



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>

Research Article

Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province

Seyed Hassan Tafaroji^{1*} 1- Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran. hassantafaraji@pnu.ac.ir

Article Info	Extended Abstract
Received: 2025-10-26 Accepted: 2025-12-24 Keywords: ACC Deaminase, Frequency distribution, IAA, Molecular identification, PGPR, Rhizosphere Corresponding author's email: hassantafaraji@pnu.ac.ir DOI: 10.22092/SBJ.2025.3711 24.289	Background and Objectives: The increasing global population and challenges related to food security have underscored the critical need for sustainable agricultural practices. The overreliance on chemical fertilizers has led to environmental degradation, including soil and water pollution. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) offer a promising, eco-friendly alternative by enhancing plant growth through various direct and indirect mechanisms. These mechanisms include improving nutrient availability (e.g., via siderophore production, phosphate solubilization, ammonia production), producing phytohormones like auxins (IAA), and mitigating stress through enzymes like ACC deaminase. However, the effectiveness of PGPR is highly dependent on their adaptation to specific local soil, plant, and climatic conditions. While PGPR potentials are well-established globally, a comprehensive profile of native, multifunctional PGPR in the southern Fars province of Iran remains limited. This study aimed to fill this knowledge gap by 1) isolating and evaluating the frequency distribution of key PGP traits among bacterial isolates from various plant rhizospheres, 2) quantitatively assessing selected isolates for IAA production and ACC deaminase activity, and 3) molecularly identifying the most promising multifunctional bacterial strains. Materials and Methods: A total of 45 rhizosphere samples were collected from diverse plants (including wheat, barley, alfalfa, lettuce, canola, beetroot, and spinach) in southern Fars province, with geographical coordinates recorded via GPS. From these samples, 181 distinct bacterial isolates were obtained through serial dilution (up to 10^{-6}) and cultivation on Nutrient Agar, TSA, and King B media. All isolates underwent preliminary qualitative screening for five PGP traits: siderophore production (on CAS agar), ammonia production (in peptone water), phosphate solubilization, potassium release, and zinc solubilization. Based on the results of this screening, 12 superior isolates possessing one or multiple strong PGP traits were selected for further quantitative analysis. The quantitative production of IAA was measured spectrophotometrically using Salkowski's reagent in tryptophan-amended broth. The activity of ACC deaminase was estimated by measuring the amount of α-ketobutyrate produced from ACC. Finally, the molecular identification of the top-performing isolates was carried out by sequencing the 16S rRNA gene using universal primers 27F and 1492R, followed by comparison with sequences in the NCBI database.

Results: The initial screening of 181 isolates revealed a high diversity of functional traits within the rhizosphere community of Southern Fars. A total of 94 isolates (52%) exhibited at least one plant growth-promoting trait. The analysis of trait frequency indicated that siderophore production and ammonia production were the most prevalent mechanisms, observed in a significant portion of the population. This high prevalence is likely an adaptive response to the iron-limited, alkaline nature of the calcareous soils in the region. Phosphate solubilization and potassium release were also common, whereas zinc solubilization was less frequent but present in highly efficient strains. Multifunctionality: Venn diagram analysis highlighted that while many isolates possessed single traits, a specific subset demonstrated multifunctionality. From this pool, 12 superior isolates were selected for advanced quantitative characterization. All 12 selected isolates demonstrated the capability to synthesize IAA in the presence of tryptophan, with concentrations ranging significantly. The highest IAA production was recorded for isolates SF1050 (52.10 µg/ml) and SF1078 (51.30 µg/ml), with no significant statistical difference between them. This high level of auxin production suggests a strong potential for these strains to stimulate root elongation and increase root surface area. Regarding stress alleviation traits, ACC deaminase activity was observed in 7 out of the 12 isolates. Isolate SF1044 exhibited the highest enzyme activity (306.93 nmol α-ketobutyrate mg⁻¹ protein h⁻¹), followed by SF1038 (292.07 nmol α-ketobutyrate mg⁻¹ protein h⁻¹). The presence of this enzyme indicates the potential of these strains to facilitate plant growth under biotic and abiotic stress conditions by regulating ethylene levels. 16S rRNA sequencing revealed that the elite isolates belonged to five distinct genera: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudarthrobacter*, and *Lysinibacillus*. Specifically, SF1038 was identified as *Bacillus* sp., and SF1044, SF1050, and SF1092 were identified as *Pseudomonas* sp. Other isolates were identified as *Acinetobacter* sp. (SF1075), *Pseudarthrobacter* sp. (SF1078), and *Lysinibacillus* sp. (SF1160). The most significant finding was the identification of *Pseudomonas* sp. SF1044 as a highly versatile, multifunctional strain possessing all seven tested PGP traits simultaneously, including high IAA production and ACC deaminase activity.

Conclusion: This study provides a comprehensive profile of the frequency distribution of PGP traits among the native rhizobacterial community in southern Fars province. The results confirm the presence of a diverse and potent reservoir of PGPR, with a notable prevalence of nutrient-solubilizing bacteria. The isolation and identification of several highly efficient strains, particularly the multifunctional *Pseudomonas* sp. SF1044, is a significant outcome. This strain, along with other robust isolates like *Bacillus* sp. SF1038, presents exceptional potential for development into novel, multi-trait biofertilizers. The use of such native, adapted strains can significantly contribute to sustainable agricultural practices in the region by enhancing crop growth and yield while reducing dependence on chemical inputs. Future research should focus on in-vitro and field-level validation of these promising isolates to formulate effective microbial consortia for regional agricultural application.

Cite this article: Tafaroji, H., 2025. Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province. *Journal of Soil Biology*, 13 (2), 193-211 .



DOI: 10.22092/SBJ.2025.371124.289

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

توزیع فراوانی و شناسایی مولکولی باکتری‌های بومی محرک رشد در جنوب استان فارس

سید حسن تفرجی ^{۱*}

۱- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران * hassantafaraji@pnu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۸/۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۳

چکیده

با توجه به چالش‌های کشاورزی پایدار و نیاز به کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، استفاده از روش‌های سازگار با محیط‌زیست و شناسایی باکتری‌های محرک رشد بومی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این پژوهش با هدف بررسی نظام‌مند توزیع فراوانی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر گیاهان مختلف جنوب استان فارس انجام شد. در این مطالعه، ۱۸۱ جدایه باکتریایی از ریزوسفر ۴۵ نمونه گیاهی مختلف جداسازی و از نظر صفات محرک رشد اولیه شامل تولید سیدروفور، آمونیاک، انحلال فسفات، آزادسازی پتاسیم و انحلال روی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که ۹۴ جدایه (۵۲ درصد) دارای حداقل یک صفت محرک رشد بودند و توزیع فراوانی صفات، حاکی از شیوع بیشتر مکانیسم‌های تولید سیدروفور و آمونیاک در بین جامعه باکتریایی بود. در مرحله بعد، ۱۲ جدایه برتر انتخاب و از نظر توانایی تولید اکسین و فعالیت آنزیم ACC دآمیناز مورد ارزیابی کمی قرار گرفتند. همه جدایه‌های منتخب قادر به تولید IAA بودند که بیشترین میزان مربوط به جدایه‌های SF1050 و SF1078 به ترتیب با ۵۲/۱۰ و ۵۱/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از این میان، ۷ جدایه فاقد فعالیت آنزیم ACC دآمیناز بودند و جدایه SF1044 با تولید ۳۰۶/۹۳ نانومول آلفا-کتوبوتیرات بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت، بالاترین فعالیت را نشان داد. شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر، تعلق آن‌ها را به جنس‌های *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Acinetobacter*، *Pseudarthrobacter* و *Lysinibacillus* تأیید کرد. مهم‌ترین دستاورد نوآورانه این پژوهش، شناسایی جدایه SF1044 به عنوان *Pseudomonas* sp. بود که به طور همزمان واجد تمام هفت صفت محرک رشد مورد آزمایش بود. این پژوهش گامی مؤثر در جهت شناسایی و بهره‌برداری از ظرفیت‌های میکروبی بومی برای توسعه کودهای زیستی ترکیبی و پایدار در منطقه جنوب استان فارس محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری‌های محرک رشد، توزیع فراوانی، ریزوسفر، شناسایی مولکولی، ACC دآمیناز.

