

## تأثیر منابع کودی (شیمیایی، زیستی و تلفیقی) و رژیم‌های کم‌آبیاری بر ویژگی‌های کیفی علوفه و میزان تریگونلین در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.)

ماندانا دادرسان<sup>۱</sup>، محمد رضا چایی چی<sup>۱</sup>، سید محمد باقر حسینی<sup>۱</sup>، احمد علی پور بابایی<sup>۱</sup> و داراب یزدانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

\*نویسنده مسئول: m\_dadresan@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۶

دادرسان، م.، م. ر. چایی چی، س. م. ب. حسینی، ا. ع. پور بابایی و د. یزدانی. ۱۳۹۶. تأثیر منابع کودی (شیمیایی، زیستی و تلفیقی) و رژیم‌های کم‌آبیاری بر ویژگی‌های کیفی علوفه و میزان تریگونلین در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.). مجله کشاورزی بوم‌شناختی. ۷ (۱): ۴۹-۳۳.

**سابقه و هدف:** استفاده گسترده از کودهای شیمیایی در دهه‌های اخیر و پیامدهای منفی ناشی از کاربرد این مواد، موضوعی است که امروزه همچنان مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد. بدین منظور جایگزینی کودهای زیستی و آلی با کودهای شیمیایی و یا تلفیقی مناسب از آن‌ها، به منظور افزایش حاصل‌خیزی خاک در کشاورزی پایدار و همچنین تامین سلامت دام امری ضروری به نظر می‌رسد. از سویی تنش خشکی، مهم‌ترین عامل غیر زنده است که رشد و تولید گیاهان را به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک محدود می‌سازد و با تاثیر روی جذب مواد غذایی از طریق ریشه موجب کاهش کیفیت علوفه می‌شود. به همین دلیل شناسایی روش‌های نوین آبیاری و کم‌آبیاری می‌تواند پیامدهای ناشی از مشکل کم آبی را کاهش دهد. بنابراین استفاده از بهترین سطوح کودهای زیستی و تلفیقی همراه با نظام کم آبیاری، برای افزایش کیفیت علوفه و میزان تریگونلین از هدف‌های مهم این تحقیق به‌شمار می‌رود.

**مواد و روش‌ها:** آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد. کرت‌های اصلی شامل رژیم آبیاری در سه سطح: آبیاری کامل (تامین ۱۰۰٪)، کم آبیاری متوسط (تامین ۷۵٪) و کم آبیاری شدید (تامین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه برحسب تبخیر و تعرق هفتگی) و کرت‌های فرعی در بردارنده سطوح مختلف کودی (بر پایه نتایج تجزیه خاک) در شش سطح (شاهد، ۱۰۰٪ کود شیمیایی، ۱۰۰٪ کود زیستی، کود زیستی + ۱۰۰٪ کود شیمیایی، کود زیستی + ۷۵٪ کود شیمیایی و کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی) بود.

**نتایج و بحث:** با افزایش تنش خشکی، درصد پروتئین، کربوهیدرات‌های محلول در آب، الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی و خنثی، درصد خاکستر و میزان تریگونلین افزایش و دیگر صفات کاهش یافت. این امر نشان داد که با اعمال تنش خشکی کیفیت علوفه گیاه شنبلیله بدلیل افزایش الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی و خنثی کاهش می‌یابد که این موضوع با کاهش قابلیت هضم علوفه همراه است. کاربرد کودهای زیستی و تلفیقی موجب کاهش فیبرهای نامحلول و افزایش قابلیت هضم علوفه شد. اگرچه تنش خشکی سبب افزایش میزان تریگونلین شد اما از سوی دیگر تاثیر منفی روی بسیاری از عامل‌های موثر بر رشد گیاه مانند میزان ماده خشک قابل هضم، جذب عنصرهای کانی (معدنی) و حتی عملکرد ماده موثره داشت. بیشترین درصد ماده خشک قابل هضم، درصد عنصرهای کانی و عملکرد تریگونلین از تیمار آبیاری کامل و استفاده از کود تلفیقی (Bio75% و Bio50%) و بالاترین درصد پروتئین خام و درصد کربوهیدرات‌های محلول از تیمار کم آبیاری شدید و استفاده از کود تلفیقی (Bio100%) به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** بنابر نتایج این تحقیق در همه شرایط و به‌ویژه در شرایط تنش، تاثیرگذاری کودهای تلفیقی به مراتب بیشتر از کودهای زیستی و شیمیایی بود. استفاده از کودهای تلفیقی توانست تأثیر زینبار کم آبی را تا حدی خنثی و بالاترین کیفیت علوفه و متابولیت ثانویه را تأمین کند. این امر مبین آن است که باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر) و باکتری‌های حل‌کننده فسفات (سودامونانس) موجب افزایش کارایی یکدیگر شدند و با کاربرد این کودها عملکرد کمی و کیفی بیشتری در مقایسه با دیگر نظام‌ها کودی به دست آمد. سیستم کم آبیاری متوسط در منطقه کرج به علت صرفه جویی در کاربرد آب و تأثیر منفی کم، نتیجه شایان پذیرشی داشت، که می‌تواند برای افزایش پایداری نظام‌های کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد با توجه به تأثیر مثبت استفاده از شنبلیله برای دام، از این گیاه می‌توان به عنوان یک علوفه دارو و مکمل غذایی در جیره غذایی دام استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** تریگونلین، تنش خشکی، شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*)، کود زیستی و کیفیت علوفه.

## مقدمه

شد که همزیستی ریشه رازیانه با دوگونه از قارچ‌پریشه‌های میکروبی‌زای وزیکولار آرباسکولار (VAM)، به طور معنی داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن می‌شود، به نحوی که میزان ماده ارزشمند آنتول در اسانس در مقایسه با شاهد افزایش می‌یابد، ولی میزان فنکونولیمون آن کاهش می‌یابد. (Kapoor *et al.*, 2004). نتیجه پژوهش Ratti *et al.* (2001) روی گیاه دارویی علف لیمو نیز بیانگر آن بود که کاربرد توأم قارچ‌پریشه (میکوریزا) و باکتری حل‌کننده فسفات همراه با سنگ فسفات، موجب یک اثر هم‌افزایی روی فعالیت هر دو ریزموجود (میکروارگانیزم) شد، به نحوی که سبب تقویت و تشدید میزان اسانس در این گیاه دارویی شد.

از میان همه‌ی عامل‌هایی که به گیاهان زراعی تنش وارد می‌کنند، تنش خشکی و کم آبی، مهم‌ترین عامل غیر زنده است که رشد و تولید گیاهان در جهان به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک را محدود می‌سازد (Reddy *et al.*, 2004). به همین دلیل شناسایی روش‌های نوین آبیاری و کم آبیاری تدابیری است که می‌تواند پیامدهای ناشی از مشکل کمبود آب و خشکی را کاهش دهد. کم آبیاری یک راهکار هوشمند برای بهینه‌سازی کاربرد آب است که در آن آگاهانه به گیاه اجازه داده می‌شود با دریافت آب کمتر از حد نیاز، عملکرد خود را کاهش دهد (English *et al.*, 1990) و تا حدی تنش آبی را در طول فصل رشد تحمل کنند (Wang *et al.*, 2001).

