

اثر مصرف کودهای زیستی بر عملکرد، میزان روغن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در تیمارهای قطع آبیاری

رئوف سید شریفی*^۱ و رضا سید شریفی^۲

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، ^۲ گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۶/۲۸)

چکیده

به منظور بررسی اثر مصرف کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی، محتوای پروتئین و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آفتابگردان روغنی (*Helianthus annuus* L.) رقم یوروفلور در سطوح مختلف قطع آبیاری، آزمایش فاکتوریلی در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل مصرف کودهای زیستی در چهار سطح (میکوریز از نوع *Glomus mosseae*، ازتوباکتر کروکوکوم استرین ۵، کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر، شاهد یا عدم استفاده از کودهای زیستی) و سه سطح آبیاری (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد پر شدن دانه) بودند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر محتوای پروتئین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر به‌دست آمد. بیشترین درصد روغن (۴۳/۳۳ درصد) و محتوای کلروفیل در شرایط آبیاری کامل به‌دست آمد. در حالیکه بالاترین قندهای محلول در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی به‌دست آمد. کاربرد توأم کودهای زیستی محتوای کلروفیل، قندهای محلول و درصد روغن را در مقایسه با عدم کاربرد آنها به ترتیب ۳۰/۱۶، ۳۳/۲۳ و ۹/۲۵ درصد افزایش داد. بیشترین عملکرد دانه (۲۷۴۳/۵ کیلوگرم در هکتار) در کاربرد توأم کودهای زیستی و آبیاری کامل به دست آمد و کمترین آن (۱۶۹۶/۵ کیلوگرم در هکتار) به قطع آبیاری در ۵۰ درصد مراحل گلدهی و بدون کاربرد کودهای زیستی تعلق داشت. تحت شرایط قطع آبیاری در ۵۰ درصد مراحل گلدهی و پر شدن دانه، کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر عملکرد دانه را به ترتیب ۱۳/۳ و ۲۳/۵۲ درصد در مقایسه با عدم کاربرد آنها در همان سطح از قطع آبیاری افزایش داد. بر اساس نتایج آزمایش حاضر به نظر می‌رسد که کاربرد توأم ازتوباکتر و میکوریز می‌تواند به عنوان یک راهکار مناسب برای بهبود عملکرد دانه آفتابگردان تحت شرایط قطع آبیاری باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم دو، قطع آبیاری، عملکرد

مقدمه

خوردن تعادل تغذیه‌ای در گیاه است. یکی از راه‌های اساسی در جهت بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف محیطی و افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود در

محدودیت آبی عامل اصلی کاهش عملکرد و جمعیت میکروبی در خاک (Elliott and Wildung, 1992) و به هم

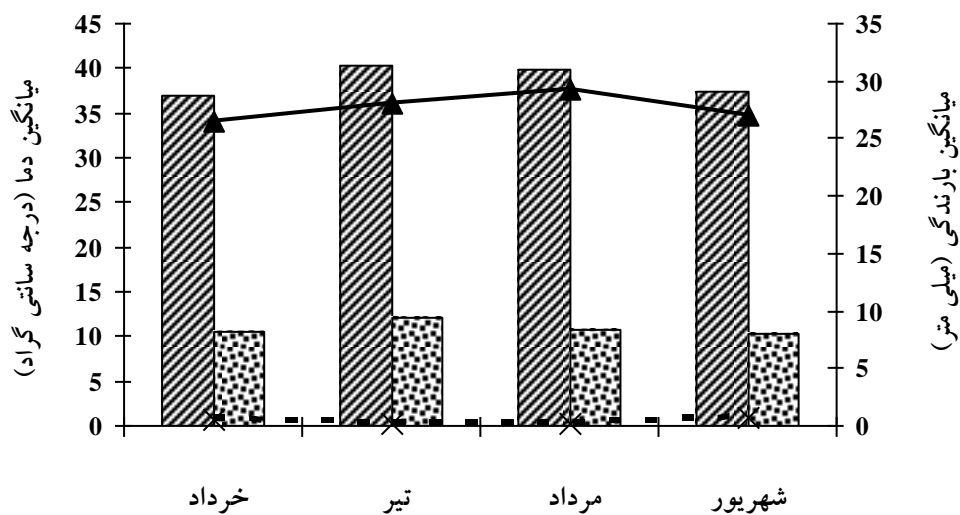
خاک، کاربرد کودهای زیستی است (Wu *et al.* 2005). اصطلاح کودهای زیستی فقط به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی و کود سبز اطلاق نمی‌گردد، بلکه ریز موجودات باکتریایی، قارچی و مواد حاصل از فعالیت آنها در رابطه با تثبیت نیتروژن، فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی از جملهی مهمترین کودهای زیستی محسوب می‌شوند (Wu *et al.* 2005). این کودها در افزایش دسترسی و جذب مواد غذایی توسط گیاهان (Singh and Purohit, 2011)، افزایش مقاومت به تنش‌های خشکی، شوری و بهبود ساختمان خاک (Al-Karaki *et al.*, 2004) اهمیت قابل توجهی دارند. بررسی‌های Al-Karaki (۲۰۰۰) نشان داد که کاربرد میکوریز به دلیل افزایش جذب عناصر کم تحرک مانند فسفر، روی، مس و همچنین بهبود روابط آبی گیاه، موجب افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش می‌شود. Mukerji و Giri (۲۰۰۴) اظهار داشتند که هیف‌های قارچ در زیر نواحی تهی اطراف ریشه گسترش یافته و با جذب آب و مواد غذایی در محدوده‌ی وسیعی از سطح ریشه، موجب کاهش اثرات ناشی از تنش می‌شوند. بررسی‌های Shehata و EL-Khawas (۲۰۰۳) نشان داد که تلقیح بذر آفتابگردان با کودهای زیستی علاوه بر افزایش عملکرد دانه و روغن، موجب افزایش مقاومت آفتابگردان در برابر عوامل نامساعد محیطی گردید. یکی از ترکیب‌های مهم در حفظ فشار اسمزی و پایداری غشاء سلولی در پاسخ به تنش‌های محیطی، تولید و تجمع پرولین می‌باشد (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016; Ashraf and Harris, 2004). افزایش این ماده و تولید سایر متابولیت‌ها نظیر قندهای محلول به منظور تنظیم اسمزی در گیاهان با کاربرد میکوریزها (Khalafallah and Abo-Ghalia, 2008; Cattivelli *et al.*, 2008) و کودهای زیستی (Gusain *et al.*, 2015) طی بررسی‌های مختلف در شرایط تنش‌های محیطی گزارش شده است.

