

## اثر تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی بر عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و

### برخی صفات بیوشیمیایی گندم در شرایط شوری خاک

پریسا خان‌زاده<sup>۱</sup> و رئوف سید شریفی<sup>۲\*</sup>

(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.

\*نویسنده مسئول: raouf\_ssharifi@yahoo.com

مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۵

#### چکیده

به منظور بررسی اثر تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی بر عملکرد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم و برخی صفات بیوشیمیایی گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط شوری خاک، این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۱۳۹۵ انجام گرفت. تیمارها شامل شوری در چهار سطح (عدم اعمال شوری به عنوان شاهد و اعمال شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار) با نمک NaCl و تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی در شش سطح (بدون تلقیح با کودهای زیستی و سایکوسل به عنوان شاهد، تلقیح بذر با سودوموناس، آزوسپریلیوم و کاربرد همزمان سودوموناس و آزوسپریلیوم، تلقیح با سایکوسل در دو سطح  $10^{-5}$  و  $10^{-6}$  میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۴۳/۳۹، ۱۰۳/۹، ۹۷/۸۳ و ۱۴۳ درصد افزایش داد. کم‌ترین میزان هدایت الکتریکی (۶۵/۸ میکروزیمنس بر سانتی‌متر) و بیش‌ترین محتوای نسبی آب در مرحله گلدهی (۸۷/۸۶ درصد)، محتوای پروتئین (۱۷/۷ درصد) و عملکرد دانه (۲/۸۳ گرم در بوته) در حالت عدم اعمال شوری و تلقیح همزمان بذر با سودوموناس و آزوسپریلیوم به دست آمد. بیش‌ترین میزان هدایت الکتریکی (۱۱۱/۸۳ میکروزیمنس بر سانتی‌متر) و کم‌ترین محتوای نسبی آب در مرحله پر شدن دانه (۴۹/۶ درصد)، محتوای پروتئین (۱۰/۵۷ درصد) و عملکرد دانه تک بوته (۰/۹۸ گرم در بوته) در شوری ۷۵ میلی‌مولار و عدم تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آزوسپریلیوم، پرولین، سودوموناس و کودهای بیولوژیک.

## مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که رشد و توسعه گیاه را محدود کرده و موجب کاهش عملکرد در بسیاری از گیاهان زراعی می‌شود (Shiyab *et al.*, 2013). گیاهان جدای از سیستم حفاظت طبیعی، قادرند با هم‌زیستی تعدادی از ریز جانداران خاکی نظیر استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه، علائم تنش را کاهش دهند (Yao *et al.*, 2010). از دیگر رهیافت‌های نوین در کاهش حساسیت گیاهان نسبت به تنش‌های خشکی و شوری استفاده از برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر سایکوسل است. این ماده یکی از مهم‌ترین مشتقات کولین می‌باشد. کولین‌ها در غشای لیپیدی سلول وجود دارند که ضمن کاهش باز و بسته‌شدن روزنه‌ها، به عنوان جذب‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و موجب کاهش برخی از آسیب‌های ناشی از تنش‌های خشکی و شوری می‌شود (Elfving, 1988). اثر تعدیلی سایکوسل می‌تواند به دلایل مختلفی مانند بسته شدن روزنه، افزایش محتوای کلروفیل، افزایش غلظت CO<sub>2</sub> و تغییرات تحریک‌کنندگی در سایر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باشد (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2012). سایکوسل همچنین می‌تواند موجب تحریک رشد ریشه، کاهش تعرق، افزایش کارایی مصرف آب، جلوگیری از تخریب کلروفیل و در نتیجه بهبود تحمل گیاه به تنش شود (Wang *et al.*, 2009). تنش شوری با افزایش غلظت آبسزیک اسید و اتیلن و تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Orabi *et al.*, 2010)، ضمن مهار فتوسنتز و سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی، به تسریع در تجزیه‌ی پروتئین‌ها و افزایش آمینواسیدها و آمیدها منجر می‌شود که پرولین یکی از این آمینو اسیدها است (Barker *et al.*, 1993). پرولین از طریق حفظ ظرفیت آب‌گیری در سیتوپلاسم سلول منجر به حفظ ماکرومولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها و برخی آنزیم‌های سیتوپلاسمی و میتوکندریایی می‌شود تا از تشکیل اشکال نامطلوب و یا قطعه قطعه شدن آن‌ها جلوگیری به عمل آید (Allen *et al.*, 1992). شوری همچنین موجب آسیب به نفوذپذیری غشای پلاسمایی، کاهش محتوای نسبی آب برگ و تجمع مواد محلول با وزن مولکولی کم می‌شود، که مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند و به عنوان اسمولیت یا محافظ اسمزی عمل می‌نمایند. در این راستا Parvaiz و Satyawati (۲۰۰۸) علت تجمع قندهای محلول در طی تنش شوری را به افزایش ترکیباتی نظیر گلوکز، فروکتوز و ساکاروز نسبت دادند. به این صورت که قندهای نامحلول نشاسته، تجزیه شده تا پتانسیل اسمزی را حفظ کرده (Parvaiz and Satyawati, 2008) و در برقراری آماس و جلوگیری از پلاسمولیز در گیاهان تحت تنش موثر واقع شود (Wang and Zhang, 2009). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند که تلقیح بذر گیاهان با باکتری‌های محرک رشد و محلول پاشی سایکوسل موجب افزایش غلظت قندهای محلول شد. پایداری غشا و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز نیز ابزاری در جهت اندازه‌گیری میزان تحمل در برابر تنش‌های محیطی می‌باشند (Seyed Sharifi *et al.*, 2016). تنش شوری به

دلیل پیری زود هنگام برگ، موجب تغییر میزان نفوذ پذیری غشا و افزایش نشت یونی غشا می‌شود و این امر می‌تواند بیانگر میزان صدمه وارده بر غشاء باشد. افزایش فعالیت این آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیش‌گیری نمایند و یا این‌که آن‌ها را جمع آوری نموده و اثر مضر آن‌ها را کاهش دهند (هادی و همکاران، ۱۳۹۵). Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در شرایط شوری و کاربرد کودهای زیستی گزارش کردند. Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند که در شرایط تنش شوری گرچه میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب کاهش، و هدایت الکتریکی، محتوای پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزایش می‌یابد، ولی کاربرد سایکوسل می‌تواند ضمن جلوگیری از کاهش بیش‌تر محتوای نسبی آب و میزان کلروفیل، موجب تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول شود. Hosni (۱۹۹۶) افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاهان تیمار شده با سایکوسل را به اثر این ماده در به تأخیر انداختن پیری برگ و در نتیجه حفظ رنگدانه سبز و جلوگیری از تجزیه آن نسبت دادند. Chandrasekar و همکاران (۲۰۰۵) اثر مفید تلقیح بذر با باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل را به در دسترس بودن بالاتر نیتروژن بواسطه تثبیت نیتروژن نسبت دادند. Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند که تلقیح بذر با کودهای زیستی منجر به افزایش عملکرد دانه تک بوته، محتوای کلروفیل و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تریتیکاله در شرایط تنش شوری شد. Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) افزایش عملکرد دانه گندم در شرایط تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس را گزارش کردند. گسترش خاک‌های شور و اهمیت گندم به عنوان یکی از غلات مهم، نقش کودهای زیستی و سایکوسل در بهبود عملکرد و تعدیل اثر ناشی از شوری از جمله عواملی بودند که موجب شد تا در این مطالعه اثر آن‌ها بر عملکرد دانه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و برخی صفات بیوشیمیایی گندم در شرایط شوری مورد ارزیابی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تلقیح بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) با سایکوسل و کودهای زیستی بر عملکرد، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و برخی صفات بیوشیمیایی گندم در سطوح مختلف شوری خاک، این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور شوری خاک در چهار سطح (عدم اعمال شوری به عنوان شاهد و اعمال شوری‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار) با استفاده از نمک NaCl بود. فاکتور دوم پیش تیمار بذر گندم قبل از کاشت با سایکوسل و کودهای بیولوژیک در شش تیمار (عدم کاربرد باکتری، به کارگیری باکتری محرک رشد سودوموناس پوتیدا سویه ۱۸۶، آزوسپریلیوم لیپوفروم سویه OF و کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد سودوموناس و

