

تأثیر روش مایه کوبی بذر ذرت با قارچ میکوریزای آربوسکولار و ریزوباکتری در شرایط کوددهی مختلف

راحله قلعه قافی^۱، حسین حاجی ابایی^۲، فتحیه نهبانی^۳، سالویا محمدپور^{۴*}، زهرا اردنچی کلاته سیاهدشت^۵

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲. دانشجوی دکتری گیاهان زراعی، بخش گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اوندوکوز مایس، سامسون، ترکیه

۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم علف‌های هرز، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران

۴. استادیار گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، موسسه آموزش عالی بهاران گرگان، گرگان، ایران

۵. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی شیروان، استان خراسان شمالی، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۵/۱۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مایه کوبی قارچ میکوریزای آربوسکولار (*Rhizophagus irigularis*) و ریزوباکتری (*Pseudomonas fluorescens*) بر ذرت در شرایط مختلف کوددهی، آزمایشی به صورت گلخانه‌ای در منطقه جلیان گرگان در سال ۱۳۹۷ طی دو آزمایش انجام شد. هدف از آزمایش اول مقایسه‌ی مایه کوبی مرسوم خاک با مایه کوبی بذرمال و هدف از آزمایش دوم نیز ارزیابی رشد ذرت مایه کوبی شده با قارچ میکوریزا و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق بذرمال در سه سطح تیمار با محلول غذایی هوگلند (شاهد، ۸۰ و ۱۰۰ درصد حجمی محلول هوگلند) بود. در هر دو آزمایش، ۷۰ روز پس از تلقیح بذر، یک گرم از ریشه‌های ذرت و خاک چسبیده به آن نمونه برداری شده و استخراج DNA موجود در ریزوسفر ذرت انجام شد. در آزمایش اول اختلاف معنی داری بین مایه کوبی مرسوم خاک با مایه کوبی بذرمال از نظر وزن خشک ساقه و ریشه، درصد کلونیزاسیون طولی ریشه، فراوانی آربوسکول، فراوانی وزیکول و غلظت عناصر مشاهده نشد. در آزمایش دوم و در شرایط کوددهی کامل، مایه کوبی توسط قارچ، باعث افزایش معنی دار غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و روی (به ترتیب ۱۸/۱، ۳/۵، ۵۶ و ۴۶/۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به تیمار شاهد (به ترتیب ۱۲/۶، ۳/۱، ۳۹/۶ و ۲۴/۴ میلی گرم بر کیلوگرم) و روش مایه کوبی بذرمال باکتری باعث افزایش معنی دار منیزوم، روی و منگنز (به ترتیب ۲/۰، ۴۲/۶ و ۱۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به تیمار شاهد شد (به ترتیب ۱/۰، ۲۴/۴ و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم).

کلیدواژه‌ها: بذرمال، عناصر مغذی، فسفر، کودهای زیستی، همزیستی

Influence of inoculation method of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on maize under different fertilization conditions

Rahleh Ghaleh Ghafi¹, Hossein Hajiabae², Fathieh Nabhani³, Salvia Mohammadpour^{4*}, Zahra Ardanji Kalate Siyahdasht⁵

¹ Ph.D. Student of Crop Physiology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Ph.D. Student of Field Crops, Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

³ Former M.Sc. Student of Weed Science, Department of Agriculture, Islamic Azad University of Shoushtar, Shoushtar, Iran

⁴ Faculty of Agronomy Department, Agriculture Campus, Baharan Higher Education Institute, Gorgan, Iran

⁵ Former M.Sc. Student of Agricultural Biotechnology, University Agriculture Shirvan, North Khorasan Province, Iran

Received: March 10, 2021

Accepted: August 6, 2022

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of mycorrhizal fungi (*Rhizophagus irigularis*) and rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens*) on maize under different fertilization conditions as greenhouse research in Jalin region of Gorgan in 2018 during two separate experiments. The aim of the first experiment was to compare the conventional soil incubation with seed-coating incubation, and the second experiment was to assess the growth of maize incubated with mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria through seed-coating at three treatment levels of Hoagland

nutrient solution (Control, 80 and 100 volumatic percentage of Hoagland solution). In both experiments, at 70 days after seed-coating, one gram of maize roots and soil attached to it were sampled and DNA was extracted from the maize rhizosphere. In the first experiment there was no significant difference between the conventional soil incubation and seed-coating incubation according to the dry weight of stems and roots, roots' longitudinal colonization percentage, arbuscol abundance, vesicles abundance, and elements concentration. In the second experiment and under full fertilizing conditions, mycorrhizal inocubation showed a significant increase in concentrations of nitrogen, phosphorus, potassium, and zinc (18.1, 3.5, 56 and 46.0 mg/kg, respectively) compared to the control (12.6, 3.1, 39.6, and 24.4 mg/kg, respectively), and the bacterial inocubation showed a significant increase for magnesium, zinc, and manganese (2.0, 42.6, and 145 mg/kg, respectively) compared to the control (1.0, 24.4, and 60 mg/kg, respectively).

Keywords: Biological fertilizers, nutrition elements, phosphorus, seed coating, symbiosis

در عرصه کشاورزی فقط ۱۰ تا ۴۰٪ از کل کودهای شیمیایی به کار رفته توسط گیاه جذب می‌شوند، میزان باقیمانده‌ی کود توسط طیف وسیعی از مکانیزم‌ها و یا فرایندها اتلاف می‌شود (Bhardwaj *et al.*, 2014). کودهای زیستی تا حد قابل توجهی قابلیت بهبود استفاده از مواد غذایی به طور کارآمد را داشته (Kharazmi *et al.*, 2019) و از این طریق نیاز به کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهند (Alizad *et al.*, 2018). به عبارت دیگر، میکروارگانیسم‌های مفیدی نظیر قارچ میکوریزا، می‌تواند بر اساس فرایندهای ویژه‌ای، خصوصیات کمی و کیفی گیاه زراعی را بهبود بخشند (Bagheri Dehabadi *et al.*, 2017). اتخاذ یک مسیر جدید در رویه‌های کشاورزی مستلزم کاهش فشار بر محیط و سلامت انسان می‌باشد. به منظور حفظ بهره‌وری و کاهش کاربرد ترکیبات شیمیایی کشاورزی، بهره‌برداری از میکروارگانیسم‌های مفید گیاهی همچون قارچ میکوریزای آربوسکولار (Püschel *et al.*, 2020) و ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (Malusá *et al.*, 2016) از پتانسیل بالایی برخوردار هستند. نقش میکوریزا در کشاورزی به طور دقیق شناسایی شده است، زیرا این قارچ‌ها دارای ظرفیت تقویت سازگاری گیاه با افزایش جذب عناصر مغذی و آب و حفاظت آن‌ها در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی بوده و ساختار و کیفیت خاک را نیز ارتقا می‌دهند (Njeru *et al.*, 2015, Oliveira *et al.*, 2017a,b). از طرفی دیگر، محرک‌های زیستی رشد مسئولیت تسریع رشد و حفاظت از گیاه را از طریق مکانیسم‌هایی همچون تولید سیدروفور و فیتوهورمون‌ها، تثبیت نیتروژن، کاهش سطوح اتیلن، حلال سازی عناصر مغذی و القای مقاومت در برابر پاتوژن بر عهده دارد (Naik *et al.*, 2019). در یک مطالعه، Pérez-Rodríguez *et al.* (2020) گزارش کردند که برخی باکتری‌های کمک کننده به میکوریزا همچون سودوموناس فلورسنس می‌تواند منجر به تسهیل کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریزای آربوسکولار شده و در حین حال خواص باکتری‌های محرکی رشد را نیز بروز دهد.

