نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۴۰، زمستان ۱۳۹۴ / صفحات: ۸۳-۷۳

اثر پرایمینگ شیمیایی و زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه باقلا (*Vicia faba* L.)

رضا ذرشین زنوش[۱]، محمدحسین انصاری*[۲] و معرفت مصطفوی‌راد[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زراعت، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[۲]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[۳]استادیار، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۸/۱٦ تاریخ پذیرش:۱۳۹٤/۱۲/۱۵

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ شیمیایی و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر عملکرد و اجزای عملکرد باقلا، پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی رشت در سال زراعی ۹٤-۱۳۹۳ به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایش شامل سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنت (٤۱، ۱٦۹، ۱۸۷ و عدم تلقیح) و نیز سطوح مختلف محلول اوره، محلول سولفات روی و همراه آب معمولی بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش پرایمینگ شیمیایی و زیستی توسط تلقیح باکتریایی بر تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، عملکرد غلاف سبز و عملکرد و پروتئین دانه معنی‌دار بود در حالی که فقط اثر تلقیح باکتریایی بر فسفر دانه معنی‌دار شد به طوری که بیشترین مقدار فسفر دانه در شرایط تلقیح با سویه ۱۸۷ به‌دست آمد. در این آزمایش بیشترین عملکرد دانه و غلاف سبز (در شرایط عدم تلقیح بذور با باکتری و پرایمینگ با اوره حاصل شد به‌طور کلی نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تکنیک کم‌هزینه پرایمینگ با اوره در شرایط مزرعه سبب افزایش عملکرد باقلا می‌گردد. بدین‌ترتیب پرایمینگ با اوره جهت بهبود عملکرد این گیاه در اراضی شالیزاری گیلان می‌تواند قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: باقلا، پرایمینگ شیمیایی، تلقیح باکتریایی، صفات زراعی

مقدمه

حبوبات، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین بعد از غلات دومین منبع غذایی انسان به شمار می‌رود (پارسا و باقری، ۱۳۸۷). گیاهان این تیره باعث افزایش هوموس خاک شده و بسته به تراکم و مدیریت زراعی، سالانه ٤۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن هوا را تثبیت می‌کنند (ضرغامی، ۱۳۸۱). از آنجا که باقلا جزء خانواده حبوبات است، قادر به تثبیت نیتروژن موجود در هوا می‌باشد در کشاورزی مدرن باقلا به‌عنوان یک گیاه کم خرج از نظر نیاز کم به کود و کنترل حشرات و بیماری‌ها مطرح است (صباغ‌پور، ۱۳۷٤).

نتایج تحقیقات حاکی از آن است که می‌توان با استفاده از تیمارهای افزایش‌دهنده قدرت بذر، به جوانه‌زنی سریع، ظهور یکنواخت و استقرار قوی گیاه دست یافت (Afzal et al., 2004; Ashraf and Foolad, 2005; Farooq et al., 2006). یکی از تکنیک‌های ساده‌ای که قدرت و استقرار گیاهچه‌ها و

*نویسنده مسئول: ansary330@yahoo.com

در نتیجه کارایی گیاه را در مزارع بهبود می‌بخشد، پیش‌اندازی یا پرایمینگ بذر می‌باشد (یارنیا و همکاران، ۱۳۸۷). پرایمینگ بذر عبارت است از آبنوشی کنترل شده پیش از کاشت بذر و به دنبال آن پسابیدگی بذر است (Ashraf and Foolad, 2005) و شامل فرو بردن بذور در آب (اغلب یک شب) و خشک کردن سطحی و کاشت بذر در همان روز می‌باشد (Murungu et al., 2004; Clark et al., 2001). روش‌های خیساندن شامل خیساندن بذر در آب، محلول‌های اسمزی دارای پتانسیل ماتریکس، تنظیم کننده‌های رشد و ریزمغذی‌ها می‌باشند (Bradford, 1986).

یکی دیگر از چالش‌های زراعت گیاهان دانه‌ای در مناطق شالیزاری، بهینه سازی مصرف کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم گزارش شده است (علیزاده و خواست‌خدایی، ۱۳۸۷). کاربرد کودهای شیمیایی در بسیاری از موارد، باعث آلودگی‌های زیست محیطی و صدمات اکولوژیکی نظیر تخریب محیط و تجمع کادمیوم در خاک و افزایش هزینه تولید می‌شود (Sharma et al., 2013). در بین ریزجانداران خاک که فعالیت آن‌ها بر رشد، تغذیه و سلامت گیاه اثر مثبت داشته و کاربرد آن‌ها به عنوان کود زیستی مورد توجه محققان قرار گرفته است، انواع باکتری‌های ریزوسفر می‌باشد که به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد (PGPR)[1] نامیده می‌شوند (Sindhu et al., 2002). سودوموناس‌های فلورسنت خاکزی به‌طور ویژه‌ای به‌دلیل تطبیق‌پذیری کاتابولیکی، قابلیت کلونیزاسیون عالی در سطح ریشه و قابلیت تولید دامنه وسیعی از آنزیم‌ها و متابولیت‌ها که در شرایط مختلف محیطی می‌توانند مفید باشند، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Vivekananthan et al., 2004). سویه‌های *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas fluorescens* در افزایش طویل شدن ریشه کلزا، کاهو و گوجه فرنگی و افزایش عملکرد گوجه فرنگی، کرفس، برنج، سیب زمینی، کاهو، مرکبات، ذرت، لوبیا، گیاهان زینتی و گندم فوق‌العاده موثر می باشند (Rodriguez and Fraga, 1999). گزارش‌هایی مبنی بر توانایی زنده ماندن و بقای باکتری سودوموناس تحت شرایط تنش به دلیل تولید اگزوپلی‌ساکاریدها وجود دارد که میکروارگانیسم‌ها را از نوسانات بالقوه آب بوسیله افزایش احتباس آب و تنظیم انتشار منابع کربنی در محیط میکروبی محافظت می‌کند (Sandhya et al., 2009). همچنین بسیاری از گزارش ها حاکی از آن است که برخی ویژگی‌های باکتری‌های افزاینده رشد، باعث بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، اثر بر بهبود جوانه‌زنی و ظهور گیاه‌چه و کمک به گیاه برای رشد در شرایط تنش‌های محیطی می‌باشد (Wu et al., 2005). با توجه به سطح زیر کشت وسیع باقلا در استان گیلان و اهمیت استقرار مناسب گیاه و تغذیه مطلوب، آزمایش حاضر با هدف ارزیابی اثر پرایمینگ شیمیایی و تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنت بر عملکرد و ویژگی‌های کیفی باقلا رقم برکت در منطقه رشت اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات آزمایش و منطقه: به منظور ارزیابی اثر پرایمینگ شیمیایی بر عملکرد و اجزای عملکرد باقلا (*Vicia faba* L.) رقم برکت تحت تلقیح با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنت، این آزمایش در سال ۹۴-۱۳۹۳ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان (رشت) واقع در طول جغرافیایی ٤٩ درجه و ۵۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۹ دقیقه و ارتفاع پنج متری از سطح دریا به اجرا شد.

1. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک: قبل از کاشت یک نمونه خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر از سه نقطه مزرعه آزمایشی، جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی برداشت و به آزمایشگاه ارسال گردید. نتایج آزمون خاک محل اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

عمق خاک نمونه‌برداری (سانتی متر)	اسیدیته کل اشباع	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	نیتروژن کل (درصد)	فسفر قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	رس (درصد)	لوم (درصد)	شن (درصد)	بافت خاک
۰-۳۰	۵/۹۳	۰/۶۱	۲/۰۰	۰/۱۷۵	۱۸/۱۰	۲۳۴	۲۶/۳	۲۷/۳	٤٦/٤	لوم-شنی

روش اجرای آزمایش و تیمارها: زمین مورد نظر در آذر ماه ۱۳۹۳ با انجام عملیات شخم و دیسک آماده کاشت گردید. هر کرت شامل پنج خط کاشت به طول پنج متر به فاصله ٤۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی خط ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاکتورهای آزمایش شامل پرایمینگ زیستی شامل سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنت (*Pseudomonas fluorescent*) در چهار سطح (عدم تلقیح، سویه٤۱، سویه ٦۹ و سویه ۱۸۷) و سطوح مختلف پرایم شیمیایی در سه سطح (محلول اوره و محلول سولفات روی و آب معمولی) بود. غلظت محلول‌های اوره و سولفات روی به‌ترتیب ٦ و ۰/۳۵ گرم در لیتر و مدت زمان پرایم هر سه ترکیب پنج ساعت بود. بذور پس از اعمال تیمارها، به‌مدت ۲٤ ساعت در همان دما بر روی کاغذ صافی خشک گردید. سویه های باکتری سودوموناس فلورسنت این آزمایش از بانک میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. عمل تلقیح بذور با باکتری نیز هنگام کاشت در ساعات اولیه روز انجام شد، بدین صورت که پس از مخلوط کردن بذرها با صمغ عربی، هفت گرم از هر باکتری به ازای یک کیلوگرم بذر طبق توصیه موسسه تحقیقات خاک و آب اضافه شد (هر گرم باکتری، حاوی 10^{7} باکتری زنده بود). پس از تلقیح بذور و خشک کردن در سایه، عملیات کاشت صورت گرفت.

تعیین عملکرد: برای پرهیز از اثر حاشیه ای، یادداشت برداری‌ها و نمونه برداری‌ها از دو ردیف داخلی هر کرت (ردیف‌های کناری به عنوان حاشیه در نظر گرفته شدند) با حذف حدود ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر ردیف انجام شد و دو متر مربع به‌طورکامل برداشت گردید و به طور تصادفی ۱۰ بوته برای اندازه‌گیری اجزای عملکرد انتخاب شد.

سنجش مقدار کلروفیل برگ: کلروفیل a و b با استفاده از روش Arnon (۱۹٦۷)، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Varian 300 Scan,USA)، به‌ترتیب در طول موج‌های ٦٤۲/۵ و ٦٦۰ نانومتر و با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین گردید:

رابطه ۱: کلروفیل a= (جذب در ٦٤۲/۵ نانومتر) ۰/۷۷۷– (جذب در ٦٦۱ نانومتر) ۹/۹۳

رابطه ۲: کلروفیل b= (جذب در ٦٦۰ نانومتر) ۲/۸۱– (جذب در ٦٤۲/۵ نانومتر) ۱۷/٦

سنجش فسفر دانه: فسفر دانه به روش رنگ سنجی اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵). دانه‌ها در آون در

دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت خشک گردید. پس از آسیاب دانه‌ها، ابتدا ۵ گرم از آن را برداشته و داخل یک ارلن قرار ریخته و سپس به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر بیکربنات کلسیم نیم‌مولار افزوده و سوسپانسیون ایجاد شده به‌مدت نیم ساعت تکان داده شد و پس از آن توسط کاغذ صافی صاف شده تا عصاره زلالی حاصل گردد. ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست آمده در یک بالن ریخته و به آرامی ۵ میلی‌لیتر محلول آمونیوم مولیبدات به آن اضافه شد. بالن را به‌تدریج تکان داده تا گازهای دی‌اکسید کربن خارج شوند. بعد از این مرحله مقدار ۱ میلی‌لیتر کلرید قلع اضافه و بالن به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانیده شد. شدت عبور نور پس از کالیبراسیون استانداردهای ۰/۹، ۰/۷، ۰/۱، ۰/۳۳ و صفر پی‌پی‌ام در طول موج ٦٦٠ نانومتر قرائت گردید (امامی، ۱۳۷۵).

