بررسی اثر همیاری باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* (*Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245) بر شاخص‌های رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی دانه‌رست‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط شوری

حمیدرضا قاسمی و اکبر مستاجران*

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم،گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۷

چکیده

تنش شوری یک عامل محدودکننده رشدِ گیاهان به‌ویژه گندم به‌شمار می‌رود. همزیستی گیاهان با میکروارگانیسم‌های خاک از راه‌های بهبود اثرات زیان‌بار تنش شوری است. هدف این آزمایش تعیین غلظت و سویه مناسب باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* با چهار رقم گندم نان (سرداری، چمران، شعله و روشن) است. آزمایشی به‌صورت طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه اصفهان انجام شد تا اثر دو سطح تنش شوری (۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و پنج غلظت (۰، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 CFU ml^{-1}) از دو سویه باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* Sp7 و Sp245 بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی ارقام مختلف گندم بررسی شود. نتایج نشان داد که وزن خشک، مقدار پتاسیم و همچنین مقدار کلروفیل a و b در اثر تنش شوری کاهش یافت اما نسبت سدیم به پتاسیم، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، فنیل‌آلانین و تیروزین آمونیالیاز به‌طور معنی‌داری در بیشتر موارد افزایش یافت. هر دو سویه باکتری اثرات مثبت همیاری را در بیشتر موارد در غلظت‌های 10^6 تا 10^7 CFU ml^{-1} نشان دادند. در شرایط شور، اثرات مثبت سویه Sp245 عمدتاً در شاخص‌های رشد ریشه مشاهده شد، درحالی‌که بیشترین اثرات همیاری ناشی از سویه Sp7 در بخش هوایی گیاه گندم دیده شد. همچنین رابطه همیاری بین سویه Sp7 و هر دو رقم سرداری و چمران به‌طور مؤثرتری نسبت به سویه Sp245 آثار زیان‌آور تنش شوری را تعدیل کرد.

واژه های کلیدی: فنیل‌آلانین آمونیالیاز، تیروزین آمونیالیاز، کاتالاز، وزن خشک، نسبت سدیم به پتاسیم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۷۹۳۲۴۵۶، پست الکترونیکی: mostajerana@yahoo.com

مقدمه

باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند در شرایط معمول و یا تنش‌زا اثرات مثبتی را روی رشد گیاه داشته باشند. مطالعات متعددی در مورد اثرات گونه‌های باکتری *آزوسپیریلوم* و دیگر گونه‌های ریزوباکتری محرک رشد انجام شده و اثرات مثبت همیاری بر رشد و تولید گیاهان تلقیح‌شده مشخص شده‌است. مثلاً عسکری و همکاران نشان دادند که مقدار پتاسیم، فسفر و نیتروژن دانه‌ها و شاخص‌های رشد دو رقم گندم پس از تلقیح و تلقیح توأم دو باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* و *ریزوبیوم ملیلوتی* در شرایط شور افزایش یافت (۶). احمدی و همکارانش (۳) نیز نشان دادند که تنش شوری شاخص کلروفیل برگ و ویژگی‌های فتوسنتزی گیاهان گندم را کاهش داد اما تلقیح گیاه گندم با ریزوباکتری‌های محرک رشد (*آزوسپیریلوم لیپوفروم*، *سودوموناس فلوریسنس*) آثار منفی تنش شوری را با افزایش تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط شور و غیرشور کاهش داد. بنابراین، استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌تواند ابزار مفیدی برای کاهش اثرات منفی تنش شوری باشد.

مشخص شده‌است که باکتری‌های محرک رشد مانند *آزوسپیریلوم* ممکن است از راه‌هایی مانند کمک به تثبیت نیتروژن (۲۳)، تولید هورمون‌های گیاهی (۳۱)، آمین‌زدایی از پیش‌ساز اتیلن یعنی ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلات (۱۱)، القاء تشکیل ریشه‌های جانبی (۱۳)، جذب بهتر آب و املاح (۳۴)، تغییر میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان (۳۰)، تسریع چرخه سلولی، تغییرات ظاهری و ساختمانی ریشه (۳۸) به رشد بهتر گیاه کمک کنند.

سرئوس و همکارانش اثرات تنش شوری و اسمزی را بر دانه رست‌های گندم مورد مطالعه قرار دادند. گیاهان سه روزه گندم را با باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* تلقیح کردند و پس از سه روز شاخص‌های رشد (وزن تر، وزن خشک و محتوای آب دانه رست‌ها) را اندازه‌گیری کردند. آنان دریافتند که شاخص‌های رشد گیاهان تلقیح‌شده با باکتری *آزوسپیریلوم* نسبت به گیاهان تلقیح نشده کمتر تحت تأثیر تنش شوری و تنش اسمزی قرار گرفته بودند (۱۴). همچنین باسیلیو و همکارانش اثرات مفید *آزوسپیریلوم لیپوفروم* را در شرایط شور و در هفته‌های اول، دوم و سوم بر دانه رست‌های گندم نشان دادند. آنان نشان دادند که ابتدا طول گیاه و بعد وزن خشک بخش هوایی و ریشه در اثر تنش شوری کاهش یافت و این آثار منفی در گیاهان تلقیح‌شده به‌طور معنی‌داری بهبود یافت (۷).

گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد برای افزایش محصول، رشد و نمو ارقام گندم، انتخاب سویه‌های سازگار ضروریست (۴, ۲۷). به‌عنوان مثال منگ‌منگ و همکارانش سه گونه گیاهی گوجه‌فرنگی، کاهو و خیار را در مرحله گیاهچه‌ای مورد مطالعه قرار دادند. آنان این گونه‌های گیاهی را با غلظت‌های متفاوت (10^6، 10^7 و 10^8 CFU ml^{-1}) سه سویه از باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* (Sp7, Sp7-s, Sp245) تلقیح کرده و پس از ۶ و ۸ روز شاخص‌های وزن و طول ساقه و ریشه را اندازه‌گیری کردند. آنان بیشترین اثرات مثبت همیاری را در غلظت‌های 10^7 سویه Sp7-S، 10^6 سویه Sp7 و 10^7 سویه Sp245 به‌ترتیب در دانه رست‌های خیار، کاهو و گوجه‌فرنگی مشاهده کردند (۲۵). نابتی و همکارانش (۲۷) گندم دوروم را با دو سویه Sp7 و NH از *آزوسپیریلوم برازیلنس* در شرایط شور تلقیح کردند. نتایج آنان نشان داد که شاخص‌های مهم گیاه مانند وزن خشک ریشه و بخش هوایی، میزان کلروفیل *a* و b، در شرایط شور کاهش یافت ولی این اثرات زیان‌آور تنش شوری توسط سویه NH کاهش یافت، در حالی‌که سویه Sp7 نتوانست اثرات تنش شوری را تعدیل کند. با توجه به مطالب ذکر شده، گرچه مطالعات مشابهی در این زمینه انجام شده است، اما تعیین غلظت بهینه برای رسیدن به نتایج مطلوب‌تر اثرات همیاری ارقام مختلف گیاهان زراعی با میکروارگانیسم‌های ریزوسفر همچنان ادامه دارد.

به هرحال، سویه‌های متفاوتی از *آزوسپیریلوم* می‌توانند با ارقام مختلف گندم رابطه همیاری برقرار کرده و به استقرار بهتر دانه‌رست در شرایط شور کمک کنند. از طرف دیگر، به‌منظور برقراری یک رابطه موفق و مناسب بین سویه‌های مختلف *آزوسپیریلوم* و ارقام مختلف گندم، تعیین غلظت مناسب سویه‌های گوناگون باکتری *آزوسپیریلوم* نیز اهمیت دارد. هدف اصلی این تحقیق تعیین بهترین غلظت باکتری، سویه *آزوسپیریلوم* مناسب در شرایط شور از طریق بهبود شاخص‌های رشد برای ارقام مختلف گندم می‌باشد.

مواد و روشها

این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان در سال ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد.

کشت باکتری: دو سویه باکتری همیار با گیاه گندم (*آزوسپیریلوم برازیلنس* سویه‌های Sp7 و Sp245) برای انجام آزمایش انتخاب شد. باکتری‌ها در محیط کشت مایع

بدون نیتروژن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در یک انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه کشت داده شدند. سپس غلظت‌های مورد نیاز از جمعیت باکتری تهیه و کنترل شدند.

استریل، تلقیح و کاشت بذرها: ابتدا بذرهای گندم به مدت ۲ دقیقه در اتانل۷۰ درصد غوطه‌ور شدند. سپس ۵ بار با آب مقطر استریل شستشو و بلافاصله در شرایط استریل به مدت ۱۰ دقیقه در آب‌ژاول ۳ درصد قرار گرفتند. پس از شستشوی ذوباره بذرها، به مدت ۳ ساعت در آب مقطر استریل خیسانده شدند. سپس بذرها در محیط کشت مایع بدون نیتروژن با غلظت‌های مختلف باکتری که از قبل تهیه‌شده بود، قرار گرفتند (۲۲). سپس بذرهای تلقیح‌شده و تلقیح نشده به گلدان‌های حاوی پرلیت استریل منتقل شدند. به مدت چهار روز، گلدان‌ها با محلول هوگلند ۱/۴ قدرت آبیاری شدند (۲۱). این آزمایش به‌صورت طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی و با سه تکرار طراحی شد.

