المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل
The Scientific Journal of King Faisal University
العلوم الأساسية والتطبيقية
Basic and Applied Sciences

Revealing of Potential Plant Growth-Enhancing Traits Through In Silico Genomic Analysis of *Bacillus Rhizoplanae* CIP111899

Guendouz Dif [1,2] and Abdelghani Zitouni [2]
[1] Department of Natural Sciences, Higher Normal School of Laghouat, Laghouat, Algeria
[2] Laboratory of Microbial Systems Biology, Higher Normal School, Kouba, Algeria

الكشف عن معزز محتمل لنمو النبات من خلال تحليل الجينوم الكامل In Silico للسلالة *Bacillus Rhizoplanae* CIP111899

ضيف القندوز[1,2] وزيتوني عبدالغني[2]
[1] قسم العلوم الطبيعية، المدرسة العليا للأساتذة، الأغواط، الجزائر
[2] مخبر بيولوجيا الأنظمة الميكروبية، المدرسة العليا للأساتذة، القبة، الجزائر

LINK الرابط	RECEIVED الاستقبال	ACCEPTED القبول	PUBLISHED ONLINE النشر الإلكتروني	ASSIGNED TO AN ISSUE الإحالة لعدد
https://doi.org/10.37575/b/sci/230003	03/01/2023	13/05/2023	13/05/2023	01/06/2023
NO. OF WORDS عدد الكلمات	**NO. OF PAGES عدد الصفحات**	**YEAR سنة العدد**	**VOLUME رقم المجلد**	**ISSUE رقم العدد**
5877	7	2023	24	1

ABSTRACT

The objective of this study was to examine the whole genome of the bacterial strain CIP111899, isolated from the root surface of maize (Zea mays), in order to reveal the presence of genes implicated in enhancing plant growth. The genome-based taxonomy revealed that strain CIP111899 belongs to a new species called Bacillus rhizoplanae. In the second step, the genome of CIP111899 was analyzed on multiple levels using various information tools. This involved examining functional categories associated with genes using analytical techniques, namely, annotation using the RAST server, then identifying growth-promoting genes with the Prokka program, and finally detecting groups of genes responsible for secondary metabolism through antiSMASH analysis. The results of the genomic analysis of strain CIP111899 showed the presence of multiple genes that enhance stress tolerance, such as those encoding enzymes and antioxidants (superoxide dismutase, peroxidases, and catalase). Additionally, various plant growth-promoting genes were identified, including those involved in the solubility of inorganic phosphorus, phytohormone production, and iron uptake. In conclusion, strain CIP111899 has shown promise as a potential agent for promoting plant growth and thereby improving food security due to its genetic composition.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل الجينوم الكامل لسلالة بكتيرية CIP111899 معزولة من سطح جذور الذُرة Zea mays قصد الكشف عن وجود جينات متدخلة في تعزيز نمو النبات وكذا في النشاط المضاد لمسببات الأمراض النباتية التي تُكبّد الإنسانية خسائر فادحة في الأمن الغذائي، لقد مكّنت الدراسة التصنيفية الجينومية من إثبات انتماء السلالة CIP111899 لنوع بكتيري جديد *Bacillus rhizoplanae*. في خطوة لاحقة إذ تم التحليل الجينومي للسلالة CIP111899 على عدة مستويات وبعدة أدوات معلوماتية كدراسة للجينات المرتبطة بالفئات الوظيفية (COG) من خلال عملية التحليل الجيني (Annotation) وذلك بواسطة خادم RAST ثم التحديد الجيني عن طريق برنامج Prokka ليتم الكشف والتعرف على الجينات المتعلقة بآليات تعزيز نمو النبات والمكافحة البيولوجية ثم البحث عن المجموعات الجينية المسؤولة عن الأيض الثانوي بواسطة أداة التحليل البرمجية .antiSMASH التي أظهرت نتائج التحليل الجيني للسلالة CIP111899، حيث تمّ اكتشاف العديد من الجينات المساهمة في تحمل الإجهادات في جينوم CIP111899 مثل الجينات المشفِّرة المنتجة لإنزيمات ومركبات مضادة للأكسدة (antioxidants) وإنتاج الجذور الحرة المجهِدة للنبات والتي من أهمها على سبيل المثال : سوبر أكسيد ديسمتاز (SOD)، البيروكسيداز (POXs) وكاتلاز (CAT). و كذلك تم العثور على عديد الجينات المتعلقة بصفات تعزيز نمو النبات كإذابة الفسفور اللاعضوي، وإنتاج الهرمونات النباتية والتقاط الحديد، وفي الختام يتّضح من خلال مجمل النتائج المحصل عليها أهمية السلالة CIP111899 كمرشّح واعد في تعزيز نمو النباتات والمساهمة في الأمن الغذائي.

KEYWORDS
الكلمات المفتاحية
Bioinformatics tools, food security, genes, genome annotation, enhancing plant-growth, stress resistance
أدوات بيومعلوماتية، الأمن الغذائي، التحليل الجيني، تحمّل الإجهاد، تعزيز النبات، الجينات

CITATION
الإحالة
Dif, G. and Zitouni, A. (2023). Alkashf ean mueaziz muhtamal linumui alnabat min khilal tahlil aljinum alkamil in silico lilsilalati *Bacillus rhizoplanae* CIP111899 'Revealing of potential plant growth-enhancing traits through in silico genomic analysis of *Bacillus rhizoplanae* CIP111899'. *The Scientific Journal of King Faisal University: Basic and Applied Sciences*, **24**(1), 34–40. DOI: 10.37575/b/sci/230003 [in Arabic]

القندوز، ضيف و عبد الغني، زيتوني. (2023). الكشف عن معزز محتمل لنمو النبات من خلال تحليل الجينوم الكامل in silico للسلالة *Bacillus rhizoplanae* CIP111899. *المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل: العلوم الأساسية والتطبيقية*، **24**(1)، 34-40.

1. المقدمة

مما لاشك فيه أنّ النظام الزراعي العالمي في القرن الحالي يواجه المزيد من التحديات، التي تتمثل في انخفاض الإنتاجية وتدهور استدامة النظم الإيكولوجية الزراعية، بسبب التلوث البيئي والجفاف و نقص الأراضي الزراعية الخصبة، حيث تشير توقعات الأمم المتحدة إلى أن عدد سكان العالم يمكن أن يصل إلى أكثر من 9 مليار نسمة بحلول عام 2050 وبالتالي ستكون هناك زيادة مستمرة في الطلب على الغذاء بنسبة 46-60% (Gouel and Guimbard, 2017; Alexandratos and Bruinsma, 2012)، لذا فاكتشاف استراتيجيات غير تقليدية ومستدامة أصبح حاجة ملحة ليس فقط للتخفيف من الطلب المتزايد على الغذاء ولكن أيضًا للحفاظ على نظامنا البيئي من التدهور المستمر، فمن بين هذه الاستراتيجيات استخدام الكائنات الحية الدقيقة،نقصد بذلك البكتيريا المعروفة باسم البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) ، والتي يسلط عليها الباحثون الكثير من الأبحاث والتجارب، إذ يمكن استخدام سلالات PGPRs لتحسين صحة النباتات وتعزيز معدل نموها دون تلوث بيئي (Vocciante *et al.*, 2022; Dif *et al.*, 2021).