ذرت (*Zea mays* L.) با میزان تولید بیش از یک میلیارد تن در سراسر جهان در زمره‌ی بیشترین محصول غله‌ای کشت شده در سراسر جهان قرار گرفته است که بدون تردید ارزش تغذیه‌ای و اقتصادی فوق‌العاده‌ای را دارا می‌باشد (Zerbe, 2015). برای تأمین نیازهای رشد محصول غله‌ای ذرت و برقراری ضرورت کشاورزی پایدارتر با کاهش مواد شیمیایی به کار رفته در کشاورزی، کودهای زیستی ابزاری مناسب و مفید بدین منظور می‌باشند (Malusá *et al.*, 2016, Zare *et al.*, 2018). مطالعات و بررسی‌های اخیر کارایی میکروبی‌های مفید را در افزایش میزان رشد و بازده ذرت در آزمایشات میدانی (Berta *et al.*, 2014, Payandeh *et al.*, 2019) و گلخانه‌ای (Couillerot *et al.*, 2013) نشان داده‌اند. در یک مطالعه، Kazemi *et al.* (2017) تلقیح بذر ذرت با چند گونه از قارچ میکوریزا را در شرایط اقلیمی استان مازندران مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تلقیح با این قارچ‌ها باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه ذرت شد به طوری که یکی از دلایل این افزایش عملکرد را، بهبود کارایی مصرف آب در این گیاه زراعی دانستند. در همین راستا، افزایش کارایی مصرف آب تحت تاثیر تلقیح بذر با قارچ میکوریزا و ریزوبیوم در گیاه زراعی نیشکر نیز گزارش شده است (Ehsani Pour *et al.*, 2019). همچنین، Aghaei *et al.* (2020) تاثیر کاربرد یونیکونازول، قارچ مایکورایزا و باکتری سودوموناس پوتیدا را بر صفات عملکرد، چندین مولفه رشد و محتوای کلروفیل گندم را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که بهبود عملکرد ناشی از کاربرد میکروارگانیسم‌های مفید ریشه، احتمالاً به دلیل بالارفتن سرعت رشد و طول دوره پر شدن دانه و در نتیجه، ذخیره بیشتر مواد در دانه است.

به‌رغم نتایج امیدبخشی که در این بررسی‌ها حاصل شده است، کاربرد کودهای زیستی به همراه هم و به روش تلقیح بذر و در زمین‌های کشاورزی بسیار وسیع، از لحاظ اقتصادی امکان پذیر نمی‌باشد، زیرا توزیع غیرمفمند ماده‌ی تلقیح در حوزه‌های وسیع منجر به تحمیل هزینه‌های بالا به ازای هر کشت می‌شود. به منظور استفاده از حداقل میزان مواد تلقیح، شیوه بذرمال، تکنیکی است که در آن یک ترکیب فعال خاص اطراف بذر را پوشش می‌دهد در این مطالعه، به عنوان مکانیزم تلقیح برای بذرهای ذرت پیشنهاد می‌شود (Colla *et al.*, 2015). لذا اهداف این مطالعه شامل بررسی اثر بخشی شیوه بذرمال و ارزیابی کاربرد مواد زیستی مذکور در حضور محلول هوگلند در تغذیه ذرت است.

۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه در قالب دو آزمایش جداگانه و همزمان انجام شد. هدف در آزمایش اول مقایسه‌ی تلقیح خاک و بذر با قارچ میکوریزای آربوسکولار و ریزوباکتری‌های افزاینده‌ی رشد گیاه و در آزمایش دوم ارزیابی وضعیت رشد ذرت مایه‌کوبی شده از طریق بذرمال در سه سطح مواد غذایی محلول بود. هر دو میکروارگانیسم از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه شد و هر دو آزمایش در گلخانه تحقیقاتی واقع در منطقه جلین گرگان با میانگین دمایی ۸ تا ۲۸ درجه و رطوبت نسبی بین ۶۰ تا ۷۰٪ در ماه‌های خرداد تا شهریور سال ۱۳۹۷ انجام پذیرفت. سطح متوسط دوره‌ی نوری در این گلخانه ۱۲ ساعت بود. برای هر دو آزمایش از گلدان‌های سه لیتری استفاده شد و به منظور به حداقل رسانی میزان تفاوت ناشی از موقعیت گلدان‌ها در گلخانه، موقعیت گلدان‌ها تعویض می‌شد. برای کاشت ذرت، ابتدا در هر گلدان سه بذر (بعد از اعمال تیمارهای ذیل) کشت شد و بعد از سبز شدن بوته‌ها، با تنک کردن گلدان‌ها در نهایت یک گیاهچه ذرت نگه داشته شد (برای حذف اثرات رقابت بین گیاهچه‌های ذرت).

آزمایش اول که در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد در بردارنده‌ی هفت تیمار بود: (۱) شاهد (مایه‌کوبی نشده)، (۲) ریزوفآگوس ایرگولاریس[□] مایه‌کوبی شده به خاک (RIsoil)، (۳) ریزوفآگوس ایرگولاریس مایه‌کوبی شده به صورت بذرمال (RICoat)، (۴) سودوموناس فلورسنس[□] مایه‌کوبی شده به خاک (PFsoil)، (۵) سودوموناس فلورسنس مایه‌کوبی شده به صورت بذرمال (PFcoat)، (۶) مخلوط ریزوفآگوس ایرگولاریس و سودوموناس فلورسنس مایه‌کوبی شده به خاک (RI+PFsoil) و (۷) مخلوط ریزوفآگوس ایرگولاریس و سودوموناس فلورسنس مایه‌کوبی شده به صورت بذرمال (RI+PFcoat). گیاهانی که با روش مایه‌کوبی در خاک و با ریزوفآگوس ایرگولاریس تیمار شدند، ۱۲ گرم ماده‌ی مایه‌کوبی الک نشده دریافت کردند به طوری که این مواد، در دو سانتیمتری زیر هر بذر قرار گرفتند. در تیمار سودوموناس فلورسنس، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^7 CFU در میلی‌لیتر به گلدان اضافه شد و در تیمارهای بذرمال این مواد زیستی با ماده‌ی اندود ترکیب گردید. بعد از اندود کردن بذر، جمعیت باکتری اندازه‌گیری و شمارش شد و تعداد نهایی باکتری به ازای هر بذر اندود شده به صورت میانگین و تقریبی 10^5 CFU به دست آمد. برای تعیین جمعیت مواد زیستی از طریق قرار دادن یک بذر اندود شده در یک میلی‌لیتر محلول رینگر و رقیق‌سازی‌های ترتیبی برآورد گردید. در تیمار RI+PFsoil، هر گلدان یک بذر اندود نشده با ماده‌ی مایه‌کوبی را به اضافه‌ی ۱۲ گرم ماده‌ی مایه‌کوبی قارچی و یک میلی‌لیتر ماده‌ی مایه‌کوبی باکتریایی به همان ترتیبی که در بالا ذکر شد دریافت کردند. گلدان‌های مربوط به گیاهان شاهد اندود نشده نیز یک بذر ذرت اندود شده با سیلیکون دی‌اکسید را دریافتند کردند. ترکیب به کار رفته در هر مورد چهار بار تکرار گردید. هر گیاه ۲۵ میلی‌لیتر محلول تغذیه‌ای هوگلند را به همراه ۲۰٪ فسفر دو بار در هفته دریافت کرد (Berta et al., 2014).

