مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی
جلد پنجم، شماره دوم، نیمه دوم ۹۱
۱۴۷-۱۵۹

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

اثر کاربرد کودهای بیولوژیک و سولفات روی بر رشد و عملکرد گیاه دارویی شنبلیله تحت شرایط تنش خشکی در منطقه شهرکرد

سیف‌اله فلاح[1*]، منیر نظری[2]

۱. دانشیار اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد؛

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۵

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده است که تولید محصولات زراعی در مناطق نیمه‌خشک را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از این رو، به منظور بررسی تأثیر کاربرد جداگانه و تلفیقی ازتوباکتر، میکوریزا و سولفات روی بر رشد و عملکرد شنبلیله، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد در سال زراعی ۱۳۹۱ اجرا شد. دو سطح آبیاری (شامل آبیاری نرمال به عنوان بدون تنش و قطع آبیاری در اوایل گل‌دهی به مدت ۱۲ روز به عنوان تنش خشکی) در کرت‌های اصلی و تیمارهای کودی شامل سولفات روی، ازتوباکتر، میکوریزا، سولفات روی+ ازتوباکتر، سولفات روی+ میکوریزا، سولفات روی+ میکوریزا+ ازتوباکتر و شاهد (NPK)، در کرت‌های فرعی مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در شرایط آبیاری مطلوب، بیشترین شاخص سطح برگ شنبلیله با کاربرد سولفات روی و یا تیمارهای دارای میکوریزا بدست آمد. همچنین بیشترین تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه به ترتیب با تیمارهای سولفات روی+ ازتوباکتر، سولفات روی و سولفات روی+ میکوریزا حاصل شد. اگرچه در شرایط آبیاری مطلوب، تیمار سولفات روی+ میکوریزا دارای بیشترین عملکرد دانه (۲۲۴۵ کیلوگرم در هکتار) بود، ولی در شرایط تنش خشکی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای کودی مشاهده نشد. به طور کلی کاربرد تلفیقی سولفات روی با میکوریزا به منظور بهبود عملکرد دانه شنبلیله در شرایط آبیاری نرمال و همچنین حفظ تولید مطلوب در شرایط تنش خشکی مهم می‌باشد.

***واژه‌های کلیدی*: ازتوباکتر، سولفات روی، قطع آبیاری، میکوریزا**

مقدمه

خشکسالی مشکل شایعی است که به صورت جدی کمیت و کیفیت تولیدات کشاورزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از طرفی، با توجه به گسترش روز افزون مسئله تغییر اقلیم موقعیت کشاورزی آینده را دشوارتر می‌نماید (Khalafallah and Abu-Ghalia, 2008). بیش از ۵۰ درصد مناطق جهان در قسمت خشک و نیمه خشک واقع شده‌اند یا در معرض نوعی از تنش خشکی هستند (Pereyra et al., 2006). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد محصولات زراعی در این مناطق می‌باشد و اثرات بسیار نامطلوبی بر رشد گیاه و تولید گیاهان زراعی می‌گذارد. پاسخ گیاهان به تنش خشکی در سطح سلولی و مولکولی، رشد و عملکرد آنان را محدود می‌کند (Abbaspour, 2010; Benabdellah et al., 2011). بنابراین، استفاده از تکنیک‌های زراعی از جمله کاربرد کودهای بیولوژیک و یا تقویت شرایط بیولوژیکی خاک ممکن است در کاهش اثرات تنش مؤثر باشد.

مطالعات اخیر محققان نشان می‌دهد که گروهی از ریزجانداران مفید خاک همچون ریزوباکترهای محرک رشد گیاه[1] و نیز قارچ میکوریزا می‌توانند به رشد بهتر گیاه

[1] Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

نگارنده پاسخگو: سیف اله فلاح. آدرس: شهرکرد- دانشگاه شهرکرد- دانشکده کشاورزی- گروه زراعت.
پست الکترونیک: falah1357@yahoo.com

خصوصاً تحت شرایط تنش کمک کنند (Grover et al, 2010). علاوه بر این، عناصر ریزمغذی نیز ممکن است در کاهش اثرات تنش خشکی بر گیاهان مؤثر باشند. زیرا این عناصر برای رشد طبیعی گیاهان مورد نیاز هستند و ضمن شرکت در ساختار بعضی از اندامک‌ها، در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دخالت دارند. به عنوان مثال، عنصر روی در تولید هورمون‌های رشد (اکسین) و انجام فتوسنتز، عنصر بر در تقسیم سلولی و آهن در تشکیل کلروفیل نقش دارند (Ravi et al., 2008).

قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا جزء اصلی فلور محیط ریشه گیاهان در بوم نظام‌های طبیعی می‌باشند (Panwar and Tarafdar, 2006) و رابطه همزیستی با بیشتر نهاندانگان از جمله چندین گونه گیاه دارویی دارند (Srivastava and Basu, 1995; Venkateshwar Rao et al., 2000). گیاهان تلقیح شده با میکوریزا همواره کارایی مصرف آب بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده نشان می‌دهند، زیرا قارچ میکوریزا از طریق تولید هیف، سطح جذب رطوبت را برای گیاه افزایش می‌دهد (Mirzakhani et al., 2009). میکوریزا همچنین سبب افزایش تحمل گیاهچه به خشکی (Grover et al., 2010) دمای زیاد، آلودگی قارچ‌های بیماری‌زا و حتی اسیدیته بالای خاک می‌شود (Song, 2005). بررسی‌ها نشان داده است که تلقیح بذور گندم با ازتوباکتر بر عملکرد بیولوژیک، درصد پروتئین دانه، شاخص سطح برگ و نیز جذب عناصر نیتروژن، فسفر و آهن اثر مثبت و معنی‌داری داشت (Rajai et al., 2007). بنا به اظهار دیگر محققان، کاربرد ازتوباکتر نسبت به شاهد در گندم سبب افزایش ۱۲/۶ درصدی عملکرد دانه گردید (Kumar et al., 2001). گزارشات دیگر حاکی از آن است که کاربرد ریزوباکترهای محرک رشد و از آن جمله ازتوباکتر سبب بهبود قدرت جوانه‌زنی و رشد برنج می‌شود و این مزیت در ابتدای رشد منجر به افزایش عملکرد دانه در هنگام رسیدگی است (Biswas et al., 2000). همچنین تیمار بذور با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم سبب بهبود کارایی جذب عناصر، تولید تیامین ریبوفلاوین و مواد محرک رشد می‌گردد (Bahrani et al., 2010). تحقیقات نشان داد که تعداد گل و میوه گوجه فرنگی در حضور میکوریزا و تحت شدت‌های مختلف تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش یافت (Subramanian et al., 2006).

