



Isolation and characterization of salt tolerant-plant growth promoting actinobacteria from the rhizosphere of crop plants

Pooria Pezeshknejad¹, Reza Ghorbani Nasrabadi^{*2}, Hassan Etesami³,
Farhad Khormali⁴

1. M.Sc. Student, Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: pooriapezeshknejad1375@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: rgnasr@yahoo.com
3. Associate Prof., Dept. of Soil Science, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: hassanetesami@ut.ac.ir
4. Professor, Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: khormali@yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.01.2024
Revised: 09.24.2024
Accepted: 10.08.2024

Keywords:
Actinobacterium,
Phosphate solubilization,
Salinity stress,
Siderophore,
Silicate solubilization

ABSTRACT

Background and Objectives: Over the past few decades, soil salinity has reduced global agricultural production by more than 50%. This problem is considered one of the main barriers to crop productivity in arid and semi-arid regions. Salinity stress affects plant growth by altering osmotic pressure and ionic toxicity, disrupting soil biodiversity. Halotolerant actinobacteria can mitigate abiotic stresses such as salinity and drought and improve soil physical, chemical, and biological properties, leading to higher agricultural crop yields. Plant growth-promoting actinobacteria also increase nutrient availability, improve plant growth, and control plant pathogens. Therefore, this research was conducted with the aim of isolating and screening halotolerant actinobacterial isolates from the rhizosphere of agricultural plants and evaluates their silicate solubilization ability and some other plant growth-promoting mechanisms.

Materials and Methods: Plant growth-promoting actinobacteria were isolated and screened from the rhizosphere of agricultural crops including corn, tomato, soybean, and sesame. To assess their salinity tolerance, all isolates were evaluated in culture medium with different salinity levels. Actinobacteria isolates with the ability to grow in medium containing 1M NaCl were selected. The plant growth-promoting properties of the isolates, including the ability to produce indole compounds, solubilize inorganic phosphate, solubilize inorganic silicate, produce siderophores, ammonia, and hydrolytic enzymes such as cellulase and protease, were measured.

Results: A total of 67 actinobacteria isolates were isolated from the rhizosphere of corn, tomato, soybean, and sesame crops. All isolates were able to grow in a culture medium containing 0.2 M sodium chloride. In a medium with 0.5 M sodium chloride, 80% of the isolates grew. Growth was observed in 32.8% of the isolates in a medium with 1 M sodium chloride, 23.9% in a medium with 1.5 M sodium chloride, and one isolate was able to grow in a medium containing 2 M sodium

chloride. All actinobacterial isolates were capable of producing indolic compounds, with isolate GP12 showing the highest production rate. Twenty isolates were able to dissolve inorganic phosphate, with isolate GP64 exhibiting the highest dissolution rate with 187.8 mg L⁻¹. Six isolates could dissolve inorganic silicate in a solid environment, and quantitative measurements indicated that isolate GP32 had the highest rate (122.79 mg L⁻¹) of inorganic silicate dissolution. Fourteen isolates were capable of producing siderophores, with isolate GP67 achieving the highest siderophore production in quantitative measurements. Isolates GP20, GP67, GP91 had qualitatively more ammonification ability than other isolates. Regarding the production of hydrolytic enzymes, 11 isolates were able to produce cellulase enzyme, and 3 isolates had the ability to produce protease enzyme.

Conclusion: In the current study, actinobacterial isolates demonstrated growth in high-salinity sodium chloride culture media and exhibited multiple plant growth-promoting characteristics. These isolates show promise as agents to improve plant growth and crop yield. Confirming their effectiveness and capabilities requires pot and field trials to evaluate their influence on plant development and nutrient absorption.

Cite this article: Pezeshknejad, Pooria, Ghorbani Nasrabadi, Reza, Etesami, Hassan, Khormali, Farhad. 2024. Isolation and characterization of salt tolerant-plant growth promoting actinobacteria from the rhizosphere of crop plants. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 14 (3), 121-142.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJSMS.2024.22590.2160

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources



جداسازی و بررسی ویژگی‌های اکتینوباکتری‌های محرک رشد گیاه متحمل به شوری از ریزوسفر گیاهان زراعی

پوریا پزشک‌نژاد^۱، رضا قربانی نصرآبادی^{۲*}، حسن اعتصامی^۳، فرهاد خرمالی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: pooriapezeshknejad1375@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: rignasr@yahoo.com
۳. دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: hassanetesami@ut.ac.ir
۴. استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: khormali@yahoo.com

چکیده	اطلاعات مقاله
<p>سابقه و هدف: در چند دهه گذشته، شوری خاک تولید محصولات کشاورزی جهان را بیش از ۵۰ درصد کاهش داده است. این مشکل به عنوان یکی از موانع اصلی برای بهره‌وری محصولات در مناطق خشک و نیمه‌خشک در نظر گرفته شده است. تنش شوری با تغییر در فشار اسمزی و سمیت یونی بر رشد گیاهان تأثیر گذاشته و تنوع زیستی خاک را مختل می‌کند. اکتینوباکتری‌های متحمل به شوری می‌توانند تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی را کاهش داده و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک را بهبود ببخشند. اکتینوباکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش دسترسی مواد مغذی، بهبود رشد و کنترل عوامل بیماری‌زا در گیاهان می‌شوند. این پژوهش باهدف جداسازی و غربالگری جدایه‌های اکتینوباکتری متحمل به شوری از ریزوسفر گیاهان زراعی و سنجش توان حل‌کنندگی سیلیکات و برخی دیگر از سازوکارهای محرک رشدی آن‌ها انجام شد.</p>	<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱</p> <p>تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۳</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۷</p>
<p>مواد و روش‌ها: اکتینوباکتری محرک رشد گیاه از ریزوسفر گیاهان زراعی ذرت، گوجه‌فرنگی، سویا، کنگد جداسازی و غربالگری شدند. به‌منظور بررسی میزان تحمل به شوری، تمام جدایه‌ها در محیط کشت با سطوح مختلف شوری ناشی از کلرید سدیم مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدایه‌های اکتینوباکتری با توانایی رشد در محیط حاوی یک مولار کلرید سدیم انتخاب و سپس ویژگی‌های محرک رشدی جدایه‌ها شامل: تولید ترکیبات ایندولی، انحلال فسفات معدنی، انحلال سیلیکات معدنی، تولید سیدروفور، تولید آمونیاک، و آنزیم‌های هیدرولیتیک شامل سلولاز و پروتئاز بررسی شد.</p>	<p>واژه‌های کلیدی: اکتینوباکتری، انحلال سیلیکات، انحلال فسفات، تنش شوری، سیدروفور</p>

یافته‌ها: تعداد ۶۷ جدایه اکتینوباکتری از ریزوسفر گیاهان ذکر شده، جداسازی شد. تمام جدایه‌ها قادر به رشد در محیط کشت حاوی ۰/۲ مولار کلرید سدیم بودند. ۸۰ درصد جدایه‌ها در محیط کشت حاوی ۰/۵ مولار، ۳۲/۸ درصد در محیط کشت حاوی ۱ مولار، ۲۳/۹ درصد در محیط کشت حاوی ۱/۵ مولار و یک جدایه در محیط کشت حاوی ۲ مولار کلرید سدیم قادر به رشد بودند. تمام جدایه‌های اکتینوباکتری دارای توان تولید ترکیبات ایندولی بودند که بیش‌ترین میزان تولید مربوط به جدایه GP12 بود. تعداد ۲۰ جدایه توانایی انحلال فسفات معدنی را داشتند که از میان آن‌ها جدایه GP64، با مقدار سفر اندازه‌گیری شده ۱۸۷/۸ میلی‌گرم در لیتر، بیش‌ترین توانایی انحلال را داشت. تعداد ۶ جدایه دارای توانایی انحلال سیلیکات معدنی در محیط جامد بودند، که جدایه GP32، با ۱۲۲/۷۹ میلی‌گرم در لیتر سیلیسیم اندازه‌گیری شده، بیش‌ترین میزان انحلال سیلیکات معدنی را داشت. تعداد ۱۴ جدایه دارای توانایی تولید سیدروفور بودند و جدایه GP67 بیش‌ترین میزان تولید سیدروفور را نشان داد. جدایه‌های GP20، GP67، GP91 دارای توانایی آمونیفیکاسیون بیش‌تری از نظر کیفی نسبت به سایر جدایه‌ها بودند. بررسی تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک نشان داد که ۱۱ جدایه توانایی تولید آنزیم سلولاز و ۳ جدایه توانایی تولید آنزیم پروتئاز داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جدایه‌های اکتینوباکتری قادر به رشد در محیط کشت با غلظت بالای شوری و دارای چندین خصوصیت محرک رشد گیاهی هستند. برای بررسی توانمندی و کارایی جدایه‌ها، بهره‌گیری از آن‌ها برای بهبود رشد و جذب عناصر غذایی گیاه در شرایط گلدانی و مزرعه‌ای ضروری است.

استناد: پزشک‌نژاد، پوریا، قربانی نصرآبادی، رضا، اعتصامی، حسن، خرمالی، فرهاد (۱۴۰۳). جداسازی و بررسی ویژگی‌های اکتینوباکتری‌های محرک رشد گیاه متحمل به شوری از ریزوسفر گیاهان زراعی. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۴ (۳)، ۱۴۲-۱۲۱.

