نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۱ شماره ۳ / سال ۱۴۰۰ صفحات ۱۶۷-۱۴۹

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه(PGPB) و قارچ‌های میکوریز بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر و بنیه گیاهچه سه دورگ ذرت

آیدین حمیدی[۱*]، احمد اصغرزاده[۲]، علی خلوتی[۳]، سپیده اکبری والا[۴]، رجب چوکان[۵]

تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۳

۱-دانشیار پژوهش سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال-کرج
۲- دانشیار پژوهش سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، بخش بیولوژی خاک-کرج
۳- دانشیار بخش زیست‌شناسی، دانشگاه کوئین، تورونتو(کانادا) و محقق مدعو دانشگاه بسفر ترکیه
۴-کارشناس سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، بخش بیوتکنولوژی میکروبی-کرج
۵- استاد پژوهش سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای-کرج
*مسئول مکاتبه: E-mail: a.hamidi@ac.areeo.ir

چکیده

اهداف: به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز به‌صورت تلقیح توأم بذر بر قابلیت جوانه‌زنی و بنیه بذر و گیاهچه سه دورگ‌ساده دیررس پژوهشی آزمایشگاهی به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت دوفاکتوره با ۱۸ تیمار (۳ دورگ ساده × ٦ تلقیح بذر) بر پایه طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. باکتری‌های محرک رشد گیاه مورد بررسی *ازوتوباکتر کروکوکوم*، *آزوسپیریلیوم لیپوفروم*، *آزوسپیریلیوم برازیلنس*و*پسودوموناس فلورسنس* و قارچ‌های میکوریز آرباسکولار بررسی شده *فانلیفورمیس موسه* و *سیمیگلوموس هوئی* بودند. همچنین دورگ‌های ساده دیررس ذرت بررسی شده SC700، SC704 و یک دورگ دیررس امیدبخش جدیدB73×K18 بودند. اثر تلقیح توأم بذرها با باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز بررسی شده بر قابلیت جوانه‌زنی و بنیه بذر و گیاهچه دورگ‌های ساده دیررس ذرت مطالعه شده با اندازه‌گیری قابلیت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، طول گیاهچه، طول ساقه‌اولیه، طول ریشه اولیه، وزن خشک گیاهچه، وزن خشک ساقه‌اولیه، وزن خشک ریشه‌اولیه و شاخص وزنی بنیه گیاهچه ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده مشخص ساخت که به‌جز متوسط جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی سایر ویژگی‌های مورد بررسی تحت تأثیر اثرمتقابل دورگ‌ها و تلقیح توأم باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز قرار گرفتند. همچنین مشخص گردید که کاربرد مایه تلقیح تلفیق سه جنس باکتری و قارچ *فانلیفورمیس موسه* سبب بیشترین افزایش در قابلیت جوانه‌زنی بذر و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه هر سه دورگ شده و تلقیح توأم به‌ترتیب مایه تلقیح دارای

دوباکتری *ازوتوباکتر کروکوکوم* و *سودوموناس فلورسنس* و باکتری *ازوتوباکتر کروکوکوم* و قارچ *فانلیفورمیس موسه* از تأثیر بیشتری برخوردار بودند. همچنین ویژگی‌های مورد بررسی بذر دورگSC704 بیش از دورگ‌های دیگرتحت تأثیر مثبت باکتری‌ها و قارچ‌های میکوریز مورد مطالعه قرار گرفته و از این لحاظ دورگ‌هایB73×K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. بررسی رابطه همبستگی بین ویژگی‌های بررسی شده نیز وجود همبستگی بالای بین آنها را نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز بررسی شده تأثیر قابل ملاحظه‌ای در ارتقای کیفیت بذر و بهبود بنیه گیاهچه دورگ‌های ساده دیررس ذرت مورد مطالعه داشتند. بنابراین، کاربرد آنها به صورت کودهای زیستس تجاری ازطریق پوشش دهی بذرها برای توسعه کشت ذرت امکانپذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، بنیه گیاهچه، ذرت، میکوریز، قابلیت جوانه زنی بذر

Effect of Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) and Mycorrhizae Fungi on three Maize (*Zea mays* L.) Hybrids Some Seed Germination and Seedling Vigour Trait

Aidin Hamidi[1*], Ahmad Asgharzadeh[2], Ali Khavari[3], Sepide Akbari Vala[4], Rajab Choukan[5]

Received: 31 March 2020 Accepted: 03 May 2021

1-Research, Assoc. Prof., Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Karaj-Iran.
2- Research, Assist. Prof., Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Soil and Water Research Institute (SWRI), Soil Biology Research Dept, Karaj-Iran.
3- Research, Assoc. Prof., Dept. of Biology, Queen`s University, Kingston, Ontario, Canada and now visiting scientist in the Turkish-American University (Bosphorous University) in Istanbul, Turkish.
4- Expert of Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Microbial Biotechnology Department, Karaj-Iran.
5- Research, Prof., Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj-Iran.
*Corresponding Author Email: a.hamidi@ac.areeo.ir

Abstract

Background and Objective: In order to study the effect of Plant Growth Promoting Bacteria and Mycorrhizae Fungi application as seed coinoculation on three late maturity maize single cross hybrids seed germinability and seedling vigour a laboratory research conducted.

Materials and Methods: Experiment conducted as 18 treatments (3 single crosses × 6 seed inoculations) two factorial based on complet randomized blocks design by four rplications. Studied Plant Growth Promoting Bacteria were *Azotobacter chroococcum, Azospirillum lipoferum, Azospirillum brasilence* and *Pseudomonas fluorescens* and studied arbascular mycorrhizae fungi were *Funneliformis mosseae* and *Simiglomus hoi*. Also studied late maturity maize single cross hybrids were SC700, SC704 and a new promising late maturity maize single cross hybrid B73×K18. Effect of coinoculation of seeds by studied Plant Growth Promoting Bacteria and Mycorrhizae Fungi on germination ability and seedling vigour of studied late maturity maize single cross hybrids evaluated by germinability, mean germination time, coefficient of velocity of germination, mean daily germination, daily germination speed, seedling length, primary shoot length, primary root length, seedling dry weight, primary shoot dry weight, primary root dry weight and seedling vigour Index measurement.

Results: The results revealed that except of mean daily germination and coefficient of velocity of germination, other studied traits affected by intractions of hybrids and coinoculation. Likewise, revealed that application of an inoculant of three bacteria combination and *Glomus mossae* have highest growth promoting effect on germinability and traits related to seedling vigour of all hybrieds and *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter chroococcum+ Pseudomonas fluorescens* and *Glomus mossae* seed co inoculation by those bacteria have most growth promoting effect respectively. Also, revealed that studied characters of SC704 more than other hybrids affected by growth promoting effect of studied bacteria and mycorhizae and respectively B73×K18 and SC700 affected by studied Plant Growth Promoting Rhizobacteria and mycorhizae fungi stimulating effect and studied characters have high correlation among them.

Conclusion: Based on this research results application of studied Plant Growth Promoting Rhizobacteria and mycorhizae fungi as seed coinoculation had considerable effect on studied late maturity maize single cross

hybrids seed germination enhancement and seedling improvement. Therefore, application of them as commercial biofertilizer maybe possible through seed coating for maize cultivation development.

Keywords: Maize, Mycorrhizae, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Seed Germinability, Seedling Vigour

مقدمه

کودهای زیستی[1]مواد حاوی ریزجانداران خاکزی باکتریایی و قارچی مفید و مواد حاصل از فعالیت آنها هستند که درصورت به کارگرفته شدن برای بذر، گیاه یا در خاک محیط اطراف ریشه [2]و درون گیاه را کلونیزه کرده و با تأمین یا افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی برای گیاه میزبان سبب بهبود رشد و نمو و تولید محصول آن می‌گردند(ساریخانی و امینی ۲۰۲۰). باکتری‌های محرک رشد گیاه[3]و قارچ‌های میکوریز[4] از مهم‌ترین انواع کودهای زیستی هستند(قلاوند و همکاران ۲۰۰۹). این باکتری‌ها به‌ویژه *ازوتوباکتر*[5]، *آزوسپیریلیوم*[6]و *پسودوموناس*[7] که از مهمترین باکتری-های محرک رشد گیاه فعال در محیط ریشه (رایزوسفر) می‌باشند با افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک با تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهارعوامل بیماریزا و تولید مواد تنظیم کننده رشد به-ویژه انواع اکسین، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها سبب بهبود رشد و نمو گیاه می‌گردند. همچنین با تولید آنزیم ۱- آمینو سیکلو پروپان-۱- کربوکسیلیک اسید(ACC) دی‌آمیناز [8] با تجزیه و کاهش میزان اتیلن تولید شده در شرایط بروز تنش‌های محیطی(غیرزنده) و زنده رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی را بهبود می‌بخشند(نظیر و همکاران، ۲۰۱۸).

