

تأثیر دمای هوا و دمای منطقه ریشه بر عملکرد و تثبیت نیتروژن سه گونه یونجه یکساله

مجید امینی دهقی، سید علی محمد مدرس ثانوی*، مجید غلامحسینی و محمود پنج تن دوست^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۶/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱/۱۸)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر دمای هوا و دمای خاک بر عملکرد، اجزای عملکرد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن ۳ گونه یونجه یکساله (*Medicago polymorpha*, *M. radiata*, *M. rigidula*)، آزمایشی در شرایط کنترل شده (اتافک رشد) در سال ۱۳۸۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. آزمایش به صورت کرت‌های دوبار خرد شده، در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. دمای هوا در ۳ سطح شامل ۱۵/۱۰، ۲۰/۱۵ و ۲۵/۲۰ درجه سلسیوس شب/روز به عنوان فاکتور اصلی، دمای منطقه ریشه در ۴ سطح شامل ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سلسیوس به عنوان فاکتور فرعی و ۳ گونه یونجه یک ساله به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که گونه‌ها از لحاظ تولید ماده خشک، اجزای عملکرد و تثبیت نیتروژن تفاوت معنی‌داری داشته و گونه *M. rigidula* نسبت به سایر گونه‌ها از نظر میزان ماده خشک برگ، ساقه و ریشه، نسبت برگ و ساقه به ریشه و تعداد و سطح برگ برتر بوده و عملکرد بیشتری داشت. هم‌چنین دمای ۲۵/۲۰°C شب/روز هوا (گرم‌ترین دمای هوا) بیشترین مقدار گره‌زایی (۸/۸۵ میلی‌گرم ماده خشک گره در هر گلدان) و تثبیت نیتروژن (۷/۷۰ میلی‌گرم در گرم مقدار نیتروژن در توده گیاهی) را دارا بود که در مقایسه با دمای ۱۵/۱۰°C شب/روز هوا (سردترین دمای هوا)، افزایشی ۸ و ۲ برابری را به ترتیب در گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نشان داد. کاهش دمای منطقه ریشه تا ۵ درجه سانتی‌گراد، تأثیر به شدت کاهشی بر عملکرد و تثبیت نیتروژن هر ۳ گونه یونجه یک ساله داشت. بررسی اثر متقابل گونه‌ها، دمای هوا و دمای منطقه ریشه نشان داد گونه *M. rigidula* در دمای ۲۵°C هوا و ۱۵°C منطقه ریشه از لحاظ عملکرد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نسبت به سایر تیمارها برتر بود. هم‌چنین گونه *M. rigidula* در تمام دماهای پایین منطقه ریشه و هوا، رشد و نمو بهتری در مقایسه با سایر گونه‌ها داشت، بنابراین برای کشت در مناطق سرد و معتدل مناسب‌تر است. در مجموع می‌توان استنباط نمود که استفاده از یونجه‌های یکساله در مناطقی که در فصل رویش با افت دمای محیط به ویژه کاهش دمای خاک تا ۵°C، مواجه هستند موفقیت آمیز نیست، ولی در مناطقی که دمای حداقل خاک بیش از ۱۰°C باشد، این گیاهان رشد خوبی داشته و از طریق موفقیت در تثبیت نیتروژن قادر به تولید عملکرد مطلوب هستند.

واژه‌های کلیدی: تثبیت نیتروژن، دمای هوا، دمای منطقه ریشه، عملکرد، اجزای عملکرد، یونجه یکساله

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

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

مقدمه

محدودیت منابع کشاورزی در تأمین علوفه به منظور تولید محصولات دامی و فشار بیش از حد دام‌ها به مراتع کشور، سبب تخریب رو به تزاید منابع طبیعی شده و از طرف دیگر به علت مسایل اقتصادی و مقررات بازرگانی بین‌المللی امکان واردات محصولات دامی مشکل و پرهزینه است. بنابراین رفع موانع عمده تولید علوفه جهت رهایی از تنگنایهای اشاره شده امری اجتناب ناپذیر است. یکی از روش‌های افزایش تولید محصولات کشاورزی و دام‌داری، در تناوب قرار دادن گیاهان خانوادۀ بقولات علوفه‌ای به ویژه گونه‌های یک‌ساله آنها در آیش مزارع و نیز کشت مستقیم این گیاهان در مراتع طبیعی است. استفاده از این دسته از گیاهان این فرصت را به کشاورز می‌دهد تا بدون این که زمین خود را رها سازد میزان نیتروژن و حاصل خیزی خاک را افزایش دهد و هم‌زمان مقدار قابل توجهی علوفه برای دام‌های خود برداشت کند (۳۰). در بین گیاهان بقولات، یونجه‌های یک‌ساله از جمله گیاهانی هستند که با توجه به ویژگی‌های مطلوب آنها مانند ارزش علوفه‌ای مطلوب، تأثیر مثبت بر حاصل خیزی خاک و توسعه وسیع آنها در مقیاس جهانی، در کانون توجه قرار گرفته‌اند (۶).

استقرار یونجه‌های یک‌ساله در مراتع و مزارع به عوامل مختلفی بستگی دارد و یکی از مهم‌ترین آنها ایجاد همزیستی بین باکتری تثبیت کننده نیتروژن با میزبان آن می‌باشد که نتیجه این هم‌زیستی افزایش نیتروژن قابل دسترس برای گیاه (به ویژه در سیستم‌های کشاورزی پایدار که کمتر از کودهای شیمیایی استفاده می‌گردد) و در نهایت افزایش رشد گیاه و تولید محصول می‌باشد (۲۵ و ۳۰). از طرفی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر ایجاد هم‌زیستی مطلوب بین گیاه و باکتری، دمای محیط و به ویژه دمای خاک است (۲۶). یونجه‌های یک‌ساله اکثراً بومی مناطق مدیترانه با آب و هوای معتدل هستند و بنابراین تحمل آنها نسبت به سرمای زمستان کم است (۳۰). این در حالی است که بحرانی‌ترین زمان برای تولید علوفه در کشور ایران و کشورهای با اقلیم مشابه آن، اواخر پاییز و اوائل

زمستان می‌باشد، دوره‌ایی که محتوی رطوبت خاک در شرایط مطلوبی است ولی دمای پایین محیط و خاک، از رشد گیاه و تولید محصول جلوگیری می‌کند (۲۶).

گونه‌های مختلف یونجه‌های یک‌ساله دارای مقاومت‌های متفاوتی در برابر سرما می‌باشند و از این نظر در رویشگاه‌های مختلف نیز به صورت طبیعی و با توجه به میزان مقاومت در برابر سرما و سایر تنش‌های محیطی، گونه‌های خاصی از این جنس استقرار یافته‌اند (۲۱). برای مثال نتایج تحقیقات نشان داده گونه *Medicago rigidula* بیشترین پتانسیل زنده ماندن در زمستان را نسبت به سایر گونه‌های یونجه یک‌ساله داراست (۲۱). در مقابل گونه *Medicago polymorpha* در سطح وسیعی از شرایط آب و هوایی کشور انتشار یافته و از سازگارترین یونجه‌های یک‌ساله ایران است (۵) ولی مقاومت به سرمای این گونه به صورت جدی مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین ضرورت دارد گونه‌های مختلف از یونجه‌های یک‌ساله هم از نظر مقاومت به سرما و هم از نظر تولید محصول مورد ارزیابی قرار گیرند. در آب و هوای سرد، زمانی که دمای خاک به شکل قابل توجهی افت می‌کند، یونجه‌های یک‌ساله قادر به رشد فعال نمی‌باشند و در بهترین حالت فقط سرما را تحمل کرده و زنده می‌مانند. در چنین شرایطی تولید ماده خشک گیاهی به شدت کاهش می‌یابد و بدون تردید فعالیت باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (ریزوبیوم‌ها) نیز متوقف می‌گردد. مطالعات انجام شده در مورد تأثیر دمای پایین منطقه ریشه بر تثبیت نیتروژن در گیاه سویا (*Glycin max (L.) Merr.*) و سایر لگوم‌های علوفه‌ای نیمه‌گرمسیری مشخص نمود که کاهش دما موجب کاهش گره‌بندی و کاهش فعالیت و کارایی گره‌ها می‌گردد که نتیجه این فرایند افت چشمگیر عملکرد است (۲۲). لینچ و اسمیت (۲۳) گزارش کردند که دمای نامطلوب منطقه ریشه سرایت، آلودگی و توسعه گره‌ها را در سویا محدود کرده و تثبیت نیتروژن را تقریباً ۴ تا ۶ هفته پس از تلقیح به تأخیر می‌اندازد. اندک پژوهش‌های انجام گرفته به منظور پی بردن به فیزیولوژی کاهش تثبیت نیتروژن در دماهای پایین بر کاهش سیگنال‌های

مولکولی بین ریشه گیاه و باکتری تأکید داشتند (۱۷).

