دانشکده مهندسی کشاورزی

رشته زراعت گرایش بیوتکنولوژی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تاثیر باکتری *Streptomyces* بر صفات فیزیولوژیکی و مولکولی تحمل تنش شوری در ارقام مختلف گندم

نگارنده : علیرضا اکبری

اساتید راهنما

دکتر شاهرخ قرنجیک

دکتر اکرم صادقی

استاد مشاور

دکتر پریسا کوباز

شهریور ماه ۱۳۹۵

پیوست شماره ۲

دانشگاه شاهرود

دانشکده کشاورزی

گروه :

پایان نامه کارشناسی ارشد آقای/ خانم علی‌رضا اکبری به شماره دانشجویی: ۹۲۰۲۴۱۴

تحت عنوان: تاثیر باکتری *Streptomyces* بر صفات فیزیولوژیکی و مولکولی تحمل تنش شوری در ارقام مختلف گندم

در تاریخ ۹۵/۶/۱۷ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی مورد ارزیابی و با درجه عالی..... مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر شاهرخ قرنجیک		نام و نام خانوادگی : دکتر پریسا کوباز	غایب
نام و نام خانوادگی : دکتر اکرم صادقی		نام و نام خانوادگی :	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر مهدیه پارسائیان		نام و نام خانوادگی : دکتر حسن مکاریان	
نام و نام خانوادگی : دکتر مصطفی حیدری			

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نسیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود، پس از پروردگار ، مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

تقدیم به وجود با ارزشتان...

تقدیر و تشکر

اکنون که با یاری خداوند بزرگ مقطع دیگری از تحصیل خود را به پایان می‌برم شایسته‌تر آن است که از زحمات اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر شاهرخ قرنجیک و خانم دکتر اکرم صادقی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و استاد مشاورم خانم دکتر پریسا کوباز کمال تشکر وقدردانی را ابراز می‌دارم. صمیمانه‌ترین مراتب قدردانی خود را از اساتید داور خانم دکتر مهدیه پارسائیان و جناب آقای دکتر مصطفی حیدری و نیز از نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر حسن مکاریان ابراز می‌دارم

علی‌رضا اکبری

شهریور۹۵

تعهد نامه

اینجانب علی‌رضا اکبری دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی در کشاورزی. دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه . **تاثیر باکتری *Streptomyces* بر صفات فیزیولوژیکی و مولکولی تحمل تنش شوری در ارقام مختلف گندم** تحت راهنمائی دکتر شاهرخ قرنجیک وخانم دکتر صادقی.متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است

.

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

از جمله راهکارهایی که به منظور کاهش اثرات تنش در گیاهان در سال‌های اخیر پیشنهاد می شود استفاده از باکتری‌های محرک رشد PGPRها می‌باشد. به منظور بررسی تاثیر دو سویه باکتری محرک رشد *Streptomyses strain C-2012* و *Streptomyses strain S2* بر ۴ رقم گندم تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار و با ۳ فاکتور رقم ، شوری و تلقیح باکتری در شرایط گلخانه انجام شد. این مطالعه شامل بررسی پارامترهای رشد و محتوی مواد معدنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوی کلروفیل و کاروتنوئید و الگوی بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان SOD,APX and GST بود. در این مطالعه تنش شوری سبب کاهش رشد ارقام گندم شد. تلقیح سویه‌های استرپتومایسس اثرات سمی تنش شوری را کاهش داد. تلقیح گیاهان با سویه‌های استرپتومایسس سبب افزایش وزن تر و خشک ساقه و ریشه در تعدادی از ارقام گنبد و زرین نسبت به عدم تلقیح شد. تلقیح سویه‌های استرپتومایسس در شرایط تنش شوری محتوی کلروفیل ،کاروتنوئید ،پرولین و پروتئین را در دو رقم زرین و گنبد نسبت به عدم تلقیح افزایش داد. در رقم زرین و گنبد تلقیح باکتری باعث کاهش محتوی سدیم در شرایط تنش نسبت به عدم تلقیح باکتری شد. تلقیح سویه‌های باکتری باعث تغیرات قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش و عدم تنش شوری در رقم زرین و گنبد شد. در پاسخ به تنش شوری و تلقیح باکتری بیان ژن‌های SOD,APX and GST تغیرات متنوعی در رقم‌های گنبد و زرین نشان داد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که سویه‌های استفاده شده می‌توانند اثرات سمی تنش شوری را کاهش دهند همچنین مشاهده شد که بین بیان ژن و فعالیت آنریم‌ها در تیمارهایی هیچ همبستگی وجود نداشت که احتمالا بخاطر تغیرات پس از ترجمه است که نقش مهمی را بازی می‌کنند.

کلمات کلیدی: گندم ، PGPR ، آنتی‌اکسیدان ، بیان ژن

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول:مقدمه	۱
فصل دوم:برسی مرور منابع	۷
۲-۱-تعریف بیوتکنولوزی	۸
۲-۱-۲-برنامه های کاربردی بیوتکنولوژی	۹
۲-۱-۲-۱-مقاومت به علفکش	۹
۲-۱-۲-۲-مقاومت به تنش زنده	۹
۲-۱-۲-۲-۱-مقاومت به حشرات	۹
۲-۱-۲-۲-۲-مقاومت به بیماری	۹
۲-۱-۲-۳-مقاومت به تنش های غیره زنده	۱۰
۲-۱-۲-۴-روشهای مطالعاتی در بیوتکنولوژی	۱۰
۲-۱-۲-۴-۱-انتقال ژن	۱۰
۱-۱-۴-۲-۱-۲-روشهای انتقال ژن	۱۱
۲-۱-۲-۴-۲-کشت بافت	۱۱
۲-۱-۲-۴-۳-بیان ژن	۱۲
۲-۱-۲-۴-۴- بیوتکنولوژی میکروبی	۱۳
۲-۱-۲-۴-۴-۱-کود زیستی	۱۴
۲-۱-۲-۴-۴-۲-سموم زیستی	۱۴
۲-۱-۲-۴-۴-۳-روابط متقابل گیاه وپاتوژن	۱۵
۲-۲-گندم	۱۶
۲-۲-۱-مشخصات گیاه شناسی	۱۷

۲-۲-۲-مراحل رشد ونمو ۱۷

۲-۲-۳-عوامل موثر در رشد ۱۸

۲-۲-۴-تنش شوری ۱۹

۲-۲-۵-اهمیت شوری در جهان ۲۰

۲-۲-۶-اثرات شوری در رشد ۲۰

۲-۲-۶-۱-اثرات شوری روی صفات مورفولوژیکی ۲۰

۲-۲-۶-۲-اثر شوری در فتوسنتز ۲۰

۲-۲-۶-۳-اثر شوری در کلروپلاست ۲۱

۲-۲-۶-۴-اثر شوری بر رنگدانه ها ۲۱

۲-۲-۶-۵-اثر شوری بر هورمونها ۲۱

۲-۲-۶-۶-اثر شوری بر آنزیم ها ۲۱

۲-۲-۷-مکانیزم گیاهان دربرابر تنش ۲۲

۲-۲-۷-۱-اجتناب از شوری ۲۲

۲-۲-۷-۲-تحمل به شوری ۲۲

۲-۳-PGPR ۲۳

۲-۳-۱-اثرات مستقیم ۲۳

۲-۳-۲-اثرات غیر مستقیم ۲۴

۲-۳-۳-استرپتومایسس ۲۴

فصل سوم:مواد وروشها ۲۵

۳-۱-آزمون اولیه ۲۶

۳-۱-۱-شرایط کشت باکتری ۲۶

۳-۲-آزمون اصلی به منظور مطالعات فیزیولوژیکی وملکولی ۲۷

۳-۲-۱-آنالیزهای بیوشیمیایی ۲۷

۳-۲-۱-۱-برسی تمامیت غشا ۲۷
۳-۲-۱-۲-میزان پرولین آزاد ۲۸
۳-۲-۱-۳-استخراج پروتین محلول ۲۸
۳-۲-۱-۴-تعین غلظت کلروفیل برگی ۲۹
۳-۲-۱-۵-سنجش پروتین محلول کل ۲۹
۳-۲-۱-۶-سنجش آنزیم های ضد اکسنده ۳۰
۳-۲-۱-۶-۱-کاتالاز ۳۰
۳-۲-۱-۶-۲-اسکوربات پراکسیداز ۳۲
۳-۲-۱-۶-۳-پراکسیداز ۳۳
۳-۲-۱-۶-۴-گلوتاتیون اس ترانسفراز ۳۵
۳-۲-۱-۶-۵-سوپراکسید دیسموتاز ۳۵
۳-۲-۱-۷-اندازه گیری عناصر غذایی ۳۷
۳-۳-برسی ملکولی ۳۸
۳-۳-۱-طراحی پرایمر ۳۸
۳-۳-۲-انجام PCR ۳۹
۳-۳-۳-استخراج RNA ۳۹
۳-۳-۴-واکنش رونویسی معکوس ۳۹
۳-۳-۵-شریط ونحوه تکثیر Real time PCR ۴۰
۳-۴- تجزیه وتحلیل آماری ۴۱
فصل چهار:نتایج وبحث ۴۳
۴-۱-بررسی آزمون اولیه ۴۴
۴-۲-بررسی آزمون اصلی سویه C-2012 وS2 ۴۶
۴-۳-بررسی پارامترهای رشد سویه C-2012 وS2 ۴۸

۴-۳-۱- وزن تر ساقه ۴۸
۴-۳-۲- وزن‌خشک ساقه ۵۱
۴-۳-۳- وزن تر ریشه ۵۴
۴-۳-۴- وزن خشک ریشه ۵۶
۴-۳-۵- سطح برگ ۶۰
۴-۳-۷- محتوی آب نسبی ۶۳
۴-۴-بررسی پارامترهای فیزیولوژیکی ۶۶
۴-۴-۱- محتوی کلروفیل a ۶۶
۴-۴-۲- محتوی کلروفیل b ۶۸
۴-۴-۳- محتوی کلروفیل کل ۷۱
۴-۴-۴- محتوی کارتنویید ۷۳
۴-۴-۵- محتوی سدیم ۷۶
۴-۴-۶- محتوی پتاسیم ۷۹
۴-۴-۷- نسبت پتاسیم به سدیم ۸۱
۴-۴-۸- محتوی کلسیم ۸۴
۴-۵-بررسی آنالیز های بیوشیمیایی ۸۷
۴-۵-۱-فعالیت آنزیم SOD ۸۷
۴-۵-۲- فعالیت آنزیم CAT ۹۱
۴-۵-۳- فعالیت آنزیم APX ۹۴
۴-۵-۴- فعالیت آنزیم POX ۹۷
۴-۵-۵- فعالیت آنزیم GST ۹۹
۴-۵-۶- محتوی پروتین ۱۰۲

۴-۵-۷- محتوی پرولین ۱۰۵
۴-۵-۸- محتوی MDA(532-600) ۱۰۸
۴-۶-برسی انالیزهای مولکولی ۱۱۰
۴-۶-۱- الگوی بیان ژن SOD ۱۱۰
۴-۶-۲- الگوی بیان ژن APX ۱۱۴
۴-۶-۳- الگوی بیان ژن GST ۱۱۷
۴-۷- نتیجه گیری وپیشنهادات ۱۲۲
پیوست ۱۲۳
منابع ۱۲۹

فصل اول

مقدمه

گندم تنها غله‌ای است که در سطح وسیع در تمام جهان کشت می‌شود. گندم مهمترین گیاه زراعی دنیا است. بر خلاف سایر گیاهان گندم در اقلیم‌های مختلف سرد وخشک کشت می‌شود. سطح زیر کشت آن ۲۳۰ میلیون هکتار و عملکرد آن حدود ۶۰۰ میلیون تن است. در سال‌های اخیر میزان تولید گندم با بکار گیری روش‌های نوین زراعی و استفاده از بذور اصلاح شده افزایش داشته است. ارقامی که با روش‌های اصلاحی و بیوتکنولوژی تولید شده‌اند دارای قابلیت رشد و عملکرد بالا در شرایط متنوعی از آب وهوا هستند. گندم به خانواده گندمیان (گرامینه یا پواسه) و جنس تریتیکو تعلق دارد. گونه‌های وحشی و اهلی گندم از لحاظ تعداد کروموزوم به سه گروه دیپلویید، تتراپلویید و هگزاپلوییدتقسیم می‌شوند .گندم های دیپلویید ۱۴ کروموزم دارند. گندم های تتراپلویید ۲۸ کروموزوم و گندم های هگزاپلویید۴۲ دارای کروموزوم هستند. گندم گیاهی خود گرده افشان است. گل اذین گندم سنبله مرکب است و هر سنبله (spike) از چند سنبلچه یا سنبله فرعی تشکیل شده است. دانه گندم یک گندمه است که میوه خشک ونا شکوفا است (خدابنده وهمکاران، ۱۳۷۹)

گیاهان زراعی تحت تاثیر یک سری از عوامل محیطی رشد می‌کنند که دائما بر رشد و عملکرد گیاهان تاثیر می‌گذارند. چنانچه هر کدام از این عوامل در سطح نامطلوب قرار گیرند به عنوان تنش مطرح شده وتاثیر نامطلوب خود را به عنوان عامل تنش زا بر عملکرد گیاه اعمال می‌کنند. گیاه در عکس العمل و مواجهه با تنش از خود واکنش نشان می‌دهد. تنش دارای توان آسیب زایی است و در نتیجه یک متابولیسم و فعل وانفعال غیرعادی روی می‌دهد. اثرات تنش ممکن است به صورت کاهش رشد، عملکرد ومرگ گیاه کامل و یا قسمتی از آن باشد (*Diby paul et al.,2014*).

شوری یکی از عوامل مهم و تاثیر گزار بر تمدن بشر است. تمدن‌های بسیاری در اثر عدم مدیریت زراعی صحیح و آبیاری اصولی نابود شده اند. هرگاه بارندگی محدود باشد نمک در خاکی که گیاهان در آن ریشه دارند جمع شده و در نتیجه افزایش شوری مقدار محصول کم می‌شود.

میلیون‌ها هکتار زمین شور در دنیا وجود داردکه برای تولید محصولات کشاورزی اقتصادی است. پنجاه میلیون هکتار از ۲۰۳ میلیون هکتار زمین زراعی ۱۰۳ کشور دنیا در مناطق خشک و نیمه خشک که سیستم آبیاری بارانی دارند با مشکل شوری مواجه هستند. در ایران ۱۵-۱۸میلیون هکتار از اراضی شور است. اراضی شور معمولا حاصل خیز هستند ودر صورتی که نمک‌های اضافی و مضر آن‌ها به وسیله عملیات اصلاحی از خاک خارج شود و آب کافی باکیفیت مطلوب موجود باشد برای کشاورزی مناسبی خواهند بود (فتوحی وهمکاران، ۱۳۹۰).

گیاهان در مقابله با شوری از دو مکانیسم (سازوکار) کلی زیر استفاده می‌کنند.

۱-اجتناب از شوری

۲-تحمل شوری

تنش شوری بهره وری محصول را از طریق تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) تحت تاثیر قرار می‌دهد (*pussiora et al.,2007*). واکنش گیاهان به تنش‌های غیر زیستی پیچیده و شامل اجزای مختلفی شامل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز، واکنش‌های آنزیمی، و متابولیت‌های غیر آنزیمی است (*Sairum et al., 1994; Zlatev et al., 2006*). تجمع ROSها، عملکرد سلول را از طریق صدمه به اسید نوکلیک، اکسیداسیون پروتیین و پراکسیداسیون اسیدهای چرب تحت تاثیر قرار داده وعملکرد محصول را کاهش می‌دهند (*Pompelli et al ., 2010*). در حال حاضر تحقیقات نشان می‌دهد که ROSها بر بیان تعدادی از ژن‌ها ومسیرهای انتقال پیام (سیگنالینگ) اثر می‌گذارد که نشان دهنده استراتژی تکامل سلول‌ها برای استفاده ازROS به عنوان محرک بیولوژیکی کنترل واکنش‌های تنش زا است.

برای مقابله با تنش شـوری روش‌های مختلفی از جمله آبشـویی خاک‌های شـور، مدیریت مناسـب آبیاری، کشت واستفاده از ارقام مقاوم به شوری، دست ورزی ژنتیکی و شناسایی واستفاده از راهکارهای بیولوژیکی مانند استفاده از باکتری‌های *Streptomyses* درتلقیح با بذر ویا خاک برای تسهیل رشدگیاهان در خاک‌های شور معرفی شده است .در سال‌های اخیر به دلیل مشکلات اقتصادی ناشی از افزایش رو به رشد قیمت کودهای شیمیایی از یک سو، مسایل مربوط به مصرف غیر اصولی این کودها از قبیل ایجاد آلودگی محیطی، افت سطح حاصلخیزی خاک وکاهش سطح کیفیت محصول از سوی دیگر پژوهشگران را بر آن داشته تا در پی شناسایی واستفاده از راهکارهای بیولوژیکی با استفاده از بیوتکنولوژی میکروبی در جهت حل این معظلات باشد(*Diby paul et al.,2014*).

گیاهان در مواجهه با تنش شـوری همانند سـایر تنش‌های دیگر از طریق افزایش سـطح هورمون‌های به تنش‌های محیطی وبیولوژیکی پاسخ می‌دهند. تحقیقات نشان داده باکتری‌های ریزوسفری مانند اسـترپتومایسـس می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری کرده وسبب کاهش اثرات منفی این هورمون بر رشد وتوسعه اندام‌های گیاهی به ویژه ریشه شوند. باکتری‌های اسـترپتومایسـس از طریق تولید آنزیم ACC-دامیناز میزان تولید اتیلن را تنظیم می‌کند. این آنزیم به صورت غیر مستقیم و عمدتا از طریق کاهش سطح اتیلن باعث تداوم رشد گیاه می‌شود. مشاهده شده که گیاهان تلقیح شده با انواع باکتری‌هایی که توان تولید اکسین را دارند در مقایسه با شاهد ریشه‌های بلندتر و تارهای کشـنده طویل تر و انشـعابات ریشـه فرعی بیشـتری دارند *(Sadeghi et al., 2012)*. در شـرایط نامسـاعد محیطی سـطوح درونزای فیتوهورمون‌ها دچار تغیرات اسـاسـی می‌شـود. برخی از سـویه‌های اسـترپتومایسـس قادرند از طریق دخالت فیتوهورمون ها رشـد ونمو گیاهان را افزایش دهند. این فیتوهورمون‌ها روی الگوی رشد ریشه تاثیر گذاشته و باعث تولید ریشه‌های بزرگتر با انشعابات وسطح موثر

بیشتر می‌شود. استرپتومایسس‌ها از طریق تجزیه مواد آلی وکمک به حاصلخیزی خاک نقش مهمی را در اکولوژی خاک بازی می‌کنند. تحریک رشد گیاه توسط استرپتومایسس به نوع خاک وگیاه مرتبط است و تحریک رشد در خاک‌های مختلف بر رشد گیاهان مختلف از جمله گندمیان و چتریان گزارش شده است *(Nassar et al., 2003)*. گونه‌های مختلف استرپتومایسس ترکیبات شبه جیبرلین واسید ایندول استیک اسید تولید می‌کنند که رشد گیاه را افزایش می‌دهند. از طرفی تحریک رشد می‌تواند در اثر افزایش مواد غذایی قابل دسترس گیاه باشد. برخی سویه‌های استرپتومایسس نیز با تولید و آزاد سازی سیدروفورها در ریزوسفر گیاهان آهن موجود در خاک را به فرم محلول و قابل دسترس برای گیاهان تبدیل می‌کنند (*Tokala et al., 2002*). استفاده مستقیم از سیدروفورهای میکروبی به عنوان منبع آهن بررسی شده وتاثیر آن در ممانعت از تنش کمبود آهن وافزایش محصول گزارش شده است *(Sadeghi et al., 2006)*. گونه‌هایی از استرپتومایسس توانایی تولید محلول‌های سازگار مانندااکتوئین را دارند. اکتواین تحت تاثیر شرایط نا مناسب محیطی مانند شوری از ساختار DNA وپروتین محافظت می‌کند *(Malin and Lapidot, 1996)* از آنجا که اکتوئین درآب محلول است مقداری از آن وارد ریزوسفر شده وتوسط گیاه جذب می شود و با حفظ ساختارDNA وپروتیین موجب بالا بردن تحمل گیاه نسبت به پا سخ‌های تنش شوری می‌شود *(Sadeghi et al,. 2003)*.

در این پژوهش اثر باکتری‌های PGPR بر الگوی بیان برخی ژن‌های دخیل در تنش شوری مطالعه شد. نتایج حاصل کمک خواهد کرد تا بخشی از ابهام‌های موجود در زمینه چگونگی تاثیر گذاری کاربرد خارجی PGPRها روی گیاه به ویژه در شرایط تنش شوری روشن شود.

اهداف در نظر گرفته شده در این پژوهش به شرح زیر است.

۱-آیا تاثیر جدایه‌های مختلف باکتری *Streptomyses* بر رشد گندم متفاوت است

۲- آیا تاثیر جدایه‌های مختلف باکتری *Streptomyses* بر افزایش تحمل گندم به شوری متفاوت است

۳- اگر تفاوتی در پا سخ گیاهان تحت تنش شوری به باکتری‌ها وجود دارد در سطح بیان ژن‌های کاندید پاسخگو به شوری قابل ارزیابی است

-

فصل دوم

بررسی ومرور منابع

۲-۱-تعریف بیوتکنولوژی

منشا بیوتکنولوژی به دوران بسیار قدیم زمانی که از میکروارگانیسم‌ها برای فرایندهایی همچون تخمیر و تولید ماست و پنیر از شیر، تولید سرکه از ملاس و تولید آنتی بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین از *Penicillium notatum* استفاده می‌شد بر می‌گردد. با این وجود با کشف آنزیم‌های برشی در دهه ۱۹۷۰ بیوتکنولوژی پیشرفت قابل ملاحظه‌ای کرد و به ابداع فنون متنوعی در فراوری ژن انجامید. به طوریکه به عنوان مهمترین انقلاب علمی این قرن در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بیوتکنولوژی متشکل از تکنیک‌های مختلفی است که با قصد بهبود ژنتیکی موجودات مورد نظر و یا بهره برداری از سیستم‌های زنده و اجزای آن‌ها برای منفعت انسان طراحی شده‌اند. (فارسی وهمکاران،۱۳۸۲) در واقع بیوتکنولوژی محصول تعامل بین علم بیولوژی و تکنولوژی است. به منظور تعریف بیوتکنولوژی پیشنهاداتی ارایه شده که عبارت است از:

۱-کاربرد علم و مهندسی در استفاده مستقیم یا غیر مستقیم از موجودات زنده و یا اجزا و تولیدات آن‌ها در حالت طبیعی و یا تغیر یافته آن موجودات

۲-استفاده تلفیقی از علوم بیوشیمی و میکروبیولوژی و مهندسی به منظور نائل شدن به استفاده صنعتی از قابلیت‌های میکروارگانیسم‌ها و سلول‌های کشت بافت شده و اجزای متعلق به آن‌ها (فدراسیون بیوتکنولوژی دنیا)

۳-استفاده کنترل شده از عوامل بیولوژیکی از قبیل میکروارگانیسم‌ها یا اجزای سلولی برای استفاده مفید (فرهنکستان علوم ایالات متحده)

در طی چند سال گذشته فنونی ابداع شده‌اند که به نظر می‌رسد در زمینه پیشبرد تحقیقات حاضر در علوم گیاهی و بهره‌برداری از دانش کسب شده در تولید محصولات جدید مطالب زیادی برای عرضه داشته است. اولین زمینه از راهکارهای جدید مرتبط با دست ورزی و سپس کشت سلول‌ها، بافت‌ها، اندام‌ها و سلولهای گیاهی بدون پوشش در کشت بافت است. زمینه دوم مهندسی ژنتیک یا تکنولوژی DNAی نوترکیب است که نقطه آغاز آن تحقیقاتی بر روی میکروارگانیسم‌ها بوده و پیشرفت بسیار سریعی داشته است. دانش ما از ساختار و چگونگی بیان ژنوم گیاهان عمدتا از طریق استفاده از DNAی نوترکیب و تکنیک‌های کلون کردن ژن بدست آمده است. با استفاده از این تکنولوژی امکان جداسازی قطعه‌ای از DNA و بررسی خصوصیات آن وجود دارد. با کلون کردن توالی DNA در سلول‌های باکتری این توالی می‌تواند به مقادیر زیادی برای تجزیه و تحلیل تکثیر شود. تکنولوژی DNA نوترکیب علاوه بر فراهم کردن

اطلاعات پایه در ارتباط با ساختار و بیان ژن موقعیت و فرصت دست ورزی مواد ژنتیکی و تبادل این مواد در بین موجودات مختلف را فراهم کند.(فارسی وهمکاران،۱۳۸۲)

۲-۱-۲- برنامه‌های کاربردی بیوتکنولوژی کشاورزی

۲-۱-۲-۱-مقاومت به علف کش‌ها

کاربرد علف کش‌ها برای کنترل علف‌های هرز در کشاورزی مدرن نقش بسزایی دارد. تلاش‌های زیادی برای مهندسی گیاهان مقاوم به علف کش انجام شده است. برای ایجاد گیاهان مقاوم به علف کش‌ها سه راهکار استفاده می‌شود (۱) افزایش بیان ترکیب بیوشیمیایی هدف علف‌کش(۲) تغیر ساختمانی هدف بیوشیمیایی به طوری که منجر به کاهش اثر گذاری علف‌کش شود و (۳) سمیت زدایی و تجزیه علف کش قبل از رسیدن به هدف بیوشیمیایی. گیاهان ترایخته مقاوم به علف کش‌های متعددی نظیر گلیفوسیت و بروموکسینیل و آترازین و غیره در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی و سبزی و باغی تولید شده است. صفت مقاومت به علفکش مهمترین صفت تراریخته در دنیاست به طوری که گیاهان زراعی تراریخته مقاوم به علف کش ۶۲ درصد از سطح جهانی۱۳۴میلیون هکتار تحت پوشش گیاهان تراریخته را در سال ۲۰۰۹ به خود اختصاص دادند (ISAA,2010)

۲-۱-۲-۲مقاومت به تنش‌های زنده

۲-۱-۲-۲-۱-مقاومت به حشرات

پیشرفت در مهندسی گیاهان تراریخته برای مقاومت به حشرات با استفاده از ژن‌های رمز کننده پروتین‌های ضد حشره از باکتری *Bacillus thuringiensis* بدست آمده است. مقاومت به حشره ابتدا در توتون (*Vaeck.et.al,1987*) و گوجه فرنگی گزارش شد. امروزه ژن‌های عامل مقاومت به حشرات از منابع مختلف گیاهی و باکتریایی و غیره به گیاهان منتقل می‌شوند. تا کنون تقریبا ۴۰ ژن متفاوت ایجاد کننده مقاومت به حشرات به گیاهان زراعی منتقل شده و تعداد قابل ملاحظه‌ای از ژن‌های مقاومت به حشرات از منابع میکرو ارگانیسمی استخراج شده‌اند. ژن Bt از*B. thuringiensis* وژن ایزوپنتیل ترانسفراز (ipt) از*Agrobacterium tumefaciens* و غیره جداسازی شده‌اند.

۲-۱-۲-۲-۲-مقاومت به بیماری

تلاش‌ها در زمینه جداسازی ژن‌های عامل مقاومت به بیماری‌ها از طریق توسعه روش‌های کلونینگ مبتنی برنقشه و علامت گذاری ژن در چند سال گذشته پیشرفت خوبی داشت. ژن HM1 ذرت که باعث

مقاومت به *Cochliobulus carbonum* می‌شود با استفاده از علامت‌گذاری ترانسپوزان‌ها (*transposontagging*) کلون شده است. تاکنون ژن‌های مقاومت متعددی نظیر Rps2 و rpm1 از آرابیدوپسیس pto، cf4،cf9 و cf2، از گوجه فرنگی، ژن N توتون، l6 کتان و xa21 برنج کلون شده است. تعدادی از ژن‌های غیر بیماری‌زا نیز از میکروارگانیسم‌ها کلون شده است. انتقال ژن مقاومت (R) از یک واریته گیاهی مقاوم در برابر یک پاتوژن خاص به یک واریته حساس یک راه کار مفید است. مارتین و همکاران (۱۹۹۳) گیاه گوجه فرنگی‌ای با ژن PTO تولید کردند که موجب مقاومت به *Pseudomonas syringae pv. Tomato* شد. گیاهان توتون تراریخته با pto عامل بیمارگر مقاوم شدند.

۲-۱-۲-۳مقاومت به تنش‌های غیرزنده

تقریبا تمام تنش‌های غیر زنده نظیر خشکی و سرما و شرایط قلیایی اثر منفی بر رشد دارند و سبب القای پیری، مرگ سلولی و یا کاهش عملکرد گیاه می‌شوند.(کافی وهمکاران.۱۳۸۸) اغلب تنش‌های غیر زنده نتیجه یک پیامد مشترک یعنی کمبود آب سلولی یا تنش اسمزی هستند. پاسخ گیاهان به کمبود آب سنتز و تجمع ترکیباتی با وزن مولکولی کم به نام حفاظت کننده‌های اسمزی است. اسمولیت‌ها گروه متنوعی از ترکیبات شامل یون‌های غیر آلی، یون‌های آلی و اسیدهای آمینه (پرولین) و یا ترکیبات آمونیوم دار نظیر گلایسین و بتائین هستند. همبستگی شدیدی بین تجمع پرولین با تحمل به شرایط تنش خشکی و شوری گزارش شده است. گاما-پیرولین-۵-کربوکسیلاز سینتتاز (P5CS) آنزیم محدود کننده سنتز پرولین است. گیاهان توتون تراریخته با آنزیم P5CS تولید شده‌اند که در نتیجه بیان بالایی از این آنزیم ۱۰ الی ۱۸ برابر افزایش در مقدار پرولین را نشان دادند. افزایش غلظت پرولین با افزایش رشد در شرایط خشکی و شوری همبستگی داشت (*Kishore et al., 1995*). یک ژن باکتریایی *E.coli* به نام MtID که در بیوسنتز مانیتول سهیم است به توتون منتقل شد. گیاهان تراریخته حاصل برای مقاومت به شوری آزمایش شدند. پس از ۳۰ روز مواجهه با شوری گیاهان تراریخته تولید کننده مانیتول ساقه‌های بلندتر و انشعابات ریشه‌ای جدید و طویل تری داشتند. در حالی که ریشه‌های گیاهان شاهد قهوه‌ای شده و طویل شدن و یا منشعب شدن در آن‌ها مشاهده نشد.

۲-۱-۲-۴-روش‌های مطالعاتی در بیوتکنولوژی

۲-۱-۲-۴-۱-انتقال ژن

انتقال ژن فرایندی است که قطعه مشخصی از DNA (معمولا یک ژن خارجی وارد شده در پلاسمید باکتریای) را به درون سلول وارد می‌کند. انتقال هدایت شده ژن مطلوب از یک موجود زنده به موجود دیگر

و تلفیق و بیان پایدار آن ژن در ژنوم موجود پذیرنده را ترانسفورماسیون ژنتیکی می‌گویند. ژن منتقل شده را ترانسژن (Transgene) و موجودی را که پس از انتقال ژن به صورت موفقیت آمیز به دست می‌آید تراریخته (Transgenic) می‌نامند. گیاهان تراریخته حامل ژن‌های پایدار از منابع خارجی هستند. (فارسی وهمکاران،۱۳۸۲)

روش‌های انتقال ژن

تکنیک‌های انتقال ژن از نظر روش و ابزاربه دوگروه اصلی تقسیم بندی می‌شوند. هرگروه دارای زیر شاخه های متعددی هستند. که عبارت است از

۱-انتقال ژن توسط ناقل

پلاسمیدهای اگروباکتریوم، ویروس‌ها و عناصر ترانسپوزانی ناقلینی هستند که برای انتقال ژن به گیاهان استفاده می‌شوند .

۲-انتقال ژن بطور مستقیم یا بدون ناقل

۲-انتقال مستقیم ژن یک روش ساده و موثر برای فرستادن DNAی خارجی به ژنوم‌های گیاهی است. این تکنیک به سه زیر گروه تقسیم می‌شوند

۱-روش‌های فیزیکی انتقال ژن

۲-روش‌های شیمیایی انتقال ژن

۳-جذب DNA توسط سلول‌ها و بافت‌ها و اندام‌ها

۲-۱-۲-۴-۲ کشت بافت

کشت بافت گیاهی، عبارت است از کشت در شیشه گیاهان، بذرها و اجزای گیاهی (بافت، اندام، جنین و پروتوپلاست) در محیط غذایی و شرایط استریل. با روش‌های کشت بافت گیاهی امکان باززایی هر گونه گیاهی در این ویترو به چند طریق وجود دارد. در کشت بافت گیاهی یک ریز نمونه را برای شروع رشد در محیط کشت مصنوعی قرار می‌دهند. سلول‌های غیر فعال و تمایز یافته و تقسیم نشده ریز نمونه در حین رشد در محیط غذایی برای وارد شدن به حالت مریستمی ابتدا متحمل تغیراتی می‌شوند. پدیده بازگشت سلول‌های بالغ به مرحله مریستمی و شکل گیری بافت کالوس را تمایز زدایی(Dedifferentitation) می‌نامند. (فارسی وهمکاران،۱۳۸۲)

توانایی سلول‌های بافت کالوس برای تمایز یافتن به یک گیاه کامل و یا یک اندام کامل گیاهی را تمایز مجدد (Redifferentiation) می‌نامند. این دو پدیده یعنی خارج شدن از حالت تمایز یا تمایززدایی و تمایز مجدد از ظرفیت‌های ذاتی سلول‌های گیاهی است و تکامل آن‌ها به گیاه کامل به عنوان توتی پتانسی Cellular) (totipotency سلولی معرفی می‌شود. کشت بافت گیاهی شامل انواع روش‌های کشت گیاهان در شرایط استریل است که هر یک از این روش‌ها باید در موارد خاص خود استفاده شود. انواع مختلف کشت به قرار زیر است

۱-کشت بذر: کشت بذر در شیشه به منظور تولید گیاهچه یا گیاه کامل

۲-کشت جنین: کشت جنین جداشده بالغ یا نابالغ

۳-کشت اندام: شامل کشت مریستیم، نوک ساقه، وکشت ریشه وکشت دانه گرده است

۴-کشت کالوس: کشت یک بافت تمایز یافته از ریز نمونه‌ها و تمایز زدایی در شیشه

۵-کشت سلول: کشت سلول‌های جداشده و یا توده‌های خیلی کوچک سلولی که در محیط مایع پراکنده هستند

۶-کشت پروتوپلاست: کشت سلول‌های فاقد دیواره

۲-۱-۲-۴-۳-بیان ژن

همه ژن‌ها برای نشان دادن عملکرد خود باید بیان شوند .اولین مرحله در بیان، رونویسی ژن به رشته RNA مکمل است. بیان ژن (gene expresshin). فرایندی است که کنترل کننده تکوین یک موجود پرسلولی است. زمانی که بیان ژن دچار اختلال می‌شود منجر به بروز بیماری‌های خاص می‌شود. مراحل اساسی بیان ژن یعنی فرایندی که طی آن اطلاعات موجود در یک ژن خاص به یک پروتین خاص تبدیل می‌شود و شامل (۱) مرحله شروع یا initiation (۲) مرحله طویل سازی یا elongation (۳) مرحله پایان یا termination است. در باکتری‌ها، ریبوزوم‌ها و فاکتورهای آغازگر ترجمه به نسخه RNA تازه (mRNA) به آسانی دسترسی دارند در حالیکه در یوکاریوت‌ها RNA اولیه به منظور آنکه به یک mRNAی عملکردی تبدیل شود باید پردازش شود. پس از آن mRNA از محل سنتز خود در هسته به سیتوپلاسم منتقل می‌شود تا توسط ریبوزوم‌ها tRNA و فاکتورهای ترجمه به پروتئین تبدیل شود. تنظیم بیان ژن ممکن است درسطوح مختلفی صورت گیرد، در سطح آغاز رونویسی یا طویل سازی یا پردازشRNA و یا خروج mRNA از هسته و ترجمه آن به پروتئین. این امر منجر به تولید انواع پروتئین

هادر سطوح متفاوت و یا مراحل مختلف رشد و نمو در پاسخ به شرایط خارجی می‌شود کنترل آغاز رونویسی و طویل‌سازی مهمترین مکانیسم‌ها برای تعیین بیان ژن و این که چه مقدار mRNA کد شده و پروتئین تولید شود می باشد. هدف اصلی کنترل بیان ژن در موجودات پرسلولی اجرای دقیق تصمیمات رشد و نموی است تا ژنهای مناسب در سلولهای مناسب در خلال تکوین جنینی و تمایز سلولی بیان شوند (*Molecular cell and Biology lodish, 2013*)

۲-۱-۲-۴-۴-بیوتکنولوژی میکروبی

میکروارگانیسم‌ها در خاک، آب، غذا، روده حیوانات و دیگر محیط‌های مختلف زندگی می‌کنند. زیستگاه میکروبی مختلف منعکس کننده مقدار زیادی از صفات بیوشیمیایی و سوخت و ساز است که به وسیله تنوع ژنتیکی و انتخاب طبیعی در جمعیت میکروبی به وجود آمده است. میکروارگانیسم‌های مفید مانند باکتریهای Dizotrophs و باکتری‌های محرک رشد گیاهی (PGPR) می‌توانند نقشی کلیدی در جایگزینی و یا کاهش مواد شیمیایی داشته باشند. بیوتکنولوژی میکروبی، به وسیله مطالعه ژنوم منجر به پیشرفت‌های زیادی در جهت تشخیص بهتر عوامل بیمارگر و بهبود عوامل میکروبی برای کنترل زیستی آفات گیاهی، حیوانی یا توسعه کاتالیزورهای صنعتی، تخمیر میکروبی و توسعه عوامل میکروبی جدید برای زیست پالایی آب و خاک شده است. بیوتکنولوژی میکروبی یکی از مهمترین حوزه‌ها در ترویج و پیشرفت ایمنی مواد غذایی و تغذیه‌ای و حمایت از گیاهان و حیوانات در علوم کشاورزی است. بیوتکنولوژی از طریق روش‌های زیر به کشاورزی پایدار کمک می‌کند.*(Nduka et al,2002)*

۱-افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زیستی (افات و بیماری)

۲-افزایش مقاومت علیه تنش‌های زیستی (خشکی و شوری)

۳-زیست پالایی خاک‌های آلوده

۴-افزایش بهره‌وری و کیفیت خاک

۵-افزایش تثبیت نیتروژن و افزایش جذب مواد غذایی

۶-بهبود تکنولوژی تخمیر

بیوتکنولوژی میکروبی از طریق کاهش وابستگی به مواد شیمیایی و آفت کش‌ها به کشاورزی پایدار نیز کمک می‌کند. بنابراین حوزه پژوهشی میکروب شناسی کشاورزی در حال حاضر مسوول انتقال دانش از میکروب شناسی عمومی و زیست محیطی به بیوتکنولوژی کشاورزی است.

۲-۱-۲-۴-۴-۱-کود زیستی

کود زیستی (کود بیولوژیک) به مواد حاصل‌خیزکننده‌ای گفته می شود که دارای تعداد کافی از یک یا چند گونه از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی هستند. کودهای زیستی، میکروارگانیسم‌هایی هستند که قادرند عناصر غذایی خاک را در یک فرایند زیستی تبدیل به مواد مغذی همچون ویتامین‌ها و دیگر مواد معدنی کرده و به ریشه خاک برسانند. مصرف کودهای زیستی کم هزینه تر هستند و در اکوسیستم آلودگی به وجود نمی‌آورد. کودهای زیستی مواد نگه‌دارنده میکروارگانیسم‌های مفید خاک هستند. در دهه‌های گذشته بدلیل مصرف کودهای شیمیایی اثرات زیست محیطی زیادی از جمله انواع آلودگی‌های آب و خاک و مشکلاتی در خصوص سلامتی انسان و دیگر موجودات زنده به وجود آمد. سیاست کشاورزی پایدار و توسعه پایدار کشاورزی، پژوهشگران را برآن داشت که هر چه بیشتر از موجودات زنده خاک در جهت تأمین نیازهای غذایی گیاه کمک بگیرند و به همین علت تولید کودهای زیستی آغاز شد. نخستین کود زیستی در اواخر قرن نوزدهم مورد استفاده قرار گرفت و از آن تاریخ به بعد سایر کودهای بیولوژیک ساخته شدند. میکروارگانیسم‌هایی که در تولید کودهای بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند عمدتاً از محیط زیست جداسازی می‌شوند. در شرایط آزمایشگاه در محیط‌های کشت مخصوص تکثیر و پرورش پیدا می‌کنند، و آماده مصرف می‌شوند. در گذشته برای تقویت زمین‌های کشاورزی، گیاه تیره‌ای به نام لگومینوز کشت می‌شد. با توجه به نوع میکروارگانیسم‌هایی که از آن‌ها برای تولید کودهای بیولوژیک استفاده می‌شود کودهای زیستی را در گروه‌های کودهای بیولوژیک باکتریایی، قارچی، جلبکی واکتینومیست ها طبقه بندی می‌کنند. فعالیت میکروبی در خاک نشان دهنده کیفیت خاک است.که به عنوان یک فاکتور اکولوژیکی در تولید پایدار گیاهان در اکوسیستم نقش دارد. جمعیت میکروارگانیسم‌ای مفید خاک باعث افزایش مقاومت گیاهان به بیماری‌های ریشه‌ای و تنش‌های محیطی از جمله کمبود آب، خشکی و شوری می‌شوند. هدف از مصرف کودهای زیستی، تقویت حاصل‌خیزی و باروری خاک، تأمین غذای سالم و غنی‌تر، برداشت بیشتر بدور از آلوده سازی زیست بوم و افزایش محصول از نظر کمی وکیفی بدون آسیب رساندن به اکوسیستم مزرعه است. .(*Nduka et al,2002*)

۲-۱-۲-۴-۴-۲-سموم زیستی

جهت مقابله با بیماری‌های گیاهی و افزایش بازدهی گیاهان، از سموم و کودهای شیمیایی استفاده می‌شود. این مواد سبب آلودگی محیط زیست و ایجاد نژادهای جدید بیمارگر و بروز مقاومت در آن‌ها می‌شود. به همین جهت استفاده از ریزوباکترها و باکتری‌های آندوفیتی به عنوان فعال کننده عوامل کنترل بیولوژیک و افزاینده رشد گیاهان، در حال گسترش است. شناسایی این آنتاگونیست‌ها و افزودن آن‌ها به

خاک منطقه ریشه روش منا سبی ا ست. ریزوباکترهای افزاینده ر شد (PGPR) در روی بذر، ق سمت‌های رویشی و ریشه گیاهان وجود دارند. این باکتری‌ها با تولید آنتی بیوتیک‌ها و آنزیم‌ها سبب کنترل قارچ‌های خاکزی شـــامل *Aphanomyces spp*، *Fusarium oxysporum*، *Gaeumannomyces graminis*، *Phytophthora spp*، *Pythium spp*، *Rhizoctonia solani*، *Sclerotium rolfsii* و *Verticillium spp* می‌شـــوند. باکتری های اندوفیت دربافت آوندی گیاهان وجود دارند و برای مقابله با قارچ‌های *Fusarium oxysporum* و *Verticillium spp.* بکار می‌روند. این باکتری‌ها، خ سارت نا شی از نماتدهای مختلف ازجمله *Meloidogyne spp* ر ا از طریق ایجاد تغییرات در ســـاختار و جمعیت میکروبی خاک کاهش می‌دهند. اصـلاح خاک‌های زراعی با مواد آلی مانند کیتین و تناوب زراعی با لگوم‌های گرمســیری، سبب افزایش جمعیت باکتری‌هایی مانند *Burkholderia cepacia* و *Arthrobacter spp*، افزایش قدرت بازدارندگی خاک و توان کنترل بیولوژیک می‌شـود. کاربرد ترکیبات آروماتیک مانند Furfural، Citral و Benzaldehyde سبب افزایش جمعیت باکتری‌های PGPR خاک و افزایش توان بازدارندگی خاک می‌شود. تمام روش‌های به کار رفته و باکتری‌های PGPR ســـبب بکار انداختن مکانیســـم دفاعی گیاهان و کاهش نشـــانه‌های بیماری می‌شـــود. برخی تحقیقات نشـــان می‌دهد تغذیه ســـوســـک کدوئیان که ناقل بیمارگر *Erwinia tracheiphila*(عامل پژمردگی باکتریایی کدوئیان) اســت، ســبب کاهش اثر PGPR روی گیاه می‌شود. البته تیمار بذر کدوئیان با PGPR باعث کاهش تعداد این سوسک‌ها و انتشار باکتری می‌شود. در آزمایشی جهت کنترل بیماری‌های ویروسی، عامل ویروسی CMV به صورت مکانیکی و توسط شته‌ها به گیاهان تیمار شده با PGPR منتقل شد که در هر دو مورد کاهش قابل توجهی در علائم بیماری دیده شد.

