مجله زارعت و اصلاح نباتات
جلد ۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱
صفحات ۱۳۸-۱۲۷

بررسی تاثیر باکتری های محرک رشد و محلول پاشی سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه بر فعالیت بیومارکرهای بیوشیمیایی در شرایط تنش خشکی در گیاه جو (*Hordeum vulgar* L.)

Effect of plant growth promoting rhizobacteria and foliar application of silicic acid and amino acids on biochemical biomarkers rates of barley (*Hordeum vulgar* L.) Under drought stress

محمد پورابتهاج[1*]، داوود حبیبی[2]، فرزاد پاکنژاد[2]، مهدی داوودی فرد[1]، پوریا فراهانی پاد[1]

چکیده

کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی در گیاهان با استفاده از کودهای بیولوژیک همانند باکتری‌های محرک رشد، سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه و بهبود عوامل فیزیولوژیکی همانند آنزیم‌ها، هورمون‌ها و بیومارکرها و در نتیجه بالا بردن میزان عملکرد گیاه در مناطق خشک و نیمه خشک از مدیریت‌های ضروری برای کنترل تنش خشکی در زراعت و همچنین زراعت گیاه جو می‌باشد. از این رو، اثر آبیاری به عنوان عامل اصلی در دو سطح شامل A1:آبیاری کامل و A2: قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد و سطوح عامل فرعی در پنج سطح شامل B1: شاهد (عدم مصرف باکتری، اسید آمینه و سیلیسیک اسید)، B2: بذر مال باکتری، B3: بذر مال باکتری+اسپری کردن سیلیسیک اسید، B4: بذر مال باکتری+اسپری کردن اسیدهای آمینه و B5: بذر مال باکتری+اسپری کردن سیلیسیک اسید به همراه اسیدهای آمینه طی آزمایشی به صورت کرت‌های یک بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به اجرا گذاشته شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر آبیاری بر تمامی صفات در سطح احتمال ۱ در صد معنی دار بود. بالاترین میزان عملکرد دانه به آبیاری معمولی اختصاص یافت. بالاترین میزان مالون دی آلدئید، دی تیروزین و دی هیدروکسی گوآنوزین به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد مربوط بود. اثرات متقابل نشان دادکه بالاترین میزان عملکرد دانه به آبیاری معمولی وبه بذرمال باکتری+ محلول پاشی سیلیسیک اسید به همراه محلول پاشی اسیدهای آمینه تعلق داشت. همچنین بالاترین مالون دی آلدئید، دی تیروزین ودی هیدروکسی گوآنوزین مربوط به قطع آبیاری ازمرحله گلدهی به بعد وبه بذرمال باکتری به همراه محلول پاشی سیلیسیک اسید + محلول پاشی اسیدهای آمینه و به ترتیب با میزان (۱۹۸/۴، ۱۰۴/۹ و ۱۸/۱ میکرومول برگرم پروتئین) تعلق داشت.

واژه‌های کلیدی: تخریب DNA، باکتری‌های محرک رشد، سیلیسیک اسید، اسیدهای آمینه، عملکرد دانه

۱- دانشگاه آزاد اسلامی. واحد رودهن.گروه زراعت و اصلاح نباتات.رودهن.ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج،گروه زراعت،کرج، البرز، ایران
* نویسنده مسئول: Email: candy2005ir@yahoo.com

مقدمه

کشور ایران با متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۰ میلیمتر در سال در زمره مناطق خشک جهان طبقه بندی می‌شود (سرمدنیا،۱۳۷۲). در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود آب یکی از عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان می‌باشد (رستگار،۱۳۷۱). اگر در مرحله‌ای از رشد یا تمام دوره رشد آن، آب مورد نیاز گیاه به طور کامل فراهم نشود، گیاه تحت شرایط تنش خشکی قرار گرفته و بخشی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی آن مختل می‌شود. در این شرایط میزان آب درون بافت‌ها و سلول‌های گیاهی به اندازه‌ای کاهش می‌یابد که روند رشد گیاه دچار رکود می‌شود (سلطان دهقان، ۱۳۷۵). نواحی تحت تنش خشکی به نواحی گفته می‌شود که میزان بارندگی سالیانه آنها کمتر از ۵۰۰ میلیمتر باشد (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵). تأثیر منفی انواع تنش‌های محیطی حداقل تا حدودی به خاطر تولید انواع اکسیژن‌های فعال و یا عدم اجرای سیستمی است که در برابر آنها مقاومت کند. اکسیژن‌های واکنش گر در طول متابولیسم و به وسیله کنش‌های متقابل بین اکسیژن و الکترون‌های آزاد شده از زنجیر انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست به وجود می‌آید. رادیکال سوپر اکسید در سطح غشایی بیشتر اندامک‌های سلول‌های گیاهی تولید می‌شود. عدم فرونشانی یا غیر فعال سازی اکسیژن‌های واکنش‌گر می‌تواند منجر به تخریب غشاء سلول‌های گیاهی و به عبارت دیگر پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA شود که در نتیجه مرگ سلولی را به همراه دارد (Aghdassi and Johane, 2000)

جو یکی از مهمترین غلات می‌باشد که بعد از گندم و برنج بیشترین سطح کشت را در ایران به خود اختصاص داده است. جو نسبت به شرایط نامساعد محیطی تحمل خوبی از خود نشان می‌دهد و در مناطق نامناسب از لحاظ بارندگی و خاک قادر به رشد و تولید عملکرد می‌باشد. خشکی یک عامل کاهش دهنده عملکرد می‌باشد و در ایران عامل محدودکننده در توسعه کشاورزی بوده است (رادمهر،۱۳۸۷).کودهای بیولوژیک یا کودهای میکروبی شامل موادی هستند (جامد، مایع یا نیمه جامد) که حاوی یک و یا چند گونه میکروارگانیسم خاص بوده که از طریق تامین بخشی از یک عنصر مورد نیاز گیاه و یا تولید مواد محرک رشد، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند. میکروارگانیسم‌های مورد استفاده برای تهیه کودهای بیولوژیک از خاک منشا می‌گیرند و در اغلب خاک‌ها حضور فعال دارند. معهذا در بسیاری از موارد کمیت و کیفیت آنها در حد مطلوب نیست و به همین دلیل استفاده از مایه تلقیح آنها ضرورت پیدا می‌کند (سرمدنیا، ۱۳۷۲ ; راخزادی و همکاران، ۱۳۸۷; حمیدی و همکاران،۱۳۸۶).