برای استفاده بیشتر از یونجه‌های یکساله در تناوب لازم است نسبت به کشت زود هنگام این گیاهان اقدام شود تا گیاهان دوره رویشی طولانی‌تری داشته، نیتروژن بیشتری تثبیت کنند و ضمن تولید علوفه بیشتر به حاصل‌خیزی مزارع و مراتع کشور کمک نمایند. از طرفی کشت زود هنگام مشکلات ناشی از دماهای پایین هوا و خاک را به همراه دارد بنابراین برای وصول به اهداف مطرح شده نیاز به ارقام مقاوم به سرماست که بتواند در دمای پایین هوا و خاک، جوانه زده، سریعاً سبز گردد و از طریق ایجاد همزیستی با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، تولید محصول مطلوب را تضمین نماید. با توجه به حساسیت ارقام وارداتی به سرما (۵)، ضرورت تحقیقات در زمینه مسایل اکولوژیک و فیزیولوژیک ارقام یونجه‌های یکساله بومی کشور مشخص می‌شود. بنابراین از بین گونه‌های متنوع یونجه‌های یکساله در ایران، ۳ گونه *Medicago polymorpha*، *Medicago rigidula* و *Medicago radiata* که دارای بیشترین پراکنش در مناطق معتدل و سرد کشور هستند، برای تحقیق انتخاب شدند.

علی‌رغم توجه زیادی که به استفاده از یونجه‌های یکساله در سیستم‌های کشاورزی پایدار وجود دارد، متأسفانه اطلاعات زیادی در مورد تأثیر سرما (به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده در رشد و تولید محصول این دسته از گیاهان) بر رشد و نمو، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن و در نهایت تولید عملکرد در بین گونه‌های مختلف یونجه‌های یکساله در اختیار نیست. بنابراین آزمایش حاضر به منظور بررسی تأثیر دماهای مختلف هوا و خاک بر رشد، تثبیت نیتروژن و عملکرد ۳ گونه یونجه یکساله در شرایط کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی دماهای مختلف هوا و خاک (منطقه ریشه) بر عملکرد، اجزای عملکرد و تثبیت نیتروژن در ۳ گونه یونجه یکساله، آزمایشی در سال ۱۳۸۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه

تربیت مدرس به صورت کرت‌های دوبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط کنترل شده (اتاقک رشد) اجرا شد. دمای هوا در ۳ سطح شامل ۱۵/۱۰، ۲۰/۱۵ و ۲۵/۲۰ درجه سانتی‌گراد شب/روز هر کدام در ۳ اتاقک رشد جداگانه به عنوان عامل اصلی، دمای منطقه ریشه در چهار سطح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد (برای تنظیم دمای منطقه ریشه، ۳ دستگاه مبرد مشابه طراحی و ساخته شد (هر اتاقک رشد یک دستگاه مبرد). دستگاه مذکور دارای ۳ بخش مجزا با کارکردی متفاوت بود که عبارت بودند از (۱) سیستم سردکننده دستگاه که سرمای مورد نیاز را بر اساس تعداد گلدها تأمین می‌نمود، (۲) سیستم گردش آب برای یکنواختی دما در هر یک از مخازن چهارگانه دستگاه (در هر یک از مخازن خود یکی از چهار سطح دمای منطقه ریشه تولید می‌گردید) و (۳) قسمت کنترل و تنظیم دمای دستگاه تا دماهای مختلف منطقه ریشه را با حساسیت 1°C تأمین نماید (۲). به عنوان عامل فرعی و ۳ گونه یونجه یکساله *Medicago radiata*، *Medicago polymorpha* cv. *Santiago* و *Medicago rigidula* cv. *Rigidula* به عنوان عامل فرعی فرعی در نظر گرفته شدند.

با توجه به محدودیت در تعداد اتاقک رشد و دستگاه‌های تأمین‌کننده دمای پایین در منطقه ریشه، بعد از انجام آزمایش‌های مربوط به یک تکرار با تغییر دمای روز و شب اتاقک‌های رشد (به منظور ایجاد یکنواختی در بین تیمارهای آزمایشی)، آزمایش‌های تکرار بعدی به اجرا درآمد. ابتدا بذرها با الکل اتیلیک ۹۵ درصد و محلول کلرید جیوه ۰/۲ درصد ضدعفونی و با آب مقطر شسته شدند. سپس گلدها با ارتفاع ۱۵ و قطر دهانه ۱۳ سانتی‌متر با کوارتز پر و بذرها در آنها کشت شدند (برای ضد عفونی گلدها از الکل اتیلیک ۹۸ درصد و برای ضد عفونی کوارتز از دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت استفاده شد) و آبیاری گلدها با آب مقطر انجام گرفت. در داخل هر اتاقک رشد دمای روز و شب براساس تیمار دمائی مربوطه، PPFD در بالای گلدها

$400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ، طول دوره روشنایی ۱۲ ساعت و رطوبت نسبی بین ۷۰ تا ۸۰ درصد متغیر بود (۲۰). در هر دستگاه مبرد ۱۲، در هر تکرار ۳۶ و در کل آزمایش ۱۰۸ گلدان مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انتقال گلدان‌ها به اتاقک رشد و استقرار بوته‌ها، عملیات تنک به منظور حفظ ۱۰ بوته یکنواخت در هر گلدان انجام گرفت (تراکم ۱۰۰۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد (۳۳)). هنگامی که برگ‌های لپه‌ای گیاهچه‌ها ظاهر شدند تغذیه با محلول غذایی هوگلند بدون نیتروژن آغاز شد.

جهت تلقیح گیاهان از باکتری *Rhizobium meliloti* که در محیط کشت سترون بدون آگار کشت داده شده بود، استفاده گردید. (برای تهیه باکتری، گره‌های فعال را از ریشه جدا و پس از شستشو، سترون کرده سپس آنها را به محیط کشت بدون آگار که در دمای 120°C به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ضدعفونی شده بود، اضافه و برای تکثیر سریع باکتری، محیط کشت به مدت ۴ روز در دمای 25°C قرار داده شد. پس از سپری شدن این زمان، باکتری‌ها جهت تلقیح قابل استفاده هستند.) پس از ظهور برگ‌های لپه‌ای به میزان یک میلی‌لیتر از محلول حاوی باکتری به ازای هر گلدان همراه با محلول غذایی، اضافه گردید.

در برداشت نهایی (۶۰ روز پس از تلقیح، هنگامی که گیاهان در حدود ۱۰ درصد گل‌دهی قرار داشتند) تمام بوته‌های هر گلدان همراه با ریشه برداشت و پس از شستشوی کامل ریشه‌ها به منظور جداسازی دانه‌های کوارتر، اقدام به جدا سازی ریشه و اندام هوایی از یکدیگر گردید. سپس کلیه برگ‌ها از ساقه جدا و تعداد و سطح برگ اندازه‌گیری شد. بعد از آن وزن ماده خشک ساقه، برگ و ریشه به تفکیک تعیین گشت (برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در آون الکتریکی با دمای 75°C قرار گرفتند و سپس با ترازوی دقیق (۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند). برای تعیین سطح برگ از دستگاه Leaf Area meter (ΔT , England) استفاده گردید. هم‌چنین تعداد گره‌های تلقیح شده روی ریشه شمارش شد و بعد از جداسازی گره‌ها، وزن خشک آنها اندازه‌گیری گردید. به علاوه

برای بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر مقدار نیتروژن تثبیت شده، از هر واحد آزمایشی (هر گلدان) نمونه‌ایی از ماده خشک گیاهی (اندام‌های هوایی گیاه) تهیه و بعد از آسیاب و عبور دادن از الک ۲ میلی‌متری، نمونه‌ها به روش هضم تر (۱) در لوله‌های مخصوص با اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک، آب اکسیژنه و سلنیم، هضم گردیده و به وسیله روش تیتراسیون بعد از تقطیر با استفاده از دستگاه Kjeltec Auto 1030 Analyzer, Tecator غلظت نیتروژن کل در نمونه‌های گیاهی تعیین شد (۱). در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۷) و MSTATC انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵٪ صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

اثرات اصلی، ۲ گانه و ۳ گانه تیمارهای آزمایشی بر مقدار ماده خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). گونه *M. rigidula* بیشترین ماده خشک برگ را تولید کرد، این گونه در مقایسه با ۲ گونه *M. polymorpha* و *M. radiata* به ترتیب، افزایشی ۱۹ و ۱۱۹ درصدی را در ماده خشک برگ نشان داد (جدول ۲). اگرچه گونه‌های متنوع یونجه یک‌ساله دوره زندگی مشابهی دارند، ولی از نظر صفات ظاهری و زراعی از جمله تعداد برگ با هم متفاوت هستند (۷). افزایش دمای منطقه ریشه تا سطح 15°C موجب افزایش ماده خشک برگ گردید اما دمای بالاتر آن باعث کاهش این صفت شد (جدول ۳). افزایش دمای محیط ریشه بیش از حد مطلوب، موجب افزایش تنفس ریشه و اختلال در جذب و انتقال عناصر غذایی به اندام‌های فتوسنتز کننده می‌گردد که این فرآیند تأثیر منفی بر تجمع ماده خشک در توده گیاهی دارد (۸). در مقابل، افزایش هر سطح دمای هوا، افزایش معنی‌دار ماده خشک برگ را به همراه داشت (جدول ۴). حداکثر ماده خشک برگ ($381/73$ میلی‌گرم در هر گلدان) از ترکیب بالاترین دمای هوا و دمای 15°C منطقه ریشه و حداقل آن با کاهش ۲۱ برابری از سردترین دمای هوا و منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۵). گزارش شده در دمای پایین‌تر از

جدول ۱. تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات مورد بررسی تحت تأثیر دمای هوا، منطقه ریشه (خاک) و گونه

