نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 1، شماره 1، پاییز 1388، ص. 64-53

Journal of Agroecology
Vol. 1, No. 1, Fall 2009, p. 53-64

تأثیر باکتری‌های تثبیت کننده آزادزی و همزیست نیتروژن بر ویژگی‌های بذری و گیاهچه بذرهای سویا تولید شده در شرایط آبیاری محدود

حامد هادی*[1]، جهانفر دانشیان[2]، احمد اصغر زاده[3]، آیدین حمیدی[4]، پریسا جنوبی[5]، فرشاد قوشچی[6] و محمد نصری[7]

تاریخ دریافت: 88/10/12
تاریخ پذیرش: 88/10/30

چکیده

در این پژوهش تأثیر باکتری‌های تثبیت کننده آزادزی و همزیست نیتروژن بر ویژگی‌های گیاهچه و بذرهای سویای تولید شده در شرایط آبیاری محدود، در آزمایشگاه و مزرعه در سال 1385 ارزیابی گردید. در آزمایشگاه)، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار و در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل بذرهای تولید شده در شرایط آبیاری محدود (آبیاری گیاهان مادری پس از مقادیر 50 (آبیاری مطلوب)، 100 (تنش متوسط)، 150 (تنش شدید) میلی متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A)، رقم (منوکین، ویلیامز و لاین اس.آر.اف x تی3) و تلقیح بذر (تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم، تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم، عدم تلقیح) بود. نتایج نشان دادند که تنش خشکی باعث کاهش سرعت و عدم یکنواختی جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه گردید. باکتری تأثیری بر ظهور گیاهچه نداشت ولی پس از رویش وزن خشک برگ و ساقه، سطح برگ و شاخص بنیه گیاهچه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد. در سطوح مختلف آبیاری، تیمارهای تلقیح با باکتری از ارتفاع، وزن خشک برگ، ساقه، گیاهچه و بنیه بیشتری نسبت به عدم تلقیح برخوردار بودند. تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید با برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم وزن خشک ریشه‌چه را نسبت عدم تلقیح افزایش داد. بنابراین کاربرد باکتری باعث افزایش بنیه گیاهچه بذرهای حاصل از شرایط آبیاری محدود گردید.

واژه‌های کلیدی: بنیه گیاهچه، ظهور گیاهچه، برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم، ازتوباکترکروکوکوم

مقدمه

از آنجایی که کشور ما دارای آب و هوای نیمه خشک است و کمبود آب یکی از مشکلات اساسی کشاورزی ایران می‌باشد، بنابراین وقوع تنش خشکی در دوره رشد گیاهان زراعی امری اجتناب ناپذیر می‌باشد. Viera (1991) عنوان کرد کیفیت بذر سویا علاوه بر ژنتیکی بودن این صفت، تحت تأثیر عواملی است که در طی تولید بذر در مزرعه اتفاق می‌افتد که از جمله این عوامل نوسانات رطوبت شامل خشکی و دمای بالا می‌باشد. بررسی و ارزیابی کیفیت بذر از جایگاه ویژه‌ای در تولید، کنترل و گواهی بذر برخوردار است (Desai, 2004).

با توجه به اهمیت کیفیت بذر، حفظ و ارتقای آن دارای نقش ویژه‌ای در برنامه تولید و فرآوری موفق بذر می‌باشد. با توجه به تعریف ارتقای کیفیت بذر به تیمار بذر با استفاده از ترکیبات و فرآیندهایی اطلاق می‌شود که به کارگیری آنها موجب بهبود ویژگی‌هایی از قبیل حداکثر خلوص فیزیکی و قابلیت و سرعت جوانه زنی می‌گردد که بذر را در ایجاد بوته‌هایی که دستیابی به عملکرد کیفی و کمی محصول ممکن می‌سازند یاری می‌دهند (Helmer, 2000). ارتقای کیفیت بذر از جمله مهمترین راه‌های دستیابی به نظام‌های کشاورزی پایدار محسوب شده و تقویت زیستی بذر با افزودن باکتری‌های افزاینده رشد گیاه از جدیدترین روش‌های ارتقای کیفیت بذر می‌باشد (McQuilken et al., 1998) و روشهای مختلف عمل‌آوری فیزیولوژیکی و زیستی بذر در حال جایگزینی تدریجی تیمارهای شیمیایی می‌باشند (Callan, 1991). با توجه به اینکه این پژوهش تأثیر باکتری‌ها بر بذرهای سویای تولید شده در شرایط آبیاری محدود را مورد بررسی قرار می‌دهد لذا از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد.

1، 6 و 7- اعضای هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین
(* - نویسنده مسئول: Email: hamedhadi9@yahoo.com)
2- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش دانه های روغنی
3- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب، بخش بیولوژی خاک
4- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال
5- عضو هیأت علمی گروه زیست شناسی دانشگاه تربیت معلم

مـواد و روش‌ها

این پژوهش بصـورت آزمایشـگاهی و مزرعـه‌ای در سـال 1385 انجام شد. بخش آزمایشـگاهی در آزمایشـگاه کیفیـت بـذر موسسـه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج و بخش مزرعه‌ای در مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین اجرا گردیـد. در آزمایشگاه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکـرار و در مزرعـه بـه صـورت اسـپلیت فاکتوریـل در قالـب طـرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجـرا گردیـد. تیمارهـا شـامل بذرهای تولید شده در شرایط آبیاری محدود (آبیاری گیاهان مـادری پس از مقادیر 50 (آبیاری مطلوب)، 100 (تنش متوسط)، 150 (تنش شدید) میلی‌متر تبخیر از تشـت تبخیـر کـلاس A)، رقـم (منـوکین، ویلیـامز و لایـن اس.آر.اف۷ تـی3) و تلقـیح بـذر (تلقـیح بـا بـرادی‌ریزوبیـومژاپونیکـوم (بـاکتری همزیسـت)، تلقـیح بـا برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم (باکتری آزادزی) و عدم تلقیح) بود. بذرها قبل از کاشت با مایـه تلقـیح مـایع و خـالص باکتری ازتوباکترکروکوکوم و برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم (سویه تجـارتی ایران) که توسط بخش تحقیقات بیولوژی خـاک موسسـه تحقیقـات خاک و آب جدا و خالص سازی شده و مایه تلقیح در هـر میلـی‌لیتـر حاوی 10^9 سلول زنده و فعال بود تلقیح شدند و برای چسبندگی بهتر به بذر از محلول چسباننده و محافظ تولیدی این موسسه استفاده شد. در آزمایشگاه بذرها لابلای کاغذ جوانه‌زنی کشت و به مدت 7 روز در دمای 25 درجه سانتیگرداد قرار داده شد (ISTA, 2008). با شمارش روزانه بذرهای جوانه‌زده، متوسـط زمـان لازم بـرای جوانـه‌زنـی کـه شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد با اسـتفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Elis & Robert, 1981) :