باکتری‌های PGPR مختلفی جهت افزایش مقاومت گیاهان استفاده می‌شود . از جمله این باکتری‌ها می‌توان از انواع زیر نام برد:

Bacillus pumilus، *B . amyloliquifaciens*، *B . subtilis* و *Kluyvera cryocrescens*

۲-۱-۲-۴-۴-۳- روابط متقابل گیاه و باکتری

رابطه‌ی ریشه گیاه با باکتری‌های ریزوبیوم از نوع همزیستی است. باکتری به تار کشنده متصل شده و وارد آن می‌شود، تکثیر پیدا می‌کند و رشته‌ای را به وجود میآورد که توان حرکت در داخل گیاه را داشته باشد. برای اینکه باکتری بتواند به سطح تار کشنده متصل شود، ارتباط متقابلی بین باکتری و ریشه گیاه بوجود می‌آید. ریشه گیاه موادی تولید می‌کند که باکتری‌ها از آن تغذیه می‌کنند و به تکثیر باکتری کمک می‌کند. در نتیجه این عمل تعداد باکتری‌ها اطراف تارهای کشنده زیاد می‌شود و شانس اتصال این باکتری‌ها به تارکشنده بیشتر می‌شود. وقتی باکتری‌ها رشد می‌کنند با گیاه ارتباط برقرار می‌کنند و متابولییت‌های

ترشح شده از گیاه را دریافت می‌کنند و موادی را می‌سازند که محرک رشد گیاه و تارکشنده است. یکی از این مواد هورمون ایندول استیک اسید است که سبب رشد بیشتر تار کشنده می‌شود. پروتئین واسطه‌ای که سبب اتصال باکتری به سطح تار کشنده می‌شود لکتین نام دارد. این باکتری‌ها با ترشح آنزیم خاصی که سلولز روی سطح تار کشنده را تجزیه می‌کند منفذی را ایجاد می‌کنند، وارد آن می‌شوند و شروع به تکثیر و رشد می‌کنند. این باکتری‌های زنجیره‌ای را تشکیل می‌دهند و در تار کشنده خطی را ایجاد می‌کنند که ریسمان عفونی نامیده می‌شود. باکتری‌ها با ایجاد ریسمان عفونی (رشته‌ای از باکتری‌ها) به تعدادی از سلول‌های ریشه می‌رسند و داخل این سلول‌ها خود و سلول‌های میزبان را تغییر می‌دهند. از فواید وکاربردهای کود زیستی قارچ میکوریزا می‌توان موارد زیر را نام برد. .(*Nduka et al,2002*)

افزایش جذب عناصر غذایی

افزایش جذب آب به دلیل افزایش سطح جذب کننده و توان جذبی بیشتر هیف‌ها نسبت به سیستم ریشه‌ای که نتیجه آن ایجاد مقاومت بیشتر گیاه نسبت به کمبود رطوبت و شرایط خشکی است

تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند انواع اکسین و سیتوکینین

کمک به کاهش تنش‌های محیطی مانند حرارت، شوری و خشکی

افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماری‌زای ریشه

ارتباط متقابل مثبت با میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات‌های غیر قابل جذب برای گیاه

۲-۲-گندم

گندم تنها غله‌ای است که در سطح وسیع در جهان مورد کشت قرار گرفته و مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا به شمار می‌رود. زراعت گندم بیشترین سطح زیر کشت را در جهان به خود اختصاص داده است. اهمت زراعت گندم به این خاطر است که امکان زراعت این محصول در اقلیم‌های مختلف بر خلاف سایر گیاهان وجود دارد. گندم در اکثر نقاط جهان در وسعت زیادی مورد کشت قرار می‌گیرد و دارای سطح زیر کشتی بالغ بر ۲۳۰میلیون هکتار و حدود۶۰۰ میلیون تن تولید است. در سال‌های اخیر میزان تولید گندم به علت بکار گیری روش‌های نوین زراعی و استفاده از بذور اصلاح شده افزایش قابل توجه‌ای داشته است. ارقامی که با روش‌های اصلاحی و بیوتکنولوژی تولید شده‌اند دارای قابلیت رشد و تولید عملکرد بالا در شرایط مختلفی از آب و هوا هستند. دانه گندم به لحاظ داشتن گلوتن که بخش چسبنده پروتین‌های آندوسپرم است موجب کشسانی وانبساط خمیر می‌شود. گندم بعنوان اولین غله و مهمترین گیاه زراعی دنیا شناخته

می‌شود و بطور وسیع در الگوی غذایی ۷۵درصد از جمعیت جهان قرار دارد. با توجه به اینکه افزایش عملکرد گندم از مهمترین اهداف به‌نژادی است بررسی تنوع ژنتیکی و نحوه توارث صفات تشکیل دهنده عملکرد یعنی اجزای عملکرد در برنامه‌های به‌نژادی گندم بسیار مهم است.(خواجه پور وهمکاران، ۱۳۸۸)

۲-۲-۱-مشخصات گیاه شناسی

گندم به خانواده گندمیان و جنس تریتیکو تعلق دارد. گونه‌های وحشی و اهلی آن از لحاظ تعداد کروموزوم به سه گروه دیپلویید، تتراپلویید و هگزاپلویید تقسیم می‌شوند. گندم‌های گروه دیپلویید۱۴ کروموزم دارند. گندم‌های تتراپلویید ۲۸ کروموزوم و گندم‌های هگزاپلویید ۴۲ کروموزوم دارند. گندم گیاهی خود گرده افشان است. گل آذین گندم سنبله مرکب است. هر سنبله (spike) از چند سنبلچه یا سنبله فرعی تشکیل شده است. دانه گندم یک گندمه است که میوه خشک و ناشکوفا است. شکل دانه بیضی است و قسمت پشتی دانه بدون شیار و مدور و قسمت شکم شیار دار است. دانه‌های گندم به اشکال مختلف مانند گرد و بیضی و تخم مرغی و بیضی دراز است. رنگ دانه‌های آن به رنگ سفید متمایل به خاکستری، زرد، قرمز روشن، قرمز تیره، سبز و قهوه‌ای تیره است. درشتی و ریزی دانه گندم بسیار متفاوت است. ماده خشک دانه گندم تقریبا از ۶۸ درصد هیدرات کربن (نشاسته، گلوکز، فروکتوز و...) ۱۰ تا ۱۲ درصد پروتین، ۲ درصد چربی و ۹/۱ درصد املاح کانی و ویتامین‌های B1، C، E و D تشکیل شده است. پروتین دانه گندم از آلبومین، گلوبولین، و پرولامین تشکیل شده است. دانه گندم از ۱-رویان یا جنین ۲-سپر رویان ۳-سبوس ۴-آندوسپرم و ۵-ریشک تشکیل شده است. هنگام جوانه زدن گندم اولین اندامی که پوسته دانه را می‌شکافد و از آن خارج می‌شود ریشه چه است. از آن پس رشد گیاهچه که در زیر خاک و در تاریکی انجام می‌شود شامل رشد طولی سریع ساقه است. تعداد ریشه‌های اولیه گندم ۳ تا۵ عدد است که باریک بوده و انشعابات کمی دارد. گندم دارای دو نوع ریشه با نام‌های ریشه‌های اولیه بذری و ریشه‌های طوقه‌ای است که که از نوع افشان هستند. ساقه گندم بسته به نژاد، حاصلخیزی خاک و عوامل محیطی به سه شکل کوتاه، متوسط و بلند دیده می‌شود. برگ گندم از دو قسمت غلاف و پهنک تشکیل شده است. غلاف ساقه را در بین دو گره در بر می‌گیرد و معمولا ۷ تا ۹ برگ روی ساقه اصلی گندم تشکیل می‌شود. بالاترین و آخرین برگ را برگ پرچم می‌گویند. برگ پرچم به دلیل فعالیت فتوسنتزی بیشتر و فاصله نزدیک تر آن به سنبله از سایر برگ‌ها اهمیت بیشتری دارد.(خدابنده وهمکاران، ۱۳۷۹)

۲-۲-۲-مراحل رشد و نمو

۱-جوانه زدن و سبز شدن: دراین مرحله دانه، آب جذب کرده و متورم می‌شود، ریشه اولیه و ساقه اولیه براثر رشد ریشه چه و ساقه چه گیاهک از دانه خارج می‌شود و گیاه به مرحله‌ای می‌رسد که خود کفا شده و می‌تواند بدون استفاده از ذخایر بذر به رشد خود ادامه دهد.

۲-پنجه زنی: مرحله‌ای است که در آن ساقه‌های فرعی دیگری علاوه بر ساقه اولیه، از مرحله یقه گیاه تولید می‌شود.

۳-ساقه رفتن: در این مرحله میانگره‌ها که از قبل به وجود آمده‌اند طویل شده و گیاه به صورت عمودی رشد می‌کند. این مرحله با ظهور نخستین گره دربالای سطح خاک آغاز می‌شود.

۴-غلاف رفتن: مرحله‌ای است که در آن غلاف برگ پرچم متورم شده و تمام قسمت‌های سنبله تشکیل می‌شود. در این مرحله سنبله هنوز از غلاف برگ آخر خارج نشده است.

.۵-ظهور سنبله و گلدهی: مرحله‌ای است که در آن سنبله گندم از غلاف خارج می‌شود. این مرحله در ارقام گندم ریشک‌دار با خارج شدن ریشک از غلاف برگ آخر همراه است. گلدهی گندم با باز شدن شاخه‌های کلاله و خروج پرچم های زرد رنگ و عمل گرده افشانی همراه است.

۶-مرحله دانه بستن و رسیدن: طی این مرحله مواد اندوخته به درون دانه انتقال پیدا کرده و میوه تشکیل می‌شود که شامل مراحل مختلف شیری، خمیری و سخت شدن است. رسیدن فیزیولوژیک مرحله‌ای است که دانه به بیشینه وزن خشک خود رسیده و رطوبتی بین ۳۰ تا ۴۰ درصد دارد. دراین مرحله به دلیل رطوبت نسبتاً زیاد بذرها امکان برداشت وجود ندارند. (خدابنده وهمکاران، ۱۳۷۹)

۲-۲-۳-عوامل موثر در رشد

۱-رطوبت

گندم مانند سایر گیاهان در زمین‌های خشک جوانه نمی‌زند. در این مورد کاشت گندم بهاری با مشکلی مواجه نیست چون در طول زمستان معمولا به اندازه رویش گیاه رطوبت در خاک ذخیره شده است. ارقام زمستانه رطوبت زمین برای کاشت گندم پاییزه دیم به طور معمول کفایت نمی‌کند معمولا ترجیح می‌دهند گندم را به موقع بکارند تا هر موقع بارانی نازل شد با اولین باران گندم سبز شود و رشد آن به تاخیر نیفتد.

۲-خاک

خاک‌های خیلی قوی از نظر هوموس با تهویه کافی و مواد غذایی کامل برای کشت گندم مناسب است. بهترین و مناسب‌ترین خاک برای گندم خاک‌های لومنی، رسی و لومنی شنی است. گندم چون دارای ریشه‌های افشان و سطحی است بنابراین به خاک‌های عمیق احتیاج ندارد. مناسبترین pH برای گندم بین ۵/۷ تا ۷ است.

۳-درجه حرارت

حداقل درجه حرارت برای جوانه زنی گندم ۴ درجه سلسیوس و مناسب‌ترین دما برای رشد ۲۰ تا ۲۲ درجه سلسیوس است. از ویژگی‌های اختصاصی گندم این است که انواع وارقام مختلفی دارد که هر یک از آن‌ها با منطقه خاصی سازگار هستند.

۴-نور

گندم به روزهای آفتابی و بدون مه احتیاج دارد. نور برای انجام عملکرد کلروفیل و ایجاد بافت خشبی در ساقه مورد نیاز است. وقتی نور به پای گیاه نتابد گیاه علفی و بلند می‌شود و مقاومت کافی در مقابل خوابیدگی نشان نخواهد داد. گندم برای وارد شدن به مرحله سنبل دهی احتیاج به طول روز بلند دارد. در چنین شرایطی حداقل طول روز باید ۱۴ ساعت باشد. (خدابنده وهمکاران، ۱۳۷۹)

۲-۲-۴-تنش شوری

مفهوم تنش

گیاهان زراعی تحت تاثیر یک سری از عوامل محیطی رشد می‌کنند که دائما بر رشد و عملکرد گیاهان تاثیر می‌گذارند. چنانچه هر کدام از این عوامل در سطح نامطلوب قرار داشته باشند به عنوان تنش عمل می‌کنند و بر عملکرد گیاهان زراعی تاثیر نامطلوب دارند. گیاه در عکس العمل و مواجهه با تنش از خود واکنش نشان می‌دهد. تنش دارای توان آسیب‌زایی است و در نتیجه یک متابولیسم و فعل و انفعال غیرعادی روی می‌دهد. اثرات تنش ممکن است به صورت کاهش رشد و مرگ گیاه کامل و یا قسمتی از آن دیده شود.(فتوحی وهمکاران، ۱۳۹۰)

شوری

شوری یکی از عوامل مهم در تاریخ و سیستم‌های کشاورزی است که بشر با آن ارتباط دیرینه دارد. تمدن‌های بسیاری در اثر عدم مدیریت زراعی صحیح و آبیاری اصولی در اثر تجمع نمک در سطح خاک از بین رفته است. هرگاه بارندگی محدود باشد نمک در خاکی که گیاهان در آن ریشه دار هستند شسته نشده و در اثرافزایش شوری مقدار محصول کم می‌شود (کافی وهمکاران، ۱۳۸۸). میلیون‌ها هکتار از سطح

زمین‌های جهان شور است و این مساحت تقریبا سه برابر بیشتر از کل زمین‌هایی است که در حال حاضر آبیاری می‌شود.

۲-۲-۵-اهمیت شوری در جهان و ایران

در دنیا میلیون‌ها هکتار زمین شور وجود دارد که برای تولید محصولات کشاورزی اقتصادی است. این راضی بیشتر در نواحی خشک و نیمه خشک قرار دارند. در ایران ۱۸-۱۵ میلیون هکتار از اراضی شور است. اراضی شور اغلب حاصل خیز هستند و در صورتی که نمک‌های اضافی و مضر آن‌ها به وسیله عملیات اصلاحی از خاک خارج شود ممکن است زمین‌های کشاورزی بسیار مناسبی را به وجود آورند. به ویژه اگر آب کافی باکیفیت مطلوب برای آبیاری این اراضی موجود باشد.

۲-۲-۶-اثرات شوری روی گیاه

۲-۲-۶- ۱-اثرات شوری روی صفات مورفولوژیکی و آناتومی

کاهش رشد

فاصله میان گره‌های ساقه کم می‌شود ولی ریشه کمتر از ساقه تحت تاثیر قرار می‌گیرد.

کاهش سطح برگ

به علت کاهش تورژسانس (فشار داخل سلولی) سطح برگ به اندازه طبیعی رشد نمی‌کند. از طرفی فتوسنتز هم کاهش پیدا می‌کند.

ضخیم شدن کوتیکول

کوتیکول در اثر شوری ضخیم تر می‌شود. بنابراین آب کمتری از گیاه خارج می‌شود.

۲-۲-۶-۲-اثر شوری روی فتوسنتز

فتوسنتز از جمله مهمترین فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان است که طی آن کربن هوا در متابولیسم گیاهی وارد می‌شود. محصول بدست آمده از فتوسنتز نزدیک به ۹۰٪ ماده خشک گیاه را تشکیل می‌دهد بنابراین با کمترین تغیر در میزان فتوسنتز تغیرات زیادی در عملکرد محصولات زراعی به وجود می‌آید. شوری یکی از عوامل اصلی است که روی فتوسنتز و فرایندهای جانبی آن تاثیر می‌گذارد. طی مطالعاتی که تاکنون انجام شده کاهش رشد نتیجه اثر قطعی شوری بر روی گیاهان غیر شورپسند نظیر گندم است. بدون شک این اثر شامل کاهش سطح برگ است که از سوی برخی از پژوهشگران علت اصلی کاهش فتوسنتز است (گاسنوا وهمکاران،۲۰۰۶).

۲-۲-۶-۳-اثر شوری بر کلروپلاست

کلروپلاست‌ها اندامک‌هایی هستند که شوری بر آن‌ها بیشترین تاثیر را دارد. شوری موجب چروکیدگی کلروپلاست می‌شود و شدت فسفره شدن فتوسنتزی افزایش پیدا می‌کند در نتیجه پتانسیل اسمزی کم می‌شود.

۲-۲-۶-۴-اثر شوری بر رنگدانه‌ها

گزارش‌های زیادی از افزایش یا کاهش مقدار کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی بر اثر شوری وجود دارد. بر اساس تحقیقات بسیاری از پژوهشگران شوری مقدار کلروفیل گیاهان را کم می‌کند. در حالی که مطالعات دیگر حاکی از آن است که شوری مقدار کلروفیل را بالا می‌برد. افزایش کلروفیل در محیط های شور در گوجه فرنگی، پنبه و دیگر گیاهان غیر نمک دوست مشاهده شده است. در حالیکه با افزایش سطح شوری مقدار رنگدانه برگ در واحد وزن ماده خشک کاهش پیدا می‌کند (*Neelem et al,2010*).

۲-۲-۶-۵-اثر شوری بر هورمون‌ها

هورمون‌های گیاهی بویژه سیتوکنین و آبسزیک اسید نقش مهمی در روابط گیاه و آب از طریق تاثیر بر روزنه ها دارند. هورمون سیتوکنین روزنه‌ها را باز و آبسزیک اسید روزنه‌ها را می‌بندد. با وارد شدن تنش به گیاه مقدار سیتوکنین درونی کاهش و آبسزیک اسید افزایش می‌یابد. هورمون سیتوکنین در ریشه تولید می‌شود و بعد به قسمت‌های بالاتر گیاه منتقل می‌شود. تنش‌های آبی و شوری انتقال در بسیاری از گیاهان سیتوکنین را از ریشه به شاخه کاهش می‌دهد. در نتیجه بر بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژی شاخه‌ها به ویژه در تنش شوری اثر می‌گذارد. مهم‌ترین آن‌ها شامل رفتار روزنه‌ای، رشد برگ، قطع شدن برگ و همه فاکتورهایی موثر بر مصرف آب توسط گیاهان است. (فتوحی وهمکاران، ۱۳۹۰)

۲-۲-۶-۶-آنزیم

گیاهان در معرض دامنه وسیعی از تنش‌های مختلف شامل فعالیت‌های انسان و دلایل طبیعی مانند خشکی، شوری و دمای پایین قرار دارند. بزرگی و وسعت تنش‌هایی که با گیاهان در ارتباط است نوسانات قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهند. در حالی‌که گیاهان مکانیسم‌های محدودی برای اجتناب از تنش دارند. یک ویژگی مشترک عوامل تنش‌زای مختلف تولید انواع اکسیژن فعال در بافت‌های گیاهی است. همچنین انواع اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی در ضمن اعمال سوخت و سازی بخصوص در کلروپلاست در هنگام فتوسنتز تولید می‌شود. گیاهان برای جلوگیری از صدمات ناشی از اکسیژن فعال دارای یک سیستم ضداکسیدکنندگی متشکل از ضداکسیدکننده‌هایی باوزن ملکولی پایین (مانند گلوتاتیون واسکوربیت) وآنزیم‌های محافظت کننده (مانند سوپراکسید دیسموتاز وآسکوربیت پراکسیداز) هستند. اهمیت ترکیبات

ضداکسید کننده و آنزیم‌ها برای انتقال اکسید کننده‌ها در قسمت‌های مختلف وابسته به غلظت آن‌ها است. به علت درجه بالای مقاومت برای $O2^-$ سوپراکسید دیسموتاز کارامدترین تجزیه کننده رادیکال‌های سوپراکسید شناخته شده است. این به شکل ایزوزایم‌های مختلف در قسمت‌های متفاوت زیر سلولی وجود دارد (sarvajeet et al.2010).

۲-۲-۷-مکانیسم سازگاری به تنش

به طور کلی بررسی‌ها نشان می‌دهد که گیاهان در رابطه با شوری مکانیسم‌های مختلف و یا مجموعه‌ای از آن‌ها را با هم به کار می‌گیرند.

۲-۲-۷-۱-اجتناب از شوری

بعضی از گیاهان شور دوست نمک را جذب می‌کنند ولی اگر این غلظت نمک در مکانیسم‌های حیاتی گیاه داخل شود زیان بار است. لذا گیاه تلاش می‌کند که به زوش‌های مختلف و با مکانیسم‌های حیاتی خود را از آسیب تجمع نمک دور کنند. این واکنش‌های گیاه در مقابل تنش شوری اجتناب نامیده می‌شود. اجتناب خود شامل چندین مکانیسم ۱-دور نمودن ۲- حذف کردن ۳-رقیق کردن ۴-ترشح به بیرون است. همه گیاهان دور کننده نمک هستند ولی مقدار و شدت این عمل در گونه‌های گیاهان فرق می‌کند .

در مکانیسم رقیق کردن برگ‌های گیاه به روش‌های مختلف غلظت نمک خود را با افزایش اندازه سلول و نسبت واکوئل به سیتوپلاسم تعدیل می‌کنند. در نتیجه این عمل یون‌های مضر در واکوئل‌ها انباشت می‌شود. (فتوحی وهمکاران، ۱۳۹۰)

در مکانیسم حذف نمک بعضی از گیاهان عالی که به شوری سازگار هستند دفع نمک از طریق غده‌های نمکی است.

۲-۲-۷-۲-تحمل به شوری

گروهی از گیاهان شور دوست پس از اینکه نمک راجذب کردند خود را برای شرایطی آماده می‌کنند که بتوانند با غلظت بالای نمک به زندگی خود ادامه دهند. به این مکانیسم در سازگاری با شوری تحمل می‌گویند وغالبا هالوفیت‌ها از این مکانیسم به عنوان راهکار اصلی در کنار سایر مکانیسم‌ها استفاده می‌کنند.

۱-تنظیم اسمزی

گیاهان برای تنظیم اسمزی خود از یون‌های معدنی ومواد آلی محلول استفاده می‌کنند. وقتی گیاه تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرد غلظت نمک در بافت های گیاهی بالامی‌رود وسلول‌ها برای حفظ روابط

آبی وتنظیم اسمزی اقدام به سنتز مواد آلی مناسب وتجمع یون‌ها از محیط بیرون می‌کنند. اگر غلظت یون‌های سیتوپلاسم نسبت به واکوئل کمتر باشد پتانسیل آب سلول کمتر و آب سیتوپلاسم کشیده می‌شود. گیاهان این حالت را با سنتز مواد آلی محلول مانند اسیدهای آمینه پرولین، بتائین، اسید مالیک وغیره جبران می‌کنند. تجمع این مواد که شامل اسید های آلی، ترکیبات ازته وکربوهیدرات ها است فقط در هالوفیت‌ها وجود ندارد. این ترکیبات در سطوح مختلف در غیر هالوفیت‌ها نیز در پاسخ به تنش شوری، کمبود آب و در زمان سازگاری به سرما وتنش حرارت یافت می‌شود (زابادوس وساوئر،۲۰۱۰).

۲-تغیر مسیر فتوسنتزی

چنانجه غلظت نمک سلول‌ها از حد معین تجاوز کند مسیر فتوسنتزی این گیاهان تغیر می‌کند.

PGPR-۳-۲

جمعیت جهان در حال حاضر ۷ میلیارد نفر است و تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۲۰ به ۸ میلیارد برسد. نگرانی زیادی در رابطه با توانایی تامین غذای همه این افراد وجود دارد. علاوه بر این در سال‌های اخیر تولید کننده‌ها ومصرف کننده‌ها به طور ویژه‌ای بر سلامت وکیفیت غذاها وهمچنین خصوصیات تغذیه‌ای تمرکز دارند. میکروارگانیسم‌های خاک با تاثیر مثبت بر رشد گیاه جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در کشاورزی رایج هستند. اگر چه همه قسمت‌های گیاه توسط میکروارگانیسم‌ها کلونیزه نمی‌شوند اما ناحیه ریزوسفری مکان اصلی باکتری‌هایی با فعالیت‌های مفید برای گیاهان است. این باکتری‌ها به عنوان باکتری‌های محرک رشد یا PGPR معروف هستند(*Diby paul et al.,2014*).

اغلب PGPRها به۲ روش بر رشد گیاه تاثیر دارند.

۲-۳-۱-اثرات مستقیم

از اثرات مستقیم می‌توان به تامین عناصر غذایی اشاره کرد (۱). تحریک رشد گیاه به کمک باکتری می‌تواند به دنبال تامین عناصر غذایی که در خاک نیستند انجام شود. این عناصر شامل نیتروژن، فسفر و آهن است (۲). انحلال پذیری فسفات، تثبیت نیتروژن، کلات کردن آهن از طریق تولید سیدروفور (۳)، تعدیل سطح فیتوهورمون‌ها، تولید فیتوهورمون‌های اکسین، سیتوکنین، ژبرلین و آبسزیک اسید همگی نقش کلیدی در تنظیم رشد و نمو گیاه دارند. زمانی که گیاه با شرایط تنش مواجهه می‌شود سطح فیتوهورمون‌های اندوژنی اغلب برای رشد کافی نیستند. بسیاری از میکرو ارگانیسم‌های ناحیه ریزوسفر در

شرایط درون شیشه توانایی تولید ویا تعدیل فیتوهورمون‌ها را نشان داده‌اند. تولید اکسین، سیتوکنین و ژبرلین توسطPGPR و تاثیر آن‌ها بر رشد گیاهان مختلف گزارش شده است.*(Sadeghi et al., 2012)*.

۲-۳-۲-اثرات غیر مستقیم PGPR

باکتری‌های PGPR یک جایگزین مناسب برای کاهش سموم شیمیایی درکشاورزی است. استفاده از این باکتری‌ها سبب کاهش بسیاری از بیماری‌های گیاهی شده است. کنترل زیستی توسط PGPRها به خصوصیات مشخصی مانند رقابت برای کلونیزاسیون مکان، رقابت برای عناصر غذایی، تولید آنتی بیوتیک و آنزیم و القای مقاومت سیستماتیک بر علیه بیمارگرهای گیاهی مربوط است. تعدادی از فاکتورها نظیر دما، رطوبت نسبی، ترکیب ترشحات ریشه و همچنین تعامل بین جامعه میکروبی خاک بر بقای PGPR بر سیستم ریشه تاثیر دارد(*Nassar et al., 2003*).

انواع PGPR

گونه‌های مختلف از جنس‌های زیر به عنوان باکتری محرک رشد معرفی شده است

۱- *Bacillum* ۲-*Enterobacter* ۳-*Azotobacter* ۴-*Arthrobacter* ۵-*Asospirillum*

۶-*Pseudomonas* ۷-*Clostridium* ۸-*Streptomyces*

۲-۳-۳- استرپتومایسس

استرپتومایسس‌ها بزرگترین جنس اکتینو باکترها است. بیش از ۵۰۰ سویه از باکتری استرپتومایسس شناسایی شده است. مانند اکتینو باکترها استرپتومایسس‌ها گرم مثبت و ژنومی با محتوی GC بالا دارند. این باکتری‌ها عمدتا در خاک، پوشش گیاهی و بافت‌های پوسیده دیده می‌شوند. اکثر استرپتومایسس‌ها اسپور تولید می‌کنند و به وسیله هیف‌های شاخه دار توسعه پیدا می‌کنند.

فصل سوم

مواد وروش‌ها

۳-۱-آزمون اولیه یا مقدماتی برای تعین بهترین ارقام از گندم‌ها در پاسخ به باکتری استرپتومایبس

برای بررسی اثر سویه‌های Streptomyses بر برخی صفات فیزیولوژیکی در ارقام مختلف گندم در مرحله گیاهچه آزمایشی به صورت فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار و در ۴ سطح خاک شامل خاک نرمال ،خاک نرمال با باکتری ، خاک شور و خاک شور با باکتری در سطح شوری ۱۸۰ میلی‌مولار در شرایط کاملا مشابهه صورت گرفت. شرایط محیطی شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای شب ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ درصد بود. برای این کار ۱۰ رقم مختلف گندم که شامل ارقام شیرودی، آرتا، میهن، دریا، مغان ۳ ، چمران۲، مروارید ،پیشتاز،گنبد و زرین مورد بررسی قرار گرفته، از مرکز اصلاح بذر تهیه شد. بعد از ضد عفونی با الکل ۷۰درصد به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۵ دقیقه، ۵ بار با آب مقطر شسته شد. خاک مورد استفاده برای این کار ابتدا به وسیله ۲ بار اتو کلاو کردن استریل شد و به داخل باکس‌ها اضافه شد. پس از صاف کردن سطح خاک باکتری Streptomyses سویه C-2012 با غلظت 10^6 cfu/ml به خاک اضافه و بذر ها کشت شد. پس از سبز شدن بذور و رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ۳ برگی با اضافه کردن تدریجی Nacl محلول به خاک ،تنش شوری ۱۸۰ میلی‌مولار طی دو هفته اعمال شد و بعد از دو هفته از اعمال تنش نمونه‌برداری انجام شد. پس از خروج نمونه‌ها از خاک و شستشوی ریشه و خشک کردن آن طول ریشه و اندام‌های هوایی و وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. و نمونه‌ها در داخل پاکت گذاشته شد و در آون در دمای ۵۰ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد تا کاملا خشک شود و در نهایت وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد برای محاسبه سطح برگ از برگ سوم نمونه‌ها استفاده شد که طول بیشترین پهنای آن اندازه‌گیری شد و و از رابطه زیر سطح برگ بدست آمد$LA=L\times B\times .75$

کهL طول ساقه و B پهنای برگ می‌باشد

۲-۳- خصوصیات خاک مورد استفاده درآزمایش

برای بررسی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک مورد استفاده، دو کیلوگرم خاک را پس از دو بار اتوکلاو کردن به مرکز تحقیقات کشاورزی استان سمنان (شاهرود) بخش تحقیقات خاک و آب فرستاده شد .

۳-۱-۱-باکتری‌ها و شرایط کشت

در این مطالعه از دو گونه باکتری استرپتومایسس شامل Strain S2، و *S. rimosus C-2012* که مقاومت به شوری، حرارت و تولید دو اسمولیت اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین آن‌ها در مطالعات قبلی بررسی شده بود استفاده شد. باکتری‌ها بر روی پلیت حاوی محیط ISP2 (۱۰ گرم در لیتر عصاره مالت، ۴ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۴ گرم در لیتر گلوکز و ۱۸ گرم در لیتر آگار با اسیدیته ۷/۲) کشت شد و به مدت پنج روز در دمای 29^{o} C نگهداری گردیدند. برای تهیه کشت مایع سوسپانسیون کشت جوان باکتری در سرم فیزیولوژی (کلرید سدیم ۰/۹٪) استریل با غلظت 10^{6} cfu/ml تهیه گردید. یک میلی لیتر از این سو سپانسیون در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت ISP2 مایع در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری کشت شد. فلاسک‌های ارلن مایر به مدت ۷۲ ساعت داخل شیکر انکوباتور در شرایط 29^{o} C و ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. میسلیوم و اسپور باکتری توسط پمپ خلاء بر روی کاغذ صافی جمع آوری و سپس در دمای 60^{o} C به مدت ۴۸ ساعت خشک شد و سپس باکتری توسط آسیاب پودر و به خاک تلقیح شد.

۳-۲-آزمون اصلی به منظور مطالعات فیزیولوژیکی و مولکولی

پس از آزمون اولیه و آنالیز داده‌ها چهار رقم گنبد ، پیشتاز ، زرین و چمران۲ را به عنوان ارقامی که پاسخ مثبت و بی‌تفاوت نسبت به تیمار باکتری داشتن انتخاب شد. دوباره آزمایشی به صورت فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در ۴ سطح خاک در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار در شرایط کاملا مشابهه ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. ۴ رقم گنبد، پیشتاز، چمران ۲ و زرین پس از ضدعفونی بذر با الکل ۷۰ درصد و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ۵ بار هم با آب مقطر شسته شد و سپس کشت بذر انجام شد. .خاک مورد استفاده پس از استریل شدن به وسیله اتوکلاو درون باکس‌ها ریخته شد. دو سویه باکتری استرپتومایسس که شامل سویه C-2012 و سویه S2 به خاک تلقیح شد. پس از سبز شدن بذور و رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه برگی شدن با اضافه کردن تدریجی Nacl محلول به خاک تنش شوری ۳۰۰میلی‌مولار اعمال شد. بعد از دو هفته از اعمال تنش نمونه‌برداری انجام شد و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و سطح برگ اندازه‌گیری شد و رقم گنبد و زرین به عنوان بهترین رقم که به باکتری عکس العمل نشان می‌دهند انتخاب شد.

۳-۲-۱-آنالیزهای بیوشیمیایی

۳-۲-۱-۱-بررسی تمامیت غشا

میزان آسیب به غشاها با اندازه‌گیری مقدار مالونیل‌دی‌الدئید (MDA) به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشائ و با اندازه گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از غشای سلول‌ها تعین شد. به

منظوراندازه‌گیری ۲/. گرم از بافت تازه برگی با ۳ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید(TCA)۱۰درصد سایده شد. نمونه‌ها پس از همگن سازی سانتریفوژ (,1200rpmبه مدت ۱۵دقیقه) شدند. به ۱ میلی‌لیتر از نمونه-های صاف شده ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید(TBA) ۰/۲۵٪ اضافه شد و به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میزان MDA با اندازه‌گیری جذب در طول موجهای ۴۰۰nm ,۵۳۲nm و ۶۰۰nm محاسبه شد. از تفاضل جذب در ۴۰۰ و ۶۰۰ نانومتر میزان MDA بدست آمد.

۳-۲-۱-۲-میزان پرولین آزاد در سلول

برای اندازه‌گیری میزان پرولین ۰/۰۲گرم پودر بافت برگی تازه را در ۳ میلی‌لیتر محلول سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ سائیده و سپس سانتریفیوژ (۱۳۰۰ rpmبه مدت۱۰دقیقه) شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده به لوله‌های درب دار منتقل شد. به تمام لوله‌ها ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ml استیک اسید گلایسال اضافه شد و به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰سانتی‌گراد قرار گرفت. برای تهیه معرف نین هیدرین به مقدار ۱/۲۵ گرم را به ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار اضافه شد و به ملایمت حرارت داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای محیط به هر کدام ۴ میلی‌لیتر تولئون اضافه شد و سرانجام فاز رویی که حاوی پرولین محلول در تولوئن می‌باشد جدا گشته و جذب نمونه ها در ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد از غلظت های ۵/، ۲ ،۵ ، ۱۰ ، ۲۰ ، ۳۰ و۴۰ ppm پرولین استفاده شد. (وندرسکولو,۲۰۰۷)

۳-۲-۱-۳- استخراج پروتئین محلول کل[1]

مواد و محلول‌های مورد نیاز برای استخراج پروتئین محلول کل:

۱-۱۰ میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدین[2](PVP)

۲-بافر استخراج (فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ و سدیم متابای‌سولفیت[3]۱ میلی‌مولار

۳-گلیسرول ۵۰٪ (v/v)

روش کار

1- Total soluble protein

2- Polyvinil pirolidin

3- Sodium Metabisulfite

هاون سرد را روی یخ قرار داده و یک گرم بافت برگی که در فریزر $-80^{\circ}C$ نگهداری شده بود در هاون قرار داده و با اضافه کردن نیتروژن مایع بافت برگی سائیده شد. بعد از اینکه بافت برگ کمی خرد شد، ۱۰۰ میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) اضافه نموده و مخلوط حاصل دوباره سائیده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج اضافه شد. پس از اینکه نمونه‌ها به خوبی له شدند، عصاره گیاهی حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و در ۱۵۰۰۰ rpm و دمای $4^{\circ}C$ به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ رومیزی (Beckman Coulter مدل Allegra – 64R) سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ کردن فاز شفاف بالایی را جدا کرده و عصاره حاصل در حجم‌های کوچکتر تقسیم شده و در میکروتیوب‌های ۲۰۰ میکرولیتر ریخته و بعد از انجماد در نیتروژن مایع به فریزر با دمای $-80^{\circ}C$ منتقل شد. (استون و گیفورد، ۱۹۹۷) همه مراحل تهیه عصاره آنزیمی در دمای $4^{o}C$ صورت گرفت.

۳-۲-۱-۴-تعیین غلظت کلروفیل برگی

هنگام استخراج پروتئین محلول کل، بعد از افزودن بافر استخراج و قبل از سانتریفیوژ، ۲۰۰ میکرولیتر از مخلوط بافر و بافت برگ را در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر ریخته و ۸۰۰ میکرولیتر استون سرد به آن اضافه شد. بعد از ورتکس کردن کوتاه، میکروتیوب به مدت یک ساعت در دمای $-20^{\circ}C$ قرار داده شد. بعد از این مدت، نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm در د ستگاه میکرو سانتریفیوژ (Spectrofuge مدل16M) سانتریفیوژ شدند. سپس از فاز بالایی برای سنجش کلروفیل استفاده شد. با استفاده از اسپکتروفتومتر (Labomed مدلUV-3200) جذب محلول در طول موج های B=۶۶۳ و A=۶۴۵ نانومتر خوانده شد. از ا ستون خالص به عنوان شاهد[1] سپکتروفتومتری ا ستفاده شد. مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b به روش آرنون[2](۱۹۴۹) و با استفاده از روابط زیر بر حسب (µg/ml) محاسبه شد:

معادله۳-۱ $C_t(\mu g/ml) = (۲۰/۲\times A_{۶۴۵}) + (۸/۰۲ \times A_{۶۶۳})$

معادله ۳-۲ $C_a(\mu g/ml) = (۱۲/۷\times A_{۶۶۳}) – (۲/۶۹\times A_{۶۴۵})$

معادله ۳-۳ $C_b(\mu g/ml) = (۲۲/۹\times A_{۶۴۵}) –(۴/۶۸\times A_{۶۶۳})$

C_t، C_a و C_b به ترتیب غلظت کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b می باشد

۳-۲-۱-۵- سنجش پروتئین محلول کل

1- Blank

2- Arnon

مقدار پروتئین کل را می‌توان از روش‌های مختلف کالریمتری[6] مانند بیورت،[7] لوری[8] و یا بردفورد[9] تعیین کرد. در این آزمایش پروتئین محلول کل به روش بردفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. بر اساس این روش ابتدا دو محلول پایه و اصلی زیر تهیه شد:

۱- محلول بردفورد (v/v) ٪۲۰

۲- محلول های استاندارد با شش غلظت مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (µg/ml)

جهت اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین نمونه‌های گیاهی با استفاده از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) منحنی استاندارد رسم شد. به این ترتیب که میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های فوق با ۱ میلی‌لیتر معرف بردفورد ٪۲۰ (v/v) در داخل کیوت شیشه‌ای مخلوط شد و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد (ضریب پیوستگی تمام منحنی‌های استاندارد رسم شده در طول آزمایش بالای ۹۹٪ بود). بعد از تهیه منحنی استاندارد، ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های عصاره آنزیمی با ۱ میلی‌لیتر معرف بردفورد ٪۲۰ (v/v) مخلوط شد و بعد از پنج دقیقه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. غلظت پروتئین محلول نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب (µg/ml) محاسبه شد.

۳-۲-۱-۶-سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری در دمای آزمایشگاه (۲±۲۵) و با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

۳-۲-۱-۶-۱-کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC ۱ .۱۱ .۱ .۶) به روش ابی[1] (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد.

مخلوط واکنش حاوی مواد شیمیایی زیر بود:

بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)	۲۵۰ میکرولیتر

3-Colourimetric

4- Biuret

5- Laury

6- Bradford

1- Aebi

آب مقطر استریل ۵۰۰ میکرولیتر

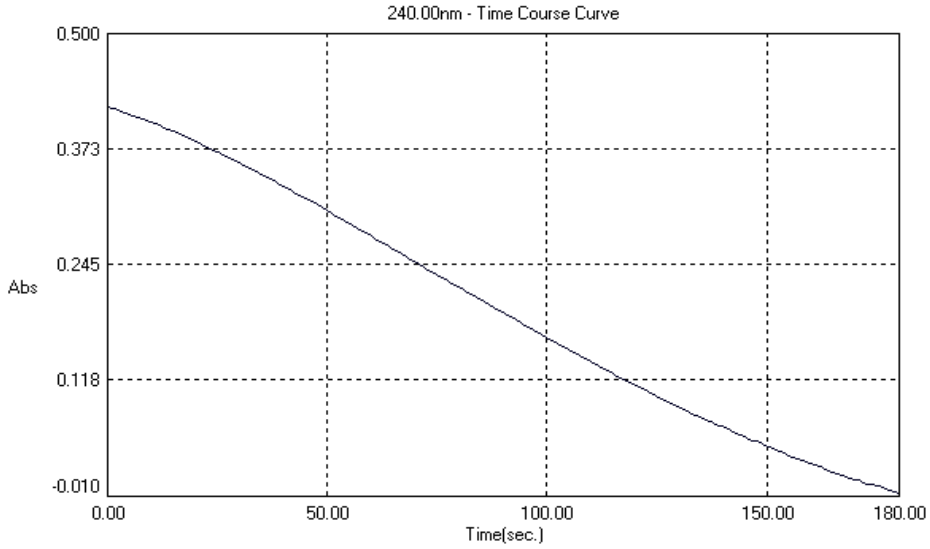
H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار pH=۷ ۲۵۰ میکرولیتر

ابتدا مخلوط در یک کیووت کوارتز ۱ میلی‌لیتری ریخته شده و بو سیله آن جهت ه ضم تدریجی د ستگاه ا سپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر بلنک شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از ع صاره آنزیمی به آن ا ضافه شده و منحنی فعالیت آنزیم کاتالاز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و بر حسب Abs/min ترسیم شد.

