

اثر متقابل باکتری *Ensifer meliloti* (*Sinorhizobium meliloti*) و فسفر بر برخی

ویژگی‌های رشد گیاه یونجه در شرایط کمبود آب در خاک

شاکه مارکاریان، نصرت اله نجفی¹، ناصر علی اصغرزاد و شاهین اوستان

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، دانشگاه تبریز، Shakeh_ma@yahoo.com

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، n-najafi@tabrizu.ac.ir

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، n_aliasghar zad@yahoo.com

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، oustan@hotmail.com

دریافت: 92/12/15 و پذیرش: 94/5/12

چکیده

گیاهان مناطق خشک و نیمه‌خشک معمولاً در طی فصل رشد با تنش‌های مختلفی از جمله تنش خشکی مواجه می‌شوند. در یک آزمایش گلخانه‌ای، تأثیر سطوح رطوبت خاک، فسفر و مایه‌زنی باکتری *Ensifer meliloti* بر ویژگی‌های رشد گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) رقم فره‌یونجه بررسی شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پلوک‌های کامل تصادفی شامل شرایط رطوبت خاک در سه سطح [0.5FC-0.6FC و 0.7FC-0.8FC و 0.9FC-FC] و سه سطح فسفر (صفر، 30 و 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم بدون تنش خشکی، تنش خشکی کم و تنش خشکی متوسط) فسفر در سه سطح (صفر، 30 و 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع مونوکلسیم فسفات، $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) و مایه‌زنی باکتری در دو سطح (با و بدون مایه‌زنی) و در سه تکرار انجام شد. در پایان دوره رشد، وزن خشک یغش هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک یغش هوایی به ریشه، ارتفاع ساقه و حجم ریشه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با کاهش رطوبت خاک ارتفاع ساقه، وزن خشک یغش هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک یغش هوایی به ریشه و حجم ریشه یونجه کاهش یافت ($p < 0.01$). مصرف فسفر و مایه‌زنی باکتری باعث افزایش ارتفاع ساقه، وزن خشک یغش هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک یغش هوایی به ریشه و حجم ریشه یونجه شد ($p < 0.01$). اثر متقابل رطوبت خاک \times فسفر \times مایه‌زنی باکتری بر حجم ریشه ($p < 0.01$) و وزن خشک یغش هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک یغش هوایی به ریشه معنادار بود ($p < 0.05$). به‌طور کلی، برای کاهش مصرف کودهای نیتروژن و افزایش عملکرد یونجه، مصرف 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک و مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* می‌تواند در شرایط با و بدون تنش کمبود آب توصیه شود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، فسفات، لگوم، مایه‌زنی، نیتروژن

¹ نویسنده مسئول، آدرس: تبریز، بلوار 29 بهمن، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک، کد پستی:

مقدمه

کشاورزی عمده‌ترین مصرف‌کننده منابع آب در بسیاری از مناطق جهان است. در ایران نیز، حدود 93/5 درصد آب استحصالی از منابع سطحی و زیرزمینی در بخش کشاورزی مصرف می‌شود. با این حال، کمبود آب و تنش خشکی مهمترین عامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در ایران و بسیاری از نقاط جهان می‌باشد (ترینجات و همکاران، 2004؛ کریمی کاخکی و سپهری، 1388). در آینده‌ای نزدیک با رشد جمعیت و کاهش بارندگی سالیانه، آب کمیاب‌تر و تنش خشکی در گیاهان گسترده‌تر خواهد شد (پاسیورا، 2002). کمبود آب خسارت‌های زیادی به محصولات زراعی و باغی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به‌ویژه ایران وارد می‌نماید (شابالا و همکاران، 2000؛ صفرنژاد، 2004؛ صباغ‌پور، 1383). در طی تنش خشکی کاهش مقدار نسبی آب گیاه باعث کاهش آماس سلول‌ها و در نتیجه کاهش رشد آن‌ها و کاهش طول ساقه می‌شود (سانچز و همکاران، 1998). با کاهش رطوبت خاک سرعت عرضه عناصر غذایی به ریشه از طریق انتشار و جریان توده‌ای و در نتیجه فراهمی عناصر غذایی کاهش یافته و تغذیه گیاه مختل می‌شود (علیزاده، 1374؛ مارشتر، 1995؛ هاوولین و همکاران، 2004). بنابراین، مدیریت تغذیه گیاه در شرایط تنش یکی از راهبردهای مهم در تولید محصولات کشاورزی بوده (محمدخانی و حیدری 2007) و گیاهی که خوب تغذیه شده باشد، در برابر خشکی مقاومت بهتری خواهد داشت (لال و همکاران 1993).

فسفر یکی از عناصر مهم در تغذیه گیاهی بوده و پس از نیتروژن بیشترین مصرف را در دنیا دارد به طوری که سالانه بیش از 16 میلیون تن فسفر در دنیا (باتن، 1992) و 800 هزار تن کود فسفوری در ایران مصرف می‌شود (ملکوتی، 1384). کمبود فسفر در خاک باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود و یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان در اغلب خاک‌ها است. مصرف کودهای فسفوری برای افزایش میزان فسفر و حاصلخیزی خاک و ظرفیت تولید محصولات کشاورزی در زراعت‌های مختلف رایج شده است (بولاند، 1998). رطوبت ناکافی در خاک، حجم و پراکنش ریشه‌ها را در خاک کاهش داده و با تأثیر بر فراهمی عناصر غذایی در خاک، جذب عناصر غذایی از جمله فسفر را کاهش می‌دهد (کریمی، 1387). مصرف کود فسفر می‌تواند تحمل گیاه به خشکی را به دلایل مختلف افزایش دهد. به‌عنوان مثال، کود فسفوری ممکن است تا حدی بر اثرهای مستقیم و غیرمستقیم تنش کمبود آب بر جذب فسفر و انتشار آن به سطح ریشه‌ها

غلبه کند. در برخی بررسی‌ها مشاهده شده است که رشد ریشه و هدایت هیدرولیکی ریشه با افزایش سطح فسفر افزایش می‌یابد (سانوکا و همکاران، 1990؛ سینگ و سیل، 2000). احتمالاً، افزایش رشد ریشه سبب استخراج فسفر از حجم بیشتری از خاک می‌شود و در نتیجه آب قابل استفاده بیشتری برای گیاه فراهم می‌شود. همچنین، این امکان وجود دارد که فسفر به دلیل نقش آن در ذخیره‌سازی انرژی و تشکیل پروتئین‌ها، گیاه را به خشکی متحمل نماید (جونز و همکاران، 2003). مطالعات متعددی در مناطق خشک و نیمه‌خشک نشان داده‌اند که مصرف کود فسفر کارایی مصرف آب در ارزن (پین و همکاران، 1992)، تحمّل به خشکی در شبدر (سینگ و سیل، 2000) و ماده خشک اندام‌های هوایی گندم (رودریگز و همکاران، 1996) را در شرایط تنش کمبود آب افزایش می‌دهد.

نیتروژن پرمصرف‌ترین عنصر غذایی مورد نیاز گیاه و یکی از عوامل اصلی افزایش عملکرد است. در این راستا، برای تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاهان از کودهای شیمیایی نیتروژن مثل اوره استفاده می‌شود ولی کارایی مصرف این کودها به دلیل هدررفت زیاد آن‌ها از طریق نترات‌زدایی، تصعید آمونیاک و آبشویی کم است (مارشتر، 1995؛ هاوولین و همکاران، 2004). لذا، افزایش مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن مشکلات مختلفی مانند کاهش کیفیت خاک، آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی، کاهش تنوع زیستی و زیان اقتصادی ایجاد کرده است (رای، 2005). یکی از روش‌های سودمند برای پیش‌گیری از زیان مصرف کودهای شیمیایی استفاده از تثبیت بیولوژیکی نیتروژن می‌باشد (پیلز و همکاران، 1995) که علاوه بر تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه، سبب بهبود حاصلخیزی خاک نیز می‌شود.

