



تأثیر تنش کمبود آب و کود زیستی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان و نقش آنها در تغییرات عملکرد جو (*Hordeum vulgare*)

محمدرضا دادنیا^۱

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۷

چکیده

برای بررسی برخی خصوصیات کمی جو در واکنش به کود زیستی تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به صورت کرت های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اجرا گردید. در این آزمایش تیمارهای آبیاری در کرت‌های اصلی شامل ۳ سطح، آبیاری در ۸۰، ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال، ۳۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی) و کرت‌های فرعی شامل تلقیح بذر با باکتری در ۷ سطح (آزوسپیریلوم لیپوفروم، ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، سودوموناس × ازتوباکتر، سودوموناس × آزوسپیریلوم و ازتوباکتر × آزوسپیریلوم) و شاهد (عدم تلقیح) بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد کود زیستی اثر معنی‌دار بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در سطح ۱ درصد داشت. در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت تاثیر کودهای زیستی افزایش یافت، به طوری که آزوسپیریلوم لیپوفروم به ترتیب سبب افزایش ۱۶/۷ و ۲۱/۴ و سودوموناس × آزوسپیریلوم سبب افزایش ۱۸/۲ و ۲۵/۹ درصدی سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز در تیمار آبیاری در شرایط آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد شدند. میزان عملکرد در این شرایط در تیمارهای باکتری نسبت به آبیاری نرمال کاهش اندکی نشان داد و عملکرد در تیمار آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و تحت تاثیر آزوسپیریلوم فقط ۱۳/۲ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش یافت. داده‌ها نشان داد کود زیستی نقش موثر در بهبود عملکرد جو در شرایط کمبود آب در مراحل انتهایی رشد دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش کمبود آب، سوپر اکسید دیسموتاز، کود زیستی، گلووتاتیون پراکسیداز

دادنیا، م. ۱۳۹۷. تأثیر تنش کمبود آب و کود زیستی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان و نقش آنها در تغییرات عملکرد جو. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۳: ۱۰-۱.

مقدمه

به طور کلی در شرایط کمبود آب قابلیت جذب عناصر غذایی در محلول خاک بدلیل افزایش غلظت یون سدیم کاهش یافته و منجر به اختلال در امر تغذیه گیاه می شود (سپوخینا و همکاران، ۲۰۱۳). اکثر گزارش ها حاکی از آن است که کمبود آب سبب کاهش رشد و تولید ماده خشک گیاهان می شود (میتلر و بلوم والد، ۲۰۱۴). یکی از شاخص های مهم در تحمل کمبود آب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت است. گیاه برای ساخت این آنزیم ها (سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پر اکسیداز) انرژی زیادی مصرف می کند ولی استعمال کودهای زیستی میزان فعالیت این ترکیبات را افزایش دهد (هیلاکس، ۲۰۱۲). گزارش هایی مبنی بر اثرات مثبت کاربرد کودهای زیستی در شرایط کمبود آب شامل آزوسپیریولوم، سودوموناس و ازتوباکتر بر عملکرد گیاهان زراعی مانند جو، گندم، ذرت و سورگوم وجود دارد که عمدتاً به افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پر اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مربوط می شود (کریسن و همکاران، ۲۰۱۵). این آنزیم ها بعنوان تثبیت کننده نیتروژن در شرایط کمبود آب سبب افزایش جذب ترکیباتی نظیر NH_4^+ ، NO_3^- ، Fe و K شده به طوری که تحت این شرایط وضعیت آبی گیاه تا حدودی بهبود یافته و منجر به تولید فیتوهورمون هایی نظیر ایندول استیک اسید می شود (آتکینسون و اوروین، ۲۰۱۲). آزوسپیریولوم از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در غلات محسوب می شود که بصورت همیار با ریشه، تثبیت زیستی نیتروژن را انجام می دهد (هوگس و استاچویکس، ۲۰۱۳). سویه لیپوفروم^۱ در آزوسپیریولوم سبب احیاء گلوکاتایون شده و زمانی که کمبود آب رخ می دهد آب کشیدگی در گیاه را به تاخیر انداخته و سبب آزاد شدن سوپر اکسید دیسموتاز از پپتیدها می شود. ادامه این روند فرآیند خود هضمی^۲ اکسیژن را در گلوکاتایون پر اکسیداز تحریک کرده و رشد گیاه در شرایط کمبود آب را موجب می شود (بارگس و همکاران، ۲۰۱۲). به نظر می رسد بروز تنش کمبود آب در گیاهان سبب جابجایی و کاهش ترکیبات آلی می شود و توزیع فضایی سوپراکسید دیسموتاز می تواند در برقراری مقاومت نسبت به کمبود آب مهم باشد (زی هانگ و سو، ۲۰۱۱).