و يمكن كذلك أن تؤثر البكتريا PGPR إيجابا في نمو النبات بآليات مختلفة مباشرة وغير مباشرة (Gupta *et al.*, 2002)، مثل تحفيز نمو النبات من خلال تسهيل حصول النبات المضيف على العناصر الغذائية الموجودة في التربة (الفوسفور والحديد)، وإنتاج العديد من الهرمونات ومنظمات نمو النبات،وأيضا تحسين بنية التربة والمعالجة الحيوية للتربة الملوثة عن طريق امتصاص المعادن الثقيلة بأنواعها والمركبات الكيميائية السامة (Ojuederie and Babalola, 2017) وكذلك مساعدة النباتات على تحمل الملوحة (Tank and Saraf, 2010.

فالمكافحة البيولوجية وحماية النباتات من مسببات الأمراض النباتية عن طريق التحكم فيها أو تثبيطها أو تعزيز خصائص قدرة المقاومة الجهازية الطبيعية للنبات (IRS) (Toumatia *et al.*, 2016).

هناك العديد من الأنواع لأجناس بكتيريا مختلفة سواء كانت جذرية تكافلية مثل *Rhizobium*، *Mesorhizobium*، *Bradyrhizobium* (Pereira-Gomez *et al.*,

Corresponding Author: Dif Guendouz 00213675443604, kdgb2007@yahoo.fr المؤلف المراسل: ضيف القندوز

2020)، أو غير تكافلية كـ *Pseudomonas* ،*Bacillus* ،*Klebsiella* ،*Azospirillum* و*Azotobacter* (Fitriatin and Nurmala, 2019; Prasad *et al.*, 2015)، التي يتم الآن استخدامها في المجالات البحثية والميدانية كلقاحات بيولوجية لتعزيز نمو المحاصيل وحمايتها من مسببات الأمراض النباتية.

أمّا عن الصفات الشكلية والوظيفية (Phenotype) للبكتيريا كباقي الكائنات الحية ترجع أساسا لمخزونها الجيني (Genotype)، وبالتالي يمكن التنبؤ بالكثير من الصفات من خلال تحديد تسلسل الجينوم والتعرف على الجينات التي يتضمنها (Kumar *et al.*, 2015; Hill *et al.*, 2013).وقد أحدثت تقنية NGS (Next-Generation Sequencing) لتحديد تتابع النكليوتيدات في الجينوم قفزة في العلوم البيولوجية، نظرا لسرعتها ودقتها غير المسبوقة من جهة (Vincent *et al.*, 2017)، ومن جهة أخرى التطور المهول لعلم الحاسوب والخوارزميات الذي وَفر لنا العديد من الأدوات التي تمكننا من تحليل التسلسلات النكليوتيدية الجينومة والتنبؤ بالجينات (Drouin *et al.*, 2019)، ومقاربة دراسة الخصائص الجينية للسلالات البكتيرية قبل تطبيقها في مختلف المجالات نهجا واعدا يقتصد الوقت والجهد (Thakur, 2018).

نحاول في هذه الدراسة تحقيق تحليل جينومي بواسطة أدوات وبرامج حاسوبية عالية الدقة ومعتمدة أكاديميا لجينوم سلالة من البكتيريا الجذرية *Bacillus rhizoplanae* CIP111899 لم يسبق لها أن خضعت لدراسة جينومية معمقة، حيث نستهدف من خلال هذا البحث (ضمن جينوم هاته السلالة) عن جينات لها دور إيجابي في تحفيز ودعم نمو النبات أي للتنبؤ بأهمية السلالة كلقاحات بيولوجية معززة لنمو المحاصيل وحمايتها من مسببات الأمراض النباتية.

2. الأدوات المستخدمة وطرائق العمل

1.2. الأدوات المستخدمة:

1.1.2. الموقع الالكتروني NCBI (National Center for Biotechnology Information)

هو منصة تابعة للمعهد الوطني الأمريكي للمعلومات البيولوجية الجزيئية (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). يقوم أغلب الباحثين على مستوى العالم بوضع المعلومات الجينية في قاعدة البيانات الخاصة بهذا الموقع وتكون متاحة لكل المختصين في البيولوجية الجزيئية.

2.1.2. الأداة BLAST

BLAST (اختصار لـ Basic Local Alignment Search Tool) هي أحد الخدمات التي توفرها كل من منصة NCBI وخادم ويب TYGS (http://tygs.dsmz.de) المتصلان بقاعدة بيانات كبيرة ومتنامية باستمرار من المعلومات الجينومية والتصنيفية (Meier-Kolthoff and Goker, 2019)، و تعتبر طريقة بحث ضمن قاعدة بيانات مستخدمة في المعلوماتية الحيوية، التي تجعل من الممكن العثور على مناطق متشابهة والمقارنة بين اثنين أو أكثر من التتابعات النيوكليوتيدية أو تتابعات الأحماض الأمينية، و إنّ إجراء محاذاة لهذه المناطق المتشابهة مما يساعد من معرفة نسب التشابه بين هاته التتابعات.

3.1.2. البرنامج Prokka (Version 1.14.6)

هو أحد أهم برامج منصة Galaxy (https://usegalaxy.eu) الذي يتميز بدقة عالية في الكشف والتعرف على الجينات داخل الجينوم البكتيري Seemann, (2014).

4.1.2. الخادم المعلوماتي RAST

هو خادم معلوماتي (https://rast.nmpdr.org) يوفر خدمة مؤتمنة بالكامل لتحديد الجينات داخل الجينوم البكتيري والتعرف عليها، و يحدد تسلسل ترميز البروتينات، rRNA و tRNA، كما أنه يصنف وظائف الجينات في الجينوم ويستخدم هذه المعلومات لتجميع هاته الجينات في مجموعات وظيفية ضمن ما يسمى بالنظم الفرعية الوظيفية (Clusters of Orthologous Groups of proteins) COG (Aziz *et al.*, 2008).

5.1.2. الخادم المعلوماتي antiSMASH

antiSMASH (https://antismash.secondarymetabolites.org) هو خادم ويب وبرنامج قائم بذاته للتنبؤ بمجموعات الجينات المتدخلة في إنتاج المركبات الأيضية الثانوية في الجينوم البكتيري (Weber *et al.*, 2015).

6.1.2. البرنامج Roary (Version 3.13.0)

هو أحد أهم برامج منصة Galaxy (https://usegalaxy.eu) (Page *et al.*, 2015)، الذي يقارن بين مختلف الجينومات لسلالات بكتيرية مختلفة ويتميز بالدقة والسرعة في تحديد:

- Pan-genome: يقصد به كل الجينات الموجودة في الجينومات التي يتم مقارنتها،
- Core-genes: هو جزء من Pan-genome الذي يقصد به الجينات المتشابهة الموجودة في كل الجينومات و يتم مقارنتها، وتعبر عن الجينات الأساسية التي يجب تواجدها عند السلالات محل المقارنة.
- Shell genes: هو جزء من Pan-genome الذي يتضمن الجينات المتواجدة عند أغلبية جينومات السلالات التي يتم مقارنتها.
- Cloud genes: جزء من Pan-genome يعني غالبا الجينات المتواجدة في جينوم واحد فقط مقارنة بالجينومات الأخرى، أي الجينات المتواجدة فقط عند أحد السلالات التي يتم مقارنتها.

7.1.2. MEGA (Version 10)

MEGA (https://www.megasoftware.net) هو برنامج لإجراء التحليل الإحصائي للتطور الجزيئي بناء على تتابعات محل مقارنة وبناء أشجار النسب والتطور. خلال دراستنا استخدمنا الإصدار 10 من MEGA (Kumar *et al.*, 2018).

