نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۲ شماره ۴ / سال ۱۴۰۱/ صفحات ۸۱-۶۷

Investigation of Age and Application of Phosphorus and Potassium Biological Fertilizer on Growth Characteristics and Yield of alfalfa

Samira Marani[1], Hamid Madani[2*], Hossein Heidari Sharifabad[3], Gholamreza Afsharmanesh [4], Mohammad Hassan Shirzadi[5]

Received: 15 June 2021 Accepted: 16 May 2022
1-PhD Student, Department of Agriculture, Islamic Azad University, Jiroft Branch, Jiroft, Iran.
2-Assoc. Prof., Dept. of Agriculture, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran.
3-Prof., Dept. of Agriculture, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
4-Assoc. Prof., South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Jiroft, Iran.
5-Assist. Prof., Dept. of Agriculture, Islamic Azad University, Jiroft Branch, Jiroft, Iran.
* ❋Corresponding Author Email: h-madani@iau-arak.ac.ir

Abstract

Background and Objective: This study was conducted to investigate the effect of potassium and phosphorus biofertilizers on growth characteristics and yield of alfalfa (cv. 'Nikshahri') at different ages.

Materials and Methods: This combined experiment was conducted as factorial based on a randomized complete block design with three replications during two consecutive years (2019-2020) under the climatic conditions of Jiroft, Kerman, Iran. The studied factors included alfalfa age (one, three and five-years old) and bio-fertilizers (Control, Pota-Barvar, Phosphate Barvar II, Pota-Barvar + Phosphate Barvar II). The biofertilizers were used along with irrigation water. The studied traits included plant height, number of leaves per plant, stem diameter, internode length, number and internode, leaf area index, leaf: stem weight, and yield.

Results: The results of the combined variance analysis showed that there was a significant difference between different ages of alfalfa in terms of some growth characteristics (including number of leaves, stem diameter, and leaf area index) and yield. The highest yield and growth characteristics were related to three-year-old plants and the yield significantly decreased by increasing the age to 5-years old. Based on the results, the highest growth characteristics (except internode length) and yield were related to Pota-Barvar + Phosphate Barvar II treatment, which was not significantly different with Pota-Barvar treatment in term of leaf area index and leaf: stem weight ratio. The interaction effect of age and biofertilizer showed that the combined application of biofertilizers improved the growth characteristics and yield of the older alfalfa plants and the highest yield was found in 3-years old plants treated by combination of both biofertilizers. So that, the combined application of biofertilizers increased the total yield of one-, three- and five-year old alfalfa by 26.36, 39.72 and 38.34% compared to the control, respectively.

Conclusion: The combined application of both biofertilizers (PotaBarvar + Phosphate Barvar II) can be an effective way to prevent alfalfa yield decline in old farms.

Keywords: Alfalfa, Biofertilizer, Leaf Area, Plant Height, Yield

بررسی سن مزرعه و کاربرد کود بیولوژیک فسفر و پتاس بر خصوصیات رشدی و عملکرد یونجه

سمیرا مارانی[۱]، حمید مدنی[۲*]، حسین حیدری شریف آباد[۳]، غلامرضا افشار منش[۴]، محمد حسن شیرزادی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۶
۱-دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، جیرفت، ایران
۲-دانشیار گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران
۳-استاد گروه زراعت، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۴-دانشیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت، ایران
۵- استادیار گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، جیرفت، ایران
*مسئول مکاتبه : h-madani@iau-arak.ac.ir

چکیده:
اهداف: این پژوهش با هدف بررسی اثر کودهای بیولوژیک پتاسیم و فسفر بر خصوصیات رشدی و عملکرد یونجه رقم نیکشهری در سنین مختلف انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این آزمایش براساس تجزیه مرکب و به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی دو سال متوالی (۱۳۹۸ و ۱۳۹۹) تحت شرایط اقلیمی شهرستان جیرفت، استان کرمان پیاده شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل عمر یونجه (یکساله، سه‌ساله و پنج ساله) و کود بیولوژیک (شاهد، پتابارور، فسفاته‌بارورII، ترکیب توام پتابارور و فسفاته‌بارورII) بود. کودهای بیولوژیک به صورت محلول در آب آبیاری استفاده شد. صفات مورد مطالعه در این آزمایش شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، قطر ساقه اصلی، تعداد و فاصله میانگره در ساقه اصلی، شاخص سطح برگ، وزن برگ به ساقه، عملکرد کل و عملکرد به تفکیک چین‌های مختلف بود.

یافته‌ها: بررسی نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد بین سنین مختلف یونجه اختلاف معنی‌داری از نظر برخی خصوصیات رشدی (شامل تعداد برگ، قطر ساقه، و شاخص سطح برگ) و عملکرد وجود داشت. به‌طوری که بیشترین میزان عملکرد و خصوصیات رشدی مربوط به یونجه‌های سه ساله بود و با افزایش سن یونجه به پنج سال، میزان عملکرد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بررسی اثر کودهای بیولوژیک نشان داد که بیشترین میزان خصوصیات رشدی (به‌جز فاصله میانگره) و عملکرد مربوط به تیمار پتابارور + فسفاته‌بارورII بود که از نظر شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه اختلاف معنی‌داری با تیمار پتابارور نداشت. اثر متقابل سن مزرعه و کود بیولوژیک نشان داد که کاربرد ترکیبی کودهای بیولوژیک سبب بهبود خصوصیات رشدی و عملکرد مزرعه یونجه مسن‌تر شد و بیشترین میزان عملکرد مربوط به مزارع سه ساله و کاربرد ترکیب دو کود بیولوژیک بود. کاربرد ترکیبی کودهای بیولوژیک عملکرد کل مزرعه یک، سه و پنج ساله را به‌ترتیب ۲۶/۳۶، ۳۹/۷۲ . ۳۸/۳۴ درصد نسبت به شاهد همان سن افزایش داد.

نتیجه‌گیری: کاربرد توام کودهای بیولوژیک پتاس (پتابارور) و فسفر (فسفاته‌بارورII) می‌تواند راهکاری کارآمد برای کاهش افت عملکرد یونجه در سنین بالا باشد.

واژه های کلیدی: ارتفاع بوته، سطح برگ، عملکرد، کود بیولوژیک، یونجه

مقدمه

امروزه یکی از مشکلات اساسی در بخش دامداری، کیفیت نامناسب علوفه تولیدی می‌باشد که از لحاظ عناصر غذایی لازم فقیر بوده و موجب اختلال در رشد دام ها و کاهش تولید آنها می گردد (ارزانی و همکاران ۲۰۱۳). یونجه به عنوان یک لگوم به دلیل خصوصیاتی از جمله عملکرد و پروتئین بالا، ویتامین ها، خوش خوراکی بالا و وفور کلیسم و نیتروژن می تواند گزینه ای مناسب برای انتخاب باشند (رادویک و همکاران ۲۰۱۹). با توجه به تعداد زیاد چین‌برداری در زراعت یونجه می‌توان با مدیریت مزرعه و عملیات زراعی صحیح و به موقع، سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه در هر چین شد (نکوئیان فر و همکاران ۲۰۱۷). گزارش شده است که میزان عملکرد یونجه با افزایش سن مزرعه تا ۴-۳ سال افزایش و پس از آن کاهش می‌یابد (هانگ و همکاران ۲۰۱۸).

به دلیل نقش نیتروژن، فسفر و پتاسیم در فعالیت‌های متابولیکی، استفاده از این کودها باعث افزایش رشد و عملکرد محصول می گردد (شاهین و همکاران ۲۰۱۱). امروزه استفاده از کودهای شیمیایی به عنوان سریع ترین راه برای جبران کمبود عناصر غذایی خاک گسترش چشمگیری یافته است، اما در بسیاری از موارد کاربرد این کودها باعث آلودگی‌های زیست محیطی و صدمات اکولوژیکی شده و هزینه تولید را افزایش داده است (امری و همکاران ۲۰۱۰؛ مجیدی و امیری ۲۰۱۳).

