به‌زراعی کشاورزی

دوره ۲۲ ■ شماره ٤ ■ زمستان ۱۳۹۹

صفحه‌های ۵۲۹-۵۱۳

مقاله پژوهشی:

تأثیر کودهای زیستی و پوترسین بر بیوماس، گره‌زایی و برخی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم

رئوف سید شریفی[1*]، رضا سید شریفی[2]، حامد نریمانی[3]

۱. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۳. دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۱/۲۲

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی و پوترسین بر بیوماس، گره‌زایی و برخی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم، آزمایشی در سال ۱۳۹۸ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای موردبررسی شامل کودهای زیستی (عدم کاربرد کودهای زیستی به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم (*Rhizobium legominuzarum*)، کاربرد میکوریز (*Glomus mosseae*)، کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم، ریزوبیوم و ازتوباکتر (*Azotobacter chrocoocom strain 5*)، میکوریز و ازتوباکتر، ریزوبیوم با ازتوباکتر و میکوریز] و محلول‌پاشی پوترسین در سه سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار پوترسین) بودند. نتایج نشان داد کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین وزن ریشه، سهم برگ از بیوماس کل، قندهای محلول برگ و ساقه و بیوماس کل را به‌ترتیب ۱۳۳/۳۳، ٤/٥، ۳۱/۹٤، ٤۱/۸۲ و ٥٦/۹٤ درصد نسبت به عدم کاربرد کودهای زیستی و عدم محلول‌پاشی با پوترسین افزایش داد. هم‌چنین کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین هدایت الکتریکی و میزان مالون‌دی‌آلدئید را به‌ترتیب ۹۹ و ۱۲۵/۳۹ درصد در مقایسه با عدم کاربرد کودهای زیستی و عدم محلول‌پاشی با پوترسین کاهش داد. به‌نظر می‌رسد کاربرد کودهای زیستی و محلول‌پاشی پوترسین می‌تواند بیوماس کل ماشک گل‌خوشه‌ای تحت شرایط دیم را به‌واسطه بهبود صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی افزایش دهد.

کلیدواژه‌ها: ازتوباکتر، بیوماس کل، ریزوبیوم، کودهای بیولوژیک، مالون‌دی‌آلدئید، هدایت الکتریکی.

Effect of Bio-fertilizers and Putrescine on Biomass, Nodulation, and some Morphological and Biochemical Traits of Vetch (*Vicia villosa*) under Rainfed Condition

Raouf Seyed Sharifi[1*], Reza Seyed Sharifi[2], Hamed Narimani[3]

1. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2. Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

3. Ph.D. Candidate, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Received: December 15, 2019 Accepted: February 11, 2020

Abstract

In order to study the effect of bio-fertilizers and putrescine on biomass, nodulation, and some morphological and biochemical traits of vetch (*vicia villosa*) under rainfed conditions, a factorial experiment has been conducted based on randomized complete block design with three replications in research farm of University of Mohaghegh Ardabili within 2018-2019. The studied factors include bio-fertilizers (without bio-fertilizers as control, application of *Rhizobium* (*Rhizobium legominuzarum*), *Mycorrhiza* (*Glomus mosseae*), both application of *Mycorrhiza* and *Rhizobium*, *Rhizobium* and *Azotobacter* (*Azotobacter chrocoocom strain 5*), *Mycorrhiza* and *Azotobacter*, *Rhizobium* with *Mycorrhiza*, and *Azotobacter*) as well as foliar application of putrescine in three levels (foliar application with water as the control, application of 0.5 and 1 mM putrescine). Results show that both application of *Azotobacter* with *Mycorrhiza* and *Rhizobium* and foliar application of 1 mM putrescine increase root weight, leaf share from total biomass, soluble sugars of leaf and stem, and total biomass by 133.33%, 4.5%, 31.94%, 41.82%, and 56.94%, respectively, in comparison with no application of bio-fertilizers and putrescine. Also, application of *Azotobacter* with *Mycorrhiza* and *Rhizobium* and foliar application of 1 mM putrescine decrease electrical conductivity and malondialdehyde by 99% and 125.39%, respectively, in comparison with no application of bio-fertilizers and putrescine. It seems that application of bio-fertilizers and foliar application of putrescine can boost total biomass of *vica villosa* under rainfed condition as it improves both biochemical and morphological traits.

Keywords: *Azotobacter*, biofertilizers, electrical conductivity, malondialdehyde, *rhizobium*, total biomass.

* نویسنده مسئول Email: raouf_ssharifi@uma.ac.ir

۱. مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت و عدم توانایی مراتع در برآورد نیاز غذایی دام‌ها موجب شده است که به کشت گیاهان علوفه‌ای بیش از پیش توجه گردد. در این راستا ماشک گل‌خوشه‌ای (*Vicia villosa*) با دارابودن ویژگی‌هایی مانند رشد مناسب در خاک‌های کم‌توقع، توانایی تثبیت زیستی نیتروژن، برخورداری از ارزش غذایی برابر با یونجه و عدم ایجاد نفخ در دام‌ها برخلاف یونجه (Kurdali *et al.*, 1996)، از اهمیت خاصی در بین گیاهان علوفه‌ای برخوردار است.

یکی از دلایل اصلی کاهش رشد و عملکرد گیاهان در بیش‌تر مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت شرایط دیم، محدودیت آبی است که موجب تحریک و پاسخ‌های دفاعی گیاهان در سطوح مختلف مولکولی، سلولی و فیزیولوژیکی می‌شود (Ohe *et al.*, 2005). این تنش، می‌تواند منجر به اختلال در سیستم فتوسنتزی شود و در این راستا یکی از روش‌های ارزیابی سیستم فتوسنتزی، اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل است که می‌تواند تخمین مناسبی از عملکرد کوانتومی و جریان الکترون در فتوسیستم دو را نشان دهد (Reddy *et al.*, 2004).

محدودیت آبی هم‌چنین به‌دلیل تأثیر در ایجاد تنش اکسیداتیو، موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی، تجزیه کلروفیل و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Suzuki & Mittler, 2006). در این راستا گیاهان با استفاده از سازوکارهای متعددی مانند تجمع قندهای محلول و پرولین (Slama *et al.*, 2007)، ضمن کمک به حفظ ساختار غشاهای سلولی و تورژسانس سلول‌ها، در جلوگیری از تلفات آب درون سلولی و محافظت از ساختارهای سلولی با ازبین‌بردن گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش، نقش اساسی در بهبود عملکرد ایفا می‌کنند (Vinocur & Altman, 2005). علاوه بر این سازوکارهای گیاهی، کاربرد پلی‌آمین‌ها (Syed Sarfraz *et al.*, 2011) و کودهای زیستی (Yang *et al.*, 2009) نیز از جمله راه‌کارهای مناسب در تعدیل یا کاهش اثرات ناشی از محدودیت آبی در گیاهان است.

مهم‌ترین پلی‌آمین‌ها شامل اسپرمیدین (تری آمین)، اسپرمین (تترا آمین) و پیش ساز آنها پوترسین (دی آمین) است (Groppa & Benavides, 2008). پلی‌آمین‌ها از طریق جذب رادیکال‌های آزاد، ثبات و پایداری پروتئین‌ها، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی غشاها (Anjum, 2010) و کاهش تخریب کلروفیل (Shu *et al.*, 2012) می‌توانند در بهبود عملکرد گیاهان در شرایط محدودیت آبی مؤثر باشند. بررسی‌های Nayyar *et al.*, (2005) نشان داد کاربرد پوترسین و اسپرمیدین اثر سو ناشی از محدودیت آبی را در سویا و نخود کاهش و صفاتی مثل طول ریشه و ساقه را در شرایط تنش افزایش داد.

کاربرد کودهای زیستی نیز برای افزایش کارایی تثبیت بیولوژیک و تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی در گیاهان لازم است. البته این کودها (باکتری‌ها و میکوریز) به‌طور طبیعی در خاک وجود دارند ولی تعداد و تراکم آن‌ها ممکن است در خاک پایین باشد، از این رو کاربرد آنها می‌تواند جمعیت این کودها را به حد مطلوب رسانده و منجر به بروز اثر مفید آن‌ها در خاک شوند (Seyed Sharifi & Namvar, 2016). هم‌چنین این کودها قادرند با جبران میکروارگانیسم‌های ازبین‌رفته خاک (Gilick *et al.*, 2001)، بهبود عملکرد کوانتومی، افزایش تولید اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین و قندهای محلول (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016)، به‌طور مؤثری موجب تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی در گیاهان شوند. در این راستا نتایج یک بررسی نشان داد که مایه‌زنی بذر سویا با ریزوبیوم به افزایش تعداد و وزن گره در بوته نسبت به تیمارهای مایه‌زنی نشده منجر گردید

(Seyed Sharifi, 2016). میکوریزها نیز از طریق هم‌زیستی با ریشه گیاهان می‌توانند به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای با توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش دسترسی گیاهان به آب و مواد غذایی (Singh & Purohit, 2011)، سیستم دفاعی گیاه میزبان را تقویت نموده و موجب کاهش اثرات ناشی از تنش شوند (Song, 2005). Banerjee *et al.* (2006) اظهار داشتند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد با تولید مواد تنظیم‌کننده رشد و تأثیر آن بر رشد ریشه از طریق افزایش وزن و انشعابات ریشه و افزایش تارهای مویین سطح ریشه، می‌توانند موجب افزایش حجم ریشه شوند. بررسی‌های Kamaei *et al.* (2015) نشان داد که کاربرد میکوریز با آزوسپریلیوم و ازتوباکتر موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی ماشک گل خوشه‌ای شد.