DOI: 10.22069/EJSMS.2024.22590.2160



© نویسنده‌گان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

پیش‌بینی شده است که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ حدود ۷۰ درصد افزایش یابد؛ بنابراین افزایش تولید محصولات کشاورزی امری اجتناب‌ناپذیر است در حالی که کیفیت منابع آبی و خاک‌های کشاورزی رو به کاهش است (۱). برآورده ساختن نیازهای غذایی و عرضه محصولات کشاورزی باکیفیت از عواملی هستند که چالش‌های جدیدی را برای یک کشور ایجاد می‌کنند (۲). در چند دهه گذشته، شوری خاک تولید محصولات کشاورزی جهان را بیش از ۵۰ درصد کاهش داده است. این مشکل به‌عنوان یکی از موانع اصلی بهره‌وری محصولات در مناطق خشک و نیمه‌خشک در نظر گرفته شده است. برآوردها نشان داده هر ساله با افزایش خاک‌های شور و سدیمی، ۱ تا ۲ درصد از سطح قابل کشت برای کشاورزی کاهش می‌یابد (۳). تنش شوری با تغییر در فشار اسمزی و سمیت یونی بر رشد گیاهان تأثیر گذاشته و تنوع زیستی خاک را مختل می‌کند. هم‌چنین استفاده طولانی‌مدت از کودهای شیمیایی باعث آلودگی آب، خاک و کاهش تنوع باکتریایی در خاک می‌شود (۴). بنابراین از ریزجانداران مفید، می‌توان به‌منظور افزایش دسترسی مواد مغذی، بهبود رشد محصول و کنترل عوامل بیماری‌زا گیاهان در خاک استفاده کرد (۵). علاوه بر این، ریزجانداران مفید می‌توانند تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی را کاهش داده و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک را بهبود ببخشند که منجر به عملکرد بالاتر محصولات کشاورزی می‌شود. برخی از جمعیت‌های باکتریایی خاک موسوم به باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)^۱ می‌توانند به طور مؤثری بافت گیاهی یا خاک ریزوسفری گیاهان را اشغال نموده و به طور مستقیم و غیرمستقیم باعث بهبود رشد و عملکرد در

گیاهان شوند. باکتری‌های محرک رشد گیاه با تحریک رشد ریشه، باعث بهبود دسترسی به عناصر غذایی و محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا گیاهی می‌شوند. علاوه بر این باکتری‌های محرک رشد، عناصر معدنی مانند پتاسیم، فسفر و سیلیسیم غیرقابل جذب برای گیاهان را به شکل‌های محلول و قابل جذب برای گیاهان تبدیل می‌کنند (۶). اکتینوباکتری‌ها یکی از بزرگ‌ترین گروه‌های باکتریایی با محتوای G + C بالا در ژنوم خود هستند که معمولاً به شکل رشته‌ای بوده و دارای توانایی تشکیل اسپور می‌باشند (۷). جداسازی و تعیین ویژگی‌های اکتینوباکتری‌ها از زیستگاه‌های متنوع برای دست‌یافتن به سویه‌هایی با کاربردهای مختلف صنعتی، دارویی و کشاورزی دارای اهمیت بسیار زیادی است. اکتینوباکتری‌ها سازگاری‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک پیچیده‌ای را در خاک ایجاد می‌نمایند که ممکن است نسبت به سایر گروه‌های میکروبی کم‌تر تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار بگیرند. اکتینوباکتری‌ها نه‌تنها یک گروه غالب از میکروفولور خاک را تشکیل می‌دهند، بلکه قادرند تحت شرایط تنشی، اسپور تشکیل داده و زنده بمانند (۸). هم‌چنین آن‌ها به حل‌شدن فسفات و پتاسیم و سایر عناصر مانند روی در خاک‌های دارای کمبود ریزمغذی‌ها کمک کرده و نقش مهمی در بهبود رشد گیاهان دارند (۹). اکتینوباکتری‌ها می‌توانند مقدار قابل‌توجهی از فیتوهورمون و متابولیت‌های فعال زیستی؛ مانند سیدروفور، آمونیاک، سیانید هیدروژن (HCN)، ایندول استیک اسید (IAA)، اسید جیبرلیک و آنزیم‌های مختلفی مانند ۱-آمینو سیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) دامیناز، کیتیناز، سلولاز و لیپاز تولید نموده که نقش مهمی در بهبود رشد گیاه دارند (۱۰). استفاده از روش‌های سازگار با محیط‌زیست مثل بهره‌گیری از ریزجانداران شوری یا متحمل به شوری در راستای افزایش جذب عناصر

1- Plant growth-promoting rhizobacteria

تنظیم گردید. به منظور جلوگیری از رشد قارچ‌ها، در هر دو محیط کشت مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیستاتین استفاده شد. برای جداسازی اکتینوباکتری‌ها از تیمار هوا خشک به مدت ۷۲ ساعت و حرارت خشک دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه استفاده گردید (۱۲). سپس ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری در ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد کلریدسدیم به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد. پس از تهیه سری رقت‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-3} ، 10^{-4} ، 10^{-5} بر روی محیط کشت‌های موردنظر پخش شد و به مدت ۱۴ روز در دمای (28 ± 2) درجه سلسیوس) گرماگذاری شدند. پس از ظاهرشدن کلونی‌ها بر روی محیط کشت، تک کلونی‌هایی که از لحاظ ریخت‌شناسی به اکتینوباکتری شباهت داشتند، انتخاب و پس از خالص‌سازی در محیط *International Streptomyces Project-2 (ISP2)* کشت داده شدند و برای استفاده کوتاه‌مدت در دمای ۴ درجه سلسیوس و برای استفاده بلندمدت هر یک از جدایه‌ها در گلیسرول ۲۰ درصد و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۱۳).

بررسی میزان رشد جدایه‌ها در سطوح مختلف شوری: میزان رشد جدایه‌ها در سطوح مختلف شوری و بر روی محیط کشت جامد ISP2 حاوی ۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ مولار کلریدسدیم (به ترتیب معادل: ۱/۱۶، ۲/۹۲، ۵/۸۴، ۸/۶۷، ۱۱/۶۸ درصد) کشت داده و در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس به مدت ۷ روز گرماگذاری شدند. سپس میزان رشد جدایه‌ها نسبت به نمونه شاهد و در سه تکرار مقایسه شده و بر اساس میزان رشد به صورت (-)، (+)، (++)، (+++) به ترتیب عدم رشد، رشد ضعیف، رشد متوسط، رشد بهینه رتبه‌بندی شدند. سپس جدایه‌هایی که قادر به رشد و تولید اسپور در محیط کشت با غلظت ۱ مولار

غذایی و بهبود رشد گیاهان تحت تنش شوری مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (۱۱). بسیاری از مطالعات بر روی اثرات کنترل زیستی اکتینوباکتری‌ها به دلیل تولید مقادیر قابل‌توجهی از ترکیبات فعال زیستی که به‌عنوان مکانیسم دفاعی استفاده می‌شوند، متمرکز شده‌اند. همچنین پژوهش‌های اندکی در زمینه حل‌کنندگی سیلیکات اکتینوباکتری‌ها و آزادسازی سیلیسیم که به‌عنوان یک سازوکار مؤثر در برابر شرایط تنشی نام برده می‌شود، وجود دارد. بنابراین این پژوهش باهدف جداسازی و غربالگری جدایه‌های اکتینوباکتری متحمل به شوری، سنجش توان حل‌کنندگی سیلیکات و برخی دیگر از سازوکارهای محرک رشدی آن‌ها تحت شرایط آزمایشگاهی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی اکتینوباکتری‌های ریزوسفری: به‌منظور جداسازی اکتینوباکتری‌های ریزوسفری، نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری گیاهان زراعی ذرت، گوجه‌فرنگی، سویا، کنجد در مرحله گلدهی و با رعایت اصول نمونه‌برداری بیولوژیک انجام شد. در این مطالعه از روش سری رقت و از دو محیط کشت برای جداسازی اکتینوباکتری‌ها استفاده شد. محیط کشت هیومیک اسید ویتامین آگار (HVA) شامل: ۱ گرم هیومیک اسید، ۰/۰۲ گرم $CaCO_3$ ، ۰/۵ گرم Na_2HPO_4 ، ۱/۷ گرم KCl، ۰/۰۵ گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۰۱ گرم $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۵ گرم Na_2HPO_4 ، ۱ میلی‌لیتر B-vitamins، ۱۸ گرم آگار در لیتر و استارچ کازئین آگار (SCA) شامل: ۱۰ گرم نشاسته، ۰/۳ گرم کازئین، ۲ گرم K_2HPO_4 ، ۲ گرم KNO_3 ، ۲ گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۰۲ گرم $CaCO_3$ ، ۰/۰۱ گرم $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ و ۱۸ گرم آگار در لیتر استفاده شد و pH هر دو محیط بر روی ۷/۲

به روش رنگ‌سنجی با استفاده از آمونیوم مولیبدات و انادات در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۶).

سنجش کیفی و کمی توانایی انحلال سیلیکات معدنی: میزان انحلال سیلیکات معدنی توسط هر جدایه اکتینوباکتری با استفاده از محیط کشت انتخابی حاوی ۲/۵ گرم در لیتر تری‌سیلیکات منیزیم در سه تکرار اندازه‌گیری شد. به‌منظور سنجش کیفی، هر یک از جدایه‌ها به طور جداگانه روی محیط کشت جامد Bunt and Rovira حاوی ۰/۰۰۲۵ درصد بروموکروزول‌پرپل تلقیح شدند و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸±۲ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. ایجاد هاله زرد یا نارنجی در اطراف کلنی به‌عنوان شاخص توانمندی جدایه‌ها در حل کردن تری‌سیلیکات منیزیم در نظر گرفته شد. جدایه‌هایی که هاله رنگی ایجاد کردند به منظور اندازه‌گیری کمی انتخاب شدند. ابتدا جدایه‌ها به محیط کشت Bunt and Rovira تلقیح و ارلن‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۲۸±۲ درجه سلسیوس و با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از ۷ روز گرماگذاری، محیط کشت به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی جمع‌آوری شد. یک میلی‌لیتر از مایع رویی با ۳ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲/۵ درصد، ترکیب و سپس یک میلی‌لیتر مولیبدات آمونیوم ۵/۴ درصد به محلول فوق اضافه شد. پس از مدت ۵ دقیقه، یک میلی‌لیتر اسید تارتاریک ۲۰ درصد و یک میلی‌لیتر اسید آسکوربیک ۰/۵ درصد به محلول اضافه شده و پس از گذشت ۲۰ دقیقه میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار انحلال تری‌سیلیکات منیزیم در جدایه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد سیلیسیم (محدوده غلظت ۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) محاسبه شد (۱۷).

