FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

Journal of Environmental Sciences Studies (JESS)
Volume 10, Number 2, Summer, (2025)

Journal Homepage: www.jess.ir
Print ISSN: 2588-6851 Online ISSN: 2645-520X

# Evaluation of the biological potential of some plant growth-promoting bacteria as multifunctional biofertilizers

**Zinab Firoozbakht[1], Ghobad jalali[2*], Hamidreza Alizadeh[3], Nasrin Seyyedi[1]**

1. M.Sc. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran
[*]2. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
3. Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.

[*]Email Address: gh.jalali@ujiroft.ac.ir

**Article Info**

**Article Type:**
Research Paper

**Article History:**

Received Date:
**2025/05/19**
Revised Date:
**2025/07/05**
Accepted Date:
**2025/07/08**
Published Date:
**2025/08/09**

**Keywords:**
Beneficial bacteria,
biological nitrogen fixation,
phosphate solubilizing bacteria,
siderophore.

**ABSTRACT**

Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) play a crucial role in enhancing plant growth through both direct and indirect mechanisms. In this study, 26 bacterial isolates from four genera Pseudomonas, Bacillus, Azotobacter, and Azospirillum evaluated for their potential in promoting growth mechanisms. The biological activities assessed included the production of indole-3-acetic acid (IAA) as a growth-promoting hormone, biological nitrogen fixation, dissolution of insoluble mineral phosphates, and siderophore synthesis. The results revealed that Bacillus subtilis, Bacillus paralicheniformis, Pseudomonas fluorescens, Azotobacter chroococcum, and Azotobacter salinestris isolates exhibited the highest siderophore production. Additionally, Bacillus subtilis, Bacillus velezensis, and Pseudomonas fluorescens isolates demonstrated the highest ability to dissolve insoluble mineral phosphate compounds. Qualitative analysis of IAA production and nitrogen fixation indicated that 19 isolates were capable of nitrogen fixation, while 10 isolates were able to produce IAA. Overall, the results showed that many of the isolates displayed significant abilities in one or more growth-promoting mechanisms, highlighting their high potential as multi-functional biofertilizers. This study may serve as a foundation for the identification and utilization of effective indigenous strains in the production of biological products aimed at enhancing plant growth under low-input conditions and their application in sustainable soil fertility management programs.

**Cite this article:** Zinab Firoozbakht, Ghobad jalali, Hamidreza Alizadeh , Nasrin Seyyedi (2025). Evaluation of the biological potential of some plant growth-promoting bacteria as multifunctional biofertilizers, Journal of Environmental Sciences Studies, 10(2), Pages 10377 – 10390.

## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

The increasing global population and the limited availability of natural resources, particularly fertile soils, have posed significant challenges to modern agriculture in achieving sustainable food production. During their growth, plants are in constant and direct contact with microorganisms present in the root vicinity, collectively known as the rhizosphere. Microorganisms inhabiting the rhizosphere of various plants exert multiple positive effects on their hosts through diverse mechanisms and are commonly referred to as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In the rhizosphere, plant roots release exudates that serve as attractants for microorganisms, ultimately enhancing the physical and chemical properties of the surrounding soil. These exudates also play a crucial role in maintaining the structure and function of microbial communities near the plant roots. PGPR promote plant growth through various biological mechanisms, including atmospheric nitrogen fixation, siderophore production, phytohormone synthesis (such as auxins, gibberellins, and cytokinins), and the solubilization of insoluble phosphorus compounds. Furthermore, certain bacteria enhance the availability of essential nutrients to plants. Research has demonstrated that the application of these bacteria can increase plant tolerance to abiotic stresses, such as salinity and drought. Moreover, PGPR can indirectly bolster plant resistance to biotic stresses by inducing systemic resistance, exerting antibiotic effects, and potentially enhancing the plant's cellular metabolite content. By reducing the reliance on chemical fertilizers and pesticides, PGPR also contribute to soil health and environmental sustainability. In general, the development and application of biological products based on plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), as an alternative or supplement to chemical fertilizers and pesticides, have gained significant attention in agricultural research and applications. This approach is recognized as an efficient and environmentally sustainable method for enhancing crop productivity. Therefore, this study was conducted to evaluate the biological capabilities of certain plant growth-promoting bacterial isolates.

### Materials and methods

Bacterial isolates effective in promoting plant growth were obtained from various genera through the Soil and Water Research Institute of Iran and the University of Jiroft. A total of 26 bacterial isolates were collected, including 15 isolates belonging to the genus Bacillus, 5 to Pseudomonas, and 3 each to the genera Azotobacter and Azospirillum. To ensure the purity of the isolates, all 26 were re-cultured using the pentagonal streaking method on NAS medium. Additionally, their morphological and phenotypic characteristics were examined using Gram staining, catalase testing, and evaluation of levan production capability. Siderophore production was assessed on CAS-Agar medium following the method described by Alexander and Zuberer. Phosphate solubilization ability was tested using Sperber's method, which involves a medium containing tricalcium phosphate that causes turbidity. The formation of a clear halo around the bacterial colonies was considered an indication of phosphate solubilization. For nitrogen fixation assessment, a nitrogen-free Winogradsky medium was prepared. To identify nitrogen-fixing bacteria, 5 µL of the bacterial suspension was spot-inoculated onto the medium and incubated at 28 °C for seven days. Bacterial growth or lack thereof was compared to that on NAS medium. Qualitative assessment of IAA (indole-3-acetic acid) production was performed using the method described by Bano and Musarrat. Bacterial isolates were cultured in 100 mL of liquid LB medium and incubated at 28 °C for 72 hours in a shaker incubator at 120 rpm. The cultures were then centrifuged at 5000 rpm for 30 minutes, and 2 mL of the supernatant was mixed with 1 mL of Salkowski reagent. The appearance of a pink to reddish color indicated IAA production.

### Results and discussion

The results of the analysis of variance (ANOVA) for the ability of the isolates to produce siderophores showed significant differences at the 1% probability level among some of the isolates. The results of the mean comparison indicated that 15 isolates were capable of producing siderophores, with the highest production observed in the isolates UJB33 (Bacillus subtilis), UJB22 (Bacillus paralicheniformis), UJB31 (Pseudomonas fluorescens), UJB32 (Azotobacter chroococcum), and UJB36 (Azotobacter salinestris). The lowest production was observed in the isolates UJB24 and UJB34, which belonged to the genera Pseudomonas and Bacillus, respectively. The ANOVA results for the semi-quantitative phosphate solubilization assay revealed significant differences at the 1% probability level among the isolates. Furthermore, the results of the mean comparison indicated that the highest phosphate solubilization was observed in the isolates UJB32, UJB11, UJB24, and UJB33, with halo diameters of 11.33, 9.33, 7.66, and 5.66 mm, respectively. The lowest phosphate solubilization was observed in the

isolates UJB19, UJB28, and UJB18, with halo diameters of 2.66 and 2.33 mm. The qualitative assessment of nitrogen fixation by the antagonistic isolates revealed that 19 isolates were capable of growth in nitrogen-free medium, indicating their nitrogen-fixing ability. These isolates belonged to the genera Bacillus, Pseudomonas, Azotobacter, and Azospirillum. Growth and non-growth of the isolates were compared with the nutrient agar (NA) medium. The results of the qualitative assessment of auxin production by the isolates showed that 10 of the tested isolates were capable of producing auxins in the presence of tryptophan.

