Archive of SID

بررسی اثر کود شیمیایی و زیستی فسفر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات بیوشیمیایی گلرنگ بهاره (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش کمبود آب

سیاوش حشمتی[۱]، مجید امینی‌دهقی[۲*] و کیوان فتحی‌امیرخیز[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۴)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کودهای زیستی و شیمیایی فسفر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلرنگ در تنش خشکی آزمایشی به‌صورت اسپلیت - فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۱ - ۱۳۹۰، در مزرعهٔ پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد اجرا گردید. عامل اصلی شامل تنش خشکی در سه سطح: آبیاری کامل یا بدون تنش (آبیاری براساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی)، تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی (آبیاری براساس تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) و عامل فرعی به‌صورت فاکتوریل شامل ۶ تیمار که سه سطح آن کود شیمیایی فسفر با مقادیر (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل در هکتار) و کود زیستی فسفر بارور-۲، در دو سطح (تلقیح و بدون تلقیح با بارور-۲) بود. براساس نتایج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر مصرف بالای کود فسفر در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی در شرایط تنش رویشی و زایشی افزایش یافت. نتایج نشان داد تلقیح کود زیستی فسفر بارور-۲ بدون استفاده از کود فسفر باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پروتئین‌های محلول برگ در شرایط تنش در مراحل رویشی و زایشی گردید. در همین شرایط، مصرف کود فسفر در سطوح کود زیستی بیشترین تأثیر را در افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح کود زیستی فسفر بارور-۲ در شرایط تنش زایشی بدون استفاده از کود فسفر سبب کاهش معنی‌دار میزان مالون دآلدهید شد. در این بررسی می‌توان بیان داشت که تلقیح گلرنگ بهاره با کود زیستی فسفر بارور-۲ همراه با کود فسفر در سطوح تنش خشکی می‌تواند اثرات سوء ناشی از تنش را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، پراکسیداسیون لیپید، تنش خشکی، کود زیستی فسفر بارور-۲

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجویان سابق کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amini@shahed.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تنش‌های غیر زنده منجر به یک سری تغییرات مورفولوژی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می‌شوند که رشد گیاه و عملکرد آنها را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهند (۴۱). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند تولید انواع اکسیژن فعال است (۱۶). یکی از اختلالات ناشی از رادیکال‌های فعال در گیاهان اثر آنها بر لیپیدهای غشای سلولی می‌باشد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک و منجر به تخریب اسیدهای چرب می شوند (۱۳). گیاهان به‌منظور جلوگیری و یا کاستن از آسیب‌های ناشی از انواع اکسیژن فعال، دارای سامانه‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند که شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز می‌باشند (۱). عزیز و لارهر (۸) گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ‌های تحت تنش اسمزی در کلزا افزایش یافت. هم‌چنین جگتاپ و بهاراگاوا (۲۳) نیز افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در واکنش به تنش خشکی را گزارش نمودند. هم‌چنین گیاهان در شرایط تنش خشکی به‌منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات‌های محلول و پرولین پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهند و به‌عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد (۴۰). در فرآیند تنظیم اسمزی، تورژسانس و فرآیندهای وابسته به آن تحت شرایط کمبود آب ادامه می‌یابد. از این‌رو، تنظیم اسمزی به توسعه سلولی و رشد گیاه در تنش آبی کمک می‌کند (۳۷). از طرفی در پاسخ به تنش خشکی پروتئین‌های دهیدرین سنتز می‌شوند که این پروتئین‌ها زیر مجموعه گروه II پروتئین‌های فراوان انتهای جنین‌زایی هستند (۱۴). از این‌رو تجمع پروتئین‌های دهیدرین همراه با دیگر پروتئین‌های انتهای جنین‌زایی در پاسخ به تنش خاصی، نقش مهمی در پایداری پروتئین‌های غشاء و تنظیم اسمزی ایفاء می‌کنند (۱۵). پرولین نیز جذب آب را بهبود داده و اتلاف آب را کاهش می‌دهد و ممکن است به مفهوم تنظیم اسمزی به‌کار رود (۱۰)، به‌گونه‌ای که تجمع این ترکیبات در سلول‌های گیاه باعث ایجاد پتانسیل اسمزی منفی‌تر گردیده و در نتیجه به‌منظور جبران آب سلولی، فشار اسمزی سیتوپلاسم را افزایش داده و از طریق تنظیم اسمزی با تنش مقابله می‌کند (۷). فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر معدنی ضروری برای رشد گیاهان بعد از نیتروژن است. اگرچه قابلیت دسترسی به این ماده غذایی برای گیاهان توسط واکنش‌های شیمیایی مختلف، به‌ویژه در خاک‌های خشک و نیمه‌خشک محدود می‌شود (۳۱). خاک‌های کشاورزی در ایران به‌طور غالب آهکی هستند که با pH بالا و مقدار کم فسفر قابل دسترس گیاه توصیف می‌شوند (۲). هاشمی‌دزفولی و همکاران (۲۲) بیان داشتند که با افزودن کود فسفر رشد ریشه‌ای لوبیا چشم‌بلبلی، گندم و برنج افزایش یافته است، این بدان معنی است که به‌هنگام استفاده از خاک به‌عنوان محیط رشد، اگر کمبود فسفر، وجود داشته باشد، رشد غلات و بقولات کاهش می یابد. آنها هم‌چنین بیان داشتند که در شرایط تنش کم‌آبی افزودن فسفر به خاک کمک مؤثری به گیاه جهت افزایش رشد ریشه و مقاومت بهتر به شرایط کم‌آبی می‌کند. تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های مفید بومی، ممکن است تحمل به خشکی گیاهان رشد یافته در مناطق خشک و نیمه‌خشک را افزایش دهد (۳۰). میکروارگانیسم‌های خاک در ایجاد تعادل و حفظ پایداری بوم‌نظام، نقش مهمی برعهده دارند، بنابراین استفاده از کودهای زیستی یکی از راه‌کارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب می‌گردد که باعث افزایش واکنش‌های مفید بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر شده و توان گیاه را برای جذب بیشتر عناصر غذایی افزایش می‌دهد (۲۷). کود فسفر بارور-۲ از ۲۲ سویه باکتری حل‌کننده فسفات ازخاک‌های بومی ایران جداسازی گردیده و آزمایش‌های متعدد انجام شده بر روی آنها نشان می‌دهد که بارور-۲ با شرایط محیطی بومی مزارع کشور سازگار است (۲۸). این کود، حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده فسفات از گونه‌های باسیلوس

