مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره پنجم، آذر- دی ۱۳۸٦
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

تأثیر میزان ونوع کود نیتروژن بر تثبیت بیولوژیک نیتروژن در گیاه یونجه (*Medicago sativa L.*)

مرتضی قلی‌زاده[۱]، *سرا... گالشی[۲]، ناصر لطیفی[۳] و ابراهیم زینلی[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [٤]مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸٤/۹/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۲۱

چکیده

تثبیت بیولوژیک نیتروژن در گیاه یونجه تحت تأثیر عوامل مختلف قرار می‌گیرد، میزان نیتروژن در خاک و نوع کود نیتروژن که به‌صورت نیترات یا آمونیوم وجود دارد نیز ممکن است تأثیر متفاوت بر تثبیت بیولوژیک نیتروژن داشته باشد. برای بررسی تاثیر میزان و نوع کود نیتروژن بر روی تثبیت بیولوژیک نیتروژن در گیاه یونجه آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۸۳-۱۳۸۲ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم یونجه (همدانی و یزدی)، دو سطح تلقیح وعدم تلقیح و تیمار کود نیتروژن (شاهد، ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم، ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم، ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم) بودند. بذور یونجه در گلدان‌هایی حاوی شن در گلخانه کشت شد و روزانه با محلول هوگلند بدون نیتروژن همراه با اعمال تیمارهای مورد نظر آبیاری شدند و بوته‌های که تیمار تلقیح داشتند با سوسپانسیون یکنواختی از باکتری تلقیح شدند. بوته‌های یونجه در مرحله ۱۰ درصد گلدهی برداشت و میزان سطح‌برگ، گره‌زایی، ماده خشک اندام‌های مختلف گیاه و درصد و عملکرد نیتروژن و عملکرد فلورسانس اندازه گیری و مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت. کمترین تعدادگره در تیمارهای ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم به دست آمد. در تیمار ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم که اختلاف معنی‌داری را با شاهد نداشت، کمترین وزن گره حاصل گردید. بالاترین سطح برگ در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و بیشترین وزن خشک کل گیاه، درصد نیتروژن و عملکرد نیتروژن در تیمارهای کودی ۳ میلی‌مول از فسفات آمونیوم و نیترات پتاسیم به‌دست آمد و از نظر عملکرد فلورسانس نیز تیمار شاهد دارای کمترین عملکرد فلورسانس یا بالاترین بازداری نوری بود. وجود بالاترین وزن گره وتعداد گره در روی ریشه یونجه‌هایی که با محلول غذائی محتوی ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم رشد نمودند نیاز گیاه یونجه را به مقدار کمی از مکمل نیتروژن معدنی در اوائل رشد گیاه تایید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تثبیت بیولوژیک نیتروژن، کود نیتروژن، یونجه.

* - مسئول مکاتبه: sgaleshi@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی است. میانگین مقدار نیتروژن در ماده خشک گیاهان ۲-۱ درصد و گاهی به ٦-٤ درصد نیز می‌رسد. نیتروژن در بین ١٦ عنصرمورد نیاز گیاهان از نظر اهمیت در جای چهارم قرار دارد. می‌توان گفت هیچ جایی نیست که در آن کمبود نیتروژن وجود نداشته باشد (سرمدنیا و کوچکی، ١٣٨٢). به جز در مورد گیاهان لگومینوز عکس‌العمل گیاهان نسبت به کودهای نیتروژنه بیش از هر ماده غذایی است. نیتروژن از جمله مواد غذایی است که تخلیه آن از خاک به خوبی مشهود است. گیاه نیتروژن مورد نیاز خود را به صورت نیترات (NO_3^-) و آمونیوم (NH_4^+) از خاک دریافت می‌دارد. نیتروژن جزء اساسی مولکول‌های کلروفیل را تشکیل می‌دهد.

محققان نشان دادند که افزودن کودهای نیتروژنه تأثیری بر عملکرد علوفه یونجه نداشت، زیرا نیتروژن در گیاه به مقدار کافی تثبیت می‌شود. تحقیقات نشان داده است که تثبیت نیتروژن حتی با مقدار زیاد کود نیتروژنه که در سطح مزرعه توزیع شده است، صورت می‌گیرد (بلومنتال و راسل، ١٩٩٦).

افزودن مقدار زیاد نیتروژن باعث کاهش نفوذ باکتری به تارهای کشنده ریشه، کاهش تعداد وتوده گره، و کاهش فعالیت تثبیت نیتروژن ریشه‌های گره‌دار و مقدار نیتروژن کل تثبیت شده در سویا و لپه هندی می‌گردد. اما درجه بازدارندگی به فرم ترکیبات نیتروژنه، جنس، رقم، سوش باکتری ریزوبیوم، فصل، شدت نور، درجه حرارت و شرایط تغذیه گره‌ها بستگی دارد (آگلیشام و همکاران، ١٩٨٣).

