مجله زارعت و اصلاح نباتات
جلد ۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱
صفحات ۵۵-۳۹

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

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

فرناز چمانی*[1]، داود حبیبی[1]، ناصر خدابنده[1]، مهدی داودی فرد[2]، احمد اصغرزاده[3]

چکیده

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

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

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج،گروه زراعت،کرج، البرز، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن،گروه زراعت و اصلاح نباتات، باشگاه پژوهشگران جوان، رودهن، ایران.
۳- موسسه تحقیقات آب و خاک.
* نویسنده مسئول: Email: F-chamaani@yahoo.com

مقدمه

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

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

خسارت شوری در گیاهان از طریق اثر اسمزی است که معادل کاهش میزان آب، اثر سمیت ویژه یون‌ها و اختلال در جذب عناصر غذایی می‌باشد (Shabala and Azawi, 2000).تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع گون‌های فعال اکسیژن مانند سوپر اکسید (O_2) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH) در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Becana et al., 1998; Noctor and Foyer, 1998). آنزیم‌های آنتی اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن، اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) هستند (Pan et al., 2006) و اولین راه دفاعی در برابرصدمات اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. در گیاهان عالی سیستم جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) از چندین آنزیم آنتی اکسیدان تشکیل شده است که شامل گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد، که می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال (ROS) که در شرایط تنش تولید می‌شوند را از بین ببرند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از غشاها در مقابل اثرات مخرب ROSها که در برابر تنش غیر زنده تولید می‌شود محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی هم چون شوری می‌شوند (Mohamadkhani and Heidari, 2007 ; and Tan et al., 2006). حساسیت آنزیم‌های استخراج شده از ارقام متحمل به شوری در حضور NaCl کاملاً مشابه آنزیم‌های موجود در ارقام حساس به شوری است (کافی، ۱۳۷۷). آنزیم‌های آنتی اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آید (Derik and Montagu,2002). روابط گوناگونی بین تنش شوری،خشکی و سطح آنتی اکسیدان‌های محلول در آب و یا آنزیم‌های آنتی اکسیدان گزارش شده است.

(Gosset et al.,1994; Zhang and Kirkham, 1996)

مطالعات متعددی همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و افزایش تنش شوری را نشان می‌دهند.

(Satyendra et al.,1999)

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

(Maurhofer et al.,1992)

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

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

اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی از طریق اثرات هورمونی و بهبود جذب عناصر غذایی، سبب افزایش بیومس ریشه و اندام هوایی می‌شود. مواد آلی نقش اساسی در کیفیت خاک دارند. مواد هوموسی به‌عنوان مهم‌ترین بخش مواد آلی به‌طور مستقیم روی رهاسازی عناصر غذایی، ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت بافری فسفر و ابقاء مولکول‌های آلی فلزی و سمی نقش اساسی دارند. تا مدت‌ها تصور می‌شد که اثرات تحریک کنندگی مواد هوموسی شبیه به هورمون‌های اکسین، سیتوکنین و اسیدآبسزیک است ولی بعداً مشخص شد که اثرات مواد هوموسی در ارتباط مستقیم با افزایش جذب عناصر غذایی ماکرو مثل S, P,N و عناصر غذایی میکرو مثل Mn, Cu, Zn, Fe می‌باشد. مواد هوموسی جذب کانی‌ها را از طریق تحریک و افزودن فعالیت میکروبیولوژی زیاد می‌کند (فرقانی و جوانمرد، ۱۳۸۴). مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Samavat and Malakuti, 2005)، همچنین اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (Delfine et al., 2005).

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

مواد و روش

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، واقع در ماهدشت کرج و با عرض جغرافیایی ۳۵درجه و ۴۵ دقیقه عرض شمالی و طول جغرایایی ۵۱ درجه و ۶ دقیقه طول شرقی و به ارتفاع ۱۳۱۳ متر از سطح دریا به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در شرایط گلخانه‌ای به اجراء در آمد. بافت خاک لومی رسی، pH خاک در عمق ۶۰-۰ برابر با ۷/۴ و EC خاک در عمق ۶۰-۰ برابر ۱/۴۱ دسی زیمنس بود. در این آزمایش تیمارهای آزمایشی عبارتند ازاستفاده از اسیدهیومیک در دو سطح شامل: { (A_0): عدم مصرف اسیدهیومیک (شاهد)، (A_1): مصرف اسیدهومیک، که جهت کاربرد اسید هیومیک از گرانول‌های پرل هوموس که توسط شرکت هرمینتک آلمان تولید می‌گردد استفاده شد}، وسطوح شوری در سه سطح شامل: { (B_0): عدم شوری (شاهد)، (B_1): شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، (B_2): شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار که برای تهیه این غلظت‌ها از کلرید سدیم خالص (NaCl) استفاده شد}، استفاده از میکروارگانیسم‌ها در پنج سطح شامل: { (C_0) عدم تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد (شاهد)، (C_1): تلقیح