یکی دیگر از عوامل تأثیر گذار محدودیت آبی بر فتوسنتز، کاهش میزان کارایی فتوسنتز از طریق افزایش فلورسانس کلروفیل (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016) و افزایش

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز (Blokhina *et al.*, 2003) می‌باشد. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیش‌گیری نمایند و یا اینکه آنها را جمع‌آوری نموده و اثرات مضر آنها را کاهش دهند، از این رو در شرایط محدودیت آبی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهان افزایش می‌یابد (Ahmad and Prasad, 2012). اندازه‌گیری مقدار فلورسانس کلروفیل نیز می‌تواند ارزیابی مناسبی از عملکرد کوانتومی و جریان الکترون در فتوسیستم دو را نشان دهد (Reddy *et al.*, 2004). بر اساس گزارش Kheirizadeh و همکاران (۲۰۱۶) تنش خشکی موجب کاهش عملکرد کوانتومی (FV/FM) در تربیتکاله شد ولی کاربرد توأم کودهای زیستی (میکوریز و باکتری‌های محرک رشد) موجب بهبود این شاخص هم در شرایط آبیاری کامل و هم قطع آبیاری در مراحل حساس رشدی گیاه شد. سید شریفی (Seyed Sharifi, 2016) گزارش کرد که کاربرد کودهای زیستی در سویا موجب افزایش محتوای روغن شد و علت را به افزایش توان تثبیت نیتروژن، افزایش تعداد و وزن گره‌ها نسبت داد. Luis و همکاران (۲۰۱۳) افزایش درصد روغن سویا و نسبت بالای اسیدهای چرب غیر اشباع به اسیدهای چرب اشباع را در کاربرد کودهای زیستی به نقش این کودها در بهبود گره زایی و گسترش رشد اندام‌های هوایی و ریشه نسبت دادند. از آنجایی که آزمایش‌هایی در خصوص تأثیر کودهای زیستی (میکوریزا و ازتوباکتر) و قطع آبیاری بر عملکرد کمی و کیفی، محتوای پرولین و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آفتابگردان در منطقه انجام نشده است، در این راستا این بررسی با هدف کاهش یا تعدیل اثر قطع آبیاری بر عملکرد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی آفتابگردان با کاربرد میکوریزا و ازتوباکتر اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در بهار سال ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشکاه محقق اردبیلی با مختصات



شکل ۱- متوسط دما و میزان بارندگی ماهانه منطقه مورد آزمایش طی فصل رشد (بر گرفته از سایت رسمی هواشناسی اردبیل).
 میانگین حداکثر دما (درجه سانتی گراد) میانگین بارندگی ماهانه (میلی متر) میانگین حداقل دما (درجه سانتی گراد) میانگین ماهانه دما (درجه سانتی گراد)

نشده استفاده گردید. قارچ *G. mosseae* از شرکت زیست فناوران توران تهیه و تلقیح با قارچ به روش استاندارد و توصیه شده Gianinazzi و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. در مرحله ۴ تا ۵ برگی، گیاهچه‌ها بر اساس تراکم مطلوب و توصیه شده (پنج بوته در متر مربع) تنک شدند. برای تلقیح ۸۰ گرم بذر با ازتوباکتر، میزان هفت گرم مایه تلقیح که هر گرم آن دارای ۱۰^۷ عدد باکتری زنده و فعال است، استفاده شد. همچنین از محلول صمغ عربی به نسبت ۱۵ درصد وزنی-حجمی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده گردید. تمامی بذرها به مدت دو ساعت به منظور تماس بهتر بذر با باکتری در مایه تلقیح در شرایط تاریکی قرار داده شدند (Seyed Sharifi and Khavazi, 2011). صفات مورد بررسی شامل اندازه‌گیری محتوای پرولین و قندهای محلول، شاخص سبزینگی برگ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، عملکرد کمی و کیفی دانه بود. اندازه‌گیری محتوای پرولین به روش بیتز و همکاران (Bates et al, 1973)، قندهای محلول با روش Dubois و همکاران (۱۹۵۶) و برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز از روش سودهکار و همکاران (Sudhakar et al., 2001) استفاده شد. اندازه‌گیری روغن با روش سوکسله و با کمک حلال آلی متانول-کلروفرم انجام شد