آزمایش اول: تعیین سیستم همولگ برای شرایط شور و غیر شور: بذر چهار رقم گندم (سرداری، روشن، چمران و شعله) به روش بالا استریل، سپس با جمعیت (صفر،10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 CFU ml^{-1}) از هریک از سویه‌های باکتری تلقیح و در گلدان کاشته شدند. روز پنجم علاوه بر گیاهان شاهد، تیمار شوری در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار روی سایر گیاهان اعمال شد و پس از سه روز کلیه گیاهان برداشت و وزن خشک ریشه و بخش هوایی اندازه‌گیری شد.

آزمایش دوم: بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی: بذر دو رقم گندم سرداری و روشن که همولگ با دو سویه باکتری و نسبت به شرایط شور به‌ترتیب حساس و مقاوم بودند انتخاب و مانند آزمایش اول استریل و با دو غلظت (صفر و 10^7 CFU ml^{-1}) از هر یک از دو سویه باکتری *آزوسپیریلوم* تلقیح و شوری صفر و ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلراید در روز پنجم پس از کاشت در گلدان اعمال گردید. سه روز پس از اعمال تنش، گیاهان برداشت و به قسمت ریشه و قسمت هوایی تقسیم شدند و وزن خشک، مقدار سدیم و پتاسیم، کلروفیل‌های a و b و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، فنیل‌آلانین و تیروزین آمونیالیاز اندازه‌گیری شد.

برای به دست آوردن وزن خشک، قسمتی از نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه در آون نگهداری و بعد توزین شدند. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم، ۰/۰۱ گرم از بافت خشک ریشه و بخش هوایی را در ۱۰ میلی-لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس با دستگاه فلیم-فتومتر مقادیر جذب به دست آمد و با استفاده از نمودار استاندارد تهیه شده برای سدیم و پتاسیم، مقدار سدیم و پتاسیم نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل ۰/۱ گرم از بافت بخش هوایی گیاه را در ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رساندیم. سپس کلروفیل استخراج شده را به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دور ۳۵۰۰g سانتریفیوژ شد. در نهایت جذب محلول فوقانی را در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۸۰ و ۶۴۵ نانومتر ثبت شد و با توجه به فرمول روابط ۱ تا ۳ مقدار کلروفیل و کارتنوئیدها محاسبه شد (۵).

رابطه (۱):

$$\text{Chlorophyll a}=(19.3\times A663 - 0.86\times A645)V/100W$$

رابطه (۲):

$$\text{Chlorophyll b}=(19.3\times A645 - 3.6\times A663)V/100W$$

رابطه (۳):

$$\text{Carotenoids} = 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227$$

V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W = وزن تر نمونه بر حسب گرم

به منظور استخراج عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری آنزیم-های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز، یک گرم از بافت‌های هر تیمار را در ۳ میلی‌لیتر بافر تریس اسیدی (M ۰/۰۵، pH = ۷/۴) حاوی ۱۵ میلی مولار ۲- مرکاپتواتانول له شد. محلول همگن‌شده ناشی از له‌کردن بافت به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۲۵۰۰ سانتریفیوژ یخچال‌دار سانتریفیوژ شد. سپس مایع فوقانی دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز: مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری فنیل-آلانین آمونیالیاز حاوی ۶ میکرومول L- فنیل‌آلانین (برای تیروزین آمونیالیاز ۵/۵ میکرومول L-تیروزین)، ۵۰۰ میکرولیتر بافر تریس اسیدی (pH= ۸/۰۱) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است که در نهایت حجم مخلوط واکنش به یک میلی‌لیتر رسید. سپس مخلوط واکنش ۷۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سرانجام برای پایان دادن به واکنش، ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۵ نرمال به مخلوط واکنش اضافه شد. سپس از دستگاه اسپکتوفتومتری برای اندازه‌گیری ترانس سینامیک اسید (محصول واکنش فنیل‌آلانین آمونیالیاز) در طول موج ۲۹۰ نانومتر و کوماریک اسید (تیروزین آمونیالیاز) در طول موج ۳۳۳ نانومتر استفاده شد. سپس فعالیت هر یک از این آنزیم‌ها به ازاء تولید یک میکرومول ترانس سینامیک اسید و کوماریک اسید بر میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی در مدت زمان ۱ دقیقه بیان شد (۸).

به‌منظور استخراج عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری آنزیم-های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه در ۱ میلی‌لیتر بافر سالین سرد (فسفات دی‌هیدروژن منو پتاسیم ۱/۸ مولار، فسفات هیدروژن دی-سدیم ۱۰ میلی‌مولار با pH =۷/۴، حاوی کلرید پتاسیم ۲/۷ میلی‌مولار، کلرید سدیم ۱۴۰ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون ۱درصد وزنی – حجمی) ساییده شد. سپس عصاره حاصل با کاغذ صافی صاف شد و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت محلول فوقانی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر آغاز گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم به ازاء میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده بر میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی در مدت زمان ۱ دقیقه بیان شد (۹).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، مخلوط واکنش (۱ میلی‌لیتر) شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار، اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی‌مولار و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار در حجم نهایی یک میلی‌لیتر و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش فعالیت آنزیمی شروع شد. کاهش جذب نور به علت کاهش مقدار اسید آسکوربیک در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس فعالیت آنزیم به ازاء میکرومول آسکوربات تجزیه شده بر میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی در مدت زمان ۱ دقیقه بیان شد (۲۹).

تحلیل‌های آماری: تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها به کمک نرم افزار MSTAT-C نسخه ۲ و در سطح ۵٪ (آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار یا LSD) انجام شد.

نتایج

نتایج آزمایش اول: تعیین سیستم همولوگ برای شرایط شوری و غیر شور: با توجه به جدول تحلیل واریانس (جدول ۱)، بیشتر عوامل اصلی و همچنین اثرات متقابل آنها بر وزن خشک ریشه و قسمت هوایی اثرگذار بود. در ادامه مقایسه میانگین وزن خشک ریشه و بخش هوایی برای تیمارها و اثر متقابل آنها بررسی شده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس (مقادیر F) اثر پنج غلظت از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) و تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر وزن خشک ریشه و بخش هوایی چهار رقم گندم (سرداری، چمران، شعله، روشن).

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک ریشه	وزن خشک بخش هوایی
رقم	۳	۱۸/۴۶**	۳۳۳/۶۱**
سویه باکتری	۱	۷/۴۳**	۴/۹۱ *
رقم* سویه باکتری	۳	۱/۸۵ ns	۱۲/۸۵**
سطح باکتری	۴	۹/۴۷**	۳۴/۵۸**
رقم* غلظت باکتری	۱۲	۹/۸۶**	۱۹/۱**
سویه باکتری*غلظت باکتری	۴	۲/۸۵*	۱/ ۹۶ ns
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری	۱۲	۳/۶۹**	۴/۵۷ **
سطح شوری	۱	۱/۴۸ ns	۱۵۲/۵**
رقم*شوری	۳	۳/۰۲*	۴۵/۶۷**
سویه باکتری* شوری	۱	۰/۱۱ ns	۹/۶۲ **
رقم*سویه باکتری*شوری	۳	۹/۵۱**	۱۷/۸۹**
غلظت باکتری*شوری	۴	۲/۶۸ *	۱۷/۴ **
رقم*غلظت باکتری*شوری	۱۲	۵/۸۴**	۶/۵ **
سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۴	۲/۹۱ *	۴/۲۹ **
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۱۲	۱/۹۱*	۴/۹۲ **
خطا	۱۶۰		
ضریب تغییرات(%)		٪ ۹/۷۹	٪ ۵/۵۷

ns: بدون اثر معنی‌دار، * و ** بترتیبمعنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

وزن خشک ریشه: در شرایط کنترل، وزن خشک ریشه در رقم چمران (۱۱/۱۵ میلی‌گرم) و سرداری (۸/۳۹ میلی‌گرم) به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط تنش شوری، وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح نشده رقم چمران (۳۱ درصد) کاهش قابل‌توجهی نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط تلقیح بدون شوری، وزن خشک ریشه رقم روشن در نتیجه برقراری ارتباط همیاری با هر دو سویه Sp7 و Sp245 در غلظت 10^{8} CFU ml^{-1} به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط شور، ارقام گندم به جز رقم شعله با هر دو سویه باکتری رابطه همیاری برقرار کرده و بیشترین مقدار وزن خشک ریشه در اثر غلظت 10^{6} CFU ml^{-1} سویه Sp245 در رقم چمران حاصل شد (جدول ۲). به این ترتیب، بیشترین اثر مثبت سویه Sp7 در شرایط شور در غلظت‌های 10^{6} CFU ml^{-1} و 10^{7} CFU ml^{-1} و در شرایط غیر شور در غلظت 10^{61} CFU ml^{-} به دست آمد، درحالی‌که در سویه Sp245 در غلظت‌های 10^{6} و 10^{7} CFU ml^{-1} بیشترین اثر مثبت روی وزن خشک ریشه به دست آمد.

جدول ۲- میانگین وزن خشک (میلی‌گرم به ازاء هر گیاه) ریشه‌ی چهار رقم گندم (سرداری، چمران، شعله، روشن) تلقیح‌شده با پنج غلظت از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) در شرایط کنترل و شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). مقایسه میانگین با استفاده از روش آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. میانگین‌هایی که حروف بالانویس یکسانی دارند، به طور معنی‌داری با هم تفاوت ندارند ($P < ۰/۰۵$). مقدار LSD برای تمام ردیف‌ها و ستون‌های جدول قابل استفاده است.

