

اثرات تغذیه نیتروژنی متفاوت گندم (*Tritium aestivum* L.) رقم سایونز بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت تأثیر سطوح تنش خشکی و کودهای بیولوژیک

رستم یزدانی بیوکی^۱، پرویز رضوانی مقدم^{۲*}، علیرضا کوچکی^۳، محمد بهزاد امیری^۳، جبار فلاحی^۴ و رضا دیهیم فرد^۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۷

چکیده

به منظور مطالعه تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گندم (*Tritium aestivum* L.) حاصله از پایه‌های مادری تیمار شده با سطوح مختلف نیتروژن، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل بذرهای جمع‌آوری شده از مزرعه‌ای که در سال قبل مقادیر ۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۳۶۰ کیلوگرم کود اوره دریافت کرده بودند، انواع کود بیولوژیک (نیتراژین، بیوفسفر، عدم تلقیح) و سطوح مختلف تنش خشکی (۰، -۴، -۸، -۱۲ بار) بودند. نتایج نشان داد که اثرات ساده انواع کودهای بیولوژیک و سطوح تنش خشکی بر تمامی خصوصیات جوانه‌زنی، به استثنای میانگین زمان جوانه‌زنی، نسبت طول ریشه چه به ساقه چه و نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه، معنی‌دار بودند، در حالیکه بذرهای تیمار شده با سطوح مختلف کود نیتروژن تنها بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی دارای اثر معنی‌دار بود. نتایج اثرات متقابل حاکی از آن بود که بذور حاصل از مصرف ۲۴۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار در پتانسیل خشکی ۰ و -۴ بار بیشترین جوانه‌زنی را داشتند. کود بیولوژیک نیتراژین مقاومت به تنش خشکی را در مقایسه با شاهد افزایش داد، به طوری که در سطح تنش -۴ بار کاهش جوانه‌زنی برای بذور تیمار شده با کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود، نسبت به گیاهان تحت تیمار با کود نیتراژین به ترتیب برابر با ۴۰ و ۷۹ درصد بود. اثرات سه‌گانه کود نیتروژن، کود بیولوژیک و سطوح تنش خشکی بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: بیوفسفر، درصد جوانه‌زنی، نیتراژین

مقدمه

هوایی و تولید ماده خشک می‌گردد (Saeidiyan, 1997). بالیکی و همکاران (Baalbaki et al., 1999) با مطالعه جوانه‌زنی ارقام متحمل و حساس گندم در شرایط تنش رطوبتی گزارش نمودند که با کاهش پتانسیل اسمزی خاک درصد و سرعت جوانه‌زنی بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت.

یکی از عناصر پر مصرف غذایی که از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است نیتروژن می‌باشد، این عنصر نقشی اساسی در دستیابی به عملکرد بالای کمی و کیفی در محصولات زراعی ایفا می‌نماید (Foulkes, 1998). مقدار مصرف کود نیتروژن می‌تواند بر رشد و نمو بوته‌ها و تولید ماده خشک مؤثر واقع شود (Banziger et al., 1994; Warraich et al., 2002; Emam & Nicknejad, 1995). امام و همکاران (Emam et al., 2009) گزارش نمودند که سطوح بالای نیتروژن (۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) باعث افزایش درصد پروتئین دانه گندم شد که نسبت به سطح ۵۰ کیلوگرم در هکتار و شاهد بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری بود.

کودهای بیولوژیک در شرایط تنش‌های خشکی و شوری سبب

گندم (*Tritium aestivum* L.) به عنوان مهمترین محصول زراعی کشور بوده که در شرایط نامساعد شوری و خشکی بخش قابل توجهی از عملکرد آن کاهش می‌یابد (Kamboh et al., 2000). جوانه‌زنی اولین مرحله رشد و نمو گندم است که از اهمیت بسیار زیادی برخوردار می‌باشد. علاوه بر جوانه‌زنی، سرعت و یکنواختی جوانه‌زدن و سبز شدن نیز از پارامترهای مهم کیفیت بذر می‌باشند (Soltani et al., 2001). خشکی از مهمترین تنش‌های محیطی محدود کننده رشد محصولات زراعی محسوب می‌شود (Szaboles, 1994). تنش خشکی بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه اثر گذاشته و موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه‌زنی و کاهش رشد اندام‌های

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، دانشجوی دکتری کشاورزی بوم‌شناسی و دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

*- نویسنده مسئول (Email: rezvani@ferdowsi.um.ac.ir)

آزمایشی در سال ۱۳۸۹ به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در شرایط آزمایشگاه انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل کاربرد سطوح مختلف نیتروژن بر گیاه پایه مادری در مزرعه در سال قبل (۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۳۶۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار)، کودهای بیولوژیک (نیتراژین، بیوسففر، عدم تلقیح) و سطوح مختلف تنش خشکی (۰، ۴-، ۸- و ۱۲- بار) بودند. برای این منظور از بذور حاصله از پایه های مادری گندم رقم سایونز که در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با سطوح مختلف کود نیتروژنه طی دو مرحله (پنجه زنی و گلدهی) تحت تیمار قرار گرفته بودند، در این آزمایش استفاده شد. سپس تیمارهای کودهای بیولوژیک و سطوح مختلف خشکی در شرایط آزمایشگاهی در بذور فوق مورد مطالعه قرار گرفت. نحوه مصرف نیتروژن در سال قبل (۱۳۸۸) در مزرعه در جدول ۱ آورده شده است. برای اعمال تیمارهای کودهای بیولوژیک، بذور آزمایشی به مدت ۱۲ ساعت در مایه تلقیح خیسانده شدند (Krishna et al., 2008) و در تیمار عدم کاربرد کود بیولوژیک از آب مقطر استفاده گردید. برای اعمال سطوح مختلف تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول (۶۰۰۰ PEG 6000) استفاده شد.

