دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال دهم، شماره سی و سوم، ۱۳۹۷

تأثیر تنش کمبود آب و کود زیستی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان و نقش آنها در تغییرات عملکرد جو *(Hordeum vulgare)*

محمدرضا دادنیا[1]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱٤ تاریخ پذیرش: ۹۵/٦/۷

چکیده

برای بررسی برخی خصوصیات کمی جو در واکنش به کود زیستی تحت تاثیر رژیم های مختلف آبیاری، آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به صورت کرت های خرد شده در قالب بلوک های کامل تصادفی با ٤ تکرار اجرا گردید. در این آزمایش تیمارهای آبیاری در کرت‌های اصلی شامل ۳ سطح، آبیاری در ۸۰، ٦۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال، ۳۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی) و کرت های فرعی شامل تلقیح بذر با باکتری در ۷ سطح (آزوسپیریلوم لیپوفروم، ازتوباکتر کروکوکوم، سودوموناس پوتیدا، سودوموناس× ازتوباکتر، سودوموناس×آزوسپیریلوم و ازتوباکتر× آزوسپیریلوم) و شاهد (عدم تلقیح) بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد کود زیستی اثر معنی دار بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در سطح ۱ درصد داشت. در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت تاثیر کودهای زیستی افزایش یافت، به طوری که آزوسپیریلوم لیپوفروم به ترتیب سبب افزایش ۱٦/۷ و ۲۱/٤ و سودوموناس× آزوسپیریلوم سبب افزایش ۱۸/۲ و ۲۵/۹ درصدی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار آبیاری در شرایط آبیاری در۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد شدند. میزان عملکرد در این شرایط در تیمارهای باکتری نسبت به آبیاری نرمال کاهش اندکی نشان داد و عملکرد در تیمار آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و تحت تاثیر آزوسپیریلوم فقط ۱۳/۲ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش یافت. داده ها نشان داد کود زیستی نقش موثر در بهبود عملکرد جو در شرایط کمبود آب در مراحل انتهایی رشد دارد.

واژه های کلیدی: تنش کمبود آب، سوپر اکسید دیسموتاز، کود زیستی، گلوتاتیون پراکسیداز

دادنیا، م.ر. ۱۳۹۷. تأثیر تنش کمبود آب و کود زیستی بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدان و نقش آنها در تغییرات عملکرد جو. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۳: ۱۰-۱.

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، پست الکترونیک: rezadadnia@yahoo.com

مقدمه

به‌طورکلی در شرایط کمبود آب قابلیت جذب عناصر غذایی در محلول خاک بدلیل افزایش غلظت یون سدیم کاهش یافته و منجر به اختلال در امر تغذیه گیاه می شود (ساپوخینا و همکاران، ۲۰۱۳). اکثر گزارش ها حاکی از آن است که کمبود آب سبب کاهش رشد و تولید ماده خشک گیاهان می شود (میتلر و بلوم والد، ۲۰۱٤). یکی از شاخص‌های مهم در تحمل کمبود آب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت است. گیاه برای ساخت این آنزیم ها (سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پر اکسیداز) انرژی زیادی مصرف می کند ولی استعمال کودهای زیستی میزان فعالیت این ترکیبات را افزایش دهد (هیلاکس، ۲۰۱۲). گزارش هایی مبنی بر اثرات مثبت کاربرد کودهای زیستی در شرایط کمبود آب شامل آزوسپیریلوم، سودوموناس و ازتوباکتر برعملکرد گیاهان زراعی مانند جو، گندم، ذرت و سورگوم وجود دارد که عمدتا به افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مربوط می شود (کریسن و همکاران، ۲۰۱۵). این آنزیم ها بعنوان تثبیت کننده نیتروژن در شرایط کمبود آب سبب افزایش جذب ترکیباتی نظیر NH_4^+، No_3^-، Fe و K شده به‌طوری‌که تحت این شرایط وضعیت آبی گیاه تا حدودی بهبود یافته و منجر به تولید فیتوهورمون هایی نظیر ایندول استیک اسید می شود (آتکینسون و اوروین، ۲۰۱۲). آزوسپیریلوم از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در غلات محسوب می شود که بصورت همیار با ریشه، تثبیت زیستی نیتروژن را انجام می دهد (هوگس و استاچویکس، ۲۰۱۳). سویه لیپوفروم[1] در آزوسپیریلوم سبب احیاء گلوتاتیون شده و زمانی که کمبود آب رخ می دهد آب کشیدگی در گیاه را به تاخیر انداخته و سبب آزاد شدن سوپر اکسید دیسموتاز از پپتیدها می شود. ادامه این روند فرآیند خود هضمی[2] اکسیژن را در گلوتاتیون پر اکسیداز تحریک کرده و رشد گیاه در شرایط کمبود آب را موجب می شود (بارگس و همکاران، ۲۰۱۲). به نظر می رسد بروز تنش کمبود آب در گیاهان سبب جابجایی و کاهش ترکیبات آلی می شود و توزیع فضایی سوپراکسید دیسموتاز می تواند در برقراری مقاومت نسبت به کمبود آب مهم باشد (زی هانگ و سو، ۲۰۱۱).

