

بررسی اثر تنش شوری بر عملکرد دانه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفرورم، سودوموناس پوتیدا) و اسید هیومیک

Effects of salinity stress on growth and antioxidant enzyme activity of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonase putida*) and humic acid

فرناز چمانی*^۱، داود حبیبی^۱، ناصر خدابنده^۱، مهدی داودی فرد^۲، احمد اصغرزاده^۳

چکیده

شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده‌ای است که باعث کاهش قابلیت تولید محصول در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک می‌شود و اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی و باکتری‌های محرک رشد از طریق اثرات هورمونی و بهبود جذب عناصر غذایی جهت بالا بردن عملکرد دانه در گندم به خصوص در شرایط تنش شوری می‌تواند موثر واقع شود. به منظور بررسی اثرات تنش شوری بر روی رشد و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در سال ۱۳۸۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل اسید هیومیک در دو سطح شامل: { A_0 : شاهد، A_1 : مصرف اسید هیومیک}، و سطوح شوری در سه سطح شامل: { B_0 : شاهد، B_1 : شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، B_2 : شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار}، استفاده از میکروارگانیسم‌ها در پنج سطح شامل: { C_0 : شاهد، C_1 : تلقیح بذریا باکتری آزوسپیریلوم لیپوفرورم، C_2 : تلقیح بذریا باکتری ازتوباکتر کروکوم، C_3 : تلقیح بذریا باکتری سودوموناس پوتیدا، C_4 : تلقیح بذریا باکتری‌های (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفرورم، سودوموناس پوتیدا) به صورت Mix} بود. نتایج نشان داد اثر متقابل تلقیح بذریا باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری بر عملکرد دانه، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز معنی دار بود. بیشترین عملکرد دانه از تیمار تلقیح بذریا باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار بدست آمد و بیشترین میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز از تیمار تلقیح بذریا باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار حاصل گردید، ضمن آنکه بیشترین میزان آنزیم کاتالاز نیز از تیمار تلقیح بذریا باکتری آزوسپیریلوم لیپوفرورم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: گندم، باکتری‌های محرک رشد، اسید هیومیک، شوری، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

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

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

۳- موسسه تحقیقات آب و خاک.

* نویسنده مسئول: Email: F-chamaani@yahoo.com

مقدمه

رادیکال آزاد (ROS) هستند (Pan et al., 2006) و اولین راه دفاعی در برابر صدمات اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. در گیاهان عالی سیستم جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) از چندین آنزیم آنتی اکسیدان تشکیل شده است که شامل گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد، که می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال (ROS) که در شرایط تنش تولید می‌شوند را از بین ببرند. آنزیم‌های آنتی اکسیدان از غشاها در مقابل اثرات مخرب ROSها که در برابر تنش غیر زنده تولید می‌شود محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی هم چون شوری می‌شوند (Mohamadkhani and Heidari, 2007; and Tan et al., 2006). حساسیت آنزیم‌های استخراج شده از ارقام متحمل به شوری در حضور NaCl کاملاً مشابه آنزیم‌های موجود در ارقام حساس به شوری است (کافی، ۱۳۷۷). آنزیم‌های آنتی اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آید (Derik and Montagu, 2002). روابط گوناگونی بین تنش شوری، خشکی و سطح آنتی اکسیدان‌های محلول در آب و یا آنزیم‌های آنتی اکسیدان گزارش شده است. (Gosset et al., 1994; Zhang and Kirkham, 1996) مطالعات متعددی همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و افزایش تنش شوری را نشان می‌دهند. (Satyendra et al., 1999)

باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) ترکیبات بهبود دهنده رشد گیاه نظیر هورمون‌های گیاهی اکسین‌ها، سایتوکینین‌ها و جبرلین‌ها بعلاوه‌ی سیدروفورها (Siderophores) (Castignetti and Smarrelli, 1986) را تولید می‌کنند و پپتیدهای ضد باکتریایی (Antibacterial peptides) این باکتری‌ها باعث جلوگیری از رشد نژادهای بیماری‌زای می‌شوند. (Maurhofer et al., 1992)

باکتری‌ها دارای راهبردهای مقاومت متنوع (Diverse resistance strategies) توسعه یافته‌ای به سمت

تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیر زنده سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش نور شدید، تنش خشکی و شوری و حتی عوامل بیماری‌زا اشاره کرد (Karpinski et al., 2003). تنش شوری عاملی است که به طور جدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه خشک محدود می‌کند. آبیاری با آب‌های نامناسب و شور از مهمترین عوامل افزایش نمک و شور شدن خاک و در نتیجه ایجاد تنش شوری است. پاسخ گیاهان به تنش شوری متفاوت بوده و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت زمان تنش بستگی دارد (Comba et al., 1998). جذب آب در گندم و جو با افزایش شوری کاهش می‌یابد، زیرا قابلیت تراوایی ریشه که توسط هدایت هیدرولیکی سیستم ریشه بیان می‌شود، به طور معنی داری تحت شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد (Pessaraki and Andres, 1994). مطالعات نشان می‌دهد که سورگوم، گندم و نخود در مراحل رشد رویشی و اوایل رشد زایشی به شوری حساس بوده و در مرحله گلدهی دارای حساسیت کمتر و در مرحله پر شدن دانه کمترین حساسیت به شوری را دارند. بنابراین در مراحل حساس می‌توان برای آبیاری از آب‌های با شوری کم و در مراحل مقاوم از آب‌های شور استفاده نمود.

