به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۳

صفحه‌های ۲۸۷-۲۷۱

اثر مقادیر کاهش‌یافتهٔ کودهای شیمیایی و کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی علوفهٔ شبدر ایرانی[1]

محمد شاهوردی[۱]، بهرام میرشکاری[۲] *، هادی اسدی رحمانی[۳]، ورهرام رشیدی[۴] و محمدرضا اردکانی[۵]

۱. دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، 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، مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب، کرج – ایران.
۴. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۵. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج - ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۱۶

چکیده

به‌منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی، بهبود عملکرد کمی و کیفی علوفهٔ تولیدی و دستیابی به کشاورزی پایدار کم‌نهاده، دو آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار در سال ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد اجرا شد. تیمارها شامل سطوح مختلف کودهای زیستی: شاهد، ریزوبیوم بومی منطقه، سودوموناس و کاربرد هر دو؛ و سطوح کود شیمیایی نیز شامل شاهد ($F_0 = N_0 + P_0$)، نیتروژن و فسفر ۷۵ درصد مقدار توصیه‌شده ($F_1 = N_{25} + P_{50}$)، نیتروژن و فسفر توصیه‌شده ($F_2 = N_{40} + P_{100}$) و نیتروژن و فسفر ۱۲۵ درصد ($F_3 = N_{75} + P_{150}$) بود. نتایج نشان داد که اثر مکان بر ارتفاع گیاه، عملکرد علوفهٔ تر و سرعت رشد مجدد در سطح احتمال ۱ درصد؛ و بر درصد پروتئین خام و درصد مواد هضم نشدنی در سطح احتمال ۵ درصد معنا دار شد. اغلب صفات در مکان دوم بیشتر بودند. همچنین نتایج نشان داد که درصد پروتئین خام، درصد مادهٔ خشک قابل هضم و ارتفاع گیاه تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارها قرار نگرفتند. با توجه به معنادار بودن اثر متقابل تیمارها بر عملکرد علوفهٔ تر (α =۰/۰۵)، بیشترین عملکرد مربوط به کاربرد سودوموناس و ریزوبیوم بومی به‌تنهایی در سطح حداکثر کود شیمیایی (۷۶/۱۶ تن در هکتار) مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد کاربرد کودهای شیمیایی کمتر از حد توصیه‌شدهٔ تلفیق با جدایه‌ها به‌ویژه ریزوبیوم بومی ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی موجب افزایش عملکرد و بهبود صفات کیفی علوفه شود.

کلیدواژه‌ها: افزایندهٔ رشد، ریزوبیوم بومی، فسفر، کشاورزی پایدار کم‌نهاده، نیتروژن.

1. *Trifolium resupinatum* L.

* نویسنده مسئول Email: Mirshekari@iaut.ac.ir

۱. مقدمه

افزایش جمعیت جهان و لزوم تولید محصولات کشاورزی بیشتر در ۵۰ سال اخیر، فشار بر زمین‌های کشاورزی از طریق کاربرد مقادیر بیشتر کودهای شیمیایی را در پی داشته است، به‌طوری‌که امروزه مصرف نیتروژن (N) هشت‌برابر، فسفر (P_2O_5) سه‌برابر و پتاسیم (K_2O) دوبرابر شده است [۱۷]. براساس گزارش سازمان کشاورزی و خواربار جهانی (FAO)، بین ۴۰ تا ۶۰ درصد افزایش تولیدات کشاورزی در جهان طی سه دهۀ گذشته مرهون مصرف کودهای شیمیایی بوده است. نیتروژن پرمصرف‌ترین عنصر غذایی است و مصرف آن از ۱/۳ تن در سال ۱۹۳۰ به بیش از ۸۵ میلیون تن رسیده است [۱۷ ، ۳۸].

با وجود نقش مهم کودهای شیمیایی، امروزه به‌تدریج آثار منفی ناشی از مصرف بی‌رویۀ کودهای شیمیایی بروز پیدا کرده است. از نظر مصرف کودهای شیمیایی در ایران تا سال ۱۴۰۴ باید ۳۰ درصد مصرف کودهای شیمیایی با روش‌های زیستی و مزرعه‌ای جایگزین شود که در این میان گنجاندن گیاهان علوفه ای خانوادۀ بقولات اهمیت زیادی در این زمینه دارد. شبدر ایرانی یکی از این بقولات است که بومی افغانستان، ایران، ترکیه و عراق بوده و به دلیل دارا بودن تعادل نسبی از نظر صفات کمی و کیفی آن را در بین سایر بقولات علوفه ای یکساله ممتاز کرده است [۲۷، ۲۹ ، ۳۹]. سطح کشت آن در ایران حدود ۴۲۰۰۰ هکتار و بالاترین سطح کشت آن مربوط به استان لرستان است [۴۱].

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 باتوجه به نوع سویۀ همزیست، جمعیت باکتری‌های همزیست بومی، مقدار کود مصرفی، رقم بذر و به‌طور کلی شرایط خاکی و اقلیمی بسیار متفاوت است [۲ ، ۳۳]. در این میان، تلقیح توأم ریزوبیوم (به‌ویژه سویه‌های بومی) با بعضی از باکتری‌های افزایندۀ رشد گیاه راهی برای بهبود دسترسی به نیتروژن ذکر شده است. علاوه‌بر این، تولید هورمون هایی نظیر اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و ویتامین‌های گروه ب از دیگر مزایا برشمرده شده است. از دیگر مزایای به‌کارگیری آنها، ترشح سیدورفور و اسیدهای آلی در ریزوسفر و درنتیجه محلول کردن فسفر و پتاسیم، افزایش فراهمی عناصر معدنی [۱، ۴، ۱۵، ۱۶، ۲۳ ، ۲۶] خاک و مهار عوامل بیماری زا [۲، ۳، ۱۴ ، ۲۴] است. مجموع این عوامل موجب بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان در سیستم تولید کشاورزی پایدار است [۲۱].

در گزارشی اثر چند مایۀ تلقیح حاوی باکتری‌های بومی ریزوبیوم بر رشد و عملکرد باقلا در مناطق مختلف عمدۀ تحت کشت این محصول در کشور بررسی شد که نتایج نشان داد که در خوزستان ۳۵ تا ۶۹، در مناطق مختلف کشور ۱۰ تا ۶۹ و به طور میانگین در کل کشور ۲۰ درصد افزایش عملکرد باقلا حاصل شده است [۹ ، ۱۰]. در غربالگری ۲۸۵ سویۀ بومی ریزوبیوم شبدر سفید در مقایسه با یک سوش استاندارد بین سه تا ۱۷۰ درصد برتری کارایی نشان دادند. این جدایه‌ها بر درصد جوانه‌زنی، تعداد گره، مقدار تثبیت نیتروژن، وزن گیاهچه، رشد گیاه و محتوای نیتروژن در گیاه مؤثر بودند [۶]. سویه‌های بومی مؤثر از نظر سازگاری و میزان تثبیت نیتروژن می توانند به‌لحاظ کاهش مصرف کودهای شیمیایی از نظر اقتصادی به صرفه و از نظر سلامت محیط زیست مؤثرتر باشند [۱۵ ، ۱۶]. همچنین اثر مثبت کودهای زیستی به‌صورت منفرد و تلفیقی بر کیفیت گیاهان علوفه‌ای گزارش شده است [۳۴].

ازآنجا که کیفیت علوفه همانند کمیت آن مهم است و تولید پایدار و کافی در عصر حاضر بدون کاربرد کودهای شیمیایی غیرممکن به‌نظر می‌رسد، هدف از پژوهش حاضر،

یافتن ترکیبی مؤثر از سویه – مقادیر کاهش‌یافتهٔ کودهای شیمیایی مؤثر بر عملکرد کمی و کیفی علوفهٔ تولیدی به‌منظور حرکت به‌سمت کشاورزی پایدار کم‌نهاده، امنیت غذایی و سلامت محیط زیست است.

