Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 46, Summer 2023 p: 145-155

"Research Paper"

The Effect of Inoculation of Growth-Promoting Bacteria *Enterobacter sp.* S16-3 on the Morpho-Physiological Traits of Rapeseed under Drought Stress

Davood Dadashi[1], Majid Norouzi[2], Manijeh Sabokdast[3] and Mohammad Reza Sarikhani[4]

1 - Phd student University of Tabriz, Tabriz, Iran, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture

2- Assistant Professor University of Tabriz, Tabriz, Iran, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture (Corresponding author: norouzi@tabrizu.ac.ir)

3- Assistant Professor University of Tehran, Tehran, Iran, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture

4- Assistant Professor University of Tabriz, Tabriz, Iran, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture

Received:19 October, 2022 Accepted: 8 January, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Rapeseed is the third source of edible oil production, however, its yield is strongly affected by drought. As an approach to mitigate the effects of stress, growth promoting bacteria (PGPBs) have been considered, which have the ability to increase tolerance to abiotic stresses, to provide nutrients, and to synthesize growth regulators. Giving the positive impact of PGPBs in improving plant growth during drought, this study was conducted with the aim of investigating the effect of *Enterobacter sp*. S16-3, a growth-promoting bacterium, on rapeseed traits under drought stress.

Material and Methods: The effect of the growth-stimulating bacteria *Enterobacter sp.* S16-3 on the morpho-physiological traits of rapeseed cultivar Okapi (tolerant to drought) under drought stress was investigated as a factorial experiment based on a randomized complete block design in 3 replications in greenhouse conditions. The treatment combinations included irrigation treatment (normal irrigation and water shortage stress-60% of field capacity) and bacteria treatment (*Enterobacter sp.* S16-3 and control). Drought treatment was started four weeks after germination and applied for two weeks, and then morphological, physiological and biochemical traits were measured.

Results: Drought stress causes of decrease in root length (35%), stem weight (27%), relative water content (32%), protein content (28%), SOD enzyme activity (69%), CAT enzyme activity (51%), chlorophyll (28%) and carotenoid (25%), as well as an increase in electrolyte leakage (42%) and proline concentration (30%). Bacterial treatment, in turn, significantly improved the morphological, physiological and biochemical traits of rapeseed when compared to drought stress. It led to an increase of 24% in root length, 25% in stem weight, 28% in relative water content, 21% in protein content, 22% in SOD enzyme activity, 29% in CAT enzyme activity, 26% chlorophyll, and 23% carotenoids as well as a decrease of 23% in electrolyte leakage and 18% in proline concentration.

Conclusion: Although drought stress had significant negative effects on morphological, biochemical, and physiological traits of rapeseed; however, the bacterial treatment was able to significantly reduce these negative effects. Therefore, it seems that the bacterial treatment of *Enterobacter sp.* S16-3 is an efficient approach in mitigating the impact of drought through the positive adjustment of rapeseed morpho-physiological traits.

Keywords: Growth stimulating bacteria, Oil plant, Physio-biochemical traits, Water shortage stress

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

"مقاله پژوهشی"

تأثیر تلقیح باکتری محرک رشد (*Enterobacter sp.* S16-3) بر مشخصه‌های مورفو-فیزیولوژی کلزا تحت تنش خشکی

داوود داداشی[۱]، مجید نوروزی[۲]، منیژه سبکدست[۳] و محمدرضا ساریخانی[۴]

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی
۲- دانشیار دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، (نویسنده مسوول: norouzi@tabrizu.ac.ir)
۳- دانشیار دانشگاه تهران، تهران، ایران، گروه به‌زراعی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی
۴- دانشیار دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸
صفحه: ۱۴۵ تا ۱۵۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کلزا سومین منبع تولیدکننده روغن خوراکی است، با این حال، عملکرد آن به‌شدت تحت تأثیر خشکی قرار دارد. به‌عنوان یک رویکرد کاهش‌دهنده آثار تنش، باکتری‌های محرک رشد (PGPBها) مورد توجه قرار گرفته‌اند که از توانایی افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی، تأمین عناصر غذایی گیاه و سنتز تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه برخودار می‌باشند. با توجه به تأثیر مثبت PGPBها در بهبود رشد گیاهان طی تنش خشکی، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر باکتری محرک رشد *Enterobacter* sp. S16-3 بر خصوصیات کلزا تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تأثیر باکتری محرک رشد *Enterobacter* sp. S16-3 بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک کلزا رقم Okapi (متحمل به خشکی) تحت تنش خشکی به‌صورت آزمایش فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. ترکیبات تیماری آزمایش شامل تیمار آبیاری (آبیاری عادی و تنش خشکی به شکل ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و تیمار باکتری (*Enterobacter* sp. S16-3 و شاهد) بودند. تیمار خشکی، چهار هفته پس از جوانه‌زنی شروع شده و به‌مدت دو هفته اعمال شد و در ادامه ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: تنش خشکی باعث کاهش طول ریشه (۳۵ درصد)، وزن ساقه (۲۷ درصد)، محتوی نسبی آب (۳۲ درصد)، محتوی پروتئین (۲۸ درصد)، فعالیت آنزیم SOD (۶۹ درصد)، فعالیت آنزیم CAT (۵۱ درصد)، کلروفیل (۲۸ درصد)و کارتنوئید (۲۵ درصد) و همچنین افزایش نشت الکترولیت (۴۲ درصد) و غلظت پرولین (۳۰ درصد) شد. تیمار باکتریایی به نوبه خود باعث بهبود معنی‌دار خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی کلزا در مقایسه با تنش خشکی شد به‌طوری‌که با افزایش ۲۴ درصدی در طول ریشه، ۲۵ درصدی در وزن ساقه، ۲۸ درصدی در محتوی نسبی آب، ۲۱ درصدی در محتوی پروتئین، ۲۲ درصدی در فعالیت آنزیم SOD، ۲۹ درصدی در فعالیت آنزیم CAT و ۲۶ درصدی کلروفیل و ۲۳ درصدی کارتنوئید و همچنین کاهش ۲۳ درصدی در نشت الکترولیت و ۱۸درصدی در غلظت پرولین همراه بود.