(Bernstein et al., 1993; Francois et al., 1994)

خسارت شوری در گیاهان از طریق اثر اسمزی است که معادل کاهش میزان آب، اثر سمیت ویژه یون‌ها و اختلال در جذب عناصر غذایی می‌باشد (Shabala and Azawi, 2000). تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع گون‌های فعال اکسیژن مانند سوپر اکسید (O_2) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH) در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. (Becana et al., 1998; Noctor and Foyer, 1998). آنزیم‌های آنتی اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن، اکسیژن‌های

و جوانمرد، ۱۳۸۴). 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).

این تحقیق با هدف بررسی نقش اسید هیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت ۳ آنزیم آنتی‌اکسیدان شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) و همچنین بررسی ارتقاء مقاومت به شوری در گندم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در مزرعه 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 در شرایط گلخانه‌ای به اجراء در آمد. 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 عبارتند از استفاده از اسید هیومیک در دو سطح شامل: $\{A_0\}$: عدم مصرف اسید هیومیک (شاهد)، $\{A_1\}$: مصرف اسید هیومیک، که جهت کاربرد اسید هیومیک از گرانول‌های پرل هوموس که توسط شرکت هرمنتک آلمان تولید می‌گردد استفاده شد، $\{B_0\}$: وسطوح شوری در سه سطح شامل: $\{B_0\}$: عدم شوری (شاهد)، $\{B_1\}$: شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، $\{B_2\}$: شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار که برای تهیه این غلظت‌ها از کلرید سدیم خالص (NaCl) استفاده شد، استفاده از میکروارگانسیم‌ها در پنج سطح شامل: $\{C_0\}$: عدم تلقیح بذرها باکتری‌های محرک رشد (شاهد)، $\{C_1\}$: تلقیح

عناصر معدنی سمی هستند (Han and Lee, 2005). حسینی و صبری (Hasnain and Sabri, 1996) گزارش دادند که تلقیح گندم با باکتری (*Pseudomonas sp.*) تحت شرایط تنش محیطی، باعث تحریک رشد گیاه از طریق کاهش جذب یون‌های سمی، افزایش تولید هورمون اکسین و پروتئین‌های مخصوص تنش (Stress-specific proteins) شد. هان و لی (Han and Lee, 2005) نتیجه گرفتند که افزایش شدت تنش شوری بطور معنی داری فعالیت آنزیمی آنزیم‌هایی نظیر گلوکاتایون ردکتاز (GR) و آسکوربیت پروکسیداز (APX) را در برگ‌های گیاه کاهو در مقایسه با تیمار شاهد بدون تنش، را بالا برد. تحت شرایط تنش شوری تلقیح گیاه با نژادها یا سویه‌های باکتری‌های (PGPR) فعالیت آنزیمی با افزایش شدت تنش، کاهش یافت (Ruiz-Lozano et al., 2001) گزارش دادند که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریزا افزایش یافت و باعث حفاظت گیاه در برابر خشکی شد. مقاومت گیاه در برابر تنش بستگی به تاثیرپذیری بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی دارد (Bor et al., 2003).

اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی از طریق اثرات هورمونی و بهبود جذب عناصر غذایی، سبب افزایش بیومس ریشه و اندام هوایی می‌شود. مواد آلی نقش اساسی در کیفیت خاک دارند. مواد هوموسی به‌عنوان مهم‌ترین بخش مواد آلی به‌طور مستقیم روی رهاسازی عناصر غذایی، ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت بافری فسفر و ابقاء مولکول‌های آلی فلزی و سمی نقش اساسی دارند. تا مدت‌ها تصور می‌شد که اثرات تحریک‌کنندگی مواد هوموسی شبیه به هورمون‌های اکسین، سیتوکنین و اسیدآبسیزیک است ولی بعداً مشخص شد که اثرات مواد هوموسی در ارتباط مستقیم با افزایش جذب عناصر غذایی ماکرو مثل N, P, S و عناصر غذایی میکرو مثل Mn, Cu, Zn, Fe می‌باشد. مواد هوموسی جذب کانی‌ها را از طریق تحریک و افزودن فعالیت میکروبیولوژی زیاد می‌کند (فرقانی

به منظور اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز) نمونه برداری در تاریخ ۸۹/۱/۲۸ در مرحله گلدهی انجام شد. بدین ترتیب از هر گلدان به صورت تصادفی تعداد ۴ عدد برگ پرچی جدا و در داخل نایلکس هایی داخل یخدان قرار داده شد و به روش ذیل در دانشگاه تربیت معلم بر حسب واحد بر گرم پروتئین محاسبه گردید.

پس از نمونه گیری از گلدان ها دو برگ با آب مقطر شستشو داده شد و بلافاصله در بافر فسفات - تریس ۰/۱۶ مولار با $\text{pH} = 7/5$ خرد و هموژن گردید. آن گاه حجم مشابه از همان بافر دیجیتونین و آنزیم هضم کننده دیواره اضافه گردید و اجازه داده شد فرآیند هضم غشا و دیواره سلول انجام گیرد. در پایان مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش لوری و همکاران (Lowry et al., 1951) برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. سپس در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز اندازه گیری شد. بدین منظور از روش میرسا و فریدویچ (Misra and Fridovich, 1972) استفاده شد. محلول زمینه بافر تریس (Tris / base) حاوی فسفات دی سدیک با $\text{pH} = 7/2$ به همراه ۱/۳ میلی مول EDTA به همراه ۰/۱ مول کربنات منوسدیک تهیه و از اپی نفرین با غلظت ۰/۲۵ میلی مول به عنوان سوبسترا استفاده شد و سپس مجموعه عصاره به آنها اضافه و تغییرات جذب نوری حاصل از اکسیداسیون اپی نفرین اندازه گیری و به عنوان فعالیت آنزیمی ارزیابی شد. از آنزیم استاندارد و خالص برای استاندارد شدن نتایج استفاده شد که واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی مول اپی نفرین در یک دقیقه می باشد.