۲. مواد و روش‌ها

آزمایش در دو مکان با بافت خاک متفاوت در مزرعهٔ تحقیقاتی ۱۴۰هکتاری ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد (مختصات طول جغرافیایی ۴۸/۵ درجهٔ شرقی و ۳۴ درجهٔ عرض شمالی) اجرا شد. ارتفاع محل‌های آزمایش حدود ۱۴۹۶ متر از سطح دریاهای آزاد، میانگین بارندگی سالانه ۴۵۹/۴ میلی‌متر، حداکثر دما ۴۰/۵ و حداقل آن ۹/۸- درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی حداکثر ۵۸ درصد و مجموع تبخیر سالانه ۲۰۱۲ میلی‌متر با اقلیم نیمه‌خشک مدیترانه‌ای با ضریب کنراد ۸۴ (براساس طبقه‌بندی دو مارتن) بود [۷]. مشخصات خاک‌شناسی محل‌های آزمایش در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل‌های تحت آزمایش

مکان	عمق (cm)	سیلت (٪)	ماس (٪)	رس (٪)	هدایت الکتریکی	واکنش کل اشباع	درصد کربن آلی	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)
شمارهٔ ۱	۳۰-۰	۵۰	۳۳	۱۷	۱/۴۲	۷/۳۹	۱/۱۲	۱۰/۸	۳۴۰
	۶۰-۳۰				۰/۶۹	۷/۶۰	۰/۶۶	۲/۸	۱۴۰
شمارهٔ ۲	۳۰-۰	۴۷	۲۹	۲۴	۱/۳۹	۷/۵۱	۱/۱۰	۹/۰	۲۹۰
	۶۰-۳۰				۰/۸۶	۷/۶۵	۰/۴۹	۵/۴	۱۶۰

آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای کود زیستی شامل جدایهٔ باکتری ریزوبیوم بومی منطقه (*Rhizobium legominosarum* bv.trifolli RTB2)، سودوموناس (*Pseudomonas* strine *florescence11168*)، کاربرد توأم باکتری ها و شاهد بود. تیمارهای کود شیمیایی شامل شاهد ($F_0=N_0+P_0$)، نیتروژن و فسفر ۷۵ درصد مقدار توصیه‌شده (۲۵ کیلوگرم کود اوره + ۵۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل[1]) ($F_1=N_{25}+P_{50}$)، نیتروژن و فسفر توصیه‌شده ($F_2=N_{40}+P_{100}$)، نیتروژن و فسفر ۱۲۵ درصد ($F_3=N_{75}+P_{150}$) بود. آزمایش‌ها در زمین‌هایی که در شهریور ۱۳۸۹ شخم خورده بودند، پس از دیسک زدن و تسطیح کرت‌هایی به ابعاد ۵ × ۲/۵ مترمربع با چهار خط به‌فاصلهٔ ۵۰ سانتی‌متر در اوایل مهر کشت شدند. مقدار بذر استفاده‌شده برای کل تیمارها ۱۵ کیلوگرم در هکتار بود که ۰/۵ ساعت قبل از کشت با باکتری‌های مورد نظر همراه با آب قند ۱۰ درصد آغشته شده و کشت شدند. جمعیت باکتری‌ها 5×10^8 cfu/ml بود. در این تحقیق، از لاین برتر به‌دست‌آمده از انتخاب توده‌های بومی استان لرستان به‌عنوان قطب تولید این محصول [۱۲ ، ۱۳] و باکتری‌های ریزوبیوم برتر بومی[2] (حاصل طرح‌های تحقیقاتی جمع‌آوری، شناسایی و غربالگری جدایه‌های باکتری

1. 46% N2, 46% P_2O_5

2. *Rhizobium legominosarum bv.trifolli* (*RTBr2*)

ریزوبیوم بومی استان لرستان) و باکتری افزایندهٔ رشد سودوموناس (تهیه‌شده از بانک باکتری بخش بیولوژی مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب) استفاده شد.

ارزیابی‌ها از دو خط وسط هر تیمار با حذف اثر حاشیهٔ ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر تیمار براساس دستورالعمل IPGRI به‌شرح ذیل صورت گرفت [۱۸].

عملکرد علوفهٔ تر از جمع عملکرد سه چین محاسبه شد، بدین صورت که در هر چین از هر کرت با کسر اثر حاشیه (یک متر از بالا و پایین و دو خط بیرونی) علوفهٔ باقی مانده در مساحت سه متر مربع برداشت و توزین شد. جمع سه چین به‌عنوان عملکرد علوفهٔ تر با تبدیل به واحد هکتار محاسبه شد.

در هر چین یک نمونهٔ یک کیلوگرمی علوفهٔ تر به‌صورت تصادفی از هر کرت برداشت شد و در آزمایشگاه در آون به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد خشک و سپس توزین شد و با استفاده از رابطهٔ:

درصد رطوبت =100*(WW-DW)/WW

(WW): وزن نمونهٔ تر علوفه

(DM): وزن نمونهٔ خشک علوفه

درصد مادهٔ خشک =۱۰۰- درصد رطوبت

درصد مادهٔ خشک محاسبه شد. با ضرب عملکرد علوفهٔ تر در درصد مادهٔ خشک هر تیمار در هر چین، عملکرد علوفهٔ خشک هر چین محاسبه شد. حاصل جمع عملکرد علوفهٔ خشک سه چین به‌عنوان عملکرد علوفهٔ خشک در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری ارتفاع گیاه در هر تیمار در هر چین قبل از برداشت از پنج نقطه به‌طور تصادفی ارتفاع گیاهان با خط‌کش اندازه‌گیری شد. میانگین ارتفاع پنج نقطه به‌عنوان ارتفاع کرت در هر چین و میانگین ارتفاع سه چین به‌عنوان ارتفاع گیاه در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری سرعت رشد مجدد ۱۰ روز پس از برداشت چین دوم، ارتفاع پنج نقطه به‌طور تصادفی از هر کرت با خط‌کش اندازه‌گیری شد و میانگین آنها، سرعت رشد مجدد هر تیمار در نظر گرفته شد.

شاخص آلودگی به بیماری لکهٔ سیاه (*Cymadothea trifolii pers & wolp, 1935*) براساس رابطهٔ (درصد آلودگی × شدت آلودگی = شاخص بیماری) محاسبه شد. محتوای کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر مدل CCM-200 از ۲۰ نقطهٔ هر پلات در دو خط وسط در مرحلهٔ شروع گلدهی اندازه‌گیری شد. کیفیت علوفه به‌منظور تعیین درصد صفات کیفی از جمله پروتئین خام، درصد فیبر خام، درصد خاکستر کل، درصد قندهای قابل حل در آب، دیوارهٔ سلولی همراه با همی‌سلولز و لیگنین، دیوارهٔ سلولی بدون همی‌سلولز، درصد مادهٔ‌خشک قابل هضم به‌صورت زیر ارزیابی شد:

ابتدا نمونه‌هایی به وزن تقریبی ۲۰۰ گرم وزن تر قبل از برداشت چین دوم (شروع گلدهی) برداشت و در آون در دمای ۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. از نمونهٔ خشک‌شده ۲۰ گرم جدا شد و پس از آسیاب کردن، تجزیهٔ کیفی به‌روش اسپکتروسکوپی مادون قرمز[1] انجام گرفت [۳۱، ۳۲].

داده‌ها پس از آزمون نرمال به‌روش کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد و تجزیهٔ واریانس با فرض ثابت بودن اثر مکان و تیمار با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام گرفت. مقایسهٔ میانگین به‌روش دانکن با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و MSTATC انجام گرفت. برای بررسی همگنی واریانس‌ها در تجزیهٔ مرکب از آزمون بارتلت استفاده شد. به‌دلیل معنادار بودن آزمون بارتلت و ناهمگن بودن واریانس خطاها تجزیهٔ واریانس عملکرد علوفهٔ خشک در دو مکان مجزا اجرا شد.