کلریدسدیم بودند به‌منظور اندازه‌گیری خصوصیات محرک رشدی انتخاب شدند (۱۴).

سنجش تولید ترکیبات ایندولی: تولید ترکیبات ایندولی توسط جدایه‌ها به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از معرف سالکوفسکی و در سه تکرار بررسی شد. هر جدایه به صورت جداگانه در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع ISP2 حاوی ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ال - تریپتوفان با جمعیت 10^7 CFU mL⁻¹ تلقیح شد و در دمای ۲۸±۲ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۷ روز در تاریکی تکان داده شد و سپس، محیط کشت به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی جمع‌آوری شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی و دو میلی‌لیتر از معرف سالکوفسکی با یکدیگر مخلوط شده و مقدار ترکیبات ایندولی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (۱۵). مقدار تولید ترکیبات ایندولی در جدایه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد IAA¹ (محدوده غلظت ۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) محاسبه شد.

سنجش انحلال فسفات معدنی: به‌منظور بررسی کمی توانایی آزادسازی فسفر توسط جدایه‌ها، ابتدا آن‌ها را در محیط پیش‌کشت ISP2 رشد داده و با جمعیت 10^7 CFU ml⁻¹ به مقدار ۱ درصد حجمی/حجمی در محیط تخمیری NBRIP شامل: ۱۰ گرم گلوکز، ۵ گرم $Ca_3(PO_4)_2$ ، ۵ گرم $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ، ۰/۲۵ گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۲ گرم KCl، ۰/۱ گرم $(NH_4)_2SO_4$ در لیتر مایه‌زنی شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۲۸±۲ درجه سلسیوس با دوران ۱۵۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از گذشت ۷ روز، محیط کشت به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و مقدار فسفر در محلول رویی

1- Indole-3-acetic acid

$$\% \text{ of siderophore units} = \frac{AR-AS}{AR} * 100$$

که در آن، AR میزان جذب نور در محلول CAS، AS میزان جذب نور در نمونه.

سنجش تولید آمونیاک (آمونیفیکاسیون): توانایی تولید آمونیاک توسط جدایه‌ها در محیط کشت پپتون واتر شامل: ۱۰ گرم پپتون و ۵ گرم سدیم کلراید در لیتر مورد بررسی قرار گرفت. هر جدایه اکتینوباکتریایی در لوله‌های حاوی ۱۵ میلی‌لیتر پپتون واتر تلقیح و در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و به مدت ۷ روز گرماگذاری شدند. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف نسلی به محیط کشت مایع اضافه شد و تغییر رنگ محیط کشت از زرد به قهوه‌ای بیانگر تولید آمونیاک بود. سپس جدایه‌ها بر اساس میزان شدت رنگ تولیدی به‌صورت عدم توانایی (-)، توانمندی ضعیف (+)، توانمندی متوسط (++) و توانمندی عالی (+++) رتبه‌بندی شدند (۱۹).

سنجش تولید آنزیم سلولاز: فعالیت سلولاز با استفاده از محیط کشت ISP2 اصلاح شده (مالت اکسترکت ۱۰ گرم، عصاره مخمر ۴ گرم و کربوکسی متیل سلولز ۵ گرم در لیتر) بررسی شد. مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون جدایه‌های موردنظر به‌صورت قطره‌ای در محیط ISP2 اصلاح شده، کشت شد. پس از گرماگذاری به مدت ۷ روز در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس، محیط کشت با محلول کنگورد ۱۰٪ به مدت ۱۵ دقیقه و با محلول کلریدسدیم یک مولار به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شد. هاله شفاف یا کم‌رنگ در اطراف کلنی نشان‌دهنده وجود آنزیم سلولاز در محیط کشت است (۲۰).

سنجش تولید آنزیم پروتئاز: فعالیت پروتئاز با استفاده از تلقیح نقطه‌ای جدایه‌های اکتینوباکتری بر روی محیط کشت Skim milk agar مورد سنجش

سنجش تولید سیدروفور: سنجش کیفی تولید سیدروفور توسط جدایه‌های اکتینوباکتری به روش CAS Agar Diffusion انجام شد. ابتدا ۶۰/۵ میلی‌گرم از معرف CAS در ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شد و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلرید آهن یک میلی‌مولار (در اسیدکلریدریک ۱۰ میلی‌مولار) مخلوط شد. سپس این محلول به آرامی با ۷۲/۹ میلی‌گرم HDTMA^۱ حل شده در ۴۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شد. محلول حاصل به رنگ آبی تیره جداگانه اتوکلاو شده و با ۹۰۰ میلی‌لیتر آب، ۱۵ گرم آگار، ۳۰،۲۴ گرم بافر PIPES^۲ اتوکلاو شده، مخلوط شد. بعد از ریختن محیط در داخل پتری دیش، با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن استریل پنج میلی‌متری، چاهک‌هایی ایجاد شد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. هر یک از جدایه‌ها در داخل محیط کشت ISP2 به مدت ۷ روز در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس و با دور ۱۸۰ دور در دقیقه رشد داده شدند. سپس محیط کشت به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی جمع‌آوری شد. مقدار ۳۵ میکرولیتر از مایع رویی هر جدایه درون چاهک‌ها ریخته شد و پس از جذب آن، به مقدار مساوی از همان مایع رویی دوباره به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۴ تا ۸ ساعت قراردادن پتری‌دیش‌ها در دمای اتاق، ظهور هاله نارنجی اطراف چاهک‌ها بررسی شد. به‌منظور اندازه‌گیری کمی تولید سیدروفور، مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از مایع رویی سوسپانسیون باکتری با ۵۰۰ میکرولیتر محلول رنگی CAS مخلوط شده و بعد از مدت ۲۰ دقیقه میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری و میزان سیدروفور تولیدی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۱۸).

- 1- Hexadecyltrimethylammonium bromide
- 2- 1,4-Piperazinediethanesulfonic acid

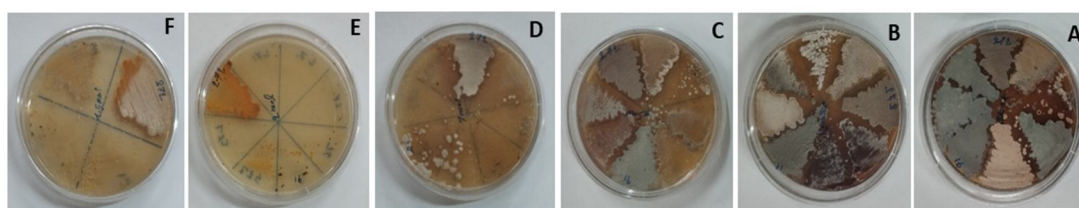
کشت HVA جدایه‌های اکتینوباکتری به صورت کلنی‌های خشک و یا پودری رشد کرده و هیچ باکتری غیر از اکتینوباکتری بر روی محیط کشت HVA قادر به رشد نبود؛ اما در محیط کشت SCA بسیاری از باکتری‌های غیرهدف قادر به رشد بودند؛ به همین علت تعداد جدایه اکتینوباکتری کم‌تری در مقایسه با محیط کشت HVA به دست آمد. در بین ۶۷ جدایه، تعداد ۵۱ جدایه از محیط کشت HVA و ۱۶ جدایه از محیط کشت SCA جداسازی شد. تعداد ۱۲ جدایه از گیاه کنجد (HVA ۱۱ جدایه، SCA ۱ جدایه)، ۲۳ جدایه از گیاه سویا (HVA ۱۸ جدایه، SCA ۵ جدایه)، ۲۳ جدایه از گیاه ذرت (HVA ۱۷ جدایه، SCA ۶ جدایه) و ۹ جدایه از گیاه گوجه‌فرنگی (HVA ۵ جدایه، SCA ۴ جدایه) به دست آمد.

غربالگری جدایه‌ها بر اساس میزان تحمل به شوری: نتایج به دست آمده از میزان تحمل جدایه‌های اکتینوباکتری به شوری نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم، رشد جدایه‌ها کاهش پیدا کرد. اگرچه میزان کاهش رشد جدایه‌ها با یکدیگر متفاوت بود.

قرار گرفت. پس از ۵ روز گرماگذاری در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس، فعالیت پروتئاز بر اساس تشکیل هاله شفاف در اطراف کلنی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۱).
تجزیه آماری: ابتدا داده‌های به دست آمده از این پژوهش از نظر نرمال بودن و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون لون بررسی شدند. سپس داده‌های آزمایشگاهی در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۳ تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 17 تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون فیشر (LSD؛ $P < 0.05$) انجام شد.

