مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۳، شماره ۴، ۱۳۹۱ (۶۰۰-۵۸۹)

تاثیر پیری بذر و باکتری‌های محرک رشد بر ظهور گیاهچه و عملکرد دو رقم لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.)

آرش محمدزاده[1*]، ناصر مجنون حسینی[2]، مریم غفاری[3]، صادق اسدی[4]، اکرم دوستی[5] و کاظم خاوازی[6]
۱، دانشجوی دکتری دانشگاه شهید بهشتی ۲، ۳، استاد و دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی شاهرود ۵، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه خرم‌آباد و ۶، استادیار موسسه خاک و آب و کشور
(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۷ – تاریخ تصویب: ۹۱/۳/۳)

چکیده

کاربرد باکتری‌های محرک رشد و بذر با کیفیت به عنوان نهاده‌های کشاورزی مطلوب، در تولید پایدار محصولات زراعی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر سبز شدن و استقرار گیاهچه بذرهای پیر شده دو رقم لوبیا قرمز در شرایط مزرعه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل ۴ سطح مختلف پیری تسریع شده بذر (شاهد، ۲ روز پیری، ۴ روز پیری و ۶ روز پیری در دمای ۴۱ درجه سلسیوس در رطوبت ۹۵ درصد)، کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در ۴ سطح [شاهد، *Azospirillum lipoferum* (strain of)، *Azotobacter chroococcum* (strain 5) و *Pseudomonas putida* (strain 41)] و دو رقم لوبیا قرمز (اختر و صیاد) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم×پیری×باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر صفات سرعت ظهور گیاهچه و درصد نهایی ظهور گیاهچه و در سطح احتمال یک درصد بر صفات شاخص بنیه گیاهچه، وزن صددانه و تعداد غلاف در بوته معنی‌دار بود. تاثیر باکتری بر عملکرد دانه در سطح احتمال پنج درصد و اثر متقابل رقم×پیری بر صفات شاخص ظهور گیاهچه، متوسط زمان ظهور گیاهچه، عملکرد دانه و عملکرد زیستی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل پیری×باکتری در سطح احتمال پنج درصد روی شاخص ظهور گیاهچه معنی‌دار بود. صفات سرعت ظهور گیاهچه، درصد نهایی ظهور گیاهچه و عملکرد دانه با اعمال تیماری پیری کاهش یافت که این کاهش در رقم اختر نسبت به رقم صیاد شدیدتر بود. بیشترین مقدار شاخص ظهور گیاهچه و شاخص وزنی بنیه گیاهچه در تلقیح با سودوموناس پوتیدا به دست آمد. تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا نیز عملکرد را نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داد. به طور کلی پیری بذر سبب کاهش قدرت سبز شدن گیاهچه در مزرعه و عملکرد گردید اما استفاده از باکتری‌های محرک رشد نظیر سودوموناس پوتیدا و ازتوباکتر کروکوکوم می‌تواند در استقرار بهتر گیاهچه و افزایش عملکرد لوبیا مفید واقع شود.

واژه های کلیدی : ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، آزوسپیریلیوم لیپوفروم، پیری بذر، لوبیا قرمز

مقدمه

قدرت بذر یکی از مهمترین شاخص‌های کیفی بذر می‌باشد که می‌تواند از طریق تاثیرگذاری بر استقرار گیاهچه، عملکرد محصول زراعی را تحت تأثیر قرار دهد (Ghassemi-Golezani et al., 2010). استفاده از بذرهای قوی ممکن است به دو صورت عمده موجب افزایش

* نویسنده مسئول: آرش محمدزاده تلفن: ۰۹۱۲۴۹۲۰۰۶۸۵ E-mail:a_mohammadzadeh@ut.ac.ir

عملکرد گیاه زراعی گردد؛ اول این که درصد گیاهچه‌های سبز شده از بذرهای قوی بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذر های ضعیف و فرسوده می‌باشد و احتمال دستیابی به تراکم مطلوب حتی در شرایط نامساعد مزرعه بیشتر خواهد بود. دوم آن که سرعت رشد چنین گیاهانی بیشتر از سرعت رشد گیاهان حاصل از بذرهای ضعیف می‌باشد (Begnami & Cortelazzo, 1996). فرسودگی بذر پدیده‌ای فیزیولوژیک است که پس از رسیدگی بذر و در دوره پس از برداشت در شرایط بالا بودن دما، رطوبت و فشار اکسیژن محیط نگهداری بذر به تدریج آغاز می‌شود و موجب تخریب ساختار DNA و RNA ریبوزومی (Mc Donald, 1999)، افزایش فعالیت آنزیمی، تنفس و نفوذپذیری غشاهای سلولی می‌شود که منجر به کاهش قوه نامیه و بنیه بذر و گیاهچه و در نهایت عملکرد محصول می‌شود (Hampton, 2003). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد پیری بذر منجر به کاهش مولفه‌های جوانه‌زنی مانند درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، بنیه گیاهچه و درصد گیاهچه‌های عادی در لوبیا (Begnami & Cortelazzo, 1996)، سویا (Saha & Sultana, 2008; Mohammadi et al., 2011) و نخود (Kapoor et al., 2010) می‌شود. همچنین گزارش شده است که درصد جوانه‌زنی بذر و ظاهر شدن گیاهچه (Saha & Sultana, 2008) و عملکرد گیاهان زراعی (Saha & Sultana, 2008; Mohammadi et al., 2011) در مزرعه در نتیجه پیری بذر کاهش پیدا می‌کند.