ازتوباکترها کلا پلی مورفیک بوده و سویه کروکوکوم^۳ در این باکتری قادر است اکسیداسیون تیروزین توسط آنزیم تیروزیناز را تحریک کرده و رشد ریشه در زمانی که میزان رطوبت در ناحیه

ریزوسفر کم است را سبب شود (ایپیک و همکاران، ۲۰۱۴). مهار تیروزین توسط ازتوباکتر از جدا شدن رشته های DNA و RNA به هنگام بروز کمبود آب جلوگیری نموده و بقای سلول را از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت افزایش می دهد (شیاب و همکاران، ۲۰۱۳). ازتوباکتر با سه راهکار عمده باعث افزایش رشد می گردد: ۱) افزایش پتانسیل آب در منطقه ریشه که سبب افزایش آب قابل جذب در ریزوسفر می شود؛ ۲) مسمومیت یون هلی نظیر سدیم و کلراید را کاهش می دهد؛ ۳) برقراری توازن در انتقال عناصر غذایی در شرایط تنش از طریق افزایش گلوکاتایون محلول در آب (کالوو و همکاران، ۲۰۱۴). مطالعات نشان می دهند کاربرد ازتوباکتر به همراه آزوسپیریولوم در جو علاوه بر افزایش فراهمی عناصر غذایی در شرایط کمبود آب از تشدید شدت تنش اسمزی که در اثر افزودن کودهای شیمیایی اتفاق می افتد بواسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت جلوگیری به عمل می آورد (گاریدو و همکاران، ۲۰۱۴). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت می تواند به دلیل نقش آزوسپیریولوم و ازتوباکتر در کاهش میزان کند کننده های رشد از قبیل ابسزیک اسید باشد و این بواسطه تولید اکسین در شرایط تنش و اتصال سوپر اکسید دیسموتاز به رادیکال آزاد اکسیژن بوده و یکی از مهم ترین ساز و کارها در مورد سویه های کروکوکوم و لیپوفروم محسوب می شود (برس و همکاران، ۲۰۱۲).

گلوکاتایون ردوکناز ترکیب آلی با وزن مولکولی کم و لیگاند شیمیایی با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای پیوند شدن با آهن و اکسیژن است (کاپوریگا و همکاران، ۲۰۱۲). بعضی از سویه های باکتری قادرند در شرایط کمبود آهن قابل دسترس که در زمان کمبود آب بوجود می آید گلوکاتایون ردوکناز ترشح کنند (نیوتن و همکاران، ۲۰۱۴). این سازوکار علاوه بر تامین آهن و آب مورد نیاز گیاه اثر غیر مستقیمی هم بر رشد گیاهان می گذارد چون گلوکاتایون ردوکناز به گلوکاتایون پراکسیداز تبدیل شده و سبب افزایش دسترسی میکروارگانسیم ها به آهن می شود (ما و همکاران، ۲۰۱۴). از مهم ترین تولید کنندگان ردوکناز در گیاه، سودوموناس می باشد (کیم و همکاران، ۲۰۱۵). اهمیت ویژه سویه های مختلف سودوموناس در بین انواع متابولیت های میکروبی که در ریزوسفر آزاد می شوند، از یک سو به دلیل نقش کلیدی گلوکاتایون ردوکناز در فرآیندهای متابولیک حیاتی در گیاهان و از سوی دیگر با ویژگی های خاص عنصر آهن در خاک ارتباط پیدا می کند (نیتنر و همکاران، ۲۰۱۴). در تحقیقی نشان داده شد که میزان گلوکاتایون ردوکناز در اندام های هوایی جو در

1- Lipoferum
2- Autolize
3- Chroococcum

کاملاً پر از آب نموده و روی آن با پلاستیک محصور شد تا خاک کاملاً اشباع شود و بعد از مدت ۲۴ ساعت که آب خلل و فرج درشت خاک توسط نیروی ثقل خارج شد و توسط روش آنتکینسون و اوروین (۲۰۱۲)، ظرفیت زراعی با دستگاه رطوبت سنج دستی دو بار اندازه‌گیری شد تا دو روش با هم مقایسه و تفاوت چندانی دیده نشود. اعمال تیمار کمبود آب از ۱۵ اردیبهشت بدین صورت انجام گرفت که رطوبت خاک پس از اینکه به میزان مورد نظر رسید (کنترل رطوبت با دستگاه رطوبت سنج) آبیاری انجام شد (تنش بر اساس دور آبیاری) به طوری که در تیمارهای تنش ۲۰، ۳۵ و ۵۰ درصد به ترتیب هر ۶، ۹ روز و ۱۲ روز یک بار آبیاری انجام گرفت. برای جلوگیری از نفوذ رطوبت در اثر بارندگی احتمالی تیمارهای ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در ۱۵ اردیبهشت با داربست و نایلون پوشش داده شد.

در تیمارهای مایه زنی بذری با ریزوباکترها، پس از محاسبه میزان بذری برای هر تیمار مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح که هر گرم آن دارای جمعیت 5×10^9 (ازتوباکتر)، 2×10^7 (سودوموناس) و 8×10^6 (آزوسپیریولوم) باکتری زنده و فعال بود از موسسه داروسازی رازی کرج تهیه و برای هر ۱۰۰ گرم بذری تعیین و پس از ریختن بذری در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی و اضافه کردن محلول ۱ درصد آب و شکر برای چسبناک کردن سطوح بذری، کیسه‌های حاوی بذری و ماده چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند تا سطح کلیه بذرها به طور یکنواخت چسبناک شود. پس از آن، مایه تلقیح به بذرها چسبناک اضافه گردید و پس از ۴۵ ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایه تلقیح به بذرها، بذرها آغشته شده را روی ورقه آلومینیومی تمیز در سایه پهن گردیدند تا سطح بذری تا حدودی خشک گردند و سپس به سرعت نسبت به کاشت بذری اقدام گردید. برای تیمارهای سودوموناس، ازتوباکتر، سودوموناس، آزوسپیریولوم و ازتوباکتر، آزوسپیریولوم، ۱۰ گرم (مجموعاً ۲۰ گرم) از مایه تلقیح با هم مخلوط و برای ۱۰۰ گرم بذری در نظر گرفته شد (اپیک و همکاران، ۲۰۱۴). کاشت بذری روی خطوط کاشت و در عمق ۴ سانتی متری در ۱۰ مهر ماه و برداشت در ۱۰ تیرماه انجام و رقم مورد کاشت، والفجر بود.