مقدمه

جمعیت جهان به سرعت در حال افزایش است و تأمین امنیت غذایی به یکی از چالش‌های اصلی قرن حاضر تبدیل شده است. برای دهه‌ها، کشاورزی متکی بر مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی برای دستیابی به عملکرد بالا بوده است (Singh et al., 2022). اگرچه این نهاده‌ها در کوتاه‌مدت مؤثر بوده‌اند، اما استفاده بلندمدت از آنها پیامدهای زیانباری همچون آلودگی آب‌های زیرزمینی، تخریب ساختار خاک، کاهش تنوع زیستی و مقاومت آفات را به همراه داشته است (Foley et al., 2011). در این راستا، یافتن راهکارهای پایدار و دوستدار محیط‌زیست برای افزایش تولیدات کشاورزی امری ضروری است (Chen et al., 2024). یکی از امیدوارکننده‌ترین راهکارها، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR¹) است. PGPRها گروهی از باکتری‌های مستقر در ناحیه ریزوسفر ریشه هستند که از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم، رشد و سلامت گیاه را بهبود می‌بخشند (Bhattacharyya and Jha, 2012; Asgharzadeh et al., 2025). مکانیسم‌های مستقیم شامل مواردی است که به طور مستقیم تغذیه و متابولیسم گیاه را تسهیل می‌کنند (Khoshru et al., 2025)، از قبیل: ۱- تثبیت نیتروژن (در دسترس قرار دادن نیتروژن اتمسفری) ۲- تولید سیدروفور (کلاته کردن آهن و افزایش جذب آن توسط گیاه) ۳- حلالیت فسفات، پتاسیم و روی (تبدیل اشکال نامحلول این عناصر به شکل‌های قابل جذب) ۴- تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین (IAA) و جیبرلین ۵- تولید آنزیم ACC دامیناز که با کاهش سطح اتیلن ناشی از تنش‌ها، به رشد گیاه کمک می‌کند (Tafaraji et al., 2022; Glick, 2014). مکانیسم‌های غیرمستقیم عمدتاً شامل دو راهکار اصلی است: ۱- القای مقاومت سیستمیک در گیاه که منجر به افزایش ظرفیت دفاعی آن در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود. ۲- مهار مستقیم عوامل بیماری‌زای خاک‌زی از طریق تولید

متابولیت‌های ضد میکروبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفورها و آنزیم‌های لیتیک (Lahiji and Rejali, 2025).

در دهه گذشته، تحقیقات گسترده‌ای در زمینه شناسایی و بهره‌برداری از PGPRها در سراسر جهان انجام شده است. به عنوان مثال، مطالعات متعددی توانایی *Bacillus* و *Pseudomonas* را در تولید سیدروفور و انحلال فسفات به اثبات رسانده‌اند (Vejan et al., 2016). همچنین، نقش کلیدی آنزیم ACC دامیناز در کمک به گیاهان برای تحمل تنش‌های خشکی و شوری به اثبات رسیده است (Glick, 2014). شناسایی باکتری‌های متعلق به جنس‌های مختلفی مانند *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* و *Acinetobacter* که دارای چندین صفت محرک رشد هستند، پتانسیل بالای این میکروارگانیسم‌ها را برای استفاده در کودهای زیستی ترکیبی نشان می‌دهد (Kour et al., 2020). اگرچه دانش موجود در مورد PGPR بسیار ارزشمند است، اما چندین شکاف دانشی مهم وجود دارد که نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد: ۱- وابستگی شدید عملکرد PGPRها به شرایط اکولوژیک و خاکی منطقه، لزوم غربالگری منطقه‌محور برای یافتن سویه‌های بومی با کارایی بهینه را نشان می‌دهد. ۲- بیشتر مطالعات پیشین بر ارزیابی تعداد محدودی از صفات متمرکز بوده‌اند، در حالی که شناسایی سویه‌های چندعاملی دارای چندین مکانیسم محرک رشد همزمان، برای توسعه کودهای زیستی کارآمد ضروری است. ۳- با وجود پیشرفت‌های صورت گرفته، پتانسیل کامل میکروبیوم خاک برای کشف سویه‌های جدید و کارآمد (به‌ویژه از جنس‌های کمتر شناخته‌شده) همچنان ناشناخته باقی‌مانده است. تاکنون هیچ مطالعه سیستماتیکی در مورد توزیع فراوانی و پتانسیل چندعاملی PGPRها در ریزوسفر گیاهان مختلف جنوب استان فارس که یک منطقه با شرایط اکولوژیک و خاکی خاص است، انجام نشده است. لذا اهداف این پژوهش به شرح زیر در نظر گرفته شد:

¹ Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

سوسپانسیون به ۹ میلی‌لیتر آب استریل تهیه شد (Glick, 2012).

جداسازی و خالص‌سازی

به‌منظور جداسازی طیف وسیع‌تری از باکتری‌های ریزوسفر با تراکم‌های سلولی متفاوت، از سوسپانسیون‌های رقت‌شده 10^{-4} ، 10^{-5} و 10^{-6} استفاده شد. از هر رقت، حجم ۱۰۰ میکرولیتر بر روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط‌های کشت آگار مغذی^۲، TSA و King B کشت داده و به‌صورت کشت گسترده^۳ پخش شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از دوره انکوباسیون، پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی قابل شمارش داشتند، برای شمارش نهایی جمعیت باکتری‌ها و انتخاب کلنی‌ها ملاک عمل قرار گرفتند. از بین این پلیت‌ها، کلنی‌های با مورفولوژی متفاوت (از نظر شکل، حاشیه، رنگ، ارتفاع و قطر) انتخاب و طی سه مرحله کشت خطی متوالی بر روی محیط کشت آگار مغذی تازه، خالص‌سازی شدند (Somasegaran and Hoben, 2012). ایزوله‌های خالص‌شده در محیط کشت مایع مغذی حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای مطالعات بعدی نگهداری شدند.

غربالگری مقدماتی جدایه‌ها

در غربالگری مقدماتی، جدایه‌های باکتریایی با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی زیر از نظر پنج صفت محرک رشد گیاه ارزیابی شدند:

- ۱- تولید سیدروفور: در محیط جامد CAS^۴ با روش Alexander & Zuberer (1991) ارزیابی شد. ۲- تولید آمونیاک: در محیط مایع پپتون برات^۵ با استفاده از معرف نسلر و بر اساس روش Cappuccino & Sherman (1992) و Agbodjato et al. (2015) سنجیده شد. ۳- حلالیت فسفات: بر روی محیط جامد PKV^۶ حاوی تری

- ۱- جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های ساکن ریزوسفر گیاهان زراعی و بومی مختلف در جنوب استان فارس. ۲- ارزیابی اولیه و تعیین توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی از نظر برخورداری از صفات محرک رشد کلیدی شامل تولید سیدروفور، تولید آمونیاک، حلالیت فسفات، آزادسازی پتاسیم و حلالیت روی. ۳- غربالگری و انتخاب جدایه‌های برتر بر اساس نتایج ارزیابی اولیه و شناسایی جدایه‌هایی که چندین صفت را به صورت همزمان دارا هستند. ۴- ارزیابی کمی جدایه‌های منتخب از نظر توانایی تولید اکسین (IAA) و فعالیت آنزیم ACC دآمیناز به عنوان دو مکانیسم بسیار مهم در تحریک رشد و کمک به تحمل تنشهای محیطی. ۵- شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر و منتخب بر پایه توالی‌یابی ژن 16S rRNA.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در مرحله اول، ۴۵ نمونه ریزوسفری از گیاهان مختلف (شامل: گندم، جو، یونجه، کاهو، کلزا، پنیرک، چغندر، اسفناج، جو دره و تربچه) با ثبت مختصات جغرافیایی توسط GPS جمع‌آوری شد. خاکه‌ای موردنظر همگی pH قلیایی بین ۷/۷ تا ۸/۶ داشتند و دارای مقادیر $38/90$ تا $61/10$ درصد کربنات کلسیم (آهک) بودند. همچنین محدوده وسیعی از EC، از $2/71$ تا $8/40$ dS.m⁻¹ را شامل می‌شدند. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تکان دادن برای جداسازی خاک‌های اضافی، فقط ریشه و ۲-۳ میلی‌متر خاک اطراف آن، که شامل ناحیه ریزوسفر می‌شود، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. ۱۰ گرم از هر نمونه خاک با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد تا سوسپانسیون 10^{-1} تهیه شود. این سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس سری‌های رقت 10^{-2} تا 10^{-6} با انتقال متوالی ۱ میلی‌لیتر از

^۵ Peptone Broth

^۶ Pikovskaya

^۲ Nutrient Agar

^۳ Spread Plate

^۴ Chrome Azurol S

در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه بر روی شیکر انکوباتور چرخشی انجام شد. پس از انکوباسیون، سوسپانسیون باکتریایی با دور ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از فاز مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق انکوبه گردید. شدت رنگ قرمز تشکیل‌شده در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و غلظت IAA با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Salazar-Ramírez et al., 2021).