Kloepper et al. (1986) گروهی از باکتری‌های افزاینده رشد را معرفی کردند که در افزایش سرعت و میزان ظهور گیاهچه و استقرار بوته در مزرعه موثر بوده و آنها را باکتری افزاینده ظهور گیاهچه (Emergence Promoting Rhizobactera, EPR) نامیدند. آن‌ها گزارش کردند که این باکتری‌ها باعث افزایش سرعت ظهور گیاهچه لوبیا سفید، ذرت، کلزا، یونجه در مزرعه گردید. باکتری‌های محرک رشد از طریق ساز و کارهای مستقیم و غیر مستقیم رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Glick, 1995). برخی از این ساز و کارها شامل افزایش حلالیت عناصر غذایی و تثبیت زیستی نیتروژن، جلوگیری از توسعه عوامل بیمارگر خاکزاد با تولید سیانید هیدروژن، سیدروفورها، آنتی بیوتیک‌ها و یا رقابت برای عناصر غذایی، افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های غیر زیستی نظیر خشکی، شوری و غیره و تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین می‌باشند (Gupta et al., 2000). Carrozzi (2005) گزارش کرد که بذور کاهو به پس از یک سال پیری طبیعی دارای پتانسیل جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قدرت سبز شدن و تعداد گیاهچه طبیعی پایین‌تری بود اما زمانی که این بذرها با باکتری آزوسپیریلیوم براسیلنس تلقیح شدند بنیه و سرعت ظهور گیاهچه افزایش و تعداد گیاهچه‌های غیرطبیعی کاهش یافت. افزایش درصد ظهور گیاهچه (۸ درصد)، سرعت ظهور گیاهچه (۸ درصد) و شاخص ظهور گیاهچه (۶ درصد) ذرت نیز در نتیجه تلقیح با ۳ باکتری ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس فلورسنس و آزوسپیریلیوم براسیلنس گزارش شده است (Hamidi et al, 2009). Yadegari et al (2010) گزارش کردند که تلقیح گیاه لوبیا با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس و آزوسپیریلیوم لیپوفروم به همراه باکتری‌های همزیست ریزوبیوم منجر به افزایش رشد و عملکرد لوبیا گردید. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که استفاده از باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش تثبیت زیستی نیتروژن توسط باکتری‌های همزیست گردید. افزایش عملکرد گیاهان زراعی نظیر نخود (Valverde et al., 2006) و ماش (Ahmad et al., 2012) نیز با کاربرد باکتری‌های محرک رشد توسط پژوهشگران گزارش شده است. با توجه به اهمیت و جایگاه بذر در تولید محصولات زراعی و اینکه تقویت زیستی بذر با افزودن باکتری‌های افزاینده رشد جهت دست‌یابی به نظام‌های کشاورزی پایدار از جدیدترین روش‌های ارتقای کیفیت بذر می‌باشد، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد و سطوح مختلف پیری بذر بر صفات سبز شدن و عملکرد لوبیا قرمز اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در شرایط مزرعه اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل: سطوح مختلف پیری

تسریع شده در ۴ سطح (شاهد، ۲ روز پیری، ۴ روز پیری و ۶ روز پیری در دمای ۴۱ درجه سلسیوس در رطوبت ۹۵ درصد)، کاربرد باکتری در ۴ سطح [شاهد، *Azotobacter chroococcum* (strain 5) ،*Azospirillum lipoferum* (strain of 41) و *Pseudomonas putida* (strain 41)] و رقم لوبیا در ۲ سطح (اختر و صیاد) بود. برای اعمال تیمارهای پیری، بذرهای دو رقم لوبیا به مدت ۲، ۴ و ۶ روز در دمای۱±۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حدود ۱۰۰ درصد در داخل انکوباتور قرار گرفتند (Vishwanath et al., 2001) و پس از اتمام دوره پیری برای هر تیمار، بذرها در دمای ۵ درجه سلسیوس تا زمان کاشت نگه‌داری شدند. پس از شخم عمیق مزرعه در پاییز، آماده‌سازی پشته‌ها در بهار و ۱۰ روز قبل از کاشت به فاصله ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر صورت گرفت، بذرها در محیط سایه با باکتری‌ها تلقیح شده و بلافاصله کشت گردیدند. باکتری‌های مورد استفاده از بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید (جمعیت باکتری‌ها: 5×10^{8} CFU/gr). جهت تلقیح بذرها، ابتدا مقدار بذر مورد نیاز محاسبه و در داخل کیسه پلی‌اتیلنی ریخته شد و سپس بر روی آنها به ازاء هر کیلوگرم بذر مقدار ۳۰ میلی لیتر ماده چسباننده (محلول ۴۰٪ صمغ عربی) اضافه شده و به خوبی تکان داده شد تا سطح تمام بذرها به این ماده آغشته شود.

سپس به ازاء هر کیلوگرم بذر، مقدار ۵۰ گرم از پودر حاوی باکتری محرک رشد بر روی بذرها اضافه شد و جهت آغشته شدن یکنواخت و کامل سطح بذرها با ماده تلقیح، بذرها به خوبی تکان داده شدند. به منظور تکمیل تلقیح، بذرها به مدت ۲۰ دقیقه در سایه پهن گردیده و سپس کشت شدند (Somasegaran & Hoben, 1994). تعداد بذر کشت شده برای هر کرت ۷۵ عدد به فاصله ۱۰ سانتی متر روی پشته بود به‌طوری که هر کرت شامل ۳ ردیف و هر ردیف دارای ۲۵ عدد بذر کاشته شده بود. آبیاری محصول هر هفته به صورت نشتی انجام گرفت و مبارزه با علف‌های هرز طی دوره رشد به صورت مکانیکی صورت گرفت. تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده روزانه شمارش شده و صفاتی نظیر سرعت ظهور گیاهچه [1](SER)، درصد نهایی ظهور گیاهچه [2](FEP)، شاخص ظهور گیاهچه [3](EI) ، متوسط زمان ظهور گیاهچه [4](MET) ، شاخص وزنی بنیه گیاهچه [5](SVI)، تعداد غلاف در بوته، وزن صد دانه، عملکرد و عملکرد زیستی محاسبه گردید. سرعت ظهور گیـــاهچه‌ها (SER) در مزرعه با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (Hamidi et al., 2009):

$$\mathbf{SER} = \frac{\text{درصد ظهور نهایی گیاهچه ها}}{\text{تعداد روز از کاشت تا پایان یادداشت برداری}}$$

برای محاسبه شاخص ظهور گیاهچه (EI) از رابطه زیر استفاده گردید (AOSA, 1983):

$$\mathbf{EI} = \frac{\text{تعداد گیاهچه های ظاهر شده}}{\text{روز تا اولین شمارش}} + --- + \frac{\text{تعداد گیاهچه های ظاهر شده}}{\text{روز تا آخرین شمارش}}$$

متوسط زمان ظهور گیاهچه (MET) با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Ellis & Roberts, 1981):

$$\mathbf{MET} = \frac{\sum(D_n)}{\sum n}$$

که n تعداد گیاهچه‌های ظهور یافته در روز D، و D تعداد روزهای شمارش از آغاز ظهور گیاهچه‌ها است.