جغرافیایی ۴۸° و ۳۰' طول شرقی و ۳۸° و ۱۵' عرض شمالی با ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل کاربرد کودهای زیستی در چهار سطح (میکوریز از نوع *G.mosseae*، ازتوباکتر کروکوکوم استرین ۵، کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر، شاهد یا عدم استفاده از کودهای زیستی)، و سه سطح آبیاری (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی به عنوان محدودیت شدید آبی و قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد پر شدن دانه به عنوان محدودیت ملایم آبی) بود. هر واحد آزمایشی شامل پنج ردیف چهار متری با فاصله بین ردیفی ۵۰ سانتیمتر بود. بین هر واحد آزمایشی دو ردیف نکاشت به منظور جلوگیری از اثر آبیاری به کرت‌های مجاور قرار داده شد. رقم آفتابگردان مورد استفاده از نوع روغنی و رقم یوروفلور بود. کاشت در بهار به محض مساعد شدن شرایط اقلیمی (چهارم اردیبهشت ماه) با دست در عمق ۴ تا ۵ سانتیمتری و به صورت هیرم‌کاری انجام شد. متوسط دما و میزان بارندگی منطقه در طول فصل رشد در شکل ۱ و نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ آورده شده است. به‌منظور افزایش همزیستی میکوریزی از بذور ضد عفونی

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک محل آزمایش

ویژگی	عصاره اشباع	آهک	بافت	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب
مقدار	درصد	درصد	سیلتی لومی	درصد	میلی گرم در کیلوگرم	میلی گرم در کیلوگرم	میلی گرم در کیلوگرم
۴۷	۱۸/۰۶	۰/۱۶	۰/۱۱	۲۰	۶۶۲		

(Joshi *et al.*, 1998). بعد از اعمال تنش در حداقل سه بوته از خطوط اصلی هر کرت با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای و بر روی جوان‌ترین و کامل‌ترین برگ در هر کرت، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (FV/FM) و شاخص سبزیگی برگ به ترتیب به وسیله دستگاه فلورومتر (fluorometerchlorophyll، آپتی‌ساینسس آمریکا) و دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502، مینولتای ژاپن) اندازه‌گیری شد (Seyed Sharifi *et al.*, 2016). عملکرد دانه با برداشت از سطحی معادل یک متر مربع از خطوط اصلی هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه‌ای برآورد گردید. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزارهای SAS و Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی بر محتوای کلروفیل، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، محتوای پرولین و قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و عملکرد کمی و کیفی در سطح احتمال یک درصد و اثر برهم کنش این دو عامل بر حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، محتوای پرولین، عملکرد دانه و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد و بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال پنج درصد معنی دار گردید (جدول ۲).

شاخص کلروفیل: نتایج نشان داد با افزایش محدودیت آبی شاخص سبزیگی برگ‌ها کاهش یافت. ولی کاربرد

میکوریز و باکتری‌های محرک رشد، موجب بهبود شاخص کلروفیل شد (جدول ۳). طوری‌که حداکثر این شاخص در کاربرد توأم از توپاکتر و میکوریز و حداقل آن در حالت عدم کاربرد کودهای بیولوژیک به دست آمد (جدول ۳). روند مشابهی نیز در شرایط آبیاری کامل در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و پر شدن دانه بدست آمد. طوریکه بیشترین شاخص سبزیگی در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی بدست آمد (جدول ۳). کاهش در میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول است که این رادیکال‌ها موجب پراکسیداسیون و تجزیه این رنگدانه‌ها می‌شوند (Schutz and Fangmier, 2001). به نظر می‌رسد در شرایط قطع آبیاری فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد. در این راستا بریویدان و اجلی (Brevedan and Egli, 2003) اظهار داشتند که در شرایط محدودیت آبی گیاه در طی روز با بسته نگاه داشتن روزه‌ها، سعی در حفظ محتوی آب نسبی خود دارد، در این زمان انتقال الکترون در فتوسیستم II مختل شده و در این وضعیت الکترون اضافی ناشی از فتولیز آب، موجب تولید اکسیژن فعال و خسارت به غشاء سلولی از طریق پراکسید شدن چربی‌ها، پروتئین‌ها و کاهش محتوی کلروفیل گیاه می‌گردد. Bates و همکاران (۱۹۷۳) کاهش غلظت کلروفیل را در شرایط تنش به افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز و ترکیبات فنلی نسبت دادند. نتایج برخی بررسی‌ها نیز حاکی از آن است که تنش منجر به افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند آبسبزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک کننده آنزیم کلروفیل‌لاز هستند و به این ترتیب کلروفیل تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (Orabi *et al.*, 2010).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آفتابگردان در سطوح مختلف قطع آبیاری

میانگین مربعات										
درصد روغن	عملکرد دانه	کاتالاز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	قندهای محلول	پرولین	حد اکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F _v /F _M)	شاخص کلروفیل (SPAD)	درجه آزادی	منابع تغییر
۴/۷۲	۲۴۷۶۹۶**	۱۲۶۵/۷۱**	۳۳۹۴/۶۶**	۱۷۲۴۳**	۴۲۷۴**	۲۰۵/۳۶**	۰/۱۸۸۳**	۱۸۲۰/۹۹**	۲	تکرار
۸۴/۰۱**	۲۲۳۱۹۲۲**	۵۷۵/۳۱**	۳۰۶۵/۷۹**	۱۱۶۰۴**	۲۵۸۳**	۱۲۸/۷۵**	۰/۲۴۴**	۶۵۰/۴۷**	۲	۴۱
۱۹/۲۹**	۴۱۸۷۵۸**	۹۶/۴۶**	۸۸۲/۸۷**	۳۶۳۱**	۵۴۳**	۲۷/۳۲**	۰/۰۲۲۶**	۲۲۳/۴۴**	۳	۲
۱/۳۴ ^{ns}	۴۶۸۰۰**	۹/۹۱*	۴۸/۷۳*	۲۱۴**	۱۳/۵۳ ^{ns}	۴/۶۳**	۰/۰۰۳۳**	۱۰/۹ ^{ns}	۶	۳
۴/۳۳	۱۲۲۵۲	۳/۰۹	۲۳/۶	۹۲/۰۹	۱۷/۹	۰/۱۸۳	۰/۰۰۱۵	۵/۲۹	۲۲	خطا
۵/۱۳	۹/۳۵	۵/۶۳	۸/۴۶	۹/۶	۶/۵	۷/۲۴	۹/۰۶	۵/۴۷		ضریب تغییرات