در آزمایش دوم که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد، اولین فاکتور، عامل مایه‌کوبی شامل شاهد (C)، ریزوفآگوس ایرگولاریس (RICoat)، سودوموناس فلورسنس (PFcoat) و ریزوفآگوس ایرگولاریس (RI+PFcoat) بود که به صورت بذرمال اعمال شد و دومین فاکتور، کوددهی شامل شاهد (F0)، ۸۰٪ محلول هوگلند همراه با ۲۰٪ جرمی فسفر (F1) و محلول غذایی هوگلند (F2) بود. گیاهان کوددهی شده ۲۵ میلی‌لیتر محلول هوگلند مربوطه را به ازای هر گلدان و به تعداد دو بار در هفته دریافت کردند و گیاهان کوددهی نشده ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر دریافت کردند. روش مایه‌کوبی، مقادیر و غلظت‌های مواد مایه‌کوبی به کار رفته در آزمایش دوم دقیقاً مشابه آزمایش اول بود. هر کدام از ترکیب‌های به کار رفته در هر تیمار، چهار بار تکرار شدند.

خاک به کار رفته در این مطالعه (جدول ۱)، از یک مزرعه واقع در شمال گرگان گردآوری شده و پس از الک (۴ میلی‌متری) و دو بار اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت (Oliveira et al., 2016). رقم بذور ذرت مورد استفاده، سینگل کراس ۷۰۴ بود.

[□] *Rhizophagus irregularis*

[□] *Pseudomonas fluorescens*

جدول ۱. پارامترهای فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در هر دو آزمایش

نوع خاک	مواد خنثی شونده (%)	کربن آلی (%)	pH	هدایت الکتریکی (dS.m ⁻¹)	نیتروژن کل (%)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)
لوم شنی	9.5	1.29	6.5	1.01	0.13	8.48	340

در این آزمایش، از قارچ ریزوفگوس ایرگولاریس از ریشه گیاه شبدر قرمز (به عنوان گیاه میزبان) و سودوموناس فلورسنس از ریزوسفر باقلا ایزوله شده بود (Oliveira *et al.*, 2016). در رویه بذر مال، ماده‌ی مایه‌کوبی ریزوفگوس ایرگولاریس با یک غربال ۵۰۰ میکرومتری الک شده و با سیلیکون دی اکسید (با نسبت وزنی ۱:۱)، به عنوان ماده‌ی پوششی ترکیب شد. در گیاهانی که بذر مال نشده‌اند، مایه‌کوبی قارچ میکوریزی آربوسکولار بدون مرحله‌ی الک به کار رفت.

در هر دو آزمایش، وجود ریزوفگوس ایرگولاریس در ریشه‌های ذرت با استفاده از روش‌های میکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس روش Berta *et al.* (2014) ریشه‌های ذرت به قطعات یک سانتیمتری برش خورده و با رنگ آبی تریپان جهت ارزیابی درصد کلونیزاسیون طولی ریشه و فراوانی آربوسکول‌ها و وزیکول‌ها رنگ آمیزی شدند. درصد کلونیزاسیون طولی ریشه توسط قارچ میکوریزی آربوسکولار در قطعات ریشه با استفاده از روش برش خطی و زیر یک استریو میکروسکوپ (Leica EZ4 HD، آلمان) تعیین شدند. فراوانی آربوسکول‌ها و وزیکول‌ها با استفاده از یک میکروسکوپ (Leica DM 5000-D، آلمان) و بر اساس روش Trouvelot *et al.* (1986) بررسی شد و درصد فراوانی با نرم افزار MycoCalc محاسبه شد. این نرم افزار آنالیز که از طرف اداره کشاورزی چین راه اندازی شده، برای شناسایی، اندازه‌گیری و تعیین سطح کلونیزاسیون قارچ میکوریزا کاربرد گسترده‌ای دارد (ICA4, 2011).

در شرایط اقلیمی مناطق گرگان و گنبدکاووس، برداشت ذرت به صورت میانگین و تقریبی حدود ۷۰ روز پس از کاشت صورت می‌گیرد لذا ۷۰ روز پس از کشت، یک گرم از ریشه‌های ذرت و خاک چسبیده به آن نمونه برداری شده و به یک لوله‌ی آزمایشگاهی ۵۰ میلی متری انتقال داده شد و در محلول نیتروژن مایع به سرعت منجمد شد. استخراج DNA مربوط به سودوموناس فلورسنس موجود در ریزوسفر ذرت با استفاده از روش توصیفی Couillerot *et al.* (2013) انجام پذیرفت. نمونه‌ها با استفاده از Precellys24 (Bertin Equipments، فرانسه) هموژنیزه شده و ۲۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم از آن برای استخراج DNA برداشته شد. کمیت سنجی DNA با استفاده از سیستم سنجش فلورومتر انجام گرفت (Life Technologies، کانادا).

پرایمرهای به کار رفته با روش ارائه شده توسط Von Felten *et al.* (2010) بر سودوموناس فلورسنس مورد سنجش قرار گرفت. کمیت سنجی با استفاده از PCR و بر اساس روش شرح داده شده توسط Walker *et al.* (2011) انجام گرفت. سیستم مرحله‌ی اول به اضافه‌ی PCR در شرایط زیر به کار گرفته شد: ۲۰ میکرولیتر حجم واکنش با ۰/۳ میکرولیتر از هر پرایمر، دو میکرولیتر محلول حاوی DNA و ۱۰ میکرولیتر محلول سبز سایبر (Practical Biosystems، کانادا).