ازتوباکترها کلا پلی مورفیک بوده و سویه کروکوکوم[3] در این باکتری قادر است اکسیداسیون تیروزین توسط آنزیم تیروزیناز را تحریک کرده و رشد ریشه در زمانی که میزان رطوبت در ناحیه ریزوسفر کم است را سبب شود (ایپک و همکاران، ۲۰۱٤). مهار تیروزین توسط ازتوباکتر از جدا شدن رشته های DNA و RNA به هنگام بروز کمبود آب جلوگیری نموده و بقای سلول را از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت افزایش می دهد (شیاب و همکاران، ۲۰۱۳). ازتوباکتر با سه راهکار عمده باعث افزایش رشد می گردد: ۱) افزایش پتانسیل آب در منطقه ریشه که سبب افزایش آب قابل جذب در ریزوسفر می شود؛ ۲) مسمومیت یون هایی نظیر سدیم و کلراید را کاهش می دهد؛ ۳) برقراری توازن در انتقال عناصر غذایی در شرایط تنش از طریق افزایش گلوتاتیون محلول در آب (کالوو و همکاران، ۲۰۱٤). مطالعات نشان می دهند کاربرد ازتوباکتر به همراه آزوسپیریلوم در جو علاوه بر افزایش فراهمی عناصر غذایی در شرایط کمبود آب از تشدید شدت تنش اسمزی که در اثر افزودن کودهای شیمیایی اتفاق می افتد بواسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت جلوگیری به عمل می آورد (گاریدو و همکاران، ۲۰۱٤). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت می تواند به دلیل نقش آزوسپیریلوم و ازتوباکتر در کاهش میزان کند کننده‌های رشد از قبیل ابسزیک اسید باشد و این بواسطه تولید اکسین در شرایط تنش و اتصال سوپر اکسید دیسموتاز به رادیکال آزاد اکسیژن بوده و یکی از مهم ترین ساز و کارها در مورد سویه های کروکوکوم و لیپوفروم محسوب می شود (برس و همکاران، ۲۰۱۲).

گلوتاتیون ردوکتاز ترکیب آلی با وزن مولکولی کم و لیگاند شیمیایی با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای پیوند شدن با آهن و اکسیژن است (کایوریگا و همکاران، ۲۰۱۲). بعضی از سویه های باکتری قادرند در شرایط کمبود آهن قابل دسترس که در زمان کمبود آب بوجود می آید گلوتاتیون ردوکتاز ترشح کنند (نیوتن و همکاران، ۲۰۱٤). این سازوکار علاوه بر تامین آهن و آب مورد نیاز گیاه اثر غیر مستقیمی هم بر رشد گیاهان می گذارد چون گلوتاتیون ردوکتاز به گلوتاتیون پراکسیداز تبدیل شده و سبب افزایش دسترسی میکروارگانیسم ها به آهن می شود (ما و همکاران، ۲۰۱٤). از مهم ترین تولید کنندگان ردوکتاز در گیاه، سودوموناس می باشد (کیم و همکاران، ۲۰۱۵). اهمیت ویژه سویه های مختلف سودوموناس در بین انواع متابولیت های میکروبی که در ریزوسفر آزاد می شوند، از یک سو به دلیل نقش کلیدی گلوتاتیون ردوکتاز در فرآیندهای متابولیک حیاتی در گیاهان و از سوی دیگر با ویژگی‌های خاص عنصر آهن در خاک ارتباط پیدا می کند (نیتنر و همکاران، ۲۰۱٤). در تحقیقی نشان داده شد که میزان گلوتاتیون ردوکتاز در اندام های هوایی جو در

1- Lipoferum
2- Autolize
3- Chrococcum

کمپلکس تشکیل شده با آهن بیشتر بوسیله سویه پوتیدا[4] صورت گرفت به طوری که تحت این شرایط میزان رادیکال های آزاد اکسیژن موجود در بافت کاهش یافت (جانگ و همکاران، ۲۰۱٤). این امر نشان می دهد که سودوموناس می تواند موجب افزایش سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پر اکسیداز در گیاه شده و سبب کاهش اثرات منفی تنش بر رشد و توسعه اندام های گیاهی بویژه ریشه در شرایط کمبود آب شود (بائنگ و همکاران، ۲۰۱۳).

بر این اساس هدف از اجرای این پژوهش، بررسی افزایش میزان سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تاثیر باکتریهای محرک رشد در شرایط تنش کمبود آب و نقش آن بر عملکرد در رقم والفجرجو بود.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد. مختصات جغرافیایی مکان آزمایش طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ′۱۲ و °٤٦ شرقی، ′٤١ و °۳۲ شمالی، ارتفاع از سطح دریا ۱۸۰۰ متر و آب و هوای منطقه نیمه مرطوب بود. جهت بررسی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک، از خاک محل آزمایش نمونه برداری صورت گرفت که نتایج در جدول ۱ ارائه شده است.

