بررسی برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در همیاری همولوگ و هترولوگ بین ارقام گندم (*Triticum aestivum* L.) با باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*

ایمانه دهقانی[1]، اکبر مستاجران[2*]

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۶
تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۹

چکیده

یکی از راهکارهای بهبود کمیت و کیفیت محصول گندم استفاده از سویه‌های همولوگ باکتری Azosprillum brasilense با گندم می‌باشد. برای تعیین سویه همولوگ (وجود رابطه ارگانیک بین دو عضو و یا اندام)، بررسی معیارهای رویشی و شاخص‌های دفاعی ضروری است. در این مطالعه از ترکیب شش رقم گندم بومی ایران به نام‌های امید، سرداری، روشن، شعله، طبسی و شاه‌پسند با دو سویه Sp7 و Sp245 از باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس با غلظت 10^7 CFU ml^{-1} جهت معرفی یک سیستم همیار همولوگ استفاده گردید. نمونه‌های گیاهی ده روزه برداشت شده و شاخص‌هایی نظیر وزن خشک، حداکثر طول بخش هوایی، طول ریشه، تعداد ریشه و انشعابات آن، پروتئین، پرولین، فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان می‌دهد که میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در اثر تلقیح گندم با سویه‌های Sp7 و Sp245 باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس افزایش یافت و تمام شاخص‌های اندازه‌گیری شده در Sp245 نسبت به Sp7 بیشتر بود به استثنای پرولین که برای هر دو سویه کاهش یافت. بهترین ترکیب سیستم همیاری در روشن-Sp245 ملاحظه شد که میانگین شاخص‌های اندازه گیری شده در آن چندین برابر سایر ترکیبات همیاری بین رقم-سویه بود.

واژه‌های کلیدی: آزوسپیریلوم برازیلنس، تیروزین آمونیالیاز، شاخص‌های فیزیولوژیک، فنیل آلانین آمونیالیاز، گندم، هومولوگ.

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) از محصولات عمده غذائی در دنیا به شمار می‌رود و نقش بارزی در تأمین غذای مردم دارد (Gupta et al., 2008). یکی از راهکارهای بهبود کمیت و کیفیت محصول گندم در سال‌های اخیر استفاده از سیستم‌های همیاری گندم با باکتری‌های محرک رشد (Plant-Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) می‌باشد. از زمان کشف اولین گونه از جنس باکتری آزوسپیریلوم (Döbereiner and Day, 1975) یعنی *آزوسپیریلوم برازیلنس* (*Azospirillum brasilense*) تا به امروز، گونه‌های مختلفی از این جنس شناسایی شده است که در زمره معروف‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه قرار گرفته‌اند (Tarrand et al., 1978). باکتری‌های محرک رشد گیاه پتانسیل بالایی برای استفاده در کشاورزی دارند.

---

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش علوم گیاهی. رساله دکتری تحت عنوان: اثر تلقیح باکتری و تنش خشکی روی بیان ژن DREB2 و مقدار آبسیزیک اسید در گیاه گندم تحت راهنمایی دکتر اکبر مستاجران
۲. استاد، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش علوم گیاهی (نویسنده مسئول Mostajeran@sci.ui.ac.ir)

به طور مثال، گونه *آزوسپیریلوم برازیلنس* به عنوان مایه تلقیح در کشاورزی و به طور ویژه در مورد خانواده گرامینه به کاربرده شده و سبب بهبود رشد و محصول دهی عمده گونه‌های این خانواده شده است (Dobbelaere et al., 2001; Hartmann and Baldani, 2006). بهبود کمی و کیفی محصول گندم به دلیل اثر این باکتری بر روی افزایش تثبیت ازت (Bermner et al., 1995) می‌باشد. مطالعات دیگری نیز نشان داده است که این ویژگی جنس *آزوسپیریلوم* به سبب سنتز فیتوهورمون‌ها است (Perrig et al., 2007) که سبب افزایش رشد ریشه و جذب بیشتر آب و املاح می‌گردد (Bashan and Holguin 1997; Dobbelaere et al., 2003; Perrig et al., 2007). اکبری و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که *آزوسپیریلوم* در ریشه, از طریق تولید اکسین و نیتریت می‌تواند سبب تحریک طویل شدن ریشه، توسعه ریشه جانبی و افزایش وزن خشک گردد (Akbari et al., 2007).

مطالعات میکروسکوپی نشان می‌دهد که سویه‌های *آزوسپیریلوم برازیلنس* می‌توانند فضاهای بین سلولی کورتکس و حتی بافت‌های آوندی ریشه را آلوده کنند. به طور مثال, تایید شده‌است که سویه Sp245 از این گونه بر خلاف سویهSp7، قادر به آلوده کردن بخش‌های درونی ریشه گندم می‌باشد (Michiels et al., 1991).

بلدانی و همکاران (۱۹۸۳) مشاهده کردند که سویه‌های خاصی از باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* که از ریشه‌های یک گیاه زراعی خاص جدا سازی شده بودند قادر به استقرار مجدد در ریشه همان گیاه می‌باشند (Baldani et al., 1983) که اصطلاحا سویه‌های همولوگ نامیده می‌شدند. پیش از این نیز, پاسخ‌های رشد گندمیان از طریق تلقیح با سویه‌های همولوگ (Hegazi et al., 1981; Rai and Gaur. 1982) و هترولوگ آزوسپیریلوم (Smith et al., 1976) بررسی شده‌بود. با بررسی این گزارشات و همچنین انجام مطالعات دیگر، مشاهده شد که سویه‌های همولوگ پاسخ‌های رشدی بهتری را نسبت به سویه‌های هترولوگ (غیرهمولوگ) از نظر وزن خشک و تجمع ازت در گیاه گندم نشان دادند (Baldani et al., 1983). به علاوه, مشاهده شد که در واکنش بین گیاه با سویه باکتری همولوگ، دفاع گیاهی تا سطح غیر بیماریزا تشدید شد. به طور مثال در همزیستی گیاه یونجه با باکتری همولوگ *Sinorhizobium meliloti* (Vasse et al., 1993) و گیاه سویا با باکتری*Rhizobium japonicum* (Estabrook and Sengupta-Gopalan, 1991) سازوکارهای دفاعی افزایش یافت بدون اینکه واکنش‌های بیماری زایی وقوع یابد.

از طرفی مشاهده شد که در یک همزیستی، تعداد باکتری‌هایی که به ریشه متصل می‌شوند در سویه‌های همولوگ بیشتر از سویه‌های غیرهمولوگ بود (Dazzo et al., 1976). گرچه در مطالعه بلدانی و همکاران (۱۹۸۳) همبستگی مثبتی بین تعداد سویه‌های همولوگ اتصال‌یافته به ریشه‌گیاه و تجمع ازت گزارش شده‌است ولی معیار هومولوگ بودن فقط میزان جذب و استقرار در گیاه میزبان نیست. همولوگی به ایجاد آلودگی (Caetano Anolles and Favelukes, 1986) و واکنش‌های پیچیده

بعدی بین گیاه میزبان و سویه باکتری بستگی دارد. ممکن است سویه در ریشه استقرار یابد ولی لزوما ایجاد آلودگی و واکنش فیزیولوژیک در گیاه نکند که این می‌تواند بدلیل پیچیدگی واکنش‌های بین باکتری و گیاه میزبان (Sumner, 1990). و ترکیب نامناسب میزبان-سویه (Jain and Patriquin, 1984) باشد. لذا تناسب یا همولوگی سویه با میزبان اهمیت بسیار داشته و در صورتی محقق می‌شود که در ضمن آلودگی موفق, عملکرد فیزیولوژیک پایداری در گیاه میزبان ایجاد گردد (Baldani et al., 1986, 1987).

با توجه به ویژگی‌های سویه همولوگ و اهمیت بدست آوردن یک ترکیب مناسب میزبان-سویه (Jain and Patriquin, 1984), بررسی شاخص‌های رویشی (Baldani et al., 1983)، تدافعی (Estabrook and Sengupta-Gopalan, 1991; Santos et al., 2001) و کیفی نظیر پروتئین (Vasse et al., 1993) برای تعیین و تایید یک سیستم همیاری همولوگ بین ارقام مختلف گندم و سویه‌های باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*, ضروری می‌باشد. لذا, تعیین و معرفی یک سیستم همیاری هومولوگ از میان ترکیبات مختلف ارقام گندم و باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* می‌تواند نقش مهمی در افزایش کمیت و کیفیت محصول این گیاه داشته باشد.