بذربا باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم، (C_2): تلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم، (C_3): تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C_4): تلقیح بذربا باکتری‌های (ازتوباکترکروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت Mix بودکه هر سه این باکتری‌ها بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژیکی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص‌سازی شده بودند و جمعیت مایه تلقیح حدود 10^8 CFU در هر گرم مایه تلقیح (صمغ عربی) بود}. به‌منظورانجام این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی ۷ کیلوگرمی به تعداد ۹۰ عدد استفاده شد. خاک گلدان‌ها از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تهیه و بعد ازعبوراز الک ۵ میلی متری به مقدار مساوی در هر گلدان از خاک مورد نظر پر شد. عملیات کاشت بذر در تاریخ ۸۸/۸/۱۸ و در سوراخ‌هایی به عمق ۲ تا ۳ سانتی متر انجام شد. رقم مورد استفاده شده دراین آزمایش رقم بهار بود که رقمی پاییزه و به گرما و خشکی آخر فصل مقاوم است. مقدار مصرف باکتری‌ها در زمان کاشت (ازتوباکترلیپوفروم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) برای ۴۰ عدد بذر به وزن تقریبی ۴۴/۴ گرم، ۲/۲۵ گرم بودکه این مقدار باکتری بعد از آغشته نمودن بذرها با مایه تلقیح (صمغ عربی) به بذرها اضافه شده تا کاملاً به سطح بذرها چسبیده و سطح بذرها کاملاً سفید رنگ شوند. همچنین در زمان کاشت اسید هیومیک به میزان ۵/۵ گرم برای تیمارهای مورد نظر برای هر گلدان‌های به کار برده شد. بلافاصله بعد ازکاشت اولین آبیاری انجام گرفت و پس از جوانه‌زنی بذرها و سبز و یکنواخت شدن تعداد بوته‌ها درهرگلدان تعداد جوانه‌های سبز شده به ۲۰ عدد در هر گلدان کاهش یافت. عملیات داشت نیز شامل آبیاری و دادن شوری بعد از مرحله چهار برگی به تیمارهای مورد نظر بود. میزان نمک استفاده شده برای تهیه غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار به ترتیب برابر با ۱۹۷/۲ و ۳۹۴/۴ گرم بود که در ۴۵ لیتر آب حل گردید و به تیمارهای مورد نظر در۴ مرحله و هر مرحله به میزان ۲۵۰ Cc برای هر گلدان لحاظ گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز) نمونه‌برداری در تاریخ ۸۹/۱/۲۸ در مرحله گلدهی انجام شد. بدین‌ترتیب از هر گلدان به‌صورت تصادفی تعداد۴ عدد برگ پرچمی جدا و در داخل نایلکس‌هایی داخل یخدان قرار داده شد و به روش ذیل در دانشگاه تربیت معلم برحسب واحد بر گرم پروتئین محاسبه گردید.

پس از نمونه‌گیری از گلدان‌ها دو برگ با آب مقطر شستشو داده شد و بلا فاصله در بافر فسفات – تریس ۰/۱۶ مولار با pH = ۷/۵ خرد و هموژن گردید. آن‌گاه حجم مشابه از همان بافر دیجیتونین و آنزیم هضم کننده دیواره اضافه گردید و اجاز داده شد فرآیند هضم غشا و دیواره سلول انجام گیرد. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش لوری و همکاران (Lowry et al., 1951) برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. سپس در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور از روش میرسا و فریدویچ (Misra and Fridovich,1972) استفاده شد. محلول زمینه بافر تریس (Tris / base) حاوی فسفات دی‌سدیک با pH =۷/۲ به همراه ۱/۳ میلی‌مول EDTA به همراه ۰/۱ مول کربنات منوسدیک تهیه و از اپی نفرین با غلظت ۰/۲۵ میلی مول به عنوان سوبسترا استفاده شد و سپس مجموعه عصاره به آنها اضافه و تغییرات جذب نوری حاصل از اکسیداسیون اپی نفرین اندازه‌گیری و به عنوان فعالیت آنزیمی ارزیابی شد. از آنزیم استاندارد و خالص برای استاندارد شدن نتایج استفاده شد که واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی مول اپی نفرین در یک دقیقه می‌باشد.