سنجش نیتروژن دانه: برای اندازه‌گیری درصد نیتروژن دانه از روش کجلدال آتوآنالیزر استفاده شد (امامی، ۱۳۷۵). به این منظور، یک گرم از گیاه خشک در بالن کجلدال ریخته و به آن ۲۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک خالص و به اندازه یک قاشق کوچک کاتالیزور اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت یک ساعت و به آرامی حرارت داده تا رنگ آن به سبز روشن تغییر یابد. سپس در هوا سرد شده و تقطیر گشت. بعد از معدنی‌کردن، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آرامی به داخل بالن ریخته و توسط لوله مبرد به ارلن مایر محتوی ۳۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک دسی‌نرمال و چند قطره معرف افزوده گشت به‌طوری‌که انتهای لوله مبرد یک سانتی‌متر درون اسید قرار گرفت. سپس توسط یک قیف که روی بالن قرار داشت ۸۰ میلی‌لیتر سود ٤٠ درصد با احتیاط کامل روی اسید ریخته شد، به نحوی که دو محلول با هم مخلوط نشده و سطح مشخصی ایجاد نمایند. دستگاه به مدت نیم ساعت با ملایمت حرارت داده شد تا حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع تقطیر گشت (اگر مایعی که پس از نیم ساعت از انتهای لوله مبرد خارج می‌شود، کاغذ تورنوسل را آبی کرد، تقطیر تا تحصیل ۵۰ میلی‌لیتر دیگر ادامه می‌یابد). پس از خاتمه تقطیر، مازاد اسیدسولفوریک خنثی نشده توسط آمونیاک و با سود دسی نرمال از طریق تیتراسیون تعیین و محاسبه گشت. برای اندازه‌گیری ماده نیتروژنه در ۱۰۰ گرم نمونه از فرمول زیر استفاده گشت:

$$(n - n_1) \times 6.25 \times 0.0014 \times 100 / P$$

که در آن n مقدار اسیدسولفوریک دسی‌نرمال، n_1 مقدار سود دسی‌نرمال مصرفی و P وزن نمونه است.

پس از به‌دست آوردن درصد نیتروژن دانه، این عدد در ٦/٢٥ (ضریب ثابت برای تبدیل نیتروژن به پروتئین در دانه باقلا) ضرب شد و عدد حاصل به‌عنوان درصد پروتئین دانه باقلا در نظر گرفته شد (علی احیایی و بهبهانی‌زاده، ۱۳۷۲).

شاخص برداشت: شاخص برداشت از تقسیم عملکرد دانه بر عملکرد بیولوژیک ضربدر ۱۰۰ به‌دست آمد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری $SAS_{9.1}$ و برای مقایسه میانگین داده‌ها از روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج

تعداد غلاف در بوته: نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها واریانس نشان داد که برهمکنش سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس و سطوح مختلف پرایمینگ بر تعداد غلاف در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در باقلا تحت تأثیر باکتری سودوموناس و پرایمینگ

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		تعداد غلاف در بوته	عملکرد بیولوژیک	عملکرد غلاف	عملکرد دانه	شاخص برداشت	کلروفیل b	کلروفیل a	فسفر دانه	پروتئین دانه	وزن ۱۰۰ دانه
تکرار	۲	۰/۱۷۵^{ns}	۵۷۴۳۷۵^{ns}	٦٤٠١٤^{ns}	۳۰۷۵۹^{ns}	۱۱/٦۳^{ns}	۲/۵۹^{ns}	۲/۰۸^{ns}	۱۷٤۰^{ns}	۱۳/۰۲^{ns}	۲۲۰/۸^{ns}
پرایمینگ	۲	۰/۱۷٦^{ns}	۳۳۵۵٦۲۱۰*	۲۳۹۸۵٦۰۳**	۸۲٤٤۷۱۷**	٦۵/۰۱*	۱۱/۱۲**	۱۰۸/۳**	۲۸۹٦^{ns}	٤۹/٤۹**	۲۸۸۲/۱**
باکتری	۳	۰/۳۵۹^{ns}	۲۲۸۱۵۸۵^{ns}	۸۷۲۹٤٤^{ns}	۲۵۳۱۱۷^{ns}	۲۹/۳۷^{ns}	۲/٤٤^{ns}	۳۳/۲۵*	۹۹۹۸**	۱٦۸/۰۳**	۱۳۳۰/۵*
پرایمینگ × باکتری	٦	۰/۸۱۰**	۲۳٦۷۰۸۵۲**	۱۰٤٤۵٦۰۹*	۱۲۰۸۵۲۵**	۵۷/۵۸*	٤/٦۸*	۹/٤۱^{ns}	۲۹٦۷^{ns}	۳۸/۳۰^{ns}	۷٦۲/۱^{ns}
خطا	۲۲	۰/۱٦۸	٦۱۵۲۰۱۲	۳۲۷۷۲۳۹	۱۵۷۰۵٦	۹/٤۷	۱/۷۱	۷/۰٦	۱۸۷۵	۱۳/۰۲	۳۳۸/۸
ضریب تغییرات	–	۱۳/۱٦	۱۲/۸٤	۱۵/۸۳	۱۳/۰۷	۱۹/۰۰	۲۰/۲۱	۲۸/٤۳	۱٦/٤٤	۱۵/۵۰	۷/۰۲