www.SID.ir

Archive of SID

لنتوس (سویه P5) و سودوموناس پوتیدا (سویه P13) می‌باشد که به‌ترتیب با استفاده از دو سازوکار ترشح اسیدهای آلی و اسید فسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفره نامحلول و در نتیجه قابل جذب شدن آن برای گیاه می‌گردند (۲۹). امروزه کودهای زیستی به‌عنوان یک جایگزین برای کودهای شیمیایی با هدف مصرف افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند (۴۲). بنابراین کاربرد منابع و نهاده‌های تجدیدپذیر یکی از اصول کشاورزی پایدار است که موجب بهره‌وری زراعی و کمترین خطرات زیست‌محیطی می‌شود (۲۴). هدف از انجام این آزمایش، بررسی تأثیر کاربرد کود فسفر بارور-۲ بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، پروتئین‌های محلول و پراکسیداسیون لیپیدهای برگ گلرنگ طی تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۹۱ - ۱۳۹۰ در مزرعهٔ پژوهشی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شاهد واقع در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۳ دقیقهٔ شمالی و طول ۵۱ درجهٔ شرقی انجام گرفت. بافت خاک در عمق ۳۰ - ۰ سانتی‌متری از نوع لومی و در عمق ۶۰ - ۳۰ سانتی‌متری از نوع لومی رسی، میزان فسفر قابل جذب ۱۰میلی‌گرم در کیلوگرم، نیتروژن کل ۰/۰۸۹ درصد بود. آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت اسپلیت - فاکتوریل با عامل تنش خشکی در سه سطح: بدون تنش (آبیاری پس از تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی)، تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی (آبیاری پس از تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) در کرت اصلی است. عامل فرعی شامل ۶ تیمار که عبارت بودند از کود شیمیایی فسفر در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل در هکتار) و کود زیستی فسفر بارور-۲ در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح بذر با کود زیستی فسفر بارور۲) که به‌صورت فاکتوریل، عامل فرعی را تشکیل می‌دادند. قبل از کاشت و براساس نتایج تجزیه شیمیایی خاک، کود نیتروژن از منبع اوره به‌مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به خاک داده شد. بذر گلرنگ رقم IL-111 از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کشور تهیه و طبق توصیه مؤسسه، تاریخ کشت هفته چهارم اسفند ماه بود. جهت کاربرد کود زیستی فسفر بارور۲ به‌صورت بذرمال، به‌میزان ۱۰ لیتر در هکتار استفاده شد و سپس در کرت‌های تعیین شده کشت شدند. برای تعیین مراحل رشد (از نظر زمان اعمال تیمارهای آبیاری)، از روش آلن و همکاران (۴) استفاده شد. بر این اساس، در طول مرحلهٔ رویشی، ۷۰ تا ۸۰ روز از زمان کاشت (Vb) تا انتهای مرحلهٔ رویشی تأخیری (مرحلهٔ طبق‌دهی)، آبیاری کرت‌هایی که باید در این مرحله تحت شرایط تنش قرار می‌گرفت، براساس تخلیهٔ ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی خاک انجام گرفت و از آن به بعد هم با شروع مرحلهٔ گل‌دهی تقریباً به‌میزان ۵۰ درصد (F) تا مرحلهٔ تشکیل عملکرد و پر شدن دانه (Y) آبیاری در کرت‌های تنش خشکی، پس از اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد تخلیهٔ رطوبت ظرفیت زراعی انجام گرفت. اندازه‌گیری رطوبت خاک به روش وزنی انجام شد (۳). برای این منظور، ۴۸ ساعت بعد از آبیاری، اقدام به برداشت نمونه خاک از عمق توسعه ریشه (صفر تا ۳۰ سانتی‌متر) گردید. نمونه های برداشت شده بلافاصله توزین و جهت تعیین میزان رطوبت، به آون به دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، منتقل شد. قبل از آبیاری مجدد، اجازه داده شد تا رطوبت خاک درعمق ریشه به ۷۵ درصد تخلیهٔ رطوبت ظرفیت زراعی برسد. به‌منظور بررسی تأثیر تنش رطوبتی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در انتهای مراحل رشد رویشی و زایشی پس از اعمال تنش و قبل از آبیاری معمول، از هر تیمار نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته تهیه و در نیتروژن مایع قرار داده شدند و سپس تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای ۸۰- درجه نگهداری شدند. به‌منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد. مقایسهٔ میانگین برهم‌کنش‌ها نیز با استفاده از روش L.S.Means توسط دستور PDIFF انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با pH = ۶/۸ عصاره‌گیری شد. همگن‌های حاصل در دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ °C سانتریفیوژ شده وسپس محلول روئی به‌عنوان عصاره خام آنزیمی در فالکون‌های ۰/۵ میلی‌لیتری تقسیم شده وتا زمان سنجش فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش کاکمک و هورست (۱۲) استفاده شد و تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1601PC-Shimadzu-Japan) پیگیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، نیز با استفاده از روش ناکانو و آسادا (۳۳)، از طریق اکسیداسیون آسکوربات، توسط اسپکتروفوتومتر، در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که با کاهش جذب در طی ۵ دقیقه همراه بود. فعالیت بخش محلول آنزیم پراکسیداز برطبق روش قناتی و همکاران (۱۹) انجام گردید. بدین منظور از عصاره آماده شده، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده شد و فعالیت آنزیمی در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت پلی‌فنل اکسیداز براساس میزان اکسیداسیون کاتگول در حضور آب اکسیژنه تعیین و افزایش در جذب ۴۱۰ نانومتر به‌عنوان فعالیت این آنزیم در نظر گرفته شد (۱۹). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس جذب عصاره در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (۲۰). واحد فعالیت تمامی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده به‌صورت تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