تانگ و همکاران (٢٠٠١) اظهار کردند که استفاده از نیتروژن و فسفر در اوایل دوره رشد (١٠روز پس از سبز شدن) در مقادیر کم به همراه تلقیح می‌تواند گره‌زایی را تحریک کرده و باعث تثبیت بالای نیتروژن گردد.

مطالعات نشان می‌دهد که شکل‌های مختلف نیتروژن همزیستی لگوم-ریزوبیوم به طور متفاوت تحت تأثیر قرار می‌دهند. شواهدی وجود دارد که آمونیوم اثر بازدارندگی کمتری در مقایسه با نیترات دارد (استریتر، ١٩٨٨). در ارقام مختلف لگوم‌ها اثر بازدارندگی نیترات در گره‌زایی یا تثبیت نیتروژن در مقایسه با آمونیوم در غلظت‌های پایین صورت می‌گیرد یا در مقادیر مشابه از نیترات و آمونیوم اثرات بازدارندگی نیترات در مقایسه با آمونیوم شدیدتر می‌باشد (سیلسبوری و همکاران، ١٩٨٦).

بسیاری از مطالعات نشان داده است که کاهش دسترسی به نیتروژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم ٢ (PSII) و حداکثر کارایی آن را می‌کاهد، همچنین کمبود نیتروژن باعث تخریب PSII می‌شود (کانگ مینگ و زانگ، ١٩٩٩). فجری (٢٠٠٢) بیان کرد که میانگین مقدار ماده خشک ریشه و اندام هوایی یونجه درسطح ٠/٥ میلی‌مول (نیتروژن شروع کننده) نسبت به شاهد بدون نیتروژن افزایش داشت. در مقایسه با استفاده از ٠/٥ میلی‌مول نیتروژن افزایش استفاده از نیتروژن معدنی تا ٥ میلی‌مول موجب کاهش تعداد گره‌های فعال روی ریشه تمام ارقام یونجه‌ها گردید. گیاه یونجه در اوایل دروه رشد به‌دلیل عدم ثبت نیتروژن رد مراحل اولیه نیاز به کودهای نیتروژن دارد، همچنین نوع کود نیتروژن مورد مصرف می‌تواند بر روی قدرت تثبیت نیتروژن گیاه تأثیر بگذارد. از این رو، اهداف این تحقیق بررسی تأثیر نوع کود نیتروژن (نیترات یا آمونیوم) بر تثبیت بیو لوژیک نیتروژن در شرایط تلقیح با باکتری *Sinorhizobium melioloti* در گیاه یونجه و بررسی واکنش دو رقم یونجه به میزان کود نیتروژن در شرایط تلقیح وعدم تلقیح با باکتری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر نوع و میزان نیتروژن برروی رشد و تثبیت بیولوژیک نیتروژن ارقام یونجه در سال ٨٣-١٣٨٢ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

۱- کشت و خالص سازی باکتری: برای تهیه باکتری *Sinorhizobium meliloti* مورد نیاز برای تلقیح، بوته‌های یونجه‌ای که دارای گره بودند، از مزارع شهرستان سراب واقع در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری گردید و در آزمایشگاه، گره‌های دارای باکتری از بوته‌های یونجه جداسازی و در محیط ۱۰ درصد هیپوکلریت سدیم ضد عفونی شد. برای خالص‌سازی باکتری از محیط کشت Y.M.A[1] که شامل KH_2PO_4 به مقدار ۰/۵ گرم، $MgSO_4$ و $7H_2O$ به مقدار ۰/۲ گرم، NaCl به مقدار ۰/۱ گرم، D- Manitol به مقدار ۱۰ گرم، Yeast Extreact به مقدار ۰/۸ گرم وآگار به مقدار ۱۵ گرم در لیتر با ٦/۷= pH بود، استفاده شد. پس از سه مرحله کشت وخالص‌سازی ۲۵ عدد پتری دیش حاوی باکتری خالص شده به دست آمد که جهت تلقیح استفاده گردید.

۲-۲- آزمایش گلخانه‌ای: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از دو رقم یونجه (همدانی و یزدی) که از مرکز تحقیقات کشاورزی تبریز تهیه شده بود در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با باکتری ریزوبیوم ملیلوتی، دو نوع کود نیتروژن (نیترات پتاسیم و فسفات آمونیوم) از هر کدام به‌میزان ۱ و ۳ میلی‌مول و تیمار شاهد (عدم استفاده از کود نیتروژن)، که در پنج تکرار انجام شد. برای انجام این آزمایش از محیط کشت شنی استفاده گردید و آبیاری به وسیله محلول غذایی هوگلند[2] بدون نیتروژن (هاردارسون و دانسون، ۱۹۹۳) که شامل $MgSO_4$ و $7H_2O$ به مقدار۲٤/٦۳گرم، KH_2PO_2 به مقدار ۱۳/٦ گرم، $NaMoO_4$ و $2H_2O$ به مقدار ۰/٦ گرم، $CuSO_4$ و $2H_2O$ به مقدار ۰/٤ گرم، $ZnSO_4$ و $7H_2O$ به مقدار ۰/۱۱ گرم، $2H_2O$ و $MnCl_2$ به مقدار ۰/۹ گرم، H_3Bo_4 به مقدار ۱/٤۳ گرم، EDTA به مقدار ۳ گرم، $7H_2O$ و $FeSo_4$ به مقدار ۲/٤۹گرم، K_2SO_4 به مقدار ۲۱/۷۷ گرم و $2H_2O$ و $CaSO_4$ به مقدار ٤۳ گرم در ۱۰۰ لیتر محلول بود، انجام شد.