نتیجه‌گیری: هرچند تنش خشکی دارای اثرات منفی معنی‌داری بر مشخصه‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزولوژیکی کلزا بود؛ با این حال، تیمار باکتریایی توانست این اثرات منفی را تا حدود چشمگیری کاهش دهد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3، رویکرد کارآمدی در کاهش اثرات خشکی از طریق تعدیل مثبت مشخصه‌های مورفو-فیزیولوژی کلزا باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد، تنش خشکی، گیاه روغنی، مشخصه‌های فیزیوبیوشیمیایی

مقدمه

کلزا با نام علمی *Brassica napus* متعلق به خانواده Brassicaceae، به‌عنوان سومین منبع تولیدکننده روغن خوراکی شناخته می‌شود (۱). به‌دلیل مزیت‌های غذایی و اقتصادی، کشت کلزا در حال گسترش است به‌نحوی‌که سالانه بالغ بر ۶۰ میلیون تن دانه روغنی کلزا در سطح جهان تولید می‌شود (۲).

از آنجایی که کلزا غالباً در اراضی خشک و نیمه‌خشک کشت می‌شود، لذا معمولاً رشد و عملکرد آن تحت تأثیر کمبود آب قرار می‌گیرد (۳). تنش خشکی دارای اثرهای منفی متعددی بر فرآیندها و متابولیسم گیاه در سطوح مختلف مورفولوژیک، فیزیولوژیک و مولکولی می‌باشد. به‌طور کلی، تنش خشکی با ایجاد اختلال در فرآیندهای زیستی، موجب کاهش فتوسنتز، اختلال در تولید زیست‌توده و افت عملکرد می‌شود (۴،۵). مکانیسم‌های پاسخ به تنش خشکی پیچیده بوده و در سطوح مورفولوژیک، فیزیوبیوشیمیایی و مولکولی رخ می‌دهند (۶). ریشه یکی از مهم‌ترین اندام‌ها در درک و پاسخ به تنش محسوب می‌شود. ریشه تحت شرایط عادی، آب و مواد مغذی را از محیط خاکی جذب کرده و آن‌ها را در سراسر گیاه منتقل می‌سازد، از این‌رو نقش محوری در حفظ هموستازی سلولی ایفاء می‌کند. اما تعادل این سیستم طی خشکی مختل شده و ریشه‌ها برای انجام وظیفه خود متحمل تغییرات کارکردی-ساختاری می‌شوند، که از آن جمله می‌توان به تغییر متابولیسم و ساختار غشایی و دیواره سلولی اشاره کرد (۷).

به‌عنوان یک رویکرد برای مقابله با آثار تنش خشکی، باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPBها) با افزایش ظرفیت جذب مواد غذایی، افزایش راندمان مصرف آب و باز-تنظیمی متابولیسم ریشه، موجب بهبود رشد گیاه در شرایط خشکی می‌شوند (۸). همچنین، این باکتری‌ها منجر به اعمال تغییرات ساختاری و کارکردی در ریشه می‌شوند تا از این طریق بر توانایی گیاه در جذب آب و موادغذائی و متعاقباً مقابله با خشکی بیافزایند (۹). با وجود اهمیت این باکتری‌ها تحت تنش‌های غیرزیستی به‌ویژه تحت خشکی، مطالعات اندکی برای شناسایی مکانیسم‌های برهمکنش آن‌ها با ریشه انجام شده است.

در مطالعه‌ای، اثر تلقیح سورگوم با باکتری‌های *Enterobacter* sp. EB-14 و *Enterobacter cloacae*

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

EB-48 تحت خشکی مورد بررسی قرار گرفت. تلقیح باعث بهبود مشخصه‌های ریشه، تنظیم اسمزی، محتوی آب نسبی برگ و شاخص پایداری غشا در گیاهان تلقیح‌شده تحت خشکی شد (۱۰). در پژوهشی، سویه *Enterobacter cloacae* (HSNJ4) منجر به افزایش معنی‌دار طول ریشه، کلروفیل، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوی IAA در کلزای تلقیح‌شده تحت شوری شد. علاوه بر این، تلقیح HSNJ4 به‌طور مؤثری میزان MDA را تحت تنش کاهش داد (۱۱). در تحقیقی، تلقیح ذرت با باکتری*Enterobacter sp.* FD17 اثرات منفی ناشی از خشکی را به‌میزان قابل‌توجهی کاهش داد به‌طوری‌که زیست‌توده ساقه و ریشه، محتوی آب نسبی برگ، سطح برگ، محتوی کلروفیل، نرخ فتوسنتز و کارایی فتوشیمیایی PSII به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند (۱۲).

با توجه به آنچه گفته شد، این مطالعه با هدف بررسی اثر تیمار باکتری محرک رشد *Enterobacter cloacae* بر مشخصه‌های مورفولوژیکی و فیزیوبیوشیمیایی رقم Okapi کلزا تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های باکتریایی و کشت آن‌ها

در این مطالعه، از سویه باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 استفاده شد که توسط Sarikhani و همکاران (۱۳) جداسازی و شناسایی شده بود. کشت این باکتری‌ها در محیط NB به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸±۲°C در یک شیکر با دور ۱۵۰ rpm صورت گرفت. بعد از کشت، باکتری‌ها بر روی حامل پرلیت و باگاس (۱:۱) ضدعفونی‌شده قرار گرفتند. پس از تهیه سوسپانسیون تلقیح، بذور کلزا با باکتری‌ها تیمار شدند.

مواد گیاهی و طرح آزمایشی

در این پژوهش، از بذور کلزای رقم Okapi (متحمل به خشکی) استفاده شد. به منظور ضدعفونی بذرها، از هیپوکلرید سدیم ۱/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه و در ادامه آب مقطر برای شست‌و شو استفاده شد. بذور در محلول ساکارز ۱۰ درصد غوطه‌ور شدند تا سطح چسبنده‌ای برای تلقیح با باکتری‌ها داشته باشند. سپس، بذرها با باکتری تلقیح شدند. بذرهای تلقیح‌شده در عمق ۳cm گلدان‌های پنج کیلویی حاوی خاک مزرعه، ماسه بادی و خاک برگ (۲:۱:۱) کشت شدند و در گلخانه (دمای ۳۰–۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ساعت روشنایی و ۶۵ درصد رطوبت) نگهداری شدند. برای اعمال تنش خشکی، روش ظرفیت زراعی خاک به کار گرفته شد و تیمارهای ۱۰۰ (شاهد) و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی اعمال شد. بعد از اعمال تنش، نمونه‌های برگی و ریشه در ازت مایع و سپس در یخچال ۸۰– درجه قرار داده شدند. آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد.

سنجش مشخصه‌ها

طول ریشه و وزن ساقه

طول ریشه و وزن ساقه بر اساس روش Qaderi و همکاران (۳) اندازه‌گیری شد.