از آن جا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان به سمت استفاده از نظام های کشاورزی پایدار است، استفاده از کودهای بیولوژیک نقش مهمی در مدیریت مواد مغذی و تنوع زیستی خاک داشته، خطرات زیست محیطی نیز به‌همراه نداشته باشد (وسی ۲۰۰۳؛ گنگ و همکاران ۲۰۱۸). باکتری های موجود در کودهای بیولوژیک قادرند از طریق سازوکارهای مختلف به‌طور مستقیم و غیرمستقیم موجب افزایش رشد گیاه بویژه در شرایط تنش غیرزیستی شوند (احمد و همکاران ۲۰۰۸؛ پی و همکاران ۲۰۱۵؛ نوشین و همکاران ۲۰۲۱). به‌عبارت دیگر، این کودها میکروارگانیزم‌های خاک را بهبود بخشیده و با تاثیر بر فیزیولوژی و توسعه گیاه عملکرد را افزایش می دهند (چودهاری و همکاران ۲۰۱۶). اثرات این کودها شامل تبدیل عناصر غذایی خاک به فرم قابل جذب، تولید فیتوهورمون‌ها و سیدروفور، انحلال فسفات‌های نامحلول، تثبیت نیتروژن و تولید ۱- آمینو -سیکلو پروپان - ۱- کربوکسیل د-آمیناز می‌باشند (عباس و همکاران ۲۰۱۳ و گوسوامی و همکاران ۲۰۱۶). این باکتری‌ها می‌تواند با تولید هورمون ایندول استیک اسید در محیط اطراف خود باعث افزایش رشد ساقه و ریشه شده که این امر به طور مستقیم از طریق تحریک طویل شدن سلول های گیاهی و تقسیم سلولی و یا به طور غیر مستقیم از طریق تاثیر بر فعالیت ACC دآمینازی سبب رشد گیاه می شود (واحدی و همکاران ۲۰۱۱ و ورما و همکاران ۲۰۱۸).

فسفر در متابولیسم انرژی و تولید بسیاری از ترکیبات مهم سلول‌های گیاهی، از جمله اسیدهای نوکلئیک و فسفولیپیدهای غشاء نقش دارد (ونکلاس و همکاران ۲۰۱۲؛ احمد و خان ۲۰۱۲؛ ریموند و همکاران ۲۰۲۱). گروهی از میکروارگانیسم‌های خاک قادر به تبدیل فسفر نامحلول به اشکال فسفر محلول و قابل دسترس گیاه می‌باشند که به میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات موسوم بوده و به عنوان بهترین گزینه برای ارایه ارزان فسفر به گیاه هستند (شارما و همکاران ۲۰۱۳؛ خان و همکاران ۲۰۱۳). مهم‌ترین میکروارگانیسم-های حل کننده فسفات شامل جنس‌های سودوموناس، باسیلوس، ریزوبیوم، آکروموباکتر، آگروباکتریوم، میکروکوکوس و ائروباکتر می باشند (کومار و همکاران ۲۰۱۵). در مطالعات صورت گرفته بر روی گوجه‌فرنگی مشخص گردید که کاربرد باکتری سودوموناس RU47 نه‌تنها سبب بهبود حلالیت و جذب فسفر شد، بلکه جمعیت میکروبی را در ریزوسفر بهبود بخشید (ناسال و همکاران ۲۰۱۸). کود زیستی فسفاته بارور ۲ حاوی دو گونه باکتری حل کننده فسفات به نام سودوموناس پوتیدا و پانتوآ آگلومرانس میباشد که قادرند با دو مکانیسم ترشح اسیدهای آلی و تولید آنزیم فسفاتاز، فسفر غیرقابل جذب خاک را به فرم قابل جذب درآورده و در اختیار گیاه قرار دهند (علیجانی و همکاران ۲۰۱۱). افراسیابی و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی تأثیر کود بیولوژیک فسفر بارورII (در دو سطح عدم کاربرد و

کاربرد ۱۰۰ گرم در هکتار) و سوپر فسفات تریپل (چهار سطح ۰، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار) بر عملکرد، کیفیت و جذب عناصر در یونجه یکساله گونه اسکوتالاتا *Medicago scutellata*, cv. Robinson بیان نمودند در حضور کود بیولوژیک در تلفیق با میزان مناسبی از کود فسفره (۷۵ کیلوگرم در هکتار) سبب بهبود عملکرد علوفه (۳۲۹ درصد افزایش نسبت به شاهد)، درصد پروتئین (۲۱/۱ درصد نسبت به شاهد) و جذب عناصر غذایی از قبیل فسفر، پتاسیم، کلسیم و نیتروژن شد. همچنین مشخص شده است که کاربرد کودهای بیولوژیک فسفر و پتاسیم در یونجه توانسته قابلیت هضم را نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد (استفانو و همکاران ۲۰۱۳).

گیاه یونجه برای تولید عملکرد بهینه و کاتالیز کردن چندین عمل متابولیکی نظیر فعال سازی آنزیم، تعرق، تغییر مکان ترکیبات ساخته شده در فرآیند نوری، سنتز پروتئین و نشاسته و روابط انرژی به میزان زیادی پتاسیم احتیاج دارد (برناردی و همکاران ۲۰۱۳). در نتیجه کمبود پتاسیم در یونجه، عملکرد علوفه و طول عمر آن کاهش می یابد (ملحی ۲۰۱۱). حدود ۹۸ درصد از پتاسیم موجود در پوسته زمین به شکل نامحلول هستند (پاتل و همکاران ۲۰۲۱). امروزه گروهی از باکتریهای خاک جداسازی و تکثیر شده اند که قادرند از منابع پتاس رسوب یافته و غیرقابل جذب گیاهان، پتاس را آزاد کنند و به عبارتی پتاسیم به فرم محلول درآورند. (کشاورز زرجانی و همکاران ۲۰۱۳). پراجاپاتی و همکاران (۲۰۱۳) در یک آزمایش گلدانی با تلقیح باکتری آزادکننده پتاسیم *Enterobacter hormaechei* (یک میلی‌لیتر سوسپانسیون با غلظت 10^8 cfu/ml) و قارچ *Aspergillus terreus* (یک میلی‌لیتر سوسپانسیون با غلظت 10^9 spore/ml) به گیاه بامیه (*Ablemoscus esculantus*) در خاکی با مقدار پتاسیم کم گزارش کردند که ارتفاع گیاه ۱۱/۵ درصد، وزن خشک شاخساره ۵۶/۶ درصد و مقدار پتاسیم قابل دسترس ۲۳/۳۹ درصد نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. نتایج مشابهی بر روی گندم گزارش شده است. به‌طوری‌که کاربرد باکتری‌های متحرک پتاسیم به‌طور معنی‌داری میزان پتاسیم محلول خاک، وزن خشک، طول سنبله و عملکرد دانه گندم را افزایش داد (پاتل و همکاران ۲۰۲۱). کشاورز زرجانی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه گوجه فرنگی با هر شش جدایه از باکتری‌های آزادکننده پتاسیم (متعلق به جنس *Bacillus*) در خاک لوم شنی با پتاسیم پایین، منجر به جذب بیشتر پتاسیم شد. بررسی اثر ترکیبی کودهای زیستی (*Azospirillum brasiliense, Azotobacter chroococcum* و *Bacillus polymyxa*) به همراه کمپوست بر رشد و عملکرد گیاه دارویی مرزنجوش (*Majorana hortensis*) نشان داد که استفاده ترکیبی از تیمارها باعث بهبود ویژگی‌های رشدی شد. به‌طوری‌که وزن خشک بوته در تیمار ترکیبی کمپوست و کود بیولوژیک ۹۰/۷ درصد نسبت به شاهد (NPK) افزایش یافت (غریب و همکاران ۲۰۰۸). مدنی و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی بهبود عملکرد کمی و کیفی علوفه یونجه با کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی گزارش کردند. به‌طوری که چهار سطح کود شیمیایی (شاهد، سولفات پتاسیم، فسفات آمونیوم و کود خضرا) و چهار سطح کود بیولوژیک (شاهد، پتابارور، نیتروبارور و باکتری آزاد کننده فسفر) را مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند بیشترین عملکرد کل علوفه تر مربوط به تیمار باکتری‌های آزاد کننده فسفر بود که اختلاف معنی-داری با سایر کودهای بیولوژیک نداشت. همچنین کمترین میزان عملکرد علوفه تر (۵/۴۸ تن در هکتار) مربوط به تیمار شاهد بود (مدنی و همکاران ۲۰۱۵).