نحوه عمل: آنزیم کاتالاز بدون نیاز به عامل احیاء کننده طبق معادله (۳-۴) H_2O_2 را به O_2 و H_2O تبدیل می‌کند.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$ معادله ۳-۴

حداکثر جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت می‌گیرد، از اینرو با آغاز واکنش بوسیله آنزیم کاتالاز به تدریج از میزان پراکسید هیدروژن در مخلوط واکنش کم و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر نیز کاهش می‌یابد (برگمیر، ۱۹۸۳).[۱] شکل (۱-۳) نحوه فعالیت آنزیم کاتالاز را در یکی از نمونه‌های آزمایشی نشان می‌دهد.



شکل ۳-۱. منحنی فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت ۳ دقیقه در یکی از آزمایش‌ها

[۱] Bergmeyr

محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از روش برگمیر (۱۹۸۳) طبق رابطه زیر محاسبه شد.

معادله ۳-۵ $$\text{Activity (U/ml)} = \frac{\Delta A_{240} \times 1 \times V_t \times d_f}{\varepsilon \times l \times t \times V_s}$$

U واحد آنزیمی

ΔA_{240} تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش

1 با توجه به ضـــریب پراکســـید هیدروژن در معادله (۳-۴) تعیین می‌گردد که معادل ۲ می‌باشد.

V_t حجم مخلوط واکنش(در این آزمایش برابر سه میلی‌لیتر بود).

d_f فاکتور رقیق کننده (۵۰)

t مدت زمان واکنش (۱۸۰ ثانیه)

V_s حجم نمونه (در این آزمایش برابر ۲۰ میکرولیتر بود)

ε ضریب خاموشی برابر ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$

l طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش (برابر یک است).

۳-۲-۱-۶-۲-آسکوربیت پراکسیداز

فعالیت آنزیم آســکوربیت پراکســیداز (APX, EC ۱.۱۱.۱.۱۱) به روش ناکانو و اســدا[۲](۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی مواد شیمیایی زیر بود:

آسکوربیت ۰/۵ میلی مولار محلول در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار ۸۵۰ میکرولیتر

پراکسید هیدروژن ۲ میلی مولار محلول در آب دوبار تقطیر ۱۵۰ میکرولیتر

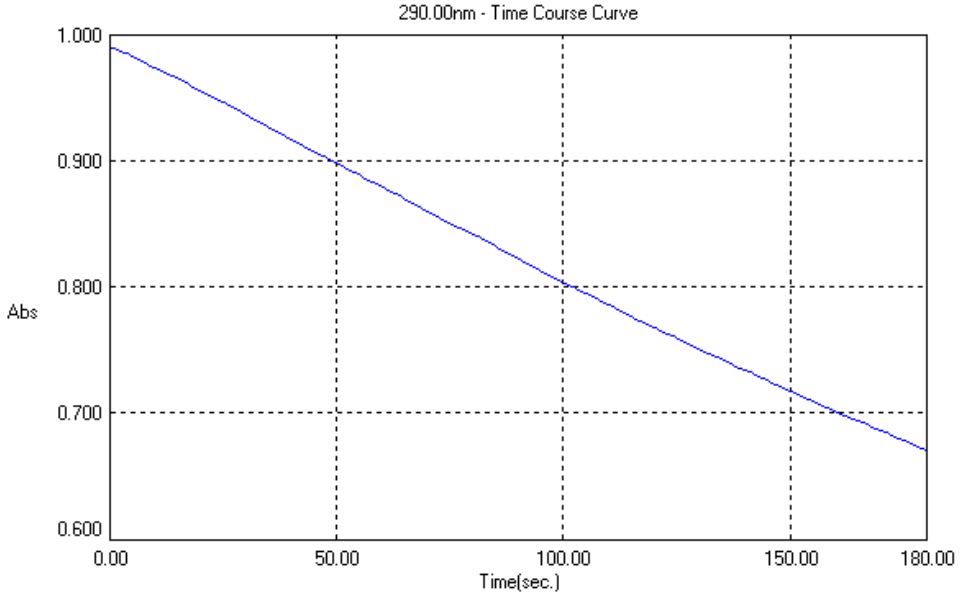
از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی در یک کیووت کوارتز ۱ میلی‌لیتری به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر استفاده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به آن اضافه شده و منحنی فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و بر حسب Abs/min ترسیم شد.

نحوه عمل: آنزیم آسکوربیت پراکسیداز، طبق معادله زیر پراکسید هیدروژن را با استفاده از آسکوربیت به آب احیاء می‌کند:

1- Nakano and Asada

$$2ASA + H_2O_2 \xrightarrow{APX} 2MDA + 2H_2O$$ معادله ۳-۶

از آنجائی که حداکثر جذب آســـکوربیت در طول موج ۲۹۰ نانومتر صـــورت می‌گیرد، لذا زمانی که آنزیم آ سکوربیت پراک سیداز در محیط بوده و فعالیت می‌کند به تدریج آ سکوربیت تجزیه شده و به طبع آن از میزان آســکوربیت محیط کاســته شــده و میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به تدریج کاهش می‌یابد. شکل (۲-۳) نحوه فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز را در یکی از نمونه‌های آزمایشی نشان می‌دهد.



شکل ۳-۲. منحنی فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز در طول موج ۲۹۰نانومتر در مدت ۳ دقیقه.

محاسبه فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲/۸ تعیین شد. جهت تعیین فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز نیز از رابطه ۳-۵ ا ستفاده شد. با این تفاوتکه ΔA_{240} به ΔA_{290} و ضریب ۲به ۱ (با توجه به ضریب H_2O_2 در معادله ۳-۹) تبدیل شد. فعالیت ویژه آنزیم آ سکوربیت پراک سیداز به صورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

۳-۲-۱-۶-۳-پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراک سیداز (۷. ۱. ۱۱. ۱ POX, EC) به روش چانس و مهلی[۳](۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل مواد شیمیایی زیر بود:

1- Chance and Maehly

بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) ۲۵۰ میکرولیتر

گویئکول[۲] ۱۰۴ میلی مولار محلول در آب دو بار تقطیر ۲۵۰ میکرولیتر

H_2O_2 ۷۰ میلی مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار pH=۷ ۳۴ میکرولیتر

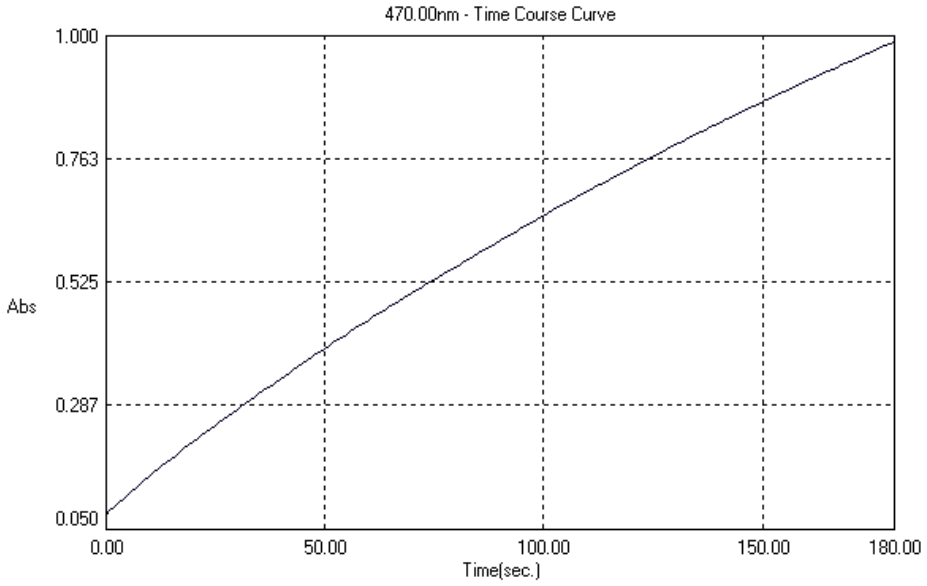
آب دوبار تقطیر استریل شده ۴۶۶ میکرولیتر

مخلوط واکنش بالا به اضافه ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کیووت شیشه‌ای ۱ میلی‌لیتری اضافه شده و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده شد.

نحوه عمل: آنزیم پراکسیداز با استفاده از ترکیبات فنولی گویئکول به عنوان دهنده الکترون طبق معادله (۳-۷) پراکسید هیدروژن را به آب احیاء می‌کند:

معادله ۳-۷ $4guaiacol + 4\ H_2O_2 \xrightarrow{POX} Tetraguaiacol + 8H_2O$

در اثر این عمل، گویئکول به تتراگویئکول تبدیل می‌شود. حداکثر جذب تتراگیئکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر صورت می‌گیرد. از اینرو با آغاز واکنش بوسیله آنزیم پراکسیداز بتدریج بر میزان تتراگویئکول در مخلوط واکنش افزوده می‌شود و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر نیز افزایش می‌یابد. شکل ۳-۳ نحوه فعالیت آنزیم پراکسیداز را در یکی از نمونه‌های آزمایشی نشان می‌دهد.



2- Guaiacol

شکل ۳-۳. منحنی فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت ۳ دقیقه.

محاسبه فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز با استفاده از رابطه ۳-۵ و با اعمال تغییرات زیر محاسبه شد: تغییر ضریب خامو شی H_2O_2 به ضریب خامو شی تتراگوئیکول (۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$)، تبدیل $\Delta A_{۲۴۰}$ به $\Delta A_{۴۷۰}$ و ضریب ۲ به ۴ (با توجه به ضریب H_2O_2 در معادله(۳-۷).

فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز به صورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

۳-۲-۱-۶-۴- **فعالیت انزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز(GST)**

فعالیت آنزیم GST به روش Hebing et al.(1974) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل مواد شیمیایی زیر بود:

بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)	۷۰۰ میکرولیتر
۱کلرو-۲و۴ دی‌نیتروبنزن(DNCB)۱۰میلی‌مولار	۱۰۰میکرولیتر
گلوتاتیون احیا شده(GSH) ۱۰میلی‌مولار	۱۰۰میکرولیتر

مخلوط واکنش بالا به اضافه ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کیووت شیشه‌ای ۱میلی‌لیتری ریخته شده و با قرار گرفتن در د ستگاه ا سپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم GST در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۶۰ ثانیه اندازه‌گیری شد.

۳-۲-۱-۶-۵-**اندازه گیری فعالیت آنزیم SOD** :

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با روش (Ries & Giannopolitis1997) انجام شد.

روش تهیه بافر استخراج

بافر HEPES-KOH

HEPES (۵۰ میلی‌مولار)

KOH را مستقیماً در HEPES تهیه شده می‌ریزیم تا جایی که pH به اندازه ۷/۸ برسد.

EDTA ۰/۱ میلی‌مولار ساخته و به محلول قبلی اضافه شد. در واقع میزان مورد نظر از پودر EDTA را به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار محاسبه کرده و این میزان مستقیماً به بافر اضافه شد

مخلوط واکنش:

Buffer (HEPES-KOH)	2300 µl
Na_2CO_3	100 µl
Methionine	100 µl
Riboflavine	100 µl
NBT	100 µl
Crude Enzyme	300 µl

مجموع این موارد باید ۳۰۰۰ میکرولیتر یا ۳ میلی‌لیتر شد.

Na_2CO_3 (۰/۳ مولار)

NBT (۷۵ میکرومولار).

متیونین (با HCl حل شود) (۰/۳۶ مولار)

ریبوفلاوین (۰/۰۳میلی‌مولار)

روش کار برای تهیه عصاره آنزیمی:

۱- توزین۰/۲ گرم ماده تر گیاهی

۲- اضافه کردن ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج HEPES-KOH به نمونه وزن شده درون هاون چینی و سائیدن نمونه درون بافر استخراج

۳- ریختن عصاره بدست آمده (حاصل سائیدن) درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری

۴- سانتریفیوژ نمونه‌ها در g ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲ یا ۴ درجه سانتی‌گراد

۵- برداشتن سوپرناتانت حاصله (یا با سمپلر و یا بهتر است با کاغذ صافی واتمن ۳۸۹ فیلتر شود).

Mixture (با آنزیم)

در یک لوله آزمایش به ترتیب بافر HEPES-KOH، Na_2CO_3، Methionine و Riboflavine را اضافه می‌کنیم. تا این قسمت در نور معمولی مشکلی بوجود نمی‌آید. به محض اضافه کردن NBT باید حتماً نمونه‌ها در تاریکی قرار داشته باشند (بهتر است از یک جعبه مقوایی یا کارتن معمولی که رک حاوی لوله‌های آزمایش را زیر آن قرار می‌دهیم استفاده شود). در ادامه ترکیب NBT را اضافه می‌کنیم. عصاره آنزیمی را حتماً در کنار دستگاه اسپکتروفتومتر و به محض قرائت جذب نمونه‌ها اضافه می‌کنیم (جذب اولیه). طول موج ۵۶۰ نانومتر و از کیووت های شیشه ای (glass) می‌توان استفاده کرد.

Mixture (بدون آنزیم)

همه مراحل آماده سازی نمونه‌ها با شرایط آنزیم مشابه است، فقط آنزیم اضافه نمی‌شود. این جذب در محاسبه بعدی فعالیت SOD استفاده می‌شود. مقدار ۳۰۰ میکرولیتر آنزیم باید با بافر جایگزین شود. به عبارتی به جای ۲۳۰۰ میکرولیتر، مقدار ۲۶۰۰ میکرولیتر بافر برمی‌داریم.

. محلولی که جذب اولیه آن خوانده شده را نگهداری می‌کنیم برای قرائت جذب ثانویه.

بعد از اینکه جذب اولیه خوانده شد (جذب در تاریکی) نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در اتاقک حاوی نور سفید (بهتر است از دو لامپ کم مصرف سفید و بزرگ که درون یک کمد کوچک یا زیر هود شیمیایی تعبیه شده‌اند استفاده کرد) قرار داده شد. بعد از این ۱۰ دقیقه Reaction Mixture (بدون آنزیم) رنگش متمایل به بنفش خیلی کمرنگ شد. علت این امر واکنش NBT با ریبوفلاوین در مجاورت نور می‌باشد. بعد از گذشت مدت زمان ۱۰ دقیقه جذب تمامی لوله‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت می‌شود (جذب ثانویه).

کافی است ۲ لوله آزمایش برای شرایط بدون آنزیم به عنوان شاهد اختصاص داده شود.

$$IH = \frac{\Delta \text{ Abs without enzyme} - \Delta \text{ Abs with enzyme}}{\Delta \text{ Abs without enzyme}}$$

IH معادل ضریب Inhibition است.

$$SOD\ Activity = \frac{\text{IH} \times 1000}{50 \times \text{mg protein}}$$

از سوپرناتانت اولیه (عصاره آنزیمی) ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه‌ها برای سنجش پروتئین کل از همان ابتدا جدا کرده و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم تا بعداً سنجش پروتئین کل را انجام شود.

۳-۲-۱-۶-۷-اندازه‌گیری عناصر غذایی توسط دستگاه Metrohm Ion Chromatography

اندازه‌گیری کاتیونها (سدیم ،پتاسیم ،کلسیم ،آمونیوم و منیزیم)

۰/۲گرم وزن تر نمونه گیاهی رو با ترازوی دقیق وزن کرده و در فالکون ۱۵ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۱نرمال به فالکون‌ها اضافه شد. فالکون‌ها را به مدت ۴ ساعت در حمام آب گرم (۸۰ درجه سانتی‌گراد) همراه باشیک قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت

در دمای اتاق نگهداری شد. فالکون‌ها را به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور با دمای محیط سانتریفیوژ شد. محتوی داخل فالکون‌ها رو توسط کاغذ صافی واتمن درون فالکون مخصوص دستگاه IC فیلتر کرده و pH محلول اندازه‌گیری شد. چنانچه pH محلول ۲ و یا بالای ۲ باشد بدون رقیق کردن آماده قرار دادن درون دستگاه می‌باشد. درغیر اینصورت باید توسط آب دوبار تقطیر شده رقیق کنیم (ما۱به۱۰رقیق کردیم) ابتدا استانداردهای کاتیون توسط دستگاه خوانده شده و سپس نمونه‌ها درون دستگاه قرار داده شد.

شکل مربوط به دستگاه Metrohm Ion Chromatography

۳-۳- بررسی ملکولی

۳-۳-۱- طراحی پرایمر

به منظور بررسی الگوی بیان ژن‌های دارای تفاوت بیان بین تیمارهای مختلف در سطح ژنومیکس (جدول ۴-۲) طراحی آغازگرها با استفاده از نرم افزار توالیcDNA OLIGO ver5 به گونه‌ای صورت گرفت که با استفاده از هر جفت آغازگر تنها ژن مورد نظر به طور اختصاصی تکثیر شود. به منظور اطمینان از طراحی آغازگر اختصاصی توالی‌های طراحی شده از طریق پرایمر بلاست در NCBI کنترل شد.

جدول ۴-۲پرایمر های مورد استفاده در تحقیق

Name	Seguence	temprat	Lench
glutathione-S-transferase (GST)	F: ATCAGCTCTTGCTCTCACCG R: CAAGAAGAACCGAACCGAAG	60ć	103
Ascorbate peroxidase (APX)	F: TTTGACGGTGCATGGACTCG R:GCGTCGAAATTCAGGATCAT	56ć	135
superoxide dismutase (SOD)	F: GGGTGCATATCAACAGGTCC R: CGCCACACCTTCAGCATTG	59ć	120
18S ribosomal RNA gene	F: TTAACGAACGAGACCTCAGCC R:GGCATGACAGACCTGTTATTGC	58ć	124

۳-۳-۲-انجام PCR

به منظور اطمینان از کارایی و عملکرد اختصاصی آغازگرها ، واکنش PCR صورت گرفت. محلول مادری با در نظر گرفتن مواد مشترک بین واکنش‌های مورد نظر به همراه کنترل منفی (تمام موارد مورد استفاده در PCR به غیر از cDNA) تهیه و سپس در میکروتیوبهای ۲/ ۰تقسیم و با cDNA و آغازگرها بخوبی مخلوط شد و پس از اسپین در دستگاه (PCR BIO-RAD) قرار گرفت. واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. واسرشت‌سازی و جفت شدن آغازگرها و طویل شدن

رشته در۳۸ چرخه و برای هر چرخه به مدت ۱ دقیقه و۳۰ ثانیه و ۴۵ ثانیه به ترتیب در۹۴ سانتی‌گراد و دمای اختصاصی آغازگرها در جدول (۴-۲) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و طویل شدن نهایی ۴ دقیقه و در۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و سپس محصول PCR مورد الکتروفورز و عکس برداری قرار گرفت.

۳-۳-۳-استخراج RNA کل از بافت برگ

استخراج RNA با استفاده از روش ترایزول (Invitogen) انجام شد. برای استخراج RNA ابتدا۱۰۰میلی‌گرم بافت تازه برگی پودر شده با ازت را وزن کرده و به یک تیوپ ۲ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول ترایزول به ازای هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت اضافه کرده و کاملا مخلوط شد (با تکان دادن با دست) و ۵ دقیقه در دمای محیط نگه داشته شد. سپس ۲ / ۰میلی‌لیتر کلروفرم به ازای ۱میلی‌لیتر ترایزول اضافه شد. ۱۵ ثانیه بوسیله دست یا ورتکس به شدت تکان داده شد. سپس ۱۵ دقیقه در دمای محیط نگه داشته و سپس ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ جی سانتریفیوژ شد. فاز بالایی به تیوپ تمیز ریخته شد. سپس ۲۵/ ۰میلی‌لیتر ایزوپروپانول اضافه شد و ۲۵ / میلی‌لیتر از 2M Nacl (DEPC treat) به ازای ۱ میلی‌لیتر ترایزول اضافه شد. به آرامی مخلوط کرده و ۱۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰ جی سانتریفیوژ شد و محلول رویی جدا شد. رسوب حاصل با اتانول ۷۵ درصد رقیق شده با آب DEPC شستشو شد (۱ میلی‌لیتر به ازای ۱ میلی‌لیتر ترایزول) و کمی تکان داده شد و به مدت ۲ دقیقه در۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت۱۳۰۰۰جی سانتریفوژ شد (۳بار عمل شستشو تکرار شد). محلول بالایی برداشته شد و رسوب حاصل زیر هود خشک شد. سپس۲۰-۲۵ ماکرولیتر آب DEPC به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم بافت اضافه شد و ۳۰ ثانیه ورتکس شد. پس از استخراج RNA کل کیفیت و الگوی توزیع آن به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ بررسی شد و میزان RNA با دستگاه Nanodrop تعین غلظت شد.

۳-۳-۴-واکنش رونویسی معکوس وسنتز cDNA از روی mRNA

DNA مکمل از روی ۱ میکروگرم RNA با استفاده از iScript cDNASYNTHESIS kit شرکت Bio Rad و بر اساس رونویسی معکوس طبق دستورالعمل کیت ساخته شد. جدول (۴-۳) ابتدا رونویسی از روی رونوشت ژن‌های مورد بررسی با استفاده از PCR و به کارگیری جفت پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای این ژن‌ها انجام شد پس از حصول اطمینان از تکثیر تک باند مراحل به شرح ذیل ادامه یافت.

پروتکل سنتز cDNA (جدول۳-۴)

دما	زمان
۲۵ć	۵دقیقه
۴۲ć	۳۰ دقیقه
۸۵ć	۵دقیقه
۴ć	Hold

۳-۳-۵- شریط ونحوه تکثیر

برای انجام Real Time PCR از کیت QTM SYBER Green Supermix طبق دستورالعمل استفاده شد. در ابتدا به منظور تعیین کارایی هر جفت آغازگر در واکنش Real time PCR ترکیبی از تمام تیمارها و تکرارهای cDNA سنتز شده تهیه شد. برای هر جفت آغازگر۵ سری رقت ۱ ،۵/ ، ۰/۲۵، ۰/۶۲۵در دو تکرار از مخلوط cDNA فوق آماده و پس از انجام واکنش Real time PCR منحنی استاندارد رسم شد تا شیب آنها و کارایی هر جفت آغازگر محاسبه شود.

به منظور اطمینان از تکثیر اختصاصی در واکنش PCR منحنی ذوب ترسیم شده توسط دستگاه مورد بررسی قرار گرفت. پس از تعین بهترین مقدار ورودی cDNA برای واکنش Real time PCR الگوی بیان در نمونه‌های مورد نظر انجام شد. به منظور اجتناب از بروز هر گونه اختلاف در تهیه واکنش بین تیمارهای مختلف همواره محلول مادری با حجم متناسب با تعداد واکنش تهیه شد و در چاهک‌های پلیت مخصوص Real time PCR تقسیم شد و بعد از اضافه کردن cDNA (حجم ورودی cDNA استفاده شده برای تمامی آغازگرها دو میکرولیتر بود) از تیمارهای مختلف به آن‌ها روی پلیت با چسب شفاف مخصوص پوشانده شد. پس از آن پلیت با استفاده از سانتریفیوژ اسپین شد و داخل دستگاه قرار گرفت. واسرشت سازی اولیه برای مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. تکثیر اولیه در ۴۰ سیکل (نمونه به مدت ۳۰ ثانیه در دمای واسرشت سازی ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه در دمای اتصال آغازگرها و ۴۵ ثانیه در مرحله طویل شدن رشته در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و طویل شدن نهایی رشته به مدت ۵ دقیقه در۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. به منظور رسم منحنی ذوب دما از ۵۰ درجه سانتی‌گراد طی ۹۰ چرخه ۱۰ ثانیه‌ای به ۹۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد به طوری که در هر چرخه ۵ /۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد

و میزان نور ساطع شده از نمونه‌ها در پایان ۱۰ثانیه ثبت می‌شود. برای تایید اختصاصی عمل نمودن آغازگرها از آنالیز منحنی ذوب (Melt Curve Analysis) استفاده شد. با مشاهده تنها یک پیک در آنالیز منحنی ذوب هر قطعه تکثیر شده مشخص شد که آغازگرهای ژن مرجع و ژن‌های مورد نظر تنها محصول اختصاصی را تکثیر می‌دهند در نهایت میزان بیان ژن با نرم‌افزار (شرکت Bio Rad) تصحیح همه داده‌ها با ژن‌های خانه دار 18s به عنوان کنترل داخلی نرمال شده و سپس میزان بیان ژن در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد (نرمال) سنجیده شد.

۳-۴-تجزیه وتحلیل آماری

تجزیه وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم شکل توسط نرم افزار EXCEL انجام شد مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت.

فصل چهار

نتایج وبحث

٤-١ بررسی آزمون اولیه

جدول (۴-۱) مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی را در ۴ سطح خاک را در ارقام مختلف گندم نشان می‌دهد. تحت تنش شوری وزن تر و خشک ساقه و ریشه در همه ارقام کشت شده نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در تنش شوری تلقیح باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 سبب افزایش وزن خشک ساقه در ارقام گنبد ، زرین و مغان۳ نسبت به عدم تلقیح باکتری شد. در تنش شوری تلقیح باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 سبب افزایش وزن تر ریشه در ارقام گنبد ، زرین و پیشتاز نسبت به عدم تلقیح باکتری شد. در تنش شوری تلقیح باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 سبب افزایش وزن خشک ریشه در ارقام گنبد ،پیشتاز و شیرودی نسبت به عدم تلقیح باکتری شد. در تنش شوری تلقیح باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 سبب کاهش وزن تر و خشک ساقه و ریشه در رقم چمران ۲ نسبت به عدم تلقیح باکتری شد. در بقیه ارقام کشت شده تغیر قابل توجهی بین وزن تر و خشک ساقه و ریشه بین تلقیح باکتری و عدم تلقیح در شرایط تنش شوری مشاهده نشد. بر اساس آنالیزهای انجام شده چهار رقم چمران ۲ ،زرین ،گنبد و پیشتاز برای آزمون اصلی انتخاب شدند.

جدول (۴-۱) مقایسه میانگین پارامترهای فیزیولوژیکی ده رقم گندم در تیمار با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012

		ریشه			اندام هوایی		
رقم	سطح خاک	وزن تـــر (mg/plant)	وزن خشک (mg/plant)	وزن تر (mg/plant)	وزن خشگ (mg/plant)	طول ساقه (cm)	سطح برگ (cm)
شیرودی	نرمال	۱۰/۴±۰/۴a	۱/۸۸±۰/۱a	۸۶±۵/۵a	۷/۹±۰/۴b	۳۲±۰/۸a	۸/۸±۰/۰۹b
	نرمال باکتری	۶/۰۷±۰/۳b	۲/۰۱±۰/۲۱a	۸۷±۲/۴a	۶/۰۷±۰/۳a	۳۲±۰/۶a	۱۴/۴±۰/۱a
	شور	۱/۹۱±۰/۱c	۰/۸±۰/۱c	۵۰±۴/۷b	۱/۹±۰/۱c	۲۸±۰/۹b	۴/۱۶±۰/۶d
	شور باکتری	۳/۷±۱/۹c	۱/۴±۰/۳b	۵۰±۵/۴b	۳/۷±۱/۹c	۲۹±۱/۶b	۷/۴±۰/۳c
ارتا	نرمال	۲/۰۹±۰/۲b	۰/۸±۰/۵b	۶۲±۳/۶b	۶/۷±۱/۰۶a	۳۳±۲/۵ab	۹/۴±۰/۹b
	نرمال باکتری	۳/۷±۰/۹a	۱/۳±۰/۲a	۷۶±۱۰/۱a	۶/۶±۰/۲a	۳۶±۲,۲a	۱۳/۹±۰/۱۷a

	شور	۳/۶±۰/۰۸a	۱/۰۵±۰/۰۱ab	۴۷/۲±۲/۰۴b	۵/۳±۰/۶a	۳۰/۵±۱/۲b	۵/۸±۰/۳b
	شور باکتری	۳/۱۵±۰/۷ab	۱/۱±۰/۲a	۵۱±۵/۸c	۵/۹±۰/۵a	۳۳±۱/۰۷ab	۷/۴±۱/۳ab
میهن	نرمال	۴/۸±۰/۷b	۱/۲±۰/۰۷b	۷۴±۰/۴b	۹/۹±۰/۷b	۳۳±۱/۲ab	۱۰/۱±۰/۸ab
	نرمال باکتری	۸/۰۶±۰/۴a	۱/۶±۰/۷a	۹۴/۹±۱/۷a	۱۱/۴±۰/۷a	۳۷±۰/۵۲a	۱۳/۱±۰/۹a
	شور	۳/۲±۱/۱c	۱/۲±۰/۰۵b	۵۹/۲±۳/۳c	۷/۳±۰/۶c	۳۰±۱/۴b	۷/۱۴±۱/۳b
	شور باکتری	۵,۷±۰/۷ab	۱/۱±۰/۰۷b	۶۲/۲±۴/۸c	۶/۳±۰/۶c	۳۱±۱/۳b	۸/۰۱±۰/۴b
دریا	نرمال	۲/۷۱±۰/۷a	۰/۷±۰/۰۲b	۸۰±۹/۱a	۷/۹±۱/۵ab	۳۲±۰/۶a	۸/۹±۱/۶a
	نرمال باکتری	۳/۴±۱/۳b	۱/۳±۰/۱۸a	۷۶±۸/۱a	۸/۴±۱/۴a	۳۲±۱/۳a	۹/۰۹±۰/۲۹a
	شور	۱/۳±۰/۳b	۰/۷۴±۰/۱۴b	۵۰±۳/۶b	۶/۰۷±۰/۳b	۲۸,۲±۰,۸b	۴/۷±۰/۹b
	شور باکتری	۱/۳±۰/۸b	۰/۶±۰/۱۶b	۵۹/۳±۱/۷b	۵/۷±۰/۰۲c	۲۹±۰/۷b	۵/۷۴±۰/۰۵b
مغان۳	نرمال	۳/۸±۰/۴b	۰,۹٤±۰,۰۹b	۷۲/۲±۵/۱a	۶/۹±۰/۳b	۳۴±۰/۲ab	۸/۸±۱/۳a
	نرمال باکتری	۴/۵±۰/۵a	۱/۴±۰/۴a	۷۲/۲±۳/۶a	۷/۱۸±۰/۴a	۳۷±۳/۱a	۱۱±۳/۱a
	شور	۴/۷±۱/۲ab	۰/۷±۰/۰۷b	۵۲/۸±۲/۲b	۵/۶±۰/۰۱b	۳۱±۱/۶b	۵/۱۷±۰/۴b
	شور باکتری	۲/۲±۰/۱c	۰/۸±۰/۰۷b	۵۴/۸±۳/۲b	۶/۱±۰/۸b	۳۱±۲/۶b	۸/۴±۰/۱a
پیشتاز	نرمال	۲/۲±۰/۰۹b	۰/۷۴±۰/۱b	۷۱/۴±۰/۲b	۶/۳±۰/۵ab	۳۳±۰/۹ab	۹/۰۴±۰/۱ab
	نرمال باکتری	۳/۸±۰/۴a	۱/۲۲±۰/۰۶a	۸۱/۸±۷/۴a	۶/۵±۰/۴a	۳۶/۲±۰/۴a	۱۱±۱/۹a
	شور	۱/۹±۰/۴b	۰/۷±۰/۱۲b	۴۲/۷±۰/۳c	۶/۱±۰/۲ab	۳۰/۲±۲/۱b	۵/۹±۰/۵b
	شور باکتری	۴/۴±۰/۰۹a	۱/۲±۰/۱a	۴۶/۷±۲/۱c	۵/۵±۰/۴b	۳۱/۲±۲/۷b	۷/۶±۰/۸b
چمران۲	نرمال	۳/۸±۰/۷ab	۰/۸۸±۰/۰۶b	۸۱/۲±۰/۴a	۸/۹±۰/۰۱a	۳۲±۰/۹a	۹/۱۶±۱/۳a
	نرمال باکتری	۴/۷±۰/۵a	۱/۳±۰/۰۳a	۶۸±۷/۴b	۶/۲±۰/۳b	۳۲/۴±۱/۹a	۹/۵±۰/۴a
	شور	۳/۲±۰/۷b	۰/۶±۰/۱۳b	٤٤±۵,۶c	۵/۳±۰/۲c	۲۷/۸±۲/۳b	۵/۲±۰/۳b
	شور باکتری	۱/۳۵±۰/۱c	۰/۵±۰/۰۹c	۳۴±۰/۸d	۴/۵±۰/۴d	۳۰±۰/۴b	۵/۲±۰/۱b
مروارید	نرمال	۷/۱±۰/۱۳a	۱/۳±۰/۱۱a	۷/۳۲±۲/۷a	۷,٦±۰,۵a	۳۷±۰/۷a	۱۰/۴±۰/۰۷b
	نرمال باکتری	۶/۲±۱/۰۵a	۱/۲±۰/۲a	۷۷/۲±۰/۵a	۸/۰۶±۰/۳a	۴۰±۰/۵a	۱۲±۱/۶a
	شور	۱/۵±۰/۴b	۰/۶±۰/۱۳b	۴۶/۲±۱/۲b	۶/۵±۰/۱۴b	۳۲/۲±۱/۳c	۶/۹±۰/۶b
	شور باکتری	۱/۶±۰/۵۶b	۰/۷±۰/۲۶b	۴۷/۹±۱/۷b	۶/۴±۰/۳b	۳۶/۲±۱/۷b	۱۰/۶±۳/۵ab
زرین	نرمال	۲/۵±۰/۰۶bc	۰/۶±۰/۰۵c	۴۷±۱/۷a	۸/۰۷±۰/۳b	۳۱±۱/۶ab	۸/۶±۰/۰۱a
	نرمال باکتری	۷/۰۶±۰/۷a	۱/۲±۰/۱۴a	٦۱± ۰/۶b	۸/۹±۰/۴a	۳۲±۰/۶a	۸/۶±۰/۹a

	شور	۲/۱۸±۰/۶c	۱/۰۷±۰/۳b	۴۰±۳/۶c	۵/۵±۰/۴d	۲۹±۰/۷c	۴/۶±۱/۹b
	شور باکتری	۳/۵±۰/۳b	۱/۰۳±۰/۱۸b	۴۴±۲/۳c	۶/۴±۰/۰۷c	۲۹±۰/۹b	۸/۱±۱/۲a
گنبد	نرمال	۵±۰/۳b	۱/۳±۰/۲۵b	۵۹±۱۰/۳b	۹/۲±۰/۵b	۳۰±۲/۰۴b	۸/۶±۰/۲۵b
	نرمال باکتری	۱۲/۵±۲/۰۳a	۲/۵±۰/۳۱a	۱۰۵±۸/۳a	۱۱/۸±۰/۱a	۳۲±۰/۶a	۱۴/۳±۱/۶a
	شور	۱/۴±۰/۰۳c	۰/۶±۰/۲c	۴۱/۵±۷/۵c	۵/۰۵±۰/۶d	۲۶±۰/۷۵c	۶/۲±۰/۱۵c
	شور باکتری	۳/۸±۰/۶b	۱/۲±۰/۱۸b	۵۲/۵±۱/۸c	۵/۹±۰/۶c	۲۸±۰/۶bc	۶/۸±۱/۶c

٤-۲- بررسی آزمون اصلی

چهار رقم چمران ۲ ، زرین ،گنبد و پیشتاز با دو سویه استرپتومایسس سویه C-2012 و S2 کاشته شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی برای سویه C-2012 در جدول ۴-۲ و برای سویه S2 در جدول-۳ ۴ نشان داده شده است. در بین چهار رقم کشت شده بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه در شرایط غیر شور به ترتیب ۴۹٪ و ۵۶٪ در رقم گنبد تیمارشده با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 اندازه‌گیری شد. بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه در شرایط تنش شوری به ترتیب ۶۲٪ و ۶۱٪ در رقم گنبد تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 نسبت به عدم تلقیح باکتری اندازه‌گیری شد. در بین چهار رقم کشت شده بیشترین وزن تر ساقه و ریشه در شرایط غیر شور در رقم گنبد تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 اندازه‌گیری شد. در تنش شوری بیشترین وزن تر ساقه و ریشه به ترتیب ۵۹٪ و ۵۵٪ در رقم زرین و گنبد تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 نسبت به عدم تلقیح باکتری اندازه‌گیری شد.

در سویه S2 بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه در شرایط غیر شور به ترتیب ۳۵٪ و ۷۸٪ در رقم گنبد تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه S2 اندازه‌گیری شد. در شرایط تنش شوری بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه ۳۵٪ و۳۲٪ به ترتیب در رقم زرین و چمران ۲ تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه S2 نسبت به عدم تلقیح باکتری اندازه‌گیری شد. در بین چهار رقم کشت شده بیشترین وزن تر ساقه و ریشه در شرایط غیر شور به ترتیب در رقم زرین و چمران۲ تیمارشده با باکتری استرپتومایسس سویه S2اندازه‌گیری شد. بیشترین وزن تر ساقه و ریشه در شرایط تنش شوری به ترتیب ۳۲٪ و ۷۵٪در رقم گنبد و پیشتاز تیمار شده با باکتری استرپتومایسس سویه S2 نسبت به عدم تلقیح باکتری اندازه‌گیری شد.