منابع تغییر	درجه آزادی	ماده خشک برگ	ماده خشک ساقه	تعداد برگ	سطح برگ	ماده خشک ریشه	عملکرد بیولوژیک	نسبت برگ و ساقه	تعداد گره	ماده خشک گره	مقدار نیتروژن در توده گیاهی
دمای هوا	۲	۱۴۱۷۵۲/۱۹**	۱۶۱۲۳/۳۱**	۴۶۹/۳۹**	۳۳۳۷/۴۴**	۱۴۶۱۲/۶۹**	۲۷۶۴۱۲/۶۷**	۱۵/۸۱**	۹۸۹/۷۹**	۵۵۴/۴۸**	۱۳۳/۹۵**
خطای A	۴	۳۷/۴۸	۴۹/۴۰	۱/۸۴	۴/۴۴	۱۳/۵۵	۱۰۹۵/۶۸	۰/۲۰	۲/۲۰	۰/۵۴	۰/۱۹
دمای منطقه ریشه	۳	۸۱۴۹۰/۳۷**	۱۴۶۲۲/۶۷**	۳۷۳/۷۰**	۲۰۰۹/۱۶**	۴۳۳۹/۴۰**	۱۸۳۲۲/۷۵**	۲/۹۴**	۱۴۱۴/۵۴**	۵۶۸/۹۴**	۱۲۵/۸۰**
اثر متقابل دمای هوا و منطقه ریشه	۶	۵۶۸۷۹/۰۷**	۷۹۱۱/۹۴**	۱۲۱/۴۰**	۹۱۰/۰۸**	۳۲۸۲/۵۰**	۱۱۱۶۳۵/۶۷**	۱/۸۳**	۵۴۲/۲۸**	۳۰۹/۶۵**	۶/۹۲**
خطای B	۱۸	۲۱/۸۳	۱۰/۰۴	۱/۸۰	۸/۵۶	۱۰/۳۳	۱۰۶۴/۸۲	۰/۰۸	۰/۹۲	۰/۴۳	۰/۱۹۷
گونه	۲	۵۲۴۲۳/۲۳**	۹۴۳۶/۲۲**	۴۰/۸۵**	۱۱۰۴/۲۵**	۱۹۱۳/۳۳**	۹۹۰۷۴/۲۸**	۱۶/۵۸**	۲۰۴/۶۰**	۱۰/۵۹**	۱۲۲/۷۷**
اثر متقابل گونه در دمای هوا	۴	۱۲۶۹۲/۴۵**	۲۹۷۲/۸۷**	۳۸/۸۹**	۱۷۸/۴۰**	۲۸۳/۱۱**	۲۹۵۵۸/۰۹**	۲/۰۹**	۲۷۰/۶۶**	۳۵/۴۴**	۱۲/۹۵**
اثر متقابل گونه در دمای منطقه ریشه	۶	۷۱۰۰/۹۲**	۲۴۰۴/۶۳**	۱۸/۶۴**	۱۲۶/۴۱**	۱۹۱/۵۵**	۱۷۷۴۶/۳۹**	۱/۵۹**	۶۸/۵۵**	۱۸/۶۰**	۱/۱۹**
اثر متقابل گونه، دمای هوا و منطقه ریشه	۱۲	۷۸۶۹/۲۱**	۲۱۰۲/۴۵**	۱۸/۶۰**	۱۴۶/۴۵**	۸۰۶/۴۰**	۱۸۰۸۱/۷۹**	۰/۷۷**	۱۱۵/۱۴**	۲۱/۰۲**	۳/۹۷**
خطای C	۴۸	۲۹/۵۵	۱۲/۰۷	۱/۹۳	۱۲/۰۶	۷/۰۱	۹۳۶/۵۵	۰/۰۸	۰/۶۶	۰/۳۹	۰/۱۵
ضریب تغییرات		۵/۲۱	۹/۲۹	۱۵/۸۹	۱۹/۶۹	۷/۰۵	۲۰/۸۳	۹/۲۹	۸/۳۵	۱۱/۳۶	۶/۴۰

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر ارقام یونجه یکساله در هر گلدان به روش دانکن

<i>M. rigidula</i>	<i>M. radiata</i>	<i>M. polymorpha</i>	صفات
۱۳۶/۵ ^a	۶۲/۲ ^c	۱۱۴/۳ ^b	ماده خشک برگ (میلی گرم)
۳۶/۶ ^b	۲۱/۶ ^c	۵۳/۹ ^a	ماده خشک ساقه (میلی گرم)
۹/۴ ^a	۷/۵ ^b	۹/۳ ^a	تعداد برگ (هر بوته)
۲۲/۴ ^a	۱۱/۶ ^c	۱۹ ^b	سطح برگ (سانتی متر مربع)
۴۴/۲ ^a	۲۹/۸ ^c	۳۹/۳ ^b	میزان ماده خشک ریشه (میلی گرم)
۱۸۱/۱۱ ^a	۸۶/۵ ^b	۱۷۳/۰۸ ^a	عملکرد بیولوژیک (میلی گرم)
۴/۲ ^a	۳/۴ ^b	۴/۳ ^a	نسبت برگ و ساقه به ریشه
۱۲/۳۵ ^a	۷/۷ ^c	۹/۱ ^b	تعداد گره در ریشه
۶/۰۱ ^a	۵/۱ ^b	۵ ^b	میزان ماده خشک گره (میلی گرم)
۷/۹۲ ^a	۴/۲۳ ^c	۶ ^b	مقدار نیتروژن در گیاه (میلی گرم بر گرم)

میانگین‌های ارائه شده در هر ردیف که دارای حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر دمای منطقه ریشه در هر گلدان به روش دانکن

۲۰	۱۵	۱۰	۵	صفات
درجه سانتی‌گراد				
۱۱۲/۲ ^b	۱۷۹/۱ ^a	۸۲/۶ ^c	۴۳/۵ ^d	ماده خشک برگ (میلی گرم)
۴۱/۱ ^b	۶۷/۵ ^a	۲۸/۷ ^c	۱۲/۳ ^d	ماده خشک ساقه (میلی گرم)
۱۰/۵ ^b	۱۲/۵ ^a	۸/۲ ^c	۳/۸ ^d	تعداد برگ (هر بوته)
۱۹/۶ ^b	۲۸/۰ ^a	۱۵/۶ ^c	۷/۳ ^d	سطح برگ (سانتی متر مربع)
۳۵/۶ ^b	۵۶/۱ ^a	۳۲/۰ ^c	۲۷/۴ ^d	میزان ماده خشک ریشه (میلی گرم)
۲۵۴/۲۲ ^a	۱۵۸/۱۱ ^b	۱۱۶/۷ ^c	۵۸/۵۵ ^d	عملکرد بیولوژیک (میلی گرم)
۴/۸ ^a	۴/۶ ^{ab}	۴/۲ ^b	۲/۳ ^c	نسبت برگ و ساقه به ریشه
۸/۸۱ ^c	۱۶/۶۶ ^a	۱۳/۴۱ ^b	۰ ^d	تعداد گره در ریشه
۴/۲۷ ^c	۱۱/۰۶ ^a	۶/۲۱ ^b	۰ ^d	میزان ماده خشک گره (میلی گرم)
۸/۱۵۳ ^a	۶/۹۵ ^b	۶/۰۲۱ ^c	۳/۰۹۴ ^d	مقدار نیتروژن در گیاه (میلی گرم بر گرم)

میانگین‌های ارائه شده در هر ردیف که دارای حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر دمای هوا در هر گلدان به روش دانکن

صفات	۱۵	۲۰	۲۵
درجه سانتی‌گراد			
ماده خشک برگ (میلی گرم)	۵۰/۶ ^c	۸۹/۱ ^b	۱۷۳/۳ ^a
ماده خشک ساقه (میلی گرم)	۱۴/۳ ^c	۴۲/۱ ^b	۵۵/۸ ^a
تعداد برگ (هر بوته)	۵/۶ ^c	۸/۰ ^b	۱۲/۷ ^a
سطح برگ (سانتی متر مربع)	۱۰/۵ ^c	۱۳/۹ ^b	۲۸/۶ ^a
میزان ماده خشک ریشه (میلی گرم)	۱۴/۸ ^c	۵۲/۴ ^a	۴۶/۱ ^b
عملکرد بیولوژیک (میلی گرم)	۶۸/۲۲ ^c	۱۳۱/۱۳ ^b	۲۴۱/۳۳ ^a
نسبت برگ و ساقه به ریشه	۴/۵ ^b	۲/۵ ^c	۴/۹ ^a
تعداد گره در ریشه	۳/۷۵ ^c	۱۱/۸۵ ^b	۱۳/۵۶ ^a
میزان ماده خشک گره (میلی گرم)	۱/۱۲ ^c	۶/۱۹ ^b	۸/۸۵ ^a
مقدار نیتروژن در گیاه (میلی گرم بر گرم)	۳/۹۳ ^c	۶/۵۳ ^b	۷/۷۰ ^a

میانگین‌های ارائه شده در هر ردیف که دارای حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

درحالی که ساقه و دمبرگ‌ها تا ۱۵۷ روز بعد از کاشت نیز افزایش ماده خشک داشتند (۳۴).