نتایج

جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های اکتینوباکتری: در این پژوهش ۶۷ جدایه اکتینوباکتری از ریزوسفر گیاهان گوجه فرنگی، ذرت، کنجد و سویا و با استفاده از دو محیط کشت متفاوت شامل HVA و SCA جداسازی شد. محیط کشت HVA عملکرد بسیار مطلوبی در مقایسه با محیط کشت SCA در جداسازی اکتینوباکتری‌های ریزوسفری نشان داد. در محیط



شکل ۱- رشد جدایه‌ها در محیط کشت ISP2 حاوی غلظت‌های ۰ (A)، ۰/۲ (B)، ۰/۵ (C)، ۱ (D)، ۱/۵ (E)،

۲ (F) مولار کلرید سدیم.

Figure 1. The growth of isolates in ISP2 culture medium containing concentrations of 0 (A), 0.2 (B), 0.5 (C), 1 (D), 1.5 (E), 2 (F) molar sodium chloride.

قادر به رشد در محیط کشت حاوی ۰/۲ مولار کلرید سدیم بودند. هم‌چنین ۸۰ درصد از جدایه‌ها قادر به رشد در محیط کشت حاوی ۰/۵ مولار کلرید سدیم،

با افزایش غلظت کلرید سدیم در محیط کشت، روند کاهشی در رشد اکثر جدایه‌های اکتینوباکتری مشاهده شد. از بین ۶۷ جدایه اکتینوباکتری، تمام آن‌ها

۳۲/۸ درصد از جدایه‌ها در محیط کشت حاوی ۱ مولار کلرید سدیم، ۲۳/۹ درصد از جدایه‌ها در محیط کشت حاوی ۱/۵ مولار کلرید سدیم، و تنها جدایه GP272 قادر به رشد در محیط کشت حاوی ۲ مولار کلرید سدیم بود (شکل ۱). در نهایت، جدایه‌هایی که قادر به رشد و تولید اسپور در محیط کشت حاوی یک مولار کلرید سدیم بودند به‌منظور بررسی خصوصیات محرک رشدی انتخاب شدند (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج رشد جدایه‌های اکتینوباکتری در سطوح مختلف شوری ناشی از کلرید سدیم.

Table 1. The growth results of actinobacterial isolates at different levels of salinity from the source of sodium chloride.

جدایه Isolates	۰ مولار 0M	۰/۲ مولار 0.2M	۰/۵ مولار 0.5M	۱ مولار 1M	۱/۵ مولار 1.5M	۲ مولار 2M
GP1	+++	+++	+++	+	+	-
GP2	+++	+++	+++	++	+	-
GP3	+++	+++	+++	++	+	-
GP7	+++	+++	++	++	+	-
GP10	+++	+++	+++	++	++	-
GP11	+++	+++	+++	+	+	-
GP12	+++	+++	+++	+	+	-
GP20	+++	+++	+++	++	+	-
GP22	+++	+++	+++	++	+	-
GP32	+++	+++	++	+	-	-
GP37	+++	++	++	+	-	-
GP62	+++	+++	++	+	+	-
GP64	+++	+++	++	+	-	-
GP66	+++	+++	++	+	+	-
GP67	+++	+++	+++	++	++	-
GP79	+++	++	++	+	-	-
GP77	+++	++	++	+	-	-
GP79	+++	+++	++	++	+	-
GP89	+++	+++	++	++	+	-
GP91	+++	+++	++	+	+	-
GP269	+++	++	++	+	-	-
GP272	+++	+++	+++	++	++	+

(-) عدم رشد، (+) رشد ضعیف، (++) رشد متوسط، (+++) رشد مطلوب

جدول ۲- سنجش کیفی توان تولید آمونیاک، سیدروفور، سلولاز و پروتئاز توسط جدایه‌های اکتینوباکتری.

Table 2. Qualitative assessment of ammonia production, siderophore production, cellulase and protease activity by actinobacterial isolates.

آمونیاک Ammonia †	پروتئاز Protease*	سلولاز Cellulase*	سیدروفور Siderophore*	جدایه Isolate
-	-	-	+	GP1
++	+	+	-	GP2
-	-	+	+	GP3
-	-	-	-	GP7
+	-	-	+	GP10
+	-	+	-	GP11
++	-	-	+	GP12
+++	-	+	+	GP20
-	-	+	-	GP22
++	-	+	+	GP32
-	-	-	+	GP37
-	-	-	-	GP62
++	+	-	-	GP64
-	-	-	+	GP66
+++	-	+	+	GP67
-	-	+	-	GP69
-	-	-	+	GP77
-	-	-	+	GP79
+	-	-	+	GP89
+++	-	+	+	GP91
-	+	+	-	GP269
-	-	+	+	GP272

* (-) عدم تولید آنزیم، (+) تولید آنزیم

‡ (+) without enzyme production, (-) enzyme production

† (-) عدم تولید، (+) تولید ضعیف، (++) تولید متوسط، (+++) تولید مطلوب

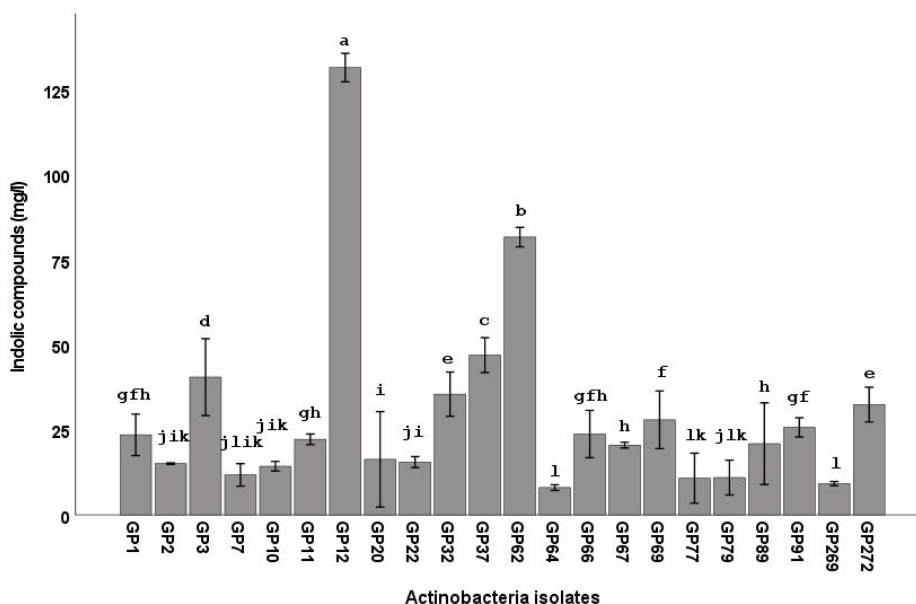
† (-) without production, (+) weak prouction, (++) moderate production, (+++) optimum production

اکتینوباکتری در حضور پیش‌ماده ال-تریپتوفان از ۸/۰۲ تا ۱۳۱/۳۲ میلی‌گرم در لیتر پس از ۷ روز گرماگذاری متغیر بود. در این پژوهش مقدار تولید ترکیبات ایندولی ۹۱ درصد جدایه‌ها کم‌تر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در بین جدایه‌های مورد مطالعه در این

توانایی تولید ترکیبات ایندولی: نتایج نشان داد که همه ۲۲ جدایه اکتینوباکتری برگزیده، از توانایی تولید ترکیبات ایندولی برخوردار بودند، اگرچه میزان تولید ترکیبات ایندولی در بین جدایه‌ها تفاوت چشمگیری داشت. مقادیر تولید ترکیبات ایندولی توسط جدایه‌های

در لیتر کم‌ترین مقادیر را تولید کردند؛ که حدود ۱۵ برابر کم‌تر از جدایه GP12 بود (شکل ۲).

پژوهش، جدایه GP12 بیش‌ترین مقدار ترکیبات ایندولی (۱۳۱/۳۲ میلی‌گرم در لیتر) و جدایه‌های GP64 و GP269 به ترتیب با ۸/۰۲ و ۹/۱۹ میلی‌گرم

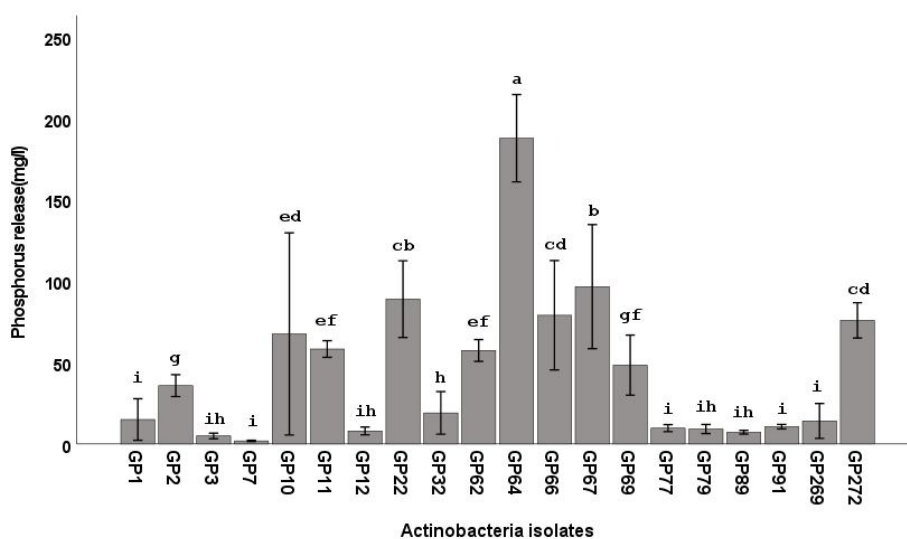


شکل ۲- میزان تولید ترکیبات ایندولی در جدایه‌های اکتینوباکتری.