^{ns}، *، ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که در شرایط عدم تلقیح با باکتری، پرایم اوره (با میانگین ۳/۸) نسبت به بقیه تیمارها از نظر تعداد غلاف در بوته برتر بود. اما در سویه ٤۱ و سویه ۱۸۷، پرایمینگ با آب معمولی و تیمار سولفات‌روی تعداد غلاف بیشتری تولید کرد، هر چند که در شرایط عدم تلقیح و تلقیح با سویه ۱٦۹ در پرایم اوره تعداد غلاف بیشتری تولید شد اما در سویه ٤۱ و سویه ۱۸۷، پرایم اوره تعداد غلاف را کاهش داد. در مجموع بیشترین تعداد غلاف در بوته از تیمار عدم تلقیح با باکتری و پرایم اوره به دست آمد (جدول ۵).

جدول ۳: مقایسه میانگین سطوح اثر اصلی پرایمینگ شیمیایی بر صفات اندازه‌گیری شده یاقلا

سطوح پرایمینگ	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد غلاف (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	شاخص برداشت (درصد)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن)	وزن ۱۰۰ دانه (گرم)	فسفر دانه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پروتئین دانه (درصد)
آب معمولی	۱۷٤۱٦b	۹۹۲۰b	۲۰۸۱b	٤٤/۱٤b	۱۰/۱۳a	٦/٦۱a	۲٤٤/۲۵b	۲۵۵/۷a	۲۳/۹٤a
محلول اوره	۲۰۵۹۷a	۱۲۷۲٤a	۳٦۰۵a	٤۸/٦۲a	٦/۰۲b	۵/٤۵b	۲۷۰/٦٦a	۲۸۱/۲a	۲٤/۷۹a
محلول سولفات روی	۱۹۹۰۰a	۱۱٦٤۳a	۳٤۰۸a	٤۵/۲۷ab	۱۱/۸۸a	۷/۳٦a	۲۷۱/۵۰a	۲۵۳/۱a	۲۱/۰۲b

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ٤: مقایسه میانگین سطوح اثر اصلی سویه‌های باکتری سودوموناس بر صفات اندازه‌گیری شده یاقلا

سویه‌های باکتری سودوموناس	وزن ۱۰۰ دانه (گرم)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن)	فسفر دانه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پروتئین دانه (درصد)
عدم تلقیح	۲۵٤/۸b	۱۰/۹۷a	۲۲۹c	۲٤/۸٤ab
سویه ٤۱	۲۵۳/٦b	۱۱/۰۲a	۲٤۱bc	۲۰/۵۵c
سویه ۱٦۹	۲٦۰/۱b	۷/۳۷b	۲۸۳ab	۲٦/۵۹a
سویه ۱۸۷	۲۷۹/۸a	۸/۰۲b	۲۹۹a	۲۳/٦۹b

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

عملکرد بیولوژیک: برهمکنش سویه‌های مختلف سودوموناس و پرایمینگ شیمیایی بر عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در سویه ۱۶۹، محلول سولفات روی با میانگین ۲۲۹۰۸ کیلوگرم بالاترین عملکرد بیولوژیک را به خود اختصاص داد. بعد از آن در شرایط عدم تلقیح و تلقیح با سویه ۴۱، به ترتیب پرایم با محلول اوره و آب معمولی با میانگین ۲۱۶۵۸ و ۲۱۰۹۶ کیلوگرم بالاترین عملکرد را داشتند. اما در سویه ۱۸۷، بین پرایم با محلول اوره و محلول سولفات روی از لحاظ آماری تفاوتی وجود نداشت. در سویه ۱۶۹ نیز پرایم با آب معمولی با میانگین ۱۴۴۷۱ کیلوگرم کمترین عملکرد بیولوژیک را در بین انواع پرایمینگ نشان داد (جدول۵).

عملکرد غلاف: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سویه‌های باکتری سودوموناس و پرایمینگ شیمیایی بر عملکرد غلاف در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد که در همه سطوح تلقیحی به استثنای تلقیح با سویه ۱۶۹، پرایم‌های شیمیایی نسبت به پرایم با آب افزایش معنی‌دار در عملکرد غلاف نشان دادند. در تیمار عدم تلقیح، تیمار اوره با میانگین ۱۴۴۰۸ کیلوگرم بالاترین عملکرد غلاف را به خود اختصاص داد. اما در تیمار سویه ۱۶۹، بین تیمار محلول اوره و سولفات روی از لحاظ آماری تفاوتی وجود نداشت (جدول ۵).

عملکرد دانه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس و سطوح مختلف پرایمینگ بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار عدم تلقیح با باکتری، پرایم محلول اوره با میانگین ۳۷۵۰ کیلوگرم بیشترین عملکرد دانه را نشان داد. اما در سویه ۱۶۹ و سویه ۱۸۷ بین پرایم با اوره و سولفات روی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در مجموع در همه سویه‌های باکتری، تیمار آب معمولی نسبت به پرایم شیمیایی عملکرد دانه کمتری داشت (جدول ۵).

شاخص برداشت: بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، برهمکنش سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس و سطوح مختلف پرایمینگ بر شاخص برداشت در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در شرایط عدم تلقیح و تلقیح با سویه ۱۸۷ پرایم با محلول اوره شاخص برداشت بالاتر از سایر محلول‌های پرایم بود (جدول ۵). اما در سویه ۴۱، بین پرایم با آب معمولی و محلول اوره از تفاوت معنی‌داری وجود نداشت در عین حال در شرایط تلقیح با سویه ۱۶۹ پرایم با آب معمولی نسبت به دو پرایم دیگر از برتری معنی‌دار برخوردار بود. در مجموع تیمار عدم تلقیح و پرایم با محلول اوره بیشترین شاخص برداشت را بین سایر تیمارها با میانگین ۵۳/۵ درصد داشت (جدول ۵).