برای اندازه گیری آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز براساس روش پاگلیا و والتین (Paglia and valentine, 1987) عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات فتودینامیک ۰/۵۶ مول با $\text{pH} = 7$ همراه با ۱/۲ مول EDTA و یک میلی مول نیترات سدیم و ۰/۲ میلی مول NADPH وارد شد. سپس به

بذریا باکتری آروسپیریوم لیپوفروم، (C_2): تلقیح بذریا با باکتری ازتوباکتر کروکوم، (C_3): تلقیح بذریا با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C_4): تلقیح بذریا باکتری های (ازتوباکتر کروکوم، آروسپیریوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت Mix بود که هر سه این باکتری ها بومی خاک های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژیکی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص سازی شده بودند و جمعیت مایه تلقیح حدود 10^8 CFU در هر گرم مایه تلقیح (صمغ عربی) بود. به منظور انجام این آزمایش از گلدان های پلاستیکی ۷ کیلو گرمی به تعداد ۹۰ عدد استفاده شد. خاک گلدان ها 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 ۸۸/۸/۱۸ و در سوراخ هایی به عمق ۲ تا ۳ سانتی متر انجام شد. رقم مورد استفاده شده در این آزمایش رقم بهار بود که رقمی پاییزه و به گرما و خشکی آخر فصل مقاوم است. مقدار مصرف باکتری ها در زمان کاشت (ازتوباکتر لیپوفروم، آروسپیریوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) برای ۴۰ عدد بذریا به وزن تقریبی ۴۴/۴ گرم، ۲/۲۵ گرم بود که 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 تیمارهای مورد نظر برای هر گلدان های به کار برده شد. بلافاصله بعد از کاشت اولین آبیاری انجام گرفت و پس از جوانه زنی بذرها و سبز و یکنواخت شدن تعداد بوته ها در هر گلدان تعداد جوانه های 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 گردید و به تیمارهای مورد نظر در ۴ مرحله و هر مرحله به میزان ۲۵۰ Cc برای هر گلدان لحاظ گردید.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر 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 می‌گیرند و عملکرد دانه در تیمار عدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و B_2 (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 گرفته‌اند.

طبق 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 ۲) نیز مشاهده می‌شود بیشترین عملکرد دانه با میانگین میزان فعالیت ۲۶/۲۱ گرم از تیمار مصرف اسید هیومیک بدون اعمال تنش شوری (A_1B_0) بدست آمد که البته همراه با تیمارهای A_0B_1, A_0B_2, A_1B_2 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 (A_0B_2) با میزان فعالیت ۲۰/۸۲ گرم مشاهده شد که افزایشی ۲۵/۹ درصدی را بین دو تیمار A_1B_0 و A_0B_2 شاهد می‌باشیم. بنابر نظر بالا کونباها و راجامانی (Balakunbahan and Rajamani, 2010) اسید هیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک تغییر می‌دهد.

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

آن ۰/۲ میلی لیتر گلو تاون احیا به همراه ۰/۱ میلی مول آب اکسیژن اضافه شد و بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu مدل (u-100 z) اندازه‌گیری شد همزمان یک محلول بلانک حاصل تمام مواد فوق بدون حضور عصاره استخراجی برای تصحیح و حذف خطاهای احتمالی مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم گلو تایتون پراکسیداز معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوپسترا (NADPH) را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلو تایتون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

مقدار آنزیم کاتالاز بر اساس روش پاگلیا و والتین (Paglia and valentine, 1987) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در این روش شدت واکنش حذف آب اکسیژنه به عنوان سوپسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای کار حاوی ۰/۱۷ میلی مول فسفات دی سدیک با $pH = 7/5$ همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی مول کلرید منیزیم بود. یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه هنگامی که واکنش درجه اول پیش رود در نظر گرفته شد.

به منظور تعیین نمودن 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 شد و در داخل پاکت‌هایی 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.

سینرژیستی وجود دارد. تاثیر مثبت تلقیح با آزوسپریلوم توسط محققین زیادی گزارش شده است. مستاجران و همکاران (مستجران و همکاران، ۱۳۸۴) حمیدی و همکاران (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵)، نظارت و غلامی (نظارت و غلامی، ۱۳۸۸) و فولچری و فریونی (Fulchieri and Frioni, 1994) نیز اثر مثبت تلقیح را روی عملکرد گیاه گزارش کرده‌اند و ساتویچ (Saatovich, 2006) هم با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف آزوسپریلوم 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 آزوسپریلوم 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، آزوسپریلوم، سودوموناس) توسط داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز گزارش شد.

آنزیم‌های آنتی اکسیدان

سوپراکسید دیسموتاز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار در سطح ($P < 0/01$) مشاهده می‌شود همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربرد آن (A_0) میزان سوپراکسید دیسموتاز را به میزان ۵۶/۴٪ کاهش داده است. این نتایج حاکی از این بود 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 میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار در سطح ($P < 0/01$) مشاهده شد، همان گونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده

میانگین میزان فعالیت ۲۷/۷۵ گرم از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک (A_1C_3) به دست آمد که البته با تیمارهای $A_1C_1, A_0C_4, A_1C_2, A_0C_2$ در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند و کمترین آن نیز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) با میانگین میزان فعالیت ۱۷/۴۶ گرم بدست آمد که افزایشی ۵۸/۹ درصدی را بین دو تیمار A_0C_0 و A_1C_3 شاهد می‌باشیم.