میزان پروتئین برگ نیز بر طبق روش برادفورد (۱۱) تعیین گشت. عصاره آنزیمی به‌همراه محلول برادفورد پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. غلظت پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با کمک منحنی استاندارد که با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد تهیه و واحد آن به‌صورت میلی‌گرم پروتئین بر گرم وزن تر بیان شد. برای اندازه‌گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش بیتس و همکاران (۹) استفاده شد. برای تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء از اندازه‌گیری مالون دآلدهید به‌عنوان فرآورده نهائی لیپید پراکسیداسیون غشاء انجام شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $155\ Mm^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه گردید (۱۷).

نتایج و بحث

اثر متقابل سه‌گانه تنش خشکی، کود فسفردار و کود زیستی فسفر بارور-۲ بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج آزمایش نشان داد تحت شرایط تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی گلرنگ، در تیمار عدم کاربرد کود زیستی فسفر بارور-۲، کاربرد کود شیمیایی فسفر اثر مثبت و معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت، به‌طوری‌که بیشترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود شیمیایی فسفردار بود که توانست میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را تحت شرایط تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی به‌ترتیب نسبت به تیمارهای شاهد (عدم مصرف کود فسفر)، ۷۶ و ۷۸/۳ درصد افزایش دهد و اما بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار کاربرد کود زیستی، بدون مصرف کود فسفردار در سطح تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی به‌دست آمد (جدول ۲). در آزمایشی، تحت تنش شدید خشکی بر روی کاهو، تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas mendocina*)، موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد. این امر تأیید می‌کند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند به‌عنوان مواد تلقیحی برای کاهش دادن آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط خشکی استفاده شوند (۲۵). به‌نظر می‌رسد کاربرد کود زیستی (فسفر بارور-۲) در شرایط تنش خشکی در مراحل مختلف رشد گلرنگ با استفاده از کود شیمیایی فسفردار، سبب افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر کود شیمیایی و زیستی فسفر بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، مالون دآلدهید و پروتئین‌های محلول برگ گلرنگ، تحت شرایط کمبود آب

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی‌فنل اکسیداز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پروتئین‌های محلول برگ	پرولین	مالون دآلدئید
R (بلوک)	۲	۰/۰۵۳۹	۰/۰۲۹۴	۰/۰۴۳	۰/۰۸۵	۰/۰۱۰۸	۱/۹	۰/۰۱۶	۰/۰۸۲
A (تنش)	۲	۵۶/۳۲۹**	۱۷۴/۴۳**	۱/۳۴۷*	۲۵۳/۶۱۰**	۳۹۶/۶۶۷**	۴/۶*	۰/۰۱۸*	۳/۱*
R × A	۴	۰/۱۰۰	۰/۰۲۳	۰/۰۷۸	۰/۲۰۴	۰/۱۴۶	۰/۲۶	۰/۰۲۵	۰/۰۶۵
B (فسفر شیمیایی)	۲	۱۰۹/۴۹۰**	۰/۵۲۹*	۴۸۷۶۴**	۸۸/۸۷۳**	۱۵۲۸/۷۶۴**	۰/۴۵ ns	۰/۰۲۴**	۲/۴*
C (بیولوژیک)	۱	۴۹/۲۸۷**	۱۱۰۸/۳۰۹**	۲۰/۴۱۱**	۲۰/۴۶۱**	۳۹/۹۰۴**	۰/۴۴ ns	۰/۰۶۰ ns	۱/۳**
A × B	۴	۲۱/۱۷۳**	۶۸/۳۰۱**	۹/۴۶۲**	۳۱/۶۰۰**	۱۱۱/۴۴۸**	۰/۵۶ ns	۰/۰۱۳**	۲/۹**
A × C	۲	۱۶/۱۷۸**	۲۲/۳۸۷**	۵۷/۷۹۴**	۳۸/۴۴۴**	۴۰/۶۶۸**	۰/۸۷ ns	۰/۰۱۴**	۴/۴**
B × C	۲	۱۴۰/۴۶۲**	۴۹/۴۵۶**	۸/۹۹۵**	۶۶/۸۳۷**	۲۲۹/۰۷۹**	۶/۶**	۰/۰۲۲ ns	۰/۱۷ ns
A × B × C	۴	۴۱/۶۸۴**	۷۹/۱۹۶**	۲۱/۵۱۷**	۱۱۶/۶۶۵**	۲۱۰/۹۸۰**	۲/۱*	۰/۰۷۵**	۱۰/۸**
خطا (خطای BC)	۳۰	۰/۱۰۶	۰/۱۳۳	۰/۱۳۲	۰/۰۸۵	۰/۱۰۴	۰/۶۴	۰/۰۱۵	۰/۰۷۶
ضریب تغییرات (٪)		۶/۵	۱/۰	۴/۴	۲/۸	۰/۵	۷/۱	۱۸/۱	۱۱/۲