شاخص وزنی بنیه گیاهچه (SVI) نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Abdul-Baki & Anderson, 1973) :

SVI = ظهور نهایی گیاهچه (درصد) × وزن خشک گیاهچه (گرم)

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

سرعت ظهور گیاهچه (SER)

نتایج نشان داد که اثر متقابل رقم×پیری×باکتری بر SER لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار

1. Seedling Emergence Rate
2. Final Emergence Percentage
3. Emergence Index
4. Mean Emergence Time
5. Seedling Vigour Index

بود (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۲)، SER با افزایش شدت پیری اعمال شده روند نزولی نشان داد که این کاهش در رقم اختر شدیدتر از رقم صیاد بود به طوری‌که بیشترین مقادیر SER در تیمار بدون پیری با تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا و تیمارهای ۲ روز و ۴ روز پیری با تلقیح باکتری ازتوباکتر کروکوکوم در رقم صیاد مشاهده شد در حالیکه کمترین مقدار SER مربوط به تیمار ۶ روز پیری رقم اختر در شرایط بدون تلقیح باکتری و تلقیح با باکتری آزوسپیریلیوم لیپوفروم بود. Steiner et al. (1989) بیان کردند SER در مزرعه از مهم ترین شاخص‌های بنیه گیاهچه است و نشان دهنده کارایی گیاهچه برای استقرار محسوب می‌شود. تأخیر در جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه را در نتیجه زوال بذر به اختلال در رونویسی RNA و سنتز پروتئین (Thornton et al., 1993)، آسیب رسیدن به غشای سلولی و نشت مواد یونی از سلول (Bewley & Black, 1994) نسبت داده‌اند. پژوهش‌ها نشان که استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌تواند SER را افزایش دهد. نتایج بررسی در گیاه کلزا نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد بر ظهور گیاهچه در شرایط مزرعه موثر واقع شده و SER را افزایش داد (Kloepper et al., 1986). در گیاه ذرت استفاده از باکتری‌های محرک رشد ازوتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم برازیلنس، آزوسپیریلوم لیپوفروم و سودوموناس فلورسنس سبب افزایش معنی‌دار SER ذرت در شرایط مزرعه گردید (Hamidi et al., 2009). Ghiasi et al (2011) نیز در بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر مولفه‌های جوانه‌زنی گندم گزارش کردند که استفاده از باکتری‌های محرک رشد سرعت جوانه‌زنی را بطور معنی‌داری در شرایط آزمایشگاهی افزایش داد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مربوط به سبز شدن و عملکرد و اجزاء عملکرد دو رقم لوبیا قرمز تحت تاثیر سطوح مختلف پیری و باکتری‌های محرک رشد

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		سرعت ظهور گیاهچه	شاخص ظهور گیاهچه	زمان ظهور گیاهچه متوسط	درصد ظهور نهایی گیاهچه	وزنی بنیه گیاهچه شاخص	وزن صد دانه	تعداد غلاف در بوته	عملکرد دانه	عملکرد زیستی
بلوک	۳	۰/۱۳ ns	۱۲/۳ ns	۲/۲۲**	۱۲/۴ ns	۰/۵۰**	۷ ns	۲/۴۸ ns	۳۱۸۳۰۴ ns	۱۰۴۷۱۰۸ ns
رقم	۱	۲۳/۷**	۲۶۹۰**	۲/۰۴**	۴۳۰۲ **	۰/۱۵ ns	۸۶۴۵**	۱۷۸**	۱۲۸۰۳۷ ns	۲۸۷۳۶۵۶۷**
پیری	۳	۱۱/۴**	۲۳۶۱**	۱۲/۹**	۱۹۴۱**	۶/۷**	۱۶/۲*	۴/۲ ns	۱۵۲۶۳۷۴**	۳۰۳۱۶۱۷*
باکتری	۳	۱/۲۲**	۶۱**	۰/۳۷ ns	۱۵۶**	۱/۵۴**	۸/۶ ns	۶/۲ ns	۵۱۲۳۶۶*	۸۰۸۳۵۰ ns
رقم×پیری	۳	۳/۸۱**	۹۷۶**	۵/۴۸**	۵۶۶**	۱/۸۶**	۳۸/۴**	۶/۴ ns	۹۴۲۷۹۸**	۳۶۶۳۹۱۰**
رقم×باکتری	۳	۰/۱۵ ns	۱۱/۷ ns	۰/۰۹ ns	۳۴/۵ ns	۰/۰۹ ns	۵/۷ ns	۸/۱ ns	۲۰۸۱۷۱ ns	۱۰۱۵۲۹۶ ns
پیری×باکتری	۹	۰/۰۸ ns	۱۵/۸*	۰/۲۹ ns	۱۲/۷ ns	۰/۱۸ ns	۵/۶ ns	۵/۷ ns	۱۳۳۵۶۶ ns	۱۱۵۲۱۷۷ns
رقم×پیری×باکتری	۹	۰/۴۸**	۱۲/۸ ns	۰/۲ ns	۷۱/۶**	۰/۲۸*	۱۴*	۷/۱*	۱۰۰۰۰۷ ns	۸۸۵۲۸۰ ns
اشتباه آزمایش	۹۳	۰/۱۰۲	۷/۹۵	۰/۱۶	۱۵/۸۵	۰/۱۱	۵/۴۸	۳/۵۵	۱۵۹۰۷۹	۸۴۰۷۸۱
ضریب تغییرات	-	۵/۲	۷/۸	۴/۷	۴/۶	۱۱/۴	۶/۵	۱۳/۱	۱۴/۱	۱۶/۱

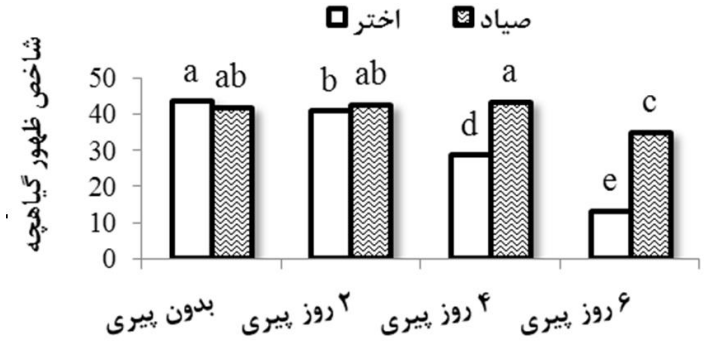
* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد و ns غیر معنی‌داری

شاخص ظهور گیاهچه (EI)

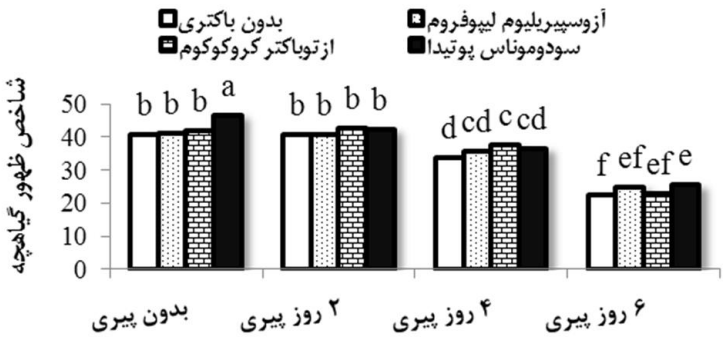
اثر متقابل رقم×پیری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل پیری×باکتری در سطح احتمال پنج درصد بر EI معنی‌دار بود (جدول ۱).