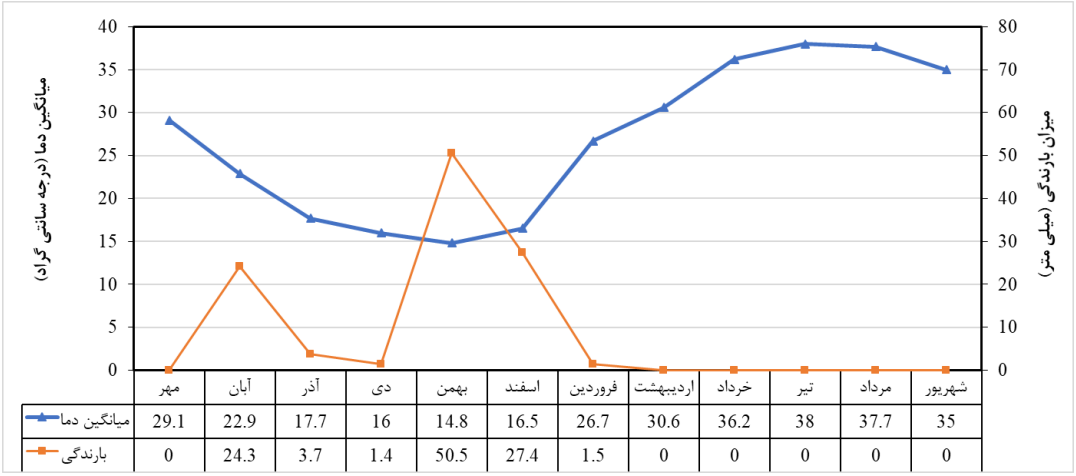
اگر چه یونجه قدرت زیادی در استفاده از مواد غذایی ذخیره شده در خاک دارد، ولی بدلیل چند ساله بودن، نیاز آن به عناصر غذایی بویژه فسفر (بدلیل قابلیت تحرک کم فسفر در خاک) و پتاس از سایر گیاهان بیشتر است. لازم به ذکر است که استفاده از کودهای شیمیایی مرسوم مانند فسفات آمونیوم و سولفات پتاسیم در زراعت یونجه فقط در مرحله قبل از کشت امکان پذیر بوده و تامین نیاز غذایی این گیاه به فسفر و پتاسیم در مراحل فقط از طریق استفاده از فرم های محلول این عناصر و یا کودهای بیولوزیک میسر می باشد که در این تحقیق بکارگیری و بررسی کارایی کودهای بیولوژیک فسفر و پتاس مورد بررسی قرار گرفته است در همین راستا، این پژوهش با هدف بررسی رابطه میان

سن مزرعه و نوع کود بیولوژیک فسفر و پتاس بر خصوصیات رشدی و عملکرد یونجه انجام شد.

مواد و روش‌ها

- مواد گیاهی و تیمارهای مورد مطالعه

به منظور مطالعه تاثیر کاربرد کودهای بیولوژیک فسفر و پتاسیم بر خصوصیات رشدی و اجزای عملکرد یونجه و تاثیر آن بر افزایش کارایی یونجه رقم نیک-شهری در سنین مختلف، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و طی دو سال زراعی (۱۳۹۹-۱۳۹۸) در شهرستان جیرفت، استان کرمان انجام گرفت. شرایط اقلیمی و خصوصیات ادافیکی منطقه محل انجام پژوهش به ترتیب در شکل ۱ و جدول ۱ ارائه شده است. یونجه نیکشهری از جمله سازگارترین ارقام یونجه با مناطق گرمسیری ایران است که علاوه بر برخورداری پتانسیل عملکرد بالا، امکان برداشت تعداد زیاد چین (۱۸-۱۲ چین) در سال دارد. همچنین از نظر نسبت برگ به ساقه و درصد پروتئین از ارقام برتر به‌شمار می‌رود (میری ۲۰۰۸).



	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور
میانگین دما	29.1	22.9	17.7	16	14.8	16.5	26.7	30.6	36.2	38	37.7	35
بارندگی	0	24.3	3.7	1.4	50.5	27.4	1.5	0	0	0	0	0

شکل ۱- نمودار آمبروترمیک محل انجام پژوهش در دو سال مورد مطالعه

جدول ۱- داده های آنالیز خاک محل انجام آزمایش

عمق	EC×10^3	pH	کربن (%)	ازت کل (N%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	بافت
۰-۳۰	۰/۶۸۲	۸	۰/۱۵۶	۰/۰۱۲	۱۱/۴	۲۰۰	S-L

فاکتورهای مورد مطالعه شامل سال (دو سال متوالی)، سه سن یونجه (یکساله، سه‌ساله و پنج‌ساله) و چهار سطح کود بیولوژیک (شاهد، فسفاته بارورII به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار، پتابارور به میزان ۱۰۰ گرم و کاربرد توام فسفاته بارورII وپتابارور به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار) بود. کود فسفات بارور II و پتابارور از شرکت زیست فناور سبز تهیه گردید که بعد از هر چین با آب آبیاری اعمال شد. به منظور ایجاد شرایط یکسان اقلیمی و ادافیکی و کاهش خطای آزمایش، مزرعه انتخابی در سال اول، با وسعتی بزرگ‌تر و سنین مختلف یونجه انتخاب شد و هر دو سال، طرح در یک مزرعه انجام گرفت. به‌عبارت دیگر، برای تامین سطوح یکسان سن یونجه نسبت به سال اول، از بلوک‌های دیگر موجود در همان مزرعه استفاده شد. کودهای بیولوژیک مورد مطالعه به صورت محلول در آب آبیاری استفاده شد. کود فسفاته بارورII حاوی دو نوع باکتری حل کننده فسفات شامل *Panteoa agglomerans* و *Psuedomonas putida* و کود بیولوژیک پتابارو حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده پتاسیم *Pseudomonas koreensis* strain S14 و *P. vancouverensis* strain S19 می‌باشد. در هر سال تعداد

۳۶ پلات (۳ سن مزرعه × ۴ سطح کود بیولوژیک × ۳ تکرار) آزمایشی به ابعاد ۶×۲ مترمربع در نظر گرفته شد.

صفات مورد مطالعه

صفات مورد مطالعه در این آزمایش شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، قطر ساقه اصلی، تعداد و فاصله میانگره در ساقه اصلی، شاخص سطح برگ، وزن برگ به ساقه، عملکرد کل و عملکرد به تفکیک چین‌های مختلف بود. برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته تعداد ۵ گیاه از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و از محل طوقه تا بالاترین نقطه گیاه بر حسب سانتی‌متر اندازه گیری و میانگین‌ها محاسبه گردید. تعداد برگ و میانگره در بوته در پایان آزمایش شمارش شد. قطر ساقه اصلی با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. فاصله میانگره در ساقه اصلی (بین گره سوم و چهارم) با استفاده از خط کش اندازه گیری شد. شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه قبل از چین دوم محاسبه شد. شاخص سطح برگ به روش وزنی و به کمک تعیین وزن خشک ۱۰ دیسک یک سانتی‌متر مربع از برگ های یونجه به‌دست آمد (مدنی و همکاران ۲۰۱۵). عملکرد در چین‌های مختلف به ازای برداشت ۴ مترمربع در هر مرحله با استفاده از باسکول دیجیتال تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