غلظت سویه	سرداری		چمران		شعله		روشن	
	کنترل	شوری	کنترل	شوری	کنترل	شوری	کنترل	شوری
صفر	۸/۳۹$^{T-b}$	۷/۶۴$^{a-d}$	۱۱/۱۵^{ABC}	۷/۶۹$^{Z-d}$	۱۰/۴۴$^{C-F}$	۹/۷۳$^{E-O}$	۹/۰۰$^{K-W}$	۸/۹$^{M-X}$
SP7								
$۱۰^{۵}$	۸/۱۸$^{V-c}$	۹/۰۷$^{J-W}$	۹/۴۷$^{F-R}$	۹/۵۸$^{F-Q}$	۱۰/۰۱$^{E-L}$	۹/۶۳$^{E-Q}$	۸/۹۶$^{L-W}$	۸/۴۸$^{R-a}$
$۱۰^{۶}$	۸/۱۸$^{V-c}$	۹/۹۴$^{E-N}$	۹/۹۹$^{E-L}$	۱۰/۲۹$^{C-H}$	۱۰/۲۵$^{C-I}$	۱۰/۱۹$^{C-I}$	۹/۰۸$^{J-W}$	۸/۹۷$^{L-W}$
$۱۰^{۷}$	۸/۸۲$^{O-Y}$	۹/۰۰$^{K-W}$	۱۱/۶۷^{A}	۹/۹۶$^{E-M}$	۱۱/۰۹$^{A-D}$	۸/۶۱$^{P-a}$	۱۰/۰۳$^{D-K}$	۹/۹۹$^{E-L}$
$۱۰^{۸}$	۸/۶۱$^{P-a}$	۷/۱۶^{cd}	۱۰/۱۷$^{C-I}$	۸/۶۶$^{P-a}$	۹/۲۶$^{H-U}$	۷/۳۶$^{b-d}$	۱۰/۱۳$^{C-J}$	۱۰/۱۵$^{C-I}$
Sp245								
$۱۰^{۵}$	۸/۳۱$^{T-b}$	۷/۷۴$^{Z-d}$	۹/۲۲$^{I-V}$	۹/۲۹$^{H-U}$	۸/۳۱$^{T-b}$	۸/۴۸$^{R-a}$	۹/۰۵$^{K-W}$	۸/۷۲$^{O-Z}$
$۱۰^{۶}$	۸/۴۵$^{R-a}$	۷/۷۸$^{Y-d}$	۱۰/۳۶$^{C-G}$	۱۰/۶۹$^{A-E}$	۹/۰۶$^{K-W}$	۸/۲۸$^{U-b}$	۱۱/۵۴^{AB}	۱۰/۱۶$^{C-I}$
$۱۰^{۷}$	۸/۴۱$^{S-b}$	۱۰/۵۰$^{B-F}$	۹/۰۲$^{K-W}$	۹/۶۵$^{E-P}$	۹/۳۰$^{G-U}$	۸/۰۵$^{W-d}$	۱۱/۷۱^{A}	۹/۴۶$^{F-S}$
$۱۰^{۸}$	۸/۵۸$^{Q-a}$	۶/۰۵^{e}	۸/۸۸$^{N-X}$	۹/۳$^{K-W}$	۷/۸۶$^{X-d}$	۷/۰۱^{de}	۱۱/۷۰^{A}	۹/۳۶$^{G-T}$

LSD (۰/۰۵) = ۱/۰۶۵

وزن خشک قسمت هوایی: در شرایط کنترل، بیشترین و کمترین وزن خشک قسمت هوایی به‌ترتیب در ارقام روشن (۲۲/۶ میلی‌گرم) و سرداری (۱۶/۰۷ میلی‌گرم) مشاهده شد. پس از اعمال تنش شوری بر گیاهان تلقیح-نشده، وزن خشک قسمت هوایی همه ارقام گندم مورد مطالعه کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$) و همانند وزن خشک ریشه، بیشترین کاهش در وزن خشک قسمت هوایی رقم چمران (۳۸ درصد) دیده شد. در شرایط غیر شور، پس از تلقیح ارقام، فقط رقم سرداری با سویه Sp7 رابطه مثبتی نشان داد که بیشترین وزن خشک در غلظت $۱۰^{۸}$CFU ml^{-1} (۱۷/۱ درصد) این سویه مشاهده شد. از طرف دیگر، سویه Sp245 با دو رقم سرداری و شعله قادر به برقراری رابطه همیاری شد که بیشترین وزن خشک قسمت هوایی در هر دو رقم سرداری (۱۳ درصد) و شعله (۱۰/۵ درصد) در غلظت $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} مشاهده شد. در شرایط شور، وزن خشک قسمت هوایی رقم سرداری (۲۵ درصد) در غلظت $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} و رقم چمران در غلظت $۱۰^{۶}$ CFU ml^{-1} بطور معنی‌داری در اثر همیاری با سویه Sp7 افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). سویه Sp245 غیر از ارقام سرداری و چمران، با رقم شعله نیز موفق به برقراری رابطه همیاری شد که بیشترین اثرات این رابطه در غلظت $۱۰^{۷}$CFU ml^{-1} و با رقم سرداری (۳۷ درصد) مشاهده شد. در مجموع، با توجه به وزن خشک ریشه و قسمت هوایی، شوری بخش هوایی (۱۷/۵ درصد) را بیشتر از بخش ریشه (۱۲/۸۵ درصد) کاهش داد و غظت‌های $۱۰^{۶}$ و CFU ml^{-} $۱۰^{۷۱}$ بهترین غلظت برای رسیدن به اثرات مثبت هر دو سویه در شرایط شور و غیر شور است (جدول ۳).

با توجه به وزن خشک ریشه و بخش هوایی در شرایط شور، حاصل از ارقام مورد مطالعه (سرداری، چمران، شعله و روشن) در غلظت‌های (صفر،$۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ CFU ml^{-1}) با سویه‌های Sp7 و Sp245 مشخص شد که رقم سرداری و چمران در غلظت $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} با سویه‌های Sp7 و Sp245 به‌ترتیب نسبت به تنش شوری حساس و مقاوم هستند. بنابراین، دو رقم سرداری و چمران و جمعیت $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} از دو سویه‌های Sp7 و Sp245 به‌عنوان دو سیستم همولوگ حساس و مقاوم به شوری

برای انجام آزمایش دوم یعنی بررسی‌های بیوشیمیایی انتخاب شدند.

نتایج آزمایش دوم: ارزیابی بیوشیمیایی برای سیستم همولوگ حساس و مقاوم: با توجه به جدول تحلیل واریانس (جدول ۴)، بیشتر عوامل اصلی و همچنین اثرات متقابل آنها بر برخی شاخص‌های ریشه و قسمت هوایی اثرگذار بود. در ادامه میانگین شاخص‌های مختلف برای تیمارها و اثر متقابل آنها بررسی شده است.

جدول ۳- میانگین وزن خشک (میلی‌گرم به ازاء هر گیاه) قسمت هوایی چهار رقم گندم (سرداری، چمران، شعله، روشن) تلقیح‌شده با پنج غلظت از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) در شرایط کنترل و شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). مقایسه میانگین با استفاده از روش آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. میانگین‌هایی که حروف بالانویس یکسانی دارند، به طور معنی‌داری با هم تفاوت ندارند (P <۰/۰۵). مقدار LSD برای تمام ردیف‌ها و ستون‌های جدول قابل استفاده است.

غلظت سویه	سرداری		چمران		شعله		روشن	
	کنترل	شوری	کنترل	شوری	کنترل	شوری	کنترل	شوری
صفر	۱۶/۰۷$^{c-g}$	۱۵/۰۱^{gh}	۱۹/۸۷$^{I-P}$	۱۲/۳۱^{i}	۲۰/۳۹$^{G-M}$	۱۷/۰۲$^{Y-e}$	۲۲/۶۰$^{A-D}$	۲۰/۷۹$^{E-K}$
SP7								
۱۰^{۵}	۱۵/۹۵$^{d-g}$	۱۶/۲۵$^{b-f}$	۱۹/۳۹$^{L-R}$	۱۴/۰۸^{h}	۱۹/۰۸$^{N-T}$	۱۶/۰۴$^{c-g}$	۲۱/۴۲$^{D-G}$	۲۰/۳۷$^{G-M}$
۱۰^{۶}	۱۸/۲۶$^{R-X}$	۱۷/۷۹$^{U-a}$	۲۰/۴۹$^{G-M}$	۱۷/۶۱$^{V-a}$	۱۹/۶۴$^{J-Q}$	۱۷/۳۰$^{X-b}$	۲۳/۶۳^{AB}	۲۰/۸۱$^{E-G}$
۱۰^{۷}	۱۸/۸۲$^{P-U}$	۱۸/۷۷$^{P-V}$	۲۰/۲۷$^{G-M}$	۱۵/۱۲$^{f-h}$	۲۰/۴۷$^{G-M}$	۱۷/۹۵$^{T-Z}$	۲۲/۶۳^{ABC}	۲۰/۹۹$^{E-I}$
۱۰^{۸}	۱۸/۶۱$^{Q-W}$	۱۶/۸۷$^{Z-e}$	۱۷/۱۶$^{X-d}$	۱۵/۰۹$^{f-h}$	۱۹/۶۱$^{K-Q}$	۱۷/۱۲$^{X-e}$	۲۱/۹۶^{DE}	۲۰/۷۰$^{F-K}$
Sp245								
۱۰^{۵}	۱۷/۱۵$^{X-c}$	۱۸/۲۲$^{R-X}$	۱۷/۹۲$^{T-Z}$	۱۶/۲۰$^{b-f}$	۱۷/۷۵$^{U-a}$	۱۷/۸۱$^{U-a}$	۲۳/۲۷^{AB}	۱۶/۶۶$^{a-d}$
۱۰^{۶}	۱۷/۵۹$^{V-a}$	۲۰/۴۹$^{G-M}$	۱۹/۳۵$^{M-S}$	۱۷/۴۴$^{W-a}$	۲۱/۸۱$^{C-F}$	۱۷/۸۲$^{U-a}$	۲۳/۵۳^{AB}	۲۰/۰۸$^{I-N}$
۱۰^{۷}	۱۸/۱۹$^{S-Y}$	۲۰/۵۷$^{G-L}$	۱۶/۹۳$^{Z-e}$	۱۶/۱۱^{cg}	۲۲/۵۲^{BCD}	۱۸/۸۶$^{O-U}$	۲۳/۴۹^{AB}	۲۰/۰۳$^{I-O}$
۱۰^{۸}	۱۷/۱۳$^{X-d}$	۱۷/۸۹$^{U-Z}$	۱۵/۲۰^{fgh}	۱۵/۹۴^{fg}	۲۰/۲۹$^{G-M}$	۲۰/۲۱$^{H-N}$	۲۳/۷۴^{A}	۲۱/۳۱$^{E-H}$
LSD (۰/۰۵)=۱/۱۸۵								

