

ارزیابی توان تولید هورمون های اکسینی (IAA) توسط سویه های ریزوبیومی بومی خاک های ایران و اثرات کاربرد سویه های برتر بر شاخص های رشد گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) و هدرروی کودهای شیمیایی

• حسن اعتصامی (نویسنده مسئول)

دانشجوی دکتری مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران

• حسینعلی علیخانی

عضو هیات علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۸

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۹۵۷۱۹۱

Email: salic_etesam@yahoo.com

چکیده

اکنون کاملاً محقق شده است که می توان در بین سویه های بیشمار از هرگونه ریزوبیومی، سویه هایی را یافت که علاوه بر کارایی بالا در تثبیت N_2 ، توان انجام فرایندهای مؤثر در تحریک رشد گیاه مانند تعدیل هورمون های رشد گیاه را نیز داشته باشند. به همین دلیل این پژوهش با هدف بررسی توان تولید اکسین ها که از توانایی های منتسب به گروه PGPR می باشد در سویه های ریزوبیومی بومی خاک های ایران و ارزیابی اثرات کاربرد مایه تلقیح سویه های برتر، بر عملکرد گیاه گندم برنامه ریزی و در مرحله ی گلخانه ای به اجرا درآمده است. نتایج حاصل نشان می دهند که باکتری های ریزوبیومی بومی خاک های ایران توان تولید اکسین های ایندولی را دارند. نتایج آزمون گلخانه ای بر روی گیاه گندم نیز نشان داد که اثرات باکتری های ریزوبیومی بر روی پارامترهای اندازه گیری شده معنی دار ($P < 0/01$) بوده است. بنابراین مهمترین مکانیسم تحریک توسط سویه های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون ایندولی (IAA) می باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، به دنبال آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (N و K، P) توسط گیاه و افزایش رشد می باشد که این می تواند باعث کاهش هدرروی کودهای شیمیایی شود.

کلمات کلیدی: ریزوبیا، PGPR، هورمون های اکسینی (IAA)، تریپتوفان و نقره، گندم (*Triticum aestivum* L.)

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 92 pp: 53-62

Evaluation of plant growth hormones production (auxins) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes and the loss of chemical fertilizers

By: Hassan Etesami, PhD Student in Soil Science, Tehran University, (Corresponding Author; Tel: +989133957191)

Hossein A. Alikhani, Faculty Member of Tehran University

Proving of rhizobia's other abilities in spite of Nitrogen fixation ability and considering these bacteria as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) researching tasks in this field have increased. Now, it's completely proved that we can find such strains among many more strains of each rhizobial group that can also do effective process in plant growth promoting as plant growth hormones production, in addition of their ability in N₂ fixation. Such strains can be useful not only for their special host, but also for other plants and strategic products as grains. Soil biotechnology, which follows production potential of biofertilizers too, which leads improving quality of agricultural products and soil fertility level and life sources contamination preventing, is depend on the use of rhizobia as a good substitute for chemical fertilizers. Several researches were performed about Iranian rhizobia since a decade ago in N₂ fixation. Application effect of IAA super strains inoculants on growth index of wheat plant yield was evaluated. The results were indicated that indigenous rhizobia have the potential of Indole auxins production (IAA). Results from the application of superstrains (IAA⁺⁺⁺) inoculants in wheat plant showed that IAA⁺⁺⁺ strain had a significant increase in biological yields and N, P and K content. So, the most important stimulation mechanism by rhizobial strains, is production of indole acetic acid (IAA) which results the better root growth, so increase of water and micronutrient (N, P and K) uptake by the plant and decrease of the loss of chemical fertilizers.

Keywords: Rhizobacteria, PGPR, Plant Growth Hormone (IAA), Wheat

مقدمه

مصرف L-TRP موجود در منطقه ریزوسفر می‌باشند، نقش بسیار مهمی در رشد و توسعه سیستم ریشه‌های گیاه و عملکرد محصول ایفا می‌کنند (۱۰، ۱۴، ۲۰). از جمله Sarwar و Frankenberger (۱۹۹۴) در یک مطالعه گلخانه‌ای تأثیر ماده L-TRP در مقایسه با ایندول -۳- استیک اسید (IAA) را بر روی رشد گیاه ذرت بررسی نمودند. نتایج حاصل نشان داد که غلظت کم (۰.۳×۲/۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک) ماده L-TRP موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد گردیده ولی سطوح بالای غلظت (۲۵ mg kg⁻¹) (این ماده، کاهش رشد گیاه را به همراه داشته است. گزارشات متعددی در خصوص توان تولید فیتوهورمون‌ها توسط باکتری‌های PGPR دی‌ازوتروف، از جمله باکتری‌های جنس ازتوباکتر (۱۵)، ازوسپریلوم (۲۱) و نیز باکتری‌های ریزوبیومی (۱۱) وجود دارد. در برخی از موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با باکتری‌های دی‌ازوتروف موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است که در این صورت قطعاً وجود مکانیزم‌های دیگری جز تثبیت نیتروژن، از جمله تولید مواد تنظیم‌گر رشد، PGPs، (همچون IAA) علت افزایش رشد گیاه بوده است (۱). بسیاری از گونه‌های ریزوبیومی توانایی تولید IAA از خود نشان داده‌اند و برخی از مطالعات نشان می‌دهند که هورمون اکسین نقش کلیدی در گره‌زایی گیاهان لگوم و بطور کلی برقراری همزیستی این گیاهان با ریزوبیوم‌ها بر عهده دارد. همچنین ثابت شده است که فلاونونوئیدهای محرک ژن‌های گره‌زایی، تولید هورمون IAA توسط ریزوبیوم‌ها را نیز تشدید می‌کنند (۱۳). افزایش غلظت IAA در منطقه ریزوسفری نیز افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه‌های گیاه را به دنبال دارد. این عمل به نوبه خود فزونی ترشحات ریشه‌ای و از جمله سیگنال‌های (IAA) و نهایتاً بصورت یک دور یا حلقه تشدید