این طرح به صورت کرت های خرد شده با ٤ تکراردر قالب بلوک های کامل تصادفی به‌طوری‌که رژیم آبیاری در ۳ سطح شامل آبیاری در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (۲۰ درصد تخلیه رطوبتی) (I_1)، آبیاری در ٦٥ درصد ظرفیت زراعی (۳٥ درصد تخلیه رطوبتی) (I_2) و آبیاری در ٥۰ درصد ظرفیت زراعی (٥۰ درصد تخلیه رطوبتی) (I_3)در کرت اصلی و ۷ تیمار باکتری (B) شامل آزوسپریلوم لیپوفروم ، ازتوباکتر کروکوکوم ، سودوموناس پوتیدا ، سودوموناس×ازتوباکتر ، سودوموناس× آزوسپریلوم و ازتوباکتر× آزوسپریلوم و شاهد (عدم استفاده از باکتری) در کرت فرعی قرار گرفت. بین هر دو کرت فرعی، یک متر و بین هر دو کرت اصلی، ۱/٥ متر فاصله منظور شد و فاصله بین دو تکرار نیز دو متر تعیین گردید. هر کرت آزمایشی شامل ٥ خط (۲ خط بعنوان حاشیه و ۳ خط برای نمونه گیری و اندازه گیری صفات) به طول ٦ متر بود. جهت اعمال تنش از یک روش ساده استفاده شد و برای ارزیابی ظرفیت زراعی مزرعه (FC) یک کرت ۲×۲ را تهیه و آن را کاملاً پر از آب نموده و روی آن با پلاستیک محصور شد تا خاک کاملاً اشباع شود و بعد از مدت ۲٤ ساعت که آب خلل و فرج درشت خاک توسط نیروی ثقل خارج شد و توسط روش آتکینسون و اوروین (۲۰۱۲) ، ظرفیت زراعی با دستگاه رطوبت سنج دستی دو بار اندازه گیری شد تا دو روش با هم مقایسه و تفاوت چندانی دیده نشود. اعمال تیمار کمبود آب از ۱٥ اردیبهشت بدین صورت انجام گرفت که رطوبت خاک پس از اینکه به میزان مورد نظر رسید (کنترل رطوبت با دستگاه رطوبت سنج) آبیاری انجام شد (تنش بر اساس دور آبیاری) به طوری که در تیمارهای تنش ۲۰، ۳٥ و ٥۰ درصد به ترتیب هر ٦، ۹ روز و ۱۲ روز یک بار آبیاری انجام گرفت. برای جلوگیری از نفوذ رطوبت در اثر بارندگی احتمالی تیمارهای ٦٥ و ٥۰ درصد ظرفیت زراعی در ۱٥ اردیبهشت با داربست و نایلون پوشش داده شد.

در تیمارهای مایه زنی بذر با ریزوباکترها، پس از محاسبه میزان بذر برای هر تیمار مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح که هر گرم آن دارای جمعیت $۹^{۱۰}\times۵$ (ازتوباکتر) ، $۷^{۱۰}\times۲$ (سودوموناس) و $٦^{۱۰}\times۸$ (آزوسپیریلوم) باکتری زنده و فعال بود از موسسه داروسازی رازی کرج تهیه و برای هر ۱۰۰ گرم بذر تعیین و پس از ریختن بذور در داخل کیسه های پلی اتیلنی و اضافه کردن محلول ۱ درصد آب و شکر برای چسبناک کردن سطوح بذور، کیسه حاوی بذر و ماده چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند تا سطح کلیه بذرها به طور یکنواخت چسبناک شود. پس از آن، مایه تلقیح به بذرهای چسبناک اضافه گردید و پس از ٤٥ ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایه تلقیح به بذرها، بذرهای آغشته شده را روی ورقه آلومینیومی تمیز در سایه پهن گردیدند تا سطح بذور تا حدودی خشک گردند و سپس به سرعت نسبت به کاشت بذور اقدام گردید. برای تیمارهای سودوموناس×ازتوباکتر ، سودوموناس× آزوسپریلوم و ازتوباکتر×آزوسپریلوم ، ۱۰ گرم (مجموعا ۲۰ گرم) از هر مایه تلقیح با هم مخلوط و برای ۱۰۰ گرم بذر در نظر گرفته شد (ایپک و همکاران، ۲۰۱٤). کاشت بذور روی خطوط کاشت و در عمق ٤ سانتی متری در ۱۰ مهر ماه و برداشت در ۱۰ تیرماه انجام و رقم مورد کاشت، والفجر بود.

4- Putida

جدول ۱- مشخصات خاک قطعه زمین مورد کشت آزمایشی (عمق ۳۰-۰ سانتی متری)

pH	EC ($ds.m^{-1}$)	N (٪)	P $Mg.kg^{-1}$	K $Mg.kg^{-1}$	SP (٪)	OM (٪)	بافت	Clay (٪)	Silt (٪)	Sand (٪)
/۱۵ ۷	۲/۳۱	/۰۵۹ ۰	۳/۸۲	۱۵۸	/۸۹ ٤٤	۱/۸۸	سیلتی رسی	۳۷	٤۷	۲۱/۲

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده

		میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	گلوتاتیون پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
تکرار	۳	^{ns}۰/٦٥٤	^{ns}۰/۹۳۱	^{ns}۰/۷٥۲	^{ns}۰/۸۳۲	^{ns}۰/۷۹۱
(a)تنش کمبود آب	۲	**۳۹٥/٤۲	**۲٥۹/٦۱	**۲٦۸/٤٦	**۳۰۲/۷۱	۱۱۹۸/۳٥ **
خطای a	٦	۱٦/۲۱۳	٥/٦۱۱	٦/۷۹۷	٥/۹۹۸	۱٥/۷۰۳
(b) کود زیستی	٦	**۳٥٥/٤۳	**٥۲٥/٤٤	**٤٥٥/۳۲	**٤۸٥/۹٤	**۹۲۱/۳٦
abبرهمکنش	۱۲	**۲۸۱/۷٦	**٤۳۹/٦۸	**۳۱۲/۲٦	**۳٥۳/٥۱	**٦۷٦/۲۲
b خطای	٥٤	۷/٤٤۷	٤/٥٥۲	٥/۷٤۱	٤/۱۱۹	٥/٦۱٤
ضریب تغییرات ٪		٥/٤٤	٦/۲۷	٦/۰۲	٥/۹۷	٤/۷۹

ns و**: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۱٪

برای ارزیابی آنزیم ها پس از شستشوی برگ ها (۵۰۰ گرم برگ برای هر تیمار) ۲۰ روز بعد از اعمال تنش، بلا فاصله آنها را در بافر فسفات تریس ۰/۱٦ مولار با pH= ۷/۵، خرد و هموژن کرده و سپس مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش پاگلیا و ولنتاین (۱۹۸۷) برداشته و در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس تغییرات جذب نوری حاصل از اکسیداسیون اپی نفرین (چانگ و همکاران، ۲۰۱۵) اندازه گیری و بعنوان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) [1] بر اساس یک واحد آنزیم در هر گرم پروتئین برگ در نظر گرفته شد.

