

واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، محتوای کلروفیل و شاخص سطح برگ چاودار به باکتری‌های

محرک رشد در شرایط شوری

لیلا مرادی^۱، رئوف سیدشریفی^{۲*} و سعید خماری^۳

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۲) استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۳) دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

*نویسنده مسئول: raouf_ssharifi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۹

چکیده

به منظور بررسی تنش شوری و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، میزان کلروفیل و شاخص سطح برگ گیاهچه چاودار، آزمایش فاکتوریلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه‌ی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شوری در چهار سطح شامل عدم اعمال شوری به عنوان شاهد و شوری ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار با نمک NaCl و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در چهار سطح شامل عدم تلقیح بذر به عنوان شاهد، تلقیح بذر با سودموناس، آزوسپریلیوم و کاربرد توام سودموناس و آزوسپریلیوم بودند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (همچون کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز) در تلقیح توام سودموناس و آزوسپریلیوم و در شوری ۷۵ میلی‌مولار و کم‌ترین آن‌ها در حالت عدم اعمال شوری و عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به دست آمد. با افزایش شوری خاک، محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و شاخص سطح برگ کاهش یافت و روند عکسی در حالت تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی مشاهده شد. حداکثر سدیم در ریشه و اندام هوایی در بالاترین سطح شوری در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و کم‌ترین آن در پایین‌ترین سطح شوری و تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودموناس به دست آمد. به نظر می‌رسد کاربرد توام باکتری‌های محرک رشد می‌تواند به عنوان یک ابزار مناسب برای کاهش سدیم در ریشه و اندام هوایی و افزایش شاخص سطح برگ، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل چاودار تحت تنش شوری باشد.

واژه‌های کلیدی: رنگدانه‌های فتوسنتزی، شاخص سطح برگ و کلرید سدیم.

مقدمه

شوری خاک یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدود کننده رشد گیاهان زراعی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشکی است که با محدودیت بارندگی و تبخیر و تعرق بالا همراه است (Azevedo Neto *et al.*, 2006). چاودار به دلیل امکان استفاده دو منظوره از آن، بر خورداری از دامنه‌ی تحمل بالا به سرما، خشکی و شوری و pH اسیدی خاک در مقایسه با گندم و جو از اهمیت زیادی برخوردار است (سید شریفی و حکم علیپور، ۱۳۹۲). چاودار گرچه شرایط نامساعد خاکی و اقلیمی را بهتر از گندم تحمل می‌کند، ولی شوری می‌تواند جوانه‌زنی و رشد آن را محدود کند (Pascaru *et al.*, 2014).

Shahri Araghi و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی واکنش رشدی دو رقم چاودار به پرایمینگ بذر تحت تنش شوری اظهار داشتند که هالوپرایمینگ بذر در *S. cereale* در مقایسه با *S. cereale* تا حد زیادی می‌تواند برای افزایش کارایی چاودار در مناطق شور مفید باشد. انصاری و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که تحت شرایط تنش شوری، پرایمینگ بذر چاودار کوهی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند کاتالاز شد. Ansari و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند پیش تیمار بذر چاودار کوهی موجب افزایش در شاخص‌های مرتبط با مصرف مواد ذخیره‌ای و رشد گیاهچه می‌شود. آسیب‌های ناشی از شوری در اثر سمیت یون‌ها به دلیل تجمع بیش از حد Na^+ یا کمبود K^+ در سلول‌هاست که منجر به تنش اکسیداتیو (Cuin and Shabala, 2007)، کاهش دسترسی به آب، بی‌ثباتی غشاء و فرایندهای غشایی، اختلال در حفظ فشار تورگر بر رشد گیاه می‌شود (Cuartero *et al.*, 2006). امروزه کاربرد کودهای زیستی به ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاهی یکی از شیوه‌های مناسب کشاورزی مدرن برای بهبود حاصلخیزی خاک و جبران میکروارگانسیم‌های از دست رفته به واسطه اثر تنش‌های محیطی (Cakmakci *et al.*, 2007) و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (Seyed Sharifi *et al.*, 2016). این باکتری‌ها به‌طور طبیعی در خاک‌ها وجود دارند، ولی تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین است، بنابراین تلقیح بذر گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند جمعیت آن‌ها را به حد مطلوب رسانده و در نتیجه منجر به بروز اثر مفید آن‌ها در خاک شود (Cakmakci *et al.*, 2007). سلول‌های گیاهی برای مقابله با اثر منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردارند و در این راستا افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان مکانیسم‌های دفاعی، سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیش‌گیری نمایند و یا این که آن‌ها را جمع‌آوری نموده و اثر مضر آن‌ها را کاهش دهند (Blokhina, 2003). در این راستا Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را در شرایط تنش شوری به واسطه‌ی تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند. Garratt و همکاران (۲۰۰۲) بیان نمودند که کاتالاز با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، سلول‌ها را از اثر مخرب پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند. Seyed

Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند که در شرایط تنش شوری گرچه میزان کلروفیل کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت افزایش می‌یابد، ولی کاربرد کودهای زیستی می‌تواند ضمن جلوگیری از کاهش بیش‌تر محتوای کلروفیل، موجب تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود. تنش شوری با تخریب کلروپلاست و کلروزه شدن برگ‌ها موجب کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Ashraf and Bhatti, 2000). در این زمینه کلروفیل a حساس‌تر از کلروفیل b است و بیش‌تر تخریب می‌شود (Zhao et al., 2007). Reddy و همکاران (۲۰۰۵) کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری را به عدم سنتز کلروفیل و یا تخریب آن به دلیل فعالیت بیش‌تر آنزیم کلروفیلاز نسبت دادند. در شرایط تنش، افزایش سطح آبسزیک اسید و اتیلن موجب تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌شوند. ACC (۱-آمینو سیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک اسید) پیش ماده‌ی تولید اتیلن در گیاهان عالی است، ولی در حضور باکتری‌های محرک رشد حاوی ACC دی‌آمیناز، حذف این ماده توسط آنزیم (ACC) دی‌آمیناز، مقدار اتیلن را در گیاه کاهش داده و پس از آن، تجزیه کلروفیل کاهش می‌یابد (سید شریفی و نامور، ۱۳۹۴). Bashan و همکاران (۱۹۸۹) گزارش کردند باکتری‌های متصل به ریشه‌ها در شرایط شوری، غلظت سدیم را در اندام هوایی گیاه محدود نموده و با نگه‌داشتن سطح پایین اتیلن تنشی از طریق فعالیت ACC دی‌آمیناز، رشد گیاه را تسریع می‌کنند. در شرایط تنش سطح برگ در گیاهان کاهش می‌یابد. ولی کاربرد کودهای زیستی نظیر باکتری‌های محرک رشد با کاهش پیری برگ به واسطه‌ی افزایش تولید کلروفیل یا کاهش تخریب آن موجب می‌شوند تحت شرایط تنش شوری، سطح برگ افزایش یابد (Boomsma and Vyn, 2008). مستأجران و همکاران (۱۳۸۴) دلیل کاهش سطح برگ را به سمیت یونی حاصل از سدیم و اثر مثبت باکتری‌های محرک رشد در تعدیل اثر شوری را به توانایی تولید هورمون‌های گیاهی توسط این باکتری‌ها نسبت دادند. گسترش روز افزون شوری و اهمیت چاودار به دلیل امکان استفاده دو منظوره از آن و نقش باکتری‌های محرک رشد در کاهش یا تعدیل اثر ناشی از تنش شوری، از جمله عواملی بودند که موجب شد تا تلقیح بذر با سویه‌های خالص سودوموناس و آزوسپریلوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، میزان کلروفیل و شاخص سطح برگ چاودار (*Secale cereal L.*) مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد و تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، میزان کلروفیل و شاخص سطح برگ چاودار، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل شوری خاک در چهار سطح عدم اعمال شوری به عنوان شاهد و اعمال شوری ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار با استفاده از نمک NaCl و تلقیح بذر با کودهای بیولوژیک در چهار سطح عدم کاربرد باکتری، تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا سویه ۱۸۶، آزوسپریلوم لیپوفروم سویه OF، تلقیح