کلروفیل a و b: بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر پرایمینگ و سویه‌های باکتری بر محتوای کلروفیل a به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود. اما میزان کلروفیل b در برهمکنش سویه‌های باکتری سودوموناس و پرایمینگ شیمیایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر محتوای کلروفیل a نشان داد که بین تیمار آب معمولی و محلول سولفات روی از لحاظ آماری تفاوتی وجود نداشت، اما تیمار محلول سولفات روی با میانگین ۶/۰۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از محتوای کلروفیل a کمتری برخوردار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر سویه‌های باکتری سودوموناس بر محتوای کلروفیل a نشان داد که بین تیمار عدم تلقیح و سویه ۴۱ به ترتیب با میانگین ۱۰/۹۷ و ۱۱/۰۲ به لحاظ آماری تفاوتی وجود نداشت

و نیز بین تیمارهای سویه ۱٦۹ و سویه ۱۸۷ نیز به ترتیب با میانگین ۷/۳۷ و ۸/۰۲ از نظر آماری اختلافی مشاهده نشد (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین برهمکنش سویه‌های باکتری سودوموناس و پرایمینگ شیمیایی بر کلروفیل b نشان داد در شرایط پرایم با آب معمولی بین عدم تلقیح و سویه ٤۱ به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار وجود نداشت اما نسبت به سویه‌های ۱٦۹ و ۱۸۷از میزان کلروفیل b بیشتری برخوردار بود.. در شرایط پرایم با اوره نیز عدم تلقیح با باکتری نسبت به تیمارهای تلقیحی از برتری معنی‌دار برخوردار بود هرچند در شرایط پرایم با سولفات روی سویه ۱۸۷ نسبت به سایر تیمارها کلروفیل b بیشتری تولید کرد.

مقدار فسفر دانه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سویه‌های باکتری سودوموناس بر مقدار فسفر دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس بر مقدار فسفر دانه نشان داد که سویه ۱۸۷ با میانگین ۲۹۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشتر مقدار فسفر را به خود اختصاص داد و سویه‌های باکتری سودوموناس نسبت به عدم تلقیح (با میانگین ۲۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از برتری معنی‌دار برخوردار بودند (جدول ٤). **مقدار پروتئین دانه:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پرایمینگ و سویه‌های باکتری سودوموناس بر پروتئین دانه باقلا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر مقدار پروتئین دانه نشان داد که پرایم با آب معمولی و محلول اوره به ترتیب با میانگین ۲۳/۹٤ و ۲٤/۷۹ درصد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نداشتند اما نسبت به پرایم با محلول سولفات روی با میانگین ۲۱/۰۲ از برتری معنی‌دار برخوردار بودند (جدول ۳). همچنین اثر سویه‌های باکتری سودوموناس بر مقدار پروتئین دانه نشان داد که سویه ۱٦۹ با میانگین ۲٦/۵۹ درصد بیشترین و سویه ٤۱ با میانگین ۲۰/۵۵ درصد کمترین مقدار پروتئین دانه را دارا بودند (جدول ٤).

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل پرایمینگ شیمیایی و سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنت صفات مورد اندازه‌گیری شده در باقلا.

تیمار	تعداد غلاف در بوته	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن)	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار)	عملکردغلاف (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	شاخص برداشت (درصد)
P0B0	۲/۷۳de	۹/۳۷a	۷/۰۷ab	۱۵٤۳۸de	۷۹۳۸e	۱۲۵۰f	۳۸/٤۹e
P0B1	۳/۱۰abcde	۷/۳٤a	۷/۱۸ab	۲۱۰۹٦ab	۱۲۱۲۱abcd	۲۸۲۵bc	٤۵/۱۱bcde
P0B2	۲/۵۰e	۲/۹۵a	٦/۳۳abc	۱٤٤۷۱e	۹۲۵۰de	۲۱۰۰de	۵۰/۵٤ab
P0B3	۳/٦۰ab	٤/٤٤a	۵/۸۳bcd	۱۸٦۵۸bcde	۱۰۳۷۵bcde	۱۹۰۰ef	٤۲/٤٤de
P1B0	۳/۸۰a	۱۲/۷٤a	۷/٦۸ab	۲۱٦۵۸ab	۱٤٤۰۸a	۳۷۵۰a	۵۳/۵۰a
P1B1	۲/۸٦cde	۱۳/۱۱a	۵/۸٤bcd	۱۹٤۳۸abcd	۱۱٤۰۸abcd	۳۲۵۰abc	٤۵/٦٦bcde
P1B2	۳/٤٦abc	۱۲/۳۹a	۳/۸۷d	۲۰۷۲۹abc	۱۲۷۰٤ab	۳۵۷۵ab	٤۸/۱۵abcd
P1B3	۲/۷۰de	۹/۲۷a	٤/۳۹cd	۲۰۵٦۳abc	۱۲۳۷۵abc	۳۵۹۵ab	٤۷/۱۷abcd
P2B0	۳/۲٦abcd	۱۰/۷۹a	٦/۷۳ab	۱۹۱۸۸abcd	۱۲۱۲۵abcd	۳٤۸۳ab	۵۰/۱۵abc
P2B1	۲/۵٦e	۱۲/٦۱a	٦/٦۸ab	۱٦۸٤٦cde	۹٤۷۱cde	۲٦۷۵cd	٤۳/۰۹cde
P2B2	۳/۳۰abcd	٦/۷۸a	۷/۷٦ab	۲۲۹۰۸a	۱۳۲۸۳ab	۳٦۰۵ab	٤٤/۵۷bcde
P2B3	۳/۵۰abc	۱۳/۸۷a	۸/۲۷a	۲۰٦۵۸abc	۱۱٦۹٦abcd	۳٦۰۰ab	٤۳/۲۷bcde

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

P0: پرایم با آب معمولی (شاهد)، P1: پرایم با اوره، P2: پرایم با سولفات روی؛ B0: عدم تلقیح با باکتری،B1: باکتری سودوموناس سویه٤۱، B2: باکتری سودوموناس سویه ۱٦۹، B3: باکتری سودوموناس سویه۱۸۷.