کمپلکس تشکیل شده با آهن بیشتر بوسیله سویه پوتیدا صورت گرفت به طوری که تحت این شرایط میزان رادیکال هلی آزاد اکسیژن موجود در بافت کاهش یافت (جانگ و همکاران، ۲۰۱۴). این امر نشان می‌دهد که سودوموناس می‌تواند موجب افزایش سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پر اکسیداز در گیاه شده و سبب کاهش اثرات منفی تنش بر رشد و توسعه اندام‌های گیاهی بویژه ریشه در شرایط کمبود آب شود (بانگ و همکاران، ۲۰۱۳).

بر این اساس هدف از اجرای این پژوهش، بررسی افزایش میزان سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پر اکسیداز تحت تاثیر باکتریهای محرک رشد در شرایط تنش کمبود آب و نقش آن بر عملکرد در رقم والفجر جو بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد. مختصات جغرافیایی مکان آزمایش طول و عرض جغرافیایی به ترتیب $32^{\circ}54'$ شرقی، $41^{\circ}32'$ شمالی، ارتفاع از سطح دریا ۱۸۰۰ متر و آب و هوای منطقه نیمه مرطوب بود. جهت بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، از خاک محل آزمایش نمونه برداری صورت گرفت که نتایج در جدول ۱ ارائه شده است.

این طرح به صورت کرت هلی خرد شده با ۴ تکرار در قالب بلوک‌های کامل تصادفی به طوری که رژیم آبیاری در ۳ سطح شامل آبیاری در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (۲۰ درصد تخلیه رطوبتی) (I₁)، آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی (۳۵ درصد تخلیه رطوبتی) (I₂) و آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (۵۰ درصد تخلیه رطوبتی) (I₃) در کرت اصلی و ۷ تیمار باکتری (B) شامل آزوسپیریولوم لیوفورم، ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، سودوموناس ازتوباکتر، سودوموناس آزوسپیریولوم و ازتوباکتر آزوسپیریولوم و شاهد (عدم استفاده از باکتری) در کرت فرعی قرار گرفت. بین هر دو کرت فرعی، یک متر و بین هر دو کرت اصلی، ۱/۵ متر فاصله منظور شد و فاصله بین دو تکرار نیز دو متر تعیین گردید. هر کرت آزمایشی شامل ۵ خط (۲ خط بعنوان حاشیه و ۳ خط برای نمونه‌گیری و اندازه‌گیری صفات) به طول ۶ متر بود. جهت اعمال تنش از یک روش ساده استفاده شد و برای ارزیابی ظرفیت زراعی مزرعه (FC) یک کرت ۲×۲ را تهیه و آن را

جدول ۱- مشخصات خاک قطعه زمین مورد کشت آزمایشی (عمق ۰-۳۰ سانتی متری)

pH	EC (ds.m ⁻¹)	N (%)	P Mg.kg ⁻¹	K Mg.kg ⁻¹	SP (%)	OM (%)	بافت	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
۷	۲/۳۱	۱/۰۵۹	۳/۸۲	۱۵۸	۸۹	۱/۸۸	سیلتی رسی	۳۷	۴۷	۲۱/۲

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	گلوتاتیون پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
تکرار	۳	ns, ۰/۶۵۴	ns, ۰/۹۳۱	ns, ۰/۷۵۲	ns, ۰/۸۳۲	ns, ۰/۷۹۱
(a) تنش کمبود آب	۲	** ۳۹۵/۴۲	** ۲۵۹/۶۱	** ۲۶۸/۴۶	** ۳۰۲/۷۱	** ۱۱۹۸/۳۵
خطای a	۶	۱۶/۲۱۳	۵/۶۱۱	۶/۷۹۷	۵/۹۹۸	۱۵/۷۰۳
(b) کود زیستی	۶	** ۳۵۵/۴۳	** ۵۲۵/۴۴	** ۴۵۵/۳۲	** ۴۸۵/۹۴	** ۹۲۱/۳۶
ab برهمکنش	۱۲	** ۲۸۱/۷۶	** ۴۳۹/۶۸	** ۳۱۲/۲۶	** ۳۵۳/۵۱	** ۶۷۶/۲۲
b خطای	۵۴	۷/۴۴۷	۴/۵۵۲	۵/۷۴۱	۴/۱۱۹	۵/۶۱۴
ضریب تغییرات %	۵/۴۴	۶/۲۷	۶/۰۲	۵/۹۷	۴/۷۹	

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۱٪

(Z) بر اساس یک واحد آنزیم موجود در هر گرم پروتئین برگ اندازه گیری شد.

جهت تعیین وزن دانه پس از جمع آوری سنبله ها تعداد دانه در ۵ سنبله از هر تیمار بطور تصادفی شمارش و سپس برای ارزیابی وزن هزار دانه، از هر تیمار دو نمونه ۵۰۰ تایی انتخاب و توزین و در صورتی که اختلاف وزن کمتر از پنج درصد بود، مجموع وزن آنها به عنوان وزن هزار دانه در نظر گرفته شد. پس از برداشت تمام اندام های هوایی گیاه از مساحت یک مترمربع تعداد ۵ بوته در نظر گرفته شد و دانه ها جدا و عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد.