همزمان با سودوموناس و آزوسپریلیوم بود. این باکتری‌ها بومی خاک‌های کشور بوده و مایه تلقیح آن‌ها از بخش تحقیقات بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای تلقیح بذرها از سویه خالص باکتری‌ها استفاده شد که هر گرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود. هم‌چنین از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. بذر چاودار رقم مونتانا از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شد. برای اعمال شوری از نرم افزار Saltcalc مقدار نمک مورد نیاز برای هر گلدان محاسبه و اعمال شد. در این نرم افزار به اندازه‌گیری هدایت الکتریکی خاک و درصد عصاره اشباع خاک نیاز است که با وارد نمودن داده‌های حاصل از اندازه‌گیری این دو پارامتر، مقدار گرم نمک لازم بر حسب میلی‌گرم در هر گرم خاک محاسبه می‌شود. میزان نمک مورد نیاز برای هر سطح شوری در آب حل شد و در دو مرحله از دوره رشدی (۱/۲ همزمان با کاشت و ۱/۲ در مرحله ۳-۴ برگی) به هر گلدان با استفاده از آب آبیاری اضافه شد. برای حفظ شوری در طول دوره رشد در زیر هر گلدان یک زیر گلدانی قرار داده شد تا بعد از هر سه تا چهار نوبت آبیاری، نمک‌های احتمالی وارد شده به زیر گلدانی دوباره در آب حل شده و به داخل هر گلدان برگشت داده شود (سید شریفی و نظری، ۱۳۹۴). شاخص کلروفیل در تیمارهای مختلف، در مرحله ظهور برگ پرچم (معادل کد ۴۷ تقسیم‌بندی BBCH) توسط دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502 مینولتای ژاپن) بر روی برگ پرچم اندازه‌گیری شد (Seyed Sharifi *et al.*, 2016). میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ پرچم با استفاده از روش Arnon (۱۹۴۹) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج له کرده تا کلروفیل وارد محلول استونی شود و در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و سپس جذب نوری محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها بر اساس روابط یک تا چهار به شرح زیر برآورد شدند (Arnon, 1949).

$$\text{رابطه ۱: } a = \frac{V}{100W} (A_{663} \times 19.3 - A_{645} \times 8.6) \quad \text{کلروفیل a}$$

$$\text{رابطه ۲: } b = \frac{V}{100W} (A_{645} \times 3.6 - A_{663} \times 19.3) \quad \text{کلروفیل b}$$

$$\text{رابطه ۳: } \text{کلروفیل کل} = a + b \quad \text{کلروفیل کل}$$

$$\text{رابطه ۴: } \text{کاروتنوئید} = \frac{1}{19.8} (C_b - 0.2 C_a - 1.82 A_{420} - 1000) \quad \text{کاروتنوئید}$$

در این رابطه V حجم استون استفاده شده و W وزن نمونه گیاهی استفاده شده است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برگ پرچم به روش Mishra and Karo (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (پنج میلی‌مولار) تهیه شده و سپس ۶۰ میکرولیتر عصاره

آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه شد و میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به‌عنوان شاهد (Blank) استفاده شد که در این نمونه به جای ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل تریس- کلریدریک ۱۰۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه پنج میلی‌مولار و پیروگالال ۱۰ میلی‌مولار در حمام یخ اضافه شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به‌عنوان شاهد (Blank) استفاده شد که در این نمونه به جای ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز محلول واکنش شامل ۱/۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی‌لیتر پیروگالال (۵ میلی‌مولار) تهیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه نموده و سپس محلول حاصل در حمام بن‌ماری به مدت پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میزان جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه فعالیت آنزیم نیز یک نمونه به‌عنوان شاهد (Blank) استفاده شد که در این نمونه به جای ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس میزان تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه محاسبه شد. جهت بررسی روند شاخص سطح برگ نمونه‌برداری در طول دوره رشد رویشی شش مرتبه به روش تخریبی و هر ۱۰ روز یک بار انجام شد. بر اساس تجزیه رگرسیونی مربوطه مشخص شد که تغییرات این شاخص از معادله درجه دو تبعیت می‌کند و با تبدیل آن به لگاریتم نپین برای کاهش هر چه بیشتر وابستگی واریانس‌ها به میانگین‌ها، رابطه زیر مورد استفاده قرار گرفت (Sam Dalirie et al, 2010).

$$\text{LAI} = e^{a+bt+ct^2} \quad \text{رابطه ۵:}$$

در این رابطه t زمان بین مراحل نمونه برداری و a ، b و c ضرایب معادله هستند. مقادیر سدیم ریشه و اندام هوایی به روش فلیم فتومتری برآورد شدند. تجزیه داده‌ها با نرم افزار SAS 9.1 و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و تلقیح بذر با کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a ، b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شوری، محتوای کلروفیل a ، b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). این کاهش در میزان کلروفیل a ، b ،