برای اندازه‌گیری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز براساس روش پاگلیا و والنتین (Paglia and valentine, 1987) عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات فتودینامیک ۰/۵۶ مول با pH=۷ همراه با ۱/۲ مول EDTA و یک میلی مول نیترات سدیم و ۰/۲ میلی مول NADPH وارد شد.سپس به

آن ۰/۲ میلی لیتر گلوتاون احیا به همراه ۰/۱ میلی مول آب اکسیژن اضافه شد و بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu مدل (u-1oo z) اندازه گیری شد همزمان یک محلول بلانک حاصل تمام مواد فوق بدون حضور عصاره استخراجی برای تصحیح و حذف خطاهای احتمالی مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم گلوتایتون پراکسیداز معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا (NADPH) را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

مقدار آنزیم کاتالاز بر اساس روش پاگلیا و والنتین (Paglia and valentine, 1987) مورد انداه گیری قرار گرفت. در این روش شدت واکنش حذف آب اکسیژنه به عنوان سوبسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای کار حاوی ۰/۱۷ میلی مول فسفات دی سدیک با pH = ۷/۵ همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی مول کلرید منیزیم بود. یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه هنگامی که واکنش درجه اول پیش رود در نظر گرفته شد.

به منظور تعیین نمودن عملکرد نهایی محصول، عملیات برداشت در تاریخ ۸۹/۲/۳۰ صورت گرفت. برداشت گندم زمانی که اندام هوایی کاملاً زرد و دانه رسیده بودند انجام گرفت، در این مرحله کلیه ۲۰ بوته به صورت کف بر، برداشت شد و در داخل پاکت‌هایی که از قبل بیانگر تیمار مربوطه بودند قرار گرفتند، بعد از بوجاری محصول عملکرد دانه بر حسب گرم تعیین گردید.

برای آنالیز واریانس داده‌ها از نرم افزار SAS و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با اعمال تنش شوری بر میزان عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار در سطح (P<۰/۰۵) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) مشاهده می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند و عملکرد دانه در تیمارعدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار) و B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) به میزان ۹/۵ و ۹/۴ درصد افزایش عملکرد دانه را نشان داده است که هردو در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) باکاربرد اسیدهیومیک و اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) نیز مشاهده می‌شود بیشترین عملکرد دانه با میانگین میزان فعالیت ۲۶/۲۱ گرم از تیمارمصرف اسید هیومیک بدون اعمال تنش شوری (A_1B_0) بدست آمد که البته همراه با تیمارهای A_1B_2,A_0B_1,A_0B_0 در یک گروه آماری قرار گرفتند، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک واعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) با میزان فعالیت ۲۰/۸۲ گرم مشاهده شد که افزایشی ۲۵/۹ درصدی را بین دو تیمار A_1B_0 و A_0B_2 شاهد می باشیم. بنابر نظر بالاکونباهان و راجامانی (Balakunbahan and Rajamani, 2010) اسید هیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک تغییر می‌دهد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و مصرف اسیدهیومیک در سطح آماری (P <۰/۰۵) بر عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، به طوری که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود که بیشترین عملکرد دانه با

میانگین میزان فعالیت ۲۷/۷۵ گرم ازتیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا و مصرف اسید هیومیک (A_1C_3) به دست آمد که البته با تیمارهای A_1C_1,A_0C_4 A_1C_2,A_0C_2 در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند و کمترین آن نیز از تیمارعدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) با میانگین میزان فعالیت ۱۷/۴۶ گرم بدست آمد که افزایشی ۵۸/۹ درصدی را بین دو تیمار A_1C_3 و A0C0 شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و اسیدهیومیک و اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر عملکرد دانه تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، به طوری که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۵) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین عملکرد دانه از تیمارتلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر کروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۷۵ میلی مولار ($A_0B_1C_2$) با میانگین میزان فعالیت۳۲/۲۵ گرم بدست آمد. همچنین کمترین میزان آن نیزاز تیمارعدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد وعدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار ($A_0B_2C_0$) با میانگین میزان فعالیت ۱۴/۷۹ گرم حاصل گردید. میشرا و همکاران (Mishra et al., 2010) در نتایج خود بیان می‌کند که تحت شرایط تنش شوری، PGPRها می‌تواند اثرات مثبتی در گیاهان روی پارامترهایی از قبیل سرعت جوانه زنی، تحمل به تنش خشکی، عملکرد و رشد گیاه داشته باشد.

رخزادی و همکاران (رخزادی و همکاران، ۱۳۸۷) تحقیقی را به منظور بررسی اثر باکتری‌های آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، سودوموناس و مزوریزوبیوم به صورت تلقیح انفرادی، دوتایی، سه تایی و چهارتایی بر عملکرد نخود انجام دادند و بیان کردند که کاربرد این باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد دانه و بیوماس بوته نخود می‌شود. بیشترین و کمترین عملکرد دانه و بیوماس بوته به ترتیب از تیمار تلقیح حاوی چهار باکتری و تیمار شاهد بدست آمد. این نتیجه نشان می‌دهد بین این باکتری‌ها اثرات سینرژیستی وجود دارد. تاثیر مثبت تلقیح با آزوسپیریلوم توسط محققین زیادی گزارش شده است. مستاجران و همکاران (مستجران و همکاران، ۱۳۸۴) حمیدی و همکاران (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵)، نظارت و غلامی (نظارت و غلامی، ۱۳۸۸) و فولچری و فریونی (Fulchieri and Frioni, 1994) نیز اثر مثبت تلقیح را روی عملکرد گیاه گزارش کرده‌اند و ساتویچ (Saatovich,2006) هم با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف آزوسپیریلوم در افزایش مقاومت گندم به شوری و عملکرد گیاه را تا ۶۳/۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. محققین افزایش عملکرد دانه در اثر تلقیح با آزوسپیریلوم را به دلایلی همچون ترشح انواع هورمون‌ها که سبب افزایش رشد ریشه و جذب آب و مواد غذایی از خاک می‌شود مربوط می‌دانند. (Egamberdiyevaa and Hoflich, 2003) افزایش عملکرد دانه گندم در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر،آزوسپیریلوم، سودوموناس) توسط داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز گزارش شد.

