نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۱ شماره ۴ / سال ۱۴۰۰ صفحات ۶۵-۴۹

Effect of *Enterobacter* sp. S16-3 as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Drought Stress Reduction in Canola (*Brassica napus*) Cultivars

Bita Kazemi Oskuei[1], Ali Bandehagh[2], Mohammad Reza Sarikhani[3], Touraj Ghasemzadeh[4]

Received: June 5, 2020 Accepted: November 26, 2020
1-Former PhD Student. Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2-Assoc. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3-Assoc. Prof., Dept. of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Iran.
4-Former MSc Student. Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
*Corresponding Author Email: bandehhagh@tabrizu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: The goals of study were to investigate the inoculation effects of *Enterobacter* sp. S16-3 on growth characteristics of canola cultivars under drought stress.

Materials and Methods: This experiment was conducted as factorial-experiment based on randomized complete block design with three replications at hydroponic system of greenhouse, College of Agriculture, University of Tabriz. Inoculated and non-inoculated six canola cultivars were evaluated under two levels of drought stress conditions (0.6 and 1.2 MPa) and control.

Results: Results showed that drought stress caused a significant reduction in canola growth parameters such as fresh and dry weights of plant organs, height, root length, leaf relative water content and biological yield. Chlorophyll and proline content were suppressed under stress. Inoculation of canola cultivars with plant growth-promoting rhizobacteria not only improved height and root length, but also increased biological yield by 57.5 %. Bacterial inoculation also increased chlorophyll content and the concentration of proline under different stress conditions. Inoculated canola cultivars have better growth characteristics and biological yield than non-inoculated plants under drought stress conditions. Among canola cultivars inoculated Hyola308 surpassed other cultivars in all parameters under drought stress and the lack of a negative response to increasing drought stress indicated enhanced drought tolerance of Hyola308.

Conclusion: Taken together, these results demonstrated that *Enterobacter* sp. S16-3 bacterium probably has moderated the negative effects of drought stress and reduced the negative response of rapeseed cultivars to increasing drought stress by modifying the plant growth.

Keywords: Biological Yield, Canola, Drought Stress, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Proline

تاثیر باکتری محرک رشد *Enterobacter* sp. S16-3 در تعدیل تنش خشکی در ارقام کلزا *(Brassica napus)*

بیتا کاظمی اسکوئی[۱]، علی بنده حق[۲*]، محمدرضا ساریخانی[۴]، توراج قاسم زاده[۴]

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۶

۱-دانش آموخته دکتری اصلاح نباتات،گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲-دانشیار گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳-دانشیارگروه بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی،گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه Email: bandehhagh@tabrizu.ac.ir

چکیده

اهداف: بررسی کار آمدی تلقیح باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 در تعدیل تنش خشکی از طریق بررسی برخی خصوصیات رشدی در ارقام کلزا در شرایط تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل با سه تکرار در سیستم کشت هیدروپونیک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز اجرا گردید. فاکتورها شامل شش رقم کلزا به صورت تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 در دو سطح تنش خشکی ٦/. و ۱/۲ مگا پاسکال به همراه شاهد (فاقد تنش) بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اعمال تنش فزآینده خشکی کاهش معنی داری را در پارامترهای رشدی کلزا نظیر ارتفاع بوته، طول ریشه، محتوای آب نسبی، وزن تر کل، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام های هوایی و همچنین عملکرد بیولوژیک گیاه سبب شد. محتوای کلروفیل و پرولین برگ و ریشه تحت تنش ثابت ماند. تلقیح با باکتری محرک رشد علاوه بر افزایش طول ریشه‌ها و ارتفاع، عملکرد بیولوژیک کلزا را تا ۵۷,۵ درصد در شرایط تنش متوسط افزایش داد. همچنین تلقیح باکتری باعث افزایش محتوای کلروفیل و غلظت پرولین در سطوح مختلف تنش شد. ارقام کلزای تلقیح شده با باکتری خصوصیات رشدی و عملکرد بیولوژیک بهتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده تحت سطوح مختلف تنش خشکی نشان دادند، در میان ارقام کلزا رقم Hyola308 تلقیح شده با باکتری در کلیه پارامترها از سایر ارقام تحت تنش خشکی پیشی گرفت و فقدان پاسخ منفی به تنش فزآینده خشکی نشان دهنده افزایش تحمل به تنش در این رقم بود.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج نشان داد که باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 از طریق بهبود رشد گیاه سبب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی و تقلیل پاسخ منفی ارقام کلزا به تنش فزآینده خشکی گردیده است. .

واژه های کلیدی: باکتری محرک رشد، پرولین، تنش خشکی، کلزا، عملکرد بیولوژیک

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهمترین و شایع ترین عوامل محدود کننده رشد، کیفیت و عملکرد محصولات زراعی در بسیاری از نقاط جهان است (حسین و همکاران ۲۰۱۸). خشکی یک تنش چند بعدی می باشد که تغییرات متعددی را حتی در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان القا می کند (سیدیکو و همکاران ۲۰۰۰). کمبود آب با تاثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزنه ها، محتوای نسبی آب سلولی، فرایندهای فتوسنتزی، آنزیمی و تجمع متابولیت ها را تحت تاثیر قرار داده و بر رشد گیاه اثر منفی می گذارد (یونجائی و اسچمیدهالتر ۲۰۰۵ و فنائی و همکاران ۲۰۰۹). تحمل خشکی صفتی کمی و پیچیده است که از جنبه های متفاوت با صفاتی نظیر محتوای آب نسبی برگ، فلورسانس کلروفیل، تجمع پرولین و تنظیم اسمزی ارتباط دارد (پروین و همکاران ۲۰۱۵). بررسی پاسخ ارقام مختلف به تنش خشکی از جنبه این صفات در مراحل حساس از رشد گیاه در گزینش ارقام متحمل به خشکی دارای اهمیت است (کافی و همکاران ۲۰۰۵).

کلزا (*Brassica napus* L) به واسطه کمیت و کیفیت بالای روغن بعد از سویا (*Glycine max*) و نخل روغنی (*Oleifera Elaeis*) مهمترین منبع تولید روغن خوراکی در سیستم های کشاورزی به حساب می آید (اشرف و مکنیلی ۲۰۰٤). کلزا علارغم اینکه به شرایط محیطی متفاوت سازگاری بالایی نشان می دهد اما در بسیاری از مطالعات، کاهش چشمگیری در رشد و عملکرد ارقام کلزا تحت تنش آبی مشاهده شده است (چیما و صداقت ۲۰۰٤). همچنین تغییرات معنی‌داری در پاسخ به تنش خشکی در بین ارقام کلزا گزارش شده است (ملکشاهی و همکاران ۲۰۰۹ و شیرانی راد و عباسیان ۲۰۰۱). تنش خشکی اختلالات مورفولوژیکی و فیزیولوزیکی بیشماری را در مرحله رویشی گیاه کلزا سبب می شود (سنگ تراش و همکاران ۲۰۰۹). این اختلالات منجر به کاهش جذب مواد غذایی وتخریب جریان فعال فتوسنتزی می گردد (جلیل و همکاران ۲۰۰۹).

