

## بررسی اثر تنش شوری بر روی بیومارکرهاى بیوشیمیایی در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) و اسید هیومیک

### Effects of salinity stress on biochemical biomarkers activity of inoculated wheat by plant growth promoting bacteria (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonase putida*) and humic acid

داود حبیبی\*<sup>۱</sup>، داریوش فتح الله طالقانی<sup>۲</sup>، مهدی داودی فرد<sup>۳</sup>، سعید وزان<sup>۱</sup>، فرناز چمانی<sup>۱</sup>

#### چکیده

به منظور بررسی اثرات تنش شوری بر روی رشد و تغییرات بیومارکرهاى بیوشیمیایی گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در سال ۱۳۸۹ اجراء شد. تیمارهای آزمایشی شامل اسید هیومیک در دو سطح شامل: {A0): شاهد، (A1): مصرف اسید هیومیک}، و سطوح شوری در سه سطح شامل: {B0): شاهد، (B1): شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، (B2): شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار}، استفاده از میکروارگانیزم‌ها در پنج سطح شامل: {C0) شاهد، (C1): تلقیح بذریه باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم، (C2): تلقیح بذریه با باکتری ازتوباکتر کروکوم، (C3): تلقیح بذریه با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C4): تلقیح بذریه باکتری‌های (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت Mix} بود. نتایج نشان داد اثر متقابل تلقیح بذریه با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری بر عملکرد دانه، مالون دی آلدئید، دی تیروزین و دی هیدروکسی گوانوزین معنی دار بود. بیشترین عملکرد دانه از تیمار تلقیح بذریه با باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار بدست آمد. و بیشترین میزان مالون دی آلدئید از تیمار عدم تلقیح بذریه با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار حاصل گردید. بیشترین میزان دی تیروزین از تیمار عدم تلقیح بذریه با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار بدست آمد، همچنین بیشترین میزان دی هیدروکسی گوانوزین نیز از تیمار تلقیح بذریه با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: گندم، تخریب لیپید، تخریب پروتئین، اسید هیومیک، تنش شوری.

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، کرج، البرز، ایران

۲- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، گروه زراعت و اصلاح نباتات، باشگاه پژوهشگران جوان، رودهن، ایران.

\* نویسنده مسئول: Email: dhabibi@kia.ac.ir

## مقدمه

محرك رشد PGPR از طرق مختلفی تثبيت نيتروژن، توليد سیدروفورهای کمپلکس کننده آهن، توليد هورمون‌های گیاهی، سنتز آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات قارچ کش رشد گیاهان را بهبود می‌بخشد. از میان این باکتری‌ها آزوسپیریلوم و ازتوباکتر به دلیل توانایی در برقراری ارتباط با گیاهان مهم زراعی نظیر گندم، ذرت و سورگوم توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند (Mishra et al., 1998; Zaid et al., 2003). باکتری‌های جنس ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و سودوموناس از مهمترین باکتری‌های محرك رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با توليد مقادیر قابل توجهی هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین و جبرلین و سیتوکینین رشد و نمو و عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Zahir et al., 2004).

افزایش عملکرد محصولات زراعی یکی از اهداف مشترک محققین اصلاح نباتات و زراعت می‌باشد و افزایش عملکرد گندم به دلیل مصرف زیاد این ماده غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین استفاده از کودهای طبیعی و از جمله اسید هیومیک بدون اثرات مخرب زیست محیطی جهت بالا بردن عملکرد دانه در گندم به خصوص در شرایط متغیر محیطی می‌تواند موثر واقع شود. لذا از اسید هیومیک به عنوان کود آلی دوستار طبیعت نام برده می‌شود (Samavat and Malakuti, 2005).

ترکیبات هوموسی مواد آلی، دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های اسید هیومیک و اسید فولویک و جزء هومین هستند که از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، پیت و لیگنیت اکسید شده، زغال سنگ و... استخراج شده و در اندازه مولکولی و ساختار متفاوت هستند (Sebahattin and Necdet, 2005). مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Samavat and Malakuti, 2005)، همچنین اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم رویسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (Delfine et al., 2005).

کمبود آب، ناشی از خشکی و یا شوری زیاد، مهمترین تنش محیطی است که تولیدات کشاورزی را در بسیاری از مناطق جهان محدود می‌کند. تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی، به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROSS) را افزایش داده و سبب بروز صدماتی همچون اکسید شدن لیپیدها، در نتیجه منجر به تغییر ساختار غشاء و در نتیجه از هم پاشیدگی یکپارچگی آن می‌شود، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل (-SH)، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، بی رنگ شدن و یا از بین رفتن رنگدانه هائی مانند کلروفیل و سایر ترکیبات رنگیزه‌ای و هم چنین حمله مداوم به مولکولهای آلی مثل DNA و در نتیجه اختلال در رشته‌های DNA می‌گردد

(Mittler, 2002; Mohanty, 2003; Habibi et al., 2004)

با افزایش تنش شوری رادیکال‌های آزاد، باعث تخریب پروتئین‌ها شده، اسیدهای آمینه مختلف آزاد می‌شوند و از اتصال دو اسید آمینه تیروزین از محل اکسیژن‌هایشان یک دی پپتید نام دی تیروزین ایجاد می‌گردد. این ماده نشانه‌ای از حمله رادیکال‌های آزاد در هنگام تنش‌های محیطی به پروتئین‌ها و تخریب آنها می‌باشد (پوراسماعیل، ۱۳۸۵).

وقتی که تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع لیپیدها افزایش می‌یابد. در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله MDA ایجاد می‌شوند (Aghdassi, 2000). افزایش غلظت مالون دی آلدئید و دی هیدروکسی گوانوزین ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب DNA دلالت بر ایجاد رادیکال‌های آزاد در بافت است. افزایش این دو بیومارکر می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز باشد (Bingru and Jinmin, 2000).