## Conclusion

The results of this study demonstrated that isolates UJB33, UJB22, UJB31, UJB32, UJB36, UJB12, UJB18, UJB28, UJB11, UJB25, UJB29, UJB15, UJB35, UJB24, and UJB34 were capable of producing siderophores. These isolates belonged to four bacterial genera: Bacillus, Azotobacter, Azospirillum, and Pseudomonas. It was also found that isolates UJB32, UJB11, UJB24, UJB33, UJB20, UJB26, UJB31, UJB34, UJB36, UJB25, UJB35, UJB16, UJB18, UJB28, and UJB19 were able to solubilize phosphate. Phosphate solubilization by bacterial isolates is an important trait that can enhance plant growth and yield by improving phosphorus availability. Moreover, the ability to produce indole-3-acetic acid (IAA) in the presence of tryptophan was confirmed in isolates UJB11, UJB29, UJB12, UJB15, UJB32, UJB34, UJB27, UJB25, UJB14, and UJB18. IAA is a key phytohormone that promotes plant growth and contributes to increased plant height. In addition, nitrogen fixation tests showed that isolates UJB31, UJB32, UJB36, UJB12, UJB18, UJB11, UJB26, UJB25, UJB29, UJB15, UJB34, UJB35, UJB30, UJB14, UJB19, UJB17, UJB20, UJB21, and UJB16 were capable of fixing atmospheric nitrogen. These isolates also belonged to the genera Bacillus, Azotobacter, Azospirillum, and Pseudomonas. Overall, this study highlights the potential of plant growth-promoting bacteria (PGPB) from the genera Pseudomonas, Bacillus, Azotobacter, and Azospirillum to improve plant growth and optimize soil resource utilization through multiple mechanisms, including IAA production, nitrogen fixation, phosphate solubilization, and siderophore production. These bacteria play a vital role in enhancing nutrient availability to plants and suppressing soil-borne pathogens. Their application as biofertilizers offers a sustainable alternative to chemical fertilizers and holds promise for improving crop productivity in modern agriculture.

مجله مطالعات علوم محیط زیست
جلد ۱۰، شماره ۲
Journal Homepage:www.jess.ir
شاپای چاپی: 2588-6851 شاپای الکترونیکی: 2645-520X

FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

# ارزیابی قابلیت‌های زیستی برخی باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌عنوان کود زیستی چندمنظوره

**زینب فیروزبخت[۱]، قباد جلالی[۲*]، حمیدرضا علیزاده[۳]، نسرین سیدی[۱]**

۱–دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.
*۲–استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
۳–دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.
*ایمیل نویسنده مسئول: gh.jalali@ujiroft.ac.ir

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:**
مقاله علمی پژوهشی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۴/۰۲/۲۹
تاریخ بازنگری:
۱۴۰۴/۰۴/۱۴
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۴/۰۴/۱۷
تاریخ انتشار:
۱۴۰۴/۰۵/۱۸

**کلید واژه ها:**
باکتری های سودمند،
تثبیت بیولوژیک
نیتروژن،
باکتری های حل کننده
فسفات،
سیدروفور.

**چکیده**

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) نقش کلیدی در ارتقاء رشد گیاهان از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم ایفا می‌کنند. در این پژوهش، ۲۶ جدایه باکتریایی متعلق به چهار جنس سودوموناس (Pseudomonas)، باسیلوس (Bacillus)، ازتوباکتر (Azotobacter) و آزوسپیریلیوم (Azospirillum) با هدف بررسی قابلیت آن‌ها در اعمال مکانیسم‌های محرک رشدی مورد ارزیابی قرار گرفتند. فعالیت‌های زیستی مورد بررسی شامل تولید ایندول–۳–استیک اسید (IAA) به‌عنوان هورمون محرک رشد، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی و سنتز سیدروفور بودند. نتایج نشان داد جدایه‌های Bacillus subtilis، Bacillus paralicheniformis، Pseudomonas fluorescens، Azotobacter chroococcum و Azotobacter salinestris بیشترین میزان تولید سیدروفور را داشتند. همچنین جدایه‌های Bacillus subtilis، Bacillus velezensis و Pseudomonas fluorescens بیشترین توان حل کنندگی ترکیبات حاوی فسفات معدنی نامحلول را داشتند. نتایج بررسی کیفی توان تولید ایندول استیک اسید و تثبیت بیولوژیک نیتروژن نشان دادند که ۱۹ جدایه قادر به تثبیت نیتروژن و همچنین ۱۰ جدایه قادر به تولید ایندول استیک اسید بودند. به طور کلی نتایج نشان داد که بسیاری از جدایه‌ها دارای توانایی قابل‌توجهی در یک یا چند مکانیسم محرک رشد گیاه بودند، که بیانگر پتانسیل بالای آن‌ها در استفاده به‌عنوان کودهای زیستی چندمنظوره می‌باشد. این پژوهش می‌تواند زمینه‌ساز شناسایی و بهره‌برداری از سویه‌های بومی مؤثر در تولید محصولات زیستی جهت ارتقاء رشد گیاهان در شرایط کم‌نهاده و استفاده آن‌ها در برنامه‌های مدیریت حاصلخیزی پایدار خاک باشد.

**ناشر:** انتشارات فن پایا

DOI: 10.22034/jess.2025.523455.2376

## ۱-مقدمه

افزایش جمعیت جهانی و محدودیت منابع طبیعی، به‌ویژه خاک‌های حاصلخیز، کشاورزی مدرن را با چالش‌های جدی در زمینه تولید پایدار غذا مواجه کرده است. گیاهان در طول رشد خود در تماس مستقیم و مداوم با میکروارگانیسم‌های موجود در مجاورت ریشه هستند که به ریزوسفر معروف است. میکروارگانیسم‌هایی که در ریزوسفر چندین گیاه زندگی می‌کنند و از طریق مکانیسم‌های مختلف اثرات مثبت متعددی بر روی گیاه میزبان دارند، معمولاً ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه[1](PGPR) نامیده می‌شوند . در ریزوسفر، ریشه‌های گیاه ترشحاتی تولید می‌کنند که به عنوان جاذب میکروارگانیسم‌ها عمل می‌کنند، که در نهایت باعث بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی خاک اطراف می‌شود. از سوی دیگر، این ترشحات عملکرد و ساختار جوامع میکروارگانیسم‌ها را در نزدیکی ریشه گیاهان حفظ می‌کنند. ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با قابلیت‌های زیستی مختلفی از جمله تثبیت نیتروژن اتمسفر، تولید سیدروفورها، تولید هورمون‌ها (اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیتوکینین‌ها) و حل کردن ترکیبات نامحلول حاوی فسفر به رشد گیاهان کمک کنند. علاوه بر این، برخی باکتری‌ها قابلیت دسترسی عناصر ضروری گیاه را بهبود می‌بخشند . پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کاربرد این باکتری‌ها می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی افزایش دهد . از طرفی باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند به طور غیرمستقیم با ایجاد مقاومت سیستمیک القایی، اعمال اثر آنتی بیوتیک و بهبود بالقوه محتوای متابولیت‌های سلولی گیاهی به مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زیستی کمک کنند. باکتری‌های PGPRبا کاهش استفاده از کودها و آفت‌کش‌های شیمیایی، به بهبود سلامت خاک و پایداری محیط‌زیست نیز کمک می‌کنند . باکتری‌هایی مانند Azotobacter و Azospirillum با داشتن آنزیم نیتروژناز، نقش حیاتی در تأمین نیتروژن برای گیاهان ایفا می‌کنند. علاوه بر این، ارتباط همزیستی این باکتری‌ها با ریشه گیاه، منجر به تحریک رشد، افزایش سطح کلروفیل و بهبود عملکرد محصول می‌شود. تثبیت زیستی نیتروژن به‌ویژه در سیستم‌های کشاورزی ارگانیک و پایدار به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار مطرح شده است. همچنین از ویژگی‌های کلیدی گونه‌های ازتوباکتر می‌توان به تسریع تولید هورمون‌ها مانند ایندول-۳-اسید استیک، حذف عوامل استرس‌زا، تخریب آفت کش‌ها و متابولیسم فلزات سنگین اشاره کرد. باکتری‌های حل‌کننده فسفات با تولید اسیدهای آلی، ترکیبات معدنی فسفر را به فرم قابل جذب برای گیاه تبدیل می‌کنند. از سوی دیگر، سیدروفورها مولکول‌های آلی با وزن مولکولی پایین هستند که توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های خاکزی تولید می‌شوند. این ترکیبات دارای توانایی بالا در کلاته‌کردن آهن فریک ($Fe^{3+}$) در شرایط کمبود آهن هستند. باکتری‌هایی مانند Pseudomonas fluorescens و Bacillus subtilis با ترشح سیدروفور، به افزایش جذب آهن توسط گیاه و همچنین جلوگیری از رشد بیمارگرهای خاک‌زاد از طریق رقابت برای آهن کمک می‌کنند. همچنین ایندول-۳-استیک اسید، یکی از انواع اصلی اکسین‌ها، نقش مهمی در توسعه ریشه، تقسیم سلولی و افزایش جذب مواد غذایی ایفا می‌کند. بسیاری از گونه‌های باکتریایی از جمله سودوموناس، باسیلوس، ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم توانایی تولید این هورمون گیاهی را از طریق مسیرهای وابسته یا غیر وابسته به تریپتوفان دارند. به‌طور کلی توسعه و کاربرد فرآورده‌های زیستی مبتنی بر PGPR به‌عنوان جایگزین یا مکمل کودها و آفت‌کش‌های شیمیایی، به‌عنوان روشی کارآمد و زیست‌سازگار برای افزایش بهره‌وری محصولات زراعی، جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات و کاربردهای کشاورزی پیدا کرده است . لذا این پژوهش به‌منظور بررسی قابلیت‌های زیستی برخی جدایه‌های باکتریایی محرک رشد گیاه انجام گردید.