باکتری‌های ریزوبیومی در زمهره بهترین ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بحساب می‌آیند. این باکتری‌ها می‌توانند با استفاده از روش‌های مختلف موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان شوند (۵). بطور مثال برخی از سویه‌های PGPR قادرند از طریق دخالت در غلظت فیتوهورمون‌های شناخته شده، رشد و نمو گیاهان را افزایش دهند (۵، ۲۱). در میان هورمون‌های گیاهی، اکسین‌ها و اتیلن نقش بسیار مهمی در توسعه سیستم ریشه و نهایتاً در عملکرد گیاهان به عهده دارند (۱۹). در بین فیتوهورمون‌ها، اکسین اولین هورمونی است که در سال ۱۸۸۰ توسط Darwin تشخیص داده شده است. نام این هورمون از ریشه لاتین Auxein به معنی فزاینده مشتق شده است. طولیل شدن سلول‌های گیاهی، نورگرایی، زمین‌گرایی، ریشه‌زایی و طولیل شدن ریشه‌ها، و بالاخره تحریک تولید اتیلن و دنبال آن تکامل و رسیدگی میوه‌ها از اثرات شناخته شده هورمون اکسین در گیاهان به حساب می‌آیند. ایندول -۳- استیک اسید (IAA) متداول‌ترین اکسین طبیعی است که تمامی رفتارهای تعریف شده برای اکسین‌ها را از خود نشان می‌دهد و اثرات بسیار گسترده‌ای بر فیزیولوژی گیاهان دارد.

ماده ال - تریپتوفان^۱ از نظر فیزیولوژیک، ماده‌ی پیش‌نیاز بیوسنتز اکسین‌ها در گیاهان آلی و میکروارگانیسم‌ها به حساب می‌آید (۲، ۱۰). ترشحات ریشه‌ای منبع اصلی L-TRP در خاک به حساب می‌آیند. Kravchenko و همکاران (۱۹۹۴) غلظت L-TRP موجود در ترشحات ریشه غلات مورد آزمایش را در حدود ۸/۳ تا ۳۹۰ نانوگرم به ازای هر گیاهک در هر روز اندازه‌گیری و گزارش نموده‌اند (۱۰). گزارشات متعدد نشان می‌دهند که اکسین‌های میکربی که ناشی از

جدول ۱- سطوح مختلف توان تولید IAA و حالت کلنی های باکتری

حالت کلنی های باکتری	سطوح مختلف توان تولید IAA
باکتری های ریزوبیومی قادر به رشد بر روی محیط کشت LB نبود. (فاقد کلنی)	۰
باکتری های ریزوبیومی قادر به رشد بر روی محیط کشت LB بودند. ولی توان تولید IAA نداشتند. (رنگ کلنی ها سفید)	۱
رنگ کلنی ها در نتیجه تولید IAA صورتی بود ولی هاله ای اطراف کلنی ها تشکیل نشد. (کلنی های صورتی رنگ)	۲
توان تولید IAA به اندازه ای بود که هاله صورتی اطراف کلنی ها تشکیل می شد. (کلنی های دارای هاله های صورتی)	۳

آزمایش قرار گرفتند. برای اندازه گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک ها از روش های متداول در آزمایشگاه خاکشناسی استفاده گردید (۸).

آماده کردن گلدان ها

در این آزمون از گلدان های پلاستیکی به ارتفاع ۳۰ با قطر دهانه ۲۵ سانتی متر استفاده شده است. گلدان ها پس از شستشو با مایع ظرفشویی با محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم بمدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و سپس بخوبی آبکشی شدند. وزن هر گلدان خالی ۵۰ گرم بود. پس از گذاشتن زهکش در ته گلدان ها و ریختن ۲۰۰ مخلوط شن ۲ میلی لیتر و پرلیت A۰ به هر گلدان دقیقاً ۳۰۰ گرم خاک الک شده (با الک ۴ میلی لیتر) اضافه شد.

کاشت گیاه گندم و مایه زنی آن

گندم بهاره رقم پیشتاز در این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. از سبویه های برتر انتخاب شده در محیط Y.M.B مایه تلقیح تهیه گردید. بذره های گندم با روشی که قبلاً شرح داده شد ضدعفونی سطحی و جوانه دار (با نقره و بدون نقره) شدند. در هر گلدان تعداد ۵ گیاهک در عمق ۲ سانتیمتر خاک با فواصل مساوی کاشته شد و هر گیاهک با یک میلی لیتر از مایه تلقیح (۷۲ تا ۱۲۰ ساعته) که از نظر غلظت (تعداد باکتری در هر میلی لیتر) با استفاده از روش مک فارلند یکنواخت شده بودند تلقیح گردید. بعد از بیرون آمدن گیاهک از خاک، تعداد نشاهای گندم در هر گلدان به ۳ عدد کاهش داده شد. سپس تریپتوفان به مقدار ۱/ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک در آب مقطر حل و به هر گیاهک اضافه شد. گلدان ها در اتاق رشد با شدت نور ۱۰۰۰۰ لوکس و دمای حداکثر ۲۸-۲۷ و دمای حداقل ۱۹-۱۸ درجه سانتی گراد با دوره ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی به مدت ۳ ماه نگهداری شدند. تمامی گلدان ها روزانه و به صورت وزنی با آب مقطر آبیاری شدند. مقدار نیتروژن بکار رفته در تمامی گلدان ها (از جمله گلدان های کنترل مثبت) معادل ۲۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار بود که طی سه نوبت (زمان کاشت، پایان ماه اول و دوم پس از کاشت) بصورت محلول همراه آب آبیاری به خاک گلدان ها افزوده گردید. برای تأمین نیاز پتاسیم و فسفر گیاهان، معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و سوپرفسفات مصرف شد. این مقدار کود پتاسیمی و فسفر طی دو نوبت (زمان کاشت و پایان ماه اول) به همراه آب آبیاری به خاک گلدان ها اضافه گردید. همچنین در یک نوبت ۲۰۰ میلی لیتر

ریزوبیومی بود. برگ های نیتروسلولوزی لکه گذاری شده با محلول های استاندارد IAA با معرف Salkowski تیمار گردید و سپس قطر هاله قرمز تشکیل شده در اطراف هر لکه اندازه گیری شد.