محتوی آب نسبی برگ (RWC)

برای سنجش RWC از روش Schonfeld و همکاران (۱۴) استفاده شد. قطعات برگی با استفاده از پانچ جداسازی و وزن برگ تازه اندازه‌گیری شد. پس از جذب آب و آماس کامل برگ‌ها، وزن اشباع قطعات برگی بعد از خشک کردن برگ‌ها گرفته شد و سپس داخل پاکت‌های کوچکی در آون و در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار رفتند. بعد از گذشت این زمان، وزن خشک قطعات برگی سنجش شد. RWC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{RWC}(\%) = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس}} \times ۱۰۰$$

میزان نشت الکترولیت (ELI)

برای سنجش ELI، قطعات برگی پس از پانچ‌شدن، به ویال‌های ۱۵ میلی‌لیتری از آب مقطر منتقل شدند. به‌منظور جذب بهتر آب، نمونه‌ها به‌مدت یک شبانه‌روز در داخل آب و در دستگاه شیکر در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از آن، میزان نشت الکترولیتی نمونه‌ها (EC1) با ECمتر قرائت شد. پس از قرارگرفتن در حمام بن ماری (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت یک ساعت، میزان هدایت الکترولیتی EC2 تعیین شد. در نهایت، مقدار شاخص خسارت بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۱۵–۱۶):

$$\text{ELI} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

غلظت پرولین

سنجش غلظت پرولین با استفاده از روش Bates (۱۷) انجام شد. ابتدا ۰/۵ گرم نمونه برگی پودرشده با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسلیک ۳ درصد ترکیب شد. بعد از سانتریفیوژ، ۲ میلی‌لیتر از سوپر ناتانت جداسازی و به آن ۲ میلی لیتر اسید ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. در نهایت، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط پلیت‌ریدر قرائت شد.

غلظت پروتئین

سنجش غلظت پروتئین بر اساس روش توضیح داده شده با Bradford (۱۸) انجام شد.

فعالیت SOD و CAT

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (EC 1.15.1.1) از روش Beyer & Fridovich (۱۹) استفاده شد. طول موج جذبی برای نمونه و شاهد بدون عصاره آنزیمی (بلانک) در ۵۶۰ نانومتر قرائت شدند. سپس، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در زیر نور ۴۰ وات فلوروسنس قرار داده شدند و دوباره میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر قرائت شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) به روش Kar و همکارن (۲۰) اندازه‌گیری شد. فعالیت کاتالاز بر اساس میکرومول H_2O_2 تجزیه‌شده بر زمان در هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

محتوی کلروفیل و کارتنوئید

محتوی کلروفیل و کارتنوئید بر مبنای روش Arnon (۲۱) تعیین شد. در این راستا، ۰/۱ گرم نمونه برگی با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده و حجم نهایی به ۱۵ میلی‌لیتر رسید. اسپکتروفتومتر با استون ۸۰ درصد صفر شد و مقدار جذب عصاره در طول‌موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، ۴۸۰ و ۵۱۰

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

نانومتر تعیین شد. درنهایت، میزان کلروفیل و کارتنوئید برآورد شدند.

آنالیز آماری

پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین مشخصه‌ها (با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد) به کمک نرم‌افزار SAS 9.2 انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری برای مشخصه‌های مورفو–فیزیولوژی در کلزا تحت تنش خشکی و تیمار باکتریایی *E. cloacae* در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس مشخصه‌های مورد مطالعه در کلزا تحت تنش خشکی و تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3

Table 1. Variance analysis of studied traits in rapeseed under drought stress and bacterial treatment *Enterobacter sp.* S16-3

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square											
		طول ساقه Shoot length (cm)	وزن ساقه Shoot weight (g)	محتوای نسبی آب RWC (%)	نشت الکترولیت ELI (%)	پرولین Proline (µmol g^{-1})	پروتئین Protein (mg/g)	سوپراکسیددیسموتاز SOD^{-1} (U.mg^{-1})	کاتالاز CAT (mmol. mg.min)	کلروفیل آ Chlorophyll a (mg/g)	کلروفیل ب Chlorophyll b (mg/g)	کلروفیل تام Total Chlorophyll (mg/g)	کارتنوئید Carotenoid (mg/g)
بلوک Block	2	0.35	0.11**	23.86	0.001	1.53	0.008*	182.58**	34.43	0.002	0.001	0.01	0.005*
تنش Stress	1	19.55**	1.74**	1435.5**	9.7**	61.56**	0. 16**	13200.5**	2238.8**	0.22**	0.06**	0.41**	0.123**
تیمار باکتریایی Bacterial treatment	1	1.37*	0.54**	262.7**	3.57*	3.43**	0.017**	481.33**	169.42*	0.06**	0.008*	0.11*	0.034**
تنش*تیمار باکتریایی Stress* Bacterial treatment	1	2.02*	0.32*	197.88*	2.93*	5.58**	0.017**	705.33**	226.11*	0.04*	0.001*	0.08*	0.028**
خطا Eror	6	0.19	0.05	15.11	0.42	0.35	0.001	5.91	20.70	0.003	0.0006	0.011	0.0017
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	–	5.3	6.07	4.8	9.15	4.87	4.56	4.3	9.4	4.76	4.15	6.2	4.82

*و** به‌ترتیب درصد معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

طول ریشه و وزن ساقه

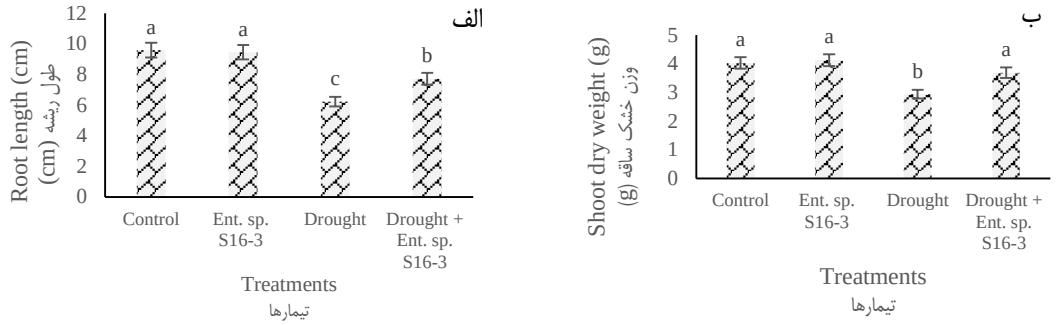
تجزیه واریانس نشان داد که از نظر طول ریشه و وزن ساقه اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش، تیمار باکتریایی و اثرمتقابل آن‌ها در سطح ۱ و ۵ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی منجر به کاهش معنی‌دار طول ریشه (۳۵ درصد) و وزن ساقه (۲۷ درصد) در مقایسه با شاهد (آبیاری نرمال) شد. در مقابل، تیمار *باکتریایی Enterobacter sp.* S16-3 باعث افزایش طول ریشه (۲۴ درصد) و وزن ساقه (۲۵ درصد) در گیاهان تحت خشکی در مقایسه با تیمار تنش شد. هرچند تیمار باکتریایی باعث افزایش مشخصه‌های مورفولوژیکی در گیاهان متأثر از خشکی شد، اما تأثیر معنی‌داری بر گیاهان رشدیافته تحت شرایط نرمال نداشت (شکل ۱، الف و ب).

