

## اثر شوری و باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه گندم تتراپلوئید پوشینه‌دار در مقایسه با گندم دوروم

سمیرا طباطبائی<sup>۱</sup> و پرویز احسان‌زاده<sup>۲\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۹)

### چکیده

اطلاعات علمی کافی در زمینه گندم‌های پوشینه‌دار موجود نیست، لذا در مطالعه حاضر تغییرات محتوای کارتنوئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، غلظت مالون‌دآلدئید، پایداری غشاء و عملکرد دانه یک ژنوتیپ از گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار (به نام جونقان) در مقایسه با یک ژنوتیپ از گندم‌های دوروم (به نام یاواروس) در پاسخ به تیمار آب شور و باکتری محرک رشد به صورت آزمایش کرت‌های خرد شده فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سال زراعی ۱۳۹۲ - ۱۳۹۱ در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. سه سطح شوری آب (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام) به عنوان فاکتور اصلی و دو ژنوتیپ و چهار سطح سویه باکتری محرک رشد (شاهد، ۵۵۰، ۵۷ و UW3) به عنوان فاکتورهای فرعی در نظر گرفته شدند. شوری منجر به کاهش معنی‌دار عملکرد دانه (نزدیک به ۳۰ درصد)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و محتوای کارتنوئید شد، هم‌چنین شوری سبب کاهش پایداری غشاء و افزایش غلظت مالون‌دآلدئید شد که نشان‌دهنده تخریب غشاء سلولی است. سویه‌های باکتری تأثیر متفاوتی بر صفات مذکور داشتند. سویه ۵۵۰ منجر به افزایش ۴۴ درصدی عملکرد دانه در شرایط غیر شور و سویه UW3 منجر به افزایش ۲۴ درصدی عملکرد دانه در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار شوری شد. باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش پایداری غشاء در شرایط شور شدند. به‌طور کلی به نظر می‌رسد نوع تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر گندم‌های تتراپلوئید به ژنوتیپ، میزان شوری و سویه باکتری بستگی دارد. ژنوتیپ پوشینه‌دار جونقان از نظر صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه و عملکرد دانه ضعیف‌تر از ژنوتیپ یاواروس بود، ولی درصد کاهش عملکرد دانه آن در اثر شوری تفاوت معنی‌داری با ژنوتیپ یاواروس نداشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، باکتری محرک رشد، پایداری غشاء، شوری، گندم تتراپلوئید، مالون‌دآلدئید

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

\*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ehsanzadehp@gmail.com

## مقدمه

اگرچه در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک کمبود آب محدود کننده‌ترین عامل محیطی برای تولیدات گیاهی است (۴ و ۵) ولی شوری هم نقش به‌سزایی در کاهش عملکرد و تولید گیاهان در این نوع اقلیم‌ها دارد. میزان اراضی متأثر از شوری در سطح جهان حدود ۹۰۰ میلیون هکتار و یا چیزی حدود ۶٪ از کل اراضی جهان تخمین زده شده است (۱۸). از آنجا که از جمله منشاءهای اصلی شور شدن خاک‌ها عملیات کشاورزی و آبیاری است و به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک توقف آبیاری در آینده غیر ممکن به نظر می‌رسد، بنابراین پیش‌بینی می‌شود که گسترش شوری در آینده بیش از گذشته تهدید کننده توان تولید و امنیت غذایی جهانی باشد (۴۰). شوری منجر به بروز خشکی فیزیولوژیک، افزایش تجمع یون‌های سدیم و کلر و برهم خوردن تعادل تغذیه‌ای گیاه و حتی بروز تنش اکسیداتیو می‌شود (۳۰ و ۴۶). وجود نوعی همبستگی منفی خطی بین عملکرد دانه و ماده خشک گندم، جو و تریتیکاله و میزان شوری خاک اثبات شده است (۳۹). تنش شوری منجر به کاهش محتوای کلروفیل (۱۷)، فتوسنتز، وزن خشک بخش هوایی و ریشه، عملکرد و در شدت‌های بالا مرگ گیاه می‌شود (۲۸).

گندم دوروم (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*) با ژنوم AABB احتمالاً به دلیل فقدان لوکوس دفع کننده یون سدیم (Kna1) که بر روی ژنوم D قرار دارد در مقایسه با گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با ژنوم AABBDD به شوری حساسیت بیشتری دارد. گندم‌های پوشینه‌دار در هر سه سطح پلوئیدی دی، تترا و هگزا پلوئید وجود داشته و بسیاری از محققین، گندم‌های پوشینه‌دار را اجداد گندم‌های تترا و هگزاپلوئید امروزی دانسته‌اند (۳۷). طبق تحقیقات احسان‌زاده و همکاران (۱۴) در حال حاضر جمعیت‌هایی از گندم‌های پوشینه‌دار تتراپلوئید (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*) در نقاطی از ایران از جمله استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری به صورت کشت و زرع‌های محدود وجود دارد. این

گندم‌ها ممکن است منابع ژنی غنی جهت افزایش مقاومت به آفات، تحمل سرما و خشکی و توانایی رشد در خاک‌های فقیر از نظر مواد غذایی باشند (۱۴). انتخاب ژنوتیپ‌هایی با خصوصیات مطلوب از نظر پاسخ به شوری خاک و آب تا حدود زیادی تابع وجود تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و ژنوتیپ‌های داخل یک گونه است (۲۴). شیبانی‌راد و همکاران (۴۱) وضعیت کروموزومی و تلاقی‌پذیری گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار منطقه مرکزی ایران را تبیین و پوراژری و احسان‌زاده (۳۸) هم راندمان بالای مصرف نیتروژن آنها را گزارش کرده‌اند ولی اطلاعات کافی از پتانسیل این گندم‌های کمتر اصلاح شده برای بهره‌برداری در محیط‌های تنش‌زا وجود ندارد.

مدارک زیادی مؤید این هستند که ریزجانداران متعددی می‌توانند سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان شوند (۳۶). استفاده از میکروارگانیسم‌های همزیست و غیر همزیست با گیاهان زراعی یکی از راه‌کارهایی است که در دهه‌های اخیر جهت افزایش تحمل شوری در گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. مطالعاتی که در زمینه تأثیر باکتری‌های محرک رشد (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, PGPRs) بر افزایش تحمل تنش‌های زیستی و غیر زیستی انجام شده حاکی از آن است که برخی از باکتری‌های محرک رشد از طریق تأثیر بر خصوصیات فیزیولوژیک قادر به افزایش تحمل تنش‌های محیطی و افزایش عملکرد گیاه تحت تنش هستند (۲ و ۲۵). نقش باکتری‌های محرک رشد در افزایش تحمل شوری در گونه‌های گیاهی متنوعی از جمله تربچه (۲۹)، آفتابگردان (۴۴) و حبوبات (۲) گزارش شده است. با توجه به فقدان اطلاعات کافی در زمینه تحمل شوری و تغییرات فیزیولوژیک گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار تحت تیمار شوری و تأثیر احتمالی باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی‌های مذکور، هدف این مطالعه بررسی برهمکنش اثر شوری و سویه‌های باکتری محرک رشد بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد یک ژنوتیپ تتراپلوئید پوشینه‌دار در مقایسه با یک ژنوتیپ گندم دوروم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۲ - ۱۳۹۱، در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان (عرض جغرافیایی ۳۲° ۳۲' شمالی و طول جغرافیایی ۵۱° ۲۳' شرقی) انجام شد. ارتفاع مزرعه از سطح دریا ۱۳۶۰ متر و براساس گروه‌بندی کوپن دارای اقلیم نیمه‌خشک با تابستان‌های گرم و خشک است. میانگین درازمدت بارندگی و دمای سالیانه به ترتیب ۱۴۰ میلی‌متر و ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد است. بافت خاک مزرعه لوم‌رسی با وزن مخصوص ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب است.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمار اصلی شوری آب آبیاری در سه سطح شامل ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام (NaCl) و تیمارهای فرعی شامل ژنوتیپ‌های گندم تتراپلوئید یاواروس به‌عنوان گندم دوروم (بدون پوشینه) و جونقان به‌عنوان گندم تتراپلوئید پوشینه‌دار و باکتری محرک رشد در چهار سطح (شاهد، UW3، ۵۵۰ و ۵۷) بود. ژنوتیپ تتراپلوئید یاواروس (*T. turgidum* subsp. *Durum*) از مؤسسه تحقیقات نهال و بذر واقع در استان البرز و ژنوتیپ جونقان که از گروه گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار است (*T. turgidum* subsp. *dicoccum*) از کلکسیون گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شد.