عملکرد ماشک در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور تحت شرایط دیم، به دلایل مختلفی از جمله کمبود مواد آلی در خاک و ناکافی‌بودن نزولات، پایین است. در این راستا نقش کودهای زیستی و پوتریسین به‌دلیل تعدیل شرایط نامساعد محیطی ناشی از زراعت دیم در بهبود عملکرد گیاهان و بررسی‌های محدود انجام‌شده درخصوص برهمکنش توأم این عوامل، موجب شد تا تأثیر کودهای زیستی و پوترسین بر گره‌زایی، عملکرد و برخی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ماشک موردبررسی قرار گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی و پوترسین بر برخی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ماشک گل‌خوشه‌ای تحت شرایط دیم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ٤۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. محل اجرای آزمایش دارای اقلیم نیمه‌خشک و سرد است. نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول (۱) و شرایط اقلیمی منطقه مورد کشت در جدول (۲) آورده شده است.

جدول ۱. مشخصات فیزیکو شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی واقع در دانشگاه محقق اردبیلی

مشخصه	pH	عصاره اشباع	آهک (%)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	بافت	کربن آلی (%)	نیتروژن کل (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	روی (mg/kg)
مقادیر	۷/۸	٤۹	١٤/٤	۲۳	٤۲	۳۵	لومی	۰/٦۲	۰/۰٦	۸/۲۹	۲۱۲	۱۸

جدول ۲. مشخصات جوی در طول دوره رشدی ماشک گل خوشه‌ای در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸

پارامترهای اقلیمی / ماه‌های سال	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور
بارندگی	٤۰	۲۹/۵	۱۳	۰/۱	صفر	۱۸/۸
میانگین دما	۸	۱۲/٤	۱۷/٦	۱۸/۸	۱۹/۷	۱٦/۳
جمع ساعات آفتابی	۱٦۳	۲۵۸/۱	۲۸۷/۷	۳۳٦	۳۱٤/۱	۲۱۳/۲
متوسط رطوبت نسبی	۷۳	٦۳	۵۸	٦۲	٦۱	۷۱

فاکتور اول کودهای زیستی (عدم کاربرد کودهای زیستی به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم، کاربرد میکوریز، کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم، ریزوبیوم و ازتوباکتر، میکوریز و ازتوباکتر، ریزوبیوم با ازتوباکتر و میکوریز] و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی پوترسین (عدم محلول‌پاشی پوترسین به‌عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. محلول‌پاشی با پوترسین در دو مرحله در طول دوره رشد رویشی انجام شد. اولین محلول‌پاشی دو هفته بعد از کاشت و اطمینان از استقرار کامل گیاه در مزرعه و مرحله دوم محلول‌پاشی ده روز بعد از مرحله اول انجام شد. در این بررسی قارچ *Glomus mosseae* از شرکت زیست‌فناوران توران تهیه و به مقدار ۲۰ گرم قارچ در هر مترمربع خاک (۲۰۰ کیلوگرم در هر هکتار) براساس توصیه شرکت مذکور استفاده شد. تعداد اسپور زنده در هرگرم آن حدود ۱۰۰ اسپور بود. سویه خالص باکتری‌های ریزوبیوم و ازتوباکتر از مؤسسه خاک و آب تهیه شدند. ریزوبیوم مورداستفاده *Rhizobium legominuzarum* و ازتوباکتر از نوع *Azotobacter chrocoocom strain 5* بود. هر گرم از مایه تلقیح این باکتری‌ها حاوی $۱۰^{۷}$ باکتری زنده و فعال بود. از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. آزمایش در یک قطعه زمینی انجام شد که دو سال قبل از اجرا، گیاهی کشت نشده بود و در سال‌های گذشته گندم و جو کشت شده بود. در بهار به محض مساعدشدن شرایط اقلیمی و در سیزدهم اردیبهشت‌ماه، کشت به‌روش دستی انجام شد. هر واحد آزمایشی شامل پنج خط کاشت به طول ۲/۵ متر و با فاصله بین ردیفی۲۰ سانتی‌متر و فاصله بذر از هم روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر بود. در این بررسی از ماشک رقم محلی بنام لامعی استفاده شد. کنترل علف‌های هرز در طول دوره رشد به‌روش دستی انجام شد. به‌منظور تعیین اثر تیمارها بر تعداد و وزن خشک گره، در هر واحد ازمایشی تعداد سه گلدان با قطر و ارتفاع ٤٠ سانتی‌متر در خطوط اصلی هر کرت در نظر گرفته شد. تراکم کاشت در این گلدان‌ها مانند دیگر ردیف‌های کاشت مزرعه در نظر گرفته شد. در مرحله گلدهی، بوته‌های هر گلدان به‌همراه ریشه به‌طور کامل جدا شده و پس از شست‌وشوی ریشه‌ها، گره‌ها با پنس از ریشه جدا و تعداد آن‌ها تعیین شد. وزن خشک گره‌ها نیز پس از قرارگیری در آون به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۷۰ ± ۵^{o} اندازه‌گیری شد (Namvar *et al*., 2011). حجم ریشه با استفاده از حجم مشخصی از آب در استوانه مدرج اندازه-گیری شد. در مرحله گلدهی هدایت الکتریکی توسط دستگاه EC متر (مدل Mi 180 Bench Meter)، شاخص کلروفیل توسط دستگاه (SPAD-502; Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)، اندازه‌گیری محتوای قندهای محلول از روش Dubios *et al*. (1956)، محتوای پرولین از روش Bates *et al*. (1973) و محتوای مالون‌دی‌آلدئید از روش Stewart & Beweley (1980) استفاده شد. عملکرد علوفه با رعایت اثر حاشیه‌ای، از سه ردیف اصلی هر کرت از سطحی معادل ۰/٦ مترمربع برداشت شد. نمونه مورد نظر در آزمایشگاه تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۵±۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت خشک و سپس توزین گردید. دیگر یادداشت‌برداری‌های لازم شامل برآورد سهم ساقه و برگ بود که به‌طور تصادفی از ردیف‌های قابل برداشت کرت‌ها با رعایت اثر حاشیه‌ای تعداد هشت بوته انتخاب، و میانگین داده‌های حاصل به‌عنوان ارزش این صفات در تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کار گرفته شدند. برای محاسبه درصد پروتئین برگ و ساقه، درصد نیتروژن موجود در برگ و ساقه به‌روش کجلدال برآورد شده و در عدد ثابت ٦/٢٥ ضرب شد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

۳. نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ترکیب تیماری کودهای زیستی و پوترسین بر هدایت الکتریکی، درصد پروتئین برگ در سطح احتمال پنج درصد، بر شاخص کلروفیل، هدایت الکتریکی، محتوای مالون‌دی‌آلدئید و قندهای محلول برگ و ساقه، وزن ریشه، تعداد گره، و بیوماس کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). سهم ساقه فقط تحت تأثیر کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد ولی درصد پروتئین ساقه، محتوای پرولین، حجم ریشه تحت اثر اصلی کاربرد کودهای زیستی و پوترسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر کاربرد کودهای زیستی و محلول‌پاشی پوترسین بر برخی صفات بیوشیمیایی و موفولوژیکی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		هدایت الکتریکی	شاخص کلروفیل	عملکرد کوانتومی	وزن ریشه	تعداد گره	قندهای محلول برگ	قندهای محلول ساقه	محتوای پرولین
تکرار	۲	۱۶۲/۰۳**	۵۰۱۴/۸۶**	۰/۴۶**	۰/۴۵**	۳۲۰/۵۸**	۸۶۰۹/۸**	۱۴۹۰۳/۸**	۵۵/۳**
پوترسین (P)	۲	۲۷/۹۳**	۱۶۸/۸۹**	۰/۰۲۹**	۰/۰۷**	۴۰۹/۳۹**	۲۶۱/۸۲**	۷۹۱/۴۱**	۵/۳۲**
کودهای زیستی (B)	۶	۴۵/۴۱**	۲۳۴/۲۹**	۰/۰۳۷**	۰/۳۲**	۲۴۱۹/۴**	۶۲۹/۰۴**	۱۸۹۵/۳**	۱۲/۵**
B×P	۱۲	۰/۶۴*	۴/۰۴**	۰/۰۰۰۴۷**	۰/۰۰۴**	۲۳/۸۴**	۶/۱۸**	۲۳/۴۴**	۰/۰۸ns
خطا	۴۰	۰/۳۰۵	۰/۶۳	۰/۰۰۰۱۹	۰/۰۰۱۵	۷/۳۳	۰/۵	۸/۸۲	۰/۰۵
ضریب تغییرات		۴/۹۳	۸/۱۴	۸/۱۶	۵/۲۱	۱۲/۲۲	۷/۳	۶/۲۳	۷/۹۶