آزوسپریلیوم، و پیش تیمار بذر با سایکوسل در دو سطح  $10^{-5}$  و  $10^{-6}$  میلی‌مولار) بود. به بیانی دیگر دسته‌های مختلف بذرهای پیش تیمار شده (با سایکوسل و کودهای زیستی) و پیش تیمار نشده در دو شرایط عدم اعمال شوری و اعمال درجات مختلف شوری (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار NaCl) کشت داده شدند. پس از کشت، هدایت الکتریکی و محتوای نسبی آب برگ در مراحل مختلف (گل‌دهی، خوشه‌دهی و پر شدن دانه) و دیگر صفات نظیر محتوای پروتئین کل، محتوای پرولین و میزان قندهای محلول برگ پرچم در یک مرحله اندازه‌گیری شدند (Seyed Sharifi *et al.*, 2016). هر دو این باکتری‌ها بومی خاک‌های کشور بوده و مایه تلقیح آن‌ها از بخش تحقیقات بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای تلقیح بذر با باکتری‌ها از مایه تلقیحی استفاده شد که تراکم ریزجانداران استفاده شده در این آزمایش  $10^8$  باکتری زنده و فعال در هر گرم بود. از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. مقدار نمک مورد نیاز با استفاده از NaCl برای هر گلدان به کمک نرم افزار Salt calc برای هر سطح شوری محاسبه و همراه با آب آبیاری در دو مرحله (همزمان با کاشت و در مرحله چهار برگی) به هر گلدان اضافه شد (حق بهاری و سید شریفی ۱۳۹۲). در این نرم افزار به اندازه گیری هدایت الکتریکی خاک و درصد عصاره اشباع 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. 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. بذر مورد استفاده رقم زاگرس بود که از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شد. ۵۰ عدد بذر در هر گلدان به قطر ۴۰ سانتی‌متر برای اعمال تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع، کشت شد. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی انجام شد. در طول دوره رشد کنترل علف‌های هرز به طریقه دستی انجام شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۲۰ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد با طول دوره روشنایی ۱۵-۱۶ ساعت (با استفاده از ترکیبی از لامپ‌های معمولی و مهتابی) نگهداری شدند. محتوای نسبی آب برگ پرچم بر اساس مقیاس BBCH (سیدشریفی و خلیل‌زاده، ۱۳۹۶) در سه مرحله‌ی گل‌دهی (کد ۶۵ مقیاس BBCH)، خوشه‌دهی (کد ۵۵ مقیاس BBCH) و پر شدن دانه (کد ۸۳ مقیاس BBCH) با استفاده از روش Tambussi و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که نمونه‌های برگ پرچم بلافاصله بعد از نمونه‌برداری توزین و وزن تر آن‌ها یادداشت شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، وزن آماس یافته اندازه‌گیری و وزن خشک نیز از توزین نمونه‌ها بعد از قرار دادن نمونه‌های آماس یافته در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، حاصل شد. محتوای نسبی آب برگ پرچم از رابطه ۱ محاسبه گردید:

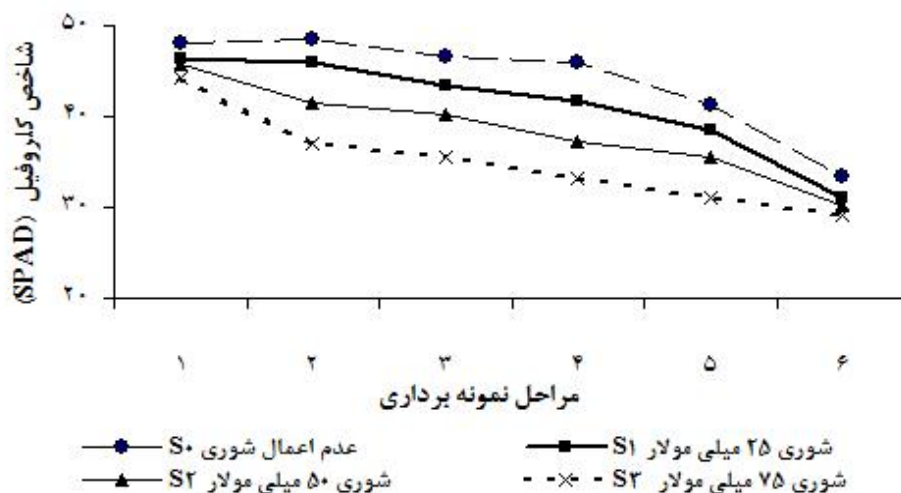
$$RWC = (F_w - D_w) / (T_w - D_w) \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

که در این رابطه RWC محتوای نسبی آب،  $F_w$  وزن تر،  $T_w$  وزن آماس یافته و  $D_w$  وزن خشک است. هدایت الکتریکی (EC) برگ پرچم در همان شرایط مربوط به اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، توسط دستگاه EC متر (مدل LF 538 ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد. محتوای پروتئین کل به روش Bradford (۱۹۷۶)، محتوای پرولین برگ پرچم به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و میزان قندهای محلول به روش Dubios و همکاران (۱۹۵۶) در مرحله ظهور برگ پرچم اندازه‌گیری شد. از ۶۰ روز بعد از کاشت (از مرحله ظهور برگ پرچم) تا دوره پر شدن دانه هر چهار روز یک بار و در مجموع در شش مرحله توسط دستگاه کلروفیل متر (SPAD-502 مینولتای ژاپن)، شاخص کلروفیل روی برگ پرچم اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در مرحله ظهور برگ پرچم، به روش Mishra و Karo (۱۹۷۶) انجام شد. در زمان رسیدگی برای تعیین عملکرد دانه، تعداد ۸ بوته به ظاهر یکنواخت و مشابه در هر گلدان برداشت و میانگین داده‌های حاصل به عنوان ارزش آن صفت در تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