1. Near Inferred Reflectance spectroscopy (NIR).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه، ارتفاع گیاه، مقدار کلروفیل برگ، سرعت رشد مجدد، عملکرد علوفهٔ تر، درصد پروتئین خام (CP)، درصد مادهٔ خشک قابل هضم (DMD)، درصد فیبر خام (CF) و درصد مواد غیرقابل هضم (ADF) علوفهٔ شبدر ایرانی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات								
		عملکرد علوفهٔ تر	سرعت رشد مجدد	مقدار کلروفیل برگ	ارتفاع گیاه	شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه	مواد غیرقابل هضم (%)	فیبر خام (%)	مادهٔ خشک قابل هضم (%)	پروتئین خام (%)
مکان	۱	۱۲۷۰/۸**	۱۸۷/۱۳**	۴/۵۲ns	۵۷۷/۹۰**	۱۰۴۳/۳۴**	۳۱**	۴/۳ns	۰/۰۰۱۸۰۷**	۱۵۱۸/۷۶**
بلوک × مکان	۴	۹/۱۱	۸/۷۷	۳/۷۹	۳/۴۵	۱/۶۰	۰/۱۶	۱/۰۴	۰/۰۰۰۰۲۱۳	۱/۵۶
کود زیستی	۳	۲۴/۰۲*	۹۷/۷۳**	۷۴/۸۲**	۱۴/۸۹ns	۱۷۰/۵۸**	ns ۳/۰۶	۸/۰۹**	۰/۰۰۰۱۳۱ns	۵/۹۹ns
کود زیستی × مکان	۳	۱۳/۱۶ns	۶۴/۳۳**	۴۰/۲۹**	۸/۹۹ns	۷/۵۵*	۰/۱۸ns	۲/۶۹*	۰/۰۰۰۰۹۶ns	۹/۱/۸۹ns
بلوک × کود زیستی × مکان	۱۲	۵/۹۹ns	۷/۷۳ns	۳/۶۷*	۸/۸۶ns	۱/۱۷ns	۰/۳۵**	۱/۴۶**	۰/۰۰۰۰۶۱ns	۱۷/۶۹**
کود شیمیایی	۳	۱۴۳/۰**	۲۰/۰۳*	۲۲/۶۴۵**	۱/۱۰ns	۴۸/۱۸ns	۰/۶۳**	۱/۰۸**	۰/۰۰۰۰۲۲۲ns	۹/۷۳ns
کود شیمیایی × کود زیستی	۹	۱۵/۰۰*	۹/۴۲ns	۷/۳۴**	۳۷/۱۳ns	۸۱/۲۳**	۱/۰۳**	۵/۵۷**	۰/۰۰۰۶۷۸**	۱۳/۶۵ns
کود شیمیایی × مکان	۳	۳۲/۸۷**	۰/۸۳۱ns	۶/۳۸*	۳/۷۸ns	۱۱/۸۰**	۰/۰۷ns	۰/۳۰ns	۰/۰۰۰۱۰۵ns	۱۲/۲۱*
کود زیستی × کود شیمیایی × مکان	۹	۱۳/۰۰ns	۱۲/۳۹*	۵/۶۳**	۳۵/۵۸ns	۵۵/۵۳**	۰/۰۵ns	۰/۹۱ns	۰/۰۰۰۰۸۸۹ns	۷/۳۷ns
خطای کل	۴۸	۸/۴۶	۵/۵۸	۲/۱۰	۱۹/۲	۲/۵۳	۰/۱۰	۰/۵۷	۸E-۰۵	۵/۲۱
ضریب تغییرات (٪)		۸/۹	۴/۲۷	۴/۳۸	۴/۲۱	۹/۰۲	۳/۹۵	۲/۲۳	۰/۴۹	۱۰/۰۲

* : معنادار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ** : معنادار در سطح احتمال ۱ درصد؛ ns : غیرمعنادار.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. اثر مکان

اثر مکان بر صفات ارتفاع، عملکرد علوفهٔ تر و سرعت رشد مجدد در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۲). در تجزیهٔ شاخص های کیفی علوفه اثر مکان بر صفات درصد پروتئین خام، درصد مواد غیرقابل هضم و مواد غیرقابل هضم همراه با سلولز و لیگنین معنادار شد. محتوای کلروفیل برگ، درصد خاکستر کل و درصد قندهای محلول تحت تأثیر مکان قرار نگرفتند. ارتفاع گیاه، عملکرد علوفهٔ تر، سرعت رشد مجدد، درصد پروتئین خام، درصد مواد غیرقابل هضم و مواد غیرقابل هضم همراه با سلولز و لیگنین در مکان دو بیش از مکان یک مشاهده شد. از بین عوامل غیرزندهٔ مؤثر بر گیاه، خاک اهمیت ویژه ای دارد. ساختمان و بافت خاک نیز از عوامل مؤثر بر رشد و توسعهٔ ریشه و توزیع و فعالیت میکروارگانیسم ها در اطراف ریشه گزارش شده است [۲]. سلول‌های باکتری در خاک‌های رسی و لوم نسبت به خاک‌های با ساختمان نامناسب از نظر خلل‌وفرج رشد مناسب تری دارند، زیرا این خصوصیات به نفوذ و نگهداری رطوبت و تهویه و دمای خاک مربوط می‌شوند که برای فعالیت ارگانیسم‌های خاک ضروری است. اندازه، شکل و استحکام دانه بندی و ساختمان خاک بر این فعالیت ها مؤثرند که بهبود این عوامل تا حد زیادی به وجود مواد آلی به‌ویژه هیدرات کربن در خاک مربوط می شود. از طرف دیگر، فعالیت میکروبی، خود موجب بهبود ساختمان خاک و دانه بندی از طریق تولید Epsها[1] می‌شود [۲]. مجموع این عوامل موجب افزایش بازده کود های شیمیایی در خاک می‌شود. از بین عوامل خارجی مؤثر بر کیفیت علوفه، اثر اقلیم بر درصد پروتئین خام (CP)، درصد مواد غیرقابل هضم (ADF) و درصد مواد غیرقابل هضم و لیگنین (NDF) در علوفه‌ها گزارش شده است. همچنین برخی از تأثیرات خاک بر کمیت و کیفیت علوفهٔ تولیدی به قابلیت و توان نگهداری آب در خاک نسبت داده شده است [۵].

۲.۳. ارتفاع گیاه

ارتفاع گیاه تحت تأثیر هیچ کدام از تیمارها معنادار نشد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین اثر متقابل ارتفاع گیاه نشان داد که بیشترین ارتفاع مربوط به جدایهٔ افزایندهٔ رشد سودوموناس در سطح حداکثر استفاده از کود شیمیایی با ۸۲/۰۲ سانتی‌متر و کمترین مقدار مربوط به کاربرد توأم هر دو جدایه در سطح مقدار توصیه شدهٔ کودهای شیمیایی بود. مقدار این برتری ۱/۷۵ درصد نسبت به شاهد بود. همچنین گزارش های متفاوتی از اثر جدایه‌ها بر ارتفاع گیاهان مختلف بیان شده است [۷، ۲۰، ۳۹، ۴۰]. در گزارشی تلقیح توأم باکتری *Brady Rhizobium japanicum* و *Azotobacter chroococcum* سبب افزایش ارتفاع و وزن بخش‌های هوایی گیاه سویا شد [۳۷]. ریزوبیوم ها با تولید ترکیبات مختلفی نظیر اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریبوفلاوین ها و ویتامین‌ها و با نفوذ در ریشهٔ گیاهان لگوم و غیرلگوم موجب افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌شوند [۱۹ ، ۲۱].