آنزیم‌های آنتی اکسیدان

سوپراکسید دیسموتاز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد اسید هیومیک برآنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده می‌شود همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) مشاهده می‌شود تیمارها درگروه‌های آماری متفاوتی قرار می گیرند، به طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربردآن (A_0) میزان سوپراکسید دیسموتاز را به میزان۵۶/۴ % کاهش داده است. این نتایج حاکی از این بود که مصرف اسید هیومیک، از طریق تأمین بخشی از آب مورد نیاز گیاه، باعث کاهش تنش شوری شده پس میزان فعالیت این آنزیم نیز کاهش می‌یابد. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با اعمال تنش شوری بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همان‌گونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲)مشاهده

می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به طوری که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری۷۵میلی مولار) و B_0 (شاهد) به میزان ۳۵/۳ و ۱۰۷/۲ در صد افزایش یافته است.

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

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی داری در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) نیز مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به طوریکه عدم تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد (C_0) با میانگین میزان فعالیت۱۳۱۰ واحد گرم پروتئین بیشترین اثر را بر میزان SOD نشان داده است که البته باتیمار تلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم (C_1)در یک گروه آماری قرار گرفتند، ضمن آنکه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) با میانگین میزان فعالیت ۳(U/g Protein)/۷۷۴ کمترین اثر را بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشته است.

عُمَر و همکاران (Omar et al., 2009) نیز کاهش در فعالیت آنزیم SOD را در گیاهچه‌های جو تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم را گزارش کرد. کاهش در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریلوم،سودوموناس) توسط داودی فرد (داودی فرد، ۱۳۹۰) نیز گزارش شده است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۷۹۴ از تیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) بدست آمد، همچنین کمترین میزان آن نیز از تیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۵۷۶/۸ مشاهده شد که افزایشی ۲۱۱/۲ درصدی را بین A_0B_2 و A_1B_0 شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد ومصرف اسید هیومیک درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان سوپراکسید دیسموتاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۴۷۷ مشاهده شد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein)۵۶۴/۱ ازتیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و مصرف اسید هیومیک (A_1C_4) مشاهده شد که افزایشی ۱۶۱/۸ درصدی را بین A_0C_0 و A_1C_4 شاهد می‌باشیم، که نشان از این دارد که با کاربرد همزمان اسید هیومیک وتلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix گیاه در شرایط مطلوب تری قرار داشته و تنش را کمتر احساس کرده ونتیجه آن صرف انرژی کمتر برای تولید آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری درسطح آماری (P<۰/۰۱) بر میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتازتفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۴)

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

گلوتاتیون پراکسیداز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد اسید هیومیک برمیزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربردآن (A_0) میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به میزان ۳۸/۲ درصد کاهش داده است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با اعمال تنش شوری بر میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین (جدول۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند، به طوری که میزان GPX در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار) نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری ۷۵میلی مولار) و تیمار عدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) به میزان ۴۶ و ۱۵/۱ در صد افزایش نشان داده است و تیمار B_0 (عدم اعمال تنش شوری) کمترین اثر را بر میزان تولید گلوتاتیون پراکسیداز داشته است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اثر معنی دار در سطح آماری (P <۰/۰۱) داشته است همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) نیز مشاهده می‌شود، عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (C_0) با میانگین میزان فعالیت۱۴۹/۸ واحد گرم پروتئین بیشترین اثر را بر میزان GPX نشان داده است، ضمن آنکه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) با میاگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۰۴/۱کمترین اثر را داشته است. داودی فرد (۱۳۹۰) نیز کاهش در میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، سودوموناس) گزارش کرد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) برمیزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم GPX با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۷۰/۲ازتیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمارمصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) با میزان فعالیت (U/g Protein) ۹۶/۳ حاصل گردید، که افزایشی ۷۶/۷ درصدی را بین A_0B_2 و A_1B_0 شاهد می‌باشیم. که نشان دهنده این مطلب است که کاربرد اسید هیومیک در کلیه سطوح شوری توانسته است که میزان GPX تولیدی را کاهش دهد

