



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۵ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۲
صفحه‌های ۱۵۳-۱۴۱

ارزیابی تأثیرات کودهای زیستی بر عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت تنش کم‌آبی

آویشن طاهرخانچی*^۱، غلامعلی اکبری^۲، سیدعلی محمد مدرس ثانوی^۳، مجید قربانی جاوید^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت - ایران
۲. دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت - ایران
۳. استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران
۴. استادیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت - ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۸/۱۸

تاریخ وصول مقاله: ۹۲/۱/۲۷

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیرات کودهای زیستی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک سویا تحت تنش کم‌آبی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، در سال ۱۳۹۰، در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در این بررسی سه رژیم آبیاری شامل شرایط بدون تنش (۴۰ درصد تخلیه رطوبت)، تنش متوسط (۶۰ درصد تخلیه رطوبت) و تنش شدید (۸۰ درصد تخلیه رطوبت) و چهار روش کاربرد مخلوطی از ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم روی گیاه یا بذر بررسی شدند. نتایج نشان داد که بالاترین عملکرد و اجزای عملکرد در شرایط بدون تنش و محلول‌پاشی باکتری بر روی برگ به‌علاوه مایه‌زنی بذر به‌دست آمد. حداکثر فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار تنش متوسط همراه با محلول‌پاشی برگ به‌علاوه مایه‌زنی بذر بود. همچنین، بیشترین میزان غلظت پرولین در تیمار تنش شدید بدون استعمال باکتری به دست آمد که نسبت به کمترین حالت، سه برابر اختلاف نشان داد. نتایج این تحقیق به‌طور کلی نشان داد که هرچند کاربرد کود زیستی در شرایط تنش متوسط توانست از تأثیرات مخرب تنش و تا حدی از کاهش عملکرد جلوگیری کند، در تنش شدید فقط هزینه تولید را افزایش داد و نتوانست بر عملکرد اثر افزایشی چشمگیری داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش کم‌آبی، سویا، عملکرد دانه، کود زیستی.

۱. مقدمه

دانه‌های روغنی بعد از غلات دومین منبع مهم تأمین انرژی لازم جوامع انسانی به شمار می‌روند. از آنجا که بخش زیادی از روغن مصرفی کشور از خارج وارد می‌شود، کشت دانه‌های روغنی از جمله سویا و مدیریت صحیح آن‌ها در جهت افزایش عملکرد، اهمیت بسیار زیادی دارد [۱۵]. کمبود آب در بسیاری از مراحل نمو سویا عملکرد را کاهش داده است، اما تأثیرات منفی تنش در طی گل‌دهی و تشکیل بذر و پرشدن دانه بسیار مهم است. تنش کمبود آب با تأثیر مستقیم در روابط آب و گیاه [۱۳]، باعث تغییر در فعالیت سلول و مسیرهای مولکولی می‌شود [۳۳] و تجمع مواد آلی به شکل کربوهیدرات و پروتئین را افزایش می‌دهد. سویا از گیاهان حساس به تنش‌های غیرزنده در مقایسه با سایر بقولات به شمار می‌رود [۲۸]. تحت شرایط تنش خشکی در مراحل گل‌دهی و پرشدن غلاف سویا، اکثر صفات اجزاء عملکرد کاهش می‌یابند که بیشترین خسارت وارده به عملکرد دانه ناشی از ریزش گل‌ها است و پس از آن، کاهش وزن صددانه بر اثر تنش در مرحله پرشدن غلاف، قابل ملاحظه است. دلیل اصلی این کاهش وزن دانه می‌تواند به رسیدگی زودتر گیاه و کاهش طول دوره پرشدن دانه مرتبط باشد. علاوه بر این تنش محیطی غیرزنده که از عوامل مهم کاهش‌دهنده محصولات کشاورزی جهان است، سبب از بین رفتن تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و دفاع آنتی‌اکسیدانی در بخش‌های مختلف گیاه می‌شود [۷]. جایگاه‌های متعددی در سلول‌های گیاهی برای فعال کردن اکسیژن وجود دارد که در شرایط بدون تنش کاملاً کنترل می‌شوند، ولی در شرایط تنش این کنترل شکسته می‌شود و فرآیند فعال شدن اکسیژن رخ می‌دهد. تنش خشکی می‌تواند با افزایش این رادیکال-

های آزاد خساراتی را به آنزیم‌های دارای گروه سولفیدریلیک، رنگدانه‌های کلروپلاست، غشای لیپیدی، پروتئین‌ها وارد کند و سبب تغییر در یک‌پارچگی آن‌ها شود [۵]. گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیبات سلولی واکنش می‌دهد و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود [۹]؛ بنابراین، میزان آن باید در سلول کنترل شود. گیاهان با داشتن سیستم آنتی‌اکسیدانی که شامل ترکیبات آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز، اسکوربیت پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (اسید آسکوربیک، گلوکاتایون، کارتنوئیدها و توکوفرول) است، معمولاً سطوح ROS را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند [۴].