تأثیر رژیم‌های کم آبیاری روی گیاه جو نشان داد که تنش باعث افزایش عملکرد خشک علوفه و تا حدودی درصد فیبرخام و فیبرهای نامحلول در شوینده‌های اسیدی شد و در همان حال باعث کاهش غلظت پروتئین و قابلیت هضم شد. کودهای حاوی کود زیستی قابلیت هضم بیشتر و درصد

گرچه انقلاب سبز در کوتاه مدت موجب افزایش تولید مواد غذایی برای جمعیت گرسنه کشورهای توسعه نیافته شد، ولی عامل‌های چندی باعث شد انقلاب سبز در دراز مدت نتواند پایداری و ثبات لازم را در تداوم تولید هم‌گام با رشد تقاضا برقرار سازد (Adediran *et al.*, 2004). استفاده گسترده از مواد و هورمون‌های شیمیایی در تولید محصولات غذایی در دهه‌های اخیر، صاحب‌نظران علوم دامپروری به‌ویژه تغذیه دام را بر آن داشته است که به دنبال راه حل‌هایی برای تعدیل پیامدهای منفی کاربرد این مواد باشند. در راستای کشاورزی پایدار و تأمین سلامتی دام جایگزینی کودهای زیستی و آلی به جای کاربرد کودهای شیمیایی ضروری به نظر می‌رسد. امروزه کودهای زیستی به عنوان گزینه‌ای مناسب برای جایگزین کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصل خیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند (Wu *et al.*, 2005). تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی سورگوم علوفه‌ای نشان داد، بالاترین میزان پروتئین خام و کیفیت علوفه در تیمار ۷۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت اوره و ۲۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت تفاله کرچک به همراه تلقیح با آزوسپیریلوم به دست می‌آید (Yadav *et al.*, 2007). همچنین در بررسی کنگرفرنگی مشخص شد که کاربرد تلفیقی سطوح متوسط کودهای دامی و شیمیایی باعث بهبود صفات کیفی علوفه می‌شود (Fateh, 2008). (Asadi (2013) در نتیجه تحقیق خود نشان داد که بالاترین میزان ماده خشک قابل هضم علوفه شنبلیله در تیمار کودی زیستی و بالاترین میزان پروتئین خام در تیمار کود تلفیقی وجود دارد. در رابطه با نقش کودهای زیستی بر روی کمیت و کیفیت اسانس رازیانه نشان داده

گرم و خشک به‌شمار می‌آید. با استناد به اطلاعات اداره هواشناسی کرج میانگین میزان بارندگی سالیانه منطقه ۲۴۵ میلیمتر می‌باشد. میانگین دمای هوای منطقه در یک دوره‌ی ۳۰ ساله برابر با ۱۳/۵ درجه‌ی سلسیوس و دمای خاک ۱۴/۵ درجه سلسیوس گزارش شده است. طرح آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. کرت‌های اصلی در برگزیده تیمارهای رژیم آبیاری در سه سطح شامل آبیاری کامل (تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، کم آبیاری متوسط (تامین ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه) و کم آبیاری شدید (تامین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) و کرت‌های فرعی در برگزیده سطوح مختلف کودی (بر پایه نتایج تجزیه خاک) در چهار سطح (شاهد بدون کود، ۱۰۰٪ کود شیمیایی، ۱۰۰٪ کود زیستی، کود زیستی + ۱۰۰٪ کود شیمیایی، کود زیستی + ۷۵٪ کود شیمیایی و کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی) که کود زیستی مورد استفاده شامل ترکیب از توباکتر + سودامونانس بود. برای انجام آزمون خاک یک نمونه مرکب از محل آزمایش تهیه و برای انجام تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه خاک‌شناسی منتقل شد. نتایج آزمون خاک در جدول (۱) آورده شده است. بنابر نتایج آزمون خاک، کود شیمیایی کامل (۱۰۰٪) به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره (۵۰ کیلوگرم نیتروژن)، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیترات پتاسیم (اکسید پتاس) و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم (اکسید فسفر) و دیگر تیمارهای کود شیمیایی ۷۵٪ و ۵۰٪، به میزان ۷۵٪ و ۵۰٪ کود شیمیایی کامل (۱۰۰٪) به کرت‌های مربوطه اضافه شدند. بذرها در تیمارهای مربوط به کود زیستی پیش از کشت تلقیح شدند. پس از محاسبه میزان بذر مورد نیاز برای کاشت تیمارهایی که نیاز به تلقیح داشتند، بذرها درون یک کیسه پلی‌اتیلنی ریخته و آن‌گاه روی آنها به میزان ۳۰ میلی‌لیتر ماده چسباننده (به ازای هر کیلوگرم بذر) (محلول ۴۰٪ صمغ عربی) ریخته شد و برای مدت ۵ دقیقه به خوبی تکان داده شد تا سطح همه‌ی بذرها به شکل یکنواختی به این ماده آغشته شود. سپس به ازای هر کیلوگرم بذر ۵۰ گرم کود زیستی حاوی باکتری‌های تلقیح‌کننده روی بذرها ریخته و به مدت پنج دقیقه دیگر به خوبی تکان داده شد تا سطح همه‌ی بذرها به شکل یکنواخت با ماده تلقیح آغشته شود. در پایان بذرها آغشته به مایه تلقیح روی ورقه آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن شد تا بذرها خشک

فیبرهای نامحلول در شوینده‌های اسیدی کمتری تحت تنش داشتند که این امر مبین آن است که در شرایط کمبود آب، این کودها قابلیت تولید علوفه با کیفیت بالا را دارند (Maleki-Farahani, 2009). (Jahanian, 2013) در آزمایش خود به این نتیجه رسید که با افزایش سطح تنش خشکی از تیمار رژیم آبیاری مطلوب تا تنش خشکی شدید درصد پروتئین، کربوهیدرات‌های محلول در آب و فیبرهای محلول در شوینده اسیدی افزایش یافت و همچنین روندی کاهشی در مورد قابلیت هضم ماده خشک علوفه کنگر فرنگی مشاهده شد. گزارش شده است که تلقیح گندم با باکتری‌های حل‌کننده فسفات در شرایط تنش خشکی و سال‌هایی که بارندگی در زیر سطح بهینه بوده است، نتایج بهتری نشان داده است (Salehrastin, 2001).

شنبليله گیاه علوفه دارویی مهمی است که در طب سنتی به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گرفته و افزون بر آن، سالیان متمادی است که از اندام رویشی آن به عنوان یکی از سبزی‌های پرکاربرد استفاده می‌شود. این گیاه دارای ارزش غذایی بالایی است و مهم‌ترین عنصرهای غذایی در برگ شنبليله شامل کلسیم، فسفر، آهن، کاروتن، ویتامین C و پروتئین می‌باشند (Nazar, 2007). (Sun and Sun, 1996) نیز در آزمایشی که در مورد برخی از لگوم‌ها از جمله شنبليله انجام دادند، اعلام کردند که این جنس دارای ارزش غذایی بالا و طعم خوبی برای چرا می‌باشد. در بررسی Sayed et al. (2000) روی گیاه شنبليله، مقادیر پروتئین، چربی کل، فیبر خام و خاکستر به ترتیب ۲۵/۵، ۱۰، ۱۵ و ۷/۵ درصد به دست آمد.

هدف از این آزمایش استفاده از کودهای زیستی و یا تلفیقی به منظور کاهش کاربرد کودهای شیمیایی و دستیابی به بهترین سطوح ترکیبی کودهای زیستی و شیمیایی برای افزایش کیفیت علوفه از طریق سامانه کم آبیاری، در راستای کشاورزی پایدار است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه آموزشی-پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۱۱۲/۵ متر از سطح دریا، در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ اجرا شد. بنابر آمار آب و هوایی، منطقه مورد نظر در زمره مناطق مدیترانه‌ای

### ارزیابی کیفیت علوفه

نمونه‌گیری در مرحله آغاز گلدهی (نزدیک به ۱۰٪ گلدهی) صورت گرفت. در هنگام برداشت علوفه در هر واحد آزمایشی دو ردیف از هر طرف به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و برداشت از وسط کرت‌ها (۱ متر مربع) انجام شد. سپس نمونه‌ها به آون ۷۰ درجه سلسیوس و به مدت ۷۲ ساعت انتقال یافتند و برای تجزیه کیفیت علوفه به موسسه تحقیقات، جنگل‌ها و مراتع انتقال داده شدند و توسط دستگاه طیف سنجی مادون قرمز (NIR<sup>۱</sup>)، پارامترهای کیفیت علوفه اندازه‌گیری شدند. فناوری NIR بر پایه جذب و انعکاس اشعه مادون قرمز در طول موج‌های بین ۲۵۰۰-۷۰۰ نانومتر استوار است (Jafari et al., 2003). دقت NIR بستگی به دقت در کالیبراسیون (واسنجی) آن دارد. صفات کیفی اندازه‌گیری شده در نمونه‌ها عبارت بودند از: ماده خشک قابل هضم، پروتئین خام، کربوهیدرات‌های محلول در آب، الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی، الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی، خاکستر. داده‌ها پیش از تجزیه از لحاظ عادی (نرمال) بودن بررسی و سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرهای اصلی با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین اثرهای متقابل با نرم افزار MSTAT-C انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 انجام گرفت.