برای فعالیت گلوتاتیون پر اکسیداز (GPX) [2] برگ ها بوسیله آب مقطر شستشو و بلافاصله در بافر فسفات تریس ۰/۱٦ مولار با pH= ۷/۵، خرد و هموژن کرده و آنگاه اجازه داده شد فرآیند هضم غشاء و دیواره سلولی پیش رود. سپس بر اساس روش لی و کیم (۲۰۰۱) میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در۳٤۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتیگراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو مدل (u 100 z) بر اساس یک واحد آنزیم موجود در هر گرم پروتئین برگ اندازه گیری شد.

جهت تعیین وزن دانه پس از جمع آوری سنبله ها تعداد دانه در ۵ سنبله از هر تیمار بطور تصادفی شمارش و سپس برای ارزیابی وزن هزار دانه، از هر تیمار دو نمونه ۵۰۰ تایی انتخاب و توزین و در صورتی که اختلاف وزن کمتر از پنج درصد بود، مجموع وزن آنها به عنوان وزن هزار دانه در نظر گرفته شد. پس از برداشت تمام اندام های هوایی گیاه از مساحت یک مترمربع تعداد ۵ بوته در نظر گرفته شد و دانه ها جدا و عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد.

جمع آوری داده ها و تجزیه واریانس کلیه صفات مورد بررسی بوسیله نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد و میانگین داده ها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

سوپر اکسید دیسموتاز

1 - Superoxide dismutase
2 - Glutathione peroxidase

نتایج تجزیه واریانس در مورد سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در اثر عوامل آزمایشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲).

با افزایش شدت کمبود آب میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافت. این میزان افزایش در تیمارهای ٦٥ و ٥٠ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در شرایط تلقیح بذر با آزوسپیریلوم سبب افزایش ۷/۹۵ و۱٤/۳۱ درصدی و در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم سبب افرایش ۱۳/٦ و۱٥/٤ درصدی نسبت به شاهد گردید بطوریکه میزان افزایش سوپر اکسید دیسموتاز در تیمارهای فوق به ترتیب در سودوموناس ٥/٦٧ و ۱۲/٥۹درصد، ازتوباکتر ٤/٦۱ و۱۱/٤۱ درصد، تیمار ازتوباکتر×آزوسپیریلوم، ۱۲/۷٤و۱٤/۹٥ درصد و تیمار سودوموناس×ازتوباکتر، ۱۱/۸ و ۱٤/٤۹ درصد نسبت به شاهد بود (جدول ۳). جانگ و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که کودهای زیستی خصوصا آزوسپیریلوم با افزایش فراهمی عناصر و بهبود شرایط خاک برای جذب مواد غذایی باعث افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب می شود ولی چون در شرایط کمبود آب میزان رطوبت در ریزوسفر کاهش می یابد با توجه به اثر تدریجی مثبت کودهای زیستی در توسعه ریشه و آنزیم های آنتی اکسیدانت قطعا تولید آنتی اکسیدان ها در سلول افزایش می یابد. گزارش های دیگر نشان می‌دهد ممانعت کود زیستی از پیشرفت آسیب تجمعی در پاسخ به کمبود آب از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت فرضیه‌ای است که تاثیر مثبت این ترکیبات را روی آنها در شرایط تنش را نشان می‌دهد. این فرضیه با استفاده از آزوسپیریلوم در جو مورد تایید قرار گرفته است (رائو و همکاران، ۲۰۱٤) و اساس تحقیق انجام شده بر همین مبنا بود.

گلوتاتیون پراکسیداز

نتایج نشان داد که از لحاظ سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد در بین عوامل آزمایشی و اثرات متقابل آنها وجود دارد (جدول ۲) به طوری که تحت شرایط تنش کمبود آب میزان گلوتاتیون پراکسیداز تحت تاثیر کود زیستی افزایش یافت (جدول ۲). این گونه به نظر می رسد که افزایش سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در شرایط کمبود آب بدلیل تبدیل رادیکال آزاد اکسیژن به آب باشد. بعلاوه این افزایش سطح فعالیت مانع از قطعه قطعه شدن میتوکندری در اثر کم آبی می گردد (کریسن و همکاران، ۲۰۱٥).

با توجه به نتایج کمبود آب، اثر مثبت بر گلوتاتیون پراکسیداز داشته و میزان افزایش در تیمارهای ٦٥ و ٥٠ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در شرایط تلقیح بذر با آزوسپیریلوم معادل ۱۹/۹٤ و ۲۱/۸۳ درصد و در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم سبب افزایش ۳۰/۳٥ و ۳۰/۰۱ درصدی نسبت به شاهد گردید به طوری که این میزان افزایش در تیمارهای فوق به ترتیب در سودوموناس ۱۹/٥٦و۱۸/۰۱ درصد، ازتوباکتر ۱٥/۲۸و۱۳/۹۷درصد، تیمار ازتوباکتر×آزوسپیریلوم، ۲۷/٥۷و۲۸/۰۱درصد و تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم، ۲٦/٤۳ و ۲٥/۸۹ درصد نسبت به شاهد بود (جدول ۳).

