

## اثر باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بر عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی ذرت دانه‌ای (هیبرید

### ماکسیما) در شرایط کم آبیاری در منطقه ورامین

محمد نصری<sup>۱\*</sup> و منصوره خلعتیری<sup>۲</sup>

(۱) گروه زراعت، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

(۲) گروه زراعت، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

\* نویسنده مسئول: Dr.nasri@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۱۸

#### چکیده

تنش کم آبی به‌عنوان عاملی مهم در کاهش عملکرد گیاهان زراعی مطرح است هم‌چنین باکتری اکسیدکننده گوگرد باعث افزایش تحمل گیاهان به‌ویژه ذرت نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود. به‌منظور بررسی اثر باکتری زیستی تیوباسیلوس و گوگرد بر عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی ذرت دانه‌ای (*Zea mays L. Var Maxima*) در شرایط قطع آبیاری، تحقیقی به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی شماره دو دانشگاه آزاد اسلامی ورامین در سال زراعی ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل کم آبیاری در سه سطح به‌عنوان کرت اصلی: (شاهد (آبیاری معمول)، عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی و عدم آبیاری در مرحله پرشدن دانه) و مصرف باکتری زیستی تیوباسیلوس و گوگرد در چهار سطح به‌عنوان کرت فرعی شامل: شاهد (بدون مصرف)، مصرف کود زیستی تیوباسیلوس به‌صورت اختلاط با بذر در هنگام کاشت، مصرف گوگرد و مصرف ترکیبی گوگرد و تیوباسیلوس. بر اساس آزمون خاک میزان توصیه شد، مصرف کود گوگرد ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار و مصرف کود زیستی تیوباسیلوس ۵ کیلوگرم در هکتار بود. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تمامی صفات مورد بررسی به‌جز بیومارکر دی‌هیدروکسی‌گوآنزین تحت اثر کم آبیاری و تیوباسیلوس قرار گرفتند. قطع آبیاری باعث کاهش عملکرد دانه شد، هرچند مصرف گوگرد و تیوباسیلوس اثر منفی قطع آبیاری را کاهش داد، کم‌ترین میزان عملکرد دانه از برهمکنش تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و عدم مصرف گوگرد و تیوباسیلوس (۴/۸۹۲ تن در هکتار) به‌دست آمد که نسبت به تیمار آبیاری معمول و مصرف توأم کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد، ۵۸/۲ درصد کاهش داشت. به‌کارگیری تیوباسیلوس و گوگرد در شرایط قطع آبیاری در مراحل حساس رشدی از اثرات منفی کم آبیاری بر عملکرد دانه کاست (۵۰ درصد).

واژه‌های کلیدی: ذرت، باکتری تیوباسیلوس و عملکرد.

## مقدمه

کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه خشک بوده و میانگین بارش سالیانه آن حدود یک سوم میانگین بارندگی جهانی است، بنابراین با تنش‌های خشکی متناوبی رو به رو می‌باشد (اکبری مقدم، ۱۳۹۱). کمبود آب با مختل نمودن ارتباط اندام مبداء و اندام مقصد برای فرآورده‌ها، بر جابجایی مواد به‌طور غیرمستقیم اثر می‌گذارد و اندازه دانه‌ها (اندام مقصد) کاهش می‌یابد (نصری و خلعتبری، ۱۳۹۱). کم‌آب‌باری به‌شدت فعالیت‌های آنزیمی را کاهش می‌دهد. برای مثال این سازوکار در ذرت، موجب کاهش فعالیت آنزیم احیای‌کننده نیترات (نیترات ردوکتاز) نسبت به آنزیم اکسیدکننده (پراکسیداز) می‌شود (Kasraei *et al.*, 2012). بر اساس نظر محققان در زمان بروز خشکی در گیاهان، بر تجمع ترکیب‌های آلی همانند پرولین در تمام اندام‌های گیاهان افزوده می‌شود (Lawlor and Cornic, 2002). تجمع پرولین در بافت‌های گیاهان تحت تنش می‌تواند تا حدودی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاهان فراهم سازد و تحمل گیاه را در برابر تنش افزایش دهد (Tayebi *et al.*, 2012). تحقیقات نشان می‌دهد که اگر در شرایط تنش به کمک مواد ضد تنش یا بالابرنده تحمل گیاه، عناصر معدنی و آب در اختیار گیاه قرار بگیرد، می‌توان این شرایط را تا حدودی بهبود بخشید (Nasri and Khalatbari, 2012). باکتری تیوباسیلوس یکی از این نوع راه‌کارها می‌باشد. باکتری‌های جنس تیوباسیلوس از مهم‌ترین و رایج‌ترین انواع باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد است و گوگرد موجود در خاک را به‌صورت  $SO_4$  قابل جذب برای گیاهان در می‌آورد (Ravichandra *et al.*, 2007). این باکتری با اکسیدکردن گوگرد ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه، با کاهش اسیدیته خاک در اطراف ریشه‌ها باعث افزایش حلالیت عناصر ریزمغذی در خاک می‌شود هم‌چنین با افزایش دادن قابلیت جذب عناصر غذایی پرمصرف و ریزمغذی در خاک، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کند. این کود آلی با فعال نمودن میکروبه‌های مفید خاک، عمل اکسیداسیون بیولوژیکی را در خاک تسهیل کرده و ضریب تبادل کاتیونی بین خاک و گیاه را بالا می‌برد بدین ترتیب میزان عملکرد محصول را ۳۰-۶۰ درصد افزایش می‌دهد (Wang *et al.*, 2003; Franz, 2003). در ضمن با افزایش حلالیت فسفر، مصرف کودهای فسفاتی را کاهش می‌دهد. پژوهشگران با بررسی مقادیر مختلف سولفات آمونیوم روی *Digitaria eriantha* نتیجه گرفتند که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان مصرف کود گوگرد و بیوماس تولیدی در دو هفته اول رشد این گیاه وجود دارد. آن‌ها ملاحظه نمودند که با افزایش مصرف گوگرد، غلظت گوگرد و پروتئین خام در برگ‌ها و عملکرد پروتئین خام در هکتار به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Isuwan *et al.*, 2007). هم‌چنین Wang و همکاران (۲۰۰۳) اعلان داشتند که گوگرد همبستگی مستقیمی با رشد و افزایش عملکرد علوفه یونجه دارد، چرا که استفاده از کود گوگرد منجر به تحریک تولید پروتئین و کلروفیل در برگ‌ها می‌شود. در تحقیقات اخیر به اثر مفید تیوباسیلوس و گوگرد در چندین گونه گیاهی اشاره شده است، به‌ویژه در زمان بروز قطع آبیاری، با افزایش فعالیت