سدیم ریشه و قسمت هوایی: در شرایط کنترل، تفاوتی بین مقدار سدیم ریشه هر دو رقم مشاهده نشد (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح نشده، تنش شوری بطور قابل‌توجهی مقدار سدیم ریشه هر دو رقم چمران (۵۰ درصد) و سرداری (۶۱ درصد) را در مقایسه با کنترل افزایش داد (P <۰/۰۵). در شرایط غیر شور، مقدار سدیم ریشه رقم چمران پس از تلقیح با سویه‌های Sp7 و Sp245 به‌ترتیب ۲۴ و ۲۳ درصد کاهش نشان داد. سویه Sp7 نیز توانست مقدار سدیم ریشه رقم سرداری (۲۵/۸ درصد) را بطور معنی‌داری کاهش دهد (P <۰/۰۵). در شرایط شور، هر دو سویه مقدار سدیم ریشه ارقام سرداری و چمران را بطور قابل‌توجهی کاهش دادند (جدول ۵). بنابراین، مقدار سدیم ریشه رقم سرداری در شرایط شور و غیر شور پس از تلقیح با سویه Sp7 کاهش یافت (P <۰/۰۵).

در شرایط کنترل، مقدار سدیم قسمت هوایی رقم چمران بطور معنی‌داری کمتر از رقم سرداری بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری بطور قابل‌توجهی مقدار سدیم قسمت هوایی هر دو رقم چمران (۸۹/۳ درصد) و سرداری (۲۰/۵ درصد) را در مقایسه با کنترل افزایش داد (P <۰/۰۵).

جدول ۴. تجزیه واریانس (مقادیر F) اثر دو غلظت (۰ و 10^7 CFU ml^{-1}) از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) و تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی ریشه و بخش هوایی دو رقم گندم (سرداری و چمران).

منبع تغییرات	درجه آزادی	ریشه				بخش هوایی			
		سدیم	پتاسیم	Na/K		سدیم	پتاسیم	Na/K	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئیدها
رقم	۱	۵/۸۸*	۵/۳۸ *	۰/۹ ns		۰/۸۸ ns	۷۷/۲ **	۱۴/۱۵**	۳۳/۶**	۳/۲۸ ns	۱۱۸/۳۳**
سویه باکتری	۱	۶/۴۴**	۲۱/۶۸ **	۵۵/۱**		۳۸۹/۵ **	۱۰۸/۵۳ **	۷۵۵/۶**	۵/۰۷*	۱۱/۴۴**	۱۰۵/۴۷**
رقم*سویه باکتری	۱	۲/۲۱ ns	۳/۹۸ ns	۴/۱۶*		۰/۴۷ ns	۸۶/۴۶ **	۳۲/۵۱**	۱۳۴/۹**	۱۰۱/۵۸**	۳۲/۶۵**
سطح باکتری	۱	۲۵/۵۱ **	۰/۹۴ ns	۱۶۸/۹۶**		۱۲/۸۳ **	۳/۹ ns	۲۹۷/۹۶**	۱/۹۸ ns	۱۶/۲۵**	۷/۹۸**
رقم*غلظت باکتری	۱	۵/۵۵*	۸/۷۷ **	۰/۱۴ ns		۱۱/۷۶ **	۰/۰۲ ns	۲۷/۵**	۰/۰۳ ns	۶/۰۵*	۴/۵۳*
سویه باکتری*غلظت باکتری	۱	۱/۸۸ ns	۲/۲۵ ns	۶/۰۷*		۲/۵۶ ns	۱۳/۲۵ **	۱۱۰/۲**	۱/۳۷ ns	۷/۴۴*	۰/۰۰۶ ns
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری	۱	۰/۰۲ ns	۵/۰۷ *	۳۶/۴**		۰/۸ ns	۱۰/۰۱ **	۴/۹۳*	۲/۲۲ ns	۱/۷ ns	۳/۷۴ ns
سطح شوری	۱	۲۲۵/۷۳ **	۱۶/۷۷ **	۴۲/۴**		۱۴۰/۷ **	۲۵/۹۳ **	۵۴/۸۳**	۱/۴۴ ns	۴/۲ ns	۱/۵۴ ns
رقم*شوری	۱	۱/۰۶ ns	۵/۷۶ *	۱/۱ ns		۴۱/۹۵ **	۳/۶۲ ns	۲۳/۵۲**	۸/۹**	۰/۷۹ ns	۰/۹۶ ns
سویه باکتری* شوری	۱	۶/۱ *	۰/۰۹ ns	۱۳/۹**		۳۸/۱ **	۰/۲۵ ns	۱۲/۶۴**	۰/۰۸ ns	۵/۷۲*	۱/۷۷ ns
رقم*سویه باکتری*شوری	۱	۱۰/۸۴ **	۱۲/۹ **	۱۳/۲۲**		۱۹/۷۶ **	۰ ns	۲۹/۲۱**	۰/۰۰۳ ns	۰/۷۹ ns	۱/۳۷ ns
غلظت باکتری*شوری	۱	۲/۲۸ ns	۱/۴۷ ns	۱۹/۶۳**		۰/۱۶ ns	۱/۹ ns	۱/۰۰ ns	۸/۱**	۵/۵۶*	۲/۸۳ ns
رقم*غلظت باکتری*شوری	۱	۰ ns	۹/۷۳ **	۱۳/۶۴**		۰/۱۱ ns	۰/۸ ns	۱/۹ ns	۱/۶۴ ns	۲/۳۶ ns	۱/۴۶ ns
سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۱	۱/۳۶ ns	۱/۵۶ ns	۴/۶۲*		۲/۹ ns	۰/۴۴ ns	۲/۴۹ns	۰/۲ ns	۰/۴۲ ns	۱/۷۷ ns
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۱	۷/۹۱ **	۱/۶ ns	۴/۴۶*		۰/۰۳ ns	۱/۵۶ ns	۳/۵۶ ns	۲/۵۶ ns	۴/۳۴*	۶/۳۱*
خطا	۳۲										
ضریب تغییرات (٪)		۹/۶۷	۱۸/۷۹	۱۹/۹۶		۱۱/۷۱	۱۰/۹۳	۱۴/۷۶	۱۵/۴۴	۱۶/۳۷	۱۶/۸۴

ns بدون اثر معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

جدول ۵- میانگین مقدار سدیم، پتاسیم، نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و بخش هوایی دو رقم گندم (سرداری، چمران) تلقیح‌شده با غلظت 10^{7} CFU ml^{-1} از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) در شرایط کنترل و شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). مقایسه میانگین با استفاده از روش آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف بالانویس یکسانی دارند، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهند ($P <$ ۰/۰۵). NI: تلقیح‌نشده

تیمارها			ریشه (mg/l)			بخش هوایی (mg/l)		
رقم	سطح و نوع تلقیح	شوری	Na^+	K^+	Na^+/K^+	Na^+	K^+	Na^+/K^+
سرداری	NI	۰	۱/۱۱^{F}	۶/۲۷^{BCD}	۰/۱۸^{D}	۰/۴۹^{DE}	۱۸/۰۲^{B}	۰/۰۲۷^{CDE}
		۲۰۰	۱/۷۹^{A}	۴/۸۲^{EF}	۰/۳۷^{A}	۰/۵۹^{BC}	۱۵/۷۱^{C}	۰/۰۳۳^{C}
	Sp7	۰	۰/۸۲۳^{G}	۹/۷۸^{A}	۰/۰۸^{E}	۰/۲۱^{I}	۲۱/۵۴^{A}	۰/۰۱^{G}
		۲۰۰	۱/۶۲^{BC}	۵/۳$^{C-F}$	۰/۳۱^{BC}	۰/۲۸^{HI}	۱۸/۰۷^{B}	۰/۰۱۷^{FG}
	Sp245	۰	۱/۱۹^{EF}	۶/۴۲^{BC}	۰/۱۹^{D}	۰/۵۵^{CD}	۱۷/۸۴^{B}	۰/۰۳^{CD}
		۲۰۰	۱/۴۵^{D}	۴/۸۱^{EF}	۰/۳^{C}	۰/۶۳^{B}	۱۳/۵۲^{F}	۰/۰۵^{B}
چمران	NI	۰	۱/۱۴^{EF}	۶/۶۷^{B}	۰/۱۷^{D}	۰/۳۴^{GH}	۱۳/۹۴^{EF}	۰/۰۲۳^{DEF}
		۲۰۰	۱/۷۱^{AB}	۴/۸۲^{EF}	۰/۳۶^{AB}	۰/۶۵^{B}	۱۲/۰۶^{G}	۰/۰۵۳^{B}
	Sp7	۰	۰/۸۶^{G}	۴/۳۲^{F}	۰/۲^{D}	۰/۲۴^{I}	۱۴/۱۴^{E}	۰/۰۲^{EF}
		۲۰۰	۱/۱۴^{EF}	۵/۵۸$^{B-E}$	۰/۲۰^{D}	۰/۳۹^{FG}	۱۳/۵۳^{F}	۰/۰۳^{CD}
	Sp245	۰	۰/۸۸^{G}	۵/۱^{DEF}	۰/۱۷^{D}	۰/۴۵^{EF}	۱۴/۹۹^{D}	۰/۰۳^{CD}
		۲۰۰	۱/۵۱^{CD}	۵/۵$^{B-F}$	۰/۲۸^{C}	۰/۸۹^{A}	۱۲/۵۶^{G}	۰/۰۷^{A}