تولید آنزیم ACC دآمیناز

توانایی تولید ACC دآمیناز جدایه‌ها به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس اندازه‌گیری آلفا-کتوبوتیرات^۷ تولید شده از تجزیه ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) برآورد گردید. جدایه‌ها در محیط حداقل نمک (DF) حاوی ۳ میلی‌مولار ACC به‌عنوان تنها منبع نیتروژن رشد داده شدند. پس از رشد کافی، سلول‌ها جمع‌آوری و با بافر فسفات شستشو داده شدند. سپس سلول‌ها لیز شده و عصاره سلولی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. فعالیت آنزیمی با اندازه‌گیری میزان آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده از تجزیه ACC تعیین گردید. آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده با ۲،۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین^۸ واکنش داده و محصول رنگی حاصله در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم ACC دآمیناز برحسب نانومول آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده در هر میکروگرم پروتئین سلولی در ساعت بیان شد (Penrose & Glick, 2003).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

برای شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر، ژن 16S rRNA از DNA ژنومی جداشده از باکتری با استفاده از پروتکل‌های استاندارد PCR تکثیر شد (Johnson et

Rashid et al., 2004). کلسیم فسفات و با استناد به روش انجام گرفت. ۴-آزادسازی پتاسیم: در محیط الکساندروف آگار حاوی آلومینوسیلیکات پتاسیم و بر پایه پروتکل Tan et al. (2014) مورد آزمایش قرار گرفت. ۵- حلالیت روی: بر روی محیط اصلاح‌شده PKV حاوی اکسید روی (ZnO) و با بهره‌گیری از روش Saravanan et al. (2004) ارزیابی شد.

در نهایت، جدایه‌هایی که به طور هم‌زمان دارای قوی‌ترین و متنوع‌ترین فعالیت‌ها در این آزمون‌های کیفی بودند، به‌عنوان جدایه‌های برتر انتخاب و برای مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

غربالگری ثانویه جدایه‌ها

در غربالگری ثانویه، ارزیابی کمی و نیمه کمی صفات محرک رشد با روش‌های زیر انجام شد: ۱- اندازه‌گیری شاخص حلالیت فسفر در محیط PKV جامد (Rashid et al., 2004)، ۲- سنجش کمی آزادسازی فسفر در محیط PKV مایع (Jeon et al., 2003)، ۳- تعیین شاخص حلالیت پتاسیم در محیط الکساندروف آگار (Tan et al., 2014)، ۴- اندازه‌گیری کمی پتاسیم آزادشده با دستگاه فلیم‌تومتر (Savostin, 1972)، ۵- ارزیابی شاخص حلالیت روی در محیط PKV اصلاح‌شده (Saravanan et al., 2004)، ۶- سنجش کمی روی محلول با دستگاه جذب اتمی (Saravanan et al., 2004) و ۷- اندازه‌گیری کمی تولید سیدروفور با روش CAS مایع (Payne, 1994). در نهایت، جدایه‌های برتر بر اساس عملکرد کمی برتر در این آزمون‌ها انتخاب شدند.

غربالگری نهایی جدایه‌ها

تولید ایندول استیک اسید (IAA)

برای سنجش تولید IAA، جدایه‌های منتخب در محیط کشت مایع نوترینت برات حاوی ۵ میلی‌مولار L-تریپتوفان کشت داده شدند. انکوباسیون به مدت ۷۲ ساعت

^۸ ۲،۴-dinitrophenylhydrazine

^۷ α -ketobutyrate

نتایج

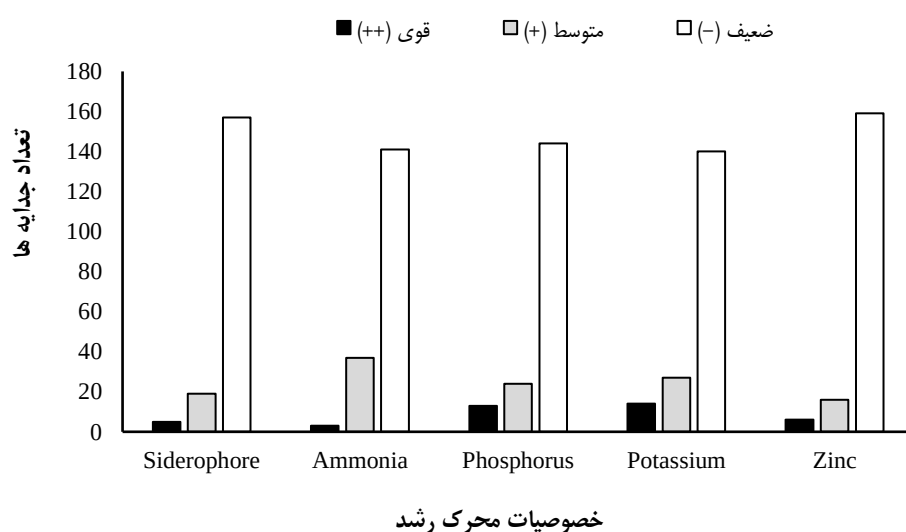
توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی از نظر خصوصیات محرک رشد

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۱) از غربالگری اولیه ۱۸۱ جدایه، جدایه‌ها از نظر شدت فعالیت (تولید آمونیاک) و نسبت قطر هاله به کلونی (تولید سیدروفور، انحلال فسفر و آزادسازی عناصر پتاسیم و روی) در پتری دیش‌ها به سه دسته تقسیم شدند که ضعیف (-) نشان‌دهنده عدم وجود هاله، متوسط (+) نشان‌دهنده نسبت قطر هاله به کلونی ۱-۲ و قوی (++) نشان‌دهنده نسبت قطر هاله به کلونی بیشتر از ۳ تقسیم‌بندی شدند. این الگوی توزیع نشان می‌دهد که در بین جامعه باکتری‌های ریزوسفری جداسازی‌شده، مکانیسم‌های مستقیم تسهیل جذب آهن (تولید سیدروفور) و همچنین تأمین نیتروژن (تولید آمونیاک)، فسفر و پتاسیم از شیوع و شدت بیشتری برخوردار هستند. با این حال، وجود جدایه‌هایی با توانایی قوی در حل‌الیت روی، اگرچه کم‌شمار، می‌تواند از نظر کاربرد در توسعه کودهای زیستی ترکیبی حائز اهمیت باشد.

(al., 2019). از پرایمرهای جهانی (5'-27F AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') و (5'-1492R TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3') برای تکثیر ناحیه تقریباً ۱۵۰۰ جفت بازی ژن 16S rRNA استفاده گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad T100, USA) انجام شد. محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد به مدت ۱ ساعت و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برومید تأیید شدند. توالی‌یابی محصولات PCR با استفاده از روش سانگر (Sanger Sequencing) و تنها با پرایمر رو به جلو (27F) در شرکت ایرانیان نوین ژن انجام گرفت. توالی‌های به‌دست‌آمده برای آنالیزهای فیلوژنتیکی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند.

