نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد نهم، شماره ۴(۳۶)، زمستان ۱۳۹۴، صفحه ۵۹۸-۵۸۳

بهبود عملکرد کمی و کیفی علوفه یونجه با کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی

حمید مدنی [۱*]، نورعلی ساجدی [۲] و حمید قلی‌پور فدشک [۳]

چکیده

این تحقیق روی یونجه همدانی در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در اراک انجام شد. سطوح فاکتور اول شامل کود شیمیایی در چهار سطح شاهد یا عدم مصرف هر نوع کود، مصرف پتاسیم بر اساس آزمون خاک، مصرف فسفر و کاربرد کود کامل ریزمغذی و فاکتور دوم شامل کود بیولوژیک در چهار سطح شامل شاهد، کاربرد باکتری‌های حل‌کننده پتاس خاک، کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و کاربرد باکتری‌های آزاد کننده فسفر خاک بودند. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر عملکرد علوفه خشک یونجه در چین اول به میزان ۱/۷۶ تن در هکتار در شرایط کاربرد باکتری‌های آزاد کننده فسفر و ۱/۵۷ تن در هکتار با کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس به‌دست آمدند. در چین دوم هر چند بین سطوح مختلف کاربرد کودهای شیمیایی و اثر متقابل آن با کودهای بیولوژیک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی کاربرد کودهای بیولوژیک عملکرد چین دوم را تحت تاثیر قرار دادند، به‌طوری‌که کاربرد کود پتاس بیولوژیک توانست میزان عملکرد علوفه خشک یونجه را از ۱/۷۴ تن در هکتار در تیمار شاهد به ۲/۴۸ تن در هکتار افزایش دهد. همچنین، نتایج نشان داد که میزان عملکرد علوفه خشک یونجه در چین سوم از حدود ۲/۵ تن در هکتار در تیمار شاهد با کاربرد باکتری‌های محرک و حل کننده فسفر به ۳/۷ تن در هکتار، یعنی ۱/۲ تن بیشتر از شاهد، افزایش و ارتقای عملکرد را در هر هکتار نشان داد که حایز اهمیت فراوانی است.

واژگان کلیدی: باکتری، پتاس، کود شیمیایی، سرعت رشد، علوفه، فسفر، یونجه.

۱- دانشیار گروه زراعت واحد اراک دانشگاه آزاد اسلامی اراک، ایران (* نگارنده‌ی مسئول) h-madani@iau-arak.ac.ir
۲- استادیار گروه زراعت واحد اراک دانشگاه آزاد اسلامی اراک، ایران
۳- کارشناس زراعت سازمان جهاد کشاورزی استان مرکزی

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۲
تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۰

مقدمه

کودهای شیمیایی بخش اعظم موادی را تشکیل می‌دهد که توسط انسان وارد اکوسیستم‌های طبیعی می‌شوند. بنابراین، موادی که با طبیعت روابط دوستانه‌تری داشته باشند در کشاورزی جایگاه ویژه‌ای را خواهند یافت. کودهای بیولوژیک که در حقیقت مجموعه‌ای از میکروارگانسیم‌های طبیعی می‌باشند با سابقه طولانی حضور آنها در طبیعت شرایطی را فراهم نموده‌اند تا به روش‌ها و فرآیندهای زیستی مختلف به‌عنوان یکی از منابع کودی و تغذیه‌ای و جایگزین یا مکمل کودهای شیمیایی مورد توجه قرار گیرند (Perry *et al*., 2003).

روابط متقابل کودهای بیولوژیک با گیاهان و خاک و سایر جانداران خاک موجب شد تا کارآیی این موجودات ذره‌بینی در کشاورزی مد نظر قرار گیرد. امروزه یکی از روش‌های کاهش مصرف مواد شیمیایی در کشاورزی استفاده از عوامل زیستی است به‌طوری که مصرف آنها موجب کاهش مصرف کودهای شیمیایی گردد (Young, 1994). تحقیقات زیادی روی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات (Seshadri *et al*., 2000) که در اغلب خاک‌ها به‌خوبی خواص خود را در افزایش عملکرد محصولات مختلف کشاورزی نشان داده‌اند، انجام گرفته است (Garg *et al*., 2001).

یونجه گیاهی است که با اقلیم و شرایط آب و خاک اغلب نقاط کشور سازگاری مطلوبی دارد و در سرتاسر کشور به‌صورت یک محصول زراعی با عملکرد مناسب جایگاه مناسبی را دارد. تولید آن با شیوه‌های مدیریت نوین موجب بروز موفقیت‌هایی در ارتقا و افزایش عملکرد کمی و کیفی آن گردیده است. با توجه به این‌که گیاه یونجه مقادیر فراوانی مانند فسفر را از خاک تخلیه می‌کند (McKenzie *et al*., 1999). افزودن مقادیر زیادی کود شیمیایی فسفات آمونیوم در این زراعت اجتناب ناپذیر است. در برخی خاک‌ها نیز تولید یونجه به‌تدریج موجب کمبود پتاسیم و در نتیجه ایجاد محدودیت در تولید علوفه ایجاد کرده است (Berg *et al*., 2007).

یونجه به تیره‌ی لگومینوز تعلق دارد بنابراین انتظار می‌رود از نظر نیتروژن به کمک روابط همزیستی با باکتری‌های تثبیت کننده نیازمندی خود به این عنصر برای رشد و نمو مطلوب را برطرف کند هرچند در طی دوره استقرار اولیه در مزرعه و قبل از اینکه روابط همزیستی در آن ایجاد شود به مقادیری هر چند کم به کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار نیاز دارد (Franche *et al*., 2009). این مقدار می‌تواند حدود ۲۰ تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص را در بر گیرد. کاربرد مقادیر بیش از این ممکن است از ایجاد روابط همزیستی یونجه و سایر باکتری‌ها ممانعت کرده که البته نتیجه آن کاهش تدریجی رشد و تولید علوفه در مزرعه خواهد بود (Martin *et al*., 1994) فسفر برای فعالیت‌های سلولی، تشکیل اسیدهای هسته‌ای و فسفولیپیدها، ATP، و ترکیبات ناقل انرژی در سلول‌های گیاهی از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. اهمیت این عنصر در فتوسنتز، انتقال انرژی، سنتز کربوهیدرات و پروتئین و متابولیسم چربی‌ها به‌دلیل موارد فوق می‌باشد (Rhykerd and Overdahl, 1982).

کمبود فسفر نیز در اغلب خاک‌های کشور وجود دارد و بنابراین کشت یونجه چندساله این نوع کمبود را به فسفر نشان خواهد داد. به‌همین دلیل بر اساس آزمون خاک، کاربرد مقادیر فسفر مورد نیاز در زراعت یونجه نیز مانند سایر محصولات زراعی باید مورد تاکید قرار گیرد. فسفر از تحرک بسیار ناچیزی در خاک برخوردار است. به همین دلیل در هنگام کشت بذر یونجه برای ایجاد یک مزرعه جدید باید فسفر را

در ناحیه ریشه‌های یونجه قرار داد (Mikkelsen, 2004).

