دو فصلنامه

نشریه علمی

زیست شناسی خاک

شاپا: ۲۵۳۶-۲۳۴۵

جلد ۱۲ شماره۲سال ۱۴۰۳

عنوان | فهرست | صفحه

سازوکار جذب و انتقال فسفر در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار(شناخته‌ها و ناشناخته‌ها)..... ۱۵۵

حبیب‌اله نادیان قمشه

ارزیابی کارایی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت و دارای توان حل‌کنندگی فسفات در فراهمی فسفر یک خاک آهکی آلوده نفتی..... ۱۹۱

کمیل زینالی، شایان شریعتی، احمدعلی پوربابائی و مهدی شرفا

بررسی اثر کودهای زیستی بر بهبود جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد درختان فندق استان گیلان..... ۲۱۳

علی لاهیجی و فرهاد رجالی

ارزیابی و مقایسه صفات محرک رشدی گیاه در گروه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری..... ۲۳۵

اکرم اوتادی، حسن اعتصامی، هوشنگ خسروی و حسینعلی علیخانی

غربالگری و شناسایی مؤثرترین جدایه‌ی ریزوبیومی (*Mezorhizobiumciceri*) و بررسی برهمکنش آن با قارچ میکوریز آربسکولار در عملکرد و کیفیت بذر نخود رقم آنا..... ۲۶۱

مهرزاد انصاری، محمدجعفر ملکوتی، فرهاد رجالی، علی مختصی بیدگلی و صابر گلکاری

افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی با باکتری‌های محرک رشد گیاه و نانوذرات: سازوکارها، چالش‌ها و جهت‌گیری‌های آینده..... ۲۷۹

بهمن خوشرو ، علیرضا فلاح نصرت‌آباد، هوشنگ خسروی، احمد اصغرزاده و لاله فریدیان

www.sbj.areeo.ir

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

نشریه علمی
زیست شناسی خاک

جلد ۱۲ شماره (۲)
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 علیرضا فلاح نصرت آباد** **استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب**

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

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

ویراستار انگلیسی: **دکتر امیر لکزیان**

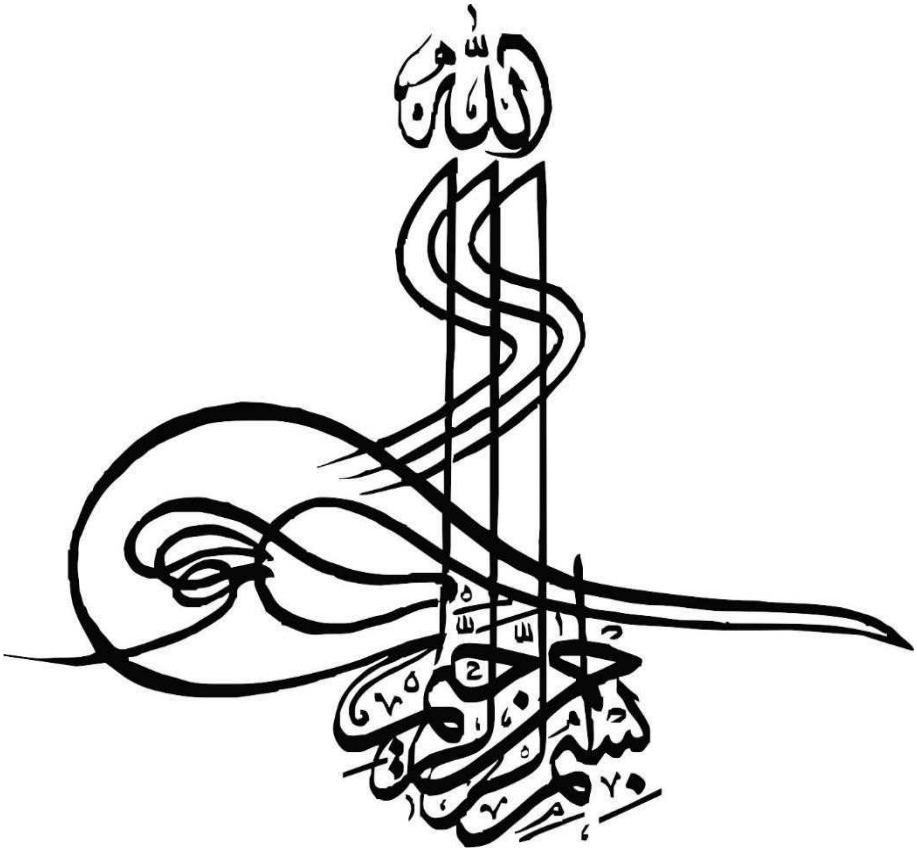
تایپ و صفحه آرایی: **مهندس کیانا خامه چی**

تعداد انتشار در سال: **دو شماره**

پایگاه الکترونیکی نشریه علمی زیست‌شناسی خاک: **www.sbj.areeo.ir**
پایگاه الکترونیکی انجمن علوم خاک ایران: **www.soiliran.org**
پایگاه الکترونیکی موسسه تحقیقات خاک و آب: **www.swri.ir**
آدرس الکترونیکی دفتر مجله: **jsb.soilbiology@yahoo.com**

این نشریه در پایگاه‌های علمی زیر نمایه می‌شود:
پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (**ISC**): **www.isc.gov.ir**
پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی: **www.sid.ir**
پایگاه سیویلیکا: **www.civilica**

آدرس: کرج - میدان استاندارد، جاده مشکین دشت، بعداز رزکان نو، بلوار امام خمینی - موسسه تحقیقات خاک و آب، کد پستی: ۳۱۷۷۹۹۳۵۴۵
تلفن و نمابر: ۳۶۲۰۸۷۹۶ (۰۲۶) *آدرس پایگاه الکترونیکی مجله:* ***www.journals.areo.ir***


بسم الله الرحمن الرحيم

عنوان **فهرست** **صفحه**

سازوکار جذب و انتقال فسفر در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار(شناخته‌ها و ناشناخته‌ها)..... **۱۵۵**
حبیب‌اله نادیان قمشه

ارزیابی کارایی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت و دارای توان حل‌کنندگی فسفات در فراهمی فسفر یک خاک آهکی آلوده نفتی..... **۱۹۱**
کمیل زینالی، شایان شریعتی، احمدعلی پوربابائی و مهدی شرفا

بررسی اثر کودهای زیستی بر بهبود جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد درختان فندق استان گیلان **۲۱۳**
علی لاهیجی و فرهاد رجالی

ارزیابی و مقایسه صفات محرک رشدی گیاه در گروه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری..... **۲۳۵**
اکرم اوتادی، حسن اعتصامی، هوشنگ خسروی و حسینعلی علیخانی

غربالگری و شناسایی مؤثرترین جدایه‌ی ریزوبیومی (*Mezorhizobiumciceri*) و بررسی برهمکنش آن با قارچ میکوریز آربسکولار در عملکرد و کیفیت بذر نخود رقم آنا..... **۲۶۱**
مهرزاد انصاری، محمدجعفر ملکوتی، فرهاد رجالی، علی مختصی بیدگلی و صابر گلکاری

افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی با باکتری‌های محرک رشد گیاه و نانوذرات: سازوکارها، چالش‌ها و جهت‌گیری‌های آینده..... **۲۷۹**
بهمن خوشرو ، علیرضا فلاح نصرت‌آباد، هوشنگ خسروی، احمد اصغرزاده و لاله فریدیان

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 موضوع پژوهش و فرضیه‌های موردنظر تعریف گردد. به مهم‌ترین تحقیقات صورت گرفته قبلی در داخل و خارج از ایران اشاره شود و سپس در پایان مقدمه، هدف و لزوم پژوهش موردنظر تشریح و با تأکید بر وجه تمایز پژوهش با مطالعات قبلی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

این قسمت شامل مواد مورد استفاده و شرح 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 کمیّت آن ستون باشد. اگر همهٔ ارقام جدول دارای یک واحد مشترک باشند، آن واحد در عنوان اصلی جدول ذکر شود. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول به صورت زیرنویس ارائه شوند.

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

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

بحث

در این قسمت با استفاده از سایر منابع، یافته‌های پژوهش علت‌یابی شده و دلایل قبول و رد آنها مورد بحث قرار

می‌گیرد. بنابراین قسمت عمده بررسی منابع در این قسمت مورد استناد قرار می‌گیرد.

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

نتیجه گیری

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

سپاسگزاری

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

فرم تعهد نامه

نشریه پژوهش‌های خاک

اینجانب ..... نویسنده مسئول مقاله زیر با
عنوان مقاله:

- سال‌های اجراء آزمایش ذکر شود

موارد زیر را به آگاهی می رسانم:

۱. کلیه تهیه کنندگان مقاله از ارسال آن به دفتر مجله شما آگاهند
۲. مقاله قبلاً در هیچ مجله داخلی و خارجی منتشر نشده است
۳. مقاله تا زمان پایان بررسی در آن مجله به مجله دیگری ارسال نخواهد شد.
۴. هیچگونه تغییری در تعداد نویسندگان یا ترتیب ذکر اسامی انجام نخواهد شد.

نام نام خانوادگی نویسنده اول: امضاء نویسنده اول مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده دوم: امضاء نویسنده دوم مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده سوم: امضاء نویسنده سوم مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده چهارم: امضاء نویسنده چهارم‌مقاله

اسامی داوران	تعداد داوری
حسین بشارتی	۲
علیرضا توسلی	۲
بهمن خوشرو	۸
فرهاد رجالی	۱
مهدی زارعی	۱
محمدرضا ساریخانی	۱
علی اشرف سلطانی طولارود	۳
شایان شریعتی	۲
مهدیه شمشیری پور	۱
علی عبادی	۱
ناصر علی‌اصغرزاد	۳
حسینعلی علیخانی	۲
حبیب اله نادیان	۱

155-190/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

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

Review article

Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns)

Habiballah Nadian Ghomsheh[1]

[1]Professor, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khozestan
E-mail: nadian_habib@yahoo.com

Article Info

Received:
July 6, 2024
Accepted:
November 18, 2024

Keywords:
Aquaporin
External-internal
Hyphae
Homeostasis
PolyP
P transporters

Corresponding author's email:
nadian_habib@yahoo.com

DOI:
10.22092/SBJ.2024.366288.267

Extended Abstract

Background and Objectives: The many advantages of establishing symbiosis between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and most plants, including agricultural and horticultural plants, especially in terms of the growth and nutritional components of the host plant, have given special importance to this symbiosis. Increasing CO^2 fixation by the host plants, they participate in the global carbon cycle, and as a result, they increase the organic carbon stock of the soil and in a way participate in the control of global temperature increase. It is now well documented that AM fungi improve mineral nutrition, particularly phosphorus (P) nutrition of the host plant. This beneficial effect of AM symbiosis is due primarily to enhanced P uptake by mycorrhizal roots. Mycorrhizal colonization can also improve the phosphorus nutrition of the host plant under abiotic and biotic stresses such as drought, salinity, oil pollutants, heavy metals and plant diseases. The synergistic effects between mycorrhizal fungi and a special group of useful soil microorganisms such as nitrogen fixing bacteria and phosphate solubilizing bacteria will lead to the improvement of plant phosphorus nutrition and ultimately lead to an increase in plant growth components. The basis of this symbiosis is the two-way exchange of nutrients that takes place in a unit consisting of the arbuscule and the host plant cell as "the central unit of symbiosis or the heart of symbiosis". Although the results of studies show the beneficial role of these fungi, due to the specific complexities of symbiotic relationships, there is still no complete understanding of the mechanisms of this symbiosis. Thus, extensive studies have been conducted with physiological, biochemical and molecular approaches. However, our understanding of the mechanism of this transfer, the exact route of this transfer and the transporters involved in transferring P to the host plant are not well known. The objective of this article is to review the new findings of P uptake and transport mechanisms in AM plants. It is focused particularly on the routes of P transfer, the contribution of each of these two symbionts in P uptake and transfer it and the mechanisms involved. With the advancement of this knowledge and a complete understanding of the hidden concepts of the fungus-plant relationship, it is possible to develop strategies for plant products by increasing the productivity of this symbiosis, especially in areas facing abiotic and biotic stresses.

Materials and Methods: The materials and methods used in the studies of mycorrhizal symbiosis including the mechanisms of phosphorus uptake and transfer and other related topics, are very diverse, and only a few of them are mentioned here. The use of labelled phosphorus and a compartment culture system has been used to determine the contribution of each of the two symbionts in the uptake and transfer of P. In genomic studies (Gene expression analysis), quantitative PCR have been used to determine DNA and RNA. Fluorescence microscope and 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining method are used to visible polyphosphates in arbuscules (young arbuscules, mature arbuscules and degenerated arbuscules) and intraradical hyphae of AM fungi.

Results: The findings of this review show that the P uptake and transport in AM plants takes place through two different pathways, one directly through the plant root and the other indirectly through the external hyphae of the fungus. These two paths interact with each other in a complex and sometimes unknown way. Physiological approaches using labelled phosphorus to trace the relative contribution of direct and fungal pathways in plant P nutrition show that the contribution of the fungal pathway varies from negligible to almost all plant phosphorus. The reported results indicate that not only the percentage of root colonization, but also the total length of external hyphae and phosphorus concentration are very important in determining the contribution of direct and indirect pathways. Transporters involved in P uptake and transport belong to several families. The PHT family with 5 subfamilies (PHT1, PHT2, PHT3, PHT4, and PHT5) based on their sequence and location has a vital role in P transport. Among these transporters, the PHT1 transporters play an important role in P uptake from the rhizosphere, its distribution and homeostasis. The results of molecular studies show that when *Arabidopsis thaliana* receives enough P, at least 4 transporters (PHT1,1-4) are involved in P uptake. Among these four transporters, PHT1,1 is the transporter that contributes the most to the uptake and transfer of P from the roots to the leaves of the plant. Most of the P absorbed in the tonoplast is polymerized and a linear chain of polyphosphate with high-energy bonds that can reach the number of 3 to thousands of units is formed inside the vacuole. Polyphosphates are transported mainly through a cytoplasmic stream along a tubular vacuole system towards the intraradical hyphae. How and by what molecular mechanism P is delivered to the host plant is not well known. However, three hypothetical pathways for P delivery to the plant have been proposed.

Conclusion: A set of plant and fungal transporters are responsible for absorbing, translocation, distributing, accumulating and redistributing P (P homeostasis) in a mycorrhizal plant in an interconnected, precise, complex and sometimes unknown process. However, the mechanism of this transfer, the interaction of plant and fungal transporters in the absorption and transfer of P and its delivery to the host plant not well known. Much work conducted focusing on biomolecular and physiological studies to better understand these mechanisms. Although many advances have been made to elucidate the complex mechanisms for the integrated roles of nutrient transport in AM symbiosis, much research work needs to be done to improve our understanding of these mechanisms and to answer the key questions. With the progress of this knowledge and a complete understanding of the complex relationships between fungi and plants, it is possible to develop plant product strategies by increasing the efficiency of this symbiosis, especially in areas facing biotic and abiotic stresses.

Cite this article: Nadian Ghomsheh, H., 2024. Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns). Soil *Biology Journal*, 12 (2), 155-190.

CC BY NC

DOI: 10.22092/SBJ.2024.366288.267
Publisher: Soil Science Society of Iran

دوفصلنامه

نشریه زیست شناسی خاک

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

مقاله مروری

سازوکار جذب و انتقال فسفر در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار (شناخته‌ها و ناشناخته‌ها)

حبیب‌اله نادیان قمشه[1*]

[1*] استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان; nadian_habib@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۸

چکیده

مزیت‌های فراوان برقراری همزیستی بین قارچ‌های میکوریز آربسکولار و بسیاری از گیاهان به ویژه از نظر مولفه‌های رشدی و تغذیه‌ای گیاه میزبان، این همزیستی را در جایگاه ویژه‌ای قرار داده است. هر چند نقش مفید این قارچ‌ها به خوبی شناخته شده است، ولی به دلیل پیچیدگی‌های روابط این همزیستی هنوز شناخت کاملی از سازوکارهای آن وجود ندارد. اساس این همزیستی، تبادل دو طرفه مواد غذایی است که در واحدی متشکل از آربسکول و سلول گیاه میزبان به عنوان "واحد مرکزی همزیستی یا قلب همزیستی" صورت می‌گیرد. بر حسب میزان فسفر گیاه میکوریزی، یک واحد متشکل از دو جزء پروتئین‌های DELLA و جیبرلیک اسید قادر است طی فرایندهای پیچیده سطح تشکیل آربسکول را درون سلول‌های پوست ریشه گیاه تنظیم کند. در میان خانواده‌های مختلف ناقل‌های فسفر می‌توان به خانواده PHT اشاره نمود که دارای ۵ زیر خانواده می‌باشد و نقش مهمی در هموستاز فسفر بازی می‌کند. ناقل‌های گیاهی و قارچی در یک فرایند بهم پیوسته، دقیق، پیچیده و بعضا ناشناخته وظیفه جذب، انتقال، توزیع، تجمع و بازتوزیع فسفر در گیاه میکوریزی را بعهده دارند. با وجود این، سازوکار این انتقال، چگونگی تعامل ناقل‌های گیاه و قارچ در جذب و انتقال فسفر و واگذاری آن به گیاه میزبان به درستی شناخته نشده است. پژوهش‌های زیادی با رویکردهای زیست‌مولکولی و فیزیولوژیک جهت شناخت بیشتر این سازوکارها انجام شده است. همچنانکه خواهیم دید، سعی شده است تا بازیگران اصلی مسئول جذب و انتقال فسفر به خصوص با تکیه بر مطالعات ملکولی شناخته شوند. با پیشرفت این دانش و درک کامل از روابط پیچیده قارچ و گیاه، می‌توان با افزایش بهره‌وری این همزیستی، استراتژی‌های فراورده‌های گیاهی را، به خصوص در مناطق مواجه با تنش‌های زنده و غیرزنده، توسعه داد.

واژه های کلیدی: آکواپورین، پلی‌فسفات، ناقل‌های فسفر، هموستاز فسفر، هیف‌های داخلی و خارجی

استناد: نادیان قمشه، ح. ۱۴۰۳. سازوکار جذب و انتقال فسفر در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار (شناخته‌ها و ناشناخته‌ها). مقاله مروری تحلیلی، نشریه زیست شناسی خاک ، (۲)۱۲، ۱۹۰-۱۵۵.

مقدمه

فسفر عنصر غذایی بسیار مهمی است که در بسیاری از فرایندهای حیاتی موجودات زنده نقش اساسی دارد. فسفر انرژی لازم برای بسیاری از فرایندها نظیر جذب فعال عناصر غذایی، فتوسنتز و تنفس را فراهم می‌نماید و در مولفه رشدی گیاه به ویژه رشد ریشه‌های گیاه و نیز مولفه‌های تولید مثلی گیاه شرکت فعال دارد (Marschner, 2012). اگرچه فسفر در خاک‌ها معمولا فراوان است، ولی به سبب سرعت تثبیت شیمیایی بالا و انتشار آهسته آن، فسفر را به یکی از عناصر با کمترین قابلیت فراهمی تبدیل کرده است. لذا بکارگیری جامعه میکروبی خاک که نقش مهمی در افزایش قابلیت جذب فسفر دارد مورد توجه خاص قرار گرفته است. در میان جامعه میکروبی خاک قارچ‌های میکوریز آربسکولار[1] شاید بیشترین تاثیر را در بهبود تغذیه فسفری گیاه دارد. در واقع، گسترده‌ترین همزیستی "گیاهی-قارچی" همزیستی قارچ‌های میکوریز آربسکولار می‌باشند که در شاخه گلومرومایکوتا[2] قرار داشته و با بیش از۹۰ درصد گونه‌های گیاهی ارتباط همزیستی برقرار میکنند (Smith and Read, 2008). این قارچ‌ها در محدوده وسیعی از شرایط اکولوژیک از زیست‌بومهای زراعی و مرتعی (Siami et al., 1402) گرفته تا زیست‌بومهای پر باران و مناطق خشک و شوره زار (Salehi Jozani et al., 1390) یافت می‌شوند. متعاقب برقراری ارتباط همزیستی بین گیاه و قارچ، اثرات سودآور گوناگونی به خصوص برای گیاه میزبان به وجود می‌آید. اثراتی نظیر بهبود تغذیه گیاه، کاهش اثرات نا مطلوب تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و فشردگی خاک بر گیاه (Nadian, 1390; Nadian et al., 1996; Ghasem Jokar et al., 1392 & 1394; Salimi et al., 1399, Gharineh et al., 2009; Ghasemi et al., 2022; Chandrasekaran, 2022; Navarro-Torre, 2023)، کاهش اثرات زیان آور عناصر سنگین (Ghanavati et al., 2012; Nourali et al., 1397; Chen et al., 2022) و سموم بر گیاه میزبان (Asadzadeh et al., 1400) ، افزایش اثرات مفید سایر جوامع میکروبی خاک نظیر افزایش جمعیت و فعالیت ریز جاندران تثبیت کننده نیتروژن (Hestrin et al., 2019) در بر همکنش با قارچ‌های میکوریز آربسکولار و نیز خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و کاهش اثرات بعضی از عوامل بیماری‌زا بر گیاه (Weng et al., 2022; Wahab et al., 2023, Filho, 2023) را می‌توان نام برد. بیشترین اثرات مفید این همزیستی را می‌توان بهبود تغذیه گیاه به خصوص تغذیه فسفری گیاه میزبان دانست. این تعامل در همزیستی مستلزم درجه بالایی از همگام سازی بین دو شریک است و بر اساس یک بیان مولکولی دقیق تنظیم می‌شود. در واقع، گیاهان در همزیستی با قارچ میکوریز آربسکولار تخصیص کربن به شریک همزیست اجباری خود را بر اساس دریافت میزان فسفر از آن در سلول‌ها تنظیم می‌کنند (Helber, 2011). اگرچه روابط بین گیاه و قارچ میکوریز بر اساس تبادل دوطرفه مواد مغذی بین این دو همزیست است ولی لزوماً به این معنا نیست که انتقال فسفر از قارچ به گیاه به طور مستقیم با انتقال کربن به قارچ مرتبط باشد. به عبارتی، گونه‌های مختلف از قارچ‌های میکوریز آربسکولار در همزیستی با گیاه میزبان، می‌توانند به طور قابل توجهی در نسبت تبادل C/P و در نتیجه در میزان سازگاری عملکردی آنها با گیاه متفاوت باشند (Pearson and Jakobsen, 1993; Ferrol et al., 2018; Padje et al., 2020). مطالعات انجام شده نیز نشان داده‌است که تحت شرایط خاص، مثلا زیاد بودن فسفر قابل جذب، میزان انتقال کربن به قارچ می‌تواند همسو با انتقال فسفر به گیاه میزبان نباشد (Graham et al., 1977). وضیعت فسفر گیاه میکوریزی یک عامل مهم در برقراری و ادامه همزیستی است، بنحوی که فسفر به عنوان یک سیگنال موضعی و سلولی عمل می‌کند. در صورتی که انتقال فسفر در سطح مشترک همزیستی[3] متوقف شود گیاه قارچ را به عنوان انگل شناخته

[1] Arbuscular mycorrhizal fungi

[2] Glomeromycota

[3] Mycorrhizal interface

و انتقال کربن به قارچ را قطع می‌کند (Ferrol et al., 2018). علاوه بر این، انتقال فسفر برای پویایی آربوسکول و پیشرفت کلونیزاسیون بسیار ضروری است. در بین اثرات مفید این همزیستی، نقش قارچ‌ها در بهبود تغذیه فسفری گیاه به خوبی نشان داده شده است. با وجود این، سهم هریک از این دو همزیست، همچنانکه خواهیم دید، در جذب فسفر و بهبود تغذیه گیاه به علت پیچیدگی این همزیستی و دخالت عوامل متعدد به خوبی شناخته نشده است. عموماً برای ارزیابی تاثیر قارچ میکوریز بر جذب فسفر از مقایسه (تفاضل) میزان فسفر جذب شده توسط گیاه میکوریزی و گیاه غیرمیکوریزی (شاهد) استفاده می‌شود. این نوع ارزیابی خالی از اشکال نیست. زیرا کلونیزاسیون قارچی ساختار و معماری ریشه را تغییر می‌دهد (Hettrick et al., 1991; Chen et al., 2021) و این تغییر به نوبه خود می‌تواند بر روی میزان جذب فسفر تاثیر بگذارد. به همین دلیل است که جهت ارزیابی تاثیر قارچ میکوریز بر میزان جذب فسفر از شاخص‌های دیگری استفاده می‌شود، نظیر سرعت جاری شدن فسفر در واحد طول ریشه کلنی شده و در واحد زمان که بیان دقیق‌تری در ارزیابی فسفر جذب شده دارد (Jakobsen et al., 1992; Nadian et al., 2013). در جدول ۱ سرعت جاری شدن فسفر بدرون چندین ریشه گیاه میکوریزی نشان داده است.

جدول ۱ - سرعت جریان فسفر به درون ریشه گیاه میکوریزی (با فرض اینکه تنها آربسکول وظیفه انتقال فسفر را به عهده دارد)

گیاه-قارچ	سرعت جریان فسفر (پیکومول بر متر ریشه بر ثانیه)	منبع
شبدر برسیم- *رایزوفاگوس اینترارادیسز*[۴]	۶/۱	Nadian et al., 2013
شبدر زیرزمینی[۵]- *رایزوفاگوس اینترارادیسز*	۱۰/۵	Nadian et al., 1997
شبدر برسیم- فانلیفورمیس موسه[۶]	۵/۰	Nadian et al., 2013
شبدر قرمز[۷]- *رایزوفاگوس اینترارادیسز*	۴/۸	Nadian et al., 2013
شبدر قرمز- فانلیفورمیس موسه	۲/۳	Nadian et al., 2013
پیاز- *گلوموس اس پی* (WUM 16)[۸]	۴-۲۹	Sukarno et al., 1996
تره- *گلوموس اس پی* (WUM 16)[۹]	۰/۰۵-۰/۱۲	Smith et al., 199
تره-فانلیفورمیس موسه	۰/۲-۰/۳	Smith et al., 1994
پیاز- فانلیفورمیس موسه	۰/۱۳	Cox and Tinker, 1976

[۴] *Rhizophagus intraradices - Trifolium alexandrinum* L.

[۵] *Trifolium subterraneum*

[۶] *Funneliformis mosseae*

[۷] *Trifolium pratense*

[8] *Glomus sp.- Allium cepa* L.

[۹] *Glomus sp.- Allium Porrum* L.

سرعت جاری شدن فسفر به داخل ریشه گیاه (*P inflow*) بر طبق رابطه Brewster and Tinker (1972) محاسبه شده است:

$$P\ inflow = (P_2 - P_1) \times \ln (L_2 L_1^{-1}) [(T_2 - T_1) (L_2 - L_1)]^{-1}$$

P inflow سرعت جریان فسفر به داخل ریشه گیاه (پیکومول بر متر ریشه بر ثانیه)

P_1 و P_2 به ترتیب میزان محتوای فسفر گیاه در زمان T_1 و T_2

L_1 و L_2 به ترتیب مجموع طول ریشه گیاه در زمان T_1 و T_2

T_1 و T_2 فاصله زمانی است که طی آن میزان جاری شدن فسفر به داخل ریشه گیاه صورت می‌گیرد.

روش دیگر ارزیابی، بر اساس میزان فسفر جذب شده در واحد طول ریشه کلنی شده است (Nadian et al., 1998; Nadian et al., 2013). مجموع طول شبکه گسترده هیف‌های خارجی[۱۰] که عامل اصلی جذب فسفر هستند نیز می‌تواند به عنوان یک شاخص دیگر در ارزیابی جذب فسفر از خاک مورد استفاده قرار گیرد. اما از آنجایی که تشخیص هیف‌ها میکوریزی و غیرمیکوریزی هنگام استخراج و اندازه‌گیری آنها امکان پذیر نمی‌باشد، این روش ارزیابی چندان معتبر نمی‌باشد (Nadian et al., 1998). لذا برای رفع این اشکال، روش دیگری نیز پیشنهاد و بکار برده شده است که طی آن زیست توده هیف‌های خارجی قارچ از طریق بیوشمیایی و با اندازه‌گیری اسیدهای چرب خنثی و قطبی (16:1ω5 و 16:0) که اختصاصی این قارچ‌ها هستند کمیت سازی می‌شوند (Olsson et al, 1995; Nadian et al., 1998). این اسیدهای چرب به میزان فراوان در قارچ‌های میکوریز آربسکولار وجود دارند و لذا به عنوان شاخص زیست توده این قارچ‌ها شناخته شده و به روش گروماتوگراف گازی اندازه‌گیری می‌شوند. شناخت کامل فرایندهای جذب و انتقال فسفر توسط شبکه هیف‌های خارجی که یک ویژگی کلیدی در روابط بین قارچ و گیاه میزبان است، ضمن آنکه به درک و بهبود کارایی تغذیه فسفری گیاه کمک می‌کند، امکان کاهش قابل توجه مصرف کودهای شیمیایی را نیز در راستای تولید پایدار و توسعه کشاورزی سالم فراهم می‌نماید.

در پژوهش‌های میکوریزی، اگر چه نقش قارچ‌های میکوریز آربسکولار در بهبود مولفه‌های رشدی و تغذیه‌ای گیاه میزبان و نیز کاهش اثرات تنش‌های غیر زنده و زنده بر گیاه به عنوان بخشی از اثرات مفید این همزیستی به خوبی شناخته شده است ولی سازوکار جذب و انتقال فسفر و نیز سازوکارهایی که گیاه بوسیله آن همزیستی را در پاسخ به وضعیت مواد غذایی خود تنظیم می‌کند تا حد زیادی ناشناخته مانده است. لذا علاوه بر مطالعات مرفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی انجام شده، سعی شده است تا از طریق مطالعات زیست مولکولی زوایای پنهان این سازوکارها در همزیستی میکوریزی مشخص تا تصویر جامع‌تری از انتقال فسفر به روش همزیستی بدست آید. با وجود این، مطالعات ژنتیک مولکولی قارچ‌های میکوریز و تعامل آنها با گیاهان به دلیل ماهیت همزیستی اجباری قارچ‌های میکوریز و پیچیده‌گی‌های خاص و بعضا ناشناخته با محدودیت‌هایی نیز همراه است، بطوری که درک درست از سازوکارهای مولکولی جذب و انتقال فسفر در این همزیستی را با مشکل مواجه کرده است. در این مقاله سعی می‌شود تا تنظیم و سازوکارهای جذب و انتقال فسفر در روابط همزیستی قارچهای میکوریز آربسکولار با اشاره اجمالی به روش‌های زیست مولکولی بکار رفته شده مورد بررسی و بحث قرار گیرد. همچنین به نقش بازیگران و تنظیم کننده‌های اصلی مسئول جذب و انتقال فسفر پرداخته می‌شود. افزون بر این، ناقل‌های جذب فسفر، مسیرهای جذب آن و سازوکارهایی که توسط آن وضعیت فسفر درون سلولی درک و منتقل می‌شود مورد توجه و بحث قرار می‌گیرند. بدون شک یافته‌های این مطالعات نقشه راهی است جهت تلاش‌های تحقیقاتی آینده با هدف نهایی تولید سالم و پایدار محصولات کشاورزی.

---

[۱۰] Extraradical hyphae

افزایش جذب فسفر از طریق هم‌افزایی قارچ‌های میکوریز آربسکولار و باکتریهای حل کننده فسفات

شبکه گسترده هیف‌های خارجی قارچ‌های میکوریز آربسکولار به‌طور پیوسته با طیف وسیعی از ریزجانداران خاک در تعامل به سر می‌برند. در میان روابط سودمند این قارچ‌ها با گروه‌های میکروبی خاک می‌توان به روابط متقابل قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه، باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و نیز باکتریهای حل کننده ترکیبات فسفاتی خاک اشاره نمود. در اینجا با توجه به عنوان و اهداف این مقاله تنها اشاره‌ای مختصر به هم‌افزایی قارچ‌های میکوریز آربسکولار و باکتری‌های حل کننده فسفات در افزایش جذب فسفر خواهیم داشت. ریزوباکتری‌های افزایش دهنده رشدگیاه[۱۱] به ویژه باکتری‌های حل کننده فسفات[۱۲] که در مایکوریزوسفر ساکن هستند قادرند از طریق هم‌افزایی با قارچ‌های میکوریز تغذیه فسفری گیاه را افزایش قابل توجهی دهند. Zhang et al., (2018) نشان دادند که معدنی شدن فسفر آلی غیر قابل جذب و تبدیل شدن آن به فرم قابل جذب با اثرات متقابل قارچ میکوریز و باکتری‌های ریزوسفری افزایش معنی داری پیدا نمود. نتایج یک مطالعه دیگر نشان داد که جذب فسفر و رشد رویشی نوعی کنگر فرنگی (*Helianthus tuberosus* L.) با تلقیح همزمان قارچ میکوریز آربسکولار گونه *Rhizophagus intraradices* و باکتری حل کننده فسفات (*Klebsiella variicola*) به میزان قابل توجهی افزایش پیدا نمود (Nacoon et al., 2020). در این مطالعه، باکتری *Klebsiella variicola* توانست با افزایش هورمون ایندول استیک اسید و نیز تولید و ترشح اسیدهای آلی مانند سیتریک اسید، اگزالیک اسید، لاکتیک اسید و گلوکونیک اسید ترکیبات تری‌کلسیم فسفات نا محلول را به مونوکلسیم فسفات محلول تبدیل و آنرا برای جذب بیشتر در احتیار قارچ میکوریز قرار دهد. بنابراین، تلقیح دوگانه می‌تواند یک رویکرد امیدوار کننده در بهره‌وری هر چه بیشتر از همزیستی میکوریزی باشد. نتایج مشابه دیگر نشان می‌دهد که زمانی گندم توسط قارچ میکوریز گونه *Claroideoglomus etunicatum* و دو گونه باکتری حل کننده فسفات، *Pseudomonas fluorescens* و *Burkholderia cepacian* تلقیح گردیدند مولفه‌های رشدی و جذب فسفر به مقدار قابل توجهی افزایش یافت (Minaxi et al., 2013). در این مطالعه مشاهده گردید که حضور باکتری‌های حل کننده فسفات سبب افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه گندم گردید و این به نوبه خود، عملکرد گندم و جذب عناصر غذایی به خصوص فسفر را افزایش داد. متقابلا، جمعیت هر دو گونه باکتری اشاره شده در بالا با حضور قارچ میکوریز نیز افزایش معنی داری پیدا کرد. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که این دو گونه باکتری قادر به ترشح آنزیم کیتیناز و سیدروفور هستند (Minaxi et al., 2013). در یک مطالعه دیگر، نتایج نشان داد که همزیستی قارچ میکوریز آربسکولار با گیاه آهو ماش ژاپنی (*Lotus japonicus*) به میزان قابل‌توجهی تنوع باکتری‌ها را در ریزوسفر ماش میکوریزی شده افزایش داد به نحوی که با استفاده از توالی‌یابی متاژنومیک باکتری‌های شناسایی شده شامل *Othaekwangia*، *Niastella*، *Gemmatimonas*، *Devosia*، *Sphingomonas*، *Opitutus*، *Lysobacter*، *Brevundimonas* ، *Novosphingobium* در مایکوریزوسفر گزارش گردید. این افزایش در تنوع باکتری‌ها در برهمکنش با قارچ میکوریز سبب گردید تا میزان رشد ماش و جذب فسفر افزایش قابل توجهی پیدا کند (Xu et al., 2023).

برقراری ارتباط همزیستی

برقراری و توسعه همزیستی میکوریزی با تبادل مولکول‌های سیگنال‌دهنده بین هر دو همزیست آغاز می

[۱۱] Plant growth promoting rhizobacter

[۱۲] Phosphate solubilizing bacteria

شود. اولین قدم در شناسایی دو همزیست، به ویژه تحت شرایط کمبود فسفر ترشح گروهی از فیتوهورمون‌های کاروتنوئیدی به نام استریگولاکتون‌ها[۱۳] به بیرون از ریشه گیاه می‌باشد (Akiyama et al., 2005; Lopez-Obando et al., 2015). این ترکیبات توسط قارچ‌های میکوریز به عنوان پیام شیمیایی دریافت می‌شوند. استریگولاکتون‌ها قادرند مولفه‌های میکوریزی شامل جوانه زنی اسپور، ایجاد و رشد جرم تیوب[۱۴] (اولین رشته منشعب از جوانه زدن اسپور) و هیف‌ها، انجام فرایندهای متابولیک در میتوکندری و تولید الیگوساکاریدهای کیتین را ایجاد نمایند (Lanfranco et al.,2018). استریگولاکتون‌ها وظایف مختلف دیگری مانند رشد و شکل دهی اندام هوایی گیاه و نیز کاهش تنش‌های غیر زنده نظیر شوری و خشکی به ویژه در بر همکنش با اسید ابسسیک را بعهده دارند. فرمول ملکولی آنها به صورت $C_{14}H_{18}O_3$ می‌باشد. از زمان کشف عملکرد هورمونی استریگولاکتون‌ها در سال ۲۰۰۸ تا کنون پیشرفت‌های زیادی در زمینه چگونگی بیوسنتز آنها و ژن‌های دخیل در انتقال استریگولاکتون‌ها از طریق مطالعات ملکولی صورت گرفته شده است (Mashiguchi et al., 2021). در برقراری همزیستی، این ترکیبات در بر همکنش با هورمون‌هایی نظیر جیبرلین‌ها و اکسین‌ها نقش موثرتری دارند (لانفرانکو و همکاران، ۲۰۱۸). در مقابل، قارچ میکوریز مخلوطی از کیتو و لیپوالیگوساکاریدهای سولفاته و غیرسولفاته با زنجیره کوتاه را تولید می‌کند (Maillet et al., 2011; Genre et al., 2013). لیپوالیگوساکاریدها معمولاً از یک دامنه لیپیدی (آب گریز) متصل به یک الیگوساکارید هسته و یک پلی ساکارید دیستال تشکیل شده‌اند. این مولکول‌ها به دلیل وجود مولکول‌های لیپید و قند به لیپوگیلکان نیز معروف هستند.

این ترکیبات که به عنوان پیام‌ها یا فاکتورهای قارچی[۱۵] شناخته شده‌اند قادرند مسیر پیامدهی[۱۶] را برای برقراری رابطه همزیستی با ریشه گیاه میزبان فعال نمایند (Genre et al., 2013). انجام این فرایند همچنانکه خواهیم دید منجر به بیان ژن‌های ناقل فسفر می‌شود. علاوه بر این، قارچ‌های میکوریز با شناسایی استریگولاکتون‌ها و فعال نمودن فرایندهای متابولیک لازم قادرند رشد هیف و انشعاب بندی آنرا تسریع نموده و به این ترتیب شانس تماس فیزیکی آنها را با ریشه گیاه میزبان افزایش دهند (Akiyama and Hayashi, 2006; Akiyama, K. and Hayashi et a & 2008). به غیر از استریگولاکتون‌ها، اسیدهای چرب ۲-هیدروکسی[۱۷] و برخی فلاونوئیدهای موجود در ترشحات ریشه گیاه، قادرند طول و انشعاب‌بندی هیف‌های قارچ را افزایش دهند (Nagahashi and Douds, 2001; Tian et al., 2019). در همزیستی لگومها با قارچ‌های میکوریز،(Chabaud et al. (2011 مشاهده نمودند زمانی که یونجه سربریده (*M. truncatula*) مورد تلقیح هم زمان هر دو باکتری *ریزوبیوم رایزوژنز*[۱۸] و قارچ جیگسپور *مارگاریتا*[۱۹] قرار می‌گیرد، پیام‌دهی قارچ مبتنی بر کیتین در طی جوانه‌زنی اسپور با حضور کلسیم فراوان برای شروع همزیستی لازم است. به طور کلی، از زمان شناخت عملکرد هورمونی استریگولاکتون‌ها در سال ۲۰۰۸ تا کنون پیشرفت‌های زیادی در زمینه چگونگی بیوسنتز آنها و ژن های دخیل در انتقال استریگولاکتون‌ها از طریق شناسایی آنالیزهای ژنتیکی صورت گرفته شده است (Mashiguchi et al., 2021).

ناقل‌های فسفر و جذب آن

ناقل‌های فسفر شامل خانواده‌های مختلفی هستند. در میان این خانواده‌ها می‌توان به خانواده PHT[۲۰] اشاره

---

[۱۳] Strigolactones

[۱۴] Germ tube

[۱۵] Myco factor

[۱۶] Signaling

[۱] این مواد از اجزا اصلی تری‌گلیسیرید میباشند و در دانه‌های روغنی فراوان یافت می‌شوند (2OH-Fas)

[۱۸] *Rhizobium rhizogenes*

[۱۹] *Gigaspora margarita*

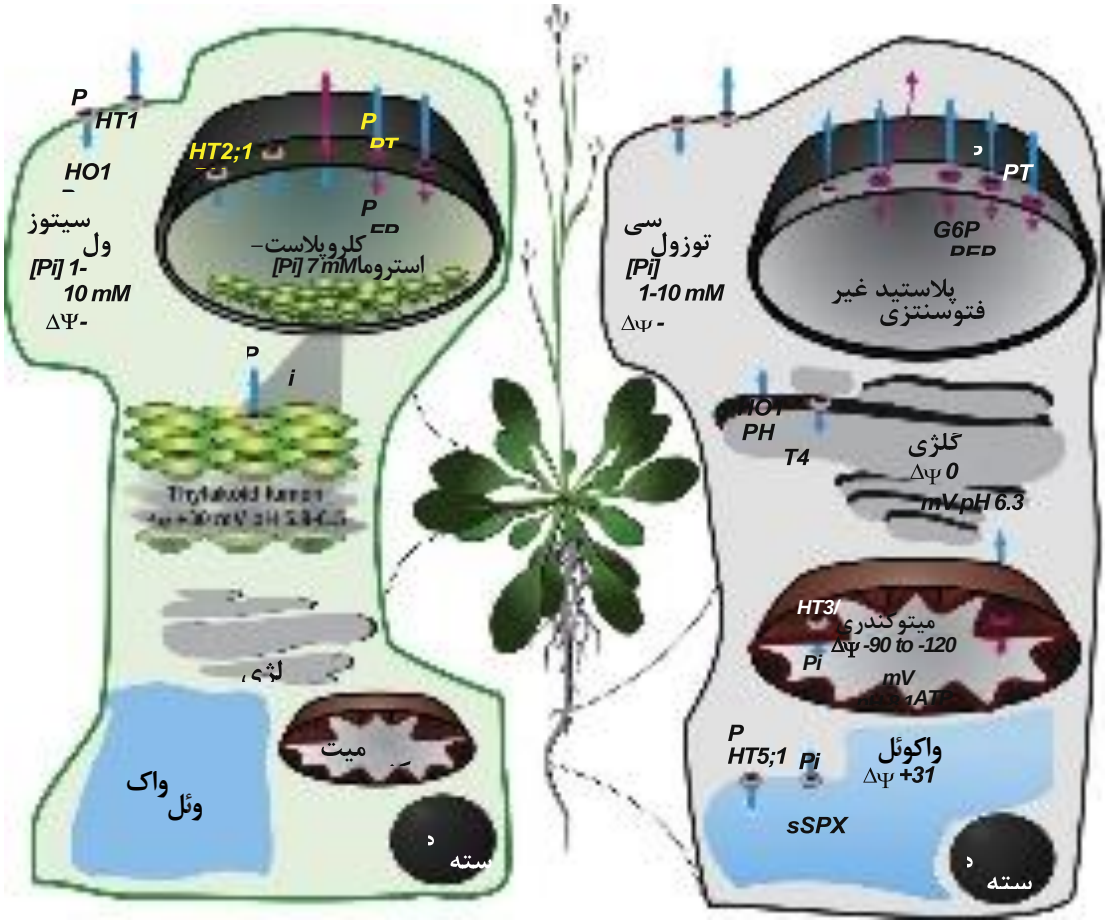
[۲۰] Phosphorus transporter

نمود که اعضای آن بر اساس چگونگی توالی آنها و نیز بر مبنای مکان قرارگیری (درون سلولی و یا در غشاء پلاسمایی سلول) به ۵ نوع طبقه‌بندی می‌شوند و شامل PHT1، PHT2، PHT3، PHT4 و PHT5 می‌باشند (Versaw and Garcia, 2017). در میان این ناقل‌ها، ناقل‌های خانواده PHT1 در غشاء پلاسمایی سلول‌های اپیدرمی ریشه قرار دارند و همچنانکه خواهیم دید نقش مهمی در جذب فسفر از ریزوسفر، توزیع و هموستاز[۲۱] (توازن و پایداری) آن بازی می‌کنند. هموستاز فسفر در اینجا به مجموعه فرایندهای خود تنظیمی مشتمل بر جذب، انتقال، توزیع، تجمع و باز توزیع فسفر در گیاه گفته می‌شود که طی آن وضعیت بهینه فسفر در اجزاء مختلف گیاه مدیریت، متوازن و پایدار می‌گردد. این ناقل‌ها جاذبه و پیوند بسیار بالایی[۲۲] با فسفر در مقایسه با دیگر ناقل‌های خانواده PHT دارا می‌باشند. سایر ناقل‌های PHT2، PHT3، PHT4 و PHT5 بیشتر در اجزاء درون سلولی نظیر غشاء واکوئلی (Liu et al., 2016)، میتوکندری (Rausch et al., 2001) و ذرات گلژی و یا پلاستیدها (Gu et al., 2008) قرار دارند و جاذبه و پیوند آنها با فسفر در مقایسه با ناقل‌های PHT1 کمتر است. در شکل ۱ مکان‌های قرارگیری ناقل‌های خانواده PHT (PHT, 1-5) در سلول نشان داده شده است. PHT1 بر روی غشاء پلاسمایی، PHT2 در کلروپلاست، PHT3 در میتوکندری، PHT4 در ذرات گلژی و لامل‌های تیلاکوئید و PHT5 (VPT1) در غشاء واکوئلی (تونوپلاست) قرار دارند. اولین بار در سال ۱۹۹۶ اعضای خانواده ناقل فسفرAtPHT1 در غشای پلاسمایی گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا*[۲۳] مواجه با کمبود فسفر شناسایی شدند (Muchhal et al., 1996). توضیح اینکه گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* به سبب آنکه دارای ژنوم کاملاً توالی‌یابی شده، چرخه حیات کوتاه، سهولت جوانه‌زنی و کشت می‌باشد به عنوان یک گیاه شاخص مطلوب در زیست شناسی مولکولی و نیز در مطالعه سازوارهای مولکولی فرایندها بسیار مورد استفاده قرار گرفته است.

[۲۱] Homeostasis

[۲۲] Affinity

[۲۳] *Arabidopsis thaliana*



شکل ۱– مکان‌های قرارگیری ناقل‌های فسفر خانواده PHT (PHT1, PHT2, PHT3, PHT4, PHT5) در سلول‌های فتوسنتز کننده (سمت چپ) و غیر فتوسنتز کننده (سمت راست). PHT1 بر روی غشاء پلاسمایی، PHT2 در کلروپلاست، PHT3 در میتوکندری، PHT4 در ذرات گلژی و لامل‌های تیلاکوئید و PHT5 (VPT1) در غشاء واکوئلی یا تونوپلاست قرار دارند (با تغییراتی از Versaw and Garcia, 2017).

همانطور که گفته شد، ناقل‌های خانواده PHT1 نقش اساسی در جذب فسفر و انتقال آن به گیاه دارند. لذا، مطالب بیشتری در خصوص این ناقل‌ها در اینجا ارائه می‌شود. در جدول ۲ تعداد ژن ناقل‌ها در خانواده TPH1 در بعضی از گیاهان نشان داده شده است. در گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا*، تعداد ۹ ناقل درخانواده PHT1 (PHT1, 1-9) وجود دارد (et al., 2014 Lapis-Gaza). نتایج مطالعات مولکولی نشان می‌دهد زمانی که گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* فسفر کافی دریافت کند حداقل تعداد ۴ ناقل (PHT1, 1-4) در حذب فسفر نقش دارند. در بین این چهار ناقل، PHT1, 1 ناقلی است که بیشترین سهم را در جذب و انتقال فسفر از ریشه به برگ‌های گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* تحت شرایط فسفر کافی بعهده دارد. (Ayadi et al., 2015). ناقل‌های خانوادهPHT1 در قسمت‌های مختلف ریشه، عمدتا در اپیدرم و پس از آن در سلول‌های پوست و نیز در بخش‌های مریستم انتهایی (اپیکال) ریشه حضور دارند. هر چند وظایف ناقل‌های خانواده PHT1 می‌تواند متفاوت باشد اما در بعضی از موارد و در مکان‌های مختلف سلولی و نیز بخش‌های مختلف ریشه مانند ریشه‌های مویی، ریشه اصلی و نیز انشعابات ریشه این ناقل‌ها ممکن است وظایف مشابه و منطبق بر هم داشته باشند.

جدول ۲- تعداد ژن‌های ناقل خانواده PHT1 در بعضی از گیاهان (Victor Roch et al., 2019)

نام گیاه	نام علمی	تعداد ژن های ناقل خانواده TPH1	منبع
برنج	*Oryza sativa*	13 (*OsPHT1*;1-13)	جیا و همکاران، ۲۰۱۱ –ونگو همکاران، ۲۰۱۴
گندم	*Triticum aestivum*	14 (*TaPHT1*;1-14)	لیو و همکاران، ۲۰۱۳– گو و همکاران، ۲۰۱۴
ذرت	*Zea mays*	14 (*TaPHT1*;1-14)	لیو و همکاران، ۲۰۱۶
جو	*Hordeum vulgare*	11 (*HvPHT1*;1-11)	را و همکاران، ۲۰۰۳
سویا	*Glycine max*	15 (*GmPHT1*;1-15)	فن و همکاران، ۲۰۱۳– کوین و همکاران، ۲۰۱۲
گوجه فرنگی	*Lycopersicon esculentum*	8 (*LePHT*1;1-8)	چن و همکاران، ۲۰۱۴
سورگوم	*Sorghum bicolor*	11 (*SbPHT1*;1-11)	والدرو همکاران، ۲۰۱۵
ارزن دم روباهی	*Setaria italica*	12 (*SiPHT1*;1-12)	سزار و همکاران، ۲۰۱۴– سزار و همکاران، ۲۰۱۷
کتان	*Linum usitatissimum*	9 (*LuPHT1*;1-9)	والدر و همکاران، ۲۰۱۵
سیب زمینی	*Solanum tuberosum*	8 (*StPHT1*;1-8)	راش و همکاران، ۲۰۰۱
آهو ماش ژاپنی	*Lotus japonicus*	4 (*LjPHT1*;1-4)	میدا و همکاران، ۲۰۰۶– ولپ و همکاران، ۲۰۱۶
بادمجان	*Solanum melongena*	5 (*SmPHT1*;1-5)	چن و همکاران، ۲۰۰۷
سیب	*Malus domestica*	14 (*MdPHT1*;1-14)	سان و همکاران، ۲۰۱۷
نارنج ۳ برگ	*Poncirus trifoliata*	7 (*PtPHT1*;1-7)	شو و همکاران، ۲۰۱۲
فلفل کاین	*frutescens Capsicum*	5 (*CfPHT1*;1-5)	چن و همکاران، ۲۰۰۷
آرابیدوپسیس	*Arabidopsis thaliana*	9 (*AtPHT1*;1-9)	میتسوکوا و همکاران، ۱۹۹۷– آیدی و همکاران، ۲۰۱۵

غلظت فسفر در گیاه یک عامل اصلی در کنترل بیان ژن ناقل *PHT1* است (Nussaume et al., 2011). بیان ژن ناقل فسفر عموماً در غلظت پایین گیاه بیشتر است و با تنظیم افزایشی[۲۴] بیان ژن*PHT1* همراه است (Bulgarelli et al., 2020) که به عنوان پاسخ به گرسنگی (فقر) فسفر گیاه[۲۵] (PSR) تلقی می‌شود (Lambers, 2022). بر عکس، زمانی که فسفر در گیاه زیاد باشد تنظیم کاهشی[۲۶] بیان این ژن رخ خواهد داد. این تنظیمات کاهشی و افزایشی بیان ژن ناقل *PHT1* (به ترتیب در میزان فسفر زیاد و کم گیاه) بنا بر پیشنهاد Lambers (2022) نیاز به تائید فرایندهای فیزیولوژیک دارد. علاوه بر میزان فسفر، وجود نوع ناقل در گیاه که تحت شرایط کمبود فسفر وظیفه تنظیم بیان ژن را بعهده دارد نیز مهم است. به عنوان مثال، در گیاه پنبه (*Gossypium herbaceum*) زمانی که با کمبود فسفر مواجه است دو ناقل GhPHT1;4 وGhPHT1;5 از طریق تنظیم افزایشی بیان ژن، جذب بیشتر فسفر را سبب می‌شوند (Liu et al., 2023).

علاوه بر ناقل‌های PHT اشاره شده در بالا، ناقل‌های خانواده پروتئین حاوی دامنه SPX ، SYG1 و SPDT نیز در جذب، انتقال و هموستاز فسفر شرکت دارند. SPDT[۲۷]ناقلی است که اولین بار در برنج مشاهده شد (Yamaji et al., 2017). اختلال در وظایف این ناقل سبب کمبود فسفر در دانه برنج ولی افزایش آن در برگ می‌شود (Yang et al., 2024). ناقل‌های خانواده SPX دارای چندین زیر خانواده می‌باشند و وظایف متعددی نظیر جذب، انتقال، ذخیره فسفر را بعهده دارد. علاوه بر این، پیام‌دهی وضعیت فسفر گیاه را نیز بعهده دارد. توضیحات بیشتری در خصوص وظایف این ناقل‌ها و نیز SYG1 در قسمت های بعدی ارائه می‌شود.

ناقل‌های فسفر بر حسب نوعشان می‌توانند فسفر را بدرون اجزاء سلولی[۲۸] و یا به خارج از آن[۲۹] انتقال دهند. فسفات۱ (PHO1) به عنوان یک ناقل بیرون دهنده فسفر[۳۰] که واسطه جابجایی فسفر ریشه به ساقه است، شناخته شده است (Hamburger et al., 2002). در سال ۲۰۱۷، گروه

[۲۴] Up-regulation
[۲۵] Phosphorus starvation response
[۲۶] Down-regulation
[۲۷] SULTR-like phosphorus distribution transporter
[۲۸] Influx
[۲۹] Efflux
[۳۰] Phosphorus efflux

دیگری از ناقلین فسفر متعلق به خانواده ناقل‌های سولفات[۳۱] (SULTRs) کشف شد که توزیع فسفر در اندام‌های گیاهی و اختصاص فسفر در دانه (برنج) را کنترل می‌کند (Yamaji et al., 2017). آنها گزارش نمودند که حذف ژن این ناقل سبب تغییر در توزیع فسفر گردید بنحوی غلظت فسفر در دانه کاهش و در برگ‌ها افزایش یافت.

اولین ناقل قارچی فسفر در همزیستی میکوریز آربسکولار، GvPT، در *Glomus versiforme* (نام جدید: *Diversispora versiforme*) توسط Harrison and van Buuren, (1995) گزارش گردید. در این مطالعه، مشخص گردید که این ژن قادر است با کد کردن این ناقل، فسفر را از طریق سیمپورت جفت شده با پروتون (H^+/Pi) منتقل کند. انتقال همزمان H^+/Pi توسط یک ناقل با شدت جذب بالا به فعالیت مناسب آنزیم غشاء پلاسمایی-H^+ ATPase نیاز دارد. پس از آن، ارتولوگ[۳۲] ژن ناقل فسفر *GvPT* نیز در *Rhizophagus irregularis* (GintPT)، *Glomus mosseae* (GmPT) (نام جدید *Funneliformis mosseae*) و *Gigaspora margarita* (GigmPT) شناسایی شد. در این مطالعه، مشخص شد که ژن این ناقل‌ها نه تنها در هیف‌های خارجی قارچ، بلکه در آربسکول‌هایی که جریان فسفر را به سمت سلول گیاهی هدایت می‌کنند نیز بیان می‌شوند (Maldonado-Mendoza et al., 2001; Benedetto et al., 2005). این نشان می‌دهد سازوکار این انتقال نه تنها به غلظت فسفر خاک بلکه به غلظت فسفر گیاه نیز بستگی دارد. Giovannini et al., (2020) در مطالعه با گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار (*Funneliformis mosseae* و *Funneliformis coronatus*) مشاهده نمودند که تنوع ژنتیکی توالی‌های ژن ناقل فسفر PHT1 نه تنها در بین گونه‌ها بلکه در یک گونه متفاوت است و تحت شرایط فقر فسفر تنظیم افزایشی بیان ژن متفاوت می‌باشد. عموم مطالعات انجام شده در این خصوص تنها توسط یک گیاه کلنی شده با یک گونه قارچ میکوریز صورت گرفته شده است. اما چنانچه یک گونه قارچ میکوریز با دو گونه متفاوت گیاه بطور مشترک و همزمان همزیست شود در این صورت ژن(های) دخیل در بیان ژن ناقل *PHT1* چه تفاوتی با حالتی که فقط با یکی از این دو گیاه همزیست شود، خواهد داشت؟ نتایج نشان داد که همزیستی سورگوم (*Sorghum bicolor*) با قارچ *R. irregularis* تحت شرایط فقر فسفر منجر به افزایش بیان ژن ناقل *SbPHT1;5* و نتیجتا جذب بیشتر فسفر می‌شود (Walder et al., 2015). ولی زمانی که این قارچ بطور مشترک با هر دو گیاه سورگوم و کتان (*Linum usitatissimum*) (کشت مخلوط) همزیست شود، این بار به طور متفاوت، ژن ناقل *Lu PHT1;7* القاء و با بیان افزایشی خود جذب فسفر را بیشتر می‌کند (Walder et al., 2015). از این مشاهدات می‌توان چنین نتیجه گرفت که کتان و سورگوم که از طریق هیف‌های خارجی مشترک قارچ *R. irregularis* بهم پیوسته‌اند یک "فنوتیپ منحصر به فرد" را تشکیل می‌دهند که در آن بیان ژن‌های *PHT1* القایی می‌تواند توسط فعل و انفعالات پیچیده بین سه شریک سورگوم، کتان و گونه قارچ میکوریز صورت گیرد.

گیاهان در پاسخ به کمبود فسفر سازوکارهای پیچیده‌ای را برای افزایش جذب فسفر بکار می‌برند که به عنوان پاسخ‌های گرسنگی (فقر) فسفر (PSRs) شناخته شده‌اند. ریشه‌های گیاه می‌توانند در دسترس بودن مواد غذایی خاک را درک و سنجش کنند. از یک دیدگاه، گیاهان در مواجه با کمبود فسفر دو رفتار متفاوت در فنوتیپ و ژنوتیپ از خود نشان می‌دهند. تغییر در فنوتیپ شامل بهینه نمودن ریخت‌شناسی و معماری ریشه (افزایش انشعاب‌بندی و انبوهی ریشه و نیز افزایش فراوانی ریشه‌های مویی) به منظور حداکثر استفاده از فسفر خاک است (Janes et al., 2018). راهکار دیگر ملکولی است و گیاه برای هماهنگ کردن جذب فسفر توسط ریشه و

[۳۱] ناقل‌های خانواده سولفات که در انتقال سولفات از ریشه به برگ‌های گیاه نقش دارند. در این خانواده ۵ زیر خانواده سولفات وجود دارد.

[۳۲] ژن‌هایی که از طریق گونه‌زایی از هم جدا می‌شوند ارتولوگ نامیده می‌شوند.

استفاده بهینه از آن، سنجش و سیگنال‌دهی در دسترس بودن فسفر را بکار می‌برد. سنجش و سیگنال‌دهی فسفر را می‌توان به موضعی و سیستمیک طبقه بندی کرد (Thibaud et al., 2010). زمانی که غلظت فسفر گیاه کم است سیگنال دهی موضعی برای دریافت فسفر خاک توسط بافت مریستمی انتهایی ریشه از طریق اکسیدازهای چند مسی LPR1 و LPR2[۳۳] صورت می‌گیرد (Svistoonoff et al., 2007). در واقع، در غلظت کم فسفر، بیان ژن‌های *LPR1* و پارالوگ[۳۴] آن *LPR2* موجود در انتهای ریشه گیاه سبب افزایش جذب فسفر می‌شود. رمزگذاری این آنزیم‌ها در انتهای ریشه گیاه منجر به رشد بیشتر ریشه‌های جانبی و در پی آن جذب بیشتر فسفر خواهد شد (Sánchez-Calderón et al., 2005; Janes et al., 2018). سیگنال دهی سیستمیک نقش اساسی در بهبود استفاده از فسفر و هموستازی آن در گیاه ایفا می‌کند. همچنانکه خواهیم دید، تعامل بین ریز RNA399 و PHO2نقش اساسی در تنظیم فسفر گیاه دارد. این ریز RNA399 (microRNA399) وابسته به غلظت فسفر به عنوان یک سیگنال دهنده سیستمیک قادر است با مهارکردن بیان ژن *pho2* جذب فسفر و انتقال آن در گیاه را افزایش دهد (Bari et al., 2006; Aung et al., 2006; Chiu et al., 2011). در تائید این نتایج، مطالعات بر روی برنج، گندم و سویا نشان می‌دهد که تحت شرایط کمبود فسفر microRNA399 القا می‌شود و با مهار و غیر فعال نمودن ناقل PHO2 قادر است اثرات تخریبی آنرا بر روی ناقل‌های فسفر از بین برده و به این ترتیب جذب فسفر را افزایش دهد (Wang et al., 2012, Xu et al., 2013; de Souza Campos et al., 2019). نقش تقابلی بین miR399 و PHO2 درحفظ هموستاز فسفر اولین بار در گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* مواجه با کمبود فسفر توصیف گردید. غلظت فسفر در گیاه یک عامل اصلی در کنترل بیان ژن ناقل فسفر است (Nussaume et al., 2011). همانطور که گفته شد زمانی که غلظت فسفر در گیاه کم است، به منظور مقابله با این کمبود، گیاه با تنظیم افزایشی بیان ژن ناقل‌های فسفر مبادرت به جذب بیشر فسفر از خاک می‌نماید که به عنوان پاسخ به فقر فسفر گیاه تلقی می‌شود (Thibaud et al., 2010; Lopez-Obando et al., 20152015; Bulgarelli et al., 2020; Lambers, 2022). معهذا، چگونگی جذب و تنظیم فسفر تحت شرایط فقر فسفر گیاه، زمانی که با قارچ‌های میکوریز همزیست می‌شود، سازوکارهای دیگری را نشان می‌دهد. در این رابطه، نتایج Shi et al., (20121) نشان می‌دهد که وقتی گیاه برنج (*Oryza sativa*) همزیست با *R. irregularis* تحت شرایط کمبود فسفر قرار می‌گیرد، فاکتورهای رونویسی در سیگنال‌دهی فقر فسفر مستقیما سبب افزایش و تنظیم بیان ژن‌های میکوریزی دخیل (*OsRAM1, OsPT11, OsWRI5A, OsAMT3*) می‌شوند و به این ترتیب جذب فسفر افزایش می‌یابد. آنها نتیجه‌گیری نمودند که هردو مسیر جذب مستقیم و غیر مستقیم (جذب میکوریزی) فسفر به گونه‌ای ناشناخته بهم درآمیخته می‌شوند. بر عکس، تحت شرایط زیادی فسفر، پروتئین‌های SPX (حسگر فسفر) با اتصال به پروتئین‌های OsPSR2 (اتصال پروتئین به پروتئین) سبب کاهش بیان ژن‌های اشاره شده در بالا شده و نتیجتا میزان همزیستی میکوریزایی و جذب فسفر کاهش می‌یابد. لذا ملاحظه می‌شود در سیگنال‌دهی سیستمیک در گیاهان میکوریزی، پروتئین‌های PSRs نقش بسیار مهمی در تنظیم و هموستاز فسفر در گیاه دارد. نتایج مشابهی توسط Das et al., (2022) زمانی که برنج (*Oryza sativa* L.) همزیست با قارچ گونه *Rhizophagus irregularis* تحت شرایط کمبود فسفر قرار گرفت نیز گزارش شده است. افزون بر گونه‌های *آرابیدوپسیس* و برنج ، مطالعات مولکولی و

[۳۳] Low Phosphate Root

[۳۴] نسخه یا رونوشت از ژن که عموما دارای وظایف یکسانی هستند و در دو مکان مختلف ژنوم قرار می‌گیرند.

ژنومی وجود تعداد زیادی از اعضای خانواده ژن *SPX* را در گیاهان گندم (*Triticum aestivum*)، سویا (*Glycine max*) و کلزا (*Brassica napus*) نشان داده است که برخی از آنها در سیگنال‌دهی فسفر و هموستاز آن عمل می‌کنند (Liu et al., 2018).

جذب و انتقال فسفر توسط هیف‌های میکوریزی

شبکه گسترده هیف‌های خارجی قارچ‌های میکوریز آربسکولار فسفر معدنی (Pi) محلول خاک را توسط سمپورت‌های H^+/Pi و Na^+/Pi و به ترتیب از طریق آنزیم‌های H^+-ATPases و Na^+-ATPases به طور فعال جذب می‌کنند (Ezawa, Saito, 2018). بخشی از فسفر جذب شده در میتوکندری سلول قارچی در سنتز ATPشرکت می‌کند و بقیه در غشاء واکوئلی (تونوپلاست) توسط کمپلکس‌های پروتئینی به نام شپرون ناقل واکوئولی[۳۵] پلیمرایز و یک زنجیره خطی از پلی‌فسفات با پیوندهای پرانرژی که می‌تواند به تعداد ۳ الی هزاران واحد برسد درون واکوئل تشکیل می‌شود (Ezawa et al., 2002; Kikuchi et al., 2014). در واقع، این کمپلکس به عنوان یک پلیمراز پلی‌فسفات واکوئلی عمل می‌کند که سنتز پلی‌فسفات معدنی را از طریق انتقال فسفات از ATP به زنجیره پلی‌فسفات در حال رشد، کاتالیز می‌کند و ADP را آزاد می‌کند (سنتز زنجیره‌ای از پلی‌فسفات). ذخیره فسفر در واکوئل‌ها بخوبی توسط تشدید مغناطیسی هسته‌ای[۳۶] نشان داده شده است (Rasmussen et al., 2000). میزان پلی‌فسفات در هیف‌های خارجی و داخلی قارچ میکوریز بسیار متغیر و از مقادیر بسیار ناچیز و غیر قابل اندازه‌گیری تا مقادیر زیاد یافت می‌شود. پلی‌فسفات می‌تواند به سرعت سنتز شود، به خصوص وقتی که گیاه با کمبود فسفر مواجه است و فسفر کافی دریافت می‌کند. (Ezawa et al., 2004) با افزایش فسفر به گیاه میکوریزی یک افزایش ۱۹ درصدی را در مدت یک ساعت و افزایش ۵۰ درصدی را در مدت سه ساعت در پلی‌فسفات گیاه میکوریزی گزارش نمودند. شمار متغیری از واحدهای ارتوفسفات که توسط باندهای پر انرژی فسفوانهیدرید بهم متصل شده‌اند پلیمر خطی پلی‌فسفات را بوجود می‌آورند. پلی‌فسفات‌ها توسط گروه‌های مختلف میکروبی از جمله قارچ‌ها ساخته می‌شوند و در اعمالی نظیر ترکیبات ذخیره‌ای، کاهش تنش اسمزی، بافر نمودن غلظت ارتوفسفات سیتوپلاسمی و نیز انتقال فسفر به فضای مشترک همزیستی شرکت دارند (Beever and Burns, 1980; Nguyen, and Saito, 2021). اگر چه تجمع پلی‌فسفات به عنوان یک فرایند ذخیره انرژی است ولی این در قارچ‌های میکوریز آربسکولار با تفاوت‌هایی ممکن است همراه باشد. در این مورد، نتایج Ezawa et al., (2001) نشان داد که در اسپور و هیف‌های داخلی قارچ میکوریز گونه *Claroideoglomus etunicatum* میزان و فعالیت آنزیم هگزوکیناز که ATP را مصرف می‌کند بسیار بیشتر است در مقایسه با آنزیم پلی‌فسفات‌گلوکیناز که در فرایند فسفوریلاسیون با استفاده از پلی‌فسفات ATP را می‌سازد. پلی‌فسفات از هیف‌های خارجی به هیف‌های داخلی منتقل می‌شود و قبل از اینکه در اختیار گیاه میزبان قرار گیرد زنجیره پلی‌فسفات‌ها شکسته و به واحدهای اولیه خود تبدیل می‌شوند. در قارچ‌های میکوریز آربسکولار، آنزیم فسفاتاز قلیایی یک آنزیم کلیدی در تامین اورتوفسفات جهت گیاه میزبان است (Nguyen, and Saito, 2021). نتایج نشان می‌دهد که تحت شرایط فسفر زیاد محلول خاک، ژن آنزیم فسفاتاز قلیایی بیان می‌شود (Olsson et al., 2002; Nguyen, and Saito, 2021) ، این در حالی است که Aono et al., (2004) بر عکس مشاهده نمودند که بیان ژن این آنزیم (به خصوص در هیف‌های داخلی) متاثر از غلظت فسفر خاک و درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریز گونه *Claroideoglomus etunicatum* نمی‌باشد. این مشاهده ممکن است دلالت

[۳۵] Vacuolar transporter Chaperone

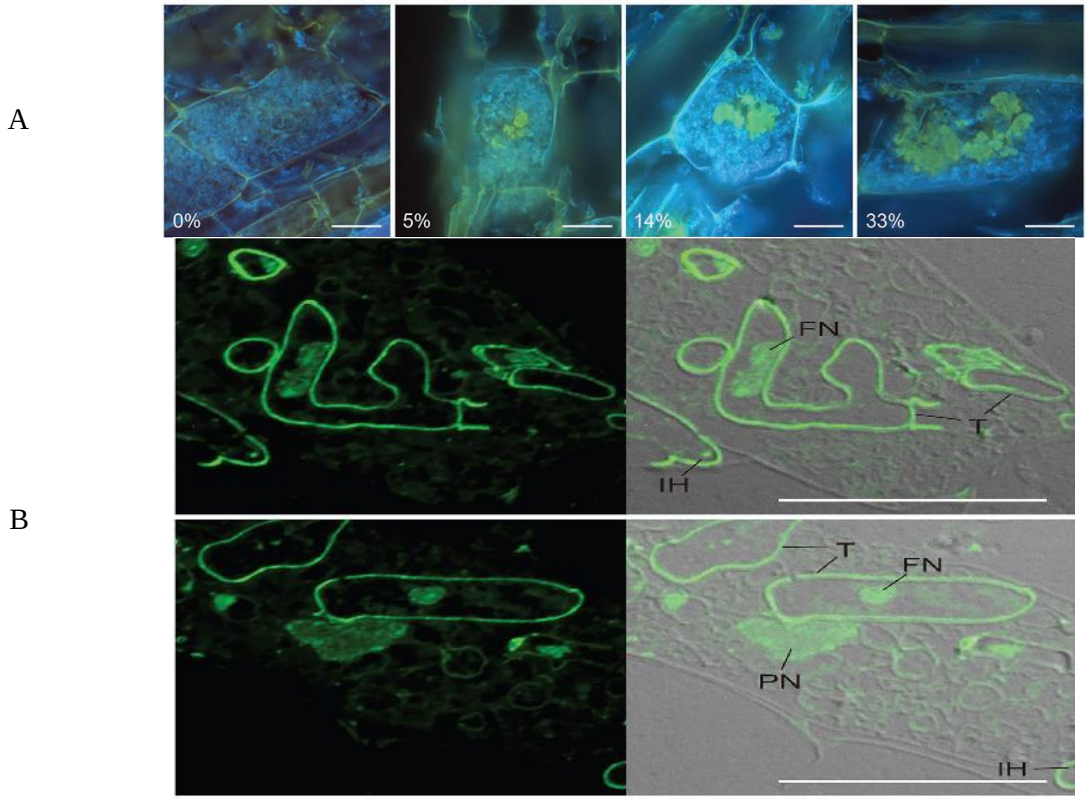
[۳۶] Nuclear magnetic resonance

بر نقش مهم آنزیم فسفاتاز قلیایی در هیف‌داخلی قارچ میکوریز داشته باشد.

متابولیسم پلی‌فسفات‌ها در قارچ‌های میکوریز آربسکولار در پی مشاهدات انجام شده مبنی بر تجمع و شناسایی آنها از طریق رنگ‌آمیزی و یا میکروسکوپ الکترونی و این نظر که پلی‌فسفات نامحلول به صورت گرانول ممکن است به صورت یک جریان سیتولاسمی در مسافت طولانی در هیف‌های قارچ انتقال یابند مورد توجه قرار گرفته‌است (شکل ۲). هر دو روش عصاره‌گیری شیمیایی و تشدید مغناطیسی هسته‌ای نشان می‌دهد که بیشتر پلی‌فسفات‌ها در قارچ‌های میکوریز آربسکولار دارای طول زنجیره نسبتاً کوتاه (تا حدود ۱۷ واحد[۳۷]) می‌باشند و بنابراین به شکل گرانول نمی‌باشند. در تائید این مطلب Takanishi et al., (2009) در مطالعه رابطه بین رشد گیاه و میزان پلی‌فسفات گزارش نمودند که بین میزان پلی‌فسفات با زنجیره کوتاه و رشد گیاه پیاز کلنی شده با قارچ گونه *گلوموس ایچونیکاتوم*[۳۸] (نام جدید *Claroideoglomus etunicatum*) همبستگی قوی وجود دارد، حال آنکه چنین همبستگی بین پلی‌فسفات با زنجیره بلند و رشد گیاه ملاحظه نگردید. نتایج این مطالعه نقش پلی‌فسفات با زنجیره کوتاه در تغذیه فسفری گیاهان میکوریزی را نشان می‌دهد. با وجود این، تحقیقات بیشتر در خصوص تشکیل، ماهیت و چگونگی انتقال و متابولیسم پلی‌فسفات ضروری است.

[۳۷] Mer

[۳۸] *Glomus etunicatum*

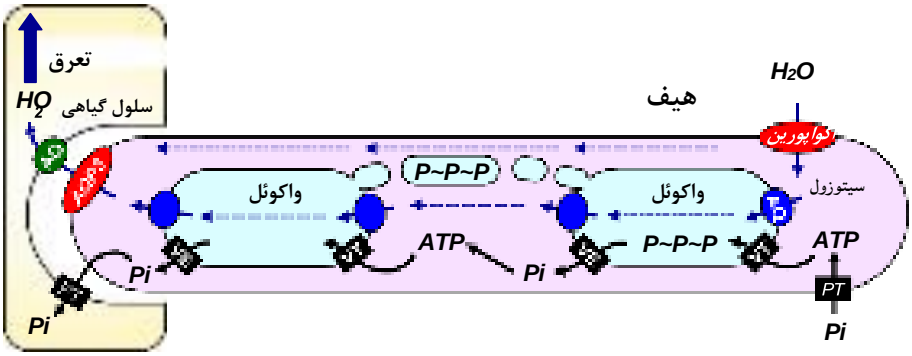


شکل۲ – در تصویر (A) آربسکول‌های بالغ و در حال از بین رفتن در سلول پوست ریشه گیاه ماش ژاپنی (*Lotus japanicus*) همزیست با قارچ *Rhizophagus irregularis* رنگ آمیزی شده با (DPI) 4′,6′-diamidino-2-phenylindole و مشاهده توسط میکروسکوپ اپیفلورسانس. در تصویر (B) زنجیره پلی فسفات به رنگ سبز در اجزاء قارچی: هیف‌های داخلی (IH)، بدنه هیف (T) هسته قارچی (FN) و انشعابات هیفی (FB) دیده می‌شود. میله مقیاس برابر با ۲۰ میکرومتر است (Nguyen and Saito, 2021).