آنزیم‌های اکسیدکننده و بالا بردن محتوای اسمولیت‌ها نقش مهمی در افزایش تحمل به کم‌آبیاری دارد، حفاظت در برابر فتواکسیداسیون از طریق زدودن انرژی اضافی به‌وسیله کاروتنوئیدها و یا از طریق افزایش تجزیه انواع اکسیژن فعال به‌وسیله افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیوی مانند پراکسیدازها، سوپراکسیددیسموتازها و کاتالازها صورت می‌گیرد (Gong *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2006). نتایج یک تحقیق نشان داد که در شرایط کم‌آبیاری فعالیت پراکسیداز به پایداری بیش‌تر غشای سلولی و کلروفیل منجر می‌شود، در حالی‌که فعالیت کاتالاز در شرایط کم‌آبیاری در ارقام مختلف ثابت بود و یا کاهش یافت و رابطه‌ای بین فعالیت کاتالاز و تحمل به خشکی مشاهده نشد (Guo *et al.*, 2006). فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در اثر تولید رادیکال‌های آزاد، افزایش و از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد باشد. آبیاری بعد از اعمال قطع آبیاری، سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد (Selote and Chopra, 2006). محققان افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را در مطالعه اثر کم‌آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ذرت، گزارش کردند کاربرد ۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار باعث افزایش رشد ریشه و تشکیل کلروفیل و در نتیجه افزایش فتوسنتز در ذرت در شرایط کم‌آبیاری گردید (Li-Ping *et al.*, 2006; Reddappa, 2006). بنابراین با در نظر گرفتن خشکی‌های متعدد در ایران، این تحقیق به‌منظور بررسی کاهش اثرات منفی تنش قطع آبیاری بر عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی ذرت با مصرف گوگرد و تیوباسیلوس در منطقه ورامین صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات گوگرد و باکتری زیستی تیوباسیلوس (اکسیدکننده گوگرد) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد ذرت دانه‌ای (*Zea mays var. Maxima*) در شرایط تنش قطع آبیاری انجام گرفت. این تحقیق به صورت کرت‌های خردشده (اسپلیت پلات) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه پژوهشی شماره دو دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا واقع در قلعه سین در سه تکرار، در سال زراعی ۱۳۹۳ اجرا شد. سه سطح تنش کم‌آبیاری که کرت‌های اصلی را تشکیل دادند عبارت بودند از: شاهد (آبیاری معمول) ( $A_1$ )، عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی ( $A_2$ ) و عدم آبیاری در مرحله پرشدن دانه ( $A_3$ ) و مصرف باکتری زیستی تیوباسیلوس و گوگرد در چهار سطح: شاهد (بدون مصرف) ( $B_1$ )، مصرف ۵ کیلوگرم کود زیستی تیوباسیلوس به‌صورت اختلاط با ۲۵ کیلوگرم بذر ذرت در هنگام کاشت ( $B_2$ )، مصرف گوگرد (گوگرد گرانوله حاوی بنتونیت) بر اساس توصیه بروشور مصرف کود ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار ( $B_3$ ) و مصرف توأم کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد ( $B_4$ ) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. کودهای پرمصرف بر اساس توصیه آزمون خاک مصرف شد. تمام کود فسفره و یک سوم کود نیتروژن در زمان کاشت و الباقی کود نیتروژن به‌صورت دو بار سرک در زمان محلول‌پاشی عناصر کم‌مصرف، مورد استفاده قرار گرفت. محلول‌پاشی تیمارها در دو مرحله اوایل ساقه رفتن (مرحله هفت

تا نه برگی) و ابتدای مرحله گل‌دهی (شروع تا سل‌دهی) انجام شد. هر تکرار شامل ۱۲ تیمار و هر تیمار شامل شش خط کاشت به طول پنج متر و عرض چهار و نیم متر و فاصله بوته‌ها در هر روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر و بین ردیف ۷۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. خطوط یک و شش و نیم متر از هر طرف به‌عنوان حاشیه خط دو برای سطح نمونه‌برداری خط سه به عنوان حاشیه عملکرد و خطوط چهار و پنج به مساحت هفت و نیم متر مربع جهت مساحت برداشت بود. در طول دوره رشد مراقبت‌های زراعی لازم اجرا شد. قبل از کاشت در فروردین آماده‌سازی زمین شامل شخم و دیسک انجام گرفت و کشت در هفته اول اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ انجام شد. کود گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در تیمارهای مورد نظر هم‌زمان در هنگام کاشت به خاک افزوده شد. پس از هر دوره اعمال تنش میزان پرولین برگ از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) با اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از عصاره پروتئینی استخراج شده از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Mac-Adam و همکاران (۱۹۹۲) صورت گرفت. اندازه‌گیری سوپراکسیداز دیسموتاز به روش Misra و Fridovich (۱۹۷۲) انجام شد. برای سنجش بیومارکر تخریب مالون‌دی‌آلدئید و دی‌تیزوزین از روش کروماتوگرافی HPLC بر اساس روش Steven (۱۹۷۸) استفاده گردید. سنجش دی‌هیدروکسی‌گوانوزین بر اساس روش Bogdanov و Bical (۱۹۹۹) انجام شد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک از مساحت برداشت در هر تیمار بوته‌ها چیده شده و پس از رسیدن به رطوبت ۱۴ درصد جداسازی دانه‌ها از بلال‌ها انجام شد و پس از توزین، به هکتار تعمیم داده شد. در پایان آزمایش، نتایج هر یک از تیمارها بعد از تعمیم دادن به هکتار به کمک نرم‌افزار رایانه‌ای SAS تجزیه واریانس شده و مقایسه میانگین داده‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح یک و پنج درصد صورت گرفت.

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاک محل آزمایش

| نوع آزمایش | روی (پی‌بی‌ام) | آهن (پی‌بی‌ام) | فسفر (پی‌بی‌ام) | پتاسیم (پی‌بی‌ام) | کلسیم (میلی‌گرم در لیتر) | نیتروژن (درصد) | ماسه (درصد) | لاي (درصد) | رس (درصد) | اسیدیته |
|------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|--------------------------|----------------|-------------|------------|-----------|---------|
| نتایج      | ۰/۵۶           | ۳/۴۴           | ۱۲/۸            | ۴۰۶/۶             | ۱۰                       | ۰/۰۶           | ۴۲          | ۳۵         | ۲۲        | ۷/۷۸    |

## نتایج و بحث

### عملکرد دانه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که عملکرد دانه تحت اثر قطع آبیاری و کودزیستی تیوباسیلوس و گوگرد و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت و اختلافات به وجود آمده از نظر آماری در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). قطع آبیاری باعث عملکرد دانه شد؛ ولی مصرف توآمان تیوباسیلوس و گوگرد در شرایط تنش از کاهش عملکرد جلوگیری نمود.