Azotobacter, Azosprillum در محیط ریشه گیاه قادر به ساخت و ترشح مواد بیولوژیک مانند نیکوتنیک اسید، پنتونیک اسید، بیوتن، ویتامین‌های ب، اکسین و جیبرلین‌ها و غیره را بوده که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و موثری دارند (امینی و همکاران، ۱۳۸۶).از طرف دیگر Azotobacter قادر به تولید ترکیبات ضد قارچی بر علیه بیماری‌های گیاهی بوده و همچنین سبب تقویت جوانه زنی و بنیه گیاهچه شده که در نهایت بهبود رشد پایه گیاهی را به دنبال دارد (جلیلیان،۱۳۷۴). Azosprillum علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن با تولید مواد محرک رشد سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب عناصر غذایی گردیده و از این طریق در افزایش عملکرد تاثیرگذار می‌باشد (حبیبی، ۱۳۷۴).گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری و گرما، راهکارها و واکنش‌هایی را برای مقابله با تنش استفاده می‌کنند. یکی از واکنش‌های شایع به تنش در گیاهان، تجمع اسمولیت‌های سازگار پرولین، گلایسین، بتائین، گلیسیرول، مانیتول و سوربیتول استکه از سلول‌ها در برابر صدمات تنش محافظت می‌کنند (Knipp and Honermeier, 2006). این ترکیبات می‌توانند در غلظت‌های زیاد در سیتوزول سلول‌های گیاهی تجمع یابند، بدون اینکه باعث صدمه‌ای به ساختار سلولی شوند، زیرا آن‌ها معمولاً از هیدراته شدن ماکرومولکول‌های کروی شکل ممانعت‌می‌کنند.

در میان اسمولیت‌های سازگار، پرولین به عنوان مهم‌ترین ترکیب شناخته شده و تجمع آن در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی در واکنش به تنش‌های گوناگون گزارش شده است (Vranov et al., 2002).

سیلیکون در بافت‌های گیاهی کمک به کاهش تنش آب از طریق کاهش میزان تعرق، بهبود کارآیی نور و جلوگیری از ورس در غلات با عمود نگه داشتن برگ‌ها و بوته، افزایش مقاومت به آفات و بیماری‌های بومی محل کشت، جلوگیری از عدم تعادل مواد مغذی و سایر اثرات مفید برای گیاهان می‌شود. همچنین از آلودگی آب‌ها و خاک‌ها نیز جلوگیری می‌کند. سیلیکون با کاهش انتقال Na^+ به ساقه منجر به پایین آمدن غلظت آن و افزایش وزن خشک محصول تنش دیده در مقایسه با نمونه‌های شاهد می‌گردد. سیلیکون به طور ویژه‌ای در سلول‌های گیاهی رسوب کرده و با استحکام بخشیدن به آن گیاه را در برابر ورس مقاوم می‌کند. همچنین باعث افزایش ضخامت سلول و دستجات آوندی شده و قادر است در شرایط کم آبی با کاهش میزان تعرق و نگهداری پتانسیل آب برگ از بسته شدن روزنه‌ها و خطرات ناشی از تنش‌های اکسید کننده جلوگیری کند و از این طریق مانع از کاهش عملکرد گیاهان تحت تنش‌های محیطی می‌گردد. رسوب آن در دیواره سلول آوند چوبی از متراکم شدن آوند تحت شرایط تعرق بالا که به وسیله خشکی و تنش گرمایی ایجاد می‌شود، جلوگیری می‌کند. میزان تحرک سیلیکون درگیاهان کم است، بنابراین استفاده مداوم از آن در طول دوره رشد و نمو گیاهان بسیار مهم است (Polidoros and Scandalios, 1999).

این آزمایش با هدف بررسی تاثیر کودهای بیولوژیک (پسودوموناس- ازتوباکتر- آزوسپیریلیوم) بر فعالیت ۳ بیومارکر تخریب شامل مالون دی آلدئید (MDA)، دی تیروزین (Di-ty) و دی هیدروکسی گوانوزین (8-OH-dg) و همچنین بررسی امکان ارتقاء مقاومت به خشکی به کمک محلول پاشی اسیدهای آمینه و اسید سیلیسیک به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، واقع در ماهدشت کرج و با عرض جغرافیایی ۳۵درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و طول جغرایایی ۵۱درجه و ۶ دقیقه شرقی و به ارتفاع۱۳۱۳ متر از سطح دریا به صورت کرت‌های خرد شده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار به اجراء در آمد. آبیاری به عنوان عامل اصلی در دو سطح و تیمار باکتریایی به عنوان سطوح عامل فرعی در پنج سطح در نظر گرفته شدند.