کل و کاروتنوئید در بالاترین سطح از شوری (شوری ۷۵ میلی مولار) در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۲۳/۳، ۴۹، ۲۹/۳ و ۸۵/۹ درصد بود (جدول ۲). Orabi و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری و خشکی، منجر به افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک کننده‌ی آنزیم کلروفیلاز هستند و به این ترتیب کلروفیل‌ها به وسیله این آنزیم تجزیه می‌شوند. بخشی از کاهش میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در اثر تنش شوری، به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که موجب پراکسیداسیون (Wise and Naylor, 1989) و در نتیجه تجزیه‌ی این رنگیزه‌ها می‌شود (Schutz and Fangmeir, 2001). Ashraf و Bhatti (۲۰۰۰) کاهش در میزان کلروفیل تحت شرایط تنش را به تخریب ساختار ظریف کلروپلاست نسبت دادند. Khan (۲۰۰۳) کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش را به عدم سنتز این ماده و افزایش اتیلن نسبت داد. Sharma و Dubey (۲۰۰۵) اظهار داشتند که محتوای کاروتنوئید با افزایش تنش شوری به دلیل تخریب بتا کاروتن در جو و سورگوم کاهش یافت.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی

اکسیدانت، محتوای کلروفیل، شاخص سطح برگ، مقادیر سدیم ریشه و اندام هوایی چاودار

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|------------------|------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| | | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید | پلی فنل اکسیداز | پراکسیداز | کاتالاز | سدیم ریشه | سدیم اندام هوایی | وزن خشک گیاهچه |
| تکرار | ۲ | ۰/۲۴۸ ^{ns} | ۰/۰۰۰۹۱ ^{ns} | ۰/۲۴۸۹۱ ^{ns} | ۰/۲۰۱ ^{ns} | ۲۴۲/۱۶۱ ^{**} | ۱۰۹/۸۹۷ ^{**} | ۴۸۲/۳۵۲ ^{**} | ۰/۶۷۲ ^{ns} | ۳۱۲/۱۹ ^{ns} | ۸/۳۴ ^{ns} |
| تلقیح بذر | ۳ | ۰/۷۳۰ ^{ns} | ۰/۱۹۶ ^{ns} | ۰/۹۲۶ ^{ns} | ۰/۰۶ ^{ns} | ۱۲۴/۹۵۶ ^{**} | ۳۸۴/۳۶۵ ^{**} | ۵۴/۳۲۱ ^{**} | ۰/۰۰۷۹ ^{ns} | ۱۵۰/۷۳ ^{ns} | ۱/۷۴۸ ^{ns} |
| شوری | ۳ | ۳/۴۳ ^{ns} | ۰/۵۸۹ ^{ns} | ۴/۰۱۹ ^{ns} | ۰/۴۶۳ ^{ns} | ۳۴۶/۱۱۲ ^{**} | ۳۸۷/۱۲۰ ^{**} | ۵۶/۹۱۶ ^{**} | ۰/۰۱۰۷ ^{ns} | ۲۰۸/۴۳ ^{ns} | ۳/۶۴ ^{ns} |
| تلقیح بذر × شوری | ۹ | ۰/۱۵۲ ^{ns} | ۰/۰۳۲۲ ^{ns} | ۰/۱۸۴۲ ^{ns} | ۰/۰۱۶۷ ^{ns} | ۱۴/۶۳۳ ^{ns} | ۸/۹۴۶ ^{ns} | ۲/۷۱۲ ^{ns} | ۰/۰۰۲۰۸ ^{ns} | ۱۲/۴۴ ^{ns} | ۰/۱ ^{ns} |
| اشتباه آزمایشی | ۳۰ | ۰/۲۲۰ | ۰/۰۵۱۹ | ۰/۲۷۱۹ | ۰/۰۱۵۳ | ۱۰/۶۵۹ | ۱۲/۸۵۶ | ۶/۵۸۹ | ۰/۰۰۰۶۶۸ | ۱/۰۵۷ | ۰/۰۱۴ |

ns و * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

Tuna و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که کاهش میزان کلروفیل با تشکیل آنزیم‌هایی مانند کلروفیلاز ارتباط دارد، که موجب تجزیه کلروفیل می‌شود. Sultana و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها در شرایط تنش شوری به دلیل تجزیه‌ی بتاکاروتن و تشکیل زآ-زانترین کاهش می‌یابد. کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو القاء شده دارند و در سمیت زدایی از کلروفیل نیز موثرند و موجب کاهش اثر سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (هادی و همکاران، ۱۳۹۵). تلقیح بذر با کودهای زیستی منجر به بهبود کلروفیل a، b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در شرایط تنش شوری شد (جدول ۲). بیش‌ترین محتوای کلروفیل a (۲/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در کاربرد همزمان

کودهای زیستی به دست آمد، که روند مشابهی نیز مبنی بر افزایش محتوای کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل به واسطه تلقیح بذر با کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۲). Bashan و همکاران (۱۹۸۹) گزارش کردند باکتری‌های متصل به ریشه‌ها در شرایط شوری، غلظت سدیم را در اندام هوایی گیاه محدود کرده و با نگه داشتن سطح پایین اتیلن تنشی از طریق فعالیت ACC دی‌آمیناز، رشد گیاه را تسریع می‌کنند. در این آزمایش نیز بررسی مقادیر سدیم در ریشه و اندام هوایی (جدول ۳) نشان داد در حضور باکتری‌های محرک رشد مقادیر سدیم در ریشه و اندام هوایی در مقایسه با عدم تلقیح بذر پایین تر بود. Chandrasekar و همکاران (۲۰۰۵) اثر مفید تلقیح باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل را به در دسترس بودن بالاتر نیتروژن به واسطه تثبیت نیتروژن توسط ازتوباکتر نسبت دادند.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، محتوای کلروفیل برگ پرچم چاودار