براساس آنالیزهای انجام شده دو رقم گنبد و زرین برای آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی انتخاب شد

جدول (۴-۲) مقایسه میانگین پارامترهای رشد چهار رقم گندم در تیمار با باکتری استرپتومایسس سویه C-2012

رقم	تیمار	ریشه		اندام هوایی			
		وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	سطح برگ	محتوی اب نسبی
چمران۲	نرمال	۱۸/۶±۰/۴b	۱/۳۶±۰/۱۵c	۶۹±۲/۵a	۷/۶±۲/۵ab	۱۰/۶±۱/۵ab	۵۲/۷±۲/۲a
	نرمال باکتری	۲۹±۰/۶a	۲/۱۷±۰/۰۱a	۷۳/۴±۳/۶a	۸/۸±۱/۴a	۱۲/۴±۱/۶a	۴۳/۶±۵/۰۱b
	شور	۱۱/۸±۱/۸c	۱/۳±۰/۱c	۴۶/۴±۴/۰۱b	۵/۳±۰/۲c	۹/۲±۰/۷b	۴۴/۶±۴/۷b
	شور باکتری	۱۳/۲±۰/۴c	۱/۷±۰/۲۶b	۵۲/۵±۲/۰۵b	۶/۲±۱/۰۲bc	۹,۷±۰,۳b	۴۶/۹±۴/۲b
پیشتاز	نرمال	۱۷/۲±۱/۲b	۱/۳±۰/۱۱b	۷۸±۰/۸b	۷/۷±۱/۳ab	۱۱/۸±۱/۷a	۵۶/۶±۳/۱a
	نرمال باکتری	۲۴±۰/۲a	۱/۹±۰/۰۴a	۱۰۶±۱۳/۱a	۸/۶±۰/۶a	۱۲/۸±۲/۰۲a	٤٦,۳±۵,۰b
	شور	۷/۱±۰/۷d	۱/۰۲±۰/۲۸c	۴۸/۴±۵/۲c	۵/۶±۰/۷c	۹/۱±۰/۶b	٤۲,٤±۱,۰۶b
	شور باکتری	۱۳/۱±۰/۵c	۱/۵±۰/۰۸b	۴۹/۶±۳/۳c	۶/۷±۰/۱۱b	۹/۶±۱/۲b	۴۰/۴±۳/۹b
زرین	نرمال	۲۹/۸±۲/۸a	۱/۶±۰/۲a	۷۷,٦±۶,۳a	۹/۴±۱/۱a	۱۳/۰۴±۱/۶a	۶۵/۵±۲/۶a
	نرمال باکتری	۲۸/۴±۵/۵a	۲,۰۱±۰,۱۶a	۸۷/۲±۴/۶a	۹/۸±۰/۶a	۱۳/۱±۱/۶a	٦۰,۹±۰,۴۵a
	شور	۷/۱±۰/۷b	۱/۰۶±۰/۰۶b	٤۳,٤±۱,۸c	۶±۰/۳b	۹,۱۳±۰,۷۹b	۴۳/۴±۳/۷b
	شور باکتری	۸/۵±۱/۱b	۱/۰۲±۰/۱b	۶۹/۴±۴/۰۶b	۴/۷±۰/۱c	۸/۱±۱/۶b	۶۹/۰۵±۷/۱a
گنبد	نرمال	۴۱/۵±۴/۱b	۲,۳±۰,۲۳b	۷۹/۴±۶/۲a	۸/۹±۰/۹b	۱۶/۲±۰/۵۳b	۶۶/۱±۲/۷a
	نرمال باکتری	۵۱,۵±۴/۷a	۳/۶±۰/۳۲a	۱۲۰±۶/۸b	۱۳/۰۶±۱/۳a	۱۸/۹±۰/۵۲a	٦۸,۲±۵,۰a
	شور	۱۶/۵±۰/۳d	۱/۴±۰/۳۱c	۴۰/۸±۲/۵d	۵/۳±۰/۵c	۸,۲۲±۲,۰۷d	۴۷/۱±۳/۹b
	شور باکتری	۲۵/۷±۱/۱c	۲/۳±۰/۲۳b	۶۲/۳±۴/۳c	۸/۶±۱/۱b	۱۱/۹±۰/۵۵c	۴۸/۴±۲/۹b

جدول (۴-۳) مقایسه میانگین پارامترهای رشد چهار رقم گندم در تیمار با باکتری استرپتومایسس سویه S2

رقم	تیمار	ریشه		اندام هوایی			
		وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	سطح برگ	محتوی اب نسبی
چمران۲	نرمال	۲۶/۵±۰/۳b	۱/۷±۰/۳b	۶۴/۴±۲/۴b	۸/۶±۰/۴۱b	۱۰/۱۲±۰/۹b	۴۹/۶±۳/۸a
	نرمال باکتری	۴۲/۵±۰/۳a	۲/۸±۰/۳a	۷۹/۸±۸/۸a	۹/۳±۰/۱a	۱۳/۴±۱/۹a	۵۲/۳±۷/۵a
	شور	۱۱/۹±۱/۹c	۱/۴±۰/۲b	۴۲±۳/۱c	۵/۷±۰/۴c	۸/۱۹±۱/۵b	۴۳/۹±۴/۷a
	شورباکتری	۱۱,٦±۰,۴c	۱/۶±۰/۲b	۴۱/۹±۰/۳c	۶/۸±۰/۵b	۸/۴±۰/۷b	۴۳/۶±۲/۵a
پیشتاز	نرمال	۲۱/۶±۱/۶b	۱/۶±۰/۲b	۷۸/۴±۶/۲b	۸/۸±۰/۹b	۱۰/۳±۰/۵۱b	۷۸/۰۴±۷/۱a
	نرمال باکتری	۲۹/۴±۱/۲a	۲/۶±۰/۰۵a	۹۱/۶±۷a	۱۱/۹±۰/۷a	۱۴/۷±۲/۴a	۸۲/۵±۹/۴a
	شور	۱۱/۸±۲/۰۸c	۱/۴±۰/۳b	۴۹/۵±۶/۱c	۶/۸±۰/۸۷b	۹/۵±۰/۷۱b	۵۱/۵±۴/۳b
	شور باکتری	۲۰,۷±۰,۹b	۱/۵±۰/۱b	۵۲/۳±۴/۱c	۷/۱±۱/۱۰b	۸/۰۸±۰/۲۳b	۴۴/۷±۰/۳۴b

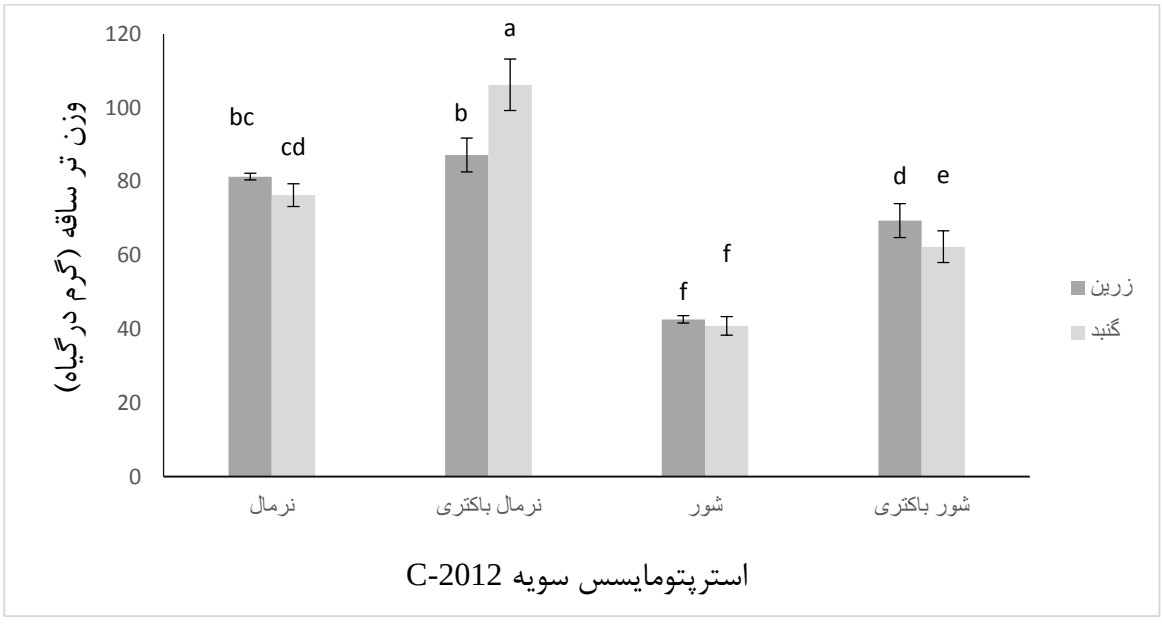
زرین	نرمال	۱۹/۷±۰/۱۵b	۱/۳±۰/۲b	۶۴/۷±۷/۷b	۹±۰/۱b	۸/۹±۰/۵b	۶۶/۲±۳/۹b
	نرمال باکتری	۲۶/۱±۳/۱a	۲,٤±۰,۰۸a	۸۳/۹±۱۴/۰۵a	۱۲/۲±0.1a	۱۲/۳±۱/۹a	۸۳/۶±۷/۸a
	شور	۱۰/۶±۱/۴c	۱/۲±۰/۰۵b	۴۳/۶±۴/۷c	۵/۶±۰/۸c	۹/۹±۱/۵ab	۳۷/۴±۰/۴۱d
	شور باکتری	۱۰,۸±۱/۴c	۱/۳±۰/۲۳b	۵۰/۶±۰/۸b	۷/۶±۰/۸b	۱۱/۲±۰/۰۱ab	۵۲/۲±۰/۵۷c
گنبد	نرمال	۳۲,۲±۳/۲b	۱/۹±۰/۱b	۸۵/۵±۱/۳b	۱۰/۴±۱/۱b	۱۱/۴±۰/۸۱b	۷۳/۱±۶/۷a
	نرمال باکتری	۴۵/۴±۴/۴a	۳/۴±۰/۲a	۹۴/۴±۰/۲a	۱۳/۸±۲/۴a	۱۴/۸±۱/۶a	۸۲/۵±۱۱/۰۵a
	شور	۱۳/۱۴±۳/۱c	۱/۶±۰/۴b	٤۲,۲±۳/۳d	۶/۳±۰/۳b	۱۰/۳±۰/۷b	۳۳/۶±۱/۱c
	شور باکتری	۱۸/۲±۰/۳b	۱/۷±۰/۱b	۵۶/۱±۴/۳c	۷/۰۶±۰/۱۷b	۱۱/۱±۰/۱۹b	۵۴/۶±۳/۱b

۴-۳-بررسی پارامترهای رشد سویه C-2012 و S2

۴-۳-۱- بررسی وزن تر ساقه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس وزن تر ساقه برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱و۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل به جزء اثر تنش x تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد برای سویه C-2012 معنی‌دار شد. برای سویه S2 کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. شکل (۴-۱) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر وزن تر ساقه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود وزن تر ساقه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۵۳٪ و ۵۲٪ کاهش وزن تر ساقه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر وزن تر ساقه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۷۱٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۶۶٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن تر ساقه رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری بود. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز حداکثر میزان افزایش وزن تر ساقه در شرایط تنش شوری در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) ۶۱٪ بود *(P≤0.05)*. همچنین شکل (۴-۲) تاثیر

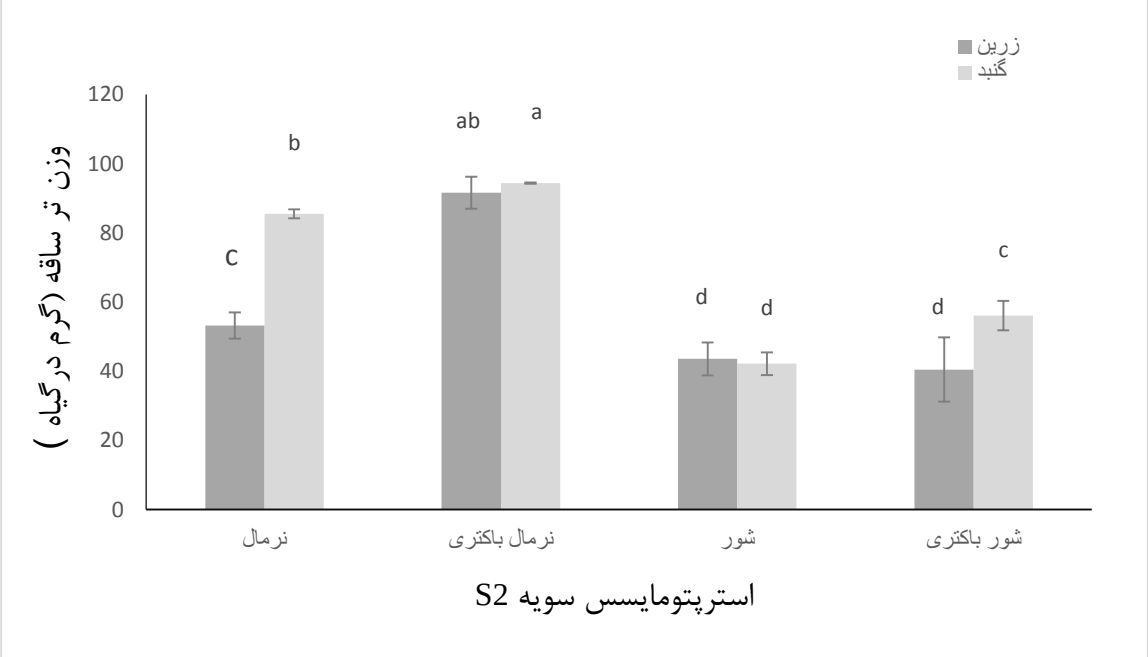
تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر وزن تر ساقه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشـاهده می‌شـود وزن تر سـاقه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شـوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسـه میانگین‌های مربوطه اسـتنباط می‌شـود که تنش شـوری به ترتیب موجب ۵۱ ٪ و ۱۹٪ کاهش وزن تر ساقه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر وزن تر ساقه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۱۰٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۳۲٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن تر ساقه رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری بود. در رقم دیگر مورد بررسـی در این تحقیق نیز حداکثر میزان افزایش وزن تر ساقه در شرایط تنش شوری در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) ۶۱٪ بود *(P≤0.01)*.



شکل (۴-۱) وزن تر ساقه سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری =خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.



شکل (۴-۲) وزن تر ساقه سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.

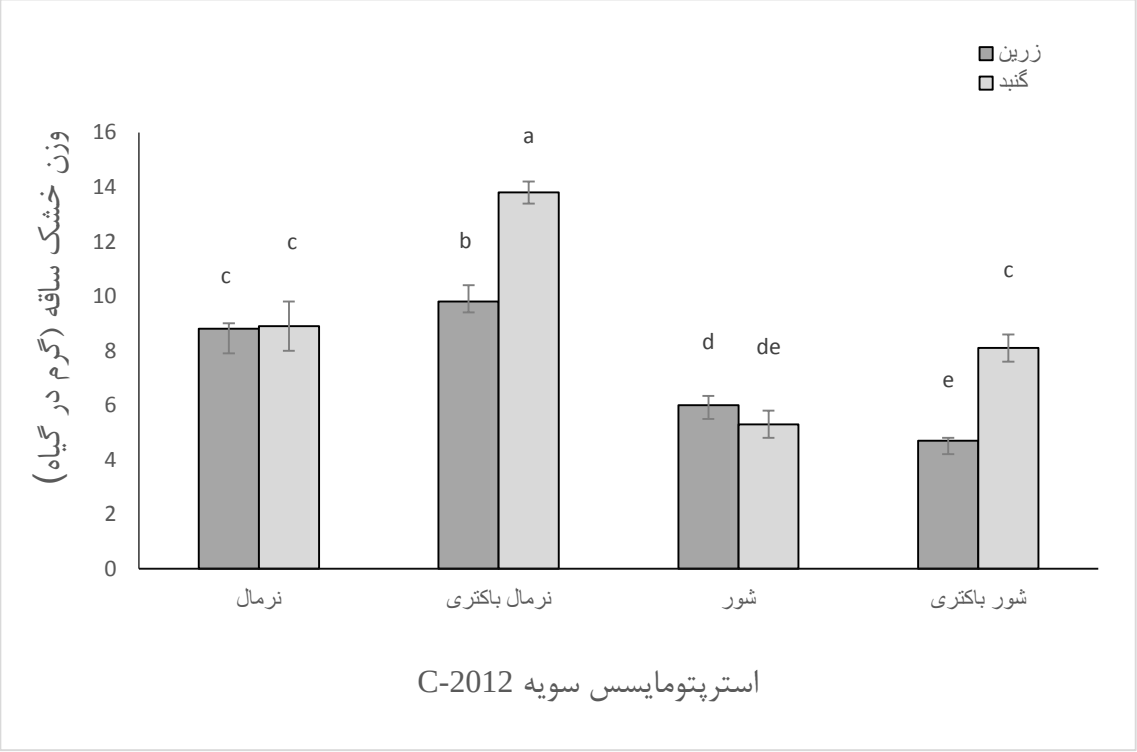
در اثر تغیرات آب و هوایی گیاهان، به طور مداوم در معرض استرس‌های غیر زیستی مانند شوری و خشکی قرار می‌گیرند. تنش شوری موجب اختلالات فیزیولوژیکی و کاهش رشد گیاهان می‌شود (یو و همکاران،۲۰۰۷). این مطالعه نشان داد که تنش شوری وزن تر ساقه را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد . تاثیر مثبت باکتری‌های PGPR بر رشد گیاهان مختلف گزارش شده است (*Bernard et al.,2012*). همچنین کاهش اثرات مخرب تنش شوری با استفاده از این باکتری‌ها در گیاهانی مانند فلفل (نوئل و همکاران ۱۹۹۶)، کاهو (*H.s.Han et al.,2005*)، ذرت (*Manjokumar et al.,2009*)، گندم *(Sadhirkumar et al.,2011)*، گندم (صادقی و همکاران،۲۰۱۱) و برنج (*Yachana et a l.,2013*) و جو (Qurissalet et

al.,2014) و ذرت (*Ruth et al.,2012*) و خیار (*sang.mo et al.,2014*) و گندم *(U.chakroborty* et *al.,2013)* و گندم (*Faisal islam et al., 2014*) گزارش شده است. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز موثر بودن باکتری های استفاده شده را به خوبی نشان داد.

۴-۳-۲- بررسی وزن خشک ساقه

نتایج حا صل از تجزیه واریانس وزن خ شک ساقه برای هر دو سویه باکتری در جدول پیو ست ۱و۲ نشان داده شده است. برای سویه C-2012 کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل سه جانبه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. برای سویه S2 اثرات اصلی در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل سه جانبه رقم x تنش x تلقیح در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. شکل (۴-۳) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری ا سترپتومایسس سویه C-2012 را بر وزن خشک ساقه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن خشک ساقه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۴۱٪ و ۳۲٪ کاهش وزن خشک ساقه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر وزن خشک ساقه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۵۵٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۴۸٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن خشک ساقه رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری بود. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری باعث کاهش وزن خشک ساقه نسبت به عدم تلقیح در شرایط تنش شوری شد. همچنین شکل (۴-۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر وزن خشک ساقه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن خشک ساقه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب

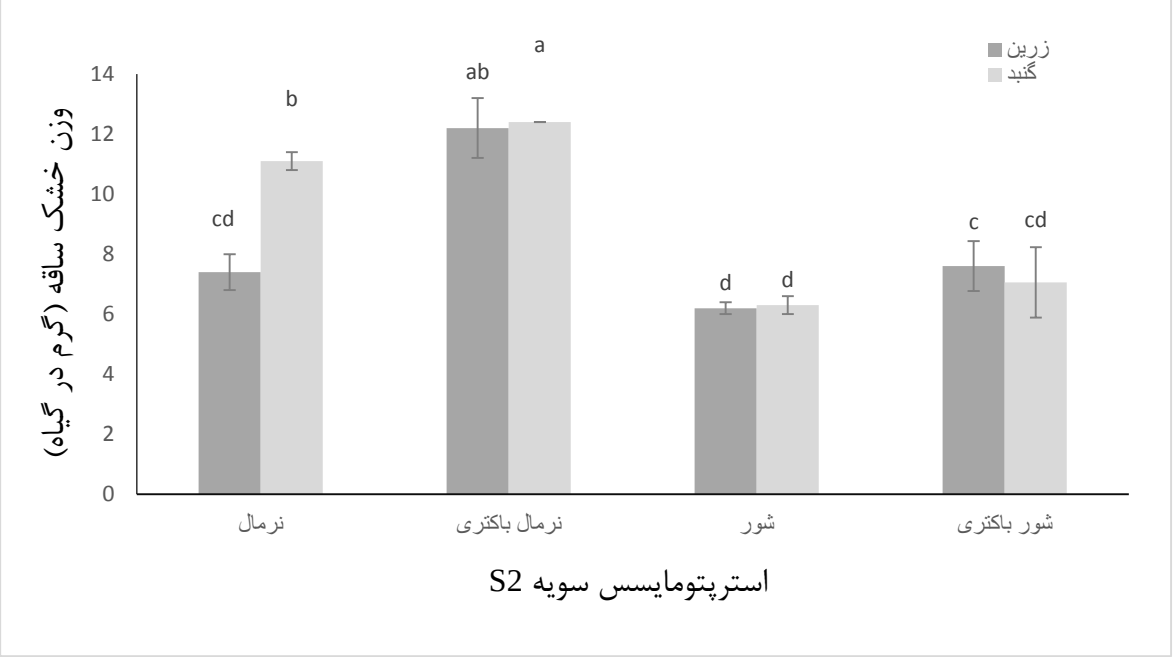
موجب ۴۴٪ و ۱۷٪ کاهش وزن خشک ساقه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر وزن خشک ساقه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* دا شت. همچنین نتایج آزمایش ن شان داد که تلقیح باکتری موجب ۱۱٪ افزایش این صفت در مقای سه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۱۲٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن خشک ساقه رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری بود. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز حداکثر میزان افزایش وزن خشک ساقه در شرایط تنش شوری در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) ۶۴٪ بود *(P≤0.05)*



شکل (۴-۳) وزن خشک ساقه سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۴) وزن خشک ساقه سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

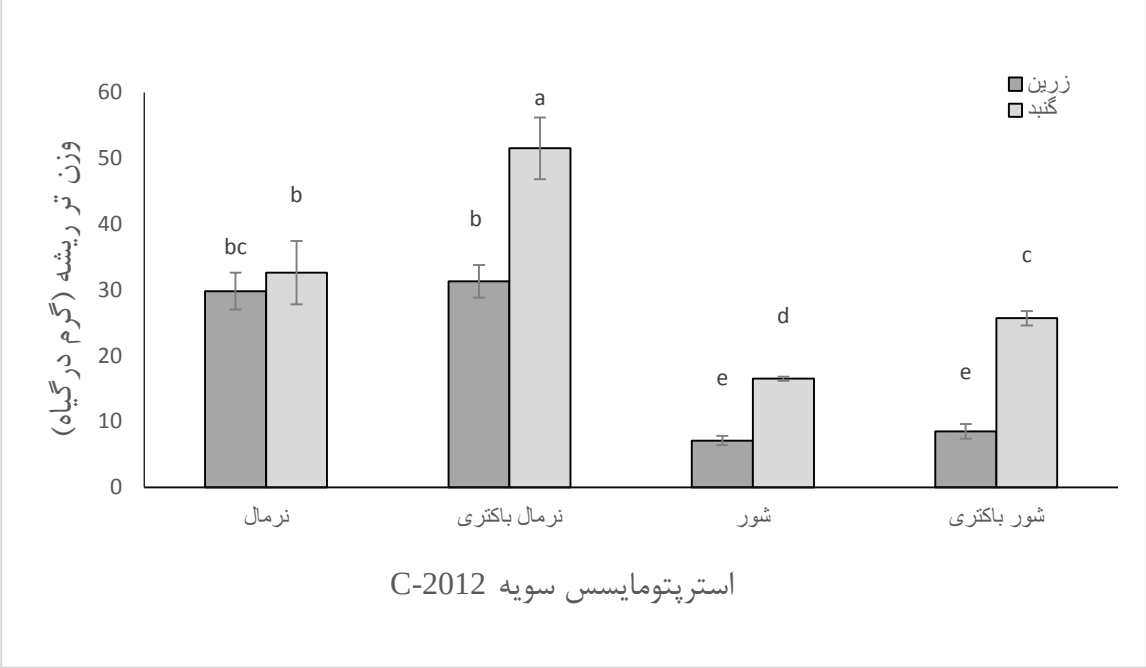
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری وزن خشـک سـاقه را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد (شکل۴-۳و۴-۴) . تاثیر مثبت باکتری‌های PGPR بر رشد گیاهان مختلف گزارش شده است (*Bernard et.al.2012*). همچنین کاهش اثرات مخرب تنش شوری با استفاده از این باکتری‌ها در گیاهانی مانند برنج (باقری و هم کاران، ۲۰۱۳)، کاهو (*H.s.Hanetal.,2005*) ، ذرت (*Manjokumaretal,.2009*)، گ ندم (*Sadhirkumar et al.,2011*)، گندم (صـــادقی و همکاران،۲۰۱۱) و برنج (*Yachana et.al.,2013*) جو (*Qurissalet et al.,2014*) و ذرت (*Ruth et al.,2012*) و خـیـار (*sang.mo et al.,2014*) و گـنـدم (*U.chakroborty et al.,2013*) و گندم (*Faisal islam et al., 2014*) گزارش شده ا ست. نتایج بد ست آمده در این مطالعه نیز موثر بودن باکتری‌های استفاده شده را به خوبی نشان داد.

۴-۳-۳-بررسی وزن تر ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس وزن تر ریشه برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. در هر دو سویه باکتری اثرات اصلی رقم و تنش و تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل سه گانه رقم x تنش x تلقیح در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. شکل (۴-۵) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر وزن تر ریشه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن تر ریشه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۵۰٪ و ۷۰٪ کاهش وزن تر ریشه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر وزن تر ریشه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۵۷٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۵۴٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن تر ریشه در رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز افزایش قابل توجهی در وزن تر ریشه در شرایط تنش و بدون تنش مشاهده نشد. همچنین شکل (۴-۶) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر وزن تر ریشه دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن تر ریشه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۵۳٪ و ۶۴٪ کاهش وزن تر ریشه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر وزن تر ریشه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۴۰٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۱۹٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن تر ریشه در رقم گنبد

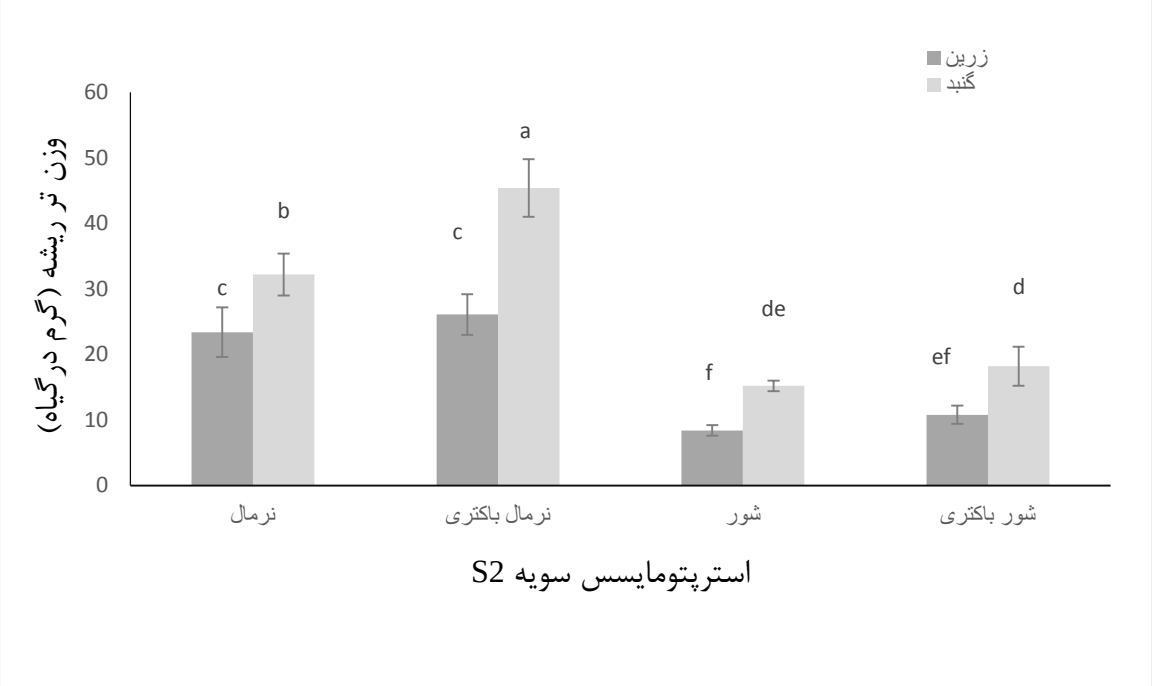
در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری شـــد. در رقم دیگر مورد بررســـی در این تحقیق نیز افزایش قابل توجهی در وزن تر ریشه در شرایط تنش و بدون تنش مشاهده نشد.



شکل (۴-۵) وزن تر ریشه سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.



شکل (۴-۶) وزن تر ساقه سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

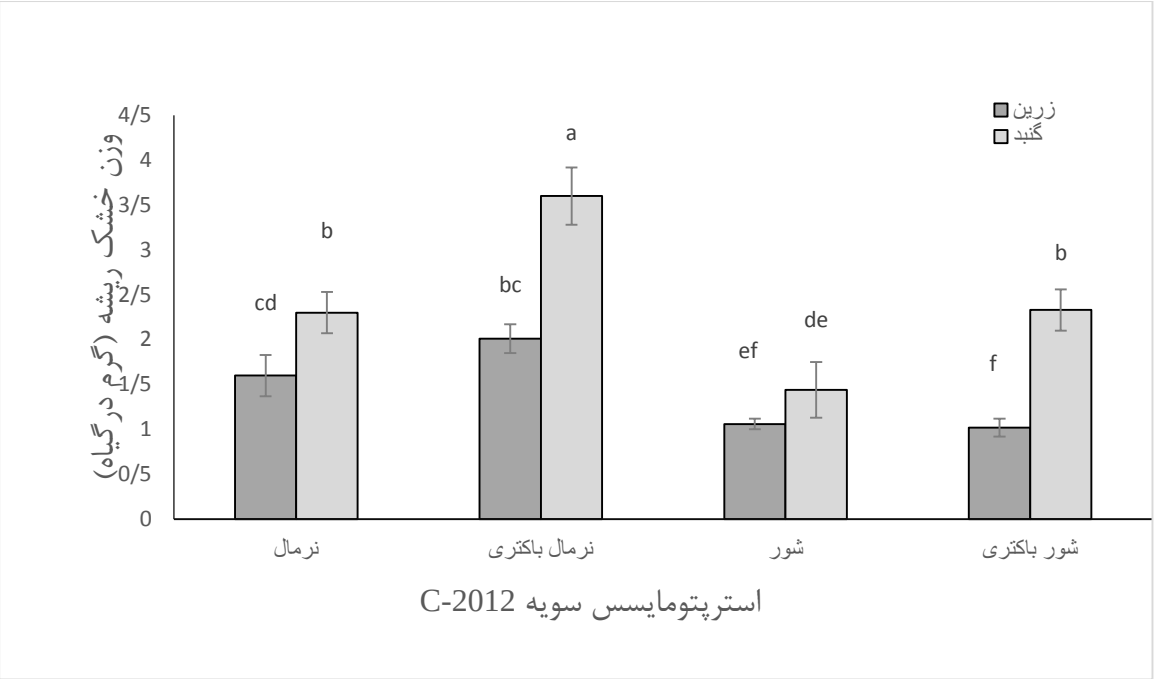
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.

این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری وزن تر ریشـه را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاثیر مثبت باکتری‌های PGPR بر ر شد گیاهان مختلف گزارش شده ا ست (*Bernard et.al,2012*). همچنین کاهش اثرات مخرب تنش شـــوری با اســـتفاده از این باکتری‌ها در گیاهانی مانند برنج (باقری و همکاران ۲۰۱۳، کاهو *(H.s.Han et al.,2005)*، ذرت *(Manjokumar et al,2009)*، گندم *(Sadhirkumar et al.,2011)*، گندم (صـادقی و همکاران،۲۰۱۱) و برنج *(Yachana et al.,2013)* گزارش شـده اسـت. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز موثر بودن باکتری‌های استفاده شده را به خوبی نشان داد.

۴-۳-۴- بررسی وزن خشک ریشه

نتایج حا صل از تجزیه واریانس وزن خ شک ریشه برای هر دو سویه باکتری در جدول پیو ست ۱ و۲ نشان داده شده است. برای سویه C-2012 اثرات اصلی تنش و شوری و تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل برای سویه S2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری ا سترپتومایسس سویه C-2012 را بر وزن خشک ریشه دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۷) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می شود وزن خشک ریشه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقای سه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۳۸٪ و ۳۴٪ کاهش وزن خشک ریشه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر وزن خشک ریشه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۵۶٪ افزایش این صفت در مقای سه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۶۱ ٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن خشک ریشه در رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری شد. در رقم دیگر مورد برر سی در این تحقیق نیز افزایش قابل توجهی در وزن خ شک ری شه در شرایط تنش و بدون تنش مشاهده نشد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری ا سترپتومایسس سویه S2 را بر وزن خشک ریشه دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۸) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن خشک ریشه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقای سه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۳۶٪ و ۱۵٪ کاهش وزن خشک ساقه در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. ا ستفاده از باکتری ا سترپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر وزن خشک ریشه تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۴۸٪ افزایش این صفت در مقای سه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۶٪ نسبت به عدم تلقیح) در وزن خشک ریشه در رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری

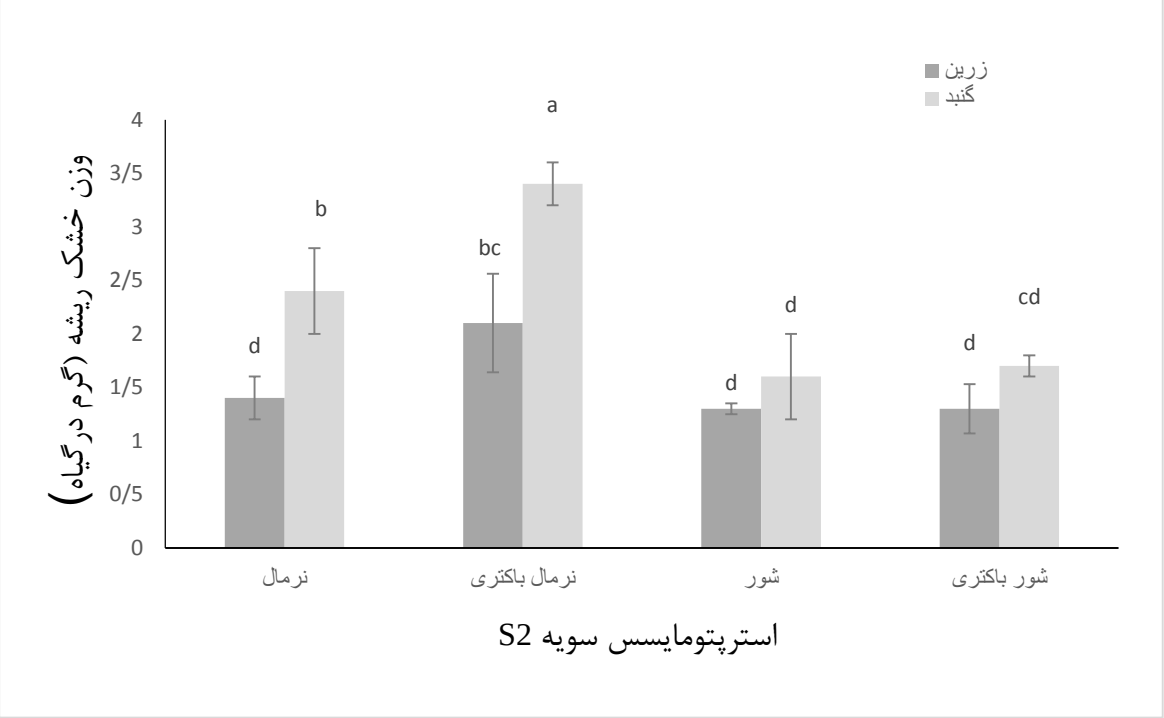
شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز افزایش ۵۰٪ در وزن خشک ریشه در شرایط بدون تنش در گیاهچه‌های تلقیح یافته باکتری (نسبت به عدم تلقیح) مشاهده شد.(*P≤0.05*).



شکل (۴-۷) وزن خشک ریشه سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۸) وزن خشک ریشه سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری =خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

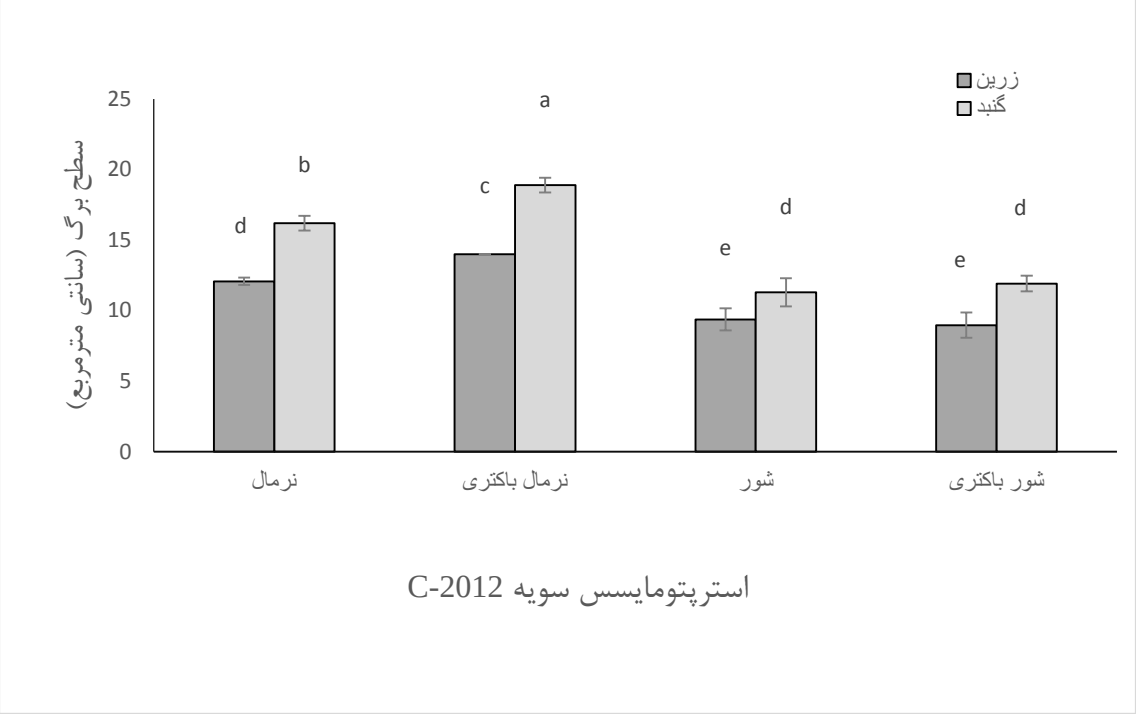
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری وزن خشک ریشه را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. کاهش اثرات مخرب تنش شوری با استفاده از این باکتری‌ها در گیاهانی مانند برنج (باقری و همکاران، ۲۰۱۳)، کاهو *(H.s.Han et al.,2005)*، ذرت *(Manjokumar et al.,2009)*، گندم *(Sadhirkumar et.al.,2011)*، گندم (صادقی و همکاران،۲۰۱۱) و برنج *(Yachana et.al.,2013)* ذرت *(Ruth Bonila et al.,2012)* و جو *(Qursal et.al., 2014)* گزارش شده است. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز موثر بودن باکتری‌های استفاده شده را به خوبی نشان داد.

۴-۳-۵-بررسی سطح برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس وزن خشک ریشه برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و۲ نشان داده شده است. برای سویه C-2012 اثرات اصلی تنش و شوری و تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل برای سویه S2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد

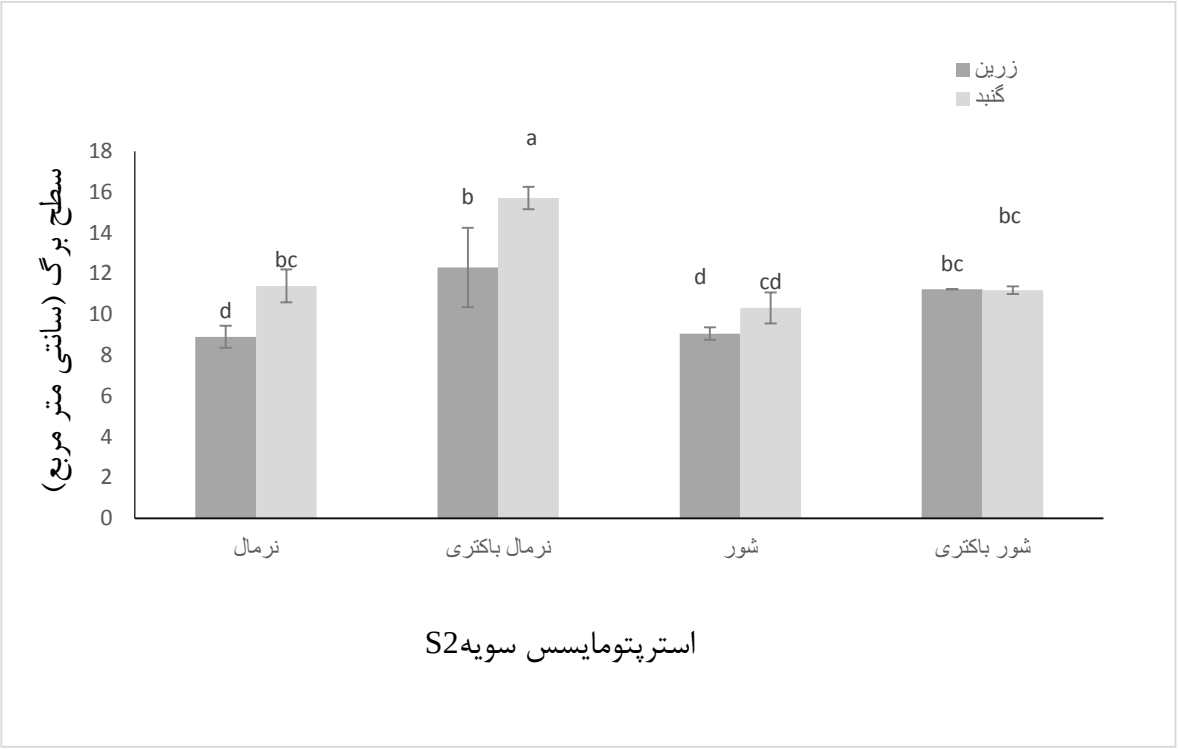
شکل (۴-۹) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر سطح برگ دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود سطح برگ به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۳۰٪ و ۲۰٪ کاهش سطح برگ در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر سطح برگ تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۱۶٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز حداکثر افزایش سطح برگ در شرایط بدون تنش در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) ۱۵٪ بود. شکل (۴-۱۰) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر سطح برگ دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود سطح برگ به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تلقیح باکتری سبب افزایش سطح برگ در رقم گنبد و زرین به ترتیب ۳۷٪ و ۳۸٪ نسبت به عدم تلقیح شد. در شرایط تنش شوری ,تلقیح باکتری سبب افزایش سطح برگ در رقم گنبد و زرین به ترتیب ۸٪ و ۲۴٪ در شرایط بدون تلقیح شد*(P≤0.05)*.



شکل (۴-۹) سطح برگ سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۱۰) سطح برگ سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

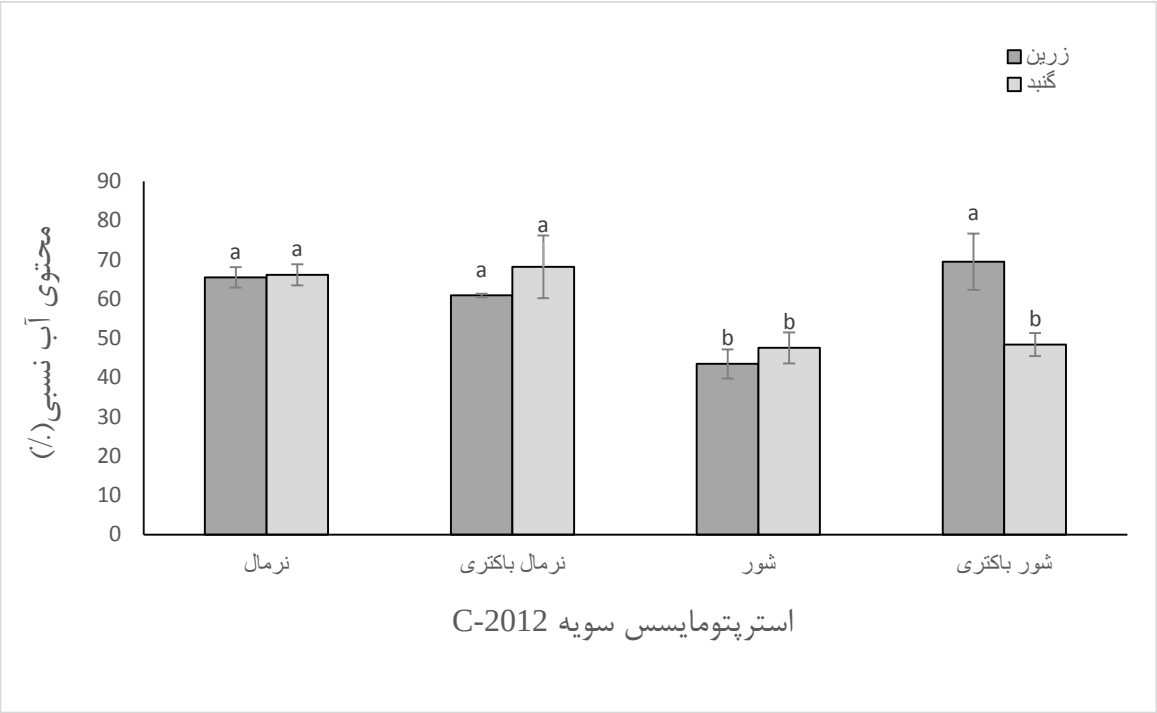
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری سطح برگ را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در ذرت *(Angela et al.,2014)* گزارش کردن تلقیح باکتری سبب افزایش سطح برگ (نسبت به عدم تلقیح) در شـــرایط تنش و عدم تنش شـــد. در گزارشـــی دیگر (*Sagib saleem et al,.2015*)گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث افزایش سطح برگ در شرایط تنش شوری و عدم تنش شد.

۴-۳-۷- بررسی محتوی آب‌نسبی(RWC)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی آب‌نسبی برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه منابع تغیر برای سویه C-2012 به جزء اثر متقابل رقم x تلقیح در سطح

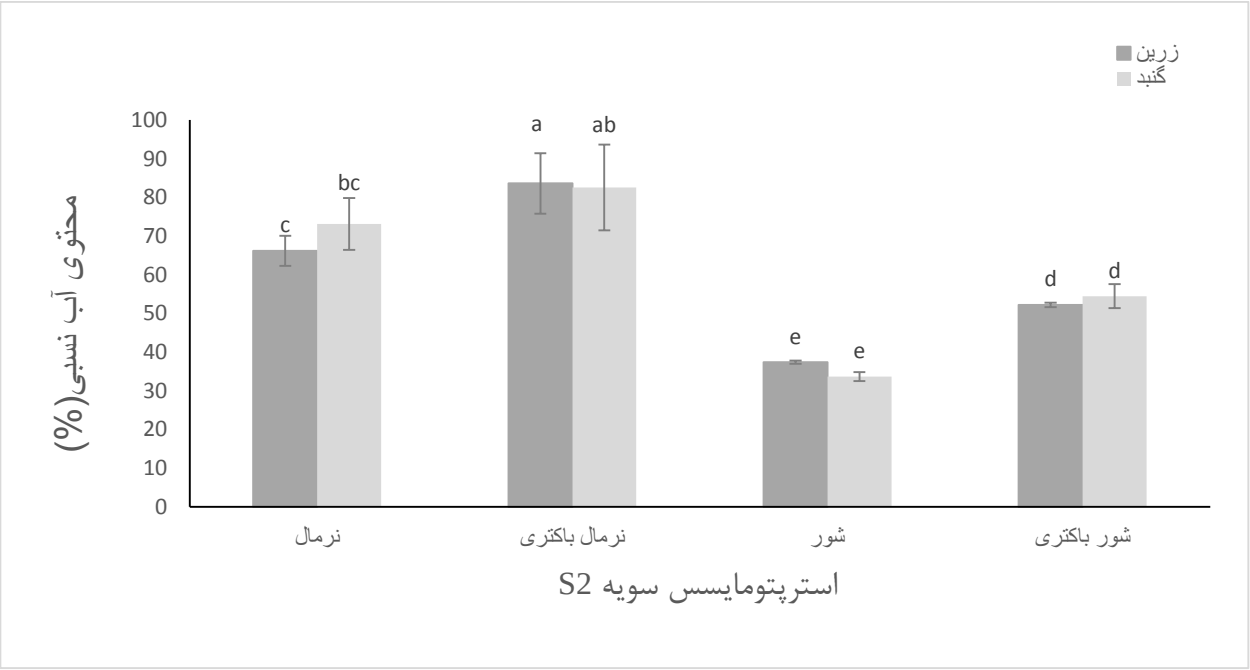
احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل برای سویه S2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. شکل (۴-۱۳) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی آب‌نسبی دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی آب‌نسبی به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش ۳۰٪ و ۲۵٪ محتوی آب‌نسبی در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در شرایط تنش موجب افزایش ۵٪ و۶۰٪ محتوی آب‌نسبی در رقم گنبد و زرین (نسبت به عدم تلقیح) شد. شکل (۴-۱۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی آب‌نسبی دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی آب‌نسبی به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش ۵۴٪ و ۳۷٪ محتوی آب‌نسبی در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در شرایط تنش موجب افزایش ۶۱٪ و ۳۹٪ محتوی آب‌نسبی در رقم گنبد و زرین (نسبت به عدم تلقیح) شد.