تمامی اثرات اصلی و متقابل تیمارها از لحاظ مقدار ماده خشک ساقه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). گونه *M. polymorpha* و *M. radiata* با ۵۳/۹ و ۲۱/۶ میلی‌گرم در گلدان به ترتیب حداکثر و حداقل ماده خشک ساقه را دارا بودند (جدول ۲). دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد محیط ریشه بیشترین و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد محیط ریشه کمترین مقدار ماده خشک ساقه را تولید کردند (جدول ۳). گرم‌ترین دمای هوا (۲۵°C) حداکثر و سردترین آن (۱۵°C) حداقل ماده خشک ساقه را حاصل نمودند (جدول ۴). بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل دمای هوا و دمای منطقه ریشه نشان داد ترکیب بالاترین دمای هوا با دمای ۱۵°C محیط حداکثر ماده خشک ساقه (۱۳۳/۳۵ میلی‌گرم در گلدان) و ترکیب سردترین دمای هوا و محیط ریشه با کاهشی ۲۵ برابری، کمترین مقدار ماده خشک ساقه را تولید کردند (جدول ۵). بیشترین ماده خشک ساقه به مقدار ۸۷/۸۲ میلی‌گرم در گلدان متعلق به گونه

حد مطلوب برای رشد سویا (۷°C) مدت زمان مورد نیاز برای تشکیل برگ‌ها افزایش می‌یابد و در نهایت از طریق کاهش تعداد برگ، ماده خشک تجمع یافته در برگ‌ها کاهش پیدا می‌کند (۲۲). گونه *M. polymorpha* در دمای ۱۵°C محیط ریشه و گونه *M. rigidula* در دمای ۲۵°C هوا بیشترین ماده خشک برگ را تولید کردند (جدول ۶ و ۷). گونه *M. polymorpha* با ۵۰۳/۱ میلی‌گرم در گلدان حداکثر میزان ماده خشک برگ را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد هوا و دمای ۱۵°C منطقه ریشه و گونه *M. radiata* با ۱۳/۷ میلی‌گرم در گلدان حداقل آن را در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد هوا و دمای ۵°C منطقه ریشه تولید نمودند. گونه *M. rigidula* در کلیه سطوح تیماری دمای هوا و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منطقه ریشه ماده خشک برگ بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها داشت که حاکی از مقاومت بیشتر این گونه به دمای پایین منطقه ریشه می‌باشد (جدول ۸). میزان ماده خشک برگ در یونجه‌های یک ساله به عوامل متعددی بستگی دارد. در آزمایشی میزان ماده خشک برگ‌ها ۱۰۴ روز بعد از کاشت به بیشترین حد خود رسیده و سپس کاهش یافت،

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های صفات زراعی تحت تأثیر اثر متقابل دمای هوا و دمای منطقه ریشه در هر گلدان

مقدار نیترژن در توده گیاهی	ماده خشک	تعداد گره	نسبت برگ و ساقه به ریشه	عملکرد بیولوژیک	ریشه (میلی‌گرم)	سطح برگ (مسانی‌متر مربع)	تعداد برگ	ماد خشک ساقه (میلی‌گرم)	ماد خشک برگ (میلی‌گرم)	دمای منطقه ریشه (درجه سانتی‌گراد)	دمای هوا (درجه سانتی‌گراد)
۱/۷۵ ^h	۰.۵ ^g	۰.۱	۲/۴۳ ^{de}	۲۵/۱۱ ^f	۱۰/۳۳ ^g	۳/۵۵ ^e	۲/۳۶ ^f	۵/۵۳ ⁱ	۱۸/۴۳ ⁱ	۵	۵
۳/۳۸ ^g	۰/۹۸ ^f	۲/۵۳ ^h	۵/۰۵ ^b	۶۱/۱۱ ^e	۱۲/۱۱ ^g	۹/۷۷ ^d	۵/۰ ^{de}	۱۳/۶۸ ⁱ	۴۴/۳۸ ^h	۱۰	۱۵
۳/۹۲ ^e	۰/۷۳ ^f	۳/۰۶ ^h	۵/۷۱ ^a	۶۲/۲۲ ^e	۱۱/۱۱ ^g	۱۰/۵۵ ^d	۵/۱۶ ^{de}	۱۴/۸۷ ⁱ	۴۴/۲۰ ^h	۱۵	۱۵
۶/۶۶ ^d	۲/۷۷ ^e	۹/۴۰ ^f	۴/۹۱ ^b	۱۲۴/۴۴ ^c	۲۵/۶۶ ^f	۱/۸ ^e	۹/۸۵ ^c	۲۳/۰۲ ^g	۹۵/۵۳ ^e	۲۰	۲۰
۳/۰۴ ^g	۰.۵ ^g	۰.۱	۲/۰۲ ^e	۷۴/۸۹ ^{de}	۴۱/۸۸ ^d	۸/۴۴ ^d	۳/۹۵ ^e	۱۸/۳۳ ^h	۵۶/۵۵ ^g	۵	۵
۶/۲۶ ^d	۹/۲۲ ^b	۱/۸۳ ^c	۱/۸۳ ^e	۹۸/۶۷ ^{cd}	۵۴/۱۱ ^c	۱۱/۱۱ ^d	۵/۵۵ ^d	۲۸/۸۸ ^f	۶۹/۷۷ ^f	۱۰	۲۰
۷/۸۲ ^c	۸/۵۷ ^{bc}	۱/۶۵ ^d	۲/۷۵ ^d	۱۶۵/۶۷ ^b	۶۱/۵۵ ^b	۱۸/۲۲ ^c	۱۰/۵۱ ^c	۵۴/۲۲ ^c	۱۱۱/۴۴ ^d	۱۵	۱۵
۸/۹۹ ^a	۶/۹۶ ^d	۱/۲۵ ^e	۳/۵۵ ^c	۱۸۵/۳۳ ^b	۵۲/۲۲ ^c	۱۷/۶۶ ^c	۱۱/۲۵ ^c	۶۶/۷۷ ^b	۱۱۸/۵۵ ^c	۲۰	۲۰
۴/۴۷ ^e	۰.۵ ^g	۰.۱	۲/۸۳ ^{de}	۷۵/۶۷ ^{de}	۲۹/۸۸ ^e	۹/۸۸ ^d	۵/۱۵ ^{de}	۱۲/۹۷ ⁱ	۵۵/۴۷ ^g	۵	۵
۸/۴۱ ^b	۸/۴۴ ^c	۱/۹۳ ^b	۵/۸۱ ^a	۱۹۰/۳۳ ^b	۲۹/۸۸ ^e	۲۵/۸۸ ^b	۱۴/۰۲ ^b	۴۳/۶۰ ^d	۱۳۳/۵۵ ^b	۱۰	۲۵
۹/۱۲ ^a	۲۳/۸۸ ^a	۳۰/۳۶ ^a	۵/۳۴ ^{ab}	۵۳۴/۷۸ ^a	۹۵/۶۶ ^a	۵۵/۳۳ ^a	۲۱/۰۷ ^a	۱۳۳/۳۵ ^a	۳۸۱/۷۳ ^a	۱۵	۱۵
۸/۸۰ ^{ab}	۳/۰۶ ^e	۴/۵۱ ^g	۵/۸۷ ^a	۱۶۴/۵۶ ^b	۲۸/۸۸ ^e	۲۳/۲۲ ^b	۱۰/۵۱ ^c	۳۳/۳۸ ^e	۱۲۲/۵۶ ^c	۲۰	۲۰

میانگین‌های ارائه شده در هر ستون در هر تیمار که دارای حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری به روش دانکن (در سطح ۱/۵) ندارند.

منطقه ریشه تا 15°C باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ گردید اما افزایش بیشتر آن (از 15 به 20 درجه سانتی‌گراد) باعث کاهش تعداد برگ شد (جدول ۳). در مقابل افزایش هر سطح دمای هوا (از 15 به 20 و از 20 به 25 درجه سانتی‌گراد) باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ گردید (جدول ۴). روبین و همکاران (۲۶) کاهش تعداد برگ را در اثر کاهش دمای محیط، در یونجه‌های یک‌ساله گزارش کردند. حداقل تعداد برگ از ترکیب سردترین دمای منطقه ریشه و هوا و حداکثر آن در دمای 15°C منطقه ریشه و 25°C هوا به دست آمد (جدول ۵). گونه *M. polymorpha* در دمای 25°C هوا حداکثر تعداد برگ و گونه *M. radiata* در دمای 15°C هوا کمترین آن را دارا بودند (جدول ۶). بررسی اثر متقابل گونه و دمای منطقه ریشه نشان داد ترکیب گونه *M. polymorpha* در سردترین دمای منطقه ریشه کمترین تعداد برگ و همین گونه در دمای 15°C سانتی‌گراد منطقه ریشه بیشترین تعداد برگ را حاصل کرد (جدول ۷). دمای پایین منطقه ریشه از طریق تأخیر در ایجاد آلودگی ریشه به وسیله باکتری، مانع از تثبیت نیتروژن می‌گردد و کاهش در فراهمی نیتروژن، کاهش در رشد و نمو گیاهان خانواده بقولات را به همراه دارد (۳۱). گونه *M. polymorpha* در بالاترین دمای هوا و دمای 15°C منطقه ریشه بیشترین تعداد برگ (۲۹ عدد برگ در گلدان) و گونه *M. radiata* در سردترین دمای هوا و منطقه ریشه کمترین تعداد برگ (۲/۲ عدد برگ در گلدان) را دارا بودند (جدول ۸). روبین و همکاران (۲۶) کاهش تعداد برگ در اثر کاهش دمای محیط را به تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش سرعت رشد گیاه نسبت دادند.