در شرایط غیر شور، مقدار سدیم قسمت هوایی ارقام سرداری و چمران پس از تلقیح با سویه Sp7 به‌ترتیب ۵۶/۸ درصد و ۳۱ درصد کاهش نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط شور، برخلاف سویه Sp245، سویه Sp7 مقدار سدیم قسمت هوایی ارقام سرداری (۵۱/۷ درصد) و چمران (۳۹/۵ درصد) را بطور قابل‌توجهی کاهش دادند (جدول ۵).

پتاسیم ریشه و قسمت هوایی: در شرایط کنترل، تفاوتی بین مقدار پتاسیم ریشه هر دو رقم مشاهده نشد (P ۰/۰۵ >). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری بطور قابل‌توجهی مقدار پتاسیم ریشه هر دو رقم چمران (۲۸ درصد) و سرداری (۲۳ درصد) را در مقایسه با کنترل کاهش داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط غیر شور، مقدار پتاسیم ریشه رقم سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 (۵۶ درصد) افزایش یافت. در شرایط شور، هیچیک از سویه‌های باکتری نتوانستند افزایش معنی‌داری در مقدار پتاسیم ریشه هر دو رقم ایجاد کنند (جدول ۵).

در شرایط کنترل، مقدار پتاسیم قسمت هوایی رقم سرداری بطور معنی‌داری بیشتر از رقم چمران بود ($P <$ ۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری بطور قابل‌توجهی مقدار سدیم قسمت هوایی هر دو رقم چمران (۱۳/۵ درصد) و سرداری (۱۲/۸ درصد) را در مقایسه با کنترل کاهش داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط غیرشور، سویه Sp7 توانست مقدار پتاسیم قسمت هوایی رقم سرداری (۱۹/۵ درصد) و سویه Sp245 مقدار پتاسیم قسمت هوایی رقم چمران (۷/۵ درصد) را بطور معنی‌داری افزایش دهد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط شور، برخلاف سویه Sp245، سویه Sp7 مقدار پتاسیم قسمت هوایی ارقام سرداری (۱۵ درصد) و چمران (۱۲/۲ درصد) را بطور قابل‌توجهی افزایش داد (جدول ۳). بنابراین، با توجه به مقدار پتاسیم ریشه و بخش هوایی، تلقیح سرداری با سویه Sp7 می‌تواند اثر مثبت همیاری را در افزایش پتاسیم گیاه در شرایط شور نشان دهد ($P <$ ۰/۰۵).

نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و قسمت هوایی: در شرایط کنترل، تفاوتی بین نسبت سدیم به پتاسیم ریشه هر دو رقم مشاهده نشد (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری بطور قابل‌توجهی نسبت سدیم به پتاسیم ریشه هر دو رقم چمران (۱۰۶ درصد) و سرداری (۱۱۱ درصد) را در مقایسه با کنترل افزایش داد (P <۰/۰۵). در شرایط غیر شور، نسبت سدیم به پتاسیم ریشه رقم سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 (۵۳ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد (P <۰/۰۵). در شرایط شور، هر دو سویه نسبت سدیم به پتاسیم ریشه ارقام سرداری و چمران را بطور قابل‌توجهی کاهش دادند (جدول ۵).

در شرایط کنترل، نسبت سدیم به پتاسیم قسمت هوایی در هر دو رقم سرداری و چمران مشابه بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، برخلاف رقم سرداری، نسبت سدیم به پتاسیم قسمت هوایی رقم چمران در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت (P <۰/۰۵). در شرایط غیر شور، سویه Sp7 توانست نسبت سدیم به پتاسیم قسمت هوایی رقم سرداری (۶۲/۵ درصد) را بطور معنی‌داری کاهش دهد (P <۰/۰۵). در شرایط شور، برخلاف سویه Sp245، سویه Sp7 نسبت سدیم به پتاسیم قسمت هوایی ارقام سرداری (۵۰ درصد) و چمران (۴۴ درصد) را بطور معنی‌داری کاهش داد (جدول ۵).

رنگ‌دانه‌های کلروپلاست: در شرایط کنترل، میانگین مقدار کلروفیل a در رقم سرداری کمتر از رقم چمران بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، برخلاف رقم سرداری، تنش شوری بطور قابل‌توجهی مقدار کلروفیل a را در رقم چمران (۲۸/۷درصد) در مقایسه با کنترل کاهش داد (P <۰/۰۵). در شرایط غیر شور، هیچیک از سویه‌های باکتری تغییری معنی‌دار در مقدار کلروفیل a در دو رقم ایجاد نکردند. در شرایط شور، مقدار کلروفیل a در اثر همیاری سویه Sp245 و رقم سرداری (۲۲/۸درصد) و همچنین همیاری سویه Sp7 و رقم چمران (۴۷/۶ درصد) افزایش معنی‌داری داشتند (جدول ۶).

در شرایط کنترل، میانگین مقدار کلروفیل b نیز در رقم سرداری کمتر از رقم چمران بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، برخلاف رقم سرداری، تنش شوری بطور قابل-توجهی مقدار کلروفیل b را در رقم چمران (۲۶/۷ درصد) در مقایسه با کنترل کاهش داد. در شرایط غیرشور، در اثر همیاری سویه Sp7 مقدار کلروفیل b در رقم سرداری (۶۸/۲ درصد) افزایش معنی‌دار نشان داد. در شرایط شور، مقدار کلروفیل b رقم سرداری در اثر همیاری سویه‌های Sp7 (۵۲/۳ درصد) و Sp245 (۳۷ درصد) و همچنین در اثر همیاری سویه Sp7 با رقم چمران (۴۷/۷ درصد) افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۶).

در شرایط کنترل، مقدار کارتنوئیدها در رقم سرداری بیشتر از رقم چمران بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری تغییر معنی‌داری در مقدار کارتنوئیدهای هر دو رقم گندم ایجاد نکرد (P <۰/۰۵). در شرایط غیر شور، در اثر همیاری سویه Sp7 مقدار کارتنوئیدهای رقم سرداری (۲۶/۵ درصد) افزایش معنی‌دار نشان داد (P <۰/۰۵). در شرایط شور، مقدار کارتنوئیدها در رقم سرداری در اثر همیاری سویه‌های Sp245 (۴۹ درصد) افزایش یافت، در حالی‌که مقدار کارتنوئیدها در رقم چمران پس از تلقیح با سویه Sp7 (۵۴/۵ درصد) افزایش معنی‌داری نشان داد. بنابراین، سویه Sp245 مقدار کارتنوئیدها، کلروفیل a و b را در رقم سرداری و سویه Sp7 مقدار این رنگدانه‌ها را در رقم چمران به طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۶).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز: در شرایط کنترل، تفاوتی بین فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی دو رقم همولوگ حساس و مقاوم مشاهده نشد (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، تنش شوری بطور قابل-توجهی فعالیت آنزیم کاتالاز رقم سرداری (۵۱ درصد) را افزایش داد (P <۰/۰۵). فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم

سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 در شرایط غیر شور (۴۱/۵ درصد) و همچنین در شرایط شور (۳۵/۴ درصد) بطور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش یافت ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط شور و غیرشور، تلقیح رقم چمران با هر دو سویه باکتری منجر به کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم کاتالاز نشد (جدول های ۷ و ۸).