میکوریز رابطه همزیستی بین قارچ و ریشه گیاه می‌باشد. قارچ کربن مورد نیاز را از ریشه‌های میزبان تأمین کرده و متقابلاً سبب افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر توسط گیاه میزبان می‌گردد(روث و همکاران ۲۰۱۱). علیزاده و همکاران(۲۰۲۰) مشاهده کردند در بزرک و باقلا کاربرد ترکیبی قارچ میکوریزا و کود زیستی باکتریایی نسبت به عدم مصرف بیشترین تأثیر را در افزایش جذب عناصر غذایی پر مصرف (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و افزایش غلظت کلروفیل برگ داشت. محمدی و همکاران(۲۰۱۱) نیز آنها را در مهار برخی از بیماری‌های گیاهی گزارش کردند. گونه‌های جنس *فانلیوفورمیس*[9](با نام مترادف: *گلوموس*[10]) از عمومی‌ترین قارچ‌های خاکزی و شایع‌ترین قارچ‌های میکوریز آرباسکولار همزیست ریشه گیاهان می باشند(هیجری و با ۲۰۱۸). موثرترین، متداول‌ترین و اقتصادی‌ترین روش کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز تلقیح بذر می‌باشد(روشا و همکاران ۲۰۱۹ ؛ ریواس فرانکو و همکاران ۲۰۱۹). بذر عامل تکثیر و مهم‌ترین نهاده تولید محصولات زراعی بوده، بنابراین حفظ و ارتقای کیفیت آن اهمیت ویژه‌ای داشته وازاین‌رو بررسی و ارزیابی کیفیت بذر اهمیت می‌یابد. معیارهای قابلیت جوانه‌زنی[11]، بنیه[12]، قابلیت ماندگاری[13]و سلامت بذر[14] از مهم‌ترین جنبه‌های کیفیت بذر هستند(الیاس و همکاران ۲۰۱۲).

[1]Biofertilizers
[2] Rhizosphere
[3]Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR)
[4]Mycorrhizae
[5]*Azotobacter* spp.
[6]*Azospirillum* spp.
[7]*Pseudomonas* spp.
[8]1-aminocyclopopane-1-caboxylic(ACC) deaminase
[9] *Funneliformis*
[10]*Glomus*
[11] Germinability
[12] Vigour
[13] Longevity
[14]Seed health

ارتقای کیفیت بذر[1] عبارت است از عملیات فرآوری[2] و فرآیندهایی مانند تیمار بذر با ترکیباتی می‌باشد که موجب بهبود ویژگی‌هایی مانند خلوص فیزیکی و قابلیت و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. تقویت زیستی[3] بذر با کودهای زیستی از جدیدترین روش‌های ارتقای کیفیت بذر می باشد به‌طوری‌که روش‌های مختلف پرایمینگ[4] زیستی بذر در حال جایگزینی تدریجی تیمارهای شیمیایی می باشند(کیو و همکاران ۲۰۲۰).

باکتری‌های محرک رشد گیاه با سازوکارهای متفاوت در ارتقای کیفیت بذر مؤثرند. بهبود سلامت بذر با اثر مفید باکتری‌های محرک رشد گیاه با سازوکاری مانند تولید سیدروفور[5] که با کلات کردن آهن خاک به‌صورت آهن یه ظرفیتی(Fe^{3+}) و غیرفابل دسترس کردن آهن برای قارچ‌های بیماری‌زائی مانند گونه‌های مختلف فوزاریوم[6] سبب مهار چنین بیمارگرهای گیاهی می‌گردند، رخ می‌دهد. همچنین با تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاهی[7] تحریک کننده رشد و نمو رمحیط بذر و ریشه گیاهچه سبب بهبود قابلیت جوانه‌زنی بذر و بنیه گیاهچه می‌شوند(بیکر و همکاران، ۲۰۱۸). تأثیراین باکتری برافزایش قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه گیاهان مختلف بررسی و مورد تأیید قرار گرفته است(مانگ مانگ و همکاران ۲۰۱٤، آگبودجاتو و همکاران ۲۰۱٦؛ دلشادی و همکاران ۲۰۱۷ ؛ ویداواتی و سولیاسیح ۲۰۱۸). به‌طوری‌که رودولف و همکاران(۲۰۱۵) مشاهده کردند، قابلیت جوانه‌زنی بذرهای ذرت با تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری‌های تحریک کننده رشد افزایش یافت و جدایه باکتری‌های محیط اطراف ریشه را شناسایی کردند که قابلیت جوانه‌زنی بذرهای ذرت را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. آگبودجاتو و همکاران(۲۰۱٦) افزایش رشد و نمو گیاهچه ذرت و آموگو و همکاران(۲۰۱۸) افزایش رشد و نمو ریشه اولیه گیاهچه ذرت با تلقیح بذر با باکتری *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* را گزارش کردند.

میکوریز سبب افزایش رشد بسیاری از گیاهان از جمله ذرت شده(بوداک و همکاران ۲۰۱۷) و علی‌آبادی فراهانی و همکاران(۲۰۰۸) افزایش سطح، سطح ویژه و پتانسیل آب برگ و سرعت جذب و تحلیل گازکربنیک بوته های ذرت حاصل از بذرهای تلقیح شده با قارچ میکوریز آرباسکولار *فانلیفورمیس موسه*[8]را گزارش نمودند. کوزولینو و همکاران(۲۰۱۳) نیز تغییر فیزیولوژی ریشه ذرت با تلقیح بذر با قارچ میکوریز که موجب تغییر ترکیب مواد مترشحه از ریشه شده و سبب تغییر ترکیب ریزجانداران خاک محیط اطراف ریشه می گردد را گزارش کردند. آگوئگو و همکاران(۲۰۱۷) مشاهده کردند که ارقام ذرت در خاک تلقیح شده با قارچ میکوریز *فانلیفورمیس موسه* از مقاومت بیشتری نسبت به تنش سرمازدگی در مرحله جوانه‌زنی بذر و گیاهچه برخوردارانـد و این ارقام از این لحاظ با هم اختلاف دارند. روسو و همکاران(۲۰۰۵) مشاهده کرد تلقیح توأم بذرهای ذرت با قارچ‌های میکوریز جنس *گلوموس* و باکتری *آزوسپیریلیوم برازیلنس* موجب تغییر میزان چربی، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و هیدرات‌های‌کربن و به طورکلی فیزیولوژی ذرت شد. همچنین گامالرو و همکاران(۲۰۰٤) افزایش طول، پراکنش، سطح کل، حجم و وزن تر ریشه و بخش هوایی بوته، تشکیل کلونی و فسفر برگ گوجه فرنگی بر اثر تلقیح توأم بذر با باکتری *پسودوموناس فلورسنس* و قارچ میکوریز *فانلیفورمیس موسه* را گزارش کردند. اوشارانی و همکاران(۲۰۱٤) تولید اسید ۳- ایندول بوتیریک توسط قارچ میکوریز آرباسکولار را در تغییر ریخت‌شناختی و افزایش رشد و نمو ریشه ذرت مؤثر دانستند. فیتز و همکاران(۲۰۰۵) نیز تولید انواع اکسین‌ها به وسیله قارچ میکوریز آرباسکول *گلوموس اینترارادیسز*[9]را در تشکیل و گسترش همزیستی با ریشه ذرت مؤثر دانستند.

---

[1] Seed Enhancement
[2] Processing
[3] Biofortification
[4] Priming
[5] Siderophore
[6] Fusaruim spp.
[7] Plant Growth Regulators(PGRs)
[8] *Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schuessler 2010
[9] *Glomus intraradices*

با توجه به اهمیت تأثیر رابطه قارچ‌های میکوریز جنس *فانلیوفورمیس*(با نام مترادف: *گلوموس*) با گیاهان، هدف این پژوهش بررسی تأثیر کاربرد باکتری های محرک رشد گیاه و به‌عنوان کودهای زیستی باکتریایی شامل سویه‌های خالص باکتری‌های *ازوتوباکتر کروکوکوم*، *آزوسپیریلیوم لیپوفروم و پسودوموناس فلورسنس* و قارچ‌های میکوریز *فانلیفورمیس موسه* و *گلوموس هوئی* [1](با نام مترادف هوموتوپیک[2] *سیمیگلوموس هوئی*[3]) به‌عنوان کودهای زیستی به‌صورت تلقیح توأم برقابلیت جوانه‌زنی بذر، بنیه گیاهچه و برخی ویژگی‌های مرتبط دورگ‌های دیررس ذرت بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال۱۳۹۸ در محل آزمایشگاه مرکزی تجزیه بذر مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج اجرا شد. بذرهای سه دورگ ساده دیررس ذرت سینگل‌کراس ۷۰٤(B73 ×Mo17)، سینگل‌کراس ۷۰۰(K74/1×K18) و یک دورگ ساده امیدبخش(B73×K18) از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شد و قبل از کشت به‌وسیله مایه تلقیح مایع خالص که هر میلی‌لیتر آن حاوی[8]۱۰ واحد تشکیل‌دهنده کلنی(CFU)[4] باکتری زنده و فعال سویه[5] باکتری *ازوتوباکتر کروکوکوم* [5](Az)، سویه‌های OF *آزوسپیریلیوم لیپوفروم*[6] و ۲۱ *آزوسپیریلیوم برازیلنس*[7](As) و سویه P۲۱ *پسودوموناس فلورسنس*[8](Ps) که همگی طبیعی(دست‌ورزی ژنتیکی نشده) و بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص‌سازی شده و مایه تلقیح آنها تهیه شده بود و مایه تلقیح پودری مخلوط اسپورها و ریسه(هیف) های *فانلیفورمیس موسه*(Gm) و *سیمیگلوموس هوئی*(Gh) هر گرم آن دارای ۷۰ اسپور زنده، ماسه(محیط کشت) و قطعات ریشه گیاه میزبان(بارهنگ کاردی)[7]، دارای توانایی تلقیح بیش از۹۵ درصد ریشه میزبان، تهیه شده توسط پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، تلقیح توأم شدند. برای تلقیح بذرها، به‌ازای۱۰ بذر، میزان هفت میلی‌لیتر مایه تلقیح(۲۸۰ میلی‌لیتر برای تلقیح٤۰۰ بذر مورد استفاده در آزمایش) استفاده شد (فالچیری و فریونی ۱۹۹٤) و ۱۰ گرم مایه تلقیح پودری هر یک از قارچ ها، مورد استفاده قرار گرفتند و سپس به‌منظور تلقیح کامل به‌مدت۳۰ دقیقه درون مایه تلقیح نگهداری شدند(کراننبروک و همکاران ۲۰۰۸).