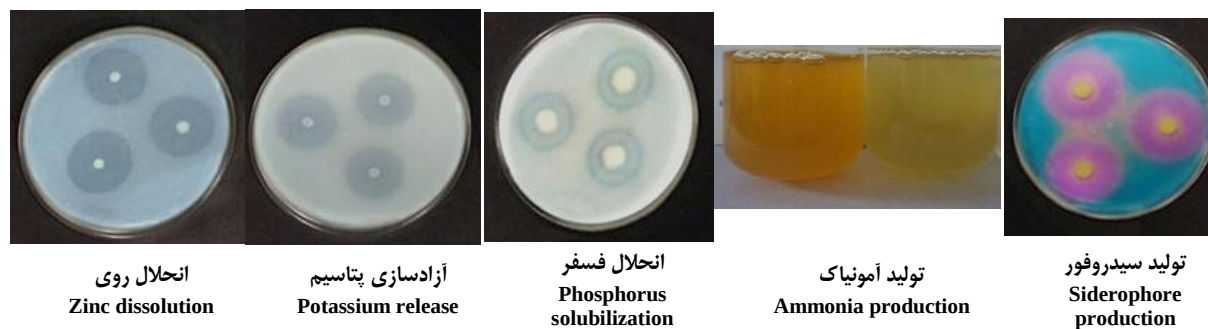
تجزیه آماری و مقایسه میانگین

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، تجزیه و تحلیل آن‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد انجام گردید. نمودارها و اشکال نیز توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.



شکل ۱- توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی بر اساس توانایی آنها در تولید ترکیبات محرک رشد و حل‌الیت عناصر غذایی.

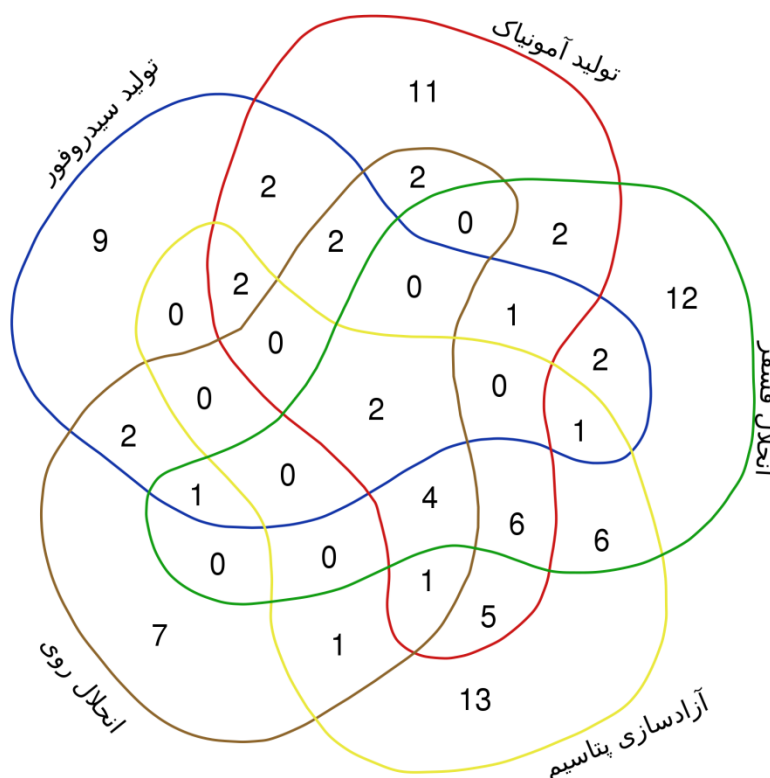
Figure 1. Frequency distribution of bacterial isolates based on their ability to produce growth-promoting compounds and solubilize nutritional elements.



شکل ۲- نتایج غربالگری اولیه در صفات محرک رشدی
Figure 2. Initial screening results for plant growth-promoting traits.

۴۱ جدایه توانایی آزادسازی پتاسیم و تعداد ۲۲ جدایه توانایی انحلال روی را از خود نشان دادند و مجموعاً ۹۴ جدایه دارای یک تا پنج صفات محرک رشدی بودند. اعداد داخل منحنی‌های رنگی نشان‌دهنده تعداد جدایه دارای صفت (صفات) محرک رشدی خاص آن رنگ است.

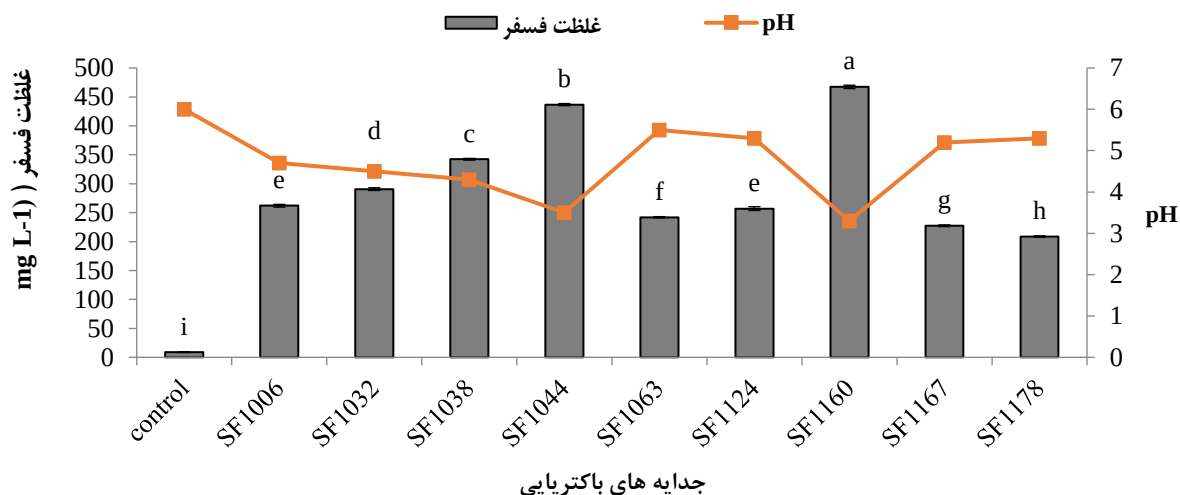
بر اساس نتایج بدست آمده از دیاگرام ون (شکل ۳) مشخص گردید از بین ۱۸۱ جدایه، تعداد ۸۷ جدایه هیچکدام از خصوصیات محرک رشدی شامل تولید سیدروفور، تولید آمونیاک، انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم و انحلال روی را از خود نشان ندادند. همچنین تعداد ۲۴ جدایه توانایی تولید سیدروفور، تعداد ۴۰ جدایه توانایی تولید آمونیاک، تعداد ۳۷ جدایه توانایی انحلال فسفر، تعداد



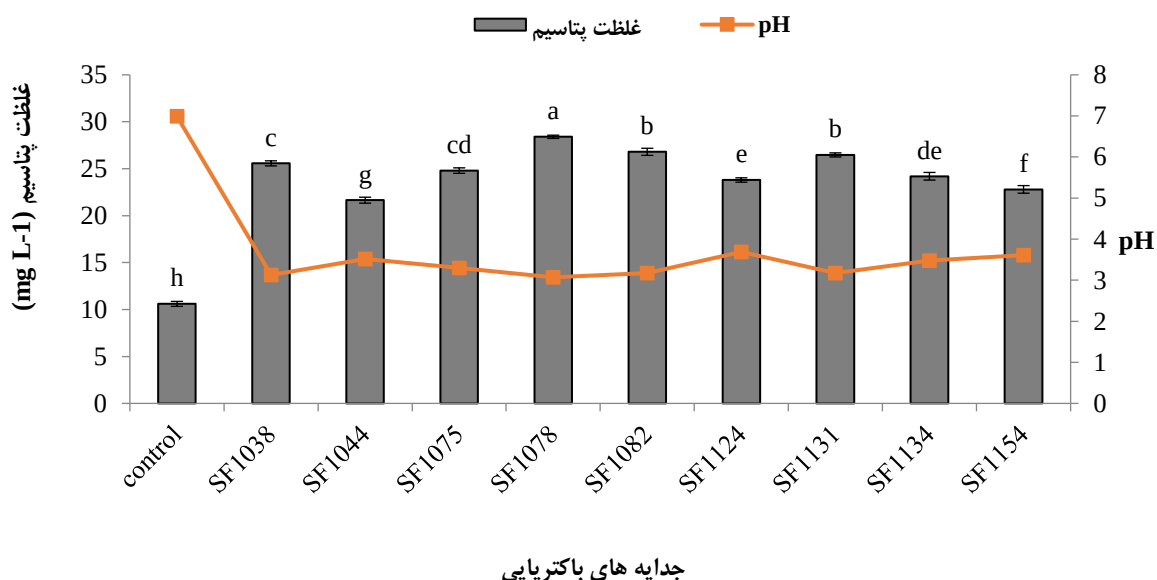
شکل ۳- دیاگرام ون (venn diagram): توزیع ۹۴ جدایه دارای صفات محرک رشدی
Figure 3. Venn diagram: Distribution of the 94 isolates with growth-promoting traits.