به منظور تعیین یک سیستم همولوگ بین ترکیبات مختلف گندم-باکتری، از شش رقم گندم بومی در دسترس، به نام‌های روشن، امید، سرداری، شاه پسند، طبسی و شعله با دو سویه Sp7 و Sp245 با رفتارهای متفاوت از باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* استفاده گردید. در بررسی بهترین عملکرد برای انتخاب سیستم همولوگ و ضعیفترین عملکرد به عنوان هترولوگ، شاخص‌های رشد نظیر حداکثر طول بخش هوایی، میانگین طول ریشه‌ها، تعداد ریشه‌های اصلی و تعداد انشعابات ریشه اندازه‌گیری شد. همزمان فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز و نیز مقدار پرولین و پروتئین در بخش هوایی و ریشه در رطوبتی معادل ۸۰٪ ظرفیت مزرعه تعیین شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*

سویه‌های Sp7 و Sp245 از باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* از انجمن تحقیقاتی AMP Research Unit Microbe-Plant Interactions کشور آلمان تهیه شد. سویه‌های باکتری بر روی محیط NFB (Nitrogen Free Basic medium) جامد (Hartmann and Baldani, 2006) کشت و در دمای ۳۲°C انکوبه شدند. سپس سویه‌های باکتری مورد نظر بر روی محیط NFB مایع غنی شده با مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر کلرور امونیم[1] ۰/۱٪ در دمای ۳۰°C انکوبه و پس از ۴۸ ساعت غلظت باکتری از

1. NH_4Cl

طریق قرائت جذب باکتری در ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از جدول مک فارلند (McFarland, 1907) تعیین شد و از طریق رقیق‌سازی بر روی غلظت بهینه 10^7 CFU ml^{-1} که از قبل مشخص شده بود (اطلاعات منتشر نشده نویسندگان) تنظیم گردید.

ضد عفونی ارقام مختلف گندم

بذر ارقام مختلف گندم با نام‌های روشن، سرداری، طبسی، شاه پسند، امید و شعله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان و همچنین بخش بذر و نهال مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه گردید. ضدعفونی بذر ارقام گندم بر اساس روش دبریتو آلوارز (۱۹۸۹) انجام شد. در این روش (ضد عفونی پی در پی) گیاهان گندم مونوکسنیک[1] تولید شده و تمام آلودگی‌های قارچی و باکتری در بذر که سبب مهار رشد گیاهچه می‌گردد از بین می‌رود. برای ضدعفونی بذرها از اتانول، هیپوکلریت سدیم اسیدی و پراکسید هیدروژن استفاده شد. شرایط اسیدی هیپوکلریت سدیم بر اساس پیشنهاد Sweet and Boulton, (1979) صورت گرفت. ابتدا بذرهای تمیز در یک ارلن استریل با اتانول ۹۵٪ هیدراته و به مدت ۵ دقیقه شسته شدند. سپس اتانول خارج شد و بذرها در هیپوکلریت سدیم اسیدی (۲۵٪) به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. سپس, بذرها چهار بار با آب مقطر استریل شسته شد. پس از آن به مدت ۴ ساعت برای خیس خوردن در آب مقطر استریل قرار گفتند. بذرهای خیس خورده دو باره به مدت ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم اسیدی به طور مداوم بهم زده شد و با آب مقطر استریل دو بار شسته شد. بذرها سپس به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۳۵٪ قرار داده شد و سپس چهار بار با آب مقطر استریل شسته شد. لازم به ذکر است که محلول هیپوکلریت سدیم اسیدی از ترکیب سه محلول (۲۰ میلی لیترهیپوکلریت سدیم (۲۵٪), ۴ میلی لیتر محلول اسیدی که خود شامل ۱۶۰ میلی‌لیتر محلول ۱ مولار KH_2PO_4 به علاوه ۴۰ میلی‌لیتر هیدروکلراید که با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر نهایی رسید و ۲ میلی لیتر توئین ۸۰٪) در حجم نهایی ۲۰۰ میلی لیتر بدست آمد.

تلقیح و کشت بذرها

بذرهای ضدعفونی شده به مدت ۳ ساعت در آب مقطر استریل در دمای اتاق جهت آمادگی برای اعمال تیمار انکوبه شدند. سپس محیط کشت NFB مایع با فسفات بالا (۶ گرم K_2HPO_4 و ۴ گرم KH_2PO_4 در لیتر) (Okon et al., 1977) و غنی شده با مقدار کافی کلرور آمونیم ۰/۱٪ حاوی غلظت بهینه (10^7 CFU ml^{-1}) از سویه‌های باکتری تهیه و بذرها مجددا به مدت ۳

1. Monoxenic

ساعت دیگر بر روی شیکر مدل (INFORS AG, CH-4103 BOTTMINGEN) با ۱۰۶ rpm قرار داده شدند تا نفوذ باکتری‌ها به درون بذرها تسهیل گردد. سپس در شرایط استریل بذرها را از محلول حاوی باکتری خارج کرده و مدتی فرصت داده شد تا رطوبت بذرها کم شود و به ۱۴٪ برسد. بذرها پس از انتقال به ظروف اتوکلاو شده مخصوص کشت که حاوی کاغذ صافی خیس شده با آب مقطر استریل بود به مدت ۱۲ ساعت در تاریکی در دمای ۸-۱۰ درجه سانتی‌گراد جهت شکسته شدن خواب بذر قرار گرفتند. پس از سه روز، گیاهچه‌های یکنواخت به گلدان‌های استریل شده حاوی پرلیت اتوکلاو شده منتقل و در دمای ۲۲±۱°C، ۶۰٪ RH، شدت نور ۷۰۰۰ لوکس (۲۱۰ photons m^{-2} s^{-1}) و فتوپریود ۸/۱۶ (نور/تاریکی) به مدت ۷ روز قرار گرفت. مقدار رطوبت خاک از طریق آبیاری گیاهچه‌ها با محلول هوگلند (Hoaglandand Duke, 1981) در حد ۸۰٪ ظرفیت مزرعه حفظ شد. آزمایش در دو حالت گیاهان تلقیح‌شده و نشده (کنترل) با شش رقم گندم و دو سویه باکتری Sp7 و Sp245 در سه تکرار انجام شد. پس از ده روز گیاهچه‌ها برداشت و پس از جداسازی بخش‌های ریشه و هوایی برای آنالیزهای بعدی استفاده شدند. شاخص‌های اندازه‌گیری شده را بر مبنای ترکیبات مختلف گندم- آزوسپیریلوم رتبه‌بندی نموده و بهترین ترکیب به عنوان بهترین سیستم همیار همولوگ تعیین گردید.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد

شاخص‌های رشد نظیر وزن خشک بخش هوایی و ریشه، حداکثر طول بخش هوایی، میانگین طول ریشه‌ها ، تعداد ریشه‌های اصلی و تعداد انشعابات ریشه در هر گیاه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مقدار پروتئین

جهت تعیین مقدار پروتئین از روش بردفورد (Bradford, 1976) استفاده گردید. ابتدا یک گرم از بافت گیاهی از هر تیمار با ۳ میلی لیتر بافر Tris-HCl ۵۰ میلی مولار با pH ۸/۴ عصاره‌گیری شد و به مدت ۲۰ دقیقه در g ۴۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. از محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به آن یک میلی لیتر معرف برادفورد افزوده شد. مقدار پروتئین در نمونه‌های گیاهی از طریق قرائت جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Pharmacia LKB - Novaspec پس از صفر کردن جذب با بلانک (حاوی ۱۰۰ میکرولیتر بافر و ۱ میلی‌لیتر معرف) و به کمک منحنی استاندارد تعیین گردید.

اندازه‌گیری پرولین (Bates, 1973)

برای اندازه گیری مقدار پرولین، یک گرم از نمونه‌های تازه گیاهی توزین گردید و سپس نمونه‌ها درون اپندورفی به حجم ۲ میلی‌لیتر قرار گرفت. ۱/۷ میلی‌لیتر از محلول اسید سولفاسالیسیلیک ۳٪ به آن افزوده و در هاون چینی به مدت ۵ دقیقه سائیده شد. عصاره به دست آمده را در داخل لوله اپندورف ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۴۰۰ در دقیقه ورتکس نموده و در نهایت در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از سوپر نوتانت به‌دست آمده یک میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (از حل کردن ۱/۲۵ گرم پودر نین‌هیدرین در ۲۰ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار با حرارت دادن در ۵۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد و مگنت به مدت ۳۰ دقیقه به دست آمد) و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده و به مدت یک ساعت در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خارج کردن لوله‌ها از حمام آب گرم و سرد کردن آن‌ها به هر لوله آزمایش ۲ میلی لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۲ دقیقه لوله آزمایش را به شدت هم زده تا دو فاز آن کاملا از یکدیگر جدا گردد. سپس لوله‌ها برای مدت ۳۰ دقیقه ثابت نگهداشته شد. در لوله آزمایش دو فاز تشکیل می‌گردد، فاز آلی صورتی رنگ، حاوی پرولین و در بالا قرار می‌گیرد و فاز آبی که بی‌رنگ و شفاف است و در زیر فاز آلی تشکیل می‌گردد. جهت رنگ‌سنجی از فاز آلی استفاده گردید. به این منظور دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Pharmacia LKB - Novaspec به وسیله بلانک در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر روی عدد صفر تنظیم شد و سپس محلول رنگی مربوط به هر نمونه در دستگاه قرار گرفت و شدت جذب آن خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL

عصاره گیری و ارزیابی فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و تیروزین آمونیالیاز (TAL) بر اساس روش Beaudoin-Egan و Thorpe (۱۹۸۵) انجام شد. ابتدا یک گرم از بافت‌های هم سن از هر تیمار با ۳ میلی لیتر بافر Tris-HCl ۵۰ میلی مولار با pH ۸/۴ حاوی ۲-مرکاپتواتانول ۱۵ میلی مولار عصاره گیری شد و به مدت ۲۰ دقیقه در g ۴۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. مخلوط واکنش شامل ۶ میکرومول L-فنیل آلانین برای PAL و ۵/۵ میکرومول L-تیروزین، ۵۰۰ میکرومول از بافر Tris-HCl ۰/۰۵ مولار با pH ۸/۰۱ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در حجم نهایی یک میلی‌لیتر است. مخلوط واکنش در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ دقیقه انکوبه شد و بعد از این مدت با افزودن ۵۰ میکرولیتر HCl ۵ نرمال واکنش متوقف شد. فعالیت آنزیم بر اساس میزان جذب t-سینامیک اسید و p-کوماریک اسید تشکیل شده در طول موج ۲۹۰ و ۳۳۳ نانومتر به ترتیب برای PAL وTAl در مقابل بلانک (بدون عصاره) و کنترل (برای هر نمونه بدون افزودن سوبسترا) ارزیابی شد.