شکل (۴-۱۳) وزن تر ساقه سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۱۴) محتوی آب‌نسبی سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

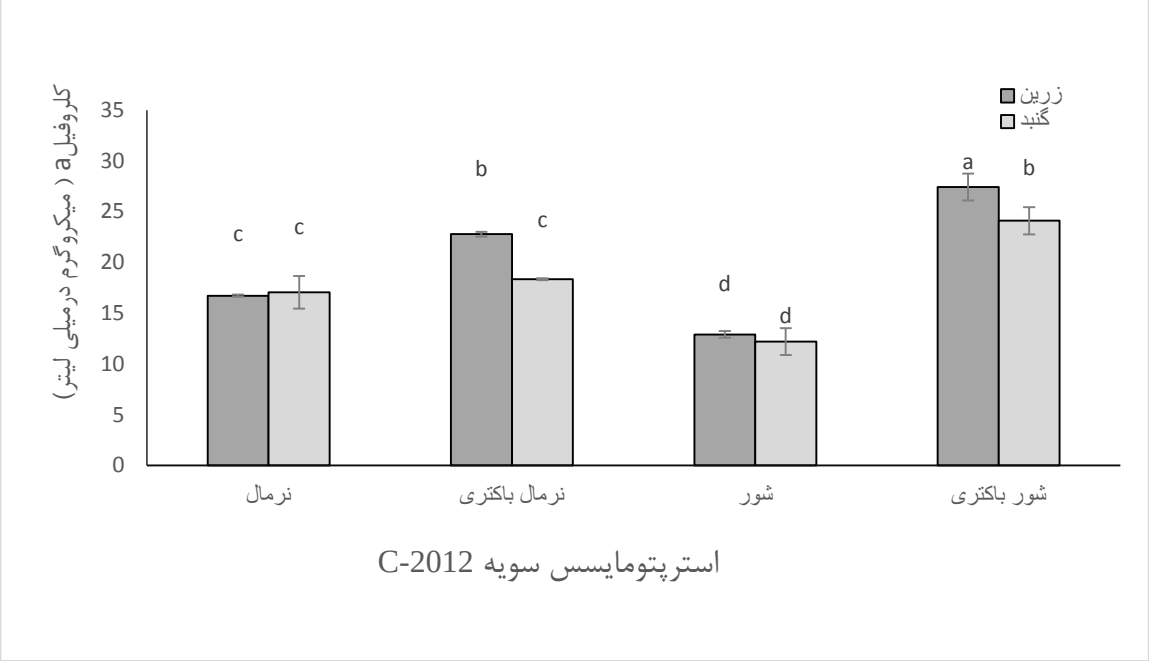
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری محتوی آب‌نسبی را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. در ذرت *(Sandhy et al.,2010)* و گندم *(U.chalroborty et al., 2004)* و گندم *(Naveed et al.,2014)* و ذرت *(Angela et al.2013)* گزارش کردن که در تحت تنش محتوی آب‌نسبی کاهش می‌یابد و تلقیح باکتری‌های PGPR سبب افزایش محتوی آب‌نسبی شد . نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز موثر بودن باکتری‌های استفاده شده را به خوبی نشان داد.

۴-۴- اندازه گیری پارامترهای فیزیولوژیکی

۴-۴-۱- محتوی کلروفیل a

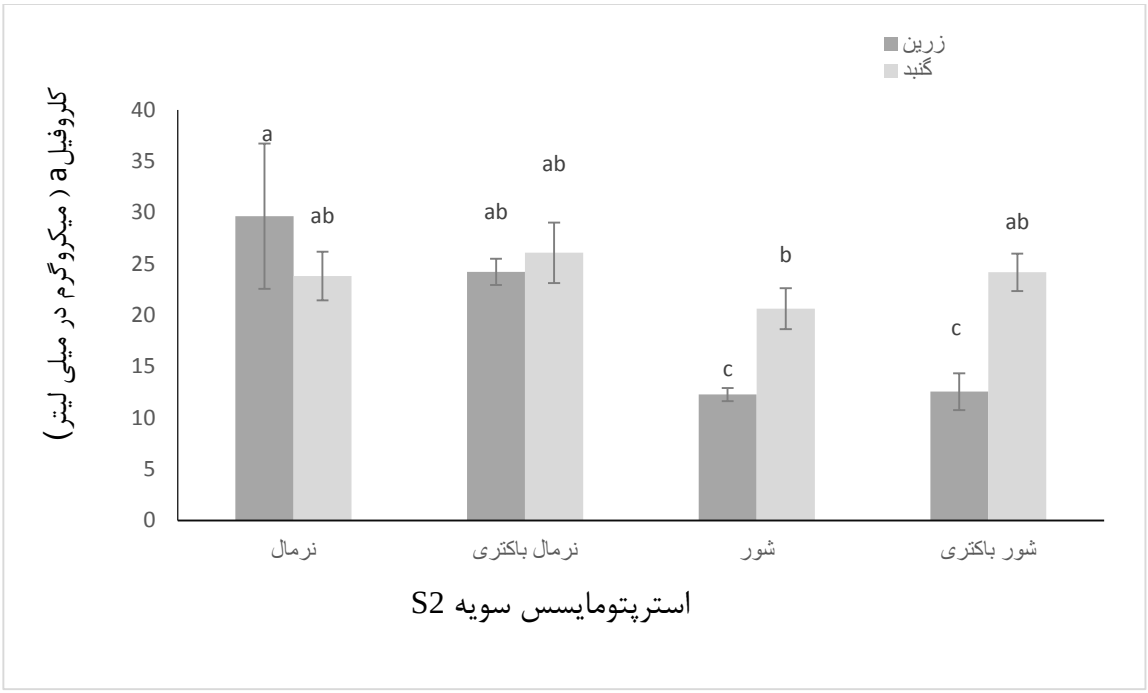
نتایج حا صل از تجزیه واریانس محتوی کلروفیل a برای هر دو سویه باکتری در جدول پیو ست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و متقابل سه جانبه برای سویه C-2012 در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود . از میان منابع تغیر برای سویه S2 کلیه اثرات ا صلی و اثرات متقابل اثر متقابل رقم x تلقیح در سطح احتمال ۵ در صد معنی‌دار بود. شکل (۴-۱۵) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری ا سترپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی کلروفیل a دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی کلروفیل a به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش ۲۹٪ و ۲۴٪ محتوی کلروفیل a در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری ا سترپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر محتوی کلروفیل a تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* دا شت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۵۶٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط تنش شد. در رقم دیگر مورد برر سی در این تحقیق نیز حداکثر میزان افزایش محتوی کلروفیل a در شرایط بدون تنش شوری در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) ۳۶٪ بود. همچنین شکل (۴-۱۶) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی کلروفیل a دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که م شاهده می شود محتوی کلروفیل a به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقای سه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش ۱۴٪ و۵۹ ٪ محتوی کلروفیل a در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. ا ستفاده از باکتری ا سترپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد تحت تنش شوری سبب افزایش ۱۷٪ (نسبت به عدم تلقیح) شد. در رقم دیگر مورد برر سی نیز تلقیح باکتری باعث کاهش ۱۹٪ (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد.



شکل (۴-۱۵) محتوی کلروفیل a سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۱۶) محتوی کلروفیل a سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

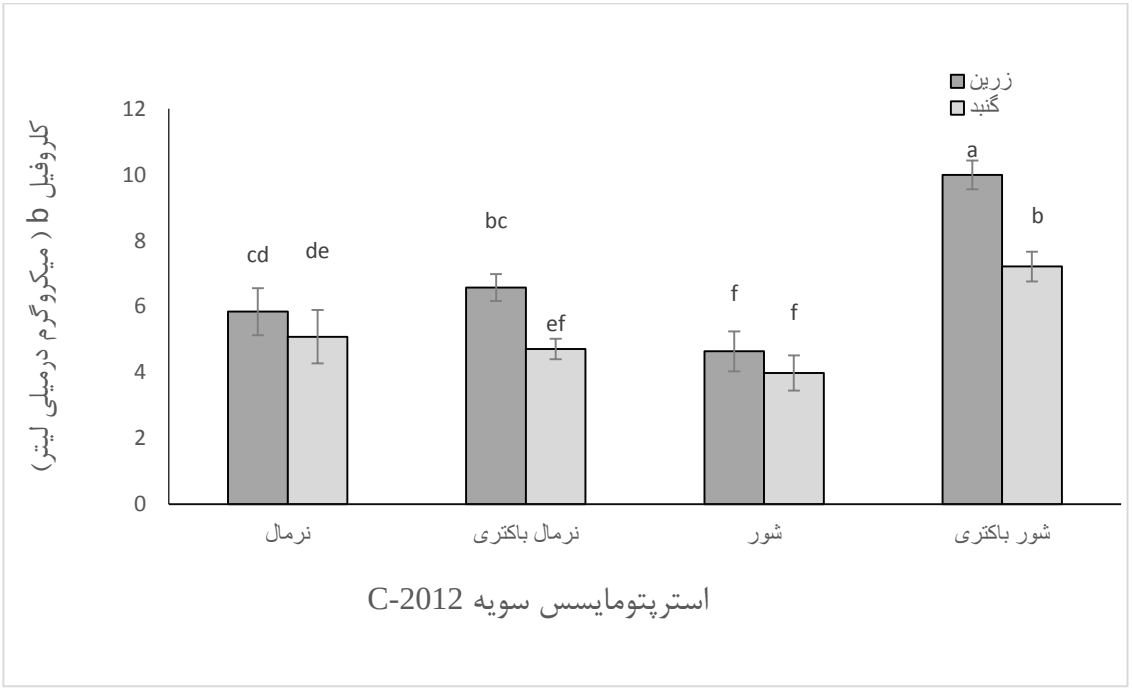
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری محتوی کلروفیل a را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. .مطالعات قبلی نشان داده است که در برنج (*Yagendra singh et al.,2015*) و گندم (*Faisal islam et al.,2014*) و بامیه (*Halimi mohed et al.,2015*) و خیار (*Song et al.,2014*) و گوجه فرنگی (*Neelam tak et al.,2010*) گزارش کردن که محتوی کلروفیل a در شرایط تنش کاهش یافته است و تلقیح باکتری‌های PGPRها سبب افزایش محتوی کلروفیل a در شرایط تنش (نسبت به عدم تنش) شد

۴-۴-۲- محتوی کلروفیل b

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی کلروفیل b برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و اثر متقابل سه جانبه برای سویه c-2012 در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. از میان منابع تغیر برای سویه S2 کلیه اثرات اصلی و اثر متقابل سه جانبه در سطح احتمال ۱ در صد معنی‌دار بود. شکل (۴-۱۷) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی کلروفیل b دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی کلروفیل b به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب ۳۲٪ و۱۷٪ کاهش محتوی کلروفیل b در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر کلروفیل b در شرایط تنش تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۸۱٪ این صفت در مقایسه با عدم تلقیح در شرایط تنش شد. شکل (-۱۸

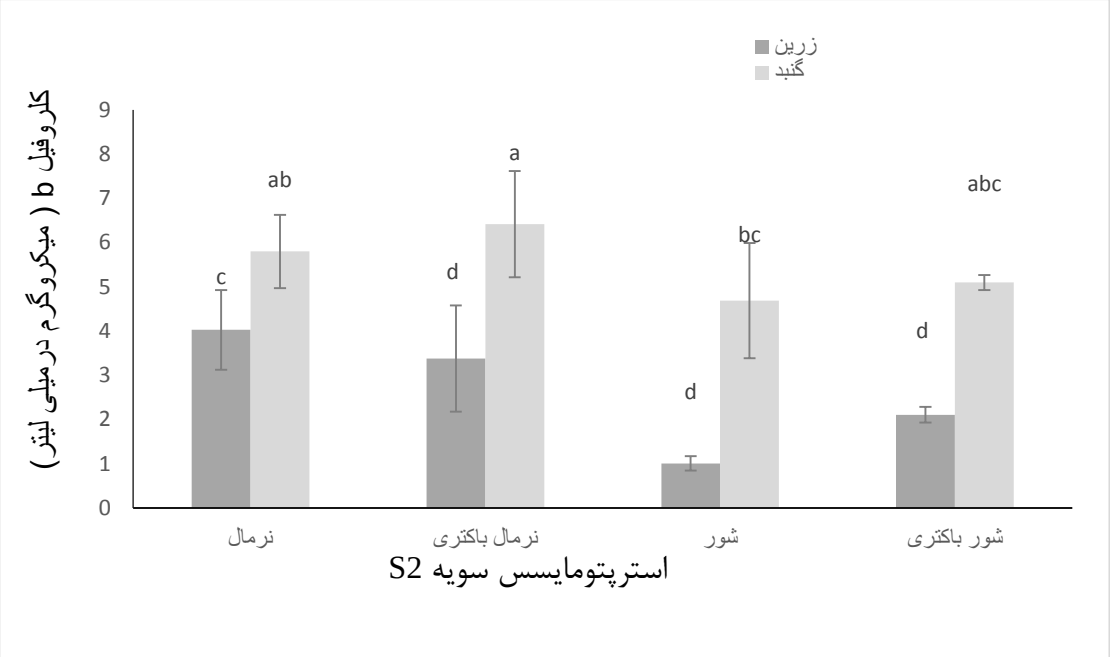
۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی کلروفیل b دو رقم گنبد و زرین نشـــان می‌دهد. همان‌گونه که مشـــاهده می‌شـــود محتوی کلروفیل b به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب ٪۲۰ و ۷۵٪ موجب کاهش محتوی کلروفیل b در رقم گنبد و زرین نســـبت به شـــرایط بدون تنش شـــد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر کلروفیل b در شرایط تنش تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* نداشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۱۰٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۱۰٪ نسبت به عدم تلقیح شد. در رقم دیگر مورد برر سی در این مطالعه زرین تلقیح باکتری باعث کاهش ۲۲٪ محتوی کلروفیل b نسبت به شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۲,۵برابری (نسبت به عدم تلقیح) شد



شکل (۴-۱۷) محتوی کلروفیل b سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۱۸) محتوی کلروفیل b سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

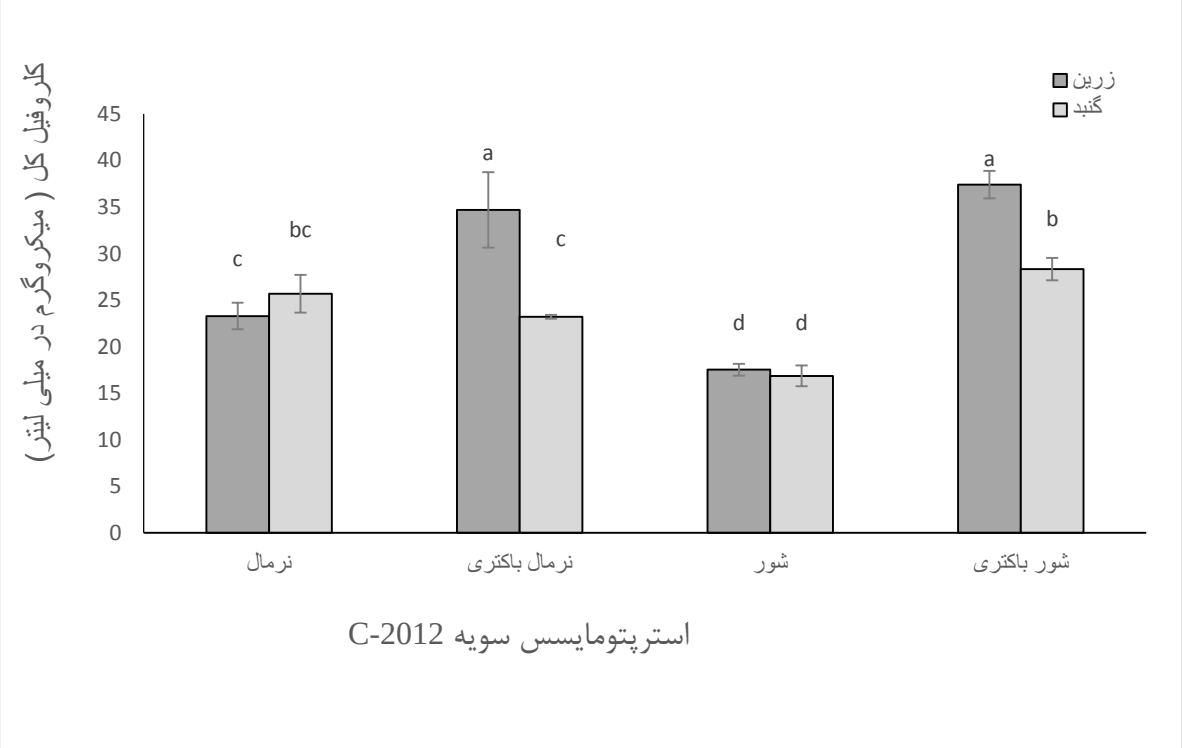
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری و تلقیح باکتری محتوی کلروفیل b را تحت تاثیر قرار می‌دهد. مطالعات قبلی نشـان داده اسـت که در گندم (*Faisal islam et al.,2014*) و بامیه (*Halimi mohed et al.,2015*) و خیار (*Song et al.,2014*) و گوجه فرنگی (*Neelam tak et al.,2010*) گزارش کردن که محتوی کلروفیل b در شرایط تنش کاهش یافته است و تلقیح باکتری‌های PGPRها سبب افزایش محتوی کلروفیل b در شرایط تنش (نسبت به عدم تنش) شد.

۴-۴-۳- محتوی کلروفیل کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی کلروفیل کل برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و متقابل سه جانبه برای سویه C-2012 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. از میان منابع تغیر برای سویه S2 اثر اصلی رقم و تنش درسطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل سه جانبه در سطح احتمال ۵ در صد معنی‌داربود. شکل (۴-۱۹) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی کلروفیل کل دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی کلروفیل کل به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب ۳۵٪ و ۱۵٪ موجب کاهش محتوی کلروفیل کل در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر کلروفیل کل در شرایط تنش تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۶۷٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط تنش شد. در رقم دیگر مورد برر سی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری افزایش ۴۸٪ این صفت در مقایسه با (عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد. شکل (۴-۲۰) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی کلروفیل کل دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود محتوی کلروفیل کل به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب ۱۵٪ و ۳۵٪موجب کاهش محتوی کلروفیل کل در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر کلروفیل کل در شرایط تنش تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۱۸٪ این صفت در مقایسه با عدم تلقیح

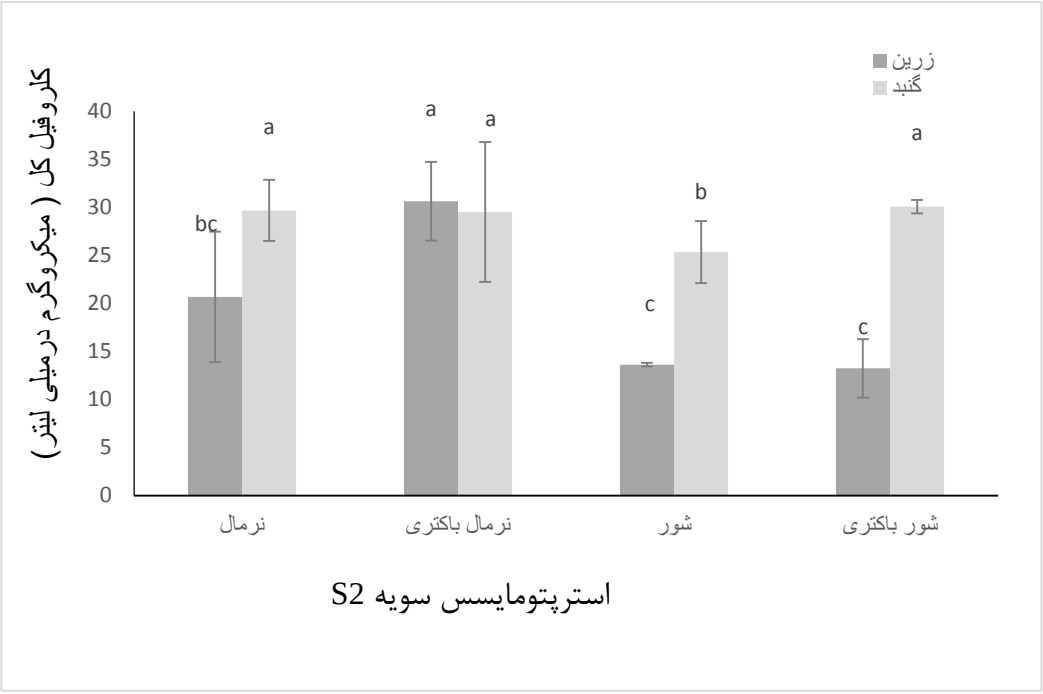
باکتری در شـرایط تنش شـوری شـد. در رقم دیگر مورد بررسـی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری افزایش ۴۸٪ این صفت در مقایسه با (عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد.



شکل (۴-۱۹) محتوی کلروفیل کل سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۲۰) محتوی کلروفیل کل سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری=+ خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

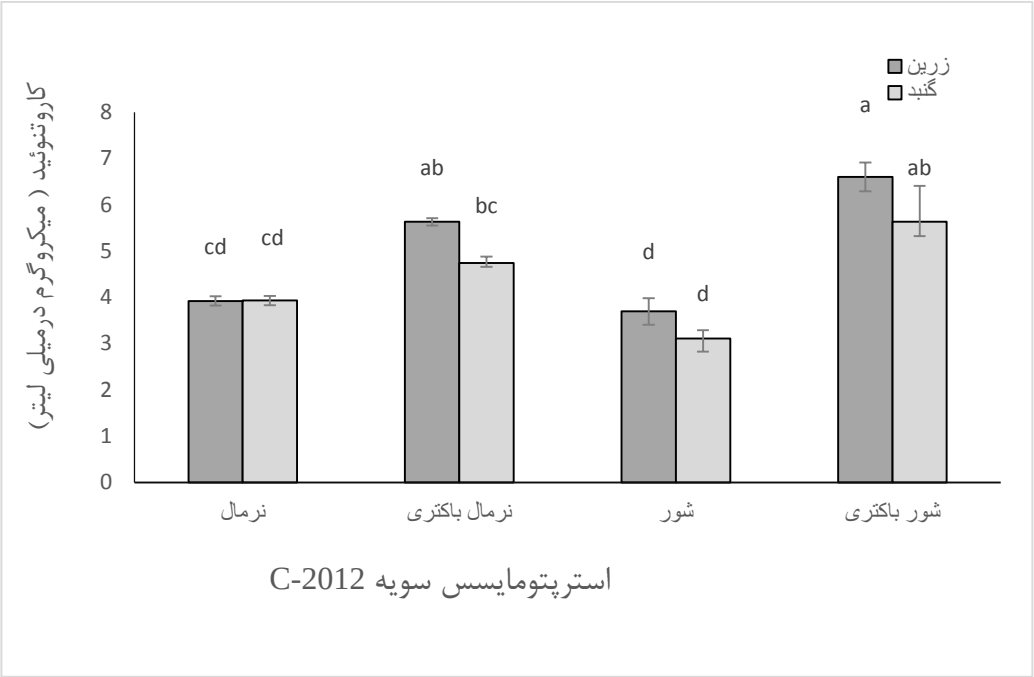
این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری محتوی کلروفیل کل را تحت تاثیر قرار می‌دهد. مطالعات قبلی در جو (*Quirssal et al.,2014*) و برنج (*Yagendry et al.,2015*) و گندم (*Faisal islam et al.,2014*) گزارش کردن که تنش شوری موجب کاهش محتوی کلروفیل کل شد. همچنین تلقیح باکتری در شرایط تنش شوری (نسبت به عدم تلقیح) باعث افزایش محتوی کلروفیل کل شد.

۴-۴-۴-محتوی کاروتنوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی کاروتنوئید برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱و۲ نشان داده شده است. کلیه منابع تغیر به جزء اثر دوگانه رقم x شوری که معنی‌دار نشد در سطح احتمال

۱ درصـد معنی‌دار بود. از میان منابع تغیر برای سـویه S2 اثرات اصـلی رقم و تلقیح در سـطح احتمال ۱ درصد و اثرات سه جانبه رقم x تنش x تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

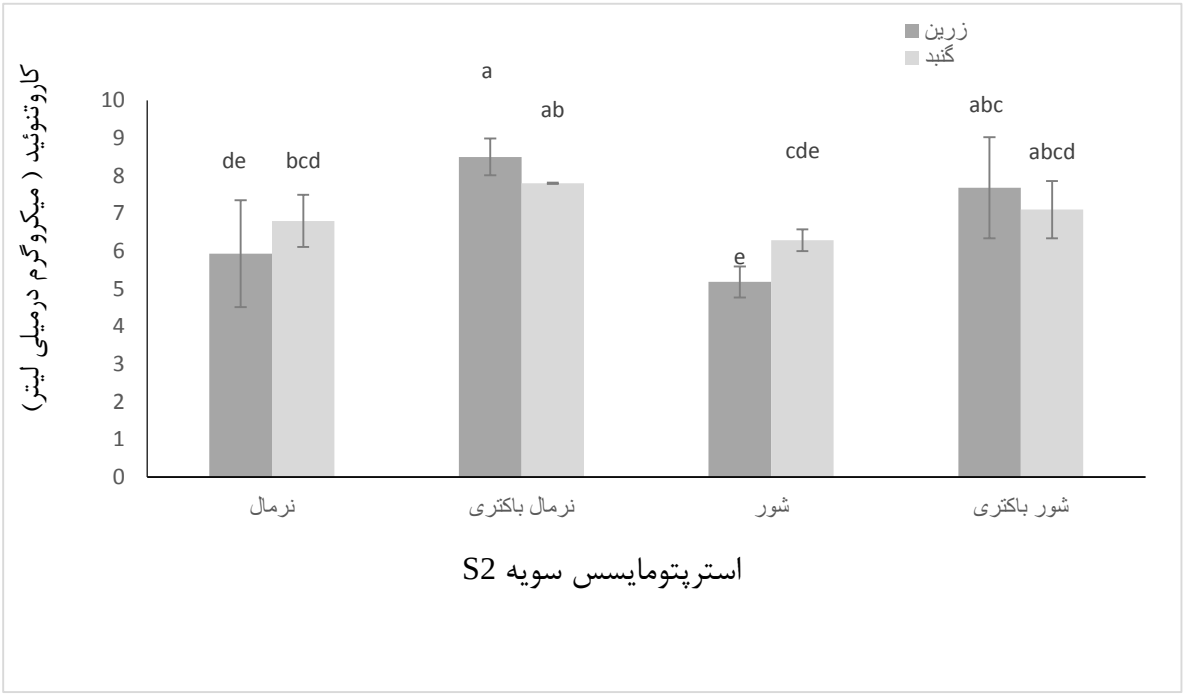
شکل (۴-۲۱) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی کاروتنوئید دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود محتوی کاروتنوئید به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب ۲۱٪ و ۶٪ کاهش محتوی کاروتنوئید در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر محتوی کاروتنوئید تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب ۲۰٪ افزایش این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۸۱٪ نسبت به عدم تلقیح) در محتوی کاروتنوئید در رقم گنبد در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری شد. شکل (۴-۲۲) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی کاروتنوئید دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی کاروتنوئید به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری به ترتیب ۱۸٪ و ۱۳٪ کاهش محتوی کاروتنوئید در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد موجب افزایش ۱۴٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در رقم گنبد در شرایط تنش حداکثر میزان افزایش (۱۲٪ نسبت به عدم تلقیح) محتوی کاروتنوئید در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری بود. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق افزایش ۴۸٪ و ۴۴٪ در شرایط بدون تنش و تنش شوری در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) مشاهده شد.



شکل (۴-۲۱) محتوی کاروتنوئید سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۲۲) محتوی کاروتنوئید سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

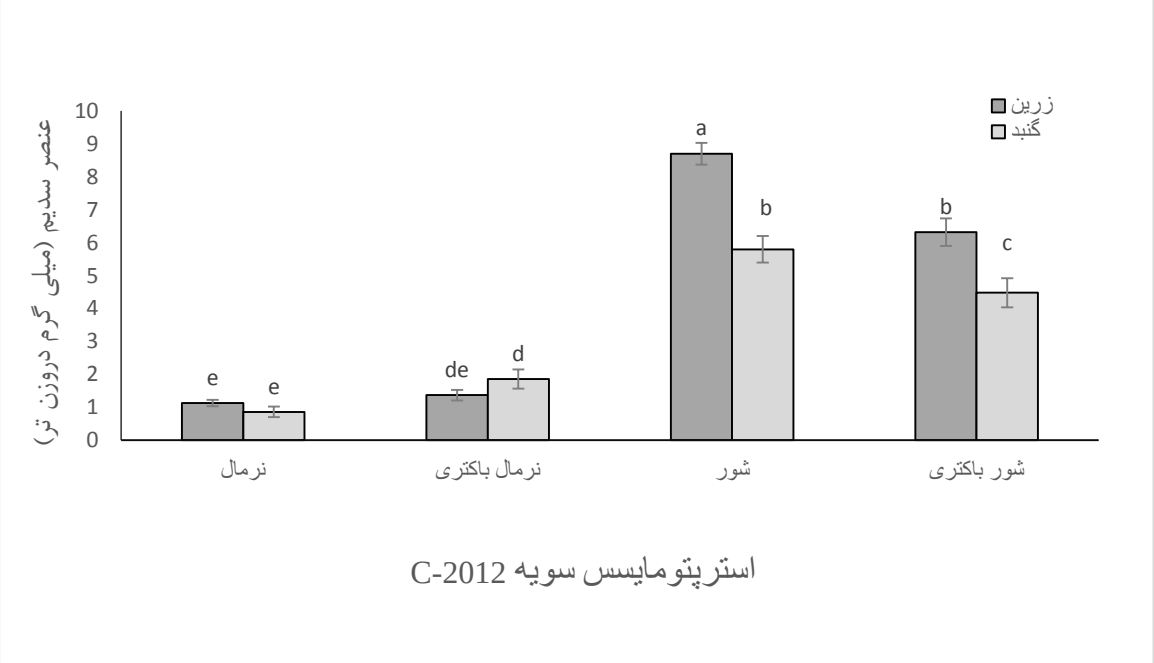
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشـــان داد که تنش شـــوری و تلقیح باکتری محتوی کاروتنوئید را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در گندم *(U.chekraborty et al.,2015)* و برنج (*Yegendra et al.,2015*) گزارش کردن که تنش شـــوری موجب کاهش محتوی کاروتنوئید نســـبت به عدم تنش شـــد. همچنین گزارش کرده‌اند که تلقیح باکتری سبب افزایش محتوی کاروتنوئید در شرایط تنش (نسبت به عدم تلقیح) شد .

۴-۴-۵-محتوی عنصر سدیم(Na)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی عنصر سدیم برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱و ۲ نشان داده شده است.کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل (۴-۲۳) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر میزان عنصر سدیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان عنصر سدیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شـوری موجب افزایش ۵ و۷ برابری میزان عنصـر سـدیم در رقم گنبد و زرین نسـبت به شـرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر میزان عنصر ســـدیم تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشـــت. همچنین نتایج آزمایش نشـــان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۲ برابری این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث کاهش میزان عنصر سدیم (۳۷٪ نسبت به عدم تلقیح) شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق

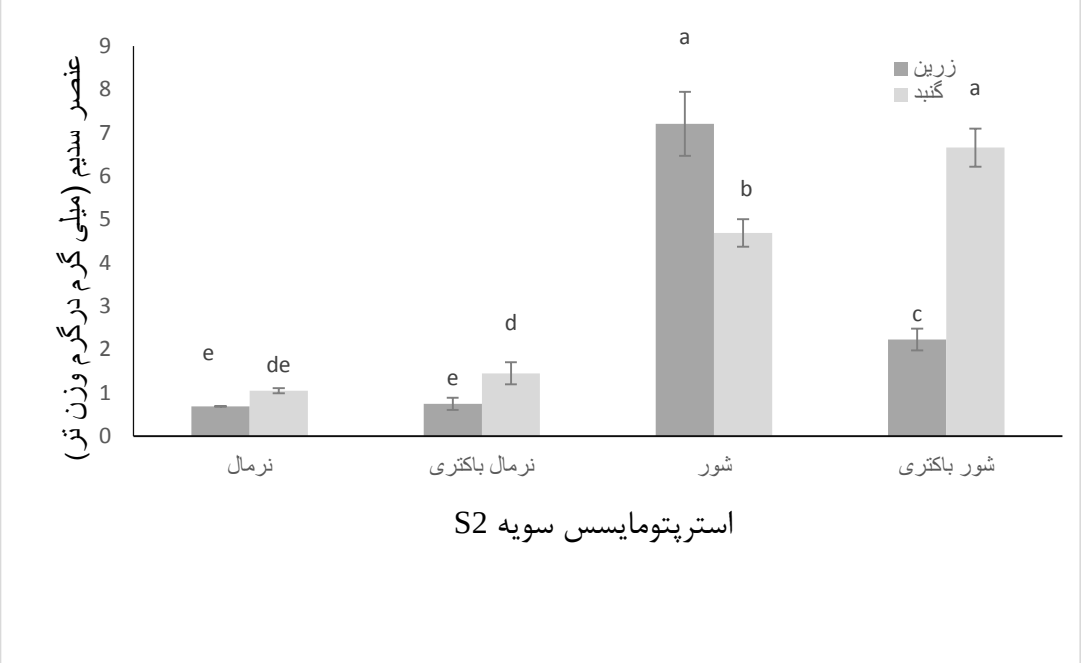
نیز تلقیح باکتری باعث کاهش (۲۸٪ نسبت به عدم تلقیح) غلظت عنصر سدیم در شرایط تنش شوری شد.*(P≤0.05)* . شکل (۴-۲۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر میزان عنصر سدیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان عنصر سدیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری موجب افزایش ۴ و ۷ برابری میزان عنصر سدیم در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد (*P≤0.01*). استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد بر میزان عنصر سدیم تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش میزان عنصر سدیم (۴۲٪ نسبت به عدم تلقیح) شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری باعث کاهش (۷٪ نسبت به عدم تلقیح) غلظت عنصر سدیم در شرایط تنش شوری شد.



شکل (۴-۲۳) میزان عنصر سدیم سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۲۴) میزان عنصر سدیم سویه S2

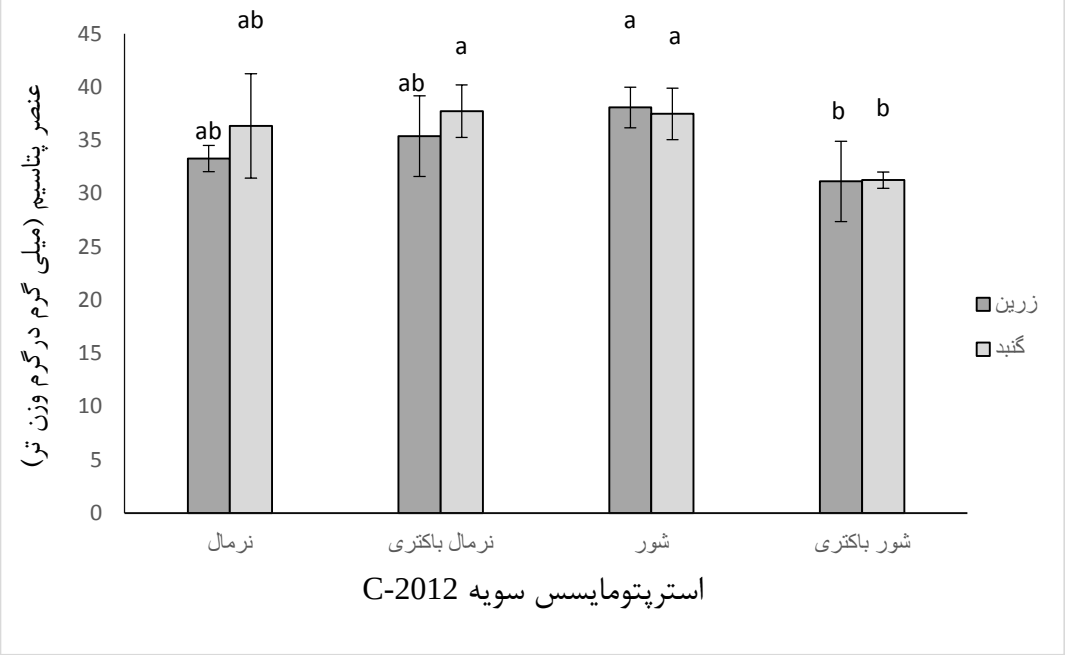
نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری میزان عنصر سدیم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در ذرت , (*Ruth Bonilla et al.,2014*) و گوجه فرنگی (*Neelam Tank et al.,2010*) و گزارش کردن که در اثر تنش شوری محتوی سدیم در گیاه (نسبت به عدم تنش) افزایش یافت . همچنین تلقیح باکتری سبب کاهش محتوی سدیم در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه با گزارشات قبلی محققان مطابقت داشت.

۴-۴-۶-محتوی عنصر پتاسیم (k)

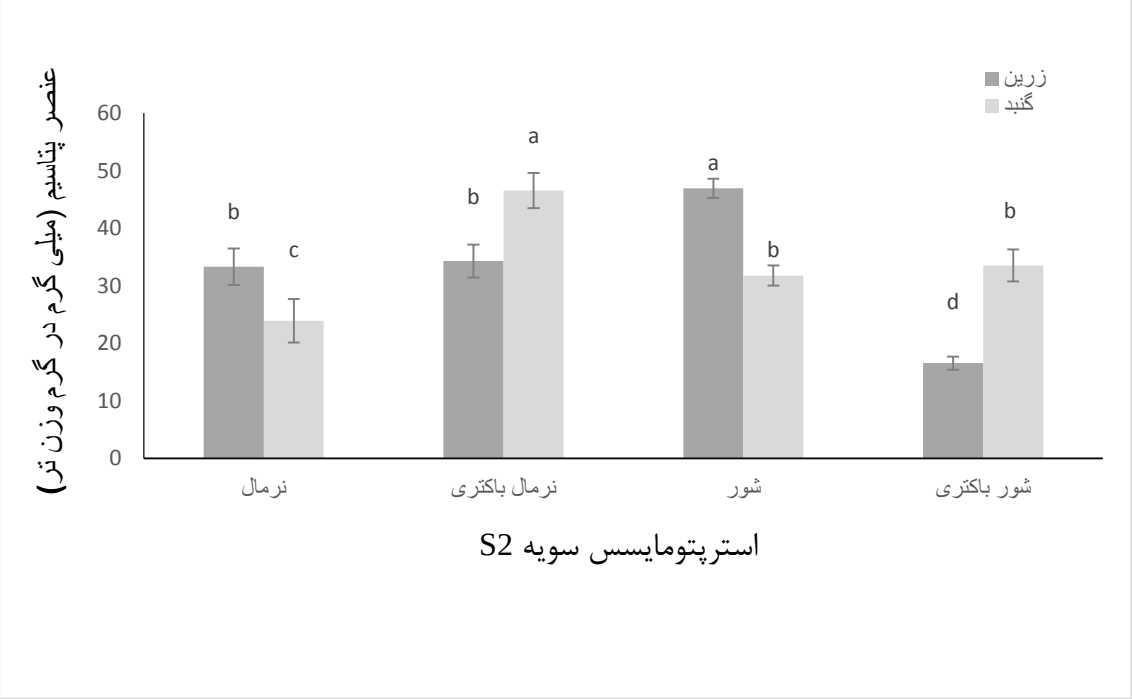
نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی پتاسیم برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه منابع تغیر به جزء اثر تلقیح که معنی‌دار نبود در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. از میان منابع تغیر برای سویه S2 اثر تنش و اثر سه گانه تنش x شوری x تلقیح در سطح احتمال ۵ در صد معنی‌دار شد. شکل (۴-۲۵) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر میزان عنصر پتاسیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان عنصر پتاسیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار نگرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری موجب افزایش ۳۰٪ و ۱۴٪ عنصر پتاسیم در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر میزان عنصر پتاسیم تاثیر معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب کاهش (۱۷٪ نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شوری شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری موجب کاهش (۱۹٪ نسبت به عدم تلقیح) غلظت عنصر پتاسیم در شرایط تنش شوری شد.. شکل (۴-۲۶) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر میزان عنصر پتاسیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود میزان عنصر پتاسیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب افزایش ۳۲٪ و ۴۰ ٪ عنصر پتاسیم در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *($P\leq0.05$)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش (۵٪ نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شوری شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری موجب کاهش (۶۵٪ نسبت به عدم تلقیح) غلظت عنصر پتاسیم در شرایط تنش شوری شد.