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ادامه جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر کاربرد کودهای زیستی و محلول‌پاشی پوترسین بر برخی صفات بیوشیمیایی و موفولوژیکی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		محتوای مالون‌دی‌آلدئید	درصد پروتئین برگ	درصد پروتئین ساقه	سهم برگ	سهم ساقه	حجم ریشه	بیوماس کل
تکرار	۲	۰/۰۰۹**	۱۱۳/۶۰**	۵۰۲/۹**	۶۲/۶۷**	۶۲/۶۷**	۹۱/۴۸**	۵۵۰۷۱/۰۳**
پوترسین (P)	۲	۰/۰۰۲**	۶/۴۵**	۷/۶۹**	۱/۱۳ns	۱/۱۳ns	۱۱/۰۷**	۶۷۲۴۲/۹**
کودهای زیستی (B)	۶	۰/۰۰۵**	۲۴/۱۲**	۳۰/۹**	۲/۴**	۲/۴**	۶۰/۸**	۱۸۴۹۶۴/۸**
B×P	۱۲	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۲۲*	۰/۰۷ns	۱/۵۹**	۰/۵۹ns	۰/۳۶ns	۲۰۲۱/۳۳**
خطا	۴۰	۰/۰۰۰۰۲	۰/۱	۰/۱۳	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۲۶	۴۸۷/۷۶
ضریب تغییرات		۴/۹۳	۹/۸۱	۹/۱۴	۸/۰۱	۱۲/۱۲	۴/۹۲	۶/۹۵

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۳. ۱. شاخص کلروفیل و عملکرد کوانتومی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقادیر شاخص کلروفیل و عملکرد کوانتومی در اثر محلول‌پاشی پوترسین و کاربرد کودهای زیستی، افزایش یافت. به‌طوری‌که حداکثر مقادیر این صفات (به‌ترتیب ٦١/٧٣ و ٠/٨٦٧) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و حداقل این مقادیر (به‌ترتیب ٤٣/٩ و ٠/٦٤١) در عدم کاربرد کودهای زیستی و عدم محلول‌پاشی پوترسین به‌دست آمد (جدول ٤). به بیانی دیگر در ترکیب تیماری محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم که شاخص کلروفیل بیش‌تر بود در همین ترکیب تیماری نیز، بیش‌ترین عملکرد کوانتومی به‌دست آمد (جدول ٤) و در ترکیب تیماری عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین که شاخص کلروفیل کم‌تر بود در همین ترکیب تیماری عملکرد کوانتومی نیز، حداقل بود.

تنش رطوبتی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی در دیم‌زارها است و به‌نظر می‌رسد این تنش با افزایش مقدار برخی هورمون‌ها مانند اتیلن و آبسیزیک اسید موجب می‌شود فعالیت کلروفیلاز به‌طور ناگهانی زیاد شده و کلروفیل تخریب شود (Loggini *et al.*, 1999).

جدول ٤. مقایسه میانگین تأثیر کاربرد کودهای زیستی و پوترسین بر برخی صفات بیوشیمیایی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم

تیمار	پروتئین برگ (%)	قندهای محلول برگ ($mg.g^{-1}FW$)	قندهای محلول ساقه ($mg.g^{-1}FW$)	شاخص کلروفیل	عملکرد کوانتومی	هدایت الکتریکی ($\mu S\ cm^{-1}$)	محتوای مالون‌دی‌آلدئید ($nmol.\ g^{-1}FW$)
$P_1 \times B_1$	٨/٩٩p	٨٣/٦٨n	١٠٩/٥٦q	٤٣/٩n	٠/٦٤١k	١٥/٤٣a	٠/١٤٢a
$P_1 \times B_2$	٩/٣op	٨٤/٣٢n	١١١/٣٥pq	٤٤/٧mn	٠/٦٤٧k	١٤/١٣b	٠/١٤٠ab
$P_1 \times B_3$	١٠/٥١jkl	٨٩/٢٦k	١١٧/٧٩no	٤٧/٥٦l	٠/٦٥٣jk	١٣/٧٣b	٠/١٣٥abc
$P_1 \times B_4$	١١/٢٥hi	٩١/٥ij	١٢٦/٣١kl	٥١/٦j	٠/٦٧٦i	١٢/٦cd	٠/١٢d
$P_1 \times B_5$	١١/٤٧gh	٩٨/٥f	١٣٢/٥ij	٥٣/٩hi	٠/٧٣٦f	١٠/٨٣efg	٠/١٠٢fgh
$P_1 \times B_6$	١٢/٣٧de	١٠٢/٦٨d	١٤٠/٤٢fg	٥٥/٥٦fg	٠/٧٩١d	٩/٩٣gh	٠/٠٩٢ij
$P_1 \times B_7$	١٣/٥b	١٠٥/٢٦c	١٤٨/٣٥bcd	٥٩/٢٦bc	٠/٨٠٣cd	٨/٩ij	٠/٠٧٤lmn
$P_2 \times B_1$	٩/٥٥no	٨٥/٧٤m	١١٢/١٤pq	٤٥/٩m	٠/٦٥٠k	١٥/٢a	٠/١٣٦abc
$P_2 \times B_2$	١٠/١٥lm	٩٠/٣٨jk	١٢٠/٦١mn	٤٩/٥k	٠/٦٧٣ij	١٣/٩b	٠/١٣١bc
$P_2 \times B_3$	١٠/٧٤ijk	٩٤/٤٧h	١٢٨/٨٨jk	٥٢/٧ij	٠/٧١٠gh	١١/٧de	٠/١١ef
$P_2 \times B_4$	١١/٨١fg	٩٥/٨٣g	١٣٧/٨gh	٥٤/٣٣gh	٠/٧٣١fg	١١/٦٦e	٠/٠٩٩ghi
$P_2 \times B_5$	١٢/٦٦de	٩٩/٧٤e	١٤٣/٤ef	٥٦/٨٣ef	٠/٧٦٣e	١٠/٣fgh	٠/٠٨٦jk
$P_2 \times B_6$	١٢/٨٥cd	١٠٤/١٨c	١٤٣/٨٩def	٥٧/٠٣de	٠/٧٩٦d	٩/٤hi	٠/٠٨١kl
$P_2 \times B_7$	١٣/٨١ab	١٠٧/٩٦b	١٥٢/٨١ab	٦٠/٥ab	٠/٨٢٧b	٨/٠٦jk	٠/٠٦٦no
$P_3 \times B_1$	٩/٩٢mn	٨٧/٣١l	١١٤/٦٧op	٤٧/٥٦l	٠/٧٠٥h	١٢/٦٦c	٠/١٢٩c
$P_3 \times B_2$	١٠/٤klm	٩٢/٥٣i	١٢٣/٧٣lm	٥٣/٥hi	٠/٧١٥fgh	١١/٧de	٠/١١٥de
$P_3 \times B_3$	١٠/٩٩hij	٩٦/٨٥g	١٣٤/٨٣hi	٥٤/٧٣gh	٠/٧٦٠e	١٠/٩٣ef	٠/١٠٦fg
$P_3 \times B_4$	١٢/٢ef	١٠٠/٨١e	١٤٥/٦٣de	٥٨/٢٣cd	٠/٧٦٧e	٩/٩٣gh	٠/٠٩٦hi
$P_3 \times B_5$	١٣/٢٨bc	١٠٧/١٤b	١٤٦/٢٢cde	٥٨/٧٣c	٠/٨٢٢bc	٨/٧٦ij	٠/٠٨klm
$P_3 \times B_6$	١٤/٠٧a	١٠٩/٥١a	١٥٠/٨٨abc	٦١/١a	٠/٨٣٥b	٨jk	٠/٠٧٢mno
$P_3 \times B_7$	١٤/٢٩a	١١٠/٤١a	١٥٥/٣٨a	٦١/٧٣a	٠/٨٦٧a	٧/٧k	٠/٠٦٣o
LSD	٠/٥٣٩	١/١٧٤	٤/٩٠٢	١/٣١	٠/٠٢٢	٠/٩١٢	٠/٠٠٨٥

P_1، P_2 و P_3 به‌ترتیب عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی ٠/٥ و ١ میلی‌مولار پوترسین. B_1، B_2، B_3، B_4، B_5، B_6، B_7 به‌ترتیب عدم مصرف کودهای زیستی، کاربرد ریزوبیوم، میکوریز، ریزوبیوم با ازتوباکتر، میکوریز با ازتوباکتر، ریزوبیوم با میکوریز، ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم.