آزمون گلخانه ای

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون تعیین توان تولید کیفی IAA و آزمون درون شیشه ای ارزیابی اثرات کاربرد سویه های ریزوبیومی بر تر مولد IAA بر روی شاخص های رشد گیاه گندم در این تحقیق تعداد ۵ جدایه باکتری ریزوبیومی متعلق به جنس های *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* با توان های مختلف تولید IAA انتخاب و در این آزمون به عنوان تیمارهای ریزوبیومی PGPR مورد استفاده قرار گرفتند. جدول ۲ مشخصات باکتری های مورد استفاده در این تحقیق را نشان می دهد.

آماده سازی و جوانه دار کردن بذره های گندم

بذور سالم و یکنواخت گندم پیشتاز به مقدار کافی و بصورت دستی جدا گردیدند. جهت ضدعفونی سطحی بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در اتانل ۹۵ درصد و سپس به مدت ۳ دقیقه در محلول کلور جیوه (۰/۲ درصد) قرار داده شدند. جهت رفع اثرات سمی کلرید جیوه، بذره های ضدعفونی شده حداقل ۸ بار با آب مقطر استریل شستشو و به منظور جوانه زنی در ظروف پتری حاوی (آب مقطر و محلول ۱۰ و ۱۰۰ میکرولیتر سولفات نقره (Ag_2SO_4)) به فاصله کافی از هم، توزیع و درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. هنگامی که طول همه ریشه چه ها به ۰/۵ سانتی متر رسید در شرایط استریل، گیاهک ها برای انتقال به درون گلدان های مورد استفاده انتقال داده شدند.

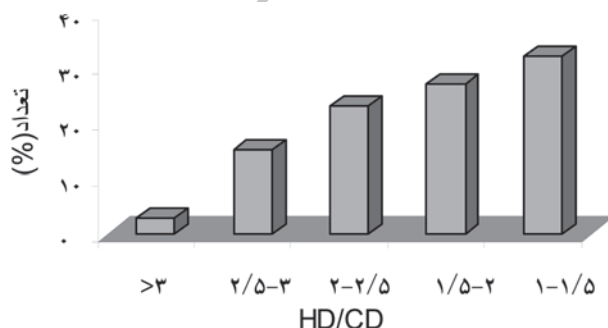
انتخاب خاک

به دلیل اینکه در این مرحله نیاز به خاکی با جمعیت بسیار کم باکتری و درصد کم NPK بود، از یک خاک فقیر از اراضی اطراف کرج که چندین سال به صورت آیش باقی مانده بود اقدام به نمونه برداری شد. نمونه های تهیه شده در کیسه های نایلونی ریخته و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه خاک پس از هوا خشک شدن از الک ۴ میلی متری عبور داده شد و سپس بطور یکنواخت مخلوط گردید. از مخلوط یکنواخت شده مجدداً یک نمونه خاک انتخاب و از نظر برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی معمول مورد

سطح ۵ درصد انجام شده را نشان می‌دهد.

نتیجه مقایسه میانگین کیفی داده‌ها نشان می‌دهد که گروه‌های ریزوبیومی Rlp و Rlv بدون اختلاف معنی‌دار میزان IAA بیشتری نسبت به مابقی گروه‌های مورد آزمایش (Bsp و Sm, Mc) تولید کرده‌اند. بین گروه‌های دسته دوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد هر چند با سویه‌های گروه اول، Rlp و Rlv تفاوت معنی‌داری دارند. نسبت قطر هاله به کلنی در بین سویه‌های مختلف درون گروه‌های (Bsp و Rlp, Rlv, Sm, Mc) نیز مورد تجزیه‌های آماری قرار گرفت. جدول ۵ تجزیه واریانس نسبت قطر هاله به کلنی و مقدار IAA تولیدی در بین سویه‌های، Rlp, Rlv, Sm و Mc را نشان می‌دهد.

بر این اساس تفاوت کاملاً معنی‌داری در سطح ۱ درصد در بین سویه‌های مختلف درون هر ۵ گروه ریزوبیومی از نظر توان تولید هورمون IAA وجود دارد. نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که باکتری‌های ریزوبیومی توانایی تولید هورمون اکسین IAA را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و در سویه‌های متعلق به هر گونه یکسان نیست. همان‌طور که در نمودارها و جداول مقایسه میانگین‌ها آزمون دیده می‌شود سویه‌های ریزوبیومی مربوط به گروه Rlp دارای بیشترین مقدار HD/CD می‌باشند و بدنبال آن گروه‌های Bsp, Sm, Rlv و Mc در مقام‌های بعدی بوده‌اند. گزارشات متعددی درخصوص توان تولید فیتوهورمون‌ها توسط باکتری‌های PGPR دی‌ازوتروف، از جمله باکتری‌های جنس ازتوباکتر (۱۲)، ازوسپریلوم (۱۱) و نیز باکتری‌های ریزوبیومی (۱۰) وجود دارد. بر این اساس می‌بایست فوق برتر مولد هورمون را در بین گروه‌های ریزوبیومی Rlp, Rlv و سپس Sm, Mc و Bsp جستجو نمود. با توجه به اینکه ال-تریپتوفان پیش‌نیاز تولید اکسین در گیاهان و ریزوموجودات می‌باشد و از آنجایی که مقدار (۵ nM) L-TPR بکار رفته در محیط LB (جامد) برای همه سویه‌ها یکسان بوده است ولی مقدار IAA در سویه‌ها متفاوت است. نتیجه دیگر حاصل از این دو آزمون این است که تولید اکسین به خصوصیات فنوتیپی ریزوموجودات (۴،۳) به رشد باکتری، فعالیت متابولیکی، بیان ژنی که مسئول کد کردن آنزیم درگیر در بیوسنتز IAA است و ثابت سننتیکی ریزوموجودات تا محیط کشت باکتری بستگی دارد. Tien و همکاران (۱۹۷۹) مقدار IAA تولید شده توسط باکتری‌ها را تابعی از گونه و سویه باکتری و همچنین نوع محیط کشت مورد استفاده و شرایط کشت باکتری گزارش کردند. اضافه کردن مقدار مناسبی از L-TRP به محیط تا حدی می‌تواند باعث تولید



