



## تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری ریزوبیوم بر عملکرد و جذب نیتروژن و فسفر توسط یونجه رقم یزدی

محبوبه افخمی عقدا<sup>۱</sup> و سمیه قاسمی<sup>۲</sup>

۱ و ۲ - به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه یزد

### چکیده

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه یزد، انجام شد. تیمارها شامل سطوح مختلف کود فسفر (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع مونوآمونیم‌فسفات و دو سطح باکتری (بدون تلقیح و تلقیح با ریزوبیوم ملیوتی) بودند. نتایج نشان داد که تأثیر تلقیح باکتری ریزوبیوم بر وزن خشک شاخساره و جذب نیتروژن و فسفر توسط یونجه بسته به سطح فسفر متفاوت بود. تلقیح باکتری در سطح ۵۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک، باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره و جذب فسفر شد. تأثیر تلقیح باکتری بر جذب نیتروژن نیز در سطوح صفر و ۵۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک معنی‌دار بود. به‌طور کلی، بیشترین وزن خشک شاخساره، جذب نیتروژن و فسفر در گیاهان تیمار شده با باکتری به همراه کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: جذب فسفر، ریزوبیوم، مونوآمونیم‌فسفات.

### مقدمه

فسفر عنصری پرمصرف و ضروری است که نقش‌های مهمی در توسعه گیاهان دارد. فسفر جزء ساختاری مولکول‌های کلیدی مانند اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدها و ATP است و در نتیجه گیاهان نمی‌توانند بدون یک منبع قابل اطمینان از این ماده مغذی رشد کنند (دنیل و همکاران، ۱۹۹۸). فسفر همچنین یک عنصر ضروری برای باکتری ریزوبیوم جهت تبدیل نیتروژن اتمسفر به شکل قابل استفاده برای گیاهان (آمونیم) است. در فرآیند احیای نیتروژن مولکولی به آمونیم، فسفر به عنوان منبع انرژی بوده و ۱۶ مولکول آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) به آدنوزین‌دی‌فسفات (ADP) تبدیل می‌شود. فسفر به عنوان منبع انرژی، در توسعه گره نیز نقش اساسی دارد. کمبود فسفر، رشد ریشه، فرآیند فتوسنتز، انتقال قندها و عملکردهای دیگر که مستقیم یا غیر مستقیم، تثبیت نیتروژن در گیاهان لگوم را تحت تأثیر قرار می‌دهد، محدود می‌کند.

مقدار سالانه تثبیت بیولوژیکی نیتروژن حدود ۱۷۵ میلیون تن تخمین زده می‌شود که حدود ۷۹ درصد آن مربوط به سیستم‌های خاکی است (اسدی-رحمانی و همکاران، ۲۰۰۵). تثبیت بیولوژیکی نیتروژن راه ارزان‌تری برای بهبود حاصلخیزی و باروری خاک است. استفاده از تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، عرضه مداوم نیتروژن برای رشد گیاه و اضافه کردن مواد آلی به خاک را فراهم می‌کند (پاکوبو و همکاران، ۲۰۱۰). تثبیت نیتروژن به وسیله لگوم‌ها در اثر مشارکت یک باکتری و یک گیاه انجام می‌شود (لیندمن و گلور، ۲۰۰۳). کمبود فسفر ممکن است یک عامل محدود کننده جدی برای لگوم‌ها باشد، چون در فرآیند تثبیت نیتروژن، نیاز قابل توجهی برای فسفر وجود دارد (تسوتکوا و جنورگیو، ۲۰۰۷). بنابراین، با توجه به اینکه بهبود قابلیت دسترسی فسفر خاک برای جذب گیاه و ایجاد محیط مناسب برای فعالیت باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن، اهمیت زیادی دارد، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری ریزوبیوم بر عملکرد و جذب نیتروژن و فسفر توسط یونجه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

باکتری ریزوبیوم ملیوتی از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه گردید و بر روی محیط کشت اختصاصی YMA (Yeast Extract Mannitol Agar) فعال‌سازی و تکثیر شد. نمونه خاک نیز از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری مزرعه‌ای واقع در شهر یزد تهیه شد. خاک مورد استفاده دارای بافت لومی شنی، pH ۸/۱۷، قابلیت هدایت الکتریکی ۲/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و مقدار آهک ۳۷/۵ درصد بود.

در این پژوهش، برای بررسی تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری ریزوبیوم بر عملکرد و جذب نیتروژن و فسفر توسط یونجه رقم یزدی (*Medicago sativa L.*)، آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه یزد، انجام شد. ابتدا وزن مشخصی از خاک‌های نمونه‌برداری شده، با تیمارهای کود فسفر (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع مونوآمونیم‌فسفات مخلوط شده و به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند. سپس بذرهای یونجه با آب اکسیژنه (یک درصد) ضدعفونی شدند. پس از آن، تیمارهای باکتری بر روی بذرهای یونجه اعمال شده و درون گلدان‌های حاوی سطوح مختلف کود فسفر کشت شدند.