با توجه به اینکه آزمایش طی دو سال متوالی تکرار شده بود، تجزیه واریانس مرکب داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS (ver. 9.2) انجام گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با همین نرم‌افزار و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

خصوصیات رشدی

بررسی نتایج تجزیه واریانس اثر کودهای زیستی بر خصوصیات رشدی یونجه نشان داد اثر سال و عمر یونجه به تنهایی و همچنین اثر متقابل این دو فاکتور بر ارتفاع بوته معنی‌دار نبود. اثر سال بر صفات تعداد برگ در بوته و قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اختلاف معنی‌داری از نظر این صفات و همچنین شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه در بین سنین مختلف یونجه مشاهده شد. اثر کود زیستی به تنهایی و اثر متقابل کود زیستی و عمر یونجه بر برخی خصوصیات رشدی یونجه شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ، قطر ساقه، تعداد میانگره، شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات رشدی یونجه تحت تاثیر سال، عمر یونجه و کود زیستی فسفات و پتاس

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد برگ در بوته	قطر ساقه اصلی	تعداد میانگره	شاخص سطح برگ	نسبت وزن برگ به ساقه
سال	۱	۰/۰۰۵ns	۲۴/۰۳ **	۰/۶۳ **	۰/۳۱ ns	۱/۹۳۶ ns	۰/۱۱۱ ns
خطای نوع اول	۴	۰/۵۷۲	۱۵۷/۸۶	۰/۱۹	۲/۳۰	۳/۰۷۱	۰/۱۳۱
عمر یونجه	۲	۱/۰۲۰ ns	۳۶۳۹/۴۰ **	۴/۲۱ **	۳۱/۲۲ **	۱۲/۳۶۳ **	۵/۶۶۲ *
سال × عمر	۲	۰/۰۲۲ ns	۳۱/۱۰ **	۰/۱۴ ns	۱/۲۹ *	۱/۵۶۶ ns	۰/۰۸۲ ns
خطای نوع دوم	۸	۰/۳۴۶	۶/۸۱	۰/۱۸	۱/۴۷	۴/۸۶۵	۰/۲۱۴
کود زیستی	۳	۳۵/۵۳۱ **	۲۳۲۰/۶۶ **	۴/۳۸ **	۴۳/۳۰ **	۱۶/۴۴۶ **	۱/۸۹۳ *
کود زیستی ×عمر یونجه	۶	۲۶/۳۹۱ **	۲۰/۴۳۷ **	۰/۲۳ **	۰/۹۵ *	۰/۷۲۴ **	۰/۰۴۳ *
سال× کود زیستی	۳	۰/۰۰۲ ns	۴/۱۰ *	۰/۰۴ ns	۰/۱۹ ns	۰/۲۲۰ ns	۰/۰۱۱ ns
سال× کود زیستی ×عمر	۶	۴/۰۰۲ ns	۳/۵۷ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۶ ns	۰/۳۲۳ ns	۰/۰۱۵ ns
خطای آزمایش	۳۶	۸/۹۹	۱/۶۱	۰/۰۵	۰/۳۱	۰/۲۶	۰/۰۱
ضریب تغییرات(٪)	--	۵/۳۰	۱/۷۷	۲۸/۲۹	۵/۵۲	۴/۸۱	۵/۷۷

**، * و ns به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می باشد.

بررسی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، تعداد میانگره در ساقه اصلی و نسبت وزن برگ به ساقه، در مزرعه سه ساله یونجه نسبت به مزرعه یکساله به‌ترتیب ۲۷، ۴۱/۶، ۲۵/۲۲ و ۵۶/۸ درصد افزایش یافت. همچنین دو صفت قطر ساقه اصلی و فاصله میانگره یونجه در مزارع مسن تر به میزان ۲۳٪ بیشتر از مزرعه یونجه یکساله بود. یعنی قطر ساقه اصلی و فاصله میانگره یونجه در مزرعه سه ساله به‌ترتیب ۳/۵۲ میلی‌متر و ۶/۱۷ سانتی‌متر و در مزرعه پنج ساله به‌ترتیب ۳/۳۱ میلی‌متر و ۶/۳۷ سانتی‌متر و در مزرعه یکساله به‌ترتیب ۲/۷۱ میلی‌متر و ۵/۹۰ سانتی‌متر بود. براساس نتایج بدست آمده شاخص سطح برگ در مزرعه یک، سه و پنج ساله اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان نداد (جدول ۳).

صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، قطر ساقه اصلی و تعداد میانگره در ساقه اصلی تحت تیمار کودفسفاته بارور + پتابارور به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۴۹/۲۲، ۴۶/۱۹، ۴۵/۵۲ و ۴۰/۶۵ درصد افزایش یافت. درحالی‌که صفات شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه در تیمار کودفسفاته بارور + پتابارور و تیمار کودپتابارور، بطور معنی‌داری نسبت به شاهد و تیمار کود فسفاته بارور بیشتر بودند. همچنین فاصله میانگره در تیمار کود فسفاته بارور (۶/۵۳ سانتی‌متر) و کودپتابارور (۶/۷۴ سانتی‌متر) افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. حداقل میزان تمامی صفات مورد بررسی در تیمار شاهد کودی مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ارزیابی شده در یونجه تحت تاثیر اثرات ساده سال، عمر یونجه و کودهای زیستی فسفر و پتاس

منابع تغییر	ارتفاع بوته (cm)	تعداد برگ	قطر ساقه (mm)	تعداد میانگره	فاصله میانگره (cm)	شاخص سطح برگ	نسبت وزن برگ به ساقه
سال							
سال اول	۵۵/۱۳a	۷۱/۰۲a	۳/۰۸b	۹/۹۴b	۶/۱۷a	۱۰/۴۲a	۲/۱۸a
سال دوم	۵۷/۹۱a	۷۲/۱۷a	۳/۲۷a	۱۰/۴۳a	۶/۱۵a	۱۰/۷۴a	۲/۶۴a
سن یونجه							
یکساله	۴۹/۰۶c	۵۹/۱۵c	۲/۷۱b	۹/۰۴c	۵/۹۵b	۱۰/۵a	۱/۶۹c
سه ساله	۶۲/۳۱a	۸۳/۷۸a	۳/۵۲a	۱۱/۳۲a	۶/۱۷ab	۱۱/۳۹a	۲/۶۵a
پنج ساله	۵۸/۱۸b	۷۱/۸۴b	۳/۳۱a	۱۰/۲۰b	۶/۳۷a	۱۰/۳۰a	۲/۳۲b
کود زیستی							
شاهد	۴۴/۰۲d	۵۸/۲۱d	۲/۵۷d	۸/۸۳c	۵/۵۹b	۹/۳۵d	۱/۸۱c
فسفاته بارور II	۵۶/۳۱c	۶۷/۹۷c	۳/۰۵c	۹/۶۴b	۶/۵۳a	۱۰/۳۸c	۲/۱۸b
پتابارور	۶۰/۰۴b	۷۵/۰۹b	۳/۳۵b	۹/۸۶b	۶/۷۴a	۱۱/۰۳ab	۲/۳۱ab
فسفاته بارورII + پتابارور	۶۵/۶۹a	۸۵/۱۰a	۳/۷۴a	۱۲/۴۲a	۵/۸۰b	۱۱/۵۶a	۲/۵۹a

در هر ستون، تیمارهایی با حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ارزیابی شده در یونجه تحت تاثیر اثرات متقابل عمر یونجه و کودزیستی نشان داد که ارتفاع بوته و قطر ساقه اصلی و شاخص سطح برگ و نسبت وزن برگ به ساقه در مزرعه سه ساله یونجه و تحت تیمار کودفسفاته بارور + پتابارور بطور معنی داری بیشتر بود. بیشترین تعداد میانگره در ساقه اصلی (۷-۶ عدد) در کاربرد کودپتابارور در مزرعه یکساله، شاهد کودی و کود فسفاته بارور در مزرعه سه ساله و کاربرد کود فسفاته بارور وپتابارور در مزرعه پنج ساله بدست آمد. همچنین بیشترین فاصله میانگره یونجه در کاربرد صد گرم د رهکتار کودپتابارور (۸/۰۷ سانتی‌متر) و ترکیب صد گرم