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

۱- محدودیت آبی، ۲- کودهای زیستی، ۳- کودهای زیستی در سطوح قطع آبیاری

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آفتابگردان در تیمارهای کودهای زیستی و سطوح مختلف قطع آبیاری

تیمارها	درصد روغن	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	شاخص کلروفیل (SPAD)
سطوح مختلف قطع آبیاری			
قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی (تنش شدید)	۳۷/۰۷ ^c	۸۰/۹۸ ^a	۳۴/۶۷ ^c
قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد پر شدن دانه (تنش ملایم)	۴۰/۲۳ ^b	۶۲/۴۶ ^b	۴۲/۰۳ ^b
آبیاری کامل	۴۳/۳۳ ^a	۵۲/۰۱ ^c	۴۹/۴ ^a
LSD 5%	۱/۷۶	۳/۵۸	۱/۹۴
سطوح کودهای زیستی			
بدون تلقیح	۳۸/۷ ^b	۵۴/۴۶ ^c	۳۶/۷۳ ^d
تلقیح با ازتوباکتر	۴۰/۶۶ ^{ab}	۶۴/۹۱۷ ^b	۳۹/۲۶ ^c
میکوریز	۴۰/۵۴ ^{ab}	۶۸/۷۱۷ ^{ab}	۴۴/۳۳ ^b
میکوریز + ازتوباکتر	۴۲/۲۸ ^a	۷۲/۵۱ ^a	۴۷/۸۱ ^a
LSD 5%	۲/۰۳	۴/۱۳	۲/۲۵

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند.

زیستی حاوی ACC دی آمیناز، ساخت اتیلن به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد بنابراین به دلیل کاهش تجزیه کلروفیل، محتوای آن افزایش می‌یابد (Vessey, 2003). Heidari و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی در مزرعه، تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد

اثرات مفید تلقیح باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل را می‌توان به دسترسی بالاتر نیتروژن به واسطه تثبیت نیتروژن توسط کودهای زیستی و کاهش محتوای اتیلن نسبت داد. چرا که افزایش سطوح اتیلن به واسطه‌ی تنش می‌تواند منجر به پیری برگ و کاهش کلروفیل شود، ولی در حضور کودهای

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آفتابگردان در سطوح مختلف قطع آبیاری

عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	کاتالاز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم		ترکیب تیماری
					$(OD \mu g \text{ protein min}^{-1})$		
۱۶۹۶/۵ ^f	۳۶/۱ ^{de}	۶۱/۷۵ ^b	۱۳۳ ^{bcd}	۵/۸۷ ^c	۰/۲۶ ^f	بدون تلقیح	قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله گلدهی
۲۱۹۸/۱ ^{cde}	۳۹/۹ ^c	۶۳/۶۵ ^b	۱۳۹/۶۵ ^{bc}	۷/۲۲ ^b	۰/۲۶ ^f	تلقیح با ازتوباکتر	
۱۹۴۷/۱ ^{def}	۴۳/۷ ^b	۸۰/۷۵ ^a	۱۷۵/۷۵ ^a	۷/۷۸ ^{ab}	۰/۳۰ ^e	میکوریز	
۱۹۲۲/۲ ^{ef}	۴۸/۴۵ ^a	۸۳/۶ ^a	۱۸۷/۱۵ ^a	۸/۳۳ ^a	۰/۳۲ ^e	میکوریز + ازتوباکتر	
۱۸۵۸/۷ ^{ef}	۳۲/۳ ^{gf}	۴۷/۵ ^c	۱۱۷/۸ ^d	۴/۸۹ ^{de}	۰/۳۳ ^e	بدون تلقیح	قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله پر شدن دانه
۲۴۹۷ ^{bc}	۳۳/۷ ^{efg}	۵۸۲/۲۵ ^c	۱۲۵/۴ ^{cd}	۵/۵۵ ^{cd}	۰/۳۹ ^d	تلقیح با ازتوباکتر	
۲۱۹۶/۹ ^{cde}	۳۵/۱۵ ^{efi}	۶۰/۸ ^b	۱۳۸/۷ ^{bc}	۶/۰۳ ^c	۰/۴۶ ^c	میکوریز	
۲۲۹۶ ^{cd}	۳۸/۴۷ ^{cd}	۷۶ ^a	۱۴۷/۲۵ ^b	۷/۲۷ ^b	۰/۴۷ ^c	میکوریز + ازتوباکتر	
۲۵۵۳/۱ ^{bc}	۲۵/۶۵ ⁱ	۳۴/۲ ^d	۷۷/۹ ^f	۴/۱۴ ^f	۰/۵۱ ^{bc}	بدون تلقیح	آبیاری کامل
۲۹۹۳/۸ ^a	۲۸/۰۲ ^{hi}	۳۶/۱ ^d	۸۵/۵ ^{ef}	۴/۳۵ ^{ef}	۰/۵۵ ^b	تلقیح با ازتوباکتر	
۲۸۵۲/۳ ^{ab}	۲۸/۶۹ ^{hi}	۴۴/۶۵ ^c	۹۶/۹ ^e	۴/۹۷ ^{de}	۰/۵۵ ^b	میکوریز	
۲۷۴۳/۵ ^{ab}	۳۰/۴ ^{gh}	۴۷/۵ ^c	۱۲۷/۳ ^{cd}	۴/۵ ^{ef}	۰/۶۴ ^a	میکوریز + ازتوباکتر	
۳۶۶/۳۲	۳/۳۴۴	۸/۲۲	۱۶/۲۵	۰/۷۲۵	۰/۰۶۵	LSD5%	

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند.