گزارشات چانگ و همکاران (۲۰۱٤) نشان داد در شرایط کمبود آب تلقیح بذر جو با آزوسپیریلوم و سودوموناس و ترکیب این دو باکتری میزان گلوتاتیون پراکسیداز را به ترتیب ۱۸/۰٥ ، ۱٦/۸٤ و ۲۳/٥۷ درصد افزایش داد. این افزایش می تواند به دلیل جلوگیری از تسریع خشک شدن برگ باشد زیرا گلوتاتیون قادر است از جدا شدن ریبوزوم‌ها به هنگام بروز تنش های محیطی جلوگیری کرده و ترجمه پروتئین ها که بعنوان منبع تامین انرژی در گیاه محسوب می شوند را توسط رشته های DNA و RNA تحریک کرده و مرگ سلول در اثر کم آبی را به تاخیر اندازد (کالوو همکاران، ۲۰۱٤). بنابراین افزایش میزان گلوتاتیون پر اکسیداز در این آزمایش با مصرف توام آزوسپیریلوم و سودوموناس می تواند به همین دلیل باشد (جدول ۳).

تعداد دانه در سنبله

نتایج جداول ۲ و ۳ نشان می دهند استعمال کود زیستی تاثیر معنی دار در سطح ۱ درصد داشته و نسبت به شاهد سبب افزایش در تعداد دانه در سنبله شده است. تعداد دانه در سنبله در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم حداکثر بود و در تیمارهای ٦٥ و ٥٠ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۳۳/۱۰ و ۲۳/۷۰ بود (جدول ۳). تعداد دانه در سنبله یکی از پارامترهای مهم عملکرد دانه می‌باشد. تعداد دانه در هر سنبله بستگی به طول سنبله دارد که تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در طول دوره رشد است (بانگ و همکاران، ۲۰۱۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش کمبود آب و کود زیستی بر صفات مورد بررسی

تنش کمبود آب	کود زیستی	گلوتاتیون پر اکسیداز (واحد بر گرم پروتئین برگ)	سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر گرم پروتئین برگ)	تعداد دانه در سنبله	وزن هزاردانه (g)	عملکرد دانه (kg/ha)
I_1	شاهد	۷/۸۹d	۳۸۱/۲٤d	۳٤/۷۷e	۳۹/۷۷c	۳۲٥٥e
	آزوسپیریلوم	۹/۸۲ab	٤۰۲/۳۷c	۳۹/٦۰c	٤۱/۲۰a	۳٦۳۰b
	سودوموناس	۸/۷۹c	۳۹٦/۲۲cd	۳٦/٤۰d	۳۷/٦۰ d	۳٥۲۷c
	ازتوباکتر	۸/٤۱c	۳۹۳/٤۱cd	۳٤/٥۰e	۳۹/۳۰ c	۳٤۰۱d
	سودوموناس×آزوسپیریلوم	۱۰/٥٥ab	٤۳۳/٥٤a	٤٤/۸۰a	٤۱/۹۰a	۳۸٤۷a
	ازتوباکتر×آزوسپیریلوم	۱۰/۳۱ab	٤۲٦/۸٦ab	٤۱/۳۰b	٤۱/۳۰ a	۳۸۱٦a
	سودوموناس×ازتوباکتر	۹/۹٤ab	٤۲٥/۰۱ab	٤۱/۸۰ b	٤۰/٤۰b	۳۷۰۱b
I_2	شاهد	۷/۹۹d	۳۸۳/۱۱d	۲٤/٦۰j	۲۸/٥٦ i	۲۸٤۱g
	آزوسپیریلوم	۹/۹۸ ab	٤۱٦/۱۹c	۳۱/٤۰ g	۳۱/۳۰ef	۳۱۸۷ef
	سودوموناس	۹/۸۱ab	٤۰٦/۱۲ c	۲۸/۳۰ hi	۲۸/۹۰ gh	۳۱۹۱ef
	ازتوباکتر	۹/٤۳b	٤۰۱/٦۰ c	۲۷/۸۰ hi	۲۹/٤۰gh	۳۱۲۰ef
	سودوموناس×آزوسپیریلوم	۱۱/٤۷a	٤٤۲/٦٥ a	۳۳/۱۰ ef	۳۲/٦۰e	۳٤۰۲d
	ازتوباکتر×آزوسپیریلوم	۱۱/ ۰۳ a	٤۳۹/۰۲ab	۳۲/٤۰ ef	۳۱/۷۰ef	۳۲۹۸e
	سودوموناس×ازتوباکتر	۱۰/۸٦ a	٤۳٤/۳۲ ab	۳۱/٥۰ g	۳۱/۲۰ ef	۳۲٦٤e
I_3	شاهد	۸/٥٦c	۳۸٦/۲٥d	۲۰/۹۰lm	۲۲/٥۰n	۲۲۰٤i
	آزوسپیریلوم	۱۰/۷٥a	٤٥۰/۷٥a	۲۱/۷۰l	۲۳/۲۰k	۲۷٤۲g
	سودوموناس	۱۰/٤٤ab	٤٤۱/۸۷a	۲۰/۲۰lm	۲۰/۹۰lm	۲٦۸٥b
	ازتوباکتر	۹/۹٥ab	٤۳٥/۹٦ab	۲۲/٤۰jk	۲۱/٤۰lm	۲٥۹۳gh
	سودوموناس×آزوسپیریلوم	۱۲/۲۳a	٤٥٦/٥٤a	۲۳/۷۰j	۲٤/٦۰jk	۲۸۰۱g
	ازتوباکتر×آزوسپیریلوم	۱۱/۸۹a	٤٥٤/۱۰a	۲۳/۱۰jk	۲۳/۹۰k	۲٦۱۰gh
	سودوموناس×ازتوباکتر	۱۱/٥٥a	٤٥۱/٦۸a	۲۲/۹۰jk	۲۳/۸۰k	۲۷۸۳g

حروف غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشند

پتانسیل تعداد سنبله و تعداد دانه در سنبله قبل از مرحله گلدهی تعیین می‌شود، در نتیجه تحت تأثیر شرایط پس از گلدهی قرار نمی‌گیرند پس می توان گفت کودهای زیستی قادرند در شرایط کمبود آب کارآیی انتقال عناصر غذایی را افزایش داده (چانگ و همکاران، ۲۰۱٤) به طوری که تحت این شرایط تعداد دانه در سنبله در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (٤٤/۸) نسبت به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (۲۲/۹) تفاوت معنی دار وجود داشت.

