Title of Project: Exploration, isolation and characterization of indigenous rhizobacteria from *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek) rhizosphere as PGPR candidates in producing IAA and Gibberellic acid

Mentor: Dr. Ragini Raghav
Assistant Professor, Department of Biotechnology,Atmiya University, Rajkot
Intern: Gunja Vasant
Research Scholar Department of Microbiology, Atmiya University, Rajkot

Date: 15/9/2022

A Research Study under the IKS Division Internship Program 2022-2023

परियोजना का शीर्षक: ट्राइगोनेला **से स्वदेशी राइजोबैक्टीरिया की खोज, अलगाव और लक्षण वर्णन आईएए और जिबरेलिक एसिड के उत्पादन में पीजीपीआर उम्मीदवारों के रूप में** फेनम-ग्रेकेम एल) **मेथी (**राइजोस्फीयर

पर्यवेक्षक का नाम	**डॉ. रागिनी राघव**
पर्यवेक्षक की योग्यता	**एम.टेक , पीएचडी**
वर्तमान पदनाम और संगठन	**सहायक प्रोफेसर, आत्मीय विश्वविद्यालय**
अनुसंधान का क्षेत्र	**नैनो टेक्नोलॉजी, बायोसेंसर**
कार्य अनुभव (वर्ष)	**9**
प्रकाशनों की संख्या	**1 1**

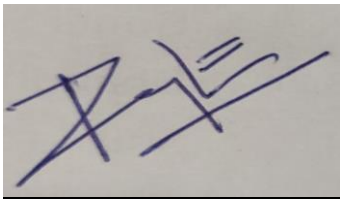
इंटर्न: गुंजा वसंत
अनुसंधान विद्वान
सूक्ष्म जीव विज्ञान विभाग
आत्मीय विश्वविद्यालय

"मैं घोषणा करता हूँ कि यह रिपोर्ट मेरे अपने शब्दों में मेरे विचारों को प्रस्तुत करती है और जहां दूसरों के विचारों या शब्दों को शामिल किया गया है, वहां मैंने मूल स्रोतों को पर्याप्त रूप से दर्शाया है और उनका संदर्भ दिया है । मैं घोषणा करती हूँ कि मैंने इस रिपोर्ट को प्रस्तुत करने में उपयोग किए गए सभी स्रोतों को ठीक से और सटीक रूप से स्वीकार किया है। मैं यह भी घोषणा करता हूँ कि मैंने अकादमिक ईमानदारी और सत्यनिष्ठा के सभी सिद्धांतों का पालन किया है और मेरे प्रस्तुतीकरण में किसी भी विचार / डेटा / तथ्य / स्रोत को गलत तरीके से प्रस्तुत नहीं किया गया है अथवा गढ़ा या मिथ्या रूप में नहीं दिया गया है। मैं समझता हूँ कि उपरोक्त का कोई भी उल्लंघन पाए जाने पर आईकेएस प्रभाग द्वारा अनुशासनात्मक कार्रवाई की जा सकती है और उन स्रोतों द्वारा दंडात्मक कार्रवाई भी हो सकती है जिनका इस प्रकार उचित रूप से उल्लेख नहीं किया गया है या जिनसे आवश्यकता होने पर उचित अनुमति नहीं ली गई है।

इंटर्न के हस्ताक्षर

मेंटरद्वारा मौलिकता प्रमाणपत्र :

मैं एतद्द्वारा प्रमाणित करती हूँ कि उपरोक्त रिपोर्ट सत्य है और यह कार्य मेरे मार्गदर्शन में किया गया था।



मेंटर के हस्ताक्षर

तालिका संख्या	शीर्षक	पृष्ठ सं।
1	**सार** 1.1 हिन्दी 1.2 अंग्रेज़ी	**3**
2	**कार्यकारी सारांश** 2.1 हिन्दी 2.2 अंग्रेजी	**4**
3	**परिचय** 3.1 संयंत्र हार्मोन 3.2 पौधो की खेती को प्रभावित करने वाले और पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया 3.3 प्लांट ग्रोथ को बढ़ाने में पीजीपीआर की भूमिका	**9**
4	**पार्श्वभूमि**	**11**
5	**परियोजना का विवरण** अनुसंधान क्षेत्र	**12**
6	**समीक्षा साहित्य**	
7	**तरीकों** **6.1 मिट्टी के नमूने का संग्रह** **नमूना टीकाकरण** **6.2 प्राथमिक जांच** **6.3 आकृति विज्ञान और पहचान** **6.4 माध्यमिक स्क्रीनिंग (फाइटोहोर्मोन उत्पादन)** **6.4.1 आईएए** **6.4.2 गिबरेलिन्स**	**13**
8	**परिणाम और चर्चा**	**16**
9	**निष्कर्ष**	**19**
10	**संदर्भ**	**20**

सार

भारत अन्य देशों के मसालों का प्रमुख प्रसंस्करण केंद्र बन गया है। जड़ मिट्टी जनित रोग से मेथी की उपज और वृद्धि क्षतिग्रस्त हो जाती है। लंबे समय तक रासायनिक उर्वरकों का अत्यधिक उपयोग, घटती उत्पादकता, कम उर्वरक उपयोग क्षमता, मिट्टी से पोषक तत्वों को जोड़ने और हटाने के बीच में अनुपातहीनता, और मिट्टी में कम कार्बनिक कार्बन जैसे गंभीर मुद्दों का सामना करना पड़ रहा है। बैरवा एट अल., 2012 के अनुसार हाल के वर्षों में रासायनिक उर्वरकों के प्रयोग में वृद्धि हुई है [1]। इसलिए यह खराब पोषक तत्व ग्रहण क्षमता और फसलों की कम उपज की ओर जाता है। इसलिए मेथी में पोषक तत्व प्रबंधन के लिए वैकल्पिक विकल्प खोजना महत्वपूर्ण हो जाता है। रासायनिक उर्वरकों के उपयोग को कम करने के लिए, फसलों की वृद्धि के लिए पौधे की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर) को एक विकल्प के रूप में इस्तेमाल किया जा सकता है। अध्ययन के उद्देश्य में सौराष्ट्र के विभिन्न फसल क्षेत्र से राइजोस्फेरिक मिट्टी से उत्पादित आईएए और जिबरेलिन की प्रभावकारिता के लिए अलगाव और शक्तिशाली पीजीपीआर की जांच शामिल होगी । फाइटोहोर्मोन जैसे इंडोल एसिटिक एसिड (IAA) और गिबरेलिक एसिड (GA) विकास नियामक हैं जो पौधों में वृद्धि बढ़ाने से जुड़े हैं। वर्तमान अध्ययन में राइजोबैक्टीरिया का अलगाव और *ट्राइगोनेला* के मिट्टी के नमूनों से इन राइजोबैक्टीरिया द्वारा उत्पादित फाइटोहोर्मोन की जांच *फेनम गुजरात के विभिन्न क्षेत्रों से एकत्रित ग्रेकुम* एल. (मेथी) का अध्ययन किया गया।33.53 माइक्रोग्राम/मिली से 39.2 माइक्रोग्राम/मिली की सीमा में उत्पादित केवल ग्यारह आइसोलेट्स IAA। जबकि GA का उत्पादन 33.53माइक्रोग्राम/एमएल से 80.09 माइक्रोग्राम/एमएल की सीमा में किया गया था।

कीवर्ड: *मेथी, आईएए, जीए, स्यूडोमोनास सोंगनेन्सिस*

India has also become a major processing centre for spices from other countries. Fenugreek yield and growth are damaged by Root soil borne disease. The excessive use of chemical fertilizers for a long period of time, facing severe issues like declining productivity, low fertilizer use efficiencies, the disproportion in between addition and removal of nutrients from the soil, and low soil organic carbon. Hence it leads to poor nutrient uptake efficiency and low yield of crops. So it become important to find an alternative option for nutrient management in fenugreek. To reduce the use of chemical fertilizers, for enhancement in growth of crops Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) can be used as an alternative. The aim of study will involved isolation and screened out potent PGPR for their efficacy to produced IAA and gibberellins from the Rhizospheric soil from the different crop field of saurashtra. Phytohormones such as Indole Acetic Acid (IAA) and Gibberellic acid (GA) are the growth regulators which are associated with the growth enhancement in plants. In the present study Isolation of Rhizobacteria and screening of phytohormones produced by these rhizobacteria from the soil samples of *Trigonella foenum Graecum* L. (Fenugreek) collected from the different regions of Gujarat was studied. Only eleven isolates produced IAA in the range of 33.53 µg/ml to 39.2 µg/ml. While GA was produced in the range of 10.02 µg/ml to 80.09 µg/ml.

Keywords: *Fenugreek,IAA,GA, Pseudomonas songnenensis*

कार्यकारी सारांश

पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया वे सूक्ष्मजीव हैं जो पौधों की जड़ों का उपनिवेश करते हैं और उनकी वृद्धि में मदद करते हैं और मिट्टी की उर्वरता में सुधार करते हैं। (प्रियंका, 2020) [1] पीजीपीआर की लाभकारी गतिविधि में दो प्रकार के तंत्र शामिल हैं जो प्रत्यक्ष तंत्र और अप्रत्यक्ष तंत्र है। प्रत्यक्ष तंत्र में फाइटोहोर्मोन उत्पादन, खनिज घुलनशीलता और नाइट्रोजन निर्धारण शामिल हैं। जबकि अप्रत्यक्ष तंत्र में रोगजनकों के खिलाफ विरोधी गतिविधि, द्वितीयक चयापचयों का उत्पादन, कवकनाशी की भागीदारी और साइडरोफोर उत्पादन शामिल है [2][इसलिए पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया फसल वृद्धि और स्थायी पर्यावरण के लिए अधिक प्रभावी हैं। फसलों में वृद्धि बढ़ाने के तंत्र में से एक है इंडोल एसिटिक एसिड (IAA), गिबरेलिक एसिड और साइटोकिनिन जैसे फाइटोहोर्मोन का उत्पादन[3]।

IAA की गतिविधि के क्षेत्रों में मुख्य रूप से कोशिका विभाजन और विस्तार शामिल हैं, लेकिन इन्हीं तक सीमित नहीं हैं; उसके अलावा जड़ प्रणाली, पत्तियों और फूलों की दीक्षा; और फल विकास और बुढ़ापा से जुड़ा हुआ है[4,5]। ग्राम-पॉजिटिव और ग्राम-नेगेटिव बैक्टीरिया दोनों सहित कई PGPB, IAA [4,5,6,7,8]का उत्पादन करने के लिए सक्षम है। प्रमुख आईएए-उत्पादक एंडोफाइटिक बैक्टीरियल जेनेरा में स्यूडोमोनास, राइज़ोबियम, एज़ोस्पिरिलम, एंटरोबैक्टर, एज़ोटोबैक्टर, क्लेबसिएला, अल्कालिजेन्स, पैंटोआ, एसीटोबैक्टर, हर्बास्पिरिलम, बर्कहोल्डरिया, बैसिलस, रोडोकोकस और स्ट्रेप्टोमाइसेस शामिल हैं[4,5,9,10]। आमतौर पर किसी विशेष समय में पौधे अपने ऊतकों में मौजूद IAA की मात्रा के प्रति बहुत संवेदनशील होते हैं। चूंकि पौधे भी IAA का उत्पादन करते हैं, पौधों की वृद्धि को विनियमित करने के लिए, IAA-उत्पादक PGPR को IAA की उचित मात्रा प्रदान करनी चाहिए (जो पौधे द्वारा उत्पादित हार्मोन की मात्रा के साथ संयुक्त हो)। वास्तव मे फाइटोपैथोजेन्स को अक्सर उच्च सांद्रता[11,12]पर IAA का उत्पादन करने की उनकी क्षमता की विशेषता होती है। गिबेरेलिन्स (GAs) कई पौधों के चयापचय कार्यों को उत्तेजित करते हैं, जो पौधों की वृद्धि और विकास के लिए आवश्यक हैं [30] जिसमें बीज का अंकुरण, तना बढ़ाव, फूल, और फल निर्माण और जीर्णता [13]शामिल हैं। आज तक, ~136 GA की पहचान की गई है[14,15]। विभिन्न जीए (GA) को उनके खोज के क्रम के अनुसार नामित किया गया है [30]। पूर्ण जीवाणु जिबरेलिन जैवसंश्लेषण मार्ग का हाल ही में वर्णन किया गया है (//www.nature.com/nchembio/journal/v13/n1/full/nchembio.2232.html) [16]। जीवाणु एंडोफाइट्स द्वारा जीए उत्पादन के बारे में बहुत कम जानकारी है; केवल कुछ अध्ययनों ने जीवाणु एंडोफाइट्स [17,18] के इस संभावित पौधे के विकास को बढ़ावा देने वाले गुण का वर्णन किया है। दो जीवाणु एंडोफाइट्स, अर्थात् एसीटोबैक्टर डायज़ोट्रोफिक और हर्बास्पिरिलम सेरोपेडिका, को गिब्बेरेलिन (जीए) और आईएए का उत्पादन करते हैं ऐसा संशोधन किया गया है।