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

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) باکاربرد همزمان تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان GPX از تیمار تلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_2) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein)۱۶۷/۴ حاصل گردید و همچنین کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein)۹۱/۸۹ از تیمار تلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم ومصرف اسید هیومیک (A_1C_2) مشاهده شد که افزایشی ۷۲/۲ درصدی را بین A_0C_2 و A_1C_2 شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری درسطح آماری (۰/۰۱> P) بر میزان گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که درمقایسه میانگین مربوطه (جدول۴) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان آنزیم GPX از تیمارعدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B_2C_0) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا وعدم اعمال تنش شوری (B_0C_3) به ترتیب با میانگین میزان فعالیت ۸۶/۱۷۷،۶۷ واحد گرم پروتئین بدست آمد.

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

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

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱)کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسیدهیومیک در زمان اعمال تنش شوری درسطح آماری (۰/۰۱> P) بر میزان گلوتاتیون پراکسیداز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۵) نیز مشاهده می‌شود بیشترین میزان GPX از تیمارتلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار ($A_0B_2C_2$) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۷۸/۳بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز با میانگین میزان فعالیت۶۳/۶۷ از تیمارتلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم و مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری ($A_1B_0C_2$)حاصل گردید.

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

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

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

و این کاهش نسبت به تیمارهای فقط اسید هیومیک و حتی تمامی تیمارهای باکتریایی در شرایط عدم تنش بیشتر بود، احتمالاً این نتیجه نشان دهنده این مطلب است که باکتری‌ها اثر تنش شوری را از طریق مکانیسم دفاعی دیگری کاهش می‌دهند، که از بالا رفتن آنزیم GPX جلوگیری کرده است زیرا فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تنها مکانیسم دفاعی گیاه در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو نیست و بالا بودن پرولین نیز می‌تواند عامل دیگری در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو باشد (مسلمی،۱۳۸۹).

کاتالاز

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد اسید هیومیک برمیزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی دار در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲)مشاهده می‌شود، تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به طوری که کاربرد اسید هیومیک (A_1) نسبت به عدم کاربردآن (A_0) میزان آنزیم کاتالاز را ۳۶/۶ درصد کاهش داده است.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با اعمال تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی داری در سطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۲) مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند ومیزان آنزیم CAT در تیمار B_2 (اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار)نسبت به تیمار B_1 (اعمال تنش شوری۷۵ میلی مولار) و عدم اعمال تنش شوری B_0 (شاهد) به میزان ۲۵/۹و ۸۷/۸ درصد افزایش یافته است.تنش شوری موجب تولید اکسیژن‌های رادیکال آزاد می‌شود و تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد و در چنین شرایطی گیاه برای مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی استفاده می‌کنند.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی داری درسطح (P <۰/۰۱) مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین (جدول ۲) مربوطه نیز مشاهده می‌شود تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار می‌گیرند به نحوی که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز از تیمار عدم تلقیح بذربا باکتری‌های محرک رشد (C_0) و کمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix (C_4) به ترتیب با میانگین میزان فعالیت ۲۷۵/۲ و۱۷۳/۳ واحد گرم پروتئین بدست آمد.

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

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

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد اسید هیومیک در زمان اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیزمشاهده می‌شود بیشترین میزان آنزیم CAT ازتیمار عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (A_0B_2) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein)۳۳۶/۵ بدست آمد، ضمن آنکه کمترین میزان آن نیزبا میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۳۷ ازتیمار مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری (A_1B_0) بدست آمد که بیانگر این مطلب است که کاربرد اسید هیومیک توانسته است از افزایش آنزیم CAT در شرایط تنش شوری جلوگیری کند، که به توانایی اسید هیومیک در کاهش تنش اکسیداتیو و کاهش استفاده گیاه از

سیستم آنتی اکسیدانی مربوط می‌شود.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۳) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم کاتالاز از تیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و عدم مصرف اسید هیومیک (A_0C_0) وکمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و مصرف اسید هیومیک (A_1C_4) به ترتیب با میانگین میزان فعالیت ۲۹۶/۲ و ۱۴۷/۹ واحد گرم پروتئین بدست آمد،که افزایشی ۱۰۰/۲ درصدی را بین دو تیمارA_0C_0 و A_1C_4 شاهد می‌باشیم.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) با کاربرد تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی دار مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۴) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم CAT با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۳۴۰ ازتیمار عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار (B_2C_0) وکمترین میزان آن نیز از تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به صورت Mix و عدم اعمال تنش شوری (B_0C_4) با میانگین میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۳۰/۸ بدست آمد که البته با تیمار B_0C_3 وB_1C_0 در یک گروه آماری قرار گرفتند.