جهت بررسی تأثیر تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریز بر جوانه‌زنی بذر و بنیه گیاهچه دورگ‌های ذرت مورد بررسی سه تیمار تلقیح باکتریایی برتر در آزمایش تلقیح بذر با این باکتری-ها(حمیدی و همکاران ۲۰۱۰) و مایه تلقیح قارچ‌ها استفاده شد بدین‌ترتیب تیمارهای آزمایش شامل سه دورگ ساده و تلقیح توأم بذر با مایه تلقیح قارچ‌های *فانلیفورمیس موسه* و *سیمیگلوموس هوئی* و مایه تلقیح باکتری *ازوتوباکتر کروکوکوم* (Az)، مایه تلقیح تلفیق *ازوتوباکتر کروکوکوم* و *پسودوموناس فلورسنس* (Az+Ps)و مایه تلقیح تلفیق سه جنس باکتری (Az+As+Ps) عدم تلقیح بذر، به‌عنوان شاهد (جمعاً شش تیمار) بودند.

بذرهای تلقیح شده‌درون ظرف‌های پلاستیکی در بستر لابه‌لای کاغذ جوانه‌زنی کشت گردیدند. ظرف‌های کشت شده به‌مدت هفت روز درون اتاق رشددر شرایط استاندارد دمای ثابت۲۵ درجه سانتی‌گراد(انجمن بین-المللی آزمون بذر[9]۲۰۲۰) به صورت یک آزمایش

[1] *Glomus hoi*
[2] Homotypic synonym (or Nomenclatural Synonym)
[3] *Simiglomus hoi* (S.M.Berch & Trappe) G.A.Silva, Oehl & Sieverding
[4] Colony Forming Units(CFU)
[5] *Azotobacter chroococcum*
[6] *Azospirillum lipoferum*
[7] *Azospirillum brasilens*
[8] *Pseudomonas fluorescens*
[9] International seed Testing association(ISTA)

دوفاکتوره با ۲٤ تیمار(۳ دورگ ساده × ٦ تلقیح بذر) بر پایه طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار قرار داده شدند. در دوره اجرای آزمایش رطوبت محیط کشت با افزودن آب مقطر تأمین شد. همچنین به منظور تعیین سرعت و زمان جوانه‌زنی به‌طور روزانه ظرف‌های کشت شده مورد بازدید قرار گرفته و تعداد بذرهای جوانه‌زده یادداشت و برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی مرتبط با بنیه بذر و گیاهچه شامل موارد زیر محاسبه گردیدند:

۱- متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی[1] که شاخصی از سرعت شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد از روی رابطه زیر محاس(رابطه۱)

$$MTG= \Sigma (nd)/ \Sigma n$$

که در این رابطه:n= تعداد بذرهای جوانه‌زده در طی d روز، d- تعداد روزها و Σn= کل تعداد بذرهای جوانه زده هستند(رانال و دو سانتانا ۲۰۰٦).

۲- ضریب سرعت جوانه‌زنی[2] نیز که مشخصه سرعت و شتاب جوانه‌زنی بذور می باشد از رابطه زیر محاسبه شد:

$$CVG= [(1(G1+G2+\ldots+Gn)/\times G1)+ (2\times G2)+\ldots+(n \times Gn)] \quad (\text{رابطه۲})$$

در رابطه اخیر G1-Gn تعداد بذرهای جوانه زده از روز اول تا روز آخر آزمون می‌باشد(رانال و دو سانتانا ۲۰۰٦).

در پایان اجرای هر آزمون نیز تعداد کل بذرهای جوانه زده(گیاهچه‌های عادی) تعیین(دان و دوکورنائو، ۲۰۱۸) و به‌عنوان درصد جوانه‌زنی نهایی[3](قابلیت جوانه‌زنی) به‌منظور محاسبه شاخص‌های زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

۳- متوسط جوانه‌زنی روزانه[4] که شاخصی از سرعت جوانه‌زنی روزانه می‌باشد، از رابطه زیر تعیین گردید:

$$FGP/D=MDG \quad (\text{رابطه۳})$$

که در این رابطه FGP درصد جوانه زنی نهایی(قابلیت جوانه‌زنی) و d تعداد روزها تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی (طول دوره اجرای آزمون) می باشد(رانال و دو سانتانا ۲۰۰٦):

٤ -سرعت جوانه‌زنی روزانه[5] نیز که عکس متوسط جوانه‌زنی روزانه می‌باشد:

$$DGS =1/ MDG \quad (\text{رابطه٤})$$

محاسبه گردید(رانال و دو سانتانا ۲۰۰٦).

در پایان آزمون جوانه‌زنی استاندارد تعداد ۲۵ گیاهچه عادی به‌طور تصادفی از هر واحد آزمایشی انتخاب شده و برای ارزیابی بنیه گیاهچه با استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل رشد، طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه آنها به‌وسیله خط کش مدرج با دقت یک میلی‌متر، وزن خشک گیاهچه،ساقه چه وریشه‌چه با قراردادن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت۲٤ ساعت و توزین با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شدند. سپس شاخص بنیه گیاهچه وزنی[6] نیز با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید(فینچ ساواژ و بازل ۲۰۱٦):

(رابطه ۵)

قابلیت جوانه‌زنی × وزن خشک گیاهچه= شاخص وزنی بنیه گیاهچه

در پایان نیز جهت تهیه نمونه‌های میکروسکوپی از ریشه‌های اولیه نمونه برداری شد. این نمونه‌ها درون محلول الکل سفید ۷۰ درجه به‌مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. پس از شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها سه تا پنج روز در محلول پتاس۱۰ درصد نگهداری شدند و پس از شستشوی مجدد با آب مقطر ابتدا در محلول آلکالین به-مدت۱۲۰ دقیقه و پس از شستشو با آب مقطر ۱۵-۱۰ دقیقه در اسیدکلریدریک۱۰ درصد ثابت شدند. از معرف رنگی مخصوص برای رنگ‌آمیزی استفاده شد و با استفاده از لام و لامل اسلاید تهیه گردید و سپس زیر

[1]Mean Time to Germination (MTG)
[2]Coefficient of Velocity of Germination (CVG)
[3]Final Germination Percent (FGP)
[4]Mean Daily Germination (MDG)
[5]Daily Germination Speed (DGS)
[6] Seedling Vigour Index (SVI)

میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر تصویر تهیه گردید.

داده‌های بدست آمده پس از بررسی نرمال بودن و کشیدگی[1] و چولگی[2] آنها و اعمال تبدیل داده‌های مناسب به‌صورت یک آزمایش دوفاکتوره با ۱۸ تیمار (۳ دورگ ساده × ٦ تلقیح بذر) بر پایه طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار تجزیه واریانس شده و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن و ضرایب همبستگی ساده بین ویژگی‌های مورد بررسی با استفاده از نرم-افزار(MSTAT_C(Ver. 2.1 انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه وتحلیل واریانس داده‌های بدست آمده مشخص ساخت که به جز ضریب سرعت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه سایر ویژگی‌های مورد بررسی تحت تأثیر اثر متقابل تلقیح توأم بذر دورگها و باکتری های محرک رشد(PGPB) و قارچ‌های میکوریز قرار گرفتند(جدول ۱). مقایسه میانگین‌های قابلیت جوانه‌زنی بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریزمشخص کرد که بالاترین درصد جوانه‌زنی نهایی به بذرهای دورگSC704 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* مربوط بود و تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *سیمیگلوموس هوئی* و تلقیح با *ازوتوباکتر* و *ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشت(جدول ۲). همچنین، از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ به‌ترتیب دورگ‌های B73× K18 وSC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند و به‌طور متوسط تلقیح توأم سبب هشت درصد افزایش درصد جوانه‌زنی نهایی بذر شد که تفاوتی با تلقیح باکتریایی نداشت(جدول ۲). سنبرگا و همکاران(۲۰۱۸) بهبود جوانه‌زنی بذرهای باقلا در اثر تلقیح با باکتری‌های ریزوبیومی و نیز تلقیح توأم با باکتری و قارچ میکوریز را مشاهده کردند. رحیم‌زاده و پیرزاد(۲۰۱۹) نیز بهبود جوانه زنی بذرهای کتان با تلقیح با باکتری *پسودوموناس* و تلقیح توأم با باکتری و قارچ میکوریز را گزارش نمودند. دالا سانتا(۲۰۰٤) افزایش جوانه‌زنی بذر در شرایط مزرعه‌ای ذرت بر اثر تلقیح بذر با باکتری *آزوسپیریلوم* و باکونیا و همکاران(۲۰۱۳) نیزافزایش قابلیت جوانه‌زنی بذرهای ذرت تلقیح شده با باکتری *ازوتوباکتر* را گزارش کرده‌اند. روزیر و همکاران(۲۰۱۷) نیز تحریک رشد و ظهور ریشه اولیه بذرهای ذرت تلقیح شده با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* را مشاهده نمودند. همچنین نوماوو و همکاران(۲۰۱۳) افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر را در اثر تلقیح بذرهای ذرت با باکتری *پسودوموناس فلورسنس* را گزارش کردند. مواد تنظیم کننده رشد گیاهی تحریک‌کننده به ویژه جیبرلین‌ها نقش مهمی درتحریک آغاز فرآیند جوانه‌زنی بذر بر عهده دارند(مجیدی و همکاران ۲۰۱٦). بنابراین به احتمال زیاد PGPB به‌کاربرده شده در این آزمایش از طریق ترشح هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه جیبرلین‌ها سبب بهبود و ارتقای قابلیت جوانه‌زنی بذر گردیده‌اند.