2.2. طريقة العمل:

إن منهجية العمل اقتصرت في تنزيل الملف أولا الذي يتضمن تتابع الجينوم لأحد السلالات البكتيرية الجذرية المختارة CIP111899 والمعزولة من سطح جذور الذرة (Kämpfer *et al.*, 2022) من قاعدة بيانات الموقع NCBI (Genbank accession number: CAKJTI000000000) بصيغة fasta ثم أقمنا عليه العديد من المعالجات الحاسوبية باستخدام الخوادم والبرامج المعتمدة، وعلى أساس ذلك نوجز هذه المعالجات في الخطوات التالية:

- **<u>المعالجة باستخدام البرنامج Prokka</u>**: تُمكّننا هذه المعالجة من التعرف بشكل أعمق على الجينات المتضمَّنة داخل الجينوم محل الدراسة، كما تساعدنا من معرفة التتابع النيكليوتيدي لكل جين، إنّ أول هاته الجينات هو الجين المشفِّر لـ 16S ribosomal RNA، حيث تتابع هذا الجين هو المعتمد في تصنيف الأنواع البكتيرية، ولهذا نستخرج تتابع الجين rDNA 16S من مخرجات برنامج Prokka، تحديدا من الملف ذو الامتداد ffn لتحقيق الدراسة التصنيفية الجينية (Molecular identification)، إذ في البداية يتم إجراء المقارنة الجينية BLAST على قاعدة البيانات NCBI لمعرفة النوع البكتيري للسلالة المدروسة والأنواع الأقرب لها وراثيا لأنّ به تُعرض النتيجة على شكل قائمة من الأنواع البكتيرية بترتيب تنازلي حسب القرب الوراثي للتتابع المدخل للسلالة المراد تصنيفها جزيئيا، بعدها يَتم تنزيل تتابعات الجين rDNA 16S لاثني عشر نوع بكتيري الأقرب للسلالة قيد الدراسة، كما يتم أيضا تنزيل تسلسل الجين rDNA 16S لنوع بكتيري بعيد نسبيا (Out-group)، ثمّ -بعدها في إجراء لاحق- تُدخل وتُعالج هذه التتابعات باستخدام برنامج MEGA10 حيث يتم تصفيفها ومحاذاتها (Alignment) ثم إنشاء شجرة النسب (Phylogenetic tree) حسب طريقة Neighbour-joining ضمن برنامج MEGA10.

  ثمّ نقوم في مرحلة لاحقة انطلاقا من مخرجات Prokka بالبحث على الجينات الهامة والواعدة المتعلقة بتعزيز نمو النبات ومقاومة العوامل الممرضة.
- **<u>المعالجة باستخدام الخادم RAST</u>**: تمكننا هذه المعالجة البرمجية من تصنيف جينات الجينوم التي هي محل الدراسة وظيفيا في أنظمة فرعية وظيفية COG ومعرفة تواتر الجينات في كل نظام فرعي وظيفي.
- **<u>المعالجة باستخدام الخادم Anti-SMASH</u>**: إنّ مخرجات هذه المعالجة تقتصر في تحديد المجموعات الجينية Clusters داخل الجينوم المدروس

المسؤولة على نواتج الأيض الثانوي المحتملة.

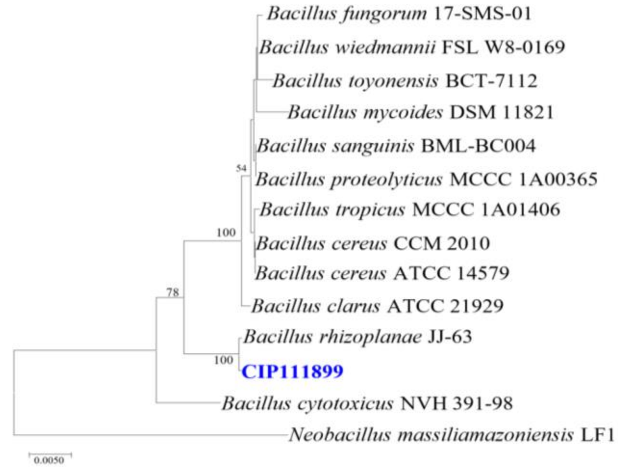
- **التحليل الجينومي المقارن**: يقتصر التحليل الجينومي المقارن في استخدام برنامج Roary للقيام بمُقارنة جينوم السلالة *Bacillus rhizoplanae* CIP111899 مع 14 جينوم للأنواع البكتيرية الأقرب لها تصنيفيا.

3. النتائج

1.3. الدراسة التصنيفية الجزيئية للسلالة CIP111899

لقد مكنت الدراسة الجينية بالتحليل الجزيئي للقطعة "rDNA 16S" ودراسة النسالة (Phylogeny) بتحقيق الـ BLAST على قاعدة البيانات NCBI ، ثم معالجة التتابعات المُختارة ببرنامج MEGA10 لإثبات أن السلالة CIP111899 تنتمي لنوع بكتيري جديد هو *Bacillus rhizoplanae* وذلك كما هو موضح في شجرة التصنيف الوراثي (شكل 1)، وتعتبر هي السلالة النموذجية لهذا النوع، التي تبين العلاقة بين السلالة CIP111899 والأنواع الأقرب وراثيا من جنس *Bacillus*. يتم عرض قيم bootstrap (≥50٪) بناءً على 1000 تحليل. تم استخدام النوع LF1 *Neobacillus massiliamazoniensis* كنوع خارج المجموعة.

شكل (1): شجرة التقارب الوراثي Neighbour-joining على أساس تحليل تتابع الجين المشفر للرنا الريبوزومي rRNA16S



2.3. الملامح العامة للجينوم CIP111899:

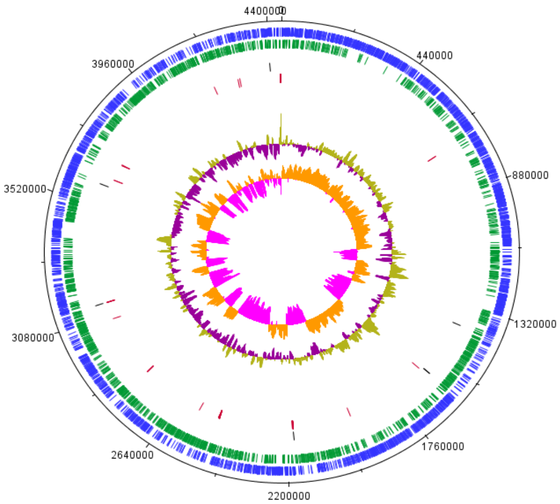
يحتوي جينوم السلالة CIP111899 على إجمالي 4.44 ميغا قاعدة أزوتية Mb بمتوسط محتوى G+C يبلغ 36.4%. يحتوي الجينوم على 4604 CDS (تسلسلات تشفير) متنبأ بها بمتوسط طول 1081 bp. إذ تم تحديد ما مجموعه 7 جينات مشفرة للأحماض النووية الريبية (rRNAs)، مع 70 جينة مسؤولة عن tRNA (جدول 1) (شكل 2).

إنّ نسبة الفجوات في تتابع الجينوم المدروس منخفضة جدا وN50 مرتفع نسبيا وهذا يدل على جودة تتابع الجينوم.