## ۲-روش انجام تحقیق

- **تهیه جدایه های باکتریایی و بررسی خلوص آنها**

جدایه‌های باکتریایی موثر در بهبود دهندگی رشد گیاه از جنس‌های مختلف، از موسسه تحقیقات خاک و آب کشور و دانشگاه جیرفت تهیه گردیدند. در مجموع ۲۶ جدایه باکتریایی تهیه شد. از این تعداد ۱۵ جدایه متعلق به جنس باسیلوس، ۵ جدایه متعلق به جنس سودوموناس و ۳ جدایه متعلق به جنس‌های ازتوباکتر و ۳ جدایه متعلق آزوسپیریلیوم بودند (جدول ۱). به‌منظور اطمینان از خلوص باکتری‌های تهیه شده، کشت پنج ضلعی ۲۶ جدایه مجدداً روی محیط کشت NAS[2] انجام شد. همچنین جهت شناسایی آنها برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فنوتیپی از طریق انجام آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز و توان تولید لوان بررسی گردید.

[1] Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

[2] Nutrient Agar + Sucrose

**جدول ۱- جدایه‌های باکتریایی انتخاب شده**

| ردیف | نام باکتری | کد جدایه |
|---|---|---|
| 1 | Bacillus velezensis | UJB 11 |
| 2 | Bacillus subtilis | UJB 13 |
| 3 | Bacillus velezensis | UJB 14 |
| 4 | Bacillus subtilis | UJB 15 |
| 5 | Bacillus subtilis | UJB 19 |
| 6 | Bacillus velezensis | UJB 20 |
| 7 | Bacillus megaterium | UJB 21 |
| 8 | Bacillus paralicheniformis | UJB 22 |
| 9 | Bacillus subtilis | UJB 23 |
| 10 | Bacillus megaterium | UJB 26 |
| 11 | Bacillus subtilis | UJB 27 |
| 12 | Bacillus subtilis | UJB 28 |
| 13 | Bacillus amyloliquefaciens | UJB 30 |
| 14 | Bacillus subtilis | UJB 33 |
| 15 | Bacillus subtilis | UJB34 |
| 16 | Pseudomonas fluorescens | UJB 17 |
| 17 | Pseudomonas fluorescens | UJB 24 |
| 18 | Pseudomonas fluorescens | UJB 25 |
| 19 | Pseudomonas fluorescens | UJB 31 |
| 20 | Pseudomonas putida | UJB 35 |
| 21 | Azospirillum lipoferum | UJB 12 |
| 22 | Azospirillum brasilense | UJB 16 |
| 23 | Azospirillum sp | UJB 29 |
| 24 | Azotobacter sp. | UJB 18 |
| 25 | Azotobacter chroococcum | UJB 32 |
| 26 | Azotobacter salinestris | UJB 36 |

- **ارزیابی ویژگی‌های محرک رشدی جدایه‌های باکتریایی**
- **تولید سیدروفور**

سویه‌های باکتری برای تولید سیدروفور بر روی محیط CAS-Agar طبق روش الکساندر و زوبرر (۱۹۹۱) مورد سنجش قرار گرفتند. پتری‌دیش‌های CAS Agar تهیه و پس از آماده‌شدن محیط با چوب‌پنبه سوراخ‌کن ۵ میلی‌متری چاهک‌هایی در تشتک پتری ایجاده شد. سپس سوسپانسیون باکتری را در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و فاز رویی جدا شد. به میزان ۳۵ میکرولیتر از فاز رویی برداشته و سپس درون چاهک‌ها ریخته و پس از گذشت چند دقیقه و جذب آن مجدد مقدار مساوی از همان فاز رویی درون چاهک‌ها ریخته و تشتک‌های پتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سیلسیوس انکوبه شد. برای هر جدایه باکتری ۳ تکرار در درون یک پتری‌دیش در نظر گرفته شد. ظهور ناحیه رنگی زرد تا نارنجی در اطراف رشد باکتری‌ها برای تولید سیدروفور مثبت در نظر گرفته شد .

- **سنجش نیمه‌کمی توان حل فسفات‌های نامحلول**

توانایی حلالیت فسفات با توجه به روش اسپربر مورد آزمایش قرار گرفته شد. در این روش از محیط کشت اسپربر استفاده شد. این محیط دارای تری‌کلسیم دی فسفات می‌باشد که سبب کدر شدن محیط می‌شود. جدایه‌ها در یک پتری‌دیش با ۳ تکرار و به میزان ۷ میکرولیتر به صورت نقطه‌ای کشت داده شدند و به مدت یک هفته و در دمای ۲۶ درجه سیلسیوس انکوبه شدند. ایجاد هاله شفاف در اطراف محل رشد باکتری به عنوان قابلیت انحلال فسفات ارزیابی شد .

- **فرآیند تثبیت نیتروژن**

برای سنجش تثبیت ازت ابتدا محیط کشت بدون نیتروژن وینوگرادسکی[3] تهیه و pH نهایی آن روی ۷ تنظیم شد. برای تشخیص باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت، ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌ها به روش لکه‌گذاری روی محیط کشت قرار گرفت و به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. این آزمون در سه تکرار در یک پتری انجام شد. رشد و عدم رشد در مقایسه با محیط NAS بررسی و ثبت گردید.

