Archive of SID

پیامد کاربرد باکتریی‌های بردبار به نمک و زغال زیستی بر کارایی آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در گیاه جو زیر تنش شوری

مریم طالبی اتویی[1*]، محسن علمایی[2]، رضا قربانی نصرآبادی[3] و سید علیرضا موحدی نائینی[4]

۱- دانشجوی دکتری علوم خاک، گروه علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۱۹
پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۵/۳۱

کلمات کلیدی:
باسیلوس،
زغال زیستی،
سوپراکسیددیسموتاز،
کاتالاز،
پرولین،
خاک شور و سدیمی

*عهده‌دار مکاتبات
Email: olamaee_m@yahoo.com

چکیده

برای بررسی پیامد کاربرد باکتریی‌های بردبار به نمک، زغال زیستی و گچ بر پاسخ‌های آنزیمی و ناآنزیمی جو در تنش شوری، آزمایشی با طرح کاملا تصادفی به‌گونه فاکتوریل با سه تکرار در گل‌خانه در سال ۱۳۹۵-۹۶ انجام شد. تیمارهای پژوهش ۱) جدایه‌های باکتریای بردبار به نمک (بدون باکتری،T_0، باکتری *Bacillus megaterium* (T_5)، باکتری *Bacillus licheniformis* (T_{17}))، ۲) بیوچار (۰ و ۵٪ وزنی/وزنی) و ۳) آب‌شویی خاک (بدون آب‌شویی و آبشویی) و ٤) کاربرد گچ (۰و۵۰ درصد نیاز گچی) بود. نتایج این پژوهش نشان داد که به‌کارگیری باکتری و زغال زیستی مایه کاهش کارایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه جو می‌شود. این کاهش در تیمارهای آب‌شویی شده بیشتر بوده است. همچنین گیاهان مایه‌زنی شده با هردو باکتری، دارای بیشترین غلظت پرولین بودند که این اندازه در باکتری T17 (*Bacillus licheniformis*) وهمراه با زغال زیستی و گچ به گونه چشم‌گیری بیشتر بوده است. بهره‌گیری از بهساز زغال زیستی، گچ و مایه‌زنی با جدایه¬ها مایه افزایش پایداری پرده یاخته-ای شده است که بیشترین افزایش در تیمارهای مایه‌زنی شده با جدایه باکتری*T17 Bacillus licheniformi*درخاک آب‌شویی شده با ۵۰٪ نیاز گچی دیده شد. روی‌هم‌رفته این پژوهش نشان داد که بهره‌گیری از زغال زیستی، گچ و باکتری‌های بردبار در برابر نمک، می‌تواند ابزار کارایی در کاهش پیامد بد شوری بر گیاه شود.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تنش شوری بر یک‌پارچگی غشاها، کارایی‌های آنزیمی و کارکرد دستگاه‌های فتوسنتزی گیاهان نشانه می‌گذارد. شوری، می‌تواند با افزایش گونه‌های کارای اکسیژن در گیاه مایه تنش اکسیداسیونی شود (۶) که در پایان، مایه آسیب رساندن به ساختارهای غشایی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل می‌شود (۹). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های دفع، اکسیژن‌های رادیکال آزاد[1] (ROS) هستند و نخستین راه روبرو شدن در برابر آسیب‌های اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شامل گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز است (۲۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که در برابر تنش نازنده و مرده می‌شوند، از غشاها در برابر پیامدهای ویرانگر اکسیژن رادیکال آزاد نگهداری می‌کنند و مایه پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی مانند شوری می‌شوند (۲۷). شوری کارایی آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز و اندازه مالوندیالدهید، رادیکال اکسیژن و هیدروژن پراکسید در برگ و ریشه را افزایش می‌دهد؛ همچنین با افزایش شوری، اندازه پروتئین و قند محلول، پرولین و گلایسین بتاین افزایش می‌یابد (۲۷و۱۴و۲۸).

یکی از مهم‌ترین واکنش‌های گیاهان به تنش شوری، تنظیم فشار اسمزی گیاه از راه ساخت زیستی و انباشتگی محلول‌های تنظیم کننده اسمزی، همانند اسید آمینه؛ مانند پرولین است که گاهی گزارش شده که می‌تواند ۲۰-۱۰ ٪ وزن خشک گیاه را بسازد (۴). پرولین همانند ترکیبی مهم، در پایداری آنتی اکسیداتیو در هماهنگی فشار اسمزی گیاه با بیرون، نگهداشت ماکرومولکول‌ها در دوران کم آبی و شرکت در مسیر فسفات پنتوز کارایی دارد (۱۹).

بررسی‌های گوناگون، نشان داده است که در زیستگاه‌های شور، برخی ریزجانداران نمک‌دوست توان زندگی دارند. این ریزجانداران با روش‌هایی مانند ساخت بیوسورفکتانت‌ها و پلی‌ساکاریدهای برون یاخته‌ای، افزایش انحلال عناصر غذایی کم‌محلول، تثبیت نیتروژن و ساخت سیدروفور، ساخت اکسین، ساخت آنزیم ACC دآمیناز، کاهش جذب سدیم، افزایش چرخه آب، بهبود تنظیم اسمزی و انباشتگی پرولین در گیاه مایه افزایش رشد گیاه و کاهش تنش شوری در گیاهان کشاورزی می‌شوند (۷، ۱۰،۳۶). گیاهانی که سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری دارند، بهتر می‌توانند در برابر تنش‌های محیطی، مانند شوری پایداری کنند. برخی پژوهش‌ها نشان داده است که شوری مایه افزایش کارایی آنزیم آنتی‌اکسیدان؛ مانند کاتالاز و پراکسیداز می‌شود و مایه‌زنی باکتری مایه کاهش در کارایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در واکنش به شوری می‌شود (۲۲،۱۶).

یافته‌های برخی پژوهش‌ها، بیانگر آنست که زغال زیستی یا بیوچار، می‌تواند با جذب یون‌های نمک خاک‌های شور مایه کاهش پیامدهای شوری بر رشد و کارکرد گیاهان شود (۳). به گونه‌ای که کاربرد ۵۰ تن در هکتار بیوچار مایه افزایش تندی رشد و شرایط فیزیولوژی همانند با گیاهان در شرایط بدون تنش شوری می‌شود؛ همچنین بیومس گیاه در برابر تیمار شاهد ۵۰ درصد افزایش می‌یابد (۲۹). یافته‌های بررسی تسای و همکاران[2] (۳۰) بیانگر آنست که بیوچار می‌تواند همانند انباره‌ای از کاتیون‌های دو ظرفیتی (کلسیم و منیزیم) باشد و می‌تواند کارایی ویژه‌ای در جابجایی با سدیم در خاک شور-سدیمی داشته باشد. این نشان خوب زغال زیستی را می‌توان وابسته به برخی از ویژگی‌های این ماده سرشار از کربن، همانند تخلخل و رویه ویژه بالا، گنجایش تبادل کاتیونی بالا، تجزیه زیستی کم آن دانست (۱۸).