سطوح عامل اصلی (A) شامل:

A1: شاهد (آبیاری کامل بر اساس نیاز آبی گیاه)

A2:قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد

سطوح عامل فرعی (B) شامل:

B1: شاهد (عدم مصرف باکتری، اسید آمینه و سیلیسیک اسید)

B2: بذر مال باکتری (Azospirillum،Azotobacter، pseudomonas)

B3: بذر مال باکتری (Azospirillum،Azotobacter، pseudomonas) + محلول پاشی سیلیسیک اسید

B4: بذر مال باکتری (Azospirillum،Azotobacter، pseudomonas) + محلول پاشی اسیدهای آمینه

B5: بذر مال باکتری (Azospirillum،Azotobacter، pseudomonas) + محلول پاشی سیلیسیک اسید به همراه اسیدهای آمینه

بافت خاک لومی رسی، pH خاک ۷/۴ و EC خاک ۱/۹۳ دسی زیمنس بود.هر کرت آزمایش شامل ۵ خط کاشت به طول۴۰۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. با توجه به بافت خاک مزرعه در شهریور ۱۳۸۸ شخمی به عمق ۲۵ سانتی متر زده شد. سپس برای خرد کردن کلوخه‌ها دیسک بشقابی در دو جهت عمود بر هم استفاده گردید و به منظور تسطیح زمین دستگاه لولر به کار گرفته شد. قبل از کاشت در سطح مزرعه علف‌های هرز با استفاده از دیسک سبک به زیر خاک برده شد. به منظور برطرف نمودن نیاز غذایی گیاه از کود فسفات آمونیوم به میزان ۲۰۰ کیلو گرم در هکتار و همچنین کود نیترات آمونیوم (اوره) به میزان ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار طبق توصیه کودی استفاده شد و عمل اختلاط نیز توسط دستگاه دیسک صورت گرفت. سپس به منظور آماده سازی زمین، برای عملیات کاشت با فاروئر اقدام به ایجاد جوی و پشته‌هایی از یکدیگر گردید و به منظور اجرای نقشه آزمایشی، کرت‌های مورد نظر تقسیم بندی شد. بذور مورد نظر، قبل از کاشت با کودهای بیولوژیک نیتروکسین (Nitroxin) و بیوفسفر (Biophosphorus) به منظور تامین باکتری‌های (Azospirillum,Azotobacter, pseudomonas) و هر کدام به مدت زمان ۲۰ دقیقه آغشته گردیدند و مدت زمان ۱۰ دقیقه بین آغشته کردن بذور با هریک از این دو کود بیولوژیک استراحت و فاصله به بذور داده شد و سپس بذور در تاریخ ۱۵ مهر ماه سال ۱۳۸۸ کشت گردید. در هنگام کاشت بر روی پشته‌ها، شیارهایی ایجاد گردید و بذور در عمق ۳ سانتی متری خاک به صورت ردیفی قرار داده شد. بلافاصله بعداز قرار دادن بذور در خاک، شیارها با خاک پوشانده و مزرعه آبیاری گردید. جهت اعمال تیمار آبیاری، تمامی کرت‌ها تا مرحله ی گلدهی هر ۱۲ روز یک بار به صورت نشتی آبیاری شدند و بعد از مرحله گلدهی،آبیاری کرت‌های تحت تیمار خشکی به صورت کامل تا زمان برداشت قطع شد. به منظور عدم اختلاط آب آبیاری بین تیمارهای با بذور تلقیح شده با باکتری و تیمارهای شاهد از یکدیگر، ابتدا و انتهای پشته‌های تیمارهای شاهد مسدود و به صورت جداگانه آبیاری انجام شد. سپس تابلوهایی که معرف انتساب تیمارها به واحدهای آزمایشی بودند، در ابتدای هر کرت نصب گردیدند.

جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه، بوته‌های جو را در ۲متر مربع پس از حذف ۰/۵متر بالا و پایین هر کرت به عنوان حاشیه از هر کرت کف بر شده و پس از جدا نمودن دانه‌های آن توسط ترازوی دقیق توزین گردید.

جهت اندازه‌گیری مالون دی آلدئید، دوبرگ از گیاه جدا و با آب مقطر شستشو داده شد و بلافاصله در بافر فسفات تریس اسید کلریدریک ۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ وارد و خرد و هموژن شد. آنگاه اجازه داده شد با حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتوتین و آنزیم هضم کننده دیواره، فرآیند هضم غشاء دیواره سلول صورت گیرد. در پایان مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش استیون (Steven, 1987) برداشته شده و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. پس از آن در باقیمانده محلول استخراجی مقدار MDA بر اساس روش استیون (Steven, 1987) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش میزان فعالیت بر اساس واکنش به مایع کروماتوگرافی ارزیابی می‌شود. محصول این واکنش پس از عاری شدن از پروتئین بوسیله تری کلرواستیک اسید ۱۲ مول به ستون سیلکاژل اکتادسیل منتقل می‌شود. پس از به تعادل رسیدن ستون، این ستون با فاز متحرک شامل فسفات بافر خاصی متانول شستشو می‌شد و پیک MAD دراسپکتروفتومتر با دتکتور مرئی در طول موج ۵۳۲ نانومتر شناسائی و بر اساس سطح زیر منحنی پیک اندازه‌گیری گردید. جهت استاندارد شدن، مالون دی آلدئید خالص با نسبت‌های مختلف در بافر شستشو و منحنی استاندارد رسم می‌گردد. جهت اندازه‌گیری دی تیروزین، دوبرگ از گیاه استخراج با آب مقطر شستشو داده شد و بلافاصله در بافر فسفات تریس اسید کلریدریک۰/۱۶ مولار با pH=۷/۵ وارد و خرد و هموژن شد، آنگاه اجازه داده شد حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتوتین و آنزیم هضم کننده دیواره فرآیند هضم غشاء دیواره سلول صورت گیرد.