۳.۳. سرعت رشد مجدد

کودهای شیمیایی و زیستی بر سرعت رشد مجدد به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنادار شدند (جدول ۲). در بین جدایه‌ها ریزوبیوم بومی با ۵۵/۳۳ سانتی‌متر و شاهد با ۵۳/۱۰ سانتی‌متر در ۱۰ روز بیشترین و کمترین اندازه را داشتند (جدول ۳). این در حالی است که در بین سطوح کود شیمیایی، با افزایش مقادیر کود شیمیایی بر سرعت رشد مجدد افزوده شد که این وضعیت به صورت یک رابطهٔ خطی و مستقیم به‌چشم می‌خورد (شکل‌های ۱ و ۲). بنابر گزارش‌ها اثر *Rhizobium leguminosarom* سرعت رشد

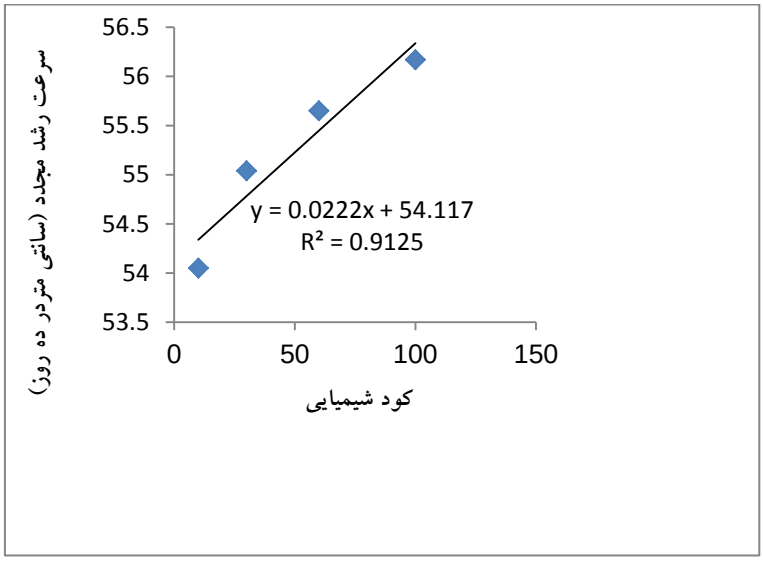
1. Exopolysaccharid

گیاهچه‌های کاهو و کلزا را در شرایط کنترل‌شده بـه سـرعت تحریک می‌کند [۳۵]. همچنین افزایش تحریـک رشـد گیـاه کاهو از طریق سازوکارهایی نظیر تولید سیدروفور یا افزایش حلالیت فسـفات توسـط سـویه‌هـای مختلـف *Rhizobium leguminosarom* گزارش شده است [۲۲ ، ۲۴].

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین تأثیرات سادهٔ صفات شاخص سرعت رشد مجدد، ارتفاع و درصد پروتئین خام علوفهٔ شبدر ایرانی

تیمار	پروتئین (٪)	ارتفاع (cm)	سرعت رشد مجدد (cm/10 days)
شاهد	۲۲/۵۴a	۷۹/۱۸a	۵۳/۱۰c
سودوموناس	۲۲/۱۶a	۸۰/۱۸a	۵۴/۵۶bc
ریزوبیوم بومی	۲۳/۲۳a	۷۸/۶۹a	۵۷/۹۲a
سودوموناس + ریزوبیوم بومی	۲۳/۱a	۷۸/۳۸a	۵۵/۳۳b
شاهد	۲۳/۳۲a	۷۸/۹۹a	۵۴/۰۵b
کاربرد کودهای شیمیایی (کمتر از مقدار توصیه‌شده)	۲۳/۵۷a	۷۹/۳۴a	۵۵/۰۴ab
کاربرد کود شیمیایی (مقدار توصیه‌شده = مرسوم)	۲۲/۵۲a	۸۸/۷۸a	۵۵/۶۵ab
کاربرد کودهای شیمیایی (بیش از مقدار توصیه‌شده)	۲۲/۵۴a	۷۹/۲۴a	۵۶/۱۷a

شکل ۱. اثر کود زیستی بر سرعت رشد مجدد



شکل ۲. اثر کود شیمیایی بر سرعت رشد مجدد

۴.۳. شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه

اثر متقابل هر دو گروه کودی بر شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه معنادار شد (جدول ۲). بیشترین شاخص آلودگی مربوط به ترکیب تیماری عدم کاربرد کود زیستی در سطح حداکثر کودهای شیمیایی (۲۷/۳۷) و کمترین مربوط به سودوموناس در سطوح عدم استفاده (۱۲/۳۸) و نیز حداکثر استفاده از کود شیمیایی (۱۱/۳۳) مشاهده شد (جدول ۴). باتوجه به معنادار بودن اثر مکان بر این شاخص مقادیر آنها در مکان دو ۲۰/۹۵ و در مکان یک ۱۴/۳۴ مشاهده شد. دلیل این برتری را می‌توان به اختلاف ارتفاع نسبی مکان یک نسبت به مکان دوم و درنتیجه دمای نسبی بیشتر مکان دوم، قابلیت نگهداری آب بیشتر به‌دلیل درصد رس بیشتر و همچنین نزدیکی مکان دوم به منبع افزایندهٔ رطوبت نسبی هوا (رودخانه) نسبت داد. مهار یا کاهش بیماری‌های مختلف توسط باکتری‌های افزایندهٔ رشد در منابع و گزارش‌های متعدد آمده است [۳، ۶]. میکروارگانیسم‌ها از دو طریق می‌توانند عوامل بیماری‌زا را کنترل کنند: نخست، اثر آنتاگونیسمی پاتوژن‌ها؛ دوم، تغییر در استعداد بیماری زایی میزبان و القای مقاومت در میزبان. جدایهٔ *R. legominesarum pv. trifoliit 24* یک آنتی‌بیوتیک پپتیدتریفولی توکسین تولید می‌کند که بر دامنهٔ وسیعی از پاتوژن‌های گیاهی مؤثر است، ولی به‌طور ویژه *R. leguminosarum* و *R. fredii* به آن حساس‌اند و تریفولی توکسین مانع تشکیل گره آنها از طریق رقابت با آنها می‌شود [۶]. به‌تازگی یک روش غیرمستقیم در کنترل عامل بیماری‌زا شناخته شده که در آن، دو عامل، تماس مستقیم ندارند، بلکه باکتری‌های غیربیماری‌زای ریزوسفر با نوعی سازوکار ایجاد مقاومت در گیاه به‌نام القای سیستمیک مقاومت[1]، در گیاه مقاومت ایجاد می‌کنند. این سیستم از طریق مسیر انتقال سیگنال جاسمونیک‌اسید و اتیلن عمل می‌کند. این مسیر اغلب در گونه‌های سودوموناس و تعدادی از گیاهان دولپه‌ای دیده می‌شود [۳]. با توجه به اینکه سازوکار کاهش آلودگی در این تحقیق به‌درستی معلوم نیست، تحقیقات جدید ضروری به‌نظر می‌رسد.

1. Induced Ssystemic Rresistance (ISR)

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه، مقدار کلروفیل برگ، عملکرد علوفهٔ تر (تن در هکتار)، درصد فیبر خام (CF)، درصد مواد غیرقابل هضم (ADF) و درصد مادهٔ خشک قابل هضم (DMD) علوفهٔ شبدر ایرانی