پلی‌فسفات‌ها در طول مسافت طولانی به سمت میزبان جاری می‌شوند. پلی فسفات‌ها از طریق یک جریان سیتوپلاسمی (Kikuchi et al., 2016) و/یا بیشتر در امتداد یک سیستم واکوئلی لوله‌ای متحرک (عمدتا) به طرف شبکه هیف‌های داخلی[۳۹] حرکت می‌کنند (Uetake et al., 2002; Ezewa and Saito, 2018). بارهای منفی پلی فسفات توسط کاتیون‌هایی نظیر Na^+، K^+، Ca^{2+} و Mg^{2+}خنثی می‌شوند (Kikuchi et al. 2014). در طی انتقال طولانی مسافت، پلی‌فسفات به صورت پویا توسط پلی فسفاتازها تجزیه شده و توسط ناقل فسفر واکوئلی (PHO91) وارد سیتوزول می‌شوند (Kikuchi et al., 2014 & 2016). جریان سیتوپلاسمی احتمالاً توسط جریان آب با واسطه منافذ آبی (آکواپورین)[۴۰] موجود در غشاء پلاسمایی وارد واکوئول و سیتوزول می‌شود (شکل۳). آکواپورین‌ها دسته‌ای خاص از پروتئین‌های غشایی هستند که قادرند مولکول‌های آب را از ساختار خود در غشاء عبور دهند. به‌همین دلیل به آنها منافذ آبی نیز گفته می‌شوند (شکل ۴). بعضی از این منافذ علاوه بر آب قادرند مولکول‌های آلی کوچک را نیز از خود عبور دهند. آکواپورین‌ها دارای انواع گوناگونی می‌باشند و لذا تاثیر آنها در میزان انتقال آب و تنظیم فشار تورگور (اسموتیک) سلول همچنان که خواهیم دید متفاوت است. آکواپورین‌ها توسط ژن‌های مختلفی کد می‌شوند.

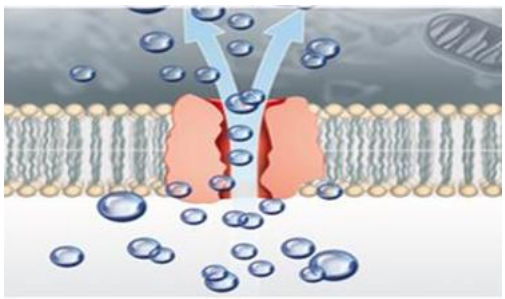
[۳۹] Intraradical hyphae

[۴۰] Aquaporine



شکل۳- مدل شماتیک انتقال پلی‌فسفات از طریق شبکه هیف‌های قارچ میکوریزا آربوسکولار به سمت ریشه گیاه میزبان (با تغییراتی از Kikuchi et al., 2016). در این شکل، منافذ آبی (آکواپورین‌ها، AQ) به شکل‌های دایره قرمز (روی غشاء پلاسمایی قارچ)، دایره آبی (روی غشاء واکوئلی قارچ) و دایر سبز (روی غشاء پری‌آربسکولار) نشان داده شده است. تعرق سلول‌های گیاه اختلاف پتانسیل آبی برای حرکت پلی‌فسفات را به طرف ریشه گیاه میزبان با وساطت آکواپورین‌ها فراهم می‌نماید.

به‌عنوان مثال در گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* حدود ۳۸ ژن کد کننده انواع آکواپورین‌ها وجود دارد. آکواپورین‌های قارچی به سه گروه تقسیم می‌شوند (نهلز و دایتز، ۲۰۱۴): آکواپورین‌های اورتودکس[41]، آکواگلیسروپورین‌ها[42] و پروتئینهای اینترینسیک[43]. به عنوان مثال در قارچ میکوریز گونه *Rhizophagus irregularis* آکواگلیسیروپورین نقش فعال‌تری را نسبت به دو نوع دیگر آکواپورین در انتقال آب ایفا می‌کند (Aroca et al., 2009; Li et al., 2013). تعرق گیاه میزبان در انتقال و جابجایی پلی‌فسفات نقش بسیار مهمی را بازی می‌کند.

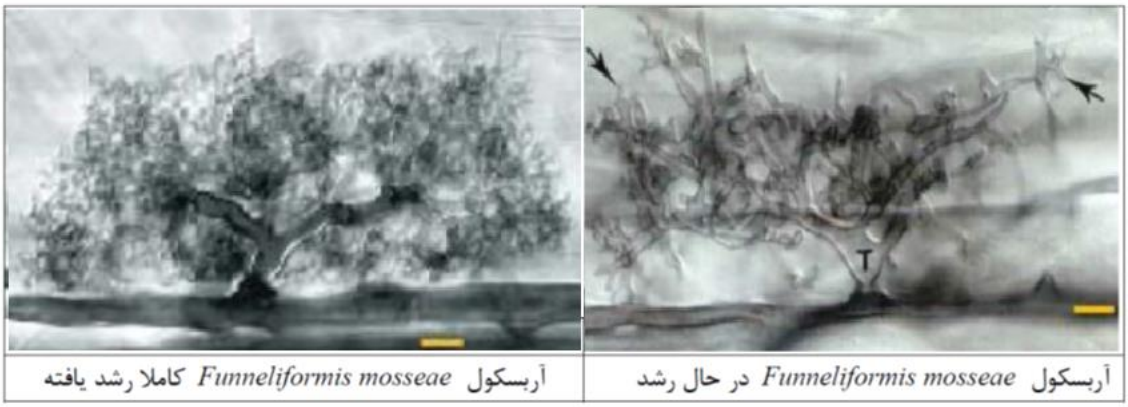


شکل۴ - عبور ملکول‌های آب از یک آکواپورین موجود در غشاء پلاسمایی هیف

از چهار دهه پیش، اولین بار کوپر و تینکر (۱۹۸۱) نشان دادند که اختلال در تعرق گیاه شبدر سفید توسط قارچ میکوریز گونه *F. mosseae* باعث کاهش انتقال پلی‌فسفات به ریشه گیاه می‌شود. اخیرا Kikuchi et al.(2016) با استفاده از یک سیستم گلدانی دو قسمتی و بکار بردن مش ۳۷ میکرونی قسمت هیف‌های قارچی را از قسمت ریشه-هیف جدا نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد زمانی که دو گیاه *Lotus japonicus* L. (آهو ماش ژاپنی) و *Nicotiana benthamiana* (گیاهی از تیره بادنجانیان) توسط قارچ میکوریز گونه *Rhizophagus clarus* تلقیح

[41] Orthodox
[42] Aquaglyceroporins
[43] intrinsic proteins

گردیدند و میزان تعرق این گیاهان توسط اسید آبسسیک کاهش یا متوقف گردید، میزان انتقال پلی‌فسفات به شدت کاهش یافت (Kikuchi et al, 2016). این کاهش در میزان تعرق مترادف با کاهش بیان ژنهای آکواپورین‌های قارچی ۱ تا ۳ (*RcAQP1–3*) بود. ضمنا این کاهش در بیان ژن، با کاهش سطح ATP همراه نبود که تلویحا نشانگر آنست که این انتقال وابسته به انرژی نیست و احتمالا بر اساس جریان توده‌ای صورت می‌گیرد. این یافته‌ها که تعرق میزبان در جابجایی پلی‌فسفات در قارچ‌ها دخیل است، پیامدهای مهمی برای درک سازوکارهای تنظیمی تبادل مواد غذایی بین میزبان و قارچ دارد. هر چند با توجه به نتایج ارائه شده در بالا، این فرضیه بیشتر تقویت می‌شود که تعرق نیروی محرکه اصلی برای انتقال طولانی مسافت پلی‌فسفات در هیف‌های میکوریزی می‌باشد، با وجود این، بعضی از پژوهشگران پیشنهاد نموده‌اند که توان منبع کربن گیاهی تا حد زیادی انتقال قارچی فسفات را تنظیم می‌کند (Kiers et al., 2011; Fellbaum et al., 2014). این در حالی است که Walder et al., (2015) پیشنهاد می‌کنند که نه تنها توان منبع کربن بلکه سایر عوامل ناشناخته نیز در انتقال قارچی فسفر دخیل هستند. لذا به منظور درک درست از سازوکار و انتقال قارچی فسفر و شناخت کلیه عوامل دخیل در این انتقال لازم است تا مطالعات بیشتری صورت گیرد. پلی‌فسفات‌ها پس از طی مسافت و رسیدن به هیف‌های داخلی وارد آربسکول‌ها میشوند. به مجموع سلول ریشه گیاه میزبان و آربسکول رشد کرده در آن اصطلاحا " قلب همزیستی" گویند، جایی که تبادل مواد غذایی بین دو همزیست در آن صورت می‌گیرد (شکل ۵).



شکل۵ - آربسکول در حال رشد (سمت راست) و کاملا رشد کرده (سمت چپ) قارچ میکوریزا آربسکولار *Funneliformis mosseae* در سلول پوست ریشه تره فرنگی (*Allium porrum* L.). میله‌ی مقیاس، با رنگ زرد در تصویر فوق برابر با ۱۰ میکرومتر است (Brundrett et al. 1984).

اینکه فسفر چگونه و با چه سازوکار مولکولی به گیاه میزبان تحویل داده می‌شود به درستی شناخته نشده است. با وجود این، سه مسیر فرضی برای تحویل فسفر به گیاه پیشنهاد شده است (Ezawa et al., 2002; Kikuchi et al., 2014; Nguyen et al., 2022) ۱- فسفر حاصل از هیدرولیز پلی‌فسفات در واکوئل توسط ناقل PHO91 موجود در تونوپلاست (غشاء واکوئلی) به بیرون از واکوئل و به سیتوزول آربسکول وارد می‌شود. سپس فسفر با وساطت ذرات گلژی آربسکول به آپوپلاست میانی موجود بین غشاء پری‌آربسکول و غشاء پلاسمایی سلول (فضای مشترک همزیستی[۴۴]) گیاه رها می‌شود و به این ترتیب فسفر در اختیار گیاه میزبان قرار می‌گیرد. ۲- فسفر آزاد (خارج)

[۴۴] Symbiosis interface

شده از واکوئل آربسکول توسط پروتئن‌ها SYG1[۴۵] روی غشای پلاسمایی قارچ بدون دخالت اندامک‌های گلژی به آپوپلاست میانی انتقال می‌یابد. ۳- پلی‌فسفات موجود در واکوئل آربسکول مستقیما و از طریق کمپلکس ناقل‌های واکوئلی به آپوپلاست میانی تحویل داده می‌شود. در این حالت گیاه پلی‌فسفات را هیدرولیز و فسفر حاصل را جذب می‌نماید. در شکل ۴ انتقال پلی‌فسفات از طریق هیف‌های قارچی و تحویل آن به سلول گیاه با برجسته شدن منافذ آکواپرین در غشاء واکوئلی و سلولی هیف نشان داده شده است.

مسیر جذب و انتقال فسفر در گیاهان میکوریزی

جذب و انتقال فسفر در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار از دو مسیر متفاوت، یکی به صورت مستقیم و از طریق ریشه گیاه و دیگری به صورت غیر مستقیم و از طریق هیف‌های خارجی قارچ صورت می‌گیرد (Chiu and Paszkowski, 2019). این دو مسیر به شیوه‌ای پیچیده و بعضا ناشناخته در برهمکنش با یکدیگر می‌باشند (Shi et al., 2021). سهم این دو مسیر در تامین فسفر بسته به نوع گیاه، قارچ و نیز شرایط خاک بسیار متفاوت است. رویکردهای فیزیولوژیک با استفاده از فسفر نشاندار برای ردیابی سهم نسبی مسیرهای مستقیم و قارچی در تغذیه فسفری گیاه نشان می‌دهد که سهم مسیر قارچی از میزان نا چیز تا تقریباً تمام فسفر گیاهی متفاوت است و جذب فسفر از طریق مسیر قارچی سهم مسیر مستقیم ریشه را کاهش می‌دهد (Smith et al., 2003; Smith and Smith, 2011). در یک مطالعه دیگر (Jakobsen et al., 1992) با استفاده از فسفر نشاندار (^{32}P و ^{33}P) و سیستم گلدانی چند قسمتی و تور نایلونی ۲۵ میکرونی بخش رشد هیف‌ها را از قسمت رشد ریشه گیاه شبدر جدا نمودند. آنها مشاهده نمودند که در یک دروه رشد ۲۸ روزه، هیف‌های هر سه گونه قارچ میکوریز آربسکولار شامل *Acaulospora laevis*، *Glomus sp* و *Scutellospora calospora* میزان جذب فسفر خیلی بیشتری نسبت به ریشه‌های شبدر داشتند. در این مطالعه همچنین مشخص گردید که در بین این سه گونه قارچ میکوریز، گونه *Acaulospora laevis* به دلیل توانایی بیشتر انتشار هیف‌های آن در خاک، میزان جذب فسفر بیشتری نسبت به دو گونه دیگر داشت. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که میزان جذب فسفر توسط قارچ گونه *Acaulospora laevis* نزدیک به ۸ برابر بیشتر از جذب فسفر توسط ریشه گیاه شبدر بود. در یک مطالعه دیگر (Gronlud et al., 2013)، با استفاده از رادیو ایزوتوپ‌های فسفر (^{32}P و ^{33}P) مشاهده نمودند زمانی که بیان ژن ناقل فسفر *PsPT4* در نخود فرنگی (*Pisum sativum*) کلنی شده با قارچ گونه *رایزوفیگوس اینترارادیسس* خاموش گردید، انتقال فسفر از مسیر قارچی بشدت کاهش یافت و در عوض انتقال فسفر از طریق مستقیم (گیاه) شدت گرفت که نشان دهنده نقش انتقال فسفر از مسیر قارچی است و تائیدی است بر نتایج قبلی (Smith et al., 2003). در تائید این نتایج، همچنین گزارش شده است که جذب فسفر در یونجه میکوریزی تنها از طریق غیر مستقیم (جذب قارچی) صورت می‌گیرد (Chiu et al., 2011). آنها عدم جذب فسفر از طریق مستقیم (جذب توسط گیاه) را خاموشی بیان ژن‌های ناقل فسفر در ریشه گیاه در پاسخ به کلونیزاسیون قارچی دانستند. با وجود این، در مواردی مشاهده می‌شود علی‌رغم فعال بودن مسیر جذب قارچی و کلونیزاسیون قارچی صورت گرفته، ولی گیاه هیچ پاسخی از نقطه نظر رشد و جذب فسفر از خود نشان نمی‌دهد (عدم اختلاف معنی دار بین میزان رشد و جذب فسفر گیاه میکوریزی و گیاه شاهد). بنابراین، جذب فسفر قارچی فقط یک افزودن

---

[۴۵] SYG-1 و SYG-2 زیرمجموعه‌ای از پروتئین‌های سطح سلولی هستند که در پیوند سلول به سلول یا با ماتریکس خارج سلولی (ECM) در فرآیندی به نام چسبندگی سلولی نقش دارند.

ساده به جذب مستقیم فسفر نیست و سهم مسیر قارچی را نمی توان با کم کردن فسفر کل در گیاهان غیر میکوریزی از کل فسفر در گیاهان میکوریزی که در شرایط مشابه رشد می‌کنند تعیین کرد. بعضی از محققین عنوان نموده‌اند که این دو مسیر دارای عملکردهای همپوشانی و مکمل مکانی-زمانی در جذب و انتقال فسفر می‌باشند (Nussaume et al., 2011; Gu et al., 2014). Shy et al. (2021) در همزیستی برنج (*Oryza sativa*) و قارچ میکوریز گونه *Rhizophgus irregularis* مشاهده نمودند که یک شبکه به هم پیوسته از ژن‌های دخیل در جذب فسفر، بیان ژن میکوریزایی PSR را به گونه‌ای تنظیم می‌کنند که طی آن مسیر غیرمستقیم جذب فسفر میکوریزی با مسیر جذب مستقیم فسفر بهم مرتبط می‌شوند. بر این اساس، شاید تفکیک این دو مسیر انتقال فسفر از یکدیگر در گیاهان میکوریزی به واسطه عوامل متفاوت دخیل و نیز برهم‌کنش‌های پیچیده آن‌ها کار ساده‌ای نباشد. نتایج مطالعات فیزیولوژیک انجام شده نیز نشان می‌دهد که فراوانی هیف‌های خارجی در مقایسه با درصد کلونیزاسیون همبستگی بیشتری را در انتقال فسفر از مسیر قارچی نشان می‌دهد (یااو و همکاران، ۲۰۰۱، مونکولد و همکاران، ۲۰۰۴). علاوه بر درصد کلونیزاسیون قارچی و مجموع طول هیف‌های خارجی قارچ میکوریز، غلظت فسفر نیز در تعیین سهم مسیر مستقیم و غیر مستقیم بسیار مهم است. در غلظت بالای فسفر، بیان ژن‌های ناقل فسفر در مسیر غیر مستقیم (جذب میکوریزی) به شدت مهار و سهم این مسیر به مقدار قابل توجهی کاهش می‌یابد. لذا این "پنهان" بودن مسیر انتقال قارچی سوال برانگیز و بسیار قابل تامل است. این مشاهدات به خوبی نشان می‌دهد که به تحقیقات بیشتری در این زمینه، به ویژه در مورد برهمکنش بین مسیر قارچی و مسیر مستقیم توسط گیاه در هر دو سطح مولکولی و فیزیولوژیک نیاز است.

جذب و انتقال فسفر تحت تاثیر سازوکار تشکیل و تنظیم آربسکول در برهمکنش با پروتئین‌های DELLA در همزیستی میکوریزی

بر حسب میزان فسفر گیاه میکوریزی، یک واحد متشکل از دو جزء پروتئین‌های DELLA[۴۶] و اسید جیبرلیک قادر است طی فرایندهای پیچیده سطح تشکیل آربسکول را درون سلول‌های پوست ریشه گیاه میزبان تنظیم کند (Floss et al., 2013). زمانی که غلظت فسفر در گیاه میکوریزی کم باشد ژن‌های پروتئین‌های DELLA بیان شده و سطوح رونوشت سازی آن افزایش می‌یابد و این منجر به افزایش تشکیل آربسکول و هیف‌های داخلی قارچ از طریق فعال کردن فاکتورهای رونویسی ناشناخته می‌شود. افزایش سطح آربسکول و انتقال همزیستی فسفر منجر به افزایش سطح فسفر در گیاه می‌شود. زمانی که فسفر گیاه بیش از نیاز افزایش یابد، ژن‌های دخیل در بیوسنتز اسید جیبرلیک القاء و فعال شده و به این ترتیب سطح اسید جیبرلیک افزایش می‌یابد و این منجر به تخریب پروتئین DELLA می‌شود (Gomez et al., 2009). کاهش در میزان پروتئین‌های DELLA تشکیل آربسکول را به حداقل می‌رساند (Floss et al., 2013). لذا ملاحظه می‌شود که سطح فسفر گیاه و توسعه آربسکول مستلزم یک تعامل پیچیده و سازماندهی شده بین دو همزیست است. هر چند در این سازوکار، چندین مؤلفه از مسیر شناسایی شده‌اند، اما بسیاری از تنظیم‌کننده‌های این فرایندها هنوز ناشناخته هستند.

[۴۶] پروتئین DELLA یک تنظیم کننده منفی سیگنال دهی اسید جیبرلیک و متشکل از اسید امینه‌های اسید آسپارتیک، اسید گلوتامیک، لوسین و آلانین می‌باشد.

تاثیر منفی افزایش فسفر بر مولفه‌های همزیستی قارچ‌های میکوریزا آربسکولار

مدت‌هاست که تاثیر منفی سطوح بالای فسفر بر توسعه کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربسکولار نشان داده شده است (Nadian et al., 1996; Breuillin et al., 2010; Balzergue et al., 2011; Todeschini et al., 2022)، هر چند ارائه نتایج مختلف نشان می‌دهد که سازوکار این تاثیر به درستی شناخته نشده است. بسته به وضعیت تغذیه‌ای فسفر گیاه (فقر و یا زیادی فسفر)، گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار پاسخ‌های متفاوتی را نسبت به سطوح مختلف فسفر از خود نشان می‌دهند. افزودن فسفر به گیاه همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار چه به صورت محلول پاشی شاخ و برگی (Sanders et al., 1975) و چه به صورت تامین فسفر برای ریشه (Nadian et al., 1996) کاهش کلونیزاسیون در کل سیستم ریشه گیاه را بدنبال دارد. در شرایط مصرف فسفر زیاد، تغییرات بالقوه در فعالیت‌های متابولیکی و سیگنال‌دهی همزیستی با استفاده از رویکردهای مولکولی مورد مطالعه قرار گرفته است (Breuillin et al., 2010; Balzergue et al., 2011&2013). آنها نشان دادند که در شرایط وجود میزان فسفر زیاد، ریشه‌های گل اطلسی، کلنی شده با قارچ‌های میکوریز، مجموعه‌ای مشابه از ژن‌های مرتبط با همزیستی مانند آنچه در ریشه‌های برنج و یونجه میکوریزی دیده شد بیان می‌شوند. در واقع، فسفر به طور سیستماتیک برای سرکوب بیان ژن همزیستی و کلونیزاسیون میکوریزی در ریشه عمل می‌کند. در ریشه‌های کلنی شده، فسفر زیاد بیان ژن همزیست را به سرعت مهار می‌کند، در حالی که مهار کلونیزاسیون با تاخیر بیش از یک هفته دنبال شد. روی هم رفته، این نتایج نشان می‌دهد که سطح فسفر زیاد با مهار ژن‌های همزیستی ضروری، به‌ویژه ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بیوسنتز کاروتنوئید و استریگولاکتون و ناقل‌های فسفر در گیاه میکوریزی، عمل می‌کنند. در اینجا نقش این اثرات در مهار همزیستی تحت شرایط فسفر بالا بیشتر مورد بحث قرار می‌گیرد. نتایج مطالعات انجام شده رویکردی را نشان می‌دهد که در آن سطح فسفر یک سیگنال متحرک تولید می‌کند که به سمت ریشه حرکت می‌کند تا فیزیولوژی ریشه را تغییر دهد و بنابراین، میزان کلونیزاسیون ریشه را تنظیم کند. در ساده ترین استدلال برای این مشاهدات می‌توان گفت مهار قارچ توسط سطوح بالای فسفر به عنوان یک سازوکار مبتنی بر صرفه جویی در انرژی گیاه برای محدود کردن انتقال کربن به قارچ می‌باشد. ولی باید این راه هم اشاره نمود که همیشه افزایش فسفر منجر به کاهش یا توقف کلونیزاسیون ریشه نمی‌شود (Souza Buzo et al., 2023). در این خصوص گزارش شده است که علیرغم بالا بودن فسفر، کلونیزاسیون کافی ریشه صورت گرفته شده است، با این حال، مهار مسیر جذب فسفر میکوریزی به دلیل کاهش بیان ژن‌های ناقل فسفر دخیل، به شدت کاهش یافته است (Drissner et al., 2007; Nagy et al., 2009). این نشان میدهد تنظیم انتقال همزیستی فسفر به مقدار قابل توجهی توسط گیاه میزبان کنترل می‌شود. گزارشات دیگری وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش فسفر خاک تأثیر کمی بر جوانه زنی اسپور و رشد هیف‌های خارجی قارچ دارد ولی کلونیزاسیون ریشه گیاه را به شدت کاهش می‌دهد که نشان می‌دهد انتقال فسفر عمدتا توسط گیاه میزبان کنترل می‌شود (Tawaraya et al., 1996). از طرفی، نتایج اعلام شده (Balzergue et al., 2011)، نشان می‌دهد که افزایش فسفر سبب کاهش شدید یا توقف ترشح استریگولاکتون توسط گیاه می‌شود. با توجه به اینکه استریگولاکتون‌ها، فیتوهورمون‌هایی هستند که رشد قارچ و متابولیسم پیش‌همزیستی را تحریک و ایجاد می‌نمایند، لذا نقش کلیدی در تنظیم و توسعه میکوریز آربسکولار را بعهده دارند. در این مطالعه افزایش فسفر در بالاترین سطح

(۷۵۰ میکرومولار) از تشکیل هیفوپودیا[۴۷] جلوگیری نمود که منجر به عدم کلونیزاسیون ریشه گردید. با افزایش دستی استریگولاکتون در تیمار افزایش فسفر، رشد قارچی و کلنیزاسیون ریشه صورت نگرفت (Balzergue et al., 2011). این مشاهدات سهم استریگولاکتون‌ها را در تنظیم همزیستی قارچ‌های میکوریزا توسط فسفات رد نمی‌کند، اما نشان می دهد که آنها تنها عامل دخیل نیستند و عوامل دیگری که بعضا ناشناخته هستند در این رویداد شرکت دارند. ارائه نتایج دیگر نشان می‌دهد که تحت غلظت زیاد فسفر خاک بسیاری از ژن‌های همزیستی ضروری، به‌ویژه ژن‌های کدکننده استریگولاکتون و ناقل‌های فسفات دخیل در همزیستی مهار می‌شوند (Breuillin et al., 2010). به منظور درک بیشتر از چگونگی تاثیر منفی غلظت زیاد فسفر بر پاسخ‌های گیاه همزیست با قارچ‌های میکوریز آربسکولار مطالعات ملکولی زیادی صورت گرفته شده است. نتایج مطالعات ملکولی سازوکار مهار همزیستی میکوریز آربسکولار تحت شرایط فسفر زیاد در گیاهان را نشان می‌دهد که دو جزء سیگنال‌دهی فسفر، SPX و PSR، یک ماژول سنجش فسفر[۴۸] را برای هماهنگی همزیستی در شرایط مختلف فسفر تشکیل می‌دهند (Liao et al., 2022) چندین پروتئین PSR را می‌توان در سلول‌های حاوی آربسکول فعال کرد تا بیان ژن‌های ضروری برای همزیستی قارچ‌های میکوریز آربسکولار را تقویت کند. بیان ژن پروتئین‌های *SPX* به عنوان مهار کننده اصلی عمل می‌کند و PSR را از طریق اتصال فیزیکی به آن در پاسخ به سطوح بالای فسفر مهار می‌کند. بنابراین، دو جزء SPX-PSR نشان دهنده ادغام سیگنال دهی فسفر و همزیستی قارچ‌های میکوریز آربسکولار است. در مقابل، تحت شرایط کمبود فسفر در گیاه میزبان، رویکردهای متفاوتی جهت بهبود تغذیه فسفری گیاه صورت می‌گیرد. گیاهان جهت مقابله با کمبود فسفر، سازوکارهای متعددی نظیرافزایش نسبت ریشه به اندام هوایی، تغییر معماری و ساختار ریشه، افزایش انبوهی ریشه‌های مویی، افزایش شدت جذب فسفر، برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریز، افزایش حلالیت ترکیبات فسفری خاک از طریق ترشح بیشتر اسیدهای آلی و آنزیمی، را بکار می‌برند. گیاهان نیز از طریق تغییر فرایندهای متابولیکی نظیر باز محلول نمودن فسفر از ترکیباتی نظیر نکلئوتیدها و یا تعویض فسفولیپیدها توسط سولفو یا گالاکتولیپیدها به تنظیم سطح بهینه فسفر و هموستازی آن اقدام می‌کنند. رویکردهای تنظیم ملکولی که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است، نشان می‌دهد که وجود گونه‌های microRNA399 (miR399) در شیره آوندهای آبکش گیاه نقش سیگنال‌دهی بالقوه را با تنظیم بیان ژن از راه دور به عهده دارد. در واقع، اعضای خانواده miR399، بازیگران کلیدی در سیگنال‌دهی سیستمیک فقر فسفر (Pant et al., 2008) می‌باشند که به‌عنوان مولکول‌های سیگنال‌دهنده در تنظیم همزیستی توسط فسفر پیشنهاد شده‌اند. در تائید این مشاهدات، افزایش بیان برخی از اعضای خانواده miR399 در برگ‌های گیاهان میکوریزی مشاهده شده است (Branscheid et al., 2008; Gu et al., 2014). لذا چنین نتیجه گیری می‌شود که افزایش بیان ژن miR399 برای بالا نگه داشتن پاسخ‌های فقر فسفر لازم است تا امکان کلونیزاسیون پیوسته وجود داشته باشد.

---

[۴۷] هیف‌های خارجی قارچ میکوریز در نقطه ورود به داخل ریشه گیاه میزبان برآمدگی‌هایی ناشی از چسبیدن دیواره سلولی قارچ به دیواره سلول اپیدرمی ریشه گیاه میزبان ایجاد می‌کنند که به آن (Hyphopodium) گفته می‌شود و مشابه Appressorium می‌باشند.

[۴۸] Pi-sensing

نتیجه گیری

قارچ‌های میکوریز از اجزاء مهم و ضروری اکوسیستم‌ها هستند. این قارچ‌ها با برقراری روابط گوناگون با گیاهان و جامعه میکروبی به تنوع زیستی و بهره وری اکوسیستم‌ها کمک می‌کنند. آنها همچنین با تشدید تثبیت دی اکسید کربن اتمسفر توسط گیاه میزبان، ضمن افزایش کربن آلی خاک قادرند در چرخه جهانی کربن شرکت کنند و به نوعی در کنترل افزایش دمای جهانی کره زمین مشارکت کنند. در طول سال‌های گذشته، با بکارگیری زیست‌فن‌آوری‌های بهبود یافته و استفاده از تکنیک‌های آن در مطالعات میکوریزی نتایج و اطلاعات زیربنایی بسیار خوبی در خصوص جذب و انتقال فسفر توسط هیف‌های خارجی و داخلی قارچ‌های میکوریز بدست آمده است. طی این مطالعات تعدادی از ناقل‌های گیاهی و ناقل‌های خاص میکوریزی که در جذب و انتقال فسفر دخالت دارند شناسایی شده‌اند. این ناقل‌ها نه تنها برای انتقال همزیستی فسفر بلکه برای حفظ همزیستی نیز مورد نیاز می‌باشند. سازوکارجذب و انتقال فسفر و چگونگی تعامل این ناقل‌ها در قارچ میکوریز و گیاه میزبان بسیار پیچیده است. این پیچیدگی به خصوص زمانی بیشتر می‌شود که عوامل متعدد دیگری همزمان در این سازو کارها وارد می‌شوند. بهمین دلیل است که بعضی از نتایج گزارش شده در تضاد با یکدیگر هستند و یا گاها در بحث نتایج بدست آمده از گمانه‌زنی‌ها و مفروضات استفاده می‌شود. هرچند درک ما از چگونگی جذب فسفر و انتقال آن تا حدودی افزایش یافته است ولی کماکان بسیاری از ساز و کارهای جذب و انتقال فسفر، چگونگی تعامل بین مسیرهای مستقیم و میکوریزی جذب فسفر و همچنین ناقل‌های احتمالی دخیل دیگر در جذب و انتقال فسفر هنوز ناشناخته باقی مانده‌اند. اکنون ما به خوبی می‌دانیم که اساس همزیستی بین گیاه و قارچ میکوریزا تبادل مواد غذایی بین این دو همزیست است. اما نسبت C/P توسط کدام سیستم هوشمند گیاه، قارچ و یا مشترکا (با برتری کدامیک) کنترل می‌شود؟ آیا جذب فسفر توسط قارچ و انتقال آن به گیاه میتواند همراه با جذب لوکس باشد؟ در اینصورت هزینه تحمیلی به گیاه ناشی از انتقال کربن بیشتر به گیاه چگونه توجیه می‌شود؟ در واحد یا قلب همزیستی چگونه تبادل مواد غذایی دقیقا صورت می‌گیرد. به دلیل عدم درک کامل از چگونگی واگذاری فسفر به گیاه میزبان و آنزیم‌های دخیل، سه مسیر فرضی همراه با ناقل‌های احتمالی دخیل، همچنانکه قبلا به آنها اشاره گردید، پیشنهاد شده است. در واقع، پیچیدگی‌های این همزیستی کار درک این ساز و کارها را مشکل نموده است. بدون شک انجام مطالعات بیشتر فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و به ویژه زیست ملکولی می‌تواند بسیاری از زوایای پنهان این سازوکارها را روشن نماید. درک کامل ما از همه ابعاد مختلف این همزیستی می‌تواند منجر به افزایش بهینه کاربرد قارچهای میکوریز آربسکولار جهت توسعه سیستم‌های کشاورزی پایدار شود.

Reference

1. Akiyama, K., Matsuzaki, K.I. and Hayashi, H., 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi, Nature, 435(9), pp.824–827, https://doi 10.1038/nature03608.
2. Akiyama, K. and Hayashi, H., 2006. Strigolactones: chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. Annals Botany, 97(6), pp.925–931, https://doi 10.1093/aob/mcl063.
3. Aono, T., Maldonado-Mendoza, I.E., Dewbre, G.R., Harrison, M. J. and Saito, M., 2004. Expression of alkaline phosphatase genes in arbuscular mycorrhizas. New Phytologist, 162(2), pp.525–534, https://doi org/10.1111/j.1469-8137. 2004. 01041.x.
4. Aroca, R., Bago, A., Sutka, M., Paz, J.A., Cano, C., Amodeo, G. and Ruiz-Lozano, J.M., 2009. Expression analysis of the first arbuscular mycorrhizal fungi aquaporin described reveals concerted gene expression between salt-stressed and non-stressed mycelium. Molecular Plant–Microbe Interactions, 22(9), pp.1169–1178, https://doi.org/10.1094/MPMI-22-9-1169.
5. Asazadeh, K., Nadian, H., Siapoush, A., Keshvarz. T., 1400. The effect of plant growth stimulating rhizospheric bacteria and filter cake on the growth and concentration of nutrients in spinach in interaction with herbicide. journal of Water and Soil, The University of Ferdousi, 35(4), pp. 583-597 (In Persian).
6. Aung, K., Lin, S.I., Wu, C.C., Huang, Y.T., Su, C.L. and Chiou, T.J., 2006. Pho2, a phosphate over accumulator, is caused by a nonsense mutation in a microRNA399 target gene. Plant Physiology, 141(3), pp.1000–1011. https://doi.org/10.1104/pp.106.078063.
7. Ayadi, A., David, P., Arrighi, J.F., Chiarenza, S., Thibaud, M.C., Nussaume, L., and Marin, E., 2015. Reducing the genetic redundancy of Arabidopsis PHT1 transporters to study phosphate uptake and signaling. Plant Physiology, 167(4), pp.1511–1526. https://doi.10.1104/pp.114.252338.
8. Balzergue, C., Puech-Pagès, V., Bécard, G. and Rochange, S.F., 2011. The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signalling events, Journal of Experimental Botany, 62, pp.1049–1060, https://doi.10.1093/jxb/erq335.
9. Balzergue, C., Chabaud, M., Barker, D.G., Becard, G. and Rochange, S.F. 2013. High phosphate reduces host ability to develop arbuscular mycorrhizal symbiosis without affecting root calcium spiking responses to the fungus. Science, 4, pp.426. Published online, https://doi. 10.3389/fpls.2013.00426.
10. Bari, R., Pant, B.D., Stitt, M. and Scheible, W.R., 2006: PHO2, microRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants. Plant Physiology, 141(3), pp.988–999. https://doi.org/10.1104/pp.106.079707.
11. Beever, R.E. and Burns, D.J.W., 1980. Phosphorus uptake, storage and utilisation by fungi. Advances in Botanical Research, 8, pp.127–219, https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60034-8.
12. Benedetto, A., Magurno, F., Bonfante, P. and Lanfranco, L., 2005. Expression profiles of a phosphate transporter gene (GmosPT) from the endomycorrhizal fungus Glomus mosseae, Mycorrhiza, 15(8), pp.620–627, https://doi.10.1007/s00572-005-0006-9.
13. Besserer A., Becard, G., Jauneau, A., Roux, C. and Sejalon-Delmas, N. 2008. A synthetic analog of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the

arbuscular mycorrhizal fungus Gigaspora rosea by boosting its energy metabolism. Plant Physiology, 148(1), pp. 402–413, https://doi. 10.1104/pp.108.121400.

14. Besserer, A., Puech-Pages, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.C., Roux, C., Becard, G. and Sejalon-Delmas, N., 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. PLoS Biology, 4 (7), pp. (e) 226. https://doi.10.1371/journal.pbio.0040226.
15. Branscheid, A., Sieh, D., Pant, B.D., May, P., Devers, E.A., Elkrog, A., Schauser, L., Scheible, W. R. and Krajinski, F., 2010. Expression pattern suggests a role of MiR399 in the regulation of the cellular response to local Pi increase during arbuscular mycorrhizal symbiosis, Molecular Plant Microbe-Interaction, 23(7), pp.915–926, https://doi.10.1094/MPMI-23-7-0915.
16. Brewster, J.L. and Tinker, P.B.H., 1972. Nutrient flow rates into roots. Soils and Fertilizers, 35, pp.355-359.
17. Breuillin, F., Schramm, J., Hajirezaei, M., Ahkami, A., Favre, U., Hause, B., Bucher, M., Kretzschmar, T., Bossolini, E., Kuhlemeier, C., Martinoia, E., Franken, P., Scholz, U. and Reinhardt, D., 2010. Phosphate systemically inhibits development of arbuscular mycorrhiza in Petunia hybrida and represses genes involved in mycorrhizal functioning. Plant Journal, 64(6), pp.1002-1017. https://doi.10.1111/j.1365-313X.2010.04385. x.
18. Brundrett, M.C. and Kendrick, B., 1988. The mycorrhizal status, root anatomy and phenology of plants in a sugar maple forest. Canadian Journal of Botany, 66, pp.1153–1173, https://doi.org/10.1139/b88-166.
19. Bulgarelli, R.G., De Oliveira, V.H. and de Andrade, S.A.L., 2020. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters the expression of PHT1 phosphate transporters in roots and nodules of P-starved soybean plants. Theoretical Experimental Plant Physiological, 32(3), pp.243–253, https://doi.10.1007/s40626-020-00185-8.
20. Ceasar, S.A., Hodge, A., Baker, A. and Baldwin, S. A., 2014. Phosphate concentration and arbuscular mycorrhizal colonisation influence the growth, yield and expression of twelve PHT1 family phosphate transporters in foxtail millet (Setaria italica). PLoS One, 9(9), pp.(e)108459, https://doi.10.1371/journal.pone.0108459.
21. Ceasar, S.A., Baker, A. and Ignacimuthu, S., 2017. Functional characterization of the PHT1 family transporters of foxtail millet with development of a novel Agrobacterium-mediated transformation procedure. Scientific Reports, 7(1), pp.14064, https://doi.10.1038/s41598-017-14447-0.
22. Chabaud, M., Genre, A., Sieberer, B.J., Faccio, A., Fournier, J., Novero, M., Barker, D.G. and Paola Bonfante, P., 2011. Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca2+ spiking in the legume and nonlegume root epidermis. New Phytology, 189 (1), pp.347-355, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137. 2010. 03464.x.
23. Chandrasekaran, M. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated alleviation of drought stress via non-Enzymatic antioxidants: A meta-analysis. Plants, 11(19), pp.2448, https://doi.org/10.3390/plants11192448.
24. Chiou, T.J., Liu, H. and Harrison, M.J., 2011. The spatial expression patterns of a phosphate transporter (MtPT1) from Medicago truncatula indicate a role in phosphate transport at the root/soil

interface. Plant Journal, 25(3), pp.281–293, https://doi.10.1046/j.1365-313x.2001. 00963.X.

25. Chiu, C.H. and Paszkowski, U. 2019. Mechanisms and impact of symbiotic phosphate acquisition. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 11(6), 034603, https://doi.10.1101/cshperspect.a 034603.
26. Chen, A., Hu, J., Sun, S. and Xu, G., 2007. Conservation and divergence of both phosphate-and mycorrhiza-regulated physiological responses and expression patterns of phosphate transporters in solanaceous species. New Phytologist, 173(4), pp.817–831, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01962.x.
27. Chen, A., Chen, X., Wang, H., Liao, D., Gu, M., Qu, H., Sun, S. and Xu, G., 2014. Genome-wide investigation and expression analysis suggest diverse roles and genetic redundancy of Pht1 family genes in response to Pi deficiency in tomato. BMC Plant Biology, 14(1), 61, https://doi.10.1186/1471-2229-14-61.
28. Chen, J., Guo, J., Li, Z., Liang, X., You, Y., Li, M., He, Y. and Zhan, F., 2022. Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus on the growth of and cadmium uptake in maize grown on polluted wasteland, farmland and slope land soils in a Lead-Zinc mining area. Toxics. 10 (7), pp.359. https://doi.10.3390/toxics1007 0359.
29. Chen, W., Ye, T., Sun, Q., Niu, T. and Zhang, J., 2021. Arbuscular mycorrhizal fungus alters root system architecture in Camellia sinensis L. as revealed by RNA-Seq analysis. Frontier Plant Science, 12, 777357. https://doi.10.3389/fpls.2021. 777357.
30. Cooper, K.M. and Tinker, P.B., 1981. Translocation and transfer of nutrients in vesicular arbuscular mycorrhizas, Environmental variable of movement of phosphorus. New Phytologist, 88, pp.327-339.
31. Cox, G. and Tinker, P.B., 1976. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study. New Phytologist, 77, pp.371-378.
32. Das, D., Paries, M., Hobecker, K., Gigl, M., Dawid, C., Lam, H.M., Zhang, J., Chen, M. and Gutjahr, C., 2022. Phosphate starvation response transcription factors enable arbuscular mycorrhiza symbiosis. Nature Communications, 13,477, https://doi.org/10.1038/s41467-022-27976-8.
33. de Souza Campos, P.M., Cornejo, P., Rial, C., Borie, F., Varela, R.M., Seguel, A. and López-Ráez, J.A., 2019. Phosphate acquisition efficiency in wheat is related to root:shoot ratio, strigolactone levels, and PHO2 regulation. Journal of Experimental Botany, 70(20), pp.5631–5642, https://doi.org/10.1093/jxb/erz- 349.
34. Drissner, D., Kunze, G., Callewaert, N., Gehrig, P., Tamasloukht, M., Boller, T., Felix, G., Amrhein, N. and Bucher, M., 2007. Lyso-phosphatidylcholine is a signal in the arbuscular mycorrhizal symbiosis, Science, 318, pp.265–268. https://doi. 10.1126/science.1146487.
35. Ezawa, T. and Saito, K., 2018. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism, New Phytologist, 220(4), pp.1116-1121. https://doi. org/10.1111/nph.15187. www.newphytologist.com.
36. Ezawa, T., Smith, S.E. and Smith, F.A., 2002. P metabolism and transport in AM fungi. Plant and Soil, 244(1-2), pp.221-230, https://doi. 10.1023/A:1020258325010.
37. Ezawa, T., Cavagnaro, T.R., Smith, S.E., Smith, F.A. and Ohtomo, R., 2004. Rapid accumulation of

polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system. New Phytologist, 161(2), 387–392, https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00966.x.

38. Ezawa, T., Smith, S.E. and Smith, F.A., 2001. Enzyme activity involved in glucose phosphorylation in two arbuscular mycorrhizal fungi: indication that polyP is not the main phosphagen. Soil Biology and Biochemistry, 33(9), 1279–1281, https://doi.10.1016/s0038-0717(01)00007-4
39. Fan, C., Wang, X., Hu, R., Wang, Y., Xiao, C., Jiang, Y., Zhang, X., Zheng, C. and Fu, Y.F., 2013. The pattern of Phosphate transporter 1 genes evolutionary divergence in Glycine max L. BMC Plant Biology, 48(13), https://doi.10.1186/1471-2229-13-48.
40. Fellbaum, C.R., Mensah, J.A., Cloos, A.J., Strahan, G.E., Pfeffer, P.E., Kiers, E.T. and Bucking, H., 2014. Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. New Phytologist, 203(2), pp.646–656. https://doi.10.1111/nph.12827.
41. Ferrol, N., Azc´on-Aguilar, C. and P´erez-Tienda, J., 2018. Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. Plant Science, 280, pp.441-447, https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.11.011.
42. Filho, J.A.C. 2022, Mycorrhizal association and plant disease protection: New perspective. In: Arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture, new sights. https://doi.10.5772/intechhopen.108538.
43. Floss, D.S., Levy, J.G., Lévesque-Tremblay, V., Pumplin, N. and Harrison, M.J., 2013. DELLA proteins regulate arbuscule formation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Proceedings of the Academy of Sciences, 110(51), pp.5025-5034, https://doi.10.1073/pnas.1308973110.
44. Ghasemi, Z., Nadian, H. and Khalilimoghadam, B., 2022. Effects of arbuscular mycorrhiza fungi and salinity stress on morphological characteristics, uptake of some nutrients and soil aggregate stability in three different plants. Journal of Soil Management and Sustainable of Production, 12, pp.45-65, https://doi.10.22069/EJSMS.2022.19277.2036.
45. Genre, A., Chabaud, M., Balzergue, C., Rey, T., Fournier, J., Rochange, S., Bécard, |G., Bonfante, P. and Barker, D.G., 2013. Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca2+ spiking in Medicago truncatula roots and their production is enhanced by strigolactone, New Phytologist, 198, pp.190–202, https://doi.org/10.1111/nph.12146.
46. Gharrineh, M.H. Nadian, H., Fathi, G., Siadat, A. and Moadi, B., 2009. Role of arbuscular mycorrhizae in development of salt-tolerance of Trifolium alexsandrinum plants under salinity stress. Journal of Food Agriculture & Environment, 7 (3), pp.432-437, https://doi.10.1007/978-3-319-57849-1_5.
47. Ghanavati, N., Nadian, H., Moezi, A.A. and Rejali, F. 2012. Effects of sewage sludge on growth and nutrients uptake by Hordum Vulgare as affected by two species of arbuscular-mycorrhizal fungi. Advances in Environmental Biology, 6(2), pp.612-617.
48. Ghasem jokar, N., Nadian, H., Khalilimoghadam, B., Haydari, M., 1392. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on root growth, proline accumulation and uptake of some nutrients by three leek

genotypes. Journal of Soil Biology, 1(2), 1392. pp.93-105 (In Persian).

49. Ghasem jokar, N., Nadian, H., Khalilimoghadam, B., Haydari, M., 1394. The effect of arbuscular mycorrhizal fungus and drought stress on some macronutrients by three leek genotypes with different root characteristics. Journal of Water and Soil, The University of Ferdousi, 29(1), pp.198-209 (In Persian).
50. Giovannini, L., Sbrana, C. and Avio, L., 2020. Diversity of a phosphate transporter gene among species and isolates of arbuscular mycorrhizal fungi. FEMS Microbiology Letters, 36 (2), https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa024 .
51. Gomez, S.K., Javot, H., Deewatthanawong, P., TorresJerez, I.,Tang, Y., Blancaflor, E.B., Udvardi, M.K. and Harrison, M.J., 2009. Medicago truncatula and Glomus intraradices gene expression in cortical cells harboring arbuscules in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. BMC Plant Biology, 9(10), pp.1-19, https://doi 10.1186/1471-2229-9-10.
52. Graham, J.H., Duncan, L.W. and Eissenstat, D.M., 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonisation and mycorrhizal dependency. New Phytologgist,135: 135(2), pp.335-343, https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00636.x.
53. Gronlud, M., Albrechtsen, M. and Johansen, E., 2013. The interplay between P uptake pathways in mycorrhizal peas: A combined physiological and gene-silencing approach. Physiologia Plantarum 149(2), pp.234-248, https://doi.10.1111/ppl.12030.
54. Gu, M., Liu, W., Meng, Q., Zhang, W., Chen, A., Sun, S. and Xu, G., 2014. Identification of microRNAs in six solanaceous plants and their potential link with phosphate and mycorrhizal signaling. Journal of Integrative Plant Biology, 56(12), pp.1164–1178., https://doi..org/10.1111/jipb.12233.
55. Guo, C., Guo, L., Li, X., Gu, J., Zhao, M., Duan, W., Ma, C., Lu, W. and Xiao, K., 2014. TaPT2, a high-affinity phosphate transporter gene in wheat (Triticum aestivum L.), is crucial in plant Pi uptake under phosphorus deprivation. Acta Physiologae Plantarum, 36(6), pp.1373–1384. https://doi.10.1007/s11738-014-1516-x.
56. Guo, B. Jin, Y., Wussler, C., Blacaflor, E.B., Motes, C.M. and Versaw, W.K., 2008. Functional analysis of the Arabidopsis PHT4 family of intracellular phosphate transporters. New Phytologist, 177(4), pp.889 – 898, https://doi.10.1111/j.1469-8137.2007.02331.x. Epub 2007 Dec 12.
57. Hamburger, D., Rezzonico, E., MacDonald-Comber Petétot, J., Somerville, C. and Poirier, Y., 2002. Identification and characterization of the Arabidopsis PHO1 gene involved in phosphate loading to the xylem. Plant Cell, 14(4), pp.889–902, https://doi.org/10.1105/tpc.000745.
58. Harrison, M.J. and van Buuren, M.L., 1995. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus Glomus versiforme. Nature, 6557(378), pp.626–629, https://doi.10.1038/378626a0.
59. Helber, N., Wippel, K., Sauer, N., Schaarschmidt, S., Hause, B. and Requena, N., 2011. A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus sp is crucial for the symbiotic relationship with plants. Plant Cell, 23(10), pp.3812-3823, https://doi.10.1105/tpc.111.089813.
60. Hestrin, R., Hammer, E.C., Muller, C.W. and Lehman, J., 2019. Synergies between mycorrhizal fungi and soil microbial communities increase plant nitrogen acquisition. Communications

Biology, 2(1), pp.233, https://doi.org/10.1038/s42003-019-0481-8.

61. Hettrick, B.A.D., 1991. Mycorrhizas and root architecture. Experientia 47, pp.355-362, https://doi.org/10.1007/BF01972077.
62. Jakobsen, I., Abbott, L.K. and Robson, A.D. 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with Trifolium subterraneum L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. New Phytologist, 120(3), pp.371-380, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01077.x.
63. Janes, G., Wangenheim, D.V., Cowling, S., Kerr, I., Band, L., French, A.P. and Anthony Bishopp, A., 2018. Cellular patterning of Arabidopsis roots under low phosphate conditions. Frontiers in Plant Science, 9, pp.735, https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00735.
64. Jia, H., Ren, H., Gu, M., Zhao, J., Sun, S., Zhang, X., Chen, J., Wu, P. and Xu, G., 2011. The phosphate transporter gene OsPht1; 8 is involved in phosphate homeostasis in rice. Plant Physiology, 156(3), pp.1164–1175, https://doi.10.1104/pp.111.175240.
65. Kiers, E.T., Duhamel, M., Beesetty, Y., Mensah, J.A., Franken, O., Verbruggen, E., Fellbaum,C.R., Kowalchuk, G.A., Hart, M.M., Bago, A., Palmer, T.M., West, S.A., Vandenkoornhuyse, P., Jansa, J. and Bücking, H., 2011. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. Science, 333(6044), pp.880–882. 333(6044):880-2, https://doi.10.1126/science.1208473.
66. Kikuchi, Y., Hijikata, N., Yokoyama, K., Ohtomo, R., Handa, Y. and Ezawa T., 2014. Polyphosphate accumulation is driven by transcriptome alterations that lead to near-synchronous and near-equivalent uptake of inorganic cations in an arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist, 204(3), pp.638–649, https://doi.org/10.1111/nph.12937.
67. Kikuchi, Y., Hijikata, N., Ohtomo, R., Handa, Y., Kawaguchi, M., Saito, K., Masuta, C. and Ezawa, T., 2016. Rapid report directed towards the host in arbuscular mycorrhizal symbiosis: application of virus-induced gene silencing, New Phytologist, 211(4), pp.1202–1208, https://doi.org/10.1111/nph.14016.
68. Lanfranco, L., Fiorilli, V., Venice, F. and Bonfante, P., 2018. Strigolactones cross the kingdoms: plants, fungi, and bacteria in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Journal of Experimental Botany, 69(9), pp.2175–2188, https://doi.org/10.1093/jxb/erx432.
69. Lambers, H. 2022. Phosphorus acquisition and utilization in plants. Annual Review of Plant Biology, 73, pp.17–42. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-125738.
70. Lapis-Gaza, H.R., Jost, R. and Finnegan, P.T., 2014. Arabidopsis phosphate transporters1 genes PHT1;8 and PHT1;9 are involved in root-to-shoot translocation of orthophosphate. BMC Plant Biology, 14(1), pp.334, https://doi.org/10.1186/s12870-014-0334-z.
71. Li, T., Hu, Y.J., Hao, Z.P., Li, H., Wang, Y.S. and Chen, B.D., 2013. First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices. New Phytologist, 197(2), pp.617–630, https://doi.10.1111/nph.12011.
72. Liao, D, Sun, C., Liang, H., Wang, Y., Bian, X., Dong, C., Niu, X., Yang, M., Xu, G., Chen, A. and Wu, S., 2022. SlSPX1-SlPHR complexes mediate the suppression of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate repletion in

tomato. Plant Cell, 34, pp.4045–4065, https://doi. org/10.1093/plcell/koac212.

73. Lopez-Obando, M., Ligerot Y., Bonhomme, S., Boyer, F.D. and Rameau, C., 2015. Strigolactone biosynthesis and signaling in plant development. Development, 142(21), pp.3615–3619, https://doi. org/10.1242/dev.120006.
74. Liu, X., Zhao, X., Zhang, L., Lu, W., Li, X. and Xiao, K., 2013. TaPht1; 4, a high-affinity phosphate transporter gene in wheat (Triticum aestivum), plays an important role in plant phosphate acquisition under phosphorus deprivation. Functional Plant Biology. 40(4), 329–341, https://doi.10.1071/FP12242.
75. Liu, F., Xu, Y., Jiang, H., Jiang, C., Du, Y., Gong, C., Wang, W., Zhu, S., Han, G. and Cheng, B., 2016. Systematic identification, evolution and expression analysis of the Zea mays PHT1 gene family reveals several new members involved in root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. Internation Journal of Molecular Science, 17(6), pp.930, https://doi.10.3390/ijms17060930.
76. Liu, N., Shang, W, Li, C., Jia, L., Wang, X., Xing, G. and WenMing Zheng, W., 2018. Evolution of the SPX gene family in plants and its role in the response mechanism to phosphorus stress. Open Biology, 8(1): pp.170231, https://doi.10.1098/rsob.170231.
77. Liu, F., Cai, S., Dai, L. and Baoliang Zhou, B., 2023. Two Phophate-transporter genes in cotton enhance tolerance to phosphorus starvation. Plant Physiology and Biochemistry, 204(20), pp.108128. https://doi.10.1016/j.plaphy.2023.108128.
78. Maeda, D., Ashida, K., Iguchi, K., Chechetka, S. A., Hijikata, A., Okusako, Y., Deguchi, Y., Izui, K. and Hata, S., 2006. Knockdown of an arbuscular mycorrhiza inducible phosphate transporter gene of Lotus japonicus suppresses mutualistic symbiosis. Plant and Cell Physiology, 47(4), pp. 807–817, https://doi.10.1093/pcp/pcj069.
79. Maillet, F., Poinsot, V., André, O., Puech-Pagès, V., Haouy, A., Gueunier, M., Cromer, L., Giraudet, D., Formey, D., Niebel, A., Martinez, E.A., Driguez, H., Bécard, G. and Dénarié, J., 2011. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza, Nature, 7328(469), pp.58–63, https://doi.10.1038/nature09622.
80. Maldonado-Mendoza, I.E., Dewbre, G.R. and Harrison, M.J., 2001. A phosphate transporter gene from the extra-radical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices is regulated in response to phosphate in the environment, Molecular Plant- Microbe Interaction, 14(10), pp.1140–1148. https://doi. 10.1094/MPMI.2001.14.10.1140.
81. Marschner, P., 2012. Mineral nutrition of higher plants. Third addition, Copyright, Academic Press is an imprint of Elsevier, Elsevier San Diego. Mashiguchi, K., Seto, Y. and Yamaguchi, S., 2021. Strigolactone biosynthesis, transport and perception. The Plant Journal, 105(2), pp.335–350, https://doi.10.1111/tpj.15059.
82. Mashiguchi, K., Seto, Y. and Yamaguch, S., 2021.Strigolactone biosynthesis, transport and perception. The plant Journal, 10(2), pp. 335-350, https://doi.org/10.1111/tpj.15059.
83. Minaxi, J., Saxena, J., Chandra, S. and Nain, L., 2013. Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 13(2), pp.511-525, https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000040.
84. Mitsukawa, N., Okumura, S., Shirano, Y., Sato, S., Kato, T., Harashima, S. and Shibata, D., 1997. Overexpression

of an Arabidopsis thaliana high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences, 94(13), pp.7098–7102, https://doi.10.1073/pnas.94.13.7098.

85. Muchhal, U.S., Pardo, J.M. and Raghothama, K.G., 1996. Phosphate transporters from the higher plant Arabidopsis thaliana. Proceeding of National Academic Science, 93(19), pp.10519–10523, https://doi.org/10.1073/pnas.93.19.10519.
86. Munkvold, L., Kjøller, R., Vestberg, M., Rosendahl, S. and Jakobsen, I., 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 164(2), pp.357-364, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01169.x.
87. Nacoon, S., Jogloy , S., Riddech , N., Mongkolthanaruk , W., Kuyper , T.W. and Boonlue , S., 2020. Interaction between Phosphate Solubilizing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth Promotion and Tuber Inulin Content. Scientific Reports, 10(1), pp.4916, https://doi.10.1038/s41598-020-61846-x.
88. Nadian, H., Smith, S.E., Alston, A.M. and Murray, R.S., 1996. The effect of soil compaction on growth and P uptake by Trifolium subterraneum: interactions with mycorrhizal colonisation. Plant and Soil, 182(1), pp.39-49, https://doi.10.1007/bf00010993.
89. Nadian, H. 1997. Effect of soil compaction on growth and P uptake Trifolium subterranean L. colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. Ph.D. thesis, The University of Adelaide, Adelaide, Waite Campus, Soil Science Department.
90. Nadian, H, Smith, S.E., Alston, A.M., Murray, R.S. and Siebert, B.D., 1998. Effects of soil compaction on phosphorus uptake and growth of P Trifolium subterraneum colonized by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 140(1), pp.155-165, https://doi.10.1046/j.1469-8137.1998.00219.x.
91. Nadian, H., Hashemi, A. and Herbert, S.J., 2009. Soil aggregate size and mycorrhizal colonization effect on root growth and P accumulation by berseem clover. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 40(15), 2413-2425, https://doi.org/10.1080/00103620903111319.
92. Nadian, H., Fathi, G., Abdollahi, M., 2013. Phosphorus inflow into two species of clover root with different morphology colonized by AM Fungi. Iran Agricultural Research, 32(1), pp.40-54, https://doi.10.22099/iar.2013.1816.
93. Nadian, H., 1390. The effect of drought stress and mycorrhizal symbiosis on the growth and P uptake by two sorghum cultivars different in their root morphology. Journal of Water and Soil Sciences, Esfahan University of Technology, 15(57), pp.25-32 (In Persian).
94. Nagahashi, G. and Douds, D.D., 2011. The effects of hydroxy fatty acids on the hyphal branching of germinated spores of AM fungi. Fungal Biology, 115(4-5), pp.351–358, https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.01.006.
95. Nagy, R., Drissner, D., Amrhein, N., Jakobsen, I. and Bucher, M., 2009. Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated, New Phytologist, 181(4), pp.950–959, https:// https://doi.10.1111/j.1469-8137.2008. 02721. X.
96. Navarro-Torre, S., Garcia-Caparros, P., Nogales, A., Abeu, M., Santos, E., Cortinhas, A.L. and Caperta, A.D., 2023. Sustainable agricultural

management of saline soils in arid and semi-arid Mediterranean regions through halophytes, microbial and soil-based technologies. Environmental and Experimental Botany, 212, pp.105397, https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105397.

97. Nehls , U. and Dietz, S., 2014. Fungal aquaporins: cellular functions and ecophysiological perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(21), pp.8835-51, doi.10.1007/s00253-014-6049-0.
98. Nguyen, C.T. and Saito, K., 2021. Role of Cell Wall Polyphosphates in Phosphorus Transfer at the Arbuscular Interface in Mycorrhizas. Frontier in Plant Science. 12,725939. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.725939.
99. Nguyen, C.T., Ezawa, T. and Saito, K., 2022. Polyphosphate polymerizing and depolymerizing activity of VTC4 protein in an arbuscular mycorrhizal fungus, Soil Science and Plant Nutrition, 68(2), pp.256-267, https://doi.org/10.1080/00380768.2022.2029220.
100. Nourali, A. Nadian, H., Jafari, S., Haydari, M., 1397. The effect of salinity and cadmium on some components of growth and uptake of micronutrient by plants. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences. 11(3), pp.737-748 (In Persian).
101. Nussaume, L., Kanno, S., Javot, H., Marin, E., Nakanishi, T.M. and Thibaud, M.C., 2011. Phosphate imports in plants: focus on the PHT1 transporters. Frontier Plant Science, 2, pp.83, https://doi.10.3389/fpls.2011.00083.
102. Olsson, P.A., Baath, E., Jakobsen, I. and Soderstrom, B. 1995. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Mycology Research. 99(5), pp.623-629. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80723-5.
103. Olsson, P. A., van Aarle, I. M., Allaway, W. G., Ashford, A. E. and Rouhier, H., 2002. Phosphorus effects on metabolic process in monoxenic arbuscular mycorrhiza cultures. Plant Physiology, 130(3), pp.1162–1171, https://doi.10.1104/pp.009639.
104. Padje, A.V., Werner, G.D.A. and Toby Kiers, E.T., 2020. Mycorrhizal fungi control phosphorus value in trade symbiosis with host roots when exposed to abrupt ‘crashes’ and ‘booms’ of resource availability. New Phytologist, 229(5), pp.2933–2944, https://doi.10.1111/nph.17055.
105. Pant, B.D., Buhtz, A., Kehr, J. and Scheible, W. 2008. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis, Plant Journal, 53(5), pp.731–738, https://doi.10.1111/j.1365-313X.2007.03363.x.
106. Pearson, J.N. and Jakobsen. I., 1993. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 124(3), pp.481–488, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993. tb 03839.x.
107. Qin, L., Guo, Y., Chen, L., Liang, R., Gu, M., Xu, G., Zhao, J., Walk, T. and Liao, H., 2012. Functional characterization of 14 Pht1 family genes in yeast and their expressions in response to nutrient starvation in soybean. PLoS One 7(10), pp. e47726, https://doi.10.1371/journal.pone.0047726.
108. Rae, A.L., Cybinski, D.H., Jarmey, J.M. and Smith, F.W., 2003. Characterization of two phosphate transporters from barley; evidence for diverse function and kinetic properties among members of the Pht1 family. Plant Molecular Biology, 53(1-2), pp.27–36, https://doi.10.1023/b:plan.0000009259.75314.15.
109. Rasmussen, N., Lloyd, D. C., Ratcliffe, R. G., Hansen, P. E. and Jakobsen, I., 2000. 31P NMR for the

study of P metabolism and translocation in arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 226(2), pp.245–253, https://doi.10.1023/A:1026411801081.

110. Rausch, C., Daram, P., Brunner, S., Jansa, J., Laloi, M., Leggewie, G., Amrhein, N. and Bucher, M., 2001. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. Nature, 6862(414), pp.462–466. https://doi.10.1038/35106601.

111. Roch, G.V., Maharajan, T., Ceasar, S.A. and Ignacimuthu, S., 2019. The Role of PHT1 family transporters in the acquisition and redistribution of phosphorus in plants. Critical Review in Plant Sciences, 38(3), pp.171-198, https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1645402.

112. Salehi Jozani, G. Akbari Vala, S., Morsali, H., 1390. Isolation and identification of dominant arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of wheat, barley and weeds in some saline agricultural areas of Iran. Biotechnology of Crop Plants, 1(1), pp.61-75 (In Persian).

113. Salimi, G., Fayzian, M., Aliasgharzad, N. 1399. The effect of inoculation with mycorrhizal fungi on the absorption of nutrients and essential components of Dracocephalum moldavica L .under drought stress . Ecophysiology of Crop Plants. 55(4), pp.325-344 (In Persian).

114. Siami, A., Aliasgharzad, N., Aghebati Malaki, L., Najafi, N., Shahbazi, F., 1402. Ecological study of the symbiosis of arbuscular fungi in agricultural and pasture ecosystems (case study of Sarab region, East Azarbaijan province), Knowledge of Agriculture and Sustainable Production. Pp.1-16.

115. Sanders, F.E., Mosse, B. and Tinker, P.B., 1975. The effect of foliar-applied phosphate on the mycorrhizal infection of onion roots, in: F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (Eds.). Endomycorrhizas, Academic Press, London, pp. 261–276.

116. Sánchez-Calderón, L., López-Bucio, J., Chacón-López, A., Cruz-Ramírez, A., Nieto-Jacobo, F., Dubrovsky, J.G. and Herrera-Estrella, L., 2005. Phosphate starvation induces a determinate developmental program in the roots of Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiology, 46, pp.174–184, https://doi.org/10.1093/pcp/pci011.

117. Shi, J., Zhao, B., Zheng, S., Zhang, X., Wang, X., Dong, W., Xie, Q., Wang, G., Xiao, Y., Chen, F., Nan Yu, N. and Wang, E., 2021. A phosphate starvation response-centered network regulates mycorrhizal symbiosis. Cell 184, pp.5527–5540, https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.030.

118. Shu, B., Xia, R.X. and Wang, P., 2012. Differential regulation of Pht1 phosphate transporters from trifoliate orange (Poncirus trifoliata L. Raf) seedlings. Science Horticulture, 146, pp.115–123, https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.08.014.

119. Smith, F.A. and Smith, S.E., 1996. Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the ‘arbuscular’ (VA) mycorrhizal symbiosis. Advances in Botanical Research 22, pp.1–43, https://doi.10.1016/S0065-2296(08)60055-5.

120. Smith, S. E., Dickson, S., Morris, C. and Smith, F. A., 1994. Transfer of phosphate from fungus to plant in VA mycorrhizas: calculalfion of the area of symbiotic interface and of fluxes of P from two different fungi to Allium Porrum L. New Phytologist, 127(1), pp.93-99, https://doi.10.1111/j.1469-8137.1994.tb04262.x.

121. Smith, S.E., Smith, F.A. and Jakobsen, I., 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to

plants irrespective of growth responses, Plant Physiology, 133(1), pp.16–20, https://doi.10.1104/pp.103.024380.

122. Smith, S.E., Smith, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales, Annual Review Plant Biology, 62(1), pp.227–250, https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103846.

123. Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Third edition, Academic Press, London.

124. Souza Buzo, F.D., Gare, L.M., Siviero Garcia, N.F., Andrade Silva, M.S.R., Martins, J.T., Giova da Silva, P.H., Meireles, F.C., de Souza Sales, L.Z., Nogales, A., Rigobelo, E.C. and Arf, O., 2023. Effect of mycorrhizae on phosphate fertilization efficiency and maize growth under field conditions. Scientific Reports, 13(1), pp.3527. https://doi.org/10.1038/s41598-023-30128-7.

125. Sukarno, N., Smith, F.A., Smith, S.E. and Scott, E.S., 1996. The effect of fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. II. The effects on area of interface and efficiency of P uptake and transfer to plant. New Phytologist, 132(4), pp.583–592, https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996. tb 01877.x.

126. Sun, T., Li, M., Shao, Y., Yu, L. and Ma, F., 2017. Comprehensive genomic identification and expression analysis of the phosphate transporter (PHT) gene family in apple. Frontier Plant Science, 8, pp.426., https://doi.10.3389/fpls.2017.00426.

127. Svistoonoff, S., Creff, A, Reymond, M., Sigoillot-Claude, C., Ricaud, L., Blanchet, A., Nussaume, L. and Desnos, T. 2007. Root tip contact with low- phosphate media reprograms plant root architecture. Nature Genetics, 39(6):792–796, https://doi.org/10.1038/ng2041.

128. Takanishi, I., Ohtomo, R., Hayatsu, M. and Saito, M., 2009. Short-chain polyphosphate in arbuscular mycorrhizal roots colonized by Glomus spp.: A possible phosphate pool for host plants. Soil Biology and Biochemistry 41(7), pp.1571-1573, https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.04.002.

129. Tawaraya, K.M., Saito, M., Morioka, M. and Wagatsuma, T., 1996. Effect of Concentration of Phosphate on Spore Germination and Hyphal Growth of Arbuscular Mycorrhizal Fungus, Gigaspora Margarita Becker & Hall." Soil Science and Plant Nutrition, 42(3), pp.667-671, https://doi.org/10.1080/00380768.1996.10416336.

130. Thibaud, M.C., Arrighi, J.F., Bayle V., Chiarenza, S., Creff A, Regla Bustos, R., Javier Paz-Ares, J., Yves Poirier, Y. and Nussaume, L., 2010. Dissection of local and systemic transcriptional responses to phosphate starvation in Arabidopsis. The Plant Journal, 64(5), pp.775-89, https://doi.10.1111/j.1365-313X.2010.04375. x.

131. Tian, H., Wang, R., Li, M., Dang, H. and Solaiman, Z.M. 2019. Molecular signal communication during arbuscular mycorrhizal formation induces significant transcriptional reprogramming of wheat (Triticum aestivum) roots. Annals of Botany, 124(6), 1109–1119, https://doi.10.1093/aob/mcz119.

132. Todeschini, V., Anastasia, F., Massa, N., Marsano, F., Cesaro, P., Bona, E., Gamalero, E., Oddi, L. and Lingua, G. 2022. Impact of phosphatic nutrition on growth parameters and artemisinin production in Artemisia annua Plants Inoculated or not with Funneliformis mosseae. Life,12(4), pp.497, https://doi.10.3390/life12040497.

133. Uetake, Y., Kojima, T., Ezawa, T. and Saito, M. 2002. Extensive tubular vacuole system in an arbuscular

mycorrhizal fungus, Gigaspora margarita, New Phytologist, 154(3), pp.761–768. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00425.x.

134. Versaw, W.K. and Garcia L.R., 2017. Intracellular transport and compartmentation of phosphate in plants. Current Opinion Plant Biology, 39, pp.25–30. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.015.

135. Vitor Roch., G., Maharajan, T., Ceasar, S.A. and Ignacimuthu, S., 2019. The Role of PHT1 Family Transporters in the Acquisition and Redistribution of Phosphorus in Plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 38(3), pp.171-198. https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1645402.

136. Volpe, V., Giovannetti, M., Sun, X.G., Fiorilli, V. and Bonfante, P., 2016. The phosphate transporters LjPT4 and MtPT4 mediate early root responses to phosphate status in nonmycorrhizal roots. Plant, Cell Environment, 39, pp.660–671, https://doi.10.1111/pce.12659.

137. Wahab, A., Muhammad, M., Munir, A., Abdi, G., Zaman, W., Ayaz, A., Khizar, C. and Papula Reddy, S.P., 2023. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses. Plants (Basel), 12(17), pp.3102. https://doi.10.3390/plants12173102.

138. Walder, F., Brulé, D., Koegel, S., Wiemken, A., Boller, T. and Courty, P.E., 2015. Plant phosphorus acquisition in a common mycorrhizal network: regulation of phosphate transporter genes of the Pht1 family in sorghum and flax, New Phytologist, 205(4), pp.1632–1645. https://doi.10.1111/nph.13292.

139. Wang, C., Huang, W., Ying, Y., Li, S., Secco, D., Tyerman, S., Whelan, J. and Shou, H.X., 2012. Functional characterization of the rice SPX-MFS family reveals a key role of OsSPX-MFS1 in controlling phosphate homeostasis in leaves. New Phytologist, 196(1), pp.139-148, https://doi.10.1111/j.1469-8137.2012.04227. x.

140. Wang, X., Wang, Y., Pineros, M.A., Wang, Z., Wang, W., Li, C., Wu, Z., Kochian, L.V. and Wu, P., 2014. Phosphate transporters OsPHT1; 9 and OsPHT1; 10 are involved in phosphate uptake in rice. Plant, Cell and Environment 37(5), pp.1159–1170, 10.1111/pce.12224.

141. Weng, W., Yan, J., Zhou, M., Yao, X. Gao, A., Ma, C., Cheng, J. and Ruan, J., 2022. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi as a biocontrol agent in the control of plant diseases. Microorganisms, 10(7), pp.1266, https://doi.10.3390/microorganisms10071266.

142. Xu, F., Liu, Q., Chen, L., Kuang, J., Walk, T., Wang, J. and Liao, H., 2013. Genome-wide identification of soybean microRNAs and their targets reveals their organ-specificity and responses to phosphate starvation. BMC Genomics,14, pp.66 https://doi.10.1186/1471-2164-14-66.

143. Xu, Y., Chen, Z., Li, X., Tan, J., Liu, F. and Wu, J. 2023. The mechanism of promoting rhizosphere nutrient turnover for arbuscular mycorrhizal fungi attributes to recruited functional bacterial assembly. Molecular Ecology, 32(9), pp.2335-2350, https://doi.org/10.1111/mec.16880.

144. Yamaji, N., Takemoto , Y., Miyaji, T., Mitani-Ueno, N., Yoshida, K.T. and Jian Feng Ma, J., 2017. Reducing phosphorus accumulation in rice grains with an impaired transporter in the node. Nature, 541(7635), pp.92-95. https://doi.10.1038/nature20610.

145. Yang, S.Y., Lin, W.Y., Hsiao, Y.M. and Chiou, T.J., 2024. Milestones

in understanding transport, sensing, and signaling of the plant nutrient phosphorus. The Plant cell, 36(5), pp.1504–1523, https://doi.org/10.1093/plcell/koad326.

146. Yao, Q., Li, Feng, G. and Christie, P., 2001. Influence of extraradical hyphae on mycorrhizal dependency of wheat genotypes, Communication in Soil Science and Plant Analysis, 32, pp.3307–3317, https://doi.10.1081/CSS-120001122.

148.

147. Zhang, L, Shi, N., Fan, J., Wang, F., George, T.S. and Feng, G., 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi stimulate organic phosphate mobilization associated with changing bacterial community structure under field conditions. Environmental Microbiology, 20 (7), 2639-2651, https://doi.org/10.1111/1462-2920.14289.

191-212/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

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

Research article

The efficiency of oil-degrading and phosphate-solubilizing bacteria in phosphorus availability of an oil-contaminated calcareous soil

Komeil Zeynali[1], Shayan Shariati[2*], Ahmad Ali Pourbabaee[3*] and Mehdi Shorafa[3]

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

Article Info

Received:
September 14, 2024
Accepted:
December 29, 2024

Keywords:
Bioremediation
Biosurfactant
crude oil
drillingmud
phosphate solubilization

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

DOI:
10.22092/SBJ.2024.366874.268

Extended Abstract

Background and Objectives: The leakage of petroleum compounds into ecosystems poses a severe risk to both environmental health and human safety. Various physical and chemical methods are utilized to remediate oil-contaminated soils; however, many of these methods are underutilized due to high costs and adverse environmental impacts. Physical methods are relatively cost-effective. However, they often fail to completely eliminate contaminants and may cause phase transitions in pollutants. Chemical methods, including precipitation, chemical oxidation, and the use of Fenton's reagent, are expensive and have adverse environmental consequences. Bioremediation, by contrast, is widely employed approach for the treating petroleum-contaminated soils due to its economic and environmental advantages. This method relies on microorganisms to enzymatically degrade petroleum compounds into water and carbon dioxide. One major challenge in bioremediation is the limited availability of essential nutrients , particularly phosphorus, in contaminated soils. Research indicates that oil contamination markedly reduces the bioavailable phosphorus in soil, creating a critical limitation factor for plant growth and the success of bioremediation efforts. To address this phosphorus deficiency, phosphate-solubilizing bacteria (PSBs) capable of converting inorganic phosphate into a bioavailable form, can effectively mitigate phosphorus deficiency in soil. This study aimed to isolate microorganisms with dual capabilities of degrading crude oil and solubilizing phosphate from drilling mud and to assess their impact on soil phosphorus levels post-inoculation.