در پایان مقدار ۰/۵ میلی لیتر در محلول هموژن برای سنجش توسط روش استیون (Steven, 1987) برداشته شده و مقدار پروتئین بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد، پس از آن در باقیمانده محلول مقدار دی تیروزین بر اساس روش استیون (Steven, 1987)مورد ارزیابی قرار گرفت در این روش میزان فعالیت براساس واکنش به مایع کروماتوگرافی ارزیابی شد. بافر زمینه برای کار حاوی تریس اسیدکلریدریک با s = ۷/۲، ۰/۲ میلی مول بر لیتر سدیم دی سدیک و ۰/۲ میلی مول بر لیتر آسکوربات بود. یک واحد فعالیت دی تیروزین معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد. برای جدا سازی عصاره برای (8-OH-DG) می‌بایست بافت مورد نظر را توزین و پس از تعیین نسبت کل پروتئین یک قسمت از بافت در محلول بافر فسفات بی‌کربنات (منوسدیک) ۱/۶ مول با pH= ۷/۴ خرد و سپس به سرعت در حضور یخ و شرایط سرد هموژن می‌گردد. به محلول هموژن از ماده دی‌متیل سو لفو کساید به غلظت ۰/۴ مول اضافه می‌شود. پس از اضافه کردن بافر جدید بنام استات منو سدیک با pH= ۵/۶ آن را در برابر آب مقطر به مدت ۶ ساعت دیالیز و سپس محتوای باقی مانده در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ می‌شود. محلول بالایی در اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موجهای ۲۸۰ و ۲۶۰ نانو متر جذب می‌گردد. آنگاه با اضافه کردن تری کلرو استیک اسید ۰/۳۵ مول از پروتئین عاری می‌شود. این محلول پس از سانتریفوژ در ۳۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و محلول بالایی جهت سنجش8-OH-Dg مورد استفاده قرار می‌گیرد.

عصاره بدست آمده جهت سنجش 8-OH-Dg بر اساس روش بوگدانوو وهمکاران (Bogdanov et al., 1999) انجام می‌شود. در این مورد عصاره را از ستون کربن شماره ۸ (C8) عبور داده، این ستون مخصوص جذب پورین‌هاست. پس از به تعادل رسیدن و عبور تمامی حلال موجود در عصاره آنگاه ستون با عبور از فاز متحرک جدید حاوی Tris HCl با pH= ۸/۲ ماده 8-OH-DG از این ستون خارج می‌شود و به ستون جدید کربن ۸ منتقل می‌گردد. پس از به تعادل رسیدن، ستون با فاز متحرک حاوی آدنوزین با غلظت ۰/۶۵ مول شستشوگردید. این امر سبب جدا شدن اختصاصی ماده مورد نظر به عنوان یک پیک اختصاصی شده به طوریکه این پیک به دستگاه دتکتور از نوع Colometric منتقل و شناسایی گردید. مقدار 8-OH-DG به صورت نسبت خاص از کل پیک‌های پورینی ارزیابی گردید.در این روش میزان فعالیت بیومارکر از طریق ستون کربن بر پایه LCEC مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد دانه جو

نتایج نشان داد تأثیر تیمارهای آبیاری و باکتری و اثر متقابل آبیاری و باکتری بر عملکرد دانه جو در سطح احتمال ۱ % معنی دار می‌باشد (جدول ۱).

در تیمار اثر متقابل آبیاری معمول و بذرمال باکتری، عملکرد دانه جو نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف باکتری، اسید آمینه وسیلیسیک اسید بیشتر می‌باشد که احتمالاً نشان دهنده این است اثر افزایشی باکتری در عملکرد دانه جو می‌باشد (جدول۳).

بالاتر بودن عملکرد دانه جو در تیمار شرایط آبیاری کامل و بذرمال باکتری نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسیدبه همراه اسیدهای آمینه احتمالا نشان از تاثیر افزایشی باکتری در عملکرد دانه جو دارد. ایسا (Essa,2002) گزارش کرد که در گیاهان بذری، عمل تلقیح A. Brasilense به همراه مقادیر، ۴۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد کاه و دانه را به طور محسوسی افزایش داد.

با توجه به نتایج بدست آمده در تیمار تنش خشکی و بذرمال باکتری عملکرد دانه جو نسبت به تیمار تنش خشکی و عدم مصرف باکتری، اسید آمینه سیلیسیک اسیدبالاتر می‌باشد و اینگونه به نظر می‌رسد که باکتری در بهبود عملکرد دانه جو در شرایط تنش خشکی دارای اثر مثبت می‌باشد. عملکرد دانه جو در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسید،

در شرایط نرمال (۳۱۲۹ کیلوگرم در هکتار) ودرتیمار شرایط تنش خشکی (۱۵۸۴ کیلوگرم در هکتار) نسبت به تیمار بذرمال باکتری در شرایط آبیاری کامل و شرایط تنش خشکی بالاتر بود. این روند افزایشی احتمالا به دلیل تاثیر مثبت محلول پاشی سیلیسیک اسیددر شرایط آبیاری کامل و شرایط تنش خشکی می‌باشد. تحقیقات اسپارکز و همکاران (Sparks et al., 2001) حاکی از آن است که استفاده ازسیلیسیک اسید سبب افزایش پتانسیل آب تحت شرایط خشکی در مرحله پر شدن دانه گندم می‌شود.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی اسیدهای آمینه، عملکرد دانه جو در شرایط شرایط آبیاری کامل (۲۱۷۰ کیلوگرم در هکتار) و در شرایط تنش خشکی (۱۳۸۵ کیلوگرم در هکتار) بیشتر از میزان آن در تیمارهای بذرمال باکتری می‌باشد که احتمالا نشان دهنده اثر مثبت محلول پاشی اسیدهای آمینه در روند افزایشی عملکرد دانه جو در شرایط آبیاری کامل و شرایط تنش خشکی می‌باشد.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسید+ محلول پاشی اسیدهای آمینه، عملکرد دانه جو در شرایط شرایط آبیاری کامل (۳۵۲۰ کیلوگرم در هکتار) و شرایط تنش خشکی (۱۶۶۵ کیلوگرم در هکتار) بیشتر از میزان آن در تیمارهای بذرمال باکتری می‌باشد که نشان دهنده تاثیر مثبت اثر متقابل تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی دلفان پلاس و تاثیر در روند افزایشی عملکرد سنبله جو توسط تیمار فوق در شرایط شرایط آبیاری کامل و شرایط تنش خشکی می‌باشد. اینگونه می‌توان نتیجه گرفت که با محلول پاشی سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه عملکرد گیاه به خاطراثرات تغذیه‌ای مثبت آنها بر رشد و نمو بهتر گیاه عملکرد دانه افزایش خواهد یافت.