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

Lawlor & Cornic (2003) اظهار داشتند که در شرایط کم‌آبی، گلوتامات که پیش‌ماده کلروفیل و پرولین است به پرولین تبدیل شده و در نتیجه از محتوای کلروفیل کاسته می‌شود. Kheirizadeh Arough *et al.* (2016) کاهش کلروفیل در شرایط محدودیت آبی را به فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن منفرد، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال‌شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز نسبت دادند.

عملکرد کوانتومی نیز نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون از فتوسیستم II است. کاهش کارایی فتوسیستم II در زمانی که برگ‌ها در معرض کم‌آبی قرار گیرند به مرکز فتوسیستم II صدمه زده و موجب کاهش میزان حفاظت نوری، وقوع آشفتگی در کلروپلاست و کاهش کارایی فتوسنتزی می‌شود (Paknejad *et al.*, 2007) و کاهش شاخص کلروفیل نیز همین موضوع را تأیید می‌کند. زیرا فلورسانس کلروفیل به‌طور مستقیم با فعالیت کلروفیل در مرکز واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط داشته و می‌توان از آن به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری کارایی فتوسنتز استفاده نمود (Maxwell & Johnson, 2000). اثرات مفید کاربرد ریزوبیوم و ازتوباکتر بر افزایش شاخص کلروفیل را می‌توان به در دسترس‌بودن بالاتر نیتروژن به‌واسطه تثبیت نیتروژن توسط این کودها، کاهش تجزیه کلروفیل به‌دلیل نقش باکتری‌های محرک رشد حاوی ACC دآمیناز در کاهش ساخت اتیلن نسبت داد (Seyed Sharifi & Namvar, 2016).

Heidari *et al.* (2011) گزارش کردند کاربرد کودهای زیستی در شرایط محدودیت آبی، محتوای کلروفیل را افزایش داد. Wang *et al.* (2008) دلیل افزایش محتوای کلروفیل گیاه در کاربرد قارچ‌های میکوریز را، به افزایش جذب آهن و روی نسبت دادند که در بیوسنتز کلروفیل، سنتز تیلاکوئید و توسعه کلروپلاست نقش اساسی دارد. عده‌ای نیز افزایش محتوای کلروفیل را در گیاهان برخوردار از قارچ میکوریز در مقایسه با عدم کاربرد آن را، به بهبود جذب فسفر نسبت داده‌اند (Demir, 2004). برخی نیز معتقدند میکوریز از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی دخیل در سنتز کلروفیل نظیر نیتروژن و منیزیوم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کلروفیل می‌شود (Giri *et al.*, 2004).

به‌نظر می‌رسد بخشی از بهبود محتوای کلروفیل در محلول‌پاشی با پوترسین را، می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (Tang & Newton, 2005) و جلوگیری از تولید آنزیم‌های لازم برای سنتز اتیلن (Bregoli *et al.*, 2002)، نسبت داد. نتایج این بررسی نشان داد که محتوای مالون دی‌آلدئید با محلول‌پاشی پوترسین و کاربرد کودهای زیستی کاهش یافت (جدول ٤). در این راستا برخی پژوهش‌گران مکانیسم اصلی افزایش در محتوای کلروفیل را به نقش پوترسین در جلوگیری از سنتز اتیلن از طریق غیرفعال‌کردن آنزیم ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلات سنتتاز نسبت دادند. Zhang *et al.* (2009) اظهار داشتند که پلی‌آمین‌ها از طریق تحریک سنتز ATP انرژی سلول را تأمین کرده و ظرفیت فتوسنتزی با افزایش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در شرایط تنش بهبود می‌یابد. در آزمایش Radhakrishan & Lee (2013) محدودیت آبی القاشده توسط پلی‌اتیلن‌گلیکول، موجب کاهش محتوای کلروفیل سویا شد، درحالی‌که افزودن اسپرمین به محیط کشت موجب بهبود آن شد.

۳. ۲. تعداد گره ریشه

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیش‌ترین تعداد گره‌های ریشه (۲٤/۳۳) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین آن (۹/۳۳) در عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین به‌دست آمد (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه میانگین تأثیر کاربرد کودهای زیستی و پوترسین بر برخی صفات مورفولوژیکی ماشک گل خوشه‌ای تحت شرایط دیم

تیمار	وزن ریشه (g per plant)	تعداد گره	سهم برگ (%)	بیوماس کل ($g.m^2$)
$P_1 \times B_1$	۰/٤٨o	۹/۳۳i	٦٦/۲٥j	٦۳٤/٨m
$P_1 \times B_2$	۰/٥۲mno	۱۰hi	٦٦/٨٥i	٥٥۳/۹۳lm
$P_1 \times B_3$	۰/٦kl	۱۰/۳۳hi	٦٧hi	٦۱٨/٨٧jk
$P_1 \times B_4$	۰/٦۹i	۱۳fg	٦٧hi	٦٦۹/۲٧i
$P_1 \times B_5$	۰/٧٤hi	۱٦e	٦٧hi	٧٤۰/٨fg
$P_1 \times B_6$	۰/٨٤efg	۱٨/۳۳bcd	٦٧/۰٧hi	٨۰۰/۹۳e
$P_1 \times B_7$	۰/۹٤c	۲۲/٦٦a	٦٧/۱٥gh	۹۱۹/۹۳c
$P_2 \times B_1$	۰/٥no	۱۰/۳۳hi	٦٧/۱hi	٥٥٦/۰٧lm
$P_2 \times B_2$	۰/٥۳mno	۱۱/٦٦gh	٦٧/٤g	٦۲٦/۳۳j
$P_2 \times B_3$	۰/٦۲jk	۱۳fg	٦٧/٤g	٦٨٧/٨hi
$P_2 \times B_4$	۰/٧۹gh	۱٦/۳۳de	٦٧/٨f	٧٥۲/۲fg
$P_2 \times B_5$	۰/٨٦def	۱٦/٦٦cde	٦٧/٨f	٨۰۰/۰٧e
$P_2 \times B_6$	۰/۹۲cd	۱٨/٦٦bc	٦٨f	٨٥٥/۳۳d
$P_2 \times B_7$	۰/۹٥c	۲۳a	٦٨/٥c	۹٦۰/٦٧ab
$P_3 \times B_1$	۰/٥٥lmn	۱۰/۳۳hi	٦٨/۲de	٥٨۳/٥۳kl
$P_3 \times B_2$	۰/٥٧klm	۱۲/٦٦g	٦٨/۲٧cd	٦٥۲/٧۳ij
$P_3 \times B_3$	۰/٦٧ij	۱٥ef	٦٨/۳٥cd	٧۱۰/۰٧gh
$P_3 \times B_4$	۰/٨fg	۲۰b	٦٨/۳cd	٨٥٧/٥۳d
$P_3 \times B_5$	۰/٨۹cde	۲۰b	٦٨/۳cd	٨٧۹/٨d
$P_3 \times B_6$	۱/۰۳b	۲۳a	٦۹b	۹٥۰/٨bc
$P_3 \times B_7$	۱/۱۲a	۲٤/۳۳a	٦۹/۲٨a	۹۹٦/۲٧a
LSD	۰/۰٦٤	۲/۱٨٨	۰/۲٥٧	۳٦/٤٤

P_1، P_2 و P_3 به‌ترتیب عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار پوترسین. B_1، B_2، B_3، B_4، B_5، B_6، B_7 به‌ترتیب عدم مصرف کودهای زیستی، کاربرد ریزوبیوم، میکوریز، ریزوبیوم با ازتوباکتر، میکوریز با ازتوباکتر، ریزوبیوم با میکوریز، ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم.