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR[1]) گروه متنوعی از باکتری‌های خاک هستند که می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مختلف مستقیم و غیر مستقیم باعث تحریک و بهبود رشد و تغذیه گیاهان شوند (پنروز و گلیک ۲۰۰۳). این باکتری ها علاوه بر افزایش حاصلخیزی خاک ضمن ارتقاء رشد گیاه و سرکوب عوامل بیماری زا ، باعث توسعه کشاورزی سازگار با محیط زیست و پایدار می شوند (بهاروج و همکاران ۲۰۱٤). از جمله این باکتری ها سویه های بیشماری از اینتروباکتر ها متعلق به گروه باکتریهای گرم منفی هستند که پتانسیل مشارکت در توسعه پایدار، القا رشد گیاه و مقابله با پاتوژن های خاکزی را دارا می باشند (رودریگز و همکاران ۲۰۰۸). باکتری های محرک رشد می‌توانند از اثرات زیانبار تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاه جلوگیری کنند (هان و لی ۲۰۰۵). این باکتری ها از طریق تغییرات در سیستم ریشه ای میزبان، تنظیم اسمزی، مدیریت تنش اکسیداتیو از طریق بیوسنتز و متابولیسم فیتو هورمون ها، تولید پلی ساکارید بزرگ و ترکیبات فعال بیولوژیک باعث کاهش پیامد منفی تنش بر روی گیاه میزبان می گردند (باهاتاچری و جی‌ها ۲۰۱۲).

محققین بسیاری مصرف باکتریهای محرک رشد گیاه جهت تحریک تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنشهای غیرزنده از جمله تنش خشکی را بررسی کردند (دیمکاپا و همکاران ۲۰۰۹ و کاسم و همکاران ۲۰۱۳ و رجب و همکاران ۲۰۱٤). بارناوال و همکاران (۲۰۱۷) اشاره کردند که در سطوح نسخه‌برداری، باکتری محرک رشد گیاه باعث القای ژن‌های مسئول در تنش خشکی و به دنبال آن افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش می‌شود. کاظمی و همکاران (۲۰۱۸) اظهار داشتند که باکتری محرک رشد از جنس اینتروباکتر از طریق

[1] Plant growth-promoting rhizobacteria

ایجاد تغییرات در پروتئین های مربوط به متابولیسم انرژی موجب افزایش تحمل به تنش اسمزی در ارقام مقاوم و هم حساس کلزا می گردد. کوهلر و همکاران (۲۰۱۰) همچنین کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از خشکی در گیاه کاهو تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas* sp. را گزارش کردند. با عنایت به اینکه از موثرترین عوامل برای مقابله با تنش خشکی، دستیابی و بهبود ارقام متحمل برای کشت است و با توجه به پیامدهای مثبت استفاده از باکتری های محرک رشد در شرایط تنش در تحریک رشد و نمو گیاه، این پژوهش با هدف بررسی اثرات تلقیح با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 بر روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام کلزا در شرایط تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ارقام Heros، Sarigol، Olga، RGS003، Hyola420، Hyola308 کلزا و جدایه باکتریائی مورد استفاده S16-3 متعلق به جنس *Enterobacter* بود که بعد از انجام آزمون برای ویژگی‌های محرک رشدی اعم از انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم و مقاومت نسبی به تنش از میان چندین ایزوله باکتریایی متعلق به بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انتخاب گردید (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۶ و کاظمی و همکاران ۲۰۱۸). ارقام کلزا در دو حالت تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری در دو سطح تنش خشکی ۶/. و ۱/۲ مگا پاسکال (به ترتیب متوسط و شدید) به همراه شاهد (فاقد تنش) در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه و سیستم هیدروپونیک در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز مورد ارزیابی قرار گرفتند. سیستم هیدروپونیک انتخابی از نوع بستر جاری بوده و کشت درون ماسه شسته شده به قطر ۲-۳ انجام شد. بذور ارقام کلزا بعد از ضد عفونی به روش پنروز و گلیک (۲۰۰۳) با فاصله یکسان بر روی کاغذ صافی استریل در پتری‌دیش‌ها قرار گرفت تا جوانه‌زنی صورت گیرد. کلزاهای هفت روزه به سیستم هیدروپونیک شامل محلول هوگلند استریل انتقال یافتند (بنده حق و همکاران ۲۰۰۸). بعد از نشا کاری ۱۰ میلی-لیتر از سوسپانسیون باکتری (با جمعیت تقریبی cfu ۱۰۹ml-1) به هر کدام از مخازن سیستم تزریق گردید (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۶). پس از استقرار کامل گیاهچه ها اعمال تنش خشکی با اضافه کردن پلی‌اتیلن گلیکول (PEG 6000) به محلول غذایی موجود شروع و تا اواخر دوره رشد رویشی ادامه یافت (میشل و کافمن ۱۹۷۳). مقدار پلی اتیلن گلیکول مورد استفاده بر حسب گرم برای سطوح مختلف خشکی به وسیله فرمول زیر محاسبه شد:

$$\Psi s = - CRT$$

بر اساس طرح آزمایش برای اعمال سطوح تنش اسمزی ۰/۶ و ۱/۲ مگا پاسکال، به ترتیب ۶۰ و ۱۲۰ گرم در لیتر PEG 6000 به هر کدام از مخازن سیستم اضافه گردید. صفات وزن تر، ارتفاع بوته، طول و حجم ریشه نمونه های گیاهی در اواخر دوره رویشی مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه گیری عملکرد بیولوژیک نمونه ها بعد از خشک کردن بوته‌ها در آون با دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. محتوای نسبی آب برگ‌های توسعه یافته بر اساس روش (ایگریت و توینی ۲۰۰۲) تعیین گردید:

$$\text{درصد مقدار آب نسبی برگ} = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تازه برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تورمی برگ}} \times ۱۰۰$$

مقدار کلروفیل a، b و کل برگ‌های توسعه یافته برحسب میلی گرم کلروفیل در گرم برگ به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج های ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر محاسبه شد (مکینی ١٩٤١):

$$Chl\ a = (12.7\ A645 + 2.7\ A663)\ \frac{V}{1000 \times W}$$

$$Chl\ b = (22.9\ A645 + 4.68\ A663)\ \frac{V}{1000 \times W}$$

$$Chl\ a + b = (20.2\ A645 + 8.02\ A663)\ \frac{V}{1000 \times W}$$

برای تعیین مقدار پرولین در ریشه و برگ دو رقم Hyola308 و Sarogol روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) مورد استفاده قرار گرفت. برای تجزیه‌های آماری و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه-ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

وزن تر و عملکرد بیولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تلقیح با باکتری و سطوح مختلف تنش خشکی برای صفات وزن تر و وزن خشک برگ، ریشه و عملکرد بیولوژیک بوته در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین کاهش وزن تر و خشک (ریشه، برگ و عملکرد بیولوژیک) در هر دو سطح تنش نسبت به شاهد بدون تنش در کلیه ارقام اتفاق افتاد و تلقیح باکتری باعث تعدیل اثرات تنش در سطوح تنش متوسط و شاهد گردید (جدول ۲). مشاهده شد که ارقام کلزا به لحاظ تولید بیوماس و عملکرد بیولوژیک پاسخ متفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد نشان دادند. کمترین میزان وزن تر مربوط به رقم Sarigol تلقیح نشده با میانگین ١٥/٤٧ گرم بود و بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک در رقم Hyola308 مشاهده شد (جدول ۳). در شرایط محدودیت دسترسی به آب، داشتن وزن تر و خشک بالا خصوصیتی مطلوب برای گیاه به شمار می رود (انجوم و همکاران ۲۰۱۷). تنش خشکی رشد رویشی و زایشی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (کایا و همکاران ۲۰۰۱). گزارش‌های فراوانی وجود رابطه منفی بین تنش خشکی و شاخص-های رشد از جمله وزن تر و خشک بوته، رشد ریشه‌ها، شاخص سطح برگ و ارتفاع بوته را تأیید می‌کند (اشرف و احمد ۲۰۰۰). مطابق با یافته‌های حاضر کرون و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان وزن تر به طور معنی دار در ارقام کلزا کاهش می یابد. تنش خشکی ضمن تأثیر بر میزان آب مصرفی با جلوگیری از انتقال املاح و مواد غذایی به گیاه و کاهش فتوسنتز باعث کاهش تجمع ماده خشک و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (رضایی و نحوی ۲۰۰۷). در بررسی خصوصیات ژنوتیپهای متحمل و حساس نخود و عدس به تنش خشکی گزارش شد، کاهش انتقال مواد غذایی و کاهش جذب آب در محیط دارای پلی اتیلن گلیکول عامل اصلی کاهش طول و وزن خشک ساقه چه در ژنوتیپ های حساس است (بی بی و همکاران ۲۰۰۹). ارزانش و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تلقیح سویه‌های مختلفی از باکتری‌های محرک رشد گیاه با دو رقم کلزا می‌تواند اثر تنش کم‌آبی را روی وزن خشک برگ و ساقه گیاه بطور معنی داری کاهش دهد. عکس العمل گیاهان مختلف به تلقیح در شرایط مختلف تنشی، متفاوت بوده و به همین دلیل درجه تأثیر آنها نیز متفاوت است. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش قبلی باکتری محرک رشد *Enterobacter* sp. S16-3 دارای توان افزایش جذب عناصرغذایی از خاک

