

ارزیابی گلخانه‌ای اثرات کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بر تر مولد IAA و تاثیر تیمارهای نقره و تریپتوفان بر شاخص‌های رشد گیاه گندم

• حسن اعتصامی

دانشجوی کارشنای ارشد سابق خاک‌شناسی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران

• حسینعلی علیخانی

عضو هیات علمی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران

• ناهید صالح راستین

عضو هیات علمی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۵

email: salic_etesam@yahoo.com

چکیده

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون تعیین توان تولید کمی و کیفی IAA و آزمون درون شیشه‌ای ارزیابی اثرات کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بر تر مولد IAA بر روی شاخص‌های رشد گیاه گندم در این تحقیق تعداد ۵ جدایه باکتری ریزوبیومی انتخاب شد و پتانسیل آن‌ها در شرایط گلخانه‌ای بررسی گردید. نتایج آزمون گلخانه‌ای بر روی گیاه گندم نشان داد که هم تیمار باکتری و هم تیمار نقره و تریپتوفان بر روی پارامترهای اندازه‌گیری شده اثر معنی‌دار ($p < 0/01$) داشته است. مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که بین اثر تیمارهای ریزوبیومی بر روی پارامترهای اندازه‌گیری شده نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین مقایسه میانگین تیمار نقره و تریپتوفان بر پارامتر اندازه‌گیری شده نشان داد که کاربرد توام نقره و تریپتوفان نسبت به کاربرد نقره و تریپتوفان به تنهایی و شاهد سبب افزایش معنی‌داری در پارامترهای اندازه‌گیری شده گردیده است. بنابراین 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 (N و K، P) توسط گیاه و افزایش رشد می‌باشد.

کلمات کلیدی: نقره، تریپتوفان، ایندول استیک اسید، ریزوبیوم و گندم

Pajouhesh & Sazandegi: No 74 pp: 16-23

Growth chamber assessment of superior IAA producing rhizobial strains and the effect of Ag and tryptophan treatments on wheat growth indices

By: H. Etesami, H.A. Alikhani and N. Saleh Rastin. Agriculture College of Tehran University.

On the basis of the results gained from the test of the evaluation of quantitative and qualitative producing potential of IAA and the *invitro* test of assessing of superior IAA producing rhizobial strain use on wheat growth yield, in this research 5 bacterial isolates were selected and their potential was studied in greenhouse conditions. Greenhouse test results on wheat showed that bacterial treatment and also the Ag and Trp treatments had significant effect on measured parameters. The comparison of the means showed that between the rhizobial treatment effects there is a significant difference on the measured parameters. Also the mean comparison of Ag and Trp treatments showed that usage of both Ag and Trp treatments together caused a significant increase on measured parameters in comparison with using Ag and Trp alone and also in comparison with the control. So, the most important assimilation mechanism by rhizobial strains, is production of Indole phytohormones (IAA) which results the better root growth, so increase of water and macronutrient (N, P and K) uptake by the plant and increase of the plant growth.

Keywords: IAA, Trp, Ag, PGPR, Rhizobia and wheat**مقدمه**

کودهای بیولوژیک به دلیل مزایای نسبی کودهای بیولوژیک و به علاوه ارزانی آن امری کاملاً اجتناب ناپذیر است. با اینکه بیش از یک قرن است که از شناخت نقش مفید ریزوبیومها در تثبیت نیتروژن مولکولی می‌گذرد ولی متأسفانه از توانایی‌های این گروه از باکتری‌های خاکزی، به جز در محدوده گیاهان لگوم استفاده عملی زیادی نشده است. بررسی اثرات مفید بین باکتری‌های ریزوبیا و گیاهان غیر لگوم بطور وسیعی در حال توسعه است. اکثر مطالعات نشان می‌دهد که این باکتریها می‌توانند اثرات مثبت و اقتصادی بر روی محصولات غیر لگوم مانند ذرت، گندم و برنج داشته باشند. در سالهای اخیر به دلیل توانایی‌های ذاتی با ارزش که در بسیاری از این باکتری‌ها شناسایی شده است، این گروه (ریزوبیا) در زمره ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) قرار داده شده اند و امکان کاربرد گسترده آن‌ها برای انواع گیاهان زراعی مورد توجه و تأکید قرار گرفته است. از جمله فعالیت‌های مفید این باکتری‌ها که می‌توانند در تشدید رشد گیاهان مختلف مؤثر واقع شوند، می‌توان به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه بویژه اکسین‌ها (IAA) و ترکیبات مشابه آن توسط سویه‌های مختلف ریزوبیومی اشاره داشت. باکتریهای ریزوبیومی این عمل را از طریق تولید و ترشح تنظیم کننده‌های رشد (Plant Growth Regulators) (PGRs) مثل اکسین، جیبرلین و سیتوکینین و یا از طریق فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از جمله فسفر و یا نیتروژن انجام می‌دهند (۱۱، ۱۵). از مهمترین این مواد، ترکیباتی با ساختمانی هورمونی هستند که از جمله می‌توان به گروه اکسین‌ها اشاره کرد.

