تحقیقات آب و خاک ایران | دوره ۵۳ | شماره ۳ | خرداد ۱۴۰۱ (ص ۶۶۱-۶۳۳)

DOI:https://dx.doi.org/10.22059/ijswr.2022.337184.669182

(مقاله مروری)

Azotobacter as a Rice Plant (*Oryza sativa* L.) Growth Promoting Biofertilizer

HOSSEIN ALI ALIKHANI[1*], SHAYAN SHARIATI[1], HASSAN ETESAMI[1], ALIREZA FALLAH NOSRAT ABAD[2]

1. Department of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resource, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Soil and Water Research Institute, Agricultural Reaserch, Education and Extention Organization (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Jan. 10, 2022- Revised: Apr. 5, 2022- Accepted: Apr. 6, 2022)

ABSTRACT

Today, the use of chemical fertilizers to increase agricultural production has created many environmental problems. In addition, environmental stresses are one of the most important factors reducing crop yield and production. Given the importance of rice plants in ensuring food security nationally and globally and increasing the price of chemical fertilizers, it is necessary to find eco-friendly routes for sustainable agriculture. The use of biofertilizers is the most worthy way to reduce the use of chemical fertilizers and improve plant resistance in rice fields. *Azotobacter* has been used as a biofertilizer for over a century and has been well studied on a laboratory and field scale. *Azotobacter* have also been reported as nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere and roots (endophytically) of rice. In this study, the effect of *Azotobacter* biofertilizer as a plant growth-promoting rhizobacteria, on rice and the mechanisms of this effect were investigated. The results showed that this bacterium produces phytohormones and stimulants of plant growth and fix atmospheric nitrogen in the rhizosphere and as an endophyte in rice. In addition to nitrogen fixation, this bacterium increases plant growth indices, nutrient uptake, and grain yield of rice by dissolving insoluble phosphates, producing indole acetic acid, hydrogen cyanide, siderophore. Also, the use of *Azotobacter* inoculant in acute salinity conditions increased the concentration of proline, malondialdehyde, ACC-deaminase enzyme, and some hormones in the plant, which increased the resistance of rice to this stress. Considering the positive effect of using *Azotobacter* inoculant as a biofertilizer on rice plants and the effect of this bacterium on reducing the consumption of nitrogen fertilizers, preparation of biofertilizers containing native bacteria of *Azotobacter* and their application in rice fields is recommended.

Keywords: *Azotobacter*, Biofertilizer, Biotic and abiotic stress, Plant Growth-Promoting Bacteria, Rice.

[*]Corresponding Author's Email: halikhan@ut.ac.ir

ازتوباکتر به‌عنوان یک کود زیستی محرک رشد گیاه برنج (*Oryza sativa* L.)

حسینعلی علیخانی*[۱]، شایان شریعتی[۱]، حسن اعتصامی[۱]، علیرضا فلاح نصرت‌آباد[۲]

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۰- تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱/۱۶- تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۱/۱۷)

چکیده

امروزه مصرف کودهای شیمیایی در جهت افزایش میزان تولید در واحد سطح محصولات کشاورزی مشکلات زیست‌محیطی بسیاری ایجاد کرده است. علاوه بر این، تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد و تولید گیاهان زراعی به شمار می‌رود. با توجه به اهمیت گیاه برنج در تامین امنیت غذایی در سطح ملی و جهانی و افزایش قیمت کودهای شیمیایی، یافتن مسیرهای دوست‌دار محیط‌زیست و در راستای کشاورزی پایدار امری ضروری است. استفاده از کودهای زیستی شایسته‌ترین راه در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی و بهبود مقاومت گیاه در مزارع برنج است. *ازتوباکترها* بیش از یک قرن است که به عنوان کود زیستی استفاده می‌شوند و به خوبی در مقیاس آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مطالعه شده است. *ازتوباکترها همچنین به عنوان* باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در ریزوسفر و ریشه‌های (بصورت اندوفیت) گیاه برنج گزارش شدند. در این مطالعه، تاثیر کود زیستی *ازتوباکتر* به‌عنوان یک باکتری محرک رشد گیاه بر روی گیاه برنج و مولفه‌های عامل این اثر مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد این باکتری علاوه بر تثبیت نیتروژن، با انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید هورمون-های گیاهی مثل ایندول استیک اسید، هیدروژن سیانید، و سیدروفور موجب افزایش شاخص‌های رشد گیاه، جذب عناصر غذایی و عملکرد دانه گیاه برنج می‌گردد. همچنین استفاده از زادمایه *ازتوباکتر* در شالیزارها منجر به افزایش مقاومت گیاه برنج به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شود. با توجه به تاثیر مثبت استفاده از زادمایه باکتری *ازتوباکتر* به‌عنوان یک کود زیستی بر رشد گیاه برنج و تاثیر این باکتری بر کاهش میزان مصرف کودهای نیتروژنه و بهبود مقاومت گیاه برنج به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، تهیه کودهای زیستی حاوی باکتری‌های *ازتوباکتر* بومی و کاربرد آن در مزارع برنج توصیه می‌شود.

واژه های کلیدی: *ازتوباکتر*، باکتری‌های محرک رشد گیاه، برنج، تنش‌های زیستی و غیر زیستی، کود زیستی.

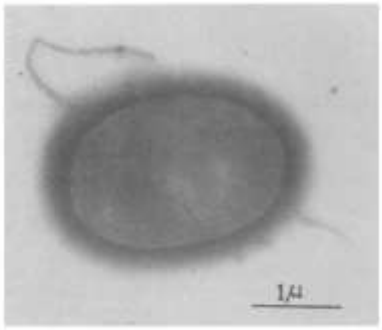
مقدمه

بدون شک تامین امنیت غذایی و حصول درجه بالای اطمینان دسترسی به غذا به حیات اقتصادی و سیاسی و در نهایت به حیات امنیتی کشور می‌انجامد، در واقع حیات امنیتی درگرو حیات امنیت غذایی است. تأمین امنیت غذایی به مشارکت کلیه بخش-های کشاورزی، اقتصادی و اجتماعی بستگی دارد، در عین حال بخش کشاورزی با افزایش و بهبود کیفیت تولید محصولات غذایی، نقش اساسی و تعیین‌کننده‌ای را در تحقق این امر مهم بر عهده دارد (Peng & Berry, 2019). برنج (Oryza sativa L.) یکی از محصولات غذایی اصلی جامعه بشری است که در حدود ۵۰ درصد جمعیت جهان و ۸۵ درصد جمعیت آسیا از آن استفاده می‌کنند (Sahoo *et al*., 2014; Muthayya *et al*., 2014). نیتروژن یکی از مهمترین عناصر پرمصرف و محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی بویژه در مزارع برنج می‌باشد. این عنصر نقش مهمی در فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه دارد و یکی از اجزای اصلی ساختار اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌های ذخیره‌ای، آنزیم‌ها، کلروفیل، دیواره سلولی و سایر اجزای سلولی گیاه است. در مزارع برنج تامین نیتروژن برای افزایش میزان تولید در واحد سطح با کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی انجام می‌شود (Sumbol *et al*., 2020; Banik *et al*., 2019). اگرچه کودهای شیمیایی نیتروژنه راحت‌ترین راه برای افزایش میزان نیاز نیتروژن گیاه است ولی هزینه بالا و آلودگی زیست‌محیطی ناشی از مصرف این کودها در

* نویسنده مسئول: halikhan@ut.ac.ir

شالیزارها موجب نگرانی جامعه جهانی شده است (Sumbol et al., 2020; Alikhani et al., 2021). همچنین استفاده بیش از اندازه کودهای نیتروژنه موجب کاهش عملکرد و کیفیت دانه برنج می‌شود (Deng et al., 2014). علاوه بر این، کارایی کودهای شیمیایی نیتروژنه در مزارع برنج به دلایل متعدد و بویژه تصعید در شرایط بی‌هوازی (بروز پدیده دنیتریفیکاسیون) و آبشویی، کمتر از ۴۰ درصد است (Qi et al., 2020; Zhao et al., 2016; Zheng et al., 2020). علاوه بر این، تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش دهنده عملکرد و تولید گیاهان زراعی از جمله برنج به شمار می‌رود (Liu et al., 2021). کاربرد کودهای زیستی یکی از اصلی‌ترین جنبه‌های مدیریت تلفیقی گیاهان زراعی در نظام‌های کشاورزی پایدار محسوب می‌شود (Shariati et al., 2019; Dal Cortivo et al., 2020; Alikhani et al., 2021). کودهای زیستی بر پایه باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[1]) با تاثیر مستقیم و غیر مستقیم بر روابط آب-خاک-گیاه- اتسمفر بویژه تثبیت زیستی نیتروژن (BNF[2])، انحلال مواد نامحلول و فراهمی فسفر، آزادسازی پتاسیم، افزایش دسترسی عناصر غذایی، تولید سیدروفور، ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید دآمیناز (ACC-deaminase) و سانید هیدروژن (HCN)، افزایش مقاومت به تنش‌های شوری، خشکی، دمای نامناسب محیط (گرما و برودت بالا)، فلزات سنگین و غیره موجب بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (Lalitha et al., 2017; Cavite et al., 2021; Dal Cortivo et al., 2020). به‌طور کلی افزایش عملکرد گیاهان زراعی در اثر استفاده از کودهای زیستی توسط بسیاری از محققین به اثبات رسیده است (Alikhani et al., 2018; Shariati et al., 2019, Shariati et al., 2015; Kour et al., 2020). BNF، فرآیند طبیعی و منحصر بفردی است که تنها توسط پروکاریوت‌ها (باکتری‌ها و آرکئا) انجام‌پذیر است. باکتری‌های دارای این توانمندی اصطلاحا" دی آزوتروف۳ نامیده شده‌اند. این باکتری‌ها در سه حالت آزادزی۴، همیاری۵ و یا همزیستی۶ (با یک عضو همزیست دیگر)، نیتروژن اتمسفری/ ملکولی (N2) که گیاهان قادر به جذب و استفاده آن نیستند را با صرف انرژی فرآوان (بیش از فتوسنتز) به‌شکل قابل جذب گیاهان (NH_4) تبدیل می‌کنند (Sumbol et al., 2020). یکی از باکتری‌های معروف از گروه PGPR و تثبیت کننده آزادزی نیتروژن، جنس ازتوباکتر با طیفی از گونه‌های متفاوت است (Wani and Gopalakrishnan, 2019; Sumbol et al., 2020).

این باکتری ابتدا در سال ۱۹۰۱ توسط بیجرینک شناسایی شد. این باکتری‌ها گرم منفی، هوازی، متحرک و با سلول‌های نسبتاً درشت با قطر متوسط ۱/۵ تا ۲ میکرون می‌باشند که دارای حالت چند شکلی میله‌ای، بیضی شکل یا کروی بوده و به صورت منفرد، زوج یا دسته‌های نامنظم، گاهی به صورت زنجیرهای با طول‌های مختلف مشاهده می‌شوند (شکل ۱ و ۲). ازتوباکترها فاقد توان اسپورزایی می‌باشند اما تشکیل سیست۷ یکی از مشخصات مهم این باکتری‌ها است. سیست فرم مقاوم باکتری در برابر شرایط نامساعد محیطی مانند گرما و خشکی می‌باشند. این باکتری از انواع شیمیوارگانوتروف بوده و می‌تواند از قندها، الکل‌ها و نمک اسیدهای آلی برای رشد و تکثیر استفاده کند. جنس ازتوباکتر متعلق به زیر رده γ-Proteobacteria بوده و شامل گونه‌های A. ،A. beijerinckii ،Azotobacter. armeniacus A. ،A. salinestri ،A. paspali ،A. nigricans ،chroococcum tropicalis و A. vinelandii است (Jiménez et al. 2011; Özen and Ussery, 2012). گونه‌های ازتوباکتر ممکن است غیرمتحرک یا توسط تاژک‌های پیرامونی متحرک باشند. گونه غالب مناطق معتدله همانند ایران گونه کروکوکوم است (Sumbul et al., 2020; Jnawali et al., 2015).

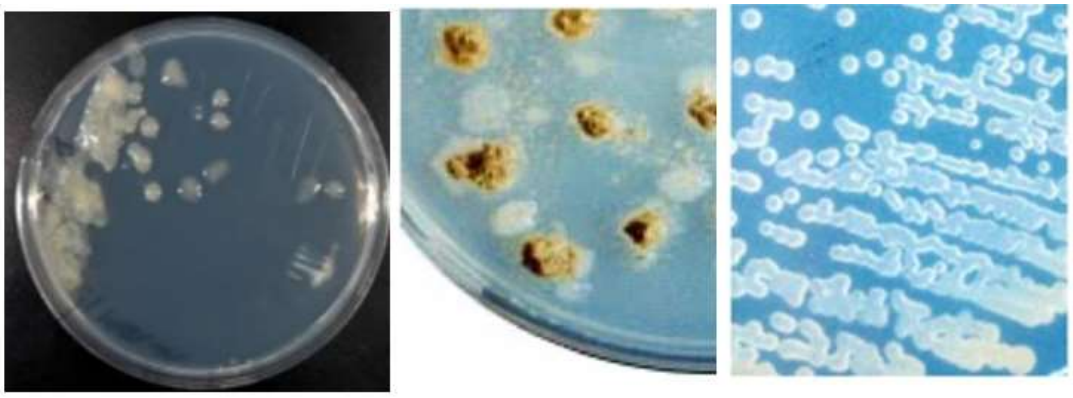


شکل ۱- میکروگراف الکترونی باکتری *A. vinelandii* ATCC 13705 (Das, 2019)

تحقیقات گسترده مبتنی بر استفاده از *ازتوباکتر* در کشاورزی برای اولین بار در کشور روسیه آغاز شد به طوری‌که در سال ۱۹۵۸ تا ۱۹۶۰ در اتحاد جماهیر شوروی سابق ۲۳ آزمون مزرعه‌ای بر روی محصولات مختلف صورت گرفت و ۸ مزرعه تلقیح شده با *ازتوباکتر* جواب مثبت دادند. در هندوستان نیز تحقیقاتی بر روی اثر *ازتوباکتر* بر رشد و عملکرد گیاه گندم، برنج، ذرت، پیاز، بادمجان، گوجه فرنگی و کلم انجام شده است که نتایج مثبتی به ویژه در برنج، کلم، بادمجان و گندم داشته است (Suba Rao, 1988). باکتری *ازتوباکتر* علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن

[1]- Plant Growth Promoting Rhizobacteria:PGPR
[2]- Biological Nitrogen Fixation: BNF
[3]- Diazotrophe
[4]- Free-Living
[5]- Association
[6]- Symbiosis
[7]- Cyst

مولکولی، قادر است موجب افزایش دسترسی عناصر غذایی از جمله فسفر شود (Lenart et al., 2012; Prajapati et al., 2008; Nosrati et al., 2014). تولید سیدروفور توسط گونه‌های مختلف جنس *ازتوباکتر* نیز به اثبات رسیده است (Baars et al., 2015; McRose et al., 2018). همچنین این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاهی مانند جیبرلین، اکسین و سیتوکنین (Wani et al., 2013) موجب بهبود شرایط تغذیه و رشد گیاه می‌شود (Jnawali et al., 2015, Sumbol et al., 2020). بعلاوه، این باکتری‌ها مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زیستی مثل شوری را افزایش می‌دهند (Ansari and Mahmood 2019ab). در ضمن، این باکتری‌ها دارای خاصیت کنترل زیستی (Bio-control) بوده و قادر به تولید ترکیبات ضد قارچی برعلیه عوامل بیمارگر گیاهی می‌باشند که در نهایت سبب افزایش سطح سلامت و بهبود رشد گیاهی می‌گردد (Kasa et al., 2015; Chennappa et al., 2018). مطالعات نشان داده که بسیاری از جدایه‌های جنس *ازتوباکتر* توانایی تولید دیگر مواد محرک رشد از جمله اسیدهای آمینه در محیط حاوی منابع کربن کافی را دارند، که این مواد می‌توانند توسط گیاه جذب شده و موجب افزایش رشد و عملکرد آن گردند (Gonzalez-Lopez et al., 2005; Jnawali et al., 2015). پژوهش‌های انجام شده در مورد تاثیر معنی‌دار گونه‌های *ازتوباکتر* در افزایش تولید محصولات، اهمیت آن را در ارتقاء عملکرد گیاهان و بهبود حاصلخیزی خاک ثابت کرده است (Kurrey et al., 2018; Sumbul et al., 2020; Song et al., 2021). استفاده از *ازتوباکتر* در آزمایشات پژوهشی به عنوان زادمایه (مایه تلقیح) میکروبی از طریق ترشح مواد محرک رشد و تاثیر آنها بر گیاه باعث بهبود قابل ملاحظه تولید محصولات زراعی شده است (Gothandapani et al., 2017). با توجه به گزارشات موجود در خصوص اهمیت کاربرد کود زیستی (باکتریایی) *ازتوباکتر* به عنوان یکی از باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن و محرک رشد گیاه، در این مقاله تلاش شده است تاثیر این باکتری بر رشد و عملکرد گیاه برنج مورد بررسی قرار گیرد.



شکل ۲- تصویر کلونی باکتری *ازتوباکتر* (Aquilanti et al., 2004; Shrivastava et al., 2015)

نتایج

تنوع زیستی *ازتوباکتر*

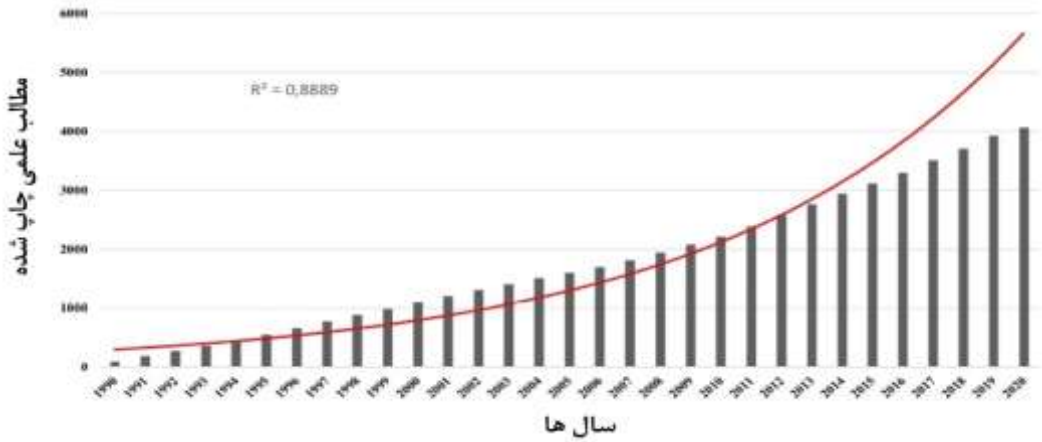
گونه ازتوباکتر برای اولین بار توسط بیجرینک[1] در سال ۱۹۰۱ جداسازی و شناسایی شد. سپس گونه‌های مختلفی از این باکتری شامل Azotobacter vinelandii، A. beijerinckii، A. insignis، A. macrocytogenes، A. paspali، A. chroococcum، A. agilis، A. brasilense، A. armeniacus، A. salinestris، A. tropicalis و A. nigricans توسط محققین مختلف جداسازی و شناسایی شد (Kizilkaya, 2009; Chennappa, et al., 2017). همچنین مطالعات بسیاری در علوم و زمینه‌های مختلف در مورد ازتوباکتر به چاپ رسیده است (شکل ۳ و ۴). ازتوباکترها در همه قسمت‌های طبیعت (آب، خاک، رسوب و گیاه) هستند. گونه‌های ازتوباکتر معمولاً در خاک‌های کمی اسیدی تا قلیایی یافت می شوند، که نوع منطقه و شرایط خاک بر حضور و وجود گونه‌های مختلف موثر است (Aasfar et al., 2021). به‌عنوان مثال، گونه‌های Azotobacter chroococcum و Azotobacter vinelandii در مناطق استوایی بیشترین فراوانی را دارند در حالی که گونه Azotobacter beijerinckii در خاک‌های اسیدی (Kennedy et al., 2015). با این حال، تنها گونه Azotobacter paspali است که به‌طور خاص به ریشه‌های گیاه Paspalum notatum وابسته است. اگرچه ازتوباکترها در ۳۰ تا ۸۰ درصد نمونه‌های خاک در سطح جهان یافت شده‌اند ولی تعداد آنها در خاک کم است (۱۰۴ > CFU۲/g) (Kennedy et al., 2004). تائید در مورد اینکه آیا Azotobacter یک باکتری ریزوسفری یا غیر ریزوسفری است

[1] - Beijerinck

[2] - Colony Forming Unite

هنوز مورد بحث است (Aasfar et al., 2021). با این حال، بر اساس اکثر پژوهش‌های صورت گرفته، رواج یا گستردگی ازتوباکتر به‌طور کلی در ریزوسفر در مقایسه با مکان‌های دیگر بیشتر نیست (Bartholomew, 2015). با این وجود، تراکم برخی از گونه‌های خاصی از ازتوباکتر در ریزوسفر گیاهان بالاتر از خاک است. این امر با این واقعیت مطابقت دارد که گونه‌های ازتوباکتر در خاک‌های حاصلخیز نسبت به خاک‌های شنی به دلیل نیاز نسبتا بالای آنها به فسفر، بیشتر یافت می‌شوند (Brenner et al., 2005). برخی از پژوهش‌ها نشان داده که جمعیت گونه ازتوباکتر در محیط ریزوسفر گیاهات ذرت و درختچه عسل[1] کمتر از خاک بوده است (Hassen et al., 2020; Qaisrani et al., 2019). همچنین طبق مطالعه Rana et al. (2020)، شواهد محکمی در زمینه توانایی گونه‌های باکتری ازتوباکتر در کلونیزه کردن بافت‌های درونی گیاهان وجود ندارد، حتی با وجود اینکه از نظر تئوری، میکروب-های اندوفیت بدلیل کم بودن فشار اکسیژن در بافت‌های درونی گیاه در مقایسه ریزوسفر یا سایر بخش‌های خاک، مقدار بیشتری از نیتروژن اتمسفر را تثبیت می‌کنند.