مقایسه میانگین‌های متوسط زمان جوانه‌زنی بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریز مشخص کرد که پایین‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی

[1] Courtosis

[2]Skewness

جدول ۱- تجزیه واریانس(میانگین مربعات) اثر تلقیح توأم با PGPB و قارچ‌های میکوریز بر قابلیت جوانه زنی بذر و ویژگیهای مرتبط با بنیه گیاهچه

منابع تغییر	درجات آزادی d.f.	میانگین مربعات											
		قابلیت جوانه زنی	متوسط زمان جوانه زنی	متوسط جوانه زنی روزانه	ضریب سرعت جوانه زنی	سرعت جوانه زنی روزانه	طول گیاهچه	طول ساقه اولیه	طول ریشه اولیه	وزن خشک گیاهچه	وزن خشک ساقه اولیه	وزن خشک ریشه اولیه	شاخص بنیه گیاهچه
تکرار	۳	٤/٧٥٢^{ns}	١/٩٥٠^{ns}	٠/١٧٠^{ns}	٤/٥٩٠٩^{ns}	٥/٣١٠^{ns}	٠/٦٥٣^{ns}	٠/٢١٨^{ns}	١/٨٠٥*	٤/١٩٨*	٢/٩٨٦٩^{ns}	٥/١٨٥^{ns}	٥٧/٠٦٨^{ns}
دورگ‌ها	۲	٣٦٥/٦٧٠*	٣٩/٩٢٠**	٦/٩٣٠**	٣٧٩/٦٥٨^{ns}	٢٩٢/٧٠٠^{ns}	٥١/٥٧٠*	٢٩/٤٠٠*	٧/٩٧٧*	١٦١/٠٨٦**	٧٩/٩٠٦*	١٦٩/٩١١**	١٩١٨/٣١٠**
میکوریز	۱	٦٢/١٥١*	٢٩/٨١٢**	٥/١٤١**	٢٤٩/٦١٥^{ns}	٢١٩/١٦٩^{ns}	٦٠/٦٢١*	١٩/١٤٠*	٦/٠١٠*	١٧٠/٢٦٤**	٦٦/١٢٩**	١٤١/١٩٦**	١١٨٤/١٢١*
دورگ‌ها×میکوریز	۳	٥٤/٩١٥*	٥٤١/٢١١*	١/١٢١*	٤٩١/٢١٥^{ns}	٢٩٦/١١٠^{ns}	٤٧١/٦٩٠*	٦٢/١٢١**	١١٥١/٢٥**	٣١٤/١٢٠*	١١٤/١٥٠*	٢٩/٢٥٠**	٢٠١٠/١٢٢**
PGPR	۷	٨١/٥٣١**	٦٦٦/٨٩٠*	١/٩٠٨*	٥٢٩/٤٢٥^{ns}	٤٢٦/٥٠٨^{ns}	٦٤٤/٥١٤*	٨٥/٩٠٠*	١٤٣١/٧٩١**	٢٩١/٨٧٥*	٩٩/١٧٠**	٢٥٩/١٧٠*	٢٨٤٤/٨٠٤*
دورگ‌ها × PGPR	١٤	٩٢/٧٢١*	٠/٩٨٠*	٧/٥٠٠**	٦٤٠/٧٩٠٧^{ns}	٧١٠/٧١٣^{ns}	٠/٧٥٧**	٠/٤١١*	١٨٣١/٨٥١**	٧٩٠/٤٠٦**	١٨١/٩٦٥**	٣٤١/٩٥٠**	٣٩٩٢/٤٢٨**
میکوریز × PGPR	۳	٧٢/٢١١**	٠/٨١٢**	٨/١١٢**	٣٧٤/١١^{ns}	٤٦٩/١٢٤^{ns}	٣١١/٠٧١*	٤٤/١١١**	١٥١٤/١١١*	٤١٦/٨١٤	١٠٢/٩٦٠**	٣٠١/١٦٠*	١١٧١/٢٢٣**
دورگ ها× میکوریز ×PGPR	٢٣	٨٥/١٤٤**	٠/٩٠٠*	٠/١٢٤**	٥٥٤/١٦٠^{ns}	٦٧٩/١٢٤^{ns}	٠/٦٩١*	٠/٧٢١**	١٨٢٥/١**	٨١٤/١٥٢*	١٧١/١١٠**	٣٩٦/١٥١**	٤٠٠١/١٦٢*
اشتباه آزمایشی	٦٩	٠/٨٢٤	٠/٠٤٠	٠/٠٢٣	٥/٩٠٠	١/٧١٤	٠/٩١٧	٥٩/٠٠	٠/١٨١	١/٩٧٣	٠/١٤٢	٠/١٤٧	١٩/٢٧٣
کل	٩٥												
ضریب تغییرات (٪)		١/٩٠٠	٠/٤٢	٢/٤٤	١/٥٥	٢/١٦	١/٦٢	٩/٩٠٠	٦/٥٥	٤/٧٧	٥/٥٠	٤/٩٧	٤/٩٥

ns غیر معنی دار ، *,**به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ٥ درصد و١ درصد می باشد.

به‌ترتیب مربوط به بذرهای دورگSC704 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* است. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *سیمیگلوموس هوئی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشت(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگ‌های B73 × K18 وSC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. به‌طور متوسط، تلقیح توأم سبب ۲۰درصد کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی بذر شد(جدول ۲). متوسط زمان جوانه‌زنی شاخصی از سرعت جوانه‌زنی بذر بوده که معیاری از یکنواختی جوانه‌زنی و وضعیت بنیه گیاهچه محسوب می‌گردد(رانال و دو سانتانا ۲۰۰٦). به احتمال زیاد، PGPB و قارچ‌های میکوریز مورد استفاده در این آزمایش ازطریق تولید مواد تحریک کننده رشد موجب تحریک جوانه‌زنی بذر و در نتیجه کاهش متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و به‌عبارت دیگر جوانه‌زنی سریع‌تر بذر گردیده‌اند.

مقایسه میانگین‌های متوسط جوانه‌زنی روزانه بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریزمشخص کرد که بالاترین متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌ترتیب مربوط به بذرهای دورگSC700 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* بود و تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *سیمیگلوموس هوئی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشت(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگ‌های B73× K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند و به‌طور متوسط تلقیح توأم موجب۱۱ درصد افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه شد(جدول ۲). متوسط جوانه‌زنی روزانه شاخصی از سرعت جوانه‌زنی

بذر است(رانال و دو سانتانا ۲۰۰۶). به‌طورکلی، مواد تحریک کننده رشد به‌ویژه مواد تنظیم کننده رشد گیاهی که جیبرلین‌ها از مهم‌ترین آنها محسوب می‌شوند، نقش مؤثری در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر بر عهده دارند(مجیدی و همکاران ۲۰۱۶). بررسی کاسان و همکاران(۲۰۰۱) مشخص ساخت که تلقیح بذرهای برنج با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌شود. آنان تأثیر مواد تنظیم کننده رشد گیاهی تحریک‌کننده شامل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها را مهم‌ترین سازوکار برای ایجاد چنین اثری ذکر کرده‌اند. بنابراین، به احتمال زیاد PGPB و قارچ‌های میکوریز مورد استفاده در این آزمایش نیز از این طریق سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی گردیده‌اند.

جدول۲-مقایسه میانگین ترکیبات تیماری دورگ‌ها، PGPB و قارچهای میکوریز بر قابلیت جوانه زنی بذر و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه

تیمار			ویژگی‌ها								
			قابلیت جوانه زنی (٪)	متوسط زمان جوانه زنی (day)	متوسط جوانه زنی روزانه (day^{-1})	طول گیاهچه (cm)	طول ساقه اولیه (cm)	طول ریشه اولیه (cm)	وزن خشک گیاهچه (g)	وزن خشک ساقه اولیه (g)	وزن خشک ریشه اولیه (g)	شاخص بنیه گیاهچه
دورگ SC704	G.h.	شاهد(عدم تلقیح)	۹۲/۲۰g	٦/٦٦٠a	۱۳/۱۷۰j	۲۸/۲۲۰k	۲۳/۳۰۰l	۵/۰۷۰l	۳/۸۲۰h	۲/۰٤٧i	۱/۲۷۳i	۷۰/٦٤٥p
		Az	۹۹/۰۰c	۵/٤٦٠f	۱٤/۲۵۰d	۳۹/۵۵۰gh	۲۸/۲۵۰g	۱۱/۰۰i	٤/۰۰۰f	۲/۷۰۰de	۱/۳٤۰h	۹۰/۲۵۰d
		Az+Ps	۹۹/۸۰b	۵/٦۰۰de	۱٤/۰c	٤۱/۹۰۰fg	۲۹/۲۵۰e	۱۲/۷۵۰fg	٤/۳۵۰e	۲/۸۲۰cd	۱/۵۲۰de	۹۰/۵۵۰c
		Az+As+Ps	۱۰۰/۰۰a	۵/۸۵۰bc	۱٤/۷۵۰bc	٤۷/۷۵۰b	٤۰/۰۰b	۱٦/۸۰۰ab	٤/۷۷۸ab	۲/۹۵۰b	۱/۸۰۰ab	۹۷/۸۵۰ab
	G.m.	Az	۹۹/۷۵bc	۵/٤٤۰fg	۱٤/۷۵۰b	۳۹/۷۰۰h	۲۸/۷۵۰f	۱۱/۷۵۰hi	٤/۲۰۰ef	۲/۸۲۵cd	۱/۳۷۰e	۹۵/۷۵۵b
		Az+Ps	۹۹/۹۰ab	۵/۵۳۰e	۱٤/۹۵۰ab	٤۲/۰۰f	۲۹/۵۵۰ed	۱۲/۹۵۰f	٤/۵۵۰cd	۲/۸۷۵bc	۱/٦۷۵cd	۹٦/۰۰bc
		Az+As+Ps	۱۰۰/۰۰a	۵/٦۷۰d	۱۵/۰۰۰a	٤۸/۰۰a	٤۰/۵۵۰a	۱٦/۸۵۰a	٤/۸۸۵a	۳/۰۲۵a	۱/۸٦۰a	۹۸/۰۰a
دورگ SC700	G.h.	شاهد(عدم تلقیح)	۸۸/۵۰۰i	٦/۵۹۰b	۱۲/٦٤۰k	۲۷/۱۷۵m	۲۱/۵۰m	٤/٦۷۵m	۳/۷۳۸j	۲/٤۹۱j	۱/۲٤۷k	٦۵/۲۷۰r
		Az	۹۳/۵f	۵/٤٦٠f	۱۳/۲۵۰i	۳٦/٦۵۰j	۲٦/٤۵۰k	۱۰/٦۵۰jk	۳/۸۷۱g	۲/۵۰۰h	۱/۳۷۱ef	۷٦/۲۱۵o
		Az+Ps	۹٤/۰۰ef	۵/۵۳۰e	۱۳/۵۵۰h	۳۹/۷۰۰h	۲۷/۵۵۰i	۱۱/۸۵۰hi	٤/۱۵۵f	۲/۵۵۵gh	۱/٦۰۰d	۷۷/٦۵۰l
		Az+As+Ps	۹۵/۵de	۵/٦۷۰d	۱٤/۰۰e	٤٤/۵۰۰e	۲۹/۹۰۰d	۱٤/۸۵۰e	٤/۳۷۵de	۲/۸۰۰d	۱/۵۷۵de	۸٤/۲۱۵j
	G.m.	Az	۹٤/۰۰ef	۵/۳۹۰h	۱۳/۳۵۰fg	۳٦/۸۵۰ij	۲٦/۸۵۰j	۱۰/۹۵۰j	۳/۷٤۵	۲//۵۷۵g	۱/۳۷۰ef	۷٦/۵۰۰o
		Az+Ps	۹٤/۵e	۵/۵۰۰ef	۱۳/٦۵۰gh	٤۰/۰۰g	۲۷/۹۵۰h	۱۲/۰۰h	٤/۰۰۰f	۲/٦۵۰ef	۱/۳۵۰f	۷۷/۹۰۰k
		Az+As+Ps	۹٦d	۵/٦۰۰de	۱٤/۲۵۰d	٤۵/۰۰de	۳۰/۲۵۰cd	۱۵/۰۰d	٤/٤۵۵d	۲/۸۵۵c	۱/٦۰۰d	۸۵/۸۵۰i
دورگ B73×K18	G.h.	شاهد(عدم تلقیح)	۹۰/۲۵h	٦/٦۳۰ab	۱۲/۸۹۵l	۲۷/۳۲۵l	۲۳/۲۷۵lm	٤/۷۵۰lm	۳/۷۸۸i	۲/۵۰۲ij	۱/۲۸٦j	۷۰/۸۹۰q
		Az	۹۹/۵۰c	۵/٤٦٠f	۱۳/۷۰۰g	۳۷/۸۵۰i	۲۷/۵۰۰i	۱۰/۵۰۰k	۳/۹۵۵fg	۲/٦۵٤ef	۱/۳۰۱fg	۸۷/۲۵۰h
		Az+Ps	۹۹/۷۵bc	۵/٦۰۰de	۱۳/۹۵۰f	٤۵/۵۰۰d	۲۸/۵۵۰fg	۱۲/۱۵۰gh	٤/۳۰۰e	۲/۵۷۵g	۱/۷۲۵bc	۷٦/۷۲۵m
		Az+As+Ps	۹۹/۹۰ab	۵/۸۱۰c	۱٤/۰۰d	٤٦/۷۰۰cd	۳۰/۵۰cd	۱٦/۵۵۰c	٤/۵۷۵c	۲/۸۷۵bc	۱/۷۰۰c	۹۰/۱۲۵f
	G.m.	Az	۹۹/۵۰c	۵/٤۱۰g	۱۳/۷۵۰g	۳۸/۰۰hi	۲۸/۰۰gh	۱۰/۸۵۰ij	٤/۰۰۰f	۲/٦۹۵f	۱/۳۰۵g	۸۷/۷۵۵g
		Az+Ps	۹۹/۷۰bc	۵/۵۳۰e	۱٤/۰۰e	٤۱/۰۰ef	۲۸/۷۵۰f	۱۲/۵۵۰g	٤/٦۷۵bc	۲/۷۵۰e	۱/۷۲۵bc	۷۷/۲۵۵n
		Az+As+Ps	۹۹/۹۵ab	۵/٦۰۰de	۱٤/۲۵۰d	٤٦/۹۵۰c	۳۰/۷۵۰c	۱٦/۷۵۰b	٤/۷۵۰b	۲/۰۰۰ab	۱/۷۷۸b	۹۱/۲۷۷e

*در هر ستون میانگین هایی که حداقل در یک حرف یکسان باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار

مقایسه میانگین‌های طول گیاهچه بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریز مشخص کرد که بیشترین طول گیاهچه به بذرهای دورگSC704 تلقیح شده به‌ترتیب با باکتریهای سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* مربوط است. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *سیمیگلوموس هویی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشت(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیزبه ترتیب دورگ‌هایB73×K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند و به‌طور متوسط تلقیح توأم سبب۴۳ درصد افزایش طول گیاهچه شد (جدول ۲).

کاسان و همکاران(۲۰۰۱) نیز افزایش طول گیاهچه برنج بر اثر تلقیح بذر با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* را گزارش کردند. طول گیاهچه معیاری از بنیه گیاهچه محسوب می‌شود که به‌عنوان یکی از شاخص‌های ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه گیاهان زراعی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد(الیاس و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به نقش مواد تنظیم کننده رشد گیاهی تحریک کننده رشد از قبیل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها در افزایش تقسیم سلولی و افزایش طول سلول‌ها، یکی از مهم‌ترین سازوکارهای تأثیر محرک رشد گیاهچهPGPB ازطریق ترشح این مواد است(گودا و همکاران ۲۰۱۸). به‌نظر می‌رسد که PGPB و قارچ‌های میکوریز مورد بررسی در این آزمایش نیز ازطریق چنین سازوکاری توانسته‌اند موجب افزایش طول گیاهچه دورگ‌های ذرت مورد مطالعه شوند.

مقایسه میانگین‌های قابلیت جوانه‌زنی بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریز نشان داد که بالاترین طول ساقه اولیه به‌ترتیب به بذرهای دورگSC704 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* تعلق دارد. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *گلوموس هویی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگهایB73×K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند و به‌طور متوسط تلقیح توأم ٤٥ درصد نسبت به شاهد طول ساقه اولیه را افزایش داد(جدول ۲).

به‌طورکلی طول ساقه اولیه از شاخص‌های بنیه گیاهچه است که از آن در آزمون تجزیه و تحلیل رشد گیاهچه برای ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه استفاده می‌شود(الیاس و همکاران ۲۰۱۲). یکی از آشکارترین اثرات مواد تنظیم کننده رشد گیاه تحریک کننده تحریک رشد کولئوپتیل ذرت بر اثر اسید ایندول ۳-استیک است(سوباش و همکاران ۲۰۱۵). مطالعه داسیلوا آراجوئوا و همکاران(۲۰۱۳) افزایش طول ساقه اولیه برنج با تلقیح بذر با باکتری های *آزوسپیریلوم لیپوفروم* و *رایزوبیوم* را ازطریق سازوکار ترشح مواد تنظیم کننده رشد گیاه تحریک کننده توسط این باکتری‌ها مشخص ساخت. نوماوو و همکاران(۲۰۱۳) نیز افزایش طول ساقه اولیه گیاهچه‌های پنج روزه ذرت را که بذر آنها با سویه‌ای از باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* تلقیح شده بود مشاهده کردند. چنین به‌نظر می‌رسد که در این پژوهش نیز PGPB و قارچ‌های میکوریز از همین طریق طول ساقه اولیه دورگ‌های مورد بررسی را افزایش داده اند.

با مقایسه میانگین‌های طول ریشه اولیه بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریزمشخص شد که بذرهای دورگSC704 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس وقارچ *فانلیفورمیس موسه* در ردیف اول قرار دارد. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *سیمیگلوموس هوئی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب دارای طول ریشه اولیه بیشتری نسبت به شاهد بودند(جدول ۲). ازنظر پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگ‌های B73 × K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. به‌طور متوسط تلقیح توأم

در مقایسه با شاهد ۷۰ درصد طول ریشه اولیه را افزایش داد(جدول ۲).

اندازه‌گیری طول ریشه اولیه گیاهچه یکی از روش‌های ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه است(الیاس و همکاران ۲۰۱۲). ترشح مواد تنظیم کننده رشد گیاه تحریک کننده نظیر اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها توسط باکتری‌های *ازوتوباکتر*، *آزوسپیریلوم* و *پسودوموناس* و افزایش تقسیم سلولی بافت مریستمی ریشه و افزایش طول سلول‌های در حال تقسیم، همچنین سازوکار این باکتری‌ها در ممانعت از تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه‌جلوگیری کننده از رشد اتیلن مهم‌ترین راه‌های تحریک رشد ریشه بر اثر کاربردPGPB هستند(ماهانتی و همکاران ۲۰۱۷). بررسی روزیر و همکاران(۲۰۱۷) نیز اثر تحریک‌کننده تلقیح بذر ذرت با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* بر رشد و نمو ریشه‌های بذری در مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه را که موجب بهبود کلی شاخص‌های رشد ریشه گردید، نشان داد. همچنین، نوماوو و همکاران(۲۰۱۳) افزایش طول ریشه اولیه گیاهچه‌های پنج روزه ذرت که بذرهای آنها با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* تلقیح شده بودند را گزارش کردند. آنان مشاهده کردند که مساحت ریشه‌های اولیه این گیاهچه‌ها ۱۴ روز پس از جوانه‌زنی بذر افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد. بدین‌ترتیب به‌نظر می‌رسد که PGPB و قارچ‌های میکوریز به‌کار رفته در این آزمایش نیز بدین طریق سبب افزایش طول ریشه اولیه دورگ‌های ذرت مورد بررسی شده‌اند.