آنالیز آماری داده‌ها

آزمایش در یک طرح تصادفی کامل با سه تکرار انجام شد. داده‌ها به وسیله برنامه Excel مرتب شد و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از بسته نرم افزاری ∑stat و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح ۵% بررسی شد.

نتایج

مقادیر شاخص‌های رشد در ارقام گندم با سویه‌های مختلف باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*

نتایج نشان داد که همیاری میان دو سویه باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* با شش رقم گیاه گندم سبب اختلاف معنی‌دار بین میانگین شاخص های رشد نظیر وزن خشک ریشه و بخش هوایی، حداکثر طول بخش هوایی و نیز میانگین طول، تعداد ریشه‌های اصلی و تعداد انشعابات ریشه شد (P<۰/۰۵) و این اختلافات بین سویه‌ها و ارقام گندم متفاوت بود لذا در ذیل به تفاوت اثر این عوامل روی شاخص‌ها اشاره شده است.

۱- وزن خشک

وزن خشک ارقام گندم در حالت تلقیح نشده با یکدیگر تفاوت داشت (جدول ۱) و در ضمن تلقیح ارقام گندم با سویه‌های مختلفSp7 و Sp245 باکتری *آزوسپیریلوم*، اثر متفاوتی بر روی وزن خشک کل، ریشه و بخش هوایی داشت (P<۰/۰۵). به طور کلی وزن خشک ریشه و بخش هوایی در ارقام تلقیح شده بیشتر از شرایط بدون تلقیح بود. به طوری که وزن خشک گیاه در ارقام تلقیح‌شده با Sp7 و Sp245 به ترتیب ۵ و ۱۵ درصد بیشتر بود که این افزایش در دو سویه اشاره شده برای ریشه به ترتیب ۱۴ و ۴۲ درصد و در بخش هوایی به ترتیب ۴ و ۱۴ درصد نسبت به گیاهان تلیقح نشده افزایش یافت.

بیشترین افزایش وزن خشک کل در بین ارقام گندم، در رقم روشن تلقیح شده با سویه‌های Sp7 (۵٪) و Sp245 (۲۰٪) مشاهده شد. این افزایش وزن بیشتر به دلیل افزایش وزن خشک ریشه حادث شد که با سویه Sp7 به مقدار ۴۴٪ و با سویه Sp245 به ۸۸٪ افزایش یافت. در این راستا بیشترین افزایش وزن خشک بخش هوایی در رقم امید (به ترتیب ۱۰ و ۲۰ درصد برای دو سویه بود) نسبت به رقم تلقیح نشده مشاهده شد (جدول ۱). در مقابل، تلقیح رقم طبسی با سویه‌های Sp7 و Sp245 اثر معنی داری روی وزن خشک کل، بخش هوایی و ریشه نداشت (P<۰/۰۵).

۲- طول ریشه و حداکثر طول بخش هوایی

میانگین طول ریشه‌های گیاه و حداکثر طول بخش هوایی در ارقام گندم تلقیح نشده از لحاظ آماری تفاوت معنی داری داشتند (P<۰/۰۵) و تلقیح با سویه‌های Sp7 و Sp245 نیز سبب افزایش مقادیر میانگین طول ریشه‌ها و حداکثر طول بخش هوایی شد (جدول ۱). گرچه افزایش شاخص‌های اشاره شده در اثر تلقیح ارقام گندم ملاحظه شد ولی اثر سویه Sp245 به ترتیب ۲۴ و ۱۲ درصد و سویه Sp7 به ترتیب ۱۳ و ۴ درصد افزایش برای میانگین طول ریشه‌ها و حداکثر طول بخش هوایی اندازه گیری شد.

اثر رقم و سویه از لحاظ آماری روی میانگین طول ریشه‌ها و حداکثر طول بخش هوایی معنی دار بود (P<۰/۰۵) بیشترین درصد افزایش میانگین طول ریشه‌های گیاه و حداکثر طول بخش هوایی در رقم روشن با سویه Sp245 به ترتیب ۲۳ و ۸۶ درصد و کمترین درصد تغییرات، در رقم طبسی تلقیح شده با هر دو سویه مشاهده شد.

۳- تعداد ریشه‌های اصلی و انشعابات ریشه

تعداد ریشه‌های اصلی به طور متوسط بین ۳ تا ۵ عدد و تعداد انشعابات بین صفر تا ۰/۷ در رقم‌های مختلف متغیر بود(جدول ۱). تلقیح ارقام گندم با سویه‌های مختلف سبب افزایش تعداد ریشه‌های اصلی و انشعابات آن شد (P<۰/۰۵). افزایش تعداد انشعابات ریشه در مقایسه با افزایش تعداد ریشه‌های اصلی بیشتر تحت تاثیر تلقیح باکتری قرار گرفت. این افزایش برای تعداد ریشه‌های اصلی و انشعابات آن, در سویه Sp7 به ترتیب ۵ و ۱۵۰ درصد و در Sp245 برابر با ۷ و ۳۵۰ درصد متفاوت بود (P<۰/۰۵). افزایش تعداد ریشه‌های اصلی در ارقام مختلف گندم متفاوت بود (P<۰/۰۵). به طوری که در رقم شعله تلقیح شده با سویه Sp7 بیشترین افزایش در تعداد ریشه‌های اصلی (۴۴٪) و در رقم طبسی با همین سویه ۳۳٪ مشاهده شد. در رقم روشن این افزایش با سویه Sp245 به مقدار ۶٪ بود.

افزایش تعداد انشعابات ریشه در ترکیبات مختلف بین ارقام گندم و سویه‌های مختلف از لحاظ آماری متفاوت ولی قابل توجه بود (P<۰/۰۵). به طور مثال در ارقام شعله و شاه‌پسند تلقیح با هر دو سویه سبب شد تا ریشه‌های اصلی که در گیاهان کنترل بدون انشعاب بودند منشعب شوند. بعد از این دو رقم، بیشترین افزایش انشعابات در ارقام روشن (۲۸۳٪) و سرداری (۲۲۸٪) تلقیح‌شده با سویه Sp245 مشاهده شد. این در حالی بود که در رقم سرداری تلقیح‌شده با سویه Sp7، هیچ اثری روی تعداد انشعابات ریشه مشاهده نشد.

جدول ۱: میانگین وزن خشک (میلی‌گرم در گیاه)، طول ریشه و بخش هوایی (میلی متر) و تعداد ریشه و انشعابات آن در ارقام مختلف گندم تلقیح نشده و تلقیح‌شده با سویه‌های Sp7 و Sp245 باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*. درصد تغییرات (داخل پرانتز) نسبت به گیاهان تلقیح نشده (کنترل) برای هر رقم، مقادیر میانگین حاصل از ۳ تکرار و تفاوت حروف روی میانگین‌ها نشانه اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در هر بخش است.