در هر دو آزمایش، گیاهان پس از گذشت دوره‌ی ۷۰ روزه برداشت شده و ریشه از ساقه جدا گردید و پس از شسته شدن، خاک‌های چسبیده به اطراف آن برداشته شد. در آزمایش دوم، ساقه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و سپس توزین شدند. بعد از خشک شدن، ساقه‌ها نیز خرد شده و طبق استاندارد EN 13805 اتحادیه اروپا (2014) هضم شدند. کل محتوای فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، منگنز و روی با طیف سنجی انتشار نوری تعیین گردید.

پس از انجام و تأیید همگنی واریانس‌ها، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نرمال‌سازی داده‌ها با گرفتن ریشه دوم اعداد انجام شد. در آزمایش دوم اثرات اصلی عامل مایه‌کوبی، کوددهی و اثر متقابل آن‌ها مورد آنالیز قرار گرفت و

زمانی که تأثیر تیمار معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد. تمامی آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳.۱. آزمایش اول

نتایج آزمایش اول حاکی از آن بود که هیچ نوع اختلاف معنی‌داری از نظر وزن خشک ساقه و ریشه، درصد کلونیزاسیون طولی ریشه، فراوانی آربوسکول، فراوانی وزیکول و غلظت عناصر بین گیاهان مایه‌کوبی شده با روش معمولی در خاک و گیاهان مایه‌کوبی شده از طریق بذر مال مشاهده نشد (جدول ۲ و ۳). همچنین هیچ تأثیری از مایه‌کوبی باکتریایی در کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریزای آربوسکولار مشاهده نگردید. روش بذر مال به کار رفته در این تحقیق تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذر داشت. همین روش بذر مال که در رابطه با بذرهای دانه‌ی گندم و توسط Oliveira *et al.* (2016) انجام گرفته بود که با میزان جوانه‌زنی ۱۰۰٪ همراه بود. بذرهای ذرت و گندم دارای اندازه و شکل‌های متفاوت می‌باشند که نشان دهنده‌ی کاربردپذیری این روش بذر مال در انواع غیرمشابه و غیریکسان بذرها می‌باشد. با توجه به هزینه‌ی نسبتاً بالای مایه‌کوبی قارچی میکوریزای آربوسکولار در هر گیاه، کاربرد آن در زمین‌های زراعی باز، از لحاظ اقتصادی امکان‌پذیر نمی‌باشد.

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر مایه‌کوبی بر ریشه و ساقه ذرت در آزمایش اول

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
درصد فراوانی وزیکول	درصد فراوانی آربوسکول	درصد کلونیزاسیون طولی ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه		
61.9 ns	1154.5 ns	0.0211 ns	103.6 ns	0.0072 ns	6	مایه‌کوبی
176.3	897.6	0.0164	570.5	0.0396	14	خطای آزمایشی
142.0	974.7	0.0178	430.5	0.0299	20	کل
14.31	16.90	15.86	16.22	14.12		ضریب تغییرات (%)

ns: غیر معنی‌دار

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر مایه‌کوبی بر غلظت عناصر در ساقه ذرت در آزمایش اول

میانگین مربعات									درجه آزادی	منابع تغییرات
Mn	Zn	Fe	S	Mg	Ca	K	P	N		
0.094 ns	1.96 ns	0.038 ns	1.57 ns	0.08 ns	5.27 ns	0.105 ns	2.06 ns	8.5 ns	6	مایه‌کوبی
0.196	5.03	0.235	11.40	0.274	25.54	0.226	7.35	38.2	14	خطای آزمایشی
0.165	4.10	0.176	8.45	0.218	19.46	0.190	5.77	29.3	20	کل
13.99	11.29	14.32	13.74	12.93	14.31	13.94	11.45	12.33		ضریب تغییرات (%)

ns: غیر معنی‌دار

این بررسی نشان داد در رابطه با قارچ میکوریزای آربوسکولار، مایه‌کوبی با بذر مال، منجر به حصول کلونیزاسیون ریشه‌ی مشابه با مایه‌کوبی مرسوم و معمول خاک شد. نتایج قابل مقایسه‌ای نیز توسط Oliveira *et al.* (2016) حاصل شده است که در آن نیز بذرهای نخود با قارچ میکوریزای آربوسکولار آلوده شده‌اند. با استفاده از روش بذر مال، باکتری‌های مایه‌کوبی شده زیست‌پذیری خود در بذر

را از دست می‌دهند که این امر می‌تواند تأثیری منفی در کلونیزاسیون و مقاومت باکتری در خاک را به دنبال داشته باشد (Pedrini *et al.*, 2016). با این حال بعد از انجام بذرمال و قبل از کاشت، بذره‌های تیمار شده با سودوموناس فلورسنس غلظت 10^5 CFU را به ازای هر بذرمال از خود نشان دادند که به نظر می‌رسد برای نشان دادن کلونیزاسیون موفق کافی است (Couillerot *et al.*, 2013). پس از گذشت ۷۰ روز از کشت، امکان تشخیص سویه‌های باکتری‌های مایه‌کوبی شده در نمونه‌های خاکی و با روش‌های مولکولی وجود ندارد که این امر دلالت بر پایین بودن غلظت سودوموناس فلورسنس کمتر از حد آستانه‌ی تعیین شده می‌باشد. این واقعیت شاید با یافته‌های Von Felten *et al.* (2010) در ارتباط باشد که کاهش تراکم جمعیتی سودوموناس فلورسنس F113 را با گذشت زمان نشان دادند. این کاهش می‌تواند با عوامل مختلفی همچون مهار مستقیم رشد، رقابت درون گونه‌ای برای منابع و یا نیاز به طیف بیشتری از منابع در مقایسه با سایر باکتری‌ها در ارتباط باشد (Farrar *et al.*, 2014).

۲.۳. آزمایش دوم

در این مطالعه، تأثیر مایه‌کوبی بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد و تأثیر کوددهی بر وزن خشک ساقه و ریشه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر متقابل مایه‌کوبی و کوددهی نیز تنها بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۴). همچنین، مایه‌کوبی باکتریایی، تأثیر معنی‌داری بر کلونیزاسیون قارچی میکوریزی آربوسکولار ریشه نشان نداد. به نظر می‌رسد مایه‌کوبی و در نتیجه همزیستی بین ریشه ذرت و قارچ میکوریزی آربوسکولار انجام نشده باشد. بسته به نوع باکتری‌ها، رشد میکوریزا می‌تواند به طور منفی و یا مثبت تحت تأثیر قرار گیرد. با این حال، اثرات تحریکی سودوموناس فلورسنس در کلونیزاسیون ریشه‌ای قارچ میکوریزی آربوسکولار در مطالعه‌ی فعلی مد نظر قرار نگرفته زیرا هیچ تفاوتی در کلونیزاسیون میکوریزی ذرت مشاهده نگردید. در این آزمایش نیز، بعد از فرایند روکش دار کردن بذر قبل از کاشت، بذره‌های تیمار شده با سودوموناس فلورسنس غلظت 10^5 CFU در هر بذرمال را نشان دادند، با این حال پس از گذشت ۷۰ روز از رشد گیاه، امکان تشخیص سویه باکتریایی با استفاده از روش‌های مولکولی به کار رفته فراهم نبود (داده‌ها نشان داده نشده است). از این رو، وجود سودوموناس فلورسنس در ریشه‌ها و ریزوسفر ذرت قابل تأیید نبود. در این بررسی، این واقعیت که وجود سودوموناس فلورسنس در خاک پس از گذشت ۷۰ روز تأیید نشد، نباید منجر به این نتیجه‌گیری گردد که هیچ نوع تأثیر باکتریایی در فازهای مختلف رشد گیاه وجود نداشته است. در مطالعات آتی، نمونه برداری در دوره‌ی مختلف زمانی و در سراسر رشد ریشه و به منظور درک رفتار باکتری‌های مایه‌کوبی و همچنین درک تأثیر آن بر گیاهان هدف و تغییرات روی داده در غلظت باکتریایی در ریشه‌ها و ریزوسفر امری حیاتی و مهم خواهد بود.