به دلیل فعالیت محرک رشدی این باکتری‌ها در جهت کشاورزی پایدار، تنوع و کاربردهای مفید این باکتری‌ها در اکوسیستم‌های مختلف طی دو دهه گذشته به خوبی مستند شده است (Jimenez et al., 2011). در بین گونه‌های مختلف، *A. chroococcum* و *A. vinelandii* گونه‌های رایج و معمول موجود در ریزوسفر خاک‌ها هستند. پراکنش *ازتوباکترها* در خاک به عوامل مختلفی مانند pH، مقدار ماده آلی، کلسیم و فسفر و حضور سایر ریزجانداران بستگی دارد. وجود و غالب بودن *ازتوباکتر* در خاک‌های ریزوسفری محصولات مختلف کشاورزی مانند راگی، سورگوم، گرم سبز و سویا، نیشکر، برنج و غلات اثبات شده است (Chennappa et al., 2017). در پژوهش Chen et al. (2018) ارتباط بین خصوصیات خاک و تنوع گونه‌های *ازتوباکتر* در خاک تحت کشت برنج در کشور تایوان بررسی قرار گرفت. این محققین تعداد ۹۸ سویه *ازتوباکتر* (شناسایی شده به روش 16S rRNA) را از ۲۷ شالیزار جداسازی کردند. این سویه‌ها از شالیزارهایی با محدوده pH ۷/۶۳-۴/۸۲ (۶/۰۶)، هدایت الکتریکی ۱/۱۳-۰/۳۲ (۰/۷۲) دسی زیمنس بر متر، ماده آلی ۶/۶۷-۱/۷۷ (۳/۴۴) درصد، آهن قابل جذب ۱۱۳۲-۰/۴۷ (۶۷۰) میلی‌گرم بر کیلوگرم، منگنز قابل جذب ۲۰۹-۴/۱۵ (۶۰/۹) میلی‌گرم بر کیلوگرم، روی قابل جذب ۲۶/۳-۰/۰۲ (۵/۸۶) میلی‌گرم بر کیلوگرم و مس قابل جذب ۱۹/۵-۰/۱۳ (۶/۵۵) میلی‌گرم بر کیلوگرم جداسازی شدند. چهار گونه *ازتوباکتر* در این ۹۸ سویه، شامل *A. beijerinckii*، *A. chroococcum*، *A. tropicalis* و *A. vinelandii* شناسایی شد. از این چهار گونه، *A. chroococcum* گونه غالب بود (۵۱ درصد) اما *A. beijerinckii* بالاترین سطح تنوع نوکلئوتیدی را داشت. سویه‌های موجود در گونه‌های *آزتوباکتر*، پروفایل‌های متنوعی را در استفاده از منبع کربن نشان دادند. همچنین تنوع گونه‌ای *ازتوباکتر* با pH، منگنز و روی خاک ارتباط معنی‌داری داشت. همچنین اعضای یک گونه *ازتوباکتر* صفات متنوعی برای تقویت رشد گیاه داشتند که نشان می‌دهد ۹۸ سویه جدا شده در این مطالعه ممکن است به یک اندازه در رشد برنج موثر نباشند.



شکل ۳- رشد تصاعدی در تعداد انتشارات علمی مرتبط با *Azotobacter* از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۲۰ با استفاده از *Azotobacter* به عنوان کلمه کلیدی از scopus (Aasfar et al., 2021) (https://www.scopus.com)

[1] - *Cyclopia intermedia* (Honeybush)

شکل ۴- فراوانی و توزیع موضوعی مطالب موجود در مورد *Azotobacter* (https://www.scopus.com) (Aasfar et al., 2021)

مقاومت *ازتوباکتر* در برابر تنش‌ها

جمعیت ازتوباکترها در اکوسیستم خاک تحت تأثیر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی خاک مانند مواد آلی، pH، دما، عمق خاک، رطوبت خاک و شوری خاک قرار می‌گیرد (Kizilkaya, 2009). غلظت NaCl بر فعالیت‌های محرک رشدی ازتوباکتر و به‌طور عمده تثبیت زیستی نیتروژن در خاک تأثیر می‌گذارد. با این حال، برخی از گونه‌های ازتوباکتر، تا ۱۰ درصد غلظت نمک NaCl را تحمل می‌کنند. نتایج نشان داد که Azotobacter salinestris توانست غلظت ۸ درصد NaCl را تحمل کند اگرچه جمعیت باکتری نسبت به شرایط شوری کمتر کاهش یافت. در مورد پاسخ به دماهای مختلف، ازتوباکتر یک ریزجاندار مزوفیل است که دمای بهینه برای رشد و عملکرد فیزیولوژیک آن ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس است. حداقل درجه حرارت برای رشد ازتوباکتر ظاهراً کمی بالاتر از صفر درجه سلسیوس است. سلول‌های ازتوباکتر نمی توانند دمای بالا را تحمل کنند، اگرچه می‌توانند با تشکیل سیست‌هایی که در شرایط مساعد جوانه می‌زنند در دمای ۴۵ تا ۴۸ درجه سلسیوس زنده بمانند (Aasfar et al., 2021).

علاوه بر شوری و دما، pH نیز بر جمعیت ازتوباکترها در اکوسیستم خاک تاثیرگذار است. به‌طور کلی pH کمتر از ۶ باعث کاهش جمعیت ازتوباکتر شده و در برخی موارد به‌طور کامل از رشد آنها جلوگیری می‌کند. خاک‌های اسیدی دارای خصوصیات نامطلوبی مانند خاک‌های فقیر از عناصر غذایی و رژیم آب و هوایی نامناسب هستند، به‌طوری که حضور ازتوباکتر در این خاک‌ها بسیار کم یا حتی وجود ندارد (Andjelkovi´c et al., 2018). pH بهینه برای رشد و عملکرد مطلوب ازتوباکتر ۷/۵-۷ است. در این pH جمعیت ازتوباکترها در حدود ۱۰۴-۱۰۲ باکتری به ازای هر گرم خاک است (Becking, 2006). همچنین نتایج نشان داد، A. chroococcum در pH ۹ زنده ماند و رشد آن در مقادیر pH بالاتر مهار نشد، در حالی که A. salinestris به pH بالای ۹ حساس بود و رشدی بالاتر از این محدوده مشاهده نشد (Aasfar et al., 2021).

گونه‌های ازتوباکتر دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی مانند تشکیل سیست هستند. تشکیل سیست‌ها به طور طبیعی در مواجهه با شرایط نامساعد و شدید مانند دمای بالا یا پایین، یخبندان، شوری و خشکسالی ایجاد می‌شود. تشکیل کیست همچنین در پاسخ به تغییرات در غلظت مواد مغذی در محیط یا افزودن برخی مواد آلی مانند اتانول، n-butan-1-ol یا b-hydroxybutyrate ایجاد می‌شود. سیست‌های ازتوباکتر کروی هستند و از بدنه موسوم به "بدن مرکزی۱"، حاوی سلول‌های رویشی با چندین واکوئل و یک "پوسته دو لایه۲" تشکیل شده اند. قسمت داخلی پوسته دارای ساختار فیبری به نام اینتین۳ بوده، در حالی که قسمت بیرونی دارای ساختار کریستالی شش

1 - Central Body
2 - Two-layer shell.”
3 - Intine

ضلعی به نام اگزین۱ است. گرانول‌های متعدد پلی هیدروکسی بوتیرات همیشه در داخل بدن مرکزی مشاهده می‌شوند، آلژینات جزء اصلی کپسول است و آلکیل رزورسینول‌ها۲ (یک لیپید فنلی) و آلکیل پیرون‌ها۳ جایگزین فسفولیپیدهای غشای کیست می‌شوند و اجزای تشکیل دهنده غشاهای بیرونی سیست هستند (Segura et al., 2014; Lara-López and Geiger, 2017). یکی از ویژگی های اصلی سیست توانایی آن در مقاومت در برابر خشک شدن است و می‌تواند در خاک خشک بیش از ۱۰ سال زنده بماند در حالی که سلول‌های رویشی نگهداری شده در شرایط مشابه در کمتر از ۲ سال غیرفعال شدند. به ویژه، آنها دو برابر بیشتر در برابر نور UV مقاوم هستند. آنها همچنین در برابر خشک شدن، امواج فراصوت و تابش گاما و اشعه خورشید مقاوم هستند، اما در برابر حرارت مقاوم نمی‌باشند (۴۵-۴۸ درجه سلسیوس). همچنین استفاده از سیست‌های ازتوباکتر در تولید کودهای زیستی، ماندگاری و کارایی کود زیستی را افزایش می‌دهد (Aasfar et al., 2021).

ویژگی‌های محرک رشد گیاه *ازتوباکتر*

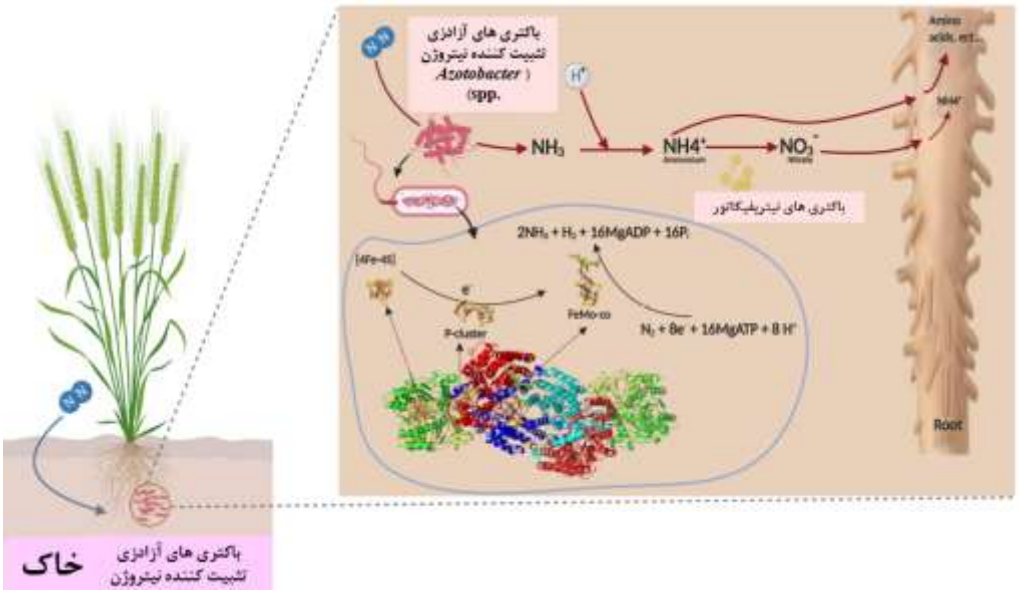
باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) در میان تمام میکروارگانیسم‌ها، تاثیر بیشتری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ساختاری خاک دارند و به عنوان شناخته‌شده‌ترین گونه باکتریایی محسوب می‌شوند. باکتری‌های محرک رشد گیاه با تثبیت نیتروژن اتمسفر و تولید مواد محرک رشد، به جایگزینی کود شیمیایی در جهت نیل به کشاورزی پایدار کمک می‌کنند. در میان گروه PGPR، *ازتوباکترها* باکتری‌های همه‌جایی، هوازی و تثبیت‌کننده آزادزی نیتروژن هستند. *ازتوباکتر* که یکی از گروه‌های اصلی باکتری‌های خاکزی است، با تولید انواع مختلفی از ویتامین‌ها، آمینو اسیدها، هورمون‌های محرک رشد گیاهی، مواد ضد قارچی، هیدروژن سیانید و سیدروفور، نقش‌های مفید مختلفی ایفا می‌کند. مواد محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، جیبرلیک اسید، آرژینین و غیره که توسط گونه‌های مختلف *ازتوباکتر* تولید می‌شوند، تاثیر مستقیمی بر طول ساقه، طول ریشه و جوانه زنی بذر محصولات کشاورزی (ریزوسفر خاک) دارند. برخی از گونه‌های *ازتوباکترها* مانند *A. vinelandii, A. chroococcum, A. salinestris, A. tropicalis, and A. nigricans,* با تولید ترکیبات ضد میکروبی مانع رشد بیمارگرهای گیاهی مانند گونه‌های *Fusarium*، *Aspergillus*، *Alternaria*، *Curvularia* و *Rhizoctonia* می‌شوند. *ازتوباکترها* در تثبیت مقدار زیادی از نیتروژن اتمسفر (۲۹/۲۱ $\mu g\ NmL^{-1}\ day^{-1}$)، تولید اندول استیک اسید (۲۴/۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و جیبرلیک اسید (۱۵/۲ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و فعالیت انحلال فسفات‌های نامحلول (۱۳/۴ میلی‌متر) موثر هستند. *ازتوباکترها* می‌توانند در شرایط بسیار سخت محیطی مانند غلظت بالای نمک، pH بالا و حتی دمای زیاد رشد کرده و زنده بمانند. پژوهش‌ها نشان داده، *ازتوباکترها* می‌توانند به شوری ۶ تا ۸ درصد، pH ۹-۸ و حداکثر دمای ۴۵ درجه سلسیوس مقاوم هستند (Myresiotis et al., 2012; Chennappa et al., 2017, 2018). کاربرد این باکتری‌ها به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه در شالیزارها و کشت برنج به اثبات رسیده است (Ngalimat et al., 2021; Doni et al., 2022). Chen et al. (2018) گزارش کردند کاربرد زادمایه باکتری‌های محرک رشد گیاه (تولید اندول استیک اسید، انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید سیدروفور و آنزیم نیتروژناز موثر) *A. beijerinckii* CHB 461، *A. chroococcum* CHB 846 و *A. chroococcum* CHB 869 موجب افزایش رشد گیاه برنج شده که از پتانسیل بالایی برای تولید کود زیستی برخوردار هستند.

تثبیت نیتروژن

تثبیت نیتروژن یکی از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی است و به‌عنوان یک فعالیت میکروبی جالب در سطح زمین در نظر گرفته می‌شود که راهی برای بازیافت نیتروژن فراهم کرده و نقش مهمی در هموستازی[4] نیتروژن در بیوسفر ایفا می‌کند (Wani et al., 2016). علاوه بر این، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به حفظ حاصلخیزی خاک و بهبود بهره‌وری محصول کمک می‌کند. *ازتوباکترها* به دلیل توانایی رشد سریع و تثبیت سریع مقادیر زیاد نیتروژن، ریزجانداران مفیدی برای استفاده به عنوان کود زیستی و مطالعه فرآیند تثبیت نیتروژن هستند. *ازتوباکتر* قادر است نیتروژن اتمسفر را به آمونیاک تبدیل کند که توسط گیاهان جذب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد. چنین باکتری‌هایی در طول تثبیت نیتروژن به دلیل حفاظت تنفسی نیتروژناز، در برابر اکسیژن بسیار مقاوم هستند. در شرایط فشار و حرارت معمولی، پیوند سه‌گانه نیتروژن- نیتروژن توسط آنزیم نیتروژناز موجود در دی آزوتروف‌ها شکسته می‌شود. نیتروژناز از دو پروتئین آهن-مولیبدن (دی نیتروژناز، آزوفرمو) و پروتئین آهن‌دار (دی نیتروژناز رداکتاز، آزوفر) تشکیل شده است. پروتئین آهن‌دار، دایمری متشکل از دو زیر واحد پلی پپتیدی یکسان است. جرم مولکولی هر زیر واحد بسته به گونه باکتری از ۲۴ تا ۳۶ کیلودالتون است. این دایمر دارای دسته‌ای متشکل از چهار یون آهن است که با

1 - Exine
2 - Alkylresorcinols
3 - Alkylpyrones
4 - Homeostasis

چهار گروه سولفور پیوند دارند (4Fe–4S). پروتئین آهن-مولیبدن یک تترامر است که از دو جفت زیر واحد یکسان تشکیل شده است و جرم مولکولی ۲۲۰ کیلودالتون است. هر پروتئین آهن-مولیبدن حاوی دو یون مولیبدن به شکل یک کوفاکتور آهن-مولیبدن- سولفور است. احیای نیتروژن مولکولی، فرایندی دو مرحله‌ای است. در مرحله اول آن پروتئین آهن‌دار به وسیله یک دهنده الکترون اولیه که معمولاً فرودکسین ferredoxin است احیا می‌شود. الکترون‌ها توسط جزء آهن‌دار که در یکی از دو وضعیت احیا شده فرو یا اکسید فریک وجود دارد حمل می‌شوند. پتانسیل اکسیداسیون و احیاء آزوفر کمتر از آزوفرمو است لذا انتقال الکترون صورت نمی‌گیرد و نیازمند انرژی (ATP) است. با صرف انرژی الکترون‌ها از آزوفر به آزوفرمو منتقل می‌شود. سپس آزوفرمو الکترون‌ها را به نیتروژن مولکولی منتقل می‌کند تا احیا صورت گیرد. فرایند تثبیت نیتروژن مولکولی اتمسفر به یکباره انجام نمی‌شود. ابتدا نیتروژن با گرفتن دو الکترون و پروتون به دی ایمید و سپس با گرفتن دو الکترون و پروتون دیگر به هیدرازین و در نهایت گرفتن دو الکترون و پروتون دیگر به آمونیاک تبدیل می‌شود. سپس آمونیاک به آمونیوم و اسیدهای آمینه تبدیل می‌شود (شکل ۵) (Hakeem et al., 2016; Aasfar et al., 2021). وجود سطوح بهینه ماده مغذی کلسیم برای افزایش رشد ازتوباکتر و توانایی آن در تثبیت نیتروژن ضروری است، در حالی که افزایش سطوح نیتروژن بر فعالیت ازتوباکتر تأثیر نامطلوبی دارد (Soleimanzadeh and Gooshchi, 2013; Sumbul et al., 2020). نرخ ورودی نیتروژن به خاک توسط این باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن در حدود ۰/۳ تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار در سال (Saha et al., 2017) و حتی تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار در سال است (Bhattacharyya and Jha, 2012). علاوه بر این، گونه ازتوباکتر را می‌توان به‌عنوان یک باکتری در حال تکامل در نظر گرفت، زیرا علاوه بر استفاده از آنزیم کلاسیک حاوی مولیبدن برای تثبیت زیستی نیتروژن، گونه‌های ازتوباکتر قادر به سنتز یک یا چند نیتروژناز جایگزین در شرایط کمبود مولیبدن هستند (Aasfar et al., 2021). نتایج برخی از پژوهش‌ها حاکی از آن است که ازتوباکتر کارایی تثبیت حدود ۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال را دارد و بنابراین می‌تواند با موفقیت در تولید محصولات زراعی به‌عنوان جایگزینی برای حداقل بخشی از کودهای شیمیایی استفاده شود (Kizilkaya, 2009; Esmailpour et al., 2013). همچنین گزارش‌های مختلفی از کاهش نیاز به کودهای نیتروژن در گیاهان زراعی تلقیح شده با ازتوباکتر در دسترس است (Chennappa et al., 2017; Aasfar et al., 2021). Romero-Perdomo et al. (2017) بیان کرد کاربرد زادمایه حاوی مخلوطی از سویه‌های باکتری ازتوباکتر توانست مصرف کودهای شیمیایی را تا ۵۰ درصد کاهش دهد. پژوهشگران گزارش کردند استفاده از باکتری ازتوباکتر به‌طور مجزا و در ترکیب با سایر باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش مقدار نیتروژن گیاه برنج و عملکرد آن شد (Alam et al., 2001; Lavakush et al., 2014; Doni et al., 2022).