بررسی اثر متقابل رقم×پیری بر EI نشان داد که واکنش دو رقم به تیمار پیری متفاوت بود و رقم اختر نسبت رقم صیاد حساسیت بیشتری به عوامل پیری بذر نشان داد به طوریکه در رقم اختر هر سه سطح پیری ۲، ۴ و ۶ روز باعث کاهش معنی‌دار EI نسبت به تیمار بدون پیری رقم اختر گردید در حالیکه در مورد رقم صیاد تنها تیمار پیری ۶ روز بذر منجر به کاهش معنی‌دار EI نسبت به تیمار بدون پیری این رقم گردید (شکل ۱). بررسی اثر متقابل پیری×باکتری بر EI نیز مشخص کرد که بیشترین مقدار EI در تیمار بدون پیری

بذر و تلقیح با باکتری سودوموناس پوتیدا به دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار ۶ روز پیری بذر و عدم تلقیح باکتری بود (شکل ۲).



شکل ۱- اثر متقابل رقم و باکتری بر شاخص ظهور گیاهچه لوبیا قرمز



شکل ۲- اثر متقابل رقم و باکتری بر شاخص ظهور گیاهچه لوبیا قرمز

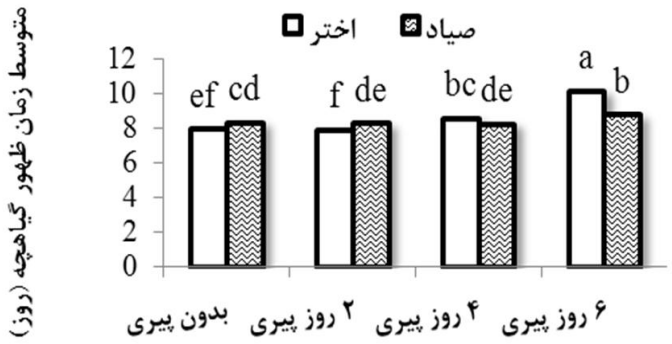
نتیجه زوال و پیری بذر بصورت کاهش فزاینده در میزان توانایی بذر برای ایجاد گیاهچه در مزرعه و کاهش سرعت یکنواختی جوانه‌زنی، کاهش تحمل نسبت به تنش‌های محیطی و کاهش ظهور گیاهچه و رشد ضعیف گیاهچه ها ظهور می‌یابد (Hampton & Hill, 1990). کاهش جوانه‌زنی بذر در نتیجه پیری می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و میزان قندها (Mitra et al., 1974) یا طبع برگشتگی پروتئین‌ها[1] باشد (Nautiyal et al., 1985). طبق تحقیقات صورت گرفته توسط Selvakumar et al (2009) استفاده از باکتری‌های محرک رشد ظهور گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آنها گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد آزوسپیریلیوم، ازتوباکتر، ریزوبیوم و فسفوباکتریا در گیاه ماش سبز افزایش ظهور گیاهچه را به همراه داشت. در تحقیقات Hamidi et al (2009) بر روی گیاه ذرت گزارش شد که EI با کاربرد باکتری‌های محرک رشد نسبت به تیمار بدون تلقیح باکتری افزایش معنی‌داری یافت.

متوسط زمان ظهور گیاهچه (MET)

تأثیر رقم، پیری و اثر متقابل رقم×پیری در سطح احتمال یک درصد بر MET معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش زمان تیمار پیری بذرها، MET در هر دو رقم روند افزایشی داشت اما این افزایش در رقم اختر در مقایسه با رقم صیاد با سرعت بیشتری صورت گرفت و رقم اختر با وجود اینکه در شرایط بدون اعمال تیمار پیری MET کمتری نسبت به رقم صیاد داشت، در سطوح ۴ و ۶ روز پیری بذر MET بیشتری در مقایسه با رقم صیاد نشان داد (شکل ۳). افزایش MET در نتیجه زوال بذر در

1. Protein Denaturation

گیاهان ذرت (Ghassemi-Golezani et al., 2011) و کلزا (Ghassemi-Golezani et al., 2010) نیز گزارش شده است. طبق تحقیقات صورت گرفته توسط Hafeez et al (2004)، گیاهچه‌های ارقام پنبه بر اثر تلقیح بذر با انواع باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بویژه ازتوباکتر باعث کاهش مدت زمان لازم برای ظهور گیاهچه‌ها و افزایش سرعت ظهور آنها گردید. مهار بیمارگرهای گیاهی، بهبود تغذیه گیاه، تولید هورمون های افزاینده رشد گیاه از قبیل اکسین، اسید جیبرلیک و سیتوکنین بوسیله باکتری های افزاینده رشد می‌تواند از دلایل کاهش MET با کاربرد باکتری‌های محرک رشد باشد. Biswas et al (2000) نیز در مطالعات خود مشاهده کردند که تلقیح گیاه برنج با دو سویه از باکتری ریزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار سرعت ظهور گیاهچه در مقایسه با تیمار بدون تلقیح باکتری گردید.



شکل۳- اثر متقابل رقم پیری بذر بر متوسط زمان ظهور گیاهچه لوبیا قرمز

درصد ظهور نهایی گیاهچه (FEP)

اثر متقابل رقم×پیری×باکتری بر FEP در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که FEP هر دو رقم با افزایش مدت زمان پیری اعمال شده روی بذرها کاهش پیدا کرد اما این کاهش در رقم اختر بخصوص در سطوح پیری بذر ۴ و ۶ روز شدیدتر بود. بیشترین مقدار FEP در تیمار پیری بذر ۴ روز رقم صیاد و تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم مشاهده شد و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار پیری بذر ۶ روز رقم اختر در تلقیح با باکتری آزوسپیریلیوم لیپوفروم بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار پیری بذر ۶ روز و عدم تلقیح باکتری نداشت (جدول ۲).

پایین بودن FEP می‌تواند به دلیل خالی شدن ذخیره بذر از مواد غذایی و ناتوان شدن گیاهچه در خروج از خاک باشد که منجر به کاهش درصد سبز مزرعه می‌شود. گزارش شده است که اعمال تیمار پیری سبب کاهش جوانه‌زنی بذر و ظاهر شدن گیاهچه سویا در مزرعه می‌گردد (Saha & Sultana, 2008). Rouzrokh et al (2002) در بررسی ارتباط بین قدرت بذر با رشد و عملکرد نخود در مزرعه گزارش کردند که فرسودگی بذر سبب کاهش معنی‌دار درصد سبز شدن گیاهچه در مزرعه می‌شود. آنها همچنین گزارش کردند که این صفات در رقم‌های مختلف متفاوت بود. تحقیقات Hamidi et al (2009) در گیاه ذرت نشان دادند که تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش معنی‌دار FEP در مزرعه گردید. Hafeez et al (2004) نیز افزایش ۳ تا ۹ درصدی میزان ظهور گیاهچه در مزرعه ژنوتیپ های پنبه بر اثر کاربر باکتری‌های محرک رشد را گزارش کردند. احتمالا باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین و جیبرلین، تولید سیدروفورها و بهبود تغذیه آهن مورد نیاز گیاه، اثرات مثبت بر فعالیت باکتری‌های همزیست لوبیا و جلوگیری از عوامل بیمارگر خاکزی منجر به بهبود FEP گردیده‌اند (Gupta et al., 2000).