مقایسه میانگین‌های وزن خشک گیاهچه،ساقه اولیه و ریشه اولیه بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریزنشان داد که بیشترین وزن خشک گیاهچه، ساقه اولیه و ریشه اولیه مربوط به بذرهای دورگSC704 تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس وقارچ *فانلیفورمیس موسه* است. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *گلوموس هویی* و تلقیح با *ازوتوباکترو ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگ‌هایB73 × K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند و به‌طور متوسط تلقیح توأم سبب به‌ترتیب۲۱،۱۷ و۳۲ درصد افزایش وزن خشک گیاهچه،ساقه اولیه و ریشه اولیه نسبت به شاهد شد که در مقایسه با تلقیح فقط با باکتری به‌ترتیب ۰/۵، ۱ و ۱٤ درصد افزایش داشتند که گویای اثر افزایشی میکوریز بر این ویژگی‌ها می‌باشد(جدول ۲).

وزن خشک گیاهچه، ریشه و ساقه اولیه از معیارهای ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه هستند (الیاس و همکاران ۲۰۱۲). بررسی کاسان و همکاران(۲۰۰۱) مشخص ساختند که تلقیح بذر برنج با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* و *رایزوبیوم* به‌ترتیب سبب افزایش وزن خشک گیاهچه و ریشه اولیه می گردد. همچنین نوماوو و همکاران(۲۰۱۷) افزایش وزن خشک گیاهچه دورگ‌های ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری *پسودوموناس فلورسنس* و روزیر و همکاران(۲۰۱۷) افزایش وزن خشک ریشه اولیه ذرت بر اثر تلقیح بذر با باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* را نشان دادند. بررسی فوکامی و همکاران(۲۰۱٦) افزایش ٦۸/٤ درصدی وزن خشک ریشه اولیه و ٤۲/٦ درصدی وزن خشک ساقه اولیه گیاهچه‌های ذرت که بذر آنها با *آزوسپیریلوم لیپوفروم* تلقیح شده بود نسبت به شاهد(بذرهای تلقیح نشده) مشخص ساخت. مواد تنظیم کننده رشد گیاه که اثر محرک رشد گیاه دارند، با تحریک رشد موجب افزایش وزن خشک گیاهچه و اجزای آن می-گردند(ماهانتی و همکاران ۲۰۱۷). بنابراین، احتمال دارد مواد تحریک کننده رشد گیاه تولید شده به‌وسیله PGPB و قارچ‌های میکوریز به‌کارگرفته شده در این آزمایش سبب افزایش رشد گیاهچه دورگ‌های ذرت مورد بررسی و در نتیجه افزایش وزن خشک گیاهچه و اجزای آن گردیده‌اند.

مقایسه میانگین‌های شاخص بنیه گیاهچه بذرهای تلقیح شده با PGPB و قارچ‌های میکوریز مشخص کرد که بالاترین بنیه گیاهچه مربوط به بذرهای دورگ SC704تلقیح شده با باکتری‌های سه جنس و قارچ *فانلیفورمیس موسه* است. تلقیح توأم با باکتری‌های سه جنس و *گلوموس هویی* و تلقیح با *ازوتوباکتر* و *ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* همراه با قارچ‌های میکوریز به‌ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشت(جدول ۲). از لحاظ پاسخ به تلقیح توأم با باکتری و قارچ نیز به‌ترتیب دورگ‌هایB73 × K18 و SC700 در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. به‌طور متوسط تلقیح توأم سبب۲۵ درصد افزایش شاخص بنیه گیاهچه شد که بیانگر اثر محرک میکوریز بر شاخص بنیه گیاهچه نسبت به تلقیح فقط با باکتری است(جدول ۲). شاخص بنیه گیاهچه از شاخص‌های مهم ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه است(الیاس و همکاران ۲۰۱۲). باتوجه به تأثیرPGPB و تلقیح توأم با قارچ‌های میکوریز بر افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذر و وزن خشک گیاهچه دورگ‌های ذرت مورد بررسی تأثیر این باکتری‌ها و قارچ‌ها بر افزایش شاخص بنیه گیاهچه دور از انتظار نیست.

بررسی ضرایب همبستگی ساده بین ویژگی‌های مورد بررسی مشخص نمود که کلیه ویژگی‌های مورد بررسی با یکدیگر دارای همبستگی معنی‌دار یا بسیار معنی‌دار هستند(جدول ۳). چنین نتیجه‌ای نشان دهنده برخورداری رابطه همبستگی بالای ویژگی‌های مورد بررسی با یکدیگر است که در توجیه نتایج بدست آمده از این پژوهش و تفسیر نتایج بسیار مؤثر است. باتوجه به‌این‌که رابطه ویژگی‌های مختلف گیاهچه ذرت دورگSC704 با میزان، سرعت ظهور و بنیه گیاهچه در مزرعه مشخص گردیده است(حمیدی و همکاران ۲۰۰۵)، بنابراین تأثیر ارتقای کیفیت بذر با PGPB و تلقیح توأم بذر با باکتری و قارچ‌های میکوریز بر بهبود رشد و نمو گیاهچه در مزرعه قابل انتظار است.

براساس نتایج این پژوهش و رابطه همبستگی ویژگی‌های بررسی شده مشخص شد تلقیح توأم بذر دورگ‌های ذرت مطالعه شده تأثیر قابل ملاحظه‌ای در ارتقای کیفیت بذر و تقویت بنیه گیاهچه داشته‌اند. همچنین از لحاظ تأثیر بر ویژگی‌های مورد مطالعه، تلقیح توأم بذر با قارچ *فانلیفورمیس موسه* و باکتری‌های *ازوتوباکتر کروکوکوم*، *آزوسپیریلوم لیپوفروم*، *آزوسپیریلوم برازیلنس* و *پسودوموناس فلورسنس*، تلقیح با دو باکتری *ازوتوباکتر کروکوکوم* و *پسودوموناس فلورسنس* و تلقیح با تک تک این باکتری‌ها بیشترین تأثیر مثبت را در برداشته‌اند. به احتمال زیاد، این تفاوت از نظر میزان تأثیر در وحله نخست به اختلاف توانایی این سه جنس PGPB در سازوکارهای تأثیرگذار بر ویژگی‌های بررسی شده مربوط می‌شود. سه دو رگ مورد مطالعه نیز از نظر پاسخ به تلقیح بذر با PGPB مورد مطالعه با یکدیگر متفاوت بودند. به‌طوری‌که به‌ترتیب دورگ‌های SC704، B73×K18 وSC700 بیشتر تحت تأثیر تلقیح بذر با این باکتری‌ها قرار گرفتند. با توجه به سازوکارهای تأثیر این باکتری‌ها بر ویژگی‌های مورد بررسی احتمال دارد که تفاوت‌های این دورگ‌ها ازنظر ترشح مواد محرک فعالیت این باکتری‌ها از قبیل اسیدآمینه تریپتوفان(پیش ماده تولید اکسین) و توانایی آنها در برقراری رابطه همیاری سبب اختلاف آنها با یکدیگر شده است. همچنین، مشخص شد هردو قارچ میکوریز در تلفیق با مجموع باکتری‌ها و یا دو باکتری *ازوتوباکتر* و *پسودوموناس* و یا*ازوتوباکتر* بیشترین تأثیر افزایندگی را بر قابلیت جوانه‌زنی بذر، بنیه گیاهچه و ویژگی‌های مرتبط در هر سه دورگ داشته‌اند. قارچ *فانلیفورمیس موسه* نیز مؤثرتر از *گلوموس هویی* بود. بررسی نتایج نقش قارچ‌های میکوریز را در تشدید اثر PGPB آشکار می‌سازد. با توجه به این‌که اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شده از ریشه‌های اولیه هفت روزه نشان دهنده نفوذ ریسه‌ها و تشکیل آرباسکول قارچ‌های میکوریز در

بافت‌های ریشه دورگ‌های ذرت مورد مطالعه بود(شکل‌های ۱، ۲ و ۳)، بنابراین تأثیر این قارچ‌ها در بروز تأثیر افزایندگی مشاهده شده قابل استنباط است. فعالیت تولید مواد تنظیم کننده رشد دارای اثر تحریک کننده رشد توسط قارچ‌های میکوریزنیز شناخته شده است، به‌طوری که راماسامی و همکاران(۲۰۱۱) و فیتز و همکاران(۲۰۰۵) تولید فعال اکسین‌های اسید ایندول بوتیریک و اسید ایندول۳-استیک به‌وسیله قارچ میکوریز آرباسکولار *گلوموس اینترارادیس* را در همزیستی با ریشه‌های ذرت گزارش کردند. بنابراین، با توجه به افزایش اثر محرک PGPB بر قابلیت جوانه‌زنی بذر، بنیه گیاهچه و ویژگی‌های مرتبط در تیمارهای تلقیح توأم با قارچ‌های میکوریز مورد بررسی در این پژوهش، می‌توان استنباط کرد که به احتمال زیاد این قارچ‌ها و PGPB با سازوکار تولید مواد تنظیم کننده رشد تحریک کننده اثر هم‌افزایی[1] یکدیگر را تقویت کرده‌اند.