ns ، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

سطح تحمل گیاه به تنش شده باشد.

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در سطح تنش رویشی و بدون تنش، تلقیح کود زیستی بدون استفاده از کود شیمیایی فسفردار سبب افزایش معنی‌دار آنزیم آسکوربات پراکسیداز شده است، هم‌چنین در تیمار بدون استفاده از کود زیستی، مصرف کود شیمیایی فسفردار موجب افزایش مقدار آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید. هم‌چنین با افزایش میزان کود فسفره مصرفی در تیمار بدون تلقیح کود زیستی فسفات بارور-۲ در سطح تنش زایشی نیز میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت. به‌طوری‌که با کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد (عدم مصرف فسفر) حدود ۳۳ درصد افزایش داشت. اما مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار مصرف کود فسفات بارور-۲ با مصرف ۵۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان داد که نسبت به شاهد حدود ۱۴/۲ درصد افزایش داشت (جدول ۲).

بنابراین کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر ضمن کاهش مصرف کود شیمیایی فسفردار، در سطوح پایین فسفر نیز باعث افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش در مرحله زایشی گلرنگ گردید. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش خشکی بر روی گیاهچه ذرت در تیمار تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات، نیز مشاهده شده است (۳۹). به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی موجب کاهش آسیب اکسیداتیو در گلرنگ شده باشد.

بررسی مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که با اعمال تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی گلرنگ، مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار سبب افزایش چشم‌گیری در مقدار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمار عدم تلقیح با کود زیستی فسفر بارور-۲ گردید. اما در هنگام استفاده از کود زیستی فسفر بارور-۲، مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی فسفردار، میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را نسبت به شاهد (بدون مصرف کود فسفر) در مراحل رشد رویشی و زایشی به‌ترتیب ۹۶٪ و ۶۸/۵٪ افزایش داد. به‌نظر می‌رسد تلقیح کود زیستی فسفر بارور-۲ علی‌رغم اثر مثبتی که بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در شرایط تنش داشته، موجب کاهش ۵۰ درصدی کود شیمیایی فسفردار نیز گردید (جدول ۲). افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاهچه‌های لوبیای تحت تنش شوری توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۱۸). بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان داشت که کاربرد کود شیمیایی فسفردار همراه با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات در سطوح تنش می‌تواند موجب افزایش فعالیت این آنزیم گردد.

بررسی اثر متقابل سطوح تنش خشکی، کود زیستی فسفر بارور-۲ و کود شیمیایی فسفردار نشان داد در شرایط بدون تنش (آبیاری کامل) و تنش در مرحله رویشی، آنزیم تلقیح کود زیستی فسفر بارور-۲ بدون استفاده از کود شیمیایی فسفر سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد اما در هنگام عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفر بارور-۲، استفاده از کود شیمیایی فسفردار توانست میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش دهد. هم‌چنین هنگامی‌که تنش در مرحله زایشی رخ داد، افزایش مصرف کود شیمیایی فسفر در سطوح کود زیستی فسفر بارور-۲، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش داد، به‌نحوی‌که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر استفاده از ۱۰۰ کیلوگرم کود شیمیایی فسفر در هکتار نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف کود فسفر) حدود ۱/۹ برابر افزایش داشت (جدول ۲). بنابراین مصرف کود شیمیایی فسفردار اثر مثبتی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط محدودیت رطوبتی داشت و به‌نظر می‌رسد سطح تحمل گیاه را به شرایط تنش افزایش داده باشد. گیلهام و داج (۲۱) بیان داشتند که فعالیت بالای پراکسیداز در گیاهچه‌های ذرت در اثر تنش خشکی و تیمارهای تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات، چند برابر نسبت به تیمارهای بدون تلقیح افزایش داشته است. از این‌رو نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تحمل به

www.SID.ir

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل بررسی اثر کود شیمیایی و زیستی فسفر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، مالون دآلدهید و پروتئین‌های محلول برگ گلرنگ، تحت شرایط کمبود آب