قبل از شروع آزمایش مجموعه پتری دیش ها و کاغذهای واتمن در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت دو ساعت استریل شدند. در هر پتری دیش ۱۰ عدد بذور مورد استفاده قرار گرفت. برای اعمال تیمارهای خشکی پنج میلی لیتر محلول پلی اتیلن گلایکول به پتری دیش ها اضافه شد و سپس پتری دیش ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط آزمایشگاه قرار داده شدند. شمارش بذور جوانه زده هر ۱۲ ساعت یکبار و به مدت ۱۰ روز انجام گرفت. در نهایت طول ریشه چه و ساقه چه با خط کش اندازه گیری و سپس برای اندازه گیری وزن خشک ریشه چه و ساقه چه، به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون با درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و پس از آن با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ توزین صورت گرفت. درصد جوانه زنی از نسبت درصد تعداد بذور جوانه زده پس از ۱۴ روز به تعداد کل بذور قرار داده شده در هر پتری بدست آمد.

افزایش مقاومت گیاهان می گردند (Rivera-Cruz et al., 2008). سرعت ظهور گیاهچه در محصولات زراعی از جمله گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.)، هویج (*Daucus carota* L.)، گندم، ذرت (*Zea mays* L.)، لوبیا سفید (*Phaseolus vulgaris* L.) و یونجه (*Medicago sativa* L.) با کاربرد باکتری های محرک رشد افزایش می یابد (Kloepper et al., 1991). دی-فریتاس و جرمید (De-Freitas & Germid, 1989) نشان دادند دو سویه از باکتری-های سودوموناس افزایشده رشد مورد بررسی آنها توانستند بطور معنی داری ظهور گیاهچه های گندم را افزایش دهند. ساتوویچ (Saatovich, 2006) گزارش نمود که باکتری آزوسپیریوم از طریق تثبیت نیتروژن و تولید هورمون هایی مانند اکسین می تواند مقاومت گندم را به شرایط شوری بهبود بخشد. به همین دلیل استفاده از سویه های آن به صورت مایه تلقیح جهت بهبود عملکرد گیاهان به ویژه غلات در مناطق خشک قابل توصیه است. همچنین باکتری های محرک رشد می توانند وزن گیاه و ریشه و راندمان جذب نیتروژن را در گیاهان افزایش دهند (Dobbelaere et al., 2002). برخی ویژگی-های باکتری های افزایشده رشد، بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، تاثیر بر بهبود جوانه زنی و ظهور گیاهچه و کمک به گیاه برای رشد در شرایط تنش های محیطی می باشد (Kokalis-Burelle et al., 2006; Shimon et al., 2004; Wu et al., 2005; Zahir et al., 2004).

با توجه به اهمیت گندم در تغذیه انسان که هر ساله تقاضای جهانی برای تولید آن افزایش می یابد و مطالعات اندکی که در زمینه اثرات سطوح مختلف نیتروژن و کودهای بیولوژیک بر مقاومت به خشکی در مرحله جوانه زنی وجود دارد، لذا آزمایش حاضر با هدف بررسی برهمکنش های این عوامل بر شاخص های جوانه زنی گندم انجام گرفت.

مواد و روش ها

به منظور مطالعه تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و اثر باکتری های محرک رشد بر شاخص های جوانه زنی بذور حاصله از گندم تیمار شده با سطوح مختلف نیتروژن در مزرعه در سال قبل،

جدول ۱- تیمارهای نیتروژن اعمال شده بر روی گیاه پایه مادری در مزرعه و مقدار مصرف نیتروژن در هر تاریخ مصرف

Table 1- Nitrogen treatments in the field experiment and nitrogen rates at each applied time

تیمارهای نیتروژن بر اساس خالص (کیلوگرم در هکتار) Nitrogen treatments (kg.ha ⁻¹)	نیتروژن مصرفی بر اساس اوره (کیلوگرم در هکتار) Urea used (kg.ha ⁻¹)	اولین تاریخ مصرف کود (کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) First fertilizer application (kg N.ha ⁻¹)	دومین تاریخ مصرف کود (کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) Second fertilizer application (kg N.ha ⁻¹)
0	0	0	0
55.2	120	36.8	18.4
110.4	240	73.6	36.8
165.6	360	110.4	55.2

دستیابی به عملکرد مطلوب دانه در غلات است و از آنجایی که در ترکیب اکثر آنزیم‌های جوانه زنی، نیتروژن به عنوان یک جزء اصلی حضور دارد، لذا با فراهمی این عنصر به اندازه کافی برای گیاه، درصد و سرعت جوانه زنی تسریع می‌شود (Banziger et al., 1994; Emam & Nicknejad, 1995). با توجه به اینکه مصرف کود نیتروژن بر فعل و انفعالات بیوشیمیایی، فتوسنتز، افزایش طول دوره رویش و تجمع ماده خشک بیشتر اندام‌های هوایی و اجزای عملکرد دانه مؤثر است، لذا به نظر می‌رسد که فراهمی مناسب این عنصر با ایجاد شرایط مناسب جهت تولید بذور قوی‌تر بر روی گیاه مادری، بر خصوصیات جوانه زنی دانه مؤثر باشد (Pilbeam et al., 1997; Lioyd al., 1997). کودهای نیتروژنی، احتمالاً مقدار انتقال نیتروژن از قسمت‌های رویشی به دانه را افزایش داده و باعث افزایش غلظت نیتروژن دانه و درصد پروتئین دانه می‌گردند و متعاقب آن بذوری با شاخص‌های جوانه زنی بهتری حاصل می‌شود (Kim & Paulsen, 1986). البته علت احتمالی کاهش خصوصیات جوانه زنی در بالاترین سطح مصرف نیتروژن را شاید بتوان به بروز سمیت نیتروژن در این شرایط نسبت داد.

تأثیر انواع کود بیولوژیک بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بذور تلقیح شده با کود بیولوژیک نیتراژین دارای درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، شاخص جوانه زنی و تعداد ریشه چه بیشتری در مقایسه با بذور تیمار شده با کود بیوسفرف و عدم تلقیح کود بودند (جدول ۴). کود بیولوژیک بیوسفرف نسبت به تیمار بدون تلقیح کود (پیش تیمار با آب مقطر)، تنها از لحاظ صفات درصد جوانه زنی و شاخص جوانه زنی به میزان ۲۲ درصد و طول ریشه چه به میزان ۲۷ درصد دارای برتری بود (جدول ۴). بنابراین تلقیح بذور گندم با کود بیولوژیک تأثیر قابل توجهی در افزایش شاخص‌های جوانه زنی بویژه درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی نسبت به تیمار بدون تلقیح کود داشت. نتایج یک گزارش حاکی از آن است که سرعت ظهور گیاهچه در محصولات زراعی از جمله گوجه فرنگی، هویج، گندم، ذرت، لوبیا سفید و یونجه با کاربرد باکتری‌های محرک رشد مانند سودوموناس افزایش یافت (Klopper et al., 1991).