شکل ۱- درصد سویه‌های ریزوبیومی در گروه‌های مختلف از نظر توان تولید IAA در روش کیفی

محلول غذایی هوگلند به خاک گلدان‌ها داده شد تا نیاز گیاهان گندم به عناصر کم مصرف تا حدودی مرتفع شود. پس از ۱۰۰ روز برداشت گیاهان آزمایش انجام شد. این آزمون با استفاده از آزمایش فاکتوریل به صورت بلوک‌های کاملاً تصادفی در چهار تکرار بر روی خاک غیراستریل با بافت لوم شنی و PH تقریباً خنثی و میزان پایین نیتروژن، فسفر و پتاسیم قابل جذب انجام گرفت.

تیمارهای آزمایش شامل:

۱- پنج سطح سویه‌های ریزوبیومی (R۱, R۲, R۳, R۴, R۵) + یک شاهد فاقد باکتری

۲- سه سطح نقره (Ag۱۰۰ μM, Ag۱۰ μM و Ag۰)

۳- دو سطح ال-تریپتوفان (L۱) = (۰/۱ g/kg) و (L۰)

اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های مهم گیاهی شامل طول ساقه، وزن ریشه، وزن ساقه، وزن سنبله، تعداد سنبله اندازه‌گیری و ثبت شد بعلاوه اندام‌های هوایی گیاه مورد تجزیه‌های شیمیایی قرار گرفته و غلظت P, N و K در بخش هوایی گیاه بطور جداگانه اندازه‌گیری شد (۸).

نتایج و بحث

آزمون نیمه کمی توان تولید هورمون IAA

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که باکتری‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران توانایی تولید هورمون اکسین (IAA) را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست. در آزمون کیفی از نظر توان تولید IAA سویه‌های مختلف ریزوبیومی به ۵ گروه با توان‌های مختلف (گروه ۱ توان تولید خیلی بالا (HD/CD >۳)، گروه ۲ توان تولید بالا (HD/CD ۲-۲/۵)، گروه ۳ توان تولید متوسط (HD/CD ۱/۵-۲)، گروه ۴ توان تولید خیلی کم (HD/CD ۱-۱/۵) تقسیم بندی شده اند شکل ۱ درصد باکتری‌های ریزوبیومی در گروه‌های مختلف در این گروه بندی در این روش را نشان می‌دهد.

بطوری که مشاهده می‌شود ۳ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید خیلی بالا، ۱۵ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید بالا، ۲۳ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید متوسط، ۲۷ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید پایین و ۳۲ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید خیلی پایین قرار گرفته‌اند. تمام سویه‌های مختلف ریزوبیومی آزمون شده در این تحقیق توان رشد بر روی محیط کشت جامد LB-TRP را داشته‌اند. بعلاوه اینکه توان تولید IAA در بین سویه‌های ریزوبیومی IAA یکسان نیست. بطوری که مقدار عددی نسبت قطر هاله به کلنی اندازه‌گیری شده در سویه‌های متعلق به گروه‌های مختلف ریزوبیومی بسیار متفاوت است. نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) نسبت قطر هاله به کلنی (HD/CD) در سویه‌های ریزوبیومی استفاده شده در آزمون توان تولید IAA در جدول ۳ منعکس می‌باشد.

بر اساس جدول مذکور تفاوت کاملاً معنی‌داری ($p < 0/01$) از نظر توان تولید IAA در بین گروه‌های مختلف ریزوبیومی وجود دارد. همچنین جدول ۴ مقایسه میانگین توان تولید IAA (نسبت HD/CD) در بین گروه‌های مختلف ریزوبیومی که بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در

جدول ۴- تجزیه واریانس نسبت قطر هاله به کلنی در بین سویه‌های ، Rlp ، Rlv ، Mc ، Sm و Bsp

منابع تغییرات (SOV)	درجه آزادی (DF)	میانگین مربعات (MS)
Rlp گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۱۴	۰/۱۸۲ ^{***}
خطا	۳۰	۰/۰۰۳
Cv=۲/۰۳		
Rlv گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۱۶	۰/۱۲۵ ^{***}
خطا	۳۴	۰/۰۰۲
Cv=۲/۴		
Sm گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۵۸	۰/۳۴۶ ^{***}
خطا	۱۱۸	۰/۰۰۱
Cv=۱/۳۱		
Bsp گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۲	۰/۰۰۳ ^{***}
خطا	۶	۰/۰۰۱
Cv=۵۴/		
Mc گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۵	۰/۲۰۴ ^{***}
خطا	۱۲	۰/۰۰۱
Cv=۱/۱۶		

سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P، N و K در گیاه در اثرات متقابل تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی محرک رشد گیاه و سطوح نقره به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) را نشان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام سویه های ریزوبیومی و نقره نسبت به کاربرد سویه های ریزوبیومی بدون نقره و یا شاهد (Ag.R) سبب افزایش در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P، N و K در گیاه گردیده است که در برخی موارد معنی دار و در برخی موارد دیگر معنی دار نبوده است. که نشان می دهد نقره

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان IAA تولید شده بر اساس شاخص (نسبت قطر هاله به کلنی) بر روی محیط کشت جامد LB-TRP توسط سویه های ریزوبیومی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات ^{**}	
گروه های ریزوبیومی	۴		۱۵/۰۱ ^{***}
گروه (باکتری)	۹۵		۰/۲۷۰ ^{***}
خطا	۲۰۰		۰/۰۰۱

** معنی داری در سطح ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین تولید IAA بر روی محیط کشت جامد LB-TRP روش کیفی درون ظروف پتری توسط برخی از سویه های ریزوبیومی بومی کشور به روش آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد) مقایسه میانگین ها در آزمون کیفی

گروه	تعداد	میانگین	Duncan grouping
Rlp	۴۵	۷۱/۲	A
Rlv	۵۱	۴۲/۲	A
Sm	۱۷۷	۶۵/۱	B
Mc	۹	۵۰/۱	B
Bsp	۱۸	۳۸/۱	B

اکسین گردد که بعد از آن مقدار مناسب تأثیری در تولید اکسین ندارد و سرعت تشکیل اکسین را پایین می‌آورد و یا زیادی بیش از اندازه موجب تحریک و تولید اتیلن تنشی گردد. (۴). محیط LB با مقدار L-TRP آن محیطی مناسب برای تولید اکسین برای سویه‌های ریزوبیومی آزمون شده در این تحقیق بود (۳). با کاهش مقدار TRP، تولید اکسین نیز کاهش پیدا می‌کند (۲) و افزودن TRP به محیط نیز تولید اکسین را چندین برابر افزایش می‌دهد (۸). Tien و همکاران (۱۹۷۹) نشان دادند که کاهش غلظت TRP از ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ به ۱ $\mu\text{g/ml}$ باعث کاهش تولید اکسین در سویه‌ها گردید. و نیز گزارش کردند بیوسنتز اکسین در بعضی از از توپاکتورها با کاهش مقدار TRP در محیط باکتری باعث کاهش کارایی تبدیل TRP به اکسین می‌گردد که یکی از دلایل این کاهش به علت تغییر مسیر بیوسنتز اکسین می‌باشد (۱۳). همچنین مطالعات دیگر نشان داده است که تولید اکسین توسط باکتری ها وقتی که L-TRP به محیط اضافه گردید از ۲/۴۲ به ۲۴/۶ $\mu\text{g/ml}$ افزایش یافته است که این مقدار افزایش در تولید اکسین در سویه‌های مختلف فرق می‌کرد که در توافقی با نتایج اکثر محققین می‌باشد. گزارشات متعددی نشان داده‌اند که شرایط محیطی همچنین غلظت باکتری های تولیدکننده IAA نیز می‌توانند بر مقدار تولید اکسین تأثیر داشته باشند (۴، ۵، ۶).

آزمون گلخانه ای

جدول ۶ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن

اتیلن در شرایط محیطی مختلف متفاوت است. تولید اتیلن در شرایطی مانند تاریکی، دمای نسبتاً بالا ۲۸ درجه سانتی گراد و فضای محدودتر و حالت غرقابی افزایش پیدا می‌کند. این شرایط تقریباً در آزمون درون شیشه‌ای وجود داشته است (۳). بنابراین احتمال می‌رود که در آزمون درون شیشه‌ای اتیلن بیشتری با این شرایط تولید شده باشد و $10 \text{ M}\mu\text{m}$ نقره نتوانسته باشد اثرات اتیلن را کاهش دهد. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد توانایی بیوسنتز اکسین نیز به سطوح حاصلخیزی عناصر غذایی و مقدار مواد آلی خاک بستگی دارد (۱۸، ۱۶). نتایج بدست آمده از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی با سطح‌های نقره و L-TRP باعث افزایش طول ساقه (۱۰ درصد)، وزن ساقه (۳۴ درصد)، وزن ریشه (۳۷ درصد)، طول سنبله (۲۰ درصد)، وزن سنبله (۳۹ درصد)، مقدار جذب N (۵۰ درصد)، مقدار جذب P (۵۱ درصد) و مقدار جذب K (۵۲ درصد) گردیده‌اند. همچنین نقره هم نتوانسته است شاخص‌های رشد را تا ۴-۱۹ درصد افزایش دهد.

نتایج کلی

- باکتری‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران توانایی تولید هورمون اکسین (IAA) را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست.
- مهمترین مکانیسم تحریک توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون ایندولی (IAA) می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، بدنبال آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (P, K و N) توسط گیاه و افزایش رشد می‌باشد که این نتیجه باعث کاهش هدروری کودهای شیمیایی می‌شود (۱۰، ۶).
- تولید اکسین توسط PGPR (سویه‌های ریزوبیومی) می‌تواند اثرات تحریک‌کنندگی و یا بازدارندگی بر رشد گیاه داشته باشد که بستگی به غلظت IAA تولیدی دارد (۶).
- زیادی اکسین می‌تواند اثر بازدارندگی بر شاخص‌های رشد مخصوصاً ریشه داشته باشد (۱۱).
- تولید اکسین با تغییر شرایط محیطی فرق می‌کند (۸).
- IAA به تنهایی ممکن است موجب کاهش عملکرد شود (۹) نقره و بازدارنده‌های شیمیایی مشابه اگر به مقدار مناسب استفاده شوند می‌توانند تا حدی از تولید اتیلن تنش‌ی جلوگیری کنند (۳).
- در آخر اینکه اثر باکتری‌های ریزوبیومی محرک رشد گیاه (PGPR) بومی برخی خاک‌های ایران بر روی گیاه غیرلگوم گندم در صفات اندازه‌گیری شده مثبت و مفید می‌باشد.