جدول ۴. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مایه‌کوبی و کوددهی بر ریشه و ساقه ذرت در آزمایش دوم

میانگین مربعات					درجات آزادی	منابع تغییرات
وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	درصد کلونیزه طولی ریشه	درصد فراوانی آربوسکول	درصد فراوانی وزیکول		
2.457 ns	3.875 *	455.20 ns	209.15 ns	389.5 ns	3	مایه‌کوبی (I)
218.21 **	60.442 **	762.13 ns	380.81 ns	673.2 ns	2	کوددهی (F)
1.441 ns	3.674 *	584.65 ns	489.90 ns	793.9 ns	6	I × F
19.82	1.62	1482.18	3467.85	6495.30	36	خطا
16.88	14.22	11.33	16.10	15.11		ضریب تغییرات (%)

* و **: تأثیر معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱٪، ns: غیر معنی‌دار

همچنین، نتایج نشان داد مایه‌کوبی، تأثیر معنی‌داری بر غلظت تمامی عناصر مورد بررسی داشت در حالی که تأثیر کوددهی، تنها بر غلظت عناصر نیتروژن (در سطح احتمال یک درصد) و فسفر (در سطح احتمال پنج درصد) معنی‌دار بود و اثر متقابل مایه‌کوبی و کوددهی تنها بر فسفر معنی‌دار بود (در سطح احتمال پنج درصد) (جدول ۵).

جدول ۵. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مایه‌کوبی و کوددهی بر غلظت عناصر در ساقه ذرت در آزمایش دوم

منابع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات								
		Mn	Zn	Fe	S	Mg	Ca	K	P	N
مایه‌کوبی (I)	3	10.1 **	11.1 **	3.9 *	3.4 *	8.7 **	5.5 *	12.1 **	7.6 **	15.5 **
کوددهی (F)	2	1.2 ns	1.2 ns	0.5 ns	0.6 ns	0.01 ns	2.5 ns	0.8 ns	5.1 *	6.2 **
I × F	6	1.1 ns	1.1 ns	0.2 ns	0.8 ns	0.7 ns	1.7 ns	1.7 ns	2.9 *	1.6 ns
خطا	36	2.84	2.98	3.12	2.73	3.64	5.33	8.12	1.80	5.18
ضریب تغییرات (%)		14.67	15.99	16.87	15.22	14.34	16.55	10.22	11.01	9.11

* و **: تأثیر معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱٪، ns غیر معنی‌دار

علاوه بر این، در آزمایش دوم، مایه‌کوبی دارای تأثیر مهم و معنی‌داری بر زیست‌توده ریشه بوده اما هیچ تأثیری بر ساقه‌ها نداشت، وجود تعامل بین مایه‌کوبی و کوددهی فقط در رابطه با ریشه‌ها معنی‌دار بود (جدول ۶). همچنین، وزن خشک ریشه و ساقه ذرت به طور مستقیم و مثبت تحت تأثیر رژیم کوددهی بود. به عنوان مثال، ریشه‌ها و ساقه‌ها در رژیم کوددهی کامل دارای زیست‌توده بالا و در رژیم فاقد کوددهی زیست‌توده پایین‌تری را بدون توجه به نوع تیمار مایه‌کوبی از خود نشان دادند (جدول ۶). گیاهانی که در معرض سطح اندک کوددهی قرار داشتند، ضمن اینکه با ریزوفیگوس ایرگولاریس نیز مایه‌کوبی شده بودند، دارای زیست‌توده ریشه‌ی کمتری در مقایسه با سایر تیمارها بودند. به طور کلی، گیاهان مایه‌کوبی شده با میکروبیوم مفید، هیچ افزایش رشدی را از خود نشان ندادند. به نظر می‌رسد دلیل احتمالی آن مربوط به عدم کافی بودن جمعیت این میکروارگانیسم‌ها باشد و یا اینکه عوامل دیگری نیز لازم است تا تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر رشد ذرت قابل توجه باشد؛ مانند مطالعه‌ای که توسط Rostami & Maleki Farahani (2020) انجام شد و گزارش کردند که استفاده از مویان بعد از تلقیح با قارچ مایکوریزا، باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک علوفه ذرت گردید.

جدول ۶. اثرات اصلی مایه‌کوبی و کوددهی بر زیست‌توده ریشه و ساقه ذرت در آزمایش دوم

اثر اصلی	سطح	وزن خشک ساقه (g)	وزن خشک ریشه (g)
مایه‌کوبی	C	2.74 a	0.63 a
	PFcoat	2.61 a	0.61 ab
	RIcoat	2.51 a	0.50 b
	RI+PFcoat	2.77 a	0.62 ab
کوددهی	F0	1.52 c	0.37 c
	F1	3.06 b	0.61 b
	F2	3.88 a	0.95 a

حروف متفاوت در هر ستون برای هر اثر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد باهم ندارند.

C: شاهد، PFcoat: سودوموناس فلورسنس، RIcoat: ریزو فاگوس ایرگولاریس، RI+PFcoat: مخلوط ریزوفاگوس ایرگولاریس + سودوموناس فلورسنس
 F0: بدون کوددهی، F1: کوددهی اندک، F2: کوددهی کامل

از طرف دیگر گیاهانی که فقط به سودوموناس فلورسنس مایه‌کوبی شده بودند (PFcoat)، غلظت نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منیزیوم و منگنز آن‌ها افزایش یافت (جدول ۷). تیمارهایی که فقط ریزوفاگوس ایرگولاریس به آن‌ها افزوده شده بود (RIcoat)، افزایش معنی‌داری را در غلظت روی و نیتروژن ساقه در سطوح کوددهی کامل از خود نشان دادند (جدول ۷). با این وجود، نتایج مقایسه اثرات متقابل حاکی از آن بود که غلظت عناصر مغذی، زمانی تحت تأثیر مایه‌کوبی قارچی میکوریزای آربوسکولار قرار گرفتند که سطوح کوددهی F0 و F1 را داشتند. در تیمار RIcoat بدون کوددهی، غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، و منیزیوم و روی افزایش یافت. در رژیم کوددهی کم (F1)، همان عناصر مغذی ذکر شده افزایش یافت، حال آنکه در شرایط کوددهی کامل (F2) فقط غلظت‌های نیتروژن و روی افزایش یافته بود (جدول ۷).

