



Isolation of Salinity and Drought-Tolerant Bacteria from the Rhizosphere of Plants and Evaluation of Some of Their Growth-Promoting Properties

Farhad Azarmi-Atajan

Associate Professor, Soil Science and Engineering Department, Agricultural College, University of Birjand, Birjand, Iran.

*Corresponding Author: farhadazarmi@yahoo.com & farhadazarmi@birjand.ac.ir

Keywords:

Indole acetic acid, Tri-calcium phosphate, Environmental stresses, Plant growth-promoting microorganisms, Sodium chloride.

Extended abstract

Introduction

A large part of Iran, especially the provinces located in the east and center, is located in arid and semi-arid regions where the annual precipitation is less than 150 mm. Consequently, agriculture conditions in these areas are challenging. Environmental stresses such as soil salinity, drought, and poor soil fertility play significant roles in reducing agricultural production. The utilization of beneficial soil microorganisms is crucial for managing agricultural production. The objective of this study was to assess the tolerance of bacteria isolated from the rhizosphere of saffron, pistachio, and barberry plants to salinity and drought stresses, as well as their capacity to solubilize phosphorus and produce indole acetic acid under laboratory conditions.

Material and Methods

To isolate plant growth-promoting bacteria, soil samples were collected from the rhizosphere of pistachio, barberry, and saffron plants in various regions of South Khorasan Province and transported to the Soil Biology Laboratory of the Faculty of Agriculture. Subsequently, the bacteria were cultured on the growth medium, and thereafter, bacterial isolates exhibiting variations in colony shape and appearance were chosen for purification and further investigations. Following this, 10 bacterial isolates were picked and evaluated for growth in culture media with varying salinity levels (0, 10, 20, and 40 dS/m), drought conditions (0, -5, and -10 bar), as well as for the solubilization of tricalcium phosphate, and the production of indole acetic acid. Finally, the data underwent statistical analysis using SAS software, and mean comparisons were performed utilizing the LSD test.

Results

The results indicated that bacterial growth decreased with increasing salinity and polyethylene glycol concentration in the culture medium. Bacteria isolated from the rhizosphere of barberry plants demonstrated a greater ability than other isolates to thrive

Received:

03 December 2024

Revised:

13 December 2024

Accepted:

14 December 2024

How to cite this article:

Azarmi-Atajan, A. (2024). Isolation of Salinity and Drought-Tolerant Bacteria from the Rhizosphere of Plants and Evaluation of Some of Their Growth-Promoting Properties. *Journal of Drought and Climate change Research*, 2(3), 85-96. [10.22077/jdcr.2024.8513.1091](https://doi.org/10.22077/jdcr.2024.8513.1091)



in high salinity and drought conditions. As per the findings, the growth of isolates at salinity levels of 0, 10, 20, and 40 dS/m ranged from 0.603 to 1.524, 0.501 to 1.343, 0.417 to 1.234, and 0.184 to 1.038, respectively. The highest growth at salinity levels of 0, 10, 20, and 40 dS/m was observed in isolates S2, B3, B3, and B8, respectively, while the lowest growth was noted in isolates P6, P6, P2, and S1 at these salinity levels. The average growth (light absorption) of bacteria isolated from the rhizosphere of saffron, pistachio, and barberry plants at -5 bar water potential was 0.779, 0.850, and 1.059, respectively, and at -10 bar water potential was 0.756, 0.563, and 0.483, respectively. The highest growth of isolates at -5 and -10 bar water potential levels was attributed to isolate B7, whereas the lowest growth was associated with isolates P2 and S10 at these water potential levels. The highest phosphorus release in the liquid medium was recorded at 629 $\mu\text{g/mL}$, attributed to isolate S4. The solubility of phosphorus by the isolates ranged from 237 to 629 $\mu\text{g/ml}$. The average solubility of tricalcium phosphate in bacteria isolated from the rhizosphere of saffron, pistachio, and barberry plants was 484, 472, and 393 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The production of indole acetic acid by the isolates varied from 18.83 to 3.23 $\mu\text{g/ml}$, with the highest production observed in isolate S6 (18.83 $\mu\text{g/ml}$).

Conclusion

The decrease in rainfall in Iran's agricultural regions, the increase in salinity and drought stresses in these areas, and the low efficiency and negative effects of chemical fertilizers on human health and the environment have made the use of beneficial microorganisms that are resistant to environmental stresses more necessary than ever. The results of this study showed that most of the isolates studied were able to tolerate different levels of salinity and drought in laboratory conditions up to a salinity of 40 dS/m and drought stress of -20 bar. On the other hand, most of the bacterial isolates isolated from the rhizosphere of saffron, pistachio, and barberry plants had the ability to dissolve tricalcium phosphate in solid and liquid media, reduce the pH of the environment, and also produce indole acetic acid as a plant growth-stimulating hormone. Therefore, these isolates can be tested for the preparation of microbial inoculants to induce plant resistance and promote growth under stressful conditions.



جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری و خشکی از ریزوسفر گیاهان و ارزیابی برخی خصوصیات

محرک رشدی آن‌ها

فرهاد آذر می آتاجان^{1b}

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

*نویسنده مسئول: farhadazarmi@yahoo.com & farhadazarmi@birjand.ac.ir

واژه‌های کلیدی:

ایندول استیک اسید، تری کلسیم فسفات، تنش‌های محیطی، ریزجانداران محرک رشد گیاه، کلرید سدیم.