شکل ۵- مکانیسم تثبیت آزادزی نیتروژن اتمسفر توسط *Azotobacter* sp.

تولید سیدروفور

سیدروفورها گروهی از مولکول‌های کلات کننده آهن (Fe) را تشکیل می‌دهند که دسترسی آهن را در محیط خارج سلولی از طریق توانایی آن در رقابت با لیگاندهای طبیعی تغییر می‌دهند

(Wichard et al., 2009). این ترکیبات در پاسخ به کمبود آهن تولید می‌شوند که معمولاً در خاک‌های با pH خنثی تا قلیایی به دلیل حلالیت کم آهن در pH بالا رخ می‌دهد. میکروب‌ها از سیدروفورها برای رسیدن به منابع مهم آهن در محیط استفاده می‌کنند. همچنین باکتری‌های متعلق به جنس Azotobacter نیتروژنازهای غنی از آهن را تولید می‌کنند که از طریق آن نیتروژن را کاهش می‌دهند (Baars et al., 2015). ازتوباکتر با ساختن کمپلکس سیدروفور- آهن به آهن کم محلول در محیط دسترسی پیدا می‌کند و سپس کمپلکس توسط گیرنده‌های متصل به غشاء، جذب می‌شود. A. vinelandii سیدورفورهای مختلفی مانند azotobactin، aminochelin، azotochelin، protochelin، 2,3-dihydroxybenzoic acid (Chennappa et al., 2017) و vibrioferrin (Baars et al., 2015) تولید می‌کنند که می‌توانند به عنوان آنتی بیوتیک نیز عمل نمایند. علاوه بر این، سیدروفورهای A. vinelandii به شکوفایی برخی از جلبک‌های آب شیرین در کشت همزمان زمانی که منبع قابل توجهی از نیتروژن به این ریزجانداران عرضه می‌شود، کمک می‌کنند (Villa et al.,2014). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که سیدروفورهای تولید شده توسط A. vinelandii همچنین دارای توانایی اتصال به فلزاتی غیر از آهن هستند و امکان جذب فلزات اضافی مانند مولیبدن (Mo) یا وانادیم (V) را دارا می‌باشند که در آنزیم نیتروژنازها مورد نیاز هستند (Bellenger et al., 2008). A. chroococcum نیز علاوه بر vibrioferrin و amphibactins، خانواده جدیدی از سیدروفورها crochelins را تولید می‌کند (McRose et al., 2018). این کمپلکس‌های Fe-سیدروفور ممکن است برای سایر ریزجانداران رقیب در دسترس نباشند، بنابراین احتمالا با اثرات کنترلی بر فعالیت بیمارگرهای گیاهی، مستقیماً رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (Hayat et al., 2010). در واقع ازتوباکترهای تولید کننده سیدروفور با جداسازی +Fe3 در مجاورت ریشه از رشد و تکثیر ریزجانداران بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند (Chennappa et al., 2017). محققین بیان کردند باکتری ازتوباکتر با تولید سیدروفور و اندول استیک اسید موجب افزایش رشد گیاهچه‌های برنج می‌شوند (Banik et al., 2016; 2019).

تولید هورمون‌های رشد گیاه

مواد محرک رشد که به عنوان هورمون‌های گیاهی نیز شناخته می‌شوند، شامل مواد طبیعی تولید شده توسط ریزجانداران و همچنین گیاهان است. آنها اثرات محرک یا بازدارنده بر برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریزجانداران و گیاهان دارند (Ansari and Mahmood, 2019a,b). محققین گزارش کردند که ازتوباکترها هورمون‌های رشد مختلفی از جمله اکسین-ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلیک اسیدها را سنتز می‌کند که مستقیماً با بهبود رشد گیاه مرتبط است (Wani et al., 2013; Sumbul et al., 2020). همچنین بسیاری از گونه‌های ازتوباکتر در محدوده ۳۳/۸-۲/۰۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر ایندول استیک تولید می‌کنند (Spaepen et al., 2007; Chennappa et al., 2013, 2014, 2016) .این هورمون‌ها از ریزوسفر یا سطح ریشه سرچشمه می-گیرند و تأثیرات مثبتی بر رشد گیاهان عالی که در نواحی مجاور رشد می‌کنند، دارند. پژوهش‌ها نشان داد که وزن خشک گیاه در محصولات مختلف مانند گوجه‌فرنگی، ذرت و نخود در اثر استفاده از Azotobacter chroococcum در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به طور قابل‌توجهی بیشتر بود (Puertas and Gonzales, 1999; Baral and Adhikari, 2013; Akram et al., 2016). Chen et al. (2018) بیان کردند از صفات محرک رشد گیاه باکتری ازتوباکتر، توانایی استفاده از سلولز (برای کلونیزه کردن سطح ریشه) همراه با فعالیت تثبیت N2 و تولید IAA ممکن است نقش مهم‌تری در ترویج رشد برنج داشته باشد. میکروب‌های مرتبط با گیاه می‌توانند بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به اکسین ریشه برنج را برای اصلاح ساختار آن تعدیل کنند (Ambreetha et al., 2018). Banik et al. (2019) مشاهده کردند که نهال‌های برنج تیمار شده با ازتوباکتر دارای ریشه‌های ناخواسته و موئین می‌شوند.

انحلال فسفات‌های نامحلول

درکنار نیتروژن، فسفر یکی از مهمترین عناصر غذایی خاک بوده و نقش بسزایی در فیزیولوژی و چرخه‌های بیوشیمیایی گیاهان و ریزجانداران بازی می‌کند. خاک معمولا حاوی مقادیر بسیار زیادی از فسفر کل به شکل‌های قابل دسترس و نامحلول مانند مانند تری کلسیم فسفات (Ca3PO4)2، آلومینیوم فسفات (Al3PO4) و فسفات آهن (Fe3PO4) است. متأسفانه، در مقایسه با سایر عناصر غذایی اصلی، فسفر کم‌تحرک‌ترین و کم دسترس‌ترین عنصر غذایی برای گیاهان در بیشتر خاک‌ها است، اگرچه که محتوای کل فسفر خاک معمولا فراتر از نیاز گیاه می‌باشد (۴۰۰ تا ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (Nosrati et al., 2014). به علت واکنش‌پذیری بالای یون‌های فسفر با اجزای تشکیل دهند خاک، غلظت فرم قابل جذب این عنصر برای گیاه بسیار کم است (کمتر از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (Richardson et al., 2009; Barker et al., 2015). با این وجود، ریزجانداران حل‌کننده فسفات با انحلال فسفات‌های نامحلول، فسفر قابل جذب گیاهان را افزایش می‌دهند (Khan et al., 2013; Sharma et al, 2013, Kumawat

et al., 2017). گونه‌های باسیلوس و سودوموناس به همراه ازتوباکترها به عنوان شناخته شده‌ترین باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول محسوب می‌شوند. پژوهش Hafez (2016) et al. نشان داد سویه A. vinelandii توانست ۴۳ درصد فسفر خاک فسفات Abu Tartur مصر را حل نماید. در پژوهشی دیگر محققین بیان کردند تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی[1] توسط ازتوباکتر، عامل اصلی انحلال تری کلسیم فسفات (TCP[2]) بود (Yi et al., 2008). همچنین بسیاری از محققین اثبات کردند باکتری‌های حل کننده فسفات‌های نامحلول با تولید اسیدهای آلی، قابلیت جذب فسفر توسط گیاهان را افزایش می‌دهند (Kumar et al., 2014; Azaroual et al., 2020; Aasfar et al., 2021). از سوی دیگر با توجه به رابطه بین نرخ تثبیت زیستی نیتروژن و فراهمی عناصر غذایی بویژه فسفر، انحلال فسفات‌های نامحلول علاوه بر تاثیر مثبت بر افزایش فسفر قابل جذب گیاهان، موجب بهبود و افزایش تثبیت زیستی نیتروژن می‌شود (Jean et al., 2013).

تولید آنزیم‌ها

تولید پلی فنل اکسیدازها (PPOs) و فنل اکسیدازها (POs) در اعضای خانواده Azotobacteraceae گزارش شده است. تعداد کمی از گزارش‌ها نشان می‌دهند که تولید و گستردگی فنل اکسیدازهای پروکاریوتی محدود به برخی گونه‌ها است. توانایی Azotobacter sp. SBUG 1484 جداسازی شده از خاک در تولید آنزیم فنل اکسیداز توسط محققین تایید شد. فنل اکسیدازها نقش مهمی در کاربردهای صنعتی مانند رنگ‌زدایی خمیر کاغذ، سفید کردن رنگ منسوجات و سنتز پلیمرهای زیستی دارند. علاقه قابل توجهی به کاربرد فنل اکسیدازها در زمینه‌های علمی مربوط به سم زدایی و تخریب آلاینده‌های محیطی و همچنین در مورد تولید مواد شیمیایی خوب ایجاد شده است (Herter et al., 2011; Chennappa et al., 2017). تولید آنزیم ACC- دآمیناز[3] نیز یکی از محصولات برجسته تولیدی ازتوباکترها است (Omer et al., 2016). هنگامی که اتیلن در گیاه در غلظت‌های بالا وجود داشته باشد، می‌تواند منجر به مهار رشد گیاه یا حتی مرگ شود و باکتری‌های تولید کننده ACC- دآمیناز با کاهش سطح اتیلن گیاه، موجب بهبود رشد گیاه می‌شوند (Aasfar et al., 2021).

تولید ویتامین و اسیدهای آمینه

ویتامین‌ها برای عملکردهای فیزیولوژیکی موجودات زنده که توسط چندین گروه از باکتری‌ها تولید می‌شوند، ضروری هستند. گونه ازتوباکتر در شرایط مساعد ویتامین تولید می‌کند و سویه‌های A. vinelandii و A. chroococcum نیاسین، پانتوتنیک اسید، ریبوفلاوین و بیوتین را تولید می‌کنند که متعلق به ویتامین‌های گروه B هستند. این ویتامین‌ها برای حفظ فرآیندهای متابولیک موجودات زنده استفاده می‌شوند، اما تولید آن‌ها توسط چندین فاکتور مانند شرایط رشد، pH، دمای گرماگذاری، و در دسترس بودن منابع نیتروژن و کربن کنترل می‌شود. ریبوفلاوین یک ویتامین B2 است که برای طیف گسترده‌ای از فرآیندهای سلولی مورد نیاز است و به ترتیب نقش کلیدی در متابولیسم چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها دارد. اسیدهای آمینه نیز یکی از عناصر مهم مورد نیاز برای رشد و نمو سلول‌ها هستند. تعداد کمی از جنس‌های باکتریایی که به تولید اسیدهای آمینه معروف هستند، از جمله A. vinelandii و A. chroococcum، اسید آسپارتیک، سرین، اسید گلوتامیک، گلیسین، هیستیدین، ترئونین، آرژنین، آلانین، پرولین، سیستئین، تیروزین، والین، متیونین، لیزین، ایزولوسین، لوسین، تریپتوفان و فنیل آلانین را تولید کردند (Revillas et al., 2000; Chennappa et al., 2017).

ازتوباکتر و بهبود مقاومت به تنش‌های غیر زیستی گیاه

تنش خشکی و شوری از جمله محدودیت‌های زیست‌محیطی اصلی هستند که رشد، بهره‌وری و کیفیت محصولات را محدود می‌کنند (Yang et al., 2009). غربالگری سویه‌های مختلف ازتوباکتر مقاوم به تنش شوری نشان داده است که برخی از سویه‌ها می‌توانند به‌طور موفقیت‌آمیز و موثری ریزوسفر را کلونیزه کرده و رشد گیاه در شرایط تنش را تقویت کنند. جنبه‌های متعدد مکانیسم‌های موثر رشد گیاه باکتری ازتوباکتر می‌توانند موجب کاهش تنش گیاهی شوند. همه این ویژگی‌ها می‌تواند تحمل به تنش غیرزیستی و زیستی را در گیاهان تلقیح شده افزایش دهند (Ruzzi and Aroca, 2015). پژوهش‌ها نشان داده سویه‌های ازتوباکتر وقتی با گندم تحت تنش شوری استفاده می‌شوند رشد گیاه را افزایش می‌دهند (Chaudhary et al., 2013). علاوه بر این، Azotobacter با بهبود دفع سدیم و جذب پتاسیم باعث بهبود رشد گیاه ذرت در شرایط تنش شوری شد (Rojas-Tapias et al., 2012; Latef et al., 2020). نتایج چندین پژوهش نشان داد استفاده از گونه‌های ازتوباکتر به عنوان یک راه حل مناسب و با کارایی بالا جهت افزایش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی است (Creus et al., 2004; Shirinbayan et al., 2019). اگزو پلی-

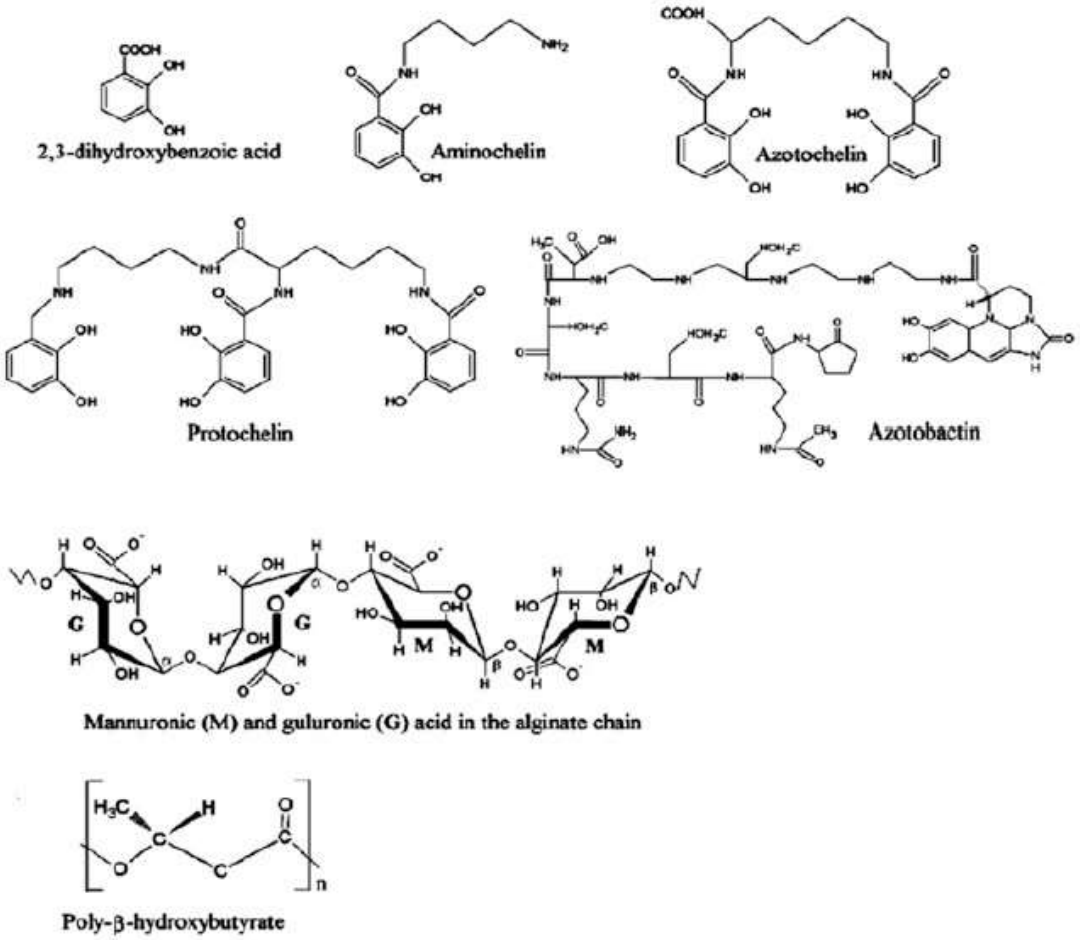
1 - Exopolysaccharides (EPS)
2 - Tricalcium P (TCP)
3 - 1-aminocyclopropane1-carboxylate deaminase

ساکاریدهای تولیدی توسط گونه‌های مختلف ازتوباکتر مولکول-های ضروری برای حفظ هیدراسیون سلولی و تشکلیل بایوفیلم در شرایط خشکی هستند. پلی ساکاریدها قادر به تشکیل ساختارهای مختلف در یک بایوفیلم هستند و ممکن است با طیف وسیعی از مولکول‌های دیگر از جمله لکتین‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها تعامل داشته باشند (Chang et al., 2007). (2009) .Sandhya et al بیان کردند، اگزو پلی‌ساکاریدهای تولید شده توسط ازتوباکتر با بهبود ساختمان خاک در ریزوسفر، موجب افزایش تحمل گیاه آفتابگردان در شرایط تنش آبی شد. این اگزو پلی‌ساکاریدها همچنین توانایی بالایی در جذب فلزات سنگین مانند کادمیوم و کروم در خاک‌های آلوده دارند (Joshi and Juwarkar, 2009). محققین گزارش کردند گیاهان برنج تلقیح شده با A. vinellandii سویه SRIAz3، محتوای پرولین و مالون دی‌آلدئید بالاتری را تحت تنش ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl در مقایسه با گیاه بدون تلقیح نشان دادند. همچنین مقدار هورمون‌های گیاهی ایندول-۳ استیک اسید، جیبرلین‌ها و زاتتین در گیاهان تلقیح‌شده با A. vinellandii در شرایط شوری بالا بیشتر بود (Sahoo et al., 2014).