همچنین مقایسه اثرات متقابل نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده با ریزوفاگوس ایرگولاریس + سودوموناس فلورسنس (RI+PFcoat) افزایش معنی‌داری را در غلظت نیتروژن، کلسیم، منیزیوم و روی در ساقه نشان دادند که غالباً در سطوح کوددهی F0 و F1 مشاهده شد (جدول ۷). نکته‌ی قابل ذکر این است که در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ میکوریزای آربوسکولار افزایش در محتوای عناصر مغذی در تیمارهای کوددهی کم، بیشتر از تیمارهای کوددهی کامل بود. هیچ تأثیری از سوی ریزوفاگوس ایرگولاریس و یا سودوموناس فلورسنس در میزان غلظت‌های آهن و گوگرد ساقه ذرت مشاهده نگردید (جدول ۷). به نظر می‌رسد این عدم تأثیر، به دلیل نقش نداشتن این میکروارگانیسم‌ها در مکانیسم‌های دخیل در جذب آهن و گوگرد توسط ریشه باشد (Fattahi et al., 2021). علیرغم اینکه گزارش شده است باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش میزان فسفر در بافت‌های مختلف گندم (برگ، ساقه و دانه) شد (Alikhani & Alikhani, 2020; Omidvari et al., 2020).

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل مایه‌کوبی و بذرمال بر غلظت عناصر در ساقه ذرت در آزمایش دوم

Mn	Zn	Fe	S	Mg	Ca	K	P	N	کوددهی	مایه‌کوبی
(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		
58.4 d	24.0 cd	71.2 ab	1.0 ab	1.1 cd	2.7 c	35.6 d	3.0 ab	8.4 d	F0	
73.1 cd	17.2 d	49.1 b	0.9 b	1.2 bcd	2.2 c	39.6 cd	2.0 c	12.7 bc	F1	C
60 cd	24.4 cd	64.7 ab	1.1 ab	1.0 d	2.5 c	39.6 cd	3.1 ab	12.6 bc	F2	
86 bcd	36.4 cd	108 ab	1.2 ab	1.5 a-d	5.1 abc	56 abc	3.6 ab	11.1 cd	F0	
134 ab	34.7 cd	90.7 ab	1.3 ab	1.7 a-d	6.8 a	48 bcd	2.9 ab	13.4 bc	F1	PFcoat
145 a	42.6 bc	116.2 a	1.5 ab	2.0 a	4.0 abc	58.9 ab	3.2 ab	17.6 a	F2	
70.2 cd	66.0 a	83.2 ab	1.5 ab	1.9 a	3.4 bc	67.1 a	5.8 a	17.6 a	F0	
58.9 d	42.2 bc	80.3 ab	1.3 ab	1.9 a	4.7 abc	66.5 a	3.6 ab	18.3 a	F1	RIcoat
57.4 d	46.0 ab	83.0 ab	1.7 a	1.8 ab	4.6 abc	56 abc	3.5 ab	18.1 a	F2	
96 a-d	54.0 ab	62.9 ab	1.1 ab	1.9 a	3.8 abc	39.4 cd	3.7 ab	15.3 ab	F0	
99 a-d	55.7 ab	60.8 ab	1.5 ab	1.7 abc	6.3 ab	39.3 cd	4.1 ab	16.7 ab	F1	RI+PFcoat
113 abc	36.6 cd	57.0 ab	1.1 ab	1.7 abc	4.3 abc	57 abc	3.2 ab	16.4 ab	F2	

حروف متفاوت در هر ستون: اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد

C: شاهد، PFcoat: سودوموناس فلورسنس، RIcoat: ریزو فاگوس ایرگولاریس، RI+PFcoat: مخلوط ریزوفاگوس ایرگولاریس + سودوموناس فلورسنس
F0: بدون کوددهی، F1: کوددهی اندک، F2: کوددهی کامل

بررسی تاثیر مایه کوبی در غلظت عناصر مغذی ساقه ذرت نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار تمامی عناصر مغذی ارزیابی شده به غیر از فسفر و گوگرد در PFcoat، آهن و منگنز در RIcoat، پتاسیم، گوگرد و آهن در RI+PFcoat بود (جدول ۷). اثرات مهم کوددهی فقط در رابطه با غلظت‌های نیتروژن و فسفر ساقه نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بود. کوددهی بالاتر منجر به افزایش غلظت نیتروژن و کاهش غلظت فسفر در ساقه شد (جدول ۷). ذرت گیاهی است که نیاز بیشتری به نیتروژن و فسفر داشته و غلظت این مواد معدنی در خاک می‌تواند رشد قارچی میکوریزای آربوسکولار را تحت تاثیر قرار دهد. در واقع، کلونیزاسیون قارچی اغلب دارای ارتباط منفی با مقادیر فسفر خاک می‌باشد (Mohammadi Kashka et al., 2018). با این حال نتایج هیچ نوع اختلاف معنی‌داری را در کلونیزاسیون قارچ میکوریزای آربوسکولار بین تیمارها در شرایط مختلف کوددهی نشان نداد. فسفر برای به حداکثر رسانی میزان رشد گیاه و بازده محصول بسیار حیاتی است و نقش مهمی را در عملکردهای مختلف گیاه ایفا کرده و وزن خشک گیاه را افزایش می‌دهد. در نتیجه، نبود آن و یا افت سطوح آن پیامدهای منفی برای رشد گیاه به بار می‌آورد.