نشده است (Sperdoui and Moustakas, 2012). بخشی از کاهش F_v/F_m در شرایط تنش علاوه بر وقوع آشفستگی در کلروپلاست، می‌تواند ناشی از کاهش شاخص کلروفیل در این شرایط باشد. زیرا فلورسانس کلروفیل به‌طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در مرکز واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط داشته و می‌تواند از آن به عنوان معیاری برای اندازه‌گیری کارایی فتوسنتز استفاده نمود (Maxwell and Johnson, 2000). Shahbazi و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی نسبت F_v/F_m گندم در شرایط تنش خشکی آخر فصل گزارش دادند که این پارامتر رابطه مثبتی با تحمل به تنش خشکی دارد و از آن به عنوان یک معیار مکمل در انتخاب برای تحمل به تنش کم‌آبی نام برد. به نظر می‌رسد در تیمارهایی که نسبت F_v/F_m کمتر است، دستگاه فتوسنتزی در آن‌ها به خشکی حساس‌تر است و احتمال داده می‌شود که تنش کم‌آبی با اختلال در انتقال الکترون در واکنش مربوط به تجزیه

میزان کلروفیل را افزایش داد. Sannazzaro و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز گونه *Glomus intraradices* میزان کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح داشتند.

حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II: کارایی

فتوسنتزی (F_v/F_m) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی به شدت کاهش یافت. در تمامی تیمارهای مورد بررسی، حداکثر میزان F_v/F_m (۰/۶۴) در کاربرد توأم کودهای زیستی (ازتوباکتر و میکوریز) در شرایط آبیاری کامل و حداقل آن (۰/۲۶) در ترکیب تیماری عدم کاربرد کودهای زیستی و در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی بود که از اختلاف ۱۴۶ درصدی نسبت به یکدیگر برخوردار بودند (جدول ۴). گزارش‌ها در مورد اثر محدودیت آبی بر عملکرد PSII متناقض هستند، و مکان دقیق و مکانیسم‌هایی برای تخریب PSII هنوز روشن

تحمل گیاه در برابر تنش افزایش می‌یابد. تصور بر این است که پرولین تجمع یافته تحت تنش‌های محیطی، واکنش‌های بیوشیمیایی را محدود نمی‌کند و طی تنش اسمزی نقش یک محافظ اسمزی را ایفا می‌کند (Cicek and Cakirlar, 2002) و موجب بهبود جذب آب از خاک خشک می‌شود (Oraki *et al.*, 2012) علاوه بر این، پرولین از طریق افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت ماکرومولکول‌ها (پروتئین‌ها و غشاها) و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد موجب افزایش تحمل به خشکی در گیاهان می‌شود (Rahnama and Ebrahimzadeh, 2004).

قندهای محلول دسته دیگری از محافظت کننده‌های اسمزی هستند که تجمع آنها در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی با تنظیم اسمزی و یا حفاظت غشاهای سلولی مرتبط می‌باشد (Kerepesi, 1998) و شدت تجمع به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع گیاه، سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌های بستگی دارد (Bajji *et al.*, 2001). افزایش تولید پرولین و قندهای محلول در تیمارهای تلقیح نسبت به شاهد، ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی بخصوص نیتروژن می‌باشد (هادی و همکاران ۱۳۹۵) که در تلقیح توأم میکوریز و ازتوباکتر به دلیل اثر سینرژیستی، میزان این نسبت به حالت انفرادی بیشتر بود. میزان تولید پرولین با تولید قندهای محلول ارتباط دارد. زیرا یکی از مسیرهای تولید پرولین گلوتامات می‌باشد و ممکن است با افزایش تولید قندهای محلول میزان تولید گلوتامات افزایش یافته و سنتز پرولین تشدید شود. در این راستا هادی و همکاران (۱۳۹۵) نیز تشدید بیوسنتز اسیدآمینو پرولین را با تأمین متابولیت α گلو تارات توسط قندها مرتبط دانسته‌اند. Kheirizadeh و همکاران (۲۰۱۶) نیز اظهار داشتند که حضور کودهای زیستی در شرایط تنش، به دلیل تخریب پروتئین‌ها موجب انباشت پرولین و قندهای محلول در جهت تنظیم اسمزی گیاه می‌شود.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز: محدودیت آبی به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را نسبت به آبیاری کامل

آب به بروز این پدیده کمک کرده و موجب کاهش کارایی کوانتومی فتوسنتز خالص می‌گردد. در این بررسی به نظر می‌رسد بخشی از افزایش در کارایی فتوسنتزی ناشی از بهبود محتوای کلروفیل گیاه (جدول ۳) به علت کاربرد کودهای زیستی باشد. طوریکه محتوای کلروفیل در شرایط کاربرد کودهای زیستی در مقایسه با عدم مصرف این کودها از افزایش ۳۰/۱۶ درصدی برخوردار بود.