$$MTG = \sum(nd) / \sum n \qquad [\text{رابطه } 1]$$

در این رابطه (n) تعداد بذر جوانه‌زده در طی d روز، (d) تعداد روزها و ($\sum n$) کل تعداد بذرهای جوانه زده می‌باشـد. متوسـط جوانـه‌زنـی روزانه[1] (MDG) که شاخصی از سرعت جوانه‌زنـی روزانـه اسـت، بـا استفاده از رابطه زیر تعیین گردید (Hunter et al., 1984):

$$MDG = FGP / D \qquad [\text{رابطه } 2]$$

در این رابطه درصد جوانه‌زنی نهایی[2] (FGP) و تعداد روزهای انجـام آزمایش[3] (D) می‌باشد. در پایان طول و وزن خشک گیاهچه[4] (SDV) اندازه‌گیری گردید. با استفاده از داده‌ها شاخص وزنی بنیـه گیاهچـه[5] (SVI) (Abdul Baghi & Anderson, 1973)، اندازه‌گیری گردید.

$$SVI = FGP \times SDV \qquad [\text{رابطه } 3]$$

در آزمایش مزرعه‌ای هر کرت از سه خط کاشت با فاصله 60 سـانتی متر و طول 4 متر تشیکل شده بود. در هر خـط کاشـت 160 بـذر بـا فاصله 5 سانتی‌متر، 2 بذر در هر حفـره قـرار داده شـد. ظهـور اولیـه گیاهچه‌ها (6 روز پس از کاشت)، درصد ظهور نهایی گیاهچه‌هـا (15 روز پس از کاشت)، در نظر گرفته شد. متوسط زمان ظهور گیاهچه‌ها[6] (MET) با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (Orchard, 1977):

$$MET = \sum f x_i / F \qquad [\text{رابطه } 4]$$

در این رابطه fx_i تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده در میانه دوره ظهـور گیاهچه‌ها x (روز هفتم) و F حداکثر تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده در این دوره هستند. همچنـین، سـرعت ظهـور گیاهچـه‌هـا در مزرعـه[7] (FER) با در نظر گرفتن تاریخ نخستین آبیاری به عنوان تاریخ کاشت و با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$FER = FFE / D \qquad [\text{رابطه } 5]$$

FFE، درصد ظهور نهایی گیاهچه‌ها[8] و D تعداد روزها از کاشـت تـا پایان یادداشت برداری می‌باشد. سرعت ظهـور تجمعـی گیاهچـه‌هـا درمزرعـه[9] (CER) نیـز بـا اسـتفاده از رابطـه زیـر مشـخص گردیـد (Orchard, 1977):

$$CER = \sum F / D \qquad [\text{رابطه } 6]$$

F تعداد گیاهچه‌های شمارش شده و D تعداد روز تا شمارش نخسـت می‌باشد. شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه[10] با استفاده از رابطـه زیـر محاسبه گردید (Ram et al., 1989):

$$FEI = (FFE / FGP) \times 100 \qquad [\text{رابطه } 7]$$

ظهـور گیاهچـه در مزرعـه (FFE) و درصـد جوانـه‌زنـی (FGP) می‌باشد. وزن خشک هر گیاه را بـا قـرار دادن در آون بـه مـدت 48 ساعت در دمای 75 درجه سانتیگراد و توزین با ترازوی دقیق با دقت 0/01 ± گرم تعیین گردید. شاخص بنیه گیاهچـه در مزرعـه نیـز بـا استفاده از رابطه 3 تعیین گردیـد (Abdul Baghi and Anderson, 1973). به منظور ارزیابی گیاهچه در مزرعه، پس از استقرار گیاهچـه نمونه‌برداری و تعداد گره روی ساقه و ارتفاع گیاهچه بـا خـط کـش برحسب سانتیمتر اندازه گیری شد. وزن خشـک گیاهچـه بـا خشـک کردن در آون به مدت 48 سـاعت در دمـای 75 درجـه سـانتیگراد و توزین با ترازوی دقیق با دقت 0/01 ± گرم تعیین گردید. سطح برگ براساس رابطه ارائه شده توسط سـبحانی و همکـاران (Sobhahi et al., 2000) محاسبه گردید.

1- Mean Daily Germination
2- Final Germination Percentage
3- Day
4- Seedling Dry Weight
5- Seedling Vigor Index
6- Mean Emergence Time
7- Field Emergence Rate
8- Final Field Emergence
9- Cumulative Emergence Rate
10- Field Emergence Index

سطح برگ = 0/748523 × (طول × عرض) + 0/000767 × (طول × عرض)^2 [رابطه 8]