یونجه (*Medicago sativa* L.) یکی از محصولات عمده مناطق خشک و نیمه‌خشک (صفرنژاد، 2004) و یکی از نباتات علوفه‌ای پرارزش است که پروتئین آن نسبت به سایر گیاهان علوفه‌ای بیشتر بوده و به همین دلیل منبع مناسب پروتئین در دامپروری محسوب می‌شود (ماتیلا و همکاران، 1995). با توجه به آمارنامه کشاورزی سال زراعی 88-87، از کل سطح زیرکشت نباتات علوفه‌ای کشور، 63% زیرکشت گیاه یونجه بوده و بیش از 70% کل تولیدات گیاهان علوفه‌ای را شامل می‌شود که این نشان دهنده اهمیت قابل توجه این محصول می‌باشد. در گیاه یونجه، نیتروژن هوا به دلیل همزیستی با باکتری‌های *E. meliloti* (سینوریزوبیوم) در گره‌های ریشه تثبیت شده و در اختیار گیاه قرار می‌گیرد (تیس و

خاک و نوع گیاه می‌تواند متفاوت باشد. در این پژوهش نیز برای اینکه گیاهان از بین نروند و ماده خشک کافی برای انجام تجزیه‌های شیمیایی وجود داشته باشد، از 0.9FC-FC به‌عنوان بدون تنش خشکی، 0.7FC-0.8FC به‌عنوان تنش خشکی کم و 0.5FC-0.6FC به‌عنوان تنش خشکی متوسط استفاده شد. دامنه رطوبت هم به این دلیل در نظر گرفته شد که در طول شب و روز نمی‌توان رطوبت خاک گلدانها را در یک مقدار مشخص ثابت نگه داشت. انتخاب سطوح فسفر با توجه به تخمین میزان جذب فسفر به‌وسیله گیاه یونجه در طی دوره رشد و با توجه به نتایج بررسی‌های رودریگز و گواردیان (1995) و جین و همکاران (2006) انجام شد.

مقدار سه کیلوگرم از خاک مورد آزمایش برای هر گلدان توزین سپس بر اساس نتایج آزمون خاک، نتایج آزمایش‌های قبلی و غلظت مطلوب عناصر غذایی در گیاه یونجه (ملکوئی و غیبی، 1379)، 7/5 میلی‌گرم آهن از منبع سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) و 6/0 میلی‌گرم روی از منبع سولفات روی ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) تولید شده به‌وسیله شرکت AppliChem به‌صورت محلول به خاک هر گلدان افزوده و خوب مخلوط شد. در تیمارهای دارای فسفر، فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات، $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ تولید شده به‌وسیله شرکت SIGMA-ALDRICH و به‌صورت محلول به خاک افزوده شد. برای آماده‌سازی بذرهای یونجه (*Medicago sativa L.*) رقم قره‌یونجه، ابتدا بذرهای سالم به‌وسیله محلول کلرید سدیم (پنج درصد) از بذرهای ناسالم جدا شدند.

سپس بذرهای به‌خوبی با آب معمولی و با آب مقطر شسته، با هیپوکلریت سدیم 0/5 درصد ضدعفونی شده و لای پارچه متقالی تمیز و مرطوب قرار داده شدند و به‌مدت سه روز در دمای 27-25 درجه سلسیوس نگهداری شدند تا جوانه بزنند. برای تلقیح بذرهای جوانه‌دار شده یونجه از باکتری *E. meliloti* تهیه شده از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز استفاده شد. ویژگی‌های این باکتری و کارایی تثبیت نیتروژن آن در همزیستی با رقم قره‌یونجه قبلاً به‌وسیله اسفندیاری (1382) و اصغری و علی‌اصغرزاد (1383) مطالعه شده بود. برای تکثیر باکتری از محیط کشت¹ YMA با 6/8 = pH استفاده شد تا کلنی‌های شیرین‌رنگ بر روی محیط کشت مذکور ظاهر شوند. سپس تعلیق باکتری تهیه شد. برای این منظور از محیط کشت مایع² YMB با 6/8 = pH استفاده شد. محیط مذکور پس از تلقیح با سویه خالص

همکاران، 1995). باکتری‌های *E. meliloti* با تأثیر بر فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاهان مایه‌زنی شده، سبب افزایش جذب عناصر و رشد بیشتر گیاهان می‌شوند (یسرکلی، 1994).

لذا، با توجه به اهمیت یونجه در کشاورزی ایران و قرار گرفتن قسمت عمده کشور در مناطق خشک و نیمه‌خشک، لازم است راه‌های کاهش اثر تنش خشکی بر رشد گیاه یونجه از جمله مصرف تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی در راستای تحقق کشاورزی پایدار، بررسی شود. بنابراین، در این تحقیق، اثر متقابل سطوح رطوبت خاک و فسفر بر ویژگی‌های رشد گیاه یونجه (*Medicago sativa L.*) با و بدون مایه‌زنی با *E. meliloti* بررسی شد. در منابع بررسی شده مقاله منتشر شده‌ای با این موضوع یافت نشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و در شرایط گلخانه‌ای در سال 1391 انجام شد. خاکی با بافت لوم رسی از مزرعه‌ای در اطراف روستای اسپیران در شمال غرب تبریز با طول جغرافیایی ($38^{\circ} 19' 53''$ شرقی) و عرض جغرافیایی ($57^{\circ} 15' 38''$ شمالی) انتخاب شد و از عمق صفر تا 25 سانتی‌متری نمونه‌برداری شد. بعد از هواخشک کردن و عبور از الک چهار میلی‌متری، ویژگی‌های مهم خاک شامل بافت (کلوت، 1986)، pH و EC (مکلین، 1982)، کربنات کلسیم معادل (ریچاردز، 1969)، کربن آلی (نلسون و سامرز، 1982)، نیتروژن کل (برنر و مولوانی، 1982)، فسفر قابل جذب (کیو، 1996)، سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم قابل جذب (جونز، 2001)، آهن، منگنز، روی و مس قابل جذب (لیندزی و نورول، 1978) اندازه‌گیری شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، شامل شرایط رطوبتی خاک در سه سطح (0.9FC-FC، 0.7FC-0.8FC و 0.5FC-0.6)، فسفر در سه سطح (صفر، 30 و 60 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک) و مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* در دو سطح (با و بدون مایه‌زنی) و در سه تکرار اجرا شد. انتخاب سطوح رطوبت خاک بر اساس نتایج بوردلنو و پروست (1994) و سامارا (2005) انجام شد. بوردلنو و پروست (1994) اعلام کردند که کاهش رطوبت خاک از 60 تا 70 درصد ظرفیت مزرعه‌ای سبب کاهش تعداد و دوام گره‌ها در ریشه یونجه و کاهش تثبیت زیستی نیتروژن می‌شود. سامارا (2005) رطوبت FC را به‌عنوان سطح بدون تنش خشکی، رطوبت 0.5FC-0.6FC را تنش متوسط و رطوبت 0.2FC را تنش شدید در نظر گرفت؛ هرچند که این سطوح بسته به بافت

¹ Yeast Extract Mannitol Agar

² Yeast Extract Mannitol Broth

معمولی و سپس با آب مقطر شسته شد و رطوبت اضافی آن با دستمال کاغذی گرفته شد و سپس توزین و وزن تر آن یادداشت شد. برای اندازه‌گیری حجم ریشه از استوانه یک لیتری استفاده شد. ابتدا تا حجم معینی داخل استوانه آب ریخته شد سپس ریشه در داخل استوانه قرار داده شد و تغییر حجم آب استوانه به‌عنوان حجم ریشه در نظر گرفته شد. سپس بخش هوایی و ریشه گیاه به آون فن‌دار منتقل و در دمای 75 درجه سلسیوس تا زمان خشک شدن کامل و رسیدن به وزن ثابت (72 ساعت)، نگهداری شدند. سپس وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها تعیین شد. تحلیل آماری داده‌ها از قبیل نرمال بودن توزیع داده‌ها، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار MSTATC انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش در جدول 1 ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود خاک مذکور دارای بافت لوم رسی و کربنات کلسیم معادل نسبتاً زیاد، ماده آلی کم و بدون مشکل شوری یا قلیانیت و رطوبت 18/5% FC بود. همچنین مقدار فسفر و روی قابل‌جذب آن کمتر از سطح بحرانی برای بسیاری از گیاهان زراعی از جمله یونجه بود (ملکوئی و غیبی، 1379؛ جونز، 2001؛ هزلتون و مورفی، 2007).