سویه‌های باکتری *Pseudomonas putida* UW3 و ۵۵۰ (*Pseudomonas fluorescens*) از دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه واترلو-کانادا (۱۲) و سویه ۵۷ (*Pseudomonas* sp.) از دانشکده علوم خاک دانشگاه تهران تهیه شدند. کلیه سویه‌های باکتری مورد استفاده طبق آزمایشات مقدماتی مؤلفین این مقاله قادر به تولید ایندول استیک اسید (IAA) و ACC-دآمیناز بودند. زمین محل اجرای آزمایش، در سال قبل از کشت در آیش

بود. معادل ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره (۴۶ درصد نیتروژن) به صورت نیمی پایه و نیمی سرک به خاک اضافه شد. چون مقدار پتاسیم و فسفر خاک تا عمق ۳۰ سانتی‌متری به ترتیب ۲۶۴ و ۲۵ میلی‌گرم در گیلوگرم خاک خشک بود، بنابراین از کود پتاسه و فسفره استفاده نشد. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

جهت تهیه مایه تلقیح، سویه‌های باکتری به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت NB بر روی شیکر در دمای اتاق رشد داده شدند. سپس جمعیت باکتری‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر (U-1800 UV/VIS, Hitachi, Japan) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در حدود  $10^8$  CFU در میلی‌لیتر تنظیم شد (۳). بذور گندم‌های تتراپلوئید پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلرید سدیم ۰.۲٪ چهار مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند و سپس در سوسپانسیون باکتری به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر غوطه‌ور شدند و اجازه داده شد بذور خشک شوند. کلیه مراحل در شرایط استریل انجام شد و بذور شاهد نیز در محیط کشت NB فاقد باکتری خیسانده شدند.

هر کرت فرعی شامل ۳۲ ردیف کاشت ۶ متری با فاصله ۲۰ سانتی‌متر از هم بود. بذور مربوط به هر کرت فرعی در شیارهای تعبیه شده با تراکم ۳۵۰ بوته در مترمربع در نیمه دوم آبان ۱۳۹۱ کاشته و سپس با ۵ - ۳ سانتی‌متر خاک پوشانده شدند و آبیاری‌های تمام کرت‌ها به صورت یکسان تا تکمیل پنجه‌دهی صورت گرفتند. اعمال سطوح تیمار شوری آب آبیاری با شروع رشد بهاره انجام شد. میزان نمک مورد نیاز در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک با توجه به حجم آب مورد نیاز تعیین شد، نمک و آب در تانکر مخلوط شده و سپس آبیاری انجام شد. حجم آب آبیاری برای کرت‌های اصلی یکسان در نظر گرفته شد.

در مرحله گرده‌افشانی برگ پرچم از چند بوته در هر کرت فرعی برداشت و اندازه‌گیری‌های زیر بر روی آن انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری محتوای کارتنوئید یک گرم از نمونه برگ تازه با استفاده از نیتروژن مایع آسیاب

جدول ۱. ویژگی‌های خاک مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

| جرم حجمی<br>ظاهری<br>(g cm <sup>-3</sup> ) | پی اچ | رطوبت وزنی در<br>ظرفیت زراعی | رطوبت وزنی در<br>نقطه پژمردگی دائم | کربن آلی<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | ازت<br>کل | فسفر قابل<br>استفاده | پتاسیم قابل<br>استفاده | هدایت<br>الکتریکی<br>(dS m <sup>-1</sup> ) |
|--|-------|------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------|----------------------|------------------------|--|
| ۱/۳۹                                       | ۷/۴   | ۲۳                           | ۱۰                                 | ۳/۶                               | ۴۵۰       | ۲۵/۵                 | ۲۲۵                    | ۱/۶  |

شاخص پایداری غشاء از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌های برگ ارزیابی شد. به این منظور ۱ گرم برگ شسته شده با آب مقطر توزین شد و سپس به ظروف حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس میزان هدایت الکتریکی آب دیونیزه همراه نمونه به‌عنوان نشت اولیه اندازه‌گیری شد. نشت ثانویه نیز از طریق اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از حرارت دادن آنها در حمام بخار آب به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. شاخص پایداری غشاء از طریق معادله زیر محاسبه شد (۱۳).

$$100 \times [(نشت ثانویه / نشت اولیه) - 1] = \text{شاخص پایداری غشاء} \quad (2)$$

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها ابتدا ۱ گرم از نمونه گیاهی در هاون با استفاده از ازت مایع آسیاب شد و با یک میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷) همگن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. کلیه مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد و از عصاره حاصل جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مذکور و پروتئین نمونه‌ها استفاده شد (۱۶). جهت اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز، محلول واکنش شامل ۲۹۵۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار حاوی ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. کاهش در جذب طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و ثبت شد (۱۱). برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز، محلول واکنش شامل ۲۸۴۵ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار

شد و سپس با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ عصاره‌گیری شد. پس از صاف کردن توسط کاغذ صافی عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Sigma 101, western Germany) محلول حاصل با استون ۸۰٪ به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد و میزان جذب عصاره در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. سپس محتوای کارتنوئید با استفاده روش لیچنتالر و بوشمن (۲۶) محاسبه شد.