داده‌شده است. این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند (شکل ۴-۷).

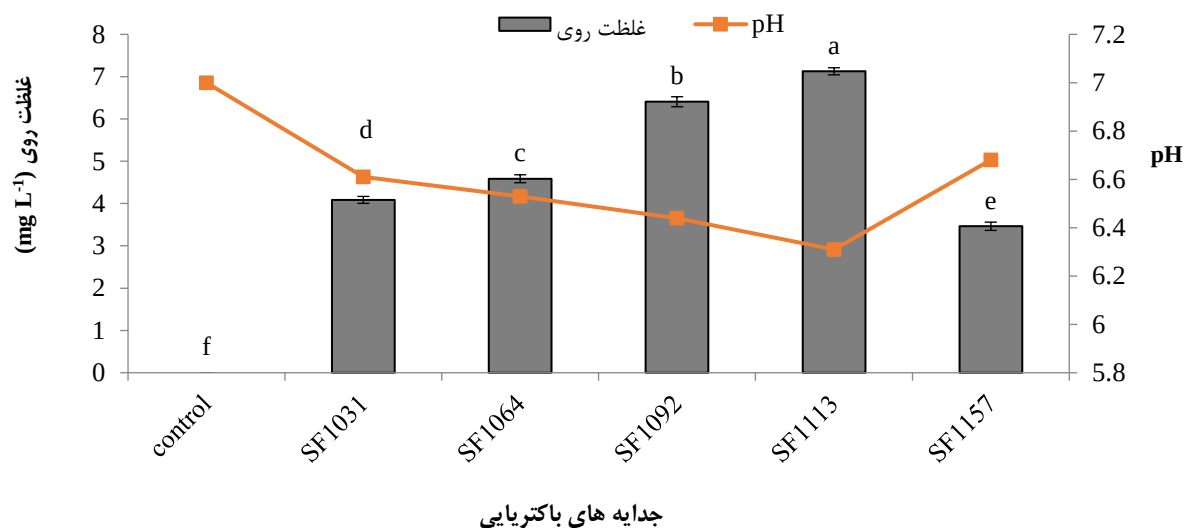
پس از غربالگری مقدماتی که معطوف به برآورد کیفی خصوصیات محرک رشد بودند، جدایه‌هایی که نسبت قطر هاله به کلونی آنها بیش از ۳ بود جهت غربالگری ثانویه که معطوف به برآورد کمی خصوصیات محرک رشد بودند، انتخاب شدند که نتایج آن در شکل‌های ۴ تا ۷ نشان



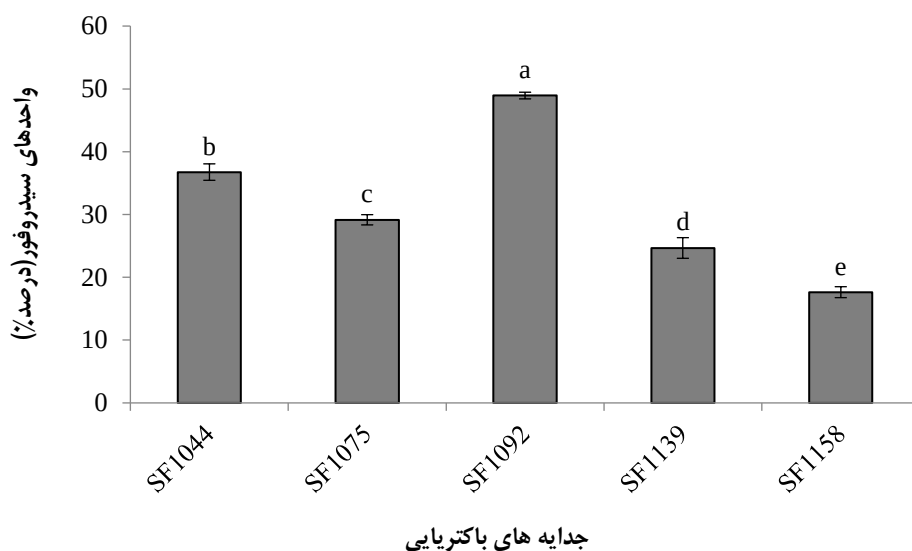
شکل ۴- برآورد کمی انحلال فسفر در محیط PKV مایع حاوی تری‌کلسیم فسفات
Figure 4. Quantitative estimation of phosphorus solubilization in liquid PKV medium containing tricalcium phosphate.



شکل ۵- برآورد کمی آزادسازی پتاسیم در محیط الکساندروف
Figure 5. Quantitative estimation of potassium release in Alexandrov medium.



شکل ۶- برآورد کمی انحلال روی در محیط PKV حاوی ZnO
Figure 6. Quantitative estimation of zinc solubilization in PKV medium containing ZnO.



شکل ۷- مقدار تولید سیدروفور در جدایه های غربالگری اولیه
Figure 7. Amount of siderophore production in the initial screening isolates.

انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم، انحلال روی، تولید سیدروفور نشان داده بودند (شکل های ۴-۷) انتخاب شدند. همچنین از جدایه هایی که همه خصوصیت ها را به صورت هم زمان از خود نشان داده بودند، مطابق (جدول ۱) استفاده گردید.

انتخاب جدایه های منتخب جهت آزمون های نهایی به منظور آزمون های نهایی، از بین جدایه هایی که در مرحله غربالگری اولیه، نتایج خوبی را در تولید آمونیاک و در مرحله غربالگری ثانویه، نتایج کمی خوبی را در

جدول ۱- انتخاب جدایه‌های منتخب جهت آزمون‌های نهایی
Table 1. Selection of superior isolates for final assays.

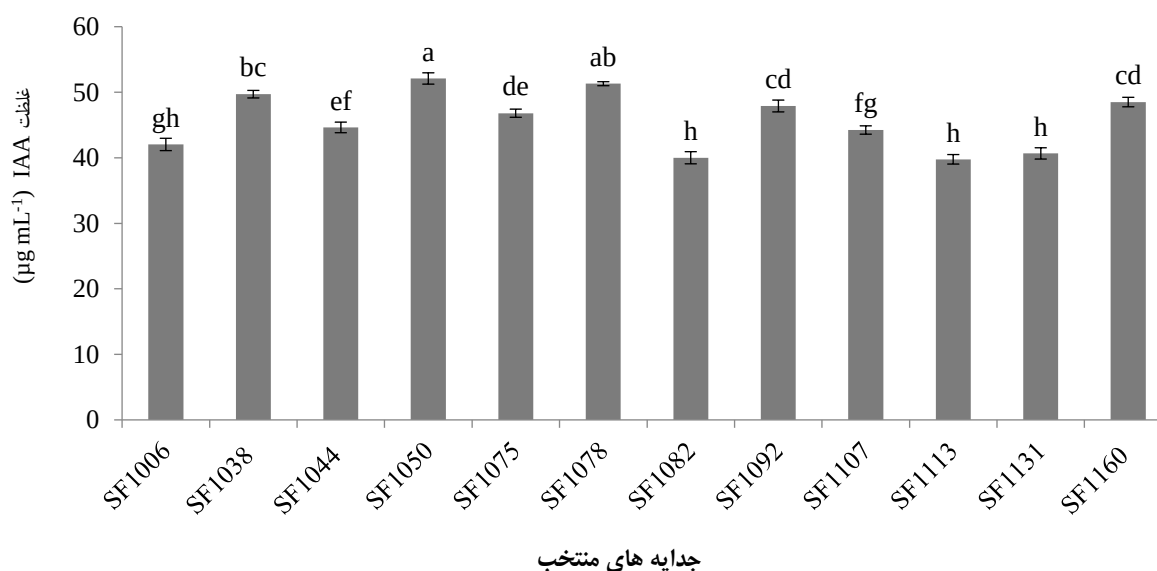
جدایه‌هایی که همه ۵ خصوصیت را از خود نشان دادند Isolates exhibiting all five traits	جدایه‌های برتر در تولید سیدروفور Highly efficient siderophore-producing isolates	جدایه‌های برتر در انحلال روی Highly efficient zinc-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در آزادسازی پتاسیم Highly efficient potassium-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در انحلال فسفر Highly efficient phosphorus-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در تولید آمونیاک Top-performing isolates in ammonia production
SF1006 SF1044	SF1092 SF1044 SF1075	SF1113 SF1092	SF1078 SF1082 SF1131 SF1038	SF1160 SF1044 SF1038	SF1050 SF1075 SF1107

آزمون‌های نهایی

تولید IAA توسط جدایه‌های منتخب

جهت برآورد تولید ایندول استیک اسید (IAA) ۱۲ جدایه منتخب شامل SF1006، SF1038، SF1044، SF1050، SF1075، SF1078، SF1082، SF1092، SF1107، SF1113، SF1131 و SF1160 انتخاب گردیدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند که نتایج آن در (شکل ۸) آمده است.