بالاترین میزان عملکرد دانه از تیمار آبیاری معمول و مصرف هم‌زمان تیوباسیلوس و گوگرد با میانگین ۱۱/۶۹۷ تن در هکتار به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای آبیاری معمول و سطوح شاهد و مصرف گوگرد نداشت ولی تنش در مرحله گل‌دهی و عدم مصرف گوگرد با کاهش ۵۸ درصدی کم‌ترین میزان عملکرد دانه را تولید نمود. اما میزان عملکرد دانه در تیمار قطع آبیاری مرحله گل‌دهی نشان داد مصرف کود زیستی و گوگرد توانست به‌طور معنی‌داری مانع کاهش عملکرد دانه نسبت به سایر تیمارها در شرایط قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی شود، به‌طوری‌که عملکرد تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و مصرف توأمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد نسبت به تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و عدم مصرف به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از ۴/۸۹۲ تن در هکتار در کم‌ترین میزان به ۹/۸۷۶ تن در هکتار رسید که افزایش ۵۰ درصدی نشان داد. کم‌آبیاری موجب کاهش سرعت فتوسنتز و تعرق در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود. شواهد بیانگر آن است قطع آبیاری در مرحله رشدی خاص، اثر مستقیم بر بیوشیمی کلروپلاست نظیر کاهش فعالیت فتوسیستم I و II بازدارندگی سیکل کالوین و کاهش فسفوریلاسیون نوری دارد (Wajid et al., 2007). این عامل باعث کاهش آسیمیلایسیون‌های تولیدی و کاهش عملکرد می‌شود ولی کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس با آزادسازی عناصر معدنی مورد نیاز در شرایط تنش میزان کلروفیل برگ را افزایش داده و مانع کاهش شدید عملکرد دانه می‌شود (Orman and Kaplan, 2007) که این مساله در تیمار (A<sub>2</sub>\*B<sub>4</sub>) مشهود است که نسبت به تیمار آبیاری معمول و مصرف توأمان تیوباسیلوس و گوگرد، فقط ۱۵ درصد کاهش عملکرد داشت (جدول ۳).

#### جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بيو مارکر تخریب در شرایط کم آبیاری و مصرف تیوباسیلوس

| میانگین مربعات       |                     |                     | درجه آزادی           | منابع تغییرات |                          |
|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------|--------------------------|
| گلوتاتیون پراکسیداز  | کاتالاز             | سوپراکسید دیسموتاز  |                      |               |                          |
| ۰/۰۰۸۱ <sup>ns</sup> | ۰/۳۰ <sup>ns</sup>  | ۰/۲۵ <sup>ns</sup>  | ۳۲/۴۳ <sup>ns</sup>  | ۲             | تکرار                    |
| ۰/۰۱۱۴ <sup>*</sup>  | ۰/۶۶ <sup>*</sup>   | ۰/۸۹ <sup>*</sup>   | ۷۶/۴۳ <sup>*</sup>   | ۲             | تنش خشکی                 |
| ۰/۰۰۲۱               | ۰/۱۰۱               | ۰/۱۴                | ۱۵/۳۱                | ۴             | خطای اصلی                |
| ۰/۰۰۶۰ <sup>*</sup>  | ۰/۹۹۰ <sup>*</sup>  | ۱۱/۲۵ <sup>**</sup> | ۷۱/۶۵ <sup>*</sup>   | ۳             | گوگرد و تیوباسیلوس       |
| ۰/۰۰۶۹ <sup>*</sup>  | ۲۹/۴۸ <sup>**</sup> | ۴/۵۳ <sup>**</sup>  | ۹۴۵/۲۰ <sup>**</sup> | ۶             | تنش X گوگرد و تیوباسیلوس |
| ۰/۰۰۰۱۱              | ۰/۱۴۵               | ۰/۰۰۲۸              | ۱۰/۸۳                | ۱۸            | خطای فرعی                |
| ۴/۱۸                 | ۳/۹۰                | ۴/۲۵                | ۴/۳۲                 | ۱۷/۱۱         | ضریب تغییرات (درصد)      |

ns، \* و \*\*: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

#### ادامه جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس بیومارکرهای تخریب در شرایط کم آبیاری و مصرف تیوباسیلوس

| میانگین مربعات     |                      |                      | درجه آزادی           | منابع تغییرات |                          |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|--------------------------|
| مالون دی‌آلدئید    | دی‌هیدروکسی‌گوانوزین | دی‌تیروزین           |                      |               |                          |
| ۰/۱۲ <sup>*</sup>  | ۰/۰۳۹۰۰ <sup>*</sup> | ۳/۲۵ <sup>ns</sup>   | ۲                    | تکرار         |                          |
| ۰/۱۱ <sup>*</sup>  | ۰/۰۱۸۰ <sup>ns</sup> | ۷/۴۴ <sup>*</sup>    | ۲                    | تنش خشکی      |                          |
| ۰/۰۰۲۰             | ۰/۰۰۶۵               | ۱/۰۵                 | ۱۵/۳۱                | ۴             | خطای اصلی                |
| ۷/۰۶ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۶۳ <sup>ns</sup> | ۰/۸۴ <sup>*</sup>    | ۷۱/۶۵ <sup>*</sup>   | ۳             | گوگرد و تیوباسیلوس       |
| ۲/۴۹ <sup>**</sup> | ۷/۴۹۰۰ <sup>**</sup> | ۱۱۴/۸۳ <sup>**</sup> | ۹۴۵/۲۰ <sup>**</sup> | ۶             | تنش X گوگرد و تیوباسیلوس |
| ۰/۰۰۸۸             | ۰/۰۰۲۲               | ۰/۱۲                 | ۱۰/۸۳                | ۱۸            | خطای فرعی                |
| ۵/۰۶               | ۴/۳۷۰۰               | ۴/۰۱                 | ۴/۳۲                 | ۱۷/۱۱         | ضریب تغییرات (درصد)      |

ns، \* و \*\*: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

## پرولین

پرولین برگ تحت تیمار کم‌آبیری و تیوباسیلوس ( $p < 0.05$ ) و برهمکنش تیمارهای مورد بررسی ( $p < 0.01$ ) قرار گرفت (جدول ۲). پرولین برگ تحت اثر تنش کم‌آبی افزایش یافت و بیش‌ترین میزان پرولین برگ از تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و عدم مصرف گوگرد با ۱/۱۲۱ میکروگرم بر گرم وزن تازه به‌دست آمد که با تیمار قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. پرولین نقش حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز و ساختار سلولی را بر عهده دارد. تجمع پرولین تحت شرایط تنش ممکن است به دلیل کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد به همین خاطر در شرایط تنش در سلول انباشت می‌شود (نصری و خلعتبری، ۱۳۹۱؛ Sharma and Kuhad, 2006). در این تحقیق مصرف گوگرد و تیوباسیلوس باعث افزایش تحمل گیاه ذرت به کم‌آبیری شد و میزان پرولین برگ کاهش یافت، هنگامی که گیاهان تحت اثر شرایط خشکی، شوری، دماهای کم، قرار می‌گیرند، مقدار پرولین آزاد آن‌ها افزایش می‌یابد (حسنی و حیدری‌شریف آباد، ۱۳۸۲). کاهش پرولین در واقع شاخصی برای کاهش اثرات منفی کم‌آبی می‌باشد. به همین دلیل کم‌ترین میزان پرولین برگ از تیمار آبیاری معمول و مصرف توآمان تیوباسیلوس و گوگرد با متوسط ۰/۴۰۲ میکروگرم بر گرم وزن تازه حاصل شد. با مصرف توآمان گوگرد و تیوباسیلوس در شرایط تنش، به دلیل استحکام ساختمان سلولی و جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پاکسازی هیدروکسیل‌ها در واقع اثرات منفی تنش کاهش داشت و از میزان پرولین کاسته شد، شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل مورد نیاز برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد. نقش ویژه پرولین در گیاهانی که در معرض خشکی قرار گرفته‌اند، به اثبات رسیده است (نصری و خلعتبری، ۱۳۹۱). به نظر می‌رسد که تیوباسیلوس با فراهمی آب و عناصر معدنی مورد نیاز گیاه و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده و بالابردن محتوای اسمولیت‌ها نقش مهمی در افزایش تحمل به کم‌آبیری دارد (Gong et al., 2003)؛ که در این تحقیق در تیمارهای قطع آبیاری و مصرف توآمان گوگرد و تیوباسیلوس مشهود است (جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات اصلی عملکرد دانه، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تخریب در شرایط کم‌آبیری و