گلدان‌ها با شن کاملاً شسته شده و عاری از مواد آلی پرگردیدند، بذور ارقام یونجه پس از ضد عفونی و شستشو با آب مقطر در ظرف پتری با آب مقطر به مدت ۲٤ ساعت خیسانده شدند تا جوانه بزنند. سپس به تعداد ۱۵ بذر در هر گلدان کشت گردید.

پنج روز پس از کاشت گیاهچه‌های مورد نظر با ۲۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون یکنواخت شده باکتری که قبلاً در محیط Y.M.A خالص‌سازی شده بودند، تلقیح گردیدند. برای آبیاری گلدان‌ها، تا زمان سبز شدن از آب مقطر استفاده گردید، اما بعد از مرحله سبز شدن، گلدان‌ها روزانه با محلول غذایی هوگلند بدون نیتروژن همراه با تیمارها نیترات پتاسیم و سولفات آمونیوم آبیاری شدند. جهت اعمال تیمارهای نیتروژن مقادیر صفر، ۱ و ۳ میلی‌مول از نیترات پتاسیم و فسفات آمونیوم به‌طور جداگانه به هر لیتر محلول غذایی هوگلند اضافه شد، هر هفته یکبار گلدان‌ها با آب مقطر شستشو شدند تا از تجمع بیش از حد نیترات و آمونیوم جلوگیری شود. گیاهان رشد کرده در اوایل مرحله گلدهی (هنگامی که حدود ۱۰ درصد گل‌ها باز شده بودند) برداشت و صفات طول ساقه، تعداد و وزن گره در هر بوته، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج)، وزن خشک اندام‌های گیاه، درصد نیتروژن با روش میکرو کجلدال (نلسون و سامر، ۱۹۷۳) و عملکرد نیتروژن و عملکرد فلورسانس (با استفاده از فلورومتر) اندازه‌گیری شدند. برای تجزیه داده‌ها از نرم افزار آماری SAS سلطانی (۱۹۹۹) استفاده گردید و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تعداد گره و وزن گره: بین تیمارهای نوع و میزان کود نیتروژن و سطوح تلقیح از نظر تعداد و وزن گره اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد مشاهده گردید (جدول

1- Yeast Manitol Agar
2- Hogland

Archive of SID

www.SID.ir

۱). اثر متقابل کود با تلقیح معنی‌دار شد. با توجه به مقایسه میانگین (جدول ۲) تیمارها نوع و میزان کود نیتروژن در سطوح تلقیح، کمترین تعداد گره در تیمارهای ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم به‌ترتیب به تعداد ۲۱/۷ و ۲۵ گره به‌دست آمد. کاهش تعداد گره در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم نسبت به تیمار ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم، ۱میلی‌مول فسفات آمونیوم و شاهد به‌ترتیب ۵۳ درصد ، ۵۰/۷ درصد و ٤٦ درصد بود. نتایج نشان می‌دهد که کودهای آمونیومی تعداد گره را بیشتر از کودهای نیترات تحت تأثیرخود قرار داد. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول۲) کمترین وزن گره در تیمار ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم به دست آمد. بین تیمارهای ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در تیمار ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم بیشترین وزن گره به دست آمد. این در حالی است که اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم و تیمار شاهد وجود نداشت و همچنین بین سطوح مختلف کود آمونیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

کاهش تعدادگره با افزایش کودهای نیتروژن در لگوم‌هایی که تثبیت بیولوژیک دارند، مشاهده شده است. هارپر و گیبسون (۱۹۸٤) بیان کردند که افزایش غلظت نیترات یکی از عوامل مهم در کاهش تعداد گره‌ها در گیاهچه‌ها یونجه یکساله است که این کاهش در غلظت ۱ میلی‌مول مشاهده شد، همچنین در این غلظت گره‌بندی به تأخیر افتاد درحالیکه در غلظت ٤ میلی‌مول نیترات پتاسیم به‌طورکلی از گره‌بندی ممانعت شد. لیند و انسون (۱۹۹۰) اعلام نمودند که در غلظت‌های کم، نیتروژن از طریق تحریک تشکیل گره، تحریک فعالیت نیتروژناز و افزایش رشد گیاه بر تثبیت نیتروژن اثر تشدیدکنندگی داشت. با توجه به نتایج (جدول‌های ۲ و۳) مشاهده می‌شود که تیمارهای کودی نیترات بدلیل ایجاد سطح برگ بیشتر، که می‌تواند مواد کربوهیدرات بیشتری را در اختیار گیاه قراردهد، نسبت به حالت شاهد روند افزایشی در وزن گره ایجاد می‌کند، البته این روند تا محدوده مشخصی از میزان کود نیترات است، زیرا از این محدوده به بعد وزن گره روند کاهش داشته تا آنجا به‌طوری‌که، وزن گره ایجاد شده به پایین‌تر از مقدار وزن گره به‌دست آمده در حالت شاهد کاهش می‌یابد. چنین روند تغییراتی در مورد مصرف کود آمونیوم نیز دیده شده اما روند تغییرات در تیمارهای کود آمونیوم، کندتر بود.