در هکتار کودفسفاته بارور+ صد گرم در هکتار پتابارور (۸/۳۳ سانتی‌متر) در مزرعه سه ساله و ترکیب صد گرم از هر یک از کوهای کودفسفاته بارور + پتابارور در مزرعه پنج ساله مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ارزیابی شده در یونجه تحت تاثیر اثرات متقابل عمر یونجه و کودزیستی

عمر مزرعه	تیمار کودی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد برگ در بوته	قطر ساقه اصلی (mm)	تعداد میانگره	فاصله میانگره(cm)	شاخص سطح برگ	نسبت وزن برگ به ساقه
یکساله	شاهد	۴۵/۶۷l	۲/۳۸g	۸/۱۹e	۵/۱۹d	۳/۳۰h	۸/۲۴h	۱/۳۳h
	فسفاته بارور II	۵۴/۵۵k	۲/۵۹fg	۸/۴۸e	۶/۰۸b	۶/۰۵def	۱۰/۰۶ef	۱/۵۵g
	پتابارور	۶۱/۸۲i	۲/۷۹ef	۸/۶۹e	۶/۶۱a	۵/۹۹def	۱۰/۸۰cd	۱/۸۰f
	فسفاته بارورII + پتابارور	۷۴/۵۷f	۳/۰۸d	۱۰/۸۰c	۵/۹۵bc	۶/۵۳cde	۱۱/۰۷bc	۲/۱۱e
سه ساله	شاهد	۶۹/۸۳g	۲/۶۸f	۹/۶۱d	۵/۸۲a	۵/۳۰fg	۱۰/۴۰cde	۲/۲۸d
	فسفاته بارور II	۸۲/۳۷d	۳/۵۱c	۱۰/۷۸c	۶/۶۱a	۷/۳۹bc	۱۱/۰۷bc	۲/۶۵b
	پتابارور	۸۶/۰۷b	۳/۷۵bc	۱۰/۸۴c	۶/۶۷cd	۸/۰۷ab	۱۱/۶۳b	۲/۶۵b
	فسفاته بارورII + پتابارور	۹۶/۸۵a	۴/۱۵a	۱۴/۰۶a	۵/۵۶cd	۸/۳۳a	۱۲/۴۷a	۲/۰۳a
پنج ساله	شاهد	۵۹/۱۴j	۲/۶۶fg	۸/۶۹e	۵/۷۷b	۴/۹۴g	۹/۳۸g	۲/۸۲f
	فسفاته بارور II	۶۶/۹۹h	۳/۰۴de	۹/۶۶d	۶/۸۹a	۵/۷۹efg	۱۰/۰۰f	۲/۳۳cd
	پتابارور	۷۷/۳۷e	۳/۵۰c	۱۰/۰۶d	۶/۹۳a	۶/۸۹cd	۱۰/۶۶cde	۲/۴۸c
	فسفاته بارورII + پتابارور	۸۳/۸۸c	۴/۰۸ab	۱۲/۳۹b	۵/۸۸bc	۷/۹۱ab	۱۱/۱۵bc	۲/۶۳b

.در هر ستون، تیمارهایی با حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند

عملکرد در چین‌های مختلف و عملکرد کل

تجزیه واریانس اثر سال، عمر یونجه و کودهای زیستی بر عملکرد یونجه نشان داد که برخلاف اثر سال، اثر عمر یونجه و کودهای زیستی به تنهایی بر عملکرد بوته معنی‌دار بود. اثر متقابل کود زیستی و عمر یونجه بر میزان عملکرد چین اول معنی‌دار نبود، این در حالی است که اثر متقابل این دو فاکتور بر عملکرد چین‌های دو، سه و چهار و همچنین عملکرد کل معنی‌دار بود (جدول ۵). عملکرد در چین‌های مختلف در مزرعه سه و پنج ساله نسبت به مزرعه یکساله افزایش معنی‌داری را نشان داد. عملکرد کل نیز در مزرعه سه ساله نسبت به مزرعه یک و پنج ساله افزایش معنی داری را نشان داد. بررسی اثر کود زیستی بر عملکرد در چین‌های مختف و عملکرد کل نیز نشان داد که عملکرد در کاربرد ترکیب کود فسفاته بارور + پتابارور حداکثر و در عدم کاربرد کودهای زیستی به حاقل رسید (جدول ۶).

بررسی اثر متقابل عمر یونجه × کود بیولوژیک بر عملکرد یونجه نشان داد که عملکرد چین دوم (۲/۶۸ تن در هکتار) و چهارم (۳/۹۸ تن در هکتار) و عملکرد کل علوفه تر (۱۲/۹۸ تن در هکتار) در کاربرد ترکیب کود فسفاته بارور + پتابارور در مزرعه سه ساله افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت. همچنین عملکرد چین اول و سوم در کاربرد کودپتابارور و ترکیب کود کودفسفاته بارور + پتابارور در مزرعه سه و پنج ساله بطور معنی-داری بیشتر از سایر تیمارها بود. عملکرد چین ۳ در مزارع یکساله (۲/۷۴ تن در هکتار) و پنج ساله (۲/۷۱ تن در هکتار) که تیمار کودی دریافت نکرده اند به حداقل رسید. عملکرد در چین‌ها اول (۱/۳۷ تن در هکتار)، دوم (۱/۵۸ تن در هکتار) و چهارم (۲/۶۲ تن در هکتار) و عملکرد کل علوفه تر (۸/۳۳ تن در هکتار) نیز در مزرعه یکساله بدون دریافت تیمار کودی به حداقل رسید (جدول ۷).

جدول ۵- تجزیه واریانس برخی صفات مرتبط با عملکرد یونجه تحت تاثیر سال، عمر و کود زیستی

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد				
		چین ۱	چین ۲	چین ۳	چین ۴	کل
سال	۱	۰/۶۹۴ ns	۰/۲۴۵ ns	۴/۳۴۵ ns	۳/۷۶۵ ns	۲۸/۶۶۴ **
سال (تکرار)	۴	۰/۴۴۳	۰/۴۴۴	۰/۰۸۰	۰/۱۲۱	۳/۳۹۶
عمر یونجه	۲	۱/۷۱۱ **	۱/۵۱۴ **	۱/۰۱۶ *	۲/۸۴۳ **	۲۶/۷۶۵ **
سال × عمر	۲	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۴۱ ns	۰/۲۸۰ ns	۰/۹۹۰ **
سال×تکرار×عمر	۸	۰/۰۴۵	۰/۱۲۷	۰/۱۰۳	۰/۰۱۷	۰/۱۴۴
کود زیستی	۳	۱/۸۱۱ **	۱/۳۹۰ **	۲/۳۱۹ **	۲/۰۳۷ **	۲۹/۴۹۱ **
کود زیستی ×عمر یونجه	۶	۰/۱۱۲ ns	۰/۱۰۴ **	۰/۰۶۲ *	۰/۰۷۷ **	۰/۹۷۲ **
سال× کود زیستی	۳	۰/۰۰۶ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۲۲ ns	۰/۰۴۲ **	۰/۲۱۹ ns
سال× کود زیستی ×عمر	۶	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۹ ns	۰/۰۴۰ ns
خطای آزمایش	۳۶	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۱۱
ضریب تغییرات(٪)	--	۱۲/۵۶	۴/۵۴	۴/۶۴	۱۷/۷۱	۳/۲۹

**، * و ns به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می باشد.

جدول ۶- مقایسه میانگین عملکرد (تن در هکتار) یونجه تحت تاثیر اثرات ساده سال، عمر یونجه و کودزیستی