### مصرف تیوباسیلوس و گوگرد

| تیمار                                     | عملکرد دانه<br>( $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) | پرولین<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW) | سوپراکسیددیسموتاز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) | کاتالاز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) | گلوکاتیون پراکسیداز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) |
|---|--|---|---|---|---|
| آبیاری معمول ( $A_1$ )                    | ۱۱/۴۷۳a  | ۰/۴۴۷b  | ۷/۷۴b   | ۲۲/۸۵b                                    | ۹/۷۳b   |
| عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی ( $A_2$ )      | ۷/۱۲۹b   | ۰/۷۰۴a  | ۱۳/۰۰a  | ۳۳/۷۹a                                    | ۱۶/۴۲a  |
| عدم آبیاری در مرحله پر شدن دانه ( $A_3$ ) | ۷/۷۳۹b   | ۰/۶۵۹a  | ۱۲/۱۴a  | ۳۲/۰۵a                                    | ۱۴/۳۹a  |
| شاهد (بدون مصرف) ( $B_1$ )                | ۷/۲۶۴b   | ۰/۹۲۲a  | ۱۳/۶۲a  | ۴۷/۴۹a                                    | ۲۰/۱۲a  |
| کودزیستی تیوباسیلوس ( $B_2$ )             | ۸/۷۳۹b   | ۰/۵۲۰b  | ۱۰/۵۳a  | ۲۶/۵۹b                                    | ۱۱/۵۷b  |
| گوگرد ( $B_3$ )                           | ۸/۴۵۲b   | ۰/۵۴۵b  | ۱۱/۱۱a  | ۲۹/۱۹b                                    | ۱۳/۱۹b  |
| تیوباسیلوس + گوگرد ( $B_4$ )              | ۱۰/۶۶۶a  | ۰/۴۲۷b  | ۸/۴۰c   | ۱۶/۳۲c                                    | ۹/۷۸b   |

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

## ادامه جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات اصلی بیومارکر تخریب در شرایط کم آبیاری و مصرف تیوباسیلوس و گوگرد.

| تیمار                                     | دی تیروزین<br>( $\text{mol. mg protein}^{-1}$ ) | دی هیدروکسی گوانوزین<br>( $\text{mol. mg protein}^{-1}$ ) | مالون دی آلدئید<br>( $\text{mol. mg protein}^{-1}$ ) |
|---|---|---|--|
| آبیاری معمول ( $A_1$ )                    | ۹/۷b  | ۷/۴۷a   | ۱۱/۰۷b   |
| عدم آبیاری در مرحله گل دهی ( $A_2$ )      | ۱۷/۴۴a  | ۸/۳۷a   | ۲۶/۱۰a   |
| عدم آبیاری در مرحله پر شدن دانه ( $A_3$ ) | ۱۴/۳۳a  | ۸/۲۸a   | ۲۲/۸۵a   |
| شاهد (بدون مصرف) ( $B_1$ )                | ۲۳/۴۸a  | ۸/۷۷a   | ۳۵/۴۰a   |
| کودزیستی تیوباسیلوس ( $B_2$ )             | ۱۰/۶۳b  | ۷/۸۳a   | ۱۵/۶۸b   |
| گوگرد ( $B_3$ )                           | ۱۱/۳۹b  | ۸/۱۱a   | ۱۷/۵۰b   |
| تیوباسیلوس + گوگرد ( $B_4$ )              | ۹/۸۱b   | ۷/۴۴a   | ۱۱/۴۶b   |

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

## سوپراکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمار کم آبیاری و تیمار مصرف تیوباسیلوس و گوگرد و برهمکنش آن‌ها به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). هر چند کم آبیاری باعث افزایش سوپراکسید دیسموتاز شد ولی کاربرد توآمان تیوباسیلوس و گوگرد از میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاست (جدول ۳). بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از تیمار قطع آبیاری در مرحله گل دهی و شاهد با  $17.63 \text{ u mg protein}^{-1}$  به دست آمد که با تیمار قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد که مصرف توآمان کود زیستی و گوگرد در شرایط قطع آبیاری در مرحله گل دهی از میزان آنزیم SOD به شدت کاست، کم شدن این آنزیم نشان دهنده کاهش اثرات مخرب تنش خشکی در حضور عناصر معدنی است. به نظر می‌رسد تیوباسیلوس با اکسید کردن گوگرد ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه، با کاهش اسیدیته خاک در اطراف ریشه‌ها باعث افزایش حلالیت عناصر ریزمغذی در خاک شد و با افزایش دادن قابلیت جذب عناصر غذایی پرمصرف و ریزمغذی در خاک، به رشد بهتر گیاه کمک نمود، همچنین باعث جذب آب توسط ریشه و انتقال آن به سیتوپلاسم اندام‌های هوایی گردید، این کودزیستی با فعال نمودن میکروب‌های مفید خاک، عمل اکسیداسیون بیولوژیکی را در خاک تسهیل کرد و ضریب تبادل کاتیونی بین خاک و گیاه را بالا برد، بدین ترتیب اثر منفی تنش را کاهش داد (Wang *et al.*, 2003; Franz, 2003). کمترین میزان سوپراکسید دیسموتاز از تیمار آبیاری معمول و مصرف توآمان گوگرد و تیوباسیلوس با متوسط  $7.58 \text{ u mg protein}^{-1}$  به دست آمد (جدول ۴). تنش خشکی باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD در تمامی مراحل مورد بررسی شد و این موضوع با تحقیقات دیگر محققان هم‌خوانی دارد. اثر تنش خشکی بر افزایش مقدار آنزیم SOD بر روی گیاه لوبیای گرگی (Lupine) مورد بررسی قرار گرفت (Yu and Rengel, 2009). همچنین مقدار SOD در ساقه و ریشه ذرت در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Bakalova *et al.*, 2004). علت افزایش مقدار آنزیم SOD را می‌توان به دلیل نقش مهمی که در جاروب کردن رادیکال اکسیژن آزاد و محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط کم آبی دارد، دانست، در

واقع افزایش مقدار آنزیم SOD به علت ایجاد یک محیط حفاظتی مناسب برای سلول‌ها می‌باشد (Nasri and Khalatbari, 2015). در این پژوهش بین آنزیم سوپرااکسیددیسموتاز و آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. اما همبستگی بین آنزیم سوپرااکسیددیسموتاز و عملکرد منفی بود، به طوری که افزایش عملکرد سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد زیرا در شرایط کم‌آبیاری، مسلماً عملکرد کاهش یافت و این زمانی است که میزان فعالیت این آنزیم جهت مبارزه با تنش افزایش می‌یابد در حالی که در شرایط معمول که میزان عملکرد افزایش نشان می‌دهد میزان فعالیت این آنزیم کاهش پیدا می‌کند.