سطح برگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس سطح برگ (جدول ۱) نشان داد که بین نوع و میزان کودهای نیترات پتاسیم و فسفات آمونیوم از نظر سطح برگ در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول۳) بین تیمارهای نوع و مقادیر کودهای نیتروژن از نظر میانگین سطح برگ اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری که در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم بیشترین سطح برگ و در حالت شاهد کمترین سطح برگ حاصل شد که به‌ترتیب برابر با ۲۳۲/۸٦ و ۱٤۱/۹۵ سانتی‌متر مربع بر بوته بود در حالی‌که تیمارهای ۱ و۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. میزان متوسط سطح برگ در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم نسبت به تیمار شاهد بدون نیتروژن ٦٤ درصد افزایش داشت (جدول ۳).

با افزایش میزان کود نیتروژن سطح برگ افزایش یافت ولی البته این افزایش تا محدوده مشخصی از کود نیتروژن دیده می‌شود. این نتیجه‌گیری با نتایج گالشی و حیدری (۲۰۰۲) در گیاه شبدر زیرزمینی که حداکثر سطح برگ در حضور ۲/۵میلی‌مول نیترات پتاسیم بدست آمده (۱ و ۵ میلی‌مول نیترات پتاسیم) بود و همچنین با نتایج فجری (۲۰۰۲) در یونجه مطابقت دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات، تعداد گره، وزن گره، درصد نیتروژن، سطح برگ، وزن خشک کل گیاه، عملکردنیتروژن و عملکرد فلورسانس در ارقام یونجه.

منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد گره	وزن گره	درصد نیتروژن	سطح برگ	وزن خشک کل گیاه	عملکرد نیتروژن	عملکرد فلورسانس (fv/fm)
تکرار	٤	۱۷٤/۹۲^{ns}	۰/۰۰۰٦^{ns}	۰/۵۲٦^{ns}	۱۵۹۱۵/۸۳^{ns}	۳/۰٤^{ns}	۳۰/۵۵^{ns}	۰/۰۱٤۸^{ns}
تلقیح	۱	۳۵۵۳۲/۲۵**	۰/۱۳۸**	۰/۰۸۸^{ns}	٦۰/۲۷^{ns}	۰/۰۱٤^{ns}	۳/۰٦٤^{ns}	۰/۰۰۸۱^{ns}
رقم	۱	٦۲/٤۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۱۵٦^{ns}	۱۳۰۲/۲^{ns}	۰/۰۰۰٦^{ns}	۱٦/۰٤^{ns}	۰/۰۲۱٦^{ns}
کود	٤	٤۵۹/۱۷۵**	۰/۰۰۱۱*	۰/۸٤٦**	۲۲۹۷۳/۱**	۱۵/۱۷٦**	۱۳۳/۲٤**	۰/۱۰۰۸**
تلقیح×رقم	۱	٦۲/٤۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰^{ns}	۰/۱۱٦^{ns}	۲۵۹۷/۷۳^{ns}	۰/٦۸۹^{ns}	۱۸/۷۲^{ns}	۰/۰۰۱۹٦^{ns}
تلقیح×کود	٤	٤۵۹/۱۷۵**	۰/۰۰۱۱*	۰/۰۲۲^{ns}	۲۰۹۲/۲۵^{ns}	۰/۱٦^{ns}	۵/۳۲^{ns}	۰/۰۰۳۳^{ns}
رقم×کود	٤	۹۹/۲۸^{ns}	۰/۰۰۰٦^{ns}	۰/۰٦۲^{ns}	٤۷۱٤/۹^{ns}	۱/٤۷۸^{ns}	۱۹/٤٤^{ns}	۰/۰۰۳۹۹^{ns}
تلقیح×رقم×کود	٤	۹۹/۲۸^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۳۷^{ns}	۱۸٦٤/٤^{ns}	۰/۳۵۵^{ns}	۵/٤٤^{ns}	۰/۰۰٦^{ns}

**,* ns در هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده علوم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵درصد و ۱درصد می‌باشد در ارقام یونجه.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل فاکتورهای مایه‌زنی وکود برای وزن گره (گرم) و تعداد گره در ارقام یونجه.