| کاتالاز | پراکسیداز | پلی فنل اکسیداز | کاروتنوئید | کلروفیل کل | کلروفیل b | کلروفیل a | سطوح شوری |
|--|-----------|--------------------|------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------------------------|
| (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) | | | (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) | | | | |
| ۲۹/۲ | ۹۳/۴۲ | ۳۸/۵ | -۰/۷۹۶ | ۵/۲۱۹ | ۱/۳۶۴ | ۳/۸۵۵ | بدون اعمال شوری |
| ۳۴/۵ | ۹۴ | ۴۶/۲ | -۰/۶۷۳ | ۴/۵۹۵ | ۱/۱۳۳ | ۳/۴۶۲ | شوری ۲۰ میلی مولار |
| ۴۳/۸ | ۱۲۱/۲ | ۵۸/۳ | -۰/۴۹۹ | ۴/۲۹۹ | ۱/۰۶۱ | ۳/۲۳۸ | شوری ۵۰ میلی مولار |
| ۴۸ | ۱۴۲/۱ | ۷۳/۶ | -۰/۴۲۸ | ۴/۰۳۶ | -۰/۹۱ | ۳/۱۲۶ | شوری ۷۵ میلی مولار |
| ۳/۴۲ | ۹/۳۹ | ۶/۱۱ | -۰/۰۶۶ | -۰/۲۰۳ | -۰/۰۷۵ | -۰/۱۲۸ | LSD |
| تلقیح بذر با کودهای زیستی | | | | | | | |
| ۴۴/۴ | ۹۸ | ۶۲/۳ | -۰/۲۹ ^d | ۳/۰۵ ^d | -۰/۷۴ ^d | ۲/۳۱ ^d | عدم تلقیح |
| ۴۹/۵ | ۱۰۶ | ۷۱/۸ | -۰/۴۸ ^c | ۳/۶۹ ^c | ۱/۰۱ ^c | ۲/۶۱ ^c | تلقیح با سودوموناس |
| ۵۸/۹ | ۱۲۳/۴ | ۷۸/۳ ^{ab} | -۰/۵۳ ^b | ۳/۹۳ ^b | ۱/۱۳ ^c | ۲/۸ ^b | تلقیح با آروسپریلیوم |
| ۶۷/۸ | ۱۳۸/۱ | ۸۴/۳ ^a | -۰/۵۶ ^a | ۴/۱۵ ^a | ۱/۳ ^a | ۲/۹۵ ^a | تلقیح با سودوموناس + آروسپریلیوم |
| ۴/۱۳ | ۷/۱۷ | ۳/۷۵ | -۰/۰۴۸ | -۰/۱۹۰۸ | -۰/۰۸۰۹ | -۰/۱۱۰۳ | LSD |

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

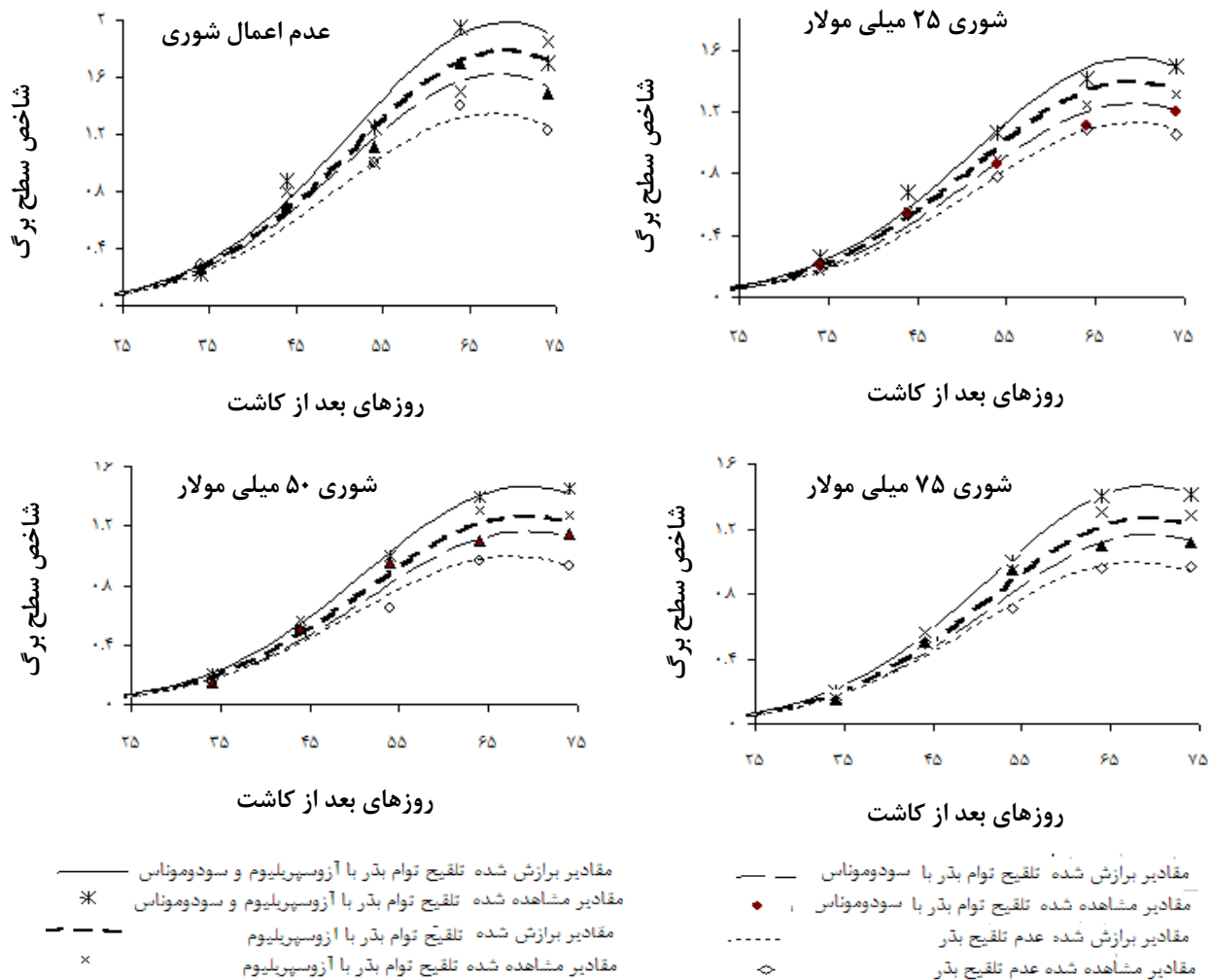
تنش شوری به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را نسبت شاهد افزایش داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز (به ترتیب ۴۸، ۷۳/۶ و ۱۴۲/۱ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در بالاترین سطح از تنش شوری به دست آمد. به طوری که فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب ۶۴/۳۸، ۵۲/۱ و ۹۱ درصد در بالاترین سطح شوری در مقایسه با عدم اعمال شوری افزایش یافت. Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند وقتی گیاهان در معرض تنش قرار می‌گیرند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آن‌ها افزایش می‌یابد. بهبود رشد گیاهان در محیط‌های تنش‌زا می‌تواند به دلیل نقش مهم فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در کاهش اثر مخرب تنش‌های اکسیداتیو باشد و به گیاهان این امکان را می‌دهند تا در محیط‌های تحت شرایط تنش زنده بمانند، این موضوع