استفاده از میگرورگانسیم‌های خاکزی و مخصوصا باکتری‌های محرك رشد که با انجام فرآیندهای مختلف زیستی در رشد گیاه و چرخه عناصر غذایی خاک دخالت دارند به‌طور روز افزونی افزایش یافته است. باکتری‌های

## مواد و روش

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، واقع در ماهدشت کرج و با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه عرض شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶ دقیقه طول شرقی و به ارتفاع ۱۳۱۳ متر از سطح دریا به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به اجراء درآمد. بافت خاک لومی رسی، pH خاک در عمق ۰-۶۰ برابر با ۷/۴ و EC خاک در عمق ۰-۶۰ برابر ۱/۴۱ دسی زیمنس بود. در این آزمایش تیمارهای آزمایشی شامل استفاده و عدم استفاده از اسیدهیومیک (A0, A1) جهت کاربرد اسید هیومیک از گرانول‌های پرل هوموس استفاده شد. شوری در سه سطح شامل (B0): عدم شوری (شاهد)، (B1): شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، (B2): شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار که برای تهیه این غلظت‌ها از کلرید سدیم خالص (NaCl) استفاده شد، و تیمار میکروارگانیسم‌ها در پنج سطح شامل (C0) عدم تلقیح بذریا باکتری‌های محرک رشد (شاهد)، (C1): تلقیح بذریا باکتری آزوسپیریلوم لیوفروم، (C2): تلقیح بذریا باکتری ازتوباکتر کروکوم، (C3): تلقیح بذریا باکتری سودوموناس پوتیدا، (C4): تلقیح بذریا باکتری‌های (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت محلول بود. هر سه بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژیکی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص‌سازی شده بودند و جمعیت مایه تلقیح حدود ۱۰<sup>۸</sup> CFU در هر گرم مایه تلقیح (صمغ عربی) بود.

به منظور انجام این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی ۷ کیلوگرمی به تعداد ۹۰ عدد استفاده شد. خاک گلدان‌ها از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تهیه و بعد از عبور از الک ۵ میلی متری به مقدار مساوی در هر گلدان از خاک مورد نظر پر شد.

عملیات کاشت بذریا در تاریخ ۸/۸/۸۸ به عمق ۲ تا ۳ سانتی متر انجام شد. رقم مورد استفاده شده در این آزمایش رقم گندم بهار

بود که رقمی پاییزه و به گرما و خشکی آخر فصل مقاوم است. مقدار مصرف باکتری‌ها در زمان کاشت (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیوفروم، سودوموناس پوتیدا) برای ۴۰ عدد بذریا به وزن تقریبی ۴۴/۴ گرم، ۲/۲۵ گرم بود. این مقدار باکتری بعد از آغشته نمودن بذرها با مایه تلقیح صمغ عربی به بذرها اضافه شده تا کاملاً به سطح بذرها چسبیده و سطح بذرها کاملاً سفید رنگ شوند. همچنین در زمان کاشت اسید هیومیک به میزان ۵/۵ گرم برای ۳۰ عدد بذریا هر گلدان‌های به کار برده شد. بلافاصله بعد از کاشت اولین آبیاری انجام گرفت و پس از جوانه‌زنی بذرها و سبز و یکنواخت شدن تعداد بوته‌ها در هر گلدان تعداد جوانه‌های سبز شده به ۲۰ عدد در هر گلدان کاهش یافت.

عملیات داشت نیز شامل آبیاری و دادن شوری بعد از مرحله چهار برگی به تیمارهای مورد نظر بود. میزان نمک استفاده شده برای تهیه غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار به ترتیب برابر با ۱۹۷/۲ و ۳۹۴/۴ گرم بود که در ۴۵ لیتر آب حل شده و به تیمارهای مورد نظر در ۴ مرحله و هر مرحله به میزان ۲۵۰ ml برای هر گلدان لحاظ گردید.

به منظور اندازه‌گیری بیومارکرهای بیوشیمیایی (مالون دی آلدئید، دی تیروزین، دی هیدروکسی گوانوزین) نمونه برداری از برگ پرچم در تاریخ ۸۹/۱/۲۸ در مرحله گلدهی انجام شد. بدین ترتیب از هر گلدان به صورت تصادفی تعداد ۴ عدد برگ پرچمی جدا و در داخل کیسه پلاستیکی داخل یخدان قرار داده شد و به روش ذیل در آزمایشگاه بر حسب میکرو مول بر گرم پروتئین محاسبه گردید.

جهت اندازه‌گیری بیومارکرهای مالون دی آلدئید، دی تیروزین و دی هیدروکسی گوانوزین دو برگ از گیاه پس از نمونه‌گیری با آب مقطر شستشو و بلافاصله در بافر فسفات تریس ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ وارد، خرد و هموژن گردید. آن گاه اجازه داده شد حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتونین و آنزیم هضم کننده دیواره فرآیند هضم غشا و دیواره سلول را انجام دهد.

میزان عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار در سطح ( $P < 0.05$ ) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفته عملکرد دانه در تیمار عدم اعمال تنش شوری B0 (شاهد) نسبت به تیمار B1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و B2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) به میزان ۹/۴ و ۹/۵ درصد افزایش عملکرد دانه را نشان داده است که هر دو در یک گروه آماری قرار گرفته اند. کاهش عملکرد گندم به دلیل افزایش شوری توسط محققین زیادی گزارش گردیده است (Ma et al., 2004; Mass and Hoffman, 1977)، آنها علت این کاهش را نتیجه کاهش جذب آب و عناصر غذایی به دلیل به هم خوردن تعادل عناصر غذایی عنوان نموده اند.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0.01$ ) بر میزان عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود بیشترین عملکرد دانه با میانگین میزان فعالیت ۲۶/۲۱ گرم از تیمار مصرف اسید هیومیک بدون اعمال تنش شوری (A1B0) بدست آمد که البته همراه با تیمارهای A1B2, A0B1, A0B0 در یک گروه آماری قرار گرفتند. ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A0B2) با میزان فعالیت ۲۰/۸۲ گرم مشاهده شد که افزایشی ۲۵/۹ درصدی را بین دو تیمار A1B0 و A0B2 ماهد می‌باشیم. بنابر نظر (Balakunbahan and Rajama, 2010) اسید هیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک تغییر می‌دهد. با انجام یک آزمایش در شرایط کنترل شده مشخص شد که کاربرد مواد هیومیکی وزن خشک عملکرد ذرت و گیاهچه‌های یولاف افزایش معنی داری یافت.