بخصوص عناصر با تحرک پائین در خاک مانند فسفر و پتاس می‌باشد (کاظمی و همکاران ۲۰۱۸) و نظر به این که چنین موادی از توانایی تاثیر بر توزیع مواد فتوسنتزی، ریشه‌زایی و تسهیم ماده خشک در گیاه برخوردارند (چابود و همکاران ۲۰۰۶)، لذا این باکتری محرک رشد ممکن از این طریق در افزایش ماده خشک بوته ها نقش داشته باشد.

جدول ۱-تجزیه واریانس تأثیر تلقیح باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 و تنش خشکی بر برخی صفات رشدی و فیزیولوژیکی ارقام کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن تر کل	وزن خشک ریشه	وزن خشک بخش هوایی	عملکرد بیولوژیک	ارتفاع بوته	محتوای نسبی آب	طول ریشه
تکرار	۲	۱۰۹/٤	۰/۰۰۰٦	۰/۰۱	۰/۰۱	۱۲/۳	۰/۰۰۰۰۰۲	۱/۵
باکتری	۱	٤٥٨٥/٨**	۰/۰۱۷۵**	۱/۷۳**	۲/۱**	۱۸٤/۱**	۰/۰۱۳۱**	۱٦۰/۲**
تنش	۲	٤٦٨۷۷/۵**	۰/۱۵٤۱**	۱۱/٤٤**	۱٤/۱۷**	۲۸/۸**	۰/۰۹۷٦**	۲٦/۱**
رقم	۵	۲۵۷۰**	۰/۰٤۱۹**	۱/۷۷**	۲/۳۵**	٦۳٦/۱**	۰/۱۹۳۵**	۲۹۹/۹**
باکتری*تنش	۲	۹۷۷/۲**	۰/۰۰۲٤**	۰/۵۷**	۰/٦۳**	۵۰/۰۲**	۰/۰۰٤۹**	٤/۹*
باکتری*رقم	۵	۱۵٦/٤**	۰/۰۰۰٤	۰/۲٦**	۰/۲٦**	۱۰/۷	۰/۰۰۲۹**	۲۳/٦**
تنش*رقم	۱۰	۸۱۷/۷**	۰/۰۰۱۷**	۰/۱٤**	۰/۱٦**	۱۳/۱**	۰/۰۰۵۹**	۵/۵**
باکتری*تنش*رقم	۱۰	۷٦/۹*	۰/۰۰۰۵	۰/۰۸**	۰/۰۸**	۱۷/۰**	۰/۰۰۳٤**	۱/۷
خطا	۷۰	۳۵/۹	۰/۰۰۰۳	۰/۰۱	۰/۰۲	٤/۷	۰/۰۰۰۰۰۹	۱/۵
ضریب تغییرات(٪)		۱۷/٤	۲۰/۲	۱۸/۲٦	۱۷/٤٤	۹/۵	۰/۷۲	۱۱/٦

*** و **: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد**

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تمام عوامل مورد بررسی به غیر از اثر متقابل باکتری در رقم بر ارتفاع در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین کاهش ارتفاع در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد بدون تنش در کلیه ارقام کلزا اتفاق افتاد. تلقیح باکتری باعث تعدیل اثرات تنش شد به طوری که بیشترین بهبود در ارتفاع گیاه در شرایط تنش شدید مشاهده گردید (جدول ۲). بالاترین میزان ارتفاع مربوط رقم Hyola308 تلقیح شده با میانگین ۲۹/۵ سانتی‌متر به دست آمد و کمترین میزان ارتفاع به میزان ۱۱ سانتی‌متر در Sarigol تلقیح نشده حاصل شد (جدول ۳). مطابق با یافته های حاضر بایبوردی و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که ارتفاع بوته ژنوتیپ‌های کلزا، با کاهش رطوبت خاک کاهش می یابد. فیشر و وود (۱۹۷۹) کاهش ارتفاع گیاه را یکی از صفات مرتبط با حساسیت به خشکی عنوان کردند. ذبیحی و همکاران (۲۰۰۹) طی تحقیقی روی گندم نشان دادند که تلقیح گیاه با باکتری *Pseudomonas flavescens* در سطوح مختلف تنش باعث افزایش ارتفاع بوته نسبت به شاهد بدون تنش شد. اثر سویه های باکتری در کاهش اثرات تنش، به توانایی آنها در کاهش تولید اتیلن و افزایش جذب آب نسبت داده می شود (باسیلو و همکاران ۲۰۰٤). تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک

رشد همراه با کاهش سطوح هورمون گیاهی اتیلن در طی مراحلی و افزایش توان جذب عناصر باعث تغییرات در رشد و نمو گیاهان و افزایش ارتفاع در گیاهان تلقیح شده می گردد (گلیک ۲۰۰۵).

جدول ۲-مقایسه میانگین صفات رشدی ارقام کلزا تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 تحت تنش خشکی

باکتری	سطوح تنش	وزن تر کل بوته(g)	وزن خشک ریشه بوته(g)	وزن خشک بخش هوایی بوته (g)	وزن خشک کل بوته(g)	ارتقاع بوته (cm)	طول ریشه (cm)
عدم تلقیح	شاهد	٦٠/٠٩٢b	١/٣٥b	١٠/٢٦b	١١/٦١b	٢٣/٣٣٣ab	٩/٨٠٢c
	متوسط	١٧/١٠٣d	٠/٤٢d	٤/٢٢d	٤/٦٤d	٢٢/١٦٦b	١٠/٠٦٩c
	شدید	٣/٣٦٥e	٠/٣٠e	١/٦٨e	١/٩٨e	١٩/٣٠٥c	٧/٩٧٢d
تلقیح	شاهد	٨٦/٧٠٦a	١/٧٩a	١٥/٣١a	١٧/١١a	٢٣/٩٧٢a	١٢/٣٦٣a
	متوسط	٣١/٦٤٨c	٠/٥٧c	٦/٧٤c	٧/٣١c	٢٤/١٣٨a	١١/٧١٦ab
	شدید	٥/٣٠٤e	٠/٤٧cd	١/٧١e	٢/١٨e	a٢٤/٥٢٧	١١/٠٧٢bc

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون ها فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشند

طول ریشه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر تمامی عوامل مورد بررسی به غیر از اثرمتقابل سه‌گانه بر طول ریشه تفاوت معنی‌دار داشته است (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین طول ریشه در شرایط تنش متوسط در مقایسه با شاهد ثابت باقی ماند و با افزایش شدت تنش به میزان تقریبی ٢٦ درصد کاهش پیدا کرد و به مقدار۷/۹۷۲ سانتی متر رسید. تلقیح باکتری باعث بهبود طول ریشه گردید (جدول ۲). بیشترین میزان طول ریشه مربوط به رقم Hyola308 تلقیح شده با میانگین ۱۱ سانتی‌متر وکمترین میزان طول ریشه هم به رقم Sarigol تلقیح نشده با میانگین ۳/۵ سانتی متر اختصاص یافت (جدول ۳). کاهش طول و وزن خشک ریشه‌ها جزء رخدادهای رایجی است که در اکثرگیاهان تحت شرایط تنش خشکی اتفاق میافتد، ولی شدت این کاهش بسته به ژنوتیپ و میزان مقاومت گیاه در برابرتنش خشکی متفاوت است (کالیفیت اوقلو ماجار و همکاران ۲۰۰۹). یکی از دلایل کاهش رشد ریشه تغییر در انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی و پروتئین ها به ریشه‌هاست، انتقال سریعتر فرآورده های فتوسنتزی و پروتئین ها در ژنوتیپهای متحمل به تنش خشکی سبب رشد بهتر سیستم ریشه ای آنها می گردد (منسه و همکاران ٢٠٠٦). هی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که با افزایش شدت تنش طول ریشه‌های ارقام ذرت کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری بین ارقام ذرت مورد مطالعه برای صفت طول ریشه مشاهده شد. گیاهان به واسطه تلقیح با باکتریهای محرک رشد، توانایی تولید ریشه های طویل تر و گسترده تر را تحت تنش اسمزی دارند (هان و لی ۲۰۰۵). کاپولنیک و همکاران (۱۹۸۵) نشان دادند که تلقیح با باکتری های محرک رشد ضمن افزایش سطح ریشه، طول ریشه گیاهچه‌های گندم را نیز افزایش می‌دهند. باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد مانند اکسین منجر به گسترش سیستم ریشه در جهت افزایش جذب آب و مواد مغذی می شوند که نتیجه آن بهبود توزیع مواد فتوسنتزی و رشد گیاه است (وال ورده و همکاران ٢٠٠٦).

محتوای نسبی آب برگ (RWC[2])

[2] Relative water content

تجزیه واریانس برای محتوای نسبی آب برگ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تلقیح و عدم تلقیح با باکتری، ارقام و سطوح مختلف تنش وجود دارد (جدول ۱). مقایسه میزان محتوای نسبی آب برگ در سطوح مختلف تنش نشان داد که با افزایش شدت تنش از محتوای نسبی آب برگ کاسته می‌شود. تلقیح باکتری تعدیل اثرات تنش و بهبود محتوای نسبی آب

جدول ۳-پاسخ متفاوت صفات رشدی ارقام کلزای تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3

باکتری	ارقام	وزن تر کل بوته(g)	وزن خشک ریشه بوته(g)	وزن خشک بخش هوایی بوته (g)	وزن خشک کل بوته(g)	ارتقاع بوته (cm)	طول ریشه (cm)
عدم تلقیح	Hyola308	۵۹/۲۹a	۲/۱۴۴a	۱۵/۴۸a	۱۶/۶۲a	۲۹a	۱۱a
	Heros	۳۷/۶۳b	۱/۴۰b	۹/۱۰b	۱۳/۷۰b	۱۸c	۸/۶۶۶c
	Sarigol	۱۵/۴۷d	۰/۳۰c	۳/۸۰c	۴/۱۰c	۱۱d	۳/۵e
	RGS 003	۳۱/۱۴cd	۱/۵۰۵	۱۱/۱۰b	۱۱/۷۰bc	۲۲/۶۶۶b	۹b
	Hyola420	۳۶b	۱/۹۰b	۱۱/۸۰b	۱۲/۵۰bc	۱۷/۶۶۶c	۶/۸۳۳d
	Olga	۲۲/۳۹cd	۱/۶۰b	۱۰b	۱۲/۷۰bc	۱۷/۵c	۸/۸۳۳bc
تلقیح	Hyola308	۸۳/۴۵a	۱۱/۸۰a	۱۵/۴۶a	۲۶/۶۵a	۲۹/۵a	۱۶a
	Heros	۴۵/۶۴c	۲cd	۹/۷۰b	۱۲/۹۰bc	۲۳/۸۳bc	۱۳/۱۶۶c
	Sarigol	۲۲/۹۷d	۰/۶۰d	۶/۴۰b	۷/۱۰c	۱۸d	۵/۱۶۶f
	RGS 003	۵۹/۳۸b	۴/۸b	۱۰/۴۰b	۱۷/۴۰b	۲۹/۳۳a	۱۴/۲۶۶b
	Hyola420	۶۹/۵۹b	۳c	۹/۸۰b	۱۱/۷۰bc	۲۵/۶۶b	۶/۶۶۶e
	Olga	۳۷/۲۲c	۵/۸b	۱۱/۵۰b	۱۵/۲۰b	۲۰/۸۳cd	۱۱/۱۶۶d

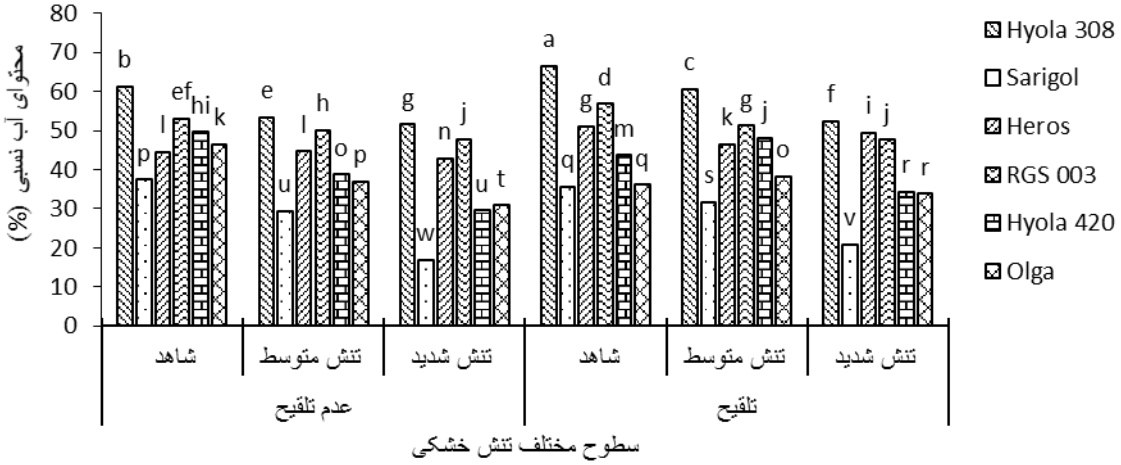
میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون ها فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشند

برگ در شرایط تنش را به دنبال دارد (شکل ۱). در این آزمایش بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ مربوط به شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری در رقم Hyola308 به میزان ۶۶/۵ درصد و کمترین مقدار آن مربوط به سطح تنش شدید و عدم تلقیح با باکتری در رقم Sarigol به میزان ۱۶ درصد بود (شکل ۱). محتوای نسبی آب برگ مقیاسی جهت شناسایی ارقام مقاوم و حساس به تنش می‌باشد (هو و زیاونگ ۲۰۱۴). محتوای نسبی آب برگ بیشتر در ارقام متحمل، به دلیل توانایی بالای این گیاهان در جذب آب از خاک و جبران تعرق انجام گرفته از سطح گیاه است (سیدیکو و همکاران ۲۰۰۰). مطابق با یافته های حاضر در تحقیقی که توسط حیدری و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفت مشاهده شد که تنش خشکی، کاهش معنی دار محتوای نسبی آب برگ در اندامهای هوایی کلزا را سبب شد و کاربرد باکتری های محرک رشد خصوصاً به صورت جداگانه در تخفیف اثر تنش نقش داشت. مایک و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که تلقیح باکتری *Achromobacter piechaudii* با گوجه‌فرنگی و فلفل مقدار محتوای نسبی آب برگ و کارایی مصرف آب را در این گیاهان افزایش می‌دهد. تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ ها می شود (مولنار و همکاران ۲۰۰۲). کاهش رشد و فعالیت ریشه ها و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی از عوامل کاهش محتوای نسبی آب بافت است (تارومینگکینگ و کوتو ۲۰۰۳). تلقیح با باکتری تولید متابولیت‌های ثانویه