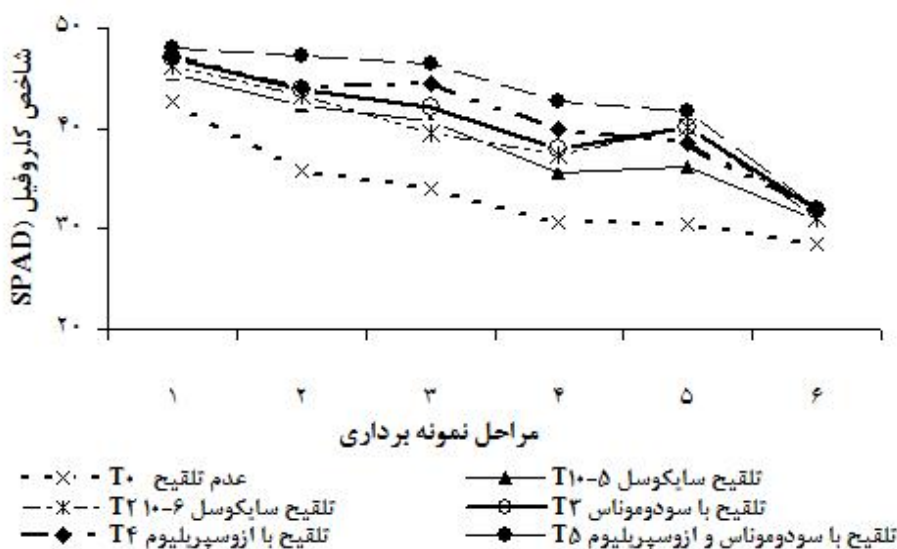
### شاخص کلروفیل

اثر شوری و پیش تیمار بذر با سایکوسل و کودهای زیستی در تمامی مراحل مختلف یادداشت برداری بر شاخص کلروفیل برگ پرچم در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). روند تغییرات محتوای کلروفیل برگ پرچم در سطوح مختلف شوری (شکل ۱) نشان داد که این تغییرات در تمامی تیمارها روند نزولی نسبتاً مشابهی داشت، طوری که شاخص سبزی‌نگی در مراحل اول نمونه‌برداری بالا بود ولی در مراحل بعدی به دلیل نزدیک شدن به مرحله رسیدگی و هم-چنین پیر شدن برگ‌ها، روند نزولی داشت. بالاترین شاخص کلروفیل در تلقیح همزمان بذر با سودوموناس و آزوسپریلیوم در شرایط عدم اعمال شوری (۴۸/۵۹) و کم‌ترین آن در عدم تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل و در بالاترین سطح شوری (۳۱/۳۹) بدست آمد (شکل ۲). به بیانی دیگر کاربرد همزمان تلقیح بذر با کودهای زیستی در شرایط عدم اعمال شوری شاخص کلروفیل را ۵۴/۸ درصد در مقایسه با عدم کاربرد کودهای زیستی در بالاترین سطح از شوری افزایش داد. شوری به دلیل افزایش آبسازیک اسید و اتیلن که تحریک کننده‌ی آنزیم کلروفیل‌لاز هستند موجب تجزیه و کاهش محتوای کلروفیل‌ها می‌شوند (Orabi *et al.*, 2010). ولی در حضور باکتری‌های حاوی ACC دامیناز، چون ساخت اتیلن به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد از این رو تجزیه کلروفیل کاهش می‌یابد.



شکل ۱: بررسی روند تغییرات شاخص کلروفیل در سطوح مختلف شوری

از ۶۰ روز بعد از کاشت (از مرحله ظهور برگ پرچم) تا دوره پر شدن دانه هر چهار روز یک بار و در مجموع در شش مرحله دستگاه کلروفیل متر، شاخص کلروفیل بر روی برگ پرچم اندازه‌گیری شد.



شکل ۲: بررسی روند تغییرات شاخص کلروفیل در تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل

از ۶۰ روز بعد از کاشت (از مرحله ظهور برگ پرچم) تا دوره پر شدن دانه هر چهار روز یک بار و در مجموع در شش مرحله توسط دستگاه کلروفیل متر، شاخص کلروفیل بر روی برگ پرچم اندازه‌گیری شد.

Lucy و همکاران (۲۰۰۴) افزایش محتوای کلروفیل برگ را از مزایای تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند. Hosni و همکاران (۱۹۹۶) افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تیمار شده با سایکوسل را به اثر سایکوسل در به تأخیر انداختن پیری برگ و در نتیجه حفظ رنگدانه سبز و جلوگیری از تجزیه آن نسبت دادند. نتایج مشابهی نیز در این

آزمایش نشان داد که سایکوسل منجر به بهبود وضعیت کلروفیلی گندم می‌شود به دست آمده است. Fletcher و همکاران (۲۰۰۰) نقش سایکوسل را در افزایش سنتز کلروفیل به افزایش تولید سایتوکینین نسبت دادند. Chandrasekhar و همکاران (۲۰۰۵) اثر مفید تلقیح باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل را به در دسترس بودن بالاتر نیتروژن بواسطه تثبیت نیتروژن توسط ازتوباکتر نسبت دادند.

### محتوای پرولین برگ پرچم و قندهای محلول

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی بر محتوای پرولین برگ پرچم و قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد و اثر ترکیب تیماری شوری در تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل بر محتوای قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، پروتئین، محتوای پرولین و قندهای محلول گندم

میانگین مربعات						درجه	منابع تغییرات
قند محلول	پرولین	پروتئین	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	کاتالاز	آزادی	
۰/۰۲۲۷ <sup>ns</sup>	۲/۱۲۵ <sup>ns</sup>	۱۰/۹۶۲ <sup>**</sup>	۳۱۹/۰۲۴ <sup>**</sup>	۱۱۶/۶۵۶ <sup>**</sup>	۶۴۰/۵۸۱ <sup>**</sup>	۲	تکرار
۱۰/۳۶۵ <sup>**</sup>	۲۴/۲۲۳ <sup>**</sup>	۵۵/۳۷۷ <sup>**</sup>	۱۳۹/۶۵۴ <sup>**</sup>	۴۶۵/۲۱۰ <sup>**</sup>	۶۶/۹۹۹ <sup>**</sup>	۵	کودهای زیستی و سایکوسل
۱۹/۸۳۷ <sup>**</sup>	۱۹/۷۶ <sup>**</sup>	۱۴۸/۵۸۷ <sup>**</sup>	۴۰۸/۵۶۵ <sup>**</sup>	۴۰۸/۰۴۲ <sup>**</sup>	۶۵/۷۰۸ <sup>**</sup>	۳	شوری
۳/۹۷۵ <sup>**</sup>	۱/۶۵۵ <sup>ns</sup>	۲/۱۹۷ <sup>**</sup>	۱۶/۹۵۵ <sup>ns</sup>	۱۰/۴۳۵ <sup>ns</sup>	۳/۳۹۷ <sup>ns</sup>	۱۵	شوری × کودهای زیستی و سایکوسل
۰/۱۲۶	۳/۷۳۰	۰/۹۶۶	۱۲/۸۲۹	۱۴/۱۴۱	۷/۸۶۵	۴۶	اشتباه آزمایشی
۴/۹۰۴	۱۹/۲۴۴	۹/۷۵۶	۷/۷۳۸	۱۳/۹۸۶	۱۱/۹۹۱	—	ضریب تغییرات