با توجه به تکراری بودن بعضی از جدایه‌ها در (جدول ۱)، تعداد ۱۲ جدایه شامل SF1038، SF1006، SF1082، SF1078، SF1075، SF1050، SF1044، SF1160 و SF1131، SF1113، SF1107، SF1092 جهت آزمون تولید IAA و آزمون تولید ACC دامیناز انتخاب گردید.



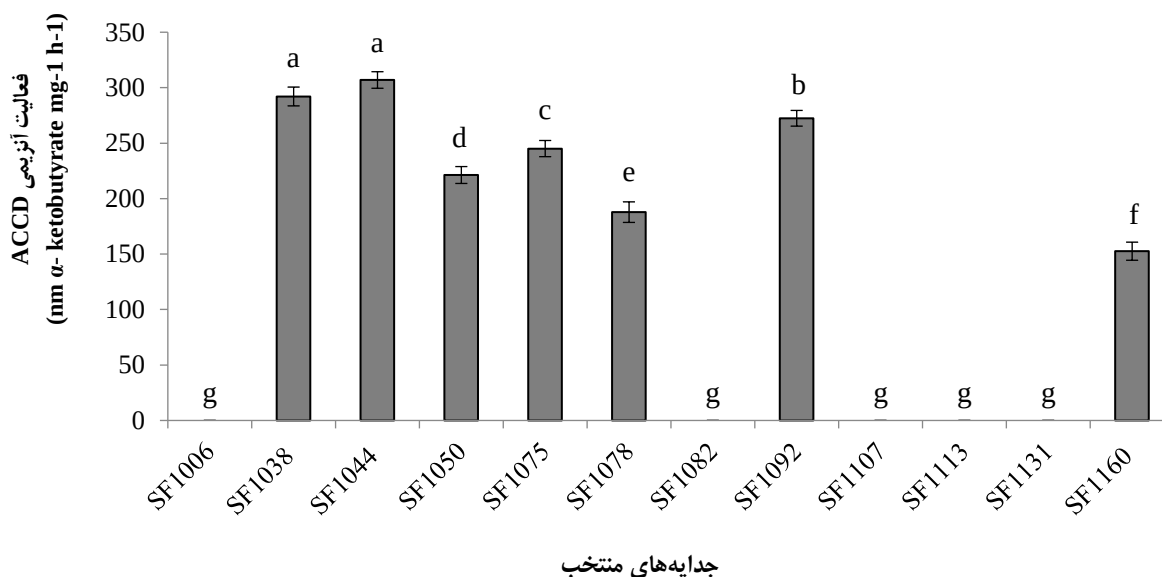
شکل ۸- تولید IAA در جدایه‌های منتخب. علامت (I) بر روی هر میله نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) هر جدایه است و میله‌های دارای حروف یکسان، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 8. IAA production in the selected isolates.

فعالیت آنزیم ACC دآمیناز (ACCD) در جدایه‌های منتخب

جهت برآورد تولید آنزیم ACC دآمیناز (ACCD) ۱۲ جدایه منتخب استفاده گردیدند و غلظت آلفا کتوتیورات برحسب نانومول بر میلی گرم پروتئین در ساعت بدست آمد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند و نتایج زیر حاصل گردید (شکل ۹).

با توجه به نتایج شکل (۸) همه ۱۲ جدایه منتخب، تولید IAA داشته‌اند، اما اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با هم دارند، به‌طوری که جدایه SF1050 بیشترین تولید ایندول استیک اسید (IAA) با میانگین ۵۲,۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را داشته است و جدایه SF1078 با میانگین ۵۱,۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در رتبه دوم قرار گرفته است که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. همچنین جدایه‌های SF1160, SF1038, SF1092, SF1006, SF1107, SF1044, SF1075, SF1082, SF1131 و SF1113 با اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در رده‌های آخر هستند.



شکل ۹- غلظت آلفا کتوتیورات برحسب (نانومول بر میلی گرم پروتئین در ساعت) به‌عنوان شاخص فعالیت آنزیمی ACCD در جدایه‌های منتخب. میله‌های دارای حروف یکسان، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 9. Alpha-ketobutyrate concentration (nmol protein mg⁻¹h⁻¹) as an indicator of ACCD enzymatic activity in the selected isolates.

۳۰۶,۹۳ نانومول بر میلی گرم پروتئین در ساعت را داشته است و جدایه SF1038 با میانگین ۲۹۲,۰۷ نانومول بر میلی گرم پروتئین در ساعت در رتبه دوم قرار گرفته است که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. همچنین جدایه‌های SF1092, SF1075, SF1050, SF1078 و

با توجه به نتایج (شکل ۹)، بین ۱۲ جدایه منتخب، تعداد ۵ جدایه هیچگونه فعالیت آنزیمی ACCD از خود نشان ندادند و در ۷ جدایه که آلفا کتوتیورات تولید کرده‌اند، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد باهم دارند. جدایه SF1044 بیشترین تولید آلفا کتوتیورات با میانگین

شناسایی مولکولی جدایه‌های تولیدکننده آنزیم ACC دآمیناز

بر اساس شناسایی مولکولی مبتنی بر توالی‌یابی ناحیه 16S rRNA جدایه‌های برتر در تولید آنزیم ACC دآمیناز به ترتیب متعلق به جنس‌های *Bacillus*، *Pseudarthrobacter*، *Pseudomonas*، *Acinetobacter* و *Lysinibacillus* هستند که پس از ثبت در Genbank سایت مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) اطلاعات آنها در (جدول ۲) آمده است.

SF1160 به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند و جدایه‌های SF1107، SF1082، SF1006، SF1113 و SF1131 بدون تولید آلفا کتوتیترات، فعالیت آنزیمی ACCD را نشان ندادند.

جدول ۲- شناسایی مولکولی جدایه‌ها

Table 2. Molecular identification of isolates.

شماره شماره دسترسی Genbank	طول باند (bp)	درصد مشابهت (%) Similarity	نزدیکترین تطابق پایگاه داده NCBI	شماره جدایه Isolate NO	شماره NO
OL946146.1	970	96.53%	<i>Bacillus sp.</i>	SF1038	۱
OM019109.1	1172	97.33%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1044	۲
OL979178.1	787	93.06%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1050	۳
OM333625.1	1132	92.73%	<i>Acinetobacter sp.</i>	SF1075	۴
OL979177.1	983	98.14%	<i>Pseudarthrobacter sp.</i>	SF1078	۵
OL979228.1	672	94.80%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1092	۶
OL979292.1	985	98.46%	<i>Lysinibacillus sp.</i>	SF1160	۷

بدین ترتیب خصوصیات یا صفات محرک رشدی شامل تولید آمونیاک، انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم، انحلال روی، تولید سیدروفور، تولید اکسین و تولید آنزیم ACC دآمیناز برای جدایه‌های برتر به شرح (جدول ۳) مشخص گردید.

جدول ۳- خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های برتر و گیاه میزبان هر جدایه

Table 3. Plant growth-promoting characteristics of superior isolates and the host plant of each isolate.