(Shariff, 2002)

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک

در این مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموزن برای سنجش پروتئین توسط روش بوگدانو و همکاران (Bogdanov et al., 1999) برداشته شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. پس از آن باقیمانده محلول استخراجی مقدار مقدار مالون دی آلدئید و دی تیروزین بر اساس روش استیون و همکاران (Steven and Sidney, 1987) و مقدار دی هیدروکسی گوانوزین بر اساس روش بوگدانو و همکاران (Bogdanov et al., 1999) مورد اندازه گیری قرار گرفت.

در این روش میزان فعالیت بر اساس واکنش به مایع کروماتوگرافی ارزیابی شد. بافر زمینه برای کار حاوی تریس اسید کلریدریک با  $pH = 7.5$ ، ۰/۲ میلی مول بر لیتر سدیم دی سدیک و ۰/۲ میلی مول بر لیتر آسکوربات بود. یک واحد فعالیت مالون دی آلدئید و دی تیروزین معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرو مول از سوبسترا را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد، میزان فعالیت بیومارکر دی هیدروکسی گوانوزین نیز از طریق ستون کربن بر پایه LCEC مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور تعیین عملکرد نهایی محصول، عملیات برداشت در تاریخ ۸۹/۲/۳۰ صورت گرفت. برداشت گندم زمانی که اندام هوایی کاملاً زرد و دانه رسیده بودند انجام گرفت. در این مرحله کلیه ۲۰ بوته به صورت کف بر، برداشت و در داخل پاکت هایی که از قبل بیانگر تیمار مربوطه بودند قرار گرفتند. بعد از بوجاری محصول عملکرد دانه بر حسب گرم تعیین گردید.

برای آنالیز واریانس داده‌ها از نرم افزار SAS و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

## نتایج و بحث

### عملکرد دانه

بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر

## بررسی اثر تنش شوری بروی بیومارکرهای بیوشیمیایی درگندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

بوته نخود می‌شود. بیشترین و کمترین عملکرد دانه و بیوماس بوته به ترتیب از تیمار تلقیح حاوی چهار باکتری و تیمار شاهد بدست آمد. این نتیجه نشان می‌دهد بین این باکتری‌ها اثرات سینرژیستی وجود دارد.

تأثیر مثبت تلقیح با آزوسپیریلوم توسط محققین زیادی گزارش شده است. حمیدی و همکاران (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵) و نظارت و غلامی (نظارت و غلامی، ۱۳۸۸) نیز اثر مثبت تلقیح را روی عملکرد گیاه گزارش کرده‌اند و ساتوویچ (Satovich, 2006) هم با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف آزوسپیریلوم در افزایش مقاومت گندم به شوری و عملکرد گیاه را تا ۶۳/۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. محققین افزایش عملکرد دانه در اثر تلقیح با آزوسپیریلوم را به دلایلی همچون ترشح انواع هورمون‌ها که سبب افزایش رشد ریشه و جذب آب و مواد غذایی از خاک می‌شود مربوط می‌دانند (Egamberdiyeva and Hoflich, 2003). افزایش عملکرد دانه گندم در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، سودوموناس) توسط داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز گزارش شد.

### بیومارکرهای بیوشیمیایی

#### مالون دی آلدئید

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر میزان مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی داری در سطح آماری ( $P < 0.01$ ) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌گردد، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند، به طوری که کاربرد اسید هیومیک نسبت (A1) به عدم کاربرد آن (A0) باعث کاهش ۳۰/۲ درصد میزان مالون دی آلدئید گردید.

در رابطه با تأثیر اسید هیومیک بر میزان مالون دی آلدئید نتایج نشان داد که مصرف اسید هیومیک توانسته تا حدی میزان MDA را کاهش دهد که به نظر می‌رسد با تأمین بخشی از آب مورد نیاز گیاه در هنگام تنش، تنش اکسیداتیو را کاهش داده

در سطح آماری ( $P < 0.05$ ) بر عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. به طوری که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود که بیشترین عملکرد دانه با میانگین میزان فعالیت ۲۷/۷۵ گرم از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک (A1C3) به دست آمد که البته با تیمارهای A1C1, A0C4 A1C2, A0C2 در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند. کمترین آن نیز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A0C0) با میانگین میزان فعالیت ۱۷/۴۶ گرم بدست آمد که افزایشی ۵۸/۹ درصدی را بین دو تیمار A1C3 و A0C0 شامل گردید.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0.01$ ) بر عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، به طوری که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین عملکرد دانه از تیمار تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار (A0B1C2) با میانگین میزان فعالیت ۳۲/۲۵ گرم بدست آمد. همچنین کمترین میزان آن نیز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A0B2C0) با میانگین میزان فعالیت ۱۴/۷۹ گرم حاصل گردید. Mishra et al., 2010) در نتایج خود بیان کردند که تحت شرایط تنش شوری، PGPRها می‌تواند اثرات مثبتی در گیاهان روی پارامترهایی از قبیل سرعت جوانه زنی، تحمل به تنش خشکی، عملکرد و رشد گیاه داشته باشد.