سازگار را در گیاه ترغیب نموده و در نتیجه با کاهش پتانسیل اسمزی در داخل گیاه شرایط را برای افزایش جذب آب و عناصر غذایی و همچنین گسترش ریشه ها و به دنبال آن افزایش محتوای نسبی آب برگ فراهم می کند (جلیلی و همکاران، ۲۰۱۱ و آروین و همکاران ۲۰۱۸).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر باکتری، ارقام، تنش وکلیه اثرات متقابل دو گانه و سه گانه در سطح

غلظت کلروفیل



شکل ۱-میانگین محتوای نسبی آب برگ ارقام کلزای تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 تحت تنش خشکی

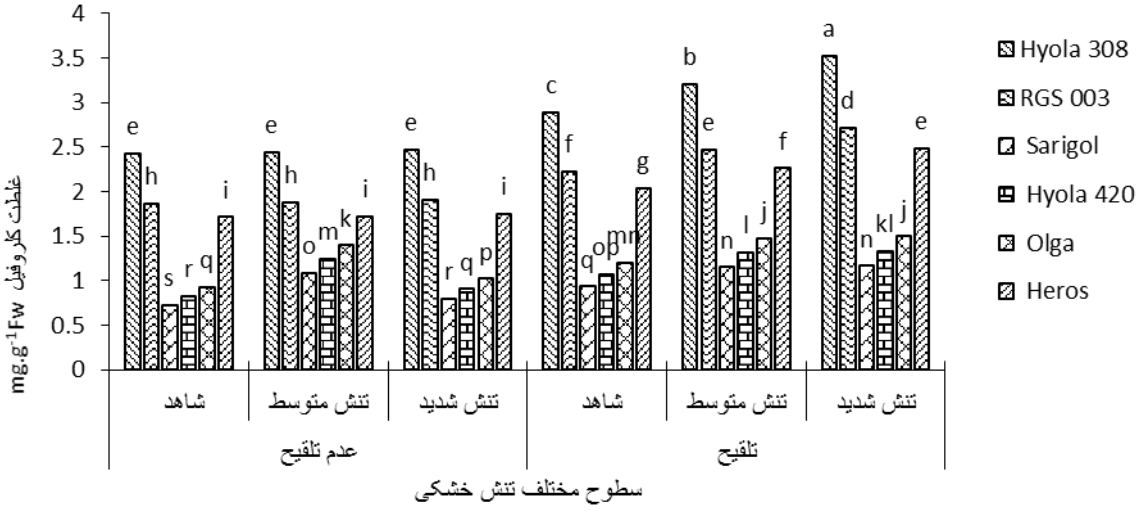
احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ٤). با افزایش سطوح تنش میزان کلروفیل a و b در ارقام Heros، Hyola308 و RGS003 تقریبا ثابت باقی ماند و در مقابل در ارقام Sarigol، Hyola420 و Olga با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل ابتدا افزایش سپس کاهش نشان داد (شکل ۲ و ۳). بر اساس مقایسه میانگین تیمارها با وجود اینکه میزان کلروفیل کل ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت، تلقیح باکتری افزایش غلظت کلروفیل کل را در این ارقام باعث شد (جدول ٥). بیشترین مقدار کلروفیل a و b مربوط رقم Hyola308 در شرایط تنش شدید و تلقیح باکتری و کمترین مقدار آن مربوط رقم Sarigol در تیمار شاهد و عدم تلقیح باکتری بود (شکل ۲ و ۳). در شرایط تنش ملایم کم آبی سطح برگ بـه شـدت کـاهش یافته و علیرغم تخریب مولکـولهـای کلروفیـل، غلظت کلروفیل باقیمانـده در واحـد سـطح بـرگ افـزایش مـی‌یابـد (اسچ و همکاران ۲۰۰۰). اما تنش شدید باعث توقف کامل کلروفیل‌سازی و کاهش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ می‌گردد (ساندهیا و همکاران ۲۰۱۰). به نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی شدید به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد که این رادیکال‌های آزاد باعث تخریب سیستم فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل می‌شوند (شوئتز و فانمیر ۲۰۰۱). ژنوتیـپ‌ها با محتـوای کلروفیـل بالا در شرایط تنش به دلیل همبسـتگی مثبت بـین محتوای کلروفیـل بـرگ و عملکـرد، تحمل به خشکی بیشتر و عملکرد بالاتری را نشان می‌دهند (خان و همکاران ۲۰۰۷). بایبوردی و همکاران (۲۰۱۰) اظهار کردند که پس از تنش خشکی، محتوای کلروفیل در برگ‌های کلزا کاهش یافت، اما برگ‌های ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس، رنگ سبز تیره‌تر و محتوای کلروفیل بیشتری را نشان دادند. افزایش در محتوای کلروفیل ارقام کلزا تحت تنش

خشکی در اثر تلقیح با تیمار باکتریایی سودوموناس فلورسنس گزارش شده است (حیدری و همکاران ۲۰۱۵). سودرزینسکا و ساویکا (۲۰۰۰) نیز نشان دادند که تلقیح گندم با آزوسپیریلوم موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ تحت تنش اسمزی می‌شود. زهیر و همکاران (۲۰۰٤) دلیل این افزایش را توانایی تولید هورمون‌های محرک رشد و آنزیم نیترات ردوکتاز جدایه‌ها در گیاه معرفی کردند. بر اساس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها برای صفات مورد مطالعه در ارقام کلزای تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری تحت تنش خشکی دو رقم Hyola308 و Sarigol به ترتیب به عنوان ارقام متحمل و حساس نسبی از بین شش رقم کلزا انتخاب و اندازه گیری میزان پرولین روی این دو رقم انجام گرفت.