خصوصیات ریشه بر توانایی نفوذپذیری بهتر ریشه‌ها در خاک و جذب آب از لایه عمیق‌تر خاک طی مواجه با تنش خشکی اثرگذار است (۲۲). بنابراین، مطالعه سیستم ریشه در نیم‌رخ خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. در این مطالعه، طول ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. کاهش مشخصه‌های ریشه طی خشکی از آن رو است که گیاه برای اتخاذ واکنش‌های انطباقی ریشه در پاسخ به شرایط کمبود آب و به‌منظور تضمین بقای خود، رشد ریشه‌های جانبی را مهار می‌کند (۲۳).

همچنین، کاهش وزن اندام هوایی طی تنش خشکی در این مطالعه از آن جهت است که گیاه برای اتخاذ سازوکارهای انطباقی در پاسخ به خشکی و در راستای تضمین بقای خود، هزینه‌های متابولیکی برای ساخت پیکره خود را کاهش می‌دهد (۲۴،۲۵). به‌نظر می‌رسد که تعدیل غلظت هورمون‌هایی نظیر اکسین و سیتوکنین، افزایش مواد بازدارنده رشد و کاهش فتوسنتز تحت تنش خشکی از جمله عواملی باشند که رشد اندام هوایی گیاه را کاهش می‌دهند (۲۶).

تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 توانست طول ریشه و وزن ساقه را تحت تنش خشکی افزایش دهد و شاید هم حفظ نمایند. در توافق با نتایج این تحقیق، اثر تلقیح گیاه سورگوم با باکتری‌های *Enterobacter sp.* EB-14 و *Enterobacter cloacae* EB-48 تحت خشکی مورد مطالعه قرار گرفت. تلقیح باکتریایی باعث بهبود مشخصه‌های ریشه تحت تنش شد (۱۰). همچنین، محققان نشان داده‌اند که تلقیح بذور کلزا با باکتری *Pseudomonas fluorescens* P14 تحت شوری باعث افزایش وزن و ارتفاع اندام هوایی می‌شود (۲۷). با توجه به نتایج این مطالعه و مقایسه آن با سایر گزارشات، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های *Enterobacter* با توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و متقابلاً دسترسی بیش‌تر آن به منابع آبی خاک، احتمالاً می‌توانند ظرفیت هدایت روزنه‌ای برگ‌ها را در سطح بالایی نگه‌داشته و بدین‌ترتیب توانایی فتوسنتز بالاتر و تولید فرآورده بیش‌تری را برای کلزا به ارمغان آورند.

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]



شکل ۱- مشخصه‌های مورفولوژیکی کلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است

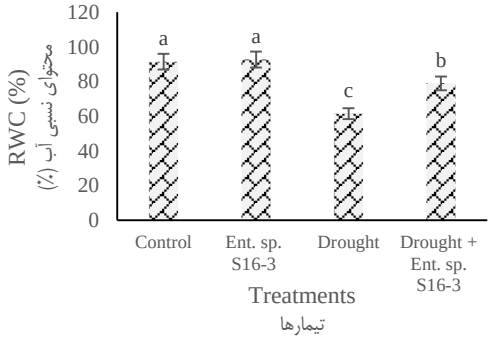
Figure 1. Morphological traits of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test

محتوی نسبی آب (RWC)

تجزیه واریانس نشان داد که از نظر RWC، اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش و تیمار باکتریایی در سطح ۱ درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۵ درصد وجود دارد (جدول ۲). خشکی منجر به کاهش معنی‌دار RWC (۳۲ درصد) در کلزا شد. در مقابل، تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3باعث افزایش RWC (۲۸ درصد) در مقایسه با تیمار تنش شد. هرچند تیمار باکتریایی باعث افزایش RWC در کلزا متأثر از خشکی شد، اما اثر معنی‌داری بر کلزا رشدیافته تحت آبیاری نرمال نداشت (شکل ۲).

همان گونه که در این مطالعه مشاهده شد، کاهش RWC از اولین علائم کمبود آب در بافت‌های گیاهی است لذا RWC به‌عنوان یک شاخص مفید در تعیین تحمل به خشکی پیشنهاد شده است. به‌عنوان یکی از سازوکارهای حفظ RWC، گیاهان متحمل به خشکی با جذب آب از پروتوپلاست، آب بیش‌تری را در خود نگه‌داری می‌کنند، لذا دارای مقادیر بالاتری از شاخص RWC می‌باشند (۱۴).

مشاهدات این تحقیق گویای تأثیر مثبت باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 بر RWC کلزا بود که این خود یک برتری برای گیاهان کلزا در شرایط خشکی است. هم‌راستا با نتایج ما، اثر تلقیح سورگوم با *Enterobacter sp.* EB-14 و*Enterobacter cloacae* EB-48 تحت خشکی مورد مطالعه قرار گرفت. تلقیح باکتریایی باعث بهبود تنظیم اسمزی و افزایش RWC تحت شرایط تنش شد (۱۰). به‌طور کلی، دلیل افزایش RWC با تیمار باکتریایی را می‌توان ناشی از دو عامل دانست: این‌که با تقویت سیستم ریشه‌ای، گیاه می‌تواند آب را از اعماق خاک جذب کرده و به اندام هوایی منتقل کند و RWC خود را در سطح بالا حفظ نماید و یا اینکه با القاء بستن روزنه‌ها و کاهش تعرق در شرایط تنش، RWC گیاه را در سطح بالاتری نگه می‌دارد (۲۸). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 از طریق تقویت سیستم ریشه‌ای و حفظ هدایت روزنه‌ای قادر است تا باعث حفظ/افزایش RWC در کلزا تحت شرایط کمبود آب شود.