در نظام‌های کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی، به‌خصوص در خاک‌های فقیر از عناصر غذایی، اهمیت ویژه‌ای در افزایش تولید و حفظ کیفیت خاک دارد [۳]. یکی از شیوه‌های زیستی برای افزایش تولید در کشاورزی، استفاده از ریزجانداران مفید خاکری است؛ از جمله این موجودات می‌توان به ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR)^۲ اشاره کرد. این گروه از ریزموجودات علاوه بر افزایش فراهمی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم، کنترل عوامل بیماری‌زا و تولید انواع هورمون‌های تنظیم‌کننده و محرک رشد گیاه عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۳۰]. در میان این باکتری‌ها، دو جنس ازوتوباکتر و آزوسپیریلوم به دلیل پراکنش وسیع جغرافیایی و گسترش دامنه گیاهان میزبان، توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند

1. Reactive Oxygen Species

2. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

شد. دمای کمینه و بیشینه گلخانه ۲۲ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۸ تا ۷۹ درصد در طول این دوره حفظ شد و به دلیل کاشت در اوایل اردیبهشت ماه، از نور مصنوعی استفاده نشد. آزمایش خاک، بافت خاک مصرفی را لومی شنی با میزان نیتروژن ۰/۲ درصد، فسفر ۲۲ppm و پتاسیم ۳۵۰ ppm نشان داد.

برای کشت، گلدان‌هایی با ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر با خاک الک‌شده و استریل‌شده با پرمگنات، پر و بذره‌های رقم ویلیامز (سه بذر در هر گلدان) در آن‌ها کشت شد. تیمارهای آبیاری در سه سطح شامل، پس از تخلیه ۴۰ درصد (بدون تنش)، ۶۰ درصد (تنش خفیف) و ۸۰ درصد (تنش شدید) رطوبت قابل دسترس خاک و تیمارهای کود زیستی شامل چهار روش کاربرد باکتری روی گیاه یا بذر (بدون باکتری، محلول‌پاشی برگ، مایه‌زنی بذر و محلول‌پاشی برگ به‌علاوه مایه‌زنی بذر) بودند. در این آزمایش آبیاری زمانی انجام شد که ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد رطوبت قابل دسترس، به‌ترتیب در تیمارهای بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید در عمق صفر تا ۶۰ سانتی‌متری خاک، از طریق گیاه و یا تبخیر از سطح خاک تخلیه شد. برای کنترل رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه از لوله‌های دستگاه T.D.R^۱ استفاده شد. همچنین، رطوبت قابل دسترس از اختلاف درصد حجمی رطوبت خاک در نقطه ظرفیت زراعی (FC)^۲ و درصد حجمی رطوبت در نقطه پژمردگی^۳ (WP) محاسبه شد. از مرحله کاشت تا مرحله آغاز گل‌دهی، آبیاری به‌صورت یکنواخت برای همه گلدان‌ها پس از ۴۰ درصد تخلیه رطوبت در دسترس انجام شد، ولی پس از مرحله گل‌دهی، تیمارهای آبیاری مذکور اعمال شد.

[۲۰]. رابطه متقابل کودهای زیستی و گیاهان میزبان می‌تواند به دامنه‌ای از تأثیرات مثبت شامل افزایش رشد و نمو، مقاومت در برابر بیماری‌ها، بهبود بنیه گیاهان میزبان در برابر استرس‌های محیطی، تأخیر انداختن پیری برگ منجر شود [۲۲]. توصیه شده است که از آزوسپیریلوم به‌عنوان یک باکتری کمک‌کننده با دیگر ریزوموجودات سودمند استفاده شود. در واقع آزوسپیریلوم به عملکرد بهتر از دیگر ریزوموجودات کمک می‌کند و به‌طور مستقیم هم تأثیرات مثبتی بر رشد گیاه دارد [۲۷]. در مطالعه دیگری نیز تلقیح بذور کلزا با باکتری ازتوباکتر به‌طور معنی‌داری طول گیاه، قطر ساقه، تعداد شاخه‌ها، وزن هزاردانه، میزان محصول و روغن را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد [۶].

از آنجا که تنش کم‌آبی به‌عنوان عاملی محدودکننده در تولیدات گیاهی مطرح است، بنابراین، مقابله با آثار مخرب تنش به شیوه‌های مختلف همچون کاربرد کودهای زیستی حائز اهمیت است. این کودها، کارایی بالایی در کاهش تأثیرات منفی تنش بر گیاهان دارند. بنابراین، هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر تنش کم‌آبی و کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن اعم از ازتوباکتر و آزوسپیریلوم به‌عنوان کود زیستی، بر عملکرد و اجزای عملکرد، برخی خصوصیات فیزیولوژیک و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه سویا بود.

۲. مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و شیوه‌های کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بر گیاه سویای دارای رشد نامحدود (رقم ویلیامز) آزمایشی، در سال ۱۳۹۰، در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده (گلخانه) اجرا شد. در داخل گلخانه شرایط رشد از جمله دمای روز و شب، شدت و کیفیت نور و رطوبت نسبی در حد مطلوب حفظ

1. Time-Domain Reflectometry, Model TRIME-FM, England
2. Field capacity
3. Wilting point

جدول ۱. مشخصات خاک استفاده شده

بافت	شن رس	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	درصد نیتروژن کل	هدایت الکتریکی (dS/m)	اسیدیته (pH)
لومی شنی	٪۳۹	۲۲	۳۵۰	۰/۲	۱/۸۷	۷/۹

