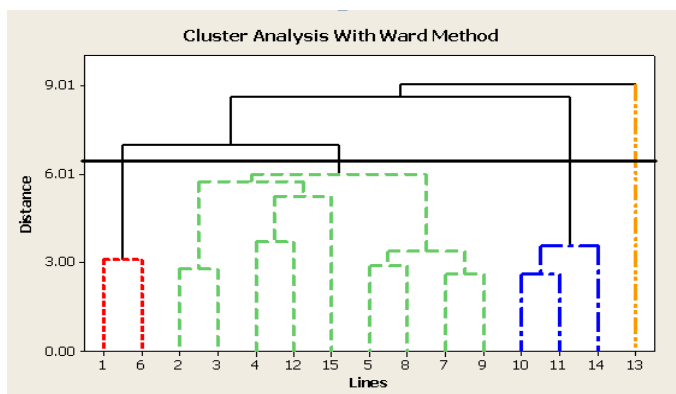
۳۰/۳۸ درصد برتری نشان داد. به عقیده داکورا (۲۰۰۲)،  
لومیکروم<sup>۱</sup> و لیبوکیوتوالیگوساکاریدها که توسط  
ریزوبیوم آزاد می‌شوند باعث تحریک رشد گیاهان می  
شود. هنگامی که لومیکروم در غلظت ۵۰ نانو مول در  
ژنوتیپ‌های سورگوم، سویا، باقلا و لوبیا چشم بلبلی  
استفاده شد، افزایش زیادی در ارتفاع و رشد گیاه  
مشاهده شد. ریزوبیوم‌ها با تولید ترکیبات مختلفی مانند  
اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریوفلاوین‌ها و ویتامین‌ها و با  
نفوذ در ریشه گیاهان لگوم و غیرلگوم باعث بهبود رشد  
می‌شوند. بیسواز و همکاران (۲۰۰۰) افزایش طول  
گیاهچه حاصل از بذرهای تلقیح شده با باکتری  
ریزوبیوم را مشاهده کردند. با توجه به نقش هورمون  
های گیاهی تحریک کننده رشد از قبیل اکسین‌ها،  
جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها در افزایش تقسیم سلولی و



تشخیص نیز گروه بندی های انجام شده را مورد تایید قرار دادند (جدول های ۴ و ۵).



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده در شرایط گلخانه در جدایه های بومی



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده در شرایط گلخانه و برخی صفات مزرعه‌ای در لاین های امید بخش شبدر ایرانی

افزایش طول سلول‌ها، ترشح این هورمون‌ها به وسیله باکتری یکی از مهم‌ترین سازوکارهای افزایش رشد گیاهی می‌باشد (زهیرو همکاران ۲۰۰۴). یکی از آشکارترین اثرات هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد به صورت تحریک رشد کولتوپتیل نرت در اثر تولید ایندول استیک اسید گزارش شده است (هگاو همکاران ۱۹۹۸). طول ریشه و ساقه گیاه سویا تلقیح شده با سویه‌های مختلف *Brady rhizobium japonicum* تحت تأثیر قرار گرفت. همچنین با آغشته سازی سویا توسط باکتری مشابه افزایش معنی داری بیش از شاهد در محتوای نیتروژن بخش هوایی مشاهده شد. کابوت (۱۹۹۶) ثابت کرد که توانایی حل فسفات در باکتری‌های ریزوبیومی مهم‌ترین مکانیسم تحریک رشد گیاه در خاک‌هایی با حاصلخیزی متوسط تا زیاد می‌باشد. از نظر وزن خشک ریشه و نسبت ریشه به بخش هوایی بالاترین وزن خشک ریشه مربوط به ترکیب S9-L6 و بیشترین نسبت ریشه به بخش هوایی مربوط به S1-L14 بود.