وزن ۱۰۰ دانه: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پرایمینگ و سویه‌های باکتری سودوموناس بر وزن ۱۰۰ دانه به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر وزن ۱۰۰ دانه نشان داد که پرایمینگ با محلول اوره و سولفات روی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ولی نسبت به پرایم با آب معمولی با میانگین ۲٤٤/۲۵ گرم برتری معنی‌دار داشتند (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین اثر سویه‌های باکتری سودوموناس بر وزن ۱۰۰ دانه نشان داد که سویه ۱۸۷با میانگین ۲۷۹/۸ گرم نسبت به سایر تیمارهای تلقیحی وزن ۱۰۰ دانه بیشتری داشت، اما بین تیمار عدم تلقیح، سویه ٤۱ و سویه ۱٦۹ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ٤).

بحث

براساس نتایج این آزمایش، پرایمینگ بذرهای باقلا با اوره بیشترین تعداد غلاف و دانه در بوته را در شرایط عدم تلقیح با باکتری نشان داد. همچنین بیشترین عملکرد غلاف و عملکرد دانه به همین تیمار اختصاص داشت. نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که کاربرد باکتری‌ها، به‌ویژه باکتری سودوموناس، منجر به افزایش عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک گیاه گندم شده است (Ansari et al., 2012)، اما در این آزمایش عدم تلقیح با باکتری همراه با پرایمینگ اوره منجر به افزایش عملکرد دانه و عملکرد غلاف گردید. علت این افزایش عملکرد دانه در این تیمار را می توان ناشی از تاثیر اوره بر افزایش تعداد غلاف در بوته دانست. تاثیر افزایش عملکرد دانه ناشی از افزایش تعداد غلاف در بوته توسط نیتروژن در نتایج پیوندی و همکاران (۱۳۹۲) نیز گزارش شده است. هر چند رضوان طلب و همکاران (۱۳۹۱) افزایش عملکرد دانه ذرت در اثر کاربرد اوره را ناشی از افزایش جذب سایر عناصر مانند پتاسیم و فسفر گزارش کردند.

علت افزایش عملکرد دانه و غلاف در تیمار پرایمینگ بذرهای باقلا با اوره و عدم تلقیح را می‌توان به اثر اوره همراه با باکتری‌ها بر تحریک رشد اندام‌های هوایی نسبت داد زیرا در تیمارهای تلقیح شده با باکتری، میزان عملکرد بیولوژیک با پرایمینگ اوره نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌دار داشت ولی شاخص برداشت پایین‌تری داشتند. البته در شرایط پرایمینگ با اوره نیز ممکن است کارایی سویه‌های باکتری در مراحل ابتدایی رشد تحت تأثیر قرار گیرد. بنا به گزارش Mayak و همکاران (۲۰۰٤)، باکتری‌های غیرهمزیست مانند سودوموناس، در شرایط عاری از تنش با مصرف هیدرات‌های کربن و برخی از ترکیبات پروتئینی، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، اما در شرایط تنش به دلیل اثر مثبت بر رشد ریشه و تولید هورمون‌های رشد کاربرد باکتری توجیه پذیر می‌باشد. در این زمینه Glick و همکاران (۲۰۰۱) نیز عقیده داشتند که باکتری سودوموناس، به ویژه باکتری‌های تولید کننده آمینو سیکلو پرویان -۱- کربوکسیلات سینتاز (ACC) -دی‌آمیناز در شرایط عاری از تنش می‌توانند با مصرف ترکیبات قندی و پروتئینی و تولید هورومون‌های محرک رشد، رشد اندام‌های هوایی لوبیا را افزایش دهند. Sandhya و همکاران (۲۰۰۹) نیز در آزمایشی با تلقیح گیاهان با باکتری سودوموناس گزارش کرد که بذرهای آفتابگردان تلقیح شده با سویه‌های باکتری سودوموناس در شرایط عاری از تنش شوری از نظر رشد اندام‌های هوایی با هم اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند اما در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد از برتری برخوردار بودند. این باکتری‌ها دارای طیف گسترده‌ای از صفات محرک رشد گیاهی مانند تولید اکسین، تولید آنزیم آمینو سیکلو پرویان -۱-

کربوکسیلات سینتاز (ACC) –دی‌آمیناز، حل کنندگی فسفات، تولید سیدروفور، سالیسیلیک اسید، کیتیناز و سیانید هیدروژن می باشند که به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر وضعیت گیاه اثر می‌گذارند و گیاه را در تحمل تنش یاری می‌کنند (Rashid et al., 2006).