	عملکرد چین ۱	عملکرد چین ۲	عملکرد چین ۳	عملکرد چین ۴	عملکرد کل
سال اول	۱/۷۶a	۱/۹۷a	۳/۰۳a	۳/۰۸a	۹/۸۵a
سال دوم	۱/۹۶a	۲/۰۹a	۳/۵۲a	۳/۵۴a	۱۱/۱۲a
یکساله	۱/۵۵b	۱/۷۶b	۳/۰۶b	۲/۹۱b	۹/۳۰c
سه ساله	۱/۰۵a	۲/۲۵a	۳/۴۷a	۳/۵۴a	۱۱/۳۳a
پنج ساله	۱/۹۷a	۲/۰۸a	۳/۲۸a	۳/۴۷a	۱۰/۸۲b
شاهد	۱/۴۹c	۱/۶۹d	۲/۸۰d	۲/۸۹c	۸/۸۲d
فسفاته بارور II	۱/۷۹b	۱/۹۷c	۳/۲۱c	۳/۲۹b	۱۰/۲۸c
پتابارور	۱/۹۰b	۲/۱۲b	۳/۴۵b	۳/۳۳b	۱۰/۸۰c
فسفاته بارورII + پتابارور	۲/۲۶a	۲/۳۵a	۳/۶۳a	۳/۷۱a	۱۱/۹۶a

.در هر ستون، تیمارهایی با حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند

بحث

با توجه به تعداد زیاد چین در زراعت یونجه می‌توان با مدیریت مزرعه و عملیات زراعی صحیح سبب بهبود خصوصیات رشدی و در نتیجه افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه در هر چین شد (نکوئیان فر و همکاران ۲۰۱۷). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، در بین سه مزرعه یونجه با سنین مختلف یک، سه و پنج ساله، خصوصیات رشدی شامل ارتفاع بوته (۲۹/۳۰ درصد)، تعداد برگ در بوته (۲۹/۴۰ درصد)، قطر ساقه اصلی (۲۳ درصد)، تعداد میانگره در ساقه اصلی (۴۷/۸۰ درصد)، فاصله میانگره (۷ درصد)، شاخص سطح برگ (یک درصد)، نسبت وزن برگ به ساقه (۳۶/۲۲ درصدی) در مزرعه سه ساله یونجه نسبت به مزرعه یکساله افزایش معنی‌داری را نشان دادند که با گزارشات سایر محققین در این زمینه مطابقت داشت. گزارش شده است که میزان بیوماس ریشه یونجه با افزایش سن افزایش یافت (هانگ و همکاران ۲۰۱۸) و بیوماس ریشه در مزرعه ۶-۵ ساله دوبرابر مزرعه چهار ساله است (هکل و همکاران ۲۰۱۱).

گزارش شده است که با افزایش تعداد چین، به علت افزایش تعداد ساقه ها و برگ ها در واحد سطح، نسبت برگ به ساقه افزایش می یابد (زمانیان ۲۰۰۳) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

جدول ۷- ترکیبات تیماری عمر یونجه و کود زیستی برای عملکرد (تن در هکتار)

عمر بوته	کود زیستی	عملکرد چین ۱	عملکرد چین ۲	عملکرد چین ۳	عملکرد چین ۴	عملکرد کل
یکساله	شاهد	۱/۳۷e	۱/۵۸g	۲/۷۴f	۲/۶۲i	۸/۳۳g
	فسفاته بارور II	۱/۴۴e	۱/۷۸ef	۳/۰۳cd	۲/۸۳h	۹/۰۹f
	پتابارور	۱/۶۴bcd	۱/۷۲ef	۳/۱۳cd	۲/۸۷gh	۹/۳۷f
	فسفاته بارورII + پتابارور	۱/۷۸bcd	۱/۹۵d	۳/۳۴bc	۳/۳۲e	۱۰/۴۰e
سه ساله	شاهد	۱/۵۹de	۱/۸۰e	۲/۹۵e	۲/۹۳g	۹/۲۹f
	فسفاته بارور II	۲/۰۴b	۲/۱۵c	۳/۳۸bc	۳/۵۸c	۱۱/۱۶d
	پتابارور	۲/۰۸b	۲/۴۳b	۳/۷۱a	۳/۶۵c	۱۱/۸۸c
	فسفاته بارورII + پتابارور	۲/۵۰a	۲/۶۳a	۳/۸۵a	۳/۹۸a	۱۲/۹۸a
پنج ساله	شاهد	۱/۵۱de	۱/۶۸fg	۲/۷۱f	۳/۱۰f	۹/۰۵f
	فسفاته بارور II	۱/۹۱bc	۱/۹۹d	۳/۲۱cd	۳/۴۷d	۱۰/۵۹e
	پتابارور	۱/۹۷b	۲/۲۰c	۳/۵۱b	۳/۴۷d	۱۱/۱۶d
	فسفاته بارورII + پتابارور	۲/۵۱a	۲/۴۷b	۳/۶۹a	۳/۸۳b	۱۲/۵۲b

.در هر ستون، تیمارهایی با حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند

همانند خصوصیات رشدی، با افزایش سن مزرعه یونجه به سه سال، عملکرد در چین‌های مختلف و عملکرد کل افزایش معنی داری را نشان داد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین چین‌های مختف بود. این نتایج با گزارش زمانیان (۲۰۰۳) مطابقت نداشت. ایشان در بررسی اثر شرایط محیطی بر عملکرد کیفی علوفه یونجه گزارش کردند که چین اول نسبت به سایر چین ها به علت وجود دمای مساعد و شرایط اکولوژیکی مناسب، از نظر عملکرد کمی و کیفی برتر بود (زمانیان ۲۰۰۳). هر چند مطالعه‌ای بر روی اثر سن مزرعه بر عملکرد یونجه صورت نگرفته است ولی گزارش شده است که عملکرد کلاله و بنه زعفران با افزایش سن، افزایش یافت (امیرقاسمی ۲۰۰۱؛ بهنیا و مختاری ۲۰۰۹؛ گرستا و همکاران ۲۰۰۸؛ توکالو و راشد محاسل ۲۰۰۹).

نتایج پژوهش ما نشان داد که کاربرد کودهای زیستی سبب بهبود معنی‌دار خصوصیات رشدی شامل ارتفاع بوته (۳۳ درصد)، تعداد برگ در بوته (۳۱/۶۰ درصد)، قطر ساقه اصلی (۳۱/۲۸ درصد)، تعداد میانگره در ساقه اصلی (۲۹ درصد)، فاصله میانگره (۱۷/۰۶ درصد)، نسبت به شاهد گردید. به‌طوری که، سزن و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند کاربرد باکتری های *Enterobacter cloacae* و *Bacillus cereus* و *Bacillus megaterium* سبب افزایش ارتفاع بوته (۳۳/۷۹ درصد) و ماده خشک (۴۷/۹۱ درصد) در گندم بهاره نسبت به شاهد شدند. استفاده توام از باکتری های *Pantoea agglomerans* و *Burkholderia anthina* در گیاه ماش (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek) باعث افزایش طول ریشه و ساقه به‌ترتیب به میزان ۱۷/۴۳ و ۳۲/۹۷ درصد نسبت به شاهد (بدون کاربرد باکتری) شد (والپولا و یون ۲۰۱۳). باکتری‌های *Rhizobium nepotum* PtB01 و *Bacillus methylotrophicus* PtB24 توانایی تولید ایندل استیک اسید و ACC دآمینازی داشته و بطور موثر سبب افزایش دو برابری طول گیاهچه، سطح برگ و وزن تر و افزایش سه برابری طول ریشه در گندم شدند (پانپان و همکاران ۲۰۱۷). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار کود فسفاته بارور + پتابارور سبب افزایش معنی‌دار صفات مرتبط با عملکرد شد. از آنجا که تلقیح با کودهای زیستی بـه دلیـل توسـعه سیـستم ریشه ای باعث بهبود دسترسی و افـزایش جـذب عناصـر غـذایی و درنتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه می‌شود،