رقم	سویه	وزن خشک		طول		تعداد	
		ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	انشعابات ریشه
امید	کنترل	۸^{e}	۲۴۰^{d}	۵۶^{g}	۲۴۵^{c}	۵^{b}	۰/۶^{f}
	Sp7	(۰) ۸^{e}	(۱۰) ۲۶۳^{b}	(۲) ۵۷^{g}	(۲) ۲۵۰^{c}	(۰) ۵^{b}	(۶۷) ۱^{e}
	Sp245	(۱۲) ۹^{d}	(۲۰) ۲۸۷^{a}	(۵) ۵۹^{g}	(۳) ۲۵۲^{c}	(۰) ۵^{b}	(۲۳۳) ۲^{b}
	میانگین	۸	۲۶۳	۵۷	۲۴۹	۵	۱/۲
سرداری	کنترل	۶^{g}	۱۵۳^{k}	۶۶^{f}	۱۶۵^{j}	۵^{b}	۰/۷^{f}
	Sp7	(۳۳) ۸^{e}	(۶) ۱۶۳^{j}	(۳۸) ۹۱^{c}	(۸) ۱۷۸^{i}	(۰) ۵^{b}	(۰) ۰/۷^{f}
	Sp245	(۶۷) ۱۰^{c}	(۱۳) ۱۷۳^{i}	(۴۴) ۹۵^{b}	(۱۷) ۱۹۳^{g}	(-۲۰) ۴^{d}	(۲۲۸) ۲/۳^{a}
	میانگین	۸	۱۶۳	۸۴	۱۷۹	۴/۷	۱/۲
روشن	کنترل	۹^{d}	۲۵۰^{b}	۵۷^{g}	۲۵۳^{c}	۵^{b}	۰/۶^{f}
	Sp7	(۴۴) ۱۳^{b}	(۴) ۲۶۰^{b}	(۳۰) ۷۴^{d}	(۴) ۲۶۳^{b}	(۰) ۵^{b}	(۱۱۷) ۱/۳^{d}
	Sp245	(۸۸) ۱۷^{a}	(۱۷) ۲۹۳^{a}	(۸۶) ۱۰۶^{a}	(۲۳) ۳۱۲^{a}	(۶) ۵/۳^{a}	(۲۸۳) ۲/۳^{a}
	میانگین	۱۳	۲۸۲	۷۹	۲۷۶	۵/۱	۱/۴
شعله	کنترل	۷^{f}	۲۲۰^{f}	۵۵^{g}	۲۰۸^{f}	۳^{f}	.^{g}
	Sp7	(۰) ۷^{f}	(۳) ۲۲۷^{e}	(۵) ۵۸^{g}	(۵) ۲۱۸^{e}	(۴۳) ۴/۳^{c}	(-) ۰/۷^{f}
	Sp245	(۱۴) ۸^{e}	(۹) ۲۴۰^{d}	(۹) ۶۰^{g}	(۱۱) ۲۳۲^{d}	(۳۳) ۴^{d}	(-) ۰/۷^{f}
	میانگین	۷	۲۲۹	۵۸	۲۱۹	۳/۷	۰/۹
طبسی	کنترل	۶^{g}	۲۰۰^{h}	۶۷^{f}	۲۱۹^{e}	۳^{f}	۰/۷^{f}
	Sp7	(۰) ۶^{g}	(۰) ۲۰۰^{h}	(۰) ۶۷^{f}	(۱) ۲۲۰^{e}	(۳۳) ۴^{d}	(۱۴۳) ۱/۷^{c}
	Sp245	(۰) ۶^{g}	(۵) ۲۱۰^{g}	(-۳) ۶۵^{f}	(۵) ۲۳۰^{d}	(۳۳) ۴^{d}	(۴۳) ۱^{e}
	میانگین	۶	۲۰۳	۶۶	۲۲۳	۳/۷	۱/۱
شاه پسند	کنترل	۷^{f}	۲۰۷^{g}	۷۱^{e}	۱۷۸^{i}	۴^{d}	.^{g}
	Sp7	(۰) ۷^{f}	(۶) ۲۲۰^{f}	(۴) ۷۴^{d}	(۶) ۱۸۸^{h}	(-۷) ۳/۷^{e}	(-) ۰/۷^{f}
	Sp245	(۰) ۷^{f}	(۱۶) ۲۴۰^{d}	(۷) ۷۶^{d}	(۱۱) ۱۹۷^{g}	(۰) ۴^{d}	(-) ۱^{e}
	میانگین	۷	۲۲۲	۷۳	۱۸۸	۳/۹	۰/۵

تغییر شاخص‌های کیفی و دفاعی در ارقام گندم و سویه‌های باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*

۱- پروتئین

نتایج نشان داد که ارقام گندم تلقیح‌نشده دارای مقدار پروتئین متفاوتی بوده ($P<0/05$) و تلقیح این ارقام با سویه‌های مختلف باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* سبب افزایش مقدار آن در بخش‌های مختلف گیاه شد (جدول ۲). اثر سویه Sp7 کمتر از سویه Sp245 روی مقدار پروتئین بود به طوری که سویه Sp24 به ترتیب موجب افزایش ۳۳ و ۲۷ درصد برای ریشه و بخش هوایی در مقایسه با ۷ و ۴ درصد در سویه Sp7 بود. تغییرات ناشی از نوع همیاری و نوع سویه نیز روی مقدار پروتئین تفاوت داشت

(P<۰/۰۵) این تفاوت در برخی از ترکیبات رقم-سویه به صورت افزایش، کاهش و یا عدم تغییر مشاهده شد (جدول ۲).

از بین ترکیبات رقم-سویه, بیشترین تاثیر باکتری روی رقم روشن تلقیح‌شده با سویه Sp245 مشاهده شد که سبب شد تا مقدار پروتئین ریشه و بخش هوایی در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده به ترتیب, ۱۱۲٪ و ۹۶٪ افزایش یابد. همچنین از بین ارقام گندم و سویه‌ها، کمترین تغییرات در رقم طبسی تلقیح شده با سویه Sp7 مشاهده شد به طوری که مقدار پروتئین ریشه کاهش یافت ولی در بخش هوایی تغییر معنی داری نسبت به کنترل نشان نداد (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین مقدار پروتئین (میکروگرم در گرم وزن تر)، پرولین (میکرومول در گرم وزن تر)، فعالیت آنزیم PAL و TAL(واحد در میلی‌گرم پروتئین) در بخش هوایی و ریشه در ارقام مختلف گندم تلقیح‌شده با سویه‌های Sp7 و Sp245 باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*. درصد تغییرات (داخل پرانتز) نسبت به گیاهان تلقیح نشده (کنترل). برای هر رقم، مقادیر میانگین حاصل از ۳ تکرار و تفاوت حروف روی میانگین‌ها نشانه اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در هر بخش است.

رقم	سویه	پروتئین		پرولین		PAL		TAL	
		ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی
امید	کنترل	۲۸۵^{f}	۳۷۶^{g}	۲۶۷^{h}	۳۳۵^{g}	۹/۶۷^{e}	۱۳/۰۱^{f}	۱۲/۱۳^{f}	۲۰/۱۱^{c}
	Sp7	(۵)۲۹۹^{f}	(۳)۳۸۸^{f}	(-۳۰)۱۸۶^{j}	(-۳)۳۲۵^{g}	(-۰/۴)۹/۶۳^{e}	(-۰/۳)۱۲/۹۷^{f}	(۲)۱۲/۳۳^{f}	(۰/۵)۲۰/۲۱^{c}
	Sp245	(۱۲)۳۱۹^{e}	(۵)۳۹۹^{e}	(-۵۶)۱۱۷^{k}	(-۳)۳۲۵^{g}	(۸)۱۰/۴۷^{d}	(۲)۱۳/۲۱^{f}	(۱۱)۱۳/۵^{e}	(۳)۲۰/۷۹^{b}
	میانگین	۳۰۱	۳۸۸	۱۹۰	۳۲۹	۹/۹۲	۱۳/۰۶	۱۲/۶۶	۲۰/۳۷
سرداری	کنترل	۳۷۳^{d}	۳۸۷^{f}	۴۶۲^{b}	۴۶۸^{d}	۸/۹۲^{g}	۱۴/۴۴^{e}	۱۵/۳^{d}	۲۰/۲۶^{c}
	Sp7	(۰)۳۷۳^{d}	(۶)۴۰۹^{d}	(-۱۱)۴۱۳^{d}	(۰)۴۶۸^{d}	(۵)۹/۳۵^{f}	(۳)۱۴/۸۳^{e}	(-۱۲)۱۳/۵^{e}	(۰/۱)۲۰/۲۹^{c}
	Sp245	(۱۳)۴۲۰^{c}	(۱۲)۴۳۵^{c}	(-۱۰)۴۱۶^{d}	(-۹)۴۲۶^{e}	(۱۹)۱۰/۵۸^{d}	(۵)۱۵/۱۵^{e}	(۱۷)۱۷/۹^{b}	(۲)۲۰/۶۳^{b}
	میانگین	۳۸۹	۴۱۰	۴۳۰	۴۰۷	۹/۶۱	۱۴/۸۱	۱۵/۵۷	۲۰/۳۹
روشن	کنترل	۳۷۴^{d}	۴۴۰^{c}	۴۸۶^{a}	۵۹۹^{a}	۱۱/۷۳^{c}	۱۷/۴^{c}	۱۵/۲۷^{d}	۲۰/۷^{b}
	Sp7	(۲۶)۴۷۳^{b}	(۲)۴۵۰^{b}	(-۹)۴۴۰^{c}	(-۴)۵۷۳^{b}	(۶)۱۲/۴۳^{b}	(۳)۱۷/۹۸^{b}	(۵)۱۶/۰۵^{c}	(۱)۲۰/۸۹^{b}
	Sp245	(۱۱۲)۷۹۲^{a}	(۹۶)۸۶۲^{a}	(-۲۰)۳۸۹^{e}	(-۱۳)۵۲۱^{c}	(۲۴)۱۴/۵۴^{a}	(۱۸)۲۰/۵۷^{a}	(۲۷)۱۹/۳۴^{a}	(۱۴)۲۳/۵۹^{a}
	میانگین	۵۴۷	۵۸۴	۴۳۸	۵۶۴	۱۲/۹	۱۸/۶۵	۱۶/۸۸	۲۱/۷۳
شعله	کنترل	۳۳۳^{e}	۳۸۵^{f}	۳۶۴^{f}	۴۱۸^{e}	۹/۹۱^{e}	۱۴/۱^{e}	۱۳/۵^{e}	۲۰/۲۳^{c}
	Sp7	(۵)۳۴۹^{e}	(۶)۴۰۷^{d}	(-۱۰)۳۲۸^{g}	(-۵)۳۹۵^{f}	(۰/۴)۹/۹۵^{e}	(۰/۴)۱۴/۱۶^{e}	(۲)۱۳/۷^{e}	(۰/۲)۲۰/۲۸^{c}
	Sp245	(۱۲)۳۷۲^{d}	(۱۴)۴۴۰^{c}	(-۸)۳۳۳^{g}	(-۸)۳۸۲^{f}	(۱۶)۱۱/۵^{c}	(۱۲)۱۵/۸^{d}	(۱۴)۱۵/۳۴^{d}	(۴)۲۱/۰۹^{b}
	میانگین	۳۵۱	۴۱۰	۳۴۲	۳۹۸	۱۰/۴۵	۱۴/۶۹	۱۴/۱۸	۲۰/۵۳
طبسی	کنترل	۲۶۸^{f}	۳۶۲^{h}	۲۵۵^{h}	۳۲۱^{g}	۹/۲۵^{f}	۱۲/۹۱^{f}	^{h}۱۰/۵۷	^{d}۱۹/۴۲
	Sp7	(-۱۱)۲۳۷^{g}	(-۱)۳۵۸^{h}	(۰)۲۵۵^{h}	(-۱)۳۱۶^{g}	(-۱۴)۷/۹۴^{h}	(-۲۸)۹/۲۹^{i}	^{i}(-۵۹)۴/۳۱	^{d}(-۴۰)۱۱/۶۷
	Sp245	(۳)۲۷۶^{f}	(۹)۳۹۴^{e}	(۰)۲۵۵^{h}	(-۵)۳۰۴^{h}	(۵)۹/۷۳^{e}	(۲)۱۳/۱۱^{f}	^{g}(۶)۱۱/۱۹	^{d}(۱)۱۹/۵۳
	میانگین	۲۶۱	۳۷۱	۲۲۴	۳۱۴	۸/۹۸	۱۱/۷۷	۸/۶۹	۱۶/۸۷
شاه‌پسند	کنترل	۲۶۰^{f}	۳۲۷^{i}	۲۲۳^{i}	۲۸۰^{i}	۸/۹۷^{g}	۱۰/۷۷^{h}	۱۲/۱۳^{f}	۱۹/۴۵^{d}
	Sp7	(۱۳)۲۹۳^{f}	(۱۰)۳۶۱^{h}	(-۲۱)۱۷۴^{j}	(-۲۱)۲۲۰^{j}	(۱۰)۹/۸۶^{e}	(۳)۱۱/۱۴^{h}	(۳)۱۲/۵۳^{f}	(۱)۱۹/۷۲^{d}
	Sp245	(۳۵)۳۵۰^{e}	(۱۵)۳۷۶^{g}	(-۱۳)۱۹۴^{j}	(-۲۴)۲۱۲^{j}	(۲۹)۱۱/۵۴^{c}	(۱۴)۱۲/۳۲^{g}	(۱۰)۱۳/۳۱^{e}	(۸)۲۱/۰۲^{b}
	میانگین	۳۰۱	۳۵۵	۱۹۷	۲۳۷	۱۰/۱۲	۱۱/۴۱	۱۲/۶۵	۲۰/۰۶

