دو فصلنامه

نشریه علمی

زیست شناسی خاک

شاپا: ۲۵۳۶-۲۳۴۵

جلد ۱۱ شماره۲سال ۱۴۰۲

عنوان | فهرست | صفحه

ارزیابی نقش ویژگی‌های زیستی در کیفیت خاک زیر حوضه هنام استان لرستان..... ۱۳۷
اشرف اسمعیلی زاد، رسول شکری، ناصر دوات‌گر و حسین کاری دولت‌آباد

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای و کنترل عوامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی..... ۱۵۴
احمد اصغرزاده ، کبری ثقفی، الهام فتاحی فر، منوچهر جناقی و ندا علیزاده

بررسی کارایی حل‌کنندگی فسفر معدنی و آلی نامحلول توسط سیانوباکتری‌های جداسازی شده از استخرهای پرورش ماهی..... ۱۶۵
علیرضا فلاح نصرت‌آباد، مصطفی علی‌شیری جونقانی و رویا بزاززاده

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و گوگرد بر رشد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف دانه گندم در خاک‌های شور-سدیمی..... ۱۸۲
مریم جوادزاده، کاظم خاوازی، نوید قنواتی، علیرضا جعفرنژادی و وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

تهدید سالمونلا در خاک و ضرورت ردیابی مستمر آن با رویکردهای نوین تشخیصی..... ۲۱۱
مطهره عابدین‌زاده، نعیمه عنایتی ضمیر، احسان شکری و شهلا کیان امیری

اثرات آلودگی نفتی طولانی مدت بر تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک..... ۲۳۰
شکوفه مرادی، محمدرضا ساریخانی، علی بهشتی آل آقا، عادل ریحانی‌تبار، سیدسیامک علوی‌کیا و روحا... شریفی

انجمن علوم خاک ایران **مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

نشریه علمی
زیست‌شناسی خاک

جلد ۱۱ شماره (۲)
۱۴۰۲

صاحب امتیاز: مؤسسه تحقیقات خاک و آب

تأییدیه درجه علمی

به استناد نامه شماره ۳/۱۸/۷۷۶۱۰ مورخ ۱۳۹۴/۴/۲۳ اعتبار علمی نشریه زیست شناسی خاک تمدید شده است

مدیر مسؤول: **دکتر کامبیز بازرگان** **رئیس انجمن علوم خاک ایران و دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

سردبیر: **دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد** **استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

دکتر هادی اسدی‌رحمانی	**استاد و رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر حسین بشارتی	**استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر عبدالحسین ضیائیان	**دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس**
دکتر حسینعلی علیخانی	**استاد دانشگاه تهران**
دکتر ناصرعلی اصغرزاد	**استاد دانشگاه تبریز**
دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد	**استاد مؤسسه تحقیقات خاک وآب**
دکتر احمد گلچین	**استاد دانشگاه زنجان**
دکتر امیر لکزیان	**استاد دانشگاه فردوسی مشهد**
دکتر حبیب اله نادیان قمشه	**استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز**
دکتر فرشید نوربخش	**استاد دانشگاه صنعتی اصفهان**

ویراستار انگلیسی: **دکتر امیر لکزیان**

تایپ و صفحه آرایی: **مهندس کیانا خامه چی**

تعداد انتشار در سال: **دو شماره**

پایگاه الکترونیکی نشریه علمی زیست‌شناسی خاک: **www.sbj.areeo.ir**

پایگاه الکترونیکی انجمن علوم خاک ایران: **www.soiliran.org**

پایگاه الکترونیکی موسسه تحقیقات خاک و آب: **www.swri.ir**

آدرس الکترونیکی دفتر مجله: **jsb.soilbiology@yahoo.com**

این نشریه در پایگاه‌های علمی زیر نمایه می‌شود:

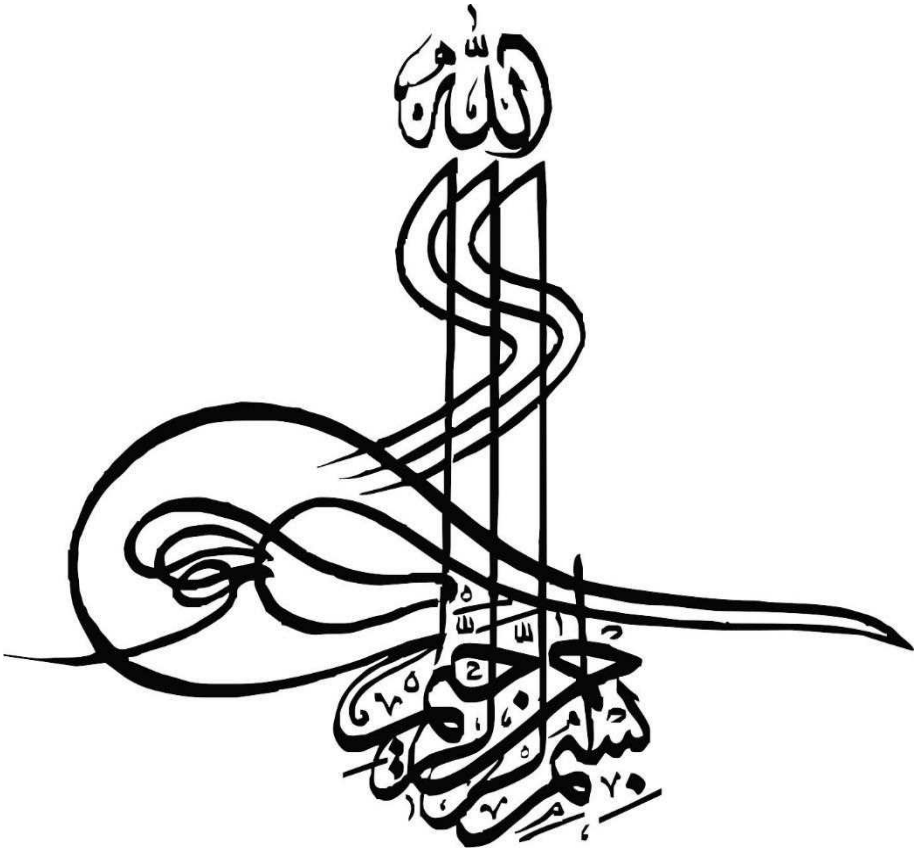
پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (**ISC**): **www.isc.gov.ir**

پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی: **www.sid.ir**

پایگاه سیویلیکا: **www.civilica**

آدرس: کرج - میدان استاندارد، جاده مشکین دشت، بعداز رزکان نو، بلوار امام خمینی – موسسه تحقیقات خاک و آب، کد پستی: ۳۱۷۷۹۹۳۵۴۵

تلفن و نمابر: ۳۶۲۰۸۷۹۶ (۰۲۶) *آدرس پایگاه الکترونیکی مجله: **www.journals.areo.ir***


بسم الله الرحمن الرحيم

عنوان | فهرست | صفحه

ارزیابی نقش ویژگی‌های زیستی در کیفیت خاک زیر حوضه هنام استان لرستان.....۱۳۷
اشرف اسمعیلی زاد، رسول شکری، ناصر دوات‌گر و حسین کاری دولت‌آباد

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای و کنترل عوامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی.....۱۵۴
احمد اصغرزاده ، کبری ثقفی، الهام فتاحی فر، منوچهر جناقی و ندا علیزاده

بررسی کارایی حل‌کنندگی فسفر معدنی و آلی نامحلول توسط سیانوباکتری‌های جداسازی شده از استخرهای پرورش ماهی.....۱۶۵
علیرضا فلاح نصرت‌آباد، مصطفی علی‌شیری جونقانی و رویا بزاززاده

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و گوگرد بر رشد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف دانه گندم در خاک‌های شور-سدیمی.....۱۸۲
مریم جوادزاده، کاظم خاوازی، نوید قنواتی، علیرضا جعفرنژادی و وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

تهدید سالمونلا در خاک و ضرورت ردیابی مستمر آن با رویکردهای نوین تشخیصی.....۲۱۱
مطهره عابدین‌زاده، نعیمه عنایتی ضمیر، احسان شکری و شهلا کیان امیری

اثرات آلودگی نفتی طولانی مدت بر تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک.....۲۳۰
شکوفه مرادی، محمدرضا ساریخانی، علی بهشتی آل آقا، عادل ریحانی‌تبار، سیدسیامک علوی‌کیا و روحا... شریفی

راهنمای تهیه مقاله نشریه علمی زیست شناسی خاک

مجله زیست شناسی خاک اولین نشریهً تخصصی رشته علوم خاک در ایران می‌باشد که مقالات پژوهشی مرتبط با تحقیقات صورت گرفته در کلیه جنبه‌های زیست شناسی خاک را چاپ می‌نماید. هدف از انتشار این مجله ارتقاء دانش اساتید، محققان و دانشجویان علاقمند این گرایش و شناخت هر چه عمیق‌تر اززیست شناسی خاک برای حفظ و بهره‌برداری پایدار از خاک می‌باشد. از اهم زمینه‌های فعالیت این نشریه می‌توان به نقش موجودات زنده خاک در چرخه عناصر غذایی و فرآیندهای زیستی مرتبط با بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و ارتقاء سطح حاصلخیزی خاک، تغذیه گیاه و افزایش عملکرد، مدل‌سازی مکانیسم‌ها و فرآیندهای زیستی مربوط به پویاسازی، معدنی شدن و آلی شدن عناصر غذایی، جایگاه موجودات زنده خاکزی در ذخیره سازی و تغییر و تبدیلات مواد آلی خاک، تنوع زیستی و عملکردی بخش زنده خاک،آنزیم های خاک، روابط موجودات زنده خاک با یکدیگر و همچنین ریشه گیاهان و تبادلات مولکولی بین آنها، تشخیص، بیان و تبادل ژن در خاک، اثرات متقابل انواع آلودگی‌ها و بخش زنده خاک منجمله زیست پالایی خاک‌های آلوده، فرآیندهای زیستی خاک و نقش آنها در تولید و مصرف گازهای گلخانه‌ای، فناوری زیستی موجودات خاکزی برای تولید انواع مایه تلقیح‌ها و کودهای زیستی، فعال کننده-های تجزیه مواد آلی و پاک کننده‌های زیستی خاک‌های آلوده، استفاده از فناوری‌های مولکولی جدید برای شناسایی و همچنین ردیابی موجودات زنده در خاک و نقش آنها در پدیده‌های مختلف خاک اشاره کرد.

نکات مهم:

1- متن مقاله نباید در هیچ نشریه‌ای چاپ و یا همزمان به نشریه دیگری ارسال شده باشد.

2- مسئولیت صحت و سقم کلیه مطالب مندرج در مقاله بر عهده نویسندگان می‌باشد.

3- مسئولیت صحت و سقم ترتیب نام نویسندگان بر عهده شخصی است که مقاله را برای نشریه ارسال می‌کند.

4- مقالات صرفاً می‌بایستی منتج از تحقیقات نویسنده یا نویسندگان و فقط در زمینه زیست شناسی خاک باشد.

مقالات باید با استفاده از word 2007 و در محیط windows xp و با استفاده از قلم نازنین 14 تایپ شده باشند. نویسنده(گان) محترم می‌بایستی مقاله از طریق سایت نشریه **www.iranjsb.ir** ارسال نمایند. ذکر نام و نام خانوادگی نویسندگان، مرتبه علمی، آدرس پستی نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیک کلیه نویسندگان به صورت یک مقاله کامل در قسمت فایلهای با نام و فایل بدون نام نویسندگان در فایلهای بدون نام نویسنده، تکمیل و ارسال نسخه اصل تعهدنامه با امضاء خود نویسنده(گان) در فایلهای پیشنیاز سایت الزامی است.

نحوهٔ نگارش مقاله

1- مقاله حداکثر در 15 صفحهٔ A4 با فاصلهٔ خطوط 1/5 و حاشیه‌های 3 سانتی‌متر از هر طرف و به صورت تک ستونی در نرم افزارWord 2007 تایپ شود.

2- نوع قلم فارسی و انگلیسی و اندازهٔ آنها مطابق جدول زیر استفاده شود.

3- تمامی سطور در متن مقاله دارای شماره گذاری (Line numbering) باشد.

4- پیش از نقطه (.) و کاما (،) گذاشتن فاصله لازم نیست، لیکن پس از آنها، یک فاصله لازم است.

5- اصول نگارش زبان فارسی به طور کامل رعایت شده و حتی الامکان از به کاربردن اصطلاحات انگلیسی که معادل فارسی آنها در فرهنگستان زبان فارسی تعریف شده‌اند، پرهیز گردد.

6- برای ذکر جنس و گونه گیاه، جانور و یا میکروارگانیسم ها از حالت *ایتالیک* استفاده شود.
7- در صورت استفاده از واژه (های) مخفف باید در اولین استفاده، واژه مذکور تعریف و پس از آن واژه مخفف در مقاله استفاده گردد.
8- استفاده از پاورقی برای ارائه اطلاعات تکمیلی در مقاله بلامانع است. در صورت استفاده از پاورقی، باید به ترتیب شماره گذاری انجام گیرد.

جدول 1- نوع و اندازه قلم برای تهیه بخش های مختلف مقاله

موقعیت استفاده	نام قلم	اندازه قلم
عنوان مقاله	**BNazaninپر رنگ**	14
متن مقاله	BNazanin	12
عناوین بخش های مقاله	**BNazanin پر رنگ**	12
نام مؤلفان	**BNazanin پر رنگ**	12
کلمات کلیدی(Keywords)	**BNazanin پر رنگ**	12
عناوین جداول و اشکال	**BNazanin پر رنگ**	11
متن جداول و شکل ها و منابع	BNazanin	10 و یا 11 برحسب نیاز
متن انگلیسی	Times New Roman	یک واحد کمتر از اندازهٔ فارسی در هر موقعیت

ساختار مقاله

هر مقاله باید شامل برگ مشخصات ، عنوان ، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی فارسی، مقدمه، مواد و روش-ها، نتایج، بحث، سپاسگزاری، منابع مورد استفاده، چکیده انگلیسی و واژه‌های کلیدی انگلیسی باشد.

برگ مشخصات مقاله: این قسمت در یک صفحه مجزا تهیه شده و شامل عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده(گان) و شماره تماس نویسنده مسئول می‌باشد.

عنوان مقاله: عنوان مقاله حداکثر در 20 کلمه و منعکس کننده محتوای مقاله باشد.در زیر عنوان نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده(گان) ذکر گردد.

چکیده فارسی: چکیده مقاله در حداکثر 300 کلمه، بیانگر مسئله، هدف، روش و نتایج بدست آمده و نتیجه گیری کلی از پژوهش است. چکیده می‌بایستی ترجیحاً در یک پاراگراف تنظیم گردد.در زیر چکیده فارسی و در پاورقی آدرس پستی نویسنده مسئول ذکر گردد.

واژه‌های کلیدی:

واژه‌های کلیدی(**Keywords**) شامل حداقل 3 و حداکثر 6 کلمه مرتبط با پژوهش انجام شده باشد. این واژه‌ها می‌بایستی به گونه‌ای انتخاب گردد که در عنوان مقاله نبوده تا حداکثر استفاده از آنها برای تهیه فهرست موضوعی (index) امکان پذیر باشد. واژه های کلیدی بر اساس حروف الفبای فارسی مرتب شوند.

مقدمه

در این بخش بایستی موضوع پژوهش و فرضیه‌های موردنظر تعریف گردد. بـه مهـم‌تـرین تحقیقـات صـورت گرفته قبلی در داخل و خارج از ایران اشاره شود و سپس لزوم پژوهش موردنظر تشریح و با تأکید بر وجه تمایز ایـن پژوهش با مطالعات قبلی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

این قسمت شامل مواد مورد استفاده و شرح روش بکار رفته مانند جامعه آمـاری، روش‌هـای نمونـه گیـری، اندازه گیری‌ها و نحوه تجزیه و تحلیل آماری می‌باشد. برای روش‌های متداول و شناخته شده نیازی به ذکر جزئیـات وجود نداشته و فقط به منبع مورد استفاده اشاره شود.

نتایج

در این بخش، نتایج بدست آمده از پژوهش به همراه جدول و شکل (اعم از تصویر یا نمودار) بیان می‌شود. از تکرار داده‌ها به صورت چندگانه (جدول، نمودار و غیره) پرهیز گردد. ارسال فایل Excel مربوط به نمودارها الزامی است. از کلماتی نظیر گراف، نقشه، تصویر و نظایر آن خودداری شده و تنها از واژه «شکل» استفاده شود. هر جدول از شماره، عنوان، سرستون ها و متن جدول تشکیل می‌شود. یک جدول باید با خطی افقی از شماره و عنوان جدول متمایز شود. همچنین سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی رسم شود. عنوان جدول در بالای جدول درج و پس از کلمه جدول و شماره آن، خط تیره و سپس عنوان ذکر شود. در متن جدول تا جایی که ممکن است نباید از خطوط افقی و عمودی استفاده کرد. هر ستون جدول باید دارای عنوان و واحد مربوط به کمیّت آن ستون باشد. اگر همهٔ ارقام جدول دارای یک واحد مشترک باشند، آن واحد در عنوان اصلی جدول ذکر شود. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول به صورت زیرنویس ارائه شوند.

در نمودارها از نشانه‌های○□Δ●■▲ به صورت توپر و توخالی استفاده شود. برای درج عنوان هر شکل، پس از کلمهٔ شکل و شمارهٔ آن، نقطه و سپس عنوان ذکر شود. اختصارات موجود در شکلها و جداول باید در زیرنویس توضیح داده شوند. تمام اعداد متن و توضیحات جداول و شکلها باید به زبان فارسی ارائه گردد. از ارسال نمودارهای رنگی جداً اجتناب نموده و از رنگهای سفید، سیاه و هاشورهای کاملاً متفاوت استفاده شود..

تمامی جداول و اشکال باید به ترتیب شماره در مقاله آورده شوند و شماره مذکور نیز باید به همان ترتیـب در مـتن مقاله مورد اشاره قرار گیرد.

بحث

در این قسمت با استفاده از سایر منابع، یافته‌های پژوهش علت‌یابی شده و دلایل قبول و رد آنها مورد بحث قرار می‌گیرد. بنابراین قسمت عمده بررسی منابع در این قسمت مورد استناد قرار می‌گیرد.

* در صورت لزوم می‌توان نتایج و بحث را توأماً تحت عنوان «**نتایج و بحث**» ارائه کرد.

نتیجه گیری

در این بخش نویسنده از پژوهش انجام یافته نتیجه گیری کرده و کاربرد عملی و یا تئوری حاصل از تحقیق را بیان می‌نماید. ارائه پیشنهادات در این بخش انتهائی نیز بلامانع است.

سپاسگزاری:

در این بخش نویسنده(گان) از اشخاص و سازمان‌هایی که در اجرای تحقیق همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید. این بخش در حداکثر 50 کلمه تنظیم گردد.

منابع مورد استفاده:

فهرست منابع باید شامل منابعی باشد که در متن ذکر شده و انتشار یافته اند و نیز شامل منابعی می‌شوند که برای چاپ پذیرفته شده اند. مکاتبات شخصی و یا تحقیقات چاپ نشده فقط در متن مقاله قابل ذکر می باشند. در مورد منابعی که بصورت آنلاین چاپ شده اند و فاقد شماره جلد و یا صفحه می باشند، ذکر شناسه دیجیتال (DOI) ضروری است.

شیوۀ ارجاع به منابع علمی در تمام متن مقاله بایستی به صورتی باشد که منبع مورد ارجاع(چه فارسی و چه انگلیسی) در پایان جمله در داخل پرانتز به فارسی ارائه شود. برای منابع دارای دو نویسنده، نام هر دو نویسنده و منابعی که بیش از دو نویسنده دارند، نخست نام نفر اول و سپس " همکاران" و تاریخ بیان شود. مثال:

..... نتایج مشابهی توسط برخی پژوهشگران نیز گزارش شده است (کریمی و احمدی، 1389).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010؛ کریمی و احمدی، 1389).

برای منابعی که لزوما در داخل پرانتز ارائه نمی شود بدین صورت عمل شود.

بای بوردی و همکاران (1382) گزارش کردند...

اسمیت (2002) گزارش کرد ...

اسمیت و جونز (2002) گزارش کردند...

اسمیت و همکاران (2002) گزارش کردند...

فهرست منابع مورد استفاده در پایان متن به صورت پیوسته و به ترتیب منابع فارسی و انگلیسی ارائه شوند. منابع مورد استفاده به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نگارنده، (یا اولین نگارنده برای منابعی که بیش از یک نگارنده دارند) زیر هم آورده شوند. چنانچه از یک نگارنده چندین منبع ذکر شود، ترتیب درج آن‌ها بر حسب سال انتشار، از جدید به قدیم است. اگر از نگارنده‌ای چندین منبع همسال وجود داشته باشد، با گذاشتن حروف a، b و c پس از سال انتشار منابع از یکدیگر متمایز شوند. چنانچه مقالات منفرد و مشترک در یک سال از یک نگارنده ارائه شود، نخست مقالات منفرد و سپس مقاله‌های مشترک به ترتیب حروف الفبای نام نگارندگان بعدی مرتب شوند.

برای یک مقاله یا کتاب به ترتیب نام خانوادگی نگارنده(گان)، حرف اول اسم کوچک نگارنده(گان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، عنوان کامل مجله، شماره جلد، و اولین و آخرین صفحه مقاله ارائه شود. برای یک کتاب به ترتیب نام خانوادگی و سپس حرف اول نام کوچک نگارنده، تاریخ انتشار، عنوان کامل کتاب، نام ناشر، محل انتشار ارائه شود.

در مورد مرجعی که نویسنده آن مشخص نیست به جای نام نگارنده از "Anonymous" برای منابع انگلیسی و (بی نام) برای منابع فارسی استفاده شود.

چنانچه منبع ترجمه شده باشد، در فهرست منابع باید نخست نام نویسنده(گان) کتاب اصلی، عنوان مشخصات آن (به زبان انگلیسی) و سپس نام مترجم (مترجمان) ذکر شود.

مثال‌هایی برای تنظیم منابع

1- مقاله از مجله

Brennan, E.W. and Lindsay, W.L.1998. Reduction and oxidation effect on the solubility and transformation of iron oxides. Soil Science Society of America Journal 62:930–937.

2- مقاله از کارگاه آموزشی یا علمی

Hanbury, A. 2002. The taming of the hue, saturation and brightness colour Space, 7th Computer Vision Winter Workshop, February 2002, Bad Aussee, Austria.

3- مطلب از کتاب

Lindsay, W.L. 1979. Chemical equilibrium in soils. John Wiley & Sons, New York.

4- مطلب نقل شده یک نویسنده در یک مجموعه مقالات

Logsdon, S.D. and Laird, D.A. 2003. Ranges of bound water properties associated with a smectite clay. p. 101–108. In: Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substance. Proc. of Conf., Rotorua, New Zealand. 23–26 Mar. 2003. Industrial Research, Auckland, New Zealand.

5- ذکر مطلب از نویسنده ای در یک کتاب که نام ویراستاران روی جلد آن است

Olsen, S.R. and Sommers, L.E.1982. Phosphorus. p. 403–427. In: Page, A.L. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. No. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

6- ذکر مطلب از اینترنت

Soil Survey Staff. 2004. NRCS soils [Online]. Available at http://soils. usda.gov [verified 23 Mar. 2005]. USDA-NRCS, Washington, DC.

چکیده انگلیسی

چکیده انگلیسی بایستی ترجمه دقیق چکیده فارسی باشد.

واژه‌های کلیدی انگلیسی: باید ترجمه دقیق واژه‌های کلیدی فارسی باشد. واژهای کلیدی بر اساس حروف الفبای انگلیسی مرتب شوند و حرف اول کلمات به صورت بزرگ (کاپیتال) نوشته شود.

کلیه مقالات پس از دریافت توسط سردبیر بررسی و پس از تایید با راهنمای تهیه مقاله تطبیق و در صورت رعایت فرمت نشریه، مقاله برای داوری ارسال خواهد شد. پس از اتخاذ رأی داوران و تأیید گروه دبیران (هیأت تحریریه)، مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت. چنانچه مقاله ارسالی با راهنمای تهیه مقاله تطبیق نداشته باشد به نویسنده مسئول عودت داده خواهد شد و مجدداً از زمان برگشت، تاریخ رسید مقاله منظور و برای داوری ارسال خواهد شد.

فرم تعهد نامه

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک

اینجانب ..... نویسنده مسئول مقاله زیر:

موارد زیر را به آگاهی می رسانم:

1. **کلیه تهیه کنندگان مقاله از ارسال آن به دفتر نشریه شما آگاهند**
2. **مقاله قبلاً در هیچ نشریه داخلی و خارجی منتشر نشده است**
3. **مقاله تا زمان پایان بررسی در آن نشریه به نشریه دیگری ارسال نخواهد شد.**
4. **هیچگونه تغییری در تعداد نویسندگان یا ترتیب ذکر اسامی انجام نخواهد شد.**

نام نام خانوادگی نویسنده اول: **امضاء نویسنده اول مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده دوم: **امضاء نویسنده دوم مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده سوم: **امضاء نویسنده سوم مقاله**

نام نام خانوادگی نویسنده چهارم: **امضاء نویسنده چهارم‌مقاله**

اسامی داوران	تعداد داوری
دکتر هادی اسدی رحمانی	۲
دکتراحمد اصغرزاده	۱
دکتر مهدی بهشتی	۲
دکتر وحیداله جهاندیده	۳
دکتر هوشنگ خسروی	۴
دکتر بهمن خوشرو	۵
دکتر فرهاد رجالی	۳
دکتر حامد رضائی	۱
کتر سعید سعادت	۱
دکتر شایان شریعتی	۶
دکتر علی عبادی	۱
دکتر پیمان عباس زاده دهجی	۱
دکتر رسول میرخانی	۱
دکتر حبیب اله نادیان	۲
دکتر فرشید نوربخش	۲

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/۱۱۵-۱۳۷
dx.doi.org/10.22092/sbj.2023.362579.253

ارزیابی نقش ویژگی‌های زیستی در کیفیت خاک زیر حوضه هنام استان لرستان

اشرف اسمعیلی زاد، رسول شکری*، ناصر دوات‌گر و حسین کاری دولت‌آباد

دانشجوی دکترا گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان؛ **noblesse55@gmail.com**

استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان؛ **rsh.bio42@gmail.com**

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **n_davatgar@yahoo.com**

استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **hossein.kari@gmail.com**

دریافت:۱۴۰۲/۴/۷ و پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۸

«مقاله پژوهشی»

چکیده

امروزه استفاده از کیفیت خاک (SQ) در مدیریت پایدار اراضی خاک درحال‌توسعه است، اما در ارزیابی کیفیت خاک به علت سختی و پرهزینه بودن اندازه‌گیری ویژگی‌های زیستی، این ویژگی‌ها کمتر استفاده می‌شوند، این در حالی است که نقش آن‌ها در کیفیت خاک قابل‌چشم‌پوشی نیست. این مطالعه تلاش دارد نقش ویژگی‌های زیستی را در کیفیت خاک تبیین نماید. در این تحقیق، ۲۲ ویژگی فیزیکی، شیمیایی و زیستی در ۹۰ نمونه خاک سطحی (۰ تا ۳۰ سانتی‌متر) برای ارزیابی شاخص کیفیت خاک (SQI) در منطقه هنام لرستان اندازه‌گیری شد. این ویژگی‌ها شامل pH؛ EC؛ کربن آلی؛ درصد مواد خنثی شونده؛ رس؛ سیلت؛ کربن زیست‌توده و تنفس پایه میکروبی؛ جمعیت کل قارچ و باکتری، جمعیت گونه‌های ازتوباکتر و سودوموناس؛ فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی؛ غلظت پتاسیم و فسفر قابل‌دسترس؛ نیتروژن کل؛ منگنز؛ آهن؛ مس و روی بود. تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای انتخاب مجموعه داده‌های حداقل (MDS) نشان داد که هشت مؤلفه اصلی با مقادیر ویژه بیشتر از یک، ۸۹/۸۳ درصد از کل واریانس تجمعی را شرح دادند. از ۲۲ ویژگی خاک، ۱۲ ویژگی برای MDS انتخاب شدند که سهم ویژگی‌های زیستی خاک (۵ ویژگی) در بین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بیشتر بود. توزیع مکانی SQI نشان‌دهنده تأثیرپذیری شدید کیفیت خاک‌های مطالعه شده از ویژگی‌های زیستی بود. این یافته‌ها نشان‌دهنده ضرورت در نظر گرفتن ویژگی‌های زیستی در تعیین کیفیت خاک است.

کلمات کلیدی: اراضی آبی و دیم، کیفیت خاک، ویژگی‌های زیستی

*- آدرس نویسنده مسئول: rsh.bio42@gmail.com

CC BY

مقدمه

در کشورهای درحال‌توسعه به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک به دلیل افزایش روزافزون نیاز به منابع غذایی، همواره به دنبال افزایش عملکرد در واحد سطح هستند که در صورت مدیریت نامناسب با فشار بر منابع خاک سبب کاهش تنوع زیستی و کیفیت خاک و به هم خوردن تعادل محیط‌زیست و تهدید امنیت غذایی می‌شود. ارزیابی کیفیت خاک (SQ)[1] رویکردی است که اطلاعاتی درباره چگونگی بهره‌برداری پایدار از منابع خاک را ارائه می‌کند (یو و همکاران، ۲۰۱۸). کیفیت خاک به نوع مشخصی از توانایی خاک اشاره دارد که بتواند در محدوده‌های طبیعی یا محدوده‌های اکولوژیکی تنظیم‌شده برای حفظ یا افزایش بازده گیاهی و حیوانی، کیفیت هوا و آب و سلامت و سکونت عمومی عمل کند (باندوپادهای و مایتی، ۲۰۲۱؛ حیات و همکاران، ۲۰۲۱). در بیشتر اوقات، ارزیابی SQ ساده نیست زیرا خاک‌های کشاورزی بسیار پیچیده و ترکیبی از اجزای طبیعی و مدیریت انسانی هستند که بر عملکرد و فرآیندهای خاک تأثیر می‌گذارند (باندوپادهای و مایتی، ۲۰۲۱). از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک برای ارزیابی SQ استفاده می‌شود که از خاکی به خاک دیگر متفاوت هستند (واسو و همکاران، ۲۰۱۶) و به‌عبارت‌دیگر، "خاک پایدار" به مجموعه‌ای از شاخص‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی خاک گره‌خورده است (پولادی و همکاران، ۲۰۲۰؛ نهرانی و همکاران، ۲۰۲۰). کیفیت خاک یک ارزیابی جامع از SQ شامل اندازه‌گیری دامنه وسیعی از ویژگی‌های زیستی، شیمیایی و فیزیکی خاک است تا نشان دهد چگونه و کجا می‌توان کیفیت یا حاصلخیزی خاک را تغییر داد (آباس، ۲۰۲۱؛ لیو و همکاران، ۲۰۲۰).

در بیشتر اوقات به علت آسانی و هزینه‌های اندازه‌گیری کمتر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نسبت به ویژگی‌های زیستی، فقط از آن‌ها برای ارزیابی SQ استفاده می‌شود (مائوریا و همکاران، ۲۰۲۰)، ولی ویژگی‌های زیستی به دلیل حساسیت به تغییرات محیطی و نقش‌های حیاتی در فرآیندهای خاک در تنظیم دسترسی به عناصر غذایی و بهره‌وری اکوسیستم‌های خاکی نقش مهمی دارند (شائو و همکاران، ۲۰۲۰). شواهد رو به رشد نشان می‌دهد که ویژگی‌های زیستی خاک، پتانسیل مناسبی برای ارزیابی کیفیت خاک‌دارند، زیرا نسبت به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک حساس‌تر هستند (گیسلر و هوروات، ۲۰۰۹) و برای ارزیابی مدیریت و همچنین تجزیه‌وتحلیل اثرات فعالیت‌های مدیریتی مناسب هستند (آباس، ۲۰۲۱؛ استون و همکاران، ۲۰۱۶)؛ اما چالش بزرگ در استفاده از شاخص‌های زیستی در ارزیابی کیفیت، دشواری تفسیر مقادیر هر یک از آن‌هاست (گیل-سوترس و همکاران، ۲۰۰۵) زیرا برای بسیاری از ویژگی‌های زیستی حد بحرانی تعریف‌نشده است. با توجه به پیچیدگی و هزینه ارزیابی کیفیت خاک، هیچ توافقی برای فهرست جامع از پیش تعیین‌شده از ویژگی‌های خاک برای خاک‌های زراعی و غیر زراعی وجود ندارد (رضایی و همکاران، ۲۰۰۶).

ازاین‌رو، کارشناسان خاک از یک مجموعه داده حداقلی (MDS)[2] برای کاهش هزینه فرآیندهای ارزیابی کیفیت خاک استفاده می‌کنند (یو و همکاران، ۲۰۱۸؛ یائو و همکاران، ۲۰۱۳). در MDS تعداد ویژگی‌های مؤثر در ارزیابی کیفیت خاک به کمترین می‌رسد اما می‌بایست شاخص‌های جامعه خاک مطالعه شده را به‌درستی منعکس کند (چاندل و همکاران، ۲۰۱۸؛ رئیسی، ۲۰۱۷).

حوضه رودخانه کرخه در حوضه آبریز اصلی خلیج‌فارس و دریای عمان قرار دارد. در بالادست و پایین‌دست این حوضه زیر حوضه‌های زیادی وجود دارد. زیر حوضه هنام یکی از آن‌هاست که در جنوب شهرستان سلسله (الشتر) در استان لرستان ایران واقع‌شده است. این زیر حوضه یکی از مهم‌ترین مناطق زراعی برای کشت انواع محصولات زراعی استان لرستان محسوب می‌شود. در این حوضه اراضی آبی و دیم در مجاورت یکدیگر قرار دارند.

1 - Soil Quality
2- minimal data set

مطالعات متعددی درزمینهٔ بهره‌برداری از منابع آب‌وخاک در زیر حوضه هنام انجام‌شده که نشان می‌دهد مدیریت بهره‌برداری از خاک آن اشتباه بوده و تأثیر خود را در بهره‌برداری پایدار از منطقه می‌گذارد. ازجمله مدیریت‌های رایج اشتباه در اراضی منطقه شامل شخم و شیار موازی با شیب زمین، عدم رعایت تناوب کشت و اصول تناسب اراضی، استفاده از رقم‌های کم محصول گندم و جو که بیشتر برای مصارف دام در منطقه است. رعایت نکردن اصول کشاورزی حفاظتی و استفاده از روش‌های سنتی آبیاری در زمین‌های آبی منطقه که در حاشیه رودخانه‌ها واقع‌شده‌اند باعث از بین رفتن عناصر غذایی خاک می‌شود. در اراضی دیم نیز به دلیل دور بودن از رودخانه و استفاده نکردن از سیستم‌های نوین آبیاری برای انتقال آب به این زمین‌ها، این اراضی در سال‌های خشکسالی رها می‌شوند (پرهمت و همکاران، ۲۰۱۲؛ میلانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ توکلی و همکاران، ۲۰۱۰)

تاکنون مطالعه‌ای درزمینهٔ ارزیابی ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی خاک‌ها و نقش آن‌ها در کیفیت خاک در زمین‌های آبی و دیم مجاور هم در زیر حوضه هنام لرستان انجام‌نشده است. این مطالعه باهدف:

۱) تعیین وضعیت ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی خاک و ۲) تعیین نقش ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی در کیفیت حاصلخیزی خاک انجام شد.

مواد و روش‌ها

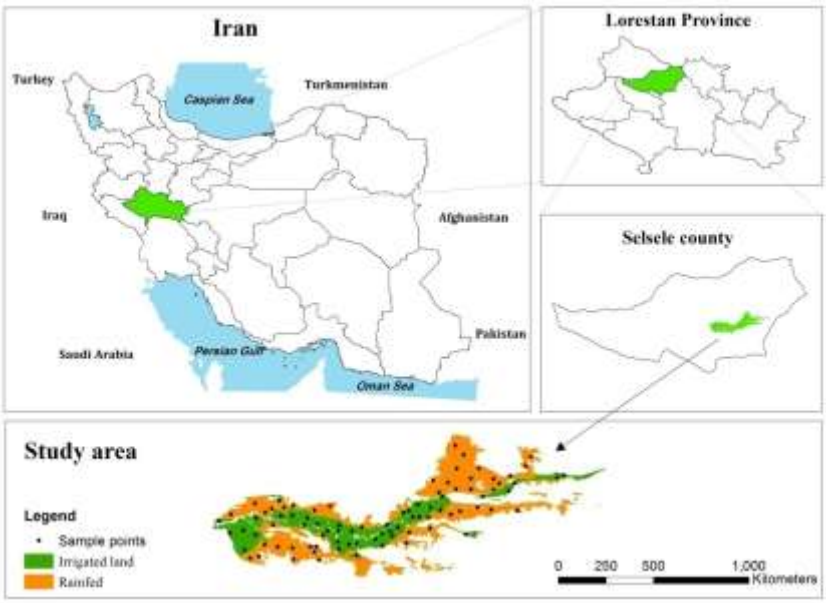
توصیف منطقه مطالعه شده

این پژوهش در قسمت مرکزی کشور ایران در شمال استان لرستان، در جنوب شهر الشتر در زیر حوضه هنام از حوضه کرخه، به مساحت ۱۴۲۰۰ هکتار و ازنظر مختصات جغرافیایی بین طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۱۲ دقیقه تا ۴۸ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۴۵ دقیقه تا ۳۳ درجه و ۵۱ دقیقه شمالی واقع‌شده است (شکل ۱). مساحت اراضی کشاورزی ۴۲۷۰ هکتار بوده که اراضی آبی و دیم آن به ترتیب ۱۲۵۸ و ۲۴۱۲ هکتار و بقیه اراضی باغ است. میانگین بارندگی سالانه در این منطقه ۵۵۴ میلی‌متر و میانگین سالانه دمای هوا نیز به ترتیب ۱۲/۷ درجه سانتی‌گراد است. میانگین تبخیر – تعرق سالانه منطقه برابر با ۱۱۳۶ میلی‌متر است. در این منطقه ۵ تیپ اصلی واحدهای فیزیوگرافی شامل مخروط افکنه‌های آبرفتی، فلات‌ها و تراس‌های فوقانی، دشت‌های دامنه‌ای، تپه‌ها، کوه‌ها و رخنمون‌های سنگی است.

رده خاک غالب منطقه اینسپتی‌سول[3] است. شیب، پستی‌وبلندی، فرسایش آبی، وجود سنگریزه در افق‌های سطحی و زیرسطحی از مهم‌ترین محدودیت‌های ظاهری اراضی این منطقه هستند.

گیاهان به ترتیب گندم، جو و نخود از مهم‌ترین گیاهان زراعی منطقه هستند که در این مکان کشت می‌شوند (حصاری و اویسی، ۲۰۲۱). باغات (گردو و میوه‌های سردسیری) سهم کمی از اراضی را دارند.

3 - Inceptisol



شکل ۱- نقشه منطقه موردمطالعه در زیر حوضه هنام استان لرستان و نقاط نمونه‌برداری در هر دو اراضی آبی (سبز) و دیم (نارنجی)

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک

با در نظر گرفتن واحدهای همگن خاک و آب به‌دست‌آمده از مطالعات انجام‌شده در منطقه (افتخاری، ۱۳۹۷) در ۹۰ موقعیت (۴۵ موقعیت از اراضی دیم و ۴۵ موقعیت از اراضی آبی) از خاک سطحی (۳۰-۰ سانتی‌متر) نمونه‌برداری انجام شد.

برای ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی، نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده هوا خشک و از طریق الک دو میلی‌متری عبور داده شدند. برای ارزیابی ویژگی‌های زیستی نمونه‌های مرطوب پس از عبور داده شدن از الک دو میلی‌متری تا شروع آزمایش در دمای ۴ °C نگه‌داری شدند. ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی و بیوشیمیایی به همراه روش اندازه‌گیری آن‌ها در (جدول۱) نشان داده شدند.

جدول ۱- روش‌های اندازه‌گیری و اطلاعات مربوط به ویژگی‌های موردمطالعه

ویژگی خاک	اختصار	واحد	روش اندازه‌گیری	منبع مورداستفاده
جمعیت کل باکتری	TB	Log cfu. ml^{-1}	پخش سری رقت از سوسپانسیون میکروبی در پلیت	شینر و همکاران، ۲۰۱۲
جمعیت کل قارچ	TF	Log cfu. ml^{-1}	پخش سری رقت از سوسپانسیون میکروبی در پلیت	شینر و همکاران، ۲۰۱۲
جمعیت گونه‌های سودوموناس	P	Log cfu. ml^{-1}	پخش سری رقت از سوسپانسیون میکروبی در پلیت	شینر و همکاران، ۲۰۱۲
جمعیت گونه های ازتوباکتر	A	Log cfu. ml^{-1}	پخش سری رقت از سوسپانسیون میکروبی در پلیت	شینر و همکاران، ۲۰۱۲
کربن زیست توده میکروبی	MBC	mg C_{min}. kg^{-1}_{soil}	تدخین با کلروفورم – استخراج	هوروات و پائول، ۱۹۹۴
تنفس پایه خاک	MR	mg CO_2. g^{-1}_{soil} day^{-1}	تولید CO_2 با تیتراسیون سود باقیمانده (۰/۰۵ مولار) با اسیدکلریدریک (۰/۰۵ مولار)	الف و نانیپیر، ۱۹۹۵
فعالیت آنزیم اوره آز	UA	µg N. $g^{-1}_{dm}2h^{-1}$	واکنش آنزیم سوبسترا در شرایط استاندارد (اوره ۲۰۰ میلی مولار، ۹ pH، ۳۷ C°؛ ۲ ساعت)	الف و نانیپیر، ۱۹۹۵
فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی	AcP	µg PNP. g^{-1}_{soil} h^{-1}	واکنش آنزیم سوبسترا در شرایط استاندارد (دی سدیم p- نیتروفنیل فسفات ۱۵ میلی مولار، ۶/۵ pH، ۳۷ °C؛ ۱ ساعت)	الف و نانیپیر، ۱۹۹۵
فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی	AlP	µg PNP. g^{-1}_{soil} h^{-1}	واکنش آنزیم سوبسترا در شرایط استاندارد (دی سدیم p- نیتروفنیل فسفات ۱۵ میلی مولار، ۱۱ pH، ۳۷ °C؛ ۱ ساعت)	الف و نانیپیر، ۱۹۹۵
بافت خاک (رس و سیلت)	-	٪	روش هیدرومتری	جی و بادر، ۱۹۸۶
میزان مواد خنثی شونده	TNV	٪	درصد معادل کربنات کلسیم عصاره گل اشباع	رووِل، ۲۰۱۴
واکنش خاک	pH	-	عصاره گل اشباع	رودز، ۱۹۸۳
هدایت الکتریکی	EC	dS m^{-1}	عصاره گل اشباع	رودز، ۱۹۸۳
کربن آلی	OC	٪	اکسیداسیون دی کرومات پتاسیم با استفاده از روش والکی و بلک	اسکریمجور، ۲۰۰۸
پتاسیم در دسترس	AK	mg kg^{-1}	عصاره گیری آمونیوم استات و استفاده از فلیم فوتومتر	هلمک و اسپارک، ۱۹۹۶
فسفر در دسترس	AP	mg kg^{-1}	عصاره گیری با بی‌کربنات سدیم	اولسن و همکارن، ۱۹۵۴
منگنز	Mn	mg kg^{-1}	عصاره گیری با DTPA	لیندسی و نورول، ۱۹۷۸
آهن	Fe	mg kg^{-1}	عصاره گیری با DTPA	لیندسی و نورول، ۱۹۷۸
مس	Cu	mg kg^{-1}	عصاره گیری با DTPA	لیندسی و نورول، ۱۹۷۸
روی	Zn	mg kg^{-1}	عصاره گیری با DTPA	لیندسی و نورول، ۱۹۷۸
نیتروژن کل	TN	٪	اکسیداسیون تر	برمر، ۱۹۹۶

شاخص کیفیت خاک (SQI)[4]

شاخص کیفیت خاک در سه مرحله تعیین شد (اندروز و همکاران، ۲۰۰۴): ۱) انتخاب یک MDS از ویژگی‌هایی که منعکس کننده عملکردها و فرآیندهای خاک بودند، ۲) امتیاز دادن متغیرهای MDS بر اساس کارایی آن‌ها و ۳) ترکیب نمرات عددی متغیرها در یک شاخص. از PCA برای انتخاب MDS استفاده شد (کی و همکاران، ۲۰۰۹). تنها PC های با مقادیر ویژه بزرگتر از یک به‌عنوان نماینده‌های کامل برای توصیف تغییرپذیری، در نظر گرفته شدند (واسوا و همکاران، ۲۰۱۳). به هر PC وزن و/یا یک‌بار عامل اختصاص داده شد تا سهم متغیرها در ساخت PC را منعکس کند. از هر PC، تنها متغیرهای با وزن بالا (با قدر مطلق بین ۱۰ درصد از بالاترین بار عامل) به ترتیب نگه‌داری و برای ساخت MDS اعمال شدند (اندروز و همکاران ۲۰۰۴).

4 - Soil Quality Index

همچنین در ادامه برای کاهش افزونگی درون هر مؤلفه اصلی از اندازه ضریب همبستگی خطی بین این متغیرها استفاده شد. چنانچه ضریب همبستگی پیرسون هر دو متغیر کمتر از ۰/۶ باشد، متغیر بعدی نیز در مجموعه MDS باقی می‌ماند، در غیر این صورت حذف می‌شود (اندروز و کارول، ۲۰۰۱).

از ضریب همبستگی خطی پیرسون برای تعیین همبستگی بین سنجه‌های اندازه‌گیری شده خاک در هر مؤلفه استفاده شد. سپس، هر مشاهده از یک شاخص MDS با استفاده از توابع امتیازدهی خطی (L) و غیرخطی (NL) تبدیل شدند (رینوت و همکاران، ۲۰۱۹؛ یو و همکاران، ۲۰۱۸؛ رئیسی، ۲۰۱۷).

توابع تبدیلی خطی استفاده‌شده عبارت بودند از: "بیشتر بهتر است" (معادله ۱) و "کمتر بهتر است" (معادله ۲).

$$L(y) = \frac{X}{X_{\max}} \quad (۱)$$

$$L(y) = \frac{X_{\min}}{X} \quad (۲)$$

که در آن L(y)نمره خطی ویژگی‌های تبدیل‌شده در دامنه صفرتا یک، x مقدار ویژگی خاک و x_{max} و x_{min} بیشترین و کمترین مقدار هر ویژگی خاک هستند.

در توابع امتیازدهی غیرخطی از منحنی سیگموئیدی (معادله ۳) برای نرمال‌سازی و نمره دهی ویژگی‌های MDS استفاده شد (ماستو و همکاران، ۲۰۰۸):

$$NL(y) = \frac{a}{\left(1 + (\frac{x}{x_0})^b\right)} \quad (۳)$$

که در آن NL(Y) نمره غیرخطی هر ویژگی در دامنه صفرتا یک متغیر است؛ حداکثر مقدار (a) در این مطالعه به‌عنوان یک تعریف شد و توسط تابع به‌دست‌آمده بود؛ X مقدار ویژگی انتخاب‌شده و X_0 مقدار میانگین هر ویژگی است. شیب معادله (b) برای توابع "بیشتر بهتر است" و "کمتر بهتر است" به ترتیب ۲/۵- و ۲/۵+ بود (روی و همکاران، ۲۰۲۲؛ باندوپادهای و مایتی، ۲۰۲۱).

SQI برای ویژگی‌های تبدیل یافته زیرمجموعه MDS با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (روی و همکاران، ۲۰۲۲):

$$SQI = \sum_{i=1}^{n} W_i S_i \quad (۴)$$

که در آن Wi وزن اختصاص داده‌شده به هر ویژگی برای هر نمونه خاک است که از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به دست آمد. هر مؤلفه اصلی (PC) مقدار معینی از تغییرات را در مجموعه داده‌ها تشریح می‌کند. با تقسیم این مقدار واریانس به حداکثر کل واریانس همه PCهای انتخاب‌شده برای MDS، یک مقدار وزن خاص برای متغیرهای زیرمجموعه هر PC به‌دست‌آمده آمد.

Si ویژگی تبدیل‌شده با استفاده از تابع خطی (L-SQI) یا غیرخطی (NL-SQI) است. فرض بر این است که مقادیر بالاتر SQI به معنای کیفیت بهتر خاک است.

آنالیز حساسیت

شاخص‌های کیفیت خاک به‌دست‌آمده از توابع تبدیل خطی و غیرخطی با استفاده از آنالیز حساسیت ارزیابی شدند (ماستو و همکاران، ۲۰۰۸).

$$SA = \frac{SQI\ (max)}{SQI\ (min)} \quad (۵)$$

که در آن SA مقدار آنالیز حساسیت و SQI(max) و SQI(min) به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار SQI است. شاخص SQI با مقدار SA بیشتر، مطلوب‌تر است زیرا نسبت به عملیات مدیریتی و تخریب حساس‌تر خواهد بود.

آمار توصیفی

آماره‌های توصیفی کمترین، بیشترین، میانگین، میانه، انحراف معیار، چولگی، کشیدگی و ضریب تغییرات برای ویژگی‌های اندازه‌گیری شده و SQI محاسبه شدند. از آزمون کولموگراف – اسمیرنوف برای ارزیابی نرمال شدن داده‌ها استفاده شد. همچنین ضریب همبستگی خطی بین

ویژگی‌های خاک تعیین شد. برای انجام محاسبات از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) استفاده شد.

تهیه نقشه

ساختار مکانی ویژگی‌های خاک به همراه SQI با استفاده از مدل نیم‌تغییرنما ارزیابی شدند. نیم‌تغییرنما به غیرفرمال بودن حساس است، از بین ویژگی‌هایی که توزیع فراوانی نرمال نداشتند، با استفاده از تبدیل لگاریتمی نرمال شدند. برای تعیین بهترین مدل نیم‌تغییرنمای برازش داده‌شده (کروی، نمایی، گوسی، خطی و اثر قطعه‌ای خالص) از آماره‌های مجموع مربعات باقیمانده (RSS) و ضریب تبیین (R^2) استفاده شد. برای تهیه نقشه در مواردی که متغیرها دارای ساختار مکانی بودند از کریجینگ معمولی و برای ویژگی‌های فاقد ساختار مکانی مشخص از روش وزن دهی عکس فاصله[5] (IDW) استفاده شد. برای ارزیابی صحت نقشه‌های تهیه‌شده از آماره‌های میانگین خطا ۰ و ریشه میانگین مربعات خطای نرمال شده (NRMSE) استفاده شد. هراندازه آماره ME به صفر نزدیک‌تر باشد اریب برآورد کمتر است و آماره NRMSE به کمیت ۰ تا ۱۰، ۱۱ تا ۲۰، ۲۱ تا ۳۰ و ۳۱ و بزرگ‌تر به ترتیب نشان‌دهنده برآورد قوی، مناسب، متوسط و ضعیف توسط مدل‌های درون‌یابی است (جمیسون و همکاران، ۱۹۹۱).
برای ارزیابی ساختار مکانی از نرم‌افزار GS+ (نسخه ۵) و برای تهیه نقشه از نرم‌افزار ArcGIS (نسخه ۱۰/۲) استفاده شد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی

آمار توصیفی ویژگی‌های خاک اندازه‌گیری شده در (جدول۲) نشان داده شدند. خاک‌های مطالعه شده کلاس‌های بافتی به نسبت سنگین (با میانه رس و سیلت ۴۴ درصد) داشتند. بافت خاک با تشکیل یک بیوسفر مناسب برای میکروارگانیسم‌هایی که پتانسیل بهبود تنوع و کمیت جوامع میکروبی را دارند، نقش محوری در افزایش کیفیت خاک دارد (حیات و همکاران، ۲۰۲۱؛ رابوت و همکاران، ۲۰۱۸).

آماره میانه برخی از ویژگی‌های حاصلخیزی خاک ازجمله فسفر (AP) قابل‌استفاده (۸/۶ mg/kg) و روی (Zn)قابل‌استفاده (۰/۵ mg/kg) به ترتیب با توجه به حد بحرانی گندم (کشت غالب منطقه) به ترتیب mg/kg ۱۵ و mg/kg ۱ (مشیری و همکاران، ۱۳۹۳) نشان دادند که نیمی از نمونه‌های خاک‌های مطالعه شده دچار کمبود این عناصر هستند.

آلوس دکاسترو لوپس و همکاران (۲۰۱۳) حد بحرانی کربن زیست‌توده میکروبی (MBC)، تنفس پایه میکروبی (MR) و آنزیم فسفاتاز اسیدی (AcP) را به ترتیب ($mg\ C\ Kg^{-1}$) ۴۰۵، ($mg\ C\ kg^{-1}$) ۱۰۰ و ($mg\ p\ kg^{-1}$ $soil/h^{-1}$) ۱۱۵۰ بیان کردند. کربن زیست‌توده میکروبی، تنفس میکروبی و فسفاتاز اسیدی در خاک‌های مطالعه شده در این پژوهش به ترتیب در دامنه ۱۴۰ تا ۹۳۳ با میانگین $g\ C.kg^{-1}$ ۴۹۷، دامنه ۰ تا ۰/۲ با میانگین $mg\ CO_2.\ g^{-1}_{soil}$ day^{-1} ۰/۱ و دامنه ۳۱/۸ تا ۳۶۴۸/۶ با میانگین $\mu g\ p.\ g^{-1}_{soil}$ h^{-1} ۹۲۸/۷ قرار داشت که نشان‌دهنده وضعیت نامناسب تنفس میکروبی و آنزیم فسفاتاز اسیدی بود. بر پایه مرور منابع انجام‌شده برای دیگر ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی حد بحرانی یافت نشد. آلوس دکاسترو لوپس و همکاران (۲۰۱۳) بیان داشتند برخلاف ویژگی‌های شیمیایی مرتبط با حاصلخیزی خاک که برای آن‌ها حد بحرانی به‌خوبی تعریف‌شده‌اند، برای بسیاری از ویژگی‌های زیستی حد بحرانی‌ها تعیین و تفسیرنشده‌اند.

جمعیت میکروبی خاک (مانند قارچ و باکتری) به‌عنوان قسمت فعال کربن آلی خاک بسیار بهتر از کل مواد آلی به تغییر مدیریت واکنش نشان می‌دهد (اندرسون و دمش، ۱۹۸۹). در خاک‌های مطالعه شده جمعیت باکتری خاک (TB) در دامنه ۷ تا ۸/۹ با میانگین log cfu/g ۷/۷ و جمعیت قارچ خاک(TF)در دامنه ۳/۷ تا ۵/۳ با میانگین log

5 - Inverse Distance Weighting

cfu/g ۴/۶ قرار داشت. برپایه بررسی انجام‌شده از منابع علمی برای جمعیت باکتری و قارچ حد بحرانی وجود ندارد؛ اما انتظار بر این است که در خاک‌های با pH نزدیک به ۷ با مقدار رس و کربن آلی بیشتر، مقدار آن زیاد باشد (اوبرین و همکاران، ۲۰۱۹؛ روسک و همکاران، ۲۰۱۰). خاک‌های مطالعه شده بر پایه واکنش خاک pH (دامنه ۷/۳ تا ۸/۱ با میانگین ۷/۶) خنثی تا به نسبت قلیا بودند. بر پایه حد بحرانی ۲ درصد (اندرسون، ۲۰۰۳)، آماره میانه کربن آلی خاک‌های مطالعه شده (۱/۱ درصد) نشان داد که بیشتر این خاک‌ها دچار کمبود کربن آلی بودند.

آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی (AlP) نقش مهمی در چرخه فسفر در خاک‌دارند و به‌عنوان شاخص‌های بالقوه حاصلخیزی خاک معرفی می‌شوند (داس و ورما، ۲۰۱۱). این آنزیم‌ها در خاک‌های مطالعه شده به ترتیب دارای میانه ($\mu g\ p.\ g^{-1}_{soil}\ h^{-1}$) ۶۱۱ و ۳۳۳۲ بودند. آنزیم فسفاتاز اسیدی در خاک‌های مطالعه شده در دامنه ($\mu g\ p.\ g^{-1}_{soil}\ h^{-1}$) ۳۲ تا ۳۶۴۸ قرار داشت. بر پایه حد بحرانی $\mu g\ p.\ g^{-1}_{soil}\ h^{-1}$ ۱۱۵۰ (آلوس دکاسترو لوپس و همکاران، ۲۰۱۳) بسیاری از خاک‌ها دچار کمبود این آنزیم بودند.

آماره ضریب تغییرات (CV) معیاری از شدت غیریکنواختی در ویژگی‌های مطالعه شده است. این آماره بدون بعد است و ازاین‌رو می‌تواند برای مقایسه شدت غیریکنواختی در ویژگی‌های مختلف استفاده شود. بر پایه گروه‌بندی وایلدینگ و درس (۱۹۸۳) متغیرهایی با CV کمتر از ۱۵ درصد دارای تغییرات کم، متغیرهایی با CV بین ۱۵ تا ۳۵ درصد دارای تغییرات متوسط و متغیرهایی با CV بیش از ۳۵ درصد دارای تغییرات زیاد هستند. ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی زیست‌توده میکروبی و فسفاتاز اسیدی به همراه ویژگی‌های شیمیایی هدایت الکتریکی (EC)، فسفر و آهن قابل‌استفاده، دارای CV زیاد بودند. زیاد بودن CV می‌تواند نشان‌دهنده حساسیت این ویژگی‌ها نسبت به عوامل محیطی و مدیریتی باشد.

کمترین ضریب تغییرات مربوط به pH (۱/۹)، جمعیت کل قارچ (۴/۴) و جمعیت کل باکتری (۴/۷) بود (جدول۲). pH به‌عنوان قوی‌ترین متغیر توصیفی برای غنای جمعیت باکتری خاک است (ترات و همکاران، ۲۰۱۷؛ گریفیتس و همکاران، ۲۰۱۱)، بنابراین ضریب تغییرات جمعیت کل باکتری و قارچ در این مطالعه نیز به تبعیت از pH دارای تغییرات کم بودند. pH شرایط فیزیکی خاک را تعیین و تنوع و ترکیب جمعیت‌های میکروبی را در خاک کنترل می‌کند و یا تغییر می‌دهد (آبراهام و همکاران ۲۰۱۹، روسک و همکاران، ۲۰۱۰) تا جایی که پیش‌بینی تنوع باکتریایی در مقیاس بزرگ، تنها بر اساس داده‌های pH ممکن است (گریفتیس و همکاران، ۲۰۱۶).

همبستگی ویژگی‌های مطالعه شده

ضریب همبستگی خطی بین متغیرهای مطالعه شده در (جدول۳) نشان داده شد. تنفس میکروبی با جمعیت کل باکتری‌ها و به دنبال آن با جمعیت گونه‌های باکتری سودوموناس (P) و ازتوباکتر (A) نیز دارای همبستگی خطی معنی‌دار بودند (جدول۲). همبستگی تنفس میکروبی با جمعیت کل قارچ ضعیف و غیر معنی‌دار بود. به نظر می‌رسد به علت زیاد بودن واکنش خاک (pH >۷/۳) و غیر اسیدی بودن محیط، جمعیت قارچ در خاک‌های مطالعه شده زیاد نباشد. از سوی دیگر تنفس میکروبی دارای همبستگی معنی‌دار با آنزیم فسفاتاز اسیدی بود. به نظر می‌رسد کربن آلی خاک نقش مهمی در افزایش فعالیت این آنزیم (آباس، ۲۰۲۱؛ لیانگ و همکاران، ۲۰۱۷) و تنفس میکروبی (اولدفیلد و همکاران، ۲۰۱۸) داشته باشد.

کربن آلی خاک در میان ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی بیشترین همبستگی معنی‌دار را با آنزیم فسفاتاز اسیدی (r= ۰/۶۳) و پس‌ازآن با تنفس میکروبی (r= ۰/۶) داشت. کمپبل و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که غلظت کربن آلی محلول خاک با تولید میکروبی و/یا تجزیه متابولیت‌های خاص پیوند دارد. فعالیت فسفاتاز اسیدی به‌شدت با محتوای مواد آلی همبستگی مثبت دارد و افزایش آن در خاک‌های غنی از مواد آلی اتفاق می‌افتد (تراسار- سپدا و گیل- استور، ۱۹۸۷). کربن آلی با آنزیم فسفاتاز

قلیایی نیز همبستگی مثبت داشت که مشابه با یافته‌های لیانگ و همکاران (۲۰۱۷) و مارگالف و همکاران (۲۰۱۷) بود.

کربن زیست‌توده میکروبی به‌طور طبیعی یک تا پنج درصد از کربن آلی خاک (OC) را تشکیل می‌دهد (اسپارلینگ، ۱۹۹۲). در این مطالعه بین این دو متغیر همبستگی ضعیف و غیر معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳) که نشان‌دهنده شرایط نامناسب در فرآیندهای متابولیکی میکروبی خاک بود.

آنزیم اوره‌آز همبستگی منفی با جمعیت گونه‌های ازتوباکتر داشت. کاهش فعالیت اوره‌آز در اثر افزایش جمعیت ازتوباکتر شاید به دلیل تقبل ایفای نقش بیشتر در تثبیت نیتروژن توسط ازتوباکتر باشد.

سیلت بیشترین همبستگی معنی‌دار را با جمعیت سودوموناس و ازتوباکتر نشان داد. سیتون و همکاران (۲۰۲۰) بر پایه نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده از دامنه وسیعی از زیستگاه‌های معتدل اقیانوسی (مانند زراعی، علفزار، جنگل‌های مخروطی و برگ‌ریز، خارزار و درمجموع ۳۳۵ مکان) نشان دادند که بافت خاک (به‌ویژه ذرات سیلت و رس) بر ترکیب جمعیت باکتری‌ها به‌ویژه شاخه سودومونادوتا تأثیر معنی‌دار دارد.

pH بیشترین همبستگی معنی‌دار منفی را با جمعیت گونه‌های سودوموناس و ازتوباکتر داشت. حضور ازتوباکتر در خاک توسط pH کنترل می‌شود به‌طوری‌که pH بهینه برای فعالیت ازتوباکتر ۷/۵ – ۷ است (آسفار و همکاران، ۲۰۲۱). در خاک‌های مطالعه شده این pH در دامنه ۷/۳ تا ۸/۱ قرار داشت (جدول ۲)، بنابراین نتیجه همبستگی منفی pH با این پارامتر در این تحقیق نشان‌دهنده آن است که pHهای بزرگ‌تر از بهینه، جمعیت ازتوباکتر را کم می‌کند.

عناصر غذایی خاک به‌ویژه عناصر کم‌مصرف با تنفس میکروبی و فسفاتاز اسیدی همبستگی معنی‌داری نشان دادند. در این میان نقش روی نسبت به سایر عناصر کم‌مصرف برجسته‌تر بود. علاوه بر تنفس میکروبی و فسفاتاز اسیدی، روی همبستگی معنی‌داری با جمعیت باکتری و قارچ نشان داد. سینگ و وایشناو (۲۰۲۱) نشان دادند که ترشح پروتون و آزادسازی لیگاندهای کلات از طریق سیستم‌های اکسیداسیون – احیا در میکروارگانیسم‌ها در استفاده از عناصر کم‌مصرف مؤثر است.

جدول ۲ – توصیف آماری ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک‌های منطقه موردمطالعه

	TB	TF	P	A	MBC	MR	UA	AcP	AlP	Silt	Clay	TNV	pH	EC	OC	AK	AP	Mn	Fe	Cu	Zn	TN
کمینه	۷	۳/۷	۵	۴	۱۴۰	۰/۰۱	۲۴/۵	۳۱/۸	۲۶۹	۳۴	۲۸	۰/۴	۷/۳	۰/۳	۰/۷	۱۷۵	۲	۳/۹	۴/۳	۰/۹	۰/۱۰۰	۰/۱
بیشینه	۸/۹	۵/۳	۸/۳	۷/۳	۹۳۳	۰/۲	۵۹	۳۶۴۹	۴۹۱۳	۵۸	۵۸	۵۰/۴	۸/۱	۲/۷	۲/۶	۶۲۰	۲۹/۶	۱۷/۳	۱۹	۳	۱/۲	۰/۳
میانگین	۷/۷	۴/۶	۶/۵	۶/۱	۴۹۸	۰/۱	۳۲/۳	۹۲۹	۲۹۵۳	۴۵/۲	۴۳/۹	۲۴/۱	۷/۶	۱/۲	۱/۳	۳۵۱	۹/۹	۹/۴	۹/۶	۱/۷	۰/۵	۰/۱
میانه	۷/۶	۴/۶	۶/۵	۶/۱	۴۶۹	۰/۱	۲۹/۹	۶۱۱	۳۳۳۲	۴۴	۴۴	۲۵/۳	۷/۶	۱/۱	۱/۱	۳۴۰	۸/۶	۹	۸/۸	۱/۷	۰/۵	۰/۱
انحراف معیار	۰/۴	۰/۲	۰/۶	۰/۶	۱۹۴	۰/۰۲	۶/۷	۹۵۳	۹۸۵/۶	۵/۸	۵/۶	۸/۴	۰/۱	۰/۵	۰/۴	۸۶/۵	۵/۹	۲/۵	۳/۵	۰/۳	۰/۲	۰/۰۱
چولگی	۱/۲	−۰/۵	۰/۱	−۰/۶	۰/۵	۱/۵	۱/۹	۱/۹	−۰/۸	۰/۲	−۰/۳	−۰/۳	۰/۹	۰/۵	۱/۲	۰/۴	۱/۴	۰/۷	۰/۹	۰/۷	۰/۷	۱/۲
کشیدگی	۱/۶	۴/۲	۰/۹	۱/۲	−۰/۵	۳/۸	۳/۶	۲/۵	۰/۳	−۰/۶	۰/۹	۱/۸	۲/۱	−۰/۲	۱	۰/۲	۱/۹	۰/۹	۰/۳	۱/۹	۱	۱
ضریب تغییرات (٪)	۴/۷	۴/۴	۸/۵	۱۰	۳۸/۹	۳۵/۴	۲۰/۶	۱۰۲/۶	۳۳/۴	۱۲/۸	۱۲/۸	۳۴/۸	۱/۹	۴۲/۲	۳۵/۲	۲۴/۶	۵۹/۹	۲۶/۴	۳۶/۶	۱۹/۲	۳۹/۱	۳۴/۹

اختصارات: جمعیت کل باکتری: TB؛ جمعیت کل قارچ: TF؛ جمعیت گونه‌های باکتری سودوموناس: P؛ جمعیت گونه‌های باکتری ازتوباکتر: A؛ زیست توده میکروبی: MBC؛ تنفس میکروبی: MR؛ فعالیت آنزیم اوره‌آز: UA؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی: AcP؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی: AlP؛ مواد خنثی شونده: TNV؛ کربن آلی: OC؛ پتاسیم در دسترس: AK؛ فسفر در دسترس: AP؛ نیتروژن کل: TN

جدول ۳- ضریب همبستگی خطی پیرسون (r) بین ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک‌های منطقه موردمطالعه(N=90)

	TB	TF	P	A	MBC	MR	UA	AcP	AlP	Silt	Clay	TNV	pH	EC	OC	AK	AP	Mn	Fe	Cu	Zn	N	Zn	Cu	Fe	Mn	AP	AK	OC	EC	pH	TNV	Clay	Silt	AlP	AcP	UA	MR	MBC	A	P	TF	TB
TB	۱																																										
TF	-۰/۰۹	۱																																									
P	۰/۰۸	۰/۱۱	۱																																								
A	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۶۷**	۱																																							
MBC	-۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۰۹	۰/۱۸	۱																																						
MR	۰/۲۸**	۰/۱۷	۰/۲۲*	۰/۲۳*	-۰/۰۲	۱																																					
UA	۰/۰۵	۰/۲۶*	-۰/۱۲	-۰/۲۴*	-۰/۰۳	۰/۱۰	۱																																				
AcP	۰/۱۴	۰/۲۱*	۰/۳۸**	۰/۳۷**	۰/۱۹	۰/۵۲**	۰/۰۸	۱																																			
AlP	۰/۰۴	۰/۱۹	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۱۹	۰/۱۶	۰/۴۱**	۱																																		
Silt	-۰/۰۲	۰/۲۴*	-۰/۴۲**	-۰/۴۳**	-۰/۲۵*	۰/۲۴*	۰/۲۱*	-۰/۴۰**	-۰/۱۴	۱																																	
Clay	-۰/۰۲	-۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۲۰	۰/۲۲*	۰/۲۴*	۰/۰۳	۰/۲۴*	۰/۱۲	-۰/۶۱**	۱																																
TNV	۰/۰۰	۰/۰۴	-۰/۰۷	-۰/۱۰	-۰/۳۶	-۰/۰۸	۰/۰۰	-۰/۳۳**	-۰/۰۵	۰/۲۵*	-۰/۴۴**	۱																															
pH	۰/۰۵	۰/۲۱*	-۰/۳۱**	-۰/۳۱**	-۰/۱۹	-۰/۱۰	۰/۲۲*	-۰/۱۹	۰/۰۵	۰/۴۱**	-۰/۲۶*	۰/۲۴*	۱																														
EC	۰/۱۰	-۰/۲۵*	۰/۰۳	-۰/۰۴	۰/۳۲**	-۰/۰۷	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۸	-۰/۲۳*	۰/۱۸	-۰/۳۰**	-۰/۴۲**	۱																													
OC	۰/۱۶	۰/۰۸	۰/۳۴**	۰/۲۶*	۰/۰۶	۰/۶۰**	۰/۰۴	۰/۶۳**	۰/۲۷*	-۰/۳۹**	۰/۲۰	-۰/۲۲*	-۰/۰۶	-۰/۰۳	۱																												
AK	۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۳۳**	۰/۱۰	۰/۳۶**	۰/۰۷	-۰/۰۷	۰/۰۸	-۰/۵۲**	-۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۴۵**	۱																											
AP	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۲۳*	۰/۱۰	-۰/۰۳	۰/۲۴*	-۰/۰۸	۰/۳۴**	۰/۱۸	-۰/۱۴	-۰/۰۵	-۰/۱۰	-۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۵۸**	۰/۴۰**	۱																										
Mn	۰/۲۱*	۰/۰۷	۰/۱۹	۰/۲۵*	۰/۰۶	۰/۴۳**	۰/۰۲	۰/۳۷**	۰/۱۳	-۰/۰۸	-۰/۰۳	-۰/۲۶*	-۰/۰۵	-۰/۰۵	۰/۴۲**	۰/۵۱**	۰/۲۷**	۱																									
Fe	-۰/۰۷	-۰/۰۵	۰/۱۵	۰/۲۴*	۰/۲۲*	۰/۳۴**	-۰/۰۲	۰/۲۷**	۰/۱۵	-۰/۴۳**	۰/۴۸**	-۰/۲۰	-۰/۱۷	۰/۰۵	۰/۵۹**	۰/۰۵	۰/۲۳*	۰/۳۰**	۱																									
Cu	۰/۱۲	۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۱۷	۰/۲۸**	۰/۳۹**	۰/۱۵	۰/۳۶**	۰/۱۹	-۰/۳۵**	۰/۶۰**	-۰/۴۱**	-۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۳۸**	۰/۳۰**	۰/۱۵	۰/۳۱**	۰/۷۱**	۱																							
Zn	۰/۲۴*	۰/۲۴*	۰/۲۵*	۰/۲۵*	۰/۰۵	۰/۴۹**	۰/۱۰	۰/۳۶**	۰/۲۸**	-۰/۰۷	۰/۰۳	-۰/۱۳	۰/۰۵	-۰/۰۸	۰/۵۸**	۰/۴۰**	۰/۴۸**	۰/۵۷**	۰/۳۶**	۰/۳۲**	۱																					
N	۰/۱۵	۰/۰۷	۰/۳۳**	۰/۲۵*	۰/۰۶	۰/۵۹**	۰/۰۲	۰/۶۳**	۰/۲۶*	-۰/۴۲**	۰/۲۱*	-۰/۲۲*	-۰/۰۷	-۰/۰۲	۰/۹۹**	۰/۴۴**	۰/۵۸**	۰/۴۱**	۰/۶۰**	۰/۳۸**	۰/۵۶**	۱																					

اختصارات: جمعیت کل باکتری: TB؛ جمعیت کل قارچ: TF؛ جمعیت گونه‌های باکتری سودوموناس: P؛ جمعیت گونه‌های باکتری ازتوباکتر: A؛ زیست توده میکروبی: MBC؛ تنفس میکروبی: MR؛ فعالیت آنزیم اوره‌آز: UA؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی: AcP؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی: AlP؛ مواد خنثی شونده: TNV؛ کربن آلی: OC؛ پتاسیم در دسترس: AK؛ فسفر در دسترس: AP؛ نیتروژن کل: TN

** و * به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک و پنج درصد را نشان می‌دهد

مجموعه داده‌های حداقل (MDS)

پیش از استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، برای تعیین MDS نخست سودمندی آن ارزیابی شد. مقدار ضریب KMO[6] در این مطالعه ۰/۶۹۹ و مقدار آماره بارتلت[7] ۰/۶۹۳ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این نتایج نشان داد که PCA می‌توانند در کاهش داده‌ها سودمند باشد (جدول ۴).

نتایج PCA نشان داد که هشت مؤلفه اصلی (PC) با مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک درمجموع ۸۹/۸۳ درصد از واریانس کل جامعه را شرح دادند (جدول ۴). در هر مؤلفه ویژگی‌هایی با بار عاملی بیشتر از ۰/۵ نگه‌داری شدند. در مؤلفه اصلی اول، ویژگی‌های مرتبط با فعالیت‌های متابولیسمی میکروارگانیسم‌ها مانند تنفس میکروبی، آنزیم فسفاتاز اسیدی، کربن آلی به همراه عناصر غذایی پرمصرف خاک (نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم قابل‌استفاده) و عناصر غذایی کم‌مصرف (روی و منگنز قابل‌استفاده) قرار گرفتند. دو ویژگی اول مرتبط با فعالیت متابولیسمی میکروارگانیسم‌ها، دارای بیشترین همبستگی خطی معنادار با یکدیگر در خاک‌های مطالعه شده بودند (جدول ۳). از سوی دیگر همبستگی خطی این ویژگی‌ها با کربن آلی خاک و عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، پتاسیم، روی و منگنز معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به این‌که در این مؤلفه مجموعه‌ای از ویژگی‌های شیمیایی، زیستی و بیوشیمیایی مرتبط به حاصلخیزی خاک قرار داشتند، این مؤلفه انعکاسی از "وضعیت حاصلخیزی خاک"های مطالعه شده بود. در مؤلفه دوم، عناصر غذایی کم‌مصرف آهن و مس به همراه رس و سیلت قرار داشتند. بین عناصر غذایی کم‌مصرف آهن و مس همبستگی معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳). این همبستگی می‌تواند نشان‌دهنده تمایل زیاد به جذب این عناصر توسط کانی‌های رس و یا وجود سزکویی‌اکسیدهایی به‌اندازه ذرات رس در این خاک‌ها باشد (لیندسی، ۱۹۷۹).

در مؤلفه سوم، جمعیت باکتری‌های سودوموناس و ازتوباکتر قرار داشتند. این میکروارگانیسم‌ها در فراهمی نیتروژن، فسفر و پتاسیم برای گیاه مؤثر هستند ازاین‌رو این مؤلفه می‌تواند نشان‌دهنده "جامعه میکروارگانیسم‌های مؤثر در فراهمی عناصر غذایی گیاه" باشد. در مؤلفه چهارم، کربن زیست‌توده میکروبی در کنار کربنات کلسیم معادل و پتاسیم قابل‌استفاده قرار گرفت. در مؤلفه پنجم، ویژگی‌های مرتبط با شوری خاک (pH و EC) قرار داشتند. بین این دو ویژگی همبستگی معنی‌داری (r= ۰/۴۲) وجود داشت (جدول ۲). در مؤلفه ششم فعالیت آنزیم اوره‌آز و در مؤلفه هفتم، جمعیت کل باکتری‌ها به‌تنهایی قرار گرفتند. در مؤلفه هشتم، جمعیت قارچ‌ها و آنزیم فسفاتاز قلیایی قرار گرفتند.

هرچند همبستگی خطی بین این دو متغیر ضعیف و غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). چه‌بسا رابطه بین جمعیت قارچ و آنزیم فسفاتاز غیرخطی باشد. کوتو و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند افزایش فسفاتاز قلیایی وابستگی زیادی به فعالیت قارچ‌ها دارد.این شواهد نشان می‌دهد که غیریکنواختی در مکان و زمان توزیع آنزیم‌ها در خاک (اسپون و کازیاکف، ۲۰۱۳) از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تحقیقات فسفاتازها در خاک است (مارگالف و همکاران، ۲۰۱۷).

از ۲۲ ویژگی خاک مطالعه شده ۱۲ ویژگی در MDS گزینش شدند که در این میان پنج ویژگی آنزیم اوره‌آز، ازتوباکتر، جمعیت کل باکتری، فسفاتاز اسیدی و تنفس میکروبی مربوط به ویژگی‌های زیستی خاک بودند که نشان از سهم بیشتر این ویژگی‌ها نسبت به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی در MDS بودند. این در حالی است که تنها در تعداد محدودی از مطالعات کیفیت خاک، از ویژگی‌های زیستی خاک در تعیین MDS استفاده‌شده است (تیان و همکاران، ۲۰۲۲؛ رئیسی، ۲۰۱۷).

6 - Kaiser- Meyer- Oklin

7 - Bartlett

جدول ۴- ضرایب هشت مؤلفه اصلی استخراج‌شده از ۲۲ ویژگی خاک، مقادیر ویژه و میزان اشتراک فردی و تجمعی واریانس کل برای هر ویژگی خاک‌های منطقه موردمطالعه

متغیر	مؤلفه اصلی								میزان اشتراک واریانس
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	
TF								۰/۵۴۸	۰/۷۶۷
TB							۰/۷۴۱		۰/۶۰۳
P			۰/۸۳۶						۰/۷۵۵
A			۰/۸۷۶						۰/۸۲۲
MBC				۰/۵۷۲					۰/۴۵۷
MR	۰/۸۶۸								۰/۸۲۴
UA						۰/۷۵۸			۰/۷۱۳
AcP	۰/۵۵۵								۰/۷۸۵
AlP								۰/۸۴۷	۰/۷۷۹
Silt		−۰/۶۱۶							۰/۷۳۹
Clay		۰/۷۷۳							۰/۷۷۷
TNV				−۰/۸۳۰					۰/۷۷۷
pH					۰/۶۵۷				۰/۷۰۱
EC					−۰/۷۷۶				۰/۷۲۲
OC	۰/۶۷۰								۰/۸۷۹
K	۰/۶۰۲			۰/۵۷۷					۰/۸۱۲
P	۰/۵۱۲								۰/۶۱۶
Mn	۰/۸۳۸								۰/۸۷۷
Fe		۰/۸۲۷							۰/۷۱۹
Cu		۰/۷۴۵							۰/۸۵۱
Zn	۰/۸۹۵								۰/۸۰۷
TN	۰/۶۷۰								۰/۸۱۹
مقدار ویژه	۳/۵۶	۲/۹۱	۲/۳۸	۲/۱۵	۱/۸۴	۱/۸۱	۱/۶۰	۱/۴۴	
درصد واریانس	۲۵/۶۴	۱۶/۶۹	۱۰/۴۲	۹/۵۵	۷/۵۳	۵/۸۹	۴/۷۱	۳/۴۶	
درصد تجمعی	۲۵/۶۴	۴۲/۳۳	۵۲/۷۵	۶۲/۳۰	۶۸/۸۳	۷۵/۷۲	۸۰/۴۳	۸۹/۸۳	

الف- چرخش در ۱۰ تکرار همگرا شد. روش: چرخش واریماکس با نرمال‌سازی کایسر

ب- بارهای عامل پررنگ شده (≥ ۰/۵۰) دارای وزن بالا در نظر گرفته می‌شوند.

پ- ویژگی‌های خاک پررنگ شده و خط کشیده شده در MDS واردشده‌اند.

اختصارات: جمعیت کل باکتری: TB؛ جمعیت کل قارچ: TF؛ جمعیت گونه‌های باکتری سودوموناس: P؛ جمعیت گونه‌های باکتری ازتوباکتر: A؛ زیست‌توده میکروبی: MBC؛ تنفس میکروبی: MR؛ فعالیت آنزیم اوره‌آز: UA؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی: AcP؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی: AlP؛ مواد خنثی شونده: TNV؛ کربن آلی: OC؛ پتاسیم در دسترس: AK؛ فسفر در دسترس: AP؛ نیتروژن کل: TN

شاخص کیفیت خاک

از متغیرهای به‌دست‌آمده از MDS برای تعیین شاخص کیفیت خاک استفاده شد. مؤلفه‌های ساختار مکانی، بهترین مدل نیم‌تغییرنما به همراه آماره‌های صحت برازش آن‌ها در (جدول۵) مشخص شدند. بر پایه طبقه‌بندی کمباردلا و همکاران (۱۹۹۴) نسبت همبستگی مکانی کمتر از ۰/۲۵، ۰/۲۵ تا ۰/۷۵ و بزرگ‌تر از ۰/۷۵ به ترتیب نشان‌دهنده ساختار مکانی قوی، متوسط و ضعیف است. متغیرهای جمعیت کل باکتری، هدایت الکتریکی، روی و منگنز از مدل نیم‌تغییرنمای اثر قطعه‌ای پیروی کرد که نشان‌دهنده فقدان ساختار مکانی و وجود تغییرات تصادفی است. دیگر متغیرهای زیرمجموعه MDS از مدل نیم‌تغییرنمای دارای سقف (کروی، نمایی و گوسی) پیروی کردند، اما به‌غیراز کربنات کلسیم معادل (TNV)، ساختار مکانی آن‌ها ضعیف تا متوسط بود. فقدان ساختار مکانی قوی در بیشینه متغیرهای MDS می‌تواند به دلایل متعددی ازجمله نظام زراعی آبی و دیم، کاربری اراضی، تفاوت واحدهای فیزیوگرافی، مدیریت زراعی و کودی متفاوت، برهمکنش و تأثیرپذیری متغیرها از یکدیگر نسبت داده شود که سبب تضعیف ساختار مکانی و چیره شدن تغییرات تصادفی در متغیرها می‌شوند. برای متغیرهایی که از مدل نیم‌تغییرنمای اثر قطعه‌ای پیروی کردند در پهنه‌بندی از روش درون‌یابی وزن دهی عکس فاصله و برای متغیرهایی که از مدل نیم‌تغییرنمای دارای آستانه پیروی کردند از روش کریجینگ معمولی استفاده شد. برای تعیین شاخص کیفیت خاک متغیرهای MDS نخست با استفاده از توابع تبدیل خطی و غیرخطی کمیت‌ها به دامنه صفر تا یک تبدیل شد. نوع تابع تبدیل برای امتیازدهی ویژگی‌های منتخب در (جدول ۵) مشخص شدند.

جدول ۵- مؤلفه‌های ساختار مکانی و پهنه‌بندی ویژگی‌های خاک MDS در منطقه موردمطالعه

متغیر	واحد	نوع تابع امتیازدهی کیفیت	ساختار مکانی			
			مدل نیم‌تغییرنما	نسبت همبستگی مکانی ($C_0/(C_0+C)$)	ضریب تبیین (R^2)	مجموع مربعات خطا (RSS)
A	Log cfu. ml^{-1}	بیشتر بهتر	کروی	۰/۶	۰/۶۳	۳/۳۱×۱۰$^{-۳}$
TB	Log cfu. ml^{-1}	بیشتر بهتر	اثر قطعه‌ای	۰/۹۹۴	۰/۰۰۱	۶/۸۳۱×۱۰$^{-۴}$
MR	mg CO_2. kg^{-1}_{soil} day^{-1}	بیشتر بهتر	کروی	۰/۶۲۵	۰/۸۰	۳/۸۹×۱۰$^{-۴}$
AlP	µg PNP. g^{-1}_{soil} h^{-1}	بیشتر بهتر	نمایی	۰/۶۸	۰/۸۶	۳/۸۷×۱۰$^{-۴}$
UA	mg N-NH_4^+ kg^{-1} soil $2hr^{-1}$	بیشتر بهتر	کروی	۰/۵	۰/۵۹	۹/۹۴×۱۰$^{-۶}$
Clay	٪	بهینه بهتر	کروی	۰/۲۹۶	۰/۹۶۷	۱۰/۸
TNV	٪	کمتر بهتر	نمایی	۰/۰۲۱	۰/۹۹۰	۱۳/۱
EC	dS m^{-1}	کمتر بهتر	اثر قطعه‌ای	۱	۰/۰۰۰	۰/۰۳۶
Fe	mg kg^{-1}	بیشتر بهتر	گوسی	۰/۵۶۲	۰/۹۸۳	۱/۰۱
Zn	mg kg^{-1}	بیشتر بهتر	اثر قطعه‌ای	۰/۹۶۳	۰/۰۳۴	۶/۷۰۱×۱۰$^{-۵}$
Cu	mg kg^{-1}	بیشتر بهتر	نمایی	۰/۶۳۱	۰/۸۶۶	۱/۶۸۱×۱۰$^{-۵}$
Mn	mg kg^{-1}	بیشتر بهتر	اثر قطعه‌ای	۱	۰/۴۰۰	۰/۹۵۵
SQI	-	بیشتر بهتر	نمایی	۰/۳۱۷	۰/۹۱۵	۱/۸۸۳×۱۰$^{-۵}$

اختصارات: جمعیت گونه‌های باکتری ازتوباکتر: A؛ جمعیت کل باکتری: TB؛ تنفس میکروبی: MR؛ فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی: AlP؛ فعالیت آنزیم اوره‌آز: UA؛ مواد خنثی شونده: TNV؛ شاخص کیفیت خاک خطی: SQI

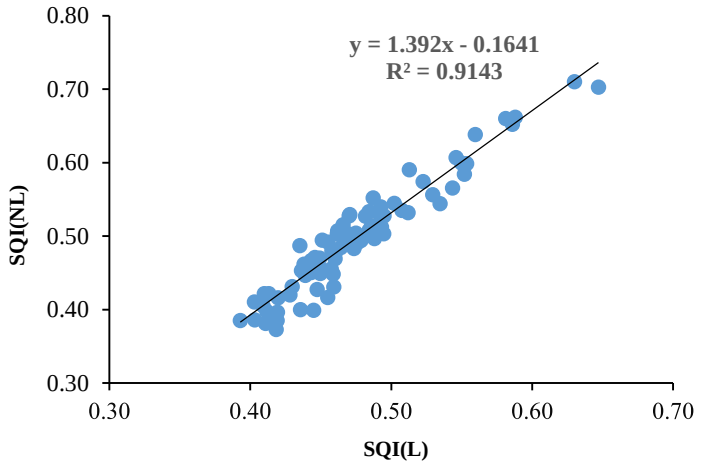
خلاصه آمار توصیفی شاخص کیفیت خاک به هر دو روش خطی و غیرخطی به همراه آنالیز حساسیت در (جدول۶) نشان داده شدند. شاخص کیفیت خاک به روش خطی حساسیت بیشتری (۲/۰۱) نسبت به روش غیرخطی (۱/۹۲) داشت. این یافته نشان می‌دهد که شاخص SQI (L) نسبت به تغییرات مدیریتی یا تخریب خاک حساس‌تر بوده و می‌تواند وضعیت کیفیت خاک را در ناحیه مطالعه شده بهتر نشان دهد. از سویی دیگر ضریب تبیین دو روش SQI (L) با SQI (NL) قوی و معنی‌دار بود (شکل ۲). ازاین‌رو از شاخص کیفیت خاک خطی در ناحیه مطالعه شده استفاده شد.

جدول ۶- خلاصه آمار توصیفی شاخص‌های کیفیت خاک و حساسیت آن‌ها در ناحیه مطالعه شده

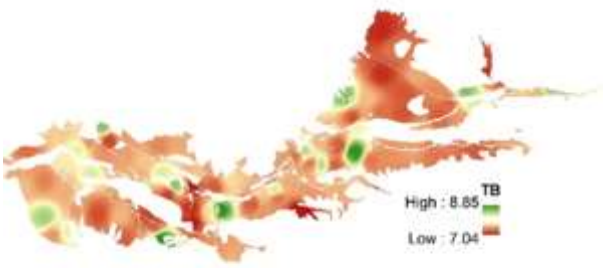
شاخص کیفیت خاک (SQI)	کمینه	میانگین	بیشینه	انحراف معیار	حساسیت (SA)
شاخص کیفیت خاک به روش خطی (SQI (L))	۰/۳۲	۰/۴۷	۰/۶۵	۰/۰۵	۲/۰۱
شاخص کیفیت خاک به روش غیرخطی (SQI (NL))	۰/۳۷	۰/۴۹	۰/۷۱	۰/۰۶۸	۱/۹۲

توزیع مکانی شاخص کیفیت خاک و برخی ویژگی‌های مؤثر در مجموعه MDS که به‌ویژه از تشابه مکانی بیشتری برخوردار بودند در (شکل۳) نشان داده شد. کی و همکاران (۲۰۰۹) اعلام کردند که مقادیر SQI بزرگ‌تر از ۰/۷۸ نشان‌دهنده بیشترین تناسب برای رشد گیاه است. در خاک‌های مطالعه شده چنین کیفیتی مشاهده نشد اما در بخش‌های میانی مقدار SQI بیشتر از دیگر نواحی بود. از سوی دیگر توزیع مکانی شاخص کیفیت خاک از محدوده‌های اراضی آبی (شکل ۱) و دیم پیروی نکرد، اما مقایسه کیفیت خاک با ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک‌نشان داد که بیشترین شباهت کیفیت خاک با ویژگی‌های زیستی خاک ازجمله جمعیت کل باکتری، تنفس میکروبی، فعالیت آنزیم اوره‌آز و بعدازآن ویژگی‌های آهن قابل‌استفاده است (شکل ۳). کمیت شاخص کیفیت خاک و تنفس میکروبی در بخش میانی ناحیه مطالعه شده بیشتر بود. هرچه فعالیت میکروبی بیشتر باشد به دنبال آن تنفس میکروبی در خاک نیز افزایش می‌یابد. تنفس با محتوای کربن آلی خاک به‌عنوان منبع انرژی میکروبی و با جمعیت کل میکروب‌های خاک مرتبط است (الفیاتی و همکاران، ۲۰۱۹؛ کلمن و همکاران، ۲۰۰۴).

باکتری‌ها به‌ویژه گونه‌های سودوموناس ممکن است انواعی از سیدروفورها را تولید کنند که دسترسی آهن را در شرایط محدودکننده آهن افزایش می‌دهد (کالیا و همکاران، ۲۰۲۰). این یافته‌ها نشان‌دهنده تأثیرپذیری زیاد کیفیت خاک از ویژگی‌های زیستی در ناحیه مطالعه شده بود و نشان داد که هرچند نمونه‌برداری، آماده‌سازی و اندازه‌گیری ویژگی‌های زیستی دشوار است اما نمی‌توان از نقش آن‌ها در کیفیت خاک چشم پوشید.



شکل ۲- رگرسیون بین شاخص کیفیت خاک (SQI) محاسبه‌شده با استفاده از روش خطی (L) و غیرخطی (NL) برای خاک‌های منطقه موردمطالعه



ب

الف

ت

پ

ث

شکل ۳- توزیع مکانی SQI (NRMSE = ۱۳ و ME = -۰/۰۰۵)، (الف)، جمعیت کل باکتری (NRMSE = ۴/۹ و ME = ۰/۰۰۱)، (ب)، تنفس میکروبی (NRMSE = ۳۰ و ME =-۰/۰۰۴)، (پ)، فعالیت آنزیم اوره‌آز (NRMSE = ۱۹/۹ و ME = -۰/۰۳) (ت) و آهن قابل استفاده (NRMSE = ۳۱ و ME = ۰/۰۰۳) (ث)

نتیجه‌گیری کلی

هرچند از ویژگی‌های زیستی خاک به علت سختی و گرانی اندازه‌گیری، در مطالعات کیفیت خاک کمتر استفاده‌شده است، اما ورود پنج ویژگی زیستی خاک در MDS در این مطالعه اهمیت مشارکت این ویژگی‌ها در تعیین کیفیت خاک را نشان داد.

توزیع مکانی شاخص کیفیت خاک و ویژگی‌های MDS نشان‌دهنده تأثیرپذیری شدید کیفیت خاک از ویژگی‌های زیستی بود. ویژگی‌های زیستی با وارد شدن در MDS به نظر می‌رسد نقش مهمی در کیفیت و حاصلخیزی خاک منطقه مطالعه شده داشته باشند. این یافته نشان می‌دهد که در ارزیابی کیفیت خاک، بهبود حاصلخیزی خاک و مدیریت تغذیه گیاه، نمی‌توان نقش ویژگی‌های زیستی خاک را نادیده گرفت.

از سویی دیگر این یافته‌ها نشان دادند SQI، به‌عنوان یک رویکرد مبتنی بر دانش باقابلیت دسترسی و انعطاف‌پذیری می‌تواند اطلاعات بیشتری برای تصمیم‌سازی ارتقای حاصلخیزی خاک و مدیریت تغذیه گیاه نسبت به هریک از ویژگی‌های انفرادی اندازه‌گیری شده در مقیاس ناحیه‌ای در اختیار کارشناسان و بهره‌برداران قرار دهد.

سپاسگزاری

نویسندگان از موسسه تحقیقات خاک و آب کشور (SWRI) سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO) برای حمایت مالی در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی رادارند. نویسندگان مراتب تشکر صمیمانه خود را از سرکار خانم دکتر بهاره دلسوز خاکی برای کمک‌های ایشان در انجام آنالیزهای آماری و همچنین از سرکار خانم‌ها مهندس خدیجه اربابی و اکرم اوتادی در موسسه تحقیقات خاک و آب، برای همکاری ایشان در انجام آزمایشات زیستی ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

۱. افتخاری، ک. ۱۳۹۷. شناسائی و تفکیک واحدهای همگن بر مبنای خصوصیات خاک، تیپ‌های کاربری اراضی و وضعیت کمی و کیفی منابع آب در زیر حوضه هنام. گزارش نهایی طرح، شماره ۵۵۲۲۱، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، ایران.

۲. امامی، ح.، آستارایی، ع. و فتوت، ا. ۱۳۹۲. ارزیابی تأثیر مواد آلی بر توابع نمره دهی کیفیت خاک. نشریه آب‌وخاک (علوم و صنایع غذایی) . جلد ۲۸ (شماره ۳)، ۵۶۵-۵۷۴.

۳. مشیری، ف.، خادمی، ز.، سعادت، س.، رشیدی، ن.، سدری، م. ح.، غیبی، م. سماوات، س.، اسدی رحمانی، ه.، طهرانی، م.، فیضی اصل، و.، خوگر، ز.، کشاورز، پ. و شهابی، ع. ا. ۱۳۹۳. دستورالعمل مدیریت تلفیقی حاصلخیزی خاک و تغذیه گندم. موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، ایران. ۸۴ صفحه.

4. Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., Meftah Kadmiri, I. 2021. Nitrogen fixing Azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. Frontiers in microbiology, 12: 628379.

5. Abas, A. 2021. A systematic review on biomonitoring using lichen as the biological indicator: A decade of practices, progress and challenges. Ecological Indicators, 121: 107197.

6. Abraham, J.S., Sripoorna, S., Dagar, J., Jangra, S., Kumar, A., Yadav, K., Singh, S., Goyal, A., Maurya, S., Gambhir, G. 2019. Soil ciliates of the Indian Delhi Region: Their community characteristics with emphasis on their ecological implications as sensitive bio-indicators for soil quality. Saudi Journal of Biological Sciences 26: 1305-1313.

7. Andrews, S.S., Carroll, C.R. 2001. Designing a Soil Quality Assessment Tool for Sustainable Agroecosystem Management. Ecological Applications, 11: 1573-1585.
8. Andrews, S.S., Karlen, D.L., Cambardella, C.A., 2004. The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. Soil Science Society of America Journal, 68: 1945–1962.
9. Alef, K., Nannipieri, P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press.
10. Alves de Castro Lopes, A., Gomes de Sousa, D.M., Chaer, G.M., Bueno dos Reis Junior, F., Goedert, W.J., de Carvalho Mendes, I. 2013. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. Soil Science Society of America Journal 77: 461-472.
11. Anderson, T.-H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. Agriculture, Ecosystems & Environment 98: 285-293.
12. Anderson, T.-H., Domsch, K.H. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. Soil biology and biochemistry, 21: 471-479.
13. Bandyopadhyay, S., Maiti, S.K. 2021. Application of statistical and machine learning approach for prediction of soil quality index formulated to evaluate trajectory of ecosystem recovery in coal mine degraded land. Ecological Engineering, 170: 106351.
14. Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods, 5: 1085-1121.
15. Cambardella, C. A., Moorman, T. B., Novak, J. M., Parkin, T. B., Karalan, D. L., Turco, R. F., Konopka, A. E. 1994. Field Scale Variability of Soil Properties in Central Iowa Soils. Soil Science Society of America Journal, 58: 1501-1511.
16. Campbell, T.P., Ulrich, D.E., Toyoda, J., Thompson, J., Munsky, B., Albright, M.B., Bailey, V.L., Tfaily, M.M., Dunbar, J. 2022. Microbial Communities Influence Soil Dissolved Organic Carbon Concentration by Altering Metabolite Composition.
17. Chandel, S., Hadda, M., Mahal, A. 2018. Soil quality assessment through minimum data set under different land uses of submontane Punjab. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 49: 658-674.
18. Coleman, M.D., Friend, A.L., Kern, C.C. 2004. Carbon allocation and nitrogen acquisition in a developing Populus deltoides plantation. Tree Physiology, 24: 1347-1357.
19. Das, S.K., Varma, A., 2010. Role of enzymes in maintaining soil health, Soil enzymology. Springer, pp. 25-42.
20. Delgado, A., Gómez, J.A. 2016. The soil. Physical, chemical and biological properties, Principles of agronomy for sustainable agriculture. Springer, pp. 15-26.
21. Ebrahimi, M., Sarikhani, M.R., Shiri, J. 2022. Application of artificial neural network and gene expression programming to estimate soil microbial metabolic quotient. Applied Soil Ecology 175, 104465.
22. Elfiati, D., Susilowati, A., Rachmat, H.H. 2019. Microbes Population and Soil Respiration Under The Kemenyan (Styrax spp) Stand Rhizosphere. KnE Engineering, 75–84.
23. Fathizad, H., Ardakani, M.A.H., Heung, B., Sodaiezadeh, H., Rahmani, A., Fathabadi, A., Scholten, T., Taghizadeh-Mehrjardi, R. 2020. Spatio-temporal dynamic of soil quality in the central Iranian desert modeled with machine learning and digital soil assessment techniques. Ecological Indicators, 118, 106736.
24. Gee, G., Bauder, J. 1986. Particle-size analysis. p. 383–411. A. Klute (ed.) Methods of soil analysis. Part 1. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison,

WI. Particle-size analysis. p. 383–411. In A. Klute (ed.) Methods of soil analysis. Part 1. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

25. Geisseler, D., Horwath, W.R. 2009. Short-term dynamics of soil carbon, microbial biomass, and soil enzyme activities as compared to longer-term effects of tillage in irrigated row crops. Biology and Fertility of Soils, 46: 65-72.
26. Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M., Seoane, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. Soil biology and biochemistry, 37: 877-887.
27. Griffiths, R.I., Thomson, B.C., James, P., Bell, T., Bailey, M., Whiteley, A.S. 2011. The bacterial biogeography of British soils. Environmental microbiology, 13: 1642-1654.
28. Griffiths, R.I., Thomson, B.C., Plassart, P., Gweon, H.S., Stone, D., Creamer, R.E., Lemanceau, P., Bailey, M.J. 2016. Mapping and validating predictions of soil bacterial biodiversity using European and national scale datasets. Applied Soil Ecology, 97: 61-68.
29. Guo, L., Sun, Z., Ouyang, Z., Han, D., Li, F., 2017. A comparison of soil quality evaluation methods for Fluvisol along the lower Yellow River. Catena, 152: 135-143.
30. Guo, L.B., Gifford, R.M. 2002. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. Global change biology, 8: 345-360.
31. Hanson, P.J., Walker, A.P. 2020. Advancing global change biology through experimental manipulations: Where have we been and where might we go? Global change biology, 26: 287-299.
32. Hartman, W.H., Richardson, C.J. 2013. Differential nutrient limitation of soil microbial biomass and metabolic quotients (qCO2): is there a biological stoichiometry of soil microbes? PloS one 8, e57127.
33. Hayat, W., Khan, S., Hayat, M.T., Pervez, R., Ahmad, S., Iqbal, A. 2021. The effect of deforestation on soil quality in Lesser-Himalayan community forests of Abbottabad, Pakistan. Arabian Journal of Geosciences, 14: 1-14.
34. Helmke, P., Spark, D. 1996. Potassium, P 551-574. Methods of Soil Analysis. SSSA, Inc. ASA, Inc. Madison, WI.
35. Hessari, B., Oweis, T. 2021. Conjunctive use of green and blue water resources in agriculture: Methodology and application for supplemental irrigation. Irrigation and Drainage, 70: 1193-1208.
36. Horwath, W., Paul, E. 1994. Microbial biomass. Methods of Soil Analysis: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties, 5: 753-773.
37. Jahn, R., Blume, H., Asio, V., Spaargaren, O., Schad, P. 2006. Guidelines for soil description. FAO.
38. Jamieson, P.D., Porter, J.R. and Wilson, D.R. 1991. A test of the computer simulation model ARCWHEAT1 on wheat crops grown in New Zealand. Field crops research, 27(4): 337-350.
39. Jia, X., Zhong, Y., Liu, J., Zhu, G., Shangguan, Z., Yan, W., 2020. Effects of nitrogen enrichment on soil microbial characteristics: From biomass to enzyme activities. Geoderma, 366, 114256.
40. Kalia, A., Sharma, S.P., Kaur, S., Kaur, H. 2020. Bacterial inoculants: how can these microbes sustain soil health and crop productivity?, Soil health. Springer, pp. 337-372.
41. Kutu, F.R., Mokase, T., Dada, O., Rhode, O. 2019. Assessing microbial population dynamics, enzyme activities and phosphorus availability indices during phospho-compost production. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 8: 87-97.
42. Liang, X., Jin, Y., He, M., Liu, Y., Hua, G., Wang, S., Tian, G., 2017. Composition of phosphorus species and phosphatase activities in a paddy soil treated with manure at varying rates. Agriculture, Ecosystems & Environment, 237: 173-180.

43. Lindsay, W.L. 1979. Chemical equilibria in soils. John Wiley and Sons Ltd.
44. Lindsay, W.L., Norvell, W. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil science society of America journal, 42: 421-428.
45. Liu, S., Wang, J., Pu, S., Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y., Razavi, B.S. 2020. Impact of manure on soil biochemical properties: A global synthesis. Science of the Total Environment, 745, 141003.
46. Margalef, O., Sardans, J., Fernández-Martínez, M., Molowny-Horas, R., Janssens, I., Ciais, P., Goll, D., Richter, A., Obersteiner, M., Asensio, D. 2017. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. Scientific Reports, 7: 1-13.
47. Masto, R., Chhonkar, P., Purakayastha, T., Patra, A., Singh, D. 2008. Soil quality indices for evaluation of long-term land use and soil management practices in semi-arid sub-tropical India. Land degradation & development, 19: 516-529.
48. Maurya, S., Abraham, J.S., Somasundaram, S., Toteja, R., Gupta, R., Makhija, S. 2020. Indicators for assessment of soil quality: a mini-review. Environmental Monitoring and Assessment, 192: 1-22.
49. Meena, A., Rao, K. 2021. Assessment of soil microbial and enzyme activity in the rhizosphere zone under different land use/cover of a semiarid region, India. Ecological Processes, 10: 1-12.
50. Milani, P.M., Eftekhari, K., Fatehi, S., Sepahvand, M., Turkelboom, F., De Pauw, E., Bruggeman, A. 2010. Semi-detailed soil surveys of Merek and Honam watersheds, Karkheh river basin, Iran. ICARDA, Aleppo, Syria. vi.
51. Moran-Rodas, V.E., Chavannavar, S.V., Joergensen, R.G., Wachendorf, C. 2022. Microbial response of distinct soil types to land-use intensification at a South-Indian rural-urban interface. Plant and Soil, 473: 389-405.
52. Nabiollahi, K., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Kerry, R., Moradian, S. 2017. Assessment of soil quality indices for salt-affected agricultural land in Kurdistan Province, Iran. Ecological indicators, 83: 482-494.
53. Negiş, H., Şeker, C. 2020. Estimation of soil quality of under long term sugar beet-wheat cropping system by factor analysis. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 51: 440-455.
54. Nehrani, S.H., Askari, M.S., Saadat, S., Delavar, M.A., Taheri, M., Holden, N.M. 2020. Quantification of soil quality under semi-arid agriculture in the northwest of Iran. Ecological Indicators, 108, 105770.
55. Niemeyer, J.C., Lolata, G.B., de Carvalho, G.M., Da Silva, E.M., Sousa, J.P., Nogueira, M.A. 2012. Microbial indicators of soil health as tools for ecological risk assessment of a metal contaminated site in Brazil. Applied Soil Ecology, 59: 96-105.
56. Norfleet, M., Ditzler, C., Puckett, W., Grossman, R., Shaw, J. 2003. Soil quality and its relationship to pedology. Soil Science, 168: 149-155.
57. O'Brien, F.J., Almaraz, M., Foster, M.A., Hill, A.F., Huber, D.P., King, E.K., Langford, H., Lowe, M.-A., Mickan, B.S., Miller, V.S. 2019. Soil salinity and pH drive soil bacterial community composition and diversity along a lateritic slope in the Avon River critical zone observatory, Western Australia. Frontiers in microbiology, 10, 1486.
58. Oldfield, E.E., Wood, S.A., Bradford, M.A. 2018. Direct effects of soil organic matter on productivity mirror those observed with organic amendments. Plant and Soil, 423: 363-373.
59. Olsen, S.R. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Department of Agriculture.
60. Peltzer, D.A., Wardle, D.A., Allison, V.J., Baisden, W.T., Bardgett, R.D., Chadwick, O.A., Condron, L.M., Parfitt, R.L., Porder, S., Richardson, S.J. 2010. Understanding ecosystem retrogression. Ecological Monographs, 80: 509-529.

61. Pouladi, N., Jafarzadeh, A.A., Shahbazi, F., Ghorbani, M.A., Greve, M.H. 2020. Assessing the soil quality index as affected by two land use scenarios in Miandoab region. SN Applied Sciences, 2: 1-11.
62. Pourhemmat, J. 2012. Water resources of the Karkheh River basin: hydrology, runoff, and water balance. Aleppo, Syria: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
63. Qi, Y., Darilek, J.L., Huang, B., Zhao, Y., Sun, W., Gu, Z. 2009. Evaluating soil quality indices in an agricultural region of Jiangsu Province, China. Geoderma, 149: 325-334.
64. Rabot, E., Wiesmeier, M., Schlüter, S., Vogel, H.-J. 2018. Soil structure as an indicator of soil functions: A review. Geoderma, 314: 122-137.
65. Raiesi, F. 2017. A minimum data set and soil quality index to quantify the effect of land use conversion on soil quality and degradation in native rangelands of upland arid and semiarid regions. Ecological indicators, 75: 307-320.
66. Raiesi, F., Salek-Gilani, S. 2020. Development of a soil quality index for characterizing effects of land-use changes on degradation and ecological restoration of rangeland soils in a semi-arid ecosystem. Land Degradation & Development. 31, 1533-1544.
67. Rezaei, S.A., Gilkes, R.J., Andrews, S.S. 2006. A minimum data set for assessing soil quality in rangelands. Geoderma, 136: 229-234.
68. Rhoades, J. 1983. Soluble salts. Methods of soil analysis: part 2 chemical and microbiological properties, 9: 167-179.
69. Rinot, O., Levy, G.J., Steinberger, Y., Svoray, T., Eshel, G. 2019. Soil health assessment: A critical review of current methodologies and a proposed new approach. Science of the Total Environment, 648: 1484-1491.
70. Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N. 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. The ISME journal, 4: 1340-1351.
71. Rowell, D.L. 2014. Soil science: Methods & applications. Routledge.
72. Roy, D., Datta, A., Jat, H., Choudhary, M., Sharma, P., Singh, P., Jat, M. 2022. Impact of long term conservation agriculture on soil quality under cereal based systems of North West India. Geoderma, 405, 115391.
73. Sage, R.F. 2020. Global change biology: A primer. Global Change Biology, 26: 3-30.
74. Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin, R. 2012. Methods in soil biology. Springer Science & business media.
75. Scrimgeour, C. 2008. Soil Sampling and Methods of Analysis . Edited by MR Carter and EG Gregorich. Boca Raton, Fl, USA: CRC Press (2008), pp. 1224,£ 85.00. ISBN-13: 978-0-8593-3586-0. Experimental agriculture, 44: 437-437.
76. Seaton, F.M., George, P.B., Lebron, I., Jones, D.L., Creer, S., Robinson, D.A. 2020. Soil textural heterogeneity impacts bacterial but not fungal diversity. Soil Biology and Biochemistry, 144, 107766.
77. Shao, G., Ai, J., Sun, Q., Hou, L., Dong, Y. 2020. Soil quality assessment under different forest types in the Mount Tai, central Eastern China. Ecological indicators, 115, 106439.
78. Singh, H.B., Vaishnav, A. 2021. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Elsevier.
79. Siwik-Ziomek, A., Brzezinska, M., Lemanowicz, J., Koper, J., Szarlip, P. 2018. Biological parameters in technogenic soils of a former sulphur mine. International Agrophysics, 32 (2): 237-245.
80. Sparling, G.P. 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. Soil Research, 30: 195-207.

81. Spohn, M., Carminati, A., Kuzyakov, Y. 2013. Soil zymography–a novel in situ method for mapping distribution of enzyme activity in soil. Soil Biology and Biochemistry, 58: 275-280.
82. Staff, S. 2014. Keys to Soil Taxonomy, 12th Edn Washington. DC: Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture.
83. Stone, D., Ritz, K., Griffiths, B., Orgiazzi, A., Creamer, R. 2016. Selection of biological indicators appropriate for European soil monitoring. Applied Soil Ecology, 97: 12-22.
84. Tavakoli, A.R., Oweis, T., Ashrafi, S., Asadi, H., Siadat, H., Liaghat, A. 2010. Improving rainwater productivity with supplemental irrigation in upper Karkheh river basin of Iran. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.
85. Terrat, S., Horrigue, W., Dequietd, S., Saby, N.P., Lelièvre, M., Nowak, V., Tripied, J., Régnier, T., Jolivet, C., Arrouays, D. 2017. Mapping and predictive variations of soil bacterial richness across France. PloS one 12, e0186766.
86. Tian, Y., Xu, Z., Wang, J., Wang, Z. 2022. Evaluation of Soil Quality for Different Types of Land Use Based on Minimum Dataset in the Typical Desert Steppe in Ningxia, China. Journal of Advanced Transportation 2022.
87. Trasar-Cepeda, M.C., Gil-Sotres, F. 1987. Phosphatase activity in acid high organic matter soils in Galicia (NW Spain). Soil Biology and Biochemistry, 19: 281-287.
88. Umer, M.I., Rajab, S.M., Ismail, H.K. 2020. Effect of CaCO3 form on soil inherent quality properties of calcareous soils, Materials Science Forum. Trans Tech Publ, pp. 459-467.
89. Usharani, K., Roopashree, K., Naik, D. 2019. Role of soil physical, chemical and biological properties for soil health improvement and sustainable agriculture. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8: 1256-1267.
90. Vasu, D., Singh, S.K., Ray, S.K., Duraisami, V.P., Tiwary, P., Chandran, P., Nimkar, A.M., Anantwar, S.G. 2016. Soil quality index (SQI) as a tool to evaluate crop productivity in semi-arid Deccan plateau, India. Geoderma, 282: 70-79.
91. Wang, M., Markert, B., Shen, W., Chen, W., Peng, C., Ouyang, Z. 2011. Microbial biomass carbon and enzyme activities of urban soils in Beijing. Environmental Science and Pollution Research, 18: 958-967.
92. Wardle, D. 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. Biological reviews, 67: 321-358.
93. Waswa, B.S., Vlek, P.L., Tamene, L.D., Okoth, P., Mbakaya, D., Zingore, S. 2013. Evaluating indicators of land degradation in smallholder farming systems of western Kenya. Geoderma, 195: 192-200.
94. Wilding, L.P., Drees, L.R. 1983. Spatial variability and pedology. Concepts and interactions, 83-116.
95. Yao, R., Yang, J., Gao, P., Zhang, J., Jin, W. 2013. Determining minimum data set for soil quality assessment of typical salt-affected farmland in the coastal reclamation area. Soil and Tillage Research, 128: 137-148.
96. Yu, P., Liu, S., Zhang, L., Li, Q., Zhou, D. 2018. Selecting the minimum data set and quantitative soil quality indexing of alkaline soils under different land uses in northeastern China. Science of the Total Environment, 616: 564-571.
97. Zhao, Q., Tang, J., Li, Z., Yang, W., Duan, Y. 2018. The influence of soil physico-Chemical properties and enzyme activities on soil quality of saline-alkali agroecosystems in western Jilin Province, China. Sustainability, 10, 1529.
98. Evaluation of the role of biological properties in the soil quality of Hanam sub-basin of Lorestan province

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/ص۱۳۹-۱۵۴
dx.doi.org/10.22092/sbj.2024.361318.245

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای و کنترل عوامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی

احمد اصغرزاده*، کبری ثقفی، الهام فتاحی فر، منوچهر جناقی و ندا علیزاده

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب (سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی)، بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، کرج، ایران
a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات، کارشناس آمار و پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب (سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی ، بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، کرج، ایران **saghafi.varesh@gmail.com**

دانش‌آموخته دکتری صنایع غذایی، معاون مدیرکل دفتر گلخانه، گیاهان زینتی و قارچ معاونت باغبانی وزارت جهاد کشاورزی ، تهران، ایران**elfa57food@yahoo.com**

کارشناس ارشد، مدیرعامل شرکت قارچ سحر، هشتگرد، کرج، ایران **sahsar63mashrom@gmail.com**

کارشناس بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب (سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی) ، کرج، ایران.
nena_twens@yahoo.com

«مقاله پژوهشی»

دریافت:۱۴۰۱/۱۱/۱۲ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

چکیده

در حال حاضر متوسط مقدار تولید قارچ دکمه‌ای در هر مترمربع ۱۷ تا ۲۰ کیلوگرم است، افزایش آن به ۲۲ تا ۲۷ کیلوگرم در مترمربع می‌تواند تولید این محصول را اقتصادی‌تر و در بازارهای جهانی رقابتی نماید. علاوه بر انتخاب ارقام پر محصول، یکی از راه‌های افزایش عملکرد، تسلط علمی بر فرآیندهای میکروبی تولید کمپوست و تغذیه مناسب قارچ با استفاده از انواع مکمل‌های زیستی، آلی و شیمیایی است. در این پژوهش از ۹ سویه برتر جنس سودوموناس، ۶ سویه *باسیلوس سوبتلیس* و ۵ سویه *باسیلوس تورنجینسیس* به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد و زیست مهارگر استفاده شد. نتایج نشان داد، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین سویه‌ها وجود نداشت اما همه سودوموناس‌ها توان تحریک رشد میسلیوم‌های قارچ دکمه‌ای را داشتند و در این میان سویه P8 از بیشترین توان محرک رشدی برخوردار بود. سویه‌های S1 و S6 *باسیلوس سوبتلیس* نیز به‌طور معنی‌داری رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی را تحریک کردند. از میان سویه‌های *باسیلوس تورنجینسیس* نیز ایزوله‌های T2، T3 و T5جزو سویه‌های مؤثر در افزایش رشد میسیلیوم‌ها شناسایی شدند. سویه‌های S2، S5، T1 و T4 علاوه بر خواص زیست مهارگری قارچ‌های بیماری‌زا، اثرات مهارکنندگی بر رشد قارچ خوراکی بر روی پلیت حاوی PDA/NA + extract را نشان داده و باعث مهار رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی شدند. بیشترین اثر زیست کنترلی برای سویه S3 بر روی قارچ تریکودرما و سویه S6 بر روی قارچ مایکوگون مشاهده گردید. حداکثر قطر هاله کلونی مهاری برای دو سویه مذکور برابر با ۲۰ میلی‌متر و کمترین اثر زیست کنترلی مربوط به سویه T5 بود. با توجه به صفات مفید و متفاوتی که گونه‌های دو جنس مورداستفاده از خود نشان دادند، به نظر می‌رسد استفاده از کنسرسیومی از باکتری‌ها به‌عنوان کود زیستی اثرات بسیار بیشتری در محصول قارچ دکمه‌ای داشته باشند.

کلمات کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، کود زیستی، قارچ، هم‌افزایی رشد

* آدرس ایمیل نویسنده مسئول: a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

مقدمه

بیشتر مطالعات بر روی قارچ‌ها و باکتری‌های مورداستفاده در بخش کشاورزی در محیط‌های استریل و به‌طور جداگانه و مستقل از هم انجام‌گرفته و به همین منوال نیز در حال انجام است. درحالی‌که در طبیعت، قارچ‌ها و باکتری‌ها و دیگر میکروارگانیسم‌ها در تماس نزدیک باهم بوده و اثرات متقابل خود را بر همدیگر اعمال می‌کنند. اثرات متقابل قارچ و باکتری که به‌طور خلاصه BFIs[1] نامیده می‌شود، در سال‌های اخیر بسیار موردتوجه قرارگرفته و عمق و وسعت یافته است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد رفتار باکتری‌ها و قارچ‌ها در کنار هم نسبت به حالتی که به‌تنهایی رشد می‌کنند بسیار متفاوت است (فری کلت و همکاران، ۲۰۱۱، رابینسون و همکاران، ۲۰۲۱، تارکا و همکاران، ۲۰۰۹). در کشاورزی نوع اثرات متقابل قارچ‌ها و باکتری‌ها به شکل مضر و یا مفید و از سطح تماس فیزیکی ساده تا تغییرات فیزیولوژیک و تغییرات ژنی در هر دو طرف همکاری تغییر می‌نماید. گونه‌های مختلف باکتری‌های جنس سودوموناس به‌عنوان شناخته‌شده‌ترین باکتری‌ها در کشت قارچ خوراکی دارای اثرات متفاوتی بر رشد این قارچ هستند. *Pseudomonas tolaasii* میسیلیوم قارچ را آلوده می‌کند و بیماری لکه قهوه‌ای ناشی از این باکتری با تشکیل کلاهک‌ها ظاهر می‌شود. این بیماری یکی از بیماری‌های شایع در سالن‌های صنعتی و سنتی قارچ خوراکی در کشور است. تحقیقات انجام‌گرفته در سالن‌های تولید قارچ در کرج و تهران نشان می‌دهد که بیماری لکه قهوه‌ای[2] یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در این دو استان بوده و بیماری مایکوگون[3] و آلودگی به کپک سبز[4] و مومیایی شدن[5] در رتبه‌های بعدی قرار دارند (نمازی و همکاران ۱۳۹۴ و خباز و همکاران ۱۳۸۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهد این بیماری را می‌توان با سویه‌های مناسب از گونه‌های *P. fluoresences* و *P. reactans* کنترل نمود (خباز، ۱۳۸۴و فری کلت و همکاران، ۲۰۱۱).

بیماری‌های ناشی از انواع سودوموناس‌ها اغلب توسط گونه‌های مناسبی از سودوموناس ازجمله *Pseudomonas fluorescens* وبه‌ویژه *Pseudomonas putida* و یا انواعی از باسیلوس‌های گرم مثبت قابل‌کنترل هستند (خباز، ۱۳۸۴و فری کلت و همکاران، ۲۰۱۱). به‌عبارتی‌دیگر، گونه‌های مختلف جنس سودوموناس در تماس با قارچ دکمه‌ای رفتارهای متفاوتی نشان می‌دهند. از گونه‌های بیماری‌زا، بی‌تأثیر تا باکتری مفید با اثرات افزایش محصول و کاهش اثرات مخرب دیگرگونه‌ها در بین آن‌ها وجود دارد. گونه *Pseudomonas putida* یکی از گونه‌های بسیار مؤثر در تولید قارچ دکمه‌ای و کنترل عوامل بیماری‌زا است (فری کلت و همکاران، ۲۰۱۱ و کرتاز و تای، ۲۰۱۸).

هرچند استفاده از انواع مکمل‌های رشد در مراحل مختلف تولید قارچ خوراکی از مرحله تولید کمپوست تا مرحله برداشت محصول، در تحقیقات سال‌های دهه ۶۰ ریشه دارد اما استفاده تجاری از پتانسیل انواع باکتری‌ها و قارچ‌های مفید به‌عنوان عوامل محرک رشد قارچ‌های خوراکی با اختصار MGP[6] در سال‌های اخیر عمومیت‌یافته است (کرتاز و تای، ۲۰۱۸). بر اساس دانش تولیدکنندگان و سوابق علمی و تقاضای بازار، مکمل‌های میکروبی می‌تواند همراه با انواع عناصر غذایی ماکرو و میکرو، ویتامین‌ها، انواع پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه عرضه شوند. استفاده منفرد و یا ترکیبی آن‌ها سبب افزایش کمی و کیفی محصول می‌گردد. در مراحل مختلف رشد قارچ خوراکی، انواع متفاوتی از مایه تلقیح قابل‌استفاده است. گونه‌هایی از جنس‌های *Paenibacillus*، *Bacillus*، *Azotobacter* و *Pseudomonas* به‌عنوان مایه تلقیح برای افزایش و تحریک رشد میسلیوم‌های قارچ‌های دکمه‌ای استفاده‌شده‌اند. این مایه تلقیح‌ها اغلب علاوه بر اثرات

[1] - Bacterial-Fungal Interactions
[2] - Brown Blotch
[3] - Mycogone
[4] - Green Mould
[5] - Mummy
[6] - Mushroom Growth Promoting fungi and bacteria

کودهای زیستی، عواملی برای کنترل زیستی قارچ‌های ساپروفیت و قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا در تولید قارچ‌های خوراکی نیز بوده‌اند (پایوپانونت و همکاران ۲۰۱۱، جادهاوو و همکاران ۲۰۱۴ و پارتیکشا و همکاران ۲۰۱۷).

بر اساس تحقیقات کرتاز و تای (۲۰۱۸) گونه‌هایی از جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Bradyrhizobium* می‌تواند در مراحل تولید کمپوست، در زمان تهیه بستر کشت، مراحل خاک‌دهی و حتی در مرحله تولید پین و تولید محصول بسیار مؤثر باشند. در این مطالعه بر تأثیر جنس سودوموناس و گونه پوتیدا در مرحله خاک‌دهی بیشتر تأکید شده است. فرمور و همکاران (۱۹۹۹) با نشان‌دار کردن کربن مورداستفاده باکتری نشان دادند زیست‌توده میکروبی تولیدشده در مراحل مختلف تولید کمپوست به‌عنوان منبع کربنی توسط قارچ استفاده می‌شود و قارچ دکمه‌ای این منبع را بر دیگر منابع ترجیح می‌دهد. وجود این منبع برای رشد قارچ ضروری است و بستر رشد را برای قارچ دکمه‌ای اختصاصی می‌کند. هر عاملی که سبب افزایش مقدار و کیفیت این منبع برای قارچ گردد، سبب افزایش رشد میسلیوم‌های قارچ و بیوماس آن و اختصاصی‌تر شدن آن برای رشد قارچ می‌شود (فرمور و همکاران، ۱۹۹۱). از سوی دیگر، حجم میسیلیوم، گستردگی، سرعت رشد و قدرت نفوذ آن در بستر کشت از فاکتورهای مهم در تصمیم تولیدکنندگان قارچ برای ورود سالن به مرحله زایشی است. هر عاملی که بتواند این مدت را کوتاه و سرعت رشد هیف‌های قارچ را افزایش دهد، ضمن افزایش بهره‌مندی قارچ از عناصر غذایی بستر، مقدار محصول و تعداد دوره‌های کشت در سالن را افزایش می‌دهد و این برای تولیدکنندگان ارزش اقتصادی قابل‌توجهی ایجاد می‌نماید (شاموگام و کورتز ۲۰۲۲، تاسیویلیوا و همکاران ۲۰۲۲، ساووبنووا و همکاران ۲۰۲۳).

برخلاف بعضی از قارچ‌های دارویی برای تولید قارچ دکمه‌ای نیازی به استریل کردن کمپوست نیست و پاستوریزه‌کردن کمپوست کفایت می‌نماید. پاستوریزاسیون قدرت رقابت هیف‌های قارچ را برای اشغال همه سطوح کمپوست افزایش می‌دهد. قارچ دکمه‌ای برای تولید اقتصادی به قدرت آنزیمی تعدادی از باکتری‌ها نیاز دارد. این فلور میکروبی نه‌تنها سبب تجزیه مواد سلولزی و همی سلولزی می‌شوند بلکه در آخر فاز II سبب حذف آمونیاک تولیدی می‌گردد که برای رشد و توسعه هیف‌های قارچ و تولید پین‌های مولد کلاهک ضروری است (شاموگام و کورتز ۲۰۲۲). این همکاری سبب تولید زیست‌توده میکروبی و ترکیب خاصی از اسید هیومیک و لیگنین می‌شود که بدون این همکاری، تولید این مواد ضروری مقدور نخواهد بود و در صورت استریل کردن کمپوست، رشد قارچ دکمه‌ای نیز بسیار کاهش خواهد یافت (ووس و همکاران ۲۰۱۷). شروع تولید اندام‌های زایشی (پین‌ها) فرایند بسیار پیچیده‌ای است که توسط چندین فاکتور محیطی و بیوشیمیایی و میکروبی کنترل می‌شود و هنوز به‌طور کامل شناخته‌نشده است. این فرایند ابعاد پنهان زیادی برای کشف دارد اما تاکنون معلوم شده است که با کاهش دما، رسیدن میسیلیوم‌ها به مرحله خاصی از رشد، افزایش هوادهی و کاهش CO_2 شروع می‌گردد. کاهش دما عامل مؤثری در تغییر فاز رشد میسیلیوم‌ها به فاز زایشی است ولی تعداد پین‌ها را مقدار کاهش CO_2 تعیین می‌کند (ایستوود و همکاران ۲۰۱۳). در مورد قارچ دکمه‌ای، استفاده از خاک‌پوششی برای تحریک تولید پین ضروری است. این خاک معمولاً علاوه بر شرایط فیزیکی خاص، باید حاوی میکروارگانیسم‌های مناسبی باشد (هاییس و همکاران، ۱۹۶۹). درصورتی‌که خاک‌پوششی استریل بوده و یا فاقد جمعیت مناسب از باکتری‌ها باشد، بهتر است با گونه مناسبی از باکتری‌های جنس سودوموناس تلقیح شود تا بتواند وظیفه خود را به‌درستی ایفا نماید. به نظر می‌رسد یکی از نقش‌های اصلی سودوموناس‌های تلقیح شده، تجزیه مواد مترشحه توسط هیف‌های قارچ باشد که برای ورود به مرحله زایشی حذف آن‌ها ضروری است. یکی از این ترکیبات 1-Octen-3-ol است که در اثر رشد هیف‌ها، در محیط ترشح‌شده و مانع از پین‌زایی می‌گردد. ماده

شناخته‌شده دیگری که به‌عنوان یک مهارگر عمل می‌کند، اتیلن مترشحه از هیف‌های در حال رشد است که باکتری‌ها با حذف این دو ماده سبب پین‌زایی در قارچ دکمه‌ای می‌شوند (نوبل و همکاران، ۲۰۰۹ و ناینکه و همکاران، ۲۰۲۲).

مطالعات زنگ و همکاران (۲۰۱۶) و ناینکه و همکاران (۲۰۲۲) نشان می‌دهد که استفاده از باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* با توان تولید مقدار مناسبی از ACC deaminase می‌تواند نقش مؤثری در فرایند پین‌زایی داشته باشد. یانگ و همکاران (۲۰۱۳) و کومار (۲۰۱۸) نیز نشان داده‌اند که استفاده از کودهای زیستی به‌صورت تک‌گونه‌ای و ترکیبی (*Bacillus Pseudomonas putida*, *megaterium*) می‌تواند عاملی برای افزایش محصول در تولید قارچ دکمه‌ای تا ۲۱۵ درصد باشد و افزایش سرعت تولید تا حصول محصول نیز تا ۲۶ روز گزارش‌شده است. علاوه بر باکتری‌ها، نقش قارچ ترموفیل(*Mycothermus thermophilus* (*Scytalidium thermophilum*، در مرحله رسیدگی کمپوست فاز II قارچ دکمه‌ای، برای انتخابی شدن کمپوست و افزایش محصول برای این قارچ به علت توان ایموبلیزه کردن آمونیاک بسیار مؤثر شناخته‌شده است (سانچز و همکاران، ۲۰۰۸، کوائو کاستیلو و همکاران، ۲۰۰۹ و نات ویگ و همکاران، ۲۰۱۵).

اگرچه تعداد زیادی مایه تلقیح و کود زیستی بر پایه انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها در بخش کشاورزی تجاری شده است اما همچنان تحقیقات در این زمینه درحال‌توسعه است (فینکل و همکاران، ۲۰۱۷). تحقیق جاری نیز در راستای تکمیل دانش اثربخشی باکتری‌های محرک رشد بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای، کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای قارچی در شرایط آزمایشگاهی و درنهایت استفاده به‌عنوان مکمل زیستی در تولید قارچ انجام‌گرفته است .

مواد و روش‌ها

انتخاب باکتری‌های مورد ارزیابی

در این پژوهش از گونه‌های مختلفی از باکتری‌های جنس سودوموناس استفاده گردید. این باکتری‌ها قبلاً در قالب طرح‌های پژوهشی از مناطق شور کشور جداسازی و جنس و گونه‌های آن‌ها شناسایی‌شده و ازنظر میزان تولید انواع مواد محرک رشد گیاه و مقاومت به شوری موردبررسی قرارگرفته بودند. انتخاب سویه‌های باکتری بر اساس نیاز به باکتری‌هایی با مشخصات ویژه مورداشاره برای تحریک رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporos* و بر اساس اطلاعات مطالعه شده کلکسیون منتخب باکتری‌های سودوموناس بود. تعداد نه سویه از کلکسیون ۵۶تایی گونه‌های مختلف جنس سودوموناس انتخاب شدند که دو سویه از آن‌ها دارای تعیین توالی کامل ژنومی بودند (ثقفی و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین در این پژوهش از گونه‌های باسیلوس سوبتلیس و باسیلوس تورنجینسیس موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات خاک و آب با صفات زیست مهارگری استفاده گردید. تعداد شش سویه *باسیلوس سوبتلیس* و پنج ۵ سویه از گونه‌های مختلف *باسیلوس تورنجینسیس* انتخاب و پس از بازکشت در آزمایش‌ها هرکدام در سه تکرار بکار گرفته شدند.

تهیه محیط کشت

برای کشت انواع گونه‌های سودوموناس از محیط کشت کینگ‌بی آگار[1] (KB) شرکت هایمدیا[2] و برای کشت باسیلوس‌های اسپوردار موردبررسی از محیط کشت نوترینت آگار[3] (NA) و های‌کروم باسیلوس آگار[4] شرکت هایمدیا استفاده شد. برای کشت مایع این باکتری‌ها نیز از محیط کشت‌های بدون آگار محیط کشت‌های یادشده استفاده گردید. برای کشت هیف قارچ دکمه‌ای از سویه

[1] - King B Agar
[2] - Hi Media
[3] - Nutrient Agar (Cat. Number: 70148-500G, Merck)
[4] - HiChrome Bacillus Agar

معمول مورد کشت در سالن‌های قارچ *Agaricus bisporos*-A15 از کشت هفت‌روزه به ابعاد نیم سانتی‌متر مربع رشد یافته بر روی محیط کشت PDA[1] استفاده شد. همچنین برای کشت قارچ‌های بیماری‌زای مایکوگون (*Mycogone perniciosa*)، تریکودرما (*Trichoderma aggressivum*) و ورتیسیلیوم (*Lecanicillium fungicola*) از محیط کشت PDA[2] استفاده شد. برای انجام آزمایش‌ها نیز از یک برش نیم سانتی‌متر مربعی از کشت هفت روزه آن‌ها استفاده گردید.

تهیه مایه تلقیح

برای تهیه اینوکلوم[3] موردنیاز باکتری‌ها، ۲۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع هر یک از باکتری‌ها، در ارلن‌های ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث[4] تلقیح و یک شب در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند و برای انجام آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شدند (جمعیت حدود CFU 10^7). همچنین اینولکوم قارچ دکمه‌ای و قارچ‌های بیماری‌زا نیز بر روی پلیت‌های حاوی PDA تهیه شدند و از قطعات رشد کرده آن‌ها به ابعاد ۵ میلی‌متر برای تلقیح استفاده شد. برای بررسی تأثیر عصاره کمپوست قارچ [5] بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای از محیط PDA حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره کمپوست استفاده شد.

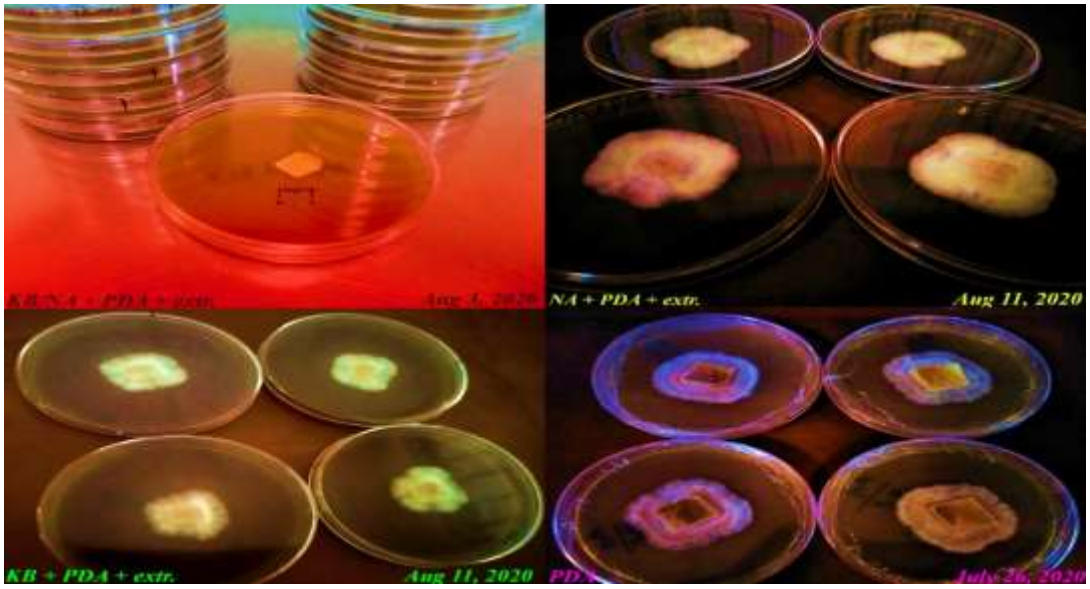
برای بررسی اثرات متقابل قارچ باکتر و باکتری – باکتری نیز از محیط کشت‌های دارای نصف محیط کشت اختصاصی قارچ و نصف حجم محیط کشت اختصاصی باکتری موردبررسی (در کشت‌های دارای قارچ، به همراه عصاره کمپوست قارچ) استفاده شد.

آزمایش‌ها، در سه تکرار انجام شدند و برای انجام آزمایش در وسط پلیت‌های حاوی محیط کشت مشترک قارچ و باکتری، برش نیم سانتی‌متر مربعی از محیط کشت رشد یافته قارچ قرار داده شد (کشت هفت روزه) و در هر چهار گوشه پلیت‌ها ۵ میکرولیتر از باکتری موردبررسی نقطه‌گذاری و در مدت زمان موردنیاز (۳ تا ۹ روز) در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و هاله‌های رشد و یا قطر هاله زیست مهارگری اندازه‌گیری شدند(Montealegre et al., 2003). با اندازه گیری قطر رشد دیسک پاتوژن و مقایسه آن با شاهد و با استفاده از فرمول: ۱۰۰ * (رشدشاهد / رشد قارچ-۱) = درصد بازدارندگی یا توان آنتاگونیستی سویه های جداسازی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار GenStat14 در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) مورد تجزیه آماری قرار گرفت و نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel و R ترسیم شدند.

نتایج

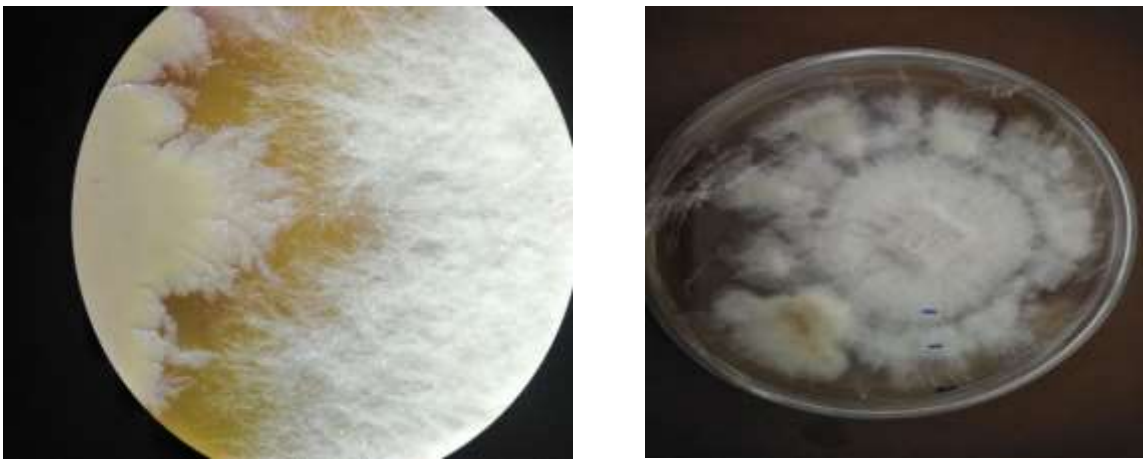
ابتدا به‌منظور انتخاب محیط کشت مناسب و اثرات منفی احتمالی محیط‌های کشت باکتری NA و KB در رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای در محیط کشت مشترک، ترکیبات مختلف این محیط‌های کشت در ترکیب با محیط کشت PDA با تیمارهای ترکیبی عصاره کمپوست قارچ و بدون عصاره کمپوست موردبررسی قرار گرفت. بعد از یک هفته کشت باکتری‌ها در محیط PDA، نتایج نشان داد، باکتری‌ها در این محیط کشت قادر به رشد نیستند. قارچ در محیط‌های کشت ترکیبی و PDA قادر به رشد بوده و افزودن عصاره کمپوست اثرات مثبت در رشد هیف‌های قارچ و رشد باکتری‌ها داشت. پس از یک هفته کل پلیت با هیف‌های فشرده قارچ دکمه‌ای پوشانده شد، در نتیجه در آزمایش‌های بعدی از این ترکیب در تهیه محیط کشت‌های موردنیاز استفاده شد (شکل ۱).

[1] - Potato Dextrose Agar (Cat. Number: 1101300500, Merck)
[2] - Potato Dextrose Agar (Cat. Number: 1101300500, Merck)
[3] - Inoculum
[4] - Nutrient Broth
[5] - Wheat + chicken manure + Calcium Carbonate, compost extract



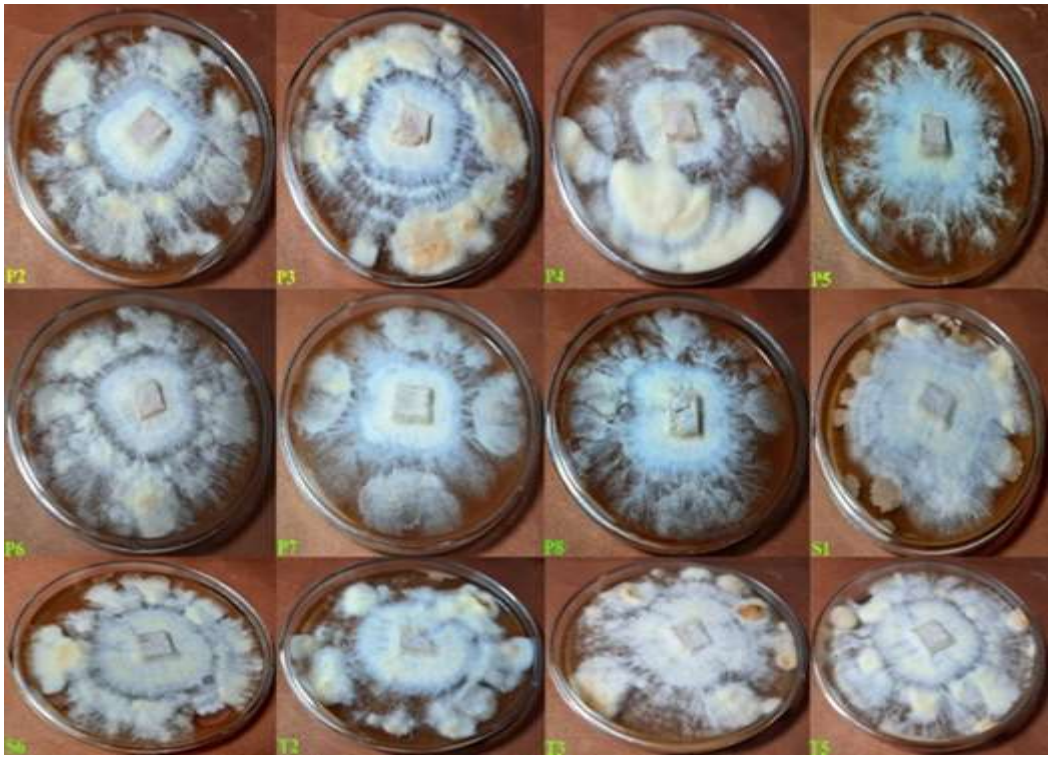
شکل ۱- انتخاب محیط کشت مناسب برای رشد بهینه قارچ و باکتری

پس از انتخاب محیط کشت مناسب، اثر باکتری‌های جداشده از ریزوسفر بر تحریک رشد میسیلیوم‌های قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporos*- A15 در پلیت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، از مجموع ۲۰ سویه باکتری منتخب از کلکسیون میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب، بیشترین صفت تحریک‌کنندگی رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای به باکتری‌های سودموناس تعلق یافت (شکل ۲ تا ۴). درواقع، همه سویه‌های منتخب بعد از پنج تا نه روز کاملاً با هیف‌های قارچ دکمه‌ای پوشیده شد. رشد هیف‌ها در سطح محل کلنی‌های باکتری‌ها به‌طور محسوسی بیش از دیگر بخش‌های پلیت بود و حرکت هیف‌های قارچ به محل کلنی‌های سودوموناس به‌طور مشهودی قابل‌ملاحظه بود (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد حرکت هیف‌های قارچ به‌طرف کلنی‌های باکتری، به دلیل تبادلات بیوشیمیایی بین آن‌ها به روش شیمیوتاکتیک باشد. در محل‌های تلاقی باکتری‌ها و هیف‌های قارچ دکمه‌ای، قطره‌هایی(کپسول مانند) حاوی مواد چسبناک با رنگ روشن همانند قطره اشک قابل‌رؤیت بود که ماهیت این مواد مترشحه تاکنون شناخته‌نشده است.



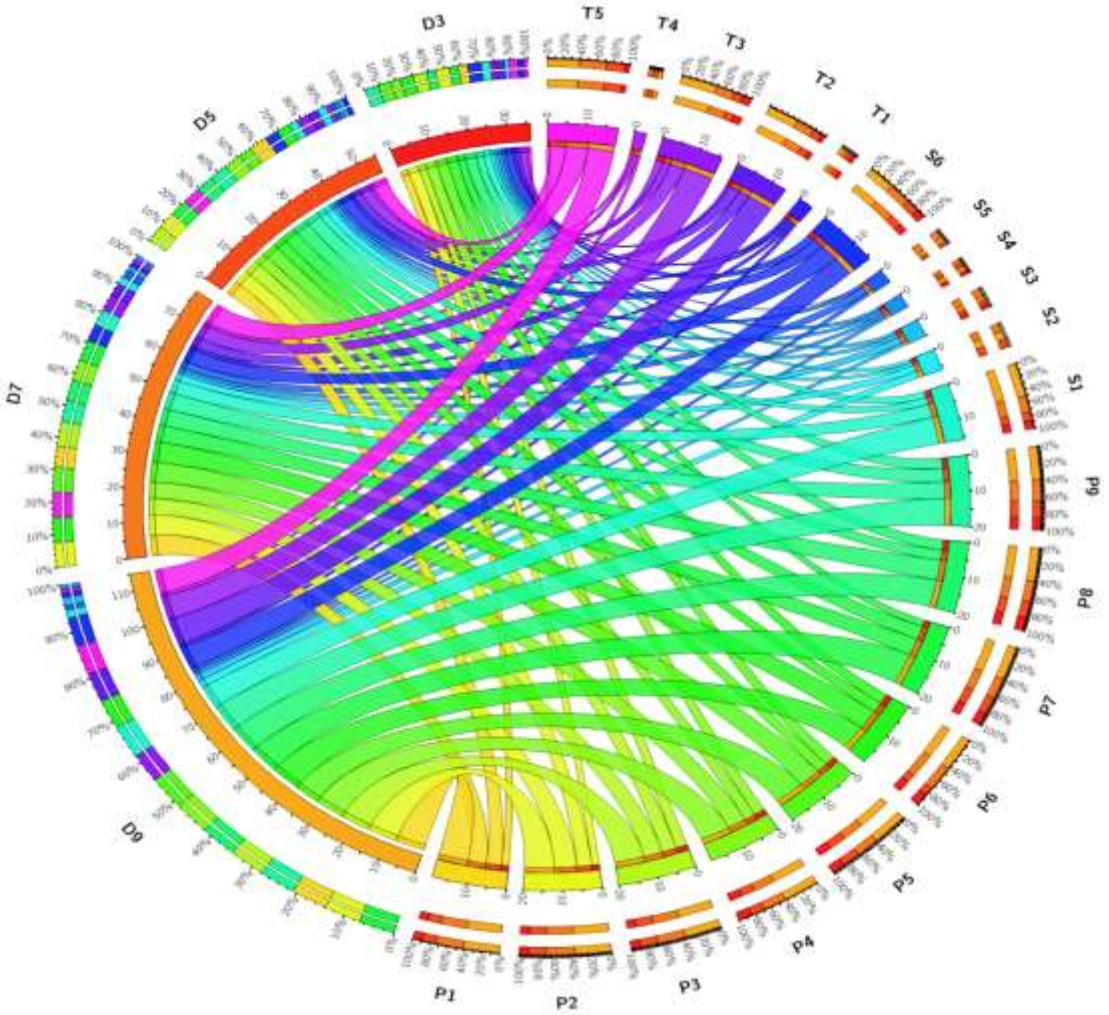
شکل ۲- اثر محرکی سودوموناس سویه P8 بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای (راست)، رشد هیف‌های قارچ به‌طرف کلنی باکتری P8 در محیط کشت مشترک (چپ)

تیمارهای سری S و T نیز دارای اثرات تحریک‌کنندگی بر رشد هیف‌های قارچ دکمه‌ای بودند ولی در مقایسه با گونه‌های باکتری‌های جنس سودوموناس در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. تجربه نشان داده است، گاهی نتایج حاصل از بررسی بر روی پلیت در شرایط سالن قارچ و یا شرایط شبیه‌سازی‌شده می‌تواند کمی متفاوت باشد، چون میکروارگانیسم‌ها در شرایط طبیعی ممکن است رفتار متفاوتی از خود بروز دهند. در(شکل۳) اثرات محرک رشدی هر جنس باکتری در طول نه روز به‌صورت تصویری به نمایش درآمده است.



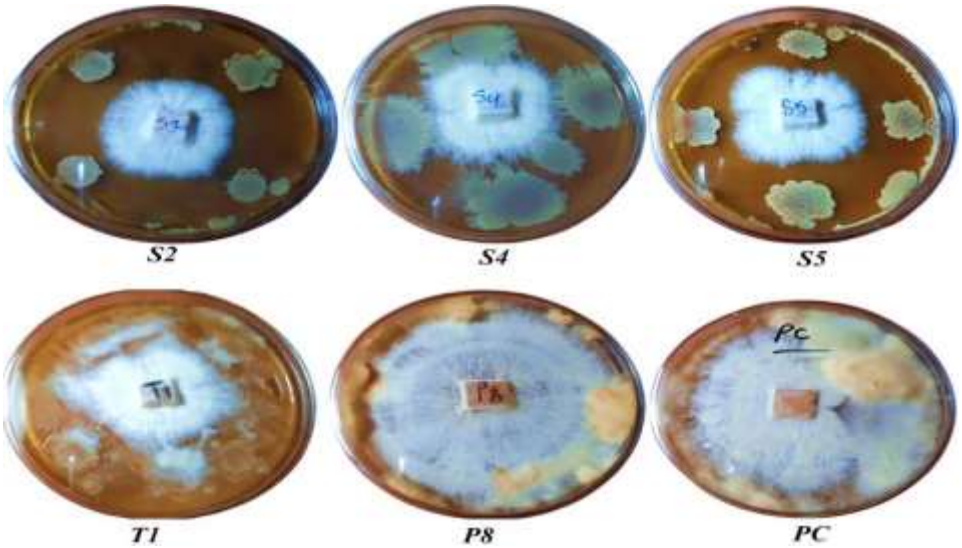
شکل ۳- اثرات محرک رشدی تعدادی از باکتری‌های منتخب سری T، S و P بر رشد هیف قارچ دکمه‌ای در نه روز پس از کشت

رشد هیف‌ها در مدت نه روز و در چهار بار اندازه‌گیری در روزهای سوم، پنجم، هفتم و نهم بر حسب میلی‌متر به‌صورت درصد نشان داده‌شده است (شکل ۴). در این بازه تیمارهای قارچ/باکتری، باکتری‌های جنس سودوموناس بیشترین اثر را برافزایش سرعت رشد هیف قارچ دکمه‌ای داشتند و توانستند به‌صورت حداکثری باعث افزایش رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی شوند. سویه‌های سری S شامل S1 و S6 نیز ازجمله تیمارهای بسیار مؤثر بودند که به‌طور قابل قبولی رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی را تحریک و باعث افزایش رشد قارچ شدند. از میان سویه‌های سری T، ایزوله‌های T2، T3 و T5 جزء سویه‌های مؤثر در افزایش رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی شناسایی شدند که ارزش زیادی ازنظر علمی و تجاری دارد. ذکر این نکته ضروری است که سایر سویه‌ها شامل S2، S5، T1 و T4 اثرات مهارکنندگی بر رشد قارچ خوراکی داشتند و باعث مهار و عدم تحرک رشدی میسیلیوم‌های قارچ شدند (شکل ۴).



شکل ۴- رشد کلنی قارچ دکمه ای سویه A15 بر حسب میلی‌متر در مدت ۹ روز (اندازه‌گیری رشد هیف‌های قارچ در روزهای سوم D3، پنج D5، هفتم D7 و نهم D9)، تحت تاثیر حضور سویه‌های باکتریایی(P1تاP9 سویه های سودوموناس، S1 تا S6 سویه های باسیلوس سوبتلیس و T1 تا T5 سویه های باسیلوس تورنجینسیس) در مقایسه با سویه برتر P8 و شاهد بدون باکتری

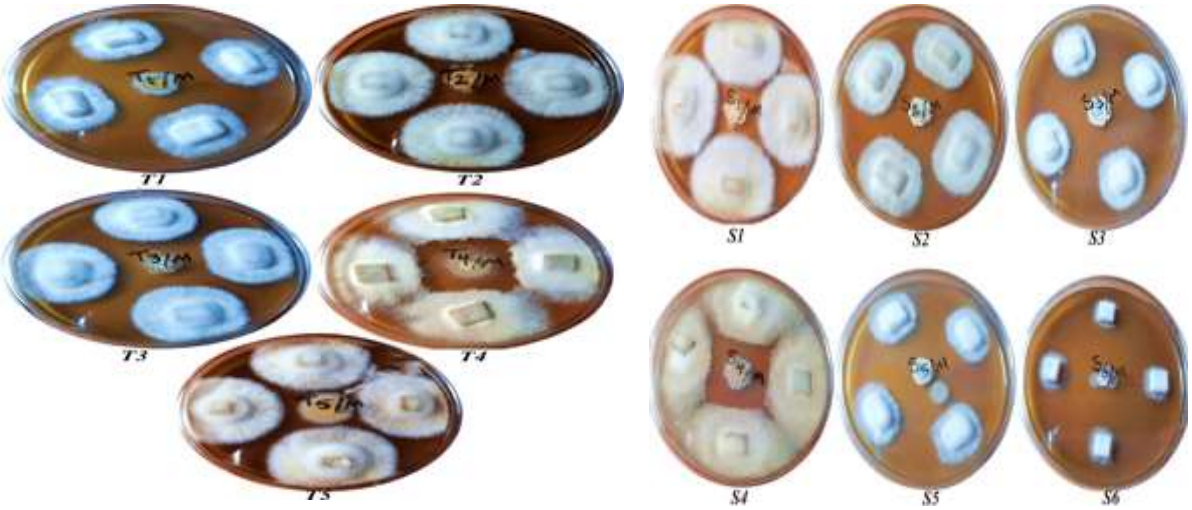
اثر زیست مهارگری سویه‌های بازدارنده رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی در مقایسه با یک تیمار سویه محرک رشد و کنترل (بدون اعمال تیمار باکتریایی) هفت روز پس از کشت موردبررسی قرار گرفت. میسیلیوم‌های قارچ در مجاورت با باکتری‌های هدف به دلیل صفات زیست مهارگری آن‌ها، رشد بسیار ضعیفی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمارهایی با حداکثر رشد داشتند (شکل ۵). این باکتری‌ها باوجود قدرت زیست مهارگری بر روی قارچ‌های بیماری‌زا، در کشت قارچ دکمه‌ای استفاده نشدند، زیرا در این پژوهش هدف شناسایی باکتری‌های زیست مهارگری و انتخاب باکتری‌ها محرک رشد بود تا باکتری‌ها اثر منفی بر رشد هیف‌های قارچ خوراکی نداشته باشند.



شکل ۵- عدم رشد میسیلیوم‌های قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporos*- A15 در مجاورت تعدادی از سویه‌های *B. subtilis* و سویه T1 *B. thuringiensis* در مقایسه با تیمار شاهد (PC) و تیمار مؤثر سودوموناس (P8) هفت روز پس از کشت

در مرحله دوم آزمایش، اثرات مهارکنندگی باکتری‌های موردبررسی بر روی عوامل معمول بیماری‌زای قارچ خوراکی شامل قارچ مایکوگون (*Mycogone perniciosa*)، تریکودرما (*Trichoderma aggressivum*) و ورتیسیلیوم (*Lecanicillium fungicola*) مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس یافته‌های بخش آزمایشگاهی، از بین نه سویه سودوموناس موردبررسی هشت سویه سودوموناس قادر به کنترل هیچ‌کدام از عوامل بیمارگر قارچی نبودند، تنها سویه P9 به‌صورت خیلی ضعیف اثرات مهارکنندگی بر روی قارچ ورتیسیلیوم از خود نشان داد که چندان قابل‌توجه نبود و لذا نتایج کمی آن در این مقاله آورده نشده است. نتایج تجزیه واریانس برای اثر بیوکنترلی ۲۰ سویه سری P (نه سویه)، S (شش سویه) و T (پنج سویه) در هر دو قارچ تریکودرما و مایکوگون نشان داد، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین سویه‌ها وجود داشت و سویه‌های سری S و P به ترتیب ۷/۳ و ۳/۴ برابر در کنترل قارچ تریکودرما موفق‌تر از سویه‌های سری P عمل کرده‌اند. در حالی اثر سویه‌های سری S و P در بیوکنترل قارچ مایکوگون به ترتیب ۶/۷ و ۵/۶ برابر سویه‌های سری P بود. در ارزیابی اثر بیوکنترلی سویه‌ها در هر دو قارچ میانگین سویه‌های S از لحاظ آماری در کلاس برتر قرار گرفت و در کنترل قارچ‌های تریکودرما و مایکوگون به ترتیب ۲/۲ و ۱/۲ برابر از سویه‌های T موفق‌تر عمل نمود (جدول ۱ و شکل ۷الف و ب). بنابراین نتایج، سویه‌های باکتری سری P که دارای حداکثر اثرگذاری در تحریک رشد میسیلیوم‌های قارچ خوراکی بودند، قادر به کنترل سویه‌های بیمارگر نیستند. در حالی که سویه‌های سری S که اثرات تحریک‌کنندگی رشدی خیلی قابل‌توجهی از خود نشان نداده بودند، رشد قارچ‌های بیمارگر را به‌طور مؤثری کنترل نمودند (شکل ۶ و شکل ۷الف و ب). سویه‌های سری T نیز که در مقایسه با سویه‌های سری S دارای قدرت تحریک‌کنندگی رشد میسیلیوم قارچ دکمه‌ای در مرحله آزمایشگاهی بودند، اثرات متوسط تا قوی مهارکنندگی بر روی سه قارچ بیمارگر عامل بیماری‌های سالن قارچ از خود نشان دادند. به دلیل اینکه اغلب گونه‌های *باسیلوس تورنجینسیس* به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیک لارو حشرات مطرح هستند، اثرات این باکتری‌ها در تحریک رشد هیف قارچ و اثرات زیست مهارگری آن‌ها قبلاً در مطالعات چندان موردتوجه قرار نگرفته بود و در این مطالعه برای اولین بار موردبررسی قرار گرفت. همچنان که به‌وضوح نشان داده شد، بیشترین اثرات بیوکنترلی سویه‌های سری S و T بر روی قارچ مایکوگون بود،

(شکل۶) این باکتری‌ها تا روز ۱۶ام آزمایش مقاومت خود را حفظ کردند و در کنترل قارچ تریکودرما و مایکوگون هیچ باکتری سری P موفق نبود (شکل ۷الف و ب). اثرات بیوکنترلی سویه P6 در مقایسه با سایر باکتری‌های موردبررسی بسیار محدود است. بیشترین اثر بیوکنترلی برای سویه S3 بر روی قارچ تریکودرما (شکل ۷الف) و سویه S6 بر روی قارچ مایکوگون (شکل ۷ب) مشاهده شد. حداکثر قطر هاله کلونی مهاری برای دو سویه یادشده برابر با ۲۰ میلی‌متر در مدت ۱۶ روز بود. کمترین اثر بیوکنترلی در قارچ تریکودرما و مایکوگون به ترتیب مربوط به سویه‌های T3 و T5 بود (شکل ۷الف و ب).

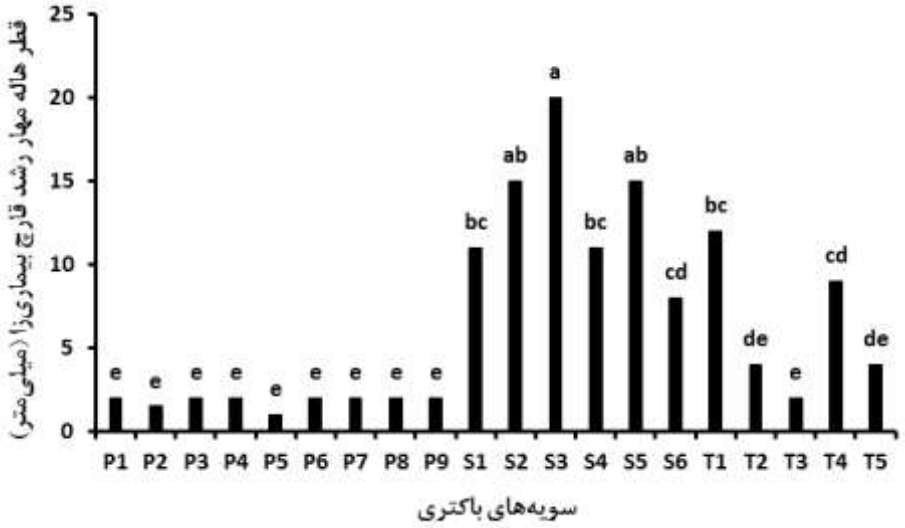


شکل ۶- تأثیر زیست‌مهارگری سویه‌های *B. subtilis* (راست) و *B. thuringiensis* (چپ) بر قارچ بیماری‌زای مایکوگون (*M. perniciosa*)

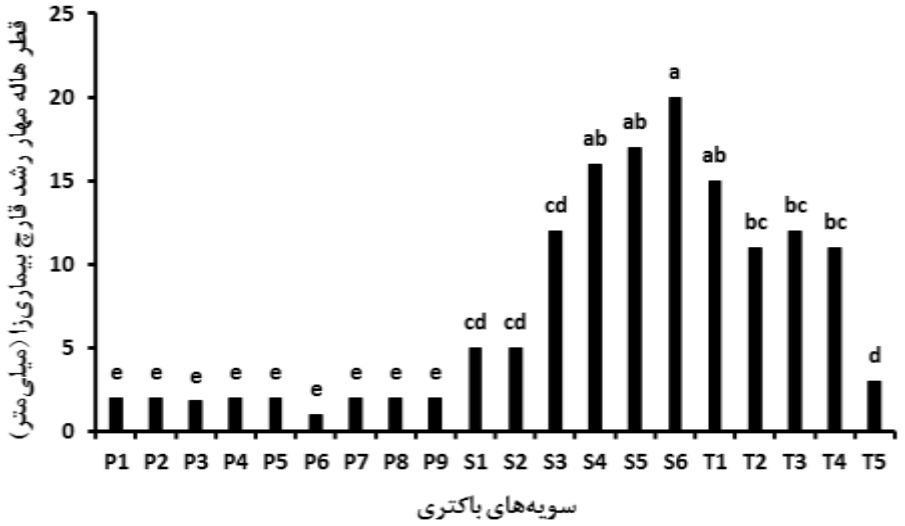
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثرات کنترل بیولوژیک باکتری‌ها بر دو قارچ بیماری‌زای مایکوگون و تریکودرما

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تریکودرما	مایکوگون
جدایه باکتری	۱۹	۱۰۱/۵**	۱۱۹/۴**
خطا	۴۰	۱۲/۸	۲۱/۱
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۵	۶/۲

(الف)

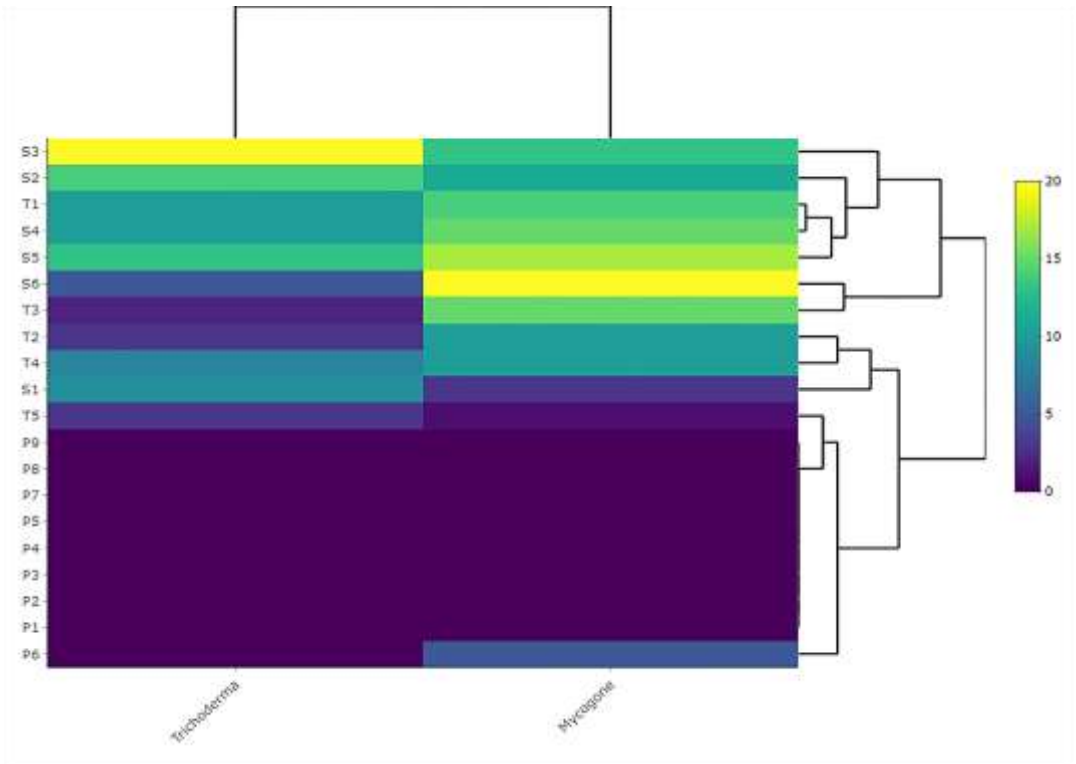


(ب)



شکل ۷ – اثرات زیست مهارگری باکتری‌ها پس از ۱۶ روز کشت بر قارچ بیماری‌زای تریکودرما (الف) و مایکوگون (ب)

حداکثر قطر هاله کلونی به تفکیک دو قارچ بیماری‌زا (تریکودرما و مایکوگون) و سویه‌های موردبررسی در دامنه ۰ تا ۲۰ میلی‌متر و گروه‌بندی آن‌ها در (شکل ۸) نشان داده‌شده است. درمجموع بر اساس نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد، سویه‌های موردبررسی بیشترین اثر مهارگری را بر روی قارچ مایکوگون داشته و تنوع ژنتیکی سویه‌ها، میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در ساختار جمعیت آن‌ها و همچنین جمعیت احتمالی سویه‌ها می‌تواند به‌عنوان فاکتورهای تأثیرگذار در میزان ظهور اثرات بیوکنترلی باشد.



شکل ۸- اثرات بیوکنترلی سویه‌های موردبررسی بر روی دو عامل بیمارگر قارچی (مایکوگون و تریکودرما) پس از ۱۶ روز به تفکیک هر سویه (اطلاعات بر اساس قطر هاله/کلنی در واحد میلی‌متر است). سمت چپ سویه های باکتری مورداستفاده و در سمت راست اشل رنگی(بنفش تا زرد) که زرد بیشترین بیوکنترلی به قطر هاله مهار ۲۰ میلی متر را نشان می‌دهد که اغلب باکتری‌های باسیلوس سوبتلیس در کلاستر موثر در کنترل مایکوگون و تریکودرما قرار گرفته‌اند و اغلب دارای رنگ روشن (زرد) هستند. در کلاستر بعدی باسیلوس تورنجینسیس و در کلاستر پایین سودوموناس ها قرار گرفته است

بحث و نتیجه‌گیری

تولید قارچ دکمه‌ای ناشی از فرایند بسیار پیچیده تعاملات زیستی، بیوشیمیایی، شیمیایی، فیزیکی و فیزیولوژیک در بستر کشت قارچ است. تولید آن از مراحل مختلف تهیه کمپوست تا رشد هیف در بستر کشت و خاک‌پوششی تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها قرار دارد. به‌همین دلیل بدون شناخت این عوامل مؤثر، امکان تولید قارچ دکمه‌ای وجود ندارد. به دلیل تأثیرات شدید فلور میکروبی بستر بر تولید قارچ دکمه‌ای، تولید آن در بستر کشت استریل ممکن نیست. درواقع محصول قارچ تولیدی حاصل تعاملات بین انواع مختلفی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها در محیط غنی از مواد آلی و عناصر غذایی است (فری کلت و همکاران، ۲۰۱۱ و کرتاز و تای، ۲۰۱۸). برای مطالعه این روابط پیچیده و چندجانبه، چاره‌ای جزء ساده‌سازی فرایندها در آزمایشگاه نیست و لذا در این تحقیق اثرات گونه‌های منتخبی از دو جنس سودوموناس و باسیلوس در شرایط آزمایشگاهی به بوته آزمایش گذاشته شد و معلوم شد که باکتری‌های مورداستفاده دارای پتانسیل متفاوتی بوده و در تعامل با قارچ و حتی در ارتباط با انواع باکتری‌ها نیز واکنش‌های قابل پیش‌بینی و گاهی غیرقابل‌پیش‌بینی از خود نشان می‌دهند. اگرچه تعداد معدودی از گونه‌های سودوموناس دارای پتانسیل بیماری‌زایی در کلاهک قارچ هستند ولی گونه‌های مفید

انتخاب‌شده عامل تحریک و افزایش رشد هیف و پین‌زایی بوده و عامل مؤثری برای افزایش رشد میسیلیوم و حتی کنترل بعضی از بیماری‌ها (به ویژه ناشی از دیگر گونه‌های بیماری‌زای سودوموناس) هستند (شاموگام و کورتر ۲۰۲۲، تاسیلویلوا و همکاران، ۲۰۲۲، سائوبنووا و همکاران، ۲۰۲۳). به نظر محققین، باکتری‌ها با افزایش رشد میسیلیوم‌ها و حجم آن‌ها، ضمن افزایش تجزیه مواد آلی موجود در بستر، دسترسی هرچه بیشتر به مواد غذایی را افزایش داده و بستر قارچ را برای قارچ اختصاصی می‌نمایند (سائوبنووا و همکاران، ۲۰۲۳). استفاده از کودهای زیستی به‌عنوان مایه تلقیح، ابزاری مؤثر برای مدیریت تولید در سالن‌های قارچ به شمار می‌آیند. به دلیل آمادگی بستر کشت قارچ برای رشد انواع قارچ‌های ساپروفیت فرصت‌طلب و گاهی بیماری‌ها، لازم است عوامل کنترل بیولوژیک قوی در کنار باکتری‌های محرک رشد برای مهار این آلودگی‌ها تدارک شده و همراه با باکتری‌های محرک رشد استفاده شوند (ناین که و همکاران، ۲۰۲۲ و بوچنر و همکاران، ۲۰۲۲). در غیر این صورت موفقیتی از مصرف مایه تلقیح‌های طراحی‌شده حاصل نخواهد شد. همچنان که در این تحقیق معلوم شد، باوجود محرک رشد بودن گونه‌های سودوموناس مورداستفاده، آن‌ها به‌طور مؤثری قادر به مهار زیستی قارچ‌های بیماری‌زا نبودند. همچنین معلوم گردید، بعضی از سویه‌های باسیلوس با پتانسیل قوی زیست‌مهارگری علیه قارچ‌های بیماری‌زا، داری پتانسیل محرک رشد برای تکمیل اثرات سودوموناس در بستر کشت قارچ دکمه‌ای نیز هستند. به دلیل دمای مناسب بستر کشت قارچ و بوی جلب‌کننده ناشی از مواد آلی در حال تجزیه (به‌ویژه به دلیل استفاده از کود مرغی به‌عنوان مکمل منبع نیتروژن و عناصر غذایی در تهیه کمپوست قارچ) و مواد متصاعد شده از رشد هیف‌های قارچی، همیشه حشرات کودزی و همچنین هیف‌خوار جلب بستر کشت می‌شوند. درصورتی‌که مایه تلقیح‌های کودهای زیستی عاملی برای کنترل این معضل داشته باشد، مایه تلقیح بسیار موفقی خواهد بود. نتایج این تحقیق نشان داد، از بین سویه‌های *B. subtilis* موردبررسی، سویه‌های S3، S6 و از بین سویه‌های *B. thuringiensis* سویه‌های T1، T2 و از بین جنس سودوموناس همه سویه‌ها به‌ویژه سویه‌های P9، P8، P7 و P6 می‌توانند کاندیدهای مناسبی برای حضور در مایه تلقیح ترکیبی (کنسرسیوم) در کشت قارچ باشند. این تحقیق نشان داد که گونه‌هایی از باکتری *باسیلوس تورنجینسیس* علاوه بر توان کنترل لارو حشرات (ایرانمنش و همکاران، ۱۳۸۹)، دارای توان تحریک رشد هیف‌های قارچ را داشته و قابلیت حضور در کنسرسیوم مایه تلقیح مخصوص قارچ خوراکی را دارد. حتی آن‌ها به‌عنوان باکتری محرک رشد نیز می‌توانند مورداستفاده قرار گیرند. برتری استفاده از کنسرسیوم باکتری‌ها به‌جای استفاده از تک سویه‌ها در انواع مایه تلقیح‌های تجاری به دلیل مزایای زیادی که دارد در بررسی‌های متعددی مورد تائید قرارگرفته است (رخزادی و همکاران، ۲۰۰۸، سینیواساگان و همکاران، ۲۰۲۱). البته برای اثبات نهایی نتایج حاصل از این پژوهش لازم است آزمایش در ابعاد بزرگ‌تر و در شرایط سالن‌های قارچ نیز تکرار و تائید گردد تا بتوان از این پتانسیل به‌عنوان مایه تلقیح کودزیستی در تولید قارچ دکمه‌ای در مقیاس صنعتی نیز بهره‌برداری نمود.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پروژه مشترک موسسه تحقیقات خاک و آب (سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی) با تأمین اعتبار توسط شرکت قارچ سحر است. از حمایت‌های مالی شرکت قارچ سحر و حمایت‌های آزمایشگاهی و نیروی انسانی موسسه تحقیقات خاک و آب (بخش تحقیقات بیولوژی خاک) تشکر می‌گردد.

فهرست منابع

۱. ایرانمنش، ع.ر.، کرمی، م.، عبدالوند، ی. (۱۳۸۹). کنترل بیولوژیکی آفات گیاهی با استفاده از *Bacillus thuringiensis* و *Bacillus popilliae* به‌عنوان آفت‌کش زیستی. سیزدهمین همایش ملی بهداشت محیط. ۱۱ آبان ۱۳۸۹، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان.

۲. خبازجلفایی، ح.، محمدی گل‌تپه، ا.، رحیمیان، ح. (۱۳۸۴). جداسازی، انتخاب و ارزیابی باکتری‌های آنتاگونیست، در کنترل بیولوژیک بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی دکمه‌ای . بیماری‌های گیاهی، جلد ۴۱. ص ۵۵۹ -۵۴۳.

۳. نمازی، ز.، حسن‌زاده، ن.، رزمی، ج. (۱۳۹۴). اولویت‌بندی مبارزه با پاتوژن‌های تهدید کننده قارچ خوراکی دکمه‌ای *Agaricus bisporus* با استفاده از مدل AHP. سومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، ۲۱ خرداد ۱۳۹۴، دانشکده شهید مفتح، همدان.

4. Büchner, R., Vörös, M., Allaga, H., Varga, A., Bartal, A., Szekeres, A., Varga, S., Bajzát, J., Bakos-Barczi, N., Misz, A., Csutorás C., Hatvani L., Csaba Vágvölgyi C. and Kredics. L., 2022. Selection and Characterization of a Bacillus Strain for Potential Application in Industrial Production of White Button Mushroom (Agaricus bisporus). Agronomy. 12, 467. https://doi.org/10.3390/agronomy12020467
5. Coello-Castillo M.M., Sánchez, J.E., Royse, D.J. (2009). Production of *Agaricus bisporus*on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. Bioresour Technol 100(19):4488–4492. https ://doi.org/10.1016/j.biort ech.2008.10.061
6. Eastwood DC, Herman B, Noble R, Dobrovin-Pennington A, Sreenivasaprasad S, Burton KS (2013). Environmental regulation of reproductive phase change in *Agaricus bisporus* by 1-octen-3-ol, temperature and CO2. Fung Genet Biol 55:54–66. https://doi.org/ 10.1016/j.fgb.2013.01.001
7. Fermor, T.R., Wood, D.A., Lincoln, S.P., and Fenlon, J.S. (1991). Bacteriolysis by *Agaricus bisporus*. Journal of General Microbiology, 137, 15-22
8. Finkel1, O. M., Castrillo. G., Paredes, S.H., Gonza´, I.S., and Dangl, J.L., (2017). Understanding and exploiting plant beneficial microbes. Current Opinion in Plant Biology, 38:155–163
9. Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M. and Sarniguet, A. (2011). Bacterial-Fungal Interactions: Hyphens between Agricultural, Clinical, Environmental, and Food Microbiologists. Microbiology and Molecular Biology Reviews. p. 583–6
10. Hayes WA (1968). Microbiological changes in composting wheat straw/horse manure mixtures. Mushroom Sci 7:173–186
11. Jadhav AC, Shinde DB, Nadre SB, Deore DS (2014). Quality improvement of casing material and yield in milky mushroom (*Calocybe indica*) by using biofertilizers and different substrates. In: Proceedings of 8th international conference on mushroom biology and mushroom products (ICMBMP8). ICAR-Directorate of Mushroom Research, Solan, India. pp 359–364
12. Jurak E, Punt AM, ArtsW, Kabel MA, Gruppen H (2015). Fate of carbohydrates and lignin during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus* on wheat straw based compost. PLoS One10(10):e0138909.https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138909

13. Kertesz MA and Thai M (2018). Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. Appl Microbiol Biotechnol 102:1639–1650. https ://doi.org/10.1007/s0025 3-018-8777-z
14. Kumar, B., Kumari, C., and Kumar, M., 2018. Effect of Bio-Fertilizers on Mycelial Growth and Physical Properties of White Button Mushroom *Agaricus bisporus* [(Lange) Imbach]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.Vol. 7 Number 02. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.267
15. Montealegre, J.R., Reyes, R., Pérez, L.M., Herrera, R., Silva, P., Besoain, Z., 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of Rhizoctonia solani in tomato. Electronic Journal of Biotechnology . DOI: 10.4067/S0717-34582003000200006
16. Natvig, DO, Taylor JW, Tsang A, Hutchinson MI, Powell AJ (2015). *Mycothermus thermophilus* gen. et comb. nov., a new home for the itinerant *thermophile Scytalidium thermophilum (Torula thermophila*). Mycologia 107(2):319–327. https ://doi.org/10.3852/13-399
17. Nienke, B., Margot, C., Koster, W€osten, H.A.B. 2022. Beneficial interactions between bacteria and edible mushrooms. Fungal Biology Reviews 39, 60-72
18. Noble R, Dobrovin-Pennington A, Hobbs PJ, Pederby J, Rodger A. (2009). Volatile C8 compounds and pseudomonads influence primordium formation of *Agaricus bisporus*. Mycologia 101(5):583–591. https://doi.org/10.3852/07-194
19. Payapanon A, Suthirawut S, Shompoosang S, Tsuchiya K, Furuya N, Roongrawee P, Kulpiyawati T, Somrith A (2011). Increase in yield of the straw mushroom (*Vovariella volvacea*) by supplement with *Paenibacillus* and *Bacillus* to the compost. J Faculty Agric Kyushu University 56:249–254
20. Pratiksha K, Narute TK, Surabhi S, Ganesh A, Sujoy S (2017). Effect of liquid biofertilizers on the yield of button mushroom. J Mycopathol Res .55:135–141
21. Robinson.A.J., House.G.L., Morales.D.P., Kelliher.J.M., Gallegos-Graves.L.V., LeBrun.E.S., Davenport.K.W., Palmieri.F., Lohberger.A., Bregnard.D., Estoppey.A., Buffi.M., Paul.C., Junier.T., Hervé.V., Cailleau.G., Lupini.S., Nguyen.H.N., Zheng.A.O., Gimenes.L. J, Bindschedller. S., Rodrigues.D.F., Werner.J.H., Young.J.D., Junier.P., and Chain.P.S.G., 2021. Widespread bacterial diversity within the bacteriome of fungi. COMMUNICATIONS BIOLOGY 4:1168. https://doi.org/10.1038/s42003-021-02693-y
22. Rokhzadi, A., Asgharzadeh, A., Darvish, F., Nour Mohammadi, G., Majidi, E., 2008. Influence of plant –promoting rhizobacteria on dry matter accumulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field condition. American-Eurasian J.Agric.and Environ. Sci. 3(2) 253-257
23. Saghafi, K, Ahmadi, J., Asgharzadeh, A., Roknizadeh, H., Hosseini Mazinani, SM., 2019. Characterization of Pseudomonas fluorescens bacteria isolated from Olea europaea rhizosphere in Saline Soils. *Journal of Sol Biology* 7(1), 13-27.
24. Saubenova, M., Oleinikova, y., Sadanov, A., Yermekbay, Z., Bokenov, D., Shorabaev, Y. 2023. The input of microorganisms to the cultivation of mushrooms on lignocellulosic waste. AIMS Agriculture and Food, 8(1): 239–277. DOI: 10.3934/agrfood.2023014
25. Seenivasagan, R., Babalola, O.O. Utilization of Microbial Consortia as Biofertilizers and Biopesticides for the Production of Feasible Agricultural Product. 2021. Biology.10, 1111. https:// doi.org/10.3390/biology10111111
26. Shamugam, S., Kertesz, M.A. 2022. Bacterial interactions with the mycelium of the cultivated edible mushrooms Agaricus bisporus and Pleurotus ostreatus. Journal of Applied Microbiology, 134, 1–10, https://doi.org/10.1093/jambio/lxac018
27. Tarkka, M. T., A. Sarniguet, and P. Frey-Klett.(2009). Inter-kingdom encounters: Recent advances in molecular bacterium-fungus interactions. Curr. Genet. 55:233–243.

28. Tsivileva, O., Shaternikov, A., Ponomareva, E. 2022.Edible mushrooms could take advantage of the growth – promoting and biocontrol potential of azosperillum. PROCEEDINGS OF THE LATVIAN ACADEMY OF SCIENCES. Section B, Vol. 76, No. 2 (737), pp. 211–217. DOI: 10.2478/prolas-2022-0032
29. Vos AM, Heijboer A, Boschker HTS, Bonnet B, Lugones LG, Wosten HAB (2017). Microbial biomass in compost during colonization of *Agaricus bisporus*. AMB Express 7(1):7. https://doi.org/10.1186/s13568-016-0304-y
30. Young, L.S., Chu, J.N., Asif Hameed, A., and Young, C.C., (2013). Cultivable mushroom growth‐promoting bacteria and their impact on *Agaricus blazei* productivity. Pesq. Agropec. bras., Brasília, v.48, n.6, p.636-644, DOI: 10.1590/S0100-204X2013000600009
31. Zhang CH, Huang T, Shen CH, Wang XT, Qi YC, Shen JW, Song AD, Qiu LY, Ai YC (2016). Downregulation of ethylene production increases mycelial growth and primordia formation in the button culinary-medicinal mushroom, *Agaricus bisporus* Agarico mycetes). Int J Med Mushrooms 18(12):1131–1140. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i12.80

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/ص۱۵۵-۱۶۵
dx.doi.org/10.22092/sbj.2024.362289.251

بررسی کارایی حل‌کنندگی فسفر معدنی و آلی نامحلول توسط سیانوباکتری‌های جداسازی شده از استخرهای پرورش ماهی

علیرضا فلاح نصرت‌آباد، مصطفی علی‌شیری جونقانی* و رویا بزاززاده

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران**rezafayah@yahoo.com**

دانش‌آموخته دوره‌ی دکتری تخصصی گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران **mostafaalishiri@ut.ac.ir**

کارشناس محقق موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران**bazzazzadeh96@gmail.com**

«مقاله پژوهشی»

دریافت۱۴۰۲/۴/۲۴ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

چکیده

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی در محیط‌های آبی است و نقش مهمی در شکوفایی و غنی‌سازی اکوسیستم‌های آب شیرین بخصوص در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی دارد. این عنصر در محیط‌های آبی به اشکال مختلف محلول و عمدتاً نامحلول وجود دارد. سیانوباکتری‌ها گروهی متنوع از پروکاریوت‌های اکسیژنیک و فتوتروفیک هستند که توانایی آن‌ها در فعالیت فسفاتازی که فسفر نامحلول را به شکل محلول تبدیل کرده، اثبات‌شده است. بنابراین پژوهش حاضر باهدف جداسازی، شناسایی و بررسی توانایی سیانوباکتری‌های موجود در استخر پرورش ماهیان گرمابی در حل‌کنندگی فسفر در سطح آزمایشگاهی انجام شد. در این پژوهش کارایی حل‌کنندگی چهار جدایه سیانوباکتریایی جداسازی شده از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی شامل *Chroococcus sp.*، *Oscillatoria sp.*، *Microcystis sp.* و *Gloeocapsa sp.* با دو منبع فسفات معدنی و آلی شامل تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم در دو بخش روشناور و زی‌توده سنجیده شد. نتایج نشان داد در بین جدایه‌های سیانوباکتریایی بیشترین توانایی را *Microcystis sp.* با میزان ۴۷/۵ و ۶۷/۳ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برای تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم در سنجش فسفر محلول در بخش رو شناور نشان داد. همچنین در بخش زی توده نیز بیشترین کارایی حل کنندگی فسفات از منبع تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم را *Gloeocapsa sp.* به ترتیب با میزان ۳۵/۵ و ۱۸/۷ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد. هر چند برای هر دو منبع فسفر سیانوباکتر *Microcystis sp.* بیشترین مقدار زی توده را نسبت به سایر سیانوباکترها نشان داد، با این حال هیچ اختلاف معنی‌داری در تعداد سیانوباکتری‌های رشد کرده تحت تأثیر منابع مختلف فسفر در هیچ گروه آزمایشی دیده نشد. نتایج این پژوهش نشان داد که برخی از سیانوباکتری‌های جداشده از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی در شرایطی که به اندازه کافی منابع فسفر نامحلول در دسترس داشته باشند تا حدودی قابلیت انحلال آن را دارند.

کلمات کلیدی: تری کلسیم فسفات، حل‌کنندگی فسفات، سیانوباکتری، فیتات کلسیم

* آدرس ایمیل نویسنده مسئول: **mostafaalishiri@ut.ac.ir**

مقدمه

تولیدات طبیعی استخرهای پرورش ماهیان گرمابی به شکل مستقیم و غیرمستقیم در تغذیه و رشد ماهیان در استخرهای خاکی و در سیستم پرورشی چندگونه‌ای نقش مهمی دارند. با افزایش تولیدات طبیعی استخر، میزان تولید ماهیان گرمابی نیز می‌تواند افزایش پیدا کند (خان و همکاران، ۲۰۰۷). به همین منظور بهینه‌سازی مواد معدنی در آب استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی ضروری به نظر می‌رسد (لارسون و تولارن، ۱۹۸۶).

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی در محیط-های آبی است و پس از نیتروژن دومین عنصر غذایی لازم برای رشد و نمو گیاهان و ریز جانوران است (ابراهیمی، ۱۳۹۶). به‌علاوه این عنصر نقش مهمی در شکوفایی جلبکی[1] و غنی‌سازی اکوسیستم‌های آب شیرین بخصوص در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی دارد (پال و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین یک عامل محدودکننده رشد برای فیتوپلانکتون‌ها است (هو و همکاران، ۲۰۱۰؛ ساگونان، ۲۰۰۰). این عنصر در فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس سلولی، تقسیم سلولی و چند فرآیند مهم بیولوژیکی دیگر نقش دارد (گولاتی، ۲۰۱۰). فسفر در محیط‌های آبی به اشکال مختلفی ازجمله فسفر آلی (OP)[2]، فسفر معدنی محلول در آب (WSIP)[3] و فسفات معدنی نامحلول در آب (ISIP)[4] وجود دارد. فسفر معدنی محلول در آب می‌تواند به‌طور مستقیم توسط تولیدکنندگان اولیه آب جذب شود. اما فسفات معدنی نامحلول در آب مانند فسفات کلسیم، فسفات آلومینیوم ($A1PO_4$) یا فسفات آهن ($FePO_4$) و فسفر آلی مانند فسفولیپید، فیتات کلسیم یا اسیدهای نوکلئیک معمولاً توسط تولیدکنندگان اولیه آب مانند جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به طور مستقیم قابل‌استفاده نیستند، ولی می‌توانند تحت شرایط مختلف فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیکی به اشکال محلول تبدیل شوند (فو و پینگ، ۲۰۰۵؛ کیم و همکاران، ۲۰۰۳). گزارش‌شده است سیانوباکتری‌ها با مکانیسم‌های مختلف مانند تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز قلیایی می‌توانند انواع فسفرهای معدنی نامحلول ازجمله $Ca_3(PO_4)_2$، $FePO_4$، $A1PO_4$ و $Ca_5(PO_4)_3{\cdot}OH$ را حل کنند (دورجی و همکاران، ۱۹۸۵؛ ولف و همکاران، ۱۹۸۵؛ کامرون و جیلیان، ۱۹۹۸؛ یاندیگریو همکاران، ۲۰۱۱). همچنین توانایی تثبیت نیتروژن به‌وسیله‌ی سیانوباکتری‌ها نیز اثبات شده است (هندرایانتی و همکاران، ۲۰۱۸).

سیانوباکتری‌ها گروهی متنوع از پروکاریوت‌های اکسیژنیک و فتوتروفیک هستند. در مطالعات قبلی توانایی سیانوباکتری‌ها در تبدیل فسفر نامحلول به فرم محلول بواسطه‌ی فسفاتاز قلیایی، اثبات شده است (میشرا و همکاران، ۲۰۰۵). سیانوباکتری‌ها در شرایط محدودیت فسفر، فسفاتاز قلیایی برون سلولی تولید و ترشح می‌کنند که باعث تجزیه انواع فسفات آلی می‌شود (پاندی و پارون، ۲۰۱۱؛ ویتون و همکاران، ۱۹۹۱). وجود غلظت زیادی از ترکیبات فسفات معدنی و فسفر آلی نامحلول در آب و رسوبات استخرهای پرورش ماهیان گرمابی در مطالعات قبلی گزارش‌شده است (هو و همکاران، ۲۰۱۰).

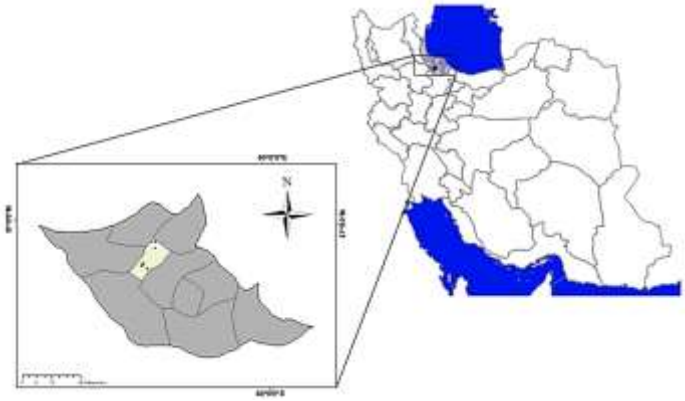
بنابراین با توجه به نقش فسفر محلول در تولیدات طبیعی استخرهای پرورش ماهیان گرمابی و پتانسیل سیانوباکتری‌ها در انحلال فسفر با توجه به مطالعات قبل و نیز ملاحظات زیست محیطی، این پژوهش باهدف جداسازی، شناسایی و بررسی توانایی سیانوباکتری‌های موجود در استخر پرورش ماهیان گرمابی در حل‌کنندگی و قابل‌دسترس کردن فسفر نامحلول در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

1 algal bloom
2 Organic Phosphorus
3 Water-Soluble Inorganic Phosphorus
4 Water-Insoluble Inorganic Phosphate

مواد و روش‌ها

جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی سیانوباکتری‌ها

نمونه‌برداری از آب استخر پنج مزرعه پرورش ماهیان گرمابی (پی اچ= ۷/۸، دما= ۲۸ °C) در استان گیلان، شهرستان رودبار، بخش رحمت‌آباد (شکل ۱) در مهرماه ۱۴۰۱ انجام شد. نمونه‌برداری در ظهر و از هر چهار طرف استخرها و از عمق ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری سطح آب انجام گردید و پس از اختلاط نمونه‌ها، یک نمونه ۲۵۰ میلی‌لیتری جهت کشت و جداسازی سیانوباکتری‌ها و به دور از نور خورشید در مجاورت یخ به آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور منتقل شد (کولیک، ۱۹۹۵).



شکل۱- مناطق نمونه‌برداری شده از مزارع پرورش ماهیان گرمابی در استان گیلان، شهرستان رودبار

جهت رشد کلنی‌های اولیه سیانوباکتری، یک میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-5} آب استخر نمونه‌برداری شده، در پتری دیش‌های حاوی محیط کشت جامد BG11 (۷۵ میلی‌گرم $MgSO_4.7\ H_2O$، ۱۵۰۰ میلی‌گرم $NaNO_3$، ۶ میلی‌گرم $C_6\ H_8O_7$، ۳۶ میلی‌گرم $CaCl_2.2H_2O$، ۴۰ میلی‌گرم $K_2HPO_4.3H_2O$، ۶ میلی‌گرم $C_6\ H_5$+4y Fex Ny O_7، ۲۰ میلی‌گرم Na_2CO_3) پخش گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و با شدت نور ۲۵۰۰ لوکس و با تناوب نوری ۲۴ ساعت روشنایی در گرمخانه نگهداری شدند. بعد از پیدایش کلنی-های متفاوت سیانوباکتری‌ها، هر کلنی به صورت جداگانه به پتری دیش‌های جدید حاوی محیط کشت جامد BG11 منتقل شد و مجدداً به مدت ۱۴ روز در شرایط قبلی نگهداری شدند. در ادامه طی سه مرتبه واکشت مشابه شرایط قبل سیانوباکتری‌ها خالص گردیدند. سپس مقداری از هر کلنی در محیط کشت جامد برداشته شد و به فالکون-های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع BG11 تلقیح گردید و به مدت ۱۴ روز در اتاقک رشد بر روی دستگاه تکان دهنده (با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه) در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی قرار داده شدند (جوهانسون و برگمن، ۲۰۰۶).

همچنین جدایه‌های سیانوباکتریایی به روش مورفولوژیک، با تهیه لام از کلنی‌های مختلف، با استفاده از میکروسکوپ نوری و کلیدهای شناسایی سیانوباکتری‌ها، مشخصات میکروسکوپی و ماکروسکوپی نمونه‌های موردنظر شناسایی شدند (جوهن و موزیم، ۲۰۱۲؛ کومارک و همکاران، ۲۰۱۴).

سنجش میزان حل‌کنندگی فسفات سیانوباکتری‌ها

چهار گونه سیانوباکتری که بیشترین تراکم را در استخرهای شکوفا شده داشتند به‌صورت جداگانه در محیط کشت مایع BG11 با حجم ۲۵ میلی‌لیتر و در سه تکرار کشت شدند. سپس جهت سنجش میزان حل‌کنندگی فسفات معدنی و فسفر آلی، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون از کشت جوان و در مرحله رشد تصاعدی به ارلن‌های حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشتBG11 به همراه سه گرم بر لیتر تری کلسیم فسفات (فسفات معدنی) و فیتات کلسیم (فسفر آلی) به‌صورت جداگانه، تلقیح شد (یاندیگری و همکاران،

۲۰۱۱). گروه‌های کنترل نیز حاوی محیط کشت با منبع فیتات کلسیم و تری کلسیم فسفات با غلظت سه گرم بر لیتر بودند. لازم به ذکر است که ترکیب شیمیایی K_2HPO_4 به جهت در دسترس نبودن فسفر محلول از محیط کشت حذف شد و پتاسیم این ترکیب با ۳۴/۲ میلی‌گرم بر لیتر از ترکیب شیمیایی پتاسیم کلرید جبران شد. در ادامه تمامی گروه‌های آزمایشی و کنترل برای ۱۴ روز در انکوباتور شیکردار در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. در انتهای دوره دو میلی‌لیتر از هر گروه آزمایشی برداشته و داخل میکروتیوپ ریخته شد. سپس پنج دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریوفیوژ شدند. پس از آن، بخش روشناور برای اندازه‌گیری فسفر محلول جدا شد و میزان فسفر محلول با روش مولیبدات-وانادات اندازه‌گیری شد (پائول و سینها، ۲۰۱۳). همچنین میزان فسفر زیست‌توده سیانوباکتریایی ته‌نشین شده در میکروتیوب با توجه به ماهیت جامد توده سیانوباکتریایی و لزوم استخراج فسفر و همچنین دقت بیشتر این روش برای مقادیر کم فسفر، به روش آسکوربیک اسید-وانادات سنجیده شد (اکت و همکاران، ۲۰۱۰).

ارزیابی زیست‌توده سیانوباکتریایی

جهت بررسی و مقایسه میزان زیست‌توده سیانوباکتری‌های مختلف از روش شمارش با لام نئوبار استفاده شد. در این روش در پایان دوره ۱۴ روزه، ۱۰ میکرو لیتر از کشت هر گروه آزمایشی روی لام نئوبار ریخته شد و پس از شمارش سیانوباکتری‌ها با استفاده از رابطه زیر تعداد سیانوباکتری‌ها در واحد حجم به دست آمد.

$$\text{تعداد کل سیانوباکتری‌ها} = A \times 16 \times 25 \times 10^4$$

A= میانگین تعداد سیانوباکتری‌ها در هر مربع کوچک

آنالیزهای آماری

آزمایش بر اساس فاکتوریل بر مبنای طرح پایه کاملاً تصادفی بود که برای تجزیه‌وتحلیل و رسم داده‌های مربوطه از نرم‌افزار SPSS-26 و Excel-2016 استفاده شد. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسیمرنوف و بررسی همگنی واریانس‌ها در تیمارهای جداگانه با آزمون لون، جهت بررسی اختلاف معنی‌دار از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد.

نتایج و بحث

شناسایی سیانوباکتری‌ها

جدایه‌های سیانوباکتریایی بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک شامل شکل، رنگ، اندازه سلول، کلنی، تریکوم، شکل سلول رأسی، وجود یا عدم وجود غلاف و سایر خصوصیات مورفولوژیک شناسایی شدند. سپس جدایه‌هایی که در تمامی پنج استخر شکوفا شده حضورداشته و بیشترین درصد فراوانی را در نمونه آب استخر پرورش ماهی داشتند، جهت انجام این پژوهش انتخاب گردیدند که به شرح(جدول۱) از جنبه فراوانی جدایه‌ها بیشترین فراوانی متعلق به *Chroococcus sp.* با میانگین فراوانی ۴۰/۷۴ درصد و کمترین فراوانی متعلق به *Microcystis sp.* با ۹/۴۷ درصد بود. در این راستا کمالی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای بر تنوع گونه‌ای استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان گلستان سه جنس *Chroococcus sp.*، *Oscillatoria sp.* و *Microcystis sp.* را در گزارش کردند. همچنین فندرسکی و همکاران (۱۳۸۸) هر چهار جدایه این پژوهش را در مطالعه خود از پراکنش سیانوباکتریایی استخرهای پرورش ماهی آلاگل واقع در شرق استان گلستان گزارش کرده‌اند. بااین‌حال فصل نمونه‌برداری، ترکیب و تراکم ماهیان استخر، آب‌وهوای منطقه، زمان نمونه‌برداری، اندازه سیانوباکتری، قابلیت چرای سیانوباکتری، درجه یوتروفی استخر، شرایط کوددهی، دما و pH استخر، پایداری شرایط فیزیکی و شیمیایی آب استخر و سایر عوامل می‌تواند بر ترکیب و

تنوع سیانوباکتریایی استخر پرورش ماهی تأثیر بسزایی بگذارد (فرسین و همکاران، ۲۰۱۰؛ پادماواتی و پراساد، ۲۰۰۷؛ ریگمن و مور ۱۹۸۶).

جدول ۱- حضور یا عدم حضور سیانوباکتری‌ها در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی

سیانوباکتری‌ها	حضور/ عدم حضور					میانگین تراکم± انحراف معیار (تعداد سیانوباکتری در میلی‌لیتر)	درصد فراوانی*
	استخر۱	استخر۲	استخر۳	استخر۴	استخر۵		
Chroococcus sp.	+	+	+	+	+	۳۹/۶±۵/۶۸	**۴۰/۴۷**
Gloeocapsa sp.	+	+	+	+	+	۳۰/۸±۶/۳	**۳۱/۶۹**
Oscillatoria sp.	+	+	+	+	+	۱۷/۶±۳/۵۷	**۱۸/۱**
Microcystis sp.	+	+	+	+	+	۹/۲±۲/۳۸	**۹/۴۷**

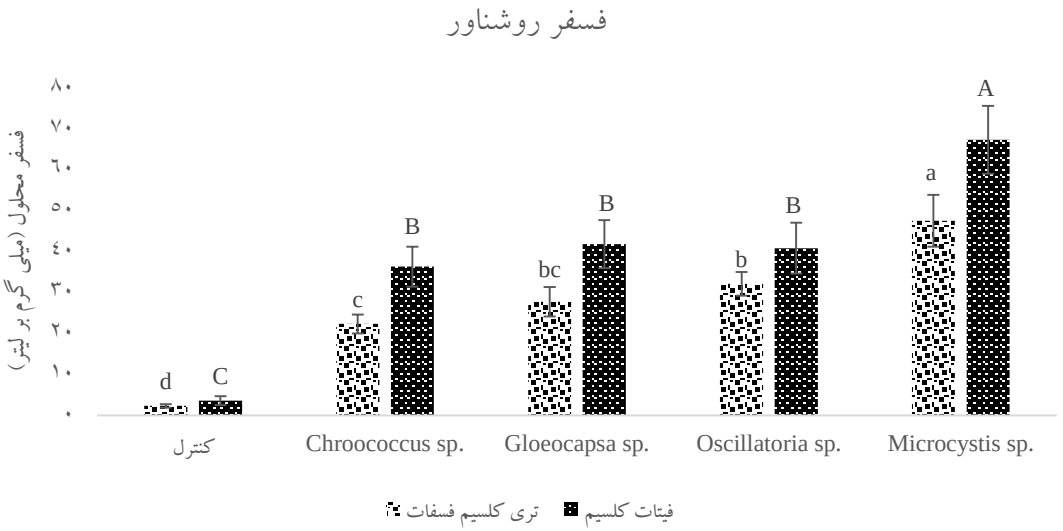
* درصد فراوانی فقط مربوط به سیانوباکتری‌هایی است که در آب استخر شکوفا شده‌اند.

سنجش میزان حل‌کنندگی فسفات سیانوباکتری‌ها

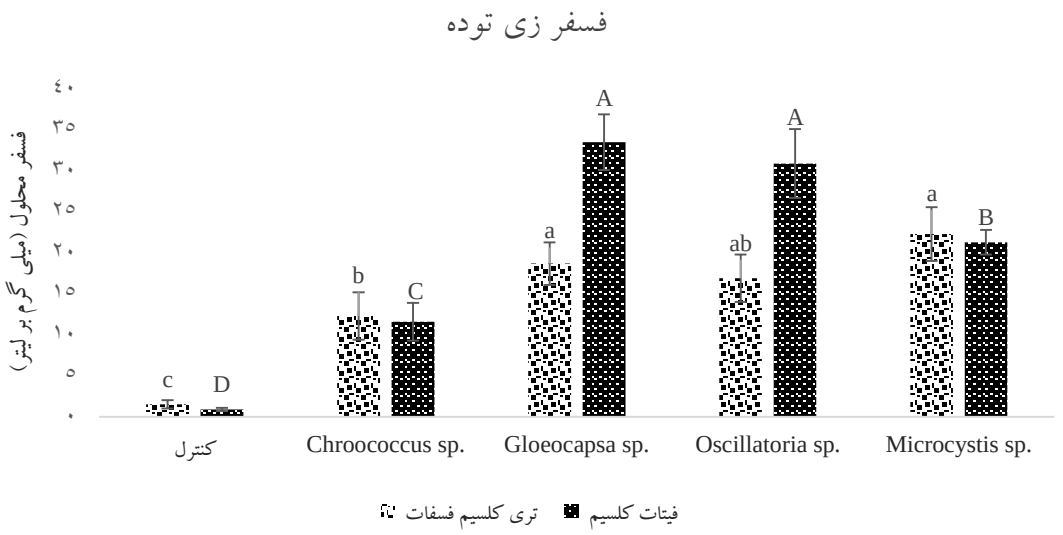
در این پژوهش غلظت فسفر محلول برای گروه آزمایشی با منبع تری کلسیم فسفات طبق نمودار شکل ۱، بعد از ۱۴ روز بین ۲۲/۳ تا ۴۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر فسفات و برای گروه آزمایشی با منبع فیتات کلسیم بین ۳۶/۳ تا ۶۷/۳ میلی‌گرم بر لیتر برای سنجش از بخش روشناور متغیر بود. بیشترین کارایی حل‌کنندگی فسفات از منبع تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم را *Microcystis sp.* به ترتیب با میزان ۴۷/۵ و ۶۷/۳ میلی‌گرم بر لیتر در سنجش فسفر محلول در بخش رو شناور نشان داد (شکل ۱). این در حالی است که توانایی حل‌کنندگی فسفات با منبع تری کلسیم فسفات برای سیانوباکترهای *Microcystis sp.*، *Oscillatoria sp.* و *Chroococcus sp.* به ترتیب ۳۳/۹، ۴۹/۴ و ۵۳/۱ میلی‌گرم بر لیتر گزارش‌شده بود (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۶). در همین راستا سودایی مشایی و همکاران (۱۳۹۸) توانایی حل‌کنندگی فسفات برای ۳۰ جدایه سیانوباکترهایی از خاک‌های شالیزاری ایران را گزارش کرده‌اند. به‌علاوه در مطالعه‌ای دیگر بیان‌شده است نوعی سیانوباکتری قابلیت انحلال فسفر معدنی و آلی را از منابع سنگ فسفات و پودر استخوان دارد (افکایرین، ۲۰۲۱). با توجه به اینکه فسفر، عنصری ضروری برای همه موجودات ازجمله سیانوباکتری‌ها است، بنابراین در شرایط فقدان یا محدودیت فسفر، فسفاتاز قلیایی برون سلولی تولید و ترشح می‌کنند که تجزیه انواع فسفات آلی پیچیده را تسریع می‌نماید (پاندیو پارون، ۲۰۱۱). همچنین ثابت‌شده است که سیانوباکترها می‌توانند برخی فسفات‌های معدنی نامحلول از جمله فسفات کلسیم را حل کنند (سودایی مشایی و همکاران ۱۳۹۸).

مکانیسم‌های مختلفی جهت حل‌کنندگی فسفات نامحلول بیان‌شده است. ازجمله توانایی تولید اسیدهای آلی، سنتز کلات کننده‌ها، احیای آهن فریک و حل کردن آنزیمی یا اینکه چند مکانیسم به‌صورت هم‌زمان عمل می‌کنند (یاندیگری و همکاران، ۲۰۱۱، آرمنده و همکاران، ۱۳۹۷). اسیدی شدن محیط با تولید اسیدهای آلی، یکی از فرآیندهای مؤثر جهت توانایی حل‌کنندگی فسفات معدنی است. تولید اسید فتالیک یک راهکار بالقوه برای حل-کنندگی فسفر توسط سیانوباکتری‌ها پیشنهادشده است. بدین‌صورت که این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند با اکسیداسیون ناقص قندها، اسیدهای آلی تولید کنند (ماندال و همکاران، ۱۹۹۲؛ یاندیگری، ۲۰۱۱) و درنتیجه اسیدهای آلی از طریق کاهش میزان pH و کلات نمودن یون‌ها منجر به افزایش فسفر قابل‌دسترس می‌شوند (کوئسی، ۱۹۸۳).

همچنین ثابت‌شده است باکتری‌های حل‌کننده فسفات ازجمله سیانوباکتری‌ها مقداری از فسفر حل‌شده را در ساختار خود ذخیره می‌کنند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۶؛ کوئسی و همکاران، ۱۹۸۹). این بخش از فسفر که به شکل آلی در پیکر ریز جانداران وجود دارد، پس از مرگ ریز جاندار به کمک آنزیم فسفاتاز کانی می‌شود و سپس به شکل محلول درمی‌آید (رودریگرز و فراگا، ۱۹۹۹). بنابراین در پژوهش حاضر علاوه بر اندازه‌گیری فسفر محلول روشناور میزان فسفر زی‌توده نیز اندازه‌گیری شده است. بر همین اساس طبق نمودار شکل ۲، در سنجش میزان فسفر محلول زی‌توده این مقدار برای گروه‌های آزمایشی با منبع تری فسفات کلسیم ۱۲/۳ تا ۲۲/۳ میلی‌گرم بر لیتر و برای گروه آزمایشی با منبع فیتات کلسیم ۱۱/۶ تا ۳۳/۵ میلی‌گرم بر لیتر برآورد شده است. در بخش توده زیستی نیز بیشترین کارایی حل‌کنندگی فسفات از منبع تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم را *Gloeocapsa sp.* به ترتیب با میزان ۳۵/۵ و ۱۸/۷ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد.



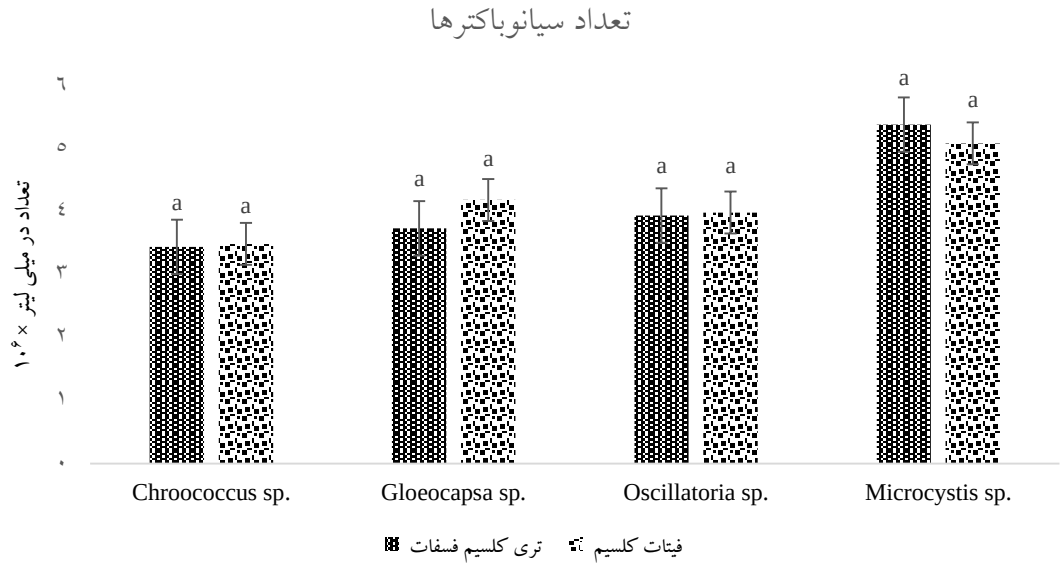
شکل ۱- میزان حل‌کنندگی فسفات معدنی و آلی توسط جدایه های سیانوباکتریایی در بخش رو شناور.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد (P<۰/۰۵) است.



شکل۲- میزان حل کنندگی فسفات معدنی و آلی توسط جدایه های سیانوباکتریایی در بخش زی توده.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد (P<۰/۰۵) است.

ارزیابی زیست‌توده سیانوباکتریایی

سنجش تعداد سیانوباکترها در شرایط کشت خالص تحت تأثیر فسفر با منابع فسفات غیر محلول آلی و معدنی در تعداد هیچ‌کدام از سیانوباکترها اختلاف معنی-داری ایجاد نکرد. این مسئله می‌تواند به دلیل این باشد که در محیط کشت سیانوباکترها با توجه به ترکیبات محیط کشت BG11 و نیز انحلال فسفر نامحلول، میزان فسفر محلول به‌اندازه کافی وجود داشته است و محدودیتی برای تکثیر و تولید سیانوباکترها در هیچ جدایه وجود نداشته است. بااین‌حال به نظر می‌رسد با توجه به‌اندازه و خصوصیات منحصربه‌فرد هر سیانوباکتر، جدایه *Microcystis sp* از سایر جدایه‌ها رشد بهتری داشته است و میزان رشد *Chroococcus sp* کمتر بوده است.



نمودار ۳. تعداد انواع مختلف جدایه‌های سیانوباکتریایی پس از ۱۴ روز کشت تحت تأثیر منابع مختلف فسفر نامحلول.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد (P<۰/۰۵) است.

نتیجه‌گیری

محدودیت فسفر محلول و قابل‌استفاده برای شکوفایی فیتوپلانکتون‌های استخرهای پرورش ماهیان گرمابی ازجمله مشکلات حال حاضر برخی از این مزارع است، پرورش‌دهندگان ماهیان گرمابی طیف گسترده‌ای از کودهای فسفاته را، به‌منظور افزایش میزان فسفر در آب استفاده می‌کنند، که علاوه بر تهدیدات زیست‌محیطی و تغییر کیفیت آب‌وخاک، بخش زیادی از آن به اشکال مختلف از دسترس خارج می‌شود (جلالی و همکاران، ۱۴۰۰). با توجه به نتایج این پژوهش، مشخص شد که برخی از سیانوباکتری‌های جداشده از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی در شرایطی که به‌اندازه کافی منابع فسفر نامحلول در دسترس داشته باشند تا حدودی قابلیت انحلال آن را دارند و این مسئله می‌تواند به شکوفایی آب مزارع پرورش ماهیان گرمابی و متعاقباً به رشد ماهی کمک کند. بنابراین استفاده از کودهای زیستی جلبک‌های سبزآبی راهکار مناسبی برای غلبه بر مشکل کمبود فسفر محلول در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی و سیستم‌های پرورش توأم است. البته باید در نظر داشت افزایش میزان انحلال فسفر و متعاقباً افزایش نسبت فسفر به نیتروژن در آب مزارع پرورش ماهی می‌تواند باعث یوتریفیکاسیون و شکوفایی جلبکی شود و بسیار مهم است که در این خصوص احتیاط‌های لازم انجام شود. با توجه به اینکه در این پژوهش ثابت‌شده است برخی سیانوباکتری‌های آزادکننده فسفر در استخرهای پرورش ماهی وجود دارند، به‌عنوان یک راهکار پیشنهادی می‌توان از آب خروجی استخرهای شکوفا شده برای شالیزارهای برنج به‌عنوان کود زیستی نیز استفاده کرد. البته این امر مهم نیازمند آزمایش‌های تکمیلی به‌منظور بررسی تأثیر آب خروجی از استخرهای شکوفا شده بر رشد و توسعه گیاه برنج دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از موسسه تحقیقات خاک و آب کشور بخصوص اعضای بخش بیولوژی خاک به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

فهرست منابع

۱. ابراهیمی، م. صفری سنجانی، ع. ساریخانی، م، ر. علی اصغرزاده، ناصر. ۱۳۹۶. بررسی توان برخی جدایه‌های باکتری در حل فسفات و تعیین چگونگی پخش فسفر حل شده در دو بخش محلول و زیتوده میکروبی. فصل نامه علمی پژوهشی زیست شناسی میکروارگانیسم‌ها. شماره ۲۵، صفحات ۱۲۵-۱۰۹.

۲. آرمنده، م. محمودی، ن. فلاح، ع ر. ۱۳۹۷. جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل کننده فسفات از مزارع پرورش ماهیان گرمابی به عنوان کاندیدای کود زیستی فسفره. مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان سال ششم، شماره چهارم، صفحه ۱۴۰-۱۲۱.

۳. جلالی، م. محمودی، ن. فلاح نصرت آباد، ع. کاهش مصرف کود شیمیایی فسفات در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی از طریق کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات در قالب کود زیستی. ۱۴۰۰. مجله علوم و فنون شیلات. دوره ۱۰. شماره ۴. ص ۴۳۶-۴۲۳.

۴. سعادت نیا، ه. ریاحی، ح. فخاری، ج. ۱۳۸۸.استفاده از جلبک‌های سبز-آبی جدا شده از یک شالیزار در استان گیلان به عنوان کود زیستی در گیاه برنج. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۳، شماره ۶.

۵. فندرسکی، ف. حسینی، ع. ایمانپور، م. ۱۳۸۸. بررسی پراکنش سیانوباکترهای استخرهای پرورشی کپورماهیان محدوده آلاگل. دومین سمپوزیوم بین المللی مهندسی محیط زیست.

۶. کمالی، م. رحیمی، الف. قلیچی، الف. موسوی ندوشن، ر. ۱۳۹۲. جمعیت جلبک های سبز آبی استخرهای پرورش ماهیان گرم آبی شرق استان گلستان، شهر گنبدکاووس. فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری، شماره ۱، صفحات ۱۰۰-۸۳.

7. Achat, D. L., Morel, C., Bakker, M. R., Augusto, L., Pellerin, S., Gallet-Budynek, A., & Gonzalez, M. (2010). Assessing turnover of microbial biomass phosphorus: Combination of an isotopic dilution method with a mass balance model. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(12), 2231–2240. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.023
8. 8. Afkairin, A., Ippolito, J. A., Stromberger, M., & Davis, J. G. (2021). Solubilization of organic phosphorus sources by cyanobacteria and a commercially available bacterial consortium. *Applied Soil Ecology*, *162*(January), 103900. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103900
9. 9. Cameron, H. J., & Julian, G. R. (1988). Utilization of hydroxyapatite by Cyanobacteria as their sole source of phosphate and calcium. *Plant and Soil*, *109*(1), 123–124. https://doi.org/10.1007/BF02197589
10. 10. Dorich, R. A., Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1985). Estimating Algal Available Phosphorus in Suspended Sediments by Chemical Extraction. *Journal of Environmental Quality*, *14*(3), 400–405. https://doi.org/https://doi.org/10.2134/jeq1985.00472425001400030018x
11. 11. Feresin, E. G., Arcifa, M. S., Silva, L. H. S. da, & Esguícero, A. L. H. (2010). Primary productivity of the phytoplankton in a tropical Brazilian shallow lake: experiments in the lake and in mesocosms. *Acta Limnologica Brasiliensia*, *22*(4), 384–396. https://doi.org/10.4322/actalb.2011.004
12. 12. Gen-Fu, W., & Xue-Ping, Z. (2005). Characterization of phosphorus-releasing bacteria in a small eutrophic shallow lake, Eastern China. *Water Research*, *39*(19), 4623–4632. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.08.036
13. 13. Gulati, A., Sharma, N., Vyas, P., Sood, S., Rahi, P., Pathania, V., & Prasad, R. (2010). Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by Acinetobacter rhizosphaerae strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. *Archives of Microbiology*, *192*(11), 975–983. https://doi.org/10.1007/s00203-010-0615-3
14. 14. Hendrayanti, D., Khoiriyah, I., Fadilah, N. and Salamah, A. 2018. Diversity of N2-fixing cyanobacteria in organic rice field during the cycle of rice crops. Inventing Prosperous Future through Biological Research and Tropical Biodiversity Management.
15. https://doi.org/10.1063/1.5050107.
16. 15. Hu, X. J., Li, Z. J., Cao, Y. C., Zhang, J., Gong, Y. X., & Yang, Y. F. (2010). Isolation and identification of a phosphate-solubilizing bacterium Pantoea stewartii subsp. stewartii g6, and effects of temperature, salinity, and pH on its growth under indoor culture conditions. *Aquaculture International*, *18*(6), 1079–1091. https://doi.org/10.1007/s10499-010-9325-8
17. 16. Johansson, C., & Bergman, B. (2006). Reconstitution of the symbiosis of Gunnera manicata Linden: Cyanobacterial specificity. *New Phytologist*, *126*, 643–652. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02960.x
18. 17. John, D. M., & Museum, N. H. (2012). The Freshwater algal flora of the British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae. *Choice Reviews Online*, *49*(12), 49-6880-49–6880. https://doi.org/10.5860/choice.49-6880
19. 18. Khan, M. S., Zaidi, A., Wani, P. A. (2007). Review article Methods for

studying root colonization by introduced. *Agronomie*, *23*, 407–418. https://doi.org/10.1051/agro

20. 19. Kim, L.-H., Choi, E., & Stenstrom, M. K. (2003). Sediment characteristics, phosphorus types and phosphorus release rates between river and lake sediments. *Chemosphere*, *50*(1), 53–61. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00310-7
21. 20. Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, *86*(4), 295–335.
22. 21. Kucey, R. M. N. (1983). Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science*, *63*, 671–678.
23. 22. Kucey, R. M. N., Janzen, H. H., & Leggett, M. E. (1989). Microbially Mediated Increases in Plant-Available Phosphorus (N. C. Brady (ed.); Vol. 42, pp. 199–228). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60525-8
24. 23. Kulik, M. M. (1995). The potential for using cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. *European Journal of Plant Pathology*, *101*(6), 585–599. https://doi.org/10.1007/BF01874863
25. 24. Larsson, S. E., & Toolanen, G. (1986). Posterior fusion for atlanto-axial subluxation in rheumatoid arthritis. *Spine*, *11*(6), 525–530. https://doi.org/10.1097/00007632-198607000-00004
26. 25. Mandal, B., Das, S. C., & Mandal, L. N. (1992). Effect of growth and subsequent decomposition of cyanobacteria on the transformation of phosphorus in submerged soils. *Plant and Soil*, *143*(2), 289–297. https://doi.org/10.1007/BF00007885
27. 26. Mishra, U., Choudhary, K. K., Pabbi, S., Dhar, D., & Singh, P. (2005). Influence of blue green algae and Azolla inoculation on specific soil enzymes under paddy cultivation. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, *7*, 9–12.
28. 27. Padmavathi, P., & Prasad Durga, M. K. (2007). Egular Aper. *Regular Paper*, *24*, 32–43.
29. 28. Pal, M., Yesankar, P. J., Dwivedi, A., & Qureshi, A. (2020). Biotic control of harmful algal blooms (HABs): A brief review. Journal of Environmental Management, 268(April), 110687. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110687
30. 29. Pandey, V. D., & Parveen, S. (2011). Alkaline Phosphatase Activity in Cyanobacteria : *Indian Journal of Fundamenal and Applied Life Sciences*, *1*(4), 295–303.
31. 30. Paul, D., & Sinha, S. N. (2013). Isolation of phosphate solubilizing bacteria and total heterotrophic bacteria from river water and study of phosphatase activity of phosphate solubilizing bacteria. *Advances in Applied Science Research*, *4*(4), 409–412.
32. 31. Rai, A.N., Soderback, E & Bergman, B. (2000). Cyanobacerium- plaqnt symbioses. 147(116): 449-4.
33. 32. Rodriguez, A. A., Stella, M. M,, Zulpa, G & Zaccaro, M.C. (2006). Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerancein oryza sativa L., Saline system. 206:2-7.
34. 33. Riegman, R., & Mur, L. R. (1986). Phytoplankton growth and phosphate uptake (for P limitation) by natural phytoplankton populations from the Loosdrecht lakes (The Netherlands). *Limnology and Oceanography*, *31*(5), 983–988. https://doi.org/10.4319/lo.1986.31.5.0983

35. 34. Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17(4), 319–339. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2
36. 35. Sugunan, V. (2000). Ecology and fishery management of reservoirs in India. *Hydrobiologia*, *430*, 121–147. https://doi.org/10.1023/A:1004081316185
37. 36. Whitton, B. A., Grainger, S. L., Hawley, G. R., & Simon, J. W. (1991). Cell-bound and extracellular phosphatase activities of cyanobacterial isolates. *Microbial Ecology*, *21*(1), 85–98. https://doi.org/10.1007/BF02539146
38. 37. Wolf, A. M., Baker, D. E., Pionke, H. B., & Kunishi, H. M. (1985). Soil Tests for Estimating Labile, Soluble, and Algae-Available Phosphorus in Agricultural Soils. *Journal of Environmental Quality*, *14*(3), 341–348. https://doi.org/https://doi.org/10.2134/jeq1985.00472425001400030008x
39. 38. Wilson, L. T., (2006). Cyanobacteria: A Potential Nitrogen Source in Rice Field, texas rice. 6(6): 9-10.
40. 39. Yandigeri, M. S., Yadav, A. K., Srinivasan, R., Kashyap, S., & Pabbi, S. (2011). Studies on mineral phosphate solubilization by cyanobacteria Westiellopsis and Anabaena. *Microbiology*, *80*(4), 558–565. https://doi.org/10.1134/S0026261711040229

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/ ۱۶۷-۱۸۲
https://doi.org/10.22092/sbj.2024.356053.225

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و گوگرد بر رشد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف دانه گندم در خاک‌های شور-سدیمی

مریم جوادزاده، کاظم خاوازی*، نوید قنواتی، علیرضا جعفرنژادی و وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

دانشجوی گروه خاک‌شناسی، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی؛ **Maryam_javadzadeh@yahoo.com**
استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **khavazik@yahoo.com**
استادیار گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی؛ **ghanavati.navid2014@gmail.com**
استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **arjafarnejady@gmail.com**
پژوهشگر مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **vahid.jahandideh67@gmail.com**

دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۰ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۹

«مقاله پژوهشی»

چکیده

شوری و سدیمی بودن خاک منجر به برهم زدن تعادل عناصر غذایی در خاک و ایجاد محدودیت در رشد گیاه می‌شود. آزمایشی برای ارزیابی کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* و باکتری‌های محرک رشد گیاه جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی بر عملکرد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف گندم (رقم چمران) در خاک‌های شور و سدیمی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی، در سه تکرار در گلخانه اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه نوع خاک شور و سدیمی (S1؛ SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، (S2؛ SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و (S3؛ SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1})، چهار سطح از باکتری‌های محرک رشد گیاه (B0؛ شاهد، *Pseudomonas alcaliphila*، *Rhizobium pusense* و *Bacillus subtilis*) و دو سطح گوگرد همراه با باکتری *Thiobacillus thiooxidans* (T0؛ عدم کاربرد و T1؛ کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*) بودند. بر اساس توالی‌یابی ژن16S rRNA، باکتریهای محرک رشد برتر به عنوان باکتری‌های*Pseudomonas alcaliphila*، *Bacillus subtilis* و *Rhizobium pusense*، شناسایی شدند. نتایج نشان داد که افزودن گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans* و سایر باکتری‌های محرک رشد در سطوح شوری و سدیمی مختلف منجر به افزایش عملکرد دانه و غلظت عناصر کم مصرف نسبت به شاهد شد. در سطوح شوری و سدیمی S1 و S3، بیشترین عملکرد دانه در گیاهان تلقیح شده با باکتری *R. pusense* (۱۳/۱ و ۸۸/۸ درصد) مشاهده شد. تلفیق باکتری‌های محرک رشد و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه و غلظت عناصر کم‌مصرف در خاک‌های شور و سدیمی نداشت. به طور کلی کاربرد انفرادی باکتری *R. pusense* جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* نقش بسزایی در بهبود عملکرد و غلظت عناصر کم‌مصرف در گندم در خاک‌های شور و سدیمی دارد.

کلمات کلیدی: باکتری‌های ریزوسفر، تنش شوری و سدیمی، جداسازی باکتری‌ها، گندم، *Thiobacillus thiooxidans*

*-آدرس ایمیل نویسنده مسئول: khavazik@yahoo.com

مقدمه

غلات از جمله گندم یکی از راهبردی‌ترین گیاهان زراعی محسوب می‌شود که در الگوی غذایی بسیاری از کشورهای جهان بوده و در سطح وسیعی از اراضی دنیا کشت می‌شود. شوری خاک از جمله عوامل تنش‌زای محیطی می‌باشد که علاوه بر اختلال و کاهش قابلیت جذب آب توسط ریشه‌ها، گندم را نیز از نظر تغذیه‌ای و فرآیندهای متابولیکی دچار مشکل می‌نماید و بر رشد آن و تولید محصول تأثیر منفی می‌گذارد (هوبر و همکاران، ۲۰۲۰). خاک‌های شور و سدیمی (EC> ۴ دسی زیمنس بر متر، (Exchangeable Sodium Percentage)ESP > ۱۵ و pH <۸/۵) دسته‌ای از خاک‌های مساله‌دار هستند که شوری زیاد در آن‌ها، به‌عنوان یک عامل تنش‌زا برای گیاه عمل نموده و تولید اتیلن را در ریشه گیاه افزایش می‌دهد (ظفر و همکاران، ۲۰۱۸).

افزایش مقاومت گیاهان در خاک‌های شور و سدیمی به‌وسیله روش‌های مقرون به‌صرفه و دوستدار محیط‌زیست می‌تواند گامی مؤثر در استفاده پایدار از این نوع از خاک‌ها در جهت افزایش تولید کشاورزی باشد. در این راستا استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) نقش بسزائی در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاهان دارد (زولوتاردریجز و همکاران، ۲۰۱۴). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاهی به‌ویژه ریشه شوند (هامونتس و همکاران، ۲۰۱۸). این باکتری‌ها با تولید آنزیم ACC–دآمیناز (ACC-deaminase)، سبب هیدرولیز پیش ماده تولید اتیلن در گیاه (ACC) به آمونیوم و آلفاکتوبوتیرات و مانع تولید بیش‌از حد اتیلن تنشی در گیاه شده و از کاهش رشد ریشه جلوگیری می‌کنند (وجان و همکاران، ۲۰۱۶).

همچنین باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید اسیدهای معدنی و آلی، تولید سیدروفورها و افزایش فراهمی عناصر کم‌مصرف به‌ویژه آهن به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (گودا و همکاران، ۲۰۱۸). نتایج یک تحقیق نشان داد که باکتری *Rhizobium pusense* منجر به افزایش غلظت نیتروژن و رشد بهتر ریشه و اندام هوایی و در نتیجه افزایش تحمل ماش سبز در شرایط تنش شوری شد (داس و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین تلقیح باکتری *Pseudomonas alcaliphila*، تحمل گیاه برنج به تنش شوری را از طریق القای میکروبیوم ریزوسفر و تغییرات الگوی پروتئوم گیاه افزایش داد (زنگ و همکاران، ۲۰۲۳). نتایج یک مطالعه نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاهان از جمله *Bacillus safensis* می‌توانند در بهبود شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط تنش شوری مؤثر باشند (مصلح آرانی و همکاران، ۱۴۰۰). نتایج تأثیر باکتری‌های *Exiguobacterium aurantiacum*، *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus pumilus* به‌تنهایی و در ترکیب بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک دو رقم گندم حساس و مقاوم به شوری، نشانگر برتری *B. pumilus* در افزایش تحمل ارقام گندم با افزایش شوری بود (نواز و همکاران، ۲۰۲۰). باکتری *Bacillus subtilis* نقش مهمی در بهبود عملکرد گندم در شرایط تنش شوری از طریق تثبیت نیتروژن، تولید آمونیاک و سنتز ایندول استیک اسید داشته است (گول و همکاران، ۲۰۲۳).

راندمان بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش شور و سدیمی از طریق کاربرد باکتری‌های مولد ACC–دآمیناز به ماندگاری این ریزجانداران در این شرایط بستگی دارد (ورکوندا و همکاران، ۲۰۱۶). تنش شوری در خاک‌های شور–سدیمی، فعالیت‌های حیاتی باکتری‌ها را به‌دلیل کاهش آب قابل استفاده محدود و بقا آنها را تهدید می‌کند (اعتصامی و ماهشواری، ۲۰۱۸). گزارش‌هایی مبنی بر توانایی زنده ماندن و بقای باکتری‌های محرک رشد گیاه تحت شرایط تنش آبی، به‌دلیل تولید اگزوپلی‌ساکاریدها

(EPS[1]) وجود دارد (کومار آرورا و همکاران، ۲۰۱۸). تلقیح همزمان سویا با *Bradyrhizobium japonicum* و *Bacillus subtilis* (دارای توانایی تولید EPS)، اثرات تنش شوری را با محدود کردن جذب سدیم از طریق EPS کاهش داد (هان و لی، ۲۰۰۵).

بسیاری از تحقیقات نشان داده است که مصرف گوگرد و تولید اسیدسولفوریک در نتیجه اکسایش آن، باعث کاهش pH، تأمین سولفات مورد نیاز گیاهان و افزایش قابلیت جذب فسفر و عناصر کم‌مصرف در خاک‌های شور و سدیمی می‌شود (داس و همکاران، ۲۰۱۹؛ یلدیزتکین و کوزو، ۲۰۱۹). احمد و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند کاربرد گوگرد در خاک‌های شور و سدیمی از طریق کاهش درصد سدیم تبادلی خاک منجر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی برنج و ذرت شد. به‌دلیل سرعت کند اکسایش گوگرد خاک‌ها، شرط بهره‌گیری از این توان بالقوه گوگرد، حضور باکتری‌های اکسیدکننده این ماده در خاک به‌ویژه جنس *تیوباسیلوس* است (هادی اسدی رحمانی و همکاران، ۲۰۱۸؛ خاوازی و همکاران، ۱۳۹۷).

اگرچه محققان اثر مجزای کاربرد باکتری‌های محرک رشد و گوگرد بر رشد گیاهان در خاک‌های شور و سدیمی را مورد بررسی قرار داده‌اند، اما گزارش‌ها در رابطه با کاربرد همزمان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بومی با گوگرد بر گندم محدود است؛ بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد همزمان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (مولد آنزیم ACC-دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید) جداسازی شده از خاک‌های مختلف شور و سدیمی و گوگرد همراه با *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت برخی عناصر غذایی کم‌مصرف دانه گندم در خاک‌های شور و سدیمی اجرا گردید.

[1] - Exopolysaccharide

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌ها

ابتدا نمونه‌های تصادفی خاک از ریزوسفر گندم کشت شده در ۱۷ خاک شور و سدیمی در استان خوزستان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها تا زمان جداسازی باکتری در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. ده گرم از هر نمونه خاک به ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه شیک شدند. در ادامه، آب مقطر تا رقت 10^{-7} به لوله‌های آزمایش اضافه شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-5} تا 10^{-7} از هر محلول نمونه خاک به پلیت‌های حاوی نوترینت آگار اضافه شد. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۷۲-۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. کلنی‌های به‌دست‌آمده با کشت‌های مکرر بر روی محیط نوترینت آگار خالص‌سازی شدند (فلورس-وارگاس و اوهارا، ۲۰۰۶؛ عباسی و همکاران، ۱۳۹۰).

اندازه‌گیری ویژگی‌های محرک رشد گیاه

اندازه‌گیری توان تولید آنزیم ACC-دآمیناز

به‌منظور بررسی توان جدایه‌های مورد مطالعه در استفاده از ACC به‌عنوان تنها منبع نیتروژن که نشان‌دهنده تولید آنزیمACC دآمیناز توسط باکتری است از روش دل-آمیکو و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. در ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر جدایه (با جمعیت 10^{8} $CFU\ ml^{-1}$[2]) به ۲۰ میلی‌لیتر از سه محیط DF[3] حاوی سه میلی‌مولار ACC، محیط DF حاوی دو گرم در لیتر سولفات آمونیوم (به عنوان شاهد مثبت) و محیط DF فاقد ACCو سولفات آمونیوم (به عنوان شاهد منفی) تلقیح گردید. بعد از گذشت ۴۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب

[2] - Colony Forming Unit

[3] - Dworkin-Foster

نور در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای هر سه محیط قرائت شد. توان تولید آنزیم ACC- دآمیناز بر اساس میزان رشد باکتری در محیط حاوی آنزیم ACCدر مقایسه با رشد آن در محیط‌های شاهد، ارزیابی شد.

اندازه‌گیری میزان تولید سیدروفور

این آزمون با استفاده از روش اصلاح شده الکساندر و زوبرر (۱۹۹۱) انجام شد. برای تهیه این محیط چهار محلول شامل معرف Fe-CAS، محلول بافر، محلول غذایی و کازو آمینو اسید با هم مخلوط شدند. ابتدا جدایه‌ها در محیط کشت نوترینت براث به‌مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. سپس ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با با جمعیت $۱۰^{۸}$ $CFU\ ml^{-1}$ به-روش لکه‌گذاری روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط CAS کشت داده شد. پتری‌دیش‌های تلقیح شده به مدت ۵ روز در دمای ۳۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تولید هاله نارنجی رنگ اطراف کلنی بیانگر تولید سیدروفور بود.

اندازه‌گیری میزان تولید اکسین

به‌منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت نوترینت براث کشت و سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال – تریپتوفان منتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با دو میلی‌لیتر معرف ساکووسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر$FeCl_3.\ 6H_2O$ نیم مولار) مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۷۲۷ نانومتر قرائت گردید (بنت و همکاران، ۲۰۰۱). مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور آن با منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

اندازه‌گیری توان حل فسفات‌های معدنی در محیط جامد

در این روش ابتدا جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه‌کمی توان حلالیت فسفر، ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با جمعیت $۱۰^{۸}$ $CFU\ ml^{-1}$ به روش لکه‌گذاری و با سه تکرار روی پتری‌دیش‌های محیط اسپربر حاوی نمک نامحلول تری‌کلسیم‌فسفات کشت داده شد. پتری-دیش‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری و هاله شفاف اطراف کلنی به عنوان حلالیت تری‌کلسیم‌فسفات در نظرگرفته شد. نسبت قطر هاله بر قطر کلنی اندازه‌گیری شد (رشید و همکاران، ۲۰۰۴).

تعیین کیفی توان تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط جدایه‌ها

در این روش ابتدا جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص کیفی توان تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط جدایه‌ها، ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با جمعیت $۱۰^{۸}$ $CFU\ ml^{-1}$ به روش لکه‌گذاری و با سه تکرار بر روی پتری-دیش‌های حاوی محیط کشت اختصاصی برای تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط باکتری‌ها انتقال یافت. ترکیبات محیط کشت شامل ۵۰ میلی‌لیتر محلول فوق نمکی، ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات، ۰/۱ گرم عصاره مخمر، ۲۰ گرم ساکاروز و ۱۵ گرم آگار در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود. پتری‌دیش‌های تلقیح شده توسط سوسپانسیون جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری و کلونی‌های موکوئیدی به عنوان جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید در نظرگرفته شد (مشبکی اصفهانی و همکاران، ۱۳۹۶).

شناسایی باکتری‌های برتر

در ابتدا سه جدایه برتر بر اساس ویژگی‌های محرک رشدی گیاه انتخاب شدند. استخراج DNA ژنومی جدایه‌های برتر با روش CTAB انجام شد (سامبروک و راسل، ۲۰۰۱). برای تکثیر ناحیه ژنی 16S rDNA از آغازگرهای عمومی 27F (5′-AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG-3′) و 1492R (5′-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3′) استفاده گردید (جیانگ و همکاران، ۲۰۰۶). تکثیر با استفاده از یک ترموسایکلر در ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۰/۴ میکرولیتر DNA (۵۰ $\mu g\ ml^{-1}$)، ۲/۵ میکرولیتر بافر پی سی آر 10X [۵۰ KCL mM، mM Tris-HCL ۱۰ با pH=۹، NP40 (v/v) ۰/۰۵٪ و Trition X-100 (v/v) ۰/۰۵٪]، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۰/۲ mM)، ۰/۵ میکرولیتر از MgCl2 (۵۰ mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ pmol)، ۰/۲ میکرولیتر Taq DNA polymerase (۵ U μl^{-1}) (CinnaGen Co. Ltd. Iran) و ۱۹/۹ میکرولیتر آب مقطر سترون انجام شد. شرایط انجام PCR به‌صورت زیر تنظیم گردید: واسرشست اولیه[۴] در ۹۴ درجه سلسیوس برای ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه واسرشست در ۹۴ درجه سلسیوس برای یک دقیقه، اتصال[۵] در ۵۵ درجه سلسیوس برای یک دقیقه و گسترش[۶] در ۷۲ درجه سلسیوس برای یک دقیقه و در نهایت گسترش نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱۰ دقیقه. محصولPCR حاصل از تکثیر 16S rDNA از ژل آگاروز ۱/۲ درصد در بافرTBE 1X به مدت یک ساعت عبور داده شد و سپس ژل تحت نور UV نمایان و با استفاده از دستگاه ژل داک Alpha Imager (TM1200) تصویر ژل ثبت گردید. محصول PCR هر یک از جدایه‌ها با استفاده از کیت خالص‌سازی خالص شده و به منظور تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال گردیدند. پس از دریافت نتایج، توالی نوکلئوتیدی جدایه‌ها توسط نرم‌افزار Vector NTI اصلاح شده و یک توالی کانتیگ برای هر سویه به‌دست آمد. سپس این توالی‌های کانتیگ در پایگاه NCBI با استفاده از Blastn با توالی‌های موجود مقایسه شدند.

تهیه مایه تلقیح‌های میکروبی

پس از شناسایی مولکولی، سه جدایه برتر *Pseudomonas alcaliphila*، *Rhizobium pusense* و *Bacillus subtilis* نامگذاری شدند. جهت تهیه مایه تلقیح، باکتری‌ها به طور جداگانه در محیط کشت نوترینت براث کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از رشد کافی باکتری‌ها، جمعیت آنها به روش شمارش کلونی و سری رقت تعیین و در حدود $۱۰^{۷}$ $CFU\ ml^{-1}$ تنظیم شد.

مایه تلقیح باکتری *Thiobacillus thiooxidans* به صورت پودری با حامل پرلیت و حاوی حدود $۱۰^{۷}$ $CFU\ ml^{-1}$ بود که از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه و به هنگام استفاده با نسبت یک به ۵۰ با گوگرد پودری (مایه‌تلقیح *تیوباسیلوس* به میزان دو درصد گوگرد مصرفی) مخلوط گردید (بشارتی و همکاران، ۱۳۹۴). گوگرد مورد استفاده نیز گوگرد عنصری پودری (اندازه ذرات حدود۱۰۰ مش) با خلوص ۹۸ درصد بود.

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل (سه فاکتور) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور اول: سه نوع خاک جمع‌آوری شده از اراضی شور و سدیمی در استان خوزستان (شهرستان ویس) (جدول ۱) با سطوح مختلف شور و سدیمی S1 (SAR=۱۳ و $EC=۸\ ds\ m^{-1}$)، S2 (SAR=۱۵ و $EC=۱۰\ ds\ m^{-1}$) و S3 (SAR=۱۷ و $EC=۱۴\ ds\ m^{-1}$)، فاکتور دوم: شامل چهار سطح از باکتری‌های محرک رشد گیاه (B0: شاهد، *P. alcaliphila*، *R.*

۴- Initial denaturation

۵- Annealing

۶- Extension

pusense و *B. subtilis*) و فاکتور سوم: شامل دو سطح گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans* (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *تیوباسیلوس*) بودند. نتایج خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک‌های مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. کربن آلی خاک با استفاده از روش اکسیداسیون تر (واکلی و بلک، ۱۹۳۴)، فسفر قابل جذب با روش عصاره‌گیری با بی کربنات سدیم ۰/۵ نرمال (اولسن، ۱۹۵۴) و پتاسیم قابل جذب با عصاره‌گیری استات آمونیوم اندازه‌گیری شدند. برای تعیین pH و EC خاک از عصاره اشباع خاک استفاده شد. برای اندازه‌گیری توزیع اندازهٔ ذرات خاک از روش هیدرومتری استفاده شد (جی و بادر، ۱۹۸۶).

غلظت محلول کاتیون‌های Ca^{2+}، Mg^{2+} و Na^{+} با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (سوارز، ۱۹۹۶: هلمکه و اسپارکس، ۱۹۹۶). برای محاسبه نسبت جذب سدیم (SAR) از کاتیون‌های محلول به شرح زیر استفاده شد:

$$SAR = \frac{[Na^{+}]}{\sqrt{[Ca^{2+}] + [Mg^{2+}]/2}} \quad (۱)$$

که در آن Na^{+} سدیم محلول (میلی اکی والان در لیتر)، Ca^{2+} کلسیم محلول (میلی اکی والان در لیتر) و Mg^{2+} منیزیم محلول (میلی اکی والان در لیتر) می‌باشد.

جدول ۱- موقعیت نقاط و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی سه نمونه خاک شور- سدیمی مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای

خاک	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	اسیدیته	EC (ds m^{-1})	کربن‌آلی (%)	فسفر	پتاسیم	نسبت جذب سدیم (SAR)	شن	سیلت	رس	بافت
						(mg kg^{-1})			(%)			
S1	۲۹۹۰۶۷/۷۱	۳۴۸۹۰۵۲/۹۹	۷/۱	۸	۰/۲۲	۲	۱۱۷	۱۳	۲۸	۳۸	۳۴	لومی رسی
S2	۲۹۹۸۶۲/۷۱	۳۴۸۸۵۴۶/۷۱	۷/۴	۱۰	۰/۲۴	۳/۳	۱۰۶	۱۵	۳۴	۳۶	۳۰	لومی رسی
S3	۳۰۰۵۸۴/۵۶	۳۴۸۸۸۷۷/۸۸	۷/۵	۱۴	۰/۲۴	۳/۴	۱۳۸	۱۷	۳۲	۳۰	۳۸	لومی رسی

خاک‌های شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1})

بذر گندم رقم چمران از ایستگاه بذر و نهال مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان تهیه شد. بذور گندم با استفاده از الکل ۹۶ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند. سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. بذور در آب آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور جوانه‌دار شدند. در هنگام کاشت، هر بذر با مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر مایه تلقیح باکتری مورد نظر آغشته شده و سپس ۲۵ بذر در گلدان‌هایی با قطر ۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۴۰ سانتیمتر حاوی ۲۵ کیلوگرم خاک کشت گردید. گلدان‌ها در گلخانه‌ای با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و پس از دو هفته گیاهچه‌های هر گلدان به ۱۵ گیاه کاهش داده شد. رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. بدین منظور، درصد رطوبت وزنی گلدان‌ها اندازه‌گیری و هر ۶-۵ روز یک‌بار آبیاری شد. پس از پنج ماه اندام هوایی برداشت و دانه‌ها جدا شدند. سپس دانه‌ها توزین و عملکرد بر حسب گرم در گلدان اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی کلسیم، منیزیم، آهن، مس، روی و منگنز دانه به روش سوزاندن خشک و با استفاده از دستگاه جذب‌اتمی (مدل Perkin elmer ساخت کشور امریکا) (ریان و همکاران، ۲۰۰۱) در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS (ورژن ۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای

آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

باکتری‌های ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های شور-سدیمی افزایش می‌دهند (اله و بانو، ۲۰۱۹). برای استفاده از این باکتری‌ها، یافتن بهترین جدایه‌های باکتریایی از نظر صفات PGP و جدایه‌هایی که کلنی‌سازی مناسب با گیاهان در خاک‌های شور-سدیمی دارند، بسیار حائز اهمیت است. غربالگری باکتری‌های بومی ریزوسفر خاک‌های شور-سدیمی می‌تواند پایه‌ای قابل اعتماد برای انتخاب PGPR موثر فراهم کند (دامودارن و همکاران ۲۰۱۹؛ شرما و همکاران، ۲۰۲۱). برای این منظور، ۳۵۰ جدایه از خاک‌های ریزوسفری جمع آوری شده از مزارع تحت کشت گندم با روش سری رقت جداسازی و خالص‌سازی شدند. برای حصول اطمینان چندین مرحله تکرار شد. از این تعداد ۲۵ جدایه بر اساس آزمون تعیین ACC-دآمیناز و اگزوپلی ساکارید انتخاب گردیدند. پس از انجام اندازه‌گیری ویژگی‌های محرک رشد، سه باکتری برتر انتخاب شدند. ویژگی‌های محرک رشد و نتایج شناسایی باکتری‌های برتر در (جدول ۲) آورده شده است.

جدول ۲- ویژگی‌های محرک رشد گیاه جدایه‌های برتر

نام جدایه	نام جنس و گونه باکتری	حل کنندگی فسفات نا محلول (نسبت قطر هاله به کلنی)	اکسین (میکروگرم در میلی-لیتر)	سیدروفور (نسبت قطر هاله به کلنی)	ACC دآمیناز (نسبت جذب محیط DF + ACC به محیط DF)	اگزوپلی-ساکارید
۵۲۳-۱۰b	*Pseudomonas alcaliphila*	۱/۲۶	۲۴/۲	۲/۱	۲/۷	–
۵۲۶-۸a	*Bacillus subtilis*	۰/۴۹۱	۲۲/۸	-	-	+++
۳۴۵-۱	*Rhizobium pusense*	-	۱۸/۲	۲/۶۳	۲/۶	++

+++: توانایی عالی ++: توانایی خوب +: توانایی ضعیف و –: عدم توانایی برای ویژگی مورد نظر

نتایج تجزیه واریانس اثر شور-سدیمی، باکتری و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت عناصر دانه گندم در (جدول ۳) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر متقابل تلقیح باکتری و خاک شور و سدیمی بر عملکرد، غلظت عناصر و نسبت کلسیم به منیزیم معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر شوری و سدیمی خاک، باکتری و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت عناصر دانه گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	آهن	مس	منگنز	روی	کلسیم/منیزیم
گوگرد (T)	۱	۷/۲۸*	۲۲/۷**	۰/۹۱۰*	۴۸/۵*	۱۶/۷ ns	۰/۰۶۰ns
شوری و سدیمی (S)	۲	۸۷۴ **	۴۲۱**	۰/۷۰۰*	۹۱/۱**	۲۴۰**	۰/۲۳۰*
باکتری (B)	۳	۴/۸۶**	۲۲۲**	۰/۶۲۰*	۴۱/۹**	۱۰/۰**	۰/۴۹۰**
T × S	۲	۰ /۷۱۳*	۶۵/۱*	۰/۴۵۰ ns	۳۶/۲*	۱۶/۶*	۰/۱۰۰*
S × B	۶	۸/۶۱**	۴۲/۳*	۰/۲۷۰*	۱۶/۵ ns	۴/۴۰*	۰/۰۹۰*
T × B	۳	۰/۰۰۳ ns	۶۷/۷*	۰/۱۳۰*	۸/۵*	۳/۷۷*	۰/۰۱۰ns
T × S × B	۶	۰/۰۰۵ ns	۱۸/۳ns	۰/۱۰۰ns	۲/۵ns	۶/۴۲ns	۰/۰۲۰ns
خطا	۴۶	۱/۱۰	۱۳/۶	۰/۱۸۰	۱۰/۸	۳/۶۵	۰/۰۱۰
CV		۹/۴۹	۹/۱۶	۶/۲۴	۸/۵۸	۱۰/۳	۱۱/۱

ns، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد

در شرایط عدم کاربرد باکتری، با افزایش میزان سطح شوری و سدیمی خاک، غلظت عناصر غذایی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه گندم کاهش یافت، به‌طوری‌که افزایش شوری و سدیمی از سطح S1 به S3، منجر به

کاهش غلظت آهن، منگنز، روی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه به ترتیب به میزان ۵۹/۱، ۱۸/۴، ۲۲/۴ و ۱۲/۲ درصد شد (جداول ۴ و ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سدیمی خاک و باکتری بر غلظت آهن و مس دانه گندم

تیمار	آهن			مس		
	(میلی گرم در کیلوگرم)					
باکتری/خاک شور-سدیمی	S1	S2	S3	S1	S2	S3
B0	۵۲/۱c	۳۷/۲e	۲۱/۳f	۶/۷۳bc	۶/۵۲c	۶/۷۰bc
P. alcaliphila	۵۸/۶b	۳۹/۲de	۲۲/۳f	۷/۱۳ab	۶/۷۷bc	۶/۶۷bc
R. pusense	۶۷/۵a	۴۳/۲d	۲۴/۸f	۷/۵۰a	۷/۰۱abc	۶/۶۵bc
B. subtilis	۵۶/۲bc	۳۹/۰de	۲۲/۳f	۶/۸۳bc	۶/۷۲bc	۶/۷۳bc

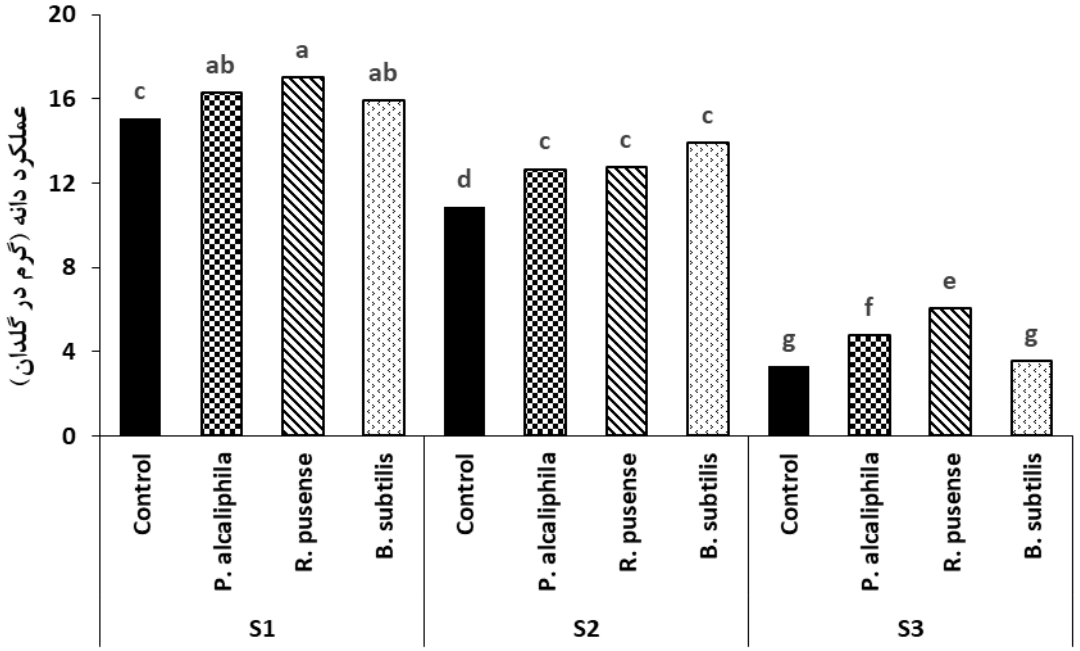
تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}).
برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سدیمی خاک و باکتری بر غلظت منگنز و روی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه گندم

تیمار	منگنز			روی			نسبت کلسیم به منیزیم		
	(میلی گرم در کیلوگرم)								
باکتری/خاک شور-سدیمی	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
B0	۴۰/۷a	۳۷/۰abc	۳۳/۲c	۲۰/۵b	۱۷/۶c	۱۵/۹c	۱/۵۶bcd	۱/۴۵cd	۱/۳۷d
P. alcaliphila	۴۰/۳a	۳۷/۹ab	۳۷/۷ab	۲۴/۴a	۱۸/۲c	۱۶/۲c	۱/۸۲a	۱/۷۲ab	۱/۶۳abc
R. pusense	۴۱/۰a	۳۹/۵a	۴۰/۷a	۲۲/۱b	۱۷/۹c	۱۵/۷c	۱/۵۵bcd	۱/۵۴bcd	۱/۴۸cd
B. subtilis	۳۹/۷a	۳۸/۰ab	۳۴/۶bc	۲۱/۱b	۱۷/۵c	۱۵/۶c	۱/۵۴bcd	۱/۳۶d	۱/۳۵d

تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}). برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

افزایش سطح شور و سدیمی و کاهش غلظت عناصر بر کاهش عملکرد موثر بود. نتایج نشان داد که با افزایش سطح شور و سدیمی خاک، عملکرد دانه به طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که با افزایش میزان شور و سدیمی به S_2 و S_3 عملکرد به ترتیب ۳۲/۰ و ۷۰/۲ درصد کاهش یافت (شکل ۱). کاهش عملکرد گندم با افزایش شور و سدیمی خاک می‌تواند به‌علت اثر منفی تنش شوری (تنش اسمزی و تنش یونی) بر گیاه باشد. در واقع، شوری خاک به دلیل کاهش پتانسیل آب و جذب بیش از حد یون‌های کلر و سدیم، رشد بیشتر محصولات از جمله گندم را محدود می‌کند (قرابلی و نفدی ۲۰۲۱).



شکل ۱- اثر شوری و سدیمی خاک و باکتری بر عملکرد دانه گندم. تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}). حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها (جداول ۴ و ۵) نشان داد که تلقیح باکتری باعث افزایش غلظت عناصر آهن، مس نسبت به شاهد در دو سطح S2 و S1 و افزایش غلظت منگنز در دو سطح شور و سدیمی S2 و S3 نسبت به شاهد (جدول ۴) شد. تلقیح سویه *R. pusense* در سطح شور و سدیمی S1، اثر بیش تری بر غلظت عناصر آهن، مس و منگنز داشت و سویه *P. alcaliphila* در سطح شور و سدیمی S1، بر غلظت روی نسبت به تیمارهای دیگر مؤثرتر بود. پایین بودن سطح شور و سدیمی (سطح شور و سدیمی S1) در ضمن حضور سویه *R. pusense* که احتمالاً از طریق تولید همزمان ایندول استیک اسید، سیدروفور، آنزیم ACC دآمیناز و اگزوپلی‌ساکاریدها بر تحریک هرچه بیش‌تر رشد گندم مؤثر بوده، منجر به افزایش غلظت عناصر در دانه با این تیمار شده است. تفاوت در آستانه تحمل شوری و تفاوت در قدرت کلنیزاسیون ریشه ضمن داشتن ویژگی‌های محرک رشدی متفاوت می‌تواند عامل ایجاد اختلاف در اثر سویه ها بر غلظت عناصر دانه گندم بوده باشد.

بر اساس نتایج (شکل ۱)، تلقیح با سویه *R. pusense* در سطوح شوری و سدیمی S1 و S3، اثر بیش‌تری بر عملکرد در مقایسه با تیمارهای دیگر نشان داد. سویه *R. pusense*، علاوه بر تولید ایندول استیک اسید و سیدروفور، بر خلاف سویه *P. alcaliphila* (تنها مولد ACC دآمیناز) و سویه *B. subtilis* (تنها مولد اگزوپلی-ساکارید) قادر به تولید همزمان ACC -دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید است. قابلیت این سویه در تولید همزمان ACC-دآمیناز (که خود منجر به کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه در خاک شور و سدیمی می‌باشد) و اگزوپلی‌ساکارید (افزایش شانس بقای باکتری در شرایط تنش شوری خاک) احتمالاً توانسته منجر به اثر بیش‌تر این سویه نسبت به سایر سویه‌ها در بهبود عملکرد گندم در خاک شور و سدیمی گردد. سندیا و علی (۲۰۱۵) بیان می‌کنند که تولید EPS یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی است که باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر تنش‌های غیر زنده می‌شود. اگزوپلی‌ساکاریدها ضمن افزایش حجم منافذ خاک و خاکدانه‌سازی، به ترتیب از طریق ایجاد یک لایه رطوبتی در اطراف سلول باکتری و

ریشه گیاه و برقراری پیوند با یون سدیم و کاهش محتوای سدیم خاک، منجر به کاهش اثر منفی تنش شوری بر باکتری‌های محرک رشد و گیاهان و در نهایت بهبود هرچه بیشتر رشد گیاه در این شرایط می‌گردد (نسیم و همکاران، ۲۰۱۸).

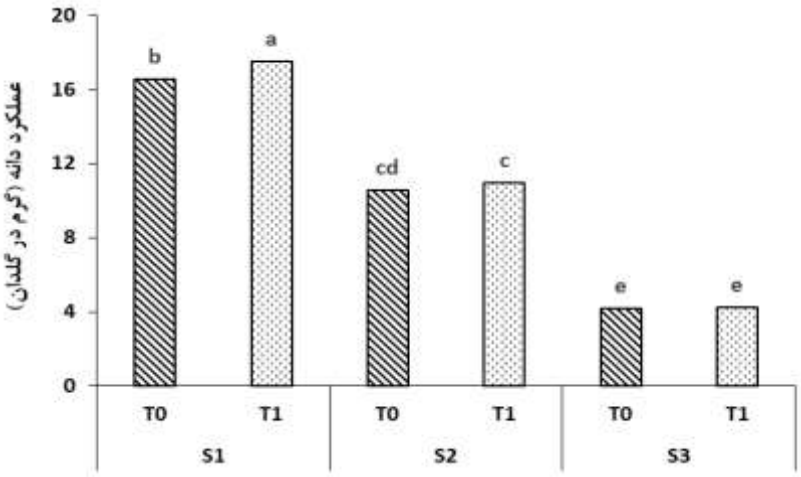
مطالعات بسیاری در خصوص نقش ویژه باکتری‌های ریزوسفری در بهبود عملکرد گیاهان از طریق تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، ACC –دآمیناز، اگزوپلی‌ساکاریدها و انحلال اشکال کم‌محلول فسفات گزارش شده است (آولی و همکاران، ۲۰۱۸). مکستون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تلقیح گیاه *Capsicum annuum* با باکتری محرک رشد *Bulkhorderia cepacia* (مولد ACC–دآمیناز، سیدروفور، اگزوپلی-ساکارید و حل‌کننده فسفات) نسبت به شاهد تلقیح نشده، منجر به بهبود رشد در شرایط تنش شوری گردید. علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌ها (به‌ویژه توان تولید ACC–دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید) دو عامل تفاوت در آستانه تحمل شوری و قدرت کلنیزاسیون ریشه احتمالاً بر میزان تأثیر سویه‌ها در افزایش غلظت عناصر و عملکرد دانه مؤثر بوده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر متقابل گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* و خاک شور و سدیمی بر غلظت عناصر آهن، منگنز و روی و نسبت کلسیم به منیزیم و عملکرد معنی‌دار ($p < 0.01$) بود. کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* در سطوح شوری و سدیمی S1 و S2، منجر به افزایش عملکرد، غلظت آهن، مس، منگنز، روی و نسبت کلسیم به منیزیم نسبت به عدم کاربرد گوگرد شد (شکل۲ و جدول ۶). گوگرد نقش مهمی در پایداری و افزایش عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی نظیر گندم دارد. این عنصر از طریق کاهش اثر منفی سدیم تبادلی و بهبود ساختمان خاک، غلظت عناصر غذایی در خاک را افزایش می‌دهد (داس و همکاران، ۲۰۱۹). در سطح شوری و سدیمی S3 کاربرد گوگرد تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های مزبور نداشت. احتمالاً شوری و سدیمی زیاد (سطح S3) باعث کاهش کارایی باکتری‌های *تیوباسیلوس* شده است.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد به همراه باکتری تیوباسیلوس و خاک شور و سدیمی بر غلظت عناصر و نسبت منیزیم به کلسیم دانه گندم

تیمار	آهن		مس		منگنز		روی		منیزیم/کلسیم	
	(میلی گرم در کیلوگرم)									
گوگرد/خاک شورسدیمی	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
S1	۵۴/۴۸b	۶۲/۷۶a	۶/۸۲b	۷/۲۱a	۳۸/۲b	۴۲/۶۵a	۲۰/۶۰b	۲۳/۴۴a	۱/۵۶b	۱/۸۲a
S2	۳۷/۴۰d	۴۱/۹۳c	۶/۵۸b	۶/۹۵ab	۳۷/۸۱b	۳۸/۴۰b	۱۷/۵۹c	۱۷/۹۸c	۱/۴۸bc	۱/۵۲bc
S3	۲۱/۸۳e	۲۳/۵۳e	۶/۷۳b	۶/۶۴b	۳۶/۵۹b	۳۶/۴۷b	۱۶/۰۰d	۱۵/۶۷d	۱/۳۹c	۱/۴۲bc

تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}) و تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*) برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است



شکل ۲- اثر شور ی و سدیمی خاک و گوگرد بر عملکرد دانه گندم. تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}) و تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*). حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

همچنین افزایش غلظت عناصر در گیاه در تیمارهای گوگرد نسبت به شاهد، از طریق اثر مثبت گوگرد در افزایش فعالیت یون کلسیم و کاهش اثر منفی سدیم تبادلی در خاک‌های شور و سدیمی قابل توجیه است (آریا و همکاران،۲۰۱۰). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است، افزایش شور و سدیمی احتمالاً از طریق افزایش جذب کلر در ریشه گیاه و افزایش فعالیت کاتیون‌های کلسیم و منیزیم در خاک موجب افزایش غلظت کلسیم و منیزیم دانه و افزایش نسبت کلسیم به منیزیم می‌شود. افزایش غلظت کلسیم به عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان تحت تنش شوری گزارش شده است (مظفری، ۱۳۸۴). افزایش غلظت کلسیم و تشکیل پیوندهای کلسیم در دیواره‌سلولی و غشای سلولی گیاهان به حفظ ثبات و ساختار غشا و دیواره سلولی در شرایط تنش شوری کمک می‌کند (من و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین کاربرد گوگرد در خاک‌های شور و سدیمی از طریق کاهش درصد سدیم تبادلی خاک منجر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (مهدی، ۲۰۱۱).

بر اساس نتایج (شکل ۲)، کاربرد گوگرد در سطوح شور و سدیمی S1 و S2 نسبت به عدم کاربرد آن در همان سطوح شور-سدیمی، عملکرد دانه را به طور معنی‌دار به‌ترتیب به میزان ۹/۷۵ و ۷/۱۸ درصد افزایش داد. یک تحقیق نشان داده است که گوگرد نقش مهمی در پایداری و افزایش عملکرد ذرت در خاک‌های شور دارد (منش و همکاران ۲۰۱۳). همچنین استفاده از گوگرد و *تیوباسیلوس* منجر به بهبود عملکرد کلزا (اسدی رحمانی و همکاران ۲۰۱۸) و گندم (خاوازی و همکاران ۲۰۱۸) در خاک‌های آهکی شد. در این مطالعه همچنین استفاده از گوگرد همراه با*T. thiooxidans* منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد دانه گندم در سطوح پایین شوری شد. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که گوگرد از طریق تأثیر بر ساختار بسیاری از آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، کلروفیل و کربوهیدارت‌ها منجر به بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاه دارد (احمد، ۲۰۱۱). مهدی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که کاربرد گوگرد نسبت به شاهد در یک تناوب چهارساله برنج- گندم در خاک شور-سدیمی، مقدار سولفات قابل استفاده خاک را افزایش و نسبت سدیم تبادلی آن را کاهش داد. افزایش مقدار سولفات خاک و کاهش سدیم تبادلی آن منجر به افزایش ۲۱/۹ و ۲۲/۵ درصدی عملکرد به ترتیب دانه برنج و گندم نسبت به شاهد شد.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل باکتری و گوگرد بر غلظت آهن و مس، منگنز و روی معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. نتایج مقایسه میانگین اثر

متقابل باکتری و گوگرد بر غلظت عناصر دانه گندم در جدول ۸ ارائه شده است. نتایج نشان داد سویه *R. pusense* در حضور گوگرد، موثرترین سویه در افزایش آهن، مس و منگنز و عملکرد دانه گندم در حضور گوگرد در خاک شور و سدیمی بود (جدول ۷). کاربرد گوگرد و تولید اسید سولفوریک در نتیجه اکسایش آن، از یک طرف باعث کاهش pH و از طرف دیگر با کاهش اثر منفی سدیم تبادلی و بهبود ساختمان خاک، غلظت عناصر تغذیه‌ای در خاک را افزایش داده است (دی و همکاران، ۲۰۱۸؛ یلدیزتکین و کوزو، ۲۰۱۹).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری- گوگرد بر غلظت عناصر دانه گندم

تیمار	آهن		مس		منگنز		روی	
	(میلی گرم در کیلوگرم)							
باکتری/گوگرد	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
B0	۳۵/۰۶c	۳۸/۶۶bc	۶/۵۹b	۶/۷۱b	۳۵/۷۱b	۳۸/۲۲b	۱۷/۸۲b	۱۸/۱۰b
P. alcaliphila	۳۹/۱۲b	۴۱/۰۰b	۶/۸۳ab	۶/۸۸ ab	۳۸/۳۱b	۳۸/۹۷ab	۱۸/۶۰b	۲۰/۵۹a
R. pusense	۳۹/۹۲b	۵۰/۴۷a	۶/۸۸ab	۷/۲۶a	۳۸/۸۳ab	۴۱/۹۳a	۱۷/۸۲b	۱۹/۳۰ab
B. subtilis	۳۷/۵۱bc	۴۰/۸۴b	۶/۵۳b	۶/۸۹ ab	۳۷/۲۸b	۳۷/۵۸b	۱۸/۰۱b	۱۸/۱۲b

تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*).
برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

در عین حال تلقیح با سویه *R. pusense* از طریق کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه (ACC-دآمیناز) و حفظ رطوبت در اطراف ریشه و کاهش محتوای سدیم خاک (اگزوپلی‌ساکارید) منجر به بهبود غلظت عناصر تغذیه‌ای در دانه گندم شده است. ورکوندا و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند که کاربرد همزمان گوگرد و باکتری محرک رشد گیاه *Pseudomonas fluorescent* غلظت عناصر تغذیه‌ای را در گیاه ذرت افزایش داد.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد در حالی که افزایش شور و سدیمی خاک بر ویژگی‌های عملکرد و غلظت عناصر گندم اثر منفی داشت، تلقیح سویه *R. pusense* بیش‌ترین اثر مثبت را در افزایش عملکرد دانه و غلظت‌های آهن، مس و منگنز و سویه *B. subtilis* بیشترین اثر را بر غلظت عنصر روی داشت. همچنین کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* نقش مهمی در افزایش عملکرد دانه و غلظت عناصر غذایی ایفا کرد. اگرچه تلفیق باکتری‌های محرک رشد و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های مزبور در خاک‌های شور و سدیمی نداشت. سویه *P. alcaliphila* تنها تولید کننده ACC-دآمیناز و سویه *B. subtilis* تنها تولید کننده اگزوپلی-ساکارید است اما سویه *R. pusense* به علت تولید همزمان ACC-دآمیناز (باعث کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه در خاک شور-سدیمی) و اگزوپلی-ساکارید (افزایش شانس بقای باکتری در شرایط تنش شوری خاک) منجر به برتری این سویه نسبت به سایر سویه‌ها در افزایش غلظت عناصر در گیاه گندم در خاک-های شور و سدیمی شده است. علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌ها دو عامل تفاوت در آستانه تحمل شوری احتمالاً بر میزان تأثیر سویه‌ها در افزایش عملکرد دانه مؤثر بوده است. به طور کلی کاربرد انفرادی باکتری *R. pusense* جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* نقش بسزایی در بهبود عملکرد و غلظت عناصر کم مصرف در گندم در خاک‌های شور و سدیمی دارد.

فهرست منابع

۱. بشارتی ح.، مطلبی‌فرد ر. ۱۳۹۴. ارزیابی تأثیر کاربرد گوگرد و باکتری‌های *تیوباسیلوس* بر برخی خصوصیات شیمیایی خاک و عملکرد کلزا در تناوب گندم- کلزا در دو سال متوالی. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۹: ۱۶۸۸-۱۶۹۸.

۲. خاوازی ک.، جهاندیده مهجن آبادی و.ا.، تقی‌پور ف. ۱۳۹۷. تأثیر کاربرد گوگرد، باکتری *تیوباسیلوس* و فسفر بر عملکرد و جذب عناصر غذایی گندم در یک خاک آهکی. مدیریت خاک و تولید پایدار. ۸: ۲۳-۴۱.

۳. مشبکی اصفهانی ف.، طهمورث‌پور آ.، هودجی م.، عطاآبادی م.، محمدی ا. ۱۳۹۶. جداسازی و شناسایی باکتری‌های مولد اگزو پلی ساکارید بومی خاک‌های شور. زیست‌شناسی خاک. ۵: ۴۸-۳۷.

۴. مصلح آرانی ا.، امینی حاجی‌آبادی ع.، قاسمی س.، راد م.ه.، ۱۴۰۰. تأثیر باکتری‌های محرک رشد جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه گندم رقم نارین در شرایط شور. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱۰: ۱۶۴-۱۴۱.

۵. مظفری و.، ملکوتی م.ج.، خلدبرین ب.، بای بوردی م. ۱۳۸۴. بررسی چند عامل سرخشکیدگی پسته و کنترل آن با تغذیه بهینه. علوم خاک و آب. ۱۹: ۱۵۴-۱۶۴.

6. Abbasi, M.K., Sharif, S., Kazmi, M., Sultan, T., and Aslam, M. 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. Plant Biosyst. 145: 159-168.
7. Ahmed, K., Qadir, Gh., Jami, A., Saqib, A. I. and Qaisar, M. 2017. Comparative reclamation efficiency of gypsum and sulfur for improvement of salt affected. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 23:126-133.
8. Alexander D, Zuberer D. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol Fertil Soils 12:39-45
9. Alexander, D., and Zuberer, D. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils 12: 39-45.
10. Ao-Lei, A., Shu-Qi, N., Qi, Z., Yong-Sheng, L., Jing-Yi, G., Hui-Juan, G., Sheng-Zhou, S. and Jin-Lin, Z. 2018. Induced salt tolerance of perennial ryegrass by a novel bacterium strain from the rhizosphere of a desert shrub *Haloxylon ammodendron*. International Journal of Molecular Sciences, 19 (2): 469.
11. Aria, M.M., Lakzian, A., Haghnia, G.H., Berenji, A.R., Besharati, H. and Fotovat, A. 2010. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate. Bioresource Technology, 101:551-554.
12. Asadi Rahmani, H., Khavazi, K., Jahandideh Mahjen Abadi, V.A., Ramezanpour, M.R., Mirzapour, M.H. and Mirzashahi, K. 2018. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and phosphorus on the yield and nutrient uptake of canola and the chemical properties of calcareous soils in Iran. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 49:1671-1683.
13. Bent, E. Tuzan, S. Chanway, C P. Enebak, S, Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria, Canadian Journal of Microbiology, 47, PP. 793-800, 2001.

14. Cottenie, A. 1980. Soil and plant testing as a basic fertilizer recommendation. FAO Soil Bulletin 33/2. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
15. Damodaran T, Mishra VK, Jha SK, Pankaj U, Gupta G, Gopal R. 2019. Identification of rhizosphere bacterial diversity with promising salt tolerance, PGP traits and their exploitation for seed germination enhancement in sodic soil. Agri Res 8:36-43.
16. Das, P., Khan, S., Chaudhary, A.K., AbdulQuadir, M., Thaher, M.I., and Al-Jabri, H. 2019. Potential applications of algae-based bio-fertilizer. p. 41-65. In: Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment. Springer, Cham.
17. Das, R., Pradhan, M., Sahoo, R.K., Mohanty, D. and Kumar, M. 2021. Isolation, identification and role of novel endosymbiotic bacterium *Rhizobium pusence* in root nodule of Green Gram cv. OUM-11-15 (*Vigna radiata* L.) under salinity stress. Legume Research, 44: 1512-1520.
18. Day, S.J., Norton, J.B., Strom, C.F., Kelleners, T.J. and Aboukila, E.F. 2018. Gypsum, langbeinite, sulfur, and compost for reclamation of drastically disturbed calcareous saline–sodic soils. International Journal of Environmental Science and Technology, 16:295-304.
19. Dell-Amico, E., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiol. Ecol. 52: 153–162.
20. Elgharably A, Nafady NA (2021) Inoculation with Arbuscular mycorrhizae, Penicillium funiculosum and Fusarium oxysporum enhanced wheat growth and nutrient uptake in the saline soil. Rhizosphere 18:100345
21. Etesami, H., and Maheshwari, D.K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. Ecotoxicology and Environmental Safety, 156:225-246.
22. Flores-Vargas, R.D., and O'hara, G.W. 2006. Isolation and characterization of rhizosphere bacteria with potential for biological control of weeds in vineyards. J. Appl. Microbiol. 100: 946-954.
23. Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysis. *In* "Methods of soil analysis, Part 1, 2nd edn" (A. Klute, ed.), pp. 383-411. Soil Science Society of America, Madison.
24. Gouda, S., George Kerry, R., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. and Kumar Patra, J. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research, 26: 131-140.
25. Gul, S., Javed, S., Azeem, M., Aftab, A., Anwaar, N., Mehmood, T. and Zeshan, B. 2023. Application of *Bacillus subtilis* for the alleviation of salinity stress in different cultivars of wheat (*Tritium aestivum* L.). Agronomy: 13:, 437.
26. Hamonts, K., Trivedi, P., Garg, A., Janitz, C., Grinyer, J., Holford, P., Botha, F.C., Anderson, I.C. and Singh, B.K. 2018. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers. Environmental Microbiology, 20:124-140.
27. Han, H.S. and Lee, K.D. 2005. Physiological responses of soybean-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil

conditions. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 1: 216-221.

28. Helmke, P.A. and Sparks, D.L. 1996. Lithium, sodium, potassium, rubidium, and cesium. Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods. 5:551-574.
29. Huber, M.V., Bienvenut, W., Linster, E., Stephan, I., Armbruster, L., Sticht, C., Layer, D. and Lapouge, K. 2020. NatB-mediated n-terminal acetylation affects growth and biotic stress responses. Plant Physiology, 182:792-806.
30. Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L.R., and Fields, M.W. 2006. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. Applied and Environmental Microbiology, 72: 3832-3845.
31. Khavazi, K, Jahandideh Mahjan Abadi, V.A., Taghipoor, F. 2018. Effect of Sulfur, *Thiobacillus* bacteria and phosphorus on the yield and nutrient elements uptake of wheat in calcareous soil. Journal of Soil Management and Sustainable Productio, 8:23-41.
32. Kumar Arora, N., Tahmish, F., Mishra, I., Verma, M. and Mishra, J. 2018. Environmental sustainability: challenges and viable solutions. Environmental Sustainability, 1:309-340.
33. Mahdy, A.M. 2011. Comparative effects of different soil amendments on amelioration of saline-sodic soils. Soil and Water Research, 6:205-216.
34. Mane, A.V., Deshpande, T.V., Wagh, V.B., Karadge, B.A. and Samant, J.S. 2011. A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. International Journal of Environmental Sciences, 6:1192-1216.
35. Manesh, A.K., Armin, M. and Moeini, M.J. 2013. The effect of sulfur application on yield and yield components of corn in two different planting methods in saline conditions. International Journal of Plant Production, 4:1474-1478.
36. Maxton, A., Singh, P. and Masih, S.A. 2018. ACC deaminase-producing bacteria mediated drought and salt tolerance in *Capsicum annuum*. Journal of Plant Nutrition, 41:574-583.
37. Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M.A. and Khan, N. 2018. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. Journal of Basic Microbiology, 58:1009-1022.
38. Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah Imran, A., Marghoob, M.U., Imtiaz, M. and Mubeen, F. 2020. Potential of salt tolerant PGPR in growth and yield augmentation of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. Frontiers in Microbiology, 11: 457-475.
39. Olsen, S. R. 1954. "Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate," United States Department Of Agriculture; Washington.
40. Rashid, M.S., Khalil, N., Ayub, S., Alam, S. and Latif, F. 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences. 7, 187-196.
41. Ryan, J., Estefan, G. and Rashid, A. 2001. Soil and plant analysis: laboratory manual. ICARDA, Aleppo.
42. Sambrook, J., and Russell, D.W. 2001. Molecular Cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
43. Sandhya, V., and Ali, S.Z. 2015. The production of exopolysaccharide by Pseudomonas putida GAP-P45 under various abiotic stress conditions and its role in soil aggregation. Microbiology 84:512–519

44. Sharma, A., Dev, K., Sourirajan, A. and Choudhary, M. 2021. Isolation and characterization of salt-tolerant bacteria with plant growth-promoting activities from saline agricultural fields of Haryana, India. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19:1-10
45. Suarez, D.L. 1996. Beryllium, magnesium, calcium, strontium, and barium. Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods 5:575-601.
46. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24:1596-1599.
47. Ullah, A., Bano, A. 2019. Role of PGPR in the reclamation and revegetation of saline land. Pakistan Journal of Botany, 51:27–35
48. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Nasrulhaq Boyce, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. Molecules, 21:573.
49. Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M. and SkZ, A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 184: 13-24.
50. Walkley, A., and Black, I.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 37: 29-38.
51. Yıldıztekin, M. and Kuzu, S. 2019. Soil properties and mineral nutrients of clementine mandarine (*Citrus reticulata* Blanco) grown in the Koycegiz region of Mugla province. International Journal of Secondary Metabolite, 6:323-332.
52. Zafar-ul-Hye, M., Nasir, A., Aon, M., Hussain, S., Ahmad, M. and Naz, I. 2018. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas syringae* enhanced maize growth in a compacted saline-sodic soil. Phyton, 87: 25-31.
53. Zeng, Q., Man, X., Huang, Z., Zhuang, L., Yang, H. and Sha, Y. 2023. Effects of rice blast biocontrol strain *Pseudomonas alcaliphila* Ej2 on the endophytic microbiome and proteome of rice under salt stress. Frontiers in Microbiology, 14: 1129614.
54. Zulueta-Rodriguez, R., Cordoba-Matson, M.V., Hernandez-Montiel, L.G., Murillo-Amador, B., Rueda-Puente, E. and Lara, L. 2014. Effect of Pseudomonas putida on growth and anthocyanin pigment in two poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) cultivars. The Scientific World Journal, 810192.

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/۱۸۳-۲۱۱

تهدید *سالمونلا* در خاک و ضرورت ردیابی مستمر آن با رویکردهای نوین تشخیصی

مطهره عابدین‌زاده، نعیمه عنایتی ضمیر، احسان شکری*و شهلا کیان امیری

دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران **motahhare.abedin@ut.ac.ir**

دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

n.enayatzamir@scu.ac.ir

استادیار، بخش نانوفناوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،کرج، ایران

e.shokri62@gmail.com
e.shokri@abrii.ac.ir

استادیار، بخش نانوفناوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛
هیئت علمی پژوهشی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛
kianamiry@yahoo.com

دریافت:۱۴۰۲/۵/۲۹ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۹

چکیده

***سالمونلا* یک پاتوژن رایج و پایدار در محیط خاک است که تهدیدی قابل توجه برای تولید مواد غذایی سالم در سراسر جهان می‌باشد. با توجه به نقش حیاتی خاک در کشاورزی، احتیاط در مورد گسترش *سالمونلا* در خاک و به کارگیری روش‌های موثر برای تشخیص و کنترل آن ضروری است. شیوع فزاینده *سالمونلا* را می‌توان به گسترش سریع کشاورزی و صنعت نسبت داد که منجر به آلودگی کودها و منابع آب به باکتری می‌شود. بقای *سالمونلا* در خاک تحت تأثیر عوامل متعدد فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است که منجر به کلونیزه شدن مداوم اندام‌های گیاهی می‌شود. در نتیجه، با توجه به اهمیت محصولات کشاورزی سالم، تقاضا برای روش‌های جدید به منظور بررسی و شناسایی باکتری‌های موجود در این موادغذایی به طور فزاینده‌ای ضروری شده است. تکنیک‌های متعددی برای شناسایی باکتری‌های مضر در خاک موجود است. با این حال، استفاده از نانوحسگرها به عنوان ابزاری پیشرفته برای تشخیص باکتری بسیار امیدوارکننده است، زیرا می‌تواند به طور مؤثر بر محدودیت‌های روش‌های دیگر غلبه کند. این مطالعه مروری با هدف بررسی مکانیسم‌های آلودگی *سالمونلا* در خاک و تعامل آن با گیاهان، بر اهمیت استفاده از نانوحسگرهای زیستی برای تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر این باکتری در خاک می‌پردازد.**

کلمات کلیدی: باکتری *سالمونلا*، سلامت محصولات کشاورزی، میکروبیوم خاک، نانوحسگرهای زیستی

* آدرس ایمیل نویسنده مسئول: e.shokri62@gmail.com

مقدمه

خاک بخشی از یک محیط زیست گسترده است که سلامت آن تعیین‌کننده سلامت بخش اعظمی از موجودات زنده و انسان‌ها است. با توجه به اهمیت خاک و به منظور تأمین ۷۰ درصد محصولات غذایی جمعیت در حال رشد تا سال ۲۰۵۰، حفظ سلامت این بخش از محیط زیست برای تولید محصولات گیاهی سالم و ایمن حائز اهمیت بسیاری می‌باشد (وانگ، ۲۰۲۲). متأسفانه شدت آلودگی در خاک به دلیل پایداری طولانی مدت اجزای آلاینده در محیط خاک نسبت به سایر منابع طبیعی بیشتر بوده است (افروموا و همکاران، ۲۰۲۰). علاوه بر این، خاک زیستگاه گیاهان و ریزجانداران فراوانی است که نقش مهمی در ارتقا رشد محصولات و بهبود امنیت غذایی[1] ایفا می‌کنند. منابع پاتوژنی آلوده کننده خاک بسیار متنوع‌اند (فائو، ۲۰۲۲)؛ اما در ارزیابی سلامت خاک به منظور ارتقا سلامت انسانی و همچنین گیاهان، توجه به کنترل پاتوژن *سالمونلا*[2] اهمیت ویژه‌ای دارد (اسچلاتر و همکاران، ۲۰۱۷)؛ زیرا که بیشترین ماندگاری این پاتوژن در محیط خاک گزارش شده است (گان و هالی، ۲۰۰۳؛ آرتور سان و همکاران، ۲۰۱۱). حضور مداوم و شیوع گسترده این پاتوژن در خاک، منجر به ماندگاری بالای آن در مزارع و به دنبال آن آلودگی مستمر محصولات کشاورزی می‌شود. تقریبا ۹۹٪ از عفونت‌های *سالمونلا* در انسان و حیوانات رخ داده است. شیوع *سالمونلا تیفی موریوم*[3] در میان ۵ سروار[4] برتر جدا شده از خوک، گوشت قرمز و طیور در ایالات متحده و اتحادیه اروپا سرآمد بوده است (بور و همکاران، ۲۰۱۵). در ایران نیز آخرین آمار شیوع *سالمونلا* مربوط به سال ۲۰۱۱ بوده است که توسط مرکز کنترل و بیماری‌های واگیردار گزارش شده است. بر طبق این گزارش ۵/۱ ٪ از شیوع بیماری‌های منتقله از طریق غذا مربوط به پاتوژن *سالمونلا* و سرووارهای آن بوده است (اصل و همکاران، ۲۰۱۵). شفاعتی و همکاران (۱۳۹۱)، عمده خطر *سالمونلا* بر سلامت انسان و حیوان را مربوط به مصرف مواد غذایی آلوده حیوانی مانند مرغ، تخم مرغ، گوشت و محصولات لبنی بیان نمودند؛ درصورتیکه در سال‌های اخیر تغییر عادات غذایی، روش‌های کشاورزی و همچنین افزایش واردات محصولات کشاورزی تازه عامل افزایش شیوع *سالمونلا* در میوه و سبزیجات نیز بوده است (شفاعتی و همکاران، ۱۳۹۱). در سبزیجات عادت غذایی مصرف سبزیجات تازه و خام خواری؛ منجر به بیماری‌های انگلی و گوارشی متعدد ناشی از وجود پاتوژن‌هایی همانند *سالمونلا* در این محصولات می‌گردد (رضایی و همکاران، ۱۴۰۱). در بین محصولات نیز گوجه فرنگی، هندوانه، آب پرتقال و آب سیب از آلوده ترین محصولات به پاتوژن *سالمونلا* شناخته شده‌اند (شفاعتی و همکارن، ۱۳۹۱)؛ که روش‌های نادرست کشاورزی همچون کاربرد کودهای آلوده دامی و حیوانی و منابع آبیاری آلوده به *سالمونلا* از علل اصلی آلودگی خاک‌ها و به دنبال آن محصولات اشاره شده به پاتوژن *سالمونلا* می‌باشند.

علاوه بر این، کاربرد کودهای حیوانی و منابع آبی مشترک در مناطق مختلف کشور هم چون شهرهای زابل (سلیمان پور و همکاران، ۱۳۹۱)، اهواز (راهدار و همکاران، ۱۳۹۰)، اصفهان (ایزدی و همکاران، ۱۳۸۵)، تهران (همایونی و خلجی، ۱۳۸۵) و ایلام (عزیزنیا، ۱۳۹۵) آلودگی سبزی‌ها به پاتوژن *سالمونلا* را در پی داشته است. همچنین بر طبق گزارش رضایی و همکاران (۱۴۰۱)، کاربرد مستقیم پسماندهای کشاورزی و انسانی به عنوان کود (مانند کود دامی، کود انسانی، ضایعات کشتارگاه، لجن فاضلاب)، منابع آبی آلوده با مدفوع انسانی، آلودگی ایجاد شده توسط دام، طیور و حیوانات وحشی و در نهایت

1- Food security
2- Salmonella pathogen
3- *Salmonella typhimurium*
4- Serovar

عملیات‌های پس از برداشت هم‌چون بهداشت کارگران و غیره از عوامل ورود پاتوژن به خاک و در نتیجه آلودگی محصولات بوده است. آلودگی خاک‌ها به پاتوژن‌هایی همچون *سالمونلا* در صورت آبیاری محصولات با لجن‌های فاضلاب و پساب‌ها در مطالعات مکرر گزارش شده است (عرفانی و همکاران، ۱۳۸۱؛ هاشم و همکاران، ۱۳۸۸). با توجه به گزارشات و خطرات اشاره شده ناشی از ورود *سالمونلا* به خاک‌ها به منظور کنترل آلودگی گسترده این پاتوژن در محصولات کشاورزی، قبل از هر چیزی، تشخیص سریع، دقیق و کم‌هزینه پاتوژن *سالمونلا* اهمیت دارد. در بین روش‌های متعدد شناسایی و تشخیص[5] آلاینده‌های گسترده محیط‌زیستی، استفاده از روش‌های نوین مانند فناوری نانوحسگرهای زیستی در ارجهیت می‌باشند (مالک و همکاران، ۲۰۲۰). امروزه استفاده از نانوحسگرهای زیستی[6] به عنوان یک رویکرد جدید تشخیصی در بسیاری از کاربردها اعم از پزشکی، صنعتی، نظامی و همچنین به منظور تشخیص انواع آلودگی‌های شیمیایی و زیستی در خاک مورد توجه می‌باشند. تشخیص همزمان، ارائه نتایج در محل نمونه‌گیری، عدم نیاز به تجهیزات خاص یا ارسال نمونه به آزمایشگاه از ویژگی‌های منحصر به فرد و جذاب در نانوحسگرهای زیستی برای استفاده در کاربردهای محیط‌زیستی از جمله پایش سلامت خاک می‌باشد (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). در این مطالعه به شیوع پاتوژن *سالمونلا* به عنوان عامل تهدیدکننده سلامت خاک و محصولات کشاورزی و ضرورت ردیابی مستمر آن جهت اتخاذ روش‌های کارآمد کنترلی پرداخته شده است.

منابع آلوده کننده خاک

به طور کلی آلودگی خاک، به وجود یک ماده شیمیایی در خاک با تأثیرگذاری نامطلوب بر سلامت انسان، موجودات زنده و خاک تلقی می‌گردد (آلورانگا و همکاران، ۲۰۲۲). مهم‌ترین تفاوت آلودگی در خاک نسبت به سایر منابع طبیعی، حضور طولانی مدت و پایداری آلودگی در این منابع است که با بهره‌گیری از روش‌های صحیح تشخیص قابل شناسایی بوده و در نتیجه می‌تواند با اتخاذ راهکارهای درست برطرف شود (حسن آل طایی، ۲۰۲۱). آلودگی در خاک‌های کشاورزی؛ به ورود هر ماده شیمیایی تأثیرگذار بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و یا بیولوژیکی خاک اطلاق می‌شود که به طور مستقیم یا غیر مستقیم سطح زندگی گیاهان، حیوانات و انسان را دچار تغییرات منفی می نماید. آلودگی در خاک دارای منشاء طبیعی و یا انسانی می‌باشد (ایزو، ۲۰۱۵؛ تان، ۲۰۱۷)؛ مثلا سموم دفع آفات، کودهای شیمیایی، کودهای آلی، فاضلاب‌ها[7]، پسماندهای[8] صنعتی و انسانی نمونه‌ای از آلودگی‌های خاک با منشاء انسانی می‌باشند (مومبو و همکاران، ۲۰۱۶). این منابع آلودگی از جمله منابع بالقوه ورود پاتوژن *سالمونلا* به خاک با جمعیت زیاد می‌باشند. مخصوصاً کودهای حیوانی[9] که با انتشار ترکیبات آنتی بیوتیک، منجر به بروز پاتوژن‌های مقاوم و ابر مقاوم در خاک می‌شوند (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۵). در سراسر جهان گسترش مقاومت ضد میکروبی در حال حاضر یک خطر بزرگ برای سلامت انسان در نظر گرفته می‌شود (بروندوک و همکاران، ۲۰۱۵). استران و همکاران (۲۰۱۳)؛ اشاره داشته‌اند که کاربرد کودهای دامی آلودگی خاک به *سالمونلا* را افزایش می‌دهد (استران و همکارن، ۲۰۱۳). همچنین مطالعات متعدد حاکی از سازگاری بالای *سالمونلا انتریکا*[10] با محیط‌های مختلف از جمله خاک و کود نیز بوده است (سمنوو و همکارن، ۲۰۱۰). گزارشات حاکی از بقای پاتوژن *سالمونلا* به مدت ۲۱ روز از منشاء کود خوک و تا یک سال از منشاء کود مرغی است (پومساکاروم و تاکور، ۲۰۱۶). علاوه بر کودهای حیوانی؛ لجن‌های فاضلاب[11] و فاضلاب‌های تصفیه نشده نیز بسته به منابع (شهری، صنعتی و خانگی)

5- Distinction
6- Nano biosensors
7- Wastewater
8- Residues
9- Animal manure
10- *Salmonella enterica*
11- Sewage sludge

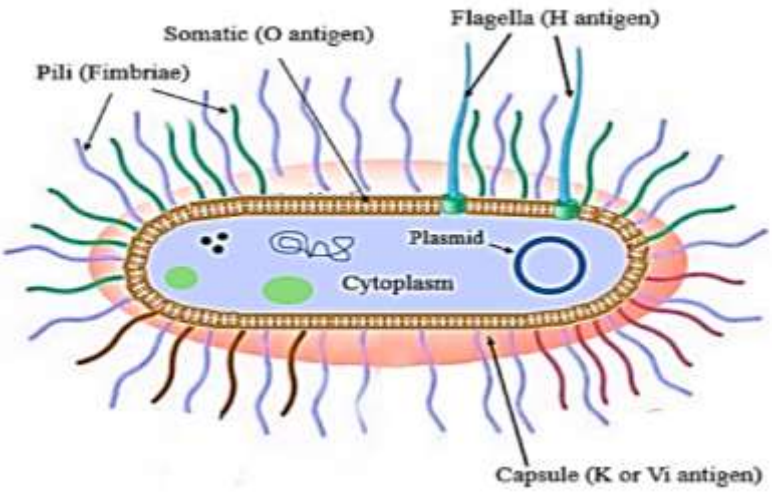
حاوی مقادیر بالایی از پاتوژن‌های انسانی خطرناک از جمله *سالمونلا* می‌باشند (ولدیت سادیک، ۲۰۱۷). بالاترین مقادیر خطر آفرینی و حضور پاتوژن *سالمونلا* در صورت آبیاری محصولات با لجن فاضلاب و فاضلاب گزارش شده است (کریزانووساکی و همکاران، ۲۰۱۶). در ایران شیوه‌های خطرناک کشاورزی شامل: آبیاری با پساب خانگی تصفیه نشده، کوددهی با کودهای دامی نپوسیده و فضولات تازه حیوانات (دام، طیور و حیوانات وحشی) و همچنین عدم رعایت مسائل بهداشتی در مزارع، از مهم‌ترین عوامل آلودگی خاک با *سالمونلا* و سایر پاتوژن‌های بیماری‌زا می‌باشند (رضایی و همکاران، ۱۴۰۱). حضور پاتوژن *سالمونلا* در منابع متعدد آلوده‌کننده خاک، انتقال این پاتوژن به محصولات کشاورزی را تشدید می‌نماید. این محصولات به عنوان تامین کننده‌های بخش اصلی سبد غذایی در صورت آلودگی به پاتوژن *سالمونلا* سلامت زنجیره غذایی را به خطر می‌اندازند. از سوی دیگر در مطالعات متعددی به حضور پاتوژن *سالمونلا* در خاک، آب و یا قسمت‌های خوراکی گیاهان به صورت زنده و فعال اشاره شده است (اریک سان و همکاران، ۲۰۱۴؛ دانی لوک و همکاران، ۲۰۰۸؛ اسلام و همکارن، ۲۰۰۵؛ هالی و همکارن، ۲۰۰۶). شیوع پاتوژن‌های انسانی *سالمونلا* در مزارع و محصولات کشاورزی؛ مسئله مهمی است که امنیت غذایی را به خطر انداخته و از لحاظ اقتصادی خسارت بار می‌باشد (زین و همکاران، ۲۰۲۲). حضور گونه‌های متعدد پاتوژن *سالمونلا* در فاضلاب‌ها، کودها و آب‌های آلوده در چندین مطالعه گزارش گردیده است (ایرانپور و ساکس، ۲۰۰۶؛ هورسول و همکارن، ۲۰۰۷؛ ویان و همکاران، ۲۰۱۱).

جنس *سالمونلا* بر اساس تغییرات در توالی 16S rRNA به دو زیر گروه *سالمونلا انتریکا* و *سالمونلا بونگاری*[12] تقسیم می‌شود. در جنس *سالمونلا انتریکا* بر اساس خواص بیوشیمیایی و روابط ژنتیکی شش زیر گونه شامل: *انتریکا*[13]، *سالامای*[14]، *آریزونا*[15]، *دی آریزونا*[16]، *اندیکا*[17] و *هوتنای*[18] قرار دارند. حدود ۹۹٪ سرووارهای بیماریزا مربوط به زیرگروه *انتریکا* بوده است (آگباجه و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر طبقه بندی فیلوژنتیکی بر اساس ویژگی‌های آنتی ژنی، از سه فاکتور آنتی ژنی به منظور شناسایی سروتیپ‌های *سالمونلا* استفاده می‌گردد. این ویژگی‌های آنتی ژنی عبارتند از: آنتی ژن‌های تاژکدار(H)، کپسول(K) و سوماتیک(O) (آگباجه و همکاران، ۲۰۲۱). در (شکل ۱) ؛ تصویری شماتیک از *سالمونلا* و جایگاه هر آنتی ژن نمایش داده شده است. آنتی ژن‌های تاژکدار یا آنتی ژن H؛ مسوول تحریک پاسخ ایمنی میزبان می‌باشند. عمده سرووارهای *سالمونلا* حائز دو ناحیه ژنومی به منظور سنتز تاژک هستند (آگباجه و همکاران، ۲۰۲۱). بیان یکی از پروتئین‌های مربوط به سنتز تاژک در این سرووارها منحصراً در یک زمان رخ می‌دهد به همین جهت این باکتری‌ها را باکتری‌های دو فازی می‌نامند (مک کویستون و همکاران، ۲۰۱۱). آنتی ژن‌های کپسول یا K از جمله پلی ساکاریدهای مقاوم به گرما هستند که به سطح کپسول‌های باکتری متصل می‌شوند. کمترین فراوانی در میان سروتیپ‌های *سالمونلا* متعلق به این آنتی ژن است (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳). آنتی ژن سوماتیک یا O، این آنتی ژن در غشاء خارجی یافت می‌شود که در برخی سروتیپ‌های *سالمونلا* یک یا چند نوع از این آنتی ژن یافت می‌شود (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳). تنها یک زیرگروه خاص از آنتی ژن K به نام آنتی ژن ویروسی (Vi) در سه سروتیپ بیماریزا شامل: *دابلین*[19]، *تایفی*[20]و *پاراتایفی سی*[21] شناسایی شده است (اینج و همکاران، ۲۰۱۵). بررسی بیشتر سروتیپ‌های *سالمونلا* با تجزیه و تحلیل خواص آنتی ژنی صورت می‌گیرد (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳). بر این اساس از آزمایش آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی بادی‌های منحصر به فرد آنتی ژن O استفاده می‌شود (تکلماریم و همکاران،

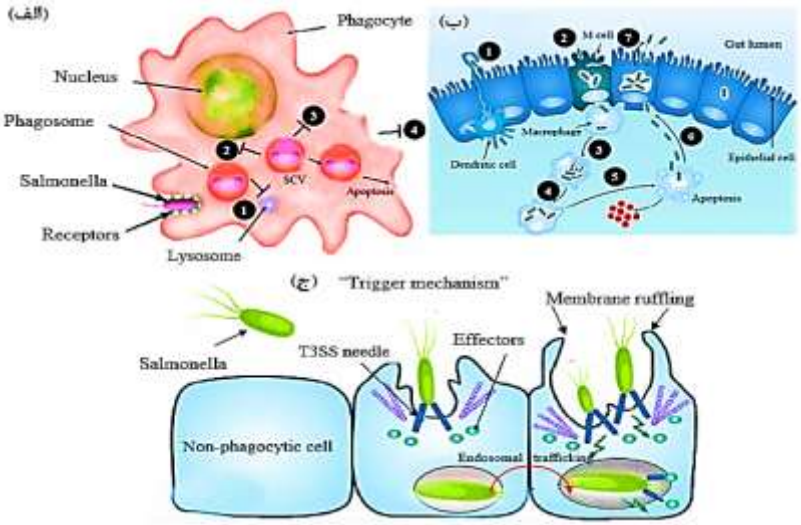
12- *Salmonella bungari*
13- Enterica
14- Salamae
15- Arizonae
16- Diarizonae
17- Indica
18- Houtenae
19- *Dublin*
20- *Typhi*
21- *Paratyphi C*

۲۰۲۳). در میان ۲۵۰۰ سروار شناسایی شده از *سالمونلا* بیش از نیمی از این سروارها متعلق به گروه *سالمونلا انتریکا*، زیرگروه *انتریکا* می‌باشند که عامل اصلی در بروز بیماری سالمونلوز بوده‌اند (واتیو و همکاران، ۲۰۱۱). شدت بیماری سالمونلوز به دو فاکتور اصلی وابسته است: ۱) سروتیپ‌های ایجاد کننده سالمونلوز و ۲) ایمنی فرد آلوده به *سالمونلا*، بر طبق گزارشات افراد دارای نقص ایمنی، کودکان زیر ۵ سال و افراد مسن از جمله آسیب پذیرترین گروه‌های در معرض سالمونلوز می‌باشند (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳). بروز مقاومت بلافاصله پس از ورود *سالمونلا* به سلول‌های میزبان از طریق تحریک یک مکانیسم محرک صورت می‌گیرد. این مکانیسم محرک، فاگوسیتوز نامیده می‌شود (هانسن وستر و همکاران، ۲۰۰۲) (شکل ۲، الف). دسته‌ای از ژن‌ها واقع در ناحیه بزرگی از DNA کروموزومی، بنام جزایر بیماریزایی *سالمونلا*[۲۲] در شدت بروز مکانیسم فاگوسیتوز تأثیر دارند (گراسل و فینلی، ۲۰۰۸). در حقیقت *سالمونلا* پس از ورود به سیستم گوارشی از منابع متعدد مانند غذا یا آب آلوده؛ با نفوذ به سلول‌های سطحی بافت روده[۲۳]، در یک بافت غشایی بنام واکوئل حاوی *سالمونلا*[۲۴] محصور می‌گردد و از طریق بافت‌های لنفوئیدی تخصصی مرتبط[۲۵] با روده (شکل ۲، ب)؛ بوسیله مکانیسمی بنام "ماشه[۲۶]" به سلول‌های غیر فاگوسیتیک[۲۷] نیز نفوذ می‌کنند (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳)(شکل ۲، ج). همانطور که در شکل دیده می‌شود ورود به سلول‌های غیرفاگوسیتیک از طریق گیرنده‌های T_3SS صورت می‌گیرد. این گیرنده‌ها مستقیماً پروتئین‌های موجود در غشاء سلول را تغییر داده و در نهایت تکثیر پاتوژن متوقف می‌گردد (ویلانووا و همکاران، ۲۰۲۲). سیستم ایمنی میزبان پس از تشخیص *سالمونلا* به عنوان عامل مهاجم، با تولید آنزیم‌ها و گونه‌های فعال اکسیژن به منظور مهار *سالمونلای* ادغام شده در غشاء، اقدام می‌نماید (ویلانووا و همکاران، ۲۰۲۲). در خاک مکانیسم مقاومت متفاوت بوده است. تشکیل بیوفیلم[۲۸]یکی از مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین مکانیسم‌های مقاومت *سالمونلا* در برابر سایر جوامع میکروبی ساکن در این محیط است. بیوفیلم، جوامع باکتریایی چند سلولی از *سالمونلا* می‌باشند که به سطوح باکتریایی یا سطح ریشه گیاهان ساکن در خاک می‌چسبند و خواص متفاوتی نسبت به این جوامع زنده به منظور بقا بیشتر نشان می‌دهند (گراسل و فینلی، ۲۰۰۸). مطالعه تشکیل بیوفیلم و ویژگی‌های *سالمونلا* در خاک می‌تواند بینشی در مورد بقا و ماندگاری آن در محیط ارائه می‌دهد. علاوه بر این، مطالعه متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط ریزجانداران خاکزی، مانند قارچ ها، می‌تواند به شناسایی ترکیبات ضد میکروبی بالقوه به منظور کنترل *سالمونلا* در محیط خاک کمک نماید (چاندراکالا و رنیپرابها، ۲۰۲۲). خطرات حضور *سالمونلا* در خاک‌های کشاورزی گسترده و دارای اثرات جبران‌ناپذیری بر محیط زیست و سلامت موادغذایی می‌باشد؛ بنابراین توجه به شناسایی این عامل خطر آفرین بسیار حائز اهمیت است.

22- Salmonella pathogenicity islands
23- Epithelial cells
24- Salmonella-containing vacuole
25- Specialized microfold (M) cells
26- Trigger
27- Nonphagocytic cells
28- Biofilm



شکل ۱- ساختار باکتری *سالمونلا* و نقشه آنتی ژن‌های سطحی (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳)



شکل ۲- مکانیسم‌های مقاومت در سلول انسانی بلافاصله پس از ورود *سالمونلا* (تکلماریم و همکاران، ۲۰۲۳)

آلودگی خاک ها با پاتوژن *سالمونلا*

باکتری‌های بیماری‌زا[29] یا پاتوژن‌ها از جمله *سالمونلا* نمونه‌ای از جوامع زیستی ساکن در خاک می‌باشند که سلامت انسان، حیوان و حتی گیاهان را به خطر می-اندازند (استیفان و همکاران، ۲۰۲۰؛ باووم گاردنر، ۲۰۱۲). *سالمونلا* از جمله باکتری‌های گرم منفی، بی هوازی اختیاری از خانواده *انتروباکتریاسه*[30] است که به عنوان پاتوژن رایج موادغذایی شناخته شده است (فرانز و همکاران، ۲۰۱۹؛ ریورا و همکاران، ۲۰۱۸). این پاتوژن از جمله مقاوم‌ترین باکتری‌های بیماریزا در محیط آب و خاک است که برای مدت طولانی می‌تواند در این محیط‌ها زنده بماند (آماگ لیانی و همکاران، ۲۰۱۲). افزایش آلودگی محصولات زراعی در صورت گسترش پاتوژن *سالمونلا* در مزارع به وفور دیده شده است (فرانز و ون برانگن، ۲۰۰۸). با وجود گسترش کم *سالمونلا* در مزارع (حدود ۱۰ تا ۲۶ درصد)، این پاتوژن در مقایسه با سایر پاتوژن‌های باکتریایی خاکزاد ماندگاری بیشتری در خاک از خود نشان داده است (آندیانو و هانینگ، ۲۰۱۵؛ گوون و هالی، ۲۰۰۳؛ آرتورسان

29- Pathogenic bacteria

30- *Enterobacteriaceae*

و همکاران، ۲۰۱۱). بر طبق گزارش اسچیرستید و همکاران (۲۰۲۰)؛ خاک‌هایی با تنوع میکروبی زیاد در کاهش فراوانی *سالمونلا* و زمان بقای آن در خاک مؤثر بوده‌اند (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین بر طبق گزارش تاک و همکاران (۲۰۱۹)؛ افزایش مواد آلی در خاک با بهبود رطوبت و مواد مغذی تکثیر پاتوژن را افزایش می‌دهد (تاک و همکاران، ۲۰۱۹). نوع خاک نیز بر ماندگاری *سالمونلا* در سیستم‌های کشاورزی تأثیر بسیاری دارد (جیچالک و همکاران، ۲۰۱۹). افزایش تکثیر این پاتوژن‌ها در خاک‌هایی با دمای ۳۰-۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت و کربن زیاد گزارش گردیده است (ایمنس و همکاران، ۲۰۰۶؛ گیبس و همکاران، ۱۹۹۷).

علاوه بر این *سالمونلا* می‌تواند نسبت به تغییرات آب و هوایی، خشکسالی، افزایش دما و سیل در محیط خاک مقاومت نشان داده و ظرفیت تکثیر خود را حفظ کند (لئو و همکاران، ۲۰۱۳؛ جی و همکاران، ۲۰۱۶). عوامل زیستی و تعامل باکتری-گیاه نیز در بر همکنش *سالمونلا* و گیاه مؤثر می‌باشند (چالوپویچ و همکاران، ۲۰۲۱؛ سمنوف و همکاران، ۲۰۱۰). نهایتاً همانطور که در(شکل ۳) ، مشاهده می‌شود مجموعه‌ای از عوامل فیزیکی، شیمیایی و زیستی تعیین کننده‌ی بقای *سالمونلا* در خاک، کلونیزه شدن بافت-های گیاهی و گسترش آلودگی در محصولات کشاورزی می‌باشند (فورن فیلد و همکاران، ۲۰۱۷).

عوامل مؤثر بر بقای *سالمونلا* در خاک

خطر آلودگی پاتوژن *سالمونلا* در زمین‌های کشاورزی تا حد زیادی به بقای آن در کود، خاک و درون گیاهان بستگی دارد (جکوبسون و بیچ، ۲۰۱۱). لجن‌های فاضلاب، فاضلاب‌ها و کودهای غیرزیستی ممکن است حاوی انواع پاتوژن‌های باکتریایی از جمله: *سالمونلا*، *شیگلا*[31]، *کمپیلوباکتر ژژونی*[32]، *ای کلای*[33]، *ویبریوکلرا*[34] و *یرسینیا*[35] باشند (سیدو و توزی، ۲۰۰۹؛ آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا، ۲۰۰۳)؛ اما گونه *سالمونلا* به دلیل ماندگاری بیشتر در منابع متعدد آلوده‌کننده و همچنین قابلیت گردش در خاک، آب، فضولات، بدن حیوانات و پیکره‌ی گیاهان می‌تواند به مدت طولانی در محیط مزرعه باقی بماند و متقابلاً اثرات منفی بیشتری را بر جای می‌گذارد (کوپریانوو و همکاران، ۲۰۱۰).

غلظت پاتوژن *سالمونلا* در خاک بسته به عوامل مختلفی مانند: منبع آلودگی، نوع خاک و شرایط محیطی می تواند متفاوت باشد و برای آن تا به امروز حد خاصی تعریف نشده است. با این حال آستانه قابل قبول *سالمونلا* در سایر نمونه‌ها غیر خاک مثل مواد غذایی صفرCFU در میلی لیتر یا گرم نمونه در نظر گرفته می‌شود (دان و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه ای دیگری نیز ماندگاری *سالمونلا اینفانتیس*[36] درخاک طی فرآیندهای کمپوست-سازی؛ $۵/۹ \times ۱۰^{۱۰}$ CFU/mL گزارش شده است (مورفی و همکاران، ۲۰۲۲). وجود *سالمونلا* حتی در جمعیت کم، در صورت استفاده مکرر از لجن فاضلاب، فاضلاب و منابع کودی آلوده، منجر به شیوع گسترده عامل بیماریزا در خاک، گیاهان و گسترش خطرات زیست محیطی و انسانی می-گردد. بر طبق مطالعه ون دانکرسگورد (۲۰۰۹)؛ وجود حتی یک ریشه گیاهی آلوده به *سالمونلا* می‌تواند بر شیوع *سالمونلا* در خاک مؤثر باشد. به عنوان مثال در مطالعه آرتورسان و همکاران (۲۰۱۱)، کلونیزه شدن ریزوسفر اسفناج در زمین‌های آلوده در جمعیت‌های پایین *سالمونلا* گزارش شده است. در مطالعه‌ای دیگر توسط باراک و لیانگ (۲۰۰۸)، آلودگی نهال‌های گوجه فرنگی در کمتر از چند هفته پس از ورود *سالمونلا انتریکا* گزارش گردیده است.

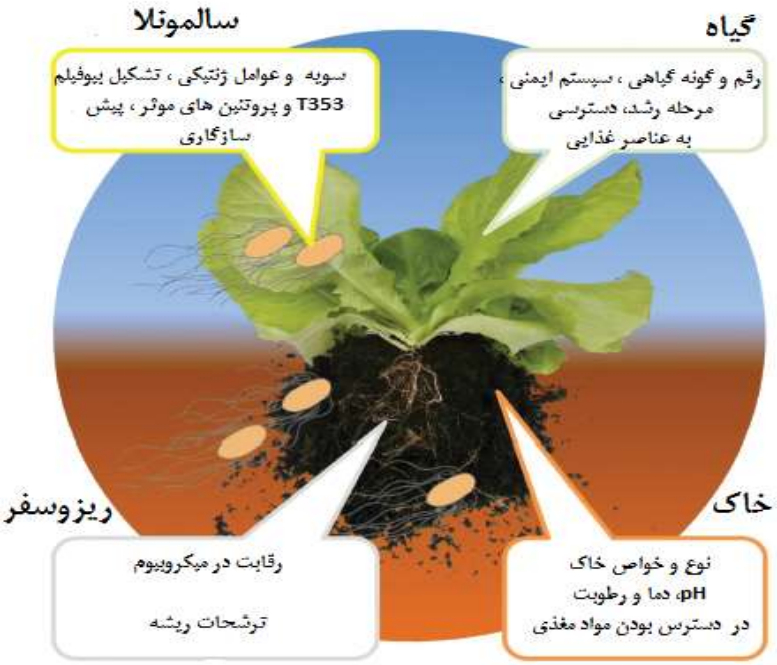
در مطالعه باراک و همکاران (۲۰۰۹)، نیز بیشترین میزان کلونی پاتوژن در هنگام آبیاری با آب آلوده به پاتوژن *سالمونلا انتریکا* در خاک و گیاهان دیده شده است. بافت، pH، رطوبت، محتوای ماده آلی، دسترسی به عناصر غذایی، توزیع اندازه ذرات (انجنگ و همکاران، ۲۰۱۵)، گونه

31- *Shigella sp*
32- *Campylobacter jejuni*
33- *E. coli*
34- *Vibroe cholerae*
35- *Yersinia sp*
36- *Salmonella infantis*

میکروبی و تنوع زیستی (فورن فیلد و همکاران، ۲۰۱۷؛ فرانز و ون بروگین، ۲۰۰۸)، از عوامل تعیین‌کننده بقای *سالمونلا* در خاک می‌باشند.

شرایط محیطی نیز همانند ویژگی‌های خاک می‌توانند تأثیر قابل توجهی در افزایش ماندگاری پاتوژن *سالمونلا* داشته باشند. تنش‌های محیطی[۳۷] از جمله تنش‌های ناشی از کاربرد یک منبع آبیاری مانند لجن فاضلاب، پاتوژن *سالمونلا* را به حالت غیرقابل کشت[۳۸] اما زنده وادار می نماید که از خطر بقای *سالمونلا* در خاک نمی‌کاهد (جاچالک و همکاران، ۲۰۱۹). تفاوت بین سویه‌های پاتوژن منجر به پاسخ‌های متفاوتی نسبت به تنش‌های محیطی می‌گردد (هاراند و همکاران، ۲۰۱۹). ماندگاری پاتوژن در انواع خاک بر حسب گونه گیاهی و سویه *سالمونلا* متفاوت بوده است؛ اما به طور کلی بقا در خاک لومی و رسی بیشتر از خاک شنی بوده است (جاچالک و همکاران، ۲۰۱۹). در خاک رسی سطح ویژه بالای خاک امکان اتصال میکروبی بیشتری را نسبت به خاک شنی فراهم می‌کند. همچنین در این خاک کاهش تحرک *سالمونلا* نرخ کلونیزاسیون بافت‌های گیاهی را کاهش داده است (تان و همکاران، ۲۰۱۷). تنوع اولیه باکتری‌های خاک نیز تأثیر بالایی در بقای *سالمونلا* داشته است (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). در مطالعه اسچیرستید و همکاران (۲۰۲۰)، تلقیح *سالمونلا* در خاک با تنوع کمتر افزایش ماندگاری را نشان داده است (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). تنوع زیستی خاک[۳۹] و تعاملات *سالمونلا* با سایر میکروارگانیسم‌ها در خاک کلونیزه شدن یا عدم کلونیزه شدن بخش‌های گیاهی را توسط پاتوژن فراهم می‌کند (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). متقابلاً هر چه تنوع زیستی خاک در استعمار ریشه موفق‌تر باشند نقش *سالمونلا* در استعمار کمتر خواهد بود. برجسته‌ترین مکانیسم در افزایش ماندگاری پاتوژن‌ها در خاک، مکانیسم تشکیل بیوفیلم[۴۰] است. این مکانیسم علاوه بر گسترش توانایی پاتوژن به منظور کلونیزه شدن[۴۱] بافت‌های گیاهی؛ ماندگاری پاتوژن‌ها در شرایط تنش‌های محیطی را نیز در خاک افزایش داده است (یارون و روملینگ، ۲۰۱۴). همچنین امکان نفوذ پاتوژن‌های *سالمونلا* از خاک به منابع آب‌های زیرزمینی نیز خطر ساز خواهد بود (جکوبسون و بیچ، ۲۰۱۲). از نگاهی دیگر مکانیسم تشکیل بیوفیلم امکان حضور و کلونیزه شدن گیاهان را توسط *سالمونلا* در شرایط نامطلوب از جمله رطوبت کم و عوامل باکتری‌کش فراهم کرده است (موریس و مونیر، ۲۰۰۳). توانایی پاتوژن در ورود به گیاهان از بخش‌های هوایی و زیرزمینی و درگیرکردن بخش‌های مختلف گیاهان نیز تابع ماندگاری و پویایی این پاتوژن در خاک است. با وجود موانع اشاره شده در بقا و ورود پاتوژن *سالمونلا* به گیاهان؛ در نهایت بافت‌های گیاهی توسط پاتوژن آلوده می‌شوند و این آلودگی در طول زنجیره غذایی منتشر خواهد شد.

37- Environmental stresses
38- Non-Culturable
39- Biodiversity of soils
40- Biofilm
41- Colonization



شکل ۳- عوامل مؤثر(فیزیکی، شیمیایی و زیستی) بر بقای *سالمونلا* در خاک و کلونیزه کردن گیاه را نشان می‌دهد (فورن فیلد و همکاران، ۲۰۱۷)

عوامل فیزیکی (جنس خاک و شرایط محیطی)

نوع خاک یک عامل مهم در بقای پاتوژن *سالمونلا* در نظر گرفته شده است (فان تیان و همکاران، ۲۰۲۰). وانگ (۲۰۱۸)، بهبود پایداری و بقای پاتوژن‌های *سالمونلا* و *ای کلای* را در خاک‌هایی با محتوای رس بالا گزارش نمود (دی وانگ، ۲۰۱۸)؛ اما همواره رابطه بین بافت خاک و بقای پاتوژن به دلیل تأثیر فعل و انفعالاتی هم‌چون:pH، هدایت الکتریکی و محتوای رطوبت خاک‌ها همیشه یکسان نبوده است (اریکسون و همکاران، ۲۰۱۴). برای مثال بقای پاتوژن‌های *ای کلای* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موریوم* در خاک‌های شنی و لومی تغذیه شده با کود دامی نیز به دلیل محتوای بالای فیبر و pH گزارش شده است (فرانز و همکاران، ۲۰۰۵). در واقع چگونگی تأثیر مثبت خاک رسی بر بقای پاتوژن *سالمونلا* هنوز به طور کامل شناخته نشده است اما افزایش ظرفیت بافری، حفظ رطوبت و همچنین دسترسی بالا به عناصر غذایی در این خاک‌ها از جمله دلایل در افزایش بقا بوده است (بریننان و همکاران، ۲۰۱۴). تغییرات مثبت در خواص فیزیکی و شیمیایی خاک‌های رسی، افزایش سطح تماس پاتوژن‌ها و همچنین افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی را در پی داشته است (بریننان و همکاران، ۲۰۱۴). در کنار جنس خاک، دما نیز فاکتور تأثیرگذار دیگری بر بقای *سالمونلا* است. یکی از دلایل افزایش بقای *سالمونلا* در خاک‌های اصلاح شده با کود دامی، افزایش فراهمی عناصر غذایی بوده است. به طور کلی تأثیر تنش دمایی در خاک‌های اصلاح شده بر بقای *سالمونلا* کمتر است (مایز و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر موارد اشاره شده به طور کلی تغییرات آب و هوایی از جمله افزایش دما، رطوبت و یا بارندگی عوامل مؤثر در انتقال و بقا *سالمونلا* می‌باشند. رطوبت نسبی، تغییرات دمایی و بارندگی در مطالعات مکرر همبستگی مثبتی با بقای *سالمونلا* نشان داده‌اند (آکیل و همکاران، ۲۰۱۴).

پوشش گیاهی

پوشش گیاهی یک فاکتور طبیعی محسوب می‌شود که در مزارع کشاورزی اثرات مطلوبی به همراه داشته است. کاهش سطح آمونیاک در آب‌های سطحی آلوده، کاهش فرسایش خاک‌ها و همچنین جلوگیری از هدررفت مواد مغذی خاک از جمله تأثیرات مثبت پوشش گیاهی در

مزارع بوده است (جن و همکاران، ۲۰۱۹). اثر این فاکتور در گسترش انتقال *سالمونلا* در مزارع نیز یک همبستگی منفی را از خود نشان داده است (پارکر و همکاران، ۲۰۱۲). در واقع وجود پوشش گیاهی انبوه در مزارع، یک زیستگاه طبیعی به منظور نگهداشت پاتوژن‌ها بوده است که مانع از گسترش شیوع پاتوژن در مزارع بواسطه آب یا باد گردیده است. در مطالعه گلیز و همکاران (۲۰۲۱)؛ در مناطق دارای پوشش گیاهی، کاهش انتقال پاتوژن‌های *ای کلای* و *سالمونلا* از خاک به محصولات گزارش شده است (گلیز و همکاران، ۲۰۲۱)؛ اما همواره عوامل محیطی هم‌چون فصل، دما و رطوبت در مزارع تحت پوشش گیاهی می‌توانند میزان شیوع پاتوژن *سالمونلا* تغییر دهند. یکی از دلایل آن تأثیرات مثبت پوشش گیاهی بر کنترل رطوبت و دمای خاک‌ها به منظور افزایش شیوع پاتوژن بوده است. برای مثال لو و همکاران (۲۰۱۳)؛ یکی از دلایل افزایش شیوع *ای کلای* در فصول تابستان و بهار را در مزارع دارای پوشش گیاهی، دما و رطوبت خاک عنوان نمودند (لو و همکاران، ۲۰۱۳). تا حدودی افزایش رطوبت در این مزارع به دلیل گسترش پوشش گیاهی تأثیرات مثبتی در شیوع پاتوژن داشته است (فون سکا و همکاران، ۲۰۲۰)؛ بنابراین پوشش گیاهی، خود به تنهایی یک عامل کنترل کننده مثبت در شیوع پاتوژن بوده است که در کنار عوامل محیطی تأثیرات مثبت آن در تا حدودی کاهش یافته است.

تنوع زیستی (رقابت در میکروبیوم)

کاهش تنوع زیستی یکی از عوامل افزایش بقا و ماندگاری *سالمونلا* در خاک بوده است (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). در واقع محیط‌هایی با تنوع زیستی بالا، شانس بیشتری را به منظور اسکان رقبای طبیعی و همچنین ایجاد روابط آنتاگونیسمی فراهم می‌نمایند. در اینصورت احتمال بقای پاتوژن در خاک به شدت کاهش می‌یابد. برای مثال مطالعه ون الساس و همکاران (۲۰۱۲)، ماندگاری *ای کلای* O157:H7 همبستگی مثبتی با کاهش میزان تنوع زیستی خاک و همچنین مقدار بالای منابع داشته است (ون الساس و همکاران، 2012). اما برخی مطالعات خلاف این موضوع را ثابت نموده‌اند. در مطالعه اسچیرستید و همکاران (۲۰۲۰)، پاتوژن های *سالمونلا تیفی موریوم* LT2 و *سالمونلا سنفتنبرگ*[۴۲] در خاک‌هایی با تنوع زیستی مطلوب نیز به مدت چندین ماه ماندگاری نشان داده‌اند. در این مطالعه کاهش شدید در جمعیت میکروبی سرکوب‌کننده و متهاجم پاتوژن، شرایط لازم به منظور بقای بیشتر را فراهم نموده است. به طور کلی در میکروبیوم‌هایی با تنوع زیستی بالا علاوه بر ظهور رقابت‌های گسترده، کاهش سطح مواد مغذی و تولید ترکیبات آنتی بیوتیک نیز توسط سایر باکتری‌ها می‌تواند بقا پاتوژن‌ها در خاک را کنترل نماید.

عوامل مؤثر در انتقال سالمونلا از خاک به گیاهان

خطر آلودگی پاتوژن *سالمونلا* در زمین‌های کشاورزی تا حد زیادی به بقای آن در کود، خاک و البته درون بافت‌های گیاهی بستگی دارد (جکوبسون و بیچ، ۲۰۱۱). در حقیقت بقای پاتوژن در خاک، فاکتور تعیین-کننده انتقال مؤثر آن به گیاهان، آسیب به زنجیره غذایی و سلامت طیف گسترده موجودات زنده از جمله حیوانات و انسان‌ها است. عواملی هم چون بافت خاک، مصرف کودهای دامی، سویه‌ی مصرفی پاتوژن در خاک (*سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریکا*) و نحوه مصرف سویه‌ها (اختلاط با کودهای دامی یا آب مصرفی جهت آبیاری) از دیگر عوامل می‌باشند که در انتقال مؤثر پاتوژن از خاک به گیاهان نقش دارند (جاچالک و همکاران، ۲۰۱۹). گزارش-ها حاکی از حضور *سالمونلا* در تمامی بخش‌های گیاهی به صورت درونی شده[۴۳] یا بر روی سطح گیاهان است (گومز و همکاران، ۲۰۰۹). به دلیل وجود رطوبت، دسترسی به آب و انتقال مواد مغذی عمده تجمع و رشد پاتوژن‌ها در گیاهان در ناحیه تریکوم‌ها، نزدیک رگبرگ‌ها و روزنه‌ها بوده است (کوروپیتسکی و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر این، توانایی پاتوژن *سالمونلا* به منظور کلونیزه شدن بافت‌های گیاهی در

42- *Salmonella senftenberg*

43- Endophyte

محصولات تازه، وابسته به عوامل درونی و بیرونی از جمله سن گیاهان، تحرک پاتوژن، وضعیت میکروبی گیاه میزبان و همچنین دسترسی به مواد غذایی مترشحه از ریشه گیاهان می‌باشد (آروس و همکاران، 2006). عمده‌ی کلونیزه شدن بافت‌های گیاهی توسط پاتوژن *سالمونلا*، در نهال‌ها به جای گیاهان بالغ رخ داده است (برن استین و همکاران، ۲۰۰۷).

شواهد کلونیزه شدن بافت‌های گیاهی توسط این پاتوژن متعدد بوده است. برای مثال در بافت هسته گوجه فرنگی، در روزنه کاهو (کوروپیتسکی و همکاران، ۲۰۰۹)، در اسفناج (اولمز و تیمور، ۲۰۱۰)، و نیز در ریشه‌های هویج و تربچه (ایسلام و همکاران، ۲۰۰۴)؛ گزارش شده است. تحرک پاتوژن *سالمونلا* در خاک می‌تواند عامل موفقیت ورود پاتوژن به بخش‌های مختلف گیاه و کلونیزه شدن ریشه باشد (هایلو و ای، ۲۰۱۸). در برخی مطالعات به نقش تاژک باکتریایی در بقای *سالمونلا* و توانایی تحرک بعنوان یکی از عوامل مهم در فرآیند ورود پاتوژن به گیاهان از محل زخم‌های روی گیاه اشاره شده است. بر اساس گزارش برگر و همکاران (۲۰۰۹)؛ کلونیزه شدن سبزیجات ریحان، کاهو و اسفناج توسط *سالمونلا* وابسته به تحرک پاتوژن بوده است (برگر و همکاران، ۲۰۰۹). در گیاه گوجه-فرنگی کلونیزه شدن برگ (زرکانی و همکاران، ۲۰۲۰) و یا اتصال *سالمونلا* به بخش‌های مختلف گیاهی به منظور درونی‌شدن (شاو و همکاران، ۲۰۱۱) بوسیله تاژک‌ها انجام شده است. البته نوع گیاهان و تغییرات فیزیولوژی آنها و تغییرات در سویه‌های *سالمونلا* نقش مهمی در درجه تأثیرگذاری تاژک در مرحله کلونیزه شدن بافت‌های گیاهی دارد (زرکانی و همکاران، ۲۰۲۰).

علاوه بر تحرک پاتوژن، تنوع میکروبی در گیاه میزبان و برهمکنش ارگانیسم‌ها به همراه دسترسی به مواد مغذی ترشح شده از ریشه گیاهان نیز در توانایی ورود پاتوژن به محصولات تازه مؤثر بوده است (آروسکاواج و همکاران، ۲۰۰۶). ناحیه ریزوسفر و ریشه گیاه از راه‌های اصلی ورود پاتوژن *سالمونلا* به گیاهان هستند. در مطالعه جیچالک و همکاران (۲۰۱۹)، *سالمونلا تیفی موریوم* 14028s موفق ترین سویه در کلونیزه شدن گیاه کاهو و همچنین سازگاری با شرایط ریزوسفر و بافت‌های گیاهی بوده است (جیچالک و همکاران، ۲۰۱۹). علاوه بر مسیر ریزوسفری، پاشیده شدن خاک آلوده بعلت گرد و خاک، طوفان و یا در طول بارندگی و آبیاری نیز منجر به انتقال *سالمونلا* به برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌ها می‌گردد (جیچالک و همکاران، ۲۰۱۹). برای مثال در گیاه گوجه‌فرنگی یکی از مسیرهای آلودگی *سالمونلا* در برگ‌ها و میوه‌ها، پاشش خاک در اثر بارندگی یا وجود حیوانات وحشی در مزارع بوده است (گئو و همکاران، ۲۰۱۱؛گروسزینسکی و همکاران، ۲۰۱۴). حضور *سالمونلا* در ناحیه ریزوسفر تحت تأثیر فعالیت باکتری‌های محرک رشدی نیز می‌باشد. بطوریکه برخی از این سویه‌های محرک رشدی با ایجاد مقاومت سیستمیک القایی[۴۴] (ISR) و تشدید فعالیت‌های آنتاگونیسمی، مقاومت گیاهان را در برابر حضور *سالمونلا* افزایش می‌دهند. برای مثال در گیاه کاهو حضور باکتری محرک رشدی *باسیلوس سوبتلیس*[۴۵]، مقاومت گیاه در برابر کلونیزه شدن و حضور پاتوژن *سالمونلا تیفی موریوم* افزایش داد (جوهانسون و همکاران، ۲۰۲۰). علاوه بر این فعالیت‌های آنتاگونیسمی، *انتروباکترها*[۴۶] و *باسیلوس‌ها*[۴۷] بر بقا *سالمونلا* در گوجه فرنگی تأثیر داشته‌اند (شی و همکاران، ۲۰۰۹). مهار جمعیت *سالمونلا*های راه‌یافته به قسمت‌های هوایی برخی از گیاهان از جمله کاهو و ریحان توسط سویه‌های محرک رشدی از جمله *باسیلوس سوبتلیس* و *رودوتورولا گلوتینیس*[۴۸] مشاهده شده است. مکانیسم‌هایی همچون تولید ترکیبات لیپوپپتیدی و بروز مکانیسم مقاومت سیستماتیک القایی در این گونه‌های گیاهی نفوذ پاتوژن به گیاه را محدود نموده است (چاندلر و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر این تولید ترکیبات فنلی و افزایش گونه‌های اکسیداتیو در مهار کلونیزه شدن گیاهان

44- Induced systemic resistance
45- *Bacillus subtilis*
46- Enterobacters
47- *Bacillus sp.*
48- *Rodotorula glutinis*

توسط *سالمونلا* روشی کارآمد گزارش شده است (چالوپویچ و همکاران، ۲۰۲۱).

کلونیزه شدن گیاهان توسط سالمونلا

به طور کلی پاتوژن‌ها از جمله پاتوژن *سالمونلا* هنگام ورود به گیاه میزبان از استراتژی‌های متعددی به منظور حفظ بقا و استقرار خود در مقابل پاسخ سیستم دفاعی گیاهان استفاده می‌نمایند. بروز این استراتژی‌ها به منظور سرکوب سیستم دفاعی گیاهان و افزایش کلونیزه شدن مؤثر می‌باشد. استراتژی‌ها عبارتند از: سازگاری، اجتناب و سرکوب. این سه مکانیسم در(شکل ۴) نشان داده شده است.

سازگاری

استرتژی سازگاری در واقع یک راهکار در افزایش توانایی *سالمونلا* به منظور آلوده‌سازی گیاهان و همچنین مقابله با تنش‌های محیطی است (شاه و همکاران، ۲۰۱۳). بروز این استراتژی در *سالمونلا* توانمندی آن را به منظور مقابله با سایر عوامل تنش‌زا به صورت متقاطع افزایش می‌دهد. برای مثال مطالعه آندینو و هانینگ (۲۰۱۵) نشان داد، در صورت بروز استراتژی سازگاری در *سالمونلا* به منظور مقابله با تنش خشکی، مقاومت بر علیه سایر تنش-های محیطی نیز ایجاد می‌گردد (آندینو و هانینگ، ۲۰۱۵). در استراتژی سازگاری حضور *سالمونلای* درونی‌شده در گیاه، در تنظیم چندین پروتئین گیاهی نقش دارد. یکی از این پروتئین‌ها، پروتئین‌های مربوط با تولید گونه‌های فعال اکسیژن[۴۹](ROS) می‌باشد (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۴). مقابله با تنش‌های میکروبی در گیاهان توسط گونه‌های فعال اکسیژن کنترل می‌گردد. در صورت ورود پاتوژن *سالمونلا* به گیاهان، پروتئین‌های لازم به منظور فسفریله کردن آسکوربات در مقایسه با سایر پروتئین بیشتر دچار تغییر می‌گردند. با افزایش تولید آسکوربات در گیاهان، *سالمونلای* درونی شده، این منبع کربنی را با ترجیح بیشتری نسبت به سایر منابع کربنی محدود شده استفاده می‌نماید؛ در اینصورت سازگاری پاتوژن افزایش می‌یابد (اینگرام، ۲۰۱۶). این استراتژی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. برای مثال در گیاه کاهو بروز این استراتژی، سازگاری و بقا *سالمونلا تیفی موریوم* LT2 را در خاک، نسبت به محیط کشت فراهم نموده است. علاوه بر این کروپیتیسکی و همکاران (۲۰۱۹)؛ کلونیزه شدن برگ‌های کاهو توسط *سالمونلا تیفی موریوم* را در صورت بروز تنش‌های خفیف، به بروز استرانژی سازگاری ربط داده‌اند (کروپیتیسکی و همکاران، ۲۰۱۹). شکل ۴- ۱ استراتژی سازگاری را نشان می‌دهد که ممکن است توسط *سالمونلا* به منظور کلونیزه کردن گیاهان اتخاذ شود.

اجتناب

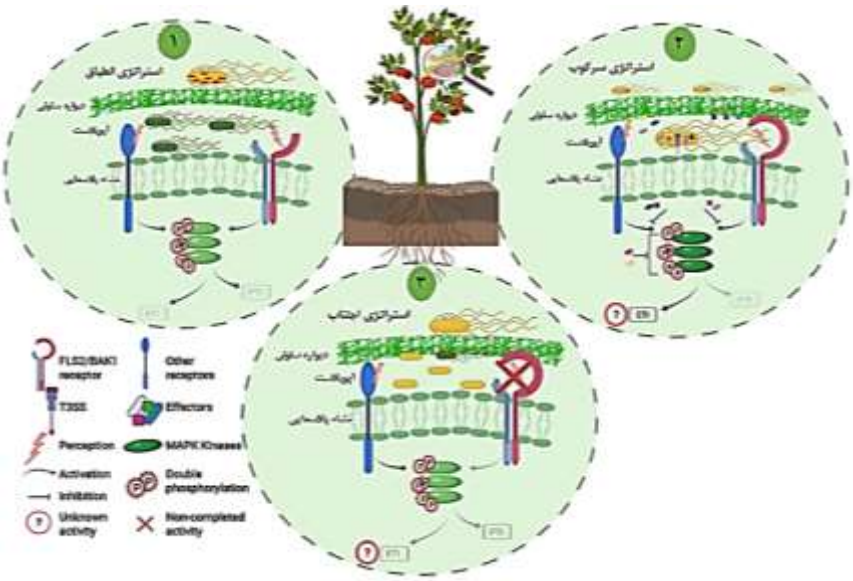
این استراتژی در واقع اجتناب پاتوژن‌ها به منظور فرار از سیستم ایمنی گیاه میزبان است (زرکانی و اسچیکورا، ۲۰۲۱). یکی از راهکارهای اجتنابی، جلوگیری از بیان الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن[۵۰] است. یکی دیگر از عملکردها تغییر در الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن به شکلی است که توسط میزبان گیاهی تشخیص داده نشوند. بسیاری از باکتری‌های بیماریزای گیاهی از جمله *آگروباکتریوم*[۵۱]، *سالمونلا* و برخی از باکتری‌های مفید مثل *ریزوبیوم*[۵۲] نمونه‌ای از این استراتژی می‌باشند (کاوو و همکاران، ۲۰۱۷). برای مثال یکی از مکانیسم‌های اجتنابی *سالمونلا* در حبوبات، تولید عوامل چسبندگی[۵۳] از جمله آنتی ژن‌های[۵۴]O، فیمبریای تجمعی یا سلولز[۵۵] به منظور استقرار بیشتر و جلوگیری از شناسایی توسط گیرنده‌های گیاه میزبان می‌باشد (پاراتپ و همکاران، ۲۰۱۳؛ باراک و همکاران، ۲۰۰۷). اتصال *سالمونلا* به واسطه تاژک‌ها نیز

49- Reactive oxygen species
50- Pathogen-associated molecular patterns;PAMPs
51- *Agrobacterium sp*
52- *Rhizobium sp*
53- Adhesion factors
54- O Antigens
55- Cumulative fimbriae or cellulose

یک مکانیسم اجتنابی محسوب می‌گردد که در برخی از مطالعات نقش آن در بقا بیشتر پاتوژن در گیاه میزبان بی‌تأثیر گزارش گردیده است (شاو و همکاران، ۲۰۱۱). استراتژی اجتناب در شکل ۴- ۲ نشان داده شده است. این که آیا این استراتژی یک استراتژی مطلوب در *سالمونلا* به منظور آلوده‌سازی[۵۶] گیاهان میزبان می‌باشد یا خیر سؤال بسیار مهمی‌ست که به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

سرکوب

استراتژی سرکوب در *سالمونلا* به صورت چندین عامل بروز می‌نماید. برای مثال، انواع مختلف سیستم‌های ترشح و یا انتقال‌دهنده‌های یونی که نقش مهمی در ایجاد و حفظ بقا درون‌سلولی ایفا می‌نمایند؛ نمونه‌ای از این استراتژی در *سالمونلا* می‌باشند (زرکانی و اسچیکورا، ۲۰۲۱). شکل ۴- ۳ استراتژی سرکوب را نشان می‌دهد که ممکن است توسط *سالمونلا* برای کلونیزه شدن گیاهان اتخاذ شود.



شکل ۴- سه استراتژی *سالمونلا* در استعمار گیاهان شامل انطباق (۴-۱)، سرکوب (۴-۲) و اجتناب (۴-۳) (زرکانی و همکاران، ۲۰۱۹)

تأثیر پاتوژن سالمونلا بر سلامت گیاهان، انسان و حیوانات

پاتوژن *سالمونلا* دومین پاتوژن شایع قابل انتقال از غذا به انسان و دام می‌باشد (تاک و همکاران، ۲۰۱۹). بر اساس تجزیه و تحلیل توالی16S rRNA *سالمونلا* به دو گونه *سالمونلا انتریکا* و *سالمونلا بونگاری* طبقه‌بندی می‌شود. در گونه *سالمونلا انتریکا* شش زیرگروه قرار می‌گیرند. زیرگروه یک را می‌توان به *سالمونلا* تیفوئیدی (*سالمونلا تیفی* و *سالمونلا پاراتیفی*) و *سالمونلا* غیر تیفوئیدی (*سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریدیس*[۵۷]) تقسیم نمود (ریورس و همکاران، ۱۹۸۹). *سالمونلا* تیفوئیدی عامل شیوع بیماری فقط در انسان می‌باشد در صورتی که *سالمونلا* غیر تیفوئیدی انسان و حیوانات را به طور گسترده آلوده می‌نماید (هرلی و همکاران، ۲۰۱۴). سالمونلوز[۵۸] بیماری مشترک بین انسان و دام می‌باشد که دارای علایم بالینی مختلفی در انسان و حیوان است. در حیوانات با علایم تب، اسهال و مرگ و میر بالا در صورت عدم درمان بروز پیدا می‌کند (مورگان و همکاران، ۲۰۰۴). علاوه بر این بیماری سالمونلوز، در انسان یا حیوان می‌تواند به شکل تب

56- Contamination
57- *Salmonella enteritis*
58- Salmonellosis

حصبه[۵۹]، عفونت حاد روده ای[۶۰] و گاستروانتریت غیرتیفوئیدی[۶۱] نیز ظاهر گردد (هایلو و ای، ۲۰۱۸). جمعیت پایین سلول‌های *سالمونلا* (۱۰۰-۱۰ سلول) نیز منجر به ایجاد آلودگی در محصولات و شیوع سالمونلوز می‌شوند (اوماراو همکاران، ۲۰۱۹). در حدود ۱۵ درصد افراد مبتلا به این بیماری از طریق مصرف میوه و سبزیجات تازه مبتلا می‌شوند (میچل و همکاران، ۲۰۱۱). دلیل عمده آن ماندگاری بالای پاتوژن *سالمونلا* در محصولات تازه است (فورن فیلد و همکاران، ۲۰۱۷). ماندگاری پاتوژن *سالمونلا* در گیاهان، بخشی از چرخه زندگی پاتوژن قبل از ورود به میزبان حیوانی یا انسانی است (اسچیرستید و همکاران، ۲۰۲۰). در خاک‌های کشاورزی، کاربرد آب‌ها و کودهای آلوده عامل شیوع سالمونلوز بوده است (لئو و همکاران، ۲۰۱۸؛ روچا و همکاران، ۲۰۲۲). نوع محصولات مصرفی، سروارهای *سالمونلا* و وضعیت فیزیولوژیکی باکتری‌های *سالمونلا* و حساسیت میزبان در دوز عفونت تأثیر دارند (رانجان و همکاران، ۲۰۱۶). در بین محصولات کشاورزی محصول گوجه فرنگی اغلب با شواهدی از کلونیزه شدن دو پاتوژن *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریکا*؛ با شیوع سالمونلوز همراه بوده است (زرکانی و اسچیکورا، ۲۰۲۱). شیوع بیماری سالمونلوز می‌تواند از غذاهای آلوده به پاتوژن *سالمونلا* حاصل گردد؛ اما مصرف گوشت نیم‌پز حیوانات آلوده، محصولات طیور و البته میوه و سبزیجات آلوده به مدفوع حیوانات یا آبیاری شده با آب-های آلوده می‌توانند از دیگر منابع شیوع سالمونلوز در انسان باشند (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). در بسیاری از کشورها شیوع *سالمونلا* در گیاهان و همچنین بروز سالمونلوز در حیوانات مزرعه و انتقال آن به انسان از نظر اقتصادی بسیار مهم به شمار می‌رود (آگباجی و همکاران، ۲۰۱۱)؛ بنابراین در صورت کاربرد منابع آلوده به پاتوژن *سالمونلا*، توجه ویژه در کنترل این عامل بیماریزا به منظور ارتقا سلامت محصولات و بهبود ایمنی خاک ضروری محسوب می‌گردد.

روش‌های تشخیص پاتوژن سالمونلا در خاک های آلوده

از گذشته تا کنون فناوری‌های نوین یا روش‌های سنتی به منظور تشخیص طیف گسترده‌ای از عوامل آلوده-کننده مانند پاتوژن‌ها در خاک به کار گرفته شدند؛ اما همواره نیاز به داشتن روش‌های تشخیصی نوین، سریع و کارآمدترکه بتوانند در شرایط بحرانی بهتر عمل کنند، احساس می‌شود. در این بین کاربرد فناوری نانو یک گام موثر در تشخیص آلاینده‌های خاک شناخته شده است (گوپتا و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از نانوحسگرهای زیستی نمونه‌ای از فناوری‌های هوشمندانه و تکنیک‌های جدید است که مانع از ورود و گسترش آلاینده‌ها از خاک و منابع آبیاری به گیاهان، موجودات زنده و حتی آب‌های زیرزمینی می‌گردد. نانوحسگرهای زیستی در تشخیص آلاینده‌های خاک از جمله آفت‌کش‌ها، ترکیبات فنلی، رنگ‌ها، فلزات سنگین و همچنین آلاینده‌های میکروبی استفاده می‌شوند. به طور کلی حساسیت بالای نانوحسگرهای زیستی به منظور تشخیص آلاینده‌های میکرو، نانو و مولکولی بسیار حائز اهمیت است (هایروم و همکاران، ۲۰۲۱). مرسوم‌ترین روش تشخیصی *سالمونلا* که از گذشته تاکنون مورد استفاده قرار می‌گیرد روش‌های مبتنی بر کشت می‌باشد که زمانبر و پرهزینه هستند (لوو و همکاران، ۲۰۱۴). کشت‌های میکروبی غالباً روش‌های کندی محسوب می‌شوند که امکان تشخیص در محل را نیز فراهم نمی‌کنند. همچنین در برخی موارد، در روش‌های مبتنی بر کشت امکان بررسی بخشی از میکروارگانیسم‌های زنده‌ی غیر قابل کشت وجود نخواهد داشت. در ارزیابی پاتوژن‌ها نیز این موضوع امکان برآورد درستی از جمعیت میکروب‌ها در خاک یا سایر منابع را فراهم نمی‌کند (لی و همکاران، ۲۰۱۵). در مقابل، روش-های نوین معروف به روش‌های سریع قرار دارند. این روش‌ها عبارتند از: روش‌های ایمونولوژیک و روش‌های مولکولی و حسگرهای زیستی. ویژگی‌های منحصر به فرد روش‌های مولکولی، حساسیت و دقت بالایی است که

59- Typhoid fever
60- Acute intestinal infection
61- Non-typhoidal gastroenteritis

کاربرد آن‌ها را به منظور تشخیص و شناسایی پاتوژن‌ها فراهم کرده است (لئو و همکاران، ۲۰۲۲). برخی از این روش‌ها مانند PCR[۶۲] و qPCR[۶۳] به منظور کاربرد در محل نامناسب و گران قیمت هستند (لئو و همکاران، ۲۰۲۲). عدم تمایز بین سلول‌های زنده و مرده و ایجاد نتایج مثبت کاذب (لی و همکاران، ۲۰۱۵)، وجود ترکیبات مهارکننده (گنز و گیل، ۲۰۱۳)، پرزحمت و پرهزینه بودن فرآیند، نیاز به تجهیزات گران قیمت و در نهایت نیاز به افراد آموزش دیده به منظور تحلیل نتایج حاصل از فرآیند PCR؛ از جمله معایب این روش هستند (پارک و همکاران، ۲۰۱۴). از دیگر روش‌های نوین، کاربرد حسگرهای زیستی در کنترل و شناسایی پاتوژن *سالمونلا* است. در این حسگرها اهمیت عناصر شناسایی[۶۴] یا گیرنده‌های زیستی[۶۵] در اثر برهم‌کنش با پاتوژن *سالمونلا* به دلیل گزینش‌پذیری و حساسیت قابل توجه بوده است (کومار و همکاران، ۲۰۱۴). حسگرهای تشخیصی *سالمونلا* را می‌توان به چهار دسته کلی تقسیم نمود: (الف) حسگرهای نوری بر اساس نانوذرات الیگونوکلئوتیدی طلا[۶۶]؛ در این حسگرهای نوری توانمندی بالا به منظور تشخیص همزمان انواع گونه‌های *سالمونلا* در محیط یا غذای آلوده گزارش شده است (کوئینتلا و همکاران، ۲۰۱۹). (ب) خوشه هایی از نانوذرات مغناطیسی با پوشش طلا[۶۷]؛ روشی جدید به منظور تشخیص *سالمونلا* محسوب می‌گردد (هوانگ و همکاران، ۲۰۱۶). (ج) حسگرهای کوچک تعادلی از جنس کریستال‌های کوارتز[۶۸]؛ افزایش سیگنال در نانوذرات طلا[۶۹] و تشخیص *سالمونلا تیفی موریوم* توسط این حسگر گزارش شده است (مین و همکاران، ۲۰۲۲). (د) تراشه حسگر LSPR مبتنی بر نانوذرات طلا[۷۰]؛ تشخیص سریع *سالمونلا تیفی موریوم* با استفاده از این حسگر در گوشت مسموم گزارش شده است (یانگاچ و همکاران، ۲۰۱۷). تشخیص *سالمونلا* در خاک با استفاده از نانوحسگرها به طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است. با این حال، چندین مقاله تحقیقاتی وجود دارد که تشخیص ژنتیکی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های مختلف گیاهی، جانوری، غذایی و محیطی را مورد بررسی قرار داده است (شکری و همکاران، ۲۰۱۶؛ شکری و همکاران، ۲۰۱۷؛ شکری و همکاران، ۲۰۲۰). این مطالعات می‌توانند بینش‌هایی را در مورد کاربرد بالقوه نانوحسگرهای طلا با مکانیسم‌های متعدد همچون نوری، الکتروشیمیایی و غیره را به منظور تشخیص *سالمونلا* در خاک نیز ارائه دهند. کوئینتلا و همکاران (۲۰۱۹)؛ تشخیص همزمان چندین گونه‌های *سالمونلا* موجود در مواد غذایی و نمونه‌های محیطی را با استفاده از یک حسگر زیستی بر مبنای نانوذرات طلا گزارش نمودند (کوئینتلا و همکاران، ۲۰۱۹).

در مطالعه‌ای دیگر تشخیص *سالمونلا تیفی موریوم* به کمک یک حسگر کوچک تعادلی از جنس کریستال‌های کوارتز و افزایش سیگنال صورت گرفت (مین و همکاران، ۲۰۲۲). در این مطالعه تشخیص در نمونه‌های مایع صورت گرفت؛ بنابراین اصول و تکنیک‌های مورد استفاده در این حسگر زیستی به طور بالقوه می‌تواند به منظور تشخیص *سالمونلا* در نمونه‌های خاک نیز اعمال شود. آپتاحسگرهای زیستی پراکندگی سطحی رامان[۷۱]؛ به منظور تشخیص همزمان دو سویه *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس*[۷۲] در نمونه‌های غذایی استفاده شده‌اند. با وجود گزارشات محدود از کاربرد این حسگر در تشخیص *سالمونلا*؛ ممکن است تحقیقات به منظور تشخیص پاتوژن در خاک با استفاده از این نانوحسگر بسیار کاربردی به نظر آید (کومار و همکاران، ۲۰۲۰). نوع دیگر حسگرهای زیستی هترو نانومیله‌های طلا[۷۳]می‌باشند که همانند سایر حسگرهای اشاره شده به منظور تشخیص *سالمونلا* در نمونه‌های غذایی کارآمد گزارش شده‌اند (فو

62- Polymerase chain reaction
63- Quantitative PCR
64- Identification elements
65- Biological receptors
66- Nucleic Acid-Based Nanobiosensor (NAB)
67- Gold-Coated Magnetic Nanoparticle Clusters
68- Quartz Crystal Microbalance Biosensor
69- Au Nanoparticles(AuNPs)
70- Gold Nanoparticle-Aptamer-Based LSPR Sensing Chips
71- Nanoparticle-enhanced surface-enhanced Raman scattering (SERS) aptasensor
72- *Staphylococcus aureus*
73- Hetero-nanorod-based biosensor

و همکاران، ۲۰۰۶). به طور کلی حسگرها بر اساس نوع آنالیت[۷۴] هدف و روش‌های آشکارسازی دارای انواع مختلفی می‌باشند. یک حسگر زیستی شامل بخش‌های مختلف از جمله: گیرنده زیستی، مبدل دریافت سیگنال[۷۵] و پردازشگر سیگنال[۷۶] است. در ساخت گیرنده‌های زیستی می‌توان از آنزیم‌ها، آنتی‌بادی[۷۷]، آپتامر[۷۸]، رشته‌های نوکئیک اسید و پپتیدها استفاده نمود (اسپیچیگرکیلر، ۱۹۹۸). گیرنده‌های زیستی رایج به منظور تشخیص *سالمونلا* در ساختار نانوحسگرهای زیستی شامل: آنتی بادی، آپتامر، پروب اسید نوکئیک[۷۹]، باکتریوفاژ[۸۰] و لکتین[۸۱] هستند و همکاران، ۲۰۲۱). در بین گیرنده‌های زیستی عملکرد آپتامرها در زمینه تشخیص فوق العاده بوده است. در مطالعات زیادی از آپتاحسگرهای زیستی در روش‌های رنگ سنجی به منظور تشخیص و شناسایی انواع آنالیت‌های هدف استفاده گردیده است. برای نمونه، شهسوار و همکاران (۲۰۱۷)؛ از یک آپتاحسگر زیستی مبتنی بر DNA برای تشخیص ATP[۸۲] به روش رنگ سنجی استفاده کردند. در ساختار این حسگر از آپتامرATP در ساختار حلقه-ساقه[۸۳] و یک DNA شبه آنزیمی استفاده شد (شهسوار و همکاران، ۲۰۱۷).(جدول۱) ، تشخیص برخی از پاتوژن‌ها بوسیله حسگرهای زیستی بر پایه گیرنده زیستی آپتامر را نشان می‌دهد (سندی و همکاران، ۲۰۲۱). مهم‌ترین موضوع در عملکرد بهتر آپتامرها، تثبیت آپتامر بر روی سطح حسگرها است (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). در بین نانوحسگرهای زیستی، حسگرهای مبتنی بر آپتامر منحصراً به منظور تشخیص پاتوژن *سالمونلا* به کار گرفته شدند.

74-Analyte
75- Signal receiving converter
76- Signal processor
77- Antibody
78- Aptamer
79- Nucleic acid probe
80- Bacteriophage
81- Lectin
82- Adenosine triphosphate
83- Hairpin

جدول ۱- تشخیص برخی از پاتوژن‌ها بوسیله حسگرهای زیستی برپایه آپتامر (سندی و همکاران، ۲۰۲۱)

نام پاتوژن	هدف گیرنده (آنالیت)	سیستم تشخیص	منبع
E.coli* O157:H7** ***Salmonella typhimurium	باکتری	نانوحسگر چند منظوره فلورسنت مغناطیسی اصلاح شده با آپتامر[۸۴]	(لی و همکاران، ۲۰۱۸)
Staphylococcus aureus ***Ecoli***	باکتری	بارکدهای هیدروژل مبتنی بر آپتامر چند گانه[۸۵]	(زو و همکاران، ۲۰۱۸)
***E.coli* O157:H7**	باکتری	حسگر زیستی الکتروشیمیایی با قاب فلزی – آلی عامل دار شده با گروه آمینو و آپتامر[۸۶]	(شاهرخیان و رنجبر، ۲۰۱۸)
Staphylococcus aureus	باکتری	حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر آپتامر[۸۷] و نانوذرات نقره[۸۸]	(عباسپور و همکاران، ۲۰۱۵)
Salmonella.typhimurium	باکتری	آپتاسنسورهای DNA سنجاق سری[۸۹]	(لی و همکاران، ۲۰۱۷)
Salmonella.typhimurium	باکتری	آپتاسنسورها بر پایه پراکندگی رامان سطحی[۹۰]	(زو و همکاران، ۲۰۱۸)
Salmonella.typhimurium	باکتری	حسگر زیستی الکتروشیمیایی	(آپاتوری و همکاران، ۲۰۲۰)
Salmonella enterica	باکتری	فاز جامد سیلیس مغناطیسی[۹۱] و سیستم گیت MCM-41-aptamer[۹۲]	(بایرام اغلو و همکاران، ۲۰۱۸)
Salmonella.typhimurium	باکتری	آپتاسنسور فلورسنت بدون بر چسب[۹۳]	(سرینیواسان و همکاران، ۲۰۱۸)
Salmonella.typhimurium	باکتری	نانوپروب های لومیسنس عاملدار شده با آپتامر[۹۴]	(یوس و همکاران، ۲۰۱۸)

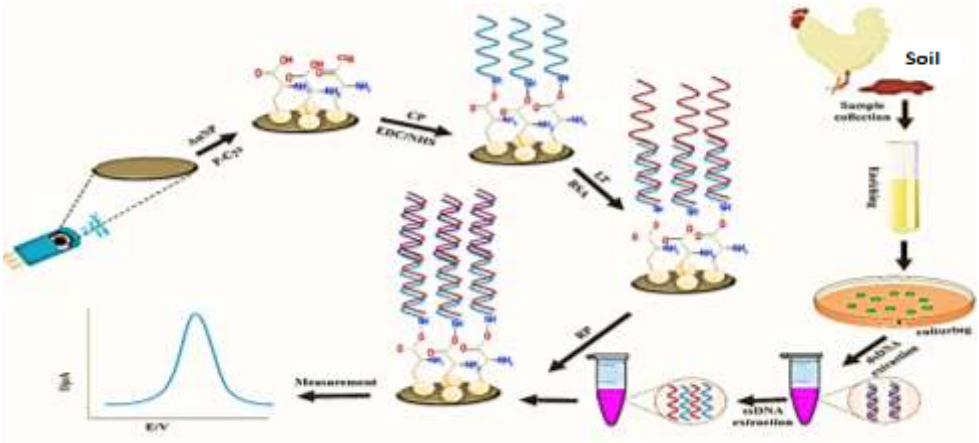
در مطالعه آونگ و همکاران (۲۰۲۱)؛ در مدت زمان کمتر از ۳۵ دقیقه، حد تشخیص پاتوژن‌های *ای کلای* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موریوم* توسط آپتاحسگرها به ترتیب CFU/mL ۳۴۰ و ۱۸۰CFU/mL گزارش شده است (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). کاربرد این حسگرها امکان تشخیص موفقیت‌آمیز *سالمونلا* را در نمونه‌های غذا با حد تشخیص ۶CFU/mL نیز فراهم نمود. همانطور که در شکل ۵؛ مشاهده می‌شود تکنیک‌های تشخیص *سالمونلا* در حسگرهای زیستی متعدد گزارش شده است. روش‌های سنجش نوری و شناسایی الکتروشیمیایی از روش‌های تشخیص سریع پاتوژن *سالمونلا* می‌باشند که وابسته به کاربرد حسگرهای زیستی هستند (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱).

84- A multifunctional aptamer-modified magnetic fluorescent nanosensor
85- Multiple aptamer-based hydrogel barcodes
86- Electrochemical biosensor with metal-organic framework functionalized with amino group and aptamer
87- Electrochemical sensor based on aptamer
88- Silver nanoparticles
89- Hairpin DNA aptasensors
90- Surface-enhanced Raman scattering (SERS) based aptasensor
91- Magnetic silica solid phase
92- MCM-41-aptamer gate system
93- Label-free fluorescent aptasensor
94- Aptamer-functionalized luminescent nanoprobes

شکل ۵- معرفی انواع گیرنده‌های زیستی و حسگرهای تشخیص *سالمونلا*(شن و همکاران، ۲۰۲۱)

(شکل۶) عملکرد یک حسگر زیستی مبتنی بر روش الکتروشیمیایی به منظور تشخیص *سالمونلا انتریکا* در نمونه‌های مختلف زنده و محیطی از جمله خاک نشان می-دهد (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). اساس کار در این حسگر، تثبیت کاوشگر تک رشته‌ای اختصاصی عاملدار شده با گروه آمین[۹۵] بر روی سطح نانوذرات طلا و الکترود های اصلاح شده سیستئین[۹۶] بوده است. در واقع از ولتامتری پالس تفاضلی[۹۷] نمک سدیم مونوهیدرات آنتراکینون-۲-سولفونیک اسید[۹۸] و همچنین هیبریداسیون DNA هدف و پروب به عنوان یک نشانگر به منظور تشخیص *سالمونلا انتریکا* سرووار *تیفی* استفاده شده است. رنگ سنجی[۹۹]، آنالیز فلورسانس[۱۰۰]، تشخیص طیف رامان[۱۰۱]، تعیین تشدید پلاسمون سطحی[۱۰۲] و تشخیص فتوترمال[۱۰۳] از جمله روش‌های مبتنی بر سنجش نوری در تشخیص *سالمونلا* می‌باشند (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱). در میان تکنیک‌های تشخیص *سالمونلا*، حسگرهای رنگ سنجی همراه با خروجی سیگنال بدون نیاز به تجهیزات با چشم و بدون ابزار قابلیت تشخیصی دارند. واکنش سریع، عملکرد ساده و عدم نیاز به دستگاه پیچیده به منظور تشخیص *سالمونلا*؛ اهمیت این تکنیک را نسبت به سایر تکنیک‌های تشخیصی برجسته نموده است (دینگ و همکاران، ۲۰۱۶؛ شکری و همکاران، ۲۰۱۷).

95- Fabricated by immobilizing an amine labelled
96- Poly cysteine
97- Differential pulse voltammetry (DPV)
98- Anthraquinone-2-sulfonic acid monohydrate sodium salt (AQMS)
99- Colorimetric
100- Fluorescence analysis
101- Surface-enhanced Raman spectral (SERS)
102--Surface plasmon resonance (SPR)
103- Photothermal detection

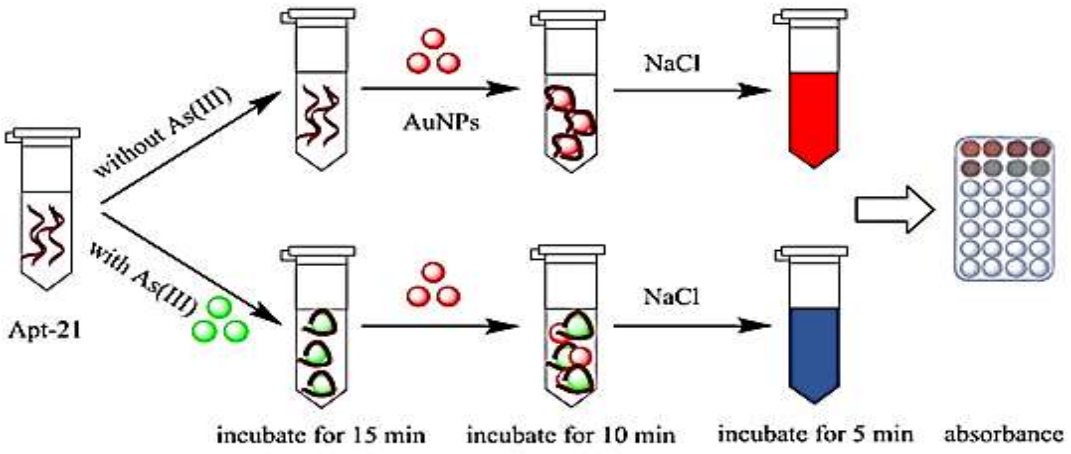


شکل ۶- عملکرد حسگر زیستی مبتنی بر روش الکتروشیمیایی به منظور تشخیص *سالمونلا انتریکا* در نمونه‌های زنده و محیطی (آونگ و همکاران، ۲۰۲۱)

روش رنگ‌سنجی از جمله روش‌های سنجش نوری در تشخیص *سالمونلا* در محل است. مهم‌ترین ویژگی این روش تشخیص آنالیت یا در واقع مشاهده پاسخ سیگنال با چشم غیر مجهز می‌باشد (وو و همکاران، ۲۰۲۱). تشخیص در روش‌های رنگ‌سنجی یا بر مبنای تغییر رنگ ناشی از خواص نوری یا شیمیایی پروب است و یا اینکه تغییر رنگ در سوبسترا کروموژنیک[۱۰۴] از طریق واکنش‌های آنزیمی و یا شبه کاتالیزوری صورت می‌گیرد (شکری و همکاران، ۲۰۲۲). در رنگ سنجی غیرآنزیمی؛ عمدتاً از نانوذرات طلا به عنوان مواد رنگ‌سنجی استفاده می‌شود. تشخیص آنالیت بر اساس تغییر رنگ و مشاهده طیف رنگ-های قرمز شرابی، رنگ آبی- بنفش (در صورت بروز مکانیسم تجمع در نانوذرات) می‌باشد (شکری و همکاران، ۲۰۲۰). آنتی‌بادی‌ها و آپتامرهای جذب شده روی سطح نانوذرات طلا مانع از بین رفتن بار سطحی نانوذرات طلا توسط محلول نمک می‌شوند؛ بروز این واکنش، تغییر رنگ محلول ناشی از تجمع نانوذرات طلا را با روند کندتر امکان‌پذیر می‌کند (ما و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر نانوذرات طلا، سایر نانومواد با آشکارسازی رنگ‌های متعدد نقش به سزایی در تشخیص رنگ‌سنجی *سالمونلا* داشته‌اند (هو و همکاران، ۲۰۱۸). در حقیقت فراوانی اسیدهای تیکوئیک[۱۰۵] و البته لیپوپلی ساکاریدها به ترتیب بر روی سطح باکتری‌های گرم مثبت و منفی، منجر به ایجاد بار منفی سطحی در باکتری‌ها و همچنین ایجاد برهم کنش‌های الکترواستاتیکی بین باکتری‌های هدف و نانوذرات می‌گردد. در این حالت پاسخ نانوذرات به شکل‌های متعدد هم‌چون تجمع نانوذرات طلا بروز پیدا می‌کند. در حقیقت با پوشش دهی سطح نانوذرات با آپتامرهای مربوط به پاتوژن، در صورت حضور پاتوژن در محیط سطح نانوذرات از آپتامرها تهی گشته و در نهایت یک برهمکنش میان پاتوژن و آپتامر ایجاد می‌گردد که با اضافه کردن غلظت‌های متعدد نمک به محیط تجمع نانوذرات مشاهده می‌شود (شکل ۷) (آلافیف و همکاران، ۲۰۲۰). کابرد نانوحسگرها زیستی در تشخیص پاتوژن‌های زیستی و باکتریایی گسترده گزارش شده است (کاستیلو و همکاران، ۲۰۲۰).

104- Chromogenic substrate

105- Teichoic acids

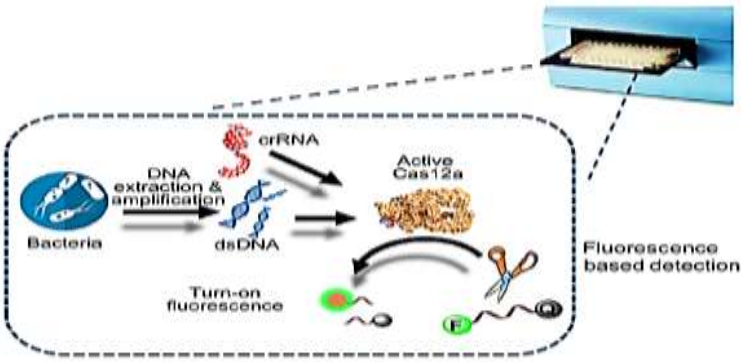


شکل ۷- نحوه عمل نانوحسگر زیستی رنگ سنجی بر پایه‌ی گیرنده زیستی؛ آپتامر و نانوذرات طلا به منظور تشخیص *سالمونلا* (شن و همکاران، ۲۰۲۱)

بهره‌گیری از این فناوری در تشخیص و مطالعه باکتری‌هایی مانند *ای کلای* و *سالمونلا* گزارش شده است (پترو سووا و همکاران، ۲۰۰۷؛ مالوانو و همکاران، ۲۰۲۰). عملکرد اصلی در شناسایی پاتوژن‌ها بر اساس توالی نوکئیک اسیدهای باکتریایی و ویروسی است که در حسگرها متفاوت می‌باشد (تران و همکاران، ۲۰۱۱؛ لازرگس و بیدوئی، ۲۰۱۳). در مطالعه شمس و همکاران (۲۰۱۹)؛ شناسایی ۴۴ گونه *کمپیلو باکتر*[۱۰۶] با استفاده از نانوحسگرها در مقایسه با Real-time PCR حساسیت ۸۸ درصدی را نشان داده است (شمس و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه وو و همکاران (۲۰۱۲)، به واسطه نانو ذرات طلا مبتنی بر آپتامر، امکان تشخیص پاتوژن *ای کلای* و *سالمونلا تیفی موریوم* را با حد تشخیص کمتر از 10^5CFU/mL در نمونه‌های هدف فراهم نمودند. حساسیت و سرعت در تشخیص در این مطالعه بالا گزارش شده است (وو و همکاران، ۲۰۱۲). خالدیان و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که نانوذرات طلای عاملدار شده[۱۰۷]، امکان تشخیص سریع و آسان DNA ژنومی پاتوژن گیاهی رالستونیا سولاناسروم[۱۰۸] را در خاک به روش رنگ‌سنجی فراهم نموده است (خالدیان و همکاران، ۲۰۱۷). سو و همکاران (۲۰۱۲)، با استفاده از نانوذرات طلای اصلاح شده با مرکاپتواتیل آمین[۱۰۹] به عنوان یک حسگر کم هزینه با قابلیت تشخیص در محل پاتوژن *ای کلای* O157:H7 را به روش رنگ‌سنجی در کمتر از ۵ دقیقه با حساسیت بالا آشکار نمودند (سو و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه بر این کاربرد نانوذرات طلا (عاملدار شده با الیگونوکلئوتیدهای DNA مختلف) به عنوان حسگرهای رنگ‌سنجی، تشخیص همزمان چند سویه *سالمونلا* را با حد تشخیص کمتر 10^1CFU/mL امکان پذیر نمود (کوئن تلا و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه‌ای دیگر حساسیت تشخیص پاتوژن *سالمونلا تیفی موریوم*ATCC50761 بوسیله حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی در کمتر از یک ساعت با حد تشخیص ۲۵CFU/mL گزارش شده است (جیا و همکاران، ۲۰۱۶). اخیراً تکنیک جدید دیگری به منظور تشخیص باکتری‌های بیماریزا از جمله *سالمونلا* به روش-های نوین تشخیص تحت عنوان تکرارهای کوتاه پالیندرومیک با فاصله منظم[۱۱۰] (CRISPR-Cas) اضافه شده است که در آن از سیستمCRISPR/Cas 12 a به

106- *Campylobacter sp.*
107- Functionalized gold nanoparticles
108- *Ralstonia solanacearum*
109- Gold nanoparticles modified with mercaptoethylamine
110- Short palindromic repeats(CRISPR)

منظور ایجاد حسگرهای زیستی دو حالته (نشری-رنگی) در شناسایی باکتری‌های بیماریزا استفاده شده است (ما و همکاران، ۲۰۲۱). در این مطالعه؛ ابتدا بخشی از توالی رمز کننده ژن*invA* تکثیر شد و سپس با استفاده از آنزیم CRISPR-Cas12a شناسایی گردید. برای تولید سیگنال در این حسگر از یک گزارشگر فلورسانس با ساختار (F-ssDNA-Q) استفاده شده است. در حالت عادی نشر فلورسانس گزارشگر بدلیل مجاورت ترکیب بازدارنده Q با فلئورفور F خاموش است؛ اما با افزودن DNA *سالمونلا* به نمونه، آنزیم کریسپر با هدایت RNA راهنما[111] به آن متصل شده و خاصیت برش DNA تک و دو رشته ای در آن فعال شده و متعاقبا مولکول گزارشگر را برش می‌دهد. با این عمل، اثر بازدارنده ترکیب خاموشگر از بین رفته و نشر فلورسنس مولکول فلئوفور بازیابی می‌شود، سپس سیگنال-های فلورسنت تقویت شده با استفاده از یک میکروپلیت خوان به منظور تشخیص کمی *سالمونلا* ضبط می‌شوند (شکل ۸) (ما و همکاران، ۲۰۲۱).CRISPR-Cas یکی از جدیدترین و پیشرفته‌ترین روش‌ها در تجزیه و تحلیل اسید نوکلئیک است که اخیراً توجه زیادی پیدا کرده است. عموماً در باکتری‌ها سیستم CRISPR/Cas در شناسایی و تجزیه عناصر ژنتیکی خارجی[112] از ویروس‌ها نقش داشته است (شبیر و همکاران، ۲۰۱۹). علاوه بر این ایجاد حفاظت تطبیقی[113] در برابر اسیدهای نوکئیک خارجی را نیز فراهم کرده است (جینک و همکاران، ۲۰۱۲). اغلب این تکنیک به منظور دستیابی به حساسیت بالاتر و توسعه حسگرهای نوری[114] و الکتروشیمیایی جدید، با تکنیک‌هایی همچون واکنش زنجیره ای پلیمراز[115] و تقویت اسید های نوکئیک[116] ادغام گردیده است (چاکرابورتی و همکارن، ۲۰۲۲). ردیابی مستمر و کنترل پاتوژن مقاوم *سالمونلا* در منابع متعدد آلودگی و منحصراً خاک به عنوان زیستگاه رشد گیاهان می‌تواند علاوه بر گسترش تولیدات سالم، دغدغه‌ی گسترش روزافزون جمعیت و کمبود غذای سالم را رفع می‌نماید.



شکل ۸- حسگر زیستی مبتنی بر سیستم CRISPR/Cas 12 a؛ با ردیابی DNA باکتری سالمونلا در نمونه، خاصیت برش تک رشته در کمپلکس کریسپر فعال شده و مولکول گزارشگر (F-ssDNA-Q) را برش می‌دهد. با این عمل، اثر بازدارنده ترکیب خاموشگر (Q) از بین رفته و نشر فلورسنس مولکول فلئوفور (F) بازیابی شده و با دستگاه آشکارساز کمیت سنجی می‌شود

نتیجه گیری

شیوع و ماندگاری بالای *سالمونلاها* در خاک و ضرورت سلامت نگهداشتن خاک به عنوان بخش کلیدی در تأمین امنیت غذایی افراد، بیشتر از هر زمانی امر شناسایی *سالمونلا* و جلوگیری از گسترش آن در خاک‌ها را حیاتی کرده است. همچنین در همین راستا رویکردهای اخیر کشورهای پیشرفته و اتحادیه اروپا، در وضع مقررات سختگیرانه برای کنترل و صدور مجوز وارداتی برای

111- Guide RNA
112- Foreign genetic elements
113- Adaptive protection
114- Optical biosensor
115- Polymerase chain reaction (PCR)
116- Sothermal nucleic acid amplification

"محصولات کشاورزی عاری از *سالمونلا*" نشان می‌دهد که نسبت به آلودگی محصولات با *سالمونلا* حساسیت جهانی وجود دارد و کشورهایی همچون ایران که مزیت-های صادراتی در کشاورزی دارند، بایستی کنترل *سالمونلا* در زراعت و مزارع پرورشی دام – طیور را جدی تلقی‌کنند. در بین روش‌های متعدد تشخیص و کنترل عوامل پاتوژنیک در خاک؛ کاربرد روشی مقرون به صرفه، سریع، دقیق و کارآمد ضروری است. نانوحسگرهای زیستی نمونه‌ای از روش‌ها و ابزارهای منحصر به فرد و کارآمد به منظور تشخیص انواع پاتوژن ها از جمله *سالمونلا* هستند. در سال-های اخیر توسعه نانوحسگرهای زیستی متنوع گامی مؤثر در تشخیص *سالمونلا* در منابع متعدد بوده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه شهید چمران اهواز (SCU.AS1402.248) و بخش نانوفناوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (۰۱۰۰۳-۹۹۰۱-۰۰۲-۰۵-۰۵-۰۸۱) تشکر و قدردانی می‌شود.)

فهرست منابع

۱. ایزدی، ش. عابدی، س. احمدیان، س. و محمودی، م. ۱۳۸۵. بررسی آلودگی انگلی سبزی‌های خوراکی در مزارع سبزی‌کاری شهر اصفهان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان. جلد ۱۱، ۵۸-۵۱.

۲. راهدار، م. وزیریان، ب. غلامی، م. و گرشابی، ص. ۱۳۹۱. بررسی آلودگی‌های انگلی سبزی‌های خام مصرفی در شهر اهواز. مجله علمی پزشکی، جلد۶، ۶۶۴-۶۵۷.

۳. رضایی، ح. شهبازی، ک. سعادت، س. و بازرگان، ک. ۱۴۰۱. بررسی آلودگی خاک و محصولات کشاورزی در ایران. نشریه علمی مدیریت اراضی. جلد ۱، ۹۳-۶۲.

۴. سلیمانپور، ح. ظهور، ع. ابراهیم‌زاده، ع. بیرانوند، ل. و دبیرزاده ، م. ۱۳۹۱. بررسی آلودگی انگلی سبزیجات تازه مصرفی شهر زابل در سال ۱۳۹۰ . جلد ۴، ۴۷-۳۹.

۵. شفاعتی، م. شفاعتی ، م. و خدادوست، م. ۱۳۹۱. تشخیص *سالمونلا انتریکا* سرو تیپ *تایفی موریوم* در گوجه فرنگی به روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن ***hilA***. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. جلد ۴، ۲۷۸-۲۷۳.

۶. عزیزنیا، س. ۱۳۹۵. بررسی میزان آلودگی انگلی سبزی‌های شهرستان ایلام در نیمه اول سال ۱۳۹۵. یک گزارش کوتاه. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. جلد ۱۵، ۱۰۰۰-۹۹۵.

۷. هاشم، س. چرم، م. و معتمدی، ح. ۱۳۸۸. بررسی اثر استفاده از لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی بر گسترش آلودگی‌های باکتری‌های *سالمونلا* و کلی‌فرم. یازدهمین کنگره علوم خاک ایران. گرگان. ۲۱ تیرماه.

۸. همایونی، م. و خلجی، ن. ۱۳۸۵. بررسی آلودگی انگلی سبزی‌های خام مصرفی شهر تهران در سال ۱۳۸۳. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران. جلد ۴، ۱۰۵۶-۱۰۵۳.

9. Abbaspour, A., Norouz-Sarvestani, F., Noori, A. and Soltani, N. 2015. Aptamer-conjugated silver nanoparticles for electrochemical dual-aptamer-based sandwich detection of *staphylococcus aureus*. Biosensors and Bioelectronics 68: 149-155.

10. Agbaje, M., Begum, R.H., Oyekunle, M.A., Ojo, O.E. and Adenubi, O.T. 2011. Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. Folia microbiologica 56: 479- 503

11. Akil, L., Ahmad, H.A. and Reddy, R.S. 2014. Effects of climate change on *Salmonella* infections. Foodborne pathogens and disease 11(12): 974-980.
12. Alafeef, M., Moitra, P. and Pan, D. 2020. Nano-enabled sensing approaches for pathogenic bacterial detection. Biosensors and Bioelectronics, 165, 112276.
13. Al-Taai, S.H.H. 2021, June. Soil pollution-causes and effects. In IOP conference series: earth and environmental science,790, 012009.
14. Alvarenga, P. 2022. Soil Pollution Assessment and Sustainable Remediation Strategies. Environments 9(4): 46.
15. Amagliani, G., Brandi, G. and Schiavano, G.F. 2012. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. Food Research International 45(2): 780-788.
16. Andino, A. and Hanning, I. 2015. *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. The Scientific World Journal 2015 : 1-17.
17. Arrus, K.M., Holley, R.A., Ominski, K.H., Tenuta, M. and Blank, G. 2006. Influence of temperature on *Salmonella* survival in hog manure slurry and seasonal temperature profiles in farm manure storage reservoirs. Livestock Science 102(3): 226-236.
18. Arthurson, V., Sessitsch, A. and Jäderlund, L. 2011. Persistence and spread of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in soil and on spinach plants. FEMS microbiology letters 314(1): 67-74.
19. Aruscavage, D., Lee, K., Miller, S. and LeJeune, J.T. 2006. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. Journal of food science 71(8): 89-99.
20. Awang, M.S., Bustami, Y., Hamzah, H.H., Zambry, N.S., Najib, M.A., Khalid, M.F., Aziah, I. and Abd Manaf, A. 2021. Advancement in *salmonella* detection methods: From conventional to electrochemical-based sensing detection. Biosensors 11(9): 346.
21. Barak, J.D., Jahn, C.E., Gibson, D.L. and Charkowski, A.O. 2007. The role of cellulose and O-antigen capsule in the colonization of plants by *Salmonella enterica*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 20(9): 1083-1091.
22. Batz, M.B., Hoffmann, S. and Morris Jr, J.G. 2011. Ranking the risks: the 10 pathogen-food combinations with the greatest burden on public health. Emerging Pathogens Institute, University of Florida.
23. Baumgardner, D.J. 2012. Soil-related bacterial and fungal infections. The Journal of the American Board of Family Medicine 25(5): 734-744.
24. Berendonk, T.U., Manaia, C.M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., Bürgmann, H., Sørum, H., Norström, M., Pons, M.N. and Kreuzinger, N. 2015. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nature reviews microbiology 13(5): 310-317.
25. Berger, C.N., Shaw, R.K., Brown, D.J., Mather, H., Clare, S., Dougan, G., Pallen, M.J. and Frankel, G. 2009. Interaction of *Salmonella enterica* with basil and other salad leaves. The ISME journal 3(2): 261-265.
26. Bernstein, N., Sela, S. and Neder-Lavon, S. 2007. Assessment of contamination potential of lettuce by *Salmonella enterica* serovar *Newport* added to the plant growing medium. Journal of food protection 70(7): 1717-1722.
27. Boore, A.L., Hoekstra, R.M., Iwamoto, M., Fields, P.I., Bishop, R.D. and Swerdlow, D.L. 2015. *Salmonella enterica* infections in the United States and assessment of coefficients of variation: a novel approach to identify epidemiologic characteristics of individual serotypes 1996–2011. PloS one, 10(12), 0145416.
28. Brennan, F.P., Moynihan, E., Griffiths, B.S., Hillier, S., Owen, J., Pendlowski, H. and Avery, L.M. 2014. Clay mineral type effect on bacterial enteropathogen survival in soil. Science of the Total Environment 468: 302-305.

29. Cao, Y., Halane, M.K., Gassmann, W. and Stacey, G. 2017. The role of plant innate immunity in the legume-rhizobium symbiosis. Annual review of plant biology 68: 535-561.
30. Cao, Y., Halane, M.K., Gassmann, W. and Stacey, G. 2017. The role of plant innate immunity in the legume-rhizobium symbiosis. Annual review of plant biology 68: 535-561.
31. Chakraborty, J., Chaudhary, A.A., Khan, S.U.D., Rudayni, H.A., Rahaman, S.M. and Sarkar, H. 2022. CRISPR/Cas-based biosensor as a new age detection method for pathogenic bacteria. ACS omega 7(44): 39562-39573.
32. Chalupowicz, L., Manulis-Sasson, S., Barash, I., Elad, Y., Rav-David, D. and Brandl, M.T. 2021. Effect of plant systemic resistance elicited by biological and chemical inducers on the colonization of the lettuce and basil leaf apoplast by *Salmonella enterica*. Applied and Environmental Microbiology, 87(24), 01151-21.
33. Chandler, S., Van Hese, N., Coutte, F., Jacques, P., Höfte, M. and De Vleesschauwer, D. 2015. Role of cyclic lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in mounting induced immunity in rice (Oryza sativa L.). Physiological and molecular plant pathology 91: 20-30.
34. Chandrakala, A. and Reniprabha, A., 2021. Screening of bioactive compound from soil mycoflora and its therapeutic effect on fish borne pathogens of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (*Valenciennes*). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 9(3): 272-277
35. Danyluk, M.D., Nozawa- Inoue, M., Hristova, K.R., Scow, K.M., Lampinen, B. and Harris, L.J. 2008. Survival and growth of *Salmonella Enteritidis* PT 30 in almond orchard soils. Journal of Applied Microbiology 104(5): 1391-1399.
36. Deng, G., Zha, H., Luo, H. and Zhou, Y. 2023. Aptamer-conjugated gold nanoparticles and their diagnostic and therapeutic roles in cancer. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 11, 1118546.
37. Dunn, L.L., Sharma, V., Chapin, T.K., Friedrich, L.M., Larson, C.C., Rodrigues, C., Jay-Russell, M., Schneider, K.R. and Danyluk, M.D. 2022. The prevalence and concentration of *Salmonella enterica* in poultry litter in the southern United States. Plos one, 17(5), 0268231.
38. Efremova, S., Parfenova, E. and Bodrov, A. 2020. Environmental hazard of soil contamination by heavy metals. In E3S Web of Conferences ,208, 01021.
39. Eng, S.K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.S., Ser, H.L., Chan, K.G. and Lee, L.H. 2015. *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Frontiers in Life Science 8(3): 284-293.
40. Erickson, M.C., Habteselassie, M.Y., Liao, J., Webb, C.C., Mantripragada, V., Davey, L.E. and Doyle, M.P. 2014. Examination of factors for use as potential predictors of human enteric pathogen survival in soil. Journal of Applied Microbiology 116(2): 335-349.
41. Fahed, M., Barron, G.C. and Steffens, D.C. 2020. Ethical and logistical considerations of caring for older adults on inpatient psychiatry during the COVID-19 pandemic. The American Journal of Geriatric Psychiatry 28(8): 829-834.
42. Fonseca, J.M., Ravishankar, S., Sanchez, C.A., Park, E. and Nolte, K.D. 2020. Assessing the food safety risk posed by birds entering leafy greens fields in the US southwest. International Journal of Environmental Research and Public Health ,17(23), 8711.
43. Fornefeld, E., Schierstaedt, J., Jechalke, S., Grosch, R., Schikora, A. and Smalla, K. 2017. Persistence of *Salmonella Typhimurium* LT2 in soil enhanced after growth in lettuce medium. Frontiers in Microbiology, 8, 757.
44. Franz, C., Besten, H., Bohnlen, C., Gareis, M., Zwietering, M., and Fusco, V. 2019. Reprint of microbial food safety in the 21st century: emerging

challenges and foodborne pathogenic bacteria. Trends in Food Science and Technology 84: 34–37.

45. Franz, E. and van Bruggen, A.H. 2008. Ecology of *E. coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in the primary vegetable production chain. Critical reviews in microbiology 34(3-4): 143-161.
46. Franz, E., van Diepeningen, A.D., de Vos, O.J. and van Bruggen, A.H. 2005. Effects of cattle feeding regimen and soil management type on the fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* in manure, manure-amended soil, and lettuce. Applied and environmental microbiology 71(10) :6165-6174.
47. Fu, J., Park, B., Siragusa, G., Jones, L., Tripp, R., Zhao, Y. and Cho, Y.J. 2008. An Au/Si hetero-nanorod-based biosensor for *Salmonella* detection. Nanotechnology, 19(15), pp 155502.
48. Ganz, K. and Gill, A. 2013. Inhibition of polymerase chain reaction for the detection of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* on walnut kernels. Food microbiology 35(1): 15-20.
49. Gene, S.M., Hoekstra, P.F., Hannam, C., White, M., Truman, C., Hanson, M.L. and Prosser, R.S. 2019. The role of vegetated buffers in agriculture and their regulation across Canada and the United States. Journal of Environmental Management 243: 12-21.
50. Glaize, A., Young, M., Harden, L., Gutierrez-Rodriguez, E. and Thakur, S. 2021. The effect of vegetation barriers at reducing the transmission of *Salmonella* and *Escherichia coli* from animal operations to fresh produce. International Journal of Food Microbiology 347: 109196.
51. Gomes, C., Da Silva, P., Moreira, R.G., Castell-Perez, E., Ellis, E.A. and Pendleton, M. 2009. Understanding E. coli internalization in lettuce leaves for optimization of irradiation treatment. International journal of food microbiology 135(3): 238-247.
52. Gruszynski, K., Pao, S., Kim, C., Toney, D., Wright, K., Ross, P.G., Colon, A. and Levine, S. 2014. Evaluating wildlife as a potential source of *salmonella* serotype *Newport* (JJPX 01.0061) contamination for tomatoes on the eastern shore of Virginia. Zoonoses and public health 61(3): 202-207.
53. Gu, G., Hu, J., Cevallos-Cevallos, J.M., Richardson, S.M., Bartz, J.A. and van Bruggen, A.H. 2011. Internal colonization of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* in tomato plants. PloS one, 6(11), pp 27340.
54. Guan, T.T., Holley, R.A., Guan, T.T. and Holley, R.A., 2003. pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness—a review a. Hog manure management, the environment and human health, pp 51-71.
55. Guo, M. and Saif, L.J. 2003. IV, 3. Pathogenesis of enteric calicivirus infections. In Perspectives in Medical Virology 9: 489-503.
56. Gupta, D.K., Huang, H.G., Yang, X.E., Razafindrabe, B.H.N. and Inouhe, M., 2010. The detoxification of lead in Sedum alfredii H. is not related to phytochelatins but the glutathione. Journal of hazardous materials 177(1-3): 437-444.
57. Hairom, N.H.H., Soon, C.F., Mohamed, R.M.S.R., Morsin, M., Zainal, N., Nayan, N., Zulkifli, C.Z. and Harun, N.H. 2021. A review of nanotechnological applications to detect and control surface water pollution. Environmental Technology & Innovation ,24, 102032.
58. Hansen-Wester, I., Stecher, B. and Hensel, M. 2002. Type III secretion of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* translocated effectors and SseFG. Infection and immunity 70(3): 1403-1409.
59. Harrand, A.S., Kovac, J., Carroll, L.M., Guariglia-Oropeza, V., Kent, D.J. and Wiedmann, M. 2019. Assembly and characterization of a pathogen strain collection for produce safety applications: Pre-growth conditions have a larger

effect on peroxyacetic acid tolerance than strain diversity. Frontiers in Microbiology , 10, 1223.

60. Holley, R.A., Arrus, K.M., Ominski, K.H., Tenuta, M. and Blank, G. 2006. *Salmonella* survival in manure- treated soils during simulated seasonal temperature exposure. Journal of environmental quality 35(4): 1170-1180.
61. Hu, J., Jiang, Y.Z., Tang, M., Wu, L.L., Xie, H.Y., Zhang, Z.L. and Pang, D.W. 2018. Colorimetric-fluorescent-magnetic nanosphere-based multimodal assay platform for *Salmonella* detection. Analytical chemistry 91(1): 1178-1184.
62. Huang, T.K. and Puchta, H. 2021. Novel CRISPR/Cas applications in plants: from prime editing to chromosome engineering. Transgenic research 30: 529-549.
63. Hurley, D., McCusker, M.P., Fanning, S. and Martins, M. 2014. *Salmonella*–host interactions–modulation of the host innate immune system. Frontiers in immunology, 5, 481.
64. Hwang, J., Kwon, D., Lee, S. and Jeon, S. 2016. Detection of *Salmonella* bacteria in milk using gold-coated magnetic nanoparticle clusters and lateral flow filters. Rsc Advances 6(54): 48445-48448.
65. Islam, M., Doyle, M.P., Phatak, S.C., Millner, P. and Jiang, X. 2005. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in soil and on carrots and onions grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. Food microbiology 22(1): 63-70.
66. Jacobsen , S. and Tina , B. 2012. Soil survival of *Salmonella* and transfer to freshwater and fresh produce.Food Research International 45: 557–566.
67. Jechalke , S. Schierstaedt , J. Becker , M. Fl Jacobsen, C.S. and Bech, T.B. 2012. Soil survival of *Salmonella* and transfer to freshwater and fresh produce. Food Research International 45(2): 557-566.
68. Jechalke, S., Schierstaedt, J., Becker, M., Flemer, B., Grosch, R., Smalla, K. and Schikora, A. 2019. *Salmonella* establishment in agricultural soil and colonization of crop plants depend on soil type and plant species. Frontiers in microbiology, 10, 967.
69. Jia, F., Duan, N., Wu, S., Dai, R., Wang, Z. and Li, X. 2016. Impedimetric *Salmonella* aptasensor using a glassy carbon electrode modified with an electrodeposited composite consisting of reduced graphene oxide and carbon nanotubes. Microchimica Acta 183: 337-344.
70. Jiang, X., Chen, Z. and Dharmasena, M. 2015. The role of animal manure in the contamination of fresh food. In Advances in microbial food safety. Woodhead Publishing 2: 312-350.
71. Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A. and Charpentier, E. 2012. A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science 337(6096): 816-821.
72. Johnson, N., Litt, P.K., Kniel, K.E. and Bais, H. 2020. Evasion of plant innate defense response by *Salmonella* on lettuce. Frontiers in Microbiology, 11, 500
73. Khaledian, S., Nikkhah, M., Shams-bakhsh, M. and Hoseinzadeh, S. 2017. A sensitive biosensor based on gold nanoparticles to detect *Ralstonia solanacearum* in soil. Journal of General Plant Pathology 83: 231-239.
74. Kroupitski, Y., Golberg, D., Belausov, E., Pinto, R., Swartzberg, D., Granot, D. and Sela, S. 2009. Internalization of *Salmonella enterica* in leaves is induced by light and involves chemotaxis and penetration through open stomata. Applied and environmental microbiology 75(19): 6076-6086.
75. Kroupitski, Y., Gollop, R., Belausov, E., Pinto, R. and Sela, S. 2019. *Salmonella enterica* growth conditions influence lettuce leaf internalization. Frontiers in Microbiology, 10, 639.

76. Kumar, A., Malinee, M., Dhiman, A., Kumar, A. and Sharma, T.K. 2019 . Aptamer technology for the detection of foodborne pathogens and toxins. Elsevier, Netherlands.
77. Kumar, H., Kuča, K., Bhatia, S.K., Saini, K., Kaushal, A., Verma, R., Bhalla, T.C. and Kumar, D. 2020. Applications of nanotechnology in sensor-based detection of foodborne pathogens. Sensors, 20(7), 1966.
78. Ladeiro, B. 2012. Saline agriculture in the 21st century: using salt contaminated resources to cope food requirements. J Bot, 2012, 1.
79. Law, J.W.F., Ab Mutalib, N.S., Chan, K.G. and Lee, L.H. 2015. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. Frontiers in microbiology, 5, 770.
80. Lee, K.M., Runyon, M., Herrman, T.J., Phillips, R. and Hsieh, J. 2015. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. Food control 47: 264-276.
81. Li, L., Li, Q., Liao, Z., Sun, Y., Cheng, Q., Song, Y., Song, E. and Tan, W. 2018. Magnetism-resolved separation and fluorescence quantification for near-simultaneous detection of multiple pathogens. Analytical chemistry 90(15): 9621-9628.
82. Liu, C., Hofstra, N. and Franz, E. 2013. Impacts of climate change on the microbial safety of pre-harvest leafy green vegetables as indicated by *Escherichia coli* O157 and *Salmonella spp*. International journal of food microbiology 163(2-3): 119-128.
83. Liu, H., Whitehouse, C.A. and Li, B. 2018. Presence and persistence of *Salmonella* in water: the impact on microbial quality of water and food safety. Frontiers in Public Health, 6, 159.
84. Liu, L., Zhao, G., Li, X., Xu, Z., Lei, H. and Shen, X. 2022. Development of rapid and easy detection of *Salmonella* in food matrics using RPA-CRISPR/Cas12a method. LWT, 162, 113443.
85. Ma, L., Peng, L., Yin, L., Liu, G. and Man, S. 2021. CRISPR-Cas12a-powered dual-mode biosensor for ultrasensitive and cross-validating detection of pathogenic bacteria. Acs Sensors, 6(8), 2920-2927.
86. Ma, X., Song, L., Zhou, N., Xia, Y. and Wang, Z. 2017. A novel aptasensor for the colorimetric detection of *S. typhimurium* based on gold nanoparticles. International journal of food microbiology 245:1-5.
87. Mays, C., Garza, G.L., Waite-Cusic, J., Radniecki, T.S. and Navab-Daneshmand, T. 2021. Impact of biosolids amendment and wastewater effluent irrigation on enteric antibiotic-resistant bacteria–a greenhouse study. Water Research X, 13, 100119.
88. McQuiston, J.R., Waters, R.J., Dinsmore, B.A., Mikoleit, M.L. and Fields, P.I. 2011. Molecular determination of H antigens of *Salmonella* by use of a microsphere-based liquid array. Journal of clinical microbiology 49(2): 565-573.
89. Min, H.J., Mina, H.A., Deering, A.J., Robinson, J.P. and Bae, E. 2022. Detection of *Salmonella Typhimurium* with Gold Nanoparticles Using Quartz Crystal Microbalance Biosensor. Sensors, 22(22),8928.
90. Mombo, S., Foucault, Y., Deola, F., Gaillard, I., Goix, S., Shahid, M., Schreck, E., Pierart, A. and Dumat, C. 2016. Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. Journal of soils and sediments 16: 1214-1224.
91. Morgan, E., Campbell, J.D., Rowe, S.C., Bispham, J., Stevens, M.P., Bowen, A.J., Barrow, P.A., Maskell, D.J. and Wallis, T.S. 2004. Identification of host- specific colonization factors of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. Molecular microbiology 54(4): 994-1010.

92. Morris, C.E. and Monier, J.M. 2003. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. Annual review of phytopathology 41(1): 429-453.
93. Mulatua Hailu, M. 2018. Remediation of soil contaminated by *Salmonella enterica* to expedite plant or replant of vegetables (Doctoral dissertation).
94. Murphy, C.M., Weller, D.L., Reiter, M.S., Bardsley, C.A., Eifert, J., Ponder, M., Rideout, S.L. and Strawn, L.K. 2022. Anaerobic soil disinfestation, amendment- type, and irrigation regimen influence *Salmonella* survival and die- off in agricultural soils. Journal of applied microbiology 132(3): 2342-2354.
95. Oh, S.Y., Heo, N.S., Shukla, S., Cho, H.J., Vilian, A.E., Kim, J., Lee, S.Y., Han, Y.K., Yoo, S.M. and Huh, Y.S. 2017. Development of gold nanoparticle-aptamer-based LSPR sensing chips for the rapid detection of *Salmonella typhimurium* in pork meat. Scientific reports, 7(1), 10130.
96. Ölmez, H. and Temur, S.D. 2010. Effects of different sanitizing treatments on biofilms and attachment of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on green leaf lettuce. LWT-Food Science and Technology 43(6): 964-970.
97. Omara, A.E.D., Elsakhawy, T., Alshaal, T., El-Ramady, H., Kovács, Z. and Fári, M. 2019. Nanoparticles: a novel approach for sustainable agro-productivity. Environment, Biodiversity and Soil Security 3(2019): 29-62.
98. Ongeng, D., Geeraerd, A.H., Springael, D., Ryckeboer, J., Muyanja, C. and Mauriello, G. 2015. Fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in the manure-amended soil-plant ecosystem of fresh vegetable crops: a review. Critical reviews in microbiology 41(3): 273-294.
99. Paniel, N. and Noguer, T. 2019. Detection of *Salmonella* in food matrices, from conventional methods to recent aptamer-sensing technologies. Foods, 8(9), 371.
100. Park, S.H., Aydin, M., Khatiwara, A., Dolan, M.C., Gilmore, D.F., Bouldin, J.L., Ahn, S. and Ricke, S.C. 2014. Current and emerging technologies for rapid detection and characterization of *Salmonella* in poultry and poultry products. Food microbiology 38: 250-262.
101. Parker, D.B., Malone, G.W. and Walter, W.D. 2011. Vegetative environmental buffers and exhaust fan deflectors for reducing downwind odor and VOCs from tunnel-ventilated swine barns. Transactions of the ASABE 55(1): 227-240.
102. Phan- Thien, K., Metaferia, M.H., Bell, T.L., Bradbury, M.I., Sassi, H.P., de Ogtrop, F.F., Suslow, T.V. and McConchie, R. 2020. Effect of soil type and temperature on survival of *Salmonella enterica* in poultry manure- amended soils. Letters in Applied Microbiology 71(2): 210-217.
103. Pornsukarom, S. and Thakur, S. 2016. Assessing the impact of manure application in commercial swine farms on the transmission of antimicrobial resistant *Salmonella* in the environment. PloS one, 11(10),0164621.
104. Pratap, C.B., Kumar, G., Patel, S.K., Verma, A.K., Shukla, V.K., Kumar, K. and Nath, G. 2013. Targeting of putative fimbrial gene for detection of *S. Typhi* in typhoid fever and chronic typhoid carriers by nested PCR. The Journal of Infection in Developing Countries 7(07): 520-527.
105. Quintela, I.A., de Los Reyes, B.G., Lin, C.S. and Wu, V.C. 2019. Simultaneous colorimetric detection of a variety of *Salmonella spp.* in food and environmental samples by optical biosensing using oligonucleotide-gold nanoparticles. Frontiers in microbiology, 10, 1138.
106. Reeves, M.W., Evins, G.M., Heiba, A.A., Plikaytis, B.D. and Farmer 3rd, J.J. 1989. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *salmonellae* as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of Salmonella bongori comb. nov. Journal of clinical microbiology 27(2): 313-320.

107. Rivera, D., Toledo, V., Reyes-Jara, A., Navarrete, P., Tamplin, M., Kimura, B., Wiedmann, M., Silva, P. and Switt, A.I.M. 2018. Approaches to empower the implementation of new tools to detect and prevent foodborne pathogens in food processing. Food microbiology 75: 126-132.
108. Rocha, A.D.D.L., Ferrari, R.G., Pereira, W.E., Lima, L.A.D., Givisiez, P.E.N., Moreno-Switt, A.I., Toro, M., Delgado-Suárez, E.J., Meng, J. and Oliveira, C.J.B.D. 2022. Revisiting the biological behavior of *Salmonella enterica* in hydric resources: A meta-analysis study addressing the critical role of environmental water on food safety and public health. Frontiers in Microbiology, 13, 802625.
109. Sande, M.G., Rodrigues, J.L., Ferreira, D., Silva, C.J. and Rodrigues, L.R. 2021. Novel biorecognition elements against pathogens in the design of state-of-the-art diagnostics. Biosensors, 11(11), 418.
110. Schierstaedt, J., Jechalke, S., Nesme, J., Neuhaus, K., Sørensen, S.J., Grosch, R., Smalla, K. and Schikora, A. 2020. *Salmonella* persistence in soil depends on reciprocal interactions with indigenous microorganisms. Environmental Microbiology 22(7) : 2639-2652.
111. Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D. and Paulitz, T. 2017. Disease suppressive soils: new insights from the soil microbiome. Phytopathology 107(11): 1284-1297.
112. Semenov, A.M., Kuprianov, A.A. and Van Bruggen, A.H. 2010. Transfer of enteric pathogens to successive habitats as part of microbial cycles. Microbial ecology 60: 239-249.
113. Shabbir, M.A.B., Shabbir, M.Z., Wu, Q., Mahmood, S., Sajid, A., Maan, M.K., Ahmed, S., Naveed, U., Hao, H. and Yuan, Z. 2019. CRISPR-cas system: biological function in microbes and its use to treat antimicrobial resistant pathogens. Annals of clinical microbiology and antimicrobials 18:1-9.
114. Shah, J., Desai, P.T., Chen, D., Stevens, J.R. and Weimer, B.C. 2013. Preadaptation to cold stress in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* increases survival during subsequent acid stress exposure. Applied and environmental microbiology 79(23): 7281-7289.
115. Shahrokhian, S. and Ranjbar, S. 2018. Aptamer immobilization on amino-functionalized metal–organic frameworks: An ultrasensitive platform for the electrochemical diagnostic of *Escherichia coli* O157: H7. Analyst 143(13): 3191-3201.
116. Shahsavar, K., Hosseini, M., Shokri, E., Ganjali, M.R. and Ju, H. 2017. A sensitive colorimetric aptasensor with a triple-helix molecular switch based on peroxidase-like activity of a DNAzyme for ATP detection. Analytical Methods 9(32): 4726-4731.
117. Shams, S., Bakhshi, B., Tohidi Moghadam, T. and Behmanesh, M. 2019. A sensitive gold-nanorods-based nanobiosensor for specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Journal of Nanobiotechnology 17(1): 1-13.
118. Shaw, R.K., Lasa, I., García, B.M., Pallen, M.J., Hinton, J.C., Berger, C.N. and Frankel, G. 2011. Cellulose mediates attachment of *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* to tomatoes. Environmental Microbiology Reports 3(5): 569-573.
119. Shen, Y., Xu, L. and Li, Y. 2021. Biosensors for rapid detection of *Salmonella* in food: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 20(1): 149-197.
120. Shi, X., Wu, Z., Namvar, A., Kostrzynska, M., Dunfield, K. and Warriner, K. 2009. Microbial population profiles of the microflora associated with pre- and postharvest tomatoes contaminated with *Salmonella typhimurium* or *Salmonella montevideo*. Journal of applied microbiology 107(1): 329-338.

121. Shokri, E., Hosseini, M., Boldaji, M.N., Shahsavar, K., Nasiri, N., Bahmani, A., Ganjali, M.R. and Saboury, A.A. 2022. A novel DNA/hemin complex with enzyme-like activity selected from a hairpin DNAs library at zero H_2O_2 concentration. Molecular Catalysis, 519, 112156.
122. Shokri, E., Hosseini, M., Sadeghan, A.A., Bahmani, A., Nasiri, N. and Hosseinkhani, S. 2020. Virus-directed synthesis of emitting copper nanoclusters as an approach to simple tracer preparation for the detection of Citrus Tristeza Virus through the fluorescence anisotropy immunoassay. Sensors and Actuators B: Chemical, 321, 128634.
123. Shokri, E., Hosseini, M., Davari, M.D., Ganjali, M.R., Peppelenbosch, M.P. and Rezaee, F. 2017. Disulfide-induced self-assembled targets: a novel strategy for the label free colorimetric detection of DNAs/RNAs via unmodified gold nanoparticles. Scientific reports, 7(1), 45837.
124. Shokri, E., Hosseini, M., Faridbod, F. and Rahaie, M. 2016. Rapid pre-symptomatic recognition of tristeza viral RNA by a novel fluorescent self-dimerized DNA–silver nanocluster probe. RSC advances 6(101): 99437-99443.
125. Strawn, L.K., Gröhn, Y.T., Warchocki, S., Worobo, R.W., Bihn, E.A. and Wiedmann, M. 2013. Risk factors associated with *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* contamination of produce fields. Applied and environmental microbiology 79(24): 7618-7627.
126. Su, H., Ma, Q., Shang, K., Liu, T., Yin, H. and Ai, S. 2012. Gold nanoparticles as colorimetric sensor: A case study on *E. coli* O157: H7 as a model for Gram-negative bacteria. Sensors and Actuators B: Chemical, 161(1): 298-303.
127. Tack, D.M., Marder, E.P., Griffin, P.M., Cieslak, P.R., Dunn, J., Hurd, S., Scallan, E., Lathrop, S., Muse, A., Ryan, P. and Smith, K. 2019. Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US sites, 2015–2018. American Journal of Transplantation 19(6): 1859-1863.
128. Tan, L., Chen, Z., Zhang, C., Wei, X., Lou, T. and Zhao, Y. 2017. Colorimetric detection of Hg^{2+} based on the growth of aptamer- coated AuNPs: the effect of prolonging aptamer strands. Small, 13(14), 1603370.
129. Teklemariam, A.D., Al-Hindi, R.R., Albiheyri, R.S., Alharbi, M.G., Alghamdi, M.A., Filimban, A.A., Al Mutiri, A.S., Al-Alyani, A.M., Alseghayer, M.S., Almaneea, A.M. and Albar, A.H. 2023. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. Foods, 12(9),1756.
130. Van Elsas, J.D., Chiurazzi, M., Mallon, C.A., Elhottovā, D., Krištůfek, V. and Salles, J.F. 2012. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(4): 1159-1164.
131. Villanueva, J.A., Crooks, A.L., Nagy, T.A., Quintana, J.L., Dalebroux, Z.D. and Detweiler, C.S. 2022. *Salmonella enterica* Infections Are Disrupted by Two Small Molecules That Accumulate within Phagosomes and Differentially Damage Bacterial Inner Membranes. Mbio, 13(5),01790-22.
132. Wang, M., Zhang, Y., Tian, F., Liu, X., Du, S. and Ren, G., 2021. Overview of rapid detection methods for *Salmonella* in foods: Progress and challenges. Foods, 10(10), p.2402.
133. Wattiau, P., Boland, C. and Bertrand, S. 2011. Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: gold standards and alternatives. Applied and environmental microbiology 77(22): 7877-7885.
134. Woldetsadik, D., Drechsel, P., Keraita, B., Itanna, F. and Gebrekidan, H. 2017. Heavy metal accumulation and health risk assessment in wastewater-irrigated urban vegetable farming sites of Addis Ababa, Ethiopia. International Journal of Food Contamination 4: 1-13.

135. Wu, W.H., Li, M., Wang, Y., Ouyang, H.X., Wang, L., Li, C.X., Cao, Y.C., Meng, Q.H. and Lu, J.X. 2012. Aptasensors for rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium*. Nanoscale research letters 7: 1-7.
136. Wu, Y., Wu, M., Liu, C., Tian, Y., Fang, S., Yang, H., Li, B. and Liu, Q., 2021. Colloidal gold immunochromatographic test strips for broad-spectrum detection of *Salmonella*. Food Control, 126, p.108052.
137. Xu, Y., Wang, H., Luan, C., Liu, Y., Chen, B. and Zhao, Y. 2018. Aptamer-based hydrogel barcodes for the capture and detection of multiple types of pathogenic bacteria. Biosensors and Bioelectronics 100: 404-410.
138. Yaron, S. and Römling, U. 2014. Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence. Microbial biotechnology 7(6): 496-516.
139. Yüce, M., Kurt, H., Hussain, B., Ow- Yang, C.W. and Budak, H. 2018. Exploiting Stokes and anti- Stokes type emission profiles of aptamer-functionalized luminescent nanoprobes for multiplex sensing applications. ChemistrySelect 3(21): 5814-5823.
140. Zarkani, A.A. and Schikora, A., 2021. Mechanisms adopted by *Salmonella* to colonize plant hosts. Food Microbiology, 99, p.103833.
141. Zarkani, A.A., López-Pagán, N., Grimm, M., Sánchez-Romero, M.A., Ruiz-Albert, J., Beuzón, C.R. and Schikora, A., 2020. *Salmonella* heterogeneously expresses flagellin during colonization of plants. Microorganisms, 8(6), p. 815.
142. Zarkani, A.A., Schierstaedt, J., Becker, M., Krumwiede, J., Grimm, M., Grosch, R., Jechalke, S. and Schikora, A. 2019. *Salmonella* adapts to plants and their environment during colonization of tomatoes. FEMS Microbiology Ecology, 95(11), 152.
143. Zhang, D., Liu, Y., Ding, J., Hayat, K., Zhan, X., Zhou, P. and Zhang, D. 2021. Label-free colorimetric assay for arsenic (III) determination based on a truncated short ssDNA and gold nanoparticles. Microchimica Acta 188: 1-9.
144. Zhang, Y., Nandakumar, R., Bartelt- Hunt, S.L., Snow, D.D., Hodges, L. and Li, X. 2014. Quantitative proteomic analysis of the *Salmonella- lettuce* interaction. Microbial biotechnology 7(6): 630-637.

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/ص۲۱۳-۲۳۰
dx.doi.org/10.22092/sbj.2024.362697.254

اثرات آلودگی نفتی طولانی مدت بر تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک

شکوفه مرادی، محمدرضا ساریخانی*، علی بهشتی آل آقا، عادل ریحانی‌تبار، سیدسیامک علوی‌کیا و روح‌ا... شریفی

دانشجوی دکتری بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز **moradishokufeh@gmail.com**

دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز **rsarikhani@yahoo.com**

دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه **beheshtiali97@gmail.com**

استاد حاصلخیزی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز **areyhanitabar@yahoo.com**

دانشیار به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز **ss.alavikia@tabrizu.ac.ir**

استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه **rsharifi@ut.ac.ir**

«مقاله پژوهشی»

دریافت:۱۴۰۲/۴/۶ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۱

چکیده

آلودگی به مواد نفتی یکی از بحرانی‌ترین آلودگی‌های زیست‌محیطی است که می‌تواند ویژگی‌های زیستی، فیزیکی و شیمیایی خاک را تحت تأثیر قرار دهد. به‌منظور بررسی اثرات آلودگی نفتی طولانی‌مدت و طبیعی بر تنفس میکروبی شامل تنفس پایه (BR) و تنفس برانگیخته (SIR) و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک، تعداد ۱۲۰ نمونه خاک‌آلوده به نفت از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری از منطقه نفت‌خیز نفت‌شهر واقع در استان کرمانشاه با سه سطح آلودگی شدید (H: High)، متوسط (M: Moderate) و کم (L: Low) نمونه‌برداری شد. پس از اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها، اقدام به شمارش همه باکتری‌ها و باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت به ترتیب در محیط کشت‌های NA و CFMM شد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین جمعیت میکروبی و غلظت نفت به دست آمد. میانگین درصد نفت اندازه‌گیری شده به روش سوکسله، به ترتیب ۴/۰۳، ۹/۹۵ و ۲۲/۵۰ درصد برای سطوح L، M و H بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نفت در نمونه‌های خاک، BR و SIR افزایش یافتند و بیشترین تنفس BR و SIR به ترتیب با مقادیر ۰/۰۵۳ و ۰/۲۳۴ ($mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$) درخاک‌های H به دست آمد. فعالیت بتاگلوکوزیداز اندازه‌گیری شده نیز در حضور آلاینده‌های نفتی بیشتر بود به گونه‌ای که در خاک‌های H بالاترین فعالیت (۲۴/۷۸ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) و در خاک‌های L پایین‌ترین فعالیت (۶/۰۹ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) مشاهده شد. در پایان، آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) نیز انجام شد و نتایج نشان داد که ۷۲ درصد از تنوع بین نمونه‌ها توسط دو مؤلفه اول (مؤلفه بیوشیمیایی و مؤلفه فیزیکی) قابل توجیه بود. آلاینده‌های نفتی که به صورت طبیعی و به مدت طولانی در خاک حضور دارند، با گذشت زمان منجر به سازگاری جوامع میکروبی مقاوم به آلودگی شده و لذا شاهد افزایش فراوانی آنها، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم‌هایی همچون بتاگلوکوزیداز خواهیم بود.

کلمات کلیدی: آلودگی نفتی، بتاگلوکوزیداز، تنفس پایه، تنفس برانگیخته

* آدرس ایمیل نویسنده مسئول: **rsarikhani@yahoo.com**

مقدمه

هیدروکربن‌های نفتی، آلاینده‌های آلی و پایدار هستند و می‌توانند به مدت طولانی در محیط آلوده باقی بمانند. آلودگی‌های نفتی ممکن است به صورت طبیعی و یا در اثر فعالیت‌های انسانی در محیط زیست رخ دهند. خاک یک منبع زنده، پویا و تجدیدناپذیر است و شرایط آن بر تولید غذا، کارایی محیطی و تعادل جهانی تأثیر می‌گذارد (دوران و زایس، ۲۰۰۰). این آلودگی، پیامدهای گوناگونی بر ویژگی‌های زیستی، شیمیایی و فیزیکی خاک خواهدداشت و در نهایت با به مخاطره انداختن بهداشت خاک، بر تولید محصول نیز اثر منفی می‌گذارد (لیانگ و همکاران، ۲۰۱۵). تعیین شاخص‌های میکروبی مانند تنفس خاک، کربن زیست توده میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی می‌توانند اطلاعاتی را در مورد حضور و فعالیت میکروارگانیسم‌های زنده و مدت زمان اثرات آلودگی هیدروکربنی بر فعالیت متابولیک خاک ارائه دهند. میکروارگانیسم‌های خاک به آشفتگی اکوسیستم بسیار حساس هستند و به همین دلیل به عنوان شاخص‌های آلودگی خاک در نظر گرفته می‌شوند (لابود و همکاران، ۲۰۰۷).

فعالیت آنزیمی خاک، نیروی محرکه تمام تحولات بیوشیمیایی در خاک است و می‌تواند به عنوان شاخص اولیه و حساس برای ارزیابی تأثیر آلودگی بر کیفیت خاک مورد استفاده قرار گیرد (لابود و همکاران، ۲۰۰۷). در حال حاضر استفاده از آنزیم‌های خارج سلولی به عنوان شاخص‌های زیستی کیفیت خاک به دلیل اندازه-گیری نسبتاً آسان، اهمیت اکولوژیکی میکروبی، حساسیت به استرس محیطی و واکنش سریع به تغییرات در مدیریت اراضی، موردتوجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. تحقیقات نشان داده است که بتاگلوکوزیدازها از جمله فراوان‌ترین آنزیم‌ها در خاک هستند که به راحتی از سه آنزیم دخیل در تخریب سلولز خاک قابل تشخیص هستند. همچنین این آنزیم‌ها به ندرت محدودیت سوبسترا دارند لذا می‌توانند نشانه‌های اولیه تغییرات در وضعیت موادآلی خاک را فراهم سازند. آنزیم بتاگلوکوزیداز یک آنزیم خارج سلولی است که به دلیل نقش اصلی آن در چرخه موادآلی خاک، به عنوان یک جز مهم کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شود (تورنر و همکاران، ۲۰۰۲).

خاک زیستگاه بزرگی برای جوامع میکروبی است و هیدروکربن‌های نفتی بر فراوانی و گوناگونی جمعیت میکروبی خاک اثر می‌گذارند، از سوی دیگر، گروه ویژه‌ای از ریزجانداران که با چنین شرایطی سازگارند، قادر به استفاده و تجزیه ترکیبات نفتی می‌باشند (لیانگ و همکاران، ۲۰۱۵). تنفس میکروبی یکی از متداول‌ترین شاخص‌های زیستی است که برای بررسی کیفیت و بهداشت خاک به‌کار می‌رود و می‌تواند وضعیت و فعالیت میکروب‌های خاک و همچنین روند، تعادل و چگونگی تجزیه موادآلی، فعالیت آنزیمی و چرخه‌های عناصر غذایی را نشان دهد (مورنو و همکاران، ۲۰۱۱). تنفس پایه (BR[1]) معیاری از تجزیه کربن آلی خاک را توسط ریزجانداران فعال و توانا فراهم می‌کند در حالی که تنفس برانگیخته می‌تواند استفاده از سوبسترای کربنی خاص توسط جوامع میکروبی ویژه در بین کل جمعیت میکروبی خاک را تعیین کند (داوسان و همکاران، ۲۰۰۷). تنفس برانگیخته (SIR[2])، تنفس ناشی از سوبسترای اضافه‌شده به خاک را براساس اندازه‌گیری حداکثر انتشار اولیه CO_2 از خاک‌های غنی‌شده با گلوکز (در یک دوره زمانی که بیش از ۶ ساعت نیست) نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، SIR بیانگر حداکثر میزان تنفس اولیه ریزجانداران پس از غنی‌سازی خاک با منبع کربن و انرژی اضافی می-باشد و به طور قابل توجهی به کل زیست‌توده میکروبی خاک مرتبط است. بدیهی است که تنفس برانگیخته خاک از تنفس پایه خاک بیشتر است و این سطح تنفس جدید "حداکثر پاسخ اولیه" نامیده می‌شود که توسط مقدار گلوکزی که به خاک افزوده شده، القا شده‌است (داوسان و همکاران، ۲۰۰۷). کانی شدن کربن آلی خاک به CO_2 یا تنفس میکروبی به عنوان یک شاخص مهم از فعالیت کل

[1] Bsal Respiration

[2] Substrate Induced Respiration

میکروفلور خاک به‌شمار می‌رود. تنفس میکروبی نه تنها نشان‌دهنده وضعیت و فعالیت ریزجانداران خاک است، بلکه نشان‌دهنده روند، تعادل و چگونگی تجزیه ماده آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی عناصر غذایی خاک نیز خواهد بود.

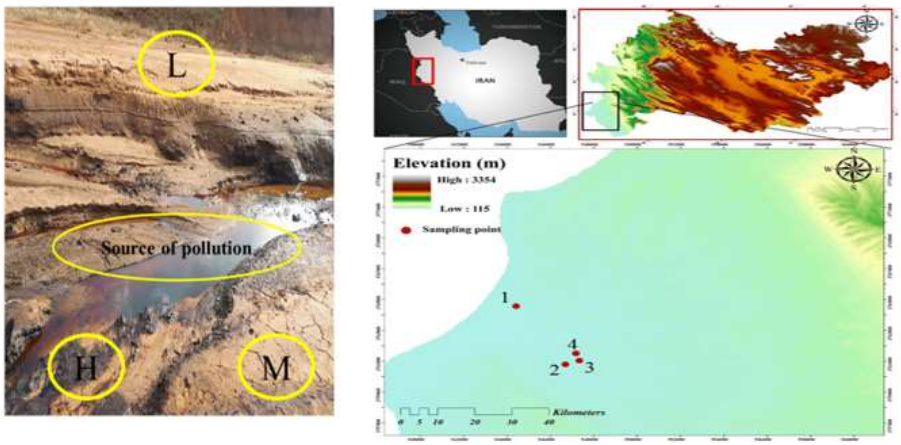
تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که عوامل مختلفی ترکیب و فعالیت میکروب‌ها را در مکان‌های غیرآلوده تعیین می‌کنند، از جمله منطقه جغرافیایی، نوع خاک، pH خاک و کاربری زمین. علاوه بر این، در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی نشان داده شده است که نوع خاک بر ترکیب جمعیت‌های تجزیه‌کننده زیستی تأثیر می‌گذارد. مطالعات انجام شده در این بخش به دو صورتِ ایجاد آلودگی‌های دست‌ساز و یا آلودگی‌های طبیعی و طولانی مدت بوده است که نتایج این دو می‌تواند متفاوت از هم باشد. قابل ذکر است که نتایج حاصل از مطالعات در مورد افزایش کوتاه مدت آلودگی نفتی در خاک به سختی قابل مقایسه با نوع آلودگی‌های طولانی مدت و در محل[3] است. علاوه بر این، ترکیب و تنوع جوامع میکروبی خاک به نوع خاک نیز بستگی دارد (سوتون و همکاران، ۲۰۱۳). با توجه به اثرات منفی آلاینده‌های نفتی بر جوامع میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی آنها، در این پژوهش تأثیرات آلودگی نفتی طبیعی و درازمدت بر برخی شاخص‌های زیستی مورد توجه قرارگرفت. در این پژوهش، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز و فعالیت تنفسی میکروارگانیسم‌ها، به عنوان شاخصی مهم در ارزیابی کیفیت و سلامت خاک‌های آلوده به نفت در ۱۲۰ نمونه خاک جمع‌آوری‌شده از منطقه نفت‌خیز نفت شهر (غرب استان کرمانشاه)، بررسی شد. هدف از این پژوهش بررسی اثرات آلودگی نفتی بر فعالیت آنزیمی و تنفس میکروبی، وجود یا عدم وجود تفاوت بین مکان‌های نمونه‌برداری از نظر صفات مورد سنجش و تفاوت بین سطوح مختلف آلودگی نفتی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده‌سازی خاک

در این پژوهش نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به نفت از منطقه نفت‌خیز نفت‌شهر واقع در غرب استان کرمانشاه انجام شد (شکل ۱). باتوجه به اینکه در این منطقه منابع طبیعی نفتی، میدان‌های نفتی و به ویژه سفره‌های زیرزمینی نفت وجود دارند، آلودگی نفتی در خاک‌های سراسر منطقه فراگیر شده‌بود. چهار منطقه برای نمونه‌برداری گزینش و نمونه‌ها با توجه به نزدیکی و دوری از منبع آلودگی و سطوح غلظت آلاینده نفتی به صورت چشمی از بخش‌های سه گانه با سطح آلودگی شدید (H:High)، متوسط (M:Moderate) و کم (L: Low) گزینش شدند و تفکیک درست آنها پس از اندازه‌گیری غلظت آلاینده در آزمایشگاه انجام شد. قابل ذکر است که از نظر استاندارد، خاک‌های دارای آلودگی نفتی بیش از ۳ درصد، خاک‌های با آلودگی شدید محسوب می‌شوند. بنابراین طبق این استاندارد خاک های استفاده‌شده در این پژوهش خاک‌های با آلودگی شدید محسوب می‌شوند (وینسنت و همکاران، ۲۰۱۱) اما منطقه نمونه‌برداری به گونه‌ای بود که حتی خاک‌هایی که عاری از نفت به نظر می‌رسیدند نیز دارای درصدی از نفت بودند زیرا طی سالیان متمادی تحت تأثیر آلودگی نفتی قرارگرفته‌بودند. همچنین خاک دارای آلودگی صفر که بتوان به عنوان شاهد بدون آلودگی درنظر گرفت در آن وجود نداشت. نمونه‌خاک‌ها با درجات مختلف آلودگی برداشت شده‌اند و نام‌گذاری آنها براساس درصد نفت موجود در آنها به صورت Low (L)، Moderate (M) و High (H) بود. از هر منطقه ۳۰ نمونه خاک برداشت‌شد که از این ۳۰ نمونه، ۱۰ نمونه خاک با آلودگی کم (L) ، ۱۰ نمونه خاک با آلودگی متوسط (M) و ۱۰ نمونه خاک با آلودگی شدید (H) بود. در مجموع ۱۲۰ نمونه از لایه ۱۵-۰ سانتیمتری برداشته‌شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

[3] In-situ



شکل۱- موقعیت جغرافیایی مناطق چهارگانه نمونه‌برداری و محل جمع‌آوری خاک‌های H، M و L

شمارش جمعیت میکروبی

فراوانی جمعیت میکروبی قابل کشت، در محیط کشت‌های NA[۴] و CFMM[۵] شمارش شد. ترکیبات محیط کشت CFMM بر حسب گرم بر لیتر شامل (NH_4NO_3؛ ۳، Na_2HPO_4؛ ۲/۲، KH_2PO_4؛ ۰/۸، $MgSO_4.7H_2O$؛ ۰/۰۱، $FeCl_3.6H_2O$؛ ۰/۰۰۵، $CaCl_2.2H_2O$؛ ۰/۰۰۵ و pH=۷/۲) بود و در این محیط حداقل، به میزان یک درصد نفت خام افزوده شد. به دلیل آبگریز بودن و عدم اختلاط نفت با سایر اجزای محیط کشت جامد، پس از ریختن محیط کشت در پلیت و جامد شدن آن به میزان تقریبی ۲۰۰ میکرولیتر از نفت خام بر سطح پلیت گسترده شد. برای شمارش و خالص‌سازی باکتری‌های بومی تجزیه‌کننده نفت سری‌های رقت تهیه شدند (10^{-5} تا 10^{-8}) و از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر به محیط جامد CFMM انتقال داده‌شد و در دمای ۲۸ درجه سلیسوس گرمخانه‌گذاری شدند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۲). ۱۰ گرم از هر نمونه خاک به ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر قرار گرفتند. سپس سایر سری‌های رقت تهیه شدند و بدین ترتیب سوسپانسیون جهت شمارش جمعیت میکروبی آماده شدند. کلنی‌های رشد یافته بر روی محیط‌کشت NA معرف کل باکتری‌های خاک و باکتری‌های رشدیافته بر روی محیط‌کشت CFMM تنها معرف باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت بود (شکل ۲). قابل ذکر است که مطالعه متاژنوم به منظور بررسی ساختار جوامع باکتریایی در این پژوهش انجام شده است اما از پرداختن به نتایج آن خودداری شده است (مرادی، ۱۴۰۲).

[4] Nutrient Agar

[5] Carbon Free Minimal Medium

شکل۲- شمارش جمعیت میکروبی در دو محیط CFMM (راست) و NA (چپ)

اندازه‌گیری تنفس پایه

اندازه‌گیری تنفس پایه (BR) به روش تیتراسیون انجام‌شد. ۱۰ گرم خاک مرطوب به درون ظرف شیشه‌ای تیره افزوده شد. ۱۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسیدسدیم ۰/۵ نرمال در بالن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و سپس در درون ظرف شیشه‌ای قرار داده، درپوش ظرف شیشه‌ای را گذاشته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرمخانه-گذاری شد. پس از اتمام انکوباسیون بالن را برداشته و محلول هیدروکسیدسدیم درون ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتر ریخته‌شد و محتویات بالن دو مرتبه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده و به ارلن افزوده‌شد. سپس دو میلی‌لیتر محلول کلریدباریم ۰/۵ مولار اضافه‌شد. ۳-۴ قطره شناساگر فنل‌فتالئین به محلول افزوده و با اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال تیتر شد. برای تهیه شاهد، همان روش بدون خاک اجرا شد (شاینر و همکاران، ۲۰۱۲).

روش محاسبه:

$$BR= (B-S)\ N\times 22 \times 100 / (SW \times \%dm) \quad (۱)$$

B و S به ترتیب حجم اسید کلریدریک (HCl) مصرفی در شاهد و نمونه خاک (ml)

SW: وزن اولیه نمونه خاک (g)، dm: فاکتور تبدیل خاک خشک، BR: تنفس پایه ($mg\ CO_2.g^{-1}.h^{-1}$)

N: نرمالیته اسید، ۲۲: وزن اکی‌والانی دی‌اکسیدکربن (mg)

اندازه‌گیری تنفس برانگیخته

تنفس ناشی از بستر خاک‌ها SIR (تنفس برانگیخته) با توجه به میزان حداکثر تنفس اولیه ریزجانداران پس از غنی‌سازی خاک با منبع اضافی کربن و انرژی (گلوکز) با روش افزودن گلوکز و تیتراسیون ارزیابی شد. ۱۰ گرم خاک مرطوب با ۴۰ میلی‌گرم گلوکز (۰/۴ درصد) مخلوط شد و به مدت ۵ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و سپس بقیه مراحل همانند تنفس پایه انجام شد (شاینر و همکاران، ۲۰۱۲).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز

برای تعیین فعالیت آنزیم بتادی‌گلوکوزیداز در نمونه‌های مورد مطالعه، از سوبسترای ۴-نیتروفنیل‌بتادی‌گلوکوپیرانوزید استفاده شد. به این ترتیب که سوسپانسیونی شامل دو گرم از نمونه خاک، چهار میلی‌لیتر بافر MUB با pH=6 و ۰/۶ میلی‌لیتر سوبسترا (۲۵ میلی‌مولار) به مدت ۱/۵ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس یک میلی‌لیتر کلریدکلسیم ۰/۵ مولار و چهار میلی‌لیتر بافر تریس (pH=۱۲) به آن افزوده‌شد. سوسپانسیون را با استفاده از کاغذصافی واتمن صاف و غلظت پارانیتروفنل در عصاره

صاف‌شده در طول‌موج ۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و براساس تیمار شاهد، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز برحسب میلی‌گرم پارانیتروفنل آزادشده در هر گرم خاک در ساعت ($\mu gPNP.g^{-1}.\ h^{-1}$) محاسبه شد (طباطبایی، ۱۹۹۴).

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

برخی ویژگی‌های عمومی خاک همچون بافت، pH، EC و کربن آلی (OC) (راول، ۱۹۹۴) و کربنات-کلسیم (CCE) (مارتین و ریو، ۱۹۹۵) با استفاده از روش‌کارهای استاندارد با در نظر گرفتن دو تکرار اندازه‌گیری شدند. برای تعیین غلظت آلاینده‌های نفتی (%Oil) در نمونه‌های خاک برداشته شده از سه سطح آلودگی شدید (H)، متوسط (M) و کم (L)، از دستگاه سوکسله استفاده و تعیین غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل بر اساس روش UNEP/IOC/IAEA سازمان محیط زیست آمریکا انجام‌شد (کریستوفر و همکاران، ۱۹۸۸). در این روش برای تعیین غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه خاک را روی کاغذ صافی ریخته سپس کاغذ صافی از هر طرف به‌طور کامل بسته و وزن اولیه یادداشت شد (W_1) و سپس در دستگاه سوکسله قرارگرفت. برای استخراج مواد نفتی از ۴۰۰-۳۰۰ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان استفاده شد که تقریبا چهار ساعت به طول انجامید، سپس ۷۲ ساعت در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از تبخیر دی‌کلرومتان، وزن ثانویه (W_2) یادداشت شد و در نهایت با استفاده از رابطه $B= 100\ (W_1-W_2)/W_2$ درصد نفت در هر نمونه خاک محاسبه شد (B درصد نفت، W_1 وزن اولیه و W_2 وزن ثانویه).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی آشیانه‌ای[6] در سه تکرار انجام شد و داده‌ها از طریق نرم افزار آماری SPSS آنالیزشده و نمودارهای حاصله نیز از طریق نرم افزار Excel و SPSS ترسیم شدند. ابتدا استانداردسازی داده‌ها انجام و داده‌های پرت حذف شدند. پیش از انجام هر آنالیز آماری ابتدا نرمال بودن داده‌های به دست آمده با استفاده از شاخص کلموگروف-اسمیرنوف (K-S) بررسی شد و برخی از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده که دارای توزیع نرمال نبودند، با استفاده از روش تبدیل داده لگاریتمی نرمال شدند. به منظور بررسی تفاوت بین سطوح مختلف آلودگی (کم، متوسط و زیاد) و همچنین مناطق چهارگانه نمونه‌برداری از نظر تغییرات میزان ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، تحلیل واریانس چندمتغیره و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد. در پایان تحلیل همبستگی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

میانگین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اندازه-گیری‌شده در نمونه‌های خاک در (جداول ۱ و ۲) نشان داده شده است. غلظت نفت در نمونه‌های خاک از ۴/۰۳ درصد در خاک‌های L تا ۲۲/۵ درصد در خاک‌های H متغیر بود (جدول ۱). با توجه به درصدهای نفت اندازه‌گیری شده در نمونه‌های خاک، به منظور تقسیم‌بندی ۱۲۰ نمونه خاک در سه گروه ۴۰ تایی (۴۰ نمونه L، ۴۰ نمونه M و ۴۰ نمونه H)، گروه بندی نمونه‌های خاک به صورت زیر انجام‌شد: ۷/۱-۰درصد نفت، خاک های L، ۱۲/۹۴-۷/۱۲ درصد نفت، خاک‌های M و درصد نفت بیشتر از ۱۲/۹۴ درصد برای خاک‌های H درنظر گرفته‌شد. بیشترین میزان رطوبت (۱۴/۲۴ درصد) در خاک‌های منطقه ۴ و کمترین مقدار آن مربوط به خاک‌های منطقه ۱ (۶/۹۱ درصد) بود (جدول ۲). درصد Θ_m در خاک‌های H (۱۵/۷۹ درصد)، با اختلاف معنی‌دار بالاتر از خاک‌های L (۵/۵۷ درصد) و خاک‌های M (۱۱/۸۴ درصد) بود (جدول ۱). تجزیه و تحلیل پارامترهای فیزیکوشیمیایی نشان داد که میانگین pH

[6] Nested

خاک از ۷/۰۵ در خاک‌های L تا ۷/۳۶ در خاک های H متغیر بود (جدول ۱). بالاترین pH در منطقه ۳ (۷/۴۴) و پایین‌ترین آن در منطقه ۴ (۷/۰۷) اندازه‌گیری شد (جدول ۲). همانطور که نتایج نشان می‌دهد، EC در نمونه‌های خاک با آلودگی نفتی متفاوت از ۱/۷۱ $dS.m^{-1}$ (خاک H) تا ۷/۵۹ $dS.m^{-1}$ (خاک L) متغیر بود. حداکثر مقدار EC در منطقه ۳ و حداقل مقدار آن در منطقه ۲ مشاهده شد (جدول ۲). محتوای کربن آلی (OC) در نمونه‌های خاک از ۵/۰۵ تا ۲۰/۸۴ درصد بسیار متغیر بود (جدول ۱). همانطور که در (جدول ۲) مشاهده می‌شود، درصد OC به طور قابل توجهی بین چهار منطقه مورد بررسی از ۸/۸۳ درصد در منطقه ۴ تا ۱۵/۹۶ درصد در منطقه یک متفاوت بود.

خاک‌های L دارای بالاترین درصد CCE (۹/۵۶ درصد) و خاک‌های H دارای پایین‌ترین درصد (۸/۷۴ درصد) بودند (جدول۱). بیشترین میانگین درصد CCE در خاک‌های منطقه ۲ (۹/۹۱ درصد) و کمترین آن در خاک‌های منطقه ۱ (۸/۴۹ درصد) مشاهده شد. در ارزیابی بافت خاک‌های مورد بررسی، توزیع اندازه ذرات نشان داد که بین نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده در شیب آلودگی نفتی (L، M و H) از نظر درصد شن و سیلت تفاوت معناداری وجود ندارد و تنها درصد رس تفاوت معناداری نشان داد (جدول۱). درصد رس در خاک‌های L (۲۳/۶۷ درصد) به طور معنی-داری از خاک‌های H (۲۰/۷۹ درصد) بیشتر بود (جدول ۱).

جدول۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی به دست آمده از نمونه‌های خاک با سه سطح آلودگی شدید (High)، متوسط (Moderate) و کم (Low)

آلودگی نفتی	%Oil	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	CCE (%)	OC (%)	EC ($dS.m^{-1}$)	pH	Θ_m (%)
Low	۴/۰۳^{c}	۲۳/۶۷^{a}	۲۸/۶۷^{a}	۴۴/۹۶^{a}	۹/۵۶^{a}	۵/۰۵^{c}	۷/۵۹^{a}	۷/۰۵^{c}	۵/۵۷^{c}
Moderate	۹/۹۵^{b}	۲۴/۳۰^{a}	۳۰/۱۷^{a}	۴۴/۲۲^{a}	۹/۰۹^{b}	۱۲/۳۱^{b}	۳/۲۴^{b}	۷/۲۶^{b}	۱۱/۸۴^{b}
High	۲۲/۵۰^{a}	۲۰/۷۹^{b}	۲۸/۲۲^{a}	۴۹/۳۵^{a}	۸/۷۴^{b}	۲۰/۸۴^{a}	۱/۷۱^{c}	۷/۳۶^{a}	۱۵/۷۹^{a}

درصد نفت (Oil)، جمعیت میکروبی در محیط کشت NA (NA)، جمعیت میکروبی در محیط کشت CFMM (CFMM)، درصد شن (Sand)، درصد رس (Clay)، درصد سیلت (Silt)، درصد کربنات کلسیم معادل (CCE)، درصد کربن آلی (OC)، هدایت الکتریکی (EC)، درصد رطوبت (Θm)

جدول۲- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک در چهار منطقه نمونه‌برداری

مکان‌های نمونه-برداری	%Oil	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	CCE (%)	OC (%)	EC (dS.m-1)	pH	Θm (%)
Location 1	a۱۵/۹۵	b۱۷/۷۳	c۲۱/۴۴	a۵۹/۴۵	c۸/۴۹	a۱۵/۹۶	b۲/۹۴	b۷/۲۲	C۶/۹۱
Location 2	۱۲/۶۲b	۱۶/۳۲b	۳۰/۲۹b	۴۸/۶۹b	۹/۹۱a	۱۴/۶۳a	۲/۶۷b	۷/۲۰b	۱۰/۳۱b
Location 3	۱۲/۳۷b	۲۷/۴۳a	۲۷/۰۲bc	۴۳/۹۲b	۹/۴۴b	۱۲/۵۷b	۵/۴۳a	۷/۴۴a	۱۳/۰۱ab
Location 4	۸/۷۸c	۲۹/۶۸a	۳۷/۰۱a	۳۳/۳۱c	۸/۶۹c	۸/۸۳c	۵/۳۱a	۷/۰۷c	۱۴/۲۴a

شمارش جمعیت میکروبی

همانطور که اشاره شد در این پژوهش مطالعه متاژنوم نیز انجام گرفته اما در این نوشتار تنها به نتایج شمارش جمعیت باکتریایی اکتفا شده است (مرادی، ۱۴۰۲). نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که جمعیت میکروبی شمارش شده در دو محیط کشت NA و CFMM، متفاوت بودند و مشاهده شد که فراوانی میکروبی در محیط کشت NA بیشتر از محیط کشت CFMM بود (جدول ۳). از آنجا که محیط کشت NA یک محیط کشت عمومی برای رشد اکثر باکتری‌هاست، تعداد میکروب شمارش شده در آن بیشتر است اما محیط کشت CFMM محیط کشتی با حداقل عناصر غذایی است و تنها منبع کربن برای ریزجانداران خاک، کربن موجود در نفت افزوده شده در آن است و طبیعی است که شمار میکروبی کمتری در آن به دست آید زیرا باتوجه به تفاوت ذکرشده، تنها جوامع میکروبی با قابلیت تجزیه هیدروکربن‌های نفتی می‌توانند در آن رشد کنند. نتایج مطالعه ما نشان داد که جمعیت میکروبی در خاک‌های دارای آلودگی شدید بیشتر

بود. تعداد کلنی‌های شمارش‌شده در خاک‌های با آلودگی شدید (H) با اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۱) بالاتر از خاک‌های دارای غلظت متوسط (M) و غلظت پایین نفت (L) بود (جدول۳).

جدول ۳- جمعیت میکروبی شمارش شده ($CFU.g^{-1}$) در محیط کشت‌های NA و CFMM در چهار منطقه نمونه‌برداری و در سطوح مختلف آلودگی نفتی (Low، Moderate و High)

مکان‌های نمونه‌برداری	محیط کشت	غلظت آلاینده نفتی			
		Low	Medium	High	Mean
مکان ۱	NA	۵/۰۶×۱۰^۵ d	۱/۱۳×۱۰^۶ a	۱/۱۲×۱۰^۶ a	۹/۳۷×۱۰^۵ A
مکان ۲	NA	۳/۵۵×۱۰^۵ e	۸/۴۰×۱۰^۵ bc	۹/۴۶×۱۰^۵ ab	۷/۲۲×۱۰^۵ B
مکان ۳	NA	۲/۸۵×۱۰^۵ e	۷/۰۷×۱۰^۵ c	۸/۱۲×۱۰^۵ bc	۶/۲۵×۱۰^۵ C
مکان ۴	NA	۱/۶۰×۱۰^۵ f	۳/۶۷×۱۰^۵ e	۶/۹۸×۱۰^۵ c	۳/۳۱×۱۰^۵ D
میانگین	NA	۳/۲۸×۱۰^۵ C	۶/۴۸×۱۰^۵ B	۹/۵۴×۱۰^۵ A	
مکان ۱	CFMM	۶/۰۶×۱۰^۴ f	۲/۹۳×۱۰^۵ bc	۴/۵۴×۱۰^۵ bc	۲/۹۸×۱۰^۵ A
مکان ۲	CFMM	۱/۸۱×۱۰^۵ d	۶/۶۱×۱۰^۵ a	۲/۵۲×۱۰^۵ c	۳/۳۴×۱۰^۵ A
مکان ۳	CFMM	۵/۶۲×۱۰^۴ f	۱/۰۵×۱۰^۵ e	۱/۹۳×۱۰^۵ cd	۱/۲۶×۱۰^۵ B
مکان ۴	CFMM	۲/۹۷×۱۰^۴ g	۱/۴۲×۱۰^۵ de	۲/۹۷×۱۰^۵ bc	۱/۲۰×۱۰^۵ C
میانگین	CFMM	۸/۱۱×۱۰^۴ C	۲/۵۳×۱۰^۵ B	۳/۱۱×۱۰^۵ A	

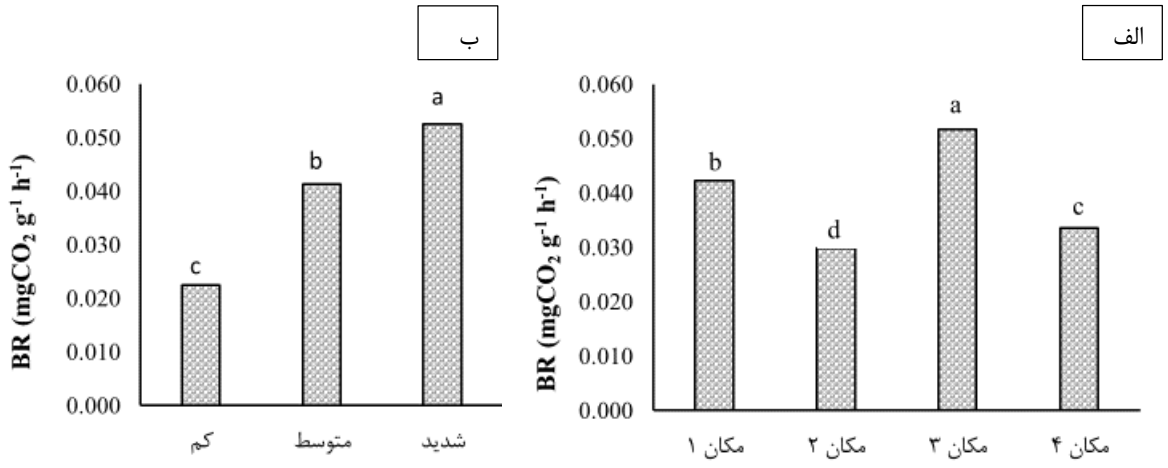
جمعیت کل ریزجانداران خاک در اثر تنش‌های غیرزیستی نظیر آلاینده‌های نفتی و فقر غذایی، کاهش می‌یابند اما باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت دچار تغییر نمی‌شوند. به عبارت دیگر آلودگی نفتی، موجب ایجاد شرایط انتخابی در خاک می‌شود به گونه‌ای که تنها ریزجانداران که قادر به استفاده از هیدروکربن‌های نفتی هستند از فراوانی بالاتری برخوردار باشند. در گزارشی (لیائو و همکاران، ۲۰۱۵) تأثیرات آلودگی نفتی را بر ساختار و فعالیت میکروبی و عملکرد متابولیسم کربن توسط ریزجانداران را مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که آلودگی نفتی طولانی‌مدت، به شدت الگوهای جامعه میکروبی خاک را تغییر داده و تغییرات میکروبی به لحاظ فراوانی، غنای باکتریایی، تنوع زیستی باکتریایی و عملکرد آنها به لحاظ آماری معنی‌دار بود. آنها دریافتند که بالا بودن فراوانی و تنوع میکروبی، رشد میکروارگانیسم‌های هتروتروف که قابلیت تخریب هیدروکربن‌ها و استفاده از منابع غنی نفتی را دارند افزایش داده‌است. در تحقیقی که بر روی متاژنوم خاک‌های متأثر از آلودگی نفتی (داس سنتوس و همکاران، ۲۰۱۱) انجام شد، مشاهده کردند که در خاک‌های آلوده به نفت، تعداد OTU[7]ها به طور قابل‌توجهی افزایش یافت. نتایج پژوهش آنها گویای این مطلب بود که برخی از گونه‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی در محیط آلوده به نفت، به دلیل انتخاب طبیعی غالب شده‌اند. محققان زیادی با بررسی تاثیرات آلاینده‌های نفتی بر جمعیت و فعالیت میکروبی نتایج مشابهی به دست آوردند (هوی و همکاران، ۲۰۰۷؛ مارگزین و همکاران،۲۰۰۷).

تنفس پایه

نتایج به‌دست آمده در اندازه‌گیری تنفس پایه نشان داد که، با افزایش شدت آلودگی، میزان تنفس افزایش یافت. میانگین CO_2 رها شده در اثر تنفس پایه در خاک‌های L، در خاک‌های M و در خاک‌های H به ترتیب ۰/۰۲۳، ۰/۰۴۱ و ۰/۰۵۳ $mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$ بود. تنفس پایه اندازه‌گیری شده در هرسه غلظت آلاینده نفتی اختلاف آماری معنی‌داری (P<۰/۰۱) نشان دادند (شکل ۳ ب). میانگین تنفس پایه اندازه‌گیری‌شده در چهار منطقه مورد بررسی

[7] Operational Taxonomic Unit

نشان داد که منطقه ۳ با ۰/۰۵۲ $mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$، بالاترین و منطقه ۲ با ۰/۰۳۰ $mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$، پایین‌ترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. چهار منطقه مختلف با هم اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۱) و در کلاس‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۳ الف).



شکل۳- تنفس پایه اندازه‌گیری‌شده در ۴ منطقه نمونه‌برداری (الف). تنفس پایه (BR) اندازه‌گیری شده در ۳ سطح آلودگی زیاد (High)، متوسط (Moderate) و کم (Low) (ب)

در پژوهش‌هایی که شاخص‌های زیستی خاک از جمله تنفس و جمعیت میکروبی را مورد بررسی قرار می‌دهند، غالباً انتظار می‌رود که سمیت آلاینده‌های نفتی روی جوامع میکروبی اثر گذاشته و شمار میکروبی و میزان تنفس میکروبی نیز کاهش یابد زیرا ریزجانداران خاک به هرگونه آشفتگی اکوسیستم بسیار حساس هستند و لذا گوناگونی و فعالیت آنها به سرعت توسط چنین آشفتگی‌هایی تغییر می‌کند. اکثر پژوهش‌های این چنینی خاک‌های آلوده‌ای را مورد ارزیابی قرار داده‌اند که به صورت مصنوعی، آلاینده به آنها افزوده شده‌است. نوروزپور و همکاران (۱۴۰۲) تغییرات تنفس میکروبی را در خاک آلوده به نفتای سنگین که به میزان ۷ درصد به صورت دستی به خاک افزوده بودند، مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که تنفس (BR و SIR) در خاک آلوده در ابتدای آزمایش بالا بود زیرا جوامع باکتریایی از هیدروکربن‌ها به عنوان منبع کربن استفاده کرده بودند اما با گذشت زمان تقریباً ۱۵ روز روند کاهشی بود زیرا هیدروکربن‌های در دسترس کاهش یافته و تنفس حتی از نمونه شاهد بدون آلودگی نیز کمتر شده بود. اما در پژوهش حاضر نمونه‌خاک‌های مورد بررسی سال‌های متمادی تحت تأثیر آلاینده نفتی بوده‌اند و به عبارتی می‌توان گفت سازگاری لازم بین جوامع میکروبی و آلاینده نفتی ایجاد شده‌است. نتایج آزمایش مربوطه در این پژوهش نشان داد که میزان CO_2 متصاعدشده ناشی از فعالیت تنفسی میکروارگانیسم‌ها، در حضور ماده نفتی بیشتر بود. همبستگی بالای بین تنفس پایه و میزان درصد نفت (۰/۷۶۶ =r و P<۰/۰۱) گواهی بر این ادعاست (جدول ۵).

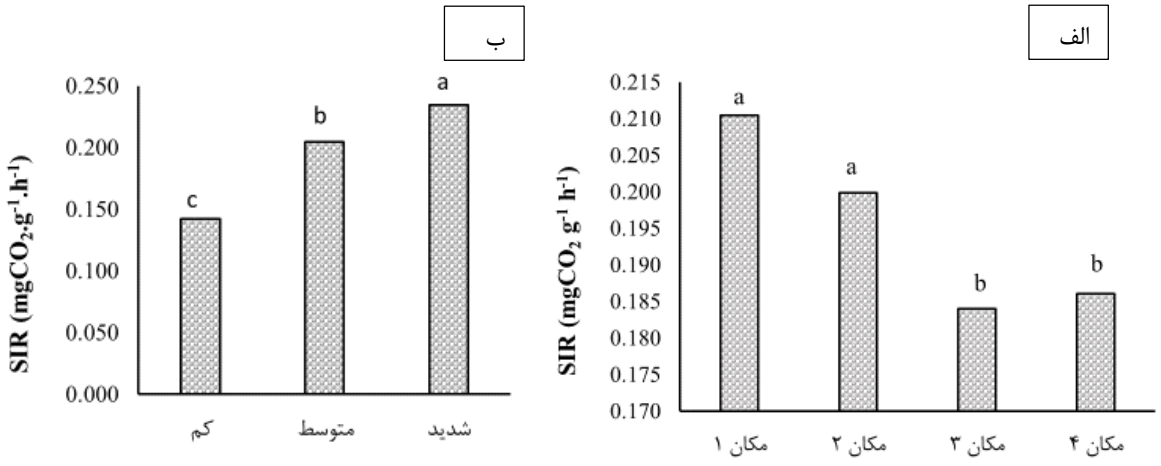
بدیهی است که جمعیت میکروبی بالا در این خاک‌ها، میزان تنفس بیشتری خواهد داشت. جمعیت بالای میکروبی در خاک‌های آلوده در این آزمایش (جدول ۳) بیانگر این موضوع است که میکروارگانیسم‌های خاک طی مدت طولانی، به حضور آلاینده سازگار شده و حتی از هیدروکربن‌های نفتی به عنوان منبع کربن برای رشد و تغذیه خود استفاده کرده‌اند. در تأیید صحت مطالب گفته‌شده، نتایج این پژوهش نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین تنفس پایه خاک و شمار جمعیت میکروبی رشدیافته در محیط کشت عمومی NA (۰/۶۸۴ =r و P<۰/۰۱) و محیط کشت حاوی ترکیبات نفتی (۰/۵۰۲ =r و P<۰/۰۱) وجود داشت (جدول ۵). خاک‌هایی که به مدت طولانی در معرض آلودگی با هیدروکربن‌های نفتی هستند با چالش شدیدی برای حفظ و نگهداری جامعه میکروبی و تنوع ساختاری و عملکردی این جوامع میکروبی مواجه هستند (پساک و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین لی و

همکاران (۲۰۰۸) عنوان داشتند که در خاک آلوده، تنفس پایه خاک به سرعت زیاد می‌شود چون بیشتر هیدروکربن‌های در دسترس، فعالیت میکروبی را تحریک می‌کنند.

طبیعتاً جوامع میکروبی مقاوم به آلودگی نفتی و تجزیه‌کننده‌های نفت می‌توانند با افزایش مقدار هیدروکربن‌ها در خاک، جمعیت و فعالیت خود را افزایش دهند. کرونیگ و گرین فیلد (۲۰۰۳) برای ارزیابی تأثیرات آلاینده‌های نفتی همچون نفت دیزل بر کیفیت خاک، فعالیت میکروبی را از طریق اندازه‌گیری تنفس میکروبی بررسی کردند. آنها مشاهده کردند که پس از ۱۶ هفته، به طور معنی‌داری جمعیت میکروبی خاک نسبت به سطوح اولیه که میزان آلودگی کمتر بود، افزایش یافت. نتایج آنها نشان داد که تا دو سال پس از آلودگی، نوسان قابل توجهی در جمعیت میکروبی مشاهده نشد اما با بررسی الگوهای تولید CO_2 به‌دست آمده از تنفس و فعالیت میکروبی خاک دریافتند که دوره‌های طولانی‌تر می‌تواند موجب سازگاری بیشتر جوامع میکروبی خاک با هیدروکربن‌های نفتی شود. آبد و الکیندی (۲۰۱۷)، تأثیر اختلال ناشی از آلودگی نفتی را بر گوناکونی و فعالیت جوامع میکروبی خاک بررسی کردند و نشان دادند که افزایش غلظت نفت منجر به افزایش CO_2 متصاعدشده از تنفس شد. نتایج به‌دست آمده از پژوهش آنها گویای این مطلب بود که افزودن نفت می‌تواند موجب تحریک فعالیت باکتری‌های هتروتروف باشد که انرژی و منبع کربن خود را از بیرون تأمین می‌کنند. باکتری-های هتروتروف در مقابل آلودگی نفتی مقاومت بالاتری نشان می‌دهند و در حضور نفت، نسبت به باکتری‌های اتوتروف رشد بهتری خواهند داشت. آنها در مقایسه بین سیانوباکترها به عنوان باکتری‌های اتوتروف و فیرمیکیوت‌ها (*باسیلوس*ها و *کلستریدیوم*ها) به عنوان باکتری‌های هتروتروف، مشاهده کردند که سطح CO_2 تولیدی ناشی از تنفس، با افزایش نفت افزایش یافت. *باسیلوس*ها توانایی تجزیه ترکیبات نفتی را در شرایط هوازی دارند و با تولید بیوسورفاکتانت می‌توانند نفت را به شکل امولسیون تبدیل کنند و امکان دسترسی و تخریب آن را افزایش دهند. لذا می‌توان نتیجه گرفت که افزایش جمعیت میکروبی در این پژوهش، که منجر به افزایش تنفس می‌شود، ممکن است ناشی از افزایش شمار باکتری‌های هتروتروف باشد که از منابع نفتی برای تأمین کربن، انرژی و زنده‌مانی خود استفاده می‌کنند.

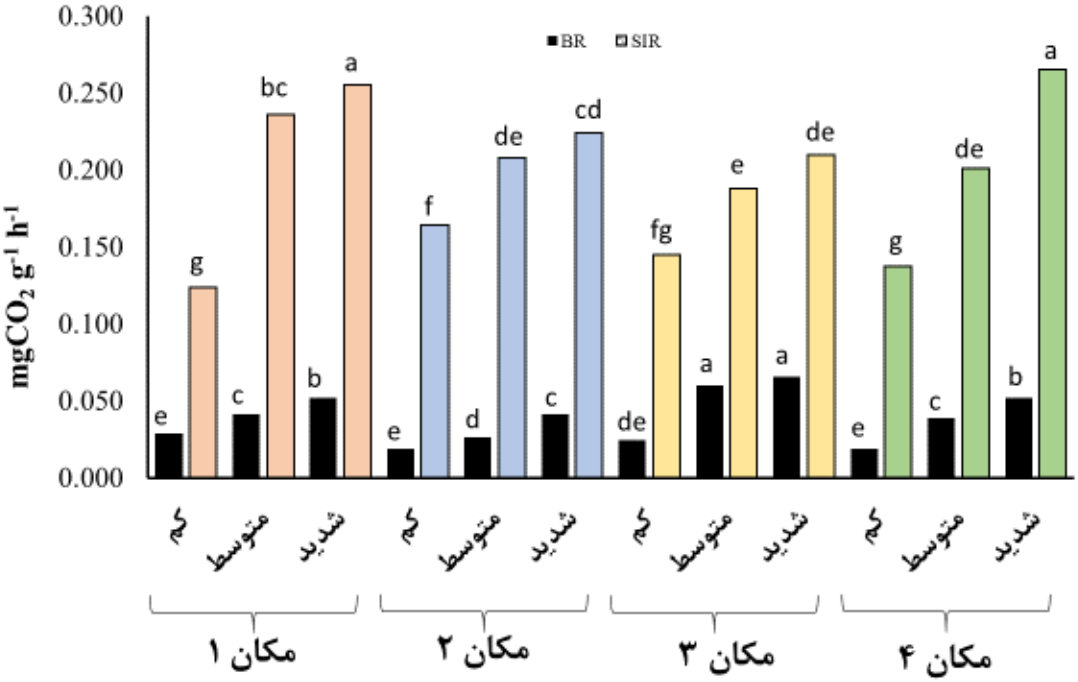
تنفس برانگیخته

اندازه‌گیری تنفس ناشی از سوبسترای گلوکز نیز همانند تنفس پایه، در خاک‌های H بالاتر بود (شکل ۴ ب). میزان CO_2 متصاعدشده در اثر افزودن گلوکز به نمونه‌های خاک، در خاک‌های با آلودگی زیاد (H)، متوسط (M) و کم (L) به ترتیب ۰/۲۳۴، ۰/۲۰۵ و ۰/۱۴۲ $mgCO_2.g^{-1}\ h^{-1}$ بود. میانگین تنفس برانگیخته اندازه‌گیری‌شده در هرسه غلظت آلاینده نفتی اختلاف آماری معنی داری ($P<0/01$) نشان‌دادند (شکل ۴ الف).



شکل۴- تنفس برانگیخته اندازه‌گیری شده در چهار منطقه نمونه‌برداری (الف)، تنفس برانگیخته اندازه‌گیری شده در سه سطح آلودگی زیاد (High)، متوسط (Moderate) و کم (Low) (ب)

در اندازه‌گیری تنفس برانگیخته در چهار منطقه مورد بررسی مشاهده شد که مناطق یک و دو در یک کلاس آماری قرار گرفتند و بیشترین مقدار مربوط به منطقه یک (۰/۲۱۰ $mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$) بود. منطقه سه با ۰/۱۸۴ $mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$، پایین‌ترین مقدار را به خود اختصاص داد اما به لحاظ آماری با منطقه چهار اختلاف قابل توجهی نداشت (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه تنفس پایه و تنفس برانگیخته اندازه‌گیری شده در چهار منطقه نمونه‌برداری

تنفس SIR یکی از ساده‌ترین روش‌های تخمین مقدار زیست‌توده میکروبی در خاک می‌باشد. بیشتر ریزجانداران در خاک خفته هستند، بنابراین تنفس آنها در خاک کم است. با این حال تنفس آنها می‌تواند با افزوده شدن سوبسترا به راحتی تحریک شود. گلوکز عموماً به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود؛ چون بیشتر ریزجانداران می‌توانند از آن به عنوان منبع کربن استفاده کنند (داوسان و همکاران ۲۰۰۷). در این پژوهش نیز میزان تنفس برانگیخته

با افزودن گلوکز و برانگیختن فعالیت میکروبی نسبت به تنفس پایه بالاتر بود (شکل ۵). هرچند در خاک منابع کربنی به صورت هیدروکربن‌ها وجود دارد اما جامعه میکروبی به مواد قندی افزوده شده (گلوکز) که منبع قابل استفاده و در دسترسی است واکنش نشان داده و فعالیت میکروبی فزونی یافته است.

نتایج پژوهش حاضر در این بخش نیز نشان داد که با افزایش میزان آلودگی در نمونه‌خاک‌ها، میزان CO_2 آزادشده در اثر تنفس تحریک شده با سوبسترای گلوکز بیشتر است. نتایج نشان داد که SIR اندازه‌گیری شده با جمعیت میکروبی شمارش شده در محیط کشت عمومی NA (r= ۰/۷۷۴ و P<۰/۰۱) و همچنین با جمعیت میکروبی شمارش‌شده در محیط کشت CFMM نیز همبستگی مثبت و معنادار (r= ۰/۸۴۵ و P<۰/۰۱) وجود دارد (جدول ۵). ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش خود که به تخمین تنفس میکروبی در کاربری¬های مختلف پرداختند به همبستگی مثبت بین SIR و جمعیت میکروبی (جمعیت باکتریایی شمارش شده) اشاره داشتند. اندرسون و دامش (۱۹۷۳) با بررسی نقش زیست توده قارچی و باکتریایی در تنفس کل خاک، مشاهده کردند که پس از افزودن گلوکز به نمونه های خاک، تنفس به مدت چند ساعت (۲ تا ۸ ساعت) به سطح بالاتری افزایش یافت. آنها گزارش کردند که آزادسازی CO_2 به دلیل تکثیر جمعیت خاک افزایش یافت.

اندازه‌گیری تنفس BR و SIR مستقل از هم هستند زیرا تنفس پایه منعکس‌کننده فعالیت میکروفلور خاک است که ترکیبات آلی خاک را تجزیه می‌کنند اما SIR تنفس خاص ناشی از تجزیه گلوکز را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده پتانسیل ریزجانداران خاک برای تخریب یک سوبسترای ساده است. SIR می‌تواند منجر به تخمین بیش از حد زیست‌توده میکروبی در یک خاک آلوده شود زیرا بخشی از میکروفلور خاک در فاز خواب[6] است و در صورت حضور سوبسترایی همچون گلوکز مجدداً فعال می‌شوند. تنفس SIR، وضعیت فیزیولوژیکی آشفته میکروفلور را به خوبی نشان می‌دهد و می‌تواند به عنوان یک شاخص حساس‌تر نسبت به BR در خاک‌های آلوده، به‌کاررفته قرارگیرد زیرا BR اتلاف قابل توجهی از زیست-توده در اثر آلودگی نفتی را نشان نمی‌دهد (برون و همکاران ۲۰۰۱). به طور کلی نتایج مطالعات آلودگی‌های نفتی کوتاه-مدت، قابل مقایسه با اثرات بلندمدت آلودگی نفتی روی ویژگی‌های خاک به ویژه فعالیت‌های میکروبی نیست. علاوه براین، ترکیب و گوناگونی جوامع میکروبی خاک بستگی به نوع خاک دارد و اطلاعات محدودی در خصوص شباهت نتایج اثرات کوتاه‌مدت و بلندمدت وجود دارد.

فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز

فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با سنجش میزان PNP تولیدی ناشی مصرف سوبسترای 4-Nitrophenyl β-D-glucopyranoside در هر ساعت در یک گرم خاک ارزیابی شد که بیشترین مقدار آن در منطقه یک (۲۱/۶۷ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) و کمترین مقدار آن در منطقه چهار (۷/۰۵ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) به‌دست آمد (جدول ۴). فعالیت این آنزیم با افزایش میزان نفت موجود در نمونه‌های خاک، افزایش یافت به گونه‌ای که بالاترین فعالیت ۲۴/۷۸ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$ در خاک‌های H و پایین‌ترین فعالیت آن ۶/۰۹ $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$ در خاک‌های L مشاهده‌شد (جدول ۴).

[6] Dormant State

جدول ۴- میانگین فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز در ۴ مکان نمونه‌برداری و سطوح مختلف آلودگی نفتی

مکان نمونه‌برداری	فعالیت بتاگلوکوزیداز ($\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$)
Location 1	۲۱/۶۷[a]
Location 2	۱۷/۵۰[b]
Location 3	۱۲/۰۴[c]
Location 4	۷/۰۵[d]
غلظت آلاینده نفتی	
Low	۶/۰۹[C]
Moderate	۱۲/۳۶[B]
High	۲۴/۷۸[A]

بتاگلوکوزیداز آنزیمی کلیدی در چرخه کربن است که مسئول آخرین مرحله تجزیه میکروبی سلولز به گلوکز می‌باشد. این آنزیم گروه‌های انتهایی غیراحیایی - βD سلوبیوز را هیدرولیز می‌کند و β گلوکز را آزاد می‌کند که منبع بسیار مهم انرژی برای میکروارگانیسم‌هاست. فعالیت این آنزیم به شدت به حضور ترکیبات کربنی وابسته است و می‌تواند تغییرات ایجادشده در وضعیت ترکیبات کربنی را منعکس کند (ریفالدی و همکاران، ۲۰۰۶). همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت بتاگلوکوزیدازی و درصد نفت (r= ۰/۷۹۴، P< ۰/۰۱) و درصد کربن آلی (r= ۰/۸۰۴، P< ۰/۰۱) وجود داشت که خود بیانگر این موضوع است که با افزایش میزان ترکیبات کربنی، فعالیت بتاگلوکوزیدازی نیز افزایش یافته است. در پژوهشی (ریفالدی و همکاران، ۲۰۰۶) به منظور ارزیابی کیفیت خاک‌های آلوده به نفت، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز را اندازه‌گیری نمودند و گزارش کردند که با گذشت زمان بیشتر از ۱۰۰ روز شاهد افزایش فعالیت این آنزیم بودند زیرا مواد مغذی برای میکروارگانیسم‌ها تامین شده‌بود. همبستگی مثبت و معنی دار فعالیت این آنزیم و کربن بیوماس میکروبی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (تورنر و همکاران، ۲۰۰۲) در مطالعه ما نیز بررسی ضرایب همبستگی حاکی از این رابطه مثبت و معنی‌دار بود (r= ۰/۶۸۰، P< ۰/۰۱). به نظر حضور ترکیبات نفتی به عنوان منبعی از کربن در تکثیر جامعه میکروبی خاک مورد استفاده قرار گرفته است و ضمن افزایش تعداد آن (جدول ۵) باعث افزایش تولید این آنزیم توسط میکروارگانیسمها شده است

.

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی اندازه‌گیری شده در نمونه‌های خاک

	غلظت نفت Oil	محیط NA NA	محیط CFMM CFMM	تنفس پایه BR	تنفس برانگیخته SIR	فعالیت BGA	شن %Sand	رس %Clay	سیلت %Silt	کربنات-کلسیم معادل CCE	pH	هدایت الکتریکی EC	کربن آلی OC	MBC
Oil	1													
NA	0.766	1												
CFMM	0.707**	0.829**	1											
BR	0.766**	0.684**	0.502**	1										
SIR	0.847**	0.774**	0.845**	0.667**	1									
BGA	0.794**	0.893**	0.764**	0.591**	0.735**	1								
Sand	0.041	0.223*	0.124	-0.072	0.104	0.197*	1							
Clay	-0.127	-0.370**	-0.441**	0.163	-0.230*	-0.347**	-0.644**	1						
Silt	0.009	-0.146	-0.027	0.013	-0.023	-0.091	-0.875**	0.370**	1					
CCE	-0.361**	-0.158	-0.093	-0.257**	-0.254**	-0.176	-0.004	-0.070	0.025	1				
pH	0.418**	0.478**	0.371**	0.615**	0.350**	0.463**	0.016	-0.032	-0.073	0.150	1			
EC	-0.769**	-0.728**	-0.664	-0.552**	-0.702**	-0.827**	-0.167	0.291**	0.097	0.160	-0.502**	1		
OC	0.853	0.750**	0.660	0.611**	0.731**	0.804**	0.153	-0.265**	-0.067	-0.299**	0.374**	-0.740**	1	
MBC	0.781**	0.742**	0.782**	0.642**	0.916**	0.680**	0.016	-0.116	0.056	-0.223*	0.311**	-0.663**	0.672**	1

درصد نفت (Oil)، تنفس پایه (BR)، تنفس برانگیخته (SIR)، جمعیت میکروبی در محیط کشت NA (NA)، جمعیت میکروبی در محیط کشت CFMM (CFMM)، فعالیت آنزیم اوره‌آز (UA)، درصد شن (Sand)، درصد رس (Clay)، درصد سیلت (Silt)، درصد کربنات کلسیم معادل (CCE)، درصد کربن آلی (OC).
** و * به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱ و ۵ درصد.

PCA

نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی با بهره‌گیری از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) مورد بررسی قرارگرفت. PCA یک روش تجزیه و تحلیل داده‌های آماری چند متغیره است که مجموعه‌ای از داده‌های خام را به تعدادی از مؤلفه‌های اصلی (PCA) کاهش می‌دهد و بیشتر واریانس را در داده‌های اصلی حفظ می‌کند تا الگوها یا خوشه‌های احتمالی بین تیمارها و متغیرها را شناسایی کند (کاکس و همکاران، ۲۰۰۳). در آنالیز PCA داده‌ها به مجموعه‌هایی جداگانه از امتیازات و بارگذاری‌ها برای تیمارها و متغیرها تجزیه می‌شوند و کل تنوع داده‌ها برای ارائه یک تصویر واضح و قابل تفسیر از ساختار داده‌ها توضیح داده می‌شوند. علاوه بر این، آنالیز PCA اطلاعات واضحی را به گونه گرافیکی ارائه می‌دهد. در این پژوهش برای بررسی میزان تأثیرگذاری شاخص‌های اندازه‌گیری-شده فیزیکوشیمیایی و زیستی، از تحلیل مؤلفه‌های اصلی با به کارگیری نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد که نتایج بدست آمده از آنها شامل بردارهای ویژه، میزان واریانس نسبی و تجمعی مؤلفه‌های اصلی شاخص‌های مورد بررسی به صورت نمودار و جدول در زیر گزارش شده‌است. براساس نتایج PCA تقریبا ۷۲ درصد از واریانس تراکمی توسط دو مؤلفه اول (C1 و C2) توجیه می‌شود (جدول ۶). در این پژوهش مقادیر ویژه بزرگ‌تر از ۱ درنظر گرفته-شد و دو مؤلفه اول دارای مقدار ویژه بالاتر از یک بودند. نتایج تحلیل مؤلفه‌های اصلی نشان داد که ۱۰ مؤلفه می-توانند واریانس کل نمونه‌های خاک مورد بررسی را توجیه کنند و همان‌طور که در(جدول ۶) مشاهده می‌شود، مؤلفه اول، ۵۳/۶۱۱ درصد از واریانس کل را توجیه‌کرد. درصد واریانس تراکمی دو مؤلفه اول ۷۲/۴۸۲ درصد بود و به همین ترتیب برای سایر مؤلفه‌ها نیز در همین جدول قابل مشاهده است.

در (جدول ۷) متغیرهای مؤثر بر هر مؤلفه و مقادیر بردارهای ویژه هر متغیر نشان داده شده‌است و مشاهده می‌شود که هر مؤلفه شامل تعدادی متغیر با ضرایب مختلف است و هر متغیری که دارای ضریب بالاتر از ۰/۵

باشد گزینش می‌شود (کاکس و همکاران، ۲۰۰۳). برخی از این متغیرها دارای ضریب منفی و برخی دارای ضریب مثبت هستند. علامت منفی به معنی رابطه معکوس بین این متغیر با سایر متغیرهای مؤلفه است و هرچه مقدار متغیری که ضریب منفی دارد افزایش یابد، تأثیرپذیری و اختلاف بین نمونه‌های خاک از مناطق مختلف نمونه‌برداری بر اثر آن متغیر کاهش می‌یابد. علامت مثبت نشان می‌دهد که با افزایش مقدار متغیری که ضریب مثبت دارد، تأثیرپذیری و اختلاف بین نمونه‌های خاک از مناطق مختلف نمونه‌برداری بر اثر آن متغیر بیشتر می‌شود. تأثیرپذیری زیاد یعنی اختلاف بیشتر بین مقادیر متغیرها در خاک‌های مختلف که بیانگر تفاوت بین مناطق مختلف نمونه‌برداری است (شکل ۶).

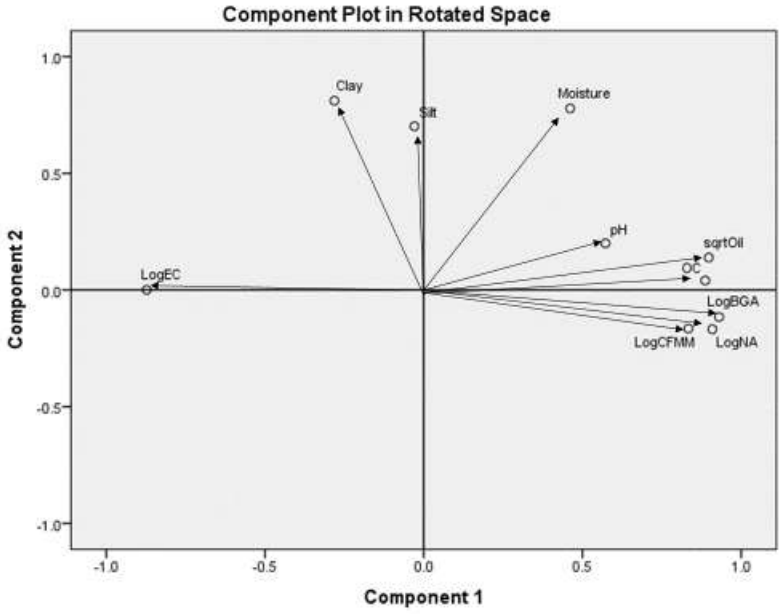
جدول ۶- تجزیه به مؤلفه اصلی برای نمونه‌خاک‌های ۴ مکان نمونه‌برداری

مؤلفه‌ها	مقادیر ویژه	درصد واریانس تراکمی	درصد واریانس
C1	۵/۳۶۱	۵۳/۶۱۱	۵۳/۶۱۱
C2	۱/۸۸۷	۷۲/۴۸۲	۱۸/۸۷۱
C3	۰/۸۵۳	۸۱/۰۱۱	۸/۵۲۹
C4	۰/۶۳۳	۸۷/۳۴۵	۶/۳۳۵
C5	۰/۳۵۶	۹۰/۹۰۶	۳/۵۶۱
C6	۰./۳۱۸	۹۴/۰۸۷	۳/۱۸۱
C7	۰/۲۴۱	۹۶/۴۹۴	۲/۴۰۷
C8	۰/۱۶۰	۹۸/۰۹۶	۱/۶۰۱
C9	۰/۱۲۰	۹۹/۲۹۶	۱/۲۰۱
C10	۰/۰۷۰	۱۰۰	۰/۷۰۴

جدول ۷- مقادیر بردارهای ویژه شاخص‌های مورد بررسی در تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA)

متغیرها	C1	C2
Oil	۰/۸۹۸	۰/۱۳۹
EC	-۰/۸۷۳	۰/۰۰۰
βGA	۰/۹۳۰	-۰/۱۱۶
NA	۰/۹۰۹	-۰/۱۶۸
CFMM	۰/۸۳۳	-۰/۱۶۵
Clay	-۰/۲۸۱	۰/۸۱۱
Silt	-۰/۰۲۹	۰/۷۰۲
Θm	۰/۴۶۱	۰/۷۷۹
pH	۰/۵۷۲	۰/۲۰۰
OC	۰/۸۸۷	۰/۰۴۱

باتوجه به بالا بودن مقادیر بردارهای ویژه شاخص‌های زیستی و شیمیایی، می‌توان مؤلفه اول را مؤلفه بیوشیمیایی و همچنین با مشاهده مقدار بردار ویژه رس و سیلت، می‌توان مؤلفه دوم را مؤلفه فیزیکی نامید. به عبارتی می‌توان گفت شاخص‌های بیوشیمیایی به ویژه فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز، درصد نفت، درصد کربن آلی و جمعیت میکروبی منبع اصلی تنوع در داده‌ها هستند (جدول ۷). برون و همکاران (۲۰۰۱) برای تعیین روابط بین ویژگی‌های بیوشیمیایی در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی، آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) را انجام دادند و نتایج آنها نشان داد که تنفس میکروبی به عنوان یکی از متغیرهای مهم و تأثیرگذار با بیشترین مقدار بردار ویژه بود. هرچه یک متغیر در نمودار بای پلات (Bi-plot)، فاصله بیشتری از مرکز داشته‌باشد، تأثیرگذاری بیشتری در تحلیل دارد (شکل ۶). آنالیز مؤلفه‌های اصلی در مطالعات بسیاری در خاک‌های آلوده به نفت انجام شد که در اغلب آنها درصد نفت به عنوان قوی‌ترین عامل تعیین‌کننده تنوع بین داده‌ها بود (نای و همکاران، ۲۰۰۹).



شکل ۶- پراکنش پارامترهای مورد بررسی بر اساس دو مؤلفه اول و دوم در تحلیل مؤلفه‌های اصلی

نتیجه‌گیری

اغلب پژوهش‌های انجام‌شده، در خاک‌های با آلودگی نفتی مصنوعی و کوتاه‌مدت و یا در مدت‌زمان‌های مشخصی انجام‌شده‌اند که نتایج آنها با آلودگی طبیعی و بلندمدت، قابل مقایسه نیست زیرا پارامترهای زیستی ارزیابی‌شده بسیار متفاوت است. در پژوهش حاضر، خاک منطقه نمونه‌برداری، مدت زمان زیادی تحت تأثیر آلاینده-های نفتی بوده و به کشف نفت در این مکان (سال ۱۲۸۰ هجری شمسی) برمی‌گردد. در صورتی که آلاینده‌های نفتی در خاک به طور طبیعی و بلندمدت حضور داشته‌باشند، با گذشت زمان میکروارگانیسم‌های خاک که توانایی تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را دارند، در محیط غالب شده و به عبارتی جوامع میکروبی خاک با شرایط آلودگی سازگار می‌شوند، بنابراین شاهد افزایش برخی فعالیت‌های میکروبی و همچنین فراوانی جمعیت میکروبی خواهیم‌بود. نتایج آزمایشات صورت گرفته در این پژوهش نیز حاکی از افزایش شمار میکروبی، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز اندازه‌گیری شده بود. به نظر حاکم شدن آلودگی نفتی طبیعی و طولانی مدت باعث انتخاب طبیعی گونه‌های میکروبی مقاوم به این شرایط شده است. نتایج آنالیزهای PCA نیز نشان داد که شاخص¬های بیوشیمیایی به ویژه فعالیت بتاگلوکوزیداز، درصد نفت و جمعیت میکروبی، از مؤثرترین عوامل در تفاوت بین نمونه¬ها بود.

فهرست منابع

۱. ابراهیمی، م.، ع. ر.، فلاح و م.ر.، ساریخانی. ۱۳۹۲. جداسازی و شناسایی برخی از باکتری‌های تجزیه‌کننده مواد نفتی از خاک‌های آلوده به مواد نفتی و بررسی توان رشد آن‌ها در حضور گازوئیل. دانش آب و خاک, ۲۳(۱): ۱۰۹-۱۲۱.

۲. مرادی، ش. ۱۴۰۲. مطالعه متاژنوم و شاخص‌های زیستی خاک‌های آلوده به نفت و مدل‌سازی برخی از پارامترهای زیستی (مطالعه موردی: نفت شهر). رساله دکتری رشته مدیریت حاصلخیزی و زیست‌فناوری خاک، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳. نوروزپور, م.م, م.ر.، ساریخانی.، و ن.، علی اصغر زاد. ۱۴۰۲. پایش تغییرات تنفسی خاک لوم‌شنی آلوده به نفتای سنگین در تیمارهای مختلف زیست‌پالایی. دانش آب و خاک، ۵۳-۷۲.

4. Abed, R.M., and S, Al-Kindi. 2017. Effect of disturbance by oil pollution on the diversity and activity of bacterial communities in biological soil crusts from the Sultanate of Oman. Applied Soil Ecology. 110: 88-96.
5. Anderson, J.P., and KH, Domsch. 1973. Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. Archives of Microbiology. 93: 113-127.
6. Brohon, B., C, Delolme,, and R, Gourdon. 2001. Complementarity of bioassays and microbial activity measurements for the evaluation of hydrocarbon-contaminated soils quality. Soil Biology and Biochemistry. 33(7-8): 883-891.
7. Christopher, S., P, Hein., J, Marsden., and A.S, Shurleff. 1988. Evaluation of methods 3540 (soxhlet) and 3550 (Sonication) for evaluation of appendix IX analyses from solid samples. S-CUBED, Report for EPA contract 68-03-33-75, work assignment No. 03, Document No (pp. 523-546). SSS.
8. Cox, J.F., JH, Blackstone and JG Schleier. 2003. Managing Operations: A Focuse on Excellence. North River Press, Great Barrington, MA.
9. Dawson, J.J.C., E.J., Godsiffe., I.P., Thompson., T.K., Ralebitso-Senior., K.S., Killham., and G.I., Paton. 2007. Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils. Soil Biology and Biochemistry. 39(1): 164-177.
10. Doran, J.W., and M.R., Zeiss. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. Appl Soil Ecol.15;3–11.
11. Dos Santos, H. F., J.C., Cury., F.L., Do Carmo., A.L., Dos Santos., J., Tiedje., J.D., van Elsas., ... and R.S., Peixoto. 2011. Mangrove bacterial diversity and the impact of oil contamination revealed by pyrosequencing: bacterial proxies for oil pollution. PloS one. 6(3): e16943.
12. Hui, L. I., Y., Zhang., I., Kravchenko., X.U., Hui., and C.G., Zhang. 2007. Dynamic changes in microbial activity and community structure during biodegradation of petroleum compounds: a laboratory experiment. Journal of Environmental Sciences. 19(8): 1003-1013.
13. Kroening, S.J., and L.G., Greenfield. 2002. Effects of diesel oil contamination on soil microorganisms.
14. Labud, V., C., Garcia., and T., Hernandez. 2007. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. Chemosphere. 66(10): 1863-1871.
15. Lee, S.H., B., Oh., and J.G., Kim. 2008. Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity. Bioresource technology. 99(7): 2578-2587.
16. Liang, Y., X., Zhang., J., Zhou., and G., Li. 2015. Long-term oil contamination increases deterministic assembly processes in soil microbes. Ecological Applications. 25(5): 1235-1243.
17. Liao, J., J., Wang., D., Jiang., M.C., Wang., and Y., Huang. 2015. Long-term oil contamination causes similar changes in microbial communities of two distinct soils. Applied microbiology and biotechnology. 99: 10299-10310.
18. Margesin, R., M., Hämmerle., and D., Tscherko. 2007. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. Microbial ecology. 53: 259-269.
19. Martin, A. E., and R., Reeve. 1955. A rapid manometeic method for determining soil carbonate. Soil Science. 79(3): 187-198.
20. Moreno, B., R., Nogales., C., Macci., G., Masciandaro., and E., Benitez. 2011. Microbial eco-physiological profiles to estimate the biological

restoration of a trichloroethylene-contaminated soil. Ecological Indicators. 11(6),: 1563-1571.

21. Nie, M., X.D., Zhang., J.Q., Wang., L.F., Jiang., J., Yang., Z.X., Quan., ... and B., Li. 2009. Rhizosphere effects on soil bacterial abundance and diversity in the Yellow River Deltaic ecosystem as influenced by petroleum contamination and soil salinization. Soil Biology and Biochemistry. 41(12): 2535-2542.
22. Pessacq, J., R., Medina., C., Terada., F.E., Bianchini., I.S., Morelli., M.T., Del Panno. 2015. Assessment of the responsiveness to different stresses of the microbial community from long-term hydrocarbon-contaminated soils. WAT. AIR AND SOIL POLL. 226(2): 1-13.
23. Riffaldi, R., R., Levi-Minzi., R., Cardelli., S., Palumbo., A., Saviozzi. 2006. Soil biological activities in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated soil. Water, air, and soil pollution. 170: 3-15.
24. Rowell, D.L. (1994). Soil Science: Methods and Applications. Longman, UK.
25. Schinner, F., R., Öhlinger., E., Kandeler., and R., Margesin. (Eds.). 2012. Methods in soil biology. Springer Science & Business Media.
26. Sutton, N.B., F., Maphosa., J.A., Morillo., W., Abu Al-Soud., A.A., Langenhoff., T., Grotenhuis., H.H., Rijnaarts., H., Smidt. 2013. Impact of long-term diesel contamination on soil microbial community structure. Appl Environ Microbiol. 79(2):619–630.
27. Turner, B. L., D.W., Hopkins., P.M., Haygarth., N., Ostle. 2002. β-Glucosidase activity in pasture soils. Applied Soil Ecology. 20(2): 157-162.
28. Vincent, A.O., E., Felix., M.O., Weltime., O.K., Ize-iyamu., E.E., Daniel. 2011. Microbial degradation and its kinetics on crude oil polluted soil. Research Journal of Chemical Sciences.

Effects of Long-term Oil Pollution on Soil Microbial Respiration and β-glucosidase Activity

Sh.Moradi, M.R.Sarikhani*, A.Beheshti Ale-Agha, A.Reyhanitabar, S.S.Alavi-kia and R.Sharifi

Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran:moradishokufeh@gmail.com
Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran: rsarikhani@yahoo.com
Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran: beheshtiali97@gmail.com
Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran: areyhanitabar@yahoo.com
Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran: ss.alavikia@tabrizu.ac.ir
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran: rsharifi@ut.ac.ir

Received: June 27, 2023 and Accepted: March 11, 2024

Abstract

Oil pollution is one of the most critical environmental contaminations that can affect soil's biological, physical, and chemical properties. To investigate the effects of long-term and natural oil pollution on soil microbial respiration, including basal respiration (BR) and substrate-induced respiration (SIR), and beta-glucosidase enzyme activity, 120 oil-contaminated soil samples were collected from 0-15 cm depth in the oil-rich region of Naft-Shahr in Kermanshah province with three pollution levels: high (H), moderate (M), and low (L). After measuring the physical and chemical properties of the soils, the total bacteria and oil-degrading bacteria were counted on NA and CFMM culture media, respectively. This finding showed a positive and significant correlation between microbial population and oil concentration. The average oil percentage measured by Soxhlet extraction was 4.03%, 9.95%, and 22.50% for L, M, and H levels, respectively. The results showed that with the increase in oil concentration in soil samples, BR and SIR increased, and the highest BR and SIR respiration rates were 0.053 and 0.234 ($mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$) in H soils, respectively. The measured beta-glucosidase activity was also higher in the presence of oil pollutants, with the highest activity (24.78 $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) in H soils and the lowest (6.09 $\mu gPNP.g^{-1}.h^{-1}$) in L soils. Finally, a Principal Component Analysis (PCA) was conducted, and the results showed that 72% of the variance among samples could be explained by the first two components (biochemical and physical components). Oil pollutants that are naturally present in the soil for an extended period lead to the adaptation of pollution-resistant microbial communities over time, increasing their abundance, microbial respiration, and the activity of enzymes such as beta-glucosidase.

Keywords: BR, β-glucosidase, Oil pollution, SIR.

* Corresponding author: rsarikhani@yahoo.com

The threat of Salmonella in soil and the necessity of its continuous tracking with novel diagnostic approaches

M. Abedinzadeh, N.Enayatizamir, E. Shokri* and Sh.Kian Amiri

PhD student, Department of Soil science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; motahhare.abedin@ut.ac.ir
Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; n.enayatzamir@scu.ac.ir
Assistant Professor, Department of Nanotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; e.shokri62@gmail.com, e.shokri@abrii.ac.ir
Assistant Professor, Department of Nanotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; Nano-biotechnology Department, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; kianamiry@yahoo.com

Received: August 20, 2023 and Accepted: February 28, 2024

Abstract

Salmonella is a common and persistent pathogen in soil environments, posing a significant threat to safe food production worldwide. Given the vital role of soil in agriculture, it is crucial to be cautious about the spread of Salmonella in soil and to employ effective methods for its detection and control. The increasing prevalence of Salmonella can be attributed to the rapid expansion of agriculture and industry, leading to the contamination of fertilizers and water sources with the bacterium. The survival of Salmonella in soil is influenced by various physical, chemical, and biological factors, leading to the continuous colonization of plant organs. Consequently, given the importance of healthy agricultural products, there is an increasing demand for new methods to investigate and identify bacteria in these foods. Several techniques exist for the identification of harmful bacteria in soil. However, using nanosensors as an advanced tool for bacterial detection is very promising, as it can effectively overcome the limitations of other methods. This review study examines the mechanisms of *Salmonella* contamination in soil and its interaction with plants, highlighting the importance of using biosensors for faster and more accurate detection of this bacterium in soil.

Keywords: *Salmonella* bacteria, agricultural healthy products, soil microbiome, nano-biosensors

* Corresponding author's email: e.shokri62@gmail.com

Effect of Plant Growth–Promoting Bacteria and Sulfur on growth and Micronutrient Concentration in Wheat Grain in saline-sodic Soils

M. Javadzadeh, K. Khavazi*, N. Ghanavati, A.R Jafarnejadi and V.A. Jahandideh Mahjenabadi

PhD student, Department of Soil Science, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University; E-mail:Maryam_javadzadeh@yahoo.com
Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization; E-mail:Iran;khavazik@yahoo.com
Assistant Professor, Department of Soil Science, Ahvaz Branch, Islamic Azad University; E-mail:ghanavati.navid2014@gmail.com
Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research and Education center of Khuzestan, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail:arjafarnejady@gmail.com
Researcher, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization; E-mail:vahid.jahandideh67@gmail.com

Received: October 12, 2021And Accepted: February 18, 2024

Abstract

Soil salinity and sodicity disrupt the balance of nutrients in the soil and create restrictions on plant growth. An experiment was conducted to evaluate the application of sulfur along with Thiobacillus bacteria and plant growth-promoting bacteria isolated from saline-sodic soils on the performance and concentration of micronutrients in wheat (Chamran cultivar) in saline-sodic soils in a factorial design within a completely randomized design, in three replications in greenhouse condition. The experimental factors included three types of saline-sodic soil (S1: SAR=13 and EC=8 dS m^-1), (S2: SAR=15 and EC=10 dS m^-1), and (S3: SAR=17 and EC=14 dS m^-1), four levels of plant growth-promoting bacteria (B0: control, *Pseudomonas alcaliphila*, *Rhizobium pusense*, and *Bacillus subtilis*) and two levels of sulfur along with *Thiobacillus thiooxidans* bacteria (T0: no application and T1: application of 31.4 grams per pot (10 tons per hectare) of powdered sulfur along with T. *thiooxidans bacteria*). Based on the sequencing of the 16S rRNA gene, the superior plant growth-promoting bacteria were identified as *Pseudomonas alcaliphila*, *Bacillus subtilis*, and *Rhizobium pusense*. The results showed that adding sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria and other plant growth-promoting bacteria at different levels of salinity and sodicity led to an increase in grain yield and concentration of micronutrients compared to the control. At the salinity and sodicity levels of S1 and S3, the highest grain yield was observed in plants inoculated with *R. pusense* bacteria (13.1% and 88.8%, respectively). The combination of plant growth-promoting bacteria and sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria did not have a significant effect on grain yield and concentration of micronutrients in saline-sodic soils. Overall, the individual application of *R. pusense* bacteria isolated from saline-sodic soils and sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria plays a significant role in improving the performance and concentration of micronutrients in wheat in saline-sodic soils.

Keywords: Bacterial isolation, Rhizosphere bacteria, Sodicity and salinity stress, Wheat, *Thiobacillus thiooxidan*

* Corresponding author's email: khavazik@yahoo.com

Solubilizing efficiency of inorganic phosphate and insoluble organic phosphorus by cyanobacteria isolated from fish Culture ponds

A.Fallah Nosratabad, M. Alishiri Junaghani*, and R. Bazazzadeh

Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Education and Promotion Research Organization, Karaj, Iran**rezafayah@yahoo.com**
Ph. D Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran **mostafaalishiri@ut.ac.ir**
Research expert, Soil and Water Research Institute, Agricultural Education and Promotion Research Organization, Karaj, Iran:**bazzazzadeh96@gmail.com**

Received: July 15, 2023 and Accepted: January 31, 2024

Abstract

Phosphorus plays a crucial role in aquatic ecosystems, serving as a vital nutrient that promotes the growth and enrichment of freshwater environments, particularly in warm-water fish ponds. It exists in various forms within aquatic systems, both soluble and insoluble. Cyanobacteria, a diverse group of oxygen-producing, photosynthetic prokaryotes, possess phosphatase activities that convert phosphorus into a soluble form. Thus, this study aimed to isolate, identify, and examine the phosphorus-dissolving capabilities of cyanobacteria found in fish culture ponds at a laboratory scale. The study evaluated the phosphorus dissolution efficiency of four cyanobacterial strains isolated from warm-water fish ponds: *Chroococcus sp*., *Oscillatoria sp*., *Microcystis sp*., and *Gloeocapsa sp*., using two phosphorus sources, tricalcium phosphate and calcium phytate, in both floating surface and biomass portions. The findings indicated that *Microcystis sp*. was particularly effective, dissolving 47.5 mg/liter of tricalcium phosphate and 67.3 mg/liter of calcium phytate in the floating portion. In the biomass, *Gloeocapsa sp*. demonstrated the highest efficiency in dissolving phosphorus from both tricalcium phosphate and calcium phytate, with concentrations of 35.5 mg/liter and 18.7 mg/liter, respectively. However, the study observed no significant difference in cyanobacterial growth under varying phosphorus concentrations and sources across the experimental groups. The research highlights that certain cyanobacteria isolated from fish culture ponds possess the capacity to dissolve phosphorus to a notable extent when provided with sufficient sources of insoluble phosphorus.

Key Words: *Calcium Phytate, Cyanobacteria, Phosphate solubilizer, Tricalcium Phosphate.*

* Corresponding author: mostafaalishiri@ut.ac.ir

Impact of plant growth-promoting bacteria on the growth of button mushroom hyphae and control of pathogenic factors under in vitro conditions

A.Asgharzadeh*, K.Saghafi, E.Fattahifar, M.Jenaghi and N.Alizadeh

Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). **a_asgharzadeh_2000@yahoo.com**
Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). **saghafi.varesh@gmail.com**
Greenhouse and Mushroom affairs; Deputy of Horticulture; Ministry of Agriculture-Jahad, Iran. **elfa57food@yahoo.com**
Sahar Mushroom Company, HashtGerd, Iran. **sahsar63mashrom@gmail.com**
Expert in Soil Biology and Biotechnology Research Department, Soil and Water Research Institute (Agricultural Education and Extension Research Organization), Karaj, Iran. **nena_twens@yahoo.com**

Received: February 1, 2024 and Accepted: January 31, 2024

Abstract

The current average yield of button mushrooms is 17 to 20 kilograms per square meter. Increasing this yield to 22 to 27 kilograms per square meter could significantly enhance the economic viability and global competitiveness of mushroom production. Achieving this improvement requires a comprehensive understanding of the microbial dynamics in compost production and the nuanced nutrition of mushrooms, utilizing biological, organic, and chemical enhancers. A recent study utilized nine leading strains of the Pseudomonas genus, six strains of *Bacillus subtilis*, and five strains of *Bacillus thuringiensis* to promote growth and biocontrol capabilities. While no significant differences were observed among the strains, all Pseudomonas strains were found to effectively stimulate button mushroom mycelium growth, with strain P8 exhibiting the most pronounced growth-enhancement properties. Additionally, *Bacillus subtilis* strains S1 and S6 significantly boosted mycelium growth, and *Bacillus thuringiensis* strains T2, T3, and T5 supported mycelium growth. However, some strains (S2, S5, T1, and T4) inhibited button mushroom growth in certain mediums (PDA/NA + Extract medium). The most notable biocontrol effects were by strain S3 against the *Trichoderm*a and strain S6 against the *Mycogone* fungus, each inhibiting growth with a maximum colony zone diameter of 20 millimeters, whereas strain T5 showed the least biocontrol effect. Given the beneficial and diverse effects exhibited by the species from the two genera studied, these findings suggest that employing a consortium of these bacteria as a biofertilizer could significantly enhance button mushroom production outcomes.

Keywords: Biofertilizer, Mushroom, Plant growth promoting bacteria (PGPR), Synergy

* Corresponding author's email**: a_asgharzadeh_2000@yahoo.com**

Evaluation of the role of biological properties in the soil quality of the Hanam sub-basin of Lorestan province

A. Esmaeilizad , R .Shokri *, N. Davatgar , and H. Kari Dolatabad

Soil Biology and Biotechnology Research Department, SWRI: **noblesse55@gmail.com**
Microbiology Department, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran. **rsh.bio42@gmail.com**
Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran: **n_davatgar@yahoo.com**
Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran: **hossein.kari@gmail.com**

Received: June 28, 2023, and Accepted: November 29, 2023

Abstract

The application of soil quality (SQ) in sustainable land management is evolving. However, despite their considerable importance, the inclusion of biological properties in soil quality assessments is limited due to the challenges and high costs associated with measuring these attributes. This study was carried out on the contribution of biological properties to soil quality. In this research, 22 physical, chemical, and biological properties of 90 surface soil samples (0-30 cm) were analyzed to determine the soil quality index (SQI) in the Honam region of Lorestan. Analyzed properties included pH, electrical conductivity (EC), organic carbon (OC), total neutralizing value, clay and silt content, microbial biomass carbon (MBC), basal microbial respiration (MR), the total fungal and bacterial populations, the populations of Azotobacter and Pseudomonas species, as well as the activities of urease, acid and alkaline phosphatase, the available potassium and phosphorus concentrations, the total nitrogen, and the content of manganese, iron, copper, and zinc. Principal component analysis (PCA) to select a minimum data set (MDS) revealed that eight principal components, each with eigenvalues greater than one, accounted for 89.83% of the total variance. Of the 22 soil properties 12 were selected for the MDS, with biological properties (5 properties) making a more significant contribution than the physical and chemical properties. The spatial distribution of the SQI underlines the significant influence of biological properties on soil quality. These results underline the importance of including biological properties in the assessment of soil quality.

Keywords: Biological properties; Irrigated and rainfed land; Soil quality

* Corresponding author's email**: rsh.bio42@gmail.com**

Contents

Subject **Page**

Evaluation of the role of biological properties in the soil quality of Hanam sub-basin of Lorestan province……..…….8
A.Esmaeilizad, R.Shokri , N.Davatgar and H.Kari Dolatabad

Impact of plant growth-promoting bacteria on the growth of button mushroom hyphae and control of pathogenic factors under in vitro conditions…….…….9
A.Asgharzadeh , K.Saghafi, E.Fattahifar, M.Jenaghi and N.Alizadeh

Solubilizing efficiency of inorganic phosphate and insoluble organic phosphorus by cyanobacteria isolated from fish Culture ponds……10
A.Fallah Nosratabad, M.Alishiri junaghani and R.Bazazzadeh

Promoting Bacteria and Sulfur on growth and Micronutrient -Effect of Plant Growth Concentration by Wheat in Saline-Sodic Soils
…….....…11
M. Javadzadeh, K. Khavazi, N. Ghanavati, A.R Jafarnejadi and V.A. Jahandideh Mahjenabadi

The Threat of Salmonella in Soil and the Need for its Continuous Detection with New Diagnostic Approaches……...……...…..12
M. Abedinzadeh, N.Enayatizamir, E. Shokri and Sh.Kian Amiri

Effects of Long-term Oil Pollution on Soil Microbial Respiration and β-glucosidase Activity.....13
Sh.Moradi, M.R.Sarikhani, A.Beheshti Ale-Agha, A.Reyhanitabar, S.S.Alavi-kia and R.Sharifi

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

Vol. 11, No 2
2024

Manager-in–Charge; K. Bazargan, PhD
Associate Professor, Soil and Water Research Institute
Editor-in–Chief: Alireza Fallah Nosratabad, PhD
Professor (Research), Soil and Water Research Institute

Editorial Board

Hadi Asadi Rahmani, PhD	Professor (Research), Soil and Water Research Institute
Hossein Ali Alikhani, phD	Professor, University of Tehran
Naser Aliasgharzad, PhD	Professor, University of Tabriz
Hossein Besharati, PhD	Professor, Soil and Water Research Institute
Alireza Fallah Nosratabad, PhD	Associate Professor, Soil and Water Research Institute
Ahmad Golchin, PhD	Professor, University of Zanjan
Amir Lakzian, PhD	Professor, Ferdowsi University of Mashhad
Habibollah Nadian Ghomshe, PhD	Professor, Ramin Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan
Farshid Norbakhsh, PhD	Professor, Isfahan University of Technology
Abdol Hossein. Ziaeian, PhD	Associate Professor of Agricultural and Natural Resources Research Center of Fars

English Editor: Amir Lakzian, PhD
Type and design: Kiana khamehchi

Address: P. O. Box: 31785-311, Karaj – IRAN
Tel / Fax: 026-36208796
SSSI Website: www.soiliran.org
Soil and Water Research Institute Website: www.swri.ir
Journal Website: www.sbj.areeo.ir
E-mail: jsb.soilbiology@yahoo.com

Semiannual

Journal of Soil Biology

ISSN: 2345-2536

Vol. 11, No. 2, 2024

Contents

Subject **Page**

Evaluation of the role of biological properties in the soil quality of Hanam sub-basin of Lorestan province……..……8
A.Esmaeilizad, R.Shokri , N.Davatgar and H.Kari Dolatabad

Impact of plant growth-promoting bacteria on the growth of button mushroom hyphae and control of pathogenic factors under in vitro conditions…….……9
A.Asgharzadeh , K.Saghafi, E.Fattahifar, M.Jenaghi and N.Alizadeh

Solubilizing efficiency of inorganic phosphate and insoluble organic phosphorus by cyanobacteria isolated from fish Culture ponds……10
A.Fallah Nosratabad, M.Alishiri junaghani and R.Bazazzadeh

Promoting Bacteria and Sulfur on growth and Micronutrient -Effect of Plant Growth Concentration by Wheat in Saline-Sodic Soils
…….....…11
M. Javadzadeh, K. Khavazi, N. Ghanavati, A.R Jafarnejadi and V.A. Jahandideh Mahjenabadi

The Threat of Salmonella in Soil and the Need for its Continuous Detection with New Diagnostic Approaches……...……...…..12
M. Abedinzadeh, N.Enayatizamir, E. Shokri and Sh.Kian Amiri

Effects of Long-term Oil Pollution on Soil Microbial Respiration and β-glucosidase Activity.....13
Sh.Moradi, M.R.Sarikhani, A.Beheshti Ale-Agha, A.Reyhanitabar, S.S.Alavi-kia and R.Sharifi

www.sbj.areeo.ir