قارچ میکوریزای آربوسکولار و ریزوباکتری‌های افزاینده‌ی رشد گیاه هر دو با توجه به نقشی که در کشاورزی و به عنوان کودهای زیستی دارند، به خوبی بررسی و شناسایی شده‌اند (Nadeem et al., 2014). با این وجود، کاربرد میکروارگانیزم‌های محرک رشد گیاه همواره در رشد گیاه مداخله نداشته بلکه در برخی موارد تاثیرات مفید دیگری را در گیاهان به دنبال داشته که از جمله می‌توان به افزایش عناصر مغذی اشاره کرد. با این حال، افزایش در غلظت عناصر مغذی گیاه همواره افزایش رشد و نمو در گیاه و افزایش بازده را به دنبال نداشته است. در این مطالعه هیچ نوع افزایشی در زیست‌توده گیاهان مایه‌کوبی شده با میکروارگانیزم‌های مفید مشاهده نگردید و رشد گیاهی غالباً توسط تیمارهای کوددهی حاصل گردید. اگرچه هیچ نوع افزایش معنی‌داری در رشد گیاه مشاهده نشد، اما افزایش قابل توجهی در محتوای عناصر مغذی ساقه و در مایه‌کوبی باکتریایی مشاهده گردید که این افزایش در گروه F1 و یا گروه F0 بود. به صورت کلی، گیاهان، هم به ریزمغذی‌ها و هم به درشت‌مغذی‌ها برای تکمیل رشد نیاز دارند که از خاک جذب می‌کنند و ریشه‌های قارچی میکوریزای آربوسکولار تا حد وسیعی کسب عناصر مغذی معدنی در گیاهان میزبان را تقویت می‌کنند که در این مطالعه محتوای نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم و روی در ذرت دارای ارتباط مستقیم با مایه‌کوبی ریزوفاگوس ایرگولاریس بویژه در تیمارهایی دارد که کوددهی در آن‌ها اندک بوده و به فاقد کوددهی بوده‌اند. به نظر می‌رسد جذب ریز مغذی‌ها توسط گیاهان مایکوریزا به طور منفی و معکوس تحت تاثیر در دسترس پذیری فسفر در خاک دارد. اهمیت مایه‌کوبی قارچ میکوریزای آربوسکولار شاید در شرایط دسترس پذیری اندک به عناصر مغذی بویژه فسفر، به حد نهایی خود رسیده باشد. در واقع حتی اگر هیچ اختلاف معنی‌داری در کلونیزاسیون مایکوریزا مشاهده نگردد، در این صورت افزایش غلظت عناصر مغذی موجود در ساقه‌ها می‌تواند مربوط به رژیم‌های کوددهی باشد. غلظت نیتروژن ساقه مستقیماً با کوددهی در ارتباط بوده و این امر شاید با نیاز بالای گیاه ذرت به نیتروژن در ارتباط باشد (Fathi & Taheri Oshtrinani, 2016). از طرفی دیگر گیاهانی که فقط با سودوموناس فلورسنس مایه‌کوبی شده‌اند، افزایش بیشتری را در غلظت عناصر مغذی در زمان استفاده از رژیم کوددهی کامل از خود نشان دادند. این روند در غلظت عناصر منگنز، آهن و منیزیم مشاهده گردید به طوری که بالاترین غلظت این عناصر (به ترتیب ۲/۰، ۱۱۶/۲ و ۱۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار کوددهی کامل حاصل گردید (جدول ۷). این امر شاید نشان دهنده‌ی این واقعیت می‌باشد که خواص مؤثر باکتری‌ها با حضور سطوح بالاتری از عناصر مغذی در خاک تحریک شده و بروز می‌یابد (Yaghotipoor et al., 2018). این نتایج از این فرضیه‌ی کلی پشتیبانی می‌کند که مواد مایه‌کوبی میکروبی می‌تواند جذب عناصر مغذی توسط گیاهان را افزایش داده و در استراتژی‌های مدیریت تغذیه‌ی یکپارچه کاربرد موثری داشته باشد (Berta et al., 2014). این قابلیت در افزایش غلظت عناصر مغذی ارزش افزوده‌ای در مواد غذایی گیاهی می‌باشد که در حال حاضر توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است.

۴. نتیجه گیری

استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید به عنوان کودهای زیستی ظاهراً می‌تواند نقش یک مسیر طبیعی را ایفا کند. بویژه در سیستم‌هایی با ورودی نهاده‌های شیمیایی پایین، این میکروارگانیزم‌ها می‌توانند مسئولیت افزایش جذب مواد غذایی به طور کارآمد و در دسترس پذیری ریزمغذی‌ها در گیاهان را عهده دار شوند. گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ میکوریزای آربوسکولار و ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه از طریق بذرمال افزایش غلظت درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌ها را در رژیم‌های مختلف کوددهی از خود نشان داده‌اند که این نتایج نشان دهنده ضرورت افزودن کود جهت بهبود کارایی قارچ میکوریزا و ریزوباکتری‌ها است. افزایش در محتوای عناصر مغذی ذرت نشان می‌دهد که ترکیبات بذرمال حاوی میکروارگانیزم‌های محرک رشد گیاه، از طریق بذرمال برای بذور ذرت قابل استفاده بوده و به عنوان مؤلفه‌ای در استراتژی‌های مدیریت یکپارچه‌ی عناصر مغذی، بیشتر مورد توجه و بررسی قرار گیرند. این مطالعه، اولین گزارش در مورد بذرمال ذرت با مواد مایه‌کوبی قارچ میکوریزای آربوسکولار و ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه بوده و نشان‌دهنده‌ی پتانسیل بالای مایه‌کوبی میکروارگانیزم‌های محرک رشد گیاه در کشاورزی مقیاس وسیع می‌باشد، زیرا امکان استفاده از مقادیر اندک ماده‌ی تلقیحی و کاربرد دقیق‌تر آن را فراهم می‌سازد. از این رو بذرمال می‌تواند شیوه‌ی جدیدی در مایه‌کوبی مقیاس وسیع میکروارگانیزم‌های مفید در تولید ذرت به حساب آید. بعلاوه، انجام آزمایشات میدانی در مزارع ذرت و سایر محصولات می‌تواند در تأیید کارایی بذرمال به عنوان سیستم تحویل میکروبی و مزایای کاربردی آن مؤثر باشد.

۵. تشکر و قدردانی

بدینوسیله از جناب آقای دکتر عبدالعزیز حقیقی بابت همکاری‌های بی‌دریغ و راهنمایی‌های کاربردی ایشان صمیمانه تشکر می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

- Aghaei, F., Seyed Sharif, R., & Narimani, H. (2020). Evaluation of Yield, Chlorophyll Content and Grain Filling Components of Wheat under Salinity Soil Conditions and Application of Uniconazole and Biofertilizers. *Journal of Crops Improvement*, 22(2), 269-282. (In Persian)
- Alikhani, H., Emami, S., & Alikhani, F. (2020). Evaluation of the efficiency of plant growth promoting bacteria in reducing phosphate fertilizer application in wheat. *Journal of Crops Improvement*, 22(4), 557-569. (In Persian)
- Alizad, L., Aghaei, K., & Mostafavirad, M. (2018). Effect of chemical, organic and biological fertilizers on growth and physiological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) in Guilan province. *Journal of Plant Production Research*, 25(3), 55-68.
- Bagheri Dehabadi, M., Moghadam, H., Chaichi, M., & Ziloe, N. (2017). The mycorrhiza and iron and zinc foliar application on quantitative and qualitative characteristics of forage sorghum. *Journal of Crops Improvement*, 19(3), 799-815. (In Persian)
- Berta, G., Copetta, G., Gamalero, A., Bona, E., Cesaro, E., Scarafoni, P., & D'Agostino, A. (2014). Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal fungi and a growth-promoting pseudomonad in the field. *Mycorrhiza*, 24, 161-70.
- Bhardwaj, D., Ansari, N., Sahoo, M., & Tuteja, R. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb and Cell*, 13, 66-72.

