

بررسی تلقیح از توباکتر و قطع آبیاری بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک ارقام کلزا

مسعود غلامی^۱، سیدعطاءاله سیادت^{۲*}، احمد کوچک‌زاده^۳، محمدرضا مرادی تلاوت^۴، مسعود رفیعی^۴

۱. دانشجوی دکتری زراعت، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲. استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۳. دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۴. استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان

| مشخصات مقاله | چکیده |
|---|---|
| واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پرویلین قندهای محلول کاروتنوئید کلروفیل | به منظور ارزیابی عملکرد دانه و محتویات سلولی کلزا در تلقیح با از توباکتر و قطع آبیاری، آزمایشی در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵، به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. تیمارها شامل قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و ۳۰ درصد خورجین‌دهی و آبیاری مطلوب، تلقیح بذور با از توباکتر کروکوکوم سوبه‌های ۶۳، ۷۰ و بدون تلقیح و ارقام کلزا شامل نپتون، اکتان و اکاپی (شاهد) بودند. اثر قطع آبیاری بر عملکرد، پرویلین، قندهای محلول، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رنگیزه‌های فتوسنتزی معنی‌دار شد. اثر از توباکتر بر همه صفات مزبور غیر از عملکرد و پرویلین معنی‌دار گردید. ارقام کلزا از نظر عملکرد، قندهای محلول، آنزیم کاتالاز و کلروفیل b و کلروفیل کل متفاوت بودند اما در تجمع پرویلین، پروتئین، آنزیم پراکسیداز، کاروتنوئید، کلروفیل a و نسبت کلروفیل a/b اختلاف نداشتند. بیشترین میزان پرویلین، قندهای محلول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در قطع آبیاری از ۳۰ درصد گل‌دهی و بیشترین پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی از آبیاری مطلوب به دست آمد. از توباکتر باعث افزایش پروتئین، کلروفیل و کاروتنوئید گردید. ارقام هیبرید اکتان و نپتون از نظر آنزیم کاتالاز و کلروفیل نسبت به رقم اکاپی برتر بودند اما رقم اکاپی از نظر قندهای محلول نسبت به ارقام هیبرید اکتان و نپتون برتری داشت. بیشترین عملکرد دانه با ۴۵۵۹ کیلوگرم در هکتار از آبیاری مطلوب به دست آمد. با قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد خورجین‌دهی و ۳۰ درصد گل‌دهی عملکرد دانه به ترتیب ۵/۹۹ درصد و ۲۳/۶۵ درصد کاهش داشت. ارقام هیبرید اکتان و نپتون با عملکرد دانه ۴۵۸۴ و ۴۲۹۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به رقم اکاپی، به ترتیب ۲۴/۷ و ۱۹/۶ درصد برتر بودند. در نتیجه قطع آبیاری باعث کاهش عملکرد و رنگیزه‌های فتوسنتزی شد اما محتویات سلولی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد. چون از توباکتر، قندهای محلول، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رنگیزه‌ها و تا حدودی عملکرد را افزایش داد، می‌تواند برای بهبود تغذیه کلزا استفاده شود. |
| تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۷ | |
| تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۷ | |
| تاریخ انتشار: تابستان ۱۴۰۱ | |
| ۳۹۲-۳۷۵ (۲): ۱۵ | |

مقدمه

۳۰ درصد روغن، پروتئین و عملکرد دانه کلزا را کاهش می‌دهد (Sinaki et al., 2007). در تنش خشکی در کلزا، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز افزایش داشت (Hamrahi, 2008). تحمل کلزا به تنش خشکی متوسط است و از سیستم مهار گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در تحمل تنش استفاده می‌نماید (Scandalios, 1993). کلزا فعالیت آنزیم‌ها را در پاسخ به

کلزا یکی از مهم‌ترین منابع روغن نباتی در ایران است (Omidi, 2010). این گیاه، دارای جایگاه سوم دانه‌های روغنی بعد از روغن نخل و سویا در جهان است (FAO, 2011). روغن کلزا حاوی کمترین اسیدهای چرب اشباع در بین روغن‌های گیاهی است (Din, et al., 2011). یکی از مشکلات توسعه کشت کلزا تنش خشکی است (Mendham and Salisbury, 1995). تنش خشکی در مرحله زایشی،

رنگ‌دانه‌های کلروفیل، کاروتنوئید و آنتی‌سیانین را کاهش می‌دهد (Mihailović et al., 1997). پتانسیل اسمزی با تبدیل پلی‌ساکاریدهای نامحلول به قندهای محلول مانند الیگوساکاریدها، ساکارز و گلوکز تنظیم می‌شود (Hendry, 1993).

روش‌های زیستی تغذیه گیاه و حفظ ساختار طبیعی سیستم زنده خاک، امری ضروری است. کودهای زیستی مانند ازتوباکتر علاوه بر اثرات مثبتی که بر خاک دارند، از جنبه‌های اقتصادی و زیست‌محیطی نیز سودبخش بوده و می‌توانند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشند (Khavazi et al., 2005). باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد، علاوه بر سازگاری با محیط‌زیست، سبب تحمل گیاه به تنش‌ها می‌شوند (Deepak Bhardwaj et al., 2014). با بررسی اثر خشکی انتهای فصل و تلقیح کودهای زیستی، می‌توان ارقام سازگار کلزا را در شرایط تنش به‌وسیله پاسخ آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، تجمع پرولین و میزان رنگیزه‌های مختلف، شناسایی نمود و با کاهش مصرف آب و کودهای شیمیایی، عملکرد اقتصادی مطلوب را به دست آورد. لذا جهت بررسی واکنش ارقام کلزا به کاربرد ازتوباکتر کوکوم در شرایط قطع آبیاری و مطالعه اثرات متقابل بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیک و تغییرات مواد سلولی، آزمایشی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی سراب چنگایی خرم‌آباد، به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار اجرا شد. عامل قطع آبیاری در کرت‌های اصلی، شامل قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و توسعه ۳۰ درصد خورجین‌ها و آبیاری معمولی بر اساس نیاز گیاه، حجم آب در هر بار آبیاری برای تیمار آبیاری کامل از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$V_w = (FC - PWP) \times BD \times A \times D / Ea \quad [1]$$

که در آن V_w : حجم آب آبیاری (مترمکعب)، FC: درصد وزنی رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه ۲۸٪، PWP: درصد وزنی رطوبت خاک در زمان آبیاری ۱۴٪، BD: وزن مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب) ۱٫۲۵، A: مساحت کرت آزمایشی (مترمربع)، D: عمق ریشه (متر)، Ea: راندمان کاربرد آب آبیاری هستند.

تنش افزایش می‌دهد، این واکنش‌ها ممکن است برای غلبه بر اثرات زیان‌بار و بلندمدت، کافی نباشد. در کلزا مهار پراکسید هیدروژن با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تابع ژنوتیپ است (Tohidi Moghaddam et al., 2009). افزایش شدت خشکی منجر به افزایش فعالیت آنزیمی کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز و خنثی شدن رادیکال‌های آزاد در کلزا می‌شود. کاهش تولید کاتالاز، شدت اثر تنش خشکی را افزایش می‌دهد (Omidi, 2010; Kalantar ahmadi et al., 2015).

نقش آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز، کاهش غلظت هیدروژن پراکسید و سوپراکسید است (Zhao et al., 2005; Saneoka, et al., 2004). گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر شامل سوپراکسید، هیدروکسیل، الکوکی، پراکسید هیدروژن و اکسیژن ساده در شرایط عادی تولید می‌شوند ولی تولید بیش‌ازحد آن‌ها مضر است (Esfandiari, 2007). این یون‌ها با پروتئین، چربی و اسید اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شوند. گیاهان برای کاهش این اثر مخرب، مکانیسم‌های متفاوتی از جمله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند (Agarwal and Pandey, 2004). بخش آنزیمی شامل کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز، پرولین و گوآیاکول پراکسیداز است (Foyer and Noctor, 2002). بخش غیر آنزیمی شامل سیستئین، اسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها است (Blokhina et al., 2003). کاتالاز و پراکسیداز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کنند. تنش اکسیداتیو باعث غیرفعال شدن آنزیم‌های کلروپلاست، کاهش میزان فتوسنتز برگ، تخریب پروتئین و ازهم‌گسیختگی غشاء می‌شود (Sairam, 2000). تنش خشکی در کلزا موجب افزایش قندهای محلول، بالا رفتن پتانسیل اسمزی و جذب آب می‌گردد. افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول در ارقام کلزا، متفاوت است و میزان آن به مقاومت به خشکی ارقام مرتبط است (Mirzaee et al., 2013). افزایش پرولین در تنش، نتیجه تجزیه پروتئین و کاهش رشد است. تجمع پرولین در پاسخ به خشکی، راه-حلی برای جذب آب در سلول است (Ashraf, and Foolad, 2007). اکسیژن فعال، سبب پراکسیداسیون چربی‌های غشاء، تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و کاهش کلروفیل می‌شود. ارقام دارای کلروفیل بیشتر، مقاومت بیشتری به تنش دارند (Gregersen and Holm, 2007). تنش کم‌آبی میزان

هموژن منجمد شد و در یک میلی‌لیتر آب استریل در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفوژ قرار داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره با اسید ناین‌هیدرین به مدت یک ساعت در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط شد و واکنش در حمام یخ متوقف گردید. مخلوط واکنش تکان داده شد و چگالی نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر مشخص شد. سطح محتوای پرولین با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (Bates et al., 1973). برای اندازه‌گیری کاتالاز، عصاره پروتئینی تهیه و یک گرم بافت تر اندام هوایی منجمد شده در هاون چینی محتوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۰/۰۵ مولار pH=۷/۵) به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ ساییده شد. سپس نمونه‌ها در لوله به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور، سانتریفوژ انجام و صاف شدند و تغییرات در ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی محاسبه گردید (Aebi, 1984). فعالیت آنزیم پراکسیداز با اکسیداسیون گایاکول در حضور H₂O₂ تعیین و افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (Hernandez et al., 2000). برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ‌های بالای پوشش گیاهی توسط ازت مایع فریز گردید. مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی با استن ۸۰ درصد استخراج و اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کاروتنوئید با دستگاه اسپکتروفوتومتر به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر انجام و با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Arnon, 1967).

$$Chl.a = 19.3 (A663) - 0.86 (A645) v/100w \quad [۲]$$

$$Chl.b = 19.3 (A645) - 3.6 (A663) v/100w \quad [۳]$$

$$Car = 100 (A470) - 3.27 (mg Chl.a) - 104 (mg Chl.b) /227 \quad [۴]$$

برای اندازه‌گیری قند ۲۰ میلی‌گرم بافت خردشده در ۴ میلی‌لیتر بافر به مدت پنج دقیقه در ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و دو میلی‌لیتر از کلروفورم و آب مقطر به آن اضافه شد. دو میلی‌لیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر آب مقطر، یک میلی‌لیتر فنل ۵٪ و پنج میلی‌لیتر اسیدسولفوریک مخلوط شد. بعد از ظهور رنگ صورتی تیره، در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در داخل آون نگهداری شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب قرار گرفتند و جذب در ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Du bois et al., 1956). برای تعیین میزان پروتئین،

پس از محاسبه‌ی مقدار آب لازم، با استفاده از لوله انتقال آب دارای کنتور تارسیدن به حد ظرفیت مزرعه آبیاری انجام شد. مجموع آبیاری پاییزه، بارش سال زراعی و آبیاری برای تیمار آبیاری کامل (شاهد)، به میزان ۶۸۴۳ مترمکعب بود. تلقیح بذور با ازتوباکتر کروکوکوم شامل سوبه‌های ۶۳ و ۷۰ و بدون تلقیح (شاهد) و ارقام کلزا شامل ارقام هیبرید نپتون، اکتان و رقم اکاپی (شاهد) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. پیش از کاشت جهت تعیین جمعیت ازتوباکتر خاک، نمونه‌گیری و اندازه‌گیری‌های لازم به عمل آمد. جمعیت باکتری‌های بومی خاک ۱/۵×۱۰^۳ و در هر گرم مایه تلقیح ۹/۸×۱۰^۷ سلول در هر گرم برآورد شد. باکتری ازتوباکتر کروکوکوم از بانک ریزجانداران مفید بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای انجام تلقیح، بذور به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون باکتری غوطه‌ور شدند، سپس در سایه خشک و کشت گردیدند (Milosevic, 2012).