تمامی اثرات اصلی و متقابل تیمارهای آزمایشی از لحاظ سطح برگ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). گونه *M. rigidula* با سطح برگ $22/4$ (سانتی‌مترمربع در گلدان) در مقایسه با ۲ گونه *M. polymorpha* و *M. radiata* به ترتیب افزایشی ۱۸ و ۹۳ درصدی را در سطح برگ نشان داد (جدول ۲). با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار در تعداد برگ

M. polymorpha در دمای 25°C هوا و کمترین آن (۱۰/۸۷ میلی‌گرم در گلدان) متعلق به گونه *M. radiata* در دمای 15°C هوا بود (جدول ۶). در پایین‌ترین دمای هوا (15°C هوا) گونه‌های *M. polymorpha* و *M. rigidula* در مقایسه با گونه *M. radiata* ماده خشک بیشتری را در ساقه دارا بودند. با توجه به این نکته که گونه‌های *M. polymorpha* و *M. rigidula* دارای عادت رشدی خوابیده هستند (۲۹) علاوه بر این که مقاومت بیشتری در مقابل سرما نشان می‌دهند، ماده خشک بیشتری را نیز در ساقه نگه‌داری می‌کنند (۲۸). حداکثر ماده خشک ساقه از گونه *M. polymorpha* در دمای 15°C سانتی‌گراد منطقه ریشه و حداقل آن از گونه *M. radiata* در سردترین دمای منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۷). بیشترین مقدار ماده خشک ساقه در گونه *M. polymorpha* در دمای 15°C منطقه ریشه و دمای 25°C هوا و کمترین آن در گونه‌های *M. radiata* و *M. polymorpha* در دمای 15°C هوا و دمای 5°C منطقه ریشه حاصل شد (جدول ۸). روند تغییرات میزان ماده خشک ساقه در گونه *M. rigidula* نشان می‌دهد که در همه سطوح تیمار دمای هوا و دمای 5°C منطقه ریشه مقدار ماده خشک ساقه بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها دارا بود که نشان دهنده مقاومت بیشتر این گونه به دمای پایین منطقه ریشه می‌باشد (جدول ۸). گونه‌های یونجه یک‌ساله *M. truncatula* و *M. sativa*، *M. polymorpha*، *M. rigidula* از لحاظ ماده خشک برگ و ساقه متفاوت بودند (۱۴). براساس همین گزارش گونه *M. rigidula* نسبت وزن خشک ساقه به برگ بیشتری در مقایسه با سایر گونه‌های یونجه‌های یک‌ساله داشت.

اثرات اصلی ارقام، دمای هوا و دمای منطقه ریشه و نیز تمامی اثرات متقابل در تعداد برگ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). گونه‌های *M. rigidula* و *M. polymorpha* به ترتیب با $9/4$ و $9/3$ عدد برگ در گلدان بیشترین و گونه *M. radiata* با $7/5$ عدد برگ در گلدان کمترین تعداد برگ را دارا بودند (جدول ۲). افزایش دمای

جدول ۶. مقایسه میانگین های صفات زراعی تحت تأثیر اثر متقابل دمای هوا و گونه در هر گلدان

مقدار نیتروژن در توده	مقدار خشک	ماده خشک	تعداد	نسبت برگ و	عملکرد	عمق ریشه	ماده خشک ریشه	ماده برگ	سطح برگ	تعداد برگ	ماده خشک	ساقه (میلی گرم)	برگ خشک (میلی گرم)	ماده خشک برگ	گونه	دمای هوا
(میلی گرم بر گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	گره	ساقه به ریشه	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی متر مربع)	(میلی متر مربع)	(میلی متر مربع)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)		(درجه سانتی گراد)
۳/۲۷ ^g	۰/۶۴ ^g	۱/۳۶ ^f	۲/۲۵ ⁱ	۴/۵۰ ^b	۶۶/۶۷ ^{ef}	۱۴/۰۸ ^e	۱۰/۱۶ ^d	۶/۰۴ ^d	۱۶/۵۲ ^f	۳۸/۶۵ ^h	<i>M. polymorpha</i>	۱۵				
۱/۵۵ ^h	۱/۳۶ ^f	۱/۳۶ ^f	۳/۵۶ ^h	۴/۶۲ ^b	۴۹/۱۷ ^f	۱۰/۵۸ ^f	۶/۰۸ ^e	۴/۸۰ ^e	۱۰/۷۸ ^g	۳۵/۴۳ ⁱ	<i>M. radiata</i>	۱۵				
۶/۹۷ ^d	۱/۳۶ ^f	۱/۳۶ ^f	۵/۴۳ ^g	۴/۴۴ ^b	۸۸/۸۳ ^{de}	۱۹/۷۵ ^d	۱۵/۱۶ ^c	۵/۹۵ ^d	۱۵/۵۴ ^f	۶۷/۸۳ ^f	<i>M. rigidula</i>	۲۰				
۶/۵۹ ^e	۶/۰۹ ^d	۱/۳۶ ^f	۱۴/۴۳ ^b	۲/۸۳ ^{cd}	۱۵۶/۰۸ ^b	۵۵/۱۶ ^a	۱۵/۶۶ ^c	۷/۰۲ ^d	۵۷/۵۰ ^b	۹۸/۵۸ ^d	<i>M. polymorpha</i>	۲۰				
۵/۶۱ ^f	۷/۲۲ ^c	۱/۳۶ ^f	۱۱/۴۲ ^c	۲/۴۰ ^d	۹۳/۵۸ ^{cd}	۴۶/۵۸ ^b	۱۰/۶۶ ^d	۸/۴۲ ^c	۳۲/۰۸ ^d	۶۱/۵۰ ^g	<i>M. radiata</i>	۲۰				
۷/۳۸ ^e	۵/۲۵ ^e	۱/۳۶ ^f	۹/۸۱ ^e	۲/۵۷ ^d	۱۴۳/۷۵ ^b	۵۵/۵۸ ^a	۱۵/۲۵ ^c	۸/۴۷ ^c	۳۶/۵۸ ^e	۱۰۷/۱۶ ^c	<i>M. rigidula</i>	۲۰				
۸/۱۵ ^b	۸/۳۸ ^b	۱/۳۶ ^f	۱۰/۶۴ ^d	۵/۵۳ ^a	۲۹۶/۵۰ ^a	۴۸/۷۵ ^b	۳۱/۰۸ ^b	۹/۳۵ ^c	۸۷/۸۲ ^a	۱۹۵/۷۵ ^b	<i>M. polymorpha</i>	۲۵				
۵/۵۳ ^f	۶/۷۵ ^c	۱/۳۶ ^f	۸/۱۳ ^f	۳/۴۰ ^c	۱۱۶/۷۵ ^c	۳۲/۳۳ ^c	۱۷/۹۱ ^c	۱۳/۸۶ ^b	۲۱/۹۲ ^e	۸۹/۶۳ ^c	<i>M. radiata</i>	۲۵				
۹/۴۱ ^a	۱۱/۴۱ ^a	۱/۳۶ ^f	۲۱/۹۱ ^a	۵/۶۲ ^a	۳۱۰/۷۵ ^a	۵۷/۱۶ ^a	۳۶/۷۵ ^a	۱۴/۹۵ ^a	۵۷/۷۲ ^b	۲۴۳/۵۷ ^a	<i>M. rigidula</i>	۲۵				

میانگین های ارائه شده در هر ستون در هر تیمار که دارای حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی داری به روش دانکن (در سطح ۰/۰۵) ندارند.

مقایسه میانگین اثرات ۳ گانه نشان داد که گونه *M. polymorpha* در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد هوا و ۱۵ درجه سانتی گراد منطقه ریشه بیشترین ماده خشک ریشه (۱۱۹/۷ میلی گرم در گلدان) را تولید کرد. در مقابل گونه *M. radiata* در پایین ترین دمای هوا و منطقه ریشه، کمترین ماده خشک ریشه (۷ میلی گرم در گلدان) را حاصل نمود (جدول ۸).

بین آثار اصلی و متقابل تیمارهای آزمایشی در عملکرد بیولوژیک تفاوت معنی داری ($P \leq 0/01$) مشاهده شد (جدول ۱). حداکثر ماده خشک گیاهی از گونه *M. rigidula* (۱۸۱/۱۱ میلی گرم در گلدان) و حداقل آن با کاهش ۵۲ درصدی از گونه *M. radiata* به دست آمد (جدول ۲). افزایش دمای منطقه ریشه تا ۱۵ درجه سانتی گراد باعث افزایش عملکرد بیولوژیک شد، ولی سطح بالاتر آن (20°C) نه تنها عملکرد بیولوژیک را افزایش نداد، بلکه موجب کاهش معنی دار آن گردید (جدول ۳). به طور کلی، اثر دما بر تخصیص زیست توده به نحوی است که سرمایه گذاری نسبی ماده خشک به ریشه، در دمای مطلوب (در این آزمایش در محدوده ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی گراد) کاهش و در دماهای پایین تر و بالاتر افزایش می یابد (۹). تحقیقات نشان داده است که افزایش دمای ریشه بالاتر از حد مطلوب، نیاز تنفسی ریشه را افزایش می دهد و غلظت کربوهیدرات ها را در کل گیاه و یا در اندام های هوایی، کاهش می دهد (۱۰). حداکثر عملکرد بیولوژیک از بالاترین دمای هوا (25°C) به دست آمد که در مقایسه با دمای ۲۰ و ۱۵ درجه سانتی گراد به ترتیب افزایشی حدود ۲ و ۳/۵ برابری را نشان داد (جدول ۴). دمای 20°C هوا در ترکیب با دمای 15°C منطقه ریشه موجب تولید بیشترین عملکرد بیولوژیک گردید، در حالی که سردترین دمای هوا و منطقه ریشه کمترین عملکرد بیولوژیک را حاصل کرد (جدول ۵). با کاهش دمای هوا و محیط ریشه، به دلیل کاهش تشکیل گره بر ریشه و کاهش فراهمی نیتروژن، سرعت رشد گیاه کم شده و این امر موجب افت عملکرد بیولوژیک گردید. نتایج تحقیقات سلطان و همکاران (۳۰) نیز منطبق با یافته های این بخش از آزمایش بود.