علی‌رغم تحقیقات گسترده‌ای که در مورد تأثیر کودهای بیولوژیک تحت شرایط خشکی بر روی گیاهان زراعی انجام شده است، اطلاعات موجود در مورد اثرات این نوع کودها بر گیاهان دارویی بسیار اندک است. در همین راستا، گزارشات مختلف حاکی از آن است که تلقیح گیاه نعناع، گشنیز، شوید و زنیان با قارچ مایکوریزا به طور قابل توجهی ارتفاع بوته، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد بیولوژیکی را افزایش داد (Kapoor et al., 2002, 2004; Gupta et al., 2002).

با توجه به اهمیت تولید گیاه دارویی شنبلیله (Ebubekir et al., 2005)، و از طرفی روند گسترش تنش خشکی، بهبود شرایط تغذیه‌ای در این محصول به گونه‌ای که اثرات تنش خشکی را تعدیل نماید حائز اهمیت است و بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات کاربرد جداگانه و تلفیقی کود سولفات روی و کودهای بیولوژیک تحت شرایط تنش خشکی بر رشد و عملکرد شنبلیله اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۱۱۶ متر از سطح دریا در سال زراعی ۱۳۹۱ انجام گردید. قبل از انجام آزمایش، به منظور تعیین خصوصیات شیمیایی خاک، نمونه مرکبی از تمام نقاط زمین از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر تهیه گردید و برای تجزیه به آزمایشگاه انتقال یافت. بافت خاک لوم سیلتی، اسیدیته آن ۸/۱۵، و هدایت الکتریکی ۰/۶۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. میزان نیتروژن کل آن ۰/۰۵۹ درصد و فسفر قابل دسترس، پتاسیم قابل دسترس و روی قابل دسترس نیز به ترتیب ۶/۳، ۳۱۸ و ۰/۴۸ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. دو سطح آبیاری (شامل آبیاری نرمال به عنوان بدون تنش و قطع آبیاری در اوایل گل‌دهی به مدت ۱۲ روز به عنوان تنش خشکی) در کرت‌های اصلی و تیمارهای کودی شامل شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر، میکوریزا، کود سولفات روی+ ازتوباکتر، کود سولفات روی+ میکوریزا و کود سولفات روی+ میکوریزا+ ازتوباکتر در کرت‌های فرعی مورد

مقایسه قرار گرفتند. از قارچ میکوریزا آربوسکولار گونه *Glomus intraradaices* تهیه شده از شرکت زیست فناوران توران و ازتوباکتر گونه *Azotobacter chroococcum* تهیه شده از شرکت مهر آسیا استفاده شد. برای تلقیح بذور با مایه تلقیح باکتری با تعداد 10^8 سلول زنده در هر گرم، بذور را با این مایه مخلوط نموده به طوری که یک پوشش کاملاً یکنواخت از این مایه‌های تلقیحی روی سطح بذور تشکیل گردید. از قارچ *Glomus intraradice* به صورت مخلوطی از اسپور (تعداد اسپور زنده قارچ که هر گرم خاک حاوی ۵۰ تا ۱۵۰ اسپور بود)، هیف و قطعات جدا شده ریشه‌های آلوده به عنوان تلقیح کننده (حاوی ریشه‌های گیاهان میکوریزی شده و ریسه‌های قارچ میکوریزا ۲۰ تا ۵۰ متر در هر گرم خاک) در عمق ۲ سانتی‌متری زیر هر بذر استفاده شد. در تیمارهای دارای روی، مقدار ۴۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات روی به صورت پیش کاشت به خاک اضافه شد. با توجه به نتایج آزمون خاک، ۱۱۰ کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل به صورت پیش کاشت به خاک اضافه شد.

در نیمه اردیبهشت بذور شنبلیله در ردیف‌هایی با فاصله ۲۵ سانتی‌متر با تراکم بالا (۷۰ بوته در متر مربع) در عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متری کشت شدند. سپس در مرحله ۶-۴ برگی برای رسیدن به تراکم مناسب (۵۰ بوته در متر مربع) تنک شدند. اولین آبیاری پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی هر ۵-۷ روز یک‌بار تا زمان اعمال تنش با روش آبیاری بارانی انجام شد. آفت و بیماری خاصی در طول دوره رشد مشاهده نشد. وجین علف‌های هرز در دو مرحله قبل از شروع گل‌دهی و یک مرحله در زمان شروع گل‌دهی به صورت دستی انجام شد.

در پایان دوره رشد همزمان با رسیدگی فیزیولوژیک (زرد شدن برگ‌ها و غلاف‌ها) از هر کرت ۲۰ بوته با در نظر گرفتن اثرات حاشیه‌ای به طور تصادفی انتخاب شده و سپس میانگین ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن خشک اندام‌های هوایی، شاخص سطح برگ اندازه گیری شد. پس از تعیین سطح برگ بوته‌های فوق‌الذکر با دستگاه سطح برگ سنج مدل AM 200، وزن خشک اندام‌های هوایی با استفاده از دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آون به مدت ۴۸ ساعت تعیین شد. برای تعیین عملکرد نهایی پس از حذف اثر حاشیه‌ای کل بوته‌های هر کرت کف‌بر شده و پس از کوبیدن، دانه‌ها جدا و بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه گردید. شاخص برداشت نیز از نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک به صورت درصد محاسبه شد.

داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.0 تجزیه و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

تأثیر کلیه عوامل آزمایشی بر ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط بدون تنش خشکی در بین تیمارهای مختلف کودی، ارتفاع بوته شنبلیله با کاربرد جداگانه سولفات روی و یا ترکیب کاربرد سولفات روی + میکوریزا نسبت به شاهد به میزان ۱۷ درصد افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی، تیمارهای شاهد، ازتوباکتر، میکوریزا و ترکیب سولفات روی + میکوریزا + ازتوباکتر نسبت به شرایط غیر تنش کاهش معنی‌داری نشان ندادند، ولی در سایر تیمارهای کودی اثر تنش بر کاهش ارتفاع بوته معنی‌دار بود (شکل ۱). مقایسه میانگین‌ها حاکی است که کاهش ارتفاع بوته در شرایط تنش تحت تیمارهایی از قبیل سولفات روی و ترکیب دو کود بیولوژیک معنی‌دار بود و با این حال نیز ارتفاع آن‌ها با شرایط بدون تنش اغلب تیمارهای دیگر برابر بوده است. فراهم بودن شرایط مناسب برای افزایش ارتفاع بوته تحت تیمارهای سولفات روی و یا میکوریزا باعث شده است که حتی کاهش بخشی از ارتفاع بوته در اثر تنش خشکی نتواند ارتفاع بوته را نسبت به دیگر تیمارها کاهش دهد. محققان نیز اظهار داشتند که عنصر روی با اثراتی که در ساخته شدن هورمون اکسین دارد باعث افزایش رشد طولی ساقه می‌شود (Karimi and Siddique, 1991; Castr and Sotomayor, 1997; Malakouti and Tehrani, 2000). همچنین بیان شده است که قارچ مایکوریزا با ایجاد همزیستی با ریشه گیاهان باعث بهبود جذب مواد مغذی به خصوص عناصر کم تحرکی نظیر فسفر، روی و مس شده (Ortasa et al., 2011; Saia et al., 2012) و از این طریق موجب افزایش ارتفاع بوته می‌گردد (Benabdellah et al., 2011).

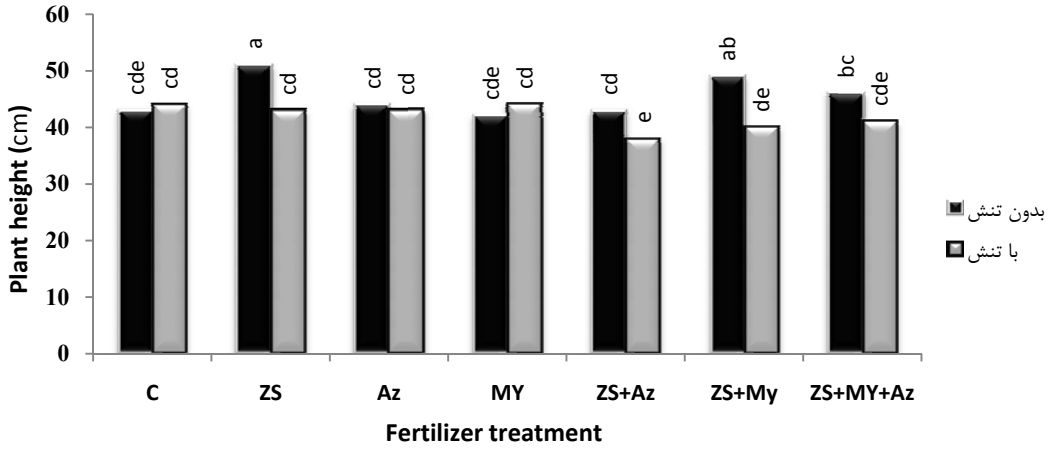
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات کود دهی و تنش خشکی بر ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف گیاه دارویی شنبلیله.

Table 1. Analysis of variance (Mean of squares) for plant height, leaf area index, pod/plant, and grain/pod of fenugreek medicinal plant as affected by drought stress and fertilizer.

منبع تغییرات Source of variation		درجه آزادی DF	ارتفاع بوته Plant height	شاخص سطح برگ Leaf area index	تعداد غلاف در بوته Pods per plant	تعداد دانه در غلاف Grains per pod
Replication (R)	تکرار	2	35^{*}	0.04^{ns}	8^{**}	1.45^{ns}
Drought stress (D)	تنش خشکی	1	122^{**}	0.8^{**}	127^{**}	0.08^{ns}
Error a	خطای a	2	2.80	0.032	0.016	0.42
Fertilizer (F)	کود	6	25^{**}	0.08^{ns}	9^{**}	6.6^{**}
F×D	کود × تنش خشکی	6	26^{*}	0.12^{*}	8^{**}	3.3^{**}
Error b	خطای b	24	8	0.045	2	0.95
CV (%)	*ضریب تغییرات (٪)*		*6*	*19*	*10*	*9*

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

* and ** means significant at 5% and 1% probability levels, respectively; ns is non-significant.



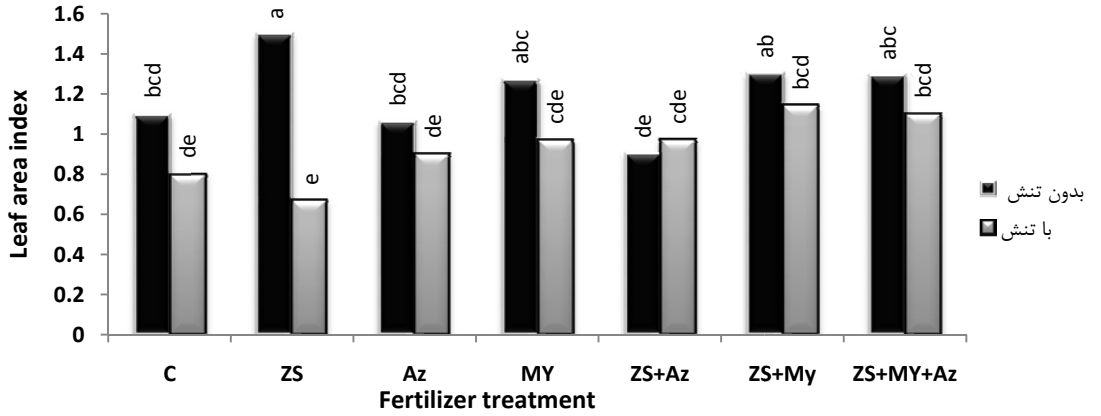
شکل ۱. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر ارتفاع گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 1. Interaction of drought stress by fertilizer for plant height of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.

شاخص سطح برگ

اثرات اصلی تنش و اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر شاخص سطح برگ معنی‌دار بود اما اثر اصلی کود دهی بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد سولفات روی و همچنین سولفات روی+ میکوریزا و کاربرد میکوریزا باعث افزایش معنی‌دار شاخص سطح برگ نسبت به شاهد گردید (P≤۰/۰۱)، اما تیمارهای دارای ازتوباکتر اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند (شکل ۲). در شرایط تنش خشکی بیشترین میزان شاخص سطح برگ در تیمار میکوریزا + سولفات روی حاصل شد ولی اختلاف آن فقط با تیمار کاربرد دو منبع بیولوژیک معنی‌داری نبود. بنابراین استفاده از تیمارهای دارای کود بیولوژیک به ویژه میکوریزا علاوه بر اینکه در شرایط آبیاری نرمال از سطح برگی معادل سولفات روی جداگانه برخوردار بوده بلکه در شرایط تنش نیز از کاهش سطح برگ گیاه جلوگیری خواهند نمود. به نظر می‌رسد روی با نقشی که

در ساخته شدن آنزیم‌های مسئول فتوسنتز، سوخت و ساز دارد سبب بالا بودن شاخص سطح برگ در گیاه شود و مایکوریزا نیز در شرایط آبیاری نرمال با تأثیر مثبتی که در جذب روی داشته است (Ortasa et al., 2011; Saia et al., 2012)، توانسته باعث افزایش سطح برگ گردد. در شرایط تنش نیز حضور توأم ازتوباکتر و میکوریزا علاوه بر جذب بهتر عنصر روی احتمالاً با جذب بهتر نیتروژن موجب تقویت سیستم فتوسنتزی و در نتیجه افزایش رشد برگ‌ها شده است.