چکیده

تنش‌های محیطی مانند شوری خاک و خشکی و همچنین حاصلخیزی ضعیف خاک نقش مهمی در کاهش تولید محصولات کشاورزی دارد. بهره‌گیری از ریزجانداران مفید خاکزی که روابط متقابلی با ریشه گیاهان دارند برای مدیریت تولیدات کشاورزی حائز اهمیت است. هدف از این پژوهش ارزیابی تحمل باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان زعفران، پسته و زرشک به تنش‌های شوری و خشکی و همچنین قابلیت انحلال فسفر و تولید ایندول استیک در شرایط آزمایشگاهی بود. برای این منظور از ریزوسفر هر گیاه ۱۰ جدایه باکتری با خصوصیات ظاهری متفاوت کلونی انتخاب و از نظر رشد در محیط کشت با سطوح شوری (۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر) و خشکی (۰، ۵ و ۱۰- بار) مختلف و توان انحلال تری کلسیم فسفات و تولید ایندول استیک ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش شوری و غلظت پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت، رشد باکتری‌ها کاهش یافت. باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه زرشک توانایی بیشتری نسبت به دیگر جدایه‌ها برای رشد در سطوح شوری و خشکی بالا نشان دادند. بیشترین مقدار فسفر آزاد شده در محیط مایع برابر با ۶۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که به جدایه S₄ تعلق داشت. حلالیت فسفر توسط جدایه‌ها در دامنه ۶۲۹-۲۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. متوسط انحلال تری کلسیم فسفات در باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان زعفران، پسته و زرشک به ترتیب برابر ۴۸۴، ۴۷۲ و ۳۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. تولید ایندول استیک توسط جدایه‌ها در دامنه ۱۸/۸۳-۳/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. بیشترین مقدار تولید ایندول استیک اسید مربوط به جدایه S₆ (۱۸/۸۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. بنابراین می‌توان از این جدایه‌ها برای آزمون آن‌ها برای تهیه مایه تلقیح‌های میکروبی برای القای مقاومت به گیاه و تأمین عناصر غذایی و بهبود رشد آن‌ها در شرایط تنش استفاده کرد.

تاریخ دریافت:

۱۴۰۳/۰۹/۱۳

تاریخ ویرایش:

۱۴۰۳/۰۹/۲۳

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۳/۰۹/۲۴

مقدمه

از اساسی‌ترین مشکلات خاک‌های کشاورزی، تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده می‌باشد که در این بین نقش تنش‌های شوری و خشکی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک در کاهش کیفیت خاک و عملکرد گیاهان بیشتر است. اثر تنش خشکی بر کارایی تولید محصولات کشاورزی، مشکل جهانی بوده و نیازمند توجه جدی برای جلوگیری از کاهش تولید غذا می‌باشد (Adeleke and Babalola, 2022). به هر حال، عوامل متعددی مانند تغییرات اقلیمی و تنش‌های محیطی دستیابی به تولید غذای کافی برای جمعیت روبه‌رشد جهان را محدود می‌سازد. خشک‌سالی به دلیل استمرار کمبود آب مورد نیاز برای استفاده گیاهان ایجاد می‌گردد. تنش خشکی بر فرآیندهای مختلف بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه تأثیر منفی گذاشته و باعث کاهش عملکرد گیاه، تغییر شکل و ساختار ریشه، سرعت فتوسنتز و در نهایت جذب عناصر غذایی می‌شود. تنش شوری پیامدهای منفی برای رشد و تولید بسیاری از محصولات کشاورزی دارد. شور شدن خاک یک مسئله حیاتی است که به‌طور قابل توجهی بر ساختار، فرآیندها و عملکرد اکوسیستم‌های جهانی تأثیر می‌گذارد (del Carmen Orozco-Mosqueda et al., 2020). افزایش مقدار نمک خاک بر کیفیت فیزیکی و شیمیایی و همچنین فرآیندهای میکروبیولوژیکی تأثیر منفی دارد. تجمع بیش از حد این یون‌هایی نظیر سدیم با افزایش جذب Na^+ و کاهش نسبت Na^+/K^+ باعث استرس اسمزی و سمیت می‌شود. این مسائل را می‌توان به پتانسیل اسمزی پایین در ریشه گیاه نسبت داد که تقریباً بر تمام جنبه‌های رشد گیاه از جمله جوانه‌زنی، رشد رویشی و تولید مثل تأثیر می‌گذارد. شوری ویژگی‌های مختلف مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را تغییر می‌دهد (Angon et al., 2023). شوری آب و خاک از عوامل اصلی محدودکننده تولید گیاهان کشاورزی بوده و براساس پیش‌بینی‌ها، حدود ۵۰ درصد زمین‌های کشاورزی تا سال ۲۰۵۰ با درجات مختلف شوری مواجه خواهند شد. بنابراین، علاوه‌بر استفاده از روش‌های مختلف بهره‌برداری از

زمین‌های شور و مدیریت آن‌ها برای تولید پایدار و اقتصادی، به‌کارگیری روش‌های نوین از جمله استفاده از ریزجانداران مفید خاکزی که روابط متقابلی با ریشه گیاهان دارند برای مدیریت تولیدات کشاورزی حائز اهمیت است (Sarcheshmepour et al., 2010; Azarmi et al., 2015).