محتوای پرولین و قندهای محلول: نتایج نشان داد که محتوای پرولین و قندهای محلول به طور معنی‌داری در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و پر شدن دانه نسبت به آبیاری کامل افزایش یافت (جدول ۳). کاربرد ازتوباکتر، میکوریز و اثر توأم این دو کود بیولوژیک با هم در شرایط تنش موجب افزایش میزان پرولین شد (جدول ۴). در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر به ترتیب موجب افزایش ۱۰۱ درصدی در محتوای پرولین نسبت به آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای بیولوژیک گردید (جدول ۴). بیش‌ترین میزان قندهای محلول (۸۰/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله گلدهی و کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد به میزان ۷۲/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد. کم‌ترین میزان قندهای محلول (۵۴/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای زیستی به میزان ۵۲/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (جدول ۴). در پاسخ به تنش‌های مختلف، گیاهان مقادیر زیادی از انواع مختلف محلول‌های سازگار را در اندام‌های خود جمع می‌کنند. این املاح ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین و بسیار محلول هستند که گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی به وسیله تنظیم اسمزی، سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال، محافظت از پایداری غشا و محافظت از ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها حفاظت می‌کنند (Cattivelli *et al.*, 2008; Farooq *et al.*, 2009) و تجمع آن در شرایط تنش توسط Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش شده است. با تجمع پرولین به عنوان اسمولیت غیرسمی، پتانسیل اسمزی واکوئل‌ها کاهش می‌یابد و

در چنین محیط‌های زنده بمانند. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند قارچ‌های میکوریز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند و از گیاهان در برابر گونه‌های اکسیژنی فعال که در شرایط تنش تولید می‌شوند محافظت می‌کنند (Khalafallah and Abo-Gamalero *et al*, 2009). (Ghalia, 2008).

محتوای روغن: قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی

موجب کاهش ۱۶/۸ درصدی روغن در مقایسه با آبیاری کامل شد. طوریکه بیشترین درصد روغن (۴۳/۳۳ درصد) در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن (۳۷/۰۷ درصد) در قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله گلدهی بدست آمد (جدول ۳). کاربرد توأم کودهای زیستی نیز به افزایش ۹/۲۷ درصدی روغن در مقایسه با عدم کاربرد کودهای زیستی منجر شد. بررسی‌های اکبری و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که در بذره‌های تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد درصد روغن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. شهااتا و ال خواز (Shehata and EL-Khawas, 2003) افزایش معنی‌دار درصد روغن آفتابگردان را با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گزارش نمودند. شوکت و همکاران (Shaukat *et al*, 2006) افزایش درصد روغن در اثر تلقیح سویه‌های مختلف باکتری نسبت به شاهد را بین ۰/۲۷ تا ۱۸ درصد گزارش کردند که به ترتیب به سویه‌هایی از باکتری سودوموناس و ازتوباکتر مربوط می‌شد. بررسی‌های سلیمانزاده و همکاران (Soleimanzadeh *et al*, 2010) نشان داد که عملکرد روغن در اثر ازتوباکتر به صورت معنی‌داری افزایش یافت. به طوریکه بذور تلقیح شده با ازتوباکتر نسبت به بذور تلقیح نشده دارای ۷ درصد عملکرد روغن بیشتری بودند. کاهش درصد روغن در اثر تنش خشکی می‌تواند به علت اختلال در فرآیندهای متابولیکی بذر و آسیب به انتقال آسمیلات‌ها به دانه باشد زیرا تنش خشکی در مراحل نهایی رشد گیاه به دلیل تسریع در رسیدگی، درصد روغن را کاهش ولی محتوای پروتئین را افزایش می‌دهد. در چنین شرایطی فرصت کافی برای سنتز روغن از پروتئین‌های ذخیره شده در دانه وجود نداشته و از این رو درصد روغن کاهش می‌یابد

افزایش داد. نتایج نشان داد بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۴۸/۴۵) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)، پلی‌فنل اکسیداز (۸۳/۶) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) و پراکسیداز (۱۸۷/۱۵) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) به ترتیب در قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله گلدهی و کاربرد توأم ازتوباکتر و میکوریز به دست آمد (جدول ۴). کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۵/۶۵) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)، پلی‌فنل اکسیداز (۳۴/۲) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) و پراکسیداز (۷۷/۹) تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) به ترتیب در آبیاری کامل و عدم کاربرد میکوریز و ازتوباکتر مشاهده گردید (جدول ۴). به نظر می‌رسد زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های مختلف محیطی قرار می‌گیرند تعدادی از گونه‌های اکسیژنی فعال مانند سوپراکسیداز، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن تک‌تکی تولید می‌کنند. این گونه‌های اکسیژنی فعال موجب آسیب‌هایی مانند تخریب چربی‌ها، تجزیه کلروفیل، تخریب ساختار پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Moller *et al*, 2007). احمد و پراساد (Ahmad and Prasad, 2012) گزارش کردند که وقتی گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نقش مهمی را در کاهش اثرات مخرب تنش‌های اکسیداتیو، سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژنی و افزایش توان تحملی گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی ایفا کند.