۲- پرولین

ارقام مختلف گندم حاوی مقادیر متفاوتی پرولین در بخش‌های مختلف بودند (P<۰/۰۵) و تلقیح این ارقام با سویه‌های باکتری

آزوسپیریلوم برازیلنس سبب کاهش مقدار آن نسبت به حالت غیر تلقیح شد (جدول ۲). اثر سویه روی این کاهش در مواردی بیشتر بود. به طور مثال سویه Sp245 سبب کاهش ۱۹٪ و Sp7 با کاهش کمتر (۱۳٪ کاهش) شد. این کاهش در بخش هوایی نیز به ترتیب ۱۱ و ۶ درصد مشاهده شد. در بین همیاری رقم و سویه بیشترین مقدار کاهش پرولین در ریشه (۵۶٪), در رقم امید با سویه Sp245 ولی در رقم طبسی با هر دو سویه تغییری دیده نشد. بیشترین درصد کاهش پرولین در بخش هوایی (۲۴٪) در رقم شاه پسند تلقیح شده با Sp245 و کمترین درصد کاهش (۱٪) در رقم طبسی مشاهده شد.

۳- فعالیت آنزیم PAL

نتایج نشان داد که در ارقام مختلف گندم تلقیح‌نشده، فعالیت آنزیم PAL تفاوت داشته ($P<0/05$) و سویه‌های مختلف *آزوسپیریلوم برازیلنس* نیز اغلب سبب افزایش فعالیت آنزیم PAL در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده شدند (جدول ۲). گرچه اثر سویه بر روی فعالیت آنزیم PAL متفاوت بود ولی به طور کلی اثر Sp245 بیشتر از Sp7 بود. به طور مثال, سویه Sp245 سبب افزایش میانکین کل فعالیت PAL به مقدار ۱۷٪ در ریشه شد در حالی که این شاخص با سویه Sp7 تغییر معنی داری نکرد همچنین در بخش هوایی با سویه Sp245 سبب افزایش ۹٪ و با Sp7 تغییری نکرد.

تغییرات فعالیت PAL در ترکیبات مختلف حاصل از همیاری رقم با سویه متفاوت بود ولی جالب بود به طوری که فعالیت PAL, در ریشه‌های رقم طبسی با سویه Sp7 حدود ۱۴٪ و در بخش هوایی ۲۸٪ کاهش یافت ولی با سویه Sp245 تغییر نکرد (جدول ۲). تلقیح ارقام امید و شعله با سویه Sp7 اثری روی فعالیت آنزیم PAL نداشت ولی تلقیح با Sp245 سبب افزایش فعالیت این آنزیم در ریشه و بخش هوایی شد. از میان ترکیبات مختلف رقم-سویه، رقم روشن تلقیح شده با سویه Sp245 بیشترین افزایش فعالیت آنزیم PAL را در ریشه (۲۴٪) و بخش هوایی (۱۸٪) نشان داد.

۴- فعالیت آنزیم TAL

گرچه محدوده تغییرات فعالیت TAL در ارقام مختلف گندم تلقیح نشده تنها در گستره‌ای کوچک بین ۱۹/۴۲ تا ۲۰/۷ متغییر بود (جدول ۲) ولی تلقیح این ارقام با سویه‌های باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* سبب تغییر معنی‌داری در فعالیت TAL در بخش‌های مختلف در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده گردید ($P<0/05$). میانگین کل ارقام نشان داد که در بخش ریشه اثر سویه‌ها بسیار متفاوت بود به طوری که با سویه Sp7 میزان فعالیت این آنزیم ۸٪ کاهش و در مقابل با سویه Sp245 افزایشی معادل ۱۵٪ در کل ارقام اندازه گیری شد. در بخش هوایی نیز یا سویه Sp7 ۶٪ کاهش و با سویه Sp245 ۶٪ افزایش یافت.

سیستم‌های همیاری حاصل از ترکیب رقم و سویه نیز اثر متفاوتی روی فعالیت TAL داشتند ($P<0/05$). بیشترین افزایش

در رقم روشن تلقیح‌شده با سویه Sp245 مشاهده شد (به ترتیب ۲۷ و ۱۴ درصد در ریشه و بخش هوایی). در مقابل فعالیت آنزیم TAL در رقم طبسی تلقیح شده با سویه Sp7 کاهش داشت و این کاهش در ریشه و بخش هوایی به ترتیب ۵۹ و ۴۰ درصد ولی با سویه Sp245 تغییر معنی‌داری نکرد.