### اندازه‌گیری متابولیت دارویی شنبلیله

برای استخراج ماده موثره، گیاهان در مرحله پایان رشد فیزیولوژیک برداشت و به مدت ۱۴ روز در سایه خشک شدند و سپس بذرها آسیاب شده و با تجزیه فیتوشیمیایی و نیز با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری فرابنفش) اسپکتروفتومتر (UV) و بر پایه روش‌های فارماکوپه‌ای انجام گرفت (Oraei, 2009). روش انجام کار بدین صورت است که:

الف: از پودر بذرها تهیه شده به میزان ۱ گرم (توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۵ میکروگرم) توزین و با یک گرم اکسید منیزیم و ۵۰ میلی لیتر آب مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار می‌دهیم. سپس آنرا به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و پس از صاف کردن جذب نوری نمونه‌ها را در مقابل نمونه شاهد

شوند (Somasegaran and Hoben, 1994). کشت بذرها در کرت‌هایی به ابعاد ۴×۲ متر انجام شد. هر کرت شامل ۴ ردیف کاشت با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته بر روی ردیف ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کشت بذرها در عمق ۳-۲ سانتی‌متری با تراکم واقعی ۲۰۰ بوته در متر مربع در اوایل خردادماه انجام شد و بی‌درنگ پس از اتمام عملیات کاشت، آبیاری صورت گرفت. آبیاری واحدهای آزمایشی به صورت هفتگی و برابر آبیاری مرسوم منطقه تا مرحله ۳-۴ برگی گیاهان (مرحله استقرار) انجام شد. مبارزه و کنترل علف‌های هرز از همان مراحل اولیه به صورت وجین دستی و در چند مرحله به صورت تناوبی صورت پذیرفت. برای دستیابی به هدف‌های کشاورزی پایدار تلاش شد تا از هیچ نوع سم شیمیایی استفاده نشود. در نیمه دوم خرداد ماه وجین علف‌های هرز انجام شد. در تاریخ ۹۲/۴/۳۰ به منظور اجرای تیمارهای آبیاری اقدام به کرت بندی شد و بلافاصله در تاریخ ۹۲/۴/۳۱ تیمارهای آبیاری اجرا شد. حجم آبیاری در این مرحله به صورت هفتگی توسط فرمول‌های مربوطه محاسبه شد و با استفاده از کنتور به میزان مشخص به هر کرت آزمایشی داده شد.

### روش تعیین میزان آب مورد نیاز

میزان آب مورد نیاز بر پایه میزان تبخیر و تعرق هفتگی گیاه (Vafabakhsh et al., 2008) محاسبه و برای آبیاری کرت‌های مربوطه از فرمول زیر استفاده شد:

$$ET_c = ET_0 \times K_c \quad (1)$$

$$I_n = 0.623 \times A \times \frac{ET_c}{IE} \quad (2)$$

$I_n$  = حجم آبیاری بر حسب گالن، ۰.۶۲۳ = عدد ثابت،  $IE$  = بازده آبیاری،  $A$  = گستره تاج پوشش گیاه بر حسب مترمربع،  $K_c$  = ضریب ثابت برای گیاه،  $ET_c$  = تبخیر و تعرق گیاه آزمایشی،  $ET_0$  = تبخیر و تعرق هفتگی بر حسب اینچ. میزان تبخیر و تعرق هفتگی ( $ET_0$ ) از مرکز هواشناسی کرج به دست آمد و برای تعیین میزان  $ET_c$  استفاده شد. راندمان آبیاری ( $IE$ ) در این پژوهش ۰/۸ و میزان  $K_c$  برای گیاه شنبلیله ۰/۹ در نظر گرفته شد (FAO, 1998). آبیاری بعد از محاسبه میزان حجم آب مورد نیاز برای هر تیمار بصورت هفتگی و تا پایان رشد فیزیولوژیکی گیاه انجام گرفت.

<sup>1</sup> Near Infrared Spectroscopy

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک محل آزمایش.

Table 1. Soil analysis results of the experimental site.

بافت خاک (لوم) Soil texture (loam)				ماده آلی	سدیم	هدایت	اسیدیتنه	پتاسیم	فسفر قابل	نیتروژن
شن	سیلت	رس	آهک	(درصد)	تبادلی	الکتریکی	عصاره	قابل جذب	جذب	کل
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	Organic matter (%)	Exch Na (%)	(دسی)	اشباع	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(درصد)
Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Ca (%)			زیمنس بر	pH	بر کیلوگرم)	بر کیلوگرم)	Total N (%)
						(متر)		Available K	Available P	
						EC		Mg kg <sup>-1</sup>	Mg kg <sup>-1</sup>	
						(dS m <sup>-1</sup> )				
38	38	24	7.7	0.84	1.48	1.74	8	151	14.1	0.09

### نتایج و بحث

یکی از عامل‌های مهم در تعیین مرغوبیت و خوش خوراکی علوفه، کیفیت آن می باشد. کیفیت علوفه، وابسته به میزان کل ترکیبات گیاهی است که حیوان پس از تغذیه به طور موثری از آن استفاده می کند. به عبارت دیگر کیفیت علوفه را می توان عملکرد علوفه خورده شده و قابلیت هضم تعریف نمود (Daneshnia, 2013). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر گذاری کم آبیاری روی صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱٪ ( $P < 0.01$ ) معنی داری بود. همچنین به جز الیاف محلول در شوینده های خنثی (در سطح احتمال ۵٪)، دیگر صفات نسبت به سطوح کودی اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ نشان دادند. اثر متقابل آبیاری × کود روی همه صفات مورد بررسی به جز خاکستر و منیزیم اثر معنی داری در سطح احتمال ۱٪ داشت (جدول ۲).

**ماده خشک قابل هضم<sup>۱</sup> (DDM):** رژیم آبیاری، سطوح کودی و اثر متقابل آن ها در سطح احتمال ۱٪ تاثیر معنی داری روی قابلیت هضم ماده خشک داشتند (جدول ۲). با افزایش آبیاری، در همه سطوح کودی، به ویژه سطوح کود تلفیقی (زیستی و شیمیایی)، ماده خشک قابل هضم از یک روند افزایشی پیروی کرد (شکل ۱-الف).

نتایج تحقیقات نشان می دهند که تاثیر تنش خشکی بر کیفیت علوفه به ویژه هضم پذیری آن بسیار متفاوت و حتی متضاد می باشد. گزارش شده است که در اثر بروز تنش خشکی میزان کربوهیدرات های ساختمانی و الیاف گیاه افزایش می یابد که خود می تواند سبب کاهش قابلیت هضم علوفه شود (Haug *et al.*, 1997). و نیز اشاره شده است که قابلیت هضم تحت تاثیر تنش خشکی قرار نمی گیرد.

در طول موج ۲۶۸ نانومتر می خوانیم و با استفاده از منحنی استاندارد تریگونلین، میزان آن در نمونه ها تعیین می کنیم. برای تهیه نمونه HPLC، پس از توزین میزان ۵۰۰ میلی گرم از پودر دانه گیاه را با ۵۰۰ میلی گرم اکسید منیزیم و ۱۰۰ میلی لیتر آب مخلوط کرده و ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار می دهیم، پس از زمان گفته شده عصاره به دست آمده را صاف کرده و به طور مستقیم به دستگاه تزریق می کنیم.

ج: آماده کردن نمونه استاندارد: برای تهیه استاندارد خارجی از پودرهای خریداری شده پس از اندازه گیری دقیق در ۵ بالن جداگانه ریخته و برای تهیه غلظت های مناسب (۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی گرم در میلی لیتر) با آب به حجم می رسانیم. در ادامه به کمک دستگاه اولتراسونیک کاملاً انحلال صورت گرفت و پس از پالایش (فیلتراسیون) با فیلتر (پالایشگر) میکرونی مخصوص از هر کدام از محلول های به دست آمده ۴ نمونه داخل دستگاه خودکار تزریق (autosampler) قرار گرفت.

در این تحقیق در آغاز بر پایه روش های فارماکوپه ای رایج تعیین میزان تری گونلین با طیف سنج نوری فرابنفش انجام و از روی میزان جذب، درصد تریگونلین در بذر گیاه شناسایی مشخص، آن گاه این تعیین میزان با روش HPLC تکرار و در ادامه توسط HPLC برای تعیین میزان تری گونلین معتبر سازی شد. بر پایه روش فارماکوپه ای طول موج بهینه برای جذب تریگونلین ۲۶۸ نانومتر است. از روی گستره زیر منحنی به دست آمده بر حسب غلظت، منحنی کالیبراسیون رسم و آن گاه از روی فرمول خط رگرسیون ( $y = ax + b$ ) مقادیر مجهول در نمونه ها محاسبه شد.