### گروه بندی ها

گروه بندی جدایه ها و لاین ها با استفاده از داده های استاندارد شده به روش WARD انجام شد که در نهایت به ترتیب به سه و چهار گروه بر اساس دندروگرام‌های حاصل تقسیم شدند (شکل‌های ۲ و ۳). برای گروه بندی لاین ها بر خلاف جدایه ها (که صرفاً بر اساس صفات اندازه گیری شده گلخانه ای بودند) بر اساس صفات اندازه گیری شده در مزرعه (شاهوردی و همکاران ۲۰۱۲) نیز بودند (جدول های ۷ و ۶). تجزیه تابع

جدول ۴- تابع تشخیص کانونیک برای تعیین محل برش دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در جدایه‌ها

| آزمون تابع | درجه آزادی | کای اسکور | ضریب لامبدا | درصد واریانس | درصد واریانس | مقادیر | سطح معنی |
|------------|------------|-----------|-------------|--------------|--------------|--------|----------|
|            |            |           |             | تجمعی        | نسبی تجمعی   | ویژه   | داری     |
| تابع ۱     | ۱۴         | ۴۰/۵۹     | ۰/۱۷        | ۵۵/۶         | ۵۵/۶         | ۷/۳۹   | ۰۰۰۰     |
| تابع ۲     | ۶          | ۱۹/۳۱     | ۰/۱۴۵       | ۱۰۰          | ۴۶/۴         | ۵/۸۹   | ۰/۰۰۴    |

جدول ۵- تابع تشخیص کانونیک برای تعیین محل برش دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در لاین‌ها

| آزمون تابع | درجه آزادی | کای اسکور | ضریب لامبدا | درصد واریانس | درصد واریانس | مقادیر | سطح معنی |
|------------|------------|-----------|-------------|--------------|--------------|--------|----------|
|            |            |           |             | تجمعی        | نسبی تجمعی   | ویژه   | داری     |
| تابع ۱     | ۴۰         | ۶۳/۹۷     | ۰/۰۰۰۰      | ۸۳/۶         | ۸۳/۶         | ۸۳/۵۷  | ۰/۰۰۹    |
| تابع ۲     | ۲۷         | ۳۲/۱۳     | ۰/۰۰۴       | ۹۲/۱         | ۸/۵          | ۸/۴۸   | ۰/۱۳۶    |
| تابع ۳     | ۱۶         | ۲۰/۵      | ۰/۰۴۳       | ۹۷           | ۴/۸          | ۴/۸۳   | ۰/۱۹۸    |
| تابع ۴     | ۷          | ۹/۰۴      | ۰/۲۴        | ۱۰۰          | ۳            | ۳/۰۱   | ۰/۳۵     |

میانگین و درصد انحراف از میانگین کل لاین‌ها و جدایه‌ها برای هر یک از خوشه‌ها در جداول ۵ و ۶ آورده شده‌اند.

جدول ۶- میانگین گروه‌ها و درصد انحراف از میانگین کل در جدایه‌های ریزوبیوم بومی شبدر ایرانی

| خوشه | جدایه                 | شاخص                      | وزن خشک     | وزن خشک  | ارتفاع       | نسبت         | تعداد کل    | درصد  |
|------|-----------------------|---------------------------|-------------|----------|--------------|--------------|-------------|-------|
|      |                       | همزیستی                   | اندام هوایی | خشک ریشه | ریشه به ساقه | گره روی ریشه | نیترژن (N%) |       |
| ۱    | ۱،۳،۷،۸،۱۳            | میانگین                   | ۷/۸         | ۳/۲۲     | ۱۹/۲۷        | ۰/۵۶         | ۱۸/۵۵       | ۰/۰۳۷ |
|      |                       | درصد انحراف از میانگین کل | ۱۰/۶۰       | ۸/۶۵     | ۲/۲۵         | ۹/۶          | ۱۳/۵۱       | -۲/۶۳ |
| ۲    | ۲،۴،۵،۶،۹،۱۰،۱۱،۱۲،۱۶ | میانگین                   | ۷/۰۷        | ۳/۰۸     | ۱۸/۷۷        | ۰/۵۳         | ۱۴/۴۱       | ۰/۰۴۵ |
|      |                       | درصد انحراف از میانگین کل | -۰/۳۲       | ۳/۷۶     | -۰/۴         | ۲/۴۵         | -۱۱/۷۷      | ۱۵/۵۵ |
| ۳    | ۱۴،۱۵                 | میانگین                   | ۷/۴۹        | ۲/۸      | ۱۹/۲۸        | ۰/۴          | ۱۷/۰۸       | ۰/۰۳۷ |
|      |                       | درصد انحراف از میانگین کل | -۱/۸        | ۴/۳۸     | -۵/۸۹        | ۲/۲۹         | ۴/۵۶        | -۰/۶۳ |
|      |                       | میانگین کل                | ۷/۱۷        | ۲/۹۷     | ۱۸/۸۵        | ۰/۵۱         | ۱۶/۳۴       | ۰/۰۲۸ |