جدول (1): الملامح العامة لجينوم CIP111899

الخاصية	جينوم CIP111899
الحجم	4,442,577 زوج قاعدة أزوتية
محتوىGC	%36.4
عدد التتبعات المشفرة	4604
عدد RNAs	78
نسبة الفجوات (Gap Ratio)	%0.002476
N50	165,932

شكل (2): تمثيل دائري لجينوم CIP111899

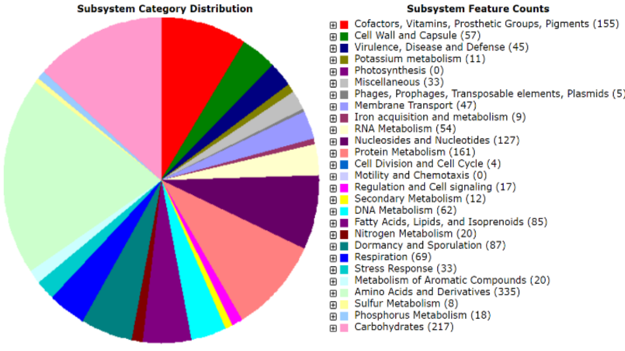


يتبين لنا من الدائرة الخارجية إلى الدائرة الداخلية، توجد دائرة 1: CDS على السلسلة الأمامية لـ DNA(أزرق)؛ و الدائرة 2: CDS على الشريط العكسي لـ DNA(أخضر)؛ و الدائرة 3: الرنا الريبوزومي (أسود)؛ أمّا الدائرة 4: الحمض الريبي النووي النقال (أحمر)؛ ثمّ الدائرة 5: محتوى GC (نيلي/بنفسجي)؛ فالدائرة 6: توزع GC (برتقالي/وردي). تم استخدام برنامج DNAPlotter لتحقيق هذه الخريطة.

3.3. الجينات المرتبطة بالفئات الوظيفية (COG)

يظهر (الشكل 3) الجينات المرتبطة بالفئات الوظيفية (COG) في جينوم CIP111899 ، فمن خلال عملية التحليل الجيني (Annotation) بواسطة خادم RAST، قد تم العثور على 27 فئة وظيفية. و نلاحظ من خلال الشكل (3) وجود تواتر جيني كبير نسبيا في الفئات الوظيفية المتعلقة بأيض الأحماض الامينية ومشتقاتها (Amino Acids and Derivatives)، العوامل المساعدة والفيتامينات والمجموعات الصناعية والأصباغ (Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments)، واتضح لنا أيضا تواتر جيني لابأس به بالنسبة للجينات المتعلقة بالإجهاد (Stress Reponse) وأيض الفوسفور (Phosphorus-metabolism)، كما تبين لنا غياب الفئة الوظيفية المسؤولة عن التمثيل الضوئي (Photosynthesis) مما يشير لعدم امتلاك هذه السلالة لهاته الخاصية.

شكل (3): تمثيل الجينات حسب الفئات الوظيفية (الأنظمة الفرعية) الناتجة عن التحديد الجيني على الخادم RAST لجينوم CIP111899



4.3. الجينات المرتبطة بتعزيز نمو النباتات وتحمل الإجهادات:

لقد سمح التحليل والتحديد الجيني باستخدام كل من برنامج Prokka، الخادم Rast ومركز موارد المعلوماتية الحيوية (BV-BRC) لجينوم CIP111899 اكتشاف العديد من الجينات المتعلقة بآليات تعزيز نمو النبات وتحمل الإجهاد. **لذا** نتطرق إلى ذكر أهمها فيما يلي:

1.4.3. الجينات المتدخلة في التثبت وغزو الجذور والاستقرار داخلها

إنّ نظام الاستشعار والتواصل Quorum sensing (QS) للبكتيرية الجذرية مع محيطها الحيوي يلعب دورا هاما في تنظيم سلوكها، من حيث تأقلمها وكفاءتها التنافسية في الارتباط وغزو جذور النبات (Xiong *et al.*, 2020)، مما مكنت كذلك الدراسة الجينومية الكشف عن وجود العديد من الجينات المشفرة لهذا النظام في جينوم CIP111899 (جدول 02).

عكس أيضا تكوين البيوفيلم Biofilm بواسطة البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات قوتها في التثبت وغزو الجذور والثبات داخلها، والذي يعتبر نشاطًا مهمًا لـ PGPR (Xu *et al.*, 2019; Seneviratne *et al.*, 2011)، إذ كشف تحليل جينوم CIP111899 تواجد الكثير من الجينات التي ترمز لخاصية البيوفيلم (الجدول 02).

جدول (2): الجينات المتدخلة في التثبت وغزو الجذور والاستقرار داخلها ومو اقعها في الجينوم CIP111899

الدور بيولوجي	الجين	الموقع على الجينوم
Quorum sensing	Homoserine/homoserine lactone efflux protein	MNCEJLBB_03536 MNCEJLBB_04318
	ComE operon protein 1	MNCEJLBB_01888
	ComE operon protein 3	MNCEJLBB_01891
	Competence protein CoiA	MNCEJLBB_02031
	Competence transcription factor	MNCEJLBB_02103
تشكيل البيوفيلم (Biofilm formation)	Alginate biosynthesis protein *AlgA*	MNCEJLBB_02009
	Lipopolysaccharide export system ATP-binding protein *LptB*	MNCEJLBB_02517
	Capsular polysaccharide biosynthesis protein *YwqC*	MNCEJLBB_01283
	Major biofilm matrix component	MNCEJLBB_04160
	Lipoteichoic acid synthase 1	MNCEJLBB_00841 MNCEJLBB_01329
	Polyisoprenyl-teichoic acid--peptidoglycan teichoic acid transferase *TagU*	MNCEJLBB_01301 MNCEJLBB_01352

2.4.3. الجينات المشاركة في تحمل الإجهاد

إنّ التحليل الجينومي للجينوم CIP111899 أسفر عن وجود عدد كبير من الجينات الهامة التي تشفر لإنزيمات، بروتينات هرمونات ومركبات وتلعب دورا هاما في تحمل الإجهادات الحيوية واللاحيوية لدى النباتات. من أهم هاته الجينات مذكورة في الجدول (3).

و في نفس السياق ينتج عن الإجهادات الحيوية واللاحيوية لدى النبات ارتفاع تركيز بعض النواتج الضارة للخلية مثل: مركبات الأكسجين التفاعلية (ROS=Reactive oxygen species) حيث تعتبر مركبات كيميائية أكسجينية مثل الجذور الحرة لأيونات الأكسجين والبيروكسيدات، والتي تسمى "تفاعلية" نظرا لنشاطها الكيميائي؛ وهذا النشاط الكيميائي الذي تختص به يكمن في وجود إلكترونات تكافؤ مفردة على تلك الجذور الحرة، إنّ هذه الجذور الحرة ضارة لخلايا النبات، و بفضل التحليل الجيني توصلنا للكشف عن عدة جينات تشفر لإنزيمات ومركبات مضادة للأكسدة (antioxidant) التي تقصي هاته الجذور الحرة (جدول 3).

3.4.3. الجينات المسؤولة عن إذابة الفوسفات غير العضوي

يعتبر حمض الجلوكونيك (GA: Gluconic acid) حمض عضوي مسؤول بشكل كبير عن إذابة الفوسفات المعدني، وبه يتم تخليق GA الحيوي عن طريق الجلوكوز -1- ديهيدروجينيز (gcd) جنبًا إلى جنب مع العامل المساعد pyrrolo-quinolone quinine (PQQ)، لذا أشار التحديد الجيني للجينوم CIP111899 على امتلاكها للعديد من الجينات المتعلقة بالتخليق الحيوي لحمض الغلوكونيك وجينات العامل المساعد (PQQ). وأيضا تم الكشف عن وجود جينات عديدة أخرى ضمن جينوم CIP111899 تشفر لإنزيمات مساعدة على إذابة وامتصاص الفوسفات اللاعضوي (جدول 4).

جدول (3): الجينات المتدخلة في تحمل ومقاومة الاجهادات ومو اقعها في الجينوم CIP111899

الدور البيولوجي	الجين	الموقع على الجينوم
تحمل الإجهادات الحيوية واللاحيوية	Glycine betaine transporter *OpuD*	MNCEJLBB_02177
	Betaine aldehyde dehydrogenase	MNCEJLBB_02557
	Glycine betaine transport system permease protein *OpuAB*	MNCEJLBB_03237
	Phosphatidylcholine synthase	MNCEJLBB_00840
	High-affinity proline transporter *PutP*	MNCEJLBB_03984
	General stress protein 39	MNCEJLBB_04058
	General stress protein 26	MNCEJLBB_01440
	General stress protein 16U	MNCEJLBB_01456
	Stress response protein SCP2	MNCEJLBB_01458
	Pyridoxal 5'-phosphate synthase subunit *PdxS*	MNCEJLBB_04255
	Pyridoxal 5'-phosphate synthase subunit *PdxT*	MNCEJLBB_04256
النشاط المضاد للأكسدة وتقليل الجذور الحرة	Manganese catalase	MNCEJLBB_02371
	Putative peroxiredoxin *bcp*	MNCEJLBB_01381
	Pyridoxine kinase	MNCEJLBB_02763
	Superoxide dismutase-like protein *YojM*	MNCEJLBB_01782
	Superoxide dismutase [Mn]	MNCEJLBB_01942
	Polyphenol oxidase	MNCEJLBB_00263

جدول (4): الجينات المتدخلة في اذابة وامتصاص الفوسفات اللاعضوي ومو اقعها في الجينوم CIP111899

الدور بيولوجي	الجين	الموقع على الجينوم
اذابة وامتصاص الفوسفات اللاعضوي	Manganese-dependent inorganic pyrophosphatase	MNCEJLBB_04091
	Pyrophosphatase *PpaX*	MNCEJLBB_03847
	Exopolyphosphatase	MNCEJLBB_00169
	Phosphoserine phosphatase	MNCEJLBB_00230
	Protein phosphatase *PrpC*	MNCEJLBB_00303
	Alkaline phosphatase synthesis sensor protein *PhoR*	MNCEJLBB_00619
	Acid phosphatase	MNCEJLBB_01726
	Alkaline phosphatase	MNCEJLBB_01871
	Pyrophosphatase *PpaX*	MNCEJLBB_02217
	Phosphoglycolate phosphatase	MNCEJLBB_02547
	Phosphatase *YwpJ*	MNCEJLBB_03929
	Manganese-dependent inorganic pyrophosphatase	MNCEJLBB_04091

4.4.3. الجينات المشاركة في إنتاج الهرمونات النباتية

من خلال التحليل الجيني تم الكشف عن عدد من الجينات في جينوم CIP111899 التي قد تساهم في إنتاج الهرمون النباتي الهام جدا الأوكسين IAA (Indole-3-acetic acid)، من بين هاته الجينات:

- Indole-3-glycerol phosphate synthase (الموقع على الجينوم: MNCEJLBB_03988)
- Tryptophan synthase beta chain (الموقع على الجينوم: MNCEJLBB_03990)
- Tryptophan synthase alpha chain (الموقع على الجينوم: MNCEJLBB_03991)
- Tryptophan 2,3-dioxygenase (الموقع على الجينوم: MNCEJLBB_03945)

كما تضمن جينوم CIP111899 جينات مساهمة في إنتاج أو تنشيط هرمونات أخرى على غرار الجين المشفر لإنزيم Salicylate biosynthesis isochorismate synthase، فهذا الإنزيم يساهم في إنتاج هرمون حمض الساليسيليك (Salicylic acid)، ومن المعلوم أنّ موقع الجين في الجينوم هو MNCEJLBB_03721، و حمض الساليسيليك يعتبر هرمون نباتي له أدوار هامة في نمو النبات وتطوره، التمثيل الضوئي، النتح، وامتصاص الأيونات ونقلها. كما يشارك حمض الساليسيليك في إرسال الإشارات الذاتية، و يلعب دورا محوريا في دفاع النبات ضد مسببات الأمراض (Wildermuth *et al.*, 2001).

5.4.3. الجينات المتدخلة في اقتناء الحديد

نلاحظ على غرار الفسفور، أنه يتوفر الحديد بكثرة في التربة أساسًا في شكل غير متوافر للامتصاص المباشر من قبل النبات. فالحديد هو العنصر الغذائي المهم للنبات كما يؤدي دور عامل مساعد ومستقبل للإلكترون في العديد من البروتينات وخصوصا الإنزيمات. لهذا التحليل الجيني لجينوم CIP111899 يكشف عن وجود عدد لا بأس به من الجينات التي لها علاقة بالتقاط الحديد (الجدول 5).

جدول (5): الجينات المتدخلة في التقاط الحديد ومو اقعها في الجينوم CIP111899

الدور بيولوجي	الجين	الموقع على الجينوم
التقاط الحديد	Sirohydrochlorin ferrochelatase	MNCEJLBB_00704 MNCEJLBB_00851
	Ferrochelatase	MNCEJLBB_02124
	Intracellular iron chaperone frataxin	MNCEJLBB_03102
	Ferrous iron permease EfeU	MNCEJLBB_00682
	Bacterial non-heme ferritin	MNCEJLBB_01656
	Ferric uptake regulation protein	MNCEJLBB_00065
	Ferredoxin	MNCEJLBB_00904
	Sulfite reductase [ferredoxin]	MNCEJLBB_00848
	Ferredoxin--NADP reductase	MNCEJLBB_01751

إنّ العدد الكبير من هاته الجينات يؤهل هذه السلالة لتكون عاملا ممتازا لتوفير الحديد للنبات المضيف مما ينعكس بشكل واضح على تحفيز نمو النبات.

6.4.3. الجينات المتدخلة في المكافحة البيولوجية

تنتج البكتيريا الجذرية التي تعزز نمو النبات مركبات كيميائية ذات فوائد مختلفة للنبات من بينها مركبات ذات فاعلية ضد مسببات الأمراض النباتية، وأيضا قد تم التعرف على مستوى جينوم CIP111899 على عدة جينات تشفر لمركبات هامة في المكافحة الحيوية. مثل الجين المشفر للإنزيم

Bacillolysin الذي له نشاط مضاد للبكتيريا والفطريات المرضة للنبات، و يعتبر موقع الجين في جينوم CIP111899 هو MNCEJLBB_03902.

5.3. المجموعات الجينية المسؤولة عن الأيض الثانوي في جينوم CIP111899:

إنّ تحليل الأداة البرمجية antiSMASH لجينوم السلالة CIP111899 كشف عن وجود عدة مجموعات جينية (Clusters) الموضحة في الشكل (4) التي قد تكون مسؤولة عن إنتاج مركبات أيضية ثانوية مهمة.

شكل (4): الكشف عن جميع المجموعات الجينية التي ترمز للمستقلبات الثانوية داخل جينوم CIP111899 بواسطة الأداة antiSMASH

Identified secondary metabolite regions using strictness 'relaxed'

Region	Type	From	To
Region 3.1	siderophore	278,553	293,644
Region 11.1	terpene	21,430	43,289
Region 12.1	betalactone , T3PKS	15,171	63,549
Region 13.1	lassopeptide	4,122	28,034
Region 18.1	ranthipeptide	35,767	57,173
Region 28.1	LAP , RiPP-like	48	23,585
Region 39.1	lanthipeptide-class-i	1	19,822

من خلال الشكل (4) تم الكشف بواسطة الأداة antiSMASH عن التنبأ بوجود مجموعات جينية على مستوى جينوم CIP111899 المساهمة في إنتاج مركبات أيضية ثانوية، أهمها siderophore، و هي مجموعة متنوعة من المنتجات العضوية الطبيعية الصغيرة التي تنتجها الميكروبات، والفطريات وبعض النباتات التي تمتاز بفاعليتها في تثبيت الحديد (Hider and Kong, 2010)، إنّ وجود هذه الخاصية في أحد السلالات البكتيرية الجذرية قد يكون عاملا إيجابيا مهما في اقتناص الحديد من التربة وتوفيره للنبات كما يلعب دورا تنافسيا ضد العوامل المرضة (Kloepper *et al.,* 1980). بالإضافة الى مجموعات جينية لنواتج أيضية ثانوية أخرى هي:

- Terpene
- (T3PKS) Type III Polyketide synthase
- Betalactone
- Lassopeptide
- Ranthipeptide
- (LAP) Linear azol(in)e-containing peptides
- (RiPP) Other unspecified ribosomally synthesised and post-peptideproduct translationally modified
- Lanthipeptide-class-i

التي قد تساهم في نشاط مضاد للكثير من الميكروبات المرضة للنبات.

6.3. التحليل الجينومي المقارن:

إنّ السلالات الخمسة عشر *Bacillus albus* N35-10-2، *Bacillus anthracis* ATCC 14578، *Bacillus arachidis* SY8، *Bacillus bingmayongensis* FJAT-13831T، *Bacillus gaemokensis* KCTC 13318، *Bacillus luti* MCCC 1A00359، *Bacillus manliponensis* JCM 15802، *Bacillus mycoides* DSM 2048، *Bacillus paranthracis* MCCC 1A00395، *Bacillus pseudomycoides* DSM 12442، *Bacillus thuringiensis* ATCC 10792، *Bacillus toyonensis* NCIMB 14858، *Bacillus tropicus* N24، *Bacillus wiedmannii* FSL W8-0169 بما في ذلك CIP111899 *B. rhizoplanae*، بعد مقارنتها جينوميا بواسطة برنامج Roary تبين أن Pan-genome (الجينوم الشامل) يحتوي على ما مجموعه 47266 جينًا، كما أن 165 هو عدد جينات Core-genome (الجينوم الأساسي) بنسبة 0.35% فقط من Pan-genome، وتمثل Shell genes 5099 جين (10.8%) من مجموع Pan-genome، أما ال Cloud genes فيبلغ عدد الجينات 42002 (88.86%)، وقد أظهرت نتائج المقارنة الجينومية تفرد السلالة CIP111899 عن باقي السلالات التي خضعت للمقارنة بمجموعة من الجينات الهامة مثل الجين Alkyl_hydroperoxide_reductase ahpD وموقعه في الجينوم (MNCEJLBB_03132) ، والذي يلعب دورا هاما في مقاومة الاجهادات البيئية.

4. مناقشة النتائج

يعتبر الأمن الغذائي عالي الجودة وبأسعار معقولة لعدد متزايد من السكان وهذا هو الهدف الزراعي الرئيس لأي بلد. حيث يتم استخدام تقنيات عديدة في زراعة المحاصيل المختلفة، بما في ذلك استخدام الكيماويات والأسمدة الزراعية على نطاق واسع كإستراتيجية للحد من الخسائر التي تسببها مسببات الإجهاد والأمراض النباتية.

ففي العقود القليلة الماضية أثبت الباحثون أن البكتيريا المعززة لنمو النبات Plant-growth promoting rhizobacteria (PGPRs) لها تأثيرات مفيدة على نمو النباتات وكذا صدّ العديد من مسببات الأمراض النباتية وبالتالي زيادة المحاصيل الزراعية (Egamberdieva *et al.,* 2011). لذا تم الكشف عن العديد من الآليات لشرح كيف تُحفز PGPRs نمو النبات والتي تشمل:

- إنتاج مضادات الأكسدة وتعديل الإجهادات الحيوية واللاحيوية.
- القدرة على إنتاج الهرمونات النباتية مثل: الأوكسين IAA.
- تثبيت النيتروجين الجوي.
- إذابة الفوسفات اللاعضوي والمغذيات الأخرى.
- التضاد والعداء ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض النباتية عن طريق إنتاج المضادات الحيوية، الإنزيمات الحالة للمكونات الفطرية مثل الكيتيناز ولواقط الحديد (Siderophores).

إنّ النباتات طبيعيا قادرة إلى حد ما على حماية نفسها من العوامل المسببة للإجهادات والأمراض، وذلك من خلال النظام الدفاعي الذي يسمى النظام المضاد للأكسدة المحدد لإنتاج الجذور الحرة تحت ظروف الإجهاد، إذ يتم إنتاج مجموعة واسعة من الإنزيمات والمركبات المضادة للأكسدة، مثل: سوبر أوكسيد ديسمتاز (SOD: Superoxide dismutase)، البيروكسيداز (POXs)، كاتلاز (CAT)، البوليفينول أوكسيديز (PPOs)، المتدخلة في الحماية الخلوية (Thakker *et al.,* 2013). و يتم أيضا إنتاج الأكسيد الفائق Superoxide O_2^- كمنتج ثانوي لعملية التمثيل الغذائي للأكسجين، واذا لم يتم تنظيمه فإنّه يتسبب في العديد من أنواع تلف الخلايا، كما أن بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ضار أيضًا ويتحلل بفعل إنزيمات أخرى مثل الكاتلاز (CAT). وبالتالي فإن SOD وCAT نظام دفاع مهم مضاد للأكسدة المفرطة في جميع الخلايا الحية. لذا كشَف التحليل الجيني أن السلالة CIP111899 تمتلك الكثير من جينات هذا النظام الهام، مما يشير إلى أهمية هاته السلالة في حماية الخلايا النباتية من الموت تحت وقع الإجهادات، فهذه النتيجة تتوافق مع دراسات سابقة التي تشير لإنتاج أنواع من جنس *Bacillus* لهذه الانزيمات (Chandran *et al.,* 2021).

يُعد إنتاج الهرمونات النباتية من البكتيريا الجذرية آلية أخرى يُمكن من خلالها تعزيز نمو النبات (Khamna *et al.,* 2009). حمض الإندول-3-أسيتيك (IAA) الذي يعتبر أوكسين طبيعي شائع وهو ناتج استقلاب L-tryptophan في الكائنات الحية الدقيقة (Ruanpanun *et al.,* 2010).

إنّ العديد من أنواع البكتيريا الجذرية لديها القدرة على إنتاج IAA وبالتالي تحسين نمو النبات عن طريق زيادة إنبات البذور واستطالة الجذور (Khamna *et al.* 2009). ففي النتائج التي توصلنا إليها، تم العثور على أن السلالة CIP111899 تمتلك عدة جينات مشفرة لإنزيمات قد تتدخل في إنتاج IAA انطلاقا من التريبتوفان.

إنّ الفوسفور هو ثاني أهم المغذيات المعدنية بعد النيتروجين المحددة لنمو النباتات الترابية، التي قد تحتوي التربة على احتياطيات كبيرة من إجمالي الفوسفور، لكن الكمية المتاحة للنباتات عادة ما تكون منخفضة من هذا الإجمالي (Sharma *et al.,* 2013)، فإذابة العناصر الغذائية كالفوسفات اللاعضوي بواسطة البكتيريا الجذرية هي واحدة من أكثر الطرق شيوعًا لتعزيز وتيسير امتصاص العناصر الغذائية من قبل النبات.

إنّ نتائج التحليل الجيني أظهرت أن السلالة CIP111899 تمتلك الكثير من الجينات المشفرة لإنزيمات ونواتج تسهم في إذابة الفوسفات اللاعضوي وتوفيره للنبات، هذه النتائج منسجمة مع العديد من الدراسات التي تشير إلى أهمية الكثير من أنواع الجنس *Bacillus* في إذابة الفوسفات اللاعضوي في التربة (Tiwari *et al.,* 2019).

أمّا إنتاج لواقط الحديد Siderophores هو سمة من سمات المكافحة الحيوية لدى أنواع PGPRs. إن إنتاج لواقط الحديد يلعب دورًا مهمًا في أنشطة مقاومة عوامل الإمراض النباتية. التي تساعد البكتيريا الجذرية المنتجة للواقط الحديد Siderophore النبات على الحصول على الحديد من التربة (Sadeghi *et al.*, 2012). فمن خلال نتائج التحليل الجيني تم الكشف عن وجود الجينات المشفرة للSiderophore في السلالة CIP111899.

لقد تمّ الكشف ضمن الجينوم CIP111899 عن وجود الجين المشفر للإنزيم المضاد للفطريات Bacillolysin يتوافق مع الكثير من الدراسات السابقة التي أشارت الى تواجد هاته الخاصية عند عدة أنواع من جنس *Bacillus* (Balderas-Ruiz *et al.*, 2020).

وتم العثور أيضا بواسطة الأداة antiSMASH في جينوم CIP111899 على مجموعات الجينات المحتملة المركبة لنواتج الأيض الثانوية Terpene، T3PKS، Betalactone، Lassopeptide، Ranthipeptide، LAP,RiPP-like وLanthipeptide-class-i التي تشير بعض الدراسات إلى تأثيرها المضاد على الكثير من الميكروبات الممرضة للنبات (Wu *et al.*, 2021; Teixeira *et al.*, 2021).

5. الاستنتاج

يتّضح من خلال مجمل النتائج المحصل عليها، أهمية السلالة البكتيرية CIP111899 كمخزون ثري من الجينات التي تُشفّر لصفات مفيدة للنبات، كتنشيط النمو، و توفير المغذيات، ومقاومة الإجهادات اللاحيوية والمكافحة ضد الكائنات الممرضة. لذا فإنّ إمكانية استعمال هذه السلالة كلقاح حيوي له آفاق مشجعة في الميدان الفلاحي وتطبيقها على نطاق واسع لزيادة مردودية المحاصيل الزراعية الأساسية والحد من التكاليف الباهظة ماديا وبيئيا للمعالجات الكيميائية بالمبيدات خاصة في المناطق الجافة والشبه الجافة لتوفير أمثل لمصادر العيش والاستقرار الغذائي.

نبذة عن المؤلفين

ضيف القندوز

قسم العلوم الطبيعية، المدرسة العليا للأساتذة، الأغواط، الجزائر، 00213675443604، kdgb2007@yahoo.fr

ضيف، جزائري، دكتوراه علم الأحياء الدقيقة التطبيقي (المدرسة العليا للأساتذة)، أستاذ محاضر بالمدرسة العليا للأساتذة بالأغواط، وباحث بمخبر بيولوجيا الأنظمة الميكروبية (LBSM) بالمدرسة العليا للأساتذة بالقبة، نشر ورقتين علميتين في مجلات مؤرشفة في Scopus، أبحاثه مقتبسة في مقالات عدة معتمدة في قاعدة بيانات Scopus، نظّم وشارك في العديد من الملتقيات الوطنية والدولية في مجال علم الأحياء الدقيقة التطبيقي خصوصا في مجال البكتيريا النافعة المعزّزة لنمو النبات ومجال الدراسات الجينومية لتفسير الخصائص الإيجابية لهاته البكتيريا، أشرف على العديد من رسائل الماستر في علم الأحياء الدقيقة التطبيقي.

رقم الأوركيد: 0000-0002-7194-1460

زيتوني عبد الغني

مخبر بيولوجيا الأنظمة الميكروبية، المدرسة العليا للأساتذة، القبة، الجزائر، 00213693297229، zitouni_abdelghani@yahoo.fr

زيتوني، جزائري، حاصل على درجة الدكتوراه في علم الأحياء الدقيق التطبيقي Microbiology Applied (جامعة تولوز-فرنسا)، أستاذ دكتور بالمدرسة العليا للأساتذة القبة بالجزائر العاصمة، رئيس فرقة بحث بمخبر بيولوجيا الأنظمة الميكروبية (LBSM) بالمدرسة العليا للأساتذة بالقبة، نشر عددا كبيرا من الورقات العلمية في Scopus، أبحاثه مقتبسة في العديد من المقالات المعتمدة في Scopus، ترأس ونظّم وشارك في العديد من الملتقيات الوطنية والدولية في مجال علم الأحياء الدقيقة التطبيقي، أشرف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه في علم الأحياء الدقيقة التطبيقي.

رقم الأوركيد: 0000-0002-7230-6856

المراجع

Alexandratos, N. and Bruinsma, J. (2012). *World Agriculture towards 2030/2050: The 2012 Revision*. Available at: https://ageconsearch.umn.edu/record/288998/files/a-ap106e.pdf?ln=en&withWatermark=1 (accessed on 10/10/2022).

Aziz, R.K., Bartels, D., Best, A.A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R.A., Formsma, K., Gerdes, S., Glass, E.M., Kubal, M., Meyer, F., Olsen, G.J., Olson, R., Osterman, A.L., Overbeek, R.A., McNeil, L.K., Paarmann, D., Paczian, T., Parrello, B., Pusch, G.D., Reich, C., Stevens, R., Vassieva, O., Vonstein, V., Wilke, A. and Zagnitko, O. (2008). The rast server: Rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*, **9**(1), 1–15. DOI:10.1186/1471-2164-9-75

Balderas-Ruiz, K.A., Bustos, P., Santamaria, R.I., Gonzalez, V., Cristiano-Fajardo, S.A., Barrera-Ortiz, S., Mezo-Villalobos, M., Aranda-Ocampo, S., Guevara-Garcia, A.A., Galindo, E. and Serrano-Carreon, L. (2020). *Bacillus velezensis* 83 a bacterial strain from mango phyllosphere, useful for biological control and plant growth promotion. *Amb Express*, **10**(1), 1–19. DOI:10.1186/s13568-020-01101-8

Chandran, H., Meena, M. and Swapnil, P. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, **13**(19), 10986. DOI:10.3390/su131910986

Dif, G., Belaouni, H.A., Goudjal, Y., Yekkour, A., Djemouai, N. and Zitouni, A. (2021). Potential for plant growth promotion of *Kocuria arsenatis* strain st19 on tomato under salt stress conditions. *South African Journal of Botany*, **138**(n/a), 94–104. DOI:10.1016/j.sajb.2020.12.014

Drouin, A., Letarte, G., Raymond, F., Marchand, M., Corbeil, J. and Laviolette, F. (2019). Interpretable genotype-to-phenotype classifiers with performance guarantees. *Scientific Reports*, **9**(1), 1–13. DOI:10.1038/s41598-019-40561-2

Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., Chebotar, V., Tikhonovich, I., Kamilova, F., Validov, S.Z. and Lugtenberg, B. (2011). Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and Fertility of Soils*, **47**(2), 197–205. DOI:10.1007/s00374-010-0523-3

Fitriatin, B.N. and Nurmala, D. (2019). In vitro test for compatibility of biofertilizers containing phosphate solubilizers and nitrogen-fixing bacteria. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Bandung, West Java, Indonesia, 05–07/08/2019. DOI:10.1088/1755-1315/393/1/012049

Gouel, C. and Guimbard, H. (2017). La demande alimentaire mondiale en 2050 'World food demand in 2050'. *La Lettre Du CEPII*, **n/a**(377), 1–4.

Gupta, A., Meyer, J.M. and Goel, R. (2002). Development of heavy metal-resistant mutants of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. NBRI 4014 and their characterization. *Current Microbiology*, **45**(5), 323–7. DOI:10.1007/s00284-002-3762-1

Hider, R.C. and Kong, X. (2010). Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports*, **27**(5), 637–57. DOI:10.1039/B906679A

Hill, K., Porco, S., Lobet, G., Zappala, S., Mooney, S., Draye, X. and Bennett, M. J. (2013). Root systems biology: integrative modeling across scales, from gene regulatory networks to the rhizosphere. *Plant Physiology*, **163**(4), 1487–503. DOI:10.1104/pp.113.227215

Kämpfer, P., Lipski, A., McInroy, J.A., Clermont, D., Criscuolo, A. and Glaeser, S.P. (2022). *Bacillus rhizoplanae* sp. nov. from maize roots. *International Journal of Systematic* and *Evolutionary Microbiology*, **72**(7), 005450. DOI:10.1099/ijsem.0.005450

Khamna, S., Yokota, A. and Lumyong, S. (2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **25**(4), 649–55. DOI:10.1007/s11274-008-9933-x

Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M.N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, **286**(5776), 885–6. DOI:10.1038/286885a0

Kumar, A., Pathak, R.K., Gupta, S.M., Gaur, V.S. and Pandey, D. (2015). Systems biology for smart crops and agricultural innovation: Filling the gaps between genotype and phenotype for complex traits linked with robust agricultural productivity and sustainability. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, **19**(10), 581–601. DOI:10.1089/omi.2015.0106

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, **35**(6), 1547–9. DOI:10.1093/molbev/msy096

Meier-Kolthoff, J.P. and Goker, M. (2019). TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy.

role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*, **12**(3), 1231. DOI:10.3390/ijerph14121504

Weber, T., Blin, K., Duddela, S., Krug, D., Kim, H.U., Bruccoleri, R., Lee, S.Y., Fischbach, M.A., Müller, R., Wohlleben, W., Breitling, R., Takano, E. and Medema, M.H. (2015). ANTISMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Research*, **43**(1), 237–43. DOI:10.1093/nar/gkv437

Wildermuth, M.C., Dewdney, J., Wu, G. and Ausubel, F.M. (2001). Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*, **414**(6863), 562–5. DOI:10.1038/35107108

Wu, X., Wu, H., Wang, R., Wang, Z., Zhang, Y., Gu, Q., Farzand, A., Yang, X., Semenov, M., Borriss, R., Xie, Y. and Gao, X. (2021). Genomic features and molecular function of a novel stress-tolerant *Bacillus halotolerans* strain isolated from an extreme environment. *Biology*, **10**(10), 1030. DOI:10.3390/biology10101030

Xiong, Q., Liu, D., Zhang, H., Dong, X., Zhang, G., Liu, Y. and Zhang, R. (2020). Quorum sensing signal autoinducer-2 promotes root colonization of *Bacillus velezensis* SQR9 by affecting biofilm formation and motility. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**(n/a), 7177–85. DOI:10.1007/s00253-020-10713-w

Xu, Z., Zhang, H., Sun, X., Liu, Y., Yan, W., Xun, W., Shen, Q. and Zhang, R. (2019). *Bacillus velezensis* wall teichoic acids are required for biofilm formation and root colonization. *Applied and Environmental Microbiology*, **85**(5), 2116–18. DOI:10.1128/AEM.02116-18

Nature Communications, **10**(1), 2182.

Ojuederie, O.B. and Babalola, O.O. (2017). Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **14**(12), 1504. DOI:10.3390/ijerph14121504

Page, A.J., Cummins, C.A., Hunt, M., Wong, V.K., Reuter, S., Holden, M.T.G., Fookes, M., Falush, D., Keane, J.A. and Parkhill, J. (2015). Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*, **31**(22), 3691–3. DOI:10.1093/bioinformatics/btv421

Pereira-Gomez, M., Rios, C., Zabaleta, M., Lagurara, P., Galvalisi, U., Iccardi, P., Azziz, G., Battistoni, F., Platero, R. and Fabiano, E. (2020). Native legumes of the farrapos protected area in Uruguay establish selective associations with rhizobia in their natural habitat. *Soil Biology and Biochemistry*, **148**(n/a), 107854. DOI:10.1016/j.soilbio.2020.107854

Prasad, R., Kumar, M. and Varma, A. (2015). Role of PGPR in soil fertility and plant health. *Plant-growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*, **n/a**(n/a). 247–60. DOI:10.1007/978-3-319-13401-7_12

Ruanpanun, P., Tangchitsomkid, N., Hyde, K.D. and Lumyong, S. (2010). Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: Screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **26**(n/a). 1569–78. DOI:10.1007/s11274-010-0332-8

Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P.A., Javid, M.G., Dalvand, Y. and Askari, H. (2012). Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **28**(4), 1503–9. DOI:10.1007/s11274-011-0952-7

Seemann, T. (2014). Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, **30**(14), 2068-2069. DOI:10.1093/bioinformatics/btu153

Seneviratne, G., Weerasekara, M.L.M.A.W., Seneviratne, K.A.C.N., Zavahir, J.S., Kecskés, M.L. and Kennedy, I.R. (2011). Importance of biofilm formation in plant growth promoting rhizobacterial action. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*, **n/a**(n/a). 81–95. DOI:10.1007/978-3-642-13612-2_4

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. *SpringerPlus*, **2**(n/a), 1–14. DOI:10.1186/2193-1801-2-587

Tank, N. and Saraf, M. (2010). Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*. **5**(1), 51–8. DOI:10.1080/17429140903125848

Teixeira, G. M., Mosela, M., Nicoletto, M. L. A., Ribeiro, R. A., Hungria, M., Youssef, K., Higashi, A.Y., Mian, S., Ferreira, A.S., Goncalves, L.S.A., Pereira, U.P. and de Oliveira, A.G. (2021). Genomic insights into the antifungal activity and plant growth-promoting ability in *Bacillus velezensis* CMRP 4490. *Frontiers in Microbiology*, **11**(n/a), 618415. DOI:10.3389/fmicb.2020.618415

Thakker, J.N., Patel, S. and Dhandhukia, P.C. (2013). Induction of defense-related enzymes in banana plants: Effect of live and dead pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *International Scholarly Research Notices*, **2013**(n/a), 1–6. DOI:10.5402/2013/601303

Thakur, N. (2018). In silico modulation techniques for upgrading sustainability and competitiveness in agri-food sector. In: D.K. Choudhary, M. Kumar, R. Prasad and V. Kumar (Eds.). *In Silico Approach for Sustainable Agriculture*. Singapore: Springer. DOI:10.1007/978-981-13-0347-0

Tiwari, S., Prasad, V. and Lata, C. (2019). *Bacillus*: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, Elsevier*, **2019**(n/a), 43–55. DOI:10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1

Toumatia, O., Compant, S., Yekkour, A., Goudjal, Y., Sabaou, N., Mathieu, F., Sessitsch, A. and Zitouni, A. (2016). Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. *South African Journal of Botany*, **105**(n/a), 234–9. DOI:10.1016/j.sajb.2016.03.020

Vincent, A.T., Derome, N., Boyle, B., Culley, A.I. and Charette, S.J. (2017). Next-generation sequencing (NGS) in the microbiological world: How to make the most of your money. *Journal of Microbiological Methods*, **138**(n/a), 60–71. DOI:10.1016/j.mimet.2016.02.016

Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G. and Franchi, E. (2022). The