पौधे अपने जीवनकाल के विभिन्न चरणों में विभिन्न प्रकार की माइक्रोबियल आबादी को आश्रय देते हैं और ये गतिशील अंतःक्रियाएं हानिकारक, सौम्य या पौधों के लिए फायदेमंद हो सकती हैं। एंडोफाइटिज्म का मतलब एक पारस्परिक पौधे-सूक्ष्मजीव अंतःक्रिया है जहां पौधे लाभकारी बैक्टीरिया को एक सुरक्षित घर और भोजन की सुरक्षित आपूर्ति प्रदान करते हैं, और रोगाणुओं, बदले में, पौधों को अत्यधिक लाभ देते हैं। कई शोधकर्ताओं ने इन लाभकारी अंतःक्रियाओं का अध्ययन किया है जहां एंडोफाइट्स को पोषक तत्व और विकास नियामक, निश्चित नाइट्रोजन, एंटीबायोटिक्स, और अन्य माध्यमिक मेटाबोलाइट्स प्रदान करने के लिए सक्षम है ऐसा बताया गया है, और कुल मिलाकर पौधों को अजैविक और जैविक तनाव दोनों से बचाने की क्षमता है। इन विचारों के आलोक में, इसलिए कृषि में पीजीपीआर का उपयोग उच्च फसल उत्पादकता और स्थायी कृषि प्राप्त करने का एक आर्थिक साधन प्रदान कर सकता है[19]।

गुजरात के विभिन्न क्षेत्रों से मिट्टी के नमूने एकत्र किए गए। ट्राइगोनेला फीनम-ग्रेक्यूम एल (मेथी) खेती वाले क्षेत्र से राइजोस्फेरिक क्षेत्रों की 15-20 सेमी गहराई से मिट्टी के नमूने असमान रूप से एकत्र किए गए थे । प्रत्येक नमूने से राइजोस्फेरिक बैक्टीरिया का अलगाव सीरियल डाइल्यूशन और स्प्रेड प्लेट विधि द्वारा किया गया था। प्लेटों को 24 घंटे के लिए 37ºC पर इनक्यूबेट किया गया था। शुद्ध बैक्टीरियल कॉलोनियों की शुद्धि पोषक तत्व अगार(N-agar) प्लेटों पर स्ट्रीक करके की गई थी। ग्राम स्टेनिंग से सूक्ष्मजीवों की पहचान की गई। चार बुनियादी चरणों के साथ 30 नमूने पर ग्राम स्टेनिंग का प्रदर्शन किया जिसमें एक प्राथमिक दाग (क्रिस्टल वायलेट) को गर्मी-फिक्स्ड स्मीयर पर लागू करना शामिल है, इसके बाद एक मॉर्डेंट (ग्राम आयोडीन), अल्कोहल, एसीटोन, या मिश्रण के साथ तेजी से विघटन करना शामिल है। अल्कोहल और एसीटोन का और अंत में, सफ़रनिन के साथ काउंटरस्टेनिंग और नल के पानी से एक स्लाइड को तब तक धोएं जब तक कि कोई रंग न दिखाई दे और फिर सूखने दें। इंडोल एसिटिक एसिड उत्पादन के लिए सभी राइजोबैक्टीरियल आइसोलेट्स का विश्लेषण किया गया। इंडोल एसिटिक एसिड का उत्पादन वर्णमिति विधि अनुसार किया गया था। संक्षेप में, आइसोलेट्स को 100 मिलीग्राम/एमएल(mg/ml) एल-ट्रिप्टोफैन(L-tryptophan) युक्त 5 मिलीलीटर एन-ब्रोथ (N-broth) में स्थानांतरित किया गया था। ट्यूबों को 48 घंटे के लिए 37 डिग्री सेल्सियस पर इनक्यूबेट किया गया था। उसके बाद, उसको को 5 मिनट के लिए 10,000rpm पर सेंट्रीफ्यूज किया गया था। 1ml सुपरनैटेंट को माइक्रोसेंट्रीफ्यूज ट्यूब में स्थानांतरित किया गया था और 2 मिलीलीटर (0.5 एम फेरिक क्लोराइड + 35% पर्क्लोरिक एसिड) साल्कोवास्की रिएजेंट डाला गया था। ट्यूबों को धीरे से मिलाया गया और कमरे के तापमान पर 30 मिनट के लिए इनक्यूबेट किया गया और गुलाबी रंग देखा गया। रंग परिवर्तन 530nm पर स्पेक्ट्रोफोटोमेट्रिक रूप से दर्ज किया गया था । स्टैंडर्ड ग्राफ को 20-200 माइक्रोग्राम /मिली की सीमा में प्लॉट किया गया था। फाइटोहोर्मोन के उत्पादन के लिए उनकी मात्रात्मक क्षमता के लिए सभी आइसोलेट्स की जांच की गई। संक्षेप में, बैक्टीरियल कल्चर 1Mm L- ट्रिप्टोफैन युक्त एन-ब्रोथ मीडिया के साथ डाला गया। 150rpm स्थिति में 24 घंटे के लिए 37ºC पर इनक्यूबेट किया था। 5 मिनट के लिए 10,000rpm पर ताजा बैक्टीरिया को सेंट्रीफ्यूज किया गया, एक सेल मुक्त अर्क सतह पर तैरनेवाला एकत्र किया गया और जिबरेलिक एसिड उत्पादन के आकलन के लिए उपयोग किया गया। गिब्बेरेलिन अनुमानित उत्पादन फोलिन Ciocalteu रिएजेंट के साथ किया गया है । टेस्ट ट्यूब में 1 मिली बैक्टीरियल सेल एक्सट्रेक्ट लिया गया, इसके बाद टेस्ट ट्यूब में 1 मिली फोलिन Ciocalteu

रिएजेंट मिलाया गया और 1ml Conc.HCl । मिश्रण को गर्म पानी में 5 मिनट तक उबालें और फिर ठंडा किया गया था। उत्पादित हरा-नीला रंग 760nm पर स्पेक्ट्रोफोटोमीटर का उपयोग करके रिकॉर्ड किया गया था। जिबरेलिक एसिड के साथ स्टैंडर्ड ग्राफ 10-100 मिलीग्राम /मिली की सीमा में किया गया था। शुद्ध और ताज़ा आइसोलेट्स डीएनए को वैज्ञानिक द्वारा प्रदान की गई संस्कृति से अलग किया गया था। इसकी गुणवत्ता का मूल्यांकन 1.0% पर किया गया था Agarose Gel, उच्च आणविक भार डीएनए का एकल बैंड देखा गया है।जीन के टुकड़े को पीसीआर द्वारा प्रवर्धित किया गया था। एक एकल असतत पीसीआर एम्प्लिकॉन बैंड तब देखा गया जब Agarose Gel पर हल किया गया।

पीसीआर एम्प्लिकॉन को दूषित पदार्थों को हटाने के लिए कॉलम शुद्धिकरण द्वारा शुद्ध किया गया था।पीसीआर एम्प्लिकॉन की डीएनए अनुक्रमण प्रतिक्रिया प्राइमर 1492R के साथ BDT v3.1 का उपयोग करके की गई थी।ABI 3730xl आनुवंशिक विश्लेषक पर साइकिल अनुक्रमण किट। (प्राइमर विवरण नीचे दिया गया है)।NCBI जेनबैंक डेटाबेस के डेटाबेस के साथ BLAST को अंजाम देने के लिए जीन अनुक्रम का उपयोग किया गया था । अधिकतम पहचान स्कोर के आधार पर पहले दस अनुक्रमों का चयन किया गया और कई संरेखण सॉफ्टवेयर प्रोग्रामों का उपयोग करके संरेखित किया गया। प्राप्त किए गए जीन अनुक्रमों की तुलना जेनबैंक डेटाबेस में उपलब्ध अनुक्रमों के साथ NCBI और BLAST का उपयोग करते हुए blast.ncbi.nlm.nih.gov//पर की गई थी। शुद्ध आइसोलेट्स का विश्लेषण एसएलएस रिसर्च प्राइवेट लिमिटेड, अहमदाबाद, गुजरात द्वारा किया गया है।

वर्तमान अध्ययन में मेथी की फसल के राइजोस्फेरिक क्षेत्र से कुल 30 आइसोलेट्स प्राप्त किए गए थे। फाइटोहोर्मोन प्रोडक्शन के लिए गुणात्मक और मात्रात्मक विश्लेषण में केवल तीन आइसोलेट पाए गए, जिसके सकारात्मक परिणाम फाइटोहोर्मोन उत्पादन लक्षणों के लिए हैं। शक्तिशाली तीन राइजोबैक्टीरिया की पहचान 16SrRNA द्वारा की गई हैं । जांच से पता चलता है कि शक्तिशाली पीजीपीआर को संयंत्र विकास को बढ़ावा देने की अपने क्षमता के लिए आगे का अध्ययन करना चाहिए।

आइसोलेट्स	ग्राम स्टेनिंग	आईएए उत्पादन	जिबरेलिक एसिड उत्पादन	आइसोलेट्स	ग्राम स्टेनिंग	आईएए उत्पादन	जिबरेलिक एसिड उत्पादन
आरजीवी1	+	-	-	आरजीवी16	+	-	-
आरजीवी2	-	-	-	आरजीवी17	+	-	-
आरजीवी3	-	+	-	आरजीवी18	-	-	-
आरजीवी4	+	-	-	आरजीवी19	+	+	-
आरजीवी5	+	-	-	आरजीवी20	+	-	-
आरजीवी6	+	-	-	आरजीवी21	+	-	-
आरजीवी7	+	-	-	आरजीवी22	+	-	-
आरजीवी8	-	+	+	आरजीवी23	+	+	+
आरजीवी9	+	-	-	आरजीवी24	+	+	+
आरजीवी10	+	-	-	आरजीवी25	-	-	-
आरजीवी11	+	+	+	आरजीवी26	+	-	-
आरजीवी12	+	-	-	आरजीवी27	+	-	-
आरजीवी13	-	-	-	आरजीवी28	+	-	-
आरजीवी14	-	-	-	आरजीवी29	+	-	-
आरजीवी15	-	-	-	आरजीवी30	+	-	-

तालिका 1. 30 आइसोलेट्स के लिए फाइटोहोर्मोन और ग्राम स्टेनिंग के परिणाम

Plant Growth Promoting Rhizobacteria are those microorganisms which colonizes plant roots and helps them in growth and improves fertility of the soil. (Priyanka, 2020) There are two kinds of

mechanisms involved in beneficial activity of PGPR which is direct mechanism and indirect mechanism. The direct mechanism includes phytohormones production, mineral solubilization and nitrogen fixation. While in indirect mechanism involves antagonistic activity against pathogens, secondary metabolites production, fungicides involvement and siderophore production. (Meena et al., 2020) Hence Plant Growth Promoting Rhizobacteria are more effective on crop enhancement and for sustainable environment.(Meena et al., 2020) One of the mechanism for growth enhancement in crops is the production of phytohormones such as Indole acetic acid (IAA), Gibberellic acid and Cytokinins. (Bhattacharyya & Jha, 2012)

Indole acetic acid is the most active and commonly present in all the plants which helps and regulate in growth of the plant. (Kannojia et al., n.d.) Indole acetic acid (IAA) is the phytohormone involves in root initiation, root elongation and cell division.(Role, 2014) the effect of indole acetic acid is mainly depended on the sensitivity of the plant towards IAA and the concentration of IAA produced by plant associated bacteria. (Role, 2014) The second important phytohormone is Gibberellic acid. Gibberellic acid is the synthetic compound which has an effective role in stem elongation, seed germination, and fruit setting and floral induction. (Raj et al., 2020) Gibberellic acid is also plays a role in stem tissues development and lateral root extension. (Prasad et al., 2019) The reproductive processes are affected by Gibberellic acid in broad manner of plants. (Kannojia et al., n.d.)

The areas of activity of IAA mainly include, but are not limited to, cell division and elongation; initiation of root systems, leaves, and flowers; and fruit development and senescence [12, 15]. Numerous PGPB, including both of Gram-positive and Gram-negative bacteria, have been reported to produce IAA [2, 3, 12, 16, 17]. The prominent IAA-producing endophytic bacterial genera include Pseudomonas, Rhizobium, Azospirillum, Enterobacter, Azotobacter, Klebsiella, Alcaligenes, Pantoea, Acetobacter, Herbaspirillum, Burkholderia, Bacillus, Rhodococcus, and Streptomyces [3, 12, 18, 19]. Generally plants are very sensitive to the amount of IAA present in plant tissue at any particular time. Since plants also produce IAA, in order to regulate plant growth, an IAA-producing PGPB must provide the appropriate amount of IAA (when combined with the amount of the hormone produced by the plant). In fact, phytopathogens are often characterized by their ability to produce IAA at high concentrations [20–23]. Gibberellins (GAs) stimulate a number of plant metabolic functions, which are essential for plant growth and development [30] including seed germination, stem elongation, flowering, and fruit formation and senescence [31]. To date, there have been ~136 GAs identified [30–32]. Different GAs are named according to their order of discovery [30]. The full bacterial gibberellin biosynthesis pathway has only recently been described (http://www.nature.com/nchembio/journal/v13/n1/full/ nchembio.2232.html) [33]. There is very little known about GA production by bacterial endophytes; only a few studies have described this potential plant growthpromoting trait of bacterial endophytes [34–38]. Two bacterial endophytes, namely Acetobacter diazotrophicus and Herbaspirillum seropedicae, have been reported to produce gibberellins (GA) and IAA.

Plants harbor and interact with a variety of microbial populations at various stages of their lifetime; these dynamic interactions may be harmful, benign, or beneficial to plants. Endophytism is a mutualistic plant-microbe interaction where plants provide a safe home and secure supply of food to microbes, and microbes, in return, benefit the plants enormously. A number of researchers have studied these beneficial interactions where endophytes have been shown to provide nutrients and growth regulators, fixed nitrogen, antibiotics, and other secondary metabolites, and overall the ability to protect plants from both abiotic and biotic stresses.