لایه نازک خاکی که بلافاصله ریشه گیاه را احاطه کرده است، منطقه بسیار مهمی برای فعالیت و متابولیسم ریشه است و به ریزوسفر معروف است. این منطقه جایگاه فعالیت تعدادی از ریزجانداران مختلف است که در بین آن‌ها تعداد باکتری‌ها با اختلاف زیادی از بقیه بیشتر است. گیاهان آن دسته از باکتری‌ها را انتخاب می‌کنند که با انتشار ترکیبات آلی خاص از طریق ترشحات ریشه برای رشد آن‌ها مفید هستند (Chandra et al., 2018). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) گروهی از باکتری‌های ریزوسفری هستند که با سازوکارهای مختلفی رشد گیاه را افزایش می‌دهند. برخی از سازوکارهای مورد استفاده توسط PGPRها عبارتند از: انحلال ترکیبات کم محلول و نامحلول عناصر غذایی و در نتیجه افزایش فراهمی آن‌ها، تثبیت نیتروژن، کنترل بیمارگرهای گیاهی با تولید سیانید هیدروژن، ترکیبات ضد میکروبی و رقابت برای جذب عناصر غذایی، تولید سیدروفور، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و سمیت عناصر و تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید. این باکتری‌ها نه‌تنها به‌طور مستقیم رشد گیاه را افزایش می‌دهند، بلکه گیاهان را در برابر تنش شوری، خشکی، قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا، ریزش گل‌ها و آلاینده‌های آلی و فلزات سنگین محافظت می‌کنند. به‌علاوه برخی PGPRها دارای آنزیم ACC دآمیناز هستند که با هیدرولیز کردن ACC، مقدار اتیلن را در گیاه کاهش می‌دهند. با کاهش مقدار اتیلن در گیاه، سرعت جوانه‌زنی دانه و رشد گیاه افزایش می‌یابد (Glick, 2014).

ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، که به‌عنوان یک فیتوهورمون بنیادی در گروه اکسین‌ها طبقه‌بندی می‌شود، نه‌تنها بر رشد و نمو گیاه مؤثر است بلکه نقش مهمی در برهمکنش‌ها و ارتباطات گیاه-

هورمون در آن باکتری‌ها از ۰/۷۴ تا ۱۶/۶۴ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. این جدایه‌ها توان انحلال تری کلسیم فسفات در محیط کشت جامد و مایع را دارا بودند (Azarmi et al., 2015).

با توجه به‌قرار گرفتن بخش وسیعی از کشور ایران - به‌ویژه استان‌های واقع در شرق و مرکز - در منطقه خشک و نیمه‌خشک که مقدار بارش‌ها در این مناطق کمتر از ۱۵۰ میلی‌متر در سال است، شرایط سختی بر کشاورزی در این مناطق حاکم است (Doostan, 2020). در این مناطق عواملی مانند آب و هوای گرم و خشک، خاک‌های آهکی با pH بالا، حاصلخیزی ضعیف و مواد آلی کم خاک، دور طولانی آبیاری و شوری آب و خاک تأثیر منفی بر رشد و عملکرد محصولات کشاورزی گذاشته است. از طرفی، مصرف کودهای شیمیایی برای افزایش عملکرد گیاهان در این مناطق کارایی مناسبی نداشته و مصرف بیش از حد آن‌ها تهدیدات متعدد زیست محیطی و سلامت انسان را در پی داشته است. بنابراین هدف از پژوهش جداسازی باکتری‌های محرک‌های مقاوم به تنش‌های شوری و خشکی از ریزوسفر برخی گیاهان خراسان جنوبی و ارزیابی خصوصیات محرک رشد گیاه آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور جداسازی باکتری‌های محرک رشد گیاه، نمونه خاک از ریزوسفر گیاهان پسته، زرشک و زعفران مناطق مختلف استان خراسان جنوبی جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشکده کشاورزی منتقل گردید. نمونه‌های خاک تا زمان آزمایش در دمای حدود ۶ درجه نگهداری شدند. برای جداسازی، ۱۰ گرم خاک ریزوسفری همراه با ریشه گیاه از هر نمونه به درون ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول بافر استریل منتقل و تکان داده شدند. پس از آن، سری‌های رقت ده‌دهی از هر ارلن تهیه شده و عملیات کشت بر روی محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) انجام گردید. پلیت‌ها به مدت ۴ روز درون انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شده و سپس جدایه‌های باکتریایی که از نظر شکل و ظاهر کلونی‌ها با هم متفاوت بودند برای خالص‌سازی و بررسی‌های

میکروب نیز ایفا می‌کند. این هورمون نقش مهمی در تعدادی از فعالیت‌های گیاهی مانند تشکیل برگ، رشد جنین، رشد و نمو ریشه، خزان و ریزش برگ‌ها، نور گرایی، زمین گرایی و رشد میوه دارد. همچنین، IAA با افزایش طول ریشه از طریق افزایش تعداد شاخه‌های ریشه، ریشه‌های مویین و جانبی ریشه به جذب مواد مغذی از اطراف کمک می‌کند. از سوی دیگر، باکتری‌های مفید از IAA برای تحریک و بهبود رشد گیاه و کاهش تنش‌های غیر زیستی استفاده کرده و در نتیجه کارایی مصرف عناصر غذایی را افزایش و وابستگی به کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهند (Etesami and Glick, 2024). هورمون IAA تولید شده توسط باکتری‌ها با متعادل کردن توزیع اکسین در گیاه، فرآیندهای رشد و نمو گیاه از جمله رشد ریشه را تنظیم می‌کنند. از طرفی، با توجه به محدود بودن مسیرهای تولید IAA در گیاهان، باکتری‌ها با ایجاد تنوع در مسیرهای ساخت این هورمون، به پایداری تولید آن در جهت رشد گیاه کمک می‌کنند (Spaep- en and Vanderleyden, 2011). باکتری‌های حل‌کننده فسفات که به‌وفور در ریزوسفر یافت می‌شوند با ترشح اسیدهای آلی، پروتون و فسفات‌ها می‌توانند ترکیبات کم محلول و نامحلول فسفاتی را به‌فرم قابل استفاده برای گیاه درآورند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات، pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی کاهش می‌دهند و از این طریق سبب دسترسی بیشتر به عناصری از قبیل فسفر می‌شوند. با توجه به تثبیت بخش اعظم فسفر در خاک و غیرقابل استفاده شدن آن برای گیاه، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند به فراهمی و تغذیه فسفر گیاه کمک کند (Azarmi et al., 2015). در مطالعه‌ای باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه گوجه فرنگی از نظر توان تولید IAA ارزیابی شدند که بیشترین مقدار تولید این هورمون توسط باکتری‌ها برابر ۸۹/۲۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (Rushabh et al., 2020). همچنین گزارش شده است که بیش از ۹۶ درصد باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت جدا شده از ریزوسفر درختان پسته توانایی تولید IAA را در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آل - تریپتوفان داشتند که دامنه تولید این