در مناطق سردسیر کشور، فسفر اهمیت زیادی در بقای زمستانه یونجه دارد و به همین دلیل حتی در مزارع استقرار یافته یونجه نیز اضافه کردن کودهای فسفره در پاییز به طور سالانه صورت می‌گیرد. در حال حاضر انواع مختلف منابع کودی فسفر شیمیایی برای تامین فسفر مورد نیاز یونجه در دسترس کشاورزان می‌باشد اما استفاده سنتی از کود فسفات آمونیوم در کشور به دلیل ارزانی، سادگی طرز استفاده و در دسترس بودن بیشتر مطرح است. سوپر فسفات تریپل (۴۵٪)، فسفات منوآمونیوم (۵۲٪)، فسفریک اسید مایع از مهم‌ترین منابع شیمیایی فسفر محسوب می‌شوند. امروزه گروهی از باکتری‌های خاک‌زی نیز توانایی خود را در تامین فسفر مورد نیاز گیاهان از منابع غیرمحلول فسفر خاک نظیر سنگ فسفات نشان داده‌اند که به‌نام عمومی باکتری‌های آزاد کننده فسفر از گروه کودهای زیستی فسفره طبقه‌بندی می‌شوند (Salih *et al*., 1989).

اهمیت پتاسیم در گیاهان به دلیل نقش آن در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند فعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌ها، سنتز و تغییر ساختمانی بسیاری از هیدرات‌های کربن، سنتز پروتئین‌ها و باز و بسته شدن روزنه‌ها و تنظیم تبادلات گازی از طریق برگ‌ها است. کمبود پتاسیم نیز که در خاک‌های سبک و ماسه‌ای بیشتر شایع است عامل محدود کننده در تولید یونجه به حساب می‌آید. معمولاً آبیاری با آب چاه در کشور ما یکی از مهم‌ترین علل بروز کمبود پتاسیم در گیاهان است. به عبارت دیگر آبیاری مزارع با آب‌های سطحی و سیلاب‌ها به‌دلیل برخورداری از منابع غذایی مختلف از جمله پتاسیم برای زراعت یونجه بسیار مفید می‌باشد. با توجه به تخلیه مقادیر زیادی از پتاس خاک توسط برداشت علوفه یونجه در هر نوبت افزایش تولید علوفه یونجه بدون تامین پتاس مورد نیاز گیاه غیر ممکن است. کاربرد پتاس باید بر اساس آزمایش‌های دقیق خاک و توصیه‌های کودی صورت پذیرد. در اغلب مزارع اقتصادی یونجه بعد از آزمون سالانه خاک، به‌طور سالانه به خاک ترکیبات پتاس اضافه می‌شود.

نکته بسیار مهم در مصرف این‌گونه مواد کودی این است که تکرار مصرف این کودها در طول سالیان متمادی هرگز توصیه نمی‌شود. مگر اینکه با افزودن پتاس همچنان عملکرد محصول افزایش یابد. در صورت افزودن پتاس به مزرعه و زیاد نشدن میزان محصول باید متوجه شد که این عنصر بیش از حد انتظار و نیاز گیاه در خاک تجمع کرده است و باید مدیریت پتاس را در خاک انجام داد. منابع پتاس در کشور بیشتر شامل سولفات پتاسیم ۵۰٪ است ولی کلراید پتاسیم ۶۰٪ و پتاسیم مایع نیز در دنیا به مصرف می‌رسند. امروزه نیز با توسعه علم بیوتکنولوژی گروهی از باکتری‌های خاک جداسازی و تکثیر شده‌اند که قادرند از منابع پتاس رسوب یافته و غیرقابل جذب گیاهان، پتاس را آزاد کنند. این گروه از باکتری‌های آزاد کننده پتاس را می‌توان به‌عنوان منابع زیستی پتاس محسوب کرد (Keshavarz Zarjani *et al*., 2013).

در این بررسی علاوه بر تلاش برای ارتقای عملکرد یونجه تاکید بر استفاده از عناصر غذایی اصلی مورد نظر بوده است. البته نباید فراموش شود علاوه بر تامین عناصر اصلی در صورتی که آزمون خاک یا گیاه نشان دهنده کمبود عناصری مانند روی، آهن، منگنز، بر و حتی کلسیم و برخی دیگر از عناصر ریزمغذی در خاک باشد باید به منظور جلوگیری از بروز اختلال در تولید محصول این عناصر را به خاک یا محیط اضافه کرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در اراضی بخش تحقیقات زراعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک انجام شد. در این بررسی از مزرعه تحقیقاتی یونجه همدانی (*Medicago sativa*) که در سال دوم از رشد و نمو خود بود استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کود شیمیایی (C) در چهار سطح شاهد یا عدم مصرف هر نوع کود، مصرف پتاسیم بر اساس آزمون خاک از منبع شیمیایی به میزان ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات پتاسیم، مصرف فسفر بر اساس آزمون خاک به میزان ۱۰۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم و کاربرد کود کامل ریزمغذی خضراء شامل حاوی ۸٪ آهن، ۵/۱٪ روی، ۵/۱٪ منگنز، ۰/۵٪ بور، ۰/۵٪ مولیبدن، ۰/۵٪ مس با میزان مصرف ۲ در هزار و فاکتور دوم شامل کود بیولوژیک (B) نیز در چهار سطح شامل شاهد یا بدون مصرف هر نوع کود، کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس خاک از منبع کود بیولوژیک پتابارور ثبت شده توسط موسسه تحقیقات خاک‌شناسی کشور، کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن هوا غیر همزیست با گیاه یونجه ثبت شده تحت عنوان نیترو بارور که حاوی باکتری‌های آزادزی مختلف برادی ریزوبیوم و آزوسپریلیوم بود و سطح چهارم نیز کاربرد باکتری‌های آزاد کننده فسفر خاک[1] بود.

مقادیر مصرف باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق یک صد گرم از پودر حاوی 10^8 CFU باکتری در هر گرم برای هر هکتار می‌باشد که برای این منظور ۲۵ گرم از باکتری‌های مذکور در ۱۰۰ لیتر آب حل و سپس در زمان مورد نظر به‌صورت محلول‌پاشی برای کل بوته‌ها بر اساس نقشه کشت مصرف تا از آغشته شدن کلیه بوته‌ها مطمئن گردیدیم. این عمل بلافاصله پس از هر مرتبه برش یا چین در یونجه تکرار گردید. مقدار مصرف کودهای شیمیایی نیز بر اساس توصیه‌های فنی و نتایج آزمون خاک مزرعه به میزان ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم و یک لیتر کود کامل ریزمغذی به صورت خاک مصرف بود.