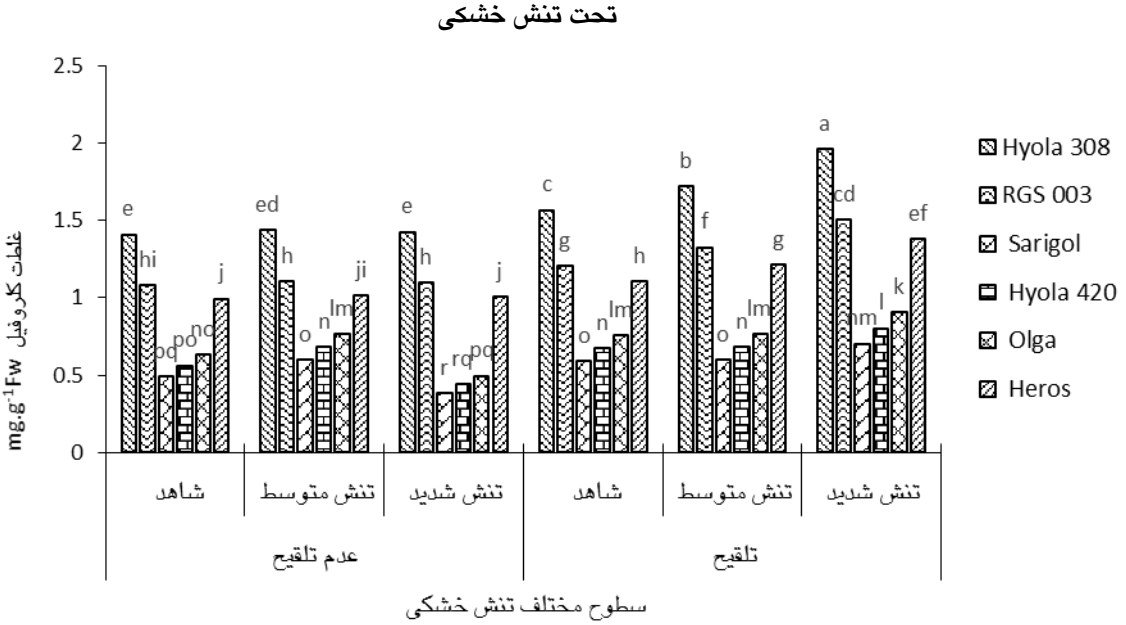
جدول ۴-تجزیه واریانس تاثیر تلقیح باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل و پرولین ارقام کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیلa	کلروفیلb	پرولین برگ	پرولین ریشه
تکرار	۲	۰/۳۲**	۰/۳۹۸**	۲۵۷۳/۸**	٤۳۸۹٤/۹**
باکتری	۱	۵/۱۸**	۱/۲۲۱**	۲۸۲۲۲/٦**	۱۸۲۱۳٦/٦**
تنش	۲	۰/٦٤**	۰/۰۷٦**	٤۳۰۱٦/۱**	۵٤۲۰/۷*
رقم	۵	۹/۵۵**	۲/۸۸۷**	۲۹٦۹/۷**	۷۵٤۰/۱**
باکتری*تنش	۲	۰/۳۰**	۰/۲۳۹**	۸۹٦۸/٦**	۳٤۷۳/۷*
باکتری*رقم	۵	۰/۲۲**	۰/۰۲۱**	۵۹۰/۹*	۵٦٦۰/۸**
تنش*رقم	۱۰	۰/۰۵**	۰/۰۱٦**	۱۰۱۲/۵**	۷۸۸/۹
باکتری*تنش*رقم	۱۰	۰/۰۲۳**	۰/۰۰٦٤**	۱۹۹/٤	۳۱۸/۹
خطا	۷۰	۰/۰۰۱٦	۰/۰۰۱۸	۲٤۷/۲	۱۲٦۰/۹
ضریب تغییرات(٪)		۲/۳۱	٤/٤٤	٤٤/٤	٦۵/۸

* و **: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد



شکل ۲-میانگین غلظت کلروفیل a ارقام کلزای تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3



شکل ۳-میانگین غلظت کلروفیل b ارقام کلزای تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 تحت تنش خشکی

پرولین برگ و ریشه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر باکتری، رقم، تنش و اثرات متقابل دوگانه در سطح احتمال یک درصد بر میزان پرولین برگ و ریشه معنی‌دار است (جدول ٤). بر اساس مقایسه میانگین با افزایش میزان تنش، مقدار پرولین برگ افزایش پیدا کرد. این افزایش در شرایط تنش شدید در بیشترین مقدار خود بود به طوری که میزان پرولین برگ نسبت به شاهد بدون تنش ۲۲/۱ برابر شد، تلقیح با باکتری این افزایش را شدت بخشیده است (جدول ٥). مقایسه میانگین میزان پرولین ریشه نشان داد که در حالت عدم تلقیح با باکتری با افزایش شدت تنش مقدار پرولین ریشه ثابت باقی ماند و تلقیح با باکتری افزایش مقدار پرولین ریشه به ویژه در شرایط تنش شدید در مقایسه با شاهد بدون تنش را به دنبال داشت (جدول ٥). یکی از مکانیسم های تنظیم اسمزی تجمع املاح سازگاری نظیر پرولین است و بسیاری از گیاهان و میکروارگانیسم ها پرولین را در پاسخ به تنش اسمزی تجمع می دهند (هاری و همکاران ۲۰۰۲). افزایش غلظت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند، نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش می‌باشد و با تحمل خشکی در بسیاری از گونه های گیاهی ارتباط دارد (منیوانان و همکاران ۲۰۰۷). صفر نژاد (۲۰۰٤) با بررسی اثر تنش اسمزی بر ژنوتیپ های یونجه گزارش نمود که ژنوتیپ های مقاوم، واکنش سریعتر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه های حساس دارند. از انجایی که تجمع پرولین در برگ ها بیشتر از سایر قسمت های گیاه نظیر غلاف ها و ریشه ها می باشد، لذا تنش اسمزی در برگ ها شدید تر از سایر نقاط است (آخوندی و همکاران ۲۰۰٦). حیدری و همکاران (۲۰۱۵) افزایش تجمع پرولین در ارقام کلزای تحت تنش خشکی را گزارش کردند. همچنین با تلقیح ارقام کلزا با سویه های باکتری *Pseudomonas* spp تحت تنش خشکی بـه این نتیجه رسیدند که سویه‌های باکتری نسبت بـه شاهد بدون تنش میزان پرولین گیاه را افـزایش داده و کلزا را در تحمـل تنش خشکی یاری می‌کند. قربانی و نیاکان (۲۰۰۵) دلایل تجمع پرولین در شرایط تنش را به تخریب پروتئین ها و انباشت برخی اسیدهای آمینه آزاد

در جهت تنظیم اسمزی نسبت داده اند. تجمع املاح سازگار در شرایط تنش با توجه به وجود نیتروژن در ساختار آنها موجب تحمیل هزینه کربن و نیتروژن به گیاه می‌شود، از این رو استفاه از باکتری های محرک های رشد با توانایی تأمین نیتروژن تاحد زیادی موجب افزایش مقدار املاح سازگار به ویژه پرولین در گیاه شده و با تنظیم اسمزی نهایتا کاهش اثرات تنش را سبب می شود (سولیمان و همکاران ۲۰۱۱).

جدول ۵-مقایسه میانگین محتوای کلروفیل وپرولین ارقام کلزا تلقیح نشده و تلقیح شده با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 تحت تنش خشکی

باکتری	سطوح تنش	کلروفیل کل ($mg.g^{-1}$ FW)	پرولین ریشه ($\mu mol.g^{-1}$ FW)	پرولین برگ ($\mu mol.g^{-1}$ FW)
عدم تلقیح	شاهد	۲/۲۷۷d	۱۲/۰۸٦b	۲/۱٦۱d
	تنش متوسط	۲/٥٦٤cd	۱۰/۸۷۲b	۱٦/۲٥۳cd
	تنش شدید	۲/۲۸۳d	۱٥/٥۹۱b	۳۹/۳٦٥bc
تلقیح	شاهد	۲/۷۱۱bc	۸۹/۲۱۳ab	٥/۸۰۸d
	تنش متوسط	۳/۰۳٤ab	۷٦/۳٤٦ab	٤۳/٤٤٦b
	تنش شدید	۳/۳۳۰a	۱۱۹/۳۸۸a	۱۰٥/٥۱۷a

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون ها فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشند

نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که پارمترهای رشدی وفیزیولوژیکی مورد بررسی در ارقام کلزا تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفتند، بعلاوه این صفات در بین ارقام مورد مطالعه نیز اختلاف معنی داری داشتند. رقم Hyola308 با کمترین میزان تغییر متحمل‌ترین و رقم Sarigol بعنوان رقم حساس نسبی معرفی شدند. به نظر می‌رسد که تنش خشکی با افزایش تبخیر و تعرق، کاهش پتانسیل اسمزی، تغییر در انتقال فرآورده های فتوسنتزی و کاهش رشد سبب کاهش سطح سبز، ارتفاع، کلروفیل، وزن خشک اندام های هوایی و زمینی و همچنین محتوای نسبی آب برگ و در نهایت عملکرد بیولوژیک ارقام کلزا شده است و تلقیح با باکتری *Enterobacter* sp. S16-3 اثرات سوء این تنش را از طریق افزایش جذب عناصر، کاهش سطوح اتیلن، تولید فیتو هورمون های محرک رشد ریشه و ترغیب تولید متابولیت های سازگار مانند پرولین و به دنبال آن افزایش بیوماس بهبود داده است. به نظر می رسد که این سویه از باکتری *Enterobacter* با توانایی تأمین عناصر به ویژه فسفر و از طریق گسترش ریشه ها، ارتفاع گیاه، افزایش زیست توده و تعدیل اثرات تنش موجب افزایش توان گیاه در مقاومت به خشکی شده است. همچنین تلقیح با باکتری آستانه تحمل به تنش خشکی را در کلیه ارقام کلزا به ویژه در رقم Hyola308 افزایش داده است. در مجموع در این پژوهش استفاده از باکتری محرک رشد *Enterobacter* sp. S16-3 تحمل بیشتر گیاه کلزا و در نتیجه افزایش عملکرد را در شرایط گلخانه ای به دنبال داشت و با عطف به این مهم که امروزه هدف، تولید محصول بر اساس اصول کشاورزی پایدار است لذا برای تعمیم نتایج حاصل به طبیعت آزمایشات تکمیلی در شرایط مزرعه توصیه می شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت دانشگاه تبریز و دانشکده کشاورزی جهت اجرای این پروژه قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