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

کوهلِر و همکاران (Kohler et al., 2009) گزارش کرد، در شرایط تنش شوری گیاهچه کاهو تلقیح شده با باکتری سودوموناس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) با کاربرد همزمان تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد ومصرف اسیدهیومیک و اعمال تنش شوری درسطح آماری (P <۰/۰۱) بر میزان فعالیت آنزیم CAT تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد، همانگونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول۵) نیز مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنزیم CAT با میانگین میزان فعالیت (U/g Pro-tein)۳۶۱ از تیمارتلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و عدم مصرف اسید هیومیک و اعمال تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار ($A_0B_2C_1$) بدست آمد ضمن آنکه کمترین میزان آن نیز از تیمار تیمارتلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و مصرف اسید هیومیک و عدم اعمال تنش شوری ($A_1B_0C_1$) با میزان فعالیت (U/g Protein) ۱۲۶/۳بدست آمد،که افزایش ۱۵۹ درصدی را بین دو تیمار شاهد می‌باشیم.

جدول۱- تجزیه واریانس اثر شوری، باکتری‌های محرک رشد و هیومیک اسید بر صفات مورد بررسی

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

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

ns, *,** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵% و ۱%.

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

جدول۲- مقایسه میانگین سطوح اثرات اصلی صفات مورد بررسی

Table 2- Mean comparisons of main effects of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلوتاتیون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
اسید هیومیک Humic acid				
A_0	23.440A	1303.0 A	150.7 A	258.2 A
A_1	24.876A	833.0 B	109.0 B	189.0 B
تنش شوری Saltinity stress				
B_0	25.624 A	696.3 C	104.5 C	153.5 C
B_1	23.374 B	1066.0 B	132.5 B	229.0 B
B_2	23.476 B	1443.0 A	152.6 A	288.4 A
باکتری‌های محرک رشد PGPR				
C_0	22.930A	1310.0 A	149.8 A	275.2 A
C_1	27.920A	1140.0 AB	132.8 B	233.5 B
C_2	31.780A	1065.0 B	131.3 B	217.3 C
C_3	30.630A	1051.0 B	131.4 B	218.9 C
C_4	31.690A	774.3 C	104.1 C	173.3 D

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

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

جدول۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 3- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلوتاتیون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
A_0B_0	25.04 A	815.9 D	126.60 C	169.9 E
A_0B_1	24.46 AB	1300. B	155.30 B	268.3 B
A_0B_2	20.82 B	1794.0 A	170.20 A	336.5 A
A_1B_0	26.21 A	576.8 E	96.30 E	137.0 F
A_1B_1	22.29 AB	831.5 D	114.20 D	189.7 D
A_1B_2	26.13 A	1091.0 C	135.10 C	240.4 C
A_0C_0	17.46 C	1477.0 A	158.30 A	296.2 A
A_0C_1	22.10 B	1332.0 AB	164.90 A	263.2 B
A_0C_2	27.52 A	1392.0 AB	167.40 A	267.9 B
A_0C_3	23.30 B	1331.0 AB	140.30 B	265.2 B
A_0C_4	26.82 A	984.6 CD	122.60 C	198.7 C
A_1C_0	20.75 B	1143.0 BC	129.79 C	254.2 B
A_1C_1	24.44 AB	948.2 CD	100.70 D	203.8 C
A_1C_2	25.44 AB	738.7 DE	91.89 DE	166.8 D
A_1C_3	27.75 A	770.9 DE	114.99 D	172.6 D
A_1C_4	26 AB	564.1 E	139.11 B	147.9 E

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

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

(A0): شاهد، (A1): مصرف اسیدهومیک، (B0): شاهد، (B1): شوری پایین به میزان ۷۵ میلی مولار، (B2): شوری بالا به میزان ۱۵۰ میلی مولار، (C0) شاهد، (C1): تلقیح بذربا باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم، (C2): تلقیح بذر با باکتری ازتوباکترکروکوم، (C3): تلقیح بذر با باکتری سودوموناس پوتیدا، (C4): تلقیح بذربا باکتری‌های (ازتوباکتر کروکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم، سودوموناس پوتیدا) به صورت محلول.

(A0): Control, (A1): Humic acid consumption, (B0): Control, (B1): Low salinity of 75 mM, (B2): High salinity of 150 mM, (C0): Control, (C1): Grain inoculation with Azospirillum lipoferum, (C2): Grain inoculation with Azotobacter chroocccum, (C3): Grain inoculation with Pseudomonase putida, (C4): The mix grain inoculation with (Azotobacter chroocccum, Azospirillum lipoferum, Pseudomonase putida).