کود زیستی شامل ترکیب باکتری‌های ازتوباکترکروکوکوم^۱ و آزوسپیریلوم برازیلنس^۲ بود. همچنین، در تمام تیمارها به‌طور یکنواخت باکتری برادی‌ریزوبیوم^۳ اضافه شد. جدول زمان‌بندی آبیاری واحدهای آزمایشی براساس روش تغییرات درصد حجمی رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه تنظیم شد. کود نیتروژن به میزان ۳۰ کیلوگرم در هکتار و کود ریزمغذی نیز به خاک داده شد. در تیمارهای کاربرد کود زیستی، میزان ۲ لیتر در هکتار از مایه تلقیح استفاده شد که هر گرم آن دارای 5×10^9 (ازتوباکتر) و 8×10^6 (آزوسپیریلوم) باکتری زنده و فعال است [۲۹]. برای مایه‌زنی بذور در زمان کاشت و چسبندگی سطوح بذرها با مایه تلقیح، از مخلوط آب و شکر استفاده شد. زمان اجرای محلول‌پاشی برگی در دو مرحله رشدی سویا در زمان تشکیل چهارمین و پنجمین گره (V4 و V5) بود و در این زمان تیمارهای بدون باکتری اعم از شاهد و مایه‌زنی، با آب ظرف ۲ هفته محلول‌پاشی شدند. بعد از آغاز تنش در مرحله گل‌دهی و با گذشت ۲۰ روز، نمونه‌گیری از برگ گیاه برای سنجش فعالیت آنزیمی و اندازه‌گیری غلظت پرولین انجام شد و در برداشت نهایی تمام بوته‌های هر گلدان برداشت و عملکرد و اجزای عملکرد محاسبه شد.

نمونه‌های برگ پس از برداشت در نیتروژن مایع قرار

1. Azotobacter chroococcum
2. Azospirillum brasilense
3. Bradyrhizobium japonicum

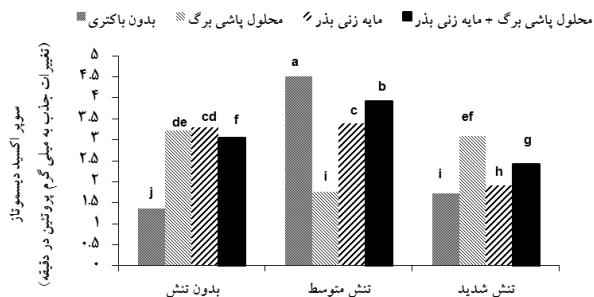
داده شد و پس از انتقال به آزمایشگاه در فریزر ۸۰- نگه‌داری شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Cakmak and Horst [۱۲] انجام شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد برگ در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ عصاره‌گیری شد. همگن حاصل سانتریفیوژ و سپس، محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. تجزیه پراکسید هیدروژن با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (GBC-Cintra 6- Australia) پیگیری و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد. همچنین، فعالیت پراکسیداز [۱۶]، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز [۱۷] و نیز غلظت پرولین [۸] براساس روش‌های گزارش شده در منابع مذکور سنجش شد. در نهایت، تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (Ver. 9.2) انجام گرفت و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد احتمال مقایسه شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنش کم‌آبی بر تمامی صفات ارزیابی شده تأثیر معنی‌داری داشته است (جدول ۲). این در حالی است که کاربرد باکتری نیز بر تمامی صفات تأثیرگذار بوده است (جدول ۲). اثر متقابل کم‌آبی × کاربرد باکتری فقط بر وزن هزاردانه، تعداد دانه در غلاف و تعداد غلاف در بوته اثر معنی‌دار نشان نداد، اما تأثیر آن بر سایر صفات معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین، با توجه به جدول شماره ۴، در بررسی صفاتی که دارای

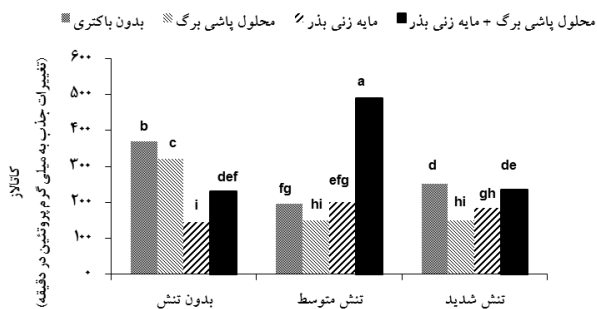
ارزیابی تأثیرات کودهای زیستی بر عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت تنش کم آبی

(نمودار ۱، جدول ۴). در مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کاربرد باکتری، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) مربوط به تیمار تنش متوسط همراه با محلول پاشی برگ به علاوه مایه زنی بذر بود (۴۹۰/۵۹ تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) که نسبت به حداقل فعالیت، ۲ برابر افزایش یافت (نمودار ۲، جدول ۴). در حالی که، بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز ناشی اثر متقابل آبیاری × کاربرد باکتری در تیمار تنش شدید بدون مصرف باکتری مشاهده شد (۱۷۴/۴۱ تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) که در مقایسه با تیمار بدون تنش همراه با محلول پاشی برگ با کمترین فعالیت، بیش از ۴ برابر افزایش نشان داد (نمودار ۳، جدول ۴). تنش شدید بدون مصرف باکتری، افزایش معنی داری را در میزان پروتئین نشان داد که در مقایسه با کمترین مقدار در تنش متوسط و بدون باکتری ۳/۴ برابر افزایش یافت.



نمودار ۱. اثر متقابل آبیاری × کاربرد باکتری بر فعالیت

سوپراکسید دیسموتاز



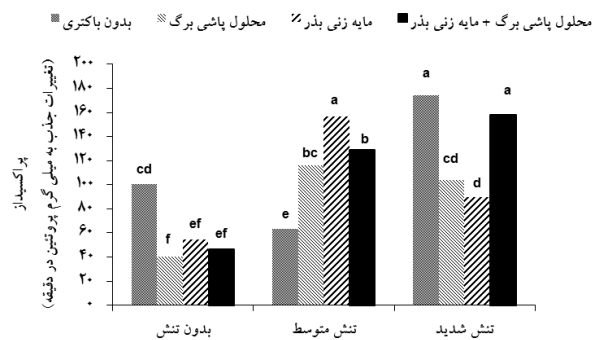
نمودار ۲. اثر متقابل آبیاری × کاربرد باکتری بر فعالیت کاتالاز