بین ۲ گونه *M. polymorpha* و *M. rigidula* (جدول ۲) مشخص می شود افزایش سطح برگ در گونه *M. rigidula* ناشی از تولید برگ های بزرگ تر است. حداقل سطح برگ در دمای ۵ درجه سانتی گراد منطقه ریشه و حداکثر آن با افزایشی حدود ۴ برابری در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۳). افزایش دمای هوا از ۱۵ به ۲۰ و از ۲۰ به ۲۵ درجه سانتی گراد به ترتیب موجب افزایش ۳۲ و ۱۰۶ درصدی سطح برگ شد (جدول ۴). افزایش سطح برگ در یونجه های یکساله در اثر افزایش دمای محیط توسط هکنبی و همکاران (۲۰) گزارش شده است. کاهش در توان فتوسنتزی گیاه ناشی از عدم همزیستی مناسب بین گیاه و باکتری در دمای پایین محیط، به عنوان مهم ترین عامل برای کاهش تعداد و متعاقباً در سطح برگ یونجه های یکساله گزارش شده است (۲۰).

تمامی آثار اصلی و متقابل تیمارهای اعمال شده بر میزان ماده خشک ریشه اثر معنی داری داشتند (جدول ۱). گونه *M. rigidula* با ۴۴/۱ میلی گرم در گلدان حداکثر و گونه *M. radiata* با ۲۹/۸ میلی گرم در گلدان حداقل میزان ماده خشک ریشه را دارا بودند (جدول ۲). بیشترین مقدار ماده خشک ریشه (۹۵/۶ میلی گرم در گلدان) در دمای 25°C هوا و 15°C منطقه ریشه و کمترین آن در دمای 15°C هوا و 5°C محیط ریشه به دست آمد (جدول ۵). گونه *M. rigidula* در دمای 25°C هوا بیشترین مقدار ماده خشک ریشه را دارا بود، در مقابل کمترین آن از گونه *M. radiata* در دمای 15°C هوا به دست آمد (جدول ۶). در تمامی گونه ها افزایش دمای منطقه ریشه تا ۱۵ درجه سانتی گراد موجب افزایش ماده خشک ریشه شد، در این بین واکنش ۲ گونه *M. polymorpha* و *M. rigidula* در مقایسه با گونه *M. radiata* به این افزایش دما شدیدتر بود به نحوی که افزایش دما از ۱۰ به 15°C در منطقه ریشه باعث افزایش ۱۰۴ و ۶۳ درصدی ماده خشک ریشه به ترتیب در ۲ گونه یاد شده گردید. ولی این افزایش دما در گونه *M. radiata* تنها ۵۸ درصد ماده خشک ریشه را افزایش داد (جدول ۷).

حداکثر عملکرد بیولوژیک از گونه *M. polymorpha* در دمای 25°C هوا و 15°C منطقه ریشه و حداقل آن از گونه *M. radiata* در دمای 15°C و 5°C هوا و منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۸). اکارد و فرانکس (۱۵) گزارش کردند در گیاهان چاودار و شبدر سفید و در دمای مطلوب محیط، دسترسی گیاه به نیتروژن بیشتر شده و این امر موجب طولانی‌تر شدن دوره رشد گیاه و در نهایت تجمع ماده خشک بیشتر در توده گیاهی می‌گردد.

بین ارقام و سطوح مختلف دمای هوا و منطقه ریشه و اثرات متقابل آنها در نسبت برگ و ساقه به ریشه تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). دو گونه *M. polymorpha* و *M. rigidula* از لحاظ نسبت برگ و ساقه به ریشه در گروه آماری برتر و گونه *M. radiata* در گروه آماری پایین‌تر قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل دمای هوا و منطقه ریشه نشان داد بیشترین مقدار نسبت برگ و ساقه به ریشه از گرم‌ترین دمای هوا و منطقه ریشه ($5/87$) و کمترین آن از دمای 20°C هوا و 10°C منطقه ریشه ($1/83$) به دست آمد (جدول ۵). هکنبی و همکاران (۲۰) گزارش کردند در اثر سرما و به دلیل تجمع مواد محلول در ریشه، نسبت اندام هوایی به ریشه کاهش می‌یابد و با افزایش دما و در اثر افزایش سرعت فتوسنتز اندام هوایی و تجمع ماده خشک در برگ‌ها و ساقه، این نسبت افزایش می‌یابد. بیشترین نسبت برگ و ساقه به ریشه از گونه *M. rigidula* در گرم‌ترین دمای هوا و منطقه ریشه و کمترین آن از دو گونه *M. radiata* و *M. polymorpha* در سردترین دمای هوا و منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۸).

گونه‌ها، دمای هوا و دمای منطقه ریشه و نیز اثرات متقابل آنها از نظر تعداد گره در ریشه تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). گونه *M. rigidula* با $12/35$ عدد گره در گلدان حداکثر و گونه *M. radiata* با $7/7$ گره در گلدان کمترین تعداد گره در ریشه را تولید کردند (جدول ۲). دماهای 5°C و 15°C منطقه ریشه به ترتیب با 0 و $16/66$ کمترین و بیشترین تعداد گره را دارا بودند (جدول ۳). نتایج حاصله با نتایج ژانگ و

همکاران (۳۱) که مشخص نمودند در دمای پایین منطقه ریشه، تعداد گره ریشه سویا با افزایش دما افزایش می‌یابد مطابقت دارد. دمای 25°C هوا با $13/56$ گره در گلدان بیشترین و دمای 15°C با $3/75$ گره در گلدان کمترین تعداد گره ریشه را دارا بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد گره در ریشه با $30/3$ گره در گلدان در دمای 25°C هوا و دمای 15°C منطقه ریشه و کمترین آن با تعداد 0 عدد در تمام دماهای هوا و در دمای 5°C منطقه ریشه مشاهده شد (جدول ۵).

بیشترین تعداد گره در ریشه در گونه *M. rigidula* در دمای 15°C و کمترین آن (بدون تشکیل گره) در هر 3 گونه، در دمای 5°C منطقه ریشه مشاهده شد (جدول ۷). اثرات متقابل سه‌گانه تیمارها نشان داد که بیشترین تعداد گره در ریشه ($46/6$ عدد در گلدان) در گونه *M. rigidula* در دمای 25°C هوا و دمای 15°C منطقه ریشه و کمترین تعداد گره در ریشه (عدد) در هر 3 گونه در دماهای مختلف هوا و دمای 5°C منطقه ریشه حاصل شد (جدول ۸).

اثر اصلی گونه‌ها، دمای هوا و دمای منطقه ریشه و اثرات متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک گره ریشه داشتند ($P \leq 0/01$) (جدول ۱). گونه *M. rigidula* با $6/01$ میلی‌گرم در گلدان بیشترین و گونه *M. polymorpha* با 5 میلی‌گرم در گلدان کمترین میزان ماده خشک گره ریشه را دارا بودند (جدول ۲).

گونه‌های مختلف یونجه‌های یکساله توان متفاوتی در تشکیل گره و تثبیت نیتروژن دارند (۱۳). دمای 5°C منطقه ریشه با 0 میلی‌گرم گره ریشه در گلدان کمترین و دمای 15°C با $11/06$ میلی‌گرم در گلدان بیشترین میزان ماده خشک گره ریشه را دارا بودند (جدول ۳). نتایج به دست آمده با نتایج ژانگ و همکاران (۳۱) در خصوص تأثیر دمای پایین منطقه ریشه در کاهش وزن خشک گره در گیاه سویا مطابقت دارد. دمای 25°C هوا با $8/85$ میلی‌گرم در گلدان بیشترین و دمای 15°C با $1/12$ میلی‌گرم در گلدان کمترین میزان ماده خشک گره ریشه را دارا بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که

ریشه سویا و سایر لگوم‌های علفوفه‌ای نیمه گرمسیری تأثیر منفی داشته و در نهایت از طریق کاهش تثبیت نیتروژن، فراهمی این عنصر غذایی برای گیاه کاهش می‌یابد با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (۲۲ و ۲۳). دمای 25°C هوا با $7/702$ میلی‌گرم در گرم بیشترین مقدار نیتروژن و دمای 15°C درجه سانتی‌گراد هوا با $93/3$ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار نیتروژن را دارا بودند (جدول ۴). بیشترین مقدار نیتروژن گیاه در دمای $25/15^{\circ}\text{C}$ منطقه ریشه/ هوا و کمترین مقدار نیتروژن در دمای 15°C هوا و دمای 5°C درجه سانتی‌گراد منطقه ریشه مشاهده گردید (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین اثرات سه‌جانبه نشان داد که بیشترین مقدار نیتروژن در توده گیاهی در گونه *M. rigidula* در دمای 15°C منطقه ریشه و 25°C درجه هوا به میزان $11/1$ میلی‌گرم در گرم و کمترین آن با کاهشی حدود 79 برابری ($0/14$ میلی‌گرم در گرم) از گونه *M. radiata* در سردترین دمای منطقه ریشه و هوا (5 و 15 درجه سانتی‌گراد) به دست آمد (جدول ۸).