میزان و نوع کود نیتروژن	تلقیح		عدم تلقیح	
	وزن گره (گرم)	تعداد گره	وزن گره (گرم)	تعداد گره
شاهد (صفر میلی مول)	۰/۰۷۸٤^{ab}	۳۸/۷^{a}	۰/۰	۰/۰
۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم	۰/۰۹۲۱^{a}	٤٦/۱^{a}	۰/۰	۰/۰
۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم	۰/۰۵۷^{b}	۲۵^{b}	۰/۰	۰/۰
۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم	۰/۰۸۷۰^{a}	٤٤^{a}	۰/۰	۰/۰
۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم	۰/۰٦۱۲^{b}	۲۱/۷^{b}	۰/۰	۰/۰
LSD(%5)	۰/۰۲۵	۱۲/۸	۰/۰	۰/۰

در هر ستون تیمارهای که مشترک دریافت نموده‌اند از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- جدول مقایسه میانگین صفات سطح برگ، وزن خشک کل گیاه، درصد نیتروژن، عملکرد نیتروژن و عملکرد فلورسانس در ارقام یونجه.

نوع و مقادیر کود نیتروژن	درصد نیتروژن	سطح برگ (سانتی متر مربع) بر بوته	وزن خشک کل گیاه (گرم)	عملکرد نیتروژن (گرم در گرم ماده خشک گیاه)	عملکرد فلورسانس
شاهد(صفر میلی مول)	۲/۱۱^{b}	۱٤۱/۹۵^{c}	۲/٤۸٦^{c}	۰/۰۵۲۳^{c}	۰/٦٦۷^{c}
۱میلی مول نیترات پتاسیم	۲/۳۰^{b}	۱۸۲/۳۷^{b}	۳/۵٦۳^{b}	۰/۰۹۰۳^{b}	۰/۸۰۸^{b}
۳میلی مول نیترات پتاسیم	۲/٦۳^{a}	۱۹۷/۲۲^{b}	٤/٤٦۳^{a}	۰/۱۲۱۷^{a}	۰/۸۲۷^{ab}
۱میلی مول فسفات آمونیوم	۲/۵۹^{a}	۱٦۷/۷۷^{bc}	۳/۱۸۲^{b}	۰/۰۸٦^{b}	۰/۸۰۸^{b}
۳میلی مول فسفات آمونیوم	۲/۷٦^{a}	۲۳۲/۸٦^{a}	٤/۵٤۱^{a}	۰/۱۳۸^{a}	۰/۸٤۵^{a}
LSD(%5)	۰/۲۵	۳۳/۹۸	۰/٦۷	۰/۰۲۵۱	۰/۰۳٤

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به نتایج آزمایش و ایجاد سطح برگ بالاتر در ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم به‌نظر می‌رسد که گیاه سطح برگ بیشتری در تیمارهای کود آمونیوم نسبت به تیمارهای کود نیترات تولید می‌کند. گیاه با تکیه بر نیتروژن به دست آمده از گره‌ها در اوایل رشد نمی‌تواند به سطح برگ مطلوب برسد. بنابراین نیاز به مقداری نیتروژن در اوایل رشد دارد، که از یک طرف آسیبی به مکانیسم تثبیت نیتروژن وارد نکند، از طرف دیگر نیاز گیاه را برای رسیدن به سطح مطلوب برگ تأمین کند.

وزن خشک کل گیاه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس وزن خشک کل گیاه (جدول ۱) نشان داد که بین تیمارهای نوع و میزان کود نیتروژن از نظر وزن خشک کل گیاه اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد. باتوجه به جدول مقایسه میانگین (جدول۳) با افزایش کود نیتروژن چه به صورت آمونیوم و یا نیترات میزان ماده خشک کل گیاه افزایش یافت. در تیمار شاهد (بدون استفاده از کود) متوسط وزن خشک کل گیاه ۲/٤۸٦ گرم بود، در حالی‌که در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم متوسط وزن خشک کل گیاه به ترتیب برابر با ٤/٥٤ و ٤/٦٤ گرم بود. بین تیمارهای نوع کود نیتروژن به صورت آمونیوم و نیترات اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید، در حالی‌که بین مقادیر مختلف از کودهای نیترات یا آمونیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. افزایش وزن خشک کل گیاه در تیمارهای ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم نسبت به حالت شاهد بدون کود به‌ترتیب برابر با ۸۲/٦ و۷۹/۵ درصد بود. وزن خشک کل شامل وزن خشک قسمت‌های مختلف گیاه مثل ساقه، ریشه، برگ و گره می‌باشد که با افزایش کود نیتروژن وزن خشک کل افزایش یافت. این افزایش بیشتر مربوط به افزایش وزن ساقه و برگ و تا حدودی ریشه بود زیرا افزایش کود نیتروژنی علاوه بر اینکه تأثیر بازدارنده‌ای در تشکیل گره دارد. باعث می‌شود که وزن خشک گره‌های روی ریشه کاهش زیادی پیدا کند.