میزان پراکسیداسیون لیپیدها با تخمین غلظت مالون‌دآلدئید (MDA) براساس روش هس و پکر (۲۱) با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. بدین منظور یک گرم از نمونه برگ تازه با استفاده از ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد همگن شد و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به ازای هر میلی‌لیتر از فاز رویی ۴ میلی‌لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰٪ حاوی ۵٪ تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و پس از آن به سرعت در حمام یخ سرد شد و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار جذب مایع رویی در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و ضریب تصحیح  $M^{-1} \text{ cm}^{-1} \times 10^5 \times 155$  در نظر گرفته شد. غلظت مالون‌دآلدئید با استفاده از فرمول زیر برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

$$\text{وزن تر} / [10^5 \times 155 \times (\text{جذب } 532 - \text{جذب } 600)] = \text{غلظت MDA} \quad (1)$$

سلول‌های فتوسنتز کننده را کاهش می‌دهند (۱). از آنجا که این رنگدانه کلیدی در سیستم آنتی‌اکسیدانی به تنش اکسیداتیو بسیار حساس بوده، کاهش محتوای کارتنوئید با افزایش شوری در آزمایش حاضر احتمالاً به دلیل افزایش تجزیه کارتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن و یا کاهش سرعت تولید آنها می‌باشد (۷). بهاری و همکاران (۷) نیز نتایج مشابهی را در مطالعه تغییرات رنگدانه‌های فتوسنتزی گندم نان تحت تنش شوری گزارش کردند. تلقیح با سویه ۵۷ منجر به افزایش غیر معنی‌دار محتوای کارتنوئید گندم‌های تتراپلوئید شد که با گزارش ندیم و همکاران (۳۲) مطابقت دارد. در مطالعه ایشان تلقیح با باکتری‌های محرک رشد تولید کننده ACC-دآمیناز منجر به افزایش محتوای کارتنوئید در ذرت شد (۳۲).

اثر شوری، ژنوتیپ و باکتری و اثرات متقابل دو جانبه شوری در ژنوتیپ، ژنوتیپ در باکتری و اثر متقابل سه جانبه شوری در ژنوتیپ در باکتری بر فعالیت آنزیم کاتالاز بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش شوری کاهش بسیار معنی‌داری یافت (جدول ۳) و شدت این کاهش در ژنوتیپ جونقان بیشتر از ژنوتیپ یاواروس بود (جدول ۴) هرچند که فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ یاواروس به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ جونقان بود (جدول ۳). تلقیح بذور گندم‌های تتراپلوئید با سویه‌های ۵۷ و UW3 منجر به افزایش غیر معنی‌دار و با سویه ۵۵ منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت کاتالاز شد (جدول ۳)، ولی پاسخ دو ژنوتیپ به تلقیح متفاوت بود (جدول ۵). تلقیح با سویه‌های ۵۷ و UW3 منجر به افزایش غیر معنی‌دار فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ یاواروس و کاهش فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ جونقان شد، و تلقیح با سویه ۵۵ منجر به کاهش غیر معنی‌دار فعالیت کاتالاز در هر دو ژنوتیپ شد که شدت این کاهش در ژنوتیپ جونقان بیشتر از یاواروس بود (به ترتیب ۲۵ درصد و ۱۶ درصد کاهش) (جدول ۵).

اثر شوری، ژنوتیپ، باکتری و اثرات متقابل دو جانبه شوری در ژنوتیپ، شوری در باکتری، ژنوتیپ در باکتری و اثر متقابل سه جانبه شوری در ژنوتیپ در باکتری بر فعالیت آنزیم

حاوی ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. کاهش در جذب طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۳۴).

محیط واکنش پراکسیداز شامل ۲۳۴۹ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار حاوی ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد، ۳/۳۵ میکرولیتر گویاکول و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. افزایش در جذب طول موج ۴۷۰ به مدت ۲ دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۲۲). محتوای کل پروتئین نمونه‌های برگ با استفاده از روش بردفورد اندازه‌گیری شد (۸).

برای محاسبه عملکرد دانه در هکتار پس از رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌های نیم مترمربع از دو خط میانی کاشت با رعایت حاشیه برداشت شد و پس از کوبیدن و بوجاری عملکرد دانه براساس ۱۲ درصد رطوبت محاسبه شد. محاسبات آماری با نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪ صورت گرفت.

## نتایج و بحث

شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای کارتنوئید نداشت (جدول ۲)، ولی با افزایش شوری تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار محتوای کارتنوئید افزایش غیر معنی‌دار یافت و افزایش بیشتر سطح شوری منجر به کاهش غیر معنی‌دار محتوای کارتنوئید شد (جدول ۳). محتوای کارتنوئید ژنوتیپ یاواروس به‌طور معنی‌داری از جونقان بیشتر بود (جدول ۳) و سویه‌های ۵۷ و UW3 به ترتیب منجر به افزایش و کاهش غیر معنی‌دار محتوای کارتنوئید در مقایسه با شاهد شدند (جدول ۳). کارتنوئیدها یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند که همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را خنثی می‌کنند. کارتنوئیدها از طریق دریافت مازاد انرژی کلروفیل‌های برانگیخته، تولید اکسیژن سینگلت در کلروپلاست

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس برای غلظت کارتنوئید و مالون‌الدئید، فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز و عملکرد دانه در دو ژنوتیپ گندم تتراپلوئید تحت سطوح مختلف شوری و تلقیح با سویه‌های باکتری محرک رشد

| منابع تغییرات             | تکرار | شوری     | خطا  | ژنوتیپ   | بافتوری | شوری × ژنوتیپ | شوری × باکتری | ژنوتیپ × باکتری | شوری × باکتری × ژنوتیپ | شوری × باکتری × ژنوتیپ × باکتری | درجه آزادی |
|---------------------------|-------|----------|------|----------|---------|---------------|---------------|-----------------|------------------------|---------------------------------|------------|
| غلظت کارتنوئید            | ۲     | ۲        | ۴    | ۱        | ۳       | ۲             | ۶             | ۳               | ۶                      | ۶                               | ۴۲         |
| فعالیت کاتالاز            | ۲     | ۲        | ۴    | ۱        | ۳       | ۲             | ۶             | ۳               | ۶                      | ۶                               | ۴۲         |
| فعالیت آسکوربات پراکسیداز | ۲     | ۲        | ۴    | ۱        | ۳       | ۲             | ۶             | ۳               | ۶                      | ۶                               | ۴۲         |
| فعالیت پراکسیداز          | ۲     | ۲        | ۴    | ۱        | ۳       | ۲             | ۶             | ۳               | ۶                      | ۶                               | ۴۲         |
| غلظت مالون‌الدئید         | ۲     | ۲        | ۴    | ۱        | ۳       | ۲             | ۶             | ۳               | ۶                      | ۶                               | ۴۲         |
| شاخص پایداری غشاه         | ۱۸۸   | ۷۵۴**    | ۱۳۲  | ۵۴۱*     | ۵۰۷**   | ۲۶۷           | ۴۸۲**         | ۲۹/۴            | ۱۷۶                    | ۱۱۲                             | ۲۰/۸       |
| عملکرد دانه               | ۶۵۹۱  | ۱۶۷۶۴۳** | ۱۲۹۶ | ۶۰۲۷۱۰** | ۹۱۱۲    | ۵۷۸           | ۱۷۲۰۹*        | ۱۳۹۴۷           | ۱۸۴۴                   | ۶۵۸۱                            | ۲۰/۸       |