نتایج آزمون خاک در جدول ۱ آمده است. زمان مصرف کودهای شیمیایی در آغاز رشد بهاره و مصرف کودهای بیولوژیک علاوه بر مرحله آغاز رشد بهاره بعد از هر چین نیز به خاک اضافه گردید. مساحت هر کرت آزمایشی ۲۵ مترمربع در نظر گرفته شد که به روش آبیاری بارانی پس از اعمال تیمارهای کودی و سپری شدن ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی‌ها، عملیات آبیاری بر اساس عرف منطقه صورت گرفت.

در طول دوره انجام آزمایش و برای تعیین سرعت رشد مطلق گیاه، شاخص سطح برگ، نسبت برگ به ساقه، عدد کلروفیلی، قابلیت هضم، قندهای محلول، عملکرد چین ۱، چین ۲، چین ۳ و عملکرد مجموع سه چین نمونه‌برداری و سنجش‌های مربوطه انجام شد. برای تعیین سرعت رشد تعداد ۲۰ بوته در هر کرت در فواصل زمانی میان چین ۲ و ۳ معیار قرار گرفت. شاخص سطح برگ، نسبت برگ به ساقه و عدد کلروفیلی در مرحله قبل از انجام چین ۲ به عنوان معیار ارزیابی به‌ترتیب به روش وزنی که به کمک تعیین وزن خشک مساحت معینی از برگ‌های یونجه به‌دست آمد و برای تعیین عدد کلروفیلی از دستگاه SPAD استفاده گردید. برای سنجش میزان قابلیت هضم از روش تیلی و تری (Tilley and Terry, 1964) و قندهای محلول از روش کوچرت (Kochert,1978) اندازه‌گیری شد.

۱- *Pantoea agglomerans* strains P5 and *Pseudomonas putida* strain P13 .

داده‌های به‌دست آمده با کمک نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین‌ها به‌کمک آزمون دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر تیمار کودهای بیولوژیک بر سرعت رشد گیاه یونجه در فاصله میان چین ۱ و ۲ تاثیر معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد. برخلاف کودهای شیمیایی مختلف که در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت، کودهای بیولوژیک از هر نوعی که در این بررسی مورد استفاده قرار گرفتند توانستند نسبت به تیمار شاهد هر یک به نوبه خود سرعت رشد بوته‌های یونجه را در حد فاصل زمانی میان چین ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری افزایش دهند (شکل ۱).

بر اساس گروه‌بندی میانگین‌های سرعت رشد مطلق یونجه مشخص گردید بالاترین سرعت رشد به میزان ۴/۰۲ گرم بر متر مربع در روز و کمترین آن به میزان ۳/۲۹ گرم بر متر مربع در روز به‌ترتیب در تیمار باکتری‌های حل کننده پتاس و تیمار شاهد بدون کاربرد کودهای بیولوژیک به‌دست آمد. البته کاربرد باکتری‌های نیتروبارور و باکتری‌های حل کننده فسفر هم بدون اختلاف معنی‌داری با باکتری‌های حل کننده پتاس در گروه مشترکی قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان می‌دهد در خاک‌های ایران، باکتری‌های حل کننده پتاس ایزوله شده است که قادرند میزان فراهمی پتاس را برای افزایش سرعت رشد و نمو گیاهان افزایش دهد (Keshavarz Zarjani *et al*., 2013).

مصرف فسفر بیولوژیک نیز باعث افزایش وزن‌تر و خشک بخش هوایی و ریشه، حجم ریشه، ارتفاع ساقه و نسبت وزن خشک بخش هوایی به وزن ریشه شد، ولی تأثیر معنی‌داری بر نسبت وزن تر بخش هوایی به وزن ریشه نداشت. تلقیح با سینوریزوبیوم ملیلوتی سبب افزایش ارتفاع ساقه، حجم ریشه، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه در یونجه شد (Keshavarz Zarjani *et al*., 2013).

سایر بررسی‌ها نیز نشان داد مصرف فسفر و تلقیح با سینوریزوبیوم ملیلوتی نیز سبب افزایش این شاخص در گیاهان می گردد. افزایش رطوبت خاک، مصرف فسفر و تلقیح با باکتری‌های مورد نظر سبب افزایش مقدار نسبی آب در برگ‌ها شد (Keshavarz Zarjani *et al*., 2013).

نتایج به‌دست آمده نشان داد کاربرد تیمارهای آزمایشی بر سرعت رشد گیاه تاثیر مشابهی بر شاخص سطح برگ یونجه نیز داشتند. با توجه به وجود همبستگی بین سرعت رشد گیاه با منابع فتوسنتزی یا برگ های گیاه یونجه و بر اساس جدول ۲ مشخص گردید در این گیاه مقاوم و سازگار با اقلیم و خاک کشور بر خلاف تاثیر کودهای شیمیایی که در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت،کودهای بیولوژیک از هر نوعی که در این بررسی مورد استفاد قرار گرفتند توانستند نسبت به تیمار شاهد هر یک به نوبه خود شاخص سطح برگ یونجه را به‌طور معنی‌داری بهبود یا تغییر همراه با افزایش دهند. بر اساس مقایسه و گروه‌بندی میانگین‌های شاخص سطح برگ یونجه به دست آمده در زمان چین ۲ مشخص گردید بالاترین شاخص سطح برگ یونجه به میزان ۱۱/۱۷ و کمترین آن به میزان ۹/۵۶ به‌ترتیب با کاربرد باکتری‌های نیتروبارور و تیمار شاهد بدون کاربرد کودهای بیولوژیک به‌دست آمد. البته کاربرد در تیمار باکتری‌های حل کننده پتاس و فسفر هم بدون اختلاف معنی‌داری با نیتروبارور در گروه مشترکی قرار گرفتند. شکل ۱ این مطلب را نشان می‌دهد. نسبت برگ یونجه به ساقه‌های این گیاه می‌تواند یکی از شاخص‌های کیفیت علوفه این گیاه باشد. برگ‌ها از نظر پروتئین غنی‌تر از سایر قسمت‌های گیاه می‌باشند و حدود ۵۰٪ وزن گیاه را تشکیل می‌دهند. در یونجه