توانسته است اثرات اتیلن تنش‌ی را کاهش دهد. جدول ۷ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P, N و K در گیاه در اثرات متقابل تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی محرک رشد گیاه و سطوح تریپتوفان به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) را نشان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام سویه‌های ریزوبیومی و تریپتوفان نسبت به کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بدون تریپتوفان و یا شاهد ($L \cdot R \cdot O$) سبب افزایش معنی داری در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله و مقدار کل جذب P, N و K در گیاه در اثرات متقابل سطوح نقره و تریپتوفان به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) را نشان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام نقره و تریپتوفان نسبت به کاربرد تریپتوفان و نقره به تنهایی و شاهد ($Ag \cdot L \cdot O$) سبب افزایش معنی داری در شاخص‌های رشد گیاه گردیده است. همچنین حداکثر ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P, N و K در گیاه در تیمار سویه‌های ریزوبیومی با توان تولید توان تولیدخیلی بالا، تولید بالا، و به دنبال آن توان تولید متوسط مشاهده گردید. بطوری که مشاهده می‌شود اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف دیده می‌شود. نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی و سطح‌های مختلف نقره و تریپتوفان موجب افزایش شاخص‌های رشد گیاه گندم شده‌اند. همچنین نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی شاخص‌های مهم گیاه گندم و نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطح‌های مختلف نقره و تریپتوفان نشان می‌دهد که نقره نتوانسته کنترل‌کننده اثرات سوء اتیلن تنش‌ی باشد. تیمارهای ریزوبیومی با توان تولید بالا و خیلی بالا بیشترین اثر بر شاخص‌های رشد را داشته‌اند و بدنبال آن تیمارهای با توان متوسط اثرات تحریک‌کننده ای متوسط تا بالایی بر شاخص‌های رشد داشته‌اند. بطوری که مشاهده می‌شود (جدول ۸) $100 \mu\text{M}$ نقره نتوانسته است اثرات اتیلنی تنش‌ی تولید شده را در این آزمون کاهش دهد. همانطور که گفته شد مقدار زیاد اکسین موجب سنتز ACC سنتاز می‌شود که از طریق افزایش سنتز ACC تولید اتیلن افزایش پیدا می‌کند (۵، ۱۱، ۱۷). بعضی از نتایج حاصل از آزمون درون شیشه‌ای نشان می‌داد که مقدار $10 \text{ M}\mu\text{m}$ نقره نتوانسته است اثرات اتیلن تنش‌ی را کاهش دهد ولی در این آزمون نتوانسته است اثرات اتیلن تنش‌ی را تا حدودی کاهش دهد. باید گفته شود که تولید

جدول ۲- مشخصات باکتری‌های انتخاب شده در گروه‌های مختلف از نظر تولید IAA

class I (توان تولیدخیلی بالا)		class II (توان تولید بالا)		class III (توان تولید متوسط)	
3>HD/CD		3-2/5= HD/CD		2-2/5 =HD/CD	
cod bac		cod bac		cod bac	
R1	297Rlp	R2	284Rlp	R4	236Rlv
		R3	254Rlp	R5	494Rlv

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل سویه های مختلف ریزوبیومی و سطوح نقره با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