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

مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطوح شوری، محتوای پرولین از ۵/۵۳۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ در حالت عدم اعمال شوری به ۷/۹۳۵ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ در بالاترین سطح شوری رسید که حاکی از افزایش ۴۳/۲ درصدی محتوای پرولین در سطوح بالای شوری بود (جدول ۲). میزان افزایش پرولین در سطوح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی-مولار در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۹/۴ و ۲۲/۴۱ درصد بود. افزایش غلظت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند، نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش می‌باشد (Manivannan *et al.*, 2008). پرولین تحت شرایط تنش می‌تواند عملکردهای متفاوتی مانند ایجاد تعادل اسمزی، حفاظت از ساختار پروتئینی و غشاء سلول، تثبیت ساختارهای درون سلولی و حذف رادیکال‌های آزاد را داشته باشد (Molinari *et al.*, 2004). Chookhampaeng و همکاران (۲۰۰۸) اظهار داشتند که تجمع املاح سازگار حاوی پرولین به عنوان مشارکت در تنظیم اسمزی، حفاظت از

مولکول‌های درشت سلولی در برابر تخریب شوری و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن مؤثر است. با تجمع پرولین به عنوان اسمولیت غیرسمی، پتانسیل اسمزی واکوئل‌ها کاهش می‌یابد و تحمل گیاه را در برابر تنش افزایش می‌دهد. تصور بر این است که پرولین تجمع یافته تحت تنش‌های محیطی، واکنش‌های بیوشیمیایی را محدود نمی‌کند و طی تنش اسمزی نقش یک محافظ اسمزی را ایفا می‌کند. از این رو Cakirlar و Cicek (۲۰۰۲) اظهار داشتند که پتانسیل اسمزی پایین در بافت‌ها می‌تواند ناشی از تجمع پرولین باشد. تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل هم منجر به افزایش محتوای پرولین شد (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر شوری بر پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم

سطوح شوری	پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)	کاتالاز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	پراکسیداز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	پلی فنل اکسیداز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)
S <sub>0</sub>	۵/۵۳ <sup>c</sup>	۲۵/۵ <sup>c</sup>	۸۷/۷۷ <sup>c</sup>	۳۲/۱ <sup>d</sup>
S <sub>1</sub>	۶/۰۵ <sup>bc</sup>	۳۸/۲ <sup>b</sup>	۹۸ <sup>c</sup>	۴۹/۵ <sup>c</sup>
S <sub>2</sub>	۶/۸۸ <sup>ab</sup>	۴۹/۳ <sup>a</sup>	۱۲۴/۳ <sup>b</sup>	۶۲/۸ <sup>b</sup>
S <sub>3</sub>	۷/۹۳ <sup>a</sup>	۵۲ <sup>a</sup>	۱۴۵/۹ <sup>a</sup>	۷۸/۳ <sup>a</sup>
LSD <sub>5%</sub>	۱/۲۹	۴/۸۲	۱۰/۴۹	۷/۸۴

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند  
S<sub>0</sub> S<sub>1</sub> S<sub>2</sub> S<sub>3</sub> به ترتیب عدم شوری، شوری ۲۵، شوری ۵۰ و شوری ۷۵ میلی مولار

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر تلقیح بذر با سایکوسل و باکتری‌های محرک رشد بر محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های

#### آنتی‌اکسیدانی

پیش تیمار بذر	کاتالاز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	پراکسیداز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	پلی فنل اکسیداز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)
T <sub>0</sub>	۳۶/۹	۸۳	۴۵/۵	۴/۸۹
T <sub>1</sub>	۳۵/۶	۸۵/۱	۴۹/۶	۵/۲۵
T <sub>2</sub>	۴۲/۸	۹۶/۳	۵۶/۸	۵/۳۹
T <sub>3</sub>	۵۲/۹	۱۱۱	۷۵/۹	۶/۲۹
T <sub>4</sub>	۶۲/۶	۱۲۶/۹	۸۲/۵	۸۵/۷
T <sub>5</sub>	۷۱/۵	۱۴۲/۳	۸۹/۵	۶۹/۸
LSD <sub>5%</sub>	۶/۱۱	۹/۰۶	۷/۵۳	

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند  
T<sub>0</sub> T<sub>1</sub> T<sub>2</sub> T<sub>3</sub> T<sub>4</sub> T<sub>5</sub> به ترتیب عدم تلقیح، تلقیح بذر با سایکوسل<sup>-۵</sup>، ۱۰<sup>-۵</sup>، تلقیح بذر با سایکوسل<sup>-۶</sup> و ۱۰<sup>-۶</sup> و تلقیح بذر با سودوموناس، تلقیح بذر با آروسپریلیوم، تلقیح همزمان آروسپریلیوم و سودوموناس

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین و کم‌ترین مقدار پرولین (به ترتیب ۸/۹۶ و ۴/۸۹۳ میکرو گرم بر گرم وزن تر برگ) متعلق به تلقیح همزمان بذر با کودهای زیستی و عدم تلقیح بذر بود (جدول ۴). نتایج مشابهی نیز توسط دیگر محققان گزارش شده است (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016). به بیانی دیگر محتوای پرولین هم در حالت تلقیح بذر با کودهای زیستی، هم در شرایط تلقیح بذر با سایکوسل در مقایسه با عدم تلقیح بالاتر بود. Bano و Farooq (۲۰۰۶) نشان دادند که افزایش غلظت پرولین و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد مانند سایکوسل به دست می‌آید. در بسیاری از بررسی‌ها، افزایش سنتز پرولین برای بسیاری از گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی در شرایط تنش غیر زنده مشاهده شده است (Hoque and Haque, 2007). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تلقیح با کودهای زیستی و کاربرد سایکوسل موجب افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در گندم شد. بیش‌ترین مقدار قندهای محلول مربوط به تلقیح با سودوموناس در شوری ۷۵ میلی مولار (۵۹/۷۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کم‌ترین مربوط به عدم تلقیح بذر در شرایط عدم اعمال شوری (۳۴/۰۹۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۴). البته اختلاف آمار معنی‌داری بین برهم‌کنش عدم تلقیح بذر در شرایط عدم اعمال شوری بر میزان قندهای محلول با برهم‌کنش عدم اعمال شوری و تلقیح بذر با سایکوسل  $10^{-5}$  میلی مولار در سطح احتمال یک درصد وجود نداشت. بین ترکیب تیماری تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس در شوری ۷۵ میلی مولار با تلقیح بذر با آزوسپریلیوم در همین سطح از شوری نیز اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۵). علت تجمع قندهای محلول در طی تنش این است که قندهای نامحلول ناشسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کند تا پتانسیل اسمزی را حفظ کرده و خطر دهیدراتاسیون را کاهش دهد (Parvaiz and Satyawati, 2008). بررسی‌های Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) در تربیتکاله نشان داد که تنش شوری موجب افزایش میزان قندهای محلول شد. گزارش شده است که سایکوسل موجب افزایش رشد ریشه، تعداد برگ و به تأخیر انداختن پیری می‌شود، هم‌چنین موجب تغییراتی در پارامترهای بیوشیمیایی گیاه از جمله میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها و غلظت برخی از ریز مغذی‌ها می‌شود (Cycon *et al.*, 2012). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) طی بررسی‌های مختلفی اظهار داشتند که محلول پاشی سایکوسل در شرایط تنش شوری موجب افزایش پرولین، قندهای محلول و افزایش تعداد و وزن دانه می‌شود.