Materials and Methods: Bacterial strains were isolated using enrichment techniques from drilling mud with high total petroleum hydrocarbon (TPH) contamination to enhance bioremediation and soil phosphorus availability. Their ability to utilize crude oil as the sole carbon and energy source was evaluated through three assays: growth on mineral salt medium (MSM) agar, growth in MSM, and crude oil degradation in MSM using a gravimetric method. Then, phosphate solubilization capability was determined using the spot-on-plate method in Sperber-agar,

employing tricalcium phosphate [$Ca_3(PO_4)_2$] as the insoluble phosphate source. Next, biosurfactant production was assessed using oil spreading, surface tension, and emulsification index (E24) assays, with crude oil as the carbon source. The isolates were phenotypically identified. Subsequently a soil microcosm experiment was designed using a completely randomized design with two treatments and six replicates in glass containers containing 300 grams of contaminated soil finally. The three most effective isolates were combined in equal proportions and inoculated into contaminated soil. The available phosphorus content in the soil was measured using the sodium bicarbonate extraction method at the start (day 0) and after 30 days of incubation at 27°C. Data analysis, including variance analysis and graphical representation, was conducted using Minitab and Excel software, respectively.

Results: Seven distinct bacterial isolates were obtained from contaminated drilling mud following the enrichment stage. Crude oil degradation assays in MSM showed that isolates NW1, NW5, and NW7 achieved degradation rates of 20.6%, 19.66%, and 15.53%, respectively. Additionally, isolates NW2, NW7, and NW4 demonstrated growth rates (OD_{600}) of 0.35, 0.35, and 0.31, respectively, over seven days. Phosphate solubilization tests indicated that isolates NW7 and NW5 achieved the highest solubilization indices of 3.76 and 2.83 on Sperber-agar, respectively ($p<0.05$). Based on these results, isolates NW1, NW2, and NW7 were selected for further experiments. In biosurfactant production tests, isolate NW2 exhibited the largest oil spread zone (1.26 cm) and the highest emulsification index (46.7%), significantly outperforming other isolates. The cumulative results indicated that NW2 was the most effective biosurfactant producer. Phenotypic identification classified NW1, NW2, and NW7 as belonging to the genera Pseudomonas, Bacillus, and Rhodococcus, respectively. In the soil microcosm experiment, the bacterial consortium significantly increased soil-available phosphorus from 3.4 mg/kg to 8.46 mg/kg compared to the control ($p<0.05$).

Conclusion: Oil compound spills have detrimental effects on ecosystems and human health, and conventional remediation methods are costly and environmentally unsustainable. In contrast, bioremediation provides a sustainable and economical solution by employing microorganisms to degrade petroleum hydrocarbons. However, nutrient deficiencies, especially phosphorus, in contaminated soils restrict its efficiency. This study aims to isolate and evaluate oil-degrading and phosphate-solubilizing microorganisms from contaminated drilling mud, with the aim of increasing bioremediation efficiency and soil phosphorus levels. Among the seven isolated bacteria, NW1, NW2, and NW7 showed promising hydrocarbon degradation and phosphate solubilization capabilities and were identified as Pseudomonas, Bacillus, and Rhodococcus, respectively. Inoculating these strains significantly increased soil-available phosphorus, underscoring their potential to improve both bioremediation efficiency and soil fertility. Future studies should explore the phosphorus solubilization capabilities of these isolates in soils with varying salinity, pH, and total phosphorus levels. Additionally, the impact of bacterial immobilization on different carriers for phosphorus solubilization in soil represents an interesting topic that has not yet been explored.

Cite this article: Zeynali, K., Shariati, Sh., Pourbabaee, A.A., Shorafa, M., 2025. The efficiency of oil-degrading and phosphate-solubilizing bacteria in phosphorus availability of an oil-contaminated calcareous soil. Soil Biology, 12 (2), 191-212

DOI: 10.22092/SBJ.2024.366874.268
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست شناسی خاک

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

مقاله پژوهشی

ارزیابی کارایی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت و دارای توان حل‌کنندگی فسفات در فراهمی فسفر یک خاک آهکی آلوده نفتی

کمیل زینالی[۱]، شایان شریعتی[۲*]، احمدعلی پوربابائی[۳*] و مهدی شرفا[۳]

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

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

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

دریافت: ۱۴۰۳/۶/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۹

چکیده

در این پژوهش، با هدف بهبود زیست‌پالایی خاک آلوده و افزایش فسفر دردسترس خاک، سویه‌های باکتریایی به روش غنی‌سازی از گل حفاری چاه نفتی با آلودگی بالای هیدروکربن‌های نفتی کل(Total Petroleum Hydrocarbon) (TPH) جدا شدند و توانایی آن‌ها در استفاده از نفت خام به عنوان تنها منبع کربن و انرژی مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس توانایی انحلال فسفر و تولید سورفکتانت زیستی مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت آزمایشی در محیط خاک به منظور بررسی انحلال فسفر طراحی گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار B (خاک آلوده به همراه تلقیح اجتماع سه جدایه باکتریایی) و C (شاهد، خاک آلوده بدون تلقیح باکتری) و شش تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها و رسم نمودارها به‌ترتیب با استفاده از نرم افزارهای Minitab و Excel انجام شد. نتایج نشان داد، از میان هفت باکتری جداشده از گل حفاری، جدایه‌های NW1، NW5 و NW7 به‌ترتیب با ۲۰/۶، ۱۹/۶۶ و ۱۵/۵۳ درصد تجزیه نفت در محیط MSM، بهترین عملکرد را در تخریب هیدروکربن‌ها داشتند. همچنین جدایه‌های NW7 و NW5 به‌ترتیب با شاخص انحلال ۳/۷۶ و ۲/۸۳ بیشترین میزان انحلال فسفات را نسبت به سایر جدایه‌ها ثبت کردند ($p<0.05$). در آزمون‌های مختلف تولید سورفکتانت زیستی، جدایه NW2 کارایی بالایی از خود نشان داد. در مرحله بعد، شناسایی فنوتیپی جدایه‌های NW1، NW2 و NW7 انجام شد که نشان داد این باکتری‌ها به‌ترتیب متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhodococcus* هستند. همچنین، در آزمایش خاک، این باکتری‌ها توانستند میزان فسفر قابل جذب خاک را به‌طور چشمگیری از ۳/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ۸/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش دهند ($p<0.05$). در نتیجه، یافته‌های این پژوهش بر پتانسیل زیست‌پالایی و افزایش حاصلخیزی خاک مبتنی بر میکروب‌های توانمند به‌عنوان یک راه حل مؤثر و پایدار برای پاکسازی مکان‌های آلوده به ترکیبات نفتی و انحلال فسفات نامحلول خاک، تأکید می‌کند.

واژه های کلیدی: انحلال فسفات، سورفکتانت زیستی، زیست‌پالایی، گل حفاری، نفت خام

استناد: زینالی،ک.، شریعتی،ش.، پوربابائی،ا.ع.، شرفا،م.،۱۴۰۳. ارزیابی کارایی باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت و دارای توان حل‌کنندگی فسفات در فراهمی فسفر یک خاک آهکی آلوده نفتی. نشریه زیست شناسی خاک(۲)۱۲، ۲۱۲-۱۹۱.

مقدمه

ذخیره‌سازی و حمل‌ونقل، پالایش، استفاده از نفت و محصولات آن و تخلیه زباله‌های نفتی، باعث نشت نفت به اکوسیستم و به خطر افتادن سلامت موجودات زنده و انسان می‌شود (Ramirez et al., 2017; Cerqueda-García et al., 2020; Žvirgždas et al., 2023). بزرگترین نشت نفت تاریخ در دریا، مربوط به نشت DWH[۱] است که در تاریخ ۲۰ آوریل ۲۰۱۰ در خلیج مکزیک رخ داد. در این حادثه حدود ۴/۹ میلیون بشکه (۲۱۰ میلیون گالن ایالات متحده) نفت خام شیرین لوئیزیانا جنوبی به محیط آبی نشت کرد (Quigg et al., 2021).

روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی برای مقابله با آلودگی‌های نفتی در خاک وجود دارد که بسیاری از آن‌ها به سبب هزینه بالا و اثرات جانبی مضرِ زیست محیطی، کمتر استفاده می‌شوند (Wang et al., 2021). روش‌های فیزیکی کم‌هزینه می‌باشند، اما در اکثر مواقع حذف کامل آلاینده را انجام نمی‌دهند و تغییر فاز آلودگی از شاخصه‌های بارز این فرایندها می‌باشد. از روش‌های شیمیایی نیز می‌توان استفاده از فرایند ترسیب و اکسیداسیون شیمیایی[۲]، کمپوستینگ[۳]، استفاده از معرف فنتون[۴]، تصفیه با گاز ازن[۵] و روش اکسیداسیون آندی[۶] را نام برد که نیازمند هزینه بالا بوده و جزء روش‌های دوست‌دار محیط زیست محسوب نمی‌شوند (Sayed et al., 2021). ریزجانداران به‌عنوان یکی از اجزای اصلی چرخه‌های بیوژئوشیمیایی، جزء کلیدی بقای گیاهان، جانوران و دیگر موجودات زمینی و محرک اصلی تخریب منابع کربنی از جمله ترکیبات نفتی هستند (Chunyan et al., 2023). یکی از بهترین گزینه‌ها برای پالایش خاک‌های آلوده، زیست‌پالایی[۷] است که به‌سرعت در حال گسترش می‌باشد. عمده مزیت این‌گونه روش‌ها، تنوع حذف آلاینده‌های مختلف و هزینه سرمایه گذاری پایین و بهره‌برداری بالا می‌باشد (Mahjoubi et al., 2018; Xu et al., 2018). تجزیه زیستی نفت خام، عبارت است از تبدیل ترکیبات پیچیده و مضر آن، مانند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای[۸] (PAHs) و آلکان‌های با زنجیره بلند توسط ریزجانداران به ترکیبات ساده‌تر (Kim et al., 2013; Nikitha et al, 2017; Zeynali et al., 2024a). به عبارت دیگر، هیدروکربن‌های ساده و پیچیده، از طریق جذب و سپس متابولیسم سلولی، به طور کامل تخریب شده و به ترکیبات بی‌ضرری مانند دی‌اکسیدکربن و آب تبدیل می‌شوند (Wang et al., 2021). ریزجانداران با سیستم آنزیمی خود باعث پاکسازی محل‌های آلوده به ترکیبات نفتی شده و سلامت محیط زیست را تضمین می‌کنند (Sozina & Danilov, 2023). فسفر، یک عنصر غذایی پرمصرف ضروری برای تمام اشکال حیات روی زمین است و ثابت شده است که کمبود آن یک عامل محدودکننده حیاتی برای رشد گیاه و زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به نفت است (Schryer & Siciliano, 2024; Ou et al., 2024). کمبود فسفر، یک پدیده رایج در اکوسیستم‌های خاکی می‌باشد. همچنین، در خاک‌های آلوده نفتی، گروه‌های عاملی نفت می‌توانند با نیتروژن و فسفر معدنی ترکیب شده و باعث فسفرزدایی[۹] و مهار نیتریفیکاسیون شوند که منجر به کاهش فسفر دردسترس و همچنین پتاسیم خاک می‌گردد (Gainer et al., 2019). Okafor (2023) در مطالعه‌ای به این نتیجه رسید که آلودگی خاک به نفت خام، به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مقدار هدایت الکتریکی، نیتروژن و فسفر می‌گردد. Wang و همکاران (2021) هم به نتایج مشابهی دست یافتند و بیان کردند آلودگی نفتی باعث کاهش فسفر محلول از ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار

[۱] Deepwater Horizon
[۲] Chemical oxidation
[۳] Composting
[۴] Fenton indicator
[۵] Treatment using ozone gas
[۶] Anodic oxidation
[۷] Bioremediation
[۸] Polycyclic aromatic hydrocarbons
[۹] Dephosphorization

شاهد، به ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار آلوده، شده است. رفع کمبود این عنصر ضروری با کودهای شیمیایی، منجر به تأثیرات نامطلوب بر سلامت اکولوژیکی محیط زیست می‌شود. همچنین مواد اولیه سازنده این کودها تجدیدناپذیر بوده و به مدت طولانی در خاک باقی می‌مانند (Pahalvi et al., 2021). از این رو، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات [۱۰](PSB)، یک راه مقرون‌به‌صرفه، مؤثر و دوست‌دار محیط زیست برای حل مشکل کمبود فسفر در خاک می‌باشد (Shariati et al., 2013; Owen et al., 2015). این باکتری‌ها، ظرفیت‌های متابولیکی گسترده‌ای در افزایش دسترسی زیستی اشکال مختلف فسفر در خاک دارند. توانایی باکتری‌های جنس *Bacillus* در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی و انحلال فسفر معدنی خاک به اثبات رسیده است (Zeynali et al., 2024a). علاوه بر آن، ثابت شده است که رفع کمبود فسفر خاک، باعث افزایش فعالیت میکروبی، فراوانی ژن *AlkB* و درنتیجه تجزیه بیشتر هیدروکربن‌های نفتی می‌شود (Hoang et al., 2022). بنابراین، تلقیح خاک‌های آلوده نفتی با باکتری‌های حل‌کننده فسفر نتیجه خوبی در زیست‌پالایی این خاک‌ها خواهد داشت (Girigiri et al., 2019). باتوجه به تأثیرات مخرب آلودگی‌های نفتی بر سلامت اکوسیستم‌ها و محدودیت‌های روش‌های فیزیکی و شیمیایی در رفع این آلودگی‌ها، زیست‌پالایی به‌عنوان روشی پایدار و دوست‌دار محیط زیست، اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. یکی از عوامل محدودکننده زیست‌پالایی در خاک‌های آلوده به نفت، کمبود فسفر، به‌عنوان یک عنصر حیاتی برای رشد و فعالیت ریزجانداران، محسوب می‌شود. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که آلودگی‌های نفتی باعث کاهش دسترسی به فسفر خاک و مهار نیتریفیکاسیون می‌شوند و استفاده از کودهای شیمیایی برای جبران این کمبود، اثرات زیست‌محیطی نامطلوبی به همراه دارد. از این رو، استفاده از PSB، با توانایی تجزیه ترکیبات نفتی و افزایش دسترسی زیستی فسفر، رویکردی نویدبخش برای بهبود زیست‌پالایی و حاصلخیزی خاک‌های آلوده است. باتوجه به اینکه تاکنون مطالعه جامعی درباره اثر تلقیح PSB بر تغییرات فسفر خاک‌های آلوده به نفت انجام نشده است، این پژوهش با هدف جداسازی میکروارگانیسم‌های با توانایی تجزیه نفت خام و انحلال فسفات از گل حفاری و بررسی تأثیر آن‌ها بر افزایش فسفر قابل جذب خاک طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و تعیین خصوصیات گل حفاری

گل حفاری از محل چاه نفت شماره ۴۸۳ در شمال میدان نفتی مارون، واقع در ۵۲ کیلومتری جنوب شرقی اهواز تهیه شد و تحت شرایط سترون سریعاً به آزمایشگاه منتقل و برای انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. گل حفاری بعد از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد و آزمایشات مربوط به خصوصیات خاک روی آن انجام گرفت. بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962) و اسیدیته خاک در سوسپانسیون خاک:آب با نسبت ۱:۵ به وسیله دستگاه pHمتر اندازه‌گیری شد (Rayment & Higginson, 1992). رطوبت، قابلیت هدایت الکتریکی، درصد ماده آلی و کربن آلی کل خاک به ترتیب به روش‌های وزن‌سنجی (Black, 1965)، دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (ECمتر) (Black, 1965) و والکلی-بلک[۱۱] (Nelson & Sommers, 1983) اندازه‌گیری شدند. همچنین جمعیت میکروبی قابل کشت خاک به روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN[۱۲]) در محیط کشت مایع (Alexander, 1983) تعیین شد.

استخراج و اندازه‌گیری میزان TPH

محتویات TPH گل حفاری به روش استخراج با سوکسله، استخراج شد (Sattar et al., 2022). بدین

[۱۰] Phosphate-solubilizing bacteria

[11] Walkley-Black

[13] Most probable number

منظور، ابتدا ۱۰ گرم خاک هواخشک شده داخل صافی انگشتی ریخته شد و بعد از قرار دادن صافی داخل سیفون، ۱۲۰ میلی‌لیتر مخلوطی از حلال‌های دی‌کلرومتان و n-هگزان با نسبت ۱:۱ به بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت، بالن حاوی حلال و TPH از دستگاه سوکسله جدا شده و برای پراندن حلال به دستگاه روتاری در دمای حمام آب ۱۸ درجه سلسیوس و دور ۷۰ RPM منتقل شد. محتوای TPH داخل بالن با استفاده از چند قطره از مخلوط دو حلال شست‌وشو داده شد و عصاره حاصله به یک بشر منتقل شد. درنهایت، میزان TPH به روش وزن‌سنجی تعیین گردید (Lee et al., 2012).

غنی‌سازی ریزجانداران مؤثر تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی

جهت غنی‌سازی، ۵ گرم از نمونه گل حفاری به ۹۵ میلی‌لیتر محیط استریل شده MSM[۱۳] (شامل K_2HPO_4 ۵/۸ g/L، ۴/۵ g/L KH_2PO_4، ۱ g/L $(NH)_2SO_4$، ۰/۱ g/L $MgSO_4$، ۰/۰۱ g/L $CaCl_2$، ۰/۰۱ g/L $MnSO_4$، ۰/۰۱۷۸ g/L $ZnSO_4$، ۰/۰۰۱ g/L $FeSO_4$) (Shariati et al., 2021) که حاوی ۰/۵ درصد نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی بود، اضافه گردید. pH اولیه محیط روی ۷ تنظیم شد و در شیکر دوار در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و ۱۶۰ RPM گرماگذاری شد. پس از ۷ روز ۵ میلی‌لیتر از کشت‌های رشد یافته، به محیط MSM تازه که این بار حاوی ۱ درصد نفت خام بود، منتقل شد. پس از یک هفته این کار مجدداً با میزان نفت ۲٪ تکرار شد. مجموعاً بعد از سه هفته دوره غنی‌سازی و دست‌یابی به ریزجاندارانی مؤثر در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی، سویه‌های قابل کشت با توانایی تجزیه TPH، بر روی محیط MSM-آگار حاوی ۰/۰۱ درصد نفت خام جداسازی شدند (Behera et al., 2020). جدایه‌های رشد یافته در محیط MSM-آگار، براساس شکل کلنی، بر روی محیط نوترینت آگار خالص‌سازی و بازکشت شدند تا برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار بگیرند. درنهایت، به منظور انتخاب جدایه‌های برتر، آزمون‌های مختلفی شامل توانایی رشد جدایه‌ها در محیط جامد (آگار) و مایع نفتی، توانایی تجزیه نفت خام در محیط مایع نفتی و توانایی ترشح سورفکتانت زیستی روی این باکتری‌ها انجام شد.

توان رشد جدایه‌ها در محیط MSM-آگار

جهت انجام این آزمایش ابتدا کشت‌های تازه (۱۸ ساعته) در محیط نوترینت آگار تهیه گردید. سپس پلیت‌های حاوی محیط کشت MSM-آگار (طبق ترکیبات ذکرشده در قسمت قبل با افزودن ۱۵٪ حجمی/حجمی آگار) تهیه و اتوکلاو شد. ۱ قطره نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی، به هر پلیت افزوده شد. در مرحله بعد، یک کلنی از هر جدایه برداشته شد و بر روی محیط MSM-آگار، کشت خطی داده شد. پلیت‌ها به مدت ۷ روز و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند (Asemoloye et al., 2019). آزمایش در سه تکرار به همراه شاهد (کشت خطی با لوپ استریل بدون تلقیح) انجام شد. بعد از ۷ روز، وضعیت رشد جدایه‌ها بررسی شد و براساس تعداد کلنی‌های رشد یافته در محیط، امتیاز بندی انجام گرفت.

توان رشد جدایه‌ها در محیط MSM

میزان رشد جدایه‌ها در محیط نفتی معدنی به روش کدورت‌سنجی بررسی شد. جدایه‌ها در محیط نوترینت براث تا رسیدن به کدورت ۰/۵ (OD_{600}=0.5) کشت داده شدند. ۴۰ میلی‌لیتر محیط MSM استریل در ارلن مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری به همراه ۰/۵ درصد نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی تهیه گردید. باکتری‌ها به میزان ۵ درصد حجمی/حجمی به محیط MSM تلقیح شدند. نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۶۰ RPM به مدت ۶ روز گرماگذاری شدند. چگالی نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر به منظور تعیین رشد جدایه‌ها هر دو روز یک بار با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV unico 2100 اندازه‌گیری شد. آزمایش در سه تکرار به

[4] Mineral Salt Medium

همراه شاهد (تلقیح باکتری و سپس اتوکلاو) انجام گردید (Partovinia et al., 2021).

توان تجزیه نفت خام جدایه‌ها در محیط MSM

جهت بررسی توان باکتری‌ها در تجزیه هیدروکربن‌های نفتی، ابتدا جدایه‌ها در محیط نوترینت براث تا رسیدن به OD_{600}=0.5 کشت داده شدند. سپس جدایه‌ها به میزان ۵ درصد به ارلن مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت MSM تلقیح شدند. مقدار ۱ درصد نفت خام (۰/۴ گرم) به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی به محیط کشت اضافه گردید (وزنی/حجمی). آزمایش در سه تکرار به همراه تیمار بدون تلقیح به‌عنوان شاهد انجام شد. ارلن‌ها به یک شیکر انکوباتور منتقل شده و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و RPM ۱۶۰ به مدت ۷ روز شیک شدند. پس از ۷ روز، محتویات هیدروکربنی محیط به روش استخراج مایع-مایع استخراج شد. بدین صورت که ۴۰ سی‌سی حلال دی‌کلرومتان به ارلن‌ها افزوده شد و با استفاده از قیف جداکننده، فاز آلی (هیدروکربنی) از فاز آبی جدا گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در هوای آزاد رها شدند تا حلال تبخیر شود. درنهایت با روش وزن‌سنجی میزان تجزیه نفت در محیط مشخص شد (Tripathi et al., 2023).

توان انحلال فسفات نامحلول معدنی

برای بررسی توان جدایه‌ها در حل کردن فسفات نامحلول معدنی، از محیط کشت جامد اسپربر استفاده شد (شامل ۱۰ گرم در لیتر گلوکز، ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۰/۳۲ گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۱۴ گرم در لیتر $CaCl_2$، ۲/۵ گرم در لیتر $Ca_3(PO_4)_2$، ۱۵ گرم در لیتر آگار، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و pH ۷/۲) (Sperber, 1958). ابتدا جدایه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان انحلال فسفات، ۷ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به روش قطره‌گذاری بر روی پلیت‌های حاوی محیط اسپربر کشت داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز گرماگذاری شدند. ظهور هاله شفاف پیرامون کلنی باکتری به منزله انحلال فسفات درنظر گرفته شد. قطر کلونی [۱۴](CD) و نیز قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات [۱۵](HD) به دقت با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی شاخص انحلال [۱۶](SI) نسبت متوسط قطر هاله به قطر کلونی (HD/CD) بعد از ۷ روز محاسبه شد. این آزمون در سه تکرار انجام شد.

ارزیابی توانایی تولید سورفکتانت زیستی جدایه‌ها

آماده‌سازی محلول رویی

در این مرحله، جدایه‌های برتر آزمون‌های تجزیه نفت برای بررسی تولید سورفکتانت زیستی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای آماده‌سازی محلول رویی جهت انجام این آزمایش‌ها، ابتدا محیط MSM با ترکیبات ذکر شده آماده و اتوکلاو شد. سپس باکتری‌ها به میزان ۵ درصد (حجمی/حجمی) با چگالی نوری ۰/۵ در طول موج ۶۰۰ نانومتر (OD_{600}=0.5) به ارلن مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط MSM و ۰/۵ درصد نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی تلقیح شدند. ارلن‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۶۰ دور در دقیقه در شیکرانکوباتور شیک شدند. در پایان، محتویات ارلن‌ها به فالکن‌های شیشه‌ای منتقل و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای رسوب باکتری‌ها سانتریفیوژ شدند. فاز رویی برای انجام آزمایش‌های سورفکتانت جدا شد و باکتری‌های رسوب کرده بعد از اتوکلاو حذف شدند (Chen et al., 2020).

[۱۴] Colony Diameter

[۱۵] Halo diameter

[۱۶] Solubilization Index

گسترش نفت[۱۷]

توانایی گسترش نفت با رجوع به روش Joe و همکاران (2019) تعیین گردید. برای این کار، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به پلیت‌های ۸ سانتی‌متری افزوده شد و روی سطح آب، ۳۰ میکرولیتر نفت خام ریخته شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از سوپرناتانت هر جدایه از فاصله ۲ سانتی‌متری به مرکز پلیت‌ها اضافه شد. پس از ۳۰ ثانیه، قطر هاله تشکیل شده در اثر پخش شدن نفت با دقت توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد. این آزمایش در سه تکرار به همراه شاهد منفی (آب مقطر) انجام شد.

کشش سطحی[۱۸]

برای تعیین کشش سطحی، ۵ میلی‌لیتر از مایع رویی هر جدایه (محیط کشت) به یک ظرف شیشه‌ای در حمام آب با دمای ۲۸ درجه‌سلسیوس افزوده شد. سپس لوله‌های موئین به‌صورت عمودی وارد مایع شده و ارتفاع بالا آمده مایع توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد (Viramontes-Ramos et al., 2010). درنهایت میزان کشش سطحی طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\sigma = \frac{rh\rho g}{2}$$

رابطه ۱)

که در آن r شعاع لوله موئین بر حسب میلی‌متر (۰/۲۴۶)، ρ چگالی مایع برحسب $kg\ L^{-1}$، g شتاب جاذبه برحسب $m\ s^{-2}$ (۹/۸)، h ارتفاع ستون مایع در لوله برحسب میلی‌متر و σ کشش سطحی مایع برحسب میلی‌نیوتن بر متر (mN m^{-1}) می‌باشد.

شاخص امولسیون‌کنندگی (E24)

جهت اندازه‌گیری شاخص امولسیون‌کنندگی باکتری‌ها، ابتدا ۳ میلی‌لیتر از مایع رویی هر جدایه به همراه ۳ میلی‌لیتر حلال n-هگزان در لوله‌های شیشه‌ای ریخته شد و به مدت ۲ دقیقه با سرعت بالا ورتکس شدند. بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای اتاق، ارتفاع لایه امولسیون‌شده و ارتفاع کل ستون به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شد (Huang et al., 2020). آزمایش در سه تکرار انجام گردید. بعد از ۲۴ ساعت E24% از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

رابطه ۲)

(ارتفاع کل ستون / ارتفاع لایه امولسیون شده) =E24% ×۱۰۰

شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها

جدایه‌ها از نظر ریخت‌شناسی کلنی مثل شکل، رنگ، شفافیت، برجستگی و حاشیه کلنی و ویژگی‌های سلولی مثل تحرک، اسپورزایی، شکل سلولی، آرایش قرارگیری در کنار هم و وضعیت گرم طبقه‌بندی شدند (Garrity, 2007). برای انجام رنگ آمیزی گرم، ابتدا کشت تازه (۱۸ ساعته) از جدایه‌ها در محیط نوترینت آگار تهیه گردید. سپس یک کلنی از هر باکتری به‌ترتیب با رنگ‌های کریستال ویوله، لوگول و سافرانین رنگ‌آمیزی شدند. لام‌ها پس از خشک شدن، برای بررسی وضعیت گرم، مورفولوژی سلولی و آرایش قرارگیری در کنار هم، به زیر میکروسکوپ منتقل شدند (Quigg, 2021).درنهایت با رجوع به کتاب باکتری‌شناسی سیستماتیک برگی (Garrity, 2007) و تطبیق داده‌ها با خصوصیات اندازه‌گیری شده، جدایه‌های برتر در سطح جنس شناسایی شدند.

طراحی آزمایش در محیط خاک[۱۹]

[۱۷] Oil spreading

[۱۸] Surface tension

[۱۹] Soil microcosm

برای بررسی توانایی باکتری‌های منتخب در فراهمی فسفر و تجزیه هیدروکربن‌های نفتی، دو تیمار شامل تیمار C (شاهد، خاک آلوده بدون تلقیح باکتری) و تیمار B (خاک آلوده به همراه تلقیح اجتماع سه جدایه باکتریایی NW1 ، NW2 و NW7) طراحی شد. هر تیمار دارای ۶ تکرار بود و آزمایش در ظروف شیشه‌ای حاوی ۳۰۰ گرم خاک انجام گرفت. خاک مورد استفاده آهکی (۱۵,۳ درصد)، دارای فسفر قابل جذب پایین و به‌شدت آلوده به نفت (با رنگ تیره و بوی شدید نفت) بود. برای تهیه مایه تلقیح، هر جدایه باکتریایی به‌صورت جداگانه کشت داده شد تا به کدورت ۱ (OD_{600}=1) برسد و سپس جدایه‌ها به نسبت برابر با یکدیگر مخلوط شدند. مخلوط باکتریایی به میزان ۱۰ درصد (حجمی به وزنی) به خاک تیمار B اضافه شد. همچنین، بر اساس نسبت کربن:نیتروژن:فسفر ۱:۱۰:۱۰۰ (طبق دستورالعمل Varjani & Upasani, (2019))، نیتروژن به هر دو تیمار افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ماه در دمای ثابت ۲۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. در نهایت، فسفر قابل جذب خاک با استفاده از روش عصاره‌گیری بی‌کربنات سدیم (Olsen, 1954) در روزهای ۰ و ۳۰ اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها از طریق ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ رسم شد.

نتایج و بحث

خصوصیات گل حفاری مورد مطالعه

گل حفاری از نظر خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). pH گل مورد نظر بسیار بالا و قلیایی بود (۱۰/۱) و قابلیت هدایت الکتریکی بالای آن (۲۵/۶ $ds\ m^{-1}$)، این خاک را در گروه خاک‌های بسیار شور قرار داد. همچنین جمعیت میکروبی نسبتاً پایین آن ($۱/۱\times۱۰^{۴}$) می‌تواند به دلیل بالا بودن مقادیر pH، شوری و آلودگی نفتی باشد که شرایط محیطی را برای رشد ریزجانداران نامساعد می‌کنند. بخشی از کربن آلی بالای گل حفاری (۴/۵۱ درصد) مربوط به مواد نفتی می‌باشد و از ماده آلی خاک مجزاست. میزان TPH گل حفاری ۷٪ بود که حاکی از آلودگی بالای آن می‌باشد. Tang et al., (2012) بیان کردند که مقادیر بالای هیدروکربن‌های نفتی در خاک، می‌تواند محیط را برای رشد ریزجانداران سمی کند. در شکل (۱) تصویر گل حفاری قابل مشاهده می‌باشد.

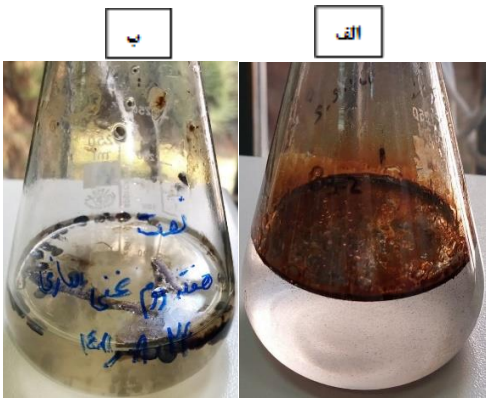
جدول ۱- خصوصیات گل حفاری

پارامتر	pH	EC ($ds\ m^{-1}$)	کربن آلی (٪)	ماده آلی (٪)	بافت	جمعیت میکروبی ($MPN\ g^{-1}$)	رطوبت (٪)	TPH (%)
مقدار	۱۰/۱	۲۵/۶	۴/۵۱	۷/۷۷	لوم رسی	$۱/۱\times۱۰^{۴}$	۳/۵	۷

شکل ۱- گل حفاری چاه شماره ۴۸۳

غنی‌سازی و جداسازی ریزجانداران تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی

پس از دوره غنی‌سازی، هفت جدایه متفاوت از نظر شکل ظاهری، از کنسرسیوم میکروبی غنی شده از گل حفاری آلوده به ترکیبات نفتی، جداسازی شدند. جدایه‌های NW1، NW2، NW4، NW6 و NW7 شکل کلنی مدور و جدایه‌های NW3 و NW5 به‌ترتیب کلنی‌های بیضی و نامنظم داشتند. همچنین جدایه‌های NW1، NW2، NW3، NW4، NW5، NW6 و NW7 به‌ترتیب دارای کلنی‌های با رنگ سبز، کرمی، سفید، بی‌رنگ، شیری، سبزآبی و سفید بودند. در شکل (۲) ارلن‌های شیک شده طی دوره غنی‌سازی قابل مشاهده می‌باشد.



شکل ۲- ارلن‌های شیک شده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و ۱۶۰ دور در دقیقه در پایان هفته دوم غنی‌سازی. الف: شاهد، ب: گل حفاری

توان رشد جدایه‌ها در محیط جامد نفتی

نتایج این آزمون نشان داد، جدایه‌های NW2، NW5 و NW6 رشد بهتری نسبت به چهار جدایه دیگر داشتند (شکل ۳) که این مسئله بیانگر توانایی خوب این باکتری‌ها در استفاده از ترکیبات نفتی به‌عنوان منبع کربن و انرژی است (جدول ۲). جدایه‌های NW1 و NW3 هم در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

جدول ۲- امتیازدهی به وضعیت رشد جدایه‌ها بعد از ۷ روز انکوباسیون در محیط MSM-agar

جدایه	NW1	NW2	NW3	NW4	NW5	NW6	NW7
وضعیت رشد	++	++++	++	+	++++	+++	+

شکل ۳- وضعیت رشد جدایه NW5 بعد از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و محیط MSM-agar حاوی نفت

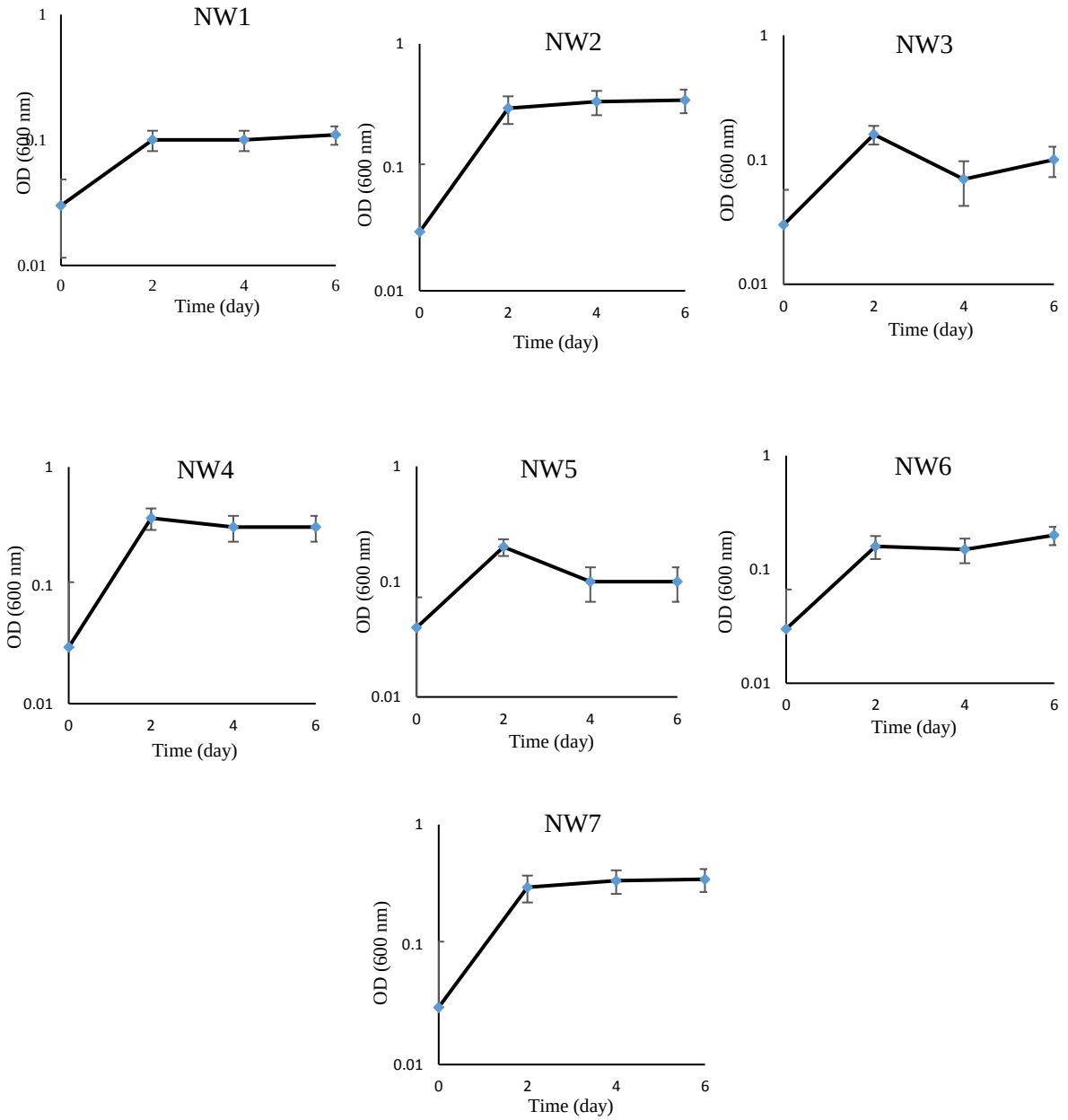
نتایج به دست آمده با پژوهش Mukred و همکاران (2008) همسو می‌باشد. این دانشمندان توانایی رشد شانزده جدایه باکتریایی را در محیط MSM-آگار حاوی ۱ درصد نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی به اثبات رساندند. برخی از جدایه‌ها رشد خوبی بعد از ۳ روز گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس داشتند. همچنین Mohammed و همکاران (2023) بیان کردند که باکتری‌های *Bacillus cereus*، *Achromobacter* sp.، *Pseudomonas* sp. توانایی رشد و تشکیل کلنی در محیط MSM-آگار حاوی نفت را دارند.

توان رشد جدایه‌ها در محیط مایع نفتی

نتایج حاصل شده از این آزمون نشان داد اکثر جدایه‌ها توانایی رشد در محیط نفتی و استفاده از نفت خام به‌عنوان تنها منبع کربن و انرژی را دارند. OD تمام نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر بجز تیمار شاهد، در طی دوره انکوباسیون در مقایسه با روز صفر افزایش پیدا کرد. بیشترین میزان OD_{600} در پایان دوره انکوباسیون، متعلق به جدایه NW2 با مقدار ۰/۳۵ و بعد از آن جدایه‌های NW7، NW4 و NW6 به ترتیب با ۰/۳۵، ۰/۳۱ و ۰/۲ بود. این مسئله نشان دهنده این است که این جدایه‌ها توانایی متابولیکی بالایی در استفاده از نفت به‌عنوان منبع غذایی دارند (Olajide & Adeloye, 2023). نمودارهای مربوط به رشد جدایه‌ها در شکل (۴) قابل مشاهده می‌باشد.

توان تجزیه نفت خام توسط جدایه‌ها در محیط مایع (کمی)

اکثر جدایه‌ها قادر به تجزیه بیش از ۱۰ درصد نفت خام بودند. جدایه NW1 با ۲۰/۶ درصد تجزیه، عملکرد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشت. بعد از جدایه NW1، جدایه‌های NW5، NW7 و NW4 به ترتیب با ۱۹/۶۶، ۱۵/۵۳ و ۱۵/۴ درصد بهترین عملکرد را در تجزیه نفت داشتند. برخی از جدایه‌ها مثل NW5 و NW2 نفت را در محیط به خوبی حل کردند که این مسئله نشان می‌دهد این جدایه‌ها قادر به ترشح ترکیباتی مثل سورفکتانت زیستی هستند که قادر است کشش سطحی نفت را کاهش داده و حلالیت آن را در محیط بالا ببرد (Li et al., 2022). میزان تجزیه نفت خام جدایه‌ها و تصویر ارلن‌های شیک شده بعد از ۷ روز انکوباسیون به‌ترتیب در جدول (۳) و شکل (۵) آمده است. نتایج حاصله با مطالعه Zeynali و همکاران (2024b) همسو می‌باشد. Hossain و همکاران (2022) میزان تجزیه گازوئیل و روغن موتور سوخته توسط سویه *Pseudomonas* sp. را در هفت روز به ترتیب ۱۴/۱۹ و ۱۲ درصد گزارش کردند. همچنین Phulpoto و همکاران (2022) گزارش کردند که بیشترین تجزیه هیدروکربن‌های نفتی توسط سویه *Pseudomonas* sp. S1WP انجام شد و مقدار آن طی ۱۲ روز ۴۲/۲ درصد بود. همچنین مقایسه‌ای بین نتایج تجزیه ترکیبات نفتی در محیط مایع بین این مطالعه و مطالعات معتبر، در جدول (۴) آمده است.



شکل ۴- وضعیت رشد جدایه‌ها در طول ۶ روز گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در محیط MSM

توان تجزیه نفت خام توسط جدایه‌ها در محیط مایع (کمی)

اکثر جدایه‌ها قادر به تجزیه بیش از ۱۰ درصد نفت خام بودند. جدایه NW1 با ۲۰/۶ درصد تجزیه، عملکرد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشت. بعد از جدایه NW1، جدایه‌های NW5، NW7 و NW4 به ترتیب با ۱۹/۶۶، ۱۵/۵۳ و ۱۵/۴ درصد بهترین عملکرد را در تجزیه نفت داشتند. برخی از جدایه‌ها مثل NW5 و NW2 نفت را در محیط به خوبی حل کردند که این مسئله نشان می‌دهد این جدایه‌ها قادر به ترشح ترکیباتی مثل سورفکتانت زیستی هستند که قادر است کشش سطحی نفت را کاهش داده و حلالیت آن را در محیط بالا ببرد (Li et al., 2022). میزان تجزیه نفت خام جدایه‌ها و تصویر ارلن‌های شیک شده بعد از ۷ روز انکوباسیون به‌ترتیب در جدول (۳) و

شکل (۵) آمده است. نتایج حاصله با مطالعه Zeynali و همکاران (2024b) همسو می‌باشد. Hossain و همکاران (2022) میزان تجزیه گازوئیل و روغن موتور سوخته توسط سویه *Pseudomonas* sp. را در هفت روز به ترتیب ۱۴/۱۹ و ۱۲ درصد گزارش کردند. همچنین Phulpoto و همکاران (2022) گزارش کردند که بیشترین تجزیه هیدروکربن‌های نفتی توسط سویه *Pseudomonas* sp. S1WP انجام شد و مقدار آن طی ۱۲ روز ۴۲/۲ درصد بود. همچنین مقایسه‌ای بین نتایج تجزیه ترکیبات نفتی در محیط مایع بین این مطالعه و مطالعات معتبر، در جدول (۴) آمده است.

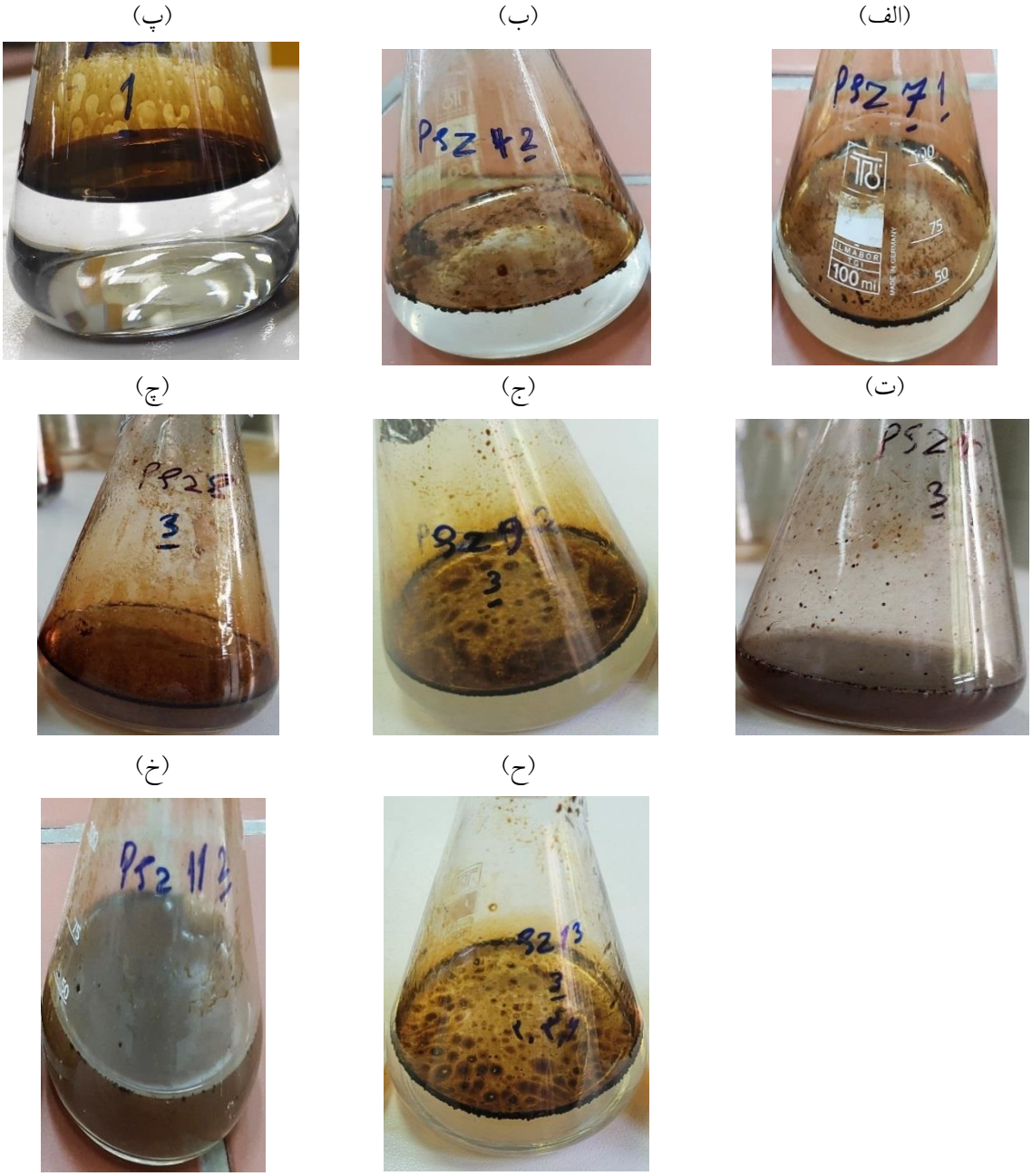
جدول ۳- تجزیه نفت خام توسط جدایه‌ها بعد از ۷ روز گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در محیط MSM.

جدایه	NW1	NW2	NW3	NW4	NW5	NW6	NW7
میزان تجزیه نفت خام (٪)	۲۰/۶۰[a]	۱۴/۳۳[a]	۱۴/۶۶[a]	۱۵/۴۰[a]	۱۹/۶۶[a]	۲/۷۰[b]	۱۵/۳۳[a]

حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان ندادند.

جدول ۴- برخی از مطالعات انجام شده در زمینه تجزیه زیستی ترکیبات نفتی در محیط مایع

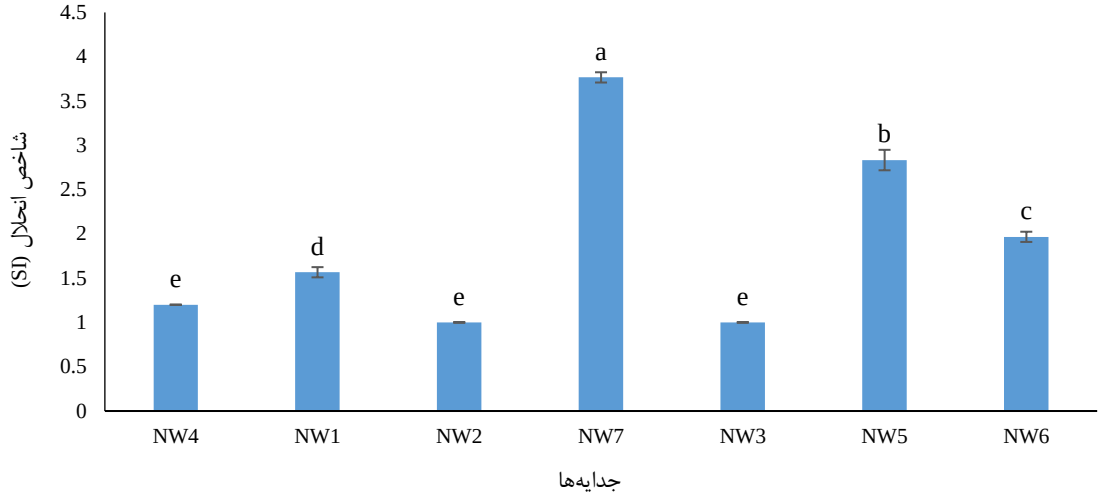
سویه	ترکیب نفتی	دوره انکوباسیون	مقدار تجزیه	منبع
Pseudomonas sp.	گازوئیل	۷ روز	٪۱۴/۱۹	Hossain et al., (2022)
Pseudomonas sp.	TPH	۱۲ روز	٪۴۲/۲	Mukred et al., (2008)
Bacillus subtilis BL-27	نفت خام	۵ روز	٪۶۵	Wang et al., (2019)
Serratia proteamaculans S1BD1	نفت خام	۱۵ روز	٪۶۸	Xia et al., (2017)
Rhodococcus erythropolis OSDS1			٪۵۴/۹	
Acinetobacter junii	نفت خام	۱۵ روز	٪۲۷/۵۹	Gyasi et al., (2024)
Alcanivorax xenomutans			٪۲۱/۱۴	
NW1	نفت خام	۷ روز	۲۰٪/۶	مطالعه حاضر
NW5			٪۱۹/۶۶	
NW7			٪۱۵/۵۳	



شکل ۵- ارلن‌های حاوی نفت تلقیح شده با جدایه‌ها بعد از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سلسیوس. الف: شاهد، ب: NW1، پ: NW2، ت: NW3، ج: NW4، چ: NW5، ح: NW6 و خ: NW7

توان حل‌کنندگی فسفات معدنی نامحلول

نتایج آزمون انحلال فسفات نشان داد جدایه‌های NW7، NW5 و NW6 به ترتیب با شاخص انحلال ۳/۷۶، ۲/۸۳ و ۱/۹۶ به‌طور معنی‌داری توانایی بیشتری در انحلال فسفر نسبت به سایر جدایه‌ها دارند (شکل ۶). بنابراین می‌توان گفت این باکتری‌ها مولد آنزیم‌هایی مثل فسفاتازها و اسیدهای آلی هستند که نقش مهمی در انحلال فسفر دارند (Aliyat et al., 2020). همچنین جدایه‌های NW2 و NW3 قادر به ایجاد هاله در اطراف کلنی و انحلال فسفات نبودند.



شکل ۶- انحلال فسفات جدایه‌ها در محیط اسپربر-آگار در دمای ۳۰ درجه سلسیوس بعد از ۷ روز گرماگذاری. حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان ندادند.

فسفر یکی از عناصر مهم برای رشد و توسعه گیاهان می‌باشد. همچنین این عنصر نقش بسیار مهمی را در عملکرد فیزیولوژیکی باکتری‌ها ایفا می‌کند (Aliyat et al., 2020) و کمبود آن باعث کاهش کارایی تجزیه زیستی آلاینده‌های نفتی می‌شود. در همین راستا، Mirsaeidi (2023) در پژوهشی به این نتیجه رسید که افزودن فسفر باعث افزایش معنی‌داری در پاکسازی آب آلوده به نفت شد. بنابراین، باتوجه به این که مقدار قابل دسترس این عنصر در اکثر خاک‌های آهکی ایران پایین می‌باشد، انحلال و فراهمی زیستی آن برای ریزجانداران خاک جهت زیست‌پالایی بهتر و افزایش رشد گیاه، اهمیت زیادی دارد.

توانایی ترشح سورفکتانت زیستی جدایه‌ها

باتوجه به نتایج آزمون‌های توانایی رشد در حضور نفت و تجزیه آن، سه جدایه NW1، NW2 و NW7 از میان هفت سویه جداسازی شده، برای آزمون‌های ترشح سورفکتانت زیستی انتخاب شدند. در آزمون گسترش نفت، بزرگترین هاله ایجاد شده در نفت خام متعلق به جدایه NW2 با ۱/۲۶ سانتی‌متر بود که اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها ($p<0.05$) و شاهد (۰/۲۶ سانتی‌متر) داشت. در آزمون کشش سطحی، جدایه NW2 بیشترین کاهش در کشش سطحی محیط را در مقایسه با سایر جدایه‌ها ایجاد کرد و مقدار آن را به ۴۸,۷۳ میلی‌نیوتن بر متر رساند. این مقدار حتی بهتر از کشش سطحی آب مقطر که به‌عنوان شاهد استفاده شد (۷۱,۳۶ میلی‌نیوتن بر متر)، ارزیابی شد. همچنین در آزمون E24 بیشترین میزان امولسیون کنندگی n-هگزان را جدایه NW2 با ۴۶/۷ درصد به ثبت رساند که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با سایر جدایه‌ها داشت (جدول ۵). تمام نتایج حاصله با تحقیق Lee و همکاران (2018) همسو می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس مربوط به تست‌های تجزیه نفت، انحلال فسفات، ترشح سورفکتانت زیستی و فسفر قابل جذب خاک در جدول (۶) آورده شده است.

جدول ۵- نتایج آزمون‌های ترشح سورفکتانت زیستی

جدایه	گسترش نفت (cm)	کشش سطحی (mN/m)	امولسیون‌کنندگی (%) (E24)
NW1	۱ ± ۰^{b}	۴۹/۵ ± ۲/۱۷^{c}	۷/۵ ± ۰/۵^{c}
NW2	۱/۲۶ ±۰/۰۴^{a}	۴۸/۷۳ ۲±/۵۳^{c}	۴۶/۷ ± ۲/۰۴^{b}
NW7	۱/۱ ± ۰^{b}	۵۶/۴۳ ±۱/۶۰^{b}	۱۵/۶۶ ± ۲/۷۱^{a}
آب مقطر	۰/۲۶ ± ۰/۰۶^{c}	۷۱/۳۶ ± ۰/۵۵^{a}	-

مقادیر بصورت ± انحراف استاندارد ذکر شده اند و حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان ندادند.

سورفکتانت‌های زیستی سبب افزایش فراهمی آلاینده‌های آبگریز و در دسترس قرار گرفتن این آلاینده‌ها برای ریزجانداران می‌شوند. استفاده از این ترکیبات در فرآیند تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها، با هدف افزایش دسترسی زیستی یا انحلال آلاینده‌ها (از طریق افزایش نامیزگی[۲۰]) صورت می‌گیرد و باعث افزایش راندمان زیست‌پالایی می‌شود (Chebbi et al., 2017).

جدول ۶- تجزیه واریانس ANOVA آزمایش‌ها

آزمایش	تجزیه واریانس		
	منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تجزیه نفت خام	تیمار	۶	۱۰۲/۳۹۹*
	خطا	۱۴	۸/۱۸۹
	کل	۲۰	–
انحلال فسفات	تیمار	۶	۲/۸۵۵۲۴*
	خطا	۱۴	۰/۰۰۱۹۰
	کل	۲۰	–
گسترش نفت	تیمار	۳	۰/۵۸۵۲۷*
	خطا	۸	۰/۰۰۱۶۶
	کل	۱۱	–
کشش سطحی	تیمار	۳	۳۳۰/۳۴۳*
	خطا	۸	۳/۵۱۲
	کل	۱۱	–
امولسیون کنندگی (E24)	تیمار	۲	۱۲۸۰/۲۰*
	خطا	۶	۳/۹۳
	کل	۸	–
فسفر قابل جذب خاک	تیمار	۱	۹/۳۶۳۳*
	زمان	۱	۳۲/۶۷۰۰*
	تیمار×زمان	۱	۹/۳۶۳۳*
	خطا	۸	۰/۱۰۶۷
	کل	۱۱	-

شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها

طبقه‌بندی هفت جدایه NW1، NW2، NW3، NW4، NW5، NW6 و NW7 از نظر خصوصیات مورفولوژی و وضعیت گرم بطور کامل در جدول (۷) آمده است. با رجوع به کتاب باکتری‌شناسی سیستماتیک برگی (Garrity, 2007) و تطبیق داده‌ها با خصوصیات اندازه‌گیری شده، مشخص شد جدایه‌های NW1، NW2 و NW7 احتمالاً به ترتیب متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhodococcus* هستند.

[۲۰] Emulsification

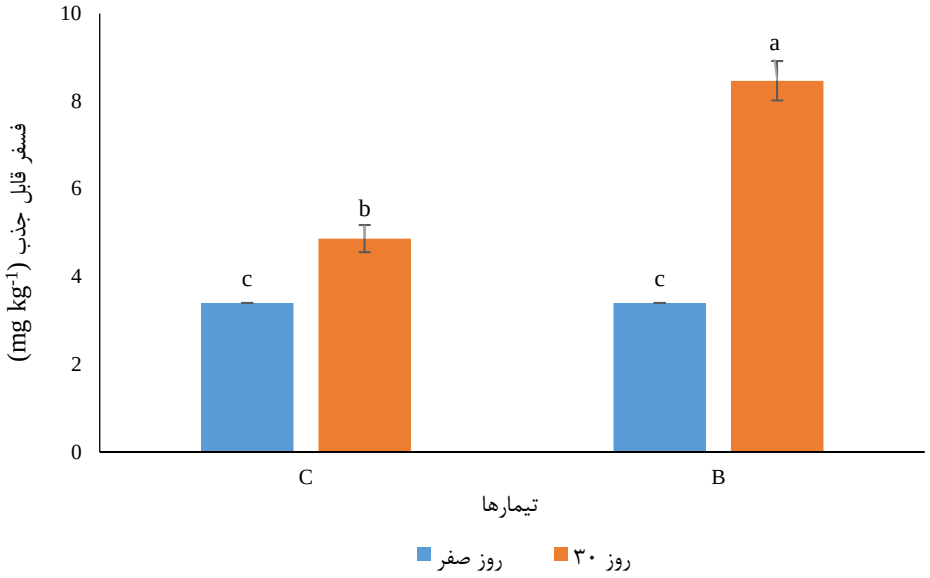
جدول ۷- خصوصیات فنوتیپی جدایه‌ها

جدایه	شکل کلنی	برجستگی کلنی	شفافیت کلنی	حاشیه کلنی	رنگ کلنی	تحرک	اسپورزایی	شکل سلولی	آرایش	وضعیت گرم
NW1	مدور	تخت	مات	صاف	سبز	−	−	باسیلی	باسیل	−
NW2	مدور	برآمده	مات	موج‌دار	کرمی	+	+	باسیلی	دیپلوباسیل	+
NW3	بیضی	تخت	شفاف	صاف	سفید	+	+	باسیلی	باسیل	+
NW4	مدور	تخت	شفاف	صاف	بی‌رنگ	+	+	باسیلی	باسیل	+
NW5	نامنظم	برآمده	شفاف	صاف	شیری	−	−	باسیلی	باسیل	+
NW6	مدور	تخت	شفاف	موج‌دار	سبزآبی	+	−	باسیلی	باسیل	−
NW7	مدور	محدب	مات	لوب‌مانند	سفید	−	−	باسیلی	کوکوباسیل	+

مطالعات نشان داده است که باکتری‌های گرم مثبت مانند سویه‌های متعلق به جنس *باسیلوس* قادر به ترشح آنزیم‌هایی مانند لیپاز و پروتئاز هستند که می‌توانند هیدروکربن‌های پیچیده را به هیدروکربن‌های ساده تر تخریب کنند (Kumar et al., 2023). همچنین *باسیلوس‌ها* قادر به تشکیل اندوسپورهایی هستند که توانایی زندگی در محیط‌های استرس‌زا مثل سمیت بالا در اثر آلودگی نفتی را به آن‌ها می‌دهد (Madigan et al., 2010). توانایی باکتری‌های گرم منفی مانند *سودوموناس‌ها* نیز در تجزیه هیدروکربن‌های مختلف به اثبات رسیده است (Muthukumar et al., 2023). همچنین در مطالعه ای اثبات شد که ترکیب سویه‌های گرم مثبت و گرم منفی، در زیست‌پالایی هیدروکربن‌ها نتایج بهتری را در مقایسه با استفاده تکی از آن‌ها در پی دارد (Bilen Ozyurek & Seyis Bilkay, 2020).

تغییرات فسفر قابل جذب خاک

نتایج آنالیز فسفر قابل جذب خاک نشان داد تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند باعث حل شدن فسفر نامحلول خاک شود. افزایش فسفر قابل جذب خاک در تیمار B در طول زمان معنی‌دار بود. مقدار فسفر محلول طی ۳۰ روز در این تیمار، از ۳/۴ به ۸/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت که نشان دهنده موفقیت جدایه‌ها در انحلال فسفات خاک می‌باشد (شکل ۷). همچنین، در تیمار تلقیح نشده (C)، افزایش معنی‌داری در فسفر قابل دسترس خاک در دوره ۳۰ روزه مشاهده شد (افزایش از ۳/۴ به ۴/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم). دلیل این امر می‌تواند این باشد که ریزجانداران بومی خاک مورد مطالعه هم توانایی انحلال فسفات را دارند و با افزودن نیتروژن، تکثیر و فعالیت این ریزجانداران افزایش یافته است.



شکل ۷- تغییرات فسفر قابل جذب خاک طی ۳۰ روز گرماگذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس

نتیجه‌گیری

در این مطالعه هفت جدایه تجزیه‌کننده نفت از یک نمونه گل حفاری جداسازی شدند. با انجام آزمون‌های مربوط به توانایی رشد و توانایی تجزیه TPH در محیط‌های نفتی مایع و جامد، سه جدایه برتر برای انجام آزمون‌های ترشح سورفکتانت زیستی انتخاب شدند. جدایه‌های NW1 ، NW5 و NW7 توانایی بهتری در تجزیه نفت خام نسبت به سایر جدایه‌ها داشتند. در آزمون انحلال فسفات معدنی، جدایه‌های NW7 و NW5 بیشترین میزان انحلال فسفات را داشتند. همچنین جدایه NW2 در کل، توانایی بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها در ترشح سورفکتانت زیستی از خود نشان داد. با انجام آزمون‌های شناسایی فنوتیپی و سلولی، مشخص شد جدایه‌های NW1 و NW2 و NW7 به ترتیب متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhodococcus* هستند. تلقیح مخلوط سه جدایه NW1، NW2 و NW7 به خاک آلوده نفتی، نتیجه بسیار خوبی در افزایش فسفر قابل جذب خاک داشت. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، توانایی انحلال فسفر این جدایه‌ها در خاک‌هایی با مقادیر شوری، pH و فسفر کل متفاوت مورد آزمایش قرار گیرد. همچنین، تأثیر تثبیت باکتری‌ها بر روی حامل‌های مختلف در انحلال فسفر خاک هم موضوع جالبی می‌باشد که به آن پرداخته نشده است.

Refrences

1. Alexander, M. (1983). Most probable number method for microbial populations. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties, 9, 815-820.
2. Aliyat, F. Z., Maldani, M., El Guilli, M., Nassiri, L., & Ibijbijen, J. (2020). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from phosphate solid sludge of the moroccan phosphate mines. The Open Agriculture Journal, 14(1).
3. Asemoloye, M. D., Jonathan, S. G., & Ahmad, R. (2019). Degradation of 2, 2-Dichlorovinyl dimethyl phosphate (dichlorvos) through the rhizosphere interaction between Panicum maximum Jacq and some selected fungi. Chemosphere, 221, 403-411.
4. Behera, I. D., Basak, G., Kumar, R. R., Sen, R., & Meikap, B. C. (2020). Treatment of petroleum refinery sludge by petroleum degrading bacterium Stenotrophomonas pavanii IRB19 as an efficient novel technology. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 56(2), 226-239.
5. Bilen Ozyurek, S., & Seyis Bilkay, I. (2020). Comparison of petroleum biodegradation efficiencies of three different bacterial consortia determined in petroleum-contaminated waste mud pit. SN Applied Sciences, 2, 1-12.
6. Black, C. A. (1965). Method of soil analysis part 2. Chemical and microbiological properties, 9, 1387-1388.
7. Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. Agronomy journal, 54(5), 464-465.
8. Cerqueda-García, D., García-Maldonado, J. Q., Aguirre-Macedo, L., & García-Cruz, U. (2020). A succession of marine bacterial communities in batch reactor experiments during the degradation of five different petroleum types. Marine Pollution Bulletin, 150, 110775.
9. Chebbi, A., Hentati, D., Zaghden, H., Baccar, N., Rezgui, F., Chalbi, M., ... & Chamkha, M. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation and biosurfactant production by a newly isolated *Pseudomonas* sp. strain from used motor oil-contaminated soil. International Biodeterioration & Biodegradation, 122, 128-140.
10. Chen, W., Kong, Y., Li, J., Sun, Y., Min, J., & Hu, X. (2020). Enhanced biodegradation of crude oil by constructed bacterial consortium comprising salt-tolerant petroleum degraders and biosurfactant producers. International Biodeterioration & Biodegradation, 154, 105047.
11. Chunyan, X., Qaria, M. A., Qi, X., & Daochen, Z. (2023). The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects. Science of the Total Environment, 865, 161112.
12. Gainer, A., Bresee, K., Hogan, N., & Siciliano, S. D. (2019). Advancing soil ecological risk assessments for petroleum hydrocarbon contaminated soils in Canada: Persistence, organic carbon normalization and relevance of species assemblages. Science of the total environment, 668, 400-410.
13. Garrity, G. (2007). Bergey's manual of systematic bacteriology: volume 2: the Proteobacteria, part B: the Gammaproteobacteria (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
14. Girigiri, B., Ariole, C. N., & Stanley, H. O. (2019). Bioremediation of crude oil polluted soil using biofertilizer from nitrogen-fixing and phosphate solubilizing bacteria. American Journal of Nanosciences, 5(4): 27-38.
15. Gyasi, S. F., Sarfo, M. K., Kabo-Bah, A. T., Adu, B., Appiah, A. S., & Serfor-Armah, Y. (2024). In vitro assessment of crude oil degradation by *Acinetobacter junii* and *Alcanivorax xenomutans* isolated from the coast of Ghana. Heliyon, 10(3).
16. Hoang, S. A., Lamb, D., Sarkar, B., Seshadri, B., Yu, R. M. K., Tran, T. K. A., ... & Bolan, N. S. (2022). Phosphorus application enhances alkane hydroxylase gene abundance in the rhizosphere of wild plants grown in petroleum-hydrocarbon-contaminated

soil. Environmental Research, 204, 111924.

17. Hossain, M. F., Akter, M. A., Sohan, M. S. R., Sultana, N., Reza, M. A., & Hoque, K. M. F. (2022). Bioremediation potential of hydrocarbon degrading bacteria: isolation, characterization, and assessment. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(1), 211-216.
18. Huang, Y., Zhou, H., Zheng, G., Li, Y., Xie, Q., You, S., & Zhang, C. (2020). Isolation and characterization of biosurfactant-producing Serratia marcescens ZCF25 from oil sludge and application to bioremediation. Environmental Science and Pollution Research, 27, 27762-27772.
19. Joe, M. M., Gomathi, R., Benson, A., Shalini, D., Rengasamy, P., Henry, A. J., ... & Sa, T. (2019). Simultaneous application of biosurfactant and bioaugmentation with rhamnolipid-producing shewanella for enhanced bioremediation of oil-polluted soil. Applied Sciences, 9(18), 3773.
20. Kim, K. H., Jahan, S. A., Kabir, E., & Brown, R. J. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. Environment International, 60, 71-80.
21. Koohkan, H., Mortazavi, M. S., Golchin, A., Saraji, F., & Akbarzadeh-Chomachaei, G. (2023). Comparison of native bacterial and fungal bioaugmentation in the removal of petroleum from soil in the presence of sorghum. Water, Air, & Soil Pollution, 234(5), 309.
22. Kumar, A. G., Manisha, D., Rajan, N. N., Sujitha, K., Peter, D. M., Kirubagaran, R., & Dharani, G. (2023). Biodegradation of phenanthrene by piezotolerant *Bacillus subtilis* EB1 and genomic insights for bioremediation. Marine Pollution Bulletin, 194, 115151.
23. Lee, Y., Jeong, S. E., Hur, M., Ko, S., & Jeon, C. O. (2018). Construction and evaluation of a Korean native microbial consortium for the bioremediation of diesel fuel-contaminated soil in Korea. Frontiers in microbiology, 9, 2594.
24. Li, H. P., Han, Q. Q., Liu, Q. M., Gan, Y. N., Rensing, C., Rivera, W. L., ... & Zhang, J. L. (2023). Roles of phosphate-solubilizing bacteria in mediating soil legacy phosphorus availability. Microbiological Research, 272, 127375.
25. Li, X., Du, Y., Wu, G., Li, Z., Li, H., & Sui, H. (2012). Solvent extraction for heavy crude oil removal from contaminated soils. Chemosphere, 88(2), 245-249.
26. Li, Z., Rosenzweig, R., Chen, F., Qin, J., Li, T., Han, J., ... & Ronen, Z. (2022). Bioremediation of petroleum-contaminated soils with biosurfactant-producing degraders isolated from the native desert soils. Microorganisms, 10(11), 2267.
27. Madigan, M.T., Clark, D.P., Stahl, D. and Martinko, J.M., 2010. Brock biology of microorganisms 13th edition. Benjamin Cummings.
28. Mahjoubi, M., Cappello, S., Souissi, Y., Jaouani, A., & Cherif, A. (2018). Microbial bioremediation of petroleum hydrocarbon–contaminated marine environments. Recent insights in petroleum science and engineering, 325, 325-350.
29. Mirsaeidi, A. (2023). The effects of nitrogen and phosphorus nutrients on the bioremediation of oil-contaminated waters by Gracilariopsis persica in the coastal areas of Bandar Abbas. Marine Pollution Bulletin, 188, 114660.
30. Mohammed, S. A., Omar, T. J., & Hasan, A. H. (2023). Degradation of crude oil and pure hydrocarbon fractions by some wild bacterial and fungal species. arXiv preprint arXiv:2301.08715.
31. Mukred, A. M., Abd Hamid, A., Hamzah, A., & Yusoff, W. M. W. (2008). Growth Enhancement of Effective Microorganisms for Bioremediation of. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(13), 1708-1712.
32. Muthukumar, B., Surya, S., Sivakumar, K., AlSalhi, M. S., Rao, T. N., Devanesan, S., ... & Rajasekar, A. (2023). Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated soil by Pseudomonas species on the removal of

total petroleum hydrocarbon. Chemosphere, 310, 136826.
33. Nelson, D. A., & Sommers, L. (1983). Total carbon, organic carbon, and organic matter. Methods of soil analysis: Part 2 chemical and microbiological properties, 9, 539-579.
34. Nikitha, T., Satyaprakash, M., Vani, S. S., Sadhana, B., & Padal, S. B. (2017). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: their transport, fate and biodegradation in the environment. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(4), 1627-1639.
35. Okafor, U. C. (2023). Evaluation of the Impact of Crude Oil Contamination on Soil's Physicochemical Characteristics, Micro-flora and Crop Yield. Tropical Aquatic and soil pollution, 3(1), 24-35.
36. Olajide, P. O., & Adeloye, A. O. (2023). Hydrocarbon biodegradation by Proteus and Serratia strains isolated from oil-polluted water in Bonny Community, Niger Delta, Nigeria. Results in Chemistry, 5, 100735.
37. Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture.
38. Ou, Y., Wu, M., Yu, Y., Liu, Z., Zhang, T., & Zhang, X. (2024). Low dose phosphorus supplementation is conducive to remediation of heavily petroleum-contaminated soil—From the perspective of hydrocarbon removal and ecotoxicity risk control. Science of The Total Environment, 929, 172478.
39. Owen, D., Williams, A. P., Griffith, G. W., & Withers, P. J. (2015). Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphrous acquisition. Applied Soil Ecology, 86, 41-54.
40. Pahalvi, H. N., Rafiya, L., Rashid, S., Nisar, B., & Kamili, A. N. (2021). Chemical fertilizers and their impact on soil health. Microbiota and Biofertilizers, Vol 2: Ecofriendly tools for reclamation of degraded soil environs, 1-20.
41. Partovinia, A., Soorki, A. A., & Koosha, M. (2021). Synergistic adsorption and biodegradation of heavy crude oil by a novel hybrid matrix containing immobilized Bacillus licheniformis: Aqueous phase and soil bioremediation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 222, 112505.
42. Phulpoto, I. A., Yu, Z., Li, J., Ndayisenga, F., Hu, B., Qazi, M. A., & Yang, X. (2022). Evaluation of di-rhamnolipid biosurfactants production by a novel Pseudomonas sp. S1WB: Optimization, characterization and effect on petroleum-hydrocarbon degradation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 242, 113892.
43. Quigg, A., Parsons, M., Bargu, S., Ozhan, K., Daly, K. L., Chakraborty, S., ... & Buskey, E. J. (2021). Marine phytoplankton responses to oil and dispersant exposures: Knowledge gained since the Deepwater Horizon oil spill. Marine Pollution Bulletin, 164, 112074.
44. Ramirez, M. I., Arevalo, A. P., Sotomayor, S., & Bailon-Moscoso, N. (2017). Contamination by oil crude extraction–Refinement and their effects on human health. Environmental Pollution, 231, 415-425.
45. Rayment, G. E., & Higginson, F. R. (1992). Australian Laboratory Handbook of Soil and Water Chemical Methods. Inkata Press Pty Ltd.
46. Sattar, S., Siddiqui, S., Shahzad, A., Bano, A., Naeem, M., Hussain, R., ... & Yasmin, H. (2022). Comparative Analysis of Microbial Consortiums and Nanoparticles for Rehabilitating Petroleum Waste Contaminated Soils. Molecules, 27(6), 1945.
47. Sayed, K., Baloo, L., & Sharma, N. K. (2021). Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(5), 2226.
48. Schryer, A. D., & Siciliano, S. D. (2024). Do phosphorus amendments enhance biodegradation activity in stalled petroleum hydrocarbon-

contaminated soil? Journal of environmental quality, 10.1002/jeq2.20594.