\* و \*\* به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های غلظت کارتنوئید و مالون‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، شاخص پایداری غشاء و عملکرد دانه در دو ژنوتیپ گندم تتراپلوئید تحت سطوح مختلف شوری و تلقیح با سویه‌های باکتری محرک رشد

| عامل آزمایشی   | شوری (mM)          |                    | ژنوتیپ              |                    | شاخص بدون باکتری   | سویه باکتری        |
|--|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|  | ۱۰۰                | ۲۰۰                | چونقان              | یاوروس             |                    |                    |
| غلظت کارتنوئید [mg g <sup>-1</sup> (FW)]                   | ۰/۵۰۴ <sup>a</sup> | ۰/۴۵۸ <sup>a</sup> | ۰/۴۸۲ <sup>b</sup>  | ۰/۵۲۰ <sup>a</sup> | ۰/۵۰۹ <sup>a</sup> | ۰/۵۰۹ <sup>a</sup> |
| فعالیت کاتالاز (units mg <sup>-1</sup> protein)            | ۰/۸۳۶ <sup>a</sup> | ۰/۳۴۸ <sup>c</sup> | ۰/۲۲۲ <sup>b</sup>  | ۰/۹۱۷ <sup>a</sup> | ۰/۵۸۵ <sup>a</sup> | ۰/۴۶۹ <sup>b</sup> |
| فعالیت آسکوربات پراکسیداز (units mg <sup>-1</sup> protein) | ۰/۴۱۸ <sup>a</sup> | ۰/۲۴۵ <sup>b</sup> | ۰/۱۹۱ <sup>b</sup>  | ۰/۳۸۹ <sup>a</sup> | ۰/۳۲۴ <sup>a</sup> | ۰/۲۴۴ <sup>b</sup> |
| فعالیت پراکسیداز (units mg <sup>-1</sup> protein)          | ۱/۷۷۸ <sup>a</sup> | ۱/۴۳۳ <sup>b</sup> | ۰/۴۷۷ <sup>b</sup>  | ۲/۳۱۲ <sup>a</sup> | ۱/۷۳۰ <sup>a</sup> | ۱/۳۶۵ <sup>b</sup> |
| غلظت مالون‌آلدئید [μmol g <sup>-1</sup> (FW)]              | ۵/۶۳۵ <sup>b</sup> | ۷/۹۲۴ <sup>a</sup> | ۶/۸۱۹ <sup>ab</sup> | ۵/۱۴۵ <sup>b</sup> | ۶/۸۹۶ <sup>a</sup> | ۶/۸۴۷ <sup>a</sup> |
| شاخص پایداری غشاء (%)                                      | ۶۹/۸۶ <sup>a</sup> | ۳۴/۶۷ <sup>c</sup> | ۴۸/۱۷ <sup>b</sup>  | ۵۳/۶۵ <sup>a</sup> | ۵۱/۳۶ <sup>a</sup> | ۵۶/۷۵ <sup>a</sup> |
| عملکرد دانه (g m <sup>-2</sup> )                           | ۴۵۸/۲ <sup>a</sup> | ۳۲۱/۳ <sup>b</sup> | ۲۸۲/۵ <sup>b</sup>  | ۴۶۵/۶ <sup>a</sup> | ۳۴۰/۷ <sup>a</sup> | ۳۹۰/۲ <sup>a</sup> |

در هر ردیف و برای هر عامل آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۴. میانگین‌های اثرات متقابل شوری در ژنوتیپ برای غلظت مالون‌آلدئید و فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز و عملکرد دانه دو ژنوتیپ گندم تتراپلوئید تحت سطوح مختلف شوری

| شوری (mM) | غلظت مالون‌آلدئید [μmol g <sup>-1</sup> (FW)] |                         | فعالیت کاتالاز (units mg <sup>-1</sup> protein) |                         | فعالیت آسکوربات پراکسیداز (units mg <sup>-1</sup> protein) |                         | فعالیت پراکسیداز (units mg <sup>-1</sup> protein) |                         | عملکرد دانه (g m <sup>-2</sup> ) |
|-----------|---|-------------------------|---|-------------------------|--|-------------------------|---|-------------------------|----------------------------------|
|           | چونقان  | یاوروس                  | چونقان  | یاوروس                  | چونقان   | یاوروس                  | چونقان  | یاوروس                  |                                  |
| ۰         | ۷/۰۵۹ <sup>bc</sup>                           | ۴/۸۹ <sup>d</sup>       | ۰/۳۸۳ <sup>d</sup>                              | ۱/۲۸۱ <sup>a</sup>      | ۰/۴۰۳ <sup>a</sup>   | ۰/۴۳۴ <sup>a</sup>      | ۰/۶۳۱ <sup>d</sup>                                | ۲/۹۲۲ <sup>a</sup>      | ۳۶۸/۷ <sup>a</sup>               |
| ۱۰۰       | ۸/۰۳۲ <sup>b(+۱۴)</sup>                       | ۵/۶۰۴ <sup>c(+۳۴)</sup> | ۰/۱۵۹ <sup>e(-۵۸)</sup>                         | ۰/۹۱۲ <sup>b(-۲۹)</sup> | ۰/۱۱۰ <sup>b(-۷۳)</sup>                                    | ۰/۳۸۰ <sup>a(-۱۲)</sup> | ۰/۴۶۷ <sup>d(-۲۶)</sup>                           | ۲/۳۹۵ <sup>b(-۱۸)</sup> | ۲۶۳/۹ <sup>a(-۲۸)</sup>          |
| ۲۰۰       | ۱۰/۲۰ <sup>a(+۴۴)</sup>                       | ۵/۶۳۹ <sup>c(+۳۵)</sup> | ۰/۱۳۷ <sup>e(-۶۲)</sup>                         | ۰/۵۵۸ <sup>e(-۵۶)</sup> | ۰/۰۶۰ <sup>b(-۸۵)</sup>                                    | ۰/۳۵۵ <sup>a(-۱۸)</sup> | ۰/۳۳۴ <sup>d(-۴۷)</sup>                           | ۱/۶۱۴ <sup>c(-۴۵)</sup> | ۲۱۵/۷ <sup>a(-۴۱)</sup>          |

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. اعداد داخل پرانتز درصد کاهش (-) یا افزایش (+) در مقایسه با شاهد (۰ میلی‌مولار) می‌باشد.

آسکوربات پراکسیداز بسیار معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش سطح شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش معنی داری یافت ولی میزان کاهش در ژنوتیپ جونقان بیشتر از یاواروس بود (۸۵ درصد در مقابل ۱۸ درصد کاهش) و به طور کلی فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ یاواروس بیشتر از جونقان بود (جدول ۳). بالاترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به تلقیح با سویه UW3 در سطح شاهد شوری بود و کمترین فعالیت مربوط به تلقیح با همین سویه در سطح ۱۰۰ میلی مولار شوری بود (جدول ۶). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز دو ژنوتیپ پاسخ کاملاً متفاوتی به تلقیح با سویه های باکتری داشت. تلقیح باکتریایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ جونقان و کاهش آن در یاواروس شد (جدول ۵).