شده در داخل شیکر انکوباتور در دمای 26 درجه سلسیوس با سرعت 150 دور در دقیقه به مدت 48 ساعت نگهداری شد (اصغری و علی‌اصغرزاد، 1383). بذره‌های جوانه‌دار شده در تیمارهای مایه‌زنی با *E. meliloti* با تعلیق باکتری و در تیمارهای بدون مایه‌زنی با محیط کشت استریل YMB عاری از باکتری آغشته شدند. تعداد 20 بذر یونجه جوانه‌دار شده انتخاب و در خاک هر گلدان با رطوبت ظرفیت مزرعه ای کاشته شد. رطوبت تمام گلدان‌ها تا استقرار کامل گیاهان از طریق توزین گلدان‌ها و افزودن روزانه آب مقطر در حدود ظرفیت مزرعه‌ای نگهداری شد. بعد از اطمینان از استقرار گیاهچه‌ها (زمانی که به مرحله 3 برگی رسیدند)، گیاهان به تعداد 10 عدد در هر گلدان تنک شدند. سطوح مختلف رطوبت خاک در مرحله 8 برگی گیاه اعمال شد. میزان دقیق نوسان رطوبت از ظرفیت مزرعه، از طریق توزین روزانه گلدان‌ها (یک تا دو بار در روز) و محاسبه میزان کاهش وزن آنها بر اثر تبخیر و تعرق محاسبه شد. برای در نظر گرفتن وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه در محاسبات تعدادی گلدان اضافی در نظر گرفته شده بود که در زمانهای مختلف وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه با استفاده از آنها تعیین و در محاسبات منظور می‌شد. قبل از برداشت گیاهان برخی ویژگی‌های ظاهری گیاهان از جمله ارتفاع بوته‌ها در هر گلدان به‌وسیله متر اندازه‌گیری شد. وقتی حدود 10 درصد گیاهان به گل رفتند، اندام‌های هوایی از محل طوقه قطع شد و وزن تر آنها با استفاده از ترازوی 0/001± گرم تعیین و سپس با آب معمولی و آب مقطر شسته شدند. ریشه نیز پس از برداشت و جداسازی از خاک، ابتدا با آب

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

(dS/m)(1:1) EC	pH (1:1)	(%) SP	کربنات کلسیم معادل (%)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	گروه بافت
0/47	8	44/4	15/25	22/5	38/5	39	لوم رسی

ادامه جدول 1- غلظت کربن آلی، نیتروژن کل و عناصر قابل‌جذب گیاه در خاک مورد استفاده

Cu	Zn	Mn	Fe	Mg	Ca	Na	K	P	N	کربن آلی
قابل جذب (mg/kg)										
کل (%)										
2/2	0/52	7/01	3/98	797/8	7234/7	325/7	556/4	8/7	0/02	0/58

ارتفاع ساقه

مایه‌زنی باکتری و رطوبت خاک * فسفر * مایه‌زنی باکتری غیرمعنادار بودند (جدول 2). مقایسه میانگین‌های ارتفاع ساقه برای اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر نشان داد که افزایش فسفر سبب افزایش ارتفاع ساقه

تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی رطوبت خاک، فسفر و باکتری بر ارتفاع ساقه در سطح احتمال یک درصد معنادار، ولی اثرهای متقابل رطوبت خاک * فسفر، رطوبت خاک * مایه‌زنی باکتری، فسفر *

40 میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک باعث افزایش معنادار ارتفاع کلزا شد و مصرف بیشتر آن تأثیر معناداری بر ارتفاع گیاه نداشت.

در تمام سطوح رطوبت خاک شد (شکل 1). حیدریان و مصطفوی (2012) مشاهده کردند که مصرف فسفر سبب افزایش ارتفاع بوته یونجه شد. حسینی و همکاران (1387) گزارش کردند که افزودن فسفر به خاک تا سطح

جدول 2- تجزیه واریانس تأثیر رطوبت خاک، فسفر و مایه‌زنی با *E. meliloti* بر برخی ویژگی‌های رشد یونجه

میانگین مربعات				ارتفاع ساقه	درجه آزادی	منبع تغییر
نسبت وزن خشک	وزن خشک ریشه	وزن خشک	وزن خشک			
حجم ریشه	بخش هوایی به ریشه	ریشه	بخش هوایی			
8/82'	0/023 ^{ns}	3/10'	1/25'	1/91 ^{ns}	2	بلوک
62/39''	2/09''	18/05''	137/7''	388/1''	2	رطوبت خاک
78/75''	0/341''	12/25''	32/4''	48/96''	2	فسفر
57/66''	0/046 ^{ns}	2/91'	5/93''	56/02''	1	باکتری
1/241 ^{ns}	0/217''	1/64 ^{ns}	2/75''	6/546 ^{ns}	4	رطوبت × فسفر
12/861''	0/620''	8/317''	2/358''	0/463 ^{ns}	2	رطوبت × باکتری
2/378 ^{ns}	0/020 ^{ns}	0/136 ^{ns}	0/831 ^{ns}	0/296 ^{ns}	2	فسفر × باکتری
12/925''	0/155'	2/532'	0/983'	0/324 ^{ns}	4	رطوبت × فسفر × باکتری
2/174	0/055	0/662	0/332	4/496	34	خطای آزمایشی
10/17	16/78	14/89	7/75	7/37		ضریب تغییرات (درصد)

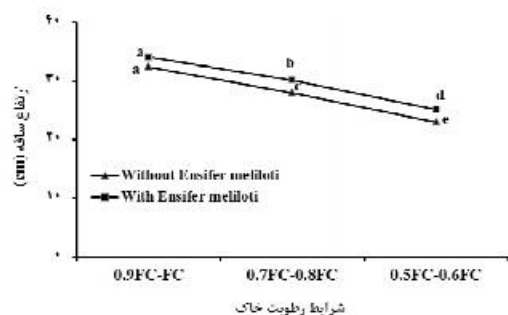
ns. * و * به ترتیب غیر معنادار و معنادار در سطح احتمال 5% و 1%.

و تثبیت نیتروژن در یونجه باشد. مقایسه میانگین‌های ارتفاع ساقه برای اثر متقابل سه‌جانبه مایه‌زنی باکتری × فسفر × رطوبت خاک نشان داد که بیشترین ارتفاع ساقه (36 cm) در تیمار 60 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک، رطوبت 0.9FC-FC و با مایه‌زنی باکتری و کمترین ارتفاع ساقه (20 cm) در تیمار بدون کود فسفر (شاهد)، رطوبت 0.5FC-0.6FC و بدون مایه‌زنی باکتری بود هر چند تفاوت معناداری با برخی تیمارها نداشتند (جدول 3).

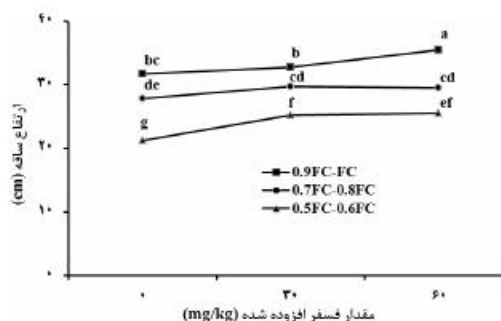
وزن خشک بخش هوایی

تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی رطوبت خاک، فسفر و باکتری *E. meliloti* و اثرهای متقابل رطوبت خاک × فسفر، رطوبت خاک × مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل رطوبت خاک × فسفر × مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر وزن خشک بخش هوایی معنادار، ولی اثر متقابل فسفر × مایه‌زنی باکتری غیر معنادار بود (جدول 2). مقایسه میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی برای اثر متقابل رطوبت خاک × فسفر نشان داد که افزایش رطوبت و فسفر خاک سبب افزایش وزن خشک بخش هوایی شد و میان آن دو از نظر اثر بر وزن خشک بخش هوایی رابطه هم‌افزایی وجود داشت (شکل 4).

مقایسه میانگین‌های ارتفاع ساقه برای اثر متقابل رطوبت خاک و مایه‌زنی باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری سبب افزایش ارتفاع ساقه در تمام سطوح رطوبت خاک شد و میان آن دو از نظر اثر بر ارتفاع ساقه اثر متقابل هم‌افزایی وجود داشت. همچنین، با کاهش مقدار رطوبت خاک، ارتفاع ساقه یونجه به‌طور معناداری کاهش یافت (شکل 2). اسپلان و حاجیلویی (1389) نیز گزارش کردند که با کاهش مقدار رطوبت خاک، ارتفاع ساقه در یونجه‌های چندساله مورد آزمایش کاهش یافت. کاهش رشد ساقه در هنگام کمبود آب به‌وسیله مارتنز (2007)، سعید و ناد (1997) و باکستون (2004) نیز گزارش شده است. تنش خشکی سبب کاهش فشار آماس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول‌ها می‌شود. کاهش سطح برگ و متعاقب آن کاهش فتوسنتز می‌تواند به‌عنوان عوامل محدودکننده رشد ساقه در طی تنش مطرح باشند (بهات و سرینواسارا، 2005). مقایسه میانگین‌های ارتفاع ساقه برای اثر متقابل فسفر × مایه‌زنی باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری سبب افزایش ارتفاع ساقه در تمام سطوح فسفر شد (شکل 3). عبدالجبار و سعود (2012) گزارش کردند که افزودن فسفر به خاک و مایه‌زنی با ریزوبیوم باعث افزایش معنادار ارتفاع ساقه سویا شد. این اثر هم‌افزایی ممکن است به‌دلیل نقش فسفر در تشکیل گره‌ها