جدول ۶- میانگین رنگدانه‌های کلروفیل a و b و کارتنوئیدهای دو رقم گندم (سرداری، چمران) تلقیح‌شده با غلظت 10^{7} $CFUml^{-1}$ از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) در شرایط کنترل و شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). مقایسه میانگین با استفاده از روش آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. در هر ستون، میانگین‌هایی که حروف بالانویس یکسانی دارند، بطور معنی‌داری با هم تفاوت ندارند ($P < 0.05$). NI: تلقیح-نشده

تیمارها				پاسخ‌های گیاه (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)		
رقم	سطح تلقیح و سویه	شوری	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئیدها
سرداری	NI	۰	۱/۱۲ ^{F}	۰/۴۴ ^{DEF}	۴/۵۲ ^{CD}
		۲۰۰	۱/۱۴ ^{F}	۰/۳۹۴ ^{F}	۴/۳۸ ^{CD}
	Sp7	۰	۱/۳۱ ^{DEF}	۰/۷۴ ^{A}	۵/۷۲ ^{AB}
		۲۰۰	۱/۲۵ ^{EF}	۰/۶ ^{BC}	۴/۳ ^{CDE}
	Sp245	۰	۱/۱ ^{F}	۰/۴۱ ^{EF}	۴/۶۹ ^{BC}
		۲۰۰	۱/۴ ^{CDE}	۰/۵۴$^{B-E}$	۶/۵۲ ^{A}
چمران	NI	۰	۱/۷۴ ^{AB}	۰/۶ ^{BC}	۳/۲۸ ^{EFG}
		۲۰۰	۱/۲۴ ^{EF}	۰/۴۴ ^{DEF}	۲/۳۱ ^{G}
	Sp7	۰	۱/۶ ^{ABC}	۰/۵۴$^{B-E}$	۲/۹۹ ^{FG}
		۲۰۰	۱/۸۳^{A}	۰/۶۵^{AB}	۳/۵۷ ^{DEF}
	Sp245	۰	۱/۵۳ ^{BCD}	۰/۵۵^{BCD}	۲/۷۴ ^{FG}
		۲۰۰	۱/۲۹ ^{DEF}	۰/۴۸ $^{C-F}$	۲/۴۱ ^{G}

در شرایط کنترل، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دو رقم سرداری و چمران تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P <$ ۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش شوری در دو رقم چمران (۷۴/۳ درصد) و سرداری (۶۷/۶ درصد) افزایش یافت ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط غیر شور، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دو رقم چمران و سرداری پس از تلقیح با هر دو سویه باکتری افزایش یافت، در حالی‌که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط شوری پس از تلقیح گیاهان با هر دو سویه نسبت به شرایط تنش کاهش یافت که بیشترین کاهش در رقم چمران (۱۱ درصد) و پس از تلقیح با سویه Sp7 مشاهده شد (جدول ۷ و ۸).

فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین و تیروزین آمونیالیاز: در شرایط کنترل، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در رقم سرداری پایین‌تر از رقم چمران بود ($P <$ ۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در اثر تنش شوری بطور قابل‌ملاحظه‌ای هر دو رقم چمران (۱۰/۷ درصد) و سرداری (۱۶/۸۱ درصد) را در مقایسه با کنترل افزایش داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط غیر شور، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در رقم سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 (۲۴/۵ درصد) و Sp245 (۲۲ درصد) کاهش معنی-داری نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). در شرایط شور، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در رقم سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 (۲۰/۸ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول های ۷ و ۸).

جدول ۷- تجزیه واریانس (مقادیر F) اثر دو غلظت (۰ و 10^{7} CFU ml^{-1}) از دو سویه باکتری (*A. brasilense* Sp7 and Sp245) و تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر فعالیت چهار آنزیم تیروزین آمونیالیاز (TAL) و فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) بخش هوایی دو رقم گندم (سرداری و چمران).

منبع تغییرات	درجه آزادی	TAL	PAL	CAT	APX
رقم	۱	۱۲۸۹/۸۲**	۲۶۰/۰۲**	۳/۴۶ ns	۷/۲۴ *
سویه باکتری	۱	۶/۴۵*	۴/۸*	۲۳/۸۳ **	۰/۰۱ ns
رقم* سویه باکتری	۱	۰/۳۶ ns	۲۷/۸۳**	۲۸/۶۵ **	۰/۳۴ ns
سطح باکتری	۱	۱۸/۱۴**	۸۸/۳۲**	۳/۲۸ ns	۳۳/۳۲ **
رقم* غلظت باکتری	۱	۵/۱۶*	۷/۰۲*	۱۲/۴۴ **	۶/۷۲ *
سویه باکتری*غلظت باکتری	۱	۵۷/۷**	۴/۷*	۲۳/۸ **	۰/۰۱ ns
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری	۱	۲/۸۹ ns	۱۱/۰۶**	۲۸/۶۵ **	۰/۳۴ ns
سطح شوری	۱	۶/۴۵*	۴/۸*	۱۹۸/۸۷ **	۱۰۱۱/۱۱ **
رقم*شوری	۱	۰/۷۹ ns	۷/۲۶*	۴۴/۹۸ **	۱/۱۸ ns
سویه باکتری* شوری	۱	۲۷/۴**	۲/۸۲ ns	۷/۵۴ **	۰/۸۸ ns
رقم*سویه باکتری*شوری	۱	۵/۱۶*	۷/۰۲*	۷/۷۴ **	۰/۱۱ ns
غلظت باکتری*شوری	۱	۱/۳۷ ns	۲/۳ ns	۳/۵۲ ns	۲۰۶/۷۸ **
رقم*غلظت باکتری*شوری	۱	۴/۹۴*	۶/۶۴*	۲/۳۱ ns	۰/۴۳ ns
سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۱	۰/۷۹ ns	۷/۲۶*	۷/۵۴ **	۰/۸۸ ns
رقم*سویه باکتری*غلظت باکتری*شوری	۱	۱/۳۷ ns	۲/۳ ns	۷/۷۴ **	۰/۱۱ ns
خطا	۳۲				

ns: بدون اثر معنی‌دار، * و ** برترتیبمعنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

جدول ۸- میانگین فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین (PAL)، تیروزین آمونیالیاز (TAL)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APEX) بخش هوایی دو رقم گندم (سرداری، چمران) تلقیح‌شده با غلظت 10^{7} CFU ml^{-1} از دو سویه باکتری (A. *brasilense* Sp7 and Sp245) در شرایط کنترل و شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). مقایسه میانگین با استفاده از روش آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف بالانویس یکسانی دارند، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P<0/05$). NI: تلقیح‌نشده

تیمارها			پاسخ‌های گیاه (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین عصاره در یک دقیقه)			
رقم	سطح و نوع تلقیح	شوری	PAL	TAL	CAT	APEX
سرداری	NI	۰	۲۱/۵۹ ^{E}	۱۰/۹ ^{CD}	۰/۳۹۵ ^{DEF}	۰/۳۶ ^{D}
		۲۰۰	۲۵/۲۲ ^{D}	۱۲/۱ ^{C}	۰/۵۹۶ ^{B}	۰/۶۰۳ ^{A}
	Sp7	۰	۱۶/۳ ^{F}	۹/۴۵ ^{EF}	۰/۲۳۱ ^{G}	۰/۴۸ ^{C}
		۲۰۰	۱۹/۹۷ ^{E}	۸/۴۷ ^{F}	۰/۳۸۵ ^{EF}	۰/۵۶۵ ^{B}
	Sp245	۰	۱۶/۸۴ ^{F}	۱۰/۶۴ ^{DE}	۰/۳۴۷ ^{F}	۰/۴۸۱ ^{C}
		۲۰۰	۲۷/۷۴ ^{BC}	۱۱/۴۲ ^{CD}	۰/۷۵۳ ^{A}	۰/۵۷۷ ^{B}
چمران	NI	۰	۲۷/۹ ^{BC}	۱۶/۱۵ ^{B}	۰/۳۸۸ ^{EF}	۰/۳۵ ^{D}
		۲۰۰	۳۰/۸۹ ^{A}	۱۹/۰۴ ^{A}	۰/۴۷۱ ^{CDE}	۰/۶۱ ^{A}
	Sp7	۰	۲۷/۶۵ ^{BCD}	۱۹/۴ ^{A}	۰/۴۰۹ ^{DEF}	۰/۴۵۵ ^{C}
		۲۰۰	۲۸/۸۶ ^{AB}	۱۹/۲ ^{A}	۰/۵۰۳ ^{C}	۰/۵۴۴ ^{B}
	Sp245	۰	۲۶/۲۵ ^{CD}	۱۹/۶۴ ^{A}	۰/۴ ^{DEF}	۰/۴۳۸ ^{C}
		۲۰۰	۲۹/۴۸ ^{AB}	۱۹/۲ ^{A}	۰/۴۸۵ ^{CD}	۰/۵۵ ^{B}

در شرایط کنترل، فعالیت آنزیم تیروزین آمونیالیاز در رقم سرداری کمتر از رقم چمران بود (P <۰/۰۵). در گیاهان تلقیح‌نشده، برخلاف رقم سرداری، فعالیت آنزیم تیروزین آمونیالیاز در اثر تنش شوری بطور قابل‌ملاحظه‌ای در رقم چمران (۱۷/۹درصد) افزایش یافت (P <۰/۰۵). فعالیت آنزیم تیروزین آمونیالیاز در رقم سرداری پس از تلقیح با سویه Sp7 در شرایط غیرشور (۱۳/۳ درصد) و همچنین شرایط شور (۳۰ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد (P <۰/۰۵). اما فعالیت آنزیم تیروزین آمونیالیاز در شرایط شور در اثر همیاری دو سویه باکتری با رقم چمران کاهش قابل‌توجهی نشان نداد (جدول ۷ و ۸).

بحث

شوری خاک یکی از بزرگترین مشکلات کشاورزی در نواحی خشک و نیمه‌خشک دنیا است (۳۶) و گیاهان در مراحل مختلف رشد به ویژه هنگام جوانه زدن و استقرار گیاهچه بیشترین حساسیت را نسبت به شوری نشان می‌دهند (۱۸). یکی از راه‌های تعدیل اثرات منفی شوری، به‌کارگیری باکتری‌های محرک رشد مانند *آزوسپیریلوم* است (۴, ۶) که در این مطالعه اثر دو سویه SP7 و SP245 در کمک به گیاه گندم برای کاهش اثرات سوء تنش شوری استفاده شد.