49. Shariati, S., Alikhani, H. A., Pourbabaee, A., & Mohammadi, L. (2013). The potential of application of different organic and inorganic carriers in insoluble phosphate solubilizing bacteria (*Pseudomonas fluorescens*) inoculants production process. International Journal of Agriculture: Research and Review, 3(1), 176. (In persian).
50. Shariati, S., Ebenau-Jehle, C., Pourbabaee, A. A., Alikhani, H. A., Rodriguez-Franco, M., Agne, M., ... & Boll, M. (2021). Degradation of dibutyl phthalate by Paenarthrobacter sp. Shss isolated from Saravan landfill, Hyrcanian Forests, Iran. Biodegradation, 1-12.
51. Sozina, I. D., & Danilov, A. S. (2023). Microbiological remediation of oil-contaminated soils. Journal of Mining Institute. 26,0 297-312.
52. Sperber, J. I. (1958). Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. Australian Journal of Agricultural Research, 9(6), 782-787.
53. Tang, J., Lu, X., Sun, Q., & Zhu, W. (2012). Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. Agriculture, Ecosystems & Environment, 149, 109-117.
54. Tripathi, V., Gaur, V. K., Thakur, R. S., Patel, D. K., & Manickam, N. (2023). Assessing the half-life and degradation kinetics of aliphatic and aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from crude oil contaminated soil. Chemosphere, 337, 139264.
55. Varjani, S., & Upasani, V. N. (2019). Evaluation of rhamnolipid production by a halotolerant novel strain of Pseudomonas aeruginosa. Bioresource technology, 288, 121577.
56. Viramontes-Ramos, S., Portillo-Ruiz, M. C., Ballinas-Casarrubias, M. D. L., Torres-Muñoz, J. V., Rivera-Chavira, B. E., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2010). Selection of biosurfactan/bioemulsifier-producing bacteria from hydrocarbon-contaminated soil. Brazilian Journal of Microbiology, 41, 668-675.
57. Wang, D., Lin, J., Lin, J., Wang, W., & Li, S. (2019). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Bacillus subtilis* BL-27, a strain with weak hydrophobicity. Molecules, 24(17), 3021.
58. Wang, S., Wang, D., Yu, Z., Dong, X., Liu, S., Cui, H., & Sun, B. (2021). Advances in research on petroleum biodegradability in soil. Environmental Science: Processes & Impacts, 23(1), 9-27.
59. Xia, M., Liu, Y., Taylor, A. A., Fu, D., Khan, A. R., & Terry, N. (2017). Crude oil depletion by bacterial strains isolated from a petroleum hydrocarbon impacted solid waste management site in California. International Biodeterioration & Biodegradation, 123, 70-77.
60. Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., ... & Yu, H. (2018). Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis. Frontiers in microbiology, 9, 2885.
61. Zeynali, K., Shariati, S., & Pourbabaee, A. A. (2024a). The role of effective oil-eating bacteria in the remediation of oil-contaminated soils (Case study: Bacillus genus). Journal of Sol Biology, 12(1), 105-139. (In persian).
62. Zeynali, K., Shariati, S., Pourbabaei, A. A., & Shorafa, M. (2024b). The application of biosurfactant producing bacterial consortium as a petroleum degrader in increasing the hydraulic conductivity coefficient of TPH-contaminated soil. Iranian Journal of Soil and Water Research, 1585-1599. (In persian)
63. Žvirgždas, J., Paškevičius, A., Petrovas, S., Galginienė, I., & Iljasevičius, K. (2023). Isolation, selection, and use of oil-degrading microorganisms for biological treatment of contaminated soil. Polish Journal of Environmental Studies, 32(3), 1-10.

213-233/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

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

Research article

Investigating the effect of biofertilizers on improving the absorption of nutrients,growth and yield of hazelnut (*Corylus avellana L.*) trees in Eshkavrat area of Rudsar city in Gilan province

Ali Lahiji*[1] and Farhad Rejali[2]

1- Assistant Professor of Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, rasht, Iran.lahigy_123@yahoo.com

2- Professor of Soil and Water Research Institute Agricultural Research Education and Extension (Frejali@yahoo.com).Organization (AREEO) Karaj, Iran

Article Info

Received:
June 10, 2024
Accepted:
November 23, 2024

Keywords:
Pseudomonas
Leaf chlorosis
Branch dieback
Trichoderma
Hazelnut

Corresponding author's email:
lahigy_123@yahoo.com

DOI:
10.22092/SBJ.2024.366006.264

Extended Abstract

Background and Objectives: In the past decades, due to the use of chemical fertilizers, there were many environmental effects, including water and soil pollution and problems related to the health of humans and other living organisms. The policy of sustainable agriculture and sustainable development of agriculture led experts to get more help from living organisms in the soil in order to meet the plant's nutritional needs. Many studies are carried out in order to sustain hazelnut farming and increase productivity. Work aimed at improving soil performance often considers soil physical and chemical properties, but biological properties are equally important and often neglected. One of the new solutions in sustainable agriculture in order to reduce the negative effects of biological and environmental stresses is the use of beneficial soil microorganisms as biological fertilizers. Biological methods are one of the most useful and environmentally friendly methods for improving the growth and nutrition of plants in harsh environmental conditions. Microorganisms present in biofertilizers in different ways such as production of plant hormones such as auxins, cytokinins, gibberellins, prevention of ethylene production, biofixation of nitrogen, dissolution of mineral phosphates, mineralization of organic phosphates and other food elements, as well Dealing with plant pathogens by producing siderophores, making antibiotics, enzymes or fungicidal compounds and competing with harmful microorganisms in the soil improve the growth and performance of plants and their product quality. Biofertilizers are less expensive and do not cause environmental pollution. Gilan province, having more than 19,000 hectares of hazelnut orchards, with the traditional nature of the orchards, the lack of use of modern methods of agricultural operations, including nutrition, are the main factors of low yield and have recently faced the problem dieback of branches. One of the new solutions in sustainable agriculture is to evaluate the performance of plants under stressful conditions, using beneficial soil microorganisms as biological fertilizers to reduce the damage caused by environmental stress. Biological methods are one of the very useful and environmentally friendly methods to improve the growth and nutrition of plants in stressful conditions.

Materials and Methods: In order to investigate the combined effect of chemical fertilizers, *Pseudomonas bacteria* (PGPR) and *Trichoderma* fungi on some morpho-physiological traits of orchards with red rot in two experimental orchards of Rudsar city on hazelnut trees in a randomized complete block design with five Treatment and three repetitions (each treatment and each repetition including three trees) were carried out in the two crop years of 1401-1400. The treatments include: T1- control (gardener custom) T2- soil consumption of 20 kilograms of animal manure for each tree + chemical fertilizer recommendation based on the priority of the feeding plan T3- (T2+ growth-improving bacteria) T4- (T2+ *Trichoderma* mushroom) T5- (T2+ combination *of Trichoderma* fungi and growth-improving bacteria). *Trichoderma* fungus will be equal in population ($6x10^7$) per gram and *Pseudomonas fluorescens* bacterium ($5x10^8$) per gram, which was obtained as a growth stimulant from Soil and Water Research Institute of Iran. In order to inoculate trees with *Trichoderma* fungus and *Pseudomonas* bacteria, it was used under each tree by mixing with animal manure and manure.

Results: According to the results of the variance analysis of the data related to the concentration of macro and micro elements in the first year, the effect of chemical fertilizers and the use of trichoderma fungi and growth-stimulating bacteria on the concentration of nitrogen, potassium, zinc, manganese, calcium and magnesium elements in the leaves of hazelnut trees with dieback It is not significant, but the effect of these fungi, bacteria and chemical fertilizers on the concentration of phosphorus and iron elements in the leaves of hazelnut trees is significant at the level of five percent. The results showed that the fifth treatment (combination of chemical fertilizer, organic matter and the use of *Trichoderma* fungus and *Pseudomonas* bacteria) had the most positive effects on the studied traits. These biological factors increased the absorption of nutrients, phosphorus, nitrogen, iron and copper by 68.33, 28.13, 172.48 and 146.33% respectively in hazelnut trees, which led to an increase in greenness and reduction of leaf necrosis in orchards. The integrated use of chemical and biological fertilizers, especially in combination, had an effective role in removing the slowness and stopping the growth and improving the dieback of the branches. This treatment caused a significant increase in vegetative parameters such as leaf width (39.53%), length of branch heads (80.21%), chlorophyll index (100.70%) and yield (28.57%) of hazelnut trees.

Conclusion: The results showed that T4 and T5 treatments had the most effects on the studied traits, and the use of *Trichoderma* fungi and growth-improving bacteria together played a more effective role in significantly increasing vegetative parameters such as leaf width, leaf weight, branch length, They had chlorophyll index as well as performance characteristics such as fruit length, fruit width, fruit weight and total yield. These biological factors improved the absorption of nutrients such as phosphorus, copper and iron by hazelnut trees. Therefore, the combined use of *Trichoderma* fungus and growth-improving bacteria along with organic matter and chemical nutrients were recommended for hazelnut trees with dieback in the region.

Cite this article: Lahiji, A., and Rejali, F., 2025. Investigating the effect of biofertilizers on improving the absorption of nutrients, growth and yield of hazelnut (*Corylus avellana* L.) trees in Eshkavrat area of Rudsar city in Gilan province. Soil Biology, 12 (2),213-233.

DOI: 10.22092/SBJ.2024.366006.264
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصل‌نامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

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

مقاله پژوهشی

بررسی اثر کودهای زیستی بر بهبود جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد درختان فندق استان گیلان

علی لاهیجی[۱*] و فرهاد رجالی[۲]

۱-استادیار بخش تحقیقات خاک وآب مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج. کشاورزی، رشت، ایران. lahigy_123@yahoo.com

۲- استاد پژوهش موسسه تحقیقات خاک وآب کشور سازمان تحقیقات آموزش وترویج کشاورزی ،کرج،ایران. Frejali@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۳

چکیده

فندق در استان گیلان سطحی بیش از ۱۹۰۰۰ هکتار را به خود اختصاص داده است. این گیاه ارزشمند در سال‌های اخیر به دلیل عدم استفاده از روش‌های نوین عملیات به زراعی خصوصا تغذیه تلفیقی، با عملکرد پایین و همچنین با معضل سرخشکیدگی محدود در برخی باغات مواجه شده است. به منظور بررسی اثر تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی باکتری‌های محرک رشد و قارچ *تریکودرما* بر خصوصیات رشدی باغات فندق دارای سرخشکیدگی در دو باغ منطقه اشکورات شهرستان رودسر، آزمایشی درقالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار در دو سال زراعی ۱۴۰۱- ۱۴۰۰ انجام پذیرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل: T_1- شاهد (عرف باغدار)، T_2- مصرف خاکی کود دامی به میزان ۲۰ کیلوگرم برای هر درخت + توصیه کود شیمیایی، T_3- (T_2+ باکتری *سودموناس*)، T_4- (T_2+قارچ *تریکودرما*)، T_5- (T_2+ ترکیب قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس*) در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که بیشترین اثرات مثبت را تیمار پنجم (ترکیب کود شیمیایی، ماده آلی و استفاده از قارچ *تریکودرما* و باکتری *جنس سودموناس*) روی صفات مورد بررسی داشته‌اند. این عوامل زیستی سبب افزایش جذب عناصر غذایی، فسفر، نیتروژن، آهن و مس به ترتیب۶۸/۳۳، ۲۸/۱۳، ۱۷۲/۴۸ و ۱۴۶/۳۳ درصدی در درختان فندق گردیدند، که منجر به افزایش سبزینگی و کاهش زردی درختان شد. کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی خصوصا به صورت ترکیبی، نقش مؤثری در مرتفع کردن کندی و توقف رشد و بهبود سرخشکیدگی شاخه‌ها داشت. این تیمار سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای رویشی مانند پهنک برگ (۳۹/۵۳%)، طول سرشاخه‌ها (۸۰/۲۱%)، شاخص کلروفیل (۱۰۰/۷۰٪) و همچنین عملکرد (۲۸/۵۷٪) درختان فندق گردید. لذا استفاده از تیمار تلفیقی حاوی کودهای شیمیایی، مواد آلی و نهادهای زیستی شامل قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس* برای درختان فندق دارای سرخشکیدگی در منطقه توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *سودوموناس*، زردی برگ، سرخشکیدگی شاخه، *تریکودرما*، فندق

استناد: لاهیجی، ع. و رجالی، ف. ۱۴۰۳. بررسی اثر کودهای زیستی بر بهبود جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد درختان فندق(*Corylus avellana L.*) منطقه اشکورات شهرستان رودسر استان گیلان. زیست شناسی خاک ۱۲(۲)،۲۳۳-۲۱۳.

مقدمه

فندق درختچه‌ای از خانواده Betulaceac و از جنس Corylus است. این گیاه بومی اروپا، آسیای صغیر و قفقاز بوده، تاکنون ۲۵ گونه مختلف آن در دنیا شناسایی شده است (Hossein-Ava ,2019). گیاه فندق دوستدار شرایط اقلیمی با آب و هوای معتدل سرد و زمستان ملایم و تابستان خنک است این گیاه اصولا مقاومت خوبی در مقابل سرما دارد و قبل از رسیدن و شکفتن در برابر سرما مقاومت داشته و سرمای کمتر از منفی ۱۸ درجه را نیز تحمل می‌کند، اما شاتون‌ها یا گل‌های نر پس از شکفتن در مقابل سرما حساس بوده و اگر سرما به ۷- تا ۸- درجه سانتی‌گراد زیر صفر برسد خسارت می‌بیند (Ajili Lahiji *et al* ., 2016). براساس گزارش (FAO, 2020) در سال ۲۰۱۹ سطح زیر کشت فندق در جهان در حدود ۶۶۲۵۲۶ هکتار بوده که بیش از ۶۵ در صد آن به کشور ترکیه تعلق دارد. بعد از ترکیه، کشورهای ایتالیا، آمریکا و آذربایجان در رتبه‌های بعد قرار دارند. در چند دهه اخیر، این گیاه ارزشمند مورد توجه همسایه‌گان شمالی قرار گرفته و به طور گسترده در کشورهای آذربایجان و گرجستان در حال کشت می‌باشد. براساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۷، سطح زیر کشت فندق در کشور در حدود ۲۴۷۱۸ هکتار بود که حدود ۸۰ درصد به استان گیلان تعلق دارد. بعد از گیلان، استان‌های قزوین، مازندران، زنجان، اردبیل و قم در رتبه‌های بعدی قرار دارند. میزان تولید فندق در ایران حدود ۲۲۲۹۳ تن می‌باشد که گیلان با ۱۹۰۰۰ تن در رتبه اول، قزوین با ۲۳۶۳ تن، مازندران با ۲۰۰۳ تن، زنجان با ۵۳۶ تن، اردبیل با ۲۷۴ تن و قم با ۲۵۴ تن در رتبه‌های بعد قرار دارند..در سال‌های اخیر سرخشکیدگی فندق به عنوان یک عامل کاهنده عملکرد در استان گیلان، مطرح گردیده که سریعا باید به علل و عوامل ایجاد این عارضه و همچنین روش‌های کنترل آن شناخت پیدا نمود. براساس مطالعه صورت گرفته، pH بالای خاک و تجمع آهک در عمق پروفیل به همراه تنش‌های رطوبتی، از مهمترین مشکلات باغات فندق گیلان می‌باشد (Ajili Lahiji, and Basirat, 2018). خصوصیات خاکی ذکر شده، مشابه سایر خاک‌های مناطق خشک و کوهستانی کشور، محدودیت‌هایی را برای جذب برخی از عنصرهای غذایی ایجاد می‌کند.حاصلخیزی خاک نه تنها به شرایط فیزیکی خاک و سطح عناصر غذایی بستگی دارد، بلکه ارتباط تنگاتنگی با پدیده‌های زیستی دارد. فعالیت‌های اجرایی که با هدف بهبود حاصلخیزی خاک انجام می شود اغلب ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک را در نظر گرفته و ویژگی‌های زیستی خاک اغلب نادیده گرفته می‌شوند (Kizilkaya *et al*.,2022). رستمی‌کیا و همکاران (Rostamikia *et al*.,2024) تأثیر سه نوع باکتری *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas putida* و *Enterobacter cloacae* را روی نونهال‌های فندق بررسی و عنوان نمودند، بیشترین اندازه ارتفاع، قطر یقه و سطح برگ به ترتیب با ۲۶/۸۸ سانتیمتر، ۷/۱۷ میلی‌متر و ۲۳/۸۷ سانتیمترمربع و بیشترین غلظت نیتروژن ۲/۸۱٪ در تلقیح ترکیبی سه باکتری مشاهده شد. بیشترین وزن خشک ریشه، حجم ریشه، وزن خشک اندام هوایی، زیتوده خشک، شاخص کیفیت نونهال‌ها و بیشترین غلظت فسفر با تلقیح *P. putida* به دست آمد. بیشترین مقدار غلظت آهن و روی به ترتیب در تلقیح با باکتری‌های *P. putida* و *B. subtilis* مشاهده گردید. آنها نتیجه‌گیری نمودند که، تلقیح ریشه نونهال‌ها با باکتری‌های محرک رشد(PGPR)[1] می‌تواند راهکاری مناسب برای تولید نهال سالم و قوی در نهالستان و همچنین افزایش موفقیت نهال‌کاری در رویشگاه‌های با سطح حاصلخیزی نامطلوب و تخریب یافته فندق باشد. رستمی‌کیا و همکاران (Rostamikia *et al*., 2022) گزارش نمودند استفاده از نهال‌های فندق تلقیح شده با قارچ‌های *میکوریز* از طریق بهبود سرعت فتوسنتز و کاهش تعرق، موجب افزایش راندمان آب مصرفی شده و می‌تواند

[1] - Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

درصد زنده‌مانی، استقرار و رشد رویشی بیشتری را بدنبال داشته باشد. بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان اذعان داشت از نظر بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیکی بین قارچ‌های *میکوریزی* مورد بررسی، قارچ *R.irregularis* برای تلقیح نهال‌های فندق، مناسبتر تشخیص داده شد. رستمی‌کیا و همکاران (Rostamikia *et al.*, 2024) در تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum Rifai* بر زنده-مانی، رشد و تغذیه نهال‌های فندق عنوان نمودند که نهال-های تلقیح شده فندق با این قارچ وضعیت مطلوب‌تری را در مقایسه با نهال‌های شاهد داشتند. نهال‌های مبدأ فندقلو در تلقیح با قارچ *T.harzianum* از نظر تمامی صفات مورد بررسی نسبت به نهال‌های مبدأ مکش و مکیدی برتری داشتند. زنده‌مانی در این نهال‌ها ۶۵/۸ درصد، ضخامت قطر یقه ۵۲/۲ درصد، ارتفاع ۶/۵۴ درصد، زیتوده‌های خشک ریشه، ساقه و برگ به‌ترتیب ،۶۰/۴۸، ۴۶/۵، و ۳۷/۴۰ درصد و غلظت عناصر غذایی برگ شامل نیتروژن ،۲۷/۸۱ فسفر ۲۳/۲۳ و پتاسیم ۳۴/۷ درصد نسبت به نهال‌های مایه‌زنی نشده از مبدأ فندقلو افزایش داشت. در سناریوی تغییرات اقلیمی، استفاده از کودهای معدنی به صورت برگی به ویژه در شرایطی که جذب مواد مغذی از خاک محدود بوده مفید معرفی شده و نشان‌دهنده راه دیگری برای تامین مواد مغذی در طول مراحل رشد بحرانی فندق است (Silvestri *et al.*, 2021). PGPR سبب افزایش جذب آب در گیاه گردیده و با افزایش محتوای رطوبت نسبی در برگ، برای مدت طولانی‌تری روزنه‌ها باز مانده و در نتیجه جذب CO_2، فتوسنتز و تعرق در گیاه افزایش خواهد یافت. با توجه به اینکه PGPR قابلیت دسترسی به عناصری چون نیتروژن و فسفر را از طریق ترشح اسیدهای آلی و توسعه ریشه را افزایش می‌دهند بنابراین، می‌توانند بر جذب عناصر کم‌مصرف نیز مؤثر باشند. یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2011) تولید سیدروفور توسط باکتری‌های جنس *سودموناس* و اسیدهای آلی توسط باکتری‌های *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* اثبات شده است (Ahmad *et al.*, 2006). افزایش جذب عناصر کم‌مصرف به خصوص آهن، منگنز و روی توسط گیاه با تولید سیدروفورهای گیاهی مرتبط می‌باشد (Arzanesh *et al.*, 2013). PGPR از طریق تولید آبسیزیک اسید که مربوط به پاسخ گیاه به تنش آبی می‌باشد و تولید اکسین که باعث ایجاد ریشه‌های جانبی و افشان و تسهیل انتقال شعاعی آب و افزایش هدایت هیدرولیکی می‌شود سبب بهبود تنظیم اسمزی نهال‌ها می‌شوند (Kothari Boiero *et al.*, 2007; *et al.*, 1990). *سودوموناس‌ها* از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری و فیلوسفری هستند که به دلیل توانایی بالا در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها در بیشتر محیط‌ها مشاهده می‌شوند (Vyas and Gulati, 2009). گونه‌های *سودوموناس* که در کنترل قارچ‌های بیماریزا مؤثر بوده با تنظیم اتیلن در گیاه توسط روش‌هایی مانند: تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیمها، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Henry *et al.*, 2008). *تریکودرما*، قارچی خاکزی، فرصت‌طلب، غیر بیماریزا، همیار با ریشهٔ گیاهان است و به دلیل تنوع متابولیسمی و قدرت رقابتی بالا در بیشتر مناطق، از ریزجانداران غالب فلورقارچی خاک است و جزو متداولترین قارچ‌های استفاده شده در محیط کشت گیاهان زراعی و باغی است (Kaewchai *et al.*, 2010). توان ترشح آنزیم‌های مختلف خارج‌سلولی در خاک، توان بالای کلنیزاسیون ریزوسفر، قدرت همیاری در ریشه، توان اسپورزایی زیاد، تحمل به شوری از خصوصیات مهم گونه-های مختلف جنس *تریکودرما* به حساب می‌آید (Altomare *et al.*, 1999; Harman *et al.*, 2004). موفقیت *تریکودرما* در ریزوسفر به علت ظرفیت تولید مثل بالا، توانایی زنده ماندن در شرایط بسیار نامطلوب، ایجاد اثرات متقابل تغذیه‌ای با گیاه، ظرفیت بالای تغییر ریزوسفر و مقاومت بالا در برابر قارچ‌های بیماریزای گیاهی است (Benitez *et al.*, 2004). همچنین گونه‌های *تریکودرما* باعث تغییر متابولیسم گیاه می‌شوند به طوری که منجر به

افزایش توسعه ریشه، باروری محصول و مقاومت به تنش-های زنده و غیر زنده می‌گردند (Vinale *et al.*, 2008). رادرش و همکاران (Rudresh *et al.*, 2005) طی یک بررسی گزارش نموده‌اند که تلقیح همزمان *تریکودرما*، *ریزوبیوم* و باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)[۲] باعث افزایش جذب نیترژن و فسفر شاخساره گیاه نخود شده است.استفاده از کودهای آلی نظیر ورمی‌کمپوست در کشاورزی پایدار، باعث فراهم شدن عناصر غذایی اصلی و میکرو همراه با برخی آنزیم‌ها و هورمون‌های محرک رشد است که در نهایت منجر به بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (Yuvaraj *et al.*, 2021). باتوجه به عدم استفاده باغداران منطقه از کودهای شیمیایی مورد نیاز به-ویژه ریزمغذی‌ها و وقوع تغییرات شدید اقلیمی در منطقه اشکورات شهرستان رودسر در سال‌های اخیر، که سبب افزایش زردی برگ‌ها و خشکیدگی محدود سرشاخه‌ها در باغات فندق استان گردیده است. لذا لازم است که در مدیریت تغذیه باغات فندق استان تجدید نظر صورت گیرد. بر این اساس هدف از انجام این پژوهش، مطالعه اثر کاربرد کودهای شمیایی، آلی و نهاده‌های زیستی با هدف بررسی اثر بخشی آنها در افزایش رشد، عملکرد، جذب عناصر غذایی و رفع علائم زردی و خشکیدگی محدود سرشاخه های درختان فندق منطقه بوده است.

مواد و روشها

محل اجرای طرح

برای انجام این پژوهش دو باغ با همکاری کارشناسان جهاد کشاورزی شهرستان در دو روستای شاهراج و صارم از توابع دهستان ارکم، بخش رحیم آباد شهرستان رودسر استان گیلان انتخاب گردید. مختصات این باغات به شرح ذیل بوده است (صارم:X=۰۴۳۸۶۰۱؛ Y=۴۰۶۶۹۱۸ و شاهراج: X=۰۴۳۹۱۴۵ ؛ Y=۴۰۶۸۳۷۴). درختان فندق این باغات از رقم (گرد اشکور) و سن آنها بیش از ۵۰ سال با دور آبیاری ۱۴ روز یکبار که به صورت فواصل ۶ ×۶ در خطوط ۷۰ متری کشت شده بودند. درختان دارای کندی رشد، زردی برگ و سرخشکیدگی محدود شاخه‌ها بودند.

اندازه‌گیری ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک باغات فندق

به منظور اجرای طرح، نمونه‌گیری از عمق ۴۰-۰ سانتی‌متری خاک به طور مرکب انجام شد و یک نمونه دوکیلوگرمی به آزمایشگاه خاک و آب مرکز تحقیقات گیلان تحویل گردید. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری گردید. این خصوصیات شامل :بافت خاک به روش هیدرومتری، pH در گل اشباع به وسیله الکترودشیشه‌ای، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی، کربن‌آلی خاک به روش هضم تر، فسفر قابل استفاده به روش اولسن قرائت به وسیله دستگاه اسپکترفتوومتر SECOMAM (مدل UVLine2600، ساخت کشور فرانسه) ، مقدار آهک با روش اسید کلریدریک، غلظت پتاسیم قابل جذب تبادل با روش استات آمونیوم و فلیم‌فتومتری (Pich *et al.*, 1992) کلسیم و منیزیم به روش کمپلکسومتری و تیتراسیون با EDTA (Rayan *et al.*, 2001) و عناصر آهن، منگنز، روی و مس به وسیله دستگاه جذب اتمی Termoelmental مدل ICE3500 (Cottenie *et al.*, 1980) اندازه‌گیری گردید.

اجرای طرح در باغات فندق

این طرح به صورت دوساله و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی که هر بلوک شامل یک ردیف از درختان که فاصله هر ردیف از یکدیگر شش متر بود، در اوایل بهمن ماه سال ۱۳۹۹ انجام شد. به منظور اجرای طرح بر اساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی، کودهای

---

[۲] - Phosphate Solubilizing Bacteria

شیمیایی با حفر سه چاله زیر سایه‌انداز درخت به عرض ۳۰ و عمق ۴۰ سانتی‌متر با ۲۰ کیلو گرم کود دامی مخلوط و تیمارهای مورد نظر اعمال گردید. برای هر تیمار و هر تکرار سه درخت استفاده گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل: T_1–۱ شاهد (عرف باغدار،۲۰۰ گرم کود اوره) ۲–T_2 مصرف خاکی کود دامی به میزان ۲۰ کیلوگرم برای هر درخت+ کودهای شیمیایی براساس آزمون خاک (کود سولفات آمونیم۷۵۰ گرم در سه مرحله، سوپرفسفات تریپل۲۵۰گرم، سولفات پتاسیم ۵۰۰ گرم و کودهای ریز مغذی شامل سولفات آهن، منگنز، مس و روی هر کدام۱۵۰ گرم) ۳–T_3 تیمار ۲ + باکتری *سودوموناس*۴–T_4 تیمار ۲ + قارچ *تریکودرما* ۵–T_5 تیمار۲ + ترکیب قارچ‌های *تریکودرما* و باکتری *سودوموناس* بودند.

آماده‌سازی و مایه‌زنی درختان فندق با قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودوموناس*

قارچ *تریکودرما* در هرگرم پروپاگول با جمعیت (CFU/gr) ۶×۱۰^{۷}، بر اساس روش شمارش کلنی و با استفاده از محیط‌های کشت مناسب (بکینگ ،۲۰۰۶) و باکتری *سودوموناس فلوروسنس* با جمعیت (CFU/gr)۵×۱۰^{۸} در هرگرم مایه تلقیح از موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید. به منظور تلقیح درختان فندق با قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودوموناس فلورسنس* از روش ترکیب با کود دامی و چالکود (مجزا از کود شمیایی) به میزان ۱۰۰ گرم در دو طرف هر درخت استفاده گردید.

اندازه‌گیری پارامترهای رویشی درختان فندق

در انتهای سال زراعی صفات رویشی شامل: شاخص سبزینگی و عرض پهنک برگ، رشد شاخه سال جاری، میزان عملکرد تر، طول و عرض میوه فندق اندازه-گیری شد. طول شاخه‌ها با استفاده از متر، عرض پهنک برگ، طول و عرض میوه توسط کولیس دیجیتال اندازه-گیری شد. عملکرد تر با ترازو دستی، وزن برگ و میوه با ترازو دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای به دست آوردن رشد شاخه‌های سال جاری، ابتدا چهار شاخه در چهار جهت درخت انتخاب و پس از علامتگذاری، رشد هر یک در انتهای سال اندازه‌گیری شد و با میانگین‌گیری از این چهار عدد، متوسط رشد شاخه‌های سال جاری درخت تعیین شد. همچنین میزان کلروفیل نسبی با دستگاه کلروفیل سنج پرتابل (Eijkelkamp؛ مدلC9.38، ساخت کشور هلند) اندازه‌گیری شد. این پارامترها در دو سال متوالی اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی در برگ درختان فندق

در مرداد ماه که میزان عناصر موجود در برگها ثابت است، نمونه برگ‌های سالم از چهار طرف درخت به تعداد ۱۰۰ عدد جمع آوری شد. پس از شست و شوی برگ‌ها و قرار گرفتن، در پاکت‌های کاغذی مخصوص، به مدت ۴۸ ساعت درآون با درجه حرارت ۶۵ درجه سلسیوس خشک گردید. پس از آن نمونه‌ها با آسیاب پودر شد. برای تهیه عصاره، یک گرم از نمونه‌های پودر شده در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به روش سوزاندن خشک خاکستر شد. برای اندازه گیری عناصر در برگ علاوه بر روش‌های ذکر شده در میزان فسفر در برگ به روش رنگ زرد آمونیم مولیبدات-وانادات (Chapman and Pratt, 1961) و نیتروژن با روش کلدال (Bremner and Keeney, 1965) اندازه‌گیری گردید. عناصر غذایی موجود در برگ صرفا در سال اول اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس دادههای حاصل با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین داده‌های بدست آمده از نرم افزار و جدول‌ها و نمودارهای مربوطه با استفاده از برنامه-های Word و Excel ارائه گردید.

نتایج و بحث

نتایج خاک

درخت فندق دارای ریشه‌هایی افشان و سطحی بوده و بیشتر توسعه ریشه فندق تاعمق cm ۴۰ می‌باشد لذا از این عمق به صورت مرکب در زیر سایه‌انداز درخت نمونه-برداری شده و نتایج ذیل بدست آمد. نتایج داده‌های خاک نشان داد که از نظر هدایت الکتریکی وکربن آلی خاک‌ها دارای وضعیت مطلوبی بودند. اما باغات از نظر عناصر غذایی دارای کمبود شدید فسفر و آهن بودند. همچنین نتایج خاک نشان داد که قلیائیت خاک‌ها بسیار بالا بود و میزان آهک نیز در یکی از باغات بیش از ۱۰٪ بود.

جدول ۱- نتایج برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک دو باغ انتخابی منطقه

مشخصات نمونه	%کربن آلی (OC)	آهک% (TNV)	بافت خاک کلاس	رس%	سیلت %	شن %	منگنز (mg/kg)	آهن (mg/kg)	مس (mg/kg)	روی (mg/kg)	منیزیم (mg/kg)	کلسیم (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	فسفر (mg/kg)	واکنش خاک (pH)	هدایت الکتریکی Ec (dS/m)
باغ منطقه شاهراج (امیری۱)	۱/۸۷	۶/۷۵	Sandy Clay Loam	۲۶/۲۳	۲۴/۸۵	۴۸/۹۲	۱۷/۶۹	۵/۴۷	۳/۶۶	۳/۶۶	۱۰	۱۰۴	۴۲۷/۰	۳/۷۶	۸/۲۳	۰/۷۲۷
باغ منطقه صارم (عبدی زاده ۲)	۲/۷	۱۴/۶	Loam	۱۴/۹۷	۳۴/۱۷	۵۰/۸۵	۱۳/۹۹	۶/۲۹	۱/۱۷	۳/۲۷	۹۱/۲	۸۰	۵۱۰/۴	۴/۵۹	۷/۹۸	۰/۸۵۸

اثرتیمارها برجذب عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف بر درختان فندق

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، تأثیرتیمارهای کودهای شیمیایی و تلقیح قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس فلورسنس* بر غلظت عناصر فسفر و مس در سطح خطای ۵٪ و آهن در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. اما اثر تیمارهای کودهای شیمیایی و تلقیح قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس فلورسنس* بر غلظت عناصر نیتروژن، پتاسیم، روی، منگنز، کلسیم و منیزیم در برگ درختان فندق معنی‌دار نگردید (شکل۱ و ۲).

جذب نیتروژن

نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در باغات فندق تاثیر معنی‌داری بر غلظت عنصر نیتروژن در برگ درختان نداشت. در بین تیمارهای مورد استفاده تیمار قارچ *تریکودرما* با ۲/۸۷ ٪ بالاترین میزان غلظت نیتروژن افزایش ۲۸/۱۲٪ را در مقایسه با شاهد (کمترین میزان نیتروژن ۲/۲۴٪) در برگ درختان فندق نشان داد (شکل ۱). حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) نیز در بررسی اثر قارچ-های *تریکودرما* بر بهبود رشد و تغذیه درختان پسته عنوان نمودند، قارچ *تریکودرما* بر غلظت عنصر نیتروژن معنی‌دار نشده است. جمالی‌فرد و همکاران (Jamalifard *et l.*, 2015) در بررسی تاثیر تیمارهای کود دامی و باکتری *سودموناس* در دو رقم پسته عنوان نمودند که باکتری *سودوموناس* باعث افزایش جذب نیتروژن، به میزان ۲۲ درصد در رقم قزوینی نسبت به بادامی ریز زرند شد که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همچنین دولتی بانه و همکاران (Doulati Baneh *et al.*, 2020) عنوان نموند که قارچ *میکوریزا* نتوانست اثر معنی‌داری بر جذب نیتروژن در برگ انگور در مقایسه با شاهد داشته باشد.

جذب فسفر

نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در باغات فندق بر جذب عنصر فسفر در برگ درختان در سطح خطای ۵٪ معنی‌دار شد.

بیشترین میزان فسفر برگ (۱/ ٪) در تیمار T_5 ترکیب *قارچ تریکودرما* و باکتری *سودموناس*، افزایش ۶۸/۳۳ درصدی جذب در مقایسه با تیمار با شاهد (۰/۰۶٪) داشت. اثر متقابل تیمارها در مکان نیز معنی‌دار گردید. با توجه به کمبود عنصر در خاک باغات تحت کشت، این ریزجاندران نقش موثری درحلالیت فسفر درخاک آهکی و جذب فسفر داشتند. آلتومر و همکاران (Altomare *et al.*, 1999) برای نخستین بار توانایی *تریکودرما (هارازنیوم)* را در انحلال فسفر گزارش کردند. افزایش جذب عناصر غذایی از جمله فسفر بوسیله افزایش سطح جذب ریشه‌ها (Azarmi *et al.*, 2011) محلول ساختن فسفر از طریق ترشح اسیدهای آلی از جمله مواردی است که این گونه‌های قارچی در افزایش فراهمی فسفر و نیز افزایش جذب آن توسط گیاه به کار می‌گیرند (Wei *et al.*, 2018). این موضوع، اهمیت توان بالای ریزجانداران را در افزایش جذب فسفر توسط گیاه میزبان، خاطر نشان می‌سازد. افزایش جذب فسفر در گیاهان تلقیح شده، به واسطه تأثیر بر افزایش رشد و جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و نیز افزایش حلالیت یون‌ها از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد، خصوصا آنزیم فسفاتاز و افزایش تولید هورمون-های رشد از جمله اکسین و سیتوکینین و در نتیجه افزایش فسفر در منطقه تخلیه ریشه می‌باشد (Zaidi *et al* ,. 2004). این نتایج با نتایج حسین‌زینلی (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) که عنوان نمود تلقیح درختان پسته با قارچ-های *تریکودرمای* محرک رشد گیاه نقش موثری در افزایش فسفر برگ داشت و کاربرد این قارچ‌ها باعث افزایش معنی‌دار غلظت فسفر برگ در مقایسه با شاهد گردید مطابقت داشت.

جذب پتاسیم

نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در باغات فندق اختلاف معنی-داری در جذب عنصر پتاسیم در برگ درختان در مقایسه با شاهد ایجاد نگردید. یکی از مهمترین دلایل آن می تواند بالا بودن غلظت پتاسیم در خاک‌های منطقه باشد. در این ارتباط لایق‌حقیقی و عباس‌زاده (Layeghhaghighi and Abbaszadeh, 2022) نیز عنوان نمودند که اثر متقابل کود آلی ورمی‌کمپوست و باکتری‌های محرک رشد بر میزان پتاسیم و منیزیم برگ درختان به لیمو (*Lippia citriodora* L.) معنی‌دار نشده است و اثر اصلی این باکتری‌ها نیز اختلاف معنی‌داری در میزان غلظت پتاسیم برگ در مقایسه با شاهد ایجاد ننمودند. دولتی بانه و همکاران (Doulati Baneh *et al.*, 2020) نیز عنوان نمودند که تغییرات میزان پتاسیم برگ درختان انگور، کمتر تحت تاثیر نوع قارچ‌های بکار گرفته واقع شده است. رستمی‌کیا و همکاران (Rostamikia *et al.*, 2017) در بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر صفات رویشی و عناصر تغذیه‌ای نونهال‌های فندق اردبیل نیز عنوان نمودند که این باکتری‌ها بر میزان غلظت پتاسیم برگ اثر معنی داری ایجاد ننمودند. همچنین با نتایج فتاحی و همکاران (Fattahi *et al.*, 2017) در بررسی تأثیر قارچ میکوریز آربسکولار بر جذب و توزیع برخی عنصرهای غذایی در دانهال‌های پسته عنوان نمودند که تفاوتی بین دانهال‌های میکوریزی و بدون آن از نظر میزان انتقال پتاسیم مشاهده نشد، مطابقت دارد. این نتایج، با نتایج حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) که عنوان نمودند کاربرد هر سه تیمار قارچ *تریکودرما* باعث افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم در مقایسه با شاهد گردید، متفاوت است.

جذب کلسیم و منیزیم

نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در باغات فندق بر جذب عناصر کلسیم و منیزیم برگ درختان معنی‌دار نبود. اما این دو عنصر کلسیم و منیزیم در تیمار T_4 (قارچ *تریکودرما*) در باغ دوم بالاترین مقدار را به ترتیب ۲/۱٪ و۳۶ /۰٪ افزایشی حدود ۵۰ و ۴۰ درصدی را در مقابل کمترین مقدار تیمار T_2 (تغذیه شیمیایی) ۱/۴ و ۰/۲۶ به خود اختصاص دادند. این نتایج حاکی از تاثیر مثبت هیف‌های قارچ‌های *تریکودرما* را

درجذب آب و مواد غذایی می‌باشد. اغلب سویه‌های *تریکودرما*، با ترشح اسیدهای آلی همچون اسید گلوکونیک، اسید سیتریک و اسید فوماریک محیط اطرف خود را اسیدی می کنند و در نتیجه قادر به حل کردن فسفات، منیزیم، ریزمغذی‌های آهن و منگنز خواهند بود (Harman *et al.*, 2004). جمالی‌فرد و همکاران (Jamalifard *et al.*, 2015) در بررسی تاثیر تیمارهای کود دامی و باکتری *سودموناس* در دو رقم پسته عنوان نمودند که باکتری *سودوموناس* باعث افزایش جذب عناصر کلسیم و منیزیم به ترتیب به میزان ۳ و ۲۳ درصد در رقم قزوینی نسبت به بادامی ریز زرند شد که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. این نتایج، با نتایج حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) که حاکی از عدم تاثیر قارچ‌های تریکو*درما* در باغات پسته رفسنجان بر غلظت عناصر نیتروژن و کلسیم بودند، تطابق دارد.

جذب آهن و منگنز

نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی بر جذب عنصر آهن در برگ درختان فندق در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان آهن (۸۹۱ میلی‌گرم برکیلوگرم) در تیمار T_5 ترکیب *قارچ تریکودرما* و باکتری *سودموناس*، افزایش ۱۷۲/۴۸ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد (۳۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را داشت. اثر متقابل تیمارها در مکان‌های مختلف نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. لایق‌حقیقی و عباس‌زاده (Layeghhaghighi and Abbaszadeh, 2022) عنوان نمودند اثر متقابل کود آلی ورمی‌کمپوست و باکتری محرک رشد در درختان به لیمو بر عناصر آهن، منگنز و روی درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. رسولی و همکاران (Rasouli *et al.*, 2008) در مطالعات خود بر گندم بیان داشتند که باکتری *سودموناس فلورسنس*، قادرند با تولید سیدروفور در گیاه تلقیح شده، نقش مهمی در جذب آهن داشته باشند. لی و همکاران (Li,. 2015) نقش قارچ تریکو*درما هارزیانوم* در تنظیم رشد گیاه به دلیل خاصیت کلات کنندگی ترشحات آن دانستند. جمالی فرد و همکاران (Jamalifard *et al.*, 2015) عنوان نمودند که اضافه کردن باکتری به دو رقم پسته بادامی باعث افزایش تقریبا ۳۰ و ۶۰ درصدی جذب فسفر، آهن و روی به ترتیب در رقم زرندی و قزوینی نسبت به شاهد گردید.

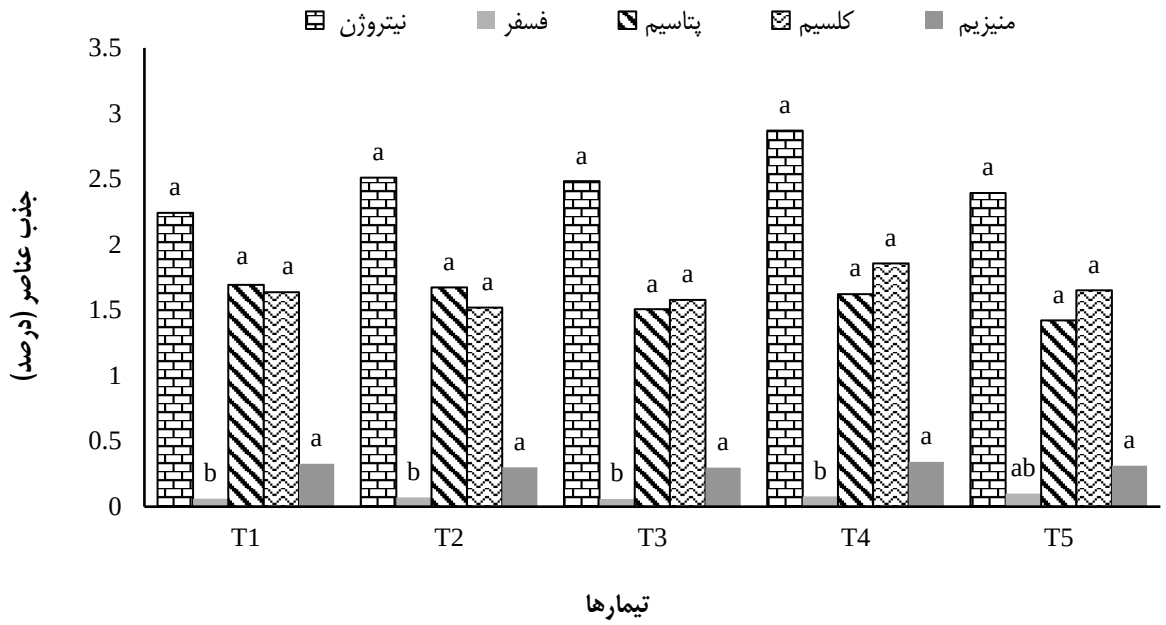
در خصوص عنصر منگنز، نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی بر جذب عنصر منگنز معنی‌دار نبود. حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) نیز عنوان نمودند که کاربرد قارچ‌های *تریکودرما* با صفات محرک رشد گیاهی در باغ پسته تأثیر معنی‌داری بر جذب عنصر منگنز در برگ درختان نداشته است.

جذب مس و روی

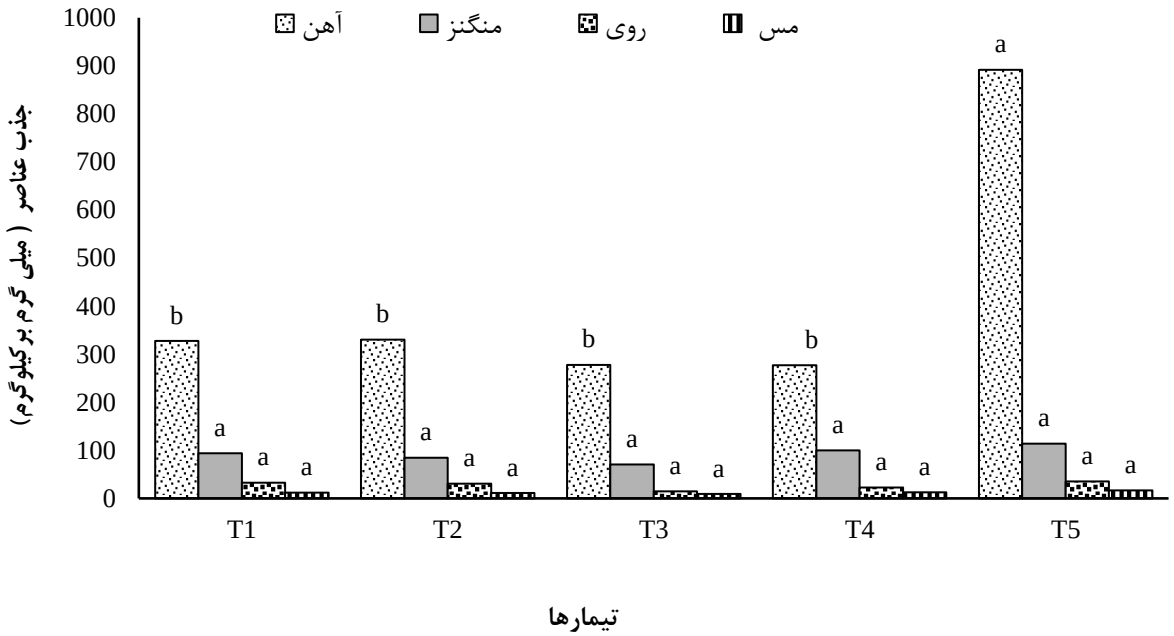
نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی بر جذب عنصر مس و روی معنی‌دار نبود. اثر متقابل مکان در تیمارها درخصوص عنصر مس سطح ۵٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان مس در تیمار T_5 (تیمار ترکیبی قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس*) با میزان (۱۸/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) در باغ شماره یک، افزایش ۱۴۶/۳۳٪ در مقایسه با تیمار شاهد (۷/۳۳ میلی‌گرم درکیلوگرم) داشت.

حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) در بررسی تأثیر قارچ‌های *تریکودرمای* محرک رشد بر بهبود رشد و تغذیه درختان پسته عنوان نمودند که تیمارهای قارچی تأثیر معنی‌داری بر غلظت مس و منگنز برگ درختان نداشته است، اما تأثیر معنی‌داری بر غلظت عنصر روی برگ درختان پسته داشت. جمالی فرد و همکاران (Jamalifard *et al.*, 2015) نیز عنوان نمودند که اضافه کردن باکتری به دو رقم پسته بادامی باعث افزایش جذب عناصر مس و منگنز به ترتیب به میزان ۲۵ و ۳ درصدی در رقم قزوینی نسبت به بادامی ریز زرند شد که این افزایش از لحاظ آماری نیز معنی‌دار نبود و نشان دهنده پاسخ یکسان دو رقم در جذب این عناصر در حضور

باکتری بوده است. این نتایج با نتایج عالی‌پور و همکاران (Aalipour *et al.*, 2015) که عنوان نمودند این کودهای زیستی غلظت عناصر فسفر، روی، آهن، به ترتیب چهار برابر، پنج برابر و ۳۴٪، نسبت به درختان شاهد چنار را افزایش دادند مطابقت نداشت.



شکل۱- میانگین تاثیر تیمارهای مختلف برجذب عناصر پرمصرف: T1 شاهد، T2 کودهای شیمیایی براساس آزمون خاک، T3 تیمار ۲ + باکتری سودوموناس، T4 تیمار ۲+قارچ تریکودرما، T5 تیمار۲ + (قارچ های تریکودرما وباکتری سوموناس)،حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است.



شکل۲- میانگین تاثیر تیمارهای مختلف برجذب عناصر کم مصرف: T1 شاهد، T2 کودهای شیمیایی براساس آزمون خاک، T3 تیمار ۲ + باکتری سودوموناس، T4 تیمار ۲+قارچ تریکودرما، T5 تیمار۲ + (قارچ های تریکودرما وباکتری سوموناس)،حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است.

جدول۲- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) غلظت عناصر ماکرو و میکرو برگ فندق تحت تأثیر تیمارهای شیمیایی و زیستی

منابع تغییرات	درجه آزادی	منگنز (mg/kg)	مس (mg/kg)	آهن (mg/kg)	روی (mg/kg)	منیزیم (%)	کلسیم (%)	پتاسیم (%)	فسفر (%)	نیتروژن (%)
مکان	۱	۵۴/۴۴^{ns}	۲۶۶/۲۸*	۴۳۲۲۸۱/۵۸*	۲۴۱۱/۹۸*	۰/۰۱۳**	۰/۷۲۳**	۱/۸۴۵**	۰/۰۱۹**	۰/۱۴۶^{ns}
خطا	۴	۱۶۵۵	۲۸/۴	۵۲۰۸۹	۱۹۵	۰	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۱۶
تیمار	۴	۱۵۸۷/۷۷^{ns}	۴۷/۸۸^{ns}	۴۱۹۷۰۴/۶۳**	۴۱۶/۸۵^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۹۸^{ns}	۰/۰۸۱^{ns}	۰/۰۰۲*	۰/۳۲۳^{ns}
تیمار* مکان	۴	۸۴۵/۰۶^{ns}	۶۹/۲۵*	۴۴۲۷۹۹/۷۳**	۳۵۲/۲۳^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۵۴^{ns}	۰/۰۶۵^{ns}	۰/۰۰۲*	۰/۳۵۱^{ns}
خطا	۱۶	۱۳۴۰	۲۶/۳	۷۷۸۶۵	۲۲۷	۰	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۲۵۰

*، ** و ns :به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

اثر تیمارها بر صفات رویشی درختان

رشد سرشاخه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۳ و ۴) نشان داد که اثر اصلی تیمارهای مختلف زیستی و شیمیایی بر رشد سر شاخه‌ها در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان رشد رویشی سرشاخه‌ها در تیمار T_5 ترکیب قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس* (۱۳۶/۶ سانتی‌متر) افزایش رشد ۸۰/۲۱ درصدی را در مقایسه با شاهد (۷۵/۸ سانتی‌متر) داشت.

حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) گزارش کردند تأثیر قارچ‌های *تریکودرما* در تغذیه درختان پسته در شرایط نسبتاً شور و خشک، طول شاخه و تعداد جوانه و سطح برگ رویشی به ترتیب ۵۵/۸، ۳۷/۴ و ۵۰ درصد در مقایسه با درختان شاهد افزایش داد. رستمی‌کیاء و همکاران (۱۴۰۳) نیز عنوان نمودند که بیشترین رویش ارتفاعی با ۶/۵۴ سانتی‌متر، بیشترین مقدار زیتوده ریشه، ساقه و برگ به ترتیب با ۲۲/۵۱، ۲۰/۵۰ و ۵/۳۲ گرم به نهال‌های فندق با مبدأ فندقلو در اثرتلقیح با قارچ *تریکودرما* و کمترین مقدار آن به نهال‌های شاهد اختصاص دارد، آنها عنوان نمودند که قارچ *تریکودرما* با بهبود سیستم ریشه‌ای و افزایش سطح ریشه نهال‌ها، جذب آب و عناصر غذایی را توسط گیاه تسهیل کرده و سبب افزایش رشد رویشی نهال‌های فندق گردیده است. در این راستا، استون و همکاران (Estaun *et al.*, 2003) با بررسی اثر تلقیح قارچ‌های میکوریزی بر نهال‌های زیتون در شرایط نهالستان و عرصه در شمال شرقی اسپانیا نشان دادند که این قارچ‌ها باعث افزایش رشد رویشی نهال‌ها شدند. سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2010) بر این باورند که گونه های قارچی *تریکودرما* به دلیل افزایش جذب مواد مغذی سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند.

عرض پهنک و وزن برگ

اثر اصلی تیمارهای مختلف زیستی و شیمیایی بر عرض پهنک و وزن برگ در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین عرض پهنک در تیمار T_4 تیمار تریکودرما (۱۱/۸۶ میلی‌متر) افزایش ۳۹/۵۳ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد (۸/۵ میلی‌متر) داشت. بیشترین میزان وزن برگ در تیمار T_5، تیمار ترکیبی *باکتری سودموناس* و *قارچ تریکودرما* (۱/۷ گرم) افزایش دو برابری در مقایسه با تیمار شاهد (۰/۸ گرم) را داشت. افزایش عملکرد و ویژگی های رشد می‌تواند به دلیل افزایش سطح جذب ریشه‌ها از طریق نفوذ میسیلیوم قارچ در خاک و بالطبع دسترسی گیاه به حجم بیشتری از خاک گردد (Sonar *et al.*, 2013). باکتری‌ها نیز می‌توانند از طریق تأمین منابع غذایی و انواع

پروتئینهای مورد نیاز گیاه، موجب بهبود خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و زیستی خاک، افزایش تولید اسیدهای آمینه و آلی، کاهش اثرات تنش‌های محیطی از طریق افزایش مقاومت گیاه و حفظ رطوبت بیشتر در اطراف ریشه شوند، در نتیجه رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (Mokaram-Kashtiban *et al.*, 2020).

حسین‌زینلی و همکاران (Hosseinzeynali *et al.*, 2019) نیز در بررسی تأثیر قارچ‌های تریکودرمای محرک رشد بر بهبود رشد و تغذیه درختان پسته عنوان نمودند که تیمارهای تلقیح شده با سه تیمار قارچی تریکودرما پارامترهای رویشی شامل طول شاخه تا (۶۰٪)، تعداد جوانه رویشی تا (۳۰٪)، سطح برگ تا (۵۰٪) در درختان پسته به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد بدون تلقیح افزایش داده است. رستمی‌کیاء و همکاران (Rostamikia *et al.*, 2017) بیشترین ارتفاع و قطر یقه نونهال‌های فندق اردبیل به ترتیب با ۲۶/۸۸ سانتی‌متر و ۷/۱۷ میلی‌متر در تلقیح تلفیقی سه گونه PGPR به دست آمد، اندازه سطح برگ در تلقیح مجزا و ترکیبی باکتری‌ها نسبت به شاهد بزرگتر بود. نظری و همکاران (Nazeri *et al.*, 2023) نیز بیان نمودند تلقیح قارچ *تریکودرما* سبب افزایش معنی‌دار محتوی نسبی آب برگ نهال‌های تلقیح شده درختان هلو در مقایسه با نهال‌های شاهد شد.

شاخص سبزینگی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۳ و ۴) نشان داد که اثر اصلی تیمارهای مختلف زیستی و شیمیایی برای شاخص کلروفیل در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل برگ در تیمار T_3، تیمار باکتری (۱۴/۳۱) افزایش ۱۰۰/۷۰ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد (۷/۱۳) را داشت. به نظر می‌رسد که دلیل این افزایش به جهت جذب بیشتر عناصری چون آهن باشد که نقشی اساسی در ساختمان کلروفیل دارند. بیان شده است که باکتری سودوموناس بر میزان کلروفیل تأثیر معنی-داری داشته است، این افزایش کلروفیل را به افزایش فعالیت آنزیم‌هائی مانند کاتالاز و پراکسیداز نسبت داده‌اند و نقش این آنزیم‌ها در سنتز کلروفیل یک فاکتور مهم محسوب می-شود (Kavino *et al.*, 2010).

زینلی‌بافقی و همکاران (Zainli Bafghi *et al.*, 2018) با بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی درختان پسته عنوان نمود که اثرات سطوح مختلف باکتری‌های محرک رشد و اثرات متقابل آنها بر روی شاخص‌های رشدی نشاندهندهٔ افزایش در تمام شاخص‌های رشدی به خصوص در تیمارهای استفادهٔ ترکیبی از این عوامل است، به نحوی که همواره کمترین شاخص‌ها مربوط به تیمار شاهد و بیشترین شاخص‌ها مربوط به تیمار کاربرد باکتری می‌باشد. آنها بیشترین میزان محتوای کلروفیل کل مربوط به تیمار استفاده از باکتری محرک رشد (R8) در مورد هر سه رقم اکبری، احمدآقایی و بادامی عنوان نمودند.

شاخص های عملکرد درختان

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۳ و ۴) نشان داد که اثر اصلی تیمارهای مختلف زیستی و شیمیایی بر صفات عملکردی مانند عملکرد تر، وزن میوه، طول میوه و عرض میوه در سطح خطای ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین مقدار عملکرد در تیمار T_5 تیمار ترکیبی قارچ و باکتری (۸/۱ kg/tree) افزایش ۲۸/۵۷ درصدی در مقایسه با شاهد (۶/۳ kg/tree) را نشان داد. بیشترین وزن و طول میوه به ترتیب (۲/۳۵ گرم) و (۱۷/۶۵میلی‌متر) در تیمار T_4 (قارچ *تریکودرما*) درمقایسه با تیمار شاهد افزایش ۳۸/۲۴ و۱۱/۷۱ درصدی را نشان دادند. بیشترین عرض میوه در تیمار T_5 (۱۸/۹۹ میلی‌متر) افزایش ۱۰/۵۳درصدی در مقایسه با شاهد را داشت. به طور کلی استفاده از قارچ ها باعث بهبود وضعیت شاخص‌های زایشی و رویشی در گیاهان می‌شود. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که حضور باکتری در ریزوسفر و اندو-ریزوسفر گیاه میزبان، آثار معنی‌داری در بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه و در نتیجه ازدیاد

محصول پدید می‌آورد (Egamberdiyeva *et al.*, 2004). فرخوند و همکاران (Farrokhvand *et al.*, 2020) عنوان نموده‌اند که حضور *تریکودرما* در خاک موجب آزاد سازی عناصر معدنی قابل جذب برای گیاه می شود. تغذیه مناسب موجب افزایش رشد و میزان ماده خشک گیاه در نتیجه تحریک گلدهی می گردد (Cuevas, 2006). حقیقت‌نیا و رجالی و (Haghighatnia And Rejali, 2022) مصرف قارچ *مایکورایزا* تحت شرایط تنش شدید رطوبتی دردرختان لیمو سبب افزایش عملکرد، وزن میوه، قطر میوه، کلـروفیل برگ، رطوبت نسبی برگ، غلظـــت فسفر برگ و کارایی مصرف آب گردید. رضائی‌چیانه و همکاران (Rezaei Chianeh *et al.*, 2017) در بررسی اثر کود آلی و زیستی بر عملکرد و برخی خصوصیات کیفی بالنگوی شهری در شرایط دیم عنوان نمود بیشترین عملکرد دانه، محتوی اسانس، عملکرد موسیلاژ و درصد پروتئین دانه از تیمار ترکیبی سه گانه ۷۵ درصد ورمی‌کمپوست+ کود زیستی+ ۲۵ درصد کود شیمایی به دست آمد. نظری و همکاران (Nazeri *et al.*, 2023) نیز بیان نمودند تلقیح قارچ *تریکودرما* سبب افزایش معنی‌دار وزن تر، ماده خشک نهال‌های تلقیح شده درختان هلو در مقایسه با نهال‌های شاهد شد.

جدول۳-آنالیز واریانس صفات رویشی و عملکردی درختان فندق تحت تأثیرتیمارهای شیمیایی و زیستی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عرض میوه (mm)	طول میوه (mm)	وزن میوه (g)	کلروفیل	وزن برگ (g)	عرض پهنک (mm)	رشد سرشاخه (cm)	عملکرد میوه تر (kg/tree)
سال	۱	۰/۰۸۶ ns	۰/۵۳۶ ns	۰/۱۲۹ ns	۲/۱۹ ns	۲/۶۸**	۳/۱۶ ns	۱۶۵۱۱/۳۶**	۱۵۰۵/۰۰**
مکان	۱	۴/۱۰ns	۰/۶۷۲ ns	۰/۷۷۱**	۲۱/۹۰۱**	۰/۷۴۱**	۳۳/۴۴**	**۱۸۷۰/۵۳	۱۰۴۴/۱۷**
سال× مکان	۱	۰/۰۲۸ ns	۰/۱۴۵ ns	۰/۹۸۳**	۱/۴۷۶ ns	۰/۷۲۴**	۰/۱۳ ns	۸/۰۸۹ ns	۰/۹۳۷ s
خطا	۸	۱/۰۶	۰/۳۱	۰/۰۴	۲/۱۱	۰/۰۵	۰/۷	۲۷۴	۱۳/۱
تیمار	۴	۵/۸۷**	۶/۸۱**	۰/۷۲۱**	۹۱/۵۶**	۱/۳۷**	۱۸/۸۸**	۸۰۳۴/۶۴**	۵۹/۸۱**
تیمار× سال	۴	۰/۹۳۴ ns	۱/۱۰۹**	۰/۰۵۸ ns	۱۳/۵۳**	۱/۱۹**	۰/۸۰۵ ns	۲۰۲/۳۸ ns	۴/۲۸ ns
تیمار× مکان	۴	۲/۶۹*	۱/۳۸**	۰/۱۰۸*	۴/۳۸ ns	۰/۲۲۹**	۲/۵۸ ns	۲۲۴/۵۲ ns	۵۵/۳۹**
تیمار×سال×مکان	۴	۱/۹۱۸ ns	۰/۷۰۲*	۰/۰۸۱ ns	۹/۱۹**	۰/۳۵۱**	۲/۹۹۶ ns	۶۷/۹۸۴ ns	۲/۱۲۵ ns
خطا	۳۲	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۰۵	۲/۲۴	۰/۰۳۵	۱/۷۵	۱۲۳	۴/۵۲

*، ** و ns :به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

جدول۴- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای شیمیایی و زیستی بر صفات رویشی و عملکردی درختان فندق

تیمارها	عملکرد میوه تر (kg/tree)	رشد سرشاخه (cm)	عرض پهنک (mm)	وزن برگ (g)	کلروفیل	وزن میوه (g)	عرض میوه (mm)	طول میوه (mm)
۱ –تیمارشاهد	۶/۳۹ b	۷۵/۸۲ c	۸/۸۶ c	۰/۸۳۱ c	۷/۳۲ c	۱/۷۳ b	۱۷/۱۵b	۱۵/۸۱c
۲-تیمارتغذیه شیمیایی	۷/۸۱ a	۱۱۷/۸۵ b	۱۱/۷۵ ab	۱/۳۶ b	۱۳/۳۶ ab	۲/ ۱۷ a	۱۸/۵۱a	۱۶/۸۷b
۳-تغذیه شیمیایی+ باکتری بهبود دهنده رشد	۸/۰۳ a	۱۳۴/۹۰ a	۱۰/۶۷ b	۱/۳۳ b	۱۴/۳۱ a	۲/۲۵ a	۱۸/۶۳a	۱۷/۲۶ab
۴-تغذیه شیمیای+ قارچ تریکودرما	۷/۹۷ a	۱۳۴/۹۷ a	۱۱/۸۷ a	۱/۶۶ a	۱۲/۹۸ b	۲/۳۵ a	۱۸/۳۵a	۱۷/۶۵a
۵-تغذیه شیمیایی+ باکتری بهبود دهنده رشد +قارچ تریکودرما	۸/۱۳ a	۱۳۶/۵۹ a	۱۱/۵۷ ab	۱/۶۵ a	۱۲/۷۲ b	۲/۲۷ a	۱۸/۹۹a	۱۷/۵۸ a

حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است.

نتیجه گیری کلی

کاربرد کودهای زیستی محرک رشد گیاه (قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس*) نقش مؤثری در افزایش معنی‌دار خصوصیات رویشی مانند، رشد سرشاخه، میزان کلروفیل، پهنک برگ، وزن برگ و خصوصیات عملکردی مانند، طول میوه، عرض میوه و وزن میوه و نهایتا عملکرد درختان فندق داشتند. کاربرد این کودهای زیستی جذب عناصر غذایی مانند فسفر، مس و آهن را به طور معنی‌داری در درختان فندق افزایش دادند. استفاده از این ریزجانداران مفید خاکزی خصوصا به صورت ترکیبی (قارچ *تریکودرما* و باکتری *سودموناس*) به عنوان کودهای زیستی همراه با کودهای شیمیایی می‌تواند راهکار مناسبی جهت غلبه بر تنش‌های محیطی، بهبود جذب عناصر غذایی، بهبود سبزینگی، رفع سرخشکیدگی، افزایش رشد و عملکرد درختان فندق منطقه اشکورات رودسر باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند تاثیر کاربرد تلفیقی کودهای آلی، زیستی و مقدار مناسب از کودهای شیمیایی براساس آزمون خاک را در شرایط سخت اقلیمی نشان دهد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان، به‌ویژه جناب آقای مهندس مسعود الماسی ریاست وقت سازمان جهاد کشاورزی استان و آقای مهندس کامران میرحسینی و آقای مهندس منوچهر پارسافر جهت حمایت-ها و تامین مالی پروژه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

Refrences

1. Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemidi, N., Noorbakhsh, F. and Rejali, F. 2015. Investigating the effect of *mycorrhizal* fungi on the growth and nutrient absorption of plantain trees. Crop and Horticulture Processing Production, 6 (21), 81-89. (In persian)
2. Ahmad, F., Ahmad I., and Khan, M.S. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbial Research 36: 1-9.
3. Ajili Lahiji, A. Basirat, M .2018. Investigating the chemical and physical characteristics of the soils of hazelnut orchards in Gilan province. The 16th Iran Soil Science Congress, Aug, 5. 2018, Zanjan, Iran. (In Persian)
4. Ajili Lahiji, A., Javadi Mojadad, D., Mahboob Khomami, A., Padasht Dahkaei, M., Almasi, M., Adili A., Mirhosseini, K., Shirin Fekar, A. and Mohammadpour, P. 2016. Investigating the nutritional status of hazelnut orchards in Gilan province, final report of the research project, Soil and Water Research Institute, Gilan Agricultural and Natural Resources Research Center. (In persian)
5. Altomare, C., Norvell, WA., Björkman, T., and Harman, GE. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* 1295-22. Applied and Environmental Microbiology, 65, 2926-2933.
6. Anith, K.N., Faseela, K.M., Archana, P.A., and Prathapan, K.D. 2011. Compatibility of Piriformospora indica and Trichoderma harzianum as dual inoculants in blackpepper *(Piper nigrum L.)*. Symbiosis 55, 11-17.
7. Arzanesh, M., Beeny Aghil, N., Ghorbanli, M. and Shahbazi, M. 2013. Effect of plant growth stimulating bacteria on growth parameters and concentration of low consumption elements in two canola cultivars under salt stress. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 2(2), 153-163. (In persian)
8. Azarmi, R., Hajieghrari, B., and Giglou, A. 2011. Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. African Journal of Biotechnology10: 5850–5855.
9. Benitez, T., Rincon, AM., Limon, MC., and Codon, AC. 2004. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International Microbiology, 7 (4), 249-260.
10. Bjorkman, T., Blanchard, LM., and Harman, GE. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 (sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22, effect of environmental stress. Journal of American Society for Horticultural Science 123(1), 35-40.
11. Boiero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Pena, C., Cassán, F. and Luna, V. 2007. Phytohormone production by strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. Applied Microbiology and Biotechnology 74(4), 874–880.
12. Bremner, J.M., and Keeney, D.R. 1965. Steam distillation methods for determination of ammonium nitrate and nitrate. Analytica Chimica Acta 32: 465-495.
13. Caravaca, F., Barea, J.M., Figueroa, D., and Roldán, A. 2002. Assessing the effectiveness of *mycorrhizal* inoculation and soil compost addition for enhancing reafforestation with *Olea europaea* subsp. sylvestris through changes in soil biological and physical parameters. Applied Soil Ecology 20, 107-118.
14. Chapman, H.D., and Pratt, F.P. 1961. Ammonium vandate-molybdate method for determination of phosphorus. Methods of analysis for soils, Plants and Water, 11, 83-94.
15. Contreras-Cornejo, H. A., Ortiz-Castro, R. and Lopez-Bucio, J. 2013. Promotion of plant growth and the induction of systemic defence by *Trichoderma* Physiology, genetics and gene expression. Trichoderma Biology and Applications., 21, 175-196.
16. Copping, L.G .1998. The Biopesticide manual. 1 st ed. British Crop Protection Council, UK, 333 P.P.
17. Cottenie, A. 1980. Methods of plant analysis. In soil and plant testing as a

basis of fertilizer recommendations. FAO Soils Bulletin, Rome, Italy, 64-100.

18. Cuevas, C. 2006. Soil Inoculation with *Trichoderma pseudokoningii* rifai enhances yield of rice. Philippine Science 135(1), 31-37.
19. Doulati Baneh, H., Ghanishayeste, F., and Nourjou, A. 2020. Effect of *arbuscular mycorrhizal* fungus treatments on growth and some nutrient elements uptake of grapevine cv 'Rasha' (Vitis vinifera L.) under deficit irrigation stress condition', Iranian Journal of Horticultural Science, 51(1), pp. 109-121. (In persian)
20. Egamberdiyeva, D., Juraeva, D., Poberejskaya, S., Myachina, O., Teryuhova, P., Seydalieva, L. and Aliev, A. 2004. Improvement of wheat and cotton growth and nutrient uptake by phosphate solubilizing bacteria. Proceedings of the 26th Southern Conservation Tillage Conference for Sustainable Agriculture. Raleigh, North Carolina, June 8-9, Pp, 58-66.
21. Elad, Y., Lifshitz, R., and Baker, R. 1985. Enzymatic activity of the mycoparasite Pythium nunn during interaction with host and non-host fungi. Physiological Plant Pathology, 27, 131-148.
22. Estaun, V., Camprub, A., and Calvet, C. 2003. Nursery and field response of olive tree inoculated with two *arbuscular mycorrhiza* fungi *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 128 (5), 767-775.
23. Fallah Nosratabad, A. and Khoshru, B. 2024. Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture, Journal of Soil Biology, 12(1), 19-63.
24. FAO, 2020. Statistical database of FAO. Available online at: http://www.fao.org.
25. Farrokhvand, I., Reezi, S., Barzegar, R., Fattahi, M. 2020. Effect of symbiosis of several *mycorrhiza arbuscular* fungi species on some quality and physiological indices of potted lisianthus flower (Eustoma grandiflorum 'Matador Blue'), Iranian Journal of Horticultural Science, 50 (4), 815-824. (In persian)
26. Fattahi, M., Shamshiri, M.H., and Naslolahpourmoghadam, S. 2017. Effect of *arbuscular mycorrhizal (Glomus mosseae)* on the uptake and distribution of elements (P, K, Ca, Mg, Na, Cl, Cu and Zn) in Pistachio seedlings 'Sarakhs', 'Abareghi' and 'Bane Baqi' (*P. eurycarpa* × *P. mutica*) in salinity conditions', Iranian Journal of Horticultural Science, 48(1), pp. 175-189. (In persian)
27. Gharghani A., Hosseini, A. and Zarei, M. 2016. The effect of *arbuscular* root fungi on seasonal changes of some growth and physiological indicators of apple rootstocks in a calcareous soil. Iranian Journal of Horticultural Sciences and Techniques, 18 (3), 315-328. (In persian)
28. Ghasimnejad, A. and Bababizad, V. 2012. The influence of piri fungus (*Priformospora indica*) on vegetative growth and the content of caffeic acid of leaves of artichoke (*Cynara scolymus L.*) plant, Plant Production Research, 18 (1), 133-140. (In persian)
29. Glick, BR. 2005. Modalation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters, 251, 1-7.
30. Gupta, ML., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S. 2002. Effect of the *vesicul ararbuscular mycorrhizal* (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81(4), 77-79.
31. Harman, GE., Howell, CR., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews 2, 43-56.
32. Henry, S., Texier, S., Hallet, S., Bru, D., Dambreville, C., Chèneby, D., Bizouard, F., Germon, J.C. and Philippot, L. 2008. Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers, insight into the role of root exudates. *Environmental Microbiology*, 10 (11), 3082–3092.