بحث

الف- تعیین همیاری همولوگ و هترولوگ بین ارقام گندم و سویه باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس*

مقایسه درصد تغییرات وزن خشک در ترکیب‌های حاصل از تلقیح ارقام گندم و سویه‌های باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* (جدول ۱) نشان داد که تلقیح رقم روشن با سویه Sp245 بیشترین افزایش وزن خشک کل (۲۰٪) را سبب شد. بنابراین، بر اساس معیار افزایش وزن خشک گیاه، می‌توان همیاری میان رقم روشن و سویه Sp245 را به عنوان مناسب‌ترین ترکیب میزبان-سویه و بر عکس، تلقیح رقم طبسی با سویه Sp7 را به عنوان نامناسب‌ترین ترکیب قلمداد کرد که این امر همولوگی روشن-Sp245 و عدم همولوگی رقم طبسی با سویه Sp7 را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده با نتایج بلدانی و همکاران (۱۹۸۳) مطابقت دارد. بلدانی و همکاران نیز مشاهده کردند که سویه‌های همولوگ نظیر Sp245 پاسخ مثبتی را از نظر تجمع وزن خشک در گیاه گندم سبب شدند. عدم ایجاد همیاری همولوگی بین گیاه و باکتری برای گونه‌های گیاهی دیگری نیز گزارش شده است (Smith et al., 1976). با بررسی پاسخ‌های رشدی گیاه از طریق تلقیح با سویه‌های هترولوگ (Smith et al., 1976) مشخص شد که استقرار سویه در ریشه لزوما واکنش فیزیولوژیک را ایجاد نکرد زیرا واکنش‌های بین باکتری و گیاه میزبان بسیار پیچیده است (Sumner, 1990) و ترکیب نامناسب میزبان-سویه (Jain and Patriquin, 1984) یا هترولوگی در این امر دخیل می‌باشد. پس معیار همولوگی علاوه بر استقرار باکتری به ایجاد عملکرد فیزیولوژیک پایدار در گیاه میزبان برای تولید وزن خشک نیازمند است (Baldani et al., 1986, 1987). در مطالعه‌ای که توسط (Jain 1984 و Patriquin) صورت گرفت مشخص شد که فواید تلقیح گندم به دلیل اثر باکتری *آزوسپیریلوم* روی رشد ریشه و جذب عناصر غذایی می‌باشد و عدم وجود این اثرات در برخی موارد، می‌تواند به دلیل ترکیب نامناسب میزبان-سویه باشد. همچنین (Jain 1984 و Patriquin) اظهار داشتند که ژنوم میزبان و باکتری روی نمو ریشه اثرات مشهودی داشته است. نتایج کار آن‌ها نشان داد که بزرگی پاسخ‌های گیاه گندم (به خصوص از نظر وزن خشک) نسبت به تلقیح با باکتری *آزوسپیریلوم* در ابتدا توسط ژنوم میزبان و در سطح رقم تعیین می‌شود. از طرفی، آنها اظهار کردند که جهت پاسخ (مثبت یا منفی بودن پاسخ)، عمدتا به وسیله ژنوم باکتری در سطح سویه تعیین می‌گردد. همچنین آن‌ها بیان کردند که بنظر می‌رسد رقم گیاه میزبان اثر اندکی روی غلظت مواد غذایی داشته باشد اما ژنوم باکتری در این زمینه مهم است (Jain and Patriquin, 1984).

ب- بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک در همیاری همولوگ و هترولوگ

۱- بررسی شاخص‌های رشد در سیستم همیاری همولوگ روشن-Sp245

- وزن خشک: تلقیح ارقام مختلف گندم با سویه‌های باکتری Sp7 و Sp245 اثرات متفاوتی بر روی وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل داشت. این یافته با مطالعات بلدانی و همکاران (۱۹۸۶ و ۱۹۸۷) مطابقت دارد که نشان دادند گیاه گندم پاسخ‌های رشدی پایداری را در تلقیح با Sp245 داشت. مطالعات دیگر نیز نتایج این تحقیق را تایید کرد (Nabti et al., 2010; Akbari et al., 2007; Bashan and de-Bashan, 2010).

بر طبق یافته‌های (Bermner et al., 1995) ۵- ۱۸ درصد از افزایش وزن خشک را می‌توان به اثر باکتری *آزوسپیریلوم* در افزایش تثبیت ازت مربوط دانست و ما بقی را به افزایش هورمون‌های گیاهی نسبت داد (Bermner et al., 1995; Perrig et al., 2007). افزایش وزن خشک ریشه توسط اکبری و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شد. آن‌ها اظهار داشتند که اکسین و نیتریت تولید شده توسط *آزوسپیریلوم* می‌تواند سبب افزایش طول ریشه، جذب آب و املاح بیشتر و در نتیجه افزایش وزن خشک ریشه و بخش هوایی شوند (Bashan and de-Bashan, 2010). تلقیح رقم طبسی با سویه‌های Sp7 (در سیستم هترولوگ) اثر معنی داری روی وزن خشک ریشه و بخش هوایی نداشت. مطالعات نشان داده است که بیشتر بودن وزن خشک در سیستم‌های همولوگ، به دلیل اتصال تعداد بیشتر سویه‌های همولوگ به ریشه گیاه میزبان در مقایسه با سویه‌های غیرهمولوگ (Dazzo et al., 1976) و نیز ترکیب نامناسب میزبان-سویه (Jain and Patriquin, 1984) باشد.

- فاکتورهای رشد ریشه

در سیستم همولوگ رقم روشن-سویه Sp245 بیشترین افزایش طول ریشه مشاهده شد. اثر تلقیح گندم با آزوسپیریلوم روی میانگین طول ریشه در مطالعات نبتی و همکاران (۲۰۱۰)، همدیا و همکاران (۲۰۰۵) و نیز اکبری و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شد که این افراد افزایش رشد طولی ریشه را به توانایی تولید اکسین توسط باکتری *آزوسپیریلوم* در محیط ریزوسفر ریشه گندم نسبت دادند. در سیستم غیرهمولوگ شامل رقم طبسی و سویه Sp7 کمترین افزایش در میانگین طول ریشه مشاهده شد که تایید کننده عدم همولوگی این رقم و سویه است.

علاوه بر طول ریشه، تعداد ریشه اصلی و انشعابات آن در سیستم همیاری همولوگ روشن-Sp245، در اثر تلقیح افزایش یافت. گرچه بیشترین افزایش تعداد ریشه مربوط به رقم شعله تلقیح شده با Sp245 بود ولی بیشترین افزایش تعداد انشعابات ریشه در سیستم همولوگ مشاهده شد. بنابراین در سیستم همولوگ، تعداد انشعابات ریشه در مقایسه با تعداد ریشه‌های اصلی بیشتر تحت تاثیر تلقیح باکتری قرار گرفت. نتایج بدست آمده در مورد افزایش فاکتورهای رشد ریشه در اثر تلقیح با

آزوسپیریلوم برازیلنس با نتایج اکبری و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت. آن‌ها اظهار داشتند که اکسین و نیتریت تولید شده توسط باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس علاوه بر تحریک طویل شدن ریشه، می‌تواند سبب توسعه ریشه جانبی و افزایش تعداد انشعابات (Bashan and de-Bashan, 2010) شود. در یک مطالعه روی گیاه گوجه تلقیح شده با سویه Sp245 مشاهده شد که باکتری با انجام دنیتریفیکاسیون هوازی، منبع مهمی برای تولید نیتریک اکسید (NO) را فراهم کرده که سبب افزایش تولید ریشه‌های جانبی و انشعابات فرعی ریشه شده و ساختار ریشه را تغییر داده است (Zamudio and Bastarrachea, 1994; Molina-Favero et al., 2008). مشخص شده است که نیتریک اکسید در گیاهان در مسیر هدایت سیگنالی هورمون اکسین ایندول- تری استیک اسید دخالت دارد و به احتمال زیاد تغییر ساختاری مشاهده شده در ریشه گندم تلقیح شده از طریق این هورمون صورت می‌پذیرد (Casimiro et al., 2003; Correa-Aragunde et al., 2004). به علاوه, مشاهده شده است که جنس باکتری *آزوسپیریلوم* قادر به تولید پلی آمین‌ها، آمینواسیدها (Hartmann and Zimmer, 1994) و هورمون‌های گیاهی (Thuler et al., 2003; Spaepen et al., 2009) از جمله اندول-۳-استیک اسید (El- Khawas and Adachi, 1999) و آبسیزیک اسید (Kolb and Martin, 1985; Cohen et al., 2008) در محیط کشت و در شرایط همیاری با گیاه می‌باشد و این مسئله بخشی از روابط متقابل شکل گرفته میان گیاه و باکتری همیار شده با آن می‌باشد.

- حداکثر طول بخش هوایی

تلقیح گیاه گندم با سویه‌های *آزوسپیریلوم* برازیلنس سبب افزایش حداکثر طول بخش هوایی (ارتفاع) شد. این نتایج در گیاه گندم (Dobbelaere et al., 2001) و گوجه (Mangmang et al., 2015) تلقیح شده با این سویه‌ها مشاهده شد و تلقیح بذرها سبب افزایش ارتفاع گیاه شد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین افزایش حداکثر طول بخش هوایی به ترتیب در سیستم همولوگ شامل رقم روشن و سویه Sp245 و نیز در سیستم غیرهمولوگ شامل رقم طبسی و سویه Sp7 مشاهده شد که تایید کننده همولوگی و عدم همولوگی آنهایست.

۲- بررسی شاخص‌های کیفیت، تنش و دفاعی در سیستم همیاری همولوگ روشن-Sp245

-شاخص کیفی مقدار پروتئین

کیفیت محصول گندم تابع مقدار پروتئین‌ها در پیکره گیاه مادری می‌باشد (Saubidet et al., 2002) بنابراین افزایش این ترکیبات سبب افزایش کیفیت محصول می‌گردد. مطالعات نشان داده است که سویه‌های *آزوسپیریلوم برازیلنس* سبب افزایش پروتئین کل در گیاه گندم (Saubidet et al., 2002) و (Mangmang et al., 2015)گوجه شده است.

نتایج بدست آمده نشان داد که آزوسپیریلوم برازیلنس روی افزایش مقدار پروتئین بخش‌های مختلف گندم اثر داشته و بیشترین تاثیر در سیستم همولوگ (رقم روشن تلقیح شده با سویه)Sp245 مشاهده شد. کمترین تغییرات مقدار پروتئین در رقم طبسی تلقیح‌شده با سویه Sp7 مشاهده شد به صورتی‌که مقدار پروتئین ریشه کاهش یافت ولی در بخش هوایی تغییر معنی داری را نسبت به کنترل نشان نداد.