شکل ۲- مشخصه RWCکلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است

Figure 2. RWC trait of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test

نشت الکترولیت (ELI)

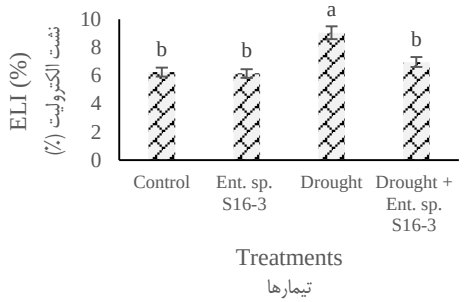
تجزیه واریانس نشان داد که از نظر ELI، اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش در سطح ۱ درصد و همچنین تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۵ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی باعث افزایش معنی‌دار ELI (۴۴ درصد) در کلزا شد. در مقابل، تیمار باکتریایی*Enterobacter sp.* S16-3 باعث کاهش ELI (۲۳ درصد) در مقایسه با تیمار تنش شد. هرچند تیمار باکتریایی باعث افزایش ELI در کلزا متأثر از خشکی شد،

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

اما اثر معنی‌داری بر کلزا رشد یافته تحت آبیاری نرمال نداشت (شکل ۳).

شاخص ELI بر این مبنا استوار است که تغییر ترکیب اسیدچرب و آسیب ناشی از رادیکال‌ها به غشاء سلولی منجر به افزایش سطح نشت الکترولیت‌ها از سلول گیاهی می‌شود (۱۵). به‌طور کلی، تنش خشکی باعث افزایش ELI برگ کلزا شد. خشکی مجموعه‌ای از تغییرات را در فسفولیپیدهای غشاء ایجاد می‌کند و اینگونه اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می‌یابند. هم‌چنین، خشکی باعث اختلال در فعالیت‌های بیولوژیک غشاهای سلولی و غیرفعال‌سازی یا کاهش سرعت پمپ یون‌های غشایی می‌شود (۲۹،۳۰).

تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 توانست به‌طور معنی‌داری ELI کلزا متأثر از خشکی را کاهش دهد که این موضوع می‌تواند ریشه در توانایی این باکتری‌های محرک رشد در حفاظت غشاء داشته باشد که این خود مستلزم فعال‌سازی و القاء سامانه‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاهی برای حذف گونه‌های فعال اکسیژن و ممانعت از آسیب آن‌ها به غشاء سلولی است. هم‌سو با این یافته‌ها، تلقیح گیاه کلزا با سویه *Enterobacter cloacae* (HSNJ4) باعث کاهش نشت الکترولیت در مواجه گیاه با تنش شوری شد (۱۱).



شکل ۳- مشخصه ELIکلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است

Figure 3. ELI trait of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test

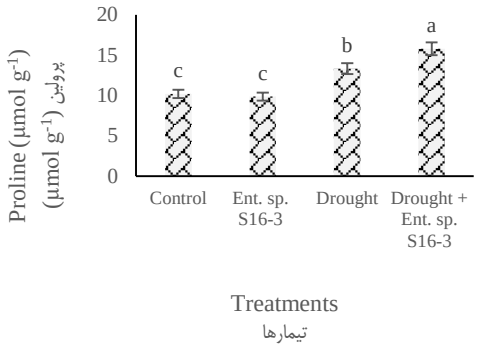
محتوی پرولین

تجزیه واریانس نشان داد که از نظر محتوی پرولین اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش و تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی منجر به افزایش معنی‌دار محتوی پرولین (۳۰ درصد) در کلزا شد. تیمار باکتریایی*Enterobacter sp.* S16-3 نیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیش‌تر محتوی پرولین (۱۸ درصد) در مقایسه با تیمار تنش شد. هرچند تیمار باکتریایی باعث افزایش پرولین در کلزا متأثر از خشکی شد، اما اثر معنی‌داری بر کلزا رشدیافته تحت آبیاری نرمال نداشت (شکل ۴).

پرولین نقش‌های متنوعی در شرایط نامساعد محیطی ایفاء می‌کند که از آن جمله می‌توان به حفظ ساختار و عملکرد زیرسلولی، پایداری پروتئین‌ها و غشاها و حذف ROSها اشاره داشت (۳۱). یافته‌های حاصل از این آزمایش نشان داد که محتوی پرولین به دلیل خاصیت اسمولیتی در مواجه کلزا به خشکی افزایش یافت. محققان دیگر نیز نشان‌داده‌اند که افزایش پرولین از جمله پاسخ‌هایی است که گیاهان برای کاهش پتانسیل اسمزی و مقابله با تنش خشکی از خود بروز می‌دهند (۳۲).

تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 توانست به‌طور معنی‌داری محتوی پرولین کلزا متأثر از خشکی را بیش‌تر افزایش دهد. هم‌راستا با این مشاهدات، مطالعه‌ای که بر روی دو رقم نخود انجام شد نشان داد که تلقیح با باکتری *Pseudomonas putida* MTCC5279 (RA) باعث افزایش محتوی پرولین در مواجه با تنش می‌شود (۳۳). افزایش بیش‌تر پرولین ناشی از اعمال تیمار باکتریایی می‌تواند منجر به فواید متعددی برای سلول گیاهی شود. برای مثال، یکی از نقش‌های پرولین در پاسخ به تنش‌های اسمزی، مشارکت در سنتز پروتئین‌های ماتریکس دیواره سلولی مانند اکستنسین‌ها است که نقش مهمی در حمایت مکانیکی از دیواره سلولی طی تنش بر عهده دارند. با توجه به آنچه گفته شد، به نظر می‌رسد تجمع پرولین در مواجه گیاهان به تنش خشکی از سازوکارهای کارآمد حفاظت آن‌ها در برابر انرژی رادیکالی تولیدشده طی تنش و نقش حمایتی تأمین منبع انرژی در مرحله بازیابی پس از تنش است (۳۴).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]



شکل ۴- محتوی پرولین کلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

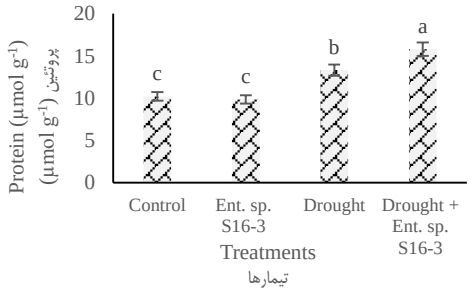
Figure 4. Proline content of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test.