پس از گذشت حدود شش ماه از کشت گیاه، ریشه و شاخساره گیاه به‌طور جداگانه برداشت و با آب مقطر شسته شدند. پس از تعیین وزن خشک شاخساره، نمونه‌ها آسیاب و عصاره‌گیری انجام گردید. برای تهیه عصاره، ۰/۵ گرم از نمونه پودر شده در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس، خاکستر گردید و سپس با استفاده از اسیدکلریدریک ۲ نرمال عصاره‌گیری شد. غلظت نیتروژن به وسیله دستگاه کلدال و فسفر به روش رنگ سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Analytic jena 210 در طول موج ۸۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (کوتنی، ۱۹۸۰). مقدار جذب کل عناصر در شاخساره، از حاصل ضرب وزن خشک شاخساره در غلظت عناصر، محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس دو طرفه و آزمون مقایسه میانگین دانکن، در نرم‌افزار SPSS Statistics 22 انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excell 2013 استفاده شد.

## نتایج و بحث

### -وزن خشک شاخساره

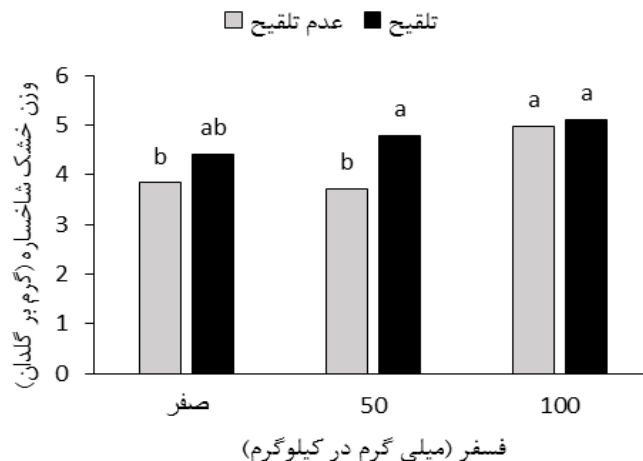
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تلقیح باکتری و کود فسفر بر وزن خشک شاخساره در سطح پنج درصد معنی‌دار است، اما اثر متقابل این تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری بر وزن خشک شاخساره و جذب نیتروژن و فسفر توسط یونجه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		وزن خشک شاخساره	جذب نیتروژن
تلقیح باکتری	۱	۱/۵۹۴*	۴۲۸۱/۸۲۶**
کود فسفر	۲	۱/۴۸۰*	۵۴۵۸/۷۳۷**
تلقیح باکتری × کود فسفر	۲	۰/۳۲۷ <sup>ns</sup>	۴۴۰/۸۲۸ <sup>ns</sup>
خطای آزمایش	۱۲	۰/۲۴۲	۴۲۵/۳۵۰

\*، \*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری است.

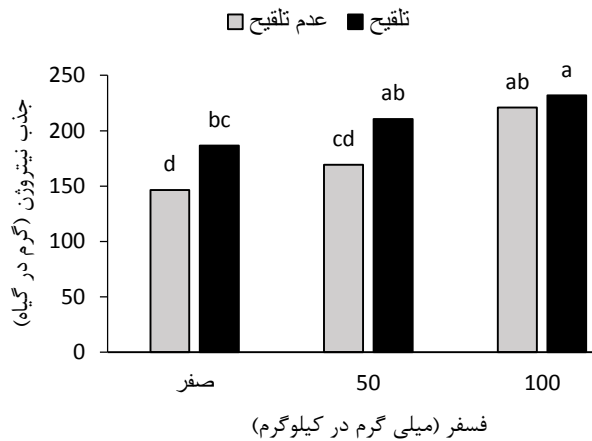
در تیمارهای بدون تلقیح باکتری ریزوبیوم ملیوتی، کاربرد ۵۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی داری بر وزن خشک شاخساره نداشت، اما تیمار ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم باعث افزایش معنی دار وزن خشک شاخساره شد. در شرایط تلقیح باکتری افزودن کود فسفر بر وزن خشک شاخساره تأثیر معنی دار نداشت (شکل ۱). نتایج تحقیقات حسین و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که با افزایش سطوح فسفر، وزن خشک شاخساره گیاه ماش افزایش یافت و زمانی که فسفر همراه با باکتری ریزوبیوم به کار رفت، این افزایش بیشتر شد.



شکل ۱- تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری بر وزن خشک شاخساره یونجه.