شکل (۴-۲۵) میزان عنصر پتاسیم سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۲۶) میزان عنصر پتاسیم سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

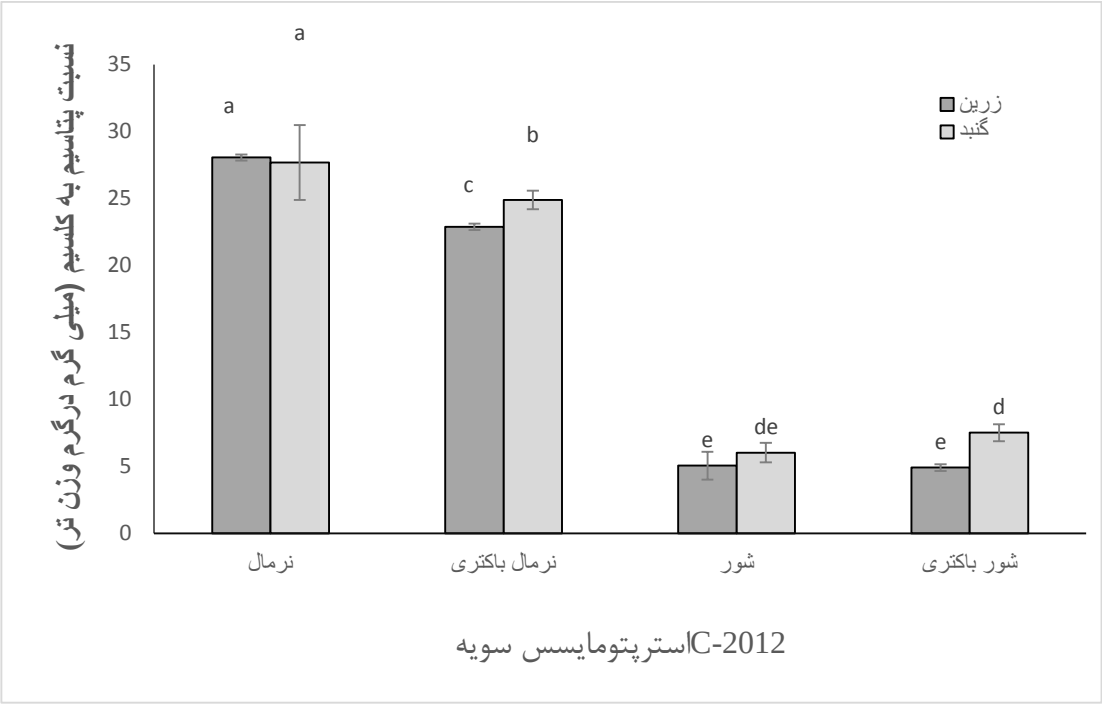
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری میزان عنصر پتاسیم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. *Sang.Mokang et al.(2014)* و *Ruth Bonila et al.(2014)* در خیار و ذرت گزارش کردن که تلقیح باکتری PGPR در شرایط بدون تنش سبب افزایش K (نسبت به عدم تلقیح) شد. همچنین گزارش کرده اند که در تنش شوری محتوی K (نسبت به عدم تنش) افزایش می‌یابد

۴-۴-۷- نسبت K/Na

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نسبت پتاسیم به سدیم برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کل منابع تغیر بجز اثر دو جانبه رقم x تلقیح در سطح احتمال ۱درصد

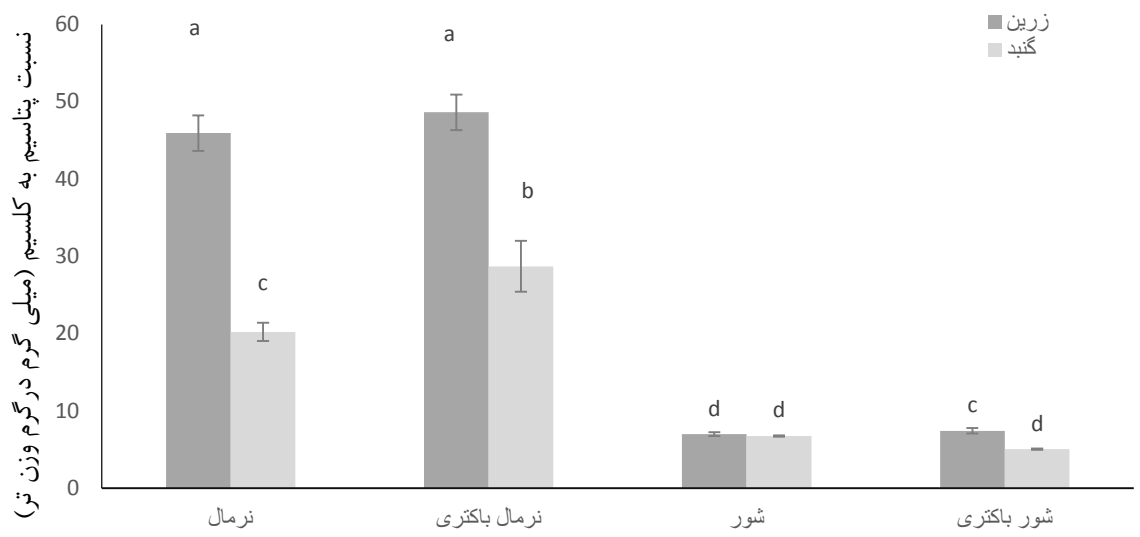
معنی‌دار بود. کلیه اثرات اصلی و متقابل برای سویه s2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل (۴-۲۷) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر میزان نسبت پتاسیم به سدیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان نسبت پتاسیم به سدیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب کاهش ۸۰٪ و ۸۲٪ نسبت پتاسیم به سدیم در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد تلقیح باکتری در شرایط بدون تنش موجب کاهش ۱۱٪ و ۱۹٪ در رقم گنبد و زرین شد *(p≤0.05)*. در شرایط تنش تلقیح باکتری در رقم گنبد باعث افزایش ۱۴٪ نسبت پتاسیم به سدیم (نسبت به عدم تنش) شد. شکل (۴-۲۸) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر میزان نسبت پتاسیم به سدیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان نسبت پتاسیم به سدیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب کاهش ۶۷٪ و ۸۵٪ نسبت پتاسیم به سدیم در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد تلقیح باکتری در شرایط بدون تنش موجب کاهش ۴۲٪ و ۵٪ نسبت پتاسیم به سدیم (نسبت به عدم تلقیح)در رقم گنبد و زرین شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری در رقم گنبد باعث افزایش و کاهش ۲۶٪ و ۶ ٪ این نسبت پتاسیم به سدیم به ترتیب در رقم گنبد و زرین (نسبت به عدم تنش) شد



شکل (۴-۲۷) نسبت K/Na سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



استرپتومایسس سویه S2

شکل(۴-۲۸) نسبت پتاسیم به سدیم سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

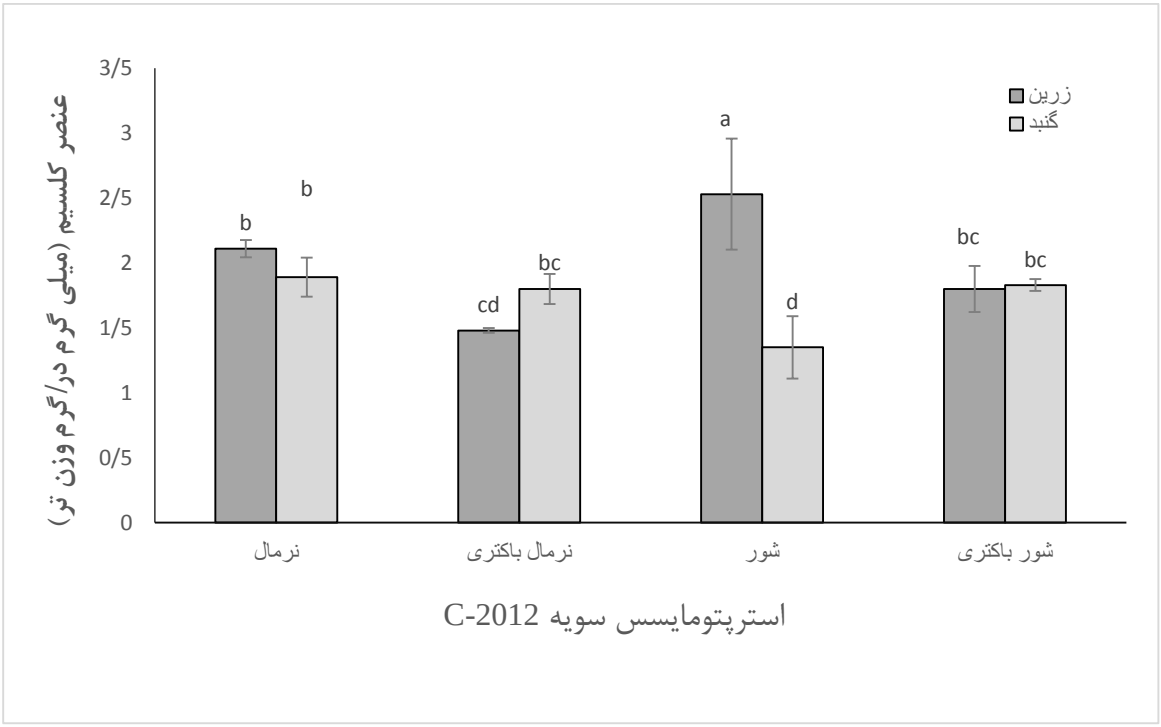
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری و تلقیح باکتری نسـبت پتاسـیم به سـدیم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در برنج *(Yachana jha et al. ,2013)*گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه (نسبت به عدم تلقیح باکتری) در شرایط بدون تنش شد.

در گندم (*Ruth Bonila et al.,2012*) و در ذرت (*Sagib saleem et al.,2015*) و گندم (*Nadeem et al.,2013)*گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در شرایط تنش (نسبت به عدم تلقیح) شد.

۴-۴-۸- محتوی عنصر کلسیم (Ca)

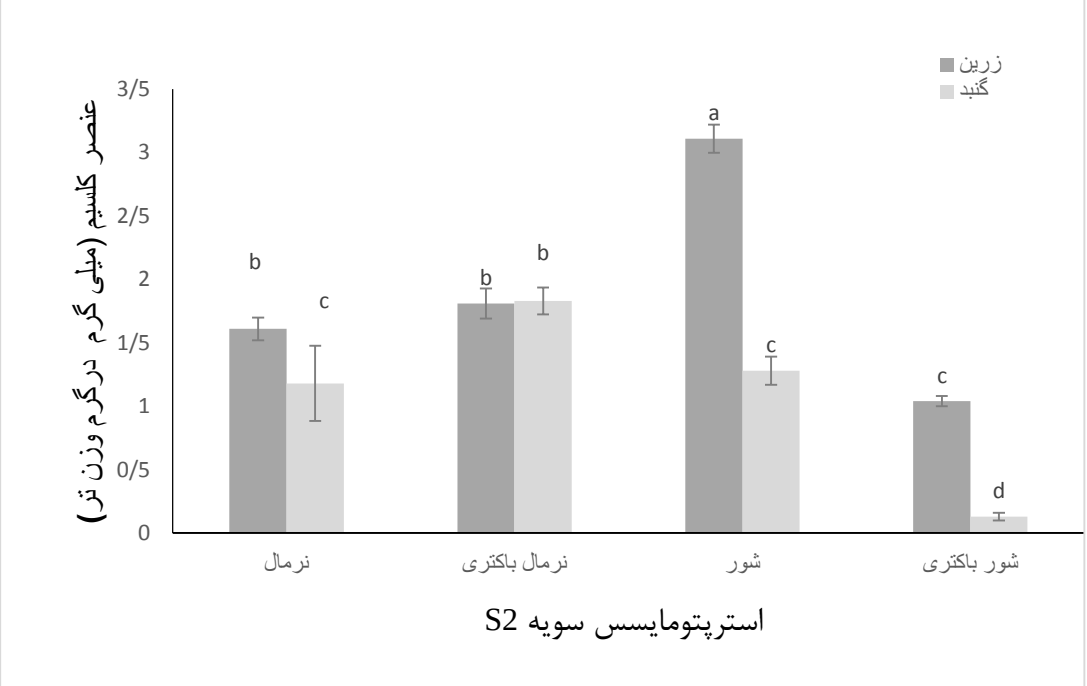
نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی کلسیم برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و اثر متقابل دو گانه برای هر دو سویه باکتری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل سه گانه رقم x تنش x تلقیح برای هر دو سویه باکتری در سطح احتمال ۵ در صد معنی‌دار شد. شکل (۴-۲۹) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر میزان غلظت کلسیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان نسبت غلظت کلسیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری موجب کاهش ۲۹٪ غلظت کلسیم در رقم گنبد و افزایش ۱۹٪ زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد ($P\leq0.01$). همچنین نتایج آزمایش نشان داد تلقیح باکتری موجب افزایش (٪۳۵ نسبت به عدم تلقیح) غلظت کلسیم در شرایط تنش شوری شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق تلقیح باکتری باعث کاهش ۲۹٪ و۳۰٪ غلظت کلسیم نسبت به عدم تلقیح در شرایط تنش و بدون تنش شد. شکل (۴-۳۰) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر میزان غلظت کلسیم دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان نسبت غلظت کلسیم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری موجب افزایش ۸۵٪ غلظت کلسیم در رقم زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد ($P\leq0.01$). همچنین در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث کاهش ۶۷٪ نسبت به عدم تلقیح شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق تلقیح باکتری باعث کاهش ۱۰ برابری و افزایش ۵۵٪ غلظت کلسیم(نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش و بدون تنش شد.



شکل (۴-۲۹) نسبت غلظت کلسیم سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۳۰) میزان غلظت کلسیم سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

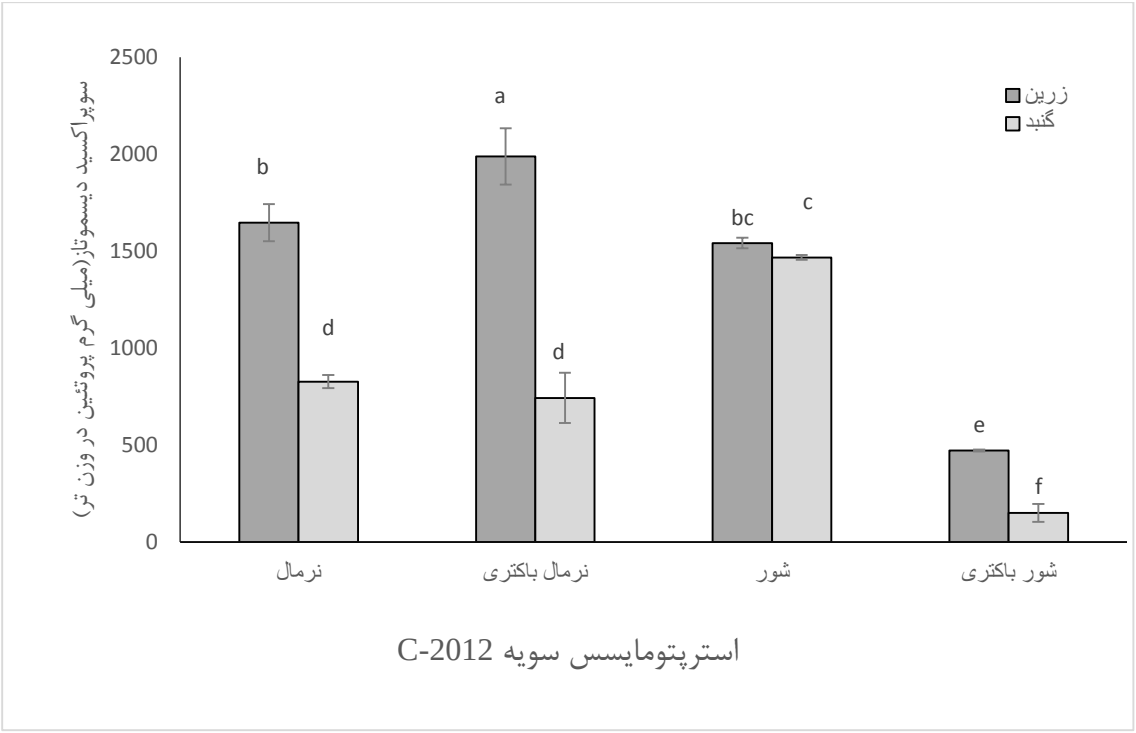
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

Yachan jha et al.(2013) گزارش کردن که میزان کلسیم در گیاهان تلقیح یافته با باکتری (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش کاهش می‌یابد. *Ruth Bonilla et al.(2014)* گزارش کردن تلقیح باکتری در شرایط بدون تنش سبب افزایش کلسیم در ذرت شد. در این مطالعه ما نیز مشاهده کردیم که تلقیح باکتری در شرایط تنش سبب کاهش غلظت کلسیم شد.

۴-۵-بررسی آنالیزهای بیوشیمیایی

۴-۵-۱-بررسی فعالیت آنزیم SOD

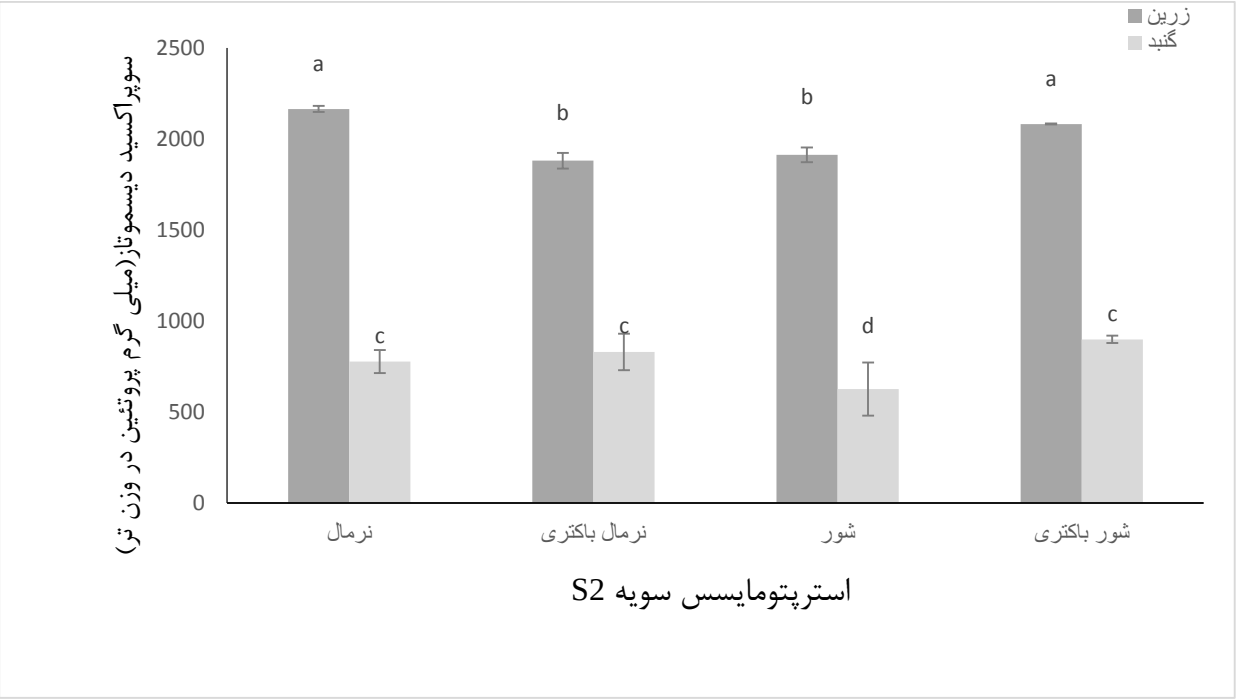
نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان ژن SOD برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و۲ نشان داده شده است.کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ در صد معنی‌دار بود تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر فعالیت آنزیم SOD دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۱) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم SOD به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می شود که تنش شوری موجب افزایش و کاهش در فعالیت آنزیم SOD در رقم گنبد و زرین به ترتیب ۷۷٪ و ۱۷٪ نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس در رقم گنبد بر فعالیت SOD تاثیر معنی‌داری داشت .همچنین نتایج آزمایش نشان داد تلقیح باکتری موجب کاهش ۱۰ برابری فعالیت آنزیم در گیاهچه‌های تلقیح یافته (نسبت به گیاهچه‌های بدون تلقیح) در شرایط تنش شد.*(P≤0.01)*. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق تلقیح باکتری باعث کاهش (۳۰٪ نسبت به عدم تلقیح) در فعالیت SOD در شرایط تنش شوری شد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر فعالیت آنزیم SOD دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۲) نشان داده شده است. . همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم SOD به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب کاهش در فعالیت آنزیم SOD در رقم گنبد و زرین به ترتیب ۲۰٪ و ۱۲٪ نسبت به شرایط بدون تنش شد*(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 بر فعالیت آنزیم SOD در تنش شوری تاثیر معنی‌داری داشت .تلقیح باکتری موجب افزایش فعالیت آنزیم در رقم گنبد در شرایط شور (۴۳٪ نسبت به عدم تلقیح) شد.*(P≤0.01)*. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق در شرایط بدون تنش کاهش ۱۴٪ در تلقیح باکتری (نسبت به عدم تلقیح) مشاهده شد. در تنش شوری تلقیح باکتری باعث افزایش (۸٪ نسبت به عدم تلقیح) فعالیت آنزیم شد



شکل (۴-۳۱) فعالیت انزیم SOD سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۳۲) فعالیت انزیم SODسویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

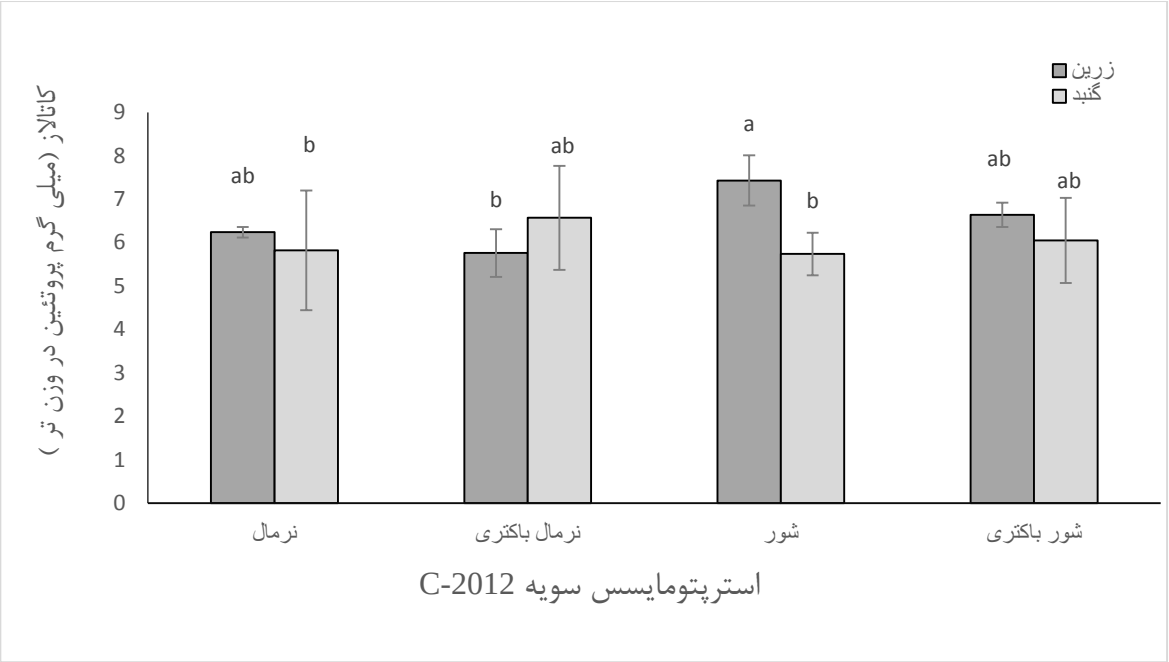
تولید ROS یک رویداد اجتناب ناپذیر برای تمام موجودات زنده در معرض اکسیژن است. گیاهان از طریق مکانیزم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان (آنزیمی و غیر آنزیمی) از تجمع بیش از حد ROS هاجلوگیری می‌کند (*Sarvjat et al.2010*). SOD به عنوان اولین خط دفاعی در برابر استرس‌های اکسیداتیو عمل می‌کند و بر اساس کوفاکتورهای فلزی به سه دسته تقسیم می شود(*Milter et al.,2002*). این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانSOD را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. گزارش کردن که در تنش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان SOD در گیاهان *P.vulgaris* و *O.sativum* تحت تاثیر قرار می‌گیرد. باقری و همکاران(۲۰۱۳) گزارش کردن که تلقیح قارچ *P.indica*

در گیاه برنج باعث کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان SOD در تنش شوری (نسبت به عدم تلقیح باکتری) شد. در همین را ستا زارع و همکاران (۲۰۱۶) در گندم و در ذرت *(Manjo et al .2009)* گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان SOD در شرایط بدون تنش نسبت به گیاه شاهد شد. (*U.chacrabortt et al .(2013*) گزارش کردن که با افزایش شدت تنش فعالیت آنزیم SOD در گندم (نسبت به شاهد) کاهش یافت. در گندم (*Faisal islam et al.,2014*) و سیب زمینی *(Gururani etal.,2012)* و بامیه (*Halime et al.,2016*) گزارش کردن که تلقیح باکتری سبب افزایش فعالیت SOD در شرایط تنش شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مطابق با گزارشات قبلی بوده است.

۴-۵-۲-بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم کاتالاز برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و متقابل به جزء اثر متقابل رقم x تنش در سطح احتمال ۱ درصد برای سویه سویه S2 معنی‌دار شد. کلیه اثرات اصلی و سه جانبه برای سویه C-2012 در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. شکل (۴-۳۳) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم گنبد و زرین را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و تلقیح باکتری قرار نگرفته است. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می‌شود که در رقم زرین تنش شوری موجب افزایش فعالیت ۱۹٪ نسبت به شرایط بدون تنش شد. همچنین نتایج نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد در شرایط تنش و بدون تنش موجب افزایش کم در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به عدم تلقیح باکتری داشت. شکل (۴-۳۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری قرار نگرفته است. از

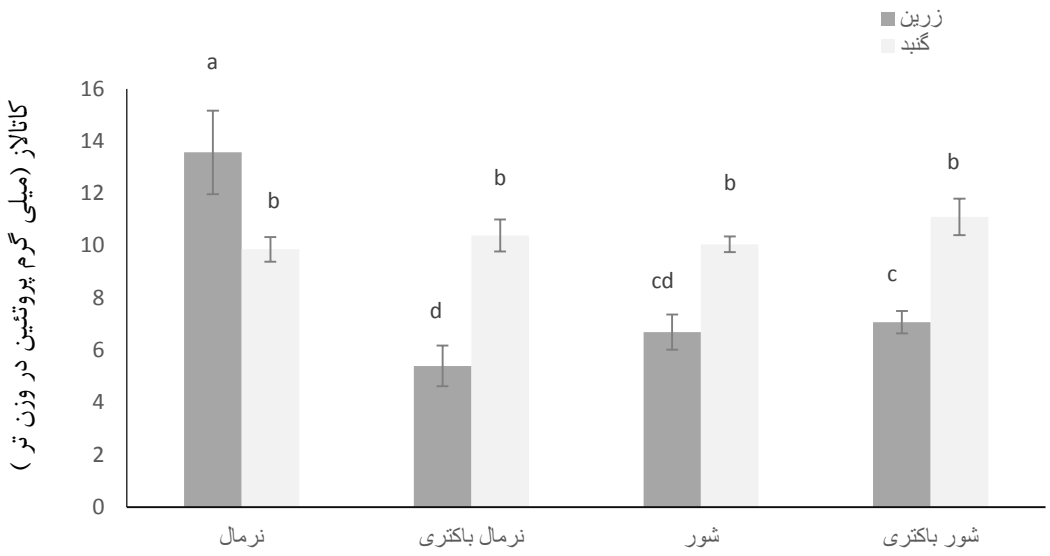
مقایسات میانگین مربوطه استنباط می‌شود که در رقم زرین تنش شوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم CAT را تحت تاثیر قرار داده است . بطوریکه در تنش شوری کاهش (۵۱٪ نسبت به عدم شوری) داشت.



شکل (۴-۳۳) فعالیت آنزیم کاتالاز سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



استرپتومایسس سویه S2

شکل (۴-۳۴) فعالیت آنزیم کاتالازسویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

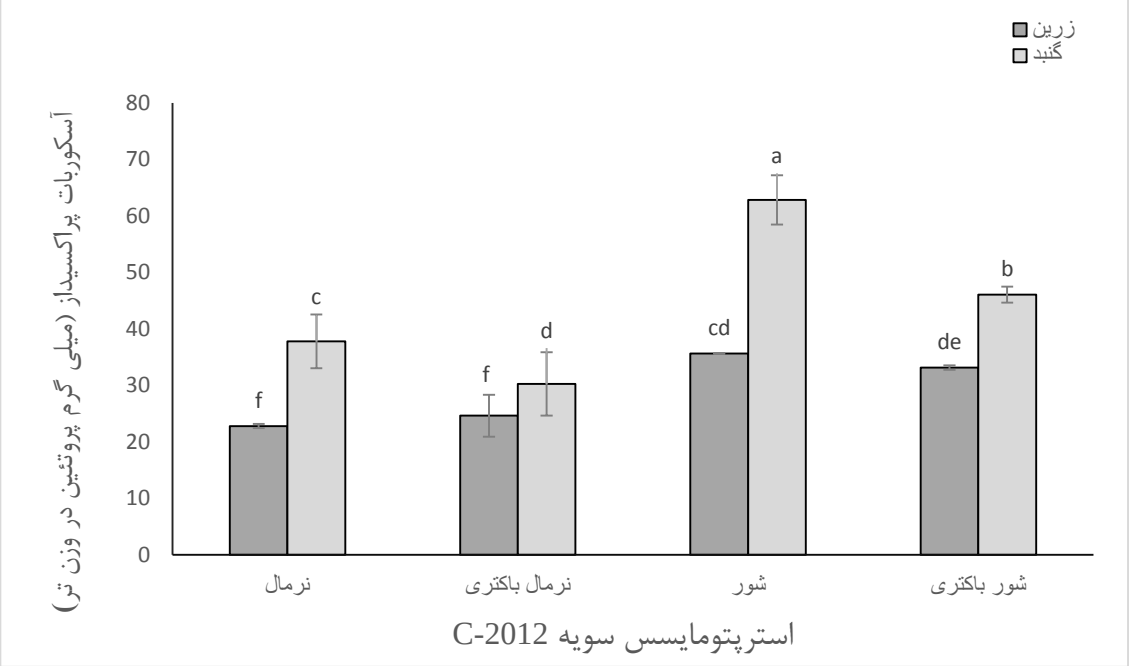
کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌های موجود در گیاهان آلی می‌باشـــد. یک ملکول کاتالاز در مدت یک دقیقه ۶ میلیون ملکول پراک سیداز هیدروژن را به آب و اک سیژن تبدیل می‌کند. CAT دارای ایزوزایم‌های مختلفی می‌با شد که در زمانها و مکانهای مختلف به تنش واکنش ن شان می‌دهد*(Sarvajeet et al.2010)*. این مطالعه ن شان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم آنتی‌اک سیدان CAT را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار نداد. کاهش و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکســـیدان کاتالاز در شـــرایط تنش و تلقیح باکتری در گیاهانی مانند گندم *(sudhir et al.,2011)* و ذرت (*Manjo et al., 2009*) و برنج *(Yachana et al .,2013)* و گندم *(Naveed et al .,2014)* و برنج (اصـغری و همکاران ۲۰۱۳) گزارش شـد. ابراهیم احمدی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردن که تجمع بیش از حد کادمیوم در خاک باعث کاهش فعالیت

CAT در گندم نسبت به شاهد شد. همچنین تلقیح باکتری‌های PGPR در شرایط تنش موجب افزایش کم فعالیت آنزیم CAT شد .*Yagendra et al.(2015)* گزارش کردن که تحت تنش خ شکی زیاد در برنج فعالیت آنزیم CAT کاهش یافت. همچنین تلقیح باکتری‌های PGPR ســـبب افزایش فعالیت CAT در شرایط تنش شد. (*Gururani et al(2012* گزارش کردند که فعالیت کاتالاز در سیب زمینی تلقیح یافته با باکتری در شرایط تنش کاهش یافت. *Faisal Islam et al.(2014)* گزارش کردن که تلقیح باکتری در گیاه گندم سبب افزایش فعالیت CAT شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مطابق با گزارشات قبلی بوده و تاثیر باکتری‌های استفاده شده را در کاهش اثرات مضر تنش شوری را نشان می‌دهد.

۴-۵-۳-بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم APX برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده ا ست.کلیه اثرات ا صلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ در صد معنی‌دار بود. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر فعالیت آنزیم APX دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۵) نشان داده شده ا ست. همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم APX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شـــوری و باکتری قرار گرفت. از مقایســـه میانگین‌های مربوطه ا ستنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش ۶۶٪ و ۵۶٪ فعالیت آنزیم APX در رقم گنبد وزرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد فعالیت آنزیم APX تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشـــت. همچنین نتایج آزمایش نشـــان داد که تلقیح باکتری موجب کاهش ۲۰٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری موجب کاهش فعالیت (۲۷٪ نســـبت به عدم تلقیح) در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری شـد. در رقم دیگر مورد بررسـی در این تحقیق تلقیح باکتری باعث کاهش فعالیت آنزیم APX در شـرایط تنش شوری (نسبت به عدم تلقیح) شد. همچنین تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه

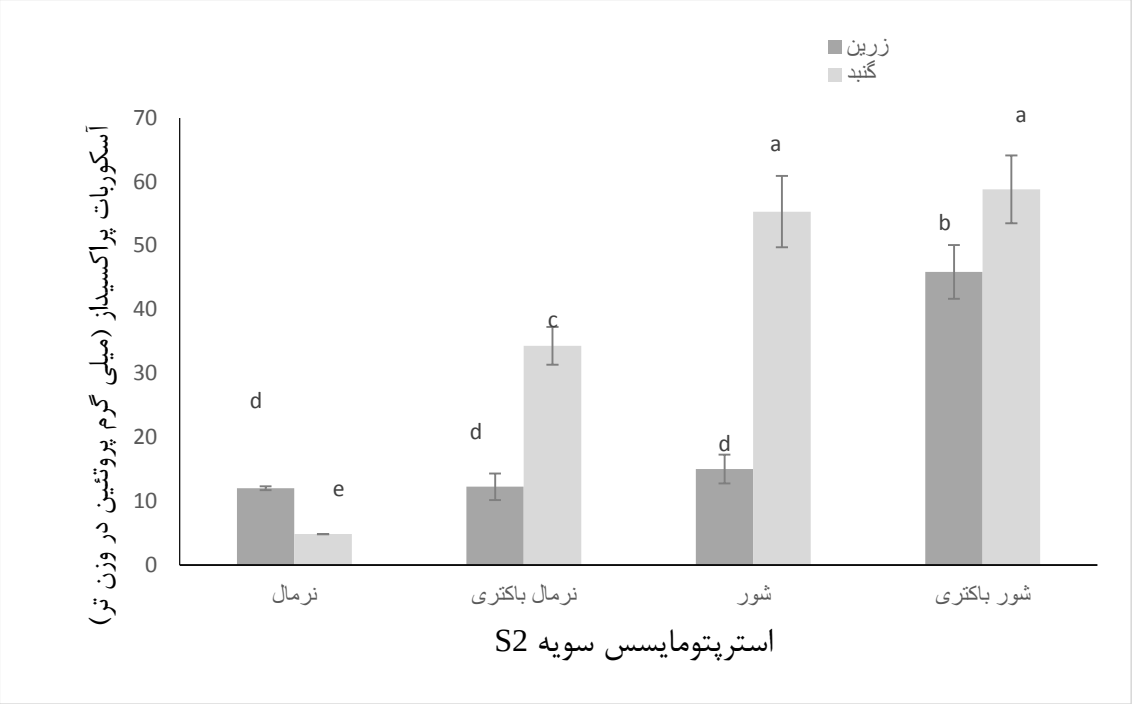
S2 را بر فعالیت آنزیم APX دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۶) نشان داده شده است. . همان‌گونه که مشـاهده می‌شـود فعالیت آنزیم APX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شـوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش ۱۱ برابری و ۲۴٪ فعالیت آنزیم APX در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد (*P≤0.05*). استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد فعالیت آنزیم APX تاثیر معنی‌داری (*P≤0.01*) داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۷ برابری این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شـد. در رقم دیگر مورد بررسـی در این تحقیق در شـرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۳ برابری فعالیت آنزیم APX (نسبت به عدم تلقیح)شد.



شکل (۴-۳۵) فعالیت آنزیم APX سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۳۶) فعالیت آنزیم APX سویهS2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

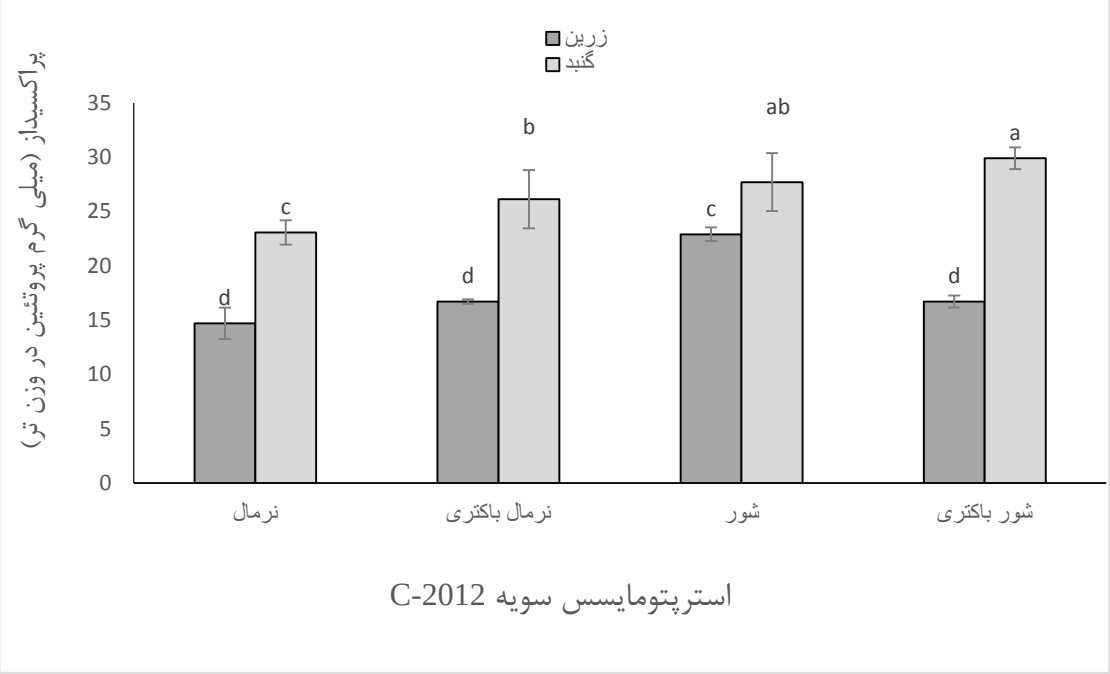
APX در مهار ROSها نقش ضـروری دارد. مانند کاتالاز در حذف پراکسـید هیدروژن نقش اسـاسـی داردکه دارای آیزوزایم می‌باشد. و میل ترکیبی بالاتری از کاتالاز و پراکسیداز در حذف و مدیریت ROS در طول تنش دارد *(sarvajet et al.2010)*. این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم آنتی‌اک سیدان APX را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. کاهش اثرات مخرب ROS با ا ستفاده از PGPRها در گیاهانی مانند کاهو توسـط *(K.P.Lee et al .2005)* گزارش شـد که تنش موجب افزایش فعالیت APX شده و تلقیح باکتری باعث کاهش فعالیت آنزیم APX شد. در همین را ستا *(Muhammad kulid et al.,2015)* در گیاه ذرت و *(sudhir et al.,2011)* در گندم گزارش کردن تلقیح باکتری باعث

کاهش فعالیت APX در گیاه تلقیح یافته نسبت به عدم تلقیح در شرایط تنش شد در گیاهانی مانند بامیه *(halimi et al.,2016)* و کدو *(Ming .fang et al.,2013)* و گندم (ابراهیم احمدی و همکاران ۲۰۱۶) و ذرت *(sandyhaya et al.,2010)* و سیب زمینی *(Gururani et al., 2012)* و گندم *(U.chakraborty et al.,2012)*گزارش کردند که تلقیح باکتری‌های PGPR سبب افزایش فعالیت آنزیم شده است. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مطابق با گزارشات قبلی بوده است.

۴-۵-۴-بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز(POX)

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم POX نشان داد که اثرات اصلی به جزء تلقیح و اثرات متقابل سه جانبه برای سویه C-2012 در سطح احتمال ۱در صد معنی‌دار شد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس همه اثرات اصلی و اثرمتقابل دو جانبه (P≤0.01) و اثر متقابل سه جانبه در سطح احتمال (P≤0.05) برای سویه S2 معنی‌دار شد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر فعالیت آنزیم POXدو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۷) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم POX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش ۲۰٪ و ۵۵٪ فعالیت آنزیم POX در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر فعالیت آنزیم POX تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۲۰٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم POX در گیاهچه‌های تلقیح یافته نسبت به گیاهچه‌های بدون تلقیح مشاهده نشد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز کاهش معنی‌داری (۷٪ نسبت به عدم تلقیح) در فعالیت POX در شرایط تنش شوری مشاهده شد. همچنین تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر فعالیت آنزیم POX دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۳۸)

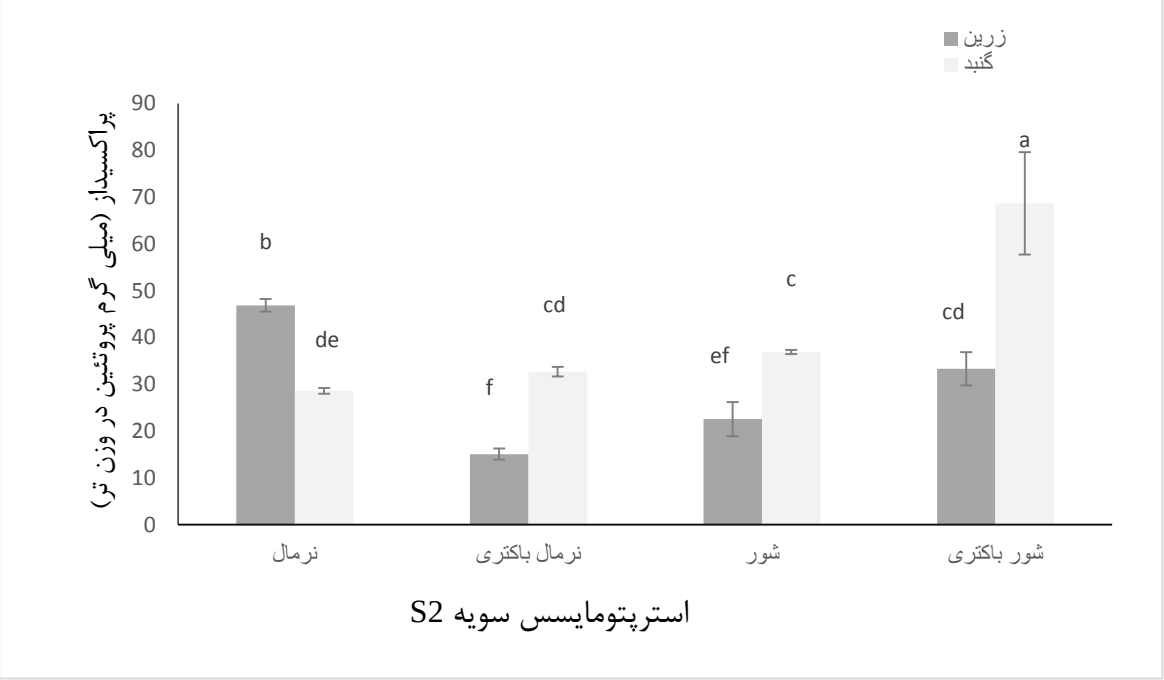
نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم POX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش و کاهش ۲۹٪ و۵۳٪ فعالیت آنزیم POX در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در شرایط تنش شوری سبب افزایش ۱۵٪ فعالیت POX در رقم گنبد (نسبت به عدم تلقیح) شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز افزایش معنی‌داری *(P≤0.05)*در فعالیت POX در گیاهچه‌های تلقیح یافته با باکتری نسبت به عدم تلقیح شد.