Figure 2. Indolic compounds production in actinobacterial isolates.

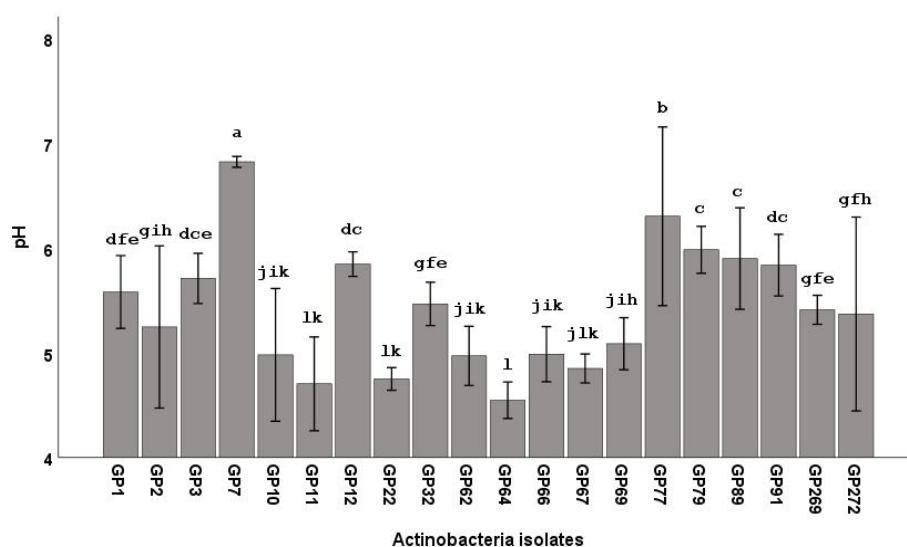
حل‌کنندگی فسفات مربوط به جدایه GP64 (۱۸۷/۸ میلی‌گرم در لیتر) به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیش‌تر از سایر جدایه‌ها و ۲ برابر بیش‌تر از جدایه GP67 بود (شکل ۳). در آزمون حل‌کنندگی فسفات، تمام جدایه‌ها منجر به کاهش pH در محیط کشت شدند. با افزایش میزان آزادسازی فسفر مقدار pH محیط کاهش یافت. در جدایه‌های مختلف همبستگی منفی معنی‌داری ($r = -0.707$, $P < 0.001$) بین مقدار فسفر آزادشده از تری‌کلسیم فسفات و pH وجود داشت. به‌طوری‌که جدایه GP64 با بیش‌ترین میزان آزادسازی فسفر، pH محیط کشت را از ۷/۲ به ۴/۸۵ کاهش داد (شکل ۴).

توانایی آزادسازی فسفر: تعداد ۲۰ جدایه دارای توانایی آزادسازی فسفر از منبع تری‌کلسیم فسفات در محیط مایع NBRIP بودند. پس از ۷ روز گرم‌گذاری، میزان آزادسازی فسفر در محیط کشت مورد استفاده در این پژوهش از ۱/۸۴ تا ۱۸۷/۸ میلی‌گرم در لیتر در میان جدایه‌ها متغیر بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، میزان آزادسازی فسفر در ۳۶٪ از جدایه‌ها بیش از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. همچنین ۲۷٪ از جدایه‌ها بین ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فسفر را آزاد نموده و سایر جدایه‌ها نیز کم‌تر از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر توانایی آزادسازی فسفر در محیط کشت داشتند. دو جدایه GP37 و GP20 قادر به آزادسازی فسفر در محیط کشت مایع NBRIP نبودند. میزان



شکل ۳- میزان انحلال فسفات توسط جدایه‌های اکتینوباکتری در محیط کشت NBRIP.

Figure 3. Phosphate solubilization amount by actinobacterial isolates in NBRIP medium.



شکل ۴- تغییرات pH در محیط کشت NBRIP تلقیح شده با جدایه‌های اکتینوباکتری.

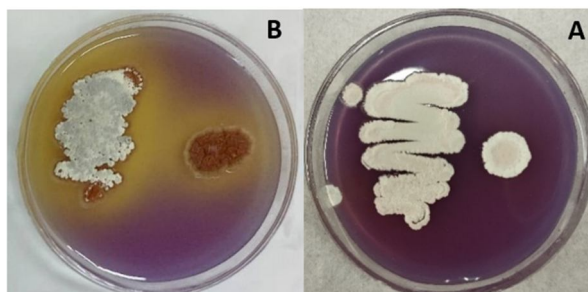
Figure 4. Changes in pH of NBRIP culture medium inoculated with actinobacterial isolates.

حل کردن تری‌سیلیکات منیزیم برگزیده شدند (شکل ۵). میزان حل‌کنندگی سیلیکات توسط جدایه‌های اکتینوباکتری در محیط کشت Bunt and Rovira از ۷۹/۹۳ تا ۱۲۲/۷۹ میلی‌گرم در لیتر متفاوت بود. در میان جدایه‌های مورد مطالعه، GP32 دارای بیش‌ترین میزان حل‌کنندگی سیلیکات معدنی در محیط مایع با ۱۲۲/۷۹ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با سایر جدایه‌ها

توانایی انحلال سیلیکات معدنی: بررسی کیفی توانمندی حل کردن سیلیکات در جدایه‌های اکتینوباکتریایی مورد استفاده در این پژوهش نشان داد که تنها ۶ جدایه دارای توانمندی ایجاد هاله زرد در محیط جامد غنی شده با ۰/۰۲۵ درصد بروموکروزول پرپل، به‌عنوان معیاری برای سنجش توان حل‌کنندگی سیلیکات بودند. سپس این شش جدایه جهت سنجش میزان کمی توانمندی

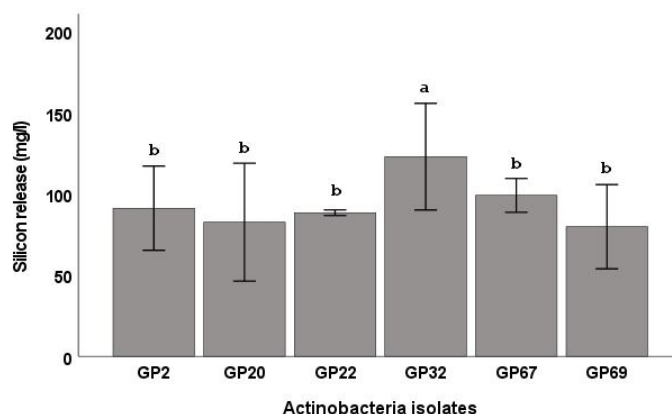
میلی گرم در لیتر سیلیسیم، کمترین میزان حل کنندگی سیلیکات را نشان داد (شکل ۶).

بود و به دنبال آن به ترتیب GP2، GP67، GP22، GP20 با ۸۲/۵۱، ۸۸/۳۰، ۹۱/۰۸، ۹۸/۹۶ میلی گرم در لیتر قرار داشتند. جدایه GP69 با آزادسازی ۷۹/۹۳



شکل ۵- سنجش کیفی حل کنندگی تری سیلیکات منیزیم توسط جدایه ها. (A) عدم توان حل کنندگی (B) دارای توان حل کنندگی.

Figure 5. Qualitative assessment of magnesium trisilicate solubilization ability by isolates. (A) without solubilization capability. (B) solubilization capability.



شکل ۶- مقدار انحلال تری سیلیکات منیزیم توسط جدایه های اکتینوباکتری.

Figure 6. Amount of magnesium trisilicate solubilization by actinobacterial isolates.

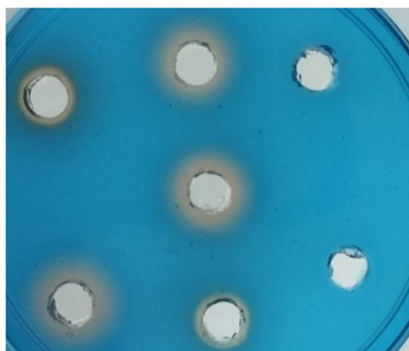
کمترین میزان تولید سیدروفور مربوط به جدایه های GP37 و GP66 بود (شکل ۸).

تولید آمونیاک (آمونیاکاسیون): پس از افزودن معرف نسلر در محیط کشت پپتون واتر، شدت رنگ های ایجاد شده در محیط حاوی جدایه های مورد مطالعه، تفاوت های مشهودی با یکدیگر داشتند. از میان ۲۲ جدایه اکتینوباکتریایی مورد بررسی، ۱۰ جدایه دارای توان تولید آمونیاک بودند که ۳ جدایه دارای توانمندی ضعیف، ۴ جدایه توانمندی متوسط و ۳ جدایه دارای توانمندی مطلوب بودند (جدول ۲).