با نگاه به توان باکتری‌های بردبار به نمک در کاهش پیامدهای بد شوری در گیاه از راه ساخت مواد افزاینده رشد گیاه و انگیزش سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه، در این پژوهش پیامد کاربرد آن‌ها به همراه زغال زیستی و گچ همانند ماده بهساز در خاک شور سدیمی بر آنزیم‌های آنتی-

1- Reactive Oxygen Species

2- Tsai *et al*.

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیدانی و پرولین و پایداری پرده یاخته‌ای در گیاه جو بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی پیامد کاربرد زغال زیستی و باکتری‌های بردبار به نمک، آزمایشی به گونه فاکتوریل با طرح کاملا"تصادفی در سه تکرار در گل‌خانه انجام شد.

فاکتورها، شامل ۱) مایه‌زنی جدایه‌های باکتریای بردبار به نمک (بدون باکتری،T_0، باکتری(T_5)، باکتری(T_{17}))، ۲) زغال زیستی (۰ و ۵٪ وزنی/وزنی) و ۳) آب‌شویی(بدون آب‌شویی و آبشویی) و ۴) کاربرد گچ (۰و۵۰ درصد نیاز گچی) بود. در این بررسی دو جدایه باکتری *licheniformis Bacillus* به شماره دسترسی KY889149.1 (T17) و باکتری *Bacillus megaterium* به شماره دسترسی KY889148 (T5) همانند جدایه برتر از دیدگاه توانایی رشد درشوری‌های بالا، ساخت پلیمر(پلی‌ساکارید) و ویژگی‌های افزایندگی رشدی گیاه همانند ساخت اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، آزادسازی فسفر و پتاسیم از منبع نامحلول معدنی گزینش شدند. در این بررسی از جو رقم صحرا بهره‌گیری شد. آماده کردن زغال زیستی از کاه و کلش برنج در دمای ۴۰۰-۴۲۰ درجه سلسیوس و زمان ۲/۵ ساعت انجام شد. برخی ویژگی زغال زیستی در جدول (۱) آورده شده است. زغال زیستی پس از گذر از الک دو میلی‌متری به اندازه ۵ درصد وزنی به خاک افزوده شد. برخی ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی خاک به‌کار رفته برای کشت در جدول (۲) آورده شده است.

برای کشت گیاه از گلدان‌های پلاستیکی، دارای سه کیلوگرم خاک هوا خشک گذر یافته از الک چهار میلی متری بهره‌گیری شد. در تیمارهای آبشویی، پیش از کشت آب‌شویی به روش غرقابی انجام گرفت. میزان گچ موردنیاز بر اساس ویژگی‌هایی همانند درصد سدیم تبادلی خاک، وزن مخصوص ظاهری خاک، عمق موردنظر برای اصلاح و نیز درصد خلوص گچ از رابطه زیر برآورد شد.

$$GR = (ESP_i - ESP_f) \times CEC \times Á \times D \times \rho \times 8.61/f$$

GR مقدار گچ مورد نیاز برای عمق Ds خاک بر حسب کیلوگرم در هکتار، ρs جرم مخصوص ظاهری برحسب گرم بر سانتیمتر مکعب، ESPi درصد سدیم تبادلی اولیه خاک، ESP_f درصد سدیم تبادلی نهایی خاک، CEC گنجایش تبادل کاتیونی بر حسب میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم خاک، D عمق خاک بر حسب متر، A سطح خاک بر حسب هکتار و F درصد خلوص گچ بر حسب درصد است.

در آغاز شمار فراوانی از برزهای سالم گزینش و برای ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درجه و سپس برای ۲-۱/۵ دقیقه در محلول وایتکس ۱۰ درصد ضد عفونی رویین شده و با آب مقطر استریل ۸-۷ مرتبه شستشو شد. در هر گلدان به شمار ۱۰ برز جو رقم صحرا کشت و هر برز با یک میلی لیتر از زادمایه باکتری با فراوانی 10^9 cfu/ml مایه‌زنی و روی آن‌ها با خاک پوشانده شد. پس از پیدایش گیاهچه بذرهای جو به چهار تا گیاه در هر گلدان کاهش یافت. آبیاری با بهره-گیری از توزین گلدان‌ها به روش وزنی ۷۵ درصد آب قابل بهره‌گیری انجام شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین در گام ساقه‌دهی انجام شد. کوددهی بر پایه آزمون خاک و پیشنهاد کودی انجام شد و ازکودهای اوره (در سه گام)، فسفات‌دی‌آمونیوم، سولفات‌پتاسیم (پیش از کشت) به ترتیب به اندازه ۲۰۰، ۲۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار بهره-گیری شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های اکسیداتیوی

برای آماده‌سازی عصاره برای سنجش آنزیمی بافت گیاه، یک گرم نمونه برگی (از برگ‌های گسترش یافته) با چهار میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری دارای ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۵۰ گرم پلی-اتیلن گلیکول و رساندن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر با اسیدیته ۶/۵ برای ۳۰ دقیقه همگن شد و برای ۳۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش آنزیمی بهره‌گیری شد.

برای سنجش آنزیم کاتالاز، به ترکیبی از ۱۵ میکرولیتر آب اکسیژنه سه درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی،

www.SID.ir

Archive of SID

محلول ۰/۱ مولار بافر فسفات‌پتاسیم با اسیدیته ۷ تاحجم نهایی محلول به سه میلی‌لیتر افزوده شد.

میزان کارایی آنزیم کاتالاز با بررسی دگرگونی غلظت پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اندازه کارایی آنزیم کاتالاز بر پایه واحد بین‌المللی در گرم وزن تر گیاه (IU/gr.fw) گزارش شد(۲).