اکسین‌ها در اوایل قرن بیستم به عنوان مواد تنظیم‌گر رشد گیاه شناخته شده اند. ایندول-۳-استیک اسید (IAA) یک اکسین طبیعی دارای اثرات فیزیولوژی گسترده ای می‌باشد (۲۴، ۱۸). تخمین زده شده است که ۸۰ درصد از باکتری ریزوسفری توان تولید IAA را دارند و یکی از مهمترین راه‌هایی که این باکتری‌ها بر رشد و نمو گیاه اثر می‌گذارند از طریق سنتز فیتوهورمون ایندولی (IAA) می‌باشد. این هورمون باعث توسعه سیستم ریشه ای گیاه و بدنبال آن

استفاده از میکروارگانیسم‌های خاکزی به منظور افزایش محصول، بالا بردن کیفیت تولیدات کشاورزی و کنترل بیماری‌های گیاهی در اوایل قرن بیستم مطرح گردید و روز به روز افق‌های جدید و نوید بخشی بر روی بشر گشود (۳). ظهور اثرات سریع استفاده از کودهای شیمیایی در رشد گیاه سبب حرکت بطئی علم میکروبیولوژی خاک در سالهای اولیه گردید. به تدریج که اثرات سوء زیست محیطی و تخریبی ناشی از استفاده بی رویه این کودها مشخص شد، اهتمام بیشتری در استفاده از این علم بعمل آمد. میکروارگانیسم‌ها از طریق تامین مواد غذایی (به عنوان مثال تثبیت بیولوژی نیتروژن، BNF)، قابل دسترس ساختن بیشتر آن‌ها (به عنوان مثال افزایش حاصلخیزی فسفر) و با افزایش دسترسی گیاه به آن‌ها (به عنوان مثال افزایش مساحت سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب عناصر غذایی خصوصاً عناصر ریز مغذی چون Fe، Zn، Cu و Mn) باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند. گیاهان زراعی نقش عمده‌ای در تأمین غذا و انرژی بشر دارند. در بین گیاهان زراعی، گندم به لحاظ سطح زیر کشت (۲۰۰ میلیون هکتار) و عملکرد محصول (متوسط ۸۰۰ kg/ha) با داشتن رتبه اول در بین گیاهان زراعی یکی از منابع اصلی تأمین انرژی برای بسیاری از مردم بحساب می‌آید. در ایران نیز گندم به لحاظ استراتژیک مهمترین محصول زراعی کشور محسوب می‌گردد. افزایش این محصول در گرو بکارگیری بهینه نهاده‌های کشاورزی از جمله کود می‌باشد. کودهای شیمیایی در ایران نیز از مهمترین نهاده‌های کشاورزی بحساب می‌آیند. استفاده از کودهای شیمیایی علیرغم هزینه زیاد، بازدهی کم و خطر آلودگی‌های زیست محیطی مانند آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی را در پی دارند. به علاوه فشرده‌گی خاک‌ها، کاهش دیگر خصوصیات فیزیکی مثبت در خاک‌ها، کاهش کیفیت محصولات کشاورزی و بطور کلی کاهش باروری خاک‌ها از نتایج نامطلوب مصرف نامتعادل کودهای شیمیایی می‌باشند (۱). از آنجا که مدیریت کود از عوامل اصلی در نیل به کشاورزی پایدار محسوب می‌گردد، لذا جایگزینی تدریجی کودهای شیمیایی خصوصاً کودهای نیتروژنی و فسفاتی با

این تحقیق را نشان می‌دهد.

برای انجام این آزمون ابتدا مایه تلقیح کشت تازه هر جدایه باکتری به روش زیر تهیه گردید:

ارلن‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری انتخاب و آماده شدند. درون هر ظرف ارلن مقدار ۲۰ ml محیط کشت^۱ YMB ریخته شد و ارلن‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه درون اتوکلاو استریل شدند. پس از سرد شدن ارلن‌ها، محیط کشت مایع درون هر ظرف توسط یک لوپ از نمونه باکتری ریزوبیومی تلقیح گردید و کشت‌ها به مدت ۷۲ ساعت (برای باکتری‌های تند رشد) تا ۱۲۰ ساعت (برای انواع کند رشد) در دمای حدود ۲۸ درجه سانتیگراد بر روی بهم‌زن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی و خوابانده شدند. پس از رشد کافی باکتری درون محیط کشت YMB، ابتدا جمعیت تقریبی سوسپانسیون کشت تازه هر سویه با استفاده از روش مک‌فارلند در حد $2/4 \times 10^9$ cfu ml⁻¹ تنظیم گردید. به این ترتیب امکان برداشت و کاربرد تعداد یکسان سلول ریزوبیومی زنده برای انجام این آزمون فراهم گردید.