شکل 2- اثر متقابل رطوبت خاک و باکتری بر ارتفاع ساقه

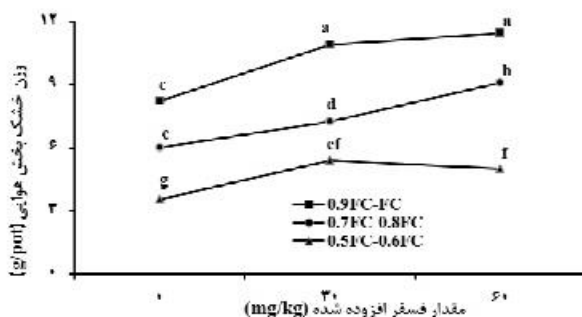


شکل 1- اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر بر ارتفاع ساقه

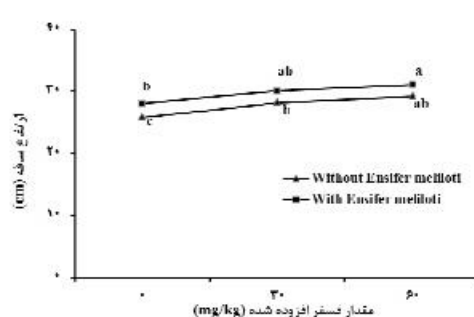
جدول 3- مقایسه میانگین‌های برخی ویژگی‌های رشد یونجه برای اثر متقابل رطوبت خاک * فسفر * مایه‌زنی باکتری

حجم ریشه (cm ³ /pot)	نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه	وزن خشک ریشه (g/pot)	وزن خشک بخش هوایی (g/pot)	ارتفاع ساقه (cm)	مایه‌زنی باکتری <i>E. meliloti</i>	فسفر (mg/kg)	رطوبت
14/0 ^{def}	1/4 ^{cde}	6/3 ^{b-e}	8/3 ^d	30/7 ^{c-t}	بدون مایه‌زنی	0	0.9FC- FC
14/8 ^{de}	1/7 ^{abc}	5/0 ^{efg}	8/1 ^d	32/7 ^{a-d}	با مایه‌زنی	0	
15/7 ^{cd}	1/3 ^{de}	8/1 ^a	10/1 ^b	31/7 ^{b-e}	بدون مایه‌زنی	30	
18/5 ^b	1/6 ^{bcd}	7/5 ^{ab}	11/8 ^a	33/7 ^{abc}	با مایه‌زنی	30	0.9FC- FC
15/0 ^{de}	1/7 ^{abc}	6/8 ^{abc}	11/5 ^a	35/0 ^{ab}	بدون مایه‌زنی	60	
21/6 ^a	1/9 ^{ab}	6/1 ^{b-e}	11/4 ^a	36/0 ^a	با مایه‌زنی	60	
10/8 ^{gh}	1/4 ^{cde}	3/9 ^{efgh}	5/0 ^g	26/7 ^{efgh}	بدون مایه‌زنی	0	- 0.8FC 0.7FC
11/8 ^{efgh}	2/0 ^a	3/5 ^{efgh}	7/0 ^a	29/0 ^{d-g}	با مایه‌زنی	0	
12/6 ^{efg}	1/3 ^{cde}	4/8 ^{efg}	6/3 ^{ef}	28/7 ^{d-g}	بدون مایه‌زنی	30	
15/3 ^{de}	1/2 ^{def}	6/6 ^{bcd}	8/2 ^d	30/7 ^{c-t}	با مایه‌زنی	30	- 0.6FC 0.5FC
18/0 ^{bc}	1/8 ^{abc}	5/1 ^{ef}	8/8 ^{cd}	28/3 ^{efg}	بدون مایه‌زنی	60	
14/7 ^{de}	1/9 ^{ab}	4/9 ^{efg}	9/4 ^{bc}	30/7 ^{c-t}	با مایه‌زنی	60	
9/7 ^h	1/2 ^{def}	3/2 ^h	3/4 ^h	20/0 ^j	بدون مایه‌زنی	0	- 0.6FC 0.5FC
12/8 ^{efg}	0/6 ^g	5/7 ^{cde}	3/7 ^h	22/7 ^{ij}	با مایه‌زنی	0	
11/5 ^{efgh}	1/2 ^{def}	5/0 ^{efg}	5/6 ^{fg}	24/3 ^{hi}	بدون مایه‌زنی	30	
14/6 ^{de}	1/0 ^{ef}	5/2 ^{def}	5/2 ^g	26/0 ^{efgh}	با مایه‌زنی	30	- 0.6FC 0.5FC
13/9 ^{def}	1/2 ^{def}	4/1 ^{efgh}	4/9 ^g	24/3 ^{hi}	بدون مایه‌زنی	60	
15/7 ^{cd}	0/8 ^{fg}	6/9 ^{abc}	5/1 ^g	26/7 ^{efgh}	با مایه‌زنی	60	

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن تفاوت معناداری ندارند.



شکل 4- اثر متقابل رطوبت و فسفر بر وزن خشک بخش هوایی



شکل 3- اثر متقابل فسفر و باکتری *E. meliloti* بر ارتفاع ساقه

کیلوگرم خاک باعث افزایش معنادار عملکرد ماده خشک کلزا شد و افزودن بیشتر فسفر تأثیر معناداری بر عملکرد

حسینی و همکاران (1387) گزارش کردند که افزودن فسفر به خاک تا سطح 40 میلی‌گرم فسفر بر

افزایش وزن خشک بخش هوایی در تمام سطوح فسفر شد (شکل 6).

ریچمن (2007) گزارش کرد که وزن خشک بخش هوایی گیاهان سویای مایه‌زنی شده با باکتری بردی‌ریزوبیوم بیشتر از گیاهان مایه‌زنی نشده، بود. کاهش وزن خشک بخش هوایی در گیاهان بدون مایه‌زنی با باکتری کاملاً طبیعی به‌نظر می‌رسد زیرا گیاهانی که با باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن مایه‌زنی نشدند، نیتروژن کمتری جذب نموده و کاهش وزن تر و خشک بخش هوایی را نسبت به تیمارهای مایه‌زنی شده نشان دادند (دجیانلو و همکاران، 2003). افزایش فسفر قابل‌جذب باکتری *B. meliloti* در خاک، باعث افزایش تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه‌ای و در نتیجه افزایش رشد گیاه و به‌ویژه بخش هوایی آن شد زیرا برای تثبیت نیتروژن انرژی فراوانی مورد نیاز است که با وجود فسفر کافی و ATP تأمین می‌شود (اولیورا و همکاران، 2002). افزایش وزن خشک بخش هوایی بر اثر مصرف فسفر و مایه‌زنی با ریزوبیوم به‌وسیله عبدالجبار و سعود (2012) نیز گزارش شده است. مقایسه میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی برای اثر متقابل سه‌جانبه مایه‌زنی باکتری * فسفر * رطوبت خاک نشان داد که کمترین وزن خشک بخش هوایی بونجه (3/5 g/pot) در تیمار بدون کود فسفر (شاهد)، رطوبت 0.5FC-0.6FC و بدون مایه‌زنی باکتری بود هرچند که با مایه‌زنی باکتری تفاوت معناداری نداشت (جدول 3).

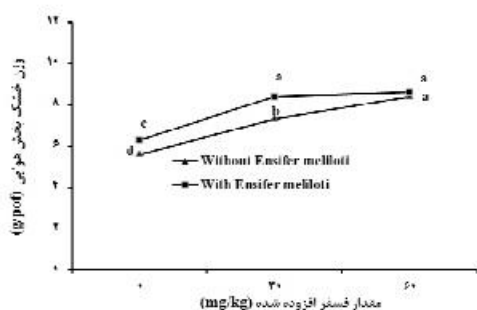
وزن خشک ریشه تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی رطوبت خاک و فسفر و اثر متقابل رطوبت خاک * مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی باکتری *B. meliloti* و اثر متقابل رطوبت خاک * فسفر * مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر وزن خشک ریشه معنادار، ولی اثرهای متقابل رطوبت خاک * فسفر و فسفر * مایه‌زنی باکتری غیرمعنادار بودند (جدول 2). مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر نشان داد که وزن خشک ریشه در شرایط رطوبت خاک 0.9FC-FC و 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک بیشتر از سایر تیمارها بود. نوع اثر متقابل میان رطوبت خاک و فسفر از نظر اثر بر وزن خشک ریشه به سطوح فسفر و رطوبت خاک بستگی داشت (شکل 7). تنش طولانی مدت کم‌آبی سبب کاهش رشد سیستم ریشه‌ای و وزن خشک آنها می‌شود که علت آن محرک‌های شیمیایی است که سبب کاهش هدایت سیستم ریشه‌ای می‌شود و در نتیجه شیره گیاهی کمتری از ریشه

ماده خشک نداشت. برگ و همکاران (2005) نیز گزارش کردند که کاربرد فسفر عملکرد بونجه را افزایش داد. لی و همکاران (1998) گزارش کردند که کمبود فسفر در خاک، وزن بخش هوایی بونجه را کاهش داد. اسمیت و همکاران (1990) بیان داشتند که فسفر سبب افزایش عملکرد گیاه می‌شود زیرا با تنظیم هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در فرآیندهای تقسیم سلولی، تولید مواد فتوسنتزی و تولید انرژی در گیاه دارد. محمد و جانسون (1996) نیز گزارش کردند که با اعمال تنش خشکی وزن خشک کل گیاه بونجه کاهش یافت. فاروق و همکاران (2009) کاهش وزن تر و خشک گیاهان زراعی را بر اثر تنش کمبود آب گزارش کردند.