در تریتیکاله (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016) و گندم (Seyed Sharifi *et al.*, 2016) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. تلقیح بذر با کودهای زیستی نیز در مقایسه با عدم تلقیح، منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ پرچم شد (جدول ۲). بیش‌ترین فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز (به ترتیب ۶۷/۸، ۱۳۸/۱ و ۸۴/۳ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در حالت تلقیح همزمان بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس به دست آمد که در مقایسه با عدم تلقیح بذر به ترتیب از افزایش ۵۲/۶، ۳۲/۱ و ۴۰/۹ درصدی برخوردار بود (جدول ۲). Shaukat و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی اثر تلقیح با سویه‌هایی از باکتری‌های سودوموناس و آزوسپریلیوم گزارش کردند که این باکتری‌ها از طریق تثبیت نیتروژن، تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند اکسین، افزایش پروتئین‌های محلول و نیز بهبود فعالیت آنزیم‌هایی مانند فسفاتاز و پراکسیداز می‌توانند رشد گیاه را در شرایط تنش افزایش دهند. Turan و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تلقیح بذرهای گندم و برنج با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. Marius و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تلقیح بذر با کودهای زیستی بر شاخص‌های بیوشیمیایی آفتابگردان گزارش کردند که فعالیت آنزیم کاتالاز قبل و بعد از گلدهی در تیمار تلقیح شده با باکتری نسبت به شاهد افزایش داشت. Ruiz-Lozano و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموناز در گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی افزایش یافت. Ma و همکاران (۲۰۱۱) اظهار داشتند که کاربرد کودهای بیولوژیک به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر به بهبود تحمل گیاهان به خشکی و شوری می‌شود و به گیاهان این امکان را می‌دهند تا در چنین محیط‌هایی زنده بمانند.

شاخص سطح برگ

نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری، در تمامی ترکیبات تیماری شاخص سطح برگ کاهش یافت (شکل ۱) که با نتایج گزارش شده توسط Singh (۱۹۹۴) مطابقت داشت. تلقیح با باکتری‌های محرک رشد منجر به بهبود شاخص سطح برگ شد و به نظر می‌رسد این امر می‌تواند ناشی از شرایط مساعد رشدی ایجاد شده توسط باکتری‌های محرک رشدی باشد. در حالت عدم اعمال شوری و شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار، تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس در گروه برتر قرار گرفت و بیش‌ترین میزان شاخص سطح برگ را در مقایسه با دیگر ترکیبات تیماری به خود اختصاص داد. بعد از آن تلقیح بذر با سودوموناس بیش‌ترین سطح برگ را ایجاد کرد که با گزارش‌های خرم‌دل و همکاران (۱۳۸۷) مطابقت دارد. مستأجران و همکاران (۱۳۸۴) کاهش سطح برگ را به سمیت یونی حاصل از سدیم و توانایی این باکتری‌ها در تولید هورمون‌های گیاهی نسبت دادند. Mass و Poss (۱۹۸۹) بیان داشتند که در تنش شدید، گیاه با کاهش سطح تعرقی خود و همچنین بستن روزنه‌ها در برابر تنش، واکنش نشان می‌دهد که منجر به کاهش میزان فتوسنتز و در نتیجه میزان رشد و

نمو گیاه خواهد شد. هادی و همکاران (۱۳۹۵) دلیل کاهش سطح برگ در حالت اعمال شوری نسبت به عدم اعمال آن را به کاهش مواد فتوسنتزی برای رشد و توسعه سلول‌های برگ و افزایش پیری برگ در شرایط تنش نسبت دادند. Vyn و Boomsma (۲۰۰۸) علت افزایش سطح برگ تحت شرایط تنش شوری در گیاهان کلونیزه شده با کودهای زیستی را، به کاهش پیری برگ به واسطه‌ی افزایش تولید کلروفیل یا کاهش تخریب آن نسبت دادند. کاهش سطح برگ یکی از اولین واکنش‌های گیاهان در برابر تنش شوری می‌باشد. به این دلیل که تجمع ماده خشک و سطح برگ توسط شوری به‌طور پیوسته کاهش می‌یابد و ممکن است کاهش سطح برگ یکی از دلایل کاهش رشد در اثر شوری باشد. هادی و همکاران (۱۳۹۵) اظهار داشتند که تنش اسمزی ناشی از شوری، آستانه فشار آماس لازم برای رشد سلول‌های برگ را افزایش داده و در نهایت منجر به کاهش سطح برگ می‌شود.

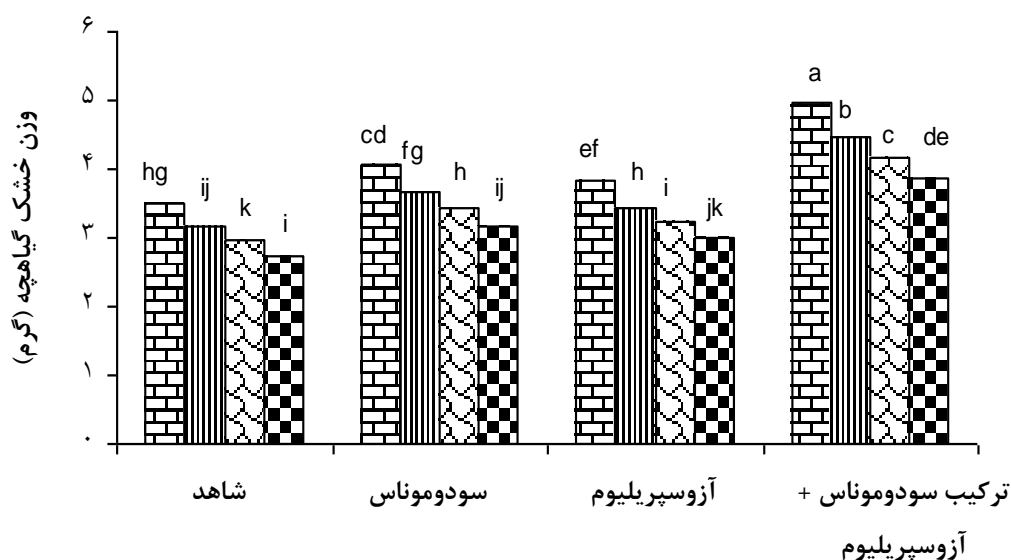


شکل ۱: اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر شاخص سطح برگ چاودار در حالت عدم اعمال شوری و شوری های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار

وزن خشک گیاهچه

وزن خشک گیاهچه به‌طور معنی‌داری تحت اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیش‌ترین وزن خشک گیاهچه (۴/۹۷ گرم) در تلقیح بذر با سودوموناس و آزوسپریلیوم در حالت عدم اعمال شوری و کم‌ترین آن (۲/۷۵۱ گرم) در بالاترین سطح از تنش شوری و در حالت عدم تلقیح بذر به‌دست آمد (شکل ۲). Abid و همکاران (۲۰۰۱) نیز اظهار داشتند که شوری به‌دلیل کاهش فتوسنتز، منجر به کاهش تجمع ماده در گیاه می‌شود. Ravikumar و همکاران (۲۰۰۴) دلیل اصلی کاهش وزن اندام هوایی را به کاهش فتوسنتز در اثر کاهش سطح برگ، تجمع سدیم و کلر در اندام‌های هوایی و تخریب ساختمان کلروپلاست نسبت دادند. در این آزمایش نیز به‌نظر می‌رسد بخشی از کاهش وزن خشک گیاهچه با کاهش سطح برگ (شکل ۱) و تجمع سدیم در ریشه و اندام‌های هوایی (شکل ۲) مرتبط باشد همان ترکیب تیماری که منجر به کاهش وزن خشک گیاهچه شده است (شکل ۲). Zaied و همکاران (۲۰۰۳) اظهار داشتند که باکتری‌های محرک رشد با تأمین منابع نیتروژن اضافی یا تولید هورمون‌های رشد و همچنین افزایش وزن و حجم ریشه و کمک به جذب بهینه آب و املاح، به بهبود رشد گیاه کمک می‌کنند.