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C (Ver 2.0) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های بذر در آزمایشگاه نشان داد که اثر متقابل سه‌گانه تأثیر معنی‌داری بر متوسط زمان جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه داشت (جدول 1). بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط رقم منوکین در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم سریعتر از سایر تیمارها جوانه زدند. بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب رقم ویلیامز در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم از متوسط جوانه‌زنی روزانه بالاتری برخوردار بودند (جدول 3). با توجه به اینکه متوسط زمان جوانه‌زنی شاخصی از سرعت جوانه‌زنی بذر بوده و معیاری از یکنواختی جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه محسوب می‌گردد (Hunter et al., 1984)، بروز تنش خشکی باعث عدم یکنواختی جوانه‌زنی و کاهش بنیه گیاهچه گردید تنش خشکی میزان جوانه‌زنی بذر در هر روز را کاهش داد. همچنین متوسط جوانه‌زنی روزانه شاخصی از سرعت جوانه‌زنی بذر می‌باشد (Marguir, 1962). با توجه به اینکه تأثیر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر افزایش قابلیت جوانه زنی و بنیه گیاهچه گیاهان مختلف بررسی و مورد تائید قرار گرفته است (Biswas et al., 2000) بنابراین در این آزمایش نیز کاربرد باکتری، بنیه گیاهچه و سرعت جوانه‌زنی را افزایش داد. تنش خشکی در طول دوره پر شدن دانه، 6 درصد جوانه‌زنی سویا را نسبت به آبیاری مطلوب کاهش داد (Dorenbos et al., 1989). بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب رقم ویلیامز در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم به ترتیب 9 و 8 درصد از جوانه‌زنی بالاتری نسبت به بذر شرایط تنش متوسط و شدید برخوردار بودند (جدول 3). قابلیت جوانه‌زنی بذرهای ذرت تلقیح شده با باکتری ازتوباکترکروکوکوم افزایش یافت (Apte & Shend, 1981). نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های گیاهچه در مزرعه نشان داد که اثر متقابل سه‌گانه تأثیر معنی‌داری بر تعداد گره، ارتفاع، وزن خشک برگ، ساقه، گیاهچه و شاخص بنیه گیاهچه داشت. اثر متقابل تنش و باکتری تأثیر معنی‌داری بر ظهور اولیه گیاهچه و متوسط زمان ظهور گیاهچه داشت (جدول 2). با توجه به اینکه پس از جوانه‌زنی و رشد قلاب گیاهچه به سطح خاک فشار وارد آورده و از سطح خاک خارج می‌شود 6 روز پس از کاشت، تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده به عنوان ظهور اولیه منظور گردید و بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید با توجه به اینکه خسارت ناشی از تنش کم‌آبی به جنین آسیب رسانده و از ظهور گیاهچه کمتری برخوردار است و بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط اندوخته کمتری را کسب نموده و اندازه کوچکتری داشتند لذا از ظهور بهتری برخوردار بودند. ظهور گیاهچه بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم 37 درصد و با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم 38 درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش یافت (جدول 6). برای نخستین بار Kloepper et al. (1986) سویه‌هایی از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه را یافتند که در شرایط گلخانه درون گلدان‌های حاوی محیط کشت خاکی و نیز در مزرعه موجب افزایش ظهور گیاهچه‌های سویا و کلزا می‌شدند. ظهور سریعتر گیاهچه‌های ارقام پنبه بر اثر تلقیح بذر با باکتری‌های مختلف افزاینده رشد گیاه از جمله ازتوباکتر را گزارش شده و ترشح ایندول 3- استیک اسید توسط این باکتری را در بروز این پاسخ موثر دانسته‌اند (Hafeez et al., 2004). بذرهای شرایط تنش شدید لاین اس.آر.اف×تی3، 42 برابر سریعتر از بذرهای شرایط آبیاری مطلوب همین لاین از سطح خاک ظهور یافت (جدول 5) که دلیل این افزایش سرعت ظهور گیاهچه مربوط به کوچک شدن اندازه بذر بود همان طور که سایر محققان نیز نتیجه گرفتند بذرهای کوچکتر از ظهور گیاهچه بهتری نسبت به بذرهای درشت تر برخوردار می‌باشند. تنش خشکی در طی دوره تکامل بذر معمولا مانع تکامل و در نتیجه بذرهای برداشت شده کوچکتر می‌شود ارقام سویا با بذر ریز از کیفیت بالاتری نسبت به ارقام بذر درشت در شرایط تنش خشکی برخوردار است (Delouche, 1980). باکتری‌های افزاینده ظهور گیاهچه، سرعت ظهور گیاهچه‌ها در مزرعه و استقرار بوته را افزایش می‌دهند (Kloepper et al., 1991). ظهور سریعتر گیاهچه، امکان رهایی از خطر بیماری‌های گیاهچه و بهره برداری بیشتر از فصل رشد را فراهم می‌سازد (Kloepper et al., 1986). با توجه به اینکه گیاهچه سریعتر ظهور یافته از فصل رشد بیشتر استفاده می‌نماید، از اینرو مناسبتر می‌باشد. شاخص ظهور گیاهچه معیاری برای استقرار گیاه در مزرعه است (Ram et al., 1989). بذرهای شرایط تنش شدید 16 درصد نسبت به آبیاری مطلوب از استقرار گیاهچه کمتری برخوردار بودند (جدول 6). رقم ویلیامز در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم شاخص ظهور گیاهچه بالاتری داشت که نسبت به عدم تلقیح 11 درصد افزایش یافت (جدول 5). ظهور سریعتر گیاهچه‌های ارقام پنبه بر اثر تلقیح بذر با باکتری‌های مختلف افزاینده رشد گیاه، مهار بیمارگرهای گیاهی و بهبود تغذیه گیاه بر این خصوصیات را گزارش شده است (Hafeez et al., 2004). این اثر می‌تواند به تولید هورمون‌های افزاینده رشد گیاه از قبیل اکسین، اسید جیبرلیک و سیتوکنین بوسیله باکتری‌های افزاینده رشد مربوط باشد. برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم 35 درصد و تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم 48 درصد افزایش سطح برگ را نسبت به عدم تلقیح در پی داشت (جدول6). بررسی‌های انجام شده روی کلزا مشخص ساخت که تحت شرایط مزرعه نیز باکتری‌های افزاینده رشد بر ظهور گیاهچه موثر واقع می‌شوند و سرعت ظهور گیاهچه را افزایش می‌دهند. این افزایش همراه با توسعه قابل ملاحظه سطح برگ گیاهچه‌ها بوده است.