اثر شوری، ژنوتیپ، باکتری و اثر متقابل دو جانبه شوری در ژنوتیپ و اثر متقابل سه جانبه شوری در ژنوتیپ در باکتری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بسیار معنی دار بود (جدول ۲). فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ یاواروس به طور بسیار معنی داری از ژنوتیپ جونقان بیشتر بود (جدول ۳). هم چنین با افزایش شوری فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ جونقان در مقایسه با ژنوتیپ یاواروس کاهش بیشتری یافت (جدول ۴). تلقیح بذور گندم های تترابلوئید با سویه ۵۵۰ منجر به کاهش معنی دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد شد، در حالی که تلقیح با سویه های ۵۷ و UW3 تأثیر معنی داری بر فعالیت این آنزیم نداشت (جدول ۳). روزه های گیاه در مواجهه با تنش هایی نظیر خشکی و شوری به منظور حفظ رطوبت موجود و جلوگیری از اتلاف آن بسته می شود. در این شرایط نه تنها تبادل گازی کاهش می یابد بلکه تولید گونه های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) افزایش می یابد (۲۷). اگرچه در شرایط عادی هم، گونه های فعال اکسیژن در سلول های گیاه تولید می شوند ولی از طریق سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) گیاه به طور مؤثری خنثی می شوند. این در حالی است که در شرایط تنش زا این تعادل بهم خورده و

گونه های فعال اکسیژن تولید شده به پروتئین ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها آسیب می رسانند. آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز سه جزء مهم سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی گیاهان هستند (۴، ۵ و ۱۰). کاتالاز با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن منجر به کاهش غلظت این گونه فعال اکسیژن در سلول می شود و از شدت آسیب وارد شده به سلول می کاهد. در مطالعه کاظمی و همکاران (۲۳) بیان ژن آنزیم کاتالاز در گندم نان در ارقام مقاوم و حساس به شوری در مرحله خوشه دهی در مواجهه با شوری کاهش یافت. شیم و همکاران (۴۲) کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در مواجهه با شوری را ناشی از تجزیه این آنزیم در شرایط شور عنوان کردند. از این رو کاهش فعالیت آنزیم یاد شده در مطالعه حاضر را شاید بتوان هم به کاهش بیان ژن مربوطه و هم کاهش مقدار آن در سلول های برگ دو ژنوتیپ گندم تترابلوئید مورد استفاده نسبت داد.

آسکوربات مهم ترین ماده احیاء کننده پراکسید هیدروژن در سلول های گیاهی محسوب می شود و آسکوربات پراکسیداز از این ماده برای احیاء پراکسید هیدروژن به آب استفاده می کند (۳۵). در مطالعه اسفندیاری و همکاران (۱۵) فعالیت آسکوربات پراکسیداز گندم دوروم در شرایط شور افزایش یافت که با یافته های مطالعه حاضر مغایرت دارد. پراکسید هیدروژن هم چنین توسط پراکسیدازهای غیر اختصاصی موجود در آپوپلاست بافت های در حال چوبی شدن (lignifying) هم ممکن است تجزیه شود. این دسته از آنتی اکسیدان ها از پراکسید هیدروژن به عنوان الکترون دهنده برای متابولیسم ترکیبات فنولیک استفاده می کنند. این آنزیم ها در فرآیندهای متعددی از جمله کنترل رشد سلول و تحمل تنش های محیطی دخیل هستند. بنابراین کاهش فعالیت این آنزیم احتمالاً از چوبی شدن بافت که در اثر شوری تسریع می شود ممانعت کرده و یا منجر به کاهش این فرآیند می شود. به این ترتیب با کاهش چوبی شدن دیواره سلولی جذب آب از طریق دیواره سلولی به مدت طولانی تری ادامه می یابد و تنش اسمزی به تعویق می افتد (۲۵).



جدول ۵. میانگین‌های اثرات متقابل سوبه در ژنوتیپ برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و عملکرد دانه دو ژنوتیپ گندم تتراپلوئید

| سوبه باکتری | فعالیت کاتالاز<br>(units mg <sup>-1</sup> protein) |                          | فعالیت آسکوربات پراکسیداز<br>(units mg <sup>-1</sup> protein) |                        |
|-------------|--|--------------------------|---|------------------------|
|             | چوتقان   | یاواروس                  | چوتقان  | یاواروس                |
| شاهد        | ۱/۰۱۲ <sup>a</sup>                                 | ۰/۳۲۳ <sup>abc</sup>     | ۰/۳۲۳ <sup>abc</sup>  | ۰/۱۵۸ <sup>b</sup>     |
| ۵V          | ۰/۹۵۷ <sup>(-۵)</sup>                              | ۰/۱۷۹ <sup>(-۴۵)</sup>   | ۰/۴۵۹ <sup>(+۴۱)</sup>  | ۰/۲۷۲ <sup>(+۷۲)</sup> |
| UW3         | ۰/۹۴۴ <sup>(-۷)</sup>                              | ۰/۱۴۶ <sup>ab(-۵۵)</sup> | ۰/۳۹۹ <sup>(+۳۳)</sup>  | ۰/۲۹۳ <sup>(+۸۵)</sup> |
| ۵۵۰         | ۰/۷۵۶ <sup>(-۶۵)</sup>                             | ۰/۱۱۶ <sup>ab(-۶۴)</sup> | ۰/۳۷۲ <sup>(+۱۴)</sup>  | ۰/۱۸۳ <sup>(-۱۶)</sup> |

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. اعداد داخل پرانتز درصد کاهش (-) یا افزایش (+) در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح باکتری) می‌باشد.

جدول ۶. میانگین‌های اثرات متقابل سوبه در شوری برای فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، شاخص پایداری غشاء و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم تتراپلوئید

| سوبه باکتری | فعالیت آسکوربات پراکسیداز<br>(units mg <sup>-1</sup> protein) |                          | شاخص پایداری غشاء<br>(%)  |                     | عملکرد دانه<br>(g m <sup>-2</sup> ) |
|-------------|---|--------------------------|---------------------------|---------------------|-------------------------------------|
|             | چوتقان  | یاواروس                  | چوتقان                    | یاواروس             |                                     |
| شاهد        | ۰/۳۴۲ <sup>d(-۲۸)</sup>                                       | ۰/۱۵۲ <sup>d(-۶۸)</sup>  | ۴۷/۷۱ <sup>def(-۴۱)</sup> | ۸۱/۶۹ <sup>a</sup>  | ۳۵۱/۶۰(-۸/۱)                        |
| ۵V          | ۰/۲۴۰ <sup>abc(+۳۲)</sup>                                     | ۰/۱۸۵ <sup>cd(-۴۵)</sup> | ۳۴/۱۳ <sup>ab(-۴۸)</sup>  | ۶۱/۸۳ <sup>bc</sup> | ۲۸۶/۰۵(-۲۰)                         |
| UW3         | ۰/۵۷۸ <sup>a</sup>  | ۰/۱۵۱ <sup>d(-۷۴)</sup>  | ۵۱/۳۸ <sup>cd(-۲۵)</sup>  | ۶۸/۷۱ <sup>ab</sup> | ۳۷۸/۵۵ <sup>abc(-۶/۸)</sup>         |
| ۵۵۰         | ۰/۲۸۲ <sup>bcd</sup>  | ۰/۳۴۱ <sup>cd(-۲۱)</sup> | ۵۹/۸۹ <sup>bcd(-۱۱)</sup> | ۶۷/۰۸ <sup>b</sup>  | ۲۶۶/۳۰(-۵۲)                         |

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند طبق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. اعداد داخل پرانتز درصد کاهش (-) یا افزایش (+) در مقایسه با شاهد (۰ میلی‌مولار) می‌باشند.