<sup>1</sup> Digestible Dry Matter

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات کیفی علوفه شنبلیله تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری و کودی.

Table 2. Analysis of variance (Mean squares) for qualitative characteristics of fenugreek at different irrigation and fertilizer treatments.

تیمار Treatments	درجه آزادی df	کلسیم (درصد) Ca (%)	فسفر (درصد) P (%)	منیزیم (درصد) Mg (%)	خاکستر (درصد) Ash (%)	الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی (درصد) NDF (%)	الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی (درصد) ADF (%)	کربوهیدرات‌های محلول در آب (درصد) WSC (%)	پروتئین خام (درصد) CP (%)	ماده خشک قابل هضم (درصد) DDM (%)
تکرار Replication	2	0.0008 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.0005 <sup>ns</sup>	0.00003 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>
آبیاری Irrigation	2	0.21 <sup>**</sup>	0.01 <sup>**</sup>	0.16 <sup>**</sup>	2.65 <sup>**</sup>	17.35 <sup>**</sup>	19.46 <sup>**</sup>	4.39 <sup>**</sup>	47.75 <sup>**</sup>	474.86 <sup>**</sup>
خطای a Error a	4	0.0005	0.00004	0.0007	0.001	0.003	0.005	0.0003	0.004	0.03
کود Fertilizer	5	0.43 <sup>**</sup>	0.04 <sup>**</sup>	0.35 <sup>**</sup>	6.74 <sup>**</sup>	4.38 <sup>*</sup>	7.15 <sup>**</sup>	5.59 <sup>**</sup>	38.86 <sup>**</sup>	291.84 <sup>**</sup>
آبیاری × کود Irrigation × fertilizer	10	0.003 <sup>**</sup>	0.001 <sup>**</sup>	0.0004 <sup>ns</sup>	0.006 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>**</sup>	4.16 <sup>**</sup>	0.14 <sup>**</sup>	0.47 <sup>**</sup>	5.66 <sup>**</sup>
تکرار × کود Replication × Fertilizer	10	0.0002	0.00007	0.0003	0.005	0.001	0.001	0.001	0.004	0.08
خطای b Error b	20	0.0005	0.0001	0.0004	0.004	0.001	0.001	0.002	0.007	0.01
ضریب تغییرات C.V		1.20	2.74	2.48	1.07	0.18	0.20	0.36	0.34	0.17
ضریب تغییرات C.V		1.20	2.74	2.48	1.07	0.18	0.20	0.36	0.34	0.17

\*\*، \* و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی دار.

\*, \*\* and ns indicates the significant differences (at 5 and 1 percent probability) and no significant difference, respectively.

NDF: neutral detergent fiber, ADF: acid detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrates, CP: crude protein and DDM: digestible dry matter.

جدول ۳- همبستگی بین صفات کیفی علوفه شنبليله.

Table 3. Correlations between different qualitative characteristics of fenugreek.

ماده خشک قابل هضم DDM	الیاف نامحلول در شوینده های خنثی NDF	الیاف نامحلول در شوینده های اسیدی ADF	کربوهیدراتهای محلول در آب WSC	پروتئین خام CP	ماده خشک قابل هضم DDM
1					
0.09 ns				1	
0.12 ns			1	0.87**	
0.94 *		1	-0.081	0.002 ns	
-0.94 *	1	0.96 **	-0.03 ns	0.08 ns	
0.85 *	0.87 **	0.82 **	-0.54 **	0.48 **	

ns و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی دار.

\*, \*\* and ns indicates the significant differences (at 5 and 1 percent probability) and no significant difference, respectively  
NDF: neutral detergent fiber, ADF: acid detergent fiber, WSC: water soluble carbohydrates, CP: crude protein and DDM: digestible dry matter.

مختلف کودی نتوانسته است تأثیر چندانی بر قابلیت هضم ماده خشک داشته باشد (Saeednejad *et al.*, 2001). به طور کلی قابلیت هضم یک ویژگی است که بیشتر تحت تأثیر عامل‌های ژنتیکی و همچنین عامل‌هایی مانند برداشت و مرحله بلوغ گیاه بوده و کمتر به میزان فراهمی عنصرهای غذایی وابسته است. تغییر نسبت برگ به ساقه در مراحل مختلف فنولوژیک (پدیده‌شناختی) رشد باعث تغییر درصد قابلیت هضم ماده خشک می‌شود. در برخی منابع علمی نیز به عدم وابستگی قابلیت هضم ماده خشک به میزان فراهمی عنصرهای غذایی اشاره شده است (Saeednejad *et al.*, 2001)، که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد. در شرایط تنش شدید کم آبی (آبیاری ۰.۵٪) تیمارهای حاوی کود تلفیقی (کود زیستی+۷۵٪ کود شیمیایی) توانستند قابلیت هضم ماده خشک شاخساره را افزایش دهند و با افزایش میزان کودهای شیمیایی به صورت کامل این صفت کاهش یافت (شکل ۱- الف)، که نشان می‌دهد در شرایط کلی و به‌ویژه تنش کم آبیاری استفاده از کود های تلفیقی منجر به افزایش قابلیت هضم علوفه می‌شود.

**پروتئین خام<sup>۱</sup> (CP):** درصد پروتئین خام تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و کودی در سطح احتمال ۱٪ قرار گرفت (جدول ۲). با کاهش شدت تنش کم آبی، درصد پروتئین خام شنبليله کاهش پیدا کرد به‌گونه‌ای که بالاترین درصد

(Jensen *et al.*, 2003). این در حالی است که در سورگوم علوفه ای با کاهش رطوبت قابلیت هضم ماده خشک افزایش پیدا کرد (Jensen *et al.*, 2007). نتایج متناقض نشان می‌دهند بسته به شرایط محیطی و نوع گیاه، تنش خشکی می‌تواند در مواردی سبب افزایش، کاهش و یا حتی بدون تأثیر بر قابلیت هضم ماده خشک باشد. بنابراین در مورد تأثیر تنش خشکی بر قابلیت هضم ماده خشک به طور قطعی نمی‌توان اظهار نظر نمود.

با استفاده از کود تلفیقی (زیستی و شیمیایی) قابلیت هضم ماده خشک علوفه شنبليله افزایش پیدا کرد (شکل ۱- الف). به نظر می‌رسد کود تلفیقی با ایجاد شرایط مناسب برای بهبود فعالیت ریزموجودهای سودمند خاک و جذب عنصرهای کانی پرمصرف (ماکرو) و کم‌مصرف (میکرو) موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک شنبليله شده است. (Fateh *et al.*, 2008) در بررسی تأثیر روش‌های مختلف حاصل‌خیزی خاک (آلی، تلفیقی و شیمیایی) روی کمیت و کیفیت علوفه گیاه کنگرفرنگی، گزارش کردند که افزایش درصد ماده خشک قابل هضم در روش شیمیایی نسبت به دو روش دیگر، مربوط به تأثیر سریع جذب نیتروژن در این روش می‌باشد. در بررسی تأثیر کود بر کیفیت علوفه نتایج متناقضی گزارش شده است. بررسی تأثیر کودهای آلی و زیستی بر سورگوم علوفه‌ای نشان داد که اعمال تیمارهای

<sup>1</sup> Crude protein

پروتئین خام در آبیاری ۵۰٪ و کود تلفیقی (کود زیستی+۱۰٪ کود شیمیایی) به‌دست آمد (شکل ۱-ب). با افزایش تنش خشکی، به دلیل کاهش زیست‌توده (بیوماس) درصد پروتئین خام افزایش می‌یابد (Jensen *et al.*, 2007). نتایج در برخی تحقیقات نشان داده شده است که تنش خشکی منجر به افزایش درصد پروتئین خام گیاهان علوفه ای همچون چاودار چند ساله و فستوکا می‌شود (Jensen *et al.*, 2003). دلیل این امر به‌احتمال این است که در یک خاک خشک غلظت بیشتری از نیتروژن وجود دارد (Jensen *et al.*, 2007). اگرچه در شرایط تنش خشکی درصد پروتئین افزایش می‌یابد ولی چون در این شرایط عملکرد علوفه کاهش می‌یابد، افزایش درصد پروتئین چندان شایان توجه نیست (Jensen *et al.*, 2007). در این تحقیق همبستگی منفی بین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام شنبلیله دیده شد (جدول ۳). (Ward *et al.*, 2001) با تحقیقی که روی گیاهان علوفه ای یکساله تابستانه انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ماده خشک قابل هضم همبستگی منفی با درصد پروتئین خام، فیبرهای نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر دارد. در بررسی تأثیر نظام های کم‌آبیاری و کود شیمیایی و زیستی فسفر بر ویژگی‌های کمی و کیفی شلغم علوفه‌ای، گزارش شده است که تأمین فسفر مورد نیاز گیاه می‌تواند میزان پروتئین خام علوفه شلغم را افزایش دهد و در این میان تأثیرگذاری کود تلفیقی بیشتر از کود کامل شیمیایی و یا زیستی بود که با کاهش شدت تنش درصد پروتئین خام نیز کاهش پیدا کرد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Keshavarz *et al.*, 2012).