همچنین، مشخص گردید که باکتری‌های افزاینده ظهور گیاهچه به کار برده شده برای سویا و کلزا چنین اثری را در سایر محصولات زراعی از قبیل گوجه فرنگی، هویج، گندم، ذرت، لوبیا سفید و یونجه نیز نشان دادند (Kloepper et al., 1986). بذر شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین تلقیح شده با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم به ترتیب 38، 37 و 46 درصد ارتفاع، وزن خشک و شاخص بنیه گیاهچه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول 4). تحقیقات نشان داده‌اند که تلقیح توأم برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم و ازتوباکترکروکوکوم باعث افزایش ارتفاع گیاه سویا می‌گردد (Vessey, 2003). وزن خشک گیاه معیاری اساسی برای ارزیابی استقرار بوته‌های برخوردار از بنیه قوی در مزرعه محسوب می‌شود (Martin et al., 1988). برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بر تربچه تأثیر معنی‌داری داشته و 15 درصد وزن خشک گیاه را نسبت به عدم تلقیح افزایش می‌دهد (Antoun, 1998)، همچنین گزارش شده که تلقیح با سویه‌های برادی‌ریزوبیوم باعث بهبود رشد رویشی در سویا می‌شود (Meghvansi et al., 2005). تلقیح بذر شرایط تنش متوسط رقم منوکین با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم و ازتوباکترکروکوکوم از بیشترین میزان وزن خشک ساقه در آزمایشگاه و وزن خشک گیاهچه در مزرعه برخوردار بود. ریزوبیوم‌ها با ترشح ترکیبات مختلفی مانند اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریبوفلاوین‌ها و ویتامین‌ها با نفوذ در ریشه گیاهان لگوم و غیر لگوم باعث القای افزایش رشد می‌شوند (Dakora, 2003). در واقع باکتری‌ها با تولید این ترکیبات، مخصوصاً تامین نیتروژن بیشتر، اثرات خود را بر گیاه میزبان اعمال می‌نمایند. تیمار بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم از تعداد گره ساقه اصلی و شاخص وزنی بنیه گیاهچه بیشتری در آزمایشگاه برخوردار بود. لومیکروم و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط ریزوبیوم تولید و به محیط ریزوسفری آزاد می‌شود، عاملی برای تحریک رشد گیاهان می‌باشد (Dakora, 2003). طول ساقه اولیه یکی از شاخص‌های بنیه گیاهچه محسوب می‌شود که از آن در آزمون تجزیه و تحلیل رشد گیاهچه جهت ارزیابی بنیه گیاهچه استفاده می‌گردد (Hampton & Tekrony, 2005). تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط رقم منوکین با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم 17 درصد طول ساقه‌چه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول 3). تحقیقات دیگر محققان نیز نشان داده است که طول ساقه در اثر تلقیح با سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Meghvansi et al., 2005). تحقیقات نشان داده که لومیکروم و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط ریزوبیوم آزاد می‌شود باعث تحریک رشد گیاهان می‌شود (Zhang et al., 2002) به نظر می‌رسد که لومیکروم‌ها و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط باکتری آزاد می‌شود باعث افزایش رشد و طول سلولهای اندام هوایی گردیده و در نتیجه از طول ساقه‌چه بیشتر گردیده است. با توجه به اینکه طول گیاهچه معیاری از بنیه گیاهچه محسوب شده و به عنوان یکی از شاخص‌های ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه گیاهان زراعی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hampton & Tekrony, 2005). گیاهچه‌های رشد یافته از بذرهای رقم منوکین تلقیح شده با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم از طول بیشتری برخوردار بودند (جدول 4). افزایش طول گیاهچه بذرهای تلقیح شده با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم مشاهده شد (Biswas et al., 2000). اندازه گیری طول ریشه‌چه یکی از روش‌های ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه می‌باشد (Hampton & Tekrony, 2005). ریشه‌چه رشد یافته از بذرهای رقم منوکین از طول بیشتری برخوردار بودند بنابراین نسبت به سایر ارقام، از بنیه بذر بالاتری برخوردار می‌باشند. وزن خشک ریشه‌چه از جمله معیارهای ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه می‌باشند (Hampton & Tekrony, 2005). تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید با برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم باعث افزایش 15 درصدی وزن خشک ریشه‌چه نسبت به بذرهای شرایط آبیاری مطلوب گردید (جدول 5). بذرهای رقم منوکین در تیمارهای تلقیح شده با باکتری از وزن خشک ریشه‌چه بیشتری برخوردار بودند (جدول 6). تلقیح بذر برنج با برادی ریزوبیوم سبب افزایش وزن خشک ریشه‌چه می‌گردد (Biswas et al., 2000). این تحقیق نشان داد که کاربرد باکتری توانست خسارت ناشی از تنش کم‌آبی را تعدیل کند به طوری که بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم 57 درصد و برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم 56 درصد نسبت به عدم تلقیح بنیه گیاهچه را افزایش داد. بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید در تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم 37 درصد و تلقیح با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توأم با ازتوباکترکروکوکوم 10 درصد نسبت به عدم مصرف با بنیه گیاهچه بیشتری ظاهر شدند (جدول 5).

تنش کم‌آبی باعث کاهش میزان و سرعت ظهور گیاهچه گردید. در حالیکه بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط از طول گیاهچه بالاتری نسبت به بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب برخوردار بودند. تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط، باعث بهبود ظهور گیاهچه گردید. بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید ظهور اولیه ، متوسط زمان ظهور و شاخص ظهور گیاهچه کمتری نسبت به بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب داشتند. تلقیح بذر با باکتری تأثیری بر ظهور گیاهچه نداشت ولی پس از رویش گیاهچه وزن خشک برگ و ساقه، سطح برگ و شاخص بنیه گیاهچه را در مقایسه با عدم تلقیح افزایش نشان داد. در سطوح مختلف آبیاری، تیمارهای تلقیح با باکتری از ارتفاع، وزن خشک برگ، ساقه‌چه و بنیه گیاهچه بیشتری نسبت به عدم تلقیح داشتند.