#### هدایت الکتریکی و محتوای نسبی آب برگ پرچم

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ پرچم و هدایت الکتریکی آن تحت اثر شوری و تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل و برهم‌کنش این دو عامل در مراحل مختلف نمونه‌برداری اعم از گل‌دهی، خوشه‌دهی و پر شدن دانه در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ پرچم (۸۸/۸۶

درصد) در حالت عدم اعمال شوری و تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس و کم‌ترین آن (۴۹/۶ درصد) در بالاترین سطح از شوری و عدم تلقیح بذر با سایکوسل و کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ۴). البته اختلاف آمار معنی‌داری بین ترکیب تیماری تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس در شرایط عدم اعمال شوری با تلقیح بذر با آزوسپریلیوم در همین سطح از شوری در سطح احتمال یک درصد وجود نداشت. Silva و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که محتوای نسبی آب در بیش‌تر گیاهان در شرایط تنش کاهش می‌یابد. Shaharoon و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشتند که تلقیح با باکتری-های محرک رشد موجب افزایش ۱۶-۵ درصدی محتوای نسبی آب در شرایط عدم تنش نسبت به شاهد شد. در پژوهش-های Abreu و Munne-Bosch (۲۰۰۸) نیز محتوای نسبی آب بر اثر تنش کاهش یافت. Glenn و همکاران (۱۹۹۷) اعلام داشتند که هر چه گیاه بتواند در شرایط تنش، آب بیش‌تری در بافت‌های خود حفظ کند، قدرت پروتوپلاسم در تحمل صدمات ناشی از تنش بیش‌تر خواهد شد. کاهش محتوای آب نسبی در شرایط تنش، از طریق بسته شدن روزنه‌ها، کاهش جذب دی‌اکسیدکربن و اختلال در فتوسنتز موجب کاهش عملکرد می‌شود (هادی و همکاران ۱۳۹۵). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از سایکوسل موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش هدایت الکتریکی برگ پرچم در گندم شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و سایکوسل در سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری بر هدایت الکتریکی برگ پرچم داشت (جدول ۱). دلیل افزایش هدایت الکتریکی در شرایط تنش، می‌تواند ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو باشد. گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و تغییر در نفوذپذیری غشا (نشت یونی) و خسارت به سلول میشوند که در نتیجه‌ی آن غشای سلولی پاره شده و موجب افزایش نشت یونی به بیرون از سلول می‌شود (هادی و همکاران ۱۳۹۵). Ortiz و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی کاهش نشت الکترولیت در گیاه شبدر تلقیح شده با سویه‌های باکتری محرک رشد تحت تنش را گزارش کردند.

### فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز

تنش شوری به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز را نسبت شاهد افزایش داد. بیش-ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۵۲ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)، پلی‌فنل اکسیداز (۷۸/۳ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) و پراکسیداز (۱۴۵/۹ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در بالاترین سطح شوری به‌دست آمد. طوری که در مقایسه با عدم اعمال شوری فعالیت این آنزیم‌ها به‌ترتیب ۹۳، ۹۶ و ۷۱/۴ درصد در بالاترین سطح شوری افزایش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۴۹/۸ و ۹۳/۳۳ درصد افزایش یافت. روند مشابهی نیز در فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز مشاهده شد.

طوری که فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطوح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۱۱/۶۵ و ۴۱/۶۲ درصد و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطوح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار در مقایسه با عدم اعمال شوری به ترتیب ۵۴ و ۹۵/۶۳ درصد افزایش یافت. Kheirizadeh Arough و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند قرارگیری تریتیکاله در معرض تنش شوری، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. بهبود رشد گیاهان در محیط‌های تنش‌زا می‌تواند به دلیل نقش مهم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثرات مخرب تنش‌های اکسیداتیو باشد و این موضوع در گندم نیز به اثبات رسیده است (Kheirizadeh Arough *et al.*, 2016). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که کاربرد کودهای بیولوژیک می‌تواند موجب بهبود تحمل گیاهان به تنش شوری شده و به گیاهان این امکان را می‌دهند تا در چنین محیط‌هایی زنده بمانند. تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل نیز در مقایسه با عدم تلقیح به افزایش ۸۴/۷ درصدی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز منجر شد (جدول ۴). Seyed Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که محلول‌پاشی سایکوسل به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را در گندم افزایش داد. آن‌ها هم‌چنین گزارش کردند که افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تیمار شده با سایکوسل ممکن است در حفاظت دستگاه فتوسنتزی در برابر تخریب گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش‌های مختلف کمک کند. Pakar و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تنش شوری عملکرد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع یون‌ها در جو را تحت تأثیر قرار داد؛ هم‌چنین برخی از این تغییرات می‌تواند توسط محلول‌پاشی سایکوسل در دو مرحله رشدی گیاه جبران شود. ایشان نشان دادند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مکانیسم‌های مناسبی از کاربرد سایکوسل در شرایط شوری می‌باشند. مطالعه اثر تلقیح با سویه‌هایی از باکتری‌های سودوموناس و آزوسپریلیوم نشان داد، این باکتری‌ها از طریق تثبیت نیتروژن، تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند اکسین، افزایش پروتئین‌های محلول و نیز بهبود فعالیت آنزیم‌هایی مانند اسید فسفاتاز و پراکسیداز، می‌توانند عملکرد و اجزای عملکرد را افزایش دهند (Shaukat *et al.*, 2006). Marius و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر 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 دیسموتاز در گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی افزایش یافت.

### محتوای پروتئین

محتوای پروتئین نیز تحت اثر سطوح شوری، تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل و اثر برهم‌کنش این دو عامل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش این دو عامل نشان داد که بالاترین