مالون دی آلدئید (MDA)

نتایج آزمایش نشان داد که تأثیر آبیاری بر مالون دی آلدئید ($P\leq0.01$) معنی دار شد. این در حالی بود که تیمار دوم آزمایش (باکتری‌های محرک رشد) تأثیر معنی داری بر مالون دی آلدئید نداشت. بررسی‌ها نشان داد که اثر متقابل آبیاری با تیمار دوم آزمایشی نیز بر مالون دی آلدئید معنی دار نشد (جدول ۱). بیشترین میزان مالون دی آلدئید به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد اختصاص یافت و در گروه آماری برتر قرار گرفت (جدول ۲).

مشاهده نتایج (جدول-۳) نشان دهنده این است که در شرایط آبیاری کامل تمامی تیمارها در شرایط بهینه آبیاری قرار دارند و هیچ‌گونه تنشی به گیاه وارد نشده و میزان بیومارکر بیوشیمیایی MDA در تیمار شرایط آبیاری کامل کمترین مقدار می‌باشد، در صورتی‌که در تیمارهای تنش خشکی میزان MDA در بالاترین میزان بوده و اثر متقابل بین تیمار دوم آزمایشی با آبیاری بر صفت فوق نشان داد که بالاترین میزان بیومارکر بیوشیمیایی مالون دی آلدئید با میانگین میزان فعالیت (۱۹۸/۴میکرومول بر گرم پروتئین) مربوط به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد به و بذر مال باکتری به همراه محلول پاشی سیلیسیک اسید+ اسید آمینه بود.

در تیمار آبیاری کامل و بذرمال باکتری تمامی تیمارها در شرایط بهینه آبیاری قرار دارند و هیچگونه تنشی به گیاه وارد نشده و کمتر بودن فعالیت بیومارکر بیوشیمیایی MDA در تیمار حاوی باکتری نسبت به تیمار شاهد آبیاری کامل و عدم مصرف باکتری، اسید آمینه و سیلیسیک اسید احتمالاً نشان دهنده این است که باکتری گیاه را در شرایط مناسب تری قرار داده است.

بررسی تیمارهای تنش خشکی نشان داد که در تنش خشکی و بذرمال باکتری میزان بیومارکر بیوشیمیایی MDA نسبت به تیمار بذرمال باکتری در شرایط آبیاری کامل افزایش نشان می‌دهد. آزمایشات صورت گرفته توسط پان و همکاران (Pan et al., 2006) و محمدخانی و حیدری (Mohammadkhani and Heidari, 2007) بر روی ذرت نشان داد که میزان MDA در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری کامل بیشتر می‌شود. ژانگ و همکاران

(Zhang et al., 2006) گزارش کردند که میزان MDA در شرایط تنش کمبود آب در برگ‌های گیاه سویا افزایش پیدا می‌کند.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسید، میزان بیومارکر بیوشیمیایی MDA در شرایط تنش خشکی (۱۷۸/۳ میکرو مول بر گرم پروتئین) بیشتر از میزان آن درتیمار شرایط نرمال (۱۱۷ میکرو مول بر گرم پروتئین) بود.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی اسیدهای آمینه، میزان بیومارکر بیوشیمیایی MDA در شرایط تنش خشکی (۱۷۴/۶ میکرو مول بر گرم پروتئین) بیشتر از میزان آن درتیمار شرایط نرمال (۱۳۵/۵ میکرو مول بر گرم پروتئین) بود که این میزان از تیمارهای بذرمال باکتری بیشتر می‌باشد.

مقدار مالون دی آلدیید (MDA) به عنوان یک بیومارکر بیوشیمیایی در گیاهان در شرایط تنش خشکی افزایش یافته و در منابع علمی متعددی بدان اشاره شده است. این افزایش به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در گیاه و ضعف در این سیستم دفاعی رخ داده و نشانگر اکسیداسیون و تجزیه چربی‌ها در غشاهای سلولی و در نتیجه خسارت به بافت‌ها و سلول‌های گیاهی می‌باشد. معمولا به واسطه کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در شرایط خشکی رادیکال‌های سوپراکسید به علت وقوع تنش اکسایشی حاصل از کمبود آب به شدت افزایش یافته و سبب تجزیه چربی‌ها و تخریب سلول‌ها و صدمه زدن به بافت‌ها می‌گردد. افزایش نقش این ترکیب در این شرایط به نظر می‌رسد که به دلیل نقش مهم آن در تجزیه و سم زدایی این رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در این آزمایش مقدار مالون دی آلدئید در شرایط تنش خشکی به شدت افزایش یافت. به نظر می‌رسد تنش اکسایشی حاصل از تنش خشکی سبب این مساله شده است. این نتایج با تحقیقات ردی و همکاران (Reddy et al., 2004) و استوارت (Stewart, 1981) مطابقت دارد.

دی تیروزین

نتایج تجزیه واریانس مربوط به دی تیروزین نشان داد که تأثیر آبیاری بر این صفت ($P\leq0.01$) معنی دار شد، اماسطوح تیمار دوم آزمایشی تأثیر معنی داری بر دی تیروزین نداشت. اثر متقابل تیمارهای آبیاری و سطوح تیمار دوم آزمایشی نیز بر دی تیروزین معنی دار نشد (جدول ۱). مطابق (جدول۲) سطوح مختلف تیمار آبیاری در مورد صفت فوق در یک گروه آماری قرار نگرفتند، به نحوی که بیشترین میزان دی تیروزین به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد اختصاص یافت و در گروه آماری جداگانه‌ای قرار گرفت.