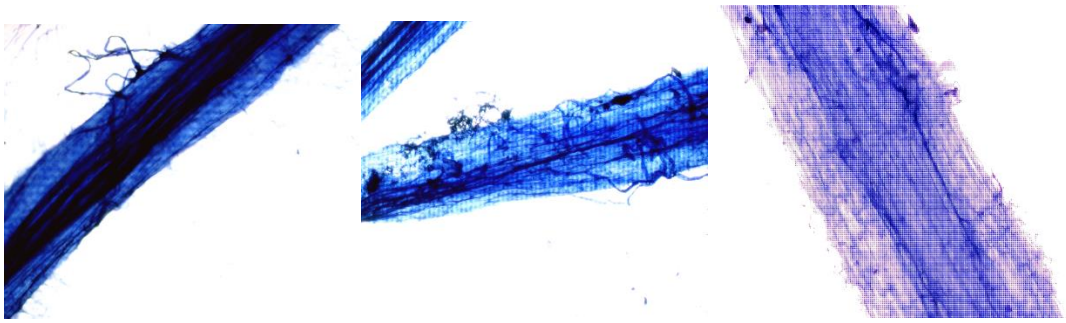
جدول۳- ضرایب همبستگی ساده بین درصد جوانه‌زنی بذر و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه هیبریدهای ذرت دیررس مورد مطالعه تحت اثر تلقیح بذر با PGPB و قارچ‌های میکوریز.

ویژگی‌ها	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰
۱.قابلیت جوانه زنی	۱									
۲.متوسط زمان جوانه زنی	۰/۸۵۱**	۱								
۳.متوسط جوانه زنی روزانه	۰/۹۰۸**	۰/۷۱۰*	۱							
٤.طول گیاهچه	۰/۷۱٤*	۰/۸۹٤**	۰/۷۰۵**	۱						
٥.طول ساقه اولیه	۰/۷۹۱*	۰/۹۰٤*	۰/۷۱۸*	۰/۹۱٦**	۱					
٦.طول ریشه اولیه	۰/٥۹۸ns	۰/۸٦۹**	۰/٦۱٦**	۰/۹۲۷**	۰/۹۰۲**	۱				
۷.وزن خشک گیاهچه	۰/۹۱۰**	۰/۷۸٥*	۰/۸٥۲**	۰/۷٤۱*	۰/۷۱۸**	۰/۹٦۲*	۱			
۸.وزن خشک ساقه اولیه	۰/۹۰۰**	۰/۷٤۹*	۰/۸۰۰**	۰/۷۱٥*	۰/٤۰٦ns	۰/٤۱۸ns	۰/۹٤۹**	۱		
۹. وزن خشک ریشه اولیه	۰/۸۰۸**	۰/۷۰۱*	۰/۸٦٤**	۰/٦۱٤**	۰/٤۱۸ns	۰/٤٦۷ns	۰/۹٦۰**	۰/۹٦۷**	۱	
۱۰. شاخص بنیه گیاهچه	۰/۹۰۱**	۰/٦۰۹*	۰/۹۱۳**	۰/٦۰۸*	۰/۷۱۲**	۰/۷۱۰**	۰/۹٥٤**	۰/۹۷۷**	۰/۹۷۷**	۱

nsغیر معنی دار ، *و**به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ٥ درصد و ۱ درصد

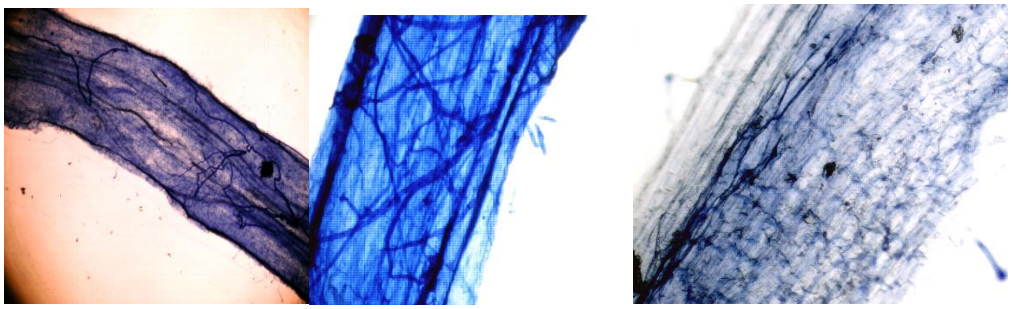
[1]Synergic

(الف) (ب) (ج)



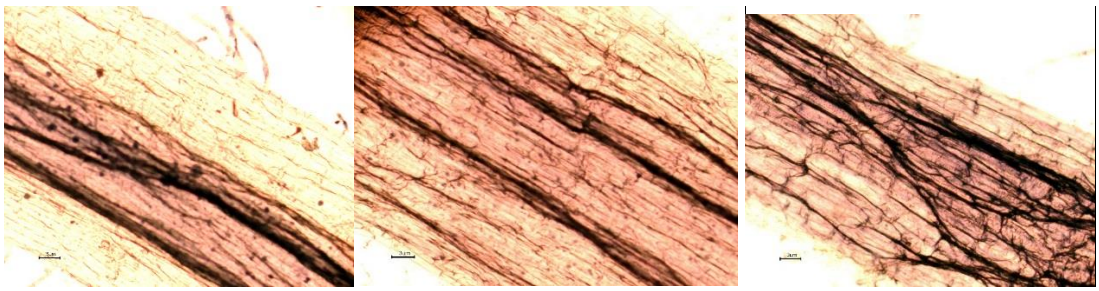
شکل۱- تصویر میکروسکوپی(با بزرگنمایی ۱۰۰برابر) از نفوذ ریسه و تشکیل آرباسکول در بافت ریشه اولیه گیاهچه هفت روزه ذرت دورگSC704 تلقیح شده با PGPB و قارچهای میکوریز(الف)بدون قارچ میکوریز، (ب) *فانلیفورمیس موسه*، (ب) *سیمیگلوموس هوئی*.

(الف) (ب) (ج)



شکل ۲- تصویر میکروسکوپی(با بزرگنمایی ۱۰۰برابر) از نفوذ ریسه و تشکیل آرباسکول در بافت ریشه اولیه گیاهچه هفت روزه ذرت دورگSC700 تلقیح شده با PGPB و قارچهای میکوریز(الف)بدون قارچ میکوریز، (ب) *فانلیفورمیس موسه*، (ج) *سیمیگلوموس هوئی*.

(الف) (ب) (ج)



شکل ۳- تصویر میکروسکوپی(با بزرگنمایی ۱۰۰برابر) از نفوذ ریسه و تشکیل آرباسکول در بافت ریشه اولیه گیاهچه هفت روزه ذرت دورگ B73 × K18 تلقیح شده با PGPB و قارچهای میکوریز (الف)بدون قارچ میکوریز، (ب) *فانلیفورمیس موسه*، (ج) *سیمیگلوموس هوئی*.

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق می‌توان اظهار داشت کاربرد این باکتری‌ها و قارچ‌های میکوریز ازطریق تلقیح بذر سبب ارتقای کیفیت بذر و بهبود بنیه گیاهچه دورگ‌های دیررس ذرت مورد بررسی شده است. لذا بهبود رشد ونمو بعدی بوته و استقرار بیشتر و سریع‌تر تراکم بوته مطلوب که در دستیابی به عملکرد بیشتر نقش قابل ملاحظه‌ای دارد، مورد انتظار است. به‌نظر می‌رسد که PGPB مورد مطالعه به احتمال زیاد از طریق سازوکار تولید مواد تنظیم کننده رشد و افزایش جوانه‌زنی بذر و بنیه گیاهچه توانسته باشد در بروز نتایج بدست آمده در آزمایش گلخانه‌ای و آزمایش مزرعه‌ای، به‌ویژه مرحله ظهور گیاهچه و استقرار آن مؤثر واقع شده باشد. همچنین اثر تقویت کننده قارچ‌های میکوریز بر تأثیر PGPB بیانگر قابلیت تشدید کننده اثر مثبت PGPB بر رشد و نمو می‌باشد که نیاز به بررسی بیشتر دارد. برمبنای این نتایج امکان کاربرد سویه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه قارچ‌های میکوریز مورد بررسی برای پوشش‌دهی بذرهای دورگ‌های دیررس ذرت بررسی شده وجود دارد. لذا امکان مصرف این کود زیستی از این طریق برای ارائه و مصرف تجاری آنها برای کشت در مزارع ذرت کاری کشور مو تواند فراهم شود.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب سپاسگزاری خویش را نسبت به دست‌اندرکاران مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور و پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی که امکان اجرای پروژه مربوطه را فراهم ساختند، ابراز می‌دارند.

منابع مورد استفاده

Agbodjato NA, Noumavo PA, Adjanohoun A, Agbessi L and Baba-Moussa L, 2016. Synergistic Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Chitosan on In Vitro Seeds Germination, Greenhouse Growth, and Nutrient Uptake of Maize (*Zea mays* L.). Biotechnology Research International, 2016:1-11.

Alizadeh K, Rezaei-chiyaneh E, Amirnia R and Barin M, 2020. Combined Application of PGPR and Mycorrhizal Fungi on Seed yield, Macronutrients Uptake and Soil Biological Index in Intercropping Linseed (*Linum usitatissimum* L.) with Faba bean (*Vicia faba* L.). Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30(1): 19-40.

Aliabadi Farahani H, Lebaschi MH and Hamidi A, 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus and water stress on quantity and quality characteristics of coriander. Advances in Natural and Applied Science, 2(2): 55-59.