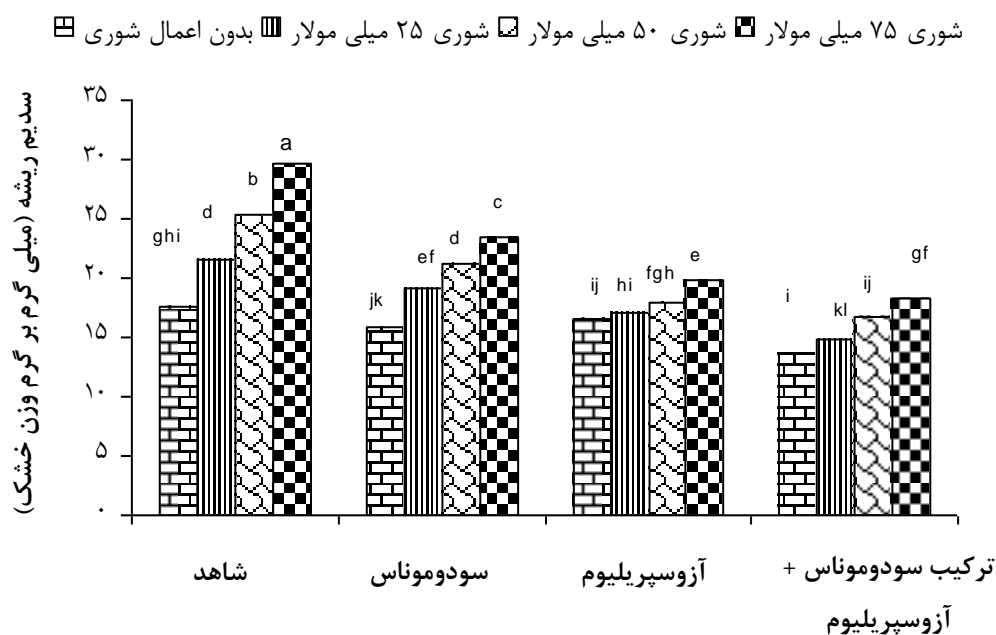
شوری ۷۵ میلی مولار ■ شوری ۵۰ میلی مولار ▨ شوری ۲۵ میلی مولار ▩ بدون اعمال شوری □



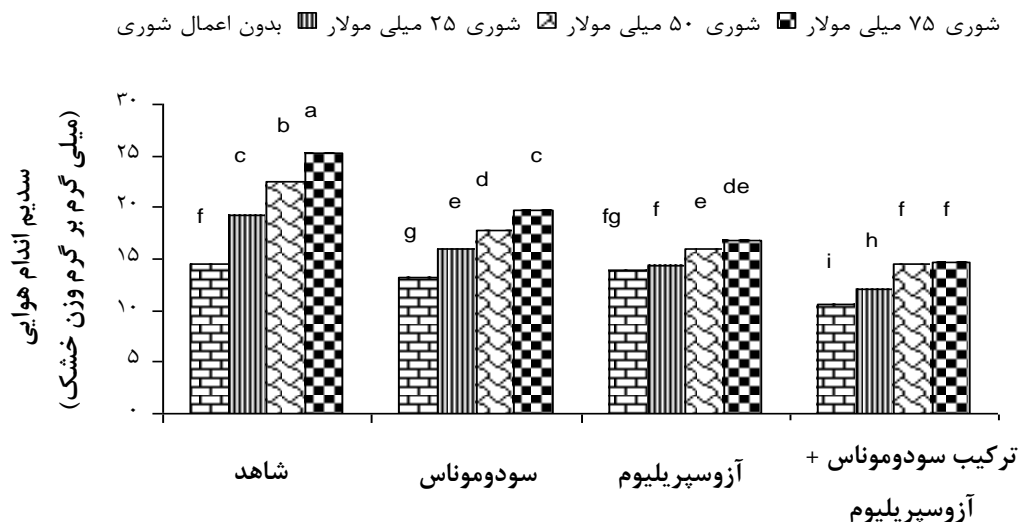
شکل ۲: مقایسه میانگین تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر وزن خشک گیاهچه‌ی چاودار در حالت عدم اعمال شوری و شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار

مقادیر سدیم ریشه و اندام هوایی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس مقادیر سدیم ریشه و اندام هوایی به واسطه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد، شوری و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیش‌ترین میزان سدیم ریشه و اندام‌هوایی (به ترتیب ۲۹/۷ و ۲۵/۲۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در ترکیب تیماری عدم تلقیح بذر با باکتری در بالاترین سطح شوری و کم‌ترین آنها (به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۰/۵۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تلقیح توام بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس در حالت عدم اعمال شوری حاصل شد (شکل‌های ۳ و ۴). Nadeem و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که بذرهاى ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد تولید کننده ACC دامیناز در شرایط شور، از رشد بیش‌تر و نسبت Na^+ پایین‌تری برخوردار بودند. Tripathi و همکاران (۱۹۹۸) اظهار داشتند که آزوسپریلیوم توانایی بیش‌تری به سنتز گلیسین بتائین نسبت به دیگر سویه‌ها دارد و در شرایط شور با تجمع مواد تنظیم کننده اسمزی می‌تواند در ایجاد شرایط مناسب برای افزایش تحمل به شوری کمک کند. Alvarez و همکاران (۱۹۹۶) اظهار داشتند که تلقیح با آزوسپریلیوم موجب بهبود رشد و استقرار بهتر گیاهچه‌های گندم رشد یافته تحت شرایط تنش اسمزی می‌شود و گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، محتوای نسبی آب پروتوپلاستی بالاتری دارند که این امر احتمالاً به دلیل توسعه ریشه و جذب بهینه آب در ریشه‌ی گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش اسمزی بوده است.