جدول ۱- میانگین مربعات ویژگی‌های گیاهچه در آزمایشگاه

Table 1- Mean square of seedling characteristics in lab

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی	متوسط زمان جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی روزانه	درصد جوانه‌زنی	طول گیاهچه	طول ریشه چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	وزن خشک ریشه	وزن خشک گیاهچه	شاخص بنیه گیاهچه
		df	Mean time germination	Mean daily germination	Final germination	Seedling length	Root length	Plumule length	Stem dry weight	Root dry weight	Seedling dry weight	Seedling vigor index
St	تنش کم آبی	2	0.109**	30.411**	1490.287**	36.043*	6.600	11.810**	777.527**	5.272	908.766**	10.777**
Error a	خطا الف	9	0.003	0.263	12.895	6.981	4.852	1.005	20.952	9.403	45.851	0.463
cul	رقم	2	0.681**	136.849**	6705.815**	271.350**	10.144**	268.148**	4378.025**	383.513**	6551.727**	1940.740**
st×cul	رقم×تنش	4	0.002	5.263	257.870**	5.731	2.185	2.250	37.963	40.016**	53.695	2.967**
bac	باکتری	2	0.047**	3.511**	172.065**	38.245**	2.214	30.952**	103.761**	26.588	36.259	2.034**
st×bac	باکتری×تنش	4	0.005	0.088	4.329	4.710	1.408	2.508	3.682	52.962**	60.525	0.331
st×bac	باکتری×تنش	4	0.009*	5.009**	245.398**	38.561**	2.386	35.151**	30.107	58.509**	42.773	2.770**
st×cul×bac	تنش×رقم×باکتری	8	0.010**	0.387*	33.662*	9.036	1.689	5.785*	35.320	17.653	72.799*	1.154**
Error b	خطا ب	72	0.003	0.322	15.798	6.152	1.680	2.768	17.653	10.307	28.217	0.323
C.V (%)	ضریب تغییرات		1.26	4.69	4.69	7.32	7.95	9.46	5.45	18.13	5.60	6.97

* and **: Significant at 5 and 1% probability level respectively

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲ – میانگین مربعات ویژگی‌های گیاهچه در مزرعه

Table 2- mean square of seedling characteristics in field

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی	ظهور اولیه گیاهچه	ظهور نهایی گیاهچه	متوسط زمان ظهور گیاهچه	سرعت ظهور		شاخص	تعداد	ارتفاع	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	سطح	شاخص بنیه
						سرعت ظهور گیاهچه	سرعت تجمعی گیاهچه	ظهور گیاهچه	گره		برگ	ساقه	گیاهچه	برگ	گیاهچه
		df	Primary Field Emergence	Final Field Emergence	Mean emergence time	Field Emergence Rate	Cumulative Emergence Rate	Field Emergence Index	Node number	Seedling height	Leaf dry weight	Stem dry weight	Seedling dry weight	Leaf area	Seedling vigor index
Rep	تکرار	2	0.048	0.004	0.019	0.002	0.012	0.004	0.070	0.012	0.001	0.795	0.002	0.441	0.019
Bac	باکتری	2	0.038	0.113	0.045	0.066	0.022	0.019	0.072	0.378**	0.034**	73.946**	0.071**	5.108*	0.671*
Error a	خطا الف	4	0.282	0.021	0.025	0.011	0.058	0.007	0.019	0.015	0.001	1.368	0.001	0.455	0.046
Cul	رقم	2	0.643**	0.174**	0.049*	0.105**	0.330**	0.021*	0.200**	1.097**	0.088**	95.283**	0.153**	3.341**	1.583*
bac×cul	رقم×باکتری	4	0.276*	0.066	0.056**	0.039	0.096**	0.022**	0.034	0.203**	0.011**	12.922**	0.019**	0.383	0.013
st	تنش	2	0.612**	0.035	0.101**	0.022	0.169*	0.040**	0.031	0.042*	0.001	1.182	0.002	0.115	0.063
bac×st	تنش×باکتری	4	0.345**	0.024	0.040*	0.015	0.071	0.012	0.010	0.058**	0.005**	6.053**	0.009**	0.304	0.102*
cul×st	رقم×تنش	4	0.422**	0.064	0.038*	0.042	0.139*	0.013	0.070**	0.136**	0.003**	7.243**	0.006**	0.328	0.098*
bac×cul×st	تنش×رقم×باکتری	8	0.130	0.038	0.025	0.023	0.017	0.007	0.063**	0.084**	0.003**	10.751**	0.008**	0.205	0.062*
Error b	خطا ب	48	0.086	0.028	0.014	0.017	0.038	0.005	0.015	0.013	0.001	1.068	0.001	0.297	0.028
C.V (%)	ضریب تغییرات		18.15	7.28	16.33	11.92	11.11	2.56	6.10	3.84	2.77	8.78	3.44	19.21	8.75

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: significant at 5 and 1% probability level respectively