### کاتالاز

جدول تجزیه واریانس نشان داد که کم‌آبیاری و مصرف تیوباسیلوس ( $p < 0/05$ ) و برهمکنش تیمارها ( $p < 0/05$ ) بر کاتالاز معنی‌دار شد (جدول ۲). تنش خشکی باعث افزایش میزان کاتالاز شد ولی بر میزان فعالیت آن تاثیر معنی‌داری نداشت (Nasri and Khalatbari, 2012). نتایج جدول ۴ نشان داد که بیش‌ترین میزان آنزیم CAT از تیمار تنش در مرحله گل‌دهی و شاهد با میانگین  $57/62 \text{ u mg protein}^{-1}$  حاصل شد، با مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد در شرایط قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی میزان این آنزیم به  $19/04 \text{ u mg protein}^{-1}$  تقلیل یافت. هر چند کم‌ترین میزان کاتالاز  $12/03 \text{ u mg protein}^{-1}$  از تیمار آبیاری معمول و مصرف توآمان کود زیستی و گوگرد به‌دست آمد که قابل انتظار بود (جدول ۴). تنش‌های محیطی مختلف سبب پاسخ‌های سلولی و مولکولی گیاه می‌شوند. این تنش‌ها سبب به راه افتادن زنجیره‌ای از سیگنال‌های تنشی می‌شوند (Beck et al., 2007). محققان اظهار داشتند که فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در رقم مقاوم باعث حذف ترکیبات اکسیداسیونی و سطوح کم‌تر نشت یونی از غشای سلولی تحت تنش شد (Gue et al., 2006). کاتالاز در تمام سلول‌های گیاهی یافت می‌شود و سلول‌های گیاهی را از سمیت پراکسید هیدروژن که در نتیجه فعالیت متابولیکی سلول تولید می‌شوند، حفظ می‌کند. یک مولکول از کاتالاز قادر است در یک ثانیه یک میلیون از  $\text{H}_2\text{O}_2$  را به آب و اکسیژن تبدیل کند، pH مناسب برای فعالیت آن هفت و دمای مناسب برای آن در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. وجود این آنزیم برای حذف  $\text{H}_2\text{O}_2$  که در نتیجه تنفس نوری به وجود آمده است، لازم و ضروری است (Luna et al., 2005). هر چند نتایج تحقیقات حیدری و همکاران (۱۳۸۴) نشان داد که مصرف کود گوگرد باعث افزایش آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی می‌شود، که با نتایج حاصله در این تحقیق مغایرت داشت با افزایش سطح گوگرد میزان آنزیم کاتالاز کاهش یافت، چنین به نظر می‌رسد که وجود تیوباسیلوس و آزادسازی گوگرد و فسفر باعث ایجاد ماکرومولکول‌ها شده که در شرایط تنش شکسته شده و آب درون سیتوپلاسمی را تهیه می‌کنند که در نتایج سایر محققان نیز مشهود است (Li-Ping et al., 2006).



## جدول ۴: مقایسه میانگین برهمکنش عملکرد دانه، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط کم‌آبیاری و مصرف

## تیوباسیلوس و گوگرد خاک پاش

| تیماز                          | عملکرد دانه<br>( $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) | پرولین<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ ) | سوپراکسیددیسموتاز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) | کاتالاز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) | گلوکاتایون پراکسیداز<br>( $\text{u mg protein}^{-1}$ ) |
|--------------------------------|--|--|---|---|--|
| A <sub>1</sub> *B <sub>1</sub> | ۱۱/۲۶۵a  | ۰/۵۲۲bc  | ۸/۰۶de  | ۳۶/۲۸c                                    | ۱۱/۳۶bc  |
| A <sub>1</sub> *B <sub>2</sub> | ۱۱/۴۷۳a  | ۰/۴۲۱de  | ۷/۶۳e   | ۲۱/۶۵de                                   | ۹/۲۸cd   |
| A <sub>1</sub> *B <sub>3</sub> | ۱۱/۴۵۸a  | ۰/۴۴۴cd  | ۷/۷۱e   | ۲۵/۴۶de                                   | ۱۰/۱۷bc  |
| A <sub>1</sub> *B <sub>4</sub> | ۱۱/۶۹۷a  | ۰/۴۰۲e   | ۷/۵۸e   | ۱۲/۰۳f                                    | ۸/۱۲d  |
| A <sub>2</sub> *B <sub>1</sub> | ۴/۸۹۲e   | ۱/۱۲۱a   | ۱۷/۶۳a  | ۵۷/۶۲a                                    | ۲۴/۸۹a   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>2</sub> | ۷/۲۰۳cd  | ۰/۶۰۴b   | ۱۲/۶۴bc   | ۲۷/۸۶d                                    | ۱۴/۱۶b   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>3</sub> | ۶/۵۴۶d   | ۰/۶۵۲b   | ۱۳/۴۷b  | ۳۰/۶۵cd                                   | ۱۶/۲۸b   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>4</sub> | ۹/۸۷۶b   | ۰/۴۴۲cd  | ۸/۲۷de  | ۱۹/۰۴e                                    | ۱۰/۳۶bc  |
| A <sub>3</sub> *B <sub>1</sub> | ۵/۶۳۷de  | ۱/۱۱۵a   | ۱۵/۱۷a  | ۴۸/۵۷b                                    | ۲۴/۱۱a   |
| A <sub>3</sub> *B <sub>2</sub> | ۷/۵۴۱c   | ۰/۵۳۶bc  | ۱۱/۳۱cd   | ۳۰/۲۶cd                                   | ۱۱/۲۸bc  |
| A <sub>3</sub> *B <sub>3</sub> | ۷/۳۵۲c   | ۰/۵۵۱bc  | ۱۲/۷۲bc   | ۳۱/۴۷cd                                   | ۱۳/۱۲b   |
| A <sub>3</sub> *B <sub>4</sub> | ۱۰/۴۲۷b  | ۱/۴۳۷cd  | ۹/۳۶d   | ۱۷/۸۹e                                    | ۹/۰۷cd   |

آبیاری معمول (A<sub>1</sub>)، عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی (A<sub>2</sub>)، عدم آبیاری در مرحله پرشدن دانه (A<sub>3</sub>)، شاهد (بدون مصرف) (B<sub>1</sub>)، کود زیستی تیوباسیلوس (B<sub>2</sub>)، گوگرد (B<sub>3</sub>)، تیوباسیلوس + گوگرد (B<sub>4</sub>). میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند.