معمولاً برگ‌ها حاوی مقادیر فراوانی پروتئین و ساقه‌ها دارای فیبر و سلولز می‌باشند. بنابراین، در فرایند ارتقای عملکرد کیفی یونجه افزایش نسبت برگ به ساقه بسیار حایز اهمیت است. در این بررسی توجه به شاخص کیفی یونجه با تعیین آلومتری نسبت وزنی برگ‌ها به ساقه مورد سنجش قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد تاثیر کاربرد تیمارهای آزمایشی مربوط به مصرف کودهای بیولوژیک همگی بر نسبت برگ به ساقه در گیاه یونجه تاثیر معنی‌داری را در سطح احتمال ۱٪ نشان دادند. مطابق با جدول ۲ مصرف انواع کودهای بیولوژیک که در این بررسی مورد استفاده قرار گرفتند توانستند نسبت به تیمار شاهد هر یک به نوبه خود شاخص نسبت برگ به ساقه یونجه را به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار دهند. به طور نسبی می‌توان اظهار داشت کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس و فسفر بیولوژیک پس از کاربرد نیتروبارور که توانست نسبت وزن برگ به ساقه را تا ۲/۵ برابر افزایش دهد. چگونگی میزان تغییرات نسبت برگ به ساقه و مقایسه آن با این شاخص در تیمار شاهد در شکل ۱ نشان داده شده است. نیتروژن اهمیت خود را در افزایش منابع کیفی یونجه در این بررسی نیـز مجـدداً به اثبـات رسانید. ولی به نظر می‌رسد در شرایط خاک و سایر شرایط زراعی در این آزمایش همچنین میزان نیتروژن مورد نیاز این گیاه که دارای قدرت تثبیت بیولوژیک طبیعی است به عنوان عامل محدود کننده محسوب می‌شود. همچنین، علاوه بر نسبت وزنی میزان برگ به ساقه شاخص میزان کلروفیل نیز به کمک عدد کلروفیلی یا عدد SPAD مورد سنجش قرار گرفت که نتایج تجزیه واریانس شاخص عدد کلروفیلی نشان داد از بین تیمارهای آزمایشی به‌طور کلی کاربرد تیمارهای بیولوژیک توانست تاثیر معنی‌داری را بر این شاخص بگذارد.

نتایج مقایسه میانگین شاخص عدد کلروفیلی نشان داد کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفر کمترین تاثیر را بر این شاخص داشت. از طرف دیگر مصرف باکتری‌های حل کننده پتاس و نیتروژن تاثیر مثبت و معنی‌داری بر این شاخص که از انواع شاخص‌های کیفی علوفه یونجه نیز محسوب می‌شود گذاشت (شکل ۱). عدد کلروفیلی ۴۵ بالاترین عددی بود که دستگاه SPAD در کرت‌های آزمایشی مربوط به مصرف نیتروبارور نشان داد. همچنین کاربرد باکتری‌های آزاد کننده پتاس (B_2) نیز بدون اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد باکتری‌های نیتروبارور از نظر شاخص عدد کلروفیلی نشان داد این باکتری‌ها قدرت تحریک رشد و کلروفیل‌زایی معنی‌داری در گیاهان دارند. البته اثبات این مطلب احتیاج به بررسی‌های تکمیلی دارد. در گیاه یونجه تامین سطوح کافی از عناصر غذایی در زمان مناسب مصرف و در فرم قابل جذب گیاه می‌تواند عملکرد کمی و کیفی علوفه را تحت تاثیر قرار دهد (Berg *et al*., 2005). بررسی نتایج تاثیر کاربرد کودهای میکروبی بر اصلاح کیفی علوفه یونجه از نظر قابلیت هضم نشان داد بالاترین میزان این قابلیت در علوفه یونجه که در چین سوم مورد ارزیابی قرار گرفت. در صورت کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس با میزان ۰/۶۲٪ به‌دست آمد که ۰/۱۷٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. به عبارت دیگر کاربرد مواد بیولوژیک در این بررسی توانست حداقل ۱۰٪ به میزان این شاخص بیفزاید (شکل ۲). سایر بررسی‌ها نیز نشان داد کاربرد کودهای بیولوژیک فسفر و نیتروژن نیز بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر توانستند قابلیت هضم را نسبت به تیمار شاهد افزایش دهند (Stefano *et al*., 2013). مطابق با نتایج مندرج در جدول ۲ کاربرد کودهای شیمیایی و اثرات متقابل کاربرد کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک در این گیاه تاثیر

معنی‌داری بر شاخص قابلیت هضم علوفه نداشتند. مطالعه نتایج تجزیه واریانس صفت میزان قندهای محلول در آب در چین سوم علوفه یونجه نشان داد می‌توان با کاربرد کودهای بیولوژیک اختلاف معنی‌داری را بر اساس کاربرد نوع کود بیولوژیک در مورد این صفت کیفی در یونجه به‌وضوح دید.

مشابه نتایج سایرین در تمام نتایج مربوط به اندازه‌گیری میزان قندهای محلول در آب مشخص شد کاربرد کودهای بیولوژیک نسبت به شاهد بالاتر بودند (Stefano *et al*., 2013). شکل ۲ نشان می‌دهد میزان کربوهیدرات‌های محلول از حدود ۲۴۲ به ۲۹۹ یعنی حدود ۳۰٪ افزایش نشان داد. بالاترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در صورت استفاده از کودهای بیولوژیک آزاد کننده فسفر به میزان ۲۹۹ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک علوفه یونجه به‌دست آمد. نتایج نهایی این بررسی نشان داد کودهای بیولوژیک دارای قدرت مشابهی در ارتقای میزان کربوهیدرات‌های محلول در علوفه یونجه دارند (شکل ۲).

در این بررسی میزان عملکرد یونجه در چین‌های مختلف یکی از مهم‌ترین بخش نتایج کاربردی محسوب می‌شود. به نظر می‌رسد زمان برداشت برای چین اول یونجه در شرایط آب و هوایی اراک که معمولاً در اردیبهشت ماه صورت می‌گیرد بیشتر تابع شرایط تغذیه‌ای گیاه در حالت آغاز رکود زمستانه است و میزان رشد و نمو و تولید بیوماس در این مرحله از رشد گیاه به عوامل دما و رطوبت بهاره مربوط می‌شود. با این حال، با افزایش روند تغییرات دمایی در بهار و تاثیر آن بر سرعت رشد و نمو ساقه‌های یونجه و برگ‌زایی گیاه به این مفهوم است که یونجه در مرحله رشد بعد از چین اول بیش از مرحله قبل از عناصر غذایی می‌تواند جذب و استفاده کند که البته این موضوع به اهمیت جذب عناصر غذایی و تاثیر آن بر سنتز ترکیبات گیاهی و اسیمیلاسیون مرتبط می‌شود. بنابراین، کمبود عناصر غذایی اصلی مانند N و P و K در این مرحله از رشد و نمو ممکن است کمی طبیعی باشد. به همین دلیل است که اهمیت فسفر در زمستان‌گذرانی از روی عملکرد چین اول در بهار سال بعد مشخص می‌شود (Berg *et al*., 2005).

نتایج این بررسی نشان داد که اهمیت باکتری‌های حل کننده فسفر معدنی در خاک شاید از نظر تحمل دماهای کمتر در این گروه از باکتری‌ها در رشد و نمو و بیوسنتز ترکیبات ساختمانی و ذخیره‌ای در این گیاه بیشتر از کودهای بیولوژیک پتاس باشد. بیشترین عملکرد یونجه در چین اول به میزان ۱/۷۶ تن علوفه خشک در هکتار در شرایط کاربرد باکتری‌های آزاد کننده فسفر معدنی خاک و سپس در تیمار کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس به میزان ۱/۵۷ تن در هکتار به‌دست آمد (شکل ۲). عدم تعادل لازم و اثرات متقابل میان فسفر و پتاسیم در زراعت یونجه موجب کاهش عملکرد علوفه گردید.