بنابراین چنین به نظر می‌رسد افـزایش عملکـرد در پاسـخ به تلقیح با این کودها، به دلیل فراهمی بیشتر عناصر غـذایی برای بوته ها بوده که در نتیجه باعث افـزایش تولیـد مـواد فتوسـنتزی شده است (کاور و ردی ۲۰۱۴). یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده سن مزرعه یونجه، کاهش مواد مغذی خاک، به ویژه ذخیره کربن آلی خاک است (فانگ و همکاران ۲۰۲۰). استفاده از کود در کاشت یونجه می تواند باعث افزایش بهره‌وری و طولانی شدن زمان کاشت یونجه شود (فن و همکاران ۲۰۱۱؛ ماکولینو و همکاران ۲۰۱۳؛ هکل و همکاران ۲۰۱۶؛ گو و همکاران ۲۰۱۸). غریب و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که کاربرد ترکیبی کود بیولوژیک و کمپوست، وزن خشک گیـاه دارویی مرزنجوش را ۹۰/۷ درصد نسبت به شاهد (NPK) افزایش داد. مدنی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کاربرد کودهای بیولوژیک (بویژه باکتری‌های آزاد کننده فسفر) عملکرد کل یونجه را تا ۴۱/۶ درصد نسبت به عدم کاربرد کود بیولوژیک افزایش داد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز نشان داد که کاربرد کودهای بیولوژیک فسفر و پتاس سبب بهبود و افزایش خصوصیات رشدی و عملکرد یونجه در سن بالا شد.

حصول عملکرد ثابت و بالا و مدیریت عناصر غذایی خاک در مزارع کشت شده یونجه بسیار مشکل است. اسفندیاری و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که در پایان دوره رشدی گیاه سهم بیشتری از ماده خشک به ساقه اختصاص می یابد. عملکرد کیفی رقمهای یونجه بستگی به زمان های برداشت علوفه دارد و شرایط محیطی (دما و نور)، زمان و مرحله رشدی گیاه اثرات مثبت و معنی داری بر عملکرد کیفی دارند (زمانیان ۲۰۰۳). نتایج حاصل از این پژوهش به خوبی نشان داد که بیشترین میزان عملکرد مربوط به کاربرد کود فسفاته بارور + پتابارور در مزرعه سه ساله یونجه حاصل شدند. در مقابل، عدم کاربرد کودهای زیستی سبب به حداقل رسیدن و کاهش معنی دار عملکرد یونجه گردید. کاهش در میزان عملکرد با افزایش سن مزرعه به پنج سال می تواند به این دلیل باشد که در سال های اول، میزان کربن خاک بیشتری در خاک وجود دارد و بنابراین میزان کربن بیشتری در گیاه ذخیره می شود، اما پس از گذشت چند سال، میزان ذخیره کربن در خاک کاهش یافته و در نتیجه کربن کمتری در گیاه ذخیره می یابد (وو و همکاران ۲۰۱۰). فانگ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که در مزرعه سه و چهارساله یونجه، بهره وری به حداکثر رسید (۳ تن در هکتار) و سپس کاهش یافت. کاهش در میزان عناصر غذایی رشد یونجه را تحت تاثیر قرار داده و از این طریق بر میزان بهره وری اثرگذار است و به همین دلیل عمر مزرعه یونجه به دلیل محدودیت عناصر غذایی خاک،به خصوص ذخیره کربن آلی خاک، نباید بیش از ۶ سال باشد. گزارش شده است که برای دستیابی به بهره وری بالا و پایدار مزارع یونجه، کودهای آلی و نیتروژن و فسفر باید از سال سوم پس از کاشت در لایه فوقانی خاک استفاده شود (فانگ و همکاران ۲۰۲۰). بررسی‌ها نشان می‌دهد که کاربرد باکتری‌های حل کننده پتاس در خاک‌های ایران قادرند میزان قابل توجهی پتاسیم را برای افزایش سرعت رشد و نمو گیاهان افزایش دهد (کشاورز زرجانی و همکاران ۲۰۱۳). علت اصلی افزایش در عملکرد یونجه در ایتالیا افزایش جذب سایر عناصر غذایی توسط گیاه بود که به نظر میرسد میتواند ناشی از وجود میزان پتاس کافی در خاک و جذب آن توسط گیاه باشد (استفانو و همکاران ۲۰۱۳). فانگ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که هنگام ارزیابی یونجه با عملکرد بالا، اثر غیرمستقیم عناصر غذایی خاک باید همراه با سن ایستاده در نظر گرفته شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش مشخص گردید که بیشترین میزان عملکرد مربوط به یونجه سه-ساله بود و با افزایش سن یونجه به پنج سال، عملکرد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاربرد کودهای بیولوژیک بویژه کاربرد ترکیبی پتابارور + فسفاته-بارورII (هر یک به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار) سبب بهبود خصوصیات رشدی و عملکرد یونجه بویژه در مزارع مسن‌تر شد. برهمین اساس، کاربرد توام کودهای بیولوژیک پتاس و فسفر می‌تواند راهکاری کارآمد برای کاهش افت عملکرد یونجه در سنین بالا باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌ها و مساعدت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت جهت فراهم نمودن امکانات موردنیاز برای اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع مور استفاده

Arzani H, Motamedi J, Yari R, Ghasemi Aryan Y and Khatir Nameni J. 2013. Forage quality of important range species in Pashaylogh-e-Maravetapeh rangeland ecosystem in Golestan province. Journal of Plant Ecosystem Conservation, 1 (1): 87-103. (In Persian)

Abbas Z, Zia MA, Ali S, Abbas Z, Waheed A, Bahadur A, Hameed T, Iqbal A, Muhammad I, Roomi S, Ahmad MZ and Sultan T. 2013. Integrated effect of plant growth promoting rhizobacteria, phosphate solubilizing bacteria and chemical fertilizers on growth of maize original research article. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 6 (13): 913-921.

Afrasiabi M, Amini Dehghi M and Modares Sanavi SAM. 2010. Effect of phosphate biofertilizer Barvar-2 and triple super phosphate fertilizer on yield, quality and nutrient uptake of *Medicago scutellata*, cv. Robinson. Agricultural Knowledge, 2(4): 43-54. (In Persian)

Ahemad M and Khan MS. 2012. Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris* L.) rhizosphere. Chemosphere, 86: 945–950.

Ahmad F, Ahmad I, and Khan MS. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research, 163: 173-181.

Alijani M, Amini Dehghi M, Melboubi MA, Zahedi M and Modarres Sanavi AM. 2011. The effect of different levels of phosphorus fertilizer together with phosphate bio-fertilizer (Barvar 2) on yield, essential oil amount and chamazulene percentage of *Matricaria recutita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 3: 450-459. (In Persian)

Amirghasemi T. 2001. Saffron: Red Gold of Iran. Nashr- Ayandegan Publication, Iran 112 pp. (In Persian)

Amri SR, Parsa M and Ganjali A. 2010. The effect of drought stress on morphological traits and yield components of *Cicer arientinum* in different stages and phonology under greenhouse conditions. Iranian Journal of Field Crops Research, 8: 157-166. (In Persian)

Behnia MR and Mokhtari M. 2009. Effect of planting methods and corm density in saffron (*Crocus sativus* L.). 3rd International Symposium on Saffron. Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics. 20-23 May, Korokos, Kozani, Greece.

Bernardi AD, Rassini JB, Mendonca FC and Ferreira RD. 2013. Alfalfa dry matter yield, nutritional status and economic analysis of potassium fertilizer doses and frequency. International Journal of Agronomy and Plant Production, 4 (3): 389-398.

Choudhary SK, Gupta SK, Singh MK and Sheraz Mahdi S. 2016. Role and its utilization of beneficial micro-organisms for sustainable crop production. International Journal of Plant Growth Regulators, 12(2): 370-378.

Esfandiary S, Hasanli A, Safari H and Farshad far M. 2008. Study on drought resistance of five annual medics in Kermanshah province. Iranian journal of Range and Desert Research, 15(2): 283-294. (In Persian)

Fan J, Hao M, Malhi SS, Wang Q and Huang M. 2011. Influence of 24 annual applications of fertilisers and/or manure to alfalfa on forage yield and some soil properties under dryland conditions in northern China. Crop and Pasture Science, 62(5): 437-443.