طبق 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 ($A_0B_1C_2$) 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 ($A_0B_2C_0$) با میانگین میزان فعالیت ۱۴/۷۹ گرم حاصل گردید. میثرا و همکاران (Mishra et al., 2010) در نتایج خود بیان می‌کند 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 آزوسپریلوم، ازتوباکتر، سودوموناس و مزوریزیوبیوم به صورت تلقیح انفرادی، دوتایی، سه تایی و چهار تایی بر عملکرد نخود انجام دادند و بیان کردند که کاربرد این باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد دانه و بیوماس 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

داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز گزارش شده است. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۷۹۴ از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) بدست آمد، همچنین کمترین میزان آن نیز از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۵۷۶/۸ مشاهده شد که افزایشی ۲۱۱/۲ درصدی را بین A_1B_0 و A_0B_2 شاهد می‌باشیم. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسید هیومیک در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از تیمار عدم تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۴۷۷ مشاهده شد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۵۶۴/۱ از تیمار تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و مصرف اسید هیومیک (A_1C_4) مشاهده شد که افزایشی ۱۶۱/۸ درصدی را بین A_1C_4 و A_0C_0 شاهد می‌باشیم، که نشان از این دارد که با کاربرد همزمان اسید هیومیک و تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix گیاه در شرایط مطلوب تری قرار داشته و تنش را کمتر احساس کرده و نتیجه آن صرف انرژی کمتر برای تولید آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴)

می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به طوری که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و B_0 (شاهد) به میزان ۳۵/۳ و ۱۰۷/۲ در صد افزایش یافته است.

نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوری نسبت به عدم اعمال تنش بیشتر می‌شود که دلیل آن عدم توانایی استفاده از آب به دلیل تنش شوری است. در بسیاری از گیاهان زراعی از جمله گندم (Sairam et al., 2002) و پنبه (Gossett et al., 1994) بالا رفتن میزان این آنزیم‌ها در طی بروز تنش شوری گزارش شده است. نیل و همکاران (Noel et al., 1996) تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر تغییرات یونی و تنظیم کننده‌های اسمزی می‌تواند به عنوان یکی از موارد تاثیر گذار تنش شوری بر گیاهان در نظر گرفته شود.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی داری در سطح ($P < 0/01$) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به طوریکه عدم تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد (C_0) با میانگین میزان فعالیت ۱۳۱۰ واحد گرم پروتئین بیشترین اثر را بر میزان SOD نشان داده است که البته با تیمار تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم (C_1) در یک گروه آماری قرار گرفتند، ضمن آنکه تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) با میانگین میزان فعالیت ۷۴/(U/g Protein) کمترین اثر را بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشته است. عمر و همکاران (Omar et al., 2009) نیز کاهش در فعالیت آنزیم SOD را در گیاهچه‌های جو تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم را گزارش کرد. کاهش در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، سودوموناس) توسط

(جدول ۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به طوری که میزان GPX در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و تیمار عدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) به میزان ۴۶ و ۱۵/۱ در صد افزایش نشان داده است و تیمار B_0 (عدم اعمال تنش شوری) کمترین اثر را بر میزان تولید گلوکاتایون پراکسیداز داشته است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز اثر معنی دار در سطح آماری ($P < 0/01$) داشته است همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) نیز مشاهده می‌شود، عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (C_0) با میانگین میزان فعالیت ۱۴۹/۸ واحد گرم پروتئین بیشترین اثر را بر میزان GPX نشان داده است، ضمن آنکه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۰۴/۱ کمترین اثر را داشته است. داودی فرد (۱۳۹۰) نیز کاهش در میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریولوم، سودوموناس) گزارش کرد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم GPX با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۷۰/۲ از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) با میزان فعالیت (U/g Protein) ۹۶/۳ حاصل گردید، که افزایشی ۷۶/۷ درصدی را بین A_1B_0 و A_0B_2 شاهد می‌باشیم. که نشان دهنده این مطلب است که کاربرد اسید هیومیک در کلیه سطوح شوری توانسته است که میزان GPX تولیدی را کاهش دهد

نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B_2C_0) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۶۱۷ به دست آمد که همراه با تیمار تلقیح بذر با باکتری آزوسپیریولوم لیپوفروم و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B_2C_1) در یک گروه آماری قرار گرفتند، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۵۲۵/۸ از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و عدم اعمال تنش شوری (B_0C_4) بدست آمد که البته با تیمارهای B_0C_3 , B_0C_2 , B_0C_1 در یک گروه آماری قرار گرفتند که نشان دهنده این موضوع است که اعمال تنش شوری موجب افزایش آنزیم SOD می‌شود و کاربرد باکتری‌ها با توجه به شرایط مطلوبی که برای رشد و جذب بیشتر آب برای گیاه فراهم می‌آورد موجب کاهش SOD می‌گردد که احتمالاً این نتیجه نشان دهنده این است که باکتری‌ها اثر تنش شوری را از طریق مکانیزم دفاعی دیگری کاهش می‌دهند که از بالا رفتن آنزیم SOD جلوگیری کرده است (مسلمی، ۱۳۸۹). کمتر بودن فعالیت آنزیم در تیمارهای حاوی باکتری احتمالاً نشان دهنده این موضوع می‌باشد که باکتری گیاه را در شرایط مناسب تری قرار داده است (داودی فرد، ۱۳۹۰).

گلوکاتایون پراکسیداز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز 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 طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربرد آن (A_0) میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به میزان ۳۸/۲ درصد کاهش داده است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار در سطح ($P < 0/01$) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین

در شرایط شوری نشان داد که در شرایط تنش شوری بالاترین میزان آنزیم GPX را دارا می‌باشند، در حالی که با کاربرد باکتری‌های محرک رشد میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافته است. در شرایط عدم اعمال تنش شوری، تمامی تیمارها در شرایط بهینه قرار دارند و هیچگونه تنشی به گیاه وارد نشده و کمتر بودن فعالیت آنزیم در تیمارهای حاوی باکتری احتمالاً نشان دهنده این موضوع می‌باشد که باکتری گیاه را در شرایط مناسب تری قرار داده است (داودی فرد، ۱۳۹۰).