در این بررسی هر چند بین تیمارهای مختلف کود شیمیایی و اثر متقابل آن با کودهای بیولوژیک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی کاربرد کودهای بیولوژیک به نحو معنی‌داری عملکرد چین دوم را تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۲). به‌طوری که بر خلاف چین اول که باکتری‌های حل کننده فسفر بالاترین میانگین را در تولید علوفه ایجاد کرده بودند ولی در چین دوم این کود پتاس بیولوژیک بود که توانست در بین سایر کودها مؤثرتر واقع شود و میزان عملکرد را از ۱/۷۴ تن در هکتار در تیمار شاهد به ۲/۴۸ تن در هکتار بدون وجود اختلاف معنی‌دار ارتقا دهد. سایر کودهای بیولوژیک نیز بر اساس نتایج مندرج در شکل ۳ این مطلب را نشان می‌دهد. در این بررسی که در شرایط آب و هوایی معتدل سردسیری

اراک صورت پذیرفت، برداشت چین سوم به مفهوم آغاز دوره زمستان‌گذرانی مجدد برای زراعت این گیاه چند ساله است. به همین دلیل زمان چین سوم یونجه در شرایط آب و هوایی اراک به نحوی انتخاب می‌شود که تا جای ممکن میزان عملکرد یونجه به حداکثر رسیده باشد، زیرا برداشت چهارمی در شرایط منطقه وجود نخواهد داشت. در این بررسی میزان عملکرد علوفه خشک در چین سوم بیشتر از سایر چین‌ها بود. نتایج تجزیه واریانس این شاخص عملکرد در زراعت یونجه نشان داد بین تیمارهای آزمایشی تاثیر کودهای بیولوژیک موجب بروز تغییرات معنی‌داری در تولید علوفه شده است و تفاوت میان عملکرد یونجه در چین سوم تحت تاثیر کودهای بیولوژیک بوده است. این در حالی است که یونجه در طول دوره منتهی به چین سوم نتوانسته است تغییرات معنی‌داری را بین سطوح مختلف کاربرد کودهای شیمیایی نشان دهد (جدول ۲).

نکته قابل اهمیت در این بررسی که در نتایج مندرج در شکل ۳ نشان داده شده است این که عملکرد چین سوم یونجه در شرایط انجام آزمایش بیشتر تابع مواد محرک رشد حاصل از فعالیت باکتری‌های مؤثر در فرایند آزادسازی عناصر غذایی مانند پتاس و فسفر و نیز تاثیر غذایی این باکتری‌ها از نظر فعالیت‌های متابولیک در یونجه می‌باشد. درجه تاثیر باکتری‌های نیتروژنه نیز در دست‌یابی به این نتایج قابل تامل است. مطابق با شکل ۲، در این بررسی عملکرد علوفه خشک در چین سوم یونجه از حدود ۲/۵ تن در هکتار در تیمار شاهد توانست به ۳/۷ تن در هکتار در تیمار کاربرد باکتری‌های محرک رشد و حل کننده فسفر ارتقا یابد و این به مفهوم افزایش ۱/۲ تن علوفه یونجه در هر هکتار بدون وجود اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها است.

یونجه مانند سایر بقولات علوفه‌ای نیاز پتاسیمی بالایی دارد و با برداشت محصول زیاد، مقادیر قابل توجهی پتاسیم از خاک خارج می‌شود. یونجه دارای شبکه ریشه‌ای عمیق و گسترده است و می‌تواند با در اختیار داشتن حجم زیادی از خاک، پتاسیم مورد نیاز خود را تامین نماید(Berg *et al.*, 2005). محاسبه تجمعی میزان عملکرد سه چین یونجه در شرایط آب و هوایی معتدل سردسیری اراک نشان داد همان روند مشاهده شده در مورد عملکرد علوفه خشک مربوط به هر یک از چین‌های یونجه در مجموع سه چین نیز مشاهده گردید (Vitosh *et al.*, 1996). جدول ۲ نشان می‌دهد تیمار کاربرد مواد بیولوژیک عامل اصلی بروز تغییرات معنی‌دار در تولید بیوماس کل در پایان سه مرحله از چین‌برداری در زراعت یونجه بوده است. نتایج مندرج در شکل ۳ نیز نشان داد میزان مجموع عملکرد سه چین در تیمار B_4 یا کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات معدنی خاک به میزان ۷/۷۶ تن در هکتار در مقایسه با ۵/۴۸ تن در هکتار علوفه مجموع سه چین در تیمار شاهد B_1 بوده است. لازم به ذکر است که بین تیمارهای B_2 تا B_4 تفاوت معنی‌اری در سطح احتمال ۵٪ مشاهده نمی‌شود. یکی از مهم‌ترین نتایج این تحقیق هنگامی مشخص می‌شود که روند تغییرات میزان عملکرد یونجه را در شرایط مختلف کاربرد کودهای بیولوژیک مورد مقایسه قرار دهیم. شکل ۳ این شـــرایط را برای تفسیر نتـــایج فراهم می‌کند. در شرایط آب و هوایی و خصوصاً خاک محل انجام آزمایش مشاهدات آماری نشان می‌دهد روند تغییرات میزان بیوماس تولیدی در یونجه در سال دوم از استقرار خود بیش از اینکه تابع تاثیر مواد شیمیایی باشد تابع تاثیر عوامل زیستی است. در شـــرایط خاک‌های پادووا ایتالیا کاربرد فسفر در زراعت یونجه نتوانست عملکرد علوفه را افزایش دهد و اثرات متقابلی با کاربرد پتاس نداشت ولی با مصرف ۳۰۰

کیلوگرم پتاس در هکتار محققین توانستند عملکرد یونجه را به‌نحو معنی‌داری افزایش دهند. علت اصلی این نوع افزایش در عملکرد یونجه در ایتالیا افزایش جذب سایر عناصر غذایی توسط گیاه بود که به نظر می‌رسد می‌تواند ناشی از وجود میزان پتاس کافی در خاک و جذب آن توسط گیاه باشد (Stefano *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری کلی

به نظر می رسد با توجه به ویژگی‌های ریشه در خانواده بقولات، خصوصاً از نظر تاثیر کاربرد نیتروژن پایه، افزودن مواد غذایی و کودی از نوع مواد شیمیایی به خاک در زمان قبل از کاشت شرایط حاصل‌خیزی خاک را به‌نحوی فراهم می‌کند که عوامل تغذیه بیولوژیک خاک مانند جامعه میکروبی ممکن است دچار بحران و یا تنبلی نسبی شوند. به‌همین دلیل به نظر می‌رسد در اغلب صفات مورد بررسی در این تحقیق کودهای شیمیایی نتـوانستند تغییـرات معنی‌داری را در زراعت یونجه بوجود آورند. البته این ادعا به بررسی‌های تکمیلی نیاز دارد.