نتایج مربوط به وزن خشک نشان دادند که در برابر تنش شوری، رقم چمران حساس‌ترین به شوری بوده اما میزان حساسیت در بخش‌هوایی بیشتر بود (جدول ۱ و ۲). زیرا بر اثر تنش شوری باعث محدود رشد بخش هوایی و در نتیجه میزان فتوسنتز می‌گردد که این محدودیت با تأخیر در سیستم ریشه‌ای مشاهده می‌شود (۲،۳۲). تلقیح گیاه گندم با سویه‌های Sp245 و Sp7 بطور معنی‌داری اثرات مثبت خود را بر وزن خشک گیاه گندم در سطوح $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ نشان داد (جدول ۱ و ۲). عموآقایی و همکاران نیز با تلقیح گیاه گندم نشان دادند که وزن خشک ریشه و بخش هوایی در اثر تلقیح با برخی سویه‌های *آزوسپیریلوم* افزایش معنی‌داری نشان داد (۴). کاتانتی و همکاران نیز به نتایج مشابهی رسیدند و دریافتند که آزوسپیریلوم وزن خشک ریشه و همچنین طول ریشه و بخش هوایی را افزایش می‌دهد (۱۷). همچنین مانگ منگ و همکاران نشان دادند که بیشترین اثرات مفید *آزوسپیریلوم برازیلنس* بر شاخص‌های رشد مانند طول و همچنین وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه گوجه‌فرنگی، کاهو و خیار در غلظت‌های $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} مشاهده می‌شود (۲۵). نتایج به دست آمده در این مطالعه نیز اثرات مثبت *آزوسپیریلوم* را در غلظت $۱۰^{۷}$ CFU ml^{-1} به‌ویژه در شرایط تنش شوری نشان می‌دهد.

مقدار سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم گیاه در شرایط تنش شوری تغییر می‌کند، به‌طوری‌که با افزایش مقدار سدیم محیط، به دلیل کاهش قدرت انتخاب‌گری پروتئین‌های ناقل سدیم و پتاسیم، از ورود پتاسیم به مقدار کافی جلوگیری می‌شود و نسبت سدیم به پتاسیم افزایش خواهد یافت و عملکرد آنزیم‌های کلیدی مختل می‌شود (۱۲). در این مطالعه نیز در گیاهان تحت تنش شوری، مقدار سدیم افزایش و مقدار پتاسیم به‌ویژه در رقم چمران کاهش یافت و همچنین نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و بخش هوایی افزایش یافت (جدول ۳). در اثر همیاری گیاه گندم با هر دو سویه *آزوسپیریلوم* مقدار سدیم ریشه و بخش هوایی در رقم سرداری کاهش یافت، درحالی‌که مقدار پتاسیم آنها به‌ویژه در شرایط شور، فقط در اثر سویه SP7 و در رقم سرداری افزایش یافت. با توجه به نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و قسمت هوایی، تلقیح ارقام چمران و سرداری با سویه Sp7 بطور مؤثرتری نسبت به سویه SP245 در حفظ تعادل سدیم و پتاسیم گیاه اثر مثبتی داشت (P < 0.05) (جدول ۳). زیرا *آزوسپیریلوم* با تغییر میزان جذب یون‌های سمی و عناصر غذایی (۴۰)، تغییر مقدار سدیم و بهبود شرایط فیزیک ریزوسفر از راه تولید اگزوپلی‌ساکاریدها (۳۷)، باعث تنظیم اسمزی گیاه می‌شود. نیدمن نیز نشان داد که ریزوباکتری‌های محرک رشد

می‌توانند با افزایش جذب پتاسیم، نیتروژن و فسفات و در نتیجه کاهش نسبت سدیم به پتاسیم اثرات منفی شرایط شور را کاهش دهند (۲۸). آمور گزارش داد که تلقیح گیاه فلفل شیرین با *آزوسپیریلوم براسیلنس* در شرایط شور، منجر به بهبود کاهش شاخص‌های رشد به ویژه وزن خشک و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم شد (۱۵).

در سلول‌های گیاهی در شرایط عادی و تنشی بطور مداوم مقداری پراکسید هیدروژن تولید می‌شود که توسط آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز) و غیر آنزیمی تجزیه می‌شود. در شرایط تنشی مقدار پراکسید هیدروژن افزایش یافته و سلول‌های گیاهی مقدار برخی از این ترکیبات محافظ را افزایش داده و تا رسیدن به تعادلی که منجر به حفظ بقای سلول می‌شود، ادامه می‌یابد (۳۵). در این مطالعه نیز مقدار فعالیت دو آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش شوری بیشتر از حالت کنترل بود (جدول ۴). گونه‌ها و سویه‌های مختلف *آزوسپریلوم* با تعدیل شدت تنش، بر مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها اثر می‌گذارند. این باکتری‌ها از راه تولید آنزیم ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربکسیلیک اسید دآمیناز پیش‌ساز اتیلن مصرف کرده، بنابراین مانع از تولید اتیلن شده و در نهایت باعث کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند (۲۰). در این مطالعه نیز در شرایط شور، در اثر همیاری رقم سرداری با سویه Sp7 مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش معنی‌داری نشان داد و این نتیجه توسط عمر و همکارانش نیز تأیید شده‌است (۳۰). آنان نشان دادند که در شرایط شور، مقدار فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان جوِ تلقیح‌شده با *آزوسپیریلوم برازیلنس* کاهش یافت.

فنیل‌آلانین آمونیالیاز آنزیم اصلی و اولیه در کنترل سرعت ساخت ترکیبات فنلی است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. فعالیت این آنزیم در سلول‌های گیاهی با توجه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند شوری تغییر می‌کند (۱۹). در این مطالعه نیز مقدار فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین و تیروزین آمونیالیاز در اثر تنش شوری در رقم چمران بیشتر از رقم سرداری افزایش یافت ولی در اثر فعالیت سویه Sp7 مقدار فعالیت این آنزیم‌ها در رقم سرداری کاهش یافت و این نشانده کاهش سطح تنش درک شده توسط گیاه می‌باشد. میزان فعالیت این آنزیم‌ها موج مانند بوده و در شرایط شور توأم با ریزوباکترهای محرک رشد نسبت به کنترل گاهی کمتر و گاهی بیشتر است که این نتیجه توسط لیانگ و همکارانش تأیید شده است (۲۴).

مقدار رنگدانه‌های کلروپلاست مانند کلروفیل *a* و b و کارتنوئیدها در پاسخ به عوامل محیطی مانند تنش شوری ممکن است کم یا زیاد شوند (۳۲). تنش شوری می‌تواند از راه تغییر در میزان ساخت، افزایش سرعت تجزیه کلروفیل و همچنین سمیت یون سدیم (۱،۳۳)، تغییر مقدار و نسبت انواع کارتنوئیدها (۱۰) بر فتوسنتز اثر بگذارد. برخلاف رقم سرداری، تنش شوری مقدار کلروفیل‌های a و b را در رقم چمران بطور معنی‌داری کاهش داد، در حالی-که در شرایط شور، مقدار کارتنوئیدهای هر دو رقم سرداری و چمران تغییر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۵). تغییر مقدار و نسبت انواع کارتنوئیدها نیز با تأثیر مثبت بر سیالیت غشاهای تیلاکوئیدی دستگاه فتوسنتزی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند (۲۶) و در شرایط شور ممکن است کاهش یا افزایش نشان دهد (۱۶). در گیاهان تلقیح‌شده، سویه Sp7 با حفظ مقدار رنگدانه‌ها و همچنین افزایش مقدار برخی از آنها اثرات تنش شوری را تعدیل کردند. گرچه آمور (۱۵) و همکاران نشان دادند که تنش شوری نسبتا ملایم اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل ندارد اما زارع و همکارانش (۳۹) اثرات منفی تنش شوری را بر مقدار کلروفیل مشاهده کردند و نتایج آنان نشان داد که باکتری *آزوسپیریلوم* مقدار کلروفیل *a* و b گندم رقم سرداری را افزایش می‌دهد. احمدی و همکارانش نیز نشان دادند که تلقیح گیاه گندم با ریزوباکتری‌های محرک رشد (*آزوسپیریلوم لیپوفروم*، *سودوموناس فلوریسنس*) آثار منفی

تنش شوری را با افزایش تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط شور و غیرشور کاهش داد (۳).

نتیجه‌گیری

تلقیح ارقام مختلف گندم با غلظت‌ها و سویه‌های متفاوت باکتری اندوفیت *آزوسپیریلوم برازیلنس* نشان داد که در شرایط تنش شوری مقدار بیوماس افزایش یافت و میزان افزایش به غلظت و نوع سویه و همچنین رقم مورد مطالعه بستگی دارد. به‌طور کلی، پاسخ دو رقم گندم به دو سویه Sp7 و Sp245 در هر شاخص اندازه‌گیری شده خاص بوده و ممکن است هر سویه فقط بر تعدادی از پاسخ‌های گیاه اثر مثبت بگذارد. بنابراین، به‌منظور استفاده از باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان کود زیستی و همچنین افزایش محصول، لازم است که غلظت مناسب از هر سویه باکتری و رقم گیاهی سازگار با آنها مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع

۱- اسفندیاری، ع. و عنایتی، و. ۱۳۹۰. بررسی تغییرات پارامترهای فلوئورسانس کلروفیل a در دو رقم گندم دوروم در پاسخ به شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۶(۴)، ۳۷۵-۳۸۶.