33. Hossein-Ava, S., Razavi Ahri, v. and Javadi, D. 2019. Identification and registration of some genotypes of hazelnut using morphological characteristics, final report of Seedling and Seed Breeding Research Institute, Horticulture Research Department, Karaj. (In persian)
34. Hosseini, S. S., Rejali, F. and Keshavarz, P. 2024. Effect of Some Biofertilizers on the Physiological Characteristics of Wheat Flag Leaves and Rhizosphere Enzyme Activities at Different Irrigation Levels. Journal of Soil Biology, 12(1), 65-88.
35. Hosseinzeynali, A., Abbaszadeh Dehaji, P., Alaei, H., Hosseinifard, J. and Akhgar, A. 2019. Investigating the effect of growth-stimulating *Trichoderma* fungi on improving the growth and nutrition of pistachio trees in garden conditions, Journal of Soil Biology, 8 (2), 115-128. (In persian)
36. Jamalifard, A., Abbas zadeh Dehji, P. and Akhgar, A. 2015. Investigation of the response of two pistachio cultivars, Zarand and Qazvini, in terms of growth and nutrition, to the application of cow manure and *fluorescent Pseudomonas*, Journal of Soil Biology, 4 (2), 177-188. (In persian)
37. Kaewchai, S., Soytong, K., Hyde, KD. 2010. *Mycofungicides* and fungal biofertilizers. Fungal Diversity, 38, 25-50.
38. Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2010. Effectof chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. Applied Soil Ecology, 45, 71–77.
39. Kizilkaya, R., and Dumbadze, G., GÜLSER, C., and Jgenti, L. 2022. Impact of NPK fertilization on hazelnut yield and soil chemical-microbiological properties of Hazelnut Orchards in estern Georgia. Eusian Journal of Soil Scince (EJSS), 11, 206-215. https://doi.org/10.18393/ejss.1060314.
40. Kothari, S.K., Marschner, H., and Romheld, V. 1990. Direct and indirect effects of *VA mycorrhiza* fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize in a calcareous soil. New Phytology, 116, 637-645
41. Layeghhaghighi, M., Abbaszadeh, B. 2022. Evaluation quantitative, qualitative traits and elements adsorption of lemon verbena (*Lippia citriodora L.*) under biochar, vermicompost and plant growth promoting *rhizobacteria*. Horticultural Sciences of Iran, 53 (3), 679-667. (In persian)
42. Li, RX., Cai, F., Pang, G., Shen, QR., Li, R. and Chen, W. 2015. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. PLoS One. 10(6): e013008.
43. Mohammadi Eshkaftaki, M. and Rejali, F. 2021. Effect of mychorhizal symbiosis on growth properties and colonization of common Almond rootstock at water deficit conditions. Journal of Soil Biology, 9(1), 15-28.
44. Mohammadi, Kh., Qalavand, A., Agha Alikhani, M., Sohrabi, Y. and Heydari, G. 2019. The effectiveness of chickpea seed quality from different systems of increasing soil fertility. Crop Production, 3(1): 103-119. (In persian)
45. Mokaram-Kashtiban, S., Hosseini, S. M., Tabari Kouchaksaraie, M., and Younesi, H. 2020. Bioavailability of soil heavy metals as influenced by biochar and rhizosphere bacteria in the white willow *(Salix alba L.*) phytoremediation process, Applied Soil Research, 7(4),196-211. (In persian)
46. Moradi, R., Nasiri Mahalati, M., Rizvani Moghadam, P., Lekzian, A., and Nejad Ali, A. 2018. The Effect of Application of Organic and Biological Fertilizers on Quantity and Quality Essential Oil of (Foeniculum vulgare Mill.) Fennel. Horticultural Sciences, 25 (1), 25-33. (In persian)
47. Nazeri, M., Tabatabai, J. and Sharfi, Y. 2023. Evaluation of Yield and Quality of Peach Fruit (Prunus persica var Red Top) Cultivated under Split Roots System, Inoculated with Fungi and Irrigated with different Levels Horticultural Sciences, 37 (1),119-105. (In persian)

48. Nicolosi, E., Leotta, G., and Raiti, G., 2009. Effect of foliar fertilization on hazelnuts growing in Mount Etna area. Acta Horticulturae 845, 373-378.
49. Olsen, J.L.; Cacka, J.F. 2009. Foliar Fertilizers on Hazelnuts in Oregon, USA. Acta Hortic, 845, 349–352.
50. Pich, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. 1992. Method of Soil Analysis. Part II: Chemical and Mineralogical Properties (2nded.). Madison, Wisconsin.
51. Rafiee, H. Naghdi Badi, H. Mehrafarin, A. Qaderi, A, Zarinpanjeh, N. Sekara, A. and Zand, E. 2016. Application of Plant Biostimulants as New Approach to Improve the Biological Responses of Medicinal Plants- A Critical Review. Journal of Medicinal Plants, 15(59), 6-39.
52. Rasouli, M.H.S., Barin, M., and Jalili, F. 2008. The effect of PGPR inoculation on the growth of wheat. International meeting on soil fertility land management and agroclimatology. Turkey, Pp, 891-898.
53. Rayan, J.R., Estefan, G. and Rashid, A. 2001. Soil and Plant Analysis Laboratory Manual (2nded.). ICADRA. Syria.
54. Rejali, F. And Haghighat, H. 2022. Effects of *arbuscular mycorrhizal* fungi and irrigation levels on yield and growth characteristics of lemon trees (*Citrus aurantifolia*) in Darab, Soil Biology, 10(1), 21-32. (In persian)
55. Rezaei Chianeh, A., Faridvand, Sh., Amirnia, R., Mahdavi Kia, H. and Rahimi, A. 2017. Effect of Organic and Biofertilizers on Yield and Some Qualitative Characteristics of the Dragon's Head *(Lallemantia iberica*) in Dryfarming Conditions, Agricultural Knowledge and Sustainable Production, 28(4), 25-40. (In persian)
56. Rostamikia, Y., Matinizadeh, M. and Rahmani, A. 2022. The effect of seed origin and *mycorrhizal* inoculation on the vegetative and physiological characteristics of hazelnut seedlings in Fandoghlo region, Journal of Forest and Wood Products, 72 (2): 153-141. (In persian)
57. Rostamikia, Y., Matinizadeh, M. and Rahmani, A. 2024. The effect of Rifai fungus *Trichoderma harzianum* on the survival, growth and nutrition of forest hazelnut seedlings in the conditions of the forest area of Fandaghlo, Wood and Forest Science and Technology Research, 31 (1), 61-43. (In persian)
58. Rostamikia, Y., Tabari Kochaksaraei, M., Asgharzadeh, A. and Rahmani, A. 2017. The effect of growth-promoting bacteria on vegetative traits and nutritional elements of hazelnut seedlings *(Corylus avellana)* in Ardabil Hazelnut Nursery, Iran Forest and Poplar Research, 25 (1), 116-126. (In persian)
59. Rudresh, D.L., Shivaprakash, M.K., and Prasad, R.D. 2005. Effect of combined application of *Rhizobium*, *phosphate solubilizing bacterium* and *Trichoderma spp.* on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium L.*). Applied Soil Ecological, 28, 139-146.
60. Silvestri, C.; Bacchetta, L.; Bellincontro, A., and Cristofori, V. 2021. Advances in Cultivar Choice, Hazelnut Orchard Management, and Nut Storage to Enhance Product Quality and Safety. An Overview. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101, 27–43.
61. Singh, V., Singh, P., Yadav, R., Awasthi, S., Joshi, B., Singh, R., Lal, R. and Duttamajumder, S. 2010. Increasing the efficacy of *Trichoderma harzianum* for nutrient uptake and control of red rot in sugarcane. Journal of Horticulture and Forestry, 2, 66–71.
62. Snare, L. 2008. Hazelnut production. Primefacts. Profitable & Sustainable Primary Industry. Primefact 765, 8p. Available at: https://www.dpi.nsw.gov.au/data/assets/pdf_file/0007/247939/Hazelnut-production.
63. Sonar, B.A., Kamble, V.R., and Chavan, P.D. 2013. Native AM fungal colonization in three Hibiscus species under NaCl induced salinity. Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences, 5(6), 7-13.
64. Tous, J., Romero, A., Plana, J., Sentis, X., and Ferrán, J. 2004. Effect of nitrogen, boron and iron fertilization on

yield and nut quality of Negret hazelnut trees. ISHS Acta Horticulturae 686: VI International Congress on Hazelnut. Pp. 277-280.

65. Vaid, S.K., Kumar, B., Sharma, A., Shukla, A.K. and Srivastava, P.C. 2014. Effect of zinc solubilizing bacteria on growth promotion and zinc nutrition of rice. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 14(4), 889-910.
66. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L. and Lorito, M. 2008. Trichoderma–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40, 1-10.
67. Vyas, P., and Gulati, A. 2009. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing *fluorescent Pseudomonas*. BMC Microbiology 9(1), 174-183.
68. Wei, L., and Zhai, Q. 2010. The dynamics and correlation between nitrogen, phosphorus, potassium and calcium in a hazelnut fruit during its development. Frontiers of Agriculture in China, 4(3), 352-357.
69. Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y. and Wei, Z. 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. Bioresource Technology, 247, 190 -199.
70. Wu, Q.S., and Xia, R.X. 2006. *Arbuscular mycorrhizal* fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology, 163, 417-425.
71. Yadidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y. and Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harizanum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil, 235 (2), 235-242.
72. Yang, M.M., Mavrodi, D.V., Mavrodi, O.V., Bonsall, R.F., Parejko, J.A., Paulitz, T.C., Thomashow, L.S., Yang, H.T., Weller, D.M., and Guo J.H. 2011. Biological control of take-all by *fluorescent Pseudomonas spp*. from Chinese wheat fields. Phytopathology, 101 (14), 81-91.
73. Yuvaraj, A., Thangaraj, R., Ravindran, B., Chang, S., and Karmegam, N. 2021. Centrality of cattle solid wastes in vermicomposting technology: A cleaner resource recovery and biowaste recycling option for agricultural and environmental sustainability. Environmental Pollution, 268, 115688.
74. Zaidi, A., Khan, M.S. and Aamil, M. 2004. Bioassociative effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of greengram. Journal of Plant Nutrition 27, 599-610.
75. Zainli Bafghi, M., Gholamnejad, J., Esmailzadeh Hosseini, A., Shirmardi, M. and Jafari, A. 2018. The effect of growth-promoting bacteria on growth and physiological traits of pistachio in saline soil, Garden Plant Nutrition Journal, (2) 2, 107-129. (In persian)
76. 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.
77. Zhao, L., Wang, F., Zhang, Y., and Zhang, J. 2014. Involvement of *Trichoderma asperellum* strain T6 in regulating iron acquisition in plants. Journal Basic Microbiology, 54, 115-124.

235-260/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

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

Research article

Evaluation and comparative analysis of plant growth-promoting traits in diverse groups of rhizosphere bacteria

Akram Otadi[1], Hassan Etesami [2], Houshang Khosravi[*3] and Hosseinali Alikhani[4]

1-Soil and Water Research Institute Karaj, Iran, email: mahnaz.otadi@gmail.com-
2-Associate Professor, University of Tehran; E-mail: hassanetesami@ut.ac.ir
3-Associate Professor, Soil Biology Department, Soil and Water Research Institute, P.O.BOX: 31785-11. Karaj, Iran, email: hkhosravi@areeo.ac.ir
4-Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran; E-mail: halikhan@ut.ac.ir

Article Info

Received:
October21,2024
Accepted:
February 18, 2025

Keywords:
Auxin, Azotobacter, Exopolysaccharides, Pseudomonas, Rhizosphere, Siderophore

Corresponding author's email:
hkhosravi@areeo.ac.irom

DOI:
10.22092/SBJ.2025.367286.271

Extended Abstract

Background and Objectives: Using chemical fertilizers is the primary method of plant nutrition in agriculture, however, it has a high potential for contamination of water, soil, plants, animals and humans; therefore, it is crucial to provide solutions based on sustainable development for crop production. One of the solutions is to use the potential of beneficial soil microorganisms including plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). The PGPR are a large group of beneficial soil bacteria that affect plant growth through various mechanisms including, production growth-promoting substances such as auxin, solubilization of insoluble organic and inorganic phosphates, production of siderophores, and potassium releasing from soil clay minerals such as biotite and moscuvite. Having positive impact of PGPR on plant growth has led to their use as biofertilizers or inoculants in agriculture. One of the most essential components of a biofertilizer is microorganisms. The most important and well-known PGPRs include *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, and *Azospirillum*. The aim of this research was to compare these four groups, native to Iraninan soils regarding plant growth-promoting characteristics and to identify superior strains that can be investigated in future research as biofertilizers. Such a comparison has not been done in the country on different groups of PGPR.

Materials and Methods: In this research, 63 strains of PGPR including 13 *Azotobacter*, 10 *Azospirillum*, 21 *Bacillus*, and 19 *Pseudomonas* strains were used obtained from the microbial culture collection of Soil and Water Research Institute which were previously isolated across from different agricultural soils of Iran. The strains were screened and compared regarding plant growth-promoting characteristics. The ability of strains to produce auxin evaluated using Salkowski reagent method at the levels 0 and 50 mg/L L-tryptophan. The siderophore assayed using the CAS-agar method, calculating the ration of halo-to-colony diameter. The extracellular polysaccharides (EPS) were measured weighting the dried precipitated substances. The ability to solubilize inorganic and organic phosphates was investigated by calculating the ratio of halo to colony diameter in Pikovskaya's agar medium. Alexandrov's method was used to investigate the ability of released potassium from muscovite and biotite soil clay minerals. The NBRIP culture medium, was used to evaluate the ability to dissolve insoluble iron phosphate. All experiments were performed in triplicate and the statistical analysis of data done using SAS software. Means were compared and grouped by the least significant difference (LSD) method at the 5% probability level.

Results: The results showed that *Pseudomonas* strain P214 produced 51.68 µg/mL of auxin at 50 mg/L of L-tryptophan and 48.72 µg/mL in the absence of L-tryptophan (0 mg/L). For mineral and organic phosphate solubilization, *Pseudomonas* P187 and P186 demonstrated the highest indices, with halo-to-colony diameter ratios of 2.59 and 4.13, respectively. Siderophore production by the *Pseudomonas* group was significantly higher than that of the other three groups, with strain P188 exhibiting the greatest capacity, achieving a halo-to-colony diameter ratio of 3.38. Additionally, *Pseudomonas* exhibited the strongest ability to solubilize insoluble iron phosphate, with strain P192 recording the highest halo-to-colony diameter ratio of 4.45. Among potassium-releasing strains, *Bacillus* B517 showed the highest release from biotite, with a value of 33.33 g/L, while B326 exhibited the highest release from muscovite, with a value of 24.67 g/L. Finally, strain P526 produced the highest quantity of extracellular polysaccharides, with a value of 84.6 g/L.

Conclusion: In this research, 63 strains belonging to four groups of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) native to Iranian soils obtained from culture collection of Soil and Water Research institute including *Pseudomonas (19 strains)*, *Azotobacter* (13 strains), *Bacillus* (21strains) and *Azospirillum* (10 strains) were investigated and compared in terms of plant growth-promoting characteristics. The results showed that the *Pseudomonas* group showed a significant difference from the other groups regarding siderophore production, solubilization of insoluble iron phosphate, extracellular polysaccharides, and solubility of mineral and organic phosphates. *Pseudomonas* and *Azotobacter* groups produced the highest indole acetic acid at 0 and 50 mg/L L-tryptophan levels. The Bacillus group had the highest ability to release potassium from biotite and *Pseudomonas* from muscovite. The *Pseudomonas* had superior strains in most of the plant growth-promoting characteristics, however, considering that other groups showed superiority in some other characteristics, it is suggested to use a Consortium of superstrains of each group should be used as inoculants or biofertilizers in the future research.

Cite this article: Outadi, A., Etesami, H., Khosravi, H., and Alikhani, H., 2025. Evaluation and Comparative Analysis of Plant Growth-Promoting Traits in Diverse Groups of Rhizosphere Bacteria. Soil *Biology Journal*, 12 (2),235-260

DOI: 10.22092/SBJ.2025.367286.271
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست شناسی خاک

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

مقاله پژوهشی

ارزیابی و مقایسه صفات محرک رشدی گیاه در گروه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری

اکرم اوتادی[۱]، حسن اعتصامی[۲]، هوشنگ خسروی[۳*] و حسینعلی علیخانی[۴]

۱-پژوهشگر مؤسسه تحقیقات خاک و آب آدرس: کرج، ایمیل: mahnaz.otadi@gmail.com

۲-عضو هیأت علمی پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران؛ ایمیل: hassanetesami@ut.ac.ir

۳-عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب؛ آدرس: کرج، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، ایمیل: hkhosravi@areeo.ac.ir

۴-عضو هیأت علمی پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۷/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۳۰

چکیده

باکتری‌های محرک رشد گیاه، گروه وسیعی از ریزجانداران مفید خاک هستند که از طریق سازوکارهای مختلف می‌توانند بر رشد گیاهان تأثیر بگذارند. در این پژوهش، ۶۳ سویه باکتری متعلق به چهار گروه از باکتری‌های سودوموناس، ازتوباکتر، باسیلوس و آزوسپیریلوم جداسازی شده از خاک‌های ایران ازنظر ویژگی‌های منسوب به محرک رشد گیاه مطالعه و مقایسه شدند. توانایی سویه‌ها در تولید اکسین، سیدروفور، پلی-ساکاریدهای خارج سلولی، انحلال فسفات‌های معدنی و آلی، توانایی آزادسازی پتاسیم و توانایی انحلال فسفات آهن نامحلول بررسی شدند. نتایج نشان داد که سودوموناس P214 در سطح ال-تریپتوفان ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مقدار ۵۱/۶۸ و در ال-تریپتوفان صفر، مقدار ۴۸/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر اکسین تولید کرد. ازنظر توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول معدنی و آلی به ترتیب سودوموناس P187 و P186 با نسبت قطر هاله به کلونی ۲/۵۹ و ۴/۱۳ دارای بیش‌ترین شاخص بودند. تولید سیدروفور در گروه سودوموناس با سه گروه دیگر اختلاف معنی‌داری نشان داد و سویه P188 با نسبت قطر هاله به کلنی ۳/۳۸ بیش‌ترین توانایی را نشان داد. سودوموناس‌ها بیش‌ترین توانایی انحلال فسفات آهن نامحلول را نشان دادند و بهترین سویه P192 با نسبت قطر هاله به کلونی ۴/۴۵ بود. بیش‌ترین توانایی آزادسازی پتاسیم از بیوتیت با مقدار ۳۳/۳۳ گرم در لیتر مربوط به باسیلوس B517 و از موسکویت با مقدار ۲۴/۶۷ مربوط به B326 بود. بالاترین مقدار تولید پلی-ساکاریدهای خارج سلولی متعلق به سویه‌های P526 با مقدار ۶/۸۴ گرم بر لیتر بود. درمجموع، گروه سودوموناس در بیشتر صفات از سه گروه دیگر برتری نسبی نشان داد. در این پژوهش سویه‌های منتخب از هر گروه ازنظر ویژگی‌های مختلف محرک رشدی برای ادامه پژوهش‌ها انتخاب و معرفی شدند.

واژه های کلیدی: ازتوباکتر، اکسین، اگزوپلی‌ساکارید، سیدروفور، سودوموناس، ریزوسفر

استناد: اوتادی، الف.، اعتصامی، ح.، خسروی، ه.، علیخانی، ح.، ۱۴۰۳. ارزیابی و مقایسه صفات محرک رشدی گیاه در گروه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری. مقاله پژوهشی، نشریه زیست شناسی خاک ، (۲)۱۲، ۲۶۰-۲۳۵.

مقدمه

تأمین نیاز غذایی جمعیت رو به افزایش، یکی از مهم‌ترین چالش‌های جهان است و تولید محصولات کشاورزی گزینه اصلی برای حل این مشکل است. مصرف کودهای شیمیایی از راه‌های اصلی تغذیه گیاهان در کشاورزی است زیرا به‌آسانی و به‌سرعت عناصر موردنیاز گیاه را تأمین می‌کنند. اگرچه کودهای شیمیایی پرمصرف-ترین نهاده‌های کشاورزی هستند، بااین‌حال، از پتانسیل آلوده‌سازی بالایی برخوردار بوده و مصرف بی‌رویه و نامتعادل آن‌ها موجب آلودگی آب، خاک، گیاه، دام و انسان می‌شوند؛ بنابراین ارائه راهکارهای مبتنی بر توسعه پایدار و توجه به حفظ سلامت محیط‌زیست برای افزایش تولید محصولات کشاورزی ضروری و مهم است. یکی از راهکارها استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاک‌زی است. کودهای زیستی فرآورده‌هایی هستند که حاوی تعداد مناسبی از یک یا چند ریزجاندار مفید و یا متابولیت‌های حاصل از فعالیت آن‌ها می‌باشند که قادرند نیاز گیاه به یک و یا چند عنصر را تأمین و یا از طریق سازوکارهای مختلف رشد گیاه را تحریک و افزایش دهند (خسروی و همکاران، ۲۰۲۴).

غربالگری اصولی ریزجانداران مفید، قدم اول در دستیابی به کودهای زیستی مؤثر و با کارایی بالا است. در بین ریزجانداران مفید خاک‌زی، گروه باکتری‌های محرک رشد گیاه یا اصطلاحاً PGPR[1] دارای جایگاه ویژه‌ای هستند و طبق تعریف به طیف وسیعی از باکتری‌های مفید خاک‌زی اطلاق می‌شوند که وقتی در کنار گیاه میزبان فعالیت می‌کنند رشد گیاه را تحریک کنند. سازوکارهایی که این باکتری‌ها از طریق آن‌ها بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارند شامل تولید هورمون‌های محرک رشد، توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، آزادسازی پتاسیم از کانی‌های خاک، تولید سیدروفور و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS)[2] است (کلوئپر و همکاران، ۱۹۸۹؛ خسروی و همکاران، ۲۰۲۴).

تولید هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در رشد و توسعه گیاه دارند (سروار و فراکنبرگر، ۱۹۹۴) و در این میان، اکسین‌ها و ازجمله ایندول استیک اسید (IAA)[3] ازجمله شناخته‌شده‌ترین هورمون‌های رشد گیاه هستند که باعث طویل شدن و تکثیر سلول‌های ریشه می‌شوند (پاتن و گلیک، ۲۰۰۲). در ناحیه ریزوسفر به‌دلیل وجود جمعیت بالای میکروبی و فراوانی سوبستراها تولید اکسین بیشتر است (سروار و همکاران، ۱۹۹۲). در گزارشی آمده است که ۸۰ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان مختلف دارای توانایی تولید IAA بوده‌اند (دوبلائر، ۲۰۰۳).

حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول یکی دیگر از خصوصیات PGPR و از ویژگی‌های اصلی توسعه کودهای زیستی کارآمد است (رافی و همکاران، ۲۰۱۹). گروه PGPR از طریق سازوکارهایی مانند ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها قادرند ترکیبات فسفاتی نامحلول را به شکل قابل‌استفاده برای گیاه درآورند (گوسوامی و همکاران، ۲۰۱۹؛ سوندارا و همکاران، ۲۰۰۲). اهمیت این ویژگی در این است که قسمت اعظم فسفر در خاک به شکل فسفات-های نامحلول است که برای گیاه قابل‌جذب نیست و همچنین قسمت زیادی از کودهای شیمیایی فسفری که به خاک اضافه می‌شوند به‌سرعت به شکل نامحلول درآمده و برای گیاهان غیرقابل‌دسترس می‌شوند. این مسئله برای عنصر آهن هم به‌ویژه در شرایط خاک‌های آهکی و با PH بالا همانند خاک‌های ایران وجود دارد (منگل و همکاران، ۲۰۰۱). برخی از سویه‌های PGPR مواد کلات‌کننده‌ای به نام سیدروفور[4] ترشح می‌کنند که به جذب آهن تمایل دارند (گلیک، ۲۰۱۵) و با آهن فریک موجود در خاک کمپلکس-های پایداری تشکیل می‌دهند که برای گیاهان نیز قابل‌جذب هستند (اوسیلیوان و اوگارا، ۱۹۹۲). در مورد عنصر مهم پتاسیم هم حدود ۹۰ تا ۹۸ درصد پتاسیم کل خاک‌ها به شکل غیرقابل‌دسترس است و در ایران حدود ۳۰

[1] - Plaant growth-promoting rhizobacteria
[2] - Exopolysacharide
[3] - Indole acetic acid
[4]- Siderophore

درصد خاک‌ها دارای پتاسیم کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم هستند (کومار و همکاران، ۲۰۲۰؛ جلالی، ۲۰۰۶)؛ همچنین عمده کودهای پتاسیمی، وارداتی بوده و قیمت آن‌ها زیاد است بنابراین بررسی امکان استفاده از پتانسیل زیستی ریزجانداران خاک برای تأمین بخشی از پتاسیم موردنیاز گیاه دارای اهمیت است و به همین منظور غربالگری و دستیابی به سویه‌های برتر از باکتری‌های بومی ازنظر توانایی آزادسازی پتاسیم از خاک به‌ویژه کانی‌های میکا که غنی از پتاسیم هستند ضروری است.

گروه PGPR در پاسخ به شرایط تنش‌های محیطی تولید مواد EPS که از پلیمرهای طبیعی متشکل از واحدهای قندی هستند می‌کنند (مور و همکاران، ۲۰۱۴). این مواد باکتری را در برابر شرایط تنشی مانند خشکی و یون‌های فلزات سمی، شکار توسط پروتوزوئرها و آلوده شدن به‌وسیله باکتریوفاژها مقاوم‌تر می‌کند. مواد EPS همچنین نیتروژناز که آنزیم تثبیت نیتروژن است را در برابر آسیب غلظت بالای اکسیژن محافظت می‌کنند. این مواد همچنین خاصیت چسبندگی داشته که باعث چسبیدن ذرات خاک به‌هم، اتصال باکتری به ذرات و کمک به کلونیزاسیون بهتر ریشه گیاه می‌شوند (نسیم و همکاران، ۲۰۱۸؛ همپا سا و ایگناتو، ۱۹۹۸).

با توجه به موارد گفته‌شده، دستیابی به سویه‌های برتر PGPR بومی و سازگار با شرایط اقلیمی و خاک برای استفاده از آن‌ها به‌عنوان کودهای زیستی برای افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی دارای اهمیت است. مهم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین گروه‌های مختلف PGPR شامل چهار گروه *سودوموناس*، *ازتوباکتر*، *باسیلوس* و *آزوسپیریلوم* هستند (اگامبردیا و همکاران، ۲۰۰۲؛ خسروی و همکاران، ۲۰۲۴). هدف از انجام این پژوهش مقایسه چهار گروه مذکور جداسازی شده از مناطق مختلف زیر کشت محصولات کشاورزی ایران ازنظر خصوصیات محرک رشدی و شناسایی سویه‌های برتر از هر گروه بود.

اگرچه تاکنون پژوهش‌های زیادی در مورد این گروه از باکتری‌ها انجام شده است اما چنین مقایسه‌ای به‌ویژه در کشور به‌صورت یکجا بر روی گروه PGPR انجام نشده است. نتایج این مطالعه می‌تواند در پژوهش‌های آتی به‌عنوان مایه تلقیح بر روی محصولات مختلف موردبررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۶۳ سویه از PGPR موجود در کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب استفاده شد. این سویه‌ها شامل ۱۳ سویه *ازتوباکتر*، ۱۰ سویه *آزوسپیریلوم*، ۲۱ سویه *باسیلوس* و ۱۹ سویه *سودوموناس* بودند. در این مقاله سویه‌های *سودوموناس* با P، *باسیلوس* با B، *آزوسپیریلوم* با A و *ازتوباکتر* با Azto نشان داده شده است.

اندازه‌گیری توانایی تولید اکسین

به‌منظور بررسی توانایی تولید اکسین (IAA)، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط TSB حاوی ۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان منتقل و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری[۵] شد. بعد از ۴۸ ساعت سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق تاریک نگهداری و سپس میزان جذب نور آن در ۵۳۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Pharmacia Biotech) قرائت شد (اهمان، ۱۹۷۷). مقدار تولید اکسین هر سویه با مقایسه مقدار جذب نور آن با منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه‌شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

[۵] -Incubation

توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول

در این آزمون ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شدند. برای اندازه‌گیری نیمه کمی توانایی انحلال فسفات‌های معدنی، ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری با روش قطره‌گذاری روی پلیت‌های حاوی محیط جامد پیکوفسکایا یا به‌اختصار PKV (پیکوفسکایا، ۱۹۴۸) که حاوی ۵ گرم تری‌کلسیم-فسفات ($Ca_3(PO_4)_2$) به‌عنوان تنها منبع فسفر بود کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. ظهور هاله شفاف در پیرامون کلنی باکتری به‌عنوان نشانه حل‌کنندگی فسفات در نظر گرفته شد. برای ارزیابی میزان نسبی انحلال فسفات، بعد از یک هفته نسبت قطر هاله به قطر کلنی تعیین شد (رشید، ۲۰۰۴). برای اندازه‌گیری توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های آلی به‌جای تری‌کلسیم‌فسفات از اینوزیتول هگزا فسفات استفاده و در ادامه، مشابه اندازه‌گیری فسفات معدنی عمل شد.

توانایی تولید سیدروفور

بررسی توانایی تولید سیدروفور توسط سویه‌ها بر اساس روش اصلاح‌شده الکساندر و زوبرر (۱۹۹۱) انجام شد. در این روش نیاز به چهار محلول مجزا شامل محلول معرف Fe-CAS، محلول بافر، محلول غذایی و محلول کازوآمینواسید می‌باشد. سه محلول اول توسط اتوکلاو و محلول چهارم توسط دستگاه میلی پور (فیلتر ۰/۲ میکرون) استریل شدند. ابتدا محلول غذایی به محلول بافر و محلول کازوآمینواسید اضافه و سپس ضمن به‌هم زدن آرام و بدون ایجاد حباب، محلول معرف Fe-CAS به آن‌ها اضافه و در پلیت‌ها توزیع گردید. مقدار ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه هر یک از سویه‌های موردمطالعه با جمعیت تنظیم‌شده در وسط هر ظرف پتری با روش قطره‌گذاری به مقدار ۵ میکرولیتر، تلقیح و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت چهار روز نگه‌داری شدند. توانایی تولید سیدروفور از طریق محاسبه نسبت قطر هاله نارنجی‌رنگ تشکیل‌شده در اطراف کلنی به قطر کلونی تعیین شد.

توانایی حل‌کنندگی فسفات آهن

برای بررسی توانایی سویه‌ها در حل کردن فسفات آهن از محیط کشت NBRIP[6] استفاده شد (نوتیال، ۱۹۹۹). ابتدا چند قطره معرف Bromo cresol نیم درصد به محیط کشت اضافه و پس از تنظیم pH روی ۷ و اتوکلاو کردن، در پلیت‌های ۸ سانتی‌متری پخش شد. از سوسپانسیون تازه هر یک از سویه‌های موردمطالعه با جمعیت تنظیم‌شده (5×10^8 CFU/mL) به‌اندازه ۵ میکرولیتر در هر پلیت در سه نقطه با روش قطره‌گذاری تلقیح شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری و درنهایت، نسبت قطر هاله شفاف اطراف کلونی به قطر کلونی محاسبه شد.

توانایی آزادسازی پتاسیم

برای اندازه‌گیری توانایی آزادسازی پتاسیم از کانی‌های موسکویت (میکای سفید) و بیوتیت (میکای سیاه) از روش الکساندروف (الکساندروف، ۱۹۶۷) استفاده شد. ابتدا به‌منظور حذف پتاسیم محلول و تبادلی از سطح کانی ها، قبل از استفاده در محیط کشت، کانی‌ها با استفاده از اسیدکلریدریک ۰/۱ مولار به مدت ۳۰ دقیقه اسید شویی و سپس در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر شیکر شده و پس از سانتریفیوژ، محلول رویی حذف و آنگاه یک شب در دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. از طرف دیگر، سویه‌های باکتری مورد آزمایش در محیط کشت اختصاصی، رشد داده شدند. دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری در سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) رسوب داده شد. رسوب حاصله[7]

---

[6] - National Botanical Research Institute's phosphate growth medium

[7] - Pellet

در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل معلق شده و به ۵۰ میلی لیتر محیط کشت مایع الکساندروف دارای میکا افزوده شد و به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس بر روی شیکر قرار گرفت. مقدار پتاسیم آزادشده (پتاسیم محلول) با استفاده از روش فلیم‌فتومتری اندازه‌گیری شد. درصورتی که مقدار پتاسیم محلول تیمار دارای باکتری تفاوت معنی داری با تیمار شاهد داشت، باکتری مذکور به‌عنوان حل‌کننده پتاسیم در نظر گرفته شد. برای تهیه استانداردهای پتاسیم از کلرید پتاسیم (KCl) با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. (گوش و همکاران، ۲۰۲۳).

تولید EPS

برای بررسی توانایی تولید EPS، از کشت ۴۸ ساعته هر سویه در محیط TSB به میزان ۱۰ میکرولیتر به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت اختصاصی هر باکتری تلقیح و به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. محتویات ارلن به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و سپس در دمای چهار درجه سلسیوس و به مدت ۳۰ دقیقه و ۱۰۰۰ در دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. به‌منظور رسوب دادن EPS تولیدشده به مایع شفاف رویی حاصل از سانتریفیوژ سه میلی‌لیتر به لوله‌ها منتقل و با نه میلی‌لیتر اتانول سرد مخلوط و با ورتکس به مدت پنج دقیقه به‌هم زده شد. در این مرحله مایع شفاف رویی دور ریخته شد و ته‌نشست حاوی EPS در محیط آزمایشگاه خشک شد. رسوب تشکیل‌شده توزین شد و مقدار بر اساس میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد (ساندهیا و همکاران، ۲۰۰۹).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

همه آزمایش‌های ذکرشده در این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی[۸] (CRD) در سه تکرار انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار 9.4 M6 SAS (TS1M6) انجام شد. میانگین‌ها به روش کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه و گروه‌بندی شدند.

نتایج

تولید اکسین

ازنظر توانایی تولید اکسین، سویه‌ها به سه دسته کم (۳-۱۰ µg/mL)، متوسط (۱۰-۲۰µg/mL) و زیاد (۲۰< µg/mL) تقسیم شدند. به‌طورکلی در هر دو سطح ال-تریپتوفان، ۵، ۳۵/۵ و ۵۷/۵ درصد از سویه‌های باکتری به ترتیب در دسته کم، متوسط و زیاد قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد سویه‌های P241،P187 و P214 بیش‌ترین مقادیر اکسین در سطوح صفر و ۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۴۳/۹۰ و ۴۴/۹۳ و ۵۱/۶۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر محیط کشت بودند. اکثر سویه‌ها در سطح ۵۰ ال-تریپتوفان میلی‌گرم در لیتر، بالاترین مقدار اکسین را تولید کردند. برخی سویه‌ها مانند Azto474، A232 و A231 در سطح صفر ال- تریپتوفان نسبت به سطح ۵۰ ال- تریپتوفان مقدار اکسین بیشتری تولید کردند.

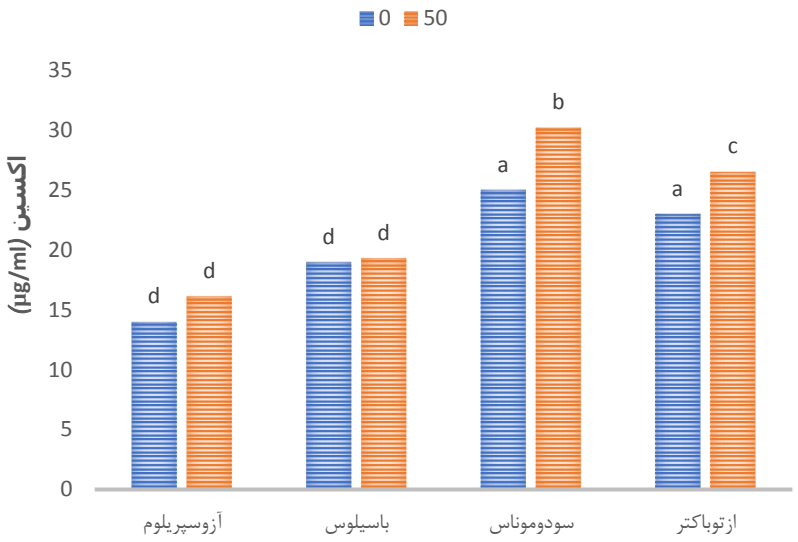
---

[۸] - Completely Randomized Design

جدول ۱- توانایی سویه‌های مختلف باکتری در تولید اکسین (مقایسه میانگین‌ها)

مقدار اکسین تولیدشده توسط سویه‌های مختلف برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محیط کشت							
سویه باکتری	در سطح ال-تریپتوافان ۵۰ mg/L	سویه باکتری	در سطح ال-تریپتوافان ۵۰ mg/L	سویه باکتری	در سطح ال-تریپتوافان صفر mg/L	سویه باکتری	در سطح ال-تریپتوافان صفر mg/L
Azto470	۳۸/۳۰±۲/۲۰	A231	۸/۶۶±۰/۳۵	Azto470	۳۷/۰۴±۳/۰۳	A231	۲۱/۴۴±۱/۲۱
Azto471	۲۴/۳۶±۲/۴۱	A232	۲۰/۵۰±۰/۱۳	Azto471	۳۶/۸۳±۳/۰۱	A232	۲۳/۷۲±۲/۵۰
Azto472	۲۴/۸۸±۳/۱۷	A443	۲۴/۹۰±۰/۰۴	Azto472	۳۶/۶۰±۲/۳۲	A443	۲۳/۵۹±۰/۲۲
Azto473	۲۷/۸۹±۳/۲۰	A448	۱۸/۲۸±۰/۰۹	Azto473	۳۷/۹۱±۱/۰۴	A448	۱۶/۱۰±۱/۹۱
Azto474	۱۷/۸۷±۴/۰۳	A500	۸/۶۴±۳/۰۵	Azto474	۴۰/۶۷±۰/۱۷	A500	۱۵/۹۲±۱/۴۱
Azto475	۲۳/۶۴±۳/۱۸	A501	۷/۲۳±۱/۹۹	Azto475	۲۹/۳۲±۳/۰۹	A501	۲۰/۸۳±۳/۰۲
Azto476	۳۴/۸۶±۱/۱۵	A502	۲۴/۳۳±۰/۱۳	Azto476	۲۷/۷۸±۱/۴۲	A502	۱۹/۱۲±۰/۵۴
Azto477	۲۰/۸۸±۳/۰۲	A503	۱۴/۰۴±۱/۲۶	Azto477	۳۲/۷۴±۲/۰۳	A503	۱۱/۷۱±۱/۲۰
Azto478	۳۸/۷۷±۱/۹۰	Azosbra	۳۰/۶۷±۷/۸۳	Azto478	۳۷/۵۰±۱/۰۶	Azosbra	۱۷/۶۹±۱/۰۲
Azto479	۱۸/۵۶±۲/۹۳	Azoslipo	۲۱/۹۰±۵/۵۲	Azto479	۳۱/۵۷±۱/۱۱	Azoslipo	۱۶/۷۲±۴/۶۱
Azto480	۲۷/۵۸±۲/۲۹	B221	۱۹/۵۳±۱/۴۵	Azto480	۲۹/۷۳±۳/۴۱	B221	۲۲/۴۷±۷/۴۲
Azto482	۱۴/۱۹±۲/۹۰	B235	۷/۱۸±۱/۹۸	Azto482	۳۵/۷۳±۱/۳۴	B235	۲۴/۷۷±۳/۱۵
P180	۲۴/۷۴±۰/۲۰	B256	۳۲/۹۰±۱/۴۷	P180	۲۳/۱۸±۱/۷۱	B256	۲۴/۵۴±۲/۱۷
P184	۱۴/۰۶±۲/۹۵	B267	۲۸/۵۸±۴/۷۴	P184	۲۷/۸۹±۳/۸۰	B267	۱۷/۲۰±۱/۸۰
P186	۸/۰۰±۲/۰۵	B270	۲۳/۱۶±۲/۷۱	P186	۴۰/۱۵±۰/۳۵	B270	۱۹/۰۴±۰/۵۳
P187	۴۳/۹۰±۱/۷۵	B271	۲۴/۹۷±۰/۴۱	P187	۴۰/۱۱±۱/۳۲	B271	۲۳/۹۵±۱/۵۰
P188	۳۸/۴۲±۲/۷۲	B311	۱۴/۰۳±۱/۲۱	P188	۳۸/۷۷±۲/۲۰	B311	۹/۶۴±۱/۱۵
P189	۴۰/۰۸±۰/۳۰	B312	۸/۷۴±۲/۳۰	P189	۳۹/۹۸±۰/۴۱	B312	۱۴/۰۸±۰/۷۱
P190	۳۶/۶۵±۱/۰۸	B317	۲۲/۰۳±۰/۷۴	P190	۳۹/۹۸±۰/۶۱	B317	۲۱/۸۰±۰/۷۲
P191	۳۹/۵۴±۱/۰۰	B320	۱۵/۶۴±۱/۰۴	P191	۳۶/۹۹±۳/۲۲	B320	۱۵/۰۵±۱/۲
P192	۳۷/۵۲±۲/۰۸	B326	۱۵/۳۴±۲/۹	P192	۴۰/۲۳±۰/۳۷	B326	۱۶/۵۶±۷/۳
P193	۳۵/۷۱±۱/۷	B327	۱۴/۶۷±۰/۲۷	P193	۳۶/۹۹±۱/۱۴	B327	۱۴/۰۱±۰/۶
P194	۱۷/۸۹±۳/۶	B331	۱۶/۶۶±۱/۳۸	P194	۳۲/۶۹±۲/۸۱	B331	۱۵/۲۶±۱/۱۱
P196	۱۹/۷۱±۲/۵۸	B416	۲۰/۶۸±۱/۸۹	P196	۳۴/۰۵±۴/۹۰	B416	۱۷/۸۴±۰/۳۵
P214	۵۱/۶۸±۳/۰۱	B417	۱۹/۳۲±۱/۳۶	P214	۴۸/۷۲±۱/۴۵	B417	۲۲/۸۲±۲/۰۹
P241	۴۴/۹۳±۲/۳۵	B444	۱۹/۷۸±۳/۵۳	P241	۳۹/۰۸±۴/۰۱	B444	۲۵/۸۹±۲/۰۷
P283	۳۰/۶۷±۴/۹۰	B445	۱۹/۰۴±۰/۱۵	P283	۳۷/۹۸±۱/۷۲	B445	۱۸/۹۹±۰/۳۴
P526	۱۹/۵۸±۴/۰۵	B509	۱۷/۴۲±۰/۱۲	P526	۲۵/۱۸±۷/۵	B509	۲۰/۷۵±۱/۶
P1	۳۳/۵۶±۰/۹۴	B517	۲۱/۲۹±۲/۴۳	P1	۲۹/۴۴±۲/۵۲	B517	۱۴/۷۵±۰/۴۰
P4	۳۵/۴۳±۲/۶۰	B520	۲۱/۱۶±۲/۳۰	P4	۳۴/۴۳±۶/۰۱	B520	۱۹/۸۳±۱/۷۱
P6	۲۶/۱±۲/۰۹	Bmeg	۱۹/۱۴±۲/۹۰	P6	۳۷/۶۵±۱/۶۳	Bmeg	۲۶/۹۹±۱/۰۴
		Azto469	۱۹/۸۳±۱/۱۱			Azto469	۳۱/۹۵±۲/۹۲
± مقدار خطای استاندارد				LSD (5%) =۵/۷۱۴۹			

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان تولید اکسین مربوط به گروه *سودوموناس و ازتوباکتر* بود. اختلاف معنی داری بین این دو گروه *باسیلوس و آزوسپیریلوم* دیده نشد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه مقدار تولید اکسین توسط آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر (۵۰ و ۰ یعنی در سطوح ال-تریپتوفان صفر و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر؛ (۵٪) LSD= ۵/۷۱۴۹؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است)

حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول

تجزیه واریانس داده‌های حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول نشان داد که سویه‌های P196 و P187 به ترتیب با نسبت قطر هاله به کلونی ۲/۵۸ و ۲/۴۷ بیش‌ترین میزان انحلال را داشتند (جدول ۲).

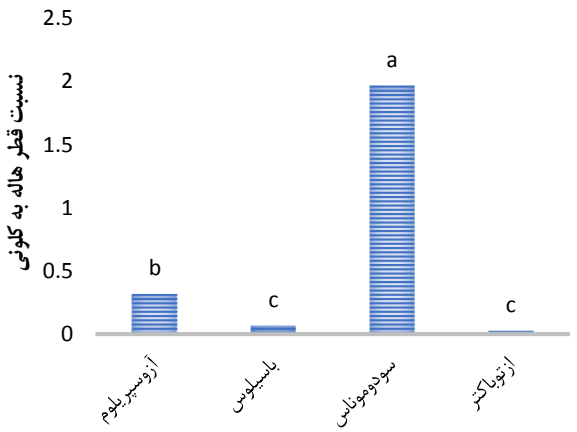
جدول ۲- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات‌های معدنی

شاخص حلالیت فسفات بر اساس نسبت قطر هاله به قطر کلونی			
سویه باکتری	انحلال فسفات	سویه باکتری	انحلال فسفات
Azto470	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto470	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto471	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto471	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto472	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto472	۱/۶۳۸±۰/۱۷
Azto473	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto473	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto474	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto474	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto475	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto475	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto476	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto476	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto477	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto477	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto478	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto478	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto479	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto479	۱/۵۵۶±۰/۰۶
Azto480	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto480	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto482	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto482	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P180	۲/۰۸۲±۰/۱۹	P180	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P184	۱/۹۷۷±۰/۱۳	P184	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P186	۲/۲۹۲±۰/۱۹	P186	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P187	۲/۵۸۷±۰/۱۹	P187	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P188	۲/۱۱۴±۰/۲۴	P188	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P189	۱/۸۹۸±۰/۳۶	P189	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P190	۱/۸۵۶±۰/۳۱	P190	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P191	۱/۹۳۰±۰/۲۰	P191	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P192	۲/۰۰۸±۰/۴۱	P192	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P193	۱/۸۹۸±۰/۳۳	P193	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P194	۲/۰۹۴±۰/۴۹	P194	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P196	۲/۴۷۸±۰/۳۴	P196	۱/۴۳۷±۰/۱۵
P214	۱/۹۵۰±۰/۱۸	P214	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P241	۲/۴۱۶±۰/۱۴	P241	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P283	۱/۶۴۱±۰/۱۶	P283	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P526	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P526	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P1	۲/۳۷۳±۰/۲۷	P1	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P4	۱/۶۵۳±۰/۱۸	P4	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P6	۲/۱۳۵±۰/۲۲	P6	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
			۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
± مقدار خطای استاندارد		LSD (5%) =۰/۳۵۶۹	

مقایسه میانگین‌های شاخص انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول نشان داد که باکتری‌های جنس *سودوموناس* از بیش‌ترین میزان انحلال فسفات معدنی برخوردار بودند. بین باکتری‌های جنس *باسیلوس* و *ازتوباکتر* ازنظر انحلال فسفات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد شکل ۲).

حل‌کنندگی فسفات‌های آلی نامحلول

نتایج سنجش توانایی انحلال فسفات آلی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین سویه‌ها وجود داشت (جدول ۳). سویه‌های P241 و P186 به ترتیب با دارا بودن نسبت قطر هاله به کلونی ۴/۹۵ و ۴/۱۳ بیش‌ترین انحلال را نشان دادند.

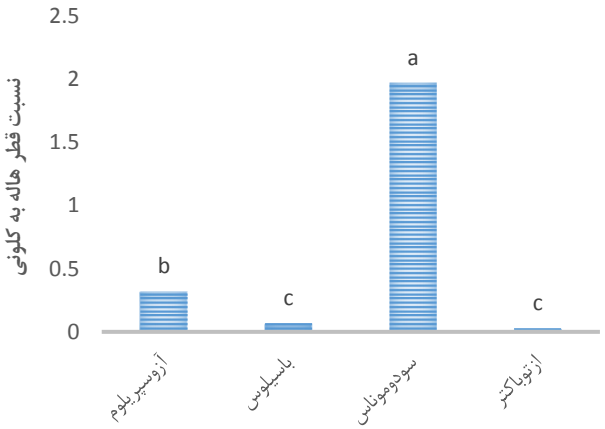


شکل ۲- مقایسه توانایی انحلال فسفات معدنی گروه‌های *آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر* (۵٪) LSD=۰/۳۶؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

جدول ۳- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات‌های آلی

شاخص حلالیت فسفات بر اساس نسبت قطر هاله به قطر کلونی			
سویه باکتری	انحلال فسفات	سویه باکتری	انحلال فسفات
Azto470	۰/۰۳۰±۰/۰۰۰	A231	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto471	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A232	۱/۸۳۳±۰/۱۶
Azto472	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A443	۲/۰۵۵±۰/۲۵
Azto473	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A448	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto474	۰/۰۴۰±۰/۰۰۰	A500	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto475	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A501	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto476	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A502	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto477	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A503	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto478	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azosbra	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto479	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azoslipo	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto480	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B221	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto482	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B235	۱/۸۱۸±۰/۱۳
P180	۳/۳۱۲±۰/۰۳	B256	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P184	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B267	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P186	۴/۱۳۳±۰/۱۲	B270	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P187	۳/۵۶۶±۰/۵۹	B271	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P188	۳/۴۵۹±۰/۴۴	B311	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P189	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B312	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P190	۲/۱۵۵±۰/۴۵	B317	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P191	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B320	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P192	۱/۷۵۳±۰/۲۲	B326	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P193	۲/۱۶۶±۰/۲۸	B327	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P194	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B331	۱/۶۶۶±۰/۱۸
P196	۲/۲۷۲±۰/۳۰	B416	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P214	۲/۰۸۴±۰/۳۳	B417	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P241	۴/۹۵۹±۰/۳۹	B444	۱/۳۴۷±۰/۱۸
P283	۲/۳۴۲±۰/۴۸	B445	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P526	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B509	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P1	۱/۹۰۸±۰/۱۲	B517	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P4	۳/۵۸۳±۰/۸۷	B520	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P6	۳/۲۸۹±۰/۰۹	Bmeg	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
		Azto469	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
مقدار خطای استاندارد		LSD (5%) =۰/۳۱۸۳	

مقایسه میانگینها نشان داد که گروه *سودوموناس*، بیش‌ترین میزان انحلال فسفات آلی در مقایسه با *آزوسپیریلوم*، *باسیلوس* و *ازتوباکتر* داشت. بین باکتری‌های گروه *باسیلوس* و *آزوسپیریلوم* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (شکل ۳)



شکل ۳- مقایسه توانایی انحلال فسفات آلی گروه‌های *آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر* (۵٪) LSD=۰/۳۶؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است).

تولید سیدروفور

نتایج نشان داد که اثرات سویه‌ها در تولید سیدروفور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. حدود ۲۶٪ از باکتری‌ها توانایی بالا،۳۹٪ توانایی متوسط و ۴۵٪ قابلیت سنتز سیدروفور را نداشتند. سویه‌های P188، P283 و B271 به ترتیب با داشتن نسبت قطر هاله به کلونی ۳/۳۷، ۲/۸۴، ۲/۶۶ بیش‌ترین توانایی در تولید میزان سیدروفور را نشان دادند (جدول ۴).

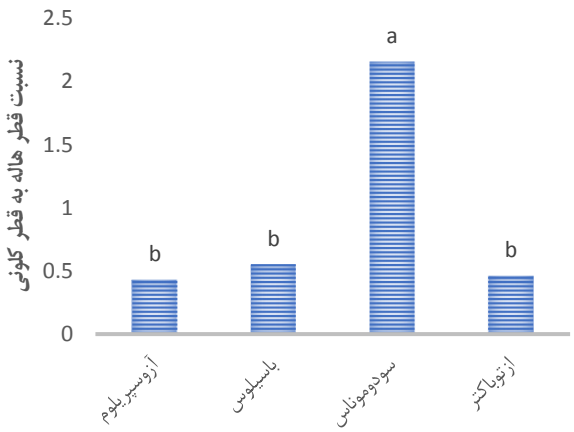
مقایسه گروه‌های چهارگانه باکتری‌ها از نظر مقدار سیدروفور تولیدشده نشان داد که گروه *سودوموناس* بیش‌ترین میانگین معنی‌دار را داشت. میانگین سیدروفور تولیدی سه گروه *آزوسپیریلوم*، *باسیلوس* و *ازتوباکتر* اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند (شکل ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف در تولید سیدروفور (نسبت قطر هاله به کلونی)

باکتری	سیدروفور	باکتری	سیدروفور
Azto470	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A231	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto471	۲/۰۰۰±۰/۱۰۰	A232	۱/۶۶۶±۰/۰۱۰
Azto472	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A443	۱/۴۲۱±۰/۰۴۰
Azto473	۱/۹۲۳±۰/۰۶۰	A448	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto474	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A500	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto475	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A501	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto476	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A502	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto477	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A503	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto478	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azosbra	۱/۲۲۵±۰/۰۳۰
Azto479	۲/۰۹۵±۰/۰۷۰	Azoslipo	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto480	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B221	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto482	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B235	۱/۸۰۰±۰/۰۵۰
P180	۱/۴۳۳±۰/۱۶۴	B256	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P184	۲/۵۸۳±۰/۰۵۷	B267	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P186	۲/۳۲۷±۰/۰۹۸	B270	۱/۱۴۲±۰/۰۸۰
P187	۱/۹۲۳±۰/۱۰۰	B271	۲/۶۶۶±۰/۰۰۰
P188	۳/۳۷۷±۰/۳۶۵	B311	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P189	۲/۳۷۱±۰/۱۱۱	B312	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P190	۱/۸۰۰±۰/۰۳۰	B317	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P191	۱/۹۲۳±۰/۰۰۰	B320	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P192	۲/۴۳۵±۰/۱۱۱	B326	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P193	۲/۱۶۶±۰/۰۵۰	B327	۲/۳۳۳±۰/۲۸۰
P194	۲/۴۱۶±۰/۰۰۰	B331	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P196	۲/۲۲۲±۰/۰۰۱	B416	۱/۸۵۷±۰/۰۱۰
P214	۲/۱۲۵±۰/۰۴۰	B417	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P241	۱/۶۶۶±۰/۰۰۰	B444	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P283	۲/۸۴۸±۰/۰۵۲	B445	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P526	۲/۱۱۱±۰/۰۴۱	B509	۱/۸۵۱±۰/۱۲۸
P1	۱/۵۷۱±۰/۰۳۰	B517	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P4	۱/۶۵۳±۰/۰۹۶	B520	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P6	۲/۱۳۵±۰/۰۷۰	Bmeg	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
		Azto469	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰

± مقدار خطای استاندارد

LSD٪۵ = ۰/۱۱۳۹



شکل ۴- مقایسه مقدار تولید سیدروفور گروه‌های *آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر* (۵٪) LSD=۰/۱۴؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است).

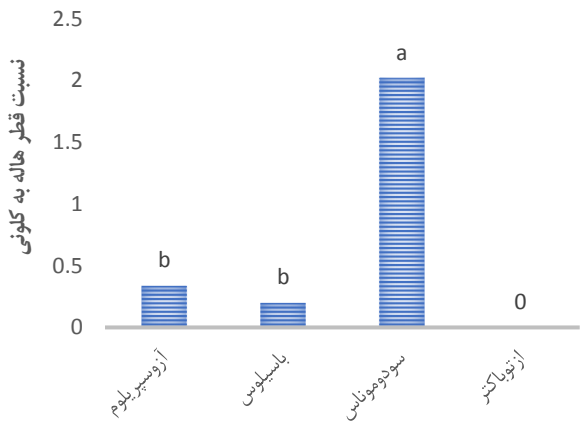
انحلال فسفات آهن

نتایج حاصل از ارزیابی فسفات آهن حل‌شده توسط سویه‌ها نشان داد که ۲۵٪ از سویه‌های موردمطالعه توانایی حل‌کنندگی فسفات آهن را داشتند. بیش‌ترین نسبت قطر هاله به کلونی مربوط به سویه‌های P192,P283,P241 به ترتیب ۳/۸۸ و ۳/۹۶ و ۴/۴۵ بود (جدول ۵).

بیش‌ترین میانگین انحلال فسفات آهن به گروه *سودوموناس* تعلق گرفت. میانگین انحلال توسط گروه‌های *آزوسپیریلوم و باسیلوس* اختلاف معنی‌داری باهم نشان ندادند. (شکل ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف باکتری در توان حل‌کنندگی فسفات آهن (نسبت قطر هاله به کلونی)

باکتری	حل‌کنندگی آهن	باکتری	حل‌کنندگی آهن
Azto470	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A231	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto471	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A232	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto472	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A443	۱/۹۰±۰/۰۱۰
Azto473	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A448	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto474	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A500	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto475	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A501	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto476	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A502	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto477	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	A503	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto478	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azosbra	۱/۴۵±۰/۰۷۲
Azto479	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azoslipo	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto480	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B221	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto482	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B235	۲/۱۲±۰/۰۹۰
P180	۱/۴۴±۰/۰۸۰	B256	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P184	۱/۵۵±۰/۰۴۰	B267	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P186	۳/۵۵±۰/۱۱۱	B270	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P187	۳/۷۷±۰/۱۱۱	B271	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P188	۳/۶۶±۰/۰۵۷	B311	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P189	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B312	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P190	۳/۵۰±۰/۰۹۰	B317	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P191	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B320	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P192	۴/۴۵±۰/۰۷۲	B326	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P193	۳/۵۵±۰/۰۷۰	B327	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P194	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B331	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P196	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B416	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P214	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B417	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P241	۳/۸۸±۰/۱۱۱	B444	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P283	۳/۹۶±۰/۰۶۴	B445	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P526	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B509	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P1	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	B517	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
P4	۲/۷۰±۰/۰۶۴	B520	۲/۰۳±۰/۰۵۷
P6	۲/۳۰±۰/۰۰۰	Bmeg	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
		Azto469	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
± مقدار خطای استاندارد		LSD (۵٪) =۰/۰۵۳	



شکل ۵- مقایسه توانایی انحلال فسفات آهن گروه‌های آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر (۵٪) LSD=۰/۰۵۳؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

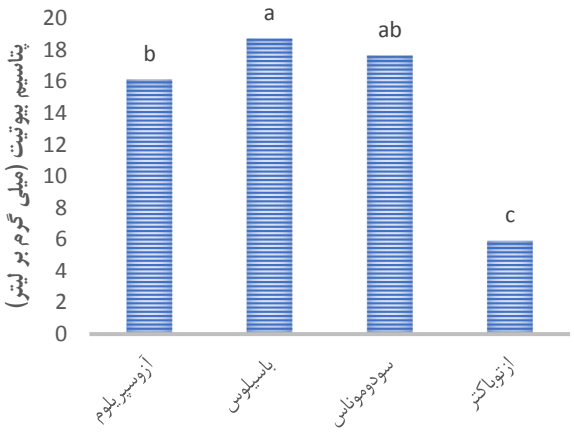
آزادسازی پتاسیم

نتایج نشان داد که میزان پتاسیم آزادشده توسط سویه‌های مختلف برای کانی بیوتیت در محدوده ۴۳/۳۳-۲/۳۳ و برای کانی مسکوویت در دامنه ۳۰/۶۶-۳/۰۰ میلی-گرم بر لیتر بود (جدول ۶). سویه‌های B326، B271 و P214 به ترتیب ۲۷/۰۰ و ۲۷/۳۳ و ۴۳/۳۳ از کانی بیوتیت و سویه‌های B445، B326 و P214 به ترتیب ۲۳/۶۶ و ۲۴/۶۶ و ۳۰/۶۶ از کانی مسکوویت بیش‌ترین پتاسیم را آزاد کردند.

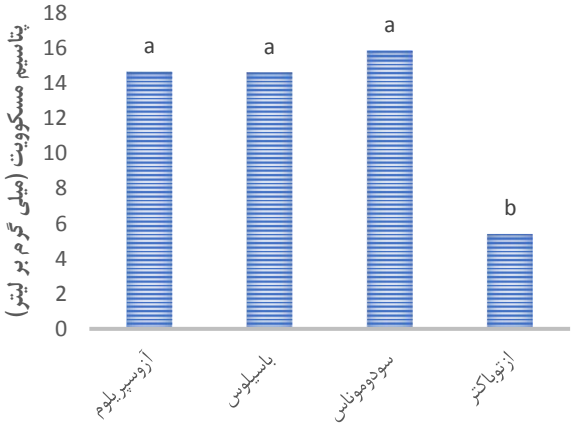
مقایسه میانگین مقدار آزادسازی پتاسیم توسط باکتری‌ها نشان داد که باکتری گروه *باسیلوس و سودوموناس* از بیش‌ترین میانگین به ترتیب در محیط کشت حاوی بیوتیت و مسکوویت برخوردار بودند. گروه *ازتوباکتر* کمترین آزادسازی پتاسیم در محیط حاوی بیوتیت و مسکوویت را داشتند (شکل‌های ۶ و ۷).

جدول ۶- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف در آزادسازی پتاسیم از کانیهای مسکوویت و بیوتیت

سویه باکتری	پتاسیم آزادشده (میلی‌گرم بر لیتر)		سویه باکتری	پتاسیم آزادشده (میلی‌گرم بر لیتر)	
	بیوتیت	مسکوویت		بیوتیت	مسکوویت
A231	۱۷/۳۳±۰/۵۷	۱۲/۰۰±۰/۹	Azto470	۴/۳۳±۰/۰۷	۴/۶۶±۰/۶۲
A232	۷/۶۶±۰/۵۷	۱۱/۰۰±۰/۹۷	Azto471	۶/۶۰±۰/۶۶	۵/۰۰±۰/۳۲
A443	۱۹/۵۷± ۰/۵۷	۱۶/۶۷±۱/۱۵	Azto472	۷/۴۶±۰/۳۳	۴/۹۶±۰/۶۱
A448	۱۷/۶۶±۱/۱۵	۲۲/۰۰±۲/۰۰	Azto473	۸/۶۲±۰/۶۶	۸/۵۳±۰/۲۳
A500	۱۶/۳۳±۰/۵۷	۱۰/۶۷±۰/۵۷	Azto474	۵/۹۲±۰/۹۶	۵/۳۷±۰/۶۳
A501	۱۰/۶۶±۰/۵۷	۱۶/۶۶±۰/۶۶	Azto475	۷/۶۶±۰/۶۹	۱۲/۴۶±۰/۳۳
A502	۱۶/۶۶±۱/۱۵	۱۸/۳۳±۰/۶۴	Azto476	۱۶/۶۶±۰/۵۲	۴/۷۵±۰/۰۵
A503	۲۲/۶۶±۰/۵۷	۱۳/۶۶±۰/۳۴	Azto477	۵/۳۵±۰/۲۹	۳/۰۰±۰/۰۰۵
Azosbra	۱۸/۶۶±۰/۵۶	۱۲/۰۳±۰/۸۷	Azto478	۷/۳۳±۱/۳۰	۵/۳۳±۰/۲۱
Azoslipo	۱۴/۰۰±۰/۰۹	۱۳/۶۷±۰/۳۴	Azto479	۵/۳۷±۰/۳۴	۳/۸۲±۰/۰۸
B221	۲۶/۶۶±۰/۵۷	۴/۳۳±۰/۳۷	Azto480	۶/۰۰±۰/۸۰	۵/۴۳±۰/۵۲
B235	۱۶/۳۳±۰/۵۷	۱۵/۳۳±۰/۶۷	Azto482	۵/۶۶±۰/۱۲	۴/۸۵±۰/۶۷
B256	۲۳/۶۶±۰/۶۴	۱۴/۰۰±۰/۰۸	P180	۱۱/۲۸±۰/۸۶	۱۲/۰۰±۰/۵۰
B267	۱۴/۶۶±۰/۵۴	۱۳/۵۷±۰/۵۴	P184	۱۸/۰۰±۰/۰۸	۱۰/۳۷±۰/۹۸
B270	۱۶/۶۶±۰/۶۶	۱۳/۳۳±۰/۳۳	P186	۲۲/۳۳± ۲/۲۴	۱۵/۸۶±۰/۳۷
B271	۲۷/۳۳±۰/۹	۲۲/۵۶±۰/۶۱	P187	۱۴/۳۱±۱/۶۲	۱۳/۷۹±۰/۳۵
B311	۲۴/۳۳±۰/۳۳	۲۲/۰۰±۰/۰۷	P188	۱۵/۰۵±۱/۲۳	۱۴/۹۲±۰/۸۲
B312	۱۸/۶۱±۰/۶۹	۱۷/۵۴±۰/۳۹	P189	۱۸/۳۱±۰/۱۹	۱۸/۶۶±۰/۶۶
B317	۲۲/۶۶± ۰/۳۷	۱۱/۲۸±۱/۳۳	P190	۹/۶۶±۰/۰۹	۱۴/۶۶±۰/۸۶
B320	۹/۳۷±۰/۹۱	۴/۳۷±۰/۵۹	P191	۱۰/۶۴±۰/۱۳	۱۴/۹۶±۰/۹۵
B326	۱۷/۳۳±۰/۷۹	۲۴/۶۷±۰/۳۸	P192	۱۶/۶۴±۰/۳۱	۱۶/۷۶±۱/۳۳
B327	۱۸/۰۰±۰/۰۴	۲۳/۰۰±۰/۰۷	P193	۱۴/۹۱±۱/۳۴	۱۲/۶۶±۰/۴۶
B331	۱۷/۰۰±۱/۰۵	۱۷/±۰/۶۸	P194	۲۲/۳۸±۱/۳۲	۱۶/۸۵±۱/۶۲
B416	۲۳/۶۸±۰/۶۱	۱۷/۳۳±۰/۶۴	P196	۲۵/۶۲±۰/۷۵	۲۲/۷۴±۱/۸۲
B417	۱۴/۳۳±۰/۳۷	۱۴/۳۳±۰/۹۷	P214	۴۳/۳۸±۲/۲۸	۳۰/۸۲±۱/۳۶
B444	۱۰/۶۶±۰/۹۵	۶/۹۳±۰/۳۷	P241	۱۴/۳۸±۱/۳۵	۱۶/۴۵±۰/۶۴
B445	۱۹/۶۶± ۰/۳۷	۲۳/۹۱±۰/۶۶	P283	۱۵/۲۶±۰/۶۶	۱۲/۶۸±۰/۳۹
B509	۱۵/۳۳±۰/۸۳	۳/۰۰±۰/۰۱	P526	۱۸/۲۸±۱/۰۹	۱۹/۰۰±۰/۹۰
B517	۳۳/۳۳±۰/۳۳	۷/۶۸±۰/۹۳	P1	۱۶/۶۹±۰/۶۵	۱۹/۴۹±۰/۸۵
B520	۱۸/۳۷±۰/۹۱	۱۰/۳۷±۰/۷۱	P4	۱۴/۲۳±۰/۳	۱۰/۲۱±۱/۶۲
Bmeg	۱۶/۰۰±۰/۶۸	۹/۰۸±۰/۵۰	P6	۱۵/۶۹±۰/۴۶	۱۶/۶۶±۰/۸۶۳
Azto469	۲/۳۳±۰/۹۶	۳/۹۲±۰/۶۵			
± مقدار خطای استاندارد		۱ /۱۲۷۳ =LSD (%)		۱/۸۱۷۰ =LSD (5%)	



شکل ۶ – مقایسه توانایی آزادسازی پتاسیم توسط گروه‌های *آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر* از بیوتیت (۵٪) LSD=۱/۸۲؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.



شکل ۷ – مقایسه توانایی آزادسازی پتاسیم موسکویت گروه‌های *آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر* (۵٪) LSD=۰/۱۴؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

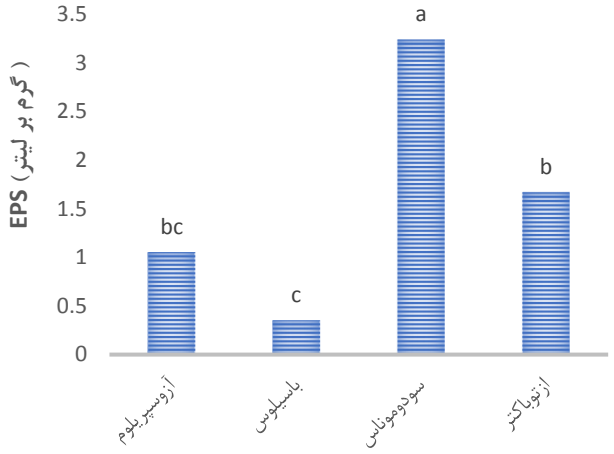
تولید EPS

نتایج نشان داد که ۵۰٪ از سویه‌ها توانایی تولید EPS را داشتند. میزان تولید EPS سویه‌های مختلف بین ۰/۲ تا ۶/۸۴ بود, بیش‌ترین مقدار متعلق به سویه‌های سودوموناس P190، P283 و P526 به ترتیب به میزان ۶/۰۴ و ۶/۶۰ و ۶/۸۴ گرم در لیتر بود (جدول ۷).

مقایسه میانگین گروه‌ها نشان داد که گروه *سودوموناس* بیش‌ترین میزان و گروه *باسیلوس*کمترین مقدار EPS را تولید کرد. *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* اختلاف معنی‌داری باهم نشان ندادند (شکل ۸).

جدول ۷- مقایسه میانگین سویه‌های مختلف در تولید EPS (میلی گرم در میلی‌لیتر)

سویه باکتری	EPS	سویه باکتری	EPS
A231	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto470	۱/۹۶±۰/۰۶
A232	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto471	۰/۲۹±۰/۰۱
A443	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto472	۲/۴۳±۰/۱۴
A448	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto473	۰/۸۱±۰/۰۰۲
A500	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto474	۰/۷۰±۰/۰۰۷
A501	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto475	۰/۸۲±۰/۰۰۱
A502	±۳/۶۸±۱/۱۲	Azto476	۱/۵۶±۰/۰۰۵
A503	۲/۲۲±۰/۶۴	Azto477	۱/۹۲±۰/۴۱
Azosbra	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto478	۴/۷۹±۰/۲۴
Azoslipo	۴/۶۲±۰/۳۸	Azto479	۱/۷۹±۰/۴۴
B221	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto480	۱/۷۶±۰/۰۶
B235	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	Azto482	۱/۸۷±۰/۱۷
B256	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P180	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
B267	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P184	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
B270	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P186	۵/۲۱±۰/۰۳۸
B271	۲/۰۵±۰/۱۷	P187	۵/۳۸±۰/۴۱
B311	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P188	۳/۴۴±۰/۱۰۰
B312	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P189	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
B317	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P190	۶/۳۴±۰/۴۱
B320	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P191	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
B326	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P192	۴/۱۵±۰/۰۰۶
B327	۰/۵۹۲±۰/۰۰۶	P193	۵/۰۱±۰/۲۴
B331	۰/۵۸۸±۰/۰۴	P194	۴/۹۸±۰/۵۸
B416	۱/۶۷±۰/۰۴	P196	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
B417	۰/۲۱۱±۰/۰۵	P214	۱/۹۸±۰/۲۰
B444	۰/۴۲۱±۰/۰۴	P241	۵/۹۲±۰/۱۱
B445	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P283	۶/۶۰±۰/۵۷
B509	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P526	۶/۸۴±۰/۱۴
B517	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P1	۵/۹۸±۰/۳۷
B520	۱/۸۸±۰/۰۵	P4	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Bmeg	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	P6	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰
Azto469	۰/۹۷۰±۰/۰۲		
	۱/۲۱۳۹ =LSD (5%)		± مقدار خطای استاندارد



شکل ۸- مقایسه توانایی تولید EPS توسط گروه‌های آزوسپیریلوم، باسیلوس، سودوموناس و ازتوباکتر (۵٪) LSD=۱/۲۱؛ حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است)

بحث

گروه PGPR تولیدکننده هورمون‌های گیاهی مانند اکسین‌ها می‌توانند ابزار مهمی در توسعه کودهای زیستی باشند زیرا این هورمونها نقش مهمی در توسعه و تقسیم سلولی، جوانه‌زنی و رشد ریشه دارند (نسیم و همکاران ۲۰۱۸). در مطالعه‌ای مشخص شد که سویه‌های تولیدکننده مقدار زیاد اکسین در مقایسه با گروه‌های دارای توانایی تولید متوسط و ضعیف تأثیر بیشتری بر جوانه‌زنی گیاه داشته‌اند (خالد و همکاران، ۲۰۰۴). بررسی تولید اکسین توسط ۵۳ سویه PGPR نشان داد که بین ۱/۳ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کردند و کارآمدترین آن‌ها سویه‌ای از *سودوموناس* بود (احمد و همکاران، ۲۰۰۵). ال-تریپتوفان به عنوان یک پیش ماده برای بیوسنتز IAA در باکتری‌ها شناخته شده (سروار، ۱۹۹۳) و ایده مسیر وابسته به تریپتوفان در بیوسنتز آن ارائه شده است (رادوانسکی و لست، ۱۹۹۵). مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان در تولید اکسین در محیط TSB نشان داد که با افزایش تریپتوفان توانایی تولید اکسین توسط سویه‌ها افزایش یافت. باکتری‌های P214، P241، P283 و P187 در سطح ال- تریپتوفان ۵۰ بالاترین مقدار اکسین را تولید کردند. گزارش شده است که تولید ایندول-۳- استیک اسید به وسیله ریزجانداران خاک در حضور پیش ماده تریپتوفان صورت می‌گیرد (بلیمو و همکاران، ۲۰۱۵). در این پژوهش از دو روش با و بدون ال-تریپتوفان استفاده شد. در گزارش‌های دیگری هم آمده که افزودن تریپتوفان تولید اکسین را افزایش می‌دهد (سروار و همکاران، ۱۹۹۲؛ ژائو، ۲۰۱۲). تولید اکسین توسط *سودوموناس پوتیدا* سویه GR۱۲-۲ با افزایش تریپتوفان به محیط کشت باکتری افزایش یافت به طوری که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان به ترتیب ۱۴/۵، ۲۲/۵، ۲۶/۲ و ۳۲/۷ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید شد (پاتن و گلیک، ۲۰۰۲). افزودن تریپتوفان به TSB توانایی تولید اکسین را توسط باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه M۲۰ افزایش داد بطوریکه در غلظت‌های ۰/۱، ۲۵ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر الـتریپتوفان به ترتیب ۷/۱، ۱۲ و ۹۶ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید شد (استاسویک، ۲۰۰۹). در محیط کشت حاوی پودر سویا به عنوان منبع تریپتوفان سه سویه *سودوموناس پوتیدا* و یک سویه *سودوموناس ائروژینوزا* توانستند به ترتیب مقادیر ۱۴/۸، ۲۱/۲، ۲۸/۷ و ۲۱/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید کنند (تورس-روبیو و همکاران، ۲۰۰۰). سویه‌های سودوموناس *فلورسنت* کشت شده در محیط غذایی مایع نوترینت حاوی ۵ گرم در لیتر ال ـ تریپتوفان توانایی تولید ۴۱ تا ۵۳/۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین را نشان دادند (شارما، ۲۰۱۳). سه سویه *سودوموناس فلورسنس* B۱۶، 45M و MCO۷ کشت شده در محیط حداقل حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال ـتریپتوفان توانستند به ترتیب مقادیر ۰/۷، ۱۴/۹ و ۱۹/۵

میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کنند (جئون و همکاران، ۲۰۰۳). در پژوهش حاضر، بعضی از سویه‌ها همانند Azto474، A232 و A231 توانستند غلظت‌های بالایی از اکسین را در سطح صفر ال- تریپتوفان تولید کنند. تولید میزان زیاد اکسین توسط این سویه‌ها در غلظت صفر تریپتوفان را می‌توان به وجود مقادیر زیاد پپتون در محیط TSB ربط داد. گزارش‌شده که ۱۱ سویه *سودوموناس* فلورسنت و ۸ سویه *ازتوباکتر* در محیط کشت مایع بدون اضافه کردن تریپتوفان به میزان ۵/۳۴ تا ۲۲/۴ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کردند (احمد و همکاران، ۲۰۰۵). در پژوهش دیگری نیز گزارش شده که سویه‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* از مسیرهای مختلفی توانستند برای تولید اکسین استفاده کنند؛ بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که این نوع از سویه‌ها از مسیر دیگری برای بیوسنتز IAA استفاده کرده باشد.

گروه PGPR با استفاده از تولید آنزیم فسفاتاز و تولید اسیدهای آلی و معدنی و از طریق کاهش pH محیط، اشکال کم محلول و نامحلول فسفر را به شکل محلول و قابل‌جذب گیاه درمی‌آورند (سیلوا و همکاران، ۲۰۲۳؛ کوندو و گاور،۱۹۸۰؛ کپرت و همکاران، ۱۷۹۷). گزارش شده که اسیدهای آلی می‌توانند کمپلکس‌های محلول با یون‌های فلزی پیوند شده با فسفر مانند کلسیم، آلومینیوم و آهن تشکیل دهند و بدین طریق باعث آزادسازی فسفر می شوند (شارما و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج ما نشان داد که بیشتر سویه‌ها توانایی انحلال $Ca_3(PO_4)_2$ را داشتند و بیش‌ترین مقدار مربوط به P187 بود. در پژوهشی ده باکتری و سه قارچ جداشده از ریزوسفر برنج توانایی بالایی در حل فسفات‌های معدنی داشتند و شاخص حلالیت (نسبت قطر هاله + کلونی به قطر کلونی) در این سیزده ایزوله بین ۲/۱۶ و ۶/۲۳ میلی گرم در لیتر متغیر بود (راشید و همکاران، ۲۰۰۴). بررسی‌ها نشان دادند که سه سویه *سودوموناس* فلورسنس MCO۷، 45M و B۱۶ کشت شده در محیط PKV توانستند در مدت ۵ روز به ترتیب ۴۵۸/۳، ۴۴۷/۶ و ۴۲۷/۷ میلی‌گرم در لیتر فسفر محلول تولید کنند (ژئون و همکاران، ۲۰۰۳).