تنش	کود زیستی فسفر بارور ۲	فسفر	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پروتئین	پرولین	مالون دآلدهید
بدون تنش	عدم تلقیح	۰	۳/۶۶^{a}	۳۸/۹۹^{a}	۹/۲۳^{a}	۷/۰۴^{b}	۵۰/۲۷^{b}	۰/۳۵۴^{a}	۰/۰۲۲^{ab}	۰/۰۶۰^{c}
		۵۰	۳/۶۱^{a}	۳۹/۰۶^{a}	۶/۷۳^{b}	۷/۱۲^{b}	۴۹/۷۱^{b}	۰/۳۸۴^{a}	۰/۰۲۷^{a}	۰/۱۲۵^{a}
		۱۰۰	۲/۱۷^{b}	۳۳/۴۱^{b}	۶/۵۱^{b}	۷/۷۶^{a}	۶۰/۲۲^{a}	۰/۳۸۲^{a}	۰/۰۱۸^{b}	۰/۰۹۶^{b}
	تلقیح	۰	۳/۴۵^{a}	۳۱/۳۹^{a}	۸/۷۴^{b}	۹/۴۴^{a}	۴۴/۵۹^{c}	۰/۴۰۰^{a}	۰/۰۲۶^{a}	۰/۱۶۱^{a}
		۵۰	۳/۳۰^{a}	۲۳/۱۱^{c}	۱۰/۰۲^{a}	۷/۰۱^{b}	۶۰/۳۱^{a}	۰/۳۳۸^{a}	۰/۰۲۸^{a}	۰/۰۵۶^{b}
		۱۰۰	۱/۸۹^{b}	۳۰/۱۷^{b}	۵/۸۰^{c}	۲/۶۲^{c}	۵۳/۴۵^{b}	۰/۳۵۳^{a}	۰/۰۲۲^{a}	۰/۰۳۳^{c}
تنش در مرحله رویشی	عدم تلقیح	۰	۳/۴۱^{b}	۳۴/۰۱^{c}	۳/۸۵^{c}	۷/۷۸^{c}	۵۷/۱۹^{b}	۰/۳۴^{a}	۰/۰۲۹^{a}	۰/۱۰۰^{a}
		۵۰	۲/۹۲^{b}	۳۸/۴۱^{b}	۶/۲۰^{b}	۱۰/۷۸^{b}	۴۵/۱۰^{c}	۰/۳۵^{a}	۰/۰۲۱^{a}	۰/۰۷۰^{b}
		۱۰۰	۶/۰۰^{a}	۴۰/۴۳^{a}	۷/۳۵^{a}	۱۷/۶۱^{a}	۵۹/۱۴^{a}	۰/۳۷^{a}	۰/۰۲۳^{a}	۰/۰۶۰^{b}
	تلقیح	۰	۱۴/۳۴^{a}	۳۴/۹۷^{a}	۹/۷۴^{b}	۲۷/۱۰^{a}	۵۰/۳۲^{c}	۰/۴۰^{a}	۰/۰۱۹^{b}	۰/۰۷۳^{b}
		۵۰	۳/۰۱^{b}	۲۶/۸۰^{c}	۱۲/۳۴^{a}	۱۲/۴۰^{b}	۵۳/۱۷^{b}	۰/۳۷^{a}	۰/۰۲۳^{ab}	۰/۰۵۱^{c}
		۱۰۰	۳/۴۸^{b}	۳۰/۳۸^{b}	۱۰/۴۶^{b}	۱۰/۳۴^{c}	۵۹/۶۸^{a}	۰/۳۱^{b}	۰/۰۲۵^{a}	۰/۱۰۷^{a}
تنش در مرحله زایشی	عدم تلقیح	۰	۳/۷۰^{c}	۳۶/۵۷^{b}	۶/۴۶^{c}	۷/۲۰^{c}	۵۲/۹۰^{c}	۰/۳۱^{a}	۰/۰۲۶^{a}	۰/۰۴۵^{b}
		۵۰	۴/۲۳^{b}	۴۷/۸۰^{a}	۸/۸۷^{b}	۸/۷۶^{b}	۶۷/۷۱^{b}	۰/۳۲^{a}	۰/۰۲۳^{a}	۰/۰۵۷^{a}
		۱۰۰	۶/۶۰^{a}	۴۸/۶۵^{a}	۱۲/۶۶^{a}	۱۵/۲۵^{a}	۷۲/۱۲^{a}	۰/۳۴^{a}	۰/۰۱۷^{a}	۰/۰۱۸^{c}
	تلقیح	۰	۱۸/۱۶^{a}	۳۲/۱۴^{b}	۷/۱۲^{b}	۶/۷۶^{c}	۵۰/۰۱^{c}	۰/۳۲^{b}	۰/۰۲۱^{a}	۰/۰۲۷^{b}
		۵۰	۲/۳۹^{c}	۳۶/۷۲^{a}	۹/۲۲^{a}	۱۱/۳۰^{b}	۶۲/۸۹^{b}	۰/۳۶^{a}	۰/۰۲۲^{a}	۰/۱۱۷^{a}
		۱۰۰	۳/۴۹^{b}	۳۰/۱۰^{c}	۵/۴۷^{c}	۱۳/۴۱^{a}	۶۴/۴۶^{a}	۰/۳۵^{a}	۰/۰۱۹^{b}	۰/۱۱۴^{a}

حروف مشابه در داخل هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

واحد کود شیمیایی فسفره: کیلوگرم در هکتار، واحد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، واحد پروتئین و پرولین: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ و واحد مالون دآلدهید: میکرومول در گرم وزن تر برگ است.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

تنش‌های غیر زنده به‌خوبی شناخته شده است (۳۴).