جدول ۷- میانگین گروه‌ها و درصد انحراف از میانگین کل در لاین‌های شبدر ایرانی

| شاخص    | وزن     | تعداد | ارتفاع     | عملکرد    | سرعت      | وزن     | نسبت   | درصد    | نسبت   | عملکرد | خوشه                              | لاین |
|---------|---------|-------|------------|-----------|-----------|---------|--------|---------|--------|--------|-----------------------------------|------|
| همزیستی | خشک     | کل    | (سانتیمتر) | علوفه     | رشد       | ریشه    | برگ به | پروتئین | ریشه   | علوفه  | تر (تن)                           |      |
|         | اندام   | گره   |            | خشک در    | مجدد(در   | (گلدان) | ساقه   | علوفه   | به     | در     | در                                |      |
|         | هوایی   | روی   |            | مزرعه(تن) | مزرعه)    | (در     | (در    | مزرعه)  | بخش    | هوایی  | در                                |      |
|         | (گلدان) | ریشه  |            | در هکتار) | در هکتار) | مزرعه)  | مزرعه) | مزرعه)  | مزرعه) | مزرعه) | هکتار)                            |      |
| ۱/۲۴    | ۱۴/۳    | ۲۲/۲۶ | ۱۳/۷۸      | ۱۱/۵۶     | ۳۶/۶۱     | ۶/۳۸    | ۰/۷۱   | ۲۰/۳    | ۰/۴۳   | ۶۸/۹۶  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۱    |
| ۵/۰۸    | ۹۹/۴    | ۶۶/۹۹ | ۲۶/۸۵      | ۰/۵۲      | -۰/۱۶     | ۱۰۹/۸۶  | ۱/۴۲   | -۱/۳۶   | -۱۵/۶۸ | -۰/۶۱  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۱    |
| ۱/۱۶    | ۶/۷۸    | ۱۸/۷  | ۱۶/۲۴      | ۱۱/۵۱     | ۳۷/۶۶     | ۲/۴     | ۰/۶۹   | ۲۰/۴    | ۰/۳۷   | ۶۸/۹۷  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۲    |
| -۰/۶۸   | -۵/۴۳   | ۴۰/۲۸ | -۱۳/۸      | ۰/۰۸۶     | ۲/۶۹      | -۲۱/۰۵  | -۱/۴۲  | -۰/۸۷   | -۲۷/۴۵ | -۰/۶   | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۲    |
| ۱/۲۳    | ۲/۵۷    | ۱۵/۴۴ | ۱۵/۲۸      | ۱۱/۲۹     | ۳۷/۵۷     | ۲/۴     | ۰/۶۹   | ۲۱/۴    | ۱/۰۵   | ۶۷/۷۹  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۳    |
| ۴/۲۳    | -۴۶۴/۱۵ | ۱۵/۸۲ | ۱۸/۸۹      | -۱/۸۲     | ۲/۴۵      | -۲۱/۰۵  | -۱/۴۴  | ۳/۹۸    | ۱۰۵/۸۸ | -۲/۳   | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۳    |
| ۱/۱۸    | ۱۰/۲۴   | ۲۳/۱۴ | ۲۵/۱۵      | ۱۱/۹۸     | ۴۰/۰۵     | ۲/۹۲    | ۰/۷    | ۲۱/۲    | ۰/۳۱   | ۷۸/۷۸  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۴    |
| ۱/۷۲    | ۴۲/۸۱   | ۷۳/۵۹ | ۳۳/۴۹      | ۴/۱۷      | ۹/۲۱      | -۳/۹۴   | ۰      | ۳/۰۱    | -۳۹/۲۱ | ۱۳/۵۳  | میانگین درصد انحراف از میانگین کل | ۴    |
| ۱/۱۶۸   | ۷/۱۷    | ۱۶/۳۳ | ۱۸/۸۴      | ۱۱/۵۰     | ۳۷/۶۷     | ۳/۰۴    | ۰/۷    | ۲۰/۵۸   | ۰/۵۱   | ۶۹/۳۹  | میانگین کل                        |      |

گره روی ریشه، ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی از میانگین کل ارزش بیشتری داشتند.