نقش *ازتوباکتر* در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی

چندین سازوکار را می‌توان به عنوان استراتژی‌های مدیریتی مورد استفاده توسط باکتری‌ها برای کنترل بیمارگرهای گیاهی دخیل دانست. این استراتژی‌ها ممکن است شامل تولید سیدروفورها، مواد ضد میکروبی، سموم و همچنین هورمون‌های رشد مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین باشند. با این حال، هیچ مکانیسم واحدی را نمی‌توان به طور کامل مسئول سرکوب عامل بیماری دانست و بیش از یک راه می‌تواند توسط باکتری بسته به سویه باکتری، شرایط محیطی، عامل بیمارگر و همچنین هدف، مورد استفاده قرار گیرد. این استراتژی‌هایی که توسط باکتری‌ها استفاده می‌شوند مقاومت زیادی در برابر حمله بیمارگرهای گیاهی ایجاد می‌کنند. علاوه بر تاثیرات مفید ازتوباکتر بر تقویت رشد گیاه، این باکتری به عنوان سرکوب‌گر عوامل بیماری‌زای گیاهی نیز شناخته شده است (Sumbul et al., 2020). ازتوباکترها با تولید سیانید هیدروژن، سیدروفور (Ponmurugan et al., 2012) و آنتی بیوتیک‌هایی مانند aminochelin, 2,3-dihydroxybenzoic acid، azotochelin, protochelin و azotobactin به مقابله با عوامل بیمارگر گیاهی می‌پردازد (شکل ۶) (Kraepiel et al. 2009; Chennappa et al., 2017).Maheshwari et al. (2012) گزارش کردند سویه A. chroococcum TRA2 جداسازی شده از ریزوسفر گیاه گندم، فعالیت آنتاگونیستی بسیار قوی علیه قارچ پوسیدگی ریشه Macrophomina phaseolina و Fusarium oxysporum از خود نشان داد. همچنین این باکتری موجب افزایش رشد گیاه گندم شد که می‌تواند به علت بهبود سلامت گیاه و اثر ضد قارچی این باکتری باشد. همچنین تولید هیدروژن سیانید (HCN) توسط بسیاری از گونه‌های ازتوباکتر به اثبات رسیده است (Baars et al., 2015).

ازتوباکترها توانایی تولید سیدروفورهایی هستند که به Fe+3 در ریزوسفر متصل می‌شوند و در نتیجه عوامل بیماری‌زای گیاهی را از دسترسی به آهن محروم کرده و سلامت گیاه را بهبود می‌بخشند. همچنین ازتوباکتر آنتی بیوتیکی تولید می‌کند که ساختاری مشابه anisomycin دارد که یک آنتی بیوتیک قارچ کش است. برخی از نمونه‌های عوامل بیماری‌زای گیاهی که با استفاده از تلقیح زادمایه زیستی ازتوباکتر مدیریت شده‌اند عبارتند از: Alternaria، Fusarium، Rhizoctonia، Macrophomina، Curvularia، Helminthosporium و Aspergillus (Jnawali et al., 2015). Akram et al. (2016) نیز دریافتند بروز بیماری نماتد ریشه گرهی Meloidogyne incognita در گیاه نخود در حضور باکتری A. chroococcum به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. خصوصیت ضد قارچی A. nigricans علیه قارچ Fusarium spp. و تاثیر این باکتری بر راندمان دی‌کلونیزاسیون قارچ بیماری‌زا در سطح ریزوپلان (سطح ریشه) توسط محققین به اثبات رسیده است (Nagaraja et al., 2016).



شکل ۶- انواع آنتی‌بیوتیک‌های تولیدی توسط *ازتوباکترها*

روند کنونی استفاده از *ازتوباکتر* به عنوان کود زیستی موثر

ازتوباکتر یک باکتری غیر همزیست تثبیت کننده نیتروژن است که حداکثر پتانسیل آن برای افزایش بهره‌وری گیاه را می‌توان با تلقیح همزمان آن با برخی کودهای زیستی دیگر (کنسرسیوم میکروبی) بدست آورد. ازتوباکتر علاوه بر تاثیر مستقیم و غیر مستقیم بر رشد گیاهان، فعالیت‌های مفید سایر باکتری‌های محرک رشد گیاه موجود در کنسرسیوم را نیز بهبود می‌بخشد. اخیرا، گزارشات زیادی نشان داده، محققان و حتی کشاورزان استفاده توام ازتوباکتر با سایر ریزجانداران مفید را در ارجعیت قرار داده‌اند (Sumbul et al., 2020). در بین کودهای زیستی قارچ‌ها، مطالعات نشان داده قارچ حل‌کننده فسفات میکوریز آربوسکولار بهترین کنسرسیوم را با ازتوباکتر تشکیل داده و موجب افزایش رشد گیاه گندم شدند (Behl et al., 2003). برهمکنش هم‌افزایی بین باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن ازتوباکتر و قارچ میکوریز آربوسکولار گلوموس توسط چندین پژوهشگر گزارش شده است (Aseri et al., 2008; Akram et al., 2016).

Aseri et al. (2008) مشاهده کرد گیاه انار در اثر تلقیح توام A. chroococcum و Glomus mosseae بهتر توانست در شرایط تنش محیطی به بقا و رشد خود ادامه دهد. Arora et al. (2018) نشان داد، تلقیح ترکیبی A. chroococcum و قارچ میکوریز آربوسکولار Piriformospora indica موجب تشکیل یک همزیستی متقابل در گیاه گندواش[1] شد که منجر به بهبود ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه و در نتیجه افزایش محتوای آرتمیزینین[2] شد.

در بین کنسرسیوم‌های باکتریایی، پاسخ‌های مثبتی از رشد و عملکرد گیاهان مختلف تلقیح شده با ازتوباکتر و ریزوبیوم در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای به ثبت رسیده است (Wani and Gopalakrishnan, 2019). در هم‌افزایی، ازتوباکتر با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکنین باعث افزایش رشد ریشه شده که به نوبه خود می‌تواند سطح بیشتری را در اختیار ریزوبیوم برای چسبیدن به ریشه و تشکیل رشته آلودگی قرار دهد، که این مسئله منجر به افزایش

1 - *Artiemisia annua* L.

2 - Artemisinin

گره‌سازی، تثبیت نیتروژن و در نهایت بهبود عملکرد محصول می شود (Verma et al., 2014). اثر هم‌افزایی A. chroococcum و Bradyrhizobium بر روی گیاهان ماش و نخود توسط محققین به اثبات رسیده است (Yadav and Vashishat, 1991; Siddiqui et al., 2014). باکتری دیگری که معمولا همراه با ازتوباکتر در کنسرسیوم‌های میکروبی استفاده می‌شود باکتری محرک رشد گیاه Azospirillum است. تاثیرات مثبت تلقیح توام ازتوباکتر و آزوسپریلیوم بر گیاهان نخود (Parmar and Dadarwal, 1999)، خردل (Tilak and Sharma 2007)، کلزا (Yasari et al., 2009) و فلفل (Khan et al., 2012) به اثبات رسیده است. نتایج پژوهش‌ها نشان داده علاوه تاثیر مثبت تلقیح توام ازتوباکتر و آزوسپریلیوم بر افزایش رشد و عملکرد گیاهان، این کنسرسیوم می‌تواند اثرات نامطلوب تنش شوری بر برخی از گیاهان را کاهش دهد. Yousefi et al. (2017) مشاهده کردند در اثر تلقیح توام دانه‌های گیاه hopbush shrub (Dodonaea viscosa L.) با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم، درصد جوانه‌زنی و مقدار پارامترهای رشد گیاه در شرایط تنش شوری افزایش یافت.

رویکردهای مولکولی جهت بهبود کارایی کود زیستی ازتوباکتر

ازتوباکتر برای کاربرد به عنوان یک کود زیستی محرک رشد گیاه و افزایش‌دهنده سطح نیتروژن توصیه می‌شود (Gauri et al., 2012). ضمن بهبود خواص تغذیه‌ای ازتوباکتر به عنوان کود زیستی، در نظر گرفتن روشی مقرون به صرفه که بتواند منبع ارزان‌تری از کود زیستی را برای صنعت کشاورزی فراهم کند، ضروری است. هنگام تولید کود زیستی ازتوباکتر در مقیاس بزرگ، در نظر گرفتن بهینه‌سازی پارامترهایی نظیر محیط کشت و تغذیه این باکتری‌ها جهت افزایش سرعت رشد در فرمانتور و همچنین افزایش پایداری کود زیستی تولیدی، از اهمیت بسزایی برخوردار است (Gomare et al., 2013). علاقه صنعتی و بیوتکنولوژیکی به تولید زادمایه‌های زیستی و پلیمرهای تولید شده توسط آنها به دلیل خواص مفید و گسترده آنها در ساخت مواد جدیدی که در مدیریت سلامت خاک و گیاه موثر هستند، تقویت شده است. A. vinelandii به دلیل توانایی در تولید مولکول‌های بیولوژیکی مهم مانند پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB)، اگزوپلی ساکاریدها (EPS) و سیدروفورها در کاربردهای بیوتکنولوژیکی اهمیت زیادی دارد (Diaz-Barrera and Soto, 2010). با کمک ویرایش ژنوم اعم از افزودن یا حذف ژن (های) هدف، توانایی تثبیت نیتروژن A. vinelandii می‌تواند به طور چشمگیری افزایش یابد. دستکاری ژن هدفمند به گونه‌ای انجام می‌شود که اوره متابولیت‌های رایج به محصولات نهایی تبدیل می‌شود (Barney et al., 2015). روش‌های مختلفی وجود دارد که می‌توان برای افزایش سطح آمونیوم دفع شده توسط A. vinelandii با ایجاد انقطاع در ژن nifL از سیستم اپرون nifLA استفاده کرد (Brewin et al., 1999; Ortiz-Marquez et al., 2012). علی‌رغم موارد بیان شده، تنوع زیاد اکولوژیکی خاک مناطق مختلف منجر به ناتوانی یک سویه خاص ازتوباکتر در ارائه حداکثر اثربخشی خود در تمام مناطق می‌شود و بنابراین نمی‌تواند به طور جهانی به عنوان کود زیستی استفاده شود. با در نظر گرفتن اهمیت اگزوپلی ساکاریدها و سایر ترکیبات تولیدی ازتوباکتر که به استقرار باکتری در خاک کمک می‌کنند، سویه ازتوباکتر با ویژگی‌هایی مانند بالاترین توانایی در تثبیت نیتروژن و تولید بهتر این ترکیبات، باید مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر این، تحقیقات بیشتر برای پیشبرد اهداف بیان شده از طریق دستکاری این خواص مطابق با نیازهای نوع بشر ممکن است در کشاورزی نسل بعدی مورد توجه قرار گیرد (Guari et al., 2012; Sumbul et al., 2020).

چشم اندازهای آینده در تجاری سازی کود زیستی ازتوباکتر

با توجه به توانایی ازتوباکتر در بهبود سلامت گیاه از طریق تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های رشد، انحلال فسفات‌های نامحلول، کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و احیای سلامت بهتر خاک، این باکتری یکی از بهترین گزینه‌ها برای استفاده به عنوان کود زیستی برای تولید پایدار محصولات سازگار با محیط زیست است. درک این ویژگی‌های مفید و دستکاری و بهبود تمام این خواص مفید ازتوباکتر ممکن است یک علاقه کلیدی برای تلاش‌های آینده در بهبود محصولات باشد (Kyaw et al., 2019). با این حال، نیاز فوری به انجام مطالعات بیشتر در رابطه با بهبود تکنیک‌های غربالگری، جداسازی و شناسایی ترکیبات محرک رشد گیاه و ترکیبات ضد میکروبی از جدایه‌های باکتریایی و روشن کردن اساس مولکولی مکانیسم‌های درگیر وجود دارد. علاوه بر این، تحقیقات بیشتر مرتبط با شناسایی کامل‌تر پتانسیل ازتوباکتر در بهبود حاصلخیزی خاک نیز با استفاده از فناوری مدرن ژنومیک خاک و غیره ضروری است (Wani et al., 2016). جهت اطمینان برای دستیابی به حداکثر فواید از یک کود زیستی، یک چالش جامعه تحقیقاتی، یافتن شرکای سازگار است، یعنی یک سویه خاص از ازتوباکتر ارتباط خوبی با یک ژنوتیپ گیاهی خاص ایجاد کند (Wani et al., 2013). در آینده، این باکتری‌های تثبیت‌کننده آزادزی نیتروژن قرار است جایگزین کودهای شیمیایی شوند که عوارض جانبی مختلفی را به کشاورزی پایدار تحمیل می‌کنند (Sumbul et al., 2020).

پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه تاثیر زادمایه باکتری

ازتوباکتر بر شاخص‌های رشد و عملکردگیاه برنج

تلقیح گیاه برنج با باکتری ازتوباکتر موجب افزایش ۲۵ تا ۳۱ درصد عملکرد و اجزای عملکردی گردید (Narula et al., 2000). استفاده از باکتری ازتوباکتر تثبیت کننده نیتروژن به عنوان یکی از روش‌های دوست‌دار محیط زیست و کاهش دهنده مصرف کود نیتروژنه در کشت گیاه برنج محسوب می‌شود (Choudhury and Kennedy, 2004). مطابق نتایج Das and Saha (2005) استفاده از باکتری محرک رشد گیاه و تثبیت کننده نیتروژن Azotobacter (جدایه DS3) و Azospirillum (جدایه DM10) به همراه کاربرد ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، به طور معنی‌داری موجب افزایش رشد و عملکرد (۲۳/۷ ٪) گیاه برنج و نیز افزایش سطح نیتروژن معدنی (۲۹/۷ ٪) و آلی (۲۳/۳ ٪) در ریزوسفر خاک تحت کشت این گیاه شد. محققین بیان کردند تلقیح توام گیاه برنج با جدایه‌های A. chroococcum و P. indica و ورمی-کمپوست تاثیر مثبتی بر ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن ساقه و ریشه تازه، وزن خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد خوشه گیاه برنج داشت (Prajapati et al., 2008). همچنین Singh et al. (2008) بیان کردند که استفاده از باکتری محرک رشد ازتوباکتر موجب افزایش رشد و جذب عناصر غذایی گیاه برنج گردید. پژوهش Naseri and Mirzaei (2010) ثابت کرد با تلقیح مرکب گیاه برنج با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلوم، تفاوت معنی‌داری بین کاربرد ۳۰ یا ۶۰ کیلوگرم کود نیتروژنه در عملکرد گیاه برنج مشاهده نشد و استفاده از زادمایه‌های زیستی مذکور موجب افزایش عملکرد (دانه) و پروتئین دانه شد. توانایی جدایه‌های مختلفی از ازتوباکتر جداسازی شده از شالیزارها در تولید ایندول استیک اسید، کاتالاز، آمونیوم و HCN و با توانایی تحمل فلزات سنگین توسط Samuel and Muthukkaruppan (2011) گزارش شده است. بعلاوه Mohammadinejhad- Babandeh et al. (2012) گزارش کردند تلقیح توام گیاه برنج با باکتری‌های آزوسپریلوم و ازتوباکتر موجب افزایش معنی‌دار، طول خوشه، تعداد دانه در خوشه، طول ساقه و شاخص برداشت گردید و استفاده از باکتری-های ازتوباکتر موجب بهبود مقاومت و رشد گیاه برنج می‌شود. بر اساس گزارش Ghasemi Goaber et al. (2013) تلقیح ترکیبی گیاه برنج هاشمی با باکتری‌های محرک رشد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم موجب افزایش معنی‌دار تعداد برگ، تعداد پنجه در متر مربع و میزان نیتروژن گیاه شد. کشت مزرعه‌ای گیاه برنج طی دو سال همراه با تلقیح گیاه با تیمار ترکیبی باکتری‌های سودوموناس+ ازتوباکتر کروکوکوم+ کود فسفره موجب افزایش رشد گیاه و جذب عناصر غذایی فسفر، نیتروژن و پتاسیم در دانه و عملکرد دانه و کاه گیاه برنج گردید (Yadav et al., 2014). گزارش Sahoo et al. (2014) نشان داد استفاده از زادمایه باکتری Azotobacter vinellandii (SRIAz3) در کشت گیاه برنج تحت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، موجب افزایش تحمل گیاه نسبت به شوری و افزایش شاخص‌های رشد و عملکرد در مقایسه با تیمار شاهد گردید. علاوه براین، در تیمار تلقیح شده با این باکتری غلظت پرولین و مالون دی آلدهید و همچنین هورمون‌های محرک رشد گیاهی جیبرلین و ایندول استیک اسید تحت شرایط شوری (۲۰۰ ملی‌مولار) نسبت به گیاه تلقیح نشده (شاهد) افزایش یافت. در مورد شاخص‌های رشد گیاه نیز، استفاده از زادمایه باکتری ازتوباکتر موجب افزایش وزن تر ریشه و اندام هوایی و جذب بهتر عناصر غذایی گردید. همچنین افزایش درصد جوانی‌زنی و وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه برنج در اثر استفاده ترکیبی باکتری ازتوباکتر و کود اوره توسط Shrivastava et al. (2015) گزارش شده است. طبق مطالعه Aminpanah and Abassian (2016) باکتری ازتوباکتر کروکوکوم موجب افزایش ۸ درصدی عملکرد شلتوک گردید و بر روی شاخص تعداد خوشه در متر مربع تاثیر معنی‌داری داشت. Chen et al. (2018) تعداد ۹۸ جدایه از جنس ازتوباکتر را از ۲۷ شالیزار برنج در کشور تایوان جدا کردند. چهار گونه A. beijerinckii، A. tropicalis، A. chroococcum و A. vinelandii بین این ۹۸ جدایه جداسازی شده شناسایی شدند که در این بین گونه A. chroococcum با ۵۱ درصد از نظر فرآوانی گونه غالب بود. از بین این ۹۸ جدایه فقط ۱۲ جدایه بر اساس بیشترین توانایی به‌عنوان PGPR معرفی شدند. همچنین از بین این ۱۲ جدایه فقط باکتری‌های A. beijerinckii CHB 461، A. chroococcum CHB 846 و A. chroococcum CHB 869 توانستند موجب بیشترین میزان رشد گیاه برنج شده و از پتانسیل بالایی برای تولید کود زیستی برخوردار بودند. علاوه بر حضور باکتری ازتوباکتر در ریزوسفر گیاه برنج، این باکتری به‌صورت اندوفیت نیز قرار گرفته و موجب رشد گیاه می‌شود. طبق گزارش Ilkaei et al. (2018) بیشترین غلظت نیتروژن دانه از تیمار ترکیبی حاوی ۵ تن در هکتار ورمی-کمپوست و باکتری ازتوباکتر حاصل گردید. در مطالعه‌ای دیگر تلقیح توام گیاه برنج با باکتری‌های محرک رشد گیاه A. chroococcum + A. lipoferum + ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه موجب افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه، عملکرد دانه و تعداد دانه در هر خوشه شد (Aminpanah and Firouzi, 2019). در پژوهش Banik et al. (2019)، جدایه اندوفیت Azotobacter sp. Avi2 از گیاه برنج در مزارع کشور هند جداسازی شد و تاثیر زادمایه این باکتری بر روی شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه برنج در شرایط گلخانه و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. آنها بیان

کردند که تلقیح گیاه برنج با زادمایه این باکتری، موجب افزایش طوله ساقه، ریشه و وزن تر و خشک نهال گیاه برنج گردید. تصویر میکروسکوپی الکترونی، رویشی بعد از ۲۱ روز از ریشه نهال برنج، کلونیزه شده با Azotobacter sp Avi2، تجمع بیوفیلم باکتریایی را در محل اتصال ریشه اولیه و ریشه جانبی نشان داد، به ویژه در منطقه طویل شدن که توانایی کلونیزه کردن ریشه توسط این باکتری را تأیید می‌کند. این باکتری با تولید بایوفیلم از فشار اکسیژن کاسته و از این طریق به تثبیت بیولوژیک نیتروژن کمک می‌کند. نتایج آزمایش گلخانه‌ای نیز نشان داد تلقیح گیاه برنج با زادمایه باکتری ازتوباکتر با غلظت ۱۰۸× ۱/۲ سلول در میلی‌لیتر به همراه نصف مقدار مصرفی کود نیتروژنی، موجب افزایش معنی-دار وزن تر و خشک ریشه، حجم رشه، وزن خوشه، طول خوشه، سطح برگ پرچم، عملکرد و وزن هزاردانه، نسبت به شاهد منفی و مثبت گردید. علاوه براین در گزارشی نشان داده شد که باکتری اندوفیت Azotobacter sp Avi2، نسبت به جدایه تجاری و غیر اندوفیت به طور معنی‌داری شاخص‌های رشد گیاه برنج را افزایش داد. نتایج آزمون مزرعه‌ای تلقیح گیاه برنج با زادمایه باکتری اندوفیت در دو فصل نشان داد تیمار تلقیح با زادمایه ازتوباکتر با غلظت ۱۰۸× ۱/۲ سلول در میلی‌لیتر، به همراه نصف مقدار توصیه شده نیتروژن موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه، طول خوشه، وزن خوشه، تعداد دانه در خوشه و وزن هزاردانه گردید (Banik et al., 2019). Shahdi Kumleh (2020) پژوهشی را در زمینه تاثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر سیستم متناوب کشت گیاه شبدر و برنج انجام داد. نتایج نشان داد که کاربرد توام باکتری‌های غیرهمزیست ازتوباکتر+ سودوموناس در کشت شبدر موجب افزایش فسفر قابل دسترس گیاه برنج (۱۱/۸ پی‌پی‌ام) شد. در گزارش Mohammadian et al. (2020) نیز بیان شد، اگرچه نتیجه کاربرد تیمار ترکیبی کود زیستی (ازتوباکتر + آزوسپریلوم) + ۲۶ کیلوگرم نیتروژن در کشت گیاه برنج رقم هاشمی نسبت به تیمار شاهد بهتر بوده ولی نسبت به کودهای شیمیایی عملکرد ضعیف‌تری داشت. در پژوهش Dabral et al., (2020)، اثر متقابل تلقیح گیاه برنج با قارچ محرک رشد گیاه Serendipita indica و باکتری تثبیت کننده نیتروژن Azotobacter vinelandii strain SRIAZ3 در کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، کاربرد Azotobacter vinelandii strain SRIAZ3 ۷ روز بعد از اضافه شدن قارچ، موجب افزایش شعاع ریشه و وزن خشک سلول قارچ Serendipita indica گردید. همچنین اضافه کردن باکتری ازتوباکتر موجب افزایش جوانه‌زنی[1] اسپورهای قارچی گردید. علاوه براین، تلقیح متوالی باکتری ازتوباکتر بعد از اضافه کردن قارچ نسبت به تیمار شاهد و تیمار استفاده تنهایی از قارچ موجب افزایش زیست‌توده ریشه، ساقه و کلروفیل گیاه گردید.

تاثیر کاربرد باکتری ازتوباکتر در افزایش شاخص‌های رشد دیگر گیاهان

محققین بیان کردند تلقیح توام گیاه ذرت با باکتری Azotobacter chroococcum به همراه کود دامی، زیست‌توده گیاه را افزایش داد (Meshram and Shende, 1982). این باکتری ها با تثبیت نیتروژن (Aasfar et al., 2021)، انحلال فسفات‌های نامحلول (Althaf et al., 2013)، افزایش جذب عناصر غذایی، تولید اسید آمینه (Gonzalez-Lopez et al., 2005)، تولید ایندول استیک اسید، تولید HCN، مقاومت در برابر آفت کش‌ها (Balajee et al., 1990; Martinez et al., 1992; Kanungo et al., 1995)، تولید سیدروفور (Baars et al., 2015; McRose et al., 2018)، افزایش مقاومت گیاهان نسبت به پاتوژن‌ها با تولید آنتی‌بیوتیک، افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی (Ansari and Mahmood 2019 a,b) و تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند ریبوفلاوین، تیامین، اکسین، سیتوکنین و جیبرلین (Jnawali et al., 2015; Sumbul et al., 2020) موجب افزایش شاخص‌های رشد گیاهان شد. در جدول ۱ تاثیر کاربرد زادمایه زیستی باکتری‌های ازتوباکتر به تنهایی و در کاربرد توام با سایر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر عملکرد برخی از گیاهان نشان داده شده است. پژوهش Rajaee et al. (2009) نشان داد استفاده از زادمایه Azotobacter chroococcum باعث افزایش نیتروژن، فسفر، آهن و روی گیاه گندم گردید. در بررسی Amirabadi et al. (2010) مشخص شد که استفاده از باکتری ازتوباکتر موجب افزایش نیتروژن گیاه ذرت می‌گردد. بر اساس مطالعه Rahimi et al. (2012) استفاده از جدایه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم با توانایی تولید سیدروفور در کشت گیاه گندم، جذب عناصر کم مصرف روی، مس، منگنز و بویژه آهن را افزایش داد. تلقیح توام گیاه ذرت سنگل کراس ۷۰۴ با باکتری‌های محرک رشد گیاه ازتوباکتر و آزوسپیریلوم موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک بوته، طول بلال، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد ردیف در بلال، تعداد دانه در ردیف، وزن هزاردانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و پروتئین دانه شد (Soleimani Fard et al., 2013). طبق تحقیق Estiyar et al. (2014) استفاده از زادمایه ازتوباکتر عملکرد، تعداد خوشه‌ها و وزن هزاردانه گیاه لوبیای سفید را

1- Germination

افزایش داد. محققین مختلف توانایی ازتوباکتر بومی ایران در تثبیت نیتروژن (Leylasi Marand and Sarikhani, 2018; Ebrahimi et al., 2018; Khodadadi et al., 2019)، انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید اکسین و HCN (Khosravi, 2016) و تولید سیدروفور (Rahimi et al., 2012) را به اثبات رساندند. Fallah et al. (2014) بیان کردند که استفاده توام از باکتری‌های ازتوباکتر، سودوموناس، آزوسپیریلوم و باسیلوس موجب افزایش ارتفاع گیاه، وزن هزاردانه، عملکرد دانه، نیتروژنه دانه و پروتئین دانه گندم شد. Khosravi et al. (2015) نیز گزارش کردند کاربرد زادمایه زیستی جدایه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر بر پایه حامل پرلیت موجب افزایش عملکرد کل، وزن هزاردانه، ارتفاع بوته، عملکرد کاه و کلش و وزن خشک گیاه گندم نسبت به شاهد شد. در گیاه گوجه فرنگی نیز کاربرد توام زادمایه قارچ میکوریز و باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلوم اثر سمیت کادمیوم را کاهش داده و میزان عملکرد گوجه فرنگی را ۱۷۹ درصد افزایش یافت (Nemati et al., 2015). بعلاوه استفاده از باکتری ازتوباکتر کروکوکوم باعث افزایش وزن خشک گیاه نخود شد (Akram et al., 2016).

بر اساس بررسی Seyed Sharifi et al. (2016) بیشترین عملکرد و اجزای عملکرد دانه و کارایی مصرف نیتروژن به ترتیب در تیمارهای تلقیح بذر گندم با ازتوباکتر و کاربرد ۱۸۰ و ۶۰ کیلوگرم نیتروژن حاصل گردید. Sorouri et al. (2016) گزارش کردند، تلقیح گیاه کلزا با باکتری‌های محرک رشد گیاه ازتوباکتر کروکوکوم موجب افزایش قطر ساقه، سطح برگ، وزن خشک، عملکرد و اجزای عملکرد گردید. برخی محققین اظهار نمودند اگرچه کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم در مقایسه با کودهای شیمیایی نتوانست عملکرد گیاه ذرت را افزایش دهد ولی بیشترین مقدار کل نیتروژن، فاکتور انتقال و کارایی تثبیت نیتروژن در اثر استفاده از این باکتری حاصل گردید (Leylasi Marand and Sarikhani, 2018). تحقیقات نشان داده استفاده توام زادمایه زیستی ازتوباکتر با سایر باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند تا ۵۰ درصد مصرف کود شیمیایی نیتروژنه را کاهش دهد (Karami et al., 2013; Romero-Perdomo et al., 2017). Sharifi and Amiryusefi (2017) در پژوهش خود ثابت کردند عملکرد دانه گیاه گندم رقم روشن در ترکیب کودی تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم و نیتروژن (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) برابر با ۴۸۹۹ کیلوگرم در هکتار بود که اختلاف معنی‌داری با ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و تلقیح نداشت. این ترکیب کودی سبب افزایش ۱۳/۷۶ درصدی عملکرد دانه در مقایسه با عدم تلقیح و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار گردید.

همچنین استفاده از زادمایه ازتوباکتر موجب بهبود تغذیه گیاه پیاز و حاصلخیزی خاک گردید (Kurrey et al., 2018). Saeidi et al. (2018) نشان دادند که مصرف تلفیقی ۶۰ درصد کود شیمیایی و کودهای زیستی در سیستم کشت مخلوط ۱:۱ (گلرنگ و باقلا)، موجب افزایش اجزای عملکرد گلرنگ و شاخص برداشت پروتئین در هر دو سال گردید. بیشترین میزان روغن و پروتئین دانه نیز به گیاهان تغذیه شده با تلفیق کود زیستی بعلاوه ۶۰ درصد کود شیمیایی مربوط بود.

Masahi et al. (2018) بیان کردند بیشترین کلروفیل کل گیاه فستوکای بلند در تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر همراه با تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم حاصل شد. در هفته پانزدهم، بیشترین وزن خشک چمن‌زنی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر همراه با تلقیح ازتوباکتر بدست آمد. همچنین بیشترین میزان نیتروژن و سدیم در تیمار شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر همراه با تلقیح ازتوباکتر مشاهده شد. نتایج پژوهش دیگری نشان داد تعداد غلاف در بوته، درصد فسفر، پتاسیم و پروتئین دانه و محتوی رطوبت نسبی برگ تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی افزایش معنی‌داری یافتند. بطوری که کاربرد توام میکوریزا + ازتوباکتر، تعداد غلاف در بوته، درصد فسفر، پتاسیم و پروتئین دانه و محتوی رطوبت نسبی برگ ماشک را به ترتیب ۱۵/۵۵، ۳۴/۲۵، ۲۰، ۲۱/۲۲ و ۱۷/۰۴ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. حداکثر کلونیزاسیون (۶۳/۴۵ درصد)، عملکرد زیستی (۴۹۸۶/۵ کیلو گرم در هکتار)، عملکرد دانه (۱۸۷۳/۲۹ کیلو گرم در هکتار) و عملکرد پروتئین (۵۰۳ کیلوگرم در هکتار) در شرایط انجام آبیاری تکمیلی و کاربرد توام قارچ میکوریزا و ازتوباکتر بدست آمد (Heydarzadeh et al. 2018). Khodadadi et al. (2019) تعداد ۲۳ گونه ازتوباکتر را از خاک‌های شور استان گلستان جداسازی کردند. توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید (۴ تا ۵/۶ گرم بر لیتر) در ۷۸/۲ درصد از جدایه‌ها مشاهده شد و نتایج حاصل از آزمون‌های محرک رشد گیاه نشان داد که توان حل‌کنندگی فسفات گونه‌ها (۵۲/۵ تا ۲۱۸/۱ میلی‌گرم بر لیتر)، توان تولید ایندول استیک اسید (۴/۲ تا ۶۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر)، توان حل‌کنندگی پتاسیم جدایه‌ها (۱۲/۹ تا ۲۸/۳ میلی‌گرم بر لیتر) توان تثبیت زیستی نیتروژن (۲/۹ تا ۵/۱ نانومول اتلین بر ساعت بود) بود.

پژوهش Javan Gholiloo et al., (2020) نشان داد تلقیح توام گیاه سنبل الطیب با ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم + قارچ میکوریز موجب افزایش شاخص‌های رشد و جذب عناصر غذایی گیاه تحت تنش خشکی شد. در مطالعه‌ای Vatanpour et al. (2020) تاثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه ازتوباکتر کروکوکوم و سودوموناس پوتیدا بر عملکرد دانه دو رقم گندم گنبد و کریم تحت تیمار با

کلرید کادمیوم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد بیشترین عملکرد دانه در سنبله مربوط به تیمار ازتوباکتر بود و استفاده از باکتری‌های محرک رشد سمیت حاصل از کادمیوم را کاهش داد و باکتری ازتوباکتر عملکرد بهتری نسبت به سودوموناس داشت. Mamnabia et al. (2020) ثابت کردند استفاده از تیمار توام کود زیستی (ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم) + ورمی‌کمپوست+ کود شیمیایی (فسفر و نیتروژن) در گیاه کلزا تحت تنش خشکی (۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌لیتر تبخیر از تشتک)، میزان نیتروژن و فسفر برگ‌های کلزا، درصد آب برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه و برگ در بوته، طول و تعداد خورجین‌ها در بوته، تعداد دانه در خورجین و زیست‌توده بوته و به تبع آنها عملکرد دانه گیاه را افزایش داد. بر طبق نتایج Karami et al. (2020) مشاهده شد بیشترین عملکرد برگ خشک با استفاده از تیمار ترکیبی ۵۰٪ کود نیتروژن+ ۵۰٪ پتاسیم+ پتاباور ۲+ ازتوبارور و بیشترین درصد نیکوتین، قندهای احیا، درصد نیتروژن گیاه توتون نر عقیم نیز با کاربرد تیمار تلفیقی ۷۵٪ کود نیتروژن+ ۷۵٪ پتاسیم+ پتاباور ۲+ ازتوبارور حاصل شد. استفاده از زادمایه ازتوباکتر کروکوکوم موجب افزایش کلروفیل، تعرق و نرخ فتوسنتز گیاه ذرت شد و بیشترین میزان عملکرد گیاه در تیمار توام Azotobacter chroococcum و Bacillus subtilis حاصل گردید (Efthimiadu et al., 2020). همچنین در سطوح مختلف آبیاری گیاه آفتابگردان، بیشترین عملکرد دانه و وزن هزاردانه در شرایط آبیاری نرمال (۸۵ درصد ظرفیت مزرعه) و از کاربرد ۱۵ تن در هکتار ورمی‌کمپوست+ بیوسوپر+ ازتوباکتر+ ۵۰ درصد کود شیمیایی به‌دست آمد (Izan et al., 2020). پژوهش Raei et al. (2020) نشان داد درصد پوشش سبز، شاخص کلروفیل برگ و عملکرد دانه در لوبیا چیتی و خردل سیاه و عملکرد روغن خردل سیاه توسط کود زیستی + ۱۰۰ درصد کود شیمیایی اوره افزایش یافتند. Khosravi et al. (2021) تاثیر استفاده از جدایه‌های بومی مختلف ازتوباکتر با توانایی انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید سیدروفور و اکسین و آزادسازی پتاسیم را بر کشت گیاه ذرت شیرین در خاک شور مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد همه جدایه‌ها در قابلیت هدایت الکتریکی ۱۰ و ۲۰ dS/m (آب آبیاری) به خوبی رشد کردند و حتی دو جدایه توانایی رشد در شوری ۵۰ dS/m را داشت. تلقیح گیاه با جدایه Az69 با آب معمولی نسبت به شاهد بدون تلقیح، وزن خشک بلال را ۶۴ درصد افزایش داد. البته این تاثیر در شرایط آب ابیاری با شوری سه و شش dS/m معنی‌دار نبود.

جدول ۱- تاثیر کودهای زیستی بر پایه ازتوباکتر بر افزایش عملکرد گیاهان مختلف (Asfar et al., 2021)

کودهای زیستی بر پایه ازتوباکتر	گیاهان	طراحی آزمایش	عملکرد			منابع
			شاهد	زادمایه	درصد افزایش	
Azotobacter	پنبه	گلخانه‌ای	۲۲۰ گیاه/گرم	۲۵۰ گیاه/گرم	۱۳/۶	Romero-Perdomo et al., 2017
Azotobacter + Azosprillum	کلزا	مزرعه‌ای (برگ‌پاشی)	۳۸/۰۴ هکتار/تن	۳۸/۶ هکتار/تن	۱/۵۲	2016 Ahmadi-Rad et al.,
Azotobacter	خیار	گلخانه‌ای	۴۳۸۷ گلخانه/کیلوگرم	۵۳۴۳ گلخانه/کیلوگرم	۲۱/۷	Saeed et al., 2015
Azotobacter PSB+	گوجه فرنگی	مزرعه‌ای	۶۵/۹ هکتار/تن	۸۱/۶۶ هکتار/تن	۲۳/۸	Singh et al., 2015b
Azotobacter PSB+	هویج	مزرعه‌ای	۱۴/۶ هکتار/تن	۱۹/۶ هکتار/تن	۳۴/۲۴	Sarma et al., 2015
Azotobacter PSB+	نخود	گلدانی و مزرعه‌ای	۱/۴۶ هکتار/تن	۱/۹۹ هکتار/تن	۳۵/۵	Ansari et al., 2015
Azotobacter + PSB + Azosprillum	بامیه	مزرعه‌ای	۴۴/۸ هکتار/تن	۴۶/۹ هکتار/تن	۴/۷۴	Mal et al., 2014
Azotobacter + PSB + Azosprillum	سیب زمینی	مزرعه‌ای	۱۰/۸ هکتار/تن	۱۷/۶ هکتار/تن	۶۲/۳۲	El-sayed et al., 2014
Azotobacter PSB+	فلفل دلمه‌ای	مزرعه‌ای	۷/۱۳ هکتار/تن	۹/۲۷ هکتار/تن	۳۰/۰۱	Jaipaul et al., 2011
Azotobacter	کلم	مزرعه‌ای	۳۳/۴۷ هکتار/تن	۳۷/۸۰ هکتار/تن	۱۲/۹	Sarkar et al., 2010

بهره‌برداری از ازتوباکتر به عنوان یک اولویت برتر در تولید کودهای زیستی

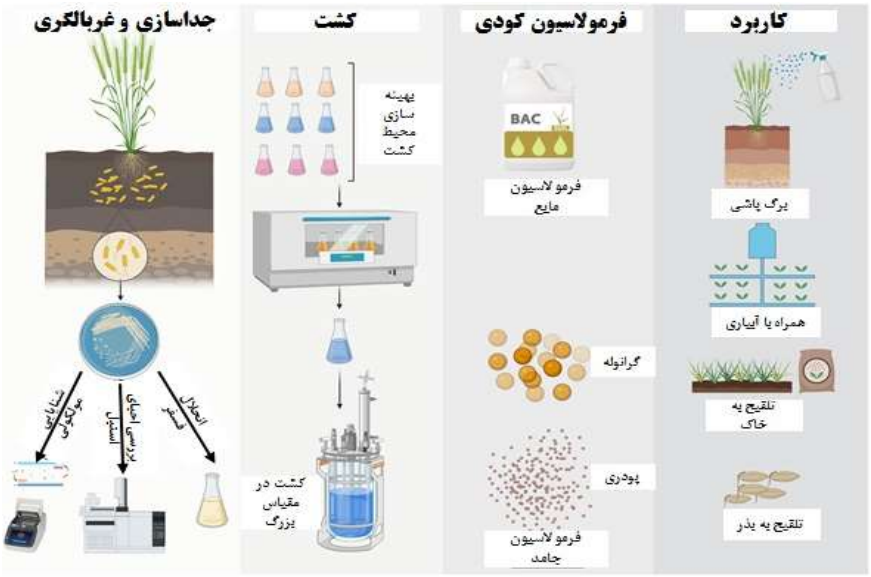
ازتوباکتر به دلیل تأثیرات مثبت آن بر رشد و عملکرد محصول از طریق BNF، بیوسنتز مواد فعال بیولوژیکی، تحریک میکروب‌های ریزوسفر و تولید بازدارنده‌های فایتوپاتوژنیک۱ (پاتوژن‌های گیاه) شناخته شده است (Jnawali et al., 2015; Aasfar et al., 2021). گونه های ازتوباکتر دارای برخی ویژگی‌های منحصر به فرد مانند ایجاد سیست است که در برابر تنش‌های محیطی مقاومت نشان می‌دهد. این نوع باکتری‌ها قادرند در شرایط شدید دما و در دسترس نبودن آب با تبدیل شدن به فرم مقاوم تری نسبت به سلول‌های رویشی زنده بمانند. چنین ویژگی‌هایی با قابلیت توسعه فرمولاسیون‌های خاص مبتنی بر سیست ازتوباکتر مورد بررسی

1- Phytopathogenic inhibitors

قرار می گیرد. (Aasfar et al., 2021).

جدول ۲- مروری بر کودهای زیستی مبتنی بر ازتوباکتر در سطح جهانی (Basu et al., 2021)

نام کود زیستی	سویه‌های PGPR	کشور تولید کننده	بازار منطقه	منابع
Rhizosum N	Azotobacter vinelandii, Rhizophagus irregularis	اسپانیا	اروپا	et al., 2017; García-Fraile Dal Cortivo et al., 2020
BactoFil® A10	brasilense, Azospirillum vinelandii, Bacllius Azotobacter megaterium	مجارستان	اروپا	Alo et al., 2020
Phylazonit M	Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium	مجارستان	اروپا	Macik et al., 2020
Azoter	Azotobacter chroococcum, Azospirillum brasilense, Bacillus megaterium	اسلواکی	اروپا	Artyszak et al., 2020
Agrilife Nitrofix	Azotobacter chroococcum, A. vinelandii, Acetobacter diazotrophicus, Azospirillum lipoferum, Rhizobium japonicum	هند	آسیا و اقیانوسیه	Mehnaz, 2016
Symbion N	Azospirillum sp., Rhizobium sp., Acetobacter sp., Azotobacter sp.	هند	آسیا و اقیانوسیه	Macik et al., 2020
Dimargon	Azotobacter chroococcum	کلمبیا	آمریکای جنوبی	Uribe et al., 2010
Azo-N Plus	lipoferum, brasilense, A. Azospirillum chroococcum Azotobacter	آفریقای جنوبی	آفریقا	Adeleke et al., 2019
Bio Gold	chroococcum, Azotobacter fluorescens Pseudomonas	سریلانکا	آفریقا	Mehnaz, 2016; Macik et al., 2020



شکل ۷- دیاگرام تولید کود زیستی ازتوباکتر در مقیاس بزرگ (Asfar et al., 2021)

تولید کود زیستی ازتوباکتر در مقایس بزرگ می‌تواند در چهار مرحله جمع بندی شود (شکل ۷). همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، تولید کود زیستی ازتوباکتر شامل جداسازی و غربالگری جدایه‌های ازتوباکتر موثر در تثبیت نیتروژن (احیاکننده استیلن و دارای ژن nif-H)، انحلال فسفات‌ها و دیگر صفات محرک رشدی، تولید انبوه با محیط کشت مناسب و در نهایت انتخاب یک حامل مناسب، تهیه فرمولاسیون مورد نظر و بسته بندی مناسب است. بر این اساس کودها به سه حالت پودری، گرانوله و مایع تهیه شده و به روش‌های تلقیح بذر و خاک، اسپری کردن و اضافه کردن به آب آبیاری استفاده می‌شوند (Bashan et al., 2014; Shariati et al., 2019). برخی از کودهای زیستی تولید شده حاوی باکتری ازتوباکتر در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتیجه‌گیری و جنبه‌های تحقیقاتی آینده

مجموعه مطالعات انجام شده در زمینه باکتری ازتوباکتر نشان می دهد که این باکتری محرک رشد گیاه است، بعلاوه مطالعات در شالیزارها موید این می‌باشد که زادمایه ازتوباکتر از طریق تحریک رشد گیاه موجب افزایش شاخص‌های رشد و عملکرد و همچنین

با توانایی تثبیت زیستی نیتروژن (BNF) موجب تامین بخشی از نیاز نیتروژن گیاه برنج گردیده و از این جهت ازتوباکتر قابلیت استفاده به‌عنوان یک کود زیستی محرک رشد گیاه برنج در شالیزارها را دارد که می‌بایست در عملیاتی کردن آن یعنی تبدیل یافته‌های علمی به فناوری و تولید و توسعه مصرف کود زیستی ازتوباکتر در اراضی شالیزاری اهتمام بیشتری بکار بسته شود.

راهبرد استفاده از پتانسیل‌های ذاتی خاک در تولید محصولات کشاورزی پاک که از آن به تولیدات ارگانیک یاد شده و تحت عنوان کشاورزی پایدار تعریف می‌گردد، موضوعی است که بیش از یک دهه در کشورهای پیشرفته دنیا در دستور کار سیاست گذاران، محققین و کشاورزان قرار گرفته است. نشانه‌های این امر وجود سلامت نسبی بالاتر در جوامع آن کشورها و کاهش سرانه مصرف دارو است. بطور کلی امروزه اعتقاد عمومی و اجماع بر این اصل است که دستیابی به سلامت پایدار جامعه می‌بایست از مزارع حاصل شود تا داروخانه‌ها، به طوری که این امر موجب شده است که کشورهای مذکور بویژه از واردات محصولات غیرارگانیک بشدت پرهیز نمایند. در ایران متاسفانه توجه به این مهم بجز در مورد محصولات راهبردی خاص که ثروت آفرین می‌باشند، مغفول مانده و یا کمتر مورد توجه قرار گرفته است. موضوع بسیار مهم این است که پژوهش‌های انجام شده در راستای تولیدکودهای زیستی با اهداف نیل به کشاورزی پایدار، دستیابی به محصولات پاک و حفظ سلامت محیط زیست کشورمان، بسیار زیاد بوده و بخش قابل توجهی از یافته‌های علمی کشور در این خصوص می‌باشد که نشانه‌های آن در مجلات معتبر چاپ شده داخلی و خارجی مشهود است. یافته‌های علمی و دانش فنی مرتبط با مزایای استفاده از کودهای زیستی مبتنی بر میکروارگانیسم‌های مفید بومی کشور و بصورت ویژه انواع باکتری‌های محرک رشد گیاه که اصطلاحا" PGPR نامیده می‌شوند، بسیار می‌باشد ولی متاسفانه انعکاس آن به کاربران این فناوری بخوبی انجام نشده است و حداقل اینکه رابطه بین مقالات پژوهشی در این زمینه با مقالات ترویجی بخوبی تنظیم نشده است. در این مقاله به طور کلی بررسی‌های صورت گرفته نشان داده که استفاده از کود زیستی ازتوباکتر به عنوان کود زیستی محرک رشد گیاه موجب افزایش عملکرد گیاه برنج گردیده و میزان مصرف کودهای شیمیایی بخصوص نیتروژنی را کاهش می‌دهد. بر اساس یافته‌های علمی بسیار که در این مقاله به برخی از آن اشاره شد، ترویج و توسعه استفاده از زادمایه زیستی باکتری های جنس ازتوباکتر به‌عنوان جایگزین و یا بخش از کود مورد نیاز گیاه می‌تواند بسیار نوید بخش بوده که نتیجه آن تولید محصول پاک و ارگانیک و جلوگیری از مصرف بی رویه کودهای شیمیایی در شالیزارها، که در شرایط موجود دارای استعداد آلودگی های زیست‌محیطی و بویژه آب‌های سطحی و زیر زمینی است، می باشد. در پایان امید است ترویج یافته‌های این حوضه و فرهنگ سازی آن به‌گونه‌ای باشد که لاجرم منجر به توجه بیشتر مسئولین دولتی در الزام به تولید و استفاده از کودهای زیستی بومی کشور که در قوانین موجود بالا دستی و مشخصا" برنامه‌های پنج ساله توسعه، مصوب و مکتوب است، شروعی برای گام‌های اساسی در راستای نیل به کشاورزی پایدار در کشور، بویژه شالیزارها و تولید برنج باشد.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y. and Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Front Microbiol*, 12, 628379.

Adeleke, R.A., Raimi, A.R., Roopnarain, A. and Mokubedi, S.M. (2019). Status and prospects of bacterial inoculants for sustainable management of agroecosystems. In B. Giri, R. Prasad, Q.-S. Wu, A. Varma, (eds), Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment. (pp. 137–172). Springer, Cham, Switzerland.

Ahmadi-Rad, S., Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Asgharzadeh, A. and Dolatabadian, A. (2016). Foliar application of nitrogen fixing bacteria increases growth and yield of canola grown under different nitrogen regimes. *Rhizosphere*, 2, 34–37.

Akram, M., Rizvi, R., Sumbul, A., Ansari, R.A. and Mahmood, I. (2016). Potential role of bio-inoculants and organic matter for the management of root-knot nematode infesting chickpea. *Cogent Food and Agriculture*, 2 (1), 1183457.

Alam, M.S., Cui, Z.J., Yamagishi, T. and Ishii, R. (2001). Grain yield and related physiological characteristics of rice plants (Oryza sativa L.) inoculated with free-living rhizobacteria. *Plant Production Science*, 4: 126–130.

Alikhani, H., Etesami, H. and Mohammadi, L. (2018). Evaluation of the Effect of Rhizospheric and Non-Rhizospheric phosphate Solubilizing Bacteria on Improving the Growth Indices of Wheat under Salinity and Drought Stress. *Journal of Sol Biology*, 6 (1), 1-14. (In Farsi).

Alikhani, H., Emami, S. and Etesami, H. (2021). Periphyton and its key role in paddy fildes and environmental health, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52 (2), 451-467.

Aloo, B.N., Makumba, B.A. and Mbega, E.R. (2020). Plant Growth Promoting Rhizobacterial Biofertilizers for Sustainable Crop Production:

Arora, M., Saxena, P., Abdin, M.Z. and Varma, A. (2018). Interaction between Piriformospora indica and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in Artemisia annua L. plants grown under in vitro conditions. *Symbiosis*, 75 (2), 103–112.

Artyszak, A. and Gozdowski, D. (2020). The effect of growth activators and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the soil properties, root yield, and technological quality of sugar beet. *Agronomy*, 10, 1262.

Aseri, G.K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A.V. and Meghwal, P.R. (2008). Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. *Scientia Horticulture*, 117 (2), 130–135.

Asghari, J., Ehteshami, S., Rajabi Darvishan, Z. and Khavazi, K. (2013). Investigation of spraying or root inoculation by Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) and their metabolits on morphophysiological indices, qualitative indices and yield in Hashemi cultivar of rice. *Journal of Plant Process Function*, 2 (4), 25-40. (In Farsi).

Asghari, J., Ehteshami, S., Rajabi Darvishan, Z. and Khavazi, K. (2014). Study of root inoculation with plant growth promoting bacteria (PGPB) and spraying with their metabolites on chlorophyll content, nutrients uptake and yield in rice (*Hashemi cultivar*). *Journal of Sol Biology*, 2 (1), 21-31. (In Farsi).

Azaroual, S. E., Hazzoumi, Z., El Mernissi, N., Aasfar, A., Meftah Kadmiri, I. and Bouizgarne, B. (2020). Role of inorganic phosphate solubilizing *Bacilli* isolated from moroccan phosphate rock mine and rhizosphere soils in wheat (*Triticum aestivum* L) phosphorus uptake. *Current Microbiology*, 77, 2391–2404.

Baars, O., Zhang, X., Morel, F. M. M. and Seyedsayamdost, M. R. (2015). The siderophore metabolome of *Azotobacter vinelandii*. *Applied Environmental Microbiology*, 82, 27–39.

Barney, B.M., Eberhart, L.J., Ohlert, J.M., Knutson, C.M. and Plunkett, M.H. (2015). Gene deletions resulting in increased nitrogen release by Azotobacter vinelandii: application of a novel nitrogen biosensor. *Applied Environmental Microbiology*, 81 (13), 4316–4328.

Bartholomew, W. V. (2015). Mineralization and immobilization of nitrogen in the decomposition of plant and animal residues. In W. V. Bartholomew and F. E. Clark (eds) Soil Nitrogen. (pp. 285-306). New York, NY: John Wiley & Sons, Ltd.

Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., and Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil*, 378, 1–33.

Banayo, N. P. M., Cruz, P.C.S., Aguilar, E. A.2, Badayos, R.B. and Stephan Haefele, M. (2012). Evaluation of Biofertilizers in Irrigated Rice:

The Past, Present, and Future. *Preprints*, 2020090650 (doi: 10.20944/preprints202009.0650.v1).

Althaf, H.S. and Srinivas, P. (2013). Evaluation of plant growth promoting traits by *Pseudomonas* and *Azotobacter* Isolated from Rhizotic soils of two selected agro forestry tree species of Godavari belt region, India. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 4(3), 431–436.

Ambreetha, S., Chinnadurai, C., Marimuthu, P. and Balachandar, D. (2018). Plant-associated *Bacillus modulates* the expression of auxin-responsive genes of rice and modifies the root architecture. *Rhizosphere*, 5, 57:66.

AminDeldar, Z., Ehteshami, S. M. R., Shahdi Kumleh, A. and Khavazi, K. (2014). Effect of *Pseudomonas* Sp. Bacteria on Soil Chemical and Biological Properties, Yield and Its Components of Two Rice Cultivars. *Journal of Crop Production and Processing*, 4 (11), 149-160. (In Farsi).

Aminpanah, H. and Abassian. A. (2016). Effect of crop rotation, *Azotobacter chroococcum* inoculation and nitrogen rate on rice (*Oryza sativa* L.) paddy yield. *Journal of Crop Production*, 9(3), 211-230. (In Farsi).

Aminpanah, H. and Firouzi, S. 2019. Fertilizer Management Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Rice Fields. *International Journal of Agricultural Management and Development*, 9 (1), 67-76.

Amirabadi, M., Ardakani, M., Rejali, F. and Borji, M. (2010). Effects of *Azotobacter chroococcum* and Mycorrhizal Fungus along with Different Levels of Phosphorus on Qualitative and Morphological Characteristics of Forage Maize (KSC 704), *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 41(1), 49-56. (In Farsi).

Andjelkovi´c, S., Vasi´ca, T., Radovi´ca, J., Babi´ca, S., Markovi´ca, J., Zorni´ca, V., et al. (2018). Abundance of *Azotobacter* in the soil of natural and artificial grasslands. *Solut Proj Sustain Soil Manage*, 172.

Ansari, M. F., Tipre, D. R. and Dave, S. R. (2015). Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer aeritinum* (chickpea) in pot and field study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4, 17–24.

Ansari, R.A. and Mahmood, I. (2019a). Plant health under biotic stress: Volume 1: Organic Strategies. Springer.

Ansari, R.A. and Mahmood, I. (2019b). Plant health under biotic stress: Volume 2: Microbial Interactions. Springer.

Aquilanti, L., Favilli, F. and Clementi, F. (2004). Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 36 (9), 1475–1483.

Arora N. K. (2018). Agricultural sustainability and food security. *Environmental Sustainability*, 1, 217–219.

Brewin, B., Woodley, P. and Drummond, M. (1999). The basis of ammonium release in nifL mutants of *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Bacteriology*, 181, 7356–7362.

Cavite H.J.M., Mactal A.G., Evangelista E.V. and Cruz J.A. 2021. Growth and Yield Response of Upland Rice to Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regul*ation, 40, 494-508.

Chang, W. S., Van De Mortel, M., Nielsen, L., De Guzman, G. N., Li, X. and Halverson, L. J. (2007). Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions. *Journal of Bacteriology*, 189, 8290–8299.

Chaudhary, D., Narula, N., Sindhu, S. S. and Behl, R. K. (2013). Plant growth stimulation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of salinity tolerant *Azotobacter* strains. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19, 515–519.

Chen, S.L., Tasil, M. K., Huang, Y. M. and Huang, C.H. (2018). Diversity and characterization of *Azotobacter* isolates obtained from rice rhizosphere soils in Taiwan. *Annals* of *Microbiology*, 68, 17–26.

Chennappa, G., Adkar-Purushothama, C.R., Suraj, U., Tamilvendan, K. and Sreenivasa, M.Y. (2013). Pesticide tolerant *Azotobacter* isolates from paddy growing areas of northern Karnataka, India. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 30, 1–7.

Chennappa, G., Adkar-Purushothama, C.R., Naik, M.K. and Sreenivasa, M.Y. (2014). Impact of pesticides on PGPR activity of *Azotobacter* sp. isolated from pesticide flooded paddy soils. *Greener Journal of Biologizal Sciences*, 4 (4)117–129.

Chennappa, G., Naik, M.K., Adkar-Purushothama, C.R., Amaresh, Y.S. and Sreenivasa, M.Y. (2016). PGPR, abiotic stress tolerant and antifungal activity of *Azotobacter* sp. isolated from paddy soils. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54,322–331

Chennappa, G., Sreenivasa, M.Y. and Nagaraja, H. (2018). *Azotobacter salinestris*: A Novel Pesticide-Degrading and Prominent Biocontrol PGPR Bacteria. In: Panpatte D., Jhala Y., Shelat H., Vyas R. (eds), Microorganisms for Green Revolution. Microorganisms for Sustainability (Vol 7). Springer, Singapore.

Chennappa G., Naik M.K., Amaresh Y.S., Nagaraja H. and Sreenivasa M.Y. (2017). *Azotobacter*: A Potential Biofertilizer and Bioinoculants for Sustainable Agriculture. In: Panpatte D., Jhala Y., Vyas R., Shelat H. (eds) Microorganisms for Green Revolution. Microorganisms for Sustainability (Vol 6). Springer, Singapore.

Choudhury, A.T.M.A. and Kennedy, I.R. (2004). Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. *Biology and Fertility of Soils*, 39, 219–227.

Creus, C. M., Sueldo, R. J. and Barassi, C. A. (2004). Water relations and yield in *Azospirillum* Effects on Grain Yield at Different Fertilizer Rates. *Agriculture*, 2, 73-86.

Balajee, S. and Mahadevan, A. (1999). Influence of chloroaromatic substances on the biological activity of *Azotobacter chroococcum*. *Chemosphere*, 21(1–2), 51–56.

Banik, A., Mukhopadhaya, S.K. and Dangar, T.K. (2016). Characterization of N2-fixing plant growth promoting endophytic and epiphytic bacterial community of Indian cultivated and wild rice (*Oryza* spp.) genotypes. *Planta*, 243, 799:812.

Banik, A., Dash, G.K., Swain, P., Kumar, U., Mukhopadhyay, S.K. and Dangar, T.K. (2019). Application of rice (*Oryza sativa* L.) root endophytic diazotrophic *Azotobacter* sp. strain Avi2 (MCC 3432) can increase rice yield under green house and field condition. *Microbiological Research*, 219, 56–65.

Baral, B.R. and Adhikari, P. (2013). Effect of *Azotobacter* on growth and yield of maize. *SAARC Journal of Agriculture*, 11 (2), 141–147.

Barker, A. V., Pilbeam, D. J., Hopkins, B. G. and Hopkins, B. G. (2015). Phosphorus. Boca Raton, FL: CRC Press.

Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S. and El Enshasy, H. (2021). Plant Growth

Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*, 13, 1140.

Becking, J. H. (2006). The family Azotobacteraceae. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt (eds), The Prokaryotes: Proteobacteria: Gamma Subclass (Vol6). (pp. 759-783). New York, NY: Springer

Behl, R.K., Sharma, H., Kumar, V. and Narula, N. (2003). Interactions amongst *mycorrhiza*, *Azotobacter chroococcum* and root characteristics of wheat varieties. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189 (3), 151–155.

Bellenger, J.P., Wichard, T., Kustka, A.B. and Kraepiel, A.M.L. (2008). Uptake of molybdenum and vanadium by a nitrogen-fixing soil bacterium using siderophores. *Natural Geoscience*, 1 (4), 243–246.

Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K. and Tuteja N. (2014). Biofertilizers function as a key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13, 66.

Bhattacharyya, P. and Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 1327–1350.

Brenner, D. J., Staley, J. T. and Krieg, N. R. (2005). Classification of prokaryotic organisms and the concept of bacterial speciation. In D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley, and G. M. Garrity (eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria, Part A Introductory Essays (Vol 2). (pp. 27-32). Boston, MA: Springer.

inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany*, 82, 273-281.

Dabral, S., Saxena, S.C., Choudhary, D.K. et al. (2020). Synergistic inoculation of *Azotobacter vinelandii* and *Serendipita indica* augmented rice growth. *Symbiosis*, 81, 139–148.

Dal Cortivo, C., Ferrari, M., Visioli, G., Lauro, M., Fornasier, F., Barion, G., Panozzo, A., and Vamerali, T. (2020). Effects of Seed-Applied Biofertilizers on Rhizosphere Biodiversity and Growth of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Field. *Frontiers in Plant Science*, 11(72), 1-14.

Das, A.C. and Saha, D. (2005). Non symbiotic nitrogen fixing bacteria influencing mineral and hydrolysable organic nitrogen in rhizosphere soil of rice (*Oryza sativa*). *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 75 (5), 265–269.

Das, H.K. (2019). *Azotobacters* as biofertilizer. *Advances in applied Microbiology*, 108, 1-43.

Deng, F., Wang, L., Ren, W.J. and Mei, X.F. (2014). Enhancing nitrogen utilization and soil nitrogen balance in paddy fields by optimizing nitrogen management and using polyaspartic acid urea. *Field Crops Research*, 169:30–38.

Diaz-Barrera, A. and Soto, E. (2010). Biotechnological uses of *Azotobacter vinelandii*: Current state, limits and prospects. *African Journal of Biotechnology*, 9 (33), 5240–5250.

Doni, F., Suhaimi, N.S.M., Mispan, M.S., Fathurrahman, F., Marzuki, B.M., Kusmoro, J.and Uphoff, N. (2022). Microbial Contributions for Rice Production: From Conventional Crop Management to the Use of 'Omics' Technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (737): 1-22.

Ebrahimi, M., Safari Sanjani, A., Sarikhani, M.R. and AliAsgharzad, N. (2018). Isolation, identification, and determination of plant growth promoting properties of *Azotobacteria* isolated from soil samples North-west of Iran under different land-use. *Applied Soil Research*, 6(2), 27-42. (In Farsi).

Eftekhari, G., Fallah, A.R., Akbari, G.A., Mohadesi, A. and Dadi, A. 2009. The effect of phosphate solubilizing bacteria and phosphate fertilizers on the rice plant grows. *Irainian Journal of Soil Research*, 23 (2), 229-237. (In Farsi).

Efthimiadou, A., Katsenios, N., Chanioti, S. et al. (2020). Effect of foliar and soil application of plant growth promoting bacteria on growth, physiology, yield and seed quality of maize under Mediterranean conditions. *Scientific Reports*, 10, 21060.

Ehteshami, S., Amindeldar, Z., Shahdi Kumleh, A. and Ramezani, H. (2014). Effect of seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* strains on quantitative and qualitative indices of two rice cultivars (*Oryza sativa* L.), *Research in Field Crop Journal*, 2(1), 50-63. (In Farsi).

El-sayed, S., Hassan, H. and El-Mogy, M. (2014). Impact of Bio- and organic fertilizers on potato yield, quality and tuber weight loss after harvest. *Potato Research*, 58, 67–81. doi: 10.1007/s11540-014-9272-2.

Esmailpour, A., Hassanzadehdelouei, M. and Madani, A. (2013). Impact of livestock manure, nitrogen and biofertilizer (*Azotobacter*) on yield and yield components wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Cercetari Agronomice in Moldova*, 46 (2), 5–15.

Estiyar, H.K., Khoei, F.R. and Behrouzyar, E.K. (2014). The effect of nitrogen biofertilizer on yield and yield components of white bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Dorsa). *International Journal of Biosciences*, 4(11), 217–222.

Etesami, H., Mirseyed Hosseini, H. and Alikhani, H.A. (2014). Bacterial biosynthesis of 1-aminocyclopropane-1-caboxylate (ACC) deaminase, a useful trait to elongation and endophytic colonization of the roots of rice under constant flooded conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(4), 425-34.

Etesami, H. and Alikhani H.A. (2016a). Co-inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria allows reduced application rates of N-fertilizer for rice plant. *Rhizosphere*, 2, 5-12.

Etesami, H. and Alikhani H.A. (2016b). Suppression of the fungal pathogen Magnaporthe grisea by Stenotrophomonas maltophilia, a seed-borne rice (*Oryza sativa* L.) endophytic bacterium. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62 (9), 1271-1284.

Etesami, H. and Alikhani H.A. (2017). Evaluation of Gram-positive rhizosphere and endophytic bacteria for biological control of fungal rice (*Oryzia sativa* L.) pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 147, 7–14.

Fallah, A., Momeni, S. and Shariati, S. (2014). Effect of PGPR Biofertilizers on the Qualitative and Quantitative Yield Parameters of Wheat (*Triticum aestivum*). *Applied Soil Research*, 2(1), 103-114. (In Farsi).

García-Fraile, P., Menéndez, E., Celador-Lera, L., Díez-Méndez, A., Jiménez-Gómez, A., Marcos-García, M., Cruz-González, X.A., Martínez-Hidalgo, P., Mateos, P.F., Rivas, R. (2017). Bacterial probiotics: A truly green revolution. In V. Kumar, M. Kumar, S. Sharma, R. Prasad, (eds), Probiotics and Plant Health (pp. 131-162). Springer: Singapore, 131–162.

Ghasemi Goaber, M., Shakouri, M.J., Daneshian, J. and Akhgar, H. (2013). Investigating the Combined Role of Ecological Bacteria on Physiological and Morphological Characteristics of Rice Hashemi Cultivar. *Journal of Plant production Sciences*, 2 (2), 31-36.

Gomare, K.S., Mese, M. and Shetkar, Y. (2013). Isolation of *Azotobacter* and cost effective production of biofertilizer. *Indian Journal of Applied Research*, 3 (5), 54–56.

González-López, J., Rodelas, B., Pozo, C., Salmerón-López, V., Martínez-Toledo, M.V. and Salmerón, V. (2005). Liberation of amino acids by heterotrophic nitrogen fixing bacteria. *Amino*

(2020). Evaluation of Yield, Yield Components and Some Physiological Traits of Sunflower with Integrative Application of Biological, Chemical, and Organic Fertilizers under Different Irrigation Levels. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(3), 87-111. (In Farsi).

Javan Gholiloo, M., Yarnia, M., Hassanzadeh Ghorttapeh, A., Farahvash, F. and Daneshian, A. (2020). The reaction of Valerian to the application of bio-fertilizers under drought stress, *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30 (4), 59-72. (In Farsi).

Jaipaul, S., Dixit, A. and Sharma, A. (2011). Growth and yield of capsicum (*Capsicum annum*) and garden pea (Pisum sativum) as influenced by organic manures and biofertilizers. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81, 637–642.

Jean, M.E., Phalyvong, K., Forest-Drolet, J. and Bellenger, J. P. (2013). Molybdenum and phosphorus limitation of asymbiotic nitrogen fixation in forests of Eastern Canada: influence of vegetative cover and seasonal variability. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 140–146.

Jiménez, D.J., Montaña, J.S. and Martínez, M.M. (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown Colombian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 846–858.

Jnawali, A.D., Ojha, R.B. and Marahatta, S. (2015). Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability–A review. Advances in *Plants and Agricultural Research*, 2 (6), 1–5.

Joshi, P. M. and Juwarkar, A. A. (2009). In vivo studies to elucidate the role of extracellular polymeric substances from *Azotobacter* in immobilization of heavy metals. *Environmental Science and Technology*, 43, 5884–5889.

Kamil, P., Yami, K.D. and Singh, A. (2008). Plant Growth Promotional Effect of *Azotobacter chroococcum*, *Piriformospora indica* and Vermicompost on Rice Plant. *Nepal Journal of Science and Technology*. 9, 85–90.

Kanungo, P.K., Adhya, T.K. and Rao, V.R. (1995). Influence of repeated applications of carbofuran on nitrogenase activity and nitrogen – fixing bacteria associated with rhizosphere of tropical rice. *Chemosphere*, 31(5), 3249–3257.

Karami, R., Karami, R., Majidian, M. and Moshtaghi, M. (2020). Integrated Application of Biofertilizers and Chemical N and P on Quantitative and Qualitative Characteristics of Male-Streile Tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. PVH19). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30 (3), 113-131. (In Farsi).

Kasa, P., Modugapalem, H. and Battini, K. (2015). Isolation, screening, and molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolates of *Azotobacter* and *Trichoderma* and their beneficial activities. Journal of Natural Science, Biology and Medicine, 6(2),

Acids, 28 (4), 363–367.

Gothandapani, S., Sekar, S. and Padaria, J.C. (2017). *Azotobacter chroococcum*: Utilization and potential use for agricultural crop production: An overview. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 4 (3), 35–42.

Govindarajan, M., Balandreau, J., Kwon, S.W., Weon, H.Y. and Lakshminarasimhan, C. (2008). Effects of the inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. *Microbial Ecology*, 55, 21–37.

Gauri, S.S., Mandal, S.M. and Pati, B.R. (2012). Impact of Azotobacter exopolysaccharides on sustainable agriculture. *Applied Microbiol Biotechnology*, 95, 331–338.

Habibi, S., Djedidi, S., Ohkama-Ohtsu, N, Sarhadi, W. A., Kojima, K., Rallos, R. V., Ramirez, M. D. A., Yamaya H., Sekimoto H. and Yokoyama, T. (2019). Isolation and Screening of Indigenous Plant Growth-promoting Rhizobacteria from Different Rice Cultivars in Afghanistan Soils. *Microbes and Environments*, 34 (4), 347-355.

Hafez, M., Elbarbary, T. A., Ibrahim, I. and Abdel-Fatah, Y. (2016). *Azotobacter vinelandii* evaluation and optimization of Abu Tartur Egyptian phosphate ore dissolution. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology*, 1, 80–93.

Hakeem, K.R., Sabir, M., Ozturk, M., Akhtar, M.S., Ibrahim, F.H., Ashraf, M. and Ahmad, M.S.A. (2016). Nitrate and nitrogen oxides: sources, health effects and their remediation. In: Reviews of environmental contamination and toxicology. (pp. 183–217). Cham, Springer.

Hassen, M. I., Pierneef, R., Swanevelder, Z. H. and Bopape, F. L. (2020). Microbial and functional diversity of *Cyclopia intermedia* rhizosphere microbiome revealed by analysis of shotgun metagenomics sequence data. *Data Brief*, 32:106288.

Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals Microbiology*, 60 (4), 579–598.

Herter, S., Schmidt, M. and Thompson, M.L. (2011) A new phenol oxidase produced during melanogenesis and encystment stage in the nitrogen-fixing soil bacterium *Azotobacter chroococcum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90, 1037–1049.

Heydarzadeh, S., Jalilian, J., Pirzad, A. and Jamei, R. (2018). The Effect of Biofertilizers on Some Quantitative and Qualitative Characteristics of Vetch Maragheh (Vicia sp.) under Rainfed and Supplementary Irrigation. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 28(3), 187-208. (In Farsi).

Ilkaei, M.N., Mehri, S., Espidkar, Z. and Ansari, M.H. (2018). Effect of plant growth simulating bacteria on yield and yield components of rice under different vermicompost level. *Crop Physiology Journal*, 38 (10), 95-110. (In Farsi).

Izan, T., Javanmard, A., Shekari, F. and Abbasi, A.

360-363.

Kennedy, C., Rudnick, P., Mac Donald, M. L. and Melton, T. (2015). *Azotobacter*. In M. E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. KRampfer, F. A. Rainey and W. B. Whitman (eds), Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. (pp. 1-33). Atlanta, GA: American Cancer Society

Kennedy, I. R., Choudhury, A. T. M. and Kecskés, M. L. (2004). Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited?. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1229–1244.

Khan, Z., Tiyagi, S.A., Mahmood, I. and Rizvi, R. (2012). Effects of N fertilisation, organic matter, and biofertilisers on the growth and yield of chilli in relation to management of plant-parasitic nematodes. *Turkish Journal of Botany*, 36 (1), 73–81.

Khan, M., Ahmad, E., Zaidi, A. and Oves, M. (2013). Functional aspect of phosphate-solubilizing bacteria: importance in crop production. In D. Maheshwari, M. Saraf, and A. Aeron (eds), Bacteria in Agrobiology: Crop Productivity (pp 237-263). Berlin, Springer

Khodadadi, R., Ghorbani-Nasrabadi, R., olamaee, M. and movahedi Naeini, S. (2019). Isolation and screening of native *Azotobacter* from salt affected soils and measurement of their growth promoting properties. *Applied Soil Research*, 7(2), 109-122. (In Farsi).

Khosravi, H. (2016). Evaluation of Inoculation of Selected Strains of Native *Azotobacter chroococcum* on Wheat Growth. *Journal of Sol Biology*, 3(2), 129-136. (In Farsi).

Khosravi, H., Tavasoli, A., Sedri, M., Ziaeain, A., Zabihi, H. and Montazeri, E. (2015). Effects of Inoculation of Native *Azotobacter* on Yeild and Growth Indices of Wheat in Iran. *Journal of Soil Biology*, 2(2), 149-157. (In Farsi).

Khosravi, H. (2021). Evaluation of Plant Growth-Promoting Properties of Native *Azotobacter* Isolates and the Effect of their Inoculation under Salinity Stress on Growth of Forage Maize. *Journal of Sol Biology*, (Article in press). (In Farsi).

Kizilkaya, R. (2009). Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter* spp. strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. *Journal of Environmental Biology*, 30, 73–82.

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 (101487), 1-11.

Kraepiel, A., Bellenger, J., Wichard, T. and Morel, F. (2009). Multiple roles of siderophores in free living nitrogen-fixing bacteria. *Biometals*, 22, 573–581.

Kumar, S., Bauddh, K., Barman, S.C. and Singh, R.P. (2014). Amendments of microbial biofertilizers and organic substances reduces requirement of urea and DAP with enhanced nutrient availability and productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecological Engineering*, 71:432–437.

Kumawat, N., Kumar, R., Kumar, S. and Meena, V. S. (2017). Nutrient solubilizing microbes (NSMs): its role in sustainable crop production bt – agriculturally important microbes for sustainable agriculture: volume 2: applications in crop production and protection. In V. S. Meena, P. K. Mishra, J. K. Bisht, and A. Pattanayak (eds), Applications in Crop Production and Protection. (pp. 25-61). Singapore, Springer.

Kurrey, D.K., Sharma, R., Lahre, M.K. and Kurrey, R.L. (2018). Effect of *Azotobacter* on physio-chemical characteristics of soil in onion field. *The Pharma Innovation Journal*, 7 (2), 108–113.

Kyaw, E.P., Soe, M.M., San San Yu, Z.K.L. and Lynn, T.M. (2019) Study on plant growth promoting activities of *azotobacter* isolates for sustainable agriculture in Myanmar. *Journal of Biotechnology and Bioresearch*, 1 (5), 1–6.

Lalitha, S. (2017). Plant growth–promoting microbes: a boon for sustainable agriculture. In Dhanarajan, A. (Ed), Sustainable Agriculture towards Food Security. (pp. 125–158) .Springer Singapore, Singapore.

Lara-López, I. M. and Geiger, O. (2017). Bacterial lipid diversity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862, 1287–1299.

Latef, A. A. H. A., Alhmad, M. F. A., Kordrostami, M., Abo-Baker, A. B. A. E. and Zakir, A. (2020). Inoculation with Azospirillum lipoferum or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 1293–1306.

Lavakush, L., Yadav, J., Verma, J.P., Jaiswal, D.K. and Kumar, A. (2014). Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). *Ecological Engineering*, 62: 123–128.

Leylasi Marand, M. and Sarikhani, M. (2017). Investigation of Nitrogen Fixation Efficiency of Some Azotobacter Isolates by Maize Inoculation. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 27(4), 51-63. (In Farsi).

Leylasi Marand, M. and Sarikhani, M. (2018). Evaluation of Biological Nitrogen Fixation by *Azotobacter* Isolates in Solid and Liquid LG Medium by Kjeldahl method. *Water and Soil Science*, 28 (2), 207-218. (In Farsi).

Lenart, A. (2012). Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of Southern Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21 (2), 415–424.

Macik, M., Gryta, A., Frac, M. (2020). Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. In Sparks,

Moslehi, N., Niknejad, Y. Fallah Amoli, H. and Kheyri, N. 2016. Effect of integerated application of chemical, organic and biological biofertilizr on some of the morphophysiological traits of rice (*Oryza sativa* L.) Tarom Hashemi cultivar. *Crop Physiology Journal*, 8 (30), 87-103. (In Farsi).

Muthayya, S., Sugimoto, J.D., Montgomery, S. and Maberly, G.F. (2014). An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1324, 7–14.

Myresiotis, C.K., Vryzas, Z. and Mourkidou, E.P. (2012). Biodegradation of soil applied pesticides by selected strains of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on bacterial growth. *Biodegradation*, 23,297–310.

Nagaraja, H., Chennappa, G., Rakesh, S., Naik, M.K., Amaresh, Y.S. and Sreenivasa, M.Y. (2016). Antifungal activity of Azotobacter nigricans against trichothecene-producing Fusarium species associated with cereals. *Food Science and Biotechnology*, 25(4):1197–1204.

Nakisa, N., Besharati, H. and Doroudian, H. (2015). Effect of *Bacillus subtilis* and TSP on Yield and Yield Components of Two Rice Varieties (Ali Kazemy and Hashemy). *Iranian Journal of Soil Research*, 29 (3), 259-268. (In Farsi).

Narula, N., Kumar, V., Behl, R., Deubel, A., Gransee, A. and Merbach, W. (2000). Effect of P-solubilization (Azotobacter chroococcum) on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse condition. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163, 393–398.

Naseri, R. and Mirzaei, A. (2010). Response of yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with Azotobacter and Azospirillum and different nitrogen levels under dry Land Conditions. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 9 (4): 445-449.

Ngalimat, M.S., Mohd Hata, E., Zulperi, D., Ismail, S.I., Ismail, M.R., Mohd Zainudin, N.A.I., Saidi, N.B. and Yusof, M.T. (2021). Plant growth-promoting bacteria as an emerging tool to manage bacterial rice pathogens. *Microorganisms*, 9 (682): 1-23.

Nemati, A., Gholchin, A. and Besharati, H. (2015). Effects of Biological Fertilizers on Yield and Growth Indices of Tomato in Cd Contaminated Soil. *Iranian Journal of Soil Research*, 29(1), 23-36. (In Farsi).

Niknejad, Y., Daneshian, J., Shirani Rad, A., Pirdashti, H. and Arzanesh, M. (2016). Evaluation the efficiency of growth promoting bacteria on yield and yield components of rice under deficit irrigation and reduced rates of nitrogen. *Applied Field Crops Research*, 29(3), 9-19. (In Farsi).

Nosrati, R., Owlia, P., Saderi, H., Rasooli, I., and Ali Malboobi, M. (2014). Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil *Azotobacter* strains. *Iranian Journal of Microbiology*, 6, 285–295.

Omer, A., Emara, H., Zaghloul, R., Abdel, M. and D.L. (Ed), Advances in Agronomy. (Vol. 162) (pp. 31-87). Cambridge, MA, USA

Mal, B., Mahapatra, P. and Mohanty, S. (2014). Effect of Diazotrophs and Chemical Fertilizers on Production and Economics of Okra (*Abelmoschus esculentus*. L.) Cultivars. *American Journal of Plant Sciences*, 05, 168–174.

Mamnabia, S., Nasrollahzadeh, S., Ghassemi-Golezani, G. and Raei, Y. (2020). Morpho-Physiological traits, grain and oil yield of rapeseed (*Brassica napus* L.) affected by drought stress and chemical and bio-fertilizers. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30 (3), 359-378. (In Farsi).

Martinez, T., Salmeron, M.V. and Gonzalez, L. (1992). Effects of an organophosphorus insecticide, profenofos on agricultural soil microflora. *Chemosphere*, 24(1), 71–80.

Masahi, S., Naderi, D. and Baharlouei, J. (2018). Effect of biofertilizers on growth and biochemical characteristics of tall fescue (Festuca arundinacea Schreb.) under different levels of salinity. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 28(1), 79-95.

Maheshwari, D.K., Dubey, R.C., Aeron, A., Kumar, B., Kumar, S., Tewari, S. and Arora, N.K. (2012). Integrated approach for disease management and growth enhancement of Sesamum indicum L. utilizing *Azotobacter chroococcum* TRA2 and chemical fertilizer. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 28 (10), 3015–3024.

McRose, D.L., Baars, O., Seyedsayamdost, M.R. and Morel, F.M. (2018). Quorum sensing and iron regulate a two-for-one siderophore gene cluster in Vibrio harveyi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115 (29), 7581–7586.

Mehnaz, S. (2016). An overview of globally available bioformulations. In N. Arora, S. Mehnaz, R. Balestrini, (eds), Bioformulations: For Sustainable Agriculture. (pp. 268-281). Springer: New Delhi, India.

Meshram, S.U. and Shende, S.T. (1982). Response of Maize to *Azotobacter chroococcum*. *Plant and Soil*, 69, 265–273.

Mohammadian, M., astaraei, A., Lakzian, A., Emami, H. and Kavoosi, M. (2020). Evaluation and Comparison of the Effects of Different Application Methods and Sources of Nitrogen on Nitrogen Use Efficiency of Hashemi Rice Variety. *Iranian Journal of Soil Research*, 34(1), 1-16. (In Farsi).

Mohammadinejhad- Babandeh, S.N., Doroodian, H.R. and Besharati, H. (2012). Effect of bio-bacteria (*Azetobacter*, *Azorhizoboum*, *Azospirilium*) on yield and yield components of Rice in Bandar-Anzali, North of Iran. *Research Journal of Biological science*, 7 (6), 244-249.

MollaJafari, J., Ansari, M.H. and Asadi Rahmani, H. (2017). Effect of *Azolla* compost on qualitative and quantitative parameters of rice under PGPRs inoculated. *Applied Soil Research*, 4(2), 91-104. (In Farsi).

Dawwam, G. (2016). Potential of Azotobacter salinestris as plant growth promoting rhizobacteria under saline stress conditions. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7, 2572–2583.

Ortiz-Marquez, J.C.F., Do Nascimento, M., Dublan, M.D.L.A. and Curatti, L. (2012). Association with an ammonium-excreting bacterium allows diazotrophic culture of oil-rich eukaryotic microalgae. *Applied Environmental of Microbiology*, 78, 2345–2352.

Özen, A.I. and Ussery, D.W. (2012). Defining the *Pseudomonas* genus: where do we draw the line with *Azotobacter*?. *Microbiol Ecology*, 63,239–248.

Qaisrani, M. M., Zaheer, A., Mirza, M. S., Naqqash, T., Qaisrani, T. B.,Hanif, M. K., et al. (2019). A comparative study of bacterial diversity based on culturable and culture-independent techniques in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 1344–1351.

Parmar, N. and Dadarwal, K.R. (1999). Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by *rhizobacteria*. *Journal of Applied Microbiology*, 86 (1), 36–44.

Peng, W. and Berry, E.M. 2019. The Concept of Food Security. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability*, 2: 1-7.

Ponmurugan, K., Sankaranarayanan, A. and Al-Dharbi, N. A. (2012). Biological activities of plant growth promoting *Azotobacter* sp. isolated from vegetable crops rhizosphere soils. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6, 1689–1698.

Prajapati, K., Yami, K.D. and Singh, A. (2008). Plant growth promotional effect of Azotobacter chroococcum, Piriformospora indica and vermicompost on rice plant. *Nepal Journal of Science and Technology*, 9, 85–90.

Puertas, A. and Gonzales, L.M. (1999). Aislamiento de cepas nativas de *Azotobacter chroococcum* en la provincia Granmay evaluacion de su actividad estimuladora en plantulas de tomate. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 20, 5–7.

Qi, D., Wu, Q. and Zhu, J. 2020. Nitrogen and phosphorus losses from paddy fields and the yield of rice with different water and nitrogen management practices. *Scientific Reports*, 10: 9734, 1-12.

Raei, Y., Sayyadi Ahmadabad, M., Ghassemi-Golezani, K. and Ghassemi, S. (2020). The Effect of Biological and Chemical Nitrogen Fertilizers on Pinto Bean (Phaseolus vulgaris L.) and Black Mustard (*Brasassica nigra* L.) Intercropping. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(3), 21-40. (In Farsi).

Rahimi, L., Aliasgharzad, N., Oustan, S. and Farajzadeh, D. (2012). Effects of Microbial Siderophores Produced by Native *Azotobacter chroococcum* Strains on Micronutrients Uptake by Wheat Plant. *Water and Soil Science*, 22 (2), 27-40. (In Farsi).

Rajabi Agereh, S. (2016). Investigation the role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on concentraition of some elements nutrition under irrigation with saline water in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 5(3), 177-190. (In Farsi).

Rajaee, S., Alikhani, H.A. and Raeisi, F. (2007). Effect of growth stimulant potentials of native strains of *Azotobacter chroococcum* on growth, yield and nutrient uptake of wheat. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11 (41), 285-296. (In Farsi).

Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A. N., Yadav N., et al. (2020). Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113, 1075–1107.

Revillas, J.J., Rodelas, B., Pozo, C., Toledo, M.V. and Gonalez-Lopez, J. (2000). Production of B-group vitamins by two Azotobacter strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 89,486–493.

Richardson, A. E., Barea, J.-M., McNeill, A. M. and Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321, 305–339.

Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D. and Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264–272.

Romero-Perdomo, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno-Galván, A., Pastrana, I., RojasTapias, D. and Bonilla, R. (2017). *Azotobacter chroococcum* as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (*Gossypium hirsutum*): Effect in reducing N fertilization. *Revista Argentina de Microbiología*, 49 (4), 377–383.

Ruzzi, M. and Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124–134.

Saeed, K., Ahmed, S. A., Hassan, I. A., and Ahmed, P. H. (2015). Effect of biofertilizer and chemical fertilizer on growth and yield in cucumber (*Cucumis sativus* L.) in green house condition. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 15, 353–358.

Saeidi, M., Raei, Y., Amini, R., Taghizadeh, A. and Pasban Eslam, B. (2018). Evaluation of yield and protein content of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in intercropping with Faba bean (*Vicia faba* L.) under biological and chemical fertilizers, *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 28(4), 247-260. (In Farsi).

Saha, B., Saha, S., Das, A., Bhattacharyya, P., Basak, N., Sinha, A., et al. (2017). Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture. V. S. Meena et

al. (eds), in Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture. (pp. 81-128). Singapore: Springer.

Sahoo, R.K., Ansari, M.W., Pradhan, M., Dangar, T.K., Mohanty, S. and Tuteja, N. 2014. A novel *Azotobacter vinellandii* (SRIAz3) functions in salinity stress tolerance in rice. *Plant Signaling & Behavior*, 9(7), e29377.

Sahoo, R.K., Ansari, M.W., Dangar, T.K., Mohanty, S. and Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterisation of efficient nitrogenfixing *Azotobacter* strains from rice fields for crop improvement. *Protoplasma*, 251, 511–523.

Sammauria, R., Kumawat, S., Kumawat, P., Singh, J. and Jatwa, T.K. 2020. Microbial inoculants: Potential tool for sustainability of agricultural production systems. *Archives of Microbiology*, 202, 677–693.

Samuel, S. and Muthukkaruppan, S.M. (2011). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and fungi associated with rice, mangrove and effluent contaminated soil. *Current Botany*, 2 (3), 22–25.

Sandhya, V. Z. A. S., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. (2009). Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertility of Soils*, 46, 17–26.

Sarkar, A., Mandal, A. R., Prasad, P. H., Maity, T. K., Chandra, B., Viswavidyalaya, K., et al. (2010). Influence of nitrogen and biofertilizer on growth and yield of cabbage. *Journal of Crop and Weed*, 6, 72–73.

Sarkodee-Addo, E., Tokiwa, C., Bonney, P., Aboagye, D.A., Yeboah, A., Abebrese, S.O., Bam, R., Nartey, E.K., Okazaki, S. and Yasuda, M. (2021). Biofertilizer Activity of *Azospirillum* sp. B510 on the Rice Productivity in Ghana. *Microorganisms*, 9 (2000), 1-14.

Sarma, I., Phookan, D. B. and Boruah, S. (2015). Influence of manures and biofertilizers on carrot (*Daucus carota* L.) cv. Early Nantes growth, yield and quality. *Journal of Ecofriendly Agriculture*, 10, 25–27.

Segura, D., Núñez, C. and Espín, G. (2014). "*Azotobacter* Cysts," in eLS, ed. John Wiley & Sons, Ltd (Chichester: Wiley).

Seyedneghad, M., Motamedi, H. and Soleimani, A. (2017). Identification of bacterial endophytes from champa rice cultivar and study of their effects on growth properties of host plant. *Agricultural Biotechnology Journal*, 9 (1), 31-48. (In Farsi).

Seyed Sharifi, R., Ganbari, P., Khavazi, K. and Kamari, H. (2016). Study of interaction between nitrogen and biofertilizers on yield, grain growth of wheat and fertilizer use efficiency. *Journal of Soil Biology*, 4(1), 1-14. (In Farsi).

Shahdi Kumleh, A. (2020). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) on soil chemical properties in a clover- rice cropping system. *Journal of Soil and Water Resources Conservation*, 9(4), 89-106. (In Farsi).

Shahsavarpour Lendeh, K., Pirdashti, H. and Bakhshandeh, E. (2018). Effect of different methods of inoculations with a native plant growth promoting bacteria on some vegetative characteristics and yield of rice (cv. 'Tarom Hashemi') under different levels of potassium fertilizer. *Journal of Crops Improvement*, 20 (1), 235-247. (In Farsi).

Shariati, S. and Alikhani, H. (2015). The application of *Pseudomonas fluorescens* bacteria inoculants on certain growth indices and nutrient uptake in maize. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 24 (4), 45-59. (In Farsi).

Shariati, S., Alikhani, H.A. and Shariati, S. (2019). The use of plant growth promotion bacteria inoculants *Pseudomonas fluorescens* in increasing growth and nutrient uptake in wheat. *Applied Soil Research*, 7(1), 165-176. (In Farsi).

Sharifi, P. and Amiryusefi, M. (2017). Effects of Nitrogen and *Azotobacter* on Yield and Yield components of Wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Roushan. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 27(2), 125-144.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. and Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer plus*, 2:587.

Shen, F.T., Yen, J.H., Liao, C.S., Chen, W.C. and Chao, Y.T. (2019). Screening of rice endophytic biofertilizers with fungicide tolerance and plant growth-promoting characteristics. *Sustainability*, 11 (1133), 1-13.

Shirinbayan, S., Khosravi, H. and Malakouti, M. J. (2019). Alleviation of drought stress in maize (Zea mays) by inoculation with *Azotobacter* strains isolated from semi-arid regions. *Applied Soil Ecology*, 133, 138–145.

Shrivastava, R., Shrivastava, A. K. and Dewangan N. (2015). Combined application of Azotobacter and Urea to improve growth of rice (*Oryza sativum*). *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 3 (1), 67-72.

Shultana, R., Zuan, A. T. K., Yusop, M. R., Saud, H. M. and Ayanda, A. F. (2020). Effect of salt-tolerant bacterial inoculations on rice seedlings differing in salt-tolerance under saline soil conditions. *Agronomy*, 10 (7), 1030.

Siddiqui, A., Shivle, R., Magodiya, N. and Tiwari, K. (2014). Mixed effect of *Rhizobium* and Azotobacter as biofertilizer on nodulation and production of chick pea, *Cicer arietinum*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 7, 46–49.

Singh, F., Kumar, R. and Pal, S. (2008). Integrated nutrient management in rice–wheat cropping system for sustainable productivity. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 56 (2), 205–208.

Singh, S. K., Sharma, H. R., Shukla, A., Singh, U. and Thakur, A. (2015b). Effect of biofertilizers and mulch on growth, yield and quality of tomato in

mid-hills of Himachal Pradesh. *International Journal of Farm Sciences*, 5, 98–110.

Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. (2007). Indole 3 acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31:425–448.

Soleimani Fard, A., Naseri Rad, H., Naseri, R. and Piri, E. (2013). Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Phenological Traits, Grain Yield and Yield Components of Three Maize (Zea mays L.) Cultivars. *Journal of Crop Ecophysiology*, 7 (25), 71-90. (In Farsi).

Soleimanzadeh, H. and Gooshchi, F. (2013). Effects of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Applied Science Journal*, 21 (8), 1176–1180.

Soodaee Mashaee, S., Aliasgharzad, N., Nehmatzade, G. and Soltani, N. (2015). Quantitative and Qualitative Evaluation of Auxin (IAA) Production Potential of Cyanobacteria, Isolated from Guilan Paddy Fields. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 46 (3), 589-596. (In Farsi).

Soodaee Mashaee, S., Nematzadeh, G., Aliasgharzad, N. and Soltani, N. (2016). Physiological Study of Soil-Born Cyanobacteria of Rice Fields in Guilan and Application of Efficient Strains in Improving Growth and Yield of Rice. *Water and Soil Science*, 26 (1-1), 247-258. (In Farsi).

Soodaee Mashaee, S., Aliasgharzad, N., Nematzadeh, G. and Soltani, N. (2019). Phosphate solubilizing efficiency of cyanobacteria isolated from paddy soil and their effects on rice (*Oriza sativa* L.) yield and phosphorus uptake. *Journal of Sol Biology*, 7(2), 211-223. (In Farsi).

Song, Y., Li, Z., Liu, J. *et al.* (2021) Evaluating the Impacts of *Azotobacter chroococcum* Inoculation on Soil Stability and Plant Property of Maize Crop. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. (Accepted).

Sorouri, M., Ehteshami, S., Rabiei, M. and Ramezani, M. (2016). Effect of different strains of *Azotobacter chroococcum* on morphophysiologic traits and yield components of rapeseed (*Brassica napus* L). *Applied Soil Research*, 3(2), 72-85. (In Farsi).

Suba Rao, N. S. (1988). Biofertilizers in agriculture. (p. 208). Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi.

Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R. and Mahmood, I. (2020). *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27: 3634–3640.

Tilak, K. and Sharma, K.C. (2007). Does *Azotobacter* help in increasing the yield. *Indian Farm Digest*, 9, 25–28.

Uribe, D., Sánchez-Nieves, J. and Vanegas, J. (2010). Role of microbial biofertilizers in the development of a sustainable agriculture in the Tropics. In P. Dion, (Ed), Soil Biology and Agriculture in the Tropics. (pp. 235-250). Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.

Vatanpour, Z., Motafakker Azad, R., Jahanbakhsh Godeh Kahriz, S., Movafeghi, A. and Sabzie Nojah Deh, M. (2020). Effect of Inoculation of Growth-Enhancing Bacteria on Grain Yield and Physiological Characteristics of two Cultivars of Bread Wheat Treated with Cadmium Chloride. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30 (3), 147-168. (In Farsi).

Verma, S., Kumar, V., Narula, N. and Merbach, W. (2001). Studies on in vitro production of antimicrobial substances by Azotobacter chroococcum isolates/mutants/In vitro-Produktion von antimikrobiellen Substanzen durch *Azotobacter chroococcum*-Isolate/Mutanten. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 152–165.

Villa, J.A., Ray, E.E. and Barney, B.M. (2014). Azotobacter vinelandii siderophore can provide nitrogen to support the culture of the green algae *Neochloris oleoabundans* and *Scenedesmus* sp. BA032. *FEMS Microbiology Letters*, 351 (1), 70–77.

Wani, S.A., Chand, S. and Ali, T. (2013). Potential use of *Azotobacter chroococcum* in crop production: an overview. *Current Agricultural Research Journal*, 1 (1), 35–38.

Wani, S.A., Chand, S., Wani, M.A., Ramzan, M. and Hakeem, K.R. (2016). *Azotobacter chroococcum*–a potential biofertilizer in agriculture: an overview. In Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives. (pp. 333–348). Springer, Cham.

Wani, S.P. and Gopalakrishnan, S. (2019). Plant growth-promoting microbes for sustainable agriculture. In: Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture. (pp. 19-45). Springer, Singapore.

Wichard, T., Bellenger, J.P., Morel, F.M., Kraepiel, A.M. (2009). Role of the siderophore azotobactin in the bacterial acquisition of nitrogenase metal cofactors. *Environmental Science and Technology*, 43 (19), 7218–7224.

Yadav, A.S. and Vashishat, R.K. (1991). Associative effect of *Bradyrhizobium* and *Azotobacter* inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Indian Journal of Microbiology*, 31 (3), 297–299.

Yadav, J., Verma, J.P., Jaiswal, D.K. and Kumar, A. (2014). Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). *Ecological Engineering*, 62, 123–128.

Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14, 1–4.

Yasari, E., Azadgoleh, M.E., Mozafari, S. and Alashti, M.R. (2009). Enhancement of growth and nutrient uptake of rapeseed (*Brassica napus* L.) by applying mineral nutrients and biofertilizers. *Pakistan Journal of Biological Science*, 12 (2), 127.

Zad Behtouei, M., seyed sharifi, R. and khalilzadeh, R. (2019). Effect of nitrogen and biofertilizers on yield, nitrogen use efficiency and some morpho physiological traits of rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Research*, 8(4), 409-421. (In Farsi).

Zhao, X., Yan, X., Xie, Y., Wang, S., Xing, G. and Zhu, Z. (2016). Use of nitrogen isotope to determine fertilizer-and soil-derived ammonia volatilization in a rice/wheat rotation system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 3017–3024.

Zheng, Y., Han, X., Li, Y. *et al.* (2020). Effects of Mixed Controlled Release Nitrogen Fertilizer with Rice Straw Biochar on Rice Yield and Nitrogen Balance in Northeast China. *Scientific Reports*, 10, 9452: 1-10.

Yasmin, S., Zaka, A., Imran, A., Zahid, M. A., Yousaf, S., Rasul, G. and Mirza, M. S. (2016). Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by inoculated bacteria. *Plos One*, 11(8), 1-19.

Yi, Y., Huang, W. and Ge, Y. (2008). Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 24, 1059–1065.

Yousefi, S., Kartoolinejad, D., Bahmani, M. and Naghdi, R. (2017). Effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* on germination and early growth of hopbush shrub (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress. *Journal of Sustainable Forestry*, 36 (2), 107–120.