جدول۴- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 4- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار Treatment	عملکرد دانه Grain yield (g)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U / g Protein)	گلوتاتیون پراکسیداز GPX (U / g Protein)	کاتالاز CAT (U / g Protein)
B_0C_0	24.452A	982.0 CD	107.485 G	187.2 E
B_0C_1	23.898A	638.5 E	129.685 DEF	147.5 GH
B_0C_2	29.128A	703.2 DE	115.685 FG	153.8 FG
B_0C_3	25.613A	632.2 E	86.670 H	148.0 GH
B_0C_4	25.028A	525.8 E	117.835 FG	130.8 H
B_1C_0	20.217A	1332.0 AB	147.700 CD	298.5 BC
B_1C_1	21.565A	1197.0 BC	121.985 FG	236.5 D
B_1C_2	26.958A	991.5 CD	122.150 FG	218.2 D
B_1C_3	21.628A	994.5 CD	130.000 DEF	221.7 D
B_1C_4	26.502A	813.8 DE	152.150 BC	170.3 EF
B_2C_0	21.365A	1617.0 A	177.000 A	340.0 A
B_2C_1	24.343A	1585.0 A	146.200 CD	316.5 B
B_2C_2	23.357A	1502.0 AB	151.150 BC	280.0 C
B_2C_3	25.610A	1527.0 AB	166.300 AB	287.0 C
B_2C_4	22.703A	983.3 CD	122.515 FG	218.7 D

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

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

جدول۵- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل صفات

Table 5- Mean comparison of interaction effect of characters

تیمار	Grain yield (g)	SOD (U mol/ g Fw)	GPX (U mol/ g Fw)	CAT (U mol/ g Fw)
$A_0B_0C_0$	19.74 FGH	1232	124.30 B	209.3 D
$A_0B_0C_1$	23.01 ABCDEFGH	713.7	173.70 A	168.7 E
$A_0B_0C_2$	28.51 ABCDEF	877	167.70 A	177.3 E
$A_0B_0C_3$	23.88 ABCDEFGH	714.3	86.67 DE	165.0 E
$A_0B_0C_4$	30.08 ABCD	542.3	80.67 DE	129.3 F
$A_0B_1C_0$	17.86 GH	1298	174.70 A	330.3 B
$A_0B_1C_1$	20.33 DEFGH	1384	157.30 A	260.0 C
$A_0B_1C_2$	32.25 A	1357	156.30 A	271.3 C
$A_0B_1C_3$	21.18 CDEFGH	1346	162.00 A	275.0 C
$A_0B_1C_4$	30.66 ABC	1116	126.30 B	205.0 D
$A_0B_2C_0$	14.79 H	1903	176.00 A	349.0 AB
$A_0B_2C_1$	22.96 ABCDEFGH	1897	163.70 A	361.0 A
$A_0B_2C_2$	21.81 BCDEFGH	1943	178.30 A	355.0 AB
$A_0B_2C_3$	24.83 ABCDEFG	1933	172.30 A	355.7 AB
$A_0B_2C_4$	19.71 FGH	1296	160.70 A	261.7 C
$A_1B_0C_1$	19.98 EFGH	732	90.67 DE	165.0 E
$A_1B_0C_1$	24.79 ABCDEFG	563.3	85.67 DE	126.3 F
$A_1B_0C_2$	29.75 ABCDE	529.3	63.67 E	130.3 F
$A_1B_0C_3$	31.48 AB	550	86.67 DE	131.0 F
$A_1B_0C_4$	25.03 ABCDEFG	509.3	155.00 A	132.3 F
$A_1B_1C_0$	19.26 FGH	1367	120.70 BC	266.7 C
$A_1B_1C_1$	22.80 ABCDEFGH	1009	86.67 DE	213.0 D
$A_1B_1C_2$	21.67 BCDEFGH	626.3	88.00 DE	165.0 E
$A_1B_1C_3$	25.39 ABCDEFG	643	98.00 CD	168.3 E
$A_1B_1C_4$	22.35 ABCDEFGH	512	178.00 A	135.7 F
$A_1B_2C_0$	23.02 ABCDEFGH	1331	178.00 A	331.0 B
$A_1B_2C_1$	25.72 ABCDEFG	1272	128.70 B	272.0 C
$A_1B_2C_2$	24.90 ABCDEFG	1060	124.00 B	205.0 D
$A_1B_2C_3$	26.39 ABCDEFG	1120	160.30 A	218.3 D
$A_1B_2C_4$	30.61 ABC	671	84.33 DE	175.7 E

در هر ستون اعدادی که دارای ضرایب مشترکی هستند در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

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

References

منابع

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

داودی فرد،م.۱۳۹۰. بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر،آزوسپیریلوم،سودوموناس) و محلول پاشی سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه بر مقاومت به خشکی گندم.پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن.

رخزادی، ا.، ا. اصغرزاده، ف. درویش، ق. نورمحمدی، ا. مجیدی و و. توشیح. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، پسووموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده ی خشک و عملکرد نخود.Cicer arietinum L. دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.

فرقانی، ا وا. جوانمرد.۱۳۸۴. اثر مواد افزودنی مختلف بر مقدار اسیدهومیک و فولویک درخاک‌های مختلف. نهمین کنگره علوم خاک ایران.