از طرف دیگر کاربرد عوامل زیستی مختلف در این آزمایش اثر معنی‌داری را بر اغلب صفات مورد بررسی بوجود آورد که از این میان می‌توان به تاثیر باکتری‌های حل کننده پتاس و فسفر جهت تامین دو عنصر اصلی از گروه عناصر پر مصرف و تامین این‌گونه نیازهای اساسی گیاه برای ارتقای عملکرد یونجه در شرایط ادافیکی و اقلیمی مشابه اشاره کرد.

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک در این آزمایش

Table 1- Physical-chemical properties of soil sample in this experiment

بافت خاک Soil texture	منیزیم Mg	کلسیم Ca	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N	کربن آلی O.C	اسیدیته خاک pH	هدایت الکتریکی EC $mmohcm^{-1}$	عمق خاک Depth cm
	$meqvl^{-1}$		$mgkg^{-1}$		%				
Sandy loam	3.8	5.4	159	13	0.04	0.52	7.8	3.8	0-40

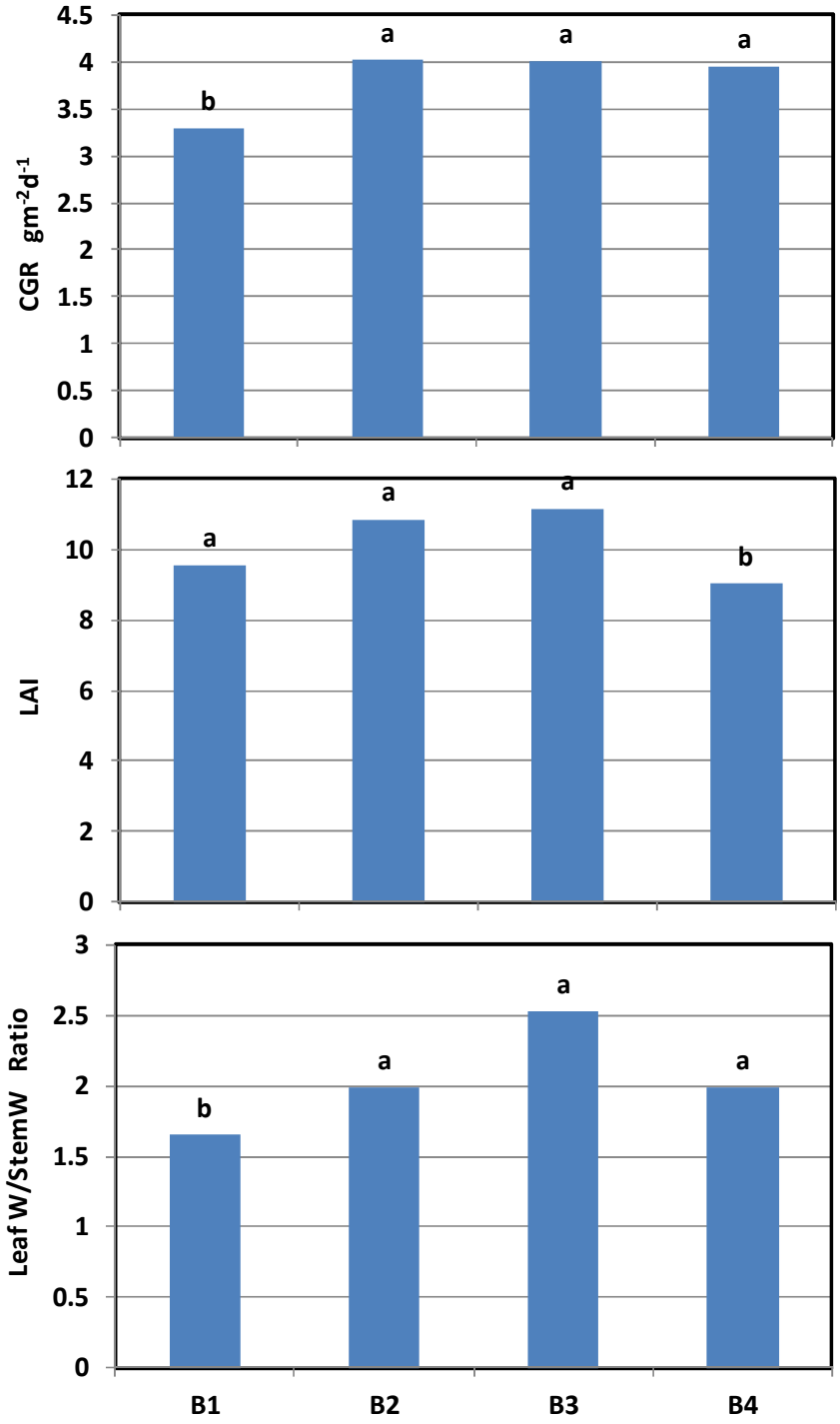
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات زراعی یونجه

Table 2- The analysis of variance for agronomic characteristics in alfalfa

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات MS									
		سرعت رشد گیاه CGR	شاخص سطح برگ LAI	نسبت وزن برگ به ساقه Leaf.W/Stem.W	عدد کلروفیلی Spad #	قابلیت هضم Digestion	قندهای محلول Soluble carbohydrates	عملکرد چین ۱ 1st cut yield	عملکرد چین ۲ 2ed cut yield	عملکرد چین ۳ 3th cut yield	عملکرد سه چین Total cuts yield
بلوک Block	2	0.33 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.09 ^{ns}	133.23 ^{ns}	0.03 ^{ns}	443.90 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.45 ^{ns}	0.63 ^{ns}	2.27 ^{ns}
(C)کود های شیمیایی Chemical fertilizers	3	0.02 ^{ns}	2.18 ^{ns}	0.03 ^{ns}	29.35 ^{ns}	0.01 ^{ns}	4482.26 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.32 ^{ns}
(B)کودهای بیولوژیک Biological fertilizers	3	1.98 **	16.94**	3.10**	263.44*	0.07*	10770.10**	0.77*	1.80**	5.34**	18.75**
(B×C) اثرات متقابل Interaction	9	0.05 ^{ns}	2.10 ^{ns}	0.08 ^{ns}	34.10 ^{ns}	0.03 ^{ns}	854.32 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.07 ^{ns}	2.17 ^{ns}
(E) خطا Error	45	0.16	1.33	0.25	73.70	0.03	2200.10	0.264	0.33	0.82	3.01
ضریب تغییرات ٪ C.V%		10.49	11.35	24.45	11.52	11.55	16.78	22.29	15.93	17.63	17.42