شکل ۳: مقایسه میانگین تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر سدیم ریشه در حالت عدم اعمال شوری و شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار



شکل ۴: مقایسه میانگین تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر سدیم ریشه در حالت عدم اعمال شوری و

شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار

Ashraf (۲۰۰۴) اظهار داشت که در شرایط شور به دلیل وجود بیش از اندازه‌ی سدیم قابل تبادل، نسبت‌های بالایی از سدیم به پتاسیم در خاک ایجاد می‌شود. گیاهان در چنین محیط‌هایی مقدار زیادی سدیم جذب می‌کنند، در حالی که جذب پتاسیم به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. Chen و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند شوری موجب افزایش مقدار سدیم در ریشه و اندام‌های هوایی شده و نسبت سدیم به پتاسیم را در این اندام‌ها کاهش داد. به دلیل افزایش ورود سدیم از طریق آوند آبکشی و یا ناکافی بودن ورود سدیم به واکوئل‌های سلول‌های برگ ممکن است مقدار سدیم در آپوپلاست افزایش یابد، سدیم زیاد ممکن است از ورود پتاسیم ممانعت کند و به این وسیله به‌طور غیر مستقیم مانع از بارگیری آوندهای آبکش شود. Alamgir و همکاران (۱۹۹۷) در بررسی اثر شوری بر رشد گیاهچه‌های گندم بیان داشتند که شوری میزان سدیم را در ریشه و ساقه افزایش داد. Wagar و همکاران (۲۰۰۴) افزایش معنی‌دار و قابل توجهی را در وزن و طول ریشه، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم در کاه و دانه گندم نسبت به تیمار شاهد در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش نمودند. آن‌ها تمامی این موارد را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دآمیناز نسبت داده و اعلام کردند که این فعالیت در سویه‌های مختلف متفاوت می‌باشد و باکتری‌های با توان بالای تولید ACC دآمیناز، از کارایی بالاتری در جذب عناصری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم برخوردار هستند و جذب بالای پتاسیم در چنین وضعیتی از تجمع سدیم ممانعت می‌کند. Nadeem و همکاران (۲۰۰۷) تحت تنش شوری اظهار داشتند که پیش تیمار با PGPR، جذب یون‌های سدیم و کلر را محدود و تجمع نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اندام‌های هوایی در

مقایسه با شاهد افزایش داد. Schochman و همکاران (۱۹۹۱) اظهار داشتند که ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در گندم در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس جابه‌جایی کندتری از سدیم را از ریشه به اندام‌های هوایی انجام می‌دهند. گیاهانی که تحمل شوری متوسطی دارند، توانایی بیش‌تری در دفع سدیم از ساقه و یا حداقل از پهنک برگ دارند و این وضعیت با نگهداری سطوح بالای پتاسیم مطابقت دارد، این همبستگی در گرامینه‌ها به‌خصوص گندم توسط Garcia و همکاران (۱۹۹۷) گزارش شده است. در محیط‌های شور که غلظت سدیم زیاد است گیاهان مقادیر زیادی یون سدیم را به جای یون پتاسیم و کلسیم جذب می‌کنند که این امر با افزایش یون سدیم در محیط ریشه (Benlloch *et al.* 1994) و کمبود عناصر پتاسیم و کلسیم در گیاه همراه بود و به دلیل اینکه یون نیترات توسط آوندهای چوبی از ریشه به برگ‌ها حرکت می‌کند و پتاسیم موجب تحریک این فرآیند می‌شود، هرگاه یون‌های سدیم و کلر به مقدار زیاد وارد سیستم آوندی شوند یون سدیم از جذب یون پتاسیم ممانعت می‌نماید، کاهش میزان پتاسیم موجب کاهش انتقال نیترات می‌شود در نتیجه به جای نیترات، آنیون کلر و سدیم به برگ‌ها منتقل شده و در آن‌ها تجمع می‌یابد. به نظر می‌رسد پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد منجر به تعدیل اثر شوری و یا کاهش محدودیت در جذب سدیم در مقایسه با پتاسیم می‌شود.

نتیجه گیری

گیاه در مواجهه با تنش سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت (مثل کاتالاز و پر اکسیداز) انجام می‌دهد. با افزایش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، محتوای کلروفیل و شاخص سطح برگ چاودار کاهش و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، محتوای کلروفیل و شاخص سطح برگ در هر دو شرایط شوری و عدم اعمال شوری در مقایسه با عدم تلقیح بذر شد. حداکثر نسبت سدیم ریشه و اندام هوایی در بالاترین سطح شوری در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و کم‌ترین آن در پایین‌ترین سطح شوری و تلقیح بذر با آزوسپریلوم و سودوموناس به‌دست آمد. به‌نظر می‌رسد کاربرد توام باکتری‌های محرک رشد می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مناسب برای افزایش شاخص سطح برگ، محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاهش سدیم ریشه و اندام هوایی چاودار تحت تنش شوری باشد.

منابع

خرم‌دل، س.، کوچکی، ع.، نصیری محلاتی، و م.، قربانی، ر. ۱۳۸۷. اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی سیاهدانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۶، ص ۲۹۴-۲۸۵.

سید شریفی، ر.، و نامور، ع.، ۱۳۹۴. کودهای زیستی در زراعت. انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی. ۲۸۰ ص.

- سید شریفی، ر.، و نظری، ح. ۱۳۹۴. تاثیر سطوح شوری آب آبیاری با NaCl بر فیلوکرون و سرعت ظهور برگ ارقام جو. مجله تنش های محیطی در علوم زراعی جلد ۲، شماره ۸، ص ۲۹۷-۳۰۶.
- سید شریفی، ر.؛ حکم علیپور، س.، ۱۳۹۲. زراعت گیاهان علوفه‌ای (چاپ دوم). انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی. ۵۸۵ ص.
- مستأجران، ا.، عموآقائی، ر.، و امتیازی، گ. ۱۳۸۴. اثر آزوسپیریوم و اسیدپته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۸، شماره ۳، ص ۲۴۸-۲۶۰.
- هادی، ه.، سیدشریفی، ر.، و نامور، ع.، ۱۳۹۵. محافظ‌های گیاهی و تنش‌های غیرزیستی، انتشارات دانشگاه ارومیه، ۲۵۰ ص.
- انصاری، ا.، توکل افشاری، ر.، شریف‌زاده، ف.، و شایان فر، ع. ۱۳۹۲. نقش پرایمینگ در روند مصرف مواد ذخیره‌ای و جوانه‌زنی بذر چاودار کوهی تحت تنش شوری. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، جلد ۴۴، شماره ۲، ص ۱۸۹-۱۸۱.
- Abid, M., Qayyum, A., Dasti, AA. and Abdilwajid, R. 2001.** Effect of salinity and SAR of irrigation water on yield, physiological growth parameters of maize and properties of the soil. *Journal of Research, Bahauddin Zakariya University, Multan*, 12(1): 26-33.
- Alamgir, A., Kutube, K. K. and Paul, T. 1997.** Use of mathematical growth curves in the analysis of growth and nutrient distribution pattern in wheat growth under salinity stress. *Agronomy Journal* 21:37-46.39.
- Alvarez, M.I., Sueldo, R. J. and Barassi, C. A.. 1996.** Effect of Azospirillum on coleoptile growth in wheat seedling under water stress. *Cereal Research Communication* 24: 101-107
- Ansari, O., Choghazardi, H. R., Sharif Zadeh, F. and Nazarli, H. 2012.** Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. *Cercetări Agronomice în Moldova* 2 (150): 43-48.
- Arnon, D. I. 1949.** Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24(1): 1-15.
- Araghi Shahri, S. M., Dianati Tilaki, G. A., Behtari, B. and Alizadeh, M. A. 2015.** Growth responses of *Secale cereale* and *S.ceremont* to priming treatments under salinity stress. *Journal of Rangeland Science* 5(3): 202-211.
- Ashraf, M. 2004.** Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora*. 199: 361-376.