جهت محاسبه سرعت، شاخص و میانگین زمان جوانه زنی به ترتیب از معادلات شماره ۱، ۲ و ۳ استفاده گردید (Salehzade et al., 2009).

$$RS = \sum_{i=1}^n \frac{Si}{Di} \quad \text{معادله (۱)}$$

RS = سرعت جوانه زنی، Si = تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش، Di = تعداد روز تا شمارش n ام، n = دفعات شمارش، می‌باشند.

معادله (۲) شاخص جوانه زنی = (تعداد بذرهای جوانه زده/روز اول شمارش) + ... + (تعداد بذرهای جوانه زده/روز آخر شمارش)

$$MGT = \frac{\sum Dn}{\sum n} \quad \text{معادله (۳)}$$

MGT = میانگین زمان جوانه زنی، n = تعداد بذوری که در روز D جوانه زده اند و D = تعداد روزهای پس از شروع جوانه زنی می‌باشند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده انواع کود بیولوژیک و نیز اثرات ساده سطوح تنش خشکی بر تمامی خصوصیات جوانه زنی، به جز میانگین زمان جوانه زنی، نسبت طول ریشه چه به ساقه چه و نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه، معنی دار بود ($P < 0.05$)، در حالیکه اثر سطوح مختلف کود نیتروژن تنها بر صفات درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و شاخص جوانه زنی معنی دار بود (جدول ۲). اثرات دوگانه بر برخی خصوصیات جوانه زنی معنی دار بود، ولی اثرات سه گانه کود نیتروژن، کود بیولوژیک و سطوح خشکی بر صفات اندازه گیری شده معنی دار نبود (جدول ۲).

تأثیر سطوح کود نیتروژن مصرفی در مزرعه، بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم

نتایج آزمایش نشان داد که اثر بذری که با مقادیر مختلف کود نیتروژن تیمار شده بودند تنها بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و شاخص جوانه زنی معنی دار بود. بذور حاصل از گیاهان تیمار شده با ۲۴۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار نسبت به سایر بذور تحت تیمار با کود اوره از خصوصیات جوانه زنی بهتری برخوردار بودند، به طوری که این بذرها در مقایسه با بذور عدم تیمار با کود اوره به میزان ۳۳ درصد از درصد جوانه زنی و شاخص جوانه زنی و ۳۶ درصد سرعت جوانه زنی بیشتری برخوردار بودند (جدول ۳). بذور تحت تیمار با ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن کمترین میزان درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی را داشت (جدول ۳). نیتروژن یک عامل کلیدی در

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم (A: سطوح مختلف نیتروژن، B: انواع کودهای بیولوژیک، C: سطوح مختلف تنش خشکی)

Table 2- Analysis of variance of germination indices and seedling growth of wheat (A: different levels of N, B: different types of biological fertilizers, C: different levels of drought stress)

میانگین زمان جوانه زنی The mean of germination time	شاخص جوانه زنی Germination index	سرعت جوانه زنی (بذر در ۱۲ ساعت) Germination rate (Seeds/ 12 hours)	درصد جوانه زنی (%) Germination (%)	منابع تغییرات S.O.V
0.08 ^{ns}	5.86 ^{**}	0.40 ^{**}	8.96 ^{**}	A (نیتروژن)
0.35 ^{ns}	13.00 ^{**}	0.57 ^{**}	20.18 ^{**}	B (کود بیولوژیک)
6.93 ^{**}	155.73 ^{**}	6.23 ^{**}	244.97 ^{**}	C (تنش خشکی)
0.32 ^{ns}	0.97 ^{ns}	0.09 [*]	1.46 ^{ns}	A×B
0.12 ^{ns}	2.00 [*]	0.18 ^{**}	3.09 [*]	A×C
0.60 [*]	3.32 ^{**}	0.14 ^{**}	5.22 ^{**}	B×C
0.21 ^{ns}	1.22 ^{ns}	0.05 ^{ns}	1.91 ^{ns}	A×B×C
0.25	0.90	0.03	1.42	Error (خطا)
32.37	32.61	14.71	34.98	ضریب تغییرات cv
نسبت طول ریشه چه به ساقه چه Radicle to plumule length ratio	طول ساقه چه (سانتی متر) Plumule length (cm)	طول ریشه چه (سانتی متر) Radicle length (cm)	تعداد ریشه چه Radicle number	منابع تغییرات S.O.V
0.13 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.08 ^{ns}	A
0.30 ^{ns}	0.74 ^{**}	1.88 ^{**}	0.33 ^{**}	B
4.37 ^{**}	36.50 ^{**}	65.66 ^{**}	8.51 ^{**}	C
0.08 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.51 [*]	0.10 [*]	A×B
0.12 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.04 ^{ns}	A×C
0.14 ^{ns}	0.32 [*]	0.99 ^{**}	0.22 ^{**}	B×C
0.14 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.05 ^{ns}	A×B×C
2.07	0.14	0.22	0.04	Error (خطا)
23.99	22.52	23.66	15.25	ضریب تغییرات cv
نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه Dry weight ratio of radicle to plumule	وزن خشک کل (گرم) Total dry weight (g)	وزن خشک ساقه چه (گرم) Plumule dry weight (g)	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	منابع تغییرات S.O.V
0.37 ^{ns}	0.000027 ^{ns}	0.000005 ^{ns}	0.000009 ^{ns}	A
0.86 ^{ns}	0.000088 [*]	0.000016 ^{ns}	0.000030 ^{**}	B
2.07 ^{**}	0.0003173 ^{**}	0.0001211 ^{**}	0.0000491 ^{**}	C
0.53 ^{ns}	0.000036 ^{ns}	0.000011 ^{ns}	0.000008 ^{ns}	A×B
0.45 ^{ns}	0.000013 ^{ns}	0.000003 ^{ns}	0.000005 ^{ns}	A×C
0.83 ^{ns}	0.000058 [*]	0.000010 ^{ns}	0.000026 ^{**}	B×C
0.53 ^{ns}	0.000023 ^{ns}	0.000008 ^{ns}	0.000005 ^{ns}	A×B×C
5.05	0.000027	0.000009	0.000006	Error (خطا)
57.54	0.16	0.09	0.07	ضریب تغییرات cv