جهت تهیه بستر کاشت، دو بار آبیاری، شخم عمیق، پخش کودهای سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم به ترتیب به میزان ۱۰۰ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار، دو دیسک عمود بر هم و تسطیح انجام گرفت. جوی و پشته‌هایی با فاصله ۵۰ سانتی‌متر ایجاد و روی هر پشته دو خط به فاصله ۲۵ سانتی‌متر کشت شد. فاصله بین کرت‌های فرعی یک، کرت‌های اصلی دو و بین بلوک‌ها سه متر منظور شد. هر کرت اصلی شامل نه کرت فرعی به طول چهار متر، عرض یک و نیم متر و شامل شش خط کشت بود. بذور به‌صورت یکنواخت و بیشتر از تراکم موردنیاز در عمق یک تا دو سانتی‌متر کاشته شدند. اولین آبیاری در تاریخ ۱۳۹۵/۸/۱ برابر با تاریخ کاشت تعیین گردید. برای جلوگیری از نفوذ آب به کرت‌های مجاور، پشته‌هایی با ارتفاع و عرض مناسب ایجاد شد. پس از سبز شدن در مراحل ۲-۳ و ۴-۶ برگی تنک انجام شد و فواصل بوته‌ها روی خطوط کاشت ۱۰ سانتی‌متر و تراکم بوته به میزان ۴۰ بوته در مترمربع فراهم شد. برای اعمال تیمارهای قطع آبیاری، از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و ۳۰ درصد خورجین‌دهی تا انتهای دوره رشد، آبیاری انجام نشد اما در تیمار آبیاری معمولی، آبیاری بر اساس نیاز صورت گرفت.

نمونه‌برداری برای تعیین میزان پروتئین، قندهای محلول، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کلروفیل و کاروتنوئید از بافت سبز اندام‌های هوایی شامل برگ و ساقه انجام گرفت. برای اندازه‌گیری پرولین، ۵۰۰ میلی‌گرم از مواد گیاهی

کم‌آبی و بدون باکتری، میزان کلروفیل b کاهش یافت. رقم اکاپی نسبت به ارقام هیبرید نپتون و اکتان قند بیشتری تولید نمود. هرچه زمان قطع آبیاری زودتر باشد، غلظت قند در بافت سبز بیشتر می‌شود.

عملکرد دانه

اثر متقابل قطع آبیاری و ارقام بر عملکرد دانه کلزا در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). ارقام مختلف کلزا واکنش متفاوتی به تنش رطوبتی انتهایی فصل نشان می‌دهند (Ghodrati, 2013). عملکرد دانه ارقام هیبرید اکتان و نپتون در آبیاری نرمال به ترتیب ۵۲۵۸/۳ و ۴۷۴۲/۲ کیلوگرم در هکتار بود که به ترتیب ۳۰/۰۶ و ۱۷/۲۱ درصد از رقم شاهد در این رژیم آبیاری بیشتر بود. در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی عملکرد دانه رقم هیبرید نپتون بالاتر بود و ارقام هیبرید نپتون و اکتان با ۴۶۹۹/۷ و ۴۵۶۷/۷ کیلوگرم در هکتار به ترتیب ۲۳/۵۷ و ۲۱/۳۶ درصد نسبت به شاهد برتر بودند و رقم هیبرید اکتان در آبیاری نرمال بیشترین عملکرد دانه را تولید نمود (جدول ۲). با افزایش آبیاری، رقم هیبرید اکتان، نسبت به تیمارهای قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و ۳۰ درصد خورجین‌دهی، به ترتیب ۲۵/۳۴ و ۱۳/۱۳ درصد، افزایش عملکرد دانه داشت. افزایش عملکرد دانه رقم اکاپی در آبیاری نرمال نسبت به قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و خورجین‌دهی به ترتیب ۱۶/۰۷ و ۲/۳۳ درصد بود. همچنین افزایش عملکرد رقم هیبرید نپتون نسبت به قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و خورجین‌دهی به ترتیب ۲۷/۶۵ و ۱ درصد بود و رقم هیبرید نپتون در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی، عملکرد بالاتری داشت. در تیمار آبیاری نرمال عملکرد رقم هیبرید اکتان نسبت به ارقام نپتون و اکاپی به ترتیب ۹/۸۱ و ۳۰/۰۶ درصد برتری نشان داد و رقم اکاپی نسبت به رقم هیبرید نپتون ۲۲/۴۵ درصد کاهش داشت (جدول ۲). گزارش شده است که قطع آبیاری از ابتدای گل‌دهی باعث کاهش ۲۵ درصدی عملکرد دانه و آبیاری نرمال باعث برتری ویژگی‌های کمی و کیفی کلزا می‌شود (Ghodrati, 2013). قطع آبیاری در مراحل گل‌دهی و خورجین‌دهی اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه کلزا دارد و هر چه زمان قطع آبیاری زودتر باشد، عملکرد دانه کمتر است (Jabbari et al., 2015). تنش رطوبتی در مراحل گل‌دهی

یک میلی‌لیتر از محلول برادفورد، به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bradford, 1976). برای محاسبه عملکرد دانه، بوته‌های فضای عملکرد به مساحت سه مترمربع، برداشت شدند و با جداسازی، دانه‌ها در رطوبت ۱۲ درصد توزین و عملکرد دانه محاسبه شد. برای تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS 9.1.3 استفاده و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد اثرات ساده رژیم آبیاری بر عملکرد دانه معنی‌دار شد به گونه‌ای که قطع آبیاری باعث کاهش عملکرد می‌شود، هرچه تیمار قطع آبیاری زودتر اعمال شود کاهش عملکرد بیشتر است. هرچند اثر ساده ازتوباکتروکوکوم بر عملکرد دانه معنی‌دار نبود اما تا حدودی عملکرد دانه را افزایش داد. ارقام کلزا از نظر عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری با هم داشتند و رقم هیبرید اکتان بیشترین عملکرد دانه را داشت. دو رقم هیبرید اکتان و نپتون نسبت به رقم اکاپی (شاهد) با اختلاف معنی‌دار، عملکرد بیشتری داشتند. بررسی برهمکنش تیمارها نشان داد بیشترین پروتئین در تیمار آبیاری نرمال و تلقیح با ازتوباکتر و کمترین پروتئین نیز از تیمارهای بدون تلقیح و قطع آبیاری به دست آمد. در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی و آبیاری نرمال به ترتیب بیشترین و کمترین غلظت پروتئین مشاهده شد. قطع آبیاری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز گردید اما تلقیح با ازتوباکتر، میزان آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را کاهش داد. قطع آبیاری باعث کاهش کلروفیل a, b و کل شد. اثر متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر کلروفیل a نشان داد که ارقام هیبرید نپتون و اکتان در تلقیح با سویه ۷۰ در تیمار آبیاری نرمال، بیشترین میزان کلروفیل a را تولید نمودند. بیشترین میزان کلروفیل b در ارقام هیبرید اکتان و نپتون در سویه‌های ۶۳ و ۷۰ در آبیاری نرمال و کمترین میزان کلروفیل b نیز از رقم هیبرید اکتان در تیمار بدون ازتوباکتر و قطع آبیاری از ۳۰ درصد گل‌دهی ایجاد شد. رقم هیبرید اکتان در آبیاری نرمال و سویه ۷۰، بیشترین مجموع کلروفیل را داشت. بیشترین کاروتنوئید از رقم هیبرید اکتان در سویه ۶۳ و آبیاری نرمال به دست آمد. در شرایط تنش

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر مایه تلقیح ازتوباکتر بر میزان عملکرد دانه، پرولین، قندهای محلول غیر ساختاری، پروتئین، آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و رنگیزه‌های فتوسنتزی اندام هوایی ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط قطع آبیاری

Table 1. Analysis of variances of the effect of azotobacter inoculum on yield, proline, unstructured soluble sugars, protein, catalase and peroxidase antioxidant enzymes photosynthetic pigments content of canola (*Brassica napus* L.) cultivars in terminal cessation of irrigation condition.

| S.O.V | منابع تغییرات | درجه آزادی df | قندهای محلول غیر ساختاری | | | | | |
|---------------------------------|-----------------------|---------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| | | | عملکرد دانه grain yeild | پرولین اندام هوایی proline | unstructured soluble sugars | پروتئین اندام هوایی protein | پراکسیداز اندام هوایی peroxidase | کاتالاز اندام هوایی catalase |
| Block | بلوک | 3 | 2983472** | 0.002 ^{ns} | 20.68 ^{ns} | 0.0015 ^{ns} | 0.0006 ^{ns} | 0.0267** |
| Irrigation | آبیاری | 2 | 11318330** | 0.05** | 2118.8** | 0.105** | 0.35** | 0.061** |
| Block × Irrigation | بلوک × آبیاری | 6 | 878382* | 0.002 ^{ns} | 39.27 ^{ns} | 0.0027** | 0.0018 ^{ns} | 0.00044 ^{ns} |
| Bacteria | باکتری | 2 | 725732 ^{ns} | 0.001 ^{ns} | 335.6** | 0.0627** | 0.137** | 0.024** |
| Variety | رقم | 2 | 12428648** | 0.0002 ^{ns} | 172.75** | 0.00025 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.0083** |
| Bacteria × Irrigation | آبیاری × باکتری | 4 | 187984 ^{ns} | 0.025** | 314.9** | 0.0052** | 0.031** | 0.0059** |
| Variety × Irrigation | رقم × آبیاری | 4 | 950570* | 0.0003 ^{ns} | 85.13** | 0.00084 ^{ns} | 0.0036 ^{ns} | 0.0019** |
| Bacteria × Variety | باکتری × رقم | 4 | 109719 ^{ns} | 0.00072 ^{ns} | 12.77 ^{ns} | 0.00024 ^{ns} | 0.0017 ^{ns} | 0.0007 ^{ns} |
| Bacteria × Variety × Irrigation | باکتری × رقم × آبیاری | 8 | 198607 ^{ns} | 0.00069 ^{ns} | 9.37 ^{ns} | 0.00017 ^{ns} | 0.0025 ^{ns} | 0.00036 ^{ns} |
| Error | اشتباه | 72 | 368857 | 0.001 | 22.35 | 0.00088 | 0.002 | 0.00029 |
| CV(%) | ضریب تغییرات | | 14.78 | 9.46 | 8.72 | 7.25 | 7.8 | 3.48 |