درصد نیتروژن: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) بین میزان و نوع کود نیتروژن از نظر میزان نیتروژن اندام‌های گیاهی اختلاف معنی‌دار (در سطح ۱درصد) مشاهده گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین (جدول۳) نشان داد با افزایش میزان نیتروژن چه به‌صورت آمونیوم و یا نیترات درصد نیتروژن گیاه افزایش یافت. درصد نیتروژن گیاه در تیمار شاهد بدون نیتروژن ۲/۱۱ بود در حالی‌که درصد نیتروژن گیاه در تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم به‌ترتیب برابر با ۲/۷٦ و۲/٦۳ بود. در تیمارهای کود نیترژن نیتراتی بین ۱ و ۳ میلی مول نیترات اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید در حالی‌که در تیمارهای کود نیتروژن به صورت آمونیوم بین تیمارهای ۱ و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد همچنین بین تیمارهای ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم اختلاف معنی‌دار وجود داشت. افزایش متوسط درصد نیتروژن در تیمارهای ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم نسبت یه تیمار شاهد به‌ترتیب برابر با ۲۳/۲ و۳۰ درصد بود که نتایج با یافته های بر روی یونجه (فجری، ۲۰۰۲) که با افزایش میزان کود نیتروژن درصد نیتروژن گیاه افزایش می‌یابد. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش درصد نیتروژن در تیمار ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم به‌دلیل افزایش فعالیت تثبیت نیتروژن به صورت همزیستی نمی‌باشد زیرا در این تیمارها تعداد گره و وزن گره‌ها نسبت به شاهد شدیداً کاهش نشان داد (جدول۲). بنابراین افزایش میزان نیتروژن گیاه در این تیمارها حاصل افزودن کودهای نیتروژن از محیط ریشه است .

عملکرد نیتروژن: برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر در مورد تثبیت بیولوژیک نیتروژن ارقام یونجه باید از عملکرد نیتروژن استفاده کرد. عملکرد نیتروژن هر بوته که حاصلضرب درصد نیتروژن در وزن خشک کل هر بوته می‌باشد، همان روند موجود در رابطه با درصد نیتروژن در بین ارقام یونجه حاصل از تیمارهای کود نیتروژن را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

به عبارت دیگر، با افزایش کود نیتروژن علاوه بر افـزایش وزن خشک هر بوته، درصد نیتروژن هم افـزایش یافتـه و منجر به افزایش عملکرد نیتروژن هـر بوتـه خواهـد شـده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) عملکرد نیتروژن نشان می‌داد که بین تیمارهای کود نیتروژن از نظر عملکرد نیتروژن اختلاف معنـی‌دار (سـطح یـک درصـد) وجود دارد. مقایسه میـانگین (جـدول ۳) تیمارهـای کـود نیتروژن نشان می‌دهد که تیمـار شـاهد (بـدون اسـتفاده از نیتـروژن) کمتـرین عملکـرد نیتـروژن را دارد و اخـتلاف معنی‌داری را با سـایر تیمارهـای کـودی داشـت. تیمـار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیوم و ۳ میلی‌مول نیترات پتاسـیم بـا دارا بودن عملکـرد نیتـروژن ۰/۱۳۷۹ و ۰/۱۲۱۷ اخـتلاف معنی‌داری با یکـدیگر نشـان ندادنـد و بـالاترین عملکـرد نیتروژن را داشتند. تیمارهای ۱میلی‌مول نیتـرات پتاسـیم و ۱میلی‌مول فسفات آمونیوم نیز اختلاف معنی‌داری از نظـر عملکرد نیتروژن بـا یکـدیگر نشـان ندادنـد امـا بـا سـایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند.

نتایج این بررسی نشان داد که تیمار کـود نیتـروژن بـر درصد نیتروژن بافت‌های گیاه (ریشه، ساقه و برگ) بطـور معنی‌داری تأثیر گذاشته و با افزایش کود نیتـروژن درصـد نیتروژن افزایش یافته است. با افزایش کود نیتروژن تعـداد گره‌ها در هر بوته کاهش می‌یافت، این کاهش می‌تواند بر روی تثبیت بیولوژیک نیتروژن اثر نامطلوب داشـته باشـد. بنابراین می‌توان نتیجـه‌گیـری کـرد کـه افـزایش عملکـرد نیتروژن در تیمارهای کودی ۳ میلی‌مول نیترات پتاسـیم و ۳ میلی‌مول فسفات آمونیـوم حاصـل اسـتفاده از کودهـای نیتروژن بوده است.