در شرایط آبیاری کامل که هیچگونه تنشی به گیاه وارد نشده، میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین در تیمار شرایط آبیاری کامل کمترین مقدار می‌باشد، در صورتیکه در تیمارهای تنش خشکی میزان دی تیروزین در بالاترین میزان بوده و طبق نتایج (جدول۲) اثر متقابل بین تیمار باکتری با آبیاری بر صفت فوق نشان داد که بالاترین میزان دی تیروزین با میانگین (۱۰۴/۹ میکرو مول بر گرم پروتئین) مربوط به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد به و بذر مال باکتری به همراه محلول پاشی سیلیسیک اسید+ اسید آمینه بود.

در تیمار آبیاری کامل و سطوح تیمار دوم آزمایشی که تمامی تیمارها در شرایط بهینه آبیاری قرار دارند، کمتر بودن بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین در تیمار حاوی باکتری نسبت به تیمار شاهد آبیاری کامل و عدم مصرف باکتری، اسید آمینه و سیلیسیک اسید احتمالاً نشان دهنده این است که باکتری گیاه را در شرایط مناسب تری قرار داده است. این نتیجه نشان می‌دهد که در شرایط نرمال تخریب پروتئین و تولیدبیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین صورت نگرفته است.

بررسی تیمارهای شرایط تنش خشکی نشان داد که در تیمار تنش خشکی و بذرمال باکتری میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین نسبت به تیمار بذرمال باکتری در شرایط آبیاری کامل افزایش نشان می‌دهد که نشان دهنده این مطلب است که به علت وقوع تنش خشکی، تنش اکسیداتیو رخ داده و به بافت

پروتئین آسیب رسانده و در نتیجه تولید بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین افزایش پیدا کرده است.در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسید، میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین در شرایط تنش خشکی (۷۷/۸ میکرو مول بر گرم پروتئین) بیشتر از میزان آن درتیمار شرایط آبیاری کامل (۵۰/۱ میکرو مول بر گرم پروتئین) بود. نتایج تحقیقات رودریگوز و همکاران (Rodrigues et al., 2003) و نیز سناراتنا و همکاران (Senaratna et al., 2000) نشان داد که در کولتیوارهای مختلفی از گندم در اثر تنش اکسایشی به تنهایی مقدار دی تیروزین افزایش پیدا نمود و همچنین آنها مشاهده نمودند که استفاده از ترکیباتی نظیر مس و سلنیوم منجر به افزایش شدیدتر گردید. آنها در این باره اظهار کردند که حضور ترکیبات واسطه‌ای مثل مس و سلنیوم می‌تواند واکنش به کمبود آب را تحریک کند، نتایج بدست آمده از این آزمایش با تحقیقات فوق مطابقت دارد.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی اسیدهای آمینه، میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین در شرایط تنش خشکی (۶۵/۳ میکرو مول بر گرم پروتئین) کمتر از میزان آن در تیمار بذرمال باکتری می‌باشد که نشان از تاثیر منفی این اثر متقابل در شرایط تنش خشکی در روند افزایشی بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین دارد.

در تیمار بذرمال باکتری به همراه محلول پاشی سیلیسیک اسید + محلول پاشی اسیدهای آمینه، میزان بیومارکر دی تیروزین در شرایط نرمال (۴۷/۷ میکرو مول بر گرم پروتئین) کمتر ازمیزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین در تیمار بذر مال باکتری در شرایط آبیاری کامل است که نشان دهنده تاءثیر منفی این اثر متقابل در روند افزایشی میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی تیروزین می‌باشد.

تحقیقات بسیار اندکی نحوه تغییرات دی تیروزین را در شرایط تنش خشکی بررسی نموده و لذا جزییات دقیق آن هنوز شناسایی نشده است. پور اسماعیل (پوراسماعیل،۱۳۸۵) گزارش کرده است که رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پروتئین‌ها حمله کرده و باعث تغییرات جزئی در مکان‌های مخصوص اسیدهای آمینه، تجزیه زنجیره پپتیدی می‌شوند. حساسیت اسیدهای آمینه یک پپتید به حمله اکسایشی متفاوت است و فرم‌های گوناگون اکسیژن فعال شده از نظر پتانسیل واکنش پذیری، با هم فرق می‌کنند. زمانی که تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود، رادیکال‌های آزاد، باعث تخریب پروتئین‌ها شده، اسیدهای آمینه مختلف آزاد می‌شوند و از اتصال دو اسید آمینه تیروزین از محل اکسیژن‌ها یشان یک دی پپتید بنام دی تیروزین ایجاد می‌گردد که این ماده نشانه‌ای از حمله رادیکال‌های آزاد در هنگام تنش خشکی به پروتئین‌ها و تخریب آنها می‌باشد.

دی هیدروکسی گوآنوزین (8-OH-dg)

نتایج آزمایش نشان داد که تأثیر آبیاری بر دی هیدروکسی گوآنوزین ($P\leq0.01$) معنی دار شد. این در حالی بود تیمار دوم آزمایشی تأثیر معنی داری بر دی هیدروکسی گوآنوزین نداشت. بررسی‌ها نشان داد که اثر متقابل تیمارهای آبیاری و تیمار دوم آزمایشی نیز بر دی هیدروکسی گوآنوزین معنی دار نشد (جدول۱). مطابق (جدول ۲) بین سطوح مختلف تیمار آبیاری بر مقدار دی هیدروکسی گوآنوزین تفاوت معنی داری وجود داشت و سطوح مختلف تیمار آبیاری در مورد صفت فوق در یک گروه آماری قرار نگرفتند، به نحوی که بیشترین میزان دی هیدروکسی گوآنوزین به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد اختصاص یافت و در گروه آماری برتر قرار گرفت.