استفاده گردید. مقدار کلرید سدیم استفاده شده برای سطوح شوری ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۷۰، ۶۰ و ۵۰ درصد نمک‌های مصرفی را تشکیل داده و در همه سطوح مقدار مصرف کلسیم دو برابر منیزیم بود. ترکیب نمک‌های فوق در آب مقطر حل شده و قابلیت هدایت الکتریکی آب به سطوح مورد نظر رسانده شد. پس از تلقیح جدایه‌ها به محیط کشت‌های تهیه شده با شوری‌های مختلف، ارلن‌ها به مدت ۷۲ ساعت شیکر شده و در نهایت شدت جذب نور آن‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Sarcheshmepour et al., 2010).

برای ارزیابی توان تولید ایندول استیک اسید، کشت تازه هر جدایه به محیط کشت مایع NB منتقل و به مدت ۴۸ ساعت تکان داده شد. سپس از سوسپانسیون هر جدایه به ارلن‌های حاوی محیط کشت NB دارای ال-تریپتوفان با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منتقل و به مدت ۴۸ ساعت با شدت ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از آن سوسپانسیون باکتری سانتیفریژ و محلول رویی با معرف سالکوفسکی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شده و در نهایت مقدار جذب نور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu BioSpec-1601, Ja-) اندازه‌گیری و با نمودار استاندارد آماده شده با ایندول استیک اسید مقایسه شدند (Bent et al., 2001). در نهایت، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر شوری محیط کشت بر رشد جدایه‌ها (جذب نور) معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش شوری محیط کشت، رشد باکتری‌ها کاهش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده، رشد جدایه‌ها در سطوح شوری صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب در دامنه ۰/۶۰۳-۱/۵۲۴، ۰/۵۰۱-۱/۳۴۳، ۰/۴۱۷-۱/۲۳۴ و ۰/۱۸۴-۱/۰۳۸ متغیر بود. بیشترین رشد در سطوح شوری صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب به جدایه‌های S_2

بعدی انتخاب شدند. پس از اطمینان از خالص شدن جدایه‌ها، از هر گیاه ۱۰ جدایه با تنوع مورفولوژیکی بالا انتخاب و از نظر خصوصیات محرک رشد گیاه شامل انحلال تری کلسیم فسفات در محیط کشت جامد و مایع، کاهش pH محیط کشت و توان تولید ایندول استیک اسید ارزیابی شدند. ارزیابی خصوصیات محرک رشدی جدایه‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد.

برای اندازه‌گیری توان انحلال تری کلسیم فسفات (به‌عنوان منبع نامحلول فسفر)، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت برات^۱ (NB) کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حلالیت فسفر، ۱۵ میکرولیتر تعلیق تازه باکتری با روش لکه‌گذاری و با سه تکرار روی پلیت‌های حاوی محیط جامد PKV که حاوی ۵ گرم در لیتر نمک نامحلول تری کلسیم فسفات بود، کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری و هاله شفاف اطراف کلونی به‌عنوان شاخص حلالیت تری کلسیم فسفات در نظر گرفته شد. نسبت قطر هاله بر قطر کلونی پس از گذشت ۵ روز اندازه‌گیری شد. در محیط کشت مایع حاوی تری کلسیم فسفات نیز پس از اضافه کردن جدایه‌های باکتری، ارلن‌ها به مدت ۵ روز تکان داده شده و پس از سانتیفریژ کردن آن‌ها، مقدار فسفر در محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین گردید (Rashid et al., 2004).

برای اندازه‌گیری توان تحمل به خشکی جدایه‌ها، به محیط کشت NB به ترتیب غلظت‌های ۰، ۲۰۳/۴ و ۲۹۸/۶ گرم پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG) به‌ازای یک کیلوگرم محیط کشت NB براساس معادله Mi- (chel and Kaufman (1973) اضافه گردید، به طوری که پتانسیل آبی ۰، ۵- و ۱۰- بار ایجاد شد. ارلن‌های حاوی باکتری‌ها و PEG به مدت ۷۲ ساعت شیکر شده و پس از آن شدت جذب نور در آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی تحمل جدایه‌ها به تنش شوری نیز از محیط کشت NB با شوری‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر (ds/m) که با استفاده از کلریدهای سدیم، کلسیم و منیزیم تهیه شده بود،

1. Nutrient Broth

دانه و رشد گیاه افزایش می‌یابد (Glick, 2014). توانایی باکتری‌ها در تحمل شرایط کم آبی و تنش خشکی شرط اولیه و لازم برای استفاده از این ریزجانداران برای بهبود رشد گیاهان است. کاهش جمعیت میکروبی و در نتیجه کاهش تولید ترکیبات محرک رشد گیاه کارایی ریزجانداران برای بهبود رشد گیاه و افزایش تحمل گیاهان به تنش را کاهش می‌دهد. نتایج مشابهی توسط دیگر پژوهشگران که گزارش کردند با کاهش پتانسیل آب رشد جدایه‌ها کاهش یافت نیز بیان شده است. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که با کاهش پتانسیل آب به ۳۰- بار، بیش از ۷۰ درصد جدایه‌ها قابلیت رشد داشتند (Sarcheshmepour et al., 2010).