تیمار	فیبرخام (%)	مادهٔ خشک قابل هضم (%)	مواد غیرقابل هضم (%)	عملکردعلوفهٔ تر (t/ha)	مقدار کلروفیل برگ	شاخص آلودگی به لکهٔ سیاه
شاهد بدون کود زیستی و شیمیایی	۳۶/۸۴ a	۶۷/۶۴ a	۳۳/۲۶ c	۷۰/۰۹ de	۳۱/۲۹ e	۱۶/۷۳def
کود شیمیایی کمتر از مقدار توصیه‌شده + بدون کود زیستی	۳۵/۸۴ abc	۶۵/۱۷ h	۳۴/۹ ab	۷۳/۵۸ cd	۲۹/۸۵ fg	۲۰/۴۱ c
کود شیمیایی در حد توصیه‌شده + بدون کود زیستی (مرسوم)	۳۴/۶۱۰ cdef	۶۵/۱۸ h	۳۳/۹۹ bc	۷۳/۵۹ cd	۳۲/۱۶ de	۱۶/۲def
کود شیمیایی بیش از مقدار توصیه‌شده + بدون کود زیستی	۳۴/۸۹cdef	۶۵/۰۷j	۳۲/۶۶d	۷۳/۰۹cd	۳۲/۶۵ de	۲۷/۳۷ a
سودوموناس بدون کود شیمیایی	۳۳/۲۸ fgh	۶۵/۳ f	۳۲/۶۸ d	۶۹/۶۹ e	۳۳/۱۷ d	۱۲/۳۸ g
سودوموناس + کود شیمیایی کمتر از مقدار توصیه‌شده	۳۲/۸۹ gh	۶۴/۶۹ m	۳۳/۹۹ bc	۶۹/۵۶ e	۳۲/۳۹ de	۱۷/۵۷de
سودوموناس + کود شیمیایی در حد توصیه‌شده	۳۴/۷۷ cde	۶۵/۶۲ d	۳۳/۲۱ c	۷۵/۰۳ ab	۳۴/۳۶ abc	۱۵/۷۷ ef
سودوموناس+ کود شیمیایی بیش از مقدار توصیه‌شده	۳۲/۹۹ gh	۶۵/۱۷ h	۳۴/۳۹ abc	۷۶/۱۸ a	۳۶/۴۲ a	۱۱/۳۳ gh
ریزوبیوم بومی+ بدون کود شیمیایی	۳۴/۵۱ cdef	۶۵/۲۲ g	۳۴/۶۴ ab	۷۱/۶ cde	۳۴/۸۳ abc	۱۷/۶۴de
ریزوبیوم بومی+ کود شیمیایی کمتر از مقدار توصیه‌شده	۳۴/۱۶۱ defg	۶۵/۰۳ k	۳۴/۷۴ ab	۷۳/۸۴ c	۳۵/۶۹ ab	۱۴/۲۳ f
ریزوبیوم بومی+ کود شیمیایی در حد توصیه‌شده	۳۴/۴۹ efgh	۶۷/۱ b	۳۲/۲۹ de	۷۵/۱۲ a	۳۵/۴۱ ab	۱۷/۴۳de
ریزوبیوم بومی+ کود شیمیایی بیش از مقدار توصیه‌شده	۳۵/۳۹ bcd	۶۵/۱ i	۳۴/۹۹ a	۷۴/۷۹ abc	۳۴/۲۱ bcd	۱۸/۰ d
هردو کود زیستی + بدون کود شیمیایی	۳۲/۳۵ h	۶۵/۷۶ c	۳۴/۹۹ a	۶۶/۴۷ f	۳۱/۱۳ ef	۱۵/۷۳ ef
هردو کود زیستی + کود شیمیایی کمتر از مقدار توصیه‌شده	۳۶/۶۲ abc	۶۴/۹۳۱	۳۴/۱۳ abc	۷۰/۵۵ de	۳۰/۲۴ fg	۱۹/۰۷cd
هردو کود زیستی + کود شیمیایی در حد توصیه‌شده	۳۲/۸۸ gh	۶۵/۴۷ e	۳۳/۲۶ c	۷۴/۵۶ bc	۳۱/۴۳ e	۲۳/۶۶ b
هر دو کود زیستی + کود شیمیایی بیش از مقدار توصیه‌شده	۳۴/۲۴ defg	۶۴/۸ m	۳۴/۹ ab	۷۳/۹۷ C	۳۳/۸۸ cd	۱۸/۸ cd

۵.۳. عملکرد علوفهٔ تر و خشک

اثر متقابل دو کود در سطح احتمال ۵ درصد معنادار شد (جدول ۲). در مقایسهٔ میانگین اثر متقابل تیمارها، بیشترین عملکرد علوفهٔ تر مربوط به کاربرد سودوموناس در سطح کود شیمیایی بیش از مقدار توصیه شده و نیز کاربرد ریزوبیوم بومی در سطح مقدار توصیه‌شدهٔ کودهای شیمیایی (۷۶/۱۸ تن در هکتار) مشاهده شد. این برتری نسبت به روش مرسوم ۳/۳۹ درصد و نسبت به شاهد ۷/۹۹ درصد بود (جدول ۴).

نتایج تجزیهٔ واریانس جداگانه در دو مکان (معنادار بودن آزمون بارتلت) عملکرد علوفهٔ خشک نشان داد که بین تیمارهای کود زیستی در هر دو مکان تفاوت معنادار وجود دارد که در منطقهٔ یک در سطح احتمال ۱ درصد و در منطقهٔ دو در سطح احتمال ۵ درصد معنادار شدند. همچنین بین تیمارهای کود شیمیایی در هر دو مکان در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنادار مشاهده شد. عملکرد علوفهٔ خشک در منطقهٔ دو بیشتر از منطقهٔ یک بود. باتوجه به معنادار بودن اثر کودهای زیستی، بیشترین عملکرد مادهٔ خشک در منطقهٔ یک در سطح کاربرد توأم کودهای زیستی و در منطقهٔ دو به کاربرد سودوموناس اختصاص داشت. همچنین در سطوح کودهای شیمیایی بیشترین مقدار عملکرد خشک در منطقه های یک و دو تقریباً به مقادیر بیشتر از حد توصیه شدهٔ کودهای شیمیایی تعلق داشت (داده‌ها آورده نشده است). مشابه این نتایج در گزارش های مختلف آمده است [۹ ، ۱۰]. در تلقیح بذر تربچه با باکتری *Brady Rhizobium japonicum* گزارش شده است که این کار، وزن خشک گیاه را ۱۵ درصد افزایش داد و تأثیر معناداری بر رشد گیاه تربچه داشت [۲۲]. کاربرد باکتری حل‌کنندهٔ فسفات و ریزوبیوم همراه با نیترات در سویا در اوج غلاف‌دهی عملکرد دانهٔ سویا و وزن خشک اندام هوایی را در مقایسه با شاهد ۳۰ درصد افزایش داد [۳۷].

مصرف افزایندهٔ رشد ازتوباکتر در گندم سبب افزایش عملکرد ۷ تا ۱۲ درصدی شد که این افزایش عملکرد به افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی نسبت داده شده است [۲۸]. در بررسی کارایی میکوریزا و استرپتومایسس در سطوح مختلف فسفر و اثر کاربرد آن بر عملکرد گندم گزارش شده که کاربرد میکوریزا بر اکثر صفات مورد بررسی، مثبت و معنادار بود، ولی با افزایش مقدار مصرف فسفر، کارایی قارچ‌های میکوریزا کاهش یافت و بهترین نتیجه بر عملکرد در سطح ۶۰ کیلو PO در هکتار به‌دست آمد. سایر نتایج نشان داد که بین دو میکروارگانیسم به‌کاررفته از نظر تأثیر بر اغلب صفات مورد بررسی اثر آنتاگونیستی وجود دارد.

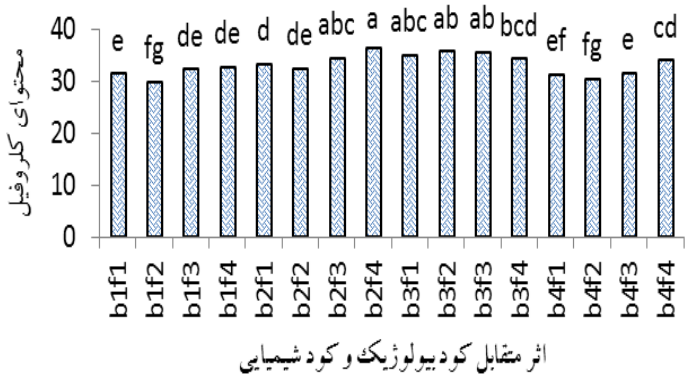
۶.۳. محتوای کلروفیل برگ

اثر متقابل تیمارها بر محتوای کلروفیل برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین مقادیر کلروفیل به‌ترتیب مربوط به ترکیب تیماری کاربرد سودوموناس در سطح کود شیمیایی کمتر از مقدار توصیه‌شده (۳۶/۴۲ واحد) و عدم کاربرد کود زیستی و در سطح مقادیر کمتر از توصیه‌شدهٔ کود شیمیایی (۲۹/۸۵ واحد) مشاهده شد (جدول ۴ و شکل ۳).