قسمت اعظم آهن در خاک به صورت آهن فریک (Fe^{3+}) می‌باشد (منگل و همکاران، ۲۰۰۱) که دارای حلالیت ناچیزی بوده و عملاً برای گیاهان و ریزجانداران قابل‌جذب نیست (یوسف و همکاران، ۲۰۲۲). تعدادی از باکتری‌ها قادرند فسفات آهن موجود در خاک را جذب و آن را در اختیار گیاه قرار دهند (کلوپر و همکاران، ۱۹۸۹). در این پژوهش، P283 وP192 بیش‌ترین میزان حل‌کنندگی فسفات آهن را داشتند. از طرف دیگر، فیتوسیدروفورها لیگاندهای شیمیایی هستند که کمپلکس پایداری با آهن تشکیل داده و باعث جذب آن توسط گیاه می‌شوند. گروه PGPR توانایی تولید سیدروفورهای میکروبی را دارند که قادرند آهن موردنیاز گیاه را فراهم نماید (اسکاونیو و پدرازا، ۲۰۱۳). در این پژوهش نتایج حاصل از ارزیابی توانایی تولید سیدروفور نشان داد که اکثر سویه‌ها توانستند بر روی محیط CAS هاله‌های نارنجی رنگ که دلیلی بر تولید سیدروفور است، تولید کنند. میانگین نسبت قطر هاله به قطر کلونی سویه‌ها باهم اختلاف داشت و بیش‌ترین نسبت قطر هاله به کلونی مربوط به سویه‌های B271، P283 و P188 بود.

پتاسیم، نقش محوری در فرآیندهای فیزیولوژیکی حیاتی مانند فعال‌سازی آنزیم‌ها، سنتز پروتئین‌ها، فتوسنتز و تنظیم اسمزی ایفا می‌کند (کینابو و سلمان، ۲۰۱۵؛ جانسون و همکاران، ۲۰۱۶). استفاده از سویه‌های دارای توانایی زیاد در آزادکنندگی پتاسیم در کودهای زیستی در تأمین این عنصر دارای اهمیت است. در این پژوهش سویه‌های باکتری و نوع کانی حاوی پتاسیم تأثیر متفاوتی بر حل‌کنندگی پتاسیم داشتند (جدول ۶). میزان پتاسیم حل‌شده توسط سویه‌های مختلف برای کانی موسکویت در دامنه ۳۰/۶۶-۳/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای کانی بیوتیت ۴/۳۳-۲/۳۳ میلی‌گرم بر لیتر بود. سویه‌های P214، B271 و B326 سبب بیش‌ترین میزان حل‌کنندگی پتاسیم در دو کانی شدند. آزادسازی پتاسیم از کانی فلدسپار توسط

باکتری‌های محرک رشد به سبب ترشح اسیدهای آلی گزارش شده است (سیندهو و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین گزارش شده که *ازتوباکتر* موجب آزادسازی پتاسیم از کانی ارتوکلاز شده است (خلیل و همکاران، ۲۰۱۰).

در این پژوهش، گروه *سودوموناس* بیش‌ترین مقدار EPS را تولید کرد. گزارش شده که همبستگی مثبتی بین میزان تحمل به تنش خشکی و تولید EPS توسط جدایه *سودوموناس پوتیدا* GAP-P45 وجود دارد، بطوریکه با افزایش تنش خشکی و تولید EPS توسط باکتری افزایش می‌یابد؛ همچنین تشکیل بیوفیلم درنتیجه تولید پلی‌ساکارید در اطراف جدایه باکتری سبب توسعه خاک‌دانه‌سازی، افزایش میزان و پایداری خاک چسبیده به ریشه و همچنین تنظیم پتانسیل ماتریک در محیط ریزوسفر شده است (ساندهیا و همکاران، ۲۰۰۹).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش تعداد ۶۳ سویه متعلق به چهار گروه مهم باکتری‌های محرک رشد (PGPR) گیاه بومی خاک‌های ایران شامل *سودوموناس*، *ازتوباکتر*، *باسیلوس* و *آزوسپیریلوم* از نظر ویژگی‌های محرک رشدی بررسی و مقایسه شدند. نتایج نشان داد که گروه *سودوموناس* از نظر تولید سیدروفور، انحلال فسفات آهن نامحلول، پلی ساکاریدهای خارج سلولی (EPS)، حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی با سه گروه دیگر اختلاف معنی داری نشان دادند. دو گروه *سودوموناس* و *ازتوباکتر* بالاترین میزان IAA را در سطوح ال-تریپتوفان صفر و ۵۰ گرم در لیتر تولید کردند. گروه *باسیلوس* بیش‌ترین توانایی آزادسازی پتاسیم از بیوتیت و *سودوموناس* از موسکویت را داشتند. با اینکه سودوموناس‌ها در بیشتر خصوصیات محرک رشدی از سویه‌های برتری برخوردار بودند بااین‌حال با توجه به اینکه سایر گروه‌ها هم در برخی ویژگی‌های دیگر برتری نشان دادند بنابراین پیشنهاد می شود برای استفاده از این سویه‌ها به عنوان مایه تلقیح یا کود زیستی، در پژوهش‌های آتی از ترکیبی از سویه‌های برتر هر گروه هم استفاده شود.

Refrence

1. Ahmad, F., Ahmad, I., and Sahirkhan, M.2005. Indoleacetic acid production by indigenous isolates of Azotobacter and *fluorescent pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. Turk. J. Biol. 29: 29-34.
2. Alexander, D. B., & Zuberer, D. A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophores production by rhizosphere bacteria. Biology and Fertility of soils, 12, 39-45. https://doi.org/10.1007/BF00369386.
3. Aleksandrow, V.G. Blagodyr, R.N. and Iiiev, I.P., 1967. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. Mikrobiolohichnyi zhurnal, 29, 111-114.
4. Belimov, A.A., Dodd, I.C., Safronova, V.I., Shaposhnikov, A.I., Azarova, T.S., Makarova, N.M., Davies, W.J. and Tikhonovich, I.A., 2015. Rhizobacteria that produce auxins and contain 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid deaminase decrease amino acid concentrations in the rhizosphere and improve growth and yield of well-watered and water-limited potato (Solanum tuberosum). Annals of Applied Biology, 167(1), pp.11-25. https://doi.org/10.1111/aab.12203
5. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and Okon, Y., 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical reviews in plant sciences, 22(2), pp.1071. https://doi.org/10.1080/713610853
6. Egamberdiyeva, D. and Höflich, G., 2002. Root colonization and growth promotion of winter wheat and pea by Cellulomonas spp. At different temperatures. Plant Growth Regulation, 38, pp.219-224. https://doi.org/10.1023/A:1021538226573
7. Ehmann, A. 1977. The Van Urk-Salkowski reagent-a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. Journal of Chromatography. 132, 267-276. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)89300-0
8. Ghosh, S., Mondal, S., Banerjee, S., Mukherjee, A. and Bhattacharyya, P., 2023. Temporal dynamics of potassium release from waste mica as influenced by potassium mobilizing bacteria. J Pure Appl Microbiol, 17(1). https://doi.org/10.22207/JPAM.17.1.17
9. Glick, B.R., 2015. Beneficial plant-bacterial interactions (Vol. 243). Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13921-0
10. Goswami, S.P., Maurya, B.R., Dubey, A.N. and Singh, N.K., 2019. Role of phosphorus solubilizing microorganisms and dissolution of insoluble phosphorus in soil. International Journal of Chemical Studies, 7(3), pp.3905-3913.
11. Jalali, M., 2006. Kinetics of non-exchangeable potassium release and availability in some calcareous soils of western Iran. Geoderma, 135, pp.63-71. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.11.006
12. Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S. and Song, H.G., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. The Journal of Microbiology, 41(4), pp.271-276.
13. Johnston, A. E., Poulton, P. R., Goulding, K. W., Macdonald, A. J., & Glendining, M. J. 2016. Potassium management in soils and crops: A review. In Proceedings of the International Fertiliser Society, 792:52 p
14. Kepert, D.G., Robson, A.D. and Posner, A.M., 1979. The effect of organic root products on the availability of phosphorus to plants. In The soil-root interface (pp. 115-124). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-325550-1.50015-X
15. Khalid, A., Arshad, M. and Zahir, Z.A., 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. Journal of

applied microbiology, 96(3), pp.473-480. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02161.x

16. Khalil, A.A., Fetyan, N.A. and Hemeid, N.M., 2010. Effect of Bacillus circulans and Azotobacter chroococcum inoculation on potato roduction in presence of different mineral potassium sources. Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology, 1(9), pp.471-483. https://doi.org/10.21608/jacb.2010.90059
17. Khosravi, H., Khoshru, B., Nosratabad, A.F. and Mitra, D., 2024. Exploring the landscape of biofertilizers containing plant growth-promoting rhizobacteria in Iran: progress and research prospects. Current Research in Microbial Sciences, p.100268. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100268
18. Kinabo, J.O.Y.C.E. and SALAAM, D., 2015. Role of potassium in human and animal nutrition. In First National Potash Symposium Dares Salaam.
19. Kloepper, J.W., Lifshitz, R. and Zablotowicz, R.M., 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends in biotechnology, 7(2), pp.39-44. https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7
20. Kumar, P., Kumar, T., Singh, S., Tuteja, N., Prasad, R. and Singh, J., 2020. Potassium: A key modulator for cell homeostasis. Journal of Biotechnology, 324, pp.198-210. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.018
21. Kundu, B.S. and Gaur, A.C., 1980. Establishment of nitrogen-fixing and phosphate-solubilising bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. Plant and soil, 57, pp.223-230. https://doi.org/10.1007/BF02211682
22. Mengel, K., Kirkby, E.A., Kosegarten, H. and Appel, T., 2001. The soil as a plant nutrient medium. Principles of plant nutrition, pp.15-110. https://doi.org/10.1007/978-94-010-1009-2_2
23. More, T.T., Yadav, J.S.S., Yan, S., Tyagi, R.D. and Surampalli, R.Y., 2014. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications. Journal of environmental management, 144, pp.1-25. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.05.010
24. https://doi.org/10.1002/1522-2624(200008)163:4<393::AID-JPLN393>3.3.CO;2-N
25. Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M.A. and Khan, N. 2018. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. Journal of basic microbiology.58 (12): 1009-1022. https://doi.org/10.1002/jobm.201800309
26. Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS microbiology Letters, 170(1), pp.265-270. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00555-2
27. O'sullivan, D.J. and O'Gara, F., 1992. Traits of *fluorescent Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiological reviews, 56(4), pp.662-https://doi.org/10.1128/MMBR.56.4.662-676.1992
28. Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and environmental microbiology, 68(8), pp.3795-3801. https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002
29. Pikovskaya, R., 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362-370. Plant Soil, 287, pp.77-84.
30. Radwanski, E.R. and Last, R.L. 1995. Tryptophan biosynthesis and metabolism: biochemical and molecular genetics. The Plant Cell, 7(7), p.921. https://doi.org/10.2307/3870047
31. Rafi, M.M., Krishnaveni, M.S., and Charyulu, P. 2019. Phosphate-solubilizing microorganisms and their

emerging role in sustainable agriculture. In V. Buddolla Ed., Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry pp. 223-233. [https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816328-3.00017-9

32. Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S. and Latif, F., 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pak J Biol Sci, 7(2), pp.187-196. https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.187.196
33. Sandhya, V.Z.A.S., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. Biology and fertility of soils. 46(1):17-26. https://doi.org/10.1007/s00374-009-0401-z
34. Sarwar, M. and Frankenberger, W.T., 1994. Influence of L-tryptophan and auxins applied to the rhizosphere on the vegetative growth of Zea mays L. Plant and Soil, 160, pp.97-104. https://doi.org/10.1007/BF00150350
35. Sarwar, M., 1993. Microbial production of auxins in soil and their influence on plant growth. University of California, Riverside.
36. Sarwar, M., Arshad, M., Martens, D.A. and Frankenberger, W.T., 1992. Tryptophan-dependent biosynthesis of auxins in soil. Plant and Soil, 147, pp.207-215. https://doi.org/10.1007/BF00029072
37. Scavino, A.F. and Pedraza, R.O., 2013. The role of siderophores in plant growth-promoting bacteria. In Bacteria in agrobiology: crop productivity (pp. 265-285). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37241-4_11
38. Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H. and Gobi, T.A., 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus, 2, pp.1-14. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587
39. Silva, L.I.D., Pereira, M.C., Carvalho, A.M.X.D., Buttrós, V.H., Pasqual, M. and Dória, J., 2023. Phosphorus-solubilizing microorganisms: a key to sustainable agriculture. Agriculture, 13(2), p.462. https://doi.org/10.3390/agriculture13020462
40. Sindhu, S.S., Parmar, P., Phour, M. and Sehrawat, A., 2016. Potassium-solubilizing microorganisms (KSMs) and its effect on plant growth improvement. Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture, pp.171-185. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_13
41. Skvortsov, I.M. and Ignatov, V.V. 1998. Extracellular polysaccharides and polysaccharide-containing biopolymers from Azospirillum species: properties and the possible role in interaction with plant roots. FEMS microbiology letters, 165(2): 223-229. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13150.x
42. Staswick, P.E., 2009. The tryptophan conjugates of jasmonic and indole-3-acetic acids are endogenous auxin inhibitors. Plant physiology, 150(3), pp.1310-1321. https://doi.org/10.1104/pp.109.138529
43. Sundara, B., Natarajan, V. and Hari, K., 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field crops research, 77(1), pp.43-49. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00048-5
44. Torres-Rubio, M.G., Valencia-Plata, S.A., Bernal-Castillo, J. and Martínez-Nieto, P., 2000. Isolation of Enterobacteria, Azotobacter sp. and *Pseudomonas sp.*, producers of indole-3-acetic acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiología, 42(4), pp.171-176.
45. Yousuf, S., Naqash, N. and Singh, R., 2022. Nutrient Cycling: An Approach for Environmental Sustainability. Environmental Microbiology:

Advanced Research and Multidisciplinary Applications; Bentham Science Publisher: Sharjah, United Arab Emirates, p.77. https://doi.org/10.2174/9781681089584122010007

46. Zhao, Y., 2012. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. Molecular plant, 5(2), pp.334-338. https://doi.org/10.1093/mp/ssr104

261-277/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

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

Research article

Screening and identification of the most effective rhizobial isolate (*Mezorhizobiumciceri*)and investigating its interaction with arbuscular mycorrhizal fungus in the yield and quality of chickpea seeds of Anna

Mehrzad Ansari[1], Mohammad Jafar Malakouti[2]*, Farhad Rejali[3], Ali Mokhtassi Bidgoli[4] and Saber Golkari[5]

[1] PHD student of Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; M_ansari@modares.ac.ir
[2] Professor of Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; Mjmalakouti@modares.ac.ir
[3] Professor of Soil Biology and Biotechnology Department, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; Frejali@yahoo.com
[4] Associate Professor of Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; Mokhtassi@modares.ac.ir
[5] Associate Professor of Genomics Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran; Sgolkari@yahoo.com

Article Info

Received:
October5,2024
Accepted:
April 12, 2025

Keywords:
Chickpea seed quality, Chickpea yield, Cicer arietinum L., Nitrogen fixing rhizobium, Rhizophagusintraradices

Corresponding author's email:ansari_mehrzad@yahoo.com

DOI:10.22092/SBJ.2025.367013.270

Extended Abstract

Background and objective: Legumes are one of the most important vegetable sources rich in protein and the second most important human food source after cereals. 64% of the cultivated area of legumes in Iran is related to the cultivation of chickpeas, which ranks third among the crops in terms of cultivated area, after wheat and barley. Chickpeas are often cultivated in dry conditions and the yield of this crop in Iran is very low compared to the global average yield of chickpea producing countries. Waterdeficit is one of the important factors that reduce the yield of this plant.The present study has identified the most effective nitrogen-fixing rhizobium bacterium for chickpea of Anna variety and investigated its interaction with arbuscular mycorrhizal fungus (Rhizophagusintraradices) in the yield and quality of chickpea seeds.

Material and Methods: This project was done in three stages: In the first stage, 53 rhizobium isolates available in the microbial collection of the Soil and Water Research Institute of Iran were cultured. The second phase of the project was a greenhouse, which was carried out in two phases: the purpose of the first phase of this stage was to determine the most effective rhizobium bacteria symbiotic with the pea plant (Anna cultivar). For this purpose, rhizobium isolates were inoculated into chickpea plants and subjected to the plant contamination test. After about a month, the presence or absence of nodules on the roots of chickpea seedlings was checked. The isolates that were able to form nodules on the chickpea root system were transferred to the next phase. In the second phase of the second stage, during another greenhouse test and in comparison with specific levels of nitrogen, the molecular stabilization ability of the selected isolates using leonard jar containers and then measuring the amount of nitrogen by the

Keldahl method as well as measuring the acetylene reduction process. Among the tested, the isolates which had the best result, was transferred to the next phase. The third (final) stage of the research was carried out in the fields of Sararood rain research station in the cropping season of 1400-1401. Chickpea cultivation in this area is done in a rainfed manner. In this factorial experiment, in the form of randomized complete block design, The first factor, fungal treatment in two levels of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus and without arbuscular mycorrhizal fungus. The second factor, bacterial treatment at two levels of inoculation with C-110 bacteria and without bacteria. The third factor was the levels of chemical fertilizers in two levels without fertilizer and optimal fertilizer consumption (50 kg/ha of urea before planting, 50 kg/ha of urea and 25 kg/ha of potassium sulfate containing zinc chelate in the form of side-dressing fertilizer in the spring season).The seed inoculation method was used to use mycorrhizal fungi and rhizobium bacteria. After the growth period, grain yield, biomas, number of side branches per plant and quality of chickpea seeds were measured.

Results: Among the 53 isolates of rhizobium, 42 isolates were able to form nodules on the chickpea root system, and after testing the second phase of the second stage, isolate C-110 had the best result and was transferred to the next phase. The results of the third stage showed that the application of mycorrhizal bacteria, rhizobium C-110 and fertilizer, increased grain yield, biomas, number of side branches per plant and grain quality (nitrogen, phosphorus and zinc) in Sararood research stations.

Conclusion: The general results of this research indicated that although the waterdeficit in rainy conditions caused a decrease in the examined traits, the use of microorganisms (arbuscular mycorrhizal fungus and rhizobium C-110 bacteria) could reduce the negative effect of Waterdeficit and In the regions of the country where legumes are grown and there is water stress, the use of these two microorganisms can reduce the negative effects of water stress, and since climate change and some agricultural management practices, such as tillage and excessive use of chemical fertilizers, in have played a role in the destruction of soil fertility, these microorganisms can be used for ecosystem health and increasing productivity in agriculture. It is obvious that the symbiosis of mycorrhizal fungi and rhizobium bacteria in each stress and each plant should be investigated separately in order to be able to identify the appropriate species for those conditions so that plants can be helped by the correct use of this triple symbiosis. In other words, the condition for effective symbiosis is the existence of a completely efficient and specific bacterial isolate for the host plant And it should be provided in sufficient quantity from the initial stages of growth. But in general, it can be said that the symbiosis between mycorrhizal fungi and rhizobium bacteria in legumes improves plant growth and makes plants more tolerant of living and non-living stresses. The efficiency potential of these materials will be revealed when all agricultural operations are carried out at the right time and place with the help of appropriate tools.

Cite this article: Ansari, M., Malakouti, M.J., Rejali,F., MokhtasiBidgoli,A., Golkari,S.,2025. Screening and identification of the most effective rhizobial isolate (Mezorhizobiumciceri)and investigating its interaction with arbuscular mycorrhizal fungus in the yield and quality of chickpea seeds of Anna. Soil Biology, 12 (2),261-277

DOI:10.22092/SBJ.2025.367013.270
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست شناسی خاک

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

مقاله پژوهشی

غربالگری و شناسایی مؤثرترین جدایه‌ی ریزوبیومی (*Mezorhizobiumciceri*) و بررسی برهمکنش آن با قارچ میکوریز آربسکولار در عملکرد و کیفیت بذر نخود رقم آنا

مهرزاد انصاری[۱]، محمدجعفر ملکوتی*[۲]، فرهاد رجالی[۳]، علی مختصی بیدگلی[۴]، صابر گلکاری[۵]

[۱] دانشجوی دکتری گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ M_ansari@modares.ac.ir

[۲] استاد گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ Mjmalakouti@modares.ac.ir

[۳] استاد بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛ Frejali@yahoo.com

[۴] دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ Mokhtassi@modares.ac.ir

[۵] دانشیار بخش ژنومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران؛ Sgolkari@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۷/۱۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۱/۲۳

چکیده

نخود، از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین است و غالباً در شرایط دیم کشت می‌شود. ریزوبیوم‌ها و قارچ‌های میکوریز، از همزیست‌های مهم گیاه هستند و می‌توانند باعث افزایش محصول در گیاهان شوند. مطالعه‌ی حاضر، مؤثرترین باکتری ریزوبیوم تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن برای نخود (*Mezorhizobiumciceri*)رقم آنا را شناسایی کرده و اثر متقابل آن با قارچ میکوریز آربسکولار (*Rhizophagusintraradices*) در عملکرد و کیفیت بذر نخود را مورد بررسی قرارداده‌است. این تحقیق در سه مرحله انجام شد: در مرحله‌ی اول، ۵۳ جدایه‌ی ریزوبیوم کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کشت داده‌شدند. مرحله‌ی دوم تحقیق، گلخانه‌ای بود که در دو فاز انجام شد: در فاز اول، گیاه نخود (رقم آنا)، تحت آزمون آلوده‌سازی با باکتری‌های ریزوبیوم قرارگرفت که ۴۲ ایزوله ایجاد گرهک کردند. در فاز دوم، بااستفاده از جار لئونارد، توانایی تثبیت مولکولی ایزوله‌هایی که در فاز اول ایجاد گرهک کرده‌بودند، سنجیده‌شده و بهترین ایزوله (ایزوله‌ی C-110) انتخاب شد. مرحله‌ی سوم تحقیق، در مزارع ایستگاه تحقیقات دیم سرارود در فصل زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ به‌صورت دیم اجرا شد. در این آزمایش فاکتوریل، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، فاکتور اول، تیمار قارچی در دو سطح تلقیح با قارچ و فاقد قارچ، فاکتور دوم، تیمار باکتریایی در دو سطح تلقیح با باکتری(C-110) و فاقد باکتری و فاکتور سوم، سطوح کود شیمیایی در دو سطح فاقد کود و مصرف بهینه‌ی کود بود. پس از برداشت، نتایج نشان داد استفاده از ریزجانداران مانند قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم (جدایه‌ی کاملاً کارآمد و اختصاصی برای هر رقم)و توصیه‌ی بهینه‌ی کودی در شرایط دیم می‌تواند باعث افزایش بیومس، عملکرد، تعداد شاخه‌های فرعی در بوته و کیفیت دانه (غلظت نیتروژن، فسفر و روی دانه) شود و از استفاده‌ی بیش از حد از کودهای شیمیایی که باعث تخریب حاصلخیزی خاک می‌شوند، جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: ریزوبیوم‌های تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن، کیفیت بذر نخود، عملکرد دانه‌ی نخود، *Cicer arietinum* L.، *Rhizophagusintraradices*.

استناد: انصاری،م.، ملکوتی،م.ج.، رجالی،ف.، مختصی بیگدلی،ع.، گلکاری،ص.،۱۴۰۴. غربالگری و شناسایی مؤثرترین جدایه‌ی ریزوبیومی (*Mezorhizobiumciceri*)و بررسی برهمکنش آن با قارچ میکوریز آربسکولار در عملکرد و کیفیت بذر نخود رقم آنا. نشریه زیست شناسی خاک(۲)۱۲، ۲۷۷-۲۶۱

مقدمه

حبوبات از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین و دومین منبع مهم غذایی انسان بعد از غلات به‌شمار می‌رود. ۶۴ درصد از سطح زیرکشت حبوبات در ایران، به کشت نخود اختصاص داده‌شده‌است که در بین محصولات، از نظر سطح زیر کشت، بعد از گندم و جو، رتبه‌ی سوم را دارا می‌باشد. نخود غالباً در شرایط دیم کشت شده و عملکرد این محصول در ایران نسبت به میانگین عملکرد جهانی کشورهای تولیدکننده‌ی آن، بسیار پایین است. تنش کم‌آبی، یکی از عوامل مهم کاهش‌دهنده‌ی محصول در این گیاه است (Sabbaghpour et al., 2006).

طی چند دهه‌ی اخیر، استفاده از واریته‌های پر محصول سبب افزایش سطح تولیدات کشاورزی شدهو به موازات آن، مصرف کودهای شیمیایی علاوه بر مشکلات اقتصادی، افزایش خطر آلودگی خاک و آب را به همراه داشته‌است. به‌هم خوردن تعادل جامعه‌یزیستی خاک از دیگر اثرات منفی کودهای شیمیایی است که خسارت زیادی به اکوسیستم های کشاورزی واردمی‌سازد. یکی از راه‌های مقابله با این مشکلات، به‌کارگیری هرچه بیشتر از نهاده‌های درون مزرعه‌ای سازگار با محیط زیست از جمله استفاده از نهاده‌های مفید زیستی، به‌ویژه انواع حاوی ریزجانداران همزیست با گیاهان است.

ریزوبیوم‌ها و قارچ‌های میکوریزی نوع آربسکولار، دو همزیست مهم گیاه هستند. ریزوبیوم‌ها، مشهورترین باکتری تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن مولکولی موجود در اتمسفر هستند که آن را به شکل قابل جذب در اختیار گیاه میزبان قرارمی‌دهند. این باکتری‌ها، آندوفیت طبیعی لگوم‌ها و جزوگروهی از باکتری‌ها با نام ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) می‌باشند (Soumare et al., 2015). در سرتاسر جهان در حدود ۱۷۰۰۰ تا ۱۹۰۰۰ گونه لگوم وجوددارد. این درحالی است که تنها تعداد کمی از باکتری‌های همزیست این گیاهان شناسایی شده‌اند. در اغلب موارد رابطه‌ی همزیستی بین باکتری‌های خانواده‌ی *ریزوبیاسه* و لگوم‌ها به صورت اختصاصی است. بدین معنا که گونه‌های باکتریایی تنها با میزبان اختصاصی خود رابطه برقرار می‌کنند و باعث تثبیت نیتروژن مولکولی می‌شوند (Soumare et al., 2015).

قارچ‌های میکوریزی جزو ریزجانداران فراگیر خاک هستند که با بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی رابطه‌ی همزیستی برقرارمی‌کنند (Soumare et al., 2015; Rejali, 2018). اهمیت قارچ‌های میکوریز در اکثر اکوسیستم‌ها به واسطه‌ی فوایدی نظیر افزایش سطح جذب ریشه، افزایش رشد، مقاومت به بیماری‌های خاکزاد، حفظ خاکدانه‌ها، افزایش تاب‌آوری اکوسیستم‌ها دربرابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی و نیز بهبود چرخه‌ی میکروبی و عناصر معدنی در خاک است (Allosh et al., 2000; Larimer et al., 2014; Volpiano et al., 2018). افزایش کارایی مصرف آب و افزایش جذب عناصر غذایی در دو واریته‌ی مقاوم و حساس به تنش کم‌آبی درگندم مورد بررسی قرارگرفت و نتایج نشان داد که قسمت عمده‌ی کاهش وزن ایجاد شده‌ی ناشی از تنش رطوبتی، از طریق برقراری همزیستی میکوریزی قابل جبران می‌باشد(Pellegrino et al., 2015).هیو همکاران (He et al., 2019) بیان کردند که استفاده از قارچ میکوریزی نوع آربسکولار می‌تواند تحمل گیاه به خشکی را به دلیل افزایش کلونیزاسیون ریشه، افزایش یا کاهش بیان ژن‌هایی که بر نفوذپذیری غشا أثر دارند، افزایش پتانسیل آب برگ و افزایش میزان آبسزیک اسید در گیاه افزایش دهد.

بهره‌گیری از رابطه‌ی همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نیز یکی از راهکارهای افزایش عملکرد گیاه به‌خصوص در شرایط کمبود آب می‌باشد. اسمیت (Smith, 2002) بیان کرد برقراری رابطه‌ی همزیستی در گیاهان لگوم با ریزوبیوم‌ها در صورت حضور قارچ‌های میکوریزی، به‌دلیل تأمین بهتر فسفر و سایر عناصر معدنی مورد نیاز گیاه، به نحو مطلوب‌تر و با کارایی بهتری به گیاه میزبان کمک می‌نماید. ایجاد رابطه‌ی همزیستی در ریشه‌های گیاهان لگوم توسط قارچ‌های میکوریزی، شرایط را برای گره‌زایی باکتری‌های

ریزوبیوم مساعد می‌کند، در نتیجه، تعداد گره‌ها در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بیشتر است(Benami et al., 2020). بنابراین برقراری یک رابطه‌ی همزیستی سه‌جانبه بین قارچ‌های میکوریزی، ریزوبیوم و گیاه، شرایط مساعدتری را برای افزایش رشد و عملکرد گیاهان لگوم به‌وجود می‌آورد (Denison & Kiers, 2011). رابطه‌یهم‌افزاییدر همزیستی نخود، ریزوبیوم و قارچ در شرایط تنش کمبود آب، سبب افزایش گره‌زایی، تثبیت نیتروژن و محصول‌دهی می‌شود (Yadav, 2020). البته واکنش گیاه میزبان به گونه‌های مختلف قارچ و ایزوله‌های باکتری موجود در یک گونه متغیر است(Yadav et al., 2007). توسلی و همکاران (Tavassoli et al., 2017) نشان دادند این همزیستی سه‌گانه باعث افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر، روی، آهن و مس در گیاه شد. همچنین مرادی و همکاران (Moradi et al., 2018) بیان کردند که کاربرد باکتری‌های ریزوبیوم و قارچ‌های میکوریز در گیاه نخود، اثر معنی‌داری بر غلظت عناصر پتاسیم، نیتروژن و فسفر ریشه و اندام هوایی داشت.

فرضیه‌ی مطالعه‌ی حاضر این است که همزیستی بین باکتری‌های ریزوبیوم (جدایه‌ی کاملاً کارآمد و اختصاصی برای هر رقم) و قارچ‌های میکوریزی، باعث جذب بیشتر عناصر غذایی از خاک و به طبع آن، افزایش عملکرد و کیفیت نخود در شرایط دیم می‌شود.

هدف از انجام این پژوهش، کاربرد نهاده‌های زیستی سازگار با محیط زیست به‌صورت یک روش تغذیه‌ی تلفیقی حاوی کودهای شیمیایی مرسوم در منطقه و استفاده از نهاده‌های زیستی در کشت نخود در شرایط مزرعه‌ای به‌منظور افزایش رشد و عملکرد گیاه و نیل به امنیت غذایی در کشور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سه مرحله انجام شد:

مرحله‌ی اول آزمایشگاهی بوده و به‌منظور تهیه‌ی مایه تلقیح ریزوبیومی انجام شد.

مرحله‌ی دوم تحقیق، گلخانه‌ای بوده که در دو فاز انجام شد:

فاز اول، بررسی توان گره‌زایی باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با گیاه نخود (رقم آنا)

فاز دوم، اندازه‌گیری توان ایزوله‌ها در تثبیت نیتروژن مولکولی

مرحله‌ی سوم، بررسی اثر متقابل باکتری‌های ریزوبیوم و قارچ میکوریز آربسکولار و توصیه‌ی بهینه‌ی کودی در مزارع ایستگاه تحقیقات دیم سرارود

مرحله‌ی اول تحقیق، تهیه‌ی مایه تلقیح ریزوبیومی در مقیاس آزمایشگاهی (تکثیر باکتری در محیط مایع)

در این تحقیق، از ۵۳ ریزوبیوم موجود در کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور استفاده شد. به‌منظور اطمینان از خالص بودن جدایه‌های ریزوبیوم درون اسلنت، این جدایه‌ها برروی محیط کشت YMA(Yeast Mannitol Agar) کشت داده شدند و پس از اطمینان از خلوص آن‌ها، برای تهیه‌ی مایه تلقیح ریزوبیومی، از محیط کشت YMB (Yeast Extract Mannitol Broth) استفاده شد.

مرحله‌ی دوم تحقیق، فاز گلخانه‌ای

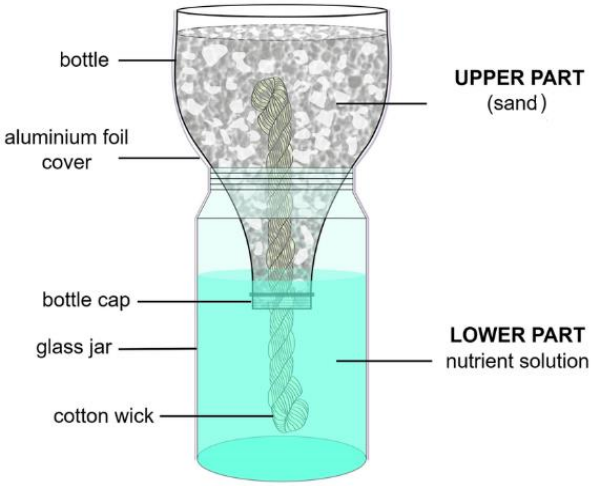
فاز اول، بررسی توان گره‌زایی باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با گیاه نخود (رقم آنا)

اگر چه جدایه‌های ریزوبیوم مورد مطالعه، قبلاً از نظر توان گره‌زایی آزمایش شده‌بودند، ولی در اکثر مواقع پس از ۵ سال نگهداری ایزوله‌ها در اسلنت، لازم است ایزوله‌ها از نظر توان گره‌زایی آزمایش شوند. در این مرحله، نیاز به بذرهای سالم و بدون آلودگی داریم، به‌همین منظور، بذرهای سالم که از رقم آنا انتخاب شد، برداشته شده، ابتدا با مقدار کمی مایع دستشویی و آب شستشو داده‌شدند. سپس برای حذف هرگونه آلودگی میکروبی، در داخل ارلن

تمیز و درپوش‌دار به مدت ۴۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد غوطه‌ور شدند. پس از خالی کردن الکل، به مدت ۶ دقیقه بذرها درون وایتکس ۳۰ درصد قرارگرفتند. پس از آن، بذرها ۱۰–۸ مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند تا آثار مواد ضدعفونی کننده کاملاً ازبین برود. سپس بذرها روی پلیت‌های حاوی یک درصد آب–آگار (Water-Agar) چیده‌شد و به انکوباتور منتقل شدند تا جوانه زده و آماده‌ی استفاده شوند. برای آزمون تلقیح گیاه و مرحله‌ی ایجاد همزیستی، از گلدان‌های حاوی ماسه و پرلیت استریل استفاده شد، بدین صورت که در هر گلدان سه بذر جوانه زده قرار داده و هر گیاهچه با یک میلی‌لیتر مایه تلقیح ریزوبیومی ($۳ * ۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) تلقیح شد. در طول دوره‌ی رشد، هفته‌ای سه‌بار گلدان‌ها آبیاری شدند به نحوی که آب از انتهای گلدان‌ها خارج نشود. پس از گذشت حدود یک ماه، وجود و یا عدم وجود گرهک‌ها بر روی ریشه‌ی گیاهچه‌ی نخود بررسی شد (Ferreira & Marques, 1992; Fujishige et al., 2006). ایزوله‌هایی که قادر به ایجاد گرهک روی سیستم ریشه‌ای نخود بودند، به مرحله‌ی بعد منتقل شدند.

فاز دوم، اندازه‌گیری توان ایزوله‌ها در تثبیت نیتروژن مولکولی

در این فاز آزمایشی، از جار لئونارد استفاده‌شد (Trung& Yoshida, 1983). گیاهان درون جارلئونارد به‌صورت طرح کاملاً تصادفی شامل ایزوله‌هایی که از تست قبلی به این مرحله انتقال داده‌شده‌اند، کشت شدند. قسمت بالای جار با شن و منبع زیرین جار از محلول غذایی بدون نیتروژن Broughton and Dilworth (1971)، که برای لگوم‌های درشت معرفی شده، پرشد. محل اتصال دو قطعه با کمک چسب نواری چسبانده شد و پس از پوشاندن سطح آن با ورق آلومنیومی، در اتوکلاو استریل گردید. شکل ۱ نمایی کلی از جارلئونارد را نشان می‌دهد. پس از سرد شدن، در هر جار سه نشای نخود که قبلاً در شرایط استریل جوانه‌دار شده‌بودند، کاشته شد و به هریک از آن‌ها یک میلی‌لیتر مایه تلقیح آماده‌شده از هر جدایه ($۳ * ۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر)، در سه تکرار اضافه گردید. در این آزمون از شاهد منفی جارهای تلقیح نشده و بدون منبع نیتروژن و دو سطح ۳۵و ۷۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن (از منبع نیترات آمونیوم) در سه تکرار استفاده شد (N-35 و N-70). در تمام موارد، گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با دوره‌ی روشنایی ۱۶ ساعت و با شدت نور ۱۰۰۰۰ – ۸۰۰۰ لوکس (Lux) و در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرارداشتند. در طول مدت رشد در گلخانه، تمامی مراقبت‌های لازم اعمال گردید و در صورت اتمام محلول غذایی، به آن‌ها محلول غذایی با غلظت اولیه افزوده‌شد. پس از حدود یک ماه مراقبت، با شروع غلاف‌بندی، آزمایش خاتمه یافت، گیاهان برداشت شد، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین میزان نیتروژن موجود در اندام هوایی گیاه‌های نخود در مقایسه با تیمار شاهد و سطوح نیتروژن بررسی شد و کارایی همزیستی با توجه به وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه و مقدار نیتروژن محاسبه گردید.در این مرحله، گرهک‌ها نیز از ریشه‌ها جدا شده، با استفاده از دستگاه GC(Gas Chromatography) با روش احیای استیلن به اتیلن، مقدار اتیلن تولیدشده را اندازه‌گیری کرده، بیشترین پتانسیل احیای استیلن به اتیلن و قدرت تثبیت نیتروژن در جدایه‌ها بررسی شد و بهترین ایزوله انتخاب گردید. این ایزوله در مرحله‌ی سوم آزمایش مورداستفاده قرارگرفت.



شکل ۱- نمایی کلی از جارلئونارد

اندازه‌گیری مقدار اتیلن تولید شده با استفاده از دستگاه GC

همزمان با قطع هر گیاه، غده‌های آن نیز از ریشه جدا و در داخل ظروف کوچکی ریخته‌شدند. پس از آن ده درصد از حجم هوای ظرف مذکور را با استفاده از سرنگ کشیده و به جای آن گاز استیلن ۹۹ درصد تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت، مقدار اتیلن تجمع یافته در ظرف را با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Perkin elemen sigma 300 با ستون Poropaktبه طول ۱/۸ متر و قطر ۳/۲ میلی‌متر با درجه حرارت ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و دتکتور l.F.D با درجه حرارت ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، گاز حامل ازت با سرعت ۲۵ میلی‌لیتر در دقیقه، حساسیت یک با دامنه‌ی 10x، جریان هیدروژن ۱۵۰ کیلوپاسکال و جریان هوای ۲۰۰ کیلوپاسکال، اندازه گرفته و آن‌گاه بااستفاده از ارتفاع پیک‌های اتیلن تولیدشده در لوله‌ی آزمایش، محاسبات لازم را انجام داده و درنهایت نانومول اتیلن تولیدشده به ازای هر جار محاسبه گردید (Muangthong et al., 2015).

مرحله‌ی سوم تحقیق، بررسی اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریز آربسکولار *(Rhizophagusintraradices)* و توصیه‌ی بهینه‌ی کودی در مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقات دیم سرارود

مرحله‌ی سوم (نهایی) تحقیق، در مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقات دیم سرارود در فصل زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ اجرا شد. این ایستگاه تحقیقاتی در شهرستان سرارود استان کرمانشاه قراردارد. دارای طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۲۰ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۰ دقیقه بوده، میانگین سالانه‌ی دما ۱۳/۸، حداکثر مطلق دما ۴۴+ و حداقل مطلق دما ۲۷- درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد. همچنین شرایط دیم‌زارهای آن، معتدل و تاحدی معتدل سرد و میانگین بارندگی آن ۴۷۸ میلی‌متر است. غالباً کشت نخود در این منطقه به صورت دیم انجام‌می‌شود. نتایج تجزیه خاک این منطقه که غلظت عناصر براساس روش‌های استاندارد آزمایشگاهی اندازه‌گیری شدند (Ali Ahiaei, 1997)، در جدول ۱ ارائه شده‌است. برای استفاده از قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم از روش تلقیح بذری استفاده‌شد. برای تلقیح میکوریز، ابتدا ریشه‌ی تلقیح شده‌ی گیاه را پودر کرده، سپس با ماده‌ی حامل (ماده‌ی معدنی پوکه‌ی آسیاب شده و استریل) به نسبتی که به ازای هر گرم، ۳۰۰ اندام

فعال قارچ را تأمین نماید، مخلوط و به بذر تلقیح می‌گردد. برای تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم نیز، مایه تلقیح با نسبتی مشخص با پرلیت استریل شده و مایع چسباننده با بذر مخلوط و سپس کشت شد. در این آزمایش فاکتوریل که در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام‌شد، فاکتور اول، تیمار قارچی در دو سطح تلقیح با قارچ میکوریز و فاقد قارچ میکوریز، فاکتور دوم، تیمار باکتریایی در دو سطح تلقیح با باکتری ریزوبیوم و فاقد باکتری ریزوبیوم و فاکتور سوم، سطوح کود شیمیایی در دو سطح فاقد کود و مصرف بهینه‌ی کود با توجه به نظر کارشناسان و نتایج تجزیه خاک منطقه (۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره قبل از کاشت، ۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره و ۲۵ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم محتوی کلات روی به صورت سرک در فصل بهار) بود. در کل ۸ تیمار درنظر گرفته شد، با احتساب ۴ تکرار برای هر تیمار، درکل ۳۲ کرت آزمایشی آماده شد. پس از کاشت بذور به صورت دستی، در طول دوره‌ی رشد، عملیات وجین انجام شد، در اردیبهشت ماه نیز کوددهی سرک در کرت‌های دارای تیمار کودی اعمال گردید. پس از اتمام دوره‌ی رشد و برداشت در خرداد ماه، بیومس (وزن دانه به‌همراه کاه و کلش)، تعداد شاخه‌های فرعی در بوته، عملکرد هر کرت و کیفیت بذر نخود (غلظت نیتروژن، فسفر و روی در دانه بر اساس روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (Emami, 1996)، اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک

pH	Ec(دسی‌زیمنس بر متر)	OC (درصد)	Zn (میلی‌گرم در کیلوگرم)	Fe (میلی‌گرم در کیلوگرم)	Mn(میلی‌گرم در کیلوگرم)	Cu (میلی‌گرم در کیلوگرم)	B (میلی‌گرم در کیلوگرم)	Ca (میلی‌گرم در کیلوگرم)	Mg (میلی‌گرم در کیلوگرم)	K (میلی‌گرم در کیلوگرم)	P (میلی‌گرم در کیلوگرم)	Total N (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۷/۷۸	۰/۶۱	۱/۱۸	۱/۱۲۵	۹/۴	۱۲/۱	۳/۴	۱/۴	۲۵۰/۴	۴۷۰/۹	۲۸۴/۱۳	۹/۰۱	۰/۰۸

تجزیه و تحلیل آماری

اثرات اصلی فاکتورهای آزمایش و برهمکنشآن‌ها از طریقANOVA با استفاده از روش مدل خطی عمومی (GLM) در نرم افزار SAS نسخه‌ی ۹,۴ ارزیابی شد. نرمال بودن باقیمانده‌ها با استفاده ازPROC UNIVARIATE مورد آزمایش قرار گرفت. میانگین‌ها با استفاده از حداقل تفاوت معنی‌دار حفاظت‌شده (LSD محافظت‌شده) در P≤۰/۰۵مقایسه شدند. در فاز دوم آزمایش، به منظور تعیین بهترین ایزوله، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از نرم‌افزار XLSTST انجام شد.

نتایج و بحث

مرحله‌ی اول تحقیق، تهیه‌ی مایه تلقیح ریزوبیومی

مایه تلقیح ۵۳ جدایه‌ی ریزوبیومی موجود در مؤسسه تحقیقات خاک و آب، به‌منظور استفاده در مراحل بعد فراهم گردید.

مرحله‌ی دوم تحقیق، فاز گلخانه‌ای

فاز اول، بررسی توان گره‌زایی باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با گیاه نخود (رقم آنا)

در این آزمایش گلخانه‌ای، پس از گذشت حدود یک ماه، گیاهان برداشت، و وجود و یا عدم وجود گرهک‌ها بر روی ریشه‌ی گیاهچه بررسی شد. ایزوله‌هایی که قادر به ایجاد گرهک برروی سیستم ریشه‌ای نخود بودند (۴۲ ایزوله)، به مرحله‌ی بعد منتقل شدند.

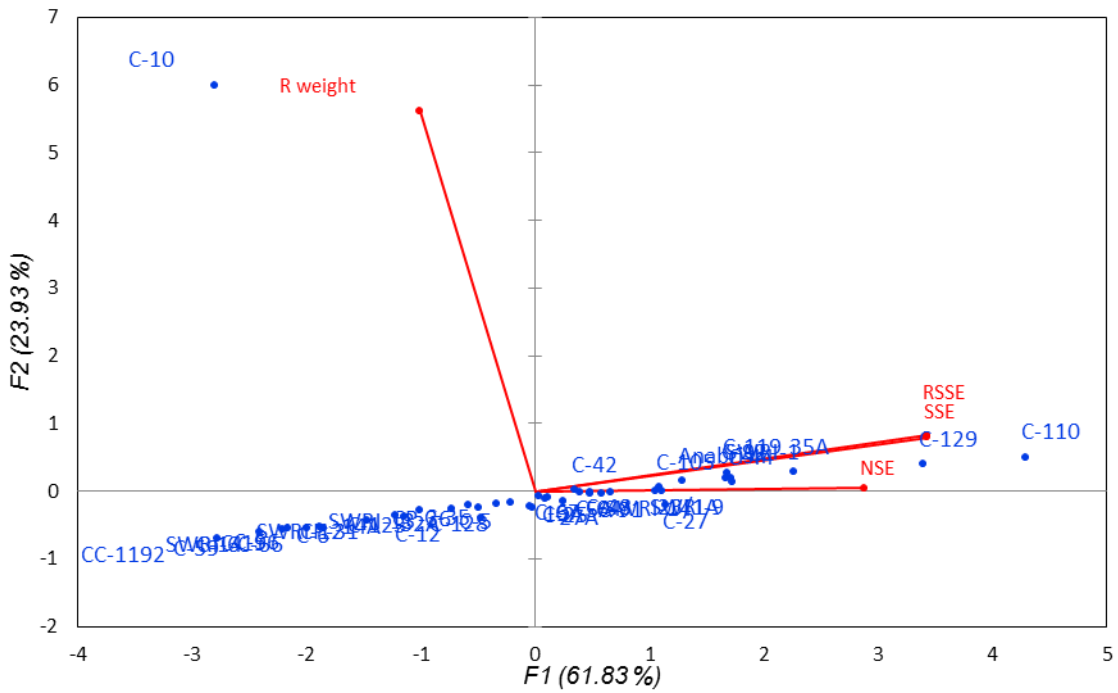
فاز دوم، توان ایزوله‌ها در تثبیت نیتروژن مولکولی

پس از یک ماه مراقبت، گیاهان برداشت شد، وزن تر و خشک اندام هوایی و همچنین میزان نیتروژن به روش کلدال برای محاسبه‌ی میزان کارایی همزیستی اندازه‌گیری شد. بیشترین درصد کارایی همزیستی برحسب وزن ساقه (۱۱۸/۱۰۶٪)، بیشترین درصد کارایی همزیستی برحسب وزن ریشه و ساقه (۱۱۷/۹۷٪) و بیشترین درصد کارایی همزیستی برحسب مقدار نیتروژن (۱۱۴/۵۸٪)، هر سه برای باکتری C-110 محاسبه‌شد. بیشترین میزان احیای استیلن

به اتیلن نیز در جدایه‌ی C-110 و به میزان ۴۳۰/۷۸ نانومول اتیلن در لوله بر ساعت مشاهده‌شد (جدول ۲). با توجه به این نتایج و همچنین بالاتر بودن وزن ریزوبیوم‌های تیمار C-110 نسبت به تیمارهای دیگر، باکتری C-110به عنوان بهترین ایزوله انتخاب شد. (شکل ۲)

جدول ۲- نتایج حاصل از فاز دوم مرحله‌ی دوم تحقیق

نام باکتری	مقدار احیای استیلن به اتیلن (نانومول اتیلن در لوله بر ساعت)	SE (برحسب مقدار نیتروژن)	SE (برحسب وزن ساقه)	SE (برحسب وزن ریشه و ساقه)
C-92	۲۴۸/۱۸	۴۳/۴۸	۸۰/۹۶	۸۳/۰۲
C-91	۲۳۳/۳۶	۳۹/۱۱	۵۴/۷۳	۴۸/۲۴
C-12	۲۷۶/۱۶	۶۲/۴۳	۶/۰۶	۴/۸۴
C-110	۴۳۰/۷۸	۱۱۴/۵۸	۱۱۸/۱۰۶	۱۱۷/۹۷
C-66	۱۸۹/۰۱	۲۶/۴۲	−۱۴/۹۱	−۱۳/۲۱
C-14	۱۱۲/۶۸	۸/۶۷	−۱۲/۷۵	−۱۵/۶۳
C-5	۲۴۹/۶	۴۶/۲۹	۲۹/۱۱	۲۷/۱۷
C-105	۲۴۸/۵۱	۴۶/۶۹	۳۳/۹۵	۹۵/۰۶
C-44	۲۹۱	۶۰/۶۵	۷۵/۹۲	۷۰/۳۱
C-10	۸۸/۴۵	۷/۹۸	۱/۹۵	۴/۶۸۲
C-59	۸۸/۹۶	۷/۹۲	−۱۹/۶۵	−۲۰/۲۳
C-42	۱۳۸/۸۱	۱۴/۳	۵۵/۰۴	۶۵/۶۳
C-6	۱۶۶/۶۸	۱۸/۱۵	−۱۳/۱۶۸	۱۹/۶۴
C-64	۱۷۹/۰۱	۲۵/۴۴	۵۱/۴۴	۵۷/۶۹
C-25	۲۰۸/۵۶	۲۸/۷۷	۴۳/۳۱	۴۳/۰۶
C-128	۲۵۱/۸۵	۵۴/۵	۲۵/۸۲	۲۲/۰۷
C-56	۱۶۳/۷۵	۱۶/۷۷	−۱۰/۳۹	−۸/۱۱
C-119	۱۸۶/۲۸	۲۷/۵۷	۸۲/۷۱	۱۰۳/۰۹
C-48	۱۸۴/۹۶	۲۷/۱۱	۵۷/۵۱	۵۴/۱۸
C-19	۱۳۵/۲۸	۱۵/۱۶	−۱۲/۸۶	−۱۰/۷۸
C-129	۳۳۹/۹۶	۹۰/۹۲	۸۲/۵۱	۱۳۱/۳۵
C-27	۱۷۰/۱۸	۱۰۵/۶۵	۲۷/۶۷	۲۸/۴۲
C-123	۱۶۱/۰۱	۲۰/۹۶	۲۰/۹۸	۲۵/۲۵
C-67	۱۶۰	۱۸/۲۰۷	۴۹/۶۹	۴۵/۹
C-35	۱۷۹/۵۳	۲۵/۴۴	۳۲/۳	۴۰/۱۳
32A	۲۰۵/۲	۳۰/۰۹	۲۲/۸۳	۲۶/۵
35A	۲۵۳/۵۱	۵۶/۱۱	۹۳/۱	۹۱/۴۷
27A	۲۴۶/۷۸	۴۶/۳۵	۳۴/۳۶	۴۰/۳
14A	۱۲۱/۸۵	۹/۹۳	۲۸/۰۶	۱۳/۷۱
5A	۲۳۱/۶۸	۳۲/۹۶	۵۴/۵۶	۵۰/۱۶
19A	۱۹۲/۳۵	۲۶/۷۶	۳۶/۷۲	۵۴/۵۱
23/1A	۲۵۰/۰۶	۵۹/۲۱	۵۳/۴۹	۵۷/۵۲
CC-1192	۱۱۶/۷	۸/۶۷	−۲۹/۷۳	−۳۳/۶۱
CP-36	۱۷۷/۱۱	۲۱/۵۹	۲۷/۵۷	۴۲/۳۹
CP-31	۱۷۲/۵۳	۲۱/۷۱	۹/۷۷	۱۰/۱۱
Anabrish	۲۰۳/۵	۳۵/۷۸	۶۳/۸۸	۸۸/۲۹
SWRI-1	۲۳۶/۲	۴۵/۷۲	۸۰/۶۵	۸۳/۵۲
SWRI-6	۱۲۳/۷۸	۱۰/۴۵	−۱۲/۸۶	−۱۴/۹۶
SWRI-9	۲۵۲/۰۱	۵۶/۶۳	۴۹/۳۸	۶۱/۸۷
SWRI-12	۱۶۵/۲۸	۱۶/۱۴	۱۱/۲۱	۱۱/۱۲
SWRI-13	۱۳۴/۸۵	۱۵/۱۶	۳۲/۰۹	۲۹/۸۴
SWRI-14	۲۳۱/۹۵	۳۹/۲۳	۵۱/۸۵	۵۶/۵۲
N-35	−	۴۲/۲۷	۹۰/۹۴	۹۱/۸
N-70	−	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰



شکل ۲- بای پلات حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات مختلف نخود (R weight:وزن ریزوبیوم، NSE: کارایی همزیستی بر حسب مقدار نیتروژن، SSE: کارایی همزیستی بر حسب وزن خشک ساقه، RSSE: کارایی همزیستی بر حسب وزن خشک ریشه و ساقه) اندازه‌گیری شده تحت شرایط تلقیح ایزوله‌های مختلف باکتری

همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، اولین مؤلفه‌ی اصلی (F1)، بخش بزرگی از واریانس را توضیح می‌دهد (۶۱/۸۳ درصد). صفاتی که نزدیک به این محور هستند، آنهایی هستند که در بین ایزوله‌های باکتری، بیشترین تفاوت را دارند اما دومین مؤلفه‌ی اصلی (F2)، بخش کوچکتری از واریانس را توضیح می‌دهد (۲۳/۹۳ درصد).و درصدها در اینجا به‌طور قابل ملاحظه‌ای پایین‌تر هستند. در نمودار بای پلات، کسینوس زاویه‌ی بین بردارها بیانگر نوع همبستگی هست. هر چقدر زاویه کمتر از ۹۰ درجه باشد، همبستگی مثبت و هر چقدر از ۹۰ درجه بیشتر باشد، همبستگی منفی می‌باشد. همچنین اگر زاویه ۹۰ درجه باشد همبستگی صفر هست؛ ولی در نمودار بای پلات، طول بردارها و جهت آنها نشان می‌دهد که هر صفت چقدر با اجزای اصلی و با یکدیگر همبستگی دارند و نزدیکی نقاط به بردارهای صفت نشان دهنده‌ی میزان اثر است. به عبارت دیگر، نزدیکی این نقاط به یک صفت خاص، نشان دهنده‌ی ارتباط یا تأثیر بیشتر آن تیمار بر صفت مورد نظر است.کارایی‌های همزیستی بر حسب مقدار نیتروژن، وزن خشک ساقه و ریشه ارتباط نزدیکی با یکدیگر و همچنین همبستگی مثبت زیادی با F1 دارند به این معنی که با افزایش یکی، بقیه نیز تمایل به افزایش دارند و این نشان می‌دهد که افزایش این کارایی‌ها باعث افزایش زیست توده‌ی نخود می‌شوند. با توجه به شکل، از میان ایزوله‌های مورد آزمایش، ایزوله‌ی C-110 بالاترین ضریب مؤلفه‌ی اول را به خود اختصاص داد و نزدیک‌ترین ایزوله به کارایی‌های همزیستی بود. بنابراین این ایزوله شناسایی شده و به فاز بعد منتقل شد.

مرحله‌ی سوم پروژه، بررسی اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزآربسکولار (*Rhizophagusintraradices*) در مزرعه

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از فاکتورهای آزمایشی در جدول ۳ارائه شده‌است.

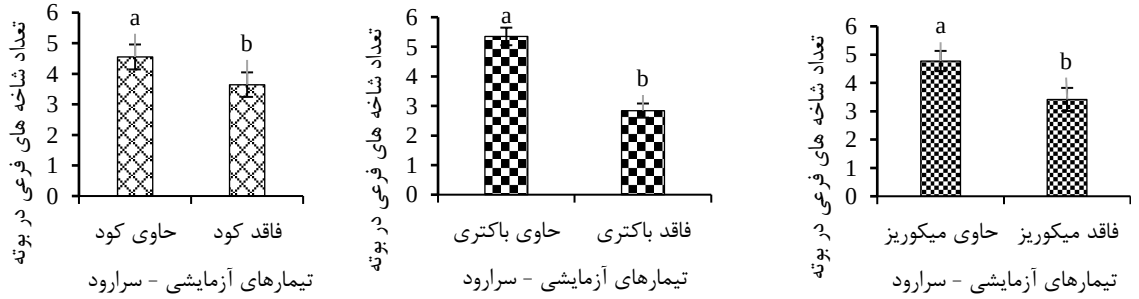
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر باکتری، قارچ میکوریز و کود شیمیایی بر تعداد شاخه‌های فرعی در بوته، بیومس، عملکرد دانه و غلظت عناصر غذایی در دانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد شاخه‌های فرعی در بوته	بیومس (وزن دانه و کاه و کلش)	عملکرد (وزن دانه)	غلظت نیتروژن دانه	غلظت فسفر دانه	غلظت روی دانه
تکرار	۳	۰/۲۸۵	۶۵۹۵/۸۳	۷۴۴/۸	۰/۴۴	۰/۰۰۰۸	۳۲/۴۷
قارچ میکوریز	۱	۱۴/۷۱**	۳۶۹۳۷۹/۵۸**	۴۴۰۶۳/۳**	۱/۸۴**	۰/۰۱**	۱۴۸۸/۹۴**
باکتری	۱	۵۰/۲۵**	۲۳۷۳۰۴۲/۲۳**	۲۰۳۴۵۰/۰۷**	۵/۵۷**	۰/۰۰۴	۸۵۸/۲۲**
کود	۱	۶/۵۷**	۱۷۵۹۸/۵۶	۱۰۵۲۵/۳۷**	۲/۷۶**	۰/۰۰۰۶	۱۲۶۹/۵۷**
باکتری*قارچ میکوریز	۱	۰/۰۲	۱۰۸۹۸۷/۰۶	۳۹۲۷/۵۷	۰/۰۸	۰/۰۰۰۴	۲۷۹/۶۶**
کود*قارچ میکوریز	۱	۰/۰۱	۱۷۲۳/۹۶	۱۲۴۰/۶۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۱	۱۹۰/۳۲**
کود*باکتری	۱	۰/۳	۱۰۹/۵۳	۴۳۷/۸۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۰۵	۴/۵۳
کود*باکتری*قارچ میکوریز	۱	۰/۱۶	۱۸۳۷/۹۳	۲۹۱۱/۳۶	۰/۴۸	۰/۰۰۰۰۵	۱۰۲/۹۶**
خطا	۲۱	۰/۵۳	۴۲۵۷/۸۳	۹۳۵/۸۸	۰/۲۱	۰/۰۰۰۳	۱۱/۰۸
ضریب تغییرات (٪)		۱۷/۸۸	۱۷/۱۹	۶/۹۹	۱۵/۷	۱۴/۸۵	۸/۴۴

** بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد.

تعداد شاخه‌های فرعی در بوته

براساس نتایج تجزیه واریانس، تعداد شاخه‌های فرعی در بوته، تحت اثرات اصلی میکوریز، باکتری و کود معنی دار شد (جدول ۳)، بدین معنی که کاربرد هرکدام از آن‌ها باعث افزایش تعداد شاخه‌های فرعی در بوته‌ی نخود گردید. بیشترین میانگین تعداد شاخه های فرعی به ترتیب در تیمارهایی با مصرف باکتری ریزوبیوم (۵/۳۵)، مایکوریز (۴/۷۷۵) و کود (۴/۵۵) مشاهده شد. با کاربرد باکتری ریزوبیوم، ۸۸/۱۳٪، با کاربرد مایکوریز ۳۹/۷٪ و با کاربرد کود، ۲۴/۸۷٪ تعداد شاخه‌های فرعی در بوته افزایش یافت (شکل ۳). تعداد شاخه فرعی در گیاه در گونه‌های مختلف حبوبات متفاوت است و به‌عنوان یک معیار مهم برای عملکرد دانه محسوب می‌شود. تعداد شاخه‌های جانبی، یک خصوصیت وابسته به واریته بوده و شدیداً تحت تأثیر شرایط محیطی، خصوصیات فیزیکی خاک، شرایط تنش رطوبتی و تغذیه می‌باشد. از آنجایی که غلاف‌ها برروی شاخه‌ی جانبی رشد می‌کنند، بنابراین تعداد شاخه‌ی جانبی نقش بسیار مهمی در عملکرد نهایی دارا می‌باشد. نتایج این تحقیق باتحقیقاتتوگایوهمکاران (۲۰۰۸) مطابقتدارد.

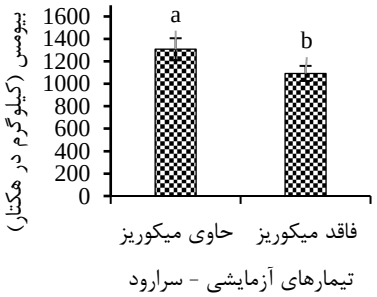


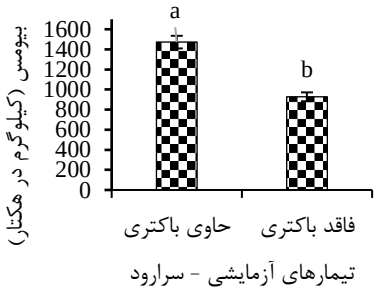
شکل ۳- اثر اصلی قارچمیکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110 و کود بر تعداد شاخه‌های فرعی در بوته
برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف لاتین نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

بیومس (وزن دانه و کاه و کلش)

براساس نتایج تجزیه واریانس، بیومس، تحت اثرات اصلی میکوریز و باکتری ریزوبیوم معنی‌دار شد. هرچند تحت اثر متقابل میکوریز، باکتری و کود، میزان بیومس به ۱۶۷۴/۵ کیلوگرم در هکتار رسید و افزایش ۹۶ درصدی نشان داد و بالاترین میزان بیومس تحت اثر متقابل این سه عامل قرار گرفت، اما داده‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نشد (جدول ۳).

بررسی داده‌ها نشان داد به‌کار بردن باکتری ریزوبیوم به میزان ۵۸/۷۱٪ و استفاده از مایکوریز، ۱۹/۶۷٪ بیومس گیاه را افزایش داده‌است (شکل ۴).

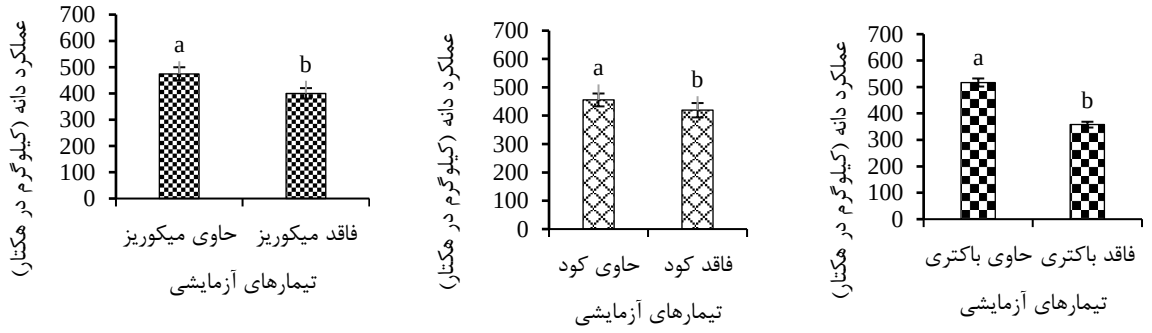




شکل ۴- اثر اصلی قارچ میکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110 بر بیومس
برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف لاتین نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

عملکرد دانه (وزن دانه)

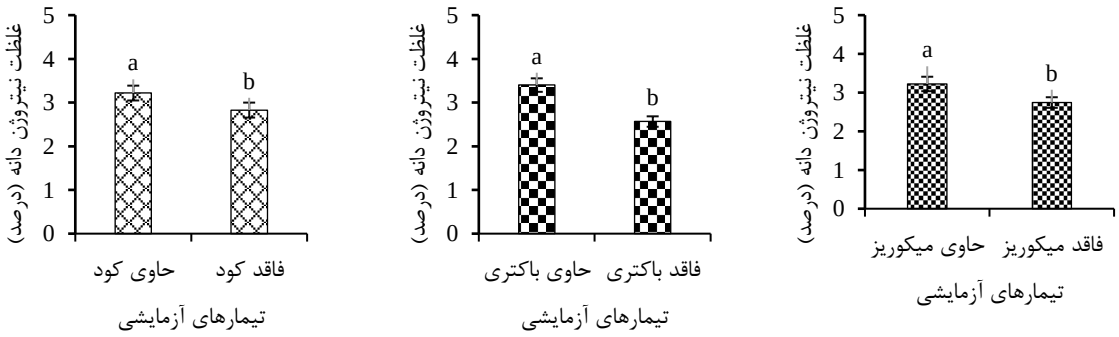
براساس تجزیه واریانس، اثرات اصلی قارچ میکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110و کود بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی داده‌ها نشان داد مقدار عملکرد دانه با به‌کار بردن باکتری ریزوبیوم، ۵۱۷/۲۱۲ کیلوگرم در هکتار، با به‌کار بردن قارچ میکوریز، ۴۷۴/۵۸۴ کیلوگرم در هکتار و در نهایت با به‌کار بردن کود، ۴۵۵/۶۱۳ کیلوگرم در هکتار بود. در این حالت، با کاربرد باکتری ریزوبیوم، ۴۴/۵۷٪، با کاربرد قارچ میکوریز، ۱۸/۵۳٪ و با کاربرد کود ۸/۶۴٪ عملکرد دانه نسبت به عدم کاربرد آن‌ها افزایش پیدا کرد (شکل ۵). به‌طور کلی، تلقیح با قارچ میکوریز، منجر به بهبود غلظت فسفر و در نتیجه عملکرد دانه می‌شود. تلقیح با باکتری ریزوبیوم نیز به‌دلیل تأمین نیتروژن بیشتر طی فرآیند تثبیت زیستی و انتقال به بخش هوایی، باعث افزایش سنتز کلروفیل، افزایش فتوسنتز و درنتیجه افزایش عملکرد دانه می‌شود. ارمان و همکاران (Erman et al., 2011)بیان کردند تلقیح قارچ میکوریز آربوسکولار همراه با ریزوبیوم یا به‌تنهایی منجر به افزایش عملکرد دانه، گسترش ریشه و مقدار فسفر دانه و ساقه شد. ارشدی و همکاران (Arshadi et al., 2021) با بررسی نه ژنوتیپ نخود نشان دادند کاربرد قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم، عملکرد دانه و ماده‌ی خشک نخود را به‌طور قابل توجهی افزایش داد.



شکل ۵- اثر اصلی قارچمیکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110 و کود بر عملکرد دانه
برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف لاتین نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

غلظت نیتروژن دانه

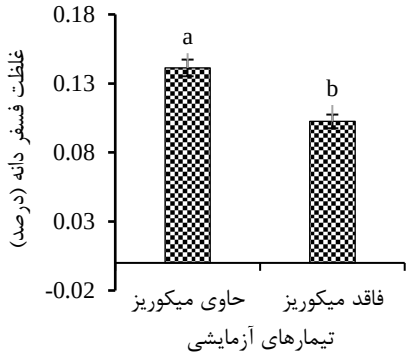
در مزرعه، اثرات اصلی قارچ میکوریز، باکتری C-110و کود بر غلظت نیتروژن دانه معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی داده‌ها نشان داد غلظت نیتروژن دانه با به‌کار بردن باکتری ریزوبیوم ۳/۴٪، با استفاده از قارچ میکوریز ۳/۲۲٪ و با استفاده از کود ۳/۲۱٪ شد. بدین معنی که با استفاده از قارچ میکوریز، ۱۷/۵٪، باکتری ریزوبیوم، ۳۲/۵۵٪ و کود، ۱۰/۹۶٪، غلظت نیتروژن دانه نسبت به عدم کاربرد آن‌ها، افزایش یافت (شکل ۶). گزارش‌های متعددی بیان داشتند که تلقیح لگوم‌ها با باکتری‌های ریزوبیوم به علت تثبیت نیتروژن، باعث افزایش مقدار نیتروژن دانه می‌شود. قارچ های میکوریزی نیز تأثیر عمیقی بر فیزیولوژی ریشه‌ی گیاه گذاشته که سبب فعال ساختن گلوتامین سنتتاز، آرژیناز و اوره‌آز شده و از این طریق غلظت نیتروژن را در گیاهان میزبان افزایش می‌دهند (Mahmoudzadeh et al., 2015). آرژیناز و اوره‌آز از آنزیم‌های کلیدی در انتقال نیتروژن از میسلیوم به داخل ریشه‌ی گیاه میزبان طی فرآیند همزیستی می‌باشند. نیتروژن توسط میسلیوم‌های خارجی به فرم نیترات یا آمونیوم جذب و به‌وسیله گلوتامین سنتتاز به ترکیبات آلی تبدیل می‌گردد (Mahmoudzadeh et al., 2015). همچنین الیویرا و همکاران (Oliveira et al., 2016) بیان کردند که استفاده از باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریز به تنهایی یا توأم با یکدیگر موجب افزایش نیتروژن دانه می‌گردد.



شکل ۶- اثر اصلی قارچ میکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110 و کود بر غلظت نیتروژن دانه
برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

غلظت فسفر دانه

براساس تجزیه واریانس، تنها اثر اصلی قارچ میکوریز بر غلظت فسفر دانه معنی دار شد (جدول ۳). طبق نتایج حاصله، کاربرد قارچ میکوریز باعث افزایش غلظت فسفر دانه شد بدین معنی که غلظت فسفر دانه تحت اثر قارچ میکوریز برابر ۰/۱۴۱٪ شد که نسبت به تیمار بدون قارچ ۳۷/۸٪ افزایش داشت (شکل ۷). نتایج محققین روی گیاه نخود نشان داده‌است محتویات فسفر دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزبیشتر از گیاهان شاهد بدون تلقیح بوده‌است (Stancheva et al., 2006; Erman et al., 2011). نقش مفید قارچ های میکوریزی به‌ویژه در مورد جذب فسفر و عناصرکم مصرف، مربوط به ناحیه‌ی تخلیه‌ی عناصر در اطراف ریشه می‌باشد و وسعت این ناحیه بستگی به حلالیت و قابل حرکت بودن عناصر در خاک دارد که در مورد نیتروژن زیاد و در مورد فسفر کم است و قارچ‌های میکوریز با گسترش شبکه‌ی ریسه‌ای خود، این محیط را افزایش می‌دهند(Ahmadi et al., 2004).



شکل ۷- اثر اصلی قارچ میکوریز بر غلظت فسفر دانه

برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

غلظت روی دانه

براساس تجزیه واریانس، غلظت روی دانه تحت اثرات اصلی قارچ میکوریز، باکتری C-110، کود و اثرات متقابل قارچ میکوریز و باکتری، همچنین قارچ میکوریز و کود و اثرات متقابل سه‌گانه‌ی قارچ میکوریز، باکتری ریزوبیوم و کود افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول ۳). بیشترین میزان روی در دانه در تیماری مشاهده گردید که همزمان از این سه عامل برخوردار بود (۵۶/۰۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کمترین میزان نیز در تیمار فاقد این سه عامل (۲۳/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) حاصل شد. با کاربرد قارچ میکوریز، ۴۱/۸۱٪، با کاربرد کود، ۳۸٪ و با کاربرد باکتری ریزوبیوم، ۳۰/۲۲٪، تحت اثرات متقابل قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم، ۷۸/۹۴٪، تحت اثرات متقابل قارچ میکوریز و کود، ۱۰۹/۸۵٪ و تحت اثرات متقابل میکوریز، باکتری ریزوبیوم و کود، ۱۴۳/۰۲٪ غلظت روی دانه نسبت به عدم کاربرد آن‌ها افزایش پیدا کرد (شکل ۸). بیسواس و همکاران (Biswas et al., 2000)گزارش کردند که مایه تلقیح‌های ریزوبیومی سبب افزایش تعداد ریشه های موئین و ریشههای جانبی شده و در نتیجه سبب افزایش جذب مواد مغذی ازجمله روی می‌شوند. همچنین ماسا و همکاران (Massa et al., 2020) نشان دادند استفاده از باکتری ریزوبیوم همراه با قارچ میکوریز موجب افزایش کیفیت بذر لوبیا گردید و غلظت منیزیم، پتاسیم، روی و پروتئین دانهافزایش یافت به‌نحوی که استفاده از آن‌ها باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی حاوی این عناصر شد. همچنین خسروجردی و همکاران (Khosrojerdi et al., 2014) بیان کردند کاربرد همزمان باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریز باعث افزایش میزان روی دانه در گیاه نخود شده است.

شکل ۸- اثرمتقابل قارچ میکوریز، باکتری ریزوبیوم C-110 و کود بر غلظت روی دانه
برای هرنمودار، تفاوت معنی‌داری در P<0.05، با حروف مختلف نشان داده‌شده‌است. میله‌های بالای هر نمودار نشان‌دهنده‌ی خطای معیار می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، با اندازه‌گیری تعداد شاخه‌های فرعی در بوته، بیومس، عملکرد دانه، نیتروژن دانه و فسفر دانه مشخص گردید میکروارگانیسم‌ها توانسته‌اند مقدار بیشتری از این عناصر را در شرایط دیم و در مقایسه با کود شیمیایی به تنهایی، در اختیار گیاه قراردهند. در رابطه با تعداد شاخه‌های فرعی در بوته، بیومس، غلظت نیتروژن دانه و عملکرد دانه، باکتری ریزوبیوم C-110 به‌کاربرده شده، بیشتر از قارچ میکوریز باعث افزایش فاکتور مورد بررسی شده‌است، بررسی غلظت فسفر دانه نشان داد که قارچ میکوریز بهتر از باکتری ریزوبیوم C-110 عمل کرده‌است. همچنین با بررسی غلظت روی دانه مشخص گردید اثرات متقابل کود، قارچ میکوریز و باکتری ریزوبیوم بیشتر از کاربرد این فاکتورها به تنهایی باعث افزایش غلظت این عنصر شده است که در این حالت نقش کوددهی بهینه را نمی‌توان نادیده گرفت. اگرچه میزان عملکرد نخود در شرایط دیم در این منطقه کمتر از شرایط آبی است، اما با استفاده از ریزجانداران مفید خاکزی (قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های ریزوبیوم) می‌توان عملکرد را افزایش دادو ازآنجایی‌که تغییر اقلیم و برخی از شیوه‌های مدیریت کشاورزی، مانند خاک‌ورزی و استفاده‌ی بیش از حد از کودهای شیمیایی، در تخریب حاصلخیزی خاک نقش داشته‌اند، می‌توان با کاربرد این ریزجانداران مفید سلامت اکوسیستم و افزایش بهره‌وری در کشاورزی را بهبود بخشید. بدیهی است همزیستی قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های ریزوبیوم در هر تنش و هر گیاه باید جداگانه بررسی‌شود تا بتوان گونه‌ی مناسب برای آن شرایط را شناسایی کرد تا با کاربرد صحیح این همزیستی سه‌گانه، بتوان به گیاهان کمک نمود. به بیان دیگر، شرط ایجاد همزیستی مؤثر، وجود جدایه‌ی باکتری کاملاً کارآمد و اختصاصی برای گیاه میزبان است که برای حصول حداکثر کارایی، بایستی از مراحل ابتدایی رویشبا جمعیت کافی و با روش بذرمال در مجاورت بذر گیاه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

اجرای این تحقیق با حمایت بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور و همچنین مؤسسه تحقیقات دیم سرارود انجام شد که بدینوسیله از اساتید و کارشناسان این دو مؤسسه کمال تشکر را دارم.