مصرف فسفر با افزایش رشد ریشه (شکل‌های 6 و 13) سبب کاهش اثر تنش کمبود رطوبت خاک و افزایش رشد گیاه بونجه شد. گراچیانو و همکاران (2005) نیز نتایج نسبتاً مشابهی را گزارش کردند. مقایسه میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی برای اثر متقابل رطوبت خاک * مایه‌زنی باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری سبب افزایش وزن خشک بخش هوایی در سطوح رطوبت 0.7FC-0.8FC و 0.9FC-FC (در شرایط بدون تنش خشکی و تنش خشکی کم) شد هر چند این افزایش در سطح رطوبت 0.9FC-FC از نظر آماری معنادار نبود (شکل 5). همانطور که در شکل 5 مشاهده می‌شود در شرایط تنش خشکی متوسط (0.5FC-0.6FC)، مایه‌زنی باکتری اثر معناداری بر رشد و ماده خشک بخش هوایی بونجه نداشت که نشان می‌دهد باکتری *B. meliloti* در این شرایط کارایی و اثربخشی خود را در تثبیت نیتروژن از دست داده است.

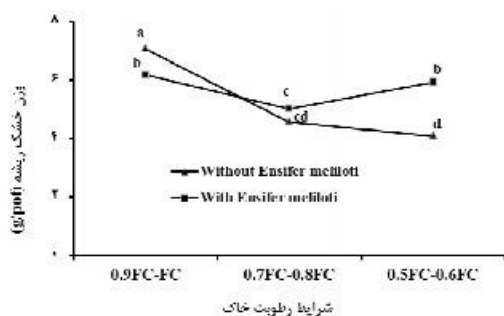
یکی از نشانه‌های سریع اثر تنش کم‌آبی بر باکتری‌های ریزوبیومی تغییرات مورفولوژیکی شامل نامنظم شدن شکل و افزایش طول سلول‌های باکتری می‌باشد (بوس و بوتوملی، 1989). این تغییرات سبب کاهش گره‌زایی در ریشه لگوم و کاهش تثبیت نیتروژن می‌شود (ورال و راگلی، 1976). از طرف دیگر، تنش خشکی باعث کاهش ماده خشک بخش هوایی (شکل 5) و کاهش رشد برگ‌ها، کاهش شدت فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها در بخش هوایی گیاه بونجه می‌شود که برای تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه ضروری هستند (دجونگ و فیلیپس، 1982). در نتیجه، جمعیت باکتری و کارایی تثبیت نیتروژن آن کاهش می‌یابد. مقایسه میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی برای اثر متقابل فسفر * مایه‌زنی باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری سبب

ریشه کوچک‌تر و زی‌توده ریشه کمتر می‌شود. احتمالاً جذب بیشتر فسفر، بهبود تغذیه گیاه و گسترش بیشتر ریشه در خاک دلیل تولید بیشتر ماده خشک بخش هوایی گیاه در سطح 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک بود. افزایش فراهمی عناصر غذایی در خاک به‌ویژه فسفر، شرایط بهتری را برای رشد و فتوسنتز گیاه فراهم می‌کند و سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شود.



شکل 6- اثر متقابل فسفر و باکتری بر وزن خشک بخش هوایی

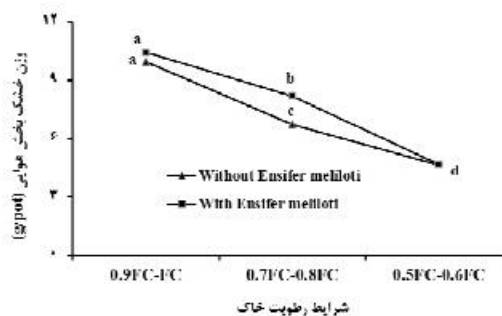
مایدزنی باکتری بیشتر از همان شرایط رطوبت خاک و مایدزنی باکتری بود، ولی در شرایط رطوبت خاک 0.5FC-0.6FC، مایدزنی باکتری سبب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به بدون مایدزنی شد (شکل 8).



شکل 8- اثر متقابل رطوبت خاک و باکتری بر وزن خشک ریشه

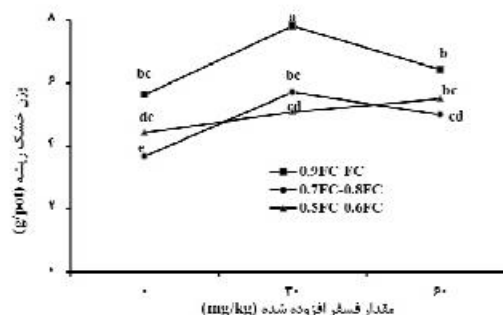
بتوانند در محل کشت استقرار یابند و بر مشکلات ناشی از تنش‌های رطوبتی (نانر و همکاران، 1988) و رشد کند گیاهچه‌های یونجه در اوایل رشد (بحرانی، 1380) غلبه نموده و با تولید گره بیشتر نیتروژن بیشتری را تثبیت و با ریشه‌های عمیق در جذب آب از خاک کارا تر باشند. تاجیک خاوه و همکاران (1390) اظهار داشتند که در شرایط تنش شدید مایدزنی بذره‌های سویا با باکتری

عبور می‌کند. افزایش مقاومت مکانیکی خاک بر اثر تنش کمبود آب نیز سبب کاهش رشد ریشه می‌شود (پیمان‌ه و زارعی، 1392). تاجیک خاوه و همکاران (1390) گزارش کردند که با افزایش شدت تنش خشکی از وزن خشک ریشه سویا کاسته شد. ایران‌نژاد و همکاران (1383) اظهار داشتند که فسفر یکی از مهمترین عناصر ضروری برای گیاهان است که باعث افزایش رشد و قوی‌تر شدن ریشه‌ها می‌شود. زاپینگ و همکاران (2005) بیان کردند که در شرایط سطوح کم فسفر طول کل ریشه کوتاه‌تر، سطح



شکل 5- اثر متقابل رطوبت و باکتری بر وزن خشک بخش هوایی

مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک و مایدزنی باکتری نشان داد که وزن خشک ریشه در شرایط رطوبت خاک 0.9FC-FC و بدون مایدزنی باکتری بیشتر از سایر تیمارها بود. وزن خشک ریشه در شرایط رطوبت خاک 0.9FC-FC و بدون



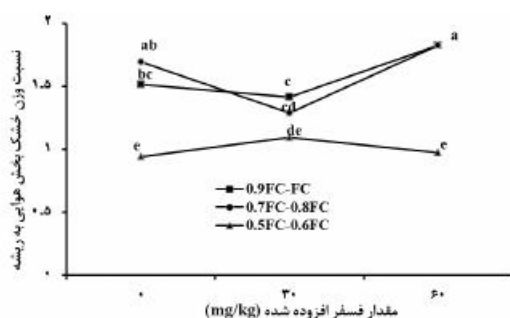
شکل 7- اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر بر وزن خشک ریشه

بنابراین، می‌توان چنین نتیجه گرفت که مایدزنی باکتری *E. meliloti* با بهبود رشد گیاه، به رشد و توسعه بیشتر ریشه کمک کرده و از این طریق سبب افزایش تحمل گیاه در برابر شرایط کم‌آبی شد. استفاده از باکتری‌های *E. meliloti* با تأثیر بر رشد طولی ریشه و تشکیل گره‌های تثبیت نیتروژن در مقایسه با شاهد این امکان را فراهم می‌کند که نهال‌های یونجه زودتر و بهتر

خشک ریشه (3/2 g/pot) در تیمار بدون کود فسفر (شاهد)، رطوبت 0.5FC-0.6FC و بدون مایه‌زنی باکتری بود هرچند که با برخی تیمارها تفاوت معناداری نداشتند (جدول 3).

نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه

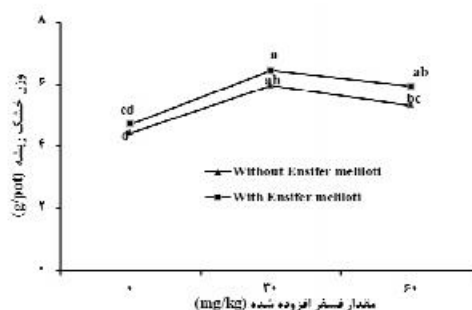
تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی رطوبت خاک و فسفر و اثرهای متقابل رطوبت خاک * فسفر و رطوبت خاک * مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل رطوبت خاک * فسفر * مایه‌زنی باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه معنادار، ولی اثر اصلی باکتری *E. meliloti* و اثر متقابل فسفر * مایه‌زنی باکتری غیرمعنادار بودند (جدول 2). مقایسه میانگین‌های نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک * فسفر نشان داد که در هر سه سطح رطوبت خاک، نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه در سطح 60 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک بیشتر بود (شکل 10).



شکل 10- اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر بر نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه

بردی رابزوبیوم ژاپونیکوم وزن خشک ریشه را نسبت به عدم مایه‌زنی افزایش داد. مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه برای اثر متقابل فسفر * مایه‌زنی باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری سبب افزایش وزن خشک ریشه در تمام سطوح فسفر شد. وزن خشک ریشه در سطح 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک و با مایه‌زنی باکتری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل 9). مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* سبب افزایش سطح ریشه و طولی‌تر شدن ریشه‌ها شد که با مطالعه زهیر و همکاران (2004) مطابقت داشت. آراجو و همکاران (1996) اظهار داشتند که افزایش فراهمی فسفر به‌وسیله کوددهی در لوبیا باعث افزایش تثبیت نیتروژن در گیاه شده و سطح برگ و وزن خشک تمام قسمت‌ها به‌ویژه گره‌ها را افزایش داد.

مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه برای اثر متقابل سه‌جانبه مایه‌زنی باکتری * فسفر * رطوبت خاک نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه (8/1 g/pot) در تیمار 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک، رطوبت 0.9FC-FC و بدون مایه‌زنی باکتری و کمترین وزن

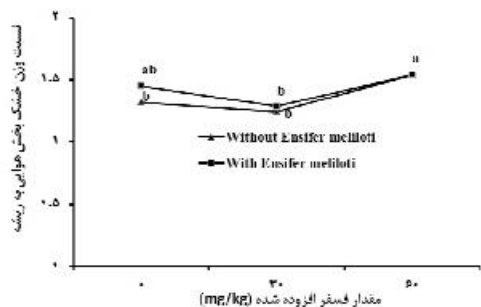


شکل 9- اثر متقابل فسفر و باکتری *E. meliloti* بر وزن خشک ریشه

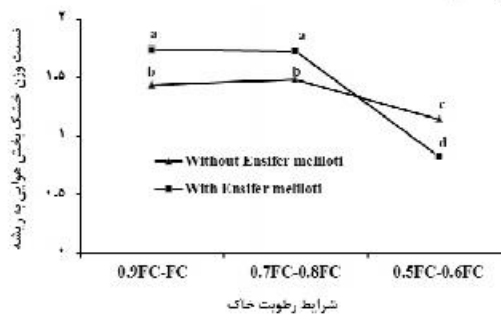
هوایی نسبت به ریشه در شرایط تنش خشکی است. سیستم ریشه در جذب آب اهمیت زیادی دارد. سیستم ریشه‌ای عمیق و گسترده می‌تواند رطوبت را از بخش‌های زیرین خاک با کارایی بیشتر جذب نماید. بنابراین، توسعه سیستم ریشه‌ای، سبب افزایش کارایی جذب آب از خاک می‌شود. شواهد موجود حاکی از آن است که افزایش تولید آبسزیک اسید (ABA) در پتانسیل کم آب خاک، اثرهای متفاوتی بر رشد ریشه و بخش هوایی دارد، به‌طوری که رشد بخش هوایی را متوقف ساخته اما رشد ریشه تداوم می‌یابد (کریلمن و همکاران، 1990). مقایسه میانگین‌های نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه برای اثر متقابل فسفر * مایه‌زنی باکتری نشان داد که در هر دو سطح مایه‌زنی باکتری نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه

این نتیجه احتمالاً به‌دلیل افزایش بیشتر رشد بخش هوایی یونجه در مقایسه با رشد ریشه بر اثر مصرف فسفر حاصل شد. مقایسه میانگین‌های نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک * مایه‌زنی باکتری نشان داد که در هر دو سطح مایه‌زنی باکتری با کاهش رطوبت تا 0.5FC-0.6FC نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه کاهش یافت (شکل 11). با افزایش تنش خشکی رشد ریشه کاهش می‌یابد، ولی به‌دلیل اینکه رشد ریشه کمتر از رشد بخش هوایی تحت تأثیر کمبود آب واقع می‌شود، تنش خشکی سبب می‌شود تا نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه کاهش یابد (سلطانی، 1386). کاهش نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه عمدتاً مربوط به کاهش بیشتر وزن خشک بخش

در سطح 60 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک بیشتر بود (شکل 12).



شکل 12- اثر متقابل فسفر و باکتری *E. meliloti* بر نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه



شکل 11- اثر متقابل رطوبت خاک و باکتری *E. meliloti* بر نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه

باکتری نشان داد که مایه‌زنی باکتری و افزایش فسفر خاک سبب افزایش حجم ریشه یونجه شد (شکل 15). به دلیل نقش مستقیم فسفر در تغذیه لگوم‌ها و کمک به رشد ریشه و بخش هوایی کارایی فعالیت باکتری‌های *E. meliloti* با مصرف فسفر افزایش یافت؛ در نتیجه، سبب افزایش رشد ریشه گردید. با رشد بیشتر بخش هوایی و انجام فتوسنتز، گیاه می‌تواند با ارسال بخشی از محصولات فتوسنتزی به ریشه رشد آن را افزایش دهد. مقایسه میانگین‌های حجم ریشه برای اثر متقابل سه‌جانبه مایه‌زنی باکتری × فسفر × رطوبت خاک نشان داد که بیشترین حجم ریشه (20/6 cm³/pot) در تیمار 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک، رطوبت 0.9FC-FC و با مایه‌زنی باکتری و کمترین حجم ریشه (9/7 cm³/pot) در تیمار صفر میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک، رطوبت 0.5FC-0.6FC و بدون مایه‌زنی باکتری بود (جدول 3).

نتیجه‌گیری کلی

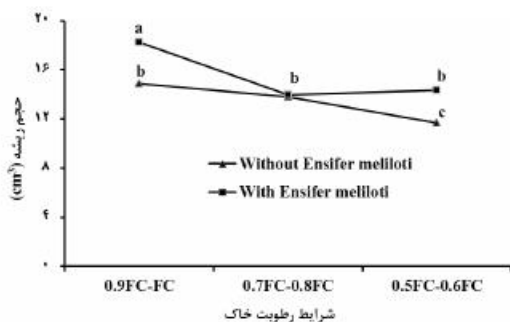
نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف کود فسفر و مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* توانست اثرهای مضر تنش خشکی بر گیاه یونجه را کاهش و تحمل این گیاه را در برابر تنش کمبود آب در خاک افزایش دهد. مصرف کود فسفر و مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* با افزایش رشد ریشه، طول ساقه و برگ سبب افزایش عملکرد یونجه شد. تنش خشکی متوسط رشد بخش هوایی گیاه یونجه را بیشتر از ریشه کاهش داد. به عبارت دیگر، حساسیت بخش هوایی گیاه یونجه به تنش خشکی متوسط بیشتر از ریشه بود. نوع اثر متقابل فسفر × باکتری، فسفر × رطوبت، باکتری × رطوبت از نظر بر ویژگی‌های رشد گیاه یونجه به سطوح رطوبت خاک (شدت تنش خشکی) و سطوح فسفر مصرفی بستگی داشت. به‌طور کلی، برای دستیابی به کشاورزی پایدار، کاهش مصرف کودهای شیمیایی

مقایسه میانگین‌های نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه برای اثر متقابل سه‌جانبه مایه‌زنی باکتری × فسفر × رطوبت خاک نشان داد که بیشترین نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه (2/0) در تیمار بدون کود فسفر (شاهد)، 0.7FC-0.8FC و با مایه‌زنی باکتری بود. دلیل این نتیجه ممکن است رشد کمتر ریشه نسبت به بخش هوایی در تیمار با کود فسفر و رطوبت بالا باشد. کمترین نسبت وزن خشک بخش هوایی (0/6) در تیمار بدون کود فسفر (شاهد)، 0.5FC-0.6FC و با مایه‌زنی باکتری بود (جدول 3).