محتوی پروتئین

تجزیه واریانس نشان داد که از نظر محتوی پروتئین اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش، تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی منجر به افزایش معنی‌دار محتوی پروتئین در کلزا (۲۸ درصد) در مقایسه با شاهد (آبیاری نرمال) شد. تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 نیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیش‌تر محتوی پروتئین (۲۱ درصد) در مقایسه با تیمار تنش شد. هرچند تیمار باکتریایی باعث افزایش پروتئین در کلزا متأثر از خشکی شد، اما اثر معنی‌داری بر کلزا رشدیافته تحت آبیاری نرمال نداشت (شکل ۵).

پژوهش‌گران با کاوش پاسخ گیاهان به خشکی متوجه شده‌اند که تحت چنین شرایطی، فرآیندهای متابولیکی دچار تغییر می‌شوند و این تغییرات به تجمع پروتئین‌های محلول نیاز دارند که سنتزشان وابسته به شرایط آبی تغییر می‌کند (۱۳). در این میان، می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پروتئین‌های مورد نیاز سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها اشاره داشت. درنتیجه، تغییر محتوی پروتئین در کلزا تحت خشکی به واسطه القاء سنتز پروتئین‌های پاسخگو به تنش است (۶).

غلظت پروتئین‌های محلول سلولی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 قرار گرفت. هم‌سو با این یافته‌ها، محققان نشان داده‌اند که ذرت تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas putida* FBKV2 تحت خشکی، افزایش محتوی پروتئین‌های سلولی را نشان داد. این افزایش مرتبط با بیان پروتئین‌های مختلفی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پروتئین‌های فراوان در اواخر دوره جنین‌زایی می‌باشد (۳۵). در این مطالعه، تغییر مقدار پروتئین منطبق با نشت الکترولیت بود. این فرضیه را می‌توان در توجیه رابطه مابین این شاخص‌ها مطرح کرد که با افزایش گونه‌های اکسیژن و آسیب غشاء، سلول اقدام به افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خود می‌نماید که این افزایش باعث حمایت از ساختار و کارکرد پروتئین‌های محلول در سلول‌ها خواهد شد (۳۶).



شکل ۵- محتوی پروتئین کلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

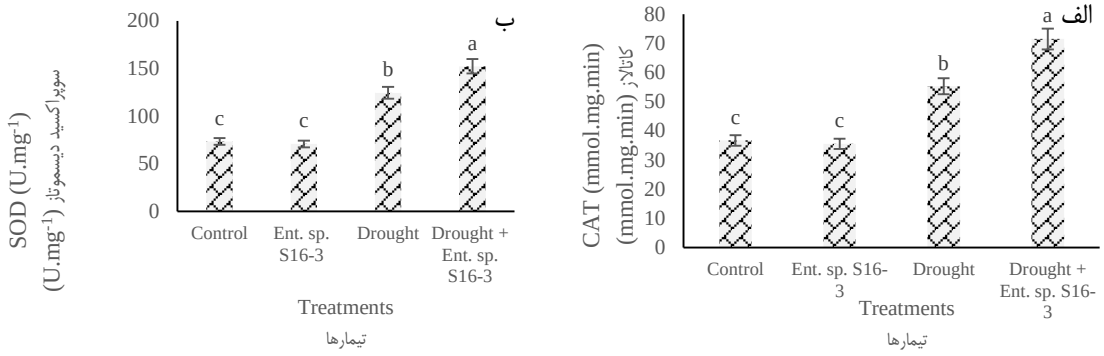
Figure 5. Protein content of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test

فعالیت آنزیم SOD و CAT

تجزیه واریانس نشان داد که از نظر فعالیت آنزیم SOD و CAT، اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش، تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD (۶۹ درصد) و CAT (۵۱ درصد) در کلزا شد. تیمار *باکتریایی Enterobacter sp.* S16-3 نیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیش‌تر فعالیت SOD (۲۲ درصد) و CAT (۲۹ درصد) در مقایسه با تیمار تنش شد. اگرچه تیمار باکتریایی باعث افزایش فعالیت SOD و CAT در کلزا متأثر از خشکی شد، ولی اثر معنی‌داری بر کلزا رشدیافته تحت آبیاری نرمال نداشت (شکل ۶، الف و ب).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

فعالیت آنزیم SOD و CAT در کلزا به‌طور مثبت تحت تأثیر تنش خشکی و تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 قرار گرفت. هرچند سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در مقابله با تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد با این‌حال بخاطر ماهیت حساس ساختار این آنزیم‌ها نسبت به خشکی، ممکن است که فعالیت آن‌ها در تنش شدید به‌طور چشم‌گیری کاهش یابد (۳۷). هم‌راستا با این نتایج، مطالعه دو رقم نخود نشان داد که تلقیح با باکتری *Pseudomonas putida* MTCC5279 (RA) باعث مهار ROSها از طریق القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (CAT، APX، SOD) می‌شود (۳۳). به‌نظر می‌رسد که تیمار *باکتریایی* *Enterobacter sp.* S16-3 از طریق القاء فاکتورهای رونویسی مربوط به بیان SOD و CAT منجر به افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود.



شکل ۶- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp.* S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