شکل ۲. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر شاخص سطح برگ گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 2. Interaction of drought stress by fertilizer for leaf area index (LAI) of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.

تعداد غلاف در بوته

تعداد غلاف در بوته به طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات اصلی و متقابل تنش خشکی و کود دهی قرار گرفت (جدول ۱). در شرایط بدون تنش خشکی کلیه کرت‌های دریافت کننده کود برتری معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند، ولی در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری بین تعداد غلاف در بوته در تیمارهای مختلف وجود نداشت (شکل ۳). بیشترین تعداد غلاف در بوته برای کاربرد سولفات روی + ازتوباکتر در شرایط بدون تنش بدست آمد که با شرایط استفاده از میکوریزا + سولفات روی اختلاف معنی‌داری نداشت. می‌توان اظهار داشت که استفاده از سولفات روی به همراه ازتوباکتر و میکوریزا از طریق تغذیه مناسب و افزایش توان فتوسنتزی گیاه، موجبات افزایش گل‌دهی و بهبود تعداد غلاف در بوته را فراهم می‌آورد که این موضوع با نتایج گزارش شده در گیاه شوید و زنیان (Kapoor et al., 2004)، گیاه سیاه‌دانه (Khorramdel et al., 2008) و گیاه کلزا (Omidian et al., 2012) مطابقت داشت.

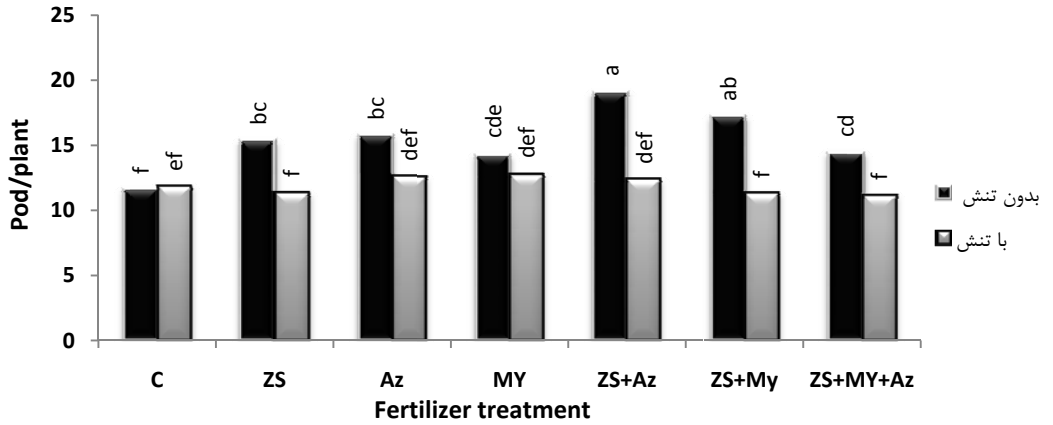
تعداد دانه در غلاف

اثرات اصلی خشکی و اثر متقابل بین تنش خشکی و کود بر تعداد دانه در غلاف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر اصلی کود بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). در شرایط تنش خشکی بیشترین تعداد دانه در غلاف با کاربرد سولفات روی حاصل شد به طوری که برتری معنی‌داری نسبت به شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی سایر تیمارها داشت (شکل ۴). تنش خشکی فقط در تیمار شاهد موجب کاهش معنی دار تعداد دانه در نیام گردید ($P\leq ۰/۰۱$). به نظر می‌رسد تأثیر تنش خشکی بر کاهش تعداد غلاف در بوته (شکل ۴) باعث کاهش رقابت مخازن فیزیولوژیکی شده است و در نتیجه تعداد دانه تشکیل شده در بوته را افزایش داده است. همچنین میانگین‌های ارائه

شده در شکل ۴ بیانگر آن است که دسترسی اندک به عنصر روی در تیمار شاهد موجب شد که تنش خشکی کاهش شدیدی در تعداد دانه در غلاف این تیمار را سبب شود. ولی در تیمارهای دیگر استفاده از سولفات روی و با تأثیر کودهای بیولوژیک بر جذب عنصر روی باعث جلوگیری از کاهش تشکیل دانه حتی در مورد سولفات روی جداگانه منجر به افزایش تشکیل دانه شده است. تعداد غلاف در بوته یکی از مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده عملکرد دانه محسوب می‌شود، زیرا غلاف‌ها حاوی دانه‌ها بوده و در مراحل اولیه پر شدن دانه از طریق انجام فتوسنتز در رشد و تکامل دانه‌ها مشارکت می‌کنند (Shiranirad et al., 2010). از آن جایی که عنصر روی در سنتز پروتئین لوله گرده شرکت دارد، منجر به افزایش گرده افشانی و تشکیل میوه و دانه می‌شود (Morshedi and Naghibi, 2004; Yang et al., 2009). دیگر گزارشات حاکی از آن می‌باشد که کاربرد هم زمان باکتری ازتوباکتر و قارچ میکوریزی اثرات مثبت و سینرژیستی روی گیاه گندم داشت که این امر امکان دسترسی گیاه به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (Behl et al., 2003).