پروتئین خام در آبیاری ۵۰٪ و کود تلفیقی (کود زیستی+۱۰٪ کود شیمیایی) به‌دست آمد (شکل ۱-ب). با افزایش تنش خشکی، به دلیل کاهش زیست‌توده (بیوماس) درصد پروتئین خام افزایش می‌یابد (Jensen *et al.*, 2007). نتایج در برخی تحقیقات نشان داده شده است که تنش خشکی منجر به افزایش درصد پروتئین خام گیاهان علوفه ای همچون چاودار چند ساله و فستوکا می‌شود (Jensen *et al.*, 2003). دلیل این امر به‌احتمال این است که در یک خاک خشک غلظت بیشتری از نیتروژن وجود دارد (Jensen *et al.*, 2007). اگرچه در شرایط تنش خشکی درصد پروتئین افزایش می‌یابد ولی چون در این شرایط عملکرد علوفه کاهش می‌یابد، افزایش درصد پروتئین چندان شایان توجه نیست (Jensen *et al.*, 2007). در این تحقیق همبستگی منفی بین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام شنبلیله دیده شد (جدول ۳). (Ward *et al.*, 2001) با تحقیقی که روی گیاهان علوفه ای یکساله تابستانه انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ماده خشک قابل هضم همبستگی منفی با درصد پروتئین خام، فیبرهای نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر دارد. در بررسی تأثیر نظام های کم‌آبیاری و کود شیمیایی و زیستی فسفر بر ویژگی‌های کمی و کیفی شلغم علوفه‌ای، گزارش شده است که تأمین فسفر مورد نیاز گیاه می‌تواند میزان پروتئین خام علوفه شلغم را افزایش دهد و در این میان تأثیرگذاری کود تلفیقی بیشتر از کود کامل شیمیایی و یا زیستی بود که با کاهش شدت تنش درصد پروتئین خام نیز کاهش پیدا کرد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Keshavarz *et al.*, 2012).

Fateh *et al.* (2008) نیز در نتایج تحقیق خود نشان دادند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات به تنهایی قادر به افزایش درصد پروتئین خام کنگر فرنگی نیستند. تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و کودهای زیستی بر سورگوم علوفه‌ای نشان داد، بالاترین میزان پروتئین خام و کیفیت علوفه در تیمار ۷۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت اوره و ۲۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت تفاله کرچک به همراه تلقیح با آزوسپیریولوم به‌دست می‌آید (Yadav *et al.*, 2007).

کربوهیدرات‌های محلول در آب<sup>۱</sup>(WSC):

<sup>۱</sup> Water soluble carbohydrate

<sup>۲</sup> Acid Detergent Fiber



خوبی داشته باشد و همین امر باعث شده تا میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی در گیاه افزایش یافته و باعث داری روی الیاف نامحلول در شوینده خنثی داشتند (جدول ۲). با افزایش تنش آبیاری درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی از یک روند افزایشی پیروی کردند که نشان می دهد با اعمال تنش خشکی کیفیت علوفه شنبلیله بدلیل افزایش الیاف نامحلول در شوینده های خنثی (NDF) کاهش می یابد که این موضوع با کاهش قابلیت هضم علوفه نیز همراه بوده و آن را توجیه می کند. (Haung and Duncan 1997) در نتایج بررسی ها نشان دادند که تنش خشکی موجب افزایش الیاف نامحلول گیاه می شود.

با افزایش درصد کود شیمیایی در کود تلفیقی (Bio100%) این صفت نسبت به کود Bio50% بار دیگر افزایش یافت. به طور کلی کود تلفیقی توانست میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی را نسبت به کود شیمیایی کامل، کود زیستی کامل و شاهد کاهش دهد. با توجه به شکل ۱) - ۵، میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی برای گیاه شنبلیله در شاهد (بدون کاربرد کود) با آبیاری ۵۰٪ بیشتر شده است. در چنین شرایطی شنبلیله نتوانست رشد رویشی.

تأثیر کودهای تلفیقی به ویژه (Bio50%) در کاهش درصد ADF بیشتر از دیگر کودها بود و در نتیجه باعث افزایش کیفیت علوفه شد (شکل ۱ - ۵). بیشترین میزان ADF علوفه شنبلیله مربوط به تیمار ۵۰٪ آبیاری بدون استفاده از کود و کمترین میزان آن نیز در تیمار ۱۰۰٪ آبیاری همراه با کود تلفیقی Bio50% حاصل شد (شکل ۱ - ۵). همچنین Keshavarz *et al.* (2012) نیز گزارش کردند که استفاده از کود شیمیایی فسفر تأثیر معنی داری بر کاهش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شلغم نداشت ولی کاربرد کود کامل زیستی و تلفیقی سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و افزایش کیفیت آن شدند، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. جدول ضریب های همبستگی (جدول ۳) نشان داد بین DDM و ADF علوفه شنبلیله همبستگی منفی بسیار معنی داری وجود دارد ( $r = -0.94^{**}$ ). همچنین بین ADF و CP همبستگی غیرمعنی داری ( $r = 0.002^{ns}$ ) دیده شد (جدول ۳).

**الیاف نامحلول در شوینده های خنثی<sup>۱</sup> (NDF):** تیمار آبیاری و اثر متقابل آبیاری در کود در سطح احتمال یک درصد و تأثیر کود در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی صفات کیفی علوفه شنبلیله تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری و کودی.

Table 4. Mean comparison of some qualitative characteristics of fenugreek as affected by irrigation and fertilizer treatments.

تیمار Treatments	منیزیم (درصد) Mg (%)	خاکستر (درصد) Ash (%)
آبیاری Irrigation		
50%	0.72 c	6.52 a
75%	0.80 b	5.86 b
100%	0.91 a	5.85 b
کود Fertilizer		
C	0.57f	7.45a
N. P. K	0.64e	6.62b
Bio	0.75d	6.25c
Bio50%	0.95b	5.60d
Bio75%	1.11a	5.28e
Bio100%	0.84c	5.27e

۵۰٪: تنش شدید، ۷۵٪: تنش ملایم، ۱۰۰٪: آبیاری کامل، C: شاهد، NPK: کود شیمیایی (نیترات، فسفات و پتاس)، Bio: کود بیولوژیک (ازتوباکتر و سودوموناس)، Bio50%: کود بیولوژیک+۵۰٪ کود شیمیایی، Bio75%: کود بیولوژیک+۷۵٪ کود شیمیایی و Bio100%: کود بیولوژیک+۱۰۰٪ کود شیمیایی. حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها است.

100%: Complete irrigation (no drought stress by providing 100% of weekly evapotranspiration), 75%: moderate drought stress, 50%: severe drought stress, C: Control (no fertilizer application), NPK: Chemical fertilizer (Nitrate, phosphate and potassium), Bio: Biological fertilizer (Azotobacterial + pseudomonas), Bio50%: Biological fertilizer+50% chemical fertilizer, Bio75%: Biological fertilizer+75% chemical fertilizer and Bio100%: Biological fertilizer+100% chemical fertilizer  
The same letter on each column means no significant differences.

<sup>۱</sup> Neutral Detergent Fiber

منیزیم، فسفر و کلسیم با افزایش میزان آبیاری افزایش یافت به طوری که در تنش شدید کمترین میزان و در آبیاری کامل به بیشترین میزان خود رسید که نشان دهنده تاثیر مثبت آبیاری بر جذب این عناصر می باشد (جدول ۴ و شکل ۱-۱ و ۱-۲). میزان رطوبت موجود در خاک (با بارندگی و یا آبیاری) بر ترکیب عنصرهای کانی علوفه تاثیر می گذارد. برای مثال کلسیم در دوره های خشک و کم آب در گیاه انباشته شده و به هنگام افزایش میزان رطوبت خاک از تراکم آن کاسته می شود، از سوی دیگر به نظر می رسد که در زمان افزایش بارندگی تراکم فسفر در گیاه زیاد می شود. باران به-طور معمول منجر به افزایش نیتروژن و فسفر در گیاهان می شود (Jahanian, 2012).