** : P<0.01, * : P<0.05, ns: non-significant.

ns و *، ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی دار.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات بذرهای تیمار شده که با سطوح مختلف کود نیتروژنه بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم (رقم سایونز)

Table 3- Mean comparison of the seeds that treated with different levels of nitrogen on germination indices and seedling growth of wheat (Sayonz cultivar)

میانگین زمان جوانه زنی The mean of germination time	شاخص جوانه زنی Germination index	سرعت جوانه زنی (بذر در ۱۲ ساعت) Germination rate (Seeds/ 12 hours)	درصد جوانه زنی (%) Germination (%)	سطوح مختلف نیتروژن (Kg.ha ⁻¹) different levels of nitrogen (Kg.ha ⁻¹)
2.07a*	11.08bc	0.79b	16.38bc	0
1.81a	12.77ab	1.17a	18.88ab	120
1.83a	16.71a	1.24a	24.72a	240
1.70a	7.88c	0.43c	11.66c	360
نسبت طول ریشه چه به ساقه چه Radicle to plumule length ratio	طول ساقه چه (سانتی متر) Plumule length (cm)	طول ریشه چه (سانتی متر) Radicle length (cm)	تعداد ریشه چه Radicle number	سطوح مختلف نیتروژن (Kg.ha ⁻¹) different levels of nitrogen (Kg.ha ⁻¹)
1.56a	2.46a	4.42a	1.42a	0
1.03a	3.23a	5.39a	1.45a	120
1.02a	2.90a	4.97a	1.40a	240
0.81a	2.58a	4.00a	1.10a	360
نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه Dry weight ratio of radicle to plumule	وزن خشک کل (گرم) Total dry weight (g)	وزن خشک ساقه چه (گرم) Plumule dry weight (g)	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	سطوح مختلف نیتروژن (Kg.ha ⁻¹) different levels of nitrogen (Kg.ha ⁻¹)
0.27a	0.0045a	0.0026a	0.0018a	0
0.35a	0.0048a	0.0026a	0.0021a	120
0.51a	0.0046a	0.0025a	0.0021a	240
2.76a	0.0035a	0.0021a	0.0014a	360

* در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

* In each column means followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level.

رطوبتی گزارش نمودند که با کاهش پتانسیل اسمزی درصد و سرعت جوانه زنی بطور قابل ملاحظه ای کاهش یافت. احتمالاً کاهش درصد جوانه زنی و شاخص های جوانه زنی در شرایط کاهش پتانسیل اسمزی می تواند ناشی از تجزیه آهسته تر مواد آندوسپرم یا انتقال کندتر مواد تجزیه شده به گیاهچه باشد (Soltani et al., 2006). کاهش جوانه زنی تحت تأثیر تنش خشکی به کاهش رطوبت سلول و تأثیر آن بر ساخت پروتئین ها و ترشح هورمون ها نسبت داده شده و به طور کلی بدلیل کاهش پتانسیل آب سلولهای در حال رشد، درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و طول ریشه چه کاهش می یابد (Cramer et al., 1991; Krishramurthy et al., 1998). دلایل کاهش طول ساقه چه در شرایط تنش خشکی، کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از بافت های ذخیره ای بذر به جنین ذکر شده است (Trautwein et al., 1997). بنابراین تنش آب از عوامل مهم در کاهش قابلیت جوانه زنی بذر در مزرعه می باشد و با کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل ماتریک در شرایط تنش خشکی، دسترسی بذر به آب برای وقوع جوانه زنی کاهش می یابد (Prisco et al., 1992).

تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم کاهش یافت. تیمار عدم تنش خشکی از لحاظ تمامی شاخص های جوانه زنی مورد بررسی، به جز میانگین زمان جوانه زنی، نسبت طول ریشه چه به ساقه چه و نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه، نسبت به پتانسیل های ۴-، ۸- و ۱۲- دارای برتری بود، به طوری که در سطح ۱۲- بار تنش خشکی، جوانه زنی بذر به صفر رسید (جدول ۵). در پتانسیل خشکی ۴- بار، درصد و شاخص جوانه زنی به میزان ۶۰ درصد و سرعت جوانه زنی به میزان ۷۵ درصد نسبت به حالت عدم تنش خشکی کاهش یافت. در سطح تنش ۸- بار درصد و شاخص جوانه زنی، ۹۱ درصد و سرعت جوانه زنی، ۹۷ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول ۵).

بالیکی و همکاران (Baalbaki et al., 1999) با مطالعه جوانه زنی و توسعه گیاهچه ارقام متحمل و حساس گندم در شرایط تنش

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات انواع کود بیولوژیک بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم (رقم سایونز)

Table 4- Comparison of mean effects of different biological fertilizer on germination indexes and seedling growth of wheat (Sayonz cultivar)

میانگین زمان جوانه زنی The mean of germination time	شاخص جوانه زنی Germination index	سرعت جوانه زنی (بذر در ۱۲ ساعت) Germination rate (Seeds/ 12 hours)	درصد جوانه زنی (%) Germination (%)	انواع کود بیولوژیک Types of biological fertilizer
1.85a*	16.76a	1.30a	24.79a	نیتراژین Nitragin
2.15a	10.98b	0.79b	16.25b	بیوفسفر Biophosphorus
1.55a	8.59c	0.64b	12.70c	عدم تلقیح (شاهد) Control
نسبت طول ریشه چه به ساقه چه Radicle to plumule length ratio	طول ساقه چه (سانتی متر) Plumule length (cm)	طول ریشه چه (سانتی متر) Radicle length (cm)	تعداد ریشه چه Radicle number	انواع کود بیولوژیک Types of biological fertilizer
1.34a	3.14a	5.26a	1.61a	نیتراژین Nitragin
1.08ab	2.92ab	5.06a	1.32b	بیوفسفر Biophosphorus
0.88b	2.31b	3.73b	1.10b	عدم تلقیح (شاهد) Control
نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه Dry weight ratio of radicle to plumule	وزن خشک کل (گرم) Total dry weight (g)	وزن خشک ساقه چه (گرم) Plumule dry weight (g)	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	انواع کود بیولوژیک Types of biological fertilizer
0.43a	0.0050a	0.0028a	0.0022a	نیتراژین Nitragin
2.30a	0.0045ab	0.0024a	0.0020a	بیوفسفر Biophosphorus
0.18a	0.0035b	0.0021a	0.0013b	عدم تلقیح (شاهد) Control

* در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

* In each column means followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level.