برای لاین‌ها خوشه چهارم شامل تک لاین شماره ۱۳ از نظر میانگین کل صفات مورد ارزیابی به جز وزن خشک ریشه و نسبت ریشه به بخش هوایی ارزش بیشتری از میانگین کل نشان دادند. این لاین از آنجایی که از نظر شاخص‌های مزرعه‌ای نظیر عملکرد علوفه تر و خشک در هکتار، سرعت رشد مجدد و به‌ویژه از نظر کیفیت علوفه تولیدی (درصد پروتئین) و شاخص‌های گلخانه‌ای از جمله تعداد گره روی ریشه و شاخص

برای جدایه‌ها خوشه اول شامل جدایه‌های ۷، ۳، ۱، ۸ و ۱۳ بوده که از نظر میانگین کل صفات مورد ارزیابی به جز درصد نیتروژن بافت گیاهی ارزش بیشتری از میانگین کل نشان دادند. این گروه از نظر کارایی همزیستی و کاهش وابستگی گیاه به کودهای شیمیایی می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد. گروه دوم در صفات درصد نیتروژن بافت گیاهی، وزن خشک ریشه و نسبت ریشه به بخش هوایی و گروه سوم نیز در صفات تعداد کل

شاخص‌های همزیستی و صفات مورد نظر انتخاب شدند. این لاین به عنوان یک لاین اکولوژیک در همزیستی با جدایه بومی RTB<sub>2</sub> قادر خواهد بود ضمن تولید پایدار علوفه از تثبیت نیتروژن بیشتری در مقایسه با سایر لاین‌ها و توده های بومی برخوردار باشد. به کارگیری این ترکیب در مناطق شبدر کاری کشور می-تواند سالانه به کاهش قابل توجه مصرف کودهای نیتروژنه منجر گردد و این گامی مهم در حرکت به سوی اهداف کشاورزی پایدار کم‌نهاد، سلامت محیط زیست و تولید محصول سالم تلقی می‌گردد.

همزیستی با ارزش بالاتر از میانگین کل می‌توان آنرا به عنوان خوشه برتر و به عنوان یک لاین با پتانسیل تولید و کیفیت علوفه بالا و نیز قابلیت همزیستی برتر در راستای اهداف اکولوژیک به‌ویژه کشاورزی کم‌نهاد پایدار در برنامه های اصلاحی مورد استفاده قرارداد. گروه های اول، سوم و دوم در رتبه های بعدی قرار دارند.

### نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج تحقیق لاین شماره ۱۳ با جدایه بومی RTB<sub>2</sub> به عنوان گروه و ترکیب برتر از نظر

### منابع مورد استفاده

- Akbari G, Allahdadi A, Dashti Sh and Aghaalikhani H, 2012. Soil Microbiology (Microorganisms and plant growth). Publication of Tehran University. (In Persian).
- Antoun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R and Lalande R, 2002. Potential of *Rhizobium* and *Brady Rhizobium* species as plant growth promoting Rhizo-bacteria on non-legumes: effect on radish (*Raphanus sativus* L.). Plant and Soil, 204: 57-67.
- Asadi Rahmani H., Asgharzadeh A, Khavarzi K and Savagebi G, 2007. Biological productivity of soil. Publication of Jehad e Daneshgahi, (In Persian).
- Bagnasco P, 1998. *Fluorescent pseudomonas*: as a bio-control agents against forage legume root pathogenic fungi, Soil Biology and Biochemistry, 30: 1317-1322.
- Beck DP, Materon LA and Afandi F, 1993. Practical Rhizobium-Legume technology manual. Technical manual. 19: ICARDA, Alepo, Syria.
- Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB, Yanni YG and Rolfe BG, 2000. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agronomy Journal, 92: 880-886.
- Chabot R, Antoun H and Cescas M, 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli*. Plant and Soil, 184: 311-321.
- Daei D, Ardakani MR, Regali F and Teimori S, 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield and nutrient uptake using AM fugi under field condition. Journal of Plant Physiology, 166: 617-625.
- Dakora FD, 2003. Defining new roles for plant and Rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic Legumes. New Phytology, 157: 39-49.
- Dakora FD, Matiru VN, King M and Phillips DA, 2002. Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. Publication of Wallingford UK: CABI.
- Eric W and Terses BM, 1987. Trifolixin production and nodulation are necessary for the expression of superior nodulation competitiveness by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain T<sub>24</sub> on clover. Plant Physiology, 85: 335-342.
- Golipour H, Nabizadeh A and Nasrollahzadeh A, 2007. Study of nitrogen fixation among native Rhizobium lines in annual lucernes. Iranian Journal of Field Crop Research, 2(2): 78-83. (In Persian).