جمع آوری داده ها و تجزیه واریانس کلیه صفات مورد بررسی بوسیله نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد و میانگین داده ها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

سوپر اکسید دیسموتاز

برای ارزیابی آنزیم ها پس از شستشوی برگ ها (۵۰۰ گرم برگ برای هر تیمار) ۲۰ روز بعد از اعمال تنش، بلافاصله آنها را در بافر فسفات تریس ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ خرد و هموژن کرده و سپس مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش پاگلیبا و ولتاین (۱۹۸۷) برداشته و در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس تغییرات جذب نوری حاصل از اکسیداسیون ابی نفرین (چانگ و همکاران، ۲۰۱۵) اندازه گیری و بعنوان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) ^۱ بر اساس یک واحد آنزیم در هر گرم پروتئین برگ در نظر گرفته شد.

برای فعالیت گلوتاتیون پر اکسیداز (GPX) ^۲ برگ ها بوسیله آب مقطر شستشو و بلافاصله در بافر فسفات تریس ۰/۱۶ مولار با pH= ۷/۵ خرد و هموژن کرده و آنگاه اجازه داده شد فرآیند هضم غشاء و دیواره سلولی پیش رود. سپس بر اساس روش لی و کیم (۲۰۰۱) میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتیگراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو مدل (u 100

1 - Superoxide dismutase
2 - Glutathione peroxidase

بعلاوه این افزایش سطح فعالیت مانع از قطعه قطعه شدن میتوکلندری در اثر کم آبی می‌گردد (کریسن و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه به نتایج کمبود آب، اثر مثبت بر گلوکاتایون پراکسیداز داشته و میزان افزایش در تیمارهای ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در شرایط تلقیح بذر با آزو اسپیریلوم معادل ۱۹/۹۴ و ۲۱/۸۳ درصد و در تیمار سودوموناس آزو اسپیریلوم سبب افزایش ۳۰/۳۵ و ۳۰/۰۱ درصدی نسبت به شاهد گردید به طوری که این میزان افزایش در تیمارهای فوق به ترتیب در سودوموناس ۱۹/۵۶ و ۱۸/۰۱ درصد، از توپاکتر ۱۵/۲۸ و ۱۳/۹۷ درصد، تیمار از توپاکتر آزو اسپیریلوم، ۲۷/۵۷ و ۲۸/۰۱ درصد و تیمار سودوموناس آزو اسپیریلوم، ۲۶/۴۳ و ۲۵/۸۹ درصد نسبت به شاهد بود (جدول ۳).

گزارشات چانگ و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد در شرایط کمبود آب تلقیح بذر جو با آزو اسپیریلوم و سودوموناس و ترکیب این دو باکتری میزان گلوکاتایون پراکسیداز را به ترتیب ۱۸/۰۵، ۱۶/۸۴ و ۲۳/۵۷ درصد افزایش داد. این افزایش می‌تواند به دلیل جلوگیری از تسریع خشک شدن برگ باشد زیرا گلوکاتایون قادر است از جدا شدن ریبوزوم‌ها به هنگام بروز تنش هلی محیطی جلوگیری کرده و ترجمه پروتئین‌ها که بعنوان منبع تامین انرژی در گیاه محسوب می‌شوند را توسط رشته هلی DNA و RNA تحریک کرده و مرگ سلول در اثر کم آبی را به تاخیر اندازد (کالوو همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین افزایش میزان گلوکاتایون پراکسیداز در این آزمایش با مصرف توام آزو اسپیریلوم و سودوموناس می‌تواند به همین دلیل باشد (جدول ۳).

تعداد دانه در سنبله

نتایج جداول ۲ و ۳ نشان می‌دهند استعمال کود زیستی تاثیر معنی دار در سطح ۱ درصد داشته و نسبت به شاهد سبب افزایش در تعداد دانه در سنبله شده است. تعداد دانه در سنبله در تیمار سودوموناس آزو اسپیریلوم حداکثر بود و در تیمارهای ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۳۳/۱۰ و ۲۳/۷۰ بود (جدول ۳). تعداد دانه در سنبله یکی از پارامترهای مهم عملکرد دانه می‌باشد. تعداد دانه در هر سنبله بستگی به طول سنبله دارد که تحت تاثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در طول دوره رشد است (بانگ و همکاران، ۲۰۱۳).

نتایج تجزیه واریانس در مورد سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در اثر عوامل آزمایشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش شدت کمبود آب میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. این میزان افزایش در تیمارهای ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در شرایط تلقیح بذر با آزو اسپیریلوم سبب افزایش ۷/۹۵ و ۱۴/۳۱ درصدی و در تیمار سودوموناس آزو اسپیریلوم سبب افزایش ۱۳/۶ و ۱۵/۴ درصدی نسبت به شاهد گردید بطوریکه میزان افزایش سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای فوق به ترتیب در سودوموناس ۵/۶۷ و ۱۲/۵۹ درصد، از توپاکتر ۴/۶۱ و ۱۱/۴۱ درصد، تیمار از توپاکتر آزو اسپیریلوم، ۱۲/۷۴ و ۱۴/۹۵ درصد و تیمار سودوموناس آزو اسپیریلوم، ۱۱/۸ و ۱۴/۴۹ درصد نسبت به شاهد بود (جدول ۳). چانگ و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که کودهای زیستی خصوصا آزو اسپیریلوم با افزایش فراهمی عناصر و بهبود شرایط خاک برای جذب مواد غذایی باعث افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب می‌شود ولی چون در شرایط کمبود آب میزان رطوبت در ریزوسفر کاهش می‌یابد با توجه به اثر تدریجی مثبت کودهای زیستی در توسعه ریشه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت قطعا تولید آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول افزایش می‌یابد. گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد ممانعت کود زیستی از پیشرفت آسیب جمعی در پاسخ به کمبود آب از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت فرضیه‌ای است که تاثیر مثبت این ترکیبات را روی آنها در شرایط تنش را نشان می‌دهد. این فرضیه با استفاده از آزو اسپیریلوم در جو مورد تایید قرار گرفته است (رائو و همکاران، ۲۰۱۴) و اساس تحقیق انجام شده بر همین مبنا بود.