[3] Vinogradsky

- **تولید هورمون ایندول ۳- استیک اسید IAA**

سنجش کیفی تولید IAA با روش توصیف شده توسط بانو[۴]و میوسارات[۵](۲۰۰۳) تعیین شد. به منظور تشخیص کیفی تولید IAA، ابتدا جدایه‌های باکتری در ۱۰۰ میلی لیتر محیط LB[۶] مایع کشت داده شدند و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه انکوبه شدند. سپس محیط کشت در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و دو میلی لیتر از مایع رویی آن با یک میلی لیتر از معرف سالکوفسکی[۷] (۱۲ گرم $FeCl_3$ و ۷/۹ مولار $H_2SO_4$ در هر لیتر) مخلوط شد. ایجاد رنگ صورتی قرمز نشان دهنده تولید IAA بود . از محیط کشت بدون تلقیح به عنوان شاهد استفاده شد.

## ۳- نتایج

- **شناسایی جدایه‌ها**

تمایز اولیه جدایه‌ها با بررسی برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فنوتیپی آنها از طریق انجام آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز و توان تولید لوان انجام گردید (جدول ۲).

**جدول ۲- نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی جدایه‌های باکتریایی**

| ردیف | کد جدایه | تست کاتالاز | رنگ‌آمیزی گرم | تولید لوان |
|---|---|---|---|---|
| 1 | UJB15 | + | + | − |
| 2 | UJB27 | + | + | + |
| 3 | UJB35 | + | − | + |
| 4 | UJB32 | + | − | + |
| 5 | UJB23 | + | + | + |
| 6 | UJB30 | + | + | − |
| 7 | UJB17 | + | − | + |
| 8 | UJB25 | + | − | + |
| 9 | UJB19 | + | + | − |
| 10 | UJB14 | + | + | − |
| 11 | UJB21 | + | + | + |
| 12 | UJB22 | + | + | − |
| 13 | UJB11 | + | + | + |
| 14 | UJB26 | + | + | − |
| 15 | UJB34 | + | + | + |
| 16 | UJB12 | + | − | + |
| 17 | UJB18 | + | − | + |
| 18 | UJB31 | + | − | + |
| 19 | UJB13 | + | + | − |
| 20 | UJB24 | + | − | + |
| 21 | UJB28 | + | + | + |
| 22 | UJB20 | + | + | − |
| 23 | UJB36 | + | + | − |
| 24 | UJB33 | + | + | − |
| 25 | UJB16 | + | − | + |
| 26 | UJB29 | + | − | + |

- **ارزیابی تولید سیدروفور**

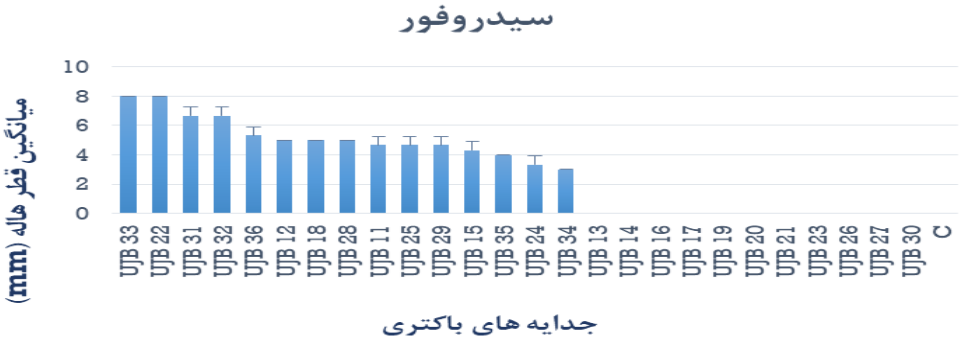
نتایج تجزیه واریانس آزمون توانایی جدایه‌ها در تولید سیدروفور نشان داد که بین برخی جدایه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) نشان داد که ۱۵ جدایه قابلیت تولید سیدروفور داشتند که جدایه‌های UJB33 (Bacillus subtilis)، UJB22 (Bacillus paralicheniformis)، UJB31 ( Pseudomonas fluorescens)، UJB32 (Azotobacter chroococcum)، و UJB36 (Azotobacter salinestris) بیشترین میزان تولید را داشتند و جدایه‌های UJB24 و UJB34 که متعلق به جنس Pseudomonas و Bacillus بودند کمترین میزان تولید را داشتند (شکل ۲).

[6] Bano
[7] Musarrat
[6] Luria Broth
[9]

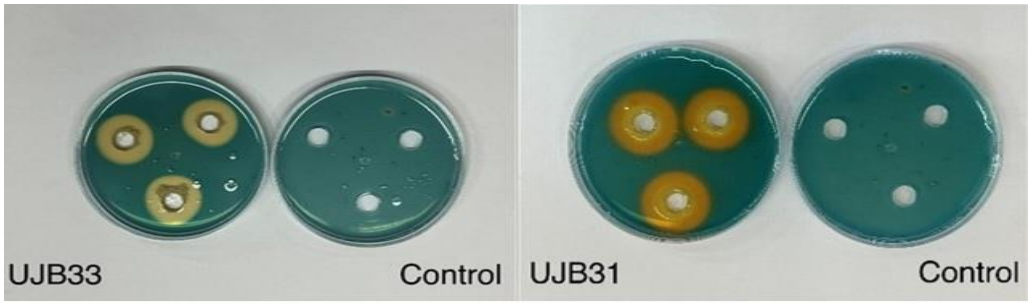
**جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس آزمون سیدروفور توسط جدایه‌های باکتری**

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| تیمار | 26 | 24.240** |
| خطا | 54 | 0.345 |
| ضریب تغیرات (درصد) | 20.705 | |

****: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد**




**شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین هاله‌های تولید شده ناشی از تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها**




**شکل ۲- هاله نارنجی اطراف جدایه‌ها روی محیط کشت CAS Agar ناشی از تولید سیدروفور توسط جدایه‌های باکتری**

از آنجایی که فراهمی زیستی آهن در بیشتر زیستگاه‌های طبیعی بسیار محدود است، تعداد زیادی از باکتری‌ها، برای دسترسی به منابع مختلف آهن، ترکیبات کلات کننده آهن فریک به نام سیدروفورها را تولید می‌کنند . باکتری‌های تولیدکننده سیدروفور در جنس‌های Azotobacter، Azospirillium ، bacillus ، Dickeya، Enterobacter ، Klebsiella ، Pseudomonas، Panibacillus، Streptomyces و .... توصیف شده‌اند . گونه Bacillus subtilis ترکیبات کلات کننده آهن تولید می‌کند و در نتیجه رشد گیاه گندم را در شرایط خشکسالی بهبود می‌بخشد. نشان داده شد که Bacillus subtilis MF497446 و Pseudomonas koreensis MG209738 سیدروفورها را تولید می‌کنند و مقاومت به بیماری Cephalosporium mydis را در محصولات ذرت القا می‌کنند .باکتری تثبیت کننده نیتروژن Azotobacter chroococcum قادر به تولید سیدروفورها و تأثیر مثبت بر رشد محصولات مختلف تحت انواع خاک و شرایط آب و هوایی متفاوت است. گونه‌های Pseudomonas sp. به طور گسترده در ریزوسفر گیاهان وجود دارند و با ترشح آنزیم‌ها و متابولیت‌ها، حل شدن مواد مغذی و تولید سیدروفور، رشد را تحریک می‌کنند . در شرایط کمبود آهن، Pseudomonas.sp. به طور موثر رشد پایه درخت سیب را تحریک کرد و تغذیه گیاه را بهبود بخشید . سیدروفورهایی که PGPRها تولید می‌کنند مانند BCA با محروم کردن بیمارگر از تغذیه آهن، منجر به افزایش عملکرد محصول می‌شوند . نتایج تحقیقات بایسنس و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد که سیدروفورهای تولید شده باکتریایی توسط باکتری Pseudomonas fluorescens نقش بسیار مهمی در کنترل مرگ گیاهچه پیتیومی گوجه فرنگی داشت. یو و همکاران طی تحقیقاتی نشان دادند که سیدروفور توسط باکتری‌های باسیلوس تولید شده است و تاثیر منفی بر رشد قارچ فوزاریوم و نقش به‌سزایی در کنترل بیولوژیک داشت. طی پژوهشی جمالی و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که تمامی سویه‌های Pseudomonas fluorescens قادر به تولید سیدروفور بودند ولی میزان تولید آن در بین سویه‌ها متغیر بود.