جدول 3- میانگین اثر متقابل تنش×رقم×باکتری بر ویژگی‌ها در آزمایشگاه

Table 3- interaction effect of three factor of seedling characteristics in lab

تنش کم آبی	رقم	باکتری	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	متوسط جوانه‌زنی روزانه (بذر/روز)	درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه (سانتی متر)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	شاخص بنیه گیاهچه
Water deficit stress (mm)	**Cultivar**	**bacteria**	**Mean time germination (d)**	**Mean daily germination (seed.d^{-1})**	**Final germination Percentage**	**Stem length (cm)**	**Seedling dry weight (g)**	**Seedling vigor index**
50		control	4.329 mno	13.68 a-d	95.750 a-d	18.08 c-g	0.100 d-g	9.535 a-e
	Manokin	*Br.j*	4.415 h-m	13.93 ab	97.500 ab	20.54 abc	0.099 d-g	9.611 a-e
		Br.j + Az.ch	4.31 no	13.75 abc	96.250 abc	20.13 a-d	0.097 efg	9.347 cde
		control	4.53 efg	12.43 efg	87.000 efg	15.49 gh	0.078 jk	6.797 g
	SRF	Br.j	4.562 def	10.75 i	75.250 i	15.39 gh	0.075 k	5.722 h
		Br.j + Az.ch	4.665 abc	10.75 i	75.250 i	12.23 i	0.075 k	5.625 h
		control	4.357 l-o	13.68 a-d	95.750 a-d	18.59 c-f	0.093 gh	8.941 de
	williams	*Br.*j	4.345 mno	13.86 ab	97.000 ab	18.67 c-f	0.097 efg	9.364 b-e
		Br.j + Az.ch	4.43 h-i	13.96 a	97.750 a	17.49 d-g	0.095 fgh	9.243 cde
		control	4.394 j-n	13.54 a-d	94.750 a-d	18.09 c-g	0.107 a-d	10.13 abc
100	Manokin	Br.j	4.304 o	13.32 a-e	93.250 a-e	21.91 a	0.102 c-g	9.473 a-e
		Br.j + Az.ch	4.398 j-n	13.18 a-f	92.250 a-f	18.97 b-e	0.112 a	10.32 ab
	SRF	control	4.618 cd	10.96 hi	76.750 hi	16.27 e-h	0.087 hi	6.677 g
		Br.j	4.623 bcd	9.893 j	69.250 j	16.13 fgh	0.081 ijk	5.637 h
		Br.j + Az.ch	4.964 abc	9.679 j	67.750 j	12.64 i	0.085 ij	5.731 h
		control	4.406 i-m	13.39 a-d	93.750 a-d	18.4 c-f	0.109 abc	10.19 abc
	williams	Br.j	4.374 k-o	13.25 a-f	92.750 a-f	20.04 a-d	0.112 ab	10.35 a
		Br.j + Az.ch	4.477 f-j	12.750 def	89.250 def	21.53 ab	0.105 a-e	9.383 b-e
		control	4.458 g-k	11.71 gh	82.000 gh	16.43 efg	0.097 efg	7.993 f
	Manokin	Br.j	4.405 i-m	12.82 c-f	89.750 c-f	21.36 ab	0.111 ab	9.926 abc
150		*Br.j + Az.ch*	4.49 f-i	12.36 fg	86.500 fg	18.66 c-f	0.101 c-g	8.754 ef
		control	4.694 abc	9.786 j	68.500 j	13.7 hi	0.079 ijk	5.361 h
	SRF	Br.j	4.705 ab	7.036 k	49.250 k	16.61 efg	0.079 ijk	3.821 i
		Br.j + Az.ch	4.702 a	7.5 k	52.500 k	11.47 i	0.074 k	3.876 i
		control	4.385 k-o	13 b-f	91.000 b-f	18.04 c-g	0.109 abc	9.874 a-d
	williams	Br.j	4.498 e-h	13.25 a-f	92.750 a-f	17.15 efg	0.103 b-f	9.551 a-e
		Br.j + Az.ch	4.576 de	12.86 c-f	90.000 c-f	20.61 abc	0.099 d-g	8.968 de

در هر صفت سطوح تیماری که دارای حروف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح 5 درصد در گروه آماری مشابهی قرار دارند.

Means in coulumn and treatement followed by similar letter are not significantly different at 5% probability level, using duncan test.

Br.j : Bradyrhizobium japonicum *Br.j + Az.ch: Bradyrhizobium japonicum + Azotobacter chroococcum*

جدول 4- اثر متقابل باکتری× رقم × تنش ، ویژگی‌های گیاهچه در مزرعه

Table 4- interaction effect of three factor of seedling characteristics in field

باکتری bacteria	رقم Cultivar	تنش کم آبی Water deficit stress (mm)	تعداد گره Node number	ارتفاع Seedling height (cm)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (g)	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigor index
control	Manokin	50	4.000 ab	7.500 fgh	0.365 c-e	0.160 c-g	0.525 def	19.082 a-e
		100	3.000 c	7.500 fgh	0.250 g-j	0.090 ijk	0.340 hij	9.904 e-k
		150	3.000 c	7.350 fgh	0.340 d-h	0.130 d-h	0.470 efg	10.547 f-k
	SRF×T3	50	3.000 c	6.000 ij	0.205 i-l	0.070 kl	0.275 j	5.006 lm
		100	3.500 bc	5.750 j	0.125 l	0.050 l	0.175 k	3.821 m
		150	3.500 bc	6.750 hij	0.235 hij	0.105 h-k	0.340 hij	5.499 klm
	Williams	50	3.750 bc	8.250 ef	0.210 i-l	0.080 jk	0.290 j	6.163 i-l
		100	3.000 c	9.250 cde	0.225 ijk	0.120 f-i	0.345 hij	8.104 h-l
		150	3.750 bc	9.250 cde	0.245 g-j	0.115 g-j	0.360 g-j	11.195 d-j
Br. j	Manokin	50	4.500 ab	9.750 bcd	0.360 c-f	0.165 c-g	0.525 def	17.797 b-g
		100	3.000 c	9.000 de	0.445 a-d	0.150 d-g	0.595 cd	17.985 b-f
		150	3.750 bc	9.250 bcd	0.470 abc	0.205 bc	0.675 bc	22.888 abc
	SRF×T3	50	3.000 c	8.250 ef	0.305 e-i	0.140 d-h	0.445 fgh	10.872 e-j
		100	3.000 c	8.250 ef	0.180 jkl	0.080 jk	0.260 jk	8.900 g-l
		150	3.500 bc	6.000 ij	0.135 kl	0.045 l	0.180 k	5.950 j-m
	Williams	50	4.500 ab	8.250 ef	0.415 b-e	0.155 c-g	0.570 cde	13.099 b-h
		100	5.000 a	11.000 ab	0.525 ab	0.255 ab	0.780 ab	23.648 ab
		150	3.500 bc	8.000 efg	0.450 a-d	0.180 cd	0.630 cd	14.142 b-h
Br.j + *AzCh*	Manokin	50	4.000 ab	12.000 a	0.545 a	0.290 a	0.835 a	34.280 a
		100	4.000 ab	10.500 bc	0.520 ab	0.300 a	0.820 a	21.898 a-d
		150	3.500 bc	9.000 de	0.375 c-f	0.170 cde	0.545 def	12.948 b-h
	SRF×T3	50	3.000 c	8.000 efg	0.210 i-l	0.120 f-i	0.330 ij	7.116 h-l
		100	4.000 ab	6.750 hij	0.240 g-j	0.125 e-i	0.365 g-j	11.103 d-j
		150	3.000 c	7.000 ghi	0.220 i-l	0.145 d-h	0.365 g-j	4.638 lm
	Williams	50	4.500 ab	7.000 f-i	0.345 d-g	0.165 c-f	0.510 def	13.069 c-i
		100	3.500 bc	9.000 de	0.400 cde	0.165 c-f	0.565 cde	16.609 b-g
		150	4.500 ab	9.000 de	0.280 f-j	0.150 d-g	0.430 f-i	12.766 b-h

در هر صفت سطوح تیماری که دارای حروف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح 5 درصد در گروه آماری مشابهی قرار دارند.