گلوکاتایون پراکسیداز

نتایج نشان داد که از لحاظ سطح فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد در بین عوامل آزمایشی و اثرات متقابل آنها وجود دارد (جدول ۲) به طوری که تحت شرایط تنش کمبود آب میزان گلوکاتایون پراکسیداز تحت تاثیر کود زیستی افزایش یافت (جدول ۲). این گونه به نظر می‌رسد که افزایش سطح فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در شرایط کمبود آب بدلیل تبدیل رادیکال آزاد اکسیژن به آب باشد.

جدول 3- مقایسه میانگین برهمکنش کمبود آب و کود زیستی بر صفات مورد بررسی

تنش کمبود آب	کود زیستی	گلو تاتیون پر اکسیداز (واحد بر گرم پروتئین برگ)	سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر گرم پروتئین برگ)	تعداد دانه در سنبله	وزن هزاردانه (g)	عملکرد دانه (kg/ha)
I ₁	شاهد	۷/۸۹d	۳۸۱/۲۴d	۳۴/۷۷e	۳۹/۷۷c	۳۲۵۵e
	آزوسپیریوم	۹/۸۲ab	۴۰۲/۳۷c	۳۹/۶۰c	۴۱/۲۰a	۳۳۳۰b
	سودوموناس	۸/۷۹c	۳۹۶/۲۲cd	۳۷/۴۰d	۳۷/۶۰d	۳۵۲۷c
	ازتوباکتر	۸/۴۱c	۳۹۳/۴۱cd	۳۴/۵۰e	۳۹/۳۰c	۳۴۰۱d
	سودوموناس×آزوسپیریوم	۱۰/۵۵ab	۴۳۳/۵۴a	۴۴/۸۰a	۴۱/۹۰a	۳۸۴۷a
	ازتوباکتر×آزوسپیریوم	۱۰/۳۱ab	۴۲۶/۸۶ab	۴۱/۳۰b	۴۱/۳۰a	۳۸۱۶a
	سودوموناس×ازتوباکتر	۹/۹۴ab	۴۲۵/۰۱ab	۴۱/۸۰b	۴۰/۴۰b	۳۷۰۱b
I ₂	شاهد	۷/۹۹d	۳۸۳/۱۱d	۲۴/۶۰j	۲۸/۵۶i	۲۸۴۱g
	آزوسپیریوم	۹/۹۸ ab	۴۱۶/۱۹c	۳۱/۴۰g	۳۱/۳۰ef	۳۱۸۷ef
	سودوموناس	۹/۸۱ab	۴۰۶/۱۲c	۲۸/۳۰hi	۲۸/۹۰gh	۳۱۹۱ef
	ازتوباکتر	۹/۴۳b	۴۰۱/۶۰c	۲۷/۸۰hi	۲۹/۴۰gh	۳۱۲۰ef
	سودوموناس×آزوسپیریوم	۱۱/۴۷a	۴۴۲/۶۵a	۳۳/۱۰ef	۳۲/۶۰e	۳۴۰۲d
	ازتوباکتر×آزوسپیریوم	۱۱/۰۳a	۴۳۹/۰۲ab	۳۲/۴۰ef	۳۱/۷۰ef	۳۲۹۸e
	سودوموناس×ازتوباکتر	۱۰/۸۶a	۴۳۴/۳۲ ab	۳۱/۵۰g	۳۱/۲۰ef	۳۲۶۴e
I ₃	شاهد	۸/۵۶c	۳۸۶/۲۵d	۲۰/۹۰lm	۲۲/۵۰n	۲۲۰۴i
	آزوسپیریوم	۱۰/۷۵a	۴۵۰/۷۵a	۲۱/۷۰l	۲۳/۲۰k	۲۷۴۲g
	سودوموناس	۱۰/۴۴ab	۴۴۱/۸۷a	۲۰/۲۰lm	۲۰/۹۰lm	۲۶۸۵b
	ازتوباکتر	۹/۹۵ab	۴۳۵/۹۶ab	۲۲/۴۰jk	۲۱/۴۰lm	۲۵۹۳gh
	سودوموناس×آزوسپیریوم	۱۲/۲۳a	۴۵۶/۵۴a	۲۳/۷۰j	۲۴/۶۰jk	۲۸۰۱g
	ازتوباکتر×آزوسپیریوم	۱۱/۸۹a	۴۵۴/۱۰a	۲۳/۱۰jzk	۲۳/۹۰k	۲۶۱۰gh
	سودوموناس×ازتوباکتر	۱۱/۵۵a	۴۵۱/۶۸a	۲۲/۹۰jk	۲۳/۸۰k	۲۷۸۳g

حروف غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشند

وزن هزار دانه

در جدول 3 همانطور که مشاهده می گردد تیمار سودوموناس×آزوسپیریوم تأثیر بیشتری در افزایش وزن هزار دانه نسبت به شاهد در شرایط کمبود آب داشته است. به طوری که این تیمار در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین وزن هزار دانه را به میزان ۴۱/۹۰ گرم و در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان وزن هزار دانه ۲۴/۶۰ گرم گردید. پس می توان گفت که اثر متقابل آزوسپیریوم و سودوموناس نقش مخرب تنش کمبود آب را تا حدودی خنثی کرده است. همانطور که در جدول ۲ دیده می شود در تیمارهای ۶۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی وزن هزار دانه به ترتیب در شاهد ۲۸/۵۶ و ۲۲/۵۰ گرم بود ولی با مصرف کود زیستی وزن دانه افزایش پیدا کرد به طوری که در تیمار