آماده‌سازی و جوانه دار کردن بذره‌های 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 کلورور جیوه (۰/۲ درصد) قرار داده شدند. جهت رفع اثرات سمی کلرید جیوه، بذره‌های 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 (Ag₂SO₄) به فاصله کافی از هم، توزیع و درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. هنگامی که طول همه ریشه‌چه‌ها به ۰/۵ سانتیمتر رسید در شرایط استریل، گیاهک‌ها به درون گلدان‌های 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 نمونه‌برداری شد. نمونه‌های تهیه شده در کیسه‌های 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 ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی معمول مورد آزمایش قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها از روش‌های متداول در آزمایشگاه خاکشناسی استفاده گردید. نتایج در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

آماده کردن گلدان‌ها

در این آزمون از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۳۰ با قطر دهانه ۲۵ سانتی متر استفاده شده است. گلدان‌ها پس از شستشو با مایع ظرفشویی با محلول ۲٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و سپس بخوبی آبکشی شدند. وزن هر گلدان خالی ۵۰ گرم بود. پس از گذاشتن زهکش در ته گلدان‌ها و ریختن ۲۰۰ گرم مخلوط شن ۲ میلی لیتر و پرلیت A به هر گلدان دقیقاً ۳ کیلوگرم خاک الک شده (با الک ۴ میلی لیتر) اضافه شد.

افزایش جذب عناصر غذایی توسط آن می‌گردد. این باکتری‌ها غالباً جهت تولید اکسین از اسید آمینه تربیتوفان به عنوان پیش نیاز استفاده می‌کنند (۴، ۲۴). ریزوموجودات خاک قادرند پس از اضافه کردن L-TRP به خاک تولید IAA کنند که IAA می‌تواند باعث افزایش رشد و نمو گیاه گردد. تولید اکسین با اضافه کردن L-TRP به محیط کشت باکتری افزایش مییابد (۱۹). که این اکسین تولید شده اثر چشمگیری بر رشد گیاه دارد (۲۰). Zahir و همکاران نشان دادند که افزودن L-TRP به عنوان پیش نیاز تولید اکسین بطور چشمگیری باعث افزایش تولید اکسین در سویه‌ها گردید (۲۶). لازم به ذکر است که L-TRP وقتی بر رشد گیاه اثر دارد که در غلظت کم اعمال گردد (۷). زیادی اکسین می‌تواند اثر بازدارندگی بر شاخص‌های رشد مخصوصاً ریشه داشته باشد و موجب کاهش عملکرد شود (۲۳). تولید اکسین با تغییر شرایط محیطی تغییر پیدا میکند (۱۸). نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که اضافه کردن مقدار زیاد L-TRP باعث بهبود عملکرد نمی‌گردد. به عنوان مثال اضافه کردن مقدار زیاد L-TRP باعث کاهش چشمگیر ۱۲ درصد عملکرد نسبت به شاهد شده است (۱۴). این ماده می‌تواند در نتیجه فعالیت باکتری‌های مفید خاکزی به IAA تبدیل شود. IAA سنتز شده توسط باکتری‌ها علاوه بر رشد ریشه در برخی از موارد از طریق تحریک آنزیم ACC سنتتاز و افزایش سنتز ماده ACC که پیش نیاز اتیلن است می‌تواند نتیجه عکس را به دنبال داشته باشد. اتیلن مازاد تولید شده که اصطلاحاً اتیلن تنشی نامیده می‌شود باعث کاهش دوره رویشی و نهایتاً عملکرد می‌گردد (۱۲). یکی از راه‌های پایین آوردن سطح اتیلن در گیاه جلوگیری از تولید آن توسط بازدارنده‌های تولید اتیلن می‌باشد. Belimov و همکاران گزارش نمودند یون‌های نقره (Ag) می‌توانند از طریق ممانعت از بیوسنتز اتیلن تنشی موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه گردند (۵). Anderi و همکاران نیز گزارش کردند که یون‌های نقره از طریق ممانعت از بیوسنتز اتیلن تنشی باعث افزایش طول ساقه تا ۲۵ درصد نسبت به شاهد شده‌اند (۲، ۲۱). لذا این فرضیه تقویت می‌شود که باکتری‌های ریزوبیومی مولد فیتوهورمون‌های ایندولی (IAA) از طریق رشد طولی ریشه‌ها و نهایتاً افزایش سیستم ریشه ای گیاه گندم بتوانند سطح تماس ریشه گیاه با خاک و در نهایت سطح جذب عناصر غذایی را به گونه‌ای افزایش دهند که از آن‌ها به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی (در خاک‌های نسبتاً حاصلخیز) و یا حداقل مکمل کودهای شیمیایی (در خاک‌های نسبتاً فقیر) استفاده نمود. هدف از این تحقیق ارزیابی اثرات کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بر تر مولد IAA بر شاخص‌های رشد گیاه گندم همچنین بررسی اثر عوامل بازدارنده شیمیایی (Ag) در بیوسنتز اتیلن تنشی و نهایتاً تأثیر این عوامل بر روی شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گندم بوده که امری کاملاً ضروری به نظر می‌رسید.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مایه تلقیح باکتری