بحث و نتیجه‌گیری

گونه‌ها از لحاظ تولید ماده خشک، اجزای عملکرد، گره‌زایی و در نهایت تثبیت نیتروژن تفاوت معنی‌داری داشتند و گونه *M. rigidula* در اکثر صفات مورد بررسی برتر بود و عملکرد ماده خشک بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها داشت. دمای 5°C منطقه ریشه تأثیر شدیداً کاهنده‌ای بر عملکرد، اجزای عملکرد و تثبیت نیتروژن ارقام یونجه یکساله مورد مطالعه گذاشت. افزایش دمای منطقه ریشه تا 15°C موجب افزایش میزان ماده خشک ریشه، ساقه و برگ، اختصاص مواد خشک بیشتری به بخش‌های هوایی، افزایش تعداد شاخه (داده‌ها ارائه نشده است)، گره ساقه (داده‌ها ارائه نشده است)، تعداد برگ و سطح برگ در ارقام یونجه یکساله شد که مشابه نتایج به دست آمده توسط پژوهشگران دیگر در مورد سایر بقولات می‌باشد (۳۱ و ۳۲). نتایج حاصله از تأثیر دماهای هوا نشان داد که دمای

حداکثر میزان ماده خشک گره با $23/8$ میلی‌گرم در گلدان در دمای 25°C هوا و 15°C منطقه ریشه و حداقل آن با 0 میلی‌گرم در گلدان در تمام دماهای هوا در دمای 5°C منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۵).

همانند بقولات مناطق معتدل، یونجه‌های یک‌ساله به دمایی در حدود 20 تا 25°C برای فعالیت همزیستی متعادل نیاز دارند. زمانی که دمای خاک به پایین‌تر از حد مطلوب کاهش می‌یابد، بر تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در بقولات تأثیر منفی دارد. گزارش شده است که کاهش دمای منطقه ریشه به زیر 25°C منجر به رشد کم گره و کاهش کل فعالیت تثبیت نیتروژن سویا شد (۳۱). در آزمایشی دیگر با افت دمای محیط تا 15°C ، فعالیت خالص نیتروژناز گیاه، 25 درصد کاهش یافت (۲۴)، تشکیل گره در ریشه گیاهان در دمای پایین‌تر از 10°C منطقه ریشه به مقدار زیادی مختل گردید (۲۶). اثرات متقابل سه جانبه نشان داد که بیشترین میزان ماده خشک گره در گونه *M. rigidula* در دمای 25°C هوا و دمای 15°C منطقه ریشه ($28/7$ میلی‌گرم در گلدان) و کمترین آن (0 میلی‌گرم در گلدان) در هر سه گونه بدون توجه به دمای هوا، در دمای 5°C منطقه ریشه به دست آمد (جدول ۸). آزمایش‌های مربوط به انتقال گونه‌های مختلف گیاهان خانواده بقولات، بین دمای مطلوب و نامطلوب منطقه ریشه نشان می‌دهد که فرآیندهای آلودگی، رشد سریع و استقرار باکتری در گیاه به دمای پایین منطقه ریشه حساس هستند (۳۲).

ارقام، دمای هوا و دمای منطقه ریشه و نیز اثرات متقابل آنها بر مقدار نیتروژن در پیکره گیاه تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱). گونه *M. rigidula* با $7/92$ میلی‌گرم در گرم بیشترین و گونه *M. radiata* با $4/23$ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار نیتروژن در گیاه را دارا بودند (جدول ۲). دمای 20°C منطقه ریشه با $8/153$ میلی‌گرم در گرم بیشترین و دمای 5°C منطقه ریشه با $4/23$ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار نیتروژن گیاه را تولید کردند (جدول ۳). نتایج آزمایش‌هایی که در آنها مشاهده شد دمای منطقه ریشه کمتر از حد مطلوب بر تشکیل گره‌ها در

سپس از بین می‌روند (۱۶).

بیشترین میزان ماده خشک برگ و ساقه در گونه *M. polymorpha* در دمای ۲۵°C هوا و ۱۵°C منطقه ریشه مشاهده گردید که نشان‌دهنده نیاز حرارتی بالای این گونه در مقایسه با سایر گونه‌هاست. افزایش ماده خشک برگ و ساقه به دلیل افزایش تعداد شاخه، ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ در اثر افزایش دمای هوا و خاک بود. دماهای پایین‌تر منطقه ریشه تأثیر کاهنده‌ای بر صفات مذکور در گونه *M. polymorpha* داشت و در نتیجه میزان ماده خشک برگ و ساقه آن کاهش یافت. نتایج تحقیقی در سویا نشان داد که وزن گیاه، تعداد برگ و سطح برگ با کاهش دمای منطقه ریشه، کم می‌شود (۳۱). ذخیره ماده خشک ریشه سویا تحت تأثیر دمای پایین منطقه ریشه قرار گرفت و به نسبت زیادی کاهش یافت (۳۲). به علاوه نسبت برگ و ساقه به ریشه سویا عموماً با افزایش دمای منطقه ریشه زیاد گردید (۳۱). آزمایش‌های سایر محققین نشان داد، افزایش دمای خاک تا ۱۵°C، باعث بیشتر شدن تعداد گره در ریشه سویا شد. تعداد و سطح برگ سویا در دمای بالاتر منطقه ریشه در مقایسه با دماهای پایین‌تر، بیشتر بود (۳۱). نتایج مذکور با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نتایج این آزمایش نشان داد که در دمای پایین هوا و منطقه ریشه، گونه *M. rigidula* ماده خشک برگ و ساقه بیشتری نسبت به دو گونه دیگر دارا بود و این امر حاکی از مقاومت به سرمای بیشتر این گونه بود. بنابراین این گونه برای کشت در مناطق سرد و معتدل مناسب‌تر است. احتمالاً گونه *M. rigidula* نیز مانند *M. rotata* (از جمله ارقام مقاوم به سرما) می‌تواند تعداد زیادی اکوتیپ در نواحی سردسیر داشته باشد (۴). گونه *M. rigidula* در مناطق شمال غرب، جنوب غرب، شمال شرق و غرب کشور در ارتفاعات ۲۰۰ تا ۲۴۰۰ متری از سطح دریا رویش دارد و یکی از امید بخش‌ترین گونه‌ها در نواحی سرد ایران به نظر می‌رسد (۱۸). گونه‌های استرالیایی مقاومت زیادی در برابر سرمای شدید نداشته و در نواحی سرد دورنمای قابل ملاحظه‌ای برای توسعه اکوتیپ‌های

۲۵/۲۰°C شب و روز، بیشترین میزان تثبیت نیتروژن و گره‌زایی را داشت و در مقابل سردترین دمای هوا در شب/روز (۱۵°C) روز و ۱۰°C شب) کمترین میزان تثبیت نیتروژن و گره‌زایی را دارا بود. اگرچه کاهش دمای هوا و منطقه ریشه موجب کاهش تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در هر سه گونه مورد مطالعه شد اما تأثیر منفی کاهش دمای منطقه ریشه شدیدتر بود. استقرار یک گره کارآمد، ناشی از یکسری رخدادها، شامل کلنی شدن باکتری در ریزوسفر، جذب ریزوبیوم به تارهای کشنده ریشه، خمیدگی تار کشنده و تشکیل رشته تلقیح در درون تارهای کشنده حاصل می‌شود (۱۹). بررسی‌های روبین و همکاران (۲۶) نشان داد دمای پایین محیط به ویژه دو مرحله ابتدایی تشکیل گره (کلنی شدن باکتری در ریزوسفر و جذب ریزوبیوم به تارهای کشنده ریشه) را متوقف کرده مانع از تلقیح مناسب ریشه با باکتری می‌گردد.