Amogou O, Dagbénonbakin G, Adoukè Agbodjato N, Noumavo PA, Adio Salami H, Valère S, Mèvognon Ricardos A, Abado Sylvestre A, Fousseni K, Djihal A, Adjanohoun A and Baba-Moussam L, 2018. Influence of Isolated PGPR Rhizobacteria in Central and Northern Benin on Maize Germination and Greenhouse Growth. American Journal of Plant Sciences, 9: 2775-2793.

Aguegue MR, Noumavo PA, Dagbenonbakin G, Agbodjato NA, Assogba S, Koda, AD, Adjanohoun A, Rivera R, de la Noval Pons BM and Baba-Moussa L, 2017. Arbuscular Mycorrhizal Fertilization of Corn (*Zea mays* L.) Cultivated on Ferrous Soil in Southern Benin. Journal of Agricultural Studies, 5(3): 99-115.

Budak B, Khalvati MA and Özkan ŞS, 2017. The Usage of Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in Drought Areas and Low–Input Crop Production Systems. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 14 (2):69-73.

Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, Subramanian S and Smith DL, 2018. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. Frontiers in Plant Science, 9: 1-17.

Bákonyi N, Bott S, Gajdos É, Szabó A, Jakab A, Tóth B, Makleit P and Veres Sz, 2013. Using Biofertilizer to Improve Seed Germination and Early Development of Maize. Polish Journal of Environmental Studies, 22(6): 1595-1599.

Cassa´n F, Bottini R, Schneider G and Piccoli P, 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* Hydrolyze Conjugates of GA20 and Metabolize the Resultant Aglycones to GA1 in Seedlings of Rice Dwarf Mutants. Plant Physiology, 125: 2053–2058.

Cozzolino V, Di Meo V and Piccolo A, 2013. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi applications on maize production and soil phosphorus availability. Journal of Geochemical Exploration, 129: 40–44.

Cranenbrouck S, Declerck S, and de Bloulois HD, 2008. International Training on in Vitro Culture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Univercité Cattholique de Louvain.

Dalla Santa OR, Soccol CR, Ronzelli Junior P, Hernández RF, Alvarez GLM, Dalla Santa HS and Pandey A, 2004. Effects of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions. Food, Agriculture and Environment, 2(1): 238-242.

Da Silva Araújoa AE, Divan Baldani VL, de Souza Galisa, P, Pereirac, JA and Baldani JI, 2013. Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. Applied Soil Ecology, 64: 49-55.

Delshadi S, Ebrahimi M and Shirmohammadi E, 2017. Effectiveness of plant growth promoting rhizobacteria on *Bromus tomentellus* Boiss seed germination, growth and nutrients uptake under drought stress. South African Journal of Botany, 113:11-18.

Don R and Ducournau S, 2018. Hand book for seedling evaluation (4th. .Ed.). International Seed Testing Association (ISTA), Zurich, Switzerland.

Elias SG, Copeland LO, McDonald MB and Baalbaki, RZ, 2012. Seed Testing: Principles and Practices. Michigan State University Press.

Finch-Savage WE and Bassel GW, 2016. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. Journal of Experimental Botany, 67(3): 567–591.

Fitze D, Wiepning A, Kaldorf M and Ludwig-Müller J, 2005. Auxin in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. Journal of Plant Physiology, 162:1210-1219.

Fulchieri M and Frioni L, 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.): effect on yield in a field experiment in central Argentina.Soil Biology and Biochemistry, 26:921-923.

Fukami J, Nogueira MA, Araujo RS and Hungria M, 2016. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. AMB Express, 6(3): 1-13.

Gamalero E, Trotta A, Massa N, Copetta A, Martinotti MG and Berta G, 2004. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. Mycorrhiza, 14:185-192.

Ghalavand A, Hamidi A, Dehghan Shoar M, Malakooti MJ, Asgharzadeh A and Chookan R, 2006. Application of Biofertilizers, an ecological strategi for agroecosystems sustainable management. Key Addresses Proceedings of 9th Iranian Crop Sciences Congress, Abureyhan Campus of University of Tehran, 26-28 August, Pp: 200-224.

Goudaa S, Kerryb RG, Dasc G, Paramithiotisd S, Shine HS and Patrac JK, 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research, 206: 131–140.

Hijri M and Bâ A, 2018. Editorial: Mycorrhiza in Tropical and Neotropical Ecosystems. Frontier Plant Science, 9:308:1-3.

Hamidi A, Rezazadeh J and Asgari V, 2005. Study on relationship of hybrid Maize (*Zea mays* L. cv. Single Cross 704) field seedling emergence and some related laboratorial measured traits. Seed and Plant, Journal of Agricultural Research, 21(2): 213-240, (In Persian).

Hamidi A, Choukan R, Asgharzadeh A, Dehghanshoar M, Ghalavand A and Malakouti J, 2010. Study on effect of application of plant growth promoting rhizobacteria on seedling emergence and establishment

and grain yield of late maturity maize (*Zea mays* L.) hybrids in field conditions. Seed and Plant Production Journal 2: 183–206 (In Persian).

International Seed Testing Association, 2020. International rules for seed testing. International seed testing association (ISTA), Zurich, Switzerland.

Mahanty T, Bhattacharjee S, Goswami M, Bhattacharyya P, Das B, Ghosh A and Tribedi P, 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainableagriculture development Environmental Science and Pollution Research, 24: 3315–3335.

Majidi M, Taghvaei M, Heidari G, Edalat M and Emam Y, 2016. Dormancy release of wild barley seed germination by using plant growth regulators. Environmental and Experimental Biology, 14: 145–150.

Mangmang JS, Deaker R and Rogers G, 2014. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination Characteristics of Tomato and Lettuce. Journal of Tropical Crop Science, 1(35): 35-60.

Mohammadi K, Khalesro S, Sohrabi Y and Heidari G, 2011. A Review: Beneficial Effects of the Mycorrhizal Fungi for Plant Growth. Journal of Applied Environment and Biological Science, 1(9)310-319.

Nazir N, Kamili AN and Shah D, 2018. Mechanism of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in enhancing plant growth – A Review. International Journal of Management, Technology and Engineering, 8(7): 709-721.

Noumavo PA, Kochoni E, Didagbé YO, Adjanohoun A, Allagbé, M, Sikirou, R, Gachomo, EW, Kotchoni SO and Baba-Moussa L, 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. American Journal of Plant Sciences, 4: 1013-1021.

Qiu Y, Amirkhani M, Mayton H, Chen Z and Taylor AG, 2020. Biostimulant Seed Coating Treatments to Improve Cover Crop Germination and Seedling Growth. Agronomy, 10: 154:1-14.

Rahimzadeh S and Pirzad A, 2019. *Pseudomonas* and mycorrhizal fungi co-inoculation alter seed quality of flax under various water supply conditions. Industrial Crops & Products 129: 518–524.

Ranal M and De Santana DG, 2006. How and why to measure the germination process? Revista Brasilian Botanique, 29(1): 1-11.

Ramasamy K, Joe MM, Kim K, Lee S, Shagol C, Rangasamy A, Chung J, Islam, R and Sa T, 2011. Synergistic Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. Korean Journal of Soil Science and Fertilizer, 44(4): 637-649.

Rivas-Francoa F, Hamptona JG, Morán-Diezc ME, Narcisoa J, Rostás M, Wessmand P, Jacksone TA and Glare TR, 2019. Effect of coating maize seed with entomopathogenic fungi on plant growth and resistance against *Fusarium graminearum* and *Costelytra giveni*. Biocontrol Science and Technology, 29(9): 1-25.

Rocha I, Duarte I, Ma Y, Souza-Alonso P, Látr A, Vosátka M, Freitas H and Oliveira RS, 2019. Seed Coating with Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Improved Field Production of Chickpea. Agronomy, 9(471): 1-11.

Rozier C, Hamzaoui J, Lemoine D, Czarnes S and Legendre L, 2017. Field-based assessment of the mechanism of maize yield enhancement by *Azospirillum lipoferum* CRT1. Scientific Reports, 7(7416): 1-12.

Rudolph N, Labuschagne N and Aveling TAS, 2015. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth of maize. Seed Science and Technology, 43: 1-12.

Russo A, Felici C, Toffanin A, Götz M, Collados C, Barea JM, Moënne-Loccoz Y, Smalla, K, Vanderleyden, J and Nuti M, 2005. Effect of *Azospirillum* inoculants on arbuscular mycorrhiza establishment in wheat and maize plants. Biology and Fertility of Soils, 41: 301–309.

Ruth B, Khalvati M and Schmidhalter U, 2011. Quantification of mycorrhizal water uptake via high-resolution on-line water content sensors. Plant and Soil, 342:459–468.

Sarikhani M R and Amini R, 2020. Biofertilizer in Sustainable Agriculture: Review on the Researches of Biofertilizers in Iran. 30(1): 329-365.

Senberga A, Dubova L and Alsina I, 2018. Germinat ion and growth of primary roots of inoculated bean (*Vicia faba*) seeds under different temperatures. Agronomy Research, 16(1): 243 253.

Subash M, Rafath H and Lalitha J, 2015. Influence of GA3 and IAA and their frequency of application on seed germination and seedling quality characters. International Letters of Natural Sciences, 3: 44-48.

Usharani G, Sujitha D, Sivasakthi S and Saranraj P, 2014. Effect of arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi (*Glomus fasciculatum* L.) for the improvement of growth and yield of maize (*Zea mays* L.). Central European Journal of Experimental Biology, 3 (2):30-35.

Widawati S and Suliasih S, 2018. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination and Seedling Growth of *Sorghum bicolor* L. Moench. Earth and Environmental Science, 166: 1-10.