#### -جذب نیتروژن

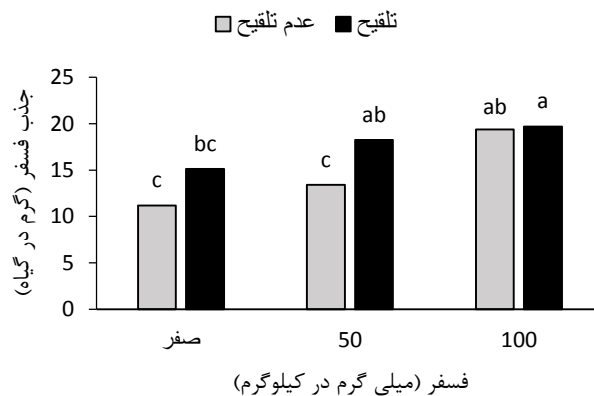
تأثیر تلقیح باکتری و کود فسفر بر جذب نیتروژن شاخساره در سطح یک درصد معنی دار بود، اما اثر متقابل آن‌ها معنی دار نشد (جدول ۱). در شرایط عدم تلقیح باکتری، تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی داری بر جذب نیتروژن نداشت، اما تیمار ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات باعث افزایش معنی دار جذب نیتروژن شد. در شرایط تلقیح باکتری نیز کاربرد ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات باعث افزایش معنی دار جذب نیتروژن گردید درحالی که تأثیر تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات بر جذب نیتروژن معنی دار نبود (شکل ۲). بیشترین جذب نیتروژن مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات به همراه تلقیح باکتری بود. سایرام و همکاران (۱۹۸۴) نیز مشاهده کردند که با کاربرد فسفر، جذب نیتروژن در لوبیای تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم افزایش یافت.



شکل ۲- تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری بر جذب نیتروژن شاخساره یونجه.

#### جذب فسفر

تأثیر تلقیح باکتری بر جذب فسفر شاخساره در سطح پنج درصد و کود فسفر در سطح یک درصد معنی دار بود، اما اثر متقابل آن‌ها معنی دار نشد (جدول ۱). در شرایط عدم تلقیح باکتری، تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی داری بر جذب فسفر نداشت، اما تیمار ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات باعث افزایش معنی دار جذب فسفر گردید. در شرایط تلقیح باکتری نیز تأثیر تیمار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات بر جذب فسفر معنی دار نبود، اما کاربرد ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کود مونوآمونیم فسفات در مقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش معنی دار جذب فسفر شد (شکل ۳). حسین و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند که مصرف فسفر همراه با تلقیح باکتری ریزوبیوم موجب افزایش غلظت و جذب فسفر در گیاه ماش شد.



شکل ۳- تأثیر کود فسفر و تلقیح باکتری بر جذب فسفر شاخساره یونجه.

#### منابع

Assadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., and Rejali, F. 2005. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. In: K. Khavazi, H. Assadi-Rahmani and M.J. Malakoti (Eds.). Necessity for the production of biofertilizers in Iran. Compilation of papers- 2nd Edition. Soil and Water Research Institute. p. 80-108.



- Cottenie, A. 1980. Methods of plant analysis. In: soil and plant testing. FAO Soils Bulletin, 38: 64-100.
- Daniel, P.S., Robert, JR., and Ayling, SM. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiol, 116: 447-453.
- Hussain, A., Amjed, A., Akhtar, J., and Yasin, M. 2010. Effects of phosphorus in combination with rhizobium inoculation on growth and yield parameters of mungbean. Crop and environment, 1: 53-56.
- Hussain, A., Amjed, A., and Noorka, I.R. 2012. Effect of phosphorus with and without rhizobium inoculation on nitrogen an phosphorus concentration and uptake by mungbean (*Vigna radiata* L.). J. Agric. Res. 50: 49-57.
- Lindemann, W.C., and Glover, C.R. 2003. Nitrogen fixation by legumes. Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics. Guide A-129.
- Sairam, R.K., Tomer, P.S., and Gauguly, T.K. 1984. Growth, nitrogen uptake and forage yield of cowpea as affected by phosphorus application and inoculation. Agricultural Science Digest, 4: 83-86.
- Tsvetkova, G.E., and Georgiev, G.I. 2007. Changes in phosphate fractions extracted from different organs of phosphorus starved nitrogen fixing pea plants. Journal of Plant Nutrition, 30: 2129-2140.
- Yakubu, H., Kwari, J.D., and Sandabe, M.K. 2010. Effect of phosphorus fertilizer on nitrogen fixation by some grain legume varieties in sudano – sahelian zone of north eastern nigeria. Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 18: 19-26.

**Effect of phosphorus fertilizer and inoculation of rhizobium bacteria on the yield and N and P uptake by alfalfa (*Yazdi cultivar*)**

M. Afkhami Aghda<sup>1</sup> and S. Ghasemi<sup>2</sup>

M.Sc. Graduate and Assistant Prof. respectively, Dept. of Soil Science, University of Yazd,

**Abstract**

This experiment was set up in a completely randomized factorial design with three replication in the research greenhouse of Yazd University. Treatments were including different levels of phosphorus fertilizer (0, 50 and 100 mg/kg) from mono ammonium phosphate, and two levels of bacteria (not inoculated and inoculated with Rhizobium). Results indicated that the effects of rhizobium inoculation on the shoot dry weight and N and P uptake by alfalfa varied depending on the level of phosphorus. Bacteria inoculation in 50 mg P/kg soil, increased shoot dry weight and P uptake. The effect of bacterial inoculation on the N uptake was significant in the 0 and 50 mg P/kg soil. Generally, maximum shoot dry weight, N and P uptake was observed in inoculated plants along with application of 100 mg P/kg soil.

**Keywords:** Phosphorus uptake, Rhizobium, Mono ammonium phosphate.