- **سنجش نیمه‌کمی توان حل فسفات‌های معدنی نامحلول**

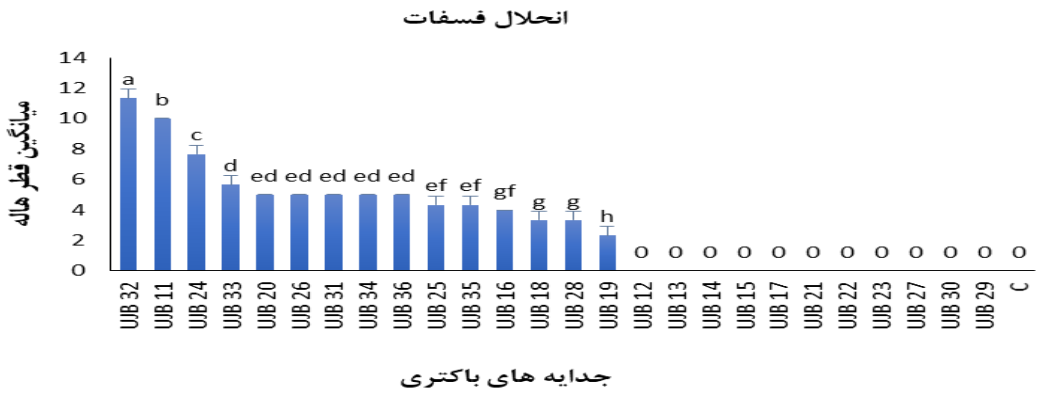
نتایج آنالیز واریانس (جدول ۴) سنجش نیمه‌کمی انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول نشان داد که بین جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. همچنین نتایج مقایسه میانگین حاصل از این آزمون نشان داد بیشترین میزان حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول مربوط به جدایه‌های UJB32، UJB11، UJB24 و UJB33 با قطر هاله بازدارنده به ترتیب ۱۱/۳۳، ۹/۳۳، ۷/۶۶ و۵/۶۶

میلی‌متر بود و کم‌ترین میزان حل کنندگی فسفات مربوط به جدایه‌های UJB19 UJB28 و UJB18 با قطر هاله‌ی ۲/۶۶ و ۲/۳۳ میلی‌متر بود (شکل‌های ۳ و ۴). دیگر جدایه‌ها حد واسط این دو گروه قرار گرفتند.

**جدول ۴- خلاصه نتایج آنالیز واریانس آزمون انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط جدایه‌های باکتری**

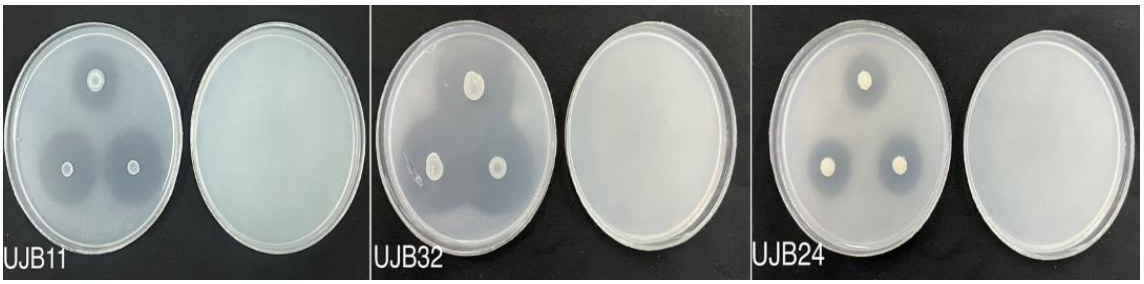
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| تیمار | 26 | 32.37** |
| خطا | 54 | 0.098 |
| ضریب تغییرات (درصد) | 10.432 | |

****: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد**




**شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین قطر هاله تولید شده جدایه‌های باکتریایی در آزمون انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول.**

**مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد ($P\leq0.01$). ستون‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.**

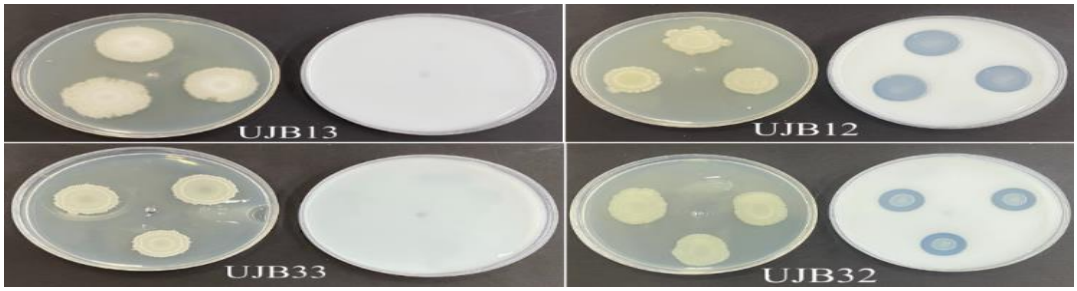



**شکل ۴- هاله شفاف اطراف کلنی‌ها ناشی از انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط جدایه‌های باکتری پس از گذشت یک هفته.**

میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات به گروهی از میکروارگانیسم‌ها اطلاق می‌گردد که قادرند از طریق مکانیسم‌هایی چون ترشح اسیدهای آلی، آزادسازی یون هیدروژن در سطح خارجی سلول باکتری و تولید اسیدهای غیرآلی سبب آزادسازی فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی خاک گردند. نتایج حاصل از تحقیقات ریچاردسون و سیمپسون (۲۰۱۱) بیانگر این است که میکروارگانیسم‌های خاک، کانی‌های نامحلول حاوی فسفات را حل و فسفر آن‌ها را به صورت قابل جذب برای گیاه در می‌آوردند که این ویژگی باعث افزایش رشد و نمو گیاه می‌شود. جمالی و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که باکتری‌های Pseudomonas fluorescent قادر به انحلال فسفات و دارای توانایی بیوکنترلی علیه پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی بودند. باکتری‌های حل کننده‌ی فسفات از جمله Bacillus و Pseudomonas به کمک آنزیم‌هایی مانند فسفوناتاز، فسفاتاز، و اسیدهای آلی مانند سیتریک اسید و گلوکونیک اسید ، فسفر را از ترکیب‌های معدنی و آلی خاک آزاد می‌کنند. سویه‌های متعلق به جنس‌های Enterobacter، Azotobacter، Azospirillum، Pseudomonas، Rhizobium، Bacillus و Burkholderia به عنوان باکتری‌های حل کننده‌ی فسفات (PSB) شناخته شده‌اند و فرایندهای انحلال فسفر و معدنی شدن فسفر در یک سویه باکتری می‌تواند رخ دهد . انحلال فسفات در روند افزایش رشد گیاه اغلب تحت تاثیر سایر صفات مفید باکتری‌های PSB نظیر تولید اکسین یا سیدروفور قرار می‌گیرد .