افزایش دمای هوا تا ۲۵°C تأثیر مثبت و فزاینده‌ای بر رشد و نمو بخش‌های رویشی گونه‌های یونجه یکساله مورد مطالعه به استثنای ریشه داشت. این ناشی از این واقعیت است که دمای مطلوب رشد ریشه در مقایسه با دمای مطلوب اندام‌های هوایی غالباً کمتر است (۳). در مقابل دمای ۲۰°C هوا، طول ریشه (داده‌ها ارائه نشده است) و ماده خشک ریشه را نسبت به سایر دماها افزایش داد. در دمای ۲۰°C سرعت رشد شاخساره گیاه نسبت به دمای ۲۵°C هوا کاهش یافت. این امر موجب شد ماده خشک بیشتری به ریشه‌ها اختصاص یابد که نهایتاً باعث افزایش طول و وزن خشک ریشه گیاهان گردید. تحمل یونجه‌های یکساله نسبت به سرمای زمستان کم بوده و نمی‌توانند یخبندان‌های شدید و طولانی را تحمل کنند. دمای مطلوب دوره رشد رویشی این گیاهان ۲۱ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و در مرحله گل‌دهی ۱۵ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۱۲). گزارش شده است که دمای ۱۰-۱۶ درجه سانتی‌گراد خاک و ۱۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد هوا برای جوانه‌زنی و رشد اولیه مناسب است. یونجه‌های یک‌ساله دمای صفر درجه سانتی‌گراد را حداکثر تا ۸ ساعت به طور ممتد تحمل می‌کنند و

با توجه به نتایج این آزمایش استفاده از یونجه‌های یکساله حتی گونه‌های مقاوم به سرما در مناطقی که در فصل رویش، دمای خاک به 5°C و یا کمتر می‌رسد موفقیت‌آمیز نمی‌باشد، این امر ناشی از عدم تلقیح ریشه و کاهش در تثبیت نیتروژن می‌باشد، بنابراین، در مناطقی که دمای خاک بیشتر از 10°C باشد این گیاهان رشد و محصول مناسبی در صورت فراهم بودن سایر شرایط خواهند داشت و در این مناطق سیستم تناوبی غله- مرتع می‌تواند جایگزین مناسبی برای سیستم‌های تناوبی رایج آیش- غله باشد.

محلی وجود دارد. تحمل در برابر سرما در گونه *M. rigidula* مورد تأیید قرار گرفته است (۱۱).

در اکثر مناطق ایران وجود دماهای پایین به ویژه در اوایل فصل رشد، باعث محدودیت گسترش گونه‌های یونجه یک ساله استرالیایی شده است و فقط مناطق گرگان و خرم‌آباد به دلیل بارندگی و دمای مناسب برای کشت این گونه‌های مساعد می‌باشد. به نظر می‌رسد در نواحی با زمستان سرد و مرتفع، گونه‌ایی مانند *M. rigidula* احتمالاً گونه موفق خواهد بود.

منابع مورد استفاده

۱. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. جلد اول، نشریه فنی شماره ۹۸۲. مؤسسه خاک و آب، تهران.
۲. امینی دهقی، م. ۱۳۸۵. تأثیر دماهای مختلف هوا و خاک بر رشد، نمو، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در گونه‌های یونجه یک‌ساله. رساله دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
۳. پوستینی، ک، ع. سی و سه مرده، م. زواره و ش. مداح حسینی. ۱۳۸۴. عملکرد گیاهان زراعی، فیزیولوژی و فرایندها (ترجمه). چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران.
۴. ترک‌نژاد، ا. ۱۳۷۸. بررسی پتانسیل‌های اکولوژیکی یونجه‌های یک‌ساله ایران. رساله دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
۵. سنگل، ع. و ب. ملک‌پور. ۱۳۷۳. مروری بر تحقیقات انجام شده و در حال اجرا در رابطه با یونجه‌های یک‌ساله در ایران و تدوین برنامه کاری آینده. نشریه مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
6. Blondel, J. and J. Aronson. 1999. *Biology and Wildlife in the Mediterranean Region*. Oxford Univ. Press., Oxford.
7. Bounejmate, M., A. D. Robson and P. E. Beale. 1992. Annual *Medicago* species in Morocco. II. Distribution in relation to soil and climate. *Aust. J. Agric Res.* 43: 739-749.
8. Brandsaeter, L. O., H. Heggen, H. Riley, E. Stubhaug and M. T. Henriksen. 2008. Winter survival, biomass accumulation and N mineralization of winter annual and biennial legumes sown at various times of year in northern temperate region. *Eur. J. Agron.* 28: 437-448.
9. Brown, G. D. 1991. Soil temperature, root growth and plant function. PP. 309-330. *In: Waisel, Y., A. Eshel and U. Kafkaki, (Eds.), Plant Root: The Hidden Half*. Marcel Dekker, New York.
10. Clarkson, D. T., M. J. Earnshaw, P. J. White and H. D. Cooper. 1988. Temperature dependent factors influencing nutrient uptake. An analysis of responses at different levels of organization. PP: 281-309. *In: Long, S. P. and Woodward, F. I. (Eds.), Plant and Temperature*. Company of Biologists, Cambridge.
11. Cocks, P. and T. A. M. Ehrman. 1987. The effect of geographic origin on frost tolerance of pasture legumes in Syria *J. Appl. Ecol.* 24: 673-683.
12. Del Pozo, A., C. Ovalle, J. Aronson and J. Avendano. 2000. Development responses to temperature and photoperiod in ecotype of *Medicago polymorpha* L. along an environmental gradient in central Chile. *Ann. Bot.* 85: 809-814.
13. Denton, M. D., C. R. Hill, W. D. Bellotti and D. R. Coventry. 2007. Nodulation of *Medicago truncatula* and *M. polymorpha* in two pasture of contrasting soil pH and rhizobial population. *Appl. Soil Ecol.* 35: 441-448.
14. Derkaoui, M., J. L. Caddel and L. L. Romman. 1991. A frost tolerance screening of annual *Medicago* spp. *Agric. Mediterranea* 121: 213-218.
15. Eckard, R. J. and D. R. Franck. 1998. Strategic nitrogen fertilizes uses on perennial ryegrass and white clover pasture in north-western Tasmania. *Aust. J. Exp. Agric.* 38:155-160.

16. Ehrman, T and P. S. Cocks. 1996. Reproductive patterns in annual legume species on an aridity gradient. *Vegetatio* 122: 47-59.
17. Feng, Z. 1996. Soybean symbiotic signal exchange, nodulation and nitrogen fixation under suboptimal rootzone temperature. PhD. Thesis, Department of Plant Science, McGill University, Montreal, Quebec.
18. Francis, C. M. 1988. Selection and agronomy of medics for dryland pasture in Iran. Project Tcp/IRAN/6652.
19. HeidarI, S. A. H. 1994. Variation in the sensivity of nodulation and nitrogen fixation to nitrate in annual *Medicago* species. PhD. Thesis, Adelide University, Australia.
20. Hekenby, M., M. Carmen Antolin and M. Sanchez-Diaz. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. *Env. Exp. Bot.* 55:305-314.
21. Krall, J., R. W. Goose and J. Sobels. 1996. Winter survival of Austrian winter pea and annual medic on the western high plains. PP. 237-240. *In: J. Janick (Eds.), Progress in New Crops.* ASHS Press, Alexandria, VA.
22. Legros, P and D. L. Smith. 1994. Root zone temperature sensitivity of nitrogen fixing and nitrate supplied soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and lupin (*Lupinus albus* L.) plants. *Environ. Experim. Bot.* 34:117-124.
23. Lynch, D. H. and D. L. Smith. 1993. Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and N₂ fixation as affected by period of exposure to a low root zone temperature. *Physiol. Plant* 88:212-223.
24. Materon, L. A. 1994. Delayed inoculation and competition of *Rhizobium meliloti* in annual *Medicago* species. *Appl. Soil Ecol.* 1: 225-260.
25. Obaton, M., L. Materon, M. Zaklouta and G. Gintzburger. 1996. Effect of low temperature on the nitrogen nutrition of annual medics: Preliminary results. *In: Genier, G. and J. M. Proserpi. (Eds.), FAO/CIHEAM. Option Mediterraneennes* 18:103-112.
26. Robin, G., K. Sulta-Tubeileh, M. Obaton and A. Guckert. 2005. Nitrogen fixation and growth of annual *Medicago-Sinorhizobium* associations at low temperature. *Eur. J. Agron.* 15:221-229
27. SAS Institute Inc. 1997. SAS User's Guide. Statistical Analysis Institiute Inc. Cary, North Carolin.
28. Sheaffer, C. C., D. K. Barnes, D. D. Warnes, W. E. Lueschen, H. J. Ford and D. R. Swanson. 1992. Seeding year cutting affects winter survival and its association with fall growth score in alfalfa. *Crop Sci.* 32:225-231.
29. Shrestha, A., J. W. Fisk, P. Jeranama, J. M. Squire and O. B. Hesterman. 2001. Annual medics. Department of Crop and Soil Science. Michigan State University, USA.
30. Sultan, k., G. Gintzburger, M. Obaton, C. Robin, H. Touchane and A. Guckert. 2001. Growth and nitrogen fixation of annual *Medicago-Rhizobium* associations during winter in Mediterranean region. *Eur. J. Agron.* 15:221-229.
31. Zhang, F., D. H. Lynch and D. L. Smith. 1995. Impact of low root temperatures on soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] on nodulation and nitrogen fixation. *Env. Exp. Bot.* 35: 276-285.
32. Zhang, F., N. Dashti, R. K. Hynes and D. L. Smith. 1996. Plant growth promoting rhiobacteria and soybeab [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root temperatures. *Ann. Bot.* 35:279-285.
33. Zhu, Y., C. C. Sheaffer and D. K. Barnes. 1996. Forage yield and quality of six annual *Medicago* species in north-central USA. *Agron. J.* 88: 955-960.
34. Zhu, Y., C. C. Sheaffer, M. P. Russel and C. P. Vance. 1998. Dry matter acculation and dinitrogen fixation of annual *Medicago* species. *Agron. J.* 90:103-108