حجم ریشه

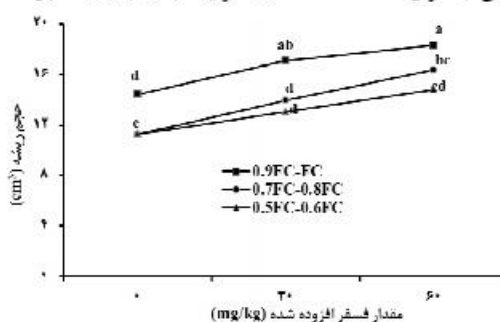
تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی رطوبت خاک، فسفر و باکتری *E. meliloti* و اثر متقابل رطوبت خاک × مایه‌زنی باکتری و رطوبت خاک × فسفر × مایه‌زنی باکتری بر حجم ریشه در سطح احتمال یک درصد معنادار، ولی اثرهای متقابل رطوبت خاک × فسفر و فسفر × مایه‌زنی باکتری غیرمعنادار بودند (جدول 2). مقایسه میانگین‌های حجم ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک × فسفر نشان داد که افزایش رطوبت خاک سبب افزایش حجم ریشه در تمام سطوح فسفر شد (شکل 13). سینک و سیل (2000) اظهار داشتند که افزایش سطح فسفر خاک، حجم کل ریشه‌ها را در خاک خشک به‌واسطه افزایش تراکم و قطر آوندهای چوبی افزایش می‌دهد. مقایسه میانگین‌های حجم ریشه برای اثر متقابل رطوبت خاک و مایه‌زنی باکتری نشان داد که حجم ریشه در 0.9FC-FC و با مایه‌زنی باکتری بیشتر از سایر سطوح بود (شکل 14). در حقیقت تنش کم‌آبی مقاومت مکانیکی خاک را افزایش می‌دهد و در نتیجه سبب کاهش رشد ریشه می‌شود (سنگوگ و همکاران، 2011). مقایسه میانگین‌های حجم ریشه برای اثر متقابل فسفر × مایه‌زنی

آب در خاک در شرایط مشابه این تحقیق می‌تواند پیشنهاد شود.

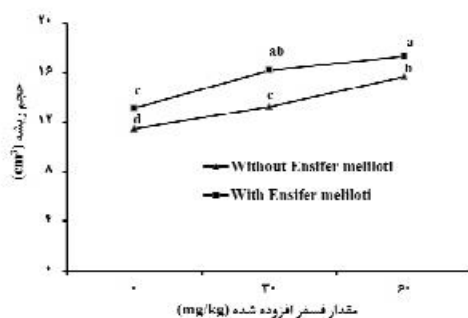


شکل 14- اثر متقابل رطوبت خاک و باکتری بر حجم ریشه

نیروژن، حفظ محیط زیست و بهبود رشد و عملکرد گیاه یونجه، مصرف 30 میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک و مایه‌زنی باکتری *E. meliloti* در شرایط با و بدون کمبود



شکل 13- اثر متقابل رطوبت خاک و فسفر بر حجم ریشه



شکل 15- اثر متقابل فسفر و باکتری *E. meliloti* بر حجم ریشه

فهرست منابع:

- اسفندیاری م. 1382. بررسی اثرات همزیستی توأم قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار و باکتری *Ensifer meliloti* بر عملکرد، میزان پروتئین و جذب برخی عناصر غذایی یونجه در سطوح مختلف شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.
- اسیلان ک. س. و حاجیلویی س. 1389. بررسی تأثیر تنش کم‌آبی بر صفات کمی و کیفی ارقام یونجه (*Medicago sativa* L.). فصلنامه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی جلد 2، شماره 1، صفحه‌های 41-51.
- اصغری ش. و علی‌اصغرزاد ن. 1383. مقایسه کارایی چند ماده حامل باکتری *Sinorhizobium meliloti* برای تولید مایه تلقیح یونجه. مجله علوم آب و خاک - علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد 8، شماره 4، صفحه‌های 63-75.
- ایران‌نژاد خ. و شهبازیان ن. 1383. مقاومت گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی، انتشارات کارنو.
- بحرانی م. 1380. فراوری گیاهان علوفه‌ای. مرکز نشر دانشگاه شیراز، شیراز، 150 صفحه.
- بی‌نام. 1389. آمارنامه کشاورزی، جلد اول محصولات زراعی سال 88-87. دفتر آمار و فناوری اطلاعات. وزارت جهاد کشاورزی.
- پیمان‌ز. و زارعی م. 1392. اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر رشد و جذب عناصر غذایی پایه نارنج در شرایط تنش کم‌آبی. مجله زیست‌شناسی خاک جلد 1 شماره 1، صفحه‌های 13-23.
- تاجیک‌خاوه م.، الهدادی الف.، دانشیان ج. و آرمند پیشه الف. 1390. بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر گره‌زایی و رشد سویا (*Glycine max* L.) تحت تنش کم‌آبی بذر. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی جلد 3، شماره 3، صفحه‌های 337-346.

9. حسینی ی.، همایی م.، کریمیان ن. و سعادت س. 1387. اثرهای فسفر و شوری بر رشد، غلظت عناصر غذایی و کارایی مصرف آب در کُترا (*Brassica napus* L.). پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد 8، شماره 4، صفحه‌های 1-18.
10. سلطانی الف. 1386. رابطه آب خاک و گیاه. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
11. صباغ‌پور س. ح. 1383. ساز و کارهای تحمل به خشکی در گیاهان. روش‌های کاهش خسارت خشکی و خشکسالی. کمیته ملی مدیریت خشکی و خشکسالی کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، صفحه‌های 181-197.
12. علیزاده ا. 1374. رابطه آب و خاک و گیاه (ترجمه). چاپ اول. انتشارات نشر مشهد.
13. کریمی الف. 1387. ارزیابی رژیم‌های آبیاری سطحی بر کارایی مصرف نیتروژن در زراعت چغندر قند. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی جلد 16، شماره 1، صفحه‌های 133-148.
14. کریمی کاخکی م. و سپهری ع. 1388. اثر کم‌آبیاری در دوره زایشی بر کارایی مصرف آب و تحمل خشکی ارقام جدید آفتابگردان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، سال 13، شماره 50، صفحه‌های 176-163.
15. ملکوئی و همکاران، 1379. توصیه بهینه کودی برای محصولات زراعی و باغی. نشریه فنی شماره 200. مؤسسه تحقیقات خاک و آب. نشر آموزش کشاورزی. کرج، ایران.
16. ملکوئی م. ح. 1384. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه‌سازی مصرف کود در ایران. چاپ سوم با بازنگری کامل، انتشارات سنا. تهران، ایران.
17. Abdul Jabbar, B.K. and Saud, H.M. 2012. Effects of phosphorus on biological nitrogen fixation in soybean under irrigation using saline water. *Global Journal of Science Frontier Research Agriculture & Biology* 12(1): 64-72.
18. Araujo, A.P., Teixeira, M.G. and Almeida, D.L. 1996. Phosphorus efficiency of wild and cultivated genotypes of common bean under biological nitrogen fixation. *Soil Biology and Biochemistry* 29:951-957.
19. Batten, G.D. 1992. A review of phosphorus efficiency in wheat. *Plant and Soil* 149: 163-168.
20. Bengough, A.G., McKenzie, B.M., Hallett, P.D. and Valentine, T.A. 2011. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: A review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of Experimental Botany* 62: 59-68.
21. Berg, W.K., Cunningham, S.M., Brouder, S.M., Johnson, K.D., Joernand, B.C. and Volenec, J.J. 2005. Influence of phosphorus and potassium fertilization on alfalfa yield and yield components. *Crop Science* 45: 297-304.
22. Bhatt, R.M. and Srinivasa-Ra, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal of Plant Physiology* 10: 54-59.
23. Bolland, M.D.A. 1992. The effect of water supply on the response of subterranean clover, annual medic and wheat to superphosphate applications. *Fertilizer Research* 33:161-175.
24. Bordeleau, L.M. and Prevost, D. 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant and Soil* 161: 115-125.
25. Bremner, J.M. and Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen-Total. P. 595-622. In: Page et al. (eds.) *Methods of soil Analysis. Part II. Microbiological and chemical methods*. 2ed. ASA, SSSA, Madison .WI. USA.
26. Busse, M.D. and Bottomley, P.J. 1989. Growth and nodulation responses of *Rhizobium meliloti* to water stress induced by permeating and nonpermeating solutes. *Applied and Environmental Microbiology* 55:2431-2436.
27. Buxton, D.R. 2004. *Growing quality forages under variable environmental conditions*. USDA, Iowa State University, USA.