Akhondi M, Safarnejad A and Lahoti M, 2006. Effects of drought stress on proline accumulation and changes in elements of Yazdi, Nikshahri and Renger alfalfa (*Medicago sativa* L.). Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources, 10: 165-174.

Anjum SA, Ashraf U, Zohaib A, Tanveer M, Naeem M, Ali I, Tabassum T and Nazir U, 2017. Growth and development responses of crop plants under drought stress: a review. Zemdirbyste, 104(3): 267-276.

Arzansh MH, Benny Aghil N, Ghorbanly ML and Shahbazi M, 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters and levels of micronutrient on rapeseed cultivars under salinity stress. Electronic Journal of Soil Management and Sustainable Production, 2(2): 153-163.

Arvin P, Vafa bakhsh J and Mazaheri D, 2018. Study of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and drought on physiological traits and ultimate yield of cultivars of oilseed rape (*Brassica* spp. L.). Journal of Agroecology, 9(4): 1208-1226.

Asch F, Dingkuhn M, Dörffling K and Miezan K, 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. Euphytica, 113: 109-118.

Ashraf M and Ahmad S, 2000. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fiber characteristics in drought stress of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Field Crops Research, 66: 115-127.

Ashraf M and McNeilly T, 2004. Salinity Tolerance in *Brassica* Oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences, 23: 157-174.

Atanasova E, 2008. Effect of nitrogen sources on the nitrogenous forms and accumulation of amino acid in head cabbage. Plant Soil and Environment, 54: 66-71.

Bacilio M, Rodriguez H, Moreno M, Hernandez JP and Bashan. Y. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a *gfp*-tagged *Azospirillum lipoferum*. Biology and fertility of soils, 40: 188-193.

Bandeh-hagh A, Toorchi M, Mohammadi A, Chaparzadeh N, Salekdeh GH and Kazemnia H, 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. Journal of Food, Agriculture and Environment, 6: 201-208.

Barnawal D, Bharti N, Pandey SS, Pandey A, Chanotiya CS and Kalra A, 2017. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression. Physiologia Plantarum, 161(4): 502-514.

Bates LS, Walderen RD and Taere ID, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK and Tuteja N, 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories, 13: 66.

Bhattacharyya PN and Jha DK, 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28: 1327-1350.

Bibi N, Hameed A, Ali H, Iqbal N and Alam SS, 2009. Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpeas genotypes. Pakistan Journal of Botany, 41: 731-736.

Breusegem FV, Vranova E, Dat JF and Inze D, 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science, 161: 405- 414.

Bybordi A, Tabatabaei SJ and Ahmade A, 2010. Effect of drought on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in canola. Journal of Food, Agriculture and Environment, 8: 109-112.

Chabaud M, Boisson-dernier A, Zhang J, Taylor CG, Yu O and Barker DG, 2006. Agrobacterium rhizogenes-mediated root transformation. Pp. 1-8. In: Mathesius U, Journet EP and Sumner LW (eds). The Medicago Truncatula Handbook. The Samuel Roberts Noble Foundation.

Dien DC, Mochizuki T and Yamakawa T, 2019. Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. Plant Production Science, 22(4): 530-545.

Dimkpa CO, Merten D, Svatoš A, Büchel G and Kothe E, 2009. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. Soil Biology and Biochemistry, 41: 154-162.

Egert M and Tevini M, 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium choenoprasum*). Environmental and Experimental Botany, 48: 43-49.

Fanaei HR, Galavi M, Kafi M and Bonjar AG, 2009. Amelioration of water stress by potassium fertilizer in two oilseed species. International Journal of Plant Production, 3: 41-54.

Fischer RA and Wood JT, 1979. Drought resistance in spring wheat cultivars. III. Yield associations with morpho-physiological traits. Australian Journal of Agricultural Research, 30: 1001-1020.

Ghorbanli M and Niakan M, 2005. Study the effect of drought stress on soluble sugars, protein, proline, phenol compounds and reductase enzyme activity in soybean plants cv. Gorgan 3. Journal of Science Kharazmi University. 18(56): 537-550.

Glick BR, 2005. Modalation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters, 251: 1-7.

Gogorcena Y, Iturbeormaetxe I, Escuredo PR and Becana M, 1995. Antioxidant defenses against activated oxygen in pea nodules subjected to water stress. Plant Physiology, 108: 753-759.

Han HS and Lee KD, 2005. Plant growth promoting rhizobacteria. Effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1: 210-215.

Harding VJ and MacLean RM, 1916. A colorimetric method for the estimation of amino acid alpha nitrogen. Journal of Biological Chemistry, 24: 503-515.

Hare PD, Cress WA and Staden JV, 2002. Disruptive effects of exogenous proline on chloroplast and mitochondrial ultrastructure in Arabidopsis leaves. South African Journal of Botany, 68: 393-396.

He P, Osaki M, Takebe M, Shinano T and Wasaki J, 2005. Endogenous hormones and expression of senescence related genes in different senescent types of maize. Journal of Experimental Botany, 56: 1117-1128.

Heidari F, Bandehagh A, Farajzadeh D, Kazemi Oskuei B and Motie Noparvar P, 2015. Response of spring canola (*Brassica napus* L.) cultivars inoculated with P. fluorescens FY 32 to drought stress. Crop Research, 50: 55-62.

Hieng B, Ugrinoviè K, Sustar-Vozliè J and Kidriè M, 2004. Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differing in sensitivity. Journal of Plant Physiology, 161: 519-530.

Hoekstra FA and Buitink j, 2001. Mechanisms of plant dessication tolerance. Trends in Plant Science, 8(9): 431-438.

Hu H and Xiong L, 2014. Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. Annual Review of Plant Biology, 65: 715-741.

Hussain HA, Hussain S, Khaliq A, Ashraf U, Anjum SA, Men S and Wang L, 2018. Chilling and drought stresses in crop plants: implications, cross talk, and potential management opportunities. Frontiers in Plant Science, 9: 393.

Irigoyen JJ, Emerich DW and Sánchez-Díaz M, 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.

Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al Juburi HJ, Somasundaram R and Panneerselvam R, 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology, 11: 100-105.

Jalili F, Khavazy K and Asadi Rahmani E, 2011. Effects of *Fluorescent Pseudomonads* with ACC deaminase activity on growth characteristics of canola (*Brassica napus* L.) under salinity condition. Water and Soil Science, 2: 188-175. (In Persian)

Jing YD, He ZL and Yang XE, 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Journal of Zheijang University Science, B. 8(3): 192-207.

Kafi M, Nezami A, Hosaini H and Masomi A, 2005. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (Lens culinaris Medik.) genotypes. Iranian Journal of Field Crops Research, 3: 69-80. (In Persian)

Kalefetoglu Macar T, Turan O and Ekmekci Y, 2009. Effect of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arientinum* L.) cultivar and lines at early seedling stage. Gazi University Journal of Science, 22(1): 5-14.