نتایج این آزمایش نشان داد تأثیر کاربرد کود زیستی فسفات بارور-۲ در ترکیب با مصرف ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار در سطح بدون تنش، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد. درحالی‌که مصرف ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار در تیمار بدون تلقیح باکتری سبب افزایش معنی‌دار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گردید. بنابراین به‌نظر می‌رسد تلقیح توأم کود زیستی فسفات بارور-۲ و کاربرد ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار بتواند از مصرف بیشتر کود شیمیایی فسفردار بکاهد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر مصرف کود فسفر در هر دو سطح کود زیستی فسفات بارور در شرایط تنش آبیاری در مراحل رویشی و زایشی افزایش یافت، به‌طوری‌که با استفاده از ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار در تیمارهای کود زیستی بیشترین تأثیر را در افزایش میزان این آنزیم در شرایط تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی داشت به‌نحوی‌که این تیمار (مصرف ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار) به‌ترتیب موجب افزایش ۱۸/۶ و ۲۸/۹ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطوح تنش رویشی و زایشی در تیمار کود زیستی در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش حفاظت از آسیب‌های حاصل از تنش‌های محیطی همبستگی دارد (۳۵). به‌طورکلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش کلیدی در کنترل کردن این رادیکال‌ها و پراکسیدها در سطح سلولی دارند (۶). با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت، مصرف کود شیمیایی فسفردار و هم‌چنین استفاده از کودهای زیستی فسفر بارور-۲، تحت شرایط تنش خشکی به‌خصوص در مراحل رشد رویشی و زایشی می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تا حدودی از میزان خسارت ناشی از تنش در گیاه گلرنگ جلوگیری کند.

نتایج این آزمایش نشان داد که میزان پروتئین‌های محلول برگ تحت تأثیر اثر متقابل سه تیمار تنش خشکی، کود فسفر و کود زیستی فسفر بارور-۲ قرار گرفت (جدول ۱). در تیمار بدون تنش، بین سطوح مختلف کود فسفر در هر دو سطح کود زیستی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در سطح تنش در مرحله رویشی، تمامی تیمارهای کود شیمیایی فسفر در تیمار کاربرد کود زیستی، مصرف کود شیمیایی فسفر، مقدار پروتئین‌های محلول برگ را کاهش داد. مصرف کود شیمیایی فسفر در تیمار تلقیح با کود زیستی در مقایسه با عدم مصرف کود فسفر، میزان پروتئین‌های محلول برگ گلرنگ را به‌طور معنی‌داری در شرایط تنش آبیاری در مرحله زایشی افزایش داد، به‌طوری‌که در بین تیمارهای فسفر، بیشترین مقدار پروتئین‌های محلول در تیمار کود زیستی به‌میزان ۰/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ با مصرف ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به‌دست آمد. هم‌چنین بیشترین مقدار این صفت در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفر بارور-۲ در شرایط تنش زایشی با بیشترین سطح کودی فسفر مشاهده شد. هرچند بین تیمارهای کود فسفر از لحاظ مقدار پروتئین‌های محلول تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۲). افزایش مقدار پروتئین در لوبیاهای تلقیح شده در اثر کاربرد (*Pseudomonas syringae*) در شرایط گلخانه‌ای نیز گزارش شده است (۵). ساندهیا و همکاران (۳۹) نیز گزارش کردند که بیشترین محتوای پروتئین در برگ‌های گیاهچه‌های ذرت با سویه‌های GPA-P45 و GRF HYYP52 تحت شرایط بدون تنش بود. این موضوع می‌رساند که میزان پروتئین‌های محلول برگ، با مصرف کودهای فسفردار و زیستی (بارور-۲)، تحت شرایط کم‌آبی بتواند تحمل به تنش را در گلرنگ افزایش دهد.

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که در سطوح تنش در مراحل رویشی و زایشی، در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی، تفاوت معنی‌داری بین سطوح کود فسفر از لحاظ تجمع پرولین مشاهده نشد. در تیمار تنش در مرحله رویشی، مصرف کود شیمیایی فسفر در تیمار به‌کارگیری کود زیستی، مقدار پرولین را به‌شدت افزایش داده است. با بروز تنش در مرحله زایشی در تیمار کاربرد کود زیستی، سطوح تیماری ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار و عدم مصرف آن، ضمن قرار گرفتن در یک گروه