محتوای پروتئین (۱۷/۷ درصد) در حالت عدم اعمال شوری و تلقیح همزمان بذر با آزوسپریلیوم و سودوموناس به‌دست آمد که در مقایسه با بالاترین سطح شوری و عدم تلقیح بذر (۱۰/۵۷ درصد) از افزایش ۶۷/۴ درصدی برخوردار بود (جدول ۵). یکی از راهکارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش‌های محیطی، شناسایی تغییرات القا شده با تنش در میزان پروتئین آن‌ها است. سنتز پروتئین‌ها یکی از اصلی‌ترین عوامل در رشد سلول‌ها محسوب می‌شود. هر عاملی که از سنتز پروتئین‌ها جلوگیری کند موجب کاهش رشد نیز می‌شود و از این رو تنش شوری به دلیل توقف سنتز پروتئین‌ها موجب کاهش رشد نیز خواهد شد. تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی اسید آمینه‌های آزاد در جهت حفظ و تنظیم پتانسیل اسمزی سلول و کاهش سنتز پروتئین در شرایط تنش شوری توسط Moran و همکاران (۱۹۹۴) نیز گزارش شده است. تجزیه پروتئین‌های کلروپلاستی منبع با ارزشی برای شکل‌های قابل تحرک نیتروژن به محض ورود به شرایط تنش است (Martin et al., 1993). در کل مقدار پروتئین بافت‌های گیاه تحت شرایط تنش خشکی یا شوری به‌دلیل کاهش سنتز پروتئین کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که تنش شوری با تجزیه و کاهش غلظت پروتئین در برگ‌ها احتمالاً موجب تجزیه و تخریب پروتئین‌ها، انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد (از جمله پرولین) در شرایط تنش شوری، برای تنظیم اسمزی سلول و کاهش تأثیر سوء تنش می‌شود. قربانلی و نیاکان (۱۳۸۴) بیان کردند که با تشدید میزان تنش در سویا، مقدار کل پروتئین‌های محلول هم در بخش هوایی ساقه و برگ و هم در ریشه کاهش یافت که این روند با افزایش غلظت پرولین همراه بود. به نظر می‌رسد زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های مختلف محیطی قرار می‌گیرند تعدادی از گونه‌های فعال اکسیژنی مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن منفرد تولید می‌کنند. این گونه‌های فعال اکسیژنی موجب آسیب‌هایی مانند تخریب چربی‌ها، تجزیه کلروفیل، تخریب ساختار پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (هادی و همکاران، ۱۳۹۵).

### عملکرد دانه تک بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد عملکرد دانه تحت تأثیر شوری، تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل و اثر ترکیب تیماری این دو عامل در در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بیش‌ترین عملکرد در حالت عدم اعمال شوری، کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و کم‌ترین آن‌ها در شوری ۷۵ میلی‌مولار، عدم کاربرد کودهای زیستی و سایکوسل به دست آمد. بخشی از بالا بودن عملکرد دانه در شرایط تنش شوری را می‌توان به بالا بودن محتوای کلروفیل نسبت داد که موجب می‌شود ظرفیت ذخیره‌سازی و کارایی تولید به دلیل کاهش تأثیر سوء تنش بر میزان سبزی‌نگی گیاه افزایش یابد.

## جدول ۴: مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و سایکوسل بر هدایت الکتریکی و

## محتوای نسبی آب برگ، قند محلول و پروتئین و عملکرد دانه تک بوته گندم در سطوح مختلف شوری

عملکرد تک بوته (گرم)	پروتئین (درصد)	قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	محتوای نسبی آب برگ پرچم (درصد)			هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی متر)			ترکیب تیماری
			مرحله گل شدن دانه	مرحله خوشه‌دهی	مرحله گل دهی	مرحله پر شدن دانه	مرحله خوشه دهی	مرحله گل دهی	
۲/۱۷	۱۳/۰۹	۳۴/۰۹	۶۰/۹۹	۶۸/۰۷	۷۶/۶۸	۱۰۱/۰۶	۸۰/۱۴	۷۷/۳۸	S <sub>0</sub> × T <sub>0</sub>
۲/۲۴	۱۴/۱۳	۳۴/۷۹	۶۱/۹۶	۶۹/۲۵	۷۷/۶۱	۱۰۰/۵۵	۷۹/۲۹	۶۸/۹۷	S <sub>0</sub> × T <sub>1</sub>
۲/۴۳	۱۴/۴۱	۳۵/۶	۶۳/۳۱	۷۴/۷۶	۸۰/۴۱	۱۰۰/۱	۷۸/۹	۶۸/۹۵	S <sub>0</sub> × T <sub>2</sub>
۲/۷۶	۱۵/۱۶	۳۷/۹	۶۵/۳۶	۷۴/۹۰	۸۶/۹۶	۹۸/۳۴	۷۸/۳۳	۶۸/۵۸	S <sub>0</sub> × T <sub>3</sub>
۲/۸۱	۱۶/۱	۳۸/۴	۶۸/۹۶	۸۸/۸۷	۸۸/۳۱	۹۸/۱	۷۷/۸۱	۶۸/۲۶	S <sub>0</sub> × T <sub>4</sub>
۲/۸۳	۱۷/۷۰	۳۹/۸	۶۸/۷۸	۸۳/۸۰	۸۷/۸۶	۹۵/۳۱	۷۷/۴۷	۶۵/۸۰	S <sub>0</sub> × T <sub>5</sub>
۱/۷۲	۱۱/۳۷	۴۱/۲	۵۷/۲۱	۶۰/۸	۷۱/۳۷	۱۰۲/۸۶	۸۴/۹۵	۷۹/۸۰	S <sub>1</sub> × T <sub>0</sub>
۱/۶۱	۱۲/۱۲	۴۳	۵۷/۹۹	۶۱/۳۴	۷۲/۲۰	۱۰۲/۷۶	۸۴/۱۹	۷۴/۰۸	S <sub>1</sub> × T <sub>1</sub>
۱/۶۶	۱۲/۴۰	۴۴	۵۸/۳۳	۶۲/۹۳	۷۳/۳۱	۱۰۲/۳۰	۸۳/۷۰	۷۲/۰۵	S <sub>1</sub> × T <sub>2</sub>
۱/۹۳	۱۳/۲۵	۴۵/۹	۵۹/۸۷	۶۴	۷۴/۳۲	۱۰۱/۶۶	۸۲/۶۷	۷۱/۳۸	S <sub>1</sub> × T <sub>3</sub>
۱/۸۵	۱۳/۲۵	۴۸	۶۰/۴۴	۶۷/۵۱	۷۵/۵۹	۱۰۱/۶۳	۸۱/۳۶	۷۰/۰۲	S <sub>1</sub> × T <sub>4</sub>
۲/۰۹	۱۳/۶۲	۴۳/۹۷	۶۰/۲۱	۶۶/۷۸	۷۵/۱۵	۱۰۱/۴۳	۸۱/۳۶	۶۹/۷۰	S <sub>1</sub> × T <sub>5</sub>
۲/۰۱	۱۱/۳۰	۴۴/۸۹	۵۴/۴۲	۵۷/۲۸	۶۷/۷۰	۱۰۸/۱۶	۸۸/۴۰	۸۲/۶۷	S <sub>2</sub> × T <sub>0</sub>
۱/۹۱	۱۲/۱۵	۴۵/۹۲	۵۵/۱۷	۵۸/۴۴	۶۸/۲۳	۱۰۷/۷۰	۸۷/۹۵	۷۵/۷۶	S <sub>2</sub> × T <sub>1</sub>
۱/۷۹	۱۲/۱۵	۴۸/۸۹	۵۵/۲۹	۵۸/۷۴	۶۸/۸۰	۱۰۶/۶۳	۸۷/۸۳	۷۴/۲۶	S <sub>2</sub> × T <sub>2</sub>
۱/۷	۱۲/۲۴	۴۹/۵۳	۵۵/۲۹	۵۹/۰۶	۶۹/۳۷	۱۰۴/۶۳	۸۶/۵۱	۷۳/۷۳	S <sub>2</sub> × T <sub>3</sub>
۱/۶۳	۱۲/۷۱	۵۱/۳۴	۵۶/۶۷	۶۰/۲۰	۷۱/۴۲	۱۰۴/۶۳	۸۵/۴۲	۷۳/۴۲	S <sub>2</sub> × T <sub>4</sub>
۱/۸۱	۱۲/۷۰	۴۹/۴۳	۵۵/۵۱	۵۹/۷۹	۶۹/۸۰	۱۰۳/۸۱	۸۵/۱۲	۷۲/۳۴	S <sub>2</sub> × T <sub>5</sub>
۰/۹۸	۱۰/۵۷	۵۰/۴۴	۴۹/۶۰	۵۰	۵۱/۹۳	۱۱۱/۸۳	۹۶/۴۰	۸۵/۶۰	S <sub>3</sub> × T <sub>0</sub>
۰/۹۵	۱۱/۴۱	۵۱/۶۲	۵۱/۲۱	۵۰/۹۵	۵۹/۷۳	۱۱۰/۶۰	۹۱/۴۰	۷۹/۷۹	S <sub>3</sub> × T <sub>1</sub>
۱/۱	۱۱/۳۲	۵۴/۹۵	۵۱/۲۷	۵۱/۲۶	۶۱/۳۹	۱۰۹/۶۶	۹۱/۲۸	۷۹/۵۳	S <sub>3</sub> × T <sub>2</sub>
۱/۴۵	۱۱/۶۱	۵۵/۶۸	۵۱/۸۳	۵۶/۶۴	۶۱/۹۸	۱۰۹/۴۳	۹۰/۵۶	۷۸/۸۸	S <sub>3</sub> × T <sub>3</sub>
۱/۴۲	۱۲/۷۴	۵۷/۷	۵۳/۸۰	۵۴/۷۴	۶۲/۲۵	۱۰۸/۴۶	۸۹/۹۹	۷۸/۵۳	S <sub>3</sub> × T <sub>4</sub>
۱/۵۳	۱۲/۹۲	۵۹/۷۴	۵۳/۳۶	۵۶	۶۲/۰۵	۱۰۸/۴۰	۸۹/۴۰	۷۶/۵۰	S <sub>3</sub> × T <sub>5</sub>
۰/۲۲	۰/۵۴	۲/۳۶	۱/۷۳	۳/۳۶	۲/۹۸	۱/۴۴	۱/۶۷	۱/۶۶	LSD <sub>5%</sub>