اثر متقابل معنی دار بودند، تمامی تیمارهای برتر در مقایسه با تیمار شاهد متناظر (بدون تنش و بدون اعمال باکتری) اختلاف معنی داری را از خود نشان دادند. نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین سطوح آبیاری (جدول ۳) نشان داد که عملکرد دانه و اجزای آن تحت تأثیر تنش کم آبی قرار گرفت به طوری که در مقایسه تنش شدید (کمترین میزان عملکرد و اجزای عملکرد)، با شرایط بدون تنش (بالاترین میزان رشد)، عملکرد دانه و تعداد بذر در غلاف با ۴۴ درصد، وزن هزاردانه با ۵۵/۵ درصد، تعداد غلاف در بوته با ۴۱ درصد افزایش یافت. همچنین، با بررسی سطوح کاربرد باکتری، به طور کلی روش محلول پاشی برگ به علاوه مایه زنی بذر و نیز روش مایه زنی بذر برتری بیشتری نسبت به سایر روش های کاربرد نشان دادند. به طوری که روش محلول پاشی برگ همراه با مایه زنی بذر بر عملکرد دانه افزایش ۲۳ درصدی، بر وزن هزاردانه رشد ۳۴ درصدی و بر تعداد بذر در غلاف ۲۱ درصدی را نشان داد. این در حالی است که تعداد غلاف در بوته در شرایط مایه زنی بذر برتری ۲۹ درصدی را نسبت به کمترین تعداد غلاف نشان داد (جدول ۳). در بررسی اثر متقابل آبیاری در کاربرد باکتری بر میزان عملکرد دانه، همان طور که پیش از این نیز اشاره شد، عملکرد دانه در شرایط بدون تنش به همراه محلول پاشی برگ به همراه مایه زنی بذر به بالاترین حد خود رسید (۶/۸۹ گرم در تک بوته) و نسبت به کمترین عملکرد در شرایط تنش شدید و محلول پاشی برگ ۲ برابر رشد داشت (جدول ۴).

نتایج حاکی از آن است که اثر متقابل آبیاری در کاربرد باکتری بر میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در تیمار تنش متوسط بدون مصرف باکتری بیشترین مقدار را نشان داد (۴/۵ تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) که در مقایسه با کمترین میزان در تیمار بدون تنش و عدم مصرف باکتری، افزایش حدود ۳ برابری را نشان داد

مایه زنی بذر، با توجه به در دسترس قرار گرفتن حجم باکتری بیشتر توسط گیاه، با تأثیر بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو از زمان اعمال تا عملکرد نهایی، توانست از طریق هم‌افزایی برای عوامل تقویت‌کننده رشد و نمو، تولید مواد تنظیم‌کننده رشد و اثر آنتاگونیستی بر عوامل کاهنده، موجب افزایش سرعت و میزان بنیه گیاهچه، رشد و عملکرد بهتر شود. مطالعات سایر دانشمندان افزایش عملکرد تا ۸/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد در گیاه گوجه‌فرنگی، افزایش عملکرد دانه در ذرت و نیز افزایش ۴۰ درصدی عملکرد دانه در گندم و جو به کمک کودهای بیولوژیک را گزارش کردند [۱۹،۲۶،۳۲]. ترشحات ریزموجودات زیستی مهم‌ترین عامل افزایش رشد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه گزارش شده است [۲۵]. نتایج این آزمایش نیز با نظریه سایر دانشمندان منطبق بود. از طرفی، افزایش وزن دانه با کاربرد کود زیستی را می‌توان به بهبود سیستم فتوسنتزی و انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر به دانه بر اثر کاهش عوارض تنش خشکی نسبت داد که به دنبال آن، افزایش عملکرد دانه را شاهد بودیم.

نتایج بیشتر پژوهش‌ها گویای آن است که آزوسپیریوم با توان تثبیت زیستی نیتروژن، گسترش سطح ریشه، کمک به جذب بهینه آب و عناصر غذایی و تولید هورمون‌های رشد و برخی ویتامین‌ها، رشد کمی و کیفی را در گیاهان تقویت می‌کند. ترشحات ریشه هنگامی که از ازتوباکتر کروکوم و آزوسپیریوم استفاده می‌شود، سنتز عوامل محرک رشد از جمله اکسین، جیبرلین، سیتوکینین را به وسیله باکتری به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد که علت آن را مناسب بودن ترشحات ریشه‌ای به‌عنوان یک منبع کربنی برای رشد ازتوباکتر دانسته‌اند [۱]. در واقع آزوسپیریوم به عملکرد بهتر دیگر ریزموجودات کمک می‌کند و به‌طور مستقیم هم تأثیرات مثبتی بر رشد گیاه دارد و توصیه شده است که از آزوسپیریوم به‌عنوان یک باکتری