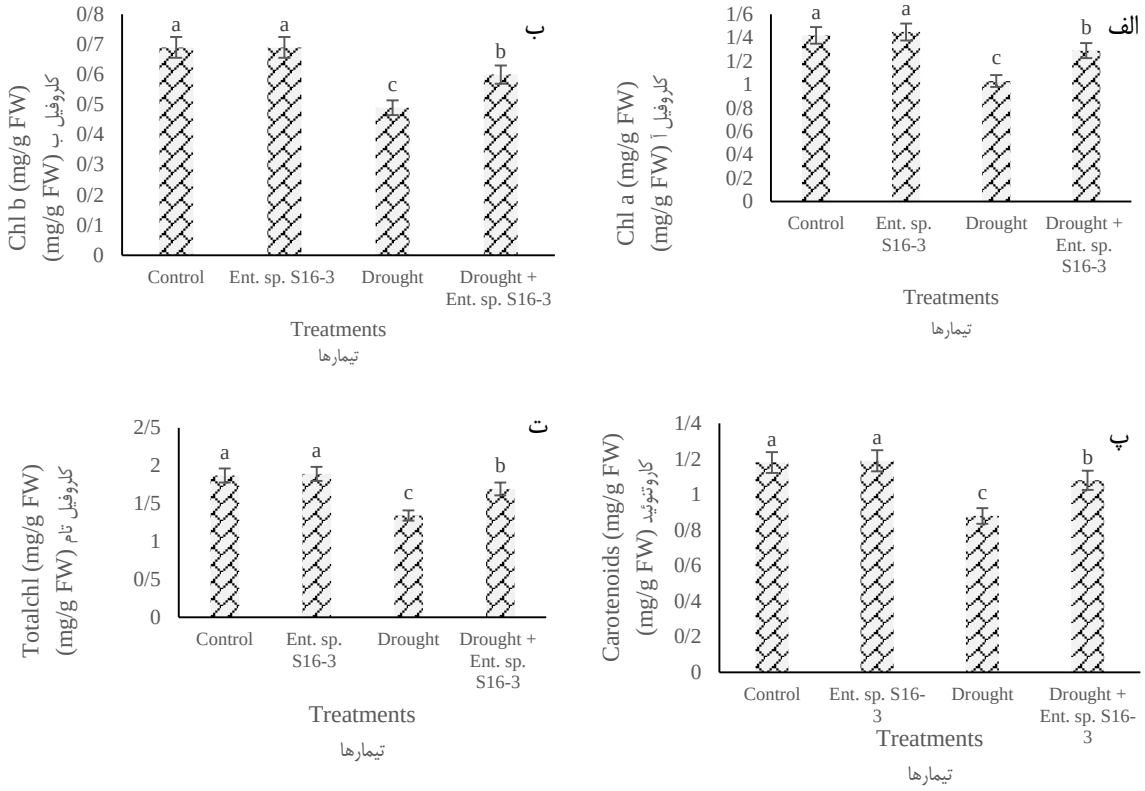
Figure 6. Antioxidant enzyme activities of rapeseed treated with *Enterobacter sp.* S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test.

محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی

یافته‌های حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که از نظر محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئید)، اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش، تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۵ درصد وجود دارد (جدول ۱). خشکی منجر به کاهش معنی‌دار محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی در کلزا شد. تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش کلروفیل و کارتنوئید در مقایسه با شاهد شد (شکل ۷، الف-ت).

نتایج این تحقیق نشان از کاهش محتوی کلروفیل (۲۸ درصد) و کاروتنوئیدها (۲۵ درصد) بر اثر اعمال تنش خشکی داشت. کاهش محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی طی خشکی ممکن است بخاطر افزایش فعالیت کلروفیلازها، و یا تغییر در نسبت پروتئین-لیپید در مجموعه‌های پروتئین- رنگدانه باشد (۳۲). البته دلیل اصلی کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت خشکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROSها) است که باعث پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب کلروپلاست و کلروفیل می‌شوند. تولید ROSها در کلروپلاست نیز به‌نوبه خود به دلیل جذب انرژی اضافی در دستگاه فتوسنتزی است. درنتیجه، گیاه برای مقابله با این وضعیت، رنگیزه‌های جذب‌کننده نور را تجزیه و از مقادیر آن‌ها می‌کاهد (۳۸). به‌نظر می‌رسد که تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 از طریق کاهش فعالیت کلروفیلازها و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد منجر به افزایش محتوی کلروفیل (۲۶ درصد) و کاروتنوئیدها (۲۳ درصد) می‌شوند. هم‌راستا با این مشاهدات، اثر تلقیح با باکتری *Enterobacter cloacae* ZNP-3 بر تحمل به شوری در گندم مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تلقیح گیاهان موجب افزایش محتوی کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (۳۹،۴۲).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]



شکل ۷- محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی کلزا تحت تیمار باکتری *Enterobacter sp*. S16-3 و تنش خشکی. حروف مشترک گویای عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

Figure 7. Photosynthetic pigment content of rapeseed treated with *Enterobacter sp*. S16-3 and drought stress. The common letters indicate the lack of significance at the 5% level of Duncan's test.

نتیجه‌گیری کلی

تنش خشکی باعث کاهش طول ریشه، وزن ساقه، RWC، پروتئین، فعالیت SOD و CAT و رنگیزه‌های فتوسنتزی و همچنین افزایش نشت الکترولیت و پرولین شد. درمقابل، تیمار باکتریایی *Enterobacter sp.* S16-3 باعث بهبود معنی‌دار مشخصه‌های مورفو-فیزیولوژی فوق در کلزا متأثر از خشکی شد. بنابراین، از تیمار باکتریایی موردنظر می‌توان به‌منظور بهبود وضعیت رشدی کلزا در نواحی خشک و نیمه‌خشک کشت‌کننده کلزا در ایران استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند به این وسیله از کارکنان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز که در پیش‌برد این پروژه مؤثر بودند، قدردانی نمایند. همچنین، از جناب آقای دکتر محمد سبزه‌زاری که ما را در تهیه این مقاله یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1. Chen, L., F. Ren, H. Zhong, W. Jiang and X. Li. 2020. Identification and expression analysis of genes in response to high-salinity and drought stresses in *Brassica napus*. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 42(2):154-164.
2. Naveed, M., H. Sajid, A. Mustafa, B. Niamat, Z. Ahmad, M. Yaseen, M. Kamran, M. Rafique, S. Ahmar and J.T. Chen. 2020. Alleviation of salinity-induced oxidative stress, improvement in growth, physiology and mineral nutrition of canola (*Brassica napus* L.) through calcium-fortified composted animal manure. Sustain, 12: 1-17.
3. Qaderi, M.M., L.V. Kurepin and D.M. Reid. 2016. Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: temperature, carbon dioxide and drought. Acta Physiologiae Plantarum, 128: 710-721.
4. Wu, W., B.L. Ma, and J.K. Whalen. 2018. Enhancing rapeseed tolerance to heat and drought stresses in a changing climate: Perspectives for stress adaptation from root system architecture. Advances in Agronomy, 151: 87-159.