Table 1. Continued

جدول ۱. ادامه

| S.O.V | منابع تغییرات | درجه آزادی df | میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی | | | | |
|---------------------------------|-----------------------|---------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------------|--|---------------------|
| | | | Photosynthesis pigments content | | کلروفیل کل Total Chlorophyll | نسبت کلروفیل $\frac{a}{b}$ Chlorophyll $\frac{a}{b}$ Ratio | |
| | | | کاروتنوئید Carotenoid | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | | |
| Block | بلوک | 3 | 0.0001 ^{ns} | 0.0076* | 0.00021 ^{ns} | 0.0091* | 0.140 ^{ns} |
| Irrigation | آبیاری | 2 | 0.056** | 1.43** | 0.085** | 2.2** | 1.93** |
| Block × Irrigation | بلوک × آبیاری | 6 | 0.00039 ^{ns} | 0.0013 ^{ns} | 0.001** | 0.0013 ^{ns} | 0.179 ^{ns} |
| Bacteria | باکتری | 2 | 0.011** | 0.316** | 0.001* | 0.339** | 5.62** |
| Variety | رقم | 2 | 0.0016 ^{ns} | 0.004 ^{ns} | 0.0021** | 0.012** | 0.138 ^{ns} |
| Bacteria × Irrigation | آبیاری × باکتری | 4 | 0.0033** | 0.243** | 0.0021** | 0.279** | 3.75** |
| Variety × Irrigation | رقم × آبیاری | 4 | 0.0027** | 0.0092** | 0.0021** | 0.014** | 0.44** |
| Bacteria × Variety | باکتری × رقم | 4 | 0.00015 ^{ns} | 0.00098 ^{ns} | 0.0021** | 0.0015 ^{ns} | 0.50** |
| Bacteria × Variety × Irrigation | باکتری × رقم × آبیاری | 8 | 0.0016* | 0.014** | 0.0017** | 0.024** | 0.171 ^{ns} |
| Error | اشتباه | 72 | 0.00036 | 0.0024 | 0.00026 | 0.0025 | 0.096 |
| CV(%) | ضریب تغییرات | | 5.36 | 7.18 | 6.8 | 5.44 | 10.85 |

ns, * and ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: non-significant, significant in 0.05 and 0.01 level, respectively

و خورجین‌دهی باعث کاهش جذب آب، کاهش سنتز و انتقال اسیمیلات‌ها می‌شود و اجزای عملکرد شامل وزن دانه، تعداد دانه، تعداد خورجین و تعداد شاخه‌های فرعی بارور و در نتیجه عملکرد دانه را کاهش می‌دهد.

ارقام هیبرید اکتان و نپتون با توجه به پتانسیل ژنتیکی، در تیمارهای قطع آبیاری، عملکرد دانه بیشتری تولید نمودند و برای کاشت در شرایط تنش رطوبتی مناسب‌ترند و در شرایط رطوبت کافی نیز عملکرد بالاتری دارند (Niknam et al., 2003 and Tahmasbi Sarvestani et al., 2003).

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل قطع آبیاری و رقم بر میزان عملکرد دانه، پرولین، قندهای محلول غیر ساختار، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و رنگیزه‌های فتوسنتزی اندام هوایی ارقام کلزا (*Brassica napus L.*) تحت اثر مایه تلقیح ازتوباکتر در شرایط قطع آبیاری انتهای فصل

Table 2. Meanes comparison of the irrigation and cultivar interaction effects on grain yield, proline, unstructured soluble sugars, protein, catalase and peroxidase antioxidant enzymes photosynthetic pigments content of rapeseed (*Brassica napus L.*)cultivars in terminal cessation of irrigation condition under effect of azotobacter inoculum

| تیمار Treatment | عملکرد دانه Grain yeild kg.ha ⁻¹ | قندهای محلول | | پروتئین اندام هوایی Protein mg.g ⁻¹ FW | پراکسیداز اندام هوایی Peroxidase nmol.min.g ⁻¹ | کاتالاز اندام هوایی Catalase nmol.min.g ⁻¹ |
|--------------------|---|---|---|--|--|--|
| | | پرولین اندام هوایی Proline mg.g ⁻¹ FW | غیر ساختار Unstructured soluble sugars mg.g ⁻¹ FW | | | |
| I1 | v1 | 3430.8 ^{dc} | 0.429 ^a | 65.96 ^a | 0.381 ^b | 0.535 ^a |
| | v2 | 3925.5 ^{bc} | 0.417 ^{ab} | 59.26 ^{ab} | 0.364 ^b | 0.530 ^a |
| | v3 | 3086.3 ^d | 0.422 ^{ab} | 62.43 ^{ab} | 0.378 ^b | 0.510 ^{ab} |
| I2 | v1 | 4699.7 ^a | 0.370 ^{bc} | 50.52 ^{cd} | 0.388 ^b | 0.495 ^{ab} |
| | v2 | 4567.7 ^{ab} | 0.372 ^{bc} | 50.34 ^{cd} | 0.376 ^b | 0.534 ^a |
| | v3 | 3591.6 ^{dc} | 0.383 ^{abc} | 56.51 ^{bc} | 0.380 ^b | 0.495 ^{ab} |
| I3 | v1 | 4742.2 ^a | 0.347 ^c | 46.11 ^d | 0.464 ^a | 0.433 ^c |
| | v2 | 5258.3 ^a | 0.348 ^c | 46.28 ^d | 0.477 ^a | 0.468 ^{bc} |
| | v3 | 3677.5 ^{dc} | 0.349 ^c | 50.08 ^{cd} | 0.472 ^a | 0.439 ^c |

Table 2. Continued

جدول ۲. ادامه

| تیمارها Treatments | کاروتنوئید Carotenoid | میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی | | | نسبت کلروفیل $\frac{a}{b}$ Chlorophyll ratio | |
|-----------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|---|---------------------|
| | | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کلروفیل کل Total chlorophyll | | |
| I1 | v1 | 0.295 ^d | 0.562 ^b | 0.206 ^{cd} | 0.770 ^b | 2.801 ^{ab} |
| | v2 | 0.331 ^c | 0.534 ^b | 0.215 ^{cd} | 0.794 ^b | 2.445 ^b |
| | v3 | 0.324 ^{cd} | 0.565 ^b | 0.196 ^d | 0.762 ^b | 2.832 ^{ab} |
| I2 | v1 | 0.355 ^{bc} | 0.575 ^b | 0.204 ^{cd} | 0.775 ^b | 2.880 ^{ab} |
| | v2 | 0.355 ^{bc} | 0.598 ^b | 0.215 ^{cd} | 0.809 ^b | 2.865 ^{ab} |
| | v3 | 0.405 ^a | 0.575 ^b | 0.226 ^c | 0.798 ^b | 2.583 ^{ab} |
| I3 | v1 | 0.405 ^a | 0.899 ^a | 0.295 ^{ab} | 1.192 ^a | 3.060 ^{ab} |
| | v2 | 0.405 ^a | 0.955 ^a | 0.311 ^a | 1.265 ^a | 3.079 ^{ab} |
| | v3 | 0.379 ^{ab} | 0.883 ^a | 0.275 ^b | 1.156 ^a | 3.246 ^a |

اعداد با یک حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند.

I1: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی؛ I2: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی؛ I3: آبیاری مطلوب؛ v1: نپتون؛ v2: اکتان؛ v3: اکاپی

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by duncan's test

(I1: Irrigation withholding since 30% flowering stage, I2: Irrigation withholding since 30% pod forming stage, I3: Normal Irrigation v1: Neptun, v2: Octane and v3: Okapi)

پروتئین اندام هوایی

اثر متقابل قطع آبیاری و ازتوباکتر بر میزان پروتئین اندام هوایی معنی دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). رطوبت و ازتوباکتر، پروتئین بافت سبز کلزا را افزایش دادند. سویه‌های ۶۳ و ۷۰ در تیمار آبیاری نرمال، به ترتیب میزان ۰/۴۸۷ و ۰/۴۸۳ پروتئین برحسب $mg\ g^{-1}\ FW$ تولید نمودند. فراهمی رطوبت و باکتری، نسبت به تیمار قطع آبیاری و بدون تلقیح ۳۴ درصد برتری نشان داد. کمترین پروتئین از تیمار بدون تلقیح با قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد گل‌دهی و ۳۰ درصد خورجین‌دهی، به ترتیب به میزان ۰/۳۲۸ و $mg\ g^{-1}\ FW\ 0/313$ به دست آمد (جدول ۳). با وجود رطوبت، ازتوباکتر باعث افزایش جذب نیتروژن می‌شود و با تولید مواد تنظیم‌کننده رشد در سطح ریشه، سبب گسترش ریشه و افزایش جذب آب و عناصر غذایی از جمله نیتروژن می‌شوند. نیتروژن در سنتز آمینواسید و پروتئین نقش دارد (Ashrafuzzaman Met al., 2009 and Sorouri et al., 2013). گزارش شده است ازتوباکتر توانایی سنتز اسیدهای آمینه آرچینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین و بیوتین را دارد (Gonzalez-Lopez, 1983). در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در کلزا، برخی از پروتئین‌ها از جمله آسکوربات و گلوکاتایون در سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، به سرعت فعال شده و تولید می‌شوند (Deepak Bhardwaj et al., 2014). خشکی باعث افزایش پرولین، مانیتول، سوربیتول، بتائین، پلی‌آمین، گلیاسین و قندهای محلول می‌شود (Arora et al., 2002; Molinari et al., 2007).