شکل (۴-۳۷) فعالیت آنزیم POX سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ در صد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۳۸) فعالیت آنزیم POX سویه S2

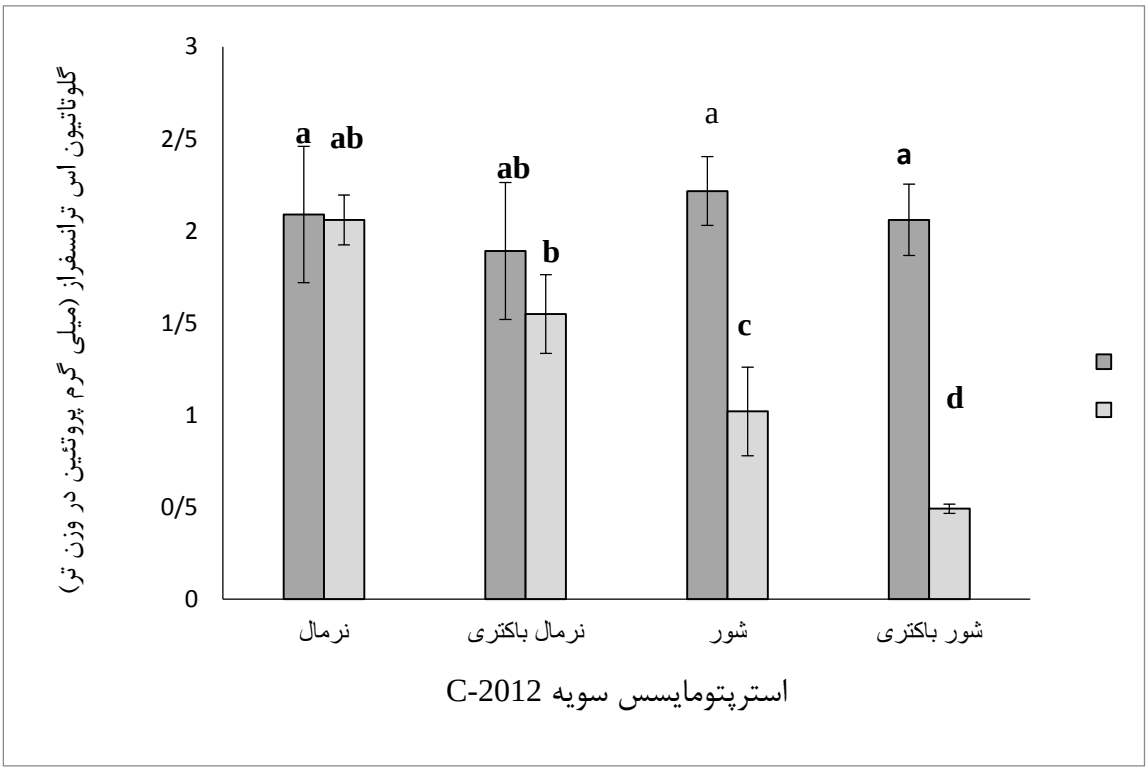
نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان POX را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد.. *(MARIUS et al,.2013)* گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه لوبیا در شرایط تنش (نسبت به عدم تلقیح) شد. همچنین *(Yachana et al.,2013)*گزارش کردن که تلقیح باکتری سبب افزایش فعالیت POX در شرایط بدون تنش شد و در شرایط تنش فعالیت POX نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت. در برنج (*Yagendra et al.2015*)و در گندم *(Faisal Islam et al.2014)* گزارش کردن که تلقیح باکتری در شرایط تنش باعث افزایش فعالیت POX شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مطابق با گزارشات قبلی بوده است.

۴-۵-۵- بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز(GST)

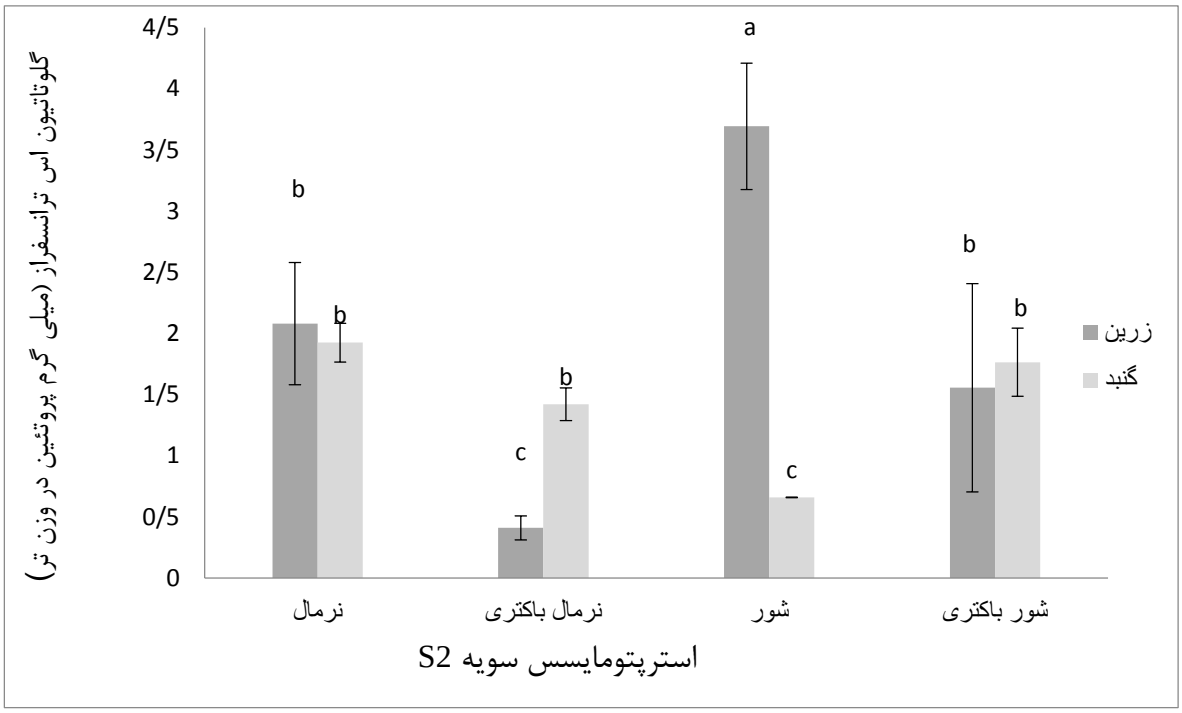
نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان ژن GST برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱و۲ نشان داده شده است. کلیه اثرات اصلی و اثر متقابل سه جانبه برای سویه S2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل (۴-۳۹) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر فعالیت آنزیم GST دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم GST به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش ۲۸٪ فعالیت آنزیم GST در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر فعالیت آنزیمGST تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب کاهش ۲۶٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش شوری تلقیح باکتری کاهش ۶۸٪ فعالیت آنزیم نسبت به عدم تلقیح داشت. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری موجب کاهش ۳۸٪ نسبت به عدم تلقیح باکتری در شرایط بدون تنش شد.*(P≤0.01)*. شکل(۴-۴۰) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر فعالیت آنزیم GST دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می شود فعالیت آنزیم GST به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش و افزایش ۶۶٪ و ۷۷٪ فعالیت آنزیم GST در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد در شرایط تنش شوری موجب افزایش ۲/۵برابری (نسبت به عدم تلقیح) *(P≤0.01)*شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز تلقیح باکتری موجب کاهش ۵۸٪ و ۸۱٪ در شرایط تنش و بدون تنش (نسبت به عدم تلقیح) شد



شکل (۴-۳۹) فعالیت انزیم GST سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۴۰) فعالیت آنزیم GST سویه S2

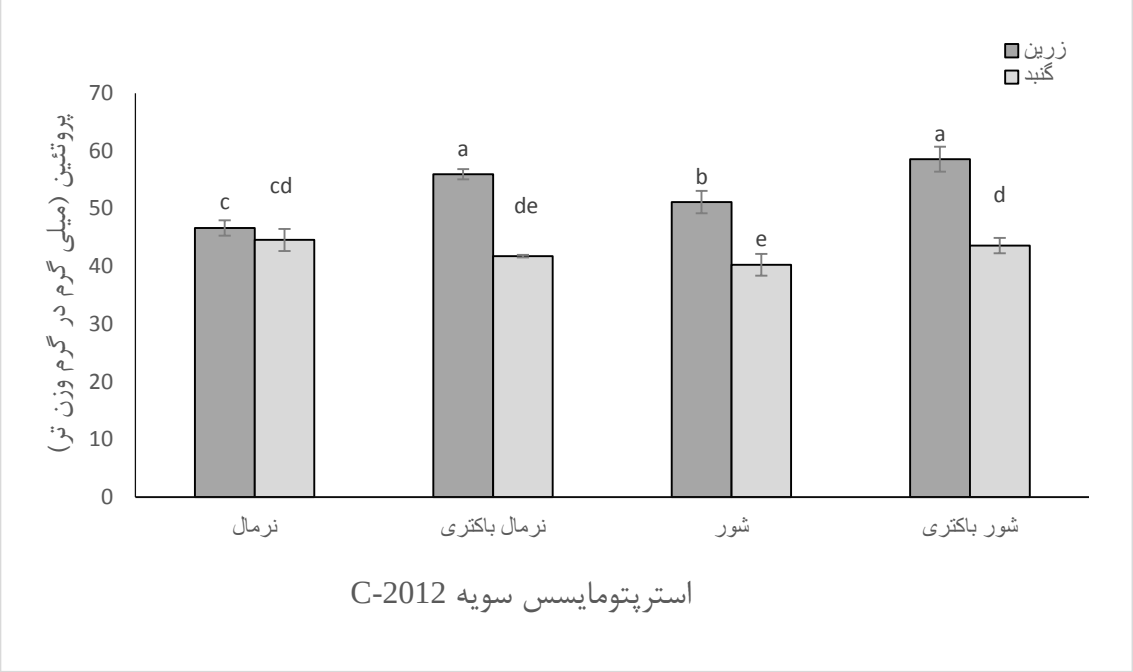
نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان GST را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد. در گیاه گندم *(M.capinska et al,.2008)* در گندم (حسن زارع و همکاران ۲۰۱۶) گزارش کردن که تنش موجب افزایش فعالیت GST در شرایط بدون تلقیح شد. که در این مطالعه نتایج بدست آمده بر عکس گزارش‌های قبلی بوده است. همچنین حسن زارع و همکاران (۲۰۱۶) در گندم و *(sudhire et al.,2011)* در گندم گزارش کردن که تلقیح باکتری باعث کاهش فعالیت GST نسبت به عدم تلقیح باکتری شد.که مطابق با نتایج فعالیت GSTدر مطالعه ما است

۴-۵-۶- محتوی پروتئین

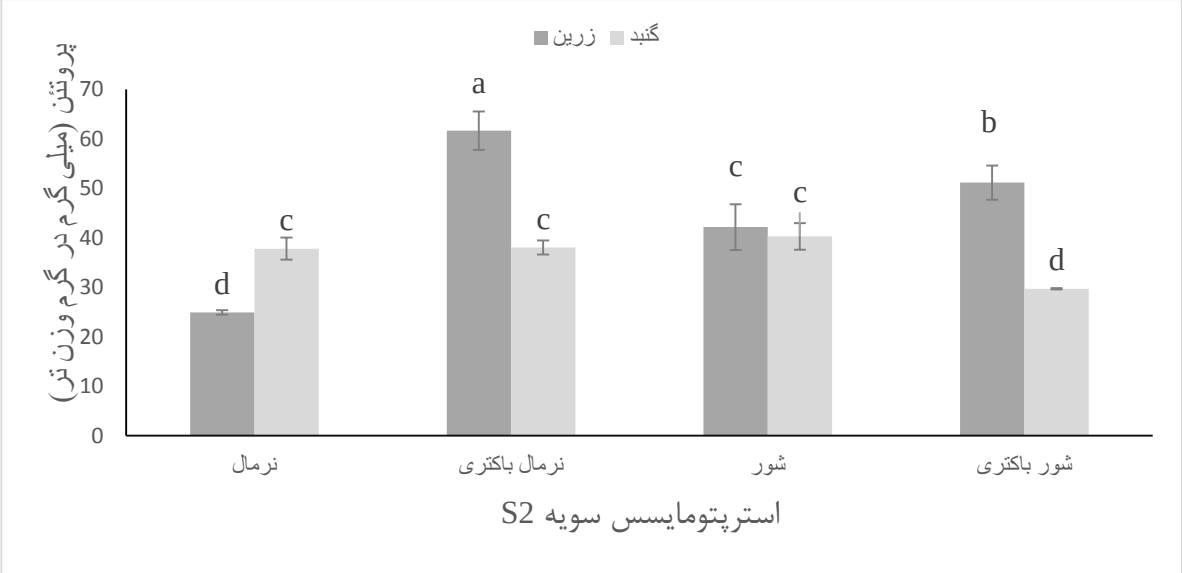
نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی پروتئین کل برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و۲ نشان داده شده است. از میان منابع تغیر برای سویه c-2012 تنها فاکتور اصلی تنش معنی‌دار نبود بقیه منابع تغیر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌داربود. کلیه اثرات اصلی و متقابل برای سویه s2 در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل (۴-۴۱) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی پروتئین دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود. محتوی پروتئین به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب کاهش۱۰٪ و افزایش۱۰٪ محتوی پروتین در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.05)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم گنبد بر محتوی پروتئین تاثیر معنی‌داری *(P≤0.05)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۸٪ این صفت در مقایسه با عدم تلقیح در شرایط تنش شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق نیز افزایش میزان پروتئین ۱۹٪ و ۱۴٪ در گیاهچه‌های تلقیح یافته باکتری نسبت به عدم تلقیح در شرایط تنش و عدم تنش شوری مشاهده شد. شکل (۴-۴۲) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر محتوی پروتئین دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی پروتئین در رقم زرین به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب افزایش ۷۴٪ محتوی پروتئین در رقم زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه S2 در رقم گنبد موجب افزایش ۲/۵ برابری و ۲۱٪ به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش شد.



شکل (۴-۴۱) محتوی پروتئین سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۴۲) محتوی پروتئین سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

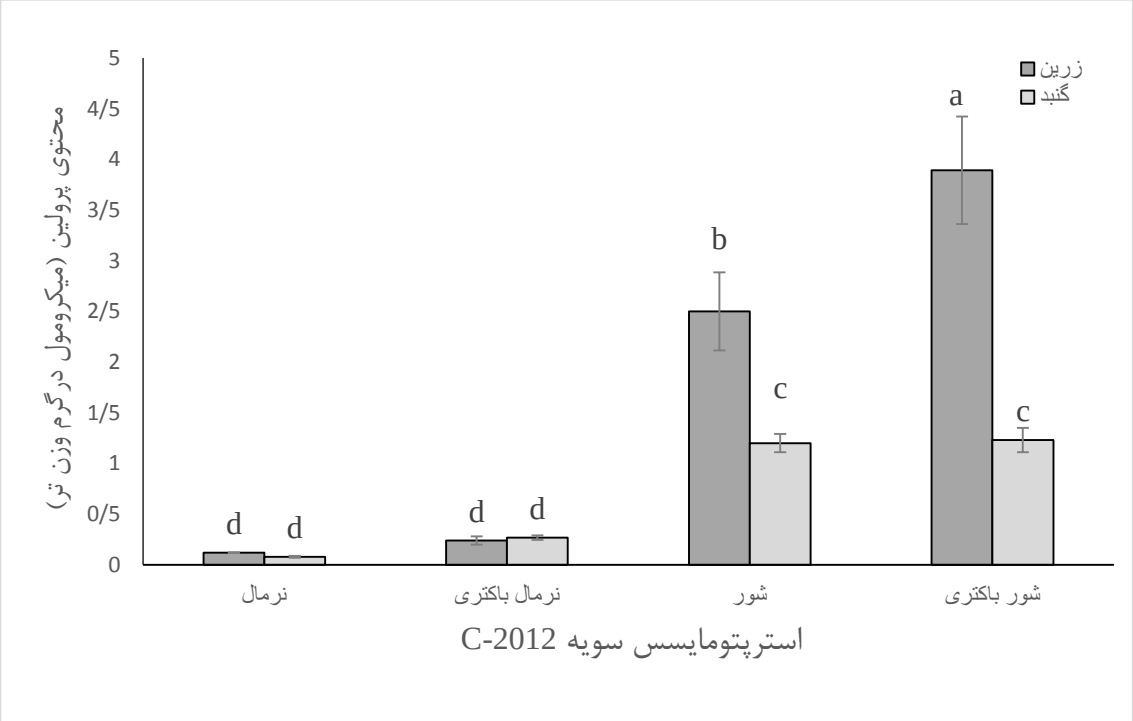
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشـان داد که تنش شـوری و تلقیح باکتری محتوی پروتئین را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد.. *PAIDA et al.(2005)* گزارش کردن که در تنش شـوری کم محتوی پروتئین کمی افزایش می‌یابد و در شـوری زیاد پروتئین کاهش می‌یابد .(2011) *Lokman Ozturk* گزارش کرد که شـوری باعث کاهش محتوی پروتئین شد. در مطالعاتی که توسط باقری و همکاران (۲۰۱۳) و زارع و همکاران (۲۰۱۶) و *(Muhammad kulid et al.,2015)* گزارش کردن که تلقیح باکتری در تنش شـــوری میزان پروتئین محلول را افزایش داده است. این مطالعه نیز موثر بودن باکتری‌های استفاده شده در تولید پروتئین را نشان داد

۴-۵-۷- محتوی پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس پرولین برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. برای کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه برای سویه C-2012 در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. از میان منابع تغیر برای سویه S2 کلیه اثرات اصلی و اثر متقابل سه جانبه در سطح احتمال ۱ در صد معنی‌دار بود. شکل (۴-۴۳) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سـویه C-2012 را بر غلظت پرولین دو رقم گنبد و زرین نشـان می‌دهد. همان‌گونه که مشـاهده می‌شـود غلظت پرولین به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شـــوری و باکتری قرار گرفت. از مقایســـه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش ۱۵و ۲۰ برابری غلظت پرولین در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. استفاده از باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 در رقم زرین بر غلظت پرولین تاثیر معنی‌داری *(P≤0.01)* داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد

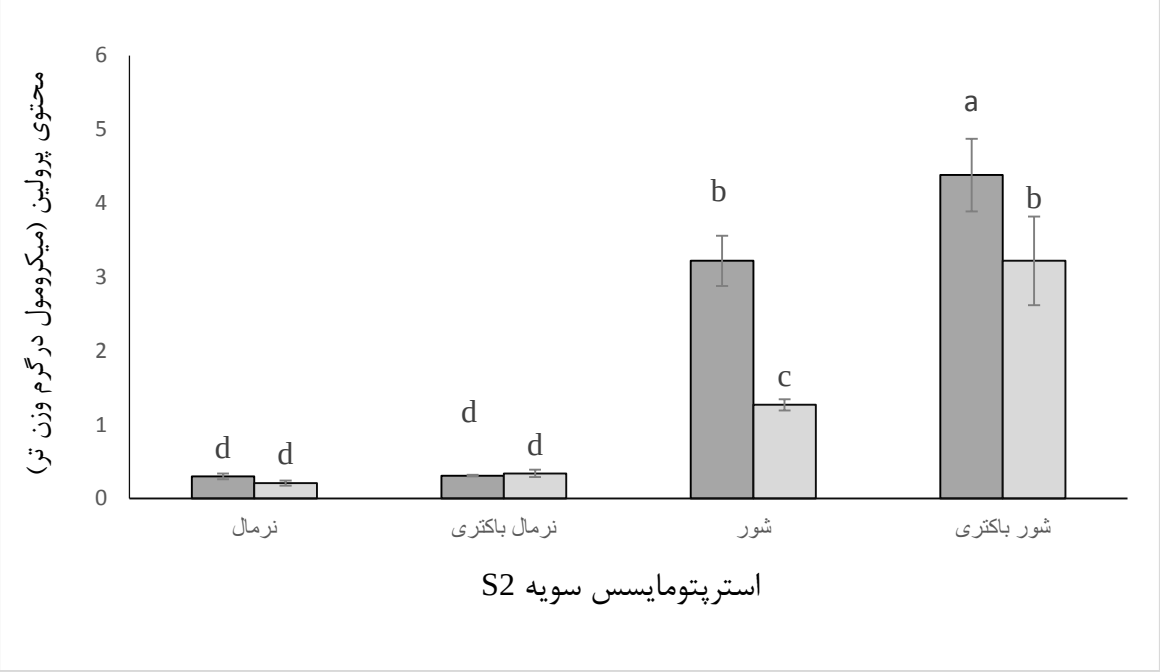
که تلقیح باکتری موجب افزایش۵۵٪ این صفت در مقایسه با عدم تلقیح در شرایط تنش شد. پرولین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی برای کاهش اثرات منفی ROSها در نظر گرفته می شود *(C.chen et al., 2005)* ثابت شده است که تنش شوری و خشکسالی سبب افزایش قابل توجهه پرولین می شود *(M.Ashraf et al.2007)*. گزارش شده است که پرولین در بین آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی بیشترین اثر را در حذف هیدروکسیل‌ها دارد *(M.Trovato et al.2008)*. شکل (۴-۴۴) تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر غلظت پرولین دو رقم گنبد و زرین نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود غلظت پرولین به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری به ترتیب موجب افزایش ۶ و ۱۰ برابری غلظت پرولین در رقم گنبد وزرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *($P\leq0.01$)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش ۲/۵و ۱/۵ برابری (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شوری نسبت به عدم تلقیح باکتری شد.



شکل (۴-۴۳) غلظت پرولین سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل (۴-۴۴) غلظت پرولین سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

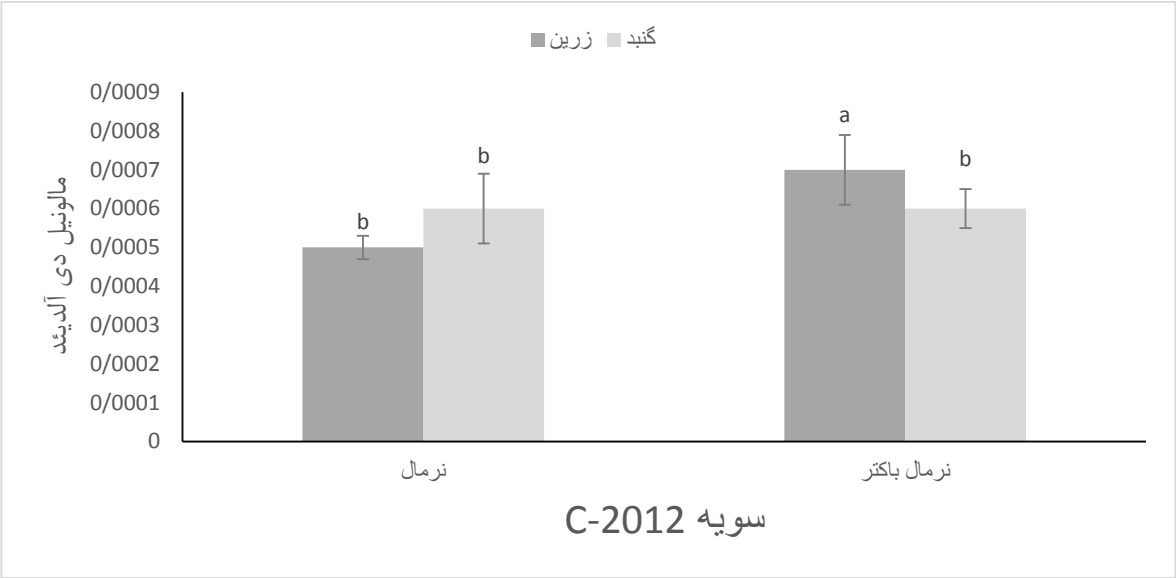
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری غلظت پرولین را در هر دو رقم تحت تاثیر قرار می‌دهد در مطالعات پیشـــین در گیاه جو (*Qurirsal et al.,2014*) و برنج (*Yagender et al.,2015*) و ســـیب زمینی (*Gururani et al.,2012*) و گندم (*Faisal et al.,2014*) و گندم (*U.chetraborty et al.,2013*) گزارش شـــده که تنش باعث افزایش محتوی پرولین شـــد و تلقیح باکتری PGPR تحت تنش

باعث افزایش محتوی پرولین (نسبت به عدم تلقیح باکتری) شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابق با گزارشات قبلی است.

۴-۵-۸-محتوی مالونیل دی الدئید (MDA)

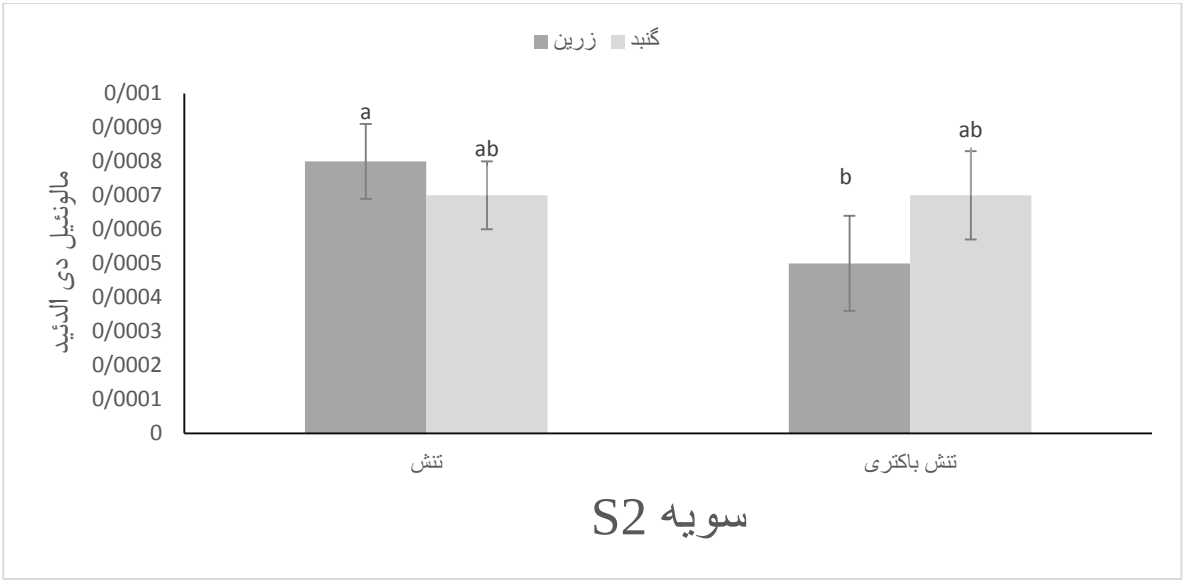
نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوی مالونیل دی الدئید برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است. برای سویه C-2012 تنها اثر متقابل دو جانبه رقم x تلقیح در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. برای سویه S2 تنها اثر متقابل دو جانبه تنش x تلقیح در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر محتوی MDA دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۴۵) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی MDA به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار نگرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می‌شود که در رقم گنبد تنش شوری موجب کاهش ۷٪ محتوی MDA نسبت به عدم تنش شد. همچنین تلقیح باکتری در رقم زرین سبب افزایش ۳۱٪ و ۱۲٪ در شرایط تنش و بدون تنش (نسبت به عدم تلقیح) شد تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را محتوی MDA دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۴۶) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محتوی MDA به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری در رقم زرین قرار گرفت. از مقایسه میانگین‌های مربوطه استنباط می شود که در رقم زرین تنش شوری موجب کاهش ۳۸٪ محتوی MDA نسبت به عدم تنش شد. همچنین تلقیح باکتری سبب کاهش ۴۳٪ و ۳۵٪ محتوی MDA نسبت به عدم تلقیح باکتری در رقم گنبد و زرین در شرایط بدون تنش شد.



شکل (۴-۴۵) محتوی MDA سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۴۶) محتوی MDA سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

تغیرات در میزان پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان شاخص میزان آسیب های اکسیداتیو تحت تنش می‌باشد(*Borsani et al.2001*). میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس محتوی MDA تعین می‌شود.*(Ming fan et al.2013)*.

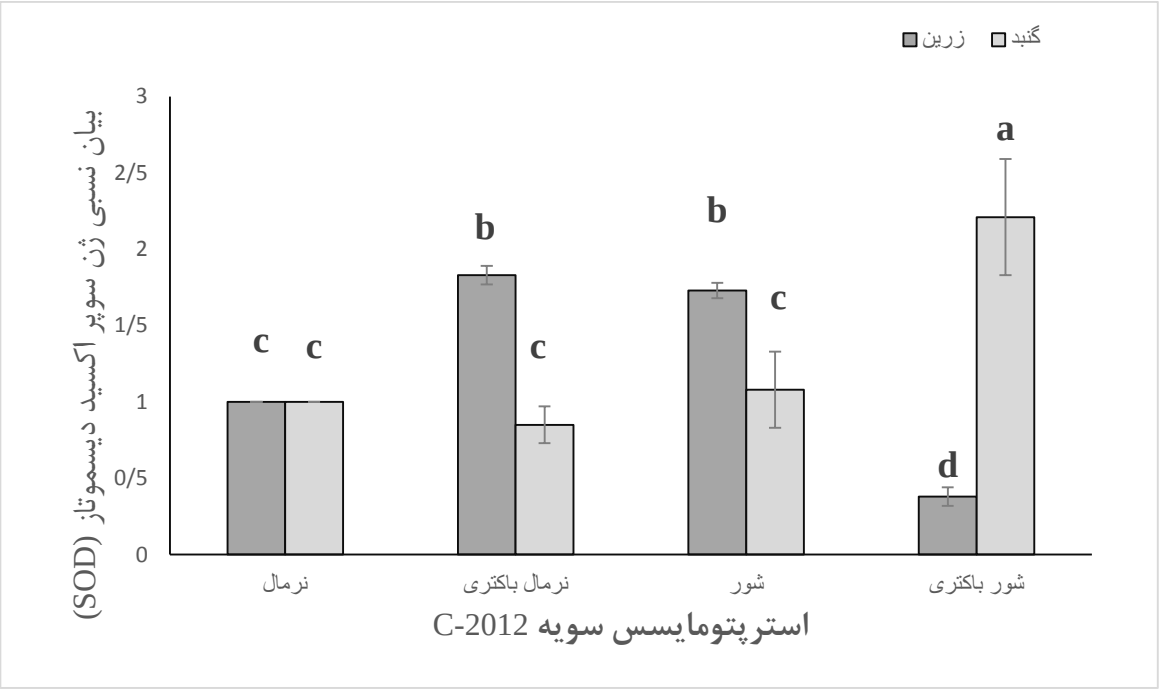
این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری محتوی MDA را در رقم زرین تحت تاثیر قرار می‌دهد. در برنج *(Yegendry et al.,2015)* گزارش کردن که تنش شوری سبب کاهش محتوی MDA (نسبت به عدم تنش)شده است. (*Yavuz demi et al.(2012* گزارش کردن که محتوی MDA در شرایط تنش در گیاه جو ، گندم ، کتان و گوجه فرنگی در اثر افزایش شوری (نسبت به عدم تنش) کاهش یافته است. در گندم *(Faisal islam et al.,2014)* و جو (*Quissal et al.,2014*) گزارش کردن که تلقیح باکتری در شرایط تنش شوری باعث کاهش محتوی MDA شد. در این مطالعه ما نیز مشاهده کردیم که تنش شوری باعث کاهش محتوی MDA شد و تلقیح باکتری سبب کاهش محتوی MDA در شرایط تنش نسبت به عدم تلقیح شد.

۴-۶- بررسی آنالیزهای ملکولی

۴-۶-۱- بررسی بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان ژن SOD برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است.کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر تغیرات کمی بیان ژن SOD در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۴۷) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بیان ژن SOD به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه

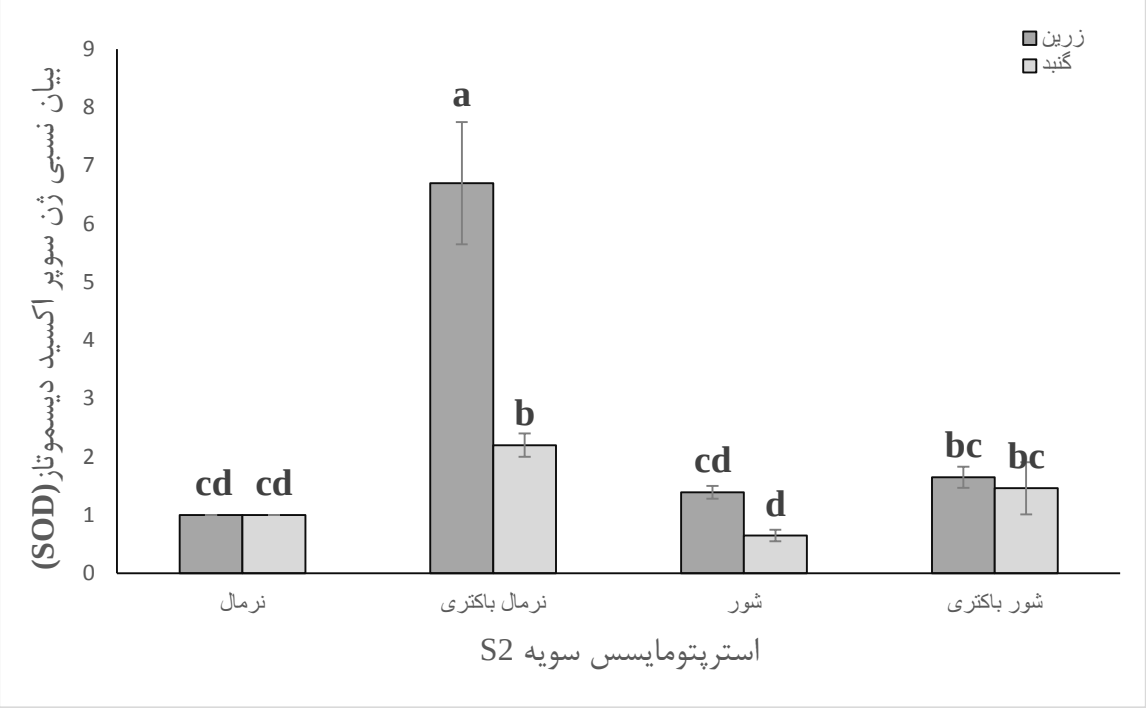
استنباط می شود که تنش شوری موجب افزایش بیان ژن SOD در رقم گنبد و زرین به ترتیب ۸٪ و۷۳٪ نسبت به شرایط بدون تنش شد*(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب کاهش ٪۱۵ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۲ برابری (نسبت به عدم تلقیح) بیان ژن شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق, تلقیح باکتری باعث افزایش ۸۳٪ الگوی بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد. *(P≤0.01)* همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری باعث کاهش ۴/۵ برابری بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر الگوی تغیرات کمی بیان ژن SOD در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴۸-۴) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌کنید بیان ژن SOD به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می شودکه تنش شوری موجب کاهش بیان ژن SOD در رقم گنبد و افزایش بیان ژن زرین به ترتیب ۳۵٪ و ۳۹٪ نسبت به شرایط بدون تنش شد*(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب افزایش ۲ برابری بیان ژن در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۲,۵ برابری (نسبت به عدم تلقیح) بیان ژن شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق,تلقیح باکتری باعث افزایش ۶ برابری الگوی بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد.*(P≤0.05)* همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری باعث افزایش ۱۸٪ بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شوری شد.



شکل (۴-۴۷) بیان ژن SOD در سویهC-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۴۸) بیان ژنSOD در سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ در صد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

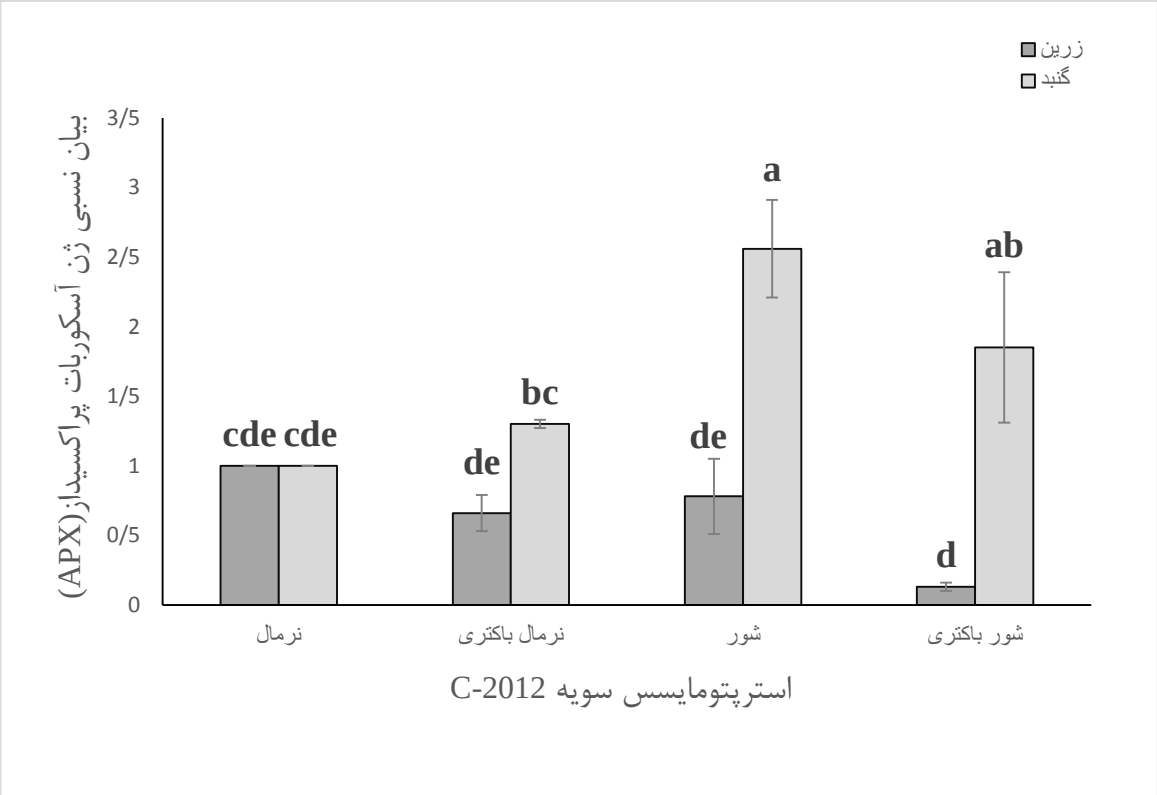
این مطالعه نشـــان داد که تنش شـــوری و تلقیح باکتری بیان تغیرات کمی بیان ژن SOD را تحت تاثیر قرار می‌دهد. *Rodriguz et al.(2006)* گزارش کردن که استرس ناشی از کادمیوم در گیاه نخود باعث کاهش القای بیان ژن *Mn, SOD* و *Cu/zn, SOD* شد. همچنین القای بیان ژن ایزوزایم *Fe, SOD* افزایش یافت. *Yan.Hetin etal.(2013)* در سیب زمینی ترشی و *Ming fang et al.(2013)* در کدو گزارش کردن بیان ژن SOD در شرایط تنش (نسبت به عدم تلقیح) افزایش یافت. *Gill et al.(2010)* گزارش کردن که تلقیح میکوریزا در کاهو در شرایط تنش الگوی بیان ژن *MnSOD* (نسبت به عدم تنش) افزایش یافت.

(*Guruani et al.(2012*) گزارش کردن تلقیح باکتری PGPR در شرایط تنش باعث افزایش بیان ژنSOD (نسبت به عدم تنش) در سیب زمینی شد. در این مطالعه ما مشاهده کردیم که در رقم زرین در شرایط شور نسبت به شاهد بیان ژن با فعالیت آنزیم مطابقت وجود ندارد .همچنین در رقم گنبد در شرایط تنش شوری بین تلقیح باکتری (نسبت به عدم تلقیح) بین بیان ژن و فعالیت آنزیم مطابقت وجود نداشت که احتمالا به دلیل تغیرات پس از ترجمه یا وجود ایزوزایم های مختلف ژنی در سلول باشد

۴-۶-۲- بررسی بیان ژن اسکوربات پراکسیداز(APX)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان ژن APX برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است.کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل سه جانبه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر تغیرات کمی بیان ژن APX در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۴۹) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌کنید بیان ژن APX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می شودکه تنش شوری موجب افزایش ۲/۵ برابری بیان ژن APX و کاهش ۳۲٪ بیان ژن APX به ترتیب در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد*(P≤0.05)*. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب افزایش ۳۰٪ این صفت در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث کاهش ۲۸٪ (نسبت به عدم تلقیح) بیان ژن APX شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق,تلقیح باکتری باعث کاهش ۲۲٪ الگوی بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد. *(P≤0.05)* همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری باعث کاهش ۸۴٪ بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شد. این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری بیان ژن APX را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر تغیرات کمی بیان ژن APX در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۵۰) نشان داده شده است. همان‌گونه که

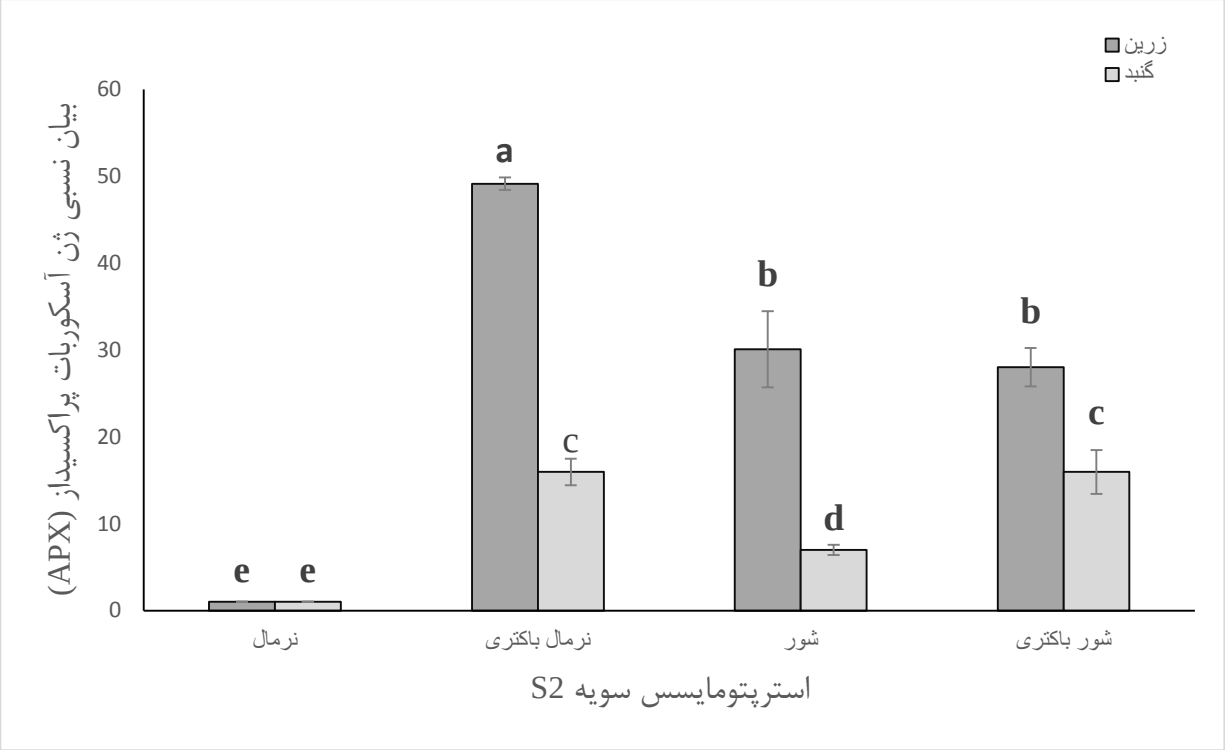
مشـــاهده می‌کنید بیان ژن APX به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شـــوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می شودکه تنش شوری موجب افزایش ۶ برابری بیان ژن APX و ۳۵ برابری بیان ژن APX به ترتیب در رقم گنبد و زرین نســـبت به شـــرایط بدون تنش شـــد ($P\leq0.01$). همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب افزایش ۱۵ برابری بیان ژن APX در مقایسه با شاهد در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۲/۵ برابری (نسبت به عدم تلقیح) بیان ژن APX شد. در رقم دیگر مورد بررسی در این تحقیق,تلقیح باکتری باعث افزایش ۴۹ برابری الگوی بیان ژن (نســبت به عدم تلقیح) در شــرایط بدون تنش شــد.($P\leq0.01$)همچنین نتایج آزمایش نشـــان داد که تلقیح باکتری باعث کاهش ۱۷٪ بیان ژن (نســـبت به عدم تلقیح)در شـــرایط تنش شد.