خصوصیت محرک رشد Plant growth-promoting trait							گیاه میزبان Host plant	نام علمی Scientific name	شماره جدایه Isolate NO
تولید ACCD	تولید IAA	تولید سیدروفور Siderophore production	انحلال روی Zinc dissolution	آزادسازی پتاسیم Potassium release	انحلال فسفر Phosphorus solubilization	تولید آمونیاک Ammonia production			
+	+	-	-	+	+	+	گندم	Bacillus sp.	SF1038
+	+	+	+	+	+	+	کلزا	Pseudomonas sp.	SF1044
+	+	+	-	-	+	+	جو دره	Pseudomonas sp.	SF1050
+	+	+	-	+	-	+	کلزا	Acinetobacter sp.	SF1075
+	+	-	-	+	-	-	کلزا	Pseudarthrobacter sp.	SF1078
+	+	+	+	-	-	-	جو	Pseudomonas sp.	SF1092
+	+	-	-	+	+	+	جو	Lysinibacillus sp.	SF1160

علامت (+) نشان‌دهنده مثبت بودن صفت محرک رشدی و علامت (-) نشان‌دهنده منفی بودن صفت محرک رشدی است.

The symbol (+) denotes a positive expression of the plant growth-promoting trait, while (-) denotes a negative expression.

بحث

این پژوهش با هدف بررسی توزیع فراوانی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد ریزوسفر در جنوب استان فارس انجام شد. یافته‌های این مطالعه مؤید حضور گسترده و متنوع باکتری‌های دارای پتانسیل محرک رشد در ناحیه ریزوسفر گیاهان موردبررسی است.

غربالگری اولیه ۱۸۱ جدایه باکتریایی نشان داد که مکانیسم‌های مستقیم تسهیل جذب مواد مغذی، از تنوع قابل توجهی در جامعه باکتریایی ریزوسفر برخوردار هستند. تولید سیدروفور و آمونیاک به عنوان دو صفت بسیار شایع مشاهده شدند. این الگوی توزیع را می‌توان با استراتژی بقای باکتری‌ها در محیط‌های قلیایی و آهکی، مشابه شرایط خاک‌های مطالعه حاضر، توجیه کرد. در pH بالا، حلالیت آهن به شدت کاهش می‌یابد؛ بنابراین تولید سیدروفور یک مزیت رقابتی ضروری برای جذب این عنصر کلیدی محسوب می‌شود. از سوی دیگر، تولید آمونیاک می‌تواند پاسخی به محدودیت نیتروژن در دسترس در این خاک‌ها باشد. این مشاهدات نشان می‌دهد که جامعه باکتریایی ریزوسفر در منطقه، به طور طبیعی به سوی مکانیسم‌های

تطابقی با تنش‌های تغذیه‌ای محیط خود گزینش شده‌اند (Yuan et al., 2022). تولید سیدروفور با ایجاد هاله در محیط CAS که در جدایه‌هایی مانند SF1044 و SF1092 به وضوح مشاهده شد، نشان‌دهنده توانایی این باکتری‌ها در کلاته کردن آهن سه‌ظرفیتی و تبدیل آن به فرم قابل جذب برای خود و گیاه میزبان است. این یافته با نتایج (Gonin et al., 2013) همسو است که گزارش کردند تولید سیدروفور یکی از متداول‌ترین صفات در PGPRهای بومی است. از سوی دیگر، تولید آمونیاک که در ۴۰ جدایه از ۹۴ جدایه دارای صفت مثبت گزارش شد، می‌تواند از طریق معدنی کردن ترکیبات آلی نیتروژن‌دار، منبع مستقیم نیتروژن را برای گیاه فراهم کند (Chen et al., 2024). نکته جالب توجه در داده‌های توزیع فراوانی، حضور ۸۷ جدایه فاقد هر پنج صفت ارزیابی شده بود. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که بخشی از جامعه باکتریایی ریزوسفر ممکن است از طریق مکانیسم‌های دیگر (مانند تولید آنزیم‌های کیتیناز، تولید سیانید هیدروژن یا القای مقاومت سیستمیک) که در غربالگری اولیه ارزیابی نشدند، به رشد گیاه کمک کنند یا اساساً نقش محرک رشدی مستقیم نداشته باشند (Kour et al., 2020).

با پتانسیل محرک رشد، از جمله *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudarthrobacter* و *Lysinibacillus* تأیید کرد. این جنس‌ها به کرات در مطالعات مختلف به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گزارش شده‌اند (Chen et al., 2024; Kour et al., 2021; Salazar-Ramírez et al., 2020).

جدایه SF1044 که به عنوان *Pseudomonas* sp. شناسایی شد، یک سویه چندکاره^۹ بود که همزمان تمام هفت صفت محرک رشدی مورد آزمایش را از خود نشان داد. این سویه قادر به تولید آمونیاک، حل‌کنندگی فسفات، آزادسازی پتاسیم، حل‌کنندگی روی، تولید سیدروفور، تولید IAA و تولید آنزیم ACC دامیناز بود. گونه‌های سودوموناس به دلیل توانایی بالا در کلونیزه کردن ریشه و تولید طیف وسیعی از متابولیت‌های محرک رشد، از مدل‌های اصلی در توسعه کودهای زیستی محسوب می‌شوند (Singh et al., 2022).

جدایه SF1038 (*Bacillus* sp.) نیز یکی از جدایه‌های برتر بود که پنج صفت محرک رشد را دارا بود. تشکیل اندوسپور در جنس *Bacillus*، ماندگاری و پایداری بالایی به کودهای زیستی مبتنی بر این باکتری‌ها می‌بخشد که یک مزیت عمده برای تولید انبوه و نگهداری محسوب می‌شود (Devi et al., 2017).

شناسایی جدایه SF1078 به عنوان *Pseudarthrobacter* sp. جالب‌توجه است، چرا که گزارش‌های کمتری در مورد پتانسیل محرک رشدی این جنس وجود دارد. این موضوع بر اهمیت بررسی جوامع میکروبی بومی برای کشف سویه‌های جدید با توانایی‌های منحصربه‌فرد تأکید می‌کند (Ham et al., 2022).

همه ۱۲ جدایه منتخب توانایی تولید IAA را در محیط کشت غنی‌شده با تریپتوفان نشان دادند. میزان تولید IAA در محدوده وسیعی از ۳۹/۷۷ تا ۵۲/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل توجه در مسیرهای بیوسنتزی اکسین در بین این جدایه‌ها است. جدایه‌های SF1050 و SF1078 به ترتیب با تولید ۵۲/۱۰ و ۵۱/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر IAA در زمره کارآمدترین جدایه‌ها قرار گرفتند. تولید IAA توسط PGPRها یک مکانیسم کلیدی برای تحریک رشد ریشه، افزایش جذب آب و مواد مغذی و القای تشکیل ریشه‌های جانبی است (Salazar-Ramírez et al., 2021). سطوح بالای IAA تولیدشده توسط این جدایه‌ها، پتانسیل بالای آن‌ها برای استفاده به‌عنوان مایه تلقیح زیستی جهت بهبود استقرار گیاهچه و توسعه سیستم ریشه‌ای را نوید می‌دهد.

در مورد فعالیت آنزیم ACC دامیناز، از بین ۱۲ جدایه، تنها ۷ جدایه (SF1038, SF1044, SF1050, SF1075, SF1078, SF1092, SF1160) فعالیت قابل اندازه‌گیری از خود نشان دادند. این موضوع نشان می‌دهد که با وجود داشتن نسبتاً بالای صفاتی مانند تولید سیدروفور، بر خورداری از آنزیم ACC دامیناز ممکن است در بین همه PGPRها رایج نباشد (Gupta and Pandey, 2019). جدایه SF1044 با تولید ۳۰۶/۹۳ نانومول آلفا-کتیوتیرات بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت، بالاترین فعالیت را داشت. این آنزیم با تجزیه ACC (پیش‌ساز اتیلن)، سطح اتیلن گیاه را در شرایط تنش کاهش داده و از توقف رشد گیاه جلوگیری می‌کند (Glick, 2014). حضور همزمان آنزیم ACC دامیناز در کنار صفاتی مانند تولید IAA در جدایه‌هایی مانند SF1044، آن‌ها را به کاندیدای ایده‌آلی برای استفاده در شرایط تنش‌زا (مانند خشکی یا شوری که در جنوب استان فارس شایع است) تبدیل می‌کند (Kang et al., 2019).

شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر بر اساس توالی ژن 16S rRNA، تعلق آن‌ها را به جنس‌های شناخته‌شده‌ای

⁹ Multifunctional

نتیجه‌گیری

این مطالعه موفق به شناسایی کنسرسیومی از باکتری‌های بومی ریزوسفر در جنوب استان فارس شد که از پتانسیل بالایی برای تحریک رشد گیاه برخوردارند. توزیع فراوانی صفات محرک رشد در بین جدایه‌ها نشان داد که استراتژی‌های مستقیم بهبود جذب مواد مغذی در این منطقه اکولوژیک غالب است. جدایه‌های برتر شناسایی شده، به‌ویژه سویه‌های چندکاره مانند

Bacillus sp. SF1038 و *Pseudomonas* sp. SF1044 گزینه‌های امیدوارکننده‌ای برای انجام مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای به‌منظور تدوین کودهای زیستی ترکیبی و پایدار برای کشاورزی جنوب ایران هستند. استفاده از چنین سویه‌های بومی و چندعاملی می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و افزایش تاب‌آوری سیستم‌های کشاورزی در برابر تنش‌ها باشد.

References

1. Agbodjato, N.A., Noumavo, P.A., Baba-Moussa, F., Salami, H.A., Sina, H., Sèzan, A., Bankolé, H., Adjanohoun, A. and Baba-Moussa, L., 2015. Characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria isolated from Maize (*Zea mays* L.) in central and Northern Benin (West Africa). *Applied and Environmental Soil Science*, 2015, pp.901656. DOI: 10.1155/2015/901656.
2. Alexander, D. and Zuberer, D., 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12(1), pp.39-45.
3. Asgharzadeh, A., Saghafi, K. and Khoshru, B., 2025. Effect of biopriming with plant growth-promoting bacteria on seed germination indices of wheat under salinity stress. *Journal of Soil Biology*, 13(1), pp.1-17. (In Persian).
4. Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), pp.1327-1350. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
5. Cappuccino, J.G. and Sherman, N., 1992. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 3rd Ed., Benjamin/Cummings Pub. Co., New York.
6. Cappuccino, J.G. and Sherman, N., 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 7th Ed., Pearson/Benjamin Cummings, San Francisco.
7. Chen, Y., Li, Y., Fu, Y., Jia, L., Li, L., Xu, Z., Zhang, N., Liu, Y., Fan, X. and Xuan, W., 2024. The beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* SQR9 regulates plant nitrogen uptake via an endogenous signaling pathway. *Journal of Experimental Botany*, 75(11), pp.3388-3400. DOI: 10.1093/jxb/eraa123.
8. Devi, A.R., Kotoky, R., Pandey, P. and Sharma, G., 2017. Application of *Bacillus* spp. for sustainable cultivation of potato (*Solanum tuberosum* L.) and the benefits. In: *Bacilli and Agrobiotechnology*. Springer, Cham, pp.221-243. DOI: 10.1007/978-3-319-44409-3_9.
9. Foley, J.A., Ramankutty, N., Brauman, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Mueller, N.D., O'Connell, C., Ray, D.K. and West, P.C., 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7370), pp.337-342. DOI: 10.1038/nature10452.
10. Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, pp.963401. DOI: 10.6064/2012/963401.
11. Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), pp.30-39. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.009.
12. Gonin, M., Gensous, S., Lagrange, A., Ducouso, M., Amir, H. and Jourand, P., 2013. Rhizosphere bacteria of *Costularia* spp. from ultramafic soils in New Caledonia: diversity, tolerance to extreme edaphic conditions, and role in plant growth and mineral nutrition. *Canadian Journal of Microbiology*, 59(3), pp.164-174. DOI: 10.1139/cjm-2012-0678.
13. Gupta, S. and Pandey, S., 2019. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Frontiers in Microbiology*, 10, pp.1506. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01506.

14. Ham, S.H., Yoon, A.R., Oh, H.E. and Park, Y.G., 2022. Plant growth-promoting microorganism *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502770 enhances the growth and flavonoid content of *Geum aleppicum*. *Microorganisms*, 10(6), pp.1241. DOI: 10.3390/microorganisms10061241.
15. Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S. and Song, H.G., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41(4), pp.271-276.
16. Johnson, J.S., Spakowicz, D.J., Hong, B.Y., Petersen, L.M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S.R., Hanson, B.M., Agresta, H.O. and Gerstein, M., 2019. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), pp.5029. DOI: 10.1038/s41467-019-13036-1.
17. Kang, S.M., Shahzad, R., Bilal, S., Khan, A.L., Park, Y.G., Lee, K.E., Asaf, S., Khan, M.A. and Lee, I.J., 2019. Indole-3-acetic-acid and ACC deaminase producing *Leclercia adecarboxylata* MO1 improves *Solanum lycopersicum* L. growth and salinity stress tolerance by endogenous secondary metabolites regulation. *BMC Microbiology*, 19(1), pp.80. DOI: 10.1186/s12866-019-1450-6.
18. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A.R., Khosravi, H., Asgharzadeh, A. and Faridian, L., 2025. Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp.279-313. (In Persian).
19. Kour, D., Rana, K.L., Yadav, A.N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H.S. and Saxena, A.K., 2020. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, pp.101487. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101487.
20. Lahiji, A. and Rejali, F., 2025. Investigating the effect of biofertilizers on improving the absorption of nutrients, growth and yield of hazelnut (*Corylus avellana* L.) trees in Eshkavrat area of Rudsar city in Gilan province. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp.213-233. (In Persian).
21. Payne, S.M., 1994. Detection, isolation, and characterization of siderophores. *Methods in Enzymology*, 235, pp.329-344. DOI: 10.1016/0076-6879(94)35151-1.
22. Penrose, D.M. and Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), pp.10-15. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x.
23. Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S. and Latif, F., 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), pp.187-196. DOI: 10.3923/pjbs.2004.187.196.
24. Salazar-Ramírez, M.T., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., Rueda-Puente, E.O., Yescas-Coronado, P. and Orozco-Vidal, J.A., 2021. Plant growth-promoting rhizobacteria associated to candelilla rhizosphere (*Euphorbia antisiphilitica*) and its effects on *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(1), pp.12294. DOI: 10.15835/nbha49112294.
25. Saravanan, V.S., Subramoniam, S.R. and Raj, S.A., 2004. Assessing in vitro solubilization potential of different

- zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(1-2), pp.121-125. DOI: 10.1590/S1517-83822004000100020.
26. Savostin, P., 1972. Microbial transformation of silicates. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 132(1), pp.37-45.
27. Singh, P., Singh, R.K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., Wang, Y., Yang, L. and 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), pp.220-238. DOI: 10.1080/17429145.2022.2029963.
28. Somasegaran, P. and Hoben, H.J., 2012. *Handbook for Rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Springer Science & Business Media.
29. Tafaraji, S.H., Abtahi, S.A., Jafarinia, M. and Ebadi, M., 2022. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria producing ACC-Deaminase, IAA, siderophore and phosphate solubilization on growth indices, chlorophyll, proline and protein in alfalfa at different levels of salinity. *Plant Productions*, 45(3), pp.375-384. (In Persian).
30. Tan, K.Z., Radziah, O., Halimi, M.S., Khairuddin, A.R., Habib, S.H. and Shamsuddin, Z.H., 2014. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 9(3), pp.342-360. DOI: 10.3844/ajabssp.2014.342.360.
31. Trivedi, P., Leach, J.E., Tringe, S.G., Sa, T. and Singh, B.K., 2020. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), pp.607-621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1.
32. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Nasrulhaq Boyce, A., 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability a review. *Molecules*, 21(5), pp.573. DOI: 10.3390/molecules21050573.
33. Yuan, Z.S., Liu, F., He, S.B., Zhou, L.L. and Pan, H., 2022. Community structure and diversity characteristics of rhizosphere and root endophytic bacterial community in different *Acacia* species. *PLoS One*, 17(1), pp.e0262909. DOI: 10.1371/journal.pone.0262909.