شاخص وزنی بنیه گیاهچه (SVI)

شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر اثر متقابل رقم×پیری×باکتری قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین مقدار SVI در تیمار بدون

پیری بذر رقم اختر و در تلقیح با سودوموناس پوتیدا مشاهده شد. کمترین مقدار این صفت نیز مربوط به تیمار ۶ روز پیری بذر رقم اختر و تلقیح با باکتری آزوسپیریلیوم لیپوفروم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون تلقیح باکتری رقم اختر با ۶ روز پیری بذر نداشت (جدول ۲). Trawatha et al (1995) گزارش کردند که در طی فساد بذر، بنیه بذر اولین مولفه کیفی بذر است که کاهش پیدا می‌کند و این پدیده قبل از کاهش قوه‌نامیه بذر (Viability) صورت می‌گیرد.

تأثیر پیری تسریع شده روی جوانه‌زنی و رشد ارقام مختلف نخود نشان داد که به دنبال اعمال تیمار پیری بذر SVI به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد که واکنش ارقام مختلف از این لحاظ متفاوت بود (Kapoor et al, 2010). به گزارش Ghassemi-Golezani et al (2011) وزن گیاهچه که شاخصی از SVI محسوب می‌شود، همبستگی بالایی با ظهور گیاهچه ذرت و عملکرد آن نشان داد. گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد مربوط به گونه‌های سودوموناس فلورسنس شاخص‌های طولی و وزنی گیاهچه را در گندم افزایش دادند (Ghiasi et al., 2011).

افزایش SVI و رشد ریشه و ساقه در گیاه ماش سبز نیز در نتیجه استفاده از باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است (Selvakumar et al., 2009). Jangu & Sindhu (2011) در بررسی تأثیر موتانت‌های باکتریایی تولید کننده اکسین بر دو گونه ماش سبز و سیاه بیان داشتند که اثر تحریک رشدی این باکتری‌ها به غلظت اکسین تولید شده و همچنین گیاه میزبان بستگی دارد به طوری که در غلظت‌های پایین اکسین اثر تحریک کنندگی رشد داشته اما در غلظت‌های زیاد باعث کاهش رشد گیاه می‌گردد.

وزن صد دانه

اثر متقابل رقم×پیری×باکتری بر وزن صد دانه لوبیا در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که وزن صد دانه در رقم اختر به طور معنی‌داری بیشتر از رقم صیاد بود. بیشترین وزن صد دانه در تیمار بدون پیری بذر و بدون تلقیح با باکتری رقم اختر و کمترین آن مربوط در تیمار ۶ روز پیری بذر و بدون تلقیح با باکتری رقم صیاد مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج تحقیقات Asad et al (2004) نشان داد که وزن صد دانه ماش با کاربرد کودهای زیستی افزایش پیدا کرد. Yadegari et al (2008) نیز گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد به ویژه سودوموناس فلورسنس باعث افزایش وزن صد دانه در گیاه لوبیا گردید. با این حال مطالعات Rokhzadi et al (2008) روی گیاه نخود نشان داد که تلقیح گیاه نخود با باکتری‌های رشد تاثیر معنی‌داری روی وزن هزار دانه نداشت.

تعداد غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم×پیری×باکتری بر تعداد غلاف در بوته معنی‌دار بود (جدول ۱).

تیمار ۴ روز پیری بذر رقم صیاد در تلقیح با باکتری ازتوباکتر کروکوکوم بیشترین تعداد غلاف در بوته لوبیا و تیمار ۴ روز پیری بذر رقم اختر بدون تلقیح با باکتری و تلقیح با باکتری سودوموناس پوتیدا کمترین تعداد غلاف در بوته لوبیا را داشتند (جدول ۲). به نظر می‌رسد که کیفیت بذر رقم اختر در شرایط پیری بذر در مقایسه با رقم صیاد افت شدیدتری داشته و در نتیجه به دلیل پایین بودن کیفیت بذر آن در شرایط پیری، رشد بوته ضعیفتری داشته و در نتیجه تعداد غلاف در بوته آن کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار بدون پیری بذر داشت. در مورد باکتری‌های به کار رفته نیز می‌توان چنین اظهار داشت که ویژگی‌های تحریک رشدی در باکتری ازتوباکتر کروکوکوم بیشتر بوده و این باکتری توانسته است با بهبود استقرار گیاهچه و تقویت رشد آن، گیاهان قوی تولید کرده و بنابراین توان تولیدی گیاه که یکی از اجزای آن تعداد غلاف در بوته است را افزایش دهد. تحقیقات Rokhzadi et al (2008) نشان داد که تلقیح گیاه نخود با باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح با باکتری گردید.

عملکرد دانه

تاثیر باکتری در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متقابل رقم×پیری در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد دانه

معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا عملکرد دانـــه را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار عدم تلقیح باکتری افزایش داد (شکل ۴).

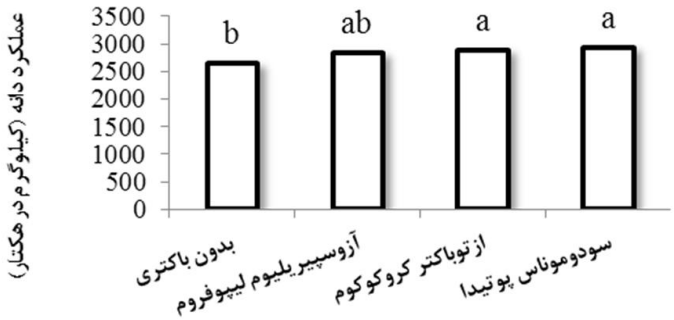
جدول ۲- اثر متقابل رقم×پیری×باکتری روی برخی صفات مربوط به سبز شدن و اجزاء عملکرد دو رقم لوبیا قرمز