- Colla, G., Roupshael, M., Bonini, Y., & Cardarelli, P. (2015). Coating seeds with endophytic fungi enhances growth, nutrient uptake, yield and grain quality of winter wheat. *International Journal of Plant Production*, 9, 171–190.
- Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., Défago, G., Prigent-Combarte, C., Comte, G., Caballero-Mellado, J., & Moëgne-Loccoz, Y. (2013). Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum–Pseudomonas-Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 4639–4649.
- Ehsani Pour, A., Abbasdokht, H., Gholipour, M., & Abdali Mashhadi, A. (2019). Evaluation of water productivity, some quantitative and qualitative traits of sugarcane in intercropping with legume. *Journal of Crops Improvement*, 21(3), 233-246. (In Persian)
- EN 13805. (2014). Foodstuffs - determination of trace elements - pressure digestion. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization.
- Farrar, K., Bryant, D., & Cope-Selby, N. (2014). Understanding and engineering beneficial plant–microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant Biotechnology Journal*, 12, 1193–1206.
- Fathi, A., & Taheri Oshtrinani, F. (2016). The impacts of *Mycorrhiza* and phosphorus along with the use of salicylic acid on maize seed yield. *Journal of Crop Ecophysiology*, 10(3), 657–668. (In Persian)
- Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., & Ravash, R. (2021). Evaluation of the Symbiotic Effect of Mycorrhiza Arbuscular on Some Pistachio Rootstocks under Salinity and Drought Conditions. *Journal of Crops Improvement*, 23(3), 667-682. (In Persian)
- ICA4 (2011). <https://www2.dijon.inrae.fr/mychintec/Mycocalc-prg/download.html>.
- Kazemi, S., Farahmand, E., Pirdashti, H., & Mahmoudi, M. (2017). The effect of coexisting of mycorrhiza-like and mycorrhiza fungi on water use efficiency of corn under different irrigation regimes and phosphorus in different climatic conditions of Mazandaran province. *Journal of Crops Improvement*, 19(2), 371-386. (In Persian)
- Kharazmi, K., Amirnia, R., Jalilian, J., & Tajbaksh, M. (2019). Investigating the effect of different fertilizer sources on the yield osmolites, photosynthetic pigments and some antioxidant enzymes of alfalfa under low irrigation condition. *Journal of Crops Improvement*, 20(4), 801-815. (In Persian)
- Malusá, E., Pinzari, L., & Canfora, F. (2016). Efficacy of biofertilizers: challenges to improve crop production. In *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. India: Springer.
- Mohammadi Kashka, F., Pirdashti, Y., & Yaghoobian, H. (2018). Inoculation with *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* for improving the morphological and physiological traits related to grain yield of rice under different rates of phosphorus fertilizer. *Journal of Crop Ecophysiology*, 11(4), 857–874. (In Persian)
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, M., Javaid, Z. A., & Ashraf, A. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advent*, 32, 429–48.
- Naik, K., Mishra, S., Srichandan, H., Singh, P. K., & Sarangi, P. K. (2019). Plant growth promoting microbes: potential link to sustainable agriculture and environment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, e101326.

- Njeru, E., Avio, F., Bocci, L., Sbrana, G., Turrini, C., Bàrberi, A., & Oehl, P. (2015). Contrasting effects of cover crops on “hot spot” arbuscular mycorrhizal fungal communities in organic tomato. *Biology of Fertilized Soils*, *51*, 151–166.
- Oliveira, R. S., Carvalho, H., Marques, P., Ferreira, G., Nunes, L., Rocha, M., Ma, I., Carvalho, Y., Vosátka, M. F., & Freitas, M. (2017a). Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions. *Journal of Scientific Food and Agriculture*, *97*, 4379–4385.
- Oliveira, R. S., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M. F., Vosátka, M., & Freitas, H. (2017b). Improved grain yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) under water deficit after inoculation with *Bradyrhizobium elkanii* and *Rhizophagus irregularis*. *Crop and Pasture Science*, *68*, 1052–1059.
- Oliveira, R. S., Rocha, I., Ma, M. F., Vosátka, M., & Freitas, H. (2016). Seed coating with arbuscular mycorrhizal fungi as an ecotechnological approach for sustainable agricultural production of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Toxicology and Environmental Health*, *79*, 329–337.
- Omidvari, S., Salamati, N., Abdi, S. (2020). Study the effects of irrigation regime and biofertilizers on yield and yield component of wheat. *Journal of Crops Improvement*, *22*(2), 193-204.
- Payandeh, K., Mojaddam, N., & Derogar, M. (2019). Effect of mycorrhiza and phosphate solubilizing bacteria on yield of corn (*Zea mays* L.) (KSC 704) under different irrigation regimes. *Journal of Crop Ecophysiology*, *13*(3), 359–376. (In Persian)
- Pedrini, S., Merritt, K., Stevens, D. J., & Dixon, J. (2016). Seed coating: science or marketing spin?. *Trends in Plant Science*, *22*, 106–116.
- Pérez-Rodríguez, M. M., Pontin, M., Lipinski, V., Bottini, R., Piccoli, P., & Cohen, A. C. (2020). *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* Increase Yield and Fruit Quality of Tomato under Field Conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *20*(4), 1614-1624.
- Püschel, D., Bitterlich, M., Rydlová, J., & Jansa, J. (2020). Facilitation of plant water uptake by an arbuscular mycorrhizal fungus: a Gordian knot of roots and hyphae. *Mycorrhiza*, *30*, 299-313.
- Rostami, T., Maleki Farahani, S. (2020). Effect of application of mycorrhiza and surfactant on forage characteristics of maize (*Zea mays* L.) under deficit irrigation. *Journal of Crops Improvement*, *22*(3), 333-344. (In Persian)
- Trouvelot, A., Kough, J. L., & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi editors. *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. France: INRA Press, p. 217–221.
- Von Felten, A., Défago, M., & Maurhofer, G. (2010). Quantification of *Pseudomonas fluorescens* strains F113, CHA0 and Pf153 in the rhizosphere of maize by strain-specific real-time PCR unaffected by the variability of DNA extraction efficiency. *Journal of Microbiology and Methods*, *81*, 108–115.
- Walker, V., Couillerot, O., Von Felten, A., Bellvert, F., Jansa, J., Maurhofer, M., & Comte, G. (2011). Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under field conditions. *Plant and Soil*, *356*, 151–163.

- Yaghotipoor, A., Tahmasebi, Z., Khavazi, K., Zarea, M., Barary, M., & Naseri, R. (2018). Effect of phosphate solubilizing bacteria and mycorrhizal fungi on phenological and physiological characteristics of wheat under dryland conditions. *Journal of Crop Ecophysiology*, 12(2), 211–236. (In Persian)
- Zare, A., Asgharipour, M. & Fakheri, B. (2018). Effects of organic, biological and chemical fertilizers on quantitative traits of seedless barberry. *Journal of Plant Production Research*, 25(1), 87-100.
- Zerbe, P. (2015). Small molecules with big impact: terpenoid phytoalexins as key factors in maize stress tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 38, 213–219.

مقاله فیلد ژنستار