سنجش سوپراکسید دیسموتاز بر پایه احیای نوری نیترو بلوتترازولیوم انجام شد. برای این کار آمیخته واکنش دارای نیتروبلوتترازولیوم ۵۵ میلی‌مولار، ۱/۴۲ درصد تریتون X-100، EDTA ۱۰۰ میکرومولار و پیروگالول ۱۶ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود؛ سپس با افزودن یک دهم میلی‌لیتر ریبوفلاوین ۶۰ میکرومولار و گذاشتن لوله‌های آزمایش در زیر لامپ فلورسنت ۳۰ واتی، پس از گذشت ۱۵ دقیقه از آغاز واکنش، لامپ‌ها خاموش و لوله‌های آزمایش در تاریکی گذاشته شدند تا واکنش بایستد. از آمیخته واکنشی بدون آنزیم که برای ۱۵ دقیقه در نور قرار گرفته بود، برای ارزیابی توان ساخت کمپلکس سوپراکسید نیتروبلوتترازولیوم و معیار سنجش کارایی آنزیمی بهره‌گیری شد؛ همچنین از آمیخته واکنشی دیگری که از آغاز در تاریکی بود، همانند گواه آزمون بهره‌گیری شد. پس از ایست واکنش اندازه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. اندازه کارایی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر پایه واحد بین‌المللی در گرم وزن تر گیاه (IU/gr.fw) گزارش شد(۲۰).

جدول(۱) برخی ویژگی شیمیایی زغال زیستی

Table(1) Some chemical properties of biochar

ویژگی Property	pH (نسبت ۱:۱۰)	رسانندگی الکتریکی (نسبت ۱:۱۰) EC (dSm^{-1})	کربن آلی OC %	گنجایش تبادل کاتیونی CEC
مقدار Value	7.4	7.5	38.4	68.8

جدول(۲) برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table(2) Some soil physical and chemical properties

ویژگی Property	مقدار Value
رسانندگی الکتریکی در عصاره اشباع خاک EC(dSm^{-1})	15.53
اسیدیته pH	7.58
کربن آلی (٪)	0.83
بافت خاک	Clayرسی
درصد سدیم تبادلی خاک ESP(٪)	18
پتاسیم قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم) Available K	67
فسفرقابل جذب Available P (میلی گرم در کیلوگرم)	7.8
نیتروژن کل Total N (٪)	0.056
فراوانی باکتری ها (MPN)	$2.3*10^5$

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری پرولین

به اندازه نیم گرم برگ تازه را به تکه های کوچکتر از پنج میلی‌متر بریده و همراه با ۱۰ میلی لیتر، سولفوسالیسیلیک سه درصد در یک هاون چینی کوچک به‌مدت سه دقیقه ساییده شد. محلول هموژنیزه شده با کاغذ پاله واتمن شماره دو پالایش شد. سپس دو میلی‌لیتر از محلول پالایش شده با دو میلی‌لیتر از شناساگر نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک در یک لوله آزمایش ریخته شد و برای یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس در گرمابه گذاشته شد؛ سپس به محلول واکنش در لوله آزمایش پس از سرد شدن چهار میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و لوله آزمایش برای ۲۰-۱۵ ثانیه به شدت همزده شد. جذب نوری محلول روئی به کمک اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با بهره‌گیری از محلول شاهد تولوئن خوانده شد و غلظت اسید آمینه پرولین آزاد نمونه با بهره‌گیری از منحنی استاندارد پرولین ناب برآورد شد و اندازه آن بر پایه رابطه (۱) میکرو مول در گرم وزن تر نمونه محاسبه شد(۵).

رابطه(۱) = میکرومول پرولین بر گرم وزن تر

$$\frac{\text{گرم نمونه}}{5} * \frac{\text{میکرو گرم پرولین بر میلی لیتر* میلی لیتر تولوئن}}{115/13 \text{ میکرو بر گرم میکرومول}}$$

اندازه‌گیری پایداری پرده یاخته‌ای

برای برآورد شناسه پایداری پرده یاخته‌ای، از هرگلدان دو برگ جوان گسترش یافته گزینش شده و ۰/۱ گرم برگ درون دو سری لوله های آزمایش دارای ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده، ریخته شد؛ سپس یک سری از نمونه‌ها در دستگاه بن ماری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه گذاشته و پس از این زمان رسانندگی الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC سنج مدل Jenway-4320 اندازه‌گیری شد؛ سری دوم از لوله آزمایش را نیز برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس گذاشته و پس ازسرد شدن رسانندگی الکتریکی آن‌ها اندازه گیری شد سپس با بهره-گیری از معادله ۲درصد پایداری پرده یاخته‌ای برآورد شد(۲۵).

$$MS = 1 - \frac{EC40}{EC100} \quad \text{رابطه (۲)}$$

در رابطه (۲)، MS شناسه پایداری پرده یاخته‌ای است که از نسبت رسانندگی الکتریکی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس (EC40) به رسانندگی الکتریکی در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس (EC100) برآورد می‌شود.

تجزیه آماری داده‌ها

در این پژوهش، آزمایش‌ها به گونه فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های اندازه‌گیری شده با بهره‌گیری از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون میانگین نیز با آزمون LSD در سطح ۵٪ انجام شد. رسم نمودارها با بهره گیری از نرم افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) انجام شد.

نتایج و بحث

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تجزیه داده‌ها نشان داد که پیامد باکتری، زغال زیستی، گچ و آب‌شویی و برهم کنش آن‌ها بر کارکرد آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود ($p < ۰/۰۵$). آزمون میانگین پیامدهای باکتری‌ها، زغال زیستی، گچ بر آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در دوسطح آب‌شویی در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. بیشترین اندازه کارایی آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار گچ به‌کاربرده شده به تنهایی و بدون آب‌شویی به‌ترتیب (۳/۳۷، ۹/۰۹) و کمترین اندازه در تیمار زغال زیستی و باکتری T17 (۲/۲۹، ۳/۹۲) دیده شد. شاید به‌دلیل افزایش رسانندگی الکتریکی با انحلال گچ و پیدایش تنش شوری و افزایش اندازه کارایی آنزیم است. کاربرد گچ در خاک و حل شدن آهسته آن و ورود یون‌های رها شده از آن به محلول خاک مایه افزایش رسانندگی

www.SID.ir

Archive of SID

الکتریکی خاک می‌شود. با کاربرد زغال زیستی و باکتری آنزیم کاتالاز کاهش یافت که این کاهش در تیمار باکتری T17 در برابر دیگر تیمارها بیشتر بوده است؛ همچنین آب‌شویی با کاهش پیامدهای شوری و سدیمی بودن خاک مایه کاهش کارایی آنزیم کاتالار در گیاه گردید.