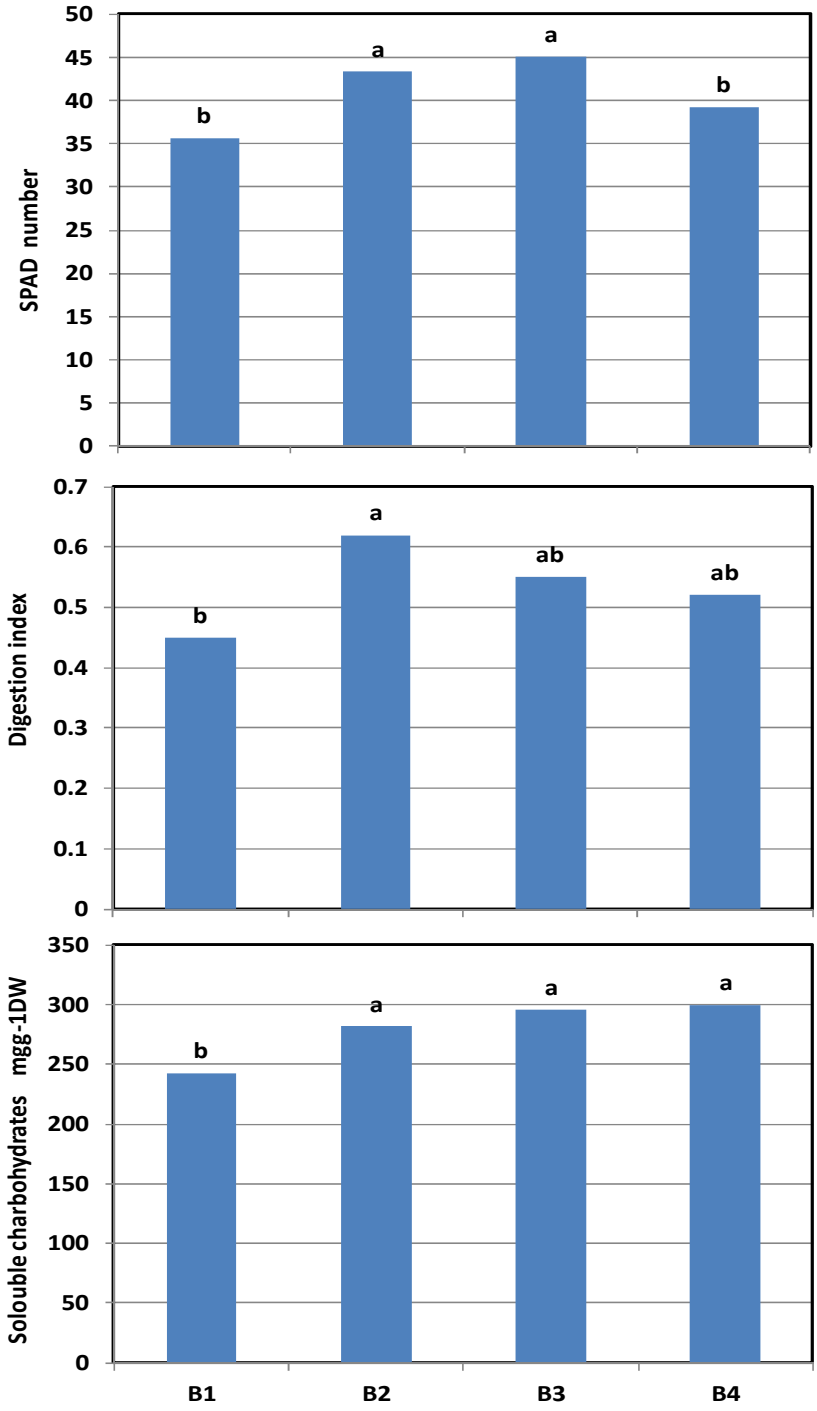
*:معنی‌دار در سطح ۵٪ و **: معنی‌دار در سطح ۱٪ .ns : غیر معنی دار،

* and ** significant at 5 and 1% probability levels, respectively and ns: non-significant.



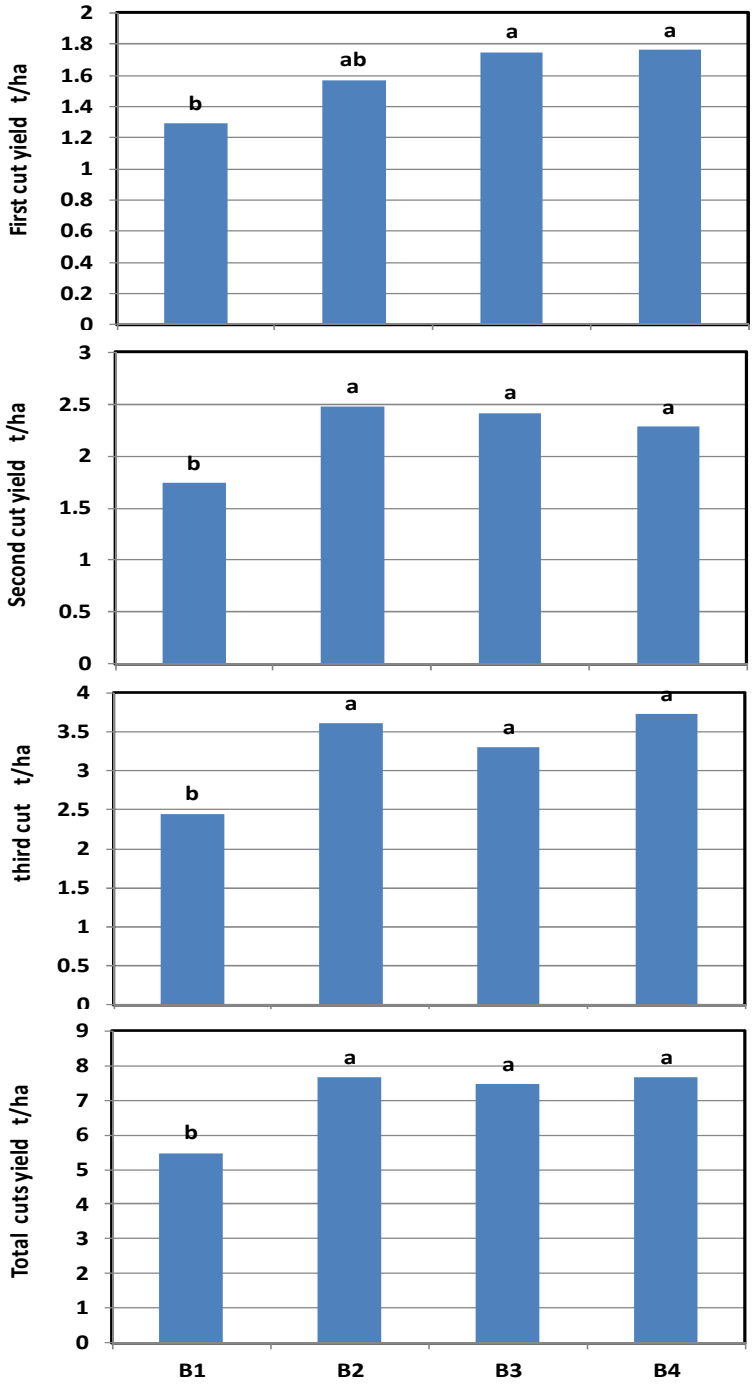
شکل ۱– مقایسه سرعت رشد گیاه، شاخص سطح برگ و نسبت برگ به ساقه در تیمارهای مختلف کاربرد کود های بیولوژیک. B1 : شاهد بدون مصرف هر نوع کود ، B2 : کاربرد باکتری های حل کننده پتاس خاک، B3: کاربرد نیترو بارور و B4 : کاربرد باکتری های آزاد کننده فسفر خاک را نشان می دهد.