کاربرد کود تلفیقی Bio75% بیشترین تاثیر را روی میزان منیزیم داشت (جدول ۴). تفاوت معنی داری از لحاظ کاربرد Bio50% و Bio75% در شرایط آبیاری کامل روی جذب فسفر دیده نشد (شکل ۱ - ۱ و ۱-۲)، در حالی که استفاده از کود تلفیقی Bio50% میزان جذب عنصر کلسیم را در همه سطوح آبیاری افزایش یافت (شکل ۱ - ۲). در این تحقیق آبیاری کامل و استفاده از کودهای تلفیقی موجب افزایش جذب عنصرهای کانی در گیاه شنبلیله شدند.

#### غلظت و عملکرد تریگونلین

افزایش یا کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت تاثیر عامل‌های چندی چون ویژگی‌های ژنتیکی، نوع کود مصرفی، شرایط اقلیمی، میزان کربنات خاک، مدیریت تولید، ارتفاع از سطح دریا و روش استخراج عصاره، قرار می‌گیرد (Miguel et al., 2004). همان‌طور که در جدول (۵) دیده می‌شود غلظت و عملکرد تریگونلین شنبلیله در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر رژیم آبیاری، کود و اثر متقابل آنها قرار گرفتند. به موازات کاهش در میزان آب مصرفی، غلظت تریگونلین در دانه‌های شنبلیله از روندی افزایشی پیروی کرد. کمترین میزان تریگونلین دانه در آبیاری کامل و در شاهد تولید شد در حالی که بیشترین میزان آن در کم آبیاری شدید همراه با کود تلفیقی Bio50% بود. (شکل ۱-۳ ح). این امر نشان می‌دهد که تنش خشکی موجب افزایش غلظت ماده موثره دارویی شده است. در حالی که عملکرد تریگونلین با افزایش تنش، کاهش معنی دار پیدا کرد، به طوری که بیشترین عملکرد تریگونلین در آبیاری کامل و کمترین در تیمار تنش مشاهده شد (شکل ۱-۳ ط). اگرچه در شرایط کم آبیاری غلظت تریگونلین در بذر بیشتر بود، ولی به

کاهش کیفیت علوفه شود. نتایج جدول همبستگی (۳) نیز وجود یک همبستگی مثبت معنی دار بین NDF و ADF  $r=0.96^{**}$ ، همبستگی منفی معنی دار بین NDF و WSC  $r=-0.94^{**}$  و نبود همبستگی معنی دار بین NDF و CP  $r=0.08^{ns}$  را نشان داد. گزارش Fateh et al. (2008) موید این نکته است که کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات می‌تواند موجب کاهش فیبرهای نامحلول و افزایش قابلیت هضم شود اما تاثیری بر درصد پروتئین خام نخواهد داشت. همچنین برخی تحقیقات نشان می‌دهند باکتری‌های حل کننده فسفات منجر به کاهش ADF و NDF علوفه در گیاهانی همچون کنگرفرنگی و شلغم علوفه‌ای می‌شوند (Asay et al., 2002).

**خاکستر (ASH):** در این تحقیق آبیاری و کود در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی داری روی خاکستر داشتند، در حالی که اثر متقابل این دو تیمار تاثیر معنی داری روی خاکستر نداشت (جدول ۲)، که نشان دهنده بدون تاثیر بودن باکتری‌ها در شرایط کم آبی می باشد. با افزایش میزان آبیاری درصد خاکستر کاهش یافت (جدول ۴). این امر مبین آن است که با افزایش رطوبت و در نتیجه آبدار شدن اندام‌های هوایی گیاه، میزان خاکستر کاهش می‌یابد. Maleki-Farahani (2009) در تحقیق خود نشان داد تنش شدید خشکی درصد خاکستر گیاه جو را در مقایسه با شاهد افزایش داد.

استفاده از تیمارهای کودی تاثیر معنی داری بر کاهش درصد خاکستر گیاه شنبلیله داشتند، به طوری که بیشترین درصد خاکستر در شاهد و کمترین با استفاده از تیمارهای تلفیقی Bio75% و Bio100% به دست آمد و سبب کاهش درصد خاکستر شد (جدول ۴). نتیجه بررسی نشان داد که هر چه قابلیت هضم گیاه بالاتر باشد، درصد پروتئین خام، فیبرهای نامحلول و خاکستر آن پایین تر خواهد بود (Keshavarz, 2012). همبستگی منفی و معنی داری  $r=-0.85^{**}$  بین درصد خاکستر و قابلیت هضم ماده خشک، بین درصد خاکستر و پروتئین خام  $r=-0.48^{**}$  و بین درصد خاکستر و کربوهیدرات‌های محلول  $r=-0.54^{**}$  مشاهده شد (جدول ۳). این امر نشان می‌دهد که افزایش درصد خاکستر سبب کاهش قابلیت هضم و خوشخوراکی علوفه می‌شود.

**درصد عنصرهای کانی:** عنصرهای کانی به جز منیزیم، تحت تاثیر اثر متقابل آبیاری و کود قرار گرفتند (جدول ۲). درصد

نیترژن از جمله عنصرهای اصلی مورد نیاز شنبلیله برای افزایش متابولیت دارویی بوده و باکتری‌های ازتوباکتر و سوداموناس موجود در کود زیستی با تثبیت نیترژن هوا، نیترژن بیشتری را در اختیار گیاه قرار داده و موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه در شنبلیله می‌شوند (Hasanzadeh, 2012). به هر حال، دلیل بالا بودن غلظت تریگونلین در تیمارهای کود تلفیقی و زیستی نسبت به کود شیمیایی و شاهد به احتمال آن است که ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه بر تسهیم و تخصیص مواد فتوسنتزی به اندام‌های مختلف گیاه تأثیر می‌گذارند. در یک تحقیق گزارش شد که محدودیت در ذخیره نیترژن بیش از تلقیح با آزوسپیریلوم و *Pantoea* sp سبب تولید ترکیبات فنولی در برگ‌ها و میوه فلفل‌شیرین شد و نتیجه گرفتند که

دلیل تولید دانه کمتر، عملکرد تریگونلین در این شرایط کاهش یافت. همچنین بیشترین عملکرد تریگونلین هم در تیمار تلفیقی 50% bio و کمترین در شاهد مشاهده شد (شکل ۱-ط). به طور کلی اگر کربن تثبیت شده در فعالیت‌های سوخت و سازی (متابولیک) اولیه رشد و تمایز سلولی (یاخته‌ای) استفاده نشود (شرایط تنش) تولید فرآورده‌های ثانویه تحریک می‌شود و کربن استفاده نشده در ساختار دیواره‌های سلولی و پروتئین‌ها به متابولیت‌های ثانویه تبدیل شده و در واکوئل‌ها ذخیره می‌شود. در مواردی که گیاه رشد سریع دارد، این متابولیت‌ها تجزیه شده و کربن ذخیره شده آزاد می‌شود. فعالیت‌های سوخت و سازی اولیه و ثانویه به یکدیگر وابسته بوده و از طریق آنزیم‌های کلیدی در تعادل دینامیکی قرار می‌گیرند (Jahanian, 2012).

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تریگونلین و عملکرد آن در گیاه شنبلیله تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری و کودی.

Table 5. Analysis of variance (Mean squares) of fenugreek Trigonelline content and concentration as affected by different irrigation and fertilizing systems.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد تریگونلین Trigonelline content	غلظت تریگونلین Trigonelline concentration
تکرار Replication	2	0.0006 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>
آبیاری Irrigation	2	4.24 <sup>**</sup>	5.48 <sup>**</sup>
خطای a Error a	4	0.0005	0.001
کود Fertilizer	5	22.61 <sup>**</sup>	14.97 <sup>**</sup>
آبیاری × کود Irrigation × Fertilizer	10	0.28 <sup>**</sup>	0.21 <sup>**</sup>
خطای b Error b	30	0.0004	0.001
ضریب تغییرات CV		0.7	0.98

\*\*\* و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال درصد، ۵ درصد و غیر معنی دار.

\*, \*\* and ns indicates the significant differences (at 5 and 1 percent probability) and no significant difference, respectively.