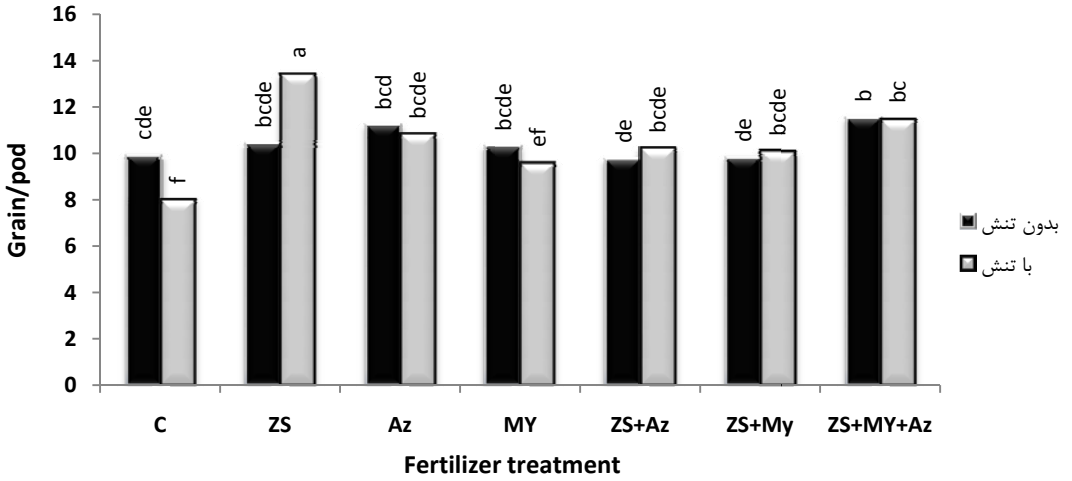
وزن هزار دانه

اثر کلیه عوامل آزمایش بر وزن هزار دانه گیاه شنبلیله معنی‌دار شدند ($P\leq$۰/۰۱) (جدول ۲). تیمارهای کودی در شرایط تنش خشکی وزن هزار دانه را نسبت به شاهد تغییر ندادند. این در حالی است که در شرایط آبیاری نرمال کاربرد میکوریزا + سولفات روی بیشترین میزان وزن هزار دانه را دارا بود ولی با تیمار ازتوباکتر تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵). در تیمارهایی که دارای دانه سنگین‌تری بودند به دلیل داشتن تعداد دانه در بوته به میزان متعادل احتمالاً تعادل بهتری بین افزایش قدرت مبدأ و کاهش رقابت مخازن در این تیمارها برقرار بوده است. از آنجا که سیستم فتوسنتزی و فعالیت آن تحت تأثیر روی (Ben Ghnaya, 2007) و سیستم زایشی گیاه تحت تأثیر فسفر قرار می‌گیرد (Shiranirad et al., 2010) و همچنین همزیستی میکوریزایی سبب افزایش پتانسیل جذب ریشه گیاه می‌شود و جذب عناصر غذایی از جمله یون‌های فلزی مانند روی و آهن را به وسیله گیاهان تحریک می‌کنند و نتیجتاً در افزایش توان فتوسنتزی گیاه طی پر شدن دانه مؤثر بوده است. این یافته علاوه بر تطابق با نتایج گزارش شده در مورد گیاه گشنیز (Aliabadi Farahani and Vldabady, 2009) بیانگر نقش عنصر روی در سنتز پروتئین لوله گرده و در نتیجه افزایش گرده افشانی و تشکیل میوه و دانه می‌باشد (Morshedi and Naghibi, 2004).



شکل ۳. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر تعداد غلاف در بوته گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 3. Interaction of drought stress by fertilizer for pods per fenugreek plant. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.



شکل ۴. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر تعداد دانه در غلاف گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 4. Interaction of drought stress by fertilizer for grains per pod of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات کود دهی و تنش خشکی بر وزن هزار دانه ، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و شاخص برداشت گیاه دارویی شنبلیله.

Table 2. Analysis of variance (Mean Squares) for 1000 seed weight, biological yield, grain yield, and harvest index of fenugreek medicinal plant as affected by drought stress and fertilizer.

منبع تغییرات Source of variation		درجه آزادی DF	وزن هزار دانه 1000 seed weight	عملکرد دانه Grain yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index
Replication (R)	تکرار	2	4.9*	31085^{ns}	27402^{ns}	18
Drought stress (D)	تنش خشکی	1	31**	3464091**	1150059**	74.66^{ns}
Error a	خطای a	2	.37	366676	21484	82.59
Fertilizer (F)	کود	6	5.51**	587330^{ns}	652647**	329**
F×D	کود × تنش خشکی	6	3.8*	620779*	188705*	57.11^{ns}
Error b	خطای b	24	1.36	272691	54658	68.15
CV (%)	*ضریب تغییرات (٪)*		*7*	*15*	*17*	*21*

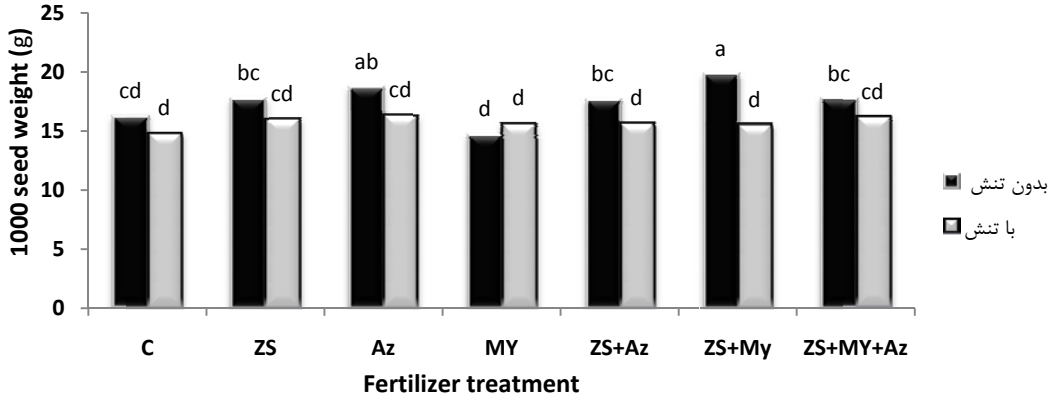
ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

* and ** means significant at 5% and 1% probability levels, respectively; ^{ns} is non-significant.