کاتالاز، اصلی‌ترین آنزیم از بین برنده پراکسید هیدروژن و از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان محسوب می شود و تنش شوری در بسیاری از گیاهان مایه افزایش کارایی آنزیم کاتالاز شده است (۳۷). با افزایش اندازه رادیکال‌های کارا اکسیژن در گیاه برای کاهش پیامدهای سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، روش‌های گوناگونی در گیاه کارا می‌شود. در این شرایط اندازه آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد و آنزیم‌های مهار کننده رادیکال کارا اکسیژن در راستای کاهش پیامدهای زهری تنش اکسیداتیو پدید آمده از تنش شوری، افزایش پیدا می کنند.

همچنین اندازه کارایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارها در برابر آنزیم کاتالاز بیشتر بوده است. گیاهانی که دارای سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، پایداری بیشتری در برابر آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند. افزون بر این، در پژوهش‌های یان[1] و همکاران (۳۵)گزارش شده کارایی آنزیم‌های سوپراکسیداتیو دسیموتاز و پراکسیداز در شرایط تنش افزایش در برابر کارایی کاتالاز کاهش می‌یابد.

پژوهش‌ها نشان داده است که برخی ریزجانداران، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را کارا کرده‌اند و مایه زدودن گونه‌های کارا اکسیژن شده‌اند. مایه‌زنی برز با باکتری بردبار به نمک به‌دلیل برخی ویژگی‌های افزایندگی رشدی آن‌ها همانند ساخت اکسین، آنزیم ACC دآمیناز، تثبیت نیتروژن، که مایه بهبود رشد گیاه در خاک شور سدیمی می‌شود و مایه کاهش اثر تنش شوری بر گیاه وکاهش اندازه این آنزیم‌ها شد. این یافته‌ها در برخی پژوهش‌های دیگر بر روی گیاهان گوناگون دیده شده است. مایه‌زنی سودوموناس (۱۶) و آزوسپیریلوم (۱۰) مایه کاهش کارایی آنزیم کاتالاز در گیاه شد.

به‌هرروی برخی از پژوهش‌ها، افزایش اندازه کارایی آنزیم کاتالاز در پی مایه‌زنی باکتری‌ها را گزارش کرده‌اند. با افزایش شوری، کارایی آنزیم سوپراکسیددیسمیوتاز و کاتالاز در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ میکوریز و نیز در تیمارهای نبود مایه زنی آن افزایش یافت که بالاترین کارایی در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار دیده شد. اندازه این افزایش در گیاهان میکوریزایی بیش از گیاهان غیر میکوریزایی بود(۳۷).

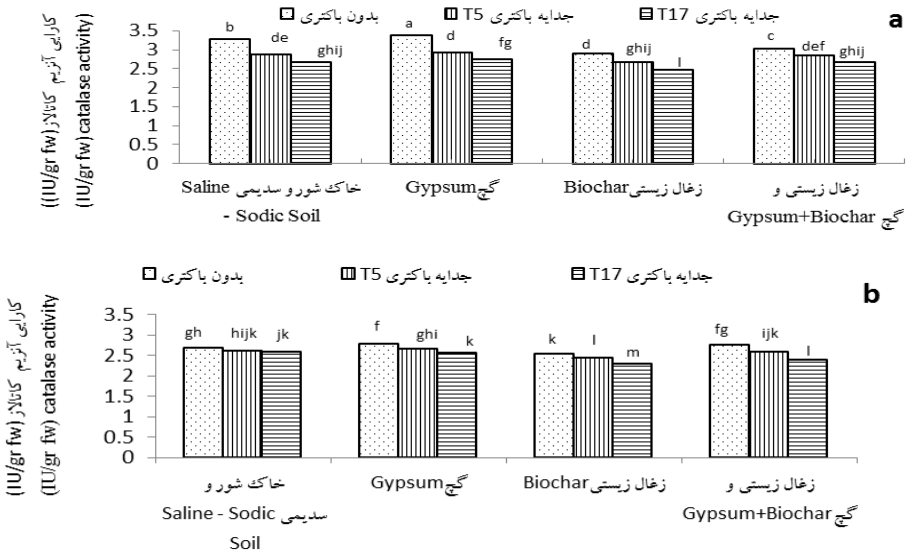
پلی‌ساکاریدهای برون یاخته‌ای باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، به پیوند کاتیون‌هایی مانند سدیم کمک می‌کند و مایه کاهش سدیم فراهم برای جذب گیاه می‌شود(۳۲). تیمارهای مایه زنی شده با باکتری، کاهش چشم‌گیر سدیم در گیاه در شرایط تنش شوری و بدون تنش را نشان دادند. این سویه‌ها دارای توانایی ساخت پلی¬ساکارید برون یاخته ای هستند که دارای توان پیوند با کاتیون‌هایی مانند سدیم بوده و مایه افزایش کلنیزاسیون در پیرامون ریشه و کاهش جذب سدیم توسط گیاه می‌شوند(۳۱،۳۲).

کاربرد بهسازها مایه کاهش تنش شوری می‌شود و در برخی موارد، مایه کاهش اندازه این آنزیم‌ها در گیاه می‌گردد. کاربرد زغال زیستی به‌دلیل بهبود وضعیت نگهداری آب، فراهمی بیشتر پتاسیم و کاهش جذب سدیم توسط گیاه به‌دلیل گنجایش تبادل کاتیونی زیاد، می‌تواند اثر تنش شوری را کاهش داده و مایه کاهش اندازه کارایی آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاه گردد.