تلقیح با ازتوباکتر و میکوریز و نیز کاربرد توأم این کودهای بیولوژیک در شرایط محدودیت آبی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز گردید. نتایج نشان داد کاربرد توأم ازتوباکتر و میکوریز به ترتیب باعث افزایش ۲۴/۷۴، ۴۴/۳۸ و ۴۰/۴۷ درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز نسبت به عدم کاربرد آنها گردید (جدول ۴). Ma و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که کاربرد کودهای بیولوژیک می‌تواند موجب بهبود تحمل گیاهان به خشکی و شوری شود و به گیاهان این امکان را می‌دهند تا

(سید شریفی، ۱۳۹۴).

(Ebrahimzadeh, 2004). طوریکه نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و پر شدن دانه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و انواع مختلف اسمولیت‌های سازگار مانند قندهای محلول و پرولین افزایش یافت (جدول ۴). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در تیمارهای حاوی کودهای زیستی (میکوریز و ازتوباکتر) برای خنثی کردن و پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده ناشی از قطع آبیاری می‌تواند به عنوان یک مکانیسم در تعدیل یا بهبود اثر تنش باشد (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016). Bor و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا افزایش یافت و موجب حفاظت گیاه در برابر خشکی شد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که گیاه در مواجهه با تنش خشکی سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش سنتز اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و قندهای محلول انجام می‌دهد که به حفظ فشار و تورژسانس سلول‌های گیاه کمک می‌کند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضور کودهای زیستی می‌تواند تا حد زیادی اثرات مخرب ناشی از تنش را در کاهش عملکرد تعدیل نماید. طوریکه حضور کودهای زیستی هم در شرایط آبیاری کامل و هم در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و پر شدن دانه منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. سنتز بیشتر چنین آنزیم‌هایی آن هم در شرایط تنش می‌تواند از افت بیشتر عملکرد جلوگیری نماید. به نظر می‌رسد بخشی از افزایش عملکرد دانه در شرایط قطع آبیاری و کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به افزایش محتوای کلروفیل، بهبود کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم دو و بخشی دیگر را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و پراکسیداز یا بهبود مکانیسم‌های دفاعی نسبت داد. از این رو کاربرد توأم میکوریزا و ازتوباکتر می‌تواند برای بهبود عملکرد آفتابگردان تحت شرایط قطع آبیاری در مراحل زایشی توصیه شود.

عملکرد دانه: قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله گلدهی و

پر شدن دانه موجب کاهش عملکرد دانه و پیش تیمار بذر با کودهای زیستی موجب افزایش آن شد. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری کاربرد کودهای زیستی و سطوح مختلف آبیاری حاکی از آن است که بیشترین عملکرد دانه (۲۹۹۳/۸ کیلوگرم در هکتار) در پیش تیمار بذر با ازتوباکتر و در شرایط آبیاری کامل بدست آمد. البته بین این ترکیب تیماری با ترکیب‌های تیماری آبیاری کامل در شرایط کاربرد میکوریز، آبیاری کامل در کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود نداشت (جدول ۴). به بیانی دیگر آبیاری کامل در کاربرد ازتوباکتر در مقایسه با عدم کاربرد آن در همین سطح از سطوح آبیاری منجر به افزایش ۱۷/۲۶ درصدی عملکرد دانه شد (جدول ۴). در این راستا روستی و همکاران (Roesty *et al.*, 2006) علت افزایش عملکرد توسط باکتری‌های محرک رشد را به نقش مثبت این باکتری‌ها در تنظیم و تولید هورمون‌های محرک رشد، افزایش جمعیت‌های میکروبی در خاک یا ریزوسفر نسبت دادند که به وسیله ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل دسترس ساختن آن، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و بهبود جذب مواد غذایی، در نهایت موجب افزایش عملکرد می‌شوند. نتایج بررسی‌های اکبری و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که عملکرد دانه بذور تلقیح شده آفتابگردان با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد نسبت به عملکرد بذور بدون تلقیح ۹ درصد افزایش داشت. بخشی از بهبود عملکرد به واسطه کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به نقش این کودها در تولید و تجمع برخی اسمولیت‌های غیرسمی مانند پرولین نسبت داد که تجمع آن در شرایط تنش، نقش یک محافظ اسمزی را ایفا می‌کند (Çiçek and Çakırlar, 2002) و موجب بهبود جذب بهتر آب از خاک خشک می‌شود (Oraki *et al.*, 2012). علاوه بر پرولین، افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نیز به واسطه کاربرد کودهای زیستی می‌تواند یکی دیگر از دلایل بهبود عملکرد و افزایش تحمل گیاه تلقی شود (Rahnama and