مقدار کل K در گیاه %	مقدار کل P در گیاه %	مقدار کل N در گیاه %	تعداد سنبله	طول سنبله (cm)	وزن سنبله (gr)	طول ساقه (cm)	وزن ریشه (gr)	وزن ساقه (gr)	نقره × سویه های ریزوبیومی
۵/۶۰ A	۰/۳۲۷ A	۴/۰۷ A	۳ A	۷/۴۱ A	۰/۵۶A	۶۴/۴۵ A	۱/۰۸ A	۱/۶۶ A	R۱
۵/۵۴A	۰/۳۲۵ A	۴/۰۲ A	۳ A	۷/۲۳ A	۰/۵۵AB	۶۳/۵۴ A	۱/۰۷ A	۱/۶۵ A	R۲
۵/۵۲A	۰/۳۲۳ A	۴/۰۰۴ A	۳ A	۷/۲ A	۰/۵۵ AB	۶۳/۵۳ A	۱/۰۷ A	۱/۶۵ A	R۳
۴/۷۷ B	۰/۳۷۵ B	۳/۴۱۹ B	۲ B	۶/۹ B	۰/۵۱ BC	۶۲/۳۴ A	۰/۹۴ B	۱/۴۸ AB	R۴
۴/۷۲ B	۰/۳۷۲ BC	۳/۳۷۱ B	۲ B	۷/۸ B	۰/۵BCD	۶۱/۳۵ B	۰/۹۴ B	۱/۴۷ AB	R۵
۳/۰۷ E	۰/۱۵ H	۲/۰۸ FG	۱ C	۵/۹ GHI	۰/۳۴ HIJ	۵۸F	۰/۶۷ C	۱/۰۸ DE	R۰
۴/۷۲ B	۰/۳۷۱BC	۳/۳۶ B	۲ B	۷/۸ B	۰/۴۹CD	۶۱/۲۱ B	۰/۹۱ B	۱/۴۷ AB	R۱
۴/۴۵ B	۰/۳۴۴ CD	۳/۱۳ B	۲ B	۶/۶ C	۰/۴۵ DE	۶۱/۲ B	۰/۹۰ B	۱/۴ BC	R۲
۴/۳۹ B	۰/۳۳۷ DE	۳/۱۳ B	۲ B	۶/۵ CD	۰/۴۵ DEF	۶۰/۶۲ B	۰/۹۰ B	۱/۴ BC	R۳
۳/۸۶ C	۰/۳۱۲ EF	۲/۷۲ C	۲ B	۶/۳ DE	۰/۴۲ EFG	۶۰/۶۱ B	۰/۸۸ B	۱/۳ BCD	R۴
۳/۸۶ C	۰/۳۱۱ EF	۲/۷۱ C	۲ B	۶/۳ E	۰/۴۲ EFG	۶۰/۳۹ B	۰/۸۷ B	۱/۲۹ BCD	R۵
۳/۰۷ E	۱۴۷ HI	۲/۰۳ G	۲ B	۵/۹ HI	۰/۳۴ IJ	۵۷/۸۶ F	۰/۶۶ C	۱/۰۷ DE	R۰
۳/۵۸ CD	۱۸۵/ FG	۲/۵۱ CD	۲ B	۶/۲ EF	۰/۴ FGH	۶۰/۱۶ C	۰/۸۷ B	۱/۱۹ CDE	R۱
۳/۵۶ CD	۱۸۲/ FG	۲/۸ CD	۲B	۶/۲ EF	۰/۳۹ GHI	۵۹/۹ C	۰/۷۴ C	۱/۱۸ CDE	R۲
۳/۵۱ CD	۰/۱۸۱ FG	۲/۴۵ CDE	۲B	۶/۱ EFG	۰/۳۹ GHI	۵۹/۸۹ C	۰/۷۳ C	۱/۱۸ CDE	R۳
۳/۳۶ DE	۰/۱۷۳GH	۲/۳۴ DEF	۲ B	۶/۱ EFGH	۰/۳۸GHI	۵۸/۹۲ E	۰/۷۳ C	۱/۱۵ DE	R۴
۳/۰۷ E	۰/۱۶ GH	۲/۱۶ EFG	۲ B	۵/۹ FGHI	۰/۳۵ HIJ	۵۸/۸۸ E	۶۷/۶۷ C	۱/۱۴ DE	R۵
۲/۵۰ F	۰/۱۱۹ I	۱/۶۷ H	۱C	۵/۷ I	۰/۳ J	۵۷/۳۱ F	۰/۵۶ D	۰/۹۸ E	R۰

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل سویه های مختلف ریزوبیومی و سطوح تریپتوفان با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

مقدار کل K در گیاه %	مقدار کل P در گیاه %	مقدار کل N در گیاه %	تعداد سنبله	طول سنبله (cm)	وزن سنبله (gr)	طول ساقه (cm)	وزن ریشه (gr)	وزن ساقه (gr)	نقره × سویه های ریزوبیومی
۵/۶۰ A	۰/۳۳۱A	۴/۰۸ A	۳ A	۷/۴A	۰/۵۶ A	۶۴/۶۵A	۱/۰۷ A	۱/۶۶ A	R ₁
۵/۶ A	۰/۳۱۹ A	۳/۹۸A	۳ A	۷/۱ AB	۰/۵۵۵A	۶۲/۳۶AB	۱/۰۷ A	۱/۶۵ A	R ₂
۴/۷۸ B	۰/۲۷۶ B	۳/۴۲ B	A۳	۶/۹ BC	۰/۵۱۶B	۶۲/۳۳ AB	۰/۹۴۸ B	۱/۴۸ AB	R ₃
۴/۷۸ B	۰/۲۶۹ B	۳/۳۹ B	۳ A	۶/۸ C	۰/۴۹۸B	۶۱/۵۶ BC	۰/۹۴ B	۱/۴۸ AB	R ₄
۴/۶۹ B	۰/۲۶۹ B	۳/۳۷ B	۲B	۶/۷ C	۰/۴۹۸ B	۶۰/۷۵ BCD	۰/۹۱۳ B	۱/۴۷ AB	R ₅
۳/۰۷ E	۰/۱۵۸ D	۲/۱۴۳ E	۱C	۵/۹ FG	۰/۳۵۳E	۵۸/۵۵ DE	۰/۶۶ D	۱/۱۱ D	R ₀
۴/۱۲ C	۰/۲۳۱ C	۲/۹۲ C	۲B	۵/۴ D	۰/۴۴۷ C	۶۰/۷ BCD	۰/۹۰۵ B	۱/۳۵ BC	R ₁
۳/۶۱ D	۰/۱۸۵ D	۲/۴۹ D	۲B	۶/۲ DE	۰/۴۰۴ D	۶۰/۵۳ BCD	۰/۹۰۳ B	۱/۱۸ CD	R ₂
۳/۴۹ DE	۰/۱۸۱ D	۲/۴۶ D	۲B	۶/۱ EF	۰/۳۹۲ D	۵۹/۵۵ CDE	۰/۷۸۸ C	۱/۱۸ CD	R ₃
۳/۳۵ DE	۰/۱۷۰ D	۲/۳۲ DE	۲B	۶/۱ EF	۰/۳۷۱ E	۵۹/۳۸ CDE	۰/۷۲۳ CD	۱/۱۵ CD	R ₄
۳/۲۶ DE	۰/۱۶۲ D	۲/۱۹۷ DE	۲B	۶ EF	۰/۳۶۲ E	۵۸/۶۸ DE	۰/۶۷۵ D	۱/۱۳ CD	R ₅
۲/۵ F	۰/۱۱۶ E	۱/۶۶ F	۱C	۵/۷ G	۰/۳۰۶ F	۵۷/۰۴ E	۰/۵۶۹ E	۱/۹۸ D	R ₀

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تریپتوفان و نقره با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