www.SID.ir

Archive of SID

آماری، دارای بیشترین مقدار تجمع پرولین بودند. بنابراین مصرف سطوح پایین کود فسفردار همراه تلقیح با کود زیستی فسفر بارور-۲ تحت شرایط تنش رطوبتی در مرحله زایشی که حساس‌ترین مرحله رشدی گلرنگ به کمبود آب تشخیص داده شده است، موجب افزایش معنی‌دار پرولین شده است (جدول ۲). ریموند و اسمیموف (۳۸) گزارش کردند که تنش خشکی بعد از گرده‌افشانی گندم به‌طور معنی‌داری محتوای پرولین را در مقایسه با تیمارهای شاهد افزایش داده است. در مطالعه‌ای هم مشخص شد که تنش خشکی بعد از گرده‌افشانی در گندم، اثر شدیدی بر روی القاء پرولین، داشت. درحالی‌که تنش در قبل از گرده‌افشانی (مرحله رویشی)، اثر کاهش بر روی محتوای پرولین داشته است. ساندهیا و همکاران (۳۹) گزارش کردند که غلظت پرولین در برگ‌های گیاهچه‌های ذرت در اثر تنش خشکی و تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات تا ۶/۳ برابر افزایش داشت. بنابراین سطح بالای پرولین گیاهان را قادر می‌سازد با حفظ تعادل اسمزی، تحت پتانسیل‌های کم آب رشد کنند (۲۶).

نتایج نشان داد که با افزایش میزان کود فسفر همراه با تلقیح کود زیستی، از میزان تجمع مالون دآلدهید در سطح بدون تنش کاسته شد. به‌طوری‌که مصرف ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار در تیمار به‌کارگیری کود زیستی موجب کاهش ۷۹/۵ درصدی مالون‌دآلدهید نسبت به تیمار شاهد در شرایط بدون تنش شد. اما کاربرد کود فسفر در تیمار به‌کارگیری کود زیستی تأثیری بر کاهش تجمع مالون دآلدهید نداشت (جدول ۲). در بین تیمارهای کود شیمیایی فسفردار در سطح عدم کاربرد کود زیستی، کمترین مقادیر مالون دآلدهید به‌میزان ۰/۰۶ میکرومول بر سانتی‌متر در سطح تنش رویشی از مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۵۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار نداشت و بالاترین تجمع مالون دآلدهید در تیمار عدم به‌کارگیری کود فسفر مشاهده شد. هم‌چنین مصرف ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار در اثر به‌کارگیری کود زیستی فسفر بارور-۲ موجب کاهش ۳۰ درصدی مالون دآلدهید در مقایسه با تیمار عدم مصرف کود فسفر شد. کمترین مقدار تجمع این صفت با ۰/۰۱۸ میکرومول بر سانتی‌متر در سطح تنش در مرحله زایشی و بدون تلقیح کود زیستی با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار به‌دست آمد که در مقایسه با شاهد (بدون کاربرد کود فسفر) حدود ۶۸/۴ درصد کاهش داشت. اما کمترین مقدار مالون دآلدهید در شرایط تنش زایشی در تیمار کاربرد کود زیستی، از عدم مصرف کود فسفر حاصل شد (جدول ۲). مالون دآلدهید (MDA) محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید است که به‌عنوان یک نشانگر برای تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب غشاء تحت اثر شرایط تنش غیر زنده کاربرد دارد (۳۶). بنابراین تجمع افزایش یافته پراکسیداسیون لیپید، نشان دهنده بالارفتن انواع اکسیژن فعال سمی است (۳۲). نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد کود فسفر بارور-۲ در هنگام وقوع تنش خشکی به‌خصوص در مرحله زایشی گلرنگ توانست مقدار تجمع مالون دآلدهید را بدون استفاده ازکود شیمیایی فسفردار کاهش دهد، بنابراین کاربرد کود زیستی فسفر بارور-۲ تحت چنین شرایطی می‌تواند میزان خسارت ناشی از تنش را با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی کاهش دهد.

از نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزایش قابلیت دسترسی فسفر در خاک چه به‌صورت کود شیمیایی و چه به‌صورت کود زیستی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، پروتئین‌های محلول برگ و مالون دآلدهید تأثیر مثبت گذاشته است، بنابراین یکی از پاسخ‌های متابولیکی گیاهان تحت تنش‌های محیطی، افزایش سنتز پروتئین‌های محلول، تجمع اسید آمینه‌هایی نظیر پرولین می‌باشد که افزایش آنها در گیاه می‌تواند از طریق تنظیم اسمزی موجب پایداری سلول‌ها و حفظ تورژسانس سلولی گردد. هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز در شرایط تنش کم‌آبی می‌تواند در کاهش اثرات سوء ناشی از تنش تأثیرگذار باشد. بنابراین با توجه به نتایج این آزمایش به‌نظر می‌رسد که کاربرد کود زیستی فسفر بارور-۲ به‌همراه کود شیمیایی فسفر می‌تواند در شرایط تنش خشکی به مقاومت گیاه در برابر عوامل نامساعد کمک نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