با افزایش شوری تولید و تجمع اسمولیت‌ها از جمله پرولین و قندهای محلول افزایش یافت (داده‌های ارائه نشده)، به‌نظر می‌آید در شرایط تنش‌زا برای ممانعت از کاهش پتانسیل اسمزی بخش عمده‌ای از منابع گیاهی به سنتز محلول‌های سازگار اختصاص داده شده است و سهم کمتری به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تخصیص داده شده است. به‌علاوه پرولین قادر است گونه‌های فعال اکسیژن را مهار کند و به‌صورت یک آنتی‌اکسیدان عمل کند (۱۰). به‌نظر می‌رسد شدت تنش اسمزی در این آزمایش بیش از تنش اکسیداتیو بوده که تجمع اسمولیت‌ها بیش از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافته است. در مطالعه کولرا و همکاران (۲۵) نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز گیاه کاهو تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas mendocina* و قارچ میکوریزا تحت تنش شوری کاهش یافت. ایشان کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این شرایط را نشان‌دهنده کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده دانستند. در مطالعه هان و لی (۲۰) نیز اگرچه شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد ولی تلقیح با باکترهای محرک رشد منجر به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شد. گزارشات متناقضی مبنی بر ارتباط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با میزان تحمل تنش گیاهان ارانه شده است، در برخی از این گزارشات افزایش فعالیت آنزیم‌ها به ارقام متحمل نسبت داده شده و در برخی هیچ ارتباط معنی‌داری بین سطح تحمل تنش در ارقام و میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور دیده نشده است (۱ و ۱۵). مانس و تستر (۳۱) اظهار کردند که تفاوت در تحمل شوری ژنوتیپ‌ها الزاماً ارتباطی با توانایی آنها در خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن ندارد. آنها افزودند که تفاوت ارقام در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالاً مربوط به تفاوت در میزان بسته بودن روزنه‌ها یا سایر خصوصیات مؤثر بر میزان تثبیت دی‌اکسید کربن می‌شود.

اثر شوری، باکتری و ژنوتیپ بر غلظت مالون دآلدئید و شاخص پایداری غشاء معنی‌دار بود و اثر متقابل شوری در

باکتری بر شاخص پایداری غشاء و اثر متقابل شوری در ژنوتیپ بر غلظت مالون دآلدئید معنی‌دار بود (جدول ۲). افزایش شوری منجر به افزایش معنی‌دار غلظت مالون دآلدئید و کاهش شاخص پایداری غشاء شد (جدول ۳). اگرچه میانگین شاخص پایداری غشاء ژنوتیپ یواروس بالاتر از ژنوتیپ جونقان بود (جدول ۳) درصد افزایش غلظت مالون دآلدئید در هر دو ژنوتیپ به یک میزان نبود. با افزایش شوری از صفر به ۱۰۰ میلی‌مولار غلظت مالون دآلدئید در ژنوتیپ یواروس ۳۴ درصد و در جونقان ۱۴ درصد افزایش یافت. این در حالی است که با افزایش بیشتر شوری غلظت مالون دآلدئید در ژنوتیپ جونقان در مقایسه با یواروس افزایش بیشتری یافت (۴۴ درصد در برابر ۳۵ درصد افزایش) (جدول ۴). تغییر پایداری غشاء در اثر تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری بستگی به سطح شوری داشت. در سطح شاهد شوری (صفر میلی‌مولار) تلقیح بذور گندم‌های تتراپلوئید با سویه‌های باکتری منجر به کاهش شاخص پایداری غشاء آنها شد، ولی در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری درصد کاهش شاخص پایداری غشاء در شاهد (تلقیح نشده با باکتری) بیشتر از گیاهان تلقیح شده با سویه‌های ۵۵۰ و UW3 بود و بیشترین (۷۰ درصد) و کمترین (۳۵ درصد) کاهش شاخص پایداری غشاء در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب مربوط به شاهد بدون باکتری و تلقیح با سویه ۵۵۰ بود (جدول ۶). یکی از آسیب‌های جدی تنش شوری خسارت به غشاء و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید، افزایش نفوذپذیری غشاء و خسارت به سلول می‌شود (۶). پایداری غشاء از جمله خصوصیات فیزیولوژیک است که تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد. در تنش‌های شدید بعضی از قسمت‌های فسفولیپیدهای دو لایه‌ای غشاء حالت هگزاگونال (شش وجهی) پیدا کرده و ساختار غشاء به ساختار منفذدار تبدیل می‌شود و نشت مواد رخ می‌دهد. به‌طور کلی تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول باعث افزایش

پراکسیداسیون چربی‌ها و در نهایت کاهش پایداری غشاء سلول و نشت مواد سیتوپلاسمی از آن و افزایش هدایت الکتریکی در گیاهان مختلف می‌شوند. اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌های سلول معیاری برای اندازه‌گیری میزان صدمه به غشاءهای سلولی (۶) است. به‌علاوه اندازه‌گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید نیز یکی از معمول‌ترین و قابل قبول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است. مالون‌دآلدئید به‌عنوان یک نشانگر بیولوژیک برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها یا آسیب به غشای سلولی و غشای اندامک‌ها استفاده می‌شود (۱۶). در مطالعه اسفندیاری و همکاران (۱۵) نیز شوری منجر به افزایش غلظت مالون‌دآلدئید و کاهش شاخص پایداری غشاء ژنوتیپ‌های حساس و متحمل گندم تتراپلوئید شد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

تلقیح بذور گندم‌های تتراپلوئید با سویه UW3 منجر به کاهش ۱۵ درصدی غلظت مالون‌دآلدئید در مقایسه با شاهد تلقیح نشده، شد (جدول ۳). در مطالعه ژانگ نیز (۴۸) تلقیح چمن با سویه‌های UW4 و CMH3 تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم SOD ایجاد نکرد ولی نشت الکترولیت غشاء را کاهش داد. ایشان کاهش نشت الکترولیت را به افزایش غلظت پرولین در گیاهان تلقیح شده نسبت دادند. در مطالعه وو (۴۷) نیز سویه‌های UW3 و UW4 پایداری غشاء جو و یولاف را در شوری متوسط بهبود بخشیدند. ایشان اظهار داشتند ممکن است PGPRها از طریق تأثیر بر کاهش سنتز لیپیدها که اجزا اصلی ساختمان غشاءهای سلولی هستند منجر به کاهش آسیب به آن شده باشند.

اثر شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل شوری در باکتری بر عملکرد دانه گندم معنی‌دار بود (جدول ۲). میانگین عملکرد دانه دو ژنوتیپ با افزایش سطح شوری از شاهد به ۱۰۰ میلی‌مولار ۲۵ درصد کاهش یافت و با افزایش بیشتر شوری تا سطح ۲۰۰ میلی‌مولار ۳۰ درصد کاهش یافت. عملکرد دانه ژنوتیپ یواروس به‌طور بسیار معنی‌داری از ژنوتیپ پوشینه‌دار جونقان بیشتر بود (جدول ۳). بالاترین عملکرد دانه در شرایط