In light of these considerations, the use of PGPRin agriculture can offer an economic means of achieving high crop productivity and hence sustainable agriculture.

The soil samples were collected from different regions of Gujarat. The soil samples were aseptically collected from 15-20 cm depth of rhizospheric zones of *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek) cultivated areas. The isolation of rhizospheric bacteria from each sample was done by serial dilution and spread plate method. The plates were incubated at 37ºC for 24 hrs. The purification of the isolated bacterial colonies was done by streaking them onto fresh sterile nutrient agar plates. The microorganisms were identified by Gram's staining. Performed the Gram Stain on 30 sample with four basic steps that include applying a primary stain (crystal violet) to a heat-fixed smear, followed by the addition of a mordant (Gram's Iodine), rapid decolorization with alcohol, acetone, or a mixture of alcohol and acetone and lastly, counterstaining with safranin and wash a slide with tap water until no color appears in the effluent and then allow to dry. All rhizobacterial isolates were analyzed for indole acetic acid production. Indole acetic acid production was performed according to the colorimetric method. Briefly, isolates were transferred into 5ml Nutrient broth containing 100mg/ml L-tryptophan. The tubes were incubated at 37°C for 48 hours. After incubation, the broth was centrifuged at 10,000rpm for 5 minutes. The supernatant (1ml) was transferred into fresh sterile microcentrifuge tubeand 2ml of Salkowaski's reagent (0.5M ferric chloride+ 35% perchloric acid) was added. The tubes were mixed gently and incubated for 30 minutes at room temperature and pink coloration of the solution was observed. The color change was recorded spectrophotometrically at 530 nm. The standard curve was plotted in the range of 20-200µg/ml. All isolates were screened for their quantitative ability to produced phytohormone Gibbberellins. Briefly, The bacterial culture inoculated with N-broth media containing 1Mm L-tryptophan.Allow to incubate at 37 for 24 hours at 150rpm condition. Centrifuged the culture after incubation at 10,000rpm for 5 min, a cell free extract supernatant was collected and used for estimation of giberrelic acid production.Gibbberellins production estimated with Folin Ciocalteu reagent. 1ml of bacterial cell extract added to the test tube, followed by the addition of 1ml Folin Ciocalteu reagent and 1ml Conc.HCl into the test tubes. The mixture boil in a water bath for 5 min and then allow to cool. The produced greenish blue color was recorded using a spectrophotometer at 760nm. The standard was performed with gibberellic acid in the range of 10-100mg/ml. DNA was isolated from the overnight culture of RGV8,RGV23,RGV24. Quantification of DNA was done by evaluating on 1.0% Agarose Gel to obtain a single band of high-molecular weight DNA was observed. The fragment of gene was amplified by PCR. A single discrete PCR amplicon band was observed on resolving on Agarose Gel. The PCR amplicon was purified by column purification to remove contaminants.DNA sequencing reaction of PCR amplicon was carried out with primer27F using BDT v3.1 Cycle sequencing kit on ABI 3730xl Genetic Analyzer. The gene sequence was used to carry out BLAST with the database of NCBI Genbank database. Based on maximum identity score first ten sequences were selected and aligned using multiple alignment software programs. The gene sequences obtained were compared with sequences available in the GenBank databases using the NCBI and BLAST at https://blast.ncbi.nlm.nih.gov.Sequencing was done by SLS Research Private Limited, Ahmadabad, Gujarat. Sequences were submitted to NCBI GenBank data base and accession numbers obtained.

In the present study, a total of 30 isolates were obtained from the Rhizospheric region of fenugreek crop. Qualitative and Quantitative analysis for phytohormones productionsfound only threeisolate which has positive results forphytohormone production traits . Potent threestrain identified by 16SrRNA sequencing. The investigation suggests the potent PGPR must be further studies for their plant growth promoting ability.

Isolates	Gram staining	IAA Production	GA Production	Isolates	Gram staining	IAA Production	GA Production
RGV1	+	-	-	RGV16	+	-	-
RGV2	-	-	-	RGV17	+	-	-
RGV3	-	+	-	RGV18	-	-	-
RGV4	+	-	-	RGV19	+	+	-
RGV5	+	-	-	RGV20	+	-	-
RGV6	+	-	-	RGV21	+	-	-
RGV7	+	-	-	RGV22	+	-	-
RGV8	-	+	+	RGV23	+	+	+
RGV9	+	-	-	RGV24	+	+	-
RGV10	+	-	-	RGV25	-	-	-
RGV11	+	+	+	RGV26	+	-	-
RGV12	+	-	-	RGV27	+	-	-
RGV13	-	-	-	RGV28	+	-	-
RGV14	-	-	-	RGV29	+	-	-
RGV15	-	-	-	RGV30	+	-	-

Table 1. Results of phytohormones and gram staining test for 30 isolates

कृषि नवाचारों के लिए पीजीपीआर के महत्व पर विशेष रूप से सीधे पौधों के विकास को बढ़ावा देने जैसे बीज उद्भव, पौधों के विकास नियामकों के स्राव, और अप्रत्यक्ष पौधे विकास संवर्धन जैसे कीट और बीमारी के दमन में उनके उपयोग के विशेष संदर्भ में चर्चा की जाती है।

परिचय

अंतर्राष्ट्रीय मानकीकरण संगठन (आईएसओ) के अनुसार विश्व स्तर पर उपलब्ध 109 किस्मों के मसालों में से लगभग 75 भारतीय मसालों का उत्पादन भारत द्वारा ही किया जाता है। भारत द्वारा उत्पादित और निर्यात किए जाने वाले प्रमुख भारतीय मसाले काली मिर्च, हल्दी, अदरक, मिर्च , इलायची, जीरा, धनिया, मेथी, सौंफ, लहसुन, अजवाइन, वेनिला और इमली हैं। वर्तमान में, विश्व मसाला बाजार का आकार $15 बिलियन है। 2026 तक इसके लगभग 23 बिलियन डॉलर तक पहुंचने का अनुमान है। भारत सरकार के वाणिज्य और उद्योग मंत्रालय के मसाला बोर्ड ने बताया कि 2020-21 वर्ष में 27,19,320.25 लाख में से लगभग 15,65,000 टन भारतीय मसालों का निर्यात किया गया था। भारतीय मसाला बोर्ड के अनुसार प्रमुख मसाला उत्पादक राज्यों के आंकड़े बताते हैं कि गुजरात लहसुन, मेथी, जीरा, सौंफ, मिर्च , जीरा और धनिया का प्रमुख उत्पादक है। त्रिकोणेला फेनम गुजरात द्वारा ग्रेकम एल. (मेथी) का उत्पादन सालाना घट रहा था। भारतीय मसाला बोर्ड की रिपोर्ट के अनुसार, गुजरात द्वारा वर्ष 2020-21 में मेथी का उत्पादन लगभग 13,579 टन था। मेथी के उत्पादन में भारी कमी के कई कारण मिट्टी की कम उर्वरता, अजैविक तनाव, रासायनिक उर्वरकों का अत्यधिक उपयोग और रोग प्रबंधन जैसे हो सकते हैं।

पौधो की खेती को प्रभावित करने वाले और पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया

भारतीय मसाले के खेडूतो ने अपने उत्पादन को अनुकूलित करने के लिए विभिन्न खेती प्रथाओं जैसे फसलों के रोटेशन, रोगजनकों और रासायनिक उर्वरकों के प्रतिरोधी किस्मों के उपयोग आदि को अपनाते हैं। बड़े पैमाने पर, उत्पादकों ने निषेचन की पारंपरिक प्रथाओं पर ध्यान केंद्रित किया है, जबकि वैज्ञानिक समुदाय या प्रगतिशील किसानों ने फाइटोकेमिकल्स के सुरक्षित उत्पादन और उनके औषधीय मूल्य को अनुकूलित करने के लिए जैव- सूत्रीकरण के उपयोग में रुचि दिखाई है [20]। हालांकि, रासायनिक उर्वरकों के अवांछनीय प्रभाव और रोगजनकों के बीच प्रतिरोध के उद्भव के कारण, पौधों की उपज बढ़ाने और द्वितीयक चयापचयों की गुणवत्ता बनाए रखने के लिए कृषि पद्धतियों में कृषि रसायनों के उपयोग को कम करने की तत्काल आवश्यकता है।

इष्टतम पीजीपीआर

राइजोबैक्टीरियल स्ट्रेन को एक स्पष्ट पीजीपीआर के रूप में देखा जाता है, जब यह पौधों के विकास को आगे बढ़ाने वाले गुणों को प्रदर्शित करता है और इनोक्यूलेशन पर पौधे के विकास को उन्नत कर सकता है। एक इष्टतम पीजीपीआर अपरिहार्य मानदंडों का पालन करता है:

(1) इसे गहन रूप से राइजोस्फीयर-सक्षम और पर्यावरण के अनुकूल होने की आवश्यकता है।

(2) यह टीकाकरण पर महत्वपूर्ण संख्या में पौधे को उपनिवेशित करना चाहिए।

(3) इसके पास पौधों के विकास को आगे बढ़ाने का विकल्प होना चाहिए।

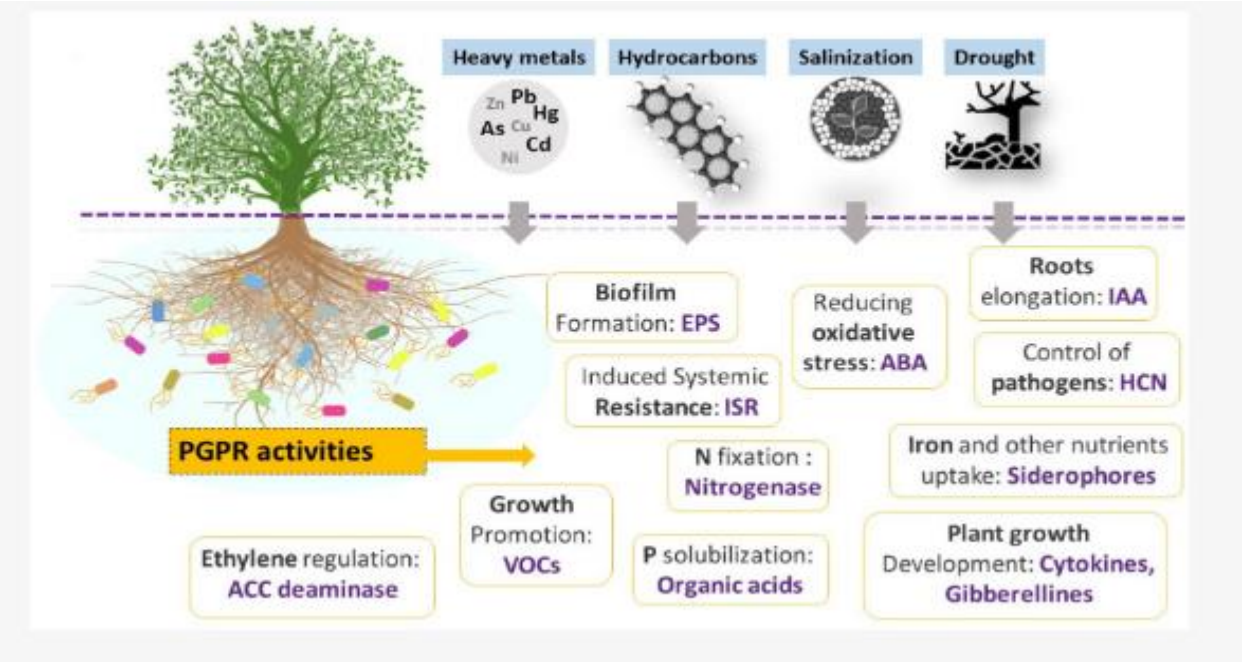
(4) इसे गतिविधि की एक विस्तृत श्रृंखला प्रदर्शित करनी चाहिए।

(5) यह राइजोस्फीयर में विभिन्न सूक्ष्म जीवों के साथ व्यवहार्य होना चाहिए।

(6) यह भौतिक-रासायनिक चर जैसे गर्मता, पर्चिंग के प्रति सहनीय होना चाहिए, विकिरण, और ऑक्सीडेंट।

संयंत्र हार्मोन

फाइटोहोर्मोन पौधों की वृद्धि और विकास को विनियमित करने में महत्वपूर्ण भूमिका निभाते हैं। वे पर्यावरणीय कारकों के सामने आणविक संकेतों के रूप में कार्य करते हैं जो अन्यथा पौधों की वृद्धि को प्रतिबंधित कर सकते हैं या अनियंत्रित होने पर घातक हो सकते हैं[21]। कई राइजोस्फेरिक बैक्टीरिया हार्मोन स्रावित करने और पौधे के विकास को बढ़ावा देने, कृषि उत्पादन को प्रोत्साहित करने और तनाव प्रतिक्रिया को बदलने के लिए जाने जाते हैं। कई सूक्ष्मजीवों में इंडोलेसेटिक एसिड (IAA), जिबरेलिक एसिड (GA), साइटोकिनिन और एथिलीन जैसे विकास नियामकों का उत्पादन करने की क्षमता होती है ।