رخزادی و همکاران (رخزادی و همکاران، ۱۳۸۷) تحقیقی را به منظور بررسی اثر باکتری‌های آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، سودوموناس و مزوریزیوم به صورت تلقیح انفرادی، دوتایی، سه تایی و چهارتایی بر عملکرد نخود انجام دادند و بیان کردند که کاربرد این باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد دانه و بیوماس

آلدئید با میانگین میزان فعالیت ( $65/74 \mu \text{ mol/g protein}$ ) از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A0C0) بدست آمد که البته همراه با تیمار A0C3 در یک گروه آماری قرار گرفتند. ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک (A1C3) با میزان فعالیت ( $23/94 \mu \text{ mol/g protein}$ ) بدست آمد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در زمان اعمال تنش شوری و در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان بیومارکر مالون دی آلدئید از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری  $150$  میلی مولار (B2C0) با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ )  $82/88$  و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلیوم لیپوفروم و اعمال تنش شوری  $75$  میلی مولار (B1C1) با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ )  $25/92$  بدست آمد که البته با تیمارهای B0C4 و B2C2 در یک گروه آماری قرار گرفتند.

گیاهان تلقیح نشده در مقایسه با گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، تحت شرایط شوری خاک موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانتی و غلظت پرولین MDA, GR و APX شد (Han and Lee, 2005). از جمله توانایی‌های سویه سودوموناس در تولید سیدروفور و تامین آهن مورد نیاز گیاه و حلال سازی منابع نامحلول فسفر و قابل استفاده شدن فسفر برای جذب گیاه را می‌توان نام برد. مایاک و همکاران (۲۰۰۴) مشاهده نمودند که گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد در شرایط شور فسفر بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده جذب نموده‌اند آنها جذب فسفر بیشتر و افزایش تحمل گیاه نسبت به شوری را مثبت دانستند.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان

و میزان پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب آنها را کاهش داد. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر میزان مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی دار در سطح ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به نحوی که میزان مالون دی آلدئید در تیمار B2 (اعمال تنش شوری  $150$  میلی مولار) و B1 (اعمال تنش شوری  $75$  میلی مولار) نسبت به تیمار B0 (عدم اعمال تنش شوری) به ترتیب به میزان  $9/8$  و  $38/1$  در صد افزایش یافته است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان بیومارکر مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی داری در سطح ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌گردد، عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (C0) به میزان  $60/89$  میکرو مول بر گرم پروتئین بیشترین اثر و تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم (C2) به میزان  $33/27 \mu \text{ mol/g protein}$  کمترین اثر را بر میزان تولید مالون دی آلدئید داشته که افزایش  $83$  درصدی را شامل شد. احتمالاً این نتیجه نشان دهنده این مطلب است که باکتری‌ها اثر تنش خشکی را از طریق مکانیسم دفاعی دیگری به غیر از آنزیم‌های آنتی اکسیدان، کاهش می‌دهند که از بالا رفتن حجم MDA و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان جلوگیری کرده است. گزارش شده که اسمولیت‌ها مانند پرولین نقش مهمی را در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند و همچنین از طریق جاروب کردن ROSها از سلول‌ها حفاظت می‌کنند.

(Reddy et al., 2004)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان مالون دی

بررسی اثر تنش شوری بر روی بیومارکرهای یبوشیمیایی در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

۸۲/۸ و ۲۶/۱ در صد افزایش یافته است. نتایج نشان می‌دهد که به علت وقوع تنش شوری، تنش اکسیداتیو رخ داده و باعث تخریب پروتئین گشته که نتیجه آن تولید بیومارکر تخریب دی تیروزین در گیاه می‌باشد.

با بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) مشاهده گردید با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان فعالیت دی تیروزین اثر معنی دار در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌شود، عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (C0) با میانگین میزان فعالیت ( $19/28 \mu \text{ mol/g protein}$ ) بیشترین اثر را بر میزان دی تیروزین نشان داده است. ضمن آنکه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت (C4) Mix با میانگین میزان فعالیت ( $11/14 \mu \text{ mol/g protein}$ ) کمترین اثر را بر دی تیروزین تولیدی داشته است. احتمالاً این نتیجه نشان دهنده این مطلب است که باکتری‌ها اثر تنش شوری را از طریق مکانیسم دفاعی دیگری کاهش می‌دهند، که از بالا رفتن حجم دی تیروزین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان جلوگیری کرده است. زیرا گزارش شده که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تنها مکانیسم دفاعی گیاه در برابر اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) تولید شده در شرایط تنش نیست و افزایش پرولین نیز می‌تواند موجب کاهش ROS‌های تولید شده در شرایط تنش خشکی بشود (Aktas et al., 2007). در نتیجه، به علت کاهش ROS ها، میزان تخریب پروتئین‌ها و تولید بیومارکر دی تیروزین کاهش می‌یابد (مسلمی، ۱۳۸۹).

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان فعالیت دی تیروزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان دی تیروزین از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A0B2) با میانگین میزان فعالیت  $23 (\mu \text{ mol/g protein})$  مشاهده شد و کمترین میزان آن نیز با میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ )

تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان مالون دی آلدئید تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان مالون دی آلدئید از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A1B2C0) با میانگین میزان فعالیت ( $88/23 \mu \text{ mol/g protein}$ ) بدست آمد. کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) از تیمار تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A0B2C2) حاصل گردید، که البته با تیمارهای A0B1C1, A1B0C1 A1B2C3 در یک گروه آماری قرار گرفتند. بدین ترتیب افزایشی ۳۷۵ درصدی را بین دو تیمار A1B2C0 و A0B2C2 شاهد می‌باشیم.