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان GPX از تیمار تلقیح بذر با باکتری از تو باکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار ($A_0B_2C_2$) با میانگین میزان فعالیت ($178/3$ U/g Protein) بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت $63/67$ از تیمار تلقیح بذر با باکتری از تو باکتر کروکوم و مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری ($A_1B_0C_2$) حاصل گردید.

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

نیل و همکاران (Noel et al., 1996) تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بر تغییرات یونی و تنظیم کننده‌های اسمزی می‌تواند به عنوان یکی از موارد تاثیر گذار تنش شوری بر گیاهان در نظر گرفته شود

اسید هیومیک مقدار زیادی آب را در خود ذخیره می‌کند و بنابراین توانایی خاک برای ذخیره و نگهداری آب افزایش می‌یابد و گیاه در زمان مورد نیاز از آب ذخیره شده استفاده می‌کند و موجب کاهش آثار شوری می‌شود. در تیمارهای دارای باکتری میزان فعالیت آنزیم GPX کاهش پیدا کرد

که نشان دهنده این است که اسید هیومیک با توجه به توانایی که در کاهش تنش شوری دارد موجب کاهش فعالیت آنزیم GPX شده است.

طبق 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 آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان از تیمار تلقیح بذر با باکتری از تو باکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_2) با میانگین میزان فعالیت ($167/4$ U/g Protein) حاصل گردید و همچنین کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت ($91/89$ U/g Protein) از تیمار تلقیح بذر با باکتری از تو باکتر کروکوم و مصرف اسید هیومیک (A_1C_2) مشاهده شد که افزایشی $72/2$ درصدی را بین A_1C_2 و A_0C_2 شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۴) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان آنزیم GPX از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B_2C_0) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و عدم اعمال تنش شوری (B_0C_3) به ترتیب با میانگین میزان فعالیت $86/177,67$ واحد گرم پروتئین بدست آمد.

بررسی همین تیمارها در شرایط تنش شوری نشان داد که تیمار شاهد در شرایط شوری بیشترین فعالیت آنزیم را دارا می‌باشد و در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط عدم تنش شوری از فعالیت بالاتری برخوردار است که می‌تواند نشان دهنده اثر این آنزیم در کاهش خسارت تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری باشد.

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری‌های محرک رشد

در سطح ($P < 0/01$) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین (جدول ۲) مربوطه نیز مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به نحوی که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز از تیمار عدم تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد (C_0) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) به ترتیب با میانگین میزان فعالیت ۲۷۵/۲ و ۱۷۳/۳ واحد گرم پروتئین بدست آمد.

عمر و همکاران (Omar et al., 2009) کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاهچه‌های جو تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم را گزارش کرد. داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز کاهش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، سودوموناس، آزوسپیریلوم) گزارش کرد.

نتایج کوهلر و همکاران (Kohler et al., 2009) بر روی کاهو نشان داد که در شرایط نرمال (بدون تنش شوری یا خشکی) گیاهچه‌های تلقیح شده با باکتری سودوموناس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری نسبت به تیمار شاهد (بدون باکتری) نشان داد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان آنزیم CAT از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۳۳۶/۵ بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۳۷ از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) بدست آمد که بیانگر این مطلب است که کاربرد اسید هیومیک توانسته است از افزایش آنزیم CAT در شرایط تنش شوری جلوگیری کند، که به توانایی اسید هیومیک در کاهش تنش اکسیداتیو و کاهش استفاده گیاه از

و این کاهش نسبت به تیمارهای فقط اسید هیومیک و حتی تمامی تیمارهای باکتریایی در شرایط عدم تنش بیشتر بود، 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 آنزیم GPX جلوگیری کرده است زیرا فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تنها مکانیسم دفاعی گیاه در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو نیست و بالا بودن پرولین نیز می‌تواند عامل دیگری در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو باشد (مسلمی، ۱۳۸۹).

کاتالاز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک بر میزان آنزیم کاتالاز 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 طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربرد آن (A_0) میزان آنزیم کاتالاز را ۳۶/۶ درصد کاهش داده است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با اعمال تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی داری در سطح ($P < 0/01$) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند و میزان آنزیم CAT در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و عدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) به میزان ۲۵/۹ و ۸۷/۸ درصد افزایش یافته است. تنش شوری موجب تولید اکسیژن‌های رادیکال آزاد می‌شود و تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد و در چنین شرایطی گیاه برای مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی استفاده می‌کنند.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی داری

زدایی H_2O_2 ضروری است (Arora et al., 2002).
کوهلر و همکاران (Kohler et al., 2009) گزارش کرد،
در شرایط تنش شوری گیاهیچه کاهو تلقیح شده با باکتری
سودوموناس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری را نسبت به
تیمار شاهد نشان داد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح
بذر با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسیدهیومیک و
اعمال تنش شوری در سطح آماری ($P < 0/01$) بر میزان فعالیت
آنزیم CAT تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد، همانگونه
که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) نیز مشاهده می‌شود،
بیشترین میزان آنزیم CAT با میانگین میزان فعالیت (U/g Pro-
۳۶۱ tein) از تیمار تلقیح بذر با باکتری آزو اسپیریلوم لیپوفروم
و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی
مولار ($A_0B_2C_1$) بدست آمد ضمن آنکه کمترین میزان آن
نیز از تیمار تیمار تلقیح بذر با باکتری آزو اسپیریلوم لیپوفروم و
مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری ($A_1B_0C_1$) با
میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۲۶/۳ بدست آمد، که افزایش
۱۵۹ درصدی را بین دو تیمار شاهد می‌باشیم.