نمودار ۳. اثر متقابل آبیاری × کاربرد باکتری بر فعالیت

پراکسیداز

با توجه به اعمال تنش در مرحله زایشی و در زمان گل‌دهی، گیاه با بیشترین نقصان نسبت به شرایط رویشی روبه‌رو شد؛ زیرا این مرحله، مصادف با تشکیل غلاف و دانه‌بندی بود و بذوری با وزن کمتر تشکیل شدند. همچنین، حساسیت سویا به سله و تراکم خاک، رطوبت بیش از حد و خشکی، برخورد با تنش در مرحله رشد و نمو، سبب کاهش سطح برگ، جذب کمتر عناصر غذایی، کاهش تعداد غلاف و کاهش عملکرد می‌شود. همچنین، میزان محصول سویا بسیار زیاد تحت تأثیر کمبود رطوبت در زمان پرشدن غلاف‌ها (تشکیل دانه) قرار گرفت. همان‌طور که گزارش شده است بر اثر تنش خشکی در سویا عملکرد دانه کاهش یافت که ناشی از کاهش تعداد دانه در گیاه و وزن هزاردانه بود [۲]. ارتقای کیفیت بذر از جمله راه‌های مهم دستیابی به نظام‌های کشاورزی پایدار محسوب می‌شود و تقویت زیستی بذر با افزودن باکتری‌های افزاینده رشد گیاه از روش‌های جدید ارتقای کیفیت بذر به شمار می‌آیند [۲۴]. استفاده از کودهای زیستی به‌طور قابل توجهی از این عوامل کاهنده محصول در شرایط تنش جلوگیری می‌کند و باعث افزایش عملکرد می‌شود. به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اظهار داشت که در شرایط اجرای این پژوهش، کاربرد کود زیستی به‌صورت مصرف توأم محلول‌پاشی برگ به‌علاوه

پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز در کلروپلاست تبدیل به آب شوند. با توجه به وجود سوپراکسید دیسموتاز در اندام-های هوایی، فرض بر این است که سوپراکسید دیسموتاز نقشی محوری را در دفاع آنتی اکسیدانی ایفا می‌کند. گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا افزایش یافت و باعث حفاظت گیاه در برابر خشکی شد. مقاومت گیاه در برابر تنش بستگی به تأثیرپذیری بیشتر سیستم آنتی اکسیدانی دارد [۱۰]. افزایش غلظت پراکسید هیدروژن با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طی تنش [۱۱]، سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود، اما در شرایط بدون تنش به دلیل تولید نکردن بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون سوپراکسید کاهش و در نتیجه فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش می‌یابد. با کاربرد کود زیستی، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط بدون تنش مطابق نتایج کوهلر مشاهده شد [۲۱]. این گروه از ریزموجودات علاوه بر افزایش فراهمی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، کنترل عوامل بیماری‌زا و تولید انواع هورمون‌های تنظیم‌کننده و محرک رشد گیاه عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۳۰]. در پژوهش دیگری روی ارقام جو زراعی، گندم، سویا و نخود نشان می‌دهد که فعالیت کاتالاز برای کاهش تأثیرات منفی ناشی از تنش‌های مختلف مؤثر است. ماریوس و همکاران تأثیر تلقیح باکتریایی را روی چند شاخص بیوشیمیایی گیاه آفتابگردان بررسی کردند. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم کاتالاز قبل و بعد از گل‌دهی در فرآیند فتوسنتز و تولید انرژی و در نهایت، بهبود رشد آفتابگردان در تیمار کود زیستی نسبت به کنترل افزایش داشته است [۲۳].

با دیگر ریزموجودات سودمند استفاده شود. استفاده از کودهای زیستی در راستای ارتقای محصول در شرایطی توصیه می‌شود که آب کافی در طی رشد گیاه تأمین است و گیاه از لحاظ کم‌آبی دچار نقصان نمی‌شود. همان‌طور که حداکثر عملکرد دانه و اجزای آن در شرایط استفاده بدون تنش و مصرف توأم محلول‌پاشی برگ + مایه‌زنی بذر، مشاهده شد؛ این بدان معناست که در زراعت سویا در مناطق خشک و نیمه‌خشک که آب به مقدار کافی در دسترس نیست (تنش شدید)، استفاده از کود زیستی سبب افزایش هزینه‌های جانبی و تا حدی باعث کاهش آثار مخرب تنش می‌شود، ولی بر عملکرد اثر افزایشی چشمگیری ندارد.

نتایج نشان می‌دهد که در شرایط تنش، با افزایش رادیکال‌های آزاد درون گیاه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اعم از سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز و نیز پرولین افزایش یافت. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها برای خنثی کردن و پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده ناشی از تنش کم‌آبی به‌عنوان یک مکانیسم مقاومت در گیاهان شناخته شده است و هرچه این افزایش در گیاهان تنش‌دیده کمتر باشد نشان‌دهنده بالابودن مقاومت گیاه به تنش است. از طرفی کم‌تر بودن فعالیت آنزیم در تیمارهای حاوی باکتری نشان‌دهنده این است که باکتری گیاه را در شرایط مناسب‌تری قرار داده و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کمتری تولید شده است. این نابودگران سبب خنثی شدن اثر سمی اکسیژن‌های واکنش‌گر می‌شوند و نتیجه فعالیت پیوسته و هم‌زمان شماری از آنزیم‌های آنتی اکسیدان شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن ممکن است با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تبدیل به پراکسید هیدروژن شوند و سپس، با آسکوربات

جدول ۲. تجزیه واریانس عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت سطوح مختلف تنش کم آبی و کاربرد باکتری

صفات	میانگین مریعات (MS)					df
	پروپین	پراکسیداز	کاتالاز	سوپراکسیددیسموناز	تعداد غلاف در بوته	
تکرار	۱/۳۵ ns	۲۵۲/۳۸ ns	۶۸۱/۰۸ ns	۰/۰۰۰۵۹ ns	۳۹/۶۹ ns	۲
رژیم آبیاری	۹۷/۲۶**	۱۶۶۶۸/۵۱**	۱۳۳۸۳/۷۹**	۳/۷۳**	۲۱۹/۲۵**	۲
کاربرد باکتری	۱۷/۱۱**	۱۳۱۸/۶۷**	۳۷۶۴/۸۹**	۰/۶۱**	۶۵۴۲*	۳
رژیم آبیاری × کاربرد باکتری	۶۹/۲۴**	۵۳۰۵/۸۴**	۳۶۰۳۱/۳۳**	۳/۶۱**	۱۳/۵۸ ns	۶
خطای آزمایشی	۰/۷۰	۱۴۶/۴۱	۴۶۸/۸۹	۰/۰۰۷۰	۱۸/۸۴	۲۲
Cv%	۷/۲۸	۱۱/۶۰	۸/۸۹	۲/۹۹	۱۷/۲۵	۴/۱۷

* و ** به ترتیب میانگین اختلاف معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد هستند.