لذا به نظر می‌رسد به دلیل عدم وجود شرایط تنش‌زایی محیطی و اثر بهتر پرایمینگ شیمیایی به ویژه اوره، نقش و کارایی سویه‌ها را کاهش داده است. البته کارایی این باکتری‌ها بستگی به سویه باکتری، میزان ماده آلی و بافت خاک، وضعیت رطوبتی و دمایی خاک، عناصر موجود در خاک و رقم گیاه دارد که می تواند با تغییر این شرایط، کارایی باکتری نیز تغییر کند (Zahir et al., 2004). در این آزمایش نیز پرایمینگ بذرها قبل کاشت نیز می تواند از جمله شرایط تغییر دهنده محیط رشد بذر و استقرار گیاهچه باشد، بنا به گزارش لطیف زاده و همکاران (۱۳۹۲)، پرایم با محلول اوره و سولفات روی منجر به افزایش عملکرد دانه لوبیا نسبت به تیمار آب معمولی می‌گردد که خود می‌تواند ناشی از فعال شدن آنزیم‌های متابولیسم ساکارز و تسریع رشد اولیه گیاه باشد، همچنین آن‌ها بیان داشتند که پرایم می‌تواند منجر به بهبود بستر بذر و استقرار گیاه‌چه لوبیا شود.

Ali و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که سودوموناس سویه AMK.P6 محتوای کلروفیل، آمینو اسید و قند را در برگ گیاه سورگرم افزایش داد. Ansari و همکاران (۲۰۱۲) نیز به نقش باکتری سودوموناس در افزایش کلروفیل a و b برگ گندم اشاره نموده اند. رضوان‌طلب و همکاران (۱۳۹۱) نیز افزایش کلروفیل برگ ذرت را ناشی از کاربرد اوره گزارش کردند. عزیزی و همکاران (۱۳۹۰) نیز گزارش کردند که با افزایش نیتروژن در برگ‌های سویا، کلروفیل a، b و فتوسنتز برگ افزایش یافت و به این نتیجه رسیدند که با ازدیاد میزان کلروفیل، فتوسنتز و در نهایت میزان آسیمیلاسیون و کربوهیدرات افزایش یافته و بر تجمع مواد خشک تولیدی مؤثر واقع می‌شود. افزایش عملکرد دانه توسط پرایم اوره در این تحقیق را می‌توان به افزایش تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته نسبت داد زیرا تعیین کننده‌ترین عامل در عملکرد لگوم‌ها می‌باشد (پارسا و باقری، ۱۳۸۷). همچنین، از نظر فسفر دانه بین تیمارهای تلقیحی اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما این اختلاف بین تیمارهای پرایمینگ معنی‌دار نبود. بیشترین فسفر دانه از تیمار B3 (سویه ۱۸۷) به‌دست آمد، که بنابه گزارش رضاپور و همکاران (۱۳۹۳) می تواند ناشی از قابلیت حل کردن فسفات‌های نامحلول به فسفات قابل دسترس گیاه توسط باکتری سودوموناس باشد. از نظر پروتئین دانه نیز سویه B2 (سویه ۱٦۹) نسبت به سایر سویه‌ها از برتری معنی‌دار برخوردار بود.

به نظر می‌رسد که باکتری‌ها با بهبود جذب عناصر غذایی به ویژه نیتروژن و فسفر موجب تحریک رشد اندام‌های هوایی (Rashid et al., 2004)، در این آزمایش شده است و از طریق کاهش شاخص برداشت، عملکرد دانه را نسبت به عدم تلقیح باکتریایی، کاهش داده است. بنابه عقیده لطیف‌زاده و همکاران (۱۳۹۲)، تحریک رشد رویشی، گلدهی را به تعویق انداخته و تعداد گل کمتری تولید می‌نماید که به‌نوبه خود منجر به به تولید غلاف کمتر نیز می‌شود. اما وزن دانه‌های تولیدی به دلیل رقابت کمتر برای دریافت مواد فتوسنتزی بیشتر، افزایش می‌یابد که افزایش وزن ۱۰۰ دانه در تیمارهای تلقیحی نسبت به شاهد، در این آزمایش بیانگر این موضوع می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد پرایمینگ بذر منجر به افزایش رشد و عملکرد گشت به‌طوری که بیشترین عملکرد

دانه و غلاف از تیمار پرایم با محلول اوره و عدم تلقیح با باکتری به دست آمد. بیشترین مقدار فسفر و پروتئین دانه به ترتیب از سویه S187 و S169 حاصل شد. هر چند تلقیح با باکتری عملکرد دانه را کاهش داد ولی جذب نیتروژن و فسفر را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد. با این وجود برای حصول حداکثر عملکرد دانه و غلاف در گیاه باقلا رقم برکت، پرایم با محلول اوره برای شرایط اقلیمی رشت توصیه می‌شود.

منابع

امامی، ع. (۱۳۷۵). روش‌های تجزیه گیاه. جلد اول. موسسه تحقیقات آب و خاک. نشریه شماره ۹۸۲. ۲٤٦ صفحه.

پارسا، م. و باقری، ع. (۱۳۸۷). حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۵۲۲.

پیوندی، م.، لطیف، و. و صبورا، ع. (۱۳۹۲). تاثیر نیتروژن و مس بر برخی خصوصیات کمی گیاه کلزا ارقام اکاپی و هیولا (*Brasica napus* cultivars Okapi and Hayola). مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال ۸، شماره ۳۲، صفحات ۵۲-٤۳.

رضاپور کویشاهی، ط.، انصاری، م. ح. و مصطفوی راد، م. (۱۳۹۳). اثر باکتری‌های حل کننده فسفات و کود فسفره بر عملکرد لوبیای محلی گیلان. مجله به‌زراعی کشاورزی. جلد ۱۷. شماره ۳. صفحات ۷۵٦-۷٤۳.

رضوان‌طلب، ن.، پیردشتی، ه، بهمنیار، م. ع. و عباسیان، ا. (۱۳۹۱). بررسی اثر انواع و مقادیر مختلف کودهای آلی و شیمیایی بر میزان برخی عناصر (*Zea mays* L.) پرمصرف برگ و دانه در ذرت. مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی، جلد ۷، شماره ۲۷، صفحات ۳۰-۲۰.