براساس نتایج تجزیه واریانس، توانایی جدایه‌ها در انحلال فسفر (تری کلسیم فسفات) در محیط جامد و مایع و همچنین تغییرات pH محیط مایع معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$). نتایج نشان داد که نسبت قطر هاله به کلونی به‌عنوان شاخص حلالیت فسفر در محیط جامد برای جدایه‌های مورد مطالعه متفاوت بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین نسبت قطر هاله به کلونی مربوط به جدایه S_6 (۲/۰۶) بود که با بیش از ۵۶ درصد جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین کمترین مقدار این نسبت به جدایه S_3 (۱/۱۸) مربوط بود که با ۹۰ درصد جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. از طرفی، بررسی نتایج مربوط به انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع توسط جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که همه جدایه‌ها قابلیت انحلال فسفر را دارا بودند. براساس نتایج، بیشترین مقدار فسفر آزاد شده در محیط مایع برابر با ۶۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که به جدایه S_4 تعلق داشت. این جدایه اختلاف معنی‌داری با بیش از ۸۳ درصد جدایه‌ها از نظر مقدار انحلال فسفر داشت. حلالیت فسفر توسط جدایه‌ها در دامنه ۲۳۷-۶۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. متوسط انحلال تری کلسیم فسفات در باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان زعفران، پسته و زرشک به ترتیب برابر ۴۸۴، ۴۷۲ و ۳۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تلقیح با جدایه‌ها

کمترین رشد در سطوح شوری B_3 ، B_8 و B_3 مربوط بود. کمترین رشد در سطوح شوری فوق نیز به ترتیب به جدایه‌های P_6 ، P_6 ، P_2 و S_1 تعلق داشت. به‌طور کلی باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه زرشک توانایی بیشتری نسبت به دیگر جدایه‌ها برای رشد در سطوح شوری بالا نشان دادند (جدول ۱). افزایش مقدار نمک خاک بر کیفیت فیزیکی و شیمیایی و همچنین فرآیندهای میکرو بیولوژیکی تأثیر منفی دارد. در خاک‌های شور تجمع یون‌های مختلف از جمله Na^+ و Cl^- موجب کاهش نسبت Na^+/K^+ و تنش اسمزی می‌شود. در پتانسیل اسمزی پایین ریشه گیاه توانایی جذب آب و عناصر غذایی را به‌اندازه کافی نداشته و گیاه دچار آسیب می‌شود. شوری ویژگی‌های مختلف مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاه را تغییر می‌دهد (Angon et al., 2023). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که باکتری‌های جدا شده از خاک‌های شور و یا نسبتاً شور توان تحمل زیادی به سطوح نمک در شرایط آزمایشگاهی داشتند (Sarcheshmepour et al., 2010; Azarmi et al., 2015).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر خشکی محیط بر رشد جدایه‌ها معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد. براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، افزایش تنش خشکی (سطح PEG) موجب کاهش رشد باکتری‌ها گردید. متوسط رشد (جذب نور) باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان زعفران، پسته و زرشک در پتانسیل آب ۵- بار به ترتیب برابر ۰/۷۷۹، ۰/۸۵۰ و ۱/۰۵۹ و در سطح پتانسیل آب ۱۰- بار به ترتیب برابر ۰/۴۸۳، ۰/۵۶۳ و ۰/۷۵۶ بود. بیشترین رشد جدایه‌ها در سطوح پتانسیل آب ۵- و ۱۰- بار به جدایه B_7 متعلق بود. همچنین کمترین رشد در سطوح پتانسیل آب فوق نیز به ترتیب به جدایه‌های P_2 و S_{10} مربوط بود. باکتری‌ها علاوه بر افزایش فراهمی عناصر غذایی در خاک و در نتیجه بهبود رشد گیاه، گیاهان را در برابر تنش شوری، خشکی، قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا، ریزش گل‌ها و آلاینده‌های آلی و فلزات سنگین محافظت می‌کنند. برخی PGPRها دارای آنزیم ACC دآمیناز (آنزیم ضد تنش) هستند که با هیدرولیز کردن ACC، مقدار اتیلن را در گیاه کاهش می‌دهند. با کاهش مقدار اتیلن در گیاه، سرعت جوانه‌زنی