جدول ۳. مقایسه میانگین تأثیرات اصلی آبیاری و کاربرد باکتری بر صفات بررسی شده در سویا

صفات	وزن هزاردانه		تعداد دانه در غلاف		تعداد غلاف در بوته		عملکرد دانه
	گرم	گرم	تعداد دانه در غلاف	تعداد غلاف در بوته	سوپراکسیددیسموناز	کاتالاز	
آبیاری I ₁	۱۳۸/۵۰ a	۱/۶۷ a	۲۸/۸۸ a	۲/۷۳ b	۳۶۶/۰۴۴ a	۶۰/۶۵ c	۵/۴۳ a
I _۲	۱۲۳/۳۲ a	۱/۴۳ b	۲۶/۰۸ a	۲/۳۹ a	۲۵۹/۱۶ a	۱۱۶/۴۱ b	۴/۵۰ b
I _۳	۸۹/۰۲ b	۱/۶۶ c	۲۰/۴۹ b	۲/۲۸ c	۲۰۵/۰۷ b	۱۳۱/۳۶ a	۳/۶۵ c
کاربرد باکتری B ₁	۱۰۱/۳۱ c	۱/۶۹ c	۲۱/۹۰ b	۲/۵۳ d	۲۷۲ b	۱۱۲/۸۴ a	۴/۲۰ c
B _۲	۱۰۶/۷۹ bc	۱/۳۶ c	۲۴/۶۷ ab	۲/۶۸ c	۲۰۶/۶۱ c	۸۶/۶۸ c	۴/۳۳ c
B _۳	۱۲۴/۱۹ ab	۱/۴۶ b	۲۶/۲۲ a	۲/۸۶ b	۱۷۶/۱۱ d	۱۰۰/۳۷ b	۴/۵۳ b
B _۴	۱۳۵/۵۲ a	۱/۵۱ a	۲۸/۲۰ a	۳/۱۳ a	۳۱۹ a	۱۱۱/۳۴ ab	۵/۱۵ a

در هر ستون سطوح تیماری که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.
 I₁: ۴۰ درصد تخلیه رطوبت I_۲: ۶۰ درصد تخلیه رطوبت I_۳: بدون تخلیه رطوبت
 B₁: بدون باکتری B_۲: محلول باکتری برگ B_۳: مایه زنی بندر محلول باکتری برگ B_۴: مایه زنی بندر محلول باکتری برگ

ارزیابی تأثیرات کودهای زیستی بر عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت تنش کم آبی

جدول ۴. مقایسه میانگین تأثیرات متقابل صفات بررسی شده در سویا تحت تنش کم آبی

پروپین	پراکسیداز	کاتالاز	سوپراکسیددیسمو تاز		تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه	عملکرد دانه	صفات تیمارها	
			تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه	تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه					گرم در تنگ بوته	گرم
۵/۶۷۴	۱۰۰/۷ cd	۳۶۹/۹۶ b	۱/۳۶ j	۳۶/۰۸ abc	۱/۴۵ de	۱۲۵/۴۲ b	۴/۵۲ c	بدون باکتری	۴۰ درصد تخلیه رطوبت	
۵/۶۴۴	۴۰/۸۶ f	۳۱۹/۹۲ c	۳/۲۱ de	۲۸/۷۵ ab	۱/۳۶ bc	۱۳۰ ab	۴/۷۴ c	محلول پاشی برگ	ماده زنی بندر	
۱۱/۲۴ de	۵۴/۸۰ ef	۱۴۴/۴۲ i	۳/۲۹ cd	۲۹/۰۸ ab	۱/۷۴ ab	۱۳۳/۷ ab	۵/۵۸ b	محلول پاشی برگ	محلول پاشی برگ	
۱۱/۴۸ d	۴۶/۸۱ ef	۲۲۹/۸۷ def	۳/۰۴	۳۱/۶۲ a	۱/۸۲ a	۱۶۴/۹ a	۶/۸۹ a	بدون باکتری	برگ همایه زنی بندر	
۵/۴۹۴	۳۳/۴۱ e	۱۹۵/۸۲ fg	۴/۵ a	۲۵/۲۵ abc	۱/۳۴ efg	۱۲۱/۹۳ b	۴/۴۳ c	محلول پاشی برگ	محلول پاشی برگ	
۱۶/۰۶ b	۱۱۶/۱۲ bc	۱۴۹/۵۳ hi	۱/۷۵ i	۲۵/۳۳ abc	۱/۳۵ ef	۱۲۲/۱۳ b	۴/۴۴ c	ماده زنی بندر	ماده زنی بندر	
۱۰/۸۷ de	۱۵۶/۸۱ a	۲۰۰/۷۴ efg	۳/۳۸ c	۲۵/۶۶ abc	۱/۴۵ de	۱۲۳/۷ b	۴/۴۹ c	محلول پاشی برگ	محلول پاشی برگ	
۱۴/۵۷ c	۱۲۹/۳ b	۴۹۰/۵۹ a	۳/۹۳ b	۲۸/۰۸ ab	۱/۵۸ cd	۱۲۵/۴۳ b	۴/۶۷ c	بدون باکتری	برگ همایه زنی بندر	
۱۸/۷۵ a	۱۷۴/۴۱ a	۲۵۰/۲۶ d	۱/۷۱ i	۱۴/۳۷ d	۱/۰۸ h	۵۶/۵۷ c	۳/۶۴ de	محلول پاشی برگ	محلول پاشی برگ	
۱۶/۹۹ b	۱۰۳/۶۵ cd	۱۵۰/۳۷ hi	۳/۰۸ ef	۱۸/۷۵ cd	۱/۰۹ h	۶۸/۱۳ c	۳/۵۳ e	ماده زنی بندر	ماده زنی بندر	
۹/۹۵ e	۸۹/۵ d	۱۸۳/۱۷ gh	۱/۹۱ h	۳۳/۹۱ bc	۱/۱۹ gh	۱۱۵/۱۷ b	۳/۵۴ e	محلول پاشی برگ	محلول پاشی برگ	
۱۱/۰۴ de	۱۵۷/۹ a	۳۳۶/۵۲ de	۲/۴۲ g	۲۴/۹۱ abc	۱/۲۸ fg	۱۱۶/۲۳ b	۳/۸۹ d	بدون باکتری	برگ همایه زنی بندر	