اثرات متقابل

شد. البته به نظر می رسد که فراهمی نیتروژن تا حد مشخصی می تواند باعث بهبود شاخص های جوانه زنی گندم گردد، چرا که با افزایش مقدار نیتروژن مصرفی از ۲۴۰ به ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار، مقدار این شاخص ها کاهش یافت که علت احتمالی آن را می توان به بروز مسئله سمیت نیتروژن و یا بر هم خوردن تعادل هورمونی بذر نسبت داد. همچنین باکتری های افزایش دهنده رشد، از طریق تولید هورمون های محرک رشد گیاه باعث بهبود جذب آب و عناصر غذایی و افزایش جوانه زنی و ظهور گیاهچه می گردند (Kokalis-Burelle et al., 2006; Shimon et al., 2004; Wu et al., 2005). لذا اثرات مثبت کاربرد این کودها را در آزمایش حاضر می توان به این مسئله نسبت داد که ریز جانداران موجود در این کودها باعث تحریک عوامل درونی بذر که در جوانه زنی نقش دارند، گردیده اند.

اثر متقابل سطوح نیتروژن و کود بیولوژیک بر درصد جوانه زنی گندم معنی داری بود (شکل ۱). بذور حاصل از گیاهان تیمار شده با ۲۴۰ کیلوگرم کود نیتروژن که در آزمایشگاه با کود بیولوژیک نیتراژین تلقیح شده بودند بیشترین، و اثر متقابل تیمار ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن با عدم تلقیح کود بیولوژیک کمترین درصد جوانه زنی را دارا بودند (شکل ۱). همچنین نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اثر متقابل سطوح نیتروژن و کود بیولوژیک بر سرعت جوانه زنی گندم معنی دار بود. به طوری که سرعت جوانه زنی نیز در تیمار ۲۴۰ کیلوگرم کود نیتروژن مصرفی در مزرعه توأم با تلقیح بذور حاصله با کود نیتراژین در آزمایشگاه بیشترین مقدار این صفت را دارا بود (شکل ۲). بنابراین وجود نیتروژن کافی، به عنوان عنصر ضروری در جوانه زنی، باعث بهبود درصد و سرعت جوانه زنی

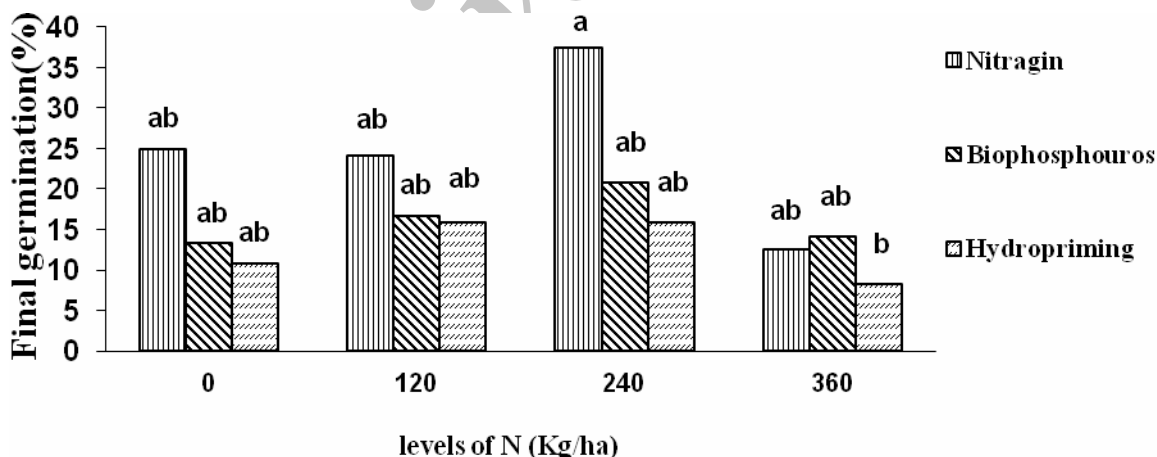
جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف خشکی بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم

Table 5- Comparison of the mean effects of different levels of drought on germination indices and seedling growth of wheat

میانگین زمان جوانه زنی The mean of germination time	شاخص جوانه زنی Germination index	سرعت جوانه زنی (بذر در ۱۲ ساعت) Germination rate (Seeds 12 hours)	درصد جوانه زنی (%) Germination (%)	سطوح مختلف خشکی Different levels of drought
2.74a*	32.30a	2.81a	47.77a	0 bar
3.04a	12.95b	0.73b	19.16b	-4 bar
1.63b	3.19c	0.10c	4.72c	-8 bar
0c	0d	0c	0d	-12 bar
نسبت طول ریشه چه به ساقه چه Radicle to plumule length ratio	طول ساقه چه (سانتی متر) Plumule length (cm)	طول ریشه چه (سانتی متر) Radicle length (cm)	تعداد ریشه چه Radicle number	سطوح مختلف خشکی Different levels of drought
1.61a	9.09a	14.37a	3.23a	0 bar
2.39a	1.95b	4.21b	1.84b	-4 bar
0.44b	0.05c	0.07c	0.31c	-8 bar
0c	0c	0c	0d	-12 bar
نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه Dry weight ratio of radicle to plumule	وزن خشک کل (گرم) Total dry weight (g)	وزن خشک ساقه چه (گرم) Plumule dry weight (g)	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	سطوح مختلف خشکی Different levels of drought
0.63ab	0.0126a	0.0077a	0.0048a	0 bar
3.31a	0.0047b	0.0020b	0.0026b	-4 bar
0.02b	0c	0c	0c	-8 bar
0b	0c	0c	0c	-12 bar

* در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

* In each column means followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level.