مشاهده نتایج (جدول ۳) نشان دهنده این است که در شرایط آبیاری کامل هیچگونه تنشی به گیاه وارد نشده و میزان دی هیدروکسی گوآنوزین در تیمار شرایط آبیاری کامل کمترین مقدار می‌باشد، در صورتیکه در تیمارهای شرایط تنش خشکی میزان 8-OH-DG در بالاترین میزان بوده و اثر متقابل بین تیمار باکتری با آبیاری بر صفت فوق نشان دادکه بالاترین میزان بیومارکر بیوشیمیایی دی هیدروکسی گوآنوزین با میانگین

میزان فعالیت (۱۸/۱ میکرومول بر گرم پروتئین) مربوط به قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد و به بذر مال باکتری به همراه محلول پاشی سیلیسیک اسید+ اسیدهای آمینه بود.

کمتر بودن میزان بیومارکر بیوشیمیایی 8-OH-DG در تیمار حاوی باکتری نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف باکتری و محلول پاشی اسید آمینه و سیلیسیک اسیداحتمالاً نشان دهنده این است که باکتری گیاه را در شرایط مناسب تری قرار داده است.

در تیمار شرایط تنش خشکی و بذرمال باکتری میزان بیومارکر بیوشیمیایی 8-OH-DG نسبت به تیمار بذرمال باکتری در شرایط آبیاری کامل افزایش نشان می‌دهد.در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی سیلیسیک اسید، میزان بیومارکر بیوشیمیایی 8-OH-DG در شرایط تنش خشکی (۱۶/۴ میکرو مول بر گرم پروتئین) بیشتر از میزان آن درتیمار شرایط آبیاری کامل (۱۱/۳ میکرو مول بر گرم پروتئین) بود.

در تیمار بذرمال باکتری و محلول پاشی اسید آمینه، میزان بیومارکر بیوشیمیایی 8-OH-DG در شرایط تنش خشکی (۱۵/۷ میکرو مول بر گرم پروتئین) بیشتر از میزان آن درتیمار شرایط آبیاری کامل (۱۴/۱ میکرو مول بر گرم پروتئین) بود که این میزان از تیمارهای بذرمال باکتری بیشتر می‌باشد.

نحوه تغییرات دی هیدروکسی گوآنوزین در شرایط خشکی و نقش آن در ایجاد مقاومت به تنش خشکی در گیاه هنوز شناخته نشده است. به نظر می‌رسد که تیمارهای محلول پاشی به خصوص سیلیسیک اسید با کاهش مقاومت روزنه‌ای (SR) در گیاه و در نتیجه افزایش راندمان مصرف آب و میزان آب نسبی برگها منجر به کاهش مقدار دی هیدروکسی گوآنوزین در شرایط تنش خشکی می‌شوند. گانگ و همکاران (Gong et al., 2005) گزارش کردند که توزیع ترکیبات مختلف تغذیه‌ای نظیر کلسیم و اسیدهای آمینه در گیاه احتمالا به دلیل اثرات و نقش تغذیه‌ای شان سبب بهبود مقدار رطوبت و فتوسنتز در گیاه می‌شوند.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

Table1-Analysis of variance of effect for studied traits

			میانگین مربعاتMS			
منابع تغییرات	(S.O.V)	درجه آزادی (Df)	عملکرد دانه Grain yield	مالون دی آلدئید MDA	دی هیدروکسی گوآنوزین 8-OH-DG	دی تیروزین Di-Ty
تکرار	Replication	3	107523**	244.6ns	4.9 ns	56.9ns
آبیاری	Irrigation(I)	1	10984088**	23411**	80.9**	8640.6**
خطا	Error	2	11652.1	171.2	0.8	75.7
تیمار دوم آزمایشی	Second experimental treatment(T)	4	2239414.7**	1936.7ns	2.3ns	427.8ns
آبیاری × تیمار دوم آزمایشی	I×T	4	46675.8**	742.6ns	21.6ns	915.8ns
خطا	Error	24	9693.9	2101	15.9	996.1
ضریب تغییرات	% (C.V)	-	5.1	16.4	13.9	25

ns،*،** به ترتیب فاقد اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

ns,*and**;Non significant. Significant at the 5% and 1% levels probability respectively

جدول۲- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در سطوح اثر آبیاری و تیمار دوم آزمایشی

Table 2-Mean comparisons of determined characteristics for irrigation and second experimental treatment

تیمار	عملکرد دانه Grain yield (Kg/ha)	مالون دی آلدئید MDA (μ mol /g protein)	دی هیدروکسی گوآنوزین 8-OH-DG (μ mol /g protein)	دی تیروزین Di-Ty (μ mol /g protein)
آبیاری (Irrigation)				
A_1	2450a	122b	12.9b	51.2b
A_2	1402b	170.4a	15.8a	80.6a
تیمار دوم آزمایشی (Second experimental treatment)				
B_1	1351.5e	146.9a	14.4a	68.1a
B_2	1555.25d	120.4a	13.7a	56.1a
B_3	2357b	147.7a	13.8a	63.9a
B_4	1777c	155.1a	14.9a	64.8a
B_5	2593a	161a	14.8a	76.3a

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح ۵% اختلاف معنی داری نشان نداند.

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

جدول۳ – مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table3- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار	عملکرد دانه Grain yield (Kg/ha)	مالون دی آلدئید MDA (μ mol /g protein)	دی هیدروکسی گوآنوزین 8-OH-DG (μ mol /g protein)	دی تیروزین Di-Ty (μ mol /g protein)
A_1B_1	1624d	127.1ab	14.1ab	48.4b
A_1B_2	1811c	106.8b	12ab	44.4b
A_1B_3	3129a	117.0b	11.3b	50.1b
A_1B_4	2170b	135.5ab	14.1ab	64.4ab
A_1B_5	3520a	123.6ab	11.6ab	47.7b
A_2B_1	1079e	166.7ab	14.8ab	87.9ab
A_2B_2	1300e	133.9ab	15.4ab	67.8ab
A_2B_3	1584d	178.3ab	16.4ab	77.8ab
A_2B_4	1385e	174.6ab	15.7ab	65.3ab
A_2B_5	1665d	198.4a	18.1a	104.9a

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح ۵% اختلاف معنی داری نشان نداند.