1. Agarwal, S. and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum* 48 (4): 555-560.
2. Alikhani, H. A., N. Saleh-Rastin and H. Antoun. 2007. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. pp. 35-41, *In:* E. Velázquez and C. Rodríguez-Barrueco (Eds.), First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Salamanca, Spain.
3. Alizadeh, A. 2011. Soil, Water, Plant Relationship. Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
4. Allen, R. G., L. S. Pereira, D. Raes and M. Smith. 1998. Crop Evapotranspiration (Guidelines for Computing Crop Water Requirements). Irrigation and Drainage Paper 56. FAO, United Nations, Rome. Italy.
5. Alstrom, S. 1995. Evidence of disease resistance induced by rhizosphere pseudomonad against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Journal of General and Applied Microbiology* 41: 315-325.
6. Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
7. Aspinall, D. R. 1986. Metabolic effects of water of leaf surface. pp. 59-74, *In:* N. C. Turner and J. B. Passioura (Eds.), Plant Growth, Drought and Salinity. CSIRO, Melbourne, Australia.
8. Aziz, A. and F. Larher. 1998. Osmotic stress induced changes in lipid composition and peroxidation in leaf discs of *Brassica napus* L. *Journal of Plant Physiology* 153(5):754-762.
9. Bates, L. S., R. P. Waldern and I. D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
10. Bohnert, H. J. and R. G. Jensen. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* 14: 89-97.
11. Bradford, M. A. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry* 72: 248-254.
12. Cakmak, I. and W. Horst. 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiology* 83: 463-468.
13. Candan, N. and L. Tarhan. 2003. Change in chlorophyll–carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn–stressed *Mentha pulegium*. *Turkish Journal of Chemistry* 27: 21 -30.
14. Close T. J. and P. M. Chandler. 1990. Cereal dehydrins: Serology, gene mapping, and potential functional roles. *Australian Journal of Plant Physiology* 17: 333-344.
15. Close, T. J. 1996. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum* 97: 795-803.
16. Dat, J., S. Vandenabeele, E. Vranova, M. Van Montagu, D. Inze and F. Van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 57: 779-795.
17. De Vos, C., H. M. Schat, M. A. De Waal, R. Vooijs and W. Ernst. 1991. Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum* 82: 523-528.
18. Demir, Y. and I. Kocaliskan. 2001. Effects of NaCl and proline on polyphenol oxidase activity in bean seedlings. *Biologia Plantarum* 44: 607-609.
19. Ghanati, F., A. Morita and H. Yokota. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by excess boron in tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition* 48 357-364.
20. Giannopolitis, C. and S. Rie. 1977. Superoxide dismutase occurrence in higher plant. *Plant Physiology* 59:309-314.
21. Gillham, D. J. and A. D. Dodge. 1987. Chloroplast superoxide and hydrogen peroxide scavenging systems from pea leaves: seasonal variations. *Plant Science* 50: 105-109.
22. Hashemi-Dezfoli, A., A. Kochaki and M. Banayan. 1992. Maximizing Crop Yield. Jahad Daneshgahi Mashhad. Iran.
23. Jagtap, V. and S. Bharagava.1995. Variation in antioxidant metabolism of drought tolerant and susceptible varieties of *Sorghum biolcolor* L. *Agricultural and Biological Chemistry* 65: 445-454.
24. Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen of spring wheat inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecological Engineering* 33: 150-156.
25. Kohler J., J. A. Hernande., F. Caravaca and A. Roldan. 2008. Plant-growth-promoting rhizobacteria and *Arbuscular mycorrhizal* fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Functional Plant Biology* 35:141-151.
26. Kohler, J., J. A. Hernandez, F. Caravaca and 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: 245-252.

www.SID.ir

Archive of SID

27. Kokalis-Buerelle, N., J. W. Kloepper and M. S. Reddy. 2006. Plant growth- promoting rhizobacteria as transplant amendments and their affects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology* 31: 91-100.
28. Malbubi, A. 2004. Wheat and Barley Production by Barvar-2 Phosphorus Biofertilizer Application. Technical Publication No. 1. Zist Fannavar Sabz Publications. Tehran, Iran.
29. Malbubi, A. 2007. Characteristic of Barvar-2 Phosphorus Biofertilizer. Technical Publication. Zist Fannavar Sabz Publications. Tehran, Iran.
30. Marulanda, A., R. Porcel, J. M. Barea and R. Azcon. 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive *Glomus* species. *Microbial Ecology* 54:543-552.
31. Mehrvarz, S. and M. R. Chaichi. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on forage and grain quality of barely (*Hordeum vulgare* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 3(6): 855-860.
32. Mohamed, A. A. and A. A. Aly. 2004. Iron deficiency stimulated some enzymes activity, lipid peroxidation and free radicals production in *Borage officinalis* induced in vitro. *International Journal of Agriculture and Biology* 6(1): 179-184.
33. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22:867-880.
34. Noctor, G. and C. H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49:249-279.
35. Pang, C. H., S. J. Zhang, Z. Z. Gong and B. S. Wang. 2005. NaCl treatment markedly enhances H_2O_2-scavenging system in leaves of halophyte *Suaeda salsa*. *Physiologia Plantarum* 125:490-499.
36. Parvanova, D., S. Ivanov, T. Konstantinova, E. Karanov, A. Atanassov, T. Tsvetkov, V. Alexieva and D. Djilianov. 2004. Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 57-63.
37. Pessarkli, M. 1999. Hand Book of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. New York.
38. Raymond, M. J. and N. Smimoff. 2002. Proline metabolism and transport in maize seedlings at low water potential. *Annals of Botany* 89:813-823.
39. Sandhya, V., S. K. Z. Ali, M. Grover, G. Reddy and B. Venkateswarlu. 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation* 62:21-30.
40. Seki, M., T. Umezawa, K. Urano and K. Shinozaki. 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current Opinion in Plant Biology* 10:296-302.
41. Wang, W. X., B. Vinocur and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218 (1):1–14.
42. Wu, S. C., Z. H. Cao, Z. G. Li, K. C. Cheung and M. H. Wong. 2005. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K. solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.

www.SID.ir