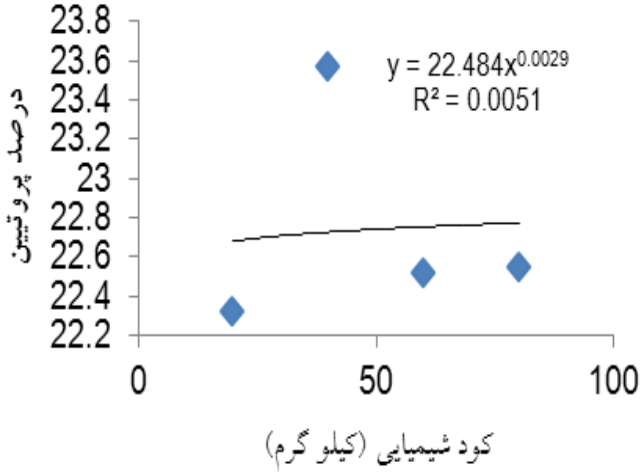
ازوتوباکترها رشد و محتوای کلروفیل گندم را افزایش دادند [۸]. همچنین طبق گزارش‌ها در گندم تلقیح‌شده با باکتری *Azospirillum brasilense* و قارچ *Glomus fasciculatum* غلظت کلروفیل، مقدار فتوسنتز و فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز و گلوتامین سینتتاز افزایش یافت و عملکرد دانه در حداکثر مقدار خود بود [۳۶].

همچنین کاربرد ازتوباکتر در یک طرح مزرعه‌ای در باقلا در سطح ۵ درصد معنادار گزارش شده و در مقایسه با شاهد موجب افزایش معنادار محتوای کلروفیل برگ شده

است، درصورتی‌که اثر ریزوبیوم در این تحقیق معنادار نبود. در این آزمایش، کاربرد کود نیتروژن گرچه موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ در مقایسه با شاهد شد، از نظر آماری معنادار نبود [۲۵].



شکل ۳. اثر متقابل کود شیمیایی و زیستی بر محتوای کلروفیل برگ



شکل ۴. اثر کود شیمیایی بر درصد پروتئین خام

ازوتوباکترها رشد و محتوای کلروفیل گندم را افزایش دادند [۸]. همچنین طبق گزارش‌ها در گندم تلقیح‌شده با باکتری *Azospirillum brasilense* و قارچ *Glomus fasciculatum* غلظت کلروفیل، مقدار فتوسنتز و فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز و گلوتامین سینتتاز افزایش یافت و عملکرد دانه در حداکثر مقدار خود بود [۳۶].

همچنین کاربرد ازتوباکتر در یک طرح مزرعه‌ای در باقلا در سطح ۵ درصد معنادار گزارش شده و در مقایسه با شاهد موجب افزایش معنادار محتوای کلروفیل برگ شده است، درصورتی‌که اثر ریزوبیوم در این تحقیق معنادار نبود. در این آزمایش، کاربرد کود نیتروژن گرچه موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ در مقایسه با شاهد شد، از نظر آماری معنادار نبود [۲۵].

۷.۳. درصد پروتئین خام

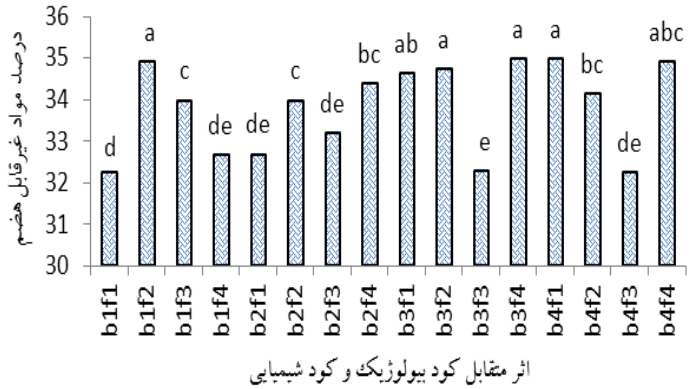
تفاوت معناداری بین کاربرد هیچ‌کدام از تیمارها مشاهده نشد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین اثر متقابل درصد پروتئین خام گیاه نشان داد که بیشترین درصد پروتئین خام مربوط به جدایهٔ ریزوبیوم بومی در سطح حداکثر استفاده از کود شیمیایی (۲۴/۷۶ درصد) بود (جدول ۴). اثر کودهای شیمیایی بر این صفت معنادار نشده است، ولی رابطهٔ بین آنها، یک رابطهٔ جزئی خطی مستقیم است، به این معنا که با افزایش مصرف کودهای شیمیایی بر درصد پروتئین خام افزوده شده است (شکل ۴). در گزارش‌ها آمده است که کاربرد باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات و قارچ مایکوریزا به‌صورت منفرد و تلفیقی می‌تواند سبب افزایش چشمگیر درصد پروتئین دانه و کاهش درصد مواد غیرقابل هضم همراه با لیگنین و همی‌سلولز (NDF) و افزایش درصد خاکستر علوفه در گیاه جو شود [۲۸ ، ۳۴]. همچنین کاربرد مقادیر مختلف کود ازته در افزایش مقدار پروتئین در سورگوم علوفه‌ای گزارش شده است.

۸.۳. درصد مادهٔ خشک قابل هضم

تفاوت معناداری بین کاربرد هیچ‌کدام از تیمارها بر این صفت مشاهده نشد، ولی اثر متقابل آنها در سطح ۵ درصد معنادار شد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین اثر متقابل درصد مادهٔ خشک قابل هضم گیاه نشان داد که بیشترین درصد مادهٔ خشک قابل هضم مربوط به کاربرد هر دو جدایه در سطح عدم استفاده از کود شیمیایی با ۶۵/۶ درصد بود که نسبت به شاهد و روش مرسوم به‌ترتیب موجب افزایش ۱/۵۲ و ۰/۶ درصد شد (جدول ۴). در یک بررسی، اثر مقدار نیتروژن فراهم‌شده برای گیاه بر قابلیت هضم گیاه ارزن مشاهده شد که با افزایش مقدار نیتروژن در دسترس، قابلیت هضم برگ‌های ارزن ۳ درصد افزایش یافت [۲۱]. در گزارشی دیگر، اثر مقادیر مختلف کود نیتروژنه بر این صفت، جزئی گزارش شد [۲۸]. نتایج آزمایشی دیگر نشان داد که مواد آلی، کودهای زیستی و کود شیمیایی تأثیر چندانی بر قابلیت هضم مادهٔ خشک و مادهٔ آلی، درصد ارزش هضمی و درصد خاکستر ندارند، اما بر مقدار پروتئین گیاه تأثیر زیادی دارند و می‌توانند از این طریق کیفیت علوفهٔ تولیدی را افزایش دهند [۸].

۹.۳. درصد مواد غیرقابل هضم و درصد فیبر خام

درصد فیبر خام و درصد مواد غیرقابل هضم از شاخص‌های منفی مؤثر بر کیفیت علوفه‌اند. در این آزمایش‌ها، باتوجه به معنادار شدن اثر متقابل تیمارها در هر دو صفت مقایسهٔ میانگین تیمارها نشان داد که کمترین درصد مواد غیرقابل هضم به ترکیب تیماری ریزوبیوم بومی در سطح توصیه شدهٔ کودهای شیمیایی (۳۲/۲۹ درصد) مشاهده شد (جدول ۴ و شکل ۵).



شکل ۵. اثر متقابل کود شیمیایی و زیستی بر درصد مواد غیرقابل هضم

برتری این ترکیب نسبت بـه روش مرسـوم ۵/۲۶- درصـد کاهش بود. درحالی‌که کمترین درصد فیبر خام بـه ترکیـب تیماری سودوموناس در سطح کودهـای شـیمیایی کمتـر از مقدار توصیه شده (۳۲/۸۹ درصد) مشاهده شد. برتری ایـن ترکیب نسبت به روش مرسوم ۵/۲۲- درصد کـاهش بـود. کاربرد باکتری‌های حل‌کننـدهٔ فسـفات و قـارچ مـایکوریزا به‌صورت منفرد و تلفیقی می‌تواند سبب کـاهش چشـمگیر NDF علوفه در گیاه جو شـود [۳۴]. همچنـین بـا افـزایش کود نیتروژنهٔ در دسترس، درصد مواد غیرقابل هضم کاهش می‌یابد [۲۸].