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون تعیین توان تولید کمی و کیفی IAA و آزمون درون شیشه‌ای ارزیابی اثرات کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بر تر مولد IAA بر روی شاخص‌های رشد گیاه گندم در این تحقیق تعداد ۵ جدایه باکتری ریزوبیومی متعلق به جنس‌های Bradyrhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium, Rhizobium با توان‌های مختلف تولید IAA انتخاب و در این آزمون به عنوان تیمارهای ریزوبیومی PGPR مورد استفاده قرار گرفتند. جدول ۱ مشخصات باکتری‌های مورد استفاده در

جدول ۱- مشخصات باکتریهای انتخاب شده در گروههای مختلف از نظر تولید IAA

class I (توان تولید خیلی بالا)		class II (توان تولید بالا)		class III (توان تولید متوسط)	
۲۰۰ ppm(IAA)		۱۵۰-۲۰۰ ppm(IAA)		۱۰۰-۱۵۰ ppm(IAA)	
cod bac	غلظت (ppm)	cod bac	غلظت (ppm)	cod bac	غلظت (ppm)
R _۱	۲۹۷Rlp	R _۲	۲۸۴Rlp	R _۴	۳۳۶Rlv
	۲۴۰/۴۷۰۳		۱۸۹/۱۹۲۱		۱۴۰/۶۹۵۱
		R _۳	۲۵۴Rlp	R _۵	۴۹۴Rlv
			۱۷۸/۹۳۱۶		۱۳۸/۸۶۵۷

استفاده از آزمایش فاکتوریل بصورت 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 در درون گلخانه انجام گرفت.

تیمارهای آزمایش شامل:

- ۱- پنج سطح سویه‌های ریزوبیومی (R_۱، R_۲، R_۳، R_۴ و R_۵) + یک شاهد فاقد باکتری (R_۰)
 - ۲- سه سطح نقره (Ag ۱۰۰ μM، Ag ۱۰ μM و Ag ۰)
 - ۳- دو سطح ال-تریپتوفان (L_۰ و L_۱) (۰/۱ g/kg)
- اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های مهم گیاهی شامل طول ساقه، وزن ریشه، وزن ساقه، وزن سنبله، تعداد سنبله اندازه‌گیری و ثبت شد به علاوه اندام‌های هوایی گیاه مورد تجزیه‌های شیمیایی قرار گرفته و غلظت N، P و K در بخش هوایی گیاه بطور جداگانه اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

جدول شماره ۳ تجزیه واریانس ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P و K در گیاه را نشان می‌دهد طبق جدول مذکور اثر بلوک در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است. به علاوه اینکه اثر تیمارهای اصلی (سویه‌های ریزوبیومی، سطوح نقره و سطوح تریپتوفان) و اثرات متقابل تیمارها (ریزوبیوم × سطوح ال-تریپتوفان، و ریزوبیوم × سطوح نقره و سطوح نقره × سطوح ال-تریپتوفان) نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است. با توجه به این که اثرات متقابل تیمارها معنی‌دار شده است بنابراین برای خلاصه کردن نتایج اثرات اصلی تیمار صرفنظر

کاشت گیاه گندم و مایه زنی آن

گندم بهاره رقم پیشستاز در این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. از سویه‌های برتر انتخاب شده در محیط YMB مایه تلقیح تهیه گردید. بذره‌های گندم با روشی که قبلاً شرح داده شد ضدعفونی سطحی و جوانه‌دار (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 ساعت) که از نظر غلظت (تعداد باکتری در هر میلی لیتر) با استفاده از روش مک فارلند یکنواخت شده بودند تلقیح گردید (۱۳). بعد از بیرون آمدن گیاهک از خاک، تعداد نشاهای گندم در هر گلدان به ۳ عدد کاهش داده شد. سپس تریپتوفان به مقدار ۱/۰ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک در آب مقطر حل و به هر گلدان اضافه شد. گلدان‌ها در اتاق رشد با شدت نور ۱۰۰۰۰ لوکس و دمای حداکثر ۲۸-۲۷ و دمای حداقل ۱۹-۱۸ درجه سانتیگراد با دوره ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی به مدت ۳ ماه نگهداری شدند. تمامی گلدان‌ها روزانه و بصورت روزی با آب مقطر آبیاری شدند. مقدار نیتروژن بکار رفته در تمامی گلدان‌ها (از جمله گلدان‌های کنترل مثبت) معادل ۲۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار بود که طی سه نوبت (زمان کاشت، پایان ماه‌های اول و دوم پس از کشت) بصورت محلول همراه آب آبیاری به خاک گلدان‌ها 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 گلدان‌ها اضافه گردید. همچنین در یک نوبت ۱۲۰۰ ml 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