Means in coulumn and treatement followed by similar letter are not significantly different at 5% probability level, using duncan test.

Br.j : Bradyrhizobium japonicum *Br.j + Az.ch: Bradyrhizobium japonicum + Azotobacter chroococcum*

جدول 5 – میانگین اثر متقابل دوگانه بر ویژگی‌های گیاهچه در مزرعه و آزمایشگاه

Table 5- mean interaction effect of seedling characteristics in lab an field condition

تنش کم‌آبی Water deficit stress (mm)	رقم Cultivar	باکتری bacteria	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight (g)	ظهور اولیه گیاهچه Primary field emergence (%)	متوسط زمان ظهور گیاهچه Mean emergence time (d)	سرعت ظهور تجمعی گیاهچه Cumulative Emergence Rate (seedling.d^{-1})	شاخص ظهور گیاهچه Field Emergence Index	طول گیاهچه Seedling length (cm)
	Manokin		0.020 ab	17.083 a	0.579 a	24.094 a	- - - -	- - - -
50	SRF×T3		0.015 d	5.938 b	0.389 b	10.773 bc	- - - -	- - - -
	Williams		0.016 d	5.938 b	0.408 b	12.081 b	- - - -	- - - -
	Manokin		0.020 bc	8.194 b	0.418 b	15.124 b	- - - -	- - - -
100	SRF×T3		0.016 d	8.438 b	0.424 ab	14.849 b	- - - -	- - - -
	Williams		0.018 bcd	9.063 b	0.458 ab	14.849 b	- - - -	- - - -
	Manokin		0.023 a	6.458 b	0.398 b	13.220 b	- - - -	- - - -
150	SRF×T3		0.012 e	2.708 c	0.259 c	7.861 c	- - - -	- - - -
	Williams		0.018 cd	7.083 b	0.354 b	13.313 b	- - - -	- - - -
		control	0.017 b	12.64 a	0.520 a	- - - -	- - - -	- - - -
50		*Br.j*	0.017 b	6.979 bcd	0.374 bc	- - - -	- - - -	- - - -
		Br.j + Az.ch	0.019 ab	9.375 abc	0.483 ab	- - - -	- - - -	- - - -
		control	0.017 b	6.146 cd	0.378 bc	- - - -	- - - -	- - - -
100		*Br.j*	0.017 b	9.688 ab	0.420 ab	- - - -	- - - -	- - - -
		Br.j + Az.ch	0.020 a	9.861 abc	0.501 ab	- - - -	- - - -	- - - -
		control	0.016 b	6.771 a-d	0.412 bc	- - - -	- - - -	- - - -
150		*Br.j*	0.020 a	5.104 cd	0.271 c	- - - -	- - - -	- - - -
		Br.j + Az.ch	0.016 b	4.375 d	0.327 c	- - - -	- - - -	- - - -
		control	0.019 b	- - - -	- - - -	- - - -	10.7.049 a	34.070 bc
	Manokin	*Br.j*	0.022 a	- - - -	- - - -	- - - -	100.474 ab	38.635 a
		Br.j + Az.ch	0.022 a	- - - -	- - - -	- - - -	107.962 a	35.734 b
		control	0.016 c	- - - -	- - - -	- - - -	107.053 a	31.843 d
	SRF×T3	*Br.j*	0.012 d	- - - -	- - - -	- - - -	90.794 bc	32.164 cd
		Br.j + Az.ch	0.016 c	- - - -	- - - -	- - - -	84.515 c	28.491 e
		control	0.015 c	- - - -	- - - -	- - - -	97.860 abc	34.565 b
	Williams	*Br.j*	0.019 b	- - - -	- - - -	- - - -	89.310 bc	34.370 b
		Br.j + Az.ch	0.017 bc	- - - -	- - - -	- - - -	109.630 a	35.095 b

در هر صفت سطوح تیماری که دارای حروف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح 5 درصد در گروه آماری مشابهی قرار دارند.

Means in coulumn and treatement followed by similar letter are not significantly different at 5% probability level, using duncan test.

جدول 6- میانگین اثر ساده رقم، تنش کم آبی و باکتری بر ویژگی‌های گیاهچه

Table 6- mean of simple effect of seedling characteristics

رقم	تنش	باکتری	طول ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	ظهور نهایی گیاهچه	سطح برگ گیاهچه	شاخص ظهور گیاهچه	ارتفاع گیاهچه
Cultivar	Water deficit stress (mm)	bacteria	Root length (cm)	Stem dry weight (g)	Final Field Emergence (%)	Leaf area (cm^{-2})	Field emergence index	Seedling height (cm)
Manokin			16.79 a	0.082 b	30.984 a	9.640 a	- - - -	- - - -
SRF×T3			16.4 a	0.064 c	23.576 b	5.751 b	- - - -	- - - -
Williams			15.74 b	0.085 a	26.389 ab	8.755 a	- - - -	- - - -
	50		- - - -	0.082 b	- - - -	- - - -	105.423 a	8.333 ab
	100		- - - -	0.064 c	- - - -	- - - -	101.938 a	8.556 a
	150		- - - -	0.085 a	- - - -	- - - -	90.855 b	8.067 b
		control	- - - -	0.079 a	- - - -	5.442 b	- - - -	- - - -
		Br.j	- - - -	0.077 a	- - - -	8.332 a	- - - -	- - - -
		Br.j + Az.ch	- - - -	0.075 b	- - - -	10.392 a	- - - -	- - - -

درهر صفت اعدادی که دارای حروف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح 5 درصد، درگروه آماری مشابهی قرار دارند.

Means in coulumn and treatement followed by similar letter are not significantly different at 5% probability level, using duncan test.

منـابع

1- Abdul-Baki, A.A., and Aderson, j.D., 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. Crop Sci. 13,630-633.

2- Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R. and Lalande, R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radish (*Raphanus sativus* L.). Plant Soil. 204,57-67.

3- Anonymus, 2008. Hand book for Seedling evaluation (3rd.ed). *International SeedTesting Assosiation* (ISTA), Zurich, Switzerland.