در این تحقیق، همبستگی بین صفات کیفی علوفه نشان داد که درصد پروتئین خام به‌طور مثبت و معنادار با درصـد مادهٔ خشک قابل هضم در سطح احتمال ۱ درصد و درصـد خاکسـتر کـل در سـطح احتمـال ۵ درصـد معنـادار بـود، درحالی‌که درصد فیبر خام در سطح احتمـال یـک درصـد، به طور منفی ارتباط دارد. همچنین همبستگی‌ها نشان داد که بین درصد مادهٔ خشک قابل هضم با مواد غیرقابل هضـم و مواد غیرقابل هضم و دیوارهٔ سلولی همراه با همی سـلولز و لیگنین همبستگی معنادار در سطح ۱ درصد به ترتیب منفـی و مثبت وجود دارد (جدول ۵). در دیگر تحقیقات، برتـری کاربرد کودهای آلی و زیستی نسبت به کودهـای شـیمیایی به‌دلیل افزایش درصد پروتئین در کل دورهٔ رشد به‌ویـژه در گیاهان علوفه‌ای با توان چـین‌بـرداری برتـر گـزارش شـده اسـت، زیـرا کودهـای شـیمیایی دچـار آبشـویی و تثبیـت می‌شوند؛ بنابراین نسبت به کودهای آلی و زیستی بـه طـور مقطعی ممکن است افزایش کیفی از جمله مقـدار پـروتئین علوفه را به دنبال داشته باشند. این وضعیت در حالی اسـت که کودهای ذکرشده در کل دورهٔ رشـد کیفیـت محصـول، به‌ویژه درصد نیتروژن و پروتئین را تحت تـأثیر قـرار مـی‌دهند [۲۰ ، ۲۱]. همچنین گزارش شده کـه پـروتئین خـام همبستگی مثبت بـالایی بـا قابلیـت هضـم مـادهٔ خشـک و همبستگی منفی بالایی با اجزای دیوارهٔ سلولی دارد [۳۰].

همبستگی مثبت محتوای پروتئین با درصد مادهٔ خشـک و همبستگی منفی هر دو با درصد فیبر خام غیرقابل هضـم نیز از آثار مثبت تلفیق کودهای شیمیایی و زیستی به‌منظـور افزایش کیفیت علوفه در ایـن تحقیـق اسـت کـه در دیگـر گزارش‌ها نیز آمده است [۱۱، ۱۹، ۲۱ ، ۲۲].

در مجموع کارایی نسبی به‌کارگیری تیمارهـای کـاربرد کودهای زیستی در سطح مقادیر کاهش‌یافتهٔ کـود شـیمیایی (f_2b_2، f_2b_4 و f_2b_3) در مقایسـه بـا روش مرسـوم (f_3b_1) موجـب افـزایش پـروتئین خـام (۲/۶ درصـد) محتـوای کلروفیل (۱/۹ درصد)، سرعت رشد مجدد (۴/۶۹ درصـد)، خاکستر کـل (۳/۹۷ درصـد) و کـاهش درصـد فیبـر خـام (۰/۱۵- درصد) شده است. همچنـین صـفات مختلـف بـه جدایه‌ها واکنش‌های متفاوتی نشان دادند، به‌طوری‌که کـاربرد هر دو جدایه بر صفات درصد قنـدهای محلـول و عملکـرد علوفهٔ خشک مـؤثرتر بودنـد. درحـالی‌کـه سـودوموناس بـر افزایش ارتفاع گیاه و کاهش شـاخص هـای منفـی مـؤثر بـر کیفیت علوفه (درصد فیبر خام و درصد مواد غیرقابـل هضـم علوفه) مؤثرتر بود. کاربرد ریزوبیـوم بـومی نیـز بـر افـزایش درصد پروتئین خام، محتوای کلروفیل، سرعت رشد مجدد و عملکرد علوفهٔ تر و کاهش شاخص آلـودگی بـه لکـهٔ سـیاه مؤثرتر بود. با اعمال ایـن روش (کـاربرد کودهـای شـیمیایی کمتر از حد توصیه شده همراه بـا کـاربرد کودهـای زیسـتی) به‌ویژه ریزوبیوم بومی به دلیل سازگاری بیشتر، سالانه می‌توان کاهش مصرف کود نیتروژنه (اوره) به مقدار تقریبی ۱۱۰۰ تن و فسفر (سوپرفسفات تریپل) به مقدار تقریبـی ۲۱۵۰ تـن در سال در اراضی تحت کشت شبدر ایرانی در کشور را انتظـار داشت و این گامی مهـم در جهـت دسـتیابی بـه کشـاورزی پایدار کم‌نهاده (LISA)[1]، سلامت محـیط زیسـت و افـزایش کیفیت محصول تولیدی به‌شمار می‌رود.

1. Low Input Sustainable Agriculture

جدول ۵. همبستگی شاخص‌های درصد قندهای محلول (WSC)، درصد مادهٔ خشک قابل هضم (DMD)، درصد خاکستر کل(ASH)، درصد فیبر خام (CF)، درصد مواد غیرقابل هضم (ADF)، درصد پروتئین خام (CP) و درصد مواد غیرقابل هضم همراه همی‌سلولز و لیگنین (NDF) علوفهٔ شبدر ایرانی

	درصد							
	پروتئین خام (CP)	مادهٔ خشک قابل هضم (DMD)	قندهای محلول (WSC)	مواد غیرقابل هضم (ADF)	خاکستر کل (ASH)	فیبر خام (CF)	مواد غیرقابل هضم همراه همی‌سلولز و لیگنین (NDF)
(CP)	۱/۰۰۰۰						
(DMD)	۰/۷۰**	۱/۰۰۰۰					
(WSC)	−۰/۲۸	۰/۱۴	۱/۰۰۰۰				
(ADF)	−۰/۳۵	−۰/۷۴**	−۰/۲۳	۱/۰۰۰۰			
(ASH)	۰/۵۶*	۰/۳۸	−۰/۱۶	−۰/۰۶	۱/۰۰۰۰		
(CF)	−۰/۷۳**	−۰/۴۶	۰/۱۵	۰/۲۲	−۰/۸۳**	۱/۰۰۰۰	
(NDF)	۰/۵۲	۰/۷۴**	−۰/۱۰	−۰/۴۰	۰/۶۳**	−۰/۴۸	۱/۰۰۰۰

* : معنادار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ** : معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.

۴. پیشنهادها

پیشنهاد می شود این آزمایش در مناطق دیگر شبدرکاری تکرار و اثر این تیمارها در زمینهٔ تنش خشکی نیز بررسی شود و برای محاسبهٔ مقدار تثبیت نیتروژن از روش‌های دقیق‌تر مانند ترقیق ایزوتوپی و برای بررسی آثار احتمالی کودهای زیستی بر آلودگی به لکهٔ سیاه از روش‌های مولکولی بهره گرفته شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از آقایان کریم قربانی ریاست محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان و عزت‌الله نباتی ریاست محترم ایستگاه تحقیقات کشاورزی بروجرد و همچنین آقایان علی اشرف جعفری، شهرام امیدواری، احمد پیرهادی و خانم‌ها فاطمه پرویزی، فرزانه صحرانورد و مریم خراسانی‌زاده به خاطر همکاری‌هایشان از اجرا تا نگارش این مقاله صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

۱. آتنا ب ا، غلامی و و اسدی رحمانی ه (۱۳۹۰) مطالعهٔ تأثیر سویه‌های باکتری‌های محرک رشد ازتوباکتر و آزوسپیرپلیوم بر خصوصیات رشد و عملکرد ذرت. آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۵(۱): ۱-۱۰.

۲. اسدی رحمانی ه، اصغرزاده ا، خاوازی ک و ثواقبی غ (۱۳۸۶) حاصلخیزی بیولوژیک خاک. نشر جهاد دانشگاهی تهران.

۳. احمدزاده م (۱۳۹۱) کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران.

۴. اردکانی م، مظاهری د، مجد ف و نورمحمدی ق (۱۳۷۹) بررسی کارآیی میکرریزاواسترپتوماسیس در سطوح مختلف فسفر و تأثیر کاربرد آن‌ها بر عملکرد و برخی صفات گندم. علوم زراعی ایران. ۲(۲): ۲۵-۳۲.

۵. ارزانی ج، پیری صحراگرد ج و ساعدی ک (۱۳۸۹) مقایسهٔ کیفیت علوفهٔ برخی گونه‌های گیاهی مراتع سارال کردستان در مراحل مختلف فنولوژیک. مرتع. ۴(۲): ۸۳-۹۵.