رقم	پیری	باکتری	صفات				
			سرعت ظهور گیاهچه	ظهور نهایی گیاهچه (٪)	شاخص وزنی بنیه گیاهچه	وزن صد دانه (گرم)	تعداد غلاف در بوته
اختر	شاهد	شاهد	۶/۱۱ fg	۸۶/۳ efgh	۳/۱ cdefghi	۴۷/۵ a	۱۳/۴ efg
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۵۵ abcdef	۹۱/۸ abcde	۳/۶۱ bc	۴۵/۳ ab	۱۳/۱ efg
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶/۶۸ abcde	۹۱/۸ abcde	۳/۶۸ b	۴۴ abcde	۱۲/۷ fg
		سودوموناس پوتیدا	۶/۷۵ abcd	۹۳ abcd	۴/۲۲ a	۴۷/۴ a	۱۳/۸ defg
	۲ روز	شاهد	۶ fg	۸۴/۸ fgh	۲/۹۴ defghijk	۴۵/۴ ab	۱۳ efg
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۷۴ abcd	۹۳ abcd	۳/۴۸ bcd	۴۳/۷ abcde	۱۲/۵ fg
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶/۳۱ defg	۸۹/۵ bcdefg	۳/۳۲ bcdefg	۴۴/۶ abc	۱۳ efg
		سودوموناس پوتیدا	۶/۳۴ cdefg	۸۸/۵ defgh	۳/۳۱ bcdefg	۴۴/۸ abc	۱۳ efg
	۴ روز	شاهد	۵/۳۹ hi	۷۵/۶ j	۲/۸۱ fghijk	۴۰/۶ de	۱۱/۵ g
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۵/۴۷ hi	۷۷/۱ ij	۳/۱ cdefghi	۴۳/۷ abcde	۱۳/۱ efg
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۴/۸۹ j	۶۹/۵ k	۲/۵۱ jkl	۴۴/۲ abcd	۱۳/۳ efg
		سودوموناس پوتیدا	۵/۵۶ hi	۸۳/۵ gh	۳/۲۳ bcdefgh	۴۵ abc	۱۱/۵ g
	۶ روز	شاهد	۴/۲ k	۶۲/۵ lm	۱/۸۱ m	۴۳/۳ bcde	۱۴/۵ cdefg
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۴ k	۶۰/۷ m	۱/۷ m	۴۲/۵ bcde	۱۵/۲ abcdef
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۴/۷۷ j	۶۷/۵ kl	۲/۳۸ kl	۴۱/۳ cde	۱۲/۷ fg
		سودوموناس پوتیدا	۵/۱۶ ij	۷۱/۶ jk	۲/۳۸ kl	۴۰/۲ e	۱۳/۸ defg
صیاد	شاهد	شاهد	۶/۳۵ bcdefg	۹۰ bcdefg	۲/۷۶ ghijk	۲۶/۲ g	۱۴/۳ cdefg
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۸۲ abcd	۹۴/۷۵ abcd	۲/۸۳ fghijk	۲۷/۸ g	۱۶/۶ abcd
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶/۶۹ abcde	۹۴/۶ abcd	۲/۹۳ defghijk	۲۷/۴ g	۱۵/۲ abcdef
		سودوموناس پوتیدا	۶/۹ a	۹۶ ab	۳/۲۹ bcdefg	۲۷/۴ g	۱۴ defg
	۲ روز	شاهد	۶/۵۷ abcdef	۹۴/۸ abcd	۳/۰۲ defghij	۲۷/۴ g	۱۵/۴ abcdef
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۵۸ abcdef	۹۱/۸ abcde	۳/۳۶ bcdef	۲۷ g	۱۶/۱ abcde
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶/۹ a	۹۶ ab	۳/۰۱ defghij	۲۷ g	۱۵/۳ abcdef
		سودوموناس پوتیدا	۶/۸۹ ab	۹۶/۳ ab	۳/۴۲ bcde	۲۷/۸ g	۱۴/۶ cdefg
	۴ روز	شاهد	۶/۲ efg	۸۹/۱ cdefg	۲/۵۳ ijkl	۲۶/۹ g	۱۵/۸ abcdef
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۸ abc	۹۵/۶ abc	۳/۰۶ cdefghij	۲۶/۷ g	۱۵/۶ abcdef
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶/۹ a	۹۶/۸ a	۳/۲۸ bcdefg	۲۸/۹ fg	۱۸/۳ a
		سودوموناس پوتیدا	۶/۷۳ abcde	۹۴/۲ abcd	۲/۸۵ efghijk	۲۷/۴ g	۱۴/۱ defg
	۶ روز	شاهد	۵/۸۵ gh	۸۲/۵ hi	۲/۱۶ lm	۲۵/۸ g	۱۷/۸ ab
		آزوسپیریلیوم لیپوفروم	۶/۴۴ abcdef	۹۰/۲ abcdef	۲/۶۴ ijkl	۲۸/۱ g	۱۵/۲ abcdef
		آزوتوباکتر کروکوکوم	۶ fg	۸۴/۸ fgh	۲/۶۶ hijkl	۲۷/۵ g	۱۷/۵ abc
		سودوموناس پوتیدا	۶ fg	۸۴/۸ fgh	۲/۶۷ hijkl	۳۲ f	۱۴/۸ bcdef

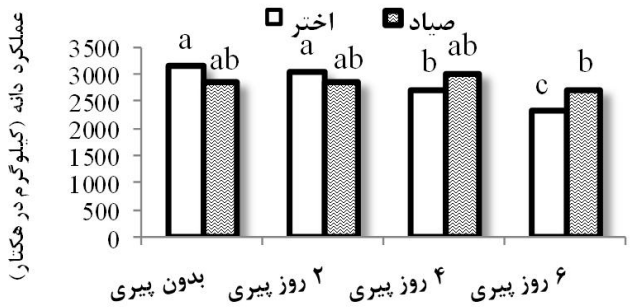
در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

بررسی اثر متقابل رقم×پیری بر عملکرد دانه نیز نشان داد که اعمال پیری بذر تا ۶ روز تفاوت معنی‌داری را در عملکرد دانه رقم صیاد نسبت به بذرهای پیر نشده آن رقم ایجاد نکرد اما در رقم اختر اعمال تیمار پیری بذر به مدت ۴ و ۶ روز باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه در مقایسه با بذرهای پیر نشده این رقم گردید (شکل ۵). چنانچه میزان فرسودگی یک توده بذری شدید باشد، بذرها قوه نامیه و بنیه خود را از دست داده و منجر به کاهش ظهور و استقرار گیاهچه می‌شود و از آنجایی که یک رابطه قوی بین تراکم گیاهی و عملکرد