کافی. م. ۱۳۷۷. اثرات شوری بر فتوسنتز ارقام گندم حساس و متحمل به شوری. چکیده مقالات پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، صفحه ۳۳۲.

مستأجران، ا.، ر. عموآقایی و گ. امتیازی. ۱۳۸۴. اثر آزوسپیریلوم و اسیدیته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست شناسی. جلد ۱۸، شماره ۳، صفحات ۲۵۶- ۲۴۸.

مسلمی،ز.۱۳۸۹.بررسی تاثیر پلیمر سوپر جاذب و باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر عملکرد و اجزاء عملکرد، عملکرد علوفه و برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ذرت علوفه‌ای پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

نظارت، س: ا،غلامی.۱۳۸۸. نقش تلقیح مضاعف باکتریهای آزوسپریلوم و سودوموناس در بهبود جذب عناصر غذایی در ذرت. نشریه بوم شناسی کشاورزی جلد۱، شماره۱، ص۲۵-۳۲.

Arora, A., R. K. Sairam and G. C. Srivastave. 2002. Oxidayive stress and antioxidative system in plants. Current Science. 82 (10,25): 1227-1238.

Balakumbahan R and K Rajamani, 2010. Effect of biostimulants on growth and yield of Senna (Cassia angustifoliavar KKM.1),Journal of Horticultural science & Ornamental plants, IDOSI publication, 2 (1): 16-8.

Becana, M., JF. Moran and I. Iturbe-Ormaetxe.1998. Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant and Soil 201: 137-147.

Bernstein, N.,W.K.Silk, and A. L. Lauchli. (1993). Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress. 191:433-439.

Bor, M., Ozdemir F. and Türkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet Beta vulgaris L. and wild beetBeta maritime L. Plant Sci. 164: 77-84.

Castignetti, D. and Smarrelli, J. 1986. First year field performance of spruce seedlings inoculated with plant growth promoting rhizobacteria.Can. J. Microbiol. 39: 1084-1088.

Comba, M.E. M.P. Benavides and M.L Tomaro. 1998. Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. Aust. J. Plant Physiol. 25: 665-671.

Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E., Alvino, A.,2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agron. Sustain. 25, 183-191.

Derik. A. K. and Montagu. J. 2002. Selection of drought tolerant genotypes using morphological and physiological traits in durum wheat.

Egamberdiyevaa, D., Hoflich. G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. Soil Biol. Biochem. 35: 973–978.

Francois, LE.,C.M.Maas.and S.M.Lesch.1994.time of salt stress Effects growth and yield components of irrigated wheat. Agron.J.86:100-107.

Fulchieri, M. and L. Frioni.1994. Azospirillum inoculation on maize (Zea mays L.):effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil Biology and Biochemistry, 26:921- 923.

Gossett DR. EP. Millhollon and M. Cran-Lucas. 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and saltsensitive cultivars of cotton. Crop Sci. 34: 706-714.

Han, H. S. and K. D. Lee. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of Lettuce under soil salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 1 (3): 210-215.

Hasnain, S, and A.N. Sabri, 1996. Growth stimulation of Triticum aestvum seedlings under Cr-stress by non-rhizospheric Pseudomonas strains. In: Abstract the Book of 7 Int. Symp. On Nitrogen Fixation with Non legumes. Faisalabad, Pakistan, pp.36.

Karpinski, S. H. Gabrys, A. Mateo B. Karpinska and P.M. Mullineaux. 2003. Light perception in plant disease defense signalling. Current Opinion Plant Biol. 6: 390–396.

Kohler, J., J. Antonio Hernandes, F. Caravaca, A. Roldan. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Enviromental and Experimental Botany 65.p: 245-252.

Liu, J., L. P. Tong, T. W. Shen, J. Li, L. Wu and Z. L. Yu. 2007. Impact of ion implantation on licorice (Glycyrrhize uralensis Fisch) growth and antioxidant activity under drought stress. Plasma Science and Technology. 9 (3): 301-306.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A.L. Farr and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Maurhofer, M., Keel, C., Schnider, U., Voisard, C., Hass, D. and Defago, G.1992. Influence of enhanced antibiotic production in Pseudomonas fluorescens strain CHAO on its disease suppressive capacity. Phytopathology. 82: 190-195.

Mishra, M 2U Kumar, 2P K Mishra and V Prakash.2010. Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for the Enhancement of CicerarietinumL. Growth and Germination under Salinity. Advances in Biological Research 4 (2): 92-96.

Misra, H. P. and I. Fridovich. 1972. The generation of superoxide radical during auto oxidation. J. Biol. Chem.

247,6960-6966.

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

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

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

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

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

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

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

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

Saatovich, S.Z., 2006. Azospirillium of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants.Plant & Soil. 283:137-145.

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

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

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

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

Tan, Y., Z. S. Liang, H. B. Hongbo and F. Du. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at graining stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 49: 60-65.

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