عملکرد فلورسانس(fv/fm): عملکرد فلورسانس عبارت از نسبت تغییرات فلورسانس به حداکثر فلورسانس است. بـا توجـه بـه جـدول تجزیـه واریـانس (جـدول ۱) بـین تیمارهـای میـزان و نـوع کـود نیتـروژن از نظـر عملکـرد فلورسانس اختلاف معنی‌دار (در سطح ۱ درصـد) وجـود داشت. مقایسه میانگین عملکـرد فلورسـانس (جـدول ۳) نشان داد که با افزایش میزان کود نیتـروژن میـزان متوسـط عملکرد فلورسانس افزایش می‌یابد. میزان متوسط عملکرد فلورسانس در تیمار شاهد برابـر بـا ۰/٦٦٧ بـود. تیمـار ۳ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۳ میلـی‌مـول فسـفات آمونیـوم دارای متوسـط عملکـرد فلورسـانس بـه میـزان ۰/۸٤٥ و۰/۸۲۷ بودند. بین تیمارهای کودی ۳ میلی مول نیترات و ۳ میلی مول آمونیوم اخـتلاف معنـی‌داری از نظـر آمـاری وجود نداشـت، همچنـین بـین ۳میلـی‌مـول نیتـرات بـا ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱میلـی‌مـول فسـفات آمونیـوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میزان کـاهش عملکـرد فلورسانس در تیمار شـاهد (بـا کمتـرین میـزان عملکـرد فلورسانس) نسبت به تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیـوم و ۳میلی‌مول نیترات پتاسیم به‌ترتیب برابر با ۲٦ و۲۱ درصـد بود. میـزان عملکـرد فلورسـانس در تیمـار کـودی بـدون نیتروژن کمترین مقدار خود را داشت، و بـا افـزایش کـود نیتروژن به صورت آمونیوم یا نیترات افزایش در عملکـرد فلورسانس مشاهده گردید. با افزایش فلورسـانس کـارآئی فتوسیستم و انتقال الکترون کاهش یافته و تأمین الکتـرون مورد نیاز برای نسبت بیولوژیک نیتروژن با اختلال مواجـه می‌گردد.

تیمار ۳ میلی‌مول فسفات آمونیـوم بـا بـالاترین میـزان ماده خشک کل گیاه از یک طرف و عدم تفاوت معنـی‌دار در وزن گره نسبت به حالت شاهد از طرف دیگـر، نشـان دهنده این نکته است که نیتروژن به صورت آمونیوم تـأثیر کمتری را در بازداری از انتقال مواد فتوسنتزی به گره‌ها در مقایسه با کودهای نیتروژنه به صورت نیترات دارد. وجـود بالاترین وزن گره و تعداد گره در روی ریشه یونجه‌هـایی که با محلول غذایی محتوی ۱ میلی‌مول نیترات پتاسیم و ۱ میلی‌مول فسفات آمونیوم رشد نمودند نیاز گیاه یونجـه را به مقدار کمی از مکمل نیتروژن معدنی در اویل رشد گیاه تأیید می‌کند. دلایل و مکانیسم‌های چگونگی بازدارنـدگی اثر کودهای نیتروژنه از مدتها پیش مورد مطالعه قرار گرفته است نرسیدن محصول فتوسـنتز بـه گـره‌هـا باعـث عـدم تشکیل گره در روی ریشه مـی‌شـود، زیـرا کربوهیـدرات حاصل همراه نیتـروژن معـدنی قبـل از بـه کـار رفـتن در

Archive of SID

www.SID.ir

تشکیل گره بـه مصـرف رشـد گیـاه مـی رسـد. لاتیمـور (۱۹۷٦) بیان کرد که در گیاه سویا اختلاف معنی‌داری بین فرم نیتروژن بصورت آمونیوم یـا نیتـرات در انتقـال مـواد فتوسنتزی به گـره‌هـا وجـود نداشـت. ایـن مسـأله نشـان می‌دهد که هر دو منبع نیتروژنی‌توانند به‌طور تقریباً یکسان جریان انرژی را به گره‌هـا کـاهش دهنـد امـا نیتـرات اثـر بیشتری بر روی فعالیـت آنـزیم نیتروژنـاز دارد. از طـرف دیگر، آمونیوم به احتمال زیـاد تـأثیر بیشـتری را بـر روی تشکیل گره داشته باشد.

منابع

1.Blumental, J.M., and Russelle. M.P. 1996. Subsoli nitrat uptake and symbiotic dinitrogen fixation by alfalfa. J.Agri. 88: 909-915.

2.Conming. L., and Zang, J. 2000. Photosynthetic Co_2 assimilation chlorophyll fluorescence and photoihibiton as affected by nitrogen deficiency in maize plants. J. Plant. Sci. 151: 135-143.

3.Duong, T.P., Diep, C.N., Dag, V.H., Hiep, N.H., and Thuan, T.H. 2000. Evaluation of nitrogen fixation by soybean- rice 15 N Technique.prccading of third hational conference of Nucelar Physics and Techniques. 190-201.

4.Eaglisham, A.R.J., Hassouna, S., and Seegers, R. 1983. Fertillizer-N effects on N_2 fixation by cowpea and soybean. J. Agro. 75: 61-66.