صباغ پور، س.ح. (۱۳۷٤). بررسی اثر تراکم بوته بر عملکرد باقلای برکت. مجله نهال بذر، جلد۱۱. شماره ٤. صفحات ۱۳-۹.

ضرغامی، ر. (۱۳۸۱). بررسی اثر تاریخ کاشت، فاصله کاشت و تغذیه روی صفات کمی و کیفی باقلا مازندرانی. پایان نامه کارشناسی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس.

عزیزی، گ.، لیلا علیمردانی، ل. و سیاهمرگویی، آ. (۱۳۹۰). بررسی رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر با محتوای کلروفیل، فتوسنتز و میزان نیتروژن برگ در سویا (*Glycine max* L.). مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال ٦، شماره ۲۳، صفحات ٤۰-۳٤.

علی احیایی، م. و بهبهانی‌زاده، ع. ا. (۱۳۷۲). شرح روش‌های تجزیهٔ خاک و گیاه. جلد اول، موسسه تحقیقات خاک و آب، نشریهٔ شماره ۸۹۳، تهران، ایران. صفحه ۳٤۲.

علیزاده، آ. و خواست خدایی، آ. (۱۳۸۷) . بررسی کاربرد توأم میکوریزا و آزوسپریلیوم با هدف بهینه‌سازی مصرف کود نیتروژن و فسفر در زراعت پایدار ذرت. یافته‌های نوین کشاورزی. جلد ۳. شماره ۱. صفحات ٦۵-۵۵.

لطیف‌زاده، م. ابوطالبیان، م.ح. زواره، م. و ربیعی، م. (۱۳۹۲). تأثیر پرایمینگ بذر در مزرعه و تاریخ کاشت بر خصوصیات ظهور گیاهچه، عملکرد و اجزای عملکرد یک ژنوتیپ بومی لوبیا به عنوان کشت دوم ، مجله علوم گیاهان زراعی ایران، جلد ٤٤ ، شماره ۱. صفحات ۳۳-۲۳.

Afzal, I., Aslam, N., Mabood, F., Hussain, A. and Irfan, S. (2004). Enhancement of germination and emergence of Canola seeds by different priming techniques. Caderno de Pesquisa Ser. Biologia da Universidade de Santa Cruz do Sul. 16:19–34.

Ali, S.K.Z, Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L.V. and Venkateswarlu, B.

(2009). Pseudomonas sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. Biology and Fertility of Soils. 46: 45-55.

Ansari, M.H., Ebadi Bilehsavar, T., Faramarzi, A., and Asadi Rahmani, H. (2012). Study of the effects of the plant growth promoting bacteria on the yield and yield components of the Wheat under the rain fed and irrigated conditions. Journal of Agronomy and Plant Production. 4(6): 1343–1350.

Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23:112–122.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2005). Pre-sowing srrd treatment- a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and non-saline condition. Advances in Agronomy. 88: 223–271.

Bradford, K.J. (1986). Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. Horticultural Science. 21:1105–1112.

Clark, L.J., Whalley, W.R., Ellis-Jones, J., Dent, K., Rowse, H.R., Finch-Savage, W.E., Gatsai, T., Jasi, L., Kaseke, N.E., Murungu, F.S., Riches, C.R. and Chiduza, C. (2001). On- farm seed priming in maize: a physiological evaluation. In: proceeding of the Seventh Eastern and southern Africa Regional Maize Conference. 11th-15th February: 268–273.

Farooq, M., Basra, S.M.A. and Rehman, H. (2006). Seed priming enhances emergence, yield, and quality of direct-seeded rice. Crop Physiology. 31:42–46.

Glick, B.R., Penrose, D. and Wendo, M. (2001). Bacterial promotion of plant growth. Biotechnology Advances. 19: 135–138.

Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B.R. (2004). Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. Plant Science.166: 525–530.

Murungu, F.S., Chiduza, C., Nyamugafata, P., Clark, L.J., Whalley, W.R. and Finch-Savage, W. E. (2004). Effect of on-farm seed priming on consecutive daily sowing occasion on the emergence and growth of maize in semi-arid Zimbabwe. Field Crops Research. 89: 49–57.

Rashid, A.P., Hollington, A., Harris, D. and Khan, D. (2006). On farm seed priming for barely on normal, saline and sodic soils in North west frontier province, Pakistan Crop Protection. 24: 276–281.

Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S. and Latif, F. (2004). Organic Acids productions solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences. 7:187–196.

Rodriguez, H. and Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 17: 319–339.

Sandhya, V., Ali S.k.Z., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. (2009). *Pseudomonas sp.* strain P45 protects sunflowers seedlings from drought stress through improved soil structure. Journal of Oilseed Research. 26: 600–601.

Sharma, R.Z., Seema, S., Sayyed, B., Trivedi, H. and Thivakaran, A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. Springerplus. 2:587–590.

Sindhu, S.S., Suneja, S., Goel., A.K., Parmar, N.K. and Dadarwal, R. (2002). Plant growth promoting effects of *Pseudomonas* sp. On coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer strain under sterile and wilt sick soil conditions. Applied Soil Ecology. 19:57–64.

Vivekananthan, R., Ravi, M., Ramanathan, A. and Samiyappan, R. (2004). Lytic enzymes induced by *Pseudomonas fluorescens* and other biocontrol organisms mediate defence against the anthracnose pathogen in mango. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 20: 235–244.

Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., and Wong, M.H. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125:155-166.

Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger (Jr.), W.F. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy. 81: 97–168.