جدول ۲- برخی از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد استفاده در این تحقیق

خصوصیت	بافت	PH	(%)N	Available P (mg/kg)	Available P (mg/kg)	CEC (cm mol+/kg)
مقدار	Sandy loam	۷/۱(۱:۱)	۰/۷	۹	۷۵	۵/۶

می‌شود. جدول شماره ۴ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P 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 سویه‌های ریزوبیومی و نقره نسبت به کاربرد سویه‌های ریزوبیومی بدون نقره و یا شاهد ($Ag \cdot R_0$) سبب افزایش در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P و K در گیاه گردیده است که در برخی موارد معنی‌دار و در برخی موارد دیگر معنی‌دار نبوده است. این پدیده نشان می‌دهد که نقره توانسته است اثرات اتیلن تنشی را کاهش دهد.

جدول شماره ۵ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P 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 ($L \cdot R_0$) سبب افزایش معنی‌داری در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P و K در گیاه گردیده است. این نتایج نشان می‌دهد که تریپتوفان توانسته است باعث تولید اکسین و در نتیجه افزایش رشد بیشتر شاخسازهای رشد گیاه گردد.

جدول شماره ۶ مقایسه ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P 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 ($Ag \cdot L_0$) سبب افزایش معنی‌داری در شاخسازهای رشد گیاه گردیده است. همچنین حداکثر ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب N، P و K در گیاه در تیمار سویه‌های ریزوبیومی با توان تولید خیلی بالا ($200 > ppm$)، تولید بالا (۱۵۰-۲۰۰ ppm)، و به دنبال آن توان تولید متوسط (۱۵۰-۱۰۰ ppm) مشاهده گردید. بطوری که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دیده می‌شود.

نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی و سطوح مختلف نقره و تریپتوفان موجب افزایش شاخسازهای رشد گیاه گندم شده‌اند همچنین نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی شاخسازهای مهم گیاه گندم و نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطوح مختلف نقره و تریپتوفان نشان می‌دهد که نقره توانسته کنترل کننده اثرات سوء اتیلن تنشی باشد (جدول ۴). تیمارهای ریزوبیومی با توان تولید بالا و خیلی بالا بیشترین اثر بر شاخسازهای رشد را داشته‌اند و بدنبال آن تیمارهای با توان متوسط اثرات تحریک کننده‌ای متوسط تا بالایی بر شاخسازهای رشد داشته‌اند. بطوری که مشاهده می‌شود (جدول شماره ۴) $100 \mu M$ نقره توانسته است اثرات اتیلنی تنشی تولید شده را در این آزمون کاهش دهد. همانطور که گفته شد مقدار زیاد اکسین موجب سنتز ACC سنتز می‌شود که از طریق افزایش سنتز ACC تولید اتیلن افزایش پیدا میکند (۲۳، ۱۲). بعضی از نتایج حاصل از آزمون درون شیشه‌های نشان می‌داد که مقدار $100 \mu M$ 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 اتیلن در شرایط محیطی

مختلف متفاوت است. تولید اتیلن در شرایطی مانند تاریکی، دمای نسبتاً بالا ۲۸ درجه سانتیگراد و فضای محدودتر و حالت غرقابی افزایش پیدا می‌کند. این شرایط تقریباً در آزمون درون شیشه‌ای وجود داشته است (۵). بنابراین احتمال می‌رود که در آزمون درون شیشه‌ای اتیلن بیشتری با این شرایط تولید شده باشد و $100 \mu M$ نقره نتوانسته باشد اثرات اتیلن را کاهش دهد. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد توانایی بیوسنتز اکسین نیز به سطوح حاصل خیزی عناصر غذایی و مقدار مواد آلی خاک بستگی دارد (۲۵). نتایج بدست آمده از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی با سطوح نقره و L-TRP باعث افزایش طول ساقه (۱۰٪)، وزن ساقه (۳۴٪)، وزن ریشه (۳۷٪)، طول سنبله (۲۰٪)، وزن سنبله (۳۹٪)، مقدار جذب N (۵۰٪)، مقدار جذب P (۵۱٪) و مقدار جذب K (۵۲٪) گردیدند. همچنین نقره هم توانسته است شاخسازهای رشد را تا ۴-۱۹٪ افزایش دهد. دوپل و همکاران (۲۰۰۰) اثر تلقیح *Azospirillum brasilense* را بر روی رشد گندم بهاره ارزیابی کردند. آن‌ها مشاهده کردند که گیاهان تلقیح شده، جوانه زنی بهتر، گلدهی زودهنگام، افزایش وزن خشک سیستم ریشه‌های و قسمت‌های هوایی نسبت به شاهد داشت (۹، ۱۰). بطور مشابه افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک گیاه و عملکرد دانه‌های گیاهان مختلف در پاسخ به تلقیح PGPR توسط Chen و همکاران (۱۹۹۴)، خالد و همکاران (۱۹۹۷)، بیس و همکاران گزارش شده است (۶). نتایج دیگر نشان می‌دهد که دانه‌های تلقیح شده شلغم روغنی با سویه‌های مختلف ریزوباکتری‌ها بطور چشمگیری طول گیاه (تا ۵۶/۵ درصد)، قطر ساقه (تا ۱۱ درصد)، تعداد شاخه (تا ۳۵۷ درصد) تعداد غلاف (تا ۲۶/۷ درصد)، وزن هزار دانه تا ۲۳/۹ درصد، عملکرد گیاه ۴۵/۵ درصد، مقدار روغن (تا ۵۰/۶ درصد) را نسبت به گیاه شاهد افزایش دادند. افزایش چشمگیری در شاخسازهای رشد محصولات دیگری مثل گندم، ذرت، سیب زمینی در نتیجه تلقیح با PGPR گزارش شده است (۱۶). Tien و همکاران نشان دادند که فیتوهورمون ایندولی IAA تولید شده توسط *Azospirillum* باعث افزایش چشمگیر سیستم ریشه‌های گیاه ارزن گردیده است. گزارش شده است که تلقیح جوانه‌های گندم با *Azospirillum brasilense* موجب افزایش تعداد ریشه‌های جانبی شده است (۲۵). همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد تلقیح جوانه‌های کلزا با *Pseudomonas putida* با توان تولید سطح پایین باعث ۲-۳ برابر افزایش در طول ریشه‌های ۲-۱۲ جوانه شده است. نتایج مختلف دیگری نشان می‌دهد که Ag توانسته است بیومس ریشه و ساقه شلغم روغنی را تا ۲۵ درصد افزایش دهد (۲، ۲۱).