وجود دارد (Raey & Ghassemi-Golezani, 2009)، تراکم پایین جمعیت گیاهی در نتیجه پایین بودن بنیه بذر منجر به کاهش عملکرد در واحد سطح می‌شود (Tekrony & Egli, 1991). در مطالعه ارتباط قدرت بذر با رشد و عملکرد نخود در مزرعه گزارش شده است که کاهش عملکرد بواسطه فرسودگی بذور می‌تواند ناشی از سبز نشدن گیاهچه‌ها و کاهش تراکم و ارتباط بین تراکم و عملکرد باشد (Rouzrokh et al, 2002). مطالعات Gharineh et al (2004) نشان داد که سرعت و درصد سبز شدن، پوشش سبز زمین و عملکرد دانه گندم تحت تاثیر تیمارهای اعمال پیری بذر قرار گرفت. آنها گزارش دادند که کیفیت بذر می‌تواند از طریق تغییر در درصد و سرعت سبز شدن گیاهچه، بر رویش و استقرار اولیه گیاهچه تاثیر بگذارد که این اثر می‌تواند در طول دوره رشد ادامه یافته و در نهایت بر عملکرد دانه در مزرعه تاثیر بگذارد. Saha & Sultana (2008) گزارش کردند که در گیاه سویا با اینکه عملکرد تک بوته به دلیل کاهش تراکم بوته در واحد سطح با افزایش سطح پیری بذر افزایش یافت اما با این حال افزایش عملکرد به ازاء هر بوته قادر به جبران کاهش عملکرد ناشی از استقرار نامناسب گیاهچه و تراکم نامطلوب نبوده و عملکرد در واحد سطح در بذور با بنیه پایین کمتر بود.



شکل ۴- تاثیر باکتری بر عملکرد دانه لوبیا قرمز



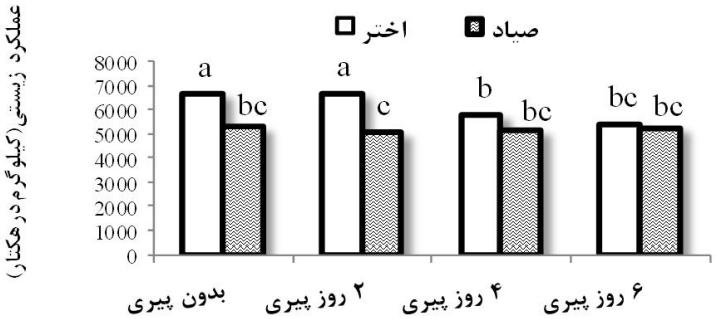
شکل ۵- اثر متقابل رقم پیری بذر بر عملکرد دانه لوبیا قرمز

مطالعات نشان داده است که استفاده از برخی باکتری‌های محرک رشد می‌تواند رشد و عملکرد را در گیاهان مختلفی مثل لگوم‌ها افزایش دهد. در بررسی تأثیر کودهای زیستی بر رشد و عملکرد ماش مشخص شد که عملکرد دانه ماش با استفاده از کودهای زیستی افزایش معنی‌داری یافت (Asad et al, 2004). Rokhzadi & Toashih (2011) گزارش کردند که تلقیح بذر گیاه نخود با هر یک از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلیوم، مزوریزوبیوم و سودوموناس فلورسنس باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط مزرعه نسبت به تیمار بدون تلقیح باکتری شد. افزایش رشد ریشه، افزایش جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه‌ها، جلوگیری از آلودگی توسط عوامل بیماریزای قارچی و باکتریایی و تثبیت زیستی نیتروژن مولکولی را جزو

سازوکارهایی دانسته‌اند که باکتری‌های محرک رشد جنس ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم از طریق آنها رشد و عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشند (Okon & Itzigsohn, 1995).

عملکرد زیستی

اثر متقابل رقم×پیری بر عملکرد زیستی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقـایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش طول مدت پیری بذر، تغییر زیادی در عملکرد زیستی رقم صیاد نسبت به تیمار بدون پیری مشاهده نشد اما در رقم اختر اعمال تیمار پیری بذر به مدت ۴ و ۶ باعث کاهش معنی‌دار عملکرد زیستی این رقم در مقایسه با تیمار بدون پیری بذر گردید. Rodriguez & McDonald (1989) گزارش کردند که فرسودگی بذر باعث کاهش رشد رویشی و عملکرد زیستی در تمام مراحل رشدی لوبیا می شود.



شکل ۶- اثر متقابل رقم پیری بذر بر عملکرد بیولوژیک لوبیا قرمز

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش نشان داد در نتیجه اعمال تیمار پیری شاخص‌های مربوط به ظهور گیاهچه در مزرعه نظیر سرعت ظهور گیاهچه، درصد ظهور گیاهچه، شاخص ظهور گیاهچه و بنیه وزنی گیاهچه کاهش و متوسط زمان لازم برای ظهور گیاهچه افزایش یافت. با افزایش مدت زمان اعمال تیمار پیری تغییرات این صفات نسبت به تیمار شاهد شدیدتر بود. رقم اختر نسبت به رقم صیاد حساسیت بیشتری نسبت به عوامل پیری بذر داشته و بنیه بذر خود را در مقایسه با رقم صیاد سریع‌تر از دست داد و بنابراین می‌توان بیان کرد که ارقام مختلف یک گونه بسته به ترکیب شیمیایی بذر و خصوصیات فیزیکی آن حساسیت متفاوتی در برابر عوامل پیری بذر دارند. تأثیر باکتری‌های محرک رشد مورد استفاده بر روی صفات مربوط به ظهور گیاهچه و عملکرد محصول قابل ملاحظه بود و باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا به‌طور محسوسی باعث افزایش عملکرد لوبیا نسبت به شرایط عدم تلقیح با باکتری‌های محرک رشد شدند. در مجموع استفاده از باکتری‌های محرک رشد باعث بهبود ظهور گیاهچه، استقرار بوته و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه لوبیا شد. همچنین کاربرد این باکتری‌ها تا حدودی باعث بهبود قدرت بذرهای زوال یافته لوبیا گردید و عملکرد را افزایش داد.

REFERENCES

1. Abdual-baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soybean seed. *Crop Science*, 13, 222-226.
2. Ahmad, M., Zahir, Z. A., Asghar, H. N. & Arshad, M. (2012). The combined application of rhizobial strains and plant growth promoting rhizobacteria improves growth and productivity of mung bean (*Vigna radiata* L.) under salt-stressed conditions. *Annals of Microbiology*, 62, 1321–1330.
3. Asad, S. A., Bano, A., Farooq, M., Aslam, M. & Afzal, A. (2004). Comparative study of the effects of biofertilizers on nodulation and yield characteristics of mung bean (*Phaseolus vulgaris* L.).