جدول ۱. رشد جدایه‌ها (مقدار جذب نور) در محیط کشت با پتانسیل و شوری‌های مختلف

Table 1. The growth of isolates in medium with different potential and salinity

پتانسیل آب (بار)			شوری (دسی‌زیمنس بر متر)				جدایه
Water potential (bar)			Salinity (dS/m)				Isolate
-10	-5	0	40	20	10	0	
زعفران Saffron							
0.668 ^{cd}	0.911 ^e	1.239 ^e	0.184 ^{kl}	0.701 ^{hij}	0.995 ^{ef}	1.239 ^e	S ₁
0.524 ^{fg}	1.022 ^{cd}	1.524 ^a	0.336 ^{dij}	1.002 ^{cde}	1.241 ^{abc}	1.524 ^a	S ₂
0.502 ^g	0.681 ^{hi}	1.388 ^c	0.404 ^{hi}	0.910 ^{de}	1.158 ^{bcd}	1.388 ^c	S ₃
0.684 ^{cd}	0.832 ^{efg}	1.446 ^b	0.458 ^{gh}	1.011 ^{cde}	1.185 ^{bc}	1.446 ^b	S ₄
0.337 ^{ij}	0.521 ^{ij}	1.197 ^{efg}	0.525 ^{fg}	0.832 ^{fg}	1.012 ^{def}	1.197 ^{efg}	S ₅
0.557 ^{fg}	0.845 ^{ef}	1.072 ^{hi}	0.209 ^k	0.722 ^{ghi}	0.918 ^{fg}	1.072 ^{hi}	S ₆
0.452 ^{hi}	0.901 ^e	1.498 ^{ab}	0.328 ^{ij}	1.074 ^{cd}	1.283 ^{ab}	1.498 ^{ab}	S ₇
0.326 ^{ij}	0.672 ^{hi}	1.319 ^d	0.359 ^{hij}	0.711 ^{hij}	1.177 ^{bc}	1.319 ^d	S ₈
0.482 ^{gh}	0.718 ^{gh}	1.372 ^{cd}	0.501 ^{gh}	0.993 ^{cde}	1.279 ^{ab}	1.372 ^{cd}	S ₉
0.301 ^j	0.686 ^{hi}	1.429 ^{bc}	0.402 ^{hi}	0.730 ^{ghi}	1.064 ^{de}	1.429 ^{bc}	S ₁₀
پسته Pistachio							
0.501 ^g	0.814 ^{efg}	0.717 ^{lmn}	0.393 ^{hij}	0.568 ^{lm}	0.677 ^{kl}	0.717 ^{lmn}	P ₁
0.314 ^j	0.512 ^j	0.621 ^{mn}	0.186 ^{kl}	0.417 ^o	0.516 ^{no}	0.621 ^{mn}	P ₂
0.480 ^{gh}	0.722 ^{gh}	0.811 ^l	0.435 ^{hi}	0.703 ^{hij}	0.791 ^{hij}	0.811 ^l	P ₃
0.421 ^{hi}	0.619 ⁱ	0.748 ^{lm}	0.371 ^{hij}	0.584 ^l	0.632 ^{lm}	0.748 ^{lm}	P ₄
0.853 ^b	1.041 ^{cd}	1.119 ^{gh}	0.389 ^{hij}	0.712 ^{hij}	0.910 ^{fg}	1.119 ^{gh}	P ₅
0.891 ^{ab}	0.942 ^{cde}	0.603 ⁿ	0.215 ^k	0.443 ^{no}	0.501 ^{no}	0.603 ⁿ	P ₆
0.325 ^{ij}	0.671 ^{hi}	1.038 ^{hi}	0.514 ^g	0.814 ^{fgh}	0.923 ^{fg}	1.038 ^{hi}	P ₇
0.617 ^{def}	1.012 ^d	1.026 ^{hij}	0.402 ^{hi}	0.696 ^{hijk}	0.882 ^{fgh}	1.026 ^{hij}	P ₈
0.515 ^{fg}	1.151 ^b	0.739 ^{lm}	0.219 ^k	0.519 ^{mn}	0.592 ^{lmn}	0.739 ^{lm}	P ₉
0.714 ^{cd}	1.020 ^{cd}	0.916 ^k	0.546 ^{fg}	0.770 ^{gh}	0.835 ^{ghi}	0.916 ^k	P ₁₀
زرشک Barberry							
0.800 ^{bc}	1.065 ^{cd}	1.415 ^{bc}	1.004 ^{ab}	1.201 ^{ab}	1.269 ^{ab}	1.415 ^{bc}	B ₁
0.745 ^c	1.169 ^b	1.163 ^{fgh}	0.628 ^{ef}	0.896 ^{ef}	1.054 ^{de}	1.163 ^{fgh}	B ₂
0.573 ^f	0.834 ^{efg}	1.389 ^c	0.956 ^b	1.234 ^a	1.343 ^a	1.389 ^c	B ₃
0.602 ^{ef}	0.804 ^{fg}	1.219 ^{ef}	0.705 ^d	0.928 ^{de}	1.115 ^{ef}	1.219 ^{ef}	B ₄
0.892 ^{ab}	1.203 ^{ab}	1.437 ^{bc}	0.876 ^{bc}	1.063 ^{cd}	1.258 ^{ab}	1.437 ^{bc}	B ₅
0.711 ^{cd}	0.942 ^{cde}	1.046 ^{hi}	0.427 ^{hi}	0.703 ^{hij}	0.911 ^{fg}	1.046 ^{hi}	B ₆
0.955 ^a	1.285 ^a	1.383 ^c	0.986 ^{ab}	1.125 ^{bcd}	1.205 ^{bc}	1.383 ^c	B ₇
0.856 ^{ab}	1.117 ^{bc}	1.373 ^{cd}	1.038 ^a	1.216 ^a	1.339 ^a	1.373 ^{cd}	B ₈
0.706 ^{cd}	1.001 ^d	1.197 ^{efg}	0.649 ^e	0.874 ^{efg}	1.020 ^{def}	1.197 ^{efg}	B ₉
0.721 ^{cd}	1.172 ^b	1.426 ^{bc}	0.837 ^c	1.088 ^{cd}	1.271 ^{ab}	1.426 ^{bc}	B ₁₀

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری (آزمون LSD) در سطح ۵ درصد ندارند.

In each column, averages with the same one letter are not significantly different (LSD test) at a 5% probability level.

افزایش نشان داد (شکل ۱).

باکتری‌های حل‌کننده فسفات که به‌وفور در ریزوسفر یافت می‌شوند با ترشح اسیدهای آلی، پروتون و فسفات‌ها می‌توانند ترکیبات کم محلول و نامحلول فسفاتی را به‌فرم قابل استفاده برای گیاه درآورند.