سیستم آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود.
طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح
بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک در سطح
آماري ($P < 0/01$) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت
آماري معنی داری مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه
میانگین مربوطه (جدول ۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان
آنزیم کاتالاز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک
رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) و کمترین میزان آن
نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت
Mix و مصرف اسید هیومیک (A_1C_4) به ترتیب با میانگین
میزان فعالیت ۲۹۶/۲ و ۱۴۷/۹ واحد گرم پروتئین بدست
آمد، که افزایشی ۱۰۰/۲ درصدی را بین دو تیمار A_0C_0 و A_1C_4
شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد تلقیح بذر با
باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری در سطح آماری
($P < 0/01$) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی
دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه
(جدول ۴) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم CAT با
میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۳۴۰ از تیمار عدم تلقیح
بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰
میلی مولار (B_2C_0) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر
با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و عدم اعمال تنش
شوری (B_0C_4) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۳۰/۸
بدست آمد که البته با تیمار B_1C_0 و B_0C_3 در یک گروه آماری
قرار گرفتند.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) سوپراکسید را به پراکسید
هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن اتمی تبدیل می‌کند، آنزیم کاتالاز
و پراکسیداز نیز H_2O_2 که برای سلول‌ها سمی است را به آب و
اکسیژن تبدیل می‌کند (Liu et al., 2007; Arora et al., 2002).
بنابراین، در شرایط تنش شوری بالا رفتن SOD به تنهایی
نمی‌تواند از گیاه در برابر مسمومیت اکسیژن محافظت کند و
افزایش آنزیم‌های درگیر (کاتالاز و پراکسیداز) در مسمومیت

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر شوری، باکتری های محرک رشد و هیومیک اسید بر صفات مورد بررسی

Table1- Analysis of variance for Salinity, plant growth promoting bacteria and humic acid of characters

منابع تغییرات	S.O.V	df	عملکرد دانه Grain yield	سوپراکسید دیسموتاز SOD	گلو تاتیون پراکسیداز GPX	کاتالاز CAT
اسید هیومیک (A)	Humic acid(A)	1	46.412 ns	4979184.01**	39062.50 **	107744.4 **
تنش شوری (B)	Salinity(B)	2	58.441 *	4176242.74 **	17530.84 **	137273.41 **
اثر متقابل اسید هیومیک و سطوح تنش شوری	AB	2	105.160 **	404627.21 **	244.13 ns	7970.43 **
باکتری های محرک رشد (C)	PGPR (C)	4	50.203 ns	676873.54 **	4841.01 **	24104.91 **
اثر متقابل اسید هیومیک و باکتری	AC	4	55.283 *	78913.04 ^{ns}	2967.56 **	3086.32 **
اثر متقابل باکتری در سطوح تنش شوری	BC	8	24.608 ns	75798.11 ^{ns}	1471.89 **	1897.86 **
اثر متقابل باکتری و اسید هیومیک در سطوح مختلف شوری	ABC	8	85.431 **	82231.49 ^{ns}	1411.31**	1350.01 **
خطا	Error	60	24.802	68980.55	209.23	248.08
ضریب تغییرات	C.V%	-	20.62%	9.30%	8.60%	12.50%

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

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)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلو تاتیون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
اسید هیومیک Humic acid				
A ₀	23.440A	1303.0 A	150.7 A	258.2 A
A ₁	24.876A	833.0 B	109.0 B	189.0 B
تنش شوری Saltinity stress				
B ₀	25.624 A	696.3 C	104.5 C	153.5 C
B ₁	23.374 B	1066.0 B	132.5 B	229.0 B
B ₂	23.476 B	1443.0 A	152.6 A	288.4 A
باکتری های محرک رشد PGPR				
C ₀	22.930A	1310.0 A	149.8 A	275.2 A
C ₁	27.920A	1140.0 AB	132.8 B	233.5 B
C ₂	31.780A	1065.0 B	131.3 B	217.3 C
C ₃	30.630A	1051.0 B	131.4 B	218.9 C
C ₄	31.690A	774.3 C	104.1 C	173.3 D

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 range tests at 5% level.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 3- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلوکاتایون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
A ₀ B ₀	25.04 A	815.9 D	126.60 C	169.9 E
A ₀ B ₁	24.46 AB	1300. B	155.30 B	268.3 B
A ₀ B ₂	20.82 B	1794.0 A	170.20 A	336.5 A
A ₁ B ₀	26.21 A	576.8 E	96.30 E	137.0 F
A ₁ B ₁	22.29 AB	831.5 D	114.20 D	189.7 D
A ₁ B ₂	26.13 A	1091.0 C	135.10 C	240.4 C
A ₀ C ₀	17.46 C	1477.0 A	158.30 A	296.2 A
A ₀ C ₁	22.10 B	1332.0 AB	164.90 A	263.2 B
A ₀ C ₂	27.52 A	1392.0 AB	167.40 A	267.9 B
A ₀ C ₃	23.30 B	1331.0 AB	140.30 B	265.2 B
A ₀ C ₄	26.82 A	984.6 CD	122.60 C	198.7 C
A ₁ C ₀	20.75 B	1143.0 BC	129.79 C	254.2 B
A ₁ C ₁	24.44 AB	948.2 CD	100.70 D	203.8 C
A ₁ C ₂	25.44 AB	738.7 DE	91.89 DE	166.8 D
A ₁ C ₃	27.75 A	770.9 DE	114.99 D	172.6 D
A ₁ C ₄	26 AB	564.1 E	139.11 B	147.9 E

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 range tests at 5% level.