## ادامه جدول ۴: مقایسه میانگین برهمکنش بیومارکرهای تخریب در شرایط کم‌آبیاری و مصرف تیوباسیلوس و گوگرد

## خاک پاش

| تیماز                          | دی تیروزین<br>( $\text{mol}\cdot\text{mg protein}^{-1}$ ) | دی هیدروکسی‌گوآنوزین<br>( $\text{mol}\cdot\text{mg protein}^{-1}$ ) | مالون‌دی‌آلدئید<br>( $\text{mol}\cdot\text{mg protein}^{-1}$ ) |
|--------------------------------|---|---|--|
| A <sub>1</sub> *B <sub>1</sub> | ۱۱/۰۶cde  | ۸/۰۵bc  | ۱۳/۲۷c   |
| A <sub>1</sub> *B <sub>2</sub> | ۹/۲۶e   | ۷/۲۸cd  | ۱۰/۳۲d   |
| A <sub>1</sub> *B <sub>3</sub> | ۹/۳۲e   | ۷/۵۴bcd   | ۱۰/۴۴d   |
| A <sub>1</sub> *B <sub>4</sub> | ۹/۱۷e   | ۷/۰۲d   | ۱۰/۲۷d   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>1</sub> | ۳۲/۶۵a  | ۹/۲۷a   | ۴۸/۶۷a   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>2</sub> | ۱۲/۴۷cd   | ۸/۱۸abc   | ۲۰/۴۶b   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>3</sub> | ۱۳/۸۲c  | ۸/۳۶b   | ۲۲/۶۵b   |
| A <sub>2</sub> *B <sub>4</sub> | ۱۰/۸۲de   | ۷/۶۹bcd   | ۱۲/۶۲cd  |
| A <sub>3</sub> *B <sub>1</sub> | ۲۶/۷۲b  | ۹/۰۱a   | ۴۴/۲۷a   |
| A <sub>3</sub> *B <sub>2</sub> | ۱۰/۱۷de   | ۸/۰۴bc  | ۱۶/۲۷bc  |
| A <sub>3</sub> *B <sub>3</sub> | ۱۱/۰۲cde  | ۸/۴۲b   | ۱۹/۳۹b   |
| A <sub>3</sub> *B <sub>4</sub> | ۹/۴۳e   | ۷/۶۶bcd   | ۱۱/۴۸cd  |

آبیاری معمول (A<sub>1</sub>)، عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی (A<sub>2</sub>)، عدم آبیاری در مرحله پرشدن دانه (A<sub>3</sub>)، شاهد (بدون مصرف) (B<sub>1</sub>)، کود زیستی تیوباسیلوس (B<sub>2</sub>)، گوگرد (B<sub>3</sub>)، تیوباسیلوس + گوگرد (B<sub>4</sub>). میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند.

## گلوکاتایون پراکسیداز

گلوکاتایون پراکسیداز تحت تأثیر اثر ساده و برهمکنش تیمار کم‌آبیاری و تیمار مصرف تیوباسیلوس ( $P < 0.05$ ) قرار گرفت (جدول ۲). پراکسیداز تحت شرایط کم‌آبیاری و عدم مصرف تیوباسیلوس و گوگرد افزایش داشت در واقع افزایش پراکسیداز در زمان تنش می‌تواند نتیجه واکنش به پراکسیداسیون غشاهای پروتوپلاسمی باشد. مصرف گوگرد و تیوباسیلوس در شرایط تنش ملایم و تنش شدید خشکی، تا حدودی باعث کاهش پراکسیداز است (جدول ۳)؛ که با نتایج

حیدری و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت داشت. تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و شاهد با  $24/89 \text{ u mg protein}^{-1}$  بیش‌ترین مقدار را به‌دست آورد که اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش در مرحله پرشدن دانه و شاهد نداشت. نتایج نشان داد که با مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد در شرایط قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی از میزان آنزیم GPX به‌شدت کاسته شد و به  $10/36 \text{ u mg protein}^{-1}$  رسید. تیوباسیلوس و بالطبع آن گوگرد با حفاظت از کلروفیل در شرایط تنش و ساخت ویتامین‌های تیامین و بیوتین، گلوکاتایون و کوآنزیم آ، فرودوکسین (احیاکننده سولفات و نیترات)، دخالت داشته و باعث افزایش تحمل ذرت به کم‌آبیاری گردید و از تجمع نیترات در بافت‌ها جلوگیری نمود (Besharaty *et al.*, 2002). این عامل باعث افزایش میزان آسیمیلاسیون و ماکرومولکول‌ها در شرایط تنش شد و اثرات منفی آن را خنثی کرد. مطالعات نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در پاسخ به شرایط تنش مشخص می‌کند که آن‌ها نقش مهمی در محافظت از آسیب‌های سمی ROS دارند (Huang *et al.*, 2013). پژوهشگران در مطالعه اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را گزارش کردند (Li-Ping *et al.*, 2006). در پژوهش حاضر تنش خشکی باعث افزایش آنزیم GPX شد، چرا که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو می‌شود و GPX نیز عامل حذف  $\text{H}_2\text{O}_2$  می‌باشد. بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم، نشان‌دهنده تجمع  $\text{H}_2\text{O}_2$  در شرایط تنش خشکی است. تحقیقات نشان داد فعالیت GPX در برگ‌های بالغ در اثر تنش خشکی تا ۳ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (Hong and Ji- Yun, 2007). بر اساس نتایج حاصل، در زمان بروز کم‌آبیاری با مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد، با دسترسی گیاه به عناصر معدنی و آب و کاهش میزان  $\text{H}_2\text{O}_2$  در سلول و افزایش پایداری غشای ستوبلاسمی از میزان آنزیم پراکسیداز کاسته شد و به حالت طبیعی گیاه نزدیک گشت.

### دی‌تروزین

رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پروتئین‌ها حمله کرده و باعث تغییرات جزئی در مکان‌های مخصوص اسیدهای آمینه، تجزیه زنجیره پپتیدی می‌شوند (توحیدی مقدم، ۱۳۸۸). دی‌تروزین تحت اثر تیمار کم‌آبیاری و تیمار مصرف تیوباسیلوس و گوگرد ( $p < 0/05$ ) و برهمکنش تیمارها ( $p < 0/01$ ) قرار گرفت (جدول ۲). بیش‌ترین میزان DT از تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و شاهد با  $24/89 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  حاصل شد که با مصرف توآمان گوگرد و تیوباسیلوس در شرایط قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی از میزان دی‌تروزین به شدت کاست که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود و به  $10/82 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  رسید. حساسیت اسیدهای آمینه یک پپتید به حمله اکسایشی متفاوت است و فرم‌های گوناگون اکسیژن فعال شده از نظر پتانسیل واکنش‌پذیری، با یکدیگر فرق می‌کنند (قربانی‌قوژدی، ۱۳۸۴). نتایج به‌دست آمده نشان‌گر اثرات تخریبی تنش خشکی بر پروتئین بود، در واقع رادیکال‌های آزاد تولید شده با از بین بردن لایه پروتئینی

دیواره سلولی باعث تراوش مواد بیش‌تری به خارج از سلول شده و با بالا رفتن هدایت الکتریکی به مرور مرگ سلول را فراهم گشت ولی با کاربرد تیوباسیلوس در تیمارهایی که قطع آبیاری در آن‌ها رخ داد، از میزان خسارات وارده به گیاه کاسته شد. کم‌ترین میزان دی‌تیروزین از تیمار آبیاری معمول و مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد با  $9/27 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  حاصل شد. به نظر می‌رسد وجود بیومارکر تخریب دی‌تیروزین در گیاه در شرایط آبیاری و در حضور تیوباسیلوس و گوگرد مبین این موضوع است که گیاهان در مجموعه‌ای از شرایط محیطی به سر می‌برند و این میزان از بیومارکرهای تخریب ناشی از تنش‌های دیگری از قبیل درجه حرارت، باد و ... می‌باشد.