### دی تیروزین

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر میزان فعالیت بیومارکر دی تیروزین تفاوت آماری معنی دار در سطح ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌گردد، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند. به طوری که کاربرد اسید هیومیک (A1) نسبت به عدم کاربرد آن (A0) باعث کاهش ۳۷/۱ درصد میزان مالون دی آلدئید گردید.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص نمود با اعمال تنش شوری بر میزان فعالیت دی تیروزین تفاوت آماری معنی داری در سطح احتمال ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌گردد، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند، به نحوی که میزان بیومارکردی تیروزین در تیمار B2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) و B1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) نسبت به تیمار B0 (عدم اعمال تنش شوری) به ترتیب به میزان

عدم اعمال تنش شوری (B0C4) بدست آمد که نشان از تاثیر افزایش شوری در افزایش تخریب بافت پروتئین و افزایش تولید بیومارکر دارد.

بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسیدهیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان دی تیروزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می‌گردد، بیشترین میزان دی تیروزین از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A0B2C0) با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۲۷/۳۰ بدست آمد. ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۷/۶۶۷ از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت (Mix) و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار (A1B1C4) بدست آمد که البته با تیمارهای A1B0C4 و A1B0C2 در یک گروه آماری قرار گرفتند.

### دی هیدروکسی گوانوزین

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین تفاوت آماری معنی دار در سطح ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌گردد، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به طوری که عدم کاربرد اسید هیومیک (A۰) نسبت به کاربرد آن (A1) ۳۳/۵ درصد میزان 8-OH-DG را افزایش داده است. نتایج نشان داد که در شرایط استفاده از اسید هیومیک میزان فعالیت این آنزیم کاهش می‌یابد. این نتیجه حاکی از این است که مصرف اسید هیومیک، از طریق تأمین بخشی از آب مورد نیاز گیاه، باعث کاهش تنش شوری شده، پس میزان فعالیت این آنزیم نیز کاهش می‌یابد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر

۸/۶۴ از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A1B0) بدست آمد که افزایشی ۱۵۷/۲ درصدی را بین دو تیمار A0B2 و A1B0 نشان داد. این امر نشان دهنده این مطلب می‌باشد که کاربرد اسید هیومیک توانسته میزان جذب آب را افزایش و تاثیر تخریبی شوری را بر روی تخریب بافت پروتئین و در نتیجه تولید بیومارکرهای بیوشیمیایی را کاهش دهد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان فعالیت دی تیروزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان دی تیروزین از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A0C0) با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۲۲/۴۰ بدست آمد و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و مصرف اسید هیومیک (A1C4) با میزان فعالیت ۹/۵۳۳ میکرو مول گرم پروتئین حاصل گردید که نشان دهنده این مطلب می‌باشد که کاربرد و عدم کاربرد اسید هیومیک و باکتری توانسته‌اند میزان فعالیت دی تیروزین را کاهش دهند. این امر می‌تواند ناشی از توان باکتری‌ها در افزایش جذب آب و در نتیجه کاهش تخریب بافت پروتئین و در نتیجه کاهش تولید بیومارکردی تیروزین می‌باشد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان بیومارکر دی تیروزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان فعالیت دی تیروزین از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B2C0) با میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۲۴/۹۳ بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۷/۷۵۰ از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و



## بررسی اثر تنش شوری بروی بیومارکرهای بیوشیمیایی درگندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

هیومیک و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/05$ ) بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین را تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان 8-OH-DG با میانگین میزان فعالیت ( $10/88 \mu \text{ mol/g protein}$ ) از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A۰B۲) به دست آمد که همراه با تیمار مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A1B2) در یک گروه آماری قرار گرفتند. ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A1B0) با میانگین میزان فعالیت ( $4/831 \mu \text{ mol/g protein}$ ) در یک گروه آماری قرار گرفتند.

مشاهده نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان 8-OH-DG از تیمار تلقیح بذر با باکتری آروسپیریوم لیپوفروم و عدم مصرف اسید هیومیک (A0C1) با میانگین فعالیت ( $10/88 \mu \text{ mol/g protein}$ ) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و کاربرد اسید هیومیک (A1C4) با میانگین فعالیت  $5/083$  میکرو مول گرم پروتئین بدست آمد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان 8-OH-DG با میانگین میزان فعالیت ( $11/19 \mu \text{ mol/g protein}$ ) از تیمار تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B2C2) بدست آمد که البته با تیمارهای B2C1،

میزان دی هیدروکسی گوانوزین تفاوت آماری معنی دار در سطح ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به نحوی که میزان 8-OH-DG در تیمار B2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) و B1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) نسبت به تیمار B0 (عدم اعمال تنش شوری) و به ترتیب به میزان  $17/5$  و  $76/2$  در صد افزایش یافته است. این موضوع بیانگر این است که با افزایش میزان تنش، میزان آب قابل استفاده گیاه کاهش یافته و DNA مورد تخریب قرار گرفته و در نتیجه میزان دی هیدروکسی گوانوزین بیشتری تولید شد.

بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین اثر معنی دار در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌شود، تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (C0) با میانگین میزان فعالیت  $9/649$  میکرومول گرم پروتئین بیشترین اثر را بر میزان OH-DG-8 نشان داده است. ضمن آنکه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C4) با میانگین میزان فعالیت ( $5/919 \mu \text{ mol/g protein}$ ) کمترین اثر را داشته است. این امر بیانگر این است که تاثیر باکتری‌های محرک رشد به صورت محلول نسبت به سایر باکتری‌ها و عدم کاربرد باکتری برتری داشته و می‌تواند با تامین آب مورد نیاز گیاه، از تخریب DNA و تولید OH-DG-8 جلوگیری کند. داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) گزارش کرد که تلقیح بذر گندم با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آروسپیریوم و سودوموناس) سبب کاهش میزان دی هیدروکسی گوانوزین نسبت به تیمار شاهد گردید. وی به این نتیجه رسید که تخریب DNA گیاه در این شرایط کاهش یافته و موجب پایین رفتن میزان بیومارکر تخریب ۸ هیدروکسی دی اکسی گوانوزین و کاهش جهش و اثرات ژنتیکی کشنده می‌گردد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید

هیدروکسی گوانوزین تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد. همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می شود بیشترین میزان 8-OH-DG از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A1B2C3) با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۱۱/۴۲ و کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت ( $\mu \text{ mol/g protein}$ ) ۴/۱۲۷ از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A1B0C3) بدست آمد که البته همراه با تیمارهای، A1B0C4, A1B0C3 در یک گروه آماری قرار گرفتند.