Kapulnik Y, Okon Y and Henis Y, 1985. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. Canadian Journal of Microbiology, 31: 881-887.

Kasim WA, Osman ME, Omar MN, El-Daim IAA, Bejai S and Meijer J, 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 32: 122-130.

Kaya C, Higgs D and Kirank H, 2001. The effects of hight salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrintion development of spinach. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 27: 47-59.

Kazemi Oskuei B, Bandehagh A, Sarikhani MR and Komatsu S, 2018. Protein profiles underlying the effect of plant growth-promoting rhizobacteria on canola under osmotic stress. Journal of Plant Growth Regulation, 37: 560-574.

Khan A, Arshad M and Zahir ZA, 2007. Growth and yield response of wheat cultivars to inoculation with auxin producing plant growth promoting rhizobacteria. Pakistan Journal of Botany, 35: 483-49.

Khan N, Bano A, Rahman MA, Guo J, Kang Z and Babar MA, 2019. Comparative physiological and metabolic analysis reveals a complex mechanism involved in drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) induced by PGPR and PGRs. Scientific Reports, 9(1): 2097.

Kochert G, 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. Pp. 96-97. In: Helebust JA and Craig JS (eds). Handbook of Physiological Methods. Cambridge University Press.

Kohler J, Caravaca F, and Roldàn A, 2010. An AM fungus and a PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa*. Soil Biology and Biochemistry, 42: 429-434.

Kron AR, Souzan GM and Ribeiro RV, 2008. Water deficiency at different development stage of *Glycine max* improves drought tolerance. Brookhaven Symposium in Biology, 67: 43-49.

Mafakheri A, Siosemardeh A, Bahramnejad B, Struik PC and Sohrabi E, 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. Australian Journal of Crop Science, 4(8): 580-585.

Mackinney G, 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. Journal of Biological Chemistry, 140: 315-22.

Malekshahi F, Dehghani H and Alizadeh B, 2009. A study of drought tolerance indices in Canola (*Brassica napus* L.) genotypes. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 13: 77-90.

Manivannan P, Jaleel CA, Sankar B, Kishurekumar A, Somasundaram R, Lakshmanan GM and Panneerselvam R, 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 59: 141-149.

Mayak S, Tirosh T and Glick B, 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology, 42: 565-572.

Mensah JK, Obadoni BO, Eruotor PG and Onome-Irieguna F, 2006. Simulated flooding and drought effects on germination, growth and yield parameters of sesame (*Sesamum indicum* L.). African Journal of Biology, 5: 1249-1253.

Michel BE and Kaufmann MR, 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51: 914-916.

Molnar I, Gaspar L, Stehi L, Dulai E, Sarvari I, Galiba G and Molnarlong M, 2002. The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and *Aegilops Binucialis* genotypes originating from various habitates. Acta Biologica Szegediensis, 46(3): 115-116.

Montañez A, Abreu C, Gill PR, Hardarson G, Siracdi M, 2009. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by 15N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. Biology and Fertility of Soils, 45: 253-263.

Munns R, 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant, Cell and Environment, 16: 15-24.

Parvin S, Javadi T and Ghaderi N, 2015. Proline, protein, RWC and MSI contents affected by Paclobutrazol and water deficit treatments in strawberry cv. Paros. Cercetari Agronomice in Moldova, 48(1): 107-114.

Pang XM, Zhang ZY, Wen XP, Ban Y and Moriguchi T, 2007. Polyamines, all-purpose players in response to environmental stresses in plants. Plant Stress. 1(2): 173-188.

Penrose DM and Glick BR, 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia Plantarum, 118(1): 10-15.

Ramanjulu S and Sudhakar C, 1997. Drought tolerance is partly related to amino acid accumulation and ammonia assimilation: A comparative study in two mulberry genotypes differing in drought sensitivity. Journal of Plant Physiology, 150(3): 345-350.

Rejeb KB, Abdelly C and Savouré A, 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. Plant Physiology and Biochemistry, 80: 278-284.

Rezaei M and Nahvi M, 2007. Effect of different irrigation management methods on water use efficiency and rice yield. Agriculture Science, 1: 15-25.

Rodrı´guez-Dı´az M, Bele´n RG, Clementina PC, Maria Victoria M and Jesu´s G, 2008. A review on the taxonomy and possible screening traits of plant growth promoting rhizobacteria. In: Iqbal A, John P and Shamsul H (eds). Plant-bacteria interactions. Strategies and techniques to promote plant growth. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim.

Rosa M, Prado C, Podazza G, Interdonato R, González JA, Hilal M and Prado FE, 2009. Soluble sugars--metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants. Plant signaling and behavior, 4(5): 388-393.

Safarnejad A, 2004. Characterization of somaclones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) for drought tolerance. Journal of Agriculture Science and Technology, 6: 121-127.

Sandhya VD, Ali SZ, Grover M, Reddy G and Venkateswarlu B, 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P_{45}. Biology and Fertility of Soils. 46: 17-26.

Sandhya VD, Ali SZ, Grover M, Reddy G and Venkateswarlu B, 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation. 62: 21-30.

Sangtarash MH, Qaderi MM, Chinnappa CC and Reid DM, 2009. Differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environmental and Experimental Botany. 66(2): 212-219.

Sarikhani MR, Ebrahimi M, Oustan S, Aliasgharzad N and Madani O, 2016. Isolation of potassium releasing bacteria from soil and assessment of its ability in potassium nutrition of tomato. Proceedings of 2nd international conference on integrated environmental management for sustainable development. Sousse, Tunisia. Pp. 235-251.

Schutz M and Fangmeir E, 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution, 114: 187-194.

Shirani-rad AH and Abbasian A, 2011. Evaluation of drought tolerance in rapeseed genotypes under non stress and drought stress conditions. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 39: 164-171.

Shoresh M and Harman GE, 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. Plant Physiology. 147: 2147-2163.

Siddique MRB, Hamid A and Islam MS, 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 41: 35–39.

Soliman AS, Shanan NT, Massoud ON and Swelim DM, 2011. Improving salinity tolerance of *Acacia saligna* (Labill.) Plant by *Arbuscular mycorrhizal* fungi and *Rhizobium* inoculation. African Journal of Biotechnology, 11: 1259-1266.

Swedrzynska D and Sawicka A, 2000. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* ssp. saccharata L.) under different cultivation conditions. Polish Journal of Environmental Studies, 9(6): 505-509.

Tarumingkeng RC and Coto Z, 2003. Effects of drought stress on growth and yield of soybean. Kisman, Science Philosopy. Pp. 702. Term paper, Graduate School, Borgor Agricultural University.

Valverde A, Burgos A, Fiscella T, Rivas R, Velazquez E, Rodrguez-Barrueco C, Cervantes E, Chamber M and Igual JM, 2006. Differential effects of coinoculations with *Pseudomonas Jessenii* PS06 and *Mesorhizobium cicer* C-2/2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions. Plant and Soil, 278: 43-50.

Vardharajula S, Zulfikar Ali S, Grover M, Reddy G and Bandi, 2011. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. Journal of Plant Interactions, 6(1): 1-14.

Williamson CL and Slocum RD, 1992. Molecular cloning and evidence for osmoregulation of the D1-pyrroline-5-carboxylate reductase (proC) gene in pea (*Pisum satium* L.). Plant Physiology, 100: 1464-1470.

Yuncai H and Schmidhalter U, 2005. Drought and salinity: A comparison of the effects of drought and salinity. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 168, 541-549.

Zabihi HR, Savaghebi GH, Khavazi K and Ganjali A, 2009. Effect of application of *Pseudomonas Fluorescents* on yield and yield components of wheat under different soil salinity levels. Agricultural Sciences and Technology, 23(1): 199-208. (In Persian)

Zahir ZA, Arshad M and Frankenberger W, 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81: 97-168.