نتایج حاصل از اکثر مطالعات انجام گرفته بر روی رشد غلات و استعمال کودهای زیستی حاکی از افزایش شاخص های رشد رویشی و زایشی در این گیاه است زیرا کود زیستی قادر است میزان انتقال اکسین و جیبرلین را در شرایط تنش کمبود آب در حد بالا حفظ کرده و و اجزای عملکرد را از طریق تاثیر بر فعالیت آنتی اکسیدانت ها افزایش دهد (نیتنر و همکاران، ۲۰۱٤).

وزن هزار دانه

در جدول ۳ همانطور که مشاهده می گردد تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم تأثیر بیشتری در افزایش وزن هزار دانه نسبت به شاهد در شرایط کمبود آب داشته است. به طوری که این تیمار در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین وزن هزار دانه را به میزان ٤۱/۹۰ گرم و در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان وزن هزار دانه ۲٤/٦۰ گرم گردید. پس می توان گفت که اثر متقابل آزوسپیریلوم و سودوموناس نقش مخرب تنش کمبود آب را تا حدودی خنثی کرده است. همانطور که در جدول ۲ دیده می شود در تیمارهای ٦۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی وزن هزار دانه به ترتیب در شاهد ۲۸/۵٦ و ۲۲/۵۰ گرم بود ولی با مصرف کود زیستی وزن دانه افزایش پیدا کرد به طوریکه در تیمار

سودوموناس×آزوسپیریلوم وزن هزار دانه به ترتیب ۳۲/۶۰ و ۲٤/٦۰ گرم شد.

تغییرات وزن هزار دانه نسبت به تعداد دانه در سنبله می تواند واکنشی در جهت تعدیل مخزن با منبع باشد. با کاهش تعداد دانه در سنبله مواد غذایی بیشتری به دانه های باقی مانده در سنبله ها انتقال می یابد و در ژنوتیپ های مختلف با مکانیسم خود تنظیمی و ایجاد تعادل بین اجزای عملکرد وزن هزار دانه افزایش خواهد یافت (برس و همکاران، ۲۰۱۲). وزن هزار دانه از اجزای نسبتاً پایدار عملکرد دانه غلات می باشد و این پایداری در ارتباط با تحرک ذخایر فتوسنتزی از ساقه و سایر اندام های رویشی است که می تواند کاهش محصول مواد فتوسنتزی را جبران نماید. بطورکلی عوامل محیطی در اوایل فصل رشد بیشتر بر تعداد دانه مؤثر هستند در صورتی که اندازه دانه عمدتاً توسط عواملی تعیین می شود که بعد از گرده افشانی اثرگذار هستند. مقدار مواد پرورده موجود برای انتقال به سنبله در فاصله گرده افشانی تا رسیدن تعیین می گردد چون بخش عمده وزن خشک دانه از فتوسنتز جاری پس از گلدهی تأمین می گردد و با توجه به این که کود نیتروژن اثر مثبتی روی فتوسنتز جاری دارد، پس این امر می تواند یکی از دلایل افزایش وزن دانه در این تیمار باشد (کایوریگا و همکاران، ۲۰۱۲).

وزن هزار دانه تنها جزء از اجزای عملکرد است که به شرایط محیطی دوره پس از گلدهی بستگی دارد. در عین حال کاهش وزن دانه می تواند باعث کاهش معنی دار عملکرد دانه گردد. نیوتن و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند بیشترین وزن هزار دانه در جو مربوط به سویه لیپوفروم در آزوسپیریلوم (۳۷/٤٤ گرم)، پوتیدا در سودوموناس (۳۵/۹۱ گرم) و کروکوکوم (۳٦/۲۳ گرم) در ازتوباکتر بود. از دلایل بالا بودن وزن هزار دانه ژنوتیپ های تلقیح شده با باکتری های مورد نظر را می توان به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت اشاره کرد که باعث فتوسنتز بیشتر و ساخت و ساز و ذخیره سازی بیشتر مواد غذایی شده است به طوری که رسیدن وزن هزار دانه به حدود ۳۲ گرم در شرایط تنش کمبود آب عمدتا به همین عامل مربوط می شود (جدول ۳).

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس آماری نشان داد عملکرد دانه از نظر آماری تحت تأثیر اثر متقابل تنش کمبود آب و کود زیستی دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد بود. معنی دار شدن (در سطح ۱ درصد) نیز ناشی ازهم روند نبودن تغییرات حاصله درعملکرد و وزن هزار دانه درسطوح مختلف از فاکتورهای مزبور ضمن اینکه بخشی از آن بدلیل معنی‌دار شدن اثر متقابل است و پایین بودن میزان ضریب تغییرات نشان دهنده دقت بالای آزمایش بود (جدول۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد باکتری قادر است در شرایط تنش کمبود آب عملکرد دانه را افزایش دهد (جدول ۲).