1- Yan *et al.*

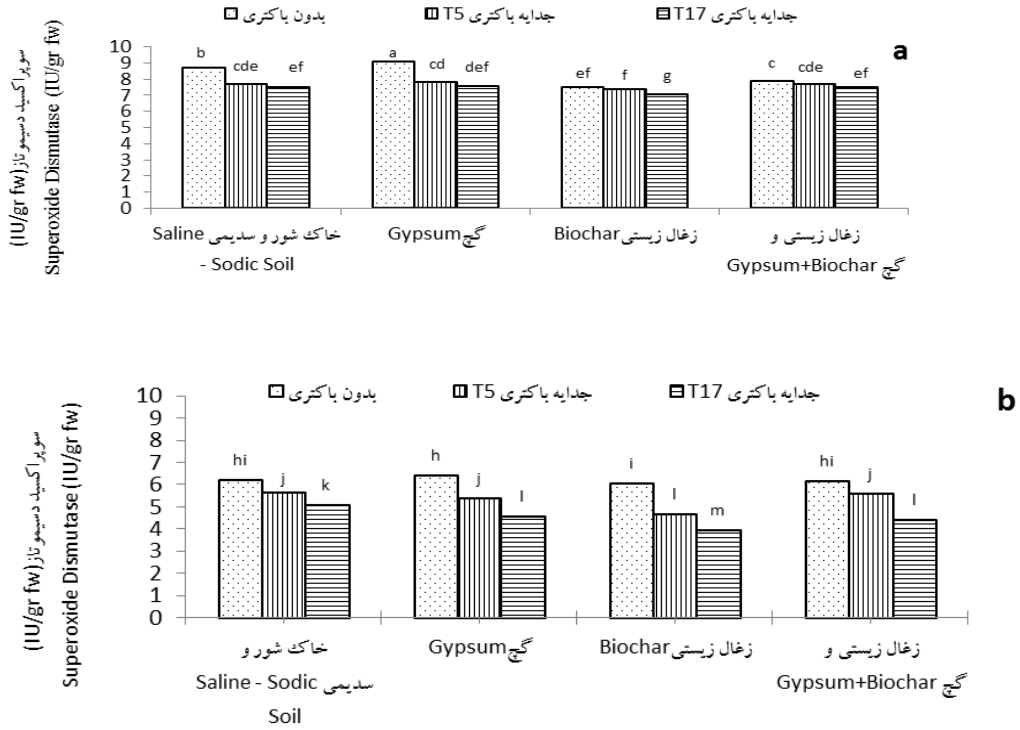
www.SID.ir

Archive of SID



شکل (۱) آزمون میانگین کارایی آنزیم کاتالاز در بافت‌های برگی گیاه جو در تیمارهای مایه‌زنی، زغال زیستی و گچ، (a) بدون آب‌شویی(b) آب‌شویی شده

Figure (1) Mean comparison of catalase activity in plant tissue in bacteria, biochar and gypsum treatments, (a) without leaching and (b)with leaching



شکل(۲) آزمون میانگین کارایی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در بافت های برگی گیاه جو در تیمارهای مایه زنی، زغال زیستی و گچ، (a) بدون آب‌شویی(b) آب‌شویی شده

Figure (2) Mean comparison of Superoxide Dismutase enzyme activity in plant tissue in bacteria, biochar and gypsum treatments, (a) without leaching and (b)with leaching

در هر ستون میانگین‌های با واژهای یکسان از دیدگاه آمازی ناهمانندی چشم گیری ندارند

Columns followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج فرهنگی آبریز[1] و همکاران (۸) نشان داد که کاربرد زغال زیستی در خاک در دو سطح (۱۰ و ۲۰ درصد) مایه کاهش کارایی همه آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوص در مقدار ۲۰ درصد زغال زیستی شد. با اضافه کردن زغال زیستی اندازه مالون دی الدهید، رادیکال اکسیژن و هیدروژن پراکسید و همچنین انباشتگی سوبسترای اسموتیک در برگ‌ها و ریشه کاهش یافت. نتایج نشان داد که زغال زیستی با کاهش کارایی تنش اکسیداتیو، می‌تواند تنش شوری را کاهش دهد (۸)؛ همچنین گزارش شده است کاربرد زغال زیستی برنج مایه کاهش کارایی آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون رداکتاز می‌شود (۱۵).

گزارش شده است که زغال زیستی بقایای برنج مایه افزایش قابلیت بهره‌گیری از پتاسیم می‌شود؛ اما اندازه کلسیم، منیزیم و سدیم تبادلی را کاهش می‌دهد (۱۱)؛ همچنین در بررسی وو و همکاران[2] (۳۴) زغال زیستی مایه کاهش (pH(۰/۴-۰/۲۵، افزایش کربن آلی خاک، CEC و فسفر فراهم خاک (به اندازه ۲-۵ برابر) و کاهش۴۳ درصدی در اندازه درصد سدیم تبادلی(ESP) خاک شور شد. پژوهش‌های اخترو همکاران[3] (۳) بیانگر آنست که زغال زیستی با جذب یون‌های نمک خاک-های شور مایه کاهش پیامدهای شوری بر رشد و کارکرد گیاهان می‌شود. زغال زیستی با جذب سدیم می‌تواند پیامدهای شوری بر گیاه را کاهش دهد. اضافه کردن زغال زیستی در هر سطح شوری به‌طور چشم گیری ازدیدگاه آماری بیومس ساقه، طول و حجم ریشه، کارکرد غده و اندازه فتوسنتز(a) را افزایش و مایه کاهش آبسیزیک اسید در برگ و آوند چوبی در مقایسه با تیمارهای بدون کاربرد زغال زیستی شد (۳). بهره‌گیری از زغال زیستی حاصل از برنج به تنهایی و همراه با کود نیتروژنی مایه افزایش ارتفاع گیاه، سطح برگ و اندازه فتوسنتز و کارکرد در برنج شد که از نظر اقتصادی قابل توجه است (۱۷).

پرولین

تجزیه داده‌ها نشان داد که پیامد باکتری، گچ، زغال زیستی و آب‌شویی و پیامدهای متقابل آن‌ها بر اندازه پرولین از دیدگاه آماری چشم‌گیر شد. شکل (۳) آزمون میانگین زغال زیستی، باکتری گچ بر اندازه پرولین در گیاه جو در دو سطح آب‌شویی را نشان می‌دهد. بیشترین اندازه پرولین در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری T17 همراه با گچ و زغال زیستی به اندازه ۳۱/۳ و کمترین در خاک آب‌شویی شده، بدون بهره‌گیری از هیچ بهساز ای (۸/۴۱) مشاهده شد. طبق نتایج محققان کاربرد همزمان گچ و زغال زیستی در خاک مایه افزایش رسانندگی الکتریکی و کاهش نسبت سدیم قابل جذب[4] (SAR) می‌شود(۲۶) و مایه تنش بیشتر می‌گردد، در نتیجه کارکرد پرولین در این تیمار نسبت به دیگر تیمارها بیشتر می‌باشد که مایه زنی با باکتری سبب افزایش اندازه پرولین می‌شود.

در شرایط تنش، انباشتگی پرولین سریعتر از اسیدآمینه‌های دیگر رخ می دهد. انباشتگی پرولین نتیجه هیدرولیز پروتئین‌ها بوده و مسیر پیشنهادی ساخت آن از گلوتامیک اسید گزارش شده است (۲۱). نتایج محققان نشانگر آن است که با افزایش شوری اندازه پرولین در گیاه افزایش می‌یابد (۱۴). کاهش کلروفیل در گیاه زیر تاثیر شوری را می‌توان به دلیل افزایش پرولین دانست که منجر می‌شود گلوتامات که پیش ماده سنتز کلروفیل است کمتر در سنتز آن نقش داشته باشد (۲۸).