در بسیاری از گیاهان زراعی از جمله گندم (Sairam et al., 2002) و پنبه (Gosset et al., 1994) بالا رفتن میزان این آنزیم ها در طی بروز تنش شوری گزارش شده است.

B2C0, B2C3 در یک گروه آماری قرار گرفته اند ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میزان فعالیت ۴/۳۹۲ میکرو مول گرم پروتئین از تیمار تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد به صورت محلول و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار (B1C4) بدست آمد که افزایشی ۱۵۴/۸ درصدی را بین دو تیمار B1C4 و B2C2 شاهد می باشیم. به نظر می رسد که تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد به صورت محلول با تامین بیشتر آب مورد نیاز گیاه نسبت به باکتری های دیگر و تیمار شاهد توانسته است موجب کاهش هر چه بیشتر تخریب DNA سلول گردد. در نتیجه این امر دی هیدروکسی گوانوزین کمتری نیز تولید شده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری در سطح آماری ( $P < 0/01$ ) بر میزان دی

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات  
Table1- Analysis of variance for traits

منابع تغییرات	S.O.V	df	عملکرد دانه Grain yield	مالون دی آلدئید Malondialdehyde	دی تیروزین Dityrosine	دی هیدروکسی گوانوزین Dihydroxy Guanosine
اسید هیومیک (A)	Humic acid(A)	1	46.412 ns	3282.10**	125.30 **	46.70 **
تنش شوری (B)	Salinity(B)	2	58.441 *	1639.40**	88.30 **	19.40 **
اثر متقابل اسید هیومیک و سطوح تنش شوری	AB	2	105.160 **	13.78 ns	12.20 **	3.32 *
باکتری های محرک رشد (C)	PGPR (C)	4	50.203 ns	1984.80 **	96.80 **	19.21 **
اثر متقابل اسید هیومیک و باکتری	AC	4	55.283 *	1197.00 **	93.80 **	26.59 **
اثر متقابل باکتری در سطوح تنش شوری	BC	8	24.608 ns	2152.80 **	113.80 **	51.94 **
اثر متقابل باکتری و اسید هیومیک در سطوح مختلف شوری	ABC	8	85.431 **	903.30 **	68.49 **	10.29 **
خطا	Error	60	24.802	9.139	0.742	0.963
ضریب تغییرات	C.V%		20.62%	11.55%	10.69%	12.54%

ns, \*\*, \* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵% و ۱%. ns, \*\*, \*; Non significant. Significant at the 5% and 1% levels probability respectively.

بررسی اثر تنش شوری بر روی بیومارکرهای بیوشیمیایی در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

جدول ۲- مقایسه میانگین سطوح اثرات اصلی صفات مورد بررسی

Table 2- Mean comparisons of main effects of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	مالون دی آلدئید MDA ( $\mu$ mol/ g Protein)	دی تیروزین DI-TY ( $\mu$ mol/ g Protein)	دی هیدروکسی گوانوزین 8-OH-DG ( $\mu$ mol/ g Protein)
A <sub>0</sub>	23.440A	52.196 A	17.55 A	8.975 A
A <sub>1</sub>	24.876A	40.118 B	12.76 B	6.720 B
B <sub>0</sub>	25.624 A	38.070 C	11.13 C	5.957 C
B <sub>1</sub>	23.374 B	47.840 B	14.00 B	7.000 B
B <sub>2</sub>	23.476 B	52.560 A	20.33 A	10.590 A
C <sub>0</sub>	22.930A	60.890 A	19.28 A	9.649 A
C <sub>1</sub>	27.920A	51.380 B	15.53 B	8.024 B
C <sub>2</sub>	31.780A	33.270 E	15.58 B	8.183 B
C <sub>3</sub>	30.630A	44.290 C	14.23 C	7.461 B
C <sub>4</sub>	31.690A	40.950 D	11.14 D	5.919 C

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

Similar letters in each column shows non- significant difference according to Duncan multiple ran range tests at 5% level

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table3- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	مالون دی آلدئید MDA ( $\mu$ mol/ g Protein)	دی تیروزین DI-TY ( $\mu$ mol/ g Protein)	دی هیدروکسی گوانوزین 8-OH-DG ( $\mu$ mol/ g Protein)
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	25.04 A	44.520A	13.62 D	7.084 C
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	24.46 AB	53.100A	16.79 C	8.963 B
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	20.82 B	58.967A	22.23 A	10.880 A
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub>	26.21 A	31.613A	8.640 F	4.831 D
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	22.29 AB	42.587A	11.21 E	5.037 D
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	26.13 A	46.153A	18.42 B	10.290 A
A <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	17.46 C	65.740 A	22.40 A	10.880 A
A <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	22.10 B	53.560 B	18.33 B	9.356 BC
A <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	27.52 A	33.630 F	18.52 B	9.691 B
A <sub>0</sub> C <sub>3</sub>	23.30 B	64.630 A	15.73 C	8.193 D
A <sub>0</sub> C <sub>4</sub>	26.82 A	43.410 D	12.76 D	6.756 E
A <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	20.75 B	56.040 B	16.17 C	8.420 CD
A <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	24.44 AB	49.200 C	12.73 D	6.692 E
A <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	25.44 AB	32.910 F	12.63 D	6.676 E
A <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	27.75 A	23.940 G	12.72 D	6.729 E
A <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	26 AB	38.490 E	9.533 E	5.083 F

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

Similar letters in each column shows non- significant difference according to Duncan multiple ran range tests at 5% level

شاهد، (A1): مصرف اسیدهومیک، (B0): شاهد، (B1): شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، (B2): شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار، (C0): شاهد، (C1): تلقیح بذریا باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم، (C2): تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم، (C3): تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C4): تلقیح بذریا باکتری‌های (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت محلول.