### میزان بیومارکر تخریبی DNA دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین

برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس در شرایط تنش خشکی بر دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین ( $p < 0/05$ ) معنی‌دار بود (جدول ۲). اما دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین تحت اثر تیمار مصرف تیوباسیلوس و کم‌آبیاری قرارنگرفت (جدول ۲). بالاترین میزان دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین از تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و شاهد با میانگین  $24/89 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش در مرحله پرشدن دانه و شاهد نداشت و کم‌ترین میزان دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین به تیمار آبیاری معمول و مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد با میانگین  $9/27 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  اختصاص داشت، در تیمارهای قطع آبیاری، میزان بیومارکر تخریب دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین افزایش داشت، ولی با مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد، از اثرات منفی تا حدود زیادی کاسته شد و میزان بیومارکرهای تخریب حتی در شرایط بروز کم‌آبی کاهش یافت (جدول ۴). کم‌آبیاری می‌تواند منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌ها گردد و به‌طور مستقیم به غشای چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه زده و با غیر فعال نمودن فعالیت آنزیم‌های متابولیکی منجر به مرگ سلولی شوند (Ben Amor *et al.*, 2007). نسبت بین آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز و اسیداسکوربات با بیومارکرهایی مانند مالون‌دی‌آلدئید، دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین می‌تواند در برقراری تحمل به خشکی مؤثر باشد هرچه این نسبت بالاتر باشد تحمل گیاه بیش‌تر می‌شود (Quartacci *et al.*, 2000). برخی معتقدند که بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بیومارکرهای تخریب دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین همبستگی منفی وجود دارد یعنی با افزایش دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین در شرایط تنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاهش یافته که باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود در نتیجه بیومارکرهای تخریب که رابطه مستقیمی با رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند افزایش می‌یابند (Chaves *et al.*, 2003). اگرچه این نتایج با نتایج این تحقیق مغایرت داشت، بررسی‌های انجام شده بر گیاه *Rose hybrida L.* نشان داد که غلظت دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین در خلال تنش خشکی پس از ۲۴ ساعت افزایش یافته ولی بلافاصله پس از دسترسی گیاه به آب و کاهش تنش، میزان این ماده کاهش یافت (Jin. *et al.*, 2006).

### میزان بیومارکر تخریبی لیپید (مالون‌دی‌آلدئید)

نتایج نشان داد که تیمار کم‌آبیاری و مصرف تیوباسیلوس و گوگرد ( $p < 0.05$ ) و برهمکنش تیمارها ( $p < 0.01$ ) بر مالون‌دی‌آلدئید از لحاظ آماری معنی‌داری داشت (جدول ۲). بالاترین میزان تخریب لیپیدی از تیمار مرحله گل‌دهی و شاهد با  $48/67 \text{ mol. mg protein}^{-1}$  به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار قطع آبیاری در مرحله پرشدن دانه و شاهد نداشت، تنش اکسیداتیو منجر به آسیب بافتی می‌شود. تنش اکسیداتیو می‌تواند منجر به ممانعت فتوسنتز و فرآیند تنفس و رشد گیاه شود (Foyer and Noctor, 2003). هنگامی که تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدها افزایش می‌یابد و در اثر حمله‌ی رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله مالون‌دی‌آلدئید ایجاد می‌شود (Quartacci *et al.*, 2000). نتایج نشان داد مقدار MDA در سه ژنوتیپ گندم در اثر خشکی افزایش یافت. در واقع مقدار MDA به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری مقدار پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Sairam *et al.*, 2007). در این تحقیق با مصرف توآمان کود زیستی تیوباسیلوس و گوگرد و نقش آن‌ها در پایداری دیواره سلولی و افزایش غشای سلولی و جلوگیری از تخریب دیواره و نشت مواد به خارج از سیتوپلاسم تا حدود زیادی از اثرات منفی تنش و میزان بیومارکر تخریب کاست که در تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و مصرف توآمان گوگرد و تیوباسیلوس کاملاً مشهود است.

### نتیجه‌گیری

هر چند قطع آبیاری در زمان‌های گوناگون می‌تواند بر ویژگی‌های کمی و بیوشیمیایی گیاه ذرت اثرگذار باشد، ولی میزان اثربخشی آن بر ویژگی‌های مختلف، متفاوت است. کاربرد تیوباسیلوس و گوگرد باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط قطع آبیاری گردید و با افزایش پایداری دیواره سلولی و تولید ماکرومولکول‌هایی نظیر پپتیدها، ویتامین‌ها و کلروفیل و ... گیاه ذرت توانست اثرات منفی کم‌آبیاری را تحمل کند و میزان پرولین را در شرایط تنش کاهش دهد، هم‌چنین کاربرد توآم تیوباسیلوس و گوگرد در تیمار قطع آبیاری در مرحله گل‌دهی و پر شدن دانه باعث کاهش میزان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز گردید که نشانگر توانایی باکتری تیوباسیلوس و گوگرد به عنوان تعدیل‌کننده اثر تنش است. بنابراین برای دریافت نتایج بهتر تحقیقات تکمیلی در مناطق مشابه توصیه می‌گردد.

### منابع

اکبری‌مقدم، ح. ۱۳۹۱. تسهیم ماده خشک و واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی ارقام گندم تحت تأثیر تنش خشکی در

مراحل مختلف رشد. پایان‌نامه دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل. ۱۵۱ ص.

حیدری، غ.ر.، حسن‌زاده، ب.، سی‌وسه‌مرده، ع.، سهرابی، ی.، امام، ی.، مجیدی، م. ۱۳۹۴. اثر سطوح تنش خشکی، کود گوگرد و محلول‌پاشی منگنز بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی آفتابگردان. نشریه زراعت دیم ایران ۴ (۱): ۲۹-۴۴.

نصری، م. و خلعتبری، م. ۱۳۹۱. مطالعه اثر سطوح مختلف زئولیت بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی سورگوم دانه‌ای رقم کیمیا تحت شرایط مختلف کم‌آبیاری در منطقه ورامین. گزارش نهایی طرح پژوهشی. دانشکده کشاورزی ورامین. دانشگاه آزاد اسلامی ورامین - پیشوا. ۵۳ ص.