Figure 1- Comparison of CGR, LAI and leaf /stem weight ratio in biological fertilizer treatments. B1: control, B2: KSP soil application, B3: Nitro-barvar and B4: PSB soil application



شکل ۲- مقایسه عدد کلروفیلی، قابلیت هضم و میزان قندهای محلول در تیمارهای مختلف کاربرد کود های بیولوژیک. B1 : شاهد بدون مصرف هر نوع کود، B2 : کاربرد باکتری های حل کننده پتاس خاک، B3: کاربرد نیترو بارور و B4: کاربرد باکتری های آزاد کننده فسفر خاک را نشان می دهد.

Figure 2- Comparison of SPAD number, Digestion index and solouble charbohydrates in biological fertilizer treatments. B1: control, B2: KSP soil application, B3: Nitro-barvar and B4: PSB soil application



شکل ۳- مقایسه عملکرد سه چین در تیمارهای مختلف کاربرد کود های بیولوژیک. B1: شاهد بدون مصرف کود ، B2 : کاربرد باکتری های حل کننده پتاس خاک، B3: کاربرد نیترو بارور و B4 : کاربرد باکتری های آزاد کننده فسفر خاک را نشان می دهد.

Figure 3- Comparison of alfalfa yields and each cuts yield in biological fertilizer treatments. B1: control, B2: KSP soil application, B3: Nitro-barvar and B4: PSB soil application

References منابع مورد استفاده

- Berg, W.K., S.M. Cunningham, S.M. Brouder, B.C. Joern, K.D. Johnson, J. Santini, and J.J. Volenec. 2005. Influence of phosphorus and potassium on alfalfa yield and yield components. *Journal of Crop Science*. 45: 297-304.
- Berg, W.K., S.M. Cunningham, S.M. Brouder, B.C. Joern, K.D. Johnson, J. Santini, and J.J. Volenec. 2007. The long-term impact of phosphorus and potassium fertilization on alfalfa yield and yield components. *Journal of Crop Science.* 47: 2198-2209.
- Franche, C., K. Lindström, and C. Elmerich. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and Soil*. 321(1-2):35–59.
- Garg, S.K., A. Bhatnagar, A. Kalla, and N. Narula. 2001. In vitro nitrogen fixation, phosphate solubilization, survival and nutrient release by *Azotobacter* strains in an aquatic system. *Bioresource Technology.* 80(2): 101-109.
- Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau, and J.M. Barea. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*. 37(1): 1–16.
- Keshavarz Zarjani, J., N. Aliasgharzad, S. Oustan, M. Emadi and A. Ahmadi. 2013. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 59(12).1713-1723
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method , In Helebust , J. A., Craig, J. S (ed) Handbook physiological methods, Cambridge university .Press, Cambridge., 96-97.
- Martin, D., N. Cosgrove, D. Kelling, K. Schmitt, M. Wedburg, J. Becker, R. Grau, C. Doll, and M.E. Rice. 1994. Alfalfa management guide. Under sander, Pub. By American Society of Agronomy 51 pp.
- McKenzie, R.C., R.H. McKenzie, and L. Kryzanowski. 1999. Fertilizer requirement of irrigated alfalfa. Alberta Agricultural Research Institute. Project 94M626. 60 pp.
- Mikkelsen, R. 2004. Managing phosphorus for maximum alfalfa yield and quality. Randy Geabe, Garey lardy, Kaol Hoope. 2000. Minimizing Hay Losses and Waste .North Dakota state University.
- Perry, T.W., A.E. Cullison, and R.S. Lowrey. 2003. Feeds and feeding. 6th Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J.
- Podile, A.R., and G.K. Kishore. 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam SS, editor. Plant-Associated Bacteria. Amsterdam, the Netherlands: Springer; pp. 195–230.
- Rhykerd, C.L., and C.J. Overdahl. 1982. Nutrition and fertilizer use. In Hanson, C.H. (ed) Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph 15, pp. 437-468. American Society of Agronomy, Madison, WI.

- Salih, H.M., A.I. Yahya, R.H. Abdul, and B.H. Munam.1989. Availability phosphoate or superphosphate as affected by phosphate-dissolving fungi. *Plant and soil*. 120:181-185.
- Seshadri, S., C. Muthukumarasamy, C. Lakshminarasimhan, and S. Ignacimuthu. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*. *Current Science*. 79(5): 565-567.
- Stefano, M., M. Leonard, L.F. Rimi, and U. Ziliotto. 2013. Phosphorus and potassium fertilizer effects on alfalfa and soil in a non-limited soil. *Agronomy Journal*. l05(6): 1613-1618.
- Tilley, J.M.A., and R.A.A. Terry. 1964. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 18: 104-111.
- Vitosh, M.L., J.W. Johnson, and D.B. Mengel. 1996. Tri-State fertilizer recommendations for corn, soybeans, wheat & alfalfa. Purdue Extension publication AY -9-32-W.
- Young, C.C. 1994. Application and development of N_2-fixing microorganisms. Proceedings of Symposium on Development and Application of Bio-fertilizers pp. 5-14. Taiwan Agriculture Research Institute.

Improvement of Quality and Quantity of Alfalfa Forage Yield by Using Chemical and Bio-Fertilizers

Madani, H.[1*], N.Sajedi[2] and H. Gholipoor Fadashk[3]

Received: June 2015, Accepted: 11 November 2015

Abstract

This research was conducted to study the effects of chemical and bio fertilizers on forage yield of alfalfa in a factorial experiment by using a randomized complete block design with 3 replications in 2012-2013 in Arak, Iran. Treatments were chemical fertilizers in four levels (control, potassium, phosphorus and whole micronutrients) and biological fertilizers in four levels (control, soil potassium solublizing bacteria, nitrogen-fixing bacteria and soil phosphorus solublizing bacteria). The results showed that the highest yield of alfalfa, in the first cut, was 1.76 t/ha by the use of phosphorus solublizing bacteria and 1.57 t/ha by using soil potassium solublizing bacteria. Although in the second cut the differences between chemical fertilizer and their interaction with biological fertilizer was not significant, but application of biological fertilizers could affect alfalfa yield in the second cut significantly. Application of soil potassium solublizing bacteria increased forage yield of alfalfa from 1.74 to 2.48 t/ha. The results also revealed that dry forage yield of alfalfa in control treatment was 2.5 t/ha and it was increased to 3.7 t/ha by using phosphorus solubilizing bacteria which is 1.2 t/ha higher than control.

Key words: Alfalfa, Bacteria, Chemical fertilizer, Growth rate, Forage, Phosphorus, Potash.

1- Associate Professor, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran.
2- Assistant Professor, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran.
3- Agri-Jahad ministry, Markazi Province, Arak, Iran.
**** Corresponding Author:*** *h-madani@iau-arak.ac.ir*