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

5. Mohammadi, P.P., A. Moieni and S. Komatsu. 2012. Comparative proteome analysis of drought-sensitive and drought-tolerant rapeseed roots and their hybrid F1 line under drought stress. Amino Acids, 43(5): 2137-2152.
6. Ghosh, D. and J. Xu. 2014. Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective. Frontiers in Plant Science, 5: 6-9.
7. Goche, T., N.G. Shargie, I. Cummins, A.P. Brown, S. Chivasa and R. Ngara. 2020. Comparative physiological and root proteome analyses of two sorghum varieties responding to water limitation. Scientific Reports, 10(1): 1-18.
8.Vejan, P., R. Abdullah, T. Khadiran, S. Ismail, and A.N. Boyce. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-a review. Molecules, 21(5): 573.
9. Chauhan, H., D.J. Bagyaraj, G. Selvakumar, and S.P. Sundaram. 2015. Novel plant growth promoting rhizobacteria-Prospects and potential. Applied Soil Ecology, 95:38-53.
10. Govindasamy, V., P. George, M. Kumar, L. Aher, S.K. Raina, J. Rane, K. Annapurna, and P.S. Minhas. 2020. Multi-trait PGP rhizobacterial endophytes alleviate drought stress in a senescent genotype of sorghum. 3 Biotech, 10(1):1-14.
11. Li, J., B.J. McConkey, Z. Cheng, S. Guo, and B.R. Glick. 2013. Identification of plant growth-promoting bacteria-responsive proteins in cucumber roots under hypoxic stress using a proteomic approach. Journal of Proteomics, 84:119-131.
12. Naveed, M., B. Mitter, T.G. Reichenauer, K. Wieczorek, and A. Sessitsch. 2014. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by Burkholderia phytofirmans PsJN and *Enterobacter sp.* FD17. Environmental and Experimental Botany, 97:30-39.
13. Oskuei, B.K., A. Bandehagh, M.R. Sarikhani and S. Komatsu. 2018. Protein profiles underlying the effect of plant growth-promoting rhizobacteria on canola under osmotic stress.Journal of Plant Growth Regulation, 37(2): 560-574.
14. Schonfeld, M.A., R.C. Johnson, B.F. Carver and D.W. Mornhinweg, 1988. Water Relations in Winter Wheat as Drought Resistance Indicators. Crop Science, 28: 526-531
15.Stuart, J.J. 1940. Standardization of electrolyte leakage data and a novel liquid nitrogen control improve measurements of cold hardiness. Plant Methods, 17:53.
16. Janero, D.R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radical Biology and Medicine, 9: 515-540.
17. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
18. Bradford, M.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.
19. Beyer J. and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry, 161(2): 559-566.
20. Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant physiology, 57(2): 315-319.
21. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23:112-121.
22. Thomas, C., T. Alcock, N. Graham, R. Hayden, S. Matterson, L. Wilson, S. Young, L. Dupuy, P. White, J. Hammond, J. Danku, D. Salt, A. Sweeney, I. Bancroft, and M. Broadley. 2016. Root morphology and seed and leaf ionomic traits in a *Brassica napus* L. diversity panel show wide phenotypic variation and are characteristic of crop habit. Journal Plant Biology, 16: 214-232.
23. Franco, J.A. 2018. Root development under drought stress. Technol Knowl Transf e-Bull, 2:1-3.
24. Sarma, R.K. and R.R. Saikia. 2014. Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRK21. Plant and Soils, 377: 111-126.
25. Salehi-lisar S.Y., R. Hossain, and I.M.M. Rahman. 2012. Water stress in plants: causes, effects and responses, water stress. In: Ismail Md. Mofi zur Rahman, editor. InTech. 1-14.
26. Salehi-Lisar, S.Y. and H. Bakhshayeshan-Agdam. 2016. Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In: Hossain, M.A., Wani, S.H., Bhattacharjee, S., Burritt, D.J. and Tran, L. S. P. (eds). Drought Stress Tolerance in Plants. Vol 1. Physiology and Biochemistry. Springer. pp: 1-16.
27. Safari, D. and M. Azadikhah. 2018. The effect of *Pseudomonas fluorescent* bacteria, plant growth promoter, on some physiological indicators, yield and yield components of rapeseed under salt stress. Journal of Crop Physiology, 11(42): 83-67.
28. Akhtar, I. and N. Nazir. 2013. Effect of drought stress in plants. International Journal of Water Resources & Environmental Sciences, 2: 34-40.
29. Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, S.M.A. Basra. 2015. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. ASD. 29: 185-212.
30. Gigon A., A. Matos, D. Laffray, Y. Zuily-fodil Pham-Thi. 2014. Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of Arabidopsis thaliana, Annals of Botany, 94: 345-351.
31. Ashraf, M. and M. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]

32. Aranjuelo, I., G. Molero, G Erice, J.C. Avice, S. Nogués. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany, 62(1): 111-123.
33. Tiwari et al. 2016
34. Deepak, S.B., A. Thakur, S. Singh, M. Bakshi, S. Bansal. 2019. Changes in crop physiology under drought stress: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8: 1251-1253.
35. SkZ, A., S. Vardharajula and S.S.K.P., Vurukonda. 2018. Transcriptomic profiling of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to *Pseudomonas putida* stain FBKV2 inoculation under drought stress. Annals of Microbiology, 68(6): 331-349.
36. Demirevska, K., L. Simova-Stoilova, V. Vassileva, I. Vaseva, B. Grigorova and U. Feller. 2018. Drought-induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties. General and Applied Plant Physiology, 34(1-2):79-102.
37. Foyer, C.H. and G. Noctor. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept oxidative stress in a physiological context. PCE. 28: 1056-1071.
38. Chaves, M.M., J.M. Costa, N.J.M. Saibo. 2011. Recent advances in photosynthesis under drought and salinity. Advances in Botanical Research, 57: 49-104.
39. Singh, R.P., P. Jha and P.N. Jha. 2017a. Bio-inoculation of plant growth-promoting rhizobacterium *Enterobacter cloacae* ZNP-3 increased resistance against salt and temperature stresses in wheat plant (*Triticum aestivum* L.). Journal of Plant Growth Regulation, 36(3): 783-798.
40. Singh, R.P., A. Runthala, S. Khan and P.N. Jha. 2017b. Quantitative proteomics analysis reveals the tolerance of wheat to salt stress in response to *Enterobacter cloacae* SBP-8. PloS one, 12(9): 0183513.
41. Rezaeinia, M., Bihamta, M., Peighambari, S.A., and Abbsi, A.R. 2019. Effect of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activities and Some Physiological Traits in Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). Journal of Crop Breeding, 11(30): 11-22 (In Persian).
42. Dastneshan, S., M.R. Bihamta, A. Abbasi and M. Sabokdast. 2019. The Effect of Different Levels of Drought Stress on some Physiological Traits and Chlorophyll Fluorescence of Bean Genotypes (*Phaseolus Vulgaris* L.). Journal of Crop Breeding, 11 (31) :92-104 (In Persian).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.145]