اندازه پرولین در گیاهان مایه زنی شده با آزوسپیریلوم سازگار به مناطق شور و غیر شور در برابر گیاهان شاهد به ترتیب به اندازه ۶۲/۴۴ و ۳۶/۹۶ درصد زیر تنش شوری افزایش یافت (۱۲). تلقیح سیانوباکتری مایه کاهش اندازه سدیم و افزایش اندازه پرولین در برنج گردید همچنین مایه افزایش رشد و کارکرد برنج شد (۱). مایه زنی با باکتری بردبار به نمک *Bacillus aquimaris*

1- Farhangi-Abriz *et al.*
2- Wu *et al.*
3- Akhtar *et al.*
4- sodium adsorption ratio

www.SID.ir

Archive of SID

SU*8* مایه افزایش معنی‌داری در اندازه پرولین و انباشتگی قند محلول در گندم شده در حالیکه *Bacillus aquimaris* SU44 مایه انباشتگی قندهای احیا کننده در طی ۶۰ روز شده است. اغلب مایه زنی باکتری‌های محرک رشد بردبار به نمک مایه افزایش درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ‌ها شدند (۳۱).

زغال زیستی با فراهمی عناصری همانند کلسیم، منیزیم و پتاسیم و کاهش سدیم و افزایش ظرفیت نگهداری آب برای گیاه و فراهمی شرایط بهتر رشد برای باکتری‌ها می‌تواند بر اندازه پرولین در گیاه نیز تاثیر بگذارد.

پایداری پرده یاخته

نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که پیامد باکتری، زغال زیستی، گچ دارای پیامد چشم‌گیری بر اندازه پایداری پرده یاخته در سطح ۵٪ می‌باشند. شکل (۴) آزمون میانگین زغال زیستی، باکتری گچ بر پایداری پرده یاخته در گیاه جو در دو سطح آب‌شویی را نشان می‌دهد. بیشترین اندازه پایداری پرده یاخته با اختلاف از دیدگاه آماری چشم-گیری در جدایه T17 و کمترین اندازه پایداری پرده یاخته در تیمار بدون مایه‌زنی با باکتری مشاهده شد. کاربرد زغال زیستی و گچ در خاک مایه افزایش پایداری پرده یاخته شد. همچنین آب‌شویی با ۵۰٪ نیاز گچی مایه کاهش سدیم تبادلی و کاهش پیامدهای شور و سدیمی بر گیاه شد. آب‌شویی خاک به تنهایی در افزایش پایداری پرده یاخته به‌دلیل خروج نمک اضافی ازخاک تاثیر داشته اما به تنهایی بدون بهسازهاکافی نبوده است. در کاربرد همزمان باکتری بسته توان افزایندگی رشد (ساخت اکسین، پلی‌ساکارید برون یاخته ای، گشودن برخی کانی‌های دارای عناصر مانند پتاسیم و ...) که مایه جذب بهتر عناصر و آب شده و مایه افزایش رشد گیاه و در نتیجه پایداری و بردباری گیاه شد.

تنش‌ها، می‌توانند مایه انباشتگی گونه‌های کارا اکسیژنی در گیاهان شوند که مایه آسیب به گیاه در ساخت بسیاری از ترکیب یاخته‌ای های یاخته، مانند چربی، پروتئین، کربوهیدرات و اسیدهای نوکلئوتیک می‌شود. تنش شوری و خشکی با نشانه بد بر پرده یاخته سیتوپلاسمی و آسیب به آن مایه رها شدن اندوخته یاخته می‌شود و در پایان مرگ یاخته می‌گردد.

وانوزی[1] (۳۳) نشان داد تنش خشکی از یاخته‌ای فرگشت دیواره یاخته جلوگیری نموده و مایه نشت الکترولیت از دیواره یاخته ای می‌گردد. با توجه به آسیب پذیری پرده یاخته سیتوپلاسمی محتویات سلول به بیرون تراوش می-کند که اندازه آن را می توان با اندازه‌گیری نشت یونی و رسانندگی الکتریکی اندازه گرفت.

مایه‌زنی با باکتری از راه کاهش جذب سدیم و افزایش جذب کلسیم و همچنین افزایش جذب آب در گیاه مایه پایداری پرده یاخته در برابر تنش کم آبی و شوری می-شود.

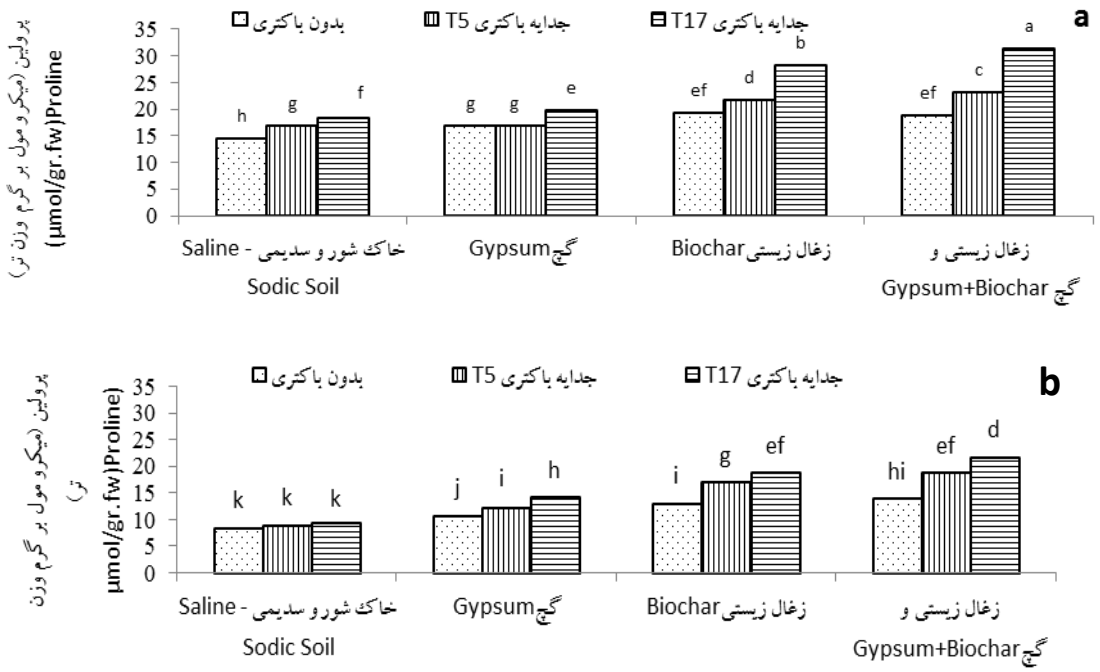
پوربابایی و همکاران[2] (۲۴) گزارش دادند که مایه زنی گندم با باکتری بردبار به نمک مولد آنزیم ACCدآمیناز *Bacillus mojavensis.* مایه افزایش پایداری پرده یاخته در شوری ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر شده است؛ همچنین کاربرد زغال زیستی، به‌دلیل توانایی بالا در جذب و نگهداری آب و با فراهمی کلسیم، مایه کاهش خسارت ناشی از تنش کم آبی بر پرده یاخته سیتوپلاسمی می‌شود.