- **ارزیابی توان تثبیت نیتروژن**

بررسی کیفی تثبیت نیتروژن توسط جدایه‌های آنتاگونیست نشان داد که ۱۹ جدایه قادر به رشد در محیط بدون نیتروژن بودند و بدین ترتیب توانایی تثبیت ازت را داشتند. این جدایه‌ها متعلق به جنس‌های Bacillus، Pseudomonas، Azotobacter و Azospirillum بودند. رشد و عدم رشد جدایه‌ها نسبت به محیط کشت آگار مغذی (NA) سنجیده شد. (شکل ۵).

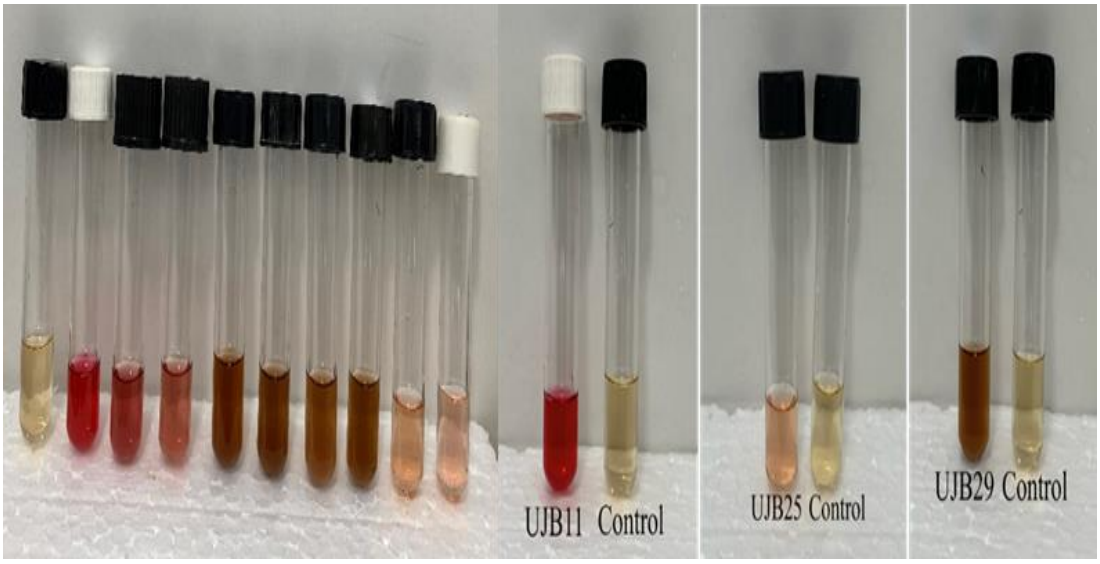



**شکل ۵- رشد و عدم رشد جدایه‌های مورد بررسی در محیط‌های بدون نیتروژن (سمت راست) و آگار مغذی ( سمت چپ)**

پژوهش‌های مختلف محققین نشان می‌دهد که نقش انواع باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در رشد و نمو گیاه عمدتا به واسطه تولید هورمون‌های محرک رشد مانند اتیلن، جیبرلین، سیتوکینین و اکسین، توانایی حل کنندگی فسفات، افزایش مقاومت به تنش، افزایش جذب عناصر، تولید ویتامین ها و بیوکنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌باشند . رای و گاور (۱۹۸۸) اثر Azotobacter و Azospirillum را بر رشد و عملکرد گندم بررسی کردند نتایج این بررسی نشان داد که Azotobacter به تنهایی ۸/۲، Azospirillum ۹/۱ و تلفیق این دو باکتری ۱۳/۹درصد افزایش عملکرد را نسبت به شاهد بدون تلقیح باکتری موجب شد . جرک و همکاران (۲۰۰۶) طی پژوهش‌های خود گزارش دادند که در اثر تلقیح گندم بوسیله Azotobacter ۸ تا ۱۱ درصد عملکرد آن افزایش یافت. در هند آزمایش‌های مزرعه با استفاده از مایه تلقیح Azotobacter برروی بذر و نشاء گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی، پیاز، گندم، بادمجان، نیشکر، برنج، ذرت، سیب زمینی، یولاف، جو، کلم و در شرایط مختلف آب و هوایی انجام شده است. نتایج به‌دست آمده افزایش عملکرد را در همه محصولات بین ۷ تا ۱۲ درصد نشان داد که این افزایش عملکرد به دلیل تثبیت نیتروژن مولکولی بوده است . مانسک و همکاران (۱۹۹۵) در پژوهشی بذرهای مختلف گندم را با سویه‌های مختلف Azotobacter chroococcum تلقیح کردند و نتایج نشان داد که Azotobacter با تولید انواع هورمون‌های گیاهی، تراکم رشد ریشه‌های گندم و رشد طولی را افزایش داده و میزان آلودگی ریشه‌های گندم را در همه رقم‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. این موضوع باعث شد تا راندمان مصرف نیتروژن بهبود یافته و میزان محصول افزایش یابد . در آزمایش دیگری تاثیر باکتری Azotobacter به عنوان باکتری محرک رشد با مواد آلی برروی گیاه ذرت بررسی شد آزمایش در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار طراحی شده بود و نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تلقیح خاک با Azotobacter و مواد آلی، قابلیت جذب نیتروژن را به بالاترین میزان خود رسانده و محصول ذرت نیز به میزان قابل توجه‌ای افزایش یافته بود. ایزوله‌های مختلف Bacillus توانستند از طریق تثبیت نیتروژن و انحلال فسفات‌های نامحلول، رشد جو را افزایش دهند . گزارش‌های ناشی از پژوهشی نشان داد که وجود منابع اکسیژن و کربن در اطراف ریشه و مناطقی که باکتری Azosprillum فعالیت دارد، سبب افزایش مقدار تثبیت نیتروژن می‌شود. نئوپلین و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، سبب افزایش این عنصر در خاک و در نتیجه بهبود باروری خاک باغ‌های چای و همچنین کاهش مصرف کودهای شیمیایی را باعث می‌شوند. باردواج و همکاران (۲۰۱۴) گزارش نمودند که تلقیح همزمان Bacillus megaterium وAzospirillum lipoferum در گیاه، باعث ایجاد تعادل در جذب نیتروژن و فسفر توسط گیاه می‌شوند. دوتا و تاکور (۲۰۱۷) طی تحقیقاتی بیان کردند که جدایه‌های PGPR ارزیابی شده همانند Pseudomonas.sp، Azospirillum.sp، Azotobacter.sp در شرایط گلخانه پتانسیل تجاری-سازی به‌عنوان کود زیستی دارند و کاربرد آنها می‌تواند باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی در مناطق چای‌کاری شود . تحقیقات وو و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که پس از تلقیح باکتری Bacillus amyloliquefaciens به‌عنوان یک باکتری PGPR به خاک مشاهده کردند که علاوه بر افزایش رشد گیاه و افزایش مقدار کل نیتروژن در گیاه، مقدار pH خاک نیز افزایش می‌یابد . باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن مانند Azotobacter و Azospirillum برای محصولاتی همانند چای مناسب می‌باشند . مارکوس و همکاران (۲۰۱۹) نیز در مطالعات خود نشان دادند که باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن با تولید آمونیوم نقش مهمی در رشد گیاه ایفا می‌کنند و با تجمع نیتروژن به افزایش رشد ریشه و اندام هوایی کمک میکنند . تناکن و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که حدودا ۳۳ و ۵۰ درصد کاهش در مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار با استفاده از تلقیح سویه‌های Azospirillum.sp و Bacillus cereus در مزرعه امکان‌پذیر شد .

- **ارزیابی تولید ایندول استیک اسید**

نتایج به‌دست آمده از بررسی کیفی توان تولید اکسین جدایه‌های مورد بررسی نشان داد که ۱۰ جدایه از جدایه‌های مورد مطالعه توانایی تولید اکسین را در حضور تریپتوفان داشتند (شکل ۶).