* اعداد دارای حداقل یک حرف یکسان در هر ستون، اختلاف معنی داری ندارند.

افزایش فعالیت سیستم پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال در معرض تنش یک ساز و کار دفاعی مهم است. که در این حالت، مصرف باکتری در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن کمک کرده است. از توپاکتر به عنوان یک باکتری دی‌آزوتروف، نیازمند مقادیر زیادی عناصر قابل استفاده برای بقا در خاک است که این نیازمندی خود را از طریق ترشحات بذر و ریشه تأمین می‌کند [۱۸]. گزارش شده است که باکتری‌های دی‌آزوتروف با جذب مواد غذایی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی رشد گیاه را بهبود می‌بخشند [۱۴].

نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت در شرایط تنش کم‌آبی و ایجاد تغییرات بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه افزایش یافت و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز به این تنش پاسخ داد. از طرفی با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زمان استفاده از مصرف کود زیستی، گیاه تنش کمتری را احساس می‌کند و تا حدودی از تأثیرات مخرب تنش جلوگیری می‌شود، در نهایت، سبب بهبود رشد گیاه در هنگام تنش می‌شود. همچنین، عملکرد دانه در شرایطی که آب کافی در طی رشد گیاه تأمین است و گیاه از لحاظ کم‌آبی دچار نقصان نشود، با توجه به مشاهده حداکثر عملکرد در شرایط استفاده توأم محلول‌پاشی برگ+مایه‌زنی بذر، در راستای ارتقای محصول و افزایش عملکرد، استفاده از کودهای زیستی توصیه می‌شود. همچنین، در مناطقی که شرایط خشکی آن‌ها با تنش متوسط این پژوهش نزدیک است، با توجه به نتایج، استفاده از کود زیستی برای افزایش عملکرد دانه و وزن هزاردانه توصیه می‌شود با توجه به نقش کود زیستی برای افزایش عملکرد دانه و وزن هزاردانه در شرایط گلخانه، توصیه می‌شود برای به‌دست‌آوردن نتایج

پراکسیداز نیز در پاکسازی مولکول پراکسید هیدروژن نقش دارد و همانند سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی تنش افزایش می‌یابد. در تمام فرآیندهای فیزیولوژیکی و تغییرات فنولوژیکی گیاه ماده سمی آب‌اکسیژنه در بافت‌های گیاهی تولید می‌شود که دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به دو شکل متفاوت این ماده سمی را از محیط دور می‌کنند. در طی خشکی دراز مدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، به تغییر غلظت برخی از متابولیت‌ها منجر می‌شود. از سوی دیگر میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظیر قندها، آمینواسیدهای ویژه، نظیر پرولین و گلیسین افزایش می‌یابد. گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فقط مکانیسم دفاعی گیاه در برابر اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدشده در شرایط تنش نیست و افزایش پرولین نیز می‌تواند موجب کاهش رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش بشود [۳۱]. همان‌طور که نتایج نشان داد، تجمع پرولین در برگ‌های تنش دیده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان پرولین در شرایط تنش شدید، در تیمار مایه‌زنی بذر نسبت به عدم مصرف باکتری کاهش یافت. چنین به نظر می‌رسد که با توجه به نقش پرولین به‌عنوان مخزن ذخیره‌ای نیتروژن و استفاده از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، احتمالاً پرولین، گیاه را در تحمل به تنش یاری می‌کند. یکی از خواص فیزیکی پرولین حلالیت بالای آن است. مولکول پرولین شامل قسمت‌های آب‌دوست و آب‌گریز است. نتایج حاصل از پژوهش دانشمندان یادشده، با نتایج این آزمایش در افزایش آنزیم‌ها و پرولین مطابقت نشان داد.

نیتروژن نقشی کلیدی را در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاهان دارد، به‌طوری‌که از اجزای اصلی تشکیل‌دهنده پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و مولکول‌های کلروفیل به شمار می‌رود. ساختار بیشتر آنزیم‌ها از پروتئین هستند که این نشان‌دهنده نقش مهم نیتروژن در گیاه است.