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

به‌نظر می‌رسد فتوسنتز در شرایط دیم به‌دلیل محدودیت در جذب آب و عناصر کاهش می‌یابد که اثر منفی بر تشکیل گره دارد ولی هم‌زیستی قارچ میکوریزیایی از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، موجب بهبود رشد، کاهش اثر تنش خشکی و در نتیجه افزایش گره‌زایی روی ریشه شد. در این راستا Bianciotto *et al.* (2001) اظهار داشتند که کاربرد توأم ریزوبیوم با میکوریز به دلایل زیر موجب می‌شود گره‌زایی در لگوم‌ها افزایش یابد: الف) ریزوبیوم‌ها می‌توانند به هیف‌های میکوریز چسبیده و از آن به‌عنوان راه نفوذ به ریشه استفاده

کند، ب) چون تشکیل گره توسط ریزوبیوم نیاز شدیدی به فسفر دارد؛ فایده مهم میکوریز در این هم‌زیستی با ریزوبیوم، فراهم‌کردن فسفر است. زیرا گره‌ها معمولاً دو تا سه برابر ریشه به فسفر نیاز دارند از این رو گره‌زایی به تلقیح با میکوریز واکنش مثبت نشان می‌دهد، ج) علاوه بر فسفر، جذب عناصری از قبیل کلسیم، مولیبدن، مس و روی نیز به‌وسیله میکوریز ممکن است تسهیل یابد.

در این بررسی، بخشی از بهبود گره‌زایی به‌واسطه کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به شرایط خاکی مزرعه آزمایشی نسبت داد که دو سال قبل از اجرای آزمایش، گیاهی کشت نشده بود و در سال‌های گذشته نیز گندم و جو کشت شده بود، از این‌رو به‌نظر می‌رسد تعداد و تراکم باکتری‌های ریزوبیومی و محرک رشدی در حدی نبوده باشد که بتواند در افزایش تعداد و وزن گره مؤثر واقع شود، طوری‌که تعداد گره‌ها در تیمارهایی که از ریزوبیوم و باکتری محرک رشدی استفاده نشده بود در مقایسه با استفاده از کودهای زیستی از کاهش ۱۶۰ درصدی برخوردار بود (جدول ٤). Schwartz *et al.* (2013) نشان دادند که تلقیح دوگانه لوبیا با ریزوبیوم و باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش معنی‌دار تعداد گره ریشه در مقایسه با گیاهانی شد که فقط با ریزوبیوم تلقیح شده بودند. گزارش‌های زیادی نیز بر افزایش بازده هم‌زیستی ریزوبیوم زمانی که بذر لوبیا با باکتری‌های تثبیت‌کننده غیرهم‌زیست مانند باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلوم تلقیح شده بود در گره‌زایی ریشه نخود (Verma *et al.*, 2010)، باقلا (Dashadi *et al.*, 2011) و لوبیا (Yadegari, 2014) گزارش شده است.

توسعه سیستم ریشه در گیاهان توسط فعالیت اکسین‌ها تنظیم می‌شود و در گره‌های ریشه لگوم، ایندول استیک اسید تولیدشده توسط بیش‌تر باکتری‌های محرک رشد، آنزیم پمپ پرتون (H^+ ATPase) را فعال می‌کند که برای تولید انرژی در گره‌ها و افزایش گره‌زایی مهم است (Figueiredo *et al.*, 2010). Das *et al.* (2014) نیز اظهار داشتند افزودن کودهای زیستی به محیط ریشه لوبیا فعالیت باکتری‌ها را به‌طور چشم‌گیری بالا برده و تعداد گره در ریشه را افزایش می‌دهد.

۳. ۳. درصد پروتئین برگ و ساقه

بیش‌ترین و کم‌ترین درصد پروتئین ساقه (به‌ترتیب ۲۵/۱٤ و ۲۳/۹۷ درصد) به‌ترتیب در کاربرد یک میلی‌مولار پوترسین و عدم کاربرد آن به‌دست آمد (جدول ٦).

به بیانی دیگر تحت شرایط دیم، محتوای پروتئین برگ در حالت عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین از کاهش ۵۸ درصدی در مقایسه با کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین تحت چنین شرایطی برخوردار بود. Nematollahi *et al.* (2012) گزارش کردند که در شرایط تنش رطوبتی، درصد نیتروژن برگ آفتابگردان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. Sotiropoulos *et al.* (2006) کاهش تجمع نیتروژن در گیاهان تحت تنش را به کاهش متابولیسم نیتروژن در اثر کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نسبت دادند که منجر به کاهش محتوای پروتئین برگ می‌شود. در این بررسی باکتری ریزوبیوم چه به‌صورت انفرادی و چه به‌صورت ترکیب با ازتوباکتر و قارچ، از محتوای پروتئینی بیش‌تری در ساقه و برگ برخوردار بود.

Verma *et al.* (2010) گزارش کردند که تلقیح بذرهای نخود با ازتوباکتر و آزوسپیریلوم به‌دلیل افزایش میزان کل نیتروژن در بافت‌های نخود منجر به افزایش محتوای پروتئین برگ و ساقه گیاه شد. نتایج مشابهی نیز در بررسی‌های Maougal *et al.* (2014) که اظهار داشتند تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی به‌دلیل افزایش جذب آمونیم و نیترات موجب افزایش محتوای پروتئینی در گیاه می‌شود گزارش شده است.

جدول ٦. مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی و پوترسین بر درصد پروتئین ساقه، محتوای پرولین و حجم ریشه ماشک گل خوشه‌ای

سطوح کودهای زیستی	پروتئین ساقه (%)	محتوای پرولین ($\mu g. .g^{-1}FW$)	سهم ساقه (%)	حجم ریشه (cm^3 per plant)
B_1	٢١/٩g	٦/٥١g	٣٠/٨e	٦/٧٦g
B_2	٢٢/٦١f	٧/٠٢f	٣٠/٨e	٧/٧٧f
B_3	٢٣/٧٦e	٧/٦٤e	٣١/٧٨d	٩/٤٦e
B_4	٢٤/٣٩d	٧/٩٥d	٣٢/٠٣d	١٠/٥١d
B_5	٢٥/٤٤c	٨/٦١c	٣٢/٣٨c	١١/٤٥c
B_6	٢٦/٢١b	٩/٢٥b	٣٢/٧٨b	١٢/٩١b
B_7	٢٦/٩٣a	٩/٧٨a	٣٣/٣٣a	١٣/٨٨a
LSD	٠/٣٤٩	٠/٢٢٩	٠/٣٤٦	٠/٤٨٧
سطوح محلول‌پاشی پوترسین	**پروتئین ساقه (%)**	**محتوای پرولین ($\mu g. .g^{-1}FW$)**	**سهم ساقه (%)**	**حجم ریشه (cm^3 per plant)**
P_1	٢٣/٩٧c	٧/٦٨c	-	٩/٥٩c
P_2	٢٤/٢٨b	٧/٩٩b	-	١٠/٥٩b
P_3	٢٥/١٤a	٨/٦٦a	-	١١a
LSD	٠/٢٢٨	٠/١٥	-	٠/٣١٩

P_1، P_2 و P_3 به‌ترتیب عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی ٠/٥ و ١ میلی‌مولار پوترسین. B_1، B_2، B_3، B_4، B_5، B_6، B_7 به‌ترتیب عدم مصرف کودهای زیستی، کاربرد ریزوبیوم، میکوریز، ریزوبیوم با ازتوباکتر، میکوریز با ازتوباکتر، ریزوبیوم با میکوریز، ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم.

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

Amraee Tabar *et al.* (2016) اظهار داشتند محلول‌پاشی پوترسین با نابودی رادیکال‌های فعال اکسیژن از تخریب پروتئین‌ها به‌وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری کرده و موجب افزایش سنتز پروتئین‌ها در گیاه می‌شود. به‌نظر می‌رسد بخشی از افزایش محتوای پروتئین برگ و ساقه گیاه در کاربرد پوترسین ناشی از ساختار شیمیایی این ماده باشد. در این رابطه Pritsa & Demetios (2005) اظهارداشتند که پوترسین در ساختار خود دارای نیتروژن بوده که با محلول‌پاشی این ماده، نیتروژن موجود در ساختمان آن در اختیار گیاه قرار گرفته و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد و بیش‌ترین نقش پوترسین در ذخیره نیتروژن در گیاه را در طول مرحله گلدهی گزارش کردند.