(A0): Control, (A1): Humic acid consumption, (B0): Control, (B1): Low salinity of 75 mM, (B2): High salinity of 150 mM, (C0): Control, (C1): Grain inoculation with Azospirillum lipoferum, (C2): Grain inoculation with Azotobacter chrooecum, (C3): Grain inoculation with Pseudomonase putida, (C4): The mix grain inoculation with (Azotobacter chrooecum, Azospirillum lipoferum, Pseudomonase putida).

جدول ۴- مقایسه میانگین های اثرات متقابل صفات

Table4- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	مالون دی آلدئید MDA ( $\mu$ mol/ g Fw)	دی تیروزین DI-tY ( $\mu$ mol/ g Fw)	دی هیدروکسی گوانوزین 8-OH-DG ( $\mu$ mol/ g Fw)
B <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	24.452A	29.70 GH	14.530 E	8.872 B
B <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	23.898A	59.70 C	11.780 F	5.433 CD
B <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	29.128A	39.02 E	11.700 F	5.535 CD
B <sub>0</sub> C <sub>3</sub>	25.613A	33.67 F	9.883 G	5.205 CD
B <sub>0</sub> C <sub>4</sub>	25.028A	28.25 H	7.750 H	4.742 CD
B <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	20.217A	70.10 B	18.380 C	8.952 B
B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	21.565A	25.9 H	14.650 E	7.815 B
B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	26.958A	32.27 FG	14.530 E	7.827 B
B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	21.628A	49.55 D	13.180 EF	6.013 C
B <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	26.502A	61.38 C	9.267 GH	4.392 D
B <sub>2</sub> C <sub>0</sub>	21.365A	82.88 A	24.930 A	11.120 A
B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	24.343A	68.52 B	20.170 BC	10.820 A
B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	23.357A	28.53 H	20.500 B	11.190 A
B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	25.610A	49.65 D	19.620 BC	11.160 A
B <sub>2</sub> C <sub>4</sub>	22.703A	33.22 FG	16.420 D	8.625 B

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

Similar letters in each column shows non- significant difference according to Duncan multiple ran range tests at 5% level

بررسی اثر تنش شوری بر روی بیومارکرهای بیوشیمیایی درگندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 5- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار	Grain yield (g)	MDA ( $\mu$ mol/ g Fw)	DI-TY ( $\mu$ mol/ g Fw)	8-OH-DG ( $\mu$ mol/ g Fw)
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub> C <sub>0</sub>	19.74 FGH	38.97 D	17.930 C	11.010 A
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	23.01 ABCDEFGH	60.30 C	15.030 D	6.493 BCD
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	28.51 ABCDEF	56.47 C	15.330 D	6.410 BCD
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub> C <sub>3</sub>	23.88 ABCDEFGH	37.10 D	11.230 E	6.283 BCDE
A <sub>0</sub> B <sub>0</sub> C <sub>4</sub>	30.08 ABCD	29.77 EF	8.5670 F	5.223 CDEF
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	17.86 GH	80.73 B	21.970 B	10.750 A
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	20.33 DEFGH	20.23 I	17.670 C	10.920 A
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	32.25 A	25.87 FGH	17.730 C	11.330 A
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	21.18 CDEFGH	77.77 B	14.730 D	7.387 B
A <sub>0</sub> B <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	30.66 ABC	60.90 C	11.870 E	4.430 EF
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub> C <sub>0</sub>	14.79 H	77.53 B	27.300 A	10.870 A
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	22.96 ABCDEFGH	80.13 B	22.300 B	10.660 A
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	21.81 BCDEFGH	18.57 I	22.500 B	11.340 A
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	24.83 ABCDEFG	79.03 B	21.230 B	10.910 A
A <sub>0</sub> B <sub>2</sub> C <sub>4</sub>	19.71 FGH	39.57 D	17.830 C	10.610 A
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	19.98 EFGH	20.43 I	11.130 E	6.733 BC
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	24.79 ABCDEFG	59.10 C	8.533 F	4.373 EF
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub> C <sub>2</sub>	29.75 ABCDE	21.57 GHI	8.067 FG	4.660 DEF
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub> C <sub>3</sub>	31.48 AB	30.23 EF	8.533 F	4.127 F
A <sub>1</sub> B <sub>0</sub> C <sub>4</sub>	25.03 ABCDEFG	26.73 EFG	6.933 G	4.260 F
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>0</sub>	19.26 FGH	59.47 C	14.800 D	7.150 BC
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	22.80 ABCDEFGH	31.60 E	11.630 E	4.713 DEF
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	21.67 BCDEFGH	38.67 D	11.330 E	4.327 EF
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	25.39 ABCDEFG	21.33 HI	11.630 E	4.640 DEF
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	22.35 ABCDEFGH	61.87 C	6.667 G	4.353 EF
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>0</sub>	23.02 ABCDEFGH	88.23 A	22.570 B	11.380 A
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	25.72 ABCDEFG	56.90 C	18.030 C	10.990 A
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	24.90 ABCDEFG	38.50 D	18.500 C	11.040 A
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	26.39 ABCDEFG	20.27 I	18.000 C	11.420 A
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>4</sub>	30.61 ABC	26.87 EFG	15.000 D	6.637 BC

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

Similar letters in each column shows non- significant difference according to duncans multiple range test at 5% level