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

A1: آبیاری کامل، A2: قطع آبیاری از مرحله گلدهی به بعد، B1: عدم مصرف باکتری، اسید آمینه وسیلیسیک اسید، B2: بذر مال باکتری، B3: بذر مال باکتری+ محلول پاشی سیلیسیک اسید، B4: بذر مال باکتری+ محلول پاشی اسیدهای آمینه و B5: بذر مال باکتری+ محلول پاشی سیلیسیک اسید به همراه اسیدهای آمینه.

A1: full irrigation, A2: cut irrigation after flowering stage, B1 control, B2: seed inoculated with bacteria, b3: seed inoculated with bacteria and sprayed silicic acids, B4: seed inoculated with bacteria and sprayed amino acids and B5: seed inoculated with bacteria and sprayed silicic acids with amino acids.

References

منابع

امینی، زهره. حداد،ر. مرادی،ف. ۱۳۸۶. بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیمهای ضد اکسنده در مراحل رشد زایشی گیاه جو.مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی.۴۶ (الف)-ص۶۵-۶۶.

پوراسماعیل، پ. ۱۳۸۵. بررسی تأثیرات پلیمرسوپرجاذب بر کارایی مصرف آب و عملکرد در لوبیای قرمز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

حبیبی، د.۱۳۷۴. انتخاب پروژنی مقام به خشکی و شوری چغندر قند در مرحله جوانه اولیه. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زراعت، دانشکده کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

حمیدی، ا. قلاوند، ا. دهقان شعار، م. ملکوتی،م.ج. اصغرزاده، ا. و چوگان، ر. ۱۳۸۵. اثرات کاربرد باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) بر عملکرد ذرت علوفه ای. پژوهش و سازندگی. شماره ۷۰، صفحات ۲۲-۱۶.

حمیدی، آ. اصغرزاده، ا. چوگان،ر. دهقان شعار،م.قلاوند، ا. و ملکوتی،م.ج. ۱۳۸۶. بررسی کاربرد کودهای ریزوباکتریایی افزاینده رشد گیاه (PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی. علوم محیطی. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۲۰-۱.

جلیلیان، ع. ۱۳۷۴. بررسی اثرات تنش خشکی بر عملکرد، اجزاء عملکرد و قدرت بذر سویا. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تهران.

راخزادی، ا. اصغرزاده، ا. درویش،ف. نورمحمدی، ق. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، پسودوموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده ی خشک و عملکرد نخود (Cicerarietinum L.). دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.

رادمهر، ع.۱۳۸۷-۸۸.آمارنامه کشاورزی،جلداول محصولات زراعی سال زراعی.وزارت جهادکشاورزی،معاونت برنامه ریزی واقتصادی، دفترآماروفناوری اطلاعات.ص ۳۰-۳۳.

رستگار، م.ع. ۱۳۷۱. صفحه ۲۵۰. دیمکاری. انتشارات برهمند.

روستا، م. راستین،ن. و مظاهر اسدی،م. ۱۳۷۷. بررسی و فعالیت آزوسپیریلوم لیپروفروم در برخی از خاکهای ایران. مجله علوم کشاورزی ایران،۲۹. ۲۸۵-۲۹۸.

سرمدنیا، غ. ۱۳۷۲. اهمیت تنشهای محیطی در زراعت. اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.صفحات ۱۵۷-۱۷۲.

سلطان دهقان، م.۱۳۷۵. بررسی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و زراعی ارزن در شرایط خشکی. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

Aghdassi, E. johane, P. 2000. Breath alkaned as a marker of oxidative stress in difference clinical conditions. Free–radical Boil Med, 28:880-886.

Bogdanov, M.B., Flint Beal, M., Mccabe, D.R., Griffin,R.M and Matson, W.R. 1999. A Carbon Column-Based Liquid Chromatography Electrochemical Approach to Routine 8-Hydroxy-29-Deoxyguanosine measurements in Urine and other biologic matrices: A One-Year Evaluation of Methods. Free Radical Biology & Medicine. 27 (5)

647–666.

Essa, T.A. 2002. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (Glycine max L.) Merr cultivars.J. Agron. Crop Sci., 188: 86-93.

Gong H.Z., Chen K., Wang S and Zhang C.2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in posts under drought. Eles. Shan, IRLANDE 169:313-327.

Knipp, G. and B. Honermeier. 2006. Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified conditions. Envi. Exper. Bot. 60:276-283.

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

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

Polidoros A.N, Scandalios J.G. 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (Zea mays L.) Physiol. Plant. 106, 112–120.

Rodrigues F.A Benhamou N.,Datnoff L.E, Jones J.B and Belanger R.R. 2003. Ultra structural and cytochemical aspect of silicon-mediated rice blast resistance. Phyto. 93:535-546.

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

Sparks CA, Castleden CK, West J, Habash DZ, Madgwick PJ, Paul MJ, Noctor G, Harrison J, Wu R, Wilkinson J, Quick WP, Parry MAJ, Foyer CH, Miflin BJ. 2001. Potential for manipulating carbon metabolism in wheat. Anna. Appl. Biol. 138: 33–45.

Stewart, C.R.1981. Prolineacumulition:Biochemical aspect. In: Physiol.Biochem. drought resistance in Plants., (Eds.):L.G.Paleg. and D. Aspinall.pp. 243-251.

Steven, H., M. H. Sidney. 1987. Lipid peroxidase in sample as measured by liquid chromatography. Sepration or malondialdehyde tiobarbituric acid. Elin. Chem. 32. 214-220.

Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (asprin) and salicylicacid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Reg., 30: 157-161.

Vranov, E., Inze, D. and F., van Bresegem. 2002. Signal transduction during oxidative stress. J. exper. Bot. 372:1227-1236.

Zhang, M., L. Duan, X. Tian, Z.He, J. Li, B. Wang and Z. Li. 2006. Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. J. Plant. Physiol. 164: 709-7.