On horizontal axle, irrigation systems comprised of 100%: Complete irrigation (no drought stress by providing 100% of weekly evapotranspiration), 75%: moderate drought stress, 50%: severe drought stress, C: Control (no fertilizer application), NPK: Chemical fertilizer (Nitrate, phosphate and potassium), Bio: Biological fertilizer (Azotobacterial + pseudomonas), Bio50%: Biological fertilizer+50% chemical fertilizer, Bio75%: Biological fertilizer+75% chemical fertilizer and Bio100%: Biological fertilizer+100% chemical fertilizer

On vertical axle: Different measured characteristics

The same letter on each column means no significant differences

کانی، عملکرد تریگونلین و روند افزایشی در درصد پروتئین خام، کربوهیدرات های محلول در آب، الیاف نامحلول در شوینده های اسیدی و خنثی، خاکستر و غلظت تریگونلین در گیاه شنبلیله، مشاهده شد. در انتخاب بهترین تیمار برای داشتن کیفیت مطلوب علوفه باید هر دو ویژگی میزان پروتئین خام و قابلیت هضم و از سویی قابل دسترس بودن آب آبیاری و هزینه های مربوط به آن در نظر گرفته شود. بنابر نتایج این آزمایش، در همه شرایط و به ویژه تنش کم آبیاری، استفاده از کود های تلفیقی منجر به افزایش قابلیت هضم و در نتیجه کیفیت علوفه شد و توانست تاثیر تنش خشکی را تا حدی جبران نماید. دلیل این موضوع می تواند کمک کودهای زیستی به افزایش قابلیت دسترسی در عنصرهای غذایی توسط گیاه باشد. این خود امر مهمی در کاهش کاربرد کودهای شیمیایی و رسیدن به هدفهای کشاورزی پایدار است. در صورت فراهم بودن آب کافی، آبیاری کامل موجب کاهش الیاف نامحلول و در نتیجه بهبود کیفیت علوفه می شود.

اگر چه با افزایش آبیاری میزان پروتئین کاهش یافت ولی قابلیت هضم که عامل کیفی مهم تری می باشد افزایش پیدا کرد. در این تحقیق تنش خشکی غلظت تریگونلین در گیاه را افزایش داد، اما از سوی دیگر تاثیر منفی بر عملکرد تریگونلین در شنبلیله داشت که این امر می تواند ناشی از کاهش رشد عمومی گیاه باشد. بنابراین به نظر می رسد که در شرایط تنش خشکی به دلیل کاهش تولید زیست توده، غلظت این ترکیبات در پیکره گیاه افزایش می یابد. متأسفانه در بیشتر مقاله های علمی که در این زمینه انتشار می یابند این نکته کمتر مورد توجه قرار می گیرد.

باکتری های همیار گیاه از طریق تاثیر بر سوخت و ساز ثانویه گیاه، الگوهای تسهیم و انتقال مواد فتوسنتزی، فرایندهای مسئول میوه دهی و توسعه گیاه تحت شرایط محدودیت ذخیره نیتروژن را اصلاح می کنند (Del Amora *et al.*, 2008). Leithy *et al.* (2006) در نتیجه بررسی های خود گزارش کردند که تلقیح گیاه رزماری با باکتری ازتوباکتر باعث افزایش درصد اسانس شد. (Hasanzadeh 2012) در دو سال آزمایش روی شنبلیله بالاترین غلظت تریگونلین را به میزان ۲۷۴/۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم (۲/۷۴۱ میلی گرم در گرم ماده خشک) با کاربرد کودزیستی در سطح ۲۰۰ کیلو گرم فسفر گزارش کرد. باکتری ازتوباکتر موجود در کود زیستی با تثبیت نیتروژن هوا، نیتروژن بیشتری را در اختیار گیاه قرار داده و موجب افزایش متابولیت های ثانویه در شنبلیله می شوند. از سویی فسفر موجود در کود شیمیایی و فسفر قابل حل ناشی از فعالیت باکتری سودامونانس موجود در کود زیستی نیز به ویژه برای شنبلیله دارای اهمیت بیشتری است زیرا شنبلیله برای توسعه نظام ریشه ای و تأمین انرژی لازم برای تثبیت نیتروژن به فسفر بیشتری نیاز دارند. با افزایش نظام ریشه ای، جذب عنصرهای غذایی از جمله نیتروژن افزایش یافته و عملکرد رویشی، زایشی و متابولیت های ثانویه نیز تحت تاثیر قرار می گیرند. بنابراین کود زیستی با تأمین نیتروژن و فسفر، همراه با نیمی از کود شیمیایی (۵۰٪) با افزایش سطح ریشه، میزان تثبیت عنصرها را افزایش داده و در نتیجه باعث افزایش ماده موثره شده اند.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج این آزمایش، با افزایش تنش خشکی روند کاهش در قابلیت هضم ماده خشک، درصد عنصرهای

### منابع

- Adediran, J.A., Taiwo, L.B., Akande, M.O., Sobulo, R.A. and Idowu, O.J., 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for sustainable maize and cowpea yields in Nigeria. *Journal of Plant Nutrition*. 27, 1163-1181.
- Asadi, S., Chaichi, M.R., Abbasdokht, H., Asghari, H.R. and Gholipour, M., 2013. Evaluation of sorghum and fenugreek forage quality as affected by nitrogen fertilizers (chemical, biologic and integrated) in an additive intercropping system. *Journal of Crop Science*. 44, 479-493. (In Persian with English abstract).
- Asay, K.H., Jensen, K.B., Waldron, B.L., Han, G., Johnson, D.A. and Monaco, T. A., 2002. Forage quality of tall fescue across an

- irrigation gradient. *Agronomy Journal*. 94, 1337-1343.
- Assefa, G. and Ledin, I., 2001. Effect of variety, soil type and fertilizer on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures. *Animal Feed Science Technology*. 92, 95-111.
- Daneshnia, F., 2013. The effect of limited irrigation and surfactant application on quantity and quality of berseem clover forage in an intercropping system with basil. MS.c. Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran.
- Del Amora, F.M., Serrano-Martinez, A., Forteab, M.L., Leguac, P. and Nunez-Delgado, E., 2008. The effect of plant-associated bacteria (*Azospirillum* and *Pantoea*) on the fruit quality of sweet pepper under limited nitrogen supply. *Scientia Horticulturae*. 117, 191-196.
- English, M., 1990. Deficit irrigation. I. Analytical framework. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*. 116, 399-412.
- Fateh, E., Chaichi, M.R., Sharifi Ashorabadi, E., Mazaheri, D., Jafari, A.A. and Rengel, Z., 2008. Effects of organic and chemical fertilizers on forage yield and quality of globe artichoke (*Cynara scolymus*). *Asian Journal of Crop Science*. 1, 40-48.
- Hasanzadeh, E., 2012. Evaluation of seed yield and medicinal metabolites in different native fenugreek ecotypes. Ph.D. Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran.
- Haung, R. and Duncan, R., 1997. Drought resistance mechanisms of seven warm season turf grass-soil drying. *Crop science*. 37, 1858-1663.
- Jafari, A., Connolly, V. Frolish, A. and Walsh, E. J., 2003. A note on estimation of quality in perennial ryegrass by near infrared spectroscopy. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 42, 293-299.
- Jahanian, A., 2012. The effect of limited irrigation and growth promoting bacteria on quantity, quality and secondary metabolites of artichoke. Ph.D. Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran.
- Jensen, K.B., Asay, K.H., Waldron, B.L., Johnson, D.A. and Monaco, T. A., 2003. Forage quality traits of orchardgrass and perennial ryegrass at five irrigation levels. *Agronomy Journal*. 95, 668-675.
- Jensen, K.B., Waldron, B.L., Peel, M.D., Robins, J.G. and Monaco, T.A., 2007. Forage quality of irrigated pasture species as affected by irrigation rate. In Proceedings of the 28<sup>th</sup> Eucarpia Symposium on Improvement of Fodder Crops and Amenity Grasses, 19<sup>th</sup> - 23<sup>th</sup> of August, Copenhagen, Denmark. pp. 532-535
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*. 93, 307-311.
- Keshavarz afshar, R., Chaichi, M.R., Moghadam, H. and Ehteshami, S.R., 2012. Irrigation, phosphorus fertilizer and phosphorus solubilizing microorganism effects on yield and forage quality of turnip (*Brassica rapa* L.) in an arid region of Iran. *Agriculture Research*. 370-378. (In Persian with English abstract).
- Leithy, S., El-meseiry, T. A. and Abdallah, E.F., 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. *Journal of Applied Research*. 2, 773-779.
- Maleki-Farahani, S., 2009. The evaluation of limited irrigation and different fertilizer applications on quantitative and qualitative traits of barley grain (Turkman variety). Ph.D. Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran.
- Miguel, M.G., Duavt, F., Venacio, F. and Tavares, R., 2004. Variation in the main components of portugues thymus albicans over a sing season. *Journal of Essential Oil Research*. 16(3), 169-171.
- Nazar, A.N. and Tinay, A.H., 2007. Functional properties of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) protein concentration. *Food Chemistry*. 103, 582-589.
- Oraei, H., 2009. Comparison and validate of investigation of trigonelline amount of fenugreek seed by HPLC and spectrophotometer (UV) methods. Ph.D. Thesis. Medicinal Science University of Tehran, Tehran, Iran.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gautams, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to cymbopogon martini by rhizobacteria, AMF and azospirillum inoculation. *Microbiology Research*. 156, 145-149.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Plant Physiology Journal*. 161, 1189-1202.
- Saeednejad, A.H., Rezvani Moghadam, P., Khazai, H.R. and Nasiri Mahalati, M., 2001. Effect of application of organic materials, bio fertilizers and chemical fertilizers on dry matter digestibility and protein of forage sorghume. *Iranian Agriculture Research*. 9(4), 623-630. (In Persian with English abstract).