پتانسیل تعداد سنبله و تعداد دانه در سنبله قبل از مرحله گلدهی تعیین می شود، در نتیجه تحت تأثیر شرایط پس از گلدهی قرار نمی گیرند پس می توان گفت کودهای زیستی قادرند در شرایط کمبود آب کارایی انتقال عناصر غذایی را افزایش داده (چانگ و همکاران، ۲۰۱۴) به طوری که تحت این شرایط تعداد دانه در سنبله در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (۴۴/۸) نسبت به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (۲۲/۹) تفاوت معنی دار وجود داشت.

نتایج حاصل از اکثر مطالعات انجام گرفته بر روی رشد غلات و استعمال کودهای زیستی حاکی از افزایش شاخص های رشد رویشی و زایشی در این گیاه است زیرا کود زیستی قادر است میزان انتقال اکسین و جیبرلین را در شرایط تنش کمبود آب در حد بالا حفظ کرده و و اجزای عملکرد را از طریق تأثیر بر فعالیت آنتی اکسیدانت ها افزایش دهد (نیتنر و همکاران، ۲۰۱۴).

در عملکرد و وزن هزار دانه در سطوح مختلف از فاکتورهای مزبور ضمن اینکه بخشی از آن بدلیل معنی‌دار شدن اثر متقابل است و پایین بودن میزان ضریب تغییرات نشان دهنده دقت بالای آزمایش بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد باکتری قادر است در شرایط تنش کمبود آب عملکرد دانه را افزایش دهد (جدول ۲).

بیشترین عملکرد دانه با میانگین ۳۸۴۷ کیلوگرم در هکتار مربوط به شاهد در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و سودوموناس آزوسپیریوم بدون اختلاف معنی‌دار با ازتوباکتر آزوسپیریوم و کمترین آن با میانگین ۲۲۰۴ کیلوگرم در هکتار متعلق به تیمار آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در شاهد بود. همچنین استفاده از کود زیستی سبب افزایش عملکرد دانه شد ولی میزان افزایش در تیمار سودوموناس آزوسپیریوم به حداکثر رسید. بر اساس نتایج بدست آمده میزان عملکرد دانه در تیمار سودوموناس آزوسپیریوم در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی فقط با ۲۷/۲ درصد کاهش (با عملکرد ۲۸۰۱ کیلوگرم در هکتار) و در شرایط آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی با ۱۱/۵۷ درصد کاهش (با عملکرد ۳۴۰۲ کیلوگرم در هکتار) نسبت به آبیاری نرمال (با عملکرد ۳۸۴۷ کیلوگرم در هکتار) در تیمار سودوموناس آزوسپیریوم روبرو بود (جدول ۳).

اثرات مفید باکتری هلی ازتوباکتر، سودوموناس و آزوسپیریوم و بخصوص اثر متقابل سودوموناس پوتیدا و آزوسپیریوم لیپوفروم ممکن است در نتیجه مشارکت آنها در افزایش رشد گیاه به واسطه تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفات نامحلول خاک و تولید هورمون‌های گیاهی باشد که مجموعه این عوامل می‌تواند جذب بیشتر مواد غذایی توسط گیاه را تحریک کرده و منجر به بهبود فرآیند فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه شود (میشلر و همکاران، ۲۰۱۲ و جانسن، ۲۰۱۱).

تحقیقات چانگ و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد تاثیر تلقیح بذر با مخلوط سودوموناس و آزوسپیریوم در جو باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه در شرایط کمبود آب نسبت به شرایط عدم کاربرد آن شد. بر اساس مطالعات بارگس و همکاران (۲۰۱۲) تلقیح بذر با آزوسپیریوم برازیلنس و آزوسپیریوم لیپوفروم توسعه ریشه و عملکرد دانه را در گندم بهاره و ذرت در شرایط کمبود آب افزایش داده است. تاورنا (۲۰۱۲) نشان داد که تلقیح بذر جو با آزوسپیریوم لیپوفروم و سودوموناس پوتیدا، منجر به افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب می‌شود و این افزایش به دلیل کاهش آسیب اکسیداتیو ایجاد شده بود. علت اثر

سودوموناس آزوسپیریوم وزن هزار دانه به ترتیب ۳۲/۶۰ و ۲۴/۶۰ گرم شد.

تغییرات وزن هزار دانه نسبت به تعداد دانه در سنبله می‌تواند واکنشی در جهت تعدیل مخزن با منبع باشد. با کاهش تعداد دانه در سنبله مواد غذایی بیشتری به دانه‌های باقی مانده در سنبله‌ها انتقال می‌یابد و در زنتوپ هلی مختلف با مکانیسم خود تنظیمی و ایجاد تعادل بین اجزای عملکرد وزن هزار دانه افزایش خواهد یافت (برس و همکاران، ۲۰۱۲). وزن هزار دانه از اجزای نسبتاً پایدار عملکرد دانه غلات می‌باشد و این پایداری در ارتباط با تحرک ذخایر فتوسنتزی از ساقه و سایر اندام‌های رویشی است که می‌تواند کاهش محصول مواد فتوسنتزی را جبران نماید. بطور کلی عوامل محیطی در اوایل فصل رشد بیشتر بر تعداد دانه مؤثر هستند در صورتی که اندازه دانه عمدتاً توسط عواملی تعیین می‌شود که بعد از گرده افشانی اثرگذار هستند. مقدار مواد پرورده موجود برای انتقال به سنبله در فاصله گرده افشانی تا رسیدن تعیین می‌گردد چون بخش عمده وزن خشک دانه از فتوسنتز جاری پس از گلدهی تأمین می‌گردد و با توجه به این که کود نیتروژن اثر مثبتی روی فتوسنتز جاری دارد، پس این امر می‌تواند یکی از دلایل افزایش وزن دانه در این تیمار باشد (کاپوریگا و همکاران، ۲۰۱۲).