موجب کاهش pH محیط کشت مایع نسبت به شاهد بدون تلقیح گردید. در بین جدایه‌ها، بیشترین توانایی کاهش pH محیط کشت مربوط به جدایه P₉ بود که این شاخص را از ۶/۴۳ (شاهد) به ۳/۱۹ کاهش داد. با کاهش pH محیط مقدار انحلال تری کلسیم فسفات

(جدول ۲). ایندول-۳-استیک اسید (IAA) نقش مهمی در برهمکنش‌ها و ارتباطات گیاه-میکروب نیز ایفا می‌کند. این هورمون در تعدادی از فعالیت‌های گیاهی مانند تشکیل برگ، رشد جنین، رشد و نمو ریشه، خزان و ریزش برگ‌ها، نور گرایی، زمین‌گرایی و رشد میوه نقش دارد. همچنین، IAA با افزایش طول ریشه از طریق افزایش تعداد شاخه‌های ریشه، ریشه‌های موپین و جانبی ریشه به جذب مواد مغذی از اطراف کمک می‌کند. از سوی دیگر، باکتری‌های مفید از IAA برای تحریک و بهبود رشد گیاه و کاهش تنش‌های غیر زیستی استفاده کرده و در نتیجه کارایی مصرف عناصر غذایی را افزایش و وابستگی به کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهند (Etesami and Glick, 2024). همچنین در مطالعه‌ای، بیش از ۹۶ درصد باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت جدا شده از ریزوسفر درختان پسته توانایی تولید IAA را در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان داشتند که دامنه تولید این هورمون در آن باکتری‌ها از ۰/۷۴ تا ۱۶/۶۴ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود (Azarmi et al., 2015).

نتیجه‌گیری

کاهش بارندگی‌ها در مناطق کشاورزی کشور و افزایش تنش‌های شوری و خشکی در این مناطق از یک طرف و کارایی پایین و اثرات منفی کودهای شیمیایی بر سلامت انسان و محیط زیست از طرف دیگر، استفاده از ریزجانداران مفید و مقاوم به تنش‌های زیست محیطی را بیش از پیش ضروری ساخته است. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشتر جدایه‌های مورد بررسی توان تحمل به سطوح مختلف شوری و خشکی در شرایط آزمایشگاهی تا شوری ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر و تنش خشکی ۲۰- بار را داشتند. از طرفی اغلب جدایه‌های باکتری جدا شده از ریزوسفر گیاهان زعفران، پسته و زرشک توان انحلال تری‌کلسیم فسفات در محیط جامد و مایع، کاهش pH محیط و همچنین توانایی تولید ایندول استیک اسید به‌عنوان یک هورمون محرک رشد گیاه را دارا بودند. بنابراین می‌توان از این جدایه‌ها برای آزمون آن‌ها برای تهیه مایه تلقیح‌های میکروبی برای القای مقاومت به گیاه و رشد آن‌ها در شرایط تنش استفاده کرد.

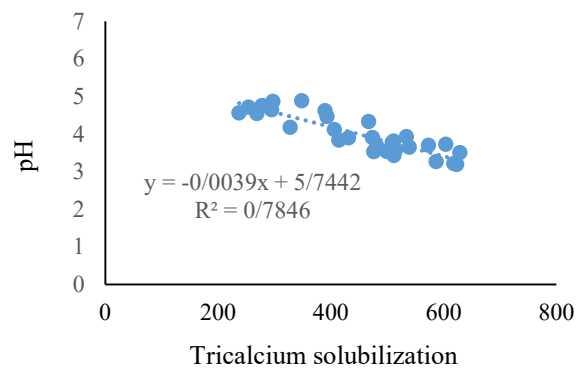
باکتری‌های حل‌کننده فسفات، pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی کاهش می‌دهند و از این طریق سبب دسترسی بیشتر به عناصری از قبیل فسفر می‌شوند. با توجه به تثبیت بخش اعظم فسفر در خاک و غیرقابل استفاده شدن آن برای گیاه، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند به فراهمی و تغذیه فسفر گیاه کمک کند (Azarmi et al., 2015). نوری و سعود (Noori and Saud, 2012) گزارش کردند که تمامی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنس مورد مطالعه قادر به انحلال تری‌کلسیم‌فسفات در محیط جامد بودند. همچنین نتایج مقایسه‌ای و همکاران (Magha-mi et al., 2013) نشان داد که جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت جدا شده از ریزوسفر سویا توانایی انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول را دارا بودند.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که توان تولید ایندول استیک اسید توسط جدایه‌ها معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، تمامی جدایه‌ها توانایی تولید ایندول استیک اسید در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ال-تریپتوفان را داشتند (جدول ۲). تریپتوفان یک اسید آمینه است که توسط گیاهان تولید می‌شود و توسط باکتری‌های ریزوسفری به‌عنوان پیش‌سازهای فیزیولوژیکی اصلی در تولید IAA استفاده می‌شود. غلظت تریپتوفان مورد نیاز باکتری‌ها بسته به توانایی باکتری در سنتز تریپتوفان متفاوت است (Wagi and Ahmed, 2019). گزارش شده است که افزودن ال-تریپتوفان به محیط کشت NB حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس موجب افزایش تولید IAA توسط آن‌ها شد (Ahmed et al., 2005). تولید ایندول استیک اسید توسط جدایه‌ها در دامنه ۱۸/۸۳-۳/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. بیشترین مقدار تولید ایندول استیک اسید مربوط به جدایه S_6 (۱۸/۸۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود که اختلاف معنی‌داری با دیگر جدایه‌ها داشت. کمترین مقدار تولید این ترکیب نیز به جدایه P_4 مربوط بود. باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه پسته با متوسط ۸/۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر توانایی بیشتری نسبت به باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر زرشک و زعفران در تولید ایندول استیک اسید داشتند

جدول ۲. قابلیت انحلال فسفر و تولید ایندول استیک اسید توسط جدایه‌ها
Table 2. The ability of solubilization of P and production of IAA by isolates