- (2002) Relationship between invitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica Juncea* L. *Biology and Fertility of Soil* 35: 231-237.
7. Bai L and Sui F (2006) Effect of soil drought stress on leaf of maize. *Pedosphere* 16:326-332.
8. Bates LS, Waldern RP and Teave ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
9. Blokhina O, Virolainen E and Fagested K (2002) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annual of Botany* 91: 179-194.
10. Bor M, Ozdemir F and Türkan I (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritime* L. *Plant Science* 164: 77-84.
11. Bowler C, Van Montagu M and Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Physiology and Molecular Biology of Plants* 43: 83-116.
12. Cakmak I and Horst W (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Phisiology* 83:463-468.
13. Costa RCL, Lobato AKS, Oliveira Neto CF, Maia PSP, Alves GAR and Laughinghouse IVHD (2008) Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. *Journal of Agronomy* 7: 98-101.
- معتبر کاربردی، مصرف کود زیستی به روش محلول پاشی + مایه زنی بذر در سطح بزرگ تر در شرایط مزرعه ای از نظر تولید پایدار و اقتصادی بررسی شود.
- ### منابع
۱. حاجی بند، ر، ن؛ اصغرزاده، ع؛ مهرفر، ز؛ (۱۳۸۳). «بررسی اکولوژیکی ازتوباکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن بر روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم». *علوم و فنون کشاورزی منابع طبیعی*، ۸، ۲، ص. ۷۵-۸۹.
۲. دانشیان، ج؛ نورمحمدی، ق؛ جنوبی، پ؛ (۱۳۸۱). «بررسی واکنش سویا به تنش خشکی و مقادیر مختلف فسفر». چکیده مقالات، هفتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
3. Abraham CP, Viswagith V, Prabha S, Sundhar K and Malliga P (2007) Effect of coir pith based cyanobacterial basal and foliar biofertilizer on *Baseella rubra* L. *Acta Agriculturae Slovenica* pp: 59-63. *Academy of Science* 91: 11-17.
4. AL-Aghabary K, Zhujun Z and Qinhua S (2004) Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Plant Nutrition* 27: 2101-2115.
5. Anderson JVJL and Cheione BJ (1990) Purification, characterization, and immunological properties for two isoforms of glutathione reductase from eastern white pine needles. *Plant Physiology* 94: 1402-1409.
6. Asghar HN, Zahir ZA, Arshad M and Khaliq A

14. Dobbelaere S, Vanderleyden J and Okon Y (2003) Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22 (2): 107-149.
15. Emam Y and Eilkaee MN (2002) Effects of plant density and chlormequat chloride (CCC) on morphological characteristics and grain yield of winter oilseed rape cv. Talayeh. *Iranian Journal of Crop Science* 1: 1-8. (In Persian with English Summary).
16. Ghanati F, Morita A and Yokota H (2002) Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science Plant Nutrition* 48 (3): 357-364.
17. Giannopolitis C and Ries S (1997) Superoxid desmutase I: Occurence in higher plant. *Plant Physiology* 59: 309-314.
18. Gransee A (2001) Effects of root exudates on nutrient availability in the rhizosphere, pp: 626-627. in: *Plant nutrition-Food security and sustainability of agro ecosystem, through basic and applied research XIV international plant nutrition colloquium*. Eds., Horst WJ, Schenk MK, Burkert A, Classen N, Flessa H, Formmer WB, Goldbach H, Olf H, Römheld V, Sattelmacher B, Schmidhalter U, Schubert S, Wiren NV and Wittenmayer L, Development in plant and soil science, Kulwer Academic Pub.
19. Jangow G, Hoeflich G and Hoffman KH (1991) Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria: Possibilities of increasing and stabilizing yield. *Angewandte Botanik* 65:97-126.
20. Kader MA, Main MH and Hoque MS (2002) Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Online Journal of Biological Sciences* 2 (4): 259-261.
21. Kohler J, Antonio Hernandez J, Caravaca F and Roldan A (2009) Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Enviromental and Experimental Botany* 65: 245-252.
22. Lucy M, Reed E and Bernard R (2004) Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1-25.
23. Marius S, Octavita A, Eugen U, and Vlad A (2005) Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower [*Helianthus annuus L.*]. *Analele tiinifice ale Universitii „Alexandru Ioan Cuza”, Genetici Biologie Molecular, TOM V.*
24. Mc Quilken M, Halmer P and Rhodes PDJ (1998) Application of microorganisms to seeds. In: *Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatment*, Burges, H.D., ed. Pp: 255-285. Kulwer Academic Publisher. The Netherlands.
25. Molla AH, Shamsuddin ZH, Halimi MS, Morziachand M and Puteh AB (2001) Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean Co-inoculation with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. *Soil Biology and Biochemistry* 33:457-463.
26. Najafvand SN, Alemzadeh A and Ansari F (2008) Effect of different level of nitrogen fertilizer with two types of bio-fertilizer on

- growth and yield of two cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Journal of plant Science 7(8):757-761.
27. Pallai R (2002) Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on canola (*Brassica napus* L.) and lentil (*Lens culinaris*. Medik) plants. A thesis submitted to the college of graduate studies and research in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in the Department of Applied Microbiology and Food Science University of Saskatchewan Saskatoon. pp 140.
28. Silveira JAG, Costa RCL, Viegas RA, Oliveira JTA, Figueiredo MVB (2003) N-Compound accumulation and carbohydrate shortage on N₂ fixation in drought-stressed and rewatered cowpea plants. Spanish Journal of Agricultural Research 1: 65-75
29. Somasegaran P and Hoben HJ (1994) Handbook for rhizobia methods in legume-rhizobium technology. Springer, Heidelberg, New York, pp 450.
30. Sturz AV and Christie BR (2003) Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil and Tillage Research 72:107-123.
31. Trovato M, Mattioli R and Costantino P (2008) Multiple roles of praline in plant stress tolerance and development. Rendiconti Lincei 19: 325-346.
32. Zahir AZ, Arshad M and Frankenberger WF (2004) Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy 81: 97-168.
33. Zhu JK , (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. Ann Rev Plant Biology 53: 247-273.