توانایی تولید سیدروفور: از بین ۲۲ جدایه مورد استفاده در این پژوهش، ۱۴ جدایه توانایی ایجاد هاله در محیط کشت جامد CAS-AD داشتند. جدایه هایی که از نظر کیفی توان ترشح سیدروفور نشان دادند (شکل ۷؛ جدول ۲)، جهت سنجش کمی میزان سیدروفور برگزیده شدند. اندازه گیری کمی سیدروفور در جدایه های اکتینوباکتری نشان داد که جدایه های مورد بررسی، از توانمندی چشمگیری در تولید سیدروفور برخوردار هستند. مقدار تولید سیدروفور در جدایه ها از ۸۶/۱۵٪ تا ۹۸/۶۶٪ متغیر بود. جدایه GP67 دارای بیشترین مقدار تولید سیدروفور بوده و

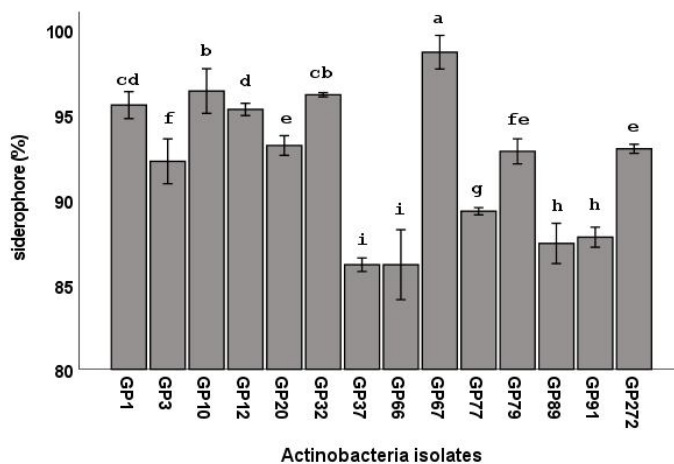
سلولاز نشان داد که ۱۱ جدایه دارای توان ایجاد هاله ادر طرف کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت اصلاح شده ISP2 و توان استفاده از کربوکسی متیل سلولاز به‌عنوان تنها منبع کربن در محیط را داشتند (جدول ۲).

تولید آنزیم‌های پروتئاز و سلولاز: سنجش کیفی فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و سلولاز توسط ۲۲ جدایه اکتینوباکتریایی در جدول ۲ نشان داده شده است. در میان جدایه‌های مورد بررسی فقط ۳ جدایه توانایی تولید آنزیم پروتئاز داشتند. همچنین سنجش فعالیت



شکل ۷- سنجش کیفی تولید سیدروفور توسط جدایه‌های اکتینوباکتری.

Figure 7. Qualitative assessment of siderophore production by actinobacterial isolates.



شکل ۸- مقدار کمی تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها.

Figure 8. Quantitative amount of siderophore production.

کربنی نشاسته است. منابع غذایی و کربنی متفاوت می‌توانند موجب جداسازی باکتری‌های متنوعی شوند (۱۳). در این پژوهش، محیط کشت HVA باعث جلوگیری از رشد باکتری‌های تندرشد و غیرهدف در مقایسه با محیط کشت SCA شد. این یافته با نتایج به‌دست‌آمده از سایر پژوهش‌ها مطابقت داشت که بیان

بحث

جداسازی اکتینوباکتری‌ها در محیط کشت‌های متفاوت ممکن است امکان جداسازی جنس‌های مختلف از گونه‌های اکتینوباکتریایی را افزایش دهد. در پژوهش حاضر، محیط HVA حاوی منبع کربنی اسید هیومیک است درحالی‌که محیط SCA حاوی منبع

از نظر خصوصیات محرک رشدی برتر بود. فسفر یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان است. با این حال، تنها ۰/۱ درصد از فسفر کل خاک در دسترس و قابل استفاده برای گیاهان است (۲۸). مشکل کمبود فسفر موجود در خاک به طور معمول با استفاده از کودهای فسفاته برطرف می شود اما فقط ۵ تا ۲۵ درصد از فسفر موجود در کودهای شیمیایی توسط گیاهان جذب می شود (۲۹). باکتری های حل کننده فسفات به عنوان یک راه حل و منبع زیستی بالقوه برای افزایش بهره‌وری محصولات زراعی شناخته می شوند که می توانند رشد و بهره‌وری گیاهان را با افزایش سطح فسفر بهبود ببخشند (۳۰). در این پژوهش میزان حل کنندگی فسفر توسط جدایه های اکتینوباکتری از ۱/۸۴ تا ۱۸۷/۸ میلی گرم در لیتر متغیر بود. قربانی نصرآبادی و همکاران (۲۰۲۳) اثر منابع فسفره مختلف بر توانمندی آزادسازی فسفر در جدایه های *استرپتومایسس* را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها بیان داشتند که تمامی جدایه های *استرپتومایسس* برگزیده دارای توان آزادسازی فسفر از تری کلسیم فسفات بوده و جدایه *Streptomyces chartreusis* دارای بیشترین میزان آزادسازی فسفر (۲۶۸ میکروگرم در میلی لیتر) بود و pH محیط کشت را به مقدار قابل توجهی (pH=۴/۲۴) کاهش داد. این داده‌ها نشان می دهد که فرآیند آزادسازی فسفر با ترشح متابولیت‌هایی همراه است که قادر به اسیدی کردن محیط کشت می باشد. اکتینوباکتری های حل کننده تری کلسیم فسفات، انواعی از اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم مانند اسیدهای ۲-کتوگلوکونیک، مالیک و لاکتیک را بیش از سایر اسیدهای آلی توسط اکتینوباکتری ها ترشح می کنند (۳۱ و ۳۲). علاوه بر تولید اسیدهای آلی، کی لیت کردن، یک سازوکار کارآمد توسط برخی از اکتینوباکتری ها در حل کنندگی

داشتند محیط کشت‌هایی مانند HVA که حاوی مقادیر محدودی از عناصر غذایی هستند، بهترین عملکرد را در جداسازی اکتینوباکتری های ریزوسفری و اندوفیتی دارند (۲۲). وو و همکاران (۲۰۲۱) تعداد ۴۹۵ جدایه اکتینوباکتری از گره و ریشه گیاه نخودفرنگی با استفاده از ۶ محیط کشت مختلف جداسازی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که محیط کشت هیومیک اسید ویتامین آگار با جداسازی ۱۳۴ جدایه دارای بیشترین عملکرد بوده و در عین حال دارای کمترین مقدار آلودگی در مقایسه با سایر محیط کشت‌ها بود (۲۳). در این پژوهش ۳۲/۸ درصد از جدایه‌ها توانایی رشد در غلظت ۱ مولار کلرید سدیم و ۲۳/۹ درصد جدایه‌ها دارای توان رشد در غلظت ۱/۵ مولار کلرید سدیم بودند. متیو و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی میزان تحمل به شوری در جدایه‌های اکتینوباکتریایی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد ۳۹ جدایه اکتینوباکتریایی دارای توانمندی رشد در محیط حاوی ۴ درصد کلرید سدیم و ۲۲ جدایه با توان رشد در محیط حاوی ۸ درصد کلرید سدیم بود (۲۴). باکتری های محرک رشد گیاه می توانند تنش های غیرزیستی از جمله تنش شوری خاک را کاهش دهند (۲۶). اکتینوباکتری ها نیز از طریق فرایندهای مستقیم و غیرمستقیم می توانند رشد گیاهان را تقویت کنند. تثبیت نیتروژن، انحلال عناصر معدنی، تولید هورمون های رشد و سیدروفورها توسط باکتری های محرک رشد باعث بهبود خصوصیات رشدی و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش های غیرزیستی می شوند (۲۷). در این پژوهش، همه جدایه های اکتینوباکتری دارای یک یا چند خصوصیت محرک رشدی بودند. در بین جدایه های مورد بررسی حاصل از این پژوهش، جدایه GP67 نسبت به سایر جدایه‌ها

سیدروفورهای کاتکولی و هیدروکساماتی اشاره کرد که باعث افزایش آهن قابل‌دسترس برای گیاهان می‌شوند (۳۸). در این پژوهش از ۲۲ جدایه مورد بررسی، ۱۴ جدایه اکتینوباکتری توانایی تولید مقادیر بسیار بالایی از سیدروفور را نشان دادند. در بین ترکیبات فعال زیستی، اکتینوباکتری‌های دارای توانایی تولید سیدروفور، نقش مهمی به عنوان کنترل زیستی در برابر عوامل بیمارگر گیاهی ایفا می‌کنند. وینا و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کرده‌اند که اکتینوباکتری‌ها توانمندی تولید سیدروفورهایی را دارند که جذب آهن و ترشح عوامل ضدباکتری و ضدقارچی را تسهیل نموده و می‌توانند گیاهان را از پاتوژن‌های گیاهی محافظت کنند (۳۲). در سال‌های اخیر، کاربرد سیلیسیم در کشاورزی به عنوان یک استراتژی امیدوارکننده به منظور بهبود تحمل تنش زیستی و غیرزیستی در گیاهان از راه اثرات تنظیمی آن بر بیان ژن، تعادل هورمونی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی نام برده می‌شود. سیلیسیم می‌تواند جذب و انتقال یون‌های Na^+ و Cl^- را در اندام‌های مختلف گیاهان محدود و باعث تعدیل تنش شوری در گیاهان شود (۳۹). اگرچه جمعیت‌های باکتریایی زیادی در خاک وجود دارد، اما تعداد بسیار کمی از آنها که توانمندی آزادکردن سیلیسیم از منبع سیلیکاتی غیرقابل‌استفاده برای گیاهان را دارند، شناخته شده‌اند. در پژوهشی از ۱۳۰ جدایه باکتریایی ریزوسفری برنج، تنها ۲۰ جدایه باکتری دارای توان آزادسازی سیلیسیم از منبع سیلیکات معدنی بودند (۴۰). در این پژوهش نیز فقط ۲۷ درصد از جدایه‌های اکتینوباکتری برگزیده دارای توانمندی حل‌کردن تری‌سیلیکات منیزیم بوده که با نتایج حاصل از پژوهش‌های گذشته مطابقت داشت. استفاده از باکتری‌های حل‌کننده سیلیکات توجه زیادی را به عنوان کود زیستی در کشاورزی جلب نموده