۶. اکبری غ ع، الهدادی ا، دشتی ش و علیخانی ح (۱۳۹۱) میکروبیولوژی خاک (ریزموجودات و رشد گیاهان) (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران.

۷. بی نام (۱۳۷۲) مجموعه مقالات نخستین سمینار علمی تحقیقی دشت سیلاخور. گروه کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد.

۸. حاجی‌بلند ر، علی اصغرزاده ن و مهرفر ز (۱۳۸۳) بررسی اکولوژیکی ازوتوباکتر در دو منطقهٔ مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۸(۲): ۷۵-۹۰.

۹. خسروی ه و رمضان‌پور م (۱۳۸۳) بررسی مایه تلقیح ریزوبیوم بر رشد باقلا در مازندران. خاک و آب. ۱۸: ۱۴۶-۱۶۲.

۱۰. خسروی ه، خاوازی ک و میرزاشاهی ک (۱۳۸۰) استفاده از مایهٔ تلقیح باقلا به جای کود شیمیایی اوره در منطقهٔ صفی‌آباد دزفول. خاک و آب. ۱۲: ۱۴۶-۱۶۲.

۱۱. سعیدنژاد ا، رضوانی مقدم پ و نصیری محلاتی م (۱۳۹۰) بررسی اثر کاربرد مواد آلی، کودهای بیولوژیک و کود شیمیایی بر قابلیت هضم و میزان پروتئین سورگوم علوفه‌ای رقم اسپیدفید. پژوهش‌های زراعی ایران. ۹(۴): ۶۲۳-۶۳۰.

۱۲. شاهوردی م و زمانیان م (۱۳۸۶) بررسی و مقایسه

عملکرد مقدماتی عملکرد علوفهٔ لاین های دیررس شبدر ایرانی. گزارش نهایی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. شمارهٔ ثبت: ۸۶/۲۵۱.

۱۳. شاهوردی م و زمانیان م (۱۳۸۸) بررسی و مقایسهٔ عملکرد نیمه‌نهایی عملکرد علوفه و سایر خصوصیات لاین های دیررس شبدر ایرانی. گزارش نهایی مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. شمارهٔ ثبت: ۸۸/۶۸۹.

۱۴. شاهوردی م، میرشکاری ب، اردکانی م ر، اسدی‌رحمانی ه، رشیدی و، رهجووم و و نصرالهی م (۱۳۹۰) سودمندی نسبی کاربرد کودهای بیولوژیک نسبت به کودهای شیمیایی در کاهش خسارت زنگ شبدر ایرانی. خلاصه مقالات اولین همایش پایش و پیش‌آگاهی در گیاهپزشکی ایران.

۱۵. غزائیان م، علیخانی ج، لکریان ا و حق‌نیا غ (۱۳۸۷) مطالعهٔ توان همزیستی و حل فسفات باکتری‌های *Rhizobium legomiosarum bv.viceae*. قابل دسترس در: www.sid.ir/fa/VEWSSID/J_pdf/ 75313830105. pdf.

۱۶. قلی‌پور ه، نبی‌زاده ا و نصراله‌زاده ا (۱۳۸۶) بررسی تثبیت نیتروژن در جدایه‌های بومی ریزوبیوم در یونجه‌های یکساله. پژوهش در علوم زراعی. ۲(۲): ۸۳-۷۸.

۱۷. مرشدی ع (۱۳۸۲) مروری بر تولید و مصرف جهانی کود. نهاده. ۷: ۲۲-۲۶.

۱۸. مقدم ع (۱۳۸۲) دستورالعمل یادداشت برداری صفات در آزمایشات یونجه، انتشارات مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر، شمارهٔ ثبت: ۳۷۰/۸۲.

19. Ahmed SA, Halim RA and Ramlan MF (2012) Evaluation of the use of farmyard manure on a Guinea Grass (panicum maximum) stylo (stylosanthes guianensis) mixed pasture. Pertanila Journal Tropical Agriculture Science. 35(1): 55-65.

20. Antoun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R and Lalande R (1998) Potential of Rhizobium and Brady Rhizobium species as plant growth promoting Rhizobacteria on non-legumes: effect on radish (Raphanus sativus L.). Plant and Soil. 204: 57-67.

21. Babiker EE, ELSheikh AE, Osman AJ and EL Tinay AH (1995) Effect of nitrogen fixation, nitrogen fertilization and viral Infection on yield, tannin and protein contents and in vitro protein digestibility of faba bean. Plant Foods for Human Nutrition. 47: 257-263.

22. Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB, Yanni YG and Rolfe BG (2000) Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agronomy. 92: 880-886.

23. Chabot R (1996) Growth promotion of maize and lettuce by P solubilizing R.l. biovar. Phaseoli. Plant and Soil. 184: 311-321.

24. Dakora FD, Matiru VN, King M and Phillips DA (2002) Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. In: Finan T.M., O'Brian M.R., Layzell D. B., Vessey K. and Newton W. E., eds. Nitrogen Fixation: Global perspectives. Wallingford UK: CABI Publishing, 321.

25. Dashadi M, Khosravi H, Moezzi A, Nadian H, Heidari M and Radjab R (2011) Co-Inoculation of Rhizobium and Azotobacter on growth of faba bean under water deficit conditions. American-Eurasian Journal Agriculture and Environment Science. 11(3): 314-319.

26. Elsheikh EAE and Elzidany AA (1997) Effects of Rhizobium inoculation, organic and chemical fertilizers on yield and physical properties of faba bean seeds. Plant Foods for Human Nutrition. 51: 137-144.

27. Erice W and Terses Barta M (1987) Trifolitoxin production and nodulation are necessary for the expression of superior nodlutaion competitivenesis by Rhizobium legominosarum bv. trifolgii strain T24 on clover. Plant Physiology. 85: 335-342.

28. Fraser J, McCarney D, Najda H and Mir Z (2009) Tiled potential and forage quality of annual forage legumes in southern alberta and northeast Saskatchewan. Canadian Journal in Plant Science. 84: 143-185.

29. Goto I and Minson DJ (1977) Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a Pepsin cellulose assay. Animal Feed Science and Technology. 2: 247-253.

30. Hofman PC, Brehmand NM and Bauman LM (1999) Prediction of laboratory and In Situ protein fractions in legume and grass silages using Near-Infrared Reflectance spectrometry. Dairy Science. 82(4): 764-770.

31. Jafari A, Connolly V, Frolich A and Walsh EK (2003) A note on estimation of quality in perennial ray grass by NIR. Irish Journal of Agriculture and Food Research. 212:193-299.

32. Mehrvarz, S and Chaichi MR (2008) Effect of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on forage and grain quality of barely (Hordeum vulgare.). American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science. 3(6): 855-860

33. Noel TC, Shen C, Yost CK, Pharis RP and Hynes MF (1996) Rhizobium leguminosarum as a plant growth promoting Rhizobacterium: Direct growth promotion of canola and lettuce. Microbiology. 42: 279-283.

34. Panwar JDS (1991) Effect of VAM and Azospirillum brasilense on photosynthesis, nitrogen metabolism and grain yield in wheat. Plant Physiology. 34: 357-361

35. Subba Rao NS (ed)., (1993) Biofertilizer in agriculture and forestry, (3rd edn.) Oxford and IBH Pub, New Dehli, India

36. Vance CP (1988) Legume symbiotic nitrogen fixation: Agronomic aspects, In: spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaas, P. J. J. (Eds). The Rhizobiaceae. Molecular Biology of Model Plant Associated Bacteria, Kluwer Academic Publishers, pp. 157-139.

37. Taylor NL (1985) Clover science and Technology. American Society of Agronomy. Inc. Madison, Wiscansin U.S.A.

38. Vessey K (2003) Plant growth promoting Rhizobacteria as biofertilizres. Plant and Soil. 255: 571-586.

39. Wilson JR (1994) Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. Agriculture Science. Camb. 122: 173-182.

40. Zahir AZ, Abbas SA, Khalid A and Arshad M (2000) Substrate dependence microbial derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. Biological Science. 3: 289-291.

41. Zamanian M (2002) Persian Clover. Seed and Plant Improvement Institute Press. No. 81.