4- Apte, R. and Shend, S.T., 1981. Studies on *Azotobacter chroococcum*. II. Effect of *Azotobacter chroococcum* on germination of seeds of agricultural crops. *Zentralblatt fur Bakteriologr-Parasiten Kunde*. Infektion Skrankheien und Hygiene. 136, 555-559.

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

6- Dakora. F.D., 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. New Phytol. 157, 39-49.

7- Delouche, J.C., 1980. Environmental effects on seed development and seed quqlity. Hortscience 15 ,775-80.

8- Dorenbos, D.L., Mullen, R.E., and Shibles, R.M., 1989. Drought stress effects during seed fill on soybean seed germination and vigour. Crop Sci. 29, 476-480.

9- Elis, R.H. and Roberts, E.H., 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. In, Seed Production (ed. P.D. Hebblethwaite), 605-645, Butterworths, London.

10- Hafeez, F.Y., Safdar, M.E., Chaudry, A.U. and Malik, K.A., 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Aus. J. Exp. Agri. 44, 617-622.

11- Haji Boland, R., Ali Asghar Zadeh, N. And Mehrfar, Z.. 2004. Ecological study in two regions of Azarbyjan and its effect on plant growth and mineral nutrition of wheat. J. Agricultural Science and Natural Resources, 8th year, No. 2, page 75-90.

12- Halmer, P., 2000. Commercial seed treatment technology. In: Seed Technology and its biological basis, Black, M., ed. Pp, 257-286.

13- Hampton, J.G., and Tekrony, D.M., 1995. Handbook of vigor test methods (3rd ed.) *International Seed Testing Association (ISTA)* .Zurich, Switzerland.

14- Hunter, E.A., Glasbey ,C.A., and Naylor, R.E.L.,1984.The analysis of data from germination tests. J. Agr. Sci. 102, 207-231.
15- Kloepper, J.W., Scher, F.M., Labiret, E.M. and Tipping, B. 1986. Emergence promoting rhizobacteria, descriptions and implications for agriculture., pp,155-164. in: Iron, sidrophores and plant disease. Ed., Swinburne , T.R., Plenume, New York.
16- Kloepper, J.W., Zablotowicz, R.M., Tipping, E.M. and Lifshitz, R., 1991. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizospherecolonizers., pp, 315-326. in: The rhizosphere and plant growth. Eds., Keister , D.L. and Cregan, P.B., Kluwer *Academic Publishers*, Netherlands.
17- Marguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Sci. 2, 176-177.
18- McQuilken, M.P., Halmer, P. and Rhodes. D.J., 1998. Application of microorganisms to seeds. In: Formulation of microbial biopesticdes: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatment, Burges, H.D., ed. Pp, 255-285. *Kulwer Academic Publisher*, The Netherlands.
19- Meghvansi, M.K., Kamal. P, and Mahna, S.K. 2005. Identification od pH tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strsins and their symbiotic effectiveness in soybean [*Glycine max* (L.) Merr] in low nutrient soil. Afr. j. Biotechnol. 4, 663-666.
20- Orchard, T., 1977. Estimating the parameters of plant seedling emergence. Seed Sci. Technol. 5, 61-69.
21- Ram, C., Kumari, P., Singh, O., and Sardana, R.K., 1989. Relationship between seed vigor tests and field emergence in chickpea. Seed Sci. Technol. 17, 169-177.
22- Sobhani, A., Shirani Rad, A.H. N, Nakhoda, B., Fallahi Daghian A., 2000. Help determine LAI crops. Ministry of Jihad-e-Agriculture - Agricultural extension and education research organization – Extension branch - part of biotechnology research.
23- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant Soil.255, 271-286.
24- Vieira, R.D., D.M. Tekrony, and D.B. Egli., 1991. Effect of drought stress on soybean seed germination and vigor. J. seed technol. 16,12-21.
25- Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger (Jr.), W.F., 2004. Plant growth promoting *rhizobacteria*: applications and perspectives in agriculture. Adv agron. 81, 1-97.
26- Zhang. H, Daoust. F, Charles. TC, Driscoll. BT, Prithiviraj.B, Smith. DL., 2002. *Bradyrhizobium japonicum* mutants allowing improved nodulation and nitrogen fixation of field grown soybean in short season area. J.Agri Sci. 138, 293-300.

Journal of Agroecology
Vol. 1, No. 1, Fall 2009, p. 53-64

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 1، شماره 1، پاییز 1388، ص. 64-53

Effect of free and symbiotic nitrogen fixing bacterial co-inoculation on seed and seedling of soybean seeds produced under deficit water condition

H. Hadi*, J. Daneshian, A. Asgharzadeh, A. Hamidi, P. Jonoubi, F. Ghooshchi and M. Nasri[1]

Abstract

Effect of free and symbiotic nitrogen fixing bacteria on seed and seedling produced seeds under deficit irrigation was conducted in laboratory and field experiments in 2006. In laboratory of karaj's Seed and Plant Research and Certificate Institute an experiment was conducted based on factorial in form of completely randomized design with four replications and in field's of Islamic Azad University, Varamin Branch were split factorial in form of randomized completely block design with three replications. Treatments included water stress [Irrigation after 50 (Normal irrigation), 100 (Middle stress), 150 (Severe stress) mm evaporation from pan class A], Cultivar [Manokin & Williams and SRF×T3 Line] and inoculation [Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium japonicum* co-inoculated with *Azotobacter chroococcum*, No seed inoculation]. Results showed that drought stress decreased the uniformity and germination speed and seedling emergence. Bacteria increased leaf dry weight, stem dry weight, leaf area and seedling vigor index but had no effect on emergence. In irrigation levels inoculated treatments had higher seedling length, leaf, stem, seedling dry weight and seedling vigor. Severs stress seeds inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* had higher root dry weight than control. Therefore in seeds which were produced under deficit irrigation conditions, bacteria increased seedlings vigor.

Key words: Seedling vigor, Seedling emergence, Bradyrhizobium japonicum, Azotobacter chroococcum

1- A Contribution from M.Sc Islamic Azad University-Varamin Branch, Seed and Plant Improvement Research Institute, Water Research Institute, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Tarbiat Moalem University
(* - Corresponding author Email: hamedhadi9@yahoo.com)