افزایش مقدار پروتئین‌ها در روابط میان گیاه و سویه‌های همولوگ دیگر نیز مشاهده شده‌است. به طور مثال تجمع پروتئین‌ها در همزیستی گیاه یونجه (*Medicago sativa*) با باکتری همولوگ *Sinorhizobium meliloti* مشاهده شده است (Vasse et al., 1993). همچنین در همزیستی همولوگ *S. meliloti–Medicago truncatula* پروتئین‌های دفاعی افزایش بیان می‌یابند (Gamas et al., 1998).

- شاخص تنش پرولین

آمینواسید پرولین به عنوان یک شاخص مهم فیزیولوژیک برای شرایط محدودکننده رشد گیاه نظیر تنش‌ها می‌باشد (Sharma and Verslues, 2010). نتایج نشان داد که تلقیح ارقام گندم با سویه‌های باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس به طور موثری مقدار پرولین گیاه را در مقایسه با حالت تلقیح نشده کاهش داد. در همیاری همولوگ روشن با سویه Sp245، مقدار پرولین ریشه و بخش هوایی کاهش یافت ولی در همیاری غیرهمولوگ رقم طبسی با Sp7، مقدار پرولین نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده تغییر معنی‌داری نکرد. مطالعه‌ای روی برنج نشان داد که مقدار پرولین در اثر تلقیح با آزوسپیریلوم تغییر نکرد و این عدم تغییر را به شرایط غیر تنشی در این رابطه همیاری مربوط می‌دانند (Ruíz-Sáncheza et al., 2011). بنابراین, بنظر می‌رسد رابطه‌ای بین مقدار همولوگ بودن رقم با سویه و مقدار کاهش پرولین وجود داشته باشد. شاید، سویه‌های همولوگ با فراهم نمودن شرایط مناسب‌تر برای تامین نیازهای رشد گیاه یک شرایط بدون تنش را برای گیاه ایجاد می‌کند. بنظر می‌رسد که هر چه مقدار پرولین در یک رابطه همیاری با آزوسپیریلوم کاهش یابد نشان‌دهنده فراهم بودن شرایط مناسب رشدی برای گیاه در آن رابطه همیاری بوده و به عبارتی رابطه متناسب یا همولوگ شکل گرفته است. مطالعات قبلی نیز، به کاهش پرولین در گیاهان همیار شده با آزوسپیریلوم اشاره داشته است که این کاهش را به نقش باکتری‌های همیار در سنتز و ترشح پرولین به محیط اطراف نسبت داده‌اند لذا در این شرایط و با وجود این منبع غنی از پرولین، گیاه نیاز به سنتز بیشتر پرولین نداشته و مقدار آن در گیاه کاهش یافته است (Bengston et al., 1978; Reddy and Veeranjaneyulu, 1991).

- شاخص‌های دفاعی (فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL)

افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی نظیر PAL و TAL در شرایط تنش‌های زیستی به ویژه در روابط متقابل بین گیاه و باکتری مشاهده شده‌است (Estabrook and Sengupta-Gopalan, 1991). فعالیت این آنزیم‌ها در مسیر فنیل پروپانوئیدها سبب افزایش سنتز و تجمع ترکیبات فنلی در گیاه (Kim et al., 2005) و تحمل به عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شود. تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با دفاع گیاهی نظیر PAL و TAL شدند (Nautiyal et al., 2008). شواهدی در روابط همزیستی بین گیاه سویا و باکتری*Rhizobium japonicum* نشان داد که مقدار mRNA کد کننده ایزوفرم‌های مختلف آنزیم PAL (phenylalanine ammonia lyase) افزایش یافته (Estabrook and Sengupta-Gopalan, 1991) که در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها و از جمله فایتوالکسین‌هایی از جمله گلایسئولین نقش دارد. این نتایج نشان داد که لگوم‌ها در روابط متقابل با باکتری ریزوبیوم قادر به القاء واکنش‌های دفاعی می‌باشند. همچنین در رابطه همزیستی میان *S.meliloti* و گیاه یونجه تولید گونه‌های اکسیژن فعال مشاهده شده‌است (Santos et al., 2001) که یکی از راه‌های مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال در گیاهان افزایش ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های دفاعی نظیر PAL می‌باشد (Paul and Lade, 2014).

نتایج نشان داد که تلقیح ارقام گندم با سویه‌های *آزوسپیریلوم برازیلنس* سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL شد و بیشترین افزایش در سیستم همولوگ (روشن-Sp245) مشاهده شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL در سیستم غیرهمولوگ (طبسی-Sp7) کاهش یافت. در مطالعات دیگر، فعالیت این آنزیم‌ها در واکنش بین گیاه با سویه باکتری همولوگ، نیز مشاهده شده‌است و سطوح مختلفی از دفاع گیاهی وجود دارد. به طور مثال در همزیستی گیاه یونجه با سویه همولوگ *S. meliloti* با شروع سازوکار دفاعی، ترکیبات فنلی تجمع می‌یابد (Vasse et al., 1993) و بنظر می‌رسد که فعالیت آنزیم‌های PALو TAL در این فرآیند مشارکت داشته باشد.

نتیجه گیری

با جمع بندی نتایج بدست آمده مشخص شد که تلقیح گندم با سویه‌های Sp7 و Sp245 سبب افزایش شاخص‌های رشد نظیر وزن خشک، ارتفاع گیاه، فاکتورهای رشد ریشه، و نیز افزایش شاخص کیفیت (پروتئین) و شاخص دفاعی (فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز) و کاهش شاخص تنش (پرولین) شد. همچنین اثر سویه Sp245 نسبت به Sp7 بیشتر بود. از بین ترکیبات ارقام (روشن، شعله، طبسی، امید، سرداری و شاهپسند) و سویه‌ها (Sp7 و Sp245)، بهترین ترکیب، سیستم همیاری روشن-Sp245 بود که میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آن چندین برابر سایر

ترکیبات گندم-آزوسپیریلوم بود و بر اساس وزن خشک به عنوان سیستم همیاری همولوگ انتخاب شد. همچنین همیاری بین رقم طبسی با سویه Sp7 به عنوان سیستم هترولوگ (غیرهمولوگ) انتخاب شد. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و به منظور دستیابی به رشد بیشتر و بهبود کمیت و کیفیت محصول گندم در ایران می‌توان تلقیح رقم روشن با سویه آزوسپیریلوم Sp245 را پیشنهاد داد.

منابع

Akbari, G.A., Arab, H.A., Alikhani, H. and Arzanesh, M.H. (2007) Isolation and selection of indigenous *Azospirillum spp.* and the IAA of superior strains effects on Wheat roots. World Journal of Agricultual Science. 3: 523–529.

Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. and Dobereiner, J. (1983) Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in Wheat. Canadian Journal of Microbiology. 29: 924–929.

Baldani, V.L.D., Alvarez, M.A., Baldani, J.I. and Dobereiner, J. (1986) Establishment of inoculated *Azospirillum spp*. in the rhizosphere and in roots of field grown Wheat and sorghum. Plant and Soil. 90: 35–46.

Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. and Dobereiner, J. (1987) Inoculation of field-grown Wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum spp.* in Brazil. Biology and Fertility of Soils. 4: 37–40.

Bashan, Y. and de-Bashan, L.E. (2010) How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth: A critical assessment. Advances in Agronomy. 108: 77–136.

Bashan, Y. and Holguin, G. (1997) *Azospirillum*-Plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Canadian Journal of Microbiology. 43: 103-121.

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

Beaudoin-Egan, L.D. and Thorpe, T.A. (1985) Tyrosine and phenylalanine ammonialyase activities during shoot inhibition in tobacco callus cultures. Plant Physiology. 78: 438-441.

Bengston, C., Klockare, B., Klockare, R., Larsson, S. and Sudquist, C. (1978) The after-effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the level of abscisic acid and proline in dark growth Wheat seedlings. Plant Physiology. 43: 205–212.

Bermner, E., Jenze, H. and Gilbertson, C. (1995) Evidence against associativeN_2-fixation as a significant source of N in long-term wheat plots. Plant and Soil. 175: 13-19.

Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principleof protein dye binding. Analitical Biochemistry. 72: 248-253.

Caetano Anolles, G. and Favelukes, G. (1986) Quantitation of adsorption of rhizobia in low numbers to small legume roots. Applied and Environmental Microbiology. 52: 371–376.

Casimiro, I., Beeckman, T., Grahan, N., Bhalerao, R., Zhang, H., Casero, P., Sandberg, G. and Bennett, M.J. (2003) Dissecting Arabidopsis lateral root development. Trends in Plant Science. 8: 165-171.

Cohen, A.C., Bottini, R. and Piccoli, P. (2008) *Azospirillum brasilense* Sp245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. Plant Growth Regulation. 54: 97–103.

Correa-Aragunde, N., Graziano, M. and Lamattina, L. (2004) Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. Planta. 218: 900-905.