بیشترین عملکرد دانه با میانگین ۳۸٤۷ کیلوگرم در هکتار مربوط به شاهد در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و سودوموناس×آزوسپیریلوم بدون اختلاف معنی دار با ازتوباکتر×آزوسپیریلوم و کمترین آن با میانگین ۲۲۰٤ کیلوگرم در هکتار متعلق به تیمار آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در شاهد بود. همچنین استفاده از کود زیستی سبب افزایش عملکرد دانه شد ولی میزان افزایش در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم به حداکثر رسید. بر اساس نتایج بدست آمده میزان عملکرد دانه در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم در۵۰ درصد ظرفیت زراعی فقط با ۲۷/۲ درصد کاهش (با عملکرد ۲۸۰۱ کیلوگرم در هکتار) و در شرایط آبیاری در ٦۵ درصد ظرفیت زراعی با ۱۱/۵۷ درصد کاهش (با عملکرد ۳٤۰۲ کیلوگرم در هکتار) نسبت به آبیاری نرمال (با عملکرد ۳۸٤۷ کیلوگرم در هکتار) در تیمار سودوموناس×آزوسپیریلوم روبرو بود (جدول ۳).

اثرات مفید باکتری های ازتوباکتر، سودوموناس و آزوسپیریلوم و بخصوص اثر متقابل سودوموناس پوتیدا و آزوسپیریلوم لیپوفروم ممکن است در نتیجه مشارکت آنها در افزایش رشد گیاه به واسطه تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفات نامحلول خاک و تولید هورمون های گیاهی باشد که مجموعه این عوامل می تواند جذب بیشتر مواد غذایی توسط گیاه را تحریک کرده و منجر به بهبود فرآیند فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه شود (میشلر و همکاران، ۲۰۱۲ و جاینس، ۲۰۱۱).

تحقیقات چانگ و همکاران (۲۰۱٤) نشان داد تاثیر تلقیح بذر با مخلوط سودوموناس و آزوسپیریلوم در جو باعث افزایش معنی دار عملکرد دانه در شرایط کمبود آب نسبت به شرایط عدم کاربرد آن شد. بر اساس مطالعات بارگس و همکاران (۲۰۱۲) تلقیح بذر با آزوسپیریلوم برازیلنس و آزوسپیریلوم لیپوفروم توسعه ریشه و عملکرد دانه را در گندم بهاره و ذرت در شرایط کمبود آب افزایش داده است. تاورنا (۲۰۱۲) نشان داد که تلقیح بذر جو با آزوسپیریلوم لیپوفروم و سودوموناس پوتیدا، منجر به افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب می‌شود و این افزایش به دلیل کاهش آسیب اکسیداتیو ایجاد شده بود. علت اثر

مهاری کود زیستی بر تنش کمبود آب و در نهایت افزایش عملکرد را می توان عمدتا به عدم تخریب ساختار کلروپلاست، افزایش سنتز و کاهش سرعت تجزیه کلروفیل نسبت داد (چانگ و همکاران، ۲۰۱۶). پس آنزیم های آنتی اکسیدانت، آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس و مصرف توام باکتری ها قادرند تا حدودی از اثرات مخرب رادیکال های آزاد اکسیژن در شرایط تنش جلوگیری کنند و افزایش میزان عملکرد تحت تاثیر باکتری در شرایط کمبود آب عمدتا به همین عامل مربوط می شود (تاو و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج بالاترین عملکرد در شرایط آبیاری کامل و ترکیب آزوسپریلوم و سودوموناس بود. مقایسه میانگین صفات در شرایط کاربرد کود زیستی نشان داد که مصرف کود زیستی (سودوموناس، آزوسپیریلوم و ازتوباکتر) خصوصا مصرف توام آزوسپریلوم و سودوموناس میزان آنزیم های آنتی اکسیدانت افزایش یافته و بالاترین عملکرد در این تیمار در شرایط تنش مشاهده شد. مصرف توام ازتوباکتر و آزوسپیریلوم و سودوموناس و ازتوباکتراز نظر تاثیر بر روی صفات در رده دوم و سوم قرار گرفتند و از نظر آماری تفاوت معنی دار بین آنها در اکثر موارد وجود نداشت ولی همین مقادیر ناچیز اثر مثبت بر روی عملکرد و اجزای عملکرد در شرایط کم آبی گذاشت.

منابع

Atkinson, N.J. and P.E.Urwin. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. J. Exp. Bot. 63: 3523-3543.

Baeg, A.L., D.C. Yang and A. Hilkert. 2013. Antioxidant rate on metabolism and membrane stability in barley. Plant physiol. 38: 189-197.

Beres, B.L., R.H. McKenzie, H.A. Cárcamo, L.M. Dosdall, M.L. Evenden, R.C. Yang and D.M. Spaner. 2012. Influence of seeding rate, nitrogen management and micronutrient blend applications on pith expression in solid-stemmed spring wheat. Crop Sci. 52: 1316-1329.

Burgess, M. H., P. Miller and C. Jones. 2012. Pulse crops improve energy intensity and productivity of cereal production in Montana, U.S.A. J. Sus. Agric. 36: 544-561.

Calvo-Polanco, M., B. Sánchez-Romera and R. Aroca. 2014. Mild salt stress conditions induce different responses in root hydraulic conductivity of barley. Over-Time. 9 (3): 320-326.

Chung, I.M., I. Park, J.Y. Yoon and S.H. Kim. 2014. Determination of antioxidants authenticity using carbon and nitrogen natural isotopes. Food Chem. 160: 214-218.

Chung, I.M., J.J. Lim, M.S. Ahn and S.H. Kim. 2016. Comparative phenolic compound profiles and antioxidative activity of the leaves and roots of barley according to cultivation years. J. Gins. Res. 40: 68-75.

Creissen, H.E., T.H.Jorgensen and J.K.M. Brown. 2015. Impact of disease on diversity and productivity of barley plant populations. Funct. Ecol. 61: 1365-1374.