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

S<sub>3</sub> S<sub>2</sub> S<sub>1</sub> S<sub>0</sub> به ترتیب عدم شوری، شوری ۲۵، شوری ۵۰ و شوری ۷۵ میلی مولار

T<sub>5</sub> T<sub>4</sub> T<sub>3</sub> T<sub>2</sub> T<sub>1</sub> T<sub>0</sub> به ترتیب عدم تلقیح، تلقیح بذر با سایکوسل<sup>-۵</sup>، ۱۰<sup>-۶</sup> و تلقیح بذر با سودوموناس، تلقیح بذر

با آزوسپریلیوم، تلقیح همزمان آزوسپریلیوم و سودوموناس

برخی محققان علت افزایش عملکرد دانه به‌واسطه پیش تیمار بذر با کودهای زیستی و سایکوسل را، به نقش مهم آن‌ها در افزایش محتوای کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حفظ آماس و محتوای نسبی اب سلولی در گیاه و افزایش پرولین نسبت دادند که موجب می‌شوند گیاه آب و عناصر مورد نیاز خود را بهتر و راحت‌تر در اختیار داشته باشد و بدین ترتیب سلول به فعالیت‌های حیاتی خود حتی تحت شرایط تنش ادامه دهد (Sayed Sharifi 2016; Kheirizadeh Arough *et al*, 2016). کودهای بیولوژیک از طریق ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل دسترس ساختن آن‌ها، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی موجب رشد گیاه شده و از این طریق به افزایش عملکرد کمک می‌کنند (Rosety *et al*, 2006). سایکوسل با افزایش تعداد و بقای پنجه‌ها و هم‌چنین سطح برگ، به‌دلیل افزایش میزان فتوسنتز و انتقال مواد پرورده بیش‌تر به سمت دانه‌ها به بهبود عملکرد دانه کمک می‌نماید (Sharif *et al.*, 2007). Shaukat و همکاران (۲۰۰۶) تثبیت نیتروژن، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین، افزایش پروتئین‌های محلول و نیز بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را از علل اصلی افزایش عملکرد به واسطه تلقیح با کودهای زیستی گزارش کردند.

### نتیجه‌گیری

گیاه در مواجهه با تنش سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش سنتز اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و قندهای محلول انجام می‌دهد که به حفظ فشار اسمزی و تورژسانس سلول‌های گیاه کمک می‌کند. با افزایش سطوح شوری شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ پرچم و پروتئین دانه کاهش و با تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل افزایش یافت. تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل، محتوای پرولین و قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنولاز را در هر دو شرایط شوری و عدم اعمال شوری در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر افزایش داد. به نظر می‌رسد بخشی از افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش به واسطه‌ی تلقیح بذر با کودهای زیستی و سایکوسل را می‌توان به افزایش سنتز اسمولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و پراکسیداز یا بهبود مکانیسم‌های دفاعی نسبت داد. از این‌رو کاربرد همزمان سودوموناس و آزوسپریلیوم می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مناسب برای افزایش عملکرد گندم تحت تنش شوری باشد.

### منابع

قربانلی، م و نیاکان، م. ۱۳۸۴. بررسی اثر تنش خشکی بر روی میزان قندهای محلول، پروتئین، پرولین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز گیاه سویا رقم گرگان ۳. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم. ۵ (۲): ۴۳-۵۹.

محمدخانی، ن و حیدری، ر. ۱۳۸۵. اثر تنش خشکی بر فعالیت‌های آنزیمی محافظ و پراکسیداسیون لیپیدها در دو

رقم ذرت. مجله علوم زیستی. ۳: ۴۴۸-۴۵۳.

حق بهاری، م. و سید شریفی، ر. ۱۳۹۲. تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشدی PGPR بر

مقادیر سدیم و پتاسیم، هدایت روزنه‌ای و عملکرد گندم. مجله زیست‌شناسی خاک. ۱ (۲): ۱۰۷-۱۲۲.

هادی ه.، سید شریفی، ر. و نامور، ع. ۱۳۹۵. محافظ‌های گیاهی و تنش‌های غیر زیستی. انتشارات دانشگاه ارومیه.

۴۸۵ صفحه.

سیدشریفی، ر. و خلیل‌زاده، ر. ۱۳۹۶. تولید غلات. انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی. ۴۰۸ صفحه.

**Abreu, ME. and Munne-Bosch, S. 2008.** Salicylic acid may be involved in the regulation of drought-induced leaf senescence in perennials: A case study in fieldgrown *Salvia officinalis* L. plants. *Environmental and Experimental Botany*, 1862: 1-8.

**Allen, M.F., Moore, T.S. and Cheristenses, M. 1992.** Phytohormone, changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany*, 58: 371-374.

**Barker, D. J., Sullivan, C.Y. and Moser, R.C. 1993.** Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. *Agronomy Journal*, 85: 270-275.