نتایج کلی

مهمترین مکانیسم تحریک رشد گیاه توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون ایندولی (IAA) می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، و در پی آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (N و K، P) و در نتیجه، افزایش رشد گیاه می‌باشد (۱۵، ۲۲).

تولید اکسین توسط انواع PGPR مانند سویه‌های ریزوبیومی می‌تواند اثرات تحریک کننده‌گی و یا بازدارندگی بر رشد گیاه داشته باشد که بستگی به غلظت IAA تولیدی دارد (۱۵، ۱۷).

نقره و بازدارنده‌های شیمیایی مشابه اگر به مقدار مناسب استفاده شوند می‌توانند تا حدی از تولید اتیلن تنشی جلوگیری کنند (۵، ۲۱).

و در آخر اینکه باکتری‌های ریزوبیومی بومی برخی از خاک‌های ایران که دارای ویژگی‌های محرک رشد گیاه هستند می‌توانند بر روی شاخسازهای رشد گیاه غیر لگوم گندم اثرات مثبت و مفید داشته باشند.

جدول ۴ - مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف نقره و سوبه‌های ریزوبیومی با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (D)

نقره x سوبه های ریزوبیومی	وزن ساقه (gr)	وزن ریشه (gr)	طول ساقه (cm)	وزن ساقه (gr)	طول ساقه (cm)	تعداد سبزه	مقدار کل N در گیاه %	مقدار کل P در گیاه %	مقدار کل K در گیاه %
Ag ^{0.01}	R ¹	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1A	1/100 A	1/100 A	1/100 A
	R ²	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1A	1/100 A	1/100 A	1/100 A
	R ³	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1/100 A	1A	1/100 A	1/100 A	1/100 A
	R ⁴	1/100 AB	1/100 B	1/100 A	1/100 B	1B	1/100 B	1/100 B	1/100 B
	R ⁵	1/100 AB	1/100 B	1/100 B	1/100 B	1B	1/100 B	1/100 B	1/100 B
	R ⁶	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 FG	1/100 H	1/100 BC
	R ⁷	1/100 AB	1/100 B	1/100 B	1/100 B	1B	1/100 BC	1/100 CD	1/100 CD
	R ⁸	1/100 BC	1/100 B	1/100 B	1/100 B	1B	1/100 BC	1/100 CD	1/100 CD
	R ⁹	1/100 BC	1/100 B	1/100 B	1/100 B	1B	1/100 BC	1/100 CD	1/100 CD
	R ¹⁰	1/100 BCD	1/100 B	1/100 B	1/100 B	1B	1/100 BC	1/100 CD	1/100 CD
Ag ^{0.1}	R ¹	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ²	1/100 CDE	1/100 B	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 FG	1/100 H	1/100 I
	R ³	1/100 CDE	1/100 B	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 FG	1/100 H	1/100 I
	R ⁴	1/100 CDE	1/100 B	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 FG	1/100 H	1/100 I
	R ⁵	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ⁶	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ⁷	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ⁸	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ⁹	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K
	R ¹⁰	1/100 DE	1/100 C	1/100 B	1/100 C	1C	1/100 GH	1/100 IJ	1/100 K