Ashraf, M. Y. and Bhatti, A. S. 2000. Effect of salinity on growth and chlorophyll content of Rice. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 43 (2): 130-131.

Bashan, Y., and Holguin, G. 1989. Azospirillum plant relationships-environmental and physiological advances. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 103-121.

Benloch, M., Ojeda, M. A., Ramos, J. and Rodriguesnanavarro, A. 1994. Salt sensitivity and flow discrimination between potassium and sodium in plants. *Plant and Soil* 166: 117-123.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, KV .2003 Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany* 91 (2): 179-194.

Boomsma, C. R., Vyn, T. J. 2008. Maize drought tolerance: Potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Field Crops Research* 108: 14-31.

Cakmakci, RI., Donmez, MF. and Erdogan, U .2007. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barely seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish Journal of Agriculture* 31: 189-199.

Chandrasekar, B. R., Ambrose, G. and Jayabalan, N. 2005. Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb) Link. *Journal of Agricultural Technology* 1 (2): 223-234.

Chen, Z. Newman, I., Zhuo, M., Mendham, N., Zhang, G. and Shabala, S. 2005. Screening plants for salt tolerance by measuring K^+ flux: a case study for barely. *Plant Cell and Environment* 28: 1230-1246.

Cuartero, J., Bolarin, M. C., Asins, M. J. and Moreno, V. 2006. Increasing salt tolerance in tomato. *Journal of Experimental Botany* 57: 1045-1058.

Cuin, T. A., Shabala, S., 2007. Compatible solutes reduce ROS induced potassium efflux in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell and Environment* 30: 875-885.

Garcia, A., Rizzo, C. A., UD-Din, J., Bartos, S. L., Flowers, T. J. and Yeo, A. R. 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independent in rice, and the mechanisms of sodium: potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell and Environment* 20: 1167-1174.

Garratt, L. C., Janagoudr, B. S., Lowe, K. C., Anthony, P., Power, J. B. and Davey, M. R. 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4): 502-511.

Karo, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.

Khan, N. A. 2003. NaCl inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat. *Plant Biology* 47: 437-440.

Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M. and Barmaki, M. 2016. Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in *Triticale* under salinity condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 44(1):116-124.

Levent Tuna, A., Kaya, C., Dicitilas, M. and Higgs, D. 2008. The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany* 62: 1-9.

Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M. and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances* 29 (2): 248-258.

Marius, S., Octavita, A., Eugen, U. and Vlad, A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genetic Biologie Molecular* 11-14.

Mass, E. V. and Poss, J. A. 1989. Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science* 10(1): 29-40.

Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M. and Arshad, M. 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of Microbiology* 53 (10):1141-9.

Orabi, S. A., Salman, SR. and Shalaby, A. F. 2010. Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences* 6: 252- 259.

Pascaru, A., Giorgievici, A. S., Gaman, C. D., Bencec Otilia, T., Dicu, D. R., Horga, V. C., Petrescu, I. and Boldea, M. 2014. Sodium chloride effect on rye (*Secale cereale* L.). *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* 18 (4): 147-150.

Ravikumar, S., Kathiresan, K., Ignatiammal, STM., Selvam, MB. and Shanthly, S. 2004. Nitrogen fixation Azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *Journal of Experimental Biology* 15: 157-160.

Reddy, A. R., Chaitanya K. V. and Vivekanandan, M. 2005. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.

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

Sam Dalirie, M., Seyed Sharifi, R. and Farzaneh, S. 2010. Evaluation of yield, dry matter accumulation and leaf area index in wheat genotypes as affected by terminal drought stress. *Journal of Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 38(1): 182-186.

Schochman, D. P., Munns, R. and Whitecross, M. I. 1991. Variatio in sodium exclusion and salt tolerance in triticum tauschii. Crop Science 31: 992-997.

Schutz, M., and Fangmeir, E. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv.Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. Environmental Pollution 114:187-194.

Seyed Sharifi, R., Khalilzadeh, R. and Jalilian, J. 2016. Effects of biofertilizers and cycocel on some physiological and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. Archives of Agronomy and Soil Science 63 (3): 308-318.

Sharma, P., Dubey, RS. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation 46: 209-221.

Shaukat, K., Affrasayab and S., Hasnain, S. 2006. Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. Journal of Agriculture Reseach 1(6): 573-581.

Singh, B. R. and Singh, D. P. 1994. Effect of moisture stress on morphological parameters and productivity of poaceous crops. Agro Botanical Publishers India, Bikaner 3: 241-246.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itot, R. 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.

Tripathi Mishra, A. K. and Tripathi, P.1998. Salinity stress responses in the plant growth promoting rhizobacteria., *Azospirillum* spp. Journal of Bioscience 23(4): 463-471.

Turan, M., Gulluce, R., Çakmak, M. and Şahinm, F. 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. Journal of Plant Nutrition 4: 731-748.

Wagar, A., B. Shahroona, Z., Zahir, A. and Arshad, M. 2004. Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agriculture. 41: 119-124.

Wise, R. R., and Naylor, A. W. 1989. Chillingenhanced photo-oxidation, the peoxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrasructure. Plant Physiology 83: 278-282.

Zaied, K., Abd-El-Hady, A., Afify, A. and Nassef, MA. 2003. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculant of rhizobacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences 6:344-358

Zhao, G. Q., Ma, B. L. and Ren, C. Z. 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Science 47: 123-131.