(A0): 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 بذریه باکتری آزوسپیریلوم لیپوفر، (C2): تلقیح بذر با باکتری ازوتوباکتر کروکوم، (C3): تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C4): تلقیح بذریه باکتری‌های (ازوتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفر، سودوموناس پوتیدا) به صورت مخلوط.

(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 chroococcum, (C3): Grain inoculation with Pseudomonase putida, (C4): The mix grain inoculation with (Azotobacter chroococcum, Azospirillum lipoferum, Pseudomonase putida).

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 4- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلوکاتایون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
B ₀ C ₀	24.452A	982.0 CD	107.485 G	187.2 E
B ₀ C ₁	23.898A	638.5 E	129.685 DEF	147.5 GH
B ₀ C ₂	29.128A	703.2 DE	115.685 FG	153.8 FG
B ₀ C ₃	25.613A	632.2 E	86.670 H	148.0 GH
B ₀ C ₄	25.028A	525.8 E	117.835 FG	130.8 H
B ₁ C ₀	20.217A	1332.0 AB	147.700 CD	298.5 BC
B ₁ C ₁	21.565A	1197.0 BC	121.985 FG	236.5 D
B ₁ C ₂	26.958A	991.5 CD	122.150 FG	218.2 D
B ₁ C ₃	21.628A	994.5 CD	130.000 DEF	221.7 D
B ₁ C ₄	26.502A	813.8 DE	152.150 BC	170.3 EF
B ₂ C ₀	21.365A	1617.0 A	177.000 A	340.0 A
B ₂ C ₁	24.343A	1585.0 A	146.200 CD	316.5 B
B ₂ C ₂	23.357A	1502.0 AB	151.150 BC	280.0 C
B ₂ C ₃	25.610A	1527.0 AB	166.300 AB	287.0 C
B ₂ C ₄	22.703A	983.3 CD	122.515 FG	218.7 D

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 range tests at 5% level.

جدول ۵- مقایسه میانگین های اثرات متقابل صفات

Table 5- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار	Grain yield (g)	SOD (U mol/ g Fw)	GPX (U mol/ g Fw)	CAT (U mol/ g Fw)
A ₀ B ₀ C ₀	19.74 FGH	1232	124.30 B	209.3 D
A ₀ B ₀ C ₁	23.01 ABCDEFGH	713.7	173.70 A	168.7 E
A ₀ B ₀ C ₂	28.51 ABCDEF	877	167.70 A	177.3 E
A ₀ B ₀ C ₃	23.88 ABCDEFGH	714.3	86.67 DE	165.0 E
A ₀ B ₀ C ₄	30.08 ABCD	542.3	80.67 DE	129.3 F
A ₀ B ₁ C ₀	17.86 GH	1298	174.70 A	330.3 B
A ₀ B ₁ C ₁	20.33 DEFGH	1384	157.30 A	260.0 C
A ₀ B ₁ C ₂	32.25 A	1357	156.30 A	271.3 C
A ₀ B ₁ C ₃	21.18 CDEFGH	1346	162.00 A	275.0 C
A ₀ B ₁ C ₄	30.66 ABC	1116	126.30 B	205.0 D
A ₀ B ₂ C ₀	14.79 H	1903	176.00 A	349.0 AB
A ₀ B ₂ C ₁	22.96 ABCDEFGH	1897	163.70 A	361.0 A
A ₀ B ₂ C ₂	21.81 BCDEFGH	1943	178.30 A	355.0 AB
A ₀ B ₂ C ₃	24.83 ABCDEFG	1933	172.30 A	355.7 AB
A ₀ B ₂ C ₄	19.71 FGH	1296	160.70 A	261.7 C
A ₁ B ₀ C ₁	19.98 EFGH	732	90.67 DE	165.0 E
A ₁ B ₀ C ₁	24.79 ABCDEFG	563.3	85.67 DE	126.3 F
A ₁ B ₀ C ₂	29.75 ABCDE	529.3	63.67 E	130.3 F
A ₁ B ₀ C ₃	31.48 AB	550	86.67 DE	131.0 F
A ₁ B ₀ C ₄	25.03 ABCDEFG	509.3	155.00 A	132.3 F
A ₁ B ₁ C ₀	19.26 FGH	1367	120.70 BC	266.7 C
A ₁ B ₁ C ₁	22.80 ABCDEFGH	1009	86.67 DE	213.0 D
A ₁ B ₁ C ₂	21.67 BCDEFGH	626.3	88.00 DE	165.0 E
A ₁ B ₁ C ₃	25.39 ABCDEFG	643	98.00 CD	168.3 E
A ₁ B ₁ C ₄	22.35 ABCDEFGH	512	178.00 A	135.7 F
A ₁ B ₂ C ₀	23.02 ABCDEFGH	1331	178.00 A	331.0 B
A ₁ B ₂ C ₁	25.72 ABCDEFG	1272	128.70 B	272.0 C
A ₁ B ₂ C ₂	24.90 ABCDEFG	1060	124.00 B	205.0 D
A ₁ B ₂ C ₃	26.39 ABCDEFG	1120	160.30 A	218.3 D
A ₁ B ₂ C ₄	30.61 ABC	671	84.33 DE	175.7 E