ای دانکن (D)

جدول ۳- نمونه واریانس مربوط به اثرات کلی سوبه های مختلف ریزوبیومی و سطوح مختلف نقره و تریپتولان بر روی شاخص های مهم گیاهی گندم (میانگین مرعات)

متغیرات	درجه آزادی	وزن ساقه (gr)	وزن ریشه (gr)	طول ساقه (cm)	وزن سبزه (gr)	طول سبزه (cm)	تعداد سبزه	مقدار کل N در گیاه (%)	مقدار کل P در گیاه (%)	مقدار کل K در گیاه (%)
باری	۲	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
سوبه های ریزوبیومی	5	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
سطوح نقره	۲	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
سطوح آل-تریپتولان	1	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
ریزوبیوم x سطوح آل-تریپتولان	10	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
ریزوبیوم x سطوح نقره	5	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
سطوح نقره x سطوح آل-تریپتولان	۲	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
ریزوبیوم x سطوح نقره x سطوح آل-تریپتولان	10	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
تثبته آزمایش	100	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000
ضرب تغییرات (D)	11/37	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000	1/100000

••• متن دارای در سطح 1 درصد MS متن دار نیست

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تریپتوفان و توره با استفاده از آزمون با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵٪)

مقدار کل K در گ/هکتار	مقدار کل P در گ/هکتار	مقدار کل N در گ/هکتار	تعداد سبزه	طول سبزه (cm)	وزن سبزه (gr)	طول سبزه (cm)	تعداد سبزه	طول سبزه (cm)	وزن سبزه (gr)	وزن سبزه (gr)	سطوح فاکتور تریپتوفان x سطح فاکتور توره
۴/۱۲۲A	۳/۱۹A	۲/۱۵A	۳A	۷/۲A	۱/۵A	۱۱/۷A	۳A	۱/۱۷A	۱/۱۶A	۱/۲۲A	Ag ₁₀₀
۴/۱۴B	۳/۱۸A	۲/۱۳B	۳A	۶/۹B	۱/۲B	۱۱/۲۲B	۳B	۱/۲۲B	۱/۱۶B	۱/۲۲A	Ag ₁₀
۲/۲۸E	۱/۱۹D	۲/۱۲E	۱B	۶/۴C	۱/۱E	۱۱/۲E	۱B	۱/۲E	۱/۱۶D	۱/۲۲C	Ag ₀
۲/۱۱C	۳/۲۸B	۲/۱۱C	۳B	۶/۲C	۱/۲C	۱۱/۱C	۳B	۱/۱C	۱/۱۶C	۱/۲۸B	Ag ₁₀₀
۲/۸D	۳/۱۲C	۲/۱۸D	۳B	۶/۱C	۱/۱D	۱۱/۱D	۳C	۱/۱D	۱/۱۶C	۱/۲۸B	Ag ₁₀
۲/۸۲F	۱/۱۹D	۱/۱۲F	۱C	۵/۲D	۱/۱E	۱۱/۱D	۱C	۱/۱D	۱/۱۶E	۱/۲D	Ag ₀

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تریپتوفان و سوبه‌های ریزوبیومی با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵٪)

مقدار کل K در گ/هکتار	مقدار کل P در گ/هکتار	مقدار کل N در گ/هکتار	تعداد سبزه	طول سبزه (cm)	وزن سبزه (gr)	طول سبزه (cm)	تعداد سبزه	طول سبزه (cm)	وزن سبزه (gr)	وزن سبزه (gr)	سطوح فاکتور تریپتوفان x سوبه های ریزوبیومی
۴/۸A	۳/۱A	۲/۸A	۳A	۷/۴A	۱/۵A	۱۱/۶A	۳A	۱/۶A	۱/۱۶A	۱/۲۱A	R ₁
۴/۸B	۳/۱A	۲/۹A	۳A	۷/۱AB	۱/۵A	۱۱/۳AB	۳A	۱/۳AB	۱/۱۶A	۱/۲۱A	R ₂
۴/۸B	۳/۱B	۲/۱۲B	۳A	۶/۹BC	۱/۱B	۱۱/۳AB	۳A	۱/۳AB	۱/۱۶AB	۱/۲۱AB	R ₃
۴/۸B	۳/۱B	۲/۹B	۳A	۶/۸C	۱/۱B	۱۱/۵BC	۳A	۱/۵BC	۱/۱۶AB	۱/۲۱AB	R ₄
۲/۸E	۱/۱۵D	۲/۱۳E	۱C	۶/۷C	۱/۱B	۱۱/۷BCD	۱B	۱/۷BCD	۱/۱۶AB	۱/۲۱AB	R ₅
۴/۱۲C	۳/۱C	۲/۱۲C	۱C	۵/۹FG	۱/۳E	۱۱/۵DE	۱C	۱/۵DE	۱/۱۶D	۱/۲۱D	R ₀
۲/۸D	۱/۸E	۲/۱۴D	۱B	۵/۴D	۱/۱C	۱۱/۶BCD	۱B	۱/۶BCD	۱/۱۶BC	۱/۲۱BC	R ₁
۲/۸D	۱/۸E	۲/۱۴D	۱B	۶/۲DE	۱/۱D	۱۱/۳BCD	۱B	۱/۳BCD	۱/۱۶CD	۱/۲۱CD	R ₂
۲/۸DE	۱/۸D	۲/۱۴D	۱B	۶/۱EF	۱/۲D	۱۱/۵CDE	۱B	۱/۵CDE	۱/۱۶CD	۱/۲۱CD	R ₃
۲/۸DE	۱/۷D	۲/۱۳DE	۱B	۶/۱EF	۱/۲E	۱۱/۳CDE	۱B	۱/۳CDE	۱/۱۶CD	۱/۲۱CD	R ₄
۲/۸DE	۱/۱D	۲/۱۴DE	۱B	۶EF	۱/۲E	۱۱/۵DE	۱B	۱/۵DE	۱/۱۶CD	۱/۲۱CD	R ₅
۲/۵F	۱/۱۶E	۱/۱۶F	۱C	۵/۷G	۱/۳F	۱۱/۴E	۱C	۱/۴E	۱/۱۶D	۱/۲D	R ₀