شاهد شوری مربوط به بذور تلقیح شده با سویه ۵۵۰ بود که ۴۴ درصد بیشتر از شاهد بدون باکتری بود. اگرچه با افزایش سطح شوری عملکرد دانه در همه سطوح تلقیح کاهش یافت اما شدت کاهش در تلقیح با سویه‌های UW3 و ۵۵۰ به‌ترتیب کمتر (۱۴ درصد) و بیشتر (۵۲ درصد) از دیگر سطوح بود، با این حال عملکرد دانه در گیاهان تلقیح شده با سویه UW3 در شوری شدید ۲۴ درصد از شاهد تلقیح نشده بیشتر بود (جدول ۶). در این مطالعه، هم‌راستا با گزارش‌های موجود (۹، ۱۵ و ۱۷) مبنی بر تأثیر منفی شوری بر رشد و تولید ماده خشک گونه‌های مختلف گیاهی، شوری منجر به کاهش عملکرد دانه هر دو ژنوتیپ گندم تتراپلوئید مورد آزمایش شد. شوری از طریق ایجاد خشکی فیزیولوژیک، تجمع یون‌های سدیم و کلر، برهم زدن تعادل تغذیه‌ای و تنش اکسیداتیو و هم‌چنین تأثیر منفی بر صفات فیزیولوژیک گیاه مثل محتوای کلروفیل، سرعت و کارایی فتوسنتز منجر به کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۳۰، ۳۱ و ۴۶). عملکرد دانه در ژنوتیپ تتراپلوئید پوشینه‌دار (جونقان) صرف‌نظر از تیمارهای باکتری و شوری به‌طرز چشم‌گیری کمتر از ژنوتیپ گندم دوروم (یاواروس) بود. با توجه به وجود گزارش‌های متعدد مبنی بر برتری عملکرد دانه گندم‌های اصلاح شده نوین در مقایسه با اجداد کمتر اصلاح شده آنها (۱۹، ۴۳ و ۴۵)، اختلاف فاحش عملکرد دانه ژنوتیپ پوشینه‌دار (جونقان) و ژنوتیپ گندم دوروم (یاواروس) دور از انتظار نبود. در واقع عملکرد دانه کمتر گندم‌های تتراپلوئید پوشینه‌دار در مقایسه با ارقام اصلاح شده گندم دوروم نیز توسط پوراژری و همکاران (۳۸) گزارش شده بود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. به‌نظر می‌آید مکانسیم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی مهار گونه‌های فعال اکسیژن بررسی شده در این آزمایش در ژنوتیپ اصلاح شده یواروس و ژنوتیپ نیمه اهلی جونقان در شرایط تنش‌زا فعال نبوده و نقشی در افزایش تحمل شوری این گیاهان ندارد. در مطالعات مختلف تلقیح با جدایه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد اثر متفاوتی بر عملکرد داشته است. تلقیح با این نوع باکتری‌ها در برخی موارد منجر به افزایش قابل توجه

پوشینه‌دار و بدون پوشینه شد و فعالیت سیستم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو (اعم از آنزیمی و غیر آنزیمی) تحت شرایط شوری کاهش و به دنبال آن آسیب به غشاء افزایش یافت. تأثیر سویه‌های مختلف باکتری بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه مثبت بود، ولی میزان این تأثیر بسته به ژنوتیپ و میزان شوری متفاوت بود. اگرچه باکتری‌های محرک رشد در شرایط غیر شور تأثیر مثبت بر عملکرد دانه این دو نوع گندم تتراپلوئید داشتند، ولی تحت شرایط شوری تنها سویه UW3 باکتری اثرات منفی شوری بر عملکرد دانه را کاهش داد.

### سپاسگزاری

از دانشگاه صنعتی اصفهان به دلیل تأمین هزینه‌های این تحقیق، آقای مهندس محمدی (بخش گندم دوروم مؤسسه تحقیقات نهال و بذر کرج) به دلیل تأمین بذور گندم دوروم یاواروس، پروفیسور برنارد گیلیک استاد دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه واترلو کانادا و دکتر حسین علی علیخانی دانشیار دانشگاه تهران به دلیل تأمین سویه‌های باکتری قدردانی می‌شود.

عملکرد، در مواردی بدون تأثیر و حتی در برخی موارد تأثیر منفی بر عملکرد داشته است. برخی از محققین بر این باورند که باکتری‌های محرک رشد علاوه بر اینکه قادر به فراهم کردن مواد مغذی هستند، از طریق تولید هورمون‌های گیاهی می‌توانند الگوی تسهیم آسیمیلات‌ها را به نفع عملکرد دانه تغییر دهند و عدم تأثیر برخی از جدایه‌ها را مربوط به شرایط اقلیمی و خاکی، گونه و ژنوتیپ گیاه می‌دانند (۲۸ و ۳۳). به نظر می‌آید تأثیر سویه UW3 بر افزایش عملکرد دانه گندم تتراپلوئید تحت شدت شوری شدید صرفاً مربوط به افزایش پایداری غشاء در شرایط شور نیست، چرا که سایر سویه‌ها نیز موجب افزایش پایداری غشاء در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار شدند. سویه UW3 ممکن است از طریق بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و کاهش سطح اتیلن تنشی از طریق تولید ACC-دآمیناز و تداوم فتوسنتز منجر به افزایش عملکرد دانه تحت شرایط تنش‌زا شده باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش حاضر حاکی از آن است که شوری منجر به کاهش نه چندان متفاوت عملکرد دانه گندم‌های تتراپلوئید

### منابع مورد استفاده

1. Abogadallah, G. M. 2010. Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signal Behavior* 5: 369-374.
2. Arshad, M., B. Shaharouna and T. Mahmood. 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere* 18(5): 611-620.
3. Asghari, B. and F. Mussarat. 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils* 45:405-413.
4. Askari, E. and P. Ehsanzadeh. 2015. Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* 37(2): 1-14.
5. Askari, E., P. Ehsanzadeh and H. Zainali. 2015. Physiological and growth responses of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes to water potential at seedling stage. *Journal of Plant Process and Function* 4(14): 1-16. (In Farsi).
6. Azari, A., S. A. M. Modares Sanavi, H. Askari, F. Ghanati, A. M. Naji and B. Alizadeh. 2011. Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and *B. rapa*). *Iranian Journal of Field Crop Science* 14 (2): 121-135. (In Farsi).
7. Bahari, A., H. Pirdashti and M. Yaghubi. 2013. The effects of amino acid fertilizers spraying on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4 (4): 787-793.
8. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

9. Bazrafshan, A. H. and P. Ehsanzadeh. 2013. Growth, photosynthetic and ionic balance of sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes in response to NaCl concentration in hydroponic solutions. *Photosynthetica* 52(1):134-147.
10. Bazrafshan, A. H. and P. Ehsanzadeh. 2016. Evidence for differential lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Sesamum indicum* L. genotypes under NaCl salinity. *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 18: 207-222.
11. Chance, B. and A. C. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
12. Cheng, P. C. 2007. The use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and an arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) to improve plant growth in saline soils for phytoremediation. MSc. Thesis, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada.
13. Deshmukh, P. S., R. K. Sairam and D. S. Shukla. 1999. Measurement of ion leakage as a screening technique for drought resistance in wheat genotypes. *Indian Journal of Plant Physiology* 34 (1): 89-91.
14. Ehsanzadeh, P., M. Sabagh Nekoonam, J. Nouri, H. Pourhadian and S. Shaydaee. 2009. Growth, chlorophyll and cation concentration of wheat on solution high in sodium chloride salt: hulled versus free-threshing genotypes. *Journal of Plant Nutrition* 23(1): 58-70.
15. Esfandiari, E., V. Enayati and A. Abbasi. 2011. Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39(1): 165-170.
16. Esfandiari, E., M. R. Shakiba, S. H. Mahboob, H. Alyari and M. Toorchi. 2007. Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 5: 149-153.
17. Fatholahi, S. and P. Ehsanzadeh. 2014. The effect of salinity of irrigation water on some physiological characteristics and dry mass of linseed at vegetative stage. *Journal of Field Crop Sciences* 45(3): 419-429. (In Farsi).
18. Flowers, T. 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* 55(396): 307-319.
19. Gaju, O., M. P. Reynolds, D. L. Sparkes, S. Mayes, G. Ribas-Vargas, J. Crossa and M. J. Foulkes. 2014. Relationships between physiological traits, grain number and yield potential in a wheat DH population of large spike phenotype. *Field Crops Research* 164: 126-135.
20. 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.
21. Heath, R. L. and L. Parker. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
22. Herzog, V. and H. Fahimi. 1973. Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry* 55: 554 -562
23. Kazemi, G., S. Navabpour and S. Ramezani. 2012. Evaluation of CAT gene expression and morphological traits under salt stress in resistant and susceptible cultivars of bread wheat. *Modern Genetics* 1(7): 79-87. (In Farsi).
24. Kiani-Pouya, A. and F. Rasouli. 2014. The potential of leaf chlorophyll content to screen bread-wheat genotypes in saline condition. *Photosynthetica* 52: 288-300.
25. Kohlera, J., J. A. Hernándezb, F. Caravaca and A. Roldána. 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. *Environmental and Experimental Botany* 65: 245-252.
26. Lichtenthaler, H. K. and C. Buschmann. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. pp: F4.2.1- F4.2.6. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, Wiley, New York.
27. Luna, C. M., G. M. Pastori, S. Driscoll, K. Groten, S. Bernard and C. H. Foyer. 2004. Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany* 56: 417-423.
28. Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouhranmon. 1996. Na-Cl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78: 389-398.
29. Mohamed, H. I. and E. Z. Goma. 2012. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. *Photosynthetica* 50: 263-272.
30. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
31. Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
32. Nadeem, S. M., I. Hussain, M. Naveed, H. N. Asghar, Z. A. Zahir and M. Arshad. 2006. Performance of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase activity for improving growth of maize under salt-stressed conditions. *Pakistan Journal of Agriculture Science* 43(3-4): 114-121.
33. Nadeem, S. M., Z. A. Zahir, M. Naveed and M. Arshad. 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of*

- Microbiology* 53: 1141-1149.
34. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
  35. Noctor, G., S. Veljovic-Jovanovic, S. Driscoll, L. Novitskaya and C. Foyer. 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: A predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* 89: 841-50.
  36. Pereg, L. and M. Mcmillan. 2015. Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 80: 349-358.
  37. Perrino, P., G. G. Laghetti, L. F. Antuono, M. Al Ajlouni, M. Kanbertay, A. T. Szabo and K. Hammer. 1996. Ecogeographical distribution of hulled wheat species. pp. 101-119. In: S. Padulosi, K. Hammer and J. Heller (Eds), Hulled Wheats, Castelvechio Pascoli, Italy.
  38. Pourazari, F., P. Ehsanzadeh and S. Jahanbin. 2011. Response of hulled tetraploid wheats to nitrogen deficit stress: A comparison to free-threshing tetraploid wheats. *Iranian Journal of Field Crop Sciences* 42(2): 285-294. (In Farsi).
  39. Richards, R. A., C. W. Dennett, C. O. Qualset, E. Epstein, J. D. Norlyn and M. D. Winslow. 1987. Variation in yield of grain and biomass in wheat, barley, and triticale in a salt-affected field. *Field Crops Research* 15: 277-287.
  40. Shabala, S. and R. Munns. 2012. Salinity stress: Physiological constraints and adaptive mechanisms. pp. 59-93. In: S. Shabala, (Ed.), *Plant Stress Physiology*. CAB International, UK.
  41. Shebanirad, A., A. Mirlohi, R. Mohammadi, P. Ehsanzadeh and B. E. Sayed-Tabatabaei. 2014. Cytogenetic and crossability studies in hulled wheat collected from Central Zagros in Iran. *Plant Systematics and Evolution* 300: 1895-1901.
  42. Shim, I. S., Y. Momose, A. Yamamoto, D. W. Kim and K. Usui. 2003. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 8: 285-292.
  43. Slafer, G. A., R. Savin and V. O. Sadras. 2014. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. *Field Crops Research* 157: 71-83.
  44. Tewari, S. and N. K. Arora. 2014. Multifunctional exopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa* PF23 involved in plant growth stimulation, biocontrol and stress amelioration in sunflower under saline conditions. *Current Microbiology* 69: 484-494.
  45. Tian, Z., Q. Jing, T. Dai, D. Jiang and W. Cao. 2011. Effects of genetic improvements on grain yield and agronomic traits of winter wheat in the Yangtze River Basin of China. *Field Crops Research* 124: 417-425.
  46. Winicov, I. 1998. New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. *Annals of Botany* 82: 703-710.
  47. Wu, S. 2009. Enhanced phytoremediation of salt-impacted soils using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). MSc. Thesis, Department of Biology, University of Waterloo, Ontario, Canada.
  48. Zhong, H. 2011. Salt mass balance study and plant physiological responses for an enhanced salt phytoremediation system. MSc. Thesis, Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada.

## Effects of Salinity and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Some Physiological Traits and Grain Yield of Hulled Wheat Compared to Durum Wheat

S. Tabatabaei<sup>1</sup> and P. Ehsanzadeh<sup>2\*</sup>

(Received: March 11-2015; Accepted: August 10-2015)

### Abstract

Scientific data on the hulled wheats is scarce. Therefore, changes in some physiological attributes including carotenoids concentration, antioxidant enzymes activity, malondialdehyde content (MDA), cell membrane stability index (MSI) and grain yield in a hulled tetraploid wheat (i.e. "Joneghan") and a durum wheat cultivar (i.e. "Yavaroos") in response to salinity and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) were studied using a split-factorial based on randomized complete block design at Research Farm, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran in 2013. Three levels of irrigation water salinity (control, 100 and 200 mM of NaCl) were chosen as main plots and the two tetraploid wheat genotypes and three PGPR strains (550, 57 and UW3) and bacteria-free control were considered as subplots. Salinity led to significant decreases in grain yield/m<sup>2</sup> (nearly 30%), activity of the antioxidative enzymes of catalase (CAT), peroxidase (POX) and ascorbate peroxidase (APOX) and carotenoids concentration. Salinity led to a decrease in MSI and an increase in MDA content, indicating salt-induced damages to the cells. Bacterial strains left different effects on the above-mentioned traits. Strain 550 led to 44% increase in grain yield of the two genotypes at the absence of salt, though strain UW3 led to 24% increase in grain yield of the genotypes, when grown at the presence of 200 mM of NaCl. Though, the bacterial strains led to increase in MSI of the salt-treated plants. From the data obtained in the present field study we can conclude that the PGPR efficacy in the mitigating salt stress in tetraploid wheat is genotype-, salt level- and strain-specific. The "Joneghan" hulled tetraploid wheat was out-performed by the "Yavaroos" durum wheat, though its yield penalty due to saline water did not appear to differ from that of the latter genotype.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Plant growth promoting rhizobacteria, Membrane stability, Salinity, Tetraploid wheat, Malondialdehyde

---

1, 2. PhD Student and Associate Professor, Respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

\*. Corresponding Author, Email: ehsanzadehp@gmail.com