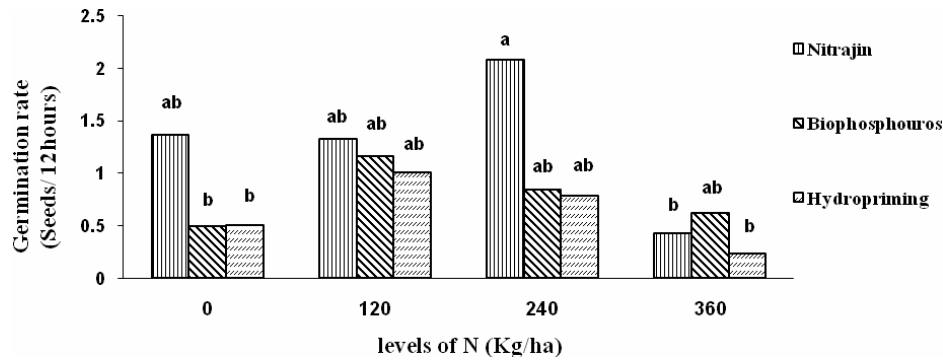


شکل ۱- اثر متقابل سطوح مختلف نیتروژن و انواع کود بیولوژیک بر درصد جوانه زنی گندم (رقم سایونز)

Fig. 1- The interaction of different N levels and types of biological fertilizer on the germination percentage of wheat (Sayonz cultivar)

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر نوع کود بیولوژیک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

Means followed by similar letters for each biofertilizer are not significantly different at 5% probability level.



شکل ۲- اثر متقابل سطوح مختلف نیتروژن و انواع کود بیولوژیک بر سرعت جوانه زنی گندم (رقم سایونز).

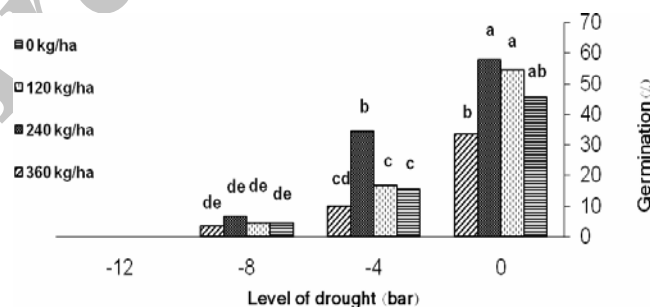
Fig. 2- The interaction of different levels N and types of biological fertilizer on germination rate of wheat (Sayonz cultivar).

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر نوع کود بیولوژیک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

Means followed by similar letters for each biofertilizer are not significantly different at 5% probability level.

۴). میزان سرعت جوانه زنی نیز مانند درصد جوانه زنی با کاهش پتانسیل خشکی، کاهش یافت، در سطح عدم تنش خشکی، بذور حاصله از ۱۲۰ و ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن، نسبت به سطوح دیگر نیتروژن از سرعت جوانه زنی بیشتری برخوردار بودند. در تمامی سطوح تنش خشکی، سرعت جوانه زنی در تیمار ۳۶۰ کیلوگرم نیتروژن نسبت به سایر سطوح کود نیتروژن کمتر بود (شکل ۴). به طور کلی با افزایش نیتروژن مصرفی تا سطح ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار مقاومت به خشکی افزایش یافت. از آنجایی که نیتروژن به عنوان یک جزء اصلی ساختار آنزیم‌های جوانه زنی می باشد، لذا با فراهمی مناسب و کافی این عنصر برای گیاه، درصد و سرعت جوانه زنی تسریع می شود (Banziger et al., 1994; Emam & Nicknejad, 1995)، ولی به نظر می‌رسد که مصرف بیش از حد نیتروژن نیز می تواند دارای اثرات بازدارنده جوانه زنی باشد.

اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی اعمال شده در شرایط آزمایشگاهی و نیتروژن مصرفی در روی گیاه مادری، بر درصد جوانه زنی معنی دار بود (شکل ۳). بیشترین میزان جوانه زنی مربوط به اثر متقابل مصرف ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن و تیمار بدون تنش خشکی بود. نتایج نشان داد که میزان جوانه زنی با کاهش پتانسیل خشکی، کاهش یافت، ولی تیمار ۲۴۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هر سطح تنش خشکی نسبت به سایر سطوح نیتروژن دارای جوانه زنی بیشتری بود (شکل ۳). همچنین بذور تیمار شده با ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن تقریباً از سه برابر جوانه زنی بیشتری نسبت به بذور تیمار شده با ۳۶۰ کیلوگرم نیتروژن در پتانسیل ۴- بار برخوردار بود، ولی بذور تیمار شده با سطوح مختلف کود نیتروژن در سطح تنش خشکی ۸- بار اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۳). همچنین اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و نیتروژن بر سرعت جوانه زنی معنی دار بود (شکل

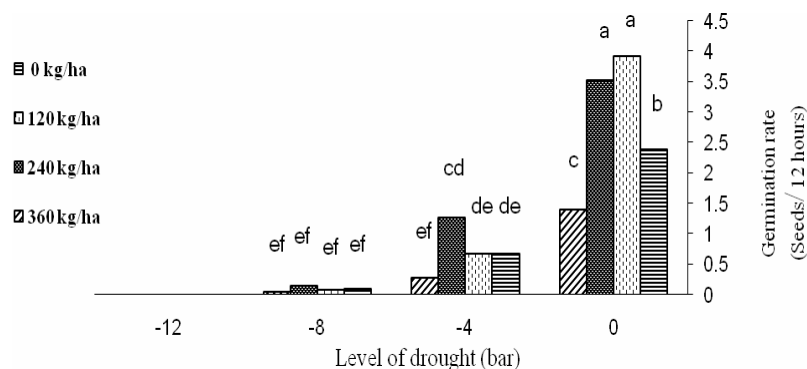


شکل ۳- اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و نیتروژن بر درصد جوانه زنی گندم (رقم سایونز)

Fig. 3- Interaction between different levels of drought and nitrogen levels on germination percentage of wheat (Sayonz cultivar)

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر سطح کود نیتروژن، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

Means followed by similar letters for each level of nitrogen are not significantly different at 5% probability level.