International Journal of Agriculture and Biology, 6(5), 837-843.
4. Association of Official Seed Analysis (AOSA) (1983). *Seed vigor hand testing book*. Contribution No. 32 to the handbook on seed testing. Association of Official Seed Analysis. Springfield, IL.
5. Begnami, C. N. & Cortelazzo, A. L. (1996). Cellular alterations during accelerated aging of french bean seeds. *Seed Science and Technology*, 24, 295-303.
6. Bewley, J. D. & Black, M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination* (2th ed.). Plenum Press, 460 p.
7. 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. *Agronomy Journal*, 92(5), 880–886.
8. Carrozzi, L. E. (2005). *Lactuca sativa (L.) seed priming and Azospirillum inoculation as a tool for improving germination rate*. M. Sc. dissertation, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mar del Plata. Argentina. (in Spanish).
9. Ellis, R. A. & Roberts, E. H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox Seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373-409.
10. Gharineh, M. H., Bakhshandeh, A. M. & Ghassemi-Golezani, K. (2004). Effects of viability and vigour of seed on establishment and grain yield of wheat cultivars in field conditions. *Seed and plant Improvement Journal*, 20 (3), 383-400.
11. Ghassemi-Golezani, K., Dalil, B., Moghaddam, M. & Raey, Y. (2011). Effects of accelerated aging on soybean seed germination indexes at laboratory conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 160-163.
12. Ghassemi-Golezani, K., Khomari, S., Dalil, B., Hosseinzadeh-Mahootchy, A., & Chadordooz-Jeddi, A. (2010). Effects of seed aging on field performance of winter oilseed rape. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 8, 175-178.
13. Ghiasi, A., Hamidi, A., Khavazi, K. & Parsa, S. (2011). Effect plant growth promoting bacteria (PGPR) on wheat germination and seedling vigour indices (cv. Chamran). In: *Proceedings of 12th national soil science congress*, 3-5 Sep., University of Tabriz, Tabriz, Iran.
14. Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 109-117.
15. Gupta, A., Gopal, M. & Tilak, K.V. (2000). Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38, 856-862.
16. Hafeez, F. Y., Safdar, M. E., Chaudry, A. U., & Malik, K. A. (2004). Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44, 617-622.
17. Hamidi, A., Chaokan, R., Asgharzadeh, A., Dehghanshoar, M., Ghalavand, A. & Malakouti, M. J. (2009). 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*, 25(2), 183-206. (in Persian).
18. Hampton, J. G. & Hill, M. J. (1990). Herbage seed lots: Are germination data sufficient*?* In: *Proceeding of the New Zealand Grassland Association*, 52, pp 59-64.
19. Hampton, J. G. (2003). Methods of viability and vigour testing: a critical and appracial. In: pp. 81-118. Basra, A. S. (ed.), *Seed Quality, Basic Mechanisms and Agricultural Implications*. CBS Publishers and Distributers, New Delhi, India.
20. Jangu, O. P. & Sindhu, S. S. (2011). Differential response of inoculation with Indole Acetic Acid producing Pseudomonas Sp. in green Gram (*Vigna radiata* L.) and black Gram (*Vigna mungo* L.). *Microbiology Journal*, 1, 159-173.
21. Kapoor, N., Arya, A., Siddiqui, M. A., Amir, A. & Kumar, H. (2010). Seed deterioration in chickpea *(Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9 (3), 158-162.
22. Kloepper, J. W., Scher, F.M., Labiret, E. M. & 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.
23. Mc Donald, M. B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27, 177–237.
24. Mitra, S., Ghose, G. & Sircar, S. M. (1974). Physiological changes in rice seeds during loss of viability. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 44, 744-751.
25. Mohammadi, H., Soltani, A., Sadeghipour, H. R. & Zeinali, E. (2011). Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production*, 5(1), 65-70.
26. Nautiyal, A. R., Thapliyal, A. P. & Purohit, A. N. (1985). Seed viability in Sal. IV. Protein changes: companying loss of viability in *Shorea robusta*. *Seed Science and Technology*, 13, 83-86.

27. Okon, Y. & Itzigsohn, R. (1995). The development of Azospirillum as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology Advances*, 13, 415–424.
28. Raey, Y. & Ghassemi-Golezani, K. (2009). Yield-density relationship for potato (*Solanum tuberosum*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) in intercropping. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37,141-147.
29. Rodriguez, A., & McDonald, M. B. (1989). Seed quality influence on plant growth and dinitrogen fixation of red field bean. *Crop Science*, 29, 1309-1314.
30. Rokhzadi, A. & Toashih, V. (2011). Nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with plant growth promoting rhizobacteria. *Australian Journal of Crop Science*, 5(1), 44-48.
31. Rokhzadi, A., Asgharzadeh, A., Darvish, F., Nour-Mohammadi, Gh. & Majidi, E. (2008). Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on dry matter accumulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field condition. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 3(2), 253-257.
32. Rouzrokh, M., Ghasemi Golezani K. & Javanshir, A. (2002). Relationship between seed vigour and field performance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Seed and Plant*, 18(2), 156-169. (In persian)
33. Saha, R. R. & Sultana, W. (2008). Influence of seed ageing on growth and yield of soybean. *Bangladesh Journal of Botany*, 37, 21-26.
34. Selvakumar, G., Lenin, M., Thamizhiniyan, P. & Ravimycin, T. (2009). Response of biofertilizers on growth and yield attributes of Blackgram (*Vigna mungo* L.). *Recent Research in Science and Technology*, 1(4), 169–175.
35. Somasegaran, P. & Hoben, H. J. (1994). Hand book for rhizobia: *Methods in legume-Rhizobium technology*. New York. Springer-Verlag, U.S.A.
36. Steiner, J. J., Grabe, D. F. & Tulo, M. (1989). Single and multiple vigour test for predicting seeding emergence of Wheat. *Crop Science*, 29, 782-786.
37. Tekrony, D. M. & Egli, D. B. (1991). Relationship of seed vigor to crop yield: A review. *Crop Science*, 31, 816-822.
38. Thornton, J. M., Collins, A. R. S. & Powell, A. A. (1993). The effect of aerated hydration on DNA synthesis in embryos of *Brassica oleracea* L. *Seed Science Research*, 3, 195-199.
39. Trawatha, S. E., Tekrony, D. M. & Hidebrand, D.F. (1995). Relationship of soybean seed quality to fatty acid and C6–Aldehyde levels during storage. *Crop Science*, 35, 1415–22.
40. Valverde, A., Burgos, A., Fiscella, T., Rivas, R., Velázquez, E., Rodríguez-Barrueco, C., Cervantes, E., Chamber, M. & Igual, J. M. (2006). Differential effects of coinoculations with *Pseudomonas jessenii* PS06 (a phosphate-solubilizing bacterium) and *Mesorhizobium ciceri* C-2/2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions. *Plant and Soil*, 287(1-2), 43-50.
41. Vishwanath, K., Pallavi, H. M., Devraju, P. J. & Prashanth, Y. (2011). Prediction of storability of different seed size grades of French bean varieties through accelerated ageing response. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 2(2), 213-216.
42. Yadegari, M., Rahmani, H. A., Noormohammadi, G. & Ayneband, A. (2008). Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting rhizobacteria on yield and yield components. *Pakistan journal of biological sciences*, 11(15), 1935-1939.