## References

## منابع

- پور اسماعیل، پ، د، حبیبی، و م، مهدی اکبر بوجار. ۱۳۸۵. بررسی استفاده از پولیمر سوپر جاذب آب در افزایش عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در ارقام مختلف لوبیا قرمز تحت تنش خشکی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
- حمیدی، ا.، ا. قلاوند، م. دهقان شعار، م. ج. ملکوتی، ا. اصغرزاده و ر. چوگان. ۱۳۸۵. اثرات کاربرد باکتریهای محرک رشد بر عملکرد ذرت علوفه ای. پژوهش و سازندگی. شماره ۷۰، صفحات ۲۲-۱۶.
- داودی فرد، م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریولوم، سودوموناس) و محلول پاشی سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه بر مقاومت به خشکی گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن.
- رخزادی، ا.، ا. اصغرزاده، ف. درویش، ق. نورمحمدی، ا. مجیدی و و. توشیح. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریولوم، ازوتوباکتر، پسوموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده‌ی خشک و عملکرد نخود *Cicer arietinum L.* دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.
- مسلمی، ز. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر پلیمر سوپر جاذب و باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر عملکرد و اجزاء عملکرد، عملکرد علوفه و برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ذرت علوفه‌ای پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
- نظارت، س: ا، غلامی. ۱۳۸۸. نقش تلقیح مضاعف باکتریهای آزوسپیریولوم و سودوموناس در بهبود جذب عناصر غذایی در ذرت. نشریه بوم شناسی کشاورزی جلد ۱، شماره ۱، ص ۲۵-۳۲.
- Aghdassi E, Johane P. 2000. Breath alkaned as a marker of oxidative stress in difference clinical conditions. Free-radical Boil Med, 28:880-886.
- Aktas, L. Y., B. Turkyilmaz, H. Akca and S. Parlak. 2007. Role of abscisic acid and proline treatment on induction of antioxidant enzyme activities and drought tolerance responses of *Laurus nobilis L.* Grainlings. pp: 14-27.
- Balakumbahan R and K Rajamani, 2010. Effect of biostimulants on growth and yield of Senna (*Cassia angustifoliavar KKM.1*), Journal of Horticultural science & Ornamental plants, IDOSI publication, 2 (1): 16-8.
- Bingru, H., F. Jinmin. 2000. Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adoption of two cool-season grasses to localized drought stress. pp. 372-396, biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. Plant Physiol Biochem 43: 955-962.
- Bogdanov, M. B., M. F. Beal, D. R. McCabe, R. M. Griffin and W.R. Matson. 1999. A carbon column based LCEC approach to routine 8-hydroxy-2-deoxyguanosine measurements in urine and other biological matrices. Free Rad Biol. Med. 27: 647-666.
- Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E., Alvino, A., 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agron. Sustain. 25, 183-191.
- Egamberdiyeva, D., Hoflich, G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. Soil Biol. Biochem. 35: 973-978.
- Gossett, D.R., E.P. Millhollon, M.C. Lucas, 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-

بررسی اثر تنش شوری بر روی بیومارکرهای بیوشیمیایی در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، ...

sensitive cultivars of cotton. *CropSci.*, 34, 706-714.

**Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boojar, A. Mahmoudi, M. R. Ardakani and D. Taleghani. 2004.** Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September-1 October pp. 1-4.

**Han, H. S. and K. D. Lee. 2005.** Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of Lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 1 (3): 210-215.

**Ma, W., T. C. Charles and B. R. Glick. 2004.** Expression of an exogenous 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gene in *Synorhizobium meliloti* increases its ability to nodulate alfalfa. *App. Envi. Micr.*

**Maas, E. V., and G. J. Hoffman. 1977.** Crop salt tolerance—Current assessment. *J. Irrig. Drain. Div. ASCE*. 103: 115–134.

**Mayak, S., T. Tirosch and B. Glick. 2004.** Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 565-572

**Mishra M., Patjoshi A. K., and Jena D. 1998.** Effect of biofertilization on production (*Zea mays*) of maize. *Indian J. Agron.* 43: 307–310.

**Mishra, M. 2U Kumar, 2P K Mishra and V Prakash. 2010.** Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for the Enhancement of *Cicerarietinum* L. Growth and Germination under Salinity. *Advances in Biological Research* 4 (2): 92-96.

**Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Ann. Rev. Plant Science* 7: 405-415.

**Mohanty, N. 2003.** Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* (L.) exposed to warmer growth conditions. *J. Plant Physiol.*, 160: 71-74.

**Reddy, A. R., K. V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004.** Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1189-1202.

**Saatovich, S. Z., 2006.** Azospirillum of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants. *Plant & Soil*. 283: 137-145.

**Sairam, R. K., K. V. Rao, G. C. Srivastava, 2002.** Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.*, 163, 1037-1046.

**Samavat, S., Malakuti, M. 2005.** Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. *Water and soil researchers technical issue* 463: 1-13.

**Sebahattin, A., Necdet, C. 2005.,** Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). *Agronomy. J.* 4, 130-133.

**Shariff, M., 2002.** Effect of lignitic coal derived HA on growth and yield of wheat and maize in alkaline soil. Ph.D Thesis, NWFP Agric Univ Peshawar, Pakistan.

**Steven, H., M. H. Sidney. 1987.** Lipid peroxidase in sample as measured by liquid chromatography. Separation or

malondialdehyde tiobarbituric acid. Elin. Chem. 32. 214-220.

**Zahir, A. Z. ,Arshad , M. and Frankenberger (Jr.) , W. F. 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* , 81:97-168.

**Zaied.K.A., Abd El-Hady A.H., Afify Aida. H., and Nassef M.A. 2003.** Yield and Nitrogen Assimilation of Winter Wheat Inoculated with New Recombinant Inoculants of Rhizobacteria. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6 (4): 344-358.

Archive of SID