تولید ایندول استیک اسید IAA ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	انحلال فسفر P solubilization			جدایه Isolate
	محیط pH	محیط مایع Liquid medium ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	قطر هاله به کلونی Halo/Colony diameter	
	Medium pH			
زعفران Saffron				
13.22bc	3.43ij	512de	1.78bcd	S ₁
6.11klm	3.22jkl	618ab	2.02a	S ₂
7.16jk	3.90efg	431g	1.18j	S ₃
8.93ghi	3.51ij	629a	1.96ab	S ₄
7.46ij	3.81gh	511de	1.86abc	S ₅
3.87nop	3.93efg	534d	2.06a	S ₆
4.61lmno	4.12ef	406ghi	1.44efg	S ₇
4.28mnop	4.47cde	393hi	1.76bcd	S ₈
3.79nop	4.55cd	269kl	1.23ij	S ₉
18.83a	3.65hi	539cd	1.66cd	S ₁₀
پسته Pistachio				
12.34cd	3.84hg	414gh	1.55de	P ₁
10.16efgh	3.59hi	515de	1.97ab	P ₂
14.27b	4.33de	467efg	1.19j	P ₃
3.23pq	4.89b	348ij	1.62cde	P ₄
4.89lmn	3.27jk	587abc	1.75bcd	P ₅
11.06def	4.62bc	390hi	1.77bcd	P ₆
12.20cd	4.87b	297jk	1.54de	P ₇
4.55lmno	3.73gh	604ab	1.89abc	P ₈
3.75nopq	3.19kl	623a	2.01a	P ₉
9.94efgh	3.53hij	476ef	1.92abc	P ₁₀
زرشک Barberry				
3.85nop	4.18ef	328j	1.69cd	B ₁
14.72b	3.69gh	481ef	1.88abc	B ₂
11.83cde	3.54hij	499e	2.05a	B ₃
3.80nop	4.72b	254klm	1.81abcd	B ₄
10.35efg	4.65bc	295jk	1.32h	B ₅
9.54fgh	4.56cd	237lm	1.49ef	B ₆
3.69nopq	3.70gh	573bc	1.91abc	B ₇
10.48efg	4.76b	278k	1.29hi	B ₈
8.33hij	3.78gh	509de	1.74bcd	B ₉
7.17jk	3.91efg	474ef	1.89abc	B ₁₀
-	6.43a	-	-	Control

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری (آزمون LSD) در سطح ۵ درصد ندارند.
 In each column, averages with the same one letter are not significantly different (LSD test) at a 5% probability level.



شکل ۱. تغییرات و هم‌بستگی مقدار انحلال تری کلسیم فسفات و pH محیط مایع

Figure 1. Variations and correlation of tri-calcium phosphate solubilization and liquid medium pH

rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 793-800. DOI: 10.1139/w01-080

Chandra, Sh., Askari, K., & Kumari, M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16 (2), 581-586. DOI:10.1016/j.jgeb.2018.09.001

del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Glick, B. R., & Santoyo, G. (2020). ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. *Microbiological Research*, 235, 126439. DOI:10.1016/j.micres.2020.126439

Doostan, R. (2020). An analysis of rainfall changes in Iran. *Journal of Climate Research*, 10, 13-25. [in Persian with English Summary].

Etesami, H., & Glick, B. R. (2024). Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. *Microbiological Research*, 281, 127602. DOI:10.1016/j.micres.2024.127602

Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 30-39. DOI:10.1016/j.micres.2013.09.009

Maghami, M., Olamaee, M., Rasuli Sadaghiani, M.H.

منابع

Adeleke, B.S. & Babalola, O.O. (2022). Meta-omics of endophytic microbes in agricultural biotechnology. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102332. DOI:10.1016/j.bcab.2022.102332

Ahmad, F., Ahmad, M., & Khan, S. (2005). Indole Acetic Acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29, 29-34.

Angon, P. B., Mondal, S., Akter, S., Sakil, M. A., & Jalil, M. A. (2023). Roles of CRISPR to mitigate drought and salinity stresses on plants. *Plant Stress*, 8, 100169. DOI:10.1016/j.stress.2023.100169

Azarmi, F., Mozaffari, V., Abbaszadeh Dahaji, P., & Hamidpour, M. (2015). Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from pistachio rhizosphere. *Journal of Soil Biology*, 2, 173-186. [in Persian with English Summary]. DOI:10.22092/SBJ.2015.100867

Bent, E., Tuzan, S., Chanway, C.P. & Enebak, S. (2001). Alteration in plant growth and root hormone levels of lodgepole pines inoculated with

- Spaepen, S. & Vanderleyden, J. (2011). Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(4), a001438. DOI:10.1101/cshperspect.a001438.
- Wagi, Sh., & Ahmed, A. (2019). Bacillus spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *Peer J*, 7:e7258 DOI:10.7717/peerj.7258. DOI: 10.7717/peerj.7258
- & Dordipour, E. (2013). Isolation and identification of Pseudomonas Fluorecens and evaluation of their plant growth promoting properties in soils Golestan province. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 3(2), 251-264. [in Persian with English Summary]. DOR: 20.1001.1.23221267.1392.3.2.14.3
- Michel, D.E. & Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiology*, 51, 914-916. DOI:10.1104/pp.51.5.914
- Noori, M.S.Sh. & Saud, H.M. (2012). Potential Plant Growth-Promoting Activity of Pseudomonas sp Isolated from Paddy Soil in Malaysia as Biocontrol Agent. *Plant Pathology & Microbiology*, 3, 1-4. DOI:10.4172/2157-7471.1000120
- Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S. & Latif, F. (2004). Organic acids production solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under *in vitro* conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 187-196. DOI:10.3923/PJBS.2004.187.196
- Rushabh, Sh., Kajal, Ch., Pritesh, P., Amaresan, N. & Krishnamurthy, R. (2020). Isolation, characterization, and optimization of indole acetic acid-producing Providencia species (7MM11) and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) seedlings. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28, 101732. DOI:10.1016/j.bcab.2020.101732
- Sarcheshmepour, M., Savaghebi, Gh., Saleh Rastin, N., Alikhani, H., & Pourbabaei, A. (2010). Isolation, screening, identification, and salinity and drought stress tolerance of selected plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) of pistachio trees. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 40, 178-190. [in Persian with English Summary]. DOR: 20.1001.1.2008479.1388.40.2.10.4