شکل ۴- اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و نیتروژن بر سرعت جوانه زنی گندم (رقم سایونز)

Fig. 4- Interaction between different levels of drought and nitrogen levels on germination rate of wheat (Sayonz cultivar)

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر سطح کود نیتروژن، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.

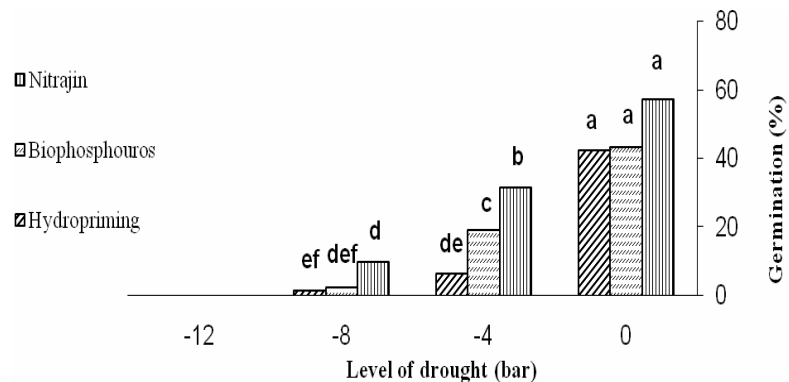
Means followed by similar letters for each level of nitrogen are not significantly different at 5% probability level.

بود. در حالت بدون تنش خشکی، سرعت جوانه زنی بذور تحت تیمار با نیتراژین نسبت به بذور تیمار شده با کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود به ترتیب به میزان ۲۶ و ۳۴ درصد بیشتر بود. در پتانسیل خشکی ۴- بار اختلاف سرعت جوانه زنی بین بذور تیمار شده با نیتراژین در مقایسه با کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود به ترتیب ۶۴ و ۸۷ درصد بود، که این مطلب حاکی از مقاومت بیشتر بذور تیمار شده با نیتراژین تحت شرایط تنش خشکی بود. این موضوع با نتایج دیگر تحقیقات مطابقت دارد که بیان می دارند باکتری های افزایشنده رشد سبب بهبود جوانه زنی و ظهور گیاهچه در شرایط تنش های محیطی می شود (Kokalis-Burelle et al., 2006; Shimon et al., 2004; Wu et al., 2005).

نتیجه گیری

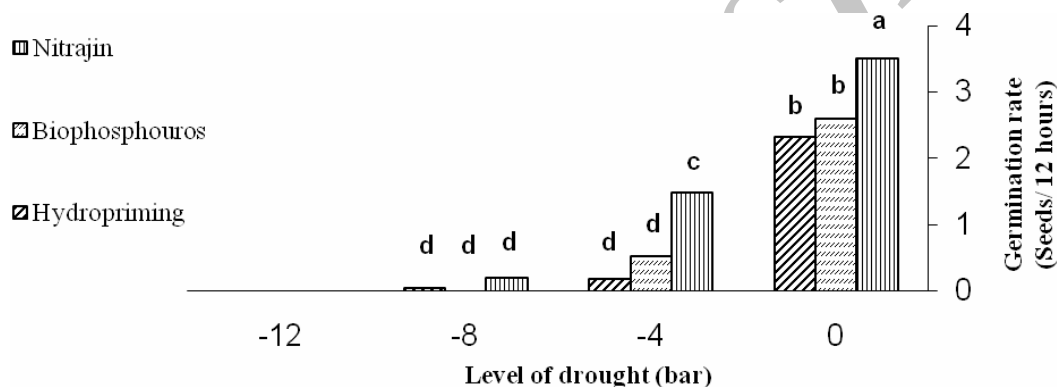
به طور کلی می توان چنین بیان داشت که بذور حاصل از گیاهانی که در مزرعه نیتروژن کافی دریافت کرده بودند، احتمالاً دارای ذخایر غذایی بیشتری بوده و به هنگام بروز تنش خشکی نسبت به سایر بذور موفق تر عمل کردند. کودهای بیولوژیک نیز با افزایش توان جذب آب توسط بذور و همچنین تحریک تولید هورمون های جوانه زنی موجب بهبود شاخص های جوانه زنی گندم و افزایش مقاومت به تنش خشکی گردیدند.

نتایج آزمایش نشان داد که اثر متقابل سطوح خشکی و انواع کود بیولوژیک بر درصد جوانه زنی گندم معنی دار بود، در حالی که بذور تیمار شده با کود نیتراژین، کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود در سطح عدم تنش خشکی اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند، با افزایش سطح تنش خشکی اثرات مثبت تلقیح باکتریایی قابل مشاهده بود (شکل ۵). گیاهان تحت تیمار با کود بیولوژیک نیتراژین در سطوح تنش ۴- و ۸- بار دارای درصد جوانه زنی بیشتر و معنی داری نسبت به سایر بذور تلقیح شده بودند، به طوری که در سطح تنش ۴- بار کاهش جوانه زنی برای بذور تیمار شده با کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود، نسبت به گیاهان تحت تیمار با کود نیتراژین به ترتیب برابر با ۴۰ و ۷۹ درصد بود (شکل ۵). بیشترین واکنش درصد جوانه زنی برای اثر متقابل خشکی و کود بیولوژیک، در سطح ۸- بار بود، به طوری که بذور تیمار شده با کود نیتراژین نسبت به بذور تیمار شده با کود بیوفسفر و عدم تلقیح کود به ترتیب به میزان ۷۵ و ۸۴ درصد جوانه زنی بیشتری داشتند. نتایج تحقیقات دیگر محققان نیز بیانگر این موضوع است که کودهای بیولوژیک در شرایط تنش های محیطی چون خشکی و شوری سبب افزایش مقاومت گیاهان می گردند (Rivera-Cruz et al., 2008; Kokalis-Burelle et al., 2006;) (Shimon et al., 2004; Wu et al., 2005). همچنین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و انواع کود بیولوژیک بر سرعت جوانه زنی بذور گندم معنی دار بود (شکل ۶). سرعت جوانه زنی بذور تیمار شده با کود نیتراژین در پتانسیل های خشکی صفر و ۴- بار بیشتر



شکل ۵- اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و انواع کود بیولوژیک بر درصد جوانه زنی گندم (رقم سایونز)
Fig. 5- Interaction between different levels of drought and types of biological fertilizer on germination percentage of wheat (Sayonz cultivar).