۲- سیدشریفی، ر. و حیدری سیاه‌خلکی، م. ص. ۱۳۹۱. تاثیر کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی و سهم فرایند انتقال مجدد ماده خشک در عملکرد دانه گندم. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۸(۲)، ۳۲۶-۳۴۳.

3- 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.

4- Amoo-Aghaie, R., Mostajeran, A. and Emtiazi, G., 2003. Effect of *Azospirillum* Inoculation on Some Growth Parameters and Yield of Three Wheat Cultivars. JWSS-Isfahan University of Technology. 7(2): 127-139.

5- Arnon, A., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: p. 112-121.

6- Askary, M., Mostajeran, A., Amooaghaei, R. and Mostajeran, M., 2009. Influence of the co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2, 4-D on grain yield and N, P, K content of *Triticum aestivum* (cv. Baccros and Mahdavi). Agric. Environ. Sci. 5: 296-307.

7- Bacilio, M., Rodriguez, H., Moreno, M., Hernandez, J.-P. and Bashan, Y., 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged Azospirillum lipoferum. Biology and Fertility of Soils. 40(3): 188-193.

8- Beaudoin-Eagan, L.D. and Thorpe, T.A., 1985. Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. Plant Physiology. 78(3): 438-441.

9- Beers, R.F. and Sizer, I.W ,.1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J Biol Chem. 195(1): 133-140.

10- Bertrand, M. and Schoefs, B., 1999. Photosynthetic pigment metabolism in plants during stress. Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker, New York: 527-544.

11- Blaha, D., Prigent-Combaret, C., Mirza, M.S. and Moënne-Loccoz, Y., 2006. Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene acdS in phytobeneficial and pathogenic Proteobacteria and relation with strain biogeography. FEMS Microbiology Ecology. 56(3): 455-470.

12- Blumwald, E., Aharon, G.S. and Apse, M.P., 2000. Sodium transport in plant cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1465(1–2): 140-151.

13- Creus, C.M., Graziano, M., Casanovas, E.M., Pereyra, M.A., Simontacchi, M., Puntarulo, S., Barassi, C.A. and Lamattina, L., 2005. Nitric oxide is involved in the *Azospirillum brasilense*-induced lateral root formation in tomato. Planta. 221(2): 297-303.

14- Creus, C.M., Sueldo, R.J. and Barassi, C.A., 1997. Shoot growth and water status in

Azospirillum-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. Plant Physiology And Biochemistry-Paris. 35: 939-944.

15- del Amor, F.M. and Cuadra-Crespo, P., 2012. Plant growth-promoting bacteria as a tool to improve salinity tolerance in sweet pepper. Functional Plant Biology. 39(1): 82-90.

16- Doganlar, Z.B., Demir, K., Basak, H. and Gul, I., 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. African Journal of Agricultural Research. 5(15): 2056-2065.

17- El-Katatny, M.H. and Idres, M.M., 2014. Effects of single and combined inoculations with *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* on seedling growth or yield parameters of wheat (*Triticum vulgaris* L., Giza 168) and corn (*Zea mays* L., hybrid 310). Journal of Plant Nutrition. 37(12): 1913-1936.

18- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A. and Siddique, K.H.M., 2015. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. Agronomy for Sustainable Development. 35(2): 461-481.

19- Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L. and Chen, F., 2008. Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in Jatropha curcas L. seedlings. Plant Soil Environ. 54(9): 374-381.

20- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J. and Duan, J., 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. European Journal of Plant Pathology. 119(3): 329-339.

21- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station. 347(2nd edit).

22- Krieg, N.R. and Döbereiner, J., 1984. Genus *Azospirillum.* Bergey's manual of systematic bacteriology. 1: 94-104.

23- Kuan, K.B., Othman, R., Abdul Rahim, K. and Shamsuddin, Z.H., 2016. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Inoculation to Enhance Vegetative Growth, Nitrogen Fixation and Nitrogen Remobilisation of Maize under Greenhouse Conditions. PLoS ONE. 11(3): 1-19.

24- Liang, J., Tao, R., Hao, Z.-n., Wang, L. and Zhang, X., 2013. Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. African Journal of Biotechnology. 10(36): 6920-6927.

25- Mangmang, J.S., Deaker, R. and Rogers, G., 2015. Optimal plant growth-promoting concentration of *Azospirillum brasilense* inoculated to cucumber, lettuce and tomato seeds varies between bacterial strains. Israel Journal of Plant Sciences. 62(3): 145-152.

26- Misra, A., Latowski, D. and Strzalka, K., 2006. The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress. Russian Journal of Plant Physiology. 53(1): 102-109.

27- Nabti, E., Sahnoune, M., Ghoul, M., Fischer, D., Hofmann, A., Rothballer, M., Schmid, M. and Hartmann, A., 2009. Restoration of Growth of Durum Wheat (*Triticum durum* var. waha) Under Saline Conditions Due to Inoculation with the Rhizosphere Bacterium *Azospirillum brasilense* NH and Extracts of the Marine Alga Ulva lactuca. Journal of Plant Growth Regulation. 29(1): 6-22.

28- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Arshad, M., 2009. Rhizobacteria containing ACC-deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. Canadian journal of microbiology. 55(11): 1302-1309.

29- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22(5): 867-880.

30- Omar, M.N.A., Osman, M.E.H., Kasim, W.A. and Abd El-Daim, I.A., Improvement of Salt Tolerance Mechanisms of Barley Cultivated Under Salt Stress Using *Azospirillum brasilense*, in *Salinity and Water Stress: Improving Crop Efficiency*, Ashraf, M., Ozturk, M., and Athar, H.R., Editors. 2009, Springer Netherlands: Dordrecht. 133-147.

31- Palacios, O.A., Choix, F.J., Bashan, Y. and de-Bashan, L.E., Influence of tryptophan and indole-3-acetic acid on starch accumulation in the synthetic mutualistic *Chlorella sorokiniana –Azospirillum brasilense* system under heterotrophic conditions. Research in Microbiology.

32- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and environmental safety. 60(3): 324-349.

33- Rao, G. and Rao, G.R., 1981. Pigment composition and chlorophyllase activity in pigeon pea (*Cajanus indicus* Spreng) and Gingelley (*Sesamum indicum* L.) under NaCl salinity. Indian Journal of Experimental Biology: 768-771.

34- Sahin, U., Ekinci, M., Kiziloglu, F.M., Yildirim, E., Turan, M., Kotan, R. and Ors, S., 2015. Ameliorative Effects of Plant Growth Promoting Bacteria on Water-yield Relationships, Growth, and Nutrient Uptake of Lettuce Plants under Different Irrigation Levels. HortScience. 50(9): 1379-1386.

35- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany. 2010(10): 1-26.

36- Tiwari, J.K., Munshi, A.D., Kumar, R., Pandey, R.N., Arora, A., Bhat, J.S. and Sureja, A.K., 2010. Effect of salt stress on cucumber: Na^+/K^+ ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. Acta Physiologiae Plantarum. 32 (1): 103-114.

37- Upadhyay, S., Singh, J. and Singh, D., 2011. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. Pedosphere. 21(2): 214-222.

38- Verbon, E.H. and Liberman, L.M. 2016. Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development. Trends in plant science. 21(3): 218-229.

39- Zare, M.J., Nia, S.H., Tape, E.M.G. and Rejali, F. 2011. study of bacteria beneficial effects of *Piriformospora indica* endophytic fungi and *Azospirillum* Sp. in increasing tolerance of Sardari wheat cultivar to the saline condition. Environmental stresses in crop science. 4(1): 21-31.

40- Zhang, H., Kim, M.S., Sun, Y., Dowd, S.E., Shi, H. and Paré, P.W., 2008. Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. Molecular Plant-Microbe Interactions. 21(6): 737-744.

Study of associative relationship effects of Azospirillum brasilense (Sp7 and Sp245) on some growth and biochemical indices of wheat seedlings (*Triticum aestivum*) under saline conditions

Ghassemi H.R. and Mostajeran A.

Plant Science Division, Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Salt stress is one of the most serious environmental factors limiting the productivity of wheat plants. It is demonstrated associative relationship is one of the ways to decrease the detrimental effects of the saline condition. This study was carried out to determine the suitable bacteria strains and concentrations in 4 Iranian cultivars wheat (Sardari, Chamran, Shole and Roshan). Experiment was established as factorial on completely randomized design with three replicate to investigate effects of two levels of salinity (0 and 200 mM) and five concentrations (0, 10^5, 10^6, 10^7 and 10^8 CFU ml^{-1}) of both bacteria strains (Sp7 & Sp245) on some growth and biochemical indexes of wheat cultivars. Results showed dry weight, K^+ content and chlorophyll *a* and b reduced with salinity while Na^+ content, Na^+/K^+ ratio and antioxidant enzyme activities (Catalase, Ascorbate peroxidase, Phenylalanine and Tyrosine ammonia lyase), in most cases, significantly increased. The best associative relationship of both strains mainly was seen in 10^6 and 10^7 CFU ml^{-1} concentrations. At saline condition, Sp245 considerably improved root indexes whereas positives effects of sp7 mostly were observed in shoot indexes. Altogether, reduction in unfavorable effects of salinity on Sardari and Chamran cultivars after inoculation with Sp7 strain were markedly higher than Sp245 strain performance.

Key words: Phenylalanine ammonia lyase, Tyrosine ammonia lyase, Catalase, Dry weight, Na^+/K^+ ratio