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

Dazzo, F.B., Napoli, C. and Hubbell, D.H. (1976) Adsorption of bacteria to roots as related to host specificity in the Rhizobium clover symbiosis. Applied and Environmental Microbiology. 32:166-171.

Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Amber, T., Ptacek D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., Caballero-Mellado, J., Aguirre, J.F., Kapulnik, Y., Shimon, B., Burdman, S., Kadouri, D., Sarig, S. and Okon, Y. (2001) Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Australian Journal of Plant Physiology. 28: 871–879.

Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and Okon, Y. (2003) Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences. 22: 107–149.

Dobereiner, J. and Day, J.M. (1976) Association symbiosis in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. Pp. 518-538. In: W.E. Newton and C.J. Nyman (eds). Proceedings of the first International Sypmosium on Nitrogen Fixation, Vol. 2, Washington State University Press, Pullman.

El-Khawas, H. and Adachi, K. (1999) Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. Biology and Fertility of Soils. 28: 377–381.

Estabrook, E.M. and Sengupta-Gopalan, C. (1991) Differential expression of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase during soybean nodule development. Plant Cell. 3: 299–308.

Gamas, P., de Billy, F. and Truchet, G. (1998) Symbiosis-specific expression of two *Medicago truncatula* nodulin genes, MtN1 and MtN13, encoding products homologous to plant defense proteins. Molecular Plant–Microbe Interactions. 11: 393–403.

Gupta, P.K., Mir, R.R., Mohan, A. and Kumar, J (2008) Wheat genomics: present status and future prospects. International Journal of Plant Genomics. 2008: 1–36.

Hamdia, M.A., Shaddad, M. and Doaa, M. (2005) Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. Environmental Microbiology. 7: 1839–1846.

Hartmann, A. and Zimmer, W. (1994) Physiology of *Azospirillum*. Pp. 15-39. In: Y. Okon (eds). Azospirillum/Plant Association, CRC Press, Boca Raton.

Hartmann, A. and Baldani, J.I. (2006) The genus *Azospirillum*. Pp 115–140. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleiferand and E. Stackebrandt (eds). The prokaryotes, vol. 5, Proteobacteria: alpha and beta subclasses (chap 3.1.5), Springer, New York.

Hegazi, N.A., Khawas, H. and Monib, M. (1981) Inoculation of wheat with *Azospirillum* under Egyptian

conditions. Pp. 493. In: A.H. Gibson and W.E. Newton (eds). Current perspectives innitrogen fixation, Australian Academy of Science, Canberra.

Hoagland, R.E. and Duke, S.O. (1981) Effect of herbicides on extractable phenylalanine ammonia lyase activity in light and dark-grown soybean (*Glycine max*) seedlings. Weed Science. 29: 433-439.

Jain, D.K. and Patriquin, D.G. (1984) *Root hair deformation*, *bacterial attachment*, and *plant growth* in wheat-Azospirillum associations. Applied Environmental Microbiology. 48: 1208-1213.

Kim, S.Y., Lim, J.H., Park, M.R., Kim, Y.J., Park. T.I., Se, Y.W., Choi, K.G. and Yun, S.J. (2005) Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 38: 218–24.

Kolb, W. and Martin, P. (1985) Response of plant roots to inoculation with *Azospirillum brasilense* and to application of indoleacetic acid. Pp. 215-221. In: W. Klingmuller (eds). *Azospirillum* III, Genetics, Physiology, Ecology. Springer, Berlin.

Mangmang, J.S., Deaker, R. and Rogers, G. (2015) *Azospirillum brasilense* enhances recycling of fish effluent to support growth of tomato seedlings. Horticulturae. 1: 14-26.

McFarland, J. (1907) Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. Journal of the American Medical Association. 14: 1176-1178.

Michiels, K., Croes, C.L. and Vanderleyden, J. (1991) Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to Wheat roots. Journal of General Microbiology. 137: 2241–2246.

Molina-Favero, C., Mónica Creus, C., Simontacchi, M., Puntarulo, S. and Lamattina, L. (2008) Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* sp245 and its influence on root architecture in tomato. The American Phytopathological Society. 21: 1001–1009.

Nabti, E., Sahnoune, M., Ghoul, M., Fischer, D., Hofmann, A., Rothballer, M., Schmid, M. and Hartmann, A. (2010) Restoration of growth of durum Wheat (*Triticum durum* var .waha) under saline conditions due to inoculation with therhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. Journal of Plant Growth Regululation. 29: 6–22.

Nautiyal, C.S., Srivastava, S. and Chauhan, P.S. (2008) Rhizosphere colonization: molecular determinants from plant–microbe coexistence perspective. Pp. 99–124. In: C.S. Nautiyal, and P. Dion (eds). Molecular Mechanisms of Plant and Microbe Coexistence. Soil Biology Series, Vol. 15, Heidelberg, Springer-Verlag. Berlin.

Okon. Y., Albrecht, S.L. and Burris, R.H. (1977) Methods for growing *Spirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and in association with plants. Applied Environmental Microbiology. 33: 85–88.

Perrig, D., Boiero, M.L., Masciarelli, O.A., Penna, C., Ruiz, O.A., Cassan, F.D and Luna, M.V. (2007) Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. Applied Microbiology and Biotechnology. 75:1143–1150.

Rai, S.N. and Gaur A.C. (1982) Nitrogen fixation by *Azospirillum spp.* and effect of *Azospirillum lipoferum* on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and Soil. 69: 233-238.

Reddy, P.S and Veeranjaneyulu, K. (1991) Proline metabolism in senescing leaves of hosgram (*Macrotyloma*

uniflorum lam.). The Journal of Physiology. 137: 381–383.

Santos, R., Hérouart, D., Sigaud, S., Touati, D. and Puppo, A. (2001) Oxidative burst in Alfalfa–*Sinorhizobium meliloti* symbiotic interaction. Molecular Plant–Microbe Interactions. 14: 86–89.

Saubidet, M.I., Fatta, N. and Barneix, A.J. (2002) The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. Plant and Soil. 245: 215–222.

Sharma, S. and Verslues, P.E. (2010) Mechanisms independent of abscisic acid (ABA) or proline feedback have a predominant role in transcriptional regulation of proline metabolism during low water potential and stress recovery. Plant, Cell & Environment. 33: 1838–185.

Smith, R.L., Bouton, J.H., Schank, S.C., Quesenberry, K.H., Tyler, M.E., Milan J.R., Gaskins, M.H. and Littell, R.C. (1976) Nitrogen fixation in grasses inoculated with *Spirillum lipoferum*. Science. 193: 1003-1005.

Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Okon, Y. (2009) Plant Growth-promoting actions of rhizobacteria. Advances in Botanical Research. 51: 283–320.

Sumner, M.E. (1990) Crop responses to *Azospirillum* inoculation. Advances in Soil Science. 12: 53–123.

Sweet, J.C. and Bolton, W. (1979) The surface decontamination of seeds to produce axenic seedlings. American Journal of Botany. 66: 59-65.

Tarrand, J.J., Krieg, N.R. and Dobereiner, J. (1978) A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, Azospirillum gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Canadian Journal of Botany. 24: 967–980.

Thuler, D.S., Floh, E.I.S., Handro, W. and Barbosa, H.R. (2003) Plant growth regulators and amino acids released by *Azospirillum sp* in chemically defined media. Letters in Applied Microbiology. 37: 174–178.

Vasse, J., de Billy, F. and Truchet, G. (1993) Abortion of infection during the *Rhizobium meliloti*-alfalfa symbiotic interaction is accompanied by a hypersensitive reaction. The Plant Journal. 4: 555–566.

Zamudio, M. and Bastarrachea F. (1994) Adhesiveness and root hair deformation capacity of *Azospirillum* strains for wheat seedlings. Soil Biology and Biochemistry. 26: 791-797.

Evaluation of some physiological parameters in homologous and heterologous association between wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) and *Azospirillum brasilense*

I. Dehghani[1], A. Mostajeran[*,2]

Received: 2016/9/27
Accepted: 2017/24/5

Abstract

One way to improve the quantity and quality of wheat production is to use homologous bacterial strains of *Azosprillum brasilense*. To determine homologous strains, evaluation of growth parameters and defense indexes is essential. This study was conducted to determine a homologous association system using combination of six cultivars of wheat native to Iran named Omid, Sardari, Roshan, Shoaleh, Tabasi and Shahpasand with two bacterial strains (Sp7 and Sp245) of *A. brasilense* with 10^7 CFU ml^{-1}. The plant samples of 10 days-old were obtained for growth and biochemical analysis. The results show that the average measured indexes such as dry weight, maximum shoot length, root length, number of roots and their branches, protein, Tyrosine ammonia lyase and Phenylalanine ammonia lyase activities were increased due to inoculation of wheat with Sp7 and Sp245 except for proline. All measured indexes were higher in Sp245 compared to Sp7. The best combination was Roshan-Sp245 associated system with several folds higher in average values as compared to other combinations.

Keywords: Azosprillum brasilense, Homologous, Phenylalanine ammonialyase, Physiological parameters, Triticum aestivum L., Tyrosine ammonialyase,

1- Plant Science Division, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2*- Plant Science Division, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran. (Corresponding Author: Mostaieran@Sci.ui.ac.ir)