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

- حمیدی، ا.، ا. قلاوند، م. دهقان شعار، م. ج. ملکوتی، ا. اصغرزاده و ر. چوگان. ۱۳۸۵. اثرات کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد ذرت علوفه‌ای. پژوهش و سازندگی. شماره ۷۰، صفحات ۲۲-۱۶.
- داودی فرد، م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپریلوم، 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 آزوسپریلوم، ازتوباکتر، پسوموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده ی خشک و عملکرد نخود. *Cicer arietinum L.* دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.
- فرقانی، ا. و ا. جوانمرد. ۱۳۸۴. اثر مواد افزودنی مختلف بر مقدار اسیدهومیک و فولویک در خاک‌های مختلف. نهمین کنگره علوم خاک ایران.
- کافی، م. ۱۳۷۷. اثرات شوری بر فتوسنتز ارقام گندم حساس و متحمل به شوری. چکیده مقالات پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، صفحه ۳۳۲.
- مستأجران، ا.، ر. عموآقایی و گ. امتیازی. ۱۳۸۴. اثر آزوسپریلوم و اسیدیته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست شناسی. جلد ۱۸، شماره ۳، صفحات ۲۵۶-۲۴۸.
- 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 آزوسپریلوم و سودوموناس در بهبود جذب عناصر غذایی در ذرت. نشریه بوم شناسی کشاورزی جلد ۱، شماره ۱، ص ۲۵-۳۲.
- Arora, A., R. K. Sairam and G. C. Srivastave. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*. 82 (10,25): 1227-1238.
- 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.
- Becana, M., JF. Moran and I. Iturbe-Ormaetxe. 1998. Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil* 201: 137-147.
- Bernstein, N., W.K. Silk, and A. L. Lauchli. (1993). Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress. 191:433-439.
- Bor, M., Ozdemir F. and Türkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris L.* and wild beet *Beta maritima L.* *Plant Sci*. 164: 77-84.
- Castignetti, D. and Smarrelli, J. 1986. First year field performance of spruce seedlings inoculated with plant growth promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol*. 39: 1084-1088.
- Comba, M.E. M.P. Benavides and M.L Tomaro. 1998. Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. *Aust. J. Plant Physiol*. 25: 665-671.

- 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.
- Derik, A. K. and Montagu, J. 2002.** Selection of drought tolerant genotypes using morphological and physiological traits in durum wheat.
- 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.
- Francois, L.E., C.M. Maas and S.M. Lesch. 1994.** Time of salt stress Effects growth and yield components of irrigated wheat. *Agron. J.* 86:100-107.
- Fulchieri, M. and L. Frioni. 1994.** Azospirillum inoculation on maize (*Zea mays* L.): effect on yield in a field experiment in central Argentina. *Soil Biology and Biochemistry*, 26:921- 923.
- Gossett DR. EP. Millhollon and M. Cran-Lucas. 1994.** Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.* 34: 706-714.
- 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.
- Hasnain, S, and A.N. Sabri, 1996.** Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-stress by non-rhizospheric *Pseudomonas* strains. In: Abstract the Book of 7 Int. Symp. On Nitrogen Fixation with Non legumes. Faisalabad, Pakistan, pp.36.
- Karpinski, S. H. Gabrys, A. Mateo B. Karpinska and P.M. Mullineaux. 2003.** Light perception in plant disease defense signalling. *Current Opinion Plant Biol.* 6: 390-396.
- Kohler, J., J. Antonio Hernandez, F. Caravaca, A. Roldan. 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.p: 245-252.
- Liu, J., L. P. Tong, T. W. Shen, J. Li, L. Wu and Z. L. Yu. 2007.** Impact of ion implantation on licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) growth and antioxidant activity under drought stress. *Plasma Science and Technology.* 9 (3): 301-306.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A.L. Farr and R. J. Randall, 1951.** Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Maurhofer, M., Keel, C., Schnider, U., Voisard, C., Hass, D. and Defago, G. 1992.** Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO on its disease suppressive capacity. *Phytopathology.* 82: 190-195.
- Mishra, M 2U Kumar, 2P K Mishra and V Prakash. 2010.** Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for the Enhancement of *Cicer arietinum* L. Growth and Germination under Salinity. *Advances in Biological Research* 4 (2): 92-96.
- Misra, H. P. and I. Fridovich. 1972.** The generation of superoxide radical during auto oxidation. *J. Biol. Chem.*

247,6960-6966.

Mohammdkhani, N. and R. Heidari. 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10 (21): 3835-3840.

Noctor, G. and CH. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev of Plant Physiol and Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.

Noel, T.C., Sheng, C. and Hynes, M. F. 1996. Rhizobiumleguminosarum as a PGPR *Can. J. Microbiol.Rev.* 56: 662-676.

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

Paglia, D. E. and W. N. Valentine. 1987. Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathion proxidase. *J. Lab. Med.* 70: 158-165.

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

Pessaraki C., Andres, J.1994. Phosphorus management in broadacre organic farming systems. A report for the rural industries research and development corporation.

Ruiz-Lozano, J.M., C. Collados, J.M. Barea and Azcon, R. 2001. Cloning of cDNAs encoding SODs from lettuce plants which show differential regulation by arbuscular mycorrhizal symbiosis and by drought stress. *J. Exp. Bot.* 52: 224-2242.

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., Rao, K. V. & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relationto axidative stress. Antioxidant active and osmolyte concentration. *Plant Sci*, 163, 1037-1046.

Samavat, S., Malakuti, M. 2005. Samavat, S., and Malakooti, M. 2006. important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. *Water and soil researchers technical issue* 463: 1-13.

Satyendra,N.R.,Stephan,W.B.,Gosset.D.R.,and Lucas,M.C.,the J. of cotton Sci.,30,11 (1999).

Shabala,A.J.and S.K.Al_Azawi.2000.Occurrance of phosphate -solubilizing bacteria in some Iraqi Soils. *Plant and Soil.* 117;135-141.

Tan, Y., Z. S. Liang, H. B. Hongbo and F. Du. 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.

Zhang, J.X. and M.B. Kirkham. 1996. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid and propyl gallate. *J. Plant Physiol.* 147: 489-493.