وزن هزار دانه تنها جزء از اجزای عملکرد است که به شرایط محیطی دوره پس از گلدهی بستگی دارد. در عین حال کاهش وزن دانه می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه گردد. نیوتن و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند بیشترین وزن هزار دانه در جو مربوط به سویه لیپوفروم در آزوسپیریوم (۳۷/۴۴ گرم)، پوتیدا در سودوموناس (۳۵/۹۱ گرم) و کروکوکوم (۳۶/۲۳ گرم) در ازتوباکتر بود. از دلایل بالا بودن وزن هزار دانه زنتوپ هلی تلقیح شده با باکتری هلی مورد نظر را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اشاره کرد که باعث فتوسنتز بیشتر و ساخت و ساز و ذخیره سازی بیشتر مواد غذایی شده است به طوری که رسیدن وزن هزار دانه به حدود ۳۲ گرم در شرایط تنش کمبود آب عمدتاً به همین عامل مربوط می‌شود (جدول ۳).

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس آماری نشان داد عملکرد دانه از نظر آماری تحت تأثیر اثر متقابل تنش کمبود آب و کود زیستی دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد بود. معنی‌دار شدن (در سطح ۱ درصد) نیز ناشی از هم‌روند نبودن تغییرات حاصله

بر اساس نتایج بالاترین عملکرد در شرایط آبیاری کامل و ترکیب آزوسپریلوم و سودوموناس بود. مقایسه میانگین صفات در شرایط کاربرد کود زیستی نشان داد که مصرف کود زیستی (سودوموناس، آزوسپریلوم و ازتوباکتر) خصوصاً مصرف توام آزوسپریلوم و سودوموناس میزان آنزیم هلی آنتی اکسیدانت افزایش یافته و بالاترین عملکرد در این تیمار در شرایط تنش مشاهده شد. مصرف توام ازتوباکتر و آزوسپریلوم و سودوموناس و ازتوباکتر از نظر تاثیر بر روی صفات در رده دوم و سوم قرار گرفتند و از نظر آماری تفاوت معنی‌دار بین آنها در اکثر موارد وجود نداشت ولی همین مقادیر ناچیز اثر مثبت بر روی عملکرد و اجزای عملکرد در شرایط کم آبی گذاشت.

مهاری کود زیستی بر تنش کمبود آب و در نهایت افزایش عملکرد را می‌توان عمدتاً به عدم تخریب ساختار کلروپلاست، افزایش سنتز و کاهش سرعت تجزیه کلروفیل نسبت داد (چانگ و همکاران، ۲۰۱۶). پس آنزیم هلی آنتی اکسیدانت، آزوسپریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس و مصرف توام باکتری‌ها قادرند تا حدودی از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش جلوگیری کنند و افزایش میزان عملکرد تحت تاثیر باکتری در شرایط کمبود آب عمدتاً به همین عامل مربوط می‌شود (تاو و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری

منابع

- Atkinson, N.J. and P.E.Urwin. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J. Exp. Bot.* 63: 3523-3543.
- Baeg, A.L., D.C. Yang and A. Hilkert. 2013. Antioxidant rate on metabolism and membrane stability in barley. *Plant physiol.* 38: 189-197.
- Beres, B.L., R.H. McKenzie, H.A. Cárcamo, L.M. Dosdall, M.L. Evenden, R.C. Yang and D.M. Spaner. 2012. Influence of seeding rate, nitrogen management and micronutrient blend applications on pith expression in solid-stemmed spring wheat. *Crop Sci.* 52: 1316-1329.
- Burgess, M. H., P. Miller and C. Jones. 2012. Pulse crops improve energy intensity and productivity of cereal production in Montana, U.S.A. *J. Sus. Agric.* 36: 544-561.
- Calvo-Polanco, M., B. Sánchez-Romera and R. Aroca. 2014. Mild salt stress conditions induce different responses in root hydraulic conductivity of barley. *Over-Time.* 9 (3): 320-326.
- Chung, I.M., I. Park, J.Y. Yoon and S.H. Kim. 2014. Determination of antioxidants authenticity using carbon and nitrogen natural isotopes. *Food Chem.* 160: 214-218.
- Chung, I.M., J.J. Lim, M.S. Ahn and S.H. Kim. 2016. Comparative phenolic compound profiles and antioxidative activity of the leaves and roots of barley according to cultivation years. *J. Gins. Res.* 40: 68-75.
- Creissen, H.E., T.H.Jorgensen and J.K.M. Brown. 2015. Impact of disease on diversity and productivity of barley plant populations. *Funct. Ecol.* 61: 1365-1374.
- Garrido, Y., M. Tudela, and L. Sharma. 2014. Physiological and structural changes of antioxidant enzymes in barley caused by drought stress. *J. Chem.* 75: 290-298.
- Hillocks, R.J. 2012. Farming with fewer bio fertilizers in barley with water deficit stress. *Crop Protec.* 31: 85-93.
- Hughes, A.R. and J.J.Stachowicz. 2013. Barley genotypic diversity increases azospirillum response via complementarity and dominance. *J. Ecol.* 108: 275-284.
- Ipek, M., L. Pirlak, A. Esitken and F. Sahin. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) increase of antioxidant activity in barley under water deficit conditions. *J.Plant Nutr.* 36 (8): 1205-1214.
- Jang, I.B., D.Y. Hyun, S.W. Lee and G.H. Kim. 2014. Analysis of growth characteristics affected by application of azospirillum and pseudomonas in barley field. *Crop Sci.* 22: 441-450.
- Jaynes, D.B. 2011. Confidence bands for measured economically optimum nitrogen rates. *Prec. Agric.* 12: 196-213.
- Kim, K., J.H. Song, S.C. Heo and J.S. Min. 2015. Discrimination of PGPR_s on glutathione in barley. *Forensic Science Int. J.* 301:115-126.
- Kyveryga, P.M., T.M. Blackmer and R. Pearson. 2012. Normalization of uncalibrated late-season digital aerial imagery for evaluating corn nitrogen status. *Prec. Agric.* 13: 2-16.