عملکرد دانه

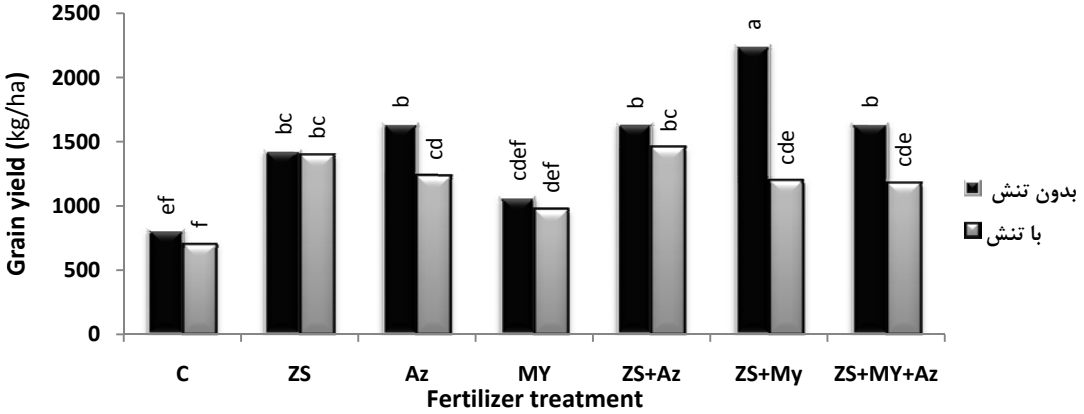
اثر تنش خشکی، کود و اثر متقابل بین دو عامل بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۲). به طور کلی تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه در تیمارهای ازتوباکتر، میکوریزا، میکوریزا+ سولفات روی گردید ولی در سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر تغییر عملکرد دانه نسبت به شرایط آبیاری کامل نداشت (شکل ۶). در همزیستی میکوریزایی قند، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و برخی مواد آلی دیگر را از میزبان توسط قارچ دریافت می‌شود که به نظر می‌رسد در شرایط تنش مصرف مقدار زیاد انرژی گیاه شنبلیله برای قارچ همزیست موجب کاهش عملکرد آن شده است (Kothamasi et al., 2001; Bhoopander et al., 2005). تحت شرایط آبیاری نرمال، عملکرد دانه در تیمار ترکیب سولفات روی + میکوریزا نسبت به سایر

تیمارها برتری معنی‌داری داشت (شکل ۶). از آنجا که عملکرد دانه تابع تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه می‌باشد، بنابراین افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته (شکل ۳) و همچنین افزایش معنی‌دار وزن هزار دانه تیمار میکوریزا تحت شرایط آبیاری نرمال (شکل ۵) موجب افزایش عملکرد دانه شده است. بنابراین، بهبود اجزاء زایشی و نقش جبرانی اجزاء عملکرد به دلیل فراهمی روی و فسفر برای گیاه در شرایط استفاده از روی و میکوریزا این برتری را ایجاد نموده است (Yi et al., 2008). نتیجه دیگر مطالعات نیز حاکی است که کاربرد روی موجب افزایش تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن دانه و افزایش عملکرد گندم شده است (Shafei et al., 2011; Rahimi Chegni et al., 2010)، اما در آزمایش دیگری عدم تأثیر عنصر روی در افزایش عملکرد دانه سویا را گزارش شده است (Habibzade et al., 2002).



شکل ۵. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر وزن هزار دانه گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 5. Interaction of drought stress by fertilizer for 1000 grain weight of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.



شکل ۶. اثر متقابل تنش خشکی و کود بر عملکرد دانه گیاه شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

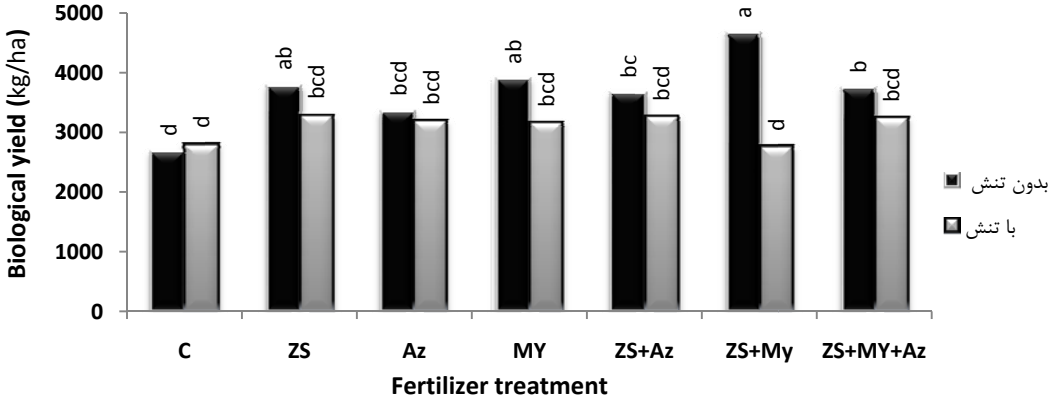
Fig. 6. Interaction of drought stress by fertilizer for grain yield of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.

عملکرد بیولوژیک

اثر متقابل کود و تنش خشکی بر عملکرد بیولوژیک شنبلیله معنی‌دار بود، ولی اثرات اصلی این دو عامل بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک در شرایط استفاده از کود بیولوژیک میکوریزا + سولفات روی بدست آمد (شکل ۷). علت بالا بودن عملکرد بیولوژیک در تیمار سولفات روی + میکوریزا را می‌توان علاوه بر بیشتر بودن رشد رویشی (شکل‌های ۱ و ۲) عمدتاً به افزایش عملکرد دانه این تیمار نسبت داد (شکل ۵). روی با نقشی که در ساخته شدن آنزیم‌های مسئول فتوسنتز، سوخت و ساز دارد سبب بالا بودن شاخص سطح برگ در گیاه می‌شود و قارچ‌های میکوریزا از طریق افزایش جذب عناصر غذایی (مانند فسفر، نیتروژن و برخی عناصر ریز مغذی) سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان می‌شود (Sylvia Sainz et al., 1998; and Williams, 1992)، که از این طریق می‌تواند باعث افزایش عملکرد بیولوژیک شود. اثر افزایش عملکرد بیولوژیک گشنیز و نعناع در شرایط کاربرد میکوریزا توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Kapoor et al., 2001; Freitas et al; 2004).

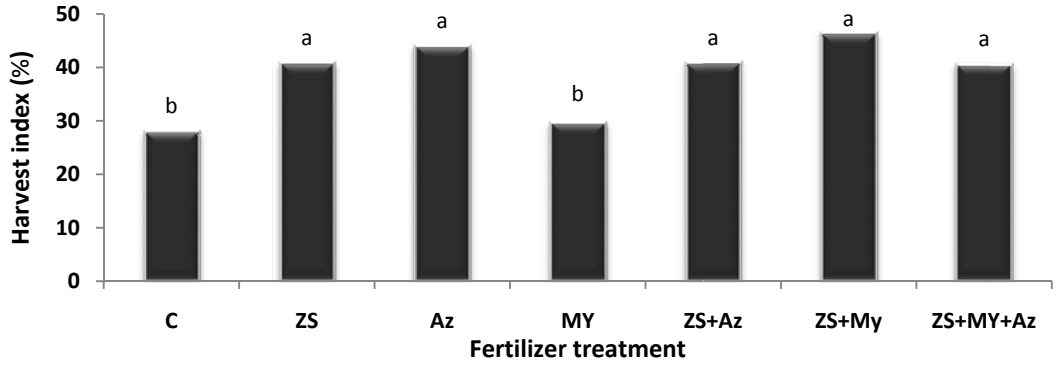
شاخص برداشت

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، فقط اثر اصلی کود بر شاخص برداشت شنبلیله معنی‌دار بود. شاخص برداشت در شرایط استفاده از ازتوباکتر و یا میکوریزا نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، این در حالی است که در دیگر کرت‌های دریافت کننده کود این صفت به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میانگین آن (۵۱/۴۳ درصد) با ترکیب میکوریزا + سولفات روی حاصل شده است (شکل ۶). دلیل این برتری می‌تواند افزایش ارتفاع بوته (شکل ۱) و افزایش سطح برگ (شکل ۲) و در نتیجه پر شدن دانه‌ها و افزایش عملکرد دانه باشد (شکل‌های ۵ و ۶). نشان داده شده است که کاربرد عنصر روی باعث افزایش شاخص برداشت سیاه دانه و پنبه می‌شود (Sawan et al; 2001; Sha'ban Zadeh and Glavi, 2010).



شکل ۷. اثر متقابل تنش خشکی و کود دهی بر عملکرد بیولوژیک شنبلیله. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 7. Interaction of drought stress by fertilizer for biological yield of fenugreek. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.



شکل ۸. شاخص برداشت شنبلیله تحت شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک و سولفات روی. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. C، ZS، Az و My به ترتیب نشان‌دهنده شاهد (NPK)، کود سولفات روی، ازتوباکتر و میکوریزا.

Fig. 8. Harvest index of fenugreek as influenced by biofertilizers and zinc sulfate. Means followed by the different letter were not significantly different (LSD test; ≤0.05). C: Control (NPK); ZS: Zinc sulfate; Az: *Azetobacter*; My: Mycorrhizae.

به طور کلی نتایج این آزمایش حاکی از آن بود که کاربرد سولفات روی به همراه کودهای زیستی با بهبود بخش‌های رویشی و پر شدن دانه گیاه شنبلیله نه تنها در شرایط آبیاری نرمال عملکرد را افزایش داد، بلکه در شرایط تنش خشکی نیز کاهش معنی‌دار عملکرد نسبت به دیگر تیمارهای کودی جلوگیری نمود. بنابراین، در سیستم‌های رایج تولید گیاهان دارویی که عمدتاً عناصر پرمصرف به عنوان کود مورد استفاده قرار می‌گیرد، کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی با کودهای بیولوژیک به منظور بهبود عملکرد دانه شنبلیله و همچنین حفظ تولید مطلوب در شرایط تنش خشکی مهم می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد در اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌نمائیم.

منابع

Abbaspour, H., 2010. Investigation of the effects of vesicular arboscular mycorrhiza on mineral nutrition and growth of *Cartamus tinctorius* under salt stress conditions. Russ. J. Plant Physiol. 57, 526-531.

Aliabadi Farahani, H., Vldabady, S.W., 2009. Rbs Kevlar role of mycorrhizal fungi on medicinal plants of coriander (*Coriandrum sativum* L.) under drought stress. J. Soil Res. (Soil Water Sci.). 24(1), 70-79. [In Persian with English Summary].

Bahrani, A., Pourreza, J., Haghjoo, M., 2010. Response of winter wheat to co-inoculation with *Azotobacter* and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under different sources of nitrogen fertilizer. Amer-Euar. J. Agric. Environ. Sci. 8, 95-103.

Behl, R.K., Sharma, H., Kumar, V., Singh, K.P., 2003. Effect of dual inoculation of VA mycorrhiza and *Azotobacter chroococcum* on above flag leaf characters in wheat. Argon. Soil Sci. 44, 25-31.

Ben Ghnaya, A., 2007. Morphological and physiological characteristics of rapeseed plants regenerated in vitro from thin cell layers in the presence of zinc. Plant Biol. 330, 728-734.

Benabdellah, K., Abbas, Y., Abourouh, M., Aroca, R., Azcón, R., 2011. Influence of two bacterial isolates from degraded and non-degraded soils and arbuscular mycorrhizae fungi isolated from semi-arid zone on the growth of *Trifolium repens* under drought conditions: Mechanisms related to bacterial effectiveness. Europ. J. Soil Biol. 47, 303-309.

Bhoopander, G., Huong Giang, P., Kumara, R., Prasad Sachdev, M., Garg, A.P., Oelmuller, R., Vanna, A.T., 2005. Mycorrhizosphere: Strategies and Function. Soil Biology Book Series, Vol 3. Springer Berlin Heidelberg.

Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G., Rolfe, B.G., 2000. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agron. J. 92, 880-886.

Castr, J., Sotomayor, C., 1997. The influence of boron and zinc sprays bloom time on almond fruit set. ISHS Acta Horticulturae 470: II International Symposium on Pistachios and Almonds.

Ebubekir, A., Engin, O., Faruk, T., 2005. Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds. J. Food Eng. 71, 37–43.

Freitas, M.S.M., Martins, M.A. Vieira, I.J.C., 2004. Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesqui. Agropecu. Bras. 9, 887-894.

Grover, M., Ali, S.K., Sandhya, Z., Abdul Rasul, V., Venkateswarlu, B., 2010. Role of microorganisms in adaption of agriculture crops to abiotic stresses. World J. Microbiol. Biotech. 27(5), 1231-1240.

Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M. Kumar, S., 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint *(Mentha arvensis)* under field conditions. Bioresour. Technol. 81, 77-79.

Habibzadeh, F., Amini, I., Mirnia, S.K., 2002. Effects of different potassium and zinc applications on yield and yield components of soybean. J. Agric. Sci. Nat. Resour. Khazar. 3, 66-79. [In Persian with English Summary].

Kapoor, R., Giri, B., Mukerji, K.G., 2002. *Glomus macrocarpum*: A potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in dill *(Anethum graveolens* L.*)* and carum (*Trachyspermum ammi* Sprague). World J. Microbiol. Biotech. 18(5), 459-463.

Kapoor, R., Giri, B., Mukerji, K.G., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in (*Foeniculum vulgare mill*) on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresour. Techno. 93, 307-311.

Karimi, M.M., Siddique, K.H.M., 1991. Crop growth and relative growth rates of old and modern wheat cultivars. Aust. J. Agric. Res. 42, 13-20.

Khalafallah, A.A., Abu-Ghalia, H.H., 2008. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and activity of antioxidant system in wheat plant subjected to short-term water stress followed by recovery at different growth stages. J. Appl. Sci. Res. 4(5), 559-569.

Khorramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., Ghorbani, R., 2008. Application effects of biofertilizers on the growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). J. Agric. Res. 6(2), 285-293. [In Persian with English Summary].

Kothamasi, D., Kuhad, R.C., Babu, C.R., 2001. Arbuscular mycorrhizae in plant survival strategies. Trop. Ecol. 42(1), 1-13.

Kumar, V., Behl, R.K., Narula, N., 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum*in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. Microbiol. Res. 156, 87-93.

Malakouti, M.J., Tehrani, M.M., 2000. Effects of Micronutrients on the Yield and Quality of Agricultural Products, (The Influence of Micro-macro Elements). Tarbiat Modarres University Press. 300 p. [In Persian].

Mirzakhani, M., Ardakani, M.R., Aeeneband, A., Shirani Rad, A.H., Rejali, F., 2009. Effects of dual inoculation of *Azotobacterand mycorrhiza* with nitrogen and phosphorus fertilizer rates on grain yield and some characteristics of spring safflower. Inter. J. Civil Environ. Eng. 1, 39-43.

Morshedi, A., Naghibi, H., 2004. Effects of foliar application of Cu and Zn on yield and quality of canola grain (*Brassica napus L.).* J. Agric. Sci. Nat. Res. 11(3), 15-22. [In Persian with English Summary].

Omidian, A., Siadat, S.A., Naseri, R., Moradi, M., 2012. Effect of foliar application of zinc sulphate on grain yield, oil and protein content in four rapeseed *(Brassica napus* L.*)* cultivars. Iran. J. Crop Sci., 14(1), 16-28. [In Persian with English Summary].

Ortasa, I., Sari, N., Akpinara, C., Yetisir, H., 2011. Screening mycorrhizae species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. Sci. Hort. 128, 92–98 .

Panwar, J., Tarafdar, J.C., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungal dynamics under Mitragyna parvifolia (Roxb.) Korth in Thar Desert. Appl. Soil Ecol. 34, 200-208.

Pereyra, M.A., Zalazar, C.A., Barassi, C.A., 2006. Root phospholipids in *Azospirillum*-inoculated wheat seedling exposed water stress. Plant Physiol. Biochem. 44, 873-879.

Rahimi Chegeni, R., Khorgami, A., Rafiei, M., Zeidi Toolabi, N., 2010. Effects of manganese and zinc sulfate fertilizers on the quantitative and qualitative characteristics of three irrigated wheat *(Triticum aestivum L.)* varieties in Khorram Abad. J. Agric. 4(5), 33-42. [In Persian with English Summary].

Rajai, S., Alikhani, H., Raisi, F., 2007. Potential of stimulating the growth of indigenous bacteria Azotobacter chroococcum on growth, yield and nutrient uptake in wheat. J. Agric. Sci. Nat. Res. 11(41), 285-287. [In Persian with English Summary].

Ravi, S., Channal, H.T., Hebsur, N.S., Patil, B.N., Dharmatti, P.R., 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius L.)*. Karnataka J. Agric. Sci. 21(3), 382-385.

Saia, S., Ruisi, P., García-Garrido, J.M., Benítez, E., Amato, G., Giambalvo, D., 2012. Can arbuscular mycorrhizal fungi enhance plant nitrogen capture from organic matter added to soil? 17th Nitrogen Workshop. 26-29 June, Wexford, Ireland.

Sainz, M.J., Taboada-Castro, M.T., Vilarino, A., 1998. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. Plant Soil. 205(1), 85-92.

Sawan, Z.M., Hafez. S.A., Basyony, A.E., 2001. Effect of nitrogen fertilization and foliar application of plant growth retardant and zinc on cotton seed, protein and oil yields and oil properties of cotton. J. Agron. Crop Sci. 186, 183-191.

Shabanzadeh, Sh., Glavi, M., 2010. Effect of foliar application of micro-nutrients and irrigation on crop yield and black grain characteristics. J. Environ. Stress Agric. Sci. 4(1), 1-9. [In Persian with English Summary].

Shafei, L., Saffari, M., Emam, Y., Mohammadi Nejad, G., 2011. Effect of nitrogen and zinc fertilizers on leaf zinc and chlorophyll contents, grain yield and chemical composition of two maize (*Zea mays L.*) hybrids. J. Agric. Seed Plant. 27(2), 235-246. [In Persian with English Summary].

Shiranirad, A.H., Naeemi, M., Nasr Esfahani, Sh., 2010. Evaluation of terminal drought stress toleranc in spring and winter rapeseed genotypes. Iran. J. Crop Sci. 12(2), 112-126. [In Persian with English Summary].

Song, H., 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanism. Elect. J. Biol. 1(3), 44-48.

Srivastava, N.K., Basu, M., 1995. Occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in some medicinal plants. In: Mycorrhizae: Biofertilizers for the Future. Adholeya, A., Singh, S. (Eds.). 3rd National Conference on Mycorrhiza, TERI, Delhi, India, pp. 58–61.

Subramanian, K.S., Santhakrishnan, P., Balasubramanian, P., 2006. Response of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. Sci. Hort. 107, 245-253.

Sylvia, D.M., Williams, S.E., 1992. Vesicular- Arbuscular Mycorrhizae and Environmental Stress: 101-124. In: Bethlenfalvay, G.J. and Linderman, R.G., (Eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. American Society of Agronomy, Medison Wisconsin, 124p.

Venkateshwar Rao, G.C., Manoharachary, C., Kunwari, I.K., Rajeshwar Rao, B.R., 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with some economically important spices and aromatic plants. Philippine J. Sci. 129, 1-5.

Yang, M., Shl, L., Fang, S., Lu, J.W., Wang, Y.H., 2009. Effects of B, Mo, Zn, and their interactions on grain yield of rapeseed (*Brassica napus* L.). Pedosphere, 19(1): 53-59.

Yi, Z., Wang, P., Tao, H., Zhang, H., Shen, L., 2008. Effect of types and application rates of nitrogen fertilizer on the development and nitrogen utilization of summer maize. Frontiers Agric. China. 2: 44-49.