चित्र 1. प्रतिकूल पर्यावरणीय परिस्थितियों और अजैविक तनावों के जवाब में पौधों के स्वास्थ्य और प्रदर्शन का समर्थन करने के लिए पीजीपीआर द्वारा बनाई गई कार्यात्मक बातचीत का परिष्कृत और कुशल नेटवर्क। संकेताक्षर: ईपीएस (एक्सोपॉलीसैकेराइड्स); एबीए (एब्सिसिक एसिड); आईएए (इंडोल2-3-एसिटिक एसिड); एचसीएन (हाइड्रोजन साइनाइड); वीओसी (वाष्पशील कार्बनिक यौगिक); एसीसी (1-एमिनोसाइक्लोप्रोपेन-1-कार्बोक्जिलिक एसिड)।(वोकिएंट एट अल।, 2022) [22]

प्लांट ग्रोथ को बढ़ाने में पीजीपीआर की भूमिका

पीजीपीआर द्वारा प्रदर्शित प्रत्यक्ष और अप्रत्यक्ष तंत्रों द्वारा पौधे की वृद्धि को बढ़ाया जाता है। पौधों का विकास तनावों के वर्गीकरण से अत्यधिक प्रभावित होता है जिसे दो प्रकारों में व्यवस्थित किया जा सकता है- जैविक और अजैविक। पादप रोगजनकों और कीटों के लिए जैविक संकेत, उदाहरण के लिए, जैसे कवक, वायरस, बैक्टीरिया, नेमाटोड, कीड़े , जबकि अजैविक तनाव सूखे, लवणता, मिट्टी में विभिन्न भारी धातुओं की एकाग्रता, पोषक तत्वों की

कमी, तापमान आदि पर केंद्रित होते हैं [23,24,25]। पीजीपीआर उपनिवेशीकरण पौधों में तनाव सहनशीलता में गहराई से सुधार करता है और इसके विकास को बढ़ाने में सक्षम बनाता है।

पार्श्वभूमि

मेथी (*Trigonella फोएनम-ग्रेकेम* एल.) एक बहुमूल्य जड़ी-बूटी वाला पौधा है जो दुनिया भर में फैला हुआ है। इसकी खेती मसाले के रूप में, खाद्य पदार्थों और सब्जियों के पूरक के रूप में की जाती है। मेथी के पत्तों और बीजों को औषधीय प्रयोजनों के लिए पसंद किया जाता है मेथी का कुछ पोषण महत्व भी होता है, उदाहरण के लिए, इसके बीज डायोसजेनिन , टैनिक एसिड, ट्राइगोकौमरिन , ट्राइगोनेलिन , एल्कलॉइड, ट्राइगोमिथाइल जैसे यौगिकों से भरे होते हैं । Coumarin , gitogenin , विटामिन A, आदि, जबकि इसके पत्ते आयरन, कैल्शियम, β- कैरोटीन और अन्य आवश्यक विटामिनों से भरपूर होते हैं, जो बताता है कि मेथी में पोषण और औषधीय मूल्य दोनों हैं [26] । बैरवा एट अल।, 2012 के अनुसार हाल के वर्षों में, रासायनिक उर्वरकों के आवेदन में वृद्धि हुई थी। इसलिए यह खराब पोषक तत्व ग्रहण क्षमता और फसलों की कम उपज की ओर जाता है। इसलिए मेथी में पोषक तत्व प्रबंधन के लिए वैकल्पिक विकल्प खोजना महत्वपूर्ण हो जाता है [27]।

पीजीपीआर को पौधों के साथ उनके संबंध के अनुसार दो समूहों में विभाजित किया जा सकता है: सहजीवी बैक्टीरिया और मुक्त रहने वाले राइजोबैक्टीरिया [28]। पीजीपीआर में पौधे संबंध के तंत्र और सिद्धांतों के बारे में अध्ययन के लिए बहुत काम किया गया है, जिसे व्यापक रूप से राइजोस्फीयर प्रभाव [29]के रूप में स्वीकार किया गया था। [30] ने बताया कि पीजीपीआर तीन अलग-अलग तरीकों से कार्य करता है: पौधों के लिए विशेष यौगिकों को संश्लेषित करना, पर्यावरण से कुछ पोषक तत्वों के अवशोषण को सुविधाजनक बनाना [31,32,33]। और पौधों को बीमारियों से बचाना [34,35,36]।

पिछले कुछ दशकों से, पीजीपीआर के साथ टीकाकरण के लिए कृषि महत्वपूर्ण फसलों की प्रतिक्रिया की जांच विभिन्न देशों में किए गए कई क्षेत्रों और ग्रीनहाउस प्रयोगों में की गई थी। दिए गए आंकड़ों के आधार पर, यह निष्कर्ष निकाला गया कि पीजीपीआर के साथ टीकाकरण के परिणामस्वरूप विभिन्न फसलों में महत्वपूर्ण उपज में वृद्धि हुई, दृढ़ लकड़ी और अर्ध-दृढ़ लकड़ी की कटाई, बीज अंकुरण और विभिन्न परिस्थितियों में उभरने में वृद्धि हुई। दूसरे शब्दों में, वे पौधों की वृद्धि और उपज को कई तरीकों से प्रभावित कर सकते हैं और वनस्पति और प्रजनन वृद्धि में वृद्धि को कई फसलों जैसे अनाज या सब्जियों में प्रलेखित किया गया है। पीजीपीआर के साथ उपचार से अंकुरण प्रतिशत, अंकुर शक्ति, उद्भव, पौधे का स्टैंड, जड़ और अंकुर वृद्धि, पौधों का कुल बायोमास, बीज वजन, जल्दी फूलना, अनाज, चारा और फलों की पैदावार आदि में वृद्धि होती है[37,38]। विभिन्न विषयों में पौधों की वृद्धि के संबंध में पीजीपीआर के अनुप्रयोगों को बाद में हाल के अध्ययनों के साथ वर्णित किया गया है।

उपज और उपज घटक

दुरसन एट अल (2008) ने बताया कि पी. पुटिडे बीए-8, बी सबटिलिस ओएसयू-142 की तुलना में स्यूडोमोनास बीए-7 *(Pseudomonas BA-7 applications when compared with P. putidae BA-8, B. subtilis OSU-142 and MFD-5, B. megatorium M3, A. rubi A-1, A-16, and A-18)*अनुप्रयोगों से उच्चतम रॉकेट उपज, औसत पत्ती वजन, पत्ती की लंबाई, पत्ती के तने का व्यास, पत्ती क्षेत्र और जड़ वजन प्राप्त किया गया था। और एमएफडी -5, बी मेगाटोरियम एम 3, ए रूबी ए -1, ए -16, और ए -18। उच्चतम पत्ती संख्या (8.23), पत्ती शुष्क पदार्थ (6.70%), और जड़ शुष्क पदार्थ (11.85%) क्रमशः A-18, OSU-142 और MFD-5 अनुप्रयोगों और विशेष रूप से बर्कहोल्डरिया ग्लैडी BA-7, में निर्धारित किए गए थे। स्यूडोमोनास बीए-8 और बैसिलस ओएसयू-142 *(Burkholderia gladii BA-7, Pseudomonas BA-8, and Bacillus OSU-142)*में रॉकेट के पौधों की वृद्धि के मापदंडों को बढ़ाने की काफी संभावनाएं हैं[39]।

कटिंग की जड़ें

PGPR जैसे A. रूबी (A1, A16 और A18), B. सबटिलिस (OSU142), बैसिलस (BA16, RC03, RC23), B. हैप्पी (BA7), P. पुतिदा (BA8), B. मेगाटोरियम (M3 और RC01), पैनीबैसिलस पॉलीमाइक्सा (RC05), कोमामोनस एसिडोवोरान्स RC41, और B. सिम्प्लेक्स RC19 *(A. rubi (A1, A16 and A18), B. subtilis (OSU142), Bacillus (BA16, RC03,*

RC23), B. gladii (BA7), P. putida (BA8), B. megatorium (M3 and RC01), Paenibacillus polymyxa (RC05), Comamonas acidovorans RC41, and B. simplex RC19)का प्रभावी रूप से हार्डवुड और सेमी-हार्डवुड कटिंग दोनों के लिए खट्टा चेरी में उच्च रूटिंग प्रतिशत प्राप्त करने के लिए उपयोग किया गया था[40]।

पोषक तत्व तेज

पीजीपीआर के साथ संबंधों और पोषक तत्वों की मात्रा में वृद्धि के बारे में कई अध्ययन दिए जा सकते हैं। उदाहरण के लिए, नावेद एट अल (2008) ने अधिसूचित किया कि पीजीपीआर आवेदन ने एन, पी, और के अपटेक को काफी बढ़ाया है। स्यूडोमोनास फ्लोरेसेंस बायोटाइप जी (एन-3)(*Pseudomonas fluorescens biotype* G (N-3) मक्का की अनाज उपज और पोषक तत्वों को बढ़ाने में सबसे अच्छा पाया गया। इसके अलावा, एज़ोस्पिरिलम और बेसिलस एसपीपी के साथ टीकाकरण प्रक्रिया[41]। पौधों के ऊतकों में नाइट्रोजन, फास्फोरस, और पोटेशियम के उच्च संचय को बढ़ाने में सकारात्मक प्रतिक्रिया दिखाई, खेत की नर्सरी स्थितियों के तहत जड़ के सूखे वजन और तेल ताड़ के पौधों की शीर्ष वृद्धि[42]।

परियोजना का विवरण

विश्व में खाद्य सुरक्षा और पोषण राज्य (एसओएफआई) की रिपोर्ट है कि भारत खाद्य असुरक्षित लोगों की सबसे बड़ी आबादी वाला देश है। इसके अलावा, वर्षा में परिवर्तन, मिट्टी की उर्वरता, और फसल के पौधों पर खरपतवारों और रासायनिक उर्वरकों के कीटों से बढ़ती प्रतिस्पर्धा के संयुक्त प्रभावों के कारण फसल की पैदावार में गिरावट का अनुमान है। कुछ गरीब देशों में, तेजी से जनसंख्या वृद्धि से खाद्य उत्पादन और खपत बढ़ाने के प्रयास कमजोर पड़ जाते हैं; ग्रामीण से शहरी क्षेत्रों में प्रवासन; असमान भूमि वितरण; सिकुड़ती जोत; ग्रामीण गरीबी को गहरा करना; और व्यापक भूमि क्षरण।

वर्तमान में रासायनिक खाद फसल की उपज बढ़ाने का एक विकल्प है। हालांकि, रासायनिक उर्वरकों के अत्यधिक उपयोग ने मिट्टी में गिरावट, नाइट्रोजन लीचिंग, मिट्टी का संघनन और मिट्टी में कार्बनिक पदार्थों में कमी जैसे कई मुद्दों को जन्म दिया है।

अनुसंधान क्षेत्र

त्रिकोणेला फेनम गुजरात द्वारा *ग्रेकम एल. (मेथी) का उत्पादन सालाना घट रहा था।* भारतीय मसाला बोर्ड की रिपोर्ट के अनुसार, गुजरात द्वारा वर्ष 2020-21 में मेथी का उत्पादन लगभग 13,579 टन था। (बेनामी, 2016) मेथी के उत्पादन में भारी कमी के कई कारण हो सकते हैं जैसे मिट्टी की कम उर्वरता, अजैविक तनाव, रासायनिक उर्वरकों का अत्यधिक उपयोग और रोग प्रबंधन।

ऐसे कुछ अध्ययन हैं जिन्होंने पौधों के उत्पादन और अजैविक तनावों के संरक्षण/उन्मूलन में कम लागत और पर्यावरणीय रूप से गैर-खतरनाक सूक्ष्मजीव समुदायों के उपयोग की सूचना दी है। इसके कारण, राइजोबैक्टीरिया को बढ़ावा देने वाले पौधों की वृद्धि जैसे किफायती, पर्यावरण के अनुकूल और टिकाऊ विकल्पों के उपयोग पर प्रकाश डाला गया है।

1) **मिट्टी के नमूने का संग्रह**
2) **नमूना टीकाकरण**
3) **प्राथमिक जांच**
4) **आकृति विज्ञान और पहचान**
5) **माध्यमिक स्क्रीनिंग (फाइटोहोर्मोन उत्पादन)**
   आईएए
   गिबरेलिन्स

इंडोल एसिटिक एसिड का उत्पादन वर्णमिति विधि [7] के अनुसार किया गया था। FolinCiocalteureagent [8] के साथ गिब्बेरेलिन्स के उत्पादन का अनुमान किया गया था।

समीक्षा साहित्य

स्पापेन और वेंडरलेडेन के अनुसार , आईएए पौधे की वृद्धि और विकास में भूमिका निभाता है जिसमें प्राथमिक जड़ बढ़ाव शामिल है, जड़ की सतह क्षेत्र और लंबाई को बढ़ाता है [43]। लाभकारी संयंत्र-पीजीपीआर बातचीत में ऑक्सिन एक महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। *एरोमोनास* जैसे आईएए (IAA) का उत्पादन करने वाले पीजीपीआर उपभेदों *पंक्टाटा* पीएनएस-1, *सेराटिया मार्सेसेन्स* 90-166 और *एज़ोस्पिरिलम्ब्रासिलेंस एसपी245 ने विकास को प्रोत्साहित किया और ए। थालियाना* (स्पाएपेन एंड वेंडरलेडेन, 2011) में रूपात्मक परिवर्तनों को सक्रिय किया [44]।

बीज अंकुरण, फूल, फल विकास, पत्ती और तने की वृद्धि की प्रक्रिया में हार्मोन जिबरेलिन (जीए), एक प्रकार का फाइटोहोर्मोन शामिल होता है , जो शूट बढ़ाव में भी महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। जिबरेलिन -उत्पादक PGPR *एंटरोकोकस फेसियम* LKE12 और *लीफसोनिया सोलि* SE134 गिब्बेरेलिन संश्लेषण में कमी वाले उत्परिवर्ती चावल के पौधों में शूट वृद्धि को सक्रिय करता है[45]। *प्रोमाइक्रोमोनोस्पोरा* सपा के जिबरेलिन-उत्पादक पीजीपीआर उपभेद । SE188 और *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 के परिणामस्वरूप पौधे में गिब्बेरेलिन की मात्रा बढ़ जाती है।

इंडोल एसिटिक एसिड सभी पौधों में सबसे अधिक सक्रिय और सामान्य रूप से मौजूद होता है जो पौधे के विकास में मदद करता है और नियंत्रित करता है। इंडोल एसिटिक एसिड (IAA) फाइटोहोर्मोन है जो जड़ की शुरुआत, जड़ बढ़ाव और कोशिका विभाजन में शामिल है[46]। इंडोल एसिटिक एसिड का प्रभाव मुख्य रूप से IAA के प्रति पौधे की संवेदनशीलता और पौधे से जुड़े बैक्टीरिया द्वारा उत्पादित IAA की सांद्रता पर निर्भर करता है[47]।दूसरा महत्वपूर्ण फाइटोहोर्मोन गिबरेलिक एसिड है। जिबरेलिक एसिड सिंथेटिक कंपाउंड है जिसकी स्टेम लम्बाई, बीज अंकुरण, और फल सेटिंग और पुष्प प्रेरण में प्रभावी भूमिका होती है। जिबरेलिक एसिड स्टेम टिश्यू के विकास और पार्श्व जड़ विस्तार में भी भूमिका निभाता है [48]। पौधों के व्यापक तरीके से जिबरेलिक एसिड से प्रजनन प्रक्रियाएं प्रभावित होती हैं [49]।

देखे गए पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने में आईएए की भूमिका जड़ों पर आईएए के सीधे आवेदन द्वारा जड़ वृद्धि के लिए जीवाणु के प्रभाव की नकल करने का प्रयास करके प्राप्त की गई थी। बेसिलस RC23, पैनीबैसिलस पॉलीमाइक्सा RC05, B. सबटिलिस OSU142, बैसिलस RC03, कोमामोनस एसिडोवोरेंस RC41, B. मेगाटेरियम RC01, और B. सिम्प्लेक्स RC19 के साथ चाय (कैमेलिया साइनेंसिस)(*Bacillus* RC23, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *B. subtilis* OSU142, *Bacillus* RC03, *Comamonas acidovorans* RC41, *B. megaterium* RC01, and *B. simplex* RC19 with tea (*Camellia sinensis)* कटिंग के साथ टीकाकरण, जब बैक्टीरिया में IAA उत्पादन के कारण नियंत्रण की तुलना में रूटिंग प्रतिशत बढ़ाया जाता है। । इसी तरह, कीवीफ्रूट सीवी के दृढ़ लकड़ी स्टेम कटिंग का उपचार। हेवर्ड, दो गुलाब चयनों की स्टेम कटिंग (ईआरएस 14, रोजा कैनिना, और ईआरएस 15, रोजा डुमालिस), खट्टी चेरी (प्रूनस सेरासस) सॉफ्टवुड और सेमी-हार्डवुड कटिंग और एग्रोबैक्टीरियम रूबी (ए 1, ए 16 और ए 18)(ERS 14, *Rosa canina*, and ERS 15, *Rosa dumalis*), sour cherry (*Prunus cerasus*) and *Pistacia vera* cuttings with *Agrobacterium rubi* (A1, A16, and A18) and *Bacillus subtilis* OSU142)के साथ पिस्ता वेरा कटिंग। और बैसिलस सबटिलिस OSU142 ने रूटिंग अनुपात को बढ़ावा दिया और पार्श्व जड़ों की संख्या में वृद्धि की[40]।

हाल के अध्ययनों में, गुटिरेज़-मनेरो एट अल। (2001) इस बात का प्रमाण प्रदान करता है कि जीए के चार अलग-अलग रूप बी प्यूमिलस और बैसिलस लिचेनिफॉर्मिस द्वारा निर्मित होते हैं। इन पीजीपीआर के साथ एल्डर (एलनस ग्लूटिनोसा-*Alnus glutinosa*) का टीकाकरण स्टेम विकास के रासायनिक रूप से प्रेरित अवरोध को प्रभावी ढंग से उलट सकता है। इस शोध के अलावा, जू एट अल। (2004) ने बताया कि बैसिलस सेरेस एमजे-1, बी मैक्रोइड्स सीजे-29, और बी प्यूमिलस सीजे-69(*Bacillus cereus* MJ-1, *B. macroides* CJ-29, and *B. pumilus* CJ-69) द्वारा लाल मिर्च प्लग रोपण की वृद्धि में वृद्धि की गई थी, हालांकि पत्तियों की संख्या और स्टेम व्यास में महत्वपूर्ण बदलाव नहीं आया था। सबसे बड़ी वृद्धि ऊंचाई में होती है और अंकुरों का ताजा वजन बी. प्यूमिलस*(B. pumilus*) द्वारा होता है, जो ऊंचाई को 12% और जड़ के ताजा वजन को 20% तक बढ़ा सकता है[50]।

विधि

मिट्टी के नमूने का संग्रह

- सौराष्ट्र क्षेत्र से **राजकोट** और **वाकानेर जिला** के फसल के खेतों से मिट्टी एकत्र की गई थी
- बरसात के मौसम के बाद, मेथी के पौधों को सावधानी से मिट्टी से उखाड़ दिया गया और जड़ों से जुड़ी मिट्टी को ही राइजोबैक्टीरिया के अलगाव के लिए ऑटोक्लेव्ड बैग में डाल दिया गया था।

- विभिन्न पौधों की जड़ों की परिधि के आसपास के राइजोस्फेरिक क्षेत्र की 5-6 सेमी गहराई से एकत्र की गई नमूना मिट्टी को 4 डिग्री सेल्सियस (नारायण एट अल। , 2018) पर प्लास्टिक की थैलियों में संरक्षित किया गया है।

(ए) (बी)

चित्र 2. (ए) दो अलग-अलग फसल क्षेत्रों से मिट्टी के नमूने (बी) बैक्टीरिया का अलगाव सीरियल डाइल्यूशन द्वारा

नमूना टीकाकरण

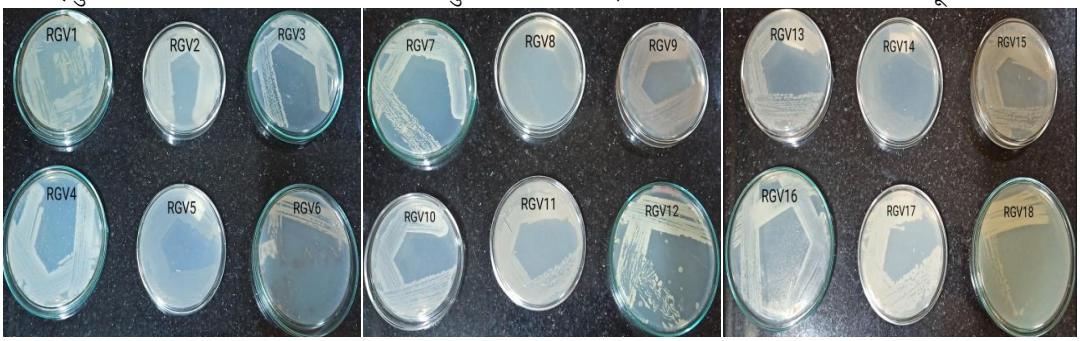
- प्रत्येक मिट्टी के नमूने से राइजोस्फेरिक बैक्टीरिया का अलगाव सीरियल डाइल्यूशन से किया गया था।
- 10^{-1} से 10^{-8} तक व्यक्तिगत रूप से 0.1 मिलीलीटर विभाज्य और 1 मिलीलीटर नमूना कमजोर पड़ने को एन-अगर प्लेटों में जोड़ा जाता है और विकास का निरीक्षण करने के लिए 48 घंटे के लिए 32 डिग्री सेल्सियस पर इनक्यूबेट किया जाता है [51]।

मीडिया

- N-Agar माध्यम में (द्रव्यमान/आयतन) होता है: 0.5% पेप्टोन - यह कार्बनिक नाइट्रोजन प्रदान करता है। 0.3% बीफ का अर्क / खमीर का अर्क - इनमें से पानी में घुलनशील सामग्री विटामिन, कार्बोहाइड्रेट, नाइट्रोजन और लवण का योगदान करती है।

मिट्टी के नमूनों से बैक्टीरिया का अलगाव

- दो खेत की मिट्टी के नमूने को राइजोबैक्टीरिया बैक्टीरिया का अलगाव 10^{-2} -10^{-6} से सीरियल डाइल्यूशन विधि द्वारा किया गया था।
- 30 शुद्धकॉलोनियों का चयन किया गया और उन्हें ताजा एनबी ट्यूबों में लगाया गया और 24-48 घंटों के लिए इनक्यूबेट किया गया था।
- इन आइसोलेट्स की पहचान ग्राम स्टेनिंगकी विधि द्वारा की गई थी। बाद में इन रूपात्मक रूप से भिन्न आइसोलेट्स को फाइटोहोर्मोन उत्पादन के लिए गुणात्मक और मात्रात्मक रूप से जांचा गया। शुद्ध रूप से भिन्न राइजोबैक्टीरिया को तालिका 1 में नीचे सूचीबद्ध किया गया था।



चित्र 3. प्राथमिक जांच के बाद राइजोस्फेरिक मिट्टी से कुल तीस आइसोलेट्स

आकृति विज्ञान और वर्गीकरण

- इन आइसोलेट्स को एक साफ कांच की स्लाइड पर लिप्त किया गया था और गर्मी के साथ तय किया गया था और उसके बाद 1 मिनट के लिए क्रिस्टल वायलेट को जोड़ा गया था, नल के पानी से धोएं और 1 मिनट के लिए आयोडीन के साथ बाढ़ करें, फिर कुछ सेकंड के लिए 95% इथेनॉल के साथ धीरे से रंगा जाए। नल के पानी से धोना और सेफ्रेनाइन के साथ काउंटरस्टैन को तेल विसर्जन लेंस के नीचे देखने के लिए स्लाइड को धोएं और सुखाएं सूक्ष्मदर्शी के तहत देखे गए ग्राम-नकारात्मक, रॉड के आकार, मुड़, सर्पिल, वाइब्रोएड आकार के बैक्टीरिया दिखा रहा है[52]।
- KOH परीक्षण जीवाणु कोशिका भित्ति के रसायन विज्ञान में अंतर पर आधारित है। पोटेशियम हाइड्रॉक्साइड की उपस्थिति में, ग्राम नकारात्मक कोशिका भित्ति टूट जाती है। KOH ग्राम-नेगेटिव बैक्टीरिया की कोशिका भित्ति की पेप्टिडोग्लाइकन की पतली परत को आसानी से घोल देता है। यह ग्राम पॉजिटिव और ग्राम-नेगेटिव बैक्टीरिया की पहचान करने में मदद करता है।

आइसोलेट्स	ग्राम स्टेनिंग	आइसोलेट्स	ग्राम स्टेनिंग
आरजीवी1	+	आरजीवी16	+
आरजीवी2	-	आरजीवी17	+
आरजीवी3	-	आरजीवी18	-
आरजीवी4	+	आरजीवी19	+
आरजीवी5	+	आरजीवी20	+
आरजीवी6	+	आरजीवी21	+
आरजीवी7	+	आरजीवी22	+
आरजीवी8	-	आरजीवी23	+
आरजीवी9	+	आरजीवी24	+
आरजीवी10	+	आरजीवी25	-
आरजीवी11	+	आरजीवी26	+
आरजीवी12	+	आरजीवी27	+
आरजीवी13	-	आरजीवी28	+
आरजीवी14	-	आरजीवी29	+
आरजीवी15	-	आरजीवी30	+

तालिका 2. 30 आइसोलेट्स के KOH के परिणाम

इंडोल एसिटिक एसिड

- इंडोल एसिटिक एसिड का उत्पादन वर्णमिति विधि के अनुसार किया गया था[53]।

- संक्षेप में, आइसोलेट्स को 100 मिलीग्राम /मिली एल-ट्रिप्टोफैन युक्त 5 मिलीलीटर न्यूट्रिएंट् ब्रोथ में स्थानांतरित किया गया था।
- ट्यूबों को 48 घंटे के लिए 37 डिग्री सेल्सियस पर इनक्यूबेट किया गया था। उसके बाद, उसको 5 मिनट के लिए 10,000rpm पर सेंट्रीफ्यूज किया गया था।
- 1ml सुपरनैटेंट को 2 मिलीलीटर (0.5 एम फेरिक क्लोराइड + 35% पर्क्लोरिक एसिड) साल्कोवास्की रिएजेंट के साथ माइक्रोसेंट्रीफ्यूज ट्यूबों में स्थानांतरित किया गया था।
- ट्यूबों को धीरे से मिलाया गया और कमरे के तापमान पर 30 मिनट के लिए इनक्यूबेट किया गया और का गुलाबी रंग देखा गया। रंग परिवर्तन 530 nm पर स्पेक्ट्रोफोटोमेट्रिक रूप से दर्ज किया गया था ।
- स्टैडर्ड ग्राफ को इंडोल एसिटिक एसिड के साथ 10-100 माइक्रोग्राम / ml की सीमा में प्लॉट किया गया था।

गिब्बेरेलिन्स (जीए) उत्पादन

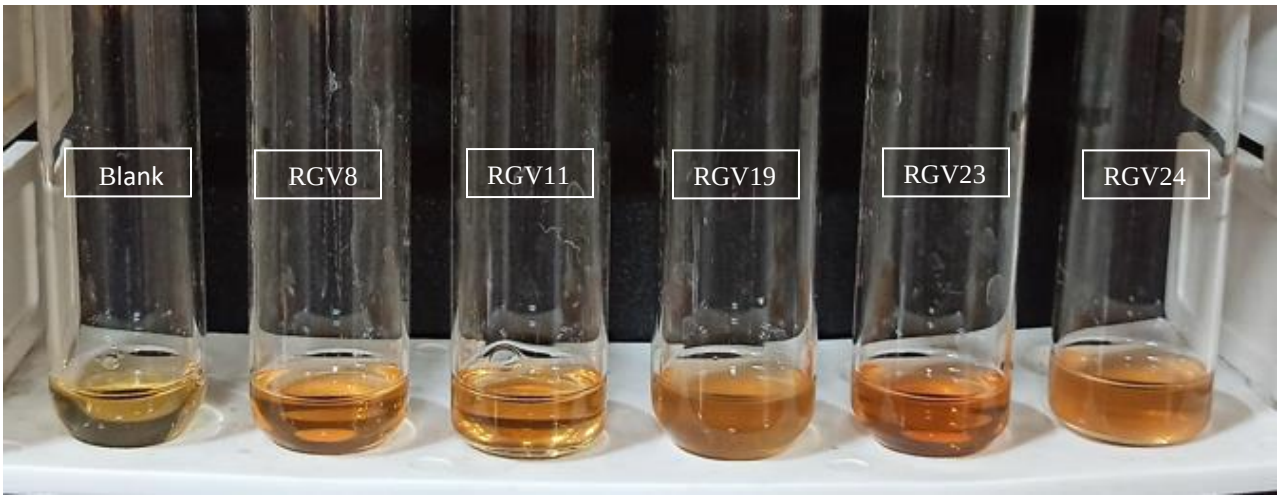
- गिब्बेरेलिन्स फाइटोहोर्मोन के उत्पादन और उनकी मात्रात्मक क्षमता के लिए सभी आइसोलेट्स की जांच की गई ।
- संक्षेप में, बैक्टीरियल कल्चर 1Mm L- ट्रिप्टोफैन युक्त एन-ब्रोथ मीडिया के साथ डाला गया। 150rpm स्थिति में 24 घंटे के लिए 37 पर इनक्यूबेट किया गया था। 5 मिनट के लिए 10,000rpm पर आइसोलेट्स को सेंट्रीफ्यूज किया गया, सुपरनैटेंट एकत्र किया गया और जिबरेलिक एसिड उत्पादन के आकलन के लिए उपयोग किया गया था।
- फोलिन Ciocalteu रिएजेंट के साथ गिब्बेरेलिन उत्पादन का अनुमान किया गया था।
- टेस्ट ट्यूब में 1 मिली बैक्टीरियल सेल एक्सट्रेक्ट मिलाया गया, इसके बाद और 1ml Conc.HCl 1 मिली फोलिन Ciocalteu मिलाया गया।
- मिश्रण को गर्म पानी में 5 मिनट तक उबालें फिर ठंडा किया गया था।
- उत्पादित हरा-नीला रंग 760nm पर स्पेक्ट्रोफोटोमीटर का उपयोग करके रिकॉर्ड किया गया था।
- मानक 10-100 मिलीग्राम /मिली की सीमा में जिबरेलिक एसिड के साथ किया गया था।
- शुद्ध RGV8,RGV23,RGV24 प्रदर्शित फाइटोहोर्मोन सकारात्मक लक्षण दिखाते हैं और आगे आणविक पहचान के लिए चुने गए थे।
- PGPR की आणविक पहचान 16s rRNA अनुक्रमण द्वारा की गई है
- डीएनए को वैज्ञानिक द्वारा प्रदान की गई संस्कृति से अलग किया गया था। इसकी गुणवत्ता का मूल्यांकन 1.0% पर किया गया था
- Agarose Gel, उच्च आणविक भार डीएनए का एकल बैंड देखा गया है।
- 2. जीन के टुकड़े को पीसीआर द्वारा प्रवर्धित किया गया था। एक एकल असतत पीसीआर एम्प्लिकॉन बैंड तब देखा गया जब
- Agarose Gel पर हल किया गया।
- 3. पीसीआर एम्प्लिकॉन को दूषित पदार्थों को हटाने के लिए कॉलम शुद्धिकरण द्वारा शुद्ध किया गया था।
- 4. पीसीआर एम्प्लिकॉन की डीएनए अनुक्रमण प्रतिक्रिया प्राइमर 1492R के साथ BDT v3.1 . का उपयोग करके की गई थी
- ABI 3730xl आनुवंशिक विश्लेषक पर साइकिल अनुक्रमण किट। (प्राइमर विवरण नीचे दिया गया है)
- 5. एनसीबीआई जेनबैंक डेटाबेस के डेटाबेस के साथ ब्लास्ट करने के लिए जीन अनुक्रम का उपयोग किया गया था।
- अधिकतम पहचान स्कोर के आधार पर पहले दस अनुक्रमों का चयन किया गया और कई का उपयोग करके संरेखित किया गया
- संरेखण सॉफ्टवेयर प्रोग्राम।प्राप्त किए गए जीन अनुक्रमों की तुलना जेनबैंक डेटाबेस में उपलब्ध अनुक्रमों के साथ NCBI और BLAST का उपयोग करते हुए //blast.ncbi.nlm.nih.gov पर की गई थी ।
- आइसोलेट्स का विश्लेषण एसएलएस रिसर्च प्राइवेट लिमिटेड, अहमदाबाद, गुजरात द्वारा किया गया हैं।

परिणाम और चर्चा

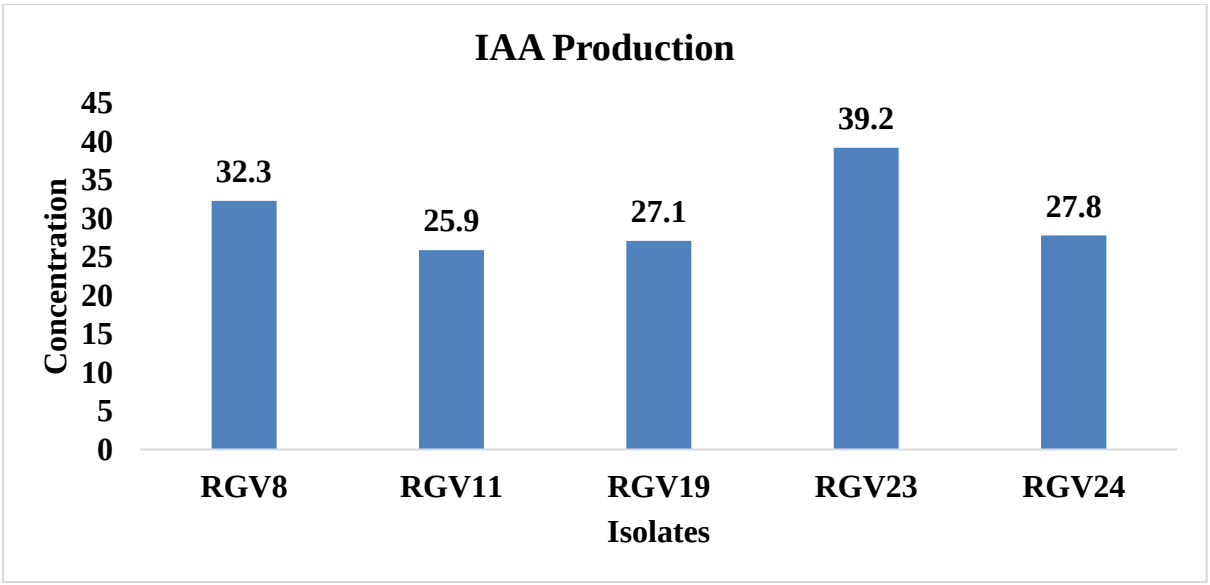
- राजकोट और वाकानेर से मिट्टी के नमूने एकत्र किए गए और 30 आइसोलेट्स का चयन किया गया। सभी आइसोलेट्स तेजी से नहीं बढ़ रहे थे, कुछ धीमी गति से बढ़ने वाले बैक्टीरिया हैं।
- 30 आइसोलेट्स का चयन किया गया।

इंडोल एसिटिक एसिड उत्पादन

- IAA पौधों की कोशिकाओं और ऊतकों के विभाजन और विभेदन के लिए महत्वपूर्ण फाइटोहोर्मोन है। इसके अलावा , यह पौधे की जड़ बढ़ाव का समर्थन करता है।
- चित्रा 1 (4) नियंत्रण के संबंध में आईएए उत्पादन के परिणाम दिखाता है।
- IAA की मात्रा का ठहराव स्पेक्ट्रोफोटोमेट्रिक विश्लेषण (चित्र 5) का उपयोग करके किया गया था।
- परिणामों ने संकेत दिया कि केवल ग्यारह आइसोलेट्स ने विभिन्न सांद्रता में IAA का उत्पादन किया।
- IAA उत्पादन को 10-100µg/ml की सीमा में मापा गया।
- बैक्टीरिया RGV11 के द्वारा न्यूनतम IAA उत्पादन किया गया है और RGV23 बैक्टीरिया द्वारा 39.2 तक उत्पन्न किया गया है और IAA उत्पादन की सीमा 25.9 से लेकर 39.2 तक है।



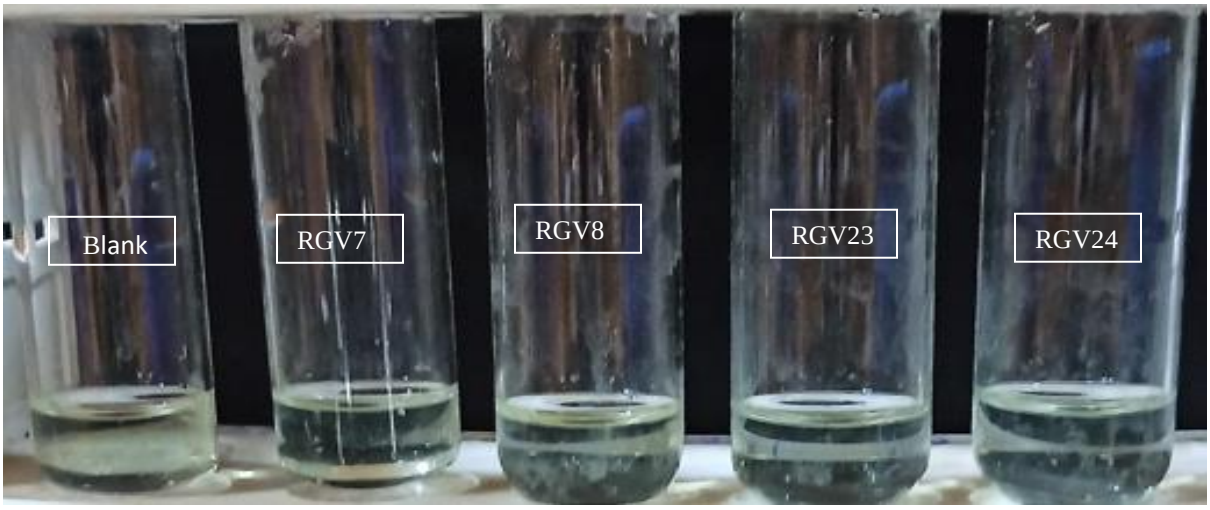
चित्र 4. आइसोलेट्स द्वारा गुणात्मक इंडोल एसिटिक एसिड उत्पादन



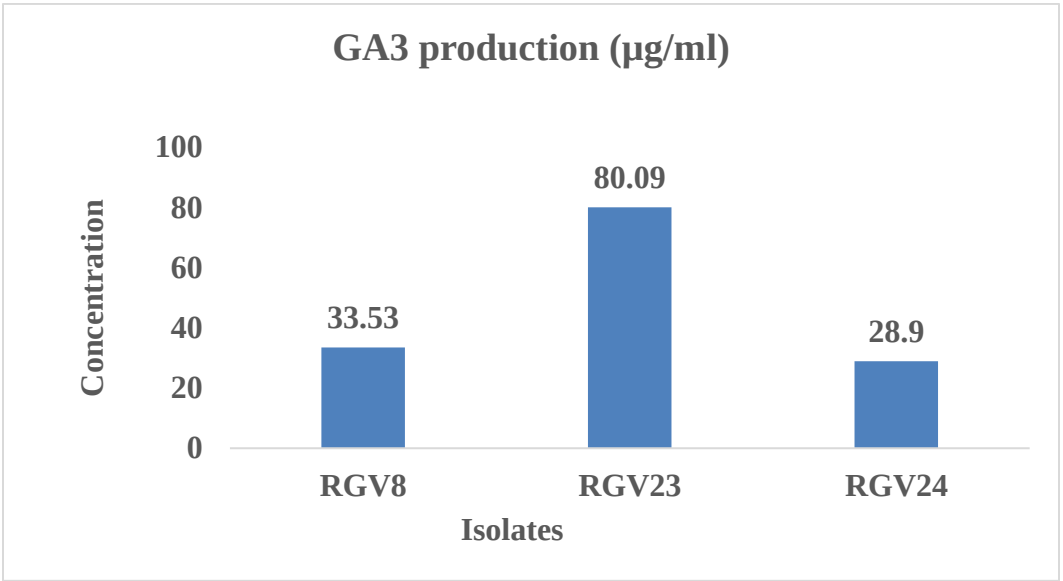
चित्र 5. आइसोलेट्स द्वारा मात्रात्मक इंडोल एसिटिक एसिड उत्पादन

जिबरेलिक एसिड उत्पादन

- जिबरेलिक एसिड प्रमुख वृद्धि हार्मोन में से एक है जिसकी बीज अंकुरण में महत्वपूर्ण भूमिका होती है।
- जबकि जिबरेलिन्स के अन्य कार्य तना बढ़ाव, फूलना, फलों का निर्माण और बुढ़ापा और प्रजनन अभिव्यक्ति हैं [45]।
- जिबरेलिक एसिड के उत्पादन के लिए कुल तीन आइसोलेट्स की जांच की गई।आइसोलेट्स ने 28.2 माइक्रोग्राम /मिली से 80.09 माइक्रोग्राम /मिली की सीमा में जिबरेलिक एसिड उत्पादन दिखाया। इन आइसोलेट्स में से RGV23 जिबरेलिक एसिड का उच्चतम उत्पादक आइसोलेट था।



चित्र 6. आइसोलेट्स द्वारा गुणात्मक जिबरेलिक एसिड उत्पादन



चित्र 7. आइसोलेट्स द्वारा मात्रात्मक जिबरेलिक एसिड उत्पादन

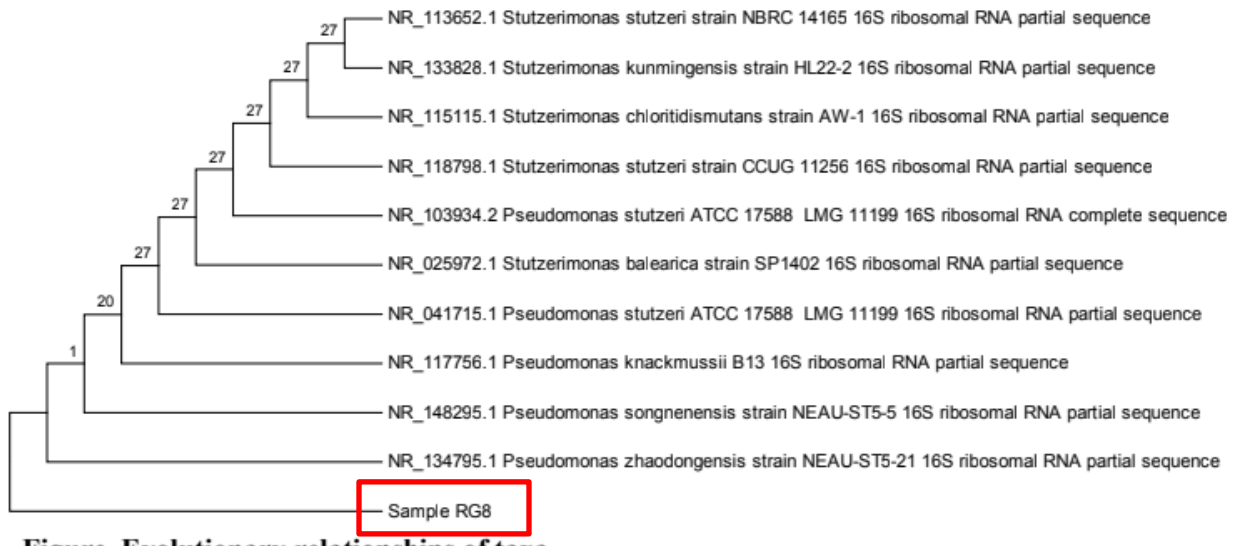


Figure. Evolutionary relationships of taxa

विचार-विमर्श

मेथी की फसल के राइजोस्फेरिक क्षेत्र से कुल 30 आइसोलेट्स प्राप्त किए गए थे। फाइटोहोर्मोन लक्षणों के लिए गुणात्मक और मात्रात्मक विश्लेषण में केवल तीन शुद्धपाए गए जिसके सभी दो लक्षणों के लिए सकारात्मक परिणाम हैं।। हमने इंडोल एसिटिक एसिड और जिबरेलिक एसिड का उत्पादन करने वाले तीन बैक्टीरिया को अलग किया और तीनों को 16s rRNA के विश्लेषण के लिए भेजा था। तीन बैक्टीरिया में से एक को अनुक्रमित किया गया है। पहचान हो चुकी है और शेष दो मिश्रित बैक्टीरिया पाया गया है, पहचाने गए पीजीपीआर(RGV8)*Pseudomonas songnenensis* हैं। हम अनुक्रम एनसीबीआई को सौंप रहे हैं। भविष्य में, इसका उपयोग पौधों की वृद्धि और विकास और स्थायी कृषि में किया जा सकता है। जांच से पता चलता है कि शक्तिशाली पीजीपीआर को अपने संयंत्र विकास को बढ़ावा देने की क्षमता के लिए आगे का अध्ययन करना चाहिए।

निष्कर्ष और/ या सिफारिशें

विभिन्न पीजीपीआर को नियंत्रित और खेत की परिस्थितियों में जांचा गया है, और आम तौर पर पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने जैसे कि विभिन्न फसलों में उपज में वृद्धि, उर्वरक और कीटनाशकों की कमी को स्पष्ट रूप से प्रदर्शित किया गया है। भविष्य में उपभेदों के बेहतर और प्रभावी उपयोग के लिए पीजीपीआर के वैज्ञानिक आधार की जांच, परीक्षण और खोज जारी रखी जानी चाहिए, और शोधकर्ताओं और देशों (पोडिले और किशोर 2006) के बीच पीजीपीआर उपभेदों का मुक्त आदान-प्रदान इसमें मदद कर सकता है। इस बात की अच्छी संभावना है कि पीजीपीआर के व्यावसायिक मिश्रण का उपयोग विभिन्न उद्देश्यों जैसे कि बेहतर फसल की उपज या कीटों के दमन और विकसित रोग के लिए स्थायी और पर्यावरण अनुकूल कृषि में विभिन्न फसलों के उत्पादन में बड़े पैमाने पर किया जाएगा[54]।

स्वीकृतियाँ

हमें अनुसंधान के लिए एक मंच और फंड प्रदान करने के लिए हम सबसे पहले आईकेएस डिवीजन के बहुत आभारी हैं। हम प्रयोगशाला प्रदान करने के लिए आत्मीय विश्वविद्यालय और जैव प्रौद्योगिकी श्री एम एन विरानी साइंस कॉलेज राजकोट गुजरात के आभारी हैं। मैं अपने गुरु डॉ रागिनी राघव को उनके निरंतर मार्गदर्शन के लिए बहुत आभारी हूं और हमारी मदद करने के लिए डॉ श्वेता भट्ट को भी धन्यवाद देती हूं।

Acknowledgement

We are very grateful first to IKS, division for providing us a platform and fund for the research. We are thankful to Department of Biotechnology, Atmiya University, Rajkot, Gujarat, for providing the infrastructure. I am very much thankful to my mentor Dr. Ragini Raghav for her contineuos guidance, and also thankful to Dr. Shweta Bhatt for helping us throughout our research.

संदर्भ:

1. प्रियंका, पी., मुखर्जी, एस., और मलिक, एस) .2020)। कृषि जैव प्रौद्योगिकी में राइजोबैक्टीरिया की भूमिका को बढ़ावा देने वाले पौधों की वृद्धि।
2. मीना, एम।, स्वप्निल, पी।, नंदन, वाई।, और एंडलीब, टी। (2020)। पीजीपीआर - रोगजनकों के खिलाफ पौधों में प्रणालीगत प्रतिरोध और भौतिक रासायनिक परिवर्तनों की मध्यस्थता प्रेरण: वर्तमान दृष्टिकोण। जून। https://doi.org/10.1002/jobm.202000370
3. भट्टाचार्य, पी.एन., और झा, डी.के. (2012)। पादप वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर): कृषि में उद्भव। 1327-1350। https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9
4. फिलिप्स केए, स्किर्पन एएल, लियू एक्स, क्रिस्टेंसन ए, स्लीविंस्की टीएल, हडसन सी, बरजेश एस, कोहेन जेडी, माल्कोम्बर एस, मैकस्टीन पी। वैनिशिंग टैसल 2 मक्का में वनस्पति और प्रजनन विकास के लिए आवश्यक घास-विशिष्ट ट्रिप्टोफैन एमिनोट्रांस्फरेज को एन्कोड करता है। पौधा कोशाणु। 2011; 23(2):550-66
5. ड्यूका डी, लोर्व जे, पैटन सीएल, रोज डी, ग्लिक बीआर। इंडोल-3-एसिटिक एसिड प्लांट-माइक्रोब इंटरैक्शन में। एंटोनी वैन लीउवेनहोएक। 2014;106(1):85-125.
6. ग्लिक बीआर। पौधों के विकास को बढ़ावा देने वाले बैक्टीरिया: तंत्र और अनुप्रयोग। साइंटिफिक। 2012; 2012: 963401।
7. राशिद एस, चार्ल्स टीसी, ग्लिक बीआर। नए पौधे के विकास को बढ़ावा देने वाले जीवाणु एंडोफाइट्स का अलगाव और लक्षण वर्णन। एपल मृदा इकोल। 2012;61:217-24
8. ग्लिक बीआर। मुक्त रहने वाले जीवाणुओं द्वारा पौधों की वृद्धि में वृद्धि। कैन जे माइक्रोबायोल। 1995; 41(2):109-17.
9. पैटन सीएल, ग्लिक बीआर। ट्रिप्टोफैन और स्थिर-चरण सिग्मा कारक RpoS द्वारा स्यूडोमोनास पुटिडा GR12-2 में इंडोलेसेटिक एसिड उत्पादन का विनियमन। कैन जे माइक्रोबायोल। 2002;48(7):635-42।
10. एपिन ओए, जाधव जेपी। पैन्टोइया एग्लोमेरेन्स स्ट्रेन पीवीएम का उपयोग करके इंडोल-3-एसिटिक एसिड उत्पादन के लिए माध्यम का अनुकूलन। जे एपल माइक्रोबायोल। 2011;110(5):1235-44।
11. कोस्टाकुर्टा ए, वेंडरलेडेन जे। पौधे से जुड़े बैक्टीरिया द्वारा फाइटोहोर्मोन का संश्लेषण। क्रिट रेव माइक्रोबायोल। 1995; 21(1):1-18.
12. डेविस पीजे। पादप हार्मोन: शरीर विज्ञान, जैव रसायन और आणविक जीव विज्ञान। बोस्टन: क्लूवर अकादमिक; 1995.
13. शिंशी एच, मोहनन डी, मीन्स एफ जूनियर। एक पौधे रोगजनन से संबंधित एंजाइम का विनियमन: ऑक्सिन और साइटोकिनिन द्वारा सुसंस्कृत तंबाकू ऊतकों में चिटिनेज और चिटिनेज एमआरएनए संचय का निषेध। प्रोक नेटल एकेड साइंस यू एस ए 1987; 84 (1): 89-93।
14. बोम्के सी, टुडज़िंस्की बी। पौधों और बैक्टीरिया की तुलना में कवक में जिबरेलिन बायोसिंथेटिक मार्ग की विविधता, विनियमन और विकास। पादप रसायन। 2009;70(15-16):1876-93।
15. खान एएल, हुसैन जे, अल-हरासी ए, अल-रवाही ए, ली आई। एंडोफाइटिक कवक: जिबरेलिन्स और फसल अजैविक तनाव प्रतिरोध के लिए संसाधन। क्रिट रेव बायोटेक्नोल। 2015; 35(1):62-74.
16. हेडन पी, फिलिप्स एएल, रोजस एमसी। पौधों और कवक में जिबरेलिन जैवसंश्लेषण: अभिसरण विकास का एक मामला? जे प्लांट ग्रोथ रेगुलर। 2002; 20:319-31।
17. नेट आरएस, मोंटानारेस एम, मार्कासा ए, लू एक्स, नागेल आर, चार्ल्स टीसी, हेडन पी, रोजस एमसी, पीटर्स आरजे। जीवाणुओं में जिबरेलिन जैवसंश्लेषण की व्याख्या से अभिसरण विकास का पता चलता है। नेट केम बायोल। 2017;13(1):69-74.
18. एटज़ोर्न आर, क्रोज़ियर ए, व्हीलर सीटी, सैंडबर्ग जी। फेजोलस वल्गेरिस जड़ों के नोड्यूलेशन के संबंध में राइजोबियम फेजोली द्वारा जिबरेलिन और इंडोल-3-एसिटिक एसिड का उत्पादन। प्लांटा। 1988; 175(4):532-8.
19. लैंट, सी।, और मृदा, आर। (2020)। जर्नल ऑफ एडवांस्ड साइंटिफिक रिसर्च। 11(4), 148-154
20. खान एएल, वकास एम, कांग एस, अल-हरासी ए, हुसैन जे, अल-रवाही ए, अल-खिज़िरी एस, उल्लाह I, अली एल, जंग एच, ली आई। बैक्टीरियल एंडोफाइट स्फिंगोमोनास एसपी। LK11 जिबरेलिन और IAA का उत्पादन करता है और टमाटर के पौधे के विकास को बढ़ावा देता है। जे माइक्रोबायल। 2014बी;52(8):689-95।
21. भारतीय मसाला बोर्ड, वाणिज्य और उद्योग मंत्रालय, सरकार। भारत की। (2021) प्रमुख मसाला वार क्षेत्र और उत्पादन। www.indianspices.com

22. वोकिएंट, एम।, ग्रिफोनी, एम।, फुसिनी, डी।, पेटुज़ेली, जी।, और फ्रैंची, ई।)2022)। संयंत्र के पर्यावरणीय तनाव को कम करने में पौधे की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया की भूमिका। अनुप्रयुक्त विज्ञान (पीजीपीआर), 12(3), 1231।
23. फहद, एस।, नी, एल।, चेन, वाई।, वू, सी।, जिओंग, डी।, सऊद, एस।, ... और हुआंग, जे। (2015)। फसल संयंत्र हार्मोन और पर्यावरणीय तनाव। सतत कृषि समीक्षा, 371-400।
24. भट्टाचार्य, पी.एन., और झा, डी.के. (2012)। पादप वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर): कृषि में उद्भव। विश्व जर्नल ऑफ माइक्रोबायोलॉजी एंड बायोटेक्नोलॉजी, 28(4), 1327-1350।
25. ग्रोवर, एम., बोधांकर, एस., शर्मा, ए., शर्मा, पी., सिंह, जे., और नैन, एल. (2020)। पीजीपीआर ने मूल लक्षणों में परिवर्तन की मध्यस्थता की: स्थायी फसल उत्पादन की दिशा में। सस्टेनेबल फूड सिस्टम में फ्रंटियर्स, 4, 287।
26. लेओन्टिडौ, के।, जेनिटारिस, एस।, पापाडोपोलू, ए।, कमौ, एन।, बोस्माली, आई।, मत्सी, टी।, मैडिसिस, पी।, वोकौ, डी।, करमानोली, के।, और मेलिडौ, आई. (2020)। हेलोफाइट्स और सूखा-सहिष्णु पौधों से पृथक राइजोबैक्टीरिया को बढ़ावा देने वाले पौधे की वृद्धि: जीनोमिक लक्षण वर्णन और फाइटो-लाभकारी लक्षणों की खोज। वैज्ञानिक रिपोर्ट, 10(1), 1-15.
27. बैरवा, एम., मीना, एस.एस., और मेहता, आर.एस. (2012)। मेथी की वृद्धि और उपज पर जैव-उर्वरकों और पौधों के विकास नियामकों का प्रभाव (ट्राइगोनेला फेनम-ग्रेकेम एल।) बीज मसालों का अंतर्राष्ट्रीय जर्नल, 2(1), 28-33.

28. खान एजी (2005) फाइटोरेमेडिएशन में ट्रेस मेटल दूषित मिट्टी पर उगने वाले पौधों के राइजोस्फीयर में मिट्टी के रोगाणुओं की भूमिका। जे ट्रेस एलम मेड बायोल 18:355-364। doi:10.1016/j.jtemb.2005.02.006
29. ज़ुआंग एक्स, चेन जे, शिम एच, बाई जेड (2007) बायोरेमेडिएशन के लिए प्लांट ग्रोथ-प्रोमोटिंग राइजोबैक्टीरिया में नई प्रगति। एनवायरन इंट 33:406-413। डोई:10.1016/जे.एनविंट.2006.12.005
30. ग्लिक बीआर, पेनरोज डीएम, ली जेपी (1998) ए मॉडल फॉर लोरिंग ऑफ प्लांट इथाइलीन कंसंट्रेशन बाय प्लांट ग्रोथ-प्रमोटिंग बैक्टीरिया। जे थ्योर बायोल 190:63-68। डोई:10.1006/jtbi.1997.0532
31. काकमक्की आर, कांतार एफ, साहिन एफ (2001) चुकंदर और जौ की उपज पर एन2-फिक्सिंग बैक्टीरियल इनोक्यूलेशन का प्रभाव। जे प्लांट न्यूट्र मृदा विज्ञान 164: 527-531
32. गार्सिया जेएएल, डोमनेच जे, सैंटामारिया सी, कैमाचो एम, डाजा ए, गुटिरेज़ मानेरो एफजे (2004ए) वन पौधों की वृद्धि (पाइन और होल्म-ओक) राइजोबैक्टीरिया के साथ टीका: माइक्रोबियल सामुदायिक संरचना और इसके राइजोस्फीयर की जैविक गतिविधि के साथ संबंध। एनवायरन Expक्स्प बॉट 52:239-251। doi:10.1016/j.envexpbot.2004.02.003
33. सिद्दीकी जेडए, महमूद I (2001) मेलोइडोगाइन जावनिका के प्रजनन और छोले की वृद्धि पर राइजोबैक्टीरिया और जड़ सहजीवन के प्रभाव। बायोरेसर तकनीक 79:41-45
34. गुओ जेएच, क्यूई एचवाई, गुओ वाईएच, जीई एचएल, गोंग एलवाई, झांग एलएक्स (2004) पौधे के विकास को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया द्वारा टमाटर विल्ट का बायोकंट्रोल। बायोल कंट्रोल 29:66-72। डोई:10.1016/एस1049-9644(03)00124-5
35. जेटियानोन के, क्लोएपर जेडब्ल्यू (2002) मिक्सचर्स ऑफ प्लांट ग्रोथ-प्रमोटिंग राइजोबैक्टीरिया फॉर इंडक्शन सिस्टमिक रेजिस्टेंस अगेंस्ट मल्टीपल प्लांट डिजीज। बायोल कंट्रोल 24:285–291
36. राज एसएन, चालुवराजू जी, अमृतेश केएन, शेट्टी एचएस, रेड्डी एमएस, क्लोएपर जेडब्ल्यू (2003ए) इंडक्शन ऑफ ग्रोथ प्रमोशन एंड रेजिस्टेंस अगेंस्ट डाउनी मिल्ड्यू ऑन पर्ल मिलेट (पेनीसेटम ग्लौकम) राइजोबैक्टीरिया द्वारा। प्लांट डिस 87:380–384स्पापेन, एस।, और वेंडरलीडेन, जे। (2011)। ऑक्सिन और प्लांट-माइक्रोब इंटरैक्शन। जीव विज्ञान में कोल्ड स्प्रिंग हार्बर परिप्रेक्ष्य, 3(4), a001438.
37. वैन लून एलसी, बेकर पीएएचएम, पीटर्स सीएमजे (1998) राइजोस्फीयर बैक्टीरिया द्वारा प्रेरित प्रणालीगत प्रतिरोध। अन्नू रेव फाइटोपैथोल 36:453-483
38. राममूर्ति वी, विश्वनाथन आर, रघुचंदर टी, प्रकाशम वी, सम्यप्पन आर (2001) कीटों और रोगों के खिलाफ फसल पौधों में राइजोबैक्टीरिया को बढ़ावा देने वाले पौधों की वृद्धि द्वारा प्रणालीगत प्रतिरोध का प्रेरण। फसल विरोध 20:1-11इकबाल, जेड, अंसारी, एम.आई., अहमद,

ए., हक, जेड, और इकबाल, एम.एस. (2021)। नैनोमटेरियल्स का प्रभाव पौधों पर तनाव। नैनोबायोटेक्नोलॉजी में (पीपी। 499-526)। स्प्रिंगर।

39. डर्सन ए, एकिन्सी एम, डोनमेज़ एमएफ (2008) रॉकेट में रासायनिक सामग्री, उपज और वृद्धि पर टीकाकरण बैक्टीरिया के प्रभाव (Eruca vesicaria subsp sativa)। एशियन जे केम 20:3197–3202
40. कयामक, एच.सी. (2010)। कृषि नवाचारों में पीजीपीआर की संभावना। पौधे की वृद्धि और स्वास्थ्य को बढ़ावा देने वाले बैक्टीरिया, 45-79।
41. नवीद एम, खालिद एम, जोन्स डीएल, अहमद आर, ज़हीर जेडए (2008) स्यूडोमोनास एसपीपी की सापेक्ष प्रभावकारिता, जैविक उर्वरक की उपस्थिति में मक्का (ज़ी मेस एल) की वृद्धि और उपज में सुधार के लिए एसीसी-डेमिनेज युक्त। पाक जे बॉट 40:1243-1251
42. अमीर एचजी, शम्सुद्दीन जेडएच, हलीमी एमएस, मरजिया एम, रामलन एमएफ (2005) पौध नर्सरी की स्थिति के तहत पीजीपीआर के कारण पोषक तत्वों के संचय और विकास में वृद्धि। साम्य मृदा विज्ञान योजना 36(15-16):2059-2066। डोई:10.1080/00103620500194270
43. स्पापेन, एस।, और वेंडरलीडेन, जे। (2011)। ऑक्सिन और प्लांट-माइक्रोब इंटरैक्शन। जीव विज्ञान में कोल्ड स्प्रिंग हार्बर परिप्रेक्ष्य, 3(4), a001438.
44. इकबाल, जेड, अंसारी, एम.आई., अहमद, ए., हक, जेड, और इकबाल, एम.एस. (2021)। नैनोमटेरियल्स का प्रभाव पौधों पर तनाव। नैनोबायोटेक्नोलॉजी में (पीपी। 499-526)। स्प्रिंगर।कांग, एस.-एम., खान, ए.एल., यू, वाई.-एच., किम, जे.-जी., कामरान, एम., और ली, आई.-जे. (2014)। नए पृथक स्ट्रेन लीफसोनिया सोलि SE134 द्वारा जिबरेलिन उत्पादन और पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने की इसकी क्षमता। जर्नल ऑफ माइक्रोबायोलॉजी एंड बायोटेक्नोलॉजी, 24(1), 106-112.
45. कांग, एस.एम., खान, ए.एल., हमायूं, एम., हुसैन, जे., जू, जी.जे., यू, वाई.एच., किम, जे.जी., और ली, आई.जे. (2012)। जिबरेलिन-उत्पादक प्रोमाइक्रोमोनोस्पोरा सपा। SE188 सोलनम लाइकोपर्सिकम पौधे की वृद्धि में सुधार करता है और अंतर्जात पौधे हार्मोन को प्रभावित करता है। जर्नल ऑफ माइक्रोबायोलॉजी, 50(6), 902-909। https://doi.org/10.1007/s12275-012-2273-4
46. कन्नोजिया, पी., सिंह, यू.बी., और शर्मा, पी.के. (एन.डी.)। सतत कृषि में फसल उत्पादकता में सुधार के लिए पौधों के विकास को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया की भूमिका। 673–693।
47. भूमिका, पी। (2014)। कृषि में पीजीपीआर की संभावित भूमिका 2. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1973-6
48. राज, एम।, कुमार, आर।, लाल, के।, और सिरीशा, एल। (2020)। कृषि में राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर) को बढ़ावा देने वाले पौधे के विकास की गतिशील भूमिका कृषि में राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर) को बढ़ावा देने वाले पौधे के विकास की गतिशील भूमिका। सितंबर। https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i5b.1028
49. प्रसाद, एम।, श्रीनिवासन, आर।, और चौधरी, एम। (2019)। सतत कृषि के लिए पौधों की वृद्धि को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर): परिप्रेक्ष्य और चुनौतियां। सतत कृषि में पीजीपीआर सुधार में। एल्सेवियर इंक. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00007-0
50. नारायण, आर., और गुप्ता, एन.सी. (2018)। रांची की अम्लीय मिट्टी से एज़ोस्पिरिलम का अलगाव, सांस्कृतिक और शारीरिक लक्षण वर्णन। जे फार्माकोग्नॉसी और फाइटोकेम, 7(4), 2611-2617।
51. गांधीमनियान, के., बालमुरुगन, वी., अम्बेडकर, जी., सबरीदासन, ए., सुब्रमण्यम, एम., और आनंदबाबू, एस. एज़ोस्पिरिलम एसपी के अलगाव और विशेषता पर अध्ययन। मक्का की राइजोस्फीयर मिट्टी में।
52. गॉर्डन, एस.ए., और पालेग, एल.जी. (1957)। इंडोल एसिटिक एसिड का मात्रात्मक माप। फिजियोल प्लांट, 10, 37-48।
53. ऐशरी, एन.एम., अलाइदारोस, बी.ए., मोहम्मद, एस.ए., बद्र, ओ.ए., एल-साडोनी, एम.टी., और एस्माएल, ए. (2022)। पौधे के विकास को बढ़ावा देने वाले राइजोबैक्टीरिया (पीजीपीआर) के रूप में कठोर मिट्टी से पृथक सूखा-सहिष्णु जीवाणु उपभेदों का उपयोग। सऊदी जर्नल ऑफ बायोलॉजिकल साइंसेज, 29(3), 1760-1769।
54. किशोर, जी.के., पांडे, एस., और पोडिले, ए.आर. (2006)। स्यूडोमोनास एरुगिनोसा जीएसई 18 एस्परगिलस नाइजर के सेल वॉल डिग्रेडिंग एंजाइम को रोकता है और कॉलर रोट रोग के नियंत्रण में मूंगफली के रक्षा संबंधी एंजाइमों को सक्रिय करता है। ऑस्ट्रेलेशियन प्लांट पैथोलॉजी, 35(2), 259-263।