**Bakalova, S., Nikolova, A. and Nedeva, D. 2004.** Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. *Plant Physiology* 30: 64-77.

**Ben Amor, K., Vaughan, E.E. and De Vos, M. 2007.** Advanced Molecular Tools for the Identification of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Nutrition* March 2007 (137) 3: 741S-747S.

**Beck, E.H., Fettig, S., Knake, C., Hartig, K., and Bhattarai, T. 2007.** Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Bioscience* 32:501-510.

**Besharaty, H., Khavazi, K. and Saleh-Rastin, N. 2002.** Evaluation of some carriers for *Thiobacillus* inoculants used along with sulfur to increase uptake of some nutrients by corn and improve its performance. *Biomedical and life Sciences, Plant Nutrition . Developments in Plant and Soil Sciences* (92) 9: 672-673.

**Bogdanov, M.F. and Bical, M.B. 1999.** A carbon column based LCEG approach to routine 8-oH-dG measurements in biological matrices. *Free Radicals Biology & Medicine* 27: 647-666.

**Chance, B. and Maehly, A.C. 1995.** Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick S. P., and N. D. Kaplan. (eds) *Methods in Enzymology*. Academic Press. New York 2: 764-791.

**Chaves, M.M., Maroco, J.P. and Pereira, J.S. 2003.** Understanding plant responses to drought- from genes to the whole plant. *Plant Biology* 30: 239-264.

**Foyer, C.H. and Noctor, G. 2003.** Red ox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Plant Physiology* 119: 355-364.

**Franz, C.H. 2003.** Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulture* 132: 203 - 215.

**Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S. and Zhang, C.H. 2003.** Effects of silicon on growth of wheat under drought. *Journal Plant Nutrition* 26: 1055-1063.

**Guo, Z., Ou, W., Lu, S. and Zhong, Q. 2006.** Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 828-836.

**Hong, W. and Ji-Yun, J. 2007.** Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize. *Science Direct. Agricultural Sciences in China* 6 (8): 988-995.

**Huang, C., Zhao, S., Wang, L., Anjum, A.S., Chen, M., Zhou, H. and Zou, C. 2013.** Alteration in chlorophyll fluorescence, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in hybrid ramie (*Boehmeria nivea L.*) under drought stress. *Australian Journal of Crop Science*, 7(5):594-599.

**Irigoyen, J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992.** Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated Alfalfa plant. *Plant physiology* 84:55-60

**Isuwan, A., Saelim, J. and Poathong, S. 2007.** Effects of Levels of Sulfur Fertilizer on Growth of *Digitaria eriantha* grass. *Silpakorn University Science and Technology Journal* 1 (2): 13-19.

**Jin, J., Ningwei, SH., Jinhe, B. and Junping, G. 2006.** Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut Rose (*Rose hybrida L.*) CV. Samantha. *Field Crop Research* 94: 167-173

**Quartacci, M.F., Pinzino, C., Sgherri, C.L.M., Dalla, F.V. and Navari, F.I. 2000.** Growth in Excess Copper Induces Changes in the Lipid Composition and Fluidity of PSII-Enriched Membranes in Wheat. *Physiologia Plantarum* 108, 87-93.

**Kasraie, P., Nasri, M. and Khalatbari, M. 2012.** The effects of Time Spraying Amino Acid on water deficit Stress on yield, yield component and some physiological characteristics of grain corn (TWC647). *Annals of Biological Research*, 2012, 3 (9):4282-4286.

**Lawlor, D.W. and Cornic, G. 2002.** Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 275-294.

**Li-Ping, B., Fang-Gong, S., Ti-Da, G., Zhao-Hui, S., Yin-Yan, L. and Guang-Sheng, Z. 2006.** Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere* 16: 326-332.

**Luna, C.M., Pastori, G.M., Driscoll, S., Groten, K., Bernard, S. and Foyer, C.H. 2005 .** Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Experimental Botany* 56:417-423.

**Mac-Adam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E. 1992.** Peroxides activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology* 99:872-878.

**Misra. H.P., Fridovich, I. 1972.** The Generation of super oxide radical during oxidation. *Bio Chemical Journal* 247 3170-75

**Nasri, M. and Khalatbari, M. 2012.** Evaluation the effect of different ranges Zeolite consuming on yield and yield component and physiological characteristics of grain Sorghum

(*Sorghum bicolor L.*) VAR. Kimiya under water deficit stress. *Annals of Biological Research* 3 (7): 3547-3550.

**Nasri, M. and Khalatbari, M. 2015.** Effect of zinc foliar, potassium elements and irrigation terms of concentrations of nitrogen, phosphorus and potassium in grain and some quantitative characteristics corn genotypes KSC704. *International Journal Bioscience* 6 (2), 15-23.

**Orman, S., Kaplan, M. 2007.** Effects of elemental sulfur and organic manure on sulfur, zinc, and total chlorophyll contents of tomato in a calcareous sandy loam soil. *Journal of Soil Science Society of America* 55: 85-90.

**Ravichandra, P., Gopal Mugeraya, A., Gangagni Rao, M., Ramakrishna, V. and Annapurna Jetty, Y. 2007.** Isolation of *Thiobacillus sp* from aerobic sludge of distillery and dairy effluent treatment plants and its sulfide oxidation activity at different concentrations. *Journal of Environmental Biology* 28 (4): 819-823.

**Reddappa Reddy, M. 2006.** Effect of calcium, sulphur and boron on the yield and composition of corn (*Zea Mays L.*) under water deficit stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 54: 205-209.

**Sairam, P.K., Deshmukh, P.S. and Shukla, D.S. 2007.** Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Agronomy & Crop Science* 178, 171-178.

**Selote, D., Chopra, R.K. 2006.** Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinate antioxidant defense at cellular and sub cellular level in leaves of wheat seedlings. *Physiologia Plantarum* 127: 494-506.

**Steven, A.K., and Joseph, M.H. 1978.** Lipid peroxidase in sample as measured by liquid chromatography separation. interference testing in clinical chemistry 32: 217-220.

**Sharma, K.D. and Khad, M.S. 2006.** Influence of potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of Brassica Species. *Brassica Journal* 8: 71- 74.

**Tayebi, A., Afshari, H., Farahvash, F., MasoodSinaki, J. and Nazarat, S. 2012.** Effect of drought stress and different planting dates on safflower yield and its components in Tabriz region. *Iranian Journal of plant physiology* 2 (3): 445- 453.

**Yu, Q. and Rengel, Z. 2009.** Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupins. *Plant Science* 182, 31-36.

**Wajid, A., Hussain, K., Maqsood, M., Ahmad, A. and Hussain, A. 2007.** Influence of drought on water use efficiency in wheat in semi-arid regions of Panjab. *Soil and Environments* 26: 64-68.

**Wang, Y.F., Wang, S.P., Cui, X.Y., Chen, Z.Z., Schnug, E. and Haneklau, S. 2003.** Effects of sulphur supply on the morphology of shoots and roots of alfalfa (*Medicago sativa L.*). *Grass and Forage Science* 58 (2): 160-167.