فسفات به شمار می‌رود. برخی از اکتینوباکتری‌ها قادر به تولید سیدروفورهای هیدروکساماتی بوده و می‌توانند با کیت کردن آهن از منابع فسفات منجر به آزادسازی فسفر در محلول خاک گردند (۳۳). اکتینوباکتری‌ها فیتوهورمون‌های مختلفی مانند ایندول استیک اسید، جیبرلین و سیتوکینین‌ها را تولید و ترشح می‌کنند و ثابت شده است که سویه‌های مختلف *استرپتومایسس* عملکرد بالایی در تولید هورمون‌های گیاهی دارند (۳۴). عبدالله و همکاران (۲۰۱۳) ۲۱۰ جدایه اکتینوباکتری را از نظر تولید ترکیبات ایندولی مورد بررسی قرار دادند. در این میان، ۶۵/۷ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید ترکیبات ایندولی در حضور پیش‌ماده ال-تریپتوفان بودند که جدایه *Streptomyces sp. ASU14* بیش‌ترین مقدار (۲۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) را نسبت به سایر سویه‌ها نشان داد (۳۵). ترکیبات ایندولی رشد و طول ریشه را به منظور افزایش جذب مواد مغذی بهبود می‌بخشد (۳۶). در این پژوهش تمام جدایه‌ها قادر به تولید مقادیر متفاوتی از ترکیبات ایندولی نسبت به یکدیگر بودند به طوری که میزان تولید ترکیبات ایندولی از ۸/۰۲ تا ۱۳۱/۳۲ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. قربانی نصرآبادی و همکاران (۲۰۲۳) بیان داشتند که تمامی هفت جدایه *استرپتومایسس* برگزیده دارای توان تولید ترکیبات ایندولی بوده و جدایه *Streptomyces ambofaciens* با تولید ۲۷/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بیش‌ترین مقدار از این ترکیبات را تولید نمود که در مقایسه با جدایه‌های GP12، GP3، GP62، GP37 مقدار ترکیبات ایندولی تولید شده کم‌تری داشت (۳۱). سیدروفورها مولکول‌های کیت‌کننده آهن با وزن مولکولی کم هستند. اکتینوباکتری‌ها می‌توانند سیدروفورهای مختلفی تولید کنند که از متداول‌ترین آنها می‌توان به

هستند مزایای زیادی از جمله تجزیه مواد آلی، بهبود رشد گیاه و محافظت از گیاه در برابر بیماری‌های ناشی از پاتوژن‌های خاکزی دارند. آنزیم‌های سلولاز علاوه بر دپلیمیریزاسیون سلولز، که بیش‌ترین جزء از سلول‌های گیاهی را شامل می‌شود که با تسهیل نفوذ باکتری‌های محرک رشد گیاهی، موجب اشغال بافت‌های گیاهی می‌گردند. هم‌چنین، آنزیم پروتئاز ترشح شده توسط باکتری‌های محرک رشد باعث محافظت از گیاهان و سرکوب عوامل بیمارگر گیاهی نیز می‌شود (۴۷).

نتیجه‌گیری کلی

بهره‌گیری از محیط کشت‌های مختلف می‌تواند در جداسازی اکتینوباکتری‌ها تأثیر بسیار زیادی داشته باشد. در این مطالعه محیط HVA کارایی بهتری نسبت به محیط SCA در جداسازی جدایه‌های اکتینوباکتری داشت. با افزایش سطح شوری در محیط، رشد جدایه‌های اکتینوباکتری کاهش یافت. همه جدایه‌ها توانایی تولید ترکیبات ایندولی و ۹۱ درصد آن‌ها از توان آزادسازی فسفر برخوردار بودند. گرچه جدایه‌های اکتینوباکتری از توان حل‌کنندگی سیلیکات برخوردار بودند ولی فراوانی کم‌تری نسبت به اکتینوباکتری‌های حل‌کننده فسفات داشتند. باتوجه به توانمندی جدایه‌های اکتینوباکتری از نظر رشد در غلظت‌های بالای شوری در محیط کشت و تولید انواع متابولیت‌های محرک رشد گیاهی در این پژوهش، توصیه می‌شود عملکرد جدایه‌ها در کاهش تنش شوری و بهبود رشد و جذب عناصر غذایی در شرایط گلدانی و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گیرند تا پتانسیل آن‌ها به‌عنوان زادمایه میکروبی تأیید شود.

است؛ زیرا علاوه بر سیلیسیم، منجر به حل‌کردن پتاسیم نیز شده و در نتیجه باعث کاهش مصرف کودهای شیمیایی می‌شود. سولیزه و همکاران (۲۰۱۸) پنج جدایه باکتری را از خاک ریزوسفری برنج به دست آوردند که توان انحلال سیلیکات معدنی در محیط کشت Bunt and Rovira را داشتند (۴۱). سوکومار و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که جدایه‌های SKSSB09 و SSB029 پس از ۵ روز انکوباسیون به ترتیب قادر به حل‌کنندگی سیلیکات به میزان ۵۶۷/۲۳ و ۴۲۸/۹۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند (۱۷). در این مطالعه، مقدار آزادسازی سیلیسیم از منبع تری‌سیلیکات منیزیم ۷۹/۷۳ تا ۱۲۲/۷۹ میلی‌گرم در لیتر بود. بسیاری از گونه‌های اکتینوباکتریایی نقش مهمی در تأمین نیتروژن برای خاک و گیاهان دارند. وانگ و همکاران (۲۰۱۷) بیان داشتند که جدایه *Streptomyces chartreusis* WZS021 بسیار مؤثری دارای توان افزایش محتوای نیتروژنی موجود در اندام هوایی و ریشه گیاه نیشکر بوده است (۴۵). در این پژوهش ۴۵ درصد از جدایه‌های اکتینوباکتری توان تولید آمونیاک داشتند که سه جدایه GP91، GP67، GP20 توانایی بالایی در تولید آمونیاک را از خود نشان دادند. آنزیم‌های کیتیناز، پروتئاز، سلولاز از تجزیه‌کننده‌های دیواره سلولی مخمرها و قارچ‌ها هستند که می‌توانند منجر به کنترل زیستی عوامل بیماری‌زا شوند. علاوه بر این آنزیم‌های پروتئاز و سلولاز در تجزیه مواد آلی، حاصلخیزی و چرخه نیتروژن خاک از اهمیت قابل‌توجهی برخوردار هستند (۴۶). در مطالعه حاضر ۵۰ درصد از جدایه‌ها توانایی تولید آنزیم سلولاز و ۱۳ درصد جدایه‌ها توانایی تولید آنزیم پروتئاز داشتند. میکروارگانسیم‌هایی که دارای توان تولید آنزیم‌های کیتیناز، سلولاز و پروتئاز

منابع

1. Etesami, H., & Glick, B. R. (2020). Halotolerant plant growth-promoting bacteria: Prospects for alleviating salinity stress in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104124. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104124.
2. Saiz-Rubio, V., & Rovira-Más, F. (2020). From Smart Farming towards Agriculture 5.0: A Review on Crop Data Management. *Agronomy*, 10(2), Article 2. doi:10.3390/agronomy10020207.
3. Dewi, E. S., Abdulai, I., Bracho-Mujica, G., & Rötter, R. P. (2022). Salinity constraints for small-scale agriculture and impact on adaptation in North Aceh, Indonesia. *Agronomy*, 12(2), Article 2. doi:10.3390/agronomy12020341.
4. Yang, C., Lv, D., Jiang, S., Lin, H., Sun, J., Li, K., & Sun, J. (2021). Soil salinity regulation of soil microbial carbon metabolic function in the Yellow River Delta, China. *Science of The Total Environment*, 790, 148258. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148258.
5. Olaniyan, O. T., & Adetunji, C. O. (2021). Biochemical role of beneficial microorganisms: An overview on recent development in environmental and agro science. In C. O. Adetunji, D. G. Panpatte, & Y. K. Jhala (Eds.), *Microbial Rejuvenation of Polluted Environment: Volume 3* (pp. 21-33). Springer. doi:10.1007/978-981-15-7459-7_2.
6. Verma, Dr. P., Yadav, A. N., Kazy, S., Saxena, A., & Suman, A. (2014). Evaluating the diversity and phylogeny of plant growth promoting bacteria associated with wheat (*Triticum aestivum*) growing in central zone of India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3, 432-447.
7. Kaari, M., Manikkam, R., Annamalai, K. K., & Joseph, J. (2023). Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bio-organic agriculture. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2), 1xac047. doi:10.1093/jambio/1xac047.
8. Singh, R., & Dubey, A. K. (2018). Diversity and applications of endophytic actinobacteria of plants in special and other ecological niches. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01767.
9. Sharma, P., Aswini, K., Sai Prasad, J., Kumar, N., Pathak, D., Gond, S., Venkadasamy, G., & Suman, A. (2023). Characterization of actinobacteria from wheat seeds for plant growth promoting traits and protection against fungal pathogens. *Journal of Basic Microbiology*, 63(3-4), 439-453. doi:10.1002/jobm.202200259.
10. Sathya, A., Vijayabharathi, R., & Gopalakrishnan, S. (2017). Plant growth-promoting actinobacteria: A new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *3 Biotech*, 7(2), 102. doi:10.1007/s13205-017-0736-3.
11. Mahmood, A., Kataoka, R., Turgay, O. C., & Yaprak, A. E. (2019). Halophytic microbiome in ameliorating the stress. In M. Hasanuzzaman, K. Nahar, & M. Öztürk (Eds.), *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes* (pp. 171-194). Springer. doi:10.1007/978-981-13-3762-8_8.
12. Fang, B. Z., Salam, N., Han, M. X., Jiao, J. Y., Cheng, J., Wei, D. Q., Xiao, M., & Li, W. J. (2017). Insights on the effects of heat pretreatment, pH, and calcium salts on isolation of rare actinobacteria from Karstic Caves. *Frontiers in Microbiology*, 8. doi:10.3389/fmicb.2017.01535.
13. Wahyudi, A., Priyanto, J., Afrista, R., Kurniati, D., & Astuti, R. (2019). plant growth promoting activity of actinomycetes isolated from soybean rhizosphere. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19, 1-8. doi:10.3844/ojbsci.2019.1.8.
14. Djebaili, R., Pellegrini, M., Rossi, M., Forni, C., Smati, M., Del Gallo, M., & Kitouni, M. (2021). Characterization of plant growth-promoting traits and inoculation effects on *Triticum durum* of actinomycetes isolates under salt stress conditions. *Soil Systems*, 5(2), Article 2. doi:10.3390/soilsystems5020026.

15. Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192–195. **doi:10.1104/pp.26.1.192.**
16. Hanson, W. C. (1950). The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanadomolybdate complex. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1(6), 172-173. **doi:10.1002/jsfa.2740010604.**
17. Sukumar, K., Swarnabala, G., & Gangatharan, M. (2023). Experimental studies on isolation and characterization of silicate solubilizing *Bacillus tequilensis* SKSSB09. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(4), 135-140. **doi:10.7324/JABB.2023.119115.**
18. Arora, N. K., & Verma, M. (2017). Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *3 Biotech*, 7(6), 381. **doi:10.1007/s13205-017-1008-y.**
19. Miller, D. N., Bryant, J. E., Madsen, E. L., & Ghiorse, W. C. (1999). Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4715–4724. **doi:10.1128/AEM.65.11.4715-4724.1999.**
20. Li, L., Mohamad, O. A. A., Ma, J., Friel, A. D., Su, Y., Wang, Y., Musa, Z., Liu, Y., Hedlund, B. P., & Li, W. (2018). Synergistic plant–microbe interactions between endophytic bacterial communities and the medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis* F. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111(10), 1735-1748. **doi:10.1007/s10482-018-1062-4.**
21. Mohamad, O. A. A., Liu, Y. H., Li, L., Ma, J. B., Huang, Y., Gao, L., Fang, B. Z., Wang, S., El-Baz, A. F., Jiang, H. C., & Li, W. J. (2022). Synergistic plant-microbe interactions between endophytic actinobacteria and their role in plant growth promotion and biological control of cotton under salt stress. *Microorganisms*, 10(5), Article 5. **doi:10.3390/microorganisms10050867.**
22. Subramani, R., & Aalbersberg, W. (2013). Culturable rare actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(21), 9291-9321. **doi:10.1007/s00253-013-5229-7.**
23. Vo, Q. A. T., Ballard, R. A., Barnett, S. J., & Franco, C. M. M. (2021). Isolation and characterisation of endophytic actinobacteria and their effect on the growth and nodulation of chickpea (*Cicer arietinum*). *Plant and Soil*, 466(1), 357-371. **doi:10.1007/s11104-021-05008-6.**
24. Mathew, B. T., Torkey, Y., Amin, A., Mourad, A. H. I., Ayyash, M. M., El-Keblawy, A., Hilal-Alnaqbi, A., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2020). Halotolerant marine rhizosphere-competent actinobacteria promote *Salicornia bigelovii* growth and seed production using seawater irrigation. *Frontiers in Microbiology*, 11. **doi:10.3389/fmicb.2020.00552.**
25. Mao, X., Yang, Y., Guan, P., Geng, L., Ma, L., Di, H., Liu, W., & Li, B. (2022). Remediation of organic amendments on soil salinization: Focusing on the relationship between soil salts and microbial communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 239, 113616. **doi:10.1016/j.ecoenv.2022.113616.**
26. Gao, Y., Han, Y., Li, X., Li, M., Wang, C., Li, Z., Wang, Y., & Wang, W. (2022). A Salt-tolerant D2-8 from rhizosphere soil of augments soybean tolerance to soda saline-alkali Stress. *Polish Journal of Microbiology*, 71(1), 43-53. **https://doi.org/10.33073/pjm-2022-006.**
27. Nazari, M. T., Schommer, V. A., Braun, J. C. A., dos Santos, L. F., Lopes, S. T., Simon, V., Machado, B. S., Ferrari, V., Colla, L. M., & Piccin, J. S. (2023). Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents. *Rhizosphere*, 27, 100741. **doi:10.1016/j.rhisph.2023.100741.**
28. Guignard, M. S., Leitch, A. R., Acquisti, C., Eizaguirre, C., Elser, J. J., Hessen, D. O., Jeyasingh, P. D., Neiman, M., Richardson, A. E., Soltis, P. S., Soltis,

- D. E., Stevens, C. J., Trimmer, M., Weider, L. J., Woodward, G., & Leitch, I. J. (2017). Impacts of nitrogen and phosphorus: From genomes to natural ecosystems and agriculture. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5. doi:10.3389/fevo.2017.00070.
29. Timofeeva, A., Galyamova, M., & Sedykh, S. (2022). Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture. *Plants*, 11(16), Article 16. doi:10.3390/plants11162119.
30. Yadav, A. N., Sharma, D., Gulati, S., Singh, S., Dey, R., Pal, K. K., Kaushik, R., & Saxena, A. K. (2015). Haloarchaea endowed with phosphorus solubilization attribute implicated in phosphorus cycle. *Scientific Reports*, 5(1), 12293. doi:10.1038/srep12293.
31. Ghorbani Nasrabadi, R., Greiner, R., Mayer-miebach, E., & Menezes-Blackburn, D. (2023). Phosphate solubilizing and phytate degrading *Streptomyces* isolates stimulate the growth and P accumulation of maize (*Zea mays*) fertilized with different phosphorus sources. *Geomicrobiology Journal*, 40(4), 325-336. doi:10.1080/01490451.2023.2168799.
32. Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1154-1164. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05417.x.
33. Nandimath, A. P., Karad, D. D., Gupta, S. G., & Kharat, A. S. (2017). Consortium inoculum of five thermo-tolerant phosphate solubilizing actinomycetes for multipurpose biofertilizer preparation. *Iranian Journal of Microbiology*, 9(5), 295-304.
34. 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.
35. Abdallah, M. E., Haroun, S. A., Gomah, A. A., El-Naggar, N. E., & Badr, H. H. (2013). Application of actinomycetes as biocontrol agents in the management of onion bacterial rot diseases. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(15), 1797-1808. doi:10.1080/03235408.2013.778451.
36. Ganesh, J., Hewitt, K., Devkota, A. R., Wilson, T., & Kaundal, A. (2024). IAA-producing plant growth promoting rhizobacteria from *Ceanothus velutinus* enhance cutting propagation efficiency and Arabidopsis biomass. *Frontiers in Plant Science*, 15. doi:10.3389/fpls.2024.1374877.
37. Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: Drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*, 66(1), 35-42. doi:10.1007/s13213-015-1112-3.
38. Khan, A., Singh, P., & Srivastava, A. (2018). Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – Siderophore: A review. *Microbiological Research*, 212-213, 103-111. doi:10.1016/j.micres.2017.10.012.
39. Zhu, Y. X., Gong, H. J., & Yin, J. L. (2019). Role of silicon in mediating salt tolerance in plants: A review. *Plants*, 8(6), Article 6. doi:10.3390/plants8060147.
40. Cruz, J. A., Tubana, B. S., Fultz, L. M., Dalen, M. S., & Ham, J. H. (2022). Identification and profiling of silicate-solubilizing bacteria for plant growth-promoting traits and rhizosphere competence. *Rhizosphere*, 23, 100566. doi:10.1016/j.rhisph.2022.100566.
41. Sulizah, A., Rahayu, Y. S., & Dewi, S. K. 2018. Isolation and characterization of silicate solubilizing bacteria from paddy rhizosphere (*Oryza sativa* L.). *Journal of Physicid: Conference Series*. 1108, 1-6. doi:10.1088/1742-6596/1108/1/012046.
42. Janardhan, S.R. 2014. Studies on silicon solubilising bacteria in rice. M.Sc. (Ag) thesis, Mahatma Phule Krishi Vidyapeeth, Rahuri, 83p.

43. Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2023). Plant growth-promoting soil bacteria: nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities. *Plants*, 12(24), **Article 24**. doi:10.3390/plants 12244074.
44. Afzal, I., Iqar, I., Shinwari, Z. K., & Yasmin, A. (2017). Plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from roots of wild *Dodonaea viscosa* L. *Plant Growth Regulation*, 81(3), 399-408. doi:10.1007/s10725-016-0216-5.
45. Wang, Z., Solanki, M. K., Pang, F., Singh, R. K., Yang, L. T., Li, Y. R., Li, H. B., Zhu, K., & Xing, Y. X. (2017). Identification and efficiency of a nitrogen-fixing endophytic actinobacterial strain from sugarcane. *Sugar Tech*, 19(5), 492-500. doi:10.1007/s12355-016-0498-y.
46. Brígido, C., Singh, S., Menéndez, E., Tavares, M. J., Glick, B. R., Félix, M. do R., Oliveira, S., & Carvalho, M. (2019). Diversity and Functionality of Culturable Endophytic Bacterial Communities in Chickpea Plants. *Plants*, 8(2), Article 2. doi:10.3390/plants8020042.
47. Brígido, C., Singh, S., Menéndez, E., Tavares, M. J., Glick, B. R., Félix, M. do R., Oliveira, S., & Carvalho, M. (2019). Diversity and functionality of culturable endophytic bacterial communities in chickpea Plants. *Plants*, 8 (2), Article 2. doi:10.3390/ plants 8020042.