- Gonzalez-Lopez J, Martinez-Toledo MV, Rodelas B, Pozo C and Salmeron V, 1995. Production of aminoacids by free-living heterotrophic nitrogen-fixing bacteria. *Journal of Plant Physiology*, 124: 15-21.
- Goto I and Minson DJ, 1977. Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a Pepsin cellulase assay. *Animal Feed Science and Technology*, 2: 247-253.
- Hega K and Lino M, 1998. Auxin-growth relationships in maize coleoptiles and pea internodes and control by auxin of the tissue sensitivity to auxin. *Plant Physiology*, 117: 1473-1486.
- Hoflich G, Wiehe W and Kihn G, 1994. Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere micro-organisms. *Experimentia*, 50: 897-905.
- Kaneshiro T, and Kwoleck W, 1985. Stimulated nodulation of soybean by *Rhizobium japonicum* mutant (B-14075) that catabolizes the convection of tryptophan to indol-acetic acid. *Plant Science*, 42: 141-146.
- Khosravi H, Khavarzi K and Mirzashahi K, 2001. Application of inoculum instead of urea fertilizer in *Vicia faba* in Safiabad of Dezful. *Journal of Soil and Water*, 12: 244-261. (In Persian).
- Kremer R, and Souissi T, 2001. Cyanide production by Rhizo-bacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Microbiology*, 43: 182-186.
- Ligero F, Caba JM, Lluch C and Olivares J, 1986. Evolution of ethylene from roots of *Medicago sativa* plants inoculated with *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*, 125: 361-365.
- Meghvansi MK, Kamal P and Mahna SK, 2005. Identification of PH tolerant *Brady Rhizobium Japonicum* strains and their symbiotic effectiveness in soybean [*Glycine max* (L.) Merr] in low nutrient soil. *African Journal of Biotechnology*, 4: 633-666.
- Noel T, Shen C, Yost CK, Pharis RP and Hynes MF, 1996. *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth promoting Rhizo-bacterium: Direct growth promotion of canola and lettuce. *Microbiology*, 42: 279-283.
- Okereke GR, Onochie CC, Onvkwo AU, Onyeagba E and Ekejindu GD, 2000. Response of introduced *Brady Rhizobium* strains infecting a promiscuous soybean cultivar. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16: 43-48.
- Shahverdi M and Zamanian M, 2007. Evaluation of forage yield in late ripening of Iranian clover. Publication of Institute of Seed and Plant improvement of Karaj. (In Persian).
- Shahverdi M and Zamanian M, 2009. Evaluation of forage yield and other characteristics in late ripening of Iranian clover. Publication of Institute of Seed and Plant improvement of Karaj. (In Persian).
- Shahverdi M, Mirshekari B, Asadi Rahman, H., Rashidi V and Ardakani MR, 2012. Effect of biological and reduced rates of chemical fertilizers on forage yield (quantity and quality) in Persian clover. *Journal of Beh-Zeraei Keshavarzi*, 16(2): 271-287. (In Persian).
- Shahverdi M, Zamanian M and Soleymanpour SH, 2009. Evaluation of forage yield and its sustainability in late ripening of Iranian clover. Publication of Institute of Seed and Plant improvement of Karaj. (In Persian).
- Wilson JR, 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *Journal of Agricultural Science*, 122: 173-182.
- Yadgari M, Akbari G and Asadi Rahmani H, 2004. Effect of soybean seed inoculation with different strains of bacteria on nodulation and nitrogen fixation. *Iranian Journal of Agronomy Sciences*, 6 (1): 35-52. (In Persian).
- Zahir AZ, Abbas SA, Khalid A and Arshad M, 2000. Substrate dependence microbial derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3: 289-291.
- Zamanian M, 2002. Persian Clover. Publication of Seed and Plant Improvement Institute of Karaj. (In Persian).