Fang Y, Huang H, Cui Z, He HH and Liu Y. 2020. Trade-off between forage crop productivity and soil nutrients at different ages of alfalfa grassland. Land Degradation & Development, 32: 374–386.

Gharib FA, Moussa LA and Massoud ON. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. International Journal of Agriculture and Biology, 10 (4): 381-387.

Gong X, Li S, Sun X, Wang L, Cai L, Zhang J and Wei L. 2018. Green waste compost and vermicompost as peat substitutes in growing media for geranium (*Pelargonium zonale* L.) and calendula (*Calendula officinalis* L.). Journal of Scientia Horticulturae, 236: 186-191.

Goswami D, Thakker JN and Dhandhukia PC. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Cogent Food and Agriculture, 2: 1-19.

Gresta F, Avola G, Lombardo GM, Siracusa L and Ruberto G. 2008. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. Scientia Horticulturae, 119 (3): 320-324.

Gu YJ, Han CL, Fan JW, Shi XP, Kong M, Shi XY, Siddique HM, Zhao YY and Li FM. 2018. Alfalfa forage yield, soil water and P availability in response to plastic film mulch and P fertilization in a semiarid environment. Field Crops Research, 215: 94-103.

Hakl J, Fuksa P, Šantrůček J and Mášková K. 2011. The development of lucerne root morphology traits under high initial stand density within a seven-year period. Plant Soil and Environment, 57(2): 81-87.

Hakl J, Kunzova E and Konecna J. 2016. Impact of long-term organic and mineral fertilization on lucerne forage yield over an 8-year period. Plant Soil and Environment, 62(1): 36-41.

Huang Z, Liu Y, Cui Z, Fang Y, He H, Liu BR and Wu GL. 2018. Soil water storage deficit of alfalfa (*Medicago sativa*) grasslands along ages in arid area (China). Field Crops Research, 221: 1-6.

Kaur G and Reddy MS. 2014. Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. European Journal of Soil Biology, 61: 35-40.

Keshavarz Zarjani J, Aliasgharzad N, Oustan S, Emadi M and Ahmadi A. 2013. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. Archives of Agronomy and Soil Science, 59(12): 1713-1723 .

Khan MS, Ahmad Zaidi E and Oves M. 2013. Functional aspect of phosphatesolubilizing bacteria: importance in crop production. In: Maheshwari. D.K. et al (eds) Bacteria in agrobiology: crop productivity. Springer, Berlin: 237–265.

Kumar VP, Singh MA, Jorquera P, Sangwan P, Kumar A, Verma K and Sanjeev A. 2015. Isolation of phytase-producing bacteria from Himalayan soils and their effect on growth and phosphorus uptake of Indian mustard and Egyptian clover. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29: 1361–1369.

Macolino S, Lauriault LM, Rimi F and Ziliotto U. 2013. Phosphorus and potassium fertilizer effects on alfalfa and soil in a non-limited soil. Agronomy Journal, 105: 1613-1618.

Madani H, Sajedi N and Gholipoor Fadashk H. 2015. Improvement of quality and quantity of alfalfa forage yield by using chemical and bio-fertilizers. Journal of Crop Ecophysiology, 36 (4): 583-598 (In Persian).

Majidi A and Amiri P. 2013. Biofertilizers of Mycorrhiza fungi are a turning point in reducing the effects of environmental stress on crop production. Journal of Engineering and Natural Resources, 11 (42): 21-18.

Malhi SS. 2011. Relative response of forage and seed yield of alfalfa to sulfur, phosphorus, and potassium fertilization. Journal of Plant Nutrition, 34 (6): 888-908.

Miri K. 2008. Study of the effect of cultivation method and seed rate on Nikshahri alfalfa forage yield, 10th Iranian Congress of Crop Science and Plant Breeding, Karaj, Iran (In Persian).

Nassal D, Spohn M, Eltlbany N, Jacquiod S, Smalla K, Marhan S and Kandeler E. 2018. Effects of phosphorus-mobilizing bacteria on tomato growth and soil microbial activity. Plant and Soil, 427(1): 17-37.

Nekoyanfar Z, Lack S and Abadouz GR. 2017. Assessment Effect of Cutting Time and Soil Salinity on Quality and Quantity Forage Yield of Five Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties under Ahvaz Conditions. The Plant Production, 40(3): 113-128 (In Persian).

Nosheen S, Ajmal I and Song Y. 2021. Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. Sustainability, 13(4): 1868.

Panpan Z, Bo Y, Mengke X, Xiaoying C, Lingwei X and Jihong J. 2017. Evaluation of the effect of plant growth promoting endophytic bacteria from *Pinellia ternata* using an efficient organic silica hybrid monolithic column. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 11(4): 282-290.

Patel SH, Viradiya MB and Prajapati BJ. 2021. Effect of potassium and potassium mobilizing bacteria (KMB) with and without FYM on yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 10(1): 1615-20.

Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, Terzano R, Cesco S and Crecchio C. 2015. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. Biology and Fertility of Soils, 51: 403-415.

Prajapati K, Sharma MC and Modi HA. 2013.Growth promoting effect of potassium solubilizing microorganisms on Okra (*Abelmoscus esculantus)*. International Journal of Agriculture Sciences, 3(1): 181-188.

Radovic J, Sokolovic D and Markovic J. 2009. Alfalfa-most important perennial forage legume in animal husbandry. Biotechnology in Animal Husbandry, 25: 465-475.

Raymond NS, Gómez-Muñoz B, van der Bom FJ, Nybroe O, Jensen LS, Müller-Stöver DS, Oberson A and Richardson AE. 2021. Phosphate-solubilising microorganisms for improved crop productivity: a critical assessment. New Phytologist. 229 (3): 1268-77.

Sezen A, Ozdal M, Koc K and Algur OF. 2016. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on improving growth of wheat. Journal of Applied Biological Sciences, 10(1): 41-46.

Shaheen AM, Rizk FA, Abdel-Aal FS and Habib HAM. 2011. Production of safe and economic onion bulbs. International Journal of Academic Research, 3(1): 527-532

Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH and Gobi TA. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. Springerplus, 2: 587.

Stefano M, Leonard M, Rimi LF and Ziliotto U. 2013. Phosphorus and potassium fertilizer effects on alfalfa and soil in a non-limited soil. Agronomy Journal, l05(6): 1613-1618.

Tookalloo MR and Rashed Mohassel MH. 2009. The effect of planting date, corm weight and gibbereins concentration on quantity and quality characteristics of saffron.3th International Symposium on Saffron Biology and Technology, Kozani, Greece. 51.

Veneklaas EJ, Lambers H, Bragg J, Finnegan PM, Lovelock CE and William C. 2012. Opportunities for improving phosphorus use efficiency in crop plants. New Phytologist, 195(2): 306-320.

Verma SK, Kingsley K, Bergen M, English C, Elmore M, Kharwar RN and White JF. 2018. Bacterial endophytes from rice cut grass (*Leersia oryzoides* L.) increase growth, promote root gravitropic response, stimulate root hair formation, and protect rice seedlings from disease. Plant and Soil, 422(1-2): 223-238.

Vessey JK. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as bio-fertilizer. Plant and Soil, 255: 571-586.

Wahyudi AT, Astuti RP, Widyawati A, Meryandini A and Nawangsih AA, 2011. Characterization of Bacillus sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 3(2): 34-40.

Walpola BC and Yoon M. 2013. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake. African Journal of Microbiology Research, 7(3): 266-275.

Wu GL, Liu ZH, Zhang L, Hu TM and Chen JM. 2010. Effects of artificial grassland establishment on soil nutrients and carbon properties in a black-soil-type degraded grassland. Plant and Soil, 333(1-2): 469-479.

Zamanian M. 2003. Evaluation of quantitative and qualitative forage yield of alfalfa cultivars in different cuts. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 10 (1): 82-73.