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر نوع کود بیولوژیک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.
 Means followed by similar letters for each biofertilizer are not significantly different at 5% probability level.



شکل ۶- اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و انواع کود بیولوژیک بر سرعت جوانه زنی گندم (رقم سایونز).
Fig. 6- Interaction between different levels of drought and types of biological fertilizer on germination rate of wheat (Sayonz cultivar).

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک برای هر نوع کود بیولوژیک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی دار ندارند.
 Means followed by similar letters for each biofertilizer are not significantly different at 5% probability level.

منابع

- 1- Baalbaki, R. Z., Zurayk, R.A., Bleik, M. M., and Talhouk, S. N. 1999. Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moisture stress. *Seed Science and Technology* 27: 291-302.
- 2- Banziger, M., Feil, B., and Stamp, P. 1994. Competition between nitrogen accumulative and grain growth for carbohydrates during grain filling of wheat. *Crop Science* 34: 440-446.
- 3- Cramer, G. R., Epstein, E., and Lauchli, A. 1991. Effect of sodium, potassium and calcium on salt – stressed barley. II. Element analysis. *Physiology Plantarum* 81:187-292.
- 4- De Freitas, J. R., and Germid, J. J. 1989. Plant growth promoting rhizobacteria for winter wheat. *Applied Environmental Microbiology* 36: 265-272.
- 5- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., and Vanderleyden, J. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils* 36: 284-297.
- 6- Emam, Y., and Nicknejad, M. 1995. *Introduction to Crop Physiology* (translation). Shiraz University Press. 572 Pp. (In Persian).
- 7- Emam, Y., Salimi Koochi, S., and Shekoofa, A. 2009. Effect of nitrogen levels on grain yield and yield

- components of wheat (*Triticum aestivum* L.) under irrigation and rainfed conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7(1): 321-332. (In Persian with English Summary)
- 8- Foulkes, M. J., Sylvester-Bradley, R., and Scott, R. K. 1998. Evidence for differences between winter wheat cultivars in acquisition of soil mineral nitrogen and uptake and utilization of applied fertilizer nitrogen. Journal of Agriculture Science Cambridge 130: 29-44.
 - 9- Kamboh, M. A., Oki, Y., and Adachi, T. 2000. Effect of presowing seed treatment on germination and early seedling growth of wheat varieties under saline conditions. Soil Science and Plant Nutrition 46: 249-255.
 - 10- Kim, N. I., and Paulsen, G. M. 1986. Response of yield attributes of isogenic tall, semi dwarf, and double dwarf winter wheats to nitrogen fertilizer and seeding rates. Crop Science 156(3):197-205.
 - 11- Kloepper, J. W., Zablotowicz, R. M., Tipping, E. M., and Lifshitz, R. 1991. Plant Growth Promoting Mediated by Bacterial Rhizosphere Colonizers. In: The Rhizosphere and Plant Growth, Keister, D.L., and Cregan, P. B. eds. Pp: 315-326. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
 - 12- Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J. W., and Reddy, M. S. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. Applied soil Ecology 31: 91-100.
 - 13- Krishna, A., Patil, C. R., Raghavendra, S. M., and Jakati, M. D. 2008. Effect of bio-fertilizers on seed germination and seedling quality of medicinal plants. Karnataka Journal of Agriculture and Science 21(4): 588-590.
 - 14- Krishnamurthy, L., Ito, O., Johansen, C., and Saxsena, N. P. 1998. Length to weight ratio of chickpea roots under progressively reducing soil moisture conditions in a vertisol. Field Crops Research 58:177-185.
 - 15- Lloyd, A., Webb, J., Archer, J. R., and Bradly, R. S. 1997. Urea as a nitrogen fertilizer for cereals. Journal of Agronomy Science 128: 263-271
 - 16- Pilbeam, C. J., Mcneil, A. M., Harris, H. C., and Swift, R. S. 1997. Effect of fertilizer rate and from on the recovery of N-Labelled fertilizer applied to wheat in Syria. Journal of Agricultural Science 128: 415-424.
 - 17- Prisco, J. T., Babtista, C. R., and Pinheiro, J. L. 1992. Hydration dehydration seed Pre- treatment and its effects on seed germination under water stress condition. Revta Brasil Botany 15(1): 31-35.
 - 18- Rivera-Cruz, M. C., Narcia, A. T., Ballona, G. C., Kohler, J., Caravaca, F., and Rold, A. 2008. Poultry manure and banana wastes are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. Soil Biology and Biochemistry 40: 3092-3095.
 - 19- Saatovich, S. Z. 2006. Azospirilli of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants. Plant and Soil 283: 137-145.
 - 20- Saeidiyan, F. 1997. Evaluation of drought resistance and water use efficiency in two forage species. MSc Dissertation, Faculty of Natural Resources. Tehran University, Iran (In Persian with English Summary)
 - 21- Salehzade, H., Izadkhah Shishvan, M., and Chiyasi, M. 2009. Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Biological Sciences 4(5): 629-631.
 - 22- Shimon, M., Tirosh, T., and Glick, B. R. 2004. Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plant to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry 42: 565-572.
 - 23- Soltani, A., Galashi, S., Zeinali, E., and Latifi, N. 2001. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Seed Science 30: 51-60. (In Persian with English Summary)
 - 24- Soltani, A., Gholipoor, M., and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany 55: 195-200.
 - 25- Szaboles, I. 1994. Soils and Salinization. In Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press. Edition 2nd. pp: 1-12.
 - 26- Trautwein, E. A., Rrickhoff, D., and Erbershobler, H. F. 1997. The cholesterol- lowering effect of psyllium a source dietary fiber. Ernaehrung Umschau 44: 214-216.
 - 27- Warraich, E. A., Ahmad, N., Basra, S.M.A., and Afzal, I. 2002. Effect of nitrogen on source- sink relationship in wheat. International Journal of Agriculture and Biology 4: 300-302.
 - 28- 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.
 - 29- Zahir, A. Z., Arshad, M., and Frankenberger, W. F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy 81: 97-168.