قندهای محلول

اثر متقابل قطع آبیاری و رقم بر قندهای محلول معنی دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). بیشترین قند محلول از رقم هیبرید نپتون در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی و به میزان $mg\ g^{-1}\ FW\ 65/96$ به دست آمد. ارقام اکتان و اکاپی نیز در تیمار کمترین آبیاری به ترتیب با ۶۲/۴۳ و $mg\ g^{-1}\ FW\ 59/26$ در رتبه بعدی قرار گرفتند. کمترین قند محلول را تیمار آبیاری نرمال در سه رقم نپتون، اکتان و اکاپی به ترتیب با ۴۶/۱۱، ۴۶/۲۸ و ۵۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم ایجاد نمود (جدول ۲). واکنش رقم هیبرید نپتون به شرایط کمبود

رطوبت، تجمع بیشتر قندهای محلول بود اما در رطوبت کافی، میزان قند محلول آن کاهش بیشتری داشت. اثر متقابل قطع آبیاری و باکتری بر قندهای محلول غیر ساختاری معنی دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). سویه ۶۳ در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی، بیشترین تجمع قند محلول را به میزان ۶۴/۱۶ میلی‌گرم ایجاد نمود. کمترین قند محلول نیز در آبیاری نرمال و قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی در تلقیح با سویه ۶۳ به میزان ۴۶/۱۴ و ۴۳/۷۵ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد (جدول ۳). به نظر می‌رسد در کاهش قند محلول، اثر آبیاری بیشتر از اثر ازتوباکتر بوده است. افزایش غلظت قندهای محلول یک پاسخ معمول به شرایط تنش خشکی است، با تأمین رطوبت در آبیاری نرمال، پتانسیل اسمزی تنظیم است و پلی‌ساکاریدهای نامحلول به قندهای محلول تبدیل نمی‌شوند (Hendry, 1993).

قندهای احیاکننده در کلزا تحت تنش کم‌آبی افزایش معنی‌داری داشت (Ahmadi Musavi et al., 2005). افزایش تنش خشکی در گندم سبب افزایش کربوهیدرات شد (Naeemi et al., 2018). با خشک شدن خاک، پتانسیل ماتریک گیاهان منفی شده و باعث جذب آب از محیط می‌شود. گیاهان با تجمع قندهای محلول سوربیتول، بتائین، اسیدهای آلی، پرولین و گلیاسین، پتانسیل آبی خود را کاهش می‌دهند (Taize and Zeiger, 2006).

قندهای محلول در برگ‌های گیاهان تحت تنش خشکی ساخته می‌شوند (Molinari et al., 2007). خشکی سبب افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی گلوکز، مانوز و رامنوز در کلزا می‌شود اما غلظت آن‌ها در ارقام مختلف با هم متفاوت است و به میزان مقاومت به خشکی ارقام کلزا مرتبط است (Mirzaee et al., 2013).

پرولین اندام هوایی

اثر متقابل قطع آبیاری و ازتوباکتر بر میزان پرولین معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). سویه‌های ۶۳ و ۷۰ در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی بیشترین پرولین را به ترتیب به میزان ۰/۴۴۷ و ۰/۴۴۵ میلی‌گرم بر گرم تولید نمودند و ازتوباکتر همراه با قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی باعث واکنش گیاه کلزا به صورت تجمع بیشتر پرولین گردیده است (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل قطع آبیاری و باکتری بر میزان عملکرد دانه، پرولین، قندهای محلول غیر ساختاری، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و رنگیزه‌های فتوسنتزی اندام هوایی ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) تحت اثر مابه تلقیح ازتوباکتر در شرایط قطع آبیاری انتهای فصل

Table 3. Meanes comparison of the irrigation and bacteria effects on grain yield, proline, unstructured soluble sugars, protein, catalase and peroxidase antioxidant enzymes photosynthetic pigments content of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars in terminal cessation of irrigation condition under effect of azotobacter inoculum

| تیماها Treatments | عملکرد دانه Grain yeild | پرولین اندام هوایی Proline | قندهای محلول غیر ساختاری Unstructured soluble sugars | پروتئین اندام هوایی Protein | پراکسیداز اندام هوایی Peroxidase | کاتالاز اندام هوایی Catalase |
|----------------------|----------------------------|----------------------------------|---|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| | kg.ha ⁻¹ | mg.g ⁻¹ FW | mg.g ⁻¹ FW | mg.g ⁻¹ FW | nmol.min.g ⁻¹ | nmol.min.g ⁻¹ |
| I1 | b1 | 3532.2 ^{bc} | 0.447 ^a | 64.16 ^a | 0.400 ^c | 0.517 ^{bc} |
| | b2 | 3599.1 ^{bc} | 0.445 ^a | 61.39 ^a | 0.395 ^c | 0.519 ^{bc} |
| | b3 | 3311.3 ^c | 0.376 ^b | 62.09 ^a | 0.328 ^d | 0.540 ^{ab} |
| I2 | b1 | 4505 ^{ab} | 0.326 ^c | 43.75 ^c | 0.437 ^b | 0.465 ^{de} |
| | b2 | 4153.2 ^{abc} | 0.367 ^{bc} | 52.4 ^b | 0.395 ^c | 0.495 ^{cd} |
| | b3 | 4200.8 ^{abc} | 0.431 ^a | 61.23 ^a | 0.313 ^d | 0.565 ^a |
| I3 | b1 | 4662.8 ^a | 0.351 ^{bc} | 46.14 ^c | 0.487 ^a | 0.440 ^c |
| | b2 | 4664.6 ^a | 0.348 ^{bc} | 47.43 ^{bc} | 0.483 ^a | 0.436 ^c |
| | b3 | 4350.5 ^{ab} | 0.346 ^{bc} | 48.90 ^{bc} | 0.444 ^b | 0.464 ^{de} |

Table 3. Continued

جدول ۳. ادامه

| تیماها Treatments | Photosynthesis pigments content | | | میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی | | |
|----------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|--|---------------------|
| | کاروتنوئید Carotenoid | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کلروفیل کل Total Chlorophyll | نسبت کلروفیل $\frac{a}{b}$ Chlorophyll $\frac{a}{b}$ ratio | |
| | | mg.g ⁻¹ FW | | | | |
| I1 | b1 | 0.3483 ^{bc} | 0.751 ^c | 0.219 ^b | 0.973 ^d | 3.471 ^a |
| | b2 | 0.3266 ^c | 0.601 ^c | 0.214 ^b | 0.814 ^{ef} | 2.848 ^{bc} |
| | b3 | 0.2758 ^d | 0.309 ^g | 0.18 ^c | 0.494 ^h | 1.756 ^e |
| I2 | b1 | 0.361 ^b | 0.562 ^{ef} | 0.220 ^b | 0.777 ^{fg} | 2.626 ^{cd} |
| | b2 | 0.361 ^b | 0.674 ^d | 0.205 ^{bc} | 0.874 ^c | 3.342 ^a |
| | b3 | 0.343 ^{bc} | 0.512 ^f | 0.221 ^b | 0.732 ^g | 2.361 ^d |
| I3 | b1 | 0.404 ^a | 0.814 ^c | 0.292 ^a | 1.103 ^c | 2.825 ^{bc} |
| | b2 | 0.396 ^a | 1.008 ^a | 0.299 ^a | 1.304 ^a | 3.396 ^a |
| | b3 | 0.388 ^a | 0.916 ^b | 0.292 ^a | 1.207 ^b | 3.166 ^{ab} |

اعداد با یک حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند.

I1: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی؛ I2: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی؛ I3: آبیاری مطلوب؛ b1: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۶۳؛ b2: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۷۰؛ b3: بدون ازتوباکتر

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by duncan's test

(I1: Irrigation withholding since 30% flowering stage, I2: Irrigation withholding since 30% pod forming stage, I3: Normal Irrigation, b1: Azotobacter chroococcum 63, b2: Azotobacter chroococcum 70, b3: No Azotobacter)

با شرایط نرمال بیشتر است اما مقدار زیاد یا کم پرولین نمی‌تواند به‌عنوان یک معیار مقاومت و برتری در بین ژنوتیپ‌های کلزا باشد (Lotfi et al., 2015). بین ارقام برتر و ضعیف کلزا از نظر مقاومت به خشکی تفاوتی در میزان پرولین نبود، بنابراین پرولین نمی‌تواند معیار مناسبی برای انتخاب ارقام مقاوم به خشکی باشد (Eyni Nargeseh et al., 2019).

تجمع پرولین از علائم مقاومت به تنش خشکی است (Ashraf and Foolad, 2007). کمترین میزان پرولین به مقدار ۰/۳۲۶ میلی‌گرم بر گرم از تیمار کمترین آبیاری و سویه ۶۳ حاصل شد که با سویه‌های باکتری در آبیاری نرمال تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). گزارش شده است مقدار پرولین در بوته‌های کلزا تحت شرایط تنش خشکی در مقایسه

کاتالاز اندام هوایی

اثر متقابل قطع آبیاری و باکتری و همچنین قطع آبیاری و رقم بر کاتالاز اندام هوایی معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی بدون ازتوباکتر با ۰/۵۶۵ میکرومول H_2O_2 در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین، بیشترین محتوای کاتالاز را داشت. تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی بدون ازتوباکتر و با سویه‌های ۷۰ و ۶۳ به ترتیب با تولید ۰/۵۴۰، ۰/۵۱۹ و ۰/۵۱۷ میکرومول، به دلیل تنش خشکی، بیشترین و تیمار آبیاری نرمال نیز بدون تلقیح و در تلقیح با ازتوباکتر به دلیل فراهم بودن رطوبت و کاهش میزان H_2O_2 ، کمترین فعالیت کاتالاز را داشتند (جدول ۳). بدون ازتوباکتر اثرات تنش خشکی تشدید و برای کاهش اثرات آن، فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر شده است. تنش خشکی، باعث فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز در کلزا گردید (Kalantar Ahmadi et al., 2015). ارقام هیبرید نپتون و اکتان در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی و رقم هیبرید اکتان در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی دارای بیشترین فعالیت کاتالاز به ترتیب به میزان ۰/۵۳۵، ۰/۵۳۰ و ۰/۵۳۴ میکرومول بودند (جدول ۲). فعالیت کاتالاز در ارقام هیبرید نپتون و اکتان در شرایط قطع آبیاری بیشتر از رقم اکاپی بود و عملکرد دانه و ماده خشک بالاتری نیز تولید کردند که با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد (Tohidi Moghaddam et al., 2009). بیشترین کاتالاز در قطع آبیاری از مرحله ساقه‌دهی کلزا بوده است. واکنش ارقام کلزا به قطع آبیاری از نظر آنزیم کاتالاز متفاوت است. نقش کاتالاز در کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها، تحمل به خشکی، عملکرد و اجزای عملکرد، بیشتر از پرولین است (Jabbari et al., 2014).