حضور کلسیم در محیط و افزایش جذب آن، مایه کاهش جذب Na^+ و کاهش سمیت آن می‌شود. کلسیم با پیوند گروه‌های فسفات و کربوکسیل فسفو لیپید ها و پروتئین‌ها در سطوح پرده یاخته مایه افزایش پایداری و در نتیجه افزایش رشد گیاه می‌شود.

1- Vannozi
2- Pourbabaee *et al*.

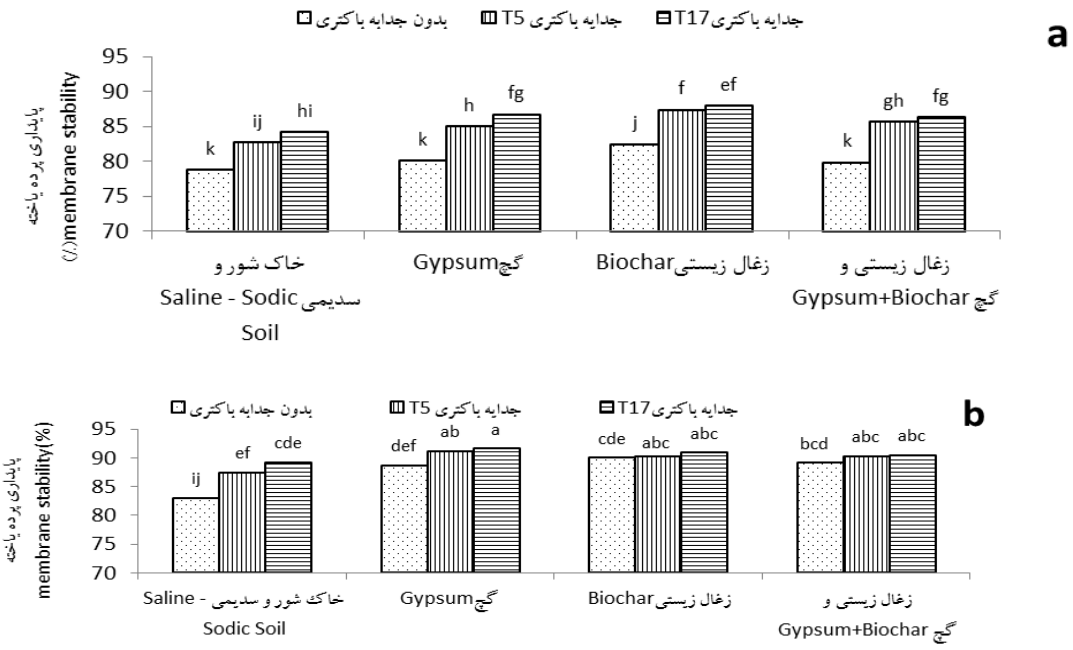
www.SID.ir

Archive of SID



شکل(۳) آزمون میانگین پرولین در بافت‌های برگی گیاه جو در تیمارهای مایه زنی، زغال زیستی و گچ، (a) بدون آب‌شویی(b) آب‌شویی شده

Figure(3) Mean comparison of proline in plant tissue in bacteria, biochar and gypsum treatments, (a) without leaching and (b)with leaching



شکل(٤) آزمون میانگین پایداری پرده یاخته‌ای در بافت‌های برگی گیاه جو در تیمارهای مایه زنی، زغال زیستی و گچ، (a) بدون آب‌شویی(b) آب‌شویی شده

Figure(4) Mean comparison of membrane stability in plant tissue in bacteria, biochar and gypsum treatments, (a) without leaching and (b) with leaching

در هر ستون میانگین‌های با واژهای یکسان از دیدگاه آمازی ناهمانندی چشم گیری ندارند

Columns followed by the same letters are not significantly different ($p<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

این پژوهش، نشان داد که شور و سدیمی بودن خاک مایه افزایش اندازه کارایی آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاه می‌شود. مایه‌زنی با ریزجانداران و زغال زیستی، مایه کاهش این آنزیم‌ها و افزایش پرولین و پایداری پرده یاخته در گیاه جو رقم صحرا شد. هردو باکتری به‌کار رفته مایه کاهش اندازه کارایی این آنزیم‌ها و افزایش پرولین در گیاه شدند که این پیامد در باکتری T17 (*Bacillus licheniformis*) بیشتر از باکتری T5 (*Bacillus megaterium*) بود. باکتری‌های افزاینده رشد از راه ساخت آنزیم‌های دفاعی گوناگون، همانند (کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز) ساخت هورمون‌های گیاهی و نیز ساخت رها سازی پلی-ساکارید برون یاخته‌ای، در افزایش پایداری گیاهان دربرابر تنش کارایی دارند. از آن‌جایی‌که زغال زیستی یک ماده سرشار از کربن است، در خاک‌های سرزمین-های خشک و نیمه‌خشک که ماده آلی پایینی دارند، با نگاه به‌توان بهسازی زغال زیستی در خاک همانند کاهش چگالی ظاهری خاک، افزایش گنجایش تبادلی خاک، افزایش کاتیون-های پتاسیم وکلسیم به خاک، افزایش توان نگهداری آب، پخشیدگی بهتر ریشه و جذب بهتر عناصر غذایی و آب در گیاه، می‌تواند همانند گچ کارایی بالایی در بهسازی خاک‌های شور سدیمی داشته باشد. نظر به افزایش پهنه زمین‌های دچار دشواری شوری و شور سدیمی، برای مدیریت بهتر و کاراتر این زمین‌ها، بهره‌گیری از مواد آلی، همانند زغال زیستی و ریزجانداران نمک دوست می‌تواند راهکاری شایسته در راستای افزایش کارکرد و پایداری گیاهان باشد.

منابع

1. Abbas, H.H., Ali, M.E., Ghazal, F.M., and El-Gaml, N.M. 2015. Impact of Cyanobacteria Inoculation on Rice (*Orize sativa*) Yield Cultivated in Saline Soil. Journal of American Science, 11(2):13-19.

2. Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105, 121–126.

3. Akhtar, S., Andersen, M N., Iu, F. 2015. Residual effects of biochar on improving growth, physiology and yield of wheat under salt stress. Agricultural Water Management, 15: 861–868.

4. Babaeian Jelodar, N., and ZiaTabar Ahmadi, M. 2002. Plant Growth in Salt Lands (Translation). Mazandaran University Press. Mazandaran.408 pp (in Persian)

5. Bates, L.S., Waldren, R.O., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for waterstress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

6. Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D., and Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant Stress Responses. Cellular and Molecular Life Sciences, 57: 779-795.

7. Deshwal, VK., Kumar, P. 2013. Effect of salinity on growth and PGPR activity of Pseudomonads. Journal of Academia and Industrial Research, 2(6):353-356.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Farhangi- Abriz, S., Torabian, SH. 2017. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 137: 64–70

9. Gossett, DR., Millhollon, EP., and Lucas, MC. 1994. Anti oxidant response to NaCl stress in Salt-tolerant and Salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Science, 34: 706-714.

10. Grover, M., Ali, S.Z., Sandhya, V., Rasul, A., and Venkateswarlu, B. 2011. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(5): 1231-1240

11. Haefele, S., Konboon, Y., Wongboon, W., Amarante, S., Maarifat, A., Pfeiffer, E., Knoblauch, C., 2011. Effects and fate of biochar from rice residues in rice-based systems. Field Crops Research, 121(3):430-441.

12. Hajinia, S., Zarea, M.J. 2014. Effect Of Co-Inoculation Of Endophytic Fungus Piriformospora Indica And Azospirillum Strains On Some Physiological Traits, Nutrient Absorption And Grain Yield Of Wheat (Triticum Aestivum Cv. Sardari) Under Salt Stress Conditions. Plant Products Technology (Agricultural Research), 14 (2); 149 -161. (in Persian)

13. Jensen H L., 1951. Notes on the biology of Azotobacter. Journal of Applied Microbiology, 14 (1): 89-94

14. Kamalnejad, J., S. Farrahi-Aschtiani and F. Ghanati. 2006. The effects of salinity and potassium on growth and proline accumulation in two barley cultivars. Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 13(1): 58-66. (in Persian)

15. Kim, HS., Kim, KR., Yang, JE., Ok, YS., Owens, G., Nehls, T., Wessolek, G.,and Kim, KH. 2016. Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize (Zea mays L.) response. Chemosphere, 142: 153–159.

16. Kohler, J., Hernandez, J.A., 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. Environmental and Experimental Botany, 65:245-252

17. Lai, L., Ismail, M. R., Muharam, F. M., Yusof, M. M., Ismail, R., and Jaafar, N.M. 2017. Effects of Rice Straw Biochar and Nitrogen Fertilizer on Rice Growth and Yield. Asian Journal of Crop Science, 9 (4): 159-166.

18. Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., and Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota: A review. Soil Biology and Biochemistry, 43: 1812-1836.

19. Miller, KJ., and Woods, JR. 1996. Osmoadaptation by rhizosphere bacteria. Annual Review of Microbiology, 50: 101-136.

20. Minami, M., and Yoshikawa, H. 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. Clinica Chimica Acta, 92: 337–342.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Mureiel, J. 1984. Free proline and reducing sugars accumulation in water stress. SerAgrincola, 29:39-46.

22. Omar, M.N.A., Osman, M.E.H., Kasim, W.A., and Abd El-Daim, L.A. 2009. Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stress using Azospirillum brasilense. Salinity and Water Stress, pp.133-147.

23. Pan, Y., Wu, L.J., and Yu, Z.L. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis fisch). Plant Growth Regulation, 49: 157-165.

24. Pourbabaee, A.A., Bahmani, E., Alikhani, H.A. and. Emami, S. 2016. Promotion of Wheat Growth under Salt Stress by Halotolerant Bacteria Containing ACC deaminase. Journal of Agricultural Science and Technology, 18: 855-864

25. Sairam, R.K. and. Saxena. D.C 2001. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184: 55-61

26. Schultz, E., Chatterjee, **A.**, DeSutter, T., and Franzen, D. 2017. Sodic Soil Reclamation Potential of Gypsum and Biocharadditions: Influence on Physicochemical Properties and Soil Respiration. Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis, 48(15); 1792-1803.

27. Tan, Y., Liang, Z.S., Hongbo, H.B., and Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at graining stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 49: 60-65.

28. Tavakoli, F., Vazan, S., Sorkheh, K., Shakeri, E. 2016. Effect of Salinity Stress on Some Physiological Traits and Electrophoresis Pattern of Leaf Proteins of Two Barley Genotypes. Journal of Crop Production and Processing, 6 (19): 191-202. (in Persian)

29. Thomas, S., Frye, S., Gale, N., Garmon, M., Launchbury, R., Machado, N., Melamed, S., Murray, J., Petroff, A., and Winsborough, C. 2013. Biochar mitigates negative effects of salt additions on two herbaceous plant species. Journal of Environmental Management, 129: 62-68.

30. Tsai, WT., Liu, SC., Chen, HR., Chang, YM., and Tsai, YL. 2012. Textural and chemical properties of swinemanure-derived biochar pertinent to its potential use as a soil amendment. Chemosphere, 89(2): 198-203.

31. Upadhyay, S. K., and Singh, D.P. 2015. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. Plant Biology, 17: 288–293

32. Upadhyay, S.K., Singh, J.S., and Singh, D.P .2011. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. Pedosphere, 21: 214-222.

www.SID.ir

Archive of SID

33. Vannozi G.a.L F. 2007. Proline accumulation during drought rhizogene in maise. Journal of Plant Physiology, 85: 441-467.

34. Wu, Y., Xu, G., and Shao, H B. 2014. Furfural and its biochar improve the general properties of a saline soil. Solid Earth, 5: 665–671.

35. Yan, P., Wu, L.J., and. Yu, Z. L. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhizauralensis fisch*). Plant Growth Regulation, 49:157–165.

36. Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., and Li, C. 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. European Journal of Soil Biology, 46:49-54.

37. Younesi, O., Moradi, A. 2016. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) on antioxidant enzyme activities in salt-stressed.wheat. Journal of Crops Improvement, 18(1); 21-30. (in Persian)

www.SID.ir