Theor. Biol. 190: 63-68.

13- James, G. and Sherman, N. 1998; Microbiology: A laboratory manual. Rockland community college, state university of new york. Page 451.

14- Kapulnik, Y. 1991; Plant-Growth-promoting Rhizobacteria, In: plant Roots, the Hidden Half, waisel, Y. et al. (Eds) Marcel Dekker, New youk. 717-729.

15- 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.

16- Khalid, A., Arshad, M. and Zahir, Z. A. 2004; Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. Jourual of Applied microbiology. 96: 473-780.

17- Kravchenko, L.V., Leonova, E.I., Tikhonovich, I.A. 1994; Effect of root exudates of non-legume plants on the response of auxin production by associated diazotrophs. Microb. Releases, 2:267-271.

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

19- Martens, D. A. and Frankenberger W. T. 1992; Stability of microbial-produce auxins derived from L-tryptophan added to soil. Plant and soil. 263-270.

20- Martens, D. A. and Frankenberger, W. T. 1994; Assimilation of exogenous 2-C-indole-3-acetic acide and 3-C-tryptophan exposed to the roots of three wheat varities. Plant and soil. 166: 281-290.

21- Mathesius, Khalid, Arshad U. et al. 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.

22- Neeru, N., Vivek, k., Rishi, k. and Wolfgancy, 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 Pak J Biol Sci 3: 289-291.

23- 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.

24- 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.

25- 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.

26- Zahir ZA, Abbas SA, Khalid M, Arshad M, 2000 Substrate dependent microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. Pak J Biol Sci 3: 289-291.

پاورقی

1- Yeast extract Mannitol Broth (YMB)

منابع مورد استفاده

۱ - صالح راستین، ن. ۱۳۸۱؛ کودهای بیولوژیک. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقالات). تدوین کنندگان: کاظم خاوازی - محمد جعفر ملکوتی. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

2- Andrei, A., Belimov, V., and Vitaley, V. Stepanek. 2001; Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Can. J. Microbia 47: 642-652.

3- Arshad M, Frankenberger WT Jr. 1998; Plant growth substances in the rhizosphere: Microbial production and functions. Adv Agron 62: 46-151.

4- Asghar, H. N., Zahir, Z. A. and Arshad, M. 2004; Screening rhizobacteria for improving the growth, yeild, and oil content of canola (*Brassica nappus* L.) Australian Journal of Agricultura Research. 55: 187-194.

5- 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.

6- Biswas, J. C., Ladha, J. K., Dazzo, F. B., Yanni, Y. G. and Rolfe, B. G. 2000b. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agronomy Journal. 92: 880-886.

7- Casero, P. J. and Bennett, M. 2001; Auxine transport promotes arabidopsis lateral root initiation. Plant cell. 13: 843-852.

8- Chen, YP., Lia, S., and Kloepper, JW. 1994; The use of yield increasing bacteria as plant growth promoting rhizobacteria in chinese agriculture. In: Gupta VK, Utkhede R(eds) Managment of soil-born diseases. M/nayosa, New Delhi.

9- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A. and vanderleyden, J. 1999; Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild by pe and mutant strains altered in IAA production on wheat. Plant and soil. 212: 155-164.

10- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., placek, D. and Vanderleyden, J. 2000; Increased nitrogen uptake by cereals upon inoculation with wild type and genetically modified *Azospirillum* strains. Pland and soil. 92.

11- Frankenberger, W. T. Chang, A. C. and Arshad, M. 1990; Response of *Raphanus sativa* to the auxin precursor, L-trypto phan applied to soil. Pland and soil. 129: 235-241.

12- 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.