منابع

- اکبری، پ.، قلاوند، ا.، مدرس ثانوی، س.ع.م. (۱۳۸۸) اثرات سیستم‌های مختلف تغذیه و باکتری‌های افزایشنده رشد بر فنولوژی، عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۲: ۱۳۴-۱۱۹.
- سید شریفی، ر. (۱۳۹۴) زراعت دانه‌های روغنی. انتشارات جهاد دانشگاهی اردبیل ۲۳۲ صفحه.
- هادی، ه.، سیدشرفی، ر. و نامور، ع. (۱۳۹۵) محافظ‌های گیاهی و تنش‌های غیر زیستی. انتشارات دانشگاه ارومیه ۳۴۱ صفحه.
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. (2012) Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability. Springer, New York Dordrecht Heidelberg London.
- Al-Karaki, G. N. (2000) Growth of plant mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza 10: 51-54.
- Al-Karaki, G. N., McMichael, B. and Zak, J. (2004) Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. Mycorrhiza 14: 263-269.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.
- Ashraf, M. and Harris, P. (2004) Potential biochemical indicators of salt tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.
- Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J. M. (2001) Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science 160: 669-681.
- Bates, L., Waldren, S. R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39:205-207.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany 91: 179-194
- Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science 164: 77-84.
- Brevedan, R. E. and Egli, D. B. (2003) Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. Crop Science 43: 2083-2088.
- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F. W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Francia, E., Mare, C., Tondelliand, A. and Stanca, M. (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. Field Crops Research 105: 1-14.
- Cicek, N. and Cakirlar, H. (2002) The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgarian Journal of Plant Physiology 28: 66-74.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, I. K., Rcbers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.
- Elliott, L. F. and Wildung, R. E. (1992) What biotechnology means for soil and water conservation? Journal of Soil Water Conservation 47: 17-20.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185-212.
- Gamalero, E., Berta, G. and Glick, B. R. (2009) The use of microorganisms to facilitate the growth of plants in saline soils. In: Microbial Strategies For Crop Improvement. (eds. Khan, MS., Zaidi, A., Musarrat, J.) Pp. 1-22. Springer, Dordrecht Heidelberg, London.
- Gianinazzi, S., Schuepp, H., Barea, J. M. and Haselwandter, K. (2001) Mycorrhizal technology in agriculture: from genes to bioproducts. Birkhauser, Basel. ISBN: 376436858. Also in: Mycorrhiza, 13: 53-54. Lovato, P. Book review.
- Giri, B. and Mukerji, K. G. (2004) Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field condition: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza 14: 307-312.
- Gusain, Y. S., Singh, U. S. and Sharma, A. K. (2015) Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology 14: 764-773.
- Heidari, M. and Golpayegani, A. (2011) Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 23: 1-5.
- Joshi, N. L., Mali, P. C. and Sexena, A. (1998) Effect of nitrogen and sulphur application on yield and fatty acid composition of mustard (*Brassica juncea* L.). Journal of Agronomy and Crop Science 180: 59-63.
- Kerepesi, I. (1998) Osmotic and salt stresses induced differential alternation in water-soluble carbohydrate content in wheat seedling. Journal of Agricultural and Food Chemistry 5347-5354.
- Khalafallah, A. A. and Abo-Ghalia, H. H. (2008) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and

- activity of antioxidant system in wheat plants subjected to short-term water stress, followed by recovery at different growth stages. *Journal of Applied Sciences Research* 4: 559–569.
- Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghe, M. and Barmaki, M. (2016) Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in *Triticale* under salinity condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 44: 116-124.
- Kheirizadeh Arough, Y. and Seyed Sharifi, R. (2016) Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of *Triticale* under water-limitation condition. *Journal of Plant Interactions* 11: 167–177.
- Luis, R., Silva, M. J., Pereira, J., Encarna, V., Gonzalez-Andres, F., Andrade, B. (2013) Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* enhances the organic and fatty acids content of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds. *Food Chemistry* 141: 3636–3648
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M. and Freitas, H. (2011) Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances* 29: 248-258.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide, *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Moller, I. M., Jensen, P. E. and Hansson, A. (2007) Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology* 58: 459-481.
- Orabi, S. A., Salman, S. R. and Shalaby, A. F. (2010) Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences* 6: 252- 259.
- Oraki, H., Parhizkar Khanjani, F. and Aghaalikhna, M. (2012) Effect of water deficit stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. *African Journal of Biotechnology* 11: 164-168.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. (2004) The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. *Physiologiae Plantarum* 26: 263-270.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Roesty, D., Gaur R. and Johri, B. N. (2006) Plant growth stage, fertilizer management and bio-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1111-1120.
- Sannazzaro, A. I., Alberto, E., Ruiz, O. A. and Menendez, B. (2005) Influence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the saline stress physiology of *Lotus glaber*. *Lotus Newsletter* 35: 29-30.
- Schutz, H. and Fangmier, E. (2001) Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution* 114: 187-194.
- Seyed Sharifi, R., Khalilzadeh, R. and Jalilian, J. (2016) Effects of biofertilizers and cycocel on some physiological and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Archive of Agronomy and Soil Science* 63: 308-317.
- Seyed Sharifi, R. and Khavazi, K. (2011) Effects of seed priming with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield and yield attributes of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Journal of Food Agriculture and Environment* 9: 496-500.
- Seyed Sharifi, R. (2016) Application of biofertilizers and zinc increases yield, nodulation and unsaturated fatty acids of soybean. *Zemdirbyste-Agriculture* 103: 251–258
- Shahbazi, H., Bihamta, M. R., Taeb, M. and Darvish, F. (2009) Chlorophyll fluorescence attribute inheritance and correlation with terminal drought stress in wheat. *Journal of Agriculture Sciences* 3: 53-65.
- Shaukat, K., Affrasayab, S. and Hasnain, S. (2006) Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. *Journal of Agriculture Reseach* 1: 573-581.
- Shehata, M. and EL-Khawas, S. A. (2003) Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower yield. *Pakistan Journal of Biological Science* 6: 1257-1268.
- Singh, T. and Purohit, S. S. (2011) Biofertilizers technology. agrobios (India). ISBN. 13: 978-81-7754-382-7.
- Soleimanzadeh, H., Habibi, D., Ardakani, M. R., Paknejad, F. and Rejali, F. (2010) Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) to Inoculation with Azotobacter under different nitrogen levels. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Science* 7: 265-268.
- Sperdouli, I. and Moustakas, M. (2012) Spatio-temporal heterogeneity in *Arabidopsis thaliana* leaves under drought stress. *Plant Biology* 14: 118-128.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara Kumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 167:613-619.
- Vessey, J. K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil* 225: 571-586.
- Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C. and Wong, M. H. (2005) Effects of bio fertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.