28. Creelman R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S. and Mullet, J.E. 1990. Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiology* 92: 205-214.
29. Dejong T.M. and Phillips, D.A. 1982. Water stress effects on nitrogen assimilation and growth of *Trifolium subterraneum*. L. using dinitrogen or ammonium nitrate. *Plant Physiology* 69: 416-420.
30. Djilianov, D., Prinsen, E., Oden, S., Onckelen, H.V. and Muller, J. 2003. Nodulation under salt stress of alfalfa lines obtained after in vitro selection for osmotic tolerance. *Journal of Plant Physiology* 165: 887-894.
31. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
32. Graciano C., Guiame't, J.J. and Goya, J.F. 2005. Impact of nitrogen and phosphorus fertilization on drought responses in *Eucalyptus grandis* seedlings. *Forest Ecology and Management* 212: 40-49.
33. Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L. and Nelson, W.L. 2004. Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management. Sixth Ed. Prentice Hall, New Jersey, USA.
34. Hazelton, P.A. and Murphy, B.W. 2007. Interpreting soil test results: what do all the numbers mean? CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
35. Heidarian, A.R. and Mostafavi, Kh. 2012. Investigating of phosphorus, potassium and weed management effects on dry matter production and morphological traits of alfalfa ecotypes (*Medicago sativa* L.). *Advances in Natural and Applied Sciences* 6(6): 793-801.
36. Jin, J., Wang, G., Liu, X., Pan, X., Herbert S.J. and Tang, C. 2006. Interaction between phosphorus nutrition and drought on grain yield, and assimilation of phosphorus and nitrogen in two soybean cultivars differing in protein concentration in grains. *Journal of Plant Nutrition* 29(8): 1433-1449.
37. Jones, B.J. 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis. CRC Press, USA.
38. Jones, C.A., Jacobsen, J.S. and Wraith, J.M. 2003. The effects of P fertilization on drought tolerance of malt barley. p. 88-93. In: Western Nutrient Management Conference, Volume 5, Salt Lake City, UT.
39. Klute, A. 1986. Methods of soil analysis. Part I-Physical and mineralogical methods. 2nd ed. Microbiological and chemical methods. ASA, SSSA, Madison, WI. USA.
40. Kuo, S. 1996. Phosphorus. p. 869-919. In: Sparks, D.L. (eds.) Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. 3rd ed. SSSA Book Series No. 5. Madison, WI. USA.
41. Li, R., Volenec, J.J., Joern, B.C. and Cunningham, S.M. 1998. Effects of phosphorus nutrition on carbohydrate and protein metabolism in alfalfa roots. *Journal of Plant Nutrition* 21: 459-474.
42. Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 421-428.
43. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, USA.
44. Martens, D. 2007. Management of drought stressed alfalfa, available at <http://www.Co.Stearns.Mn.Us/ldocuments/E×T07242007WC.Pdf>.
45. Matyla, E., Long, V. and Tapiopalva, E. 1995. Role of abscisic acid in drought induced freezing tolerance. Cold acclimation and accumulation of LT 178 and RAB 18 protein in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 107: 141-148.
46. Mclean, E.O. 1982. Soil pH and lime requirement. p. 199-224. In: Page et al. (eds.) Methods of soil analysis. Part II. Microbiological and chemical methods. 2nd ed. ASA, SSSA, Madison, WI. USA.

47. Mohammad, A. and Johnson, D.A. 1996. Nodulation, biomass production, and nitrogen fixation in alfalfa under drought. *Journal of Plant Nutrition* 19: 185-199.
48. Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow maize cultivar. *Pakistan Journal of Biological Science* 10(22): 4022-4028.
49. Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. P. 539-579. In: A. L. Page et al. (eds). *Methods of Soil Analysis. Part II. Microbiological and chemical methods*. 2nd ed. ASA, SSSA, Madison, WI. USA.
50. Olivera, M., Tejera, N., Iribarine, C. Ocana A. and Liuch, C. 2007. Effect of phosphorus on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris*. p 157-160. In: Velazquez E. and Rodriguez-Barrueco C. (eds.) *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Developments in Plant and Soil Sciences, Volume 102*, Springer.
51. Passioura, J.B. 2002. Environmental plant biology and crop improvement. *Functional Plant Biology* 29: 537-546.
52. Payne, W.A., Drew, M.C., Hossner, L.R., Lascano, R.J., Onken, A.B. and Wendt, C.W. 1992. Soil phosphorus availability and pearl millet water-use efficiency. *Crop Science* 32: 1010-1015.
53. Peoples, M.B., Herridge, D.F. and Ladha, J.K. 1995. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. *Plant and Soil* 174: 3-28.
54. Pessaraki, M. 1994. *Handbook of plant and crop stress*. Marcel Dekker.
55. Rai, M.K. 2005. *Handbook of Microbial Biofertilizers*. Food Products Press, New York, USA.
56. Reichman, S.M. 2007. The potential use of the legume-*rhizobium* symbiosis for the remediation of arsenic contaminated sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 39:2587-2593.
57. Richards, L.A. 1969. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. US Salinity Laboratory Staff. *Agricultural handbook*. No.60. USDA. USA.
58. Rodriguez, D., Goudriaan, J., Oyarzabal, M., and Pomar, M.C. 1996. Phosphorus nutrition and water stress tolerance in wheat plants. *Journal of Plant Nutrition* 19: 29-39.
59. Saeed, I.A.M. and Nadi, A.H.E. 1997. Irrigation effects on the growth, yield and water use efficiency of alfalfa. *Irrigation Science* 17 (2): 63-68.
60. Safarnejad, A. 2004. Characterization of somaclones of *Medicago sativa* L. for Drought Tolerance. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 6: 121-127
61. Samarah, N.H. 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for Sustainable Development* 25: 145-149.
62. Sanchez, F.J, Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, JL., and Ayerbe, L. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research* 59: 225-235.
63. Saneoka, H., Fugita, K., and Ogata, S. 1990. Effect of phosphorus on drought tolerance in *Chloris gayana* Kunth and *Coix lacryma-jobi* L. *Soil Science and Plant Nutrition* 36: 267-274.
64. Shabala S, Babourina, O. and Newman, L. 2000. Ion-specific mechanisms of osmo-regulation in bean mesophyll cells. *Journal of Experimental Botany* 51: 1243-1253.
65. Singh, D.K. and Sale, P.W.G. 2000. Growth and potential conductivity of white clover roots in dry soil with increasing phosphorus supply and defoliation frequency. *Agronomy Journal* 92: 868-874.
66. Smith, FW, Jackson, W.A. and van den Berg, P.J. 1990. Internal phosphorus flows during development of phosphorus stress in *Stylosanthes hamata*. *Australian Journal of Plant Physiology* 17: 451-464.

67. Tanner, C.B. and Kirkham, M.B. 1988. Alfalfa water relations and irrigation. p. 73- 420. In: Hanson C.H. (ed.) Alfalfa and alfalfa improvement. ASA. Madison, USA.
68. Thies, JE, Woome, P.L., and Singleton, P.W. 1995. Enrichment of Bradyrhizobium spp. populations in soil due to cropping of the homologous host legume. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 633-636.
69. Trinchant, J.C., Boscare, A., Spennato, G., Sype, G.V.D. and Rudulier, D.L. 2004. Proline betaine accumulation in alfalfa plant under sodium chloride stress. Exploring it's compartmentalization in nodules. American Society of Plant Biologists, *Plant Physiology* 135: 1583-1594.
70. Worrall, V.S. and Roughly, R.J. 1976. The effects of moisture stress on infection of *Trifolium subteerraneum* L. by *Rhizobium trifoli* Dang. *Journal of Experimental Botany* 27: 1233-1241.
71. Zahir A.Z., Arshad, M. and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting Rhizobacteria applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81: 96-168.
72. Zhuouping, C., Nord, E., Lynch, J. and Yan, X. 2005. Relationship between plant maturity and root traits as related to P efficiency in soybean. p. 482-483. In: Li et al. (eds.) *Plant nutrition for food security, human health and environmental protection. Fifteenth International Plant Nutrition Colloquium*, Tsinghua University Press, Beijing, China.