کاروتنوئید اندام هوایی

اثر متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر کاروتنوئید معنی‌دار شد ($P < 0.05$) (جدول ۱). بیشترین کاروتنوئید به میزان ۰/۴۳۰ میلی‌گرم بر گرم را رقم هیبرید اکتان در سویه ۶۳ و آبیاری نرمال و رقم هیبرید نپتون در سویه‌های ۷۰ و ۶۳ در آبیاری نرمال به ترتیب به میزان ۰/۴۱۲ و ۰/۴۰۷ میلی‌گرم بر گرم تولید نمودند. همه ارقام هیبرید نپتون، اکتان و اکاپی در تیمار بدون ازتوباکتر و کمترین آبیاری به ترتیب با ۰/۲۴۵، ۰/۳۰۰ و ۰/۲۸۲ میلی‌گرم بر گرم کمترین کاروتنوئید را داشتند (جدول ۵). تنش خشکی با تولید گونه‌های فعال

بنابراین افزایش پرولین یک مشخصه سازگاری به تنش نیست و تنها یک علامت تنش است (Sanchez-Rodriguez et al., 2010). در شرایط آبیاری نرمال، ازتوباکتر اثر کمتری در تجمع پرولین گیاه کلزا داشت. تنش خشکی منجر به افزایش تراکم پرولین در کلزا می‌گردد (Nosrati, 2014). نتایج محققین نشان داده است در کلزا با قطع آبیاری در مراحل مختلف نموی تجمع پرولین افزایش داشته و با قطع آبیاری از زمان گل‌دهی بالاترین غلظت پرولین مشاهده شده است (Jabbari et al., 2014). تنش اسمزی سبب افزایش فعالیت پرولین در ارقام کلزا می‌شود (Omidi, 2010). گزارش شده است کلزا در تنش خشکی شدید میزان بیشتری پرولین را جهت محافظت از سلول‌ها تولید می‌نماید اما در تیمار خشکی کم، به دلیل موفقیت گیاه در تنظیم اسمزی درون‌سلولی، میزان پرولین افزایش ندارد (Bohner et al., 1995). تنش خشکی در گندم سبب افزایش فعالیت پرولین شده است (Naeemi et al., 2018).

پراکسیداز اندام هوایی

اثر متقابل قطع آبیاری و ازتوباکتر بر میزان پراکسیداز معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار بدون تلقیح ازتوباکتر در قطع آبیاری از مراحل ۳۰ درصد خورجین‌دهی با ۰/۷۶۹ و ۳۰ درصد گل‌دهی با ۰/۶۴۸ میکرومول H_2O_2 در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بود. تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی همراه با تیمارهای بدون تلقیح، سویه ۶۳ و سویه ۷۰ پراکسیداز بیشتری به میزان ۰/۶۸۴، ۰/۶۵۷ و ۰/۶۱۷ میکرومول ایجاد نمودند که نشان‌دهنده فعالیت بیشتر آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش خشکی است. کمترین تجمع پراکسیداز نیز در تیمار آبیاری نرمال و سویه‌های ۶۳ و ۷۰ به ترتیب به میزان ۰/۴۶۵ و ۰/۴۳۲ به دست آمد (جدول ۳). تنش خشکی در گندم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی شد (Naeemi et al., 2018). با قطع آبیاری از مراحل نموی کلزا، فعالیت پراکسیداز افزایش یافت و در شرایط شاهد و قطع آبیاری از ساقه‌دهی به ترتیب کمترین و بیشترین فعالیت آن مشاهده شد (Omidi, 2010 and Jabbari et al., 2014). ارقام کلزا از نظر آنزیم پراکسیداز اختلاف ندارند، اما فعالیت آنزیم‌های دیگر در ارقام کلزا متفاوت است (Dehshiri and Pakniat, 2013; Jabbari et al., 2014).

اکسیژن در تیلانوئیدها باعث کاهش کلروفیل و کاروتنوئید می‌گردد (Farooq et al., 2009 and Sadaqat et al., 2003). کاروتنوئیدها نظیر لیکوپن، بتاکاروتن و گزانوفیلها در مقایسه با کلروفیل a و b علاوه بر نقش رنگیزه کمکی در فتوسنتز، به‌عنوان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش خشکی نقش دارند (Jaleel et al., 2009 and Jabbari et al., 2014). نتایج این آزمایش با نتایج محققین دیگر همخوانی دارد (Jabbari et al., 2014).

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل باکتری و رقم بر میزان عملکرد دانه، پرولین، قندهای محلول غیر ساختاری، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و رنگیزه‌های فتوسنتزی اندام هوایی ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) تحت اثر مایه تلقیح ازتوباکتر در شرایط قطع آبیاری انتهای فصل

Table 4. Meanes comparison of the bacteria and cultivars effects on grain yield, proline, unstructured soluble sugars, protein, catalase and peroxidase antioxidant enzymes photosynthetic pigments content of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars in terminal cut off irrigation condition under effect of azotobacter inoculum

| تیمارها Treatments | عملکرد دانه Grain yeild Kg.ha ⁻¹ | قندهای محلول | | پروتئین اندام هوایی Protein Mg.g ⁻¹ FW | پراکسیداز اندام هوایی Peroxidase nmol.min.g ⁻¹ | کاتالاز اندام هوایی Catalase nmol.min.g ⁻¹ |
|-----------------------|---|--|--|--|--|--|
| | | پرولین اندام هوایی Proline Mg.g ⁻¹ FW | غیر ساختاری Unstructured soluble sugars Mg.g ⁻¹ FW | | | |
| B1 | V1 | 4341.2 ^{ab} | 0.447 ^a | 64.16 ^a | 0.400 ^c | 0.517 ^{bc} |
| | V2 | 4805.3 ^a | 0.445 ^a | 61.39 ^a | 0.395 ^c | 0.519 ^{bc} |
| | V3 | 3553.5 ^{bc} | 0.376 ^b | 62.09 ^a | 0.328 ^d | 0.540 ^{ab} |
| B2 | V1 | 4421.7 ^{ab} | 0.326 ^c | 43.75 ^c | 0.437 ^b | 0.465 ^{de} |
| | V2 | 4551.8 ^a | 0.367 ^{bc} | 52.4 ^b | 0.395 ^c | 0.495 ^{cd} |
| | V3 | 3443.4 ^{bc} | 0.431 ^a | 61.23 ^a | 0.313 ^d | 0.565 ^a |
| B3 | V1 | 4109.8 ^{abc} | 0.351 ^{bc} | 46.14 ^c | 0.487 ^a | 0.440 ^e |
| | V2 | 4394.4 ^{ab} | 0.348 ^{bc} | 47.43 ^{bc} | 0.483 ^a | 0.436 ^e |
| | V3 | 3358.4 ^c | 0.346 ^{bc} | 48.90 ^{bc} | 0.444 ^b | 0.464 ^{de} |

Table 4. Continued

جدول ۴. ادامه

| تیمارها Treatments | Photosynthesis pigments content | | | میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی | | |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|--|---------------------|
| | کاروتنوئید carotenoid | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کلروفیل کل Total Chlorophyll | نسبت کلروفیل $\frac{a}{b}$ Chlorophyll $\frac{a}{b}$ Ratio | |
| B1 | V1 | 0.3483 ^{bc} | 0.751 ^c | 0.219 ^b | 0.973 ^d | 3.471 ^a |
| | V2 | 0.3266 ^c | 0.601 ^e | 0.214 ^b | 0.814 ^{ef} | 2.848 ^{bc} |
| | V3 | 0.2758 ^d | 0.309 ^g | 0.18 ^c | 0.494 ^h | 1.756 ^e |
| B2 | V1 | 0.361 ^b | 0.562 ^{ef} | 0.220 ^b | 0.777 ^{fg} | 2.626 ^{cd} |
| | V2 | 0.361 ^b | 0.674 ^d | 0.205 ^{bc} | 0.874 ^e | 3.342 ^a |
| | V3 | 0.343 ^{bc} | 0.512 ^f | 0.221 ^b | 0.732 ^g | 2.361 ^d |
| B3 | V1 | 0.404 ^a | 0.814 ^c | 0.292 ^a | 1.103 ^c | 2.825 ^{bc} |
| | V2 | 0.396 ^a | 1.008 ^a | 0.299 ^a | 1.304 ^a | 3.396 ^a |
| | V3 | 0.388 ^a | 0.916 ^b | 0.292 ^a | 1.207 ^b | 3.166 ^{ab} |

اعداد با یک حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند

b1: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۶۳؛ b2: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۷۰؛ b3: بدون ازتوباکتر؛ v1: نپتون؛ v2: اکتان؛ v3: اکاپی

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by duncan's test

(b1: Azotobacter chroococcum 63, b2: Azotobacter chroococcum 70, b3: No Azotobacter, v1: Neptun, v2: Octane and v3: Okapi)

کلروفیل a

به دست آمد (جدول ۵). گزارش شده است تنش کم آبی در گیاه کلزا باعث کاهش مقدار کلروفیل b می‌شود (Ahmadi Musavi et al., 2005). افزایش تنش خشکی در گندم سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد (Naemi et al., 2018). تأثیر تنش خشکی بر کلروفیل به ژنوتیپ‌های گیاه و شرایط محیطی بستگی دارد و با افزایش تنش خشکی در کلزا غلظت کلروفیل a و b افزایش یافت (Nasri, 2006; Sepehri and Golparvar, 2011). در شرایط تنش خشکی شدید آنزیم‌های کلروفیلاز و پراکسیداز افزایش یافته و مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد و در گزارش‌های محققین دیگر به این موضوع اشاره شده است (Shariat and Assareh, 2008; Delkhosh, et al., 2006). اتلاف آب باعث افزایش انقباض سلول‌ها می‌شود که در نتیجه باعث افزایش محلول غلظت سلول می‌شود. شاید، تنش خفیف باعث افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ شود، اما تنش شدید تولید کلروفیل را متوقف می‌کند (Taize and Zeiger, 2006)؛ بنابراین گزارشی وجود دارد که با کاهش آبیاری و افزایش سطح تنش خشکی، محتوای کلروفیل در برگ کلزا افزایش می‌یابد که با نتیجه این آزمایش مطابقت ندارد (Dehshiri and Pakniat, 2013).

مجموع کلروفیل a + b

اثر متقابل قطع آبیاری و باکتری بر میزان کلروفیل a + b معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). سوپه ۷۰ در آبیاری نرمال باعث تولید ۱/۳۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مجموع کلروفیل a + b شد که بیشترین میزان بود و کمترین مجموع کلروفیل a + b به میزان ۰/۴۹۴ میلی‌گرم بر گرم از تیمار بدون تلقیح ازتوباکتر در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل-دهی به دست آمد (جدول ۳). اثر متقابل قطع آبیاری و رقم بر میزان کلروفیل a + b اندام هوایی معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). ارقام در آبیاری نرمال از نظر مجموع کلروفیل a + b نسبت به دو تیمار قطع آبیاری برتری داشتند (جدول ۲). اثر متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر مجموع کلروفیل a + b کلزا معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). رقم هیبرید اکتان در آبیاری نرمال و سوپه ۷۰ و بدون تلقیح و ارقام نپتون و اکاپی در تیمار آبیاری نرمال و سوپه ۷۰ بیشترین میزان مجموع کلروفیل a + b را به دست آوردند (جدول ۵). گزارش شده است که در شرایط تنش و تیمار با باکتری محرک رشد، تغییرات عدد کلروفیل کمتر شد و میزان

رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل طیف وسیعی از رنگ‌دانه‌ها از جمله کلروفیل a و b، نقش مهمی را از نظر جذب نور و تولید انرژی ایفا می‌کنند و در فتوسنتز نقش دارند (Jaleel et al., 2009). اثرات متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر میزان کلروفیل a معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). هر سه رقم در سوپه ۷۰ در تیمار آبیاری نرمال با محتوای ۱/۰۱۷، ۱/۰۱۵ و ۰/۹۹۲ و رقم هیبرید اکتان بدون ازتوباکتر در آبیاری نرمال با ۱/۰۳۵ میلی‌گرم بیشترین میزان کلروفیل a را تولید نمودند (جدول ۵). تیمار آبیاری نرمال و ازتوباکتر، باعث تولید کلروفیل بیشتر شده است. کمترین میزان کلروفیل a از رقم هیبرید اکتان بدون ازتوباکتر در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی به میزان ۰/۲۳۵ میلی‌گرم به دست آمد. کاهش میزان کلروفیل a به دلیل اثرات خشکی ناشی از قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی بود. نتایج مشابه دیگری نیز اعلام شده است (Jabbari et al., 2014). افزایش در کلروفیل a, b و کل می‌تواند به دلیل جذب بیشتر منگنز و آهن باشد. تنش کم آبی در کلزا باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a می‌شود (Ahmadi Musavi et al., 2005). افزایش تنش خشکی در گندم سبب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد (Naemi et al., 2018). اثرات مفید تلقیح باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل، به تثبیت نیتروژن توسط کودهای زیستی و کاهش محتوای اتیلن مربوط است زیرا افزایش اتیلن توسط تنش می‌تواند منجر به پیری برگ و کاهش کلروفیل شود. در حضور کودهای زیستی حاوی ACC دی‌آمیناز، ساخت اتیلن کاهش می‌یابد و با کاهش تجزیه کلروفیل، محتوای آن افزایش می‌یابد (Vessey, 2003). در شرایط خشکی مزرعه، تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد میزان کلروفیل را افزایش داده است (Heidari, et al., 2011).

کلروفیل b

اثر متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر میزان کلروفیل b معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). بیشترین میزان کلروفیل b را رقم هیبرید اکتان در آبیاری نرمال و بدون ازتوباکتر به میزان ۰/۳۳۰ و همچنین ارقام هیبرید اکتان و نپتون در سوپه‌های ۶۳ و ۷۰ در آبیاری نرمال به میزان ۰/۳۰۰ و ۰/۳۰۷ میلی‌گرم بر گرم و کمترین میزان کلروفیل b نیز از رقم هیبرید اکتان بدون ازتوباکتر در تیمار قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی به میزان ۰/۱۹۰ میلی‌گرم بر گرم

کروماتید گندم با تلقیح بذر با باکتری آزوسپریلوم کاهش کمتری داشت (Haghighbahi and Seyed Sharifi, 2014). تنش کم‌آبی در گیاه کلزا باعث کاهش مقدار کلروفیل a و b می‌شود بنابراین بر مقدار کلروفیل کل نیز اثر می‌گذارد (Ahmadi Musavi et al., 2005). افزایش تنش خشکی در گندم سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد (Kamrava et al., 2017).

کاهش میزان کلروفیل a و b و کل و افزایش اسیدآمینو پرولین در سویا شد (Kamrava et al., 2017). با افزایش میزان تنش خشکی فعالیت آنزیم کلروفیلز در برگ گندم زیاد شده و میزان کلروفیل را کاهش داده است (Lichtenthaler, 1987). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل a و b و کل و افزایش اسیدآمینو پرولین در سویا شد (Kamrava et al., 2017).

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل قطع آبیاری، باکتری و رقم بر میزان عملکرد دانه، پرولین، قندهای محلول غیر ساختاری، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و رنگیزه‌های فتوسنتزی اندام هوایی ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) تحت اثر مایه تلقیح از توباکتر در شرایط قطع آبیاری انتهایی فصل

Table 5. Meanes comparison of the irrigation withholding, bacteria and cultivars effects on grain yield, proline, unstructured soluble sugars, protein, catalase and peroxidase antioxidant enzymes photosynthetic pigments content of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivares in terminal cessation of irrigation condition under effect of azotobacter inoculum

| تیمارها Treatments | عملکرد دانه Grain yeild kg.ha ⁻¹ | پرولین اندام هوایی Proline mg.g ⁻¹ FW | قندهای محلول غیر ساختاری Unstructured soluble sugars mg.g ⁻¹ FW | | پروتئین اندام هوایی Protein mg.g ⁻¹ FW | پراکسیداز Peroxidase mol.min.g ⁻¹ | کاتالاز Catalase nmol.min.g ⁻¹ | |
|-----------------------|---|--|---|----------------------|--|--|---|----------------------|
| | | | | | | | | |
| I1 | B1 | V1 | 3277 ^{ef} | 0.455 ^{ab} | 67.925 ^a | 0.402 ^{bc} | 0.670 ^{bcd} | 0.517 ^{bcd} |
| | | V2 | 3961.6 ^{b-f} | 0.430 ^{abc} | 61.973 ^{ab} | 0.392 ^{bc} | 0.675 ^{bcd} | 0.530 ^{a-d} |
| | | V3 | 3357.5 ^{def} | 0.457 ^a | 62.59 ^{ab} | 0.405 ^{bc} | 0.627 ^{c-f} | 0.505 ^{b-e} |
| | B2 | V1 | 3654.1 ^{c-f} | 0.452 ^{ab} | 63.738 ^{ab} | 0.402 ^{bc} | 0.605 ^{c-g} | 0.535 ^{abc} |
| | | V2 | 3937.5 ^{b-f} | 0.430 ^{abc} | 57.978 ^{abc} | 0.392 ^{bc} | 0.637 ^{cde} | 0.535 ^{abc} |
| | | V3 | 3205.8 ^{ef} | 0.452 ^{ab} | 62.450 ^{ab} | 0.390 ^{bc} | 0.610 ^{c-g} | 0.495 ^{b-f} |
| | B3 | V1 | 3360.7 ^{def} | 0.380 ^{a-f} | 66.205 ^a | 0.337 ^{cd} | 0.687 ^{bc} | 0.597 ^a |
| | | V2 | 3877.5 ^{b-f} | 0.392 ^{a-f} | 57.82 ^{abc} | 0.307 ^d | 0.672 ^{f-j} | 0.532 ^{a-d} |
| | | V3 | 2695.6 ^f | 0.355 ^{c-f} | 62.253 ^{ab} | 0.340 ^{cd} | 0.692 ^{bc} | 0.532 ^{a-d} |
| I2 | B1 | V1 | 5025.8 ^{abc} | 0.327 ^f | 42.368 ^e | 0.450 ^{ab} | 0.560 ^{e-i} | 0.452 ^{def} |
| | | V2 | 4934.2 ^{a-d} | 0.315 ^f | 41.950 ^e | 0.425 ^{ab} | 0.527 ^{g-k} | 0.487 ^{b-f} |
| | | V3 | 3555 ^{c-f} | 0.337 ^{ef} | 46.920 ^{de} | 0.435 ^{ab} | 0.565 ^{e-i} | 0.455 ^{def} |
| | B2 | V1 | 4601.6 ^{a-e} | 0.367 ^{c-f} | 51.325 ^{cde} | 0.400 ^{bc} | 0.597 ^{c-g} | 0.482 ^{b-f} |
| | | V2 | 4387.2 ^{a-e} | 0.372 ^{b-f} | 50.700 ^{cde} | 0.395 ^{bc} | 0.587 ^{d-h} | 0.517 ^{bcd} |
| | | V3 | 3470.8 ^{c-f} | 0.362 ^{c-f} | 55.170 ^{bcd} | 0.390 ^{bc} | 0.607 ^{c-g} | 0.485 ^{b-f} |
| | BB3 | V1 | 4471.8 ^{a-e} | 0.415 ^{a-e} | 57.873 ^{abc} | 0.315 ^d | 0.820 ^a | 0.550 ^{ab} |
| | | V2 | 4381.7 ^{a-e} | 0.427 ^{a-d} | 58.388 ^{abc} | 0.310 ^d | 0.852 ^{ab} | 0.597 ^a |
| | | V3 | 3748.9 ^{c-f} | 0.450 ^{ab} | 67.443 ^a | 0.315 ^d | 0.835 ^{ab} | 0.547 ^{ab} |
| I3 | B1 | V1 | 4720.4 ^{a-e} | 0.347 ^{c-f} | 46.605 ^{de} | 0.477 ^a | 0.422 ^l | 0.427 ^{ef} |
| | | V2 | 5520 ^a | 0.345 ^{c-f} | 44.743 ^{de} | 0.490 ^a | 0.475 ^{i-l} | 0.465 ^{c-f} |
| | | V3 | 3748.1 ^{c-f} | 0.360 ^{c-f} | 47.0 ^{de} | 0.492 ^a | 0.500 ^{h-l} | 0.427 ^{ef} |
| | B2 | V1 | 5009.5 ^{abc} | 0.347 ^{c-f} | 45.295 ^{de} | 0.480 ^a | 0.432 ^{kl} | 0.420 ^f |
| | | V2 | 5330.7 ^{ab} | 0.352 ^{c-f} | 45.273 ^{de} | 0.490 ^a | 0.422 ^l | 0.452 ^{def} |
| | | V3 | 3653.7 ^{c-f} | 0.345 ^{c-f} | 51.733 ^{cde} | 0.480 ^a | 0.442 ^{jkl} | 0.437 ^{ef} |
| | BB3 | V1 | 4496.8 ^{a-e} | 0.347 ^{c-f} | 46.445 ^{de} | 0.435 ^{ab} | 0.527 ^{g-k} | 0.452 ^{def} |
| | | V2 | 4924.1 ^{a-d} | 0.347 ^{c-f} | 48.820 ^{cde} | 0.452 ^{ab} | 0.532 ^{f-j} | 0.487 ^{b-f} |
| | | V3 | 3630.7 ^{c-f} | 0.342 ^{def} | 51.448 ^{cde} | 0.445 ^{ab} | 0.525 ^{g-k} | 0.452 ^{def} |