Garrido, Y., M. Tudela, and L. Sharma. 2014. Physiological and structural changes of antioxidant enzymes in barley caused by drought stress. J. Chem. 75: 290-298.

Hillocks, R.J. 2012. Farming with fewer bio fertilizers in barley with water deficit stress. Crop Protec. 31: 85-93.

Hughes, A.R. and J.J.Stachowicz. 2013. Barley genotypic diversity increases azospirillum response via complementarity and dominance. J. Ecol. 108: 275-284.

Ipek, M., L. Pirlak, A. Esitken and F. Sahin. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) increase of antioxidant activity in barley under water deficit conditions. J.Plant Nutr. 36 (8): 1205-1214.

Jang, I.B., D.Y. Hyun, S.W. Lee and G.H. Kim. 2014. Analysis of growth characteristics affected by application of azospirillum and pseudomonas in barley field. Crop Sci. 22: 441-450.

Jaynes, D.B. 2011. Confidence bands for measured economically optimum nitrogen rates. Prec. Agric. 12: 196-213.

Kim, K., J.H. Song, S.C. Heo and J.S. Min. 2015. Discrimination of $PGPR_S$ on glutathione in barley. Forensic Science Int. J. 301:115-126.

Kyveryga, P.M., T.M. Blackmer and R. Pearson. 2012. Normalization of uncalibrated late-season digital aerial imagery for evaluating corn nitrogen status. Prec. Agric. 13: 2-16.

Lee, D.H. and Y.S. Kim. 2001. The inductive response of the antioxidant enzymes by water deficit stress and selenium in C4 plants. Plant Physiol. 770: 151-174.
Ma, Y., M.N.V. Prasad and H. Freitas. 2014. Biofertlizer and cell antioxidants in solun chalk soils. Soil Biol. 64: 425-432.
Mischler, R.D., F.W Badeck and G. Tcherkez. 2012. Post photosynthetic of stable antioxidant enzymes in organs with bio fertilizer. Agron. J. 298: 840-848.
Mittler, R., and E. Blumwald. 2014. Genetic engineering for antioxidants in water deficit challenges and efficiencies. Plant Biol. 80: 671-680.
Newton, A.C., A.J. Flavell, and T.S. George. 2012. Crops that feed the world 4. Barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. Food Secure. 3: 141-178.
Nietner, T., S.A. Haughey, N. Ogle and C.T. Elliott. 2014. Determination of geographical origin of distillers dried grains and solubles using isotope ratio mass spectrometry. Food Res. Int. 60: 146-153
Paglia, D.E. and W.N. Valentine. 1987. Studies on quantitative and qualitative traits of glutathione peroxidase. Journal Lab Medical. 70: 158-165.
Rao, A., W. Weisany, and Z.K. Punja. 2014. Physiological responses of barley to biofertilizer application under low water stress. Aust. J. Crop Sci. 5: 1441-1447.
Sapoukhina, N., Paillard, S., Dedryver, F., de Vallavieille-Pope, C., 2013. Quantitative plant resistance in nutrition absorbance in dry lands. New Phytol. 200: 888-897.
Shiyab, S.M., M.A. Shatnawi, R.A. Shibli and M.W. Akash. 2013. Growth, nutrient acquisition and physiological responses of hydroponic grown tomato to sodium chloride salt induced stress. J. Plant Nutr. 36 (4): 665-676.
Tao, H., T.F. Morris and J. Neafsey. 2012. Nutrient applications reported by farmers compared with performance-based nutrient management plans. Agron. J. 104: 437- 447.
Taverna, D. 2012. Barley seed inoculation with bio products as in retranslocation of glutathione in plant tissue. J. Agric. Food Chem. 102: 982-992.
Zhong, B. and Y.J. Xu. 2011. Scale effects of geographical soil datasets on soil carbon estimation in Louisiana. USA: A comparison of STATSGO and SSURGO.

Relation of water deficit stress and biofertilizer on some of antioxidant enzymes activity and their role on grain yield variation in barley (*Hordeum vulgare*)

M. Dadnia[1]

Received: 2016-4-1 Accepted: 2016-8-28

Abstract

To evaluate the qualitative traits of barley in response to biofertilizers (Azotobacter, Pseudomonas and Azospirillum) with affected by different regimes of irrigation the experiment was carried out in Karaj Azad University research field in 2013 with split plot based on Completely Randomize Block Design with four replications. In this experiment irrigation treatments were in main plots with three levels which interrupt of irrigation at 80, 65 and 50% of field capacity (normal irrigation), (35 and 50 percent of humidity discharge) and sub plots contained seed inoculation with bacteria such as |inoculation with Azospirillum lipoferum, Azotobacter chrococcum, Pseudomonas putida, Pseudomonas×Azotobacter, Pseudomonas×Azospirillum, Azotobacter×Azospirillum | and control (un inoculation) in seven levels. The results of analysis of variance showed that biofertilizer had significant effect on antioxidant enzymes at 1% probability. The activity of antioxidant enzymes affected with biofertilizers were increased at water deficit condition which Azospirillum lipoferum caused increasing about 16.7% and 21.4% and Pseudomonas×Azospirillum caused increasing about 18.2% and 25.9% for superoxide dismutase and glutathione peroxidase in irrigation at 50% of field capacity, respectively than control. Yield showed low decrease in irrigation at 50% of field capacity than normal irrigation such as yield decreasing in irrigation at 50% of field capacity was only about 13.2% with affected by Azospirillum than normal irrigation. The data showed that biofertilizer have efficient role on barley yield at water deficit condition.

Keywords: Biofertilizer, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, water deficit

1- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran