دو فصلنامه

نشریه علمی

زیست شناسی خاک

شاپا: ۲۳۴۵-۲۵۳۶

جلد ۱۲ شماره۱ سال ۱۴۰۳

عنوان فهرست صفحه

ارزیابی سودومونادهای فلورسنت جداسازی شده از ریزوسفر مرزه رشینگری برای تولید سیدروفور پایووردین و بهبود رشد گیاه در شرایط مزرعه..... ۱۵

سمانه سماوات و مهدیه صالحی وژده نظری

پتانسیل‌ها و چالش‌های کودهای زیستی در کشاورزی پایدار ۵۹

علیرضا فلاح نصرت آباد و بهمن خوشرو

تاثیر برخی کودهای زیستی بر خصوصیات فیزیولوژیک برگ پرچم گندم و فعالیت‌های آنزیمی ریزوسفر در سطوح مختلف آبیاری..... ۸۲

سیدسجاد حسینی، فرهاد رجالی و پیمان کشاورز

ارزیابی صفات فیزیویولوژیک نهال‌های مایه‌زنی شده فندق با قارچ **Trichoderma harzianum Rifai** در شرایط عرصه..... ۹۷

یونس رستمی‌کیا ، محمد متینی‌زاده و احمد رحمانی

نقش باکتری‌های نفت‌خوار مؤثر در اصلاح خاک‌های آلوده نفتی (مطالعه موردی: جنس باسیلوس)..... ۱۳۲

کمیل زینالی، شابان شریعتی و احمدعلی پوربابائی

اثرات بنه (**Pistacia atlantica Desf**) بر برخی ویژگی های بیولوژیک خاک توده های جنگلی ایران-تورانی (مطالعه موردی: منطقه فرک تفرش)..... ۱۴۶

امیر مرادی‌نژاد، محمد متینی‌زاده و طاهره علی زاده

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

نشریه علمی
زیست‌شناسی خاک

جلد ۱۲ شماره (۱)
۱۴۰۳

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** **دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب**
سردبیر: **دکتر هادی اسدی رحمانی** **استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

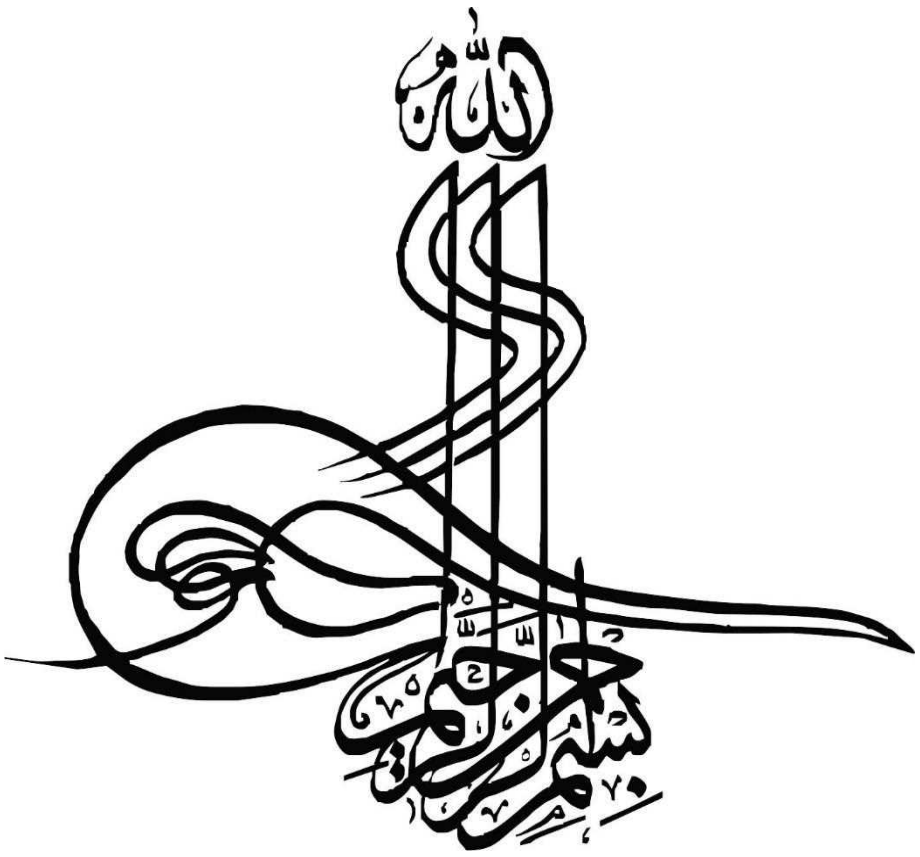
دکتر هادی اسدی‌رحمانی **استاد و رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر حسین بشارتی **استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**
دکتر عبدالحسین ضیائیان **دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس**
دکتر حسینعلی علیخانی **استاد دانشگاه تهران**
دکتر ناصرعلی اصغرزاد **استاد دانشگاه تبریز**
دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد **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**
ویراستار فنی: **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***


الله
بسم الله الرحمن الرحيم

عنوان فهرست صفحه

ارزیابی سودوموناده‌ای فلورسنت جداسازی شده از ریزوسفر مرزه رشینگری برای تولید سیدروفور پایووردین و بهبود رشد گیاه در شرایط مزرعه.....۱۵
سمانه سماوات و مهدیه صالحی وژده نظری

پتانسیل‌ها و چالش‌های کودهای زیستی در کشاورزی پایدار ۵۹
علیرضا فلاح نصرت آباد و بهمن خوشرو

تاثیر برخی کودهای زیستی بر خصوصیات فیزیولوژیک برگ پرچم گندم و فعالیت‌های آنزیمی ریزوسفر در سطوح مختلف آبیاری.....۸۲
سیدسجاد حسینی، فرهاد رجالی و پیمان کشاورز

ارزیابی صفات فیزیویولوژیک نهال‌های مایه‌زنی شده فندق با قارچ **Trichoderma harzianum Rifai** در شرایط عرصه.....۹۷
یونس رستمی‌کیا ، محمد متینی‌زاده و احمد رحمانی

نقش باکتری‌های نفت‌خوار مؤثر در اصلاح خاک‌های آلوده نفتی (مطالعه موردی: جنس باسیلوس)..... ۱۳۲
کمیل زینالی، شایان شریعتی و احمدعلی پوربابائی

اثرات بنه (**Pistacia atlantica Desf**) بر برخی ویژگی های بیولوژیک خاک توده های جنگلی ایران–تورانی (مطالعه موردی: منطقه فرک تفرش)..... .....۱۴۶
امیر مرادی‌نژاد، محمد متینی‌زاده و طاهره علی زاده

راهنمای تهیه مقاله نشریه علمی زیست شناسی خاک

مجله زیست‌شناسی خاک اولین نشریه تخصصی علوم خاک در ایران است که انواع مختلف مقالات از جمله مقالات پژوهشی، مروری، کوتاه، گزارش‌های علمی و یادداشت‌های فنی مرتبط با تمامی جنبه‌های زیست شناسی خاک را منتشر می کند. 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 کننده‌های 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 و شرایط پذیرش مقاله

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

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

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

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

۵- نویسنده(گان) محترم برای ارسال مقاله باید از طریق سایت نشریه (https://sbj.areeo.ac.ir/) اقدام نمایند.

۶- ذکر نام و نام خانوادگی نویسندگان، مرتبه علمی، آدرس پستی نویسنده مسئول، و آدرس پست الکترونیک کلیه نویسندگان باید در یک فایل به صورت کامل (در قسمت فایل‌های با نام) و همچنین یک نسخه از فایل مقاله بدون ذکر نام نویسندگان (در قسمت فایل‌های بدون نام) ارسال شود. علاوه بر این، تکمیل و ارسال نسخه اصلی تعهدنامه با امضای نویسنده یا نویسندگان در بخش فایل‌های پیش‌نیاز سایت الزامی است.

نحوهٔ نگارش مقاله

۱- حداکثر صفحات مقالات پژوهشی و مروری به ترتیب ۱۵ و ۳۰ صفحهٔ A4 با فاصلهٔ خطوط ۱، حاشیه‌های ۳ سانتی‌متر از هر طرف و ۱ سانتی‌متر تورفتگی در شروع پاراگراف‌ها و به صورت تک ستونی در نرم افزار Microsoft Word آماده و ارسال شود.

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

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

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

۵- اصول نگارش زبان فارسی به طور کامل رعایت شده و حتی الامکان از به کاربردن اصطلاحات انگلیسی پرهیز شده و

از معادل فارسی آنها که در فرهنگستان زبان فارسی تعریف شده‌اند استفاده گردد.

۶- برای ذکر جنس و گونه گیاه، جانور و یا ریزجانداران (میکروارگانیسم‌ها) از حالت *ایتالیک* استفاده شود.

۷- در صورت استفاده از واژه (های) مخفف باید در اولین استفاده، واژه مذکور تعریف و پس از آن واژه مخفف در مقاله استفاده گردد.

۸- استفاده از پاورقی برای ارائه اطلاعات تکمیلی در مقاله بلامانع است. در صورت استفاده از پاورقی، باید به ترتیب شماره گذاری انجام گیرد.

جدول ۱- نوع و اندازه قلم برای تهیه بخش های مختلف مقاله

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

ساختار مقاله

هر مقاله باید شامل برگ مشخصات، عنوان، چکیده فارسی (غیر مبسوط)، واژه‌های کلیدی فارسی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج، بحث، سپاسگزاری، منابع مورد استفاده، چکیده انگلیسی مبسوط 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 ۲۰ 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 فارسی مقاله بصورت ساده (غیر مبسوط) بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ کلمه، بیانگر مسئله، هدف، روش و نتایج بدست آمده و نتیجه گیری کلی از پژوهش باشد. 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 ۳ و حداکثر ۶ کلمه مرتبط با پژوهش انجام شده باشد. این واژه‌ها باید 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 موضـوع پژوهش و فرضـیه‌های موردنظر تعریف گردد. به مهم‌ترین تحقیقات صـورت گرفته قبلی در داخل و خارج از ایران اشـاره شـود و سـپس در پایان مقدمه، هدف و لزوم پژوهش موردنظر تشـریح و با تأکید بر وجه تمایز پژوهش با مطالعات قبلی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

این قسـمت شـامل مواد مورد اسـتفاده و شـرح روش بکار رفته مانند جامعه آماری، روش‌های نمونه‌گیری، اندازه گیری‌ها و نحوه تجزیه و تحلیل آماری می‌با شد. برای روش‌های متداول و شناخته شده نیازی به ذکر جزئیات وجود ندا شته 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 کمیَت 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 ترتیب در متن مقاله مورد اشاره قرار گیرد.

بحث

در این قسـمت با اسـتفاده از سـایر منابع، یافته‌های پژوهش علت‌یابی شـده 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 ۵۰ 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.
شیوهٔ 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، ۱۳۸۹).
..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، ۲۰۱۰).
..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، ۲۰۱۰؛ کریمی و احمدی، ۱۳۸۹).
برای منابعی که لزوما در داخل پرانتز ارائه نمی شود بدین صورت عمل شود.
بای بوردی و همکاران (۱۳۸۲) گزارش کردند...
اسمیت (۲۰۰۲) گزارش کرد ...
اسمیت و جونز (۲۰۰۲) گزارش کردند...
اسمیت و همکاران (۲۰۰۲) 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

۱- 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.

۲- 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.

۳- مطلب از کتاب

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

۴- 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.

۵- 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.

۶- 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 مبسوط

چکیده انگلیسی باید به شکل گسترده (Extended Abstract) و در ۷۰۰ الی ۱۰۰۰ کلمه ارائه شود و در پایان مقاله، پس از بخش منابع قرار گیرد. این چکیده باید شامل بخش‌های زیر باشد:

-**Title:** Times New Roman (Bold, Size 12, Center)

-**Abstract**

-**Background and objectives**: Times New Roman (font size: 11)

-**Materials and methods**: Times New Roman (font size: 11)

-**Results**: Times New Roman (font size: 11)

-**Conclusion:** Times New Roman (font size: 11)

-**Keywords:** Times New Roman (font size: 11)

.

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.

اسامی داوران	تعداد داوری
دکتر حسین بشارتی	۱
دکتر وحیداله جهاندیده مهجن آبادی	۶
دکتر داود جوادی مجدد	۲
دکتر هوشنگ خسروی	۱
دکتر بهمن خوشرو	۴
دکتر فرهاد رجالی	۱
دکتر محمدرضا ساریخانی	۲
دکتر شایان شریعتی	۶
دکتر ناصر علی‌اصغرزاد	۲
دکتر حبیب اله نادیان	۲
دکتر فرشید نوربخش	۲
دکتر الهام نوری	۱

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research Article

Evaluation of fluorescent pseudomonads isolated from *Satureja rechingeri* rhizosphere for the pyoverdine production and plant growth improvement under field conditions

S.Samavat*and M.Salehi Vozhdehnazari

Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran; E-mail: samaneh.samavat@gmail.com

Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran; E-mail: mahdiyehsalehi1@gmail.com

Article Info

Received:
January 17, 2024
Accepted:
September 16, 2024

***Keywords*:**
Pyoverdine,
Rhizobacterium,
Medicinalplant,
Pseudomonas fluorescens,
Satureja rechingeri

***Corresponding author's email:*samaneh.samavat@gmail.com**

DOI:
10.22092/SBJ.2024.364697.261

Extended Abstract

Background and objectives:

In recent years, the growth-promoting effects of native and compatible isolates of *Pseudomonas* particularly the fluorescent pseudomonads, have gained attention for their potential to enhance medicinal plant cultivation. These bacteria, belonging to the genus *Pseudomonas*, produce a siderophore known as pyoverdine under iron-deficient conditions. Besides iron acquisition, *Pseudomonas fluorescens* enhances plant growth by fixing atmospheric nitrogen, synthesizing plant hormones, solubilizing phosphate, and suppressing pathogens. Among the native medicinal plants of Iran, *Satureja rechingeri* Jamzad. (Reshingari savory) is critically endangered and valuable for its medicinal properties. This species has applications in traditional medicine for its antioxidant, digestive, anti-inflammatory, sedative, and disinfectant qualities and is also used as tea and spice. The domestication and cultivation of this plant through eco-friendly means are essential for its conservation. This study aimed to identify native *Pseudomonas fluorescens* isolates with high pyoverdine production and to investigate their effects on the growth of *Satureja rechingeri* under field conditions.

Materials and methods

In this study, sampling was performed randomly from a depth of 25 cm from the roots and rhizospheric soil of *Satureja rechingeri* in its natural habitats in Mehran County, Ilam Province, Iran (n=3). The isolates of fluorescent pseudomonads were screened based on their production of a fluorescent green pigment on King's B medium. Out of 22 isolates, PF4, PF11, and PF19 showed the highest production of fluorescent green pigments around their colonies and were identified as the superior isolates. These isolates were characterized using various biochemical tests, including oxidase, arginine dihydrolase, KOH string test, oxidative-fermentative test, hypersensitive response (HR), levan production, nitrate reduction, catalase, pectinase, lecithinase, gelatinase, starch hydrolysis, and carbohydrate metabolism (involving glucose, fructose, galactose, sucrose, trehalose, xylose, arabinose, sorbitol, adonitol, meso-inositol, ethanol, and glycerol). The pyoverdine production of the superior isolates was measured using succinate medium and optical spectrometry at 400 nm in a completely randomized experiment with three replicates. Reshingari savory seeds were also collected from their natural habitats in Mehran County. After two months

of growth in seedling trays under greenhouse conditions, the 16-leaf seedlings were transferred to the research farm of the Research Institute of Forests and Rangelands, located in Tehran Province. Each two-year-old plant was treated with a suspension of the superior isolate (10^7 CFU/ml) added to the soil, based on a randomized complete block design (n=3, P≤0.05). Seven months after treatment, which coincided with the full flowering stage in the third year of planting, various vegetative traits such as plant height, canopy diameter, total number of branches per plant, number of flowering branches, shoot fresh and dry weights, root fresh and dry weights, root length, and root diameter were measured. For each treatment, three replicates were randomly selected from three blocks. The plots measured 2 x 2 meters, with a distance of two meters between them and a 3-meter distance between blocks.

Results

According to the results, isolates PF4, PF11, and PF19 were classified into biovars II, III, and V of *Pseudomonas fluorescens*, respectively. The highest concentration of the siderophore pyoverdine (0.42 mg/L) was produced by isolate PF11, which was statistically significant (P<0.05). In terms of plant growth parameters, the PF11 treatment resulted in the highest values for plant height (56.4 cm), canopy diameter (61.6 cm), total number of branches per plant (14.7), number of flowering branches (6.33), shoot fresh weight (161.67 g), shoot dry weight (114.3 g), root fresh weight (11.21 g), and root dry weight (7.22 g). Meanwhile, the PF4 treatment yielded the longest root length (14.53 cm) and largest root diameter (0.45 cm).

Conclusion

According to the findings of this study, treating Reshingari plants with the growth-promoting rhizobacterium PF11, a member of the fluorescent pseudomonads capable of producing the microbial siderophore pyoverdine, significantly enhanced plant growth parameters under field conditions. The results also demonstrated that bacterial isolates within the *Pseudomonas fluorescens* species exhibit significant variability in their effectiveness at promoting plant growth. Therefore, it is recommended to use the native and compatible isolate PF11 as a biofertilizer alternative to chemical fertilizers for the cultivation of Reshingari savory.

Cite this article: Samavat, S., Salehi Vozhdehnazari, M., 2024. Evaluation of fluorescent pseudomonads isolated from Satureja rechingeri rhizosphere for the pyoverdine production and plant growth improvement under field conditions. *Soil Biology Journal*, 12 (1), 1-17

DOI: 10.22092/SBJ.2024.364697.261

Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصل‌نامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

ارزیابی سودوموناده‌ای فلورسنت جداسازی شده از ریزوسفر مرزه رشینگری برای تولید سیدروفور پایووردین و بهبود رشد گیاه در شرایط مزرعه

سمانه سماوات* و مهدیه صالحی وژده نظری

استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛
samaneh.samavat@gmail.com

دکتری، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛
mahdiyehsalehi1@gmail.com

دریافت:۱۴۰۲/۱۰/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۶

چکیده

در سال‌های اخیر، کارآمدی جدایه‌های بومی از سودوموناده‌ای فلورسنت در بهبود رشد انواعی از گیاهان دارویی مورد توجه قرار گرفته‌است. در پژوهش حاضر، از ریشه و خاک ریزوسفر مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri*) مستقر در رویشگاه‌های استان ایلام نمونه‌برداری شد. غربالگری سودوموناده‌ای فلورسنت، بر اساس تولید رنگدانه سبز فلورسنت در محیط King's B انجام شد. از بین ۲۲ جدایه، جدایه‌های PF4، PF11 و PF19 با بیشترین تولید رنگدانه سبز فلورسنت، به عنوان جدایه‌های برتر شناخته شدند و به کمک آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. مقدار تولید سیدروفور پایووردین توسط جدایه‌های برتر به کمک محیط سوکسینات و روش طیف سنجی نوری ارزیابی شد. بذور مرزه رشینگری از رویشگاه‌های استان ایلام جمع‌آوری شدند. دو ماه پس از کاشت بذور در گلخانه، گیاهچه‌های ۱۶ برگی به مزرعه، منتقل شدند. هر یک از بوته‌های دو ساله مرزه با سوسپانسیونی (10^7 CFU/ml) از جدایه برتر، به روش افزودن به خاک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی تیمار شدند ($n=3$, $P\leq0.05$). هفت ماه پس از اعمال تیمارها که مصادف با مرحله گل‌دهی کامل در سال سوم کاشت بود، صفات رویشی متعددی اندازه‌گیری شد. بر طبق نتایج، جدایه‌های PF4، PF11 و PF19 به ترتیب متعلق به بیووارهای II، III و V از *Pseudomonas fluorescens*، بودند. بیشترین غلظت پایووردین (۰/۴۲ mg/l) به طور معنی‌داری توسط PF11 تولید شد ($P<0.05$). بیشترین میزان ارتفاع بوته (۵۶/۴ cm)، قطر تاج پوشش (۶۱/۶cm)، تعداد کل شاخه در بوته (۷/۱۴)، تعداد شاخه‌های گل‌دهنده (۶/۳۳)، وزن تر (۱۶۱/۶۷ g) و خشک (۱۱۴/۳ g) اندام‌های هوایی، وزن تر (۱۱/۲۱ g) و خشک (۷/۲۲ g) ریشه در تیمار با PF11 و بیشترین طول (۱۴/۵۳cm) و قطر ریشه (۰/۴۵ cm) در تیمار با PF4 مشاهده شد. به این ترتیب، به‌کارگیری ریزوباکتری بومی و کارآمد PF11 از سودوموناده‌ای فلورسنت، به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی در کشت مرزه رشینگری توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: پایووردین، ریزوباکتری، گیاه دارویی، *Pseudomonas fluorescens*، *Satureja rechingeri*

مقدمه

آهن سومین عنصر غذایی محدود کننده رشد و متابولیسم گیاهان محسوب می‌شود، زیرا عمدتاً در طبیعت به اشکال نامحلول و غیرقابل دسترس برای گیاهان، موجود است. آهن در فعالیت آنزیم‌ها، متابولیسم اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها، تکامل کلروپلاست، فتوسنتز، تنفس سلولی، احیای نیترات و سوخت و ساز اسیدهای آلی در گیاهان نقش مهمی دارد (روت و ساهو، ۲۰۱۵؛ ویجای و همکاران، ۲۰۲۳). کمبود آهن در بسیاری از گیاهان به صورت یک بیماری فیزیولوژیک تظاهر می‌یابد و منجر به کاهش کمیت و کیفیت محصولات گیاهی می‌شود. علایم اصلی کمبود آهن در گیاهان به صورت زردی فواصل بین رگبرگ‌ها و سبز ماندن رگبرگ‌ها، کوتولگی و کاهش رشد ریشه‌ها است (روت و ساهو، ۲۰۱۵؛ والترز و بینگهام، ۲۰۰۷).

از راهکارهای رقابتی گیاهان و میکروارگانیسم‌های هوازی جهت افزایش دسترسی به آهن قابل جذب در شرایط کمبود آهن، تولید انواعی از سیدروفورهاست. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی پائین (۲۰۰۰Da -۲۰۰) هستند که پیوندهای شیمیایی با میل ترکیبی بالا و اختصاصی با Fe^{+3} دارند. به عبارت دیگر این ترکیبات نوع خاصی از حامل‌های یونی محسوب می‌شوند که وظیفه افزایش تحرک Fe^{+3} را بر عهده دارند (هیدر و کنگ، ۲۰۱۰؛ ویجای و همکاران، ۲۰۲۳).

باکتری‌های جنس *Pseudomonas* (زیررده گاماپروتئوباکترها[۱])، گرم منفی، میله‌ای، فاقد توانایی تولید اسپور و متحرک هستند که از تنوع اکولوژیکی بالایی برخوردارند (پالرونی، ۱۹۹۳). سودوموناده‌ای فلورسنت نیز در واقع گروهی از این باکتری‌ها هستند که در شرایط کمبود آهن، تولید سیدروفوری موسوم به پایووردین می‌کنند که به رنگ سبز فلورسنت است (بوسیس و همکاران، ۲۰۰۰). این گروه شامل گونه‌هایی چون *P. fluorescens*، *P. chlororaphis*، *P. putida*، *P. aeruginosa*، *P. syringae* و غیره هستند. بر طبق یافته‌های نصیرزاده و همکاران (۱۴۰۲)، کاربرد سویه‌هایی از جنس *Pseudomonas* منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن اندام‌هوایی ذرت نسبت به شاهد شد ولی تفاوت معنی‌داری بین سویه‌ها از این نظر مشاهده نشد. توانایی برخی از اعضای این گروه از باکتری‌ها در تحریک رشد گیاهان به عنوان ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR[۲]) به اثبات رسیده است (بوسیس و همکاران، ۲۰۰۰). این عوامل PGPR می‌توانند مستقیماً از طریق تأمین عناصر غذایی چون نیتروژن و فسفر، و یا از طریق ترشح سیدروفورها، هورمون‌ها و ویتامین‌های گیاهی منجر به بهبود رشد گیاهان شوند (سماوات، ۱۳۸۸). داداش پور و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که جدایه‌های سودوموناس فلورسنت به‌دست آمده از نمونه‌های ورمی کمپوست از توانایی تحریک‌کنندگی رشد گیاهان برخوردار بودند و قادر به تولید فیتوهورمون اکسین، سیدروفور، و حل‌کنندگی فسفات نامحلول در شرایط آزمایشگاه بودند. ثقفی و همکاران (۱۳۹۸) نیز گزارش کردند که جدایه‌های متعلق به سودوموناس فلورسنت که از ریزوسفر درختان زیتون جداسازی شده بودند، از انواع مکانیسم‌های تحریک‌کنندگی رشد گیاه که شامل تولید سیدروفور، اکسین، سیانیدهیدروژن، و حل‌کنندگی فسفات برخوردار بودند.

اهمیت کاربرد کودهای زیستی به عنوان روش جایگزین کودهای شیمیایی، در رابطه با توسعه کشت گیاهان دارویی که در ارتباط مستقیم با سلامتی انسان هستند، محرز است. در واقع در این قبیل کودهای زیستی از عوامل PGPR به منظور حفظ کیفیت مطلوب خاک و افزایش راندمان جذب عناصر غذایی توسط گیاه بهره برده

۱- Gammaproteobacteria

۲- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

می‌شود. از جمله گیاهان دارویی باارزش می‌توان به گیاه مرزه (*Satureja* L.) اشاره کرد که متعلق به خانواده نعنا (Lamiaceae) و دارای تعداد زیادی گونه و زیرگونه است. در ایران، برای این جنس ۱۵ گونه معرفی شده که از میان آنها ۱۰ گونه بومی و انحصاری است (جمزاد، ۲۰۱۰؛ شهنازی و همکاران، ۲۰۰۸). از بین گونه‌های بومی، گونه‌ی مرزه رشینگری (*S. rechingeri* Jamzad.)، به عنوان گیاه دارویی چند ساله و معطر در مناطق خشک، آفتابی و خاک های سنگلاخی و آهکی استان ایلام رویش دارد (افضلی یار و همکاران، ۲۰۱۹). اسانس حاصل از این گونه، غنی از ترکیبات فنلی کارواکرول[۳] و عصاره‌های آن‌ها شامل اسیدهای فنلی آزاد بویژه رزمارینیک اسید[۴] است که باعث گردیده تا از فعالیت زیستی قابل ملاحظه‌ای برخوردار گردند (هادیان و همکاران، ۲۰۱۲). این گونه در طب سنتی به عنوان آنتی‌اکسیدان، تسهیل‌دهنده عمل هضم، ضد التهاب، مدر، مسکن و ضدعفونی کننده و نیز به عنوان دمنوش و ادویه مورد استفاده دارد (امیری و قاسمی رمضان آباد، ۲۰۱۸). همچنین براساس سه معیار گستره پراکنش، سطح اشغال و تعداد افراد بالغ (بر اساس بازدیدهای صحرایی) و با توجه به تعاریف[۵] IUCN، گونه مرزه رشینگری در گروه در بحران انقراض[۶] طبقه‌بندی شده‌است (محبی و همکاران، ۱۳۹۵).

بنابراین با توجه به اهمیت اهلی سازی و توسعه کشت گیاه دارویی بومی و ارزشمند مرزه رشینگری و تلاش در جهت بهبود استقرار و رشد آن از طریق اعمال روش‌های سازگار با محیط‌زیست، پژوهش حاضر با هدف غربالگری کارآمدترین جدایه‌های بومی و سازگار از سودوموناد‌های فلورسنت به لحاظ تولید سیدروفور پایووردین، و بررسی اثرات تحریک‌کنندگی آن‌ها بر فاکتورهای رویشی مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کاشت

بذور مرزه رشینگری از رویشگاه‌های منطقه مهران واقع در استان ایلام (۳۳ درجه و ۷ دقیقه و ۱۵ ثانیه عرض شمالی و ۴۶ درجه و ۹ دقیقه و ۵۱ ثانیه طول شرقی) جمع‌آوری شد و پس از شناسایی علمی براساس صفات ریخت‌شناختی (دارای برگ‌های نقره‌ای مایل به خاکستری و گلهایی زرد کمرنگ است)، در اوایل اسفند سال ۱۳۹۹ در سینی نشاء (حاوی ٪۸۰ پیت‌ماس و ٪۲۰ پرلیت) در گلخانه پژوهشی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور کاشته شد. نشاءها به‌صورت یک روز در میان آبیاری شدند. پس از رسیدن نشاءها به ارتفاع حدود ۱۰ سانتی‌متر، در اواخر فروردین که مصادف با مرحله ۱۶ برگی بود، به مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور واقع در استان تهران منتقل شدند. مختصات جغرافیایی محل کشت شامل عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۹ دقیقه شرقی، در ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا، با شیب اصلی ٪۲/۶ (شمال به جنوب) و شیب فرعی ٪۱/۹ (غرب به شرق) است. در سیستم طبقه‌بندی آمبرژه از آب و هوای خشک و سرد با میانگین درجه حرارت سالانه ۱۷/۲°C برخوردار است. حداکثر دمای سالانه ۴۳°C در تیرماه و حداقل آن ۱۵°C- در دی‌ماه با متوسط بارندگی سالانه ۲۳۰/۵ میلی‌متر است.

آزمایش مزرعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار به ازای هر تیمار انجام

۳- Carvacrol

۴- Rosmarinic acid

5 International Union for Conservation of Nature

۵- Critically endangered

شد. تیمارهای مورد بررسی شامل سه جدایه ریزوباکتری برتر از سودوموناده‌ای فلورسنت و تیمار شاهد (عدم اعمال هر نوع تیماری) بود. هر بلوک شامل سه کرت و هر کرت با ابعاد ۲×۲ متر، شامل سه ردیف کاشت بود. فاصله بلوک‌ها از هم سه متر و فاصله کرت‌ها از هم نیم متر در نظر گرفته شد. فواصل ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر، و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر بود. پس از اعمال تیمارها، انتخاب سه تکرار به ازای هر تیمار، به‌طور تصادفی و از بین سه بلوک هر تیمار، انجام شد. آبیاری به‌صورت قطره‌ای انجام شد که در ابتدای رشد گیاهچه‌ها، دو نوبت در هفته و پس از استقرار گیاه، به یک نوبت در هفته در روزهای خنک و یک روز در میان در روزهای گرم رسید. کنترل علف‌های هرز هم به روش دستی انجام شد. همچنین، برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفته است که اطلاعات حاصل در قسمت نتایج آورده شده است.

جداسازی و خالص‌سازی سودوموناده‌ای فلورسنت

تعداد ۲۲ جدایه متعلق به سودوموناده‌ای فلورسنت از سه نمونه خاک ریزوسفری و ریشه که به طور تصادفی و از عمق ۲۵ سانتی‌متری خاک بوته‌های مختلف مرزه رشینگری مستقر در رویشگاه‌های منطقه مهران واقع در استان ایلام (۳۳ درجه و ۷ دقیقه و ۱۵ ثانیه عرض شمالی و ۴۶ درجه و ۹ دقیقه و ۵۱ ثانیه طول شرقی) جمع‌آوری شده بودند، غربالگری و خالص‌سازی شدند. برای این منظور، از روش پورپلیت و کشت باکتری‌ها بر روی محیط کشت افتراقی King's B استفاده شد. به منظور ممانعت از رشد قارچ‌ها، آنتی‌بیوتیک سیکلوهگزمید به نسبت ۵۰۰mg/L به محیط‌کشت اضافه شد. پس از کشت، باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲±۲۷°C در انکوباتور قرار داده شدند. سپس اقدام به جداسازی پرگنه‌هایی شد که در برابر لامپ UV بیشترین خاصیت فلورسنس را نشان دادند (رسولی صادقیانی و همکاران، ۲۰۰۶).

اندازه‌گیری میزان تولید سیدروفور به روش کمی

مقدار ۱۰۰µL از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌های باکتریایی برتر در محیط‌کشت مایع سوکسینات (K_2HPO_4: ۶g، KH_2PO_4: ۳ g، $MgSO_4.7H_2O$: ۰/ ۲ g، NH_4SO_4: ۱ g، سوکسینیک اسید: ۴ g، آب مقطر: ۱۰۰۰ml، pH= ۷) به ارلن‌های ۱۰۰mL حاوی ۴۰ mL محیط کشت تازه سوکسینات منتقل شد. این محیط‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲±۲۷°C و ۱۲۰ rpm روی شیکر نگهداری شدند. سلول‌های باکتری با سانتریفوژ کردن در ۱۰۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شدند. بعد از حذف رسوب باکتری‌ها میزان جذب مایع رویی در طول موج ۴۰۰nm نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (کاستاندا و همکاران، ۲۰۰۵). در این بررسی از یک جدایه غیرفلورسنت از باکتری *Pseudomonas* sp. که قادر به تولید سیدروفور پایووردین نبود، به عنوان شاهد استفاده شد. نتایج حاصل از میزان جذب نوری مایع رویی عصاره باکتری‌ها در طول موج ۴۰۰nm با استفاده از فرمول زیر بر حسب میلی‌گرم پایووردین خالص در لیتر محاسبه شد (شریفی، ۱۳۸۶).

$Y= ۲/۹۲ X+ ۰/۲۳۷$

Y: میزان جذب نوری قرائت شده در طول موج ۴۰۰nm

X: غلظت پایووردین بر حسب میلی‌گرم در لیتر

شناسایی سودوموناده‌ای فلورسنت

شناسایی سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19)، به کمک روش‌های بیوشیمیایی و مطابق با روش‌های استاندارد انجام گرفت. برای این منظور آزمون حساسیت به KOH 3% مطابق روش ساسلو و همکاران (۱۹۸۲)، آزمون هوازی یا بی‌هوازی بودن (O/F) طبق روش هوق و لیفسون (۱۹۵۳)، آزمون اکسیداز به روش کوواکس

(۱۹۵۶)، آزمون فوق حساسیت در توتون بر اساس کلمنت و همکاران (۱۹۶۴)، تولید لوان در محیط کشت دارای سوکروز ۵٪ و احیای نیترات به روش للیوت و همکاران (۱۹۸۴)، هیدرولیز آرژنین مطابق تورنلی (۱۹۶۰)، آزمون‌های گرم، کاتالاز، تحمل نمک طعام ۵٪، تولید آنزیم‌های پکتیناز، لهاندن سیب زمینی، رشد در دمای ۴ و ۴۱°C و تولید رنگ فلورسنت در محیط کشت King's B مطابق روش شاد و همکاران (۲۰۰۱)، هیدرولیز نشاسته گراهام و هوگکیس (۱۹۶۷)، آزمون‌های لستیناز و ذوب ژلاتین به روش مک فادین (۱۹۸۰) انجام شد.

در بررسی جدایه‌ها به لحاظ تولید قند از کربوهیدرات‌های گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، سوکروز، ترهالوز، زایلوز، آرابینوز، سوربیتول، آدونیتول، مزو-اینوزیتول، اتانول و گلیسرول و استفاده آن‌ها از اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی شامل نیکوتینات، سیترات، مالات، تریپتوفان و آرژنین از محیط پایه Ayer (آیر و همکاران، ۱۹۱۹)، استفاده شد. تمامی قندها، اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی پس از تندال شدن[۷] با غلظت نهایی ۰/۲ درصد به محیط پایه Ayer که حاوی ۱/۲٪ آگارز بود اضافه شدند.

تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی برتر

از کشت ۴۸ ساعته هریک از سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) از گونه *P. fluorescens*، در محیط کشت King's B، به کمک آب مقطر استریل، سوسپانسیونی با جمعیت 10^7cfu/ml بر اساس روش طیف‌سنجی نوری تهیه شد. در اواسط اردیبهشت، ۲۵ ml از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های باکتریایی به روش افزودن به خاک به هر یک از بوته‌های دو ساله مرزه رشینگری کاشته شده در هر یک از سه بلوک (به ازای هر تیمار) در شرایط مزرعه، افزوده شد. به تیمار شاهد در شرایط مشابه فقط آب مقطر داده شد (بشان، ۱۹۹۸).

اندازه‌گیری فاکتورهای رویشی

پس از گذشت هفت ماه از زمان اعمال تیمارها که مصادف با مرحله گل‌دهی کامل در سال سوم کاشت بود، صفات رویشی متعددی از جمله ارتفاع بوته، قطر تاج پوشش، تعداد کل شاخه در بوته، تعداد شاخه‌های گل‌دهنده، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه بوته‌های تیمار شده در قیاس با شاهد اندازه‌گیری و ارزیابی شد. اندازه‌گیری صفات با استفاده ازخط‌کش و ترازوی الکتریکی صورت گرفت (بشان و د-بشان، ۲۰۰۵).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از مطالعات مورفولوژیکی بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. آزمایش‌های صورت گرفته در شرایط آزمایشگاهی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (IBM SPSS Statistics V 26) انجام شد.

نتایج

آنالیز خاک مزرعه

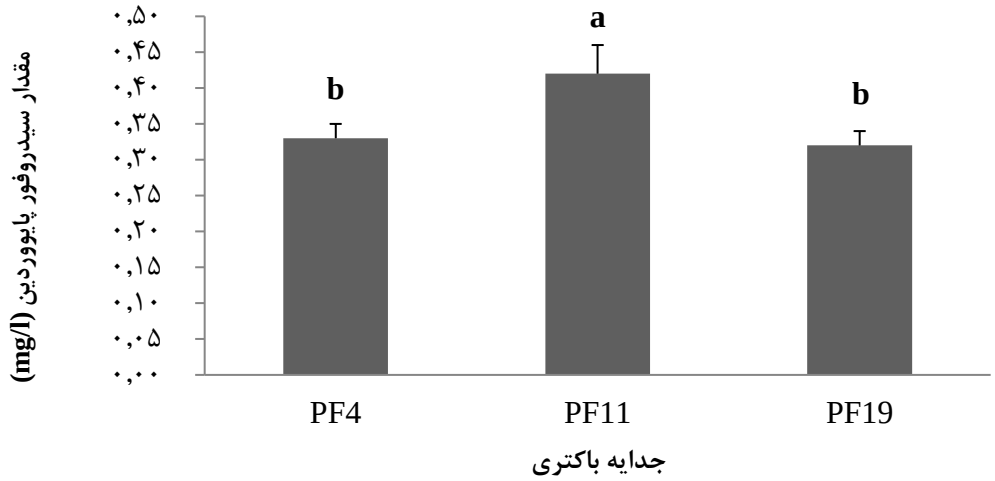
بر اساس آنالیز انجام گرفته، خاک منطقه دارای بافت لومی شنی و اسیدیته ۷/۸ بود. دیگر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه محل اجرای پروژه شامل:

[۷]- Tyndallization

ازت کل: ۰/۰۶٪، کربن آلی: ۰/۴۹٪، پتاسیم قابل جذب: ۱۷/۴۳ ppm، فسفر قابل جذب: ۴/۳ ppm، شوری: ۱/۲۹ dS/m، رطوبت اشباع: ۲۵/۶۱٪، آهک: ۵/۵٪، گچ: ناچیز، آهن: ۷/۷ mg/Kg، کربنات محلول: ۴/۸ mEq/L، بی کربنات محلول: ۱۲ mEq/L، منیزیوم: ۴/۴۸ mEq/L، کلسیم: ۲/۱۶ mEq/L، و سدیم: ۴۸/۶۴ mEq/L بود.

اندازه‌گیری میزان تولید سیدروفور به روش کمی

بر اساس آزمون غربالگری اولیه به کمک محیط کشت افتراقی King's B، از میان ۲۲ جدایه باکتریایی به دست آمده، سه جدایه باکتریایی (PF4, PF11, PF19) به لحاظ کیفی از بیشترین توانایی در تولید رنگدانه سبز فلورسنت برخوردار بودند. بر این اساس، کارایی این سه جدایه به عنوان جدایه‌های باکتریایی برتر در سایر آزمون‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمون کمی بررسی میزان تولید سیدروفور پایووردین توسط جدایه‌های باکتریایی برتر در محیط کشت سوکسینات مشخص شد که جدایه PF11 از بیشترین قابلیت (۰/۴۲ mg/l) از این نظر برخوردار بود و در سطح اطمینان ۹۵٪ با دو جدایه PF19 و PF4 اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد (شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس مربوطه در جدول (۱) آورده شده است.



شکل ۱- میزان سیدروفور پایووردین تولید شده توسط جدایه‌های باکتریایی مورد مطالعه در محیط کشت مایع سوکسینات تحت شرایط آزمایشگاهی. آزمون در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)

جدول ۱- تجزیه واریانس میزان تولید سیدروفور پایووردین توسط جدایه‌های باکتریایی متعلق به *P. fluorescens* تحت شرایط آزمایشگاهی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	معنی‌داری
بین تیمارها (میزان تولید سیدروفور)	۲	۰/۰۰۹*	۰/۰۱۲
خطا (درون تیمارها)	۶	۰/۰۰۱	
مجموع	۸		
ضریب تغییرات (%CV)	۱۵/۲۳		

* معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪

شناسایی سودوموناده‌ای فلورسنت

شناسایی سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) با تکیه بر روش‌های بیوشیمیایی انجام گرفت (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده جدایه PF4 متعلق به *P. fluorescens* bv. II، جدایه PF11 متعلق به *P.*

fluorescens bv. III و جدایه PF19 متعلق به *P.* *fluorescens* bv. V تشخیص داده شدند

جدول ۲- ویژگی‌های فنوتیپی جدایه‌های باکتریایی برتر جداسازی شده از ریزوسفر مرزه رشینگری

آزمون	PF19	PF11	PF4
O/F	O	O	O
KOH 3%	+	+	+
کاتالاز	+	+	+
گرم	+	+	+
NaCl 5%	+	+	+
هیدرولیز نشاسته	−	−	−
رنگدانه فلورسنت	+	+	+
رنگدانه غیرفلورسنت	−	−	−
آرژنین دهیدرولاز	+	+	+
اکسیداز	+	+	+
احیای نیترات	−	+	+
لستیناز	+	+	−
لهیدگی سیب زمینی	−	−	−
فوق حساسیت (HR)	−	−	−
لوان	−	−	+
رشد در ۴۲°C	−	−	−
رشد در ۴°C	+	+	+
ذوب ژلاتین	+	+	+
استفاده از ال-آرابینوز	+	+	+
استفاده از دی-زایلوز	+	+	+
استفاده از ال- تارتاریک اسید	+	+	−
استفاده از دی- آلانین	+	+	+
استفاده از سوربیتول	+	+	+
استفاده از ترهالوز	−	+	+
استفاده از دی- گالاکتوز	+	+	+
استفاده از سوکروز	+	+	+
استفاده از مزو اینوزیتول	+	+	+
استفاده از آدونیتول	−	+	−
استفاده از اتانول	+	+	+
استفاده از ژرانیول	−	−	−
استفاده از بوتیرات	+	+	+
استفاده از والرات	+	+	+
استفاده از نیکوتینات	+	−	−
استفاده از فنیل استات	−	−	−
استفاده از بوتیل آمین	+	+	−
استفاده از گلوکز	+	+	+
استفاده از فروکتوز	+	+	+
استفاده از گلیسرول	+	+	+
استفاده از سیترات	+	+	+
استفاده از مالات	+	+	+
استفاده از تریپتوفان	−	−	−
استفاده از آرژنین	+	+	+

(-): واکنش منفی، (+): واکنش مثبت

اندازه‌گیری فاکتورهای رویشی

ارتفاع بوته، قطر تاج پوشش، تعداد کل شاخه در بوته، تعداد شاخه‌های گل‌دهنده، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک اندامهای هوایی، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه بوته‌های مرزه رشینگری تیمار شده با جدایه‌های باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) اندازه‌گیری و با شاهد مقایسه شدند. تجزیه واریانس فاکتورهای رویشی مورد بررسی تحت شرایط مزرعه در جدول (۳) آورده شده است

.

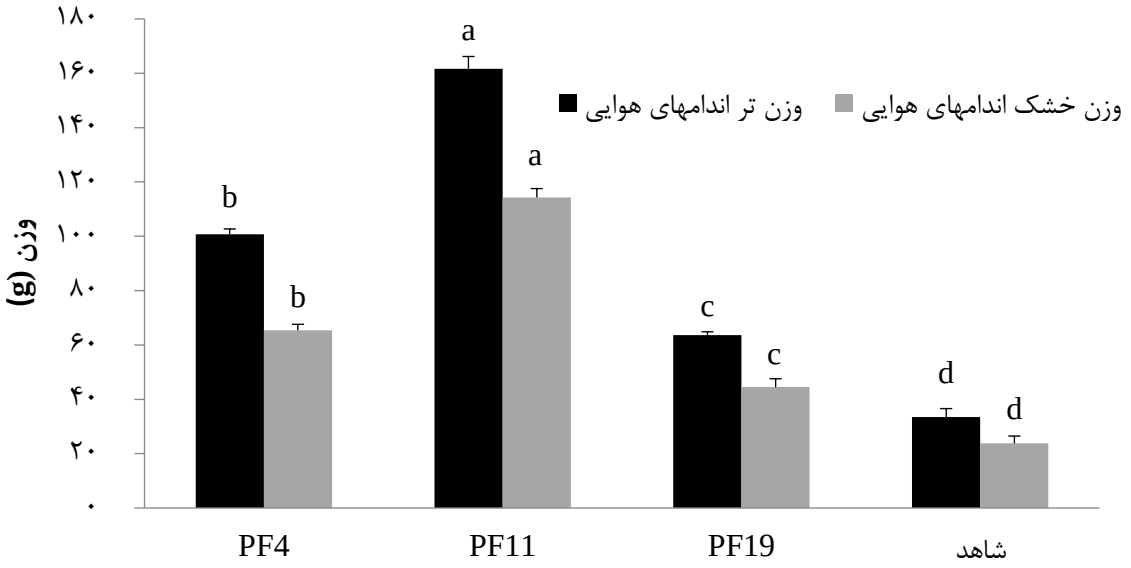
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات رویشی بوته‌های مرزه رشینگری تیمار شده توسط جدایه‌های باکتریایی برتر متعلق به *P. fluorescens* تحت شرایط آزمایشگاهی. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شده است (n=3) ($P<0.05$)

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر اندامهای هوایی (g)	وزن خشک اندامهای هوایی (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ریشه (g)	ارتفاع بوته (cm)	طول ریشه (cm)	قطر ریشه (cm)	قطر تاج پوشش (cm)	تعداد کل شاخه در بوته	تعداد شاخه‌های گل‌دهنده
تکرار	۲	۰/۵	۴/۷	/۱۱	/۲۳	۸۶	/۰۹	۰۰	۲	۰	۷۵
				۰	۰	۲/	۰	۰/۱	۰/۴	۰/۸	۱/
تیمار باکتری	۳	۹/۷*	/۶**	۵**	۷**	**	۵**	۰/۰۰۴ns	*	**	**
		۱۴۲	۴۵۱۲	۳۲/۶	۱۵/۲	۲۰۴/۶۱	۱۱/۷	*	۵۷۱/۵	۸/۳۱	۹/۴۲
خطا	۶	۱/۶	۹/۱	۰/۸	۰/۱	/۸	/۱۴	۰۰	۷	۶	۴۲
		۱				۴	۰	۰/۱	۴/۸	۰/۴	۰/

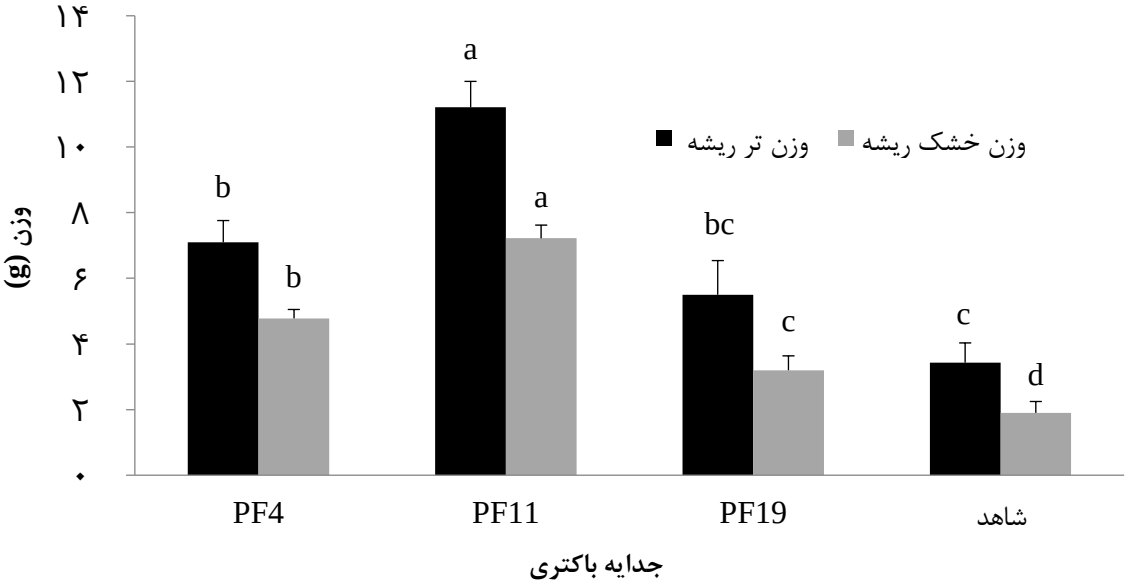
* معنی‌دار سطح اطمینان ۹۵٪
** معنی‌دار سطح اطمینان ۹۹٪
ns معنی‌دار نیست

وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه مرزه رشینگری

در بررسی اثر تیمار با سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) بر فاکتورهای رویشی چون وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه بوته‌های مرزه رشینگری مشخص شد که تیمار با این جدایه‌های باکتریایی در اغلب مواقع به طور معنی‌داری منجر به بهبود میزان کمی این صفات در مقایسه با شاهد شد ($P<0.05$). جدایه PF11 نیز اختلاف آماری معنی‌داری در مقایسه با شاهد و سایر جدایه ها نشان داد و در گروه اول آماری قرار گرفت (شکل ۲ و ۳). پس از آن، جدایه‌های PF4 و PF19 به ترتیب از بیشترین کارایی از این نظر برخوردار بودند. جدایه PF19 به لحاظ اثر بر میزان وزن تر ریشه با شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($P<0.05$).



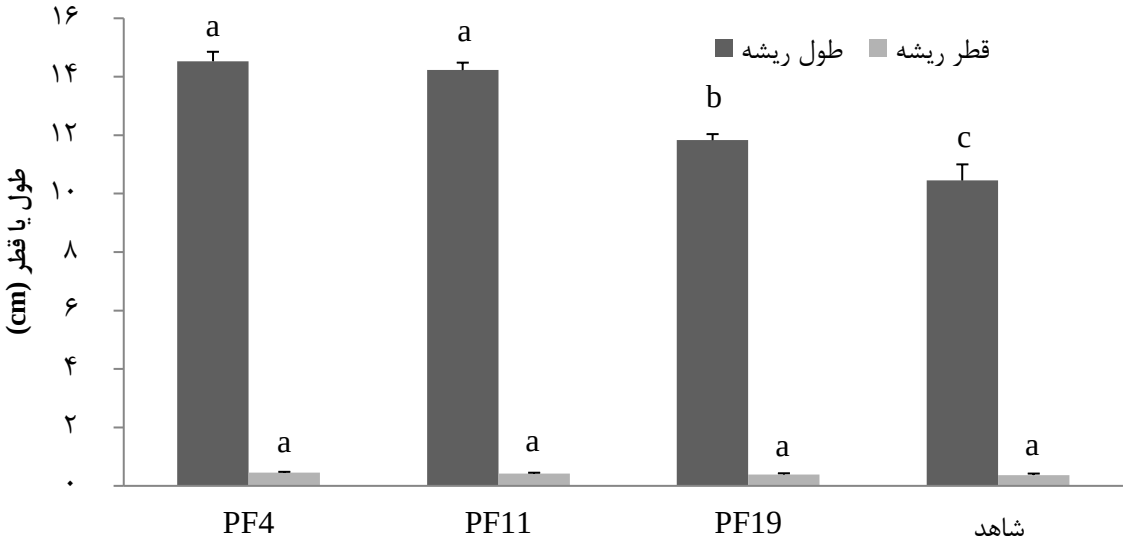
شکل ۲- اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)



شکل ۳- اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر وزن تر و خشک ریشه مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)

قطر و طول ریشه مرزه رشینگری

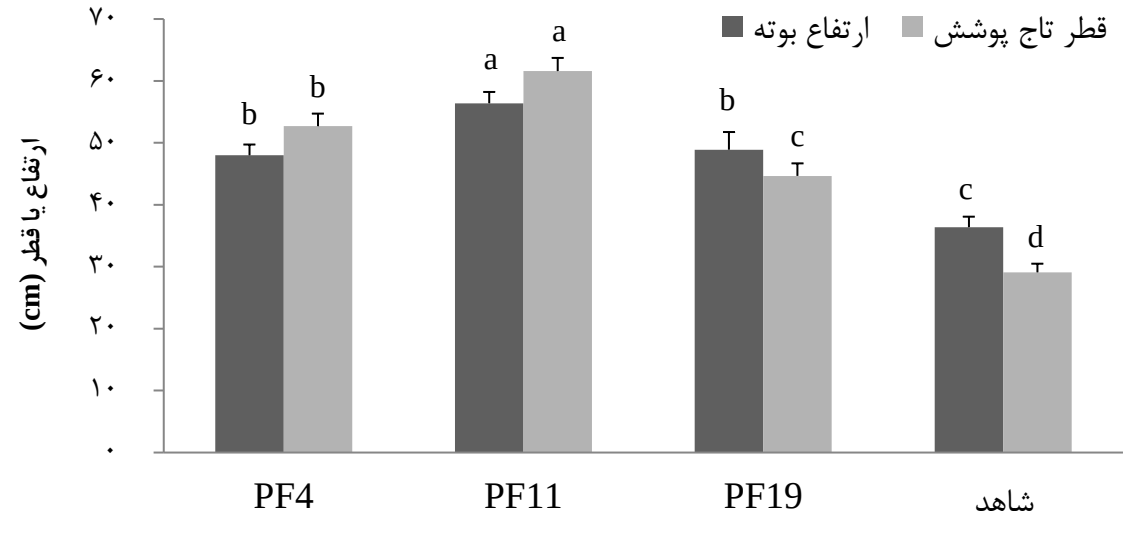
در بررسی اثر تیمار با سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) بر قطر ریشه بوته‌های مرزه رشینگری مشخص شد که تیمار با این جدایه‌های باکتریایی به طور معنی‌داری منجر به بهبود میزان کمی این صفت در قیاس با شاهد شد ($P<0.05$). جدایه PF11 و PF4 نیز اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و در گروه اول آماری قرار گرفت (شکل ۴). به لحاظ اثر بر میزان قطر ریشه، هر سه جدایه با شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان ندادند ($P<0.05$).



شکل ۴- اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر قطر و طول ریشه مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)

قطر تاج پوشش و ارتفاع بوته مرزه رشینگری

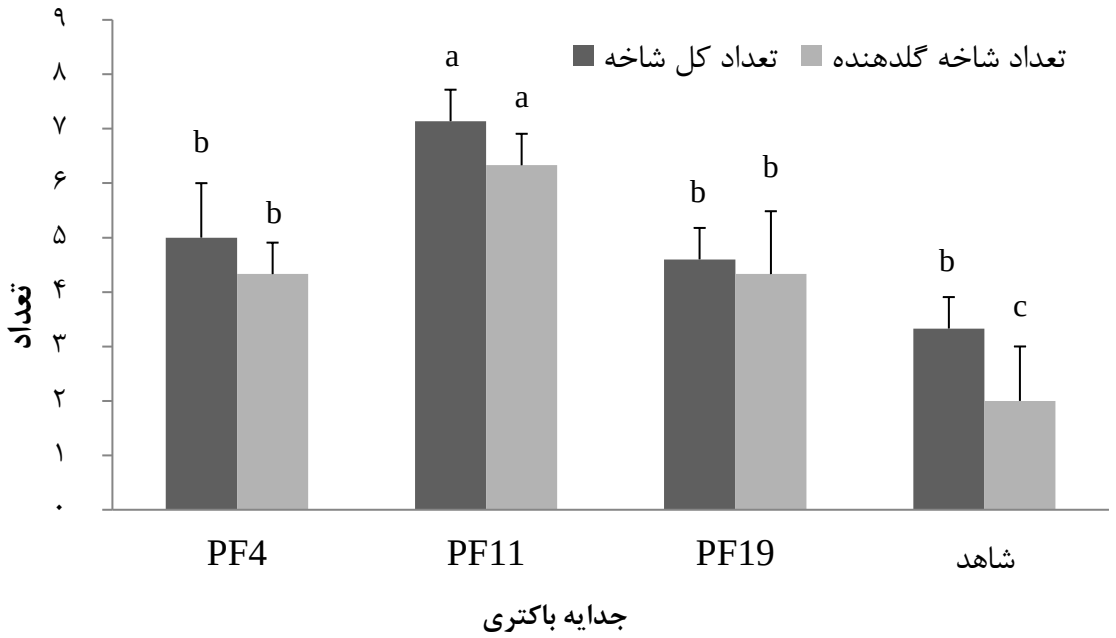
در بررسی اثر تیمار با سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) بر فاکتورهای رویشی چون قطر تاج پوشش و ارتفاع بوته‌های مرزه رشینگری مشخص شد که تیمار با این جدایه‌های باکتریایی به طور معنی‌داری منجر به بهبود میزان کمی این صفات در قیاس با شاهد شد ($P<0.05$). در خصوص هر دو صفت، جدایه PF11 بیشترین کارایی را نشان داد و در گروه اول آماری قرار گرفت (شکل ۵). جدایه‌های PF4 و PF19 به لحاظ اثر بر ارتفاع بوته اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ولی در خصوص اثر بر قطر تاج پوشش جدایه PF4 کاراتر بود و اختلاف آماری معنی‌داری با PF19 نشان داد ($P<0.05$).



شکل ۵- اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر قطر تاج پوشش و ارتفاع بوته مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)

تعداد شاخه گل‌دهنده و تعداد کل شاخه بوته‌های مرزه رشینگری

در بررسی اثر تیمار با سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) بر فاکتورهای رویشی چون تعداد شاخه گل‌دهنده و تعداد کل شاخه بوته‌های مرزه رشینگری مشخص شد که تیمار با جدایه PF11 از بیشترین کارایی برخوردار بود و در قیاس با شاهد و سایر جدایه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد و در گروه اول آماری قرار گرفت ($P<0.05$). دو جدایه PF4 و PF19، اگرچه به لحاظ اثر بر تعداد کل شاخه با شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی در اثر بر تعداد شاخه گل‌دهنده با شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند (شکل ۶).



شکل ۶- اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر تعداد شاخه گلدهنده و تعداد کل شاخه مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه. آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (n=3). حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.05$)

بحث

امروزه به منظور افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار، کودهای زیستی می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی (اعم از فسفات، ازت، گوگرد و آهن) محسوب شوند. کودهای زیستی در قیاس با کودهای شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند، از جمله این‌که در چرخه غذایی، تولید مواد سمی نمی‌کنند، قابلیت تکثیر خود به خودی دارند، باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند، از نظر اقتصادی مقرون به صرفه و سازگار با محیط‌زیست هستند (آقاعلیخانی و همکاران، ۱۳۹۲). اگرچه کاربرد عوامل PGPR به صورت انواعی از کودهای زیستی به منظور بهبود عملکرد کمی و کیفی برخی محصولات کشاورزی قدمت زیادی دارد ولی در حوزه گیاهان دارویی مطالعات معدودی در این زمینه انجام گرفته است.

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، مشخص شد که از بین ۲۲ جدایه به دست آمده از سودوموناداهای فلورسنت مستقر در ریزوسفر مرزه رشینگری، سه جدایه PF4، PF11، و PF19، که متعلق به گونه *P. fluorescens* بودند، از بیشترین قابلیت به لحاظ تولید سیدروفور برخوردار بودند. همچنین، توانایی این جدایه‌ها در میزان تولید سیدروفور نوع پایووردین، متفاوت از یکدیگر بود. به طوری که جدایه PF11 به طور معنی‌داری، بیشترین میزان پایووردین را تولید کرد و در گروه اول آماری قرار گرفت. سماوات

(۱۳۸۸) نیز گزارش کرد که دو جدایه UTPF68 و UTPF109 متعلق به *P. fluorescens* از قابلیت یکسانی از نظر تولید سیدروفور نوع پایووردین تحت شرایط کمبود آهن و در محیط کشت سوکسینات برخوردار نبودند. در ارزیابی فلور میکروبی ریزوسفر گونه‌های مختلف گیاهی، نیز مشخص شده است که به لحاظ تعداد، گروه سودوموناده‌ای فلورسنت از برتری بیشتری در مقایسه با سایر گروه‌های باکتریایی برخوردار هستند و جدایه‌ها و گونه‌های متنوع درون این گروه، از نظر توانایی در تولید انواع مختلف سیدروفور متنوع هستند (رسولی صدقیانی و همکاران، ۲۰۰۶).

در پژوهش حاضر نیز اثرات تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با سه جدایه باکتریایی برتر PF4، PF11، و PF19، از *P. fluorescens*، بر فاکتورهای رویشی گیاه تحت شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفت. بر طبق یافته‌های به دست آمده مشخص شد که تیمار بوته‌های مرزه با این ریزوباکترها در اغلب مواقع منجر به افزایش معنی‌داری در صفات رویشی مورد بررسی که شامل وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی، ارتفاع بوته، قطر و طول ریشه، قطر تاج پوشش، تعداد شاخه گل‌دهنده و تعداد کل شاخه در بوته بود، در مقایسه با شاهد شد. در این زمینه نیز کارایی جدایه‌ها متفاوت از یکدیگر بود و جدایه PF11 به طور معنی‌داری، از بیشترین قابلیت در بهبود فاکتورهای رشدی مرزه رشینگری در قیاس با سایر تیمارها برخوردار بود. فاطما و همکاران (۲۰۰۶)، نیز نشان دادند که کاربرد کودهای زیستی (باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات) روی گیاه مرزنجوش، منجر به بهبود شاخص‌های رشدی آن شد. خالدیان و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که کاربرد توأم سویه‌هایی از عوامل PGPR (شامل: *Sinorhizobium meliloti* Rm1021، *Bacillus subtilis* BS119m، *Bradyrhizobium* sp. USDA4438، و *P. fluorescens* WCS417r) منجر به افزایش معنی‌داری در ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک و تر ریشه و اندام‌های هوایی، تعداد انشعابات شاخه، و تعداد شاخه‌های گل‌دهنده گیاهان دارویی ریحان کوهی (*Ocimum basilicum* L.) و مرزه دارویی (*Satureja hortensis* L.) شد. همچنین مشخص شد که محتوای عناصری چون ازت، مس، فسفر، پتاسیم، و آهن در گیاهان تیمار شده در قیاس با شاهد تیمار نشده افزایش یافت. رای و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان دادند که تیمار بوته‌های آلوئه ورا با سویه‌هایی از باکتری‌های *P. putida* و *Pseudomonas* sp. که از توانایی در حل‌کنندگی فسفات معدنی برخوردار بودند، منجر به افزایشی معنی‌دار در میزان رشد این گیاه دارویی باارزش شد. در واقع، عوامل PGPR با بهبود جذب عناصر غذایی در گیاه و متعاقباً افزایش میزان فتوسنتز و رشد گیاه، در نهایت باعث بهبود گلدهی و افزایش تعداد سرشاخه گلدار در گیاهان دارویی می‌شود (ویسانی و همکاران، ۱۳۹۱). به این ترتیب یافته‌های حاصل آمده، با نتایج سایر محققین مبنی بر اثرات مثبت کاربرد سودوموناده‌ای فلورسنت بر فاکتورهای رویشی گیاه دارویی مرزه رشینگری مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با ریزوباکتری محرک رشد PF11 از گروه سودوموناده‌ای فلورسنت با قابلیت تولید سیدروفور میکروبی پایووردین منجر به بهبود شاخص‌های رشدی گیاه تحت شرایط مزرعه شد. همچنین مشخص شد که کارآمدی جدایه‌های باکتریایی متعلق به گونه *P. fluorescens* از نظر اثرگذاری بر صفات مورد مطالعه می‌تواند به طور معنی‌داری متفاوت از یکدیگر باشد. بر این اساس، بکارگیری جدایه بومی و سازگار PF11 به عنوان جایگزینی برای مصرف کودهای شیمیایی، در کشت مرزه رشینگری توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاران بخش گیاهان دارویی و معطر مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود

فهرست منابع

[۱] آقاعلیخانی، م.، ایرانپور، الف. و نقدی بادی، ح. ۱۳۹۲. تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) تحت تأثیر اوره و کود زیستی. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۲ (۲): ۱۳۶-۱۲۱.

[۲] ثقفی، ک.، احمدی، ج.، اصغرزاده، الف.، رکنی زاده، ح. و حسینی مزینانی، س.م. ۱۳۹۸. جداسازی، شناسایی و بررسی ویژگی‌های محرک رشدی سودوموناس‌های فلورسنت از ریزوسفر درختان زیتون در خاک‌های شور دوفصلنامه زیست شناسی خاک ۷ (۱): ۱۳-۲۷.

[۳] داداش پو، ت.، سلطانی طولارود، ع.الف.، قویدل، الف. و عباس‌زاده دهجی، پ. ۱۳۹۹. رزیابی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده از ورمی‌کمپوست. دوفصلنامه زیست شناسی خاک ۸ (۲): ۱۶۵-۱۷۶.

[۴] سماوات، س. ۱۳۸۸. بررسی برهمکنش جدایه هایی از جنس *Rhizobium* و *Pseudomonas* در کنترل مرگ گیاهچه لوبیا سبز ناشی از *Rhizoctonia solani*. پایان نامه کارشناسی ارشد. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ۱۰۹ صفحه.

[۵] شریفی، ر. ۱۳۸۶. بررسی نقش سیدروفور سودوموناس‌های فلورسنت در کنترل *Rhizoctonia solani* روی لوبیا و تأثیر برخی شرایط محیطی روی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی. گروه گیاهپزشکی. دانشگاه تهران. ۸۹ صفحه.

[۶] محبی، ج.، جم‌زاد، ز. و بخشی‌خانیکی، غ.ر. ۱۳۹۵. جایگاه حفاظتی شش گونه انحصاری مرزه در ایران. نشریه طبیعت ایران ۱ (۱): ۷۴-۷۹.

[۷] نصیرزاده، الف.، عباس‌زاده دهجی، پ.، حمیدپور، م.، اخگر، ع. و کریمان، خلیل. ۱۴۰۲. تأثیر کابرد باکتری‌های حل‌کننده ترکیبات نامحلول روی و پودر لاستیک بر رشد و محتوای روی و آهن در گیاه ذرت دوفصلنامه زیست شناسی خاک. ۱۱ (۱): ۶۳-۸۳.

[۸] ویسانی، و.، رحیم‌زاده، س. و سهرابی، ی. ۱۳۹۱. تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸ (۱): ۷۳-۸۷.

[9] Afzalifar, M., Hadian, J., Mirjalili, M.H. and Enayati Shariatpanahi, M. 2019. Study of androgenesis of two medicinal plants *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. rechingeri* Jamzad. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology) 31 (4): 458-470.

[10] Amiri, H. and Ghasemi Ramadanabad. Z. 2018. The effects of salinity on chemical composition of essential oil of *Satureja rechingeri*. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 31(2): 248-257.

[11] Ayer, S.H., Rupp P. and Johnson, W.T. 1919. A study of alkali-forming bacteria in milk. U.S. Department of Agriculture, Bullock. 782.

[12] Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances 16(4): 729-770.

[13] Bashan, Y. and de-Bashan, L.E. 2005. Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: A critical examination. Soil Biology & Biochemistry. Soil Biology and Biochemistry 37 (10): 1795-1804 10.1016/j.soilbio.2005.02.013.

[14] Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L. 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. Agronomie 20: 51-63.

[15] Castaneda, G.C., Mounoz, T.J.J. and Videa, J.R.P. 2005. A spectrophotometric method to determine the siderophore production by strains of fluorescent *Pseudomonas* in the presence of copper and iron. Microchemical Journal 81: 35-40.

[16] Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., Abd El-Fattah, L. and Seham Salem, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.

[17] Graham, D. C. and Hodgkiss, W. 1967. Identification of gram negative, yellow pigmented, fermentative bacteria isolated from plants and animals. Journal of Applied Bacteriology 30: 175-189.

[18] Hadian, J., Akramian, M., Heydari, H., Mumivand, H. and Asghari, B. 2012. Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four *Satureja* species growing in Iran. Natural Product Research 26(2): 98-108.

[19] Hider, R.C. and Kong, X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. Natural Product Reports 27: 637-657.

[20] Hugh, R. and Leifson, E. 1953. Taxonomic significance of versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. Journal of Bacteriology 66: 24-26.

[21] Jamzad, Z. 2010. A new species of *Satureja* (Lamiaceae) from Iran. The Iranian Journal of Botany 16 (2): 213-217.

[22] Khaledian, N., Weisany, W. and Schenk, P.M. 2021. Arbuscular mycorrhizae and rhizobacteria improve growth, nutritional status and essential oil production in *Ocimum basilicum* and *Satureja hortensis* Industrial Crops and Products. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113163

[23] Klement, Z., Farkas G.L. and Lovrekovich, H. 1964. Hypersensitivity reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology 54: 474-477.

[24] Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas* pyocyanean by the oxidase reaction. Nature 178: 703.

[25] Lelliot, R.A. and Dickey, R.S. 1984. Genus VII Erwinia, In: Krieg, eds. N. R., Halt, J. G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins Co., The Baltimore Vol, 1, P. 469-476.

[26] Mac Faddin, J.F. 1980. Biochemical test for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore.

[27] Palleroni, N.J. 1993. *Pseudomonas* classification. Antonie van Leeuwenhoek 64: 231-251.

[28] Rai, A., Singh, V.K., Sharma, N.K., Singh, J.S., Singh, V.K., Dwivedi, B.S. and Rai, P.K. 2023. Effect of fluorescent *Pseudomonas* on plant growth promotion of *Aloe vera*. Journal of Plant Nutrition. https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2294936

[29] Rasouli Sedghiani, M.H., Khavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J. and Asadi Rahmani, H. 2006. An evaluation of the potentials of indigenous fluorescent Pseudomonades of wheat rhizosphere for producing siderophore. Iranian Journal of Soil and Water Sciences 20(1):133-143.

[30] Rout G.R. and Sahoo, S. 2015. Role of iron in plant growth and metabolism. Reviews in Agricultural Science 3: 1-24.

[31] Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd ed. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 373 p.

[32] Shahnazi, S., Khalighi-Sigaroodi, F., Ajani, Y., Yazdani, D., Taghizad–Farid, R., Ahvazi, M et al. 2008. The chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja intermedia* C. A. Mey. Journal of Medicinal Plants 7 (25): 85-92.

[33] Suslow, T.U., Schroth, M.N. and Isaka M. 1982. Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology 72: 917-918.

[34] Thornley, M.J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other bacteria on the basis of arginine metabolism. Journal of Applied Bacteriology 23: 37-52.

[35] Vijay, K., Shibasini, M., Sivasakthivelan, P. and Kavitha, T. 2023. Microbial siderophores as molecular shuttles for metal cations: sources, sinks and application perspectives. Archives of Microbiology 205(9): 322. https://doi.org/10.1007/s00203-023-03644-3

[36] Walters, D.R. and Bingham, I.J. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. Annals of Applied Biology 151: 307-324.

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

/https://sbj.areeo.ac.ir

Review article

Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture

Alireza Fallah Nosratabad[1] and Bahman Khoshru[2]

[1]*Professor of Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Karaj, Iran. E-mail: a.r.fallah1350@gmail.com.*
[2]*Postdoctoral Researcher, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.*
E-mail: bahmankhoshru@yahoo.com.

Article Info

Received:
June 18, 2024.
Accepted:
September 11, 2024

***Keywords*:**
Effectiveness
Carrier
Encapsulation
Inoculant
Soil health

Corresponding author's email:
bahmankhoshru@yahoo.com

DOI:
10.22092/SBJ.2024.366090.265

Extended Abstract

Background and Objectives: The rapid growth of the global population has intensified the demand for food production, which has consequently led to a significant increase in the use of chemical fertilizers in agriculture. While these fertilizers have been effective in boosting crop yields, their widespread and prolonged use has raised serious concerns due to their adverse effects on human health, soil quality, water resources, and overall environmental sustainability. These concerns include soil degradation, contamination of water bodies through runoff, and the disruption of natural ecosystems. In response, there has been a shift towards more sustainable agricultural practices that aim to minimize these negative impacts while maintaining or even enhancing agricultural productivity. Biofertilizers have emerged as a promising alternative in this context. Unlike chemical fertilizers, biofertilizers are composed of living microorganisms, primarily beneficial rhizospheric bacteria that can naturally enhance the availability of essential nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, iron, and zinc to plants. Moreover, these microorganisms produce a range of bioactive compounds including growth-promoting hormones, siderophores, and antibiotics, which can stimulate plant growth, enhance resistance to pathogens, and improve soil health. The objective of this article is to provide a comprehensive review of the various components of biofertilizers, discussing their potential benefits, the challenges associated with their use, and their future prospects in the context of sustainable agriculture.

Materials and Methods: This study explores the different components of biofertilizers, focusing on their composition, properties, and applications. The types of biofertolizers reviewed include powders, granules, liquids, polymer-encapsulated forms, dried fluid beds, and gels. Each of these biofertolizers offers unique advantages and faces specific challenges that can impact the effectiveness of them. For instance, powder and granular biofertolizers are popular due to their ease of handling, transportation, and storage, but they may suffer from reduced microbial viability over time. Liquid biofertolizers, while offering a more immediate and homogenous distribution of nutrients, are more susceptible to contamination and require more stringent storage conditions. The article also discusses the critical aspects of biofertilizer production, including the selection of appropriate microbial strains based on their functionality and compatibility with target crops and soil

types. The choice of carrier materials (organic, inorganic, liquid, or synthetic) plays a significant role in maintaining the viability and activity of the microorganisms. Additionally, the article examines the use of additives such as adhesives, stabilizers, and protective agents that can enhance the biofertolizer's performance. The production process involves several essential steps: the preparation and sterilization of carriers to eliminate contaminants, the inoculation and growth of microbial strains under controlled conditions, and the packaging of the final product to ensure shelf-life and ease of application.

Results: The findings from this review indicate that the choice of biofertilizer components greatly influences its effectiveness in the field. Powder and granular biofertilizers are found to be suitable for large-scale applications due to their stability and ease of use; however, they often face biofertilizers related to the survival rate of the beneficial microorganisms during storage and application. Liquid biofertilizers, on the other hand, provide a rapid supply of nutrients and are easier to apply in irrigation systems, but their efficacy can be compromised by contamination risks and the need for cold storage. More advanced biofertilizers, such as polymer-encapsulated, dried fluid bed, and gel forms, show promising results in protecting microorganisms from environmental stresses such as desiccation, and temperature fluctuations. These formulations can provide controlled release of nutrients and ensure longer shelf life. However, their production is often more complex and costly, requiring advanced technology and materials. The research highlights that an integrated approach combining multiple components or optimizing specific formulations based on local conditions and crop requirements could enhance the effectiveness and adoption of biofertilizers in sustainable agriculture.

Conclusion: The development and optimization of biofertilizer components are crucial for their success in sustainable agriculture. High-quality biofertilizers that ensure the survival and activity of beneficial microorganisms can significantly reduce the dependency on chemical fertilizers, thereby minimizing their negative environmental and health impacts. The growing interest in sustainable agricultural practices, coupled with increasing public awareness of the benefits of biofertilizers, suggests a promising future for these products. Further research and innovation are needed to address the challenges associated with their production, formulation, and application to ensure maximum efficacy and build trust among farmers. Technological advancements, such as improved encapsulation techniques and the use of novel carrier materials, are expected to enhance the performance of biofertilizers, making them a key component of future agricultural systems aimed at protecting soil and environmental health.

Cite this article: Fallah Nosratabab, A., Khoshru, B., 2024. Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture. *Soil Biology Journal*, 12 (1), 19-63.

DOI: 10.22092/SBJ.2024.366090.265
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصل‌نامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله مروری

پتانسیل‌ها و چالش‌های کودهای زیستی در کشاورزی پایدار

علیرضا فلاح نصرت آباد[۱] و بهمن خوشرو[۲]*

[۱]استاد پژوهشی موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

ایمیل: a.r.fallah1350@gmail.com

[۲]پژوهشگر پسادکترا، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: bahmankhoshru@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۱

چکیده

افزایش جهانی جمعیت منجر به افزایش تقاضا برای استفاده از کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی شده که این امر تأثیرات منفی بر سلامت انسان و محیط زیست گذاشته است. لذا تمرکز تحقیقات به سمت کشاورزی پایدار و تولید محصولات سازگار با محیط زیست معطوف شده است. کودهای زیستی به عنوان یک راهکار پایدار در این زمینه، مزایای قابل توجهی دارند. این کودها حاوی مواد فعال از جمله باکتری‌های مفید ریزوسفری هستند که قابلیت‌های متنوعی نظیر تامین و افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی (مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی)، تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد، سیدروفورها و آنتی‌بیوتیک‌ها و غیره را دارند، که این امر به بهبود تنوع زیستی، حاصلخیزی خاک و افزایش تولید محصول کمک می‌کند. علاقه به استفاده از کودهای زیستی و پتانسیل آن‌ها برای کشاورزی پایدار در حال افزایش است. در این راستا، فرمولاسیون کودهای زیستی به منظور ایجاد یک محیط مناسب برای ریزجانداران و تضمین بقای آن‌ها پس از ورود به خاک ضروری است. انواع کودهای زیستی شامل پودری، گرانول‌ها، مایعات، محصور در پلیمر، بستر سیال خشک شده و ژل‌ها می‌باشد که هرکدام مزایا و چالش‌های خاص خود را دارند. این مقاله ضمن بررسی اجزای کودهای زیستی، بر اهمیت توسعه و تولید کودهای زیستی با کیفیت بالا برای افزایش اثربخشی و ایجاد اعتماد در میان کشاورزان تأکید می‌کند. آینده کودهای زیستی نیز با توجه به افزایش آگاهی عمومی نسبت به مزایای آن‌ها و تلاش‌های گسترده برای کاهش تأثیرات منفی کودهای شیمیایی، بسیار امیدوارکننده به نظر می‌رسد. با پیشرفت‌های فنآوری و نوآوری‌های مستمر، کودهای زیستی می‌توانند نقش محوری در کشاورزی پایدار و حفظ محیط زیست ایفا کنند.

کلیدواژه: اثربخشی، حامل، کپسوله کردن، مایه تلقیح، سلامت خاک.

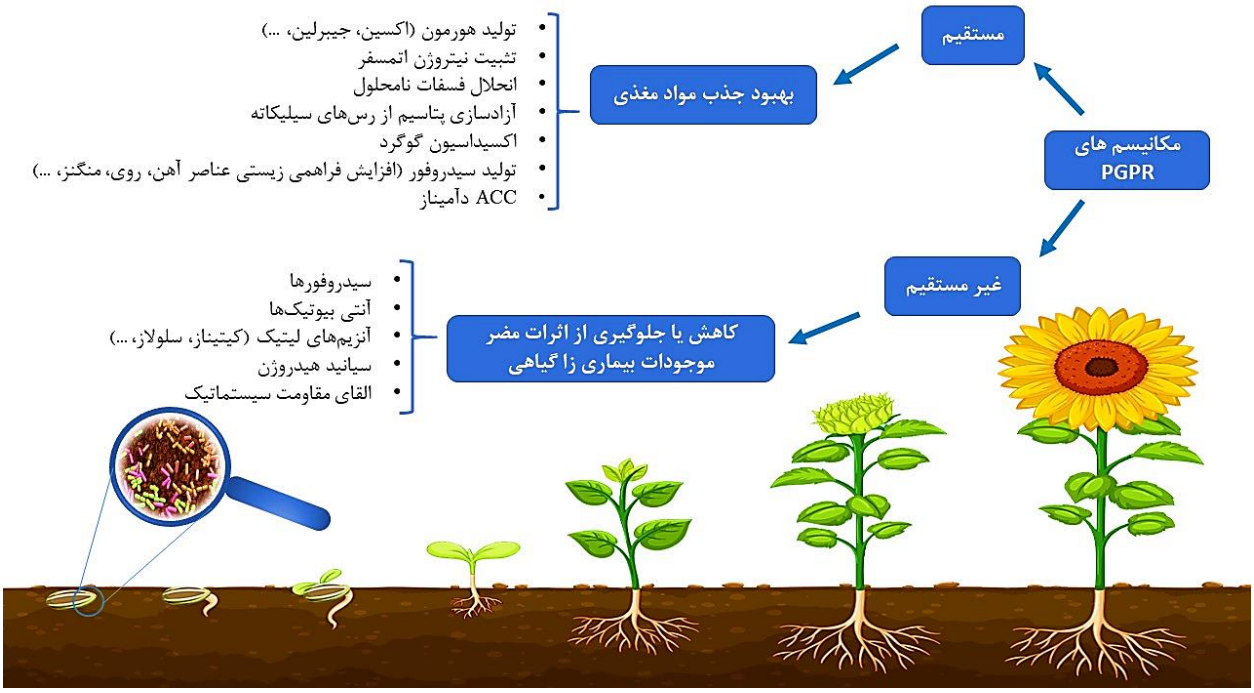
مقدمه

اهمیت کشاورزی سنتی در تامین مواد غذایی برای بشر بسیار زیاد است، اما رشد جمعیت نیازمند روش‌های بهره‌وری پایدار می‌باشد. با کاهش زمین‌های کشاورزی و افزایش تقاضای غذایی، استفاده از فناوری‌های نوآورانه برای تغذیه جمعیت فعلی و جمعیت پیش‌بینی شده در سال ۲۰۵۰ (حدود ۱۰ میلیارد نفر) ضروری است (اللی و وانلو، ۲۰۰۹). از زمان انقلاب سبز، مصرف کودهای شیمیایی برای افزایش حاصلخیزی خاک و رشد محصول افزایش یافته است. با این حال، استفاده بیش از حد از این کودها باعث تخریب خاک، آلودگی و مشکلات زیست‌محیطی می‌شود. این مشکلات شامل تجمع مواد شیمیایی در خاک و آب‌های زیرزمینی، اتروفیکاسیون، اسیدی شدن خاک و افزایش بروز بیماری‌ها است (عجرتون، ۲۰۰۹). تقاضای جهانی برای غذا، استفاده از کودهای شیمیایی را اجتناب‌ناپذیر می‌کند و لذا اثرات نامطلوب طولانی مدت آن‌ها بسیار جدی است. در نتیجه، کشاورزی ارگانیک و استفاده از کودهای زیستی به عنوان جایگزین‌های سازگار با محیط زیست و پایدار در حال گسترش است (کوور و همکاران، ۲۰۲۰).

کود زیستی به محصولی اطلاق می‌شود که حاوی ریزجانداران خاک یا متابولیت‌های آنها است که برای تقویت رشد گیاهان مصرف می شوند (آرمنده و فلاح، ۱۳۹۷؛ خوشرو و ساریخانی، ۱۳۹۷؛ فلاح نصرت آباد، ۱۴۰۰؛ اصغرزاده و همکاران، ۱۴۰۲؛ بهاتاچاریا و جها، ۲۰۱۲؛ خسروی و همکاران، ۲۰۲۴). در تعریف دیگر، کود زیستی ماده‌ای حاوی ریزجانداران زنده است که وقتی روی بذر، سطوح گیاه یا خاک استفاده شود، ریزوسفر یا داخل گیاه را کلونیزه می‌کند و با افزایش فراهمی مواد غذایی اولیه به رشد گیاه میزبان و توسعه آن کمک می‌کند (وسی، ۲۰۰۳).

ریزجانداران موجود در کودهای زیستی به عنوان ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[1]) نیز شناخته می‌شوند و می‌توانند پس از تلقیح، مزایایی برای گیاهان میزبان داشته باشند و رویکردی پایدار برای افزایش تولید محصول ارائه دهند (فلاح و همکاران، ۱۳۹۹؛ امامی و همکارانف ۱۴۰۰؛ خسروی، ۱۴۰۲؛ حامد و همکاران، ۲۰۲۴). میکروب‌های مفید می‌توانند بر اساس نحوه اثرگذاری خود به دو گروه کلی افزایش دهندگان رشد گیاه و حافظان سلامت گیاه تقسیم شوند (خاوازی و ملکوتی. ۱۳۸۱؛ اخگر و همکاران، ۱۴۰۰؛ فلاح نصرت آباد، ۱۴۰۱). افزایش رشد گیاه با تامین مواد غذایی و آب و افزایش سلامت گیاه با از بین بردن یا کاهش اثر بیمارگرها و آلاینده‌های شیمیایی فراهم می‌گردد (فلاح نصرت آباد، ۱۴۰۱؛ نهرا و چادهاری، ۲۰۱۵؛ دل انگیز و همکاران، ۲۰۲۱؛ مرادی و همکاران، ۲۰۲۱؛ خوشرو و همکاران، ۲۰۲۳، میترا و همکاران، ۲۰۲۳؛ خسروی و همکاران، ۲۰۲۴). این میکروب‌ها می‌توانند به طور مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاه تأثیر بگذارند (شکل ۱)، که شامل تسهیل جذب مواد مغذی توسط گیاهان (مانند تثبیت نیتروژن مولکولی اتمسفر، انحلال فسفات‌های نامحلول، آزادسازی پتاسیم از کانی‌های میکا، تامین آهن، روی و غیره)، توسعه سطح ریشه (بواسطه تولید هورمون‌ها)، کاهش اثرات مضر عوامل بیماری‌زا و غیره (بهاتاچاریا و جها ۲۰۱۲؛ خالد و همکاران ۲۰۰۹مک‌کوئیلکن و همکاران ۱۹۹۸؛ وسی ۲۰۰۳؛ بهاتاچاریا و جها ۲۰۱۲؛ خوشرو و همکاران، ۲۰۲۰) می‌باشند. کودهای زیستی می‌توانند از نظر اقتصادی اهمیت زیادی داشته باشند زیرا آن‌ها قادرند جایگزین بخشی از مواد شیمیایی که هزینه‌های بالایی در کشاورزی دارند گردند. لذا توسعه کودهای زیستی پاسخی به افزایش برای کشاورزی سازگار با محیط زیست است.

[1] Plant growth-promoting rhizobacteria



شکل۱- مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم PGPR برای تحریک رشد گیاه

تجاری‌سازی PGPR در سال ۱۸۹۵ در ایالات متحده و انگلستان با تلقیح ریزوبیوم‌ها در حبوبات آغاز شد (بروکول و باتوملی، ۱۹۹۵) و در طول زمان، علاقه به استفاده از سایر PGPR افزایش یافته و اخیراً طیف زیادی از محصولات جدید زیستی توسعه یافته‌اند. در حال حاضر اکثر تلقیح‌های غیر ریزوبیومی PGPR حاوی باکتری‌هایی از جنس *Azospirillum* (باکتری‌های همیار تثبیت‌کننده نیتروژن)، *Pseudomonas* یا *Bacillus* (باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB[۲]) و عوامل کنترل زیستی[۳]) و سایر PGPR هستند. تنوع PGPR به طور بالقوه در خاک زیاد بوده و دامنه مکانیسم‌های عمل آن‌ها بسیار گسترده است بطوریکه بسیاری از آنها هنوز شناسایی نشده و لذا مورد بهره‌برداری قرار نگرفته‌اند (سماوات و همکاران، ۱۳۹۲). مکانیسم‌های مختلف درگیر در تحریک رشد و توسعه گیاه به نوع گیاه و سویه باکتری بستگی داشته و اثرات مفید آنها نیز ممکن است در شرایط محیطی مختلف، بسیار متفاوت باشد. علاوه بر این، ریزجانداران پس از کاربرد در خاک، با شرایط رقابتی و اغلب سخت مواجه می‌شوند که ممکن است اثرات مفید آنها را به شدت کاهش دهد (اوکان و ایتزیگسون، ۱۹۹۵؛ فلاح و همکاران، ۱۴۰۱؛ خوشرو و همکاران، ۲۰۲۰).

پتانسیل بازار کودهای زیستی، نه تنها در کشورهای توسعه یافته، بلکه در کشورهای در حال توسعه نیز قابل توجه است (مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲).

بازار جهانی کودهای زیستی، در حال تجربه رشد قابل توجهی است، به طوری که اندازه این بازار در سال ۲۰۲۳ به حدود ۳/۵ میلیارد دلار رسید و انتظار می‌رود با سرعت رشد

[۲] Phosphate-solubilizing bacteria

[۳] Biocontrol agents

ترکیبی سالانه (CAGR[۴]) حدود ۱۱٪، از سال ۲۰۲۳ تا ۲۰۲۸ به اندازه ۵/۲ میلیارد دلاری برسد (جوشی و قوراهاف، ۲۰۲۲). این رشد ناشی از چندین عامل کلیدی است، از جمله افزایش آگاهی و تقاضا برای روش‌های کشاورزی پایدار، نگرانی‌های زیست‌محیطی در مورد تأثیرات منفی کودهای شیمیایی و سیاست‌های حمایتی دولت‌ها که استفاده از کودهای زیستی را ترویج می‌کنند (کومار و همکاران، ۲۰۲۴). علاوه بر این، روند رو به رشد کشاورزی ارگانیک و افزایش تقاضا برای محصولات غذایی ارگانیک نیز بازار را تقویت می‌کند. از نظر جغرافیایی، آمریکای شمالی به دلیل روش‌های پیشرفته کشاورزی و آگاهی بالای کشاورزان بر بازار تسلط دارد. اروپا به دلیل قوانین سختگیرانه بر کودهای شیمیایی و افزایش کشاورزی ارگانیک رشد قابل توجهی را تجربه می‌کند. منطقه آسیا و اقیانوسیه به دلیل وسعت زیاد زمین‌های کشاورزی، جمعیت بالا و افزایش حمایت‌های دولتی سریع‌ترین رشد را دارد. آمریکای لاتین و خاورمیانه و آفریقا بازارهای در حال ظهور با پذیرش رو به رشد روش‌های پایدار هستند (فریر و همکاران، ۲۰۲۴). روندهای صنعتی نشان می‌دهد که پیشرفت‌های فناوری در تولید و تکنیک‌های کاربرد کودهای زیستی نقش مهمی در رشد بازار ایفا می‌کند. همچنین افزایش همکاری‌ها و مشارکت‌ها بین شرکت‌ها و مؤسسات تحقیقاتی منجر به تنوع محصولات و توسعه کودهای زیستی چند منظوره می‌شود که نیازهای مختلف محصولات را برآورده می‌کند (کومار و همکاران، ۲۰۲۴). برای مثال در ویتنام تخمین زده شده است که اگر به جای کودهای شیمیایی از باکتری های ریزوبیومی استفاده شود، هزینه کودهای نیتروژنی را می‌توان از ۳۰ میلیون دلار به حدود ۱ میلیون دلار در سال کاهش داد (هریج، ۲۰۰۸).

در ایران نیز، پتانسیل بازار کودهای زیستی به دلیل تنوع اقلیمی، نیاز به بهبود حاصلخیزی خاک‌ها و افزایش توجه به کشاورزی ارگانیک، بالا است. بر اساس داده‌های جدید، مصرف کودهای زیستی در ایران در چند سال اخیر رشد قابل توجهی داشته است. همچنین، برنامه‌های دولتی و حمایت‌های مالی از تولید کنندگان کودهای زیستی و تحقیقات مرتبط با آن، نشان‌دهنده تمایل کشور به افزایش سهم کودهای زیستی در کشاورزی ملی است. برخی از شرکت‌های ایرانی برتر تولیدکننده کودهای زیستی و برخی از تولیدات آنها به شرح زیر است:۱) شرکت ایران ایگنیشن (واقع در مازندران) تولیدکننده کود میکروبی فسفاته گرانوله با ظرفیت سالانه ۲۰۰۰۰ تن و مایه تلقیح حل‌کننده فسفر با ظرفیت سالانه ۲۰۰۰ تن می‌باشد. ۲) شرکت فن‌آوری زیستی طبیعت‌گرا (واقع در کرج)، محصولاتی نظیر بیوفارم به عنوان محرک رشد با ظرفیت سالانه ۳۰۰۰ تن، بیوسوی ریزوبیومی با ظرفیت سالانه ۷۵ تن، بیوفسفات تریپل، به‌رشد و مایکو گرو تولید می‌کند. ۳) شرکت فرآوری شیمیایی زنجان (واقع در زنجان) مایه تلقیح *تیوباسیلوس* اکسید کننده گوگرد با ظرفیت سالانه ۲۰۰۰ تن و نیتراژین به عنوان محرک رشد تولید می‌نماید. ۴) شرکت فن‌آوری زیستی مهرآسیا (واقع در سمنان) محصولات ازتوباکتر و نیتروکسین به عنوان محرک رشد هر کدام با ظرفیت سالانه ۳۰۰۰ تن و بیوسولفور اکسید کننده گوگرد را تولید می‌کند. ۵) شرکت زیست فناور سبز (واقع در قم) تولید کننده بارور ۲ به عنوان محرک رشد می‌باشد. ۶) شرکت صنایع زیست فناوری کارا (واقع در ساوه) محصولی به نام کارا به عنوان محرک رشد تولید می‌کند. (اسدی و همکاران، ۱۳۹۱). با توجه به اینکه تولید کودهای زیستی و نیاز کودهای زیستی کشور با هم همسو می‌شوند تا بتوانند بهبود شرایط خاک و تأمین نیازهای کودی

[۴] Compound annual growth rate

گیاهان را در کشور تضمین کنند، لذا در جدول ۱، نیازهای کودهای زیستی کشور ارائه شده است.

جدول ۱- نیاز کودهای زیستی کشور بر حسب تن (مشیری و همکاران، ۱۴۰۲).

ردیف	نوع کود	۱۳۹۹-۱۴۰۰			۱۴۰۰-۱۴۰۱			۱۴۰۱-۱۴۰۲		
		زراعت	باغبانی	کل	زراعت	باغبانی	کل	زراعت	باغبانی	کل
۱	ریزوبیومی	۶۳۱	۰	۶۳۱	۶۴۳	۰	۶۴۳	۴۸۰	۰	۴۸۰
۲	فسفاته گرانوله	۴۲۴۱۵	۱۷۴۶۸	۵۹۸۸۳	۴۱۵۸۱	۱۷۷۶۲	۵۹۳۴۳	۴۰۹۹۲	۱۷۸۱۹	۵۸۸۱۱
۳	اکسیدکننده گوگرد	۵۳۰	۰	۵۳۰	۵۵۰	۰	۵۵۰	۵۰۵	۰	۵۰۵
۴	محرک رشد	۴۸۰	۰	۴۸۰	۴۸۰	۰	۴۸۰	۴۸۰	۰	۴۸۰
۵	ویژه گندم (فلاویت)	۰	۸۶۹۵	۸۶۹۵	۰	۸۸۴۰	۸۸۴۰	۰	۸۸۷۰	۸۸۷۰
۶	میکوریز	۲۱۳	۰	۲۱۳	۲۳۳	۰	۲۳۳	۲۰۹	۰	۲۰۹
۸	جمع	۴۴۲۶۹	۲۶۱۶۳	۷۰۴۳۲	۴۳۴۸۷	۲۶۶۰۲	۷۰۰۸۹	۴۲۶۶۶	۲۶۶۸۹	۶۹۳۵۵

کاربرد و تلقیح محصولات کشاورزی با ریزجانداران مفید و کارآمد می‌تواند منجر به افزایش بهره‌وری محصول و درآمد کشاورزان شود. با این حال سطح پذیرش کودهای زیستی به دلیل کیفیت پایین و نامناسب، محدود است. برای به حداکثر رساندن شانس موفقیت، یک کود زیستی باید چند ویژگی را داشته باشد: ۱- باید یک محیط محافظتی برای ریزجانداران فراهم کند ۲- رشد بهینه آنها را فراهم کند و از کاهش جمعیت آنها (در طول ذخیره سازی) جلوگیری کند ۳- حمل و نقل و استفاده آن آسان باشد ۴- پس از ورود به خاک سازگار با محیط زیست باشد و ۵- از مواد مقرون به صرفه و در دسترس ساخته شده باشد (هانگریا و همکاران، ۲۰۰۵؛ کومار و همکاران، ۲۰۲۴). یکی از چالش‌های عمده برای صنعت کودهای زیستی، عدم وجود فرمولی مناسب که برای استفاده در مزرعه مناسب باشد. یک ریزجاندار ممکن است در شرایط آزمایشگاهی امیدوارکننده به نظر برسد، در حالی که فرموله کردن و تبدیل آن به یک محصول تجاری که بتواند در طیف وسیعی در مزرعه نیز نتایجی مشابه نتایج آزمایشگاهی ارایه نماید گامی بس دشوار است (استفنز و راسک، ۲۰۰۰؛ ماهاپاترا و همکاران، ۲۰۲۲). موفقیت کودهای زیستی به محصول هدف، هزینه تمام شده، بازارپسندی، محدودیت‌های محیطی و سهولت استفاده بستگی دارد (آرورا و همکاران، ۲۰۱۱). برخی از تولیدکنندگان اقدام به تهیه مایه تلقیحی کردند که حاوی دو یا چند نوع ریزجاندار (مانند ریزوبیوم‌ها و PSB یا PSB و میکوریز) بوده تا مزایای حاصل را برای گیاهان میزبان به حداکثر برسانند. با اینکه مطالعات متعددی اثرات مثبت این نوع مایه تلقیح‌ها را توصیف و اثربخشی آنها را اثبات کرده‌اند (عبدالا و همکاران، ۲۰۰۱؛ مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲؛ سونجا و همکاران، ۲۰۰۷؛ خوشرو همکاران، ۲۰۲۰) ولی برخی از مشکلات فنی مانند ناسازگار بودن، هزینه تولید و تجاری‌سازی هنوز وجود دارد (هریج، ۲۰۰۸؛ استفنز و راسک، ۲۰۰۰). مهمترین عامل در طول تولید مایه‌تلقیح تضمین کیفیت محصولات است که برای افزایش شانس موفقیت بسیار مهم است (یانگ، ۲۰۰۷). عدم تکرارپذیری و ثبات در نتایج به دست آمده در شرایط

مزرعه به دلیل کیفیت پایین، بر تجاری سازی کودهای زیستی تأثیر زیادی می‌گذارد (وسی، ۲۰۰۳).

هدف از این مقاله مروری، ارائه یک تحلیل جامع و سیستماتیک از پیشرفت‌ها و چالش‌های موجود در زمینه کودهای زیستی و مایه‌تلقیح‌های میکروبی است. این مقاله به بررسی اهمیت اجزای کودهای زیستی در افزایش کارایی و پایداری مایه‌تلقیح‌های میکروبی، نقش انتخاب و بهینه‌سازی سویه‌های میکروبی و تاثیر حامل‌های مختلف بر عملکرد این محصولات می‌پردازد. علاوه بر این، مقاله به مقایسه روش‌های مختلف تهیه انواع کودهای زیستی مانند کودهای زیستی جامد، مایع و روش‌های نوین محصورسازی سلول‌ها در ماتریکس‌های پلیمری می‌پردازد. هدف اصلی این مقاله، فراهم آوردن اطلاعاتی کاربردی برای پژوهشگران و تولیدکنندگان است تا از طریق بهبود روند تولید کودهای زیستی، کارایی و پایداری مایه‌تلقیح‌های میکروبی را افزایش دهند و به بهبود کلی سلامت خاک و بهره‌وری محصولات کشاورزی کمک کنند.

تولید مایه‌تلقیح‌های میکروبی

به منظور افزایش زمان نگهداری، سهولت در کاربرد و بهبود کارایی، کودهای زیستی باید دارای فرمولاسیون‌های مناسبی باشند. اجزای کودهای زیستی نقش مهمی در انتقال میکروب‌های مفید از محل تولید به مزرعه ایفا می‌کنند. آنها امکان انتقال مواد زیستی فعال یا نهفته (اسپور) به محل هدف اعم از خاک یا گیاه را فراهم می‌کنند (شارما و همکاران، ۲۰۲۳). تهیه یک مایه‌تلقیح موثر، یک فرآیند چند مرحله‌ای است که در طی آن یک یا چند سویه ریزجاندار در یک حامل مشخص قرار می‌گیرند. این روند شامل اضافه کردن عوامل چسبنده و افزودنی‌های دیگر است که در طول دوره ذخیره‌سازی و حمل و نقل باعث حفاظت از سلول‌ها می‌شود (بارتی و همکاران، ۲۰۱۷). با توجه به اینکه مایه‌تلقیح‌ها اغلب در شرایطی دور از شرایط ایده‌آل، نظیر دمای بالا و در معرض نور نگهداری می‌شوند، ضروری است که طول عمر طولانی داشته باشند. این بدان معناست که ریزجانداران در شرایط دشوار باید درون حامل قادر به زنده‌مانی با جمعیت بالا باشند، زنده‌مانی ریزجانداران به هر دلیلی از جمله مقاومت خود آن یا محافظت مناسب ماده حامل ضروری می باشد (شریعتی و همکاران، ۱۳۹۲؛ سیف و همکاران، ۲۰۲۱). یک کود زیستی باکیفیت همچنین باید شرایط مطلوبی را برای افزایش طول عمر ریزجانداران در خاک و به حداکثر رساندن فعالیت آن‌ها به منظور ایجاد بیشترین فایده پس از تلقیح به گیاهان میزبان فراهم کند (مک‌کویلکن و همکاران، ۱۹۹۸).

برای اطمینان از استفاده گسترده و مقرون‌به‌صرفه مایه تلقیح توسط کشاورزان، آنها باید به گونه‌ای تهیه شوند که به راحتی قابل استفاده و اجرا باشند. این موضوع به ویژه برای تضمین انتقال موثر ریزجانداران به گیاهان هدف در شرایط مناسب اهمیت دارد. با وجود اینکه فرمولاسیون و کیفیت کودهای زیستی یک مسئله حیاتی به شمار می‌آید ولی مطالعات نشان می‌دهند که در طول سال‌های اخیر، پژوهش‌های اندکی در این زمینه صورت گرفته است. بررسی‌های انجام شده توسط خاویر و همکاران (۲۰۰۴) بیانگر این است که از دهه ۱۹۸۰ تحقیقات بیشتر بر ژنتیک و فیزیولوژی باکتری‌های ریزوبیوم‌ها متمرکز بوده‌اند و کمتر از ۱٪ از مقالات به جنبه‌های اجزا و فرمولاسیون کودهای زیستی پرداخته‌اند. با یک جستجوی ساده در سایتی مانند Pub Med می‌توان فهمید که در بازه زمانی ۲۰۰۹-۲۰۲۴، حدود ۲۱۳۴ مقاله مرتبط با جنبه‌های مختلف کودهای زیستی منتشر شده است که از این بین تنها ۱۷۰ مورد (حدود ۸ درصد) از آنها

به جنبه فرمولاسیون کودهای زیستی پرداخته‌اند (پابمد، ۲۰۲۴). اما نیاز مبرم به فرمولاسیون‌های بهبودیافته برای توسعه و تجاری‌سازی محصولات زیستی جدیدی که کارآمدتر، پایدارتر، با کیفیت بالاتر وجود دارد که نیازهای کشاورزان را بهتر برآورده کنند (استفنز و راسک، ۲۰۰۰). هر فرمولاسیونی دارای ویژگی‌های منحصر به فرد، مزایا و معایب مربوط به خود می‌باشد. لازم است در طول فرآیند تولید یک مایه تلقیح، مراحل مختلف با دقت مورد توجه قرار گیرند تا احتمال موفقیت یا شکست یک محصول تعیین شود. دقت در هر مرحله از فرآیند تولید می‌تواند بر روی نتیجه نهایی تأثیر گذار باشد و باید به دقت ارزیابی و اجرا شود.

موفقیت یک کود زیستی به عوامل مختلفی بستگی دارد، که از جمله آنها می‌توان به محصول هدف، محدودیت‌های محیطی، هزینه، سهولت استفاده، دسترسی به بازار و کارآمد بودن آن اشاره کرد. برای مایه تلقیح‌های باکتریایی اغلب از پیت به عنوان ماده حامل استفاده می‌کنند. با این حال، پیت به طور گسترده‌ای در دسترس نیست و فرآیند استخراج آن تأثیرات نامطلوبی بر جو و اکوسیستم دارد. بنابراین، به منظور کاهش این اثرات منفی، توسعه کودهای زیستی با حامل‌های بهبودیافته جدید به‌عنوان جایگزین‌های پیت نیاز است (سیوارام و همکاران، ۲۰۲۳). در تحقیقات متعدد از مواد مختلفی به عنوان حامل در فرمولاسیون کودهای زیستی استفاده شده است (جدول ۲).

جدول ۲ - برخی از کودهای زیستی مبتنی بر حامل به همراه اثرات سودمند آنها بر روی محصولات مختلف.

ردیف	حامل و افزودنی	میکروب	گیاه	اثرات	منبع
۱	باگاس، خاک اره، پودر پوست موز	*باسیلوس سافنسیس* SCAL1	ذرت	پارامترهای فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانی	خان (۲۰۲۳)
۲	خاکستر پوسته برنج استریل شده و خاک آبرفتی (۱:۲)	*ازتوباکتر، ریزوبیوم، ترکودرما*	کدو	افزایش توسعه ریشه و عملکرد گیاه	اکتر و همکاران (۲۰۲۳)
۳	باگاس+پرلیت	*باسیلوس لیچنی فورمیس* و *پانتوبا دیسپرسا*	برنج	افزایش فسفر اندام هوایی به ترتیب ۱۵۳/۴درصد و ۱۰۶/۸ درصد و عملکرد دانه به ترتیب ۸۴/۵ درصد و ۷۴/۳۹ درصد.	راوات و همکاران (۲۰۲۲)
۴	پودر پوسته نارگیل	*سودوموناس اوریزاهابیتانز* LSE-3، *برادی ریزوبیوم* LSBR-3	سویا	افزایش عملکرد دانه و میزان فسفر به ترتیب ۱۰/۸۵ درصد و ۱۱/۳ درصد.	کوماوات و همکاران (۲۰۲۲)
۵	پیت+ کائولن+سنگ فسفات	*ریزوبیوم* و *ازتوباکتر*	سویا	افزایش تعداد غلاف‌های پر شده و وزن دانه سویا	اکسانی و همکاران (۲۰۲۱)
۶	پیت+ پرلیت	*ازتوباکتر کروکوکوم* و *ازتوباکتر وینلندی*	ذرت	افزایش طول ساقه و ریشه، تعداد برگ و ریشه، میزان کلروفیل ذرت	جین و همکاران (۲۰۲۱)
۷	بیوجار+پیت	*اسینتوباکتر پیتی* gp-1	سویا	افزایش فسفر اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۸۰/۳۵ درصد و ۲۶۱/۳ درصد و وزن خشک کل ۴۳۱/۵ درصد.	هی و وان (۲۰۲۱).
۸	تالک + کربوکسی متیل سلولز (CMC)	*باسیلوس، سودوموناس پوتیدا، سودوموناس جسینی* MP1	لوبیا چشم بلبلی، بامیه، خیار، کاهو، نخود	بهبود جوانه زنی بذر و رشد گیاه، افزایش بقای میکروبی، افزایش فراهمی زیستی مواد مغذی خاک	بشیر و همکاران (۲۰۱۹)؛ جوشی و همکاران (۲۰۱۹)
۹	ورمی‌کمپوست، پرلیت و خاک فسفات	*سودوموناس فلوئورسنس*	ذرت	افزایش سبزینگی، ارتفاع، فسفر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه	شریعتی و همکاران (۱۳۹۸)
۱۰	پیت + شکر	*آزوسپیریلوم برازیلنس*	گندم	افزایش رشد گیاه	پیسینین و همکاران (۲۰۱۳)

۱۱	کربوکسی متیل سلولز/نشاسته ذرت + اکسید منیزیم	*آزوسپیریلوم آمازونس، گلوکون استوباکتر دیازوتروفیکاس*	نیشکر	افزایش ماندگاری باکتری‌ها، افزایش کلونیزاسیون	داسیلوا و همکاران (۲۰۱۲)
۱۲	خاک اره + کربوکسی متیل سلولز	*انسیفر ملیلوتی، برادیریزوبیوم*	لوبیا مخملی[۵]	افزایش گره زایی، افزایش ماندگاری میکروب	عرون و همکاران (۲۰۱۲)
۱۳	تالک + صمغ زانتان	پنی باسیلوس *آلوی*[۶]	پنبه	بهبود رشد گیاه، کاهش بیماری ناشی از Thielaviopsis Basicola	شوینا و همکاران (۲۰۱۱)
۱۴	امولسیون روغن کانولا	*سینوریزوبیوم ملیلوتی*	یونجه	افزایش بقای میکروب، افزایش گره زایی	جان و همکاران (۲۰۱۱)
۱۵	تالک	*سودوموناس فلورسنس*	برنج	بهبود جذب مواد مغذی گیاه و تحریک رشد آن، کاهش بیماری در گیاه	ساراواناکومار و همکاران (۲۰۰۷)
۱۶	تالک + کیتین	*سودوموناس فلورسنس*	ماش	تحریک رشد گیاه	ساراواناکومار و همکاران (۲۰۰۷)
۱۷	اگزالیک اسید صنعتی	*برادی ریزوبیوم جاپانیکوم*	سویا	بهبود رشد و گره‌زایی گیاه، افزایش ماندگاری میکروب	رباح و همکاران (۲۰۰۷)
۱۸	خاک رسی + کروبوکسی متیل سلولز / صمغ عربی	*برادی ریزوبیوم جاپانیکوم، باسیلوس مگاتریوم*	سویا	افزایش بقای میکروب، بهبود رشد گیاه،	آلباردا و همکاران (۲۰۰۸)
۱۹	آلژینات + اسید هیومیک	*سودوموناس پوتیدا، باسیلوس سوبتیلیس*	کاهو[۷]	افزایش رشد و عملکرد گیاه	رخا و همکاران (۲۰۰۷)
۲۰	خاک رسی + گوگرد عنصری	*تیوباسیلوس، ریزوبیوم*	بادام زمینی	افزایش رشد و گره‌زایی گیاه	آناندام و همکاران (۲۰۰۷)
۲۱	پیت + ورمیکولیت	کنسرسیوم ۶ باکتری محرک رشد گیاه	خربزه	بهبود رشد گیاه، افزایش تحمل گیاه در برابر بیماری	کوکالیس–بورل و همکاران (۲۰۰۳)
۲۲	پیت + کیتین + میسلیوم A. niger	*باسیلوس، کلبسیلا*	بادام زمینی، لوبیای سودانی[۸]	افزایش درصد جوانه زنی بذر، بهبود سرعت تکثیر، افزایش تحمل در برابر بیماری	مانجولا و پودیله (۲۰۰۱)
۲۳	پرلیت + صمغ عربی	*ریزوبیوم لگومینوزارم، باسیلوس مگاتریوم*	سویا	افزایش ماندگاری میکروب در دمای پایین	دازا و همکاران (۲۰۰۰)
۲۴	خاک فسفات + گوگرد + باگاس	*سودوموناس* C16-2O و *انتروباکتر* S16-3	ذرت (سینگل‌گراس ۷۰۴)	بهبود وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، شاخص کلروفیل، افزایش مقدار و جذب فسفر ریشه و بخش هوایی	ساریخانی و همکاران (۱۳۹۶)
۲۵	باگاس+ پرلیت	*اسینتوباکتر کلسیترانس* و *اگروماپسیس ایتالیکاس*	ذرت (S.C. 704)	افزایش جذب روی در بخش هوایی و ریشه ذرت	خوشرو و همکاران (۱۴۰۱)

کارآیی مایه تلقیح‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد که شامل فاز رشد میکروب‌ها، دمای ذخیره‌سازی و سرعت خشک شدن یا از دست دادن آب هستند (شکل ۲). فاز رشد میکروب مایه‌تلقیح می‌تواند شامل فرم فعال یا غیرفعال مانند اسپورها و یا کیست‌های گونه‌های مختلف باشد. این عامل به طور قابل توجهی بر بقا و کارآیی مایه تلقیح تأثیر می‌گذارد.

[۵] Mucuna pruriens

[۶] Paenibacillus alvei

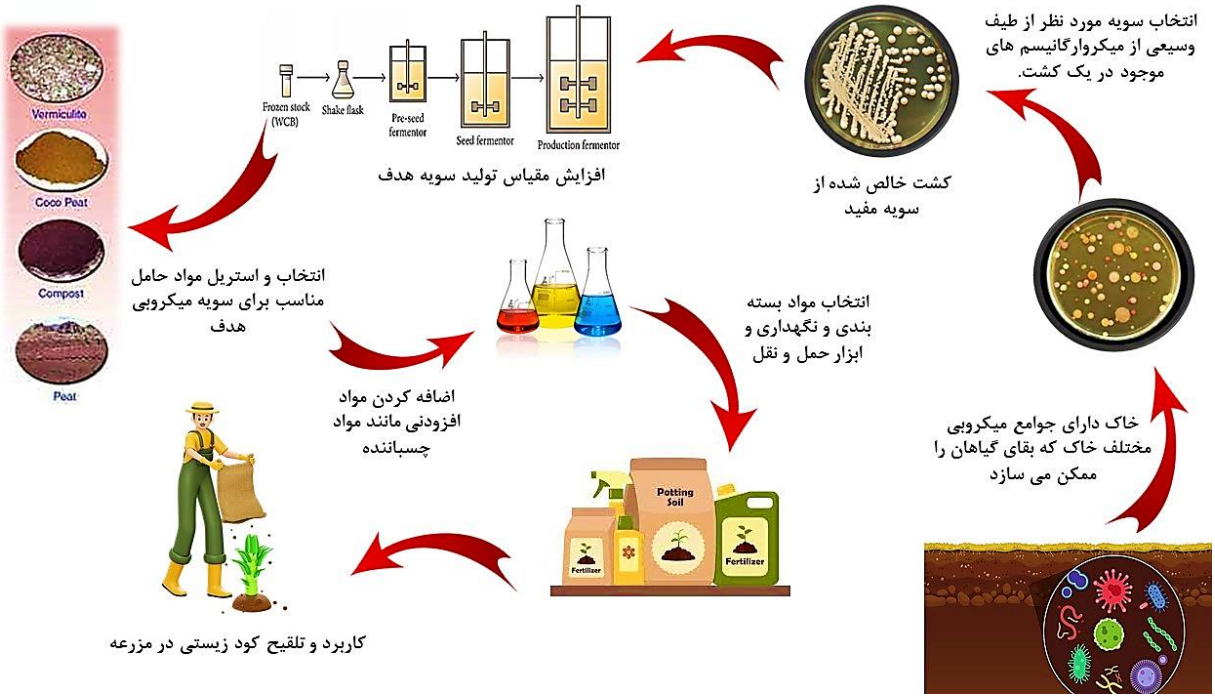
[۷] Lectuca sativa

[۸] Pigeon pea

یک عامل مهم در اجزای مایه‌تلقیح‌ها، درصد رطوبت حامل است برای مثال پیت غیراستریل برای ریزوبیوم‌ها تحت شرایط رطوبت بالا اثرات منفی بیشتری نسبت به پیت استریل دارد. به طوریکه محدوده رطوبتی برای پیت غیراستریل ۴۰٪ تا ۵۰٪ بوده ولی برای پیت استریل، رطوبت ۶۰٪ مناسب است. در مورد بسته‌بندی مایه تلقیح ها، معمولاً مواد پلی‌اتیلنی با چگالی بالا به کار می‌روند زیرا تبادل گاز و ورود اکسیژن را تسهیل کرده و از تلفات دی اکسیدکربن جلوگیری می‌کنند. این مواد همچنین تحت تأثیر اشعه‌های گاما قرار نمی‌گیرند (لو و همکاران، ۲۰۰۳). علیرغم اینکه حامل‌های استریل مزایای بیشتری نسبت به حامل‌های غیراستریل دارند، ولی فرآیند تولید آن‌ها هزینه‌برتر است. استریلیزاسیون برای کنترل آلودگی‌های میکروبی ضروری است و می‌تواند از طریق تابش گاما یا روش‌های اتوکلاو کردن انجام شود.

شکل ۲- عوامل تاثیرگذار بر کیفیت کودهای زیستی

تولید کودهای زیستی شامل یک فرآیند دقیق و گام به گام است که طی آن یک یا چند ریزجاندار مفید در یک محیط حامل خاص، همراه با افزودنی‌هایی مانند عوامل چسبنده (که به ذخیره‌سازی و حمل و نقل کمک می‌کنند) قرار می گیرد. شکل ۳ شماتیکی از کل فرآیند تهیه کودهای زیستی را ارائه می‌دهد. از آنجایی که مایه تلقیح‌ها پس از تولید، نیاز به نگهداری طولانی مدت دارند لذا ریزجانداران باید یا ذاتاً مقاوم باشند یا به اندازه کافی محافظت شوند تا بقای آن‌ها در تعداد زیاد حتی در شرایط نامساعد تضمین شود. یک کود زیستی با کیفیت به میکروب‌ها اجازه می‌دهد که در خاک پایدار باقی بمانند و به این ترتیب فعالیت آن‌ها را افزایش داده و با ایجاد شرایط بهینه، حداکثر مزایا را فراهم می‌کنند (حسن و بانو، ۲۰۱۶).



شکل ۳- نمایی از فرآیند کلی تولید کودهای زیستی

اجزای کود زیستی

سویه میکروبی

کودهای زیستی حاوی انواع مختلفی از موجودات میکروسکوپی[۹] هستند که کاربرد تجاری دارند، این ریزجانداران شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و اکتینومیست‌ها می‌باشند که عملکردهای مختلف و متفاوتی مانند تثبیت نیتروژن یا محلول کردن عناصر غذایی مختلف خاک و غیره از خود نشان می‌دهند (دینش کومار و همکاران، ۲۰۱۸). سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این کودها به عنوان ریزجانداران محرک رشد گیاه (PGPMs[۱۰]) شناخته می‌شوند.

انتخاب PGPMs برای کودهای زیستی بستگی به نوع محصول، شرایط محیطی و خصوصیات زمین (مزرعه) هدف دارد. سویه‌های باکتریایی نقش مهمی در اکوسیستم‌های خاکی ایفا می‌کنند. خاک به طور طبیعی شامل مجموعه‌های متنوعی از جوامع باکتریایی است که برخی از آن‌ها می‌توانند برای رشد گیاهان، موثر و مفید باشند (علیخانی و همکاران، ۱۴۰۱). ریشه‌های فعال گیاه، موادی را از خود ترشح می‌کنند که باکتری‌ها را جذب کرده و باعث ایجاد ارتباطی میان آن‌ها و امکان استفاده از توانایی‌های آنها در بهبود دسترسی به عناصر غذایی در منطقه ریشه می‌شود (احمد و خان، ۲۰۱۲). باکتری‌ها همچنین موادی مانند اسید ایندول-۳- استیک (IAA[۱۱]) را ترشح می‌کنند که به رشد ریشه و گیاه کمک می‌کند. این مواد همچنین مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های

[۹] Bio inoculants

[۱۰] Plant growth-promoting microorganisms

[۱۱] Indole-3-acetic acid

غیرزیستی و زیستی گیاهی را بهبود می‌بخشند (المریک و نیوتن، ۲۰۰۷؛ یائو و همکاران، ۲۰۱۰؛ کی و همکاران، ۲۰۱۶؛ خوشرو و همکاران، ۲۰۲۰).

انتخاب ریزجاندارانی که در کودهای زیستی به کار گرفته می‌شوند، از اهمیت بالایی برخوردار است. ریزجاندارانی که در رقابت با جمعیت‌های بومی موجود در خاک، کارآمد و کارا باشند، بسیار مهم هستند (خسروی و همکاران، ۲۰۲۴). سویه‌های مورد استفاده برای تلقیح، اعم از باکتری، قارچ یا سایر میکروب‌ها، باید ویژگی‌هایی نظیر ثبات ژنتیکی، قابلیت ایجاد اثرات مثبت روی محصولات هدف، توانایی در رقابت با جمعیت‌های محلی، قابلیت انتقال به میزبان و ماندگاری مناسب در خاک (حتی در نبود گیاه میزبان) را داشته باشند. ترجیحاً به جای استفاده از یک سویه از ترکیب سویه‌ها استفاده می‌شود، زیرا هر دو سویه باید با هم سازگار باشند تا یک تلقیح کارآمد تشکیل دهند. مطالعات اخیر استفاده از انواع مختلف سویه‌ها در فرمولاسیون کودهای زیستی را مورد تاکید قرار داده‌اند. همچنین در فرآیند تولید، سویه‌ها باید قادر به رشد در محیط‌های مصنوعی باشند (به جز AMF که بدون وجود گیاه میزبان قادر به رشد نیست)، در طول فرآیندهای انکوباسیون یا ذخیره‌سازی و همچنین روی بذرها و در خاک توانایی سازگاری و رشد را داشته باشند. باید با مواد شیمیایی کشاورزی که ممکن است روی بذرها استفاده میشوند نیز سازگار باشند (هریج، ۲۰۰۸). بسیار مهم است که میکروب‌های زنده بتوانند در برابر فرآیندهای متفاوت در طول تولید مقاومت کنند و خصوصیات کاربردی خود را حفظ نمایند (زاویر و همکاران، ۲۰۰۴).

موفقیت کودهای زیستی به دو عامل کلیدی نوع سویه میکروبی مورد استفاده و اجزای مایه تلقیح بستگی دارد. اجزای مورد استفاده در کودهای زیستی نقش مهمی در تعیین موفقیت بالقوه آنها ایفا می‌کند. توسعه یک کود زیستی موفق شامل انتخاب سویه مناسب و کارآمد، انتخاب حامل مناسب برای تلقیح‌های مبتنی بر حامل و اجرای یک فرمولاسیون موثر است (آرورا و همکاران، ۲۰۱۱).

کنسرسیوم میکروبی

کنسرسیوم میکروبی مجموعه‌ای از ریزجانداران است که به صورت هماهنگ با یکدیگر زندگی و فعالیت می‌کنند. برای رسیدن به یک کنسرسیوم میکروبی، ابتدا باید هدف مشخص شود که می‌تواند شامل تجزیه مواد آلی، تولید مواد زیستی، بهبود خاک، درمان بیماری‌ها و یا سایر اهداف باشد. سپس ریزجاندارانی که بر اساس توانایی‌های خاصشان انتخاب شده‌اند، از محیط‌های مختلف مانند خاک، آب، گیاهان و یا بدن موجودات زنده جمع‌آوری می‌شوند (هرناندز-آلوارز و همکاران، ۲۰۲۳). این نمونه‌ها بر روی محیط‌های کشت مناسب کشت داده شده و کلنی‌های مختلف رشد می‌کنند. کلنی‌ها بر اساس ویژگی‌های ظاهری و یا عملکردی جداسازی و با استفاده از تکنیک‌های مولکولی مانند PCR و توالی‌یابی ژنتیکی شناسایی می‌شوند. سپس ریزجانداران انتخاب شده در شرایط آزمایشگاهی با یکدیگر مخلوط می‌شوند تا هماهنگی و توانایی هم‌زیستی آنها بررسی شود (سینیواساگان و بابالوآ، ۲۰۲۱). شرایط محیطی مانند pH، دما، رطوبت و مواد غذایی بهینه‌سازی می‌شوند تا کنسرسیوم میکروبی به بهترین شکل عمل کند. عملکرد کنسرسیوم در شرایط مختلف آزمایش می‌شود تا کارایی و پایداری آن مورد ارزیابی قرار گیرد. انتخاب باکتری‌ها برای تهیه کنسرسیوم باید بر اساس تنوع ژنتیکی، توانایی‌های مکمل، هم‌زیستی، تحمل شرایط محیطی، تولید مواد مفید و استفاده از منابع مشترک صورت گیرد (اودوه و همکاران، ۲۰۲۰). باکتری‌هایی که توانایی‌های مکمل دارند می‌توانند به صورت هماهنگ با یکدیگر عمل کنند و باکتری‌هایی که توانایی هم‌زیستی دارند باید انتخاب شوند. تحمل به شرایط

محیطی و توانایی تولید مواد مفید نیز از دیگر معیارهای انتخاب باکتری‌ها برای کنسرسیوم می‌باشد (خان، ۲۰۲۲).

حامل در فرمولاسیون مایه‌تلقیح

خاک‌های خشک و نیمه‌خشک بیشتر مستعد شوری، تغییرات دما، کمبود مواد مغذی و کمبود آب هستند، که این موضوعات چالش‌های زیادی برای استفاده از مایه تلقیح‌ها ایجاد می‌کند (اگامبردیوا، ۲۰۰۷). مایه تلقیح‌های میکروبی با مشکلاتی همچون بقا و کلونیزاسیون در ریزوسفر مواجه هستند که در نهایت بر سلامت گیاه و بازده رشد تأثیر می‌گذارد (رخا و همکاران، ۲۰۰۷). کیفیت و عملکرد خاک‌های خشک به دلیل کمبود جمعیت و تنوع میکروبی، دچار مشکلاتی می‌شوند که منجر به کاهش توانایی در تامین مواد مغذی و مقابله با بیماری‌ها می‌شود (ون دایک و پروسر، ۲۰۰۰). با این وجود به لطف روش‌های تولید بهبودیافته و استفاده از حامل‌های مناسب، مایه تلقیح‌های زیستی می‌توانند در شرایط تنش‌زا نیز موثر باشند. این بدان معناست که حتی در محیط‌های نامساعد، ریزجانداران مفید می‌توانند زنده بمانند و به گیاهان کمک کنند تا با تنش‌ها بهتر مقابله کنند و رشد و توسعه یابند. این امر به افزایش بهره‌وری کشاورزی و پایداری سیستم‌های کشاورزی در مواجهه با چالش‌های محیطی کمک می‌کند (اگامبردیوا و همکاران، ۲۰۱۱).

حامل‌ها به عنوان واسطه‌ای برای تحویل ریزجانداران زنده از کارخانه به مزرعه عمل می‌کنند (باشان و همکاران، ۲۰۱۴). حامل، بخش عمده‌ای (از نظر حجمی و وزنی) از یک مایه تلقیح را شامل می‌شود و نقش مهمی در تضمین انتقال جمعیت مناسب سلول‌های زنده در شرایط مزرعه ایفا می کند. حامل‌ها از دو طریق فیزیکی و تغذیه‌ای که در مکانیسم اولی با ایجاد مکان‌های محافظ در داخل منافذ و در دومی با ایجاد شرایط تغذیه‌ای روی بستر کشت یک محیط حفاظتی موقت برای مایه تلقیح‌های میکروبی در خاک فراهم می‌کنند (آرورا، ۲۰۱۱).

انتخاب یک حامل خوب تأثیر زیادی بر شکل فیزیکی مایه تلقیح زیستی دارد و هیچ حاملی وجود ندارد که برای همه ریزجانداران مناسب باشد. مواد حامل از منابع مختلفی تهیه می‌شوند که می‌تواند آلی، معدنی یا سنتزی باشد. بر اساس منبع آنها، این مواد به دسته‌های مختلفی تقسیم می‌شوند. معمولاً در عمل از مخلوط حامل‌ها استفاده می‌شود که ترکیبی از دو یا چند نوع حامل می‌باشد. این مخلوط‌ها می‌توانند شامل ترکیب خاک، پیت، کمپوست، پوسته‌ها و بسیاری موارد دیگر باشند (هریج، ۲۰۰۸). در ادامه برخی از انواع مختلف حامل‌های رایج در تهیه کودهای زیستی ارائه شده است.

انواع حامل

حامل‌های آلی

حامل‌های آلی یا ارگانیک عمدتاً به دلیل منشاء طبیعی، قابلیت تجزیه‌پذیری و توانایی حمایت از حیات میکروبی، نقش مهمی در کودهای زیستی ایفا می‌کنند. این حامل‌ها محیطی مناسب برای رشد و نگهداری ریزجانداران مفید فراهم می‌کنند که باعث افزایش حاصلخیزی خاک و سلامت گیاهان می‌شوند. برخی از حامل‌های آلی معمولاً شامل پیت، کمپوست، زغال چوب، کود حیوانی، خاک اره، باگاس، پیت نارگیل، پوسته برنج و غیره هستند. هر یک از این مواد دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی هستند که به مناسب بودن آنها به عنوان حامل کمک می‌کند، مانند ظرفیت نگهداری آب بالا، هوادهی خوب، غنی بودن از مواد مغذی و توانایی حفظ سطح pH پایدار (ککمک، ۲۰۱۹). با این حال، اثربخشی آنها می‌تواند بسته به عواملی مانند محتوای مواد مغذی، اندازه ذرات و نیاز به استریلیزاسیون برای حذف ریزجانداران بومی متفاوت باشد. انتخاب یک حامل آلی مناسب شامل توازن ملاحظاتی از قبیل دسترسی، هزینه، سازگاری با سویه‌های میکروبی و تأثیرات زیست‌محیطی است (مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲).

پیت[۱۲] (زغال سنگ نارس)

پیت به طور گسترده به عنوان حامل برای مایه تلقیح های زیستی در سراسر جهان استفاده می‌شود. این ماده به دلیل توانایی حفاظت از باکتری‌ها و شرایط مغذی و محافظتی که دارد به‌خصوص برای تولید مایه‌تلقیح‌های لگوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (بنگاش و همکاران، ۲۰۲۱). پیت از تجزیه ناقص گیاهان در طی زمان طولانی تشکیل می‌شود و دارای ویژگی‌های مطلوبی نظیر مواد آلی بالا، غیرسمی بودن، ظرفیت بالای جذب و نگهداری آب، قابلیت استریل شدن آسان و اقتصادی بودن است. سطح ویژه زیاد پیت رشد زیاد باکتری‌ها را تسهیل می‌کند. باکتری‌ها در داخل آن از نظر متابولیکی فعال هستند و حتی در دوره نگهداری به رشد خود ادامه می‌دهند. هرچند فراوری پیت هزینه‌بر است، اما به دلیل دسترسی بالا و مزایای متعدد آن، همچنان به عنوان انتخاب اصلی برای مواد حامل در کشاورزی شناخته می‌شود (سینگ و همکاران، ۲۰۱۸).

روش‌های معمول برای آماده‌سازی مایه تلقیح‌ها، شامل تلقیح پیت خنثی و غیر استریل به عنوان حامل مورد استفاده است. در این روش، به هر گرم پیت $۱۰^{۷}$ واحد سلولی تشکیل‌دهنده (CFU) باکتری تلقیح می‌شود، که این تعداد برای دستیابی به کیفیت بالای مایه تلقیح کافی است (دینی و همکاران، ۲۰۲۲). با تلقیح حداقل $۱۰^{۴}$ CFU برای هر گرم از حامل، می‌توان مایه‌ای با تعداد زیادی از سلول‌های قابل تکثیر تولید کرد. در مایه تلقیح نهایی، رشد حداکثری باکتری‌ها تا چگالی $۱۰^{۸}$ الی $۱۰^{۹}$ CFU در هر گرم می‌تواند برای رقابت جدی با سایر آلودگی‌های حامل بسیار کمک‌کننده باشد (گراهام ویس و همکاران، ۱۹۸۷). برای آماده‌سازی حامل پیت، محصول برداشت‌شده از مزرعه، آسیاب و الک می‌شود تا مواد زبر و درشت آن حذف شود. سپس، محصول به آرامی خشک می‌شود تا به میزان ۵ درصد رطوبت برسد. مرحله خشک‌شدن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا فرآیند خشک کردن نامناسب ممکن است منجر به تولید سموم شود. ترجیحاً از هوا برای خشک کردن استفاده می‌شود تا از تولید سموم و آلودگی‌ها جلوگیری شود. در صورت استفاده از خشک‌کن، دما هرگز نباید از ۷۰ الی ۸۰ درجه سلسیوس بیشتر شود. پس از خشک‌شدن، پیت به اندازه کافی خرد و شکننده می‌شود تا از طریق غربال با اندازه ۲۵۰ میکرومتر عبور کند. pH با اضافه کردن آهک به عنوان اصلاح‌کننده حامل تنظیم می‌شود (زیرا پیت معمولاً اسیدی است). در مرحله بعد حامل استریل شده و سوسپانسیون حاوی میکروب با نسبت مناسب به آن اضافه می‌شود. برای کودهای زیستی باکتریایی با حامل پیت، رطوبت در محدوده ۴۰٪ تا ۵۵٪ قابل قبول است (تیتابوتر و همکاران، ۲۰۰۷؛ جوشی و همکاران، ۲۰۲۱). در نهایت، برای افزایش جمعیت باکتری‌ها، حامل تلقیح شده به مدت معینی انکوبه می‌شود. پیت همچنین می‌تواند به عنوان ماده حامل برای مایه تلقیح‌های حاوی قارچ‌های میکوریز (AMF[۱۳]) مورد استفاده قرار گیرد (سیف و همکاران، ۲۰۲۱).

علی‌رغم مزایای زیاد استفاده از پیت به عنوان حامل در فرمولاسیون کودهای زیستی، استفاده از آن دارای برخی معایب می‌باشد. برای مثال کیفیت پیت متغیر و وابسته به منبع آن است که روی اثربخشی نهایی مایه‌تلقیح‌ها تأثیر می‌گذارد و حتی در مراحل مختلف یک کارخانه تولیدی (توسط یک تولید کننده) نیز تفاوت وجود دارد (باشان و همکاران، ۲۰۱۴). در کشور هند پیت، تنها ۵۴ درصد کربن عالی دارد، این در حالی است که این رقم برای استرالیا ۶۵ درصد و برای آمریکا به ۸۶ درصد می رسد (ریلی و پیج، ۲۰۱۶). کودهای زیستی حاوی پیت اغلب دارای سطح آلودگی بالایی هستند

[۱۲] Peat

[۱۳] Arbuscular Mycorrhizal fungi

که عمر مفید میکروب را کاهش می‌دهد (فاجس، ۱۹۹۲؛ سیوارام و همکاران، ۲۰۲۳). پیت تحمل کمی به تغییرات دمایی دارد و هنگام استریل‌سازی با حرارت، ممکن است ترکیبات سمی آزاد کند. همچنین، پیت می‌تواند باعث کاهش رشد گیاه و ایجاد مشکلات در فرآیند آغشته‌سازی با بذر شود و دسترسی به آن نیز محدود به چند کشور است (زاید، ۲۰۱۶). با وجود معایب و مشکلات آن، محققان همچنان از پیت استفاده می‌کنند و با افزودن موادی مانند کیتین، پیروفیلیت[۱۴]، میسلیوم قارچ مانند *Aspergillus niger* و کمپوست ساخته شده از قارچ مانند *Agaricus bisporus*، اثربخشی کود زیستی را بهبود بخشیده و باعث افزایش رشد و بازدهی گیاهان شده‌اند (باشان و همکاران، ۲۰۱۴).

کمپوست

کمپوست به عنوان حامل در فرمولاسیون کودهای زیستی، یک محیط آلی غنی از مواد مغذی است که از حیات میکروبی حمایت کرده و سلامت خاک را بهبود می‌بخشد. کمپوست به واسطه دارا بودن عناصر مغذی ماکرو و میکرو، جمعیت میکروبی متنوعی را پرورش می‌دهد که بهبود چرخه مواد مغذی و ساختار خاک را تسهیل می‌کند. محتوای بالای مواد آلی آن به نگهداری آب و نفوذ ریشه کمک می‌کند، در حالی که ظرفیت بافر pH آن محیط پایداری را برای میکروب‌های مفید ایجاد می‌کند. با این حال، اثربخشی کمپوست به عنوان حامل به کنترل کیفیت آن بستگی دارد، از جمله اطمینان از رسیدگی، اندازه ذرات مناسب و محتوای رطوبت بهینه آن (هو و همکاران، ۲۰۱۶). مدیریت صحیح و در صورت لزوم استریلیزاسیون آن برای حفظ خواص مفید کود زیستی و اطمینان از قابل اعتماد بودن آن ضروری است (مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲).

کود حیوانی[۱۵]

کود حیوانی به عنوان حامل در کودهای زیستی، به دلیل محتوای غنی از مواد آلی و مغذی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم، محیطی مناسب برای رشد و فعالیت میکروب‌های مفید فراهم می‌کند. این کود با افزایش مواد آلی خاک، بهبود ساختار و ظرفیت نگهداری آب و هوا، به ارتقاء حاصلخیزی و سلامت خاک کمک می‌کند. اما برای استفاده موثر، کنترل کیفیت و جلوگیری از آلودگی‌های محیطی و بیماری‌زا ضروری است. فرآیندهای کمپوست‌سازی و استریلیزاسیون می‌توانند در بهینه‌سازی استفاده از کود حیوانی مؤثر باشند (گوندی و همکاران، ۲۰۱۸).

خاک‌اره[۱۶] (پودر چوب)

خاک‌اره به عنوان محصول جانبی صنعت چوب، می‌تواند نقش مهمی در تولید کودهای زیستی ایفا کند. این ماده به دلیل هزینه پایین، قابلیت تجزیه‌پذیری و توانایی بهبود ساختار خاک، انتخابی ایده‌آل برای کاربردهای کشاورزی است. این ماده زمانی که به عنوان حامل برای کشت‌های میکروبی مفید مانند باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و قارچ‌های میکوریزا به کار می‌رود، محیطی غنی از کربن فراهم می‌آورد که باعث تقویت فعالیت میکروبی و در نتیجه، رشد بهتر گیاه می‌شود (کائور و کائور، ۲۰۲۳). خاک‌اره می‌تواند با سایر مواد آلی ترکیب و کمپوست غنی از مواد مغذی تولید کند. اما مهم است که نسبت بالای کربن به نیتروژن در خاک‌اره به دقت مدیریت شود تا از کمبود نیتروژن جلوگیری شود. با ایجاد تعادل مناسب بین خاک‌اره و مواد غنی از نیتروژن و اطمینان از عدم وجود باقی‌مانده‌های شیمیایی، می توان به بهبود سلامت خاک و افزایش بهره‌وری کشاورزی دست یافت (استلا و سیواساکتیولان، ۲۰۰۹).

---

[۱۴] Pyrophyllite

[۱۵] Manure

[۱۶] Sawdust

باگاس[۱۷]

باگاس به عنوان بقایای فیبری باقی‌مانده پس از آبگیری نیشکر می‌باشد که دارای پتانسیل قابل‌توجهی به‌عنوان یک حامل در فرمولاسیون کودهای زیستی است. استفاده از آن نه تنها به مدیریت ضایعات کمک می‌کند، بلکه مزایای زراعی متعددی را نیز به همراه دارد. باگاس در مقادیر زیاد، به‌ویژه در مناطقی که نیشکر به‌طور گسترده کشت می‌شود، در دسترس است، بنابراین گزینه‌ای مقرون‌به‌صرفه برای تهیه کودهای زیستی است. این ماده آلی زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط‌زیست است، که به بازیافت زباله‌های کشاورزی و کاهش اثرات زیست‌محیطی کمک می‌کند. باگاس با ساختار فیبری و متخلخل خود سطح وسیعی را برای جذب و حفظ تلقیح‌های میکروبی فراهم می‌کند، که باعث افزایش کارایی کودهای زیستی می‌شود. ظرفیت بالای نگهداری رطوبت باگاس نیز برای حفظ زنده‌ماندن کشت‌های میکروبی بسیار مهم است. همچنین، باگاس حاوی مواد مغذی باقی‌مانده از گیاه نیشکر است که می‌تواند رشد ریزجانداران مورد استفاده در کودهای زیستی را تقویت کند. استفاده از باگاس می‌تواند ساختار خاک را با افزایش محتوای آلی و تهویه خاک بهبود بخشد که منجر به رشد بهتر ریشه و نفوذ آب می‌شود. سرعت تجزیه آهسته باگاس آزادسازی طولانی مدت مواد مغذی و فعالیت میکروبی پایدار در خاک را تضمین می‌کند و به حفظ سلامت خاک در درازمدت کمک می‌کند. استفاده از باگاس به‌عنوان حامل برای کودهای زیستی، به یک محصول جانبی کم‌ارزش، ارج داده و یک جریان درآمد اضافی برای صنعت شکر فراهم می‌کند، که با اصول اقتصاد دایره‌ای و کشاورزی پایدار همخوانی دارد (چاندرا و همکاران، ۲۰۱۴؛ کائور و کائور، ۲۰۲۳).

پیت نارگیل (کوکوپیت[۱۸])

پیت نارگیل که به نام کوکوپیت یا مغز نارگیل نیز شناخته می‌شود، ماده اسفنجی است که از پوسته نارگیل به دست می‌آید. به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد خود به عنوان یک حامل بسیار موثر برای کودهای زیستی ظاهر شده است. پیت نارگیل یک محصول جانبی صنعت نارگیل است که آن را به راحتی در مقادیر زیاد در دسترس قرار می‌دهد و به عنوان یک منبع تجدیدپذیر، تامین پایدار برای اهداف کشاورزی را تضمین می‌کند. این ماده دارای ظرفیت نگهداری آب بالایی است که به حفظ سطوح رطوبت ضروری برای بقا و فعالیت ریزجانداران مفید در کودهای زیستی کمک می‌کند و همچنین هوادهی خوبی را فراهم می کند، که از غرقابی جلوگیری کرده و اطمینان می‌دهد که ریشه‌ها اکسیژن کافی دریافت می‌کنند (کرومکاو و همکاران، ۲۰۲۳). پیت نارگیل معمولاً دارای pH خنثی است که آن را برای طیف وسیعی از گیاهان مناسب می‌کند و همچنین حاوی مواد مغذی ضروری مانند پتاسیم، آهن، منگنز، روی و مس است که می‌تواند رشد و فعالیت تلقیح‌های میکروبی را افزایش دهد. به عنوان یک ماده آلی زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست، استفاده از پیت نارگیل در کودهای زیستی از شیوه‌های کشاورزی پایدار حمایت می‌کند و اتکا به حامل‌های مصنوعی را کاهش می‌دهد. پیت نارگیل به طور طبیعی استریل و عاری از عوامل بیماری‌زا است که خطر ورود بیماری‌ها به خاک را کاهش می‌دهد و استفاده از آن می‌تواند پاتوژن‌های مضر موجود در خاک را سرکوب کرده و باعث رشد سالم‌تر گیاهان شود. ساختار پیت نارگیل از کلونیزاسیون و تکثیر ریزجانداران مفید مانند باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ‌های میکوریز حمایت می‌کند، که این فعالیت میکروبی افزایش یافته می

[۱۷] Bagasse

[۱۸] Cocopeat

تواند در دسترس بودن و جذب مواد مغذی توسط گیاهان را بهبود بخشد. پیت نارگیل سبک وزن است و حمل، جابجایی و استفاده از آن را در محیط‌های کشاورزی آسان می‌کند، که این سهولت استفاده می‌تواند هزینه‌های نیروی کار را کاهش داده و کارایی کاربرد کود زیستی را افزایش دهد. پیت نارگیل ماندگاری طولانی دارد که برای ذخیره و توزیع کودهای زیستی مفید است و می‌تواند خواص مفید خود را در دوره‌های طولانی حفظ کرده و از اثربخشی کودهای زیستی اطمینان حاصل کند (رای و نایاک، ۲۰۲۱).

سبوس گیاهان (گندم و برنج)

سبوس گندم غنی از مواد مغذی اساسی مانند پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (به ویژه ویتامین‌های گروه B) و مواد معدنی مانند منیزیم، فسفر و آهن است که می‌تواند پروفایل تغذیه‌ای کودهای زیستی را تقویت کند (استیونسون و همکاران، ۲۰۱۲). به طور مشابه، سبوس برنج دارای غلظت بالای مواد مغذی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها (به ویژه ویتامین E و ویتامین‌های گروهB) و مواد معدنی مانند فسفر و پتاسیم است که منبع غنی از مواد مغذی برای خاک و گیاهان فراهم می‌کند (ناگندرا و همکاران، ۲۰۱۱). سبوس هر دو گیاه دارای میزان بالای ماده آلی هستند که می‌تواند ساختار خاک را بهبود بخشد، میزان نگهداری آب را افزایش دهد و فعالیت میکروبی در خاک را تقویت کند (کیم و همکارانف ۲۰۰۹). هر دو سبوس تجزیه‌پذیر هستند، به این معنی که به طور طبیعی در خاک تجزیه می‌شوند و به ماده آلی و سلامتی کلی خاک کمک می‌کنند بدون اینکه باقی‌مانده‌های مضر به جا بگذارند. سبوس این گیاهان اغلب محصول جانبی فرآیند آسیاب هستند و نسبتاً ارزان هستند، که آنها را به گزینه‌ای مقرون‌به‌صرفه برای تولید کودهای زیستی تبدیل می‌کند.

سبوس گندم به دلیل حفظ آب و محتوای بالای مواد آلی به عنوان یک حامل بسیار مناسب برای رشد انبوه میکوریز خارجی[۱۹] و قارچ‌های حل‌کننده فسفات (PSF[۲۰]) استفاده شده است. اگر چه برخی از گونه‌های *باسیلوس* و *سودوموناس* که قادر به تجزیه سلولز هستند، براحتی روی این حامل تکثیر پیدا می‌کنند ولی برخی از قارچ‌های حل‌کننده فسفات به دلیل عدم توانایی تولید آنزیم سلولاز نمی‌توانند در این بستر تکثیر شوند (کوماری و رانی، ۲۰۲۴). عبدالفتاح و همکاران (۲۰۱۳) از شش ماده حامل مختلف برای تهیه مایه تلقیح جامد از ***Azotobacter chroococcum*** (A101) شامل پیت ماس، پیت ماس + ورمیکولیت، سبوس گندم، پوسته برنج، خاک رس و آلژینات سدیم استفاده کردند. آنها بقای ***A. chroococcum*** را روی حامل‌های مذکور به صورت ماهانه ارزیابی کردند. نتایج آنها نشان داد که در بین حامل‌های مختلف، سبوس گندم دارای بالاترین تراکم باکتری بود. کپسوله کردن با آلژینات نیز بالاترین پایداری و بقای ***A. chroococcum*** را تا ۶ ماه فراهم کرد.

بیوچار[۲۱](زغال چوب)

بیوچار نوعی زغال است که از تجزیه مواد آلی تحت دمای بالا و با مقدار محدودی اکسیژن، طی فرآیندی به نام پیرولیز تولید می‌شود. بیوچار به دلیل کاربردهای خاص خود در اصلاح خاک از زغال متمایز می‌شود. بیوچار علاوه بر بهبود حاصلخیزی خاک، برای خدمات اکوسیستمی مانند ذخیره‌سازی کربن که به کاهش تغییرات اقلیمی کمک می‌کند، نیز اهمیت دارد (ساهو و برهماپرکاش، ۲۰۱۶). با این حال، گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد بیوچار می‌تواند

[۱۹] Ectomycorhizae

[۲۰] Phosphate-solubilizing fungi

[۲۱] Biochar

جامعه زیستی خاک را تغییر دهد (لهمان، ۲۰۰۷). اگر بخواهیم بیوچار را در مقیاس بزرگ برای ذخیره‌سازی کربن تهیه کنیم، می‌توانیم از آن به عنوان حامل ریزجانداران محرک رشد گیاه (PGPR) برای انتقال آنها به زمین‌های کشاورزی استفاده کنیم. به همین دلیل، بیوچار به عنوان یک ماده حامل مناسب، جایگزین حامل‌های کمیاب، گران‌قیمت، غیرقابل تجدید و تشدیدکننده گازهای گلخانه‌ای است (هیل و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین، بیوچار دارای سطح ویژه داخلی زیاد با فضای منافذ ۲ تا ۲۰ میکرومتری است که محیطی محافظت شده برای رشد میکروب‌ها فراهم می‌کند. فرآیند تولید، آن را به یک محیط پیش‌استریلیزه تبدیل می‌کند که می‌تواند مواد مغذی و عوامل رشد را جذب کند (بنگاش و همکاران، ۲۰۲۱).

تحقیقات گلاسر (۲۰۰۷) نشان داده است که استفاده از بیوچار در تهیه مایه‌تلقیح‌های باکتریایی منجر به افزایش عملکرد و تولید گیاهان ماش می‌شود. در یک مطالعه اخیر در مورد کودهای زیستی مبتنی بر حامل بیوچار از دو منبع مجزا (پوست نارگیل و چوب آکاسیا) برای باکتری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* استفاده شد و عملکرد آن با لینگیت مقایسه گردید. میانگین جمعیت باکتری حامل از منبع پوست نارگیل در ۱۸۰ روز پس از تلقیح 10^{7} CFU g^{-1} بود. شاخص سرعت جوانه زنی ماش نیز در بیوچار مبتنی بر نارگیل[۲۲] بالا بود. ماندگاری *آزوسپیریلوم لیپوفروم* نیز در مدت ۶ ماه ذخیره‌سازی در مقایسه با بیوچار چوب آکاسیا و لینگیت افزایش یافته بود.

آلژینات[۲۳]

آلژینات یک پلیمر طبیعی موجود است که به عنوان ماده‌ای برای کودهای زیستی محصور در پلیمر انتخاب می‌شود و در حال حاضر مورد کاربرد و استفاده قرار می‌گیرد. این ماده به مقدار کافی از جلبک‌های دریایی و نیز چندین باکتری به دست می‌آید (یابور و همکاران، ۲۰۰۷). فرمولاسیون‌های مبتنی بر آلژینات، ماندگاری تلقیح‌های میکروبی را افزایش می‌دهند و در در دماهای بالا (تا دمای ۴۰ درجه سلسیوس) نیز از میزان بالای جمعیت میکروبی حمایت می‌کنند. چندین مایه تلقیح مبتنی بر آلژینات برای موجودات مختلف و مطالعات آن‌ها برای اهداف کشاورزی انجام شده است. نتایج نشان داده‌اند که کودهای زیستی محصور در پلیمر، نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها برتری دارند، مانند کودهای پلیمری AMF، اکتومیکوریزا و بسیاری از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (سیف و همکاران، ۲۰۲۱؛ بهل و همکاران، ۲۰۲۴). PGPMها (ریزجانداران محرک رشد گیاه) می‌توانند برای مدت زمان بسیار طولانی درون ماده پلیمری آلژینات زنده بمانند. دانه‌های آلژینات به دلیل فعالیت کمتر آب نسبت به سایر مواد پلیمری برتر هستند، زیرا میکروب‌های هدف در فعالیت متابولیکی پایین باقی می‌مانند و سپس زمانی که رطوبت موجود است، که معمولاً همزمان با جوانه‌زنی بذر است، به خاک آزاد می‌شوند (کاماس و همکاران، ۲۰۲۳).

تلقیح میدانی کودهای زیستی مبتنی بر آلژینات نشان می‌دهد که در مقایسه با دیگر کودهای مبتنی بر حامل، میزان ماندگاری قابل قبول و بالایی از ریزجانداران دارد (فاسوسی و همکاران، ۲۰۲۱). در یک مطالعه برای کلونیزه کردن ریشه از طریق میکروب‌های مفید هدف که با تکنیک کپسوله کردن با ماده پلیمری تهیه شده بودند نسبت به تلقیح مستقیم همان میکروب برای محصول گندم نتایج بسیار کارآمدی بدست آمده است (جان و همکاران، ۲۰۱۱).

کودهای زیستی مبتنی بر آلژینات ویژگی‌های منحصربه‌فردی دارند که آن‌ها را به یک انتخاب برتر برای

[۲۲] Coconut-based biochar

[۲۳] Alginate

تلقیح گیاهان تبدیل کرده است. این محصولات به راحتی قابل استفاده هستند و به دلیل یکنواختی و قابل تجزیه بودن، از لحاظ محیطی بسیار مطلوب هستند. ماهیت غیرسمی، توانایی نگهداری جمعیت بالای باکتری‌ها و آزادسازی کُند و مداوم آن‌ها و عدم ایجاد آلودگی زیست‌محیطی از دیگر ویژگی‌های مهم آن‌ها به شمار می‌رود (اسکوبیتز و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، ویژگی‌های زیستی آلژینات وابسته به ویژگی‌های شیمیایی آن بوده و باعث می‌شود که اندازه منافذ و سرعت آزادسازی آن به راحتی قابل کنترل باشد (سای و همکاران، ۲۰۲۴). با دانه‌هایی که بدون تأثیر منفی بر جمعیت باکتری‌ها، در اندازه میکرو قابل تهیه هستند، می‌توان برنامه‌ریزی دقیقی برای استفاده از آن‌ها داشت. تلقیح میکروب‌های هدف از طریق دانه‌ها در گیاهان باعث افزایش بهره‌وری و عملکرد گیاهان می‌شود (لای و همکاران، ۲۰۲۴). فرمولاسیون‌های مبتنی بر آلژینات دارای مزایای چشمگیری مانند سهولت در تولید و استفاده، ایجاد محیط مطلوب برای رشد و بقای باکتری‌ها در شرایط مختلف محیطی، حفظ طولانی‌مدت جمعیت میکروبی و یکنواختی در کیفیت دانه‌ها هستند. این فرمولاسیون‌ها به عنوان یک پوشش موقت در برابر شرایط استرسی محیطی عمل کرده و میکروب‌ها را به طور مداوم و به کندی آزاد می‌کنند تا ریشه‌های گیاهان را کلونیزه کنند. با این حال برخی محدودیت‌هایی نیز مانند هزینه بالاتر مواد پلیمری نسبت به حامل‌های جامد دیگر، کاهش ماندگاری میکروب هدف به دلیل کمبود اکسیژن یا تأثیرات منفی ترکیبات میکروبی تولید شده نیز ممکن است وجود داشته باشد که می‌تواند موجب کاهش عملکرد این کودهای زیستی شود (اپاداری و همکاران، ۲۰۱۷).

حامل‌های معدنی

پرلیت

پرلیت یک ماده معدنی آتشفشانی است که پس از حرارت دادن و انبساط، به یک ماده سبک و متخلخل تبدیل می‌شود. این ویژگی‌ها باعث شده است که پرلیت به عنوان حامل در فرمولاسیون کودهای زیستی مورد استفاده قرار گیرد (کائور و کائور، ۲۰۲۳). پرلیت به علت ویژگی‌های منحصر به فرد خود، کاربردهای متنوعی در کشاورزی و باغبانی دارد. این ماده دارای مزایای متعددی است. اول) وزن سبک: پرلیت پس از انبساط، بسیار سبک شده که حمل و نقل و استفاده آن را آسان می‌کند. این خاصیت به ویژه در زمان حمل و نقل به زمین‌های کشاورزی با دسترسی دشوار بسیار کاربردی است. دوم) تهویه مناسب: ساختار متخلخل پرلیت باعث تهویه مناسب خاک و ریشه گیاهان می‌شود. این امر برای رشد بهینه ریشه‌ها و جلوگیری از تراکم خاک بسیار مهم است. سوم) قابلیت نگهداری آب: پرلیت می‌تواند مقدار زیادی آب را جذب و نگهداری کند که به حفظ رطوبت خاک کمک می‌کند. این ویژگی به ویژه در مناطق خشک و کم‌آب بسیار اهمیت دارد (پراسانا و همکاران، ۲۰۲۰).

از دیگر مزایای پرلیت، خنثی بودن آن است؛ پرلیت به دلیل فرآیند حرارتی که طی می‌کند، عاری از آلودگی‌های میکروبی و بیماری‌زا است. این خاصیت باعث می‌شود که پرلیت به عنوان یک محیط غیر سمی و مناسب برای رشد گیاهان استفاده شود. همچنین، پایداری شیمیایی پرلیت بسیار بالا است و با مواد مغذی و کودها واکنش نمی‌دهد. این ویژگی اطمینان می‌دهد که مواد مغذی به صورت مؤثر به گیاهان منتقل می‌شوند. قابلیت ترکیب با مواد دیگر نیز از مزایای مهم پرلیت است که به راحتی با سایر مواد مغذی و زیستی ترکیب می‌شود. در نهایت، کاهش تراکم خاک از دیگر مزایای استفاده از پرلیت است که جریان هوا و آب را در خاک بهبود می‌بخشد. این امر به جلوگیری از پوسیدگی ریشه‌ها کمک می‌کند و رشد سالم گیاهان را تضمین می‌کند (پراسانا و همکاران، ۲۰۲۰؛ مفتاح کدمیری و همکاران، ۲۰۲۱؛ کائور و کائور، ۲۰۲۳).

با وجود مزایای متعدد، پرلیت دارای معایبی نیز هست. هزینه تولید، فرآیند حرارت دادن و انبساط پرلیت هزینه‌بر است. این هزینه‌ها ممکن است باعث افزایش قیمت نهایی محصول شود، که برای کشاورزان و تولیدکنندگان می‌تواند یک عامل محدودکننده باشد. همچنین، احتمال خرد شدن پرلیت به دلیل ساختار شکننده آن ممکن است در طی حمل و نقل یا استفاده خرد شود. این مشکل می‌تواند به کاهش کارایی پرلیت و نیاز به تعویض مکرر منجر شود. یکی دیگر از معایب پرلیت، عدم تامین مواد مغذی است؛ پرلیت خود به تنهایی مواد مغذی برای گیاهان فراهم نمی‌کند و باید به همراه کودهای دیگر استفاده شود. بنابراین، برای دستیابی به بهترین نتایج، باید از ترکیب پرلیت با کودهای مناسب استفاده کرد. استخراج پرلیت از معادن نیز ممکن است تأثیرات زیست‌محیطی داشته باشد. فعالیت‌های معدنی می‌تواند به تخریب زمین‌های طبیعی و از دست رفتن زیست‌گاه‌های حیوانی منجر شود. در نهایت، استفاده از پرلیت نیاز به مدیریت دقیق دارد تا از تجمع بیش از حد آب یا تهویه نامناسب جلوگیری شود. این مدیریت دقیق نیازمند دانش و تجربه است که ممکن است در دسترس همه کشاورزان نباشد (گوپی و همکاران، ۲۰۲۰).

لیگنیت

لیگنیت که معمولاً به عنوان "زغال‌سنگ قهوه‌ای[۲۴]" شناخته می‌شود، نوعی زغال‌سنگ است که در بخش کشاورزی به ویژه در تولید کودهای زیستی اهمیت زیادی دارد. این سنگ رسوبی-آلی که مرحله‌ای میانی بین پیت و زغال‌سنگ قیری[۲۵] است، غنی از مواد هومیک بوده و به همین دلیل منبعی ارزشمند برای بهبود سلامت و باروری خاک به شمار می‌آید (استلا و سیوایاکتیولان، ۲۰۰۹). یکی از دلایل اصلی که لیگنیت در کودهای زیستی کاربرد دارد، ساختار متخلخل و ظرفیت تبادل کاتیونی بالای آن است. این ویژگی منحصر به فرد به لیگنیت اجازه می‌دهد تا به عنوان یک حامل مؤثر مواد مغذی عمل کند. لیگنیت می‌تواند مواد مغذی ضروری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم را جذب و نگهداری کرده و به تدریج آن‌ها را در طول زمان آزاد کند. این مکانیزم آزادسازی تدریجی اطمینان می‌دهد که گیاهان به طور مداوم مواد مغذی مورد نیاز خود را دریافت کنند که برای رشد و توسعه آن‌ها بسیار حیاتی است. برخلاف کودهای شیمیایی که می‌توانند منجر به آبشویی مواد مغذی و آلودگی محیط‌زیست شوند، کودهای مبتنی بر لیگنیت جایگزینی پایدارتر و دوستدار محیط‌زیست ارائه می‌دهند (کولکارنی و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر تحویل مواد مغذی و حمایت میکروبی، لیگنیت به عنوان یک اصلاح‌کننده عالی خاک عمل می‌کند. اضافه کردن لیگنیت به خاک می‌تواند به طور قابل توجهی ساختار خاک را بهبود بخشد و آن را نرم‌تر و راحت‌تر برای کار کردن کند. بهبود ساختار خاک تهویه و نفوذ ریشه را افزایش می‌دهد که برای رشد قوی گیاهان ضروری است. لیگنیت همچنین ظرفیت نگهداری آب در خاک را افزایش می‌دهد و از خشک شدن گیاهان در دوره‌های خشک جلوگیری می‌کند. این ویژگی به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک که کمبود آب یک چالش رایج است، بسیار مفید است (تریپاتی و همکاران، ۲۰۲۳). لیگنیت همچنین به تشکیل هوموس که یک جزء آلی پایدار خاک است، کمک می‌کند. هوموس برای حفظ سلامت خاک بسیار مهم است زیرا ساختار خاک را بهبود می‌بخشد، دسترسی به مواد مغذی را افزایش می‌دهد و ظرفیت نگهداری آب را افزایش می‌دهد. حضور هوموس در خاک توسعه بهتر ریشه را ترویج می‌دهد که به نوبه خود منجر به گیاهان سالم‌تر و مقاوم‌تر می‌شود (تریپاتی و همکاران، ۲۰۲۳). از دیگر مزایای قابل توجه

[۲۴] Brown coal

[۲۵] Bituminous coal

استفاده از لیگنیت در کودهای زیستی، هزینه پایین و دسترسی گسترده آن است. رسوبات لیگنیت در مناطق مختلف جهان یافت می‌شوند و آن را به منابعی قابل دسترس برای بسیاری از کشاورزان تبدیل می‌کنند. مقرون به صرفه بودن آن نسبت به کودهای شیمیایی، به ویژه برای کشاورزان کوچک‌مقیاس و با منابع محدود، گزینه‌ی جذابی ارائه می‌دهد. استفاده از لیگنیت همچنین می‌تواند وابستگی به کودهای شیمیایی را کاهش دهد که اغلب با اثرات منفی زیست‌محیطی مانند تخریب خاک، آلودگی آب و انتشار گازهای گلخانه‌ای همراه است (چاکرابرورتی و اختر، ۲۰۲۱).

تنوع لیگنیت فراتر از استفاده مستقیم آن به عنوان اصلاح‌کننده خاک است. لیگنیت می‌تواند در اشکال و کاربردهای مختلف مورد استفاده قرار گیرد، از جمله تولید بیوچار، افزودنی‌های کمپوست و فرمولاسیون کودهای گرانوله. در تولید بیوچار، لیگنیت کربنیزه می‌شود تا شکلی پایدار از کربن ایجاد کند که می‌تواند به خاک اضافه شود تا خواص آن را بهبود بخشد. به عنوان افزودنی کمپوست، لیگنیت فرآیند کمپوست‌سازی را با تسریع تجزیه مواد آلی و غنی‌سازی کمپوست حاصل با مواد هومیک بهبود می‌بخشد. کودهای گرانوله لیگنیت گزینه‌ای راحت و آسان برای استفاده برای کشاورزان ارائه می‌دهند و توزیع یکنواخت و تامین مستمر مواد مغذی را تضمین می کنند (تانک و همکارام، ۲۰۱۷؛ مایکوس و همکاران، ۲۰۱۹).

تالک[۲۶]

تالک یک ماده معدنی سیلیکاتی است که حاوی منیزیم هیدراته است. این ماده که به شکل پودر بچه (نرم‌ترین ماده ساخته شده) مورد استفاده قرار می‌گیرد به عنوان یک محیط ذخیره‌سازی مناسب می‌باشد. تالک به طور معمول به عنوان حامل برای قارچ *Trichoderma viride* (یک عامل کنترل بیولوژیکی) استفاده می‌شود (نوینزکاک و فلیپون، ۲۰۲۰؛ سیف و همکاران، ۲۰۲۱). در یک مطالعه، کنسرسیوم PGPR (به صورت جداگانه یا در ترکیب با فرمولاسیون‌های مبتنی بر تالک) برای مدیریت بیماری بلایت[۲۷] برنج و بهبود عملکرد دانه به کار رفت. نتایج نشان داد که تلقیح PGPR شامل *Burkholderia cepacia* و *Bacillus atrophaeus* در فرمولاسیون مبتنی بر تالک، رشد *Fusarium oxysporum gladioli* را در گلایل مهار کردند. بطوریکه عملکرد گلایل در گلخانه به دلیل عدم وجود پوسیدگی ناشی از بیماری[۲۸] و کمترین مقدار پژمردگی عروقی تا ۱۵۰٪ افزایش یافت (شانموگام و همکاران، ۲۰۱۱).

ورمی‌کولیت[۲۹]

ورمیکولیت یک ماده مؤثر در کودهای زیستی و مایه تلقیح‌ها است و به عنوان جایگزینی برای پیت در تولید کودهای زیستی باکتریای استفاده می‌شود. این ماده یک سیلیکات آلومینیوم هیدراته است که شامل آلیاژ منیزیم می‌باشد و در دماهای بالای ۷۰۰–۱۰۰۰ درجه سلسیوس بصورت ورقه ورقه در می‌آید. ورمیکولیت می‌تواند بدون نیاز به تخمیر که هزینه‌بر و نیاز به تجهیزات اختصاصی دارد، برای تلقیح باکتری‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرد که این امر آن را برای بسیاری از فرمولاسیون‌ها مطلوب می‌سازد (گراهام ویس و همکاران، ۱۹۸۷). ورمیکولیت به عنوان یک حامل برای مایه تلقیح باکتری‌ها مزایای متعددی دارد. این ماده غیر آلی است و می‌تواند به وسیله فرآیندهای استریل‌سازی معمولی (اتوکلاو کردن)، بدون تولید ترکیبات سمی یا ایجاد تغییرات ساختاری، استریل شود. فرآیند منبسط شدن[۳۰] ورمیکولیت، سطح آلودگی را کاهش می‌دهد و با ساختار چندلایه خود، هوادهی مناسب و محل افزایش تعداد

[۲۶] Talc
[۲۷] Rice sheath blight
[۲۸] Corm rot
[۲۹] Vermiculite
[۳۰] Expandation

میکروب‌ها را فراهم می‌کند. ورمیکولیت همچنین مقاوم به فشار است، به عنوان یک ماده محرک رشد گیاه عمل می‌کند و با اندازه ذرات ۴۵-۸۰ میلی‌متر، ظرفیت نگهداری آب بالایی دارد و به کود اجازه می‌دهد به درستی روی سطح بذر قرار گیرد. علاوه بر این، این ماده اقتصادی و به راحتی در دسترس است (هیل و همکاران، ۲۰۱۵؛ پراسانا و همکاران، ۲۰۲۰).

حامل‌های مایع

حامل‌های مبتنی بر آب[۳۱]

حامل‌های مبتنی بر آب از جمله رایج‌ترین نوع حامل‌ها در کودهای زیستی مایع هستند که به دلیل سادگی و کارایی‌شان مورد استفاده قرار می‌گیرند. آب مقطر به دلیل خلوص بالا و عدم وجود آلودگی‌های شیمیایی که ممکن است به ریزجانداران آسیب برساند یا با فعالیت آن‌ها تداخل ایجاد کند، ترجیح داده می‌شود. استفاده از آب استریل یک گام فراتر بوده و اطمینان می‌دهد که هیچ ریزجاندار دیگری به کود زیستی وارد نمی‌شود و بدین ترتیب خلوص و اثربخشی ریزجانداران مورد نظر حفظ می‌شود. علاوه بر این، آب غنی شده با مواد مغذی می‌تواند به ایجاد محیطی حمایتی برای رشد و پایداری ریزجانداران در طی ذخیره‌سازی کمک کند. این غنی‌سازی معمولاً شامل افزودن مواد مغذی ضروری مانند نیتروژن، فسفر و مواد معدنی کمیاب است که ریزجانداران برای حفظ زنده‌مانی و فعالیت خود در طولانی مدت به آن نیاز دارند (ککمک، ۲۰۱۹؛ ریچا، ۲۰۲۳).

حامل‌های مبتنی بر روغن[۳۲]

حامل‌های مبتنی بر روغن مزایای خاصی در زمینه چسبندگی و حفاظت از ریزجانداران ارائه می‌دهند. روغن‌های گیاهی مانند روغن سویا و روغن نارگیل به دلیل توانایی‌شان در افزایش چسبندگی کود زیستی به بذرها یا سطح گیاهان بسیار مفید هستند و کمک می‌کنند تا تلقیح و کلونیزاسیون موفقیت‌آمیز بوده و بهتر صورت گیرد. این روغن‌ها همچنین زیست تخریب‌پذیر و دوستدار محیط زیست هستند. روغن‌های معدنی به دلیل خاصیت خنثی و پایداری‌شان انتخاب می‌شوند. این روغن‌ها با دیگر اجزای کود واکنش نمی‌دهند و لایه‌ای محافظ فراهم می‌کنند که می تواند ریزجانداران را از استرس‌های محیطی مانند خشکی و تابش فرابنفش محافظت کرده و بدین ترتیب زنده‌مانی و اثربخشی آن‌ها را افزایش دهند (ریچا، ۲۰۲۳).

حامل‌های پلیمری

حامل‌های پلیمری راه‌حل‌های نوآورانه‌ای هستند که محیطی مرطوب و محافظ برای ریزجانداران فراهم می کنند. هیدروژل‌ها در این زمینه بسیار مؤثر هستند؛ آن‌ها می توانند مقادیر زیادی آب را جذب و نگه‌داری کنند و محیطی مرطوب ایجاد کنند که از زندگی میکروبی پشتیبانی می‌کند. این نگه‌داری رطوبت برای حفظ فعالیت میکروبی و طولانی تر کردن عمر مفید کود زیستی حیاتی است (سومان و همکاران، ۲۰۱۶). این مواد زیست‌سازگار هستند و می‌توانند تعلیق‌های پایداری ایجاد کنند که ریزجانداران را از استرس‌های فیزیکی و شیمیایی محافظت کنند.

حامل‌های مصنوعی[۳۳]

حامل‌های مصنوعی نقش مهمی در کودهای زیستی ایفا می کنند و مزایای مختلفی را ارائه می دهند که باعث افزایش پایداری، کارایی و انتقال تلقیح های میکروبی می شود. این حامل‌ها که معمولاً از فرآیندهای صنعتی به دست می‌آیند، به گونه‌ای مهندسی شده‌اند که شرایط بهینه را برای بقا و فعالیت ریزجانداران مفید فراهم کنند. انواع مختلفی از حامل‌های مصنوعی در کودهای زیستی استفاده می شود که

[۳۱] Water-based carriers

[۳۲] Oil-based carriers

[۳۳] Syntetic carriers

هر کدام خواص و کاربردهای منحصر به فردی دارند (مجید و همکاران، ۲۰۱۵).

پلی آکریل آمید[۳۴]

پلی آکریل آمید (PAM) یک پلیمر محلول در آب است که هیدروژل‌هایی را تشکیل می‌دهد که قادر به نگهداری مقادیر زیادی آب هستند و محیط مرطوبی را فراهم می‌کند که از حیات میکروبی پشتیبانی می‌کند. این ویژگی باعث می شود PAM برای محصور کردن ریزجانداران، حفظ حیات آنها در طول ذخیره‌سازی و کاربرد و کمک به رهاسازی کنترل‌شده آنها در خاک ایده‌آل باشد (لودهی و همکاران، ۲۰۲۳).

پلی وینیل الکل[۳۵]

پلی وینیل الکل (PVA)، یکی دیگر از پلیمرهای مصنوعی، به دلیل خواص عالی تشکیل فیلم، چسبندگی و امولسیون کنندگی شناخته شده است. PVA زیست‌تخریب پذیر بوده و برای ایجاد پوشش‌های محافظ برای بذرها یا به عنوان یک جزء در فرمولاسیون هیدروژل استفاده می‌شود، که منجربه رهاسازی آهسته تلقیح‌های میکروبی و محافظت از آنها در برابر تنش‌های محیطی می‌گردد (پووانتو و همکاران، ۲۰۱۹).

پلی اتیلن گلیکول[۳۶]

پلی اتیلن گلیکول (PEG) یک پلیمر همه کاره با خواصی مانند حلالیت در آب، غیر سمی بودن و توانایی تشکیل هیدروژل است. PEG به ایجاد یک محیط پایدار و مرطوب برای میکروب‌ها کمک می‌کند و در تکنیک‌های کپسوله‌سازی برای تشکیل ماتریس‌های محافظ در اطراف ریزجانداران، افزایش پایداری و رهاسازی کنترل‌شده آن‌ها استفاده می‌شود. همچنین در پوشش بذر و اصلاح خاک استفاده می شود (ساهو و براهماپراکاش، ۲۰۱۶).

سیلیکا ژل[۳۷]

سیلیکا ژل که شکل متخلخل و دانه‌ای از دی اکسید سیلیکون می‌باشد، ظرفیت جذب رطوبت بالایی دارد و محیط آزادسازی خشک اما کنترل شده‌ای را برای ریزجانداران هدف فراهم می‌کند. ژل سیلیکا به ویژه در کودهای زیستی مفید است که نیاز به آزادسازی کنترل شده و پایداری طولانی مدت دارند و از سلول های میکروبی در برابر از دست دادن رطوبت و خشک شدن محافظت می‌کند (چوئن و همکاران، ۲۰۲۱).

پلی یورتان[۳۸]

پلی یورتان (PU) یک پلیمر انعطاف‌پذیر و بادوام است که می‌تواند به گونه‌ای مهندسی شود که دارای خواص مختلفی مانند آب‌گریزی یا آب دوستی باشد و پوشش‌های محافظ قوی را تشکیل دهد. PU در فناوری‌های پوشش برای محافظت از ریزجانداران در برابر تنش‌های مکانیکی و محیطی و در فرمولاسیون کودهای زیستی گرانوله آهسته رهش استفاده می‌شود (مجید و همکاران، ۲۰۱۵).

استفاده از حامل‌های مصنوعی فواید متعددی برای کودهای زیستی به همراه دارد. آنها به گونه‌ای مهندسی شده‌اند که شرایط محیطی بهینه را برای بقای میکروبی فراهم کنند و به طور قابل توجهی عمر مفید کودهای زیستی را افزایش دهند. این حامل‌ها را می‌توان به گونه‌ای طراحی کرد که ریزجانداران را به تدریج آزاد کند و منجر به عرضه پایدار و بلندمدت میکروب‌های مفید به گیاهان شود. آنها همچنین از تلقیح‌های میکروبی در برابر شرایط نامطلوب محیطی مانند خشک شدن، اشعه ماوراء بنفش و نوسانات دما محافظت می‌کنند. علاوه بر این، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی حامل‌های مصنوعی را

[۳۴] Polyacrylamide
[۳۵] Polyvinyl Alcohol
[۳۶] Polyethylene Glycol
[۳۷] Silica Gel
[۳۸] Polyurethane

می‌توان دقیقاً کنترل کرد و برای برآوردن نیازهای خاص تنظیم کرد و حداکثر سازگاری را با انواع مختلف ریزجانداران و گیاهان تضمین کرد. حامل‌های مصنوعی همچنین چسبندگی کودهای زیستی را به بذرها، ریشه‌های گیاه یا ذرات خاک افزایش می‌دهند و از تلقیح مؤثرتر و کلون‌سازی توسط میکروب‌های مفید اطمینان می‌دهند. با وجود این مزایا، استفاده از حامل‌های مصنوعی خالی از چالش نیست. نگرانی هایی در مورد پایداری زیست‌محیطی و زیست‌تخریب‌پذیری آنها وجود دارد، زیرا مواد مصنوعی می‌توانند به آلودگی طولانی مدت کمک کنند. از طرفی تولید و فرآوری حامل‌های مصنوعی می‌تواند پرهزینه باشد و به طور بالقوه هزینه کلی محصولات کود زیستی را افزایش دهد. علاوه بر این، ممکن است مشکلات سازگاری بین حامل‌های مصنوعی و ریزجانداران خاص یا گونه‌های گیاهی وجود داشته باشد که نیاز به آزمایش کامل و بهینه‌سازی فرمولاسیون دارد. استفاده از مواد مصنوعی در کشاورزی نیز مشمول بررسی نظارتی است و اطمینان از انطباق با قوانین کشاورزی و زیست‌محیطی می تواند چالش برانگیز باشد (ساهو و براهماپراکش، ۲۰۱۵؛ چوئن و همکاران، ۲۰۲۱).

پیشرفت‌های اخیر در فناوری در تلاشند تا برخی از این چالش‌ها را برطرف کنند. ترکیب نانومواد در حامل‌های مصنوعی برای افزایش انتقال و اثربخشی تلقیح‌های میکروبی، با نانوذرات که پایداری و فراهمی زیستی کودهای زیستی را بهبود می‌بخشد، در حال بررسی است. پلیمرهای هوشمندی که به محرک‌های محیطی مانند دما یا pH پاسخ می‌دهند، در حال توسعه هستند تا ریزجانداران را به شیوه‌ای کنترل‌شده بر اساس محرک‌های خاص آزاد کنند و دقت در تحویل میکروبی را افزایش دهند. همچنین پیشرفت‌ها در علم پلیمر منجر به توسعه حامل‌های مصنوعی شده است که هم موثر و هم زیست تخریب‌پذیر هستند و نگرانی‌های زیست‌محیطی مرتبط با مواد مصنوعی سنتی را برطرف می‌کنند (رای و همکاران، ۲۰۲۳؛ کائور و همکاران، ۲۰۲۴).

مواد چسبنده[۳۹]

مواد چسبنده، که به عنوان عوامل چسباننده نیز شناخته می‌شوند، نقش مهمی در کارایی کودهای زیستی دارند. آنها عمدتاً با تقویت چسبندگی تلقیحات میکروبی به بذرها، ذرات خاک یا سطوح گیاه عمل می‌کنند و ریزجانداران مفید را در تماس نزدیک با ریشه‌های گیاه نگه می‌دارند. این نزدیکی برای اینکه ریزجانداران به طور مؤثری رشد گیاه را تقویت کرده و جذب مواد مغذی را تسهیل کنند، ضروری است (پریادارشینی و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر این، عوامل چسباننده به توزیع یکنواخت کود زیستی کمک می‌کنند و مشکلاتی مانند تشکیل گرد و غبار و از دست رفتن در حین استفاده را کاهش می‌دهند. آنها همچنین یک مانع محافظ برای ریزجانداران فراهم می‌کنند و آنها را از عوامل استرس‌زای محیطی مانند خشکی و تابش فرابنفش (UV) محافظت می‌کنند (رانی و همکاران، ۲۰۲۳). این مواد با بهبود پایداری و اثربخشی کودهای زیستی، نقش حیاتی در افزایش پایداری و بهره‌وری شیوه‌های کشاورزی ایفا می‌کنند.

عوامل چسبنده معمولاً با مواد مبتنی بر پیت ترکیب می‌شوند که قابلیت کود زیستی را برای بدست آوردن پوشش حداکثری بر روی بذر را افزایش دهند. برخی از مواد چسبنده شامل پلی‌ساکاریدهایی مانند کربوکسی‌متیل‌سلولز یا صمغ، نمک‌های کازئینی و مشتقات پلی‌الکلی هستند (پریادارشینی و همکاران، ۲۰۲۲). آنها باید غیر سمی، کاربرد راحت و چسبندگی مناسبی را نشان دهند و بقای میکروب‌ها روی بذر را افزایش دهند. در مورد باکتری‌ها، عوامل چسبنده برای محافظت باکتری‌ها انتخاب شده‌اند، اما مکانیسمی که باعث

[۳۹] Stickers

افزایش عمر میکروب‌ها می‌شود هنوز واضح نیست. تنها نقطه ضعف استفاده از این عوامل، تعامل بلندمدت باکتری‌ها با بذرها به دلیل افزایش چسبندگی است (هرمان و لسور، ۲۰۱۳).

استفاده از عوامل چسبنده در کودهای زیستی برای تقویت اتصال ریزجانداران مفید به بذرها یا ذرات خاک ضروری است و در نتیجه تلقیح و کارایی بهتر را تضمین می‌کند. به طور معمول، بسته به نوع عامل چسباننده و کارایی اتصال آن، درصد برچسب مورد استفاده در کودهای زیستی از ۰٫۱ تا ۱۰٪ از کل فرمولاسیون متغیر است، اما معمولاً غلظت کمتر از ۵٪ کافی است تا چسبندگی خوبی بدون ایجاد اثرات منفی فراهم شود (بارتی و همکاران، ۲۰۱۷). برای استفاده مستقیم در خاک، معمولاً محلول کود زیستی را با آب مخلوط کرده و به زمین اعمال می‌کنند. غلظت‌ها متفاوت است، اما یک روش رایج استفاده از ۱ تا ۲ لیتر محلول کود زیستی برای هر هکتار است که با مقدار کافی آب مخلوط می‌شود تا به طور یکنواخت در سطح زمین پخش شود. برای مواد مختلف نیز نسبت‌های متفاوتی وجود دارد. مثلاً برای تلقیح بذرهای لگوم‌ها با مایه‌های ریزوبیوم، معمولاً ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم مایه برای هر ۱۰ کیلوگرم بذر مخلوط می‌شود و محلول چسباننده ۱ تا ۲ درصد برای مرطوب کردن بذرها قبل از اعمال مایه استفاده می‌شود (سیف و همکاران، ۲۰۲۱). در مورد تلقیح بذرهای غلات با مایه‌های آزوسپیریلوم، معمولاً ۲۰۰ گرم مایه برای هر ۱۰ کیلوگرم بذر مخلوط می‌شود و از محلول چسباننده ۱-۲ درصد برای مرطوب کردن بذرها استفاده می‌شود. در مورد باکتری های حل کننده فسفات (PSB[۴۰]) برای محصولات مختلف ممکن است از پلی وینیل الکل (PVA) یا نشاسته به عنوان چسباننده به نسبت ۳ تا ۵ درصد وزن بذر استفاده کنند (جیس وال و همکاران، ۲۰۲۲). برای دریافت بهترین نتیجه، دستورالعمل‌های خاص تولیدکننده را دنبال کنید و اطمینان حاصل کنید که مخلوط به خوبی تهیه شده و به طور یکنواخت روی بذرها پوشانده شده است. پس از مخلوط‌سازی، بذرها را در یک محل سایه دار به مدت کوتاهی خشک کنید تا آماده کاشت شوند. برای قارچ‌های میکوریزا که برای کاربرد خاک در نظر گرفته شده‌اند، می‌توان از چسباننده‌هایی مانند ژلاتین یا آلژینات به نسبت ۵ تا ۱۰ درصد از کل فرمولاسیون استفاده کرد (که نسبت اختلاط به روش‌های کاربرد خاک بستگی دارد) (نوسینوویچ، ۲۰۱۰). در نتیجه، استفاده از چسباننده‌ها در فرمولاسیون کودهای زیستی برای تلقیح موثر بسیار مهم است و درصد و نسبت آنها باید بر اساس نوع کود زیستی، محصول هدف و شیوه های کشاورزی خاص بهینه شود (راکشیت و همکاران، ۲۰۲۱).

افزودنی‌ها[۴۱]

فرمولاسیون مایه‌تلقیح میکروبی، علاوه بر سویه میکروبی، حامل و مواد چسبنده؛ شامل برخی مواد افزودنی نیز می‌باشد. این مواد شامل عناصر مغذی ماکرو و میکرو، هورمون‌ها، منبع کربن یا برخی منابع معدنی دیگر و گاهی هم قارچ‌کش‌ها است (برهماپراکاش و همکاران، ۲۰۲۰). هدف اصلی از افزودنی‌ها فراهم کردن یک محیط مغذی و محافظتی است. این مواد کیفیت و عملکرد مایه‌تلقیح نهایی را بهبود می‌دهند، زیرا چسبندگی به بذر افزایش می‌یابد، محصول پایدار می‌شود، سموم بذر غیرفعال می‌شوند، ماندگاری سویه‌های هدف تحت شرایط محیطی تنشی بهبود می‌یابد و حتی زمان ذخیره‌سازی نیز بهبود پیدا می‌کند (ساهو و همکاران، ۲۰۱۶). افزودنی‌ها ارتباط قوی با میزان ماندگاری سلولی دارند. برای مثال ماده‌ای مانند گلیسرول به عنوان افزودنی، به‌واسطه نگهداری میزان معنی‌داری از رطوبت، سلول‌ها را از خشکی محافظت می‌کنند. برای بهبود عملکرد

[۴۰] Phosphate-solubilizing bacteria

[۴۱] Additives

سویه، نیاز به برخی افزودنی‌ها وجود دارد ولی ماهیت شیمیایی افزودنی باید از تجزیه و تحلیل سریع آن جلوگیری کند. در این ارتباط موادی مانند زانتان، آلژینات سدیم، شیر خشک و غیره مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و با نتایج متغیر گزارش شده‌اند (سورندرا گوپال و بابی، ۲۰۱۶).

انتخاب افزودنی‌ها به توانایی آن‌ها در محافظت از سلول‌های میکروبی در دمای بالا و خشکی در طول ذخیره‌سازی و نیز بر روی سطح بذر بستگی دارد. به طور کلی پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا و حلالیت خوب در آب که ماهیت غیرسمی دارند افزودنی‌های خوبی محسوب می‌شوند. افزودنی‌های رایج شامل ساکارز، گلیسرول، سدیم آلژینات، کربوکسی‌متیل سلولز، پلی‌وینیل الکل، ترهالوز، پلی‌اتیلن گلیکول، صمغ عربی، پلی‌وینیل پیرولیدون[۴۲]، Fe-EDTA و آرد نشاسته می‌باشند (دیکر و همکاران، ۲۰۰۴). ساکارز هنگامی که به فرمول مایع اضافه می‌شود، بقای میکروب‌ها به ویژه باکتری‌های حل‌کننده فسفات و ریزوبیوم ها را بهبود می‌بخشد، (لی و همکاران، ۲۰۲۳). گلیسرول نیز حاوی مقدار قابل توجهی مایع است و سرعت خشک شدن تلقیح را کاهش می‌دهد تا از کم‌آبی سلول محافظت کند (سریرم و همکاران، ۲۰۱۱). در یک مطالعه اضافه کردن گلیسرول برای تهیه یک مایه‌تلقیح گزارش شده است که در آن از باکتری *Pseudomonas fluorescens* استفاده شده و زنده‌مانی و فعالیت متابولیکی میکروب را تا ۶ ماه در زمان ذخیره‌سازی حفظ می‌کند (توریان و همکاران، ۲۰۱۰). پلی‌وینیل پیرولیدون نیز به عنوان یک ماده چسبنده در چندین فرمولاسیون، به ویژه برای *Bradyrhizobium japonicum* استفاده می‌شود که آنرا در برابر خشکی محافظت کرده و از ترشحات بذر که برای ریزوبیوم‌ها مضر هستند جلوگیری می‌کند (سینگلتون و همکاران، ۲۰۰۲). کربوکسی‌متیل سلولز نیز یک افزودنی قابل دسترس است و به طور معمول استفاده می‌شود. به دلیل ماهیت پلیمری نیمه‌مصنوعی آن، کیفیت ثابتی در مقایسه با سایر افزودنی‌ها نشان می‌دهد. علاوه بر این در غلظت بسیار پایین استفاده می‌شود که استفاده از آن را اقتصادی می‌کند (جها و صراف، ۲۰۱۲).

صمغ عربی نیز یک ترکیب پیچیده از پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها می‌باشد که به عنوان یکی دیگر از افزودنی‌های رایج بشمار می‌رود. به دلیل استخراج آن از اقاقیا، به آن صمغ اقاقیا نیز گفته می‌شود. مطالعات مختلف استفاده از آن را در بسیاری از فرمولاسیون‌های کودهای زیستی به عنوان یک عامل چسبنده به ویژه برای باکتری‌ها گزارش کرده‌اند (رز و همکاران، ۲۰۱۱). این ماده زمانی که در کودهای زیستی مایع استفاده می‌شود، بقاء باکتری‌ها را بهبود می‌بخشد و آن‌ها را در برابر کم‌آبی محافظت می‌کند (وانی و همکاران، ۲۰۰۷). ماهیت افزودنی‌ها و غلظت‌های آن‌ها از عوامل اصلی هستند که بر کیفیت نهایی کودهای زیستی تأثیر می‌گذارند. بنابراین، مقدار و نوع افزودنی‌ها هنگام تهیه مایه‌تلقیح بسیار مهم است (کک مکف ۲۰۱۹).

انواع کودهای زیستی

در تولید کودهای زیستی، از انواع مختلفی از فرمولاسیون‌ها استفاده می‌شود که هر کدام ویژگی‌ها و کاربردهای منحصر به فردی دارند. فرمولاسیون‌های پودری به دلیل پایداری در طول زمان و راحتی در حمل و نقل، برای توزیع مواد مغذی در زمان‌های مختلف در خاک مناسب هستند. فرمولاسیون مایع، که شامل محلول‌های حاوی مواد مغذی است، برای کاربردهایی که نیاز به تغذیه فوری گیاهان دارند، مناسب می‌باشد. فرمولاسیون گرانولار با ساختار گرانولی منظم، توزیع و استفاده آسان‌تری را فراهم می‌کند. فرمولاسیون محصور در پلیمر یا تثبیت سلولی[۴۳]، برای حفظ

[۴۲] Polyvinylpyrrolidone

[۴۳] Cell Immobilization

و آزادسازی کنترل‌شده مواد مغذی و ریزجانداران مناسب است. فرمولاسیون ژل با استفاده از پلیمرهای ژل‌کننده، مواد مغذی را در ساختار ژلی ثابت نگه می‌دارد. در نهایت، فرمولاسیون بستر سیال خشک‌شده[۴۴] با استفاده از محلول‌های خشک‌شده، برای کاربردهایی که نیاز به حمل و نقل آسان دارند، مناسب می‌باشد (هریج و همکاران ۲۰۰۸؛ مالوسا و همکاران ۲۰۱۲).. هر یک از این فرمولاسیون‌ها ویژگی‌ها و مزایا و معایب خود را دارند که در ادامه به آنها پرداخته می‌شود (جدول ۳).

کودهای زیستی پودری

کودهای زیستی پودری یک دسته مهم از انواع کودهای زیستی جامد هستند که برای بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش رشد گیاه از طریق معرفی ریزجانداران و مواد مغذی مفید طراحی شده‌اند. این کودهای زیستی با مخلوط کردن کشت‌های میکروبی با حامل‌های جامد مختلف مانند پیت، کمپوست، بیوچار، لیگنیت، تالک، ورمیکولیت و غیره که هرکدام دارای ویژگی‌های مختلف بوده و محیطی پایدار برای ریزجانداران فراهم کرده و از آنها در برابر تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند و زنده‌مانی آنها را تا زمان کاربرد تضمین می‌کنند. کودهای زیستی پودری نقش اساسی در رویکردهای کشاورزی مدرن با هدف افزایش بهره‌وری و پایداری خاک دارند. از جمله مزایای اصلی کودهای زیستی پودری، ذخیره و حمل و نقل آسان به دلیل فرم سبک و پایدار آن است. آنها معمولاً در مقایسه با کودهای زیستی مایع ماندگاری طولانی تری دارند، به شرط اینکه در شرایط خنک و خشک نگهداری شوند. علاوه بر این، روش‌های کاربرد کودهای زیستی پودری، مانند تیمار بذر، ادغام خاک و غوطه‌وری ریشه، ساده هستند و می‌توانند به طور یکپارچه در شیوه‌های کشاورزی موجود ادغام شوند (سیف و همکاران، ۲۰۲۱).

با این حال، چندین معایب نیز وجود دارد که باید در نظر گرفت. یکی از اشکالات قابل توجه، پتانسیل توزیع نابرابر ریزجانداران در هنگام اعمال بر روی خاک است که می‌تواند منجر به نتایج ناسازگار در عملکرد محصول شود. زنده ماندن ریزجانداران در کودهای زیستی پودری در صورت عدم نگهداری مناسب می‌تواند به خطر بیفتد، زیرا قرار گرفتن در معرض گرما و رطوبت (زیاد یا کم) می‌تواند اثربخشی آنها را کاهش دهد. علاوه بر این، اثربخشی این نوع کودهای زیستی می‌تواند تحت تأثیر شرایط خاک، مانند pH و محتوای مواد آلی باشد، که ممکن است نیاز به اقدامات مدیریت خاک بیشتری داشته باشد. همچنین نیاز به آموزش گسترده کشاورزان و کنترل کیفیت برای اطمینان از استفاده صحیح و حداکثر فواید کودهای زیستی پودری وجود دارد. علی‌رغم این چالش‌ها، مزایای بالقوه کودهای زیستی پودری در ترویج کشاورزی پایدار، آنها را به گزینه‌ای ارزشمند تبدیل می‌کند که ارزش توجه دارد (کومار و همکاران، ۲۰۲۴).

کودهای زیستی مایع

مایه‌تلقیح‌های مایع عمدتاً از کشت‌های آبی (مبتنی بر آب)، مشتقات بر پایه پلیمر، روغن‌های معدنی، روغن در آب یا روغن‌های آلی تهیه می‌شوند. این‌ها مایه‌تلقیح‌های بهبودیافته‌ای هستند که در آنها تکنیک‌های بدون فرمولاسیون[۴۵] اعمال شده است. در واقع آنها همان کشت‌های میکروبی هستند که با موادی اصلاح کننده ای برای افزایش چسبندگی، پایداری و قابلیت پراکندگی مخلوط شده اند (باشان و همکاران، ۲۰۱۴). مایه‌تلقیح‌های مایع به دلیل استفاده و کاربرد راحت آنها در هر دو حالت بذرمال و خاکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. پیت تاکنون محبوب‌ترین حامل مورد استفاده بوده است؛ اما به دلیل کمبود آن و کاهش دسترسی به آن، دانشمندان به دنبال یافتن جایگزین مناسب

[۴۴] Fluid Bed-Dried Formulation

[۴۵] No formulation

برای آن، به فرم مایع هستند. کاربرد این نوع مایه‌تلقیح‌ها با ماشین‌آلات کاشت جدید کاملاً سازگار بوده و به راحتی بر روی بذرها قابل استفاده می‌باشند (سیف و همکاران، ۲۰۲۱). مایه‌تلقیح‌های مایع به دلیل سهولت در استفاده، امکان افزودن مواد مغذی و محافظت بیشتر در برابر تنش‌های محیطی و کارایی بالاتر نسبت به کودهای زیستی پودری، متمایز شده‌اند. این مواد افزودنی و محافظ‌ها، تشکیل سلول، اسپور یا کیست را تحریک می‌کنند که در نهایت باعث بهبود عملکرد مایه‌تلقیح می‌شود. با این وجود معایبی نیز وجود دارد برای مثال عمر مفید محدود، نیاز به شرایط نگهداری در دمای پایین و هزینه تولید بالا که استفاده از آنها را تنها به کشورهای توسعه‌یافته محدود می‌کند. همچنین این نوع مایه‌تلقیح‌ها برای باکتری‌هایی مانند *Azospirillum* که ماندرگاری ضعیفی دارند، کارایی مناسبی ندارند (باشان و همکاران، ۲۰۱۴).

مایه‌تلقیح مایع عمدتاً از طریق یک فرآیند تخمیر ساده تولید می‌شود که در آن مایع تخمیر شده به صورت استریل بسته‌بندی و بدون از دست دادن قابلیت زیستی ذخیره و نگهداری می‌شود. این روش از نظر اقتصادی بسیار مقرون به صرفه است زیرا نیاز به فرآیند استریلیزاسیون مواد حامل (همانند حالت جامد) ندارد (جنین و همکاران.، ۲۰۰۸). کودهای زیستی مایع معمولا عاری از آلودگی تهیه می‌گردد زیرا در فرآیند تولید آن از استریلیزاسیون کامل استفاده می شود. معمولاً به اشتباه تصور می‌شود که مایه تلقیح مایع یک کشت مایع حاوی مواد جامد است که توسط یک فرمانتور آماده‌سازی شده است. در حالی که این مایه تلقیح، محیطی است که علاوه بر اجزای محیط کشت (مانند نیتروژن، کربن و غیره)، شامل برخی منابع افزودنی‌ها و منابع ویتامینی است که به رشد میکروبی و محافظت‌های سلولی مختلف کمک می‌کند (دی، ۲۰۲۱).

افزودنی‌ها ویژگی‌هایی دارند که چسبندگی بهتر به بذر، محافظت از تنش اسمزی، افزایش پایداری محصول، افزایش بقاء میکروب هدف و غیرفعال‌سازی سموم پوششی بذر را فراهم می‌کنند (آلوزی و همکاران، ۲۰۲۲). وقتی مایه تلقیح آماده می‌شود، در مایعی مانند آب یا روغن آلی حل می‌شود. سپس با اسپری کردن بر روی بذرها یا غوطه‌ور کردن آنها برای مدتی، بر روی آن‌ها اعمال می‌شود. پس از خشک شدن، بذرها کاشته می‌شوند. در این روش تلفات مایه تلقیح بسیار کم است. با توجه به اینکه گیاهان لگوم در خاکی با دمای نزدیک به ۴۰ درجه سلسیوس کاشته می‌شوند، دمای بالا بقاء ریزوبیوم‌ها را که توانایی تثبیت نیتروژن دارد، کاهش می‌دهد لذا مواد افزودنی در کود، از دمای بالا و خشکی محافظت می‌کنند. کشت‌های مایع که حاوی محافظ‌های سلولی هستند، تعداد زیاد باکتری‌ها را حفظ می‌کنند و تشکیل کیست‌ها و اسپورها را که مقاوم به شرایط نامطلوب هستند، افزایش می‌دهند و بقاء ریزجانداران را بهبود می‌بخشند (ساهو و برهماپراکاش، ۲۰۱۶).

کودهای زیستی گرانوله

برای کاهش اثرات نامطلوب مایه‌تلقیح‌های پودری، فرمولاسیون جدیدی به نام کودهای زیستی گرانوله مورد توجه قرار گرفته است. برای تهیه گرانول‌ها، از مواد اولیه‌ای مانند بلغور پیت، دانه‌های سیلیکا، مهره (تیله)های کوچک یا مواد کلسیتی استفاده شده و سپس این گرانول‌ها با ریزجانداران هدف مخلوط می‌شوند. هرچند اندازه گرانول‌ها متفاوت است، اما کیفیت محصول نهایی و جمعیت ریزجانداران در کشت اولیه (مادر) تأثیر مستقیمی بر کیفیت گرانول‌های نهایی دارد (سیف و همکاران، ۲۰۲۱). درک اثرات متقابل بین دو نوع کود زیستی جامد و گرانول برای مایه‌تلقیح‌ها ساده نیست و عوامل مختلفی ممکن است بر عملکرد و کارایی آنها تاثیر بگذارد. این پیچیدگی ممکن است به دلیل تفاوت‌های ساختاری، فیزیکی و شیمیایی بین پیت و گرانول باشد که می‌تواند بر نحوه رشد و بقای ریزجانداران در این دو محیط تاثیر بگذارد (هرمان و لسور، ۲۰۱۳).

گرانول‌ها به دلیل گرد و خاک کمتر و سادگی استفاده، بسیار کاربردی‌تر از پیت هستند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که عملکرد کودهای گرانوله باکتری‌های ریزوبیومی در تثبیت نیتروژن یا تشکیل گره‌های ریشه به اندازه کودهای زیستی مبتنی بر پیت کارآمد نیست (آتینو و همکاران، ۲۰۱۲). در حالی که چندین آزمایش نشان داده‌اند که کودهای گرانولی در زمینه‌های تثبیت نیتروژن، زیتوده، اندازه گره، وزن گره و جذب نیتروژن، نسبت به هر دو حالت جامد و مایع برتری دارند. به ویژه اینکه استفاده از کودهای زیستی گرانوله در شرایط استرس خاکی مانند مناطق سرد، مرطوب، شرایط کاملا اسیدی و خشک عملکرد بهتری نشان داده است (هریج، ۲۰۰۸). از سوی دیگر، این فرمولاسیون‌ها دارای برخی معایب هستند از جمله چگالی بیشتر که حمل و نقل آنها را به مزارع دشوار می‌کند. همچنین هزینه ذخیره‌سازی و مساحت مورد نیاز برای تولید آنها بسیار بالاتر است (کلیتون و همکاران، ۲۰۰۴).

کودهای زیستی محصور در پلیمر (تثبیت سلول‌ها)

دانشمندان برای چندین دهه در حال کار بر روی توسعه فرمولاسیون‌های جدیدی بوده‌اند که حداکثر اثرات سودمند و حداقل اثرات زیان‌آور را داشته باشند. اخیراً با توسعه فرمولاسیون جدیدی به نام تثبیت یا غیرمتحرک‌سازی سلولی، پیشرفتی حاصل شده است که شامل اشکال مختلف به دام انداختن یا اتصال سلول‌ها به یک ماتریس می‌باشد. این اشکال ممکن است شامل جذب بر روی سطوح، پیوند عرضی[۴۶] سلول‌ها، لخته‌سازی[۴۷]، پیوند کووالانسی با ماده حامل و کپسوله کردن[۴۸] سلول‌ها در ژل پلیمری می‌باشند (رانی و همکاران، ۲۰۲۳).

کپسوله کردن یا انکپسولاسیون امیدوارکننده‌ترین تکنیک فرمولاسیون است که حامل‌های مفیدی برای ریزجانداران ایجاد می‌کند و مزایای قابل توجهی نسبت به سایر مواد حامل دارد. فرآیند کپسوله کردن، یک محیط تغذیه‌ای-محافظتی برای سلول‌های زنده در برابر استرس‌های محیطی مانند حلال‌های آلی، سموم، دما و انواع استرس‌های مکانیکی و همچنین شکارچیان فراهم می‌کند. چنین فرمولاسیون‌هایی هنگامی که به خاک اضافه می‌شوند، توسط میکروب‌های موجود در خاک به آرامی تجزیه می‌شوند و سلول‌های هدف به مقدار زیاد، معمولاً همزمان با جوانه‌زنی بذر آزاد می‌شوند. باکتری‌ها، قارچ‌ها و قطعات کوچک هیف قابل کپسوله کردن می‌باشند. این فناوری یک روش بسیار مفید برای تهیه فرمولاسیون‌های تک‌سویه یا مخلوط مانند تلقیح‌های مبتنی بر ریزوبیوم‌ها-AMF میباشد. رایج‌ترین نوع مواد مورد استفاده برای کپسوله کردن، پلیمرهایی هستند که ممکن است از منابع مختلف تهیه شوند (دلاگنز و سیرا گارسیا، ۲۰۲۳).

پیشرفت‌های حاصل در تکنولوژی تلقیح منجر به ظهور فرمولاسیون‌های محصور در پلیمر شده است. در این روش پس از فرآیند تکثیر انبوه، سلول‌ها با نوع خاصی از پلیمر مخلوط شده و سپس در یک محلول شیمیایی به حالت جامد تبدیل می شوند. نتیجه این فرآیند، دانه‌های یکنواختی است که حاوی سلول‌های زنده درون خود هستند. این دانه ها در ماتریس پلیمری قرار می‌گیرند که باعث رشد بیشتر شده و سپس خشک می‌شوند. دانه‌ها زمانی که به خاک اضافه می‌شوند معمولاً توسط ریزجانداران موجود در خاک تجزیه می‌شوند. مواد پلیمری که به طور معمول استفاده می‌شوند ممکن است مانند پلی‌ساکاریدها و مواد پروتئینی، طبیعی و یا مانند پلی‌اکریل‌آمید و پلی‌اورتان، یا هموپلیمرها، هتروپلیمرها یا کوپلیمرها مصنوعی باشند. یک مطالعه تخمین زده است که حدود ۱۳۵۰ ترکیب وجود دارد که می‌توانند به عنوان ماده پلیمری محصورکننده انتخاب شوند، که این انتخاب بستگی

[۴۶] Cross-linking

[۴۷] Flocculation

[۴۸] Encapsulation

به ترکیب شیمیایی، وزن مولکولی و توانایی نسبی آن‌ها در تعامل با سایر اجزای مورد استفاده دارد. از میان مواد پلیمری که به طور معمول استفاده می‌شوند، دانه‌های آلژینات و پلی‌اکریل‌آمید رایج هستند، اما به دلیل نیاز به احتیاطات بیشتر در هنگام کار با پلی‌اکریل‌آمید، آلژینات ترجیح داده می‌شود.

کودهای زیستی ژله‌ای (ژل مانند)

فرمولاسیون ژل به عنوان یک روش پیشرفته و موثر در تولید کودهای زیستی، امکاناتی را برای حفظ و انتقال بهینه مواد مغذی و ریزجانداران مفید فراهم می‌کند. در این روش، از پلیمرهای مانند آگار، ژلاتین، آلژینات، CMC و پلی آکریل‌آمید به عنوان ماتریس ژل استفاده می‌شود که در حضور آب، به ساختاری ژلی مناسب برای نگهداری و رهایی کنترل‌شده مواد مغذی و ریزجانداران منجر می‌شود. از ویژگی های بارز فرمولاسیون ژل می‌توان به پایداری بالا، رهاسازی کنترل‌شده مواد، و سهولت استفاده اشاره کرد. این روش اجازه می‌دهد تا مواد مغذی به طور مداوم و به نحو متناسبی به خاک و گیاهان منتقل شوند، که این امر به بهبود کارایی و تولیدات محصولات کشاورزی کمک می‌کند (زاید، ۲۰۱۶؛ سیف و همکاران، ۲۰۲۱). با این وجود، فرمولاسیون ژل نیز با چالش‌های خود روبه‌رو است. از جمله این چالش‌ها می‌توان به هزینه بالاتر تولید نسبت به روش‌های دیگر مانند فرمولاسیون‌های پودری یا مایع، و پایداری کمتر در مواجهه با شرایط محیطی خاص اشاره کرد. همچنین، تعاملات ممکن با محیط خاک و ریزجانداران آن می‌تواند بر روی کارایی فرمولاسیون ژل تأثیر داشته باشد. برای مثال، در برخی شرایط، ممکن است ساختار ژل مورد استفاده تغییر کند و بر عملکرد مواد مغذی و ریزجانداران اثرات جانبی داشته باشد. از طرفی، قابلیت انطباق ژل با شرایط محیطی متفاوت نیز می‌تواند به عنوان یک نقطه قوت مدنظر قرار گیرد که به تناسب خاصی از کشت و کار کمک کند و در نتیجه باعث بهره‌وری بیشتر در استفاده از کودهای زیستی شود (مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲).

بستر سیال خشک شده

خشک‌کردن بستر سیال یک تکنیک کلیدی در تولید کودهای زیستی است که پایداری، طول عمر و سهولت در حمل و نقل فرمولاسیون‌های میکروبی را بهبود می‌بخشد (ساهو و همکاران، ۲۰۱۸). این روش ذرات جامد را در جریان هوای گرم معلق می‌کند و انتقال حرارت و جرم را به شکل موثری برای خشک‌کردن یکنواخت تسهیل می‌کند. فرآیند با آماده‌سازی یک فرمولاسیون میکروبی آغاز می‌شود که شامل کشت ریزجانداران مفید و مخلوط کردن آنها با یک ماده حامل مناسب مانند پیت یا ورمیکولیت است. این مخلوط سپس به خشک‌کن بستر سیال وارد شده و توسط هوای گرم، سیال می‌شود و دما به دقت کنترل می‌شود تا از آسیب دیدن ریزجانداران جلوگیری شود (ساهو و برهماپراکاش، ۲۰۱۶). فرآیند خشک‌کردن شامل مراحل مختلفی مانند خشک‌کردن اولیه، خشک کردن با سرعت ثابت و خشک کردن با سرعت کاهشی است که اطمینان از حذف کامل رطوبت را فراهم می‌کند. پس از خشک کردن، محصول خنک، تخلیه شده و ممکن است قبل از اینکه در ظروف ضد رطوبت بسته‌بندی شود به صورت گرانول یا پودری فرآوری شود. خشک‌کردن بستر سیال نسبت به روش‌های دیگر، خشک‌کردن یکنواخت، کارایی و بقای بهتر ریزجانداران را ارائه می‌دهد و آن را برای تولید در مقیاس بزرگ مناسب می‌سازد. این روش برای تولید کودهای زیستی مختلفی مانند ریزوبیوم برای تثبیت نیتروژن، حل‌کننده‌های فسفات و کودهای زیستی مایکوریزا که همه باعث افزایش حاصلخیزی خاک و رشد گیاه می‌شوند، استفاده می‌شود (لاوانیا و همکاران، ۲۰۱۶؛ ساهو و همکاران، ۲۰۱۸). کنترل مناسب پارامترهای خشک‌کردن برای حفظ بقای ریزجانداران مفید و کارکرد آنها بسیار حائز اهمیت است (لاوانیا و همکاران، ۲۰۱۶).

جدول ۳ - برخی از مزایا و چالش‌های انواع مختلف فرمولاسیون کودهای زیستی.

نوع کود زیستی	مزایا	چالش‌ها	منابع
پودری	قابلیت انبارداری طولانی مدت	نیاز به تجهیزات خاص برای کاربرد	(سیف و همکاران، ۲۰۲۱؛ کومار و همکاران، ۲۰۲۴)
	قابلیت حل شدن سریع در آب	احتمال گردوغبار زیاد و مشکلات تنفسی	
	سهولت حمل و نقل	مشکلات در یکنواختی توزیع در سطح خاک	
	هزینه تولید پایین	احتمال کلوخه شدن در شرایط رطوبت بالا	
مایع	قابلیت جذب سریع توسط گیاه	نیاز به مخازن و تجهیزات خاص برای نگهداری و حمل و نقل	(باشان و همکاران، ۲۰۱۴؛ باشان و همکاران، ۲۰۱۴؛ دی، ۲۰۲۱)
	سهولت کاربرد و توزیع یکنواخت	احتمال نشت و آلودگی محیط زیست	
	امکان ترکیب با سایر مواد مغذی و شیمیایی	هزینه بیشتر نسبت به فرمولاسیون‌های جامد	
	توانایی کنترل دقیق‌تر میزان مصرف	حساسیت به شرایط دما و نور	
گرانولی	قابلیت انبارداری طولانی مدت	حلالیت محدود در آب	(هرمان و لسور، ۲۰۱۳؛ آتینو و همکاران، ۲۰۱۲)
	انتشار تدریجی مواد مغذی	احتمال تخریب گرانول‌ها در شرایط نامناسب	
	کمتر از پودرها به ذرات گرد و غبار حساس	چالش‌های کنترل کار با توجه به اندازه و وزن ذرات	
	سهولت حمل و نقل	هزینه تولید بالا	
محصور در پلیمر	رهاسازی تدریجی و کنترل شده مواد مغذی	نیاز به فناوری پیچیده برای تولید	(رانی و همکاران، ۲۰۲۳؛ دلاگنز و سیرا گارسیا، ۲۰۲۳)
	کاهش خطر سمیت و آلودگی محیط زیست	محدودیت در انتخاب مواد اولیه	
	بهبود پایداری در برابر شرایط محیطی	هزینه تولید بالا	
	افزایش کارایی و اثرگذاری	نیاز به مدیریت دقیق در مصرف	
ژل	قابلیت جذب و نگهداری آب بالا	نیاز به شرایط خاص برای نگهداری و حمل و نقل	(زاید، ۲۰۱۶؛ مالوسا و همکاران، ۲۰۱۲)
	انتشار تدریجی مواد مغذی	هزینه تولید بالا	
	سهولت کاربرد و توزیع یکنواخت	احتمال تخریب در شرایط دما و رطوبت نامناسب	
	کاهش نیاز به آبیاری متداول	ممکن است برای برخی محصولات مناسب نباشد	
بستر سیال خشک شده	پایداری و انبارداری طولانی مدت	سرمایه‌گذاری اولیه بالا برای تجهیزات	(ساهو و همکاران، ۲۰۱۸؛ لاوانیا و همکاران، ۲۰۱۶)
	قابلیت حل شدن سریع در آب	پیچیدگی در بهینه‌سازی فرآیند	
	سهولت حمل و نقل	مشکلات رهایش ضعیف در برخی موارد	
		مشکلات انحلال در برخی موارد	

فرآیند استریل‌سازی

استریل‌سازی حامل یک مرحله بسیار مهم در فرآیند تولید کودهای زیستی است که تضمین می‌کند ماده حامل برای انتقال میکروب‌های مفید از آلودگی‌ها پاک باشد. این فرآیند کمک می‌کند تا کیفیت و کارایی محصول نهایی حفظ شود. مواد حامل گاهی استریل می‌شوند و گاهی نیازی به استریل‌سازی ندارند، اما بهتر است که آن‌ها را استریل کرد. این امر زمانی اهمیت پیدا می‌کند که رشد اکثر باکتری‌ها در حامل اتفاق بیفتد. در صورتی که تعداد این باکتری‌های ناخواسته بیشتر از باکتری‌های مورد نظر باشد، در نهایت تعداد ریزجانداران ناخواسته نسبت به سویه هدف بیشتر خواهد شد. بنابراین کاهش تعداد باکتری‌های ناخواسته امری ضروری است. هر دو نوع حامل استریل و غیر استریل

می‌توانند برای تلقیح میکروب‌های هدف و تولید مایه‌تلقیح مورد استفاده قرار بگیرند. بدون شک یک حامل استریل، مزایای بیشتری نسبت به حالت غیر استریل آن دارد (باشان و همکاران، ۲۰۱۴). با این وجود محصولات استریل دارای معایب دیگری از جمله هزینه بالا، نیاز به نیروی کار اضافی و فرآیندهای ضدعفونی در حین بسته‌بندی هستند. مایه‌تلقیح‌ها به دو شکل بذرمال و استفاده مستقیم در خاک کاربرد دارند. فرمولاسیون پودری برای تیمار بذر و فرمولاسیون گرانول برای استفاده مستقیم در خاک، مناسب هستند (دنتون و همکاران، ۲۰۱۸). تولید فرمولاسیون‌های مناسب و با کیفیت بالا معمولاً دارای برخی معایب از جمله هزینه بالا، نیاز به نیروی کار زیاد و روش‌های هزینه‌بر هستند. امروزه توسعه مایه‌تلقیح‌ها شامل استراتژی‌های خلاقانه‌ای است که هدف آنها افزایش عملکرد مایه‌تلقیح، افزایش عمر مفید و توسعه نسل جدیدی از فرمولاسیون‌ها است. بهترین جایگزین‌ها برای فرمولاسیون‌های پودری، فرمولاسیون‌های مبتنی بر مایعات و آلژینات‌ها هستند (مارتینز-کانو و همکاران، ۲۰۲۲). حامل‌های جامد ممکن است نیاز به تغییر داشته باشند، زیرا در حال حاضر مشتریان به سایر فرمولاسیون‌ها علاقه‌مند هستند.

فرآیند استریل‌سازی حامل شامل مراحل مختلفی است: اولین مرحله شامل انتخاب یک ماده حامل مناسب است که می‌تواند شامل پیت، لیگنیت، ورمیکولیت یا سایر مواد آلی و معدنی باشد. ماده انتخاب‌شده باید با سویه میکروبی سازگار باشد و رشد آن را مهار نکند. در مرحله بعد ماده حامل انتخاب شده با آسیاب و الک کردن به اندازه ذرات مطلوب تبدیل می‌شود. این مرحله تضمین می‌کند که ماده یکنواخت است و به راحتی می‌تواند استریل شود. قبل از استریل‌سازی، ممکن است حامل تحت فرآیندهای پیش‌تیمار مانند شستشو و خشک کردن قرار گیرد تا آلودگی‌های فیزیکی حذف شده و بار میکروبی کاهش یابد. در مراحل بعدی باتوجه به ماهیت کار، چندین روش برای استریل‌سازی حامل به کار گرفته می شود که شامل: الف- اتوکلاو کردن: این روش رایج است که در آن ماده حامل تحت بخار با فشار بالا در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس (۲۵۰ درجه فارنهایت) برای حدود ۱۵-۳۰ دقیقه قرار می‌گیرد. این روش به طور مؤثر تمام ریزجانداران از جمله اسپورها را از بین می‌برد. ب- پرتودهی گاما: این روش شامل قرار دادن حامل در معرض پرتوهای گاما است که به عمق ماده نفوذ کرده و ریزجانداران را نابود می‌کند. این روش به‌ویژه برای تولید در مقیاس بزرگ مفید است. ج- استریل‌سازی با حرارت خشک: ماده حامل در معرض حرارت خشک با دمای بین ۱۶۰-۱۷۰ درجه سلسیوس (۳۲۰-۳۳۸ درجه فارنهایت) برای ۲-۳ ساعت قرار می‌گیرد. این روش مؤثر است اما ممکن است خواص فیزیکی برخی حامل‌ها را تغییر دهد. د- استریل‌سازی شیمیایی: مواد شیمیایی مانند اکسید اتیلن یا فرمالدئید می‌توانند برای استریل‌سازی حامل استفاده شوند. با این حال، این روش نیاز به کار دقیق و تهویه کامل برای حذف مواد شیمیایی باقی‌مانده دارد (عبدالفتاح و همکاران، ۲۰۱۳؛ الو و همکاران، ۲۰۲۲؛ کائور و کائور، ۲۰۲۳).

استرلیزاسیون کامل و استرلیزاسیون جزئی دو رویکرد مختلف برای از بین بردن ریزجانداران در فرایندهای صنعتی و پزشکی هستند. تفاوت‌های اصلی بین این دو روش به میزان و نوع ریزجانداران که باید از بین بروند و نیز به کاربردهای خاص هر روش برمی‌گردد. در استرلیزاسیون کامل از بین بردن تمامی ریزجانداران زنده از یک سطح، محیط یا ماده انجام می‌پذیرد و هیچ گونه ریزجاندار زنده‌ای باقی نمی ماند. این روش‌ها شامل حرارت مرطوب (اتوکلاو)، حرارت خشک، مواد شیمیایی قوی، تابش و فیلتراسیون می‌باشند. استرلیزاسیون کامل تضمین کاملی برای حذف همه ریزجانداران ارائه می‌دهد و برای کاربردهای پزشکی و آزمایشگاهی مناسب است، اما نیاز به تجهیزات و زمان

بیشتری دارد و ممکن است به مواد حساس آسیب برساند. در مقابل، استرلیزاسیون جزئی به معنای کاهش تعداد ریزجانداران تا حد ایمن است و تمامی ریزجانداران را از بین نمی‌برد. روش‌های استرلیزاسیون جزئی شامل پاستوریزاسیون، استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده ملایم و فیلتراسیون با منافذ بزرگتر می‌باشند. این روش‌ها سریع‌تر و ارزان‌تر هستند و برای کاربردهایی که نیاز به استرلیزاسیون کامل ندارند، مانند تولید مواد غذایی، مناسب‌اند. با توجه به نیاز و شرایط خاص هر کاربرد، یکی از این دو روش انتخاب می‌شود تا خطر آلودگی کاهش یابد و ایمنی و کیفیت محصول نهایی تضمین شود (سیلیندر و اوذر، ۲۰۰۹).

پس از استریل‌سازی، ماده حامل باید با تکنیک‌های استریل، فرآوری و آماده‌سازی شود تا از آلودگی مجدد جلوگیری شود. این شامل استفاده از ظروف استریل، ابزارهای استریل و حفظ محیط ضدعفونی شده است. در مرحله بعد، حامل با سویه‌های میکروبی مطلوب تلقیح می‌شود. این فرآیند نیز تحت شرایط استریل انجام می‌شود تا اطمینان حاصل شود که فقط میکروب‌های مفید معرفی می‌شوند. اقدامات کنترل کیفیت برای تأیید اثربخشی فرآیند استریل‌سازی ضروری است (وانگ و همکاران، ۲۰۱۵). نمونه‌هایی از حامل استریل شده برای وجود آلودگی‌ها بررسی می‌شوند. علاوه بر این، زنده‌مانی و تراکم جمعیت میکروب‌های تلقیح شده نیز پایش می‌شود (بارتی و سوریاوانشی، ۲۰۲۱). حامل تلقیح شده سپس در ظروف استریل بسته‌بندی می‌شود تا از آلودگی در طول نگهداری و حمل و نقل جلوگیری شود. شرایط مناسب نگهداری، مانند کنترل دما و رطوبت، برای اطمینان از طول عمر و کارایی کود زیستی اعمال می‌شود.

بسته‌بندی

بسته‌بندی کودهای زیستی نقش اساسی در تضمین کیفیت و کارایی آنها در طول چرخه عمر آنها ایفا می‌کند. یک بسته‌بندی مناسب از کودهای زیستی در برابر عوامل محیطی مانند رطوبت، دمای شدید و تابش UV محافظت می‌کند که می‌تواند محتویات میکروبی را تخریب کرده و کارایی را کاهش دهد. با حفظ شرایط بهینه، بسته‌بندی عمر مفید کودهای زیستی را افزایش داده، قابلیت زیستی میکروب‌ها را حفظ کرده و از آلودگی جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، بسته‌بندی‌هایی که برای راحتی حمل و استفاده طراحی شده‌اند، تجربه کاربری را بهبود می‌بخشند و استفاده مداوم و مؤثر در مزرعه را ترویج می‌کنند. مواد سبک و بادوام نیز به کارایی هزینه در تولید و حمل و نقل کمک کرده و گزینه‌های بسته‌بندی عمده می‌توانند هزینه‌های واحد را کاهش دهند (ساکپیرم و همکاران، ۲۰۲۱).

ماهیت ماده مورد استفاده برای بسته‌بندی یک مایه‌تلقیح بسیار مهم و تاثیرگذار بر کیفیت آن است. بسته باید تبادل رطوبت را مهار کند اما اجازه تبادل اکسیژن را بدهد. یک محصول استریل باید در هنگام بسته‌بندی مواد انتخاب شود. تعدادی از مواد برای اتوکلاو مناسب‌تر هستند اما حساس به تشعشع هستند و ممکن است توسط تشعشع آسیب ببینند. لذا انتخاب مواد بسته‌بندی نیز یک مرحله حیاتی در فرآیند است (سیف و همکاران، ۲۰۲۱). فراتر از حفاظت و راحتی، بسته‌بندی نیز نقش مهمی در برندینگ، انطباق با مقررات و پایداری دارد. بسته‌بندی با کیفیت و دارای برچسب‌های واضح اعتماد مصرف‌کننده را جلب کرده و اطلاعات ضروری مانند دستورالعمل‌های استفاده و هشدارهای ایمنی را ارائه می‌دهد. مواد بسته‌بندی سازگار با محیط زیست، مانند گزینه‌های قابل تجزیه یا بازیافت، با کشاورزی پایدار و کودهای زیستی همخوانی داشته و برای مصرف‌کنندگان دوستدار محیط زیست جذاب است. طراحی کارآمد بسته‌بندی ضایعات را به حداقل رسانده و فضای ذخیره‌سازی را بهینه می‌کند، اطمینان حاصل می‌کند که محصول سالم و مؤثر تا زمان رسیدن به مصرف‌کننده نهایی باقی می‌ماند. در کل، توجه دقیق به بسته‌بندی برای حفظ

یکپارچگی، کیفیت و بازارپذیری کودهای زیستی ضروری است (ساکپیرم و همکاران، ۲۰۲۱؛ ساهو و همکاران، ۲۰۲۱).

اولین کود زیستی (مایه تلقیح ریزوبیوم) در بطری‌های شیشه‌ای آماده شد، زیرا این بطری‌ها به دلیل مقاومت بیشتر در مقابل اتوکلاو شدن، بسته‌شدن محکم و امکان مشاهده محصول توسط خریدار، مناسب بودند (کاتروکس و همکاران، ۲۰۰۱؛ الساخاوی و همکاران، ۲۰۲۱). بعد از آن، قوطی‌های فلزی جایگزین بطری‌های شیشه‌ای شدند، اما نتوانستند به اندازه بطری‌های شیشه‌ای رایج شوند. در حال حاضر، بسته‌های پلاستیکی برای تولید انبوه کودهای زیستی استفاده می‌شوند. استفاده از بسته‌های پلاستیکی به دلایلی همچون سهولت در کنترل و حمل، تبادل گازی بالا، انتقال نسبتاً کم رطوبت و بسته شدن محکم بر اثر حرارت مورد توجه قرار گرفته است. در انتخاب بسته‌های پلی‌اتیلنی باید عواملی نظیر تأثیر تابش اشعه گاما، وجود هوای محبوس شده و ظرفیت تبادل گازی، محتوای رطوبت و تحمل نسبت به اتوکلاو مد نظر قرار گیرد. این بسته‌ها باید ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مناسبی داشته باشند تا به عنوان حامل‌های مؤثر عمل کنند (آرپیتا و برهماپراکاش، ۲۰۱۶؛ سیف و همکاران، ۲۰۲۱).

مقایسه ویژگی‌های سه نوع پلیمر مورد استفاده در بسته‌بندی کودهای زیستی شامل پلی‌اتیلن کم‌چگال (LDPE[۴۹])، پلی‌اتیلن پرچگال (HDPE[۵۰]) و پلی‌پروپیلن نشان می‌دهد که پلی‌اتیلن کم‌چگال دارای وزن مولکولی بین ۱۵۰۰ تا ۷۰۰۰، ضخامت بین ۰/۰۳۸ تا ۰/۰۸ میلی‌متر و ظاهر نیمه‌شفاف است. این پلیمر نقطه ذوب ۸۹ تا ۹۰ درجه سلسیوس دارد و در فرآیند اتوکلاو پذیری ضعیف عمل می‌کند، اما ثبات خوبی در مقابل تابش دارد. نفوذپذیری آن برای گازهای CO_2، N2 و O_2 به ترتیب ۲۸، ۷/۵ و ۲/۵ است و ویژگی تبادل گازی خوبی دارد. پلی‌اتیلن پرچگال با وزن مولکولی بین ۲۵۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰، ضخامت ۰/۸ تا ۰/۱ میلی‌متر و ظاهر نیمه‌شفاف تا تیره، نقطه ذوب ۱۰۵ تا ۱۲۰ درجه سلسیوس دارد و اتوکلاو پذیری آن متوسط است. این پلیمر نیز در مقابل تابش ثبات خوبی دارد و نفوذپذیری آن برای گازهای CO_2، N_2 و O_2 به ترتیب ۶/۵، ۱/۶ و ۰/۵ است که ویژگی تبادل گازی متوسطی را نشان می‌دهد. پلی‌پروپیلن با ضخامت ۰/۰۵ تا ۰/۰۹میلی‌متر و ظاهر شفاف، نقطه ذوب ۱۲۰ تا ۱۳۰ درجه سلسیوس دارد و در فرآیند اتوکلاو پذیری خوب عمل می‌کند. این پلیمر در مقابل تابش نسبتا خوب است و نفوذپذیری آن برای گازهای CO_2، N_2 و O_2 به ترتیب ۶، ۲ و ۰/۴ است که مانند HDPE ویژگی تبادل گازی متوسطی دارد. با توجه به این ویژگی‌ها، هر یک از این پلیمرها می‌توانند در کاربردهای مختلف بسته به نیازهای خاص مورد استفاده قرار گیرند (صالیح و همکاران، ۲۰۱۳؛ مک آینیس، ۲۰۲۳).

نتیجه‌گیری

مروری بر پیشرفت‌ها و چالش‌های موجود در فرمولاسیون مایه تلقیح‌های میکروبی نشان می‌دهد که این حوزه از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا تأثیر مستقیم بر کارایی و پایداری این محصولات دارد. انتخاب و بهینه‌سازی سویه‌های میکروبی، به همراه استفاده از حامل‌های مناسب، نقش اساسی در بهبود عملکرد مایه تلقیح‌ها ایفا می‌کند. فرمولاسیون‌های مختلف، از جمله جامد (پودری و گرانوله)، مایع و محصورسازی میکروب در ماتریکس‌های پلیمری یا ژل و بستر سیال خشک شده هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود هستند که باید بر اساس نیاز و شرایط محیطی انتخاب شوند.

[۴۹] Low-Density Polyethylene

[۵۰] High-Density Polyethylene

برای دستیابی به نتایج مطلوب، پژوهش‌های بیشتری در زمینه بهینه‌سازی فرمولاسیون‌ها و فهم بهتر از تعاملات بین میکروب‌ها و محیط زیست ضروری است. این تلاش‌ها می‌تواند به توسعه محصولات با کارایی بالاتر، کاهش هزینه‌ها و افزایش پایداری زیست‌محیطی منجر شود. در نهایت، ارتقاء کیفیت و کارایی مایه تلقیح‌های میکروبی می‌تواند به بهبود سلامت خاک و افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی کمک شایانی کند، که این خود به تأمین سلامت خاک و پایداری کشاورزی کمک خواهد کرد.

اعلام تعارض منافع

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی پسادکترا به شماره ۴۰۱۵۷۷۲ می‌باشد که توسط بنیاد ملی علم ایران (صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF))، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری و همچنین وزارت جهاد کشاورزی (سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی) تامین مالی و حمایت شده است و در آن هیچ یک از پژوهشگران تعارض منافع ندارند.

فهرست منابع

[۱] اخگر، ع.ر.، صادقی گوغری، م.، عباس زاده دهجی، پ.، صابری ریسه، ر. ۱۴۰۰. توانایی باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت در افزایش زیست فراهمی فسفر خاک و بررسی چند فرمولاسیون از جدایه‌های برتر. زیست شناسی خاک، جلد ۹، شماره ۲: ۱۲۲-۱۰۷.

[۲] آرمنده، م.، محمودی، ن.، فلاح نصرت‌آباد، ع.ر. ۱۳۹۷. جدا سازی و شنا سایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از مزارع پرورش ماهیان گرمابی به‌عنوان کاندیدای کود زیستی فسفره. نشریه علمی‌پژوهشی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۶(۴): ۱۲۱-۱۴۰.

[۳] اسدی رحمانی، ه.، خاوازی، ک.، اصغرزاده، ا.، رجالی، ف.، افشاری، میترا. ۱۳۹۱. کودهای زیستی در ایران: فرصتها و چالشها ، مجله پژوهشهای خاک، ۲۶ (۱): ۸۷-۷۸.

[۴] اصغرزاده، ا.، ثقفی، ک.، فتاحی فر، ا.، جناقی، م.، علیزاده، ن. ۱۴۰۲. تأثیر باکتری های محرک رشد بر رشد هیف های قارچ دکمه‌ای و کنترل عوامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی. زیست شنا سی خاک، جلد ۱۱، شماره ۲: ۱۵۴-۱۳۹.

[۵] امامی، ن.، حسنی، ا.، واعظی، ع.ر، بابااکبری ساری، م. ۱۴۰۰. بررسی تأثیر کشت چمن و کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های کیفی خاک. زیست شناسی خاک، جلد ۹، شماره ۱: ۷۱-۶۱.

[۶] خاوازی، ک و ملکوتی م ج. ۱۳۸۱. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور، مجموعه مقالات. ناشر: آموزش کشاورزی وابسته به معاونت آموزشی وترویج کشاورزی (آموزش کشاورزی وابسته به دفتر خدمات تکنولوژی آموزشی وزارت جهاد کشاورزی)

[۷] خسروی، ه. ۱۴۰۲. تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های رشد گندم در شرایط آبیاری با آب شور. زیست شناسی خاک، جلد ۱۱، شماره ۱: ۳۱-۱۷.

[۸] خوشرو، ب.، ساریخانی م ر. ۱۳۹۷. جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات مقاوم به دما برای استفاده در کود میکروبی فسفاته. مجله آب و خاک. جلد ۳۲، شماره ۱، ۱۶۷- ۱۵۵.

[۹] خو شرو، ب.، ساریخانی، م.ر.، ریحانی‌تبار، ع.، او ستان، ش. و ملبوبی، م. ع. ۱۴۰۱. ارز یابی توان جدا یه های ریزوسفری در انحلال Zn کم محول در شرایط درون شیشه‌ای و برر سی توانایی آنها در تأمین Zn گیاه ذرت، دانش کشاورزی وتولید پایدار، ۳۲ (۳): ۱۸۳-۱۹۹.

[۱۰] ساریخانی، م. ر.، علی‌اصغرزاد، ن و خوشرو، ب. ۱۳۹۶. برر سی اثربخ شی باکتریهای حل‌کننده فسفات در قالب کود میکروبی فسفاته بر گیاه ذرت. مجله تحقیقات آب و خاک ایران. جلد ۴۹، شماره ۱، ۸۱-۷۱.

[۱۱] شریعتی، ش.، علیخانی، ح و پور بابائی، ا. ع. ۱۳۹۲. بررسی پتانسیل کاربرد نانو ذره نانوپروسیل-۱ (lus-1) به عنوان حامل باکتری حل کننده فسفات در فرایند تولید زادمایه نانوبیولوژیک ."مجله زیست شناسی خاک، ۱(۲): ۹۲-۸۳.

[۱۲] شریعتی، ش.، علیخانی، ح و شریعتی، ش. ۱۳۹۸. استفاده از زادمایه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس محرک رشد گیاه در افزایش شاخص‌های رشد گیاه گندم. مجله تحقیقات کاربردی خاک، ۷ (۱): ۱۷۶-۱۶۵.

[۱۳] علیخانی، ح.، شریعتی ش، اعتصامی ح و فلاح نصرت‌آباد، ع. ۱۴۰۱ .ازتوباکتر به عنوان کود زیستی محرک رشد گیاه برنج". مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۳ (۳): ۶۳۳-۶۶۱.

[۱۴] فلاح نصرت آباد.، ع.ر. ۱۴۰۱. بررسی روش‌های انحلال فسفات‌های نامحلول توسط ریزجانداران حل‌کننده فسفات. زیست شناسی خاک، جلد ۱۰، شماره ۱: ۱۱۰-۹۳.

[۱۵] فلاح نصرت آباد، ع.، آرمنده، م. ۱۴۰۰. نقش ریزجانداران حل‌کننده فسفات در مدیریت فسفر در کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، انتشارات موسسه تحقیقات خاک و آب کشور.

[۱۶] فلاح نصرت آباد، ع.، آفتاب‌طلب، ا و شریعتی، ش. ۱۳۹۹. بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک شور آهکی با استفاده تلفیقی از کود نانوبیولوژیک و کود دامی و اثربخشی بر عملکرد گیاه ذرت". مجله تحقیقات غلات، ۱۰ (۳): ۲۷۱-۲۵۹.

[۱۷] مشیری، ف.، صفرپورحقیقی، ش.، بصیرت، م.، طهرانی، م. م.، هادی اسدی رحمانی، ه.، رجالی ف.، بلالی م. ر.، بازرگان ک. ، ۱۴۰۲. گزارش فنی برآورد کود مورد نیاز محصولات زراعی و باغی برای سال‌های زراعی ۱۳۹۹ - ۱۴۰۲، انتشارات موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج ایران.

[18] Abd El-Fattah, D.A., Eweda, W.E., Zayed, M.S. and Hassanein, M.K., 2013. Effect of carrier materials, sterilization method, and storage temperature on survival and biological activities of Azotobacter chroococcum inoculant. *Annals of Agricultural Sciences*, *58*(2), pp.111-118.

[19] Ahemad, M. and Khan, M.S., 2012. Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing Pseudomonas putida isolated from mustard (Brassica compestris) rhizosphere. *Chemosphere*, *86*(9), pp.945-950.

[20] Aksani, D., Ginting, R.C.B. and Purwani, J., 2021, February. The assay of carrier material and bacteria isolate formula as a biofertilizer on soybean in Inceptisols from West Java. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 648, No. 1, p. 012193). IOP Publishing.

[21] Akter, T., Shah, S.T., Al Mamun, M.A., Bari, M.L., Begum, S., Rahman, N. and Miah, M.I., 2023. Costeffective formulation of bio-fertilizer using agricultural residues as carriers and determination of shelflife of bio-fertilizer inoculants. *Dhaka University Journal of Biological Sciences*, *32*(2), pp.189-199.

[22] Ali, S.M., Hamza, M.A., Amin, G., Fayez, M., El-Tahan, M., Monib, M. and Hegazi, N.A., 2005. Production of biofertilizers using baker's yeast effluent and their application to wheat and barley grown in north Sinai deserts: (Produktion von Biodüngern unter Verwendung von Backhefeabwasser und ihre Anwendung zu Weizen-und Gerstenanbau im Norden der Sinai-Wüste). *Archives of Agronomy and Soil Science*, *51*(6), pp.589-604.

[23] Alley, M.M. and B. Vanlauwe, *The role of fertilizers in integraded plant nutrient management*. : Citeseer, 2009.

[24] Allouzi, M.M.A., Allouzi, S.M.A., Keng, Z.X., Supramaniam, C.V., Singh, A. and Chong, S., 2022. Liquid biofertilizers as a sustainable solution for agriculture. *Heliyon*, *8*(12).

[25] Aloo, B.N., Mbega, E.R., Makumba, B.A. and Tumuhairwe, J.B., 2022. Effects of carrier materials and storage temperatures on the viability and stability of three biofertilizer inoculants obtained from potato (Solanum tuberosum L.) rhizosphere. *Agriculture*, *12*(2), p.140.

[26] Arora, N.K., Khare, E. and Maheshwari, D.K., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization, and future strategies. *Plant growth and health promoting bacteria*, pp.97-116.

[27] Arpitha, P.S. and Brahmaprakash, G.P., 2016. Evaluation of different packaging materials for microbial inoculants. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *10*(2), pp.1131-1135.

[28] Atieno, M., Herrmann, L., Okalebo, R. and Lesueur, D., 2012. Efficiency of different formulations of Bradyrhizobium japonicum and effect of co-inoculation of Bacillus subtilis with two different strains of Bradyrhizobium japonicum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*, pp.2541-2550.

[29] Bangash, N., Mahmood, S., Akhtar, S., Hayat, M.T., Gulzar, S. and Khalid, A., 2021. Formulation of biofertilizer for improving growth and yield of wheat in rain dependent farming system. *Environmental Technology & Innovation*, *24*, p.101806.

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

[31] Bashan, Y., Hernandez, J.P., Leyva, L.A. and Bacilio, M., 2002. Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting

biofertilizer. In *Valorization of agri-food wastes and by-products* (pp. 881-897). Academic Press.

[44] Clayton, G.W., Rice, W.A., Lupwayi, N.Z., Johnston, A.M., Lafond, G.P., Grant, C.A. and Walley, F., 2004. Inoculant formulation and fertilizer nitrogen effects on field pea: Nodulation, N2 fixation and nitrogen partitioning. *Canadian Journal of Plant Science*, *84*(1), pp.79-88.

[45] Deaker, R., Roughley, R.J. and Kennedy, I.R., 2004. Legume seed inoculation technology—a review. *Soil biology and biochemistry*, *36*(8), pp.1275-1288.

[46] Delangiz, N., Khoshru, B., Asgari Lajayer, B., Ghorbanpour, M. and Kazemalilou, S., 2020. Molecular mechanisms of heavy metal tolerance in plants. *Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals*, pp.125-136.

[47] Dellagnezze, B.M. and Sierra-Garcia, I.N., 2023. Immobilization of microbial inoculants for improving soil nutrient bioavailability. In *Microbial Inoculants* (pp. 161-181). Academic Press.

[48] Denton, M., Farquharson, E., Ryder, M., Rathjen, J. and Ballard, R., 2018. Best options for optimal performance from rhizobial inoculants. *GRDC update, Adelaide*.

[49] Dey, A., 2021. Liquid biofertilizers and their applications: An overview. *Environmental and Agricultural Microbiology: Applications for Sustainability*, pp.275-292.

[50] Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J., Sikder, M.N.A. and Sampathkumar, P., 2018. Microalgae as bio-fertilizers for rice growth and seed yield productivity. *Waste and biomass valorization*, *9*, pp.793-800.

[51] Dini, I.R. and Wulandari, M., 2022, June. Application of Bacillus cereus Biofertilizer Formulation of Soybean (Glycine max L. Merril) Growth and Yield Support Sustainable Agriculture on Peatlands. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 977, No. 1, p. 012022). IOP Publishing.

[52] Edgerton, M.D.J.P.p., *Increasing crop productivity to meet global needs for feed, food, and fuel.* 149(1): p. 7–13, 2009.

[53] Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., Chebotar, V., Tikhonovich, I., Kamilova, F., Validov, S.Z. and Lugtenberg, B., 2011. Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. *Biology and fertility of soils*, *47*, pp.197-205.

[54] Egamberdiyeva, D., 2007. The growth and nutrient uptake of maize inoculated with plant growth bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, *35*, pp.359-368.

[32] Bazilah, A.B.I., Sariah, M., Abidin, M.A.Z. and Yasmeen, S., 2011. Influence of carrier materials and storage temperature on survivability of Rhizobial inoculants. *Asian J Plant Sci*, *10*, pp.331-337.

[33] Behl, K., Jaiswal, P. and Pabbi, S., 2024. Recent Advances in Microbial and Nano-Formulations for Effective Delivery and Agriculture Sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, p.103180.

[34] Bharti, N. and Suryavanshi, M., 2021. Quality control and regulations of biofertilizers: Current scenario and future prospects. In *Biofertilizers* (pp. 133-141). Woodhead Publishing.

[35] Bharti, N., Sharma, S.K., Saini, S., Verma, A., Nimonkar, Y. and Prakash, O., 2017. Microbial plant probiotics: problems in application and formulation. Probiotics and plant health, pp.317-335.

[36] Brahmaprakash, G.P., Sahu, P.K., Lavanya, G., Gupta, A., Nair, S.S. and Gangaraddi, V., 2020. Role of additives in improving efficiency of bioformulation for plant growth and development. In *Frontiers in soil and environmental microbiology* (pp. 1-10). CRC Press.

[37] Çakmakçı, R., 2019. A review of biological fertilizers current use, new approaches, and future perspectives. *International Journal of Innovative Studies in Sciences and Engineering Technology*, *5*(7), 83-92.

[38] Catroux, G., Hartmann, A. and Revellin, C., 2001. Trends in rhizobial inoculant production and use. *Plant and soil*, *230*(1), pp.21-30.

[39] Chakraborty, T. and Akhtar, N., 2021. Biofertilizers: Characteristic features and applications. *Biofertilizers: Study and Impact*, pp.429-489.

[40] Chandran, M., Manisha, A. and Subashini, A., 2014. Production of phosphate biofertilizer using lignocellulosic waste as carrier material. *Asian Journal of Chemistry*, *26*(7), p.2065.

[41] Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A.K., Prakash, A., Gupta, G. and Shukla, P., 2020. Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, *10*, pp.1-9.

[42] Chromkaew, Y., Kaeomuangmoon, T., Mawan, N., Mukjang, N. and Khongdee, N., 2023. Is coconut coir dust an efficient biofertilizer carrier for promoting coffee seedling growth and nutrient uptake?. *PeerJ*, *11*, p.e15530.

[43] Chuen, N.L., Ghazali, M.S.M., Hassim, M.F.N., Bhat, R. and Ahmad, A., 2021. Agro-waste-derived silica nanoparticles (Si-NPs) as

soil inoculation. *Applied Soil Ecology*, *84*, pp.192-199.

[66] Hamed, R., Jodeh, S. and Alkowni, R., 2024. Nano bio fertilizer capsules for sustainable agriculture. *Scientific Reports*, *14*(1), 13646.

[67] Hassan, T.U. and Bano, A., 2016. Biofertilizer: a novel formulation for improving wheat growth, physiology and yield. Pak. J. Bot, 48(6), pp.2233-2241.

[68] He, D. and Wan, W., 2021. Phosphate-solubilizing bacterium Acinetobacter pittii gp-1 affects rhizosphere bacterial community to alleviate soil phosphorus limitation for growth of soybean (Glycine max). *Frontiers in Microbiology*, *12*, p.737116. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737116.

[69] He, Y., Wu, Z., Tu, L., Han, Y., Zhang, G. and Li, C., 2015. Encapsulation and characterization of slow-release microbial fertilizer from the composites of bentonite and alginate. *Applied Clay Science*, *109*, pp.68-75.

[70] Hegde, S.V. and Brahmaprakash, G.P., 1992. A dry granular inoculant of Rhizobium for soil application. *Plant and Soil*, *144*, pp.309-311.

[71] Hernández-Álvarez, C., Peimbert, M., Rodríguez-Martin, P., Trejo-Aguilar, D. and Alcaraz, L.D., 2023. A study of microbial diversity in a biofertilizer consortium. *Plos one*, *18*(8), p.e0286285.

[72] Herridge, D.F., 2008. Inoculation technology for legumes. In *Nitrogen-fixing leguminous symbioses* (pp. 77-115). Dordrecht: Springer Netherlands.

[73] Herrmann, L. and Lesueur, D., 2013. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied microbiology and biotechnology*, *97*(20), pp.8859-8873.

[74] Hoe, T.K., Sarmidi, M.R., Alwee, S.S.R.S. and Zakaria, Z.A., 2016. Recycling of oil palm empty fruit bunch as potential carrier for biofertilizer formulation. *Jurnal Teknologi*, *78*(2).

[75] Jain, D., Sharma, J., Kaur, G., Bhojiya, A.A., Chauhan, S., Sharma, V., Suman, A., Mohanty, S.R. and Maharjan, E., 2021. Phenetic and molecular diversity of nitrogen fixating plant growth promoting Azotobacter isolated from semiarid regions of India. *BioMed Research International*, *2021*(1), p.6686283.

[76] Jaiswal, A., Koli, D.K., Pabbi, S., Priya, H., Kumar, A., Mishra, R., Koli, G.K. and Dhaked, B.S., 2022. Effect of protective polymers and storage temperatures on shelf life of cyanobacterial liquid formulation. *Indian Journal of Ecology*, *49*(4), pp.1517-1525.

[77] Jannin, V., Musakhanian, J. and Marchaud, D., 2008. Approaches for the development of solid and promoting bacteria affected by different soil types. *Applied Soil Ecology*, *36*, pp.184-189.

[55] Elmerich, C. and Newton, W.E. eds., 2007. *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations* (Vol. 5). Dordrecht: Springer.

[56] Elsakhawy, T., Ghazi, A. and Abdel-Rahman, M.A., 2021. Developing liquid rhizobium inoculants with enhanced long-term survival, storage stability, and plant growth promotion using ectoine additive. *Current Microbiology*, *78*, pp.282-291.

[57] Fages, J., 1990. An optimized process for manufacturing an Azospirillum inoculant for crops. *Applied microbiology and biotechnology*, *32*, pp.473-478.

[58] Fasusi, O.A., Cruz, C. and Babalola, O.O., 2021. Agricultural Sustainability: Microbial Biofertilizers in Rhizosphere Management. Agriculture 2021, 11, 163.

[59] Freyer, B., Ellssel, P., Nyakanda, F. and Saussure, S., 2024. Exploring the off-farm production, marketing and use of organic and biofertilisers in Africa: A scoping study. Report to the European Commission. DeSIRA-LIFT European Union.

[60] Glaser, B., 2007. Prehistorically modified soils of central Amazonia: a model for sustainable agriculture in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *362*(1478), pp.187-196.

[61] Goenadi, D.H., Mustafa, A.B. and Santi, L.P., 2018, August. Bio-organo-chemical fertilizers: a new prospecting technology for improving fertilizer use efficiency (FUE). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 183, No. 1, p. 012011). IOP Publishing.

[62] Gopi, G.K., Meenakumari, K.S., Anith, K.N., Nysanth, N.S. and Subha, P., 2020. Application of liquid formulation of a mixture of plant growth promoting rhizobacteria helps reduce the use of chemical fertilizers in Amaranthus (Amaranthus tricolor L.). *Rhizosphere*, *15*, p.100212.

[63] Graham-Weiss, L., Bennett, M.L. and Paau, A.S., 1987. Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient-supplemented vermiculite. *Applied and environmental microbiology*, *53*(9), pp.2138-2141.

[64] Hale, L., Luth, M. and Crowley, D., 2015. Biochar characteristics relate to its utility as an alternative soil inoculum carrier to peat and vermiculite. *Soil Biology and Biochemistry*, *81*, pp.228-235.

[65] Hale, L., Luth, M., Kenney, R. and Crowley, D., 2014. Evaluation of pinewood biochar as a carrier of bacterial strain Enterobacter cloacae UW5 for

biofertilizers containing plant growth-promoting rhizobacteria in Iran: progress and research prospects. *Current Research in Microbial Sciences*, p.100268.

[90] Kim, H.L., Weon, H.Y., Sohn, B.K., Choi, Y.H. and Kwack, Y.B., 2009. Microbial Community Changes in the Soil of Plastic Film House as Affected by Anaerobic Fermentation of Rice Bran or Wheat Bran. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, *42*(5), pp.341-347.

[91] Kour, D., Rana, K.L., Yadav, A.N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H.S. and Saxena, A.K., 2020. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *23*, p.101487.

[92] Kulkarni, K., Bhogale, G.M. and Nalawade, R., 2018. Adsorptive removal of fluoride from water samples using Azospirillum biofertilizer and lignite. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *35*, pp.153-163.

[93] Kumar, A., Saharan, B.S., Parshad, J., Gera, R., Choudhary, J. and Yadav, R., 2024. Revolutionizing Indian agriculture: the imperative of advanced biofertilizer technologies for sustainability. *Discover Agriculture*, *2*(1), p.24. https://doi.org/10.1007/s44279-024-00037-y.

[94] Kumar, D., Kumar, R., Sakshi, Deepshikha and Kumar, A., 2024. Commercialization and Market Perspectives of Biofertilizers Through Advanced Approaches. In *Metabolomics, Proteomics and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry: Volume II* (pp. 339-357). Singapore: Springer Nature Singapore.

[95] Kumari, S. and Rani, N., 2024. Novel cereal bran based low-cost liquid medium for enhanced growth, multifunctional traits and shelf life of consortium biofertilizer containing Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis and Pseudomonas sp. *Journal of Microbiological Methods*, p.106952.

[96] Kumawat, K.C., Singh, I., Nagpal, S., Sharma, P., Gupta, R.K. and Sirari, A., 2022. Co-inoculation of indigenous Pseudomonas oryzihabitans and Bradyrhizobium sp. modulates the growth, symbiotic efficacy, nutrient acquisition, and grain yield of soybean. *Pedosphere*, *32*(3), pp.438-451. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60085-1.

[97] Lai, J., Azad, A.K., Sulaiman, W.M.A.W., Kumarasamy, V., Subramaniyan, V. and Alshehade, S.A., 2024. Alginate-based encapsulation fabrication technique for drug delivery: an updated review of particle type, formulation technique, pharmaceutical ingredient, semi-solid lipid-based formulations. *Advanced drug delivery reviews*, *60*(6), pp.734-746.

[78] Jha, C.K. and Saraf, M., 2012. Evaluation of multispecies plant-growth-promoting consortia for the growth promotion of Jatropha curcas L. *Journal of plant growth regulation*, *31*, pp.588-598.

[79] John, R.P., Tyagi, R.D., Brar, S.K., Surampalli, R.Y. and Prévost, D., 2011. Bio-encapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery. Critical reviews in biotechnology, 31(3), pp.211-226.

[80] Joshi, A., Kumar, S. and Kumar, V., 2021. A brief description on biofertilizers. *ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal*, *11*(10), pp.90-96.

[81] Joshi, S.K. and Gauraha, A.K., 2022. Global biofertilizer market: Emerging trends and opportunities. Trends of applied microbiology for sustainable economy, pp.689-697.

[82] Kamath, A., Shukla, A., Saiyed, T., Bhatt, S., Rathod, H., Makwana, V., Soni, D., Banerjee, S. and Patel, D., 2023. Bioinoculants: the agrarian avengers. *Symbiosis*, *91*(1), pp.151-166.

[83] Kaur, H., Athwal, S. and Garg, K., 2024. Futuristic Approaches in Biofertilizer Industry: Challenges, Opportunities, and Future Directions. *Metabolomics, Proteomics and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry: Volume II*, pp.15-33.

[84] Kaur, R. and Kaur, S., 2023. Carrier-Based Biofertilizers. In *Metabolomics, Proteomes and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry* (pp. 57-75). Singapore: Springer Nature Singapore.

[85] Khan, M., 2023. *Formulation of Carrier-based Biofertilizer for Improvement of Growth and Physiology of Zea mays L* (Doctoral dissertation, Quaid I Azam university Islamabad).

[86] Khan, S.T., 2022. Consortia-based microbial inoculants for sustaining agricultural activities. *Applied Soil Ecology*, *176*, p.104503.

[87] Khoshru, B., Mitra, D., Joshi, K., Adhikari, P., Rion, S., Fadiji, A., Alizadeh, M., Priyadarshini, A., Senapati, A., Reza, M. and Panneerselvam, P., 2023. Decrypting the multi-functional biological activators and inducers of defense responses against biotic stresses in plants. Helidon 9 (3), 1145-1168.

[88] Khoshru, B., Mitra, D., Mahakur, B., Sarikhani, M.R., Mondal, R., Verma, D. and Pant, K., 2020. Role of soil rhizobacteria in utilization of an indispensable micronutrient zinc for plant growth promotion. *J. Crit. Rev*, *21*, pp.4644-4654.

[89] Khosravi, H., Khoshru, B., Nosratabad, A.F. and Mitra, D., 2024. Exploring the landscape of

fertilizer based on clay and alginate encapsulation. *Current microbiology*, *78*(1), pp.86-94.

[109] Mikos-Szymańska, M., Schab, S., Rusek, P., Borowik, K., Bogusz, P. and Wyzińska, M., 2019. Preliminary study of a method for obtaining Brown coal and biochar based granular compound fertilizer. *Waste and Biomass Valorization*, *10*, pp.3673-3685.

[110] Mishra, B.K. and Dadhich, S.K., 2010. Methodology of nitrogen biofertilizer production. *J. Adv. Dev. Res*, *1*(1), pp.3-6.

[111] Mitra, D., Adhikari, P., Djebaili, R., Thathola, P., Joshi, K., Pellegrini, M., Adeyemi, N.O., Khoshru, B., Kaur, K., Priyadarshini, A. and Senapati, A., 2023. Biosynthesis and characterization of nanoparticles, its advantages, various aspects and risk assessment to maintain the sustainable agriculture: Emerging technology in modern era science. *Plant Physiology and Biochemistry*, *196*, pp.103-120.

[112] Moradi, S., Khoshru, B., Mitra, D., Mahakur, B., Das Mohapatra, P.K., Asgari Lajayer, B. and Ghorbanpour, M., 2021. Transcriptomics analyses and the relationship between plant and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Omics science for rhizosphere biology*, pp.89-111.

[113] Nagendra Prasad, M.N., Sanjay, K.R., Shravya Khatokar, M., Vismaya, M.N. and Nanjunda Swamy, S., 2011. Health benefits of rice bran-a review. *J Nutr Food Sci*, *1*(3), pp.1-7.

[114] Nehra, V. and Choudhary, M., 2015. A review on plant growth promoting rhizobacteria acting as bioinoculants and their biological approach towards the production of sustainable agriculture. *Journal of Applied and Natural Science*, *7*(1), pp.540-556.

[115] Novinscak, A. and Filion, M., 2020. Long term comparison of talc-and peat-based phytobeneficial Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas synxantha bioformulations for promoting plant growth. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*, p.602911.

[116] Nussinovitch, A. and Nussinovitch, A., 2010. Beads and special applications of polymers for agricultural uses. *Polymer macro-and micro-gel beads: fundamentals and applications*, pp.231-253.

[117] Odoh, C.K., Sam, K., Zabbey, N., Eze, C.N., Nwankwegu, A.S., Laku, C. and Dumpe, B.B., 2020. Microbial consortium as biofertilizers for crops growing under the extreme habitats. *Plant microbiomes for sustainable agriculture*, pp.381-424.

[118] Pallavi, Chandra, D. and Sharma, A.K., 2017. Commercial microbial products: exploiting and targeted delivery system. Pharmaceutics, 16(3), p.370.

[98] Lavanya, G., Sahu, P.K. and Brahmaprakash, G.P., 2016. Survival and effectiveness of fluid bed dried formulation of microbial consortium on cowpea (Vigna unguiculata L.). *Environment and Ecology*, *34*(4D), pp.2440-2444.

[99] Li, J., Wang, H., Wang, L., Yu, D. and Zhang, X., 2023. Stabilization effects of saccharides in protein formulations: A review of sucrose, trehalose, cyclodextrins and dextrans. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, p.106625.

[100] Lodhi, R.S., Das, S. and Das, P., 2023. Recent Advances in Polymer Hydrogels for Agricultural Applications. *Novel Polymeric Materials for Environmental Applications*, pp.109-177.

[101] Lu, S., Orr, J.F. and Buchanan, F.J., 2003. The influence of inert packaging on the shelf ageing of gamma-irradiation sterilised ultra-high molecular weight polyethylene. *Biomaterials*, *24*(1), pp.139-145.

[102] Mahapatra, D.M., Satapathy, K.C. and Panda, B., 2022. Biofertilizers and nanofertilizers for sustainable agriculture: Phycoprospects and challenges. *Science of the total environment*, *803*, p.149990.

[103] Majeed, Z., Ramli, N.K., Mansor, N. and Man, Z., 2015. A comprehensive review on biodegradable polymers and their blends used in controlled-release fertilizer processes. *Reviews in Chemical Engineering*, *31*(1), pp.69-95.

[104] Malusá, E., Sas-Paszt, L. and Ciesielska, J.J.T.S.W.J., 2012. Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *The scientific world journal*, *2012*(1), p.491206.

[105] Martínez-Cano, B., Mendoza-Meneses, C.J., García-Trejo, J.F., Macías-Bobadilla, G., Aguirre-Becerra, H., Soto-Zarazúa, G.M. and Feregrino-Pérez, A.A., 2022. Review and perspectives of the use of alginate as a polymer matrix for microorganisms applied in agro-industry. *Molecules*, *27*(13), p.4248.

[106] Martínez-Cano, B., Mendoza-Meneses, C.J., García-Trejo, J.F., Macías-Bobadilla, G., Aguirre-Becerra, H., Soto-Zarazúa, G.M. and Feregrino-Pérez, A.A., 2022. Review and perspectives of the use of alginate as a polymer matrix for microorganisms applied in agro-industry. *Molecules*, *27*(13), p.4248.

[107] McInnis, E., 2023. Exploring plastic waste identification and sorting through NIR spectroscopy and automated colour sorting.

[108] Meftah Kadmiri, I., El Mernissi, N., Azaroual, S.E., Mekhzoum, M.E.M., Qaiss, A.E.K. and Bouhfid, R., 2021. Bioformulation of microbial

their revitalization through nanotechnology. *Journal of Cleaner Production*, p.138194.

[129] Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B. and Singh, A.K. eds., 2021. *Biofertilizers: Volume 1: Advances in Bio-inoculants*. Woodhead Publishing.

[130] Rani, P., Rajput, S., Thakur, B. and Kaur, S., 2023. Immobilization and Co-mobilization: An Unexploited Biotechnological Tool for Enhancing Efficiency of Biofertilizers. In *Metabolomics, Proteomes and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry* (pp. 219-236). Singapore: Springer Nature Singapore.

[131] Rani, P., Rajput, S., Thakur, B. and Kaur, S., 2023. Immobilization and Co-mobilization: An Unexploited Biotechnological Tool for Enhancing Efficiency of Biofertilizers. In *Metabolomics, Proteomes and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry* (pp. 219-236). Singapore: Springer Nature Singapore.

[132] Rawat, P., Sharma, A., Shankhdhar, D. and Shankhdhar, S.C., 2022. Improvement of phosphorus uptake, phosphorus use efficiency, and grain yield of upland rice (Oryza sativa L.) in response to phosphate-solubilizing bacteria blended with phosphorus fertilizer. *Pedosphere*, *32*(5), pp.752-763. (https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.005).

[133] Rekha, P.D., Lai, W.A., Arun, A.B. and Young, C.C., 2007. Effect of free and encapsulated Pseudomonas putida CC-FR2-4 and Bacillus subtilis CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic conditions. *Bioresource technology*, *98*(2), pp.447-451.

[134] Richa, 2023. Liquid Bio-Fertilizers: Prospects and Challenges. *Metabolomics, Proteomes and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry*, pp.77-99.

[135] Rieley, J. and Page, S., 2016. Tropical peatland of the world. *Tropical peatland ecosystems*, pp.3-32.

[136] Rose, M.T., Deaker, R., Potard, S., Tran, C.K.T., Vu, N.T. and Kennedy, I.R., 2011. The survival of plant growth promoting microorganisms in peat inoculant as measured by selective plate counting and enzyme-linked immunoassay. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *27*, pp.1649-1659.

[137] Sahu, P.K. and Brahmaprakash, G.P., 2016. Formulations of biofertilizers–approaches and advances. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 2: Functional Applications*, pp.179-198.

[138] Sahu, P.K., Gupta, A., Singh, M., Mehrotra, P. and Brahmaprakash, G.P., 2018. Bioformulation and fluid bed drying: A new approach towards an beneficial plant-microbe interaction. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts*, pp.607-626.

[119] PAYGOND, S.Y., UMASHANKAR, N., RAGHU, H., NAIK, L.K., BENHERLAL, P., SULTHANA, J.A., KUMAR, N.L. and SEENAPPA, C., 2024. Assessing the Impact of Corn-Rind-Carrier Based Biofertilizer on the Growth and Yield of Capsicum (Capsicum annuum L.). *Mysore Journal of Agricultural Sciences*, *58*(1).

[120] Prasanna, R., Gupta, H., Yadav, V.K., Gupta, K., Buddhadeo, R., Gogoi, R., Bharti, A., Mahawar, H. and Nain, L., 2020. Prospecting the promise of cyanobacterial formulations developed using soil-less substrates as carriers. *Environmental technology & innovation*, *18*, p.100652.

[121] Prasanna, R., Gupta, H., Yadav, V.K., Gupta, K., Buddhadeo, R., Gogoi, R., Bharti, A., Mahawar, H. and Nain, L., 2020. Prospecting the promise of cyanobacterial formulations developed using soil-less substrates as carriers. *Environmental Technology & Innovation*, *18*, p.100652.

[122] Priyadharshini, C., Gnanachitra, M., Balachandar, D. and Jayanthi, D., 2022. Assessment of shelf-life and efficacy of the seed-coating delivery system of biofertilizers in maize. *International Journal of Plant & Soil Science*, *34*(22), pp.548-558.

[123] Pub Med, 2024. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=biofertilizer&filter=years.2009-2024

[124] Puwanto, Samosir, F.A., Yuwariah, Y., Sumadi and Simarmata, T., 2019. Viability of Pseudomonas plecoglossicida and Rhizobium sp. LM-5 as liquid bacterial fertilizers in various formulated carriers. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture*, pp.185-193.

[125] Qi XiLiang, Q.X., Su XiaoFeng, S.X., Guo HuiMing, G.H., Qi JunCang, Q.J. and Cheng HongMei, C.H., 2016. VdThit, a thiamine transport protein, is required for pathogenicity of the vascular pathogen Verticillium dahliae.

[126] Quynh, T.M., Thuy, N.T.T., An, T.X., Thom, N.T., Binh, N.V., Diep, T.B., Ha, N.T. and Luong, L.T.M., 2019. A beads-based biofertilizer containing Bacillus megaterium for cabbage. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, *61*(4), pp.53-57.

[127] Rai, P. and Nayak, S., 2021. Development of a biofertilizer for viticulture. *Agricultural Research Journal*, *58*(1).

[128] Rai, P.K., Rai, A., Sharma, N.K., Singh, T. and Kumar, Y., 2023. Limitations of biofertilizers and

[151] Spadari, C.D.C., Lopes, L.B. and Ishida, K., 2017. Potential use of alginate-based carriers as antifungal delivery system. Frontiers in microbiology, 8, p.241872.

[152] Sriram, S., Roopa, K.P. and Savitha, M.J., 2011. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of Trichoderma harzianum with the addition of glycerol in the production medium. *Crop protection*, *30*(10), pp.1334-1339.

[153] Stella, D. and Sivasakthivelan, P., 2009. Effect of different organic amendments addition into Azospirillum bioinoculant with lignite as carrier material. *Bot. Res. Intl*, *2*(4), pp.229-232.

[154] Stevenson, L.E.O., Phillips, F., O'sullivan, K. and Walton, J., 2012. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *International journal of food sciences and nutrition*, *63*(8), pp.1001-1013.

[155] Subramanyam, B., Shankarappa, T.H. and Prasad, B.D.N., 2019. Effect of alginate based microbial consortial formulation on growth of corn. *Indian Journal of Ecology*, *46*(Special Issue 7), pp.96-100.

[156] Suman, A., Verma, P., Yadav, A.N., Srinivasamurthy, R., Singh, A. and Prasanna, R., 2016. Development of hydrogel based bio-inoculant formulations and their impact on plant biometric parameters of wheat (Triticum aestivum L.). *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, *5*(3), pp.890-901.

[157] Surendra Gopal, K. and Baby, A., 2016. Enhanced shelf life of Azospirillum and PSB through addition of chemical additives in liquid formulations. *Int J Sci Environ Technol*, *5*(4), pp.2023-2029.

[158] Tang, Y., Wang, X., Yang, Y., Gao, B., Wan, Y., Li, Y.C. and Cheng, D., 2017. Activated-lignite-based super large granular slow-release fertilizers improve apple tree growth: synthesis, characterizations, and laboratory and field evaluations. *Journal of agricultural and food chemistry*, *65*(29), pp.5879-5889.

[159] Taurian, T., Anzuay, M.S., Angelini, J.G., Tonelli, M.L., Ludueña, L., Pena, D., Ibáñez, F. and Fabra, A., 2010. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. *Plant and soil*, *329*, pp.421-431.

[160] Tittabutr, P., Payakapong, W., Teaumroong, N., Singleton, P.W. and Boonkerd, N., 2007. Growth, survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. *Science Asia*, *33*(1), pp.69-77.

[161] Tripathi, S., Tiwari, T. and Sachan, R., 2023. Soil Conditioners: Substances That Enhance the Physical Properties of Soil. 19-29.

improved biofertilizer formulation. *Eco-friendly agro-biological techniques for enhancing crop productivity*, pp.47-62.

[139] Saif, S., Abid, Z., Ashiq, M.F., Altaf, M. and Ashraf, R.S., 2021. Biofertilizer formulations. *Biofertilizers: Study and Impact*, pp.211-256.

[140] Sakpirom, J., Nunkaew, T., Khan, E. and Kantachote, D., 2021. Optimization of carriers and packaging for effective biofertilizers to enhance Oryza sativa L. growth in paddy soil. *Rhizosphere*, *19*, p.100383.

[141] Salih, S.E., Hamood, A.F. and Abd Alsalam, A.H., 2013. Comparison of the characteristics of LDPE: PP and HDPE: PP polymer blends. *Modern Applied Science*, *7*(3), p.33.

[142] Schoebitz, M., López, M.D. and Roldán, A., 2013. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review. Agronomy for sustainable development, 33, pp.751-765.

[143] Schoebitz, M., Simonin, H. and Poncelet, D., 2012. Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads. *Journal of microencapsulation*, *29*(6), pp.532-538.

[144] Seenivasagan, R. and Babalola, O.O., 2021. Utilization of microbial consortia as biofertilizers and biopesticides for the production of feasible agricultural product. *Biology*, *10*(11), p.1111.

[145] Shanmugam, V., Kanoujia, N., Singh, M., Singh, S. and Prasad, R., 2011. Biocontrol of vascular wilt and corm rot of gladiolus caused by Fusarium oxysporum f. sp. gladioli using plant growth promoting rhizobacterial mixture. *Crop protection*, *30*(7), pp.807-813.

[146] Sharma, P., Bano, A., Singh, S.P. and Tong, Y.W., 2023. Microbial inoculants: Recent progress in formulations and methods of application. Microbial Inoculants, pp.1-28.

[147] Silindir, M. and Özer, A.Y., 2009. Sterilization methods and the comparison of E-beam sterilization with gamma radiation sterilization. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, *34*(1), p.43.

[148] Singh, S.K., Bhople, N.D., Tomar, A., Savita, S. and Rana, M., 2018. Progress and potential of biofertilization in contemporary production practices of sustainable agriculture.

[149] Singleton, P., Keyser, H. and Sande, E., 2002. Development and evaluation of liquid inoculants. *Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam*, *109*, pp.52-66.

[150] Sivaram, A.K., Abinandan, S., Chen, C., Venkateswartlu, K. and Megharaj, M., 2023. Microbial inoculant carriers: Soil health improvement and moisture retention in sustainable agriculture. *Advances in Agronomy*, *180*, pp.35-91.

[162] Van Dyke, M.I. and Prosser, J.I., 2000. Enhanced survival of Pseudomonas fluorescens in soil following establishment of inoculum in a sterile soil carrier. *Soil Biology and Biochemistry*, *32*(10), pp.1377-1382.

[163] Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia del Moral, L.F., Kowalska, J., Tylkowski, B. and Malusá, E., 2020. Formulation of microbial inoculants by encapsulation in natural polysaccharides: focus on beneficial properties of carrier additives and derivatives. *Frontiers in plant science*, *11*, p.270.

[164] Wang, H.Y., Shen, L.I.U., Zhai, L.M., Zhang, J.Z., Ren, T.Z., Fan, B.Q. and Liu, H.B., 2015. Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste. *Journal of Integrative Agriculture*, *14*(1), pp.158-167.

[165] Wani, P.A., Khan, M.S. and Zaidi, A., 2007. Effect of metal tolerant plant growth promoting Bradyrhizobium sp.(vigna) on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere*, *70*(1), pp.36-45.

[166] Xie, F., Gao, C. and Avérous, L., 2024. Alginate-based materials: Enhancing properties through multiphase formulation design and processing innovation. Materials Science and Engineering: R: Reports, 159, p.100799.

[167] Yabur, R., Bashan, Y. and Hernández-Carmona, G., 2007. Alginate from the macroalgae Sargassum sinicola as a novel source for microbial immobilization material in wastewater treatment and plant growth promotion. *Journal of Applied Phycology*, *19*, pp.43-53.

[168] Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I. and Li, C., 2010. Growth promotion and protection against salt stress by Pseudomonas putida Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, *46*(1), pp.49-54.

[169] Zayed, M.S., 2016. Advances in formulation development technologies. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity: Vol. 2: Functional Applications*, pp.219-237.

[170] .

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research Article

Evaluation of Physiological Traits of Hazelnut Seedlings Inoculated with *Trichoderma harzianum* Rifai Under Field Conditions

Y. Rostamikia*[1], M. Matinizadeh[2] and A. Rahmani[2]

1-Assist., Prof., Forests and Rangelands Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, I.R. Iran. (Corresponding author: younesrostamikia@gmial.com)
2- Assoc., Prof., Forest Research Department, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Article Info

Received:
November 15, 2023

Accepted:
September 18, 2024

***Keywords*:**
Arasbaran,*Corylus avellana*,Stomatal conductance, Specific leaf area.

Corresponding author's email:
younesrostamikia@gmial.com

DOI:
10.22092/SBJ.2024.363916.258

Extended Abstract

Background and Objectives:

Hazelnut (*Corylus avellana* L.) is one of the most prominent species in the Ardabil Fandoghlou forest. This species holds significant ecological and economic importance and is highly valued in traditional medicine and the pharmaceutical industry. Unfortunately, in recent years, factors such as land conversion, livestock grazing, fire, and deforestation have contributed to the decline of this valuable species. Given the ecological and economic significance of hazelnut trees, it is crucial to restore their habitats through the use of seedlings. The success of planting efforts largely depends on the establishment and survival of the seedlings (Espahbodi, 2019), which traditionally rely on chemical fertilizers. However, the use of these fertilizers has adverse effects on the soil ecosystem. They can destroy beneficial soil microorganisms, hinder seedling growth, and lead to various negative impacts on the environment and human health. To address these issues, the application of growth-promoting microorganisms is considered one of the biological methods to enhance plant yield and reduce reliance on chemical fertilizers. *Trichoderma* species, particularly *Trichoderma harzianum*, have been recognized not only as plant growth promoters but also for their primary role as pathogen inhibitors. This research aims to investigate the effects of *T. harzianum* on the physiological properties of hazelnut seedlings under field condition.

Materials and Methods:

In early May 2016, potted hazelnut seedlings were inoculated with *Trichoderma harzianum* at the Ardabil Hazelnut Nursery. These seedlings were sourced from three different locations: Fandoglou (Ardabil Hazelnut Forest), Makesh (Guilan), and Makidi (Arasbaran). By November 2017, the one-year-old hazelnut seedlings were transferred to a field adjacent to the nursery, situated on the forest edge, covering an area of 4,050 m². The seedlings were planted in a factorial arrangement using a randomized complete block design, which included two factors: three seed sources and *T. harzianum* inoculation (with control seedlings receiving no inoculation). Each treatment was replicated three times, with a total of 25 seedlings per

replication, resulting in 450 seedlings planted at a spacing of 3 × 3 m under rain-fed conditions. The following physiological properties were measured: leaf area, specific leaf area, photosynthesis rate, stomatal conductance, transpiration rate, water use efficiency (WUE), and chlorophyll content. For these measurements, three seedlings from each treatment were randomly selected. The fourth and fifth healthy, fully mature leaves from the tips of the plants were analyzed using a photosynthesis meter on a sunny day in mid-September. Measurements were conducted in natural conditions of temperature, light, and relative humidity between 9:30 and 11:30 a.m., ensuring that leaf temperatures remained constant between 20 and 25°C

Results:

After four years, all measured properties were significantly influenced by fungal inoculation. Inoculated seedlings from all three origins exhibited higher values for all investigated traits compared to the control group. The seedlings of Fandoglou origin inoculated with *T. harzianum* showed the highest leaf area (22.4 cm^2), specific leaf area (119.2 $cm^2\ g^{-1}$), photosynthesis rate (18.45 µmol CO_2 $m^2\ s^{-1}$), stomatal conductance (0.198 mmol $m^2\ s^{-1}$), transpiration rate (mmol H_2O $m^2\ s^{-1}$), and water use efficiency (7.69 µmol CO_2 mol H_2O^{-1}). Furthermore, chlorophyll content increased by 26.49% compared to the control (non-inoculated seedlings). In contrast, the lowest measurements for leaf area (12.4 cm^2), specific leaf area (85.5 $cm^2\ g^{-1}$), photosynthesis rate (8.01 µmol CO_2 $m^2\ s^{-1}$), stomatal conductance (0.101 mmol $m^2\ s^{-1}$), water use efficiency (2.41 µmol CO_2 mol H_2O^{-1}), and chlorophyll content, which increased by 14.15%, were observed in non-inoculated seedlings from the Makidi origin.

Conclusion:

The present study demonstrated that hazelnut seedlings of Fandoghlou origin, when inoculated with *T. harzianum*, exhibited superior traits compared to the seedlings from the other two origins, Makseh and Makidi. Therefore, for the production of healthy and robust hazelnut seedlings in nurseries, the Fandoghlou origin is recommended. A notable finding was the significant increase in water use efficiency (WUE) among the Fandoghlou-origin hazelnut seedlings, which showed a 150% increase compared to the control seedlings. This improvement can be attributed to the enhanced rate of photosynthesis and reduced transpiration rate in the inoculated seedlings, leading to increased water use efficiency. Consequently, this results in greater vegetative growth and improved physiological traits, which are beneficial for reforestation efforts or the establishment of hazelnut gardens in the susceptible areas of the Fandoghlou forest.

Cite this article: Rostamikia, Y., Matinizadeh, M., Rahmani, A.2024. Evaluation of Physiological Traits of Hazelnut Seedlings Inoculated with *Trichoderma harzianum* Rifai Under Field Conditions. *Soil Biology Journal*, 12 (1), 89-104.

DOI: 10.22092/SBJ.2024.363916.258
Publisher: Soil Science Society of Iran

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۲ / شماره ۱ / ۹۱/۱۴۰۳

دو فصل‌نامه

زیست‌شناسی خاک نشریه

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

ارزیابی صفات فیزیویولوژیک نهال‌های مایه‌زنی شده فندق با قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai در شرایط عرصه

یونس رستمی‌کیا *، محمد متینی‌زاده و احمد رحمانی

استادیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل ایران نویسنده مسئول: younesrostamikia@gmail.com

دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران mohamadmatinizadeh@yahoo.com

دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران arahmani39@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۲/۸/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۸

چکیده

استفاده از ریزجانداران افزاینده رشد، یکی از روش‌های زیستی به منظور افزایش عملکرد گیاهان و کاهش مصرف کودهای شیمیایی محسوب می‌شود. بر این اساس، به منظور بررسی اثر بخشی *Trichoderma harzianum* بر برخی از صفات رویشی برگ و مشخصه‌های فیزیولوژیک نهال‌های فندق، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط عرصه اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل مبداء نهال در سه سطح (فندقلو، مکش و مکیدی) و مایه‌زنی قارچ در دو سطح (*T. harzianum* و شاهد) با سه تکرار ۲۵ تایی با فاصله ۳ × ۳ متر، در اراضی زراعی حاشیه جنگل فندقلوی اردبیل کاشته شدند. نتایج پس از چهار سال نشان داد نهال‌های مایه‌زنی شده در هر سه مبدأ، از لحاظ همه مشخصه‌های مورد بررسی در مقایسه با نهال شاهد (مایه‌زنی نشده) برتر بودند. بیشترین مقدار صفات مورد بررسی به نهال‌های مبداء فندقلو تعلق داشت. به‌طوری که در این نهال‌ها، سطح برگ و سطح ویژه برگ به‌ترتیب ۴۰/۹ و ۲۱/۳ درصد و مشخصه‌های فیزیولوژیک شامل فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل و کارایی مصرف آب به‌ترتیب ۶۶/۸، ۶۵، ۴۰/۸ و ۱۴۶/۵ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشت. در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد کاشت نهال‌های فندق مایه‌زنی شده با قارچ *T. harzianum* رشد رویشی بیشتری بدنبال خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: سطح برگ، فتوسنتز، فندق، کود زیستی

مقدمه

جنگل فندقلوی اردبیل، مهم‌ترین ذخیره‌گاه ژنتیکی گونه فندق در کشور محسوب می‌شود. متاسفانه در سال‌های اخیر عوامل مختلف از قبیل تغییر کاربری، چرای دام، آتش‌سوزی و قطع بی‌رویه درختان (تهیه زغال) از مهم-ترین عوامل تاثیرگذار در تخریب این جنگل با ارزش می-باشد (رستمی‌کیا و شریفی، ۱۳۹۷). با توجه به اهمیت بوم شناختی و اقتصادی گونه فندق، بازسازی رویشگاه‌های این گونه از طریق نهال کاری از اهمیت زیادی برخوردار است. از طرفی موفقیت نهالکاری به استقرار و زنده‌مانی نهال‌های کاشته شده بستگی زیادی دارد (اسپهبدی، ۱۳۹۹) که در بیشتر مواقع از کودهای شیمیایی استفاده می‌شود. استفاده از این کودها اثرات نامطلوب بر اکوسیستم خاک داشته و علاوه بر از بین بردن ریزجانداران مفید خاک و رشد ضعیف نهال‌ها، اثرات نامطلوب متعددی بر محیط‌زیست و سلامت انسان را در پی داشته است (بای و همکاران، ۲۰۲۰). یکی از راهکارهای مناسب برای کاهش اثرات نامطلوب کودهای شیمیایی بر مشخصه‌های فیزیکو- شیمیایی خاک و رشد گیاهان، استفاده از ریزجانداران مفید خاک به عنوان مکمل و یا جایگزین می‌باشد (محمدی‌فر و مقدم، ۱۳۹۹؛ جین و همکاران، ۲۰۲۲). روش زیستی استفاده از ریزجانداران مفید خاک، از جمله ***Trichoderma spp.*** و متابولیت‌های میکروبی، یک روش جدید مدیریت بهینه و سازگار با محیط زیست در مقایسه با استفاده از کودهای شیمیایی است . این رویکرد دارای مزیت‌هایی از قبیل کاهش خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی (ایزدی دربندی و همکاران، ۱۳۹۸)، بهبود خواص خاک و حفظ حاصلخیزی خاک، بدون آلودگی و سازگار با محیط زیست، ایمن بودن برای سلامت انسان و مقرون به صرفه است (زین و بدل الدین، ۲۰۲۰).

اغلب جدایه‌های ***Trichoderma*** به عنوان قارچ‌های گیاهی افزاینده رشد و اصلاح کننده‌های خاک محسوب می‌شوند (وو و همکاران، ۲۰۲۳). که به‌وسیله مکانیسم‌های مختلف مانند پارازیتیسم[1] و آنتی‌بیوز[2]، رقابت در جذب مواد غذایی، تغییر شرایط محیطی ریشه و فرا ریشه[3] (نیو و همکاران، ۲۰۲۰؛ آندرژاک و یانووسکا ، ۲۰۲۲) و افزایش حلالیت عناصر معدنی جهت جذب آنها توسط گیاه، تحریک رشد (نیتو – جاکوبو و همکاران، ۲۰۱۷)، و افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده را سبب می‌شوند (رجالی و همکاران، ۱۴۰۱) . قارچ ***Trichoderma*** یک پارازیت طبیعی است یعنی اگر در خاک عوامل بیماری‌زای قارچی یا نماتد وجود داشته باشند، قارچ ***Trichoderma*** باعث کاهش جمعیت آن‌ها می‌شود (تامبوگالا و همکاران، ۲۰۲۰) و با افزایش حجم خاک قابل استفاده از طریق ریسه‌های[4] قارچ، افزایش رشد ریشه گیاه و ایجاد مسیرهایی با مقاومت کم برای عبور آب به سمت ریشه باعث تسهیل در جذب آب و عناصر غذایی مانند فسفر و عناصر میکرو می‌شوند و مواد معدنی را به مواد قابل استفاده تبدیل می‌کنند (تسکویچ و همکاران، ۲۰۲۲) و با تولید هورمون‌های رشد بویژه اکسین و جیبرلین و سیتوکنین رشد گیاه را سبب می شوند (یاراشوک – سایست و همکاران، ۲۰۱۴ ؛ فو و همکاران، ۲۰۱۵).

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد استفاده از قارچ‌های محرک رشد روی گونه‌های چوبی گزارش شده است از جمله در تحقیقی تاثیر قارچ ***Trichoderma harzianum*** Rifai در استقرار و میزان رشد نهال‌های بید (***Salix fragilis*** L.) روی خاک‌های

[1]. Parasitism
[2]. Antibios
[3]. Rhizospheric Zone
[4]. Hyphae

آلوده به فلزات سنگین بعد از ۱۲ هفته نشان داد که خصوصیات رشدی شامل درصد زنده‌مانی، درصد استقرار، زی‌توده ریشه و تعداد برگ در نهال‌های مایه‌زنی شده در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشتند (آدامز و همکاران، ۲۰۰۷).

تالبی و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقی دیگر کاربرد کاربرد *T.* harzianum بر نهال‌های خرنوب (*Ceratonia siliqua*) سبب افزایش صفات مورفولوژیک نهال قطر یقه (۷۵ درصد) و ارتفاع نهال‌ها (۵۶ درصد) در مقایسه با نهال‌های شاهد شد. در تحقیقی دیگر تاثیر مایه‌زنی قارچ‌های *T. harzianum* روی صفات رویشی ریشه نهال‌های *Pinus sylvestris* var. *mongolica* بعد از ۱۲ماه در ایالت لیائونینگ[5] چین نشان داد طول ریشه، سطح ریشه، میانگین قطر ریشه و تعداد شاخه به ترتیب ۴۳٪، ۱۸/۲۱، ۳/۷۷ و ۳۱/۴۰ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد (بدون مایه‌زنی) افزایش داشتند (هالی‌فو و همکاران، ۲۰۱۹). در داخل کشور تحقیقات چندی در زمینه تاثیر قارچ *T. harzianum* بر رشد و بهبود صفات رویشی گونه‌های جنگلی در شرایط عرصه طبیعی گزارش شده است. حسین زینعلی و همکاران (۱۳۹۹) با مطالعه اثر بخشی قارچ‌های *T. harzianum* و *T. viride* را بر مشخصه‌های رویشی نهال‌های پسته (*Pistacia vera* L.) در شرایط خاک نسبتاً شور و خشک باغ‌های پسته اطراف رفسنجان نشان دادند طول شاخه به ترتیب ۵۵/۸ و ۴۲ درصد، تعداد جوانه رویشی به‌ترتیب ۳۷/۴ و ۴۵/۶ درصد، سطح برگ به‌ترتیب ۷/۱ و ۱۲/۶ درصد و شاخص کلروفیل به‌ترتیب ۷۳/۲ و ۱۷۱/۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشتند. نظری و همکاران (۱۴۰۲) با بررسی تاثیر تلقیح قارچ *T. harzianum* بر خصوصیات رشدی برگ و میوه n پیوندی هلو (*Prunus persica*) در باغ تحقیقاتی دانشگاه شاهد تهران طی سه سال نتیجه گرفتند مایه‌زنی با قارچ *T. harzianum* سبب افزایش وزن‌تر، ماده خشک و محتوی نسبی آب برگ به‌ترتیب ۲۳، ۱۹/۲ و ۳۸/۶ درصد نسبت به نهال‌های شاهد شد.

از آنجا که قارچ *T. harzianum* از مهم‌ترین قارچ‌های افزاینده رشد محسوب می‌شوند و تحقیقات اندکی در خصوص نقش این قارچ، در بهبود صفات رشدی برگ گونه‌های چوبی انجام شده است. تحقیق حاضر، با هدف بررسی اثربخشی قارچ در بهبود مشخصه‌های رشدی و فیزیولوژیک برگ نهال‌های فندق جهت افزایش موفقیت پروژه‌های نهالکاری در اراضی بایر حاشیه جنگل فندقلوی اردبیل انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

این تحقیق در اراضی زراعی روستای خانقاه سفلی واقع در منطقه جنگلی فندقلو با مختصات "۱´۲۴°۳۸ عرض شمالی و "۲۷´۳۲ °۴۸ طول شرقی و ارتفاع ۱۴۵۰ متر از سطح دریا اجرا گردید. بر اساس آمار ۱۰ ساله (۱۳۹۱ تا ۱۴۰۰) ایستگاه کلیماتولوژی شهرستان نمین، میانگین دمای بیشینه، کمینه و میانگین دمای سالانه به ترتیب ۳۷/۵، ۲۱/۱- و ۸/۹ درجه سانتی‌گراد است. میانگین بارندگی سالانه ۳۷۰/۹ میلی‌متر است. بر اساس فرمول آمبرژه اقلیم منطقه، نیمه مرطوب با زمستان‌های سرد است.

تهیه بذر، تولید نهال

اوایل مهرماه ۱۳۹۵، میوه‌های فندق از پایه‌های مادری سالم با ویژگی‌های یکسان از سه رویشگاه جنگلی (جدول ۱) جمع‌آوری شدند. و بعد از ضد عفونی با قارچ کاربوکسین تیرام با غلظت ۲ گرم در ۱۰۰۰ گرم جهت اعمال چینه‌سرمایی[6]، به مدت چهارماه در ماسه مرطوب در دمای ۱± ۴ درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگهداری شدند

[5]. Liaoning

[6]. Stratification

(رستمی‌کیا و همکاران، ۱۳۹۷). بعد از اعمال تیمار جوانه-زنی، اوایل اردیبهشت ماه ۱۳۹۶، بذرها در گلدان‌های پلی-اتیلنی (به ابعاد۲۰× ۱۵×۱۵ سانتی‌متر) حاوی خاک استریل در نهالستان فندقلوی اردبیل کاشته شدند.

جدول ۱- مشخصات رویشگاهی مناطق جمع‌آوری بذرهای فندق

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	جهت جغرافیایی	اقلیم
فندقلو	۱۴۳۰ -۱۴۷۰	"۱۶ ´۱۹ °۳۸	"۲۸ ´۳۶ °۴۸	جنوبی	نیمه مرطوب سرد با سه ماه فصل خشک
مکش	۱۵۵۰ -۱۶۲۰	"۰۲ ´۴۳ °۳۷	"۱۰ ´۵۳ °۴۸	جنوبی- جنوب غربی	مرطوب سرد با دو ماه فصل خشک
مکیدی	۱۴۷۰ -۱۵۲۰	"۱۵ ´۵۱ °۳۸	"۱۷ ´۳۹ °۴۶	جنوب غربی	نیمه مرطوب سرد با سه ماه فصل خشک

انتخاب قارچ و مایه‌زنی نهال‌های فندق

در این پژوهش مایه تلقیح جامد قارچ *T. harzianum* T1 با جمعیت۱۰۰ پروپاگول[۷] در هرگرم و با مشخصه‌های رویشی اندازه‌گیری شده (جدول ۲) از شرکت زیست فناور پیشتاز، تحت نظارت بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. بر اساس جدول ۲ میزان اکسین تولید شده ۲۱/۸۰ میلی‌گرم در لیتر، توانایی حل‌کنندگی فسفات معدنی ۶۶/۳ میلی‌گرم در لیتر، کربنات روی ۱۰/۶ میلی‌گرم و توان تولید آنزیم ACC– دی آمیناز و استفاده از ACC برای تامین نیتروژن را داشت (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصه‌های رویشی قارچ *T. harzianum* T1 مایه‌زنی شده به نهال‌های فندق

تولید اکسین (میلی‌گرم بر لیتر)	حل‌کنندگی فسفات معدنی (میلی‌گرم بر لیتر)	حل‌کنندگی کربنات روی (میلی‌گرم بر لیتر)	توان تولید آنزیم ACC -دی آمیناز
۲۱/۸۰	۶۶/۳	۱۰/۶	مثبت

جدول ۳- مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل مورد مطالعه

عمق خاک (سانتی متر)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)	بافت خاک	مواد آلی (درصد)	نیتروژن (درصد)	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۲۰-۰	۶/۱۵	۰/۴۲۲	۳۶	۳۱	۳۳	رسی لومی	۰/۹۵	۰/۱۱	۱۱/۲۳	۱۲۳
۴۰-۲۰	۶/۳۲	۰/۲۱۹	۱۷	۳۹	۴۴	شنی لومی	۰/۸۰	۰/۱۴	۱۲/۸۲	۱۴۷

بعد از یک ماه (اوایل خردادماه)، بر اساس دستورالعمل موسسه تحقیقات خاک و آب کشور در بستر کشت هر گلدان (اطراف ریشه نونهال‌ها) ۵۰ گرم پروپاگول قارچ *T.harzianum* در عمق ۵ سانتی‌متری خاک گلدان‌ها، قرار داده شد.

کاشت نهال در عرصه

اوایل آبان‌ماه ۱۳۹۶، نهال‌های تولید شده همگن، به عرصه مجاور نهالستان واقع در اراضی بایر حاشیه جنگل به

[۷]. Propagol

مساحت۴۰۵۰ مترمربع منتقل شدند. سپس بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (با دو فاکتور اشاره شده در بالا شامل سه مبداء بذر و مایه‌زنی قارچ *T. harzianum*و بدون مایه‌زنی یا شاهد در سه تکرار) کاشته شدند. تعداد نهال در هر تکرار ۲۵ اصله (در مجموع ۴۵۰ اصله نهال) بود که با فاصله ۳ × ۳ متر، کاشته شده در چاله‌هایی به ابعاد۵۰×۵۰×۵۰ سانتی‌متر، مورد بررسی قرار گرفتند. عملیات مراقبت از قبیل حذف علف-های هرز و سله‌شکنی پای نهال‌ها، در صورت لزوم، انجام شد. قبل از کاشت نهال‌ها، از عمق‌های ۰ تا ۲۰ و۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متری نمونه‌های خاک از نقاط مختلف عرصه تهیه گردید و پس از اختلاط کردن، نمونه‌های یک کیلویی جهت تعیین مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به آزمایشگاه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل انتقال یافت (جدول۳).

اندازه‌گیری مشخصات رشدی برگ

در سال چهارم اجرای پروژه، برای تعیین سطح برگ ابتدا سه برگ سالم وکاملاً توسعه‌یافته از بالاترین قسمت هر نهال برداشت و با دستگاه اسکنر Leaf Area Meter (مدلCRLA1 ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد. سطح ویژه برگ با استفاده از رابطه $\mathrm{SLA} = \frac{\mathrm{LA(cm^2)}}{\mathrm{LW(g)}}$ محاسبه شد. در این رابطه SLA سطح ویژه برگ (سانتی-مترمربع برگرم)، LA سطح برگ و LW وزن خشک برگ است (آریاس و همکاران، ۲۰۰۷). برای اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ابتدا نمونه‌ها به مدت زمان ۴۸ ساعت داخل آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند سپس با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند (یانگ و همکاران، ۲۰۰۷).

تعیین صفات فیزیولوژیکی

مشخصه‌های فیزیولوژیک برگ شامل هدایت روزنه‌ای، نرخ فتوسنتز خالص و تعرق سلولی در واحد سطح برگ نهال‌های فندق اندازه‌گیری شدند. بدین منظور در هر تیمار، سه نهال به‌طور تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری-ها روی چهارمین و پنجمین برگ بالغ سالم و کاملاً رشد یافته از نوک گیاه با استفاده از یک دستگاه فتوسنتز متر (مدل CI -۳۴۰ ساخت آمریکا) در یک روز آفتابی (اواسط ماه شهریور) و در هوای آزاد تحت شرایط طبیعی دما، نور و رطوبت نسبی هوا بین ساعت ۹:۳۰ تا ۱۱:۳۰ در حالی‌که دمای ثابت برگ بین۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود، انجام شد. کارایی مصرف آب گیاه نیز از طریق تقسیم نرخ فتوسنتز به مقدار تعرق محاسبه شد (زانگ و همکاران، ۲۰۰۵). محتوی کلروفیل با استفاده از دستگاه (Model SPAD 502 Minolta, Japan) از برگ‌های قسمت بالایی نهال (از هر نهال سه برگ از یک پنجم بالایی) اندازه-گیری شد (ملیکه و شفر، ۲۰۰۹).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم-افزارSAS 9.1 انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو- ویلک و همگنی واریانس داده‌ها از طریق آزمون لون (Levene) تعیین شد. برای بررسی تأثیر معنی‌داری تیمارهای اصلی و تأثیر متقابل آنها بر ویژگی‌های مورد بررسی نهال‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطوح آماری پنج و یک درصد استفاده شد.

نتایج

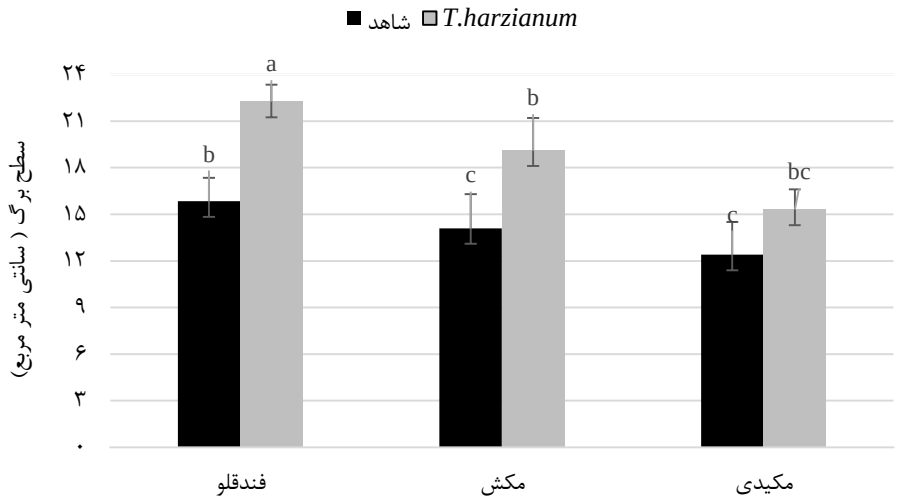
نتایج تجزیه واریانس نشان داد همه مشخصه‌های سطح برگ و سطح ویژه برگ تحت تاثیر تیمار مایه‌زنی قارچ قرار گرفتند. بطوریکه اثرات اصلی شامل مبداء نهال و قارچ و اثر متقابل مبداء نهال × قارچ بر صفات مورد بررسی نهال‌های فندق در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر مبدأ نهال و مایه‌زنی قارچ بر صفات رشدی برگ مورد مطالعه نهال‌های فندق

منبع تغییرات	درجه آزادی	سطح برگ	سطح ویژه برگ
مبداء نهال	۲	۴۳/۲۳*	۳۵/۴۵*
قارچ	۱	۱۳/۱۴**	۸۷/۴۰*
مبداء نهال × قارچ	۲	۱۰/۰۳*	۲۰/۳۸**
خطای آزمایشی	۱۲	۹/۱۹	۱۶/۱۲
خطای کل	۱۹	۷/۰۹	۱۲/۰۹
ضریب تغییرات	-	۱۰/۴۲	۱۴/۱۰

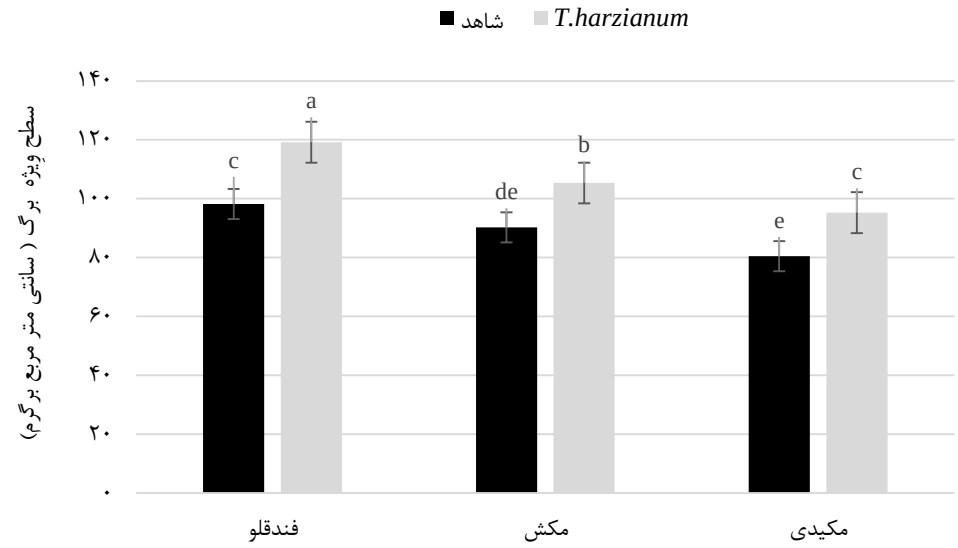
* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار سطح برگ با ۲۲/۴ سانتی‌مترمربع به نهال‌های فندق (مبداء فندقلو) در تلقیح با قارچ *T. harzanium* و کمترین مقدار آن با ۱۲/۴ سانتی‌متر مربع به نهال‌های شاهد (بدون مایه‌زنی) با مبداء مکیدی تعلق دارد. نتایج نشان داد مایه‌زنی قارچ سبب افزایش ۴۰/۹، ۳۵/۴ و ۲۳/۳ درصدی سطح برگ به‌ترتیب در نهال‌های مبداء فندقلو، مکش و مکیدی در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و قارچ بر سطح برگ نهال‌های فندق

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار سطح ویژه برگ با ۱۱۹/۲ سانتی‌مترمربع بر گرم به نهال‌های فندق (مبداء فندقلو) در تلقیح با قارچ *T. harzanium* و کمترین مقدار آن با ۸۵/۵ سانتی‌متر مربع بر گرم به نهال‌های شاهد (تلقیح نشده با قارچ) با مبداء مکیدی تعلق دارد. نتایج نشان داد مایه‌زنی قارچ سبب افزایش ۲۱/۳، ۱۶/۷ و ۱۱/۴ درصدی سطح ویژه برگ به‌ترتیب در نهال‌های مبداء فندقلو، مکش و مکیدی در مقایسه با شاهد شد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و قارچ بر سطح ویژه برگ نهال‌های فندق

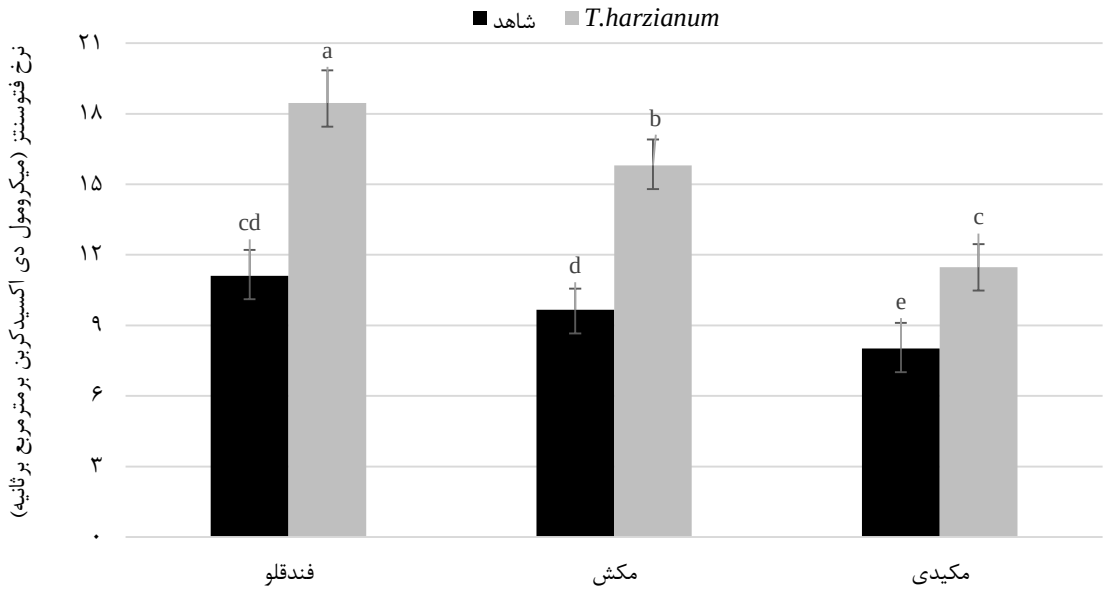
نتایج تجزیه واریانس دو طرفه نشان داد که اثرات اصلی مبداء نهال بر هدایت روزنه‌ای و کارآیی مصرف آب در سطح آماری یک درصد و بر فتوسنتز، تعرق و کلروفیل نهال‌های فندق در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار است. اثر اصلی قارچ بر فتوسنتز در سطح آماری یک درصد و بر سایر صفات مورد مطالعه در سطح آماری پنج درصد معنی دار است. اثر متقابل مبداء نهال× قارچ بر کلروفیل در سطح آماری یک درصد و بر سایر صفات مورد مطالعه در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار است (جدول ۵).

جدول ۵-تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر مبداء نهال و قارچ بر خصوصیات فیزیولوژیک برگ نهال‌های فندق

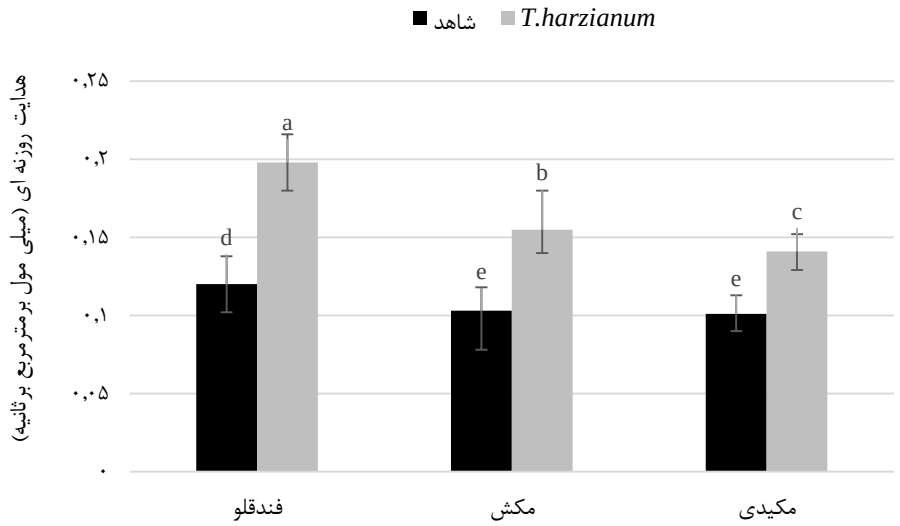
منبع تغییرات	درجه آزادی	فتوسنتز	تعرق	هدایت روزنه‌ای	کلروفیل	کارایی مصرف آب
مبداء نهال	۲	۲۷/۵۴*	۲۳/۱۵*	۳۷/۰۸**	۱۹/۱۲*	۱۲/۴۰**
قارچ	۱	۵۵/۶۷**	۴۴/۰۹*	۶/۹۰*	۳۰/۰۱*	۱۲/۱۰*
مبداء نهال × قارچ	۲	۲۲/۱۳*	۵۵/۴۰*	۳۱/۰۶*	۲۲/۲۵**	۳۵/۰۸*
خطای آزمایشی	۱۲	۱۵/۰۵	۱۹/۱۱	۱۷/۰۹	۱۱/۷۸	۱۰/۱۵
خطای کل	۱۹	۱۰۶/۱۱	۷۹/۱۲	۱۱۱/۶۵	۹۸/۵۰	۷۰/۰۲
ضریب تغییرات	-	۱۰/۱۸	۱۶/۸۸	۱۲/۳۴	۸/۸۸	۱۱/۴۵

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

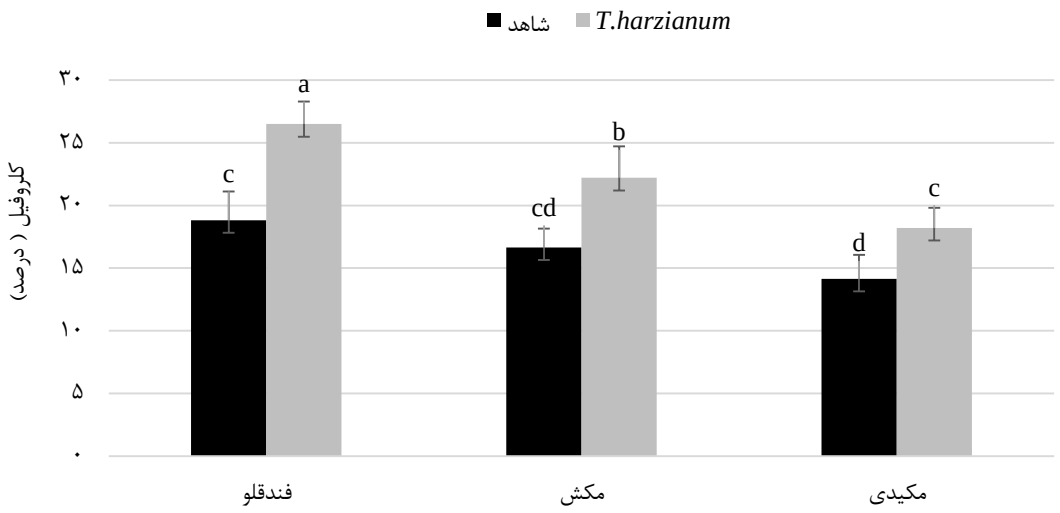
مقایسه میانگین داده نشان داد بیشترین مقدار فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل و کارآیی مصرف آب به‌ترتیب با ۱۸/۴۵ میکرومول دی اکسید کربن بر مترمربع برثانیه، ۰/۱۹۸ میلی‌مول بر مترمربع برثانیه، ۲۶/۴۹ درصد و ۷/۶۹ میکرومول دی‌اکسید کربن بر مول آب، به نهال‌های فندق با مبداء فندقلو در مایه‌زنی با قارچ *T. harzanium* اختصاص داشت (شکل‌های ۳ الی ۶). همچنین بیشترین مقدار تعرق با ۳/۵۶ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه به‌ترتیب به نهال‌های شاهد مبداء فندقلو تعلق داشت (شکل ۷).



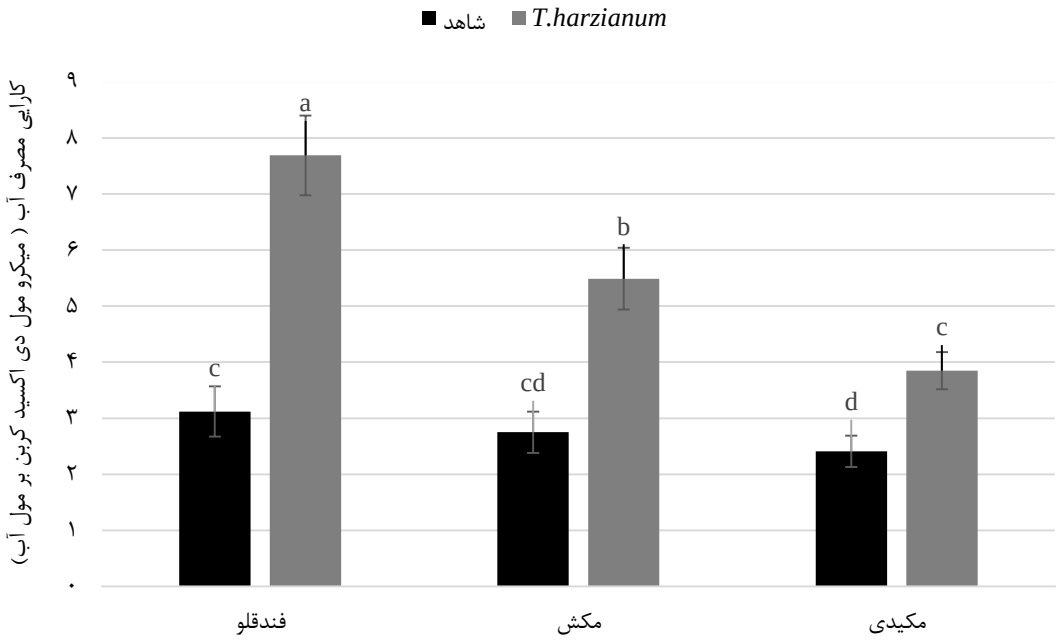
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و تلقیح قارچ بر نرخ فتوسنتز نهال‌های فندق



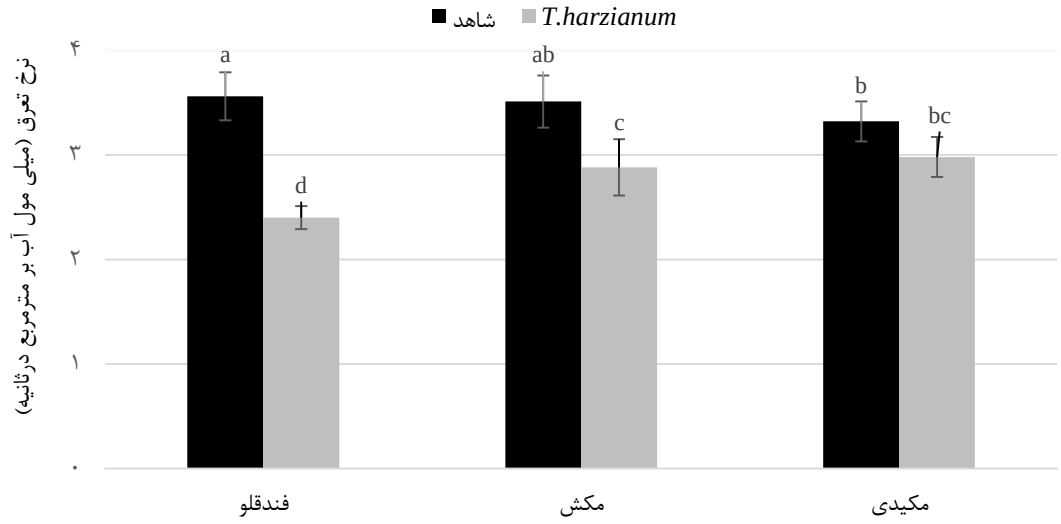
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و تلقیح قارچ بر هدایت روزنه‌ای برگ نهال‌های فندق



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و تلقیح قارچ بر درصد کلروفیل برگ نهال‌های فندق



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و تلقیح قارچ بر کارایی مصرف آب نهال‌های فندق



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل مبداء نهال و تلقیح قارچ بر نرخ تعرق نهال‌های فندق

بحث

قارچ *Trichoderma* از مهم‌ترین قارچ‌های آزادزی خاک است که به‌طور گسترده در محیط های طبیعی پراکنش دارتد و با بسیاری از گیاهان همزیستی دارد و از طریق مکانسیم‌های مختلف تحریک رشد و توسعه گیاه را سبب می‌شوند (دروژینینا و همکاران، ۲۰۱۱). در پژوهش حاضر، اثر قارچ *T. harzanium* بر برخی از خصوصیات رشدی و صفات فیزیولوژیک برگ سه جمعیت فندق در شرایط عرصه بررسی شد. نتایج نشان داد که صفات رشدی برگ در نهال‌های هر سه مبداء، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار مایه‌زنی قارچ قرار گرفتند. به‌طوری‌که سطح برگ نهال‌های مایه‌زنی شده از ۲۳/۴ تا ۴۰/۹ درصد و سطح ویژه برگ از ۱۱/۴تا ۲۱/۳ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشت. تاثیر مثبت کاربرد قارچ *T. harzianum* بر بهبود مشخصه‌های رویشی برگ در گونه‌های مختلف، توسط تعدادی از محققان نیز گزارش شده است که با یافته-های ما مطابقت دارد. آدامز و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند زی‌توده ریشه و تعداد برگ در نهال‌های مایه‌زنی شده بید (*Salix fragilis*) با قارچ *T. harzianum* در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشتند. هالی‌فو و همکاران (۲۰۱۹) همچنین نشان دادند مایه‌زنی قارچ *T. harzanium* روی نهال‌های کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* var. *mongolica*) در طی یک سال سبب افزایش طول ریشه، سطح ریشه، میانگین قطر ریشه و تعداد شاخه به‌ترتیب ۰/۴۳، ۱۸/۲۱، ۳/۷۷ و ۳۱/۴۰ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد (بدون مایه‌زنی) شد. نتایج این پژوهش حاکی از اثر مثبت قارچ تریکودرما بر افزایش سطح برگ بوده است. سطح برگ گیاهان عامل مهم و تعیین کننده در بسیاری از فرآیندهای زیستی از قبیل فتوسنتز، تنفس، عبور نور از تاج پوشش، تبخیر و تعرق، چرخه کربن و ازت دارد و گیاه برای سازگار شدن با شرایط محیطی موجود، آن را تغییر می‌دهد (کلوز و همکاران، ۲۰۰۵). مکانیسم‌های پیچیده این افزایش رشد احتمالاً به دلیل تولید ترکیبات محرک رشد توسط قارچ *تریکودرما* است. در پژوهش حاضر سویه مورد استفاده قارچی توانایی نسبتاً بالایی در تولید اکسین، انحلال ترکیبات نامحلول فسفر و روی داشتند. توان تولید اکسین (کانتراس – کورنجو و همکاران، ۲۰۰۹) و حل کنندگی فسفات و روی (دونی و همکاران، ۲۰۱۴) از مهم‌ترین ویژگی‌های قارچ های محرک رشد گیاه می باشد. تغییرات ناشی از کاربرد قارچ *T. harzanium*بر سطح برگ نهال‌های پسته (*Pistacia vera* L.) توسط حسین زینعلی و همکاران (۱۳۹۹) مورد بررسی قرار گرفت و گزارش گردید سطح برگ نهال‌های مایه‌زنی شده ۷/۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دارد. افزایش معنی‌دار

سطح برگ و سطح ویژه برگ نهال‌های فندق می‌تواند ناشی از ترشح هورمون‌های گیاهی بویژه اکسین توسط قارچ *Trichoderma* که نقش مهمی در رشد و توسعه گیاه دارد، باشد و به همین دلیل در گیاهان تیمار شده با *تریکودرما* سطح برگ افزایش می‌یابد. افزایش مقدار سطح برگ نهال-های فندق می‌تواند ناشی از همزیستی بین قارچ – گیاه و افـزایش جـذب مـواد غـذایی شبیه به آنچـه کـه بـرای میکـوریزا روی مـی‌دهـد، باشـد (یاراشوک – سایست و همکاران، ۲۰۱۴ ؛ فو و همکاران، ۲۰۱۵). قارچ‌های *Trichoderma* در حلالیت عناصر غذایی گیـاهی مانند فسفات، آهن، مس، منگنز و روی مؤثرند (تسکویچ و همکاران، ۲۰۲۲ ؛ آندرژاک و یانووسکا ، ۲۰۲۲).

مایه‌زنی قارچ در این پژوهش، نه تنها در افزایش صفات رشدی برگ نهال‌ها تاثیرگذار بود، بلکه صفات فیزیولوژیک نهال‌ها را نیز تحت تاثیر قرار داد و تبادلات گازی در برگ نهال‌های فندق هر سه مبداء با کاربرد *T. harzianum* افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقدار فتوسنتز (۱۶/۴۵ میکرو مول مربع برثانیه) و هدایت روزنه‌ای (۰/۱۹۸ مول مترمربع برثانیه) به نهال‌های مایه‌زنی شده مبداء فندقلوی اردبیل اختصاص داشت. در میان شاخص‌های فیزیولوژیک، فتوسنتز یکی از مهم‌ترین فرآیندها در رشد و تولید محسوب شده و حفظ سرعت آسیمیلاسیون[8] کربن اهمیت اساسی در شکل‌گیری بیومس دارد. گیاهان با افزایش شاخص‌های رشد، باز کردن روزنه‌ها و افزایش فتوسنتز، باعث تغییر در فرآیندهای تنظیم‌کننده انتقال یون‌ها و افزایش فعالیت گیاه می‌شوند (آندرژاک و یانووسکا، ۲۰۲۲) و با افزایش سطح برگ و هدایت روزنه‌ای می‌تواند به‌طور مستقیم بر فرآیندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و با افزایش ورود دی اکسیدکربن به داخل روزنه‌ها منجر به افزایش نرخ فتوسنتز شود (ملیکه و شفر، ۲۰۰۹؛ فو و همکاران، ۲۰۱۵). قارچ *T. harzianum* با افزایش انحلال فسفر خاک امکان دسترسی گیاه را به فسفر معدنی را افزایش می‌دهد. این عنصر نقش مهمی را در فتوسنتز گیاهان ایفا می‌کند (درایزن و همکاران، ۲۰۲۰).

محتوای کلروفیل برگ می‌تواند باعث بهبود ساختار کلروپلاست و افزایش عملکرد مناسب دستگاه فتوسنتزی شود، بنابراین افزایش و یا حفظ محتوای کلروفیل برگ می-تواند به عنوان یک عامل زیستی استفاده قرار گیرد (تیان و همکاران، ۲۰۱۶؛ لی و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهش حاضر، همزیستی قارچ باعث افزایش محتوای کلروفیل و کارایی مصرف آب در همه نهال‌های مایه‌زنی شده نسبت به نهال‌های شاهد شد. بطوری که محتوی کلروفیل نهال‌های مایه‌زنی شده فندق مبداء فندقلو، مکش و مکیدی به‌ترتیب ۴۰/۸، ۳۳/۳ و ۲۸/۷ درصد و کارایی مصرف آب به ترتیب ۱۴۶/۵، ۹۹/۶ و ۵۹/۷ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشت. در این راستا مطالعات حسین زینعلی و همکاران (۱۳۹۹) نشان داد نهال‌های مایه‌زنی شده پسته (*Pistacia vera* L.) با قارچ *T. harzianum* محتوی کلروفیل نهال‌ها را تا ۷۳/۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد که با یافته‌های ما مطابقت دارد. در این زمینه می‌توان اظهار داشت قارچ با تأثیر بر پروتئین‌های دخیل در فرآیند فتوسنتز و چرخه کالوین و افزایش بیان آنها، نقش مؤثری در حفظ و پایداری فتوسنتز ایفا می‌کند. افزایش محتوی کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ می‌تواند به علت بهبود بهره‌وری مصرف آب در گیاه باشد (لیجیرا و همکاران، ۲۰۲۰).

نتیجه گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد نهال‌های فندق مبدأ فندقلو تحت تاثیر مایه‌زنی قارچ، در مقایسه با دو مبداء مکش و مکیدی از لحاظ صفات مورد مطالعه، برتر بودند. بنابراین می‌توان برای تولید نهال سالم و قوی فندق در نهالستان، از مبداء فندقلو استفاده کرد. نکته حائز اهمیت در

[8]. Asimilation

مایه‌زنی نهال‌ها با قارچ *T. harzianum* افزایش کارآیی مصرف آب نهال‌های فندق با مبداء فندقلو تا حدود ۱/۵ برابر در مقایسه با نهال‌های شاهد بود. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد، نهال میکوریزی فندق با افزایش دادن سرعت فتوسنتز و کاهش تعرق موجب افزایش راندمان آب مصرفی شده و می‌تواند رشد رویشی و فیزیولوژیک بیشتری در نهالکاری و یا احداث باغات فندق در اراضی مستعد منطقه فندقلوی اردبیل را داشته باشد.

فهرست منابع

[۱] اسپهبدی، ک. ۱۳۹۹. لزوم توجه به محوطه‌های بذرگیری در برنامه توسعه جنگل. طبیعت ایران. ۵ (۲): ۲۱-۱۷.

[۲] ایزدی دربندی، ا.، نباتی، ج.، نظامی، ا.، اسکوئیان، ا. ۱۳۹۸. تأثیر کودهای زیستی بر بهبود رشد و عملکرد نخود (*Cicer arientinum* L.) با روش‌های مختلف کنترل علف‌های هرز. زیست شناسی خاک، ۷ (۲): ۱۹۵-۲۱۱.

[۳] رجالی، ف.، کاری دولت آباد، ح.، صفری،م.، فضلی‌خانی، ف. ۱۴۰۱. تأثیر قارچ‌کش‌های سیستمیک بر همزیستی قارچ میکوریزی *Rhizophagus irregularis* و صفات رویشی در دو گیاه گندم و ذرت. زیست شناسی خاک، ۱۰ (۱): ۸۱-۹۲.

[۴] رستمی‌کیا، ی. و شریفی، ج. ۱۳۹۷. جنگل فندقلو بزرگترین ذخیره‌گاه جنگلی فندق ایران. طبیعت ایران. ۳(۶): ۹۰-۹۹.

[۵] رستمی‌کیا، ی.، طبری کوچکسرایی، م.، اصغرزاده، ا. و رحمانی، ا. ۱۳۹۷. اثر چینه‌سرمایی بر صفات جوانه‌زنی بذر بدون پوسته و با پوسته سه اکوتیپ فندق جنگلی(*Corylus avellana* L.). جنگل و فرآورده‌های چوب. ۷۱(۱): ۱۲-۱.

[۶] حسین زینعلی، ع.، عباس‌زاده دهیجی، پ.، علایی، ح.، حسینی فرد، س.ج. و اخگر، ع.ر. ۱۳۹۹. بررسی تأثیر قارچ‌های تریکودرمای محرک رشد بر بهبود رشد و تغذیه درختان پسته در شرایط باغی. زیست شناسی خاک، ۸ (۲): ۱۱۵-۱۲۹.

[۷] محمدی فر، ف.، مقدم، م. ۱۳۹۹. تأثیر مایه‌زنی قارچ‌های مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی، پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ و جذب عناصر گشنیز تحت تنش کادمیوم، زیست شناسی خاک، ۸ (۱): ۲۵-۴۰.

[۸] ناظری، م.، طباطبایی، س.ج. و شرفی، ی. ۱۴۰۲. ارزیابی عملکرد و کیفیت میوه هلو (*Prunus persics* var. red top) در کشت ریشه منقسم تلقیح شده با قارچ و سطوح مختلف آبیاری. علوم باغبانی، ۳۷ (۱): ۱۰۵-۱۱۹.

[9] Adams, P., De-Leij, F. A. and Lynch, J. 2007. Trichoderma harzianum Rifai 1295-22 mediates growth promotion of crack willow (Salix fragilis) saplings in both clean and metal-contaminated soil. Microbial ecology, 54, 306-313.

[10] Andrzejak, R. and Janowska, B. 2022. *Trichoderma* spp. Improves Flowering, Quality, and Nutritional Status of Ornamental Plants. International Journal of Molecular Sciences, 23, 15662. https://doi.org/10.3390/ijms232415662

[11] Arias, D., Calvo-Alvarado, J. and Dohrenbusch, A. 2007. Calibration of LAI-2000 to estimate leaf area index (LAI) and assessment of its relationship with stand productivity in six native and introduced tree species in Costa Rica. Forest Ecology Management, 247:185–193.

[12] Bai Y.C., Chang, Y., Hussain, M., Lu, B., Zhang, J.P., Song, X.B., Lei, X.S. and Pei. D. 2020. Soil Chemical and Microbiological Properties Are Changed by Long-Term Chemical Fertilizers That Limit Ecosystem Functioning. Microorganisms, 8, 8(5):694. doi: 10.3390/microorganisms8050694.

[13] Close, D. C., Beadle, C. L. and Brown, P. H. 2005. The physiological basis of

and Yield and Quality of Lettuce. Frontiers in Microbiology, doi: 10.3389/fmicb.2022. 863325.

[22] Li, Y., He, N., Hou, J., Xu, L., Liu, C., Zhang, J., Wang, Q., Zhang, X. and Wu, X. 2018. Factors Influencing Leaf Chlorophyll Content in Natural Forests at the Biome Scale. Frontiers in Ecology and Evolutio n. 6:64. doi: 10.3389/fevo.2018.00064

[23] Ljira, A.M., Hussain, T., Waghmode, T.R., Zhao, H., Sun, H., Liu, X., Wang, X. and Liu, B. 2020. *Trichoderma* Enhances Net Photosynthesis, Water Use Efficiency, and Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Salt Stress. Microorganisms. 11;8(10):1565. doi: 15.3390/microorganisms8101565.

[24] Mielke, M.S. and Schaffer, B. 2009. Photosynthetic and growth responses of Eugenia uniflora L. seedlings to soil floodingand light intensity. Environmental and Experimental Botany.12: 24-31 doi: 10.1016/j.envexpbot.

[25] Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., & Stewart, A. 2017. Environmental growth conditions of Trichoderma spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. Frontiers in plant science, 8, 102.

[26] Niu, B., Wang, W., Yuan, Z., Sederoff, R. R., Sederoff, H., Chiang, V. L. and Borriss, R. 2020. Microbial interactions within multiple-strain biological control agents impact soil-borne plant disease. Frontiers in Microbiology, 11, 585404.

[27] Tian, M., Yu, G., He, N. and Hou, J. 2016. Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: mechanisms and influencing factors. Scientific Reports, 6:19703. doi: 10.1038/srep19703

[28] Thambugala, K.M., Daranagama, D.A., Phillips, A.J.L., Kannangara, S.D. and Promputtha, I. 2020.Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. Frontiers in Cellular and

containerized tree seedling ‘transplant shock: a review. Australian Forestry, 68 (2): 112-120.

[14] Contreras-Cornejo, H.A., Macias-Rodriguez, L., CortesPenagos, C. and Lopez-Bucio, J. 2009. *Trichoderma* virens, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin dependent mechanism in Arabidopsis. Plant Physiology 149: 1579–1592.

[15] Doni, F., Isahak, A., Zain, C.R.C.M. and Yusoff, W.M.W. 2014. Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa* L.) to *Trichoderma* spp. inoculants. AMB Express 4: 2-7.

[16] Driesen, E., Van den Ende, W., De Proft, M. and Saeys, W. 2020. Influence of Environmental Factors Light, CO2, Temperature, and Relative Humidity on Stomatal Opening and Development: A Review. Agronomy, 10,121. https://doi.org/10.3390/agronomy10121975.

[17] Druzhinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A., Kenerley, C.M., Monte, E. and Kubicek, C.P. 2015. *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. Nature Reviews Microbiology, 9, 749–759.

[18] 18 Fu, S. F., Wei, J. Y., Chen, H. W., Liu, Y. Y., Lu, H. Y. and Chou, J. Y. 2015. Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. Plant signaling & behavior, 10 (8), e1048052.

[19] Halifu, S., Deng, X., Song, X. and Song, R. 2019. Effects of two Trichoderma strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of Pinus sylvestris var. mongolica annual seedlings. Forests, 10(9), 758. doi:10.3390/f10090758

[20] Jaroszuk-Ściseł, J., Kurek, E. and Trytek, M. 2014. Efficiency of indoleacetic acid, gibberellic acid and ethylene synthesized in vitro by Fusarium culmorum strains with different effects on cereal growth. Biologia, 69, 281-292.

[21] Jin, N., Jin, L., Wang, S., Li, J., Liu, F., Liu, Z., Luo, S., Wu, Y., Lyu, J. and Yu J. 2022. Reduced Chemical Fertilizer Combined with Bio-Organic Fertilizer Affects the Soil Microbial Community

[31] Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q. and Yin, H.J. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings, Photosynthetica, 45: 613-619.

[32] Zhang, X., Wu, N. and Li, C. 2005. Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents. Arid Environment, 60: 567-579.

[33] Zin, N.A. and Badaluddin, N.A. 2022. Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences 65: 168–178. doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003.

Infection Microbiology, 10, 718, doi:10.3389/fcimb.2020.604923.

[29] Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E. and Jaroszuk-Ściseł, J. 2022. Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. International Journal of Molecular Sciences. 19, 23(4):2329. doi: 10.3390/ijms23042329.

[30] Woo, S.L., Hermosa, R., Lorito, M. and Monte, E. 2023. Trichoderma: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. Nature Reviews Microbiology, 21(5):312-326. doi: 10.1038/s41579-022-00819-5.

نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۲ / شماره ۱ / ۱۴۰۳/۱۰۵-۱۳۹

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

/https://sbj.areeo.ac.ir

Review article

The Role of Effective Oil-Degrading Bacteria in the Remediation of Oil-Contaminated Soils: A Case Study on the Bacillus Genus

K. Zeynali, Sh. Shariati* and A.A. Pourbabaee*

M.Sc graduate in Soil Biology and Biotechnology, Department of Soil Science Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran, E-mail: komeilzeynali7899@ut.ac.ir
Assistant Professor, Department of Environmental Engineering, Faculty of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: shayan_shariati@ut.ac.ir
Professor, Department of Soil Science and Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: Pourbabaei@ut.ac.ir

Article Info

Received:
June 24, 2024

Accepted:
September 29, 2024

Keywords:
Bacillus, bioremediation, biosurfactant, lipase, petroleum hydrocarbon, soil pollution

Corresponding author's email:
shayan_shariati@ut.ac.ir
Pourbabaei@ut.ac.ir

DOI:
10.22092/SBJ.2024.366140.266

Extended Abstract

Background and Objectives: Crude oil comprises aliphatic, aromatic, and heterocyclic compounds, all of which are toxic to living organisms. Consequently, oil pollution is a significant environmental concern. Due to its widespread use, accidental spills, transportation, and refining processes, crude oil contamination is relatively common worldwide. Methods for remediating oil-contaminated soils include biological, chemical, and physical approaches. While chemical and physical methods present several disadvantages, bioremediation is a promising and effective strategy for treating oil-contaminated soils. Bioremediation harnesses the natural abilities of microorganisms and their enzymatic systems to degrade, break down, and convert hydrocarbons into less toxic substances. This method is considered the least harmful and most cost-effective way to clean the environment. Various microbial genera are known for their capacity to degrade hydrocarbons. Among these, the genus *Bacillus* stands out as a Gram-positive, rod-shaped bacterium capable of producing spores in aerobic environments. Belonging to the class Bacilli and the family Bacillaceae, *Bacillus* species can form endospores under stressful environmental conditions, allowing them to remain dormant for extended periods. This unique characteristic makes *Bacillus* particularly advantageous for bioremediation in oil-contaminated environments.This review article focuses on the recognition and potential of biodegradation of petroleum compounds by oil-degrading bacteria, particularly the genus *Bacillus*. It is hoped that this review will enhance our understanding of oil pollution's impact on biological communities and the microbial remediation of oil-contaminated soils.

Materials and Methods: All the articles used in this review were sourced from online databases such as Google, Google Scholar, SID, CAS, Science Direct, and Wiley Online Library, as well as from publishers including Elsevier, Frontiers, Springer, Environmental Health Perspectives (EHP), Taylor and Francis Online, MDPI, ACS Publications, Nature, and Civilica. This review is based on research from 169 international journals and scientific publications indexed in the Journal Citation Reports (JCR). The article briefly covers the following sections:

1. The Effect of Crude Oil on Soil Microorganisms
2. Oil Pollution in Iran
3. The Importance of Bioremediation of Petroleum Compounds
4. Mechanisms of Remediation of Oil-Contaminated Soils

5. Aerobic and Anaerobic Degradation Pathways of n-Alkanes
6. Research Conducted in the Field of Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Iran
7. Characteristics of *Bacillus* in Oil Degradation
8. Bioremediation of Oil-Contaminated Soils in Iran with a Focus on the Use of *Bacillus*

Results:Various bacterial genera, including ***Achromobacter***, ***Acinetobacter***, ***Alcaligenes***, ***Arthrobacter***, ***Actinomycetes***, ***Pseudomonas***, ***Enterobacter***, ***Micrococcus***, ***Staphylococcus***, ***Mycobacterium***, ***Rhodococcus***, ***Vibrio***, ***Sphingomonas***, ***Lactobacillus***, and ***Serratia***, are known to degrade hydrocarbons. These bacteria break down hydrocarbons and purify the soil through their enzyme systems and the secretion of compounds such as biosurfactants via different pathways. There are two main mechanisms for the breakdown of hydrocarbons: **aerobic** and **anaerobic** pathways. In aerobic mechanisms, oxygen acts as the electron acceptor, while in anaerobic conditions, sulfate and nitrate serve as electron acceptors to complete the process. ***Bacillus*** species are typically mesophilic, thriving at temperatures between 30°C and 45°C, although some thermophilic species can grow at higher temperatures, up to 65°C. Spore formation in *Bacillus* involves asymmetric cell division, producing an endospore and a mother cell, enabling the bacterium to survive harsh conditions and providing a distinct advantage for hydrocarbon biodegradation. ***Bacillus*** species can utilize hydrocarbons as carbon and energy sources, making them commonly found in oil-polluted soils. Several Bacillus species, including ***B. polymyxa***, ***B. cereus***, ***B. subtilis***, ***B. badius***, ***B. licheniformis***, ***B. cibi***, ***B. megaterium***, and ***B. stearothermophilus***, have demonstrated the ability to degrade petroleum hydrocarbons. These bacteria can tolerate a wide range of environmental conditions, such as varying pH, temperature, and salt concentrations, which few organisms can endure. They exhibit high resistance to environmental stressors like nutrient scarcity, dryness, radiation, hydrogen peroxide, and chemical disinfectants. The production of endospores provides a distinct advantage for hydrocarbon biodegradation. Additionally, *Bacillus* species produce a variety of biosurfactants, particularly lipopeptides, which enhance the solubility and bioavailability of hydrocarbons, thereby increasing bioremediation efficiency. Since biosurfactants are biodegradable and exhibit low environmental toxicity, producing these powerful, stable compounds using low-cost carbon sources could significantly advance the bioremediation of oil-contaminated soils. ***Bacillus*** also produces key degradative enzymes, such as lipase, hydroxylase, dioxygenase, monooxygenase P450, and protease, which play crucial roles in breaking down petroleum compounds. Research has shown that species like ***B. subtilis***, ***B. pumilus***, ***B. licheniformis***, and ***B. megaterium*** can degrade alkanes, BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene), and PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) by secreting these enzymes. Hydrocarbon groups in oil can bind with soil phosphorus, leading to phosphorus depletion. Since phosphorus limitation is a key constraint in the bioremediation of oil-contaminated soils, phosphorus-solubilizing *Bacillus* species such as ***B. subtilis***, ***B. cereus***, ***B. thuringiensis***, ***B. pumilus***, and ***B. megaterium*** can alleviate this problem by secreting organic acids like gluconic, lactic, acetic, succinic, and propionic acids. Research conducted in Iran and other international scientific communities indicates that *Bacillus* is capable of degrading various oil compounds by up to 99% within 10 to 30 days in liquid media. Additionally, in soil, *Bacillus* can degrade petroleum hydrocarbons by 20% to 80% over a period of 15 to 180 days.

Conclusion: In conclusion, various bacterial genera, particularly *Bacillus* species, play a crucial role in the degradation of hydrocarbons through both aerobic and anaerobic pathways. Known for their resilience against environmental stressors and ability to form endospores, *Bacillus* species are highly effective in bioremediation, especially in oil-contaminated soils. These bacteria produce essential enzymes and biosurfactants, including lipopeptide biosurfactants like surfactin, which significantly enhance the breakdown of petroleum hydrocarbons. Furthermore, phosphorus-solubilizing Bacillus species help mitigate nutrient limitations in contaminated environments, further enhancing their potential in environmental clean-up efforts. Their impressive efficiency, with degradation rates of up to 80% in soil, underscores their importance in global sustainable bioremediation initiatives

Cite this article: Zeynali ,K., Shariati, Sh., Pourbabaee ,A.A.2024. The Role of Effective Oil-Degrading Bacteria in the Remediation of Oil-Contaminated Soils: A Case Study on the Bacillus Genus. S*oil Biology Journal*, 12 (1),105-139.

CC BY NC

DOI: 10.22092/SBJ.2024.366140.266
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصل‌نامه
نشریه زیست‌شناسی خاک
https://sbj.areeo.ac.ir

مقاله مروری

نقش باکتری‌های نفت‌خوار مؤثر در اصلاح خاک‌های آلوده نفتی (مطالعه موردی: جنس *باسیلوس*)

کمیل زینالی، شایان شریعتی* و احمدعلی پوربابائی*

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، تهران، ایران، komeilzeynali7899@ut.ac.ir

استادیار گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران، shayan_shariati@ut.ac.ir

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، تهران، ایران، pourbabaei@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۴/۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۸

چکیده

هیدروکربن‌های نفتی برای همه اشکال حیات سمی هستند. بنابراین آلودگی زیست‌محیطی ناشی از نفت بسیار نگران‌کننده است. نتایج پژوهش‌های مختلف در زمینه پالایش اکوسیستم‌های آلوده، نشان داده است که مکانیسم اصلی حذف این ترکیبات سمی از مکان‌های آلوده از طریق تجزیه زیستی توسط باکتری‌های مؤثر در زیست‌پالایی اتفاق می‌افتد. جنس‌های مختلف باکتریایی مانند *Pseudomonas*، *Acinetobacter*، *Bacillus*، *Rhodococcus*، *Flavobacterium*، *Enterobacter* و *Nocardia* به‌عنوان تجزیه‌کنندگان ترکیبات نفتی شناخته شده اند. این باکتری‌ها با عملکرد سیستم آنزیمی خود و ترشح ترکیبات مختلف مثل سورفکتانت‌های زیستی، از طریق مسیرها و مکانیسم‌های مختلف، هیدروکربن‌ها را تخریب کرده و خاک را پاکسازی می‌کنند. جنس *باسیلوس* یکی از باکتری‌های مؤثر نفت‌خوار می‌باشد که می‌تواند در شرایط محیطی استرس‌زا زنده مانده و از هیدروکربن های نفتی به عنوان منابع کربن و انرژی برای رشد استفاده کند. گونه‌های *باسیلوس* دارای مجموعه‌ای از توانایی‌های فیزیولوژیکی هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها مانند ماسه‌های بیابانی، چشمه‌های آب گرم و خاک‌های قطب شمال زندگی کنند. همچنین *باسیلوس‌ها* توانایی ترشح سورفکتانت‌های زیستی مختلف مثل سورفکتین، ایتورین و فنگیسین را تا میزان ۵/۵ گرم بر لیتر دارند که در محدوده‌های گسترده pH، دما و شوری پایدار هستند. این جنس قادر به ترشح آنزیم‌های تجزیه‌کننده قدرتمندی مثل لیپاز، دی‌اکسیژناز و هیدروکسیلاز است. پژوهش‌های صورت گرفته در ایران و جوامع علمی بین‌المللی نشان می‌دهد این باکتری توانایی تجزیه ترکیبات مختلف نفتی را تا میزان ۹۹٪ در مدت ۱۰ تا ۳۰ روز در محیط مایع دارد. همچنین در خاک، این باکتری توانایی تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را به میزان ۲۰ تا ۸۰٪ در مدت ۱۵ تا ۱۸۰ روز دارا می‌باشد. بنابراین می‌توان در رویکردهای زیست‌پالایی مکان‌های آلوده به نفت خام از *باسیلوس*‌های غیر بیماریزا به عنوان یک باکتری قدرتمند در تجزیه ترکیبات نفتی، برای دستیابی به محیط زیستی پایدار استفاده کرد.

کلیدواژه: آلودگی خاک، *باسیلوس*، سورفکتانت زیستی، زیست‌پالایی، لیپاز، هیدروکربن نفتی

مقدمه

امروزه نفت خام و مشتقات آن نقش مهمی در زندگی روزمره و صنایع مختلف ایفا می‌کند. نفت خام متشکل از ترکیبات آلیفاتیک، آروماتیک و هتروسایکلیک است (شکل ۱) و این هیدروکربن‌های نفتی برای همه اشکال حیات سمی هستند. بنابراین آلودگی زیست‌محیطی ناشی از نفت بسیار نگران‌کننده است. آلودگی نفت خام به دلیل استفاده گسترده، نشت تصادفی، حمل و نقل و پالایش، در دنیا نسبتاً رایج است (پاول و گاوریلسکو، ۲۰۰۸). بیشتر اجزای هیدروکربنی برای انسان و حیات وحش کشنده هستند؛ زیرا به راحتی می‌توانند وارد زنجیره غذایی شوند. روش‌های اصلاح خاک‌های آلوده به نفت عبارتند از: روش‌های زیستی، شیمیایی، فیزیکوشیمیایی، حرارتی، الکتریکی، الکترومغناطیسی و اولتراسونیک (ردی، ۲۰۱۳؛ رودریگو و همکاران، ۲۰۱۴؛ چانگ و همکاران، ۲۰۱۶؛ ساکسا، ۲۰۱۷). روش‌های شیمیایی و فیزیکی معایب زیادی دارند؛ گران هستند، نیاز به انرژی بالایی دارند و ممکن است به محیط زیست آسیب برسانند (جدول ۱). روش اصلاح زیستی یکی از روش‌های موفق و امیدوارکننده برای تصفیه خاک‌های آلوده به نفت و مشتقات آن است. روش های زیستی عبارتند از: تلقیح میکروبی[۱]، تحریک زیستی[۲]، ورمی‌رمدیشن[۳]، گیاه‌پالایی، استفاده از بیورآکتور، خودپالایی[۴]، کمپوستینگ[۵]، لند فارمینگ[۶] و بیوپایل[۷] (میکائیل-ایگولیما و همکاران، ۲۰۲۲). در زیست‌پالایی از میکروارگانیسم‌ها و سیستم‌های آنزیمی آن‌ها به‌طور طبیعی برای تخریب، تجزیه و تبدیل هیدروکربن‌ها به مواد با سمیت کمتر مثل آب و دی‌اکسید کربن استفاده می‌شود (طاهر و سعید، ۲۰۲۲). این روش کم ضررترین و کم هزینه‌ترین راه برای پاکسازی محیط زیست است (منصور و همکاران، ۲۰۱۵). جنس‌های مختلف باکتریایی مانند *Alcaligenes*، *Acinetobacter*، *Achromobacter*، *Actinomycetes*، *Actinomycetes*، *Arthrobacter*، *Enterobacter*، *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Mycobacterium*، *Staphylococcus*، *Micrococcus*، *Sphingomonas*، *Vibrio*، *Rhodococcus*، *Lactobacillus* و *Serratia* به‌عنوان تجزیه‌کننده‌های هیدروکربن‌های نفتی شناخته شده اند (خالد و الشریف، ۲۰۲۲؛ پاندولفو و همکاران، ۲۰۲۳).

جنس *Bacillus* یک باکتری گرم مثبت و میله‌ای شکل است که در محیط‌های هوازی، اسپور تولید می‌کند. این جنس متعلق به کلاس *باسیلی* و خانواده *باسیلاسه* می‌باشد. *باسیلوس‌ها* می‌توانند در شرایط محیطی استرس‌زا، اندوسپورهایی تولید کنند که می‌توانند برای مدت طولانی غیرفعال بمانند. این ویژگی، برتری خاص این باکتری نسبت به سایر جنس‌ها در پاکسازی زیستی مکان‌های آلوده به ترکیبات نفتی می‌باشد (کایدا و همکاران، ۲۰۱۸). برخی از گونه‌های *Bacillus* که توانایی‌اشان در تجزیه ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است عبارتند از: *Bacillus polymyxa*، *Bacillus cereus*، *Bacillus subtilis*، *Bacillus badius*، *Bacillus lichenformis*، *Bacillus cibi*، *Bacillus megaterium* و *Bacillus stearothermophilus* (علی، ۲۰۱۹؛ احمد و همکاران، ۲۰۱۲؛ گارسیا-آلکانتارا و همکاران، ۲۰۱۶؛ سرکیرا و همکاران، ۲۰۱۱؛ سرخوه و همکاران، ۱۹۹۳). *باسیلوس‌ها* می‌توانند از هیدروکربن‌های نفتی به عنوان منابع کربن و انرژی برای رشد در محیط‌های نفتی استفاده کنند و معمولا

[۱] Bioaugmentation
[۲] Biostimulation
[۳] Vermiremediation
[۴] Bioattenuation
[۵] Composting
[۶] Land farming
[۷] Biopile

در مکان‌های آلوده به نفت یافت می‌شوند (کیم و کراولی، ۲۰۰۷؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۹؛ کیامرسی و همکاران، ۲۰۱۹؛ سعید و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین توانایی این باکتری‌ها در تجزیه زیستی آلاینده‌های آلی به اثبات رسیده است (نصرالهی و همکاران، ۲۰۲۰؛ فریدی و همکاران، ۲۰۲۴؛ ترابی و همکاران، ۲۰۱۷).

سویه‌های متعلق به گونه *B. subtilis* به تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی، از جمله سورفکتانت‌های زیستی با خواص ضد میکروبی، مانند ایتورین‌ها[۸] و فنگیسین‌ها[۹] مشهور می‌باشند (هاروود و همکاران، ۲۰۱۸؛ کاسپار و همکاران، ۲۰۱۹). سورفکتانت-های زیستی به دلیل زیست تخریب‌پذیری بالاتر و سمیت کمتر نسبت به سورفکتانت‌های مرسوم (شیمیایی)، تأثیر سوء کمتری بر محیط زیست دارند و می‌توانند با افزایش زیست‌فراهمی ترکیبات آلی آبگریز مثل هیدروکربن‌های نفتی، باعث بهبود کارایی تجزیه زیستی شوند (گودینا و همکاران، ۲۰۱۵؛ داروش و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین دانشمندان به این نتیجه رسیده‌اند که بیوفیلم‌های تولید شده توسط باکتری‌ها به ویژه *Bacillus*، نقش مهمی را در پاکسازی محیط زیست از آلاینده‌ها دارند. ثابت شده است که می‌توان آلاینده‌های سمی فاضلاب‌ها و محیط اطراف را با استفاده از رآکتورهای زیستی حاوی بیوفیلم‌های *B. subtilis* یا ترکیبی از بیوفیلم‌های چند سویه‌ای، تجزیه کرد (محسن و همکاران، ۲۰۲۱). از این رو، باکتری‌های گرم مثبت، به ویژه گونه‌های *Bacillus* در راهبردهای زیست پالایی خاک‌های آلوده نفتی و کاربردهای بیوتکنولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند.

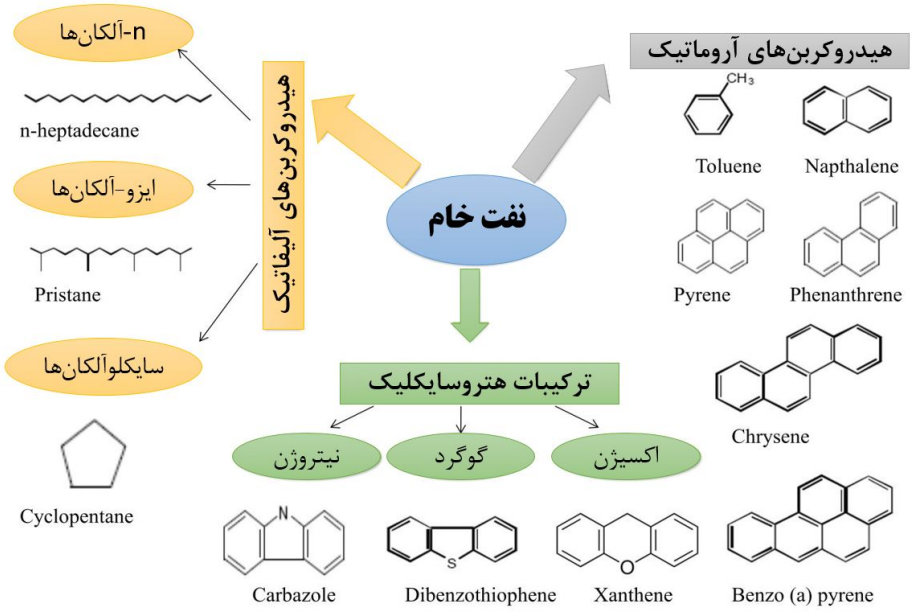
مطالعات زیادی در زمینه تجزیه ترکیبات شیمیایی مضر به وسیله باکتری *Bacillus* انجام شده است. همچنین تحقیقات در زمینه زیست‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی به وسیله *Bacillus* در ایران و دنیا در حال افزایش است (شکل ۲). تحقیق حاضر بر شناخت و پتانسیل تجزیه زیستی ترکیبات نفتی توسط باکتری‌های نفت‌خوار به خصوص جنس *Bacillus* تمرکز کرده است. امید است مطالعه حاضر، درک ما را از تأثیر آلودگی نفتی بر جوامع زیستی و اصلاح میکروبی خاک‌های آلوده به نفت، افزایش دهد.

جدول ۱- روش‌های پاکسازی خاک‌های آلوده به نفت همراه با مزایا و معایب

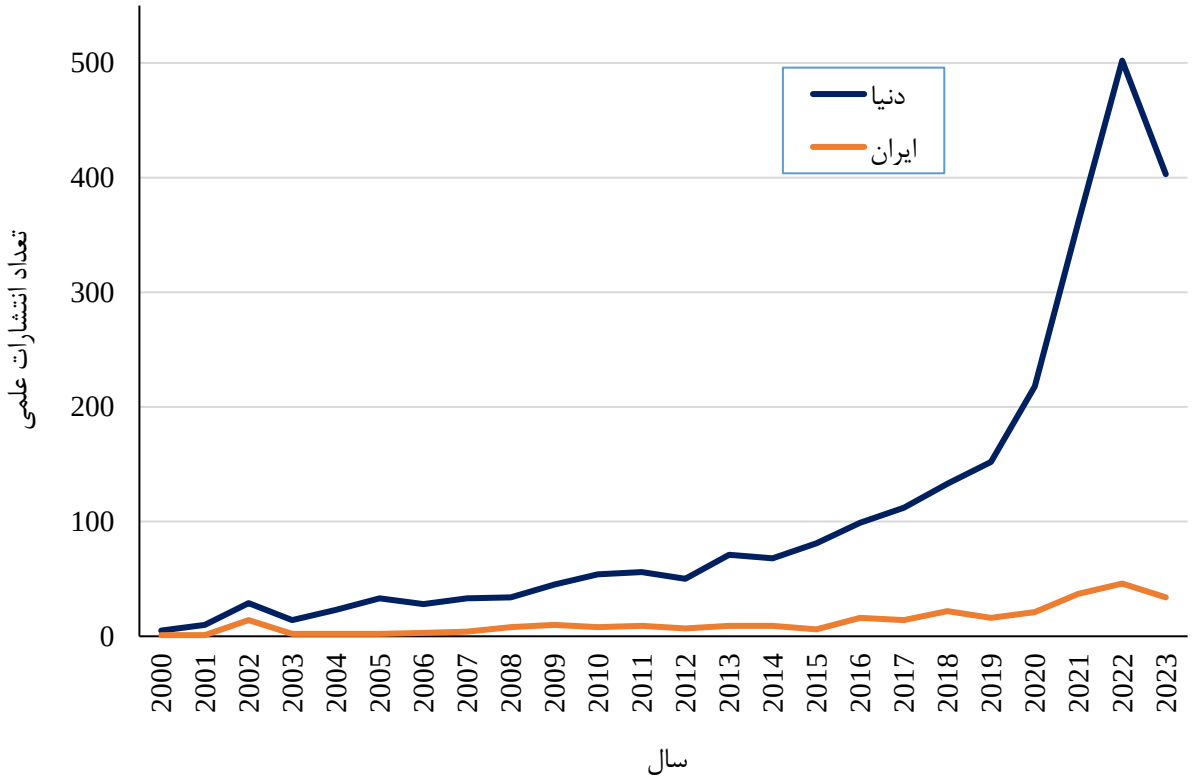
روش‌های پاکسازی	مزایا	معایب	مثال	منبع
فیزیکی	فرآیند ساده، سرعت مناسب، امکان کنترل کامل بر فرآیند اصلاح	گران بودن، نیاز به تجهیزات و امکانات پیچیده، آسیب به محیط زیست، خطر ایجاد آلودگی ثانویه، محدودیت کارایی	شست و شوی خاک، رسوب شویی، سفت سازی، تثبیت، دفع حرارتی، سوزاندن، استخراج بخار	دادرسنیا و همکاران، (۲۰۱۳) راجا و همکاران، (۲۰۲۲)
شیمیایی	کارایی بالا، سرعت مناسب	نیاز به دفع محلول‌های آلوده، هزینه بالا، خطر آلودگی ثانویه برای محیط	اکسیداسیون-احیاء، امواج فرابنفش، اکسیداسیون کاتالیزوری، کربن فعال، سیستم‌های الکتروشیمیایی	آمبایه و همکاران، (۲۰۲۲)
زیستی	کم‌هزینه بودن، سازگار با محیط زیست، عدم ایجاد آلودگی ثانویه، قابلیت اجرا در اکثر خاک‌های آلوده، بهبود کیفیت خاک و اکوسیستم	زمان‌بر بودن، کارایی پایین در آلودگی‌های بالا	تحریک زیستی، تلقیح میکروبی، خودپالایی، گیاه پالایی، استفاده از بیوراکتور، بیوپایل، کمپوستینگ	شارما و همکاران، (۲۰۲۰) سالز دا سیلوا و همکاران، (۲۰۲۰)

[۸] Iturin

[۹] Fengycin



شکل ۱- انواع هیدروکربن‌های نفتی موجود در نفت خام (محجوبی و همکاران، ۲۰۱۸)



شکل ۲-روند انتشارات علمی مرتبط با زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی توسط *Bacillus* از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۳ در دنیا و ایران با جست‌وجوی کلیدواژه‌های *Bacillus*، Petroleum hydrocarbon، Soil و Bioremediation در پایگاه داده Science Direct.

تأثیر نفت خام بر میکروارگانیسم‌های خاک

آلودگی نفتی خاک‌ها یک نگرانی زیست‌محیطی گسترده در دنیا است. نشت نفت و ترکیبات نفتی در خاک، به دلیل اینکه سلامت انسان و اکوسیستم را، به‌ویژه در مناطق سردسیر تهدید می‌کند، یکی از گسترده‌ترین و آسیب‌رسان‌ترین مشکلات آلودگی در محیط‌زیست به شمار می‌رود (احمد و فخرالدین، ۲۰۱۸). به دلیل ساختار پیچیده هیدروکربن‌ها، فرکشن‌های چربی‌دوست آن‌ها تمایل به

برقراری پیوند با ذرات خاک و ماده آلی دارند (لوگشواران و همکاران، ۲۰۱۸). هیدروکربن‌ها می‌توانند انتقال آب و اکسیژن از طریق فضاهای متخلخل در خاک را مختل کنند و بر نفوذپذیری، رطوبت، pH، قابلیت دسترسی مواد غذایی (نیترات، فسفات و سدیم) و شرایط رداکس تأثیر بگذارند (دواتا و همکاران، ۲۰۱۹).

هیدروکربن‌ها همچنین، می‌توانند گونه‌های میکروبی را حذف یا محدود کنند و عملکرد اکوسیستم مربوطه آن‌ها را تغییر دهند. این ترکیبات ممکن است تنوع میکروارگانیسم‌ها را کاهش داده و باعث ایجاد تغییرات سریع در جمعیت میکروبی شوند (پاندولفو و همکاران، ۲۰۲۳). مطالعات نشان می‌دهد که آلودگی نفتی منجر به افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت شده و باعث اختلال در جامعه میکروبی کلی خاک می‌گردد (شاه و سونی، ۲۰۲۴). حذف یا تغییر گونه‌های میکروبی با نقش‌های کلیدی در چرخه‌های بیوژئوشیمیایی و تولیدات اولیه نیز می‌تواند بر سطوح بالاتر تغذیه‌ای زنجیره غذایی، به دلیل خاصیت تجمع زیستی تأثیر بگذارد (پاندولفو و همکاران، ۲۰۲۳). علاوه براین، باکتری‌های موجود در خاک مثل باکتری‌های دخیل در فرایند نیتریفیکاسیون، مستعد قرار گرفتن در معرض هیدروکربن‌ها هستند که از طریق اتصال رقابتی با هیدروکربن‌های کم‌وزن، آنزیم آمونیوم مونواکسیژناز مهار شده (لوگشواران و همکاران، ۲۰۱۸) و پیامدهایی برای حاصلخیزی خاک دارد. لی و همکاران، (۲۰۲۰) نشان دادند که وزن کرم خاکی و تولید پیله پس از قرار گرفتن در معرض خاک آلوده به نفت به طور قابل توجهی کاهش یافت. علاوه بر این، خاک آلوده به غلظت های بالای نفت می تواند باعث آسیب به DNA در وزیکول های منی کرم خاکی شود. فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز و پراکسیداز به طور قابل‌توجهی زمانی که کرم‌های خاکی در معرض خاک آلوده به نفت قرار گرفتند، مهار شد، که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو توسط آلاینده‌های نفتی ایجاد می‌شود. گائو و همکاران، (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که غلظت‌های بالای نفت (بیش از ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تنوع میکروبی خاک، پیچیدگی شبکه میکروبیوم خاک، الگوی همزیستی گونه‌ها و ژن‌های تثبیت کننده نیتروژن و کربن پروکاریوت‌ها شد. در غلظت‌های متوسط نفت (۴۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) ژن‌های تغییردهنده کربن و نیتروژن و تنوع میکروبی تغییری از خود نشان ندادند؛ اما الگوی همزیستی گونه‌ها ارتقاع یافت. این دانشمندان همچنین، بیان کردند غلظت متوسط نفت در خاک، باعث افزایش فراوانی راسته پروتئوباکتری‌ها به میزان ۳/۹۱ تا ۵۷/۰۱ درصد و غلظت متوسط نفت، باعث افزایش فراوانی راسته اکتینوباکتری‌ها به میزان ۰/۲۶ تا ۱/۶۹ درصد شد. هو و همکاران، (۲۰۲۳) نشان دادند که آلودگی هیدروکربن‌های نفتی می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم، واکنش تنشی قوی در کرم‌های خاکی ایجاد کند، که به نوبه خود، به طور قابل‌توجهی بر تبدیل کربن در محل‌های آلودگی نفتی تأثیر می‌گذارد.

آلودگی نفتی در ایران

گزارشات متعددی در خصوص وجود آلاینده‌های نفتی در خاک، رسوبات و منابع آبی ایران وجود دارد (فیضی و همکاران، ۲۰۲۰؛ مقدّم و همکاران، ۲۰۲۱؛ رجاوالیسون و همکاران، ۲۰۲۲). وجود آلودگی نفتی در نقاط مختلف ایران شامل رسوبات خور ماهشهر، خلیج فارس (واعظی و همکاران، ۱۳۹۳)، خاک مزارع سبزیجات شهرستان شوش (خلیلی مقدم و همکاران، ۱۳۹۸)، خاک جایگاه‌های سوخت شهری شهر همدان (پرویزی موسد و همکاران، ۲۰۱۵)، خاک بخش‌های صنعتی کلان‌شهر اهواز (اشجر و همکاران، ۲۰۲۲) و مناطق دیگر کشور به اثبات رسیده است. از دیگر مناطقی که امروزه به شدت تحت تأثیر آلودگی نفتی قرار دارد، خاک تأسیسات گوره گچساران می‌باشد که دارای حدود ۵ هزار تن خاک آلوده به ترکیبات نفتی است (مدیریت HSE شرکت نفت مناطق نفت‌خیز

جنوب). همچنین منطقه پازنان در گچساران نیز یکی از مناطق آلوده است.

آلودگی ناشی از استخراج نفت و گاز، همراه با کاهش سطح آب به دلیل تغییر اقلیم، بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری را در دریای خزر تهدید می‌کند و آینده دریا را در معرض خطر قرار داده است. طبق گفته نهاد محیط زیست سازمان ملل، دریای خزر از بار آلودگی ناشی از استخراج و تصفیه نفت، میادین نفتی دریایی، پسماندهای رادیواکتیو نیروگاه‌های هسته‌ای و حجم عظیمی از فاضلاب‌های تصفیه نشده و زباله‌های صنعتی که عمدتاً توسط رودخانه ولگا وارد می‌شود، رنج می‌برد (اسماعیل‌اف و علیوا، ۲۰۱۹). با استناد به مطالعه نادری و همکاران (۱۴۰۰)، روسیه و آذربایجان به ترتیب با ورود سالانه ۸۵۸۰۰ تن و ۲۴۰۰۰ تن آلاینده‌های نفتی، در صدر مهم‌ترین تهدیدکنندگان زیست‌محیطی دریای خزر قرار گرفته‌اند. بنابراین لزوم اصلاح زیستی مکان‌های آلوده به ترکیبات نفتی در ایران بیش از پیش احساس می‌شود. کاظمی و همکاران (۲۰۲۴) خاک‌های آلوده به کل هیدروکربن های نفتی (آروماتیک و آلیفاتیک) را در میدان نفتی شهر اهواز شناسایی کردند. نتایج نشان داد که Benzo.b.fluoranthene با میانگین ۵۶۶۷/۷ میکروگرم بر کیلوگرم خاک بیشترین غلظت را در نمونه‌های خاک میدان نفتی اهواز داشت. بالاترین میانگین در نمونه‌های منطقه مرکز روغن پمپ با ۷۳۲۹/۴۸ میکروگرم بر کیلوگرم، در حالی که کمترین آن در نمونه‌های شاهد با ۱۹۱۹/۴ میکروگرم بر کیلوگرم یافت شد. بالاترین سطح اجزای آلیفاتیک نیز در مرکز روغن پمپ با مجموع ۳۶۴۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم یافت شد. نتایج حاصل از تقسیم منبع ترکیبات نفتی در نمونه های خاک نشان داد که فعالیت های نفتی ۵۱٫۵ درصد از PAH های اندازه گیری شده در خاک را تشکیل می دهد. ۳۸/۳ درصد از سایر ترکیبات اندازه گیری شده منشاء انسانی داشتند و تنها ۱۰/۱ درصد از این ترکیبات منشاء زیستی داشتند.

اهمیت زیست‌پالایی ترکیبات نفتی

به طور گسترده‌ای پذیرفته شده است که آلودگی هیدروکربن‌های نفتی در خاک، رسوبات، آب‌های سطحی و آب‌های زیرزمینی تهدید بزرگی برای سلامت انسان است. بنابراین حذف این ترکیبات از محیط‌های مختلف به خصوص خاک، از اهمیت بالایی برخوردار است. برای انجام این کار، در انتخاب رویکرد اصلاحی مناسب برای هر محیط آلوده، باید متغیرهایی مثل ماهیت و ترکیب آلاینده‌ها، غلظت آلودگی، شرایط آب و هوایی محل، شرایط فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی محیط آلوده همراه با وضعیت جامعه میکروبی موجود، در نظر گرفته شود (اوسای و همکاران، ۲۰۲۰). علاوه بر این، مکانیسم‌ها، الزامات نظارتی، هزینه‌ها و محدودیت‌های زمانی نیز در انتخاب روش اصلاح مناسب مهم هستند.

تکنیک‌های مختلف زیست‌پالایی عبارتند از: تحریک زیستی، تلقیح میکروبی، خودپالایی گیاه پالایی، استفاده از بیوراکتور، بیوپایل و کمپوستینگ. تجزیه زیستی نفت خام به معنای تبدیل اجزای پیچیده و مضر آن مانند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای و آلکان‌های با زنجیره بلند به فرکشن‌های ساده‌تر با استفاده از باکتری‌ها، قارچ‌ها یا جلبک‌های توانمند در تجزیه است. بنابراین، میکروب‌ها به خصوص باکتری‌ها می‌توانند در اصلاح خاک‌های آلوده به نفت بسیار مؤثر باشند (جبار و همکاران، ۲۰۱۹). تا به امروز، بیش از ۷۹ جنس باکتری تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی شناخته شده‌اند (تریپاتی و همکاران، ۲۰۲۴). مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی که از خاک‌های آلوده به نفت جداسازی شده‌اند و توانایی تجزیه زیستی نفت آن‌ها به اثبات رسیده است عبارتند از: *Acinetobacter*، *Flavobacterium*، *Bacillus*، *Aeromonas*، *Micrococcus*، *Staphylococcus*، *Vibrio*، *Xanthomonas*، *Pseudomonas*، *Rhodococcus*، *Dietzia* و *Enterobacter* (عبدالامیر علی، ۲۰۱۹).

مکانیسم‌های اصلاح خاک‌های آلوده به نفت

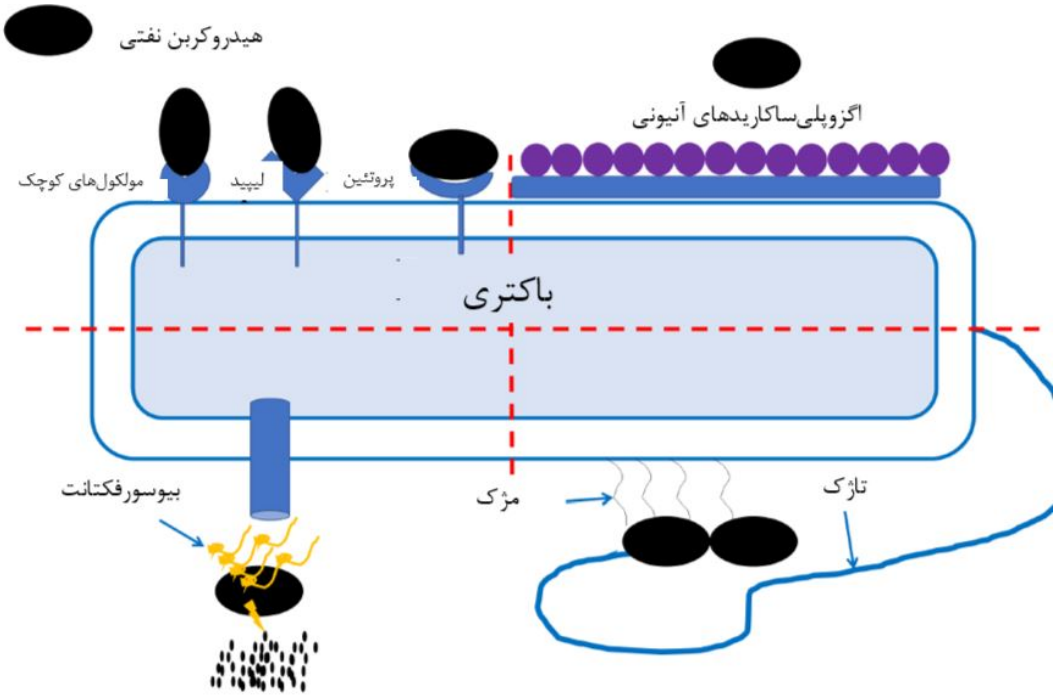
میکروارگانیسم‌های مختلفی توانایی اصلاح خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی را دارند. این موجودات با متابولیزه کردن آلاینده‌های آلی به دی‌اکسید کربن، آب و زیست‌توده غیرسمی، از این مواد به‌عنوان تنها منبع انرژی استفاده می‌کنند (جی و همکاران، ۲۰۱۳؛ مکونن و همکاران، ۲۰۲۴). میکروارگانیسم‌ها می‌توانند ترکیبات هیدروکربنی را با استفاده از پذیرنده‌های الکترون مانند اکسیژن، نیترات، منگنز، آهن و سولفات فعال کرده و در فرآیند تبدیل زیستی[۱۰]، اکسید کنند. فعال‌سازی هیدروکربن‌های نفتی که به‌صورت هوازی تجزیه می‌شوند، توسط آنزیم‌های مختلف انجام می‌شود. افزودن اکسیژن مولکولی به بستر توسط آنزیم‌های اکسیژناز کاتابولیزه می‌شود، در حالی که افزودن دو گروه هیدروکسیل به هیدروکربن‌های نفتی توسط دی‌اکسیژنازها یا مونواکسیژنازها انجام می‌شود (ونتزل و همکاران، ۲۰۰۷). دو مکانیسم اصلی برای تجزیه هیدروکربن‌ها وجود دارد: مسیرهای هوازی و بی‌هوازی. در مکانیسم‌های هوازی، از اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون استفاده می‌شود، در حالی که در شرایط بی‌هوازی، سولفات و نیتریت الکترون‌ها را دریافت کرده و فرآیند را تکمیل می‌کنند (مباچو و همکاران، ۲۰۲۰). شایان ذکر است که تجزیه بی‌هوازی سرعت کمتری نسبت به تجزیه هوازی دارد.

همچنین خواص سطحی باکتری برای تجزیه زیستی مؤثر بسترهای هیدروکربنی آبگریز، ضروری است و مکانیسم‌های چسبندگی آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۵). ران و روزنبرگ (۲۰۱۴) دریافتند که چسبیدن آلاینده‌های آبگریز به سلول‌های باکتریایی عمدتاً به مژک‌های آبگریز، فیبریل‌ها، پروتئین‌های غشای بیرونی و لیپیدها و همچنین مولکول‌های کوچک خاصی مانند گرامیسیدین S[۱۱] و پرودیژیوزین[۱۲] که در سطوح سلولی وجود دارند، بستگی دارد. در شکل (۳) جزئیات تماس فیزیکی باکتری‌ها با هیدروکربن‌های نفتی قابل مشاهده می‌باشد. در ادامه، به بررسی مکانیسم‌های اصلاح خاک آلوده به نفت توسط باکتری‌ها پرداخته شده است.

[۱۰] Biotransformation

[۱۱] Gramicidin S

[۱۲] Prodigiosin



- ✓ مژک یا تاژک باکتری به هیدروکربن متصل می‌شود
- ✓ بیوسورفکتانت ترشح شده از باکتری هیدروکربن را امولسیفای می‌کند
- ✓ پروتئین‌ها، لیپیدها و سایر مولکول‌های ریز سطح باکتری، ذرات نفتی را به باکتری می‌چسبانند
- ✓ بعضی از اگزوپلی‌ساکاریدهای آنیونی سطح باکتری، از چسبیدن ذرات نفتی به باکتری جلوگیری می‌کنند

شکل ۳- تماس فیزیکی بین باکتری و هیدروکربن‌های نفتی (ژو و همکاران، ۲۰۱۸)

مسیر تجزیه هوازی n-آلکان‌ها

مسیرهای متابولیک باکتری‌های هوازی که در تبدیل هیدروکربن‌های نفتی دخیل هستند، عمدتاً درون‌سلولی‌اند. تجزیه آلکان‌ها با کمک اکسیژنازها آغاز می‌شود، که اکسیژن را از طریق چهار مسیر مختلف به n-آلکان‌ها متصل می‌کنند. مسیر اکسیداسیون ترمینال[۱۳] شامل اکسیداسیون گروه متیل انتهایی n-آلکان است (پررا و همکاران، ۲۰۲۲). محصولات این اکسیداسیون الکل‌های اولیه هستند که توسط آنزیم‌های الکل و آلدهید دهیدروژناز بیشتر اکسید شده و به اسیدهای چرب تبدیل می‌شوند و سپس تحت فرآیند β-اکسیداسیون[۱۴] قرار می‌گیرند (فوردور و همکاران، ۲۰۱۸). این مسیر اکسیداسیون در باکتری‌های مختلفی از جمله *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 مشاهده شده است (جی و همکاران، ۲۰۱۳).

مسیر دوم اکسیداسیون نیز به اکسیداسیون ترمینال معروف است که در آن انتهای n-آلکان بدون شکستن زنجیره کربنی به اسید چرب مربوطه اکسید می‌شود. محصول این مسیر اکسیداسیون اسید چرب ω-هیدروکسی است که به اسید دی‌کربوکسیلیک تبدیل شده و سپس تحت اکسیداسیون بتا قرار می‌گیرد (وینکلر و گری، ۲۰۱۵).

[۱۳] Terminal oxidation pathway

[۱۴] β-oxidation

مسیر سوم اکسیداسیون، اکسیداسیون ساب‌ترمینال[۱۵] است که در آن، آلکان‌ها در موقعیت ساب‌ترمینال اکسید می‌شوند و الکل‌های اولیه و ثانویه یا متیل استون با همان طول زنجیره به‌عنوان بستر تشکیل می‌شوند (یین و همکاران، ۲۰۲۲). اکسیداسیون ساب‌ترمینال n–آلکان‌ها که پروپان را به الکل‌های ثانویه تجزیه می‌کند، در سویه *Gordonia* sp. 5 مشاهده شده است. الکل ثانویه بیشتر به کتون تبدیل شده و سپس توسط آنزیم Baeyer–Villiger مونواکسیژناز اکسید شده تا یک استر تشکیل دهد. درنهایت، این استر توسط استرازها هیدروکسیله شده و به الکل‌ها و اسیدهای چرب تبدیل می‌شود (جی و همکاران، ۲۰۱۳).

مسیر چهارم اکسیداسیون، مسیر اکسیداسیون-n آلکان‌های زنجیره بلند است که منحصراً در سویه *Acinetobacter* sp. HO1-N دیده شده است در این مسیر، n–آلکان‌ها اکسید می‌شوند تا به n–آلکیل هیدروپراکسید، پراکسی‌اسید، آلکیل آلدهید و اسیدهای چرب تبدیل شود. اولین گام مسیر فینرتی[۱۶]، تشکیل دی‌اکسیژناز است که مسئول اولین مرحله در اکسیداسیون n–آلکان‌ها توسط *Acinetobacter* sp. می‌باشد (مکونن و همکاران، ۲۰۲۴).

مسیر تجزیه بی‌هوازی n–آلکان‌ها

تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که هیدروکربن‌های نفتی، از جمله آلکان‌ها، در غیاب اکسیژن و با استفاده از نیترات، آهن دو ظرفیتی یا سولفات به‌عنوان پذیرنده‌های الکترون، یا تحت شرایط متانوژنیک[۱۷] تجزیه‌پذیر هستند (جی و همکاران، ۲۰۱۳). تجزیه زیستی بی‌هوازی هیدروکربن‌های نفتی در مناطق سرد که سطح اکسیژن محدود است، اهمیت دارد و توجه بیشتری را به خود جلب کرده است؛ زیرا این فرایند به‌عنوان مکانیزم غالب در محیط‌های آلوده و مخازن نفتی شناخته می‌شود (یاپ و همکاران، ۲۰۲۱). چندین سویه باکتریایی بی‌هوازی، از جمله باکتری‌های کاهنده سولفات (موسات، ۲۰۱۵) و باکتری‌های دنیتریفیکاسیون‌کننده (هین و همکاران، ۲۰۲۱)، قادر به تجزیه n–آلکان‌ها با شش کربن یا بیشتر به ترکیبات با سمیت کمتر هستند.

در حال حاضر، دو مکانیزم شناخته شده برای تجزیه بی‌هوازی n–آلکان‌ها وجود دارد: مسیر افزودن فومارات[۱۸] و مسیر کربوکسیلاسیون. مسیر افزودن فومارات در باکتری‌های کاهنده سولفات، باکتری‌های دنیتریفیکاسیون‌کننده و یک کنسرسیوم کاهنده نیترات شناسایی شده است (چالاقان و همکاران، ۲۰۰۶). باکتری‌های کاهنده سولفات *Desulfatibacillum aliphaticivorans* CV2803 و *Desulfatibacillum alkenivorans* AK-01، n–آلکان‌ها را به‌صورت بی‌هوازی از طریق افزودن فومارات به موقعیت C2 آلکان توسط آنزیم آلکیل سوکسینات سنتاز، اکسید می‌کنند و سوکسینات را تشکیل می‌دهند. AK-01 می‌تواند در حضور n–آلکان‌های با طول زنجیره C13–C18، ۱–هگزادسن و ۱–پنتادسن رشد کند. آلکیل سوکسینات از طریق بازآرایی اسکلت کربنی و اکسیداسیون بتا بیشتر تجزیه می‌شود. پس از بازآرایی کربن و دکربوکسیلاسیون، یک اسید چرب متیله شده که دو کربن بیشتر ازn–آلکان اصلی دارد، تشکیل می‌شود (چالاقان و همکاران، ۲۰۰۶). سپس، اسیدهای چرب حاصله به مسیر β–اکسیداسیون وارد می‌شوند.

[۱۵] Subterminal oxidation pathway
[۱۶] Finnerty
[۱۷] Methanogenic
[۱۸] Fumarate

پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه زیست‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی در ایران

نظر به این که ایران کشوری نفت‌خیز است و از صنایع نفتی بزرگ و زیادی برخوردار می‌باشد، درنتیجه آلودگی خاک‌ها به وسیله نفت در مناطق مختلف این کشور پدیده رایجی است.

سیدعلیخانی و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه‌ای تأثیر پنج تیمار متشکل از جنس‌های مختلف باکتری‌های *Bacillus* و *Pseudomonas*همراه با کشت گیاه جو را بر اصلاح زیستی یک خاک آلوده نفتی مورد بررسی قرار دادند. بعد از ۱۰۵ روز گرماگذاری، نتایج نشان داد تیمار *Bacillus* ۲ همراه با کشت جو بهترین عملکرد را با ۷۲/۵ درصد کاهش هیدروکربن‌های نفتی داشت و این میزان بدون کشت جو، ۵۹/۸ درصد گزارش شد.

یاراحمدی و همکاران (۱۳۹۱) طی پژوهشی چهار سویه باکتریایی *Pseudomonas aeruginosa*، *Acinetobacter johnsonii*، *Chryseobacterium* و *Pseudomonas stutzeri* تجزیه‌کننده نفت را از خاک استان بوشهر جداسازی کردند. کارایی این باکتری‌ها در تجزیه زیستی فنانترن و در غلظت‌های مختلف فسفر آزمایش شد. در نهایت، نتایج نشان داد بهترین سطح فسفر در تجزیه فنانترن غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد و باکتری *P.aeruginosa* هم بهترین عملکرد را در تجزیه فنانترن داشت.

شهریاری و همکاران (۱۳۹۱)، تجزیه زیستی فنانترن به‌عنوان یک ترکیب PAH را در شرایط شور توسط سویه باکتریایی شورپسند *Halobacillus dabanensis* Q-SH1 مطالعه کردند. این سویه از نمونه خاک شور و سدیمی آلوده به پسماندهای نفت خام از منطقه سراجه قم توسط دانشمندان جداسازی گردید. نتایج نشان داد سویه Q-SH1 طی ۱۰ روز موفق به تجزیه ۸۳ درصد فنانترن در محیط کشت با شوری ۱۰ درصد حاوی ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر فنانترن شد. همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد سویه مذکور، توانایی تجزیه فنانترن را در محدوده شوری ۰/۵ تا ۲۷ درصد دارد.

در مطالعه‌ای دیگر، بشارتی (۱۳۹۲)، باکتری‌های نفت‌خوار را از ۱۵ نمونه خاک آلوده جداسازی کرد. این پژوهشگر، به این نتیجه رسید که آلودگی باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه می‌گردد و افزایش آلودگی، رابطه مستقیمی با این کاهش دارد. همچنین تلقیح باکتری به خاک، با حذف مواد نفتی باعث بهبود وزن ریشه و اندام هوایی گردید.

در مطالعه ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۲)، نوزده سویه باکتریایی با جنس و گونه‌های *Sphingobacterium* sp. ،*Vibrio* sp. ،*Ralstonia* sp. ،*Stenotrophomonas maltophilia*، *Acinetobacter*، *Achromobacter xylosoxidans*، *Pantoea* sp.، *Paracoccus* sp.، *Pseudomonas aeruginosa*، *Zymomonas* sp.، *Pseudomonas stutzeri*، *Entrobacter cloacae*، *Serattia odorifera*، *Pseudomonas alcaligenes* و *Chryseobacterium* sp. از نمونه خاک‌های آلوده منطقه بوشهر جداسازی و غربالگری شدند. در ادامه، کارایی این سویه‌ها در محیط مایع معدنی همراه با گازوئیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج کدورت سنجی اسپکتروفوتومتر نشان داد باکتری *Chryseobacterium* sp. توانایی رشد بیشتری نسبت به سایر سویه‌ها در حضور گازوئیل داشت.

قویدل و همکاران (۱۳۹۵)، طی سه مرحله آزمایشگاهی جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های بومی نفت‌خوار در محیط کشت اختصاصی عصاره خاک-آگار، مطالعه کارایی جدایه‌ها در محیط کشت پایه معدنی مایع همراه با ۷٪ حجمی نفت‌گاز به‌عنوان منبع هیدروکربنی و مقایسه میزان تنفس سویه‌ها در محیط حاوی ۳٪ وزنی نفت‌گاز موفق به جداسازی دو سویه باکتریایی برتر BJ.1 و BM.1 شدند.

قریشی و همکاران (۲۰۱۷)، باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی را از چهار نمونه خاک (دو نمونه آلوده و یک نمونه غیرآلوده) و یک نمونه نفت سفید جداسازی کردند. آن‌ها از میان جدایه‌ها، هفت سویه را برای

آزمایشات بعدی انتخاب کردند. سپس توانایی این جدایه‌ها در تجزیه نفت سفید در محیط معدنی نمکی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد سویه‌های C2 (*Citrobacter sedlakii*) و C4 (*Entrobacter hormeachei*) طی ۷ روز گرماگذاری، به‌ترتیب قادر به تجزیه ۶۹ و ۴۸ درصد از ۵ درصد نفت سفید محیط کشت بودند.

بیات و همکاران (۱۳۹۷)، در پژوهش خود، باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت خام را از نمونه آب آلوده و شکم‌پایان خلیج فارس جداسازی کردند. دانشمندان در مجموع، شش کلنی متفاوت را طی فرایند غنی‌سازی جدا کردند که دو سویه از نظر حذف نفت و فعالیت امولسیون‌کنندگی عملکرد بهتری داشتند. فعالیت امولسیون‌کنندگی و میزان تجزیه نفت برای سویه *Vibrio alginolyticus* به ترتیب ۵۸/۴ و ۶۷/۵۸ درصد و برای سویه *Halomonas* sp. به ترتیب ۱۱/۶ و ۵۱/۴۴ درصد بود.

کشاورز و همکاران (۱۳۹۸) در آزمایشی گلخانه-ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اثر تیمارهای زیستی (*Pseudomonas fluorescens*، *Micrococcus yunnanensis*، *Claroideoglomus etunicatum* و *Funneliformis mosseae*) بر پاسخ‌های گیاه وتیور در آلودگی نفت خام (۰، ۲ و ۴ درصد وزنی) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد افزایش سطح آلودگی نفتی وزن خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین درصد کلنیزاسیون ریشه را کاهش داد اما تنفس میکروبی و غلظت کل هیدروکربن‌ها در خاک پس از برداشت را افزایش داد. تلقیح باکتری *Micrococcus yunnanensis* و باکتری *Funneliformis mosseae* موسه وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد، همه تیمارهای بیولوژیکی بجز باکتری *Pseudomonas fluorescens* افزایش وزن خشک ریشه را موجب گردیدند. مایه زنی قارچ *Claroideoglomus etunicatum* باعث افزایش معنی‌دار غلظت و جذب آهن، و قارچ *Funneliformis mosseae* باعث افزایش معنی‌دار میانگین غلظت روی و جذب روی و آهن شد. همچنین مایه زنی قارچ باعث افزایش درصد کلنیزاسیون ریشه شدند. از بین ریزجانداران مطالعه شده باکتری *Micrococcus yunnanensis* و قارچ *Funneliformis mosseae* تنفس میکروبی را افزایش دادند که به نوبه خود مقدارکل هیدروکربن‌های باقی مانده در خاک پس از برداشت را کاهش داد.

در پژوهش دیگری سلیمانی و همکاران (۱۳۹۹) توانایی یک کنسرسیوم باکتریایی تجزیه‌کننده آسنفتن جداشده از خاک آلوده به مواد نفتی را در ترشح سورفکتانت زیستی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آزمایشات نشان داد دو جدایه AP3 و BM1 علاوه بر توانایی تجزیه آسنفتن، مولد سورفکتانت زیستی بوده و به‌ترتیب ۷۲/۲ و ۵۴ درصد و اجتماع آن‌ها (کنسرسیوم) نیز ۱۰۰ درصد آلاینده را در محیط مایع تجزیه کردند. همچنین میزان تجزیه آسنفتن در خاک توسط جدایه AP3 و کنسرسیوم، به‌ترتیب ۶۴/۷ و ۷۵/۷ درصد بود.

آزادی و شجاعی (۲۰۲۰)، در پژوهشی به غربالگری و طبقه‌بندی گونه‌های اکتینومیست *Nocardia* از اکوسیستم‌های مختلف ایران که توانایی تجزیه ترکیبات نفتی را داشتند، پرداختند. جدایه‌ها از میان نود نمونه محیطی، غربالگری و شناسایی شدند. این دانشمندان، نوزده جدایه *Nocardia* که متعلق به ده گونه بودند را طی روش‌هایی مثل رشد در حضور آلاینده، کروماتوگرافی و کدورت سنجی، به‌عنوان میکروارگانیسم‌های توانا در امر زیست‌پالایی انتخاب کردند. گونه‌های غالب *Nocardia* عبارت بودند از: *N. farcinica* (چهار جدایه)، *N. cyriacigeorgica* و *N. cashijiensis* (سه جدایه)، *N. asteroides* و *N. kroppenstedtii* (دو جدایه).

در مطالعه دیگری، صابری و حسن‌شاهیان (۱۴۰۰) بیست و چهار سویه تجزیه‌کننده نفت را به روش‌غنی سازی با استفاده از محیط بوشنل هاس حاوی ۰/۵ درصد نفت خام جداسازی کردند. سپس جدایه‌ها

براساس توان ترشح سورفکتانت زیستی، رشد در محیط نفتی و تجزیه زیستی غربالگری شدند. نتایج توالی‌یابی ژن 16S rRNA نشان داد، دو جدایه برتر با *Rhodococcus jostii* strain D3 و *Arthrobacter citreus* strain E3 تشابه دارند. سویه D3، ۴۱ درصد تجزیه در غلظت ۴/۵ درصد نفت و سویه E3 ۷۳/۵ درصد تجزیه در غلظت ۱/۵ درصد نفت ثبت کردند.

در مطالعه‌ای دیگر، ساریخانی و همکاران (۱۴۰۱)، موفق به جداسازی شصت جدایه باکتریایی از خاک آلوده پتروشیمی و پالایشگاه تبریز شدند. سپس از میان این شصت جدایه، کارایی بیست جدایه به روش‌های کیفی و کمی در تجزیه نفت مورد بررسی قرار گرفت. درنهایت ده جدایه که متعلق به جنس و گونه‌های *Stenotrophomonas* sp.، *Achromobacter* sp.، *Psedochrobactrum* sp.، *Pseudomonas* sp.، *Alcaligenes* sp.، *Shewanella* sp.، *Arthrobacter* sp. و *Acinetobacter baumanni* بودند، به‌عنوان برترین باکتری‌ها در زیست‌پالایی نفت خام انتخاب شدند.

مرادی و همکاران (۱۴۰۲) اثرات آلودگی نفتی طولانی مدت (آلودگی کم، متوسط و شدید) بر تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک را مورد بررسی قرار دادند. میانگین درصد نفت اندازه‌گیری شده به روش سوکسله، به ترتیب ۰۳/۴، ۹/۹۵ و ۲۲/۵۰ درصد به ترتیب برای سطوح آلودگی کم، متوسط و شدید بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نفت در نمونه‌های خاک، تنفس پایه و برانگیخته افزایش یافتند و بیشترین تنفس پایه و برانگیخته به ترتیب با مقادیر ۰/۰۵۳ و ۰/۲۴۳ ($mgCO_2.g^{-1}.h^{-1}$) درخاک‌های با آلودگی شدید به دست آمد. شمارش همه باکتری‌ها و باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت به ترتیب در محیط کشت‌های NA و CFMM نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین جمعیت میکروبی و غلظت نفت وجود دارد.

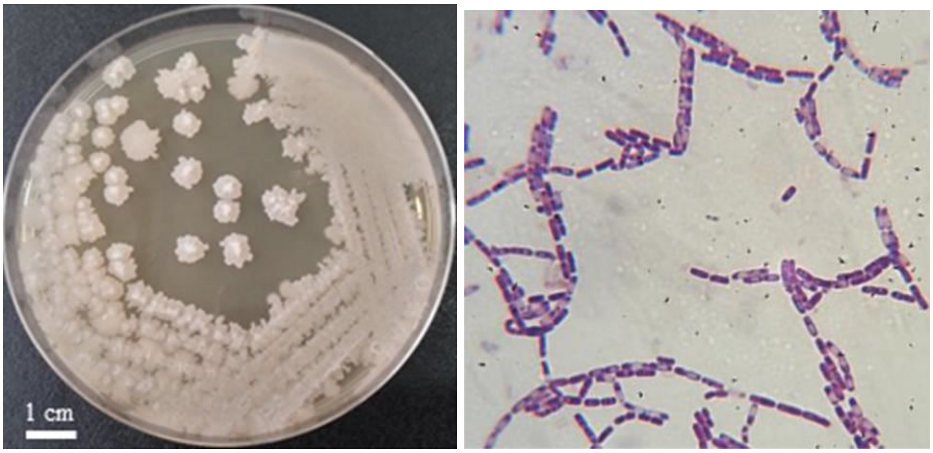
زینالی و همکاران (۱۴۰۳)، در پژوهشی به بررسی توانایی سه سویه مولد سورفکتانت زیستی *Dietzia aerolata* PS14B1، *Kocuria salina* PS12B2 و *Mesobacillus harenae* PS9D12 در زیست‌پالایی نفت خام پرداختند. نتایج تلقیح سویه‌ها به محیط معدنی MSM[۱۹] حاوی ۱ درصد نفت خام بعد از ۷ روز گرماگذاری نشان داد، سویه‌های PS14B1، PS12B2 و PS9D12 به‌ترتیب قادر به کاهش TPH محیط به میزان ۲۵/۶۳، ۲۴/۱۱ و ۲۲/۸۳ درصد شدند که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد در سطح ۵ درصد داشت. همچنین این دانشمندان بیان کردند که کنسرسیوم باکتری‌های فوق می‌تواند هدایت هیدرولیکی خاک را به میزان قابل توجهی افزایش دهد.

باسیلوس و تنوع زیستی

[۱۹] Mineral salts medium

باتوجه به توانایی *باسیلوس‌ها* در ترشح طیف وسیعی از آنزیم‌ها و سورفکتانت‌های زیستی و توانایی زندگی آن‌ها در اغلب محیط‌ها با شرایط مختلف که برتری خاصی در زمینه تجزیه ترکیبات نفتی به این باکتری می‌دهد، در این مقاله مروری سعی شده است به صورت اختصاصی به بررسی و شناخت توانایی‌های این باکتری در زیست‌پالایی خاک‌های آلوده نفتی پرداخته شود. جنس *Bacillus*یک باکتری گرم مثبت و میله‌ای شکل است که در محیط‌های هوازی اسپور تولید می‌کند. این جنس متعلق به کلاس *باسیل‌ها* و خانواده *باسیلاسه‌ها* می‌باشد. این باکتری‌ها می‌تواند هوازی اجباری یا بی‌هوازی اختیاری، متحرک و قادر به تولید سیتوکروم C اکسیداز و کاتالاز باشد (تورنبول و همکاران، ۱۹۹۶). با توجه به تحقیق کومار و لئون، (۲۰۰۷)، گونه‌های *Bacillus* می‌توانند در محیط حداقل نمکی رشد کنند. این باکتری‌ها معمولاً مزوفیل هستند و دمای مطلوب رشدشان ۳۰ تا ۴۵ درجه سلسیوس است. البته درصد کمی از *باسیلوس*‌ها هم گرمادوست بوده و در دماهای بالا (تا ۶۵ درجه سلسیوس) توانایی رشد دارند. *Bacillus anthracis* که عامل بیماری سیاه‌زخم است، تنها پاتوژن اجباری *باسیلوس* در مهره‌داران است. *Bacillus larvae*، *Bacillus lentimorbus*، *Bacillus popilliae*، *Bacillus sphaericus* و *Bacillus thuringiensis* پاتوژن‌های گروه خاصی از حشرات هستند (تورنبول و همکاران، ۱۹۹۶).

اسپورزایی در *باسیلوس‌ها*، شامل یک تقسیم سلولی نامتقارن و به دنبال آن مشتق شدن به دو نوع سلول اندوسپور و سلول مادر است. پوشش اندوسپور یک پوسته چند لایه است که از ده‌ها پروتئین تشکیل شده و از ژنوم باکتری در شرایط تنش محافظت می‌کند (مک‌کنی و همکاران، ۲۰۱۳). این ویژگی قابلیت خوبی به *باسیلوس‌ها* برای بقاء در شرایط سخت می‌دهد. در شکل (۴) وضعیت گرم و کلنی‌های باکتری *Bacillus subtilis* به عنوان گونه شاخص تجزیه‌کننده نفت از جنس *Bacillus*، قابل مشاهده است.



شکل ۴- تصویر سمت راست وضعیتِ گرم و سمت چپ کلنی‌های باکتری *Bacillus subtilis* روی محیط کشت LB agar (لنینی و همکاران، ۲۰۲۳؛ سهیل و همکاران، ۲۰۲۰)

توانایی *باسیلوس‌ها* در ترشح ترکیبات مختلف

اعضای جنس *Bacillus* اغلب به عنوان کارخانه های میکروبی برای تولید مجموعه وسیعی از مولکول‌های فعال زیستی درنظر گرفته می‌شوند که مصارف بیوتکنولوژیکی گسترده‌ای دارند. برخی از آن‌ها به طور بالقوه مهارکننده رشد قارچ‌ها هستند. گونه‌های *Bacillus* سیستم ترشح خوبی دارند و انواع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده در صنایع مواد شوینده، نساجی، غذا و نوشیدنی‌ها را تولید می‌کنند. از جمله آنزیم‌های مهم می

توان به آمیلاز[۲۰]، پولولاناز[۲۱]، بتا-گلوکاناز[۲۲]، بتا-گالاکتوزیداز[۲۳]، سلولاز و زایلاناز[۲۴]، کیتیناز[۲۵]، استراز[۲۶] و و لیپاز[۲۷] اشاره کرد (سانسیننا و همکران، ۲۰۱۹).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[۲۸]) با مکانیسم‌های مختلف باعث افزایش رشد گیاهان می‌شوند (نصرت‌آباد و همکاران، ۲۰۱۷؛ فلاح و همکاران، ۱۳۹۳). چندین گونه *Bacillus* به عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه شناخته شده‌اند؛ زیرا این باکتری‌ها با پاتوژن‌ها مقابله کرده یا به طریق دیگری باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند (نکیسا و همکاران، ۱۳۹۴؛ فلاح نصرت‌آباد و شریعتی، ۱۳۹۴). ترشح آنتی‌بیوتیک‌های پپتیدی و چندین ترکیب دیگر سمی برای پاتوژن‌های گیاهی از چندین سویه *Bacillus* گزارش شده است (یو و همکاران، ۲۰۰۲). بعضی از ترکیبات ضد قارچی تولید شده توسط *باسیلوس‌ها* عبارتند از: مایکوباسیلین[۲۹]، ایتورین، باسیلومایسین[۳۰]، سورفکتین[۳۱]، مایکوسوبتیلین[۳۲]، فانگیستاتین[۳۳] و ساب‌اسپورین[۳۴]. باکتری‌های *B. subtilis* GB03 و *B. amyloliquefaciens* IN937A مولد هورمون‌هایی مثل استوئین و ۳،۲-بوتاندیول[۳۵] هستند که با تنظیم هموستازی اکسین، نقش مهمی در افزایش رشد گیاه دارند. همچنین سویه‌های این جنس قابلیت ترشح هورمون‌های گیاهی مثل ایندول استیک اسید (IAA)، سیتوکینین و جیبرلین را دارند (سیواساکتی و همکاران، ۲۰۱۴). *باسیلوس‌ها* اگزوپلی ساکاریدها و سیدروفورهایی ترشح می‌کنند که حرکت یون‌های سمی را مهار کرده، باعث تأمین آهن مورد نیاز گیاه می‌شوند، به حفظ تعادل یونی کمک می‌کنند و حرکت آب را در بافت‌های گیاهی تقویت می‌کنند (هاشم و همکاران، ۲۰۱۹).

درحال حاضر اثبات شده که *Bacillus* (*B. subtilis, B. cereus, B. thuringiensis, B. pumilus, B. megaterium*) یکی از غالب‌ترین میکروارگانیسم‌های ریزوسفری است که با مکانیسم‌های مختلف باعث افزایش دسترسی عناصر غذایی و رشد گیاه می‌شود (مینا و همکاران، ۲۰۱۶). یکی از این مکانیسم‌های اصلی که مسئول آزادسازی فرم‌های مختلف فسفر به گیاهان در خاک است، تولید اسیدهای آلی (حل شدن ترکیبات فسفات معدنی نامحلول مانند تری‌کلسیم فسفات، دی‌کلسیم فسفات، هیدروکسی‌آپاتیت و سنگ فسفات) (اتینو و همکاران، ۲۰۱۶؛ چنگ و همکاران، ۲۰۱۷) و افزایش فعالیت اسید فسفاتازها می‌باشد (معدنی سازی فسفر آلی) (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹). این اسیدهای آلی ترشح شده توسط *باسیلوس‌ها* عبارتند از: گلوکونیک اسید، لاکتیک اسید، استیک اسید، سوکسینیک اسید[۳۶] و پروپیونیک اسید[۳۷].

جنس *Bacillus* به عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB[۳۸]) شناخته می‌شود (بهرا و همکاران، ۲۰۱۴؛ عبدالله و همکاران، ۲۰۱۸). گزارش شده است که سویه‌های *B. thuringiensis* و *B.*

---

[۲۰] Amylase
[۲۱] Pullulanase
[۲۲] β-Glucanase
[۲۳] β-Galactosidase
[۲۴] Xylanase
[۲۵] Chitinase
[۲۶] Esterase
[۲۷] Lypase
[۲۸] Plant growth promoting rhizobacteria
[۲۹] Mycobacillin
[۳۰] Bacillomycin
[۳۱] Surfactin
[۳۲] Mycosubtilin
[۳۳] Fungistatin
[۳۴] Subsporin
[۳۵] 2,3-Butanediol
[۳۶] Succinic acid
[۳۷] Propionic acid
[۳۸] Phosphate solubilizing bacteria

subtilis جدا شده از ریزوسفر گیاه گندم، فعالیت‌های محرک رشد گیاه بالایی، به‌خصوص قابلیت انحلال فسفر قوی از خود نشان داده‌اند (چریف-سیلینی و همکاران، ۲۰۱۶؛ جوزانی و همکاران، ۲۰۱۷). در مطالعه‌ای دیگر اثبات شد که سویه *B. megaterium* با افزودن استخوان ماهی، موفق به آزاد سازی ۴۸۳ میلی‌گرم در لیتر فسفر شد (سعید و همکاران، ۲۰۱۸). نکته مهم درمورد فسفر این است که گروه‌های عاملی نفت می‌توانند با فسفر معدنی خاک ترکیب شده و باعث فسفرزدایی[۳۹] شوند که منجر به کاهش فسفر در دسترس خاک می‌گردد (گینر و همکاران، ۲۰۱۹). بنابراین باتوجه به اینکه کمبود فسفر در دسترس یکی از عوامل محدودکننده در زیست‌پالایی خاک‌های آلوده نفتی می‌باشد (ورجانی و اوپاسانی، ۲۰۱۷)، استفاده از سویه‌های حل‌کننده فسفر *Bacillus* می‌تواند این مشکل را مرتفع کند (امامی و همکاران، ظا۲۰۲۰).

باسیلوس‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی

باسیلوس‌ها می‌توانند از هیدروکربن‌ها به عنوان منبع کربن و انرژی برای رشد و فعالیت در محیط‌های آلوده نفتی استفاده کنند. از این رو، باکتری‌های گرم مثبت به ویژه گونه‌های *Bacillus* در استراتژی‌های زیست‌پالایی و کاربردهای بیوتکنولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. گونه‌های *باسیلوس* گزارش شده در مقالات مختلف که توانایی تجزیه هیدروکربن‌های نفتی را دارند عبارتند از: *Bacillus subtilis*، *Bacillus badius*، *Bacillus lichenformis*، *Bacillus cibi*، *Bacillus megaterium* و *Bacillus stearothermophilus* (علی، ۲۰۱۹؛ احمد و همکاران، ۲۰۱۲؛ گارسیا-آلکانتارا و همکاران، ۲۰۱۶؛ سرکوئرا و همکاران، ۲۰۱۱؛ سورخوه و همکاران، ۱۹۹۳).

تیرومورو‌گان و همکاران، (۲۰۲۳) موفق به تجزیه ۹۰٪ و ۷۶٪ نفت خام به ترتیب با استفاده از دو سویه *Bacillus rugosus* و *Bacillus subtilis* بعد از ۱۵ روز انکوباسیون در محیط MSM[۴۰] حاوی نفت شدند. کریمی و همکاران، (۲۰۲۳) گزارش کردند با استفاده از یک کنسرسیوم میکروبی متشکل از سه سویه باکتریایی که یکی از آن‌ها *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* SH34 بود، موفق به تجزیه نفت خام به میزان ۷۱٪ در حضور فلزات سنگین شده‌اند. در مطالعه جالبی توانایی دو سویه *Bacillus thuringiensis* و *Bacillus sp.* در تجزیه زیستی BTEX[۴۱] در شرایط کاهشی نیترات و شوری به اثبات رسید (شکیبا و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین ونگ و همکاران، (۲۰۱۹) گزارش کردند که با استفاده از یک سویه *Bacillus subtilis* موفق به تجزیه ۶۵٪ نفت خام طی ۵ روز انکوباسیون در شرایط بهینه (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۷ و ۱٪ نمک NaCl) شدند. پوربابائی و همکاران، (۲۰۱۹) موفق به جداسازی کشت غنی شده شامل سه سویه *Acidovorax delafieldii* (Q-SH3)، *Bacillus hwajinpoensis* (Q-SH12) و *Bacillus rhizosphaerae* (Q-SH14) از خاک آلوده به نفت خام شدند. نتایج آنالیز HPLC نشان داد کشت غنی شده قادر به تجزیه فنانترن به میزان ۸۷/۶۶٪ در غلظت ۴۰ $mg\ L^{-1}$ طی ۱۰ روز انکوباسیون بود. در جدول (۲) سویه‌های مختلف *باسیلوس* که قادر به تجزیه ترکیبات نفتی هستند، گزارش شده است.

[۳۹] Dephosphorization

[۴۰] Mineral salt medium

[۴۱] Benzene, toluene, ethylbenzene, xylene

جدول ۲- سویه‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی از جنس *باسیلوس*

سویه	توضیحات	منبع
Bacillus cereus	سویه تجزیه‌کننده نفت خام؛ جداسازی شده از منطقه پالایش نفت نیجریه	چونوکو و همکاران، (۲۰۱۷)
Bacillus cereus CPOU13	قادر به تجزیه ترکیبات PAH	پورنچندر رائو و همکاران، (۲۰۱۵)
Bacillus cereus JMG-01	سویه تجزیه‌کننده آنتراسن با ۹۸٪ تجزیه طی ۲۱ روز گرماگذاری	داس و همکاران، (۲۰۱۷)
Bacillus lichenformis	سویه گرمادوست تجزیه‌کننده نفت خام سنگین	گارسیا-آلکانتارا و همکاران، (۲۰۱۶)
Bacillus sp. Ege B.6.2i	سویه تجزیه‌کننده کریسن و نفتالن و ترشح‌کننده سورفکتانت زیستی	کولسال و همکاران، (۲۰۱۷)
Bacillus subtilis A1	سویه ترشح‌کننده سورفکتانت زیستی و تجزیه‌کننده آلکان‌ها	پارتیپان و همکاران، (۲۰۱۷)
Bacillus subtilis *Bacillus atrophaeus*	سویه‌های تجزیه‌کننده ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک در محیط مایع	کیامرثی و همکاران، (۲۰۱۷)
Bacillus marsiflavi	سویه تجزیه‌کننده ترکیبات PAH و محرک رشد گیاه	سعید و همکاران، (۲۰۲۲)
Bacillus rugosus *Bacillus subtilis*	سویه‌های تجزیه‌کننده نفت خام و مولد سورفکتانت زیستی	تیروموروگان و همکاران، (۲۰۲۳)
Bacillus spp.	کاهش میزان هیدروکربن‌های نفتی خاک به میزان ۷۲/۵٪ در طول ۱۰۵ روز انکوباسیون همراه با کشت گیاه جو	سیدعلیخانی و همکاران، (۱۳۹۰)
Bacillus megaterium ZS2.12 *Bacillus subtilis ZS5.210*	توانایی بهتر رشد و تجزیه سویه‌ها در محیط حاوی نفت سفید از نفت خام	خلیلی مقدم و همکاران، (۱۳۹۸)
Bacillus Cereus	سویه تجزیه‌کننده گازوئیل که جداسازی شده از منطقه پالایش نفت تهران	کبریا و همکاران، (۲۰۰۹)
Bacillus hwajinpoensis Q-SH12 *Bacillus rhizosphaerae* Q-SH14	سویه‌های تجزیه‌کننده فنانترن جدا شده از خاک آلوده به نفت خام	پوربابائی و همکاران، (۲۰۱۹)
Bacillus thuringiensis *Bacillus sp.*	سویه‌های تجزیه‌کننده BTEX	شکیبا و همکاران، (۲۰۱۹)
Bacillus subtilis subsp. *inaquosorum* SH34	سویه تجزیه‌کننده نفت خام	کریمی و همکاران، (۲۰۲۳)

ویژگی‌های متمایز کننده *باسیلوس* در تجزیه ترکیبات نفتی

چندین ویژگی از جنس *Bacillus* وجود دارد که در تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها به آنها برتری می‌دهد. گونه‌های *Bacillus* دارای مجموعه‌ای از توانایی‌های فیزیولوژیکی هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها زندگی کنند؛ از جمله بسیاری از زیستگاه‌های سخت‌زیست مانند ماسه‌های بیابانی، چشمه‌های آب گرم و خاک‌های قطب شمال. گونه‌های جنس *Bacillus* می‌توانند گرمادوست، سرمادوست، اسیددوست، قلیایی‌دوست، متحمل نمک یا نمک‌دوست باشند و قادر به رشد در مقادیر مختلف pH، دما و غلظت نمک هستند که هر موجودی نمی‌تواند زنده بماند (کایدا و همکاران، ۲۰۱۸). این باکتری در برابر شرایط استرس‌زای محیطی مانند کمبود یا عدم دسترسی به مواد غذایی، خشکی، تابش، H_2O_2 و ضدعفونی کننده‌های شیمیایی بسیار مقاوم است (نیکولسون و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین تولید اندوسپور هم یک ویژگی به خصوص در این باکتری‌ها به حساب می‌آید.

اندوسپورها سلول‌های استراحتی هستند که در شرایط استرس‌زا توسط باکتری تولید می‌شوند و می‌توانند به مدت طولانی غیر فعال بمانند. هر گونه *Bacillus* توانایی تولید یک اسپور متفاوت را دارد که در برابر گرما، سرما، تشعشعات و مواد ضدعفونی کننده مقاومند (مادیگان و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین این جنس توانایی ترشح سورفکتانت‌های زیستی متنوع و آنزیم‌های قدرتمند تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی را دارد و خصوصیات محرک رشد گیاه مثل انحلال فسفات نامحلول هم در این باکتری‌ها دیده شده است.

توانایی ترشح سورفکتانت زیستی *باسیلوس‌ها*

سورفکتانت‌های زیستی به عنوان ترکیبات فعال سطحی با وزن مولکولی کم شناخته می‌شوند که معمولاً توسط باکتری‌ها (تولیدکنندگان اصلی سورفکتانت زیستی)، قارچ‌ها و مخمرها تولید می‌شوند. این ترکیبات نمایان‌گر طیف گسترده‌ای از ساختارهای شیمیایی، از جمله گلیکولیپیدها، لیپوپپتیدها، فسفولیپیدها، اسیدهای چرب یا لیپیدهای خنثی هستند (گودینا و همکاران، ۲۰۱۳؛ گیز و همکاران، ۲۰۱۴). گونه‌های *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Rhodococcus* و *Candida* به‌عنوان گسترده‌ترین تولیدکنندگان انواع سورفکتانت‌های زیستی تحت شرایط رشد مختلف به‌عنوان بسترهای غیرقابل اختلاط با آب شناخته می‌شوند (دروش و همکاران، ۲۰۲۱).

سورفکتانت‌های زیستی می‌توانند از طریق مکانیسم‌های انحلال، امولسیون‌سازی[۴۲] و متحرک کردن، برای بهبود فرآیندهای زیست‌پالایی مورد استفاده قرار بگیرند. از آنجایی که حلالیت پایین، یکی از فاکتورهای محدودکننده تجزیه نفت است، سورفکتانت میکروبی باعث افزایش حلالیت ترکیبات آلی آبگریز مانند نفت شده و به دنبال آن کارایی فرایند تجزیه زیستی را افزایش می‌دهد (دروش و همکاران، ۲۰۲۱). گونه‌های *Bacillus* طیف گسترده‌ای از سورفکتانت‌های زیستی لیپوپپتیدی را تولید می‌کنند که مولکول‌های حلقوی متشکل از یک اسید چرب با طول متغیر (نیمه آبگریز) متصل به یک زنجیره پپتیدی کوتاه (نیمه آبدوست) از هفت یا ده آمینو اسید هستند. در میان آن‌ها، سورفکتین[۴۳]، یک لیپو هپتاپپتید[۴۴] تولید شده توسط سویه‌های *Bacillus subtilis* است که یکی از موثرترین سورفکتانت‌های زیستی شناخته شده تا کنون می‌باشد. سورفکتین می‌تواند کشش سطحی و کشش بین سطحی مخلوط آب و آب/n–هگزادکان را به ترتیب از ۷۲ تا ۲۷ میلی‌نیوتن بر متر و ۴۳ تا ۱ میلی‌نیوتن بر متر کاهش دهد (سانتوس و همکاران، ۲۰۱۶).

باسیلوس، با توجه به تولید صنعتی سورفکتانت-های زیستی مورد توجه قرار گرفته است. *Bacillus licheniformis* و *Bacillus subtilis* متابولیت‌های فعال سطحی تولید می‌کنند. ال–وهیبی و همکاران، (۲۰۱۴) گزارش کردند که سورفکتانت زیستی استخراج شده از سویه *Bacillus subtilis* B30، از نوع مخلوطی از لیپوپپتیدها می‌باشد که شبیه به سورفکتین است. همچنین این دانشمندان بیان کردند که سویه فوق توانایی ترشح سورفکتانت زیستی خالص به وزن ۰/۳ تا ۰/۵ گرم بر لیتر را دارد و سورفکتانت زیستی تولید شده در محدوده‌های گسترده pH، شوری و دما پایدار است. کلوندی و همکاران، (۲۰۲۲a) موفق به طراحی محیط کشتی برای بهینه‌سازی تولید سورفکتانت زیستی لیپوپپتیدی توسط سویه *Bacillus sp.* SHA302 شدند. در مطالعه‌ای دیگر، کلامی و پوربابائی، (۲۰۲۱) موفق به جداسازی سه سویه

[۴۲] Emulsification
[۴۳] Surfactin
[۴۴] Lypo heptapeptide

ترشح‌کننده سورفکتانت زیستی *Bacillus altitudinis* SH42، *Bacillus subtilis subsp. inaquosorum* SH34 و *Bacillus paralicheniformis* F84 از خاک آلوده میدان نفتی اهواز شدند.

شایمردنووا و همکاران، (۲۰۲۴) توانایی شش سویه باکتری با جنس و گونه *Bacillus subtilis*، *Bacillus safensis*، *Bacillus paralicheniformis* و *Bacillus licheniformis* را در ترشح سورفکتانت زیستی به اثبات رساندند. محققان بیان کردند سویه‌های فوق، قادر به کاهش کشش سطحی مایع به کمتر از ۴۰ میلی‌نیوتن بر متر شدند. توانایی کاهش کشش سطحی به دلیل جذب سورفکتانت-های زیستی در فازهای مختلف است که منجر به تعامل و اختلاط بیشتر فازهای غیرمشابه می‌شود. این اختلاط باعث افزایش زیست‌فراهمی هیدروکربن‌های نفتی شده و پاکسازی زیستی را از نظر سرعت و قوت بهبود می‌بخشد (اوزویگوی و همکاران، ۲۰۱۵).

کاربرد دیگر سورفکتانت‌های زیستی در افزایش بازیابی نفت می‌باشد. این ترکیبات می‌توانند خواص فیزیکوشیمیایی نفت باقیمانده در مخزن و مخازن را بهبود بخشند، عمر تولید چاه‌های نفت را افزایش و هزینه‌ها را کاهش دهند (ژیائو و همکاران، ۲۰۱۳). وو و همکاران، (۲۰۲۲) موفق به جداسازی یک سویه باکتریایی ترشح کننده سورفکتانت زیستی شدند. آن‌ها بیان کردند سورفکتانت تولید شده از این جدایه (*Bacillus subtilis*) از نوع لیپوپپتیدی (سورفکتین) بوده و این سویه می‌تواند ۱۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر از این سورفکتانت را با منبع کربنی ساکارز در طول ۷۲ ساعت تولید کند. همچنین نویسندگان به این نتیجه رسیدند که سورفکتانت زیستی تولید شده، خاصیت امولسیون‌سازی بسیار خوبی با نفت خام، نفت سفید، اکتان و هگزادکان دارد که کمک زیادی به فرایند پاکسازی زیستی مکان‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی می‌کند. بنابراین، از آنجایی که سورفکتانت‌های زیستی زیست‌تخریب‌پذیر بوده و سمیت کمی برای محیط دارند، می‌توان با تولید سورفکتانت‌های زیستی قدرتمند و پایدار *باسیلوس* با استفاده از منابع کربنی ارزان‌قیمت، گامی مؤثر در پاکسازی زیستی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی برداشت.

ترشح آنزیم‌های دخیل در تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها توسط *باسیلوس*

آنزیم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، نقش عمده‌ای در تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها دارند (یانگ و ژانگ، ۲۰۱۰). یک مکانیسم مهم برای حذف آلکان‌ها، اکسیژن‌رسانی به گروه متیل انتهایی است. میکروب‌های تجزیه‌کننده آلکان، دارای ژن‌های متعددی برای تولید آلکان هیدروکسیلازها[۴۵] هستند که برای تجزیه طیف گسترده ای از آلکان‌ها بسیار مناسب می‌باشند (ون بیلن و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین PAHها به عنوان ترکیبات با وزن مولکولی بالا، به وسیله لاکاز[۴۶] سمیت‌زدایی می‌شوند (بهانداری و همکاران، ۲۰۲۱). برای مؤثر واقع شدن فرایند زیست‌پالایی، میکروارگانیسم‌ها باید به وسیله آنزیم‌ها به آلاینده‌ها حمله کرده و آن‌ها را به مولکول‌های بی‌خطر تبدیل کنند. تجزیه زیستی شامل تصفیه آلاینده‌های نفتی با استفاده از میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده این ترکیبات است که دارای انواع زیادی از آنزیم‌ها مانند لیپاز، آلکان مونواکسیژناز[۴۷]، پروتئاز[۴۸]، هیدرولاز[۴۹]، استراز، الکل دهیدروژناز[۵۰] و سیتوکروم P450s هستند (بهانداری و همکاران، ۲۰۲۱؛ آرناسیولا و همکاران، ۲۰۲۲a). آنزیم‌های

[۴۵] Alkane hydroxylase
[۴۶] Lacase
[۴۷] Alkane monooxygenase
[۴۸] Protease
[۴۹] Hydrolase
[۵۰] Alcohol dehydrogenase

تولید شده توسط میکروب‌ها به ویژه توسط گونه‌های *باسیلوس*، منابع اصلی آنزیم‌های لیپولیتیک هستند. جنس *Bacillus* آنزیم‌های پروتئولیتیک خنثی و قلیایی را با خواص قابل‌توجهی مانند پایداری بالا در طیف وسیعی از pHها و دماها و بازده بالا تولید می‌کند که وزن مولکولی آن‌ها بین ۲۷ تا ۷۱ کیلو دالتون است (اورتیز و سانسینا، ۲۰۲۲). ثابت شده است که این آنزیم‌ها هزینه تولید نسبتاً پایینی دارند، پایدار هستند و مستلزم فناوری ساده‌ای در تجزیه آلاینده‌ها در زمان کوتاه می‌باشند (آرناسیولا و همکاران، ۲۰۲۲b؛ مائوتی و همکاران، ۲۰۱۶).

پارتیپان و همکاران، (۲۰۱۷) موفق به جداسازی سویه *Bacillus subtilis* A1 شدند که توانایی ترشح سورفکتانت زیستی و تجزیه ترکیبات نفتی را داشت. این دانشمندان بیان کردند سویه A1 در زمان تجزیه هیدروکربن‌ها، قادر به تولید آنزیم‌های آلکان هیدروکسیلاز و الکل دهیدروژناز بود. همچنین این سویه ۸۷٪ نفت خام را در ۷ روز تجزیه کرد.

آنزیم لیپاز یکی از قدرتمندترین آنزیم‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌ها می‌باشد که جنس *Bacillus* به خوبی قادر به تولید آن است. لیپاز، لیپیدها را که شامل چربی و روغن است، به گلیسرول و اسیدهای چرب تجزیه می‌کند (روتمن و همکاران، ۲۰۰۲). ترشح آنزیم لیپاز توسط یک سویه *Bacillus subtilis* با استفاده از روش محیط نوترینت آگار غنی شده با توئین ۸۰، به اثبات رسید (ابوبکر و همکاران، ۲۰۲۴). دانشمندان به این نتیجه رسیدند که بیشترین فعالیت لیپاز ترشح شده از این باکتری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و pH ۸ می‌باشد. همچنین آن‌ها بیان کردند که این آنزیم ۸/۱۱٪ نفت خام را طی ۲۸ روز در محیط حداقل نمکی (MSM) تجزیه کرده است.

باسیلوس‌ها قادر به ترشح آنزیم‌های دیگری مثل دهیدروژناز و کتکول ۳،۲–دی‌اکسیژناز[۵۱] هستند که نقش مهمی در تجزیه ترکیبات نفتی دارند. یان و همکاران، (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای، موفق به جداسازی هفت سویه *Bacillus* از خاک حاوی آلودگی قدیمی نفتی شدند. در این مطالعه فعالیت سه آنزیم لیپاز، دهیدروژناز و کتکول ۳،۲–دی‌اکسیژناز که در تجزیه نفت دخیل هستند مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد سویه‌های X3، X4 و X1 به ترتیب بیشترین فعالیت آنزیمی لیپاز، کتکول ۳،۲–دی‌اکسیژناز و دهیدروژناز را دارند.

مونواکسیژناز P450 استخراج شده از *B. megaterium* BM3 می‌تواند بسترهای متنوعی مانند ترکیبات حلقه‌ای و اسیدهای چرب را تجزیه کند (روکاتانو، ۲۰۱۵). باکتری مقاوم در برابر حرارت *B. licheniformis* M2-7، دارای ژن‌های *pobA* و *fabHB* بود که به ترتیب ۴–هیدروکسی بنزوات ۳–مونواکسیژناز[۵۲] و کتوآسیل–ACP سنتاز III[۵۳] را کد می‌کردند و تجزیه بیولوژیکی بنزو(a)پیرن را تسهیل می‌کرد (روجاس–آپاریسیو و همکاران، ۲۰۱۸).

دی‌اکسیژنازها طیف وسیعی از ویژگی‌های سوبسترا دارند و واکنش‌های مختلفی را کاتالیز می‌کنند (گیبسون و پارالز ۲۰۰۰). این آنزیم با افزودن دو مولکول اکسیژن به حلقه آروماتیک، باعث تخریب آن می‌شود. بر اساس یافته‌های اخیر، سویه‌های *Bacillus* پتانسیل قابل توجهی برای تولید طیف وسیعی از دی‌اکسیژنازها دارند. در مطالعه‌ای سویه *Bacillus* جدا شده از مخازن نفتی، فعالیت های کاتکول ۲،۱–دی‌اکسیژناز[۵۴] و کاتکول ۳،۲–دی اکسیژناز را نشان داد. این دو آنزیم، دی‌اکسیژنازهای

[۵۱] Catechol 2,3-dioxygenase
[۵۲] 4-Hydroxybenzoate 3-Monooxygenase
[۵۳] Ketoacyl-ACP synthase III
[۵۴] Catechol 1,2-Dioxygenase

غیرهِم[۵۵] هستند و در برش حلقه‌ای از آروماتیک‌ها دخیل هستند (دا کونها و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین کاتکول ۲،۱– دی‌اکسیژناز تولید شده توسط *B. pumilus* MVSV3، واسطه تخریب بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن (BTEX) است (سورندرا و همکاران، ۲۰۱۷).

هیدروکسیلازها، شکستن بسیاری از پیوندهای شیمیایی مانند پیوندهای پپتیدی، استرها، پیوندهای کربن–هالید و غیره را تسهیل می کنند (کاریگار و رائو، ۲۰۱۱) و یکی از آنزیم‌های حیاتی در تجزیه نفت و سوخت‌ها می‌باشند (ون بیلن و فانهاف، ۲۰۰۷). گروه هیدروکسیلاز شامل انواع مختلفی از آنزیم‌ها مثل کربوکسی‌استراز[۵۶]، لیپاز، فسفوتری استراز[۵۷]، سلولاز و هالوآلکان دهالوژناز[۵۸] هستند (شارما و همکاران، ۲۰۱۸). *Bacillus* دارای طیف وسیعی از فعالیت هیدروکسیلاز است. به عنوان مثال، *Bacillus* spp. PS1 و PS11 دارای فعالیت فنل هیدروکسیلاز[۵۹] هستند و گزارش شده است که در تجزیه نفتالین، بنزن، تولوئن و فنل کارآمد است (دوکیچ و همکاران ۲۰۱۱). پارتیپان و همکاران، (۲۰۱۷) گزارش کردند *B. subtilis* A1 با حدود ۹۷ درصد راندمان تخریب به سمت هیدروکربن‌های با وزن مولکولی بالا، تخریب کامل هیدروکربن‌های با وزن مولکولی کم و بالا را تسهیل می‌کند، که این امر توسط فعالیت آلکان هیدروکسیلاز همراه با سورفکتانت‌های زیستی و الکل دهیدروژناز تسهیل می‌شود.

تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در خاک توسط *باسیلوس*

Bacillus یکی از جنس‌های مهم تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی در خاک به شمار می‌آید (گیونتا و همکاران، ۲۰۱۹؛ گوپتا و همکاران، ۲۰۱۹). برای افزودن این باکتری به خاک، ابتدا باید کشت تازه در محیط مایع تا رسیدن به جمعیت مناسب انجام شده (مایه تلقیح) و سپس به خاک تلقیح شود (النگا–ویلسون و همکاران، ۲۰۲۱).

تأثیر مثبت استفاده از سویه‌های *Bacillus* در پاکسازی زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ای ماندری و همکاران، (۲۰۲۱) کارایی دو نمونه از اجتماع سویه‌های *Bacillus* را در زیست‌پالایی یک خاک آلوده به ترکیبات PAH مورد بررسی قرار دادند. بعد از ۱۱ هفته انکوباسیون، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که کنسرسیوم ۲ (متشکل از سویه‌های *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis*) عملکرد بهتری نسبت به کنسرسیوم ۱ (متشکل از سویه‌های *Bacillus velezensis* و *Bacillus subtilis*) داشت و موفق به تجزیه کامل (۱۰۰٪) نفتالن، فنانترن و پیرن در خاک آلوده شد.

در مطالعه دیگری، توانایی یک کنسرسیوم میکروبی متشکل از چهار سویه *Bacillus* M28، M29، ST70 و ST55 مولد سورفکتانت زیستی در کاهش TPH یک خاک آلوده به ۱۹۵ گرم بر کیلوگرم TPH (۱۹٪/۵) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد کنسرسیوم *Bacillus* بعد از ۱۵ روز انکوباسیون، موفق به کاهش میزان TPH خاک از ۱۹۵ به ۱۱۲ گرم بر کیلوگرم (تجزیه ۴۲٪/۵۶) شده است (النگا–ویلسون و همکاران، ۲۰۲۱).

در پژوهش یان و همکاران، (۲۰۱۳)، دانشمندان موفق به جداسازی هفت سویه *Bacillus* از خاک حاوی آلودگی قدیمی نفتی شدند. آن‌ها توانایی این سویه‌ها را در تجزیه نفت خام در محیط مایع و خاک در مدت ۲۸ روز انکوباسیون بررسی کردند. نتایج نشان داد سویه X6 با

[۵۵] Nonheme
[۵۶] Carboxylesterases
[۵۷] Phosphotriesterases
[۵۸] Haloalkane dehalogenases
[۵۹] Phenol hydroxylase

تجزیه ۵۴/۴٪ و ۵۱٪ نفت خام به ترتیب در محیط‌های مایع و خاک، بهترین عملکرد را داشت.

ستار و همکاران، (۲۰۲۲) اثر یک کنسرسیوم میکروبی متشکل از سویه‌های *Bacillus pumilus* (KY010576)، *Exiguobacteriaum aurantiacum* (KY010578)، *Lysinibacillus fusiformis* (KY010586) و *Pseudomonas putida* (KX580766) را در کاهش TPH یک خاک آلوده مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که استفاده از کنسرسیوم فوق به تنهایی و بدون افزودن ماده دیگری می‌تواند ۷۰٪ TPH خاک را در مدت ۲۰ روز انکوباسیون تجزیه کند. همچنین آن‌ها بیان کردند که همبستگی مثبتی بین تجزیه TPH و افزایش ۱۰۰ برابری جمعیت تجزیه‌کننده خاک وجود دارد.

مطالعه‌ای در زمینه بررسی کارایی تثبیت یک سویه *Bacillus* (*Bacillus* C5) بر روی حامل‌های سدیم آلژینات و اکسید گرافن در پاکسازی زیستی یک خاک آلوده به ۰/۸٪ نفت خام توسط لیو و همکاران، (۲۰۲۳) انجام شد. نتایج نشان داد ترکیب فوق به طور معنی‌داری باعث کاهش نفت خام در خاک شد و بعد از ۳۰ روز ۶۴/۹۲٪ نفت خاک تجزیه شد که ۲/۱ مرتبه بیشتر از کارایی تجزیه *Bacillus* C5 به تنهایی بود.

اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به نفت در ایران با رویکرد بهره‌گیری از *باسیلوس*

در ایران، مطالعات زیادی در زمینه جداسازی و زیست‌پالایی نفت به وسیله *Bacillus* و جنس‌های مختلف میکروبی انجام شده است (جدول ۳). کلوندی و همکاران، (۲۰۲۲b) تأثیر سورفکتانت زیستی لیپوپپتیدی استخراج شده از جدایه SHA302 را در تخلیه TPH یک نمونه خاک آلوده منطقه جنوب ایران مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها بیان کردند که این جدایه موفق به تخلیه ۴۲/۴٪ TPH خاک آلوده شده است. همچنین نتایج توالی یابی ژن 16S rRNA نشان داد سویه SHA302 قرابت ۹۳/۹۸ درصدی با باکتری *Bacillus pumilus* سویه ATCC 7061 دارد. شوندی و همکاران، (۱۳۹۷) دینامیک گونه‌های *Bacillus* را طی تجزیه گازوئیل در خاک مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که با افزودن گازوئیل به خاک به عنوان منبع کربن، تنوع و جمعیت گونه‌های *Bacillus* افزایش می‌یابد و این باکتری نقشی اساسی در زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی دارد. همچنین این دانشمندان بیان کردند که در میکروکاسم[۶۰]های غنی شده با ۲٪ و ۴٪ گازوئیل، به ترتیب ۵۰٪ و ۴۴/۴۴٪ این ماده طی مدت ۶ ماه تجزیه شد.

مطالعه‌ای در زمینه توانایی کاهش آسنفتن[۶۱] (هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای) توسط سویه *Bacillus velezensis* CR-502(T) به تنهایی و در حضور *Pseudomonas putida* ATCC 12633 در خاک انجام شد (سلیمانی و همکاران، ۱۳۹۸). محققان به این نتیجه رسیدند که سویه *Bacillus velezensis* CR-502(T) و کنسرسیوم حاصل از دو سویه، به ترتیب ۶۴/۷٪ و ۷۵/۷٪ آسنفتن را در خاک تجزیه کردند. همچنین این دانشمندان بیان کردند که در تجزیه آسنفتن، سورفکتانت زیستی حاصل از سویه *Bacillus*، مؤثرتر از سورفکتانت زیستی حاصل از سویه *سودوموناس* عمل کرد.

در مطالعه‌ای دیگر رسولی و همکاران، (۱۳۹۷)، به شناسایی باکتری‌های بومی جدا شده از خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی منطقه پتروشیمی ماهشهر و پتانسیل این باکتری‌ها در حذف TPH از خاک پرداختند. آن‌ها با

[۶۰] Microcosm

[۶۱] Acenaphthene

استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و توالی یابی به این نتیجه رسیدند که دو گونه باکتری *Bacillus nakamurai* و *Peseudomons aeruginosa* در شش ایستگاه متفاوت، با درصد شباهت بیش از ۹۵٪ غالب هستند. همچنین این دانشمندان بیان کردند که سویه *Bacillus nakamurai* قادر به تجزیه ۳۳/۰۵٪ TPH خاک بود.

هاشمی و همکاران (۲۰۲۴) تجزیه زیستی فنانترن (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک سدیمی شور بسیار آهکی را با استفاده از کنسرسیوم باکتریایی هالوفیل مصنوعی (*Halobacillus* sp. strain Q-SH1, *Acidovorax* sp. strain Q-SH3, *Bacillus* sp. (strain Q-SH12, and *Bacillus* sp. strain Q-SH14 مورد بررسی قرار دادند. تنفس، فعالیت دهیدروژناز و جمعیت میکروبی در این کنسرسیوم بالاترین فعالیت را نشان داد. علاوه بر این، نتایج کروماتوگرافی گازی (GC) نشان داد که این کنسرسیوم هالوفیل مصنوعی قادر به حذف سریع بیش از ۹۰ درصد فنانترن (۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) از خاک شدیداً متاثر از شوری همراه با محتوای آهک بالا در عرض ۱۵ روز بود.

جدول ۳- مطالعات انجام شده در ایران در زمینه زیست‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی به وسیله *باسیلوس*

سویه	محل جداسازی	ماتریکس زیست‌پالایی	آلاینده و مقدار آن	میزان تجزیه (٪)	منبع
کنسرسیوم باکتری‌های *Bacillus megaterium*، *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas putida*	-	خاک	۳۸٪ نفت خام	۳۴	دوستکی و همکاران، (۱۳۹۲)
کنسرسیوم A (*Acinetobacter radioresistence*، *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas aeruginosa*)	خاک آلوده	خاک کشاورزی (بیورآکتور S-SBR)	۱٪ n- هگزادکان ۱٪ n-دودکان	۱۷/۶۱ n- هگزادکان ۲۸/۵۵ n- دودکان	نوذری و همکاران، (۲۰۱۸)
کنسرسیوم B (*Bacillus sp.*، *Ochrobactrum oryzae*، *Sphingomonas yanoikuyae*)	کمپوست			۱۳/۲۲ n- هگزادکان ۱۹/۲۴ n- دودکان	
اجتماع جدایه‌های تجزیه‌کننده TPH	خاک الوده و گل حفاری	خاک (بیورآکتور)	۳٪ TPH	۹۰/۵۰	علوی و همکاران، (۲۰۱۴)
Bacillus cereus	خاک آلوده به BTEX	خاک	۲٪ سوخت دیزل	۵۸/۵	وراوی‌پور و سلطانی، (۲۰۱۳)
Pseudomonas putida و *Bacillus pumilus*	خاک آلوده به نفت	خاک	۳٪/۵ نفت خام	۷۷/۳	شیرزادیان‌گیلان و همکاران، (۲۰۲۳)

تلقیح *باسیلوس* به خاک

تلقیح *Bacillus* به خاک برای اصلاح خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی، یکی از روش‌های کارآمد و پایدار برای بهبود کیفیت خاک و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی است. این روش شامل استفاده از میکروارگانیسم‌های مؤثر در تجزیه و تخریب هیدروکربن‌ها به منظور پاکسازی خاک‌های آلوده می‌باشد. در ادامه، مراحل و نحوه تلقیح *Bacillus* به خاک، برای اصلاح آلودگی‌های نفتی توضیح داده شده است. مراحل تلقیح *Bacillus* به خاک به ترتیب عبارتند از: ۱- انتخاب و تهیه سویه‌های مناسب باکتری *Bacillus* ۲- کشت انبوه میکروبی ۳- آماده‌سازی خاک ۴- تلقیح میکروبی ۵- تهویه و آبیاری خاک ۶- مانیتورینگ و ارزیابی (داس و موخرج، ۲۰۰۷؛ لیو و همکاران، ۲۰۱۶؛ کایدا و همکاران، ۲۰۱۸؛ ماسیکا و همکاران، ۲۰۲۰).

در ابتدا باید سویه‌های مناسب *Bacillus* مانند *subtilis* و *B. licheniformis* که از محیط‌های طبیعی آلوده یا کلکسیون‌های میکروبی معتبر جدا و خالص‌سازی شده‌اند و توانایی تجزیه ترکیبات نفتی را دارند، انتخاب شوند. می‌توان از این سویه‌ها بصورت تکی یا کنسرسیومی (ترکیبی از دو یا چند سویه) استفاده کرد. در مرحله بعد سویه‌های منتخب باید در شرایط آزمایشگاهی کشت داده شده و به تعداد کافی تکثیر شوند. برای زیست‌پالایی در ابعاد بزرگتر، می‌توان از فرمانتور برای کشت انبوه استفاده کرد. این کار معمولاً در محیط‌های کشت مایع مانند لوریا برتانی (LB[۶۲]) یا نوترینت براث (NB[۶۳]) انجام می‌گیرید. بعد از رسیدن به جمعیت مناسب، سلول‌های میکروبی با استفاده از سانتریفوژ جدا و به صورت سوسپانسیون در آب یا محلول‌های مناسب نگهداری می‌شوند. مرحله سوم آماده سازی، خاک است که در این مرحله خاک آلوده به نفت، به خوبی مخلوط شده و در صورت لزوم به کُپه‌های کوچکتر تقسیم می‌شود تا تلقیح میکروبی به طور یکنواخت صورت گیرد. سپس سوسپانسیون *Bacillus* به صورت اسپری یا تزریق مستقیم، به خاک آلوده اضافه می‌شود. میزان تلقیح میکروبی به مقدار آلودگی و حجم خاک بستگی دارد و معمولاً به ازای هر گرم خاک، تعداد مشخصی از سلول‌های میکروبی تلقیح می‌شوند. بعد از تلقیح، برای افزایش فعالیت میکروبی و تجزیه مؤثر هیدروکربن‌ها، خاک به طور منظم تهویه و آبیاری می‌شود. تهویه به تأمین اکسیژن لازم برای فعالیت میکروبی کمک می‌کند و آبیاری مناسب نیز از خشک شدن خاک و کاهش فعالیت میکروبی جلوگیری می کند. درنهایت خاک تلقیح شده باید به طور منظم مورد پایش قرار بگیرد تا میزان تجزیه هیدروکربن‌ها و کاهش آلودگی سنجیده شود. این کار با استفاده از تکنیک‌های کروماتوگرافی گازی[۶۴] یا طیف‌سنجی جرمی انجام می‌شود. همچنین تغییرات در جمعیت میکروبی و ویژگی‌های خاک نیز باید ارزیابی شوند.

نتیجه گیری و چشم اندازهای آینده

Bacillus یک باکتری گرم مثبت، اسپورزا، میله ای شکل و هوازی است که می‌تواند در شرایط سخت و استرس‌زای محیطی مثل گرمای بیش از حد، سرمای بیش از حد، تشعشعات، خشکی و عدم دسترسی به مواد غذایی زنده بماند. این ویژگی‌ها باعث شده است که این باکتری در هر مکانی یافت شود. بعضی از گونه‌های *Bacillus* می‌توانند از هیدروکربن‌های نفتی به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده کرده و این ترکیبات را تجزیه کنند. گونه‌های مختلف این باکتری مانند *Bacillus polymyxa*، *Bacillus cereus*، *Bacillus subtilis*، *Bacillus badius* و *Bacillus lichenformis* به عنوان گونه‌های تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی گزارش شده‌اند. این باکتری قادر به ترشح آنزیم‌های قدرتمندی مانند لیپاز، دهیدروژناز، هیدروکسیلاز و مونواکسیژناز در تجزیه نفت است. همچنین بعضی از سویه‌های *Bacillus* مولد سورفکتانت-های زیستی مختلفی هستند که باعث افزایش کارایی فرایند اصلاح زیستی مکان‌های آلوده به نفت می‌شود و برخی از این سویه‌ها قابلیت افزایش رشد گیاه از طریق مقابله با عوامل بیماری‌زا، انحلال فسفات نامحلول و... را دارند.

پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مکانیسم‌های دخیل در تجزیه انواع اجزاء هیدروکربن‌ها و گونه‌های مختلف *Bacillus* به صورت جزء به جزء مورد بررسی قرار گیرد. نهایتاً می‌توان از این باکتری توانمند در پروژه‌های زیست‌پالایی محل‌های آلوده مثل خاک، آب و رسوبات

[۶۲] Luria-Bertani broth
[۶۳] Nutrient broth
[۶۴] Gass-chromatography

برای دستیابی به محیط زیستی پایدار و عاری از آلودگی استفاده کرد.

فهرست منابع

[۱] ابراهیمی، م.، فلاح، ع.، ساریخانی, م. 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] بشارتی، ح. ۱۳۹۲. پالایش میکروبی خاک‌های آلوده به مواد نفتی و بررسی نقش رایزوسفر در کارایی ریز جانداران. پژوهش‌های خاک، ۲۸(۳): ۵۷۳-۵۸۴.

[۳] بیات، ز.، حسن ش. م.، عسکری، م. ۱۳۹۷. جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت خام از شکم پا Haustrum scobina جمع آوری شده از خلیج فارس (ناحیه ساحلی بندرعباس)، زیست شناسی میکروبی، ۱۷(۵): ۷۲-۶۱.

[۴] خلیلی مقدم، ب.، سرخه، ز.، اسداغی، ا.، معتمدی، ح. ۱۳۹۸. تجزیه زیستی نفت سفید توسط باکتری‌های بومی جداسازی شده از خاک مزارع سبزیجات آلوده به ترکیبات نفت سفید استان خوزستان، تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۰(۷): ۱۷۵۷-۱۷۴۷.

[۵] دوستکی، م.، ابراهیمی، س.، موحدی ن.س.، علمائی، م. ۱۳۹۲. بهینه‌سازی شرایط تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی به‌وسیله میکرواورگانیسم‌های بومی و غیربومی. *مجله* پژوهش‌های حفاظت آب و خاک، ۲۰(۴): ۱۶۵-۱۸۱.

[۶] رسولی، ث.، کاشفی ا.، مرتضی، م. ر.، امتیازجو، م.، زعیم دار، م. ۱۳۹۹. شناسایی باکتری‌های بومی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی در منطقه ویژه اقتصادی پتروشیمی ماهشهر. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۲۲(۳ (پیاپی ۹۴)): ۲۸۶-۲۷۷.

[۷] زینالی، ک.، شریعتی، ش.، پوربابائی، ا.، شرفا، م. ۱۴۰۳. کاربرد کنسرسیوم باکتریایی مولد بیوسورفکتانت و تجزیه کننده نفت در افزایش ضریب آبگذری خاک آلوده به TPH. تحقیقات آب و خاک ایران (چاپ آنلاین).

[۸] ساریخانی، م.، افشارنیا، م.، زارعی، م. ۱۴۰۱. جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت از خاک‌های آلوده نفتی پالایشگاه و پتروشیمی تبریز و شناسایی باکتری‌های کارآمد .دانش آب و خاک، ۳۲(۴): ۹۱-۱۰۴.

[۹] سلیمانی، س.، لکزیان، ا.، فتوت، ا.، رمضانپور، م. ۱۳۹۹. بررسی تولید بیوسورفاکتانت توسط کنسرسیوم باکتریایی جدا شده از خاک آلوده به مواد نفتی. زیست شناسی خاک، ۸(۱): ۵۵-۷۱.

[۱۰]سیدعلیخانی، س.، شرفا، م.، اصغرزاده، ا. ۱۳۹۰. کارآیی باکتری‌های *باسیلوس* و *سودوموناس* در زیست پالایی یک خاک آلوده به هیدروکربن ها. دانش آب و خاک (دانش کشاورزی)، ۲۱(۳): ۱۰۱-۹۱.

[۱۱]شهریاری، م.، ثواقبی فیروزآبادی، غ.، پوربابایی، ا. ۱۳۹۱. توانایی تجزیه زیستی فنانترن توسط سویه باکتریایی شور دوست جداسازی شده از خاک شور و سدیمی آلوده به پسماند نفت خام منطقه سراجه قم. تحقیقات آب و خاک ایران (علوم کشاورزی ایران): ۴۳(۴)، ۳۲۵-۳۳۳.

[۱۲]شوندی، م.، زمانیان، ن.، حدادی، ا. ۱۳۹۷. مطالعه دینامیک گونه‌های باسیلوس طی حذف آلودگی‌های نفتی با روش PCR-DGGE. زیست شناسی میکروارگانیسم ها، ۷(۲۶): ۶۳-۵۱.

[۱۳]صابری، ط.، حسن شاهیان، م. ۱۴۰۰. جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ نفت خام از مکان‌های آلوده به مواد نفتی در مسجدسلیمان. زیست شناسی میکروبی، ۱۰(۳۸): ۱-۱۵.

[۱۴]فلاح نصرت آباد، ع.، شریعتی، ش. ۱۳۹۴. بررسی تاثیر باکتری‌های *سودوموناس* و *باسیلوس* در عملکرد گندم

و جذب عناصر غذایی و مقایسه آن با کود شیمیایی و آلی. آب و خاک، ۲۸(۵): ۹۸۶-۹۷۶.

[۱۵]فلاح، ع.، مومنی، س.، شریعتی، ش. ۱۳۹۳. تاثیر کود زیستی و نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد گندم در شرایط گلخانه‌ای. مهندسی زراعی، ۳۷(۲): ۸۶-۷۳.

[۱۶]قویدل، ا.، ناجی راد، س.، و علیخانی، ح. ۱۳۹۵. جداسازی و مطالعه باکتری‌های بومی خاک‌های آلوده جنوب پالایشگاه تهران جهت زیست پالایی آلودگی‌های نفتی. دانش آب و خاک، ۲۶(۳): ۱۷۵-۱۸۵.

[۱۷]کشاورز، س.، قاسمی فسائی، ر.، رونقی، ع.، زارعی، م. ۱۳۹۸. اثر برخی ریز جانداران در کاهش آلودگی یک خاک آهکی آلوده به نفت خام .زیست شناسی خاک، ۷ (۱): ۳۹-۲۹.

[۱۸]مرادی، ش.، ساریخانی، م.، بهشتی آل آقا، ع.، ریحانی‌تبار، ع.، علوی‌کیا، س.س.، شریفی، ر. ۱۴۰۲. اثرات آلودگی نفتی طولانی مدت بر تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز خاک .زیست شناسی خاک، ۱۱ (۲): ۲۳۰-۲۱۳.

[۱۹]نادری، ا.، محمدی، پ.، چوبکار، ن.، حسینی، س.ا. ۱۴۰۰. ارزیابی آلودگی نفتی و اولویت بندی راهبرد حفاظت محیط زیست دریای خزر بر اساس مدل SWOT. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۲۳(۶ (پیاپی ۱۰۹)): ۱۷۳-۱۶۱.

[۲۰]نکیسا، ن.، بشارتی، ح.، دورودیان، ح. ۱۳۹۴. اثر باکتری *باسیلوس سوبتلیس* و مقادیر کودشیمیایی سوپرفسفات تریپل بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج (علی کاظمی و هاشمی). پژوهش های خاک، ۲۹(۳): ۲۵۹-۲۶۸.

[۲۱]یاراحمدی، ز.، بشارتی، ح.، فلاح‌نصرت‌آباد، ع.، ساریخانی، م. ۱۳۹۱. تأثیر غلظت فسفر بر باکتری های تجزیه کننده مواد نفتی جداسازی شده از خاک های استان بوشهر در حضور فنانترن. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار، ۲(۲): ۱۶۵-۱۷۲.

[22] Abdallah, D.B., Frikha-Gargouri, O. and Tounsi, S., 2018. Rizhospheric competence, plant growth promotion and biocontrol efficacy of Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum strain 32a. Biological Control, 124, 61-67.

[23] Abdul-Ameer Ali, W., 2019. Biodegradation and phytotoxicity of crude oil hydrocarbons in an agricultural soil. Chilean journal of agricultural research, 79(2), 266-277.

[24] Abubakar, A., Abioye, O.P., Aransiola, S.A., Maddela, N.R. and Prasad, R., 2024. Crude oil biodegradation potential of lipase produced by Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa isolated from hydrocarbon contaminated soil. Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 6, 26-32.

[25] Adipah, S. (2019). Introduction of petroleum hydrocarbons contaminants and its human effects. Journal of Environmental Science and Public Health, 3(1), 1-9.

[26] Ahmed, A.T., Othman, M.A., Sarwade, V.D. and Kachru, G.R., 2012. Degradation of anthracene by alkaliphilic bacteria Bacillus badius. 1(2), 2-9.

[27] Ahmed, F. and Fakhruddin, A.N.M., 2018. A review on environmental contamination of petroleum hydrocarbons and its biodegradation. International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources, 11(3), 1-7.

[28] Al-Wahaibi, Y., Joshi, S., Al-Bahry, S., Elshafie, A., Al-Bemani, A. and Shibulal, B., 2014. Biosurfactant production by Bacillus subtilis B30 and its application in enhancing oil recovery. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 114, 324-333.

[29] Ambaye, T.G., Chebbi, A., Formicola, F., Prasad, S., Gomez, F.H., Franzetti, A. and Vaccari, M., 2022. Remediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons and its reuse for agriculture: Recent progress, challenges, and perspectives. Chemosphere, 293, p.133572.

[30] Aransiola, S.A., Afolabi, F., Joseph, F. and Maddela, N.R., 2022a. Soil Enzymes: Distribution, Interactions, and Influencing Factors. In Agricultural Biocatalysis (303-333). Jenny Stanford Publishing.

[31] Aransiola, S.A., Joseph, F., Oyedele, O.J. and Maddela, N.R., 2022b. Ecological Interplays in Microbial Enzymology: An Introduction. In Ecological Interplays in

[40] Cheng, J., Zhuang, W., Li, N.N., Tang, C.L. and Ying, H.J., 2017. Efficient biosynthesis of d-ribose using a novel co-feeding strategy in Bacillus subtilis without acid formation. Letters in Applied Microbiology, 64(1), 73-78.

[41] Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I. and Boudabous, A., 2016. Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of Bacillus isolated from the wheat rhizosphere. Annals of Microbiology, 66, 1087-1097.

[42] Chonoko, UG., Abdullahi, IO., Ado, SA., Whong, CMZ., 2017. Hydrocarbon degradation by autochthonous species of Bacillus cereus and Pseudomonas aeruginosa Isolated from Kaduna Refinery Effluents. Cont J Biol, 10(2), 10–26.

[43] Da Cunha, C.D., Rosado, A.S., Sebastián, G.V., Seldin, L. and Von Der Weid, I., 2006. Oil biodegradation by Bacillus strains isolated from the rock of an oil reservoir located in a deep-water production basin in Brazil. Applied microbiology and biotechnology, 73, 949-959.

[44] Dadrasnia, A., Shahsavari, N. and Emenike, C.U., 2013. Remediation of contaminated sites. Hydrocarbon, p.65.

[45] Darwesh, O.M., Mahmoud, M.S., Barakat, K.M., Abuellil, A. and Ahmad, M.S., 2021. Improving the bioremediation technology of contaminated wastewater using biosurfactants produced by novel bacillus isolates. Heliyon, 7(12).

[46] Das, K. and Mukherjee, A.K., 2007. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. Bioresource technology, 98(7), 1339-1345.

[47] Das, M., Bhattacharya, A., Banu, S. and Kotoky, J., 2017. Enhanced biodegradation of anthracene by Bacillus cereus strain JMG-01 isolated from hydrocarbon contaminated soils. Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 26(5), 510-525.

[48] Das, S., Raj, R., Mangwani, N., Dash, H.R. and Chakraborty, J., 2014. Heavy metals and hydrocarbons: adverse effects and mechanism of toxicity. Microbial biodegradation and bioremediation, 23-54.

Microbial Enzymology (3-18). Singapore: Springer Nature Singapore.

[32] Ashjar, N., Keshavarzi, B., Moore, F., Soltani, N., Hooda, P.S. and Mahmoudi, M.R., 2022. TPH and PAHs in an oil-rich metropolis in SW Iran: Implication for source apportionment and human health. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 28(1), 58-78.

[33] Azadi, D. and Shojaei, H., 2020. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, phenol and sodium sulfate by Nocardia species isolated and characterized from Iranian ecosystems. Scientific reports, 10(1), 21860.

[34] Azubuike, C.C., Chikere, C.B. and Okpokwasili, G.C., 2016. Bioremediation techniques–classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32, 1-18.

[35] Behera, B.C., Singdevsachan, S.K., Mishra, R.R., Dutta, S.K. and Thatoi, H.N., 2014. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove—a review. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 3(2), 97-110.

[36] Bhandari, S., Poudel, D.K., Marahatha, R., Dawadi, S., Khadayat, K., Phuyal, S., Shrestha, S., Gaire, S., Basnet, K., Khadka, U. and Parajuli, N., 2021. Microbial enzymes used in bioremediation. Journal of Chemistry, 1, 8849512.

[37] Callaghan, A. V., Gieg, L. M., Kropp, K. G., Suflita, J. M., & Young, L. Y., 2006. Comparison of mechanisms of alkane metabolism under sulfate-reducing conditions among two bacterial isolates and a bacterial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(6), 4274-4282.

[38] Cerqueira, V.S., Hollenbach, E.B., Maboni, F., Vainstein, M.H., Camargo, F.A., Maria do Carmo, R.P. and Bento, F.M., 2011. Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. Bioresource technology, 102(23), 11003-11010.

[39] Chang, K.S., Lo, W.H., Lin, W.M., Wen, J.X., Yang, S.C., Huang, C.J. and Hsieh, H.Y., 2016. Microwave-assisted thermal remediation of diesel contaminated soil. Engineering Journal, 20(4), 93-100.

hydrocarbon contaminated soils in Canada: Persistence, organic carbon normalization and relevance of species assemblages. Science of the total environment, 668, 400-410.

[57] Gao, H., Wu, M., Liu, H., Xu, Y., & Liu, Z. (2022). Effect of petroleum hydrocarbon pollution levels on the soil microecosystem and ecological function. *Environmental Pollution*, *293*, 118511.

[58] García-Alcántara, J.A., Maqueda-Gálvez, A.P., Téllez-Jurado, A., Hernández-Martínez, R. and Lizardi-Jiménez, M.A., 2016. Maya crude-oil degradation by a Bacillus licheniformis consortium isolated from a Mexican thermal source using a bubble column bioreactor. Water, Air, & Soil Pollution, 227, 1-6.

[59] Geys, R., Soetaert, W. and Van Bogaert, I., 2014. Biotechnological opportunities in biosurfactant production. Current opinion in biotechnology, 30, 66-72.

[60] Ghoreishi, G., Alemzadeh, A., Mojarrad, M., & Djavaheri, M. (2017). Bioremediation capability and characterization of bacteria isolated from petroleum contaminated soils in Iran. Sustainable Environment Research, 27(4), 195-202.

[61] Giunta, M., Lo Bosco, D., Leonardi, G. and Scopelliti, F., 2019. Estimation of gas and dust emissions in construction sites of a motorway project. Sustainability, 11(24), 7218.

[62] Gudiña, E.J., Fernandes, E.C., Rodrigues, A.I., Teixeira, J.A. and Rodrigues, L.R., 2015. Biosurfactant production by Bacillus subtilis using corn steep liquor as culture medium. Frontiers in microbiology, 6, 126037.

[63] Gudiña, E.J., Rangarajan, V., Sen, R. and Rodrigues, L.R., 2013. Potential therapeutic applications of biosurfactants. Trends in pharmacological sciences, 34(12), 667-675.

[64] Gupta, G., Kumar, V. and Pal, A.K., 2019. Microbial degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons with emphasis on pyrene. Polycyclic Aromatic Compounds, 39(2), 124-138.

[65] Harwood, C.R., Mouillon, J.M., Pohl, S. and Arnau, J., 2018. Secondary metabolite

[49] Đokić, L., Narančić, T., Nikodinović-Runić, J., Bajkić, S. and Vasiljević, B., 2011. Four Bacillus sp. soil isolates capable of degrading phenol, toluene, biphenyl, naphthalene and other aromatic compounds exhibit different aromatic catabolic potentials. Archives of Biological Sciences, 63(4), 1057-1067.

[50] Elenga-Wilson, P.S., Kayath, C.A., Mokemiabeka, N.S., Nzaou, S.A.E., Nguimbi, E. and Ahombo, G., 2021. Profiling of indigenous biosurfactant-producing bacillus isolates in the bioremediation of soil contaminated by petroleum products and olive oil. International Journal of Microbiology, 1, 9565930.

[51] Emami, S., Alikhani, H.A., Pourbabaee, A.A., Etesami, H., Motasharezadeh, B. and Sarmadian, F., 2020. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. Rhizosphere, 14, 100196.

[52] Faridy, N., Torabi, E., Pourbabaee, A. A., Osdaghi, E., & Talebi, K. (2024). Efficacy of novel bacterial consortia in degrading fipronil and thiobencarb in paddy soil: a survey for community structure and metabolic pathways. Frontiers in Microbiology, 15, 1366951.

[53] Feyzi, H., Chorom, M. and Bagheri, G., 2020. Urease activity and microbial biomass of carbon in hydrocarbon contaminated soils. A case study of cheshmeh-khosh oil field, Iran. Ecotoxicology and environmental safety, 199, 110664.

[54] Fitriatin, B.N., Yuniarti, A., Turmuktini, T. and Ruswandi, F.K., 2014. The effect of phosphate solubilizing microbe producing growth regulators on soil phosphate, growth and yield of maize and fertilizer efficiency on Ultisol. Eurasian Journal of Soil Science, 3(2), 101-107.

[55] Fordwour, O. B., Luka, G., Hoorfar, M., & Wolthers, K. R. (2018). Kinetic characterization of acetone monooxygenase from Gordonia sp. strain TY-5. *AMB Express*, *8*, 1-13.

[56] Gainer, A., Bresee, K., Hogan, N. and Siciliano, S.D., 2019. Advancing soil ecological risk assessments for petroleum

review. Bioremediation Science and Technology Research, *6*(2), 14-21.

[75] Kalami, R. and Pourbabaee, A.A., 2021. Investigating the potential of bioremediation in aged oil-polluted hypersaline soils in the south oilfields of Iran. Environmental Monitoring and Assessment, 193, 1-20.

[76] Kalvandi, S., Garousin, H., Pourbabaee, A.A. and Alikhani, H.A., 2022a. Formulation of a culture medium to optimize the production of lipopeptide biosurfactant by a new isolate of *Bacillus* sp.: a soil heavy metal mitigation approach. Frontiers in Microbiology, 13, 785985.

[77] Kalvandi, S., Garousin, H., Pourbabaee, A.A. and Farahbakhsh, M., 2022b. The release of petroleum hydrocarbons from a saline-sodic soil by the new biosurfactant-producing strain of Bacillus sp. Scientific Reports, 12(1), 19770.

[78] Karigar, C.S. and Rao, S.S., 2011. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. Enzyme research, 2011(1), 805187.

[79] Karimi, S., Shariati, S., Pourbabaei, A.A., Alikhani, H.A. and Kalami, R., 2023. Determining sensitivity to heavy metals in surfactant-producing bacteria and their efficiency in removing Total petroleum hydrocarbons. Iranian Journal of Soil and Water Research, 54(10), 1565-1579.

[80] Kaspar, F., Neubauer, P. and Gimpel, M., 2019. Bioactive secondary metabolites from Bacillus subtilis: a comprehensive review. Journal of natural products, 82(7), 2038-2053.

[81] Kazemi, A., Parvaresh, H., Ghanatghestani, M. D. and Ghasemi, S., 2024. A study on source identification of contaminated soil with total petroleum hydrocarbons (aromatic and aliphatic) in the Ahvaz oil field. Environmental Monitoring and Assessment, 196 (9), 1-16.

[82] Kebria, D.Y., Khodadadi, A., Ganjidoust, H., Badkoubi, A. and Amoozegar, M.A., 2009. Isolation and characterization of a novel native Bacillus strain capable of degrading diesel fuel. International Journal of Environmental Science & Technology, 6, 435-442.

[83] Kiamarsi, Z., Soleimani, M., Nezami, A. and Kafi, M., 2019. Biodegradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons using novel indigenous production and the safety of industrially important members of the Bacillus subtilis group. FEMS microbiology reviews, 42(6), 721-738.

[66] Hashem, A., Tabassum, B. and Abd_Allah, E.F., 2019. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. Saudi journal of biological sciences, 26(6), 1291-1297.

[67] Hashemi, N., Pourbabaee, A. A., Shariati, S. and Yadzanfar, N., 2024. Rapid phenanthrene biodegradation in highly calcareous saline sodic soil using an artificial halophile bacterial consortium. *International Journal of* Environmental Science and Technology, 1-12.

[68] Heyen, S., Scholz-Böttcher, B.M., Rabus, R. and Wilkes, H., 2021. Release of carboxylic acids into the exometabolome during anaerobic growth of a denitrifying bacterium with single substrates or crude oil. Organic Geochemistry, *154*, 104179.

[69] Hou, Z., Mo, F. and Zhou, Q., 2023. Elucidating response mechanisms at the metabolic scale of Eisenia fetida in typical oil pollution sites: A native driver in influencing carbon flow. Environmental Pollution, 337, 122545.

[70] Ismailov, N.M. and Alieva, S.R., 2019. Potential role of groundwater in pollution of coastal water of the Caspian sea by organic pollutants. Arid ecosystems, 9, 202-208.

[71] Jabbar, N.M., Mohammed, A.K., Jabber, S.M. and Kadhim, E.H., 2019, July. The use of Mixed Bacterial Culture to improve the Biodegradation of Diesel Pollution. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 579, No. 1, 012011). IOP Publishing.

[72] Ji, Y., Mao, G., Wang, Y., & Bartlam, M. (2013). Structural insights into diversity and n-alkane biodegradation mechanisms of alkane hydroxylases. Frontiers in microbiology, 4, 58.

[73] Jouzani, G.S., Valijanian, E. and Sharafi, R., 2017. Bacillus thuringiensis: a successful insecticide with new environmental features and tidings. Applied microbiology and biotechnology, 101, 2691-2711.

[74] Kaida, N., Habib, S., Yasid, N.A. and Shukor, M.Y., 2018. Biodegradation of Petroleum hydrocarbons by Bacillus spp.: a

bacteria isolated from contaminated soils. International journal of environmental science and technology, 16(11), 6805-6816.

[84] Kim, J.S. and Crowley, D.E., 2007. Microbial diversity in natural asphalts of the Rancho La Brea Tar Pits. Applied and environmental microbiology, 73(14), 4579-4591.

[85] Khalid, S. A., & Elsherif, W. M., 2022. Types of microorganisms for biodegradation. In Handbook of biodegradable materials. Cham: Springer International Publishing.1-27.

[86] Kolsal, F., Akbal, Z., Liaqat, F., Gök, O., Sponza, D.T. and Eltem, R., 2017. Hydrocarbon degradation abilities of psychrotolerant Bacillus strains. AIMS microbiology, 3(3), 467.

[87] Kumar, M., León, V., De Sisto Materano, A. and Ilzins, O.A., 2007. A halotolerant and thermotolerant Bacillus sp. degrades hydrocarbons and produces tensio-active emulsifying agent. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23(2), 211-220.

[88] Leñini, C., Rodriguez Ayala, F., Goñi, A. J., Rateni, L., Nakamura, A., & Grau, R. R. (2023). Probiotic properties of Bacillus subtilis DG101 isolated from the traditional Japanese fermented food nattō. Frontiers in Microbiology, 14, 1253480.

[89] Li, Y., Wang, X. and Sun, Z. 2020. Ecotoxicological effects of petroleum-contaminated soil on the earthworm Eisenia fetida. Journal of hazardous materials, 393, 122384.

[90] Liu, B., Liu, J., Ju, M., Li, X. and Yu, Q., 2016. Purification and characterization of biosurfactant produced by Bacillus licheniformis Y-1 and its application in remediation of petroleum contaminated soil. Marine pollution bulletin, 107(1), 46-51.

[91] Liu, Q., Chen, H., Su, Y., Sun, S., Zhao, C., Zhang, X., Gu, Y. and Li, L., 2023. Enhanced crude oil degradation by remodeling of crude oil-contaminated soil microbial community structure using sodium alginate/graphene oxide/Bacillus C5 immobilized pellets. Environmental Research, 223, 115465.

[92] Madigan, M.T., Clark, D.P., Stahl, D. and Martinko, J.M., 2010. Brock biology of microorganisms 13th edition. Benjamin Cummings.

[93] Mandree, P., Masika, W., Naicker, J., Moonsamy, G., Ramchuran, S. and Lalloo, R., 2021. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons from industry contaminated soil using indigenous bacillus spp. Processes, 9(9), 1606.

[94] Mansur, A.A., Adetutu, E.M., Makadia, T., Morrison, P.D. and Ball, A.S., 2015. Assessment of the hydrocarbon degrading abilities of three bioaugmentation agents for the bioremediation of crude oil tank bottom sludge contaminated Libyan soil. Int J Environ Bioremed Biodegrad, 3(1), 1-9.

[95] Masika, W.S., Moonsamy, G., Mandree, P., Ramchuran, S., Lalloo, R. and Kudanga, T., 2020. Biodegradation of petroleum hydrocarbon waste using consortia of Bacillus sp. Bioremediation Journal, 25(1), 72-79.

[96] Mauti, G.O., Onguso, J., Kowanga, D.K. and Mauti, E.M., 2016. Biodegradation activity of Aspergillus niger lipase isolates from a tropical country garage. Journal of Scientific and Innovative Research, 5(1), 15-18.

[97] Mbachu, A. E., Chukwura, E. I., & Mbachu, N. A., 2020. Role of microorganisms in the degradation of organic pollutants: a review. Energy Environ Eng, *7*(1), 1-11.

[98] McKenney, P.T., Driks, A. and Eichenberger, P., 2013. The Bacillus subtilis endospore: assembly and functions of the multilayered coat. Nature Reviews Microbiology, 11(1), 33-44.

[99] Meena, V.S., Maurya, B.R., Meena, S.K., Meena, R.K., Kumar, A., Verma, J.P. and Singh, N.P., 2016. Can Bacillus species enhance nutrient availability in agricultural soils?. Bacilli and agrobiotechnology, 367-395.

[100] Mekonnen, B. A., Aragaw, T. A., and Genet, M. B., 2024. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: a review on principles, degradation mechanisms, and advancements. Frontiers in Environmental Science, 12, 1354422.

[101] Michael-Igolima, U., Abbey, S.J. and Ifelebuegu, A.O., 2022. A systematic review on the effectiveness of remediation methods

Bioremediation, and Bioprospecting (89-99). Cham: Springer International Publishing.

[111] Ossai, I.C., Ahmed, A., Hassan, A. and Hamid, F.S., 2020. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. Environmental Technology & Innovation, 17, 100526.

[112] Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J. and Dowling, D.N., 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic Pseudomonas isolates. Frontiers in microbiology, 6, 745.

[113] Pandolfo, E., Barra Caracciolo, A., & Rolando, L. (2023). Recent advances in bacterial degradation of hydrocarbons. Water, 15(2), 375.

[114] Parthipan, P., Preetham, E., Machuca, L. L., Rahman, P. K., Murugan, K., & Rajasekar, A. (2017). Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium Bacillus subtilis A1. Frontiers in microbiology, 8, 193.

[115] Parthipan, P., Preetham, E., Machuca, L.L., Rahman, P.K., Murugan, K. and Rajasekar, A., 2017. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium Bacillus subtilis A1. Frontiers in microbiology, 8, 237675.

[116] Parvizimosaed, H., sobhan, A.S., Merrikhpour, H., Farmany, A., Cheraghi, M. and Ashorlo, S., 2015. The effect of urban fuel stations on soil contamination with petroleum hydrocarbons. Iranian Journal of Toxicology, 9 (30), 1378-1384.

[117] Pavel, L.V. and Gavrilescu, M., 2008. Overview of ex situ decontamination techniques for soil cleanup. Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ), 7(6).

[118] Perelo, L.W., 2010. In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. Journal of hazardous materials, 177(1-3), 81-89.

[119] Perera, M., Wijesundera, S., Wijayarathna, C. D., Seneviratne, G., & Jayasena, S. (2022). Identification of long-chain alkane-degrading (LadA) monooxygenases in Aspergillus flavus via in silico analysis. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 898456.

[120] Poornachander Rao, M., Rajithasri, A.B., Sagar, K. and Satyaprasad, K., 2015. Isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons degrading PGPR from a oil for oil contaminated soils. Environmental Advances, 9, 100319.

[102] Moghaddam, A.H., Hashemi, S.H. and Ghadiri, A., 2021. Aliphatic hydrocarbons in urban runoff sediments: A case study from the megacity of Tehran, Iran. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 19(1), 205.

[103] Mohsin, M.Z., Omer, R., Huang, J., Mohsin, A., Guo, M., Qian, J. and Zhuang, Y., 2021. Advances in engineered Bacillus subtilis biofilms and spores, and their applications in bioremediation, biocatalysis, and biomaterials. Synthetic and systems biotechnology, 6(3), 180-191.

[104] Musat, F., 2015. The anaerobic degradation of gaseous, nonmethane alkanes—From in situ processes to microorganisms. *Computational and structural biotechnology journal*, 13, 222-228.

[105] Nardini, E., Kisand, V. and Lettieri, T., 2010. Microbial biodiversity and molecular approach. JCR Scientific and Technical Reports. Luxembourg: Office for Official Publications of European Communities.

[106] Nasrollahi, M., Pourbabaei, A. A., Etesami, H., and Talebi, K., 2020. Diazinon degradation by bacterial endophytes in rice plant (Oryzia sativa L.): a possible reason for reducing the efficiency of diazinon in the control of the rice stem–borer. Chemosphere, 246, 125759.

[107] Nicholson, S.E., Yin, X. and Ba, M.B., 2000. On the feasibility of using a lake water balance model to infer rainfall: an example from Lake Victoria. Hydrological Sciences Journal, 45(1), 75-95.

[108] Nosratabad, A.R.F., Etesami, H. and Shariati, S., 2017. Integrated use of organic fertilizer and bacterial inoculant improves phosphorus use efficiency in wheat (Triticum aestivum L.) fertilized with triple superphosphate. Rhizosphere, 3, 109-111.

[109] Nozari, M., Samaei, M.R., Dehghani, M. and Ebrahimi, A.A., 2018. Bioremediation of alkane hydrocarbons using bacterial consortium from soil. Health Scope, 7(3), 1-8.

[110] Ortiz, A. and Sansinenea, E., 2022. The Industrially important enzymes from bacillus species. In Bacilli in Agrobiotechnology: Plant Stress Tolerance,

[130] Saeed, M., Ilyas, N., Bibi, F., Jayachandran, K., Dattamudi, S. and Elgorban, A.M., 2022. Biodegradation of PAHs by Bacillus marsiflavi, genome analysis and its plant growth promoting potential. Environmental Pollution, 292, 118343.

[131] Saeid, A., Prochownik, E. and Dobrowolska-Iwanek, J., 2018. Phosphorus solubilization by Bacillus species. Molecules, 23(11), 2897.

[132] Saksa, P., 2017. Electrically assisted soil remediation. INSURE Geosto Report.

[133] Sales da Silva, I.G., Gomes de Almeida, F.C., Padilha da Rocha e Silva, N.M., Casazza, A.A., Converti, A. and Asfora Sarubbo, L., 2020. Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. Energies, 13(18), 4664.

[134] Sansinenea, E., 2019. Bacillus spp.: As plant growth-promoting bacteria. Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms: Discovery and applications, 225-237.

[135] Santos, D.K.F., Rufino, R.D., Luna, J.M., Santos, V.A. and Sarubbo, L.A., 2016. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. International journal of molecular sciences, 17(3), 401.

[136] Sattar, S., Siddiqui, S., Shahzad, A., Bano, A., Naeem, M., Hussain, R., Khan, N., Jan, B.L. and Yasmin, H., 2022. Comparative analysis of microbial consortiums and nanoparticles for rehabilitating petroleum waste contaminated soils. Molecules, 27(6), 1945.

[137] Shah, G., & Soni, V. (2024). Comprehensive Insights into the Impact of Oil Pollution on the Environment. Regional Studies in Marine Science, 103516.

[138] Shaimerdenova, U., Kaiyrmanova, G., Lewandowska, W., Bartoszewicz, M., Swiecicka, I. and Yernazarova, A., 2024. Biosurfactant and biopolymer producing microorganisms from West Kazakhstan oilfield. Scientific Reports, 14(1), 2294.

[139] Shakiba, M., Sohrabi, T., Mirzaei, F. and Pourbabaee, A.A., 2019. Assessment of the BTEX biodegradation by Bacillus thuringiensis and Bacillus sp. under nitrate reducing condition. Iranian Journal of Soil and Water Research, 50(3), 713-724.

[140] Sharma, B., Dangi, A.K. and Shukla, P., 2018. Contemporary enzyme based products contaminated site in Hyderabad, Telangana State, India. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 6, B305-B317.

[121] Pourbabaee, A.A., Shahriari, M.H. and Garousin, H., 2019. Biodegradation of phenanthrene as a model hydrocarbon: Power display of a super-hydrophobic halotolerant enriched culture derived from a saline-sodic soil. Biotechnology reports, 24, e00388.

[122] Raja, P., Karthikeyan, P., Marigoudar, S.R., Sharma, K.V. and Murthy, M.V.R., 2022. Spatial distribution of total petroleum hydrocarbons in surface sediments of Palk Bay, Tamil Nadu, India. Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 4, 20-28.

[123] Rajaoalison, H., Knez, D. and Zamani, M.A.M., 2022. A multidisciplinary approach to evaluate the environmental impacts of hydrocarbon production in Khuzestan Province, Iran. Energies, 15(22), 8656.

[124] Reddy, K.R., 2013. Electrokinetic remediation of soils at complex contaminated sites: Technology status, challenges, and opportunities. Coupled Phenomena in Environmental Geotechnics–Manassero et al (Eds).–2013.–CRC Press, Taylor & Francis Group, 131-147.

[125] Roccatano, D., 2015. Structure, dynamics, and function of the monooxygenase P450 BM-3: insights from computer simulations studies. Journal of Physics: Condensed Matter, 27(27), 273102.

[126] Rodrigo, M.A., Oturan, N. and Oturan, M.A., 2014. Electrochemically assisted remediation of pesticides in soils and water: a review. Chemical reviews, 114(17), 8720-8745.

[127] Rodríguez, H. and Fraga, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology advances, 17(4-5), 319-339.

[128] Rojas-Aparicio, A., Hernández-Eligio, J.A., Toribio-Jiménez, J., Rodríguez-Barrera, M.Á., Castellanos-Escamilla, M. and Romero-Ramírez, Y., 2018. Genetic expression of pobA and fabHB in Bacillus licheniformis M2-7 in the presence of benzo [a] pyrene. Genet Mol Res, 17(2).

[129] Rothman, S., Liebow, C. and Isenman, L., 2002. Conservation of digestive enzymes. Physiological Reviews, 82(1), 1-18.

technologies for bioremediation: a review. Journal of environmental management, 210, 10-22.

[141] Sharma, I., 2020. Bioremediation techniques for polluted environment: concept, advantages, limitations, and prospects. In Trace metals in the environment-new approaches and recent advances. IntechOpen.

[142] ShirzadianGilan, R., Parvizi, Y., Pazira, E. and Rejali, F., 2023. Remediation capacity of drought-tolerant plants and bacteria in petroleum hydrocarbon-contaminated soil in Iran. South African Journal of Botany, 153, 1-10.

[143] Sivasakthi, S., Usharani, G. and Saranraj, P., 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-Pseudomonas fluorescens and Bacillus subtilis: A review. Afr. J. Agric. Res, 9(16), 1265-1277.

[144] Sohail, R., Jamil, N., Ali, I., & Munir, S. (2020). Animal fat and glycerol bioconversion to polyhydroxyalkanoate by produced water bacteria. e-Polymers, 20(1), 92-102.

[145] Sorkhoh, N.A., Ibrahim, A.S., Ghannoum, M.A. and Radwan, S.S., 1993. High-temperature hydrocarbon degradation by Bacillus stearothermophilus from oil-polluted Kuwaiti desert. Applied Microbiology and Biotechnology, 39, 123-126.

[146] Surendra, S.V., Mahalingam, B.L. and Velan, M., 2017. Degradation of monoaromatics by Bacillus pumilus MVSV3. Brazilian Archives of Biology and Technology, 60, e16160319.

[147] Taher, A.M. and Saeed, I.O., 2022, October. Bioremediation of contaminated soil with crude oil using two different bacteria. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2398, No. 1). AIP Publishing.

[148] Thirumurugan, D., Kokila, D., Balaji, T., Rajamohan, R., AlSalhi, M.S., Devanesan, S., Rajasekar, A. and Parthipan, P., 2023. Impact of biosurfactant produced by Bacillus spp. on biodegradation efficiency of crude oil and anthracene. Chemosphere, 344, 140340.

[149] Tripathi, V., Gaur, V.K., Kaur, I., Srivastava, P.K. and Manickam, N., 2024. Unlocking bioremediation potential for site restoration: A comprehensive approach for crude oil degradation in agricultural soil and phytotoxicity assessment. Journal of Environmental Management, 355, 120508.

[150] Truskewycz, A., Gundry, T.D., Khudur, L.S., Kolobaric, A., Taha, M., Aburto-Medina, A., Ball, A.S. and Shahsavari, E., 2019. Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems—fate and microbial responses. Molecules, 24(18), 3400.

[151] Turnbull, P.C., Kramer, J.M. and Melling, J., 1996. Bacillus. Medical microbiology, 4, 233.

[152] Uzoigwe, C., Burgess, J.G., Ennis, C.J. and Rahman, P.K., 2015. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. Frontiers in microbiology, 6, 245.

[153] Van Beilen, J.B. and Funhoff, E.G., 2007. Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation. Applied microbiology and biotechnology, 74, 13-21.

[154] Van Beilen, J.B., Smits, T.H., Whyte, L.G., Schorcht, S., Röthlisberger, M., Plaggemeier, T., Engesser, K.H. and Witholt, B., 2002. Alkane hydroxylase homologues in Gram-positive strains. Environmental Microbiology, 4(11), 676-682.

[155] Varavipour, M. and Mashal Soltani, J., 2013. Bioremediation of petroleum contaminated soil with poly nuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in southern region of Iran. Res Crops, 14, 1258-1263.

[156] Varjani, S.J. and Upasani, V.N., 2017. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. International Biodeterioration & Biodegradation, 120, 71-83.

[157] Wang, D., Lin, J., Lin, J., Wang, W. and Li, S., 2019. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by Bacillus subtilis BL-27, a strain with weak hydrophobicity. Molecules, 24(17), 3021.

[158] Wang, W., Zhao, J. and Zhang, Z., 2022. Bacillus metabolites: compounds, identification and anti-Candida albicans mechanisms. Microbiology Research, 13(4), 972-984.

[159] Wentzel, A., Ellingsen, T. E., Kotlar, H. K., Zotchev, S. B., and Throne-Holst, M., 2007. Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes. Applied microbiology and biotechnology, 76, 1209-1221.

[160] Winkler, J. R., and Gray, H. B., 2015. Electron flow through biological molecules: does hole hopping protect proteins from oxidative damage?. Quarterly reviews of biophysics, 48(4), 411-420.

[161] Wu, B., Xiu, J., Yu, L., Huang, L., Yi, L. and Ma, Y., 2022. Biosurfactant production by Bacillus subtilis SL and its potential for enhanced oil recovery in low permeability reservoirs. Scientific Reports, 12(1), 7785.

[162] Xiao, M., Zhang, Z.Z., Wang, J.X., Zhang, G.Q., Luo, Y.J., Song, Z.Z. and Zhang, J.Y., 2013. Bacterial community diversity in a low-permeability oil reservoir and its potential for enhancing oil recovery. Bioresource technology, 147, 110-116.

[163] Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., Gao, X., Li, F., Li, H. and Yu, H., 2018. Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis. Frontiers in microbiology, 9, 2885.

[164] Yan, S., Wang, Q., Qu, L. and Li, C., 2013. Characterization of oil-degrading bacteria from oil-contaminated soil and activity of their enzymes. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 27(4), 3932-3938.

[165] Yang, Y., Wang, J., Liao, J., Xie, S. and Huang, Y., 2015. Abundance and diversity of soil petroleum hydrocarbon-degrading microbial communities in oil exploring areas. Applied microbiology and biotechnology, 99, 1935-1946.

[166] Yap, H. S., Zakaria, N. N., Zulkharnain, A., Sabri, S., Gomez-Fuentes, C., and Ahmad, S. A., 2021. Bibliometric analysis of hydrocarbon bioremediation in cold regions and a review on enhanced soil bioremediation. Biology, 10(5), 354.

[167] Yin, C. F., Xu, Y., Li, T., and Zhou, N. Y., 2022. Wide distribution of the sad gene cluster for sub-terminal oxidation in alkane utilizers. Environmental Microbiology, 24(12), 6307-6319.

[168] Yong, Y.C. and Zhong, J.J., 2010. Recent advances in biodegradation in China: new microorganisms and pathways, biodegradation engineering, and bioenergy from pollutant biodegradation. Process Biochemistry, 45(12), 1937-1943.

[169] Yu, G.Y., Sinclair, J.B., Hartman, G.L. and Bertagnolli, B.L., 2002. Production of iturin A by Bacillus amyloliquefaciens suppressing Rhizoctonia solani. Soil Biology and Biochemistry, 34(7), 955-963.

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research Article

Effects of Pistacia Atlantica Desf on some soil properties (Case study: Farak Tafaresh region)

A.Moradinejad*, M.Matinizadeh and T.Alizadeh

[1]Assist. Prof., Soil Conservation and Watershed Management Research Department, Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Arak, Agricultural Research Education & Extention Organization (AREEO). Arak, Iran. **amir_24619@yahoo.com**

2- The country's forests and pastures research institute, organization of research, education and extension of agriculture, Tehran, Iran **mohamadmatinizadeh@yahoo.com**

3. Research expert of the Research Institute of Forests and Pastures of the country. **Taherehalizadeh64@yahoo.com**

Article Info

Received:
April 30, 2024

Accepted:
October5,2024

***Keywords*:**

Corresponding author's email:
amir_24619@yahoo.com

DOI:
10.22092/SBJ.2024.365365.262

Extended Abstract

Background and Objectives:
Soil, as a fundamental component of the ecosystem, plays a crucial role in influencing and diversifying forest species. Conversely, vegetation type also significantly modifies the physical, chemical, and biological characteristics of soils. Additionally, soil microbial communities are essential for the decomposition and stabilization of organic matter, as well as the mineralization of nutrients. Due to their high diversity, these communities provide critical ecosystem services within the soil. Therefore, a proper and precise evaluation of these communities based on efficient and reliable indicators can yield valuable information.Understanding soil characteristics forms a fundamental basis for forest management, impacting various ecological and forestry options. Soil represents a vital natural resource for any nation and is non-renewable on a human timescale. Given that forest degradation often begins with soil degradation, this research aims to measure the biological characteristics of the studied forest stands. It also enables long-term monitoring of the physical and chemical changes in the soils of these forest areas.

Materials and Methods:
In this research, the indicators of basic microbial respiration, stimulated microbial respiration, nitrification potential, microbial biomass carbon, and metabolic fraction were evaluated in relation to tree stems. To assess soil quality indicators, the biological characteristics of the soil were investigated. Soil sampling was conducted for each selected tree trunk from a depth of 0-15 cm, located under the tree crown (specifically, in the area between the trunk and the outer edge of the crown) in the east direction of the tree. Fifteen soil samples were randomly collected from the depth of 0 to 15 cm within each sample plot for the existing and dominant tree species (ranging from one to three species). These three soil samples from each plot were thoroughly mixed and combined into one composite sample. In total, five composite soil samples were prepared for each species by pooling the individual samples. Additionally, fifteen soil samples were randomly collected from the depth of 0 to 15 cm within each sample plot, outside the crown and in areas without cover. These samples were also mixed well and combined into one composite

sample for the plot, resulting in five soil samples for each sample plot. Two treatments were tested: one under the tree canopy and the other in pasture-covered areas outside the canopy. In total, 30 soil samples were collected: 15 from beneath the canopy and 15 from outside the canopy in pasture-covered areas. In each treatment, three samples were combined to form one sample. Five samples from each treatment were sent to the laboratory, and the coordinates of each sample were recorded to prepare a sampling map. Immediately after sampling, part of the soil samples was stored in plastic bags, while the other part was kept at 4°C and transported to the laboratory for further analysis. The biological characteristics measured included microbial biomass carbon, basic respiration, stimulated respiration, and nitrification potential. Ultimately, five replicates were obtained for the sub-canopy samples and five replicates for the control samples..

Results:
Overall, the results indicated that most biological characteristics of the soil were significantly influenced by the tree canopy, showing notable changes compared to the control samples. This suggests that the canopy has a substantial impact on soil life cycles. However, the patterns observed in stimulated respiration, nitrification potential, and metabolic deficit under the canopy did not align with changes in microbial biomass carbon. The increased levels of stimulated respiration, nitrification potential, and metabolic fraction beneath the canopy suggest that these indices may be valuable indicators for assessing soil quality in the region. Conversely, the observed reduction in microbial biomass carbon under the canopy compared to the control soil (outside the tree canopy) may be attributed to changes in substrate type or differences in microbial population diversity between the soils beneath and outside the canopy.The findings of this research highlight the importance of considering soil biological characteristics in evaluating soil quality, improving soil fertility, and managing plant nutrition. Additionally, access to soil biological parameters, as a knowledge-based approach, provides experts and practitioners with valuable information for decision-making aimed at enhancing soil fertility and managing the nutrition of Pistacia trees.

Conclusion he results indicated that the treatment had no significant effect on basic respiration, clay content, silt content, or sand content. However, the treatment did significantly impact stimulated respiration, microbial biomass carbon, and nitrification potential at the 1% significance level, while the metabolic fraction showed significance at the 5% level. Additionally, the mean values for stimulated respiration, nitrification potential, and metabolic deficit were higher in the soil samples collected under the Pistacia tree compared to those outside the tree canopy. Most biological characteristics in the soil were influenced by the tree canopy, exhibiting significant changes compared to the control samples. This suggests that the treatment positively affects the soil biological cycles.

Cite this article:. Moradinejad,A., Matinizadeh., M., Alizadeh., T. 2024. *Effects of Pistacia AtlanticaDesf on some soil properties(Case study: Farak Tafaresh region). Soil Biology Journal*, 12 (1),140-154.

DOI: 10.22092/SBJ.2024.365365.262
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصل‌نامه

زیست‌شناسی خاک نشریه

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

اثرات بنه (**Pistacia atlantica Desf**) بر برخی ویژگی های بیولوژیک خاک توده های جنگلی ایران-تورانی (مطالعه موردی: منطقه فرک تفرش)

امیر مرادی‌نژاد*، محمد متینی‌زاده و طاهره علی زاده

استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران.
amir_24619@yahoo.com
مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایرانmohamadmatinizadeh@yahoo.com
کارشناس پژوهش موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور. Taherehalizadeh64@yahoo.com

دریافت:۱۴۰۳/۲/۱۱ پذیرش:۱۴۰۳/۷/۱۴

چکیده

خاک به‌عنوان یکی از ارکان اکوسیستم نقش عمده‌ای در ایجاد تغییر و تنوع گونه‌های جنگلی ایفا می‌کند و در مقابل تیپ گیاهی نیز نقش قابل توجهی در تغییر و تحول ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک‌ها دارد. علاوه بر این‌ها، جوامع میکروبی خاک نقش بسیار مهمی در تجزیه و پایدارسازی مواد آلی در خاک و همچنین معدنی کردن عناصر غذایی آن داشته و به واسطه تنوع زیاد، خدمات بسیار مهمی در خاک ارائه می‌کنند. لذا ارزیابی درست و دقیق آنها با تکیه بر شاخص‌های کارآمد و قابل اعتماد می‌تواند اطلاعات مفیدی ارائه دهد. در این پژوهش، شاخص‌های تنفس میکروبی پایه، تنفس میکروبی برانگیخته، پتانسیل نیتریفیکاسیون، کربن زیست‌توده میکروبی و کسر متابولیک تحت تأثیر بنه ارزیابی شد. بدین منظور ۱۵ نمونه از خاک زیر تاج و ۱۵ نمونه از بیرون تاج که تحت حضور گیاه نبودند برداشت شده هر سه تکرار با هم ترکیب و به یک تکرار تبدیل شد، درنهایت پنج تکرار برای زیر تاج بنه و پنج تکرار به‌عنوان شاهد به‌دست آمد. نتایج بیانگر آن بود که اثر تیمار بر صفت تنفس پایه، درصد رس، درصد سیلت و درصد شن معنی‌دار نشد. اثر تیمار بر صفت تنفس برانگیخته، کربن زیست‌توده میکروبی و پتانسیل نیتریفیکاسیون در سطح احتمال یک درصد و کسر متابولیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین مقدار میانگین تنفس برانگیخته، پتانسیل نیتریفیکاسیون و کسرمتابولیک در نمونه خاک زیر درخت بنه بالاتر از بیرون درخت بود. بیشتر ویژگی‌های زیستی در خاک تحت تأثیر بنه قرار گرفته و تغییرات معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان دادند که این امر نشان‌دهنده اثر گذاشن بر حلقه‌های حیات در خاک خواهد بود.

واژه‌های کلیدی : بنه، پایش خاک، تنفس خاک، زیست توده

مقدمه

وضعیت یک خاک را می‌توان با بررسی تغییر ویژگی‌های آن، که ممکن است ناشی از تأثیر متقابل ویژگی‌های خاک و عوامل محیطی باشد تشخیص داد. حفظ پایداری اکوسیستم‌های جنگلی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه-خشک با پوشش غیرانبوه بستگی به حفظ کیفیت خـاک دارد. بنـابراین آگاهی از ویژگی‌های خاک‌های این مناطق می‌تواند در مدیریت آنها نقش تأثیرگذاری داشته باشد. با توجه به اهمیت جنگل‌های هیرکانی حفظ و احیای این جنگل‌ها به موضوعی قابل تأمل از نظر محققان تبدیل شده است، لذا حفاظت از خاک و مبارزه با فرسایش و تخریب آن از ضروری‌ترین اقدامات هر کشور در راستای تحقق توسعه پایدار محسوب می‌شود. شناخت ویژگی‌های خاک یکی از پایه‌های مدیریت اصولی جنگل است که بسیاری از گزینه‌های اکولوژی و جنگل‌شناسی تحت تأثیر آن قرار دارند. خاک از مهم‌ترین منابع طبیعی هر کشوری است که در مقیاس دوره زندگی انسان تجدیدناپذیر است و از آنجا که تخریب جنگل با تخریب خاک شروع می-شود، این پژوهش سعی دارد تا در توده‌های جنگلی مورد مطالعه (در قطعات نمونه ثابت و دائم مورد نظر)، به سنجش ویژگی‌های زیستی، فیزیکی و شیمیایی خاک بپردازد و همچنین امکان پایش درازمدت روند تغییرات در خاک این توده‌های جنگلی را فراهم سازد. شناخت بهتر تأثیر گونه‌های درختی بر خاک و علل ایجاد تغییرات در خاک موجب پیش‌بینی دقیق‌تر اثر گونه‌های مختلف جنگلی بر اکوسیستم و مدیریت بهینه آنها برای مدیران و برنامه‌ریزان می‌شود. نکته مهم این است که کدام صفات خاک می‌توانند بیشترین و معتبرترین اطلاعات را در اختیار ما قرار دهند. خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک دارای پیچیدگی‌های خاصی بوده ولی چون خصوصیات زیستی در انواع فعل و انفعالات خاک نقش دارند، بنابراین می‌توانند اطلاعات جامع، مفید و قابل اعتمادی ارائه دهند و به‌عنوان شاخص مفید مورد توجه قرار گیرند. در این بین تنوع زیستی میکروارگانیسم‌های خاک نیز ازاهمیت ویژه‌ای برخوردار است چرا که تمامی خدماتی که خاک به جوامع انسانی ارائه می‌کند به نوعی به تنوع و فراوانی میکروب‌های خاک بستگی دارد، در حالیکه فعالیت‌های انسانی همچون آلودگی و یا شوری آب و خاک و تغییرات اقلیم حیات آنها را تهدید می‌کند (قادری و همکاران، ۲۰۱۳). جوامع میکروبی خاک نقش بسیار مهمی در تجزیه و پایدارسازی مواد آلی در خاک و همینین معدنی‌کردن مواد مغذی آن داشته و به واسطه تنوع زیاد، خدمات بسیار مهمی در خاک ارائه می‌کنند. تنوع، ساختار و فعالیت جوامع میکروبی خاک به نوع کاربری زمین، میزان مواد آلی خاک، اسیدیته خاک (کریمر و همکاران، ۲۰۱۶)، نوع گونه گیاه (گارتزیا بنگوتکس و همکاران، ۲۰۱۶) و برخی عوامل دیگر مانند رطوبت خاک بستگی دارد(پایلر و همکاران، ۲۰۱۴). علی‌رغم اهمیت غیرقابل انکار اکوسیستم‌های جنگلی شمال ایران، بیشتر مطالعات خاکشناسی در این جنگل‌ها با تکیه بر شاخص-های فیزیکی و شیمیایی متداول انجام گرفته است. این در حاالی است که استفاده از شاخص‌های زیستی معتبر و قابل اعتماد می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری در اختیار مدیران جنگل قرار دهد. به‌عنوان مثال مطالعه انجام شده توسط حبشی (۱۳۹۴) نشان دهنده رابطه قوی و مثبت بین تنفس میکروبی خاک و کربن زیست‌توده میکروبی با ماده آلی خاک در تیپ‌های راش خالص، راش- ممرز، راش- افرا بود. بر اساس شاخص‌های میکروبی کیفیت و سلامت خاک رویش‌گاه در تیپ راش- ممرز به واسطه همراهی ممرز حداکثر بود، بنابراین در نشانه‌گذاری جنگل حین عملیات جنگل‌شناسی بر حفظ ممرز توصیه شد. کوچ و پارساپور (۱۳۹۵) برخی شاخص‌های میکروبی خاک

پوشش‌های جنگلی پهن برگ (توسکای ییلاقی، ون، افراپلت، بلوط بلندمازو) و سوزنی برگ (زربین و کاج سیاه) را بررسی و مقایسه کردند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار مشخصه‌های تنفس میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی، نسبت زیست‌توده میکروبی کربن به نیتروژن و کسر متابولیکی به پوشش جنگلی کاج سیاه اختصاص داشت، در حالی که بالاترین مقدار نیتروژن زیست‌توده میکروبی خاک در توده جنگلی توسکای ییلاقی مشاهده شد. بنابراین نتیجه گرفتند که انتخاب گونه مناسب می‌تواند با تغییر و بهبود شاخص‌های میکروبی باعث بهبود کیفیت خاک شود. رفیعی و همکاران (۱۳۹۶) تأثیر اجرای شیوهٔ گزینشی بر شاخص‌های میکروبی خاک و عوامل مؤثر بر آنها را در بخشی از جنگل‌های شمال مطالعه کردند. نتایج نشان داد که میزان تنفس در زیر تاج پوشش بیش از خارج از تاج بود، در حالی که اختلاف معنی‌داری در میزان کربن آلی نداشتند که نشان دهنده تأثیر آشفتگی بر شاخص‌های زیستی خاک است. در خاک‌های جنگلی، رشد، فعالیت و ساختار جامعهٔ میکروبی خاک تحت تأثیر عوامل زنده و غیرزنده، کیفیت و کمیت مواد آلی و در دسترس بودن عناصر غذایی است (هانام و همکاران، ۲۰۰۶). ریزجانداران خاک نقش مهمی در تجزیهٔ مواد آلی و چرخهٔ عناصر غذایی دارند، در نتیجه دیدگاه یکپارچه‌ای از سلامت و توانایی خاک ارائه می دهند و در همهٔ اکوسیستم‌های طبیعی و مصنوعی، گیاهان با طیف گسترده‌ای از ریزجانداران از جمله باکتری‌ها رابطه دارند که می‌توانند روابط بیماری‌زا، سودمند یا خنثی با میزبان خود داشته باشند (هاردوم و همکاران، ۲۰۱۵). ارتباط بین متغیرهای زیستی و شیمیایی خاک در شیوه‌های مدیریتی متفاوت تأثیر شدیدی بر عملکرد خاک دارد (سالازارا و همکاران، ۲۰۱۱). خواص میکروبی خاک سطحی و عمقی به‌طور قابل‌توجهی در کاربری‌های متفاوت زمین و شیوه‌های مدیریتی مختلف تغییر می-کند(ماهارجانا و همکاران، ۲۰۱۷). نتایج مطالعات لیو و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که در شیوه‌های مختلف مدیریتی جنگل، ماده آلی خاک، کربن زی‌توده میکروبی و تنفس پایه از مهمترین عوامل منعکس‌کننده خواص شیمیایی و زیستی خاک هستند. همچنین گارتزیا-بنگوتکسا و همکاران (۲۰۱۶) و زیفکاکووا و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند تنفس میکروبی یکی از فرآیندهای اصلی در کنترل کربن بوم‌سازگان‌های زمینی است. در همین راستا آکبال و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند هر اندازه تنفس میکروبی بیشتر باشد، فعالیت بالقوه میکروبی خاک و فعالیت ریزجانداران بیشتر می‌شود. مالچیر و کارنول (۲۰۰۹)، لی و همکاران (۲۰۱۷)، گیو و همکاران (۲۰۱۶)، گی و همکاران (۲۰۱۷) و لیو و همکاران (۲۰۱۷) عنوان کردند از علل مؤثر بر تنفس میکروبی خاک در اکوسیستم‌های جنگلی، مناسب بودن شرایط برای فعالیت میکروبی از جمله عرضهٔ کافی کربن و وجود لایهٔ لاشبرگ مورد استفاده ریزجانداران خاک است. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که ریزجانداران خاک نقش مهمی در تجزیه و چرخهٔ کانی‌سازی مواد آلی خاک دارند. کربن زیست توده میکروبی خاک می‌تواند به‌عنوان شاخص حساس به پایداری اکولوژیکی خاک مورد استفاده قرار گیرد (گیو و همکاران، ۲۰۱۱). وانگ و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی که بر روی ۴ تیپ مختلف در جنگل‌های معتدل شمال شرق چین انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که تنفس میکروبی خاک تغییرات آشکاری را در طول فصول مختلف نشان داد. تغییرات به‌وجود آمده بیشتر تحت کنترل دمای خاک می‌باشد. در صورتی‌که بر اساس نتایج حاصل از پژوهش چن و همکاران (۲۰۲۱) که تنفس میکروبی در توده‌های خالص و آمیخته صنوبر و کاج را بررسی کردند، مقدار تنفس میکروبی در توده‌های آمیخته نسبت به توده‌های خالص بیشتر است و تأثیرات متقابل گونه گیاهی با رطوبت خاک را مهمترین عامل بر

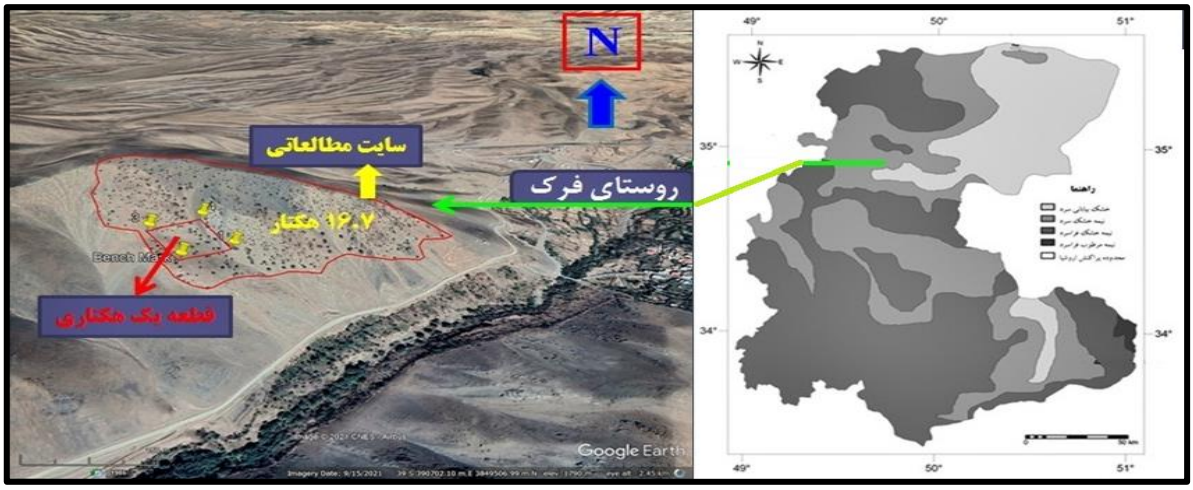
تنفس میکروبی ذکر کردند. خان‌محمدی و متینی‌زاده (۱۴۰۲) در پژوهشی به ارزیابی ویژگی‌های خاک زیر تاج پوشش درختان بنه و بادام کوهی در تنگ خشک شهرستان سمیرم پرداختند. نتایج نشان داد مقادیر هدایت الکتریکی، کربن آلی و پتاسیم قابل دسترس در خاک زیر تاج پوشش درختان بنه و بادام کوهی به‌طور معنی‌داری بیشتر از خاک شاهد بود. عکس این روند برای عناصر فسفر، آهن و مس قابل دسترس مشاهده شد. میزان pH خاک تفاوت معنی‌داری بین زیر تاج پوشش با نمونه شاهد نداشت. میانگین درصد نیتروژن کل در خاک زیر تاج پوشش حداقل ۱/۴۶ برابر خاک شاهد به‌دست آمد. وجود تاج پوشش سبب کاهش معنی‌دار چگالی ظاهری خاک نسبت به خاک شاهد شد. مقادیر تنفس پایه و برانگیخته خاک در زیر تاج پوشش در مقایسه با بیرون تاج به‌طور معنی‌داری بیشتر بود، درحالی‌که بررسی مقادیر کربن زیست‌توده میکربی و پتانسیل نیتریفیکاسیون حاکی از افزایش معنی‌دار این ویژگی‌ها در خاک شاهد نسبت به زیر تاج پوشش بود. اسفندیاری و همکاران (۱۴۰۲) در مطالعه‌ای به اثر شیوه‌های جنگل‌داری بر تغییرات ویژگی-های زیستی خاک جنگل‌های راش اسالم پرداختند. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سه قطعه از لحاظ کربن آلی، بهرهٔ میکروبی، هدایت الکتریکی و اسیدیته وجود ندارد ولی تنفس پایه، تنفس برانگیخته، جمعیت ریزجانداران، بهرهٔ متابولیک و کربن زیست‌تودهٔ میکروبی اختلاف معنی‌داری را در سه قطعه نشان دادند.

وجود آمار و اطلاعات دقیق برای انجام تحقیقات و ارائه نتایج آن برای راهبری بخش اجرا و تعیین برنامه استراتژیک بلندمدت امری اساسی و بنیادی است. در بیشتر کشورهای پیشرفته و دارای سابقه طولانی در مدیریت جنگل، قطعاتی برای پایش و بررسی‌های بلندمدت وجود دارد. به عنوان مثال در کشور سوییس قطعات بررسی دائمی قدمتی بیش از ۱۰۰ سال دارند. با توجه به اهمیت جنگل‌های هیرکانی حفظ و احیای این جنگل‌ها به موضوعی قابل تأمل از نظر محققان شده است. از آنجاییکه رسیدن به شیوهٔ مناسب مدیریت جنگل با در نظر گرفتن پایداری خصوصیات زیستی خاک میسر خواهد بود، لذا در این پژوهش تلاش شده است با ارزیابی اثرگذاری گونه بنه بر خاک و تأثیرات آن بر حلقه‌های اکوسیستمی پرداخته شود تا بتوان درک بهتری از ارتباط شرایط زیستی خاک و شیوه‌های مدیریت جنگل و کاربرد آن در مدیریت پایدار جنگل و خاک دست یافت.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

منطقه مورد مطالعه در مامن کوه فرک، واجد گونه‌های درخت بنه بین طول‌های جغرافَیایی ´۴۷ و °۴۹ تا ″۴۸ و °۴۹و عرض‌های ´۱۶و °۳۴ تا ″۱۸و°۳۴ در اراضی پلاک ثبت فرک و در مجاورت جاده آسفالته ارتباطی تفرش–جفتان بر رو ی دامنه‌ای با جهت شرقی قرار گرفته است. تنها منطقه رویشگاه بنه در استان مرکزی کوه‌های فرک می‌باشد. این منطقه دارای شیب متوسط ۷۵درصد و متوسط ارتفاع ۱۹۵۳ متر از سطح دریاهای آزاد می‌باشد. متوسط بارندگی سالیانه منطقه برابر با ۲۹۰/۳ میلی‌متر، میانگین دمای سالانه ۱۰/۶۴ درجه سانتی-گراد و متوسط ماهانه رطوبت نسبی آن ۵۰/۵ درصد برآورد شده است. متوسط تبخیر و تعرق پتانسیل در منطقه طرح معادل ۱۲۳/۵۸ میلی‌متر و متوسط سرعت باد در منطقه ۱/۴۴ متر بر ثانیه است. دوره خشکی منطقه تقریباً معادل ۱۲۵ روز می‌باشد. که از اواخر اردیبهشت شروع شده و تا آواخر مهرماه تداوم می‌یابد. اقلیم منطقه بر اساس فرمول آمبرژه با عنوان اقلیم نیمه‌خشک سرد تعیین شده است (زاهدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸). شکل (۱) محدوده ذخیره‌گاه جنگلی و محل قرارگیری آن در شهرستان تفرش استان مرکزی نشان می‌دهد.



شکل ۱- محدوده ذخیره‌گاه جنگلی و محل قرارگیری آن در شهرستان تفرش استان مرکزی

روش انجام کار

در این تحقیق در یک قطعه نمونه در استان‌مرکزی، خاک زیر تاج یک گونه درختی و درختچه‌ای از گونه‌های ناحیه رویشی ایران-تورانی شامل بنه، سنجش شد شکل (۲). به این صورت که ابتدا قطعه-ای(قطعه بررسی دائمی) به وسعت یک هکتار (۱۰۰ x ۱۰۰ متر) انتخاب شد. در این قطعه نمونه، آمار عمومی شامل مختصات، شرایط فیزیوگرافی، شیب، ارتفاع و جهت تهیه شد. در مرحله بعد به‌منظور بررسی و نمونه‌برداری افق‌ها و لایه‌های خاک، در این قطعه نمونه ثابت و در محلی که معرف آن قطعه باشد، اقدام به حفر پروفیل شد. در این تحقیق به خاطر سنگی بودن منطقه و عمق کم خاک امکان حفر کامل پروفیل نبود و پروفیل ۴۰ سانتی‌متری حفر شد. پروفیل حفر شده طبق روش استاندارد اسکنبرگر (۲۰۱۲) بررسی، تشریح و از هر یک از افق‌های خاک نمونه‌برداری شد. برخی ویژگی‌های بصری (مطابق دستورالعمل اجرایی) و فیزیکی و شیمیایی (مطابق دستور روش تحقیق) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری

برای دستیابی به شاخص‌های کیفیت خاک، ویژگی‌های زیستی خاک بررسی شد. نمونه‌برداری خاک برای هر درخت بنه انتخابی از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متر در زیر تاج درختان (در فاصله میان تنه تا لبه انتهایی تاج) در جهت شرق درخت برداشت شد. در هر قطعه‌نمونه برای این گونه درختی بنه موجود و غالب (یک تا سه گونه) به-طور تصادفی ۱۵ نمونه خاک از عمق صفر تا ۱۵ سانتی-متر برداشت و هر سه نمونه خاک در هر قطعه‌نمونه به‌خوبی مخلوط و به یک نمونه ترکیبی برای هر گونه تبدیل شد (پنج نمونه خاک برای هر گونه). همچنین در داخل هر قطعه نمونه، در بیرون از تاج و محلی که خارج از تاج پوشش است، به‌طور تصادفی ۱۵ نمونه خاک از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متر برداشت و هر سه نمونه خاک به‌خوبی مخلوط و به یک نمونه ترکیبی برای قطعه‌نمونه تبدیل شد (۵ نمونه خاک برای هر قطعه‌نمونه). در این تحقیق از دو تیمار استفاده شد یکی زیر تاج پوشش و دیگری خارج از تاج پوشش با پوشش مرتع. در مجموع ۳۰ نمونه خاک برداشت شد، ۱۵ نمونه زیر تاج پوشش و ۱۵ نمونه خارج از تاج پوشش با پوشش گیاهی مرتع، در هر تیمار سه نمونه با هم ترکیب و به یک نمونه تبدیل شد. در واقع برای هر تیمار ۵ نمونه به آزمایشگاه فرستاده شد که مختصات هر نمونه به‌منظور تهیه نقشه نمونه-برداری ثبت شد. بلافاصله پس از نمونه‌برداری، بخشی از نمونه‌های خاک در کیسه‌های پلاستیکی و بخش دیگر در شرایط سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و برای تجزیه و تحلیل بعدی به آزمایشگاه منتقل شد. ویژگی‌های زیستی نمونه‌ها شامل: کربن زیست‌توده میکروبی، تنفس پایه، تنفس بر انگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون اندازه-

گیری شد. تنفس پایه خاک با استفاده از روش ظروف دربسته و اندازه‌گیری دی‌اکسید کربن رهاشده بر اثر تنفس ریزجانداران، بر حسب میلی‌گرم دی‌اکسید کربن آزاد شده از هر گرم خاک خشک در روز (mg CO_2 100 g^{-1} dm h^{-1}) محاسبه شد (اسچینر و همکاران، ۱۹۹۶). برای اندازه‌گیری تنفس برانگیخته خاک، به نمونه-ها ۰/۰۹ گرم گلوکز اضافه شد. میزان دی‌اکسید کربن تولیدی پس از ۴ ساعت اندازه‌گیری شده و تنفس برانگیخته بر حسب میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در صد گرم خاک خشک در ساعت (mg CO_2 100 g^{-1} dm h^{-1}) گزارش شد(اسچینر و همکاران، ۱۹۹۶). به‌منظور اندازه-گیری کربن زیست‌توده میکربی خاک از روش تدخین استخراج استفاده شد. به این منظور نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت با کلروفرم تیمار شده و میزان کربن آلی پس از استخراج با سولفات پتاسیم با روش والکلی-بلک اندازه‌گیری شد (اسپارلینگ و وست، ۱۹۸۸). پتانسیل نیتریفیکاسیون خاک در۵ گرم خاک و با استفاده از روش برگ و راسوال اندازه‌گیری شد (برگ و راسوال، ۱۹۸۵). وزن مخصوص ظاهری همه نمونه‌ها به روش هیدرومتری اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌کمک نرم‌افزار SAS انجام شد. ضریب متابولیکی یا کسر متابولیک، از روش تقسیم مقدار کربن متصاعد شده از نمونه‌های گاز داده نشده طی یک روز (تنفس پایه Basal Respiration) بر کربن زیست‌توده میکروبی اندازه‌گیری شد (آندرسون و دمسچ، ۱۹۸۶).

شکل ۲-منطقه مورد مطالعه و درختان بنه

نتایج و بحث

اجزای واحد اراضی منطقه تحقیق، شامل کوه-های بسیار مرتفع با قلل مسدود با بیرون‌زدگی متشکل از ایگنمبریت با خاک سطحی کم عمق، با پوشش مرتعی ضعیف با محدودیت عمق کم خاک، شیب و بیرون‌زدگی سنگی و در حال حاضر مرتعی و حفاظتی می‌باشد. خاک منطقه مطالعه، دارای افق‌های تشخیص سطحی (اپی پدول) شامل بخش رویی خاک تیره شده به وسیله ماده آلی، بخش‌های تالابی افق آبشویی شده و یا هر دو می-باشد. از جمله افق‌های تشخیص داده شده در محدوده طرح شناسایی اکریک می‌باشد که یک افق معدنی و بسیار نازک و دارای رنگ بسیار روشن است یا دارای ماده آلی بسیار اندکی است که نمی‌تواند جزو افق‌های مالیک و آمبرتاپ باشد. این افق اغلب در هنگام خشک بودن سخت و متراکم می‌باشد. توالی و ترکیب افق‌های پروفیلی محدوده طرح عمدتاً به صورت AC, AR می‌باشد که شامل افق A به همراه سنگ مادر و یا مواد تخریبی است که رشد و نمو گیاه در آن با مشکل مواجه می‌شود. بافت خاک در کلاس بافت متوسط تا نیمه سنگین که شامل S.CL , S.Lاست قرار می‌گیرد. ساختمان خاک اکثراً فشرده و با پایداری زیاد در حالت خشک می‌باشد و در شرایط مرطوب حالت شکنندگی دارد و همچنین در حالت خیس کمی چسبندگی دارد. عمق خاک با توجه به پروفیل حفر شده خاک منطقه اکثراً کم عمق و عمدتاً بین ۳۰-۰ سانتی‌متر متغیر است. لایه محدود کننده که قطعات سنگی است از عوامل محدود کننده می‌باشد، تیپ‌بندی

طبق رده‌بندی خاک به‌روش آمریکایی و روش سال ۲۰۰۴ و بر اساس اطلاعات تفسیری و نتایج آزمایشگاهی رده و تحت رده خاک و فامیل خاک به شرح جدول (۱) است. این خاک خاکی است بدون تکامل، پروفیلی کم عمق و دارای رژیم رطوبتی زریک، با عمق کم و لایه سخت سنگی دارای جوشش در برابر اسیدکلریدریک که وجود آهک را نشان می‌دهد. همچنین دارای سنگریزه بیش از ۳۵ درصد با رژیم حرارتی مزیک و بافت متوسط تا نیمه-سنگین می‌باشد، نفوذپذیری سطحی خاک با توجه به بافت سطحی خوب و وضعیت زهکشی با توجه به لایه-های سنگی و خردشدگی آن و همچنین نوع سازند زمین-شناسی مناسب می‌باشد و خطر آب گرفتگی در محدوده طرح مشاهده نمی‌شود، پروفیل خاک شدیداً سنگلاخی بوده و ریشه‌دوانی را با محدودیت مواجه می‌کند. البته درخچه و درختان بنه به نظر می‌رسد که سازگاری خوبی دارند با این شرایط و به راحتی ریشه درختان در درز و شکاف سنگ‌ها نفوذ کرده و از رطوبت موجود استفاده می‌کنند. فرسایش‌پذیری خاک یا ضریب K حدود ۰/۴۷ در حد متوسط می‌باشد. عمده محدودیت‌های خاک سنگلاخی و سنگریزه‌ای و همچنین شیب اراضی می‌باشد. این عوامل و محدودیت‌ها قابل اصلاح نمی‌باشند و کلاس این اراضی برای کاربری‌های مختلف نامناسب می‌باشد.

جدول ۱-تیپ‌بندی خاک به روش آمریکائی

رده	Enti soil
تحت رده	Orthents
گروه بزرگ	Xerorthents
تحت گروه بزرگ	Lithic Xerorthents
فامیل خاک	Fineloamy Skeletal Mixed Calcareous Mesic Shallow

جدول(۲) محدوده تغییرات و مشخصات آماری صفات مورد مطالعه را نشان می‌دهد. آماره‌های توصیفی کمترین، بیشترین، میانگین، انحراف معیار برای ویژگی‌ها اندازه-گیری و محاسبه شدند. آزمون نرمالیته برای داده‌ها با انجام آزمون‌هایی توسط نرم‌افزار آماری XLSTAT مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مربوطه درجدول (۳) ارائه گردیده است. برای بررسی اینکه داده‌ها دارای توزیع نرمال هستند یا نه از آزمون‌های شاپیرو ویلک، اندرسون دارلینگ، لیلیه فورس و جارکویرا استفاده شده است. در این آزمون‌ها فرض صفر برابر با نرمال بودن داده‌ها و فرض مقابل برابر با غیرنرمال بودن داده‌ها در نظر گرفته شده است. همان-طور که مشاهده می‌گردد داده‌ها در تمامی آزمون‌های مورد بررسی نرمال می‌باشند. شایان ذکر است که دلیل استفاده از نمودارهای چندک احتمالی نرمال توانایی آنها در نشان دادن میزان انحراف از توزیع نرمال است. به کمک این نمودارها می‌توان راجع به میزان انحراف داده‌ها از نرمال و اثر آن بر عملکرد رگرسیون‌گیری اظهارنظر کرد. با توجه به اهمیت استفاده از داده‌های صحیح آماری، کلیه داده‌های موجود از نظر همگن بودن توسط آزمون همگنی نرمال استاندارد که یکی از روش‌های متداول برای ارزیابی همگنی داده‌ها می‌باشد، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون‌ها در جدول (۳) و شکل‌های (۳) تا (۴) ارائه شده است. با توجه به شکل‌ها نتایج بررسی همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمون نشان داد که همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری بین تنفس برانگیخته و وزن مخصوص ظاهری ($r=-۰/۹۴۶^{**}$) و همبستگی مثبت و معنی‌داری بین تنفس برانگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون ($r=+۰/۶۷۸^{**}$) وجود دارد. همبستگی منفی و معنی‌داری بین وزن مخصوص ظاهری و پتانسیل نیتریفیکاسیون ($r=-۰/۸۷۷^{**}$)، بین کربن زیست‌توده میکروبی و پتانسیل نیتریفیکاسیون ($r=-۰/۷۰۴^{*}$) وجود دارد. همچنین کربن زیست‌توده میکروبی همبستگی مثبتی با وزن مخصوص ظاهری ($r=+۰/۸۳۸^{**}$) و همبستگی منفی با تنفس برانگیخته ($r=-۰/۷۹۷^{**}$) نشان داد. با توجه به‌شکل‌ها، مقادیر پارامترها از توزیع نرمال تبعیت می‌کنند و همبستگی بین پارامترها وجود دارد. به‌عنوان یک قانون

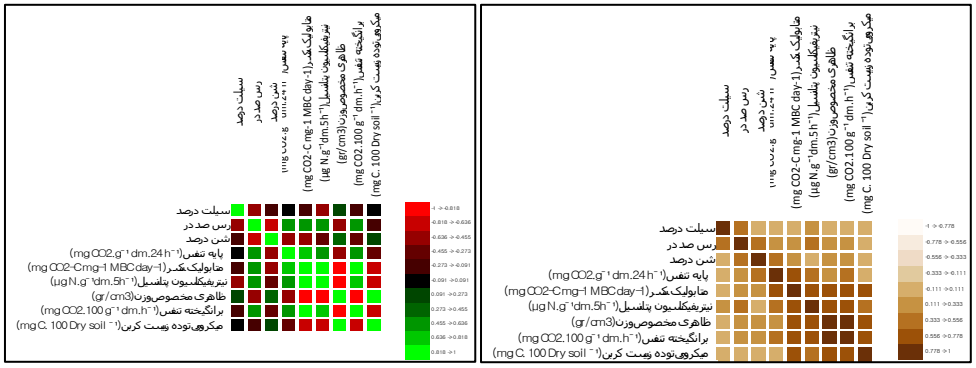
کلی در تکنیک‌های آماری فرض اولیه بر این اساس است که توزیع داده‌ها مشخص است که بیشتر موارد فرض بر این است که توزیع نرمال است و در نهایت درستی یا نادرستی نتایج نهایی به درست بودن فرض اولیه وابسته است. مقادیر وزن مخصوص ظاهری در نمونه‌های برداشت شده از زیر تاج پوشش به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود به‌عبارت دیگر تخلخل خاک در زیر تاج پوشش در مقایسه با خاک شاهد بیشتر است. درصد ماده آلی بیشتر در خاک زیر تاج درختان ناشی از ریزش لاشبرگ و بقایای گیاهی سبب افزایش گنجایش نگهداشت آب و بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک مانند تخلخل و ساختمان خاک می‌شود.

جدول ۲-محدوده تغییرات و مشخصات آماری صفات

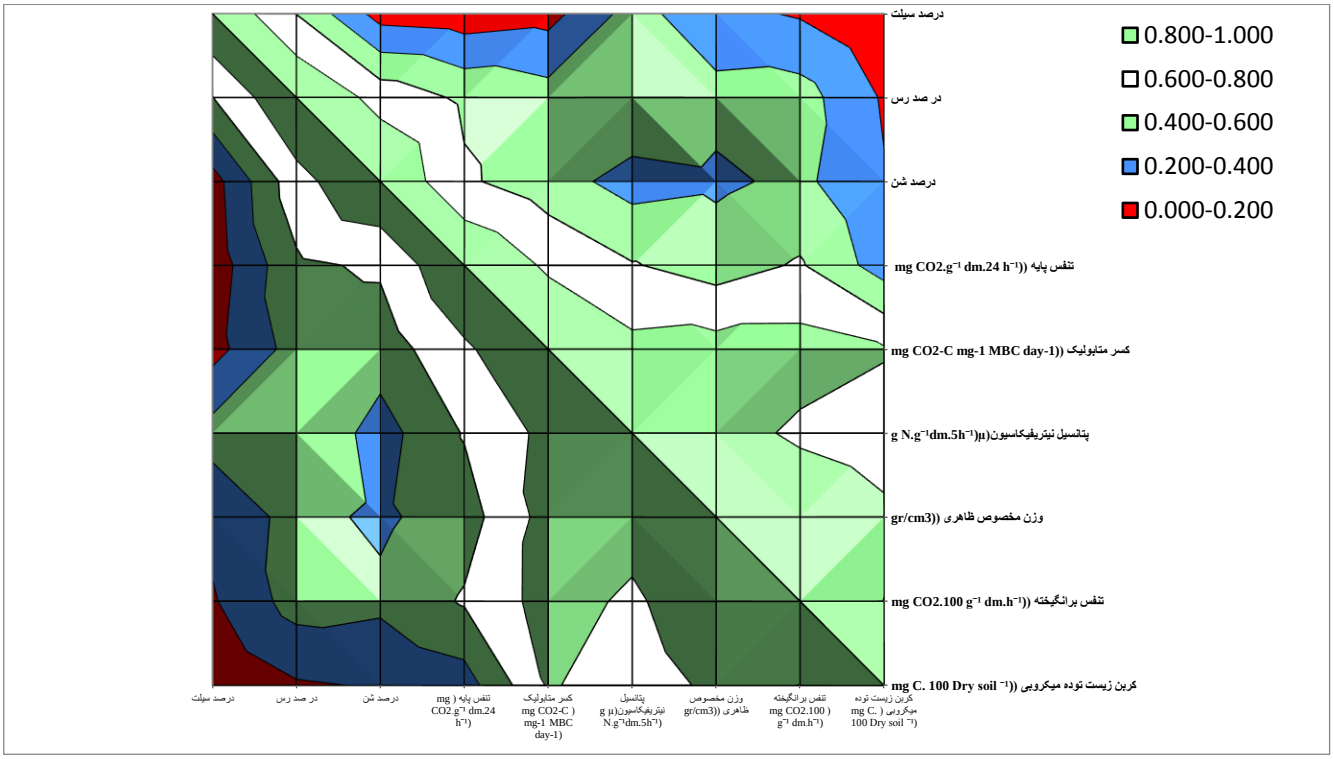
متغیرها	تعداد داده-ها	کمینه	بیشینه	متوسط	انحراف معیار
تنفس پایه ($mg\ CO_2.g^{-1}\ dm.24\ h^{-1}$)	۱۰	۲/۱۳	۴/۰۲	۲/۸۰	۰/۵۶
تنفس برانگیخته ($mg\ CO_2.100\ g^{-1}\ dm.h^{-1}$)	۱۰	۸/۳۷	۳۴/۳۷	۱۹/۳۴	۹/۵۴
کربن زیست توده میکروبی ($mg\ C.\ 100\ Dry\ soil^{-1}$)	۱۰	۱/۱۴	۲/۵۷	۱/۶۵	۰/۴۶
پتانسیل نیتریفیکاسیون($\mu g\ N.g^{-1}dm.5h^{-1}$)	۱۰	۶۲/۶۹	۲۱۴/۲۹	۱۲۳/۷۸	۵۳/۲۶
وزن مخصوص ظاهری(gr/cm^3)	۱۰	۱/۳۵	۱/۴۰	۱/۳۸	۰/۰۳
کسر متابولیک($mg\ CO2\ -C\ mg^{-1}\ MBC\ day^{-1}$)	۱۰	۰/۹۸۸	۲/۸۱۱	۱/۸۳۶	۰/۶۸۵
درصد شن	۱۰	۵۰	۶۶	۵۹/۱	۴/۳۸
درصد سیلت	۱۰	۱۸	۲۸	۲۴/۹	۳/۷۲
درصد رس	۱۰	۶	۲۲	۱۶	۵/۴۲

جدول ۳- نتایج آزمون‌های تعیین نرمال بودن داده‌ها

Shapiro-Wilk test	تنفس پایه	تنفس برانگیخته	کربن زیست توده میکروبی	پتانسیل نیتریفیکاسیون	کسر متابولیک	وزن مخصوص ظاهری
W	۰/۸۸۶	۰/۸۷۵	۰/۹۲۹	۰/۹۱۵	۰/۸۷۹	۰/۶۵۵
p-value (Two-tailed)	۰/۱۵۲	۰/۱۱۳	۰/۴۳۹	۰/۳۱۷	۰/۱۲۸	۰
alpha	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
Anderson-Darling test	**تنفس پایه**	**تنفس برانگیخته**	**کربن زیست توده میکروبی**	**پتانسیل نیتریفیکاسیون**	**کسر متابولیک**	**وزن مخصوص ظاهری**
A^2	۰/۵۵۲	۰/۵۹۸	۰/۲۸۹	۰/۳۶۷	۰/۵۹۵	۱/۶۳۹
p-value (Two-tailed)	۰/۱۱۵	۰/۰۸۷	۰/۵۴۰	۰/۳۵۶	۰/۰۸۸	۰
alpha	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
Lilliefors test	**تنفس پایه**	**تنفس برانگیخته**	**کربن زیست توده میکروبی**	**پتانسیل نیتریفیکاسیون**	**کسر متابولیک**	**وزن مخصوص ظاهری**
D	۰/۲۲۴	۰/۲۵۶	۰/۱۸۵	۰/۱۸۹	۰/۲۱۳	۰/۳۲۹
D (standardized)	۰/۷۰۷	۰/۸۱۱	۰/۵۸۴	۰/۵۹۸	۰/۶۷۳	۱/۰۳۹
p-value (Two-tailed)	۰/۱۶۸	۰/۰۶۱	۰/۴۳۳	۰/۳۹۵	۰/۲۲۴	۰/۰۰۳
alpha	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
Jarque-Bera test	**تنفس پایه**	**تنفس برانگیخته**	**کربن زیست توده میکروبی**	**پتانسیل نیتریفیکاسیون**	**کسر متابولیک**	**وزن مخصوص ظاهری**
JB (Observed value)	۲/۰۳۴	۱/۰۶۵	۰/۸۴۸	۰/۸۷۵	۱/۱۴۶	۱/۶۶۷
JB (Critical value)	۵/۹۹۱	۵/۹۹۱	۵/۹۹۱	۵/۹۹۱	۵/۹۹۱	۵/۹۹۱
DF	۲	۲	۲	۲	۲	۲
p-value (Two-tailed)	۰/۳۶۲	۰/۵۸۷	۰/۶۵۵	۰/۶۴۶	۰/۵۶۴	۰/۴۳۵
alpha	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵



شکل ۳- تصویر ماتریس همبستگی داده‌ها



شکل ۴-نمونه نقشه‌های همبستگی بین پارامترها

نتایج تجزیه واریانس (جدول۴) و مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که اثر تیمار (تاج پوشش) بر صفت تنفس پایه معنی‌دار نشد. مقادیر میانگین تنفس پایه در خاک زیر تاج پوشش درخت بنه با مقدار ۳/۰۸ بر حسب(mg CO_2 $100\ g^{-1}\ dm\ h^{-1}$) و در نمونه خاک خارج از تاج پوشش با مقدار ۲/۵۳ بر حسب (mg CO_2 $100\ g^{-1}\ dm\ h^{-1}$) می‌باشد. همچنین نتایج آزمایش‌ها نشان داد که مقادیر میانگین تنفس برانگیخته خاک در زیر تاج پوشش بنه با مقدار ۲۷/۸۹ (mg CO_2 $100\ g^{-1}\ dm\ h^{-1}$) بیشتر از آن در نمونه خاک خارج از تاج پوشش با مقدار ۱۰/۷۸ (mg CO_2 100 $g^{-1}\ dm\ h^{-1}$) بوده و تفاوت در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار می‌باشد. تنفس پایه و تنفس برانگیخته خاک بستگی به تغییر کاربری، نوع مدیریت، نوع گونه گیاهی و اقلیم دارد و به‌عنوان شاخصی زیستی خاک در نظر گرفته می‌شود. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که مقادیر میانگین پتانسیل نیتریفیکاسیون خاک در زیر تاج پوشش بنه با مقدار ۱۶۸/۱۱ (μg $N.g^{-1}dm.5h^{-1}$) بیشتر از آن در نمونه خاک خارج از تاج پوشش با مقدار ۷۹/۴۴ (μg $N.g^{-1}dm.5h^{-1}$) است و تفاوت در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج پژوهش‌های علیزاده و همکاران (۱۴۰۱)، خان‌محمدی و متینی‌زاده (۱۴۰۲)، حیدری و همکاران (۱۴۰۱) مطابقت دارد. نتایج تحقیقات آنها نشان داد که

میزان تنفس پایه و نیز تنفس برانگیخته در زیر تاج درختان (کهور و سمر) در مقایسه با خاک بیرون تاج افزایش معنی‌داری داشت، که به‌دلیل افزایش ماده آلی در زیر تاج پوشش است. میانگین کربن زیست توده میکروبی در نمونه خاک زیر تاج پوشش با مقدار ۱/۲۹ (mg C. $100\ Dry\ soil^{-1}$) کمتر از نمونه خارج از تاج پوشش بنه با مقدار ۲/۰۱ (mg C. $100\ Dry\ soil^{-1}$) می‌باشد. این یافتـه بیانگر اثر نوع پوشش گیاهی بر نوع بقایـای آلـی و نیـز نـوع و فعالیت جمعیت میکروبی خاک است. تحقیقات نشان داده است که ترکیب و ساختار توده جنگلی و تیپ آن، مهمترین عوامل اثرگذار بر کیفیت یا شیمی لاشریزه ورودی به جنگل است که تأثیر بسیار زیادی بر جمعیت میکروبی، سرعت تجزیه لاشریزه و نرخ ورود مواد غذایی به خاک‌های جنگلی و حاصلخیزی خاک خواهد داشت(انونیموس، ۲۰۲۰: چاوز ورگرا، ۲۰۱۴). همچنین میزان و کیفیت عناصر غذایی لاشبرگ و ریشه گونه‌های درختی و شرایط اقلیمی در تعیین روند تغییرات کربن زیست توده میکروبی نقش بسیار مهمی دارند (علیزاده، ۲۰۲۲). به‌عنوان نمونه کارنول و بازگیر (۲۰۱۳) دریافتند که گونه‌های مختلف پهن‌برگ اثر متفاوتی بر ویژگی‌های خاک داشته و فعالیت زیستی ریزجانداران خاک در زیر درختان پهن‌برگ بیشتر از درختان سوزنی‌برگ است. نتایج مطالعات (لیو و همکاران، ۲۰۱۴) نشان داد که در شیوه‌های مختلف مدیریتی جنگل، مادهٔ آلی خاک، کربن زیست‌تودهٔ میکروبی و تنفس پایه از مهمترین عوامل منعکس‌کنندهٔ خواص شیمیایی و زیستی خاک هستند. همچنین گارتزیا-بنگوتکسا و همکاران (۲۰۱۶) و زیفکاکووا و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند تنفس میکروبی یکی از فرآیندهای اصلی در کنترل کربن اکوسیستم‌ها زمینی است. در همین راستا کبال و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند هر اندازه تنفس میکروبی بیشتر باشد، فعالیت بالقوهٔ میکروبی خاک و فعالیت ریزجانداران بیشتر می‌شود. یکی از علل مؤثر بر تنفس میکروبی خاک در اکوسیستم‌های جنگلی، مناسب بودن شرایط برای فعالیت میکروبی از جمله عرضهٔ کافی کربن و وجود لایهٔ لاشبرگ مورد استفادهٔ ریزجانداران خاک است. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که ریزجانداران خاک نقش مهمی در تجزیه و چرخهٔ کانی‌سازی مواد آلی خاک دارند. زیست تودهٔ میکروبی خاک می‌تواند به‌عنوان شاخص حساس به پایداری اکولوژیکی خاک مورد استفاده قرار گیرد (گیو و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار(تاج پوشش) بر صفت کسر متابولیک در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار شد. کسر متابولیک ($mg\ CO_2\text{-}C\ mg^{-1}$ $MBC\ day^{-1}$) یا تنفس ویژه (qCO2) در دو کاربری محاسبه و میانگین در زیر درخت بنه ۲/۳۹۳ و در خارج از سایه-انداز درخت بنه ۱/۲۵۸ به‌دست آمد. ضریب متابولیکی یا تنفس ویژه، شاخص اکوفیزیولوژیکی است که مقدار کربن متصاعد شده از واحد کربن توده زنده میکروبی در واحد زمان را نشان می‌دهد. به طور معمول از این نسبت به-عنوان شاخص مناسب برای تعیین تنش در اکوسیستم خاک استفاده می‌شود. هرچه کسر متابولیک بزرگتر باشد، منبع انرژی آنابولیسم میکروارگانیسم‌ها از کاتابولیسم کمتر است، به عبارتی هرچه کسرمتابولیک بزرگتر باشد، احتمال تجزیه میکروفلور بزرگتر و به دنبال آن متوسط سن میکروفلور کوچکتر خواهد بود. در تحقیق حاضر طبق آنچه که گزارش شد مقدار متوسط تنفس پایه بالاتر از مقدار متوسط کربن زیست توده میکروبی در نمونه‌های شاهد و تیمار زیر درخت بنه بود. بنابراین افزایش کسر متابولیک دور از انتظار نبود. میزان کسر متابولیک کمتر نشان دهنده سطح پایین تنش در جامعه میکروبی خاک است. به‌طور کلی، روند تغییرات تنفس برانگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون و کسر متابولیک در زیر تاج پوشش با روند تغییرات کربن زیست‌توده میکروبی هماهنگی نداشت. با توجه به افزایش ویژگی‌هـای تنفس برانگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون و کسر متابولیک در زیر تاج پوشش بنه در منطقه، این شاخص‌ها می‌توانند برای ارزیابی کیفیت خاک منطقه، مفید واقع شـوند. در حالی که کاهش کربن زیست توده میکروبی در زیر تاج

پوشش نسبت به خاک شاهد(خارج از تاج درخت)، می-تواند به خاطر تغییر نوع سوبسترا و یا تفاوت در تنوع جمعیت میکروبی در خاک زیر تاج پوشش یا بیرون از آن باشد.طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها و تجزیه واریانس، تفاوت معنی‌داری در مقدار درصد رس، درصد سیلت و درصد شن در نمونه‌های زیر تاج درخت و خارج از تاج وجود ندارد.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفت‌های تنفس پایه، تنفس برانگیخته، بایومس میکروبی کربن و پتانسیل نیتریفیکاسیون

منابع تغییر	درجه آزادی	تنفس پایه	تنفس برانگیخته	کربن زیست توده میکروبی	پتانسیل نیتریفیکاسیون	کسر متابولیک	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
تیمار	۱	۰/۷۴۰ ns	۷۳۱/۸۸**	۱/۳۲۵**	۱۹۶۵۴/۷۸۸**	۳/۰۶۷*	۵۷/۶ ns	۸/۱ ns	۲۲/۵ ns
تکرار	۴	۰/۱۹۵ ns	۱۶/۷۸۴ ns	۰/۰۸ ns	۸۸۲/۵۵۸ ns	۰/۰۸۵ ns	۱۱/۰۱ ns	۱۶/۱۰ ns	۲۳/۶ ns
خطای آزمایش	۴	۰/۳۲۴	۴/۸۹۵	۰/۰۶	۵۸۶/۸۸۱	۰/۱۴۱	۴۰/۶	۱۳/۱	۱۴/۱

ns عدم معنی‌داری *معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و **معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفت‌های تنفس پایه، تنفس برانگیخته، بایومس میکروبی کربن و پتانسیل نیتریفیکاسیون

تیمار	تنفس پایه ($mg\ CO_2.g^{-1}$) ($dm.24\ h^{-1}$)	تنفس برانگیخته ($mg\ CO_2.100$) ($g^{-1}\ dm.h^{-1}$)	کربن زیست توده میکروبی (mg. 100) (Dry soil $^{-1}$)	پتانسیل نیتریفیکاسیون ($\mu g\ N.g^{-1}dm.5h^{-1}$)	کسر متابولیک mg CO2 -C mg^{-1} MBC day^{-1}	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
شاهد	۲/۵۳a	۱۰/۷۸ b	۲/۰۱ a	۷۹/۴۴ b	۱/۲۵۸b	۱۳/۶	۲۵/۸	۶۰/۶
زیر درخت	۳/۰۸a	۲۷/۸۹ a	۱/۲۹ b	۱۶۸/۱۱ a	۲/۳۹۳a	۱۸/۴	۲۴	۵۷/۶

حروف غیرمشابه در هر ستون نشاندهنده تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

نتیجه گیری

به‌طور کلی، نتایج بیانگر آن بود که بیشتر ویژگی‌های زیستی در خاک تحت تأثیر بنه قرار گرفته و تغییرات معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان دادند که این امر نشان‌دهنده اثر گذاشن بر حلقه‌های حیات در خاک خواهد بود. روند تغییرات تنفس برانگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون و کسرمتابولیک در زیر تاج پوشش با روند تغییرات کربن زیست‌توده میکروبی هماهنگی نداشت. با توجه به افزایش ویژگی‌های تنفس برانگیخته و پتانسیل نیتریفیکاسیون و کسر متابولیک در زیر تاج پوشش بنه در منطقه، این شاخص‌ها می‌توانند برای ارزیابی کیفیت خاک منطقه، مفید واقع شوند. در حالی که کاهش کربن زیست‌توده میکروبی در زیر تاج پوشش نسبت به خاک شاهد (خارج از تاج درخت)، می‌تواند به خاطر تغییر نوع سوبسترا و یا تفاوت در تنوع جمعیت میکروبی در خاک زیر تاج پوشش یا بیرون از آن باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در ارزیابی کیفیت خاک، بهبود حاصلخیزی خاک و مدیریت تغذیه گیاه، نمی‌توان نقش ویژگی‌های زیستی خاک را نادیده گرفت. از طرفی با داشتن پارامترهای زیستی خاک، به‌عنوان یک رویکرد مبتنی بر دانش با قابلیت دسترسی و انعطاف‌پذیری می-توان اطلاعات بیشتری برای تصمیم‌سازی ارتقای حاصلخیزی خاک و مدیریت تغذیه درخت بنه در اختیار کارشناسان و بهره‌برداران قرار داد.

فهرست منابع

[۱]حبشی، ه. ۱۳۹۴ رابطه تنفس میکربی و کربن زیست-توده میکربی با ماده آلی خاک در تیپ‌های مختلف جنگل راش آمیخته. پژوهش و توسعه جنگل. ۱(۲): ۱۳۵-۱۴۴.

[۲]رفیعی، ف.، حبشی، ه.، رحمانی، د و ثاقب طالبی، خ ۱۳۹۶. تأثیر شیوه گزینشی بر تغییرات برخی از شاخص‌های میکروبیولوژیکی خاک توده راش آمیخته جنگل‌های هیرکانی. پژوهش و توسعه جنگل، ۳(۳):۱۹۵-۲۰۵.

[۳]کوچ، ی. و پارساپور، م.ک ۱۳۹۵ اثر پوشش‌های جنگلی پهن برگ و سوزنی برگ بر شاخص‌های میکروبی خاک. نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک، ۲۲(۲): ۱۹۵-۲۱۰.

[۴]خان‌محمدی، ز. متینی‌زاده، م. ۱۴۰۲ ارزیابی ویژگی‌های خاک زیر تاج پوشش درختان بنه و بادام کوهی (مطالعه موردی: تنگ خشک، سمیرم). روابط خاک و گیاه/ سال چهاردهم / شماره دوم/ ص ۹۳-۱۰۸.

[۵]اسفندیاری، ه.، سفیدی، ک.، قوی‌دل، ا.، اسماعیل‌پور، م.، امان‌زاده، ب. و صادقی، س م م. ۱۴۰۲ اثر شیوه‌های جنگل‌داری بر تغییرات ویژگی‌های زیستی خاک (مطالعهٔ موردی: جنگل‌های راش اسالم). مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک، دوره ۳ ، شماره ۴، ص ۱۶-۲۸.

[۶]زاهدی‌پور، ح.، فتاحی، م. و میرداودی اخوان، ح ر. ۱۳۸۶ بررسی پراکنش و خصوصیات کمی و کیفی رویشگاه‌های پسته وحشی در استان مرکزی. زیست شناسی ایران. جلد۲۰، شماره۲، ص۱۹۱-۱۹۹.

[7]Alizadeh, T., Matinizadeh, M., Habashi, H., Sadeghi, S.M., 2022. Comparison of soil biological properties and carbon storage of *Prosopis cineraria* and *Prosopis juliflora* (Case study: Assaluyeh). *Journal of Wood and Forest Science and Technology* 29(1): 89–105. (In Persian with English abstract)

[8]Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1986. Carbon assimilation and microbial activity in soil. J. Plant Nutr. Soil Sci. 149: 457-468.

[9]Anonymous (b). 2020. Characteristics of suitable bases for almonds in different weather conditions. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). ISBN: 978-964-520-692-3. (In Persian)

[10] Berg, P., Rosswall, T. 1985. Ammonium oxidizer number, potential and actual oxidation rates in two Swedish arable soils. *Biology and Fertility of Soils* 1: 131–140.

[11] Chavez-Vergara, B., Merino, A., Vazquez-Marrufo, G., Garcia-Oliva, F. 2014. Organic matter dynamics and microbial activity during decomposition of forest floor under two native Neotropical oak species in a temperate deciduous forest in Mexico. *Geoderma* 235–236: 133–145.

[12] Chen, X.; Peng, S.; Chen, C.; Chen, H. Y. 2021. Water availability regulates tree mixture effects on total and heterotrophic soil respiration: A three-year field experiment. *Geoderma* 2021, *402*, 115259.

[13] Creamer, R.E., Stone, D., Berry, P. and Kuiper, I. 2016. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroRespTM method. Applied Soil Ecology, 97:36–43.

[14] Gardi, C., Jeffery, S. and Saltelli, A. 2013. An estimate of potential threats levels to soil biodiversity in EU. Global Change Biology, 19 (5): 1538–1548.

[15] Gartzia-Bengoetxe, N., Kandeler, E., Martínez de Arano, I. and Arias-González, A. 2016. Soil microbial functional activity is governed by a combination of tree species composition and soil properties in temperate forests. Applied Soil Ecology, 100: 57–64.

[16] Gartzia-Bengoetxea, N., Kandeler, E., De Arano, I., & Arias-González, A. 2016. Soil microbial functional activity is governed by a combination of tree species composition and soil properties in temperate forests. *Applied Soil Ecology*, 100, 57-64.

[17] Ge, T., Wei, X., Bahar, S., Zhu, Z., Hu, Y., Kuzyakov, Y., Jones, D., & Wu, J. 2017. Stability and dynamics of enzyme activity patterns in the rice rhizosphere: Effects of plant growth and temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, 113, 108-115.

[18] Guo, P., Wang, C., Jia, Q., Wang, Q., Han, G., & Tian, X. 2011. Response of soil

microbial biomass and enzymatic activities to fertilizations of mixed inorganic and organic nitrogen at a subtropical forest in East China. *Plant and Soil*, 338, 355 – 366.

[19] Guo, X., Chen, H., Meng, M., Biswas, S.R., Ye, L., & Zhang, J. 2016. Effects of land use change on the composition of soil microbial communities in a managed subtropical forest. *Forest Ecology and Management*, 373, 93–99.

[20] Hannam, K., Quideau, S., & Kishchuk, B. 2006. Forest floor microbial communities inrelation
to stand composition and timber harvesting in northern Alberta. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2565-2575.

[21] Hardoim, P., Van Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, A., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. 2015. The hidden world within plants: ecologicaland evolutionary considerations for defining functioning of microbialendophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79, 293–320.

[22] Iqbal, J., Ronggui, H., Lijun, D., Lan, L., Shan, L., Tao, C., & Leilei, R. 2008. Differences in soil CO2 flux between different land use types in mid-subtropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2324-2333.

[23] Lu, X., Toda, F., Ding, H., Fang, S., & Yang, W. 2014. Effect of vegetation types on chemical and biological properties of soils of karst ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 61, 49-57.

[24] Luo, Y., Zang, H., Yu, Z., Chen, Z., Gunina, A., Kuzyakov, Y., Xu, J., Zhang, K., & Brookes, P. 2017. Priming effects in biochar enriched soils using a three-source-partitioning approach: 14C labelling and 13C natural abundance. *Soil Biology and Biochemistry*, 106, 28–35.

[25] Maharjana, M., Sanaullaha, M., Razavid, B., & Kuzyakov, Y. 2017. Effect of land use and management practices on microbial biomass and enzyme activities in subtropical top-and sub-soils. *Applied Soil Ecology*, 113, 22–28.

[26] Malchair, S., & Carnol, M. 2009. Microbial biomass and C and N transformations in forest floors under European beech, sessile oak, Norway spruce and Douglas-fir at four temperate forest sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 831–839.

[27] Pailler, A., Vennetier, M., Torre, F, Ripert, C., Guiral, D. 2014. Forest soil microbial functional patterns and response to a drought and warming event: Key role of climate -plant- soil interactions at a regional scale. Soil Biology and Biochemistry, 70: 1-4.

[28] Salazara, S., Sánchezb, L., Alvareza, J., Valverdea, A., Galindoc, P., Igualc, J., Peixa, A., & SantaRegina, I. 2011. Correlation among soil enzyme activitiesunder different fore I.st system managementpractices. *Ecological Engineering*, 37,1123–1131.

[29] Schinner, F., Ohlinger, R., Margesin, R. 1996. Methods in Soil Biology. Springer Press, Berlin.

[30] Schoeneberger, P.J., Wysocki, D.A., Benham, E.C., Soil Survey Staff. 2012. Field Book for Describing and Sampling Soils. Lincoln: Natural Resources Conservation Service-National Soil Survey Center.

[31] Sparling, G.P., West, A.W. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and ^{14}C labelled cells. *Soil Biology and Biochemistry* 20(3): 337–343.

[32] Wang, X.; Zhao, J.; Wu, J.; Chen, H.; Lin, Y.; Zhou, L.; Fu, S. 2011. Impacts of understory species removal and/or addition on soil respiration in a mixed forest plantation with native species in southern China. *Forest Ecology and Management* 2011, *261* (6), 1053-1060.

[33] Zifcakova, L., Vetrovsky, T., Howe, A., & Barldrian, P. 2016. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter. *Environmental Microbiology*, 18, 288-301.

Contents

Subject **Page**

Evaluation of fluorescent pseudomonads isolated from *Satureja rechingeri* rhizosphere for the pyoverdine production and plant growth improvement under field conditions.....1
S.Samavatand M.Salehi Vozhdehnazari

Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture.....2
A.Fallah Nosratabа and B.Khoshru

Effect of some bofertilizers on the physiological characteristics of wheat flag leaves and rhizosphere enzyme activities at different irrigation levels.....3
S.S.Hosseini, F.Rejali and P.Keshavarz

Effect of Plant Growth- Evaluation of physiological traits of hazelnut seedlings inoculated with Trichoderma harzianum Rifai fungus in field conditions.....4
Y. Rostamikia, M. Matinizadeh and A. Rahmani

The role of effective oil-eating bacteria in the remediation of oil-contaminated soils (Case study: *Bacillus* genus)……...5
K. Zeynali, S. Shariati and A.A. Pourbabaee

Effects of Pistacia Atlantica Desf on some soil properties(Case study: Farak Tafaresh region)……..6
A.Moradinejad, M.Matinizadeh and T.Alizadeh

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

Vol. 12, No 1
2024

Manager-in–Charge; K. Bazargan, PhD
Associate Professor, Soil and Water Research Institute
Editor-in–Chief: Hadi Asadi Rahmani, 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**
Technical Editor:	**Eng. 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. 12, No. 1, 2024

Contents

Subject **Page**

Evaluation of fluorescent pseudomonads isolated from *Satureja rechingeri* rhizosphere for the pyoverdine production and plant growth improvement under field conditions.....1
S.Samavat and M.Salehi Vozhdehnazari

Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture.....2
A.Fallah Nosratabа and B.Khoshru

Effect of some bofertilizers on the physiological characteristics of wheat flag leaves and rhizosphere enzyme activities at different irrigation levels.....3
S.S.Hosseini, F.Rejali and P.Keshavarz

Effect of Plant Growth- Evaluation of physiological traits of hazelnut seedlings inoculated with Trichoderma harzianum Rifai fungus in field conditions.....4
Y. Rostamikia, M. Matinizadeh and A. Rahmani

The role of effective oil-eating bacteria in the remediation of oil-contaminated soils (Case study: *Bacillus* genus).....5
K. Zeynali, S. Shariati and A.A. Pourbabaee

Effects of Pistacia Atlantica Desf on some soil properties(Case study: Farak Tafaresh region).....6
A.Moradinejad, M.Matinizadeh and T.Alizadeh