Refrences

1. Ahmadi, A., Ehsanzadeh, P. and Jabbari, F. 2004. An Introduction to Plant Physiology. Tehran University. (in Persian).
2. Ali Ahiaei, M. 1997. Methods of chemical analysis of soil. Soil and Water Research Institute. Publication number 1024.
3. Allosh, G. A. Z., Zeto, S. K. and Clark, R. B. 2000. Phosphorus sources, organic matter, in acid soil. Journal of Plant Nutrition 23: 1351-1369.
4. Arshadi, J., Parsa, M., Lakzian, M. and Kafi, M. 2021. Effects of mycorrhiza symbiosis on seed yield and some physiological responses of chickpea genotypes. Agriculture, Environment & Society 1(1): 31-37.
5. Benami, M., Isack, Y., Grotsky, D., Levy, D. and Kofman, Y. 2020. The economic potential of arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Grand Challenges in Fungal Biotechnology 239–279.
6. Biswas, J.C., Ladha, J.K. and Dazzo, F.B. 2000. Rhizobial inoculation improves nutritional uptake and growth of lowland rice. Soil Sceince Society of American Journal 64: 1644-1650.
7. Denison, R.F. and Kiers, E.T. 2011. Life histories of symbiotic rhizobia and mycorrhizal fungi. Current Biology 21:775–785.
8. Emami, A. Plant analysis methods. 1996. Soil and Water Research Institute. Publication number 982.
9. Erman, M., Demir, S., Ocak, E., Tüfenkçi, S., Oğuz, S. and Akköprü, A. 2011. Effects of Rhizobium, arbuscular mycorrhiza and whey applications on some properties in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under irrigated and rainfed conditions 1—Yield, yield components, nodulation and AMF colonization. Field Crops Research. 122(1): 14-24.
10. Ferreira E.M., and Marques J.F. 1992. Selection of Portuguese Rhizobium leguminosarumbv. trifolii strains for production of legume inoculants. Plant Soil. 147: 151–158.
11. Fujishige, N.A., Kapadia, N.N., De Hoff, P.L. and Hirsch, A.M. 2006. Investigation of Rhizobium biofilm formation. FEMS Microbiol Ecol. 56(2): 195-206.
12. He, J., Dong, T., Wu, H., Zou, Y., Wu, Q. and Kuča, K. 2019. Mycorrhizas induce diverse responses of root TIP aquaporin gene expression to drought stress in trifoliate orange. Scientia Horticulturae 243:64–69.
13. Khosrojerdi, M., Shahsavani, Sh., Gholipour, M. and Asghari, J. 2014. The effect of inoculation of rhizobium bacteria and mycorrhizal fungi on the absorption of some mineral elements by peas at different levels of iron sulfate fertilizer. Crop Production Journal. 6(3): 71-87. (inpersian).
14. Larimer, A.L., Clay, K. and Bever, J.D. 2014. Synergism and context dependency of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia with a praire legume. Ecology 95:1045–1054.
15. Mahmoudzadeh, M., RassouliSedghiani, M.H. and AsgariLagayer, M. 2015. The Effect of Rhizobacteria Growth Stimulator and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Morphological Characteristics and High Contaminated Elements of Peppermint MenthaPiperita L. in Greenhouse Conditions. Science and Technology of Greenhouse Crops 24(6):155-167.
16. Massa, N., Cesaro, P., Todeschini, V., Capraro, J., Scarafoni, A., Cantamessa, S., Copetta, A., Anastasia, F., Gamalero, E., Lingua, G., Berta, G. and Bona, E. 2020. Selected autochthonous rhizobia, applied in combination with AM fungi, improve seed quality of common bean cultivated in reduced fertilization condition. Applied Soil Ecology 148: 202-222.
17. Moradi, S., Besharati. S., Feiziasl, V. and Sheikhi, J. 2018. The effect of drought stress and treatments of arbuscular root fungi and rhizobium on the concentration of nutrients in roots, shoots and soil in chickpea cultivation. Science and Technology of Greenhouse Cultivation. 8(2):13-24. (in Persian).
18. Muangthong A., Youpensuk S., Rerkasem B. 2015. Isolation and characterisation of endophytic nitrogen fixing bacteria in sugarcane. Tropical Life Sciences Research. 26:41-51.
19. Oliveira, R., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, F., Vosátka, M. and Freitas, H. 2016. Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-

fixing bacteria under water deficit conditions. Society of Chemical Industry 65:145-161.
20. Pellegrino, E., Öpik, M., Bonari, E. and Ercoli, L. 2015. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. Soil Biology and Biochemistry 84:210–217.
21. Rejali, F. 2018. Familiarity with mycorrhizal fungi and their use in different ecosystems. Soil and Water Research Institute. No 110. (inpersian).
22. Sabaghpour, S.H., Mahmodi A.A., Saeed A., Kamel, M. and Malhotra, R.S. 2006. Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. Indian j. Crop Science 1:70-73.
23. Smith, S.E. 2002. Soil microbes and plants-raising interest, mutual gains. New Phytologist 156:142–144.
24. Soumare, A., Diop, T., Manga, A. and Ndoye, I. 2015. Role of arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen fixing bacteria on legume growth under various environmental stresses. International Journal of Biosciences 7(4):31-46.
25. Stancheva, M., Geneva, G., Zehirov, G., Tsvetkova, M., Hristozkova, G. and Georgiev, M. 2006. Effects of combined inoculation of pea plants with Arbuscular Mycorrhizal fungi and Rhizobium on nodule formation and nitrogen fixing activity. Plant Physiology 61-66.
26. Tavassoli, A., Ali asgharzad, N., Salehijozani, Gh. and Asgharzadeh, A. 2017. Study of nutrient uptake in tripartite symbiosis of chickpea with mycorrhizak fungi and rhizobium bacteria. The 6th National Conference on Grains in Iran. (in Persian).
27. Togay, N., Mesut Cimrin, C. and Turan, M. 2008. Effects of rhizobium inoculation, sulfur and phosphorus applications on yield, yield components and nutrient uptakes in chickpea (Cicer arietinum L.). Afr J Biotechnol. 7(6):776-782.
28. Trung, B.Ch. and Yoshida, Sh. 1983. Improvement of Leonard jar assembly for screening of effective rhizobium. Soil Science and Plant Nutrition. 29(1) 97-100.
29. Volpiano, C.G., Lisboa, B.B., Brilhante J.F., Rotta de diveira, A.M., Beneduzi, A., Pereirapassaglia, L.M. and Vargas, L.K. 2018. Rhizobium strains in the biological control of the phytopathogenic fungi Sclerotium (Athelia) rolfsii on the common bean. Plant Soil 432:229-243.
30. Yadav, A.N. 2020. Plant microbiomes for sustainable agriculture: current research and future challenges. Springer Nature 475-482.
31. Yadav, S.S., Redden, R., Chen, W. and Sharma, B. 2007. Chickpea breeding and management. CABI Books (digital library) 1-13.

279-313/Journal of Soil Biology Vol. 12, No. 2, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Soil Biology Journal

https://sbj.areeo.ac.ir

Review article

Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions

Bahman Khoshru[1*], Alireza Fallah Nosratabad[2], Houshang Khosravi[3], Ahmad Asgharzadeh[3] and Laleh Faridian[4]

1-Postdoctoral Researcher, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj 31785-311, Iran. bahmankhoshru@yahoo.com

2-Professor of Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj 31785-311, Iran. a.r.fallah1350@gmail.com

3-Associate Professor of Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj 31785-311, Iran. khosravi_1971@yahoo.com , a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

4-Department of Soil Science, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran. laleh.faridian@gmail.com

Article Info

Received:
Feb1,2025
Accepted:
April 19,2025
Keywords:
Food security, Nano-fertilizers, Nutrient uptake, Sustainable agriculture, Synergy

Corresponding author's email:
bahmankhoshru@yahoo.com

DOI:
10.22092/SBJ.2025.368425.277

Extended Abstract

Background and objective: The growing global population and increasing food demand necessitate sustainable agricultural practices that enhance productivity while minimizing environmental impact. Conventional agriculture's reliance on synthetic inputs has led to significant environmental degradation. In this context, integrating biotechnological approaches, particularly using plant growth-promoting bacteria (PGPR) and nanotechnology, offers a promising strategy. PGPR, a diverse group of rhizosphere bacteria, promote plant growth through direct mechanisms like enhancing nutrient availability (nitrogen fixation, phosphorus solubilization, potassium mobilization), producing phytohormones (auxins, gibberellins, cytokinins), and synthesizing siderophores. Indirect mechanisms involve suppressing pathogens through antibiotics, lytic enzymes, and induced systemic resistance (ISR). Nanoparticles, with their unique physicochemical properties (high surface area-to-volume ratio, quantum effects, enhanced reactivity), offer advantages in agriculture. They act as carriers for targeted delivery of nutrients and agrochemicals, improving efficiency and reducing contamination. They also directly influence plant physiological processes. Combining PGPR and nanoparticles shows promising synergistic effects, potentially leading to greater improvements in plant growth and yield. This synergy stems from enhanced bacterial colonization, improved nutrient delivery, and direct effects on plant physiology. This study aims to: (1) review the mechanisms by which PGPR and nanoparticles influence plant growth; (2) investigate their synergistic interactions; (3) analyze their practical applications; (4) discuss challenges and limitations; and (5) provide future research recommendations for optimizing their application in sustainable agriculture.

Material and Methods: This study employed a comprehensive literature review of existing research on PGPR and nanoparticle applications in agriculture. Scientific articles, reports, books, reviews, and conference proceedings were collected from databases like Scopus, Web of Science, PubMed, Google Scholar, and Sciencedirect. Keywords and Boolean operators were used for the search, including "plant growth-promoting bacteria," "PGPR," "nanoparticles," "nanotechnology in agriculture," "Nutrient uptake," "Plant hormones," "Biotic/abiotic stress," "Sustainable agriculture," "Nanofertilizers," and related terms. The collected literature was critically evaluated for relevance, methodological rigor, and scientific quality. Studies investigating the synergistic effects of combining PGPR and nanoparticles were prioritized. Information extracted included types of PGPR and nanoparticles, application methods, plant species, experimental conditions, and measured parameters (plant growth, yield, nutrient uptake, stress tolerance).

Results: The literature review provides compelling evidence of the beneficial effects of PGPR and nanoparticles on plant growth and yield. PGPR have consistently been shown to enhance nutrient availability, stimulate root development, improve water use efficiency, and increase plant resistance to various biotic and abiotic stresses. Numerous studies have demonstrated the ability of PGPR to fix atmospheric nitrogen, solubilize insoluble phosphorus, and mobilize potassium, making these essential nutrients available to plants. Furthermore, PGPR are known to produce various phytohormones, such as auxins, gibberellins, and cytokinins, which play crucial roles in regulating plant growth and development, including cell elongation, cell division, and differentiation. The production of siderophores by PGPR has also been shown to improve iron uptake by plants, especially in calcareous soils. Nanoparticles, with their unique properties, serve as effective carriers for delivering nutrients, pesticides, and other agrochemicals to plants, improving their efficiency and reducing environmental contamination. Studies have also demonstrated the direct effects of nanoparticles on plant physiological processes, such as enhancing photosynthesis by improving chlorophyll content and photosynthetic efficiency, and influencing stomatal regulation. The combined application of PGPR and nanoparticles consistently results in synergistic effects, leading to greater improvements in plant growth and yield compared to the application of either technology alone. This synergy can be attributed to several factors. Nanoparticles can enhance the colonization of plant roots by PGPR by providing a protective microenvironment and improving bacterial attachment. Conversely, PGPR can facilitate the uptake and translocation of nanoparticles within the plant. The combination of PGPR and nanoparticles has been shown to improve plant tolerance to various abiotic stresses, such as drought, salinity, and heavy metal toxicity.

Conclusion: The combined application of PGPR and nanoparticles represents a promising and sustainable approach for enhancing agricultural productivity and minimizing environmental impact. The synergistic interactions between these two technologies offer significant potential for improving plant growth, yield, and quality. PGPR contribute by enhancing nutrient availability, producing phytohormones, and inducing systemic resistance, while nanoparticles act as efficient delivery systems for nutrients and other agrochemicals and directly influence plant physiological processes. The combined application of these technologies often results in greater improvements in plant growth and yield compared to individual applications, demonstrating a clear synergistic effect. However, several challenges need to be addressed before widespread adoption of this approach. These challenges include the potential toxicity of certain nanoparticles to plants and soil microorganisms, the need for further research on the long-term environmental impacts of nanoparticles, the cost-effectiveness of nanoparticle production and application, and the development of standardized protocols for application. Furthermore, understanding the precise mechanisms of interaction between specific PGPR strains and different types of nanoparticles is crucial. Future research should focus on: (1) elucidating the complex interactions between PGPR, nanoparticles, plants, and the soil microbiome at the molecular level; (2) conducting comprehensive risk assessments to evaluate the potential environmental and human health impacts of nanoparticles used in agriculture; (3) developing sustainable and cost-effective methods for producing and applying nanoparticles in agriculture; (4) optimizing the application methods and formulations of PGPR and nanoparticles for different crops and environmental conditions; (5) establishing clear regulatory frameworks for the use of nanoparticles in agriculture; (6) investigating the long-term effects of repeated applications of nanoparticles on soil health and ecosystem functioning; and (7) exploring the potential of using nanobiosensors for monitoring the effects of nanoparticles in the environment. By addressing these challenges and pursuing these research directions, the synergistic potential of PGPR and nanoparticles can be fully exploited to contribute to a more sustainable and productive agricultural future.

Cite this article: Khoshru, B., Fallah Nosrat Abad,A.R., Khosravi,H., Asgharzadeh,A., Faridiдan,L.,2025. Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions Soil Biology, 12 (2)،279-313.

CC BY NC

DOI: 10.22092/SBJ.2025.368425.277
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

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

مقاله مروری

افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی با باکتری‌های محرک رشد گیاه و نانوذرات: سازوکارها، چالش‌ها و جهت‌گیری‌های آینده

بهمن خوشرو[۱*]، علیرضا فلاح نصرت‌آباد[۲]، هوشنگ خسروی[۳]، احمد اصغرزاده[۳] و لاله فریدیان[۴]

۱-محقق پسادکترا، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.bahmankhoshru@yahoo.com

۲-استاد موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.a.r.fallah1350@gmail.com

۳-دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. khosravi_1971@yahoo.com , a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

۴-گروه علوم خاک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایرانlaleh.faridian@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۴/۱/۳۰

چکیده

در دهه‌های اخیر، توجه به کشاورزی پایدار و بهره‌برداری مؤثر از منابع طبیعی به طور فزاینده‌ای افزایش یافته است. باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و ذرات نانو به عنوان دو فناوری نوین در زیست‌فناوری کشاورزی، توانسته‌اند به بهبود رشد و کیفیت محصولات کشاورزی کمک شایانی کنند. PGPRها، گروه متنوعی از باکتری‌های مفید خاکزی هستند که از طریق سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم، رشد گیاهان را بهبود می‌بخشند. از سوی دیگر، ذرات نانو با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد خود، نقش‌های متعددی در کشاورزی ایفا می‌کنند و می‌توانند به عنوان حامل‌های مؤثر مواد مغذی و آفت‌کش‌ها عمل کرده و مستقیماً بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه تأثیر بگذارند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده ترکیبی از PGPR و نانوذرات می‌تواند اثرات هم‌افزایی قابل توجهی بر عملکرد محصولات کشاورزی داشته باشد. به عنوان مثال، کاربرد *Bacillus subtilis* با کود NPK در مزارع کلزا منجر به افزایش حدود ۴۶ درصدی عملکرد دانه در دو سال متوالی شده است. همچنین، استفاده از نانوذرات اکسید روی، آهن و Zn-Fe همراه با *Azotobacter* در گندم، افزایش چشمگیر ۸۸ درصدی در عملکرد دانه را نشان داده است. در شرایط تنش آلودگی خاک، ترکیب *Actinobacterium sp.* و نانوذرات سلنیوم موجب افزایش ۷۴ درصدی زیتوده در سویا گردید. علاوه بر این، استفاده از نانوذرات نقره با *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas moraviensis* وزن تر پیاز را به ترتیب ۷۵ و ۳۳ درصد افزایش داده است. این اثرات هم‌افزایی احتمالاً از طریق بهبود جذب مواد مغذی، تولید هورمون‌های رشد گیاهی، افزایش تحمل به تنش و بهبود کلونیزاسیون ریشه، بهبود جذب مواد مغذی و تحریک سیستم ایمنی گیاه صورت می‌گیرد. با وجود این نتایج امیدوارکننده، استفاده از این فناوری‌ها با چالش‌هایی نظیر سمیت احتمالی برخی نانوذرات، اثرات بلندمدت زیست‌محیطی و نیاز به تدوین پروتکل‌های استاندارد برای تولید و مصرف همراه است. بنابراین، تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی کاربرد این ترکیبات و درک کامل مکانیسم‌های عمل آن‌ها ضروری است.

واژه های کلیدی: امنیت غذایی، کودهای نانو، جذب مواد مغذی، کشاورزی پایدار، هم افزایی.

استناد: خوشرو،ب.، فلاح نصرت آباد،ع.، خسروی،ه.، اصغرزاده،ا.، فریدیان،ل.، ۱۴۰۴.افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی با باکتری‌های محرک رشد گیاه و نانوذرات: سازوکارها، چالش‌ها و جهت‌گیری‌های آینده. نشریه زیست شناسی خاک(۲)۱۲، ۳۱۳-۲۷۹

مقدمه

رشد روزافزون جمعیت جهانی و نیاز به تأمین غذای کافی، بهره‌برداری فزاینده از منابع طبیعی را اجتناب‌ناپذیر ساخته است. در این میان، کشاورزی به‌عنوان یکی از بخش‌های اصلی تأمین امنیت غذایی، تحت فشارهای شدید زیست‌محیطی و اقتصادی قرار گرفته است. مصرف بی‌رویه کودها و آفت‌کش‌های شیمیایی به‌منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی، گرچه در کوتاه‌مدت مؤثر بوده است، اما در بلندمدت به تخریب خاک، کاهش تنوع زیستی و آلودگی محیط‌زیست منجر شده است (Atieno et al., 2020; Zhou et al., 2024). این مسائل، لزوم یافتن روش‌های پایدار و کارآمد برای بهبود عملکرد محصولات کشاورزی را بیش‌ازپیش آشکار می‌سازد. کشاورزی پایدار، به‌عنوان راهکاری جامع برای تأمین امنیت غذایی نسل‌های حاضر و آینده، بر حفظ تعادل میان تولید اقتصادی، سلامت محیط‌زیست و رفاه اجتماعی تأکید دارد. تخریب خاک، آلودگی منابع آبی و کاهش تنوع زیستی ناشی از استفاده بی‌رویه از کودها و سموم شیمیایی، ضرورت حرکت به این رویکرد را بیش از پیش آشکار کرده است. کشاورزی پایدار نه‌تنها با کاهش اثرات زیان‌بار بر محیط‌زیست به حفظ منابع طبیعی کمک می‌کند، بلکه با به‌کارگیری فناوری‌های نوین مانند ذرات نانو و استفاده از ریزجانداران مفید همچون باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[1])، می‌تواند به افزایش بهره‌وری و کاهش وابستگی به نهاده‌های شیمیایی کمک کرده و گامی مؤثر در مقابله با تغییرات اقلیمی و حفظ اکوسیستم‌های کشاورزی باشد (Antoun and Prevost, 2005).

یکی از راهکارهای مطرح برای دستیابی به کشاورزی پایدار، استفاده از رویکردهای زیستی همچون کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) است. این ریزجانداران مفید از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله بهبود جذب عناصر غذایی و تولید هورمون‌های گیاهی، در افزایش رشد گیاه و حاصلخیزی خاک نقش مهمی ایفا می‌کنند (Glick, 1995; Goswami et al., 2016).

فناوری نانو نیز به‌عنوان یک ابزار نوین در حوزه کشاورزی، پتانسیل بالایی در افزایش بهره‌وری و پایداری سیستم‌های کشاورزی نشان داده است (Ali et al., 2018). ذرات نانو (NPs[2])، به دلیل خصوصیات منحصربه‌فرد خود نظیر اندازه کوچک، نسبت سطح به حجم بالا و واکنش‌پذیری زیاد، می‌توانند در بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش کارایی کودها و آفت‌کش‌ها و کاهش تلفات آنها نقش‌آفرینی کنند (Vega-Celedón et al., 2021). همچنین، ترکیب فناوری نانو با ریزجانداران مفید مانندPGPRها، به‌عنوان یک رویکرد میان‌رشته‌ای نوین، افق‌های جدیدی را برای دستیابی به کشاورزی پایدار گشوده است. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که ترکیب ذرات نانو و PGPR نتایج چشمگیری در افزایش بهره‌وری و پایداری کشاورزی به همراه داشته است (Jahangir et al., 2020; Kapoor et al., 2023). به‌عنوان مثال، ترکیب ذرات نانو نقره (Ag-NPs) با باکتری *Bacillus subtilis* در کشت ذرت موجب افزایش رشد گیاه و کنترل بیماری‌های قارچی شده است، که تأثیر دوگانه این فناوری را در بهبود رشد گیاه و کاهش آلودگی‌های بیماری‌زا نشان می‌دهد (Ghazy et al., 2021). در مطالعه‌ای دیگر، استفاده از ذرات نانو آهن (Fe_3O_4) همراه با باکتری *Pseudomonas fluorescens* تأثیرات قابل‌توجهی بر رشد گوجه‌فرنگی و تحمل به شوری نشان داده است. این ترکیب با بهبود جذب عناصر غذایی و کاهش اثرات منفی تنش‌های اکسیداتیو، منجر به افزایش سلامت و بهره‌وری گیاه شده است (Aghaei et al., 2024). همچنین، کاربرد ذرات نانو سیلیس (SiO_2) به همراه *Azospirillum lipoferum* بررسی شده است که تأثیر قابل‌توجهی بر افزایش رشد ریشه و جذب مواد معدنی در گیاه زراعی

[1] Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
[2] Nano particles

گندم نشان داده است. به گفته محققان، این اثرات ناشی از تعامل بهینه بین ذرات نانو و PGPR است که به تقویت سیستم ریشه کمک می‌کند (Akhtar et al., 2021). این نتایج به‌خوبی نشان‌دهنده نقش کلیدی ذرات نانو و PGPR در دستیابی به کشاورزی پایدار و کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی است.

در این مطالعه مروری، نقش ذرات نانو و باکتری‌های محرک رشد گیاه در بهبود رشد گیاهان، افزایش بهره‌وری کشاورزی و کاهش اثرات زیست‌محیطی بررسی می‌شود. هدف اصلی این مطالعه، ارائه چشم‌اندازی جامع از توانمندی‌های این دو رویکرد و تبیین تعاملات بالقوه میان آنها برای بهبود عملکرد کشاورزی و حفظ پایداری محیط‌زیست است. همچنین، چالش‌ها و فرصت‌های پیش‌رو در استفاده از این فناوری‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

باکتری‌های محرک رشد گیاه

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های حیاتی در توسعه کشاورزی پایدار مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ریزجانداران خاکزی به دلیل توانایی کلونیزه کردن ریزوسفر و اثرات مثبت‌شان بر رشد و توسعه گیاه، نقشی کلیدی در بهبود عملکرد کشاورزی ایفا می‌کنند (Khoshru et al., 2020). اصطلاح PGPR برای نخستین بار در دهه ۱۹۷۰ توسط کلوپر و همکاران معرفی شد و از آن زمان، مطالعات گسترده‌ای برای بررسی سازوکارهای تأثیر این باکتری‌ها انجام شده است (Glick, 1995). PGPRها از طریق ایجاد ارتباط همزیستی با گیاهان میزبان، نقش‌هایی نظیر افزایش رشد ریشه، بهبود جذب عناصر غذایی و تقویت مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی را ایفا می‌کنند (Khoshru et al., 2024; Khosravi et al., 2024). تعامل طولانی‌مدت بین گیاهان و ریزجانداران خاکی باعث تکامل PGPRها به‌اندوفیت‌های درون‌سلولی اختیاری شده است که می‌توانند هم در بافت گیاه و هم در محیط اطراف آن زندگی کنند (Bulgarelli et al., 2013). PGPRها تنها بخش کوچکی از جوامع میکروبی ریزوسفر (حدود ۲ تا ۵ درصد) را تشکیل می‌دهند، اما همین سهم اندک تأثیر بسزایی بر باروری خاک و پایداری کشاورزی دارد (Antoun and Prevost, 2005). جنس‌های مختلفی از باکتری‌ها نظیر *Arthrobacter*، *Burkholderia*، *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Bacillus*، *Pseudomonas* و غیره به‌عنوان PGPR شناسایی شده‌اند که هر یک با عملکردهای مختلفی در ارتقای رشد گیاه نقش دارند (جدول ۱) (Vega-Celedón et al., 2021).

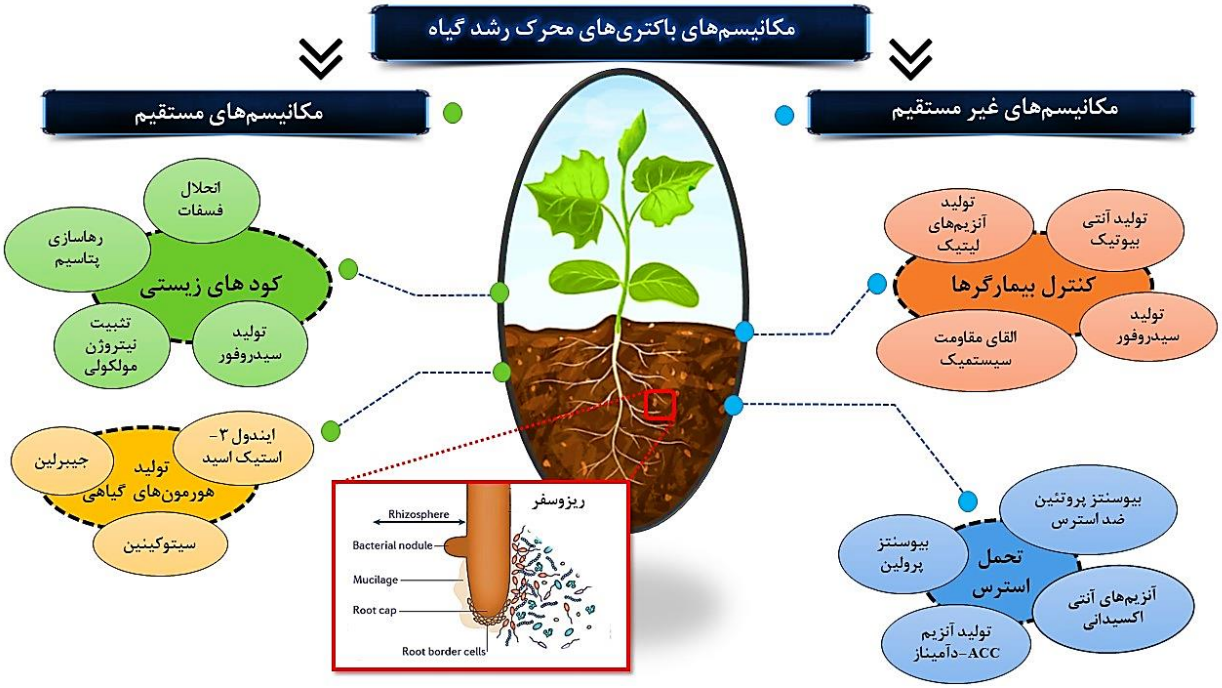
در سال‌های اخیر، استفاده از PGPRها به‌عنوان مکمل (یا جایگزینی) برای کودهای شیمیایی به دلیل آسیب‌های زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه کودها و آفت‌کش‌های شیمیایی مورد توجه ویژه قرار گرفته است. این باکتری‌ها با کاهش وابستگی به مواد شیمیایی و حفظ سلامت خاک، به توسعه سیستم‌های کشاورزی پایدار کمک می‌کنند. کودهای زیستی مبتنی بر PGPR بدون ایجاد آثار مخرب بر محیط زیست یا سلامت انسان، بهره‌وری محصولات کشاورزی را افزایش می‌دهند (Atieno et al., 2020). کاربردهای گسترده PGPR، از تولید کودهای زیستی تا ارتقای مقاومت گیاهان به تنش‌ها و پاکسازی محیط زیست، آن‌ها را به یکی از محورهای اصلی در تحقیقات زیست‌فناوری کشاورزی تبدیل کرده است (Shah et al., 2021a; Khosravi et al., 2024).

سازوکارهای اثرگذاری PGPR

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و توسعه گیاه تأثیر می‌گذارند و این تأثیرگذاری از طریق سازوکارهای متنوع و پیچیده‌ای صورت می‌گیرد. در سازوکار مستقیم، PGPRها با بهبود تغذیه گیاه و فراهم کردن مواد مغذی ضروری، نقش قابل‌توجهی در افزایش رشد گیاه ایفا می‌کنند. به‌عنوان نمونه، این باکتری‌ها نیتروژن اتمسفر را تثبیت می‌کنند و عناصر معدنی نظیر فسفر، پتاسیم، روی و آهن خاک را به

شکل قابل‌جذب برای گیاه تبدیل می‌کنند. علاوه بر این، تنظیم و تعدیل سطح هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، اسید آبسیزیک و اتیلن از دیگر سازوکارهای مستقیم آن‌ها است که منجر به تحریک رشد و نمو گیاه می‌شود (Parray et al., 2016; Kalam et al., 2020; Gouda et al., 2018; Fallah Nosratabab and Khoshru, 2024).

از سوی دیگر، سازوکار غیرمستقیم PGPRها بیشتر بر سلامت و افزایش مقاومت گیاه متمرکز است. این باکتری‌ها از طریق سرکوب بیمارگرهای گیاهی و مهار ریزجانداران مضر نقش محافظتی ایفا می‌کنند. ابزارهایی که برای این منظور به کار می‌برند شامل تولید ترکیبات ضد میکروبی نظیر سیانید هیدروژن، سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌های ضد میکروبی است. همچنین، PGPRها با تولید آنزیم‌های کشنده[۳] نظیر کیتینازها[۴]، گلوکانازها[۵] و پروتئازها[۶] و رقابت برای مواد مغذی و جایگاه درون ریزوسفر، فضای زیستی ریشه را برای گیاه بهینه می‌کنند. افزون بر این، آن‌ها توانایی ایجاد مقاومت سیستمیک القایی (ISR[۷]) در گیاهان را دارند که به مقابله با طیف گسترده‌ای از بیمارگرهای ریشه و برگی کمک می‌کند (Meena et al., 2020; Islam et al., 2016; Berg et al., 2017; Sayyed et al., 2019). این سازوکارها باعث می‌شود که PGPR ها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل زیستی در کشاورزی پایدار شناخته شوند.



شکل ۱- سازوکارهای تحریک رشد گیاه بواسطه PGPR.

کاربردهای PGPR در کشاورزی

همانطور که گفته شد PGPR نقش مهمی در افزایش رشد و عملکرد گیاهان دارند. این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین و جیبرلین، موجب بهبود توسعه سیستم ریشه‌ای و جذب بهتر عناصر غذایی از خاک می‌شوند (Patel and Saraf, 2017). همچنین، از افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی مانند تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات‌های نامحلول و آزادسازی پتاسیم، عناصر موردنیاز

[۳] Lytic enzymes
[۴] Chitinases
[۵] Glucanases
[۶] Proteases
[۷] Induced systemic resistance

گیاه را فراهم می‌کنند (Constantia and Ferniah, 2020). PGPRها مقاومت گیاهان را به تنش‌های غیرزیستی نظیر خشکی، شوری، دمای بالا و فلزات سنگین افزایش می‌دهند و با تنظیم اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، سازگاری گیاهان را با شرایط نامساعد بهبود می‌بخشند (Silambarasan et al., 2019; Belimov et al., 2020, Shirinbayan et al., 2019). این باکتری‌ها با تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی، رقابت با عوامل بیماری‌زا و القای مقاومت سیستمیک، از بروز بیماری‌های قارچی، باکتریایی و نماتدی جلوگیری کرده و نیاز به سموم شیمیایی را کاهش می‌دهند (Chandran et al., 2021). بر این اساس، نقش PGPR در کشاورزی پایدار به‌عنوان کود و آفت‌کش زیستی بسیار برجسته است، زیرا وابستگی به کودهای شیمیایی را کاهش داده و کیفیت محصولات کشاورزی را از نظر مواد مغذی، طعم و ماندگاری ارتقا می‌دهند. در زیست‌فناوری کشاورزی، این باکتری‌ها برای تولید محصولات زیستی مانند پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها (PHAs[۸]) و زیست‌پالایی خاک‌های آلوده نیز به‌کار می‌روند (Weyens et al., 2009b; Evangelou and Deram, 2014).

مطالعات مختلف تأثیر عملی PGPR را در بهبود عملکرد و سلامت گیاهان نشان داده‌اند. به‌عنوان نمونه، استفاده از *Pseudomonas fluorescens* در کشت گندم باعث بهبود رشد ریشه و افزایش جذب فسفر شده است (Adesemoye et al., 2009). همچنین، *Azospirillum brasilense* به‌طور مؤثر تحمل گیاه ذرت به خشکی را افزایش داده و منجر به رشد بهتر در شرایط کم‌آبی شده است (Bashan et al., 2014). *Rhizobium leguminosarum*نیز در همزیستی با گیاهان نخودفرنگی توانسته است نیتروژن خاک را تثبیت کرده و به کاهش مصرف کودهای نیتروژنه کمک کند (Peoples et al., 2009). در مدیریت بیماری‌ها، *Bacillus subtilis* با تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی، از پیشرفت بیماری پوسیدگی ریشه در گوجه‌فرنگی جلوگیری کرده است (Choudhary and Johri, 2009). همچنین، کاربرد *Pseudomonas putida* در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین موجب کاهش سمیت خاک و بهبود سلامت گیاهان شده است (Weyens et al., 2009b). این نتایج نشان می‌دهند کهPGPRها با کاربردهای متنوع، ابزارهای مؤثری برای افزایش بهره‌وری کشاورزی و بهبود پایداری زیست‌محیطی هستند.

[۸] Polyhydroxyalkanoates

جدول ۱- کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در کشاورزی به همراه اثرات آنها روی محصولات مختلف

ردیف	سویه‌های باکتریایی	محصول	شرایط ارزیابی	نکات برجسته	مرجع
۱	*Enterobacter hormaechei* ، *Rhizobium* spp. و *Pseudomonas fluorescence*	فلفل	گلخانه – استفاده از بذر تلقیح شده	گیاهان تلقیح شده علاوه بر مقاومت در برابر تنش خشکی، طول ساقه و ریشه بالاتری را نشان دادند.	(Admassie et al., 2022)
۲	*Bacillus subtilis* (MW644678, MW644686, MW644650, MW644649)	چغندرقند	گلخانه– با استفاده از بذر چغندرقند تیمار شده با هر باکتری	فعالیت ضد قارچی علیه *Sclerotome rolfsii* *Sacc* و کاهش شدت و بروز بیماری پوسیدگی ریشه. همچنین افزایش طول اندام هوایی و ریشه و وزن‌تر و خشک گیاه نیز ثبت شد.	(Farhaoui et al., 2022)
۳	*Streptomyces corchorusii* TKR8, *Streptomyces corchorusii* JAS2 and *Streptomyces misionensis* TBS5	برنج	گلخانه– با استفاده از بذور تلقیح شده	گیاهان تیمار شده، بهبودی در رشد گیاهان برنج و عملکرد دانه نشان دادند. علاوه بر این، کاهش شدت بیماری پوسیدگی خوشه باکتریایی برنج (BPB[۹]) در گیاهان تیمار شده مشاهده شد.	(Ngalimat et al., 2022)
۴	کنسرسیوم باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB[۱۰])	دانه روغنی کلزا	آزمایش گلدانی با استفاده از خاک طبیعی آلوده به کادمیوم	کنسرسیوم‌های مبتنی بر PGPB رشد گیاه را افزایش دادند، جذب و استخراج گیاهی کادمیوم در کلزا و حذف آن از خاک را افزایش دادند.	(Wang et al., 2022)
۵	*Enterobacter cloacae* و *Burkholderia cepacia*	سیر	رشد در شرایط آزمایشگاهی	شاخص‌های فیزیولوژیک و رشد سیر با تلقیح PGPB افزایش یافت.	(Costa Júnior et al., 2020)
۶	*Methylobacterium oryzae* MNL7 و*Paenibacillus polymyxa* MaAL70	شالیزار غرقاب	خاک مزرعه	عملکرد دانه و کیفیت مواد مغذی دانه برنج با تلقیح بهبود یافت. در همین حال، انتشار متان در مقایسه با تیمارهای بدون تلقیح کاهش یافت.	(Rani et al., 2021)
۷	*Paenibacillus taichungensis* ، *Rhizobium* sp.، *Enterobacter* sp.، *Paenibacillus* sp. ، *Pseudomonas* sp.	ارکیده کاتلیا واکر	تلقیح نهال‌ها در شرایط آزمایشگاهی	بهبود اکتساب مواد مغذی، فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی و افزایش رشد کلی گیاه.	(Andrade et al., 2023)
۸	*Pseudomonas gessardii* EU LUNA-25و *Erwinia rhapontici* EU-B1SP1	تاج خروس	شرایط کنترل شده (گلدان) و طبیعی (مزرعه آزمایشی).	استفاده از کنسرسیوم باکتری‌ها، رشد محصولات (رشد و عملکرد دانه) را افزایش دادند.	(Devi et al., 2022)
۹	*Acinetobacter calcoaceticus* P23, *Pseudomonas fulva* Ps6 and *Chryseobacterium* strains	علف اردک[۱۱]	تولید زیست توده با استفاده از محتوای نیتروژن کم و پساب کارخانه مواد غذایی با نمک بالا	کابرد ترکیبی PGPRها، رشد محصول را افزایش دادند،	(Khairina et al., 2020)
۱۰	*Azotobacter chroococum* و *A. vinelandii*	بادمجان	تلقیح ریشه در گیاهان در معرض سطوح مختلف تنش خشکی	تلقیح گیاهان تحت تنش خشکی، منجر به افزایش تولید ماده خشک، محتوای نسبی آب برگ، غلظت عناصر (K، Ca و Mg) در برگ، میزان پروتئین در ریشه و همچنین میزان ترکیبات فنلی و پرولین شد..	(Kiran et al., 2022)

ذرات نانو در کشاورزی

کاربرد ذرات نانو (NPs) در کشاورزی به‌عنوان یک فناوری نوآورانه و چندمنظوره شناخته می‌شوند که نقش قابل‌توجهی در بهبود بهره‌وری، پایداری و حفاظت از محیط زیست ایفا می‌کنند. در کشاورزی، ذرات نانو به‌طور گسترده‌ای در رهایش کنترل‌شده کودها و آفت‌کش‌ها، افزایش دسترسی به عناصر غذایی ضروری و تقویت مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی (مانند بیماری‌ها

[۹] Bacterial Panicle Blight

[۱۰] Plant Growth-Promoting Bacteria

[۱۱] Lemna sp.

و آفات) و غیرزیستی (مانند خشکی و شوری) استفاده می‌شوند (Kah et al., 2018).

تعریف و خواص

ذرات نانو که اندازه آن‌ها در محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر قرار دارد و به دلیل سطح به حجم بسیار بالا، خواص منحصربه‌فرد فیزیکی، شیمیایی و زیستی از خود نشان می‌دهند. این ویژگی‌ها شامل واکنش‌پذیری شیمیایی بالا، پایداری حرارتی افزایش‌یافته، خواص نوری استثنایی مانند پدیده پلاسمون سطحی[۱۲] (نوسانات جمعی الکترون‌های آزاد در سطح یک فلز در پاسخ به تحریک امواج الکترومغناطیسی) و هدایت الکتریکی و حرارتی بهبودیافته است (Rao et al., 2021). همچنین، اندازه کوچک این ذرات امکان نفوذ و تعامل بهتر آن‌ها را با ساختارهای زیستی، مانند دیواره سلولی و غشای گیاهان و میکروب‌ها را فراهم می‌آورد. این خصوصیات ذرات نانو را به ابزارهای قدرتمندی برای کاربردهای مختلف تبدیل کرده است. در کشاورزی، از ذرات نانو به‌عنوان حامل‌هایی برای آزادسازی کنترل‌شده کودها و آفت‌کش‌ها استفاده می‌شود، که این امر بهره‌وری نهاده‌ها را افزایش داده و اثرات منفی زیست‌محیطی را کاهش می‌دهد. به‌علاوه، برخی از ذرات نانو خاصیت ضدمیکروبی دارند و می‌توانند در برابر بیمارگرهای گیاهی مؤثر باشند. این ویژگی‌ها ذرات نانو را در طیف گسترده‌ای از حوزه‌ها، از کشاورزی و داروسازی تا فناوری‌های زیست‌محیطی، کاربردی و ارزشمند کرده است (Bhattacharyya et al., 2016).

ذرات نانو فلزی

ذرات نانو فلزی از پرکاربردترین ذرات نانو در کشاورزی هستند که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد خود، در طیف گسترده‌ای از کاربردها مورد استفاده قرار می‌گیرند. ذرات نانو نقره[۱۳] (AgNPs) به دلیل ویژگی‌های قوی ضدباکتریایی و ضدقارچی، در مدیریت بیماری‌های گیاهی کاربرد دارند. این ذرات نانو می‌توانند رشد ریزجانداران بیماری‌زا مانند *Fusarium* و *Pseudomonas syringae* را مهار کنند (Singh et al., 2021). ذرات نانو آهن[۱۴] (FeNPs)، به دلیل توانایی بالای خود در تأمین آهن قابل‌جذب برای گیاهان، در رفع کمبود آهن و بهبود فرایند فتوسنتز مؤثر بوده و منجر به افزایش رشد و عملکرد محصول می‌شوند (Kashyap et al., 2020). علاوه بر این، ذرات نانو مس[۱۵] (CuNPs) با خاصیت ضدمیکروبی قوی خود، در جلوگیری از بیماری‌های قارچی و باکتریایی نقش دارند. این ذرات نانو به‌عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش‌های شیمیایی معرفی شده‌اند که می‌توانند خطرات زیست‌محیطی را کاهش دهند. ذرات نانو روی[۱۶] (ZnNPs) نیز به‌عنوان نانوکود عمل کرده و نقش کلیدی در بهبود عملکرد فیزیولوژیکی گیاهان از جمله تولید هورمون‌های رشد و بهبود کیفیت دانه داشته‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ذرات نانو روی می‌تواند رشد گیاهانی مانند گندم و برنج را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهد (Zhang et al., 2021; Mazhar et al., 2023). در کنار مزایای این ذرات نانو در مدیریت بیماری‌های گیاهی، لازم است اثرات احتمالی آن‌ها بر جمعیت میکروبی مفید خاک، از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه(PGPR) ، نیز مورد توجه قرار گیرد و استفاده از آن‌ها با در نظر گرفتن غلظت و نحوه کاربرد مناسب صورت پذیرد.

ذرات نانو کربنی

ذرات نانو کربنی، شامل فولرن‌ها[۱۷]، نانولوله‌های کربنی (CNTs[۱۸]) و گرافن[۱۹]، به دلیل ساختار منحصربه‌فرد و خواص فیزیکی و شیمیایی برجسته، در بهبود رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی ایفا می‌کنند. فولرن‌ها به دلیل پایداری شیمیایی و ظرفیت بالای جذب، می‌توانند به‌عنوان حامل‌های مؤثر مواد مغذی و تنظیم‌کننده‌های رشد عمل کنند (Jha and Yadav, 2023). نانولوله‌های کربنی نیز به دلیل قابلیت نفوذ به بافت‌های گیاهی، انتقال آب و مواد مغذی را بهبود می‌بخشند و از طریق افزایش فتوسنتز و رشد ریشه، عملکرد محصول را ارتقا می‌دهند (Hao et al., 2023). علاوه بر این، گرافن و مشتقات آن مانند اکسید گرافن، با خواص آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالای تبادل یونی، می‌توانند در کاهش اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی مؤثر باشند (Zahedi et al., 2023).

---

[۱۲] Surface Plasmon
[۱۳] Silver nanoparticles
[۱۴] Iron nanoparticles
[۱۵] Copper nanoparticles
[۱۶] Zinc nanoparticles
[۱۷] Fullerenes
[۱۸] Carbon nanotubes
[۱۹] Graphene

مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از نانولوله‌های کربنی در گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی، انتقال مواد مغذی مانند پتاسیم را بهبود داده و رشد ریشه را افزایش داده است (Khodakovskaya et al., 2012). همچنین، اکسید گرافن در کاهش اثرات تنش‌های شوری و خشکی بر برنج مؤثر بوده و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سازگاری گیاهان با شرایط نامطلوب را بهبود بخشیده است (Zhang et al., 2020). این اثرات می‌توانند به طور مکمل با مکانیسم‌های عملکرد PGPR در بهبود جذب مواد مغذی، تحمل به تنش‌ها و در نهایت افزایش عملکرد گیاهان عمل کنند. بنابراین، ذرات نانو کربنی به‌عنوان ابزاری نوآورانه، نقش مهمی در ارتقای کشاورزی پایدار ایفا می‌کنند.

ذرات نانو پلیمری و زیستی

ذرات نانو پلیمری و زیستی به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری، پایداری بالا و سازگاری با محیط‌زیست، کاربرد گسترده‌ای در کشاورزی پایدار پیدا کرده‌اند. این ذرات نانو نقش مهمی در رهایش کنترل‌شده نهاده‌هایی مانند کودها و آفت‌کش‌ها ایفا می‌کنند و از هدررفت مواد شیمیایی جلوگیری می‌کنند (Pavithran et al., 2024). نانوکپسول‌های پلیمری، که معمولاً از پلی‌لاکتیک‌اسید (PLA[۲۰])، کیتوزان یا آلژینات ساخته می‌شوند، قادر به حمل و آزادسازی تدریجی آفت‌کش‌ها یا مواد مغذی هستند. این ویژگی موجب کاهش نیاز به مصرف مکرر نهاده‌ها و به حداقل رساندن اثرات زیست‌محیطی می‌شود (Vejan et al., 2021). همچنین، ذرات نانو زیستی تولیدشده از مواد طبیعی مانند پروتئین‌ها یا پلی‌ساکاریدها، ایمنی بالاتری برای محیط‌زیست و موجودات زنده دارند و در بهبود بهره‌وری کشاورزی مؤثر هستند. برای مثال، مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از نانوکپسول‌های پلیمری حاوی آفت‌کش‌ها در مزارع برنج توانسته است کارایی کنترل آفات را تا ۵۰ درصد افزایش دهد و مصرف آفت‌کش‌ها را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد(Grillo et al., 2014) . همچنین، ذرات نانو کیتوزانی به‌عنوان حامل کود نیتروژن در گیاه ذرت، بهبود چشمگیری در جذب نیتروژن و رشد گیاه نشان داده‌اند (Raliya et al., 2016).

نانوکامپوزیت‌ها[۲۱]

نانوکامپوزیت‌ها، ترکیبی از ذرات نانو با ماتریکس‌های آلی یا غیرآلی، به دلیل خواص مکانیکی، شیمیایی و فیزیکی بهبودیافته، جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی مدرن پیدا کرده‌اند. این مواد به‌طور گسترده در اصلاح خاک، افزایش بهره‌وری کودها و بهبود کیفیت بذرها به کار می‌روند. به دلیل سطح تماس بالای ذرات نانو در نانوکامپوزیت‌ها، این مواد قادر به بهبود تبادل مواد مغذی و کنترل آزادسازی آن‌ها هستند که به‌طور مستقیم به رشد و توسعه گیاهان کمک می‌کند. همچنین، نانوکامپوزیت‌های زیستی، به دلیل سازگاری با محیط‌زیست و قابلیت تجزیه زیستی، نقش مهمی در کشاورزی پایدار ایفا می‌کنند (Menossi et al., 2022). برای مثال، نانوکامپوزیت‌های حاوی ذرات نانو زئولیت و پلیمرها در اصلاح خاک شور توانسته‌اند جذب سدیم را کاهش داده و دسترسی گیاه به مواد مغذی را افزایش دهند (Miloševic et al., 2020). علاوه بر این، نانوکامپوزیت‌های کیتوزان-سیلیکای اصلاح‌شده به‌عنوان حامل‌های کود نیتروژن نشان داده‌اند که می‌توانند نیتروژن را به‌صورت تدریجی آزاد کنند و راندمان استفاده از کود را بهبود بخشند (Fertahi et al., 2021).

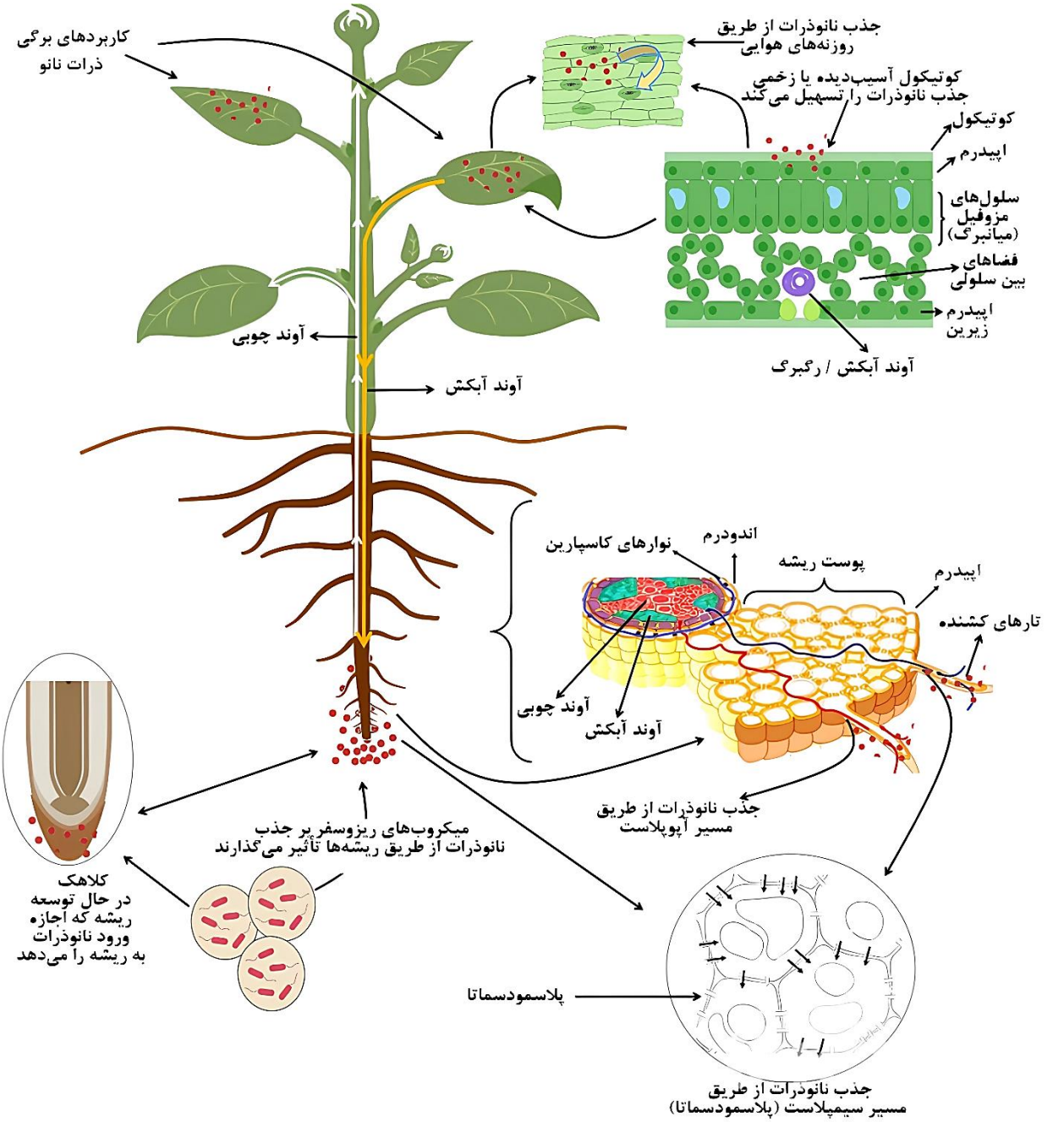
تأثیر ذرات نانو بر رشد گیاه

تأثیر ذرات نانو بر رشد گیاهان، موضوعی پیچیده و چندوجهی است که تحقیقات گسترده‌ای را به خود اختصاص داده و جنبه‌های مختلفی از فیزیولوژی و مورفولوژی گیاه را در بر می‌گیرد. مطالعات نشان داده‌اند که

[۲۰] Polylactic Acid

[۲۱] Nanocomposites

غلظت‌های پایین برخی ذرات نانو، بر خلاف تصور اولیه مبنی بر اثرات صرفاً سمی، می‌توانند به طور قابل توجهی رشد گیاهان و جوانه‌زنی بذرها را تحریک کنند (Xin et al., 2020). این اثرات تحریک‌کننده، به ویژه در غلظت‌های بهینه، می‌توانند منجر به افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی شوند. به عنوان مثال، پاشیدن ذرات نانو اکسید روی (ZnO) با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بر روی برگ‌های گیاه قهوه، نه تنها منجر به افزایش رشد بلکه باعث تجمع زیست‌توده گیاه نیز شد. محققان این اثر را به افزایش نرخ خالص فتوسنتز و در نتیجه، بهبود رشد گیاه نسبت دادند (Rossi et al., 2019). این نشان می‌دهد که ذرات نانو ZnO می‌توانند به عنوان یک کود برگی با قابلیت جذب بالا عمل کرده و فرآیند فتوسنتز را بهبود بخشند. مطالعه دیگری نشان داد که غلظت پایین ذرات نانو آهن (Fe) می‌تواند رشد جوانه‌های فلفل را تحریک کند. تجزیه و تحلیل میکروسکوپی نشان داد که ذرات نانو آهن با ایجاد تغییر در بافت برگ، از جمله افزایش تعداد کلروپلاست‌ها (اندامک‌های مسئول فتوسنتز) و تجمع ذرات در نقاط خاص و همچنین تنظیم توسعه دسته‌های آوندی (مسیرهای انتقال آب و مواد غذایی)، به طور مستقیم به رشد گیاه کمک می‌کنند (Nechitailo et al., 2018). این یافته حاکی از نقش ذرات نانو در بهبود ساختار و عملکرد اندام‌های گیاهی است. در بررسی تأثیر ذرات نانو مس (Cu) بر نخود، مشخص شد که تیمار با این ذرات نانو به طور معنی‌داری پارامترهای رشدی از جمله ارتفاع، طول ریشه وزن تازه و وزن خشک جوانه‌ها را افزایش می‌دهد. با استفاده از دستگاه آنالیز کارایی گیاه برای اندازه‌گیری کلروفیل و ارزیابی فتوسنتز، نتیجه‌گیری شد که ذرات نانو مس با افزایش فتوسنتز، رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (Sutulienė et al., 2022). این نشان می‌دهد که ذرات نانو مس نیز می‌توانند در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه مؤثر باشند. به طور کلی، نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند که قرار گرفتن در معرض دوزهای پایین ذرات نانو می‌تواند جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهان مختلف را بهبود بخشد، اما سازوکار دقیق اثرات مثبت ذرات نانو بر گیاهان هنوز به طور کامل مشخص نشده و نیازمند تحقیقات بیشتر است. عواملی مانند نوع نانوذره، اندازه، شکل، بار سطحی، غلظت و نوع گیاه، در نحوه تأثیرگذاری ذرات نانو نقش دارند (Francis et al., 2024). با وجود این پیچیدگی‌ها و عوامل مؤثر، درک نحوه ورود و انتقال نانوذرات در ساختار گیاهان برای تفسیر دقیق اثرات آن‌ها ضروری است. شکل ۲، مسیرهای مختلف جذب و انتقال نانوذرات در گیاهان را به تصویر می‌کشد، از جمله کاربرد برگی و جذب از طریق ریشه با جزئیاتی از مسیرهای آپوپلاست و سیمپلاست و همچنین نقش احتمالی میکروب‌های ریزوسفر در این فرآیند.



شکل ۲- مرور اجمالی مسیرهای ورود و انتقال نانوذرات در ساختارهای مختلف گیاهی (Khan et al., 2022)

تأثیر ذرات نانو بر کیفیت خاک

خاک به‌عنوان یکی از اجزای کلیدی اکوسیستم‌های زمینی، طیف گسترده‌ای از عملکردهای اکولوژیکی را بر عهده دارد. از منظر کشاورزی پایدار و حفاظت محیط‌زیست، ظرفیت یک خاک برای عملکرد در محدوده‌های اکوسیستم و استفاده از زمین، به‌منظور حفظ بهره‌وری زیستی، نگهداری کیفیت محیط‌زیست و ارتقاء سلامت گیاه و حیوان تعریف شده است (Verma et al., 2022; Anikwe and Ife, 2023; Sharma et al., 2023). این تعریف بر نقش محوری خاک در تضمین پایداری تولیدات کشاورزی و حفاظت از محیط‌زیست تأکید دارد. کیفیت خاک به‌واسطه ترکیبی از شاخص‌های شیمیایی، زیستی و فیزیکی تعیین می‌شود. عناصر شیمیایی کلیدی مؤثر بر کیفیت خاک شامل ماده آلی خاک، pH و در دسترس بودن ماکرومغذی‌ها مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم هستند. این مواد نقش اساسی در تأمین نیازهای غذایی گیاهان و حفظ چرخه‌های زیستی خاک ایفا می‌کنند. از

سوی دیگر، شاخص‌های زیستی شامل تنفس خاک، زیست‌توده میکروبی، معدنی‌شدن نیتروژن و فعالیت‌های آنزیمی خارج‌سلولی بوده که نشان‌دهنده وضعیت سلامت زیستی خاک و فعالیت ریزجانداران مفید می‌باشند. همچنین، شاخص‌های فیزیکی نظیر چگالی ظاهری، پایداری ساختاری و ظرفیت نگهداری آب به توانایی خاک در پشتیبانی از رشد گیاه و حفظ آب اشاره دارند (Nielsen and Winding, 2002; Bunemann et al., 2018).

در سال‌های اخیر، کاربرد ذرات نانو (NPs) و PGPR توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. تحقیقات نشان داده‌اند که کاربرد همزمان ذرات نانو و PGPRمی‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر بهبود کیفیت خاک و افزایش بهره‌وری کشاورزی داشته باشد. ذرات نانو با ارائه سطوح وسیع‌تر و فراهم کردن مواد مغذی بیشتر، شرایط بهینه‌ای را برای فعالیت و بقایPGPR ها فراهم می‌کنند. این هم‌افزایی منجر به بهبود کارایی PGPR در ارتقاء فرآیندهای زیستی خاک می‌شود (Nayana et al., 2020; Akhtar et al., 2021). کاربرد همزمان این دو فناوری نه‌تنها می‌تواند بهره‌وری گیاهان را افزایش دهد، بلکه باعث بهبود شاخص‌های کیفی خاک نظیر محتوای ماده آلی، فعالیت آنزیمی و پایداری ساختاری نیز می‌شود. این رویکرد نوین به‌ویژه در خاک‌های تخریب‌شده یا کم‌بازده، پتانسیل بالایی برای بازسازی و احیای خاک دارد و می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مؤثر در مدیریت پایدار منابع خاک مورد استفاده قرار گیرد (Alharbi et al., 2023).

بهبود کیفیت خاک از طریق کاربرد ترکیبی PGPR و ذرات نانو حاصل می‌شود، که با عملکردهای چندگانه خود اثرات تنش خشکی را کاهش می‌دهند. گزارش شده است که هنگامی که محتوای آب خاک به نصف ظرفیت مزرعه‌ای کاهش یافت، کاربرد همزمان NPs و PGPR به‌طور قابل‌توجهی شاخص‌هایی نظیر pH، هدایت الکتریکی (EC)، نیترات، فسفر، پتاسیم قابل استخراج و ماده آلی را در مقایسه با استفاده جداگانه از NPs یا PGPR بهبود داد (Akhtar et al., 2021; Rajput et al., 2023a). Sun و همکاران (2022) گزارش کردند که وقتی ذرات نانو FeO با خاک آلوده به آرسنیک (As) همراه با PGPR گونه *Providencia vermicola* به‌کار برده شدند، نتایج به‌طور قابل‌توجهی بهبود یافت و اثرات موثرتری به دست آمد. بر این اساس، نتایج نشان داد که استفاده ترکیبی از *P. vermicola* و FeO-NPs می‌تواند سمیت آرسنیک را در گیاهچه‌های زنیان[۲۲] کاهش داده و رشد و ترکیب گیاه را تحت تنش فلزات بهبود بخشد؛ این اثر از طریق ترشح متعادل اسیدهای آلی مشاهده شد (Sun et al., 2022). یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که ظرفیت بالاتر نگهداری آب خاک و کاهش همزمان تنش خشکی، بقای PGPRها را تقویت کرده و موجب افزایش جمعیت آنها می‌شود، که در نتیجه این باکتری‌ها فعالیت‌های خود را به شکلی مؤثرتر انجام می‌دهند (Ahmad et al., 2022).

با وجود پتانسیل بالای نانوذرات در بهبود جنبه‌های مختلف کشاورزی، استفاده از آن‌ها در کنار میکروارگانیسم‌های مفید خاک، به ویژه PGPR، می‌تواند مزایای متعددی را به همراه داشته باشد. تعامل بین نانوذرات و PGPR می‌تواند منجر به اثرات هم‌افزایی در بهبود رشد گیاه، افزایش جذب مواد مغذی، ارتقای تحمل به تنش‌ها و مدیریت بیماری‌ها شود. در بخش‌های بعدی این مطالعه مروری، به بررسی دقیق‌تر این برهمکنش‌ها و نقش آن‌ها در توسعه سیستم‌های کشاورزی پایدار خواهیم پرداخت.

PGPR و ذرات نانو

ترکیب ذرات نانو و PGPR به‌عنوان یک رویکرد نوآورانه در توسعه کودهای زیستی مورد توجه قرار گرفته است. این فناوری جدید به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه مانند هند در حال بررسی و پژوهش است و نتایج امیدوارکننده‌ای به همراه داشته است. ذرات نانو به دلیل خواص منحصربه‌فرد خود، از جمله سطح ویژه بالا

[۲۲] *Trachyspermum ammi*

واکنش‌پذیری شیمیایی بالا و قابلیت نفوذ به ریزمحیط‌های میکروبی، می‌توانند در بهبود کارایی باکتری‌های PGPR مؤثر باشند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که استفاده هم‌زمان از ذرات نانو و باکتری‌های PGPR می‌تواند یک اثر هم‌افزایی یا سینرژیک ایجاد کند که عملکرد هر دو عنصر را بهبود می‌بخشد (Malusá and Vassilev, 2014; Prasad et al., 2017). به‌طور خاص، مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیب منجر به بهبود تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های محرک رشد می‌شود، که تأثیر مستقیم بر حاصلخیزی خاک و افزایش بهره‌وری محصول دارد (Timmusk et al., 2018). علاوه بر این، افزایش زیست‌توده گیاه وزن ریشه و برگ و نیز بهبود دسترسی به فسفر خاک از دیگر نتایج مثبت گزارش شده است (Merinero et al., 2022). برای مثال، زمانی که ذرات نانو به‌طور هم‌زمان با PGPR مورد استفاده قرار می‌گیرند، تولید اکسین (IAA) توسط باکتری‌ها افزایش می‌یابد که تأثیر مثبتی بر رشد و توسعه گیاه دارد. این یافته‌ها اهمیت نقش ذرات نانو را به‌عنوان محرکی برای فعالیت‌های بیولوژیکی PGPR برجسته می‌سازد (Malusá and Vassilev, 2014). یکی دیگر از جنبه‌های مهم این ترکیب، افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. به‌عنوان نمونه، ترکیب ذرات نانو و PGPR می‌تواند مقاومت گیاهان را به تنش‌هایی مانند شوری، خشکی و آلودگی فلزات سنگین افزایش دهد. این اثرات احتمالاً به‌دلیل تغییر در فعالیت‌های متابولیکی گیاه و تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی است که از سوی این ترکیب القا می‌شوند. (Prasad et al., 2017).

مکانیسم‌های هم‌افزایی بین نانوذرات و PGPR

تعامل همزمان نانوذرات و PGPR می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند افزایش فراهمی زیستی مواد مغذی، بهبود جذب نانوذرات توسط گیاه، تغییرات متابولیکی مفید و برهم‌کنش‌های مستقیم با باکتری، به اثرات هم‌افزایی منجر شود. این مکانیسم‌ها نقش مهمی در افزایش رشد، عملکرد و مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند.

افزایش فراهمی زیستی مواد مغذی برای PGPR توسط نانوذرات

نانوذرات (NPs) می‌توانند با افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی در خاک، شرایط رشد بهتری برای باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) ایجاد کنند. به عنوان مثال، نانوذرات اکسید آهن (Fe3O4) به دلیل سطح ویژه بالا و قابلیت تبادل یونی، آهن را به‌آرامی در محیط آزاد کرده و در دسترس PGPR هایی مانند *Pseudomonas fluorescens* قرار می‌دهند. این باکتری با ترشح سیدروفور، قابلیت جذب آهن توسط گیاه را افزایش می‌دهد (Rai et al., 2021). همچنین، نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت (nHA) می‌توانند فسفر را به‌تدریج آزاد کرده و با افزایش انحلال فسفات‌های نامحلول، فعالیت آنزیم فسفاتاز ترشح‌شده توسط PGPR را تحریک کنند که منجر به افزایش جذب فسفر توسط گیاه می‌شود (Chen et al., 2020).

تسهیل جذب یا استفاده از نانوذرات توسط گیاه به کمک PGPR

PGPRها از طریق اثرات فیتوهورمونی و اصلاح محیط ریزوسفر می‌توانند جذب نانوذرات توسط گیاه را تسهیل کنند. این باکتری‌ها با تولید اکسین (IAA) و سیتوکینین، رشد و توسعه ریشه را تحریک کرده و سطح جذب مؤثر را افزایش می‌دهند. در یک مطالعه، *Azospirillum brasilense* موجب افزایش توسعه ریشه در گندم شده و جذب نانوذرات روی (ZnO) را بهبود بخشید (Kalia et al., 2022). علاوه بر این، PGPRها با ترشح سیدروفور و اسیدهای آلی می‌توانند نانوذرات فلزی را حل کرده و جذب آن‌ها را برای گیاه آسان‌تر کنند. به عنوان مثال، نانوذرات اکسید آهن در حضور *Pseudomonas putida* سریع‌تر حل شده و آهن بیشتری برای گیاه فراهم می‌کنند (Rajput et al., 2021).

تغییرات متابولیکی در گیاه در اثر استفاده همزمان از نانوذرات وPGPR

استفاده همزمان از نانوذرات و PGPR می‌تواند تغییرات متابولیکی قابل توجهی در گیاه ایجاد کند که منجر به افزایش رشد و مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود. نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO2) با افزایش تولید کلروفیل و بهبود کارایی فتو سنتز، رشد گیاه را افزایش می‌دهند. همزمان، PGPRهایی مانند B. subtilis با تولید فیتوهورمون ها و بهبود جذب مواد مغذی، عملکرد گیاه را تقویت می‌کنند (Wang et al., 2023). این اثر هم‌افزایی به بهبود تولید قند، افزایش انرژی سلولی و تقویت مقاومت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو منجر می‌شود.

تعاملات فیزیکی و شیمیایی مستقیم بین نانوذرات و PGPR

نانوذرات می‌توانند به‌طور مستقیم با PGPR تعامل کرده و فعالیت آن‌ها را تقویت کنند. به عنوان مثال، نانوذرات نقره (AgNPs) در غلظت‌های پایین، رشد و تولید بیوفیلم توسط P. aeruginosa را تحریک کرده و زیست‌توده میکروبی را افزایش می‌دهند (Shang et al., 2022). این بیوفیلم‌ها نه‌تنها موجب حفاظت از باکتری‌ها در برابر عوامل نامطلوب می‌شوند، بلکه پایداری بیشتر و تعامل مؤثرتری با ریزوسفر گیاه ایجاد می‌کنند. همچنین، نانوذرات فلزی مانند ZnO از طریق برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی به دیواره سلولی PGPR متصل شده و با تحریک متابولیسم باکتری، تولید ترکیبات محرک رشد را افزایش می‌دهند (Das et al., 2021).

مزایای ترکیب PGPR و ذرات نانو

افزایش بقا و فعالیت میکروبی

یکی از مزایای اصلی کاربرد همزمان PGPR با ذرات نانو، افزایش بقا و فعالیت میکروبی است. مواد نانو به دلیل خواص منحصر به‌فرد خود، از جمله پایداری حرارتی بالا، توانایی جذب پرتوهای مضر و محافظت در برابر تنش های محیطی، می‌توانند از ریز جانداران مفید موجود در کودهای زیستی محافظت کنند. این ترکیب می‌تواند در شرایط محیطی سخت، مانند دماهای بالا یا پایین و اشعه ماوراء بنفش، پایداری ریزجانداران را به میزان قابل توجهی افزایش دهد (Verma et al., 2022). به عنوان مثال، پوشش‌دهی PGPR با ذرات نانو می‌تواند اثرات مخرب عوامل تنشی محیطی را کاهش دهد و امکان بقای طولانی‌مدت ریزجانداران را فراهم کند (Verma et al., 2024).

علاوه بر این، ذرات نانو با ویژگی‌هایی نظیر اندازه کوچک و مساحت سطح بالا، انتقال کارآمدتر ریزجانداران به نواحی ریشه را تسهیل می‌کنند. این ویژگی به جذب بهتر باکتری‌ها در ریزوسفر کمک کرده و آن‌ها را به ریشه‌های گیاه نزدیک‌تر می‌کند، جایی که اثرات مفیدشان را می‌توانند اعمال کنند. این فرآیند نه‌تنها بقای PGPR را بهبود می‌بخشد، بلکه تعامل آن‌ها با گیاهان را نیز تقویت می‌کند، که به طور مستقیم منجر به افزایش سلامت خاک و رشد بهتر گیاهان می‌شود (Verma et al., 2024). همچنین، استفاده از ذرات نانو به‌عنوان حامل یا محافظ می‌تواند فعالیت متابولیکی باکتری‌ها را افزایش دهد، که به نوبه خود باعث تقویت فرآیندهایی مانند تثبیت نیتروژن، تولید اکسین و حل‌سازی فسفر می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که این تعامل سینرژیک (هم‌افزایی) می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی و کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی داشته باشد (Verma et al., 2024).

افزایش مقاومت به عوامل تنشی

کاربرد همزمان ذرات نانو و ریزجانداران مفید، به‌ویژه PGPR، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش های غیرزیستی بر محصولات کشاورزی دارد. این ترکیب می‌تواند از طریق مکانیزم های مختلفی تحمل گیاهان را بهبود بخشیده و خسارات ناشی از تنش‌هایی نظیر شوری،

خشکی، دماهای بالا و پایین و فلزات سنگین را کاهش دهد. برای مثال، در شرایط تنش شوری، استفاده از ذرات نانو مس اکسید (CuO) به همراه باکتری‌های *Bacillus* spp. و *Lactobacillus casei* تأثیر مثبتی بر کاهش آسیب DNA و بهبود متیلاسیون DNA در گیاهان گندم نشان داده است. این فرمولاسیون منجر به افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری شده و بهبود قابل‌توجهی در رشد و توسعه گیاهان تحت این شرایط ایجاد کرده است (Hosseinpour et al., 2021). همچنین ذرات نانو سیلیس، اگرچه مستقیماً تأثیر معناداری بر افزایش جمعیت باکتری‌های PGPR ندارند، اما نقش مهمی در بهبود اتصال و کلونیزاسیون این باکتری‌ها در گیاهان ایفا می‌کنند. این ذرات نانو تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS) توسط PGPR را تحریک کرده و در نتیجه ظرفیت نگه‌داری آب و فشار اسمزی ساختار بیوفیلم را افزایش می‌دهند. این فرآیندها در شرایط تنش خشکی، تأثیر مثبتی بر افزایش زیست‌توده گیاهان و بهبود مقاومت آن‌ها نشان داده‌اند (Fetsiukh et al., 2021). تأثیرات مثبت ذرات نانو در ترکیب با PGPR به این موارد محدود نمی‌شود. این ترکیب می‌تواند از طریق بهبود فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان در گیاهان، کاهش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS[۲۳]) و افزایش کارایی فتوسنتز، سلامت کلی گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی تقویت کند.

افزایش مقاومت به عوامل بیماریزای گیاه

از مزایای ترکیب ذرات نانو و کودهای زیستی، افزایش مقاومت گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا است. این ترکیب می‌تواند از دو طریق اصلی بر سلامت گیاه تأثیر بگذارد: تحریک پاسخ های ایمنی گیاه و تقویت جوامع میکروبی مفید که از رشد عوامل بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند (Verma et al., 2024). ذرات نانو به‌ویژه دارای توانایی منحصربه‌فردی در برانگیختن پاسخ‌های ایمنی ذاتی گیاهان هستند. این ذرات از طریق تغییر در مسیرهای سیگنال‌دهی گیاه، تولید متابولیت‌های ثانویه و تقویت فعالیت آنزیم‌های دفاعی، مقاومت گیاه را در برابر عفونت‌های میکروبی افزایش می‌دهند برای مثال، ذرات نانو نقره (Ag NPs) به دلیل خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی خود، توانایی مهار رشد عوامل بیماری‌زا را داشته و به گیاهان در مقابله با بیماری‌های گیاهی کمک می‌کنند (Verma et al., 2024) از سوی دیگر، کودهای زیستی حاوی باکتری‌های PGPR با ایجاد رقابت زیستی و ترشح ترکیبات ضدمیکروبی، نقش مهمی در مهار رشد عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند (Wang et al., 2024). ترکیب کودهای زیستی و ذرات نانو می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کرده و به طور قابل‌توجهی کارایی این دو عامل را افزایش دهد. این ترکیب می‌تواند تراکم جوامع میکروبی مفید در منطقه ریشه را افزایش داده و از رشد و توسعه بیمارگرهای خاکزاد جلوگیری کند (Karunakaran et al. 2024). استفاده از ذرات نانو در فرمول کودهای زیستی می‌تواند سیستم ایمنی گیاه را به‌طور پایدار تحریک کرده و منجر به کاهش شدت بیماری شود. این ترکیب همچنین باعث تقویت دیواره سلولی گیاهان و افزایش تولید متابولیت‌های دفاعی مانند فیتوالکسین‌ها[۲۴] می‌شود که به مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا کمک می‌کنند (Abdelghany et al., 2022).

تاثیر کاربرد همزمان نانو ذرات و باکتری‌های محرک رشد بر افزایش رشد و عملکرد گیاه؛ مطالعات موردی

اثرات ترکیبی ذرات نانو و PGPR به عنوان یک راهکار نوین در کشاورزی، پتانسیل چشمگیری در بهبود رشد، عملکرد و سلامت گیاهان نشان داده است. این رویکرد، مزایایی فراتر از کاربرد جداگانه هر یک از این عوامل ارائه می‌دهد. سازوکارهای متعددی در اثرگذاری این ترکیب دخیل هستند؛ از جمله افزایش دسترسی مواد مغذی

[۲۳] Reactive Oxygen Species

[۲۴] Phytoalexins

که از طریق عملکرد ذرات نانو به عنوان حامل مواد مغذی و فعالیت PGPRها در تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات، تولید سیدروفورها و غیره حاصل می‌شود (Dimkpa et al., 2020). تحریک سیستم ایمنی گیاه نیز از دیگر مزایای این ترکیب است. ذرات نانو با فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی ذاتی و PGPRها با سازوکارهایی مانند رقابت زیستی، تولید آنتی‌بیوتیک و القای مقاومت سیستمیک القایی (ISR)، حفاظت قوی‌تری در برابر عوامل بیماری‌زا فراهم می‌کنند (Ghorbani et al., 2021; Kumar et al., 2022). بهبود ساختار و عملکرد ریشه از طریق تحریک رشد و توسعه ریشه توسط ذرات نانو و تولید هورمون‌های گیاهی توسط PGPRها، منجر به افزایش سطح جذب مواد مغذی و آب می‌شود (Nair et al., 2016). همچنین، این ترکیب با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط ذرات نانو و تولید ترکیبات محافظتی توسط PGPRها، به گیاه در مقابله با تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و فلزات سنگین کمک می‌کند (Aqeel et al., 2021). مطالعات موردی متعددی اثرات مثبت این ترکیب را نشان داده‌اند. به عنوان مثال، استفاده توأم از ذرات نانو ZnO و باکتری *Azospirillum* باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه وزن خشک ریشه و اندام هوایی و میزان کلروفیل در گندم شده و جذب عناصر غذایی را نیز بهبود می‌بخشد (Aghaei et al., 2024). ترکیب ذرات نانو سیلیکون و باکتری *Bacillus methylotrophicus* نیز وزن‌تر و خشک ریشه و اندام هوایی سیب‌زمینی را افزایش داده و بیماری پوسیدگی نرم را مهار می‌کند (Viani et al., 2020). همچنین، ذرات نانو نقره می‌توانند رشد قارچ‌های بیماری‌زای خیار را مهار کنند (Tripathi et al., 2017). تأثیر کاربرد همزمان برخی از نانو ذرات و ریزجانداران مفید بر گیاهان در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- تأثیر کاربرد ترکیبی ذرات نانو و ریزجانداران بر گیاهان

ذره نانو	مقدار ذره نانو	باکتری محرک رشد گیاه	نوع گیاه	نتایج	منبع
اکسید روی (ZnO)	۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر	*Azotobacter chroococcum, Azospirillum lipoferum and Pseudomonas putida*	ترتیکاله	آنزیم فسفاتاز اسیدی، مقدار روی و پروتئین دانه	Kamari et al., 2017
نانواکسید آهن و نانوسیلیکون	۱ گرم در لیتر	*Azospirillum lipoferum and Pseudomonas putida*	ترتیکاله	افزایش عملکرد در شرایط محدودیت آبی	Aghaei etal., 2024
نانوکلات آهن	دو در هزار	*Mesorhizobium ciceri*	نخود دیم	میزان گره‌زایی ریشه، شاخص‌های زراعی و عملکرد دانه	Hamzei et al., 2014
اکسید مس (CuO)	۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم	میکروب‌های خاک	گندم	افزایش نیتریفیکاسیون، رشد گیاه و تثبیت N2	Guan et al., 2020
سیلیس (SiO_2)	۵۰ میکروگرم در میلی لیتر	*Bacillus thuringiensis, Paenibacillus polymyxa, Alcaligenes faecalis*	گندم	چسبیدن باکتری به ریشه توسط NPs، و تلقیح دوگانه، تحت شرایط استرس در پیت خاک زیست‌توده گیاه را افزایش داد	Timmusk et al., 2018
سیلیس (SiO_2)	۰/۰۵ پی پی‌ام	*Pseudomonas stutzeri*	شاهی	افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه	Boroumand et al., 2020
	۰/۰۷	*Mesorhizobium spp*			
	۰/۵ گرم در کیلوگرم	حل‌کننده‌های فسفات تثبیت‌کننده نیتروژن آزادکننده پتاسیم	ذرت	افزایش جمعیت باکتری‌ها، زیست‌توده کل و محتوای مواد مغذی خاک	Rangaraj et al., 2014
	۱۰ میلی گرم در لیتر	*Bacillus megaterium Bacillus Brevis*	فلفل قرمز	افزایش ۸۵ درصدی در تولید سیتوکینین	Kurdish et al., 2015
طلا (Au)	۰/۰۱۳ درصد	جامعه میکروبی خاک	کاهو	افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی	.Shankar et al 2004
آهن، روی و منگنز (Fe، Zn و Mn)	۴ و ۸ لیتر در هکتار	*Azotobacter spp. Pseudomonas Spp*	گندم بهاره	افزایش طول و تعداد سنبله، تعداد دانه، تعداد دانه در سنبله وزن دانه و تعداد روزها تا رسیدن به بلوغ فیزیولوژیکی	Mardalipour et al 2014
نقره (Ag)	۵۰ پی پی‌ام	خاک ریزوسفری	لوبیاچشم‌بلب/لی	پارامترهای رشد لوبیاچشم‌بلبلی و گره‌بندی ریشه بود افزایش یافت	Pallavi et al. 2016
			خردل هندی	تغییری مشاهده نشد	
اکسید روی (ZnO)	۵۰۰ میلی گرم درلیتر	*Azospirillum lipoferum, Bacillus coagulans, Bacillus circulance, and Bacillus subtilis*	گندم	افزایش تحمل به تنش شوری آب و خاک	Alharbi et al., 2023

علیرغم گزارشاتی مثبت مرتبط با ادغام کودهای زیستی و ذرات نانو و اثرات سینرژیستی آن، اما سؤالات و چالش‌هایی همچنان در این زمینه وجود دارد. استفاده از ترکیب ذرات نانو و کودهای زیستی همچنان در مراحل اولیه خود باقی مانده و نیازمند تحقیقات بیشتر برای ایجاد فرمولاسیون‌ها و دوزهای استاندارد شده است. درک جامع از تعامل‌های خاص بین ذرات نانو و PGPR در کودهای زیستی و محیط اطراف برای پیشرفت این زمینه ضروری است. اگرچه گزارشاتی نشان از اثرات هم‌افزایی ذرات نانو و کودهای زیستی است با این حال برخی از چالش‌هایی همچنان در این زمینه وجود دارد (Rehmanullah et al., 2020; Rai et al., 2023).

آماده‌سازی کودهای زیستی نانو

آماده سازی کودهای زیستی نانو یکی از مراحل کلیدی در بهبود کارایی و کاهش سمیت بالقوه نانوذرات بر PGPR است. در این فرآیند، انتخاب نوع نانوذره، غلظت بهینه، روش‌های فرمولاسیون و شرایط نگهداری نقش اساسی در حفظ زیست‌پذیری PGPR و اثربخشی کود دارند. نتایج پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که غلظت پایین و کنترل شده نانوذرات می‌تواند رشد گیاه و فعالیت PGPRرا بهبود بخشد، در حالی که غلظت‌های بالا منجر به سمیت و کاهش زیست‌پذیری می شود. علاوه بر این، روش‌های نوین فرمولاسیون مانند کپسوله‌سازی نانوذرات در پلیمرهای زیست‌سازگار یا پوشش‌های زیستی، با کاهش تماس مستقیم PGPR با نانوذرات، اثرات بازدارنده را به حداقل می‌رسانند و پایداری و کارایی کود را افزایش می‌دهند. در نهایت، شرایط نگهداری بهینه، شامل دمای پایین، محیط تاریک و pH مناسب، برای حفظ فعالیت زیستی PGPR و پایداری نانوذرات ضروری است. این عوامل، در کنار یکدیگر، به بهبود عملکرد کودهای زیستی نانو و افزایش بهره‌وری گیاهان زراعی منجر می‌شوند.

غلظت بهینه نانوذرات

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که غلظت نانوذرات به‌طور مستقیم بر زیست‌پذیریPGPR، عملکرد گیاه و جذب عناصر غذایی تأثیر می‌گذارد. نتایج پژوهش‌ها حاکی از آن است که غلظت‌های پایین‌تر از حد بحرانی (معمولاً در محدوده ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) دارای اثرات تحریک‌کننده بر رشد گیاه، فعالیت آنزیمی و تکثیر PGPRهستند، در حالی که غلظت‌های بالاتر می‌تواند منجر به تخریب غشای سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش زیست‌پذیری PGPR شود (López-Valdez et al., 2021; Shaikh et al., 2023). به عنوان مثال، در پژوهشی، نانوذرات اکسید روی (ZnO) در غلظت‌های پایین (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش رشد و بهبود فعالیت PGPR شدند، اما در غلظت‌های بالاتر (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اثرات بازدارنده و سمیت نشان دادند (Tripathi et al., 2022). بنابراین، تعیین غلظت های بهینه با توجه به نوع نانوذره، گونه PGPR و شرایط کشت، برای دستیابی به حداکثر کارایی ضروری است. به‌منظور کاهش خطر سمیت و افزایش پایداری، توصیه می‌شود از فرمولاسیون‌های آهسته‌رهش یا نانوذرات پوشش‌دار استفاده شود تا توزیع تدریجی و کنترل‌شده نانوذرات در محیط فراهم شود. این رویکرد نه تنها سمیت بالقوه را کاهش می‌دهد، بلکه فعالیت همزیستی PGPR و نانوذرات را نیز بهبود می‌بخشد (Zhang et al., 2024).

نوع نانوذره

انتخاب نوع مناسب نانوذره برای فرمولاسیون کود زیستی نانو نقش کلیدی در حفظ زیست‌پذیری PGPRو بهبود عملکرد گیاه دارد. مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید روی (ZnO) در غلظت‌های پایین (۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) می‌توانند با افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود فعالیت آنزیمی PGPR به رشد گیاه کمک کنند، اما در غلظت‌های بالاتر، منجر به آسیب اکسیداتیو و کاهش زیست‌پذیری باکتری‌ها می‌شوند (Tripathi et al., 2022). در مقابل، نانوذرات نقره (AgNPs) به دلیل خاصیت ضدمیکروبی قوی، پتانسیل بالایی برای کنترل عوامل بیماری‌زا دارند؛ با این حال، در برخی موارد، این نانوذرات اثرات بازدارنده‌ای بر PGPR نیز نشان داده‌اند، که می‌تواند زیست‌پذیری و عملکرد باکتری‌های مفید را کاهش دهد (Patel et al., 2021).

برای کاهش اثرات منفی برPGPR، پیشنهاد می‌شود از نانوذراتی با سمیت کمتر، مانند نانوذرات سیلیکون (Si-NPs) یا نانوذرات آهن(Fe-NPs)، در فرمولاسیون کودهای زیستی نانو استفاده شود. این ذرات نانو به دلیل زیست‌سازگاری بالا، پایداری مناسب و سمیت پایین، می‌توانند بدون آسیب بهPGPR، رشد گیاه را بهبود بخشند (Wang et al., 2023). همچنین، نانوذرات آهن با افزایش دسترسی به ریزمغذی‌ها و کاهش تنش‌های

اکسیداتیو، به فعالیت همزیستی PGPR و گیاه کمک می‌کنند. در این راستا، به‌کارگیری فرمولاسیون‌های ترکیبی (مانند پوشش‌دهی نانوذرات با پلیمرهای زیست سازگار) می‌تواند اثرات سمیت بالقوه را کاهش داده و کارایی کودهای زیستی نانو را بهبود بخشد.

شرایط نگهداری

شرایط نگهداری مناسب، عامل کلیدی در حفظ پایداری نانوذرات و زیست‌پذیری PGPR در کودهای زیستی نانو است. مطالعات نشان داده‌اند که دمای نگهداری، pH محلول، مدت زمان ذخیره‌سازی و نور محیط تأثیر مستقیمی بر فعالیت زیستی PGPR و پایداری شیمیایی نانوذرات دارند (Elmer & White, 2018). برای حفظ زیست‌پذیریPGPR، پیشنهاد می‌شود که کودهای زیستی نانو در دمای پایین (۸-۴ درجه سلسیوس) و محیط‌های تاریک و خشک نگهداری شوند. این شرایط باعث کاهش متابولیسم باکتری‌ها و افزایش طول عمر آن‌ها می‌شود. همچنین، نگهداری در محیط تاریک از واکنش‌های فتوشیمیایی و اکسیداسیون نانوذرات جلوگیری کرده و مانع از کاهش کارایی آن‌ها می‌شود (Singh et al., 2020).

pH محلول نیز عامل مهمی در حفظ پایداری است. برای جلوگیری از تجمع یا رسوب نانوذرات، محلول‌های حاوی کود زیستی نانو باید در pH نزدیک به خنثی (۷/۵-۶/۵) نگهداری شوند. pH خارج از این محدوده می‌تواند منجر به نابودی PGPR یا ناپایداری نانوذرات شود. علاوه بر این، مدت زمان ذخیره‌سازی نیز باید محدود باشد، زیرا افزایش زمان نگهداری می‌تواند منجر به کاهش زنده‌مانی باکتری‌ها و تغییر ساختار نانوذرات شود. بر اساس مطالعات، کودهای زیستی نانو در شرایط بهینه، می‌توانند حداقل ۳ تا ۶ ماه بدون افت کارایی ذخیره شوند (Zhao et al., 2021). برای افزایش ماندگاری و کارایی، می‌توان از روش‌های پایدار سازی مانند کپسوله سازی PGPR در پلیمرهای زیست‌تخریب پذیر یا ژل های زیستی و پوشش‌دهی نانوذرات با عوامل پایدارکننده (مانند پلی‌ساکاریدها یا پروتئین‌ها) استفاده کرد. این روش‌ها می‌توانند حفاظت بیشتری از PGPR و نانوذرات در برابر عوامل محیطی فراهم کرده و طول عمر کود را افزایش دهند.

روش‌های فرمولاسیون

فرمولاسیون مناسب کودهای زیستی نانو نقش مهمی در کاهش سمیت نانوذرات بر PGPR و بهبود کارایی محصول دارد. در این بخش، روش های نوین فرمولاسیون مورد بررسی قرار گرفته‌اند که می‌توانند اثرات منفی نانوذرات را کاهش داده و اثربخشی آن‌ها را افزایش دهند. یکی از روش‌های مؤثر، کپسوله سازی نانوذرات در پلیمرهای زیست‌سازگار یا لیپوزوم‌ها است. این فناوری باعث رهایش کنترل‌شده و تدریجی نانوذرات می‌شود و از تماس مستقیم و بیش از حد آن‌ها با PGPR جلوگیری می‌کند. در نتیجه، سمیت کاهش یافته و کارایی نانوذرات در انتقال مواد مغذی یا کنترل بیماری افزایش می یابد (Chhipa & Joshi, 2016). علاوه بر این، استفاده از پوشش‌های زیستی (Bio-coating) به‌عنوان راهکاری دیگر پیشنهاد شده است. در این روش، PGPR با مواد حفاظتی طبیعی مانند آلژینات، کیتوزان یا پلی‌ساکاریدها پوشش‌دهی می‌شوند. این پوشش‌ها باعث محافظت از PGPRدر برابر اثرات بازدارنده نانوذرات شده و زیست پذیری آن ها را در محیط افزایش می‌دهند (Rai et al., 2021). همچنین، پوشش‌های زیستی می‌توانند با افزایش ماندگاری PGPR و بهبود تحمل به تنش های محیطی، عملکرد کودهای زیستی نانو را در شرایط مزرعه بهبود بخشند. فرمولاسیون‌های هیبریدی نیز به‌عنوان راهکاری نوین معرفی شده‌اند. در این روش، نانوذرات و PGPR به صورت همزمان در یک ماتریکس زیستی پایدار سازی می‌شوند. این رویکرد نه‌تنها سمیت نانوذرات را کاهش می‌دهد، بلکه سینرژی بالاتری بین اثرات PGPR و نانوذرات ایجاد می‌کند که منجر به بهبود رشد و مقاومت

گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (Mahanty et al., 2022).

سایر عوامل مؤثر

در بخش تکمیلی، سایر عوامل کلیدی که بر آماده‌سازی و کاربرد کود زیستی نانو تأثیرگذار هستند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. یکی از این عوامل، روش‌های اختلاط و همگن‌سازی نانوذرات با PGPR است. اختلاط یکنواخت و پایدار نانوذرات با PGPR برای حفظ زیست‌پذیری باکتری‌ها و جلوگیری از تجمع یا رسوب نانوذرات ضروری است. روش‌هایی مانند امولسیون‌سازی، التراسونیکاسیون یا همگن‌سازی مکانیکی می‌توانند به توزیع یکنواخت و پایدار نانوذرات در فرمولاسیون کمک کنند (Mukherjee et al., 2020). عامل دیگر، زمان و نحوه کاربرد کود زیستی نانو در مزرعه است. مطالعات نشان داده‌اند که محلول‌پاشی برگی در مراحل اولیه رشد می‌تواند کارایی جذب را افزایش دهد، در حالی که کاربرد خاکی اثر طولانی‌مدت‌تری دارد و تعامل بیشتری با PGPR ایجاد می‌کند (Lateef et al., 2021). همچنین، تکرار و تناوب کاربرد نقش مهمی در اثربخشی کود دارد. کاربرد مکرر یا غلظت‌های بیش از حد نانوذرات می‌تواند منجر به تجمع آن‌ها در خاک و کاهش فعالیت میکروبی شود. در این راستا، فرمولاسیون‌های آهسته‌رهش (Slow-release) پیشنهاد شده‌اند که می‌توانند رهایش تدریجی نانوذرات را کنترل کرده و در عین حفظ تأثیر مثبت بر رشد گیاه، سمیت احتمالی بر PGPR را کاهش دهند (Kumar et al., 2021). در نهایت، ملاحظات زیست‌محیطی در زمان کاربرد نیز باید در نظر گرفته شوند. به عنوان مثال، کاربرد نانوذرات در شرایط تنش‌های محیطی (مانند خشکی یا شوری) می‌تواند بر پایداری و کارایی PGPR و عملکرد گیاه تأثیرگذار باشد. بنابراین، پیشنهاد شده است که ارزیابی‌های میدانی طولانی‌مدت برای تعیین اثرات نانوذرات بر میکروبیوم خاک و عملکرد گیاه انجام شود.

چالش‌ها و محدودیت‌ها

کاربرد ذرات نانو در کشاورزی به دلیل خواص منحصربه‌فرد آنها مزایای بسیاری دارد، اما استفاده از این فناوری با چالش‌های متعددی نیز همراه است که نیازمند بررسی دقیق و تحقیقات بیشتر است.

اثرات سمی احتمالی بر گیاهان و ریزجانداران خاک

یکی از نگرانی‌های اصلی، احتمال سمیت نانوذرات برای گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک است. مطالعات نشان داده‌اند که برخی ذرات نانو فلزی نظیر ذرات نانو نقره (Ag NPs) می‌توانند به ریشه گیاهان نفوذ کرده و حتی به قسمت‌های قابل خوردن مانند دانه‌ها انتقال یابند، که این امر تهدیدی جدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود (Yan and Chen, 2019). به عنوان نمونه، تجمع ذرات نانو نقره در ریشه‌ها، برگ‌ها و دانه‌های بادام‌زمینی به اثبات رسیده است (Rui et al., 2017). این ذرات نانو همچنین می‌توانند در سلول‌های گیاهانی مانند پیاز تجمع یافته و به ساختارهای زیستی نفوذ کنند (Fouda et al., 2020). مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که ذرات نانو طلا (Au NPs) می‌توانند از طریق ریشه وارد سیستم آوندی گیاهان شده و در برگ‌ها و دیگر بخش‌های گیاه تجمع یابند (Feichtmeier et al., 2015). گزارش شده که ذرات نانو اکسید فلزی نظیر ذرات نانو اکسید مس (CuO NPs) و اکسید روی (ZnO NPs) با نفوذ به ریشه گیاهان، ساختار سلولی را تغییر داده و باعث سمیت گیاه[۲۵] می شوند (Rajput et al., 2020). در گیاه گندم، تجمع این ذرات نانو روی سطح ریشه منجر

[۲۵] Phytotoxicity

به تغییر در ساختار مریستم‌های رأسی[۲۶] و کاهش طول ریشه شده است (Lahuta et al., 2022). در موارد دیگر، ذرات نانو اکسید آهن (Fe_2O_3 NPs) و تیتانیوم (TiO_2 NPs) نیز با تجمع در سلول‌های گیاهی، ساختار ریشه و سیستم آوندی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش جذب آب و مواد مغذی، تغییر در نرخ فتوسنتز و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه شده است (Katarína et al., 2021). علاوه بر این، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که نانوذرات می‌توانند بر جوامع میکروبی خاک نیز اثرات منفی داشته باشند، از جمله تغییر در تنوع و فعالیت آن‌ها، که می‌تواند بر چرخه‌های بیوژئوشیمیایی خاک تأثیر بگذارد (Dimkpa et al., 2013).

اثرات ضد میکروبی نانوذرات بر باکتری‌ها

نانوذرات به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی مانند اندازه کوچک، سطح ویژه بالا و واکنش‌پذیری زیاد، اثرات ضد میکروبی قوی علیه باکتری‌ها دارند. این اثرات از طریق مکانیسم‌های مختلفی اعمال می‌شوند. یکی از مکانیسم‌های اصلی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال‌های هیدروکسیل (OH)، سوپراکسید (O^{2-}) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است. این گونه‌ها به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA سلولی آسیب زده و منجر به استرس اکسیداتیو، اختلال در عملکرد سلولی و در نهایت مرگ باکتری می‌شوند(Kumar et al., 2020) . مکانیسم دیگر، آسیب مستقیم به غشای سلولی است. نانوذراتی مانند نقره و اکسید روی با غشای فسفولیپیدی سلول‌های باکتریایی برهم‌کنش کرده و باعث ایجاد حفره، نشت محتوای سلولی و اختلال در تعادل اسمزی می‌شوند. اختلال در عملکرد آنزیم‌ها و DNA نیز مکانیسم دیگری است که نانوذرات از طریق آن مانع از فعالیت‌های حیاتی باکتری‌ها می شوند. به عنوان مثال، نانوذرات نقره با اتصال به گروه‌های تیول در آنزیم‌های سلولی، عملکرد آن‌ها را مختل کرده و مانع از تکثیر DNA می‌شوند (Rai et al., 2012).

عوامل مؤثر بر سمیت نانوذرات برای باکتری‌ها

سمیت نانوذرات علیه باکتری‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد که شامل نوع نانوذره، اندازه، شکل، بار سطحی و غلظت آن‌ها است. نوع نانوذره، عامل کلیدی در سمیت آن است؛ به‌عنوان مثال، نانوذرات نقره و مس اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری نسبت به نانوذرات سیلیکا یا آهن دارند. اندازه نانوذرات نیز نقش مهمی ایفا می‌کند؛ هرچه نانوذرات کوچک‌تر باشند، سطح تماس بیشتری با سلول‌های باکتریایی دارند و اثربخشی ضد میکروبی آن‌ها افزایش می‌یابد (Morones et al., 2005). شکل نانوذرات نیز بر میزان سمیت تأثیر می‌گذارد؛ مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات با شکل‌های نامنظم یا لبه‌های تیز، آسیب بیشتری به دیواره سلولی باکتری وارد می‌کنند. بار سطحی نانوذرات نیز اهمیت دارد؛ به‌طور معمول، نانوذرات دارای بار مثبت به دلیل برهم‌کنش الکترواستاتیکی با غشای بار منفی باکتری‌ها، اثرات ضد میکروبی بیشتری دارند. علاوه بر این، غلظت نانوذرات تعیین‌کننده شدت سمیت است؛ در غلظت‌های بالا، سمیت بیشتری مشاهده می‌شود، در حالی که غلظت‌های پایین‌تر ممکن است فقط اثر مهاری ملایمی داشته باشند.

تأثیرات نانوذرات بر باکتری‌های مفید خاک و پیامدهای آن برای کشاورزی پایدار

در حالی که نانوذرات می‌توانند عوامل بیماری‌زا را کنترل کنند، تأثیرات منفی آن ها بر PGPR یکی از نگرانی‌های مهم در کشاورزی پایدار است. PGPRها نقش مهمی در تثبیت زیستی نیتروژن، حل‌کنندگی فسفر، تولید هورمون‌های گیاهی و القای مقاومت سیستمیک

[۲۶] Apical Meristems

دارند. با این حال، مطالعات نشـان داده‌اند که نانوذرات در غلظت‌های بالا می‌توانند زیســـت‌توده و تنوع میکروبی را کاهش داده و فعالیت آنزیم های خاک را مختل کنند (Simonin & Richaume, 2015). برای مثال، نانوذرات اکســـید مس در دوزهای بالا می‌توانند رشـــد و فعالیت باکتری‌های مفیدی مانند *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* را مهار کرده و در نتیجه بر عملکرد گیاه تأثیر منفی بگذارند (Wang et al., 2020). این مســـئله می‌تواند منجر به کاهش کیفیت خاک، کاهش بهره‌وری محصـــولات کشـــاورزی و بر هم خوردن تعادل میکروبیوم خاک شود.

آلودگی خاک و آب‌های زیرزمینی

اندازه کوچک و واکنش‌پذیری بالای نانوذرات، به‌ویژه در شـــرایط غیر اشـــباع و متخلخل خاک، می‌تواند منجر به افزایش تحرک آن‌ها در محیط زیست شود و خطر آلودگی خاک و آب‌های زیرزمینی را به همراه داشته باشد (Tourinho et al., 2012; de Moraes et al., 2021). پایداری بالای برخی نانوذرات، مانند اکســـیدهای فلزی (مانند نانوذرات اکســـید تیتانیوم و اکســـید روی)، در محیط‌هـای خـاکی و آبی، احتمـال تجمع آن‌هـا را در پروفیل‌های زیرین خاک و منابع آب افزایش می‌دهد. این تجمع می‌تواند منجر به تغییر در ســـاختار میکروبی خاک، ســـمیت برای موجودات زنده و اختلال در فرآیندهای زیســـتی طبیعی شـــود (Rashid et al., 2017). مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات از طریق فرایندهایی مانند جذب ســـطحی، ترســـیب یا کمپلکس شـــدن با ترکیبات آلی و معدنی، می‌توانند رفتار متفاوتی در محیط‌های مختلف از خود نشـــان دهند (Sharma et al., 2019). با این حال، درک ســـرنوشـــت و رفتار بلندمدت آن‌ها همچنان محدود اســـت. برای ارزیابی دقیق خطرات احتمالی، تحقیقات بیشـــتری در زمینه دینامیک انتقال، برهم‌کنش با ترکیبات خاک و تأثیر بر میکروبیوم‌های خاک مورد نیاز اســـت. همچنین، توســـعه فنـاوری‌هـایی مـانـنـد روکش‌هـای زیست‌سازگار یا اصلاح سطح نانوذرات می‌تواند به کاهش تحرک و سمیت آن‌ها در محیط زیست کمک کند (Khan et al., 2020).

هزینه‌های تولید و مصرف و صرفه اقتصادی

تولید نانوذرات با کیفیت بالا و در مقیاس صنعتی مســـتلزم فناوری های پیشـــرفته، مواد اولیه خالص و فرآیندهای پیچیده‌ای مانند سنتز شیمیایی یا زیستی، اصلاح ســـطح و خالص‌ســـازی اســـت که می‌تواند بســـیار پرهزینه باشـــد (Shah et al., 2021b). علاوه بر هزینه تولید، هزینه‌های جانبی مانند حمل‌ونقل، ذخیره‌ســـازی و پایش کیفیت نیز بر قیمت نهایی تأثیر می‌گذارد. این مســـئله، به‌ویژه در کشـــورهای در حال توســـعه، مانعی جدی برای پذیرش گســـترده این فناوری توســـط کشـــاورزان، به‌ویژه کشـــاورزان خرده‌پا، ایجاد می‌کند. یکی دیگر از چالش‌های اقتصـــادی، هزینه‌های کاربردی و اثربخشـــی بلندمدت نانوذرات اســـت. در حالی که نانوکودها و نانوآفت‌کش‌ها ممکن اســـت در کوتاه‌مدت عملکرد گیاه را افزایش دهند، ارزیابی مزایای اقتصـــادی بلندمدت آن‌ها (مانند بهبود بهره‌وری مصـــرف کود یا کاهش هزینه‌های نهاده‌های شـــیمیایی) همچنان نیازمند تحقیقات بیشـــتری اســـت (Parisi et al., 2015). برای افزایش صـــرفه اقتصـــادی، توسعه روش‌های سنتز ارزان‌تر (مانند سنتز سبز با استفاده از عصـــاره‌های گیاهی یا میکروارگانیســـم‌ها) و بهینه‌ســـازی کارایی نانوذرات از طریق کنترل دوز مصـــرف و روش‌های کاربردی هدفمند (مانند ســـیســـتم‌های کپســـوله‌ســـازی کنترل شده)، می‌تواند هزینه‌های تولید و مصرف را کاهش داده و پذیرش این فناوری را در مقیاس وســـیع‌تر تســـهیل کند (Khan et al., 2020).

میزان دقیق مصرف و استانداردهای بین‌المللی

در حال حاضر، دستورالعمل‌ها و استانداردهای مشـــخص و مدونی برای میزان مصـــرف نانوذرات در

کشاورزی در سطح بین‌المللی وجود ندارد. این خلأ نظارتی می‌تواند منجر به استفاده نادرست و غیراصولی از نانوذرات شود که خطر بروز اثرات ناخواسته زیست‌محیطی و مخاطرات برای سلامت انسان را افزایش می‌دهد (Rizwan et al., 2017). تعیین دوزهای بهینه و ایمن برای انواع مختلف نانوذرات و محصولات کشاورزی نیازمند تحقیقات جامع، چندرشته‌ای و بلندمدت است. عواملی مانند ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات (مانند اندازه، شکل، بار سطحی و ترکیب شیمیایی)، نوع خاک، شرایط اقلیمی و ویژگی‌های گیاه، همگی بر اثربخشی و رفتار نانوذرات در محیط کشاورزی تأثیر می‌گذارند (Khan et al., 2019). علاوه بر این، نبود هماهنگی بین استانداردهای ملی و منطقه‌ای، چالشی دیگر در پذیرش گسترده نانوذرات در کشاورزی است. برای مثال، اتحادیه اروپا مقررات سختگیرانه‌تری در زمینه ارزیابی ریسک نانوذرات دارد، در حالی که برخی کشورهای در حال توسعه فاقد پروتکل‌های نظارتی مشخص هستند (FAO, 2020). این ناهماهنگی می‌تواند مانع از تجارت بین‌المللی محصولات کشاورزی مبتنی بر نانوذرات شود. به منظور ارتقای ایمنی و کارایی، تدوین پروتکل‌های استاندارد برای ارزیابی سمیت، پایداری و دوز بهینه نانوذرات ضروری است. همچنین، توسعه پایگاه‌های داده جامع برای ثبت و تحلیل اثرات زیست‌محیطی و کشاورزی نانوذرات می‌تواند به بهبود مدیریت و تنظیم مقررات کمک کند.

توصیه مصرف با توجه به سطح تحقیقات فعلی

با وجود پتانسیل بالای نانوذرات در بهبود بهره‌وری کشاورزی، به دلیل ابهامات موجود در مورد اثرات بلندمدت زیست‌محیطی و سمیت احتمالی آن‌ها، توصیه مصرف گسترده این مواد در حال حاضر نیازمند احتیاط است. اگرچه مطالعات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای نتایج امیدوارکننده‌ای در زمینه افزایش عملکرد گیاه و بهبود جذب عناصر غذایی نشان داده‌اند، اما شواهد کافی از ایمنی و پایداری این فناوری در شرایط میدانی و در مقیاس وسیع وجود ندارد (Khan et al., 2019; Rizwan et al., 2017). در حال حاضر، تحقیقات بیشتری برای شناسایی مکانیسم‌های اثرگذاری نانوذرات، سرنوشت زیست‌محیطی آن‌ها (مانند انتقال، تجمع و تجزیه در خاک و آب) و ارزیابی ریسک‌های احتمالی در سیستم‌های کشاورزی واقعی ضروری است. این مطالعات باید به بررسی اثرات مزمن و تجمعی بر میکروبیوم خاک، سلامت گیاه، موجودات غیر هدف و زنجیره غذایی بپردازند. علاوه بر این، توسعه پروتکل‌های استاندارد برای تولید، فرمولاسیون، کاربرد و پایش نانوذرات در کشاورزی از اهمیت بالایی برخوردار است. این پروتکل‌ها باید شامل دستورالعمل‌های مشخص برای دوز مصرف، زمان‌بندی مناسب و روش‌های کاربردی ایمن باشند. همچنین، ایجاد پایگاه‌های داده جامع از اثرات زیست‌محیطی و کشاورزی نانوذرات می‌تواند به بهبود مدیریت ریسک و تدوین مقررات ایمنی کمک کند (FAO, 2020).

محدودیت‌های فناورانه و اثرات بر تنوع زیستی

توسعه و کاربرد ذرات نانو و PGPR همچنان با محدودیت‌های فناورانه روبه‌رو است. این محدودیت‌ها شامل پیچیدگی در طراحی ذرات نانو با قابلیت‌های خاص، هزینه‌های بالای تولید و نیاز به تجهیزات پیشرفته برای ارزیابی و نظارت بر تعامل آن‌ها در محیط خاک است (Grieger et al., 2012; Shah et al., 2021b). یکی دیگر از نگرانی‌های کلیدی، تأثیرات بالقوه ذرات نانو و PGPR بر تنوع زیستی و اکوسیستم‌های طبیعی است. تغییر در ساختار و ترکیب جوامع میکروبی خاک می‌تواند اثرات نامطلوبی بر زنجیره‌های غذایی و کارکردهای اکوسیستمی داشته باشد. تجمع ذرات نانو در خاک و گیاهان ممکن است بر زیست‌پذیری گونه‌های مفید تأثیر بگذارد و حتی منجر به بروز عدم تعادل در اکوسیستم شود (Dimkpa et al., 2013). این موارد نیازمند بررسی‌های جامع و پایش دقیق اثرات زیست‌محیطی در بلندمدت است. همچنین، ورود ذرات نانو به بدن انسان از طریق مصرف مواد غذایی می‌تواند خطراتی برای سلامتی ایجاد

کند، چراکه شواهد نشان می‌دهد این ذرات قادر به عبور از موانع زیستی بدن هستند.

نتیجه‌گیری

این پژوهش با بررسی جامع پتانسیل باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و نانوذرات در ارتقاء بهره‌وری و پایداری کشاورزی، نشان می‌دهد که این دو فناوری نوین، ابزارهای قدرتمندی برای بهبود عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی هستند. PGPRها با سازوکارهای گوناگون، از جمله افزایش دسترسی به عناصر غذایی ضروری، تولید هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد و تقویت سیستم دفاعی گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، نقش حیاتی در افزایش عملکرد و سلامت گیاه ایفا می‌کنند. از سوی دیگر، نانوذرات به دلیل سطح ویژه بالا، واکنش‌پذیری زیاد و قابلیت حمل مواد مغذی، به‌عنوان حامل‌های مؤثر برای انتقال عناصر غذایی عمل کرده و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را بهبود می‌بخشند. ترکیب این دو رویکرد می‌تواند اثرات هم‌افزایی چشمگیری به همراه داشته باشد و منجر به افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی شود. مطالعات موردی بررسی‌شده در این مقاله تأیید می‌کنند که کاربرد تلفیقی PGPR و نانوذرات، بهبودهای قابل توجهی در عملکرد گیاه، جذب عناصر غذایی و مقاومت به تنش‌های محیطی ایجاد کرده است. با این حال، چالش‌ها و محدودیت‌هایی نیز در این زمینه وجود دارد که نیازمند توجه و بررسی بیشتر است. ناشناخته بودن کامل سازوکارهای اثرگذاری نانوذرات بر گیاهان، نگرانی‌های زیست‌محیطی، سمیت احتمالی آن‌ها، تنوع پاسخ گیاهان مختلف به نانوذرات و PGPR، هزینه‌های تولید و کاربرد نانوذرات و نبود استانداردهای مشخص برای تولید و استفاده از آن‌ها، از جمله این چالش‌ها هستند. به‌ویژه، اثرات نامطلوب نانوذرات بر باکتری‌های مفید خاک (مانندPGPR) می‌تواند تعادل میکروبیوم خاک را مختل کرده و پایداری زیستی را تحت تأثیر قرار دهد. از این رو، کاربرد کنترل‌شده و هدفمند نانوذرات در کشاورزی ضروری است. برای رفع این چالش‌ها و استفاده مؤثر از فناوری PGPR و نانوذرات، پیشنهاد می‌شود تحقیقات آتی بر موارد زیر متمرکز شوند: نخست، بررسی دقیق‌تر سازوکارهای مولکولی و فیزیولوژیکی اثر نانوذرات بر گیاهان و PGPR ها، به‌ویژه در شرایط مزرعه، ضروری است. دوم، ارزیابی جامع اثرات زیست‌محیطی و سمیت نانوذرات در خاک، آب و گیاه در بلندمدت، با تمرکز بر تأثیر آن‌ها بر میکروبیوم خاک، اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین، مطالعه اثرات تلفیقی PGPRو نانوذرات بر طیف وسیع‌تری از گیاهان و در شرایط میدانی می‌تواند به بررسی پایداری و اثربخشی این فناوری در مقیاس وسیع کمک کند. توسعه روش‌های تولید سبز و پایدار برای سنتز نانوذرات، مانند استفاده از عصاره‌های گیاهی یا قارچ‌ها، می‌تواند اثرات زیست‌محیطی را کاهش دهد. افزون بر این، بهینه‌سازی غلظت و دوز مصرفی نانوذرات برای کاهش سمیت آن‌ها برPGPRها و سایر میکروارگانیسم‌های مفید خاک و همچنین استفاده از روش‌های کپسوله سازی و فرمولاسیون‌های آهسته‌رهش می‌تواند تماس مستقیم نانوذرات با میکروبیوم خاک را محدود کرده و اثرات نامطلوب را کاهش دهد. در این راستا، تدوین استانداردهای بین‌المللی و دستورالعمل‌های مشخص برای تولید، کاربرد و پایش نانوذرات در کشاورزی ضروری است. همچنین، بررسی تأثیر نانوذرات بر کیفیت و ارزش غذایی محصولات کشاورزی، از جمله میزان عناصر غذایی، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات مفید، باید در دستور کار پژوهش‌های آینده قرار گیرد. در نهایت، بهره‌گیری از فناوری‌های نوین مانند نانوبیوسنسورها برای پایش اثرات نانوذرات در محیط زیست و تعیین میزان تجمع آن‌ها در زنجیره غذایی، می‌تواند به افزایش ایمنی و اثربخشی این فناوری کمک کند. در مجموع، با انجام این تحقیقات و رفع چالش‌های موجود، می‌توان از پتانسیل بالای PGPR و نانوذرات به‌صورت مؤثرتری در جهت توسعه کشاورزی پایدار، افزایش بهره‌وری محصولات و حفظ سلامت محیط زیست و انسان بهره برد. تلفیق اصول زیست‌فناوری، نانوفناوری و مدیریت هوشمند منابع

زیستی می‌تواند راهگشای دستیابی به کشاورزی مدرن، کارآمد و پایدار باشد.

Refrences

1. Adesemoye, A.O., Torbert, H.A. and Kloepper, J.W., 2009. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(8), pp.876–884.
2. Aghaei, F., Sharifi, R.S. and Farzaneh, S., 2024. Effects of Nano Iron-Silicon Oxide on Yield and Some Biochemical and Physiological Characteristics of Triticale Under Salinity Stress. *Silicon*, pp.1-13.
3. Aizawa, S., 2014. Sinorhizobium meliloti-nitrogen-fixer in the grassland. *The Flagellar World: Electron Microscopic Images of Bacterial Flagella and Related Surface Structures*. First Edition, Academic Press, pp.82–83.
4. Akhtar, N., Ilyas, N., Hayat, R., Yasmin, H., Noureldeen, A. and Ahmad, P., 2021. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and silicon dioxide nano-particles for amelioration of drought stress in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, pp.160–176.
5. Al-Hasani, F.J., Hamad, Q.A. and Faheed, N.K., 2024. Enhancing the cell viability and antibacterial properties of alginate-based composite layer by adding active particulates. *Discover Applied Sciences*, 6(2), p.70.
6. Ali, S., Shafique, O., Mahmood, T., Hanif, M.A., Ahmed, I. and Khan, B.A., 2018. A review about perspectives of nanotechnology in agriculture. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 30(2), pp.116–121.
7. Anal, A.K., Singh, H. and Khare, S.K., 2003. Effect of process parameters on microencapsulation of probiotic bacteria using alginate. *Process Biochemistry*, 38(11), pp.1713–1718.
8. Artursson, V., Finlay, R.D. and Jansson, J.K., 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, 8(1), pp.1–10.
9. Bashan, Y., 1986. Alginate beads as synthetic inoculant carriers for the slow release of bacteria that affect plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 51, pp.1089–1098.
10. Bashan, Y., de-Bashan, L.E. and Prabhu, S.R., 2016. Superior polymeric formulations and emerging innovative products of bacterial inoculants for sustainable agriculture and the environment. In: Agriculturally important microorganisms: Commercialization and regulatory requirements in Asia. Singapore: Springer Singapore, pp.15–46.
11. Beck, D.P., Materon, L.A. and Afandi, F., 1993. *Practical Rhizobium-Legume Technology Manual*. Technical Manual No. 19. ICARDA, Aleppo, Syria.
12. Bhattacharyya, P. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria: A critical review. *Biotechnology Advances*, 30(4), pp.965–979.
13. Cao, Y., Glass, A.D. and Crawford, N.M., 2022. Understanding the transport and regulation of potassium and its importance for plant nutrition: Insights from genetic and molecular tools. *Plant Physiology*, 188(1), pp.27–38.

14. Cassidy, M.B., Lee, H. and Trevors, J.T., 1996. Environmental applications of immobilized microbial cells: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 16, pp.79–101.
15. Chen, J., Dou, Z., Zhang, Y. and Shi, J., 2020. Enhanced phosphorus availability by hydroxyapatite nanoparticles and phosphate-solubilizing bacteria. *Environmental Science and Pollution Research, 27*(4), pp.4290–4298.
16. Chen, J., Li, J., Zhang, H., Hu, J. and Li, W., 2018. Effects of potassium-solubilizing bacteria on potassium availability and microbial activity in a black soil in Northeast China. *Frontiers in Microbiology*, 9, p.1565.
17. Chhipa, H. and Joshi, P., 2016. Nanofertilizers, nanopesticides, nanosensors in agriculture. *Environmental Chemistry Letters*, 14(2), pp.229–240.
18. Corbo, M.R., Bevilacqua, A., Speranza, B., Di Maggio, B., Gallo, M. and Sinigaglia, M., 2016. Use of alginate beads as carriers for lactic acid bacteria in a structured system and preliminary validation in a meat product. *Meat Science*, 111, pp.98–203.
19. Cui, S. and Zhou, K., 2017. A comparison of the predictive potential of various vegetation indices for leaf chlorophyll content. *Earth Science Informatics*, 10, pp.169–181.
20. Das, S., Dash, P. and Mishra, S., 2021. Synergistic effect of nanoparticles and PGPR on growth and stress tolerance in plants. *Plant and Soil*, *466*(1), pp.101–120.
21. Devi, S.H., Bhupenchandra, I., Sinyorita, S., Chongtham, S.K. and Devi, E.L., 2021. Mycorrhizal fungi and sustainable agriculture. *Nitrogen in Agriculture–Physiological, Agricultural and Ecological Aspects*, pp.1–19.
22. Dobermann, A., 2005. Nitrogen use efficiency – state of the art. *Agronomy & Horticulture Faculty Publications*, 316, pp.1–16.
23. Draget, K.I., Taylor, C., Smidsrød, O. and Stokke, B.T., 2020. Alginates. In: *Handbook of Hydrocolloids*. Woodhead Publishing, pp.649–689.
24. Dzul Rashidi, N.F., Jamali, N.S., Mahamad, S.S., Ibrahim, M.F., Abdullah, N., Ismail, S.F. and Siajam, S.I., 2020. Effects of alginate and chitosan on activated carbon as immobilisation beads in biohydrogen production. *Processes*, 8(10), p.1254.
25. Elmer, W.H. and White, J.F., 2018. The use of soil amendments and beneficial microbes to manage plant diseases. *Biological Control*, 121, pp.476–486.
26. Etesami, H., Jeong, B.R. and Glick, B.R., 2021. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate–solubilizing bacteria, and silicon to P uptake by plant. *Frontiers in Plant Science*, 12, p.699618.
27. Fageria, N.K., Baligar, V.C. and Clark, R.B., 2001. *Physiology of Crop Production*. New York: CRC Press.
28. Fallah Nosratabab, A., Khoshru, B., 2024. Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture. *Soil Biology Journal*, 12 (1), 19-63.
29. Feichtmeier, N.S., Walther, P. and Leopold, K., 2015. Uptake, effects, and regeneration of barley plants exposed to gold nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, pp.8549–8558.
30. Fenice, M., Selbman, L., Federici, F. and Vassilev, N., 1999. Application of encapsulated Penicillium variabile P16 in solubilization of rock phosphate. *Bioresource Technology*, 73, pp.157–162.
31. Fouda, M.M., Abdelsalam, N.R., El-Naggar, M.E., Zaitoun, A.F., Salim, B.M., Bin-Jumah, M., Allam, A.A., Abo-Marzoka, S.A. and Kandil, E.E., 2020. Impact of high throughput green synthesized silver nanoparticles on agronomic traits of onion. *International Journal of*

Biological Macromolecules, 149, pp.1304–1317.

32. Francis, D.V., Abdalla, A.K., Mahakham, W., Sarmah, A.K. and Ahmed, Z.F., 2024. Interaction of plants and metal nanoparticles: Exploring its molecular mechanisms for sustainable agriculture and crop improvement. *Environment International*, p.108859.
33. Franken, P., 2012. The plant strengthening root endophyte Piriformospora indica: potential application and the biology behind. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96, pp.1455–1464.
34. Ghazy, N.A., Abd El-Hafez, O.A., El-Bakery, A.M. and El-Geddawy, D.I., 2021. Impact of silver nanoparticles and two biological treatments to control soft rot disease in sugar beet (Beta vulgaris L). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, pp.1–12.
35. Gill, S.S., Gill, R., Trivedi, D.K., Anjum, N.A., Sharma, K.K., Ansari, M.W., et al., 2016. Piriformospora indica: potential and significance in plant stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*, 7, p.332.
36. Glaeser, S.P., Imani, J., Alabid, I., Guo, H., Kumar, N., Kampfer, P., et al., 2016. Non-pathogenic rhizobium radiobacter F4 deploys plant beneficial activity independent of its host Piriformospora indica. *The ISME Journal*, 10, pp.871–884.
37. Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de Los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F.I., Orozco-Mosqueda, M.D.C., Fadiji, A.E., Hyder, S., Babalola, O.O. and Santoyo, G., 2023. Trichoderma species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—A review. *Plants*, 12(3), p.432.
38. Hao, Y., Yu, Y., Sun, G., Gong, X., Jiang, Y., Lv, G., Zhang, Y., Li, L., Zhao, Y., Sun, D. and Gu, W., 2023. Effects of multi-walled carbon nanotubes and nano-silica on root development, leaf photosynthesis, active oxygen and nitrogen metabolism in maize. *Plants*, 12(8), p.1604.
39. Hatami, M. and Ghorbanpour, M., 2024. Metal and metal oxide nanoparticles-induced reactive oxygen species: Phytotoxicity and detoxification mechanisms in plant cell. *Plant Physiology and Biochemistry*, p.108847.
40. Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), pp.579–598.
41. 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*, 109–110, pp.68–75.
42. Hodge, A. and Storer, K., 2015. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil*, 386(1–2), pp.1–19.
43. Hussain, A., Al-Dakheel, A.J., Rehman, S.U., et al., 2018. Role of potassium-solubilizing microorganisms to enhance soil fertility, plant growth, and potassium content. *Sustainable Agriculture Research*, 7(4), pp.1–11.
44. Ivanova, E., Chipeva, V., Ivanova, I., Dousset, X. and Poncelet, D., 2002. Encapsulation of lactic acid bacteria in calcium alginate beads for bacteriocin production. *Journal of Culture Collection*, 3, pp.53–58.
45. Ivanova, E., Teunou, E. and Poncelet, D., 2005. Alginate-based macro capsules as inoculants carriers for production of nitrogen biofertilizers. *Proceedings of the Balkan Scientific Conference of Biology*, Plovdiv, Bulgaria, pp.90–108.
46. Jahangir, S., Javed, K. and Bano, A., 2020. Nanoparticles and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) modulate the physiology of onion plant under salt stress. *Pak. J. Bot.*, 52(4), pp.1473–1480.
47. Jangir, P., Shekhawat, P.K., Bishnoi, A., Ram, H. and Sonin, P.,

2021. Role of *Serendipita indica* in enhancing drought tolerance in crops. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 116, p.101691.

48. Jha, S. and Yadav, A., 2023. Assessment of carbon and fullerene nanomaterials for sustainable crop plants growth and production. In *Engineered Nanomaterials for Sustainable Agricultural Production, Soil Improvement and Stress Management* (pp.145–160). Academic Press.
49. John, R.P., Tyagi, R.D., Brar, S.K., Surampalli, R.Y. and Prevost, D., 2011. Bio-encapsulation of microbial cells for target agricultural delivery. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 31, pp.211–226.
50. Jordan, D.C. Family III Rhizobiaceae. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, pp.234–242.
51. Kalayu, G., 2019. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 2019(1), p.4917256.
52. Kalia, A., Sood, S. and Bhardwaj, S., 2022. Role of plant growth-promoting rhizobacteria in enhancing ZnO nanoparticle uptake by wheat. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, *18*, 100711.
53. Kalra, Y.P., 1998. *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
54. Kapoor, D., Yadav, S., Sharma, M.M.M. and Sharma, P., 2023. Interaction between metal nanoparticles and PGPR on the plant growth and development. In *Nanomaterials and Nanocomposites Exposures to Plants: Response, Interaction, Phytotoxicity and Defense Mechanisms* (pp.327–351). Singapore: Springer Nature Singapore.
55. Katarína, K., Masarovičová, E. and Jampílek, J., 2021. Risks and benefits of metal-based nanoparticles for vascular plants. In *Handbook of Plant and Crop Physiology* (pp.922–963). CRC Press.
56. Khan, I., Awan, S.A., Rizwan, M., Hassan, Z.U., Akram, M.A., Tariq, R., Brestic, M. and Xie, W., 2022. Nanoparticle's uptake and translocation mechanisms in plants via seed priming, foliar treatment, and root exposure: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(60), pp.89823-89833.
57. Khan, M.S., Zaidi, A. and Wani, P.A., 2009. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture—a review. *Agron. Sustain. Dev.*, 27(1), pp.29–43.
58. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Mahjenabadi, V.A.J., Knežević, M., Hinojosa, A.C., Fadiji, A.E., Enagbonma, B.J., Qaderi, S., Patel, M., Baktash, E.M. and Dawood, M.F.A.M., 2024. Multidimensional role of *Pseudomonas*: from biofertilizers to bioremediation and soil ecology to sustainable agriculture. *Journal of Plant Nutrition*, pp.1–27.
59. Khosravi, H., Khoshru, B., Nosratabad, A.F. and Mitra, D., 2024. Exploring the landscape of biofertilizers containing plant growth-promoting rhizobacteria in Iran: Progress and research prospects. *Current Research in Microbial Sciences*, p.100268.
60. Kim, Y.J., Park, H.G., Yang, Y.L., Yoon, Y., Kim, S. and Oh, E., 2005. Multifunctional drug delivery system using starch-alginate beads for controlled release. *Biol. Pharm. Bull.*, 28, pp.394–397.
61. Klute, A., 1986. *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. Second Edition. ASA-CSSA-SSSA Publisher, Madison, Wisconsin, USA.
62. Kowalska, E., Ziarno, M., Ekielski, A. and Żelaziński, T., 2022. Materials used for the microencapsulation of probiotic bacteria in the food industry. *Molecules*, 27(10), p.3321.

63. Kumar, S., Nehra, M. and Dilbaghi, N., 2021. Nanotechnology-based sustainable agriculture: Current status and future implications. *Biotechnology Reports*, 30, e00677.
64. Kumaresan, G. and Reetha, D., 2012. Development of gel-based formulation enriched with different additives for long term survival of *Azospirillum* inoculant. *International Journal of Recent Scientific Research*, 3, p.11.
65. Lahuta, L.B., Szablińska-Piernik, J., Głowacka, K., Stałanowska, K., Railean-Plugaru, V., Horbowicz, M., Pomastowski, P. and Buszewski, B., 2022. The effect of bio-synthesized silver nanoparticles on germination, early seedling development, and metabolome of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecules*, 27(7), p.2303.
66. Lambers, H., 2022. Phosphorus acquisition and utilization in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 73(1), pp.17–42.
67. Lateef, A., Nazir, R., Jamil, N. and Shah, R., 2021. Sustainable agricultural practices through application of bio-nanofertilizers: An emerging perspective. *Environmental Research*, 197, 111023.
68. Lee, B.B., Ibrahim, R., Chu, S.Y., Zulkifli, N.A. and Ravindra, P., 2015. Alginate liquid core capsule formation using the simple extrusion dripping method. *Journal of Polymer Engineering*, 35(4), pp.311–318.
69. Ley, J., Barrio-Duque, A.D., Samad, A., Antonielli, L., Sessitsch, A. and Compant, S., 2019. Beneficial endophytic bacteria-*Serendipita indica* interaction for crop enhancement and resistance to phytopathogens. *Front. Microbiol.*, 10, p.3398.
70. López-Valdez, F., Fernández-Luqueño, F. and de la Rosa, G., 2021. Nanotechnology and plant-microbe interactions: A strategy for improving agricultural sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 671791.
71. Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R., 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86(1), pp.1–25.
72. Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M. and Tribedi, P., 2022. Nano-biofertilizer and nano-biopesticide: A sustainable approach for agricultural applications. *Frontiers in Microbiology*, 13, 854932.
73. Malusá, E., Sas-Paszt, L. and Ciesielska, J., 2012. Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *The Scientific World Journal*, 2012, pp.1–12.
74. Marschner, P., 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd ed. London: Academic Press.
75. Martinez, Y., Ribera, J., Schwarze, F.W. and De France, K., 2023. Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(18), pp.5595–5612.
76. 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.
77. Mazhar, Z., Akhtar, J., Alhodaib, A., Naz, T., Zafar, M.I., Iqbal, M.M., Fatima, H. and Naz, I., 2023. Efficacy of ZnO nanoparticles in Zn fortification and partitioning of wheat and rice grains under salt stress. *Scientific Reports*, 13(1), p.2022.
78. Meirelles, L.N., Mesquita, E., Corrêa, T.A., Bitencourt, R.D.O.B., Oliveira, J.L., Fraceto, L.F., Camargo, M.G. and Bittencourt, V.R.E.P., 2023. Encapsulation of entomopathogenic fungal conidia: evaluation of stability and control potential of *Rhipicephalus microplus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 14(4), p.102184.

79. Mendoza, J., Romero-Perdomo, F., Hernandez, J.P. and Uribe-Velez, D., 2021. *Bacillus* strains immobilized in alginate macro beads enhance drought stress adaptation of guinea grass. *Rhizosphere*, 19(14), p.100385.

80. Menossi, M., Casalongué, C. and Alvarez, V.A., 2022. Bio-nanocomposites for modern agricultural applications. In *Handbook of Consumer Nanoproducts* (pp.1201–1237). Singapore: Springer Nature Singapore.

81. Merinero, M., Alcudia, A., Begines, B., Martínez, G., Martín-Valero, M.J., Pérez-Romero, J.A., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Navarro-Torre, S., Torres, Y. and Merchán, F., 2022. Assessing the biofortification of wheat plants by combining a plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) and polymeric Fe-nanoparticles: allies or enemies?. *Agronomy*, 12(1), p.228.

82. Mukherjee, A., Majumdar, S. and Servin, A., 2020. Interaction of engineered nanomaterials with soil microbiota and plants: A review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 606084.

Patel, S., Singh, M. and Husain, M., 2021. Silver nanoparticles: Mechanisms of antimicrobial action and their potential application in agriculture. *Journal of Applied Microbiology*, 131(4), pp.1867–1883.

83. Narayan, O.M., Verma, N., Jogawat, A., Dua, M. and Johri, A.K., 2021. Sulfur transfer from the endophytic fungus *Serendipita indica* improves maize growth and requires the sulfate transporter. *Plant Cell*, 33(4), pp.1268–1285.

84. Nascimento, F.C., Santos, C.H., Kandasamy, S. and Rigobelo, E., 2019. Efficacy of alginate-and clay-encapsulated microorganisms on the growth of *Araçá-Boi* seedlings (*Eugenia stipitata*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 41, p.43936.

85. Nechitailo, G.S., Bogoslovskaya, O.A., Ol'khovskaya, I.P. and Glushchenko, N.N., 2018. Influence of iron, zinc, and copper nanoparticles on some growth indices of pepper plants. *Nanotechnologies in Russia*, 13, pp.161–167.

86. Nedović, V.A., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B. and Gökmen, V., 2017. Encapsulation of food bioactive compounds. In *Food Bioactive Compounds* (pp.285–325). Cham: Springer.

87. Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R., 1982. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. ASA-CSSA-SSSA Publisher, Madison, Wisconsin, USA.

88. Park, J.K. and Chang, H.N., 2000. Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnol Adv*, 18, pp.303–319.

89. Pavithran, R.K., Reddy, S.G., Kumar, B.S. and Kugabalasooriar, S., 2024. Enhancing sustainability in agriculture: natural polymer-based controlled release systems for effective pest management and environmental protection. *ES Food & Agroforestry*, 18, p.1276.

90. Perret, X., Staehelin, C. and Broughton, W.J., 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(1), p.1.

91. Pitaktamrong, P., Kingkaew, J., Yooyongwech, S., Cha-um, S. and Phisalaphong, M., 2018. Development of arbuscular mycorrhizal fungi-organic fertilizer pellets encapsulated with alginate film. *Engineering Journal*, 22(6), pp.65–79.

92. Rai, M., Bonde, S., Yadav, A. and Ingle, A.P., 2021. Nanotechnology in biofertilizers: Recent trends and future perspectives. *Environmental Chemistry Letters*, 19(3), pp.1911–1928.

Shaikh, S., Nazam, N. and Rizvi, M.A., 2023. Nanoparticles and their bio-interaction with plant growth-

promoting rhizobacteria: Implications for sustainable agriculture. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), 115.

93. Rai, P.K., Lee, S.S., Zhang, M. and Tsang, D.C.W., 2021. Nanoparticles and plant–microbe interactions: Synergistic effects on plant growth and sustainability. *Journal of Hazardous Materials*, *403*, 123102.
94. Rai, P.K., Rai, A., Sharma, N.K., Singh, T. and Kumar, Y., 2023. Limitations of biofertilizers and their revitalization through nanotechnology. *Journal of Cleaner Production*, p.138194.
95. Rajput, V., Minkina, T., Sushkova, S., Behal, A., Maksimov, A., Blicharska, E., Ghazaryan, K., Movsesyan, H. and Barsova, N., 2020. ZnO and CuO nanoparticles: a threat to soil organisms, plants, and human health. *Environmental Geochemistry and Health*, 42, pp.147–158.
96. Rajput, V.D., Minkina, T. and Mandzhieva, S., 2021. Effects of metal oxide nanoparticles on soil, plants, and growth promoting rhizobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *208*, 111687.
97. Regnault-Roger, C., 2011. Trends for commercialization of biocontrol agent (biopesticide) products. In *Plant Defence: Biological Control* (pp.139–160). Dordrecht: Springer Netherlands.
98. Rehmanullah, Muhammad, Z., Inayat, N. and Majeed, A., 2020. Application of nanoparticles in agriculture as fertilizers and pesticides: challenges and opportunities. In *New Frontiers in Stress Management for Durable Agriculture* (pp.281–293).
99. Rezaei Cherati, S., Anas, M., Liu, S., Shanmugam, S., Pandey, K., Angtuaco, S., Shelton, R., Khalfaoui, A.N., Alena, S.V., Porter, E. and Fite, T., 2022. Comprehensive risk assessment of carbon nanotubes used for agricultural applications. *ACS Nano*, 16(8), pp.12061–12072.
100. Richardson, A.E. and Simpson, R.J., 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability: update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*, 156(3), pp.989–996.
101. Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M.Z., Riaz, M., Adrees, M., Hussain, A., Zahir, Z.A. and Rinklebe, J., 2021. Effects of nanoparticles on trace element uptake and toxicity in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 221, p.112437.
102. Rossi, L., Fedenia, L.N., Sharifan, H., Ma, X. and Lombardini, L., 2019. Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica L.*) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, pp.160–166.
103. Rui, M., Ma, C., Tang, X., Yang, J., Jiang, F., Pan, Y., Xiang, Z., Hao, Y., Rui, Y., Cao, W. and Xing, B., 2017. Phytotoxicity of silver nanoparticles to peanut (*Arachis hypogaea L.*): physiological responses and food safety. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(8), pp.6557–6567.
104. Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Gholizadeh Vazvani, M. and Skorik, Y.A., 2021. Reducing drought stress in plants by encapsulating plant growth-promoting bacteria with polysaccharides. *International Journal of Molecular Science*, 22, p.12979.
105. Saberi Riseh, R., Skorik, Y.A., Kumar Thakur, V., Moradi Pour, M., Tamanadar, E. and Shahidi Noghabi, S., 2021. Encapsulation of plant biocontrol bacteria with alginate as a main polymer material. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, p.11165.
106. Schoebitz, M., Roldan, A. and Lopez, M.D., 2013. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil-plant fertilization. *Agronomy for Sustainable Development*, 33, pp.751–765.

107. Schwartz, A.R., Ortiz, I., Maymon, M., Herbold, C.W., Fujishig, N.A., Vijanderan, J.A., Villella, W., Hanamoto, K., Diener, A., Sanders, E.R., DeMason, D.A. and Hirsch, A.M., 2013. *Bacillus simplex*—A little known PGPB with anti-fungal activity—alters pea legume root architecture and nodule morphology when coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*. *Agronomy*, 3, pp.595–620.

108. Shang, Y., Hasan, M. and Akin, D., 2022. Nanoparticle-induced biofilm formation by plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, *19*, 100733.

109. Sharma, M., Schmid, M., Rothballer, M., Hause, G., Zuccaro, A., Imani, J. et al., 2008. Detection and identification of bacteria intimately associated with fungi of the order Sebacinales. *Cell Microbiol.*, 10, pp.2235–2246.

110. Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H. and Gobi, T.A., 2021. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), pp.587–612.

111. Siddhanta, S., Paidi, S.K., Bushley, K., Prasad, R. and Barman, I., 2017. Exploring morphological and biochemical linkages in fungal growth with label-free light sheet microscopy and Raman spectroscopy. *Chem Phys Chem*, 18, pp.72–78.

112. Silva, D., Ribeiro, A.J. and Reis, C.P., 2022. Microencapsulation of probiotics: a review of the different methods and their applications. *Foods*, 11(13), p.1952.

113. Singh, J., Kumar, V. and Kim, K.H., 2020. Nanoparticle-based fertilizers and their application in modern agriculture. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14, 100308.

114. Singhal, U., Khanuja, M., Prasad, R. and Varma, A., 2017. Impact of synergistic association of ZnO-nanorods and symbiotic fungus *Piriformospora indica DSM 11827* on *Brassica oleracea var. botrytis* (broccoli). *Frontiers in Microbiology*, 8, p.1909.

115. Sivakumar, P.K., Parthasarthi, R., and Lakshmipriya, V.P., 2014. Encapsulation of plant growth promoting inoculant in bacterial alginate beads enriched with humic acid. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3, p.6.

116. Smit, E., Wolters, A.C., Lee, H., Trevors, J.T., and van Elsas, J.D., 1996. Interaction between a genetically marked *Pseudomonas fluorescens* strain and bacteriophage øR2f in soil: Effects of nutrients, alginate encapsulation, and the wheat rhizosphere. *Microbial Ecology*, 31, pp.125–140.

117. Smith, S.E., and Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. San Diego: Academic Press.

118. Soares da Costa, L., Henrique Grazziotti, P., Christofaro Silva, A., and et al., 2019. Alginate gel entrapped ectomycorrhizal inoculum promoted growth of *Eucalyptus* clones cutting under nursery conditions. *Canadian Journal of Forest Research*.

119. Sutulienė, R., Ragelienė, L., Duchovskis, P., and Miliauskienė, J., 2022. The effects of nano-copper, -molybdenum, -boron, and -silica on pea (*Pisum sativum L.*) growth, antioxidant properties, and mineral uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, pp.1–14.

120. Syers, J.K., Johnston, A.E., and Curtin, D., 2008. Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use. *FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin*, 18(108), pp.5–50.

121. Szekalska, M., Puciłowska, A., Szymańska, E., Ciosek, P., and Winnicka, K., 2016. Alginate: current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Polymer Science*, 2016(1), p.7697031.

122. Takei, T., Yoshida, M., Hatate, Y., Shiomori, K., and Kiyoyma, Sh., 2008. Lactic acid bacteria-enclosing poly (ε-caprolactone) microcapsules as soil bioamendment. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, pp.268–272.
123. Tariq, A., Pan, K., Olatunji, O.A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., Sun, X., and et al., 2017. Phosphorus application improves drought tolerance of *Phoebe zhennan*. *Frontiers in Plant Science*, 8, p.5644.
124. Timmusk, S., Seisenbaeva, G., and Behers, L., 2018. Titania (*TiO2*) nanoparticles enhance the performance of growth-promoting rhizobacteria. *Scientific Reports*, 8(1), p.617.
125. Trevors, J.T., van Elsas, J.D., Lee, H., and Wolters, A.C., 1993. Survival of alginate encapsulated *Pseudomonas fluorescens* cells in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39, pp.637–643.
126. Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, V.P. and Prasad, S.M., 2022. Zinc oxide nanoparticles and their interactions with beneficial soil microbes: A review on mechanisms and applications. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 18, 100732.
127. Van Wylick, A., De Laet, L., Peeters, E., and Rahier, H., 2023. Encapsulation of fungal spores for fungi-mediated self-healing concrete. In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 378, p.02002). EDP Sciences.
128. Varma, A., Verma, S., Sahay, N., Bütehorn, B., and Franken, P., 1999. *Piriformospora indica*: a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp.2741–2744.
129. Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia del Moral, L.F., Kowalska, J., Tylkowski, B., and Eligio, M., 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.
130. Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., and Ahmad, N., 2021. Controlled release fertilizer: A review on developments, applications, and potential in agriculture. *Journal of Controlled Release*, 339, pp.321–334.
131. Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., Ismail, S., and Dadrasnia, A., 2019. Encapsulation of plant growth promoting rhizobacteria—prospects and potential in agricultural sector: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(19), pp.2600–2623.
132. Verma, K.K., Joshi, A., Song, X.P., Singh, S., Kumari, A., Arora, J., Singh, S.K., Solanki, M.K., Seth, C.S., and Li, Y.R., 2024. Synergistic interactions of nanoparticles and plant growth promoting rhizobacteria enhancing soil-plant systems: a multigenerational perspective. *Frontiers in Plant Science*, 15, p.1376214.
133. Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), pp.571–586.
134. Vitousek, P.M., Menge, D.N.L., Reed, S.C., and Cleveland, C.C., 2013. Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Biological Sciences*, 368, p.1621.
135. Wang, N., Wang, B., Wan, Y., Gao, B., and Rajput, V.D., 2023. Alginate-based composites as novel soil conditioners for sustainable applications in agriculture: A critical review. *Journal of Environmental Management*, 348, p.119133.
136. Wang, P., Menzies, N.W. and Lombi, E., 2023. Silicon nanoparticles in agriculture: Potential benefits and risks for plant growth and soil health. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1187321.
137. Wang, Q., Liu, J., and Zhu, H., 2018. Genetic and molecular mechanisms underlying symbiotic specificity in legume-rhizobium interactions. *Plant Science*, 9, p.313.

138. Wang, Y., Zhang, X. and Li, J., 2023. Synergistic effects of PGPR and TiO2 nanoparticles on plant growth and stress tolerance. *Science of The Total Environment, 866*, 161380.
139. Weir, S.C., Dupuis, S.P., Providenti, M.A., Lee, H., and Trevors, J.T., 1995. Nutrient enhanced survival of and phenanthrene mineralization by alginate-encapsulated and free *Pseudomonas sp. UG14Lr* cells in creosote-contaminated soil slurries. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43, pp.946–951.
140. Westerman, R.L., 1990. *Soil Testing and Plant Analysis*. 3rd ed. Book Series No. 3, SSSA, USA.
141. Wiwattanapatapee, R., Chumthong, A., Penagnoo, A., and Kanjanamaneesathian, M., 2013. Preparation and evaluation of *Bacillus megaterium* alginate microcapsules for control of rice sheath blight disease. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, pp.1487–1497.
142. Wu, Z., Zhao, Y., Kaleem, I., and Li, C., 2011. Preparation of calcium–alginate microcapsuled microbial fertilizer coating *Klebsiella oxytoca Rs-5* and its performance under salinity stress. *European Journal of Soil Biology*, 47, pp.152–159.
143. Xin, X., Zhao, F., Rho, J.Y., Goodrich, S.L., Sumerlin, B.S., and He, Z., 2020. Use of polymeric nanoparticles to improve seed germination and plant growth under copper stress. *Science of the Total Environment*, 745, p.141055.
144. Yan, A., and Chen, Z., 2019. Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), p.1003.
145. Younes, N.A., Dawood, M.F., and Wardany, A.A., 2019. Biosafety assessment of graphene nanosheets on leaf ultrastructure, physiological, and yield traits of *Capsicum annuum L.* and *Solanum melongena L. Chemosphere*, 228, pp.318–327.
146. Young, C.C., Rekha, P.D., Lai, W.A., and Arun, A.B., 2006. Bioencapsulation of plant growth-promoting bacteria in alginate beads enriched with humic acid. *Biotechnology and Bioengineering*, 1, pp.76–83.
147. Zahedi, S.M., Abolhassani, M., Hadian-Deljou, M., Feyzi, H., Akbari, A., Rasouli, F., Koçak, M.Z., Kulak, M., and Gohari, G., 2023. Proline-functionalized graphene oxide nanoparticles (GO-pro NPs): A new engineered nanoparticle to ameliorate salinity stress on grape (*Vitis vinifera L. cv Sultana*). *Plant Stress*, 7, p.100128.
148. Zhang, H., Wang, R., Chen, Z., Cui, P., Lu, H., Yang, Y., and Zhang, H., 2021. The effect of zinc oxide nanoparticles for enhancing rice (*Oryza sativa L.*) yield and quality. *Agriculture*, 11(12), p.1247.
149. Zhang, Y., Li, X. and Chen, G., 2024. Controlled release of nanoparticles for agricultural applications: Enhancing plant growth while minimizing environmental impact. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(4), pp.1123–1135.
150. Zhao, L., Huang, Y. and Hu, J., 2021. Nanotechnology for sustainable agriculture: Applications and perspectives. *Science of the Total Environment*, 755, 142466.
151. Zohar-Perez, C., Ritte, E., Chernin, L., Chet, I., and Nussinovitch, A., 2002. Preservation of chitinolytic *Pantoea agglomerans* in a viable form by cellular dried alginate-based carriers. *Biotechnology Progress*, 18, pp.1133–1140.

Contents

Subject **Page**

Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns).....155

Habiballah Nadian Ghomsheh

The efficiency of oil-degrading and phosphate-solubilizing bacteria in phosphorus availability of an oil-contaminated calcareous soil.....191

Komeil Zeynali, Shayan Shariati, Ahmad Ali Pourbabaee and Mehdi Shorafa

Investigating the effect of biofertilizers on improving the absorption of nutrients,growth and yield of hazelnut (Corylus avellana L.) trees in Eshkavrat area of Rudsar city in Gilan province.....213

Ali Lahiji and Farhad Rejali

Evaluation and Comparative Analysis of Plant Growth-Promoting Traits in Diverse Groups of Rhizosphere Bacteria.....235

Akram Otadi, Hassan Etesami, Houshang Khosravi and Hosseinali Alikhani

Screening and identification of the most effective rhizobial isolate(Mezorhizobiumciceri)and investigating its interaction with arbuscular mycorrhizal fungus in the yield and quality of chickpea seeds of Anna..…….....261

Mehrzad Ansari, Mohammad Jafar Malakouti, Farhad Rejali, Ali Mokhtassi Bidgoli and Saber Golkari

Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions……...……..279

Bahman Khoshru, Alireza Fallah Nosratabad, Houshang Khosravi, Ahmad Asgharzadeh and Laleh Faridian

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

Vol. 12, No 2
2025

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

Editorial Board

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

English Editor:	Amir Lakzian, PhD
Type and design:	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. 2, 2025

Contents

Subject **Page**

Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns).....155

Habiballah Nadian Ghomsheh

The efficiency of oil-degrading and phosphate-solubilizing bacteria in phosphorus availability of an oil-contaminated calcareous soil.....191

Komeil Zeynali, Shayan Shariati, Ahmad Ali Pourbabaee and Mehdi Shorafa

Investigating the effect of biofertilizers on improving the absorption of nutrients,growth and yield of hazelnut (Corylus avellana L.) trees in Eshkavrat area of Rudsar city in Gilan province.....213

Ali Lahiji and Farhad Rejali

Evaluation and Comparative Analysis of Plant Growth-Promoting Traits in Diverse Groups of Rhizosphere Bacteria.....235

Akram Otadi, Hassan Etesami, Houshang Khosravi and Hosseinali Alikhani

Screening and identification of the most effective rhizobial isolate(Mezorhizobiumciceri)and investigating its interaction with arbuscular mycorrhizal fungus in the yield and quality of chickpea seeds of Anna.....261

Mehrzad Ansari, Mohammad Jafar Malakouti, Farhad Rejali, Ali Mokhtassi Bidgoli and Saber Golkari

Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions.....279

Bahman Khoshru, Alireza Fallah Nosratabad, Houshang Khosravi, Ahmad Asgharzadeh and Laleh Faridian

www.sbj.areeo.ir