- Salehrastin, N., 2001. The role of biological fertilizers to sustainable agriculture. In: Khavazi, K. and Malakooti, M. J. (Eds.), The necessity of mass production of biological fertilizers in the country. Published by Agricultural Education Center, Karaj, Iran. Pp. 1-54. (In Persian).
- Sayed, R.A., Tolbah, K.H. and Habashy, H.N., 2000. Technological, chemical and biological studies on fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*). Journal of Agriculture Science. 8, 223-234.
- Somasegaran, P. and Hoben, H.J., 1994. Hand Book for Rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology., Springer-Verlag, New York, U.S.A.
- Sun, H.A. and Sun, H.Q., 1996. Ecological geographical characteristics and grazing values of forage legumes in the grassland of Qinghai. Grassland of China. 6, 31-34.
- Vafabakhsh, A., Nasiri-Mahallati, H. and Koochaki, E., 2008. The effect of drought stress on water use efficiency in different canola varieties. The Iranian Journal of Agronomic Research. 1, 295-302.
- Wang, H., Zhang, L., Dawes, W.R. and Liu, C., 2001. Improving water use efficiency of irrigated crops in north China plain-measurements and modeling. Agricultural Water Manage. 48, 151-167
- Ward, J.D., Redfearn, D.D., Mc Cormick, M.E. and Cuomo, G.J., 2001. Chemical composition, ensiling characteristics, and apparent digestibility of summer annual forages in a subtropical double-cropping system with annual ryegrass. Dairy Science Journal. 84, 177-182
- Weinberg, Z.G., Landau, S.Y., Bar-Tal, A., Chen, Y., Gamburg, M., Brener, S. and Dvash, L., 2005. Ensiling safflower (*Carthamus tinctorius*) as an alternative winter forage crop in Israel. In Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Silage Conference, 3<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> July, Wageningen, the Netherlands. p. 169.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C. and Wong, M.H., 2005. Effects of bio fertilizers containing N-fixer, P and K solubilize and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. Geoderma. 125, 155-166.
- Yadva, P.C., Sadhu, A.C. and Swarnkar, P.K., 2007. Yield and quality of multi-cut forage sorghum (*Sorghum sudanense*) as influenced by integrated nitrogen management. Indian Journal of Agronomy. 52(4), 330-334.

Archive of SID

## Effects of different fertilizing systems (chemical, biological and integrated) and irrigation regimes on the qualitative characteristics of forage and trigonelline content in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.)

Mandana Dadresan,<sup>1</sup> Mohammad Reza Chaichi,<sup>1</sup> Mohammad Bagher Hosseini,<sup>1</sup> Ahmad Ali Pourbabaei<sup>1</sup> and Darab Yazdani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Agronomy and Plants Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

<sup>2</sup>Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran.

\*Corresponding author: m\_dadresan@yahoo.com

Submitted: 2015.07.29

Accepted: 2016.01.26

**Dadresan, M., Chaichi, M. R., Hosseini, M. B., Pourbabaei A. A. and Yazdani, D., 2017.** Effects of different fertilizing systems (chemical, biological and integrated) and irrigation regimes on the qualitative characteristics of forage and trigonelline content in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Journal of Agroecology*. 7 (1), 33-49.

**Introduction:** The widespread use of chemical fertilizers and their effects on agricultural products is an issue that is still being studied and discussed. An important subject for study is the replacing of biofertilizers and organic fertilizers with chemical fertilizers and the application of integrated fertilizers to increase soil fertility in sustainable agriculture and for livestock (Wu, *et al.*, 2005). Integrated fertilizing systems are more reliable than conventional fertilizers in producing better quality and higher quantities of whole forage in arid environments with water stress or a water deficit irrigation system. (Jahanian, 2012). On the other hand, drought stress is the most important abiotic factor that limits growth and development of plants in arid and semi-arid areas. Water stress conditions can also effect the root's ability to uptake nutrients and leads to decreased forage quality. Evaluating new methods of irrigation and deficit irrigation systems can reduce the adverse effect of drought stress (Keshavarz Afshar *et al.* 2012). Therefore, the study of different fertilizing systems along with irrigation regimes is the main goal of this research in order to improve forage quality and trigonelline content in fenugreek plants.

**Materials and methods:** A field experiment using a split plot on a RCB design with three replications was conducted at the Research Farm of the College of Agriculture, University of Tehran, in Karaj, Iran during the 2012 growing season. Treatments consisted of three levels of irrigation protocols assigned to the main plots as follows: complete irrigation (providing 100%), moderate drought stress (providing 75%) and severe drought stress (providing 50% of weekly evaporation). Six levels of fertilizing systems assigned to the subplots consisted of: a control, chemical fertilizer, biological fertilizer (seeds inoculated by *Pseudomonas* and *Azotobacter*), and three different integrated fertilizers: bio+100% chemical, bio+75% chemical and bio+50% chemical.

**Results and discussion:** By increasing the drought severity, the percentage of CP, WSC, NDF, ADF, ash and trigonelline concentrations increased while the percentage of DDM, mineral contents and trigonelline yield followed a decreasing trend. By increasing NDF and ADF, forage quality was reduced. This reduction also came with a decrease in DDM. Drought stress caused an increase in the trigonelline, while most of the growth parameters in the fenugreek plant decreased. The highest values for DDM, mineral contents and trigonelline yield were achieved with full irrigation treatment accompanied by integrated fertilizer (Bio75% and Bio50%). The highest percent of CP, WSC and trigonelline was measured in severe drought stress together with Bio100%.

**Conclusion:** The results of this experiment indicated that the integrated fertilizers were more efficient than bio- and chemical fertilizers. They could mitigate the adverse effect of drought stress and produced the highest forage quality and secondary metabolite. These characters along with less use of chemical fertilizers produced the highest yield in quality and quantity compared to the other fertilization systems. Under the conditions in Karaj, it seems that application of integrated fertilizers along with moderate deficit irrigation (providing 75% of weekly evaporation), due to less water consumption and less negative effect on yield and forage quality, can be suggested for a sustainable agricultural system in arid and semi-arid areas like Karaj, Iran. Fenugreek, due to its dual positive characteristics, can be suggested as a medicinal-forage crop for livestock.

**Keywords:** Drought stress, Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), Fertilizing system, Forage quality and trigonelline.



**References:**

- Jahanian, A., 2012. The effect of limited irrigation and growth promoting bacteria on quantity, quality and secondary metabolites of artichoke. Ph.D. Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran.
- Keshavarz afshar, R., Chaichi, M.R., Moghadam, H. and Ehteshami, S.R., 2012. Irrigation, phosphorus fertilizer and phosphorus solubilizing microorganism effects on yield and forage quality of turnip (*Brassica rapa* L.) in an arid region of Iran. Agriculture Research. 370-378. (In Persian with English abstract).
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C. and Wong, M.H., 2005. Effects of bio fertilizers containing N-fixer, P and K solubilize and AM fungi on maize growth: A greenhouse trail. Geoderma. 125, 155-166.

Archive of SID