**Bates, I. S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

**Bradford, M. 1976.** Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, 72: 248-254.

**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.

**Chookhampaeng, S., Pattanagul, W. and Theerakulpisut, P. 2008.** Effects of salinity on growth, activity of antioxidant enzymes and sucrose content in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) at the reproductive stage. *Science Asia*, 34: 69-75.

**Çiçek, N. and Çakırlar, H. 2002.** The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 28(1-2): 66-74.

**Cycon, M., Lewandowska, A. and Piotrowska-Seget, Z. 2012.** Mineralization of dynamics of chlormequat chloride (CCC) in soils of different textures. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(3): 595-602.

**Dubios, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A. and Smith, F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annals of Chemistry*, 28: 350-356.

**Elfving, D. 1988.** Economic effects of excessive vegetative growth in deciduous fruit tree. *Scientia Horticulturae*, 233: 461-463.

**Farooq, U. and Bano, A. 2006.** Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of *Vigna radiata* L. under water stress. *Pakistan Journal of Botany*, 38(5): 1511-1518.

**Fletcher, R. A., Gilley, A., Sankhla, N. and Davis. T. D. 2000.** Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Soil Biology and Biochemistry*, 24: 55-138.

**Glenn, P., Brown, J. and Jamal-Khan, M. 1997.** Mechanisms of salt tolerance in higher plants. The University of Arizona, pp: 83-110.

**Hoque, M. and Haque, S. 2007.** Effects of GA<sub>3</sub> and its mode of application on morphology and yield parameters of mungbean (*Vigna radiata* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5: 281-283.

**Hosni, A. M. 1996.** Response of potted *Chrysanthemum* [*Dendrathera grandiflorum* (Ramat) Kitamura] cv Galaxy, with uniconazole and chlormequat (Ramat) Kitamura] cv Galaxy, with uniconazole and chlormequat foliar sprays on medium drenches. *Annals of Agricultural Science*, 41(1): 367-385.

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

**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.

**Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004.** Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86: 1-25.

**Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishurekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R. 2008.** Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces, Biointerfaces*, 59: 141-149.

**Marius, S., Octavita, A., Eugen, U. and Vlad, A. 2005.** Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genetics and Molecular Biology*, 12 (2): 11-17.

**Martin, M., Micell, F., Morgan, J.A., Scalet, M. and Zebi, G. 1993.** Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 171: 176-184.

**Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Bernal, J.C., Kobayashi, A.K., Pileggi, M., Pereira, F.P.P. and Vieira, L.G.E. 2004.** Osmotic adjustment in transgenic Citrus rootstocks (*Carrizo citrange*) over producing proline. *Plant Science*, 167: 1375–1381.

**Moran, J. F., James, E. K., Rubio, M. C., Sarath, G., Klucas, R.V. and Becana, M. 1994.** Functional characterization and expression of a cytosolic iron-superoxide dismutase from cowpea root nodules. *Plant Physiology*, 120: 142-154.

**Orabi, S.A., Salman, S.R. 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.

**Ortiz, N., Armadaa, E., Duque, E., Roldán, A. and Azcón. R. 2015.** Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*, 174, 87–96.

**Pakar, N., Pirasteh Anosheh, H., Emam, Y. and Pessarakli, M. 2015.** Barley growth, yield, antioxidant enzymes and ions accumulation affected by PGRs under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 39 (10): 1379-1372.

**Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008.** Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil and Environment*, 54: 89-99.

**Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y., Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2012.** Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. *Advanced Studies in Biology*. 4, 501-520.

**Rosety, D., Gaur, R. and Juhri, B. N. 2006.** Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect rhizobacterial community structure in rain-fed wheat field. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1111-1120.

**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.

**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.

**Shaharoon, B.M., Arshad, Z., Zahir, A. and Khalid, A. 2006.** Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, pp.2971–2975.

**Sharif, S., Saffari, M. and Emam, Y. 2007.** The effect of drought stress and cycocle on barley yield (cv. Valfagr). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 10: 281-290.

**Shaukat, K., Affrasayab, S. and 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.

**Shiyab, S.M., Shatnawi, M.A., Shibli, R.A., Al Smeirat, N.G., Ayad, J. and Akash, M.W. 2013.** Growth, nutrient acquisition and physiological responses of hydroponic grown tomato to sodium chloride salt induced stress. *Journal of Plant Nutrition*, 36 (4): 665-676.

**Silva, E.N., Ferreira-Silva, S.L., Fontenelea, A.V., Ribeiro, R.V., Vie'gasc, R.A. and Silveira, J.A.G. 2010.** Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. *Journal of Plant Physiology*, 167:1157-1164.

**Tambussi, E.A., Nogués, S. and Araus, J.L. 2005.** Ear of durum durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism. *Water relations and photosynthetic metabolism. Planta*, 221:446-458.

**Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S. 2009.** Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*. 47, 570-577.

**Wang, Y. and Zhang, B. 2009.** Effects of salt stress on enzyme activity and soluble sugar content of alfalfa. 45. 589-591

**Yao, L., Zhan sheng, W. and Zheng, Y. 2010.** Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs- 198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, 46: 49-54.

## Effect of seed inoculation by cycocel and bio fertilizers on yield and antioxidant enzymes activity and some biochemical traits of wheat under soil salinity conditions

P. Khanzadeh<sup>1</sup> and R. Seyed Sharifi<sup>2\*</sup>

- 1) M.Sc. Student of Department of Agronomy and Plants Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- 2) Professor of Department of Agronomy and Plants Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

\*Corresponding author: raouf\_ssharifi@yahoo.com

This article is extracted from the master s thesis.

Received date: 2018.11.06

Accepted date: 2019.03.13

### Abstract

In order to investigate the effect of seed inoculation by cycocel and biofertilizers on yield, antioxidant enzymes activity of wheat and some biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under soil salinity conditions, a factorial experiment was conducted based on randomized complete blocks design with three replications in a research greenhouse of Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili in 2016 cropping year. Treatments were included salinity in four levels (no salinity application as control and salinity application 25, 50 and 75 milliMolar) by NaCl and seed inoculation by biofertilizers and cycocel in six levels (no inoculation with cycocel and bio fertilizers as control, seed inoculation by *Pseudomonas*, *Azospirillum* and simultaneous application of *Azospirillum* and *Pseudomonas*, seed inoculation by cycocel in two concentrations  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$  milliMolar). The results showed that 75 milliMolar salinity treatment, increased protein content and antioxidant enzymes activity such as catalase, peroxidase and polyphenol oxidase 39.43, 9.103, 83.97 and 143 percent, respectively in comparison with no salinity application. The lowest electrical conductivity (8.65 microsiemens per centimeter) and the highest relative water content in flowering stage (86.87 percent), protein content (17.7 percent) and grain yield (2.83 gram per plant) were obtained in no salinity application and simultaneous seed inoculation with *Azospirillum* and *Pseudomonas*. The highest electrical conductivity (111.83 micro Siemens per centimeter)) and the lowest relative water content was obtained in grain filling period (6.49 percent ), protein content (57.10 percent) and grain yield per plant (0.98 gram per plant) in 75 milli Molar salinity and no seed inoculation with cycocel and biofertilizers.

**Keywords:** *Azospirillum*, Proline, *Pseudomonas* and Biological fertilizers.