مقدار کل K در گیاه %	مقدار کل P در گیاه %	مقدار کل N در گیاه %	وزن سنبله (gr)	طول سنبله (cm)	تعداد سنبله	طول ساقه (cm)	وزن ریشه (gr)	وزن ساقه (gr)	نقره × سویه های ریزوبیومی
۴/۶۲۲ A	۰/۲۶۹ A	۳/۴۸۴ A	۰/۴۸۹ A	۷/۲ A	A ۳	۶۱/۷ A	۰/۹۹۶A	۱/۴۳ A	Ag ₁₀₀
۴/۴۰۲B	۰/۲۶۸ A	۳/۲۳۸B	۰/۴۶۲ B	۶/۹B	B ۲	۶۱/۲۲ B	۰/۹۱۲B	۱/۴۳ A	Ag ₁₀
۳/۲۸۸E	۰/۱۱۹D	۲/۲۵۵E	۰/۴۱۱ E	۶/۴ C	B ۱	۵۹/۶۵D	۰/۷۶D	۱/۲۲C	Ag ₀
۳/۸۱۱C	۰/۲۳۸ B	۲/۱۶۹C	۰/۴۳۲C	۶/۲ C	B ۲	۶۰/۶۹C	۰/۸۲۷C	۰/۲۸B	Ag ₁₀₀
۳/۶۰۷ D	۰/۲۱۳C	۲/۴۸۸ D	۰/۴۱۹D	۶/۱ C	C۲	۶۰/۳۷C	۰/۸۲۷C	۱/۲۸ B	Ag ₁₀
۲/۹۸۲ F	۰/۱۱۹ D	۱/۵۳ F	۰/۴۱۱ E	۵/۲ D	C۱	۵۹/۴۱ D	۰/۶۸E	۱/۱ D	Ag ₀

auxin production by associated diazotrophs. *Microb. Releases*, 2:267-271.

11- Leinhos, V. (1994) Effects of pH and glucose on auxine production by phosphate-solubilizing rhizobacteria *in vitro*. *Microbiological Research*. 194: 135-138.

12- Mathesius, U. and Lugtenberg B.J.J. (1998) Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derives of chitin oligosaccharides. *Plant J*.14: 23-34.

13- Mayak, S., Tirosh, T. and Glick. B.R, (1999) Effect of wild-type and mutant plant growth- Promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J. Plant Growth Regul.* 18: 49-53.

14- Neeru, N., Vivek, k., Rishi, k. and Wolfgangy, M. (2000) Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive genotypes grown under greenhouse condition. *J. Plant Nutr. Soil SCI.* 163: 393-398

15- Rost, T. L., Jones, T., and Robbins. J. A, (1986) The role of ethylene in the control of cell division in cultured pea root tips – a mechanism to explain the excision effect. *Protoplasma*, 130: 68-75

16- Riov, J. and Yang, S.F. (1989) Ethylene and auxin – ethylene interaction in adventitious root formation in mung bean (*Vigna radiata*) cuttings. *J. Plant Growth Regul.* 8: 131-141.

17- Sarwar, M. and Frankenberger, W. T. (1994) Influence of L-Tryptophan and auxins applied to the rhizosphere on the vegetative growth of *Zea mays L.* *Plant and Soil*.160: 97-104.

18- Tien, TM. Gaskins, MH. And Hubbell, DH. (1979) Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum L.*). *Appl Environ Microbiol.* 37: 1016-1024.

19- Torres-Rubio, M. G., Astrid, S., Castillo, J. and Martiners, P. (2000) Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter* sp. And *Pseudomonas* sp., producers of indole-3-acetic acid and Siderophores, from colombian rice rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiologia.* 42: 171-176.

20- Xie, H., Pasternak, J.J. and Glick. B.R (1996) Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* G.R. 12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Curr. Microbiol* 32: 67-71.

21- Zimmer, W. and Bothe. H, (1988) The phytohormonal interactions between *Azospirillum* and wheat. *Plant and Soil.* 110: 239-247.

پاورقی ها

- 1- L-Tryptophan
- 2- Yeast extract Mannitol Broth (YMB)
- 3- Luria - Bertani
- 4- Dilution Factor

منابع مورد استفاده

- 1- Arshad M, Frankenberger WT Jr (1998) Plant growth substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Adv Agron* 62: 46-151.
- 2- Asghar, H. N., Zahir, Z. A. and Arshad, M. (2004) Screening rhizobacteria for improving the growth, yield, and oil content of canola (*Brassica nappus L.*) *Australian Journal of Agricultural Research.* 55: 187-194.
- 3- BelimOv, A. A., Satronova, V. I., Iergeyera, T. A., Egorova, T. N., matvegeva, V. A., Stepnok, V. V., Tsyganov, V. E., ... and Tikhonovich, I. A. (2001) Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.* 47: 642-652.
- 4- Biswas, J.C., Ladha, J.K. and Dazzo. F. B (2000) Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science society of America Journal.* 64: 1644-1650.
- 5- Bric, J. M., Bostok, R. M. and Silverston, S. A. (1991) Rapid in situ assay for indoleacetic production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(2): 535-538
- 6- Frankenberger, W. T. Chang, A. C. and Arshad, M. (1990) Response of *Raphanus sativa* to the auxin precursor, L-tryptophan applied to soil. *Plant and soil.* 129: 235-241.
- 7- Glick, B. R., Perose, D. M., and Li, J. (1998) A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190: 63-68.
- 8- Gupta, p.k. (2000) *Soil, plant, water and Fertilizer Analysis. Agrobios pub.*
- 9- Khalid A, Arshad M, Zahir ZA, Khaliq A. (1997) Potential of plant growth promoting rhizobacteria for enhancing wheat (*Triticum aestivum L.*) yield. *J Anim Plant Sci* 7: 53-56.
- 10- Kravchenko, L.V., Leonova, E.I., Tikhonovich, I.A. (1994) Effect of root exudates of non-legume plants on the response of

■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■