**شکل ۶ - بررسی کیفی توان تولید اکسین جدایه‌های باکتریایی**

توانایی بیو سنتز ایندول ا ستیک ا سید (IAA) فقط به گیاهان عالی محدود نمی‌با شد بلکه میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها، توانایی تولید ایندول ا ستیک ا سید را دارند. در میان هورمون‌ها، ایندول ا ستیک ا سید (IAA) به صورت گسترده تو سط باکتری‌ها تولید شـــده و تقریبا ۸۰ درصـــد از باکتری‌های جدا شـــده از خاک توانایی تولید آن را دارند . نتایج پژوهشـــی نشـــان داد که Pseudomonas fluorescent قادر به تولید اکسین در حضور تریپتوفان بود . نتایج پژوهش دیگری بر روی میزان تولید اکسین ۲۵ جدایه‌ی fluorescent Pseudomonas نیز نشـان داد که همه‌ی جدایه‌های مورد بررسـی توانایی تولید اکسـین را داشـتند . نتایج تحقیقات جمالی و همکاران (۱۳۹۵) نشان داد باکتری‌هایی که بیشترین میزان ایندول استیک اسید را تولید کردند سبب افزایش رشد گیاه در مقابله با پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی بودند.

## ۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه‌های UJB33، UJB22، UJB31، UJB32، UJB36، UJB12، UJB18، UJB28، UJB11، UJB25، UJB29، UJB15، UJB35، UJB24 و UJB34 توانایی تولید سیدروفور را داشتند که این جدایه‌ها متعلق به چهار جنس Bacillus، Azotobacter، Azospirillum و Pseudomonas بودند. نتایج نشان داد که جدایه‌های UJB32، UJB11، UJB24، UJB33، UJB20، UJB26، UJB31، UJB34، UJB36، UJB25، UJB35، UJB16، UJB18، UJB28 و UJB19 قادر به انحلال فسفات بودند. توانایی حلالیت فسفات توسط جدایه‌های باکتریایی یکی دیگر از ویژگی‌های مثبتی است که باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود. توانایی تولید ایندول استیک اسید به‌وسیله باکتری‌ها نشان داد که جدایه‌های UJB11، UJB29، UJB12، UJB15، UJB32، UJB34، UJB27، UJB25، UJB14 و UJB18 قادر به تولید اکسین در حضور تریپتوفان بودند که این هورمون سبب تحریک رشد گیاه و افزایش ارتفاع در گیاه می‌گردد. همچنین جدایه‌های UJB31، UJB32، UJB36، UJB12، UJB18، UJB11، UJB26، UJB25، UJB29، UJB15، UJB34، UJB35، UJB30، UJB14، UJB19، UJB17، UJB20، UJB21 و UJB16 توانایی تثبیت نیتروژن را داشتند و متعلق به جنس‌های Bacillus، Azotobacter، Azospirillum و Pseudomonas بودند. این مطالعه نشان داد که باکتری‌های Bacillus، Pseudomonas، Azotobacter و Azospirillum از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند تولید ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات‌های نامحلول و تولید سیدروفور، قادر به بهبود رشد گیاهان و افزایش کارایی منابع خاک هستند. این باکتری‌ها نقش مهمی در افزایش دسترسی گیاه به مواد مغذی و مقابله با بیمارگرهای خاک‌زی ایفا می‌کنند. استفاده از این باکتری‌ها به‌عنوان محرک‌های رشد گیاه می‌تواند راهکاری پایدار برای کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و بهبود عملکرد محصولات در کشاورزی باشد.

## منابع


- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. 2021. Nitrogen fixing Azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. Frontiers in microbiology, 12, 62837.9.
- Abdel Latef, A. A. H., Abu Alhmad, M. F., Kordrostami, M., Abo–Baker, A.-B. A.-E., & Zakir, A. 2020. Inoculation with Azospirillum lipoferum or Azotobacter chroococcum reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. Journal of Plant Growth Regulation, 39(3), 1293-1306.
- Abdel Latef, A. A. H., Omer, A. M., Badawy, A. A., Osman, M. S., & Ragaey, M. M. 2021. Strategy of salt tolerance and interactive impact of Azotobacter chroococcum and/or Alcaligenes faecalis inoculation on canola (Brassica napus L.) plants grown in saline soil. Plants, 10(1), 110.
- Ahmed, E., & Holmström, S. J. 2014. Siderophores in environmental research: roles and applications. Microbial biotechnology, 7(3), 196-208.
- Alexander, D., & Zuberer, D. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biology and fertility of soils, 12, 39-45.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Frontiers in Plant Science, 9, 1473.
- Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C. P., & Enebak, S. 2001. Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian journal of microbiology, 47(9), 793-800.
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., & Tuteja, N. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories, 13, 1-10.
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 1327-1350.
- Buysens, S., Heungens, K., Poppe, J., & Hofte, M. 1996. Involvement of pyochelin and pyoverdin in suppression of Pythium-induced damping-off of tomato by Pseudomonas aeruginosa 7NSK2. Applied and Environmental Microbiology, 62(3), 865-871.
- Canbolat, M. Y., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F., & Aydın, A. 2006. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biology and fertility of soils, 42, 350-357.
- Dommelen, A., Vanderleyden, J., Bothe, H., Ferguson, S., & Newton, W. 2007. Biology of the Nitrogen Cycle. In: Elsevier.
- Dutta, J., & Thakur, D. 2017. Evaluation of multifarious plant growth promoting traits, antagonistic potential and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with commercial tea plants grown in Darjeeling, India. PLoS One, 12(8), e0182302.
- Gamalero, E., & Glick, B. R. 2015. Bacterial modulation of plant ethylene levels. Plant physiology, 169(1), 13-22 .
- Gao, B., Chai, X., Huang, Y., Wang, X., Han, Z., Xu, X., Wu, T., Zhang, X., & Wang, Y. 2022. Siderophore production in pseudomonas SP. strain SP3 enhances iron acquisition in apple rootstock. Journal of Applied Microbiology, 133(2), 720-732.
- Gebrewold, A. Z. 2018. Review on integrated nutrient management of tea (Camellia sinensis L.). Cogent Food & Agriculture, 4(1), 1543536.
- Ghazy, N., & El-Nahrawy, S. 2021. Siderophore production by Bacillus subtilis MF497446 and Pseudomonas koreensis MG209738 and their efficacy in controlling Cephalosporium maydis in maize plant. Archives of microbiology, 203(3), 1195-1209.
- Ghosh, S., & Basu, P. 2006. Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of Phaseolus mungo. Microbiological research, 161(4), 362-366.
- Glick, B. R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, 2012.
- Gopalakrishnan, S., Upadhyaya, H., Vadlamudi, S., Humayun, P., Vidya, M. S., Alekhya, G., Singh, A., Vijayabharathi, R., Bhimineni, R. K., & Seema, M. 2012. Plant growth-promoting traits of biocontrol potential bacteria isolated from rice rhizosphere. SpringerPlus, 1, 1-7.
- Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J. K. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological research, 206, 131-140.

- Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. 2008. Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. Applied Soil Ecology, 38(1), 12-19.
- Hasanudin, H. 2003. .Increasing of the nutrient and uptake avaliability of N and P and through corn yield of inoculation of mycorrhiza, azotobacter and on ultisol organic matter. Journal of Agriculture Sciences of Indonesia, 5(1), 83-89.
- Hoshino, Y., Chiba, K., Ishino, K ,.Fukai, T., Igarashi, Y., Yazawa, K., Mikami, Y., & Ishikawa, J. 2011. Identification of nocobactin NA biosynthetic gene clusters in Nocardia farcinica. Journal of bacteriology, 193(2), 441-448.
- Jarak, M., Protić, R., Janković, S., & Čolo, J. 2006. Response of wheat to Azotobacteractinomycetes inoculation and nitrogen fertilizers. Romanian agricultural research, 23, 37-40.
- Juma, P. O., Fujitani, Y., Alessa, O., Oyama, T., Yurimoto, H., Sakai, Y., & Tani, A. 2022. Siderophore for lanthanide and iron uptake for methylotrophy and plant growth promotion in Methylobacterium aquaticum strain 22A. Frontiers in microbiology, 13, 921635.
- Kennedy, I. R., Choudhury, A., & Kecskés, M. L. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems :can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biology and Biochemistry, 36(8), 1229-1244.
- Kesaulya, H., Hasinu, J., & Tuhumury, G. N. 2018. Potential of Bacillus spp produces siderophores insuppressing thewilt disease of banana plants. IOP conference series: earth and environmental science.
- Khan, N., Ali, S., Shahid, M. A., Mustafa, A., Sayyed, R., & Curá, J. A. 2021. Insights into the interactions among roots, rhizosphere, and rhizobacteria for improving plant growth and tolerance to abiotic stresses: a review. Cells, 10(6), 1551.
- Kurrey, D. K., Sharma, R., Lahre, M. K., & Kurrey, R. L. 2018. Effect of Azotobacter on physio-chemical characteristics of soil in onion field. Pharma Inn J, 7(2), 10, 8-113.
- Larkin, R. P. 2020. Biological control of soilborne diseases in organic potato production using hypovirulent strains of Rhizoctonia solani. Biological Agriculture & Horticulture, 36(2), 119-129.
- Lastochkina, O., Garshina, D., & Pusenkova, L. 2020. Effect of endophytic Bacillus subtilis on drought stress tolerance of Triticum aestivum plants of steppe volga and forest-steppe west siberian agroecological groups. Proceedings of the Abstract book of the 2nd International Scientific Conference“ Plants and Microbes: The Future of Biotechnology”, Saratov, Russia.
- Lemanceau, P., & Alabouvette, C. 1993. Suppression of Fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. Biocontrol Science and technology, 3(3), 219-234.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annual review of microbiology, 63, 541-556.
- Manske, G., Lüttger, A., Behl, R., & Vlek, P. 1995. Nutrient efficiency based on VA mycorrhizae (VAM) and total root length of wheat cultivars grown in India.
- Marques, J. M., Mateus, J. R., da Silva, T. F., Couto, C. R. d. A., Blank, A. F., & Seldin, L. 2019. Nitrogen fixing and phosphate mineralizing bacterial communities in sweet potato rhizosphere show a genotype-dependent distribution. Diversity. 231 (12). 11.
- Mishra, A. K., & Baek, K.-H. 2021. Salicylic acid biosynthesis and metabolism: a divergent pathway for plants and bacteria. Biomolecules, 11(5), 705.
- Mohammed, A. F., Oloyede, A. R., & Odeseye, A. O. 2020. Biological control of bacterial wilt of tomato caused by Ralstonia solanacearum using Pseudomonas species isolated from the rhizosphere of tomato plants. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 53(1-2), 1-16.
- Nepolean, P., Jayanthi, R., Pallavi, R. V., Balamurugan, A., Kuberan, T., Beulah, T., & Premkumar, R. 2012. Role of biofertilizers in increasing tea productivity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(3), S1443-S1445.
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33, 1-16.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., & Senthil-Kumar, M. 2017. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. Frontiers in Plant Science, 8, 537.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. 2002. Role of Pseudomonas putida indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68(8), 3795-3801.
- Rai, S., & Gaur, A. 1988. Characterization of Azotobacter spp. and effect of Azotobacter and Azospirillum as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and soil, 109, 131-134.

- Richardson, A. E., & Simpson, R. J. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. Plant physiology, 156(3), 989-996.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology advances, 1. 319-329.
- Romero-Perdomo, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno-Galván, A., Pastrana, I., Rojas-Tapias, D., & Bonilla, R. 2017. Azotobacter chroococcum as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (Gossypium hirsutum): Effect in reducing N fertilization. Revista Argentina de microbiologia, 49(4), 377-383.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P. 2016. Microbial siderophores and their potential applications: a review. Environmental Science and Pollution Research, 23, 3984-3999.
- Singh, P., Singh, R. K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., Wang, Y., Yang, L., & Jiang, M. 2022. Unlocking the strength of plant growth promoting Pseudomonas in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. Journal of Plant Interactions, 17(1), 220-238.
- Singh, R. K., Singh, P., Li, H.-B., Guo, D.-J., Song, Q.-Q., Yang, L.-T., Malviya, M. K., Song, X.-P., & Li, Y.-R. 2020. Plant-PGPR interaction study of plant growth-promoting diazotrophs Kosakonia radicincitans BA1 and Stenotrophomonas maltophilia COA2 to enhance growth and stress-related gene expression in Saccharum spp. Journal of Plant Interactions, 15(1), 427-445.
- SoltaniTolarood, A., Salehrastin, N., Khavazi, K., Asadi, H., & Abaszadeh ,P. 2008. Isolation and study Plant Growth Promoting properties of Pseudomonas fluorescens species in soils of Iran. Journal of SoilandWaters Sciences, 21, 187-199.
- Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, 9(6), 778-781.
- Stephen, J., Shabanamol, S., Rishad, K., & Jisha, M. 2015. Growth enhancement of rice (Oryza sativa) by phosphate solubilizing Gluconacetobacter sp.(MTCC 8368) and Burkholderia sp.(MTCC 8369) under greenhouse conditions. 3 Biotech, 5, 831-837.
- Tennakoon, P., Rajapaksha, R., & Hettiarachchi, L. 2019. Tea yield maintained in PGPR inoculated field plants despite significant reduction in fertilizer application. Rhizosphere, 10 ,100146.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil, 255, 571-586.
- Wandersman, C., & Delepelaire, P. 2004. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. Annu. Rev. Microbiol., 58, 611-647.
- Wu, S., Zhuang, G., Bai, Z., Cen, Y., Xu, S., Sun, H., Han, X., & Zhuang, X. 2018. Mitigation of nitrous oxide emissions from acidic soils by Bacillus amyloliquefaciens, a plant growth-promoting bacterium .Global change biology, 24(6), 2352-2365.
- Xu, G., & Zheng, H. 1986. Handbook of analysis of soil microorganism. Agricul-ture Press, Beijing, 249-291.
- Yandigeri, M. S., Yadav, A. K., Srinivasan, R., Kashyap, S., & Pabbi, S. 2011. Studies on mineral phosphate solubilization by cyanobacteria Westiellopsis and Anabaena. Microbiology, 80, 558-565.
- Yu, X., Ai, C., Xin, L., & Zhou, G. 2011. The siderophore-producing bacterium, Bacillus subtilis CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. european journal of soil biology, 47(2), 138-145.

- جمالی، ف.، مدر سی، م. و بیات، ف. ۱۳۹۵. توانایی بیوکنترل سویه‌های Pseudomonas fluorescens مولد ۲ و -۴ .دی اسـتیل فلوروگلوسـینول و سـیانید هیدروژن علیه پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی. کنترل بیولوژیک آفات و بیماریهای گیاهی. ۵: ۲۳۵ تا ۲۴۶.
- خسروی، آ.، زارعی، م. و رونقی، ع. ا. ۱۳۹۶. بررسی تاثیر باکتری حل کننده فسفات، ورمی کمپوست و منابع فسفات بر رشد کاهو در یک خاک آهکی. نشریه زیست شناسی خاک، ۵: ۸۱ تا ۹۴.