Table 5. Continued

جدول ۵. ادامه

| تیمارها Treatments | کاروتنوئید Carotenoid | Photosynthesis pigments content | | | مجموع کلروفیل a+b Total Chlorophyll | نسبت کلروفیل $\frac{a}{b}$ Chlorophyll $\frac{a}{b}$ Ratio |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------------|----------------------------|--|--|---|
| | | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | میزان رنگه‌های فتوسنتزی mg.g ⁻¹ FW | | |
| B1 | V1 | 0.352 ^{e-h} | 0.735 ^{de} | 0.192 ^{fg} | 0.930 ^{de} | 3.0832 ^a |
| | V2 | 0.337 ^{ghi} | 0.760 ^{cde} | 0.235 ^{cde} | 0.997 ^{cd} | 3.262 ^{abc} |
| | V3 | 0.355 ^{e-h} | 0.760 ^{cde} | 0.230 ^{c-f} | 0.992 ^{cd} | 3.320 ^{abc} |
| I1 | V1 | 0.287 ^j | 0.587 ^{fgh} | 0.212 ^{c-g} | 0.797 ^{fg} | 2.820 ^{b-e} |
| | V2 | 0.357 ^{d-h} | 0.607 ^{fg} | 0.220 ^{c-g} | 0.825 ^{efg} | 2.815 ^{b-e} |
| | V3 | 0.335 ^{ghi} | 0.607 ^{fg} | 0.210 ^{c-g} | 0.820 ^{fg} | 2.910 ^{b-e} |
| B3 | V1 | 0.245 ^k | 0.365 ^j | 0.212 ^{c-g} | 0.582 ⁱ | 1.752 ^{gh} |
| | V2 | 0.300 ^{ij} | 0.235 ^k | 0.190 ^g | 0.425 ^j | 1.250 ^h |
| | V3 | 0.282 ^j | 0.327 ^{jk} | 0.215 ^{c-g} | 0.475 ^j | 2.267 ^{efg} |
| B1 | V1 | 0.350 ^{e-h} | 0.580 ^{fgh} | 0.217 ^{c-g} | 0.792 ^{fg} | 2.745 ^{c-f} |
| | V2 | 0.360 ^{d-h} | 0.607 ^{fg} | 0.207 ^{c-g} | 0.810 ^{fg} | 3.020 ^{bcd} |
| | V3 | 0.372 ^{b-h} | 0.497 ^{hi} | 0.235 ^{cde} | 0.730 ^{gh} | 2.112 ^{fg} |
| I2 | V1 | 0.362 ^{c-h} | 0.677 ^{ef} | 0.197 ^{efg} | 0.872 ^{ef} | 3.492 ^{ab} |
| | V2 | 0.360 ^{d-h} | 0.672 ^{ef} | 0.212 ^{c-g} | 0.877 ^{ef} | 3.222 ^{abc} |
| | V3 | 0.360 ^{d-h} | 0.672 ^{ef} | 0.205 ^{d-g} | 0.872 ^{ef} | 3.312 ^{abc} |
| BB3 | V1 | 0.352 ^{e-h} | 0.467 ⁱ | 0.197 ^{efg} | 0.662 ^{hi} | 2.402 ^{d-g} |
| | V2 | 0.345 ^{fgh} | 0.515 ^{ghi} | 0.225 ^{c-g} | 0.740 ^{gh} | 2.355 ^{d-g} |
| | V3 | 0.332 ^{hi} | 0.555 ^{ghi} | 0.240 ^{cd} | 0.792 ^{fg} | 2.325 ^{d-g} |
| B1 | V1 | 0.407 ^{ab} | 0.812 ^{bcd} | 0.285 ^b | 1.092 ^{bc} | 2.877 ^{b-e} |
| | V2 | 0.430 ^a | 0.815 ^{bcd} | 0.297 ^{ab} | 1.110 ^b | 2.772 ^{b-f} |
| | V3 | 0.375 ^{b-g} | 0.815 ^{bcd} | 0.292 ^b | 1.107 ^b | 2.825 ^{b-e} |
| I3 | V1 | 0.412 ^{ab} | 1.015 ^a | 0.300 ^{ab} | 1.312 ^a | 2.825 ^{b-e} |
| | V2 | 0.402 ^{abc} | 1.017 ^a | 0.307 ^{ab} | 1.322 ^a | 3.312 ^{abc} |
| | V3 | 0.375 ^{b-g} | 0.992 ^a | 0.290 ^b | 1.277 ^a | 3.470 ^{ab} |
| BB3 | V1 | 0.395 ^{a-d} | 0.870 ^b | 0.302 ^{ab} | 1.172 ^b | 2.900 ^{b-e} |
| | V2 | 0.382 ^{b-f} | 1.035 ^a | 0.330 ^a | 1.365 ^a | 3.152 ^{abc} |
| | V3 | 0.387 ^{b-e} | 0.842 ^{bc} | 0.245 ^c | 1.085 ^{bc} | 3.445 ^{abc} |

اعداد با یک حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند

I1: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی؛ I2: قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی؛ I3: آبیاری مطلوب؛ b1: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۶۳؛ b2: ازتوباکتر کروکوکوم سویه ۷۰؛ b3: بدون ازتوباکتر؛ v1: نپتون؛ v2: اکتان؛ v3: اکاپی.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by duncan's test

(I1: Irrigation withholding since 30% flowering stage, I2: Irrigation withholding since 30% pod forming stage, I3: Normal Irrigation, b1: Azotobacter chroococcum 63, b2: Azotobacter chroococcum 70, b3: No Azotobacter, v1: Neptun, v2: Octane and v3: Okapi)

رادیکال‌ها موجب پراکسیداسیون و تجزیه این رنگ‌دانه‌ها می‌شوند (Schutzand Fangmier, 2001). به نظر می‌رسد در شرایط قطع آبیاری فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد و در شرایط محدودیت آبی گیاه در طی روز با بسته نگاه‌داشتن روزنه‌ها، سعی در حفظ محتوی آب نسبی دارد، در این زمان انتقال الکترون در فتوسیستم II

در تنش خشکی، کلروفیل کم می‌شود اما ارقام با کلروفیل بیشتر، مقاوم‌تر هستند. کاروتنوئیدها غشاء کلروپلاست را با کاهش اکسیژن فعال و یا با مهار کلروفیل برانگیخته‌شده در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Naeemi et al., 2018). کاهش در میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول است که این

شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Ashraf et al., 1994). در شرایط خشکی، کلروفیل، پروتئین و چربی در گیاه ناپایدار شده، پلاستیدهای جدید کلروفیل‌های a, b و کاروتن در آن‌ها کاهش می‌یابد (Masinovsky et al., 1992).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج، گیاه در مواجهه با تنش خشکی سعی در حفظ فشار اسمزی دارد و این کار را با افزایش سنتز اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول انجام می‌دهد. تلقیح با ازتوباکتر میزان آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را کاهش داد. احتمالاً ازتوباکتر در سنتز موادی اثر داشته است که با حفظ ساختمان ماکرومولکول‌ها و غشاهای سلولی و ایفای نقش حفاظتی، مانع قرار گرفتن گیاه در شرایط سخت تنش شده‌اند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضور کودهای زیستی می‌تواند تا حد زیادی اثرات مخرب ناشی از تنش را در کاهش عملکرد تعدیل نماید. بخشی از افزایش عملکرد دانه در شرایط آبیاری کامل و کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به افزایش محتوای کلروفیل نسبت داد. ارقام کلزا در تیمار آبیاری نرمال و تلقیح با ازتوباکتر به دلیل توانایی ازتوباکتر در سنتز اسیدهای آمینه، بیشترین پروتئین را تولید کردند زیرا کمترین پروتئین از تیمار بدون تلقیح و تیمارهای قطع آبیاری به دست آمد از این رو کاربرد ازتوباکتر می‌تواند برای بهبود تغذیه کلزا در شرایط قطع آبیاری توصیه شود. در تیمار قطع آبیاری از ۳۰ درصد گل‌دهی و آبیاری نرمال به ترتیب بیشترین و کمترین غلظت پرولین مشاهده شد که مربوط به نقش آن به‌عنوان اسمولیت در تنظیم اسمزی برای برقراری ثبات در ساختار غشاء و پروتئین و مهار رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش است. قطع آبیاری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و کاتالاز گردید که در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند. سنتز این آنزیم‌ها در شرایط تنش می‌تواند تا حدودی از کاهش عملکرد جلوگیری نماید. قطع آبیاری، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از، باعث کاهش کلروفیل a, b و کل در مقایسه با آبیاری نرمال شد. تنش خشکی غلظت کلروفیل b را بیشتر از کلروفیل a کاهش می‌دهد. کاهش در میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که موجب پراکسیداسیون و تجزیه این رنگ‌دانه‌ها می‌شوند؛ زیرا در شرایط قطع آبیاری،

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 (Brevedan and Egli, 2003). کاهش غلظت کلروفیل را در شرایط تنش به افزایش فعالیت کلروفیل‌از و ترکیبات فنلی نسبت دادند (Bates et al., 1973). تنش منجر به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند آبیسیزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیل‌از هستند که کلروفیل تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (Orabi et al., 2010).

نسبت کلروفیل a/b

اثر متقابل قطع آبیاری و باکتری بر نسبت کلروفیل a/b اندام هوایی کلزا معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). از سویه ۶۳ در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی، سویه ۷۰ در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد خورجین‌دهی و سویه ۷۰ در آبیاری نرمال، بیشترین نسبت کلروفیل a/b به ترتیب ۳/۴۷۱، ۳/۳۴۲ و ۳/۳۹۶ به دست آمد (جدول ۳). به دلیل اثر افزایشی ازتوباکتر بر کلروفیل a نسبت به کلروفیل b، این نسبت افزایش یافت. در تیمار بدون ازتوباکتر همراه با قطع آبیاری زودتر، میزان کلروفیل a نسبت به کلروفیل b کاهش بیشتری داشت، به‌گونه‌ای که کمترین نسبت کلروفیل a/b از تیمار بدون تلقیح در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی، به میزان ۱/۷۵۶ حاصل شد (جدول ۳). اثرات متقابل قطع آبیاری و رقم بر نسبت کلروفیل a/b اندام هوایی معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). بیشترین نسبت کلروفیل a/b در رقم اکاپی از آبیاری نرمال به میزان ۳/۲۴۶ و کمترین نسبت نیز در رقم هیبرید اکتان در قطع آبیاری از مرحله ۳۰ درصد گل‌دهی به میزان ۲/۴۴۵ حاصل گردید (جدول ۲). اثر متقابل ازتوباکتر و رقم بر نسبت کلروفیل a/b اندام هوایی معنی‌دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۱). ژنوتیپ‌های نپتون و اکتان در تلقیح با سویه‌های ۶۳ و ۷۰ و رقم اکاپی در تلقیح با سویه ۷۰ بیشترین نسبت کلروفیل a/b را به دست آوردند. کمترین نسبت نیز مربوط به ارقام کلزا در تیمار بدون تلقیح بود (جدول ۴).

در انتهای رشد کلزا، با پیری و کاهش سبزینه‌گی برگ‌ها، کلروفیل a تجزیه می‌شود و غلظت کلروفیل b و کاروتنوئیدها از کلروفیل a بیشتر می‌شود. تنش خشکی غلظت کلروفیل b را بیشتر از کلروفیل a در گندم کاهش داد. خشکی باعث

ارقام هیبرید در تلقیح با ازتوباکتر و آبیاری کامل، بیشترین میزان کلروفیل b,a و کل و کاروتنوئید را تولید نمودند. در شرایط تنش کم آبی و بدون باکتری، میزان کلروفیل b کاهش یافت. بیشترین قند محلول و کمترین عملکرد دانه حاصل از رقم اکاپی نشان می‌دهد از قطع آبیاری بیشتر متأثر شده است. با قطع آبیاری، تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در بافت سبز بیشتر شد به طوری که بیشترین قند در کمترین آبیاری، بدون ازتوباکتر و رقم اکاپی بود. بهره‌گیری از سویه-های بومی ازتوباکتر، این قابلیت را دارد که بخشی از نیاز گیاه کلزا به عناصر غذایی در شرایط عادی یا خشکی را فراهم نماید.

فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد. در شرایط محدودیت آبی گیاه در طی روز با بسته نگاه‌داشتن روزنه‌ها، سعی در حفظ محتوای آب نسبی 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 با پراکسید شدن چربی‌ها، پروتئین‌ها و کاهش محتوی کلروفیل، باعث خسارت به غشاء سلولی می‌گردد. کاهش غلظت کلروفیل در شرایط تنش، احتمالاً به افزایش فعالیت کلروفیل‌از و ترکیبات فنلی مربوط می‌شود. تنش منجر به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیل‌از هستند و به این ترتیب کلروفیل تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شود.

منابع

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105, 121-126.
- Agarwal, S., Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Journal of Biology Plant*. 48, 555-560.
- Ahmadi Musavi, E.S., Manoochehri Kalantari, Kh. Turkzadeh, M., 2005. Effect of a kind of brassinosteroid (24-epibrassinolide) on the concentration of malonaldehyde, proline, sugar and photosynthetic pigments in rapeseed (*Brassica napus* L.) under water deficit stress. *Iranian Journal of Biology*. 18(4), 295-306. [In Persian with English Summary].
- Ahmed, A., El-Aid Shamel, M., Alam, E., Waleed, M., 2018. Effect of organic and biofertilization on vegetative growth, yield, and fruit quality of Valencia orange trees. *Journal of Productivity and Development*. 23(1), 111-134.
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*. 82, 1227-1238.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23, 112-121
- 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.
- Ashrafuzzaman, M., Akhtar, H., Razi, M., 2009. Efficiency of plant growth promoting bacteria for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*. 8, 1247-1252.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annales Botanici Fennici*. 91, 179-194.
- Bohner, H.J., Nelson, D., Jensen, R., 1995. Adaptation to Environmental Stresses. *Plant Cell*. 7, 1099-1111.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254
- Deepak, B., Ansari, M., Ranjan, K., Narendra, T., 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility. plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*. 13, 66 - 66
- Dixon, R.O.D., Wheeler, C.T., 1986. Nitrogen Fixation in Plants. Glasgow: Blackie; Chapman and Hall, New York.
- Dehshiri, O., Pak Niat, H., 2013. Evaluation of oilseed rape genotypes (*Brassica napus* L.) based on chlorophyll and carotenoids contents

- and antioxidant enzymes under drought stress conditions. *Journal of Crop Production and Processing*. 3(10), 69-77. [In Persian with English Summary].
- Delkhosh, B., Shirani Rad, A.H., Noor Mohammadi, Gh., Darvish, F., 2006. Effect of drought stress on yield and chlorophyll content of rapeseed cultivars. *Agricultural Sciences*. 2, 366-359. [In Persian with English Summary].
- Din, J., Khan, S.U., Ali, I., Gurmani, A.R., 2011. Physiological and agronomic response of canola varieties to drought stress. *The Journal of Animal and Plant Science*. 21, 78– 83.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F., Esfandiari, M., 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 35, 48-56.
- Eyni Nargeseh, H., AghaAlikhani, M., Shirani Rad, A.H., Mokhtassi-Bidgoli, A., Modarres Sanavy, S.A.M., 2019. Physiological and agronomic response of rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes to late-season drought stress under Karaj climatic condition. *Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production*. 29(2), 79-95. [In Persian with English Summary].
- Farooq, M., A., Kobayashi, N., D Basra, S. M. A., 2009. Plant drought Stress effects, mechanisms and management..29, 185-212.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management *Agronomy for Sustainable Development*. 29, 185–212.
- Food and Agriculture Organization (F.A.O). 2011. *Crop Production Statistics*. <http://www.Fao.org>.
- Foyer, C.H., Noctor, G., 2002. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytologist*. 146, 359-388.
- Gregersen, P.L., Holm, P., 2007. Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Biotechnology*. 5, 192-206.
- Ghodrati, Gh., 2012. Effect of drought stress on grain yield and quantitative characteristics of promising canola spring genotypes. *Journal of Crop Physiology*. 5(18), 82-67. [In Persian with English Summary].
- Gonzalez-Lopez, J., Salmeron, V., Moreno, J., Ramos-Cormenzana, A., 1983. Amino acids and vitamins produced by *azotobacter vinelandii* atcc 12837 in chemically-defined media and dialysed soil media. *Soil Biology and Biochemistry*. 15(6), 711-713 .
- Haghabari, M., Seyed Sharifi, R., 2014. Study of quantity and quality, chlorophyll content and control of wheat growth attention in response to Seed pioneer with PGPR bacteria at soil salinity level. *Science and Technology of Greenhouse Farms, Fifth Year, Number 18*, 51-64.
- Hagh Bahari, M., Seyed Sharifi, R., 2014. Study of quantitative and qualitative yield, chlorophyll content and some growth indices of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to seed inoculation with PGPR at different levels of soil salinity. *Journal of Soil and Plant Interactions*. 5(2), 51-65. [In Persian with English Summary].
- Hendry, G., 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructan. *New Phytologist*, 123, 3-14.
- Hamrahi, S., Habibi, D., Madani, H., Mashhadi Akbar Boojar, M., 2008. Effect of cycocel and micronutrients on antioxidants rates as indices of drought resistance of rapeseed. *New Finding in Agriculture*. 2(3), 316-329. [In Persian with English Summary].
- Hernandez, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F., 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long- term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant, Cell & Environment*. 23, 853-862.
- Jabbari, H., Akbari, A., Khosh kholgh Sima, N.A., Alahdadi, I., Shirani rad, A.H., Tabatabaee, S.A., Hamed, A., 2014. Comparison of antioxidant enzymes and proline roles in drought tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Oil Plants Production*. 1(1), 15-31. [In Persian with English Summary].
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid Farooq, A., Aljuburi, M.H.J., Somasundaram, R., Paneerselvam, R., 2009. Drought Stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11, 100-105.

- Kalantar Ahmadi, S.A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Daneshian, J., Siadat, S.A., 2015. Changes in enzymatic and nonenzymatic antioxidant defense mechanisms of canola seedlings at different drought stress and nitrogen levels. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 39, 601-612.
- Kamrava, S., Babaeian Jolodar, N., Bagheri, N., 2017. Evaluation of drought stress on chlorophyll and proline traits in soybean Genotypes. *Journal of Crop Breeding*. 9, 95-104. [In Persian with English Summar].
- Khavazi, K., Asadi Rahmani, H., Malakouti, M. J., 2005. Necessity of biofertilizer industrial production in the country (Collection of papers-Second Edition). Research Institute of Soil and Water, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ministry of Agriculture, 439p. [In Persian].
- Lichtenthaler, H., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148, 350-382.
- Lotfi, R., Gharavi-Kuochebagh, P., Khoshvaghti, H., 2015. Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid under water stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 62, 480-486.
- Masinovsky, Z., Lozovaya, G.I., Sivash, A.A., 1992. Some aspects of the early evolution of photosynthesis. *Advances in Space Research*. 12, 199-205.
- Mendham, N.J., Salisbury, P.A., 1995. Physiology: Crop development, growth and yield. In: Kimber, D.S., Mcgregor, D.I. (eds.), *Brassica Oilseeds: Production and Utilization*. , CAB International, Wallingford. pp. 11-64.
- Mihailović, N., Lazarević, M., Dželetović, Z., Vučković, M., Đurđević, M., 1997. Chlorophyllase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.). Leaves during drought and its dependence on the nitrogen ion form applied. *Plant Science*. 129, 141-146.
- Milosevic, N., Tintor, B., Protic, R., Cvijanovi, G., Dimitrijevi, T., 2012. Effect of inoculation with *Azotobacter chroococcum* on wheat yield and seed quality. *Romanian Biotechnological Letters*. 17, 7352-7357.
- Mirzaee, M., Moieni, A., Ghanati, F., 2013. Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15, 593-602.
- Molinari, H.B.C., Marur, C.G., Daros, E., Campos, M.K.F., Carvalho, J.F.R.P., 2007. Evaluation of the stress-inducible production of proline intransgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum*. 130, 218-229.
- Naemi, T., Fahmideh, L., Fakheri, B., 2018. The Impact of drought stress on antioxidant enzymes activities, containing of proline and carbohydrate in some genotypes of durum wheat (*Triticum turgidu* L.) at seedling stage. *Journal of Crop Breeding*. 10(26), 22-31. [In Persian with English Summary].
- Nosrati, Sh., Ghandian Zanzan, M., Eradatmand Asli, D., 2014. Fluctuations of proline concentration and soluble sugars content affected drought stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings. *Journal of Applied Science and Agriculture*. 9(2), 497-502.
- Omidi, H., 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. *American Journal of Plant Physiology*. 5, 338-349.
- Sairam, R.K., 2000. Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible Wheat genotypes. *Biologia Plantarum*. 43, 381-86.
- Sadaqat, H.A., Tahir, M.H.N., Hussain, M.T., 2003. Physiogenetic aspects of drought tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*. 5, 611-614.
- Saneoka, H., Moghaieb, R., Premachangra, G. S., Fujita, K., 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* huds. *Environmental and Experimental Botany*. 52, 131-138.
- Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., Ruiz, J.M., 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science*. 178, 30-40.
- Sepehri, A., Golparvar, A.R., 2011. The effect of drought stress on water relations, chlorophyll content and leaf area in canola cultivars

- (*Brassica napus* L.). Electronic Journal of Biology. 7, 49-53.
- Scandalios, J.G., 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiology. 101, 7-12.
- Shariat, A., Assareh, M.H., 2008. Effects of drought stress on pigments, prolin, soluble sugar and growth parameters on four Eucalyptus species. Pajouhesh & Sazandegi. 78, 139-148 [In Persian with English Summary].
- Sinaki J.M., Heravan, E.M., Ra, A.H.S., Noormohammadi, Gh., Zarei, G., 2007. The effects of water deficit during growth stages of canola (*Brassica napus* L.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences. 4, 417-422.
- Soroori, M., Ehteshami, S., Rebiyi, M., Khavazi, K., 2013. Effect of cooperation of Azotobacter chroococcum strains on yield, yield components and qualitative indices of rapeseed (*Brassica napus* L.) in Rasht. Journal of Crops Improvement, 15(1), 149-162. [In Persian with English Summary].
- Taize, L., Zeiger, E., 2006. Plant Physiology, 4th ed.; Sinauer Associates, Inc.: Sunderland, MA, USA.
- Tahmasbi Sarvestani, Z., Jenner, C.F., McDonald, G., 2003. Dry matter and nitrogen remobilization of two wheat genotypes under post-anthesis water stress conditions. Journal of Agricultural Science Technology. 5, 21-29.
- Tohidi-Moghadam, H.R., Shirani Rad, A.H., Nour-Mohammadi, G., Habibi, D., Mashhadi-Akbar-Boojar, M., 2009. Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress Conditions. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 4, 215-223.
- Vessey, K.J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255, 571-586.
- Zhao, L.Y., Dong, X.P., Shan, L., 2005. The response mechanism of active oxygen species removing system to drought stress. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica. 25, 413-418.