٣. ٤. وزن و حجم ریشه

بیش‌ترین وزن خشک ریشه (١/١٢ گرم در بوته) در ترکیب تیماری کاربرد توأم کودهای زیستی (ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم) و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین آن (٠/٤٨ گرم در بوته) در عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین به‌دست آمد (جدول ٥). در بین سطوح کودهای زیستی، بیش‌ترین حجم ریشه (١٣/٨٨ سانتی‌مترمکعب در بوته) به کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و کم‌ترین آن (٦/٧٦ سانتی‌متر مکعب در بوته) در حالت عدم کاربرد کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ٦). هم‌چنین محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین بیش‌ترین حجم ریشه (١١ سانتی‌مترمکعب در بوته) و عدم محلول‌پاشی، کم‌ترین

مقدار آن (۹/۵۹ سانتی‌متر مکعب در بوته) به‌دست آمد (جدول ٦). Hosseinzadeh *et al.* (2016) اظهار داشتند که در تنش رطوبتی خفیف با بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش ورود CO_2 به کلروپلاست سلول‌های مزوفیل برگی، فتوسنتز کاهش یافته و در نهایت منجر به کاهش تخصیص مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها شده که این رخداد، کاهش ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه را به‌دنبال دارد. از طرفی با کاهش محتوای رطوبت خاک، پسابیدگی پروتوپلاسم توأم با کاهش آماس سلول اتفاق می‌افتد، اندازه سلول و سرعت تقسیم سلولی روند کاهشی شدیدی پیدا می‌کند که منجر به کاهش میزان رشد و سطح فتوسنتزکننده گیاه می‌شود. ولی کاربرد کودهای زیستی با تولید مواد تنظیم‌کننده رشد و تأثیر آن بر رشد ریشه از طریق افزایش وزن و انشعابات ریشه، موجب افزایش حجم ریشه می‌شود (Banerjee *et al.*, 2006). هم‌چنین به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی پوترسین با افزایش هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین، جیبرلین و کاهش آبسیزیک اسید موجب افزایش فعالیت تقسیم سلولی و بهبود رشد شده (Hussein *et al.*, 2006) و در نتیجه وزن و حجم ریشه افزایش یابد. Manske *et al.* (2000) در بررسی علت افزایش وزن ریشه گندم در مایه‌زنی بذر با ازتوباکتر اظهار داشتند که ایندول استیک اسید در کنار سایتوکینین که توسط ازتوباکتر تولید می‌شود از طریق رشد ریشه‌های جانبی، موجب افزایش وزن ریشه می‌شود.

۳. ۵. محتوای مالون‌دی‌آلدئید و هدایت الکتریکی برگ

نتایج مقایسه میانگین داد بیش‌ترین محتوای مالون‌دی‌آلدئید و هدایت الکتریکی برگ (به‌ترتیب ۰/۱٤۲ نانومول بر گرم وزن تر برگ و ۱۵/٤۳ میکروزیمنس بر سانتی‌مترمربع) در حالت عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین و کم‌ترین مقادیر این صفات (به‌ترتیب ۰/۰٦۳ نانومول بر گرم وزن تر برگ و ۷/۷ میکروزیمنس بر سانتی‌مترمربع) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین به‌دست آمد (جدول ٤). به بیانی دیگر در همان ترکیب تیماری که میزان هدایت الکتریکی افزایش یافته بود میزان مالون‌دی-آلدئید نیز بیش‌تر بود (جدول ٤). محتوای افزایش یافته مالون‌دی‌آلدئید ممکن است به‌علت تخریب غشا در نتیجه تنش اکسیداتیو القاشده به‌وسیله انواع اکسیژن فعال در شرایط محدودیت آبی باشد (Amirinejad *et al.*, 2016)، که منجر به صدمات و نابودی سلول‌ها شده و به‌دنبال آن افزایش هدایت الکتریکی برگ و محتوای مالون‌دی‌آلدئید را به‌همراه دارد (Shobeiri *et al.*, 2015).

Sandhya *et al.* (2010) اظهار داشتند که مایه‌زنی با باکتری‌های محرک رشد در شرایط کم‌آبی در ذرت موجب کاهش نشت الکترولیت‌ها می‌شود. Kheirizadeh Arough *et al.* (2016) کاهش هدایت الکتریکی برگ تریتیکاله در اثر کاربرد توأم میکوریز و سودوموناس تحت شرایط محدودیت آبی را، به نقش باکتری‌های محرک رشد در افزایش فعالیت آنزیم‌ها و حذف گونه‌های فعال اکسیژن نسبت دادند. Ashraf *et al.* (2017) اظهار داشتند که میکوریز می‌تواند با افزایش محتوای پرولین موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید غشا شود. نتایج این آزمایش نیز نشان می‌دهد در همان ترکیبات تیماری که محتوای پرولین حداکثر بود مقادیر هدایت الکتریکی و مالون‌دی‌آلدئید حداقل بود. Perez-Vicente *et al.* (2002) اظهار داشتند که پلی‌آمین‌ها به‌دلیل برخورداری از خواص آنتی‌اکسیدانی، مستحکم‌نمودن غشا در ارتباط با یک سری بارهای مثبت گروه‌های آمینی در ساختار مولکول، موجب استحکام دیواره سلولی شده و غشاهای سلولی را در برابر اکسیدشدن محافظت می‌کنند.

۳. ٦. محتوای قندهای محلول برگ و ساقه

نتایج مقایسه میانگین‌ها داد بیش‌ترین محتوای قندهای محلول برگ و ساقه (به‌ترتیب ۱۱۰/٤۱ و ۱۵۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین آن (به‌ترتیب ۸۳/٦۸ و ۱۰۹/٥٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین به‌دست آمد (جدول ٤). Kapoor *et al.* (2013) دلیل اصلی افزایش قندهای محلول گیاهان میزبان در کاربرد قارچ‌های میکوریز را به هیدرولیز نشاسته توسط قارچ‌ها نسبت دادند. برخی پژوهش‌گران تأثیر این قارچ‌ها در افزایش محتوای قندهای محلول را، به افزایش مقدار هورمون‌های سیتوکنین و جیبرلین در گیاهان میکوریزی نسبت دادند. افزایش در میزان این هورمون‌ها به‌ویژه سیتوکنین می‌تواند با انتقال یون‌های مؤثر در بازشدن روزنه‌ها و بهبود محتوای کلروفیل، موجب بالا رفتن سرعت فتوسنتز و در نهایت افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود (Nemat-Alla *et al.*, 2008).

پلی‌آمین‌ها در سنتز قندها در گیاه مانند تنظیم‌کننده رشد عمل کرده و در برخی فرایندهای بیولوژیک مرتبط با بیوسنتز کربوهیدرات‌ها دخالت دارند (Mahgoub *et al.*, 2011). از طرفی محلول‌پاشی با پوترسین در شرایط تنش، با افزایش فعالیت آنزیم ATPase غشای یاخته‌ای، سهولت ورود و افزایش بارگیری ساکارز در آوند آبکشی موجب می‌شود میزان قند ساخته‌شده در برگ را در جهت رویارویی با تنش، افزایش دهد (Marschner, 1995). برخی پژوهش‌گران (Schellenbaum *et al.*, 1998) پیشنهاد کرده‌اند که وقتی فتوسنتز محدود شود قارچ‌ها رقیب قوی برای اختصاص‌یافتن کربن به ریشه هستند. قارچ‌ها برای انتقال آمونیوم به ریشه و باکتروئید گرهک ریشه برای تثبیت نیتروژن، نیاز به اسکلت کربنی دارند و ازآنجایی‌که در گرهک‌ها ساکارز اول به‌وسیله اینورتاز هیدرولیز می‌شوند و کمبود آب به‌شدت فعالیت اینورتاز را کاهش می‌دهد، این عمل می‌تواند تجمع کربوهیدرات محلول ریشه، درطول تنش آب را توجیه نماید که در نهایت میزان صادرات قندهای محلول بوسیله میکوریز به ریشه افزایش پیدا می‌کنند (Wang *et al*, 1989).

۳. ۷. محتوای پرولین برگ

بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای پرولین (به‌ترتیب ۸/٦٦ و ۷/٦۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) به‌ترتیب در کاربرد یک میلی‌مولار پوترسین و عدم محلول‌پاشی پوترسین بود (جدول ٦). هم‌چنین بیش‌ترین محتوای پرولین (۹/۷۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و کم‌ترین آن (٦/٥۱ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در عدم کاربرد کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ٦). در شرایط محدودیت آبی به‌علت تخریب پروتئین‌ها، انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد جهت تنظیم اسمزی سلول می‌تواند دلیلی بر افزایش تولید پرولین باشد. پرولین علاوه بر نقش اسمولیتی که در تعادل اسمزی دارد، در پایداری ساختارهای زیر سلولی (غشاها و پروتئین‌ها)، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تنظیم پتانسیل ردوکس در شرایط تنش نقش دارد. هم‌چنین، می‌تواند به‌عنوان محلول سازگار پروتئینی، کاهش‌دهنده pH سیتوپلاسمی و حفظ‌کننده نسبت $NADP^+/NADPH$ مناسب در متابولیسم، عمل کند (Ashraf & Foolad, 2007).

بخشی از افزایش محتوای پرولین در کاربرد کودهای زیستی و پوترسین را می‌توان به اثر این تیمارها در افزایش قندهای محلول برگ و ساقه نسبت داد. ازآنجایی‌که یکی از مسیرهای تولید پرولین گلوتامات می‌باشد. از این‌رو، با افزایش تولید قندهای محلول، میزان تولید گلوتامات افزایش می‌یابد و سنتز پرولین نیز تشدید می‌شود. هم‌چنین افزایش پرولین در شرایط تنش می‌تواند

به‌دلیل نقش حمایت‌کننده پلی‌آمین‌ها از پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در سنتز پرولین، حفظ فتوسنتز و تعدیل عناصر غذایی باشد (Kianmehr & Mehdizadeh, 2014).

۳. ۸. سهم برگ، سهم ساقه، نسبت برگ به ساقه و بیوماس کل

نتایج مقایسه میانگین داد بیش‌ترین سهم برگ (۶۹/۲۸ درصد) در کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین این مقدار (۶۶/۲۵ درصد) در حالت عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین به‌دست آمد (جدول ۵). بیش‌ترین و کم‌ترین سهم ساقه (به‌ترتیب ۳۰/۸ و ۳۳/۳۳ درصد) به‌ترتیب در کاربرد کودهای زیستی و عدم کاربرد کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ۵). هم‌چنین بیش‌ترین بیوماس کل (۹۹۶/۲۷ گرم در مترمربع) در ترکیب تیماری کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین آن (۶۳۴/۸ گرم در مترمربع) در عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین به‌دست آمد (جدول ۵).

بخشی از بهبود بیوماس کل در کاربرد کودهای زیستی و پوترسین را می‌توان به نقش این فاکتورها در افزایش تعداد گره، وزن ریشه و محتوای کلروفیل نسبت داد (جدول‌های ٤ و۵).

به‌نظر می‌رسد پلی‌آمین‌ها از جمله پوترسین به‌علت دارابودن پیش‌ماده مشترک با اتیلن، از طریق رقابت با مسیر بیوسنتز اتیلن، با جلوگیری از سنتز اتیلن مانع تخریب کلروفیل توسط اتیلن شده (Seyed Sharifi & Namvar, 2016) و در نتیجه با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب بهبود فتوسنتز و افزایش بیوماس گیاه تیمارشده با پوترسین می‌شوند. از طرفی کاربرد کودهای زیستی مانند میکوریز نیز از طریق افزایش نفوذ ریشه‌های موئین گیاه در حفرات بسیار ریز و نقاط غیرقابل دسترس خاک (Kapoor *et al.*, 2013)، افزایش جذب آهن و روی (Wang *et al.*, 2008)، افزایش جذب آب و عناصر غذایی دخیل در سنتز کلروفیل نظیر نیتروژن و منیزیوم (Giri *et al.*, 2004)، بهبود جذب فسفر (Demir, 2004) و کاربرد باکتری محرک رشد نظیر ازتوباکتر با جلوگیری از تولید آنزیم‌های لازم برای سنتز اتیلن (Bregoli *et al.*, 2002) و ریزوبیوم از طریق تثبیت نیتروژن، منجر به افزایش فتوسنتز و بیوماس گیاهی می‌شوند. Neeraj singh (2011) نیز اظهار داشتند که کاربرد توأم لوبیا با میکوریز و باکتری و هم‌چنین تیمار هر میکروارگانیسم به تنهایی، موجب افزایش مقدار بیوماس کل گیاه شد.

٤. نتیجه‌گیری

در این بررسی کاربرد توأم ازتوباکتر با میکوریز و ریزوبیوم و محلول‌پاشی یک میلی‌مولار پوترسین به‌دلیل افزایش وزن و حجم و تعداد گره‌های ریشه، افزایش اسمولیت‌های سازگار (محتوای پرولین و قندهای محلول برگ و ساقه) و کاهش هدایت الکتریکی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید، منجر به افزایش بیوماس کل گیاه شد، به نحوی‌که با کاربرد توأم کودهای زیستی و پوترسین تحت شرایط دیم، بیوماس کل در واحد سطح در مقایسه با عدم کاربرد کودهای زیستی و پوترسین تحت همین شرایط از افزایش ۵٦/۹ درصدی برخوردار بود.

۵. تشکر و قدردانی

این پژوهش براساس طرح پژوهشی مصوب دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد که بدین‌وسیله از همکاران ارجمند در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، معاونت و مدیریت محترم پژوهشی و دیگر همکاران ارجمند در دانشگاه محقق اردبیلی تشکر و قدردانی می‌گردد.

٦. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Amirinejad, M., Akbari, G. A., Baghizadeh, A., Allahdadi, I., Shahbazi, M., & Naimi, M. (2016). Effects of drought stress and foliar application of zinc and iron on some biochemical parameters of cumin. *Agricultural Crop Management* (*Journal of Agriculture*), *17*(4), 855-866. (in Persian). DOI: (10.22059/JCI.2015.5513).

Amraee Tabar, S., Ershadi, A., & Robati, T. (2016). The effect of putrescine and spermine on drought tolerance of Almond and Peach. *Journal of Crops Improvement*, *18* (1): 203-218. (in Persian). DOI: 10.22059/jci.2016.56558

Anjum, M.A (2010). Response of Cleopatra mandarin seedlings to a polyamine-biosynthesis inhibitor under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 32, 951-959. DOI: 10.1007/s11738-010-0483

Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006

Ashraf, H., Zakizadeh, H., Ehteshami, M., & Bigloei, M.H. (2017). Evalution the symbiosis of three mycorrhizae fungi species on biochemical characteristics of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) and Agropyron (*Agropyron elongatum*) turfgrasses under drought stress conditions. *Journal of Plant Researchers*, *24* (3), 27-46. (in Persian). DOI: 10.22069/JOPP.2017.11243.2040

Banerjee, M., Yesmin, R. L., & Vessey, J. L. (2006). Plant-growth- promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. pp. 137-181. In: Handbook of microbial biofertilizers. Ed., Rai, M., K., *Food Production Press*, U.S.A

Bates, L.S., Walderen, R.D., & Taere, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207.

Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P., & Perotto, S. (2001). Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of Azospirillum brasilense and Rhizobium leguminosarum to arbuscular mycorrhizal structures. *European Journal of Histochemistry*, 45, 39-49. DOI: 10.4081/1612

Bregoli, A. M., Scaramagli, S., Costa, G., Sabatini, E., Ziosi, V., Biondi, S., & Torrigiani, P. (2002). Peach (*Prunus persica* L.) fruit ripening: amino ethoxyvinyl glycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. *Physiology Plant*, 114, 472-481. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2002.1140317.x

Das, I., Pradhan, A. K., & Singh, A. P. (2014). Yield and yield attributing parameters of organically cultivated mung bean as influenced by PGPR and organic manures. *Journal of Crop and Weed*, *10*(1), 172-174.

Dashadi, M., Khosravi, H., Moezzi, A., Nadian, H., & Heidari, M. (2011). Co-inoculation of Rhizobium and Azotobacter on growth of faba bean under water deficit conditions. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, *11*(3), 314-319.

Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhizal on some physiological, growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28, 85-90.

Dubios, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annals of Chemistry*, 28, 350-356.

Figueiredo, M., Seldin, L., De Araujo, F., & Mariano, R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and applications in Plant Growth and Health Promoting Bacteria. D.K. Maheshwari (ed), 21-43.

Gilick, B.E., Penrose D., & Wenbo, M. (2001). Bacterial promotion of plant growth. *Biotechnology Advances*, 19, 135-138. DOI: 10.1016/S0734-9750(00)00065-3

Giri, B., & Mukerji, G.K. (2004) Mucorrhiza inoculate alleviates salt stress in Sesbania aegyptica and Sesbania grandiflora under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*, 14, 307-312. DOI: https://doi.org/10.1007/s00572-003-0274-1.

Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids.* 34: 35-45. DOI: https://doi.org/10.1007/s00726-007-0501-8

Heidari, M., Mousavinik, S.M., & Golpayegani, A. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (*Ociumum basilicm* L.) under water stress. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 6, 6-11.

Hosseinzadeh, S.R., Amiri H., & Ismaili, A. (2016). Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica*, *54*(1), 87-92. Doi: https://doi.org/10.1007/s11099-015-0162-x

Hussein, M., EL-Gereadly, H.M., & EL-Desuki, M. (2006). Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research*, *2*, 598-604.

Kapoor, R., Evelin, H., Mathur, P., & Giri, B. (2013). Arbuscular mycorrhiza: Approaches for abiotic stress tolerance in crop plants for sustainable agriculture. In: Plant acclimation to environmental stress (Eds. Tuteja, N. and Gill, SS). Pp. 359-401. Springer LLC: DOI: 10.1007/978-1-4614-5001-6_14

Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., & Seyed Sharifi, R. (2016). Biofertilizers and zinc effects on some physiological parametrs of triticale under water limitation. *Journal of Plant Interactions*, *11*(1), 167-177. Doi: http://dx.doi.org/10.1080/17429145.2016.1262914

Kianmehr, A.S., & Mehdizadeh, R. (2014). Phylogenic Study of Proline Dehydrogenase Producing Pseudomonas putida Bacterium and Bioinformatics Analysis of Isolated Enzyme. *Journal of Cellular and Molecular Researches*, *27*,285-295.

Kamaei, R., Parsa, M & Jahan, M. (2015). The effect different fertilizers, on germination, yield, of Vicia vilosa Roth. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *13*(2), 391-398. (in Persian)

Kurdali, F.N., Sharabi, E., & Arsalan, A. (1996). Rainfed vetch-barley mixed cropping in the Syrian semi-arid conditions. *Plant and Soil*, *183*(1), 137-148. DOI: https://doi.org/10.1007/BF02185574

Lawlor, D.W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associatedmetabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, *25*, 275-294. DOI: 10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x

Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., & Navari Izzo, F. (1999) Antioxidative defense system pigment composition and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* , *119*,1091-1100. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.119.3.1091

Mahgoub, M.H., Abd El Aziz, N.G., & Mazhar, M.A. (2011). Response of Dahilia pinnata L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, *10*, 769-775.

Manske, G.B., Luttger, A., Behle, R.K., Vlek, P.G., & Cimmit, M. (2000). Enhancement of mycorrhiza (VAM) infection, nutrient efficiency and plant growth by azotobacter chroococcum in wheat. *Journal of Plant Breeding and Genetics*, 4, 78-83.

Maougal, R.T., Brauman, A., Plassard, C., Abadie, J. Djekoun, A., & Drevon, J.J. (2014). Response of *Dahilia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, *10*, 769-775.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London p.889

Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence ea practical guide. *Journal of Experimental Botany*. *51*, 659-668. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659

Namvar, A., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., Khandan, T., & Eskandarpour, B. (2011). Study on the effects of organic and inorganic nitrogen fertilizer on yield, yield components, and nodulation state of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *42*(9),1097-1109. https://doi.org/10.1080/00103624.2011.562587

Nayyar, H., Satwinder, K., Kumar, S., Singh, K.J., & Dhir, K. (2005) Involvement of polyamines in the contrasting sensitivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.) to water deficit stress. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, *46*, 333-338.

Neeraj Singh, K. (2011). Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and Pseudomonas fluorescens treatments reduce the development of root-rotdisease and enhance the yield of *Phaseolus vulgaris* L, *European Journal of Soil Biology*, *47*, 288-295. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.07.002

Nemat-Alla, M. M., Badawi, A. M., Hassan, N. M., El-Bastawisy, Z.M., & Badran, E. G. (2008). Effect of metribuzin, butachlor and chlorimuron-ethyl on amino acid and protein formation in wheat and maize seedlings. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *90*, 8-18. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.07.003

Nematollahi, E., Jafari, A., & Bagheri, A. (2012). Effect of drought stress and salicylic acid on photosynthesis pigments and macronutrients absorption in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Journal of Plant Ecophysiology* *5*(12), 51-37. (In Persian).

Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., Yoshimura, K., & Shigeoka, S. (2005). Decline in leaf photooxiadtive-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Science*, *168*, 1487-1493. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.01.020

Paknejad, F., Nasri, M., Tohidi Moghadam, H.R., Zahedi, H., & Jami Alahmad, M. (2007). Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *Journal Biological Sciences*, 7, 841- 847. DOI: 10.3923/jbs.2007.841.847

Perez-Vicente, A., Martinez-Romero, D., Carbonell, A., Srrano, M., Riquelme, F., Guillen, F., & Valero, D. (2002). Role of polyamines in extending shelf life and reduction of mechanical damage during plum (*Prunus Salicina* L.) storage, *Postharvest Biology and Technology*, *25*(1), 25-32. DOI:10.1016/S0925-5214(01)00146-6

Pritsa, T. S., & Demetios, G.V. (2005). Correlation of ovary and leaf spermidine and spermine content with the alternate bearing habit of olive. *Journal of Plant Physiology*, *162*, 1284-1291. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.01.017

Radhakrishan, R., & Lee I.J. (2013). Spermine promotes acclimination to osmotic stress by modifying antioxidant, abscisic acid, and jasmonic asid signals in soybean. *Journal of Plant Growth Regulation*. *32*,22-30. DOI: https://doi.org/10.1007/s00344-012-9274-8

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*,*161*, 1189-1202. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013

Sandhya, V., Ali, SKZ., Grover, M., Reddy, G., & 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*(1), 21-30. DOI: https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4

Schellenbaum, L., Muller, J., Boller, T., Wiemken, A., & Schüepp, H. (1998). Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of nonstructural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of amino acids and imino acids. *New Phytology*, *138*, 59-66. DOI: https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00892.x

Schwartz, A. I., Ortiz, M., Maymon, C., Herbold, N., & Fujishige, F. (2013). Bacillus simplex- A little known PGPR with anti-fungal activity-Alters pea legume root architecture and nodule morphology when coinoculated with Rhizobium leguminosarum bv. Viciae. *Agronomy Journal*, *3*, 595-620. DOI: 10.3390/agronomy3040595

Seyed Sharifi, R., & Namvar, A. (2016). Biofertilizers in Agronomy. University of Mohaghrgh Ardabili press. 282 p. (in Persian)

Seyed Sharifi, R. (2016). Application of biofertilizers and zinc increases yield, nodulation and unsaturated fatty acids of soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Zemdirbyste-Agriculture*, *3*(103), 73-78. DOI 10.13080/z-a.2016.103.032

Shu, S., Guo, S.R. & Yuan, L.Y. (2012). A review: Polyamines and photosynthesis. PP. 439-464. In: Najafpour, M. (Ed.), *Advances in Photosynthesis-Fundamental Aspects*. DOI: 10.5772/26875

Singh Gill, S., &Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plant. *Plant Signaling and Behavior*, *5*(1), 26-33. https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291

Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A., & Abdelly, C. (2007). Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in Sesuvium portulacastrum. *Environmental and Experimental Botany*, *61*, 10-17. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.02.004

Song, H. (2005). Effects of vam on host plant in condition of drought stress and its mechanisms. *Electronic Journal of Biology*, *1*(3), 44-48.

Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Almaliotis, D., Papadakis, I., &Dimass, K. N. (2006). Response of cherry rootstocks to boron and salinity. *Journal of Experimental Botany*, *29*, 1691-1698. https://doi.org/10.1080/01904160600851650

Stewart, R. C., & Beweley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, *65*, 245-248. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245

Suzuki, N., & Mittler, R. (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiology Plant*, *126*(1), 45-51. https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2005.00582.x

Syed Sarfraz, H., Muhammad, A., Maqbool, A., & Kadambot, H.M. (2011) Polyamines: –Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants". *Biotechnology Advances*, *29*, 300-311.

Tang, M., Chen, H., Huang, J.C., & Tian, Z.Q. (2009). Arbuscular mycorrhiza fungi effects on the growth and physiology of (*Zea mays* L.) seedlings under diesel stress. *Soil Biology Biochemistry*, *41*, 936-940. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.11.007

Tang, W., & Newton, R.J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, *46*, 31-43. DOI: https://doi.org/10.1007/s10725-005-6395-0

Verma, J., Yadav, J., & Tiwari, K. (2010). Application of Rhizobium sp. BHURC01 and plant growth promoting Rhizobacteria on nodulation, plant biomass and yield of chick pea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Agricultural Research*, *5*(3), 148-156. DOI: 10.3923/ijar.2010.148.156

Vinocur, B., & Altman, A. (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, *16*, 123-132. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.001

Wang, G.M., Coleman, D.C., Freckman, D.W., Dyer, M.I., McNaughton ,S.J., Acra, M.A., & Goeschl, J.D. (1989).Carbon partitioning patterns of mycorrhizal versus nonmycorrhizal plants: real time dynamic measurements using $11CO_2$. *New Physiology*, *112*, 489-493. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb00342.x

Wang, Y., & Oyaizu, H. (2008). Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofuran-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, *168*(2), pp. 760-764. https://doi .org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.082

Yadegari, M. (2014). Inoculation of bean (*Phaseolus vulgaris*) Seeds with Rhizobium phaseoli and plant growth promoting rhizobacteria. *Advances in Environmental Biology*, *8*(2), 419-424.

Yang, M., Shi, L., Xu, F. S., Lu, J. W., & Wang, Y. H. (2009). Effects of B, Mo, Zn, and their interactions on seed yield of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Pedosphere*, *19*(1), 53-59. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60083-1

Zhang, RH., Li, J., Guo., S.R., &Tezuka, T. (2009). Effects of exogenous putrescine on gasexchange characteristics and chlorophyll fluorescence of NaCl-stressed cucumber seedlings. *Photosynthesis Research*, *100*, 155-162. doi: 10.1007/s11120-009-9441-3.