شکل (۴-۴۹) بررسی بیان ژن APX سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد.



شکل(۴-۵۰) بیان ژنAPXدر سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ در صد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

گزارش کردن که القای بیان ژن *os,APX* در برنج و گندم تحت تنش شوری (نسبت به عدم تنش) کاهش یافت. (*Shi et al.(2001* و *Teixerira et al. (2006* گزارش کردن که القای بیان ژن APX افزایش قابل توجهی در جو و برنج در شرایط تنش (نسبت به عدم تنش) داشت.

(*Guruani et al.(2012*) گزارش کردن تلقیح باکتری PGPR در شرایط تنش باعث افزایش بیان ژن APX (نسبت به عدم تنش) در سیب زمینی شد. (*Shikh Hasan habib et al. (2016*) گزارش کردن که تلقیح باکتری PGPR در شرایط تنش باعث افزایش القای بیان ژن APX (نسبت به عدم تلقیح) در بامیه شد.

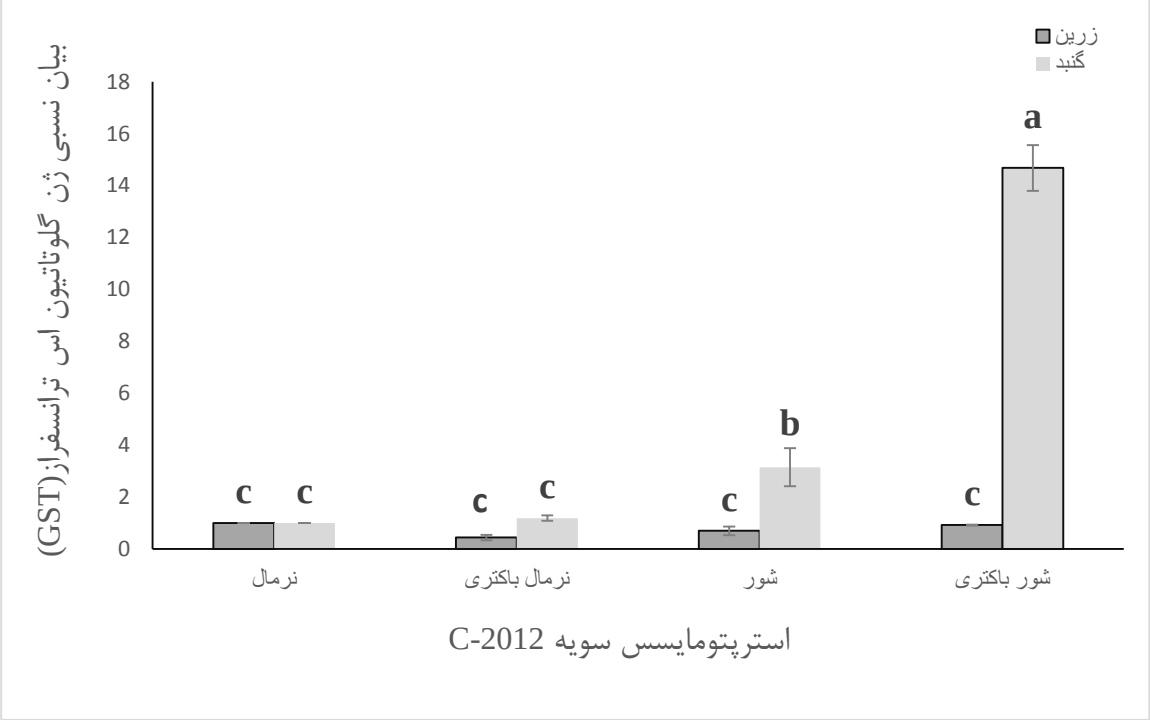
(*Peng wang et al. (2015* و *Ignacio et al.(2015*) گزارش کردن که تلقیح باکتری‌های PGPR باعث افزایش بیان ژن APX (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد. ابراهیم احمدی و همکارانش (۲۰۱۶) گزارش کردن که تلقیح قارچ میکوریزا سبب افزایش بیان APX در۳/ ۰و ۰/۶ میلی مولار کادمیوم شد اما القای بیان APX در شدت تنش ۰/۹میلی مولار کادمیوم در گیاهان کلونیزه شده کاهش یافت.

در این تحقیق ما مشاهده کردیم که در رقم زرین بین فعالیت آنزیم و بیان ژن در تمامی تیمارها تطابق وجود ندارد. در رقم گنبد فعالیت آنزیم APX و الگوی بیان ژن در شرایط بدون تنش مطابقت ندارد.که احتمالا به دلیل تغیرات پس از ترجمه و یا وجود ایزوزایم های مختلف سلولی می باشد.

۴-۶-۳-بررسی بیان ژن GST

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان ژن SOD برای هر دو سویه باکتری در جدول پیوست ۱ و ۲ نشان داده شده است.کلیه اثرات اصلی و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال ۱ در صد معنی‌دار بود. تاثیر تنش شوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه C-2012 را بر الگوی تغیرات کمی بیان ژن GST در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۵۱) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌کنید بیان ژن GST به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می‌شودکه تنش شوری موجب افزایش ۳ برابری بیان ژن GST و کاهش ۳۰٪ بیان ژن GST به ترتیب در رقم گنبد و زرین نسبت به شرایط بدون تنش شد *(P≤0.01)*. همچنین نتایج آزمایش

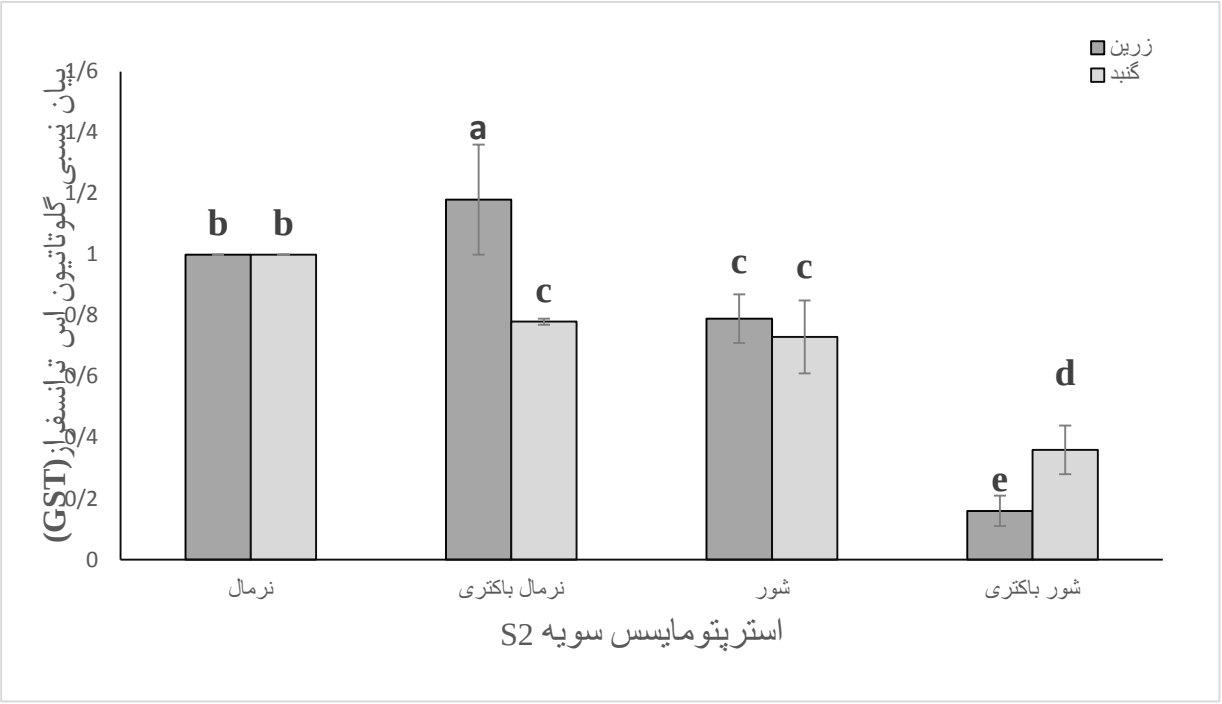
نشـان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب افزایش ۱۹٪ این صـفت در مقایسـه با شـاهد در شـرایط بدون تنش شـد. در شـرایط تنش تلقیح باکتری باعث افزایش ۴/۵ برابری (نسـبت به عدم تلقیح) بیان ژنGST شـد. در رقم دیگر مورد بررسـی در این تحقیق,تلقیح باکتری باعث کاهش ۵۴٪ الگوی بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط بدون تنش شد. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری باعث افزایش ۳۱٪ بیان ژن (نسـبت به عدم تلقیح) در شـرایط تنش شـد. تاثیر تنش شـوری و اثر باکتری استرپتومایسس سویه S2 را بر تغیرات کمی بیان ژن GST در دو رقم گنبد و زرین در شکل (۴-۵۲) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌کنید بیان ژنGST به طور معنی‌داریتحت تاثیر تنش شوری و باکتری قرار گرفت. از مقایسات میانگین مربوطه استنباط می‌شود که تنش شوری موجب کاهش۲۷٪ بیان ژن GST به ترتیب در رقم گنبد و زرین نسـبت به شـرایط بدون تنش شـد($P\leq0.05$). همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح باکتری در رقم گنبد موجب کاهش ۲۲٪ بیان ژن GST در مقایسه باشاهد در شـرایط بدون تنش شـد. در شـرایط تنش تلقیح باکتری باعث کاهش ۵۱٪ (نسـبت به عدم تلقیح) بیان ژنGST شد. در رقم دیگر مورد برر سی در این تحقیق,تلقیح باکتری باعث افزایش ۱۸٪ بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شـرایط بدون تنش شـد ($P\leq0.05$) همچنین نتایج آزمایش نشـان داد که تلقیح باکتری باعث کاهش ۷۹٪ بیان ژن (نسبت به عدم تلقیح) در شرایط تنش شد.



شکل (۴-۵۱) بررسی بیان ژنGST سویه C-2012

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد



شکل(۴-۵۲) بیان ژن GST سویه S2

نرمال= خاک نرمال نرمال باکتری = خاک نرمال آغشته شده به باکتری= شور- خاک شور شور باکتری= خاک شور آغشته شده به باکتری

حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ در صد با استفاده از آزمون فاکتوریل در غالب طرح کاملا تصادفی می‌باشد

این مطالعه نشان داد که تنش شوری و تلقیح باکتری بیان ژن GST را تحت تاثیر قرار می‌دهد. .علی نیازی و همکاران (۲۰۱۲) و *Mukesh et al.(2014)* گزارش کردن که تنش شوری در گندم و برنج باعث افزایش القای بیان ژن GST (نسبت به عدم تنش) شد. نتایج این مطالعه بر عکس مطالعات آنها بوده است .*Jin Hong et al.(2016)* گزارش کردن که در پنبه تحت تنش شوری القای بیان ژن GST در ساقه کاهش یافت اما در برگها القای بیان ژنGST افزایش یافت.*Hae.keam et al.(2016)* گزارش کردن تلقیح پاتوژن *Elisinoe ampeline* به انگور باعث افزایش بیان GST نسبت به شاهد شد. در حالی که تلقیح پاتوژن *B.cinera* باعث کاهش القای بیان GST شد. ابراهیم احمدی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردن که تلقیح قارچ *P.indica* و*F.mossae* موجب افزایش بیان ژن GST در حالت بدون تنش (نسبت به شاهد)

شد. همچنین *F.mossae* باعث افزایش بیان ژن GST در۳/ ۰و۶ /۰میلی مولار کادمیوم (نسبت به شاهد) شد. *P.indica* سطح القای بیان ژن GST را در سطح ۹/ ۰میلی مولار افزایش داد و سطح رونویسی را در ۳/ ۰و ۰/۶میلی مولار کادمیوم کاهش داد. در مطالعات پیشین گزارش شده که میزان بیان ژن GST در شرایط تنش و تلقیح باکتری افزایش یافته در حالی که در این مطالعه شاهد کاهش بیان ژن GST هستیم که بر عکس گزارش‌های قبلی بود. این مطالعه نشان داد که در رقم گنبد در همه تیمارها بین بیان ژن وفعالیت آنزیم مطابقت وجود دارد. در رقم زرین فقط در شرایط تنش بین تلقیح باکتری (نسبت به عدم تلقیح) بیان ژن وفعالیت آنزیم مطابقت داشت.

۴-۷-نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این تحقیق به طور خلاصه شامل موارد زیر می‌باشد

۱-تنش شوری موجب کاهش صفات فیزیولوژیکی ازجمله وزن تر و خشک ساقه و ریشه شد.

۲-تلقیح باکتری‌های استرپتومایسس سبب بهبود و افزایش رشد گیاهچه‌ها در شرایط تنش شوری و عدم تنش نسبت به عدم تلقیح باکتری شد.

۳-تنش شوری موجب افزایش محتوی ترکیبات آمینواسیدی مانند پرولین در گیاهچه‌ها شد. تلقیح باکتری‌های استرپتومایسس سبب افزایش بیشتر محتوی پرولین نسبت به عدم تلقیح در شرایط تنش شوری شد.

۴-تنش شوری و باکتری‌های استرپتومایسس بر روی رونوشت سلولی (بیان ژن) تاثیر گذار است

پیشنهادات

۱-این احتمال وجود دارد که پاسخ سایر رقم‌ها به تلقیح باکتری استرپتومایسس‌ها متفاوت باشد توصیه می‌شود این آزمایش بر روی سایر رقم‌ها نیز انجام شود

۲-در این آزمایش ۲ سویه باکتری مورد مطالعه قرار گرفت. پیشنهاد می‌شود طیف وسیعی از سویه‌های استرپتومایسس مورد بررسی قرار گیرد.

۳-توصیه می‌شوداز باکتری‌های ایزوله شده بومی هر منطقه برای مطالعه اثر باکتری بر روی رقم مورد کشت هر منطقه استفاده شود

۴-برای بررسی اثر تنش شوری و باکتری‌های استرپتومایسس بر فرایندهای بیولوژی سلولی توصیه می‌شود مطالعات در زمینه پروتئومیکس انجام شود

پیوست

جدول پیوست ۱- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای صفات وزن تر و خشک ریشه و ساقه برای باکتری سویه C-2012

منابع تغیر	درجه آزادی	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	محتوی آب نسبی
رقم	۱	۹/۹۴	۱۷/۳٤	۹۲۲/٥٦	٦/۱۹	۲۸/۰۱
تنش	۱	٦۹۲۰/۷۰	۱۱۲/۹٤	۲۸٦٤/٥۳	٥/٤۲	۱۰۲٦/٦٤
تلقیح	۱	۲٦٤۹/۱٥	۲۰/٥۳	۳٦۰/۳۷	۲/٥۰	۲۱٤/۳۸
رقم x تنش	۱	۱۹٥/۷۹**	۰/۷۳٥	٤/۸٦	۰/۱۷۲	۲۲٤/۲۹
رقم x تلقیح	۱	۱۳۰/٤۳*	۲٤/۰	۲۳۸/۱٤**	۱/۳٤	۱۲۳/٦۲
تلقیح x تنش	۱	٥۸/۱۲	۷/۲٦*	۳٦/۰۱*	۰/۲۸۸	۳۱۳/۷۱**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۳۲۳/۰۳**	۰/۰۱٥*	۳٤/٥٦*	۰/۰۸**	۳٦۸/٤۰**
تکرار	۲	۱۰	۱/۰۰۱	۹	۰/۰٥٤	۷
خطا	۱٦	۱٥/۹٦	۰/۲٥۰	۷/۷۷	۰/۰٥۰	۲۰/۹۲
ضریب تغیرات		۳۰/۲	۳٤/٦	۱٥/۷	۲٤/۰٤	۱۸/۲

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۱- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای کلروفیل a وb وکلروفیل کل و محتوی سدیم برای باکتری سویه C-2012

منابع تغیر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیلb	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوی سدیم
رقم	۱	۲٤/٦۳	۱۳/۷	۱۲۸/۰٤	۱/۹	۷/٦۳
تنش	۱	۱/۱٥	٤/۹۳	۱٦/۱۹	۰/۱٥٥	۱٥۱/۱۷
تلقیح	۱	٤۲۹/۱۸	۳۰/۰۹	٦۱٤/۸۲	۲٤/۷۲	۲/۲٥
رقم x تنش	۱	۰/۰۰۳	۰/۲۳۹	۰/۳٥۸	۰/۰۹٦	۹/۲۲
رقم x تلقیح	۱	۲۰/۳٥**	۳/۹۲**	۱۹۱/۸۷**	۰/۸۱۳	۱/۲۲**
تلقیح x تنش	۱	۱۳٦/٤۳**	۲٥/۳٦**	۱۸٥/۱٤**	۳/٥۸**	۹/۱۳**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۱/۷۳*	۰/۳۹۰*	۱۲/٦٦	۰/۰٤۳*	۰/۰۳٥**
تکرار	۲	۳۰	۰/۰۰۳	۲۳	۰/۰۷٥	۰/۰۰۹
خطا	۱٦	۱/۰۲۰	۰/۳۱۳	٤/۱۹	۰/۱۱۷	۰/۱۰۱
ضریب تغیرات		۲۷/٦	۳۱	۲۸/۱	۲٥/۹	۲۳/٦

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۱- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پتاسیم و کلسیم و فعالیت آنزیم sod , cat برای باکتری سویه C-2012

منابع تغیر	درجه آزادی	محتوی پتاسیم	نسبت پتاسیم به سدیم	محتوی کلسیم	آنزیم sod	آنزیم CAT
رقم	۱	۸/۳۷	۱۰/۲۳	۰/٤۲۳	۲۲٦۷/۰۷	۱/۳٤
تنش	۱	۸/۷۰	۲۳۹۹/۰۳	۰/۰۱۷	۹۲۷۰۳/۰۹	۰/۸۲۰
تلقیح	۱	۳۵/۳۰	۱٦/۵۸	۰/۳٤۷	۱٦۹۹۸/۹۱	۰/۰۱٦
رقم x تنش	۱	۱۲/۸۸	۱/٤۲	۰/۵۹۹	۱۰٤۲٦/۲٤	۲/٦۹*
رقم x تلقیح	۱	۰/۰۰۱	٦/۰۸*	۱/۱۹**	۱٦۹۸۷/۲۹	۲/۰۳
تلقیح x تنش	۱	۱۰۵/**۷٦	۳۲/۵۳**	۰/۰۹٤	۲٦۱۸۹/۸۰	۰/۲۱۲
رقم x تنش x تلقیح	۱	۰/۹۲۸*	۳٤/۳٦**	۰/۱۸۱*	۱۱۷۸۳/۱۷*	۰/۰۰٦*
تکرار	۲	۲/۰۲	۰/۰٦٤	۰/۰۱۲	۳۸۸۱/۰٤	۰/۰۰۸
خطا	۱٦	۸/۸۲	۱/۳۲	۰/۰۳۹	٦۳۷۳/۲۰	۰/٦٦۹
ضریب تغیرات		۱۰/٤	٦۵/۱	۲۰/۵	۲٦	۱۳

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۱- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم APX,GST, and POX برای باکتری سویه C-2012

منابع تغیر		آنزیم APX	آنزیم POX	انزیم GST	پروتیئن	MDA
رقم	۱	۱۳۸۳/٦۱	٤۹٤/۹۷	٤/۱۹	٦٦۲/٦۸	۹/۷
تنش	۱	۱٤۵۱/۲۸	۹٤/٦۸	۰/۸۸٦	۸/۲٤	۳/۹۰
تلقیح	۱	۲۳۳/۹٤	۰/۰۵۹	۰/۵٤۱	۱۱۲/۰۷**	۲/۲۹
رقم x تنش	۱	۱٤۲/۵۷	۰/۳۹۲	۱/٦۸**	۳٤/۲۹**	۵/۲۵
رقم x تلقیح	۱	۲۰۹/۵۷**	۳۷/۷٦**	۰/۰۸۵	۹۷/۹٦**	۲/۷۱*
تلقیح x تنش	۱	٦۹/۱۷**	۳۵/۷۲**	۰/۰۲۱	٦/۹۷	۵/۲۵
رقم x تنش x تلقیح	۱	٦۹/۱۷*	۲۳/٦۳**	۰/۰٤۳*	۲٤/۳۷**	۷/۳۳
تکرار	۲	۱۵/۰۱	۱٦	۰/۰۰۳	۲/۰۰۱	۵/۲۵
خطا	۱٦	٤/٦۲	۲/٤۳	۰/۰۷۳	۲/۵۲	۰/۰۰۳
ضریب تغیرات		۳٤/۰۷	۲۵	۳۷	۱۳/۵	۱۳/۳

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۱- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پرولین و میزان بیان نسبی ژن‌های SOD,APX and GST برای باکتری سویه C-2012

منابع تغیر	درجه آزادی	پرولین	بیان نسبی ژن SOD	بیان نسبی ژنAPX	بیان نسبی ژنGST
رقم	۱	۵/۸۷	۰/۰۱٤	٦/٤۰	۱۰۷/۸۵
تنش	۱	۲٤/٦۱	۰/۲۰۱	۰/۷۰۱	۹۳/۹۹
تلقیح	۱	۱/۱۲	۰/۰۸۲	۰/۷۲۲	٤۸/۷۰
رقم x تنش	۱	۵/۸۳	۱/۷۲	۳/۰٤	۸۹/٤۹**
رقم x تلقیح	۱	۰/٦۰۹**	۰/۸٤۰**	۰/۱۲۵	۵٤/۵٦**
تلقیح x تنش	۱	۰/٤٦۲*	۰/۳۱۵**	۰/٦۷۳	۵٦/۹۷**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۰/۷٦۳**	٤/٤۵**	٦/۱۸٦*	٤۱/۷۵**
تکرار	۲	۰/۰۰۷	۰/۰۷٦	۰/۰۰٤	۲/۰۱۵
خطا	۱٦	۰/۰٦۵	۰/۰۲۹	۰/۲۸٦	۰/۱۷۱
ضریب تغیرات		۳٦	٤٦/۸	۳۲/٤	۳۰/۲

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۲- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای صفات وزن تر و خشک ریشه و ساقه برای باکتری سویه S2

منابع تغیر	درجه آزادی	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	محتوی آب نسبی
رقم	۱	۹۱۱/٤۳	٤/۳۳	٦۷۳/۱	۳/۸٤	۷/۹۱
تنش	۱	۷۵۹۳/٤۸	۹٤/٤۰	۲۰۸۵/۰۷	٤/۰۰۲	٦۱۰۲/۵٤
تلقیح	۱	۱۲٦۵/۸۵	۲٦/۰٤	۱۷۱/۲۰	۱/۷۰	۱٤٦۹/٤۰
رقم x تنش	۱	۱٦۳/۸۰	۷/۲٦	۷۳/۱۵	۱/۱۲	۱۹/۲۹
رقم x تلقیح	۱	۵۸/۵۹	٦/٦۱	٤٦/۷٦	۰/۰۰۲	۱/۲٤
تلقیح x تنش	۱	٤۹۹/۵۹	۵/٦۰	٤۱/۸۷	۱/۱۲	۲۹/۹۵
رقم x تنش x تلقیح	۱	۸۱۰/۸٤**	۲/۹٤*	۳۷/۲۵*	۰/۰۰۲**	۷٤/۷۵*
تکرار	۲	۵	۰,۰۰۷	۱۳	۰/۰۵۵	٤
خطا	۱٦	۲۱/۹۸	۰/٤۵	۸/۳۰	۰/۰۸۵	۳۱/۹۵
ضریب تغیرات		۲۸/٤	۲۳/۱	٤۰/۸٦	۷/۱۵	۳۵/۰٦

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۲- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای کلروفیل a وb وکلروفیل کل و محتوی سدیم برای باکتری سویه S2

منابع تغیر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیلb	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوی سدیم
رقم	۱	۹۶/۸۱	۵۸/۸۱	۴۹۷/۳۵**	۰/۲۳۰	۳/۳۲
تنش	۱	۴۳۷/۲۳	۱۲/۰۹	۲۹۸/۷۹**	۲/۹۹	۱۰۶/۵۷
تلقیح	۱	۰/۱۴۷	۰/۱۰۰	۷۵/۳۱	۱۸/۲۵	۲/۴۴
رقم x تنش	۱	۲۱۳/۸۹	۰/۳۰۲	۱۵۹/۶۰**	۰/۰۴۳	۰/۲۷۰
رقم x تلقیح	۱	۴۴/۶۶*	۰/۹۹۹	۹/۳۱	۳/۷۸	۱۹/۸۷
تلقیح x تنش	۱	۱۸/۶۰	۲/۵۲	۱۱/۱۹	۰/۰۳۶	۴/۵۲
رقم x تنش x تلقیح	۱	۷/۲۰*	۳/۱۷**	۸۷/۳۸*	۰/۰۱۰*	۱۶/۴۴**
تکرار	۲	۱/۰۹	۰/۰۰۸	۶/۰۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۸۱
خطا	۱۶	۹/۶۵	۰/۷۹۸	۱۸/۴۷	۰/۶۷۸	۰/۱۲۵
ضریب تغیرات		۴۸/۷	۳,۳۲	۱۸/۰۶	۲۷/۷	۳۰/۰۲

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۲- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پتاسیم و کلسیم و فعالیت آنزیم sod , cat برای باکتری سویه S2

منابع تغیر	درجه آزادی	محتوی پتاسیم	نسبت پتاسیم به سدیم	محتوی کلسیم	آنزیم sod	آنزیم CAT
رقم	۱	۸/۲۷	۸۷/۱۲	۳/۶۹	۹۰۳۹/۱۲	۲۷/۹۲
تنش	۱	۳۲/۳۴	۵۱۶۰/۰۷	۰/۲۸۶	۶۶۳۰/۶۶	۷/۰۶۳
تلقیح	۱	۹/۳۵	۳۷/۰۸	۲/۰۹	۱۶۵۸/۶	۱۴/۱۹
رقم x تنش	۱	۰/۳۶۴	۶۹۳/۰۷	۲/۰۳**	۳۸۷/۲۴	۱۴/۲۷
رقم x تلقیح	۱	۱۰۸۶/**۸۳	۴/۹۸	۰/۷۰۱**	۷۳۰۰۰/۲۵**	۳۲/۷۱**
تلقیح x تنش	۱	۱۰۲۱/۱۷**	۵۸/۸۵**	۶/۲۰۹**	۱۷۱۲۰/۱۸**	۳۰/۵۶**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۴۰/۸۶*	۲۴/۰۹**	۰/۰۸۶*	۲۰۲۴۹/۵۴**	۲۳/۸۶**
تکرار	۲	۳/۳	۰/۰۰۶	۰/۰۱۹	۲	۱/۰۳
خطا	۱۶	۷/۰۸	۲/۹۶	۰/۰۱۹	۴۹۴۶/۱۶	۰/۶۵۵
ضریب تغیرات		۳۱/۶۰	۵۴/۲	۳۵/۵	۴۵/۸	۲۸/۴

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۲- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم APX,GST, and POX برای باکتری سویه S2

منابع تغیر		آنزیم APX	آنزیم POX	انزیم GST	پروتیئن	پرولین
رقم	۱	۱۷۳۸/۷	۸۳۲/۳۱	۱/٤٥	٤۳٤/۷۷	۳/۷٦
تنش	۱	٤٦۷۸/۲	٦۰۳/۲۷	۱/۲٦	۰/۳۰٤	٤٤/۷۷
تلقیح	۱	۱٥٤٦/٤	۱۰٥/٥۳	۳/۸٥	٤٦۹/۹۳	۳/۹۷
رقم x تنش	۱	٥٤۹/٥۳**	۸۷۷/۲۱**	٥/۰۷**	٥۹/٥۳*	۳/٤۹
رقم x تلقیح	۱	۱/۲۹٤	۱۱۳۱/۴۷**	۷/۲۸**	۱۱۸۰/۲۰**	۰/۳۰۲
تلقیح x تنش	۱	۸/۲۸٦	۱۹٥۷/۱۹**	۰/٤۸۸	٥٥۷/۲۸**	۳/۲۹**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۱۲۰۷/٤۳**	۱۰۷/۸٤*	۱/٦۱**	۱۰۷/۷۳**	۰/۱٦۳**
تکرار	۲	۰/۰۷	٤	۰/۰۰٦	۰/۰۰۰۷	۰/۰۷۰
خطا	۱٦	۱۱/۹۲٦	۱۸/۸٥		۷/۹۷	۰/۰۸۸
ضریب تغیرات		٦۹/٤	٤٤/۷	۳۰/۱	۲۷/۷	۲٦/۳

*و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول پیوست ۲- جدول تجزیه واریانس و میانگین مربعات برای محتوی پرولین و میزان بیان نسبی ژن‌های SOD,APX and GST برای باکتری سویه S2

منابع تغیر	درجه آزادی	MDA	بیان نسبی ژن SOD	بیان نسبی ژنAPX	بیان نسبی ژن GST
رقم	۱	۱/۰۷	۱۱/۰۹	۱۷٤۷/۳۳	۰/۰۱٦
تنش	۱	۳/۹۰	۱۲/٤۲	۷۲/۰۲	۱/٤٥
تلقیح	۱	۱/۰٤	۲۳/۹۱	۱۸٤۲/۳۱	۰/۳٥۳
رقم x تنش	۱	۸/۷۸	٤/۷٦**	۱/۳۲٤	۰/۱۳٥
رقم x تلقیح	۱	۲/۲۹	٥/۸٥**	۱۸٥/۳٤**	۰/۰۱٥
تلقیح x تنش	۱	۸/۷۸**	۱۲/۸۰**	۱۱۸۲/۳۳**	۰/۳۱٤**
رقم x تنش x تلقیح	۱	۱/۹۱	۹/٥٦**	۷۳۰/۹۷**	۰/۱۳۷**
تکرار	۲	۱	٤	۰/۰۷۰	۰/۰۰٦
خطا	۱٦	۱/۰٤	۰/۱۷۷	٤/۲۳۱	۰/۰۰۸
ضریب تغیرات		۲۱/٤	۲٥/۰٦	٤٥/۹	٤٤/٦

منابع

Alla, M. M. N., Abogadallah, G. M., Badran, E. G., Nada, R. M. and Hassan, N. M. 2014. Supplementary CaCl2 ameliorates wheat tolerance to NaCl.*Acta physiologiae plantarum*, *36*(8), 2103-2112.

Akhtar, S. S., Andersen, M. N., Naveed, M., Zahir, Z. A. and Liu, F. 2015. Interactive effect of biochar and plant growth-promoting bacterial endophytes on ameliorating salinity stress in maize. *Functional Plant Biology*, *42*(8), 770-781.

Ahmadi, J., Asgharzadeh, A., and Bakhtiari, S. 2013. The effect of microbial inoculants on physiological responses of two wheat cultivars under salt stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, *1*(4), 421-431.

Ara, N., Nakkanong, K., Lv, W., Yang, J., Hu, Z., and Zhang, M. 2013. Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in the stems and roots of two cucurbit species ("Cucurbita maxima" and "Cucurbita moschata") and their interspecific inbred line "Maxchata".*International journal of molecular sciences*, *14*(12), 24008-24028.

Beneduzi, A., Ambrosini, A. and Passaglia, L. M. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, *35*(4), 1044-1051.

Bagheri, A. A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadsatari, T. and Babaeizad, V. 2013. Effect of endophytic fungus, Piriformospora indica, on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (Oryza sativa L.) under salinity stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, *1*(11), 1337-1350.

Banerjee, A. and Roychoudhury, A. 2015. WRKY proteins: signaling and regulation of expression during abiotic stress responses. *The Scientific World Journal*, *2015*.

Carmen, B. and Roberto, D. 2011. Soil bacteria support and protect plants against abiotic stresses. *Abiotic stress in plantsmechanisms and adaptations,(Ed.: A. Shan er), Pub. InTech*, 143-170.

Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chakraborty, A. P. and Dey, P. L. 2013. Water stress amelioration and plant growth promotion in wheat plants by osmotic stress tolerant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(5), 789-803.

Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F. and Margis-Pinheiro, M. 2012. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and molecular biology*,*35*(4), 1011-1019.

D'Arcy-Lameta, A., Ferrari-Iliou, R., Contour-Ansel, D., Pham-Thi, A. T. and Zuily-Fodil, Y. 2006. Isolation and characterization of four ascorbate peroxidase cDNAs responsive to water deficit in cowpea leaves. *Annals of botany*, *97*(1), 133-140.

Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. and Esfandiari, M. 2007. THE EFFECT OF SALT STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYMES'ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION ON THE WHEAT SEEDLING. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *35*(1), 48.

Fourcroy, P., Vansuyt, G., Kushnir, S., Inzé, D. and Briat, J. F. 2004. Iron-regulated expression of a cytosolic ascorbate peroxidase encoded by the APX1 gene in Arabidopsis seedlings. *Plant physiology*, *134*(2), 605-613.

Gamalero, E. and Glick, B. R. 2011. Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. In *Bacteria in agrobiology: plant nutrient management*(pp. 17-46). Springer Berlin Heidelberg.

Gill, S. S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, *48*(12), 909-930.

Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A. and Park, S. W. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in Solanum tuberosum through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *Journal of Plant Growth Regulation*, *32*(2), 245-258.

Habib, S. H., Kausar, H. and Saud, H. M. 2016. Plant growth-promoting Rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in Okra through ROS-scavenging enzymes. *BioMed research international*, *2016*.

Hussain, M. B., Zahir, Z. A., Asghar, H. N. and Asghar, M. 2014. Can catalase and exopolysaccharides producing rhizobia ameliorate drought stress in wheat. *Int J Agric Biol*, *16*, 3-13.

Heidari, M. and Golpayegani, A. 2012. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (Ocimum basilicum L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *11*(1), 57-61.

HMAEID, N., METOUI, O., Meriem, W. A. L. I., ZORRIG, W. and ABDELLY, C. 2014. Comparative effects of Rhizobacteria in promoting growth of Hordeum maritimum L. plants under salt stress. *J. Plant Biol. Res.*, *3*, 37-50.

Han, H. S. and Lee, K. D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Res J Agric Biol Sci*, *1*(3), 210-215.

Iqbal, M. A., Khalid, M., Zahir, Z. A. and Ahmad, R. 2016. Auxin Producing Plant Growth Promoting Rhizobacteria Improve Growth, Physiology and Yield of Maize under Saline Field Conditions. *International Journal of Agriculture & Biology*, *18*(1).

Ji, S. H., Gururani, M. A. and Chun, S. C. 2014. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological research*, *169*(1), 83-98.

Jha, Y. and Subramanian, R. B. 2013. Paddy plants inoculated with PGPR show better growth physiology and nutrient content under saline condition.*Chilean journal of agricultural research*, *73*(3), 213-219.

Jain, M., Ghanashyam, C. and Bhattacharjee, A. 2010. Comprehensive expression analysis suggests overlapping and specific roles of rice glutathione S-transferase genes during development and stress responses.*BMC genomics*, *11*(1), 1.

Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N. and Johri, A. K. 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with Piriformospora indica. *Microbiology*,*155*(3), 780-790.

Kang, S. M., Khan, A. L., Waqas, M., You, Y. H., Kim, J. H., Kim, J. G and Lee, I. J. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in Cucumis sativus. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 673-682.

Kim, Y. H., Jeong, J. C., Lee, H. S. and Kwak, S. S. 2013. Comparative characterization of sweetpotato antioxidant genes from expressed sequence tags of dehydration-treated fibrous roots under different abiotic stress conditions. *Molecular biology reports*, *40*(4), 2887-2896.

Li, J., McConkey, B. J., Cheng, Z., Guo, S. and Glick, B. R. 2013. Identification of plant growth-promoting bacteria-responsive proteins in cucumber roots under hypoxic stress using a proteomic approach. *Journal of proteomics*, *84*, 119-131.

Naveed, M., Hussain, M. B., Zahir, Z. A., Mitter, B. and Sessitsch, A. 2014. Drought stress amelioration in wheat through inoculation with Burkholderia phytofirmans strain PsJN. *Plant growth regulation*, *73*(2), 121-131.

Naveed, M., Mitter, B., Sessitsch, A. and Reichenauer, T. G. 2012, November. Endophytic colonization of Burkholderia phytofirmans strain PsJN induces drought-stress tolerance in maize. In *I World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture 1009* (pp. 117-125).

Niazi, A., Ramezani, A. Dinari, A. 2014. GSTF1 Gene Expression Analysis in Cultivated Wheat Plants under Salinity and ABA Treatments.*Molecular Biology Research Communications*, *3*(1), 9-19.

Naveed, M., Mitter, B., Reichenauer, T. G., Wieczorek, K. and Sessitsch, A. 2014. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by Burkholderia phytofirmans PsJN and Enterobacter sp. FD17.*Environmental and Experimental Botany*, *97*, 30-39.

Paul, D. and Lade, H. 2014. Plant-growth-promoting rhizobacteria to improve crop growth in saline soils: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, *34*(4), 737-752.

Okubara, P. A., Call, D. R., Kwak, Y. S. Skinner, D. Z. 2010. Induction of defense gene homologues in wheat roots during interactions with Pseudomonasfluorescens. *Biological control*, *55*(2), 118-125.

Ozturk, L. O. K. M. A. N., Demir, Y., Unlukara, A., Karatas, I. L. H. A. M. I., Kurunc, A. H. M. E. T. Duzdemir, O. 2012. Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves.*Rom Biotech Lett*, *17*, 7227-7236.

Qurashi, A. W. and Sabri, A. N. 2011. Osmoadaptation and plant growth promotion by salt tolerant bacteria under salt stress. *African Journal of Microbiology Research*, *5*(21), 3546-3554.

Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D. and Bonilla, R. 2012. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (Zea mays).*Applied Soil Ecology*, *61*, 264-272.

Rubio, M. C., Bustos-Sanmamed, P., Clemente, M. R. and Becana, M. 2009. Effects of salt stress on the expression of antioxidant genes and proteins in the model legume Lotus japonicus. *New Phytologist*, *181*(4), 851-859.

RODRÍGUEZ-SERRANO, M. A. R. Í. A., ROMERO-PUERTAS, M. C., Zabalza, A. N. A., Corpas, F. J., GÓMez, M., Del Rio, L. A. and Sandalio, L. M. 2006. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (Pisum sativum L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation in vivo. *Plant, Cell & Environment*, *29*(8), 1532-1544.

Shahabivand, S., Maivan, H. Z., Mahmoudi, E., Soltani, B. M., Sharifi, M. and Aliloo, A. A. 2016. Antioxidant activity and gene expression associated with cadmium toxicity in wheat affected by mycorrhizal fungus. *Žemdirbystė (Agriculture)*, *103*(1), 53-60.

Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. Vitti, A. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International journal of molecular sciences*,*16*(6), 13561-13578.

Sabbagh, E., Lakzayi, M., Keshtehgar, A. Rigi, K. 2014. The effect of salt stress on respiration, PSII function, chlorophyll, carbohydrate and nitrogen content in crop plants. *Intl J Farm & Alli Sci*, *3*, 988-993.

Sharma, R., Sahoo, A., Devendran, R. and Jain, M. 2014. Over-expression of a rice tau class glutathione s-transferase gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in Arabidopsis. *PloS one*, *9*(3), e92900.

Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. Vitti, A. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International journal of molecular sciences*,*16*(6), 13561-13578.

Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y. Askari, H. 2012. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of Streptomyces under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(4), 1503-1509.

Stefan, M. A. R. I. U. S., Munteanu, N., Stoleru, V. Mihasan, M. A. R. I. U. S. 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. *Romanian Biotechnological Letters*, *18*(2), 8132-8143.

Tank, N. Saraf, M. 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*, *5*(1), 51-58.

Thornalley, P. J. 2008. Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems-role in ageing and disease. *Drug metabolism and drug interactions*, *23*(1-2), 125-150.

Upadhyay, S. K., Singh, J. S., Saxena, A. K. and Singh, D. P. 2012. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biology*, *14*(4), 605-611.

Vardharajula, S., Zulfikar Ali, S., Grover, M., Reddy, G. and Bandi, V. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting Bacillus spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, *6*(1), 1-14.

Wang, C. J., Yang, W., Wang, C., Gu, C., Niu, D. D., Liu, H. X. and Guo, J. H. 2012. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. *PLoS One*, *7*(12), e52565.

Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T. Shigeoka, S. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant physiology*, *123*(1), 223-234.

Abstract

The effect of two plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strains, Streptomyces strain C-2012 and Streptomyces strain S2, on growing wheat cultivars in salt stress, has been studied under greenhouse conditions. The study included growth parameters, mineral concentration, antioxidant enzyme activity level and gene expression patterns sod,apx and gst in salinity condation. Salinity reduced plant growth, but PGPR inoculation reduced its harmful effect salinity. Plants inoculated with PGPR under saline conditions showed, increase dry weight steem and root and prolin content,chl a,b, carotenoid content as compared to non-inoculated. PGPR inoculated plants showed reduced concentrations of Na and Ca as compared to non-inoculated plants under saline conditions. Plants inoculated with PGPR under saline and non saline conditions also showed significant variations in antioxidant activity levels SOD, APX, GST, CAT and POX. In response to salt stress and inoculated PGPR results showed that gene expression patterns ascorbate peroxidase (APX) and glutathione-stransferases (GST), Superoxide dismutase (SOD) were significantly different in these two cultivars. The results obtained from this study suggest that *S.strain C-2012* and *S.Strain S2* can be used to alleviate salt stress in wheat plants. Also, no correlation was observed between mRNA and enzyme activity in some cases, which indicate that post-transcriptional and post-translational regulations may play major roles.

Key words: wheat ,PGPR, Salt stress, Antioxidant enzyme, Gene expression

Shahrod University Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc Thesis in Agriculture of Biotechnology

Effect of *Streptomyses* spp. on physiological and molecular characters of wheat varieties under salt stress

By: Alireza Akbari

Supervisors:

Dr. Shahrokh Gharanjik

Dr. Akram Sadeghi

Advisors:

Dr. Parisa Koobaz

September 2016