- Lee, D.H. and Y.S. Kim. 2001. The inductive response of the antioxidant enzymes by water deficit stress and selenium in C4 plants. *Plant Physiol.* 770: 151-174.
- Ma, Y., M.N.V. Prasad and H. Freitas. 2014. Biofertilizer and cell antioxidants in solun chalk soils. *Soil Biol.* 64: 425-432.
- Mischler, R.D., F.W. Badeck and G. Tcherkez. 2012. Post photosynthetic of stable antioxidant enzymes in organs with bio fertilizer. *Agron. J.* 298: 840-848.
- Mittler, R., and E. Blumwald. 2014. Genetic engineering for antioxidants in water deficit challenges and efficiencies. *Plant Biol.* 80: 671-680.
- Newton, A.C., A.J. Flavell, and T.S. George. 2012. Crops that feed the world 4. Barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. *Food Secure.* 3: 141-178.
- Nietner, T., S.A. Haughey, N. Ogle and C.T. Elliott. 2014. Determination of geographical origin of distillers dried grains and solubles using isotope ratio mass spectrometry. *Food Res. Int.* 60: 146-153
- Paglia, D.E. and W.N. Valentine. 1987. Studies on quantitative and qualitative traits of glutathione peroxidase. *Journal Lab Medical.* 70: 158-165.
- Rao, A., W. Weisany, and Z.K. Punja. 2014. Physiological responses of barley to biofertilizer application under low water stress. *Aust. J. Crop Sci.* 5: 1441-1447.
- Sapoukhina, N., Paillard, S., Dedryver, F., de Vallavieille-Pope, C., 2013. Quantitative plant resistance in nutrition absorbance in dry lands. *New Phytol.* 200: 888-897.
- Shiyab, S.M., M.A. Shatnawi, R.A. Shibli and M.W. Akash. 2013. Growth, nutrient acquisition and physiological responses of hydroponic grown tomato to sodium chloride salt induced stress. *J. Plant Nutr.* 36 (4): 665-676.
- Tao, H., T.F. Morris and J. Neafsey. 2012. Nutrient applications reported by farmers compared with performance-based nutrient management plans. *Agron. J.* 104: 437- 447.
- Taverna, D. 2012. Barley seed inoculation with bio products as in retranslocation of glutathione in plant tissue. *J. Agric. Food Chem.* 102: 982-992.
- Zhong, B. and Y.J. Xu. 2011. Scale effects of geographical soil datasets on soil carbon estimation in Louisiana. USA: A comparison of STATSGO and SSURGO.

Archive SID

Relation of water deficit stress and biofertilizer on some of antioxidant enzymes activity and their role on grain yield variation in barley (*Hordeum vulgare*)

M. Dadnia¹

Received: 2016-4-1 Accepted: 2016-8-28

Abstract

To evaluate the qualitative traits of barley in response to biofertilizers (Azotobacter, Pseudomonas and Azospirillum) with affected by different regimes of irrigation the experiment was carried out in Karaj Azad University research field in 2013 with split plot based on Completely Randomize Block Design with four replications. In this experiment irrigation treatments were in main plots with three levels which interrupt of irrigation at 80, 65 and 50% of field capacity (normal irrigation), (35 and 50 percent of humidity discharge) and sub plots contained seed inoculation with bacteria such as |inoculation with Azospirillum lipoferum, Azotobacter chroococcum, Pseudomonas putida, Pseudomonas×Azotobacter, Pseudomonas×Azospirillum, Azotobacter×Azospirillum | and control (un inoculation) in seven levels. The results of analysis of variance showed that biofertilizer had significant effect on antioxidant enzymes at 1% probability. The activity of antioxidant enzymes affected with biofertilizers were increased at water deficit condition which Azospirillum lipoferum caused increasing about 16.7% and 21.4% and Pseudomonas×Azospirillum caused increasing about 18.2% and 25.9% for superoxide dismutase and glutathione peroxidase in irrigation at 50% of field capacity, respectively than control. Yield showed low decrease in irrigation at 50% of field capacity than normal irrigation such as yield decreasing in irrigation at 50% of field capacity was only about 13.2% with affected by Azospirillum than normal irrigation. The data showed that biofertilizer have efficient role on barley yield at water deficit condition.

Keywords: Biofertilizer, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, water deficit

1- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran