اثر سیدروفور باکتریایی بر رفتار بیولوژیک ذرت در شرایط آبیاری تأخیری

ساناز صرافی[۱]، آرمان آذری[۱*]، روح‌الله صابری‌ریسه[۲] و علی‌اکبر محمدی‌میریک[۱]

[۱]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، [۲]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰٦، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٦/۰۱/۲۳)

چکیده:

این پژوهشی بر کشت دوم ذرت (SC645) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. دور آبیاری به عنوان عامل اول در دو سطح شامل انجام آبیاری پس از ۷۵ (I_1: به عنوان شاهد) و ۱۲۰ میلی‌متر (I_2: آبیاری تأخیری) تبخیر از تشتک تبخیر کلاس آ و عامل دوم در دو سطح شامل کاربرد (S_1) و عدم کاربرد سیدروفور (S_2: به عنوان شاهد) بود. کاربرد سیدروفور به صورت محلول‌پاشی (غلظت ۲ در هزار در مراحل ٦-٤ و ١٤-١٢ برگی) و مصرف با آب آبیاری (۲۰ کیلوگرم در هکتار در مرحله گره بندی) صورت گرفت. نتایج آزمایش نشان داد دور آبیاری I_1 نسبت به I_2، سبب افزایش رنگیزه‌های برگ، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، پایداری غشاء، شاخص سطح برگ (LAI) و سطح مخصوص برگ (SLA) و کاهش ساکارز، پراکسیداسیون چربی‌ها (MDA)، فعالیت آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز گردید. تیمار S_1 نیز در مقایسه با S_2، موجب افزایش رنگیزه‌های برگ، قابلیت تنظیم اسمزی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، RWC، پایداری غشاء، LAI و SLA و کاهش MDA شد. در برهمکنش عوامل آزمایش، در هر سطح آبیاری، کاربرد سیدروفور باعث افزایش کلروفیل (a، b و کل) برگ، پرولین و قندهای محلول شد. بیشترین عملکرد تر زیست‌توده (g/m^2 ۸٦۹۷) از تیمار I_1 بدست آمد. تیمار S_1 نیز در مقایسه با S_2 عملکرد تر زیست‌توده به میزان g/m^2 ١٦٤٤ گردد. در مجموع سیدروفور باکتریایی با بهبود قابلیت‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ذرت توانست در تخفیف اثرات تنش خشکی و افزایش ظرفیت فتوسنتزی آن مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، پرولین، خشکی، سیدروفور، مالون دی‌آلدئید.

مقدمه:

از نقطه نظر کشاورزی، خشکی عبارت از ناکافی بودن آب قابل دسترس در طی دوره رشد گیاهان زراعی است که باعث محدود شدن پتانسیل ژنتیکی عملکرد گیاه زراعی می‌شود (Gubis *et al.*, 2007). تنظیم اسمزی یکی از رایج‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی است. ساکارز و دیگر قندهای آلی در تنظیم اسمزی، در طول دوره تنش مشارکت می‌نمایند و از ساختمان ماکرومولکول‌ها و غشاء طی از دست دادن آب شدید، محافظت می‌کنند. نقش اساسی قندها در حفاظت از سلول در برابر تنش خشکی تنها در ارتباط با درگیری مستقیم در سنتز ترکیبات دیگر و تولید انرژی نیست بلکه در ارتباط با پایداری غشاء، عمل به عنوان یک تنظیم کننده بیان ژن و مولکول‌های علامت دهنده می‌باشد. طی تنش، غلظت برخی از یون‌ها در واکوئل و همچنین برخی از ترکیبات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: armanazari@vru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

آلی و متابولیت‌های ثانویه مانند اسیدهای آمینه (به ویژه پرولین)، ساکارز و مونوساکاریدها در سیتوسول افزایش می‌یابد (Sankar *et al.*, 2007). پرولین اسیدآمینه‌ای است که هم در تشکیل پروتئین‌ها دخالت دارد و هم یکی از اسمولیت‌ها بوده که با کاهش پتانسیل اسمزی، یکی از سازوکارهای سلولی برای مواجهه با تنش خشکی می‌باشد (Chen and Dickman, 2005). پرولین، یک منبع ذخیره برای کربن، نیتروژن و نیز جاروکننده (Scavenger) رادیکال های آزاد می‌باشد (Chen and Murata, 2000). افزایش میزان پرولین برگ بر اثر تنش خشکی در گندم (احمدی و سی و سه مرده، ۱۳۸۳)، برنج (Pirdashti *et al.*, 2009) و ذرت (Valentovic *et al.*, 2006) گزارش شده است.

مولکول‌های کلروفیل نوع a و b، در کنار کارتنوئیدها (کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) مهم‌ترین رنگیزه‌های جذب کننده نور در گیاهان عالی هستند (Taiz and Zeiger, 2002). شرایط تنش باعث شکل‌گیری رادیکال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌گردد. فعالیت این گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن لیپیدها و تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن، تغییر ساختمان پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، از بین رفتن رنگدانه‌هایی مثل کلروفیل و حمله به مولکول‌های آلی مثل DNA می‌گردد (Fu and Huang, 2001). یکی از واکنش‌هایی که در حضور گونه‌های فعال اکسیژن سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی است که باعث تولید مالون دی آلدئید و اتیلن می‌شود (Liu and Huang, 2000). گیاهان دارای ساز و کارهای ضد اکسیداسیونی جهت کاهش اثر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سازوکارها شامل بروز تغییراتی در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه مانند کاتالاز (Catalase)، پلی‌فنل‌اکسیداز (Polyphenol oxidase)، پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیالیاز و ترکیبات دیگری از جمله فنل‌ها می‌باشد (Honty *et al.*, 2005). مشاهده شده است که در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان متحمل بیش از گیاهان حساس است. از این رو به نظر می‌رسد آنزیم‌های آنتی اکسیدان در افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی دارای نقش مهمی می‌باشند (Guo *et al.*, 2006).

محتوای نسبی آب برگ ممکن است تعادل بین آب تأمین شده برای برگ و سرعت تعرق را بهتر از سایر اجزاء روابط آبی منعکس کند، لذا شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت آبی برگ می‌باشد. محتوای نسبی آب برگ رابطه نزدیکی با پتانسیل آب گیاه دارد (Sanchez-Rodriguez, 2010). پایداری غشاء به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن تعیین می‌شود. میزان پایداری غشاء سلولی به خوبی با تحمل سایر فرآیندهای گیاهی به تنش از جمله فتوسنتز مرتبط بوده و به عنوان شاخصی از تحمل به تنش ارائه شده است (Sairam *et al.*, 2002).

عمده‌ترین صدماتی که بر اثر کم آبی در گیاهان بروز می‌کند، کاهش رشد می‌باشد، که بر اثر کاهش آماس سلولی بروز می‌کند. با کاهش رشد، سطح فتوسنتز کننده گیاه و شاخص سطح برگ تقلیل یافته و باعث کاهش تولید مواد غذایی می‌گردد. کمبود عرضه مواد غذایی به نوبه خود، رشد ریشه‌ها را تقلیل داده و گیاه قادر به جذب آب و مواد مورد نیازخود نخواهد بود (Praxedes *et al.*, 2006).

سیدروفور (Siderophore)، یک ترکیب آلی با اثرات بیولوژیک گسترده بر گیاه می‌باشد که در افزایش تحمل گیاه در مواجهه با پاتوژن‌های بیماری‌زا موثر است. این عوامل، کلات کننده اختصاصی یون آهن بوده که توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها در شرایط کمبود آهن تولید می‌شوند. سیدروفورها نه تنها باعث جذب آهن توسط باکتری‌ها شده بلکه مقاومت سیستمیک را هم در گیاه القاء می‌کند. بخش لیپوپلی‌ساکارید آن، عامل اصلی القاء مقاومت سیستمیک در شرایط فراوانی آهن است (Van Loon *et al.*, 1998). در نتیجه این تحریک‌ها، سیگنال‌های مقاومت تولید و در سراسر گیاه پخش می‌شوند. این سیگنال‌ها باعث تحریک بیان ژن‌های مقاومت در سراسر گیاه و در نتیجه، باعث تولید پروتئین‌های مرتبط با مقاومت به بیماری‌زایی (PR) می‌شوند (Cao *et al.*, 1994). این پروتئین‌ها، ترکیبات پروتئینی هستند که توسط گیاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

میـزبان در پاسخ به حمله عوامل بیماریزا یا تنش‌های محیطی مانند تنش شوری و خشکی، زخم شدن مکانیکی و کاربرد تعدادی از هورمون‌های گیاهی تولید می‌شوند (Van Loon and Van Strien, 1999) که معمولا به طور سیستمیک در گیاه تولید شده و سبب پدیده القاء مقاومت سیستمیک (SAR) می شوند. در نتیجه آلودگی‌ها و تنش‌های بعدی کنترل می‌گردند (Ali and Vidhale, 2013).

ذرت (*Zea mays* L.) از خانواده Gramineae ، گیاهی یک ساله، دگرگشن، ویژه مناطق گرم و فصول گرم سال در مناطق معتدل است. ذرت به دلیل قدرت سازگاری به شرایط اقلیمی گوناگونی که دارد، خیلی زود در تمام دنیا گسترش یافته و مکان سوم را بعد از گندم و برنج از نظر سطح زیر کشت به خود اختصاص داده است. بیشترین مصرف آن در تغذیه دام و طیور به‌صورت دانه، علوفه سبز و سیلو می‌باشد. به این ترتیب به طور غیرمستقیم از طریق گوشت، تخم‌مرغ و لبنیات مورد تغذیه انسان قرار می‌گیرد (خواجه‌پور، ۱۳۹۲).

با توجه به کمبود منابع آب تجدید شونده در دنیا، بزرگترین چالش در زمینه تولید کشاورزی، افزایش تولید محصولات کشاورزی با حداقل مصرف آب خواهد بود. انجام کشت تابستانه، امکان صرفه‌جویی در مصرف آب به میزان دو سوم کشت بهاره را فراهم می‌آورد. به عنوان مثال، نیاز آبی ذرت در کشت اول در حدود ۸۰۰۰ متر مکعب و در کشت دوم ٦٥٠٠ متر مکعب می‌باشد (خدابنده، ۱۳۷۹). با این حال، انجام آبیاری تأخیری در کشت تابستانه (کشت دوم یا فرعی) نیز قابل بررسی و توصیه بوده و در این زمینه، تحقیقات انجام شده محدود است. از آنجایی که آبیاری تأخیری، با شدت‌های مختلف تنش خشکی همراه می‌باشد، کاهش شدت تنش از طریق محلول‌پاشی برخی ترکیبات معدنی و آلی امکان پذیر است. از آن جمله، سیدروفور باکتریایی می‌باشد که در حال حاضر توسط شرکت پرشین بنیان آریا به تولید تجاری (با فرمول شیمیایی $C_{14}H_{16}N_2O_3S_2$) رسیده است که در زمینه کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی بسیار موفق عمل کرده است. اما به صورت طرح تحقیقاتی در زمینه کاهش اثرات تنش‌های محیطی مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به این مطالب و نظر به اهمیت گیاه ذرت و ویژگی‌های خاص آن (گرمادوست بودن و بهره‌بری از سیستم فتوسنتزی C4 و سرعت رشد و تولید عملکرد بالا)، ضرورت انجام این تحقیق شکل گرفت.

مواد و روش‌ها:

شهر رفسنجان با عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۲۳ دقیقه و طول جغرافیایی ٥٦ درجه با ارتفاع ١٤٦٩ متر از سطح دریا دارای اقلیمی خشک و زمستان نسبتا سرد و تابستان گرم وخشک با حداکثر دمای ٤٤ درجه سانتی‌گراد و میزان بارندگی بلند مدت ۹۰ میلی‌متر در سال می‌باشد. این آزمایش با هدف بررسی اثرات بیولوژیک (مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی) کاربرد سیدروفور باکتریای بر ذرت (SC645) در شرایط تنش خشکی ناشی از آبیاری تأخیری، در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. دور آبیاری به عنوان عامل اول در دو سطح شامل انجام آبیاری پس از ۷۵ (I_1: به عنوان شاهد) و ۱۲۰ میلی‌متر (I_2: آبیاری تأخیری) تبخیر از تشتک تبخیر کلاس آ و عامل دوم در دو سطح شامل کاربرد (S_1) و عدم کاربرد سیدروفور (S_2: به عنوان شاهد) بود. کاربرد سیدروفور به دو صورت محلول‌پاشی (در دو مرحله ٦-٤ برگی و ١٤-١٢ برگی، با غلظت ۲ در هزار و در تیمار S_2، محلولپاشی با آب مقطر) و مصرف با آب آبیاری (در آغاز گره‌بندی و به میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار) صورت گرفت (جدول ۱). کاشت به صورت جوی و پشته با فاصله ردیف ۷۵ سانتی‌متر و تراکم ۱۰ بوته در مترمربع، در اول تیر ماه سال ۱۳۹۳ (کشت تابستانه یا کشت دوم) انجام گرفت. هر کرت شامل ٤ ردیف کاشت و به طول ۹ متر بود. فاصله بین سطوح آبیاری، دو پشته به صورت نکاشت در نظر گرفته شد. اعمال تیمارهای دور آبیاری پس از استقرار گیاه و رسیدن به مرحله چهار تا شش برگی اجرا و تا پایان دوره ادامه یافت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

جدول۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

pH	EC	منگنز	روی	مس	آهن	فسفر	پتاسیم	نیتروژن	ماده آلی	بافت خاک
	$dS.m^{-1}$	میلی‌گرم در کیلوگرم						%		
۷/٦	٤/٤۱	۸/۳۵	۰/۵۱	۰/۸۲	۱/۵٤۷	۷	۲۵۲	۰/۰۹۷	۰/۰۹	لوم شنی

نمونه برداری از برگ بلال و در مرحله تاسل دهی انجام و صفات زیر مورد اندازه گیری قرار گرفت:

محتوای نسبی آب برگ: ابتدا ۱۰ عدد دیسک به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از پهنک جوان‌ترین برگ بالغ تهیه و وزن (FW) شدند. سپس داخل فالکون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت در دمای ٤-۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شدند تا سلول‌های برگ به حالت تورژسانس کامل درآیند. پس از حذف رطوبت سطحی آن‌ها، توزین (TW) گردیده. بعد از آن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد به مدت ٤۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک دیسک‌ها (DW) اندازه‌گیری شد. RWC با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Ritchie *et al.*, 1990).

$$RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

پایداری غشاء سلول: تعداد ۱۰ عدد دیسک به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از پهنک جوان‌ترین برگ بالغ تهیه در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون لوله فالکون ریخته و به مدت ۸ ساعت داخل یخچال قرار گرفتند. سپس میزان هدایت الکتریکی محلول (EC1) در دمای ۲۵ درجه سانی‌گراد سنجیده شد. در ادامه اتوکلاو فالکون‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد انجام و بعد از سردشدن کامل، دوباره میزان هدایت الکتریکی (EC2) در دمای ۲۵ درجه سانی‌گراد اندازه‌گیری و با رابطه زیر و میزان نشت الکترولیت‌ها به میزان پایداری غشاء سلولی (CMS: Cell Membrane Stability) تبدیل گردید (Sarim *et al.*, 2002).

$$CMS = [1 - (EC1 / EC2)] \times 100$$

رنگدانه‌های برگ: میزان رنگدانه‌های برگ شامل کلروفیل a، b و نسبت کلروفیل a به b و کاروتنوئید، با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1967) با نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ بالغ و عصاره‌گیری با استون اندازه‌گیری شد، بدین ترتیب که مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی با استون ۸۰ درصد ساییده شده و سپس محلول حاصله توسط کاغذ صافی، صاف شده و داخل بالن ژوژه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (T80 UV/VIS Spectrophotometer, PG Instruments Limited, UK) در طول موج‌های ٦٦۳/۲، ٦٤٦/۸ و ٤۷۰ نانومتر قرائت گردید.

رابطه ۳-۵ :

$$Chla = \{12.25 (A663.2) - 2.79 (A646.8)\} \times V/1000 \times W$$
$$Chlb = \{12.21(A646.8) - 5.10 (A663.2)\} \times V/1000 \times W$$
$$Car = [(1000 (A470) - 1.8 (chla) - 85.02 (chlb)] / 198$$

A : میزان جذب قرائت شده

V: حجم استون مصرف شده

W: وزن نمونه (گرم)

همچنین مقدار نسبت کلروفیل a/b از تقسیم میزان کلروفیل a به b محاسبه گردید.

پرولین برگ: مقدار ۰/۲ گرم برگ بالغ را با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید در هاون چینی ساییده سپس محلول حاصل شده توسط کاغذ صافی صاف شد. دو میلی‌لیتر از عصاره فوق را با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه کرده، سپس این مخلوط به مدت ٦۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن، ٤ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه کرده و توسط ورتکس بهم زده شدند تا پرولین محلول وارد تولوئن شود. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شده تا مخلوط دو فاز شود. سپس فاز بالایی جدا شده و میزان جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

اندازه‌گیری شد. استانداردهای پرولین نیز با استفاده از ال‌پرولین در غلظت‌های ۰، ٤، ۸، ۱۲، ۱٦، ۲۰ و ۲٤ میلی‌گرم در لیتر تهیه و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد (Bates, 1973).

پراکسیداسیون چربی‌های غشائی: این آزمایش با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون چربی‌های غشا انجام شد. نمونه‌های برگی به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری کلرواستیک اسید) ۱۰٪ عصاره‌گیری شدند. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر TBA (تیوباربی توریک اسید) ۰/۵٪ اضافه شد و در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام خارج شده و پس از سرد شدن میزان مالون دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ε=۱۵۵ $\mu M.cm^{-1}$ محاسبه شد (De Vos and Schat, 1991).

$$MDA\ (\mu M\ g^{-1}\ cm^{-1} FW) = ((A532 - A600)/155) \times 1000$$

ساکارز برگ: مقدار ۰/۲ گرم برگ تازه را با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی ساییده سپس محلول حاصل را در لوله فالکون ریخته و محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و ۰/۱ میلی‌لیتر KOH ۳۰ درصد به همه نمونه‌ها اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. وقتی که نمونه ها خنک شدند (تا دمای اتاق) ۳ میلی‌لیتر محلول آنترون (۱۵۰میلی‌گرم آنترون و ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک رقیق شده (۷٦ میلی‌لیتر اسید سولفوریک در ۳۰ میلی‌لیتر آب) به نمونه‌ها اضافه شد و در۴۰ درجه برای ۱۵-۱۰ دقیقه نگهداری شدند. بعد از خنک شدن نمونه‌ها، جذب در طول موج ٦۲۰ نانومتر قرائت شد. برای تهیه استاندارد از ساکارز در غلظت‌های صفر، ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد (Van handel, 1968).

مجموع قندهای محلول برگ: میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در اتانول با ۳ میلی‌لیتر از آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون به علاوه ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد و پس از خنک شدن جذب در طول موج ٦۲۵ نانومتر قرائت گردید. استانداردها از گلوکز خالص در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰، ۲۰۰۰، ۲۲۵۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و جذب آن‌ها اندازه‌گیری گردید. تعیین میزان قند بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه انجام شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

تهیه عصاره پروتئینی: ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه گیاه در ۵ سی‌سی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷/۵ که حاوی پلی ونیل پیرولیدین (PVP) ۱درصد و EDTA ۱میلی مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ٤۰۰۰g و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم ها استفاده شد.

سنجش پروتئین کل: به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ سی‌سی معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس شدند. بعد از ۵ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

تهیه معرف برادفورد: به منظور تهیه معرف بیوره ۱۰۰ میلی‌گرم رنگ کوماسی برلیانت بلو در ۵۰ سی‌سی اتانول ۹۵٪ به مدت یک ساعت حل گردید. سپس ۱۰۰ سی‌سی اسید فسفریک ۸۵٪ قطره قطره به آن افزوده شد و در پایان حجم کل با آب مقطر به ۱ لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید (Bradford, 1976).

تهیه بافر استخراج: به منظور تهیه بافر استخراج ٦/۸ گرم KH2PO4 در بالن ژوژه به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده شد، ۸/۷ گرم K2HPO4 نیز در بالن ژوژه به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده شد (بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار). سپس ۷/۱۷ سی‌سی از K2HPO4 با ۲/۸۳ سی‌سی از KH2PO4 ترکیب شد و کل آن به حجم ۲۰۰ سی‌سی رسانده شد. سپس ۰/۰٦ گرم EDTA اضافه گردید تا حل شود و پس از آن ۲ گرم (Poly Vinyl Pyrrolidone) اضافه شده و روی هیتر قرار گرفت تا کامل حل شود. پس از خنک شدن محلول pH به ۷/۵ رسانده شد.

سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز: به منظور اندازه‌گیری میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

آنزیم گایاکول پراکسیداز، ۲/۷۷ سی‌سی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) با ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱٪ و ۱۰۰ میکرولیتر گایکول ٤٪ و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی ترکیب شد. سپس عصاره نهایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتری و جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (Plewa *et al.*, 1991).

سنجش آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: برای اندازه‌گیری محتوای آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، مخلوط واکنش شامل ۲/۵ سی‌سی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار با pH برابر ۷ ، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب در طول موج ٤۲۰ نانومتر و بعد از ۳ دقیقه قرائت شد (Nicoli *et al.*, 1991).

سنجش آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز: جهت اندازه‌گیری این آنزیم، ۱ سی‌سی بافر استخراج پتاسیم فسفات، ۰/۵ سی‌سی فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار ، ۰/٤ سی‌سی آب دو بار تقطیر و ۰/۱ سی‌سی عصاره آنزیمی مخلوط شدند و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بن ماری گردید. سپس واکنش با اضافه کردن ۰/۵ سی‌سی اسید کلریدریک ٦ مولار متوقف شد و جذب در طول موج ۲٦۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد (Dcunha *et al.*, 1996).

سطح برگ با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ مدل (Leaf area meter, Delta T, CI-202WD3, UK)، سطح مخصوص برگ (حاصل تقسیم سطح برگ بر وزن خشک برگ) و شاخص پربرگی (حاصل تقسیم وزن خشک برگ بر وزن خشک زیست‌توده) محاسبه شد (کریمی و عزیزی، ۱۳۷۳).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و ترسیم نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel انجام گرفت. مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی دور آبیاری و کاربرد سیدروفور بر تمامی صفات رنگیزه‌های برگ و اثر متقابل آنها نیز بر کلروفیل a و b و کلروفیل کل معنی‌دار گردید (جدول ۲). به گونه‌ای که با تأخیر در آبیاری و عدم کاربرد سیدروفور، میزان این رنگیزه‌ها کاهش یافت و بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a، b و کل به ترتیب مربوط به تیمار I_1S_1 و I_2S_2 می‌باشد (جدول ۳). کاهش کلروفیل‌ها، نتیجه منفی تنش خشکی ناشی از تأخیر در آبیاری است. علت این کاهش توسط برخی محققین نوعی ویژگی تطبیقی در گیاهان در حال رشد تحت تنش کمبود آب تلقی شده (Munne-Bosch and Alegre, 1999) و از طرف دیگر، علت آن را افزایش تولید رادیکال‌های آزاد که باعث پراکسیداسیون و تجزیه رنگیزه‌ها می‌گردند نیز ذکر شده است (Schutz and Fangmeir, 2001). کاربرد سیدروفور نیز با توجه به نقش آن در کمک به جذب عناصری نظیر آهن می‌تواند در ساخت رنگیزه کلروفیل موثر باشد. کلروفیل b دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با کلروفیل a ($r = ۰/۹۱^{**}$) بود که بیان کننده ارتباط نزدیک این دو رنگیزه می‌باشد. مقایسه میانگین اثر دور آبیاری بر نسبت کلروفیل a/b و کارتنوئیدها نشان داد که تأخیر در آبیاری (I_2) سبب کاهش نسبت کلروفیل a/b و کارتنوئیدها شد (جدول ٤). نسبت کلروفیل a/b دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با کلروفیل a ($r=۰/۸۸^{**}$) و نیز کلروفیل کل ($r=۰/۸٤^{**}$) بود. این نشان می‌دهد که تغییرات این نسبت بیشتر، از تغییرات کلروفیل a تبعیت می‌کند. کاربرد سیدروفور (S_1) نیز نسبت به عدم کاربرد آن (S_2) افزایش در هر دو صفت را به دنبال داشت (جدول ۵). کارتنوئیدها نیز همبستگی مثبتی با کلروفیل a ($r =۰/۹٦^{**}$) و کلروفیل b ($r =۰/۸۸^{**}$)، نشان دادند که بیانگر نقش کارتنوئیدها در سیستم فتوسنتزی و همکاری با دو رنگدانه دیگر می‌باشد. چرا که تمامی رنگیزه‌های برگ به غیر از کلروفیل a، نقش کمکی (آنتن و حفاظتی) دارند و تغییرات آنها از تغییرات کلروفیل a تبعیت می‌کند.

اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر محتوای پرولین برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). بررسی جدول مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان پرولین در تیمار I_2S_2 و کمترین آن در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

جدول ۲- تجزیه واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین برگ.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a/b	کلروفیل کل	کارتنوئید	پرولین
بلوک	۲	۰/۰۶۰**	۰/۰۱۰۰**	۰/۰۰۵ns	۰/۱۲۲**	۱۸۳**	۱۷/۸*
دور آبیاری	۱	۰/۴۸۸**	۰/۰۲۴۳**	۰/۲۳۵**	۰/۷۳۰**	۹۱۸**	۳۹۱**
سیدروفور	۱	۰/۲۷۰**	۰/۰۱۲۰**	۰/۱۴۰**	۰/۳۸۹**	۶۹۰**	۸۹/۱**
دور آبیاری×سیدروفور	۱	۰/۰۲۶*	۰/۰۰۴۰*	۰/۰۰۲ns	۰/۰۴۸*	۲/۰۸ns	۴۶/۰**
خطا	۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۱۵/۸	۲/۷۵
ضریب تغییرات(٪)		۳/۸۱	۳/۹۶	۳/۳۳	۳/۵۷	۴/۵۵	۹/۵۱

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل عوامل آزمایش بر کلروفیل a، b، کل، پرولین و قندهای محلول برگ ذرت دانه‌ای

دور آبیاری	سیدروفور	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین	قندهای محلول
		mg/g FW			µg/g FW	mg/g FW
I_1	S_1	۱/۸۷۷a	۰/۶۱۷a	۲/۴۹a	۱۲/۵c	۲/۸۸c
	S_2	۱/۶۷۰b	۰/۵۹۰ab	۲/۲۶b	۱۰/۱c	۲/۵۱c
I_2	S_1	۱/۵۶۶b	۰/۵۶۳b	۲/۱۳b	۲۷/۸a	۴/۶۹a
	S_2	۱/۱۷۳c	۰/۴۶۳c	۱/۶۴c	۱۸/۵b	۳/۶۶b
LSD 5%		۰/۱۱۱	۰/۰۴۰	۰/۱۵۵	۳/۳۵۴	۰/۴۰۴

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هرستون، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ ٪ می‌باشند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر دور آبیاری بر کلروفیل a/b، کارتنوئیدها، ساکارز، مالون دی‌آلدئید و آنزیم گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

دور آبیاری	کلروفیل a/b	کارتنوئیدها	ساکارز	مالون دی‌آلدئید	گایاکول پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
		mg/g FW		mM/g FW	unit/mg protein	
I_1	۲/۹۴	۰/۹۶۰	۰/۲۱۳	۰/۶۸۲	۲/۱۶	۰/۱۸۵
I_2	۲/۶۶	۰/۷۸۵	۰/۳۷۱	۱/۰۵	۳/۱۰	۰/۲۲۱
LSD 5%	۰/۱۳۲	۰/۰۵۶	۰/۰۵۹	۰/۰۸۶	۰/۱۰۶	۰/۰۲۴

FW: وزن تازه (Fresh Weight)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر سیدروفور بر کلروفیل a/b، کارتنوئیدها، ساکارز، مالون دی‌آلدئید و آنزیم گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

دور آبیاری	کلروفیل a/b	کارتنوئیدها	ساکارز	مالون دی‌آلدئید	گایاکول پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
		mg/g FW		mM/g FW	unit/mg protein	
I_1	۲/۹۱	۰/۹۴۸	۰/۳۳۷	۰/۷۷۰	۲/۸۳	۰/۲۱۶
I_2	۲/۶۹	۰/۷۹۷	۰/۲۴۸	۰/۹۶۳	۲/۴۲	۰/۱۹۰
LSD 5%	۰/۱۳۲	۰/۰۵۶	۰/۰۵۹	۰/۰۸۶	۰/۱۰۶	۰/۰۲۴

FW: وزن تازه

تیمار I_1S_1 و I_1S_2 مشاهده شد (جدول ۳). همان گونه که مشخص است اثر فراهمی رطوبت خاک غالب‌تر از اثر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

سیدروفور بوده است. با این حال، در شرایط یکسان آبیاری، کاربرد سیدروفور توانسته اثر افزایشی بر سطح پرولین در برگ داشته باشد. پرولین یکی از اسیدهای آمینه فعال در پدیده تنظیم اسمزی می‌باشد که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش بسزایی دارد و تأخیر در آبیاری سبب افزایش تولید آن در برگ گردیده است. کاربرد سیدروفور نیز از طریق عواملی نظیر کمک به بهبود جذب عناصر غذایی احتمالاً در بهبود روند سنتز پرولین می‌تواند مؤثر بوده باشد. در پژوهشی دیگر نتیجه گرفتند که تنش خشکی در مراحل مختلف رشد در برنج، میزان پرولین را افزایش داده و ارقام با میزان بالای پرولین، دانه بیشتری را در طی تنش خشکی تولید کردند (Pirdashti *et al.*, 2009). پرولین دارای همبستگی منفی و معنی‌دار با کلروفیل a ، کلروفیل b و کارتنوئیدها (به ترتیب *۰/۷٦-، *۰/۷۹- و **۰/۸۷-) بود (جدول ٦). پرولین و کلروفیل هر دو از پیش‌ماده گلوتامات به وجود می‌آیند (Matthews and Anderson, 1988) و این می‌تواند از دلایل همبستگی منفی بین کلروفیل و پرولین باشد. همبستگی منفی بین پرولین با کارتنوئیدها هم می‌تواند ناشی از ارتباط نزدیک و مستقیم کارتنوئیدها و کلروفیل‌ها باشد که از تغییرات آن تبعیت می‌کند. از طرف دیگر، با توجه به تشابه نقش حفاظتی کلروفیل b و کارتنوئیدها با پرولین، افزایش حضور پرولین سبب کاهش این وظیفه برای دو رنگیزه دیگر شده و ضرورت حضور آنها کمتر خواهد شد.

اثر اصلی عوامل آزمایشی بر میزان قندهای محلول برگ و ساکارز و اثر متقابل دور آبیاری و سیدروفور نیز بر محتوای قندهای محلول برگ معنی‌دار گردید (جدول ۷). نتایج جدول مقایسه میانگین نشان داد که تأخیر در آبیاری و کاربرد سیدروفور سبب افزایش محتوای قندهای محلول شد. به طوری که بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار I_2S_1 بدست آمد (جدول ۳). همچنین تأخیر در آبیاری (I_2) نسبت به دور آبیاری شاهد (I_1) (جدول ٤) و کاربرد سیدروفور (S_1) نیز نسبت به عدم کاربرد آن (S_2) میزان ساکارز را افزایش داد (جدول ۵). محدودیت رشد ناشی از کاهش فراهمی رطوبت در خاک و تداوم فتوسنتز و همچنین نیاز به انجام تنظیم اسمزی و شکسته شدن کربوهیدرات‌های درشت نامحلول از دلایل تجمع کربوهیدرات‌های محلول و ساکارز در برگ می‌باشد. حضور سیدروفور، باعث تجمع بیشتر قندهای محلول نسبت به وضعیت عدم کاربرد آن می‌باشد که می‌تواند مربوط به اثرات بیولوژیک آن نظیر بهبود فعالیت آنزیم‌های سلولی (مؤثر در سنتز کربوهیدرات یا تجزیه نشاسته) ناشی از بهبود تغذیه گیاه باشد. قندهای محلول با کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی منفی (به ترتیب *۰/۷۲-، *۰/۷۹- و **۰/۸٤-) و با پرولین همبستگی مثبت (**۰/۹۹) نشان داد. ساکارز نیز دارای همبستگی منفی با کلروفیل b و کارتنوئیدها (به ترتیب *۰/۷۲- و *۰/۷۷-) و همبستگی مثبت با پرولین (**۰/۹۸) بود که تایید کننده مطالب گفته شده می‌باشد. تحقیقات نشان داد که افزایش سنتز کربوهیدرات‌ها به عنوان یک نشانه برای مقاومت به تنش خشکی محسوب می‌شود. تنش خشکی منجر به افزایش تجزیه نشاسته و تجمع قندهای محلول (ساکارز و فروکتوز) می‌شود که به حفظ تورژسانس کمک می‌کند. بنابراین هنگامی که پتانسیل آب برگ کاهش می‌یابد، تجمع قندها احتمالاً در تنظیم اسمزی نقش اصلی را ایفا می‌نمایند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

اثر اصلی عوامل آزمایشی بر میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) برگ معنی‌دار بود (جدول ۷) و تأخیر در آبیاری (I_2) و عدم کاربرد سیدروفور (S_2) سبب افزایش میزان MDA شد (جدول ٤ و ۵). MDA با کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی منفی (به ترتیب **۰/۹۰-، *۰/۸۱- و **۰/۹٦-) و با پرولین همبستگی مثبت (**۰/۹۳) نشان داد. تأخیر در آبیاری و بروز تنش خشکی، از طریق بسته شدن روزنه‌ها و اختلال در جذب CO_2 باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شده که پراکسیداسیون چربی‌ها و صدمه به فسفولیپیدهای غشاءهای سلولی را افزایش خواهد داد که صدمه به غشاءهای کلروپلاست با کاهش کلروفیل و اکسید شدن مولکول‌های آن همراه می‌باشد. همبستگی با پرولین، بیان کننده روند تغییرات یکسان این دو ترکیب می‌باشد که ظاهرا نشان دهنده عدم نقش حفاظتی پرولین در مقابل تنش اکسیداتیو می‌باشد و احتمالاً

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

جدول٦- ضرایب همبستگی بین صفات

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱٤
شماره صفت	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a/b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پرولین	قندهای محلول	ساکارز	MDA[1]	GPO[2]	PPO[3]	PAL[4]	MS[5]	زیست‌توده
۲	۰/۹۱**	۱												
۳	۰/۸۸**	۰/٦۰ns	۱											
٤	۰/۹۹**	۰/۹٤**	۰/۸٤**	۱										
٥	۰/۹٦**	۰/۸۸**	۰/۸۲*	۰/۹٦**	۱									
٦	−۰/۷٦*	−۰/۷۹*	۰/٥۳ns	−۰/۷۸*	−۰/۸۷**	۱								
۷	−۰/۷۲*	−۰/۷۹*	۰/٤٦ns	−۰/۷٥*	−۰/۸٤**	۰/۹۹**	۱							
۸	۰/٥٥ns	−۰/۷۲*	۰/۳۹ns	۰/٥۷ns	−۰/۷۷*	۰/۹۸**	۰/۹۹**	۱						
۹	−۰/۹۰**	−۰/۸۱*	−۰/۷۸*	−۰/۹۰**	−۰/۹٦**	۰/۹۳**	۰/۸۹**	۰/۸٥**	۱					
۱۰	−۰/۷۷*	−۰/۸۲*	۰/٥۲ns	−۰/۷۹*	−۰/۸۷**	۰/۹۹**	۰/۹۹**	۰/۹۷**	۰/۹۲**	۱				
۱۱	۰/٤۱ns	۰/٥۲ns	۰/۱۸ns	۰/٤٤ns	۰/٥٦ns	۰/۷۷*	۰/۸۰*	۰/۷٥*	۰/٦۳ns	۰/۸۰*	۱			
۱۲	۰/٤۷ns	۰/٥٦ns	۰/۲٦ns	۰/٥۰ns	۰/٦۰ns	۰/۷۸*	۰/۸۱*	۰/۷٤*	۰/٦۳ns	۰/۸۲*	۰/۹۷**	۱		
۱۳	۰/۹۷**	۰/۸۳*	۰/۹۰**	۰/۹٦**	۰/۹۸**	−۰/۸۲*	−۰/۷۷*	−۰/۷۰ns	−۰/۹٦**	−۰/۸۱*	−۰/٥ns	−۰/٥۲ns	۱	
۱٤	۰/۸۱**	۰/٦٦*	۰/۷۹**	۰/۷۹**	۰/۸۹**	−۰/۳۱ns	−۰/۳۱ns	−۰/۲٤ns	−۰/۸۷**	−۰/۲۷ns	−۰/۲ns	۰/۲۳ns	۰/٦۸*	

Ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد می‌باشد.

[1]مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde)، [2]گایاکول پراکسیداز (Guaiacol Peroxidase)، [3]پلی‌فنل اکسیداز (Polyphenol Oxidase)، [4]فنیل‌آلانین آمونیالیاز (Phenylalanine Ammonia Lyase)، [5] پایداری غشاء .(Membrane Stability)

جدول ۷- تجزیه واریانس قندهای محلول، ساکارز و مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های آنتی اکسیدان.

منابع تغییر	درجه آزادی	قندهای محلول	ساکارز	مالون دی‌آلدئید	گایاکول پراکسیداز	پلی‌فنل اکسیداز	فنیل آلانین آمونیالیاز
بلوک	۲	۰/۱٦٤ns	۰/۰۰٤ns	۰/۰۱۹*	۰/۰۷۹**	۰/۰۰۰۰ns	۰/۰۱٤ns
دور آبیاری	۱	٦/٥۸**	۰/۰۷٤**	۰/٤۰٤**	۲/٦۲**	۰/۰۰۳۹**	۰/۰۱۹ns
سیدروفور	۱	۱/٤٦**	۰/۰۲۳**	۰/۱۱۱**	۰/٥۰۸**	۰/۰۰۲۱*	۰/۰۱۸ns
دور آبیاری×سیدروفور	۱	۰/۳۱٦*	۰/۰۰٤ns	۰/۰۰۸ns	۰/۰۳۳ns	۰/۰۰۱۱ns	۰/۰۰۲ns
خطا	٦	۰/۰٤۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٥	۰/۰۰۰۲	۰/۰۱۲
ضریب تغییرات(٪)		٥/۸۹	۱٤/۱۷	۷/۰۱	۲/۸٤	۸/۲۰	۱۲/۳۲

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد می‌باشد.

پرولین بیشتر به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی ایفای نقش داشته اشت. کاربرد سیدروفور نیز باعث کاهش MDA شده که می‌تواند از طریق بهبود قابلیت تنظیم اسمزی و باز نگه داشتن روزنه‌ها برای تداوم فتوسنتز و ممانعت از کاهش پذیرنده نهایی الکترون و در نتیجه کاهش رادیکال‌های آزاد تولیدی باشد و یا از طریق کمک به جذب عناصر معدنی کم مصرف (آهن، روی و مس) باعث تشکیل آیزوزایم‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردیده و کاهش رادیکال‌های آزاد تولیدی را به دنبال داشته باشد.

نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ نشان داد که اثر اصلی عوامل آزمایش بر میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۷). مقایسات میانگین نشان داد که تأخیر در آبیاری (I_2) و همچنین کاربرد سیدروفور (S_2) سبب افزایش میزان فعالیت این آنزیم گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز شد (جدول ٤ و ٥). اما تأثیری بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز نداشتند (جدول ۷). بسیاری از آنزیم‌ها از جمله پلی‌فنل‌اکسیداز، پراکسیداز، کیتیناز و محتویات فنلی در ارتباط با مقاومت القایی سیستمیک می‌باشند که توسط سیدروفورها می‌تواند ایجاد گردد (Ali and Vidhale, 2013). از آنجایی که عناصری نظیر آهن و روی دارای نقش افزایشی در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان هستند (Molassiotis *et al.*, 2005; Torabian *et al.*, 2016)، کاربرد سیدروفور می‌تواند از طریق بهبود تغذیه، میزان فعالیت این آنزیم‌ها را افزایش دهد. گایاکول پراکسیداز با کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی منفی (به ترتیب دارای همبستگی *۰/۷۷-، *۰/۸۲- و **۰/۸۷-) و با پرولین، قندهای محلول، ساکارز و MDA دارای همبستگی مثبت (به ترتیب دارای همبستگی **۰/۹۹، **۰/۹۹، **۰/۹۷ و **۰/۹۲) بود. پلی‌فنل اکسیداز با پرولین، قندهای محلول، ساکارز وگایاکول پراکسیداز همبستگی مثبت (به ترتیب دارای همبستگی *۰/۷۷، *۰/۸۰، *۰/۷۵ و *۰/۸۰) داشت. فنیل آلانین آمونیالیاز نیز همبستگی مثبت با پرولین، قندهای محلول، ساکارز، گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز (به ترتیب دارای همبستگی *۰/۷۸، *۰/۸۱، *۰/۷٤، *۰/۸۲ و **۰/۹۷) نشان داد. این ضرایب می‌تواند نشان دهد که در شرایط تنش، چندین راه‌کار (تنظیم اسمزی و حذف رادیکال‌های آزاد) برای کاهش اثر تنش در سلول فعال می‌شوند. Abedi و همکاران (۲۰۱۲) نیز نتیجه گرفتند که تنش خشکی باعث افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می‌شود و بیان کردند که افزایش در گایاکول پراکسیداز می‌تواند یک عامل مهم برای تجزیه آب اکسیژنه باشد، به ویژه در زمانی که کاتالاز غیرفعال شده است .

اثر اصلی دور آبیاری و سیدروفور بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار گردید (جدول ۸). در دور آبیاری I_1 نسبت به دور آبیاری I_2، برگ‌ها دارای محتوای نسبی آب بیشتری بودند (جدول ۹). انجام آبیاری با دور کوتاه‌تر، به دلیل فراهمی بیشتر رطوبت در ناحیه ریشه، سبب بیشتر شدن محتوای نسبی آب برگ شد. تیمار S_1 در مقایسه با S_2 باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ گردید (جدول ۱۰). فراهمی رطوبت باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ و انجام فتوسنتز بیشتر (افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی) و کاهش میزان پرولین برگ می‌گردد. کاربرد سیدروفور احتمالاً از طریق بهبود و تقویت راه‌کارهای تنظیم اسمزی سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ گردیده است. این صفت در برنامه‌های اصلاحی به‌عنوان شاخص مناسب و مهمی در انتخاب برای مقاومت به خشکی مد نظر قرار می‌گیرد، بین پتانسیل آب گیاه و محتوای نسبی آب برگ همبستگی مثبت و بالایی وجود دارد و گیاهانی که در پایان دوره تنش بتوانند محتوای نسبی آب برگ بالاتری را حفظ کنند به لحاظ مقاومت به خشکی نیز برتر خواهند بود (حسن‌پور و همکاران، ۱۳۸۷).

پایداری غشاء تحت تأثیر اثر اصلی دور آبیاری و سیدروفور قرار گرفت (جدول ۸) و در تیمار I_1 و همچنین S_1 پایداری غشاء بیشتری حاصل شد (جدول ۹ و ۱۰). از آنجایی که انجام آبیاری و کاربرد سیدروفور باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (بر اساس نتایج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) پایداری و حفظ پیوستگی غشاهای سلولی نیز بیشتر خواهد بود. پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء توسط رادیکال‌های آزاد سبب کاهش پایداری غشاء سلول شده و در نتیجه، ترکیبات سیتوپلاسمی به خارج از اندامک‌ها نشت پیدا کرده و باعث آشفتگی عملکرد غشائی و برهم زدن تعادل متابولیسمی سلول می‌شود. بنابراین پایداری غشای سلولی یک شاخص مهم مقاومت گیاهان نسبت به تنش می‌باشد (Kocheva *et al.*, 2013). پایداری غشاء با کلروفیل a، b وکارتنوئیدها همبستگی مثبت (به ترتیب دارای همبستگی **۰/۹۷، *۰/۸۳ و **۰/۹۸) و با پرولین، قندهای محلول، MDA و گایاکول پراکسیداز همبستگی منفی (به ترتیب *۰/۸۲-، *۰/۷۷-، **۰/۹٦- و *۰/۸۱-) نشان داد. این گونه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

جدول ۸- تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء، شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	پایداری غشاء	شاخص سطح برگ	سطح مخصوص برگ	زیست‌توده
بلوک	۲	۱۳/۲^{ns}	٤/٥٤^{ns}	۰/۲٤۱*	۸/٥۸^{ns}	۲٥۲۸۱۰۲/۰*
دور آبیاری	۱	۳۳٤**	٤۱/٤**	۱/۸۰**	۸۰۰**	۱٦٤۹۰۰٤۰**
سیدروفور	۱	۱۳٤**	۲٤/۹**	۰/٦۳۰**	۱۹۲*	۸۱۰٦٥٦٤/۰**
دور آبیاری×سیدروفور	۱	٤/٥٦^{ns}	۰/۱۰۱^{ns}	۰/۰٦٦^{ns}	٦٥/۳^{ns}	۹٤٤۷۲٤/۰^{ns}
خطا	٦	۳/۹۲	۱/۷۱	۰/۰٤۱	۲۸/٥	۲۹۹۸٤۱
ضریب تغییرات(٪)		٥۲٤	۱/٦٦	٥/۱۸	٤/۰۷	۷/۲۸

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد. اعداد میانگین مربعات می‌باشد.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر دور آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء، شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ

دور آبیاری	محتوای نسبی آب برگ%	پایداری غشاء	شاخص سطح برگ	سطح مخصوص برگ cm^2/g	زیست‌توده g/m^2
I_1	۸٦/۸	۸۰/۸	٤/۳۳	۱۳۹	۸٦۹۷
I_2	۷٦/۳	۷۷/۰	۳/٥٦	۱۲۳	٦۳٥۳
LSD 5%	۲/۸	۱/۹	۰/۲۹	۷/٥	۷۷٤

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر سیدروفور بر محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء، شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ

دور آبیاری	محتوای نسبی آب برگ %	پایداری غشاء	شاخص سطح برگ	سطح مخصوص برگ cm^2/g	زیست‌توده g/m^2
I_1	۸٤/۹	۸۰/۳	٤/۱۷	۱۳٥	۸۳٤۷
I_2	۷۸/۲	۷۷/٥	۳/۷۲	۱۲۷	٦۷۰۳
LSD 5%	۲/۸	۱/۹	۰/۲۹	۷/٥	۷۷٤

استدلال می‌شود که در شرایطی که فتوسنتز بدون محدودیت و با حداکثر ظرفیت صورت می‌گیرد (فراوانی رنگیزه‌های برگی)، پایداری غشاء بیشتری نیز وجود دارد و زمانی که بر اثر عامل نامساعد، پرولین افزایش می‌یابد، از پایداری غشاء نیز کاسته خواهد شد. افزایش میزان MDA سبب کاهش پایداری غشاء می‌گردد. در شرایط عدم وجود تنش و باز بودن مسیر انتقال الکترون در سیستم فتوسنتز، تشکیل رادیکال‌های آزاد به طور قابل ملاحظه‌ای کم می‌باشد.

اثر اصلی عوامل آزمایشی بر شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ معنی‌دار بود (جدول ۸). دور آبیاری I_1 و همچنین تیمار S_1، باعث افزایش در این صفات شد (جدول ۹ و ۱۰). فراهمی رطوبت و تامین نیروی تورژسانس لازم برای رشد و تقسیم سلولی از یک طرف و بهبود فعالیت آنزیمی و فتوسنتزی بیشتر توسط سیدروفور از طرف دیگر سبب رشد و گسترش بیشتر برگ شده که هم شاخص سطح برگ و هم سطح مخصوص برگ را افزایش می‌دهد. البته باید گفت میزان اثر گذاری کمبود رطوبت، غالب بر اثر سیدروفور بوده است. همچنین از راه‌کارهای کاهش تعرق در بروز تنش خشکی، کاهش سطح برگ می‌باشد و در این شرایط، برای افزایش ظرفیت فتوسنتز علی‌رغم کاهش سطح برگ، افزایش تعداد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

لایه‌های سلولی پارانشیم نردبانی و اسفنجی در برگ و در نتیجه افزایش وزن مخصوص آن است (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی عوامل آزمایشی بر عملکرد تر زیست‌توده معنی‌دار گردید (جدول ۸). مقایسات میانگین اثر دور آبیاری بر عملکرد تر زیست‌توده نشان داد که با تأخیر در آبیاری عملکرد کاهش می‌یابد و بیشترین عملکرد تر زیست‌توده (۸٦۹۷ گرم بر مترمربع) در دور آبیاری ۷۵ میلی‌متر بوده است (جدول ۹). کاربرد سیدروفور نیز نسبت به عدم کاربرد سیدروفور تأثیر مثبت و معنی‌داری بر عملکرد تر زیست‌توده داشت و سبب افزایش عملکرد تر زیست‌توده به میزان ۸۳٤۷ در مقابل ٦۷۰۳ گرم بر مترمربع) گردید (جدول ۱۰). عملکرد تر زیست‌توده همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد زیادی از صفات مورد بررسی (کلروفیل a، b، کارتنوئیدها، محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء، شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ) نشان داد (جدول ٦) که همگی موارد دال بر آن است که هر عاملی که سبب بهبود و افزایش توانایی فتوسنتزی و فراهمی رطوبت کافی در گیاه شود، باعث افزایش رشد و عملکرد تولیدی می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی:

کاربرد سیدروفور در شرایط آبیاری تأخیری موجب افزایش توانایی تولید اسمولیت‌ها (پرولین، قندهای محلول و ساکارز) و ارتقاع توانایی تنظیم اسمزی و محتوای نسبی آب برگ گردید که این قابلیت‌ها، افزایش میزان تحمل به خشکی در گیاه می‌گردد. ضمن اینکه تقویت توانایی‌های حفاظتی سلول (افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) منجر به حفاظت غشاءها و کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه افزایش سلامت و پایداری غشاهای سلول شده که موجب تداوم حیات سلول و انجام فتوسنتز می‌گردد. آبیاری شاهد (I_1) و کاربرد سیدروفور (S_1)، افزایش رنگیزه‌های برگ و شاخص سطح برگ و سطح مخصوص برگ و در نتیجه، افزایش ظرفیت فتوسنتزی را به دنبال داشت.در عین حال باید در نظر داشت که کاربرد سیدروفور، باعث تخفیف اثرات تنش خشکی گردید، اما قادر به جبران اثرات آن نمی‌باشد.

منابع:

احمدی، ع. و سی و سه مرده، ع. (۱۳۸۳) تأثیر تنش آبی بر میزان کربوهیدرات‌های محلول، کلروفیل و پرولین چهار رقم گندم ایرانی تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی، مجله ایرانی علوم کشاورزی ۳۵: ۷٦۳-۷۵۳.

حسن‌پور، ج.، کافی، م. و میرهادی، م. ج. (۱۳۸۷) اثر تنش خشکی بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک جو، مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۹: ۱۷۷-۱٦۵.

خدابنده، ن. (۱۳۷۹) غلات. انتشارات دانشگاه تهران.

خواجه‌پور، م. ر. (۱۳۹۲) غلات. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان.

رسولی صدقیانی، م. ح.، خاوازی، ک. و ملکوتی، م .ج. (۱۳۸٤) باکتری‌های تولیدکننده سیدروفور و امکان تأمین آهن وروی مورد نیاز گیاهان. نشریه فنی شماره ٤۲۷. مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.

کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

کریمی، م. و عزیزی، م. (۱۳۷۳) آنالیزهای رشد گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

Abedi, T. and Pakniyat, H. (2012) Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Plant Breeding 46: 27-34.

Ali, S. S. and Vidhale, N. N. (2013) Bacterial siderophore and their application: a review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2:303-312.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

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.

Cao, H., Bowling, S. A., Gordon, A. S. and Dong, X. (1994) Characterization of an Arabidopsis mutant that is nonresponsive to inducers of systemic acquired resistance. Plant Cell 6:1583-1592.

Chen, C. and Dickman, M. B. (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Plant of the National Academy of Sciences of the United States of America 102: 3459-3464.

Chen, T. H. H., and Murata, N. (2000) Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Current Opinion in Plant Biology 5: 250-257.

Dcunha, G. B., Satyanarayan, V. and Nair, P. M. (1996) Purification of phenylalanine ammonialyase from Rhodotorula glutinis. Phytochemistry 42:17-20.

De Vos, C. H. and Schat, H. (1991) Increased resistance to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. Physiology Plantarum 82: 523–528.

Fu, J. and Huang, B. (2001) Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environmental Experimental Botany 45: 105–114.

Gubis, J., Vankova, R., Cervena, V., Dragunova, M., Hudcovicova, M., Lichtnerova, H., Dokupil, T. and Jurekova, Z. (2007) Transformed tobacco plants with increased tolerance to drought. South African Journal of Botany 73: 505-511.

Guo, Z., Ou, W., Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology Biochemistry 44: 828-836.

Honty, K., Hevesi, M., Toth, M. and Stefanovits-Banyai, E. (2005) Some biochemical changes in pear fruit tissue induced by *Erwinia amylovora*, Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis. Acta Biologica Szegediensis 49: 127-129.

Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiolgy 84: 55-60.

Kocheva, K., Nenova, V., Karceva, T., Petrov, V., Georgiev, G. I., Borner, A. and Landjeva, S. (2013) Changes in Water Status, Membrane Stability and Antioxidant Capacity of Wheat Seedlings Carrying Different *Rht-B1* Dwarfing Alleles under Drought Stress. Journal of Agronomy and Crop Science 200: 83-91.

Liu, X. and Huang, B. (2000) Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. Crop Science 40: 503-510.

Matthews, M. A. and Anderson, M. M. (1988) Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: Responses to seasonal water deficits. American Journal of Enology and Viticulture 39: 313-320.

Molassiotis, A. N., Diamantidis, G. C., Therios, I. N., Tsirakoglou, V. and Dimassi, N. K. (2005) Oxidative stress, antioxidant activity and Fe (III)-chelate reductase activity of five Prunus rootstocks explants in response to Fe deficiency. Plant Growth Regulation 46:69–78.

Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (1999) Role of dew on the recovery of water-stressed Melissa officinalis L. plants. J. Plant Physiology 154: 759-766.

Nicoli, M. C., Elizable, B. E., Piotti, A. and Lerici, C. R. (1991) Effect of sugar and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. Journal of Food Biochemistry 15:169-184.

Pirdashti, H., Tahmasebi–Sarvestani, Z. and Bahmanyar, M. A. (2009) Comparison of physiological response omong four contrast rice cultivars under drought stress conditions. World Academy of Science, Engineering and Technology 49: 52–54.

Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wanger, E. D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutation Research 247: 57–64.

Praxedes, S. C., Damatto, F. M., Loureiro, M. E., Ferrao, M. A. G. and Cordeiro, A. T. (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee leaves. Environmental and Experimental Botany 56: 263-273.

Ritchie, S. W. and Nguyen, H. T. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.

Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037–1046.

Sanchez-Rodrıguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L. M., Blasco, B., Rios, J. J., Rosales, M. A., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2010) Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science 178: 30–40.

Sankar, B., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. Moench. Acta Botanica Croatica 66: 43–56.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]

Sarim, R. R., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

Schutz, M., and Fangmeir, E. (2001) Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv.Minaret) to elevated CO2 and water limitation. Environmental Pollution 114:187-194.

Sharma, A., Johri, B. N., Sharma, A. K. and Glick, B. R. (2003) Plant growth-promoting bacteriumPseudomonas sp. Strain GRP3 influences iron acquisition in Mung bean. Soil Biology Biochemistry 35:887-894.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) Plant Physiology, 3rd. edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA.

Torabian, S., Zahedi, M. and Khoshgoftarmanesh, A. (2016). Effect of foliar spray of zinc oxide on some antioxidant enzymes activity of sunflower under salt stress. Journal of Agricultural Science and Technology 18: 1013-1025.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. (2006) Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. Plant Soil Environment Journal 52: 186 – 191.

Van Handel, E. (1968) Direct micro determination of sucrose. Analytical Biochemestry 22: 280-283

Van Loon, L. C., Bakker, P. and Reters, C. M. (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology 36:453-483.

Van Loon, L. C. and Van Strien, E. A. (1999) The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology 55: 85-97.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.15.0]