5.Fajri, A. 2002. Effects of inoculation and different amounts of nitrogen on the growth and Nodulation in alfalfa cutivars (*Medicago sativa* L.) Iranian Journal of Agricultural Sciences. Vol. 32. No 2. PP: 309-317.

6.Galeshi, S., and Hedari, H. 2002. Effect of nitrate on growth and biological nitrogen fixation in Subterranean clover (*Trifolium subterranean* L.). Agricultural Sciences and Technology. Vol. 16. No. 2. PP: 68-73.

7.Hardarson, G., and Danson, S.K.A. 1993. Methods for mrasuring biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and Soil 125:19-23.

8.Harper, J.E., and Gibson, A.H. 1984. Differential nodulation tolerance to nitrate among legume species. Crop. Sci. 24:797-801.

9.Imsand, J. 1986. Inhabition of nodule development in soybean by nitrate or reduced nitrogen. J of Exp. Bot. 37(176): 348-355.

10.Latimor, M., Gidsens, J.J., and Ashley, D.A. 1976. Effect of ammonium and nitrat nitrogen upon photosynthat supply and nitrogen fixation by soybean. Crop. Sci. 17: 399-404.

11.Lynd, J.G., and Anson, T.R. 1990. Soil conditions with distinctive coralloid nodulation and nitrogen fixation of Mecca alfalfa. J. Plant Nutr. 13: 77-94.

12.Sarmadnia, Gh., and Kocheki, A. 2004. Crop physiology. Jahad daneshgahy Publisher. Fedosi Mashhad University. P. 400.

13.Soltani, A. 1999. Aplication of SAS in statistical analysis. Jahad Daneshgahy Publisher. Ferdosi. Mashhad University. P. 166.

14.Nelson, D.W., and Sommer, L.E. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. Agron. J. 65: 109-111.

15.Silsbury, J.H., Cat chpoole, D.W., and Wallace, W., 1986. Effecte of nitrate and ammonium on nitrogenase ($C2H_2$ reduction) activity of swards of subterranean clover (Trifolium subterraneum), Aust. J. Plant. Physiol. 13:257-273.

16.Streeter, J. 1988. Inhabition of legume formation and N_2 fixationby nitrate. CRC crit Rev Plant Sci. 7:1-23.

17.Tang, C., Hinsinger, P. Dervon, J.J., and Jaillard, B. 2001. Phosphorus deficiency impairs earaly nodule functioning and enhances release in roots of (*Medicago truncatula* L.) J. Annals of Botany. 88: 131-138.

Archive of SID

www.SID.ir

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(5), Dec2007-Jan 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

The effect of amount and kind nitrogen fertilizer in biological nitrogen fixation in alfalfa (*Medicago sativa* L.)

M. Gholizadeh[1], *S. Galeshi[2], N. Latifi[3] and E. Zeinali[4]
[1]M.Sc. student of Agronomy, Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran, [2]Associate Prof. of Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran, [3]Prof. of Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran, [4]Instructor of Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran

Abstract

The biological nitrogen fixation is effected by different factors in alafalfa. The amount of nitrogen fertilizer and kind of nitrogen fertilizer may have different effects on biological nitrogen fixation. For study effect of amount and kind if nitrogen fertilizer on alfalfa cultivars, and experiment was conducted as factorial randomized completed block design, in 2004 greenhouse of Agriculture College of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Gorgan. The experiment treatments included two cultivar of alfalfa (Hamedani-Yazdi) two inoculation surface and non-inoculation and treatments of nitrogen fertilizer (control, 1 m. Mol of nitrate, 3m. Mol of nitrate, 1m. Mol of ammonium, 3m. Mol of ammonium). The alfalfa seeds was grew pots contained sand in greenhouse and irrigating by non-nitrogen Hogland solution with function of favorite treatment and the plant have inoculation treatment inoculated by homogenous suspension of bacteria. After that alfalfa plants reached to 10% flowering were harvested and measured amount of leaf area, node number, node weight, dry matter of different organs, the nitrogen percent, yield and fluorescents yield. The least node number (was obtained) in 3m. Mol $(NH_4)Po_3$ and 3 m.Mol KNO_3 treatments. The least node weight was obtained in 3m. Mol KNO_3 treatment that had non significant different with control. The highest leaf area was obtained in 3 m.Mol$(NH_4)Po_4$ treatment and the highest total dry weight of plant, nitrogen percentage and nitrogen yield were obtained in 3 m.Mol $(NH_4)_3PO_4$ and KNO_3 treatment. The control had the flouresense yield or the highest light inhibition. Higher existence of nodule weight and nodule number on root of aflafa plants that grow by nutrient solution including 1 m.Mol nitrat and 1 m.Mol ammonium confirm the necessity of alfalfa plants in amount of mineral nitrogen complement in early plant growth.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation; Nitrogen; Alfalfa

*- E-mail: sgaleshi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir