



نشریه علمی

زیست شناسی خاک

شاپا: ۲۵۳۶-۲۳۴۵

جلد ۱۳ شماره ۲ سال ۱۴۰۴

صفحه

فهرست

عنوان

- اثر قارچ *Serndipita indica* و باکتری *Sinorhizobium meliloti* بر غلظت و سینتیک رهاسازی روی در فرا ریشه یونجه آلوده به نانو اکسید روی..... لایلا تابنده، وحید محصلی و سهراب صادقی
 ۱۲۷
- امکان سنجی جداسازی تثبیت کنندگان نیتروژن اتوتروفی و هتروتروفی از زیست لایه پریفایتون در شالیزار و بررسی اثرات آن بر رشد گیاه برنج در شرایط گلخانه ای..... مهرا ن غلامی، حسینعلی علیخانی، حسن اعتصامی، زهرا کرمی، محدثه شیرین زاده و حمیدرضا زارع گیلدهی
 ۱۴۷
- کاربرد شاخص های زیستی برای سنجش سلامت خاک..... مهدیه لیلانی مرنده، حسینعلی علیخانی، احمد علی پوربابائی و شایان شریعتی
 ۱۷۱
- توزیع فراوانی و شناسایی مولکولی باکتری های بومی محرک رشد در جنوب استان فارس..... سید حسن تفرجی
 ۱۹۳
- بهبود رشد و جذب عناصر غذایی ذرت با محلول پاشی باکتری های محرک رشد فیلوسفر در شرایط مزرعه..... وحید اله جهاندیده مهجن آبادی، هادی اسدی رحمانی، مهدیه شمشیری پور و کاظم خاوازی
 ۲۱۳
- کودهای زیستی در گذار به کشاورزی پایدار: کاوشی جامع در نقش قارچ های اندوفیت، تریکودرما، مایکوریزا و باکتری های محرک رشد گیاه با تأملی بر پژوهش های ایرانی..... احمد اخوان
 ۲۲۹

نشریه علمی زیست شناسی خاک

جلد ۱۳ شماره (۲)

۱۴۰۴

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.

دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب

استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب

مدیر مسؤول: دکتر کامبیز بازرگان

سر دبیر: دکتر هادی اسدی رحمانی

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب

استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب

دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

استاد دانشگاه تهران

استاد دانشگاه تبریز

استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب

استاد دانشگاه زنجان

استاد دانشگاه فردوسی مشهد

استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز

استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

دکتر هادی اسدی رحمانی

دکتر حسین بشارتی

دکتر عبدالحسین ضیائیان

دکتر حسینعلی علیخانی

دکتر ناصرعلی اصغرزاد

دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد

دکتر احمد گلچین

دکتر امیر لکزیان

دکتر حبیب اله نادیان قمشه

دکتر فرشید نوربخش

ویراستار انگلیسی:

ویراستار فنی:

تعداد انتشار در سال:

دکتر امیر لکزیان

مهندس کیانا خامه چی

دو شماره

این نشریه در پایگاه‌های علمی زیر نمایه می‌شود:

www.isc.gov.ir

پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC):

www.sid.ir

پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی:

www.civilica

پایگاه سیولیکا:

www.sbj.areeo.ir

پایگاه الکترونیکی نشریه علمی زیست‌شناسی خاک:

www.soiliran.org

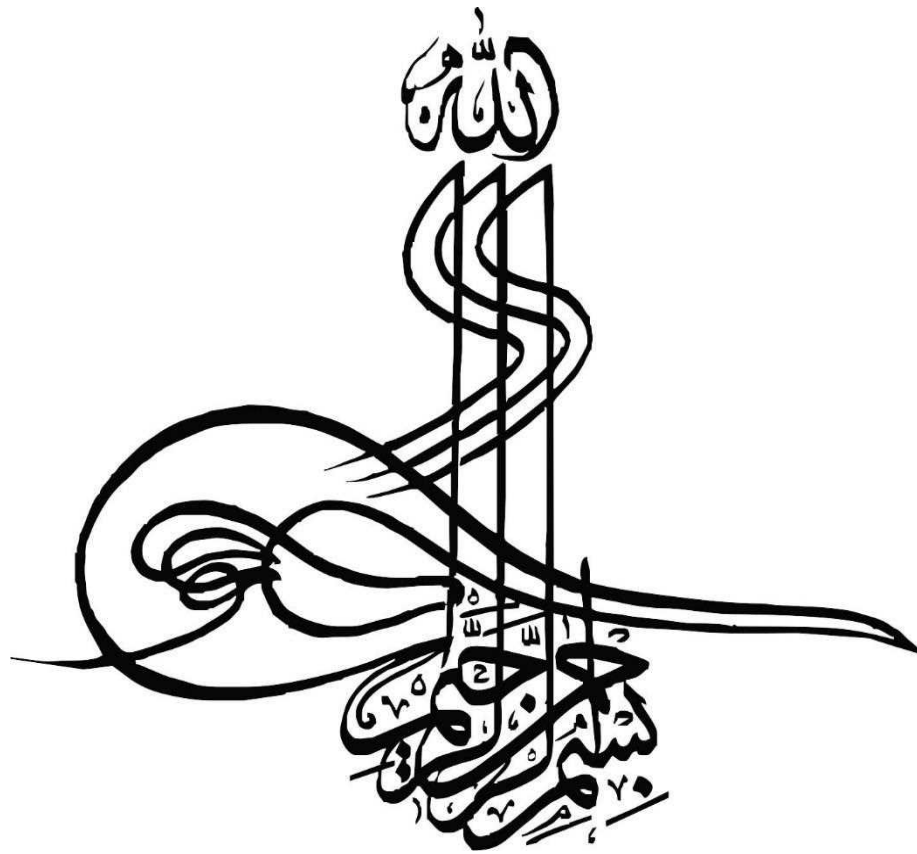
پایگاه الکترونیکی انجمن علوم خاک ایران:

www.swri.ir

پایگاه الکترونیکی مؤسسه تحقیقات خاک و آب:

jsb.soilbiology@yahoo.com

آدرس الکترونیکی دفتر مجله:



- اثر قارچ *Serndipita indica* و باکتری *Sinorhizobium meliloti* بر غلظت و سینتیک رهاسازی روی در
 فرا ریشه یونجه آلوده به نانو اکسید روی..... ۱۲۷
 لیلا تابنده، وحید محصلی و سهراب صادقی
- امکان‌سنجی جداسازی تثبیت‌کنندگان نیتروژن اتوتروفی و هتروتروفی از زیست‌لایه پریفایتون در شالیزار و
 بررسی اثرات آن بر رشد گیاه برنج در شرایط گلخانه‌ای..... ۱۴۷
 مهران غلامی، حسینعلی علیخانی، حسن اعتصامی، زهرا کرمی، محدثه شیرین‌زاده و حمیدرضا زارع‌گیلدهی
- کاربرد شاخص‌های زیستی برای سنجش سلامت خاک..... ۱۷۱
 مهدیه لیل‌اسی مرند، حسینعلی علیخانی، احمد علی پوربابائی و شایان شریعتی
- توزیع فراوانی و شناسایی مولکولی باکتری‌های بومی محرک رشد در جنوب استان فارس..... ۱۹۳
 سید حسن تفرجی
- بهبود رشد و جذب عناصر غذایی ذرت با محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد فیلوسفر در شرایط
 مزرعه..... ۲۱۳
 وحید اله جهان‌دیده مهجن آبادی، هادی اسدی رحمانی، مهدیه شمشیری پور و کاظم خاوازی
- کودهای زیستی در گذار به کشاورزی پایدار: کاوشی جامع در نقش قارچ‌های اندوفیت، تریکودرما،
 مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد گیاه با تأملی بر پژوهش‌های ایرانی..... ۲۲۹
 احمد اخوان

راهنمای جامع نویسندگان نشریه زیست شناسی خاک

نسخه ۳ - بازبینی تیر ماه ۱۴۰۴ (Version 3.0 - Revised July 2025)

نشریه زیست شناسی خاک، ضمن قدردانی از انتخاب این نشریه برای انتشار دستاوردهای علمی شما، این راهنمای جامع را به منظور همسوسازی با بالاترین استانداردهای نشر بین‌المللی ارائه می‌نماید. هدف ما، انتشار پژوهش‌های اصیل، نوآورانه و تأثیرگذار است که به پیشبرد دانش جهانی در حوزه علوم خاک کمک کند. از شما نویسنده محترم تقاضا داریم پیش از ارسال مقاله، این شیوه‌نامه را به دقت مطالعه فرموده و مقاله خود را بر اساس آن تنظیم نمایید.

فهرست مطالب

مقدمه

۱- انواع مقالات قابل پذیرش (Acceptable Article Types)

۱-۱- مقاله پژوهشی (Original Research Article)

۲-۱- مقاله مروری (Review Article)

۳-۱- مقاله کوتاه (Short Communication)

۴-۱- گزارش علمی (Scientific Report)

۵-۱- یادداشت فنی (Technical Note)

۲- راهنمای کامل تهیه مقاله پژوهشی (Detailed Guidelines for Original Research Articles)

۱-۲- شیوه‌نامه کلی نگارش و صفحه‌آرایی (General Formatting and Layout)

۲-۲- نوع و اندازه فونت‌ها (Font Type and Size)

۳-۲- ساختار کامل مقاله پژوهشی (Full Structure of a Research Article)

۳- ملاحظات اخلاقی و شفافیت در پژوهش (Ethical Considerations and Research Transparency)

۱-۳- اصالت اثر و سرقت علمی (Originality and Plagiarism)

۲-۳- تعارض منافع (Conflict of Interest)

۳-۳- معیارهای نویسندگی (Authorship Criteria)

۴-۳- بیانیه مشارکت نویسندگان (Author Contributions Statement)

۵-۳- بیانیه دسترسی به داده‌ها (Data Availability Statement)

۴- شیوه‌نامه ارجاع‌دهی و تنظیم منابع (Citation and Reference Style Guide)

۱-۴- سیاست‌های کلی (General Policies)

۲-۴- ارجاع‌دهی در متن (In-Text Citation)

۳-۴- فرمت فهرست منابع نهایی (Formatting the Final Reference List)

۱-۳-۴- مقاله مجله علمی (Journal Article)

۲-۳-۴- کتاب (Book)

۳-۳-۴- فصل از کتاب (Book Chapter)

۴-۳-۴- منبع فارسی ترجمه شده (Translated Persian Source)

۵-۳-۴- مقالات کنفرانس (Conference Proceedings)

۶-۳-۴- پایان‌نامه و رساله (Thesis and Dissertation)

۷-۳-۴- منبع آنلاین (Online Source)

۵- پیوست

۱- انواع مقالات قابل پذیرش (Acceptable Article Types)

نشریه زیست شناسی خاک پذیرای انواع مقالات علمی زیر است. این بخش به منظور راهنمایی نویسندگان برای انتخاب بهترین قالب جهت ارائه پژوهش خود تدوین شده است. لطفاً پیش از تهیه مقاله، بخش مربوط به نوع مقاله مورد نظر خود را به دقت مطالعه فرمایید.

۱-۱- مقاله پژوهشی (Original Research Article)

این نوع مقاله، اساس انتشارات علمی نشریه را تشکیل می‌دهد. مقاله پژوهشی باید گزارشی جامع و دقیق از یک تحقیق اصیل و منتشر نشده باشد که بر اساس جمع‌آوری و تحلیل داده‌های دست اول شکل گرفته است. هدف اصلی آن، ارائه یافته‌های جدید و یک مشارکت علمی معنادار در یکی از حوزه‌های تخصصی زیست‌شناسی خاک است. مقاله باید دارای فرضیه یا سؤالات تحقیقی مشخص و روش‌شناسی کاملاً شفاف و قابل تکرار باشد.

- (جزئیات کامل ساختار، فرمت و الزامات این نوع مقاله در بخش ۲ به تفصیل ارائه شده است).

۱-۲- مقاله مروری (Review Article)

این نوع مقاله باید یک تحلیل انتقادی، عمیق و جامع از وضعیت فعلی دانش در یک زمینه تخصصی و به‌روز در حوزه زیست‌شناسی خاک باشد. مقاله مروری صرفاً خلاصه‌ای از پژوهش‌های پیشین نیست، بلکه باید با ترکیب، تلفیق و ارزیابی منتقدانه منابع، به شناسایی الگوها، تناقضات، شکاف‌های پژوهشی و ارائه دیدگاه‌های نوین بپردازد. نویسندگان و ساختار این نوع مقاله به شرح زیر است:

- **نویسندگان:** این مقالات معمولاً توسط محققان برجسته و صاحب‌نظر که دارای سوابق پژوهشی قابل توجهی در آن حوزه هستند، تهیه می‌شوند. با این حال، نشریه از مقالات مروری با کیفیت بالا که توسط سایر محققان تهیه شده باشد نیز استقبال می‌کند.

• ساختار:

- **عنوان، مشخصات نویسندگان، چکیده‌ها و واژه‌های کلیدی:** مطابق با فرمت مقاله پژوهشی.
- **توجه:** در چکیده مبسوط مقالات مروری، به جای بخش Materials and Methods، بخش Review Methods (روش جستجو) قرار می‌گیرد (در این بخش به طور بسیار خلاصه به روش‌شناسی مقاله اشاره می‌شود. این بخش با "مواد و روش‌ها" در مقالات پژوهشی متفاوت است. در اینجا به مواردی مانند پایگاه‌های اطلاعاتی که در آن‌ها جستجو انجام شده (مثلاً PubMed, Scopus, Web of Science)، کلمات کلیدی مورد استفاده و معیارهای انتخاب یا رد مقالات اشاره می‌شود).
- **مقدمه:** تعریف دقیق دامنه و محدوده موضوع، بیان اهمیت آن و طرح سؤالات کلیدی که مقاله به آن‌ها پاسخ خواهد داد.
- **بدنه اصلی:** تقسیم‌بندی موضوع به بخش‌های منطقی (Thematic Sections) و تحلیل عمیق هر بخش.
- **بحث و چشم‌انداز آینده (Discussion and Future Outlook):** این بخش حیاتی باید شامل تحلیل وضعیت فعلی، شناسایی چالش‌ها و ارائه پیشنهادهای مشخص برای مسیرهای تحقیقاتی آینده باشد.

- نتیجه‌گیری: ارائه یک پیام نهایی قدرتمند که حاصل تحلیل جامع انجام شده است.
- حداکثر حجم: ۴۵ صفحه.

۳-۱- مقاله کوتاه (Short Communication)

این نوع مقاله برای انتشار سریع یافته‌های علمی بسیار مهم، نوآورانه و با پیامدهای قابل توجه در نظر گرفته شده است. این یافته می‌تواند یک کشف پیشگامانه، معرفی یک روش جدید با نتایج اولیه اما بسیار تأثیرگذار، یا مشاهده پدیده‌ای باشد که تئوری‌های موجود را به چالش می‌کشد.

- **ساختار:** ساختار این مقالات فشرده و یکپارچه است. نویسندگان باید در متنی روان و بدون تقسیم‌بندی‌های مرسوم، به ترتیب به بیان زمینه و اهمیت یافته، شرح بسیار مختصر روش کار، ارائه یافته کلیدی (حداکثر با ۱ یا ۲ جدول/شکل) و بحثی کوتاه پیرامون اهمیت آن بپردازد. تعداد منابع نیز باید محدود باشد.
- **نکته کلیدی:** این قالب برای مطالعات ناتمام یا نتایج اولیه کم‌اهمیت مناسب نیست. توجیه لزوم "انتشار سریع" به دلیل اهمیت بالای یافته، اساس پذیرش این نوع مقاله است.

۴-۱- گزارش علمی (Scientific Report)

تمرکز این نوع مقاله بر ارائه داده‌های ارزشمند، گسترده و با کیفیت بالا است که پتانسیل استفاده مجدد توسط سایر محققان را دارند، حتی اگر مقاله مبتنی بر یک فرضیه مشخص نباشد.

- **مثال‌ها:** نتایج یک پیمایش گسترده تنوع زیستی خاک، داده‌های حاصل از پایش بلندمدت یک شاخص اکولوژیک، اعتبارسنجی یک مدل در یک منطقه جدید، یا ارائه یک پایگاه داده جدید و مهم.
- **ساختار:**

- بخش "مواد و روش‌ها" در این نوع مقاله اهمیت حیاتی دارد و باید پروتکل کامل جمع‌آوری داده، کنترل کیفیت و ساختار دیتاست را با جزئیات کامل شرح دهد.
- بخش "بحث" باید یک بحث فنی (Technical Discussion) باشد و بر کیفیت، محدودیت‌ها و پتانسیل استفاده از داده‌ها تمرکز کند. در این بخش باید از تفسیرهای علمی گسترده پرهیز شود.
- **ارزش اصلی:** اعتبار این مقاله در خود داده‌ها و شفافیت کامل روش‌شناسی آن نهفته است.

۵-۱- یادداشت فنی (Technical Note)

این نوع مقاله به معرفی یک روش، تکنیک، نرم‌افزار یا ابزار آزمایشگاهی جدید یا بهبود یافته اختصاص دارد که کاربرد مستقیمی در تحقیقات زیست‌شناسی خاک دارد.

- **الزامات اصلی:**
- مقاله باید به وضوح نشان دهد که روش جدید چه بهبودی نسبت به روش‌های موجود ایجاد می‌کند (مثلاً افزایش دقت، کاهش هزینه، سرعت بالاتر).

- مقاله باید شامل داده‌های اعتبارسنجی باشد که کارایی و برتری روش جدید را در مقایسه با یک روش استاندارد اثبات کند.

• ساختار:

- مقدمه: بیان واضح مشکل یا محدودیت در روش‌های موجود.
- شرح فنی: توصیف دقیق، کامل و گام‌به‌گام روش یا ابزار جدید به گونه‌ای که کاملاً قابل پیاده‌سازی توسط دیگران باشد.
- نتایج اعتبارسنجی: ارائه داده‌هایی که مزیت روش جدید را اثبات می‌کند.
- بحث: خلاصه‌ای از مزایا، محدودیت‌ها و حوزه‌های کاربردی تکنیک جدید.

۲- راهنمای کامل تهیه مقاله پژوهشی (Detailed Guidelines for Original Research Articles)

۱-۲- شیوه‌نامه کلی نگارش و صفحه‌آرایی (General Formatting and Layout)

- نرم‌افزار: مقاله باید در نرم‌افزار Microsoft Word (نسخه ۲۰۰۷ یا بالاتر) تهیه شود.
- اندازه صفحه: A4
- حاشیه: ۳ سانتی‌متر از هر چهار طرف.
- فاصله خطوط: ۱,۵
- ستون‌بندی: تک ستونی.
- شماره‌گذاری سطور: از ابتدای مقاله تا انتها به صورت پیوسته (Continuous).
- حداکثر حجم: ۱۸ صفحه (شامل تمام بخش‌ها، جداول و اشکال).

۲-۲- نوع و اندازه فونت‌ها (Font Type and Size)

بخش مقاله	نوع قلم فارسی	اندازه	نوع قلم انگلیسی	اندازه
عنوان مقاله	B Nazanin (پررنگ/Bold)	۱۴	Times New Roman (Bold)	۱۳
نام نویسندگان	B Nazanin	۱۲	Times New Roman	۱۱
وابستگی سازمانی	B Nazanin	۱۰	Times New Roman	۹
چکیده فارسی	B Nazanin	۱۲	-	-
واژه‌های کلیدی فارسی	B Nazanin	۱۲	-	-
عناوین اصلی (مانند مقدمه)	B Nazanin (پررنگ/Bold)	۱۲	Times New Roman (Bold)	۱۱
متن اصلی مقاله	B Nazanin	۱۲	Times New Roman	۱۱
عنوان جدول و شکل	B Nazanin (پررنگ/Bold)	۱۱	Times New Roman (Bold)	۱۰
محتوای داخل جدول/شکل	B Nazanin	۱۰	Times New Roman	۹
منابع	-	-	Times New Roman	۱۰
چکیده انگلیسی مبسوط	-	-	Times New Roman	۱۱

۳-۲- ساختار کامل مقاله پژوهشی (Full Structure of a Research Article)

- ۱- عنوان (Title): باید کوتاه، جامع و منعکس کننده محتوای اصلی مقاله (حداکثر ۲۰ کلمه) باشد.
- ۲- مشخصات نویسندگان (Authors): این بخش باید در فایلی جداگانه با عنوان "Title Page" از سال شود. به منظور حفظ اصل داوری دوسو کور (Double-Blind Peer Review)، هیچ گونه اطلاعاتی از مشخصات نویسندگان نباید در فایل اصلی مقاله ذکر گردد.
- ۳- چکیده فارسی (Persian Abstract): به صورت ساختارمند و غیرمبسوط در یک پاراگراف (۲۵۰ الی ۳۰۰ کلمه) شامل بیان مسئله، هدف، روش کار، نتایج و نتیجه گیری نهایی باشد.
- ۴- واژه های کلیدی فارسی (Keywords): شامل ۳ الی ۶ واژه که در عنوان مقاله به کار نرفته و بر اساس حروف الفبا مرتب شده باشند.
- ۵- مقدمه (Introduction): شامل بیان اهمیت موضوع، مرور انتقادی پژوهش های پیشین، برجسته سازی شکاف دانشی (Knowledge Gap) و ارائه شفاف اهداف و فرضیه های تحقیق.
- ۶- مواد و روش ها (Materials and Methods): شرح دقیق و کامل مراحل تحقیق به گونه ای که برای سایر محققان قابل تکرار باشد. تمامی واحدها باید در سیستم استاندارد بین المللی (SI) ذکر شوند.
- ۷- نتایج (Results): ارائه عینی یافته ها با استفاده از متن، جداول و اشکال استاندارد.
 - اعداد: اعداد در متن فارسی به صورت فارسی (۱۲۳) و در جداول و نمودارها به صورت انگلیسی (123) تایپ شوند.
 - جداول: عنوان در بالای جدول قرار گیرد. جداول بدون خطوط عمودی و تنها با سه خط افقی اصلی ترسیم شوند.
 - اشکال: عنوان در پایین شکل قرار گیرد. اشکال باید با کیفیت بالا (حداقل ۳۰۰ DPI برای تصاویر و ۶۰۰ DPI برای نمودارهای خطی) در فرمت های استاندارد (JPEG, TIFF, EPS) باشند. فایل اصلی نمودارها (مثلاً Excel) نیز باید ارسال گردد.
- ۸- بحث (Discussion): تحلیل و تفسیر عمیق نتایج، مقایسه با پژوهش های بین المللی، بیان محدودیت ها و توضیح اهمیت یافته ها.
- ۹- نتیجه گیری (Conclusion): جمع بندی روشن و متمرکز بر یافته های کلیدی.
- ۱۰- سپاسگزاری (Acknowledgments): قدردانی از حمایت های مالی و فنی (حداکثر ۵۰ کلمه).
- ۱۱- منابع (References): فهرست منابع باید بر اساس بخش ۴ (شیوه نامه ارجاع دهی) این راهنما تنظیم شود.
- ۱۲- چکیده انگلیسی مبسوط (Extended English Abstract): در انتهای مقاله و پس از منابع، با حجمی بین ۷۵۰ الی ۱۰۰۰ کلمه و شامل بخش های مجزای Background and Objectives, Materials and Methods, Results و Conclusion. توجه: برای مقالات مروری، ساختار این بخش متفاوت بوده و در توضیحات مربوط به مقاله مروری در بخش ۱-۲ ذکر شده است.

۳- ملاحظات اخلاقی و شفافیت در پژوهش (Ethical Considerations and Research Transparency)

نشریه زیست‌شناسی خاک متعهد به رعایت بالاترین استانداردهای اخلاق در نشر (COPE) است.

- ۳-۱-۱ صالت اثر و سرقت علمی (Originality and Plagiarism): مقاله‌ار سالی نباید پیش از این منتشر شده یا همزمان برای نشریه دیگری ارسال شده باشد. تمام مقالات توسط سامانه‌های مشابه‌یاب بررسی می‌شوند و هرگونه سرقت علمی منجر به رد فوری مقاله خواهد شد.
- ۳-۲- تعارض منافع (Conflict of Interest): تمام نویسندگان موظف هستند هرگونه ارتباط مالی، شخصی یا حرفه‌ای که می‌تواند بر روی پژوهش تأثیرگذار باشد را به صورت یک بیانیه شفاف در انتهای مقاله (پیش از بخش منابع) ذکر کنند.
- ۳-۳- معیارهای نویسنده‌گی (Authorship Criteria): تمام افرادی که به عنوان نویسنده معرفی می‌شوند باید در پژوهش مشارکت قابل توجهی داشته باشند (طراحی، اجرا، تحلیل داده‌ها، نگارش یا بازبینی انتقادی مقاله).
- ۳-۴- بیانیه مشارکت نویسنده‌گان (Author Contributions Statement): برای افزایش شفافیت، اکیداً توصیه می‌شود که نقش دقیق هر یک از نویسندگان در بخشی مجزا پس از نتیجه‌گیری مشخص گردد.
مثال: علیرضا فلاح: مفهوم‌پردازی، روش‌شناسی، نگارش-پیش‌نویس اصلی. بهمن خوشرو: نظارت، اعتبارسنجی، نگارش-بازبینی و ویرایش.
- ۳-۵- بیانیه دسترسی به داده‌ها (Data Availability Statement): نویسندگان تشویق می‌شوند تا داده‌های خام تحقیق را در یکی از مخازن معتبر داده بارگذاری کرده و نحوه دسترسی به آن را در مقاله‌ی خود اعلام نمایند.

۴- شیوه‌نامه ارجاع‌دهی و تنظیم منابع (Citation and Reference Style Guide)

۴-۱- سیاست‌های کلی (General Policies)

- زبان: فهرست منابع نهایی باید صرفاً به زبان انگلیسی باشد.
- ترجمه: منابع فارسی باید به انگلیسی برگردانده شده و در انتهای آن عبارت (In Persian) ذکر شود.
- ترتیب: الفبایی بر اساس نام خانوادگی نویسنده اول.
- DOI: ذکر شناسه DOI برای تمام منابعی که دارای این شناسه هستند، الزامی است.

۴-۲- ارجاع‌دهی در متن (In-Text Citation)

- فرمت: (نویسنده، سال). مثال: (Fallah, 2025); (Fallah and Khoshru, 2025); (Fallah et al., 2025).

۴-۳- فرمت فهرست منابع نهایی (Formatting the Final Reference List)

۴-۳-۱- مقاله مجله علمی (Journal Article)

Author Last Name, A.A., Author Last Name, B.B. and Author Last Name, C.C., Year. Title of article. *Full Journal Name*, Volume(Issue), pp.Start-End. DOI: [doi link]

• مثال:

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. DOI: 10.1139/W09-041

۴-۳-۲- کتاب (Book)

Author Last Name, A.A., Year. *Title of Book*. Edition (if not the first). Publisher.

• مثال:

Marschner, P., 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd ed. Academic Press.

۴-۳-۳- فصل از کتاب (Book Chapter)

Author Last Name, A.A., Year. Title of chapter. In: Editor, A.A. (ed.) *Title of Book*. Publisher, pp.Start-End.

• مثال:

Olsen, S.R. and Sommers, L.E., 1982. Phosphorus. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 2*. 2nd ed. ASA and SSSA, pp.403-430.

۴-۳-۴- منبع فارسی ترجمه شده (Translated Persian Source)

Author Last Name, A.A., Year. Title of article in English. *Translated Journal Name*, Volume(Issue), pp.Start-End. (In Persian). DOI: [doi link]

• مثال:

Ahmadi, A. and Hosseini, H., 2025. The effect of biochar on microbial diversity of saline soils. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp.15-28. (In Persian). DOI: [doi link]

۴-۳-۵- مقالات کنفرانس (Conference Proceedings)

Author Last Name, A.A., Year. Title of paper. In: *Title of the conference proceedings*, Date of conference, Location. Publisher, pp.Start-End.

• مثال:

Hanbury, A., 2002. The taming of the hue, saturation and brightness colour Space. In: *7th Computer Vision Winter Workshop*, February 2002, Bad Aussee, Austria. pp.90-108.

۴-۳-۶- پایان نامه و رساله (Thesis and Dissertation)

Author Last Name, A.A., Year. *Title of thesis*. PhD/MSc Thesis. Name of University.

• مثال:

Khosru, B., 2020. *Interactions between Nanoparticles and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in a Calcareous Soil*. PhD Thesis. University of Tehran.

۴-۳-۷- منبع آنلاین (Online Source)

Author/Organization, Year. *Title of Page*. [Online] Available at: URL [Accessed Day Month Year].

• مثال:

Soil Science Society of Iran, 2025. *Publication Ethics Guidelines*. [Online] Available at: <https://sbj.areeo.ac.ir/ethics> [Accessed 9 July 2025].

۵- پیوست

جدول محدودیت انواع مقالات

نوع مقاله	محدودیت تعداد کلمه	تعداد صفحات هدف	محدودیت جداول/اشکال
مقاله پژوهشی	حدود ۶,۰۰۰ تا ۷,۰۰۰	۱۵ تا ۲۰	ندارد (بسته به ضرورت)
مقاله مروری	حدود ۱۰,۰۰۰ تا ۱۵,۰۰۰	۳۰ تا ۴۵	ندارد (بسته به ضرورت)
مقاله کوتاه	حداکثر ۲,۸۰۰	۵ تا ۸	مجموعاً حداکثر ۴ عدد*
گزارش علمی	حداکثر ۱,۲۰۰	۳	ندارد (با هدف ارائه کامل داده)
یادداشت فنی	حداکثر ۲,۵۰۰	۴ تا ۶	مجموعاً حداکثر ۴ عدد*

* مجموع تعداد جداول و اشکال نباید از ۴ بیشتر شود.

نشریه زیست شناسی خاک

فرم تعهد نامه

نشریه زیست شناسی خاک

اینجانب نویسنده مسئول مقاله زیر با
عنوان مقاله:

سال‌های اجراء آزمایش ذکر شود

موارد زیر را به آگاهی می‌رسانم:

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 چهارم مقاله

تعداد داوری	اسامی داوران
۵	دکتر حسین بشارتی
۱	وحید اله جهاننیده مهجن آبادی
۱	دکتر میثم چراغی
۳	دکتر هوشنگ خسروی
۴	دکتر بهمن خوشرو
۱	دکتر میرحسن رسولی صدقیانی
۱	دکتر سمانه سماوات
۹	دکتر شایان شریعتی
۱	دکتر مهدیه شمشیری پور
۲	دکتر علی عبادی
۲	دکتر ناصر علی اصغرزاد
۲	دکتر حبیب اله نادیان



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>

Research Article

Study of *Serendipita indica* and *Sinorhizobium meliloti* on Concentration and Kinetics of Zinc Release in Alfalfa Rhizosphere Contaminated with Zinc Oxide Nanoparticles

Leila Tabande¹, Vahid Mohasseli^{2*} , and Sohrab Sadeghi³

1-Researcher, , Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran. ltabande@gmail.com

2-Assistant Professor, , Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran. v.mohasseli@areeo.ac.ir

3-Member of Scientific Board, respectively, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran. sadeghi0917@gmail.com

Article Info

Extended Abstract

Received: 2025-05-26

Accepted: 2025-09-09

Keywords:

Alfalfa, Kinetic equations, Microbial inoculation, Rhizosphere, Zinc oxide nanoparticles, Zinc release kinetics.

Corresponding author's email:

v.mohasseli@areeo.ac.ir

DOI:

10.22092/SBJ.2025.3695
37.279

Background and Objectives: The application of nano-fertilizers, such as zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs), is an emerging strategy to improve micronutrient efficiency in sustainable agriculture. However, the overuse of ZnO-NPs, particularly in calcareous soils with low zinc availability, risks soil contamination and subsequent toxicity to plants and soil biota. The bioavailability of zinc from these nanoparticles is governed by complex interactions within the rhizosphere, involving the soil matrix, plant roots, and plant growth-promoting microorganisms (PGPMs). While PGPMs like fungi and bacteria can alter metal bioavailability, their combined effects and the resulting release dynamics are not fully understood. Therefore, this study aimed to investigate the effect of inoculating the fungus *Serendipita indica* and the bacterium *Sinorhizobium meliloti*, both individually and in combination, on the release kinetics of zinc in the rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.) grown in soil contaminated with different levels of ZnO-NPs.

Materials and Methods: This study was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications on alfalfa (*Medicago sativa* L.) cv. Hamedani in a greenhouse. The soil used was a loamy-clay collected from the 0-30 cm layer of Chitgaran station in Shiraz, Iran, with a pH of 8.3, 0.71% organic matter, and 42.5% calcium carbonate equivalent. The soil was autoclaved at 121°C for 25 minutes before use. Treatments included three levels (0, 400, and 800 mg kg⁻¹ soil) of ZnO-NPs (average diameter of 10 nm, sourced from Pishgaman Nano Mavadd-e Iran Co.) and four levels of microbial inoculation (a non-inoculated control, *S. indica* alone, *S. meliloti* alone, and co-inoculation of the fungus and bacterium). Soils were incubated for three months at field capacity to allow for equilibration reactions. The *S. indica* inoculum was prepared by collecting spores from a 4-week-old culture, with the final concentration adjusted to 5×10⁵ spores mL⁻¹. The *S. meliloti* strain, selected for its high N-fixation and PGP traits (including possession of *nfe*, *putA*, and *acdS* genes), was cultured for 48 hours, and the inoculum was adjusted to 5×10⁷ cells mL⁻¹. In order to find the best model to describe the zinc release pattern, time-dependent release data were fitted to nine kinetic equations (zero-, first-, second-, third-order, parabolic diffusion,

power function, simplified Elovich, pseudo-first-order, and pseudo-second-order). For each experimental treatment, the best kinetic equation was selected based on the highest coefficient of determination (R^2) and the lowest standard error (SE). Zinc concentrations were measured using an atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu AA 670). Statistical analysis was performed using SAS 9.1, and means were compared using the LSD test at $P \leq 0.05$.

Results: The results showed that co-inoculation of the fungus and bacterium at 400 and 800 mg Zn kg⁻¹ had the lowest rhizosphere pH value, resulting in a decrease of 15.25% and 6.81%, respectively, compared to the zero-Zn level. Also, at the 800 mg Zn kg⁻¹ level, inoculation with the fungus alone and co-inoculation with the bacterium were equally effective, showing the highest ability to release zinc from the rhizosphere soil; these treatments led to an increase of 27.79% and 26.42%, respectively, in the amount of cumulative zinc released compared to the uninoculated condition. The study of the zinc release pattern under the influence of different zinc levels and microbial inoculation showed that the process of zinc release in all treatments followed a two-stage kinetic process that starts with a fast release step and then reaches equilibrium after a slow step. In the initial rapid phase, zinc release corresponds to mobile forms with low bond energy, and in the second stage, to forms with less mobility. This was confirmed by the observation that approximately 68-76% of the total desorbed zinc was released within the first two hours of extraction. Analysis of the kinetic models showed that the pseudo-second-order ($R^2 > 0.995$) and power function ($R^2 > 0.94$) equations provided the best fit for the zinc release data in all experimental treatments, while the simplified Elovich equation was also suitable only at the control (zero Zn) level. The superiority of the pseudo-second-order model was further validated by the positive and significant correlation between its calculated equilibrium zinc concentration (q_e) and the plant-available zinc concentrations (extracted by DTPA in 2 hours), as well as the zinc concentrations in the root and shoot tissues of the alfalfa plants.

Conclusion: The present study demonstrated that microbial inoculation, particularly co-inoculation with *S. indica* and *S. meliloti*, is an effective strategy for acidifying the rhizosphere and increasing the release of zinc from soil contaminated with ZnO-NPs. The highest efficacy was observed at high contamination levels, where fungal inoculation (alone or combined) enhanced cumulative zinc release by approximately 27%. The kinetics of zinc release in the calcareous soil followed a two-stage process, dominated by an initial rapid release of weakly bound zinc forms. Among the nine models tested, the pseudo-second-order kinetic model proved to be the most robust descriptor of the zinc release process across all treatments, which was confirmed by its strong correlation with plant-available zinc. These findings highlight the potential of using synergistic microbial partnerships to manipulate the bioavailability of nanoparticle-derived contaminants in the rhizosphere and underscore the importance of kinetic modeling in predicting nutrient and contaminant release patterns in complex soil systems.

Cite this article: Tabande, L., Mohasseli, V., Sadeeghi, S., 2025. Study of *Serendipita indica* and *Sinorhizobium meliloti* on Concentration and Kinetics of Zinc Release in Alfalfa Rhizosphere Contaminated with Zinc Oxide Nanoparticles. *Journal of Soil Biology*, 13 (2), 127-146 .



DOI: 10.22092/SBJ.2025.369537.279

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

اثر قارچ *Serndipita indica* و باکتری *Sinorhizobium meliloti* بر غلظت و سینتیک رهاسازی

روی در فرا ریشه یونجه آلوده به نانو اکسید روی

لیلا تابنده^۱، وحید محصلی^{۲*} و سهراب صادقی^۳

- ۱- محقق مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران. ltabande@gmail.com
- ۲- استادیار آموزشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران. v.mohasseli@areeo.ac.ir
- ۳- مربی آموزشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران. sadeghi0917@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۴/۳/۵ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۱۸

چکیده

در این تحقیق، در سطوح مختلف آلودگی به نانو اکسید روی، اثر تیمارهای میکروبی بر میزان آزادسازی روی در خاک‌های ریزوسفری تحت کشت یونجه، با استفاده از معادلات سینتیکی منتخب بررسی گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) در گلخانه اجراء گردید. تیمارها شامل سه سطح (۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) نانو اکسید روی و چهار سطح مایه‌زنی میکروبی (شاهد، قارچ *S. indica*، باکتری *S. meliloti* و تلقیح توأم قارچ و باکتری) در نظر گرفته شد. به منظور انتخاب بهترین مدل توصیف الگوی انتشار روی، از معادلات سینتیکی متعددی استفاده و برای هر یک از تیمارهای آزمایشی، مدل‌های مذکور برازش و بهترین معادله سینتیکی انتخاب گردید. نتایج نشان داد که تلقیح توأم قارچ و باکتری در سطح ۴۰۰ و در رتبه بعدی در سطح ۸۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم، کمترین مقدار pH را به خود اختصاص دادند که به ترتیب کاهشی برابر با ۱۵/۲۵ و ۶/۸۱ درصد را نسبت به سطح صفر روی نشان می‌دهد. همچنین در سطح ۸۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم، تلقیح انفرادی قارچ و توأم با باکتری با ارجحیت یکسان، بیشترین توانایی را در آزاد سازی روی خاک ریزوسفری نشان دادند بطوریکه به ترتیب منجر به افزایش ۲۷/۷۹ و ۲۶/۴۲ درصدی مقدار روی تجمعی آزاد شده نسبت به شرایط بدون تلقیح شدند. بررسی الگوی آزاد سازی روی تحت تأثیر سطوح مختلف روی و تلقیح میکروبی نشان داد که روند آزاد سازی روی در تیمارهای مختلف خاک ریزوسفری، یک فرآیند انتشار دو مرحله‌ای است. بررسی مقدار ضرایب تبیین و خطای استاندارد معادلات سینتیکی نشان داد که به ترتیب معادلات شبه مرتبه دوم و تابع توانی در کلیه تیمارهای آزمایشی و معادله الویج ساده شده تنها در سطح صفر روی، برآورد خوبی از آزاد سازی روی خاک ریزوسفری دارند.

واژه‌های کلیدی: آزادسازی روی، تلقیح میکروبی، ریزوسفر، معادلات سینتیک، نانو اکسید روی و یونجه.

مقدمه

فناوری نانو از طریق تولید کودهای نانو و افزایش کارایی مصرف عناصر کم مصرف برای گیاه، به عنوان راه کاری جدید در کشاورزی پایدار مطرح می‌باشد. ویژگی‌های مختلف نانوکودها مانند تحرک بالا در خاک به دلیل اندازه بسیار کوچک (کمتر از ۱۰۰ نانومتر) و حلالیت زیاد در آب، سبب افزایش کارایی و در نتیجه دسترسی بهتر گیاه به عناصر غذایی موجود در نانو کودها در خاک اطراف ریشه شده است (He et al., 2019; Khoshru et al., 2025). بطور مثال نانو اکسید روی (ZnO) از جمله منابع کودی تأمین کننده روی مورد نیاز گیاه در خاک‌های فقیر از نظر عنصر روی می‌باشد. با این حال، استفاده زیاد از این کودها در خاک‌هایی با قابلیت استفاده پایین روی مانند خاک‌های آهکی، سبب تجمع زیاد روی و در نتیجه آلودگی خاک شده که با تجمع مقادیر زیاد این عنصر بر سطح ریشه و ورود مقادیر زیاد آن به بافت‌های گیاهی، سبب بروز سمیت در گیاهان، انسان، دام و همچنین ریزجانداران مفید خاکزی شده است (Chai et al., 2015).

فرآیند پیچیده انتقال این قبیل فلزات سنگین از خاک به گیاه، متأثر از عوامل مختلفی مانند نوع، اندازه، تراکم و مدت زمان تماس نانو ذرات با خاک، نوع گیاه، خاک و ریزجانداران خاکزی می‌باشد که نقش موثری در رفتار این فلزات در خاک ریزوسفری به عهده داشته و در نهایت بر مقدار جذب آنها توسط گیاهان موثر می‌باشند (Bandyopadhyay et al., 2015). باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشد گیاه در محیط فرا ریشه (ریزوسفر)، از طریق بهبود رشد گیاهان در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و تولید زیست توده گیاهی بیشتر، سبب کاهش اثرات سمی این فلزات بر گیاه می‌شوند (Kidd et al., 2017). تحقیقات نشان داده است که اجزای سیستم همزیستی گیاه - ریزجانداران خاکزی، نقش مهمی بر مقدار قابلیت جذب عناصر سنگین موجود در خاک توسط گیاه دارند. بدین صورت که گیاهان از طریق ترشحات ریشه‌ای خود و تغییر pH خاک در ناحیه فرا ریشه و ریزجانداران ریزوسفری به

خصوص انواع دارای خاصیت تحریک کنندگی رشد ریشه، از طریق آزادسازی مواد مختلف در منطقه ریزوسفر و تأثیر بر رشد و مورفولوژی ریشه، در این فرآیند موثر می‌باشند (Motaghian and Hosseinpur, 2013). لذا، مطالعه سینتیک آزادسازی فلزات سنگین در منطقه ریزوسفر که متأثر از فعالیت سیستم ریشه‌ای گیاه و ریزجانداران ریزوسفری می‌باشد، در بررسی مقدار جذب این فلزات توسط گیاه از اهمیت بسزایی برخوردار است.

یونجه (*Medicago sativa* L.) یک گیاه لگوم چند ساله با ریشه‌های عمیق بوده که به طور گسترده در جهان رشد می‌نماید و عمدتاً توانایی بالایی در رشد و جذب فلزات سنگین دارا می‌باشد. یکی از عوامل کارایی مؤثر این گیاه در همزیستی آن با ریزوبیوم است (Peralta-Videa et al., 2004). ریزجانداران مفید خاکزی شامل قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد گیاه با تأثیر بر بیوشیمی ریزوسفر و اثر بر فرآیندهای فیزیولوژیک و مولکولی گیاهان، بر جذب عناصر مختلف از جمله عناصر فلزی سمی توسط گیاهان میزبان، اثر می‌گذارند (Vimal et al., 2017). ریزوبیوم‌ها از مهم‌ترین جنس‌های باکتری‌های محرک رشد گیاهی موجود در منطقه فرا ریشه می‌باشند که از طریق برقراری رابطه همزیستی با گیاهان خانواده لگوم و تثبیت زیستی نیتروژن اتمسفری، در بهبود شرایط حاصلخیزی خاک نقش مهمی بر عهده دارند (Fagorzi et al., 2018). علاوه بر این، قارچ اندوفیت *Serndipita indica* به عنوان یکی از مهم‌ترین قارچ‌های محرک رشد گیاه نقش مهمی در توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و جذب عناصر مختلف موجود در خاک نشان داده است (Sepehri and Khatabi, 2021). در تحقیقات پیشین گزارش‌هایی از همزیستی مؤثر بین لگوم و ریزوبیوم به عنوان یک روش جدید و مؤثر در بکارگیری فعل و انفعالات گیاه و میکروب برای تثبیت گیاهان انجام گرفته است (Hao et al., 2014; Safari Sinangani and Karami, 2025). ولی باید در نظر گرفته شود که استفاده ترکیبی از ریزوبیوم با سایر باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشد گیاه، می‌تواند اثرات

الکترونی عبوری (EM208S - فیلپین) و پراش پرتو ایکس (EQUINOX 3000- فرانسه)، میانگین قطری ۱۰ نانومتر داشته که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایران واقع در شهرستان مشهد تهیه گردید. خاک‌ها به مدت ۳ ماه در دمای اتاق و با آب مقطر در حد رطوبت ظرفیت زراعی، جهت تکمیل واکنش بین روی و خاک نگهداری شدند. کشت خالص قارچ *Serendipita indica* از محیط کشت کمپلکس استفاده شد و از آنجا که برای تهیه مایه تلقیح قارچ جهت کلنیزاسیون ریشه یونجه نیاز به تعدادی کافی اسپور بود، لذا از تعداد زیادی پتری دیش محتوی محیط کشت کمپلکس استفاده شد. جدایه قارچ مذکور در این محیط کشت و به مدت ۴ هفته در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت تکثیر قارچ و تولید کافی اسپور نگهداری شد. سپس، با محلول آب-توتین ۲۰، یک درصد اسپورهای قارچی هر پتری را جمع‌آوری و پس از انجام مراحل شست و شو و ساتریفیوژ طی سه مرتبه، تعداد اسپورها در مایه تلقیح با لام نئوبار شمارش شد و در حدود 5×10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر محلول آب توتین ۲۰ درصد تنظیم شد (Ghabooli et al., 2013). پس از آماده‌سازی بذرهای جوانه زده، جهت اعمال تیمار قارچ، بذرهای محلول سوسپانسیون اسپور قارچ (5×10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر) به مدت سه ساعت و با ۷۵ دور در دقیقه، بطور آرام تکان داده شده تا بذرهای جوانه زده کاملاً تلقیح یابند. جهت ایجاد شرایط یکنواخت، به ریزوباکس‌های شاهد (غیر تلقیحی)، مقدار مساوی محیط باکتریایی و قارچی استریل اضافه شد. سپس ۴ عدد بذر جوانه زده تلقیحی با قارچ و بدون تلقیح به ریزوباکس‌های مربوطه منتقل شدند. همچنین جهت تلقیح باکتری، یک میلی‌لیتر از محیط کشت باکتریایی مربوط به ۴۸ ساعت قبل (5×10^7 سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت مایع) به خاک اطراف ۴ عدد بذر جوانه زده اضافه شد. همچنین برای تلقیح توأم قارچ و باکتری، پس از گذشت سه روز و اطمینان از نفوذ اسپورهای قارچ به درون ریشه، اعمال تیمار باکتری (5×10^7 سلول

هم‌افزایی بر بهبود عملکرد گیاه داشته باشد (Dary et al., 2025; Ansari et al., 2010). همچنین ممکن است بدلیل رقابت بین مایه تلقیح‌ها و جمعیت بومی، اثر تقویتی بر رشد گیاه را کاهش دهد. بنابراین چالش چگونگی ترکیب مایه تلقیحی از ریزوبیوم با سایر ریزجانداران محرک رشد گیاه، باید به نحوی باشد که بدون ایجاد مشکلات زیست محیطی دیگر، منجر به حداکثر کارایی گردد (Hao et al., 2014). بنابراین، لازم است که در سطوح مختلف آلودگی به نانوآکسید روی، با استفاده از معادلات سینتیکی منتخب (بیشترین ضریب تبیین و کمترین خطای استاندارد) به بررسی اثر تیمارهای میکروبی بر میزان آزادسازی روی در خاک‌های ریزوسفری تحت کشت یونجه، توجه ویژه‌ای صورت پذیرد.

مواد و روش‌ها

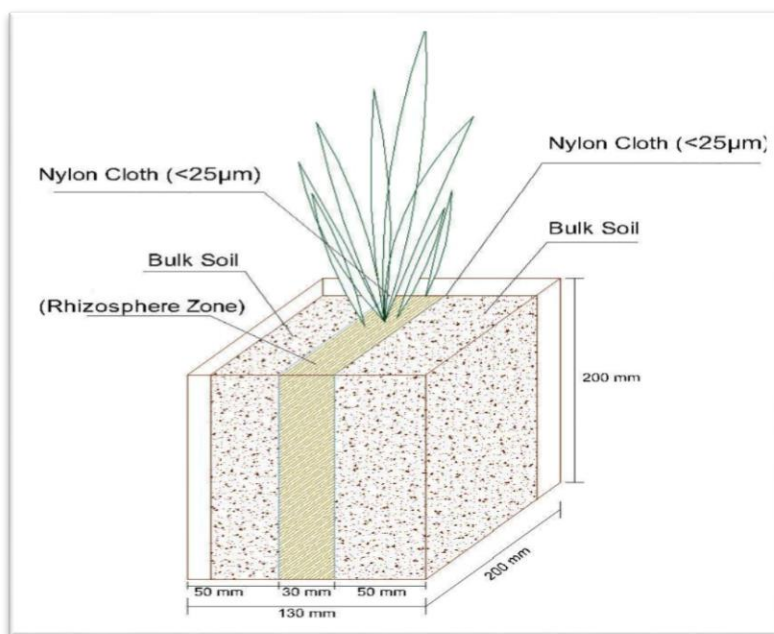
نمونه خاک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری لایه سطحی خاک مزارع ایستگاه چیتگران در منطقه باجگاه شیراز جمع‌آوری و پس از هوا خشک و عبور از الک ۲ میلی‌متری، غلظت روی قابل استخراج با عصاره‌گیر $DTPA^1$ که به مدت ۲ ساعت شیک گردید برابر با ۰/۹۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (Lindsay and Norvell, 1978)، قابلیت هدایت الکتریکی ۰/۳۵ دسی‌زیمنس بر متر، ماده آلی ۰/۷۱ درصد (Walkley and Black, 1934)، کربنات کلسیم معادل ۴۲/۵ درصد (Allison and Moodie, 1965)، فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم ۸/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (Olsen et al., 1954) و بافت خاک از نوع لوم رسی (Bouyoucos, 1962) اندازه‌گیری شد. جهت حذف هر گونه جمعیت میکروبی، خاک‌ها در اتوکلاو به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل شدند (Farzaneh et al., 2009). قبل از کشت، تلقیح میکروبی و سطوح مختلف روی از منبع نانوآکسید به خاک‌ها اضافه گردید. نانو ذرات اکسید روی در زیر میکروسکوپ

¹ Diethylenetriaminepentaacetic acid

بطور پیوسته با شیکر هوادهی شدند. پس از رشد کامل باکتری‌ها در محیط کشت، جمعیت آن‌ها در حدود 5×10^7 سلول باکتری در هر میلی‌لیتر محیط کشت تنظیم شد (Saleem et al., 2017).

تحقیق فوق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجراء گردید. تیمارها شامل سه سطح (۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) نانوآکسید روی و چهار سطح مایه‌زنی میکروبی (شاهد، قارچ *S. indica*، باکتری *S. meliloti* و تلقیح توأم قارچ و باکتری) در نظر گرفته شد. آزمایش در ۳۶ ریزوباکس با ابعاد $200 \times 130 \times 200$ میلی‌متر بر اساس طرح یوسف و چینو (۱۹۸۹) با تغییرات جزئی انجام گردید (شکل ۱). ریزوباکس‌ها با استفاده از نایلون با قطر منافذ کمتر از ۲۵ میکرومتر به ۳ قسمت تقسیم گردید که در قسمت مرکزی با ۳۰ میلی‌متر پهنا، به کشت یونجه اختصاص داده و بصورت یکنواخت با ۳ کیلوگرم خاک (تیمار شده و نشده با نانوآکسید روی) پر شدند.

در هر میلی‌لیتر محیط کشت مایع) انجام گرفت. بدین صورت که ریشه گیاهچه را از بستر خاک خارج نموده و یک میلی‌لیتر از مایه تلقیح به آنها تزریق شد. در شرایط گلخانه، کلیه ریزوباکس‌ها به مدت ۹ هفته، رطوبت آنها با آب مقطر در حد ظرفیت زراعی نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته از کاشت، نمونه برداری از ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ جهت اطمینان از برقراری همزیستی و تعیین میزان کلنیزاسیون ریشه صورت گرفت. جدایه باکتری در بین سویه‌های برتر *S. meliloti* که قبلاً بر اساس توانایی تولید آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات (ACC^1) دی‌آمین‌از، اسید ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، تثبیت نیتروژن و تولید سیدروفور غربال شده بودند، انتخاب گردید، بطوریکه سویه انتخاب شده دارای ژن‌های *nfe*، *putA*، *acdS* در گره بندی و تثبیت زیستی نیتروژن بود (Sepehri and Khatabi, 2021). برای تهیه مایه تلقیح باکتری، یک لوپ از باکتری رشد یافته در محیط جامد با رعایت شرایط کامل استریل به محیط کشت منتقل و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه



شکل ۱- شماتیک ریزوباکس
Figure 1- Rhizobox schematic

گیری با DTPA تفکیک شد. جهت بررسی رفتار رها سازی روی در خاک ریزوسفری، ۱۰ گرم از هر نمونه خاک ریزوسفری (تیمار شده با سطوح مختلف روی و تلقیح میکروبی) در سه تکرار با استفاده از ۲۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر DTPA در دوره‌های زمانی ۰/۸، ۰/۲۵، ۰/۵، ۲، ۴، ۱۶ و ۳۲ ساعت در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس توسط شیکر (Lindsay and Norvell, 1978). در پایان هر دوره زمانی، خاک تعلیق شده به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شده و پس از عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۲، غلظت روی در محلول جمع‌آوری و با دستگاه جذب اتمی (Kyoto, 670 Shimadzu AA Japan) اندازه‌گیری شد. برای تفسیر داده‌ها و به منظور پیدا کردن بهترین مدل توصیف الگوی انتشار روی، از معادلات سینتیکی متعددی از قبیل معادله مرتبه صفر، اول، دوم، سوم، تابع توانی، پخشیدگی پارابولیکی، الویج ساده شده، شبه مرتبه اول و دوم استفاده گردید (جدول ۱). برای هر یک از تیمارهای آزمایشی، مدل‌های مذکور برازش و بهترین معادله سینتیکی با بیشترین ضریب تبیین و کمترین خطای استاندارد انتخاب و سپس اثر هر یک از تیمارهای اعمال شده بر الگوی انتشار روی بررسی گردید (Chien and Clayton, 1980).

پس از آماده‌سازی بذره‌های جوانه زده یونجه (*Medicago sativa L.*) رقم همدانی، جهت اعمال تیمار قارچ، بذرها در محلول سوسپانسیون اسپور قارچ ($10^7 \times 5$ اسپور در هر میلی‌لیتر) به مدت سه ساعت و با ۷۵ دور در دقیقه، بطور آرام تکان داده شده تا بذره‌های جوانه زده کاملاً تلقیح یابند و به منظور تلقیح باکتری، یک میلی‌لیتر از محیط کشت باکتریایی مربوط به ۴۸ ساعت قبل ($10^7 \times 5$ سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت مایع) به خاک اطراف بذره‌های جوانه زده اضافه شد. همچنین برای تلقیح توأم قارچ و باکتری، پس از گذشت سه روز و اطمینان از نفوذ اسپورهای قارچ به درون ریشه، اعمال تیمار باکتری ($10^7 \times 5$ اسپور در هر میلی‌لیتر) انجام گرفت. لازم به ذکر است، جهت ایجاد شرایط یکنواخت، به ریزوباکس‌های شاهد (غیر تلقیحی)، مقدار مساوی محیط باکتریایی و قارچی استریل اضافه شد. در شرایط گلخانه، کلیه ریزوباکس‌ها به مدت نه هفته، رطوبت آنها با آب مقطر در حد ظرفیت زراعی نگهداری شدند. ۱۴ روز پس از کاشت، نمونه برداری از ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ جهت اطمینان از برقراری همزیستی و تعیین میزان کلنیزاسیون ریشه صورت گرفت (Dickson and Smith, 1998). پس از پایان رشد رویشی گیاه (۹ هفته)، خاک ریزوسفری از خاک توده به منظور اندازه‌گیری pH و مقدار روی قابل عصاره

جدول ۱- انواع مختلف معادلات سینتیکی

Table 1- Different types of kinetic equations

معادله	ضرایب معادلات	مدل‌های سینتیکی
$q_t^* = q_0^* + k_0 t$	k_0 ثابت معادله مرتبه صفر ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)	مرتبه صفر (Martin and Sparks, 1983)
$\text{Ln } q_t = \text{Ln } q_0 + k_1 t$	k_1 ثابت معادله مرتبه اول (h^{-1})	مرتبه اول (Martin and Sparks, 1983)
$1/q_t = 1/q_0 - k_2 t$	k_2 ثابت معادله مرتبه دوم (mg Zn Kg^{-1})	مرتبه دوم (Martin and Sparks, 1983)
$1/q_t^2 = 1/q_0^2 - k_3 t$	k_3 ثابت معادله مرتبه سوم ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-2}$)	مرتبه سوم (Martin and Sparks, 1983)
$q_t = q_0 + k_p t^{0.5}$	k_p ثابت سرعت پخشیدگی روی ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-0.5}$)	مضاعف پخشیدگی (Havlin et al., 1985)
$q_t = a t^b$	a ثابت سرعت آزادسازی اولیه روی ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) b ضریب سرعت آزادسازی (mg Zn Kg^{-1})	تابع توانی (Havlin et al., 1985)
$q_t = a_e + 1/\beta \text{Ln } t$	$1/\beta$ ضریب سرعت آزادسازی روی ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) a_e ثابت سرعت آزادسازی اولیه روی (mg Zn Kg^{-1})	الویج ساده شده (Havlin et al., 1985)
$\log (q_e^* - q_t) = \log q_0 - (k_1/2.303) t$	k_1 ثابت سرعت معادله شبه مرتبه اول (h^{-1})	شبه مرتبه اول (Chen and Li, 2010)
$(t/q_t) = (1/k_2 q_e^2) + t/q_e$	k_2 ثابت سرعت معادله شبه مرتبه دوم ($\text{mg Zn Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)	شبه مرتبه دوم (Chen and Li, 2010)

q_t : مقدار روی آزاد شده از خاک با عصاره‌گیر DTPA (mg Zn Kg^{-1}) در مدت زمان t

q_0 : مقدار روی آزاد شده از خاک با عصاره‌گیر DTPA (mg Zn Kg^{-1}) در مدت زمان $t=0$

q_e : مقدار تجمعی روی آزاد سازی شده در مدت زمان t

q_t : Amount of zinc released from soil with DTPA extractant (mg Zn Kg^{-1}) at time t

q_0 : Amount of zinc released from soil with DTPA extractant (mg Zn Kg^{-1}) at time $t=0$

q_e : Cumulative amount of zinc released at time t

شده از طریق اندازه‌گیری و برازش داده شده با داده‌های آزمایشگاهی است و بهترین معادله در توصیف رها سازی روی، با بیشترین ضریب تبیین و کمترین مربع کای انتخاب شدند. در پایان، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد از نظر آماری انجام شد.

ضمناً خطای استاندارد از رابطه زیر (معادله ۱) محاسبه شد که در این معادله Zn و Zn^* به ترتیب مقدار اندازه‌گیری شده و برآورد شده روی در زمان t و n تعداد مشاهدات است (Steel and Torrie, 1960). همچنین، در معادلات سینتیکی شبه مرتبه اول و دوم، علاوه بر ضریب تبیین (R^2)، مربع کای (χ^2) طبق رابطه زیر (معادله ۲) محاسبه شد که در این معادله $qe.exp$ و $qe.cal$ به ترتیب مقدار روی آزاد

$$SE = \left[\frac{\sum (Zn - Zn^*)^2}{n - 2} \right]^{0.5} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$x^2 = \sum \frac{(qe.exp - qe.cal)^2}{qe.cal} \quad \text{رابطه (۲)}$$

آنها بر pH و مقدار روی تجمعی آزاد شده از خاک ریزوسفری، در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر آلودگی به نانو اکسید روی، تلقیح میکروبی و اثر متقابل

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر آلودگی روی و تلقیح میکروبی بر pH و مقدار روی تجمعی آزاد شده از خاک ریزوسفری تحت کشت یونجه
Table 2- Analysis of variance of the effect of zinc contamination and microbial inoculation on pH and the amount of cumulative zinc released from rhizosphere soil under alfalfa cultivation

میانگین مربعات Mean squares					متغیرها Variables
منابع تغییرات Sources of changes					
ضریب تغییرات Coefficient of variation	خطا Error	آلودگی روی*تلقیح میکروبی Zn contamination*Microbial inoculation	تلقیح میکروبی Microbial inoculation	آلودگی روی Zn contamination	
0.6	0.0023	0.04**	0.17**	0.3**	pH
2.1	23.7	2874.6**	7485.6**	670249**	روی تجمعی آزاد شده Released accumulative Zn

** نشان دهنده معنی‌دار بودن اثر عوامل آزمایشی در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

** Indicates that the effect of the experimental factors is significant at the 1% probability level

و ۶/۸۱ درصد را نسبت به سطح صفر روی نشان می‌دهد (جدول ۳). با توجه به میانگین داده‌ها بیشترین اثر در کاهش pH خاک ریزوسفری به ترتیب مربوط به تلقیح توأم قارچ و باکتری، قارچ و باکتری بدست آمد. همچنین پایین‌ترین میزان pH خاک در سطح مصرفی ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده گردید.

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، علیرغم تفاوت غیر معنی‌دار بین مقادیر pH خاک گیاهان تلقیحی و غیرتلقیحی در سطح صفر روی، از بین تیمارهای میکروبی، تلقیح توأم قارچ و باکتری در سطح ۴۰۰ و در رتبه بعدی در سطح ۸۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم، کمترین مقدار pH را به خود اختصاص دادند که به ترتیب کاهشی برابر با ۱۵/۲۵

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل سطوح مختلف نانو اکسید روی و تلقیح میکروبی بر pH خاک ریزوسفری

Table 3 - Comparison of the average main and interaction effects of different levels of nano zinc oxide and microbial inoculation on rhizosphere soil pH

pH				
تلقیح میکروبی Microbial inoculation				
میانگین Average	قارچ و باکتری Fungi and bacteria	باکتری Bacteria	قارچ Fungi	شاهد Witness
8.18 A	8.16 ab	8.19 ab	8.16 ab	8.22 a
7.82 B	7.08 f	8.10 bc	7.97 d	8.11 bc
7.87 B	7.64 e	8.06 c	7.66 e	8.12 bc
	7.63 C	8.15 A	7.93 B	8.15 A

سطوح روی - نانو اکسید روی (میلی گرم در کیلوگرم)
Zinc levels - nano zinc oxide (mg kg⁻¹)

0
400
800
میانگین Average

* اعداد دارای یک حرف مشترک کوچک یا بزرگ از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، فاقد اختلاف آماری معنی‌داری هستند.

* Numbers with a common lowercase or uppercase letter are statistically not statistically significant with Duncan's test at the 5% probability level.

اسیدی شدن خاک ریزوسفری با تلقیح این ریزجانداران محرک رشد گیاه شناخته شود (Hinsinger et al., 2003). مطالعات نشان داد که pH به عنوان یک عامل مهم، نقش موثری بر قابلیت دسترسی فلزات سنگین از جمله روی به عهده دارد (Pikuła and Stępień, 2007). علاوه بر این، محققان متعددی گزارش کردند که تلقیح ریزجانداران محرک رشد گیاه از قبیل قارچ میکوریزا آرسکولار باعث کاهش pH خاک شده که می‌توان آن را معلول تولید اسیدهای آلی و سایر متابولیت‌های ثانویه ناشی از تلقیح میکروبی دانست. آنان نشان دادند که تغییرات pH خاک ریزوسفری مربوط به تعادل کاتیونی، جذب آنیونی و یا انتشار همزمان یون هیدروکسید و هیدروژن و همچنین انتشار اسیدهای آلی است (Sandilya et al., 2017).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در جدول شماره ۴ حاکی از آن است که تلقیح میکروبی در سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌داری در میزان روی تجمعی آزاد شده از خاک ریزوسفری گردید. در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم از میان تیمارهای میکروبی، تلقیح انفرادی باکتری و توأم با قارچ به ترتیب کمترین و بیشترین آزاد سازی روی را به خود اختصاص دادند اما در سطح ۸۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم، تلقیح انفرادی قارچ و توأم با باکتری با ارجحیت یکسان، بیشترین توانایی را در آزاد سازی روی خاک ریزوسفری نشان دادند بطوریکه به ترتیب منجر به افزایش ۲۷/۷۹ و ۲۶/۴۲ درصدی مقدار روی تجمعی آزاد شده نسبت به شرایط بدون تلقیح شدند و تحت این شرایط، تلقیح انفرادی باکتری تنها توانست

محققان متعددی نشان دادند که کاهش بیشتر pH خاک آلوده به کلرید روی و در رتبه بعدی نانو اکسید روی، احتمالاً به دلیل زیادی یون‌های روی در محلول خاک بوده که با آزاد شدن پروتون‌ها از سایت‌های جذبی خاک، به عنوان یک اسید لوئیس قوی عمل کرده و در نهایت منجر به کاهش pH خاک ریزوسفری می‌گردد (Garcia-Gomez et al., 2015). کاهش pH ناشی از تلقیح میکروبی و متعاقباً افزایش مقدار روی تجمعی آزاد شده از خاک ریزوسفری را می‌توان به ترشحات ریشه‌ای گیاه از قبیل آمینواسیدها و اسیدهای آلی نسبت داد که منجر به تحریک بیشتر ریزجانداران محرک رشد به سمت ریشه گیاه شده که نهایتاً منجر به تقویت برهمکنش فعل و انفعالات بین گیاه و میکرووب در فضای ریزوسفری خاک می‌شود (Sasse et al., 2018). تحقیقات نشان داده است که قارچ *S.indica* بطور مستقیم با تولید ایندول-۳-استیک اسید، منجر به افزایش بایومس ریشه شده که با افزایش سطح ریشه گیاه برای ترشحات ریشه‌ای از قبیل اسیدهای آلی در منطقه ریزوسفری خاک، علاوه بر کاهش pH، گیاه را در برابر شرایط تنش‌زای محیطی محافظت می‌کند (Strehmel et al., 2016). از طرف دیگر، افزایش تولید اتیلن در ریشه گیاهان تلقیحی با قارچ *S.indica* به عنوان یک عامل موثر دیگر در کاهش pH خاک شناخته شده است (Khatabi et al., 2012). علاوه بر این، جذب بیشتر آمونیوم نسبت به نیترات بوسیله گیاهان با تلقیح توأم قارچ *S.indica* و باکتری *S.meliloti* منجر به افزایش سطح تثبیت بیولوژیکی نیتروژن شده که در نهایت می‌تواند به عنوان دلیلی دیگر بر

منجر به افزایش غیر معنی دار ۴/۴۹ درصدی مقدار روی آزاد شده از خاک شود.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل سطوح مختلف نانو اکسید روی و تلقیح میکروبی بر مقدار روی تجمعی آزاد شده از خاک ریزوسفری (میلی گرم در کیلوگرم) بوسیله عصاره گیر DTPA در مدت ۳۲ ساعت

Table 4- Comparison of the average main and interaction effects of different levels of nano zinc oxide and microbial inoculation on the amount of cumulative zinc released from rhizosphere soil (mg kg^{-1}) by DTPA extractant over a period of 32 hours

روی تجمعی آزاد شده Released accumulative Zn					
تلقیح میکروبی Microbial inoculation				شاهد Witness	سطوح روی - نانو اکسید روی (میلی گرم در کیلوگرم) Zinc levels - nano zinc oxide (mg kg^{-1})
میانگین Average	قارچ و باکتری Fungi and bacteria	باکتری Bacteria	قارچ Fungi		
87.2 C	99.2 h	95.2 h	88.2 i	66.2 j	0
250.5 B	279.3 d	217.4 g	268.4 e	236.9 f	400
475.3 A	524.0 a	433.1 b	529.7 a	414.5 c	800
	300.8 A	248.6 B	295.4 A	239.2 B	Average میانگین

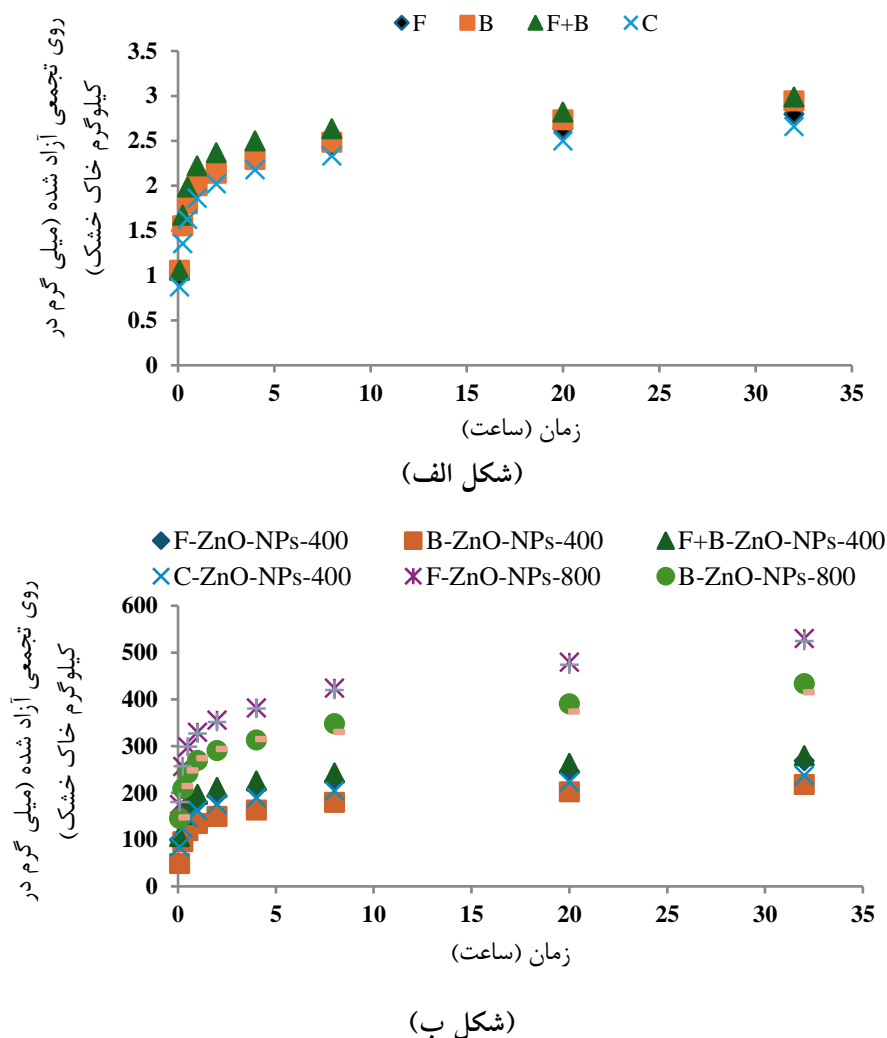
* اعداد دارای یک حرف مشترک کوچک یا بزرگ از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، فاقد اختلاف آماری معنی داری هستند.

* Numbers with a common lowercase or uppercase letter are statistically not statistically significant with Duncan's test at a probability level of 5%.

الگوی آزاد سازی روی توسط عصاره گیر

DTPA

بررسی الگوی آزاد سازی روی تحت تأثیر سطوح مختلف روی و تلقیح میکروبی در شکل ۲ (A و B) نشان داد که در تمام تیمارهای آزمایشی (تلقیح میکروبی و سطوح مختلف روی) الگوی رها سازی روی از روند مشابهی تبعیت می کند، بدین صورت که با یک شیب تند شروع و سپس با شیبی ملایم ادامه می یابد.



شکل ۲- الگوی آزاد شدن روی تحت تأثیر فعالیت میکروبی (فارچ=F، باکتری=B، فارچ+باکتری=F+B، استریل=C) در سطوح صفر (شکل الف)، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم

Figure 2- Zinc release pattern under the influence of microbial activity (fungus=F, bacteria=B, fungus+bacteria=F+B, sterile=C) at levels of zero (Figure A), 400 and 800 (Figure B) mg zinc kg⁻¹

معنی داری (۰/۹۹**) بین روی قابل استفاده گیاهی (آزاد شده در مدت ۲ ساعت) با مقدار روی آزاد شده در طی مدت زمان ۳۲ ساعت بدست آمد.

در جدول شماره ۵ نتایج مربوط به نسبت روی آزاد شده در مدت زمان ۲ به ۳۲ ساعت با عصاره گیر DTPA و تحت تیمارهای مختلف شامل تلقیح میکروبی (شاهد، فارچ، باکتری و فارچ + باکتری) و سطوح مختلف نانو اکسید روی (۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم) آورده شده است. طبق نتایج بدست آمده، در تمام تیمارهای آزمایشی، حدوداً ۶۸ الی ۷۶ درصد روی در همان مدت زمان ۲ ساعت اولیه آزاد شده است. بطوریکه همبستگی مثبت

جدول ۵- مقدار روی آزاد شده (میلی گرم در کیلوگرم) در ۲ و ۳۲ ساعت و نسبت آنها در تیمارهای آزمایشی (تلقیح میکروبی و سطوح مختلف روی)

Table 5- Amount of zinc released (mg kg^{-1}) at 2 and 32 hours and their ratio in experimental treatments (microbial inoculation and different levels of zinc)

سطوح مختلف نانو اکسید روی (میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک) Different levels of nano zinc oxide (mg kg^{-1} dry soil)									تلقیح میکروبی
نسبت روی آزاد شده در ۲ به ۳۲ ساعت Ratio of Zn released in 2 to 32 hours			مقدار روی آزاد شده در ۳۲ ساعت Amount of Zn released in 32 hours			مقدار روی آزاد شده در ۲ ساعت Amount of Zn released in 2 hours			Microbial inoculation
800	400	0	800	400	0	800	400	0	
0.708	0.743	0.759	414.5	236.9	2.66	293.5	176.1	2.02	شاهد Witness
0.671	0.722	0.774	529.7	268.4	2.80	355.3	193.8	2.17	قارچ Fungi
0.670	0.687	0.726	433.1	217.4	2.95	290.0	149.4	2.14	باکتری Bacteria
0.671	0.757	0.792	524.0	279.3	2.99	351.4	211.5	2.37	قارچ و باکتری Fungi and bacteria
0.680	0.727	0.763	میانگین Average

(Reyhanitabar et al., 2010). بنابراین می توان چنین استنباط کرد که روی آزاد شده در ۲ ساعت اولیه، عمدتاً مربوط به شکل های قابل تبادل روی می باشد که با انرژی پیوندی ضعیف به مکان های جذبی متصل شده اند. همچنین، آزاد شدن کند عناصر بعد از مدت زمان ۲ ساعت، بیانگر آزاد شدن عناصر از مکان هایی با انرژی پیوند قوی تر و دیگر شکل های شیمیایی بوده که با شکل تبدلی ارتباط و همبستگی بالایی نشان داده اند (Kandpal et al., 2005).

برازش داده های حاصل از آزاد سازی روی بر

مدل های سینتیکی

جهت بررسی سینتیک رها سازی روی با استفاده از مدل های سینتیکی مختلف از قبیل معادلات مرتبه صفر، اول، دوم، سوم، پخشیدگی پارابولیک، تابع توانی، الویج ساده شده و شبه مرتبه اول و دوم، داده های مربوط به آزاد سازی روی در مدت زمان های ۳۲ - ۰/۰۸ ساعت در خاک ریزوسفری آلوده به تیمارهای مختلف آزمایشی (تلقیح میکروبی و سطوح نانو اکسید روی) برازش شد. ارزیابی مدل های مختلف سینتیکی با توجه به ضریب تبیین (R^2) و خطای استاندارد (SE) انجام و معادلاتی که بیشترین مقدار ضریب تبیین و کمترین خطای استاندارد برآورد شده را نشان دادند به عنوان بهترین مدل، جهت توصیف آزاد سازی

الگوی انتشار دو فازی در سایر مطالعات انجام شده در مورد فلزات سنگین مختلف در خاک و رسوبات نیز گزارش شده است (Taghipour and Jalali, 2016)؛ (Saffari et al., 2014). الگوی آزاد سازی روی در طی دو مرحله و یا در دو سطح با انرژی پیوندی متفاوت، با پژوهش های دیگر نیز منطبق است (Reyhanitabar et al., 2010). محققان روند دو مرحله ای آزاد سازی را در مورد عنصر منگنز مشاهده کردند. آنان بیان داشتند که آزاد سازی منگنز در ابتدا از خاکدانه های درشت و یا سطوح خارجی خاکدانه های ریز با سرعت بالا شروع می گردد اما با ادامه این فرآیند به دلیل آزاد شدن منگنز از سطوح داخلی خاکدانه های ریز و درشت، روند آزاد سازی این عنصر از خاک کند می گردد. آنان بیان کردند که علیرغم الگوی مشابه آزاد سازی عناصر، تنها در میزان و آهنگ آزاد سازی عناصر در تیمارهای مختلف موجب ایجاد تفاوت بین آنها می شود (Ghasemi-Fasaei et al., 2009). همانطور که قبلاً اشاره شد انتشار روی در تمام تیمارها از الگوی نسبتاً مشابهی پیروی می کند. چنین به نظر می رسد که در مرحله سریع اولیه، انتشار روی مربوط به شکل های متحرک با انرژی پیوند کم است. همچنین، روی آزاد شده در مرحله دوم، مربوط به شکل هایی با قابلیت تحرک کمتر است (Polettini et al., 2007). محققان نشان دادند که مکانیسم دو مرحله ای آزاد سازی (ابتدا سریع و در ادامه با آهنگ کندتر) به وجود مکان هایی با انرژی متفاوت مربوط می شود

روی در خاک ریزوسفری آلوده به تیمارهای مختلف آزمایشی انتخاب شدند (جدول ۶).

جدول ۶- میانگین و دامنه ضرایب تبیین (R^2) و خطای استاندارد (SE) معادلات سینتیکی تحت مطالعه
 Table 6- Mean and range of coefficients of determination (R^2) and standard error (SE) of the kinetic equations under study

خطای استاندارد Standard error		ضرایب تبیین Coefficients of explanation		معادلات سینتیکی Kinetic equations
میانگین Average	دامنه Domain	میانگین Average	دامنه Domain	
45.51	32.8-95.8	0.66	0.52-0.74	مرتبۀ صفر Zero time
0.25	0.21-0.37	0.51	0.39-0.58	مرتبۀ اول First time
0.027	0.00065-0.217	0.37	0.25-0.44	مرتبۀ دوم Second time
0.038	0.000001-0.353	0.25	0.15-0.32	مرتبۀ سوم Third time
28.49	0.27-68.54	0.85	0.71-0.998	پخشیدگی پارابولیک Parabolic dispersion
8.35	0.072-14.50	0.98	0.95-0.994	الوویچ ساده شده Elovitch simplified
0.09	0.058-0.17	0.94	0.86-0.97	تابع توانی Power function
0.08	0.052-0.14	0.71	0.62-0.81	شبه مرتبۀ اول Pseudo-first time
0.075	0.0007-0.623	1.00	0.995-0.998	شبه مرتبۀ دوم Second-time pseudo

(تلقیح میکروبی و سطوح مختلف روی) را نشان دادند (جدول ۶). اما در خاک‌های ریزوسفری فاقد آلودگی روی (سطح صفر روی) و در شرایط تلقیح میکروبی علاوه بر معادلات سینتیکی مذکور (شبه مرتبۀ دوم و تابع توانی)، معادلات الوویچ ساده شده، توانست با توجه به ضرایب تبیین بالا و خطای استاندارد پایین، برآورد خوبی از آزاد سازی روی را نشان دهد (جدول ۷).

بررسی و مقایسه ضرایب تبیین و خطاهای استاندارد معادلات سینتیکی موجود در جدول ۶ نشان می‌دهد که در معادلات سینتیکی مرتبه‌ها با افزایش مرتبه واکنش از مرتبه صفر به مرتبه سوم، مقدار ضریب تبیین کاهش یافته است. ولیکن، معادلات شبه مرتبۀ دوم و پس از آن معادلات تابع توانی در مقایسه با سایر معادلات سینتیکی، بیشترین ضریب تبیین و کمترین خطای استاندارد را در خاک‌های ریزوسفری تحت تیمارهای مورد آزمایش

جدول ۷- ثابت‌های مدل‌های سینتیکی انتخابی در آزاد سازی روی خاک ریزوسفری با تلقیح انفرادی و توأم قارچ *S. indica* و باکتری *S. meliloti* در سطح صفر روی

Table 7- Constants of selected kinetic models in the release of zinc from rhizosphere soil with individual and combined inoculation of *S. indica* fungus and *S. meliloti* bacteria at zero zinc level

مدل الویچ ساده شده				مدل شبه مرتبه دوم					مدل تابع توانی				تلقیح میکروبی
Simplified Elovitch model				Pseudo-second-time model					Power function model				
SE	R ²	1/a	a _e	χ ²	R ²	k	qe.cal	qe.exp	SE	R ²	b	a	Microbial inoculation
0.096	0.975	0.281	1.75	0.000082	0.998	0.687	2.79	2.66	0.119	0.90	0.166	1.65	
0.120	0.960	0.272	1.90	0.000029	0.998	0.683	2.79	2.80	0.118	0.88	0.172	1.82	قارچ Fungi
0.072	0.987	0.291	1.92	0.000045	0.997	0.528	2.94	2.95	0.087	0.93	0.151	1.83	باکتری Bacteria
0.144	0.950	0.292	2.05	0.000025	0.999	0.707	2.98	2.99	0.127	0.86	0.148	1.96	قارچ و باکتری Fungi and bacteria

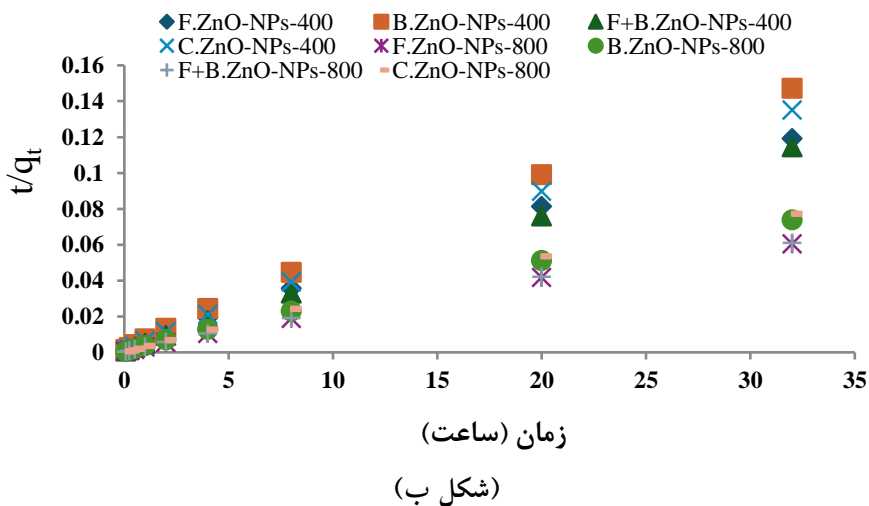
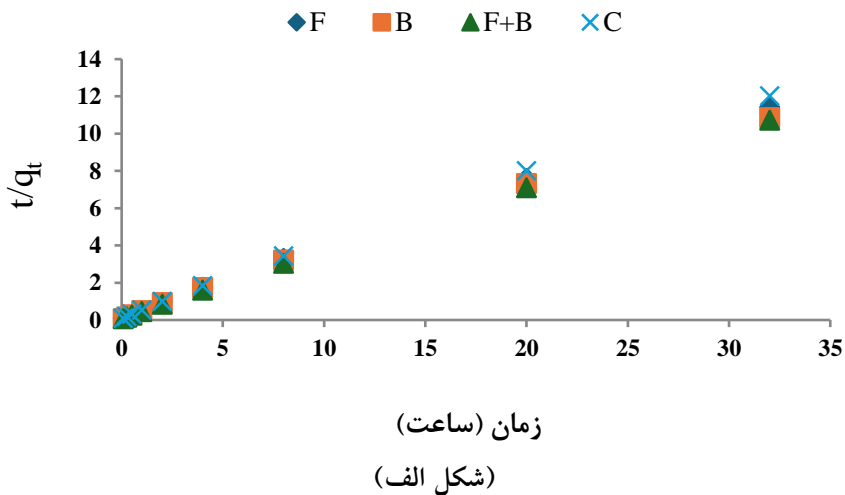
SE، R²، χ² و به ترتیب مقدار روی آزاد شده از طریق آزمایش، مقدار روی محاسبه شده از طریق معادله شبه مرتبه دوم، ضریب تبیین، خطای استاندارد و Statistic Chisquare

qe.exp, qe.cal, R², SE and χ² are the amount of zinc released through the experiment, the amount of zinc calculated through the pseudo-second-order equation, the coefficient of determination, the standard error and the Chisquare Statistic, respectively.

نسبت به سایر معادلات سینتیکی منتخب در کلیه تیمارهای آزمایشی بالاتر بود و نیز مقدار پایین χ² در مدل شبه مرتبه دوم نشان دهنده آن است که انتشار روی از این مدل سینتیکی تبعیت کرده و به عنوان بهترین مدل انتخاب می شود (جدول ۸). همبستگی مثبت معنی دار بین ثابت آزاد سازی روی معادله مذکور (qe) با غلظت‌های روی قابل استفاده گیاهی (عصاره‌گیری با DTPA در مدت زمان ۲ ساعت) می‌تواند از دلایل برتری این مدل نسبت به سایر معادلات سینتیکی، جهت توصیف الگوی انتشار یا آزاد سازی روی در خاک ریزوسفری باشد. این یافته با نتایج محققان دیگر در خاک‌های آهکی ایران کاملاً مطابقت دارد (Taghipour and Jalali, ; Zibaei et al., 2020). محققان، انطباق داده‌های آزاد سازی روی به مدل های الویچ ساده شده را بیانگر کنترل احتمالی آزاد سازی عناصر از خاک با پدیده پخشیدگی ناهمگن نسبت دادند (Reyhanitabar and Gilkes, 2010). پژوهشگران بهترین مدل‌های سینتیکی توصیف کننده آزاد سازی مس را در برخی خاک‌های آهکی ایران، تابع توانی و الویچ ساده شده گزارش کردند (Reyhanitabar and Karimian, 2008). مطالعات دیگر نیز مدل‌های الویچ ساده شده، تابع توانی و پخشیدگی پارابولیک را مدل‌های مناسب جهت

همانطور که اشاره شد از بین معادلات سینتیکی تحت مطالعه، به دلیل بیشترین ضرایب تبیین و کمترین خطای استاندارد، معادلات شبه مرتبه دوم و تابع توانی در کلیه تیمارها (تلقیح میکروبی و سطوح مختلف روی) و معادله الویچ ساده شده تنها در سطح صفر روی، به عنوان بهترین معادلات جهت توصیف آزاد سازی روی انتخاب شدند. نتایج مربوط به ثابت‌های معادلات سینتیکی منتخب، در خاک‌های ریزوسفری تحت تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۷ آورده شده است. ثابت‌های a و b در معادله تابع توانی، به ترتیب نشان دهنده ثابت آزاد سازی اولیه و ضریب آزاد سازی روی می‌باشند و در معادله الویچ ساده شده ثابت‌های ae و 1/a به ترتیب بیان کننده ثابت آهنگ آزاد سازی اولیه یا فوری و ثابت سرعت آزاد سازی روی می باشد. ثابت‌های k و qe.cal معادله شبه مرتبه دوم به ترتیب ثابت سرعت و مقدار تجمعی روی آزاد شده در مدت زمان مشخص می‌باشند که در تمام تیمارهای تحت آزمایش از طریق ارزیابی مقدار qt/t (نسبت زمان به مقدار روی آزاد شده در زمان‌های مختلف) در مقابل t (زمان) به دست می آید (شکل ۳). نتایج نشان داد که مقدار روی بدست آمده در آزمایش (qe.exp) تفاوت چندانی با مقدار روی آزاد شده از معادله شبه مرتبه دوم (qe.cal) ندارد. علاوه بر این، ضریب تبیین (R²) برای معادله سینتیکی شبه مرتبه دوم

توصیف آزاد سازی منگنز در برخی خاک‌های آهکی ایران
 نشان دادند (Ghasemi-Fasaei et al., 2009).



شکل ۳- برازش داده‌های روی آزاد شده با مدل شبه مرتبه دوم در خاک ریزوسفری با تلقیح میکروبی (شاهد=C، قارچ=F، باکتری=B، قارچ و باکتری F+B) در سطوح صفر (شکل الف)، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم

Figure 3 - Fitting of released Zn data with pseudo-second-time model in rhizosphere soil with microbial inoculation (control=C, fungus=F, bacteria=B, fungus and bacteria F+B) at levels of zero (Figure A), 400 and 800 (Figure B) mg Zn kg⁻¹

جدول ۸- پارامترهای سینتیکی مدل‌های انتخابی در آزاد سازی روی خاک ریزوسفری با تلقیح انفرادی و توأم قارچ *S. indica* و باکتری *S. meliloti* در سطوح مختلف نانو اکسید روی

Table 8- Kinetic parameters of selected models in rhizosphere soil zinc release with individual and combined inoculation of *S. indica* fungus and *S. meliloti* bacteria at different levels of zinc oxide nanomaterials

Pseudo-second-time model مدل شبه مرتبه دوم					Power function model مدل تابع توانی				
χ^2	R2	k	qe.cal	qe.exp	SE	R2	b	a	
Different levels of zinc سطوح مختلف روی									
400 mg kg⁻¹ soil ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک									
									تلقیح میکروبی
									Microbial inoculation
0.006	0.998	0.0071	238.1	236.9	0.096	0.92	0.156	148.2	Witness شاهد
0.104	0.997	0.0058	263.2	268.4	0.080	0.94	0.148	167.2	Fungi قارچ
0.000	0.997	0.0057	217.4	217.4	0.169	0.88	0.214	116.5	Bacteria باکتری
0.008	0.998	0.0065	277.8	279.3	0.090	0.92	0.144	180.8	قارچ و باکتری
									Fungi and bacteria
800 mg kg⁻¹ soil ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک									
0.011	0.995	0.0032	416.7	414.5	0.084	0.94	0.150	252.1	Witness شاهد
0.022	0.995	0.0023	526.3	529.7	0.076	0.96	0.165	306.3	Fungi قارچ
0.007	0.995	0.0026	438.8	433.1	0.070	0.96	0.163	251.0	Bacteria باکتری
0.010	0.995	0.0023	526.3	524.0	0.069	0.96	0.159	306.7	قارچ و باکتری
									Fungi and bacteria

استاندارد و Statistic Chisquare و SE ، R2 ، qe.cal ، qe.exp و χ^2 به ترتیب مقدار روی آزاد شده از طریق آزمایش، مقدار روی محاسبه شده از طریق معادله شبه مرتبه دوم، ضریب تبیین، خطای

qe.exp, qe.cal, R2, SE and χ^2 are the amount of zinc released through the experiment, the amount of zinc calculated through the pseudo-second-order equation, the coefficient of determination, the standard error and the Chisquare Statistic, respectively

نتیجه گیری

پژوهش، دلیل همبستگی مثبت معنی دار بین مقدار روی آزاد شده در طی ۲ ساعت با ۳۲ ساعت را می‌توان به نگهداشت بخش عمده روی در مکان‌های جذب سطحی با انرژی پیوند ضعیف و یا متصل به فاز جامد با حلالیت بسیار بالا نسبت داد. بنابراین آزاد سازی سریع روی در مدت زمان ۲ ساعت اولیه و سپس ادامه روند کند رها سازی روی، دور از انتظار نیست. لذا به نظر می‌رسد که احتمالاً رها سازی روی از دو مکانیسم متفاوت تبعیت می‌کند. بررسی مقدار ضرایب تبیین و خطای استاندارد معادلات سینتیکی این پژوهش نشان داد که به ترتیب معادلات شبه مرتبه دوم و تابع توانی در کلیه تیمارهای آزمایشی و معادله الویچ ساده شده، تنها در سطح صفر روی، برآورد خوبی از آزاد سازی روی خاک ریزوسفری دارد.

در بررسی اثر تیمارهای میکروبی، تلقیح انفرادی باکتری در کلیه سطوح مختلف روی همانند شرایط بدون تلقیح (شاهد)، تأثیر چندانی بر مقدار pH خاک ریزوسفری نشان نداد ولیکن کاربرد کلیه تیمارهای میکروبی منجر به افزایش آزاد سازی روی خاک شد و تلقیح انفرادی قارچ و توأم با باکتری و در برخی موارد با برتری یکسان، بیشترین کارایی را در کاهش pH خاک و افزایش آزاد سازی روی از خاک ریزوسفری آلوده با نانو اکسید روی نشان دادند. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که روند آزاد سازی روی در تیمارهای مختلف خاک ریزوسفری، یک فرآیند انتشار دو مرحله‌ای است که با یک مرحله سریع شروع و پس از طی یک مرحله آهسته، به تعادل می‌رسد. طبق نتایج این

References

- Allison, L.E., and Moodie, C.D. (1965). Carbonate. In C. A. Black et al. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2* (pp. 1379-1396). Monograph No. 9, American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Ansari, M., Malakouti, M. J., Rejali, F., Mokhtassi Bidgoli, 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. *Journal of Soil Biology, 12*(2), 261-277. DOI: <https://doi.org/10.22092/sbj.2025.367013.270>
- Bandyopadhyay, S., Plascencia-Villa, G., Mukherjee, A., Rico, C. M., José-Yacamán, M., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. (2015). Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil. *Science of the Total Environment, 515-516*, 60-69. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.027
- Bouyoucos, C.J. (1962). Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soils. *Agronomy Journal, 54*(5), 464-465. doi: 10.2134/agronj1962.00021962005400050028x
- Chai, H., Yao, J., Sun, J., Zhang, C., Liu, W., Zhu, M. and Ceccanti, B. (2015). The effect of metal oxide nanoparticles on functional bacteria and metabolic profiles in agricultural soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94*(4), 490-495. doi: 10.1007/s00128-015-1518-2
- Chen, Y.H. and Li, F.A. (2010). Kinetic study on removal of copper (II) using goethite and hematite nanophotocatalysts. *Journal of Colloid and Interface Science, 347*(2), 277-281. doi: 10.1016/j.jcis.2010.04.003
- Chien, S.H. and Clayton, W.R. (1980). Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils. *Soil Science Society of America Journal, 44*(2), 265-268. doi: 10.2136/sssaj1980.03615995004400020013x
- Dary, M., Chamber-Pérez, M.A., Palomares, A. J. and Pajuelo, E. (2010). "In situ" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *Journal of Hazardous Materials, 177*(1-3), 323-330. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.037
- Dickson, S. and Smith, S.E. (1998). Evaluation of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonisation by staining. In A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza Manual* (pp. 77-83). Springer-Verlag, Berlin.
- Fagorzi, C., Checcucci, A., DiCenzo, G.C., Debiec-Andrzejewska, K., Dziewit, L., Pini, F., & Mengoni, A. (2018). Harnessing rhizobia to improve heavy-metal phytoremediation by legumes. *Genes, 9*(11), 542. doi: 10.3390/genes9110542
- Farzaneh, M., Wichmann, S., Vierheilig, H. and Kaul, H.P. (2009). The effects of arbuscular mycorrhiza and nitrogen nutrition on growth of chickpea and barley. *Pflanzenbauwissenschaften (German Journal of Agronomy), 13*, 15-22.
- Garcia-Gomez, C., Babin, M., Obrador, A., Alvarez, J.M. and Fernandez, M.D. (2015). Integrating ecotoxicity and chemical approaches to compare the effects of ZnO nanoparticles, ZnO bulk, and ZnCl₂ on plants and microorganisms in a natural soil. *Environmental Science and Pollution Research, 22*(21), 16803-16813. doi: 10.1007/s11356-015-4927-4
- Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A. and Salekdeh, G.H. (2013). Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *Journal of Proteomics, 94*, 289-301. doi: 10.1016/j.jprot.2013.09.027

14. Ghasemi-Fasaei, R., Maftoun, M., Olama, V., Molazem, B. and Tavajjoh, M. (2009). Manganese-Release Characteristics of Highly Calcareous Soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40(7-8), 1171-1182. doi: 10.1080/00103620902724838
15. Hao, X., Taghavi, S., Xie, P., Orbach, M.J., Alwathnani, H.A., Rensing, C. and Wei, G. (2014). Phytoremediation of heavy and transition metals aided by legume-rhizobia symbiosis. *International Journal of Phytoremediation*, 16(2), 179-202. doi: 10.1080/15226514.2013.793767
16. He, X., Deng, H. and Hwang, H.M. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(1), 1-21. doi: 10.1016/j.jfda.2018.12.002
17. Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C. and Jaillard, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: a review. *Plant and Soil*, 248(1), 43-59. doi: 10.1023/A:1022371130513
18. Kandpal, G., Srivastava, P.C. and Ram, B. (2005). Kinetics of desorption of heavy metals from polluted soils: Influence of soil type and metal source. *Water, Air, and Soil Pollution*, 161(1), 353-363. doi: 10.1007/s11270-005-4309-8
19. Khatabi, B., Molitor, A., Lindermayr, C., Pffiff, S., Durner, J., Von Wettstein, D. and Schäfer, P. (2012). Ethylene supports colonization of plant roots by the mutualistic fungus *Piriformospora indica*. *PLoS One*, 7(4), e35502. doi: 10.1371/journal.pone.0035502
20. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Khosravi, H., Asgharzadeh, A., & Faridian, L. (2025). Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. *Journal of Soil Biology*, 12(2), 279-313. DOI: <https://doi.org/10.22092/sbj.2025.368425.277>
21. Kidd, P.S., Alvarez-Lopez, V., Becerra-Castro, C., Cabello-Conejo, M. and Prieto-Fernandez, A. (2017). Potential role of plant-associated bacteria in plant metal uptake and implications in phytotechnologies. *Advances in Botanical Research*, 83, 87-126. doi: 10.1016/bs.abr.2016.12.003
22. Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3), 421-428. doi: 10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x
23. Martin, H.W. and Sparks, D.L. (1983). Kinetics of nonexchangeable potassium release from two coastal plain soils. *Soil Science Society of America Journal*, 47(5), 883-887. doi: 10.2136/sssaj1983.03615995004700050013x
24. Motaghian, H.R. and Hosseinpur, A.R. (2013). Zinc desorption kinetics in wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere in some sewage sludge amended soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 664-678. doi: 10.4067/S0718-95162013005000053
25. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A. (1954). *Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate*. USDA Circular No. 939, US Government Printing Office, Washington, DC.
26. Peech, M. (1965). Hydrogen ion activity. In C.A. Black et al. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2* (pp. 922-923). American Society of Agronomy, Madison, WI.
27. Peralta-Videa, J.R., De la Rosa, G., Gonzalez, J.H. and Gardea-Torresdey, J.L. (2004). Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Advances in Environmental Research*, 8(3-4), 679-685. doi: 10.1016/S1093-0191(03)00067-2
28. Piłkuła, D. and Stępień, W. (2007). Effect of soil pH on the uptake of heavy metals by plants. *Fragmenta Agronomica*, 24(2), 227-237.

29. Polettini, A., Pomi, R. and Rolle, E. (2007). The effect of operating variables on chelant-assisted remediation of contaminated dredged sediment. *Chemosphere*, 66(5), 866-877. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.05.053
30. Reyhanitabar, A. and Gilkes, R.J. (2010). Kinetics of DTPA extraction of zinc from calcareous soils. *Geoderma*, 154(3-4), 289-293. doi: 10.1016/j.geoderma.2009.10.013
31. Reyhanitabar, A. and Karimian, N. (2008). Kinetics of copper desorption of selected calcareous soils from Iran. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 4(3), 287-293.
32. Reyhanitabar, A., Ardalani, M., Gilkes, R.J. and Savaghebi, G. (2010). Zinc sorption characteristics of some selected calcareous soils of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12(1), 99-110.
33. Safari Sinegani, A. A., & Karami, L. (2025). The effect of the application of coal ash in soil on the symbiotic indices of white pea inoculated with *Mesorhizobium* and mycorrhizal fungi. *Journal of Soil Biology*. Advance online publication. DOI: <https://doi.org/10.22092/sbj.2025.368447.278>
34. Saffari, M., Karimian, N., Ronaghi, A., Yasrebi, J. and Ghasemi-Fasaei, R. (2014). Reduction of chromium toxicity by applying various soil amendments in artificially contaminated soil. *Journal of Advances in Environmental Health Research*, 2(4), 251-262.
35. Saleem, M., Meckes, N., Pervaiz, Z.H. and Traw, M.B. (2017). Microbial interactions in the phyllosphere increase plant performance under herbivore biotic stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 41. doi: 10.3389/fmicb.2017.00041
36. Sandilya, S.P., Bhuyan, P.M., Nageshappa, V., Gogoi, D.K. and Kardong, D. (2017). Impact of *Pseudomonas aeruginosa* MAJ PIA03 affecting the growth and phytonutrient production of castor, a primary host-plant of *Samia ricini*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(2), 499-514. doi: 10.4067/S0718-95162017005000041
37. Sasse, J., Martinoia, E. and Northen, T. (2018). Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? *Trends in Plant Science*, 23(1), 25-41. doi: 10.1016/j.tplants.2017.09.008
38. Sepehri, M. and Khatabi, B. (2021). Combination of Siderophore-Producing Bacteria and *Piriformospora indica* Provides an Efficient Approach to Improve Cadmium Tolerance in Alfalfa. *Microbial Ecology*, 81(3), 717-730. doi: 10.1007/s00248-020-01614-7
39. Seshadri, B., Bolan, N.S. and Naidu, R. (2015). Rhizosphere-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(2), 524-548. doi: 10.4067/S0718-95162015005000051
40. Sirrenberg, A., Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P. and Pawlowski, K. (2007). *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131(4), 581-589. doi: 10.1111/j.1399-3054.2007.00973.x
41. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1960). *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill Book Company, Inc.
42. Strehmel, N., Mönchgesang, S., Herklotz, S., Krüger, S., Ziegler, J. and Scheel, D. (2016). *Piriformospora indica* stimulates root metabolism of *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1091. doi: 10.3390/ijms17071091
43. Taghipour, M. and Jalali, M. (2016). Influence of organic acids on kinetic release of chromium in soil contaminated with leather factory waste in the presence of some adsorbents. *Chemosphere*, 155, 395-404. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.04.095
44. Vimal, S.R., Singh, J.S., Arora, N.K. and Singh, S. (2017). Soil-plant-microbe interactions in stressed agriculture management: a review.

- Pedosphere*, 27(2), 177-192. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60317-1
45. Walkley, A. and Black, T.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38. doi: 10.1097/00010694-193401000-00003
46. Youssef, R.A. and Chino, M. (1989). Root-induced changes in the rhizosphere of plants. II. Distribution of heavy metals across the rhizosphere in soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 35(4), 609-621. doi: 10.1080/00380768.1989.10434857
47. Zibaei, Z., Ghasemi-Fasaei, R., Ronaghi, A., Zarei, M. and Zeinali, S. (2020). Improvement of biochar capability in Cr immobilization via modification with chitosan and hematite and inoculation with *Pseudomonas putida*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(7), 963-975. doi: 10.1080/00103624.2020.1738744.



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>

Research Article

Feasibility of Isolating Heterotrophic and Autotrophic Diazotrophs from Periphyton Biofilm in Rice Fields and Evaluating Their Effects on Rice Growth under Greenhouse Conditions

Mehran Gholami¹, Hossein Ali Alikhani^{ID} 2*, Hassan Etesami³, Zahra Karami¹,
Mohaddeseh Shirinzadeh⁴, and Hamidreza Zare Guildehi⁴

1-PhD Student, Department of soil science, University of Tehran, Tehran, Iran.

2-Full professor, Department of soil science, University of Tehran, Karaj, Iran.

3-Associate Professor, Department of soil science, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Former M.Sc. Student of Soil Science, Department of soil science, University of Tehran, Tehran, Iran.

Article Info

Received: 2025-05-24

Accepted: 2025-09-29

Keywords:

Biofertilizer, Biological nitrogen fixation, Cyanobacteria, Nitrogen, Sustainable agriculture.

Corresponding author's email:

halikhan@ut.ac.ir

DOI:

10.22092/SBJ.2025.369574.280

Extended Abstract

Background and Objectives: Rice, a key staple crop for over half the global population, is mainly grown in Asia and heavily depends on synthetic nitrogen fertilizers, which harm the environment and raise costs. Improving nitrogen use efficiency (NUE) in rice is essential, as current NUE is 28–35%, below the global average. Strategies to enhance NUE include balanced fertilization, slow-release fertilizers, nitrification inhibitors, precision nitrogen management, and breeding for efficient varieties. However, these approaches face challenges like high costs, labor intensity, and technological inaccessibility for small farmers. Biological nitrogen fixation (BNF) offers a promising alternative, using nitrogen-fixing bacteria to enhance NUE and yield while reducing chemical inputs. Studies show rice roots host beneficial bacteria like *Azospirillum* and *Burkholderia*, which support BNF. Yet, their effectiveness can be limited by soil and environmental factors. Periphytic biofilms, formed at the soil-water interface in rice paddies, are emerging as a valuable component in nitrogen cycling. Rich in microorganisms such as cyanobacteria and protozoa, these biofilms stabilize nitrogen in the ecosystem, reduce nitrogen losses, and act as natural biofertilizers. They support nitrogen fixation and nutrient uptake, boosting rice growth. Despite their benefits, periphytic biofilms are understudied. Recent research focuses on isolating nitrogen-fixing bacteria from these biofilms to assess their impact on nitrogen levels and rice growth. This study highlights the potential of diazotrophic biofilm enrichment as a sustainable solution to reduce fertilizer dependency, improve crop productivity, and promote environmental sustainability in rice farming.

Materials and Methods: This study focused on evaluating soil, water, and periphytic biofilms in paddy fields in Guildeh, Iran, to investigate the impact of nitrogen-fixing microorganisms on rice plant nutrition. Soil, water, and periphyton samples were collected and analyzed for chemical properties using standard methods. Soil parameters such as pH, texture, nitrogen, phosphorus, and potassium content were measured. Microbial populations, including fungi and bacteria, were counted using plate count methods. To isolate nitrogen-fixing microbes (diazotrophs), periphyton samples were cultured on selective media. Bacterial and cyanobacterial isolates capable of growing on nitrogen-free media were identified through morphological and genetic analysis using 16S rRNA gene sequencing. *Delftia lacustris* (bacterial) and *Nostoc* sp. (cyanobacterial) were selected for further testing based on their nitrogen-fixing abilities. A greenhouse experiment was conducted in a completely randomized design with three replicates to assess the effects of these isolates, alone and in combination, on rice plant growth. Treatments included natural periphyton, periphyton enriched with isolates, and controls with and without nitrogen fertilizer. Rice seeds were

planted in pots with paddy soil, and periphyton treatments were applied. Growth conditions were controlled, and plants were monitored for 40 days. At the end of the experiment, soil and plant samples were analyzed for nutrient content. Plant height, dry weight, nitrogen (by Kjeldahl method), phosphorus (by spectrophotometry), and potassium (by flame photometry) concentrations were measured. The study aimed to compare the effectiveness of microbial inoculants with chemical fertilizers in enhancing rice plant nutrition, supporting the use of diazotrophic organisms as sustainable alternatives in agriculture.

Results: The study demonstrated that applying periphytic biofilms, enriched with beneficial microorganisms, significantly improved soil fertility by enhancing the availability of nitrogen, phosphorus, and potassium in paddy fields. The enriched periphyton treatment (P+B+C) increased total soil nitrogen by 37.8% and ammonium by 42.1% compared to the unfertilized control. This improvement is largely due to biological nitrogen fixation carried out by microorganisms such as *Nostoc* species and *Delftia lacustris*, which convert atmospheric nitrogen into forms accessible to plants. Ammonium content also rose across all periphyton treatments after the growth period, indicating the active role of these microbial communities in nitrogen cycling. Soil phosphorus levels increased significantly with periphyton treatments (35%). The biofilms enhanced phosphorus availability by harboring phosphate-solubilizing microorganisms that release enzymes such as phosphatases. These enzymes break down organic phosphorus into forms that plants can absorb. Additionally, the periphyton helped regulate phosphorus availability over time, ensuring a steady supply during different growth stages of rice plants. Potassium availability also improved due to the presence of potassium-solubilizing microorganisms within the periphyton (15.36%). These microbes released substances that aided in converting fixed potassium into soluble forms, which plants can uptake. Periphyton also served as a reservoir, storing potassium early in the plant's development and releasing it when needed later in the growth cycle. Rice plants treated with periphyton showed clear improvements in growth, including greater height, biomass, and higher nutrient content. These benefits were linked to the activity of plant growth-promoting microbes that produce hormones, facilitate nutrient absorption, and protect against stress. Notably, *Delftia lacustris* and *Nostoc* species were crucial contributors to these effects. Overall, periphyton-based treatments offer a sustainable and effective alternative to chemical fertilizers, enhancing nutrient cycling and supporting healthier, more productive rice cultivation systems.

Conclusion: The results show that applying periphyton can significantly improve soil fertility and enhance the nutritional status of rice plants. Periphyton, rich in plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), plays a key role in supporting rice growth. Treatments involving periphyton produced better outcomes than other treatments, especially when enriched with *Delftia lacustris* and *Nostoc* species, which greatly increased nitrogen availability compared to natural periphyton and controls. While nitrogen improvement was the main focus, phosphorus and potassium levels in the soil also showed notable increases. These nutrient enhancements supported greater rice plant height and dry weight, highlighting the value of periphyton enrichment in improving soil quality and plant development. The study emphasizes the potential of using microbial communities like periphytic biofilms to promote sustainability in rice production systems. Future research should explore the long-term effects of periphyton application across different environmental conditions to optimize its use in sustainable agriculture worldwide. Understanding the role of these biofilms in nitrogen cycling can inform biofertilization strategies aimed at reducing synthetic fertilizer use and increasing agricultural productivity. Overall, the findings suggest that periphytic biofilms act as important reservoirs for nitrogen-fixing microbes, playing a vital role in nutrient cycling in both aquatic and terrestrial ecosystems.

Cite this article: Gholami, M., L., Alikhani, H.A., Eteessami, H., Karami, Z., Shirinzadeh, M., Zare Guldehi, H., 2025. Feasibility of Isolating Heterotrophic and Autotrophic Diazotrophs from Periphyton Biofilm in Rice Fields and Evaluating Their Effects on Rice Growth under Greenhouse Conditions. *Journal of Soil Biology*, 13 (2), 147-169.



DOI: 10.22092/SBJ.2025.369574.280

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

امکان‌سنجی جداسازی تثبیت‌کنندگان نیتروژن اتوتروفی و هتروتروفی از زیست‌لایه پریفایتون در شالیزار و بررسی اثرات آن بر رشد گیاه برنج در شرایط گلخانه‌ای
مهران غلامی^۱، حسینعلی علیخانی^{۲*}، حسن اعتصامی^۳، زهرا کرمی^۱، محدثه شیرین‌زاده^۴ و حمیدرضا زارع
گیلدهی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۲- استاد پژوهشی، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. halikhan@ut.ac.ir
- ۳- دانشیار پژوهشی، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

دریافت: ۱۴۰۴/۳/۳ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۷

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی پتانسیل زیست‌لایه پریفایتون و تثبیت‌کنندگان ساکن در آن برای تقویت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک در شالیزارها بود. برای این منظور، نمونه‌های زیست‌لایه پریفایتونی از شالیزارهای استان گیلان جمع‌آوری شد و با تثبیت‌کنندگان جداشده از خود زیست‌لایه که در آزمون توان تثبیت نیتروژن برتر شناخته شده بودند، غنی‌سازی شدند. به مدت ۴۰ روز در شرایط گلخانه‌ای اثر تیمارهای مختلف بر خاک و گیاه پایش گردید. نتایج نشان داد که زیست‌لایه پریفایتون پتانسیل بسیار بالایی در حاصلخیزی خاک و حمایت از رشد گیاه برنج دارد. تیمار پریفایتون غنی‌شده با باکتری و سیانوباکتری به طور قابل‌توجهی ویژگی‌های خاک از جمله میزان نیتروژن کل (۳۷/۸۳ درصد)، آمونیوم (۴۲/۱ درصد)، فسفر قابل‌جذب (۳۵ درصد) و پتاسیم قابل‌دسترس (۱۵/۳۶) را افزایش داد. حاصلخیزی خاک منجر به افزایش کارایی جذب نیتروژن توسط گیاه شد. افزایش فراهمی نیتروژن در محلول خاک، افزایش در پارامترهای رشد از جمله ارتفاع گیاه، وزن خشک، میزان نیتروژن (۳/۹۷ درصد)، فسفر (۵/۱۸ درصد) و پتاسیم (۵/۲۱ درصد) در بافت گیاهچه‌های برنج را به دنبال داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که زیست‌لایه‌های موجود در شالیزارهای شمال ایران به مانند ریزوسفر گیاه برنج، میزبان طیف وسیعی از PGPRها از جمله انواع تثبیت‌کنندگان می‌باشند که با بهره‌گیری از آنها، می‌توان راهکاری نوین در کشت محصولی سالم و پایدار ارائه داد. کودهای زیستی مبتنی بر پریفایتون به عنوان روشی جدید می‌توانند سلامت خاک و گیاه را تضمین کنند.

واژه‌های کلیدی: تثبیت زیستی نیتروژن، سیانوباکتری، کشاورزی پایدار، کود زیستی، نیتروژن.

مقدمه

کشت سنتی برنج اغلب به شدت به کودهای شیمیایی، به ویژه کودهای نیتروژنی برای به حداکثر رساندن محصول متکی است. این وابستگی به کودهای شیمیایی چندین چالش از جمله تخریب محیط زیست، هزینه‌های بالا در مرحله تولید، رواناب غنی‌شده با عناصر غذایی و افزایش مقاومت در برابر آفات را به همراه دارد (Sung et al., 2015; Wang et al., 2022; Zhang et al., 2023). در این راستا، بهبود کارایی استفاده از نیتروژن در کشت برنج به یک راهکار حیاتی برای شیوه‌های کشاورزی پایدار تبدیل شده است. مصرف سرانه برنج در ایران حدود ۳۷/۵ کیلوگرم و تقاضای سالانه این محصول ۳۵۹۰۰۰۰ تن است (FAO, 2020). کل سطح زیرکشت برنج در این کشور حدود ۵۲۹۰۰۰ هکتار است که منجر به تولید محصول به میزان ۲۳۰۰۰۰۰ تن می‌گردد (Kouchaki-Penchah et al., 2023). طبق گزارشات، رتبه اول تولید برنج در کشور مربوط به استان گیلان و بعد از آن متعلق به استان مازندران است. به دلیل غرقابی بودن اراضی شالیزاری کارایی مصرف کودها در این نواحی پایین است. کارایی مصرف نیتروژن (NUE) برای برنج ۲۸ تا ۳۵ درصد گزارش شده است (Wang et al., 2022). برای بهبود کارایی مصرف نیتروژن در کشت برنج، چندین راهبرد از جمله کوددهی مناسب بر اساس آزمون خاک، استفاده از بازدارنده‌های نیتریفیکاسیون برای کاهش تلفات نیتروژن و استفاده از کودهای نیتروژنی آهسته‌رهش برای مطابقت با جذب توسط گیاه را می‌توان اجرا کرد. از طرفی تقسیم نیتروژن در طول فصل رشد بهتر می‌تواند با نیازهای محصول هماهنگ باشد. در حالی که راهبردهای بهبود کارایی مصرف نیتروژن در برنج مزایایی را ارائه می‌دهند، اما معایبی نیز دارند. برای مثال، کوددهی مناسب نیاز به آزمون‌های متعدد و پرهزینه خاکشناسی دارد، مهارکننده‌های نیتریفیکاسیون ممکن است در همه خاک‌ها مؤثر نباشند و یا گران باشند. کودهای آهسته‌رهش اغلب گران‌تر از کودهای معمولی هستند، و تقسیم کود نیز زمان و پیچیدگی کار را افزایش می‌دهد (Liu et al., 2023).

تثبیت بیولوژیکی نیتروژن (BNF) یک رویکرد راهبردی برای افزایش کارایی مصرف نیتروژن در کشت برنج است. تحقیقات فراوانی ریزوسفر برنج را به‌عنوان یک مخزن اصلی برای جداسازی تثبیت‌کنندگان نیتروژن موردبررسی قرار داده‌اند (Etesami, 2019; Khumairah et al., 2020; Mahmud et al., 2022). محققان برهمکنش بین گیاه برنج و تثبیت‌کنندگان خاک را افزایش دادند و باعث افزایش تثبیت زیستی نیتروژن و در نتیجه آن، افزایش عملکرد دانه در شرایط کمبود نیتروژن شدند. جنس‌های باکتریایی قابل‌توجه مرتبط با ریشه برنج عبارتند از: *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum* و *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella* و *Azoarcus* (Ding et al., 2019; Etesami, 2019; Mahmud et al., 2020). زیست‌لایه‌های پریفایتونی به عنصری حیاتی در اکوسیستم شالیزار تبدیل شده‌اند، زیرا عناصر غذایی فراوان و نور مناسب در فصل مشترک آب و خاک در شالیزارهای برنج، محیطی ایده‌آل برای تشکیل و رشد آن‌ها ایجاد می‌کند (Lu et al., 2017; Reddy et al., 2022). پریفایتون شامل ریزجانداران متنوع (جلبک‌ها، باکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها، قارچ‌ها و تک‌سلولی‌ها) همراه با مواد پلیمری خارج سلولی و مواد معدنی می‌باشد که یک میکرواکوسیستم پایدار ایجاد می‌کند و از شبکه عناصر غذایی و شارش انرژی پشتیبانی می‌کند. پریفایتون نقش کلیدی در تنظیم چرخه نیتروژن را با جذب نیتروژن اضافی و ممانعت از اتلاف آن ایفا می‌کند (Chen et al., 2022; Lu et al., 2017; Wu et al., 2018). طبق گزارشات، پریفایتون می‌تواند تلفات نیتروژن در آب پوشاننده در شالیزار را تا ۴۸ درصد کاهش دهد (Su et al., 2017). ریزجانداران متنوع حاضر در زیست‌لایه پریفایتون برای انجام واکنش‌های مختلف و پیچیده مرتبط با چرخه نیتروژن با یکدیگر همکاری می‌کنند، به طوری که مواد آلی تولیدشده انرژی کافی و الکترون‌های لازم را برای پشتیبانی از چرخه نیتروژن پایدار فراهم می‌کند (Chen et al., 2022). مشخص شده است که پریفایتون همچنین به عنوان

(TDS)، pH، EC، آمونیوم، نیترات، فسفر و پتاسیم مورد آنالیز قرار گرفتند (Baird et al., 2017). میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در بافت پریفایتون نیز مورد بررسی قرار گرفتند (Arnon, 1949; Lightenthaler, 1987). نمونه‌های خاک در دمای اتاق هواخشک شدند و بعد از نرم‌کردن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و برای بافت خاک، pH، نیتروژن کل، پتاسیم قابل جذب، آمونیوم، نیترات، EC، کربن آلی و فسفر مورد آنالیز قرار گرفتند (Jones, 2001). همچنین تنفس پایه به روش Joggey (1956) اندازه‌گیری گردید.

جداسازی تثبیت‌کنندگان از زیست‌لایه پریفایتون

برای جداسازی تثبیت‌کنندگان هتروتروف و اتوتروف، سری‌های رقت از نمونه‌های پریفایتون تهیه و بر روی محیط نوترینت آگار برای رشد باکتری‌ها و محیط BG11 برای سیانوباکتری‌ها کشت داده شدند. پلیت‌های نوترینت آگار به مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد در تاریکی و پلیت‌های BG11 به مدت ۱۵ الی ۲۰ روز در دمای 26 ± 2 درجه سانتی‌گراد تحت دوره‌های نور و تاریکی (۱۰/۱۴ ساعت) انکوباسیون شدند. پلیت‌ها به طور منظم برای تشکیل کلنی پایش شدند به طوری که از نظر ظاهر، بافت، رنگ، حاشیه، رنگدانه و اندازه مورد بررسی قرار می‌گرفتند. کلنی‌هایی با صفات مورفولوژیکی متفاوت بر روی پلیت‌های نوترینت آگار و BG11 تازه خالص‌سازی شدند. سپس جدایه‌های باکتریایی خالص‌شده بعد از سه مرتبه شستشو با سرم فیزیولوژی در شرایط استریل بر روی پلیت‌های حاوی محیط N-Free Agar و جدایه‌های سیانوباکتریایی بر روی پلیت‌های BG11₀ (محیط BG11 بدون NaNO₃) کشت داده شدند. جدایه‌های باکتریایی و سیانوباکتریایی که در محیط‌های N-Free Agar و BG11₀ رشد کردند به عنوان تثبیت‌کنندگان نیتروژن در نظر گرفته شدند. همچنین فراوانی جلبک‌ها، سیانوباکتری‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها به روش Standard Plate Count (SPC) در زیست‌لایه

یک زیستگاه مناسب برای باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) عمل می‌کنند (Beheshti et al., 2021). غنی‌سازی زیست‌لایه پریفایتون با ریزجانداران حل‌کننده فسفات باعث افزایش کیفیت رشد و تغذیه (مانند فسفر، آهن، روی، منگنز و مس) گیاه برنج شد (Alikhani, Beheshti, et al., 2023; Beheshti et al., 2022). اگرچه پتانسیل تثبیت نیتروژن باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر برنج قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است، اما اطلاعات بسیار اندکی در مورد پتانسیل تثبیت نیتروژن تثبیت‌کنندگان جدا شده از پریفایتون وجود دارد.

با توجه به این موضوع که پریفایتون‌های شالیزار می‌تواند است میزبان باکتری‌هایی باشند که قادر به تثبیت نیتروژن هستند، این تحقیق با هدف ارزیابی اثربخشی پریفایتون غنی شده با تثبیت‌کنندگان هتروتروف و اتوتروف در افزایش سطوح نیتروژن و حمایت از رشد گیاه برنج انجام شد. اهمیت این مطالعه در پتانسیل آن برای ارائه روش‌های جایگزین پایدار و نوین برای کودهای شیمیایی نیتروژنی نهفته است. با بررسی این رویکرد جدید، هدف ما ارائه بینش‌های علمی جدید در مورد نقش جوامع میکروبی ناشناخته در شیوه‌های کشت پایدار برنج است که در نهایت سلامت محیط زیست و امنیت غذایی را افزایش می‌دهد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از خاک، آب و زیست‌لایه‌های پریفایتونی از سطح خاک شالیزارهای روستای گیله (37°08'17.7"N 49°28'36.2"E) در استان گیلان انجام شد. در فرآیند نمونه‌برداری از خاک، به توصیه‌های Gholami و همکاران (2020) برای به حداقل رساندن تلفات خاک عمل گردید. نمونه‌ها در ظروف استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های آب بلافاصله پس از ورود به آزمایشگاه از نظر میزان اکسیژن‌خواهی بیوشیمیایی (BOD₅)، اکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD)، کل جامدات محلول

نوترینت برات، با استفاده از کیت ایزوله از Promega (Madison, WI, USA) انجام شد. تکثیر ژن 16S rRNA از پروتکل‌های ایجاد شده توسط Edwards و همکاران (۱۹۸۹) پیروی کرد. توالی یابی توسط شرکت Solgent در کره جنوبی انجام شد. ویرایش توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA حاصل با استفاده از نرم افزار EditSeq (version 5.1) پردازش شد. برای مقایسه توالی‌های به دست آمده با ورودی‌های موجود در بانک اطلاعاتی GenBank، از BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) استفاده کردیم. اطلاعات توالی برای سویه باکتریایی به پایگاه داده توالی نوکلئوتیدی GenBank ارسال شد. برای شناسایی مورفولوژیکی جدایه سیانوباکتریایی (ایزوله D)، ویژگی‌های ظاهری بر اساس تصاویر میکروسکوپی و منابع معتبر ارزیابی گردید (Prescott, 1962; Whitford and Schumacher, 1973; John et al., 2002).

تیمار بندی و کشت گلخانه‌ای گیاه برنج

برای بررسی اثرات جداگانه جدایه‌های تثبیت‌کننده، پریفایتون طبیعی و پریفایتون غنی شده با جدایه‌های تثبیت‌کننده بر تغذیه نیتروژنی گیاه برنج، یک آزمون گلخانه‌ای بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به مدت ۴۰ روز پیاده‌سازی و اجرا گردید. این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم خاک دانشگاه تهران انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش به شرح زیر بودند:

- (۱) کنترل منفی (بدون کود نیتروژنی، پریفایتون، باکتری یا سیانوباکتری) = A
- (۲) جدایه باکتریایی (ایزوله E) = B
- (۳) جدایه سیانوباکتریایی (ایزوله D) = C
- (۴) جدایه باکتریایی (ایزوله E) + جدایه سیانوباکتریایی (ایزوله D) = B+C
- (۵) پریفایتون طبیعی (غنی نشده) = P
- (۶) پریفایتون + جدایه باکتریایی (ایزوله E) = P+B

پریفایتون به دست آمد. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید نیز ارزیابی و داده‌های حاصل در جدول ۳ آورده شده است.

سنجش کمی برای بررسی توان تثبیت نیتروژن

جدایه‌های باکتریایی مرحله قبل در N-Free (با ترکیبی مشابه با N-Free Agar، به جز آگار) و جدایه‌های سیانوباکتریایی در محیط BG110 مایع رشد داده شدند. پس از رسیدن به کدورت مناسب ($OD_{600} = 0.5$)، ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از این مایه تلقیح‌ها به محیط‌های همسان جدید منتقل شدند. محیط‌های حاوی جدایه‌های باکتریایی در تاریکی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر دورانی به مدت ۱۶۸ ساعت و برای جدایه‌های سیانوباکتریایی محیط‌های BG110 تحت یک چرخه نور/تاریکی ۱۰/۱۴ ساعت در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر دورانی به مدت ۲۴۰ ساعت انکوباسیون شدند. نمونه‌های شاهد از محیط‌های N-Free و BG110 بدون تلقیح باکتری یا سیانوباکتری نیز تهیه شد. مقدار تثبیت نیتروژن با استفاده از روش هضم گوگرد و سپس تقطیر با NaOH ۱۰ مولار اندازه‌گیری شد (Keeney and Bremner, 1966; Soares et al., 2006; Tang et al., 2020).

شناسایی جدایه‌های موثر باکتریایی و سیانوباکتریایی

یک جدایه باکتریایی (ایزوله E) و یک جدایه سیانوباکتریایی (ایزوله D) بر اساس قابلیت بالای تثبیت بیولوژیکی نیتروژن انتخاب و متعاقباً شناسایی شدند. این روش شناسایی برای جدایه باکتریایی شامل تعیین توالی بخشی از ژن 16S rRNA و بر اساس پرایمرهای 27F-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG و 1492R-GGTTACCTTGTTACGACTT شناسایی مولکولی جدایه باکتریایی تثبیت‌کننده نیتروژن پس از استخراج DNA ژنومی آن از کشت رشد یافته در محیط

باقی بماند. پس از گذشت ۵ روز، لایه پریفایتون به طور کامل بین سطح خاک و لایه آب شکل گرفت. گلدان‌ها به مدت ۴۰ روز در گلخانه با دمای بین ۲۸ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰ درصد و چرخه نور/تاریکی ۱۴/۱۰ ساعت نگهداری شدند.

آنالیزهای مربوط به گلخانه

پس از پایان دوره ۴۰ روزه نسبت به جمع‌آوری گیاهان رشد کرده و نمونه‌گیری از خاک هر گلدان اقدام شد. آزمایش‌های خاک شامل اندازه‌گیری نیتروژن کل، فسفر قابل جذب (Olsen, 1954)، پتاسیم قابل دسترس (Knudsen et al., 1982) و آمونیوم (Bremner and Keeney, 1966) بودند. پس از سنجش ارتفاع گیاهان و وزن خشک آن‌ها، بافت گیاهی برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم مورد استفاده قرار گرفت (Jones, 2001).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و نمایش گرافیکی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel ایجاد شد که در آن‌ها میله‌های خطا (Error Bars) نشان‌دهنده‌ی میزان خطای استاندارد (Standard Error) می‌باشند.

نتایج و بحث

مشخصات نمونه‌های خاک، آب و پریفایتون

در (جدول ۱) مشخصات مربوط به نمونه‌های خاک آورده شده است. بافت خاک در کلاس بافتی رسی سیلتی با رنگ 2.5Y 7/3 قرار گرفت. pH خاک در محدوده کمی اسیدی و به میزان ۶/۶ ثبت گردید. هدایت الکتریکی خاک به میزان ۰/۱۱ دسی‌زیمنس بر متر اندازه‌گیری شد. میزان ماده آلی خاک حدود ۲ درصد به

(۷) پریفایتون + جدایه سیانوباکتریایی (ایزوله D) =

P+C

(۸) پریفایتون + جدایه باکتریایی (ایزوله E) + جدایه

سیانوباکتریایی (ایزوله D) = P+B+C

(۹) کنترل مثبت (۱۲۵ کیلوگرم در هکتار کود اوره)

U =

به منظور تهیه پریفایتون غنی‌شده و مایه‌های تلقیح از روش‌های مورد استفاده توسط Beheshti و همکاران (2022) استفاده گردید. در مرحله بعدی از گلدان‌هایی به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۱۵ سانتی‌متر (بدون زهکش) با ۵ کیلوگرم خاک تهیه‌شده از شالیزار محل نمونه‌برداری اولیه واقع در روستای گیلده استفاده گردید. نیازهای تغذیه‌ای خاک مورد استفاده بر اساس داده‌های اولیه خاک و مطابق با نشریه موسسه تحقیقات برنج کشور، با استفاده از منابع مختلف کودی (پتاسیم از سولفات پتاسیم ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار، فسفر از سوپرفسفات تریپل ۱۶۵ کیلوگرم در هکتار و نیتروژن ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار (تیمار کنترل مثبت) از اوره) تامین گردید. بذر برنج (رقم هاشمی تهیه شده از موسسه تحقیقات برنج کشور در استان گیلان) با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت پنج دقیقه استریل و پس از چندین مرتبه شستشو با آب مقطر، عملیات کاشت با کشت ۱۵ بذر در هر گلدان انجام پذیرفت. سپس مطابق با هر تیمار ۱۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های جدایه‌ها، پریفایتون، پریفایتون غنی‌شده با جدایه‌های تثبیت‌کننده که به طور جداگانه و یا کنسرسیوم تهیه شده بودند، به گلدان‌های مخصوص خود اعمال شدند (در تیمارهای B, C و P از پریفایتون، باکتری در غلظت 10^6 الی 10^7 CFU/ml یا سیانوباکتری در غلظت 10^6 الی 10^8 Cells/ml به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون جداگانه تهیه شد اما در تیمارهای ترکیبی میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر بین اجزاء زنده تقسیم و و سوسپانسیون کلی تهیه گردید برای مثال جهت تهیه سوسپانسیون P+B میزان ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون پریفایتون با ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری مخلوط گردید). آبیاری با آب مقطر انجام گرفت و اطمینان حاصل شد که یک لایه آب ۵ سانتی‌متری روی سطح خاک

دست آمد. سایر موارد اندازه‌گیری شده در جدول قابل مشاهده می‌باشد.

جدول ۱ - ویژگی‌های خاک نمونه‌گیری شده از شالیزار
Table 1 – Soil characteristics of the paddy field

مقدار	واحد	شاخص
2.5Y 7/3	-	رنگ خاک (Soil Color)
40.22	%	رس (Clay)
5.08	%	شن (Sand)
54.7	%	سیلت (Silt)
رسی سیلتی	-	نوع بافت خاک (Soil texture class)
6.63	-	pH
0.11	dS/m	EC
0.22	%	نیتروژن کل (Total nitrogen)
68	mg/kg	آمونیم (Ammonium)
31	mg/kg	نترات (Nitrate)
8.9	mg/kg	فسفر (Phosphorus)
173	mg/kg	پتاسیم (Potassium)
2.1	%	ماده آلی (Organic matter)
0.25	mg CO ₂ g ⁻¹ soil 24 h ⁻¹	تنفس پایه (Basal respiration)

مشخصات مربوط به نمونه‌های آب شالیزار در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲ - ویژگی‌های آب نمونه‌گیری شده از شالیزار
Table 2 – Water characteristics of the paddy field

مقدار	واحد	پارامتر
12	mg/l	BOD ₅
192	mg/l	COD
7.74	-	pH
0.07	dS/m	EC
14	سانتی‌گراد	دما (Temperature)
50	mg/l	TDS
0.667	mg/l	آمونیاک (Ammonia)
13.28	mg/l	نترات (Nitrate)
0.09	mg/l	فسفر (Phosphorus)
0.9	mg/l	پتاسیم (Potassium)

در جدول ۳ مشخصات مربوط به نمونه‌های پریفایتون شالیزار آورده شده است.

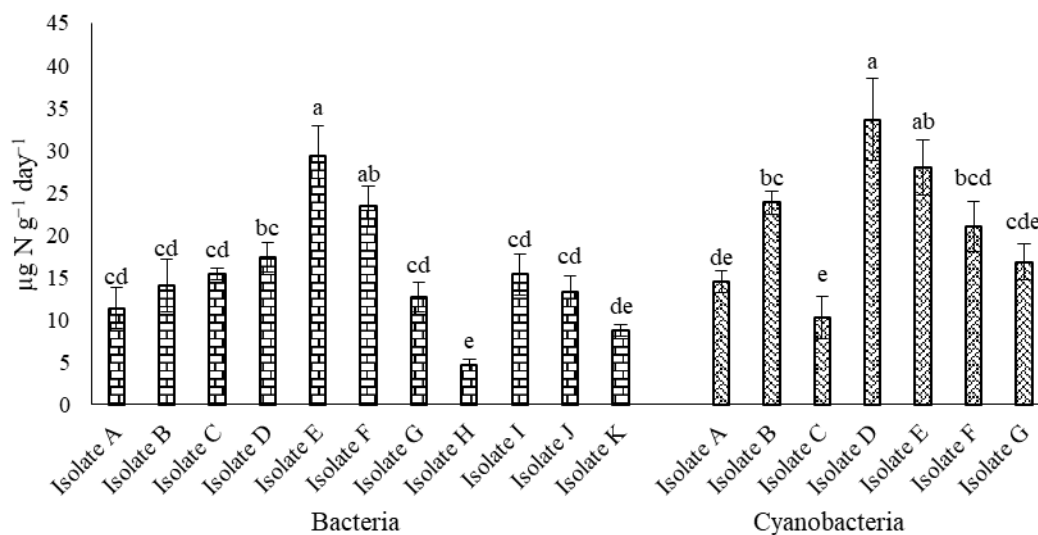
جدول ۳ - ویژگی‌های پریفایتون نمونه‌گیری شده از شالیزار
Table 3 – Periphyton characteristics of the paddy field

مقدار	واحد	پارامتر
61.5	(CFU g ⁻¹ dry soil ⁻¹) × 10 ³	فراوانی جلبک‌ها (Algae)
46.6	(CFU g ⁻¹ dry soil ⁻¹) × 10 ³	فراوانی سیانوباکتری‌ها (Cyanobacteria)
31	(CFU g ⁻¹ dry soil ⁻¹) × 10 ⁴	فراوانی باکتری‌ها (Bacteria)
2.3	(CFU g ⁻¹ dry soil ⁻¹) × 10 ⁴	فراوانی قارچ‌ها (Fungi)
0.174	mg/g	میزان کلروفیل a (Chlorophyll a)
0.020	mg/g	میزان کلروفیل b (Chlorophyll b)
0.675	µg/ml	میزان کاروتنوئید (Carotenoids)

دادند. این جدایه‌ها برای آزمون گلخانه‌ای کشت برنج انتخاب شدند. تا به امروز، هیچ گزارشی در مورد جداسازی تثبیت‌کنندگان از پریفایتون مزارع شالیزاری وجود ندارد. با این حال، مطالعات قبلی ما با موفقیت باکتری‌ها و قارچ‌های حل‌کننده فسفر را از پریفایتون جدا و مستند کرده‌اند (Alikhani, Beheshti, et al., 2023; Beheshti et al., 2022; Beheshti et al., 2021). باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در پریفایتون‌های ساکن در اکوسیستم‌های طبیعی دارای آب شیرین مانند تالاب‌های طبیعی و آب شور مانند دریاها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، مکان‌هایی که شرایط برای تشکیل زیست‌لایه و تثبیت نیتروژن مساعد است (Chen et al., 2020; Su et al., 2017; Wu et al., 2018).

تعیین جدایه‌های باکتریایی و سیانوباکتریایی برتر در فرآیند تثبیت نیتروژن

در مجموع ۵۱ جدایه باکتریایی و ۱۹ جدایه سیانوباکتریایی که از نظر مورفولوژی با همدیگر تفاوت داشتند، به ترتیب در محیط کشت‌های NA و BG11 جداسازی شدند. پس از کشت مجدد این جدایه‌ها در محیط کشت‌های بدون نیتروژن، تنها ۱۱ جدایه باکتری در محیط N-Free Agar و ۷ جدایه سیانوباکتری در محیط BG110 توانایی رشد داشتند. میزان تجمع نیتروژن در محیط کشت به روش کج‌دال در شکل ۱ نشان داده شده است. جدایه باکتری E و جدایه سیانوباکتری D بالاترین میزان تثبیت نیتروژن را در بین جدایه‌های آزمایش‌شده نشان



شکل ۱ - میزان تجمع نیتروژن کل در محیط کشت بدون نیتروژن
Figure 1 - Total nitrogen content in nitrogen-free culture medium

Nostoc sp. شناسایی کرد. گونه‌های *Delftia* به طور خاص در موضوع زیست‌لایه‌های پریفایتون در تحقیقات بررسی نشده‌اند، اما به عنوان بخشی از جوامع میکروبی متنوع شناخته می‌شوند که ممکن است شامل زیست‌لایه‌ها نیز باشند (Borsodi et al., 2007). گونه‌های *Delftia* به دلیل تطبیق‌پذیری متابولیک، از جمله قابلیت بالقوه در تثبیت نیتروژن مورد توجه قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال،

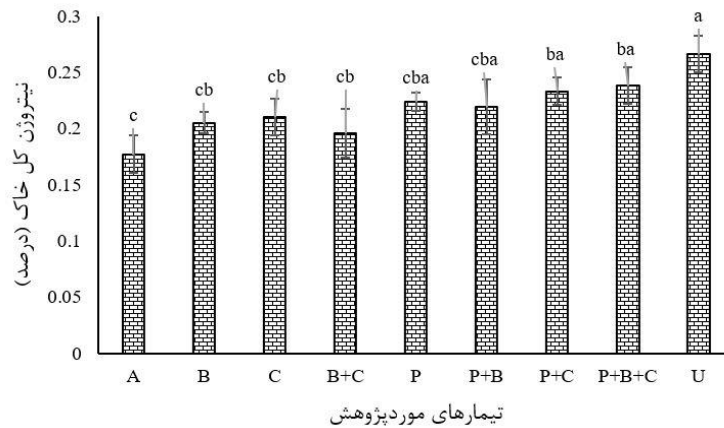
شناسایی جدایه‌های باکتریایی و سیانوباکتریایی برتر در فرآیند تثبیت نیتروژن

شناسایی مولکولی ایزوله باکتریایی نشان داد که جدایه E ۹۹/۷۹ درصد شباهت به *Delftia lacustris* دارد (شماره دسترسی PV500579). تجزیه و تحلیل‌های مورفولوژیکی نیز جدایه سیانوباکتری D را به عنوان

اثر تیمارهای مختلف بر میزان نیتروژن کل (NT) و آمونیوم (NH₄⁺) خاک

تیمارهای مختلف به طور قابل‌توجهی میزان نیتروژن کل و آمونیوم را در خاک افزایش دادند، که نقش حیاتی زیست‌لایه‌های پریفایتون و ریزجانداران تثبیت‌کننده مرتبط را در چرخه نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک شالیزارها نشان می‌دهند. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، میزان نیتروژن کل در تیمار اوره به عنوان شاهد مثبت (U) منجر به افزایش ۴۶/۱۵ درصدی گردید، به دنبال آن تیمار P+C+B با ۳۷/۸۳ درصد، تیمار P+C با ۳۱/۵۷ درصد، تیمار P+B با ۲۷/۰۲ درصد و تیمار P با ۲۳/۰۷ درصد در مقابل تیمار A به عنوان تیمار شاهد منفی (۲/۷ درصد) موجب افزایش در میزان نیتروژن خاک شدند. استفاده از کود اوره تحت واکنش هیدرولیز در محلول خاک و با تولید یون‌های آمونیوم باعث افزایش سطح نیتروژن معدنی در خاک می‌شود که نقش مهمی در کشاورزی دارد. از طرفی، حضور ریزجانداران تثبیت‌کننده، از جمله *Delftia lacustris* و *Nostoc sp.* در زیست‌لایه پریفایتون، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن را تسریع و فراهمی نیتروژن را تسهیل می‌کنند. گونه‌های *Delftia* به دلیل توان بالا در فعالیت نیتروژن‌سازی شناخته شده‌اند (Arvind et al., 2011; Han et al., 2005; Tang et al., 2020). سیانوباکتری‌های راسته *Nostocales* نقش اساسی در تبدیل آنزیمی نیتروژن اتمسفر به اشکال آلی و معدنی ایفا می‌کنند (Prasanna et al., 2011).

سویه *Delftia tsuruhatensis* از ریزوپلان برنج جدا و گزارش شد که فعالیت تثبیت نیتروژن قابل توجهی در محیط‌کشت‌های بدون نیتروژن نشان می‌دهد (Han et al., 2005). در تحقیق دیگری چنین بیان شده است که این باکتری دارای ژن *nifH* ضروری برای تثبیت نیتروژن است و همچنین رشد و مورفونز گیاه را تحریک می‌کند (Agafonova et al., 2017). مطالعاتی وجود دارند که جداسازی گونه‌های نوستوک را از خاک‌های شالیزاری مستند کرده‌اند. یکی از این مطالعات ساختار جامعه میکروبی را بررسی و حضور سیانوباکتری‌های مختلف از جمله نوستوک را گزارش کرد (Bharti et al., 2009; Saadatnia and Riahi, 2017). گونه‌های *Nostoc* به طور قابل‌توجهی پیچیدگی ساختاری زیست‌لایه‌ها را از طریق ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی افزایش می‌دهند. این سیانوباکتری‌ها کلنی‌های گسترده‌ای را تشکیل می‌دهند که به ساختار فیزیکی زیست‌لایه‌ها کمک و در عین حال تعاملات میکروبی متنوعی را در محیط خود تسهیل می‌کنند (Saha et al., 2021; Teikari et al., 2024). به دلیل برخی محدودیت‌های مالی و زمانی، پژوهشگران به شناسایی مورفولوژیکی گونه سیانوباکتری حاضر در این مطالعه اکتفا کردند که توصیه می‌گردد در مطالعات آتی نسبت به شناسایی مولکولی سیانوباکتری نیز اقدام گردد.

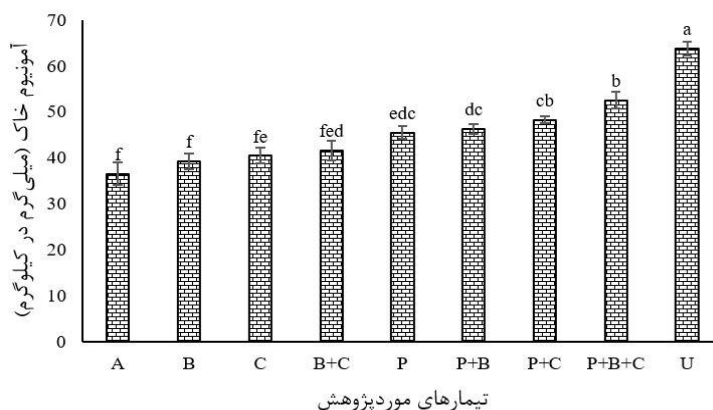


شکل ۲- میزان نیتروژن کل خاک در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. کنترل منفی A، جدایه باکتریایی B، جدایه سیانوباکتریایی C، جدایه باکتریایی + جدایه سیانوباکتریایی B+C، پریفایتون طبیعی P، پریفایتون + جدایه باکتریایی P+B، پریفایتون + جدایه سیانوباکتریایی P+C، پریفایتون + جدایه باکتریایی + جدایه سیانوباکتریایی P+B+C، کنترل مثبت U.

Figure 2 - Total soil nitrogen content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Negative control A, bacterial isolate B, cyanobacterial isolate C, bacterial isolate + cyanobacterial isolate B+C, natural periphyton P, periphyton + bacterial isolate P+B, periphyton + cyanobacterial isolate P+C, periphyton + bacterial isolate + cyanobacterial isolate P+B+C, positive control U.

نشان داده‌اند که ریشه‌های گیاه تلقیح‌شده با *Nostoc punctiforme* تشکیل هتروسیست و فعالیت نیتروژنازی را به دنبال دارد که بر نقش سیانوباکتری‌ها در تثبیت نیتروژن تاکید می‌کند (Alvarez et al., 2020, 2023). از دیگر سو، فعالیت نیتروژنازی بالای باکتری *Delftia lacustris* از روش Acetylene Reduction Assay اثبات شده است (Arvind et al., 2011). این فعل و انفعالات میکروبی به طور قابل توجهی به افزایش میزان آمونیوم خاک کمک می‌کنند که متعاقباً حاصلخیزی خاک و رشد گیاه را در محیط‌های فقیر از مواد مغذی بهبود می‌بخشد. غنی‌سازی زیست‌لایه‌های پریفایتونی با ریزجانداران تثبیت‌کننده در مدیریت شالیزار، دسترسی نیتروژن را از طریق مستقیم و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن افزایش می‌دهد. این یافته‌ها بر پتانسیل کودهای زیستی مبتنی بر پریفایتون در زراعت پایدار برنج با کاهش اتکا به کودهای شیمیایی و در عین حال بهبود چرخه مواد مغذی و سلامت خاک تاکید می‌کند.

مشابه با نیتروژن کل، میزان آمونیوم (NH_4^+) در تمام تیمارهای حاوی پریفایتون پس از دوره رشد افزایش یافت (شکل ۳). تیمار اوره (U) با ۷۰/۸۳ درصد بیشترین افزایش را نشان داد و پس از آن تیمارهای P+B+C (۴۲/۱۰ درصد)، P+C (۳۰/۵۲ درصد)، P (۲۴/۴۶ درصد)، P+B (۲۳/۹۵ درصد)، B+C (۱۶/۳۰ درصد)، C (۹/۴۷ درصد) و B (۸/۶۰ درصد) موجب افزایش در میزان نیتروژن آمونیومی خاک شدند. این نتایج نشان می‌دهند که پریفایتون با افزایش فراهمی آمونیوم نقش مهمی در چرخه نیتروژن ایفا می‌کند. اثربخشی پریفایتون در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن تحت تأثیر عوامل محیطی مانند رطوبت و فراهمی مواد مغذی است (Liao and Inglett, 2014). فعالیت نیتروژنازی در شرایط نوری بالاتر است، این مورد نشان می‌دهد که جامعه تثبیت‌کننده نیتروژن در پریفایتون در درجه اول از سیانوباکتری‌ها تشکیل شده است (Inglett et al., 2004; Liao and Inglett, 2012). مطالعات قبلی



شکل ۳ - میزان آمونیوم خاک در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

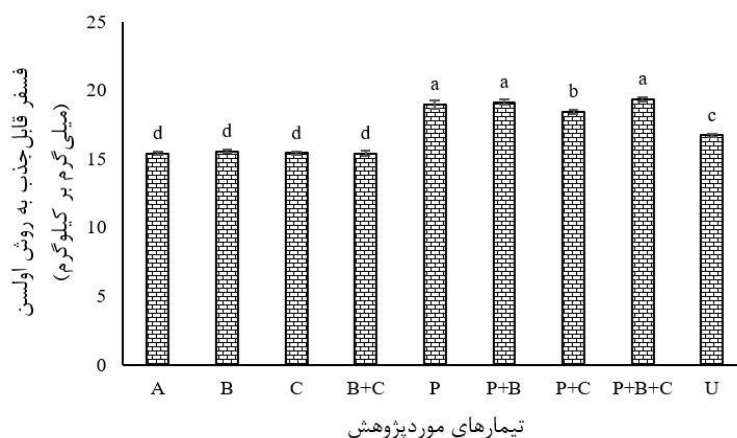
Figure 3 - Total soil ammonium content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

۱۱/۰۲ درصد و U با ۳/۸۷ درصد به ترتیب موجب افزایش پتاسیم محلول خاک شدند. پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که زیست‌لایه پریفایتون می‌تواند دسترسی گیاه به فسفر در اراضی شالیزاری را به دلیل دارا بودن طیف وسیعی از ریزجانداران حل‌کننده فسفات، از جمله انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها، بهبود بخشد (Alikhani, Beheshti, et al., 2023; Beheshti et al., 2021, 2022). گزارش شده است که استفاده از پریفایتون در مراحل بعدی رشد برنج می‌تواند هم به عنوان منبع فسفر و هم به عنوان یک فعال‌کننده عمل کند و غلظت فسفر موجود در خاک را افزایش دهد. فراهمی زیستی فسفر تنظیم‌شده توسط پریفایتون با نیازهای گیاه برنج مطابقت دارد و کارایی استفاده از فسفر را در شالیزارهای دارای خاک آهکی بهبود می‌بخشد (Haghani et al., 2024).

اثر تیمارهای مختلف بر میزان فسفر قابل جذب

(P) و پتاسیم قابل دسترس (K) خاک

همانطور که در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است، تیمارهای حاوی پریفایتون به طور قابل توجهی فراهمی فسفر (P) و پتاسیم (K) را در خاک در طول زمان افزایش دادند. در روز ارزیابی نهایی، فسفر قابل جذب ۳۵/۰۱ درصد در تیمار P+B+C، ۳۲/۲۲ درصد در تیمار P+B، ۳۱/۳۹ درصد در تیمار P و ۲۳/۸۳ درصد در تیمار P+C افزایش یافت. تیمار U نیز موجب افزایش ۱۷/۰۱ درصدی در فسفر قابل جذب خاک گردید. به طور مشابه، تیمارهای حاوی پریفایتون منجر به افزایش پتاسیم قابل دسترس شدند. به طوری که تیمارهای P+B+C با ۱۵/۳۶ درصد، P+C با ۱۲/۸۳ درصد، P با ۱۱/۵۸ درصد، P+B با

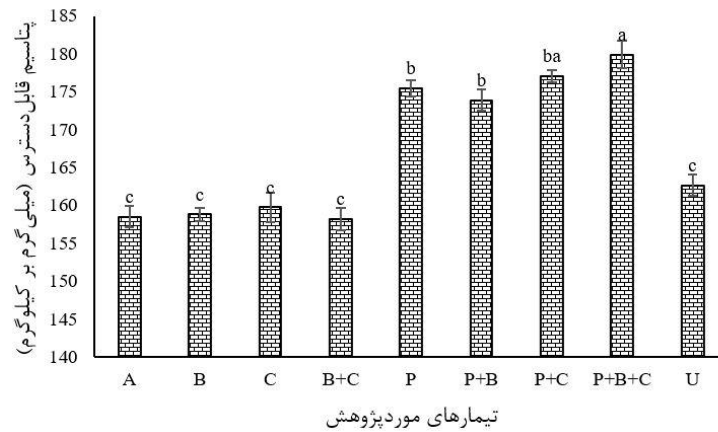


شکل ۴- میزان فسفر قابل جذب خاک در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 4 - Available soil phosphorus content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

که پریفایتون سطوح ریز متخلخلی را فراهم می‌کند که به عنوان مکان‌های جذب عناصر مغذی عمل می‌کنند و به دسترسی پایدار پتاسیم کمک می‌کنند (Alikhani et al., 2023). علاوه بر این موارد، اجزای فوتوتروف در پریفایتون به ویژه جلبک‌ها، برای فرآیندهای متابولیکی خود به پتاسیم نیاز دارند که منجر به نوسانات موقت در سطوح پتاسیم آب و خاک می‌شود. با این حال، پریفایتون می‌تواند به طور موثر پتاسیم را در مراحل اولیه رشد گیاه ذخیره کند و از تلفات آن جلوگیری کرده و آن را در مراحل بعدی چرخه رشد گیاه در دسترس قرار دهد. با استفاده از توانایی‌های طبیعی این جوامع میکروبی نوین برای انحلال مواد نامحلول و تنظیم پویایی و بازچرخش عناصر مغذی، کشاورزان می‌توانند عملکرد محصول را بهینه کنند و در عین حال اتکا به کودهای شیمیایی را کاهش دهند.

نشان داده شده است که خاک‌های شالیزاری دارای پریفایتون طبیعی باعث افزایش سطح Olsen-P می‌گردند (Wu et al., 2018). زیست‌لایه‌های پریفایتونی از طریق ترشح فسفات‌ها نقش مهمی در تبدیل فسفر آلی به اشکال معدنی (عمدتاً ارتوفسفات) دارند (Sharma et al., 2005; Weigelhofer et al., 2018). علاوه بر این، جلبک‌ها به حفظ سطح فسفر آلی در خاک و آب کمک می‌کنند (Al-Maliki and Ebreesum, 2020). در مورد پتاسیم، گزارش شده است که میکروبیوم‌های اپی‌فایتیک، به ویژه باکتری‌های آزادکننده پتاسیم (KSB) و قارچ‌های مرتبط با پریفایتون، نقش پیشگامی در تشکیل و تثبیت زیست‌لایه ایفا می‌کنند و باعث افزایش آزادسازی پتاسیم و میزان آن در محلول خاک می‌شوند. پژوهشگران مشاهده کردند که بالاترین غلظت پتاسیم موجود در محیط کشت غنی از بیوتیت به ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. به طوری



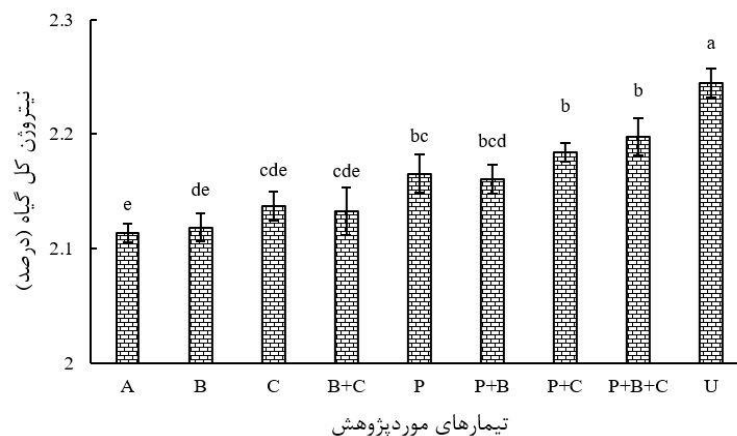
شکل ۵ - میزان پتاسیم قابل‌دسترس خاک در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 5 - Available soil potassium content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

آن از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، افزایش فراهمی این عنصر در شالیزارها را به دنبال دارد و نیتروژن معدنی را برای جذب گیاه برنج در شالیزارها فراهم می‌کند (Jaiswal et al., 2021; Álvarez et al., 2020, 2023). همچنین حضور سیانوباکتری‌ها، انتقال نیتروژن به گیاه برنج را تسهیل می‌کند و سلامت کلی گیاه را از طریق تولید انواع مختلف هورمون‌ها و آنزیم‌های کلیدی تضمین و تولید نهایی محصول را ارتقاء می‌دهند.

اثر تیمارهای مختلف بر میزان نیتروژن کل (N)، فسفر (P) و پتاسیم (K) گیاه برنج

کاربرد تیمارهای حاوی پریفایتون و اوره (U) به طور قابل توجهی مقادیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم کل را در گیاهچه‌های برنج پس از یک دوره رشد ۴۰ روزه افزایش دادند (شکل‌های ۶، ۷ و ۸). زیست‌لایه پریفایتون به واسطه دارا بودن تثبیت‌کنندگان اتوتروف و هتروتروف و متعاقب

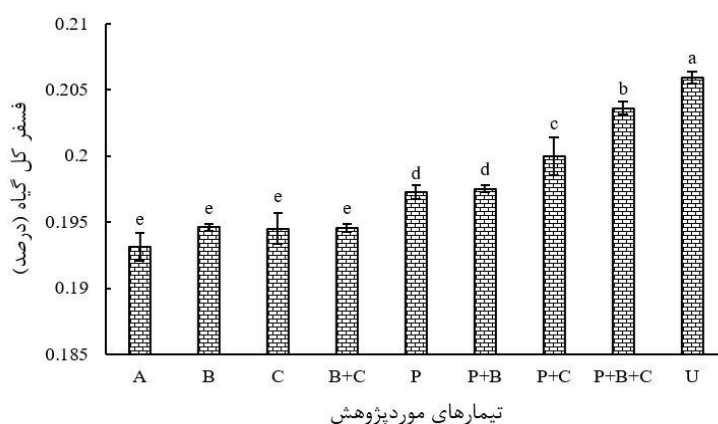


شکل ۶ - میزان نیتروژن کل گیاه در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 6 - Total plant nitrogen content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

حفظ و قابلیت جذب فسفر و پتاسیم مورد نیاز گیاه برنج را فراهم می‌کنند. پریفایتون به سرعت فسفر ورودی از کود شیمیایی را در مراحل اولیه انباشت می‌کند و سپس از طریق تجزیه میکروبی، فراهمی زیستی فسفر را افزایش می‌دهد (Abod et al., 2019; Jørgensen et al., 2009). همچنین ریزجانداران ساکن در پریفایتون مواد مخاطی ترشح می‌کنند که به جذب فسفر محلول کمک و از تلفات فسفر جلوگیری می‌کنند و در نتیجه کارایی مصرف فسفر را بهبود می‌بخشند (Karageorgiou et al., 2007).

زیست‌لایه پریفایتون علاوه بر جامعه اتوتروفی، طیف وسیعی از هتروتروف‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از قبیل ازتوباکترها و آزوسپریلیوم‌ها را نیز دارا می‌باشد که جمعاً به حفظ و فراهمی نیتروژن در خاک و آب کمک می‌کنند. از دیگر سو، پریفایتون با دربرداشتن انواع باکتری‌ها و قارچ‌های آزادکننده پتاسیم و حل‌کننده فسفات موجبات



شکل ۷ - میزان فسفر کل گیاه در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

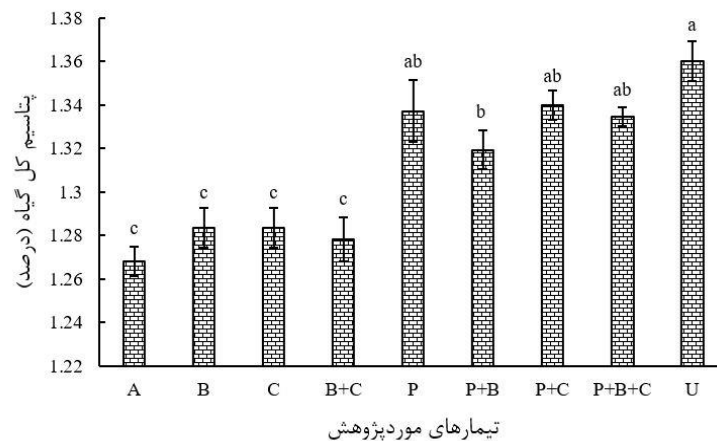
Figure 7 - Total plant phosphorus content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

خلاصه، پریفایتون میزان مجموعه متنوعی از ریزوباکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) می‌باشد که نیاز به ادغام آن در سیستم‌های کشت برنج را افزایش می‌دهد. به طور کلی پریفایتون با طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، حل‌کننده فسفر و آزادکننده پتاسیم توانایی بالایی در تامین اشکال معدنی و قابل جذب این عناصر در محلول خاک ایفا می‌کند اما بر طبق نمودارها، توانایی و ترجیح گیاه در وهله اول و شرایط خاک و محیط در وهله دوم عوامل تعیین‌کننده برای اثربخشی نهایی این فراهمی‌ها بر خود گیاه برنج هستند. به عنوان مثال کاربرد کود اوره در حد کفایت (تیمار U) موجب افزایش جذب و تجمع این عناصر (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) در بافت گیاه گردید در حالی که تیمارهای حاوی پریفایتون موجب

در مورد عنصر پتاسیم، اگرچه این عنصر در خاک به وفور یافت می‌شود، اما اکثریت آن به صورت ثابت وجود دارد و فقط حدود دو درصد از آن برای جذب گیاه در دسترس است (Jalali et al., 2021). آزادکنندگان پتاسیم، حلالیت این عنصر را از طریق اسیدی کردن، تولید سیدروفور و ترشح پلیمرهای خارج سلولی افزایش می‌دهند، که در مجموع به افزایش فراهمی پتاسیم کمک می‌کند (Bahadur et al., 2019; Jain et al., 2022). با توجه به نیاز بالای گیاه برنج به پتاسیم، کاربرد پریفایتون با کودهای پتاسیمی می‌تواند به حفظ تعادل مواد مغذی و جلوگیری از بیش مصرفی و تلفات این عنصر در شالیزارها کمک کند (Raheb and Heidari, 2012; Towfighi, 1998; Yaghoubi Khanghahi et al., 2018). به طور

را به شدت افزایش دادند، اما سرعت جذب و تأثیر آن بر رشد در کوتاه‌مدت همچنان در تیمار کود شیمیایی محلول (تیمار U) بالاتر بود. این موضوع تفاوت کلیدی بین فراهمی بیولوژیکی و دسترسی فوری شیمیایی عناصر را برجسته می‌کند.

بیشترین فراهمی این عناصر در محلول خاک شده بودند اما مصرف کود اوره (تیمار U) در این پژوهش نتایج نهایی را غیرقابل انتظار کرد و این نکته مهم‌ترین موردی است که محققان باید در تحقیقات آینده و همچنین در توصیه به زارعان برنج به آن توجه ویژه نمایند. این یافته نشان می‌دهد که اگرچه تیمارهای بیولوژیک فراهمی عناصر در خاک



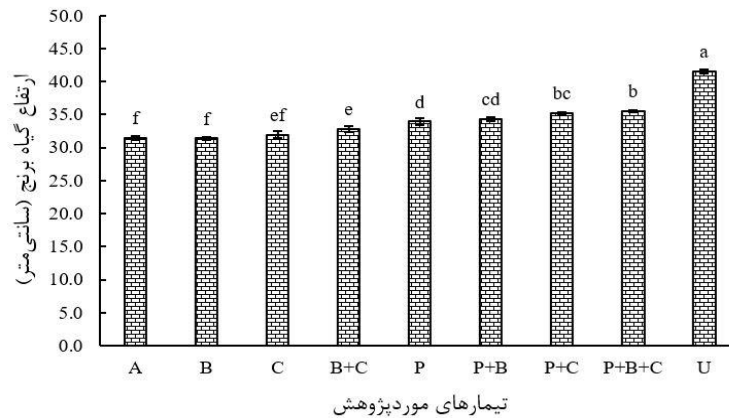
شکل ۸- میزان پتاسیم کل گیاه در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 8 - Total plant potassium content in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

محرك رشد گیاه (PGPB) منجر به بهبود پارامترهای مورفولوژیکی گیاه برنج از جمله افزایش ارتفاع و زیست توده گیاهی شده بود (Alikhani et al., 2021; Alikhani, Beheshti, et al., 2023; Beheshti et al., 2022; Haghani et al., 2024; Leylasi Marand et al., 2025). *Delftia* sp. جداشده از ریزوسفر به عنوان یک باکتری محرك رشد گیاه شناخته می‌شود. به طوری که *Delftia* sp. دارای توانایی تولید سیدروفورها و ایندول استیک‌اسید (IAA) هستند، اگرچه این مطالعات سویه‌های *Delftia lacustris* را به عنوان تولیدکننده سیدروفور ذکر نکرده‌اند (Han et al., 2005).

اثر تیمارهای مختلف بر میزان ارتفاع و وزن خشک گیاه برنج

تیمارهای دارای پریفایتون، چه طبیعی و چه غنی شده با جدایه‌ها، به طور قابل توجهی ارتفاع و وزن خشک بوته‌های برنج را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دادند (شکل‌های ۹ و ۱۰). مشاهده شد که تیمار اوره (U) که به عنوان کنترل مثبت عمل می‌کرد، بالاترین ارتفاع و وزن خشک گیاهچه برنج را با میانگین ارتفاع حدود ۴۱/۵۶ سانتی‌متر و میانگین وزن ۵/۴۱ گرم بر گلدان ثبت کرد. در مطالعات قبلی، کاربرد پریفایتون غنی‌شده با باکتری‌های

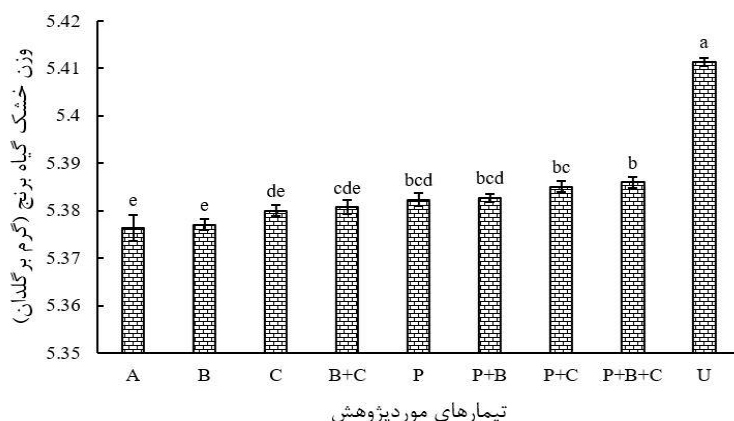


شکل ۹ - میزان ارتفاع گیاه در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 9 - Plant height in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

سیانوباکتری‌ها نه تنها محصولات را با تثبیت نیتروژن و تولید مواد آلی پشتیبانی می‌کنند، بلکه حلالیت فسفات‌ها را افزایش می‌دهند و به واسطه فتوسنتز، اکسیژن را برای ریشه‌ها فراهم می‌کنند. همچنین انواع هورمون‌ها و ویتامین‌هایی را ترشح می‌کنند که رشد و عملکرد برنج را افزایش می‌دهند (Bao et al., 2021; Prasanna et al., 2015; Renuka et al., 2018). دریافتند که طول ریشه و ارتفاع ساقه گیاهچه‌های برنج ۱۰ روزه پس از تلقیح با سیانوباکتری، نسبت به شاهد، پنج برابر افزایش یافت. پژوهشگران جمعیت سیانوباکتریایی را از پنج گروه مختلف فیلوژنتیکی برای تلقیح به کرت‌های برنج انتخاب کردند. آن‌ها گزارش کردند که وضعیت گیاه برنج در کرت‌های تلقیح شده، سبزتر و سالم‌تر از کنترل‌های غیرتلقیح شده به نظر می‌رسند. همچنین اندازه‌گیری‌های مرتبط با آنالیز خوشه و دانه نشان داد که تعداد بیشتری از دانه‌های سنگین‌تر در هر خوشه از کرت‌های تلقیح شده وجود دارند (Iniesta-Pallarés et al., 2021).

نشان داده شده است که که تلقیح با سویه *Delftia lacustris* منجر به افزایش وزن کلی گیاه شد بدین صورت که افزایش قابل توجهی در وزن خشک اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با این سویه مشاهده شد (۲۵/۹۸ درصد). نتایج این تحقیق بیان داشت که *Delftia lacustris* باعث افزایش طول ساقه و وزن خشک گردید (Abod et al., 2019). ریزجانداران محرک رشد گیاه، رشد برنج را از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله آزادسازی هورمون‌های گیاهی مانند IAA، ترشح سیدروفورها، تثبیت نیتروژن و فعالیت ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک‌اسید دامیناز افزایش می‌دهند (Etesami, 2019; Khosravi et al., 2025). از طرفی سیانوباکتری‌ها در خاک‌های مختلف از جمله مزارع کشاورزی و شالیزارهای برنج حضور دارند و بخشی از جامعه پروکاریوتی معروف به PGPB هستند. گونه‌های اصلی سیانوباکتریایی تثبیت‌کننده نیتروژن که در مزارع برنج یافت می‌شوند عبارتند از آنابنا، اولوزیرا، نوستوک، کالوتریکس، تولیپوتریکس، سیتونما و پلکتونما. این



شکل ۱۰ - میزان وزن خشک گیاه در تیمارهای مختلف پس از پایان دوره ۴۰ روزه کشت گیاه برنج در گلخانه. برای توضیحات تیمارها به عنوان شکل ۲ مراجعه شود.

Figure 10 - Plant dry weight in different treatments after the 40-day rice cultivation period in the greenhouse. Refer to caption of Fig. 2 for description of treatments.

این عمل را تحت شرایط محیطی مختلف در نظر بگیرد و هدف آن به حداکثر رساندن مزایای آن در شیوه‌های کشاورزی پایدار برنج در سطح ایران باشد. علاوه بر این، درک بیشتر از نقش این زیست‌لایه در چرخه نیتروژن، کاربردهای پنهان بالقوه‌ای در راهبردهای مربوط به کودهای زیستی خواهد داشت که برای افزایش بهره‌وری زراعت برنج و در عین حال کاهش اتکا به کودهای شیمیایی می‌توانند مورد بررسی قرار گیرند. در مجموع، این یافته‌ها بر پتانسیل زیست‌لایه‌های پریفایتونی به‌عنوان مخازنی جدید برای جداسازی تثبیت‌کننده‌های پرتوان نیتروژن، که به چرخه این عنصر و سایر مواد مغذی در تالاب‌های طبیعی و مصنوعی کمک می‌کنند، تأکید می‌کند.

سپاسگزاری

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری انجام شده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که زیست‌لایه پریفایتون همانند ریزوسفر برنج دارای پتانسیل بسیار بالا و نوینی برای جداسازی انواع ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و وضعیت تغذیه‌ای گیاه برنج است. پریفایتون با جمعیت متنوع PGPRها، نقش حمایتی مهمی در رشد گیاه برنج ایفا می‌کند. همانطور که توسط یافته‌ها نشان داده شد، تیمارهای حاوی پریفایتون در مقایسه با سایر تیمارها به نتایج متفاوت و بهتری منجر شدند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که غنی‌سازی پریفایتون با *Delftia lacustris* و *Nostoc sp.* فراهمی نیتروژن را به طور معنی‌داری افزایش داد. اگرچه هدف اصلی این پژوهش بر فراهمی نیتروژن متمرکز بود، اما مشاهده شد که سطوح فسفر (P) و پتاسیم (K) در خاک نیز بهبود قابل‌توجهی را تجربه کردند. نتایج این تحقیق بر پتانسیل استفاده از جوامع میکروبی برای بهبود پایداری سیستم‌های تولید برنج تأکید می‌کند. تحقیقات آتی باید اثرات بلندمدت

References

1. Abod, É., Laslo, É., Szentes, S., Lányi, S., & Mara, G. (2019). Plant growth-promoting bacteria: strategies to improve wheat growth and development under sustainable agriculture. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability: From Theory to Practices*, 1-17.
2. Agafonova, N., Doronina, N., Kaparullina, E., Fedorov, D., Gafarov, A., Sazonova, O., Sokolov, S., & Trotsenko, Y. A. (2017). A novel Delftia plant symbiont capable of autotrophic methylotrophy. *Microbiology*, 86, 96-105.
3. Al-Maliki, S., & Ebreesum, H. (2020). Changes in soil carbon mineralization, soil microbes, roots density and soil structure following the application of the arbuscular mycorrhizal fungi and green algae in the arid saline soil. *Rhizosphere*, 14, 100203.
4. Alikhani, H. A., Ahmadi, H., Etesami, H., Noroozi, M., Rahmani, H. A., & Emami, S. (2023). Studies on Autotrophic Components of Periphyton in Some Iranian Aquatic Ecosystems. *International Journal of Environmental Research*, 17(2), 24.
5. Alikhani, H. A., Beheshti, M., Pourbabaee, A. A., Etesami, H., Asadi Rahmani, H., & Noroozi, M. (2023). Phosphorus Use Management in Paddy Fields by Enriching Periphyton with Its Phosphate-Solubilizing Bacteria and Fungi at the Late Stage of Rice Growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(2), 1896-1912. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01145-2>
6. Alikhani, H., Ahmadi, H., Etesami, H., Noroozi, M., Asadi Rahmani, H., & Emami, S. (2021). Study of periphyton (algae flora) community in aquatic ecosystems of Guilan province. *Journal of Soil Biology*, 9(1), 29-39. (In Persian).
7. Álvarez, C., Jiménez-Ríos, L., Iniesta-Pallarés, M., Jurado-Flores, A., Molina-Heredia, F. P., Ng, C. K., & Mariscal, V. (2023). Symbiosis between cyanobacteria and plants: from molecular studies to agronomic applications. *Journal of Experimental Botany*, 74(19), 6145-6157.
8. Álvarez, C., Navarro, J. A., Molina-Heredia, F. P., & Mariscal, V. (2020). Endophytic colonization of rice (*Oryza sativa* L.) by the symbiotic strain *Nostoc punctiforme* PCC 73102. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33(8), 1040-1045.
9. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1.
10. Arvind, G., Sood, S., Rahi, P., Thakur, R., Chauhan, S., & Nee Chadha, I. C. (2011). Diversity analysis of diazotrophic bacteria associated with the roots of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Journal of microbiology and biotechnology*, 21(6), 545-555.
11. Bahadur, I., Maurya, R., Roy, P., & Kumar, A. (2019). Potassium-solubilizing bacteria (KSB): a microbial tool for K-solubility, cycling, and availability to plants. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability: From Theory to Practices*, 257-265.
12. Baird, R. B., Eaton, A. D., & Rice, E. W. (Eds.). (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association.
13. Bao, J., Zhuo, C., Zhang, D., Li, Y., Hu, F., Li, H., Su, Z., Liang, Y., & He, H. (2021). Potential applicability of a cyanobacterium as a biofertilizer and biopesticide in rice fields. *Plant and Soil*, 463, 97-112.
14. Beheshti, M., Alikhani, H. A., Pourbabaee, A. A., Etesami, H., Asadi Rahmani, H., & Noroozi, M. (2022). Enriching periphyton with phosphate-solubilizing microorganisms improves the growth and concentration of phosphorus and micronutrients of rice plant in calcareous paddy soil.

- Rhizosphere*, 24, 100590. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100590>
15. Beheshti, M., Alikhani, H. A., Pourbabaee, A. A., Etesami, H., Asadi Rahmani, H., & Noroozi, M. (2021). Periphytic biofilm and rice rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria and fungi: A possible use for activating occluded P in periphytic biofilms in paddy fields. *Rhizosphere*, 19, 100395. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100395>
 16. Bharti, A., Velmourougane, K., & Prasanna, R. (2017). Phototrophic biofilms: diversity, ecology and applications. *Journal of Applied Phycology*, 29, 2729-2744.
 17. Borsodi, A. K., Ruzsnyák, A., Molnár, P., Vladár, P., Reskóné, M. N., Tóth, E. M., Sipos, R., Gedeon, G., & Márialigeti, K. (2007). Metabolic activity and phylogenetic diversity of reed (*Phragmites australis*) periphyton bacterial communities in a Hungarian shallow soda lake. *Microbial ecology*, 53, 612-620.
 18. Bremner, J., & Keeney, D. (1966). Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Science Society of America Journal*, 30(5), 577-582.
 19. Chen, X., Chen, X., Zhao, Y., Zhou, H., Xiong, X., & Wu, C. (2020). Effects of microplastic biofilms on nutrient cycling in simulated freshwater systems. *Science of the Total Environment*, 719, 137276.
 20. Chen, Z., Dolfing, J., Zhuang, S., & Wu, Y. (2022). Periphytic biofilms-mediated microbial interactions and their impact on the nitrogen cycle in rice paddies. *Eco-environment & health*, 1(3), 172-180.
 21. Ding, L.-J., Cui, H.-L., Nie, S.-A., Long, X.-E., Duan, G.-L., & Zhu, Y.-G. (2019). Microbiomes inhabiting rice roots and rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(5), fiz040.
 22. Etesami, H. (2019). Plant growth promotion and suppression of fungal pathogens in rice (*Oryza sativa* L.) by plant growth-promoting bacteria. *Field crops: sustainable management by PGPR*, 351-383.
 23. Gholami, M., Sharifi, Z., Karami, Z., Haghghi, S., Minouei, S. F., Zema, D. A., & Lucas-Borja, M. E. (2020). The potential impacts of soil sampling on erosion. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, 4909-4916.
 24. Haghani, Z., Alikhani, H. A., Amirhosseini, K., Emami, S., & Etesami, H. (2024). Assessing the potential of functionally-enhanced periphyton in supplying rice plant phosphorus nutrition in paddy fields. *Rhizosphere*, 31, 100951. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100951>
 25. Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., Wang, Y., & Song, W. (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Systematic and applied microbiology*, 28(1), 66-76.
 26. Inglett, P., Reddy, K., & McCormick, P. (2004). Periphyton chemistry and nitrogenase activity in a northern Everglades ecosystem. *Biogeochemistry*, 67, 213-233.
 27. Iniesta-Pallarés, M., Álvarez, C., Gordillo-Cantón, F. M., Ramírez-Moncayo, C., Alves-Martínez, P., Molina-Heredia, F. P., & Mariscal, V. (2021). Sustaining rice production through biofertilization with N2-fixing cyanobacteria. *Applied Sciences*, 11(10), 4628.
 28. Jaggi, W. (1976). Die Bestimmung der CO₂-Bildung als Maß der bodenbiologischen Aktivität. *Schweiz Landwirtschaft Forschung Band*, 15(314), 317-380.
 29. Jain, D., Saheewala, H., Sanadhaya, S., Joshi, A., Bhojiya, A. A., Verma, A. K., & Mohanty, S. R. (2022). Potassium solubilizing microorganisms as soil health

- engineers: An insight into molecular mechanism. In *Rhizosphere engineering* (pp. 199-214). Elsevier.
30. Jaiswal, P., Dhar, D. W., Sharma, N., Jain, S., Nehra, P., Singh, B., Singh, Y., & Saxena, S. (2021). Evaluating the role of endophytic cyanobacterial isolates on growth promotion and N/P status of rice crop. *Vegetos*, 1-7.
 31. Jalali, M., Antoniadis, V., & Najafi, S. (2021). Assessment of trace element pollution in northern and western Iranian agricultural soils: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193, 1-30.
 32. John, D. M., Whitton, B. A., & Brook, A. J. (2002). *The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge University Press.
 33. Jones, J. B. (2001). *Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis*. CRC press.
 34. Jørgensen, N. O., Brandt, K. K., Nybroe, O., & Hansen, M. (2009). *Delftia lacustris* sp. nov., a peptidoglycan-degrading bacterium from fresh water, and emended description of *Delftia tsuruhatensis* as a peptidoglycan-degrading bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(9), 2195-2199.
 35. Karageorgiou, K., Paschalis, M., & Anastassakis, G. N. (2007). Removal of phosphate species from solution by adsorption onto calcite used as natural adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 139(3), 447-452.
 36. Keeney, D., & Bremner, J. (1966). A chemical index of soil nitrogen availability. *Nature*, 211(5051), 892-893.
 37. Khosravi, H., Otadi, A., Alikhani, H., & Etesami, H. (2025). Evaluation and Comparative Analysis of Plant Growth-Promoting Traits in Diverse Groups of Rhizosphere Bacteria. *Journal of Soil Biology*, 12(2), 235-260. (In Persian).
 38. Khumairah, F. H., Setiawati, M. R., Fitriatin, B. N., Simarmata, T., Alfaraj, S., Ansari, M. J., Enshasy, H. A. E., Sayyed, R., & Najafi, S. (2022). Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from saline soil improve nitrogen fixation and alleviate salt stress in rice plants. *Frontiers in microbiology*, 13, 905210.
 39. Knudsen, D., Peterson, G., & Pratt, P. (1982). Lithium, sodium, and potassium. *Methods of soil analysis: part 2 chemical and microbiological properties*, 9, 225-246.
 40. Kouchaki-Penchah, H., Alizadeh, M. R., & Aghamolki, M. T. K. (2023). Measuring eco-efficiency of rice cropping systems in Iran: An integrated economic and environmental approach. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 57, 103281.
 41. Leylasi Marand, M., Alikhani, H., Pourbabaee, A. A., & Shariati, S. (2025). Comparison of the plant growth-stimulating ability of epiphyton and epiphyton microbial communities in some rice fields of Guilan province. *Journal of Soil Biology*. (In Persian).
 42. Liao, X., & Inglett, P. W. (2012). Biological nitrogen fixation in periphyton of native and restored Everglades marl prairies. *Wetlands*, 32, 137-148.
 43. Liao, X., & Inglett, P. W. (2014). Dynamics of periphyton nitrogen fixation in short-hydroperiod wetlands revealed by high-resolution seasonal sampling. *Hydrobiologia*, 722, 263-277.
 44. Lightenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
 45. Liu, Y., Hu, B., & Chu, C. (2023). Toward improving nitrogen use efficiency in rice: Utilization, coordination, and availability. *Current Opinion in Plant Biology*, 71, 102327.
 46. Lu, H., Liu, J., Kerr, P. G., Shao, H., & Wu, Y. (2017). The effect of periphyton on seed germination and

- seedling growth of rice (*Oryza sativa*) in paddy area. *Science of the Total Environment*, 578, 74-80.
47. Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, 9(1), 97.
 48. Olsen, S. R. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. US Department of Agriculture.
 49. Prasanna, R., Adak, A., Verma, S., Bidyarani, N., Babu, S., Pal, M., Shivay, Y. S., & Nain, L. (2015). Cyanobacterial inoculation in rice grown under flooded and SRI modes of cultivation elicits differential effects on plant growth and nutrient dynamics. *Ecological Engineering*, 84, 532-541.
 50. Prasanna, R., Singh, R. N., Joshi, M., Madhan, K., Pal, R. K., & Nain, L. (2011). Monitoring the biofertilizing potential and establishment of inoculated cyanobacteria in soil using physiological and molecular markers. *Journal of Applied Phycology*, 23, 301-308.
 51. Prescott, G. W. (1962). *Algae of the western Great Lakes*. Otto Koeltz Science Publishers, Koenigstein, Germany.
 52. Raheb, A., & Heidari, A. (2012). Effects of clay mineralogy and physico-chemical properties on potassium availability under soil aquatic conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4), 747-761.
 53. Reddy, K. R., DeLaune, R. D., & Inglett, P. W. (2022). *Biogeochemistry of wetlands: science and applications*. CRC press.
 54. Renuka, N., Guldhe, A., Prasanna, R., Singh, P., & Bux, F. (2018). Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology advances*, 36(4), 1255-1273.
 55. Saadatnia, H., & Riahi, H. (2009). Cyanobacteria from paddy fields in Iran as a biofertilizer in rice plants. *Plant, Soil and Environment*, 55(5), 207-212.
 56. Saha, S., Bulzu, P.-A., Urajová, P., Mareš, J., Konert, G., Câmara Manoel, J., Macho, M., Ewe, D., Hrouzek, P., & Masojídek, J. (2021). Quorum sensing signals from epibiont mediate the induction of bioactive peptides in mat-forming cyanobacteria *Nostoc*. *BioRxiv*, 2021.2004. 2023.441229.
 57. Soares, R. A., Roesch, L. F. W., Zanatta, G., de Oliveira Camargo, F. A., & Passaglia, L. M. P. (2006). Occurrence and distribution of nitrogen fixing bacterial community associated with oat (*Avena sativa*) assessed by molecular and microbiological techniques. *Applied Soil Ecology*, 33(3), 221-234.
 58. Su, J., Kang, D., Xiang, W., & Wu, C. (2017). Periphyton biofilm development and its role in nutrient cycling in paddy microcosms. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 810-819.
 59. Tang, A., Haruna, A. O., Majid, N. M. A., & Jalloh, M. B. (2020). Potential PGPR properties of cellulolytic, nitrogen-fixing, phosphate-solubilizing bacteria in rehabilitated tropical forest soil. *Microorganisms*, 8(3), 442.
 60. Teikari, J. E., Russo, D. A., Heuser, M., Baumann, O., Zedler, J. A., Liaimer, A., & Dittmann, E. (2024). Competition and interdependence define multifaceted interactions of symbiotic *Nostoc* sp. and *Agrobacterium* sp. under inorganic carbon limitation. *bioRxiv*, 2024.2007. 2016.603663.
 61. Towfighi, H. (1998). Study of rice response to potassium fertilizer in paddy soils of northern Iran. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 29, 869-883.
 62. Wang, B., Zhou, G., Guo, S., Li, X., Yuan, J., & Hu, A. (2022). Improving Nitrogen Use Efficiency in Rice for Sustainable Agriculture: Strategies and Future Perspectives. *Life (Basel)*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/life12101653>

63. Weigelhofer, G., Ramião, J. P., Pitzl, B., Bondar-Kunze, E., & O'Keeffe, J. (2018). Decoupled water-sediment interactions restrict the phosphorus buffer mechanism in agricultural streams. *Science of the Total Environment*, 628, 44-52.
64. Wu, Y., Liu, J., & Rene, E. R. (2018). Periphytic biofilms: a promising nutrient utilization regulator in wetlands. *Bioresource technology*, 248, 44-48.
65. Yaghoubi Khanghahi, M., Pirdashti, H., Rahimian, H., Nematzadeh, G., & Ghajar Sepanlou, M. (2018). Potassium solubilising bacteria (KSB) isolated from rice paddy soil: from isolation, identification to K use efficiency. *Symbiosis*, 76, 13-23.
66. Zhang, X., Davidson, E. A., Mauzerall, D. L., Searchinger, T. D., Dumas, P., & Shen, Y. (2015). Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528(7580), 51-59.



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology

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


Review Article

Implication of Biological Indices for Assessing Soil Health

Nasser Aliasghar Zad¹ 

1- Professor of Soil Biology and Biotechnology, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Article Info

Received: 2025-08-05

Accepted: 2025-11-05

Keywords:

Environmental monitoring, Microbial biomass, Microbial diversity, Soil enzymes, Soil quality.

Corresponding author's email:

n-aliasghar@tabrizu.ac.ir

DOI:

10.22092/SBJ.2025.369574.280

Extended Abstract

Background and Objectives: Soil is a foundational, non-renewable component of the terrestrial environment, essential for global food production. The escalating pressures of industrialization, population growth, and climate change have placed soil resources under severe threat from pollution, salinity, and inappropriate land management. Consequently, the accurate assessment and monitoring of soil health and quality (SHQ) have become critical priorities for researchers and legislators worldwide. While physical and chemical parameters are established components of soil assessment, biological and biochemical indices are gaining prominence due to their unique sensitivity. Unlike more stable properties, the soil microbiome responds rapidly to environmental changes and management interventions, acting as sensitive, early-warning indicators of soil degradation or restoration. However, a significant challenge persists in their application: a vast and diverse array of potential biological parameters exists, and their measurement is often complex, costly, and time-consuming. It is impractical to measure all available indices in a single study. Therefore, a judicious selection based on clear objectives is necessary to optimize resources. This review article aims to provide a comprehensive analysis and synthesis of the principal microbiological and biochemical indices used for assessing soil health. The objectives are to: (1) categorize and critically evaluate the most common methods for measuring microbial population, biomass, activity, and diversity; (2) analyze the role of soil enzymes and key ecophysiological quotients; and (3) introduce modern, cost-effective solutions, including estimation models and the use of satellite data, to overcome the high cost and labor demands of traditional biological measurements.

Review Methods: This study is a comprehensive narrative review based on a synthesis of scientific literature. To gather the requisite information, systematic searches were conducted in major scientific databases, primarily Scopus, Web of Science, and Google Scholar. The search strategy employed a combination of keywords relevant to the article's scope, including "soil health indicators", "soil quality assessment", "biological indicators", "soil microbial biomass", "soil enzymes", "microbial diversity", "phospholipid fatty acids" (PLFA), "metabolic quotient", "rhizosphere interactions", and "digital soil mapping". The criteria for selecting articles for inclusion prioritized foundational papers establishing benchmark methodologies, contemporary research articles demonstrating the application of these indices under various stress conditions, and recent publications detailing methodological and computational advancements. The synthesized information was then structured to provide a critical evaluation of each category of biological index.

Results: This review synthesizes the vast field of soil biological indicators into key categories, evaluating their methodologies and applications. Methods for quantifying microbial abundance range from the accurate but laborious chloroform fumigation (FE/FI) and its faster proxy, Substrate-Induced Respiration (SIR), to culture-independent techniques that also reveal community structure. These modern methods, which supersede limited plate counts, include metagenomics (16S/18S sequencing) for deep taxonomic diversity and Phospholipid Fatty Acid (PLFA) analysis, a powerful tool that simultaneously quantifies viable biomass, community structure, and physiological stress. Soil function is assessed via overall metabolic activity (e.g., Basal Respiration, Dehydrogenase Activity) and a suite of specific soil enzymes (e.g., urease, phosphatase) that govern nutrient cycling. These data are further interpreted using key ecophysiological quotients (e.g., q_{mic} , q_{CO2}) to diagnose carbon dynamics and environmental stress, alongside monitoring crucial plant-microbe interactions (e.g., mycorrhiza, rhizobia) as integrated health indicators. Finally, to overcome the high cost and labor of these analyses, the review highlights emerging solutions, most notably Digital Soil Mapping (DSM), which uses machine learning (e.g., Random Forest) integrated with satellite and terrain data to cost-effectively create predictive, large-scale spatial maps of these complex biological properties.

Conclusion: Biological indices are sensitive, responsive, and indispensable tools for the modern assessment of soil health and quality. This review confirms that no single parameter can comprehensively capture the complexity of soil biological function. A holistic evaluation requires either a carefully selected suite of complementary indices (e.g., combining biomass, activity, and diversity metrics) or the use of multi-parameter composite indices (e.g., SHI, SQI). The selection must be hypothesis-driven, aligning the chosen indicators with the specific ecological question or management goal. Significant challenges remain, primarily the high cost, technical expertise, and time required for many of the most informative analyses (e.g., metagenomics, PLFA). Furthermore, the lack of method standardization across different soil types, climates, and ecosystems hinders the establishment of universal benchmarks for soil health. The future of soil health monitoring lies in overcoming these challenges through integration and technology. We recommend: (1) the establishment of long-term soil microbiome monitoring projects to move beyond static snapshots and understand the temporal dynamics of soil biology. (2) A concerted effort toward international standardization of key methods and the creation of global databases for soil biological data, which are essential for developing robust predictive models. (3) Most promisingly, the continued development and application of Digital Soil Mapping (DSM). By synergistically integrating field-level biological data with remote sensing (satellite) data and machine learning, DSM provides the only viable path toward creating the cost-effective, large-scale, and spatially-explicit soil health maps that land managers and policymakers urgently need for sustainable soil stewardship.

Cite this article: Aliasgharzad. N., 2025. Implication of Biological Indices for Assessing Soil Health .Review article. Journal of Soil Biology, 13 (2),171-191.



DOI: 10.22092/SBJ.2025.369574.280

Publisher: Soil Science Society of Iran



کاربرد شاخص‌های زیستی برای سنجش سلامت خاک

ناصر علی‌اصغرزاد^۱

۱- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. n-aliasghar@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۵/۱۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱۴

چکیده

خاک به‌عنوان یکی از اجزای مهم محیط‌زیست، تأمین‌کننده اصلی غذا و تداوم بخش حیات در کره زمین است. امروزه، حفظ سلامت خاک و تنوع زیستی آن در اغلب کشورها مورد توجه قانون‌گذاران و تولیدکنندگان محصولات غذایی قرار گرفته است. ورود آلاینده‌های صنعتی و کشاورزی، گسترش شوری، تغییرات اقلیمی و مدیریت‌های نامناسب اراضی، تهدیدگرهای اصلی سلامت خاک هستند. گرچه در ارزیابی سلامت خاک، پارامترهای شیمیایی و فیزیکی نیز اهمیت دارند ولی پارامترهای زیستی به دلیل پاسخ سریع به تغییرات محیطی، جایگاه ویژه‌ای دارند. بدیهی است، با توجه به تعداد زیاد پارامترهای زیستی و ماهیت متفاوتشان، نمی‌توان تعداد انبوهی از آنها را در یک کار تحقیقی، اندازه‌گیری نمود. لذا داشتن دانش کافی از ماهیت پارامترها، سبب انتخاب درست آنها بر اساس اهداف خواهد شد و از هزینه‌های غیرضروری جلوگیری می‌شود. در این مقاله، مجموعه روش‌های (۱) میکروبیولوژیک شامل فعالیت، تراکم جمعیت و زیست‌توده میکروبی (۲) بیوشیمیایی شامل فعالیت انواع آنزیم‌های مطرح در چرخه عناصر غذایی، (۳) بررسی تنوع زیستی از طریق کشت مستقیم، تکنیک‌های مولکولی بر مبنای DNA یا RNA، بکارگیری مارکرهای بیوشیمیایی نظیر اسیدهای چرب فسفولیپیدی، (۴) برهمکنش‌های میکروب-گیاه در ریزوسفر شامل تثبیت‌کننده‌های نیتروژن همزیست یا آزادزی و همزیستی میکوریزی، مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند. همچنین با توجه به هزینه‌های زیاد و زمان‌بر بودن سنجش‌های میکروبیولوژیک، راهکارهای جدید مبتنی بر بکارگیری اطلاعات ماهواره‌ای و یا تخمین شاخص‌ها از روی پارامترهای زودیافت، در این مقاله معرفی خواهند شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های خاک، زیست‌توده میکروبی، کیفیت خاک، رصد محیط‌زیست، تنوع میکروبی.

مقدمه

خاک به‌عنوان اصلی‌ترین بستر تولید مواد غذایی، در گذر زمان و با افزایش جمعیت جهانی، صنعتی شدن و مدیریت‌های نامناسب همواره در معرض تهدید بوده است و تاکنون مساحت‌های زیادی از آن تخریب شده یا پتانسیل تولید خود را از دست داده‌اند. اراضی زیر کشت نیز عموماً با پدیده‌های آلودگی، شوری، فرسایش و غیره مواجه بوده و کیفیت خاک آنها کاهش پیدا کرده است. تغییرات اقلیمی نیز که از مدت‌ها پیش مطرح بوده و امروزه اثرات آن به‌وضوح در همه عرصه‌ها دیده می‌شود، اثرات نامطلوب بر کیفیت و سلامت خاک دارد. برای تولید غذای سلام نیاز به خاک سالم است و در این راستا، تولیدکنندگان عرصه کشاورزی و قانون‌گذاران محیط‌زیست در سراسر جهان در تلاشند با تدوین قوانین خاص و ارائه راهکارهای مناسب، در حفظ سلامت خاک نقش ایفا کنند. همچنین محققین این عرصه با معرفی پارامترهای مناسب و ارائه پروتکل‌های مختلف، سعی در ارزیابی کیفیت و سلامت خاک دارند. تقریباً همه خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی در تعیین سلامت خاک اهمیت دارند ولی خصوصیات زیستی (میکروبیولوژیک و بیوشیمیایی) دارای حساسیت بیشتری بوده و در کوتاه مدت به تغییرات حاصله، پاسخ می‌دهند (Griffiths et al, 2016; Rhitz et al., 2009). به‌عنوان نمونه، Domsch و همکاران (1983) پیشنهاد نمودند که اگر تغییرات میکروبیولوژیک خاک در اثر عوامل طبیعی یا مصنوعی، حداکثر پس از ۳۰ روز به حالت عادی برگردند، نوسانات عادی در نظر گرفته می‌شوند. در صورتی که اثر این عوامل تا ۶۰ روز بر پارامترهای میکروبیولوژیک ادامه یابد، آنها را عوامل قابل تحمل می‌نامند، ولی چنانچه این اثرات تا ۹۰ روز پایدار باشند، جزو عوامل تنشی محسوب خواهند شد. البته بسته به نوع پارامتر میکروبیولوژیک، ممکن است این بازه‌های زمانی تغییر کنند. همچنین اندازه‌گیری یک پارامتر به تنهایی، اطلاعات قابل اعتمادی بدست نمی‌دهد. مثلاً اندازه‌گیری کربن زیست‌توده میکروبی به تنهایی

مناسب نبوده ولی به همراه کربن آلی کل خاک، اطلاعات ارزشمندی از اثرات تغییر اقلیم، مدیریت اراضی و تخریب خاک بدست می‌دهد (Brooks, 1995).

گرچه تاکنون، پارامترهای زیستی زیاد و متنوع برای این منظور معرفی شده‌اند ولی اندازه‌گیری اغلب این پارامترها، پرهزینه بوده و مستلزم وقت زیاد است لذا برخی محققین، معیارهایی از قبیل، (۱) حساسیت به تغییرات در مدیریت مزرعه، (۲) داشتن همبستگی خوب با فرآیندهای مفید خاک، (۳) کارآیی کافی برای نشان دادن فرآیندهای اکوسیستم، (۴) مفید و قابل درک بودن برای کاربر زمین و (۵) ساده و ارزان بودن اندازه‌گیری را برای انتخاب این پارامترها ارائه نموده‌اند (Doran and Zeiss, 2000). بدیهی است که این معیارها بسیار کلی بوده و بسته به اهداف هر تحقیق می‌توان پارامترهای متناسب را انتخاب نمود. مثلاً در بررسی اثرات محیطی بر چرخه عناصر غذایی و حاصلخیزی خاک، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه هر عنصر، اهمیت فراوانی دارد، در حالیکه برای مطالعات ترسیب کربن، اندازه‌گیری کربن زیست‌توده میکروبی و کربن آلی کل خاک، الویت خواهند داشت. به همین ترتیب، اندازه‌گیری سهم متابولیک^۱ (qCO₂) به‌عنوان یک پارامتر اکوفیزیولوژیک میکروبی در خاک‌های آلوده و غیر آلوده می‌تواند شدت تنش را در جامعه میکروبی خاک نشان دهد گرچه اندازه‌گیری فعالیت برخی آنزیم‌های مرتبط با فعالیت متابولیک در خاک نظیر دهیدروژناز نیز در تعیین اثر آلاینده‌ها اهمیت دارد (Anderson, 2003).

با توجه به ماهیت پارامترهای زیستی، اندازه‌گیری اغلب آنها نیازمند تجهیزات ویژه و صرف هزینه‌های زیاد است. در این راستا محققین تلاش کرده‌اند که آنها را از روی پارامترهای ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر، برآورد کنند و برای اینکار، برخی معادلات تجربی ارائه شده‌اند. این معادلات، به‌ویژه زمانی اهمیت پیدا می‌کنند که تعداد نمونه زیاد باشد. به‌عنوان مثال، اندازه‌گیری زیست‌توده میکروبی خاک با روش‌های تدخین-استخراج یا تدخین-انکوباسیون گرچه

¹ Metabolic quotient

اندازه‌گیری رایج، توانایی آن در تعیین سلامت خاک مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. همچنین سعی شده است، مبنای انتخاب پارامترها برای رسیدن اهداف تحقیق توضیح داده شود.

تعداد جمعیت میکروبی

شمارش مستقیم^۷

در این روش معمولاً سوسپانسیون هموژنیزه خاک با رنگ‌های فلورسنت نظیر آکریدین نارنجی^۸، رنگ-آمیزی شده و حجم مشخصی از آن بر روی لام قرار گرفته و تعداد میکروب‌ها توسط میکروسکپ اپی‌فلورسنت شمارش می‌شوند (Bloem et al., 1995). آکریدین نارنجی قابل عبور از دیواره میکروب‌ها بوده و به DNA متصل می‌شود. هنگام اتصال به DNA دو رشته‌ای، فلورسنت سبز و در اتصال به DNA تک رشته‌ای یا RNA، فلورسنت قرمز دارد. چون در حالت عادی، غالبیت با DNA دو رشته‌ای است لذا در میکروسکپ فلورسانس، میکروب‌ها با رنگ فلورسنت سبز دیده می‌شوند. رنگ‌های دیگر شامل FITC^۹، DAPI^{۱۰} یا سایبرگرین^{۱۱} نیز به اسیدهای نوکلئیک متصل می‌شوند و در مشاهده با میکروسکپ اپی فلورسنت، رنگ‌های زرد تا سبز نشان می‌دهند. با توجه به اتصال غیراختصاصی این رنگ‌ها به DNA آزاد متصل به ذرات خاک یا سایر کلوئیدهای خاک، نتایج شمارش میکروبی، توأم با خطا بوده و غالباً بیش برآوردی دارد. اخیراً، استفاده از رنگ سایتوکس‌گرین^{۱۲} در شمارش باکتری‌های خاک، نتایج بهتری بدست داده است زیرا با آنالیز طول‌موج‌های خروجی از میکروسکپ اپی‌فلورسنت، باکتری‌ها به رنگ سبز روشن ولی ذرات خاک به رنگ‌های آبی و قرمز دیده می‌شوند (Klauth et al., 2004). همچنین رنگ سایتوکس‌گرین فقط به سلول‌های زنده نفوذ

دقت خوبی دارند ولی بسیار پرهزینه و زمان‌بر هستند لذا معادلاتی برای برآورد آن از روی تنفس برانگیخته^۲ (SIR) ارائه شده‌اند. البته این معادله‌ها بر اساس شرایط محیطی، متفاوت هستند. شمارش جمعیت میکروبی خاک با روش‌های کشت نیز بسیار پرزحمت و زمان‌بر هستند در حالیکه مطالعات متعدد نشان داده‌اند که جمعیت میکروبی را می‌توان از روی تنفس پایه^۳ (BR)، فعالیت دهیدروژناز یا مقدار ATP خاک برآورد نمود چون بین جمعیت میکروبی فعال و پارامترهای مذکور، همبستگی آماری قابل‌قبول برقرار است (Aliasgharzad, 2010). اخیراً بکارگیری مدل‌های^۴ MLR،^۵ RF و^۶ CU برای برآورد پارامترهای زیستی پرهزینه از روی پارامترهای ساده، همچنین تحلیل‌گرهای زمین آمار ArcGIS در ترسیم نقشه‌های کیفیت و سلامت خاک نقش بسزایی در این راستا ایفا کرده‌اند (Siemi et al., 2022)

نگرش کلی مبنی بر اینکه احداث باغ یا عملیات کشاورزی در اراضی بایر یا مرتعی سبب آسیب‌رسانی به شاخص‌های میکروبیولوژیک و کاهش کیفیت و سلامت خاک می‌گردد، در اغلب موارد صحیح بوده ولی عمومیت ندارد و بسته به شرایط ممکن است نتایج متفاوت بدست دهد. Rezaei و همکاران (2015) در مطالعه خود بر روی تغییر کاربری اراضی بایر و مرتعی کم‌بازده به باغ سیب و زراعت‌های یونجه و ذرت، دریافتند که بسیاری از شاخص‌های میکروبیولوژیک، اکوفیزیولوژیک و آنزیمی خاک در این کاربری‌ها بهبود یافته‌اند. لذا با انتخاب درست این شاخص‌ها می‌توان به این‌گونه تغییرات اکولوژیک انسان‌زاد نیز پاسخ منطقی داد.

در ادامه مطالب، مهم‌ترین پارامترها و شاخص‌های میکروبیولوژیک و بیوشیمیایی خاک، دسته‌بندی شده و در هر مورد ضمن اشاره به ماهیت آن و روش‌های

⁸ Acridine orange

⁹ Fluorescein isothiocyanate

¹⁰ 4',6-diamidino-2-phenylindole

¹¹ Sybr green

¹² Sytox green

² Substrate induced respiration

³ Basal respiration

⁴ Multiple linear regration

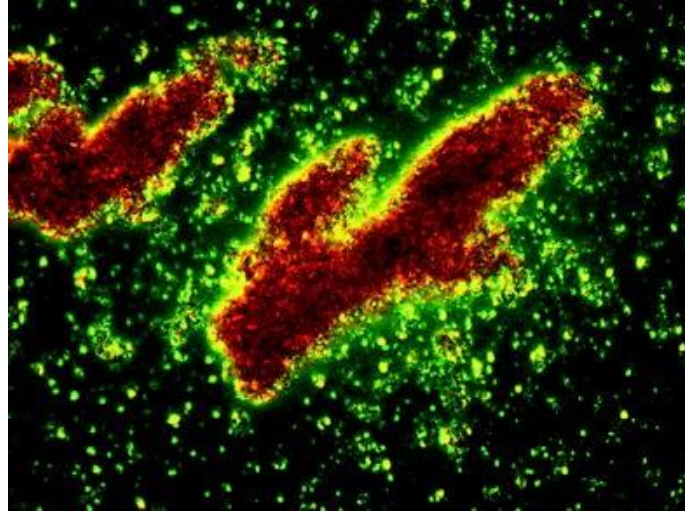
⁵ Random forest

⁶ Cubist

⁷ Direct count

شرایط خاک و ترکیب جامعه میکروبی متفاوت خواهد بود. فلوسایتومتری^{۱۳} نیز یک روش سنجش سریع برای تعداد باکتری‌های خاک است ولی اغلب به دلیل عدم تمایز بین باکتری‌ها و ذرات خاک هم اندازه آنها، بیش برآوردی دارد (Bressan et al., 2015).

کرده و در نتیجه جمعیت زنده شمارش می‌شود- (Yepes, Pérez et al., 2024) در آزمایشی توسط Klauth و همکاران (2004)، جمعیت معینی از باکتری به خاک پاشیده شد. شمارش و بازیابی جمعیت با سایبرگرین ۳۸٪ ولی با سایتوکس گرین ۸۱٪ بود. بدیهی است، درصد بازیابی بسته



شکل ۱- رنگ آمیزی باکتری‌های خاک با سایتوکس گرین. باکتری‌ها به رنگ سبز و ذرات خاک به رنگ قرمز تیره دیده می‌شوند (Klauth et al., 2004).

Figure 1- Staining of soil bacteria with Sytox green. Green color represents bacteria, and red color represents soil particles (Klauth et al., 2004).

برای رشد میکروب‌ها ضروری بوده اما تأمین همه آنها در یک محیط کشت مصنوعی امکان‌پذیر نیست. در این راستا، برخی محققین سعی کرده‌اند با عصاره‌گیری از خاک و افزودن آن به محیط کشت، بتوانند نیازهای غذایی انواع میکروارگانیسم‌های خاکزی را تأمین کنند ولی گرچه تعداد کلنی‌های میکروبی افزایش یافته ولی مقایسه آن با نتایج تکنیک‌های مولکولی، نشان داده که هنوز بسیاری از میکروب‌ها نتوانسته‌اند در محیط غنی‌شده با عصاره خاک رشد نمایند. عدم کارایی عصاره‌گیری برای استخراج همه ترکیبات موجود در خاک، می‌تواند یکی از علل این امر باشد. ضمناً برهم‌کنش‌های بین میکروارگانیسم‌های خاک که توأم با تبادل سیگنال‌های مولکولی است و سبب القای رشد در برخی گونه‌های میکروبی می‌شود، نیز می‌تواند از دلایل عدم رشد برخی از آنها در محیط مصنوعی باشد.

شمارش به روش کشت میکروبی

روش‌های شمارش مبتنی بر کشت عموماً تعداد میکروب‌های قابل کشت را بدست می‌دهند زیرا بسیاری از میکروارگانیسم‌های خاک به دلیل عدم توان رشد در محیط کشت‌های مصنوعی، قابل شمارش در این روش‌ها نیستند. مطالعات متعدد بر مبنای روش‌های مولکولی بیانگر این هستند که کمتر از ۱۰ درصد میکروب‌های خاک قادر به رشد در محیط کشتهای رایج هستند (Hartmann et al., 2004). بنابراین، روش‌های مرسوم شامل شمارش کلنی^{۱۴} یا ۱۵MPN^{۱۵} گرچه به‌طور وسیع برای تعیین جمعیت میکروبی در خاک بکار می‌روند ولی فقط تعداد میکروب‌هایی را بدست می‌دهند که توانایی رشد در محیط کشت مصنوعی را دارند. در محیط بسیار پیچیده‌ای نظیر خاک، تعداد بی‌شماری از ترکیبات آلی و معدنی وجود دارند که

¹⁵ Most probable number

¹³ Flow cytometry

¹⁴ Colony counting

بتوان تعداد میکروب‌های خاک را هم‌زمان با دو روش مبتنی بر کشت و مستقل از کشت، شمارش نمود، اطلاعات مفید دیگری هم بدست می‌آید. به‌عنوان مثال، شاید بتوان نسبت جمعیت زنده به مرده یا نسبت هوازی به بی‌هوازی را تخمین زد.

زیست‌توده میکروبی

در برخی مطالعات، تعداد سلول میکروبی را در جرم تقریبی یک سلول ضرب نموده و از این طریق زیست‌توده میکروبی را تخمین زده‌اند. (Bolter et al., 1993). با توجه به اینکه شمارش تعداد میکروب‌ها به روش مشاهده مستقیم میکروسکوپی یا روش‌های کشت، توأم با خطای بیش برآورد یا کم برآورد بوده و همچنین جرم یک سلول در گونه‌های مختلف میکروبی یکسان نیستند لذا نتایج حاصل از این روش قابل‌اعتماد نخواهد بود. در این راستا، روش‌های نسبتاً دقیق‌تر ارائه‌شده‌اند که در این قسمت به‌طور اجمالی مورد بحث قرار می‌گیرند. در روش‌های تدخین-انکوباسیون^{۱۶} یا تدخین-استخراج^{۱۷} که با بخار کلروفرم انجام می‌گیرند، مقدار کربن میکروبی خاک اندازه‌گیری شده و سپس با در نظر گرفتن درصد کربن میکروبی، آن را به جرم زیست‌توده (خشک یا تر) تبدیل می‌کنند (Lee et al., 2021; Mori et al., 2021). در روش تدخین-استخراج، علاوه بر کربن، نیتروژن و فسفر میکروبی نیز قابل‌اندازه‌گیری است. توجه شود که در خاک‌های با ماده آلی زیاد، بهتر است از روش تدخین-انکوباسیون استفاده نمود زیرا در روش تدخین استخراج، مقادیر زیاد از کربن آلی در محلول استخراج وارد شده و مشاهده تغییرات کربن آلی بین خاک تدخین شده و نشده با مشکل مواجه خواهد شد. همچنین در روش‌های مبتنی بر تدخین، گاهی عدم خروج کامل بخار کلروفرم از توده خاک، سبب بیش برآوردی کربن آلی خاک می‌شود. کارایی پمپ مکش و اعمال خلاء در دسیکاتور و تعداد تکرار این فرآیند، در حذف کامل کلروفرم از خاک مؤثر است (FAO

همچنین در روش‌های مبتنی بر کشت از جمله MPN یا کشت در پلیت، انواع بی‌هوازی رشد نمی‌کنند چون شرایط کشت در این روش‌ها به‌صورت هوازی است. در منافذ ریز خاک که غالباً پر از آب هستند یا داخل خاکدانه‌ها که نفوذ اکسیژن در آنها بسیار کند است، باکتری‌های بی‌هوازی به تعداد قابل‌ملاحظه وجود دارند (Lee et al., 2021; Bolter et al., 2002). علیرغم نقایص روش‌های کشت میکروبی برای تعیین جمعیت آنها در خاک، هنوز هم در بسیاری از تحقیقات، این روش‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند زیرا هدف اینگونه تحقیقات صرفاً مقایسه فراوانی نسبی جمعیت میکروبی در بین انواع خاک‌ها است. در روش‌های مبتنی بر کشت میکروب، می‌توان از محیط‌زیست اختصاصی استفاده نموده و فراوانی نسبی گروه‌های مختلف میکروبی را بدست آورد. همچنین با افزودن بازدارنده‌های مختلف می‌توان گروه‌های خاصی را کشت داد. به‌عنوان مثال، با افزودن قارچ‌کش مناسب مثل نیستاتین می‌توان جمعیت باکتریایی، و با افزودن باکتری‌کش مناسب مثل کلرامفنیکل یا سیکلوهگزیمید، جمعیت قارچ‌ها را تعیین نمود. گرچه تعیین تعداد میکروب‌ها در خاک تابع عوامل مختلف از قبیل عمق نمونه‌برداری، فصل نمونه‌برداری، روش انتقال به آزمایشگاه، نحوه نگهداری خاک تا زمان شمارش و روش رقیق‌سازی خاک، است ولی به‌طورکلی تعداد کل میکروب‌ها در هر گرم خاک طبیعی ممکن است از یک میلیون در خاک‌های بیابانی و کویری تا یک میلیارد در خاک‌های مرتعی و جنگلی تغییر کند. تهیه سری رقت‌های خاک بسته به روش، ممکن است با آب مقطر، سرم نمکی یا پیروفسفات سدیم رقیق انجام شود که مسلماً نتیجه متفاوت خواهند داشت. روش شمارش نیز نتیجه را به‌طور زیاد تغییر می‌دهد. مثلاً در روش MPN تعداد باکتری‌ها تقریباً نصف روش رنگ‌آمیزی DNA با رنگ‌های اپی-فلورسنت به دست آمد زیرا برخی از این رنگ‌ها با DNA باکتری‌های مرده و سایر ذخایر DNA در خاک نیز واکنش می‌دهند (Lee et al., 2021). البته اگر در کارهای تحقیقی

¹⁷ Fumigation-extraction

¹⁶ Fumigation-incubation

با استخراج برخی مولکول‌های نشان مثل ارگسترول (استرول ویژه بازیدیومیست‌ها) یا گلو مالین (گلیکوپروتئین ویژه قارچ‌های آربوسکولار) از خاک و اندازه‌گیری دقیق مقدار آنها، می‌توان زیست‌توده این گروه‌های قارچی را محاسبه نمود (Heidarianpour et al., 2020). آنالیز اسیدهای چرب فسفولیپیدی^{۱۸} (PLFA) و اسیدهای چرب لیپیدی خنثی^{۱۹} (NLFA) در خاک، از روش‌های بسیار دقیق است که در تعیین تنوع و فراوانی میکروارگانیسم‌های خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد و برای تعیین زیست‌توده کل میکروبی یا زیست‌توده گروه‌های خاص میکروبی در خاک نیز بکار می‌رود (Frostegård and Bååth, 1996; Aliasgharzad et al., 2010; Lewe et al., 2021). توجه به کاربرد زیاد این روش در تعیین تنوع میکروبی خاک، جزئیات روش در بخش ۳ توضیح داده می‌شود.

تنوع میکروبی

کشت عصاره خاک بر روی محیط کشت‌های جامد و تعیین تنوع میکروبی از روی مورفولوژی کلنی‌ها، کم‌دقت‌ترین روش تعیین تنوع میکروبی خاک است که در گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفت. همانطوریکه در قسمت بالا توضیح داده شد، اولاً تعداد زیادی از گونه‌های میکروبی قادر به رشد در محیط کشت‌های مصنوعی نیستند، ثانیاً بسیاری از گونه‌های متفاوت باکتریایی یا قارچی دارای کلنی‌های با مورفولوژی مشابه هستند. لذا امروزه این روش، تقریباً منسوخ شده است.

روش‌های مولکولی مبتنی بر DNA، برای تعیین تنوع میکروبی خاک، بسیار دقیق و قابل اعتماد هستند زیرا میکروارگانیسم‌هایی که قادر به رشد در محیط کشت مصنوعی نیستند، در این روش شناسایی می‌شوند (Schloter et al., 2018). از این روش‌ها می‌توان به

مقدار کربن زیست‌توده میکروبی از حدود ۱۷ در خاک‌های بیابانی تا ۲۶۰۰ میلی‌گرم کربن در کیلوگرم خاک در مراتع غنی و در خاک‌های کشاورزی از ۲۰۰ تا ۷۰۰ mg/kg گزارش شده است (Das et al., 2023). بدیهی است که عوامل متعددی از قبیل آب و هوا، نوع خاک، پوشش گیاهی، نحوه نمونه‌برداری، نگهداری نمونه و روش اندازه‌گیری می‌توانند نتیجه را تحت تأثیر قرار دهند. به‌طور کلی، مقدار کربن زیست‌توده میکروبی خاک حدود ۱ تا ۲ درصد از کل کربن آلی خاک را تشکیل می‌دهد. هرچه سهم کربن میکروبی از کل کربن آلی خاک بیشتر باشد، بیانگر پویایی و کیفیت خوب خاک است. با توجه به اینکه کربن میکروبی تقریباً ۵۰ درصد زیست‌توده خشک میکروبی را تشکیل می‌دهد لذا با ضرب کربن میکروبی در عدد دو می‌توان جرم خشک توده میکروبی را تخمین زد.

یکی از روش‌های غیرمستقیم تعیین زیست‌توده میکروبی، اندازه‌گیری تنفس برانگیخته است که با افزودن گلوکز به خاک و تعیین مقدار CO₂ خروجی انجام می‌شود. تنفس برانگیخته بیانگر جمعیت فعال میکروبی در خاک بوده و از طریق برخی روابط تجربی، به زیست‌توده میکروبی تبدیل می‌شود (Sparling, 1995). روابط تجربی ارائه‌شده، بسته به شرایط اقلیمی منطقه، پوشش گیاهی، خصوصیات خاک و فراوانی گروه‌های میکروبی، متفاوت بوده و در انتخاب آنها باید شرایط مذکور را در نظر گرفت (Ananyeva et al., 2011). رابطه (۱) به‌عنوان نمونه توسط Nakamoto and Wakahara (2004) برای خاک‌های آندوسول ژاپن ارائه شده است. در این روش نیز می‌توان با افزودن بازدارنده‌های باکتریایی یا قارچی، تنفس-برانگیخته را در گروه هدف اندازه‌گیری نمود. این روش گرچه کم هزینه بوده و به مدت‌زمان کمتری نیاز دارد (حدود شش ساعت) ولی در مقایسه با روش‌های تدخین که در بالا شرح داده شد، دقت کمتری دارد.

(۱)

$$\text{Biomass C } (\mu\text{g g}^{-1} \text{ dry soil}) = 81.9 \times \text{CO}_2 (\mu\text{l g}^{-1} \text{ dry soil hr}^{-1})$$

¹⁹ Neutral lipid fatty acids

¹⁸ Phospholipid fatty acids

از آنها استفاده نمود (Lewe et al., 2021; White and Ringelberg, 1998). در این روش، مجموعه فسفولیپیدهای خاک استخراج شده و پس از استری کردن آنها، در دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد آنالیز قرار می‌گیرند (Quideau et al., 2016). بر اساس زمان بازداری، هر یک از پیک‌ها نماینده یک گونه، جنس یا گروه میکروبی خاص است که از این طریق می‌توان به تنوع میکروبی در نمونه مورد نظر دست یافت (شکل ۲). مساحت زیر منحنی در هر پیک بیانگر فراوانی آن میکروب بوده که با داشتن پیک استاندارد، می‌توان آن را به‌طور کمی محاسبه نمود و مقدار فسفولیپید مورد نظر را برحسب میکروگرم در واحد وزن خاک به دست آورد. معادلات تجربی برای تبدیل مقدار فسفولیپید به زیست‌توده میکروبی ارائه شده‌اند؛ بنابراین در این روش، علاوه بر تعیین انواع میکروبی، می‌توان به فراوانی جمعیت هر گروه میکروبی نیز دست یافت. حتی در این روش، وضعیت فیزیولوژیک هر گروه میکروبی از نظر تغذیه‌ای یا وجود تنش، قابل ارزیابی است زیرا در شرایط فوق، تغییراتی در مولکول اسید چرب حاصل می‌شود که در کروماتوگرام قابل مشاهده است (Barin et al., 2013). پس از مرگ سلولی، فسفولیپیدها توسط آنزیم‌های فسفاتاز هیدرولیز گشته و تبدیل به اسیدهای چرب خنثی می‌شوند، در نتیجه با تعیین نسبت PLFA/NLFA می‌توان به فراوانی جمعیت فعال و غیرفعال در هر گروه میکروبی دست یافت (Frostegård and Bååth, 1996). علیرغم دقت زیاد در این روش و طیف وسیع اطلاعات حاصله، به دلیل نیاز به تجهیزات پیشرفته و هزینه‌های زیاد، در همه آزمایشگاه‌ها قابلیت اجرا ندارد.

روش تعیین پروفیل فیزیولوژیکی در جامعه میکروبی^{۲۳} در سالیان اخیر برای تعیین تنوع عملکردی^{۲۴} میکروبی در خاک مورد استفاده قرار گرفته است (Garland et al., 1997). در این روش که کیت‌های آن توسط شرکت‌های مختلف از جمله بایولاگ^{۲۵} تهیه می‌شوند،

DGGE^{۲۰}، TGGE^{۲۱} و متاژنومیکس^{۲۲} اشاره نمود. در هر سه روش، کل DNA نمونه خاک استخراج شده و سپس ناحیه ژنی 16S rDNA برای پروکاریوت‌ها یا 18S rDNA برای یوکاریوت‌ها از طریق PCR تکثیر می‌شود (Aman et al., 1990 & 1995; Lewe et al., 2021). در روش DGGE، قطعات تکثیر شده بر اساس گرادیان غلظت اوره در ژل آگارز، الکتروفورز گردیده و تعداد باندهای حاصله به‌عنوان تنوع میکروبی در نظر گرفته می‌شود. در روش TGGE نیز به همین طریق عمل نموده با این تفاوت که جداسازی قطعات DNA بر روی ژل بر اساس گرادیان دمایی انجام می‌گیرد (Muyzer and Smalla, 1998). در متاژنومیکس، محصولات حاصل از PCR، توالی‌یابی می‌شوند. داده‌های توالی‌یابی، به کمک نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی هوشمند آنالیز شده و تنوع و فیلوژنی جوامع میکروبی خاک به دست می‌آید (Vestergaard et al., 2017). با توجه به ابداع روش‌های پیشرفته توالی‌یابی که منجر به کاهش هزینه‌های توالی‌یابی نیز می‌شود، امروزه استفاده از این تکنیک برای بررسی تنوع موجودات زنده از جمله میکروب‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی (آب، خاک و گیاه) و حتی فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان و حیوانات، در حال افزایش است. توالی‌یابی نواحی ITS1 یا ITS2 به جای ژن 16S rDNA، یا توالی-یابی یکی از نواحی V3-V4, V1-V3, V4-V5 از ژن 16S rDNA بجای توالی‌یابی کامل، می‌تواند ضمن صرفه‌جویی در هزینه‌ها، برای شناسایی جمعیت باکتریایی و تعیین تنوع مورد استفاده قرار گیرند (Lewe et al., 2021).

بررسی تنوع میکروبی از طریق مارکرهای لپیدی نیز در سالیان اخیر مورد توجه قرار گرفته است. فسفولیپیدهای موجود در غشای سیتوپلاسمی موجودات زنده از نظر ساختار مولکولی اسیدچرب برای گروه‌های مختلف میکروبی، اختصاصی بوده و می‌توان به‌عنوان مولکول نشان

²³ Community-level physiological profiling (CLPP)

²⁴ Functional diversity

²⁵ BioLog™

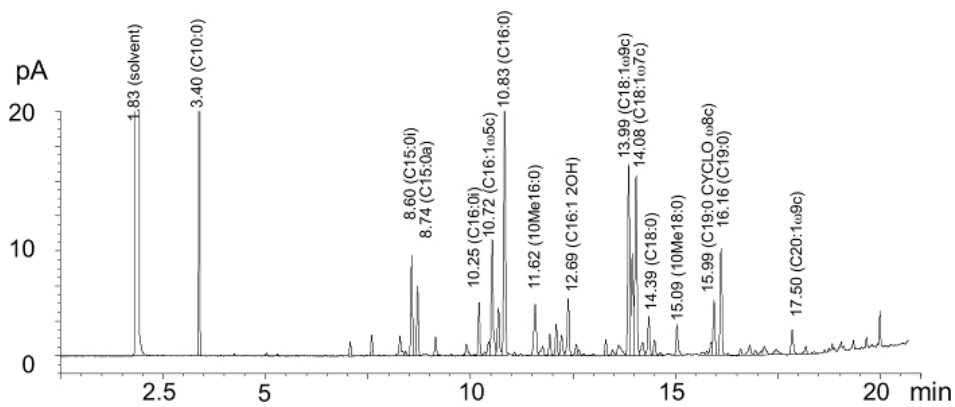
²⁰ Denaturing gradient gel electrophoresis

²¹ Temperature gradient gel electrophoresis

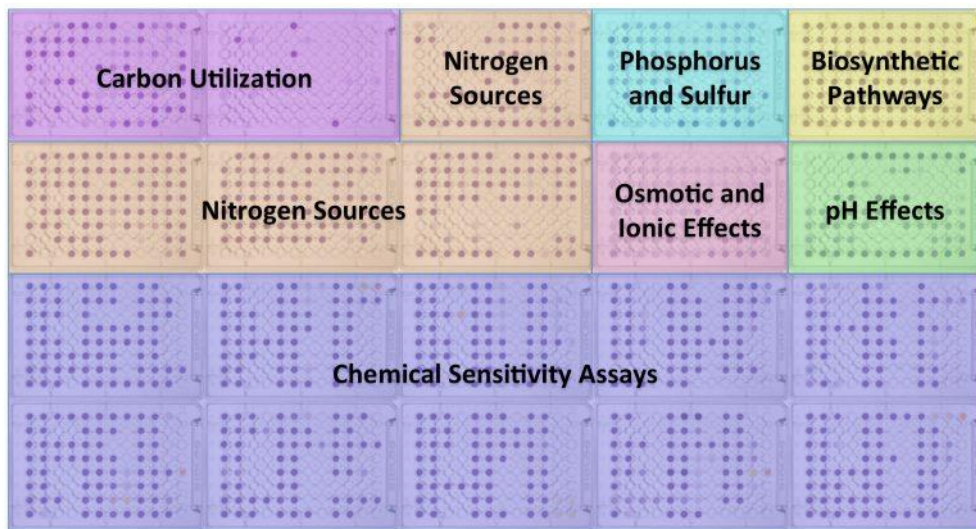
²² Metagenomics

شدت رنگ ایجادشده، متفاوت خواهد بود. سپس صفحه چاهک‌ها در دستگاه الیزا^{۲۶} قرار داده شده و نتیجه قرائت، توسط نرم‌افزار بیولاگ مورد آنالیز قرار گرفته و تنوع عملکردی نمونه خاک به دست می‌آید (Breure and Rutgers, 2000). برای استفاده از این روش نیاز به خرید کیت‌های مخصوص خاک به همراه نرم‌افزار از شرکت مربوطه است. کیت‌ها بسیار متنوع بوده و با کاربردهای میکروبیولوژی محیطی، پزشکی و صنعتی توسط شرکت‌های مختلف در جهان تولید می‌شوند.

پلیت‌هایی شامل ۹۶ چاهک وجود دارند که بر اساس الگوی خاص در هر یک از آنها، ترکیبات ویژه شامل انواع قندها، آمینو اسیدها، سطوح مختلف اسیدیته و شوری، برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، انواع اسیدهای چرب قرار داشته، بعلاوه همه چاهک‌ها حاوی یک ترکیب شیمیایی ویژه (مثل تری فنیل تترازولیوم کلراید) برای آشکارسازی فعالیت میکروبی هستند (Taha et al., 2015) (شکل ۳). عصاره خاک با مقادیر یکسان به همه چاهک‌ها افزوده شده و پس از انکوباسیون، بر اساس میزان فعالیت میکروبی در هر چاهک،



شکل ۲- نمونه‌ای از کروماتوگرام حاصل از آنالیز اسیدهای چرب فسفولیپیدی در خاک (Quideau et al., 2016)
Figure 2- A chromatogram originated from soil phospholipid fatty acids analysis (Quideau et al., 2016)



شکل ۳- نمونه‌ای از پلیت بیولاگ با الگوی توزیع ترکیبات مختلف در چاهک‌ها (Taha et al., 2015)
Figure 3- A schematic of BioLog plate with distribution pattern of different compounds in wells (Taha et al., 2015)

فعالیت میکروبی

مقدار ATP در خاک نیز که مولکول تأمین‌کننده انرژی فعالیت‌های زیستی است، مستقیماً بیانگر فعالیت بیولوژیک خاک است. گاه‌ها، استخراج و اندازه‌گیری ATP+ADP به‌عنوان معیاری از فعالیت میکروبی خاک در نظر گرفته می‌شود، گرچه سهم هریک آنها در تخمین فعالیت زیستی یکسان نیست. از این رو، در فرمول‌های محاسباتی به آنها وزن داده می‌شود، مثلاً مقدار ADP به عدد دو تقسیم شده و سپس با مقدار ATP جمع می‌شود.

سرعت و مقدار الحاق نوکلئوتیدهای تیمین یا لوسین به DNA نیز بیانگر سرعت سنتز مولکول DNA و همانندسازی آن بوده و برآوردی مستقیم از فعالیت میکروبی در خاک است. در این روش، مقدار معینی از نوکلئوتیدهای تیمین یا لوسین نشان‌دار به محیط کشت افزوده شده و سپس با سوسپانسیون خاک مایه‌زنی می‌شود. پس از رشد میکروب‌ها در مدت‌زمان معین، مقدار نوکلئوتیدهای نشان‌دار در توده میکروبی اندازه‌گیری شده و از این طریق فعالیت میکروبی در خاک برآورد می‌گردد (Baath, 1990).

روابط میکروب-گیاه

در بین روابط سودمند بین میکروب‌ها و گیاهان، رابطه همزیستی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همزیستی باکتری‌های ریزوبیومی با ریشه لگوم‌ها از نظر تأمین نیتروژن گیاه و سایر اثرات مفید این باکتری‌ها بر رشد گیاه، به‌طور وسیع مورد مطالعه قرار گرفته و اثرات محیطی و مدیریتی بر کارایی این همزیستی بررسی شده است. وجود گره‌های فراوان و فعال (گره‌های با مقطع صورتی رنگ) در ریشه لگوم‌ها حاکی از حضور جمعیت فراوان و کارآمد از باکتری‌های ریزوبیومی در خاک مزرعه بوده و بیانی از سلامت خاک نیز است. در بررسی اثرات کودهای شیمیایی مخصوصاً نیتروژنه، آلاینده‌های مختلف، تغییرات اقلیمی، تنش‌های خشکی و شوری و غیره بر اکوسیستم خاک، مطالعه وضعیت این همزیستی به‌عنوان یکی از شاخص‌های

اندازه‌گیری فعالیت تنفسی پایه یا برانگیخته، فعالیت آنزیم دهیدروژناز، مقدار ATP، الحاق تیمیدین یا لوسین^{۲۷} نشان‌دار به DNA در خاک (Baath, 1990)، مهم‌ترین روش‌هایی هستند که به‌طور رایج در تعیین فعالیت میکروبی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای تعیین تنفس پایه، خروج گاز کربنیک از مقدار معینی از خاک و در مدت‌زمان مشخص اندازه‌گیری می‌شود. در مورد تنفس برانگیخته، ابتدا مقدار معینی محلول گلوکز به خاک افزوده شده و سپس شدت تنفس همانند روش تنفس پایه ولی در مدت کوتاه (۴-۶ ساعت) اندازه‌گیری به عمل می‌آید. برای تعیین فعالیت آنزیم دهیدروژناز، سوبسترای مناسب نظیر تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) به مقدار معینی از خاک افزوده شده و به مدت معینی در دمای مناسب انکوبه می‌گردد. مقدار تری‌فنیل فورمازان (TPF) حاصل از فعالیت دهیدروژناز، پس از استخراج با یک حلال آلی، با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود (Bloem et al., 1995). فعالیت تنفس پایه بیانگر فعالیت میکروبی بومی خاک با استفاده از کربن آلی موجود در خاک است. چون غالباً کربن آلی خاک از نوع نسبتاً پایدار و سخت تجزیه شونده است لذا رقابت چندانی بین میکروب‌ها در استفاده از این منابع وجود ندارد ولی تنفس برانگیخته که با افزودن کربن آلی سهل‌الوصول (گلوکز) به خاک همراه است، گروه میکروبی فعال و پویا به سرعت پاسخ داده و در رقابت با سایر گروه‌های میکروبی، پیروز میدان خواهند بود. در نتیجه زیاد بودن شدت تنفس برانگیخته در یک خاک بیانگر سهم بالای میکروب‌های فعال نسبت به کم فعال است (Aliasgharzad, 2000). فعالیت آنزیم‌های گروه دهیدروژناز که در چرخه تنفسی و زنجیره انتقال الکترون برای تولید انرژی دخیل هستند، همبستگی بسیار بالایی با فعالیت میکروبی دارد. این گروه آنزیمی از دسته درون‌سلولی بوده و در بخش غیرزنده خاک وجود ندارد.

²⁷ Thymidine or leucine incorporation

به نقش‌های متعدد این همزیستی در بهبود رشد گیاه (علاوه بر تأمین فسفر) از طریق افزایش جذب آب و سایر عناصر غذایی، افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زیستی (آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی) و غیر زیستی (شوری، خشکی، سرما، فلزات سنگین و سایر آلاینده‌ها) و همچنین نقش مؤثر این قارچ‌ها در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک، مطالعه این قارچ‌ها در خاک اهمیت زیادی دارد. در این راستا، اندازه‌گیری پارامترهای مرتبط با این همزیستی از جمله تعیین درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه و شمارش تعداد اسپور قارچ‌ها در خاک، می‌تواند در ارزیابی سلامت خاک مورد توجه قرار گیرد.

در سالیان اخیر، استفاده از مارکرهای پروتئینی (گلیکوپروتئین، گلومالین) و فسفولیپیدی (16:1ω5) به‌عنوان مولکول‌های نشان برای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار برای مطالعه فراوانی این قارچ‌ها در خاک و ریشه، مورد استقبال محققین قرار گرفته است زیرا به دلیل ماهیت اجباری در همزیستی این قارچ‌ها با ریشه گیاهان، کشت و جداسازی آنها در محیط‌های مصنوعی امکان‌پذیر نیست لذا بکارگیری این مارکرها می‌تواند به راحتی زیست‌توده این قارچ‌ها را در خاک و ریشه تعیین کند (Quideau et al., 2016; Siami et al., 2022). قارچ اندوفیت *Serendipita indica* (با نام قبلی *Piriformospora indica*) که همزیستی مفیدی با ریشه اغلب گیاهان ایجاد میکند، از دیگر قارچ‌های مفید خاکزی است و در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله خشکی و شوری، نقش مهمی ایفا میکند. همچنین در بهبود تغذیه گیاهان نیز اثر مثبتی دارد (Heidarianpour et al., 2020). در برخی گیاهان اثر هم‌افزایی آن در تلقیح توأم با قارچ‌های میکوریزی و/یا باکتری‌های ریزوبیومی گزارش شده است بررسی فراوانی این قارچ در اکوسیستم‌های خاکی، یکی دیگر از شاخص‌های مهم در ارزیابی میکروبیولوژیک کیفیت خاک است. برای این منظور باید نمونه‌های ریشه یا خاک به روش‌های مولکولی مبتنی

مهم محسوب می‌شود، به‌ویژه که لگوم‌ها جزو گیاهان رایج در اراضی کشاورزی و مرتعی هستند. برخی از این شاخص‌ها شامل شمارش تعداد گره در ریشه، تعیین درجه گره‌بندی و تعیین وزن مجموع گره‌ها در ریشه هستند که برحسب نوع گیاه لگوم، یک یا همه این شاخص‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. همچنین، اندازه‌گیری شدت تثبیت زیستی نیتروژن در گره‌ها که عموماً با روش احیای استیلن و دستگاه کروماتوگرافی گازی انجام می‌شود، از دیگر شاخص‌های مهم در این رابطه است.

همزیست‌های میکوریزی که بین قارچ‌ها و ریشه گیاهان ایجاد می‌شوند، نیز در پایداری اکوسیستم‌های زراعی، باغی، مرتعی و جنگلی اهمیت شایانی داشته و می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های کیفی و سلامت خاک مورد نظر قرار گیرد. انواع میکوریز بر اساس مشخصات موفولوژیک در شش گروه قرار می‌گیرند که از بین آنها، میکوریز آربوسکولار²⁸ غالباً در اکوسیستم‌های زراعی، باغی و مرتعی گسترش داشته و میکوریز غلاف‌دار²⁹ در اکوسیستم‌های جنگلی مخصوصاً سوزنی برگان غالب هستند. همزیستی‌های میکوریزی نیز تحت تأثیر عوامل محیطی و مدیریتی مزرعه بوده و در بین کودهای شیمیایی، انواع فسفره مخصوصاً در مقادیر زیاد، تأثیر منفی بر استقرار و عملکرد این همزیستی دارد. مهم‌ترین نقش قارچ‌های میکوریزی، تأمین فسفر گیاه است. مصرف بی‌رویه کودهای فسفره سبب کاهش استقرار همزیستی میکوریزی شده و به تدریج، جمعیت قارچ‌های همزیست نیز تقلیل می‌یابد. اثر منفی کودهای شیمیایی فسفره بر همزیستی میکوریز آربوسکولار بیشتر از بقیه انواع میکوریز است زیرا قارچ‌های شرکت‌کننده در این نوع میکوریز، همزیست اجباری بوده و برای ادامه حیات و حفظ جمعیت خود نیاز به برقراری همزیستی با ریشه گیاهان دارند. وجود فسفر قابل جذب زیاد در خاک سبب جذب فسفر کافی توسط گیاه از خاک شده و در نتیجه تمایل به ایجاد همزیستی میکوریزی در گیاه کاهش پیدا می‌کند (Olsson et al., 2010). با توجه

²⁹ Sheathing mycorrhiza

²⁸ Arbuscular mycorrhiza

است مقایسه نمود یا خاک یک مترع دست نخورده با بخش دیگر آن که تحت کشت و کار قرار گرفته است قابل قیاس است. به عنوان مثال، مقدار آن در حالت تک‌کشتی مداوم و تناوب زراعی در خاک‌های مناطق خشک به ترتیب ۲۳ و ۵۰ و مناطق مرطوب به ترتیب ۲۹ و ۱۵ mg/g است. مقادیر بالاتر و پایین‌تر از این اعداد به ترتیب نشان‌دهنده تجمع و اتلاف کربن فعال در خاک است (Aliasgharzad, 2010). سهم میکروبی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه می‌شود که در آن سهم میکروبی بر حسب میلی‌گرم بر گرم، C_{mic} کربن میکروبی بر حسب میلی‌گرم در واحد وزن خاک و C_{org} کربن آلی کل خاک بر حسب گرم در واحد وزن خاک هستند. چون وزن خاک در صورت و مخرج کسر، یکسان است لذا از فرمول حذف شده است.

(۲)

$$q_{mic} = C_{mic} / C_{org}$$

در برخی تحقیقات، این شاخص را با استفاده از رابطه (۳) بر حسب درصد محاسبه کرده‌اند. در این صورت سهم میکروبی برای خاک‌های کشاورزی معمولی بین ۱ تا ۲٪ گزارش شده است. برای خاک‌های شالیزاری حدود ۲/۷ درصد، جنگلی حدود ۲٪ و مرتعی تا ۳٪ نیز تعیین شده است (Liu et al., 2023). با وجود این، در خاک‌هایی که تجمع کربن آلی بسیار زیاد است (مثل خاک‌های سطحی جنگل‌ها)، حتی با وجود جمعیت میکروبی زیاد، ممکن است این درصد کمتر به دست آید چون مقدار کربن آلی در مخرج کسر قرار می‌گیرد؛ بنابراین در مطالعات مقایسه‌ای باید به این نکات توجه شود.

(۳)

$$\%q_{mic} = [(C_{mic} / C_{org}) / 1000] \times 100$$

سهم متابولیک^{۳۱}

سهم متابولیک بیانگر میزان دی‌اکسیدکربن آزادشده از کربن میکروبی است. هرچه این شاخص کمتر باشد چرخه‌های میکروبی کارآمدتر خواهد بود. مقدار

بر DNA آنالیز شوند چون روش کشت قارچ از خاک یا مشاهده میکروسکوپی قارچ در ریشه، قابل اطمینان نیستند. مخصوصاً در مورد ریشه گیاهان که به‌طور طبیعی همزیستی میکوریزی دارند، تمایز اندام‌های این قارچ با قارچ‌های میکوریزی در مشاهدات میکروسکوپی دشوار است (Tavasolee et al., 2011).

شاخص‌های اکوفیزیولوژیک

همانطوریکه در بخش ۲ توضیح داده شد، بیومس میکروبی خاک از شاخص‌های مهم در ارزیابی کیفیت و سلامت خاک است. از بین روش‌های مختلفی که در بالا به آنها اشاره شد، روش تدخین-انکوباسیون یا تدخین-استخراج، بسیار مرسوم بوده و از طریق اندازه‌گیری کربن میکروبی خاک و سپس بکارگیری روابط تجربی، مقدار بیومس میکروبی محاسبه می‌شود. برخی شاخص‌های اکوفیزیولوژیک خاک را می‌توان با استفاده از داده‌های حاصل از این روش، محاسبه نمود که در زیر توضیح داده می‌شوند.

سهم میکروبی^{۳۰}

یکی از این شاخص‌ها، سهم میکروبی^۳ است که با محاسبه نسبت کربن میکروبی به کربن آلی کل خاک بدست می‌آید و زیاد بودن این شاخص بیانگر پویایی کربن آلی خاک است. هر چه سهم کربن میکروبی از کربن آلی خاک بیشتر باشد، دلیل بر فعالیت میکروبی بیشتر و به تبع آن، سرعت زیاد چرخه عناصر غذایی خواهد بود. برآیند این عوامل در حاصلخیزی خاک نمود پیدا می‌کند. البته تعیین محدوده برای این پارامتر نمی‌تواند قابل تعمیم به همه اکوسیستم‌ها باشد؛ زیرا مقادیر آن در خاک‌های زراعی، باغی، مرتعی و جنگلی بسیار متفاوت است و اصولاً باید در اکوسیستم‌های مشابه، مقایسه شود. به‌عنوان نمونه، مقدار تقریبی آن در یک منطقه که جنگل تراشی شده است، می‌توان این پارامتر را با نواحی حاشیه که جنگل دست‌نخورده

³¹ Metabolic quotient

³⁰ Microbial quotient

می‌شود. چون وزن خاک در صورت و مخرج کسر، یکسان است لذا از فرمول حذف شده است.

(۴)

$$q_{CO_2} = CO_2-C/C_{mic} \times h$$

فعالیت آنزیمی

آنزیم‌های خاک مراحل معینی از تجزیه مواد آلی را کاتالیز می‌کنند و در چرخه بیوژئوشیمیایی عناصر غذایی دخیل هستند؛ بنابراین آنزیم‌های خاک کاتالیزورهایی هستند که در تنظیم پاسخ‌های اکوسیستم از طریق تغییرات شرایط غیرزیستی (دما، رطوبت، دسترسی عناصر غذایی، کیفیت سوبسترای ورودی) و زیستی نقش بزرگی را بازی می‌کنند (Paz-Ferreiro et al., 2015). آنزیم‌ها به دو گروه درون سلولی^{۳۳} و برون سلولی^{۳۴} تقسیم می‌شوند. انواع درون سلولی نظیر دهیدروژناز، نیتروژناز، کاتالاز، پراکسیداز و نیترات ریداکتاز فقط داخل سلول‌های زنده فعالیت نموده و اندازه‌گیری فعالیت آنها نه تنها سرعت فرآیندهای بیوشیمیایی مربوطه را نشان می‌دهد بلکه همبستگی بالایی نیز با فعالیت میکروبی خاک دارد. بدیهی است عوامل مؤثر بر فعالیت جامعه میکروبی، به سرعت در فعالیت آنزیم‌های درون سلولی نیز منعکس می‌گردد. آنزیم‌های برون سلولی نظیر اوره‌آز، سلولاز، فسفاتازها و دی-آمینازها علاوه بر فعالیت در داخل سلول‌های زنده، در محیط خارج از سلول نیز فعال هستند؛ بنابراین فعالیت این آنزیم‌ها در خاک ممکن است لزوماً با فعالیت میکروبی همبستگی نداشته باشد. بخش اعظم آنزیم‌های برون سلولی در خاک به صورت جذب شده در سطوح کلئیدها هستند و این پدیده سبب ماندگاری بیشتر در خاک شده و همچنین نسبت به تغییرات محیطی مقاوم‌تر می‌شوند (Alef and Nannipieri, 1995). در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های برون سلولی، بخش تثبیت شده در سطوح ذرات خاک نسبت به بخش داخل سلولی، سهم بیشتری دارد. انتخاب نوع آنزیم در مطالعات سلامت و کیفیت خاک بسیار اهمیت دارد و باید به صورت سنجیده عمل شود. اگر جنبه‌های

معمول این پارامتر در خاک‌های کشاورزی ۳-۰/۵ میلی گرم کربن CO₂ بر گرم کربن میکروبی در ساعت است. در مطالعات وسیع که در مراعات استرالیا، آسیا، اروپا و آمریکای شمالی و جنوبی انجام گرفته، سهم متابولیک از ۰/۱۸ تا ۴/۱ (Risch et al., 2023). به طور استاندارد، برای محاسبه این شاخص باید تنفس پایه در خاک در مدت ۷ روز انکوباسیون اندازه‌گیری شود ولی در تحقیقات مختلف، مدت زمان انکوباسیون برای تعیین تنفس متفاوت بوده و از چند روز تا چند هفته گزارش شده است. کربن زیست‌توده میکروبی نیز با روش‌های مختلف اندازه‌گیری شده است در حالیکه روش نسبتاً دقیق‌تر برای این منظور، تدخین-استخراج است. از این رو، محدوده‌های گزارش شده برای این شاخص متنوع هستند. به طور کلی، سهم متابولیک که در یک منطقه با روش‌های معین اندازه‌گیری شده باشند، قابل مقایسه خواهند بود. مقادیر بیشتر و کمتر از این محدوده مناسب نیستند. سهم متابولیک زیاد (به طور نسبی) به دلیل وجود تنش‌هایی نظیر خشکی، شوری، کودهای شیمیایی، علف‌کش‌ها، آلاینده‌ها و فقر غذایی در جامعه میکروبی خاک است که باعث می‌شود میکروارگانیسم‌ها به طور غیرطبیعی تنفس بیشتری انجام داده و مصرف انرژی و اتلاف کربن بیشتری رخ دهد (Anderson, 2003). سهم متابولیک به عنوان یک شاخص اکوفیزیولوژیک، در ارزیابی سلامت و کیفیت زیستی خاک کاربرد زیادی داشته و تأثیر عوامل تنشی بر فعالیت میکروبی خاک را به سرعت نشان می‌دهد. Anderson (2003) گزارش کرد که مقادیر بیشتر از ۲ میلی گرم کربن CO₂ بر گرم کربن میکروبی در ساعت برای سهم متابولیک بیانگر کارایی کمتر جامعه میکروبی است و حاکی از وجود تنش در آنهاست. سهم متابولیک (qCO₂) با استفاده از رابطه (۴) محاسبه می‌شود که در آن تعداد میلی گرم CO₂ (برحسب کربن) حاصل از تنفس پایه خاک در یک ساعت به مقدار کربن میکروبی (گرم) تقسیم

³³ Exoenzyme

³² Endoenzyme

(۶)

$EAN = DHA + (CA/10) + (PA/40) + (DAA/2) + (AMA/20)$
 محدوده‌های عددی به دست آمده برای این شاخص‌های تجربی (BFI, EAN) بسیار متفاوت هستند زیرا تابع عوامل زیادی از جمله آب‌وهوا، خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک، پوشش گیاهی، کاربرد کودهای شیمیایی و سموم آفت‌کش و غیره هستند و اصولاً در هر مطالعه باید داده‌های حاصل از همان منطقه مقایسه شوند. در این راستا، شاخص‌های چند پارامتری دیگری از قبیل ^{36}SHI ، ^{37}SQI ، ^{38}IMI نیز ارائه شده‌اند که برخی از آن‌ها ترکیبی از پارامترهای فیزیکی، شیمیایی و گاهی بیولوژیک هستند.

ارتباط پارامترها با همدیگر و با سلامت خاک

مهم‌ترین پارامترها و شاخص‌های زیستی و میکروبیولوژیک برای ارزیابی کیفیت و سلامت خاک در قسمت‌های قبلی مورد بحث و بررسی قرار گرفتند ولی باید در نظر داشت که کیفیت و سلامت خاک یک مفهوم بسیار گسترده بوده و صرفاً با استناد به ویژگی‌های زیستی قابل ارزیابی جامع نیست. در این راستا، در بخش زیستی نیز اکتفا نمودن به یک یا دو پارامتر زیستی ممکن است گویای وضعیت واقعی در شرایط طبیعی خاک نباشد (Bünemann et al., 2018). بر این اساس، باید با ملحوظ داشت اهداف تحقیق، در انتخاب پارامترهای زیستی دقت کافی نمود و همچنین بررسی ارتباط بین پارامترها برای تفسیر نتایج دارای اهمیت زیادی است. بدیهی است که در یک اکوسیستم خاکی معین، شاخص‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک نمی‌توانند مستقل از هم باشند و به احتمال زیاد، همبستگی‌های معنی‌داری میان آنها خواهد بود (Bastida et al., 2008). گاهی فقدان چنین همبستگی‌ها در برخی تحقیقات، سؤال‌برانگیز است و اگر

تغذیه گیاهان مدنظر باشد، آنزیم‌های دخیل در چرخه‌های نیتروژن و فسفر در الویت قرار می‌گیرند. البته در هر کدام از این چرخه‌ها، تعداد زیادی آنزیم دخیل هستند ولی با در نظر گرفتن صرف وقت برای اندازه‌گیری‌ها و همچنین هزینه‌های مربوطه، اصولاً یک یا دو آنزیم کلیدی در هر چرخه انتخاب می‌شود. مثلاً اوره‌آز و ال-آسپاراژیناز یا ال-گلوتامیناز در چرخه نیتروژن و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در چرخه فسفر، مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. برای چرخه کربن، آنزیم‌های سلولاز (خاک‌های مرتعی، جنگلی، باغی)، زایلاناز (خاک‌های زراعی) و بتاگلوکوزیداز بیشتر توصیه شده‌اند. برای بررسی تولید هوموس از مواد چوبی که با هیدرولیز لیگنین کاتالیز می‌شود، آنزیم‌های لاکاز یا فنل اکسیداز اهمیت دارند. در چرخه گوگرد، آریل سولفاتاز نقش کلیدی دارد. عموماً در ارزیابی سلامت و کیفیت خاک، استناد به فعالیت یک آنزیم، قابل اعتماد نیست و اصولاً باید بیش از یک آنزیم مدنظر باشد زیرا ممکن است یک آنزیم به دلیل عدم وجود سوبسترای لازم یا وجود یک بازدارنده خاص در خاک، فعالیت بسیار کمتری نشان دهد که بیانگر شرایط واقعی آن خاک نیست (Rahul et al., 2022). برخی محققین، با استفاده از قرار دادن فعالیت چندین آنزیم در معادلات تجربی، شاخص‌های کاربردی معرفی کرده‌اند (Alkorta et al., 2003). به‌عنوان مثال شاخص بیولوژیک حاصلخیزی خاک^{۳۴} (BFI) با معادله زیر محاسبه می‌شود که در آن DA فعالیت دهیدروژناز، K ضریب نسبت و CA فعالیت کاتالاز است (Saviozzi et al., 2011).

(۵)

$$BFI = (DA + K \times CA) / 2$$

در رابطه تجربی دیگر برای ارزیابی حاصلخیزی خاک از شاخص EAN (عدد فعالیت آنزیمی^{۳۵}) استفاده شده است که در آن DHA, CA, PA, DAA, AMA به ترتیب فعالیت آمیلاز، دی‌آمیناز، فسفاتاز، کاتالاز و دهیدروژناز می‌باشند (Paz-Ferreiro et al., 2016).

³⁷ Soil quality index

³⁸ Integrated microbial index

³⁴ Soil biological fertility index

³⁵ Enzyme activity number

³⁶ Soil health index

نقشه‌های کیفیت و سلامت خاک نقش بسزایی در این راستا ایفا کرده‌اند (Minasny and McBratney, 2016).

به‌طورکلی تغییرپذیری مکانی ویژگی‌های خاک از یک نقطه به نقطه دیگر باعث گردیده است که تخمین‌های نقطه‌ای با استفاده از نقشه‌های سنتی خاک از دقت مناسبی برخوردار نباشند (زیادت ۲۰۰۷). به دنبال آن نقشه‌برداری رقومی خاک^{۳۹} (DSM) که برای اولین بار توسط McBratney و همکاران (2003) ارائه گردید، تحول عظیمی در مطالعات خاک پدید آورد که در بررسی‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است و روزه‌روز نیز در حال افزایش است (Minasny and McBratney, 2016). Kempen و همکاران (2012) نیز گزارش نمودند که با کاربرد DSM نه تنها هزینه‌های صرف شده حدود ۳۰ درصد در مقایسه با روش‌های مرسوم نقشه‌برداری خاک کاهش یافته است، بلکه دقت نقشه‌های تولیدشده نیز افزایش پیدا کرده است.

برای پیش‌بینی پراکنش مکانی ویژگی‌های خاک، مدل‌های مختلفی در محیط R وجود دارد. مدل جنگل تصادفی (RF) نیز یکی از مدل‌های مطرح است که در سال‌های اخیر به‌وفور با موفقیت در DSM مورد استفاده قرار گرفته است. مدل RF توسط Breiman (2001) ارائه شده است که از توسعه درخت‌های تصمیم‌گیری ایجاد شده است. این مدل در تحقیقات مختلفی مانند پیش‌بینی مقدار گلومالین (گلیکوپروتئین خاص در قارچ‌های آربوسکولار) خاک (Siami et al., 2022)، شاخص‌های آلودگی خاک (Alvyar et al., 2022) و کربن آلی و کربن غیرآلی خاک (Sreenivas et al., 2016) با دقت قابل قبولی مورد استفاده قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری کلی و چشم‌انداز آینده

با توجه به تغییرات جهانی محیط‌زیست و روند رو به افزایش تخریب اراضی، درک صحیح از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای مدیریت دقیق آن‌ها،

از دقت اندازه‌گیری‌ها (نمونه‌برداری و سنجش‌های آزمایشگاهی) مطمئن هستیم، باید به دنبال توجیه و تفسیر علمی آنها باشیم. مثلاً عدم وجود همبستگی معنادار بین فعالیت دهیدروژناز با فعالیت تنفس میکروبی خاک، به راحتی قابل تفسیر نیست.

برآورد شاخص‌های زیستی به کمک اطلاعات

ماهواره‌ای و مدل‌ها

با توجه به ماهیت پارامترهای زیستی، اندازه‌گیری اغلب آنها نیازمند تجهیزات ویژه و صرف هزینه‌های زیاد است. مخصوصاً زمانی که اینگونه ارزیابی‌ها در مقیاس وسیع مورد نیاز باشد، عملاً اندازه‌گیری چنین پارامترها مقرون به صرفه نبوده و به مدت زمان زیادی نیاز خواهد داشت. در این راستا محققین تلاش کرده‌اند که آنها را از روی پارامترهای ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر، برآورد کنند و برای اینکار، برخی معادلات تجربی ارائه شده‌اند. این معادلات، به‌ویژه موقعی اهمیت پیدا می‌کنند که تعداد نمونه زیاد باشد. به‌عنوان مثال، اندازه‌گیری زیست‌توده میکروبی خاک با روش‌های تدخین-استخراج یا تدخین-انکوباسیون گرچه دقت خوبی دارند ولی بسیار پرهزینه و زمان‌بر هستند لذا معادلاتی برای برآورد آن از روی تنفس برانگیخته ارائه شده‌اند. البته این معادله‌ها بر اساس شرایط محیطی، متفاوت هستند. شمارش جمعیت میکروبی خاک با روش‌های کشت نیز بسیار پرزحمت و زمان‌بر و درعین حال کم‌دقت هستند در حالیکه مطالعات متعدد نشان داده‌اند که جمعیت میکروبی را می‌توان از روی تنفس پایه، فعالیت دهیدروژناز یا مقدار ATP خاک برآورد نمود چون بین جمعیت میکروبی فعال و پارامترهای مذکور، همبستگی آماری قابل قبول برقرار است (Sparling, 1995). اخیراً به‌کارگیری مدل‌های آماری مختلف از جمله RF برای برآورد پارامترهای زیستی پرهزینه از روی پارامترهای ساده، همچنین تحلیل‌گرهای زمین‌آمار ArcGIS در ترسیم

³⁹Digital soil mapping

تا شدت تغییرات در طول زمان رصد شوند. برای کاربردی شدن نتایج این مطالعات، باید روش‌های استاندارد بین‌المللی تعریف شوند که دارای توجیه اقتصادی بوده و قابلیت اجرا در نقاط مختلف جهان داشته باشند. گرچه ارائه روش واحد برای همه اکوسیستم‌های خاکی و شرایط آب و هوایی متفاوت، هنوز چالش برانگیز است. در این ارتباط، ایجاد بانک جهانی داده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است و در بسیاری از موارد می‌تواند با ارائه راهکارها و مدل‌های آماری، از ضرورت انجام آزمایش‌های وسیع و پرهزینه بکاهد. به‌کارگیری اطلاعات ماهواره‌ای و تلفیق آن‌ها با داده‌های میدانی پارامترهای زیستی می‌تواند کمک شایانی در تهیه نقشه‌های رقومی وضعیت سلامت خاک را فراهم کند. حمایت‌های مالی و تجهیزاتی پروژه‌ها از سوی سازمان‌های بین‌المللی مربوطه نیز مورد انتظار است.

ضروری است. در این میان، شاخص‌های زیستی خاک، بسیار حساس به تغییرات بوده و در کوتاه‌مدت پاسخ می‌دهند. همچنین، شاخص‌های چند پارامتری یا ترکیبی که در این مقاله برخی از آنها معرفی شدند، بهتر از حالت انفرادی آنها، وضعیت سلامت خاک را ارزیابی می‌کنند. گرمایش زمین و تغییرات اقلیمی از مسائل اساسی کره خاکی است که حیات در آن را تهدید می‌کند و نقش خاک در بیلان کربن اتمسفر انکارناپذیر است. چرخه کربن بین اتمسفر و لیتوسفر تحت تأثیر جامعه گیاهی و میکروبی خاک است. لذا در کنار سایر خصوصیات تعیین‌کننده خاک، باید پروژه‌های جامعی برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک تدوین شوند. اجرای پروژه‌های میکروبیوم خاکی از اهمیت خاصی برخوردار هستند زیرا اطلاعات جامع و کاربردی از وضعیت زیستی و پتانسیل‌های ژنتیک خاک به دست می‌دهند. این پروژه‌ها نباید در مقطع زمانی خاص بلکه به‌طور منظم و تابع زمان اجرا شوند

References

1. Alef, K. and Nannipieri, P. 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London.
2. Aliasgharzad, N. 2010. *Methods in Soil Biology*. Translated to Farsi, 2nd Edition, Tabriz University Press. (In Persian)
3. Aliasgharzad, N., Mårtensson, L.M. and Olsson, P.A. 2010. Acidification of a sandy grassland favours bacteria and disfavors fungal saprotrophs as estimated by fatty acid profiling. *Soil Biology and Biochemistry* 42, pp.1058–1064.
4. Alkorta, I. Aizpurua, A. Riga, P. Albizu, I. Amezaga, I. and Garbisu, C. 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Review Environmental Health* 18, pp.65–73. doi: 10.1515/REVEH.2003.18.1.65
5. Alvyar, Z. Shahbazi, F. Oustan, S. Dengiz, O. and Minasny, B. 2022. Digital mapping of potentially toxic elements enrichment in soils of Urmia Lake due to water level decline. *Science of the Total Environment*, 808, 152086.
6. Amann, R.I. Binder, B.J. Olson, R.J. Chisholm, S.W. Devereux, R. and Stahl, D.A. 1990. Combination of 16S rRNA targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology* 56, pp.1919–1925.
7. Amann, R.I. Ludwig, W. and Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *FEMS Microbiology Reviews* 59, pp.43–169.
8. Ananyeva, N.D. Susyan, E.A. and Gavrilenko, E.G. 2011. Determination of the soil microbial biomass carbon using the method of substrate-induced respiration. *Eurasian Soil Science*, 44, pp.1215–1221. <https://doi.org/10.1134/S1064229311030021>.
9. Anderson, T.H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98, pp.285–293.
10. assessment of side-effects of agrochemicals on soil micro-organisms. *Residue Reviews* 86, 65–105.
11. Bååth, E. 1990. Thymidine incorporation into soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry* 22, pp.803–810
12. bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* 22, 59e65.
13. Barin, M. Aliasgharzad, N. Olsson, P.A. Rasouli-Sadaghiani, M.H. and Moghddam, M. 2013. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil salinity around Lake Urmia in northern Iran analyzed by use of lipid biomarkers and microscopy. *Pedobiologia*, 56, pp.225–232.
14. Bastida, F. Zsolnay, A. Hernandez, T. and Garcia, C. 2008. Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. *Geoderma* 147, pp.159–171.
15. Bloem, J. Bolhuis, P.R. Veninga, M.R. and Wieringa, J. 1995. Microscopic methods
16. Bölter, M. Bloem, J. Meiners, K. and Möller, R. 2002. Enumeration and biovolume
17. Bölter, M. Möller, R. and Dzomla, W. 1993. Determination of bacterial biovolume with epifluorescence microscopy: comparison of size distributions from image analysis and size classifications. *Micron* 24, pp.31–40
18. Breiman, L. 2001. Random forests. *Machine Learning*, 45, pp.5–32.
19. Bressan, M. Trinsoutrot Gattin, I. Desaire S. Castel, L. Gangneux, C. and Laval, K. 2015. A rapid flow cytometry method to assess bacterial abundance in agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 88, pp.60–68. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.12.007>
20. Breure, A.M. and Rutgers, M. 2000. The application of Biolog plates to characterize microbial communities. In: Benedetti, A. Tittarelli, F. de Bertoldi, S. and Pinzari, F. (eds) *Proceedings of the COST Action 831, Joint Working Group Meeting Biotechnology of Soil, Monitoring, Conservation and*

- Bioremediation. 10–11, December 1998, Rome, Italy, (EUR 19548), pp.179–185.
21. Brookes, P.C. 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution
 22. Bünemann, E.K. Bongiorno, G. Baic, Z. Creamer, R.E. et al. 2018. Soil quality – A critical review. *Soil Biology Biochemistry* 120, pp.105–125
 23. by heavy metals. *Biology and Fertility of Soil* 19, pp.269–279.
 24. Das, S. Deb, S. Sahoo, S.S. and Sahoo, U.K. 2023. Soil microbial biomass carbon stock and its relation with climatic and other environmental factors in forest ecosystems: A review, *Acta Ecologica Sinica*, 43 (6), pp.933–945, <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2022.12.007>
 25. determination of microbial cells – a methodological review and recommendations for applications in ecological research. *Biology and Fertility of Soils* 36, pp.249–259.
 26. Domsch, K.H., Jagnow, G. and Anderson, T.H. (1983) An ecological concept for the
 27. Doran JW, Zeiss MR, 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15:3–11.
 28. FAO. 2024. Standard operating procedure for soil microbial biomass (carbon): chloroform fumigation-extraction method. Rome.
 29. for counting bacteria and fungi in soil. In: Alef, K. and Nannipieri, P. (eds) *Methods*
 30. Frostegård, Å. and Bååth, E. 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate
 31. Garland, J.L. Cook, K.L. Loader, C.A. and Hungate, B.A. 1997. The influence of microbial community structure and function on community-level physiological profiles. In: Insam, H. and Rangger, A. (eds) *Microbial Communities: Functional versus Structural Approaches*. Springer, New York, pp.171–183
 32. Griffiths, B.S. Römcke, J. Schmelz, R.M. Scheffczyk, A. Faber, J.H. Bloem, J. Peres, G. Cluzeau, D. Chabbi, A. Suhadolc, M. et al. 2016. Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function. *Ecological Indicators* 69, pp.213–223.
 33. Hartmann, A. Pukall, R. Rothballer, M. Gantner, S. Metz, S. Schloter, M. and Mogge, B. 2004. Microbial community analysis in the rhizosphere by *in situ* and *ex situ* application of molecular probing, biomarker and cultivation techniques. In: Varma, A. Abbott, L. Werner, D. and Hampp, R. (eds) *Plant Surface 288 Plant-Microbe Interactions and Soil Quality Microbiology*. pp. 449–469 Springer-Verlag, Berlin.
 34. Heidarianpour, M.B. Aliasgharzad, N. Olsson, P.A. 2020. Positive effects of co-inoculation with *Rhizophagus irregularis* and *Serendipita indica* on tomato growth under saline conditions, and their individual colonization estimated by signature lipids. *Mycorrhiza* 30, pp.455–466. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00962-y>
 35. in *Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London, pp.162–173.
 36. Kempen, B. Brus, D.J. Stoorvogel, J.J. Heuvelink, G.B.M. and de Vries, F. 2012. Efficiency Comparison of Conventional and Digital Soil Mapping for Updating Soil Maps. *Soil Science Society of American Journal*, 76, pp.2097–2115.
 37. Klauth, P. Wilhelm, R. Klumpp, E. Poschen, L. and Groeneweg, J. 2004. Enumeration of soil bacteria with the green fluorescent nucleic acid dye Sytox green in the presence of soil particles. *Journal of Microbiological Methods* 59, pp.189–198. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.07.004>
 38. Lee, J. Kim, H.S. Jo, H.Y. and Kwon, M.J. 2021. Revisiting soil bacterial counting methods: Optimal soil storage and pretreatment methods and comparison of culture-dependent and -independent methods. *PLoS One* 16(2):e0246142. doi:10.1371/journal.pone.0246142.
 39. Lee, J.S. Lee, Y. Lee, E.J. Pros, K. Kim, K. and Han, G.H. 2021. A simple method to determine soil microbial

- biomass carbon by facilitating gaseous diffusion of chloroform into pores. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 54(4), 660-666. doi:10.7745/KJSSF.2021.54.4.660
40. Lewe, N. Hermans, S. Lear, G. Kelly, L.T. Thomson-Laing, G. Weisbrod, B. Wood, S.A. Keyzers, R.A. and Deslippe, J.R. 2021. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis as a tool to estimate absolute abundances from compositional 16S rRNA bacterial metabarcoding data. *Journal of Microbiological Methods*, 188, 106271, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.10.6271>
 41. Liu, C. Tian, J. Cheng, K. Xu, X. Wang, Y. et al. 2023. Topsoil microbial biomass carbon pool and the microbial quotient under distinct land-use types across China: A data synthesis. *Soil Science and Environment* 2(5). <https://doi.org/10.48130/SSE-2023-0005>
 42. McBratney, A.B. Mendocça Santos, M.L. and Minasny, B. 2003. On digital soil mapping. *Geoderma*, 117, pp.3–52.
 43. Minasny, B. and McBratney, A.B. 2016. Digital soil mapping: A brief history and some lessons. *Geoderma*, 264, pp.301–311.
 44. Mori, T. Wang, S. Wang, C. Mo, J. and Zhang, W. 2021. Is microbial biomass measurement by the chloroform fumigation extraction method biased by experimental addition of N and P?. *iForest* 14, pp.408-412. doi: 10.3832/ifor3374-014
 45. Muyzer, G. and Smalla, K. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek* 73, pp.127–141.
 46. Nakamoto, T. and Wakahara S. 2004. Development of substrate induced respiration (SIR) method combined with selective inhibition for estimating fungal and bacterial biomass in humic Andosols. *Plant Production Science* 7(1), pp.70-76.
 47. Olsson, P.A. Rahm, J. and Aliasgharzad, N. 2010. Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. *FEMS Microbiology Ecology* 72, pp.125–131.
 48. Paz-Ferreiro, J. and Fu, S. 2016. Biological Indices for Soil Quality Evaluation: Perspectives and Limitations. *Land Degradation and Development* 27, pp.14–25.
 49. Paz-Ferreiro, J. Fu, S. Méndez, A. and Gascó, G. 2015. Biochar modifies the thermodynamic parameters of soil enzyme activity in a tropical soil. *Journal of Soils and Sediments* 15(3), pp.578-583.
 50. Quideau, S.A. McIntosh, A.C. Norris, C.E. Lloret, E. Swallow, M.J. and Hannam, K. 2016. Extraction and analysis of microbial phospholipid fatty acids in soils. *Journal of Visualized Experiments*, 26 (114), 54360. doi: 10.3791/54360.
 51. Rahul, R. Sharma, P. Singh, A. Singh, J. and Kumar, M. 2022. Soil enzymes and their role in soil health improvement. In: Nayak, S.K. Baliyarsingh, B. Mannazzu, I. Singh, A. Mishra, B.B. (eds) *Advances in Agricultural and Industrial Microbiology*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8918-5_3
 52. Rezaei, H. Jafarzadeh, A. Aliasgharzad, N. and Alipoor, L. 2015. Soil quality investigation based on biological and micro-morphological traits under different land uses. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 10 (1), pp.241 – 254.
 53. Risch, A.C. Zimmermann, S. Schütz, M. et al. 2023. Drivers of the microbial metabolic quotient across global grasslands. *Global Ecology and Biogeography* 32 (6), pp.904–918. <https://doi.org/10.1111/geb.13664>
 54. Ritz, K. Black, H.I. Campbell, C.D. Harris, J.A. and Wood, C. 2009. Selecting biological indicators for monitoring soils: a framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecological Indicators* 9, pp.1212-1221.
 55. Saviozzi, A. Cardelli, R. Di Puccio, R. 2011. Impact of salinity on soil biological activities: A laboratory experiment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42(3),

- pp.358–367.
<https://doi.org/10.1080/00103624.2011.542226>
56. Schloter, M. Nannipieri, P. Sørensen, S.J. and van Elsas, J.D. 2018. Microbial indicators for soil quality. *Biology and Fertility of Soils* 18, pp.1-10.
57. Siami, A. Aliasghar zad, N. Maleki, L.A. Najafi, N. Shahbazi, F. and Biswas, A. 2022. Recalcitrant C source mapping utilizing solely terrain-related attributes and data mining techniques. *Agronomy* 12, 1653.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12071653>
58. Sparling, G.P. 1995. The substrate-induced respiration method. In: Alef, K. and Nannipieri, P. (eds) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, New York, pp. 397–404.
59. Sreenivas, K. Dadhwal, V.K. Kumar, S. Harsha, G.S. Mitran, T. Sujatha, G. Janaki R. Suresh, G. Fyzee, M.A. and Ravisankar, T. 2016. Digital mapping of soil organic and inorganic carbon status in India. *Geoderma*, 269, pp.160–173.
60. Taha, M. Kadali, K.K. AL-Hothaly, K. et al. 2015. An effective microplate method (Biolog MT2) for screening native lignocellulosic-straw-degrading bacteria. *Annals of Microbiology* 65, pp.2053–2064.
<https://doi.org/10.1007/s13213-015-1044-y>
61. Tavasolee, A. Aliasghar zad, N. Salehi, G.R. Mardi, M. Asgharzadeh, A. and Akbarivala, S. 2011. Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on fungal occupancy in chickpea root and nodule determined by real-time PCR. *Current Microbiology* 63(2), pp.107-114. doi: 10.1007/s00284-011-9951-z.
62. Vestergaard, G. Schulz, S. Schöler, A. and Schloter, M. 2017. Making big data smart—how to use metagenomics to understand soil quality. *Biology and Fertility of Soils* 53, pp.479-484.
63. White, D.C. and Ringelberg, D.B. 1998. Signature lipid biomarker analysis. In: Burlage, R.S. Atlas, R. Stahl, D. Geesey, G. and Sayler, G. (eds) *Techniques in Microbial Ecology*. Oxford University Press, New York, pp. 255–272.
64. Yepes-Pérez, M. Carrero-Contreras, K. Vásquez-Araque, N.A. Mora Martínez, A.L. Correa-Londoño, G.A. and Leotta, G. 2024. Development of a SYBR Green qPCR intralaboratory validation for the quantification of *Escherichia coli* O157:H7. *Applied Biosciences*, 3(3), 326-347.
<https://doi.org/10.3390/applbiosci3030022>



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>

Research Article

Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province

Seyed Hassan Tafaraji^{1*} 1- Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran. hassantafaraji@pnu.ac.ir

Article Info

Extended Abstract

Received: 2025-10-26**Accepted:** 2025-12-24**Keywords:**ACC Deaminase,
Frequency distribution,
IAA,
Molecular identification,
PGPR,
Rhizosphere**Corresponding author's email:**hassantafaraji@pnu.ac.ir**DOI:**10.22092/SBJ.2025.3711
24.289

Background and Objectives: The increasing global population and challenges related to food security have underscored the critical need for sustainable agricultural practices. The overreliance on chemical fertilizers has led to environmental degradation, including soil and water pollution. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) offer a promising, eco-friendly alternative by enhancing plant growth through various direct and indirect mechanisms. These mechanisms include improving nutrient availability (e.g., via siderophore production, phosphate solubilization, ammonia production), producing phytohormones like auxins (IAA), and mitigating stress through enzymes like ACC deaminase. However, the effectiveness of PGPR is highly dependent on their adaptation to specific local soil, plant, and climatic conditions. While PGPR potentials are well-established globally, a comprehensive profile of native, multifunctional PGPR in the southern Fars province of Iran remains limited. This study aimed to fill this knowledge gap by 1) isolating and evaluating the frequency distribution of key PGP traits among bacterial isolates from various plant rhizospheres, 2) quantitatively assessing selected isolates for IAA production and ACC deaminase activity, and 3) molecularly identifying the most promising multifunctional bacterial strains.

Materials and Methods: A total of 45 rhizosphere samples were collected from diverse plants (including wheat, barley, alfalfa, lettuce, canola, beetroot, and spinach) in southern Fars province, with geographical coordinates recorded via GPS. From these samples, 181 distinct bacterial isolates were obtained through serial dilution (up to 10^{-6}) and cultivation on Nutrient Agar, TSA, and King B media. All isolates underwent preliminary qualitative screening for five PGP traits: siderophore production (on CAS agar), ammonia production (in peptone water), phosphate solubilization, potassium release, and zinc solubilization. Based on the results of this screening, 12 superior isolates possessing one or multiple strong PGP traits were selected for further quantitative analysis. The quantitative production of IAA was measured spectrophotometrically using Salkowski's reagent in tryptophan-amended broth. The activity of ACC deaminase was estimated by measuring the amount of α -ketobutyrate produced from ACC. Finally, the molecular identification of the top-performing isolates was carried out by sequencing the 16S rRNA gene using universal primers 27F and 1492R, followed by comparison with sequences in the NCBI database.

Results: The initial screening of 181 isolates revealed a high diversity of functional traits within the rhizosphere community of Southern Fars. A total of 94 isolates (52%) exhibited at least one plant growth-promoting trait. The analysis of trait frequency indicated that siderophore production and ammonia production were the most prevalent mechanisms, observed in a significant portion of the population. This high prevalence is likely an adaptive response to the iron-limited, alkaline nature of the calcareous soils in the region. Phosphate solubilization and potassium release were also common, whereas zinc solubilization was less frequent but present in highly efficient strains. Multifunctionality: Venn diagram analysis highlighted that while many isolates possessed single traits, a specific subset demonstrated multifunctionality. From this pool, 12 superior isolates were selected for advanced quantitative characterization. All 12 selected isolates demonstrated the capability to synthesize IAA in the presence of tryptophan, with concentrations ranging significantly. The highest IAA production was recorded for isolates SF1050 (52.10 $\mu\text{g/ml}$) and SF1078 (51.30 $\mu\text{g/ml}$), with no significant statistical difference between them. This high level of auxin production suggests a strong potential for these strains to stimulate root elongation and increase root surface area. Regarding stress alleviation traits, ACC deaminase activity was observed in 7 out of the 12 isolates. Isolate SF1044 exhibited the highest enzyme activity (306.93 $\text{nmol } \alpha\text{-ketobutyrate mg}^{-1} \text{ protein h}^{-1}$), followed by SF1038 (292.07 $\text{nmol } \alpha\text{-ketobutyrate mg}^{-1} \text{ protein h}^{-1}$). The presence of this enzyme indicates the potential of these strains to facilitate plant growth under biotic and abiotic stress conditions by regulating ethylene levels. 16S rRNA sequencing revealed that the elite isolates belonged to five distinct genera: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudarthrobacter*, and *Lysinibacillus*. Specifically, SF1038 was identified as *Bacillus* sp., and SF1044, SF1050, and SF1092 were identified as *Pseudomonas* sp. Other isolates were identified as *Acinetobacter* sp. (SF1075), *Pseudarthrobacter* sp. (SF1078), and *Lysinibacillus* sp. (SF1160). The most significant finding was the identification of *Pseudomonas* sp. SF1044 as a highly versatile, multifunctional strain possessing all seven tested PGP traits simultaneously, including high IAA production and ACC deaminase activity.

Conclusion: This study provides a comprehensive profile of the frequency distribution of PGP traits among the native rhizobacterial community in southern Fars province. The results confirm the presence of a diverse and potent reservoir of PGPR, with a notable prevalence of nutrient-solubilizing bacteria. The isolation and identification of several highly efficient strains, particularly the multifunctional *Pseudomonas* sp. SF1044, is a significant outcome. This strain, along with other robust isolates like *Bacillus* sp. SF1038, presents exceptional potential for development into novel, multi-trait biofertilizers. The use of such native, adapted strains can significantly contribute to sustainable agricultural practices in the region by enhancing crop growth and yield while reducing dependence on chemical inputs. Future research should focus on in-vitro and field-level validation of these promising isolates to formulate effective microbial consortia for regional agricultural application.

Cite this article: Tafaraji, H., 2025. Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province. *Journal of Soil Biology*, 13 (2),193-211 .



DOI: 10.22092/SBJ.2025.371124.289

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

توزیع فراوانی و شناسایی مولکولی باکتری‌های بومی محرک رشد در جنوب استان فارس

سید حسن تفرجی ^{*۱} ۱- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران * hassantafaraji@pnu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۸/۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۳

چکیده

با توجه به چالش‌های کشاورزی پایدار و نیاز به کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، استفاده از روش‌های سازگار با محیط‌زیست و شناسایی باکتری‌های محرک رشد بومی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این پژوهش با هدف بررسی نظام‌مند توزیع فراوانی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر گیاهان مختلف جنوب استان فارس انجام شد. در این مطالعه، ۱۸۱ جدایه باکتریایی از ریزوسفر ۴۵ نمونه گیاهی مختلف جداسازی و از نظر صفات محرک رشد اولیه شامل تولید سیدروفور، آمونیاک، انحلال فسفات، آزادسازی پتاسیم و انحلال روی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که ۹۴ جدایه (۵۲ درصد) دارای حداقل یک صفت محرک رشد بودند و توزیع فراوانی صفات، حاکی از شیوع بیشتر مکانیسم‌های تولید سیدروفور و آمونیاک در بین جامعه باکتریایی بود. در مرحله بعد، ۱۲ جدایه برتر انتخاب و از نظر توانایی تولید اکسین و فعالیت آنزیم ACC دامیناز مورد ارزیابی کمی قرار گرفتند. همه جدایه‌های منتخب قادر به تولید IAA بودند که بیشترین میزان مربوط به جدایه‌های SF1050 و SF1078 به ترتیب با ۵۲/۱۰ و ۵۱/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از این میان، ۷ جدایه فاقد فعالیت آنزیم ACC دامیناز بودند و جدایه SF1044 با تولید ۳۰۶/۹۳ نانومول آلفا-کتوبوتیرات بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت، بالاترین فعالیت را نشان داد. شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر، تعلق آن‌ها را به جنس‌های *Bacillus*، *Pseudarthrobacter*، *Acinetobacter* و *Pseudomonas Lysinibacillus* تأیید کرد. مهم‌ترین دستاورد نوآورانه این پژوهش، شناسایی جدایه SF1044 به عنوان *Pseudomonas sp.* بود که به طور همزمان واجد تمام هفت صفت محرک رشد مورد آزمایش بود. این پژوهش گامی مؤثر در جهت شناسایی و بهره‌برداری از ظرفیت‌های میکروبی بومی برای توسعه کودهای زیستی ترکیبی و پایدار در منطقه جنوب استان فارس محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری‌های محرک رشد، توزیع فراوانی، ریزوسفر، شناسایی مولکولی، ACC دامیناز.

مقدمه

جمعیت جهان به سرعت در حال افزایش است و تأمین امنیت غذایی به یکی از چالش‌های اصلی قرن حاضر تبدیل شده است. برای دهه‌ها، کشاورزی متکی بر مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی برای دستیابی به عملکرد بالا بوده است (Singh et al., 2022). اگرچه این نهاده‌ها در کوتاه‌مدت مؤثر بوده‌اند، اما استفاده بلندمدت از آنها پیامدهای زیانباری همچون آلودگی آب‌های زیرزمینی، تخریب ساختار خاک، کاهش تنوع زیستی و مقاومت آفات را به همراه داشته است (Foley et al., 2011). در این راستا، یافتن راهکارهای پایدار و دوستدار محیط‌زیست برای افزایش تولیدات کشاورزی امری ضروری است (Chen et al., 2024). یکی از امیدوارکننده‌ترین راهکارها، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR¹) است. PGPRها گروهی از باکتری‌های مستقر در ناحیه ریزوسفر ریشه هستند که از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم، رشد و سلامت گیاه را بهبود می‌بخشند (Bhattacharyya and Jha, 2012; Asgharzadeh et al., 2025). مکانیسم‌های مستقیم شامل مواردی است که به طور مستقیم تغذیه و متابولیسم گیاه را تسهیل می‌کنند (Khoshru et al., 2025)، از قبیل: ۱- تثبیت نیتروژن (در دسترس قرار دادن نیتروژن اتمسفری) ۲- تولید سیدروفور (کلاته کردن آهن و افزایش جذب آن توسط گیاه) ۳- حلالیت فسفات، پتاسیم و روی (تبدیل اشکال نامحلول این عناصر به شکل‌های قابل جذب) ۴- تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین (IAA) و جیبرلین ۵- تولید آنزیم ACC دامیناز که با کاهش سطح اتیلن ناشی از تنش‌ها، به رشد گیاه کمک می‌کند (Tafaraji et al., 2022; Glick, 2014). مکانیسم‌های غیرمستقیم عمدتاً شامل دو راهکار اصلی است: ۱- القای مقاومت سیستمیک در گیاه که منجر به افزایش ظرفیت دفاعی آن در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود. ۲- مهار مستقیم عوامل بیماری‌زای خاک‌زی از طریق تولید

متابولیت‌های ضد میکروبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفورها و آنزیم‌های لیتیک (Lahiji and Rejali, 2025).

در دهه گذشته، تحقیقات گسترده‌ای در زمینه شناسایی و بهره‌برداری از PGPRها در سراسر جهان انجام شده است. به عنوان مثال، مطالعات متعددی توانایی *Bacillus* و *Pseudomonas* را در تولید سیدروفور و انحلال فسفات به اثبات رسانده‌اند (Vejan et al., 2016). همچنین، نقش کلیدی آنزیم ACC دامیناز در کمک به گیاهان برای تحمل تنش‌های خشکی و شوری به اثبات رسیده است (Glick, 2014). شناسایی باکتری‌های متعلق به جنس‌های مختلفی مانند *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* و *Acinetobacter* که دارای چندین صفت محرک رشد هستند، پتانسیل بالای این میکروارگانیسم‌ها را برای استفاده در کودهای زیستی ترکیبی نشان می‌دهد (Kour et al., 2020). اگرچه دانش موجود در مورد PGPRها بسیار ارزشمند است، اما چندین شکاف دانشی مهم وجود دارد که نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد: ۱- وابستگی شدید عملکرد PGPRها به شرایط اکولوژیک و خاکی منطقه، لزوم غربالگری منطقه‌محور برای یافتن سویه‌های بومی با کارایی بهینه را نشان می‌دهد. ۲- بیشتر مطالعات پیشین بر ارزیابی تعداد محدودی از صفات متمرکز بوده‌اند، در حالی که شناسایی سویه‌های چندعاملی دارای چندین مکانیسم محرک رشد همزمان، برای توسعه کودهای زیستی کارآمد ضروری است. ۳- با وجود پیشرفت‌های صورت گرفته، پتانسیل کامل میکروبیوم خاک برای کشف سویه‌های جدید و کارآمد (به‌ویژه از جنس‌های کمتر شناخته‌شده) همچنان ناشناخته باقی مانده است. تاکنون هیچ مطالعه سیستماتیکی در مورد توزیع فراوانی و پتانسیل چندعاملی PGPRها در ریزوسفر گیاهان مختلف جنوب استان فارس که یک منطقه با شرایط اکولوژیک و خاکی خاص است، انجام نشده است. لذا اهداف این پژوهش به شرح زیر در نظر گرفته شد:

¹ Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

سوسپانسیون به ۹ میلی‌لیتر آب استریل تهیه شد (Glick, 2012).

جداسازی و خالص‌سازی

به‌منظور جداسازی طیف وسیع‌تری از باکتری‌های ریزوسفر با تراکم‌های سلولی متفاوت، از سوسپانسیون‌های رقت‌شده 10^{-4} ، 10^{-5} و 10^{-6} استفاده شد. از هر رقت، حجم ۱۰۰ میکرولیتر بر روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط‌های کشت آگار مغذی^۵، TSA و King B کشت داده و به‌صورت کشت گسترده^۳ پخش شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از دوره انکوباسیون، پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی قابل شمارش داشتند، برای شمارش نهایی جمعیت باکتری‌ها و انتخاب کلنی‌ها ملاک عمل قرار گرفتند. از بین این پلیت‌ها، کلنی‌های با مورفولوژی متفاوت (از نظر شکل، حاشیه، رنگ، ارتفاع و قطر) انتخاب و طی سه مرحله کشت خطی متوالی بر روی محیط کشت آگار مغذی تازه، خالص‌سازی شدند (Somasegaran and Hoben, 2012). ایزوله‌های خالص‌شده در محیط کشت مایع مغذی حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای مطالعات بعدی نگهداری شدند.

غربالگری مقدماتی جدایه‌ها

در غربالگری مقدماتی، جدایه‌های باکتریایی با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی زیر از نظر پنج صفت محرک رشد گیاه ارزیابی شدند:

۱- تولید سیدروفور: در محیط جامد CAS^۴ با روش Alexander & Zuberer (1991) ارزیابی شد. ۲- تولید آمونیاک: در محیط مایع پپتون برات^۵ با استفاده از معرف نسلر و بر اساس روش Cappuccino & Sherman (1992) و Agbodjato et al. (2015) سنجیده شد. ۳- حلالیت فسفات: بر روی محیط جامد PKV^۶ حاوی تری

۱- جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های ساکن ریزوسفر گیاهان زراعی و بومی مختلف در جنوب استان فارس. ۲- ارزیابی اولیه و تعیین توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی از نظر برخورداری از صفات محرک رشد کلیدی شامل تولید سیدروفور، تولید آمونیاک، حلالیت فسفات، آزادسازی پتاسیم و حلالیت روی. ۳- غربالگری و انتخاب جدایه‌های برتر بر اساس نتایج ارزیابی اولیه و شناسایی جدایه‌هایی که چندین صفت را به صورت همزمان دارا هستند. ۴- ارزیابی کمی جدایه‌های منتخب از نظر توانایی تولید اکسین (IAA) و فعالیت آنزیم ACC دآمیناز به عنوان دو مکانیسم بسیار مهم در تحریک رشد و کمک به تحمل تشبهای محیطی. ۵- شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر و منتخب بر پایه توالی‌یابی ژن 16S rRNA.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در مرحله اول، ۴۵ نمونه ریزوسفری از گیاهان مختلف (شامل: گندم، جو، یونجه، کاهو، کلزا، پنیرک، چغندر، اسفناج، جو دره و تربچه) با ثبت مختصات جغرافیایی توسط GPS جمع‌آوری شد. خاکه‌ای موردنظر همگی pH قلیایی بین ۷/۷ تا ۸/۶ داشتند و دارای مقادیر ۳۸/۹۰ تا ۶۱/۱۰ درصد کربنات کلسیم (آهک) بودند. همچنین محدوده وسیعی از EC، از ۲/۷۱ تا ۸/۴۰ dS.m^{-۱} را شامل می‌شدند. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تکان دادن برای جداسازی خاک‌های اضافی، فقط ریشه و ۲-۳ میلی‌متر خاک اطراف آن، که شامل ناحیه ریزوسفر می‌شود، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. ۱۰ گرم از هر نمونه خاک با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد تا سوسپانسیون 10^{-1} تهیه شود. این سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس سری‌های رقت 10^{-2} تا 10^{-6} با انتقال متوالی ۱ میلی‌لیتر از

⁵ Peptone Broth

⁶ Pikovskaya

² Nutrient Agar

³ Spread Plate

⁴ Chrome Azurol S

در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه بر روی شیکر انکوباتور چرخشی انجام شد. پس از انکوباسیون، سوسپانسیون باکتریایی با دور ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از فاز مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق انکوبه گردید. شدت رنگ قرمز تشکیل‌شده در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و غلظت IAA با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Salazar-Ramírez et al., 2021).

تولید آنزیم ACC دامیناز

توانایی تولید ACC دامیناز جدایه‌ها به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس اندازه‌گیری آلفا-کتوبوتیرات^۷ تولید شده از تجزیه ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) برآورد گردید. جدایه‌ها در محیط حداقل نمک (DF) حاوی ۳ میلی‌مولار ACC به‌عنوان تنها منبع نیتروژن رشد داده شدند. پس از رشد کافی، سلول‌ها جمع‌آوری و با بافر فسفات شستشو داده شدند. سپس سلول‌ها لیز شده و عصاره سلولی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. فعالیت آنزیمی با اندازه‌گیری میزان آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده از تجزیه ACC تعیین گردید. آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده با ۲،۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین^۸ واکنش داده و محصول رنگی حاصله در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم ACC دامیناز برحسب نانومول آلفا-کتوبوتیرات تولیدشده در هر میکروگرم پروتئین سلولی در ساعت بیان شد (Penrose & Glick, 2003).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

برای شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر، ژن 16S rRNA از DNA ژنومی جداشده از باکتری با استفاده از پروتکل‌های استاندارد PCR تکثیر شد (Johnson et

Rashid et al., 2004) با استناد به روش انجام گرفت. ۴-آزادسازی پتاسیم: در محیط الکساندروف آگار حاوی آلومینوسیلیکات پتاسیم و بر پایه پروتکل Tan et al. (2014) مورد آزمایش قرار گرفت. ۵- حلالیت روی: بر روی محیط اصلاح‌شده PKV حاوی اکسید روی (ZnO) و با بهره‌گیری از روش Saravanan et al. (2004) ارزیابی شد.

در نهایت، جدایه‌هایی که به طور هم‌زمان دارای قوی‌ترین و متنوع‌ترین فعالیت‌ها در این آزمون‌های کیفی بودند، به‌عنوان جدایه‌های برتر انتخاب و برای مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

غربالگری ثانویه جدایه‌ها

در غربالگری ثانویه، ارزیابی کمی و نیمه کمی صفات محرک رشد با روش‌های زیر انجام شد: ۱- اندازه‌گیری شاخص حلالیت فسفر در محیط PKV جامد (Rashid et al., 2004)، ۲- سنجش کمی آزادسازی فسفر در محیط PKV مایع (Jeon et al., 2003)، ۳- تعیین شاخص حلالیت پتاسیم در محیط الکساندروف آگار (Tan et al., 2014)، ۴- اندازه‌گیری کمی پتاسیم آزادشده با دستگاه فلیم‌فوتومتر (Savostin, 1972)، ۵- ارزیابی شاخص حلالیت روی در محیط PKV اصلاح‌شده (Saravanan et al., 2004)، ۶- سنجش کمی روی محلول با دستگاه جذب اتمی (Saravanan et al., 2004) و ۷- اندازه‌گیری کمی تولید سیدروفور با روش CAS مایع (Payne, 1994). در نهایت، جدایه‌های برتر بر اساس عملکرد کمی برتر در این آزمون‌ها انتخاب شدند.

غربالگری نهایی جدایه‌ها

تولید ایندول استیک اسید (IAA)

برای سنجش تولید IAA، جدایه‌های منتخب در محیط کشت مایع نوترینت برات حاوی ۵ میلی‌مولار L-تریپتوفان کشت داده شدند. انکوباسیون به مدت ۷۲ ساعت

^۸ ۲،۴-dinitrophenylhydrazine

^۷ α -ketobutyrate

نتایج

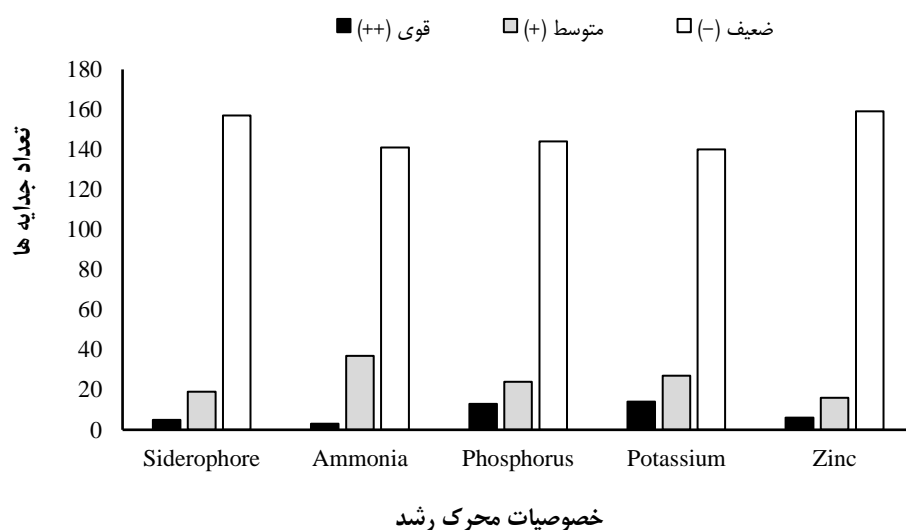
توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی از نظر خصوصیات محرک رشد

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۱) از غربالگری اولیه ۱۸۱ جدایه‌ها از نظر شدت فعالیت (تولید آمونیاک) و نسبت قطر هاله به کلونی (تولید سیدروفور، انحلال فسفر و آزادسازی عناصر پتاسیم و روی) در پتری دیش‌ها به سه دسته تقسیم شدند که ضعیف (-) نشان‌دهنده عدم وجود هاله، متوسط (+) نشان‌دهنده نسبت قطر هاله به کلونی ۱-۲ و قوی (++) نشان‌دهنده نسبت قطر هاله به کلونی بیشتر از ۳ تقسیم‌بندی شدند. این الگوی توزیع نشان می‌دهد که در بین جامعه باکتری‌های ریزوسفری جداسازی‌شده، مکانیسم‌های مستقیم تسهیل جذب آهن (تولید سیدروفور) و همچنین تأمین نیتروژن (تولید آمونیاک)، فسفر و پتاسیم از شیوع و شدت بیشتری برخوردار هستند. با این حال، وجود جدایه‌هایی با توانایی قوی در حل‌الیت روی، اگرچه کم‌شمار، می‌تواند از نظر کاربرد در توسعه کودهای زیستی ترکیبی حائز اهمیت باشد.

(al., 2019). از پرایمرهای جهانی (5'- 27F AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') و (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3') برای تکثیر ناحیه تقریباً ۱۵۰۰ جفت بازی ژن 16S rRNA استفاده گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad T100, USA) انجام شد. محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد به مدت ۱ ساعت و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برومید تأیید شدند. توالی‌یابی محصولات PCR با استفاده از روش سانگر (Sanger Sequencing) و تنها با پرایمر رو به جلو (27F) در شرکت ایرانیان نوین ژن انجام گرفت. توالی‌های به‌دست‌آمده برای آنالیزهای فیلوژنتیکی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه آماری و مقایسه میانگین

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، تجزیه و تحلیل آن‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد انجام گردید. نمودارها و اشکال نیز توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

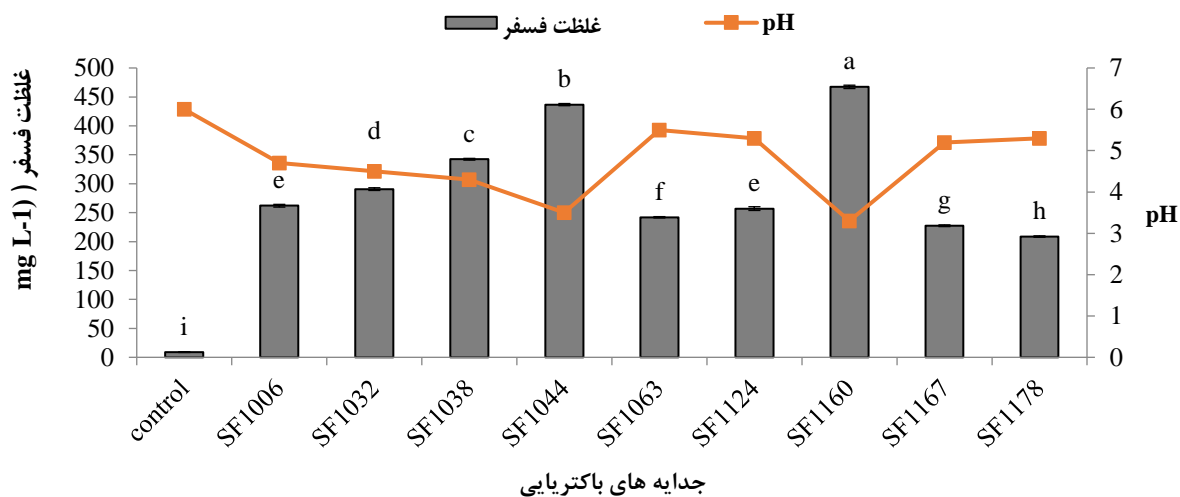


شکل ۱- توزیع فراوانی جدایه‌های باکتریایی بر اساس توانایی آنها در تولید ترکیبات محرک رشد و حل‌الیت عناصر غذایی.

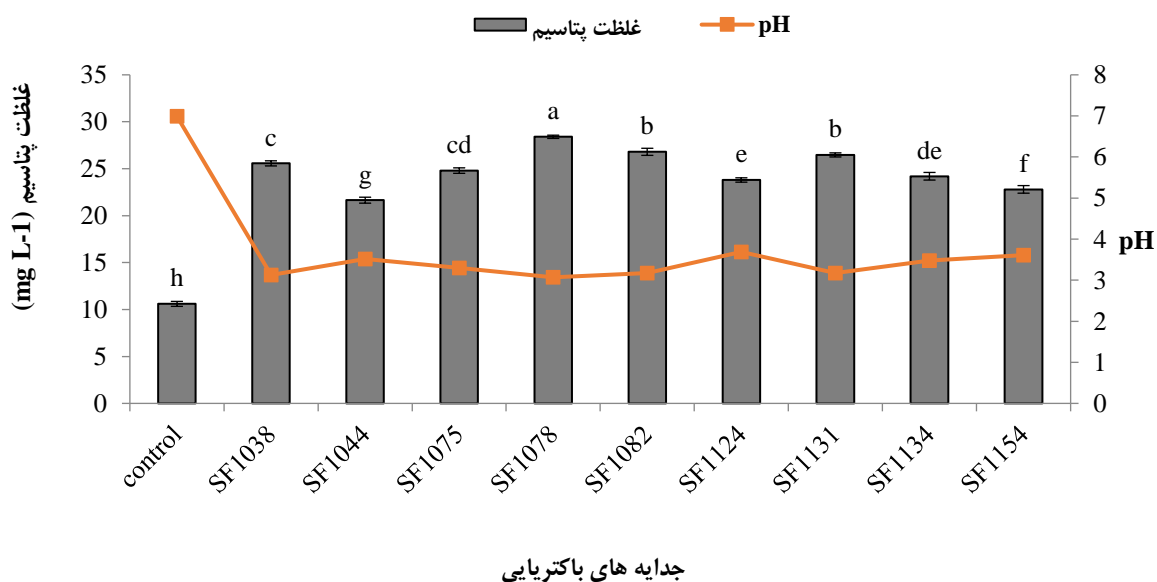
Figure 1. Frequency distribution of bacterial isolates based on their ability to produce growth-promoting compounds and solubilize nutritional elements.

داده‌شده است. این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند (شکل ۴-۷).

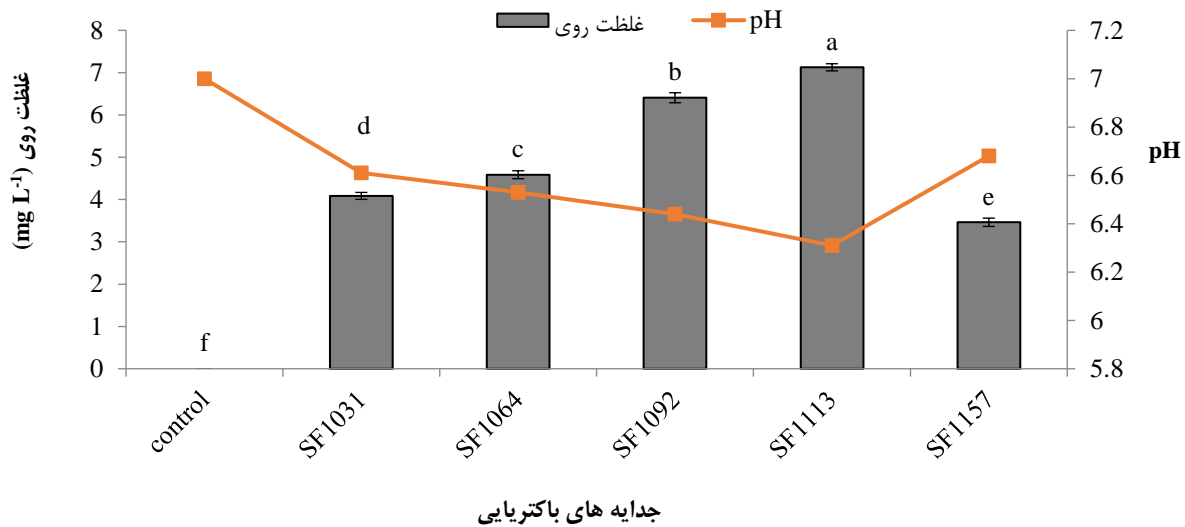
پس از غربالگری مقدماتی که معطوف به برآورد کیفی خصوصیات محرک رشد بودند، جدایه‌هایی که نسبت قطر هاله به کلونی آنها بیش از ۳ بود جهت غربالگری ثانویه که معطوف به برآورد کمی خصوصیات محرک رشد بودند، انتخاب شدند که نتایج آن در شکل‌های ۴ تا ۷ نشان



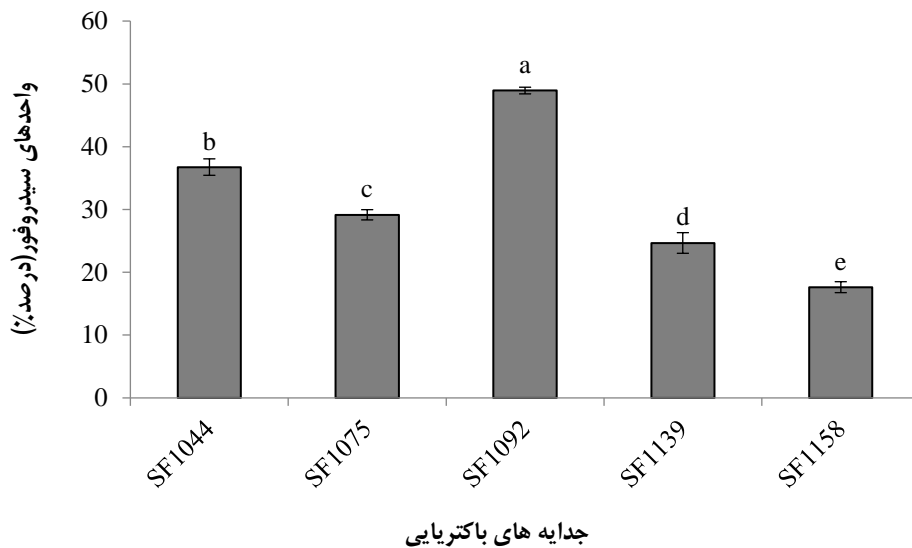
شکل ۴- برآورد کمی انحلال فسفر در محیط PKV مایع حاوی تری‌کلسیم فسفات
 Figure 4. Quantitative estimation of phosphorus solubilization in liquid PKV medium containing tricalcium phosphate.



شکل ۵- برآورد کمی آزادسازی پتاسیم در محیط الکساندروف
 Figure 5. Quantitative estimation of potassium release in Alexandrov medium.



شکل ۶- برآورد کمی انحلال روی در محیط PKV حاوی ZnO.
Figure 6. Quantitative estimation of zinc solubilization in PKV medium containing ZnO.



شکل ۷- مقدار تولید سیدروفور در جدایه های غربالگری اولیه
Figure 7. Amount of siderophore production in the initial screening isolates.

انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم، انحلال روی، تولید سیدروفور نشان داده بودند (شکل های ۴-۷) انتخاب شدند. همچنین از جدایه هایی که همه خصوصیت ها را به صورت هم زمان از خود نشان داده بودند، مطابق (جدول ۱) استفاده گردید.

انتخاب جدایه های منتخب جهت آزمون های نهایی به منظور آزمون های نهایی، از بین جدایه هایی که در مرحله غربالگری اولیه، نتایج خوبی را در تولید آمونیاک و در مرحله غربالگری ثانویه، نتایج کمی خوبی را در

جدول ۱- انتخاب جدایه‌های منتخب جهت آزمون‌های نهایی
Table 1. Selection of superior isolates for final assays.

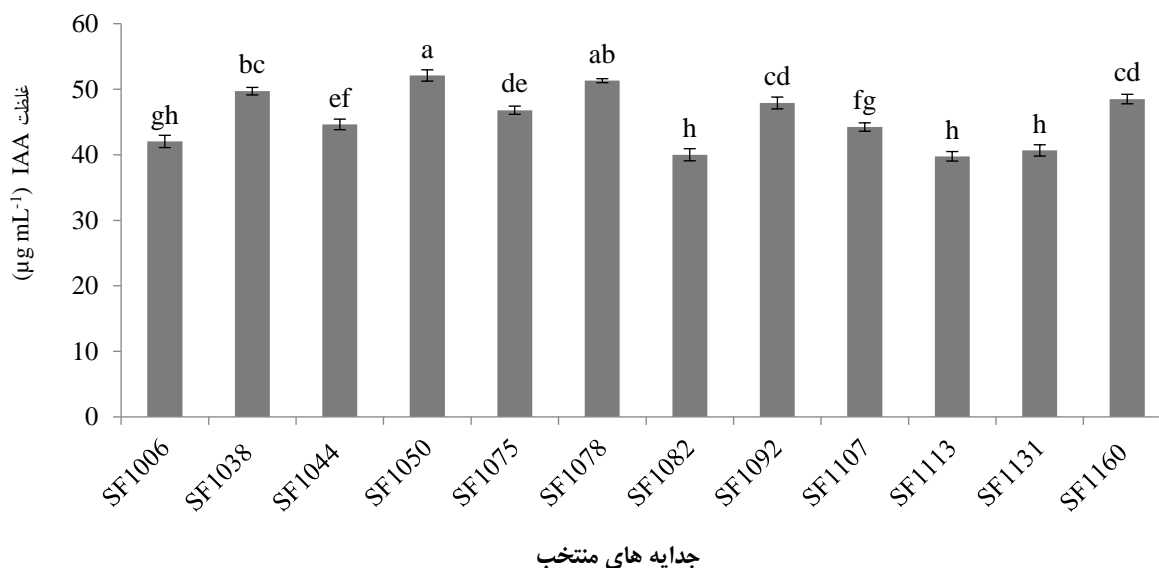
جدایه‌هایی که همه ۵ خصوصیت را از خود نشان دادند Isolates exhibiting all five traits	جدایه‌های برتر در تولید سیدروفور Highly efficient siderophore-producing isolates	جدایه‌های برتر در انحلال روی Highly efficient zinc-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در آزادسازی پتاسیم Highly efficient potassium-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در انحلال فسفر Highly efficient phosphorus-solubilizing isolates	جدایه‌های برتر در تولید آمونیاک Top-performing isolates in ammonia production
SF1006 SF1044	SF1092 SF1044 SF1075	SF1113 SF1092	SF1078 SF1082 SF1131 SF1038	SF1160 SF1044 SF1038	SF1050 SF1075 SF1107

آزمون‌های نهایی

تولید IAA توسط جدایه‌های منتخب

جهت برآورد تولید ایندول استیک اسید (IAA) ۱۲ جدایه منتخب شامل SF1006، SF1038، SF1044، SF1050، SF1075، SF1078، SF1082، SF1092، SF1107، SF1113، SF1131 و SF1160 انتخاب گردیدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند که نتایج آن در (شکل ۸) آمده است.

با توجه به تکراری بودن بعضی از جدایه‌ها در (جدول ۱)، تعداد ۱۲ جدایه شامل SF1038، SF1006، SF1082، SF1078، SF1075، SF1050، SF1044، SF1160 و SF1131، SF1113، SF1107، SF1092 جهت آزمون تولید IAA و آزمون تولید ACC دامیناز انتخاب گردید.



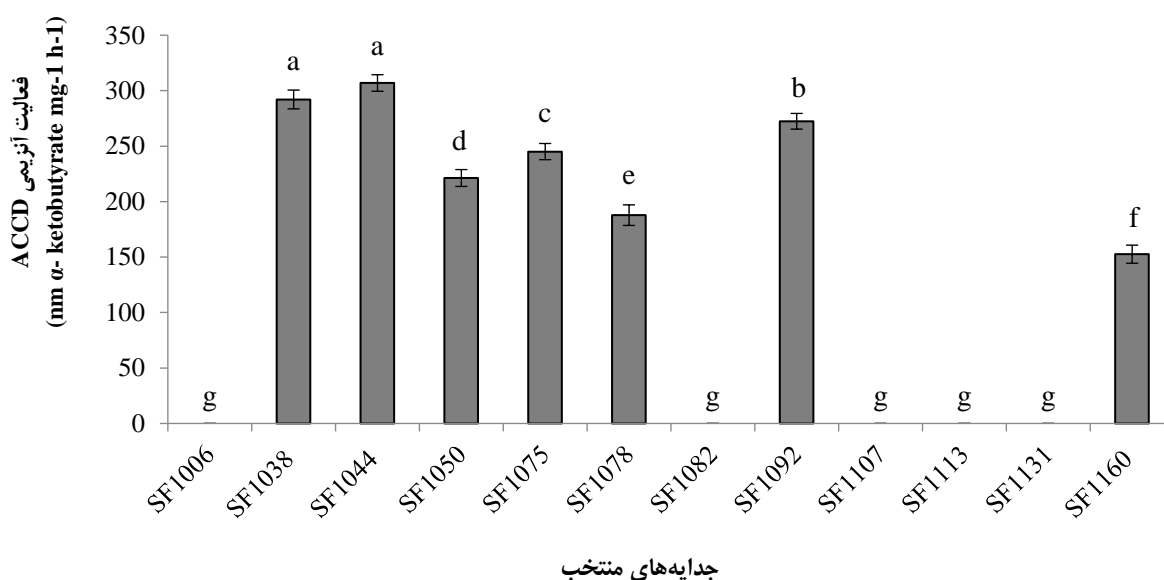
شکل ۸- تولید IAA در جدایه‌های منتخب. علامت (I) بر روی هر میله نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) هر جدایه است و میله‌های دارای حروف یکسان، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 8. IAA production in the selected isolates.

فعالیت آنزیم ACC دامیناز (ACCD) در جدایه‌های منتخب

جهت برآورد تولید آنزیم ACC دامیناز (ACCD) ۱۲ جدایه منتخب استفاده گردیدند و غلظت آلفا کتوتیورات برحسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت بدست آمد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر جدایه انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند و نتایج زیر حاصل گردید (شکل ۹).

با توجه به نتایج شکل (۸) همه ۱۲ جدایه منتخب، تولید IAA داشته‌اند، اما اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با هم ندارند، به طوری که جدایه SF1050 بیشترین تولید ایندول استیک اسید (IAA) با میانگین ۵۲,۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را داشته است و جدایه SF1078 با میانگین ۵۱,۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در رتبه دوم قرار گرفته است که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. همچنین جدایه‌های SF1160, SF1038, SF1092, SF1075, SF1044, SF1107, SF1006 به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند و جدایه‌های SF1131, SF1082 و SF1113 با اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در رده‌های آخر هستند.



شکل ۹- غلظت آلفا کتوتیورات برحسب (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت) به‌عنوان شاخص فعالیت آنزیمی ACCD در جدایه‌های منتخب. میله‌های دارای حروف یکسان، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 9. Alpha-ketobutyrate concentration (nmol protein mg⁻¹h⁻¹) as an indicator of ACCD enzymatic activity in the selected isolates.

۳۰۶,۹۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت را داشته است و جدایه SF1038 با میانگین ۲۹۲,۰۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت در رتبه دوم قرار گرفته است که اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. همچنین جدایه‌های SF1092, SF1075, SF1050, SF1078 و

با توجه به نتایج (شکل ۹)، بین ۱۲ جدایه منتخب، تعداد ۵ جدایه هیچگونه فعالیت آنزیمی ACCD از خود نشان ندادند و در ۷ جدایه که آلفا کتوتیورات تولید کرده‌اند، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد باهم ندارند. جدایه SF1044 بیشترین تولید آلفا کتوتیورات با میانگین

شناسایی مولکولی جدایه‌های تولیدکننده آنزیم ACC دآمیناز

بر اساس شناسایی مولکولی مبتنی بر توالی‌یابی ناحیه 16S rRNA جدایه‌های برتر در تولید آنزیم ACC دآمیناز به ترتیب متعلق به جنس‌های *Bacillus*, *Pseudarthrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* و *Lysinibacillus* هستند که پس از ثبت در Genbank سایت مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) اطلاعات آنها در (جدول ۲) آمده است.

SF1160 به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند و جدایه‌های SF1006، SF1082، SF1107، SF1113 و SF1131 بدون تولید آلفا کتوتیورات، فعالیت آنزیمی ACCD را نشان ندادند.

جدول ۲- شناسایی مولکولی جدایه‌ها

Table 2. Molecular identification of isolates.

شماره دسترسی Genbank	طول باند (bp)	درصد مشابهت (%) Similarity	نزدیکترین تطابق پایگاه داده NCBI	شماره جدایه .Isolate NO	شماره .NO
OL946146.1	970	96.53%	<i>Bacillus sp.</i>	SF1038	۱
OM019109.1	1172	97.33%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1044	۲
OL979178.1	787	93.06%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1050	۳
OM333625.1	1132	92.73%	<i>Acinetobacter sp.</i>	SF1075	۴
OL979177.1	983	98.14%	<i>Pseudarthrobacter sp.</i>	SF1078	۵
OL979228.1	672	94.80%	<i>Pseudomonas sp.</i>	SF1092	۶
OL979292.1	985	98.46%	<i>Lysinibacillus sp.</i>	SF1160	۷

بدین ترتیب خصوصیات یا صفات محرک رشدی شامل تولید آمونیاک، انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم، انحلال روی، تولید سیدروفور، تولید اکسین و تولید آنزیم ACC دآمیناز برای جدایه‌های برتر به شرح (جدول ۳) مشخص گردید.

جدول ۳- خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های برتر و گیاه میزبان هر جدایه

Table 3. Plant growth-promoting characteristics of superior isolates and the host plant of each isolate.

خصوصیت محرک رشد Plant growth-promoting trait							گیاه میزبان Host plant	نام علمی Scientific name	شماره جدایه Isolate NO
تولید ACCD	تولید IAA	تولید سیدروفور Siderophore production	انحلال روی Zinc dissolution	آزادسازی پتاسیم Potassium release	انحلال فسفر Phosphorus solubilization	تولید آمونیاک Ammonia production			
+	+	-	-	+	+	+	گندم	Bacillus sp.	SF1038
+	+	+	+	+	+	+	کلزا	Pseudomonas sp.	SF1044
+	+	+	-	-	+	+	جو دره	Pseudomonas sp.	SF1050
+	+	+	-	+	-	+	کلزا	Acinetobacter sp.	SF1075
+	+	-	-	+	-	-	کلزا	Pseudarthrobacter sp.	SF1078
+	+	+	+	-	-	-	جو	Pseudomonas sp.	SF1092
+	+	-	-	+	+	+	جو	Lysinibacillus sp.	SF1160

علامت (+) نشان‌دهنده مثبت بودن صفت محرک رشدی و علامت (-) نشان‌دهنده منفی بودن صفت محرک رشدی است.

The symbol (+) denotes a positive expression of the plant growth-promoting trait, while (-) denotes a negative expression.

بحث

تطابقی با تنش‌های تغذیه‌ای محیط خود گزینش شده‌اند (Yuan et al., 2022). تولید سیدروفور با ایجاد هاله در محیط CAS که در جدایه‌هایی مانند SF1044 و SF1092 به وضوح مشاهده شد، نشان‌دهنده توانایی این باکتری‌ها در کلاته کردن آهن سه‌ظرفیتی و تبدیل آن به فرم قابل جذب برای خود و گیاه میزبان است. این یافته با نتایج (Gonin et al., 2013) همسو است که گزارش کردند تولید سیدروفور یکی از متداول‌ترین صفات در PGPRهای بومی است. از سوی دیگر، تولید آمونیاک که در ۴۰ جدایه از ۹۴ جدایه دارای صفت مثبت گزارش شد، می‌تواند از طریق معدنی کردن ترکیبات آلی نیتروژن‌دار، منبع مستقیم نیتروژن را برای گیاه فراهم کند (Chen et al., 2024). نکته جالب توجه در داده‌های توزیع فراوانی، حضور ۸۷ جدایه فاقد هر پنج صفت ارزیابی شده بود. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که بخشی از جامعه باکتریایی ریزوسفر ممکن است از طریق مکانیسم‌های دیگر (مانند تولید آنزیم‌های کیتیناز، تولید سیانید هیدروژن یا القای مقاومت سیستمیک) که در غربالگری اولیه ارزیابی نشدند، به رشد گیاه کمک کنند یا اساساً نقش محرک رشدی مستقیم نداشته باشند (Kour et al., 2020).

این پژوهش با هدف بررسی توزیع فراوانی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد ریزوسفر در جنوب استان فارس انجام شد. یافته‌های این مطالعه مؤید حضور گسترده و متنوع باکتری‌های دارای پتانسیل محرک رشد در ناحیه ریزوسفر گیاهان موردبررسی است. غربالگری اولیه ۱۸۱ جدایه باکتریایی نشان داد که مکانیسم‌های مستقیم تسهیل جذب مواد مغذی، از تنوع قابل توجهی در جامعه باکتریایی ریزوسفر برخوردار هستند. تولید سیدروفور و آمونیاک به‌عنوان دو صفت بسیار شایع مشاهده شدند. این الگوی توزیع را می‌توان با استراتژی بقای باکتری‌ها در محیط‌های قلیایی و آهکی، مشابه شرایط خاک‌های مطالعه حاضر، توجیه کرد. در pH بالا، حلالیت آهن به‌شدت کاهش می‌یابد؛ بنابراین تولید سیدروفور یک مزیت رقابتی ضروری برای جذب این عنصر کلیدی محسوب می‌شود. از سوی دیگر، تولید آمونیاک می‌تواند پاسخی به محدودیت نیتروژن در دسترس در این خاک‌ها باشد. این مشاهدات نشان می‌دهد که جامعه باکتریایی ریزوسفر در منطقه، به‌طور طبیعی به سوی مکانیسم‌های

با پتانسیل محرک رشد، از جمله *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudarthrobacter* و *Lysinibacillus* تأیید کرد. این جنس‌ها به کرات در مطالعات مختلف به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گزارش شده‌اند (Chen et al., 2024; Kour et al., 2020; Salazar-Ramírez et al., 2021).

جدایه SF1044 که به عنوان *Pseudomonas* sp. شناسایی شد، یک سویه چندکاره^۹ بود که همزمان تمام هفت صفت محرک رشدی مورد آزمایش را از خود نشان داد. این سویه قادر به تولید آمونیاک، حل‌کنندگی فسفات، آزادسازی پتاسیم، حل‌کنندگی روی، تولید سیدروفور، تولید IAA و تولید آنزیم ACC دامیناز بود. گونه‌های سودوموناس به دلیل توانایی بالا در کلونیزه کردن ریشه و تولید طیف وسیعی از متابولیت‌های محرک رشد، از مدل‌های اصلی در توسعه کودهای زیستی محسوب می‌شوند (Singh et al., 2022).

جدایه SF1038 (*Bacillus* sp.) نیز یکی از جدایه‌های برتر بود که پنج صفت محرک رشد را دارا بود. تشکیل اندوسپور در جنس *Bacillus*، ماندگاری و پایداری بالایی به کودهای زیستی مبتنی بر این باکتری‌ها می‌بخشد که یک مزیت عمده برای تولید انبوه و نگهداری محسوب می‌شود (Devi et al., 2017).

شناسایی جدایه SF1078 به عنوان *Pseudarthrobacter* sp. جالب‌توجه است، چرا که گزارش‌های کمتری در مورد پتانسیل محرک رشدی این جنس وجود دارد. این موضوع بر اهمیت بررسی جوامع میکروبی بومی برای کشف سویه‌های جدید با توانایی‌های منحصر به فرد تأکید می‌کند (Ham et al., 2022).

همه ۱۲ جدایه منتخب توانایی تولید IAA را در محیط کشت غنی‌شده با تریپتوفان نشان دادند. میزان تولید IAA در محدوده وسیعی از ۳۹/۷۷ تا ۵۲/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل توجه در مسیرهای بیوسنتزی اکسین در بین این جدایه‌ها است. جدایه‌های SF1050 و SF1078 به ترتیب با تولید ۵۲/۱۰ و ۵۱/۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر IAA در زمره کارآمدترین جدایه‌ها قرار گرفتند. تولید IAA توسط PGPRها یک مکانیسم کلیدی برای تحریک رشد ریشه، افزایش جذب آب و مواد مغذی و القای تشکیل ریشه‌های جانبی است (Salazar-Ramírez et al., 2021). سطوح بالای IAA تولیدشده توسط این جدایه‌ها، پتانسیل بالای آن‌ها برای استفاده به‌عنوان مایه تلقیح زیستی جهت بهبود استقرار گیاهچه و توسعه سیستم ریشه‌ای را نوید می‌دهد.

در مورد فعالیت آنزیم ACC دامیناز، از بین ۱۲ جدایه، تنها ۷ جدایه (SF1038, SF1044, SF1050, SF1075, SF1078, SF1092, SF1160) فعالیت قابل اندازه‌گیری از خود نشان دادند. این موضوع نشان می‌دهد که با وجود داشتن نسبتاً بالای صفاتی مانند تولید سیدروفور، بر خورداری از آنزیم ACC دامیناز ممکن است در بین همه PGPRها رایج نباشد (Gupta and Pandey, 2019). جدایه SF1044 با تولید ۳۰۶/۹۳ نانومول آلفا-کتوبوتیرات بر میلی‌گرم پروتئین در ساعت، بالاترین فعالیت را داشت. این آنزیم با تجزیه ACC (پیش‌ساز اتیلن)، سطح اتیلن گیاه را در شرایط تنش کاهش داده و از توقف رشد گیاه جلوگیری می‌کند (Glick, 2014). حضور همزمان آنزیم ACC دامیناز در کنار صفاتی مانند تولید IAA در جدایه‌هایی مانند SF1044، آن‌ها را به کاندیدای ایده‌آلی برای استفاده در شرایط تنش‌زا (مانند خشکی یا شوری که در جنوب استان فارس شایع است) تبدیل می‌کند (Kang et al., 2019).

شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر بر اساس توالی ژن 16S rRNA، تعلق آن‌ها را به جنس‌های شناخته‌شده‌ای

⁹ Multifunctional

نتیجه‌گیری

این مطالعه موفق به شناسایی کنسرسیومی از باکتری‌های بومی ریزوسفر در جنوب استان فارس شد که از پتانسیل بالایی برای تحریک رشد گیاه برخوردارند. توزیع فراوانی صفات محرک رشد در بین جدایه‌ها نشان داد که استراتژی‌های مستقیم بهبود جذب مواد مغذی در این منطقه اکولوژیک غالب است. جدایه‌های برتر شناسایی شده، به‌ویژه سویه‌های چندکاره مانند

Bacillus sp. SF1038 و *Pseudomonas* sp. SF1044 گزینه‌های امیدوارکننده‌ای برای انجام مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای به‌منظور تدوین کودهای زیستی ترکیبی و پایدار برای کشاورزی جنوب ایران هستند. استفاده از چنین سویه‌های بومی و چندعاملی می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و افزایش تاب‌آوری سیستم‌های کشاورزی در برابر تنش‌ها باشد.

References

1. Agbodjato, N.A., Noumavo, P.A., Baba-Moussa, F., Salami, H.A., Sina, H., Sèzan, A., Bankolé, H., Adjanohoun, A. and Baba-Moussa, L., 2015. Characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria isolated from Maize (*Zea mays* L.) in central and Northern Benin (West Africa). *Applied and Environmental Soil Science*, 2015, pp.901656. DOI: 10.1155/2015/901656.
2. Alexander, D. and Zuberer, D., 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12(1), pp.39-45.
3. Asgharzadeh, A., Saghafi, K. and Khoshru, B., 2025. Effect of biopriming with plant growth-promoting bacteria on seed germination indices of wheat under salinity stress. *Journal of Soil Biology*, 13(1), pp.1-17. (In Persian).
4. Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), pp.1327-1350. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
5. Cappuccino, J.G. and Sherman, N., 1992. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 3rd Ed., Benjamin/Cummings Pub. Co., New York.
6. Cappuccino, J.G. and Sherman, N., 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 7th Ed., Pearson/Benjamin Cummings, San Francisco.
7. Chen, Y., Li, Y., Fu, Y., Jia, L., Li, L., Xu, Z., Zhang, N., Liu, Y., Fan, X. and Xuan, W., 2024. The beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* SQR9 regulates plant nitrogen uptake via an endogenous signaling pathway. *Journal of Experimental Botany*, 75(11), pp.3388-3400. DOI: 10.1093/jxb/eraa123.
8. Devi, A.R., Kotoky, R., Pandey, P. and Sharma, G., 2017. Application of *Bacillus* spp. for sustainable cultivation of potato (*Solanum tuberosum* L.) and the benefits. In: *Bacilli and Agrobiotechnology*. Springer, Cham, pp.221-243. DOI: 10.1007/978-3-319-44409-3_9.
9. Foley, J.A., Ramankutty, N., Brauman, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Mueller, N.D., O'Connell, C., Ray, D.K. and West, P.C., 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7370), pp.337-342. DOI: 10.1038/nature10452.
10. Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, pp.963401. DOI: 10.6064/2012/963401.
11. Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), pp.30-39. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.009.
12. Gonin, M., Gensous, S., Lagrange, A., Ducouso, M., Amir, H. and Jourand, P., 2013. Rhizosphere bacteria of *Costularia* spp. from ultramafic soils in New Caledonia: diversity, tolerance to extreme edaphic conditions, and role in plant growth and mineral nutrition. *Canadian Journal of Microbiology*, 59(3), pp.164-174. DOI: 10.1139/cjm-2012-0678.
13. Gupta, S. and Pandey, S., 2019. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Frontiers in Microbiology*, 10, pp.1506. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01506.

14. Ham, S.H., Yoon, A.R., Oh, H.E. and Park, Y.G., 2022. Plant growth-promoting microorganism *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502770 enhances the growth and flavonoid content of *Geum aleppicum*. *Microorganisms*, 10(6), pp.1241. DOI: 10.3390/microorganisms10061241.
15. 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. *Journal of Microbiology*, 41(4), pp.271-276.
16. Johnson, J.S., Spakowicz, D.J., Hong, B.Y., Petersen, L.M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S.R., Hanson, B.M., Agresta, H.O. and Gerstein, M., 2019. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), pp.5029. DOI: 10.1038/s41467-019-13036-1.
17. Kang, S.M., Shahzad, R., Bilal, S., Khan, A.L., Park, Y.G., Lee, K.E., Asaf, S., Khan, M.A. and Lee, I.J., 2019. Indole-3-acetic-acid and ACC deaminase producing *Leclercia adecarboxylata* MO1 improves *Solanum lycopersicum* L. growth and salinity stress tolerance by endogenous secondary metabolites regulation. *BMC Microbiology*, 19(1), pp.80. DOI: 10.1186/s12866-019-1450-6.
18. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A.R., Khosravi, H., Asgharzadeh, A. and Faridian, L., 2025. Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp.279-313. (In Persian).
19. Kour, D., Rana, K.L., Yadav, A.N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H.S. and Saxena, A.K., 2020. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, pp.101487. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101487.
20. 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. *Journal of Soil Biology*, 12(2), pp.213-233. (In Persian).
21. Payne, S.M., 1994. Detection, isolation, and characterization of siderophores. *Methods in Enzymology*, 235, pp.329-344. DOI: 10.1016/0076-6879(94)35151-1.
22. Penrose, D.M. and Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), pp.10-15. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x.
23. 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. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), pp.187-196. DOI: 10.3923/pjbs.2004.187.196.
24. Salazar-Ramírez, M.T., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., Rueda-Puente, E.O., Yescas-Coronado, P. and Orozco-Vidal, J.A., 2021. Plant growth-promoting rhizobacteria associated to candelilla rhizosphere (*Euphorbia antisiphilitica*) and its effects on *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(1), pp.12294. DOI: 10.15835/nbha49112294.
25. Saravanan, V.S., Subramoniam, S.R. and Raj, S.A., 2004. Assessing in vitro solubilization potential of different

- zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(1-2), pp.121-125. DOI: 10.1590/S1517-83822004000100020.
26. Savostin, P., 1972. Microbial transformation of silicates. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 132(1), pp.37-45.
27. Singh, P., Singh, R.K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., Wang, Y., Yang, L. and Jiang, M., 2022. Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), pp.220-238. DOI: 10.1080/17429145.2022.2029963.
28. Somasegaran, P. and Hoben, H.J., 2012. *Handbook for Rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Springer Science & Business Media.
29. Tafaraji, S.H., Abtahi, S.A., Jafarinia, M. and Ebadi, M., 2022. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria producing ACC-Deaminase, IAA, siderophore and phosphate solubilization on growth indices, chlorophyll, proline and protein in alfalfa at different levels of salinity. *Plant Productions*, 45(3), pp.375-384. (In Persian).
30. Tan, K.Z., Radziah, O., Halimi, M.S., Khairuddin, A.R., Habib, S.H. and Shamsuddin, Z.H., 2014. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 9(3), pp.342-360. DOI: 10.3844/ajabssp.2014.342.360.
31. Trivedi, P., Leach, J.E., Tringe, S.G., Sa, T. and Singh, B.K., 2020. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), pp.607-621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1.
32. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Nasrulhaq Boyce, A., 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability a review. *Molecules*, 21(5), pp.573. DOI: 10.3390/molecules21050573.
33. Yuan, Z.S., Liu, F., He, S.B., Zhou, L.L. and Pan, H., 2022. Community structure and diversity characteristics of rhizosphere and root endophytic bacterial community in different *Acacia* species. *PLoS One*, 17(1), pp.e0262909. DOI: 10.1371/journal.pone.0262909.



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology

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


Research Article

Enhancing maize growth and nutrient uptake through foliar application of phyllosphere-derived plant growth-promoting bacteria under field conditions

Vahid Allah Jahandideh Mahjenabadi^{1*}, Hadi Asadi Rahmani², Mahdiah Shamsheiripour³, and Kazem Khavazi²

- 1- Assistant Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. yahid.jahandideh67@gmail.com
 2- Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. asadi_1999@yahoo.com, khavazik@yahoo.com
 3- Researcher, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. mshamsheiripour@yahoo.com

Article Info

Received: 2025-09-03

Accepted: 2026-02-02

Keywords:

Plant growth-promoting bacteria,
Phyllosphere,
Foliar application,
Zea mays,
Nutrient uptake

Corresponding author's email:

yahid.jahandideh67@gmail.com

DOI:

10.22092/SBJ.2026.3705
45.285

Extended Abstract

Background and Objectives: The phyllosphere microbiome represents an extraordinary ecological niche that harbors diverse microbial communities with immense potential for agricultural applications. As a unique aerial habitat, the phyllosphere supports bacterial populations that have evolved sophisticated mechanisms for plant growth promotion and stress mitigation. While rhizosphere bacteria have been extensively exploited in agricultural practices, the systematic utilization of phyllosphere-derived plant growth-promoting bacteria (PGPB) as foliar bioinoculants remains comparatively under-investigated, particularly under real-field conditions. This knowledge gap assumes critical importance given the increasing global demands for sustainable agricultural intensification and food security. The current investigation was designed to address this research vacuum through a comprehensive evaluation of three meticulously selected phyllosphere-originating bacterial strains *Enterobacter hormaechei* (AC. MN099393), *Stenotrophomonas maltophilia* (AC. MN099392), and *Microbacterium arborescens* (AC. MN099379) for their efficacy in enhancing maize (*Zea mays* L.) productivity, nutrient acquisition efficiency, and overall nutritional quality through foliar application. The study specifically aimed to elucidate the effects of these bacterial inoculants on shoot dry and fresh weight, nutrient uptake, while establishing correlations between observed phenotypic improvements and the documented plant growth-promoting attributes of the selected bacterial strains.

Materials and Methods: A rigorously designed field experiment was implemented during the 2020-2021 growing season at the Soil and Water Research Institute in Karaj, Iran, utilizing a randomized complete block design with three replications to ensure statistical robustness. The experimental matrix comprised four distinct treatments: (1) Absolute control (non-inoculated); (2) *E. hormaechei* inoculation; (3) *S. maltophilia* inoculation; and (4) *M. arborescens* inoculation. Soil characteristics were thoroughly analyzed before experiment establishment, revealing a loam texture with specific chemical properties. For the cultivation of maize, the seed variety 704 was used. The area of each plot was 30 m², comprising 4 ridges with a distance of 75 centimeters and a length of 10 m. Bacterial

suspensions were prepared to achieve optimal concentration (10^9 CFU mL⁻¹) and applied at the critical V3 phenological stage (4-6 leaf stage) during evening hours to maximize phyllosphere colonization efficiency and minimize UV-induced bacterial mortality. The application method involved careful dilution protocols and uniform spraying using sterilized equipment to ensure consistent coverage. Comprehensive assessments included detailed analysis of shoot dry and fresh weight and precise quantification of macronutrient (N, P, K) and micronutrient (Fe, Zn, Cu, Mn) concentrations through standard protocols. Statistical analyses of the data were performed using the SAS software. Mean comparisons were conducted using Fisher's Least Significant Difference (LSD) test at the 5% probability level.

Results: The foliar application of phyllosphere bacteria significantly influenced maize growth parameters. Shoot dry weight was markedly increased by both bacterial treatments (*S. maltophilia* and *E. hormaechei*) compared to the non-inoculated control (14289 kg ha⁻¹). Application of *S. maltophilia* resulted in a shoot dry weight of 15859 kg ha⁻¹, representing a significant increase of 11.0%. Similarly, *E. hormaechei* treatment yielded a dry weight of 15813 kg ha⁻¹, an increase of 10.7%. Nutritional analysis revealed significant biofortification effects, particularly for *E. hormaechei*. This treatment increased nitrogen concentration by 26.66% (1.33% versus control 1.05%), iron content by 37.3% (53.4 mg kg⁻¹ versus 38.9 mg kg⁻¹), and manganese concentration by 39% (35.3 mg kg⁻¹ versus 25.4 mg kg⁻¹). The *S. maltophilia* treatment also significantly enhanced nitrogen and iron concentrations by 19.02% and 33.16%, respectively. Phosphorus, potassium, zinc, and copper levels showed non-significant responses across treatments. *M. arborescens* application showed limited efficacy across most measured parameters, potentially attributable to suboptimal environmental adaptation mechanisms or reduced phyllosphere colonization capacity.

Conclusion: This research provides compelling evidence that targeted foliar application of specific phyllosphere-derived PGPB strains, particularly *E. hormaechei* and *S. maltophilia*, constitutes an innovative and highly effective strategy for enhancing maize productivity and nutritional quality under field conditions. The demonstrated improvements are mechanistically linked to the bacteria's multifunctional plant growth-promoting attributes, including enhanced nitrogen fixation capacity, sophisticated phytohormone modulation, and efficient siderophore-mediated iron sequestration. The significant enhancement of nutrient concentrations represents a major advancement toward sustainable nutrient management practices. These findings establish a robust scientific foundation for developing next-generation foliar bioinoculant technologies that can significantly reduce dependence on chemical fertilizers while simultaneously addressing global food security and nutritional challenges. The study opens new avenues for sustainable agricultural innovation through strategic manipulation of phyllosphere microbiomes and provides crucial insights for optimizing application protocols, strain selection criteria, and integration with existing agricultural practices. Future research should focus on elucidating molecular mechanisms underlying plant-bacteria interactions in the phyllosphere and developing commercial formulations for large-scale agricultural implementation.

Cite this article: Jahandideh Mahjenabadi, V.A, Asadi Rahmani, H., Shamshiripour, M., Khavazi, K., 2026. Enhancing maize growth and nutrient uptake through foliar application of phyllosphere-derived plant growth-promoting bacteria under field conditions. *Journal of Soil Biology*, 13 (2),213- 228.



DOI: 10.22092/SBJ.2026.370545.285

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

بهبود رشد و جذب عناصر غذایی ذرت با محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد فیلوسفر در

شرایط مزرعه

وحید اله جهان‌دیده مهجن آبادی^{۱*}، هادی اسدی رحمانی^۲، مهدیه شمشیری پور^۳ و کاظم خاوازی^۲

۱- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. vahid.jahandideh67@gmail.com

۲- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. asadi_1999@yahoo.com khavazik@yahoo.com

۳- پژوهشگر موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. mshamshiripour@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۴/۶/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۳

چکیده

فیلوسفر گیاهان، زیستگاه مجموعه‌ای متنوع از ریزجانداران مفید از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) است که پتانسیل قابل توجهی برای بهبود رشد و عملکرد گیاهان دارند. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی برگ‌های باکتری‌های بومی جداسازی‌شده از فیلوسفر ذرت بر عملکرد و جذب عناصر غذایی این گیاه در شرایط مزرعه‌ای انجام شد. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی برگ‌های با گونه باکتری *Enterobacter hormaechei* (AC. MN099393) و همچنین *Stenotrophomonas maltophilia* (AC. MN099392) و *Microbacterium arborescens* (AC. MN099379) و همچنین یک تیمار شاهد (بدون باکتری) بود. نتایج نشان داد که کاربرد باکتری‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی ذرت را به ترتیب ۱۰/۷ و ۱۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دادند. بیشترین افزایش در غلظت نیتروژن (۲۶/۶۶ درصد) مربوط به تیمار *E. hormaechei* بود. همچنین، این دو باکتری منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن اندام هوایی (به ترتیب ۳۷/۳ درصد و ۳۳/۲ درصد) شدند. همچنین باکتری *E. hormaechei* منجر به افزایش معنی‌دار غلظت منگنز اندام هوایی (۳۹ درصد) شد. با این حال، تأثیر تیمارها بر وزن تر اندام هوایی و غلظت فسفر، پتاسیم، روی و مس معنی‌دار نبود. یافته‌ها مؤید این است که محلول‌پاشی برگ‌های باکتری‌های محرک رشد فیلوسفر، به‌ویژه سویه‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* می‌تواند به‌عنوان یک راهکار زیست‌محیطی و مؤثر در جهت بهبود عملکرد و ارتقای وضعیت تغذیه‌ای گیاه ذرت در سیستم‌های کشاورزی پایدار مورد بهره‌برداری قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، فیلوسفر، کاربرد برگ‌های، عملکرد ذرت، جذب عناصر غذایی.

مقدمه

ذرت با نام علمی *Zea mays* L. یکی از مهمترین محصولات غذایی جهان است که به همراه برنج و گندم، حداقل ۳۰ درصد از کالری مواد غذایی را برای بیش از ۴/۵ میلیارد نفر در ۹۴ کشور در حال توسعه تأمین می‌کند. این افراد شامل ۹۰۰ میلیون مصرف‌کننده فقیر هستند که ذرت جزء اصلی مواد غذایی آنها است. کمبود تولید ذرت و افزایش قیمت واردات آن وضعیت معیشت و امنیت غذایی میلیون‌ها فقیر را در کشورهای در حال توسعه تهدید می‌کند. به موازات افزایش قیمت سایر محصولات راهبردی به‌ویژه گندم، قیمت ذرت نیز از سال ۲۰۰۸ تاکنون به‌میزان چشمگیری افزایش یافته است و پیش‌بینی می‌شود که به دلیل افزایش تقاضا و محدودیت‌های گسترش کشت آن این روند افزایشی شدت بیشتری یابد. اما اقدامات جدی برای افزایش تولید ذرت در سطح جهانی می‌تواند موجب کاهش روند افزایش قیمت این محصول گردد (Shiferaw et al. 2011).

اگرچه گسترش سطح زیر کشت راهکاری سریع برای افزایش تولید است، این روش اغلب به تخریب اراضی و پیامدهای زیست‌محیطی منجر می‌شود. چالش اصلی امروز، دستیابی به رشد پایدار در تولید مواد غذایی بدون تهدید سلامت عمومی، کیفیت محیط‌زیست و پایداری سیستم‌های کشاورزی است. در این راستا، فیلوسفر (سطح برگ گیاهان) به‌عنوان زیستگاه طیف وسیعی از ریزجانداران مفید مانند باکتری‌ها، پتانسیل بالایی برای توسعه کودهای زیستی دارد. استفاده از این ریزجانداران در ترکیب با روش‌های سنتی تغذیه گیاهی، علاوه بر کاهش هزینه‌ها، مزایای زیست‌محیطی چشمگیری دارد. متأسفانه تحقیقات در زمینه نقش ریزجانداران فیلوسفر در بهبود عملکرد محصولات کشاورزی محدود بوده و بیشتر مطالعات بر شناسایی عوامل بیماری‌زا و مقاومت گیاهی متمرکز شده‌اند (Jackson et al., 2015). همکاری بین ریزجانداران فیلوسفر و گیاه میزبان، رویدادهای متابولیکی کلیدی را تنظیم می‌کند که رشد و

توسعه گیاه را تسریع می‌نماید. به‌عنوان مثال، جوامع میکروبی فیلوسفر با تولید هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و اکسین، تقسیم سلولی و طول‌شدگی سلول‌ها را تحریک می‌کنند یا پیش‌سازهای بیوستز این هورمون‌ها را فراهم می‌سازند (Dourado et al., 2015).

در سالیان اخیر از ریزجانداران مفید فیلوسفری به‌عنوان کودهای زیستی، برای افزایش عملکرد ارقام مختلف برنج استفاده شده است (Madhaiyan et al., 2009; Senthilkumar et al., 2004). به دلیل اثرات مفید اکثر گونه‌های *Methylobacterium* در فیلوسفر بر رشد و عملکرد گیاهان مختلف، توجه زیادی به این باکتری شده است. Tani و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی اثر *Methylobacterium* جداسازی شده از فیلوسفر گیاهان مختلف در افزایش رشد گیاهان برنج و جو در شرایط آزمایشگاه و مزرعه به این نتیجه رسیدند که تلقیح این باکتری‌ها منجر به افزایش عملکرد این گیاه شد. Esitken و همکاران (۲۰۱۰) اثر باکتری‌های فیلوسفری را به صورت‌های مایه تلقیح ریشه و برگ‌پاشی بر گیاه توت-فرنگی مورد مطالعه قرار دادند. آنها دریافتند که تلقیح ریشه با باکتری *Bacillus M3* و برگ‌پاشی باکتری‌های *Bacillus OSU-142* و *Pseudomonas BA-8* موجب افزایش رشد، عملکرد و مقدار عناصر فسفر، آهن، مس و روی در گیاه توت‌فرنگی شد. همچنین، اثر تیمارهای تلقیح باکتری‌های مورد مطالعه شامل *M3 + M3 + OSU-142*، *BA-8 + OSU-142*، *BA-8 + OSU-142*، *M3 + OSU-142* و *BA-8* موجب افزایش عملکرد به‌ترتیب به میزان ۳۳/۲ درصد، ۱۸/۴ درصد، ۱۸/۲ درصد، ۱۵/۳ درصد و ۱۰/۵ درصد گردید. تعداد میوه در بوته به طور معنی‌داری با کاربرد *M3 + BA-8* (۹۱/۳۳) و *M3* (۸۱/۵۸) در مقایسه با شاهد (۶۸/۶۶) افزایش یافت. برگ‌پاشی گل و برگ گیاهان زردآلو، گیلان شیرین و سیب با باکتری‌های *Bacillus OSU-142* و *Bacillus OSU-142 + BA-* و *Pseudomonas 8* موجب افزایش رشد و عملکرد در این گیاهان شد (Pirlak et al., 2007; Aslantaş et al., 2007).

مطالعه گذشته ما با کاربرد ۱۰ باکتری محرک رشد نشان داد که این باکتری‌ها منجر به افزایش رشد و وضعیت تغذیه‌ای ذرت در شرایط گلخانه می‌شوند (Jahandideh, Mahjenabadi et al., 2020). اگرچه این مطالعه مقدماتی پتانسیل این جدایه‌های باکتریایی را در شرایط کنترل‌شده گلخانه نشان داد، شواهد میدانی از کاربرد موفق باکتری‌های خاص فیلوسفر همچنان محدود است. برای مثال، مطالعه مزرعه‌ای اخیر توسط Yen و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که محلول‌پاشی برگ‌گی با باکتری *Rhodospseudomonas palustris* به طور معنی‌داری رشد و عملکرد برنج را در شرایط مزرعه افزایش می‌دهد. این یافته به طور قوی از امکان سودمندی کاربرد برگ‌گی باکتری‌های تخصص‌یافته در محیط‌های کشاورزی واقعی حمایت می‌کند. اما بررسی کارایی سویه‌های بومی جداسازی‌شده از فیلوسفر ذرت در شرایط واقعی و پیچیده مزرعه، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین، نوآوری پژوهش حاضر در بررسی کارایی این باکتری‌ها هنگام کاربرد به صورت محلول‌پاشی برگ‌گی در شرایط مزرعه است، که گامی ضروری و کاربردی برای توسعه نهاده‌های زیستی بر پایه ریزجانداران بومی به شمار می‌آید. این پژوهش با هدف پر کردن این خلأ دانشی و بررسی تأثیر برگ‌پاشی باکتری‌های فیلوسفر ذرت بر عملکرد و غلظت عناصر غذایی در شرایط مزرعه طراحی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد فیلوسفر گیاه ذرت از طریق محلول‌پاشی در مزرعه و تأثیر آن در افزایش عملکرد محصول ذرت آزمایشی با ۴ تیمار، در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۰ در موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج به صورت زیر انجام شد:

تیمار اول: شاهد بدون اسپری برگ‌گی باکتری (Control)

تیمار دوم: اسپری برگ‌گی باکتری *Enterobacter hormaechei*

(2007). Pati و Giri (۲۰۰۴) با برگ‌پاشی باکتری‌های جنس *Flavobacterium* و *Corynebacterium* بر روی برگ‌های گیاه ذرت افزایش ۳۰-۳۷ درصد محصول را که معادل با به‌کارگیری کودهای شیمیایی نیتروژنی بود را گزارش کردند. کاربرد برگ‌گی *Azospirillum brasilense* منجر به بهبود رشد و عملکرد ذرت (Cardozo et al., 2021) و افزایش جذب نیتروژن در گیاه علفی *Megathyrsus maximus* شده است (Freitas et al., 2023). به طور مشخص، Devarajan و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که کاربرد برگ‌گی باکتری‌های جداسازی شده از فیلوسفر برنج، تحمل به تنش خشکی را در گیاه برنج از طریق سازوکارهای مختلف فیزیولوژیک القا می‌کند.

فیلوسفر به عنوان یک زیستگاه هوایی، محیطی ناهمگن و پویا است که باکتری‌های ساکن در آن در معرض چالش‌های شدید غیرزیستی از جمله نوسانات رطوبتی، تشعشعات فرابنفش، تغییرات دما و محدودیت دسترسی به عناصر غذایی قرار دارند. این باکتری‌ها برای بقا و استقرار موفق در چنین شرایط دینامیکی، سازوکارهای سازگاری متعددی را تکامل داده‌اند. تولید اگزوپلی‌ساکاریدهای محافظ و تشکیل زیست‌لایه^۱ از جمله این راهبردها برای مقابله با خشکی و پرتوهای مضر است. همچنین، توانایی برخی گونه‌ها در تغییر شرایط موضعی (مانند کاهش pH) یا افزایش نشت مواد غذایی از برگ میزبان، به بهبود بقای آن‌ها کمک می‌کند. علاوه بر این، تولید ترکیبات ضد میکروبی و رقابت برای فضا و منابع، از دیگر راهبردهای کلیدی برای غلبه بر رقابت درون و بین‌گونه‌ای و نیز مقابله با عوامل بیماری‌زا در این محیط پیچیده به شمار می‌رود. درک این سازوکارهای بقا برای انتخاب و به‌کارگیری موفقیت‌آمیز باکتری‌های محرک رشد در فرمولاسیون‌های برگ‌گی دارای اهمیت بنیادی است (Lindow and Brandl, 2003; Vorholt, 2012).

¹ - Biofilm

سه جدایه باکتریایی (*Enterobacter hormaechei*, *Stenotrophomonas maltophilia* و *Microbacterium arborescens*) که در یک مطالعه مقدماتی (Jahandideh Mahjenabadi et al., 2020) از فیلوسفر ذرت جداسازی و به دلیل برخورداری از قوی‌ترین و متنوع‌ترین ویژگی‌های محرک رشد گیاه (جدول ۱) انتخاب شده بودند، در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

تیمار سوم: اسپری برگ‌های باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* تیمار چهارم: اسپری برگ‌های باکتری *Microbacterium arborescens* در مجموع با توجه به سه تکرار برای هر تیمار، آزمایش شامل ۱۲ کرت بود. در این آزمایش سعی شد تا زمان کاشت، کود زیستی حاوی باکتری‌ها مورد نظر در شرایط مناسب نگهداری شود (دمای ۴ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد).

جدول ۱- ویژگی‌های محرک رشدی گیاه باکتری‌ها (Jahandideh Mahjenabadi et al., 2020).

Table 1. Plant growth promoting traits of bacteria (Jahandideh Mahjenabadi et al., 2020).

Siderophore	Exopolysaccharide (g l ⁻¹)	Dissolution of organic phosphate (g l ⁻¹)	Indole-3-acetic acid (μg ml ⁻¹)	Nitrogenase (nM ml ⁻¹ h ⁻¹)	Accession number	Bacterial species	Strains
-	0.495	37.27	18.70	7.44	MN099379	<i>M. arborescens</i>	KHO47
+	0.460	38.77	31.56	10.17	MN099392	<i>S. maltophilia</i>	QAZ26
-	0.120	75.05	30.00	70.31	MN099393	<i>E. hormaechei</i>	THE15

-: پاسخ منفی، +: پاسخ مثبت و ++: پاسخ مثبت قوی.

-: negative response, +: positive response and ++: strong positive response.

عملیات کاشت، داشت و برداشت

قبل از شروع آزمایش از خاک مزرعه مورد آزمایش، شش کیلوگرم نمونه خاک مرکب تهیه شده و پس از هواخشک کردن و عبور از الک دو میلی‌متری به کیسه‌های پلاستیکی منتقل و برچسب مربوطه نصب گردید. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک از جمله مقادیر OC (Walkley and Black, 1934)، EC، TNV، P، K (Page et al., 1982)، pH (Thomas, 1996) و بافت خاک (Gee and Bauder, 1986) اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

تهیه مایه تلقیح باکتری‌ها

باکتری‌ها در محیط کشت MC (۵ گرم شکر، ۱ گرم Peptone، ۰/۵ گرم Yeast extract، ۰/۲۵ گرم KH_2PO_4 ، ۰/۲۵ گرم NaCl و ۰/۱ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) در لیتر با pH ۷ اتوکلاو شده کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در یک انکوباتور قرار داده شدند. جمعیت باکتری در مایه تلقیح‌ها برابر 10^9 CFU ml⁻¹ بودند (Shamshiripour et al., 2023).

جدول ۲- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش.

Table 2. Results of physical and chemical analysis of soil at the experimental site.

Texture	Fe	Zn	Cu	Mn	K	P	N	OC	T.N.V	pH	EC
	mg kg ⁻¹						درصد%				dS m ⁻¹
Loam	4.36	3.68	2.08	19.2	400	24.6	0.09	0.89	10.9	7.75	0.91

در زمان برداشت (ابتدای مرحله خمیری شدن دانه) با حذف یک متر از ابتدا و انتهای پشته‌های دوم و سوم، ۸ متر بعدی آن برداشت شد. نمونه کف بر گردیده و وزن تر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد آون قرار داده شده و سپس وزن خشک اندام هوایی آنها تعیین شد. غلظت نیتروژن با روش کجلدال، فسفر با روش طیف‌سنجی نورمتری-فرابنفش و پتاسیم، آهن، روی، مس و منگنز با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (AOAC, 2005).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد که کاربرد اسپری برگی باکتری‌ها تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی ذرت در سطح احتمال ۱ درصد داشت، اگرچه فاقد تأثیر معنی‌دار بر وزن تر اندام هوایی بود (جدول ۳)؛ بطوریکه هیچ کدام از تیمارهای باکتریایی منجر به افزایش وزن تر اندام هوایی نشده و به همراه شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴). با این وجود باکتری‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی ذرت شدند (شکل ۱). بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی متعلق به تیمار باکتریایی *S. maltophilia* (۱۵۸۵۹ کیلوگرم در هکتار) بود که افزایش ۱۱ درصدی را نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

با توجه به نتایج آنالیز خاک و در نظر گرفتن حداکثر پتانسیل تولید ذرت علوفه‌ای در منطقه، میزان کودهای مورد نظر بر اساس کتاب «راهنمای مدیریت تلفیقی حاصلخیزی خاک و تغذیه ذرت» تعیین شد (Gheibi et al., 2014). منابع کودی شامل اوره با توجه به آنالیز خاک بود. اوره در پنج نوبت، یک هشتم زمان سومین آب آبیاری، دو هشتم در مرحله ۶ برگی، دو هشتم در مرحله ۱۰ برگی، دو هشتم در مرحله قبل از ظهور گل‌های نر و یک هشتم در مرحله تشکیل دانه مصرف شد. غلظت مناسب فسفر قابل‌دسترس و پتاسیم محلول احتمالاً به دلیل سابقه کوددهی در خاک مزرعه تحقیقاتی بود. بنابراین کود حاوی فسفر و پتاسیم استفاده نشد.

برای کشت گیاه ذرت بذر مصرفی رقم ۷۰۴ در نظر گرفته شد. مساحت هر کرت ۳۰ مترمربع شامل ۴ پشته به فاصله ۷۵ سانتیمتر و طول ۱۰ متر بود. فاصله بوته‌ها از هم نیز ۱۲ سانتیمتر بود. فاصله بین دو کرت ۳ متر بود. بنابراین در هر کرت حدود ۳۳۰ بوته در نظر گرفته شد. در مرحله V3 (۴ تا ۶ برگی) اسپری برگی برای هر تیمار به صورت زیر انجام شد: اسپری برگی بعد از ظهر و هنگام غروب آفتاب انجام شد. مقدار نیم لیتر از هر کدام از مایه تلقیح‌ها (با جمعیت 10^9 CFU mL⁻¹) در ۲۰ لیتر آب ریخته شده و به خوبی بهم زده شد (تقریباً ۴۰ برابر رقیق سازی). در ادامه به سه قسمت مساوی تقسیم شده (تقریباً معادل ۷ لیتر) و با استفاده از یک سم‌پاش ضد عفونی شده به خوبی در قسمت‌های مختلف گیاه ذرت (برگ‌ها و ساقه‌ها) اسپری شد (برای هر تکرار یک تیمار تقریباً حدود ۷ لیتر استفاده شد).

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر کاربرد اسپری برگی باکتری‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و غلظت عناصر غذایی اندام هوایی ذرت.
Table 3. Analysis of variance of the effect of bacterial foliar application on shoot fresh and dry weight and nutrients concentration of maize shoot.

Mean Squares									Degrees of Freedom	Source of Variation
Manganese	Copper	Iron	Zinc	Potassium	Phosphorus	Nitrogen	Shoot dry weight	Shoot fresh weight		
74.5*	0.962 ^{ns}	146*	77.8 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.042*	1640536*	746302 ^{ns}	3	Bacteria
11.2	0.818	20.2	18.4	0.022	0.002	0.005	208691	5510098	6	Error
11.7	11.8	9.6	15.7	34.4	18.1	6.26	2.99	3.63	Coefficient of Variation	

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{ns} نشان دهنده عدم معنی‌دار می‌باشند.

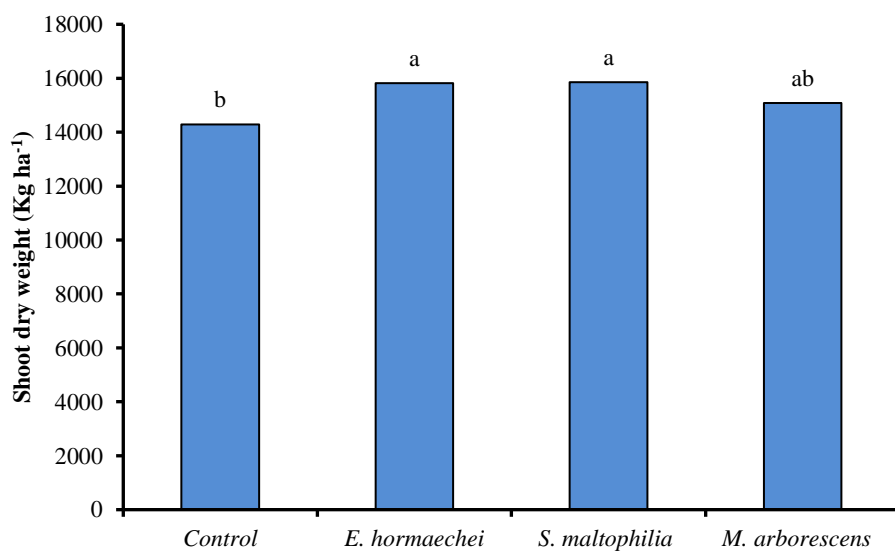
*, ** and ns indicate significance at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and non-significance, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر کاربرد اسپری برگی باکتری‌ها بر وزن تر اندام هوایی و غلظت عناصر غذایی اندام هوایی ذرت.
Table 4. Comparison of means for the effect of bacterial foliar application on shoot fresh weight and nutrients concentration in maize shoot.

Zinc	Iron	Copper	Manganese	Nitrogen	Phosphorus	Potassium	Shoot fresh weight Kg ha ⁻¹	Treatments
mg kg ⁻¹				درصد %				
25.4 b	7.53 a	38.9 c	31.3 a	0.339 a	0.323 a	1.05 c	65433 a	Control
35.3 a	8.50 a	53.4 a	31.9 a	0.322 a	0.344 a	1.33 a	64517 a	<i>E. hormaechei</i>
24.3 b	7.27 a	51.8 ab	23.4 ab	0.247 a	0.282 a	1.25 ab	64392 a	<i>S. maltophilia</i>
29.4 ab	7.37 a	42.9 bc	22.3 b	0.334 a	0.248 a	1.17 bc	64417 a	<i>M. arborescens</i>

میانگین‌هایی با حروف یکسان در یک ستون تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level.



شکل ۱- تأثیر کاربرد اسپری برگی باکتری‌های محرک رشد گیاه بر وزن خشک اندام هوایی.

Figure 1. Effect of foliar application of plant growth-promoting bacteria on shoot dry weight.

(جدول ۳). بیشترین میزان غلظت نیتروژن در اندام هوایی در تیمار اسپری برگی باکتری *E. hormaechei* مشاهده

نتایج نشان داد که تأثیر اسپری برگی باکتری‌ها بر غلظت نیتروژن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود

رشد و عملکرد این گیاهان شد (Pirlak et al., 2007; Aslantaş et al., 2007).

یافته‌های حاضر مبنی بر افزایش معنی‌دار وزن خشک و جذب عناصر توسط *S. maltophilia* با نتایج سایر پژوهش‌ها که به توانایی‌های چندگانه این باکتری اشاره دارند، همسو است. به‌عنوان مثال، یک مطالعه جامع بر روی سویه *S. maltophilia* جداسازی شده از ریزوسفر گندم، وجود مجموعه‌ای از ژن‌های درگیر در ارتقای رشد گیاه، جذب مواد مغذی و فعالیت ضد میکروبی را در ژنوم این باکتری تأیید کرده است. این ویژگی‌های ژنتیکی، همراه با شواهد فیزیولوژیکی، *S. maltophilia* را به‌عنوان یک کاندیدای امیدوارکننده برای کاربرد در کشاورزی پایدار برجسته می‌کند (Sharma et al., 2024).

یک یافته قابل تأمل، افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی بدون تغییر متناظر در وزن تر، می‌تواند نشان‌دهنده یک تغییر فیزیولوژیک مطلوب ناشی از کاربرد باکتری‌ها باشد (Vorholt, 2012). این الگو را می‌توان به بهبود کارایی مصرف آب در گیاهان تلقیح‌شده نسبت داد، به طوری که باکتری‌های فیلوسفر احتمالاً با تعدیل تعرق و بسته‌شدن روزنه‌ها، امکان تولید زیست‌توده خشک بیشتر با مصرف آب مشابه را فراهم کرده‌اند. این فرضیه با مطالعه Devarajan و همکاران (۲۰۲۱) همسو است که به طور مستقیم نشان دادند محلول‌پاشی برگ‌ها با *Bacillus megaterium* می‌تواند محتوای نسبی آب برگ را در گیاه برنج تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش دهد.

باکتری‌های فیلوسفری از طریق تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل ایندول-۳-استیک اسید (IAA^۲)، توان حل‌کننده‌گی فسفات و تولید سیانید هیدروژن سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Batool et al., 2016). نتایج باکتری‌های *S. maltophilia* و *E. hormaechei* مورد استفاده در این پژوهش از توانایی

شد (۲۶/۶۶ درصد افزایش نسبت به شاهد). همچنین اسپری برگ‌ها باکتری *S. maltophilia* نیز منجر به افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن در اندام هوایی شد، اما وزن خشک شاخساره در گیاهان تیمار شده با باکتری *M. arborescens* اختلاف معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان نداد (جدول ۴).

همچنین اسپری برگ‌ها باکتری‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن و منگنز اندام هوایی ذرت در سطح احتمال ۵ درصد داشت (جدول ۳). گیاهان اسپری برگ‌ها با باکتری‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* غلظت آهن اندام هوایی ذرت را به ترتیب به میزان ۳۷/۳ و ۳۳/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. با این وجود اختلاف غلظت آهن در گیاهان اسپری شده با باکتری *M. arborescens* و تیمار شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۴). تیمار باکتری *E. hormaechei* از بیشترین مقدار غلظت منگنز در اندام هوایی برخوردار بود و نسبت به تیمار شاهد افزایش ۳۹ درصدی را نشان داد. این در حالی است که باکتری‌های *S. maltophilia* و *M. arborescens* تأثیر معنی‌داری بر غلظت این عنصر نداشتند و با تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴).

نتایج حاکی از آن است که تأثیر اسپری برگ‌ها باکتری‌ها بر غلظت فسفر، پتاسیم، مس و روی اندام هوایی ذرت معنی‌دار نبود (جدول ۳). با این وجود گیاهان اسپری شده با باکتری *E. hormaechei* از بیشترین مقدار غلظت عناصر غذایی فسفر، مس و روی در اندام هوایی برخوردار بودند (جدول ۴).

بحث

در این مطالعه دو باکتری *E. hormaechei* و *S. maltophilia* بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک اندام هوایی ذرت داشتند. سایر محققان نیز نشان دادند که محلول‌پاشی گل و برگ گیاهان زردآلو، گیلاس شیرین و سیب با باکتری‌های *Bacillus OSU-142* و *Bacillus* *Pseudomonas* BA-8 + OSU-142 موجب افزایش

² - Indole-3-acetic acid

Batool et al., 2016). در بین باکتری‌های مورد مطالعه در این تحقیق *E. hormaechei* منجر به افزایش قابل توجه غلظت نیتروژن اندام هوایی ذرت شد. باکتری *E. hormaechei* استفاده‌شده در این پژوهش دارای توان تثبیت نیتروژن بالا توسط آنزیم نیتروژناز است (جدول ۱). این نتایج به تأثیر برگ‌پاشی باکتری‌های فیلوسفری تثبیت کننده نیتروژن در بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه اشاره دارد. سازوکار احتمالی دیگر، نقش این باکتری‌ها در تسهیل جذب نیتروژن از طریق خاک به واسطه تحریک رشد ریشه است. باکتری محرک رشد *E. hormaechei* با تولید هورمون‌هایی مانند ایندول استیک اسید (IAA)، توسعه سیستم ریشه را افزایش داده و در نتیجه سطح جذب عناصر را گسترش می‌دهند (Ranawat et al., 2021). همسو با یافته‌های حاضر، Freitas و همکاران (۲۰۲۳) مشاهده کردند که محلول‌پاشی *A. brasilense* و *P. fluorescens* بر روی علف *Megathyrus maximus* جذب نیتروژن را به ترتیب تا ۴۲ درصد و ۲۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. افزایش غلظت نیتروژن کل در گیاهان تیمار شده با *E. hormaechei* همچنین ممکن است با تحریک سنتز پروتئین در گیاه میزبان نیز مرتبط باشد. به‌عنوان مثال، Devarajan و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که اسپری برگ‌پاشی باکتری *B. megaterium* منجر به افزایش محتوای پروتئین در برگ‌های برنج شد.

در بین باکتری‌های مورد مطالعه، *S. maltophilia* و *E. hormaechei* منجر به افزایش قابل توجه غلظت عنصر آهن اندام هوایی ذرت شدند. باکتری *S. maltophilia* دارای توانایی تولید سیدروفور است (جدول ۱). توانایی تولید سیدروفور نیز یک راهبردهای مهم در بعضی از باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه در شرایط کمبود آهن است (Ferreira et al., 2019). نتایج حاصل از یک پژوهش بر روی گیاهان سویا و گندم نشان داد که برگ-پاشی همزمان آهن و سیدروفور تولید شده به‌وسیله باکتری‌ها منجر به افزایش عملکرد و غلظت آهن دانه این

بالایی در تولید IAA برخوردار هستند (جدول ۱) و سبب افزایش بیشتر وزن خشک اندام هوایی ذرت شده‌اند. تأثیر مثبت باکتری‌های تولید کننده IAA بر بهبود رشد گیاه به‌وسیله سایر محققان نیز گزارش شده است (Madhaiyan et al., 2005; Ryu et al., 2006; Vorholt, 2012, Fallah Nosratabad et al., 2024; Javadzadeh, et al., 2024; Khoshru et al., 2025).

اثر باکتری‌های فیلوسفری بر جذب عناصر غذایی ممکن است به‌صورت غیرمستقیم رخ دهد. بدین صورت که این باکتری‌ها می‌توانند بر متابولیسم گیاه، شامل راهبردهای جذب عناصر غذایی تأثیر بگذارند. IAA منجر به ریشه-زایی، تقسیم سلول و توسعه سلول می‌شود و با افزایش سطح ویژه ریشه توسط افزایش تشکیل ریشه‌های جانبی و نابه‌جا (Kudoyarova et al., 2017; Gao et al., 2019) سبب افزایش جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاه می‌شود (Carrillo et al., 2002). این امر احتمالاً در مورد باکتری‌های *S. maltophilia* و *E. hormaechei* صادق است. فرض بر آن است که IAA شیب غلظت عناصر غذایی از ریشه به برگ‌ها را به وسیله سست کردن دیواره سلولی و متعاقباً افزایش تراوش عناصر غذایی از سلول‌های برگ افزایش می‌دهد (Lindow and Brandl, 2003; Vorholt, 2012). همچنین، این فرضیه یکی دیگر از دلایلی است که اثر IAA تولید شده به‌وسیله *E. hormaechei* و *S. maltophilia* بر جذب عناصر غذایی گیاه ذرت را صرف‌نظر از اثر آن بر ریشه تأیید می‌کند. اثر مثبت اسپری برگ‌پاشی باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه بر جذب عناصر غذایی فقط به‌وسیله تأثیر IAA بر افزایش رشد ریشه و ایجاد شیب غلظت عناصر غذایی قابل توجیه نیست.

نتایج تحقیقات متعدد نشان‌دهنده نقش مؤثر جامعه باکتریایی فیلوسفر در تثبیت نیتروژن است. یکی از مهم‌ترین دلایل فراوانی و توانایی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن موجود در میکروبیوم فیلوسفر آن است که فیلوسفر به‌طور مستقیم در معرض اتمسفر قرار دارد (Knief et al., 2012; Mwajita et al., 2013;)

کاهش یافته باشد. همگن نبودن محیط یک چالش عمده جهت تکامل باکتری‌های فیلوسفری است، از اینرو این باکتری‌ها با استفاده از سازوکارهای مختلف، خود را با تغییرات محیطی سازگار می‌نمایند (Parasuraman et al., 2019). شرایط محیطی تأثیرگذار بر تکامل باکتری‌های فیلوسفری عبارتند از: رطوبت، اشعه فرابنفش، درجه حرارت، قابلیت دسترسی به عناصر غذایی، رقابت درون و بین گونه‌ها، آفت‌کش‌ها، عوامل کنترل زیستی و حضور جمعیت‌های بیماری‌زا (Hirano and Upper, 2000; Lindow and Brandl, 2003). تغییرات ژنتیکی صورت‌گرفته در طی تکامل میکروب‌ها، اغلب منجر به سازگاری بیشتر آنها با عوامل زیستی و غیر زیستی می‌شود (Knief et al., 2012; Bokulich et al., 2014; Finkel et al., 2017; Chaudhary et al., 2017). علاوه بر آن، نوع گونه باکتری نیز نقش مهمی در توانایی آن جهت سازگاری با شرایط محیطی دارد. بدین صورت که برخی از باکتری‌های فیلوسفری قادر به تغییر موضعی محیط خود، افزایش نشت عناصر غذایی از برگ گیاه میزبان، تولید اسپور و آگزوپلی‌ساکاریدهای خارج سلولی برای مقابله با شرایط نامناسب محیطی هستند (Lindow and Brandl, 2003). تولید زیست‌لایه و ترکیبات ضد میکروبی، از دیگر سازوکارهای دفاعی باکتری‌ها در برابر تنش‌های محیطی می‌باشند. نتایج ما نشان داد که باکتری *M. arborescens* نسبت به دو باکتری دیگر علاوه بر اینکه در ویژگی‌های محرک رشد گیاه ضعیف‌تر بود از توانایی کمتری نیز در تولید آگزوپلی‌ساکارید برخوردار بود که از ویژگی‌های مهم برای حفظ بقای باکتری بر سطح برگ است. یکی از محدودیت‌های این مطالعه، عدم پایش جمعیت و ارزیابی کلونیزاسیون باکتری‌ها بر روی سطح برگ (فیلوسفر) پس از محلول‌پاشی است. این داده‌ها می‌توانست توجیهی قوی برای تفاوت آشکار در عملکرد بین سویه‌ها ارائه دهد. بنابراین، ارزیابی مستقیم دینامیک جمعیت باکتری‌ها بر روی فیلوسفر، یک گام ضروری برای درک سازوکار عمل و بهینه‌سازی

گیاهان شد (Sharma et al., 2019). نکته جالب توجه، افزایش چشمگیر غلظت آهن توسط *E. hormaechei* بود، با وجود اینکه این باکتری فاقد توانایی تولید سیدروفور بود. اگرچه فرضیه تأثیر غیرمستقیم IAA بر تحریک سیستم ریشه و در نتیجه جذب آهن از خاک قابل طرح است، اما این فرضیه در مطالعه حاضر به طور مستقیم آزمون نشده و توجیه کامل این مشاهده دشوار است. برای توجیه این مشاهده در شرایط کاربرد برگی، فرضیه‌های دیگری را باید در نظر گرفت: این باکتری ممکن است با ترشح ترکیبات کاهش‌دهنده pH، حلالیت آهن موجود در سطح برگ را افزایش دهد، یا با القای یک پاسخ سیستمیک در گیاه، باعث افزایش بیان ناقلین آهن در ریشه و در نتیجه جذب بیشتر این عنصر از خاک شود. همچنین تولید ترکیبات کلاته‌کننده دیگر به جز سیدروفور می‌تواند منجر به افزایش جذب آهن توسط گیاه شده باشد (Vorholt, 2012).

Esitken و همکاران (۲۰۱۰) اثر باکتری‌های فیلوسفری را به صورت‌های مایه تلقیح ریشه و برگ‌پاشی بر گیاه توت‌فرنگی مورد مطالعه قرار دادند. آنها دریافتند که تلقیح ریشه با باکتری *Bacillus M3* و برگ‌پاشی باکتری‌های *Pseudomonas BA-8* و *Bacillus OSU-142* موجب افزایش رشد، عملکرد و مقدار عناصر فسفر، آهن، مس و روی در گیاه توت‌فرنگی شد. همچنین، اثر تیمارهای تلقیح باکتری‌های مورد مطالعه شامل *M3 + BA-8*، *OSU-142 + BA-8*، *M3 + M3* میزان ۳۳/۲ درصد، ۱۸/۴ درصد، ۱۸/۲ درصد، ۱۵/۳ درصد و ۱۰/۵ درصد گردید. تعداد میوه در بوته به طور معنی‌داری با کاربرد *M3 + BA-8* (۹۱/۷۳) و *M3* (۸۱/۵۸) در مقایسه با شاهد (۶۸/۶۶) افزایش یافت.

همانگونه که مشاهده شد باکتری *M. arborescens* تأثیری بر وزن تر و خشک اندام هوایی و غلظت عناصر غذایی نداشت. احتمال بر آن است که به دلیل شرایط نامساعد اقلیمی بقای باکتری‌ها بر سطح برگ

فرمولاسیون‌های باکتریایی در مطالعات آتی به شمار می‌رود. به طور کلی، بهبود رشد و جذب عناصر غذایی مشاهده شده در این پژوهش را می‌توان به مجموعه‌ای از سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم نسبت داد. این سازوکارها شامل تولید محرک‌های رشد گیاهی (مانند IAA)، افزایش در دسترس بودن عناصر (از طریق تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفور یا کاهش pH موضعی)، و به طور متقابل، القای یک وضعیت فیزیولوژیک "تقویت شده" در گیاه میزبان است. این حالت فیزیولوژیک بهبودیافته که اغلب به عنوان "القای تحمل به تنش" شناخته می‌شود، می‌تواند شامل تجمع متابولیت‌های محافظ، تنظیم هورمونی و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با استرس باشد، همان‌طور که به وضوح برای باکتری *B. megaterium* در مطالعه Devarajan و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده شد. بنابراین، بسیار محتمل است که سوبه‌های موفق ما نیز چنین پاسخ سیستمیک جامعی را در گیاه ذرت القا کرده باشند.

نتیجه‌گیری

این پژوهش شواهد امیدوارکننده‌ای در مورد اثربخشی کاربرد برگی باکتری‌های محرک رشد فیلوسفر، به‌ویژه سوبه‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* در بهبود عملکرد و جذب عناصر غذایی ذرت تحت شرایط مزرعه‌ای ارائه می‌نماید. یافته‌ها به وضوح تأثیر معنی‌دار باکتری‌های *E. hormaechei* و *S. maltophilia* را در افزایش معیارهای رشد و غلظت عناصر غذایی کلیدی تأیید می‌کند. بهبود مشاهده‌شده در

وزن خشک اندام هوایی (تا ۲/۱۳ درصد) همراه با افزایش چشمگیر در غلظت نیتروژن (۷/۲۶ درصد)، آهن (۳/۳۷ درصد) و منگنز (۹/۳۸ درصد) نشان‌دهنده پتانسیل بالای این باکتری‌ها در ارتقای کارایی مصرف عناصر غذایی است. این اثرات مثبت را می‌توان به ویژگی‌های چندگانه محرک رشد این باکتری‌ها نسبت داد. از جنبه کاربردی، این یافته‌ها راهکارهای نویدبخشی برای توسعه نهاده‌های زیستی جدید و پایدار در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی و بهبود امنیت غذایی ارائه می‌کنند. با این وجود، برای بهینه‌سازی فرمولاسیون و تعیین دقیق‌ترین زمان کاربرد، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. همچنین بررسی سازوکارهای مولکولی دخیل در تعامل بین میزبان و باکتری در فیلوسفر می‌تواند به درک بهتری از این سیستم پیچیده بینجامد. برای بهینه‌سازی نتایج، بررسی دفعات و زمان‌بندی‌های مختلف محلول پاشی (مانند کاربرد در مراحل مختلف رشدی) در مطالعات آتی نیز پیشنهاد می‌شود. در مجموع، این تحقیق گامی مهم در جهت توسعه راهکارهای پایدار کشاورزی بر اساس بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌های بومی است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با پشتیبانی «بخش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور» به انجام رسید. بدین‌وسیله نویسنده/نگارنده صمیمانه از کلیه همکاران و کارشناسان این بخش که در اجرای این تحقیق همکاری نمودند، قدردانی می‌نماید.

References

- Ahmed, E., & Holmström, S. J. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196-208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2005). *Official methods of analysis*, 18th edn. AOAC-Int, Arlington.
- Aslantaş, R., Cakmakçı, R., & Şahin, F., (2007). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111(4), 371-377. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.016>
- Batool, F., Rehman, Y., & Hasnain, S., (2016). Phylloplane associated plant bacteria of commercially superior wheat varieties exhibit superior plant growth promoting abilities. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 313-322. <https://doi.org/10.1080/21553769.2016.1256842>
- Bokulich, N. A., Thorngate, J. H., Richardson, P. M., & Mills, D. A. (2014). Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), E139-E148. <https://doi.org/10.1073/pnas.1317377110>
- Cardozo, P., Di Palma, A., Martin, S., Cerliani, C., Esposito, G., Reinoso, H., & Travaglia, C. (2022). Improvement of maize yield by foliar application of *Azospirillum brasilense* Az39. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(3), 1032-1040. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10356-9>
- Carrillo, A. E., Li, C. Y., & Bashan, Y. (2002). Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Naturwissenschaften*, 89(9), 428-432. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0347-6>
- Chaudhary, D., Kumar, R., Sihag, K., & Kumari, A. (2017). Phyllospheric microflora and its impact on plant growth: A review. *Agricultural Reviews*, 38 (1). <https://doi.org/10.18805/ag.v0iOF.7308>
- Devarajan, A. K., Muthukrishnan, G., Truu, J., Truu, M., Ostonen, I., Kizhaeral S, S., ... & Kuttalingam Gopalasubramanian, S. (2021). The foliar application of rice phyllosphere bacteria induces drought-stress tolerance in *Oryza sativa* (L.). *Plants*, 10(2), 387. <https://doi.org/10.3390/plants10020387>
- Dourado, M. N., Aparecida Camargo Neves, A., Santos, D. S., & Araújo, W. L. (2015). Biotechnological and Agronomic Potential of Endophytic Pink-Pigmented Methylophilic *Methylobacterium* spp. *BioMed Research International*, 2015(1), 909016. <https://doi.org/10.1155/2015/909016>
- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Donmez, M. F., Turan, M., & Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.012>
- Fallah Nosratabad, A., & Khoshru, B. (2024). Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture. *Soil Science Society of Iran*, 12(1), 19-63. <https://doi.org/10.22092/SBJ.2024.366090.265>
- Ferreira, C. M., Vilas-Boas, Â., Sousa, C. A., Soares, H. M., & Soares, E. V. (2019). Comparison of five bacterial strains producing siderophores with ability to chelate iron under alkaline conditions. *AMB Express*, 9(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0796-3>
- Finkel, O. M., Castrillo, G., Paredes, S. H., González, I. S., & Dangl, J. L. (2017). Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>
- Freitas, G. D. S., Moreira, A., Prudencio, M. F., Heinrichs, R., Nogueira, M. A., Hungria, M., & Soares Filho, C. V. (2023). Foliar spray inoculation with plant growth promoting bacteria

- associated with nitrogen doses in *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri. *Agronomy*, 13(4), 1040.
<https://doi.org/10.3390/agronomy13041040>
16. Gao, J., Luo, Y., Wei, Y., Huang, Y., Zhang, H., He, W., Sheng, H., & An, L. (2019). Screening of plant growth promoting bacteria (PGPB) from rhizosphere and bulk soil of *Caragana microphylla* in different habitats and their effects on the growth of *Arabidopsis* seedlings. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 921-930.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1629841>
 17. Gee, G.W., & Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. P 383-411, In: A. Klute (Ed.), *Methods of soil analysis, Part I*. 2d Madison, WI.
<https://doi.org/10.2136/sssabookser5.1.2ed.c15>
 18. Gheibi, M.N., Tehrani, M.M., & Asadi, F. (2014). A Guide to the Integrated Management of Soil Fertility and Corn Nutrition. *Soil and Water Research Institute Publications*. 53 pp. (In Perisan)
 19. Giri, S., & Pati, B., (2004). A comparative study on phyllosphere nitrogen fixation by newly isolated *Corynebacterium* sp. & *Flavobacterium* sp. and their potentialities as biofertilizer. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 51(1-2), 47-56.
<https://doi.org/10.1556/AMicr.51.2004.1-2.3>
 20. Hirano, S. S., & Upper, C. D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*—a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64 (3):624-653.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000>
 21. Jackson, C., Stone, B., & Tyler, H. (2015). Emerging perspectives on the natural microbiome of fresh produce vegetables. *Agriculture*, 5(2), 170-187.
<https://doi.org/10.3390/agriculture5020170>
 22. Jahandideh Mahjen Abadi, V. A., Sepehri, M., Rahmani, H. A., Zarei, M., Ronaghi, A., Taghavi, S. M., & Shamshiripour, M. (2020). Role of dominant phyllosphere bacteria with plant growth-promoting characteristics on growth and nutrition of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 2348-2363.
<https://doi.org/10.1007/s42729-020-00302-1>
 23. Javadzadeh, M., Khavazi, K., Ghanavati, N., Jafarnejadi, A. R., Jahandideh Mahjenabadi, V. A. (2024). Effect of plant growth-promoting bacteria and sulfur on growth and micronutrient concentration in wheat grain in saline-sodic soils. *Soil Science Society of Iran*, 11(2), 167-182.
<https://doi.org/10.22092/sbj.2024.356053.225>
 24. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Khosravi, H., Asgharzadeh, A., Faridian, L. (2025). Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. *Soil Science Society of Iran*, 12(2), 279-313.
<https://doi.org/10.22092/SBJ.2025.368425.277>
 25. Knief, C., Delmotte, N., Chaffron, S., Stark, M., Innerebner, G., Wassmann, R., Von Mering, C., & Vorholt, J. A. (2012). Metaproteomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice. *The ISME Journal*, 6(7), 1378.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2011.192>
 26. Kudoyarova, G. R., Vysotskaya, L. B., Arkhipova, T. N., Kuzmina, L. Y., Galimsyanova, N. F., Sidorova, L. V., Gabbasova, I. M., Melentiev, A. I., & Veselov, S. Y. (2017). Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(11), 253.
<https://doi.org/10.1007/s11738-017-2556-9>
 27. Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4),

- 1875-1883. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003>
28. Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Senthilkumar, M., Seshadri, S., Chung, H., Jinchul, Y., Sundaram, S., & Tongmin, S., (2004). Growth promotion and induction of systemic resistance in rice cultivar Co-47 (*Oryza sativa* L.) by *Methylobacterium* spp. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45.
 29. Mwajita, M. R., Murage, H., Tani, A., & Kahangi, E. M. (2013). Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *SpringerPlus*, 2(1), 606. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-606>
 30. Page, A. L., Miller, R. H., & Keeny, D. R. (1982). Methods of soil analysis. Part 2, *Chemical and Microbiological Properties*, Madison Wisconsin U.S.A.
 31. Parasuraman, P., Pattnaik, S., & Busi, S. (2019). Phyllosphere Microbiome: Functional Importance in Sustainable Agriculture. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, 135-148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00010-9>
 32. Pirlak, L., Turan, M., Sahin, F., & Esitken, A., (2007). Floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to apples increases yield, growth, and nutrient element contents of leaves. *Journal of Sustainable Agriculture*, 30(4), 145-155. https://doi.org/10.1300/J064v30n04_11
 33. Ranawat, B., Bachani, P., Singh, A., & Mishra, S. (2021). *Enterobacter hormaechei* as plant growth-promoting bacteria for improvement in *Lycopersicon esculentum*. *Current microbiology*, 78(4), 1208-1217. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02368-1>
 34. Ryu, J., Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Yim, W., Indiragandhi, P., Kim, K., Anandham, R., Yun, J., Kim, K.H., & Sa, T. (2006). Plant growth substances produced by *Methylobacterium* spp. and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and red pepper (*Capsicum annuum* L.) growth. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(10), 1622.
 35. Senthilkumar, M., Madhaiyan, M., Sundaram, S., & Kannaiyan, S. (2009). Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. with plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L. Cv CO-43). *Microbiological Research*, 164(1), 92-104. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.10.007>
 36. Shamsheeripour, M., Jahandideh Mahjen Abadi, V.A., Hemmati, V., Otadi, A., & Esmaeilizad, A. (2023). Determining the appropriate formulation for growth promoting bacterial inoculum of Corn phyllosphere. *Soil and Water Research Institute Publications*. 49 pp. (In Persian)
 37. Sharma, P., Pandey, R., & Chauhan, N. S. (2024). Biofertilizer and biocontrol properties of *Stenotrophomonas maltophilia* BCM emphasize its potential application for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1364807. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.680981>
 38. Sharma, S., Chandra, S., Kumar, A., Bindraban, P., Saxena, A. K., Pande, V., & Pandey, R. (2019). Foliar application of iron fortified bacteriosiderophore improves growth and grain Fe concentration in wheat and soybean. *Indian Journal of Microbiology*, 59(3), 344-350. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00810-4>
 39. Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., & Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3(3), 307. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0140-5>
 40. Tani, A., Sahin, N., Fujitani, Y., Kato, A., Sato, K., & Kimbara, K., (2015). *Methylobacterium* species promoting rice and barley growth and interaction specificity revealed with whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) analysis. *PloS one*, 10(6), e0129509.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129509>

41. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and Soil Acidity. P 475-490, In: D.L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis, Part 3, No. 5, ASA and SSSA, Madison, WI.* <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c16>
42. Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 10(12), 828. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2910>
43. Walkley, A., & Black, I.A. (1934). An examination of degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29-38. <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>
44. Yen, K. S., Sundar, L. S., & Chao, Y. Y. (2022). Foliar application of *Rhodopseudomonas palustris* enhances the rice crop growth and yield under field conditions. *Plants*, 11(19), 2452. <https://doi.org/10.3390/plants11192452>



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>

Review Article

Enhancing Agricultural Sustainability through Biofertilizers: A Comprehensive Review of Endophytic Fungi, *Trichoderma*, Mycorrhiza, and PGPR with a Reflection on Iranian Research

Ahmad Akhavan^{1*} 

1- Assistant Professor, Department of Plant Production and Protection, Institute of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran. Ahmad.akhavan@irost.ir

Article Info

Extended Abstract

Received: 2025-09-27**Accepted:** 2026-02-16**Keywords:**

Agricultural policy,
Climate change,
Salt tolerance,
Soil microbiome,
Sustainable agriculture.

Corresponding author's email:Ahmad.akhavan@irost.ir**DOI:**10.22092/SBJ.2026.3705
84.287

Background and Objectives: The escalating global demand for food production, driven by a rapidly growing population projected to reach 9.6 to 12.3 billion by 2100, has intensified the pressure on agricultural systems. To meet this demand, traditional agriculture has heavily relied on chemical fertilizers. However, this approach has led to widespread environmental degradation, including soil depletion, groundwater pollution, eutrophication, and a significant reduction in biodiversity. Furthermore, climate change poses a severe threat to global food security, particularly in arid and semi-arid regions like Iran, where abiotic stresses such as drought and salinity are becoming increasingly prevalent. Predictions indicate that climate change could reduce the yields of major staple crops like wheat and rice by over 15% in developing regions by the mid-century. Consequently, there is an urgent need to transition towards sustainable agricultural practices that maintain soil health and crop productivity without the adverse effects of synthetic inputs. Biofertilizers, comprising beneficial microorganisms such as endophytic fungi, *Trichoderma* spp. arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), emerge as promising eco-friendly solutions. These biological agents employ various mechanisms, including biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and the synthesis of phytohormones, to enhance nutrient use efficiency and plant resilience. Despite the proven efficacy of these microorganisms in controlled environments, their adoption in Iranian agriculture remains limited due to technological, awareness, and commercialization gaps. The primary objectives of this review are to synthesize the current knowledge on the mechanisms and applications of these biofertilizers, evaluate their role in mitigating abiotic stresses with a specific emphasis on findings from Iranian agricultural research, and critically assess the challenges and future prospects for the commercialization of biofertilizers in Iran.

Review Methods: A systematic review was conducted to analyze the landscape of biofertilizer research and application in the context of sustainable agriculture. A comprehensive multi-database search strategy was employed, utilizing international platforms such as Scopus, Web of Science, and ScienceDirect, as well as Iranian national repositories including MagIran, Scientific Information Database (SID), and Civilica. This dual approach ensured the inclusion of both global advancements and localized studies relevant to Iran's specific agro-climatic conditions. The review covered publications spanning from January 2000 to September 2025. Key search terms included "biofertilizers", "sustainable agriculture", "endophytic fungi", "drought resistance", "PGPR", "Trichoderma", "Mycorrhiza", and "Iran". The study critically synthesized data regarding nutrient mobilization mechanisms, physiological responses to stress, and soil health indicators. Furthermore, the review analyzed the current status of biofertilizer registration and standardization in Iran, referencing national standards (ISIRI) to evaluate the gap between research output and market availability.

Results: The synthesized literature reveals that biofertilizers significantly enhance agricultural sustainability through a complex network of direct and indirect mechanisms. Regarding nutrient mobilization, Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) play a pivotal role by extending hyphal networks into the soil matrix, thereby increasing the absorptive surface area of roots. This mechanism significantly enhances the uptake of immobile nutrients, particularly Phosphorus (P) and Zinc (Zn), and can reduce the necessity for chemical phosphorus fertilizers by approximately 20-40%. Concurrently, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) such as *Azotobacter*, *Azospirillum*, and *Rhizobium* facilitate biological nitrogen fixation, capable of contributing up to 300 kg of nitrogen per hectare annually, while also solubilizing insoluble phosphates through the secretion of organic acids. In the context of stress mitigation, the review highlights that biofertilizers induce systemic tolerance to abiotic stresses, which is crucial for farming in Iran's dry climate. Beneficial microbes upregulate the expression of stress-responsive genes, enhance the activity of antioxidant enzymes like Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase (CAT) to scavenge Reactive Oxygen Species (ROS), and promote the accumulation of osmolytes such as proline. Specifically, *Trichoderma* species have been shown to alleviate salinity stress in crops like pistachio and tomato by regulating the Na⁺/K⁺ ratio and enhancing root architecture. Endophytic fungi contribute by synthesizing phytohormones (IAA, GA) that boost root biomass and maintain chlorophyll content under water-deficit conditions. Analysis of Iranian research indicates significant positive outcomes in field trials. Application of combined biofertilizers has demonstrated yield increases ranging from 10% to 67% in strategic and medicinal crops such as saffron, quinoa, canola, and medicinal herbs, alongside improvements in quality parameters like protein and oil content. However, despite the existence of over 900 research articles and the establishment of national standards (ISIRI 22300-22306), the commercialization landscape presents a paradox. While the scientific infrastructure exists, Iran's market share of biofertilizers remains below 5%. The review identifies key barriers, including the instability of microbial formulations under harsh field conditions, lack of farmer awareness, and insufficient policy incentives compared to subsidized chemical fertilizers.

Conclusion: This comprehensive review confirms that biofertilizers harnessing endophytic fungi, *Trichoderma*, mycorrhizae, and PGPR offer a robust and viable framework for transitioning to sustainable agriculture. These biological inputs address critical nutrient inefficiencies and environmental stresses while allowing for a significant reduction in chemical input dependency. The evidence confirms their efficacy in enhancing crop yields (10-40%) and improving stress tolerance, which is vital for food security in changing climates. However, bridging the significant gap between research findings and practical application in Iran requires a multi-faceted approach. Future development priorities must shift from simple single-strain inoculants to the development of stable, multi-strain consortia adapted to local abiotic stresses (salinity and heat). Furthermore, the establishment of strict quality control protocols based on national standards and the implementation of supportive policy incentives are essential to build farmer confidence. By integrating these biotechnological tools with modern agronomic practices, it is possible to foster resilient agroecosystems that ensure both economic viability and environmental harmony.

Cite this article: Akhavan, A., 2026. Enhancing Agricultural Sustainability through Biofertilizers: A Comprehensive Review of Endophytic Fungi, *Trichoderma*, Mycorrhiza, and PGPR with a Reflection on Iranian. Review article. *Journal of Soil Biology*, 13 (2),229-261.



DOI: 10.22092/SBJ.2026.370584.287

Publisher: Soil Science Society of Iran



دو فصلنامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

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


مقاله مروری

کودهای زیستی در گذار به کشاورزی پایدار: کاوشی جامع در نقش قارچ‌های اندوفیت، تریکودرما، مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد گیاه با تأملی بر پژوهش‌های ایرانی

احمد اخوان^{*۱}

۱- استادیار گروه تولیدات گیاهی و گیاه‌پزشکی، پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۷

چکیده

کشاورزی سنتی برای افزایش تولید به مصرف فزاینده نهاده‌های شیمیایی متکی شده که پیامدهایی همچون آلودگی محیط‌زیست، تخریب خاک و تهدید سلامت را در پی داشته است. پر کردن شکاف تولید بدون آسیب به زیست‌کره از طریق جایگزین‌هایی مانند کودهای زیستی امکان‌پذیر است. این مقاله مروری با هدف پر کردن شکاف دانش در حوزه کودهای زیستی، ارائه تصویر جامع و به‌روز از کارایی آن‌ها، تحلیل چالش‌ها و جهت‌گیری‌های آینده، تأثیرگذاری بر سیاست‌گذاری و بازار، ارزش‌گذاری بر پژوهش‌های داخلی و ایجاد منبعی قابل‌دسترس برای دانشجویان نگاشته شده است. باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن هوا را به فرم قابل جذب تبدیل می‌کنند. باکتری‌هایی مانند *پسودوموناس* و *باسیلوس*، مواد معدنی از جمله فسفر و پتاسیم را برای گیاهان قابل‌دسترس می‌کنند. قارچ‌های مایکوریزا با گسترش شبکه هیفی، جذب آب و مواد مغذی را در شرایط خشکی و شوری بهبود می‌بخشند. قارچ *تریکودرما* با تولید آنزیم‌ها و هورمون‌ها، مقاومت گیاه به بیماری‌ها و تنش‌ها را افزایش می‌دهد. دستاوردهای تحقیقات داخلی نشان می‌دهد که کاربرد این کودها می‌تواند عملکرد محصولات استراتژیک را ۱۰ تا ۴۰ درصد بهبود بخشد، سلامت خاک را تقویت کند و کارایی مصرف آب را در شرایط تنش افزایش دهد. نقطه قوت اصلی، دانش فنی بومی و اثربخشی سوبیه‌های میکروبی بومی در شرایط اقلیمی کشور است. با این حال، چالش‌هایی مانند پراکندگی پژوهش‌ها، نبود فرمولاسیون‌های پایدار و تجاری، کمبود زیرساخت ترویجی و ضعف در سیاست‌گذاری یکپارچه، مانع توسعه مقیاس‌پذیر این فناوری شده‌اند.

واژه‌های کلیدی: تغییرات اقلیمی، تحمل شوری، سیاست‌گذاری کشاورزی، میکروبیوم خاک.

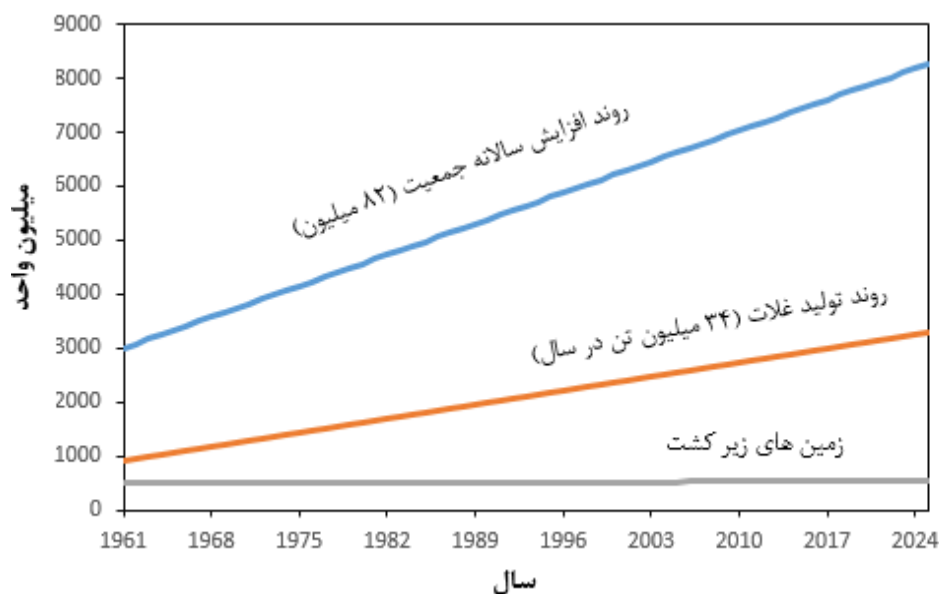
مقدمه

کشاورزی پایدار: ضرورت جایگزینی عوامل

زیستی به جای نهاده‌های شیمیایی

جمعیت جهان همچنان در حال رشد است و این امر فشار بی‌سابقه‌ای بر سیستم تولید جهانی غذا وارد کرده و منجر به تخریب گسترده منابع طبیعی و فشار بیش از حد بر منابع آب‌و خاک شده است. عوامل دیگری مانند گرمایش جهانی، تغییر الگوهای مصرف غذایی، محدودیت مواد مغذی خاک و کاهش حاصلخیزی آن، این چالش بزرگ در تأمین امنیت غذایی را تشدید می‌کنند. آمارهای جهانی نشان می‌دهد که جمعیت جهان در طی سال‌های ۲۰۵۰ تا ۲۱۰۰ به ۹/۶ تا ۱۲/۳ میلیارد نفر خواهد رسید (شکل ۱). این جمعیت رو به رشد نیازمند تأمین مواد غذایی برای در امان ماندن از گرسنگی است و به تبع آن باید میزان تولید غذا بین ۶۰ تا ۷۰ درصد افزایش یابد. تغذیه جمعیت بیشتر با زمین‌های کمتر، کاری دشوار و پیچیده است (Heydari, 2019).

تغییرات اقلیمی یک واقعیت انکارناپذیر است و درک ارتباط بین تغییرات اقلیمی و تولید محصولات کشاورزی برای توسعه ظرفیت‌های لازم جهت تضمین تأمین غذای کافی برای جمعیت رو به رشد، امری حیاتی است. تغییرات اقلیمی موجب حذف بسیاری از گونه‌ها، افزایش تبخیر و تعرق و کاهش تولید بسیاری از گونه‌های گیاهی شده است. خشکی به عنوان یکی از مخرب‌ترین تنش‌های غیرزیستی، بیش از تمام بیماری‌های گیاهی باعث کاهش عملکرد محصولات می‌شود و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰، نیمی از اراضی کشاورزی تحت تأثیر خشکی قرار بگیرند (Mohammadi et al., 2023). تأمین غذای جمعیت رو به رشد جهان، درحالی‌که زمین‌های کشاورزی روز به روز محدودتر می‌شوند، چالشی بزرگ است (Dzvene et al., 2025). این مسئله نیازمند افزایش بهره‌وری زمین‌های موجود، به‌کارگیری فناوری‌های نوین، مدیریت پایدار منابع و بازنگری در الگوهای تولید و مصرف غذاست.



شکل ۱- نرخ رشد جمعیت، تولید سالانه غلات و افزایش مساحت زمین‌های زیر کشت در طی سال‌های ۱۹۶۱ تا ۲۰۲۵.
 Figure 1. Population growth rate, annual grain production, and increase in cultivated land area during the years 1961 to 2025. (<http://www.fao.org/faostat/en#data>)

که هم قابل تجدید باشد و هم به منابع فشار مضاعف وارد نکند. یکی از راه‌حل‌های مطرح، استفاده از ریزجانداران مفید مانند باکتری‌ها، جلبک‌های سبز-آبی^۴، قارچ‌های میکوریزایی، تریکودرما، باکتری‌های محرک رشد گیاه^۵، نانوذرات مختلف و سایر موجودات میکروسکوپی مفید است که می‌توانند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی مرسوم با چالش‌هایی مانند هزینه بالا و پتانسیل آلاینده‌گی باشند. در این زمینه، کودهای زیستی (بیوفرتیلايزرها) و میکروبیوم‌های مهندسی‌شده مقاوم به شوری به عنوان راهکارهای قابل اجرا پدیدار شده‌اند که مزایای متعددی نظیر بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش سلامت خاک و کاهش تنش ارائه می‌دهند (Araganji et al., 2025). فلاح نصرت‌آباد و همکاران، (۲۰۱۷) نتیجه گرفتند که استفاده یکپارچه از کود آلی و تلقیح باکتریایی در گندم، نه تنها کارایی فسفر را بهبود می‌بخشد، بلکه نیاز به کود شیمیایی را کاهش می‌دهد (تا ۲۵ درصد صرفه‌جویی در سوپر فسفات تریپل) و پایداری کشاورزی را افزایش می‌دهد. این رویکرد برای خاک‌های آهکی ایران مناسب است و می‌تواند در کشاورزی پایدار اعمال شود (Nosratabad et al., 2017).

کودهای زیستی مبتنی بر ریزجانداران مزایای قابل توجهی نسبت به کودهای شیمیایی دارند: ماندگاری بالاتر در خاک، اقتصادی، غیرسمی بودن، قابل تجدید بودن و سازگاری کامل با محیط‌زیست. تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از این ریزجانداران در کشاورزی نوین می‌تواند پایه‌گذار تحولی اساسی در جهت سیستم کشاورزی پایدار و دوست‌دار محیط‌زیست باشد (Khosravi et al., 2024). هند، ایالات متحده و چین جزء سه کشور اول در زمینه استفاده از کودهای زیستی هستند. برای شناسایی گونه‌ها و سویه‌هایی که می‌توانند به عنوان کود زیستی یا عوامل کنترل زیستی عمل کنند، ملزومات متعددی از جمله

تغییرات اقلیمی از هم‌اکنون بر تولید جهانی غذا تأثیر گذاشته و بهره‌وری و عملکرد پیش‌بینی‌شده محصولات غذایی اصلی در تمام مناطق جهان را کاهش داده است. این شرایط مردم را در برابر ناامنی غذایی و تغذیه‌ای آسیب‌پذیرتر کرده است. مدل‌های شبیه‌سازی^۱ DSSAT و^۲ APSIM پیش‌بینی می‌کنند که در کشورهای آسیایی از جمله هند و پاکستان تا میانه قرن (۲۰۴۰-۲۰۶۹)، بازده برنج ۲/۱۵ تا ۲/۱۷ درصد و بازده گندم ۱/۱۴ تا ۱۲ درصد کاهش خواهد یافت؛ زیرا دمای حداکثر ۸/۲ درجه سانتی-گراد و دمای حداقل ۲/۲ درجه سلسیوس افزایش خواهد یافت (Habib-ur-Rahman et al., 2022). پژوهشگران با استفاده از مدل‌های پنبلی در آفریقای زیر صحرا^۳ پیش‌بینی می‌کنند که تا میانه قرن، تولید کلی ذرت ۲۲ درصد، سورگوم ۱۷ درصد، ارزن ۱۷ درصد، بادام‌زمینی ۱۸ درصد و کاساوا ۸ درصد کاهش خواهد یافت. این مطالعات نشان می‌دهند با احتمال ۹۵ درصد، میزان آسیب بیش از ۷ درصد و با احتمال ۵ درصد بیش از ۲۷ درصد خواهد بود.

کودهای شیمیایی، اگرچه در افزایش عملکرد محصولات مؤثرند، به طور قابل توجهی به آلودگی زیست-محیطی، از جمله انتشار گازهای گلخانه‌ای، سرشارسازی و تخریب خاک کمک می‌کنند. هزینه‌های فزاینده و محدودیت در دسترسی به این نهاده‌ها نیازمند راهبردهای جایگزین برای مدیریت عناصر غذایی است. اگرچه کودهای شیمیایی در افزایش عملکرد محصول نقش ویژه‌ای داشته‌اند، اما کاربرد بی‌رویه یا نادرست آن‌ها می‌تواند خطراتی برای سلامت انسان ایجاد کرده و با آلودگی منابع آب و خاک، تعادل بوم‌شناختی را مختل کند (Shafiee and Azmi, 2024). به‌طورکلی، تنها ۱۰ تا ۴۰ درصد از کودهای اعمال‌شده توسط گیاهان جذب می‌شوند، درحالی-که گاهاً ۶۰ تا ۹۰ درصد آن هدر می‌رود. بنابراین، امروزه بسیاری از متخصصان علوم خاک و تغذیه گیاهان به دنبال روش‌های جایگزین برای تولید پایدار محصولات هستند

^۴ آسپروولینا^۵ PGPRs^۱ Decision Support System for Agrotechnology Transfer^۲ Agricultural Production Systems sIMulator^۳ Sub-Saharan Africa

تأثیر بر رشد گیاه، اثر بر تولید محصول، پاسخ تحت تنش- های زیستی و غیر زیستی، و ارزیابی کلی کارایی تجاری باید رعایت شود. بازار جهانی کودهای زیستی به ریزوبیوم (۱۶ درصد)، آزوتوباکتر (۱۷ درصد)، آروسپریلوم (۱۶ درصد)، جلبک‌های سبز-آبی (۱۳ درصد)، باکتری‌های حل‌کننده فسفات (۱۵ درصد)، میکوریزا (۱۷ درصد)، تریکودرما (۴ درصد) و غیره (۲ درصد) تقسیم می‌شود. این ریزجانداران اصلی توسط شرکت‌های پیشرو کشاورزی جهانی مانند Bayer CropScience AG, Mapleton, Agri Biotech Pty Limited, Lallemand Inc., CBF China Bio-Fertilizer AG, Symborg SL, National Fertilizer Ltd. و غیره استفاده شده‌اند.

هدف این مقاله مروری، ارائه تحلیل جامع از پژوهش‌های داخلی و مطالعات بین‌المللی معتبر در زمینه کودهای زیستی شامل میکوریزا، قارچ‌های تریکودرما، میکروبیوم‌های مقاوم به شوری و باکتری‌های محرک رشد گیاه است. در این مطالعه، با بررسی نظام‌مند چندین مقاله علمی، آخرین دستاوردها در زمینه به‌کارگیری هیف‌های قارچی و مهندسی میکروبیوم برای بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش تحمل به شوری در شرایط اقلیمی خشک و نیمه‌خشک ارزیابی شده است.

کودهای زیستی: ریزجانداران محرک رشد گیاه، سازوکارهای تأمین درشت‌مغذی‌ها و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی

مدیریت تغذیه گیاه کلیدی‌ترین عامل در افزایش پایدار تولید کشاورزی است که عمدتاً بر پایه تأمین عناصر پرمصرف نیتروژن (N)، فسفر (P) و پتاسیم (K) استوار است. این عناصر نقش محوری در فرآیندهای مورفولوژیک، متابولیک و بیوشیمیایی گیاه دارند و بر ویژگی‌هایی مانند ارتفاع، انشعاب ریشه، شاخه‌زنی، گل‌دهی و میوه‌دهی تأثیر مستقیم می‌گذارند (Valojai et al., 2021). نیتروژن، به عنوان جزء اصلی پروتئین‌ها و تنظیم‌کننده فعالیت‌های آنزیمی، کمبود آن منجر به

اختلالات شدید مورفولوژیک مانند کاهش ارتفاع، طول برگ و زیست‌توده می‌شود (Sheoran et al., 2021). فسفر در معماری ریشه، تشکیل گل و بذر، و انتقال انرژی نقش دارد و جزء اساسی کوآنزیم‌ها و فسفولیپیدها است. پتاسیم نیز تنظیم‌کننده تقسیم سلولی، انتقال آب، بیوسنتز پروتئین و سینتیک فتوسنتز است (Akbari, Mohammadabad et al., 2025). عدم تعادل این عناصر، که اغلب در خاک‌های کشاورزی مشاهده می‌شود، ضرورت راهبردهای دقیق کوددهی را برجسته می‌کند. کشاورزی متعارف در دهه‌های اخیر با چالش‌های زیست-محیطی جدی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی روبرو بوده که منجر به کاهش ماده آلی خاک، اسیدی شدن، آلودگی منابع آبی و تهدید تنوع زیستی شده است. هرچند کودهای شیمیایی رشد سریع ایجاد می‌کنند، اما اثرات بلندمدت منفی بر ساختار و حاصلخیزی خاک دارند. در مقابل، کودهای زیستی مبتنی بر ریزجانداران مفید (تثبیت‌کننده‌های N، حل‌کننده‌های P و K) دسترسی به این عناصر پر مصرف را از طریق مکانیسم‌های طبیعی تسهیل می‌کنند. مقایسه مطالعات نشان می‌دهد که کودهای زیستی عملکرد محصول را ۱۰-۴۰ درصد افزایش می‌دهند، با اثرات برتر در خاک‌های فقیر و اقلیم‌های خشک، اما کارایی آن‌ها اغلب ناسازگار است و در شرایط مزرعه‌ای کمتر از آزمایش‌های کنترل‌شده ظاهر می‌شود، که عمدتاً ناشی از عوامل محیطی مانند pH خاک، رقابت میکروبی و کمبود ماده آلی است. برای رفع این محدودیت‌ها، مهندسی ژنتیکی ریزجانداران پیشنهاد شده تا بقا و عملکرد در شرایط سخت بهبود یابد (Ali et al., 2020). سویه‌های اصلاح‌شده می‌توانند جذب NPK، تولید هورمون‌ها و مقاومت به تنش را تقویت کنند و حتی گیاهان غیربقولات را قادر به تثبیت نیتروژن سازند.

کودهای زیستی از مکانیسم‌های مستقیم (تثبیت N، انحلال P/K) و غیرمستقیم (تولید فیتوهورمون، کنترل پاتوژن) بهره می‌برند. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF) سطح جذب ریشه را تا ۱۰۰ برابر افزایش داده و

غلاف و گل) است (Golestanifar et al., 2024). گیاهان در برابر تنش‌های خشکی و شوری سه استراتژی اصلی دارند: الف) سازگاری از طریق کاهش مصرف منابع و تنظیم رشد (مانند اکالیپتوس، آگاو و کاکتوس ساگارو)، ب) اجتناب با چرخه زندگی کوتاه یا فرار از دوره تنش (مانند گیاهان یک‌ساله‌ای چون چنگ مریم^۷)، و ج) تحمل که اغلب با کاهش عملکرد همراه است (مانند ذرت، جو و سویا). گونه‌هایی مانند سالیکورنیا و گز نیز به شوری سازگارند.

گیاهان در طول تکامل، راهبردهای دفاعی مختلفی برای مقابله با خشک‌سالی توسعه داده‌اند، از جمله: تنظیم باز شدن روزنه‌ها، تنظیم اسمزی (مانند تجمع مواد محلول برای حفظ فشار سلولی)، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد). این مکانیسم‌ها به گیاهان اجازه می‌دهند در برابر خشک‌سالی مقاومت کنند (Saeidnia and Hamid, 2024). اگرچه روش‌های مهندسی ژنتیک برای افزایش تحمل گیاهان به خشک‌سالی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اما مقررات سختگیرانه، کاربرد عملی آن‌ها در کشاورزی را محدود کرده است. از سوی دیگر، استفاده طولانی‌مدت از آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی اگرچه در کوتاه‌مدت مؤثرند، اما باعث کاهش کیفیت خاک، تجمع فلزات سنگین و تهدید سلامت انسان و محیط‌زیست می‌شوند. بنابراین، استفاده از عوامل میکروبی به‌عنوان روشی ایمن و سازگار با محیط‌زیست برای بهبود مقاومت گیاهان به خشک‌سالی، اهمیت بالایی دارد. میکروب‌ها با گیاه میزبان رابطه همزیستی متقابل برقرار می‌کنند: گیاه مواد مغذی را تأمین می‌کند و میکروب‌ها با تولید هورمون‌های مهم، سازگاری گیاه با تنش را افزایش می‌دهند (Pavithra and Yapa, 2018). فارچ-های میکوریزا با افزایش جذب آب و مواد مغذی از خاک، تولید اسمولیت‌ها (مانند پرولین) و کاهش آسیب اکسیداتیو، به گیاهان در مقابله با خشک‌سالی کمک می‌کنند. باکتری‌های محرک رشد با ترشح فیتوهورمون‌ها (مانند اکسین و

دسترس‌ی به فسفر کم‌متحرک را بهبود می‌بخشند (Mirzaei et al., 2023). باکتری‌هایی مانند ریزوبیوم و آزو اسپیریولوم^۸ تا ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن تثبیت می‌کنند. کاربرد مداوم (۳-۴ سال) جمعیت میکروبی مفید را احیا کرده، ساختار خاک، pH و ظرفیت نگهداری آب را بهبود می‌بخشد و مصرف کود شیمیایی را تا ۵۰ درصد کاهش می‌دهد. مطالعات میدانی کاربرد ترکیبی را مؤثرتر می‌دانند، اما تأکید می‌کنند که اثربخشی به سازگاری سویه‌ها با شرایط محلی خاک بستگی دارد (Maquén-Perleche et al., 2023). از مزایای برجسته کودهای زیستی، افزایش مقاومت به تنش خشکی است که در مناطق خشک ایران حیاتی است. گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا تا ۳۰ درصد رطوبت بیشتری ذخیره کرده، تخلخل خاک را افزایش و چگالی ظاهری را کاهش می‌دهند.

کودهای زیستی و مدیریت تنش‌های غیرزیستی

خشکی، شوری و تغییرات اقلیمی

خشک‌سالی ۴۵ درصد از کل زمین‌های قابل کشت در دنیا را تحت تأثیر قرار داده و پیامدهای منفی برای سیستم‌های زیست‌محیطی، اقتصادی و اجتماعی دارد. کمبود آب، چرخه‌های نیتروژن و کربن در اکوسیستم‌ها را مختل می‌کند، که چالشی جدی برای کشاورزی پایدار جهت تأمین امنیت غذایی جمعیت رو به رشد جهان است (AghaKouchak et al., 2021). بروز خشک‌سالی و تنش شوری یک سری از تغییرات را در گیاهان ایجاد می‌کند که از آن جمله می‌توان بر تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک اشاره کرد. تأثیرات سلولی و بیوشیمیایی شامل: اختلال در گسترش، تقسیم و تمایز سلولی، کاهش جذب و انتقال مواد مغذی خاک، کاهش فعالیت آنزیم اصلی فرآیند تثبیت کربن^۷ و محدودیت فتوسنتز است. تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده در اثر خشکی و تنش شوری شامل: کاهش گسترش برگ، بسته شدن روزنه‌ها و پیری زودرس برگ، کاهش پتانسیل آب در اندام‌های مختلف گیاهی (برگ،

⁷Rubisco

⁸ Anastatica hierochuntica

جیبرلین) و متابولیت‌های دیگر، رشد گیاه را تحت شرایط خشکی تقویت می‌کنند. جنس‌های رایج این باکتری‌ها شامل باسیلوس، پسودوموناس، ریزوبیوم و آزوسپریلیوم است. سیانوباکتری‌ها: گونه‌هایی مانند آنابنا و نوستوک با ترشح ترکیبات فعال زیستی (اسیدهای آمینه، پلی‌ساکاریدها و ویتامین‌ها)، رشد گیاهان تحت تنش خشکی را بهبود می‌بخشند. به عنوان مثال، گیاهان گندمی که بذرها را با سیانوباکتری‌ها تیمار شده‌اند، در مقایسه با گیاهان شاهد، محتوای آب نسبی، کلروفیل و فعالیت فتوسنتزی بالاتری نشان می‌دهند (Sneha et al., 2023). ترکیبات طبیعی مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، قندها و پلی‌آمین‌ها نیز با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، تعادل مواد مغذی و القای ژن‌های پاسخ‌دهنده به خشکی، مقاومت گیاهان را افزایش می‌دهند.

قارچ‌های اندوفیت (ریشه‌زی): همزیستی‌های ریشه‌ای برای مقاومت به بیماری‌ها، تنش‌ها و بهبود رشد

به همه موجوداتی که در اندام‌های گیاهی ساکن می‌شوند و در دوره‌هایی از چرخه زندگی خود می‌توانند بافت‌های داخلی گیاه را بدون ایجاد آسیب آشکار برای میزبان کلونیزه کنند قارچ‌های اندوفیت گفته می‌شود (Kavehnia et al., 2023). این ریزجانداران نقش کلیدی در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی (بیماری‌زها) و غیرزیستی (مانند خشکی، شوری) دارند. اندوفیت‌ها ممکن است مقادیر فراوانی از ترکیبات با پتانسیل کاربردی در کشاورزی، صنعت و پزشکی مدرن تولید کنند، مانند آنتی‌بیوتیک‌های نوین (Lugdunin, Teixobactin, Odilorhabdin)، ضدقارچ‌ها، سرکوب‌کننده‌های سیستم ایمنی و ترکیبات ضدسرطان. گیاهان دارویی به عنوان مخزنی از اندوفیت‌های قارچی حاوی متابولیت‌های نوین با اهمیت دارویی شناخته شده‌اند. ترکیبات طبیعی متنوع تولید

شده توسط قارچ‌های اندوفیت، دارای ساختارهای منحصر به فرد و فعالیت‌های زیستی چشمگیری هستند که نشان‌دهنده منبع عظیمی با پتانسیل گسترده برای استفاده در پزشکی، کشاورزی و صنعت است. از جمله ترکیبات دیگری که توسط اندوفیت‌ها تولید می‌شود ترکیباتی مانند تاکسول^۹ است که در درمان سرطان پستان استفاده می‌شود (Ashnavar et al., 2022). در پژوهشی با غربالگری ۶۵۰۰ جدایه اندوفیت از گیاهان مختلف مشخص شد که اندوفیت‌های جدا شده از زیستگاه‌های خاص (مانند گیاهان دارویی) فعالیت زیستی بالاتری در مهار جلبک‌ها و علف‌های هرز نشان می‌دهند. گیاهانی مانند خرزمره (*Catharanthus roseus*) و سرخدار (*Taxus spp*) میزبان اندوفیت‌های تولیدکننده ترکیبات ضدسرطان هستند. به عنوان نمونه اندوفیت *Pestalotiopsis microspora* از سرخدار، تاکسول تولید می‌کند.

سه گونه *Talaromyces*، *T. trachyspermus* و *Pseudeurotium ovale* از کلزا *Brassica napus* و گونه *Fusarium napiforme* از ذرت *Zea mays* برای نخستین بار از ایران گزارش شده‌اند. دو گونه *Fusarium* و *Cladosporium cladosporioides* از گاوچاق کن *Lactuca serriola* گونه‌های *Alternaria alternata* و *Podospora anserina* از سویا *Glycine max*، گونه *A. alternata* از گل‌گاوزبان بدل *Nonea annua*، دو گونه *Talaromyces trachyspermus* و *Trametes trogii* از کلزا، گونه *C. cladosporioides* از خربزه وحشی *Cucumis melo* و گونه‌های *Biscogniauxia mediterranea* و *Fusarium incarnatum* از گاوپنبه *Abuthilon theophrasti* گونه *F. napiforme* از ذرت، گونه *Trichoderma sp.* از گشنیز *Coriandrum sativum* و گونه *C. cladosporioides* از تاج خروس *Amaranthus retroflexus*، برای نخستین بار در دنیا از میزبان‌های گیاهی جدید در ایران گزارش شده است. همچنین از سویا

⁹ Taxol

عملکرد آن به اثبات رسیده است می‌توان به *Beauveria bassiana* در گیاه میزبان لوبیا (افزایش رشد، مکانیسم نامشخص)، *Pochonia chlamydosporia* در گیاه میزبان گوجه‌فرنگی (افزایش رشد ریشه و ساقه، کنترل نماتد)، *Serendipita indica* در گیاه *Arabidopsis* (افزایش وزن خشک ریشه و ساقه، هم در حالت انفرادی و هم همراه با ریزوباکتری‌ها)، *Epichloë trembladerae* در هویج (افزایش رشد گیاه، تغییر در ترشحات ریشه برای تقویت همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار)، *Phoma sp* در گیاه ذرت (افزایش رشد گیاه، توسعه سیستم ریشه)، *Fusarium equiseti* در گیاهان خیار و نخود (کاهش آنتراکنوز و پوسیدگی ریشه، افزایش وزن خشک ساقه خیار) اشاره کرد (Rajini et al., 2020). خلاصه عملکرد قارچ‌های اندوفیت و تأثیر آن‌ها بر گیاه در (جدول ۱) نگاشته شده است.

گونه *Fusarium solani* از کلزا گونه *Fusarium avenaceum* و از ذرت دو گونه *Fusarium brachygibbosum* و *Fusarium fujikuroi* برای نخستین بار در ایران از میزبان‌های گیاهی جدید گزارش شده است (Sima, et al., 2005).

سازوکارهای عمل این قارچ‌ها شامل بهبود جذب آب و مواد مغذی، ترشح هورمون‌های رشد (جبرلیک اسید، اسید ایندول استیک)، متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با خشکی (ژن‌های کدکننده آکواپورین و پروتئین‌های شوک حرارتی) است (Scholz et al., 2023). از گونه‌های مؤثری از این قارچ‌ها که به عنوان کود زیستی تولید و وارد بازار شده است می‌توان به *Rhizophagus irregularis* و گونه‌های شورپسند مانند *Neocamarosporium goegapense* در گیاهان دولپه‌ای اشاره کرد (Bilal et al., 2020). از گونه‌های مهم دیگر قارچ‌های اندوفیت که قابلیت کود زیستی داشته و

جدول ۱- خلاصه عملکرد قارچ‌های اندوفیت و تأثیر بر گیاه

Table 1. Summary of endophytic fungal function and effect on the plant

منابع References	توضیحات Description	موضوع Topic
Schulz et al., 2002	موجوداتی که بدون آسیب به گیاه در بافت‌های داخلی آن زندگی می‌کنند. Organisms that live in the internal tissues of a plant without harming it.	تعریف قارچ‌های اندوفیت Definition of endophytic fungi
Kavehnia et al., 2023	تبادل مواد مغذی و ایجاد تحمل در برابر تنش‌ها Nutrient exchange and stress tolerance	همزیستی با گیاه Symbiosis with plants
Nazari et al., 2021	مقاومت به خشکی، شوری و بیماری‌زها Resistance to drought, salinity and pathogens	نقش در تنش‌زدایی Role in de-escalation
Ashnavar et al., 2022	آنتی‌بیوتیک‌ها، ضد سرطان، ایمونوساپرسانت‌ها مانند تاکسول Antibiotics, anticancer drugs, immunosuppressants such as Taxol	تولید ترکیبات زیستی Production of biological compounds
Schulz et al., 2002	گیاهان دارویی مانند خرزهره و سرخدار Medicinal plants such as oleander and yew	منابع اندوفیت‌های دارویی Sources of medicinal endophytes
Sima et al., 2005	<i>Piriformospora indica</i> , <i>Epichloë spp</i> , <i>Fusarium spp</i> , <i>Talaromyces spp</i>	گونه‌های کلیدی Key species
Scholz et al., 2023	ترشح هورمون رشد، آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم ژن‌های مرتبط با تنش Growth hormone secretion, antioxidants, regulation of stress-related genes	مکانیزم‌های عملکرد Mechanisms of action

مایکوریزا: پل ارتباطی بین گیاه و خاک برای جذب بهینه مواد مغذی

چهار گروه اصلی مایکوریزا شامل اکتومایکوریزا (*EcM*)، مایکوریزا آربوسکولار (*AMF*)، مایکوریزا ارکیده (*OrM*) و مایکوریزا رودودندرون (*ErM*) هستند. تلقیح مایکوریزا منجر به بهبود جذب آب و مواد مغذی، افزایش نرخ فتوسنتز، تنظیم فشار اسمزی و افزایش تحمل به خشکی می‌شود. این قارچ‌ها کربوهیدرات‌ها را از گیاه دریافت می‌کنند و در عوض مواد معدنی را به گیاه تحویل می‌دهند. شبکه هیف‌های قارچی^{۱۰} چرخه مواد مغذی، ذخیره کربن، و تشکیل خاکدانه‌ها را بهبود می‌بخشد (Sepasi et al., 2024). فرآیند قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا برای بهبود رشد در سویا و ذرت شامل بهبود معماری ریشه و کارایی مصرف آب، کاهش آسیب اکسیداتیو و تنظیم هورمون‌های درونزا (Pavithra and Yapa, 2018)، القای بیان ژن‌های آکوپورین (*GintAQPF1/2*)، پروتئین^{۱۱} LEA و ژن‌های بیوستنز پرولین تحت تنش خشکی، تعدیل سطح اسید آبسزیک اسید و کاهش بیان ژن‌های ۳-۱۴ GF و IPS برای حفظ آب سلولی در ذرت است. مشابه این فرآیند در تنباکو، لیلیکی ایرانی و کینوا نیز دیده شده است (Rostami et al., 2024). قارچ‌های مایکوریزا با افزایش جذب عناصر کم‌مصرف و کاهش نیاز به کودهای شیمیایی، به پایداری بلند مدت خاک کمک می‌کنند. ترشحات هیف‌های این قارچ‌ها و همکاری با میکروبیوم هیفوسفر، تجزیه مواد آلی و معدنی را تسهیل می‌کند. انتقال کربن از گیاه به خاک از طریق هیف‌های قارچی، ترسیب کربن در خاک را افزایش می‌دهد و در کاهش تغییرات اقلیمی مؤثر است (Sepasi et al., 2024). شبکه‌های هیف‌های این قارچ‌ها با ایجاد چسبندگی بین ذرات خاک، از فرسایش و فشردگی خاک جلوگیری می‌کنند.

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نقش مهمی در جذب و انتقال مواد مغذی در سیستم‌های خاک-گیاه ایفا

می‌کنند. این کودهای زیستی به‌طور قابل‌توجهی کارایی استفاده از فسفر و کارایی استفاده از نیتروژن را افزایش می‌دهند. به‌ویژه، کودهای زیستی دارای هر دو ویژگی تثبیت نیتروژن و حل‌کنندگی فسفر، بیشترین پتانسیل را برای بهبود عملکرد محصول نشان می‌دهند. جالب توجه است که قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، به عنوان گروهی از ریزجانداران خاک که همزیستی متقابلی با اکثر گیاهان خشکی برقرار می‌کنند، به دلیل توانایی خود در بهبود جذب مواد مغذی گیاه و مقاومت به تنش‌های غیرزیستی مختلف مانند خشکی شناخته شده‌اند (Negi et al., 2023). این قارچ‌ها ساختارهای آربوسکول را در سلول‌های پوستی ریشه گیاهان میزبان خود تشکیل می‌دهند که در آن مواد معدنی غیرآلی، به‌ویژه فسفر و ترکیبات کربن را مبادله می‌کنند. با وجود فراوانی و طیف گسترده روابط آن‌ها با گونه‌های گیاهی، تنها حدود ۲۴۰ گونه در شاخه *Glomeromycota* توصیف شده‌اند.

کشاورزی فشرده (استفاده بیش از حد از کودهای معدنی نیتروژن و فسفر، تک‌کشتی، شخم زدن مستمر، و مصرف آفت‌کش‌ها) سبب کاهش فراوانی و تنوع جوامع میکوریزا می‌شود (Babalola et al., 2022). در مقابل استفاده از کودهای آلی، مصرف متعادل کودهای فسفره و تنوع کشت شرایط مطلوبی را برای قارچ‌های میکوریزا فراهم می‌کند. اندازه‌گیری‌های میدانی نشان می‌دهند که پارامترهای AMF مانند تراکم اسپور، زیست‌توده، کلونیزاسیون ریشه، و نشانگرهای زیستی (اغلب ارتباط مستقیمی با عملکرد محصول ندارند. این موضوع به بحث درباره اهمیت میکوریزا در افزایش عملکرد محصولات و مناسب بودن روش‌های ارزیابی کنونی دامن زده است. تحلیل‌های اخیر حاکی از آن است که مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزا در مزارع می‌تواند باعث افزایش عملکرد غلات شود، اما این اثر در مطالعاتی که از مایه‌زنی استفاده نشده، کم‌رنگ‌تر است. آزمایش‌های مزرعه‌ای در ایران و سوئیس نشان داده است که واکنش رشد ذرت به مایه‌زنی قارچ‌های

^{۱۱}پروتئین‌های تجمع‌کننده در اواخر دوره جنینی

^{۱۰}mycelium

پروتئین‌های گلوبالین^{۱۲} گروهی از پروتئین‌های مقاوم به حرارت و گلیکوپروتئین‌ها هستند که عمدتاً توسط قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار تولید می‌شوند. این پروتئین‌ها در دیواره هیف‌ها و اسپوره‌های قارچی ذخیره شده و پس از مرگ قارچ، به خاک آزاد می‌شوند. این پروتئین‌ها سالانه ۰/۹ تا ۵/۷ مگاگرم در هکتار تولید شده و از ۶ تا ۴۲ سال در خاک باقی می‌مانند. در خاک‌های مرتعی و جنگلی، آربوسکولار میکوریزا با افزایش کربن آلی خاک، ماکرواگرگیت‌ها و سطح پروتئین‌های گلوبالین مرتبط است، اما این ارتباط در خاک‌های زراعی ضعیف‌تر است (Mao et al., 2019). این یافته‌ها نشان می‌دهند آربوسکولار میکوریزا نه تنها در جذب مواد مغذی، بلکه در ترسیب کربن و کاهش تغییرات اقلیمی نقش کلیدی ایفا می‌کنند. ریشه گیاهان و AMF از عوامل اصلی تشکیل خاکدانه‌ها هستند. در مناطق نفوذ گسترده ریشه (مثل زمین‌های کشاورزی)، تأثیر ریشه‌ها بر تشکیل خاکدانه‌ها ممکن است قوی‌تر از آربوسکولار میکوریزا باشد. در مناطق بدون ریشه (خارج از ناحیه ریشه)، نقش آربوسکولار میکوریزا در تشکیل خاکدانه‌ها پررنگ‌تر است (Ziaean et al., 2020). خلاصه‌ای از برخی کارکردهای قارچ‌های میکوریزا بر رشد گیاهان در (جدول ۲) نگاشته شده است.

میکوریزا بین ۱۲ درصد کاهش تا ۴۰ درصد افزایش متغیر است که با فراوانی قارچ‌های بیماری‌زا مرتبط است (Lutz et al., 2023).

قارچ‌های میکوریزا سالانه حدود ۳۶ درصد از انتشار دی اکسیدکربن (CO₂) ناشی از سوخت‌های فسیلی را از طریق تخصیص کربن به شبکه زیرزمینی هیف‌های خود جذب می‌کنند (Hawkins et al., 2023). ورودی کربن به خاک توسط قارچ‌های میکوریزا از طریق منابعی مانند: بقایای گیاهی، ترشحات ریشه، هیف‌ها، ترشحات بقایای قارچی، پروتئین‌های گلوبالین، میکروب‌های مرتبط با هیف‌ها افزایش می‌یابد و به تشکیل مواد آلی معدنی شده کمک می‌کند. سازوکار ترسیب کربن توسط آربوسکولار میکوریزا شامل افزایش ترشحات ریشه‌ای است. گیاهان میکوریزایی مانند گوجه‌فرنگی و ذرت، به ترتیب ۳۳ درصد و ۴۷ درصد ریزودپوزیسیون بیشتری دارند (Zhao et al., 2019). تجزیه بقایای آلی؛ آربوسکولار میکوریزا در بیشتر موارد تجزیه بقایای آلی و آزادسازی نیتروژن را تسریع می‌کنند، ترشحات هیف‌ها (قندها، کربوکسیلات‌ها و اسیدهای آمینه) با مواد معدنی خاک ترکیب شده و مواد آلی معدنی شده تشکیل می‌دهند (Liang et al., 2017).

جدول ۲- خلاصه‌ای از برخی کارکردهای قارچ‌های میکوریزا بر رشد گیاه

Table 2 - Summary of some functions of mycorrhizal fungi on plant growth

منابع References	اثرات اصلی Main effects	سازوکارها Mechanisms	دسته‌بندی Category
Sepasi et al., 2024	افزایش جذب فسفر و نیتروژن، کاهش نیاز به کود شیمیایی Increased absorption of phosphorus and nitrogen, reducing the need for chemical fertilizers	گسترش شبکه هیف‌ها برای انتقال P، N و عناصر کم‌مصرف Expansion of hyphal networks for the transport of P, N and trace elements	جذب مواد مغذی Absorption of nutrients
Pavithra and Yapa, 2018	افزایش تحمل به کم‌آبی، بهبود کارایی مصرف آب Increased tolerance to water deficit, improved water use efficiency	تنظیم فشار اسمزی، القای بیان ژن‌های آکوپورین، تنظیم ABA و ژن‌های LEA Regulation of osmotic pressure, induction of aquaporin gene expression, regulation of ABA and LEA genes	بهبود مقاومت به خشکی Improved drought resistance
Sepasi et al., 2024	بهبود تخلخل خاک، تثبیت کربن، کاهش فرسایش Improve soil porosity, carbon fixation, reduce erosion	تشکیل خاکدانه‌ها، انتقال کربن به خاک، سنتز GRSP Aggregate formation, carbon transfer to soil, GRSP synthesis	ساختار خاک و ترسیب کربن Soil structure and carbon sequestration
Lutz et al., 2023	افزایش کارآمدی مایه‌زنی و عملکرد محصول Increasing inoculation efficiency and crop yield	تعامل با باکتری‌ها و قارچ‌های دیگر در اطراف هیف Interaction with other bacteria and fungi around hyphae	تعادل میکروبیوم هیفوسفر Hyfosphere microbiome balance
Ali et al., 2020	بهبود مدیریت N و P، کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای Improving N and P management, reducing emissions	کاهش اتلاف NO_3^- و P، کاهش انتشار N_2O Reduce NO_3^- and P losses, reduce N_2O emissions	کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای Reducing greenhouse gas emissions
Babalola et al., 2022	حفظ فراوانی AMF، پایداری بلندمدت خاک Maintaining AMF abundance, long-term soil stability	تأثیر تنوع کشت و مصرف کودها بر AMF The effect of crop diversity and fertilizer use on AMF	تنوع زیستی و مدیریت زراعی Biodiversity and crop management

تریکودرما: سربازان نامرئی کنترل زیستی در خاک

قارچ‌های تریکودرما علاوه بر ترشح متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های هیدرولیتیک نیز تولید می‌کنند که ساختار گیاه (تحریک رشد ریشه و ریشه‌چه‌ها، تقویت دیواره سلولی، افزایش محتوای کلروفیل، افزایش ضخامت و استحکام ساقه، فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی دفاعی گیاه) را بهبود می‌بخشند. گزارش شده است که قارچ *Trichoderma fungalis* با گونه‌های گیاهی رابطه همزیستی برقرار می‌کند. در پژوهش دیگری نیز مشخص گردید که گونه *Trichoderma spp* طول ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی را به ترتیب به میزان ۵۴ و ۴۵/۵ درصد، و نیز وزن خشک ریشه و ساقه، به ترتیب به میزان ۸۰ و ۶۰ درصد در مقایسه با شاهد سالم افزایش داده است (Heidarzadeh et al., 2016).

پراکنش و استقرار سویه‌های تریکودرما عمدتاً تحت تأثیر مؤلفه‌های زیست‌محیطی مانند pH، رطوبت، دمای خاک، ماده آلی، تهویه خاک، محتویات مغذی و انواع گیاهان قرار می‌گیرد. تریکودرما هارزیانوم از جمله قارچ‌های گونه تریکودرما است که یک قارچ غیرجنسی فراگیر است و به عنوان عامل کنترل بیولوژیک علیه چندین قارچ بیماری‌زای گیاهی به کار می‌رود. استقرار این قارچ در ریشه، رشد ریشه و کل گیاه کاکائو را تقویت کرده و در نتیجه بهره‌وری و عملکرد آن را افزایش می‌دهد (Akbari et al., 2024). این قارچ همچنین با تقویت ظرفیت آنتی-اکسیدانی گیاهان برای خشتی‌سازی بهتر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL)، اثرات منفی تنش کم‌آبی را کاهش می‌دهد. تریکودرما با افزایش جذب مواد مغذی و آب، تنظیم فیتوهورمون‌ها (مانند اتیلن، اسید آبسزیک، سیتوکینین،

اکسین، جیبرلین و زآتین) و فعال‌سازی مواد مغذی خاک از طریق ترشح آنزیم‌های خارج سلولی (مانند فسفاتاز، اوره‌آز و سوکراز) رشد گیاه را در تمام مراحل بهبود می‌بخشد. این قارچ به گیاهان کمک می‌کند تا در برابر تنش‌های زیستی (آفات و بیماری‌زها) و غیرزیستی (شوری، دماهای بالا و پایین، خشکی، فلزات سنگین و غیره) مقاومت کنند. همچنین در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی مانند *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium* و *Phytophthora* و غیره مؤثر است. در پژوهشی کاربرد پیش‌گیرانه گونه‌های بومی تریکودرما یعنی (*arviridae*, *virens.harzianum*) به صورت اسپور پاشی دو روز پیش از آلودگی مصنوعی فوزاریوم به‌طور معنی‌داری موجب کاهش درصد و شدت آلودگی فوزاریوم سنبله و افزایش وزن هزار دانه در گندم شد و به‌عنوان راهکاری مؤثر در مدیریت زیستی این بیماری شناخته گردید (Baghani et al., 2012).

Trichoderma بیان ژن‌های مرتبط با دفاع گیاه (مانند ژن‌های PR و مهارکننده‌های پروتئاز) را افزایش می‌دهد. در کل، انتقال ژن‌های خاص از تریکودرما به گیاهان (مثل آکوپورین‌ها) مقاومت به تنش‌ها را بهبود می‌بخشد. به عنوان مثال گونه بومی ایرانی تریکودرما هارزیانوم به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/5$)، درصد وقوع (۸/۳) و شدت (۴/۱) بیماری پوسیدگی ریشه گندم، را ۳۵ روز پس از تلقیح کاهش و وزن هزار دانه (۳۸ گرم) را نسبت به تیمار شاهد در شرایط گلخانه‌ای افزایش داد. این قارچ با حل کردن مواد معدنی در خاک، دسترسی گیاهان به مواد مغذی مانند آهن، فسفر و نیتروژن و برخی ریز مغزی‌ها را افزایش می‌دهد و موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها می‌شود.

قارچ تریکودرما با افزایش تولید اسید ایندول استیک، رشد ریشه و وزن خشک را افزایش می‌دهد. از طریق افزایش جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم موجب کاهش مرگ گیاهچه‌ها می‌شود (Taufiq and

Yusnawan, 2020). گونه تریکودرما هارزیانوم با کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و افزایش تولید و فعالیت کاتالاز (CAT) و گونه تریکودرما citrinoviride با کاهش تولید H_2O_2 و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) موجب کاهش تنش اکسیداسیونی در گیاهان می‌شوند (Yasmeen and Shaheed Siddiqui, 2017,). گزارش شده است که گونه‌های مختلف تریکودرما نظیر *viride* در خاک‌های شور موجب افزایش تولید کلروفیل و آنتوسیانین، بهبود جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند (Soliman et al., 2020). تریکودرما *asperellum* موجب کنترل فوزاریوم^{۱۳} و رایزوکتنیا^{۱۴} در خاک‌های شور می‌شود.

سازوکار ایجاد آسیب برای گیاهان در اثر خشکسالی شامل: کاهش پتانسیل آب برگ و بسته شدن روزنه‌ها (اختلال در فتوسنتز و تنفس)؛ تغییر ساختار خاک (محدودیت در نفوذ ریشه و جذب آب و مواد مغذی) و آسیب اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی (افزایش گونه‌های اکسیژن فعال) است. قارچ‌های تریکودرما برای مبارزه با خشک‌سالی از طریق افزایش رشد ریشه (دسترسی بهتر به آب و عناصر غذایی) (Rawal et al., 2022)، افزایش کارایی مصرف آب (جلوگیری از هدر رفت آب به واسطه توسعه محیط جذب آب و افزایش خلل و فرج)؛ افزایش فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD موجب تنظیم آنتی‌اکسیدان‌ها شده و گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسیداز (POD) و مالون‌دی‌آلدئید^{۱۵} (MDA) کاهش می‌یابد (Pehlivan et al., 2018). تریکودرما با تنظیم هورمون‌های گیاهی از طریق کاهش تولید ABA (هورمون تنش) و افزایش تولید اکسین (IAA) موجب بهبود رشد گیاه می‌شود (Khoshmanzar et al., 2020). خلاصه‌ای از عملکرد گونه‌های مختلف قارچ‌های تریکودرما بر رشد گیاهان در (جدول ۳) نگاشته شده است.

^{۱۵}محصول نهایی و شاخص تجزیه اکسیداتیو لیپیدهای (چربی‌های) غشای سلولی بر اثر حمله ROS است.

^{۱۳}*Fusarium*
^{۱۴}*Rhizoctonia*

جدول ۳- خلاصه‌ای از عملکرد گونه‌های مختلف قارچ‌های تریکودرما بر رشد گیاه

Table 3 - Summary of the effect of different species of *Trichoderma* fungi on plant growth

منابع نمونه Sample Sources	اثرات اصلی Main Effects	سازوکارها Mechanisms	دسته‌بندی Category
Heidarzadeh et al., 2016	افزایش رشد ریشه، کلروفیل، ضخامت ساقه، زیست‌توده Increase root growth, chlorophyll, stem thickness, biomass	ترشح متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های هیدرولیتیک Secretion of secondary metabolites, hydrolytic enzymes	تحریک رشد گیاه Plant growth stimulation
Yang et al., 2021; Akbari et al., 2024; Heidarzadeh et al., 2016	افزایش مقاومت به خشکی، افزایش پرولین، رشد تحت تنش Increase drought resistance, increase proline, growth under stress	کاهش ROS، افزایش کارایی مصرف آب، تنظیم هورمون‌ها Reduction of ROS, increase in water use efficiency, regulation of hormones	تنش خشکی Drought stress
Yasmeen and Siddiqui, 2017	کاهش مرگ گیاهچه، بهبود کلروفیل، کنترل قارچ‌های بیماری‌زا Reduce seedling death, improve chlorophyll, control pathogenic fungi	افزایش جذب K^+ ، کاهش جذب Na^+ ، کاهش MDA، افزایش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی Increase in K^+ absorption, decrease in Na^+ absorption, decrease in MDA, increase in antioxidant enzymes	تنش شوری Salinity stress
Baghani et al., 2012	مهار <i>Rhizoctonia</i> ، <i>Fusarium</i> ، افزایش عملکرد گندم Suppress <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , increase wheat yield	تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک، متابولیت‌های آنتی‌بیوتیکی Production of hydrolytic enzymes, antibiotic metabolites	کنترل زیستی پاتوژن‌ها Biological control of pathogens
Baghani et al., 2012	تنظیم رشد و مقاومت به تنش Regulate growth and stress resistance	تنظیم ET، JA، IAA، ABA، افزایش زاتین و جیبرلین Regulation of ABA, IAA, JA, ET, increase in zeatin and gibberellin	تنظیم فیتوهورمون‌ها Regulation of phytohormones
Rawal et al., 2022	افزایش جذب N، P، Fe و بهبود جوانه‌زنی Increase N, P, Fe absorption and improve germination	ترشح آنزیم‌های فسفاتاز، اوره‌از، سوکراز Secretion of phosphatase, urease, sucrose enzymes	افزایش جذب عناصر غذایی Increase in nutrient uptake
Akbari et al., 2024	افزایش مقاومت به بیماری و تنش Increase disease and stress resistance	هم‌افزایی در بهبود مقاومت و زیست‌توده Synergy in improving resistance and biomass	هم‌زیستی با میکوریزا Symbiosis with mycorrhiza

محرك رشد گیاه نظیر *ازتوباکتر* علاوه بر تثبیت نیتروژن، با انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید هورمون‌های گیاهی مثل ایندول استیک اسید، هیدروژن سیانید، و سیدروفور موجب افزایش شاخص‌های رشد گیاه، جذب عناصر غذایی و عملکرد دانه گیاه برنج می‌گردند (Alikhani, et al., 2022).

یکی از مهم‌ترین نقش‌های باکتری‌های محرك رشد، تعدیل شبکه هورمونی گیاه در شرایط تنش است. این باکتری‌ها با کاهش سطح ACC (پیش‌ساز اتیلن)، تولید سیتوکینین‌ها و تنظیم تعادل (اسید آبسزیک (ABA))، موجب بهبود باز و بسته‌شدن روزنه‌ها، حفظ پتانسیل آب برگ و افزایش کارایی فتوسنتز می‌شوند. در این چهارچوب، سویه‌هایی نظیر *Bacillus subtilis*

باکتری‌های محرك رشد؛ از تثبیت نیتروژن تا

تنظیم شبکه‌های هورمونی و تنش

باکتری‌های محرك رشد ریزوسفری با کلونیزه کردن ریشه، ریزوسفر یا حتی اندام‌های هوایی گیاهان و سازوکارها شامل تثبیت نیتروژن، حل عناصر غذایی کم‌تحرک، تولید فیتوهورمون‌ها، سنتز سیدروفورها، آنزیم ACC دامیناز، ترکیبات ضدپاتوژن و تنظیم پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Upadhyay, et al., 2022). از ارکان کلیدی گذار از کشاورزی نهادمحور به کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند. به طوریکه علیخانی و همکاران (۱۴۰۱) در پژوهش‌های خود نتیجه گرفتند که باکتری‌های

افزایش جذب آهن و رقابت با پاتوژن‌ها، سلامت گیاه را بهبود می‌بخشد (Czarnes et al., 2020). در پسته، سویه‌های سیدروفورزا توانسته‌اند شاخص‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنولی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند (Bahraminejad et al., 2023). خلاصه‌ای از عملکرد برخی باکتری‌های محرک رشد در گیاه در (جدول ۴) نشان داده شده است. ویرایش ژنی با CRISPR-Cas9 و مهندسی متابولیک امکان افزایش تولید هورمون‌ها و بازده تثبیت نیتروژن را فراهم کرده است. با این حال، چالش‌های زیست‌محیطی، ایمنی زیستی و پذیرش مقرراتی این فناوری‌ها نباید نادیده گرفته شود.

Azospirillum و *Pseudomonas fluorescens* *brasilense* نه تنها رشد گیاه را تقویت می‌کنند، بلکه با فعال‌سازی مسیرهای دفاعی القایی، اثرات غیرمستقیم بر کاهش خسارت آفات نیز دارند؛ به طوری که در خیار، کاهش معنی‌دار باروری و طول عمر کنه تارتن دولکه‌ای گزارش شده است (Darini et al., 2025). در پژوهش دیگری استفاده از کود زیستی باکتری *سودوموناس فلورسنس* محرک رشد گیاه با توانایی حل‌پذیری فسفات‌های نامحلول در همه صفات، عملکرد بهتری از گیاه شاهد نشان داده است (Shariati et al., 2017). گزارش شده است که استفاده از حامل‌های حاوی مواد آلی بالا مانند ورمی‌کمپوست می‌تواند بقای باکتری را افزایش داده و منجر به بهبود کارایی مایه تلقیح بیولوژیک شود.

در یک مطالعه روی آفتابگردان سویه‌های مختلف *Pseudomonas* و *Bacillus* از خاک‌های ایران جدا و نشان داده شد که این باکتری‌ها باعث افزایش طول و وزن اندام‌های گیاهی می‌شوند (Sedri et al., 2022). در گندم‌های دیم نیز، کاربرد تجاری باکتری‌های محرک رشد مانند *Nitroxin* و *Nitrokarra* همراه با مدیریت مصرف کودهای شیمیایی منجر به افزایش عملکرد و کیفیت دانه شد، ضمن اینکه امکان کاهش مصرف نیتروژن، فسفر و روی را نیز فراهم کرد (Sedri et al., 2022). علاوه بر این، تلقیح بذر گندم با باکتری‌های *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum brasilense* و *Pseudomonas putida* تحت تنش شوری باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. باکتری‌هایی نظیر *Rhizobium*، *Mesorhizobium* و *Burkholderia* سالانه سهم قابل توجهی از نیتروژن خاک را تأمین می‌کنند. همچنین، باکتری‌های حل‌کننده فسفر و پتاسیم از طریق ترشح اسیدهای آلی، قابلیت جذب این عناصر را افزایش داده و نیاز به کودهای شیمیایی را تا حدود ۲۵-۳۰ درصد کاهش می‌دهند (Adnan et al., 2025). تولید سیدروفورها توسط *Pseudomonas* و *Bacillus* با

جدول ۴- خلاصه‌ای از عملکرد برخی باکتری‌های محرک رشد (PGPR) در گیاه

Table 4. Summary of the function of some plant growth promoting bacteria (PGPR) in plants

منابع References	اثرات اصلی Main effects	گونه‌های نمونه Example species	مکانیسم‌ها Mechanisms	دسته‌بندی Classification
Sheoran., et al., 2021	تبدیل N_2 به NH_4^+ ؛ کاهش ۵۰-۱۶٪ نیاز به کود ازتی Convert N_2 to NH_4^+ ; Reduce nitrogen fertilizer requirement by 16-50%	Rhizobium, Mesorhizobium, Burkholderia	نیتروژناز (نیتروژن هوازی) Nitrogenase (aerobic nitrogenase)	تثبیت نیتروژن Nitrogen fixation
Adnan et al., 2025; Breedt et al., 2025	افزایش جذب P و K تا ۲۵-۳۰٪ مصرف کود شیمیایی Increase P and K uptake by 25-30%; Reduce chemical fertilizer usage	Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter, Paenibacillus	ترشح اسیدهای آلی (گلوکونیک، کتوگلو تاریک، اگزالات، سیتریک) Excretion of organic acids (gluconic, ketoglutaric, oxalate, citric)	انحلال پذیری فسفر و پتاسیم Phosphorus and potassium solubility
Upadhyay et al., 2022	تحریک رشد ریشه و شاخساره؛ کاهش اتیلن تنش-زا Stimulate root and shoot growth; Reduce stress-inducing ethylene	Bacillus subtilis, Azospirillum brasilense	اکسین (IAA)، جیبرلین، ACC سیتوکینین؛ آنزیم دی‌آمیناز Auxin (IAA), gibberellin, cytokinin; ACC deaminase enzyme	تولید فیتوهورمون-ها Phytohormone production
Bahraminejad et al., 2023; Khoshru et al., 2020	بهبود جذب Fe؛ افزایش رنگ‌دانه‌ها و فعالیت فتوسنتز Improved Fe uptake; Increase pigments and photosynthetic activity	Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter cloacae	تولید مولکول‌های کم-جرم برای کمپلکس‌سازی Fe^{3+} Production of low-mass molecules for Fe^{3+} complexation	سیدروفور و جذب آهن Siderophore and iron uptake
Kumar et al., 2010; Fouzia et al., 2015	مهار پاتوژن‌های خاکریزی و پوسیدگی ریشه Suppress soil-borne pathogens and root rot	Pseudomonas fluorescens, Sinorhizobium fredii	تولید آنتی‌بیوتیک‌ها (۲،۴-DAPG، HCN) آنزیم‌های ضدقارچ Production of antibiotics (2,4-DAPG, (HCN, antifungal enzymes)	کنترل بیماری‌ها Disease control
Meena et al., 2016; Hou et al., 2018	تقویت تحمل خشکی، شوری و آلودگی؛ حفظ رطوبت و سلامت سلولی Enhance drought, salinity, and pollution tolerance; Maintain moisture and cellular health	B. amyloliquefaciens, B. musilagenosus, Actinobacteria + نانوذرات	افزایش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی (SOD، EPS، POD) آفت‌کش‌ها Increase in antioxidant enzymes (POD, SOD), EPS, degradation of pesticides	مقاومت به تنش‌ها Stress resistance

کودهای زیستی در ایران

سابقه تاریخی تولید و مصرف کودهای زیستی در ایران تولید و مصرف کودهای زیستی در کشور ایران بیش از دو دهه است که شروع شده و هر سال نیز شتاب بیشتری می‌گیرد. سابقه مصرف کود زیستی در ایران به سال ۱۳۴۰ بازمی‌گردد. با این حال، اولین گام مؤثر در ایران برای تولید و استفاده از کودهای زیستی مربوط به سال ۱۳۷۵ و به ایجاد بخش تحقیقات بیولوژی خاک در مؤسسه تحقیقات آب و خاک مرتبط است. در سال ۱۳۸۰ کود زیستی ریزوبیوم برای تلقیح سویا تولید و به بخش خصوصی واگذار گردید (Khosravi, 2022). در ادامه و در قالب برنامه‌های مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تولید و عرضه محصولات مبتنی بر باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، حل‌کننده فسفات و آهن، و تولیدکننده فیتوهورمون‌ها شکل گرفت. سهم کودهای زیستی از مصرف سالانه حدود ۳-۵ میلیون تن کود شیمیایی کشور همچنان کمتر از ۵ درصد برآورد می‌شود؛ رقمی که نشان‌دهنده شکاف عمیق میان سطح پژوهش‌های دانشگاهی و عرضه واقعی محصولات در بازار است. در سامانه جامع مواد کودی کشور (<https://www.kswri.ir>) بیش از ۱۶۰ نوع کود زیستی مایع و جامد ثبت رسمی شده است که وارد بازار و مصرف توسط کشاورزان شده‌اند.

سم و بهبوددهنده‌های رشد گیاه اقدام کند (<https://bbk.com/iran.com/content/17074>). طبق گزارش‌های بخش تحقیقات موسسه خاک و آب هفت استاندارد ملی در این زمینه تدوین شده است. این استانداردها شامل ۱- کودهای زیستی - به شماره استاندارد ۲۲۳۰۰، ۲- کودهای زیستی مایه تلقیح‌های حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۱، ۳- کودهای زیستی حاوی باکتری‌های ریزوبیوم - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۲، ۴- کودهای زیستی مایه تلقیح حاوی باکتری‌های کمپوست ساز - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۳، ۵- کودهای زیستی مایه تلقیح حاوی قارچ‌های میکوریز آربسکولار - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۴، ۶- کودهای زیستی حاوی ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۵، ۷- کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تیوباسیلوس - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره استاندارد ۲۲۳۰۶. فایل کامل این استانداردها در سایت سازمان ملی استاندارد (<http://standard.isiri.gov.ir>) در دسترس است.

وضعیت انتشارات علمی در حوزه کودهای زیستی

در ایران

در طی سال‌های اخیر طبق (شکل ۲) تا سال ۱۴۰۳ تعداد ۹۳۳ عنوان مقاله پژوهشی در حوزه کشاورزی و منابع طبیعی که در آن از کلمه کود زیستی استفاده شده به چاپ رسیده است (Magiran). همچنین در پایگاه داده Scince Direct نیز تعداد ۶۲ عنوان مقاله با موضوع کود زیستی^{۱۶} که در کشور ایران اجرا شده و در این پایگاه به چاپ رسیده است، مشاهده شد (شکل ۲). گرچه روند رشد تحقیق بر روی کودهای زیستی در کشور ما نیز مشهود است، اما این تحقیقات نسبت به کشورهای مطرح دیگر مانند هند، چین و آمریکا در رتبه‌های بسیار پایین‌تری است. در

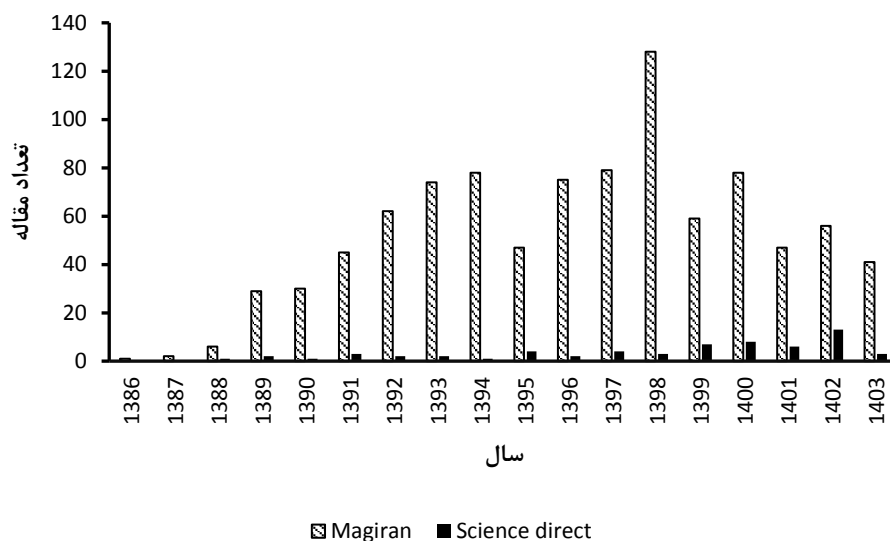
استانداردسازی کودهای زیستی در ایران

در این راستا و در سال‌های اخیر، با رأی نمایندگان مجلس شورای اسلامی، سازمان ملی استاندارد مکلف به تهیه استاندارد انواع کود، آفت‌کش‌ها و بهبوددهنده‌های رشد گیاه شد. بر اساس ماده ۹ اصلاح شده این لایحه، با هدف حفظ و پایداری حاصلخیزی انواع خاک و بهینه‌سازی تولید و مصرف انواع کود، آفت‌کش‌ها، سموم و بهبوددهنده‌های رشد گیاه، سازمان ملی استاندارد مکلف است که با همکاری وزارت بهداشت و درمان، سازمان حفاظت نسبت به تدوین استاندارد انواع کود، آفت‌کش‌ها،

¹⁶Biofertilizer

یافت شد. در مورد آفت‌کش‌های زیستی نیز متأسفانه مطالعات محدودی در این زمینه به چاپ رسیده است.

جستجوی همین عبارت برای کشور چین، هند و آمریکا به ترتیب ۴۲۰۰، ۴۶۰۰ و ۴۰۰۰ مقاله در همین بازه زمانی



شکل ۲- نمودار فراوانی مقالات مرتبط با موضوع کود زیستی در پایگاه‌های داده Magiran و Sciencedirect با محور ایران
Figure 3 - Frequency chart of articles related to the topic of biofertilizer in the Magiran and Sciencedirect databases with a focus on Iran

در مراحل مختلف رشد) موجب افزایش معنی‌دار درصد اسانس تا ۲/۲۳ درصد بازده تیمول تا ۷۴/۵۹ درصد در گیاه مرزه سهندی شد. همچنین، این کودهای زیستی با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز) و افزایش ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی (پرولین و فنل)، اثرات منفی تنش خشکی را کاهش داده و عملکرد سرشاخه گلدار و تولید اسانس را حتی در شرایط کم‌آبی بهینه کردند (Zakerian et al., 2025). استفاده از عصاره جلبک دریایی سارگاسوم (2 g.L^{-1}) در شرایط تنش خشکی ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی)، موجب افزایش معنی‌دار فنول کل (82 mg.g^{-1})، فلاونوئید کل (mg.g^{-1}) (۶۴/۳۳)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶ درصد) و عملکرد اسانس در گیاه ترخون شد. این تیمار با بهبود شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی، اثرات منفی تنش خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) را تعدیل کرده و به‌عنوان راهکاری مؤثر برای افزایش مقاومت گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه پیشنهاد گردید (Bakhshi et al., 2025). کاربرد ترکیبی کود گاوی (۴۰ تن در هکتار)، کود زیستی NPK و اسید جیبرلیک (250 ppm) موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته

پژوهش‌های میدانی و کاربردهای کودهای

زیستی در ایران

با مرور برخی از تحقیقات اجراء شده در زمینه کودهای زیستی این مهم روشن می‌شود که استفاده از این کودها با توجه به سویه‌های بومی آن‌ها می‌تواند تحولاتی بسیار مهم در امر کشاورزی کشور ما ایجاد بکند. به عنوان مثال، کاربرد کود زیستی (باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و قارچ میکوریزا) و نانو کودهای پتاسیمی میزان پروتئین و روغن دانه کینوا را به ترتیب ۶۷/۳ و ۹۰/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داده است (Mirtayebi et al., 2024). در پژوهشی با استفاده از عصاره جلبک دریایی (*Ascophyllum nodosum*) با غلظت ۰/۳ درصد عملکرد دانه و محتوای پروتئین سویا در هر دو شرایط بذر نرمال و فرسوده به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. در واقع کاربرد توام پیش تیمار و محلول‌پاشی با عصاره جلبک فوق جهت افزایش عملکرد دانه و درصد پروتئین در بذور نرمال و فرسوده سویا پیشنهاد شد (Arab et al., 2023). استفاده از قارچ‌های میکوریزایی *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* در شرایط تنش خشکی (قطع آبیاری

and Moghaddam, 2024). کلز/ نیز از جمله گیاهان حیاتی مؤثر در تولید روغن است و تحقیقات مختلفی بر روی آن انجام شده است. ترکیب کودهای زیستی از توبرور^۱ و فسفوبارور^۲ با 250 kg.h^{-1} نیتروژن، بیشترین تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه را در گیاه کلز/ ایجاد می‌کند و درصد روغن را نیز به‌طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد (Raei et al., 2025). استفاده ترکیبی از ورمی‌کمپوست (۱۵ درصد حجمی) و/زتوباکتر در شرایط تنش خشکی ملایم (۷۰ درصد ظرفیت زراعی)، موجب افزایش معنی‌دار فنل کل و حفظ محتوای نسبی آب برگ در گیاه علف چشمه شد، درحالی‌که در تنش شدید (۴۰ درصد) این کودها با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز) و بهبود رشد رویشی، نقش کلیدی در تعدیل اثرات تنش خشکی ایفا کردند (Mohebbi et al., 2024). استفاده ترکیبی از قارچ میکوریزا (*Funneliformis moseae*) و باکتری *Bacillus subtilis* تحت آبیاری پس از ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک، بالاترین وزن خشک اندام هوایی (21.71 g)، نیتروژن (23.58 mg.g^{-1}) و پروتئین برگ (50.69 mg.g^{-1}) را در گیاه ماریتیغال ایجاد کرد. این کودهای زیستی با بهبود جذب آب و عناصر غذایی و تقویت فتوسنتز، مقاومت گیاه به تنش خشکی شدید (۸۰ درصد تخلیه رطوبتی) را افزایش دادند و به عنوان راهکاری مؤثر برای کشت پایدار پیشنهاد شدند (Ghorbani et al., 2024). استفاده ترکیبی از کود زیستی میکوریزا و سوپر جاذب رطوبتی (80 kg.h^{-1}) در شرایط کم‌آبیاری شدید (۵۰ درصد نیاز آبی)، عملکرد سیب‌زمینی، بهره‌وری مصرف آب و کیفیت غده‌ها (شامل ماده خشک و بازارپسندی) را به‌طور معناداری افزایش داد و آلودگی به بیماری اسکب را کاهش داد (Parvizi and Ghadami Firoozabadi, 2024). قارچ اندوفیت *Aspergillus terreus* با افزایش سرعت جوانه‌زنی (۹۵ درصد) و ارزش جوانه‌زنی (۳/۷۳ درصد)، همراه با بهبود جذب فسفر برگ (۰/۵۱۹ درصد) و وزن

(۲۶،۵۳cm)، وزن پیاز مادر ($3/53 \text{ g}$) و تعداد پیازهای دختر (۱۳/۳۳ عدد) در واحد سطح در گیاه بن سرخ^{۱۷} شد. این تیمارها با بهبود عملکرد زیستی ۱۸ درصد افزایش و کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی، به‌عنوان راهکاری مؤثر برای کشت پایدار و حفاظت از این گونه بومی ایران پیشنهاد شدند (Sharifi et al., 2025). محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی در غلظت 1500 ppm در شرایط تنش شوری ($1/6 \text{ mmoh.cm}^{-1}$ تا ۸) با افزایش پروتئین، پتاسیم، کلروفیل و قندهای محلول، اثرات منفی شوری را در گل‌گاوزبان کاهش داد و جذب سدیم را تا ۱۵ درصد کم کرد. این عصاره با بهبود عملکرد فیزیولوژیکی گیاه و قیمت پایین، به‌عنوان کود زیستی مؤثر برای کشت در خاک-خاک‌های شور پیشنهاد شد (Rahimkhani et al., 2024). استفاده از ریزجانداران حل‌کننده پتاسیم مانند *Aspergillus niger* و *Pseudomonas fluorescens* به‌طور معنی‌داری رهاسازی پتاسیم از کانی‌های سیلیکاتی خاک را افزایش داده و رشد گیاه ذرت را بهبود بخشیدند. تیمار با باکتری *P. fluorescens* بیشترین تأثیر را نشان داد و موجب افزایش ۱۸/۲ درصدی ارتفاع گیاه، ۱۸/۲ درصدی قطر ساقه و ۸۰ درصدی وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین، این باکتری غلظت پتاسیم محلول و فسفر قابل‌دسترس خاک را به ترتیب ۱/۲ و ۱/۳ برابر نسبت به قارچ افزایش داد. این رویکرد به‌عنوان راهکاری کم‌هزینه و سازگار با محیط‌زیست برای جایگزینی کودهای شیمیایی پتاسیمی و تقویت کشاورزی پایدار پیشنهاد شد (Ashrafi Saeidlou et al., 2025). در اکثر پژوهش‌های انجام شده کودهای زیستی مبتنی بر میکوریزا/ تأثیری مهم بر رشد گیاه داشته‌اند. در پژوهشی که مرتبط با این موضوع است، مشخص گردید که تیمار قارچ میکوریزا/ به همراه اسید هیومیک در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در هر گلدان و اسید سالیسیلیک 200 mg.L^{-1} تیمار مؤثری برای بهبود رشد رویشی، صفات بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی در گیاه بادرنجبویه است (Mohamadabadi

¹⁷Allium jesdianum

مناسب کودهای شیمیایی و زیستی می‌تواند کیفیت اسانس و عملکرد اقتصادی مریم‌گلی را بهینه کند (Abbaszadeh et al., 2024). استفاده از قارچ میکوریزا در شرایط تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) موجب افزایش ۲۱۰ درصد عملکرد خشک بوته و بهبود شاخص‌های رشدی مانند کلروفیل و مساحت برگ در اکوتیپ‌های مختلف آویشن شیرازی نسبت به تیمار شاهد شد. تفاوت معنادار پاسخ اکوتیپ‌ها به تنش و میکوریزا، نشان‌دهنده پتانسیل ژنتیکی بالای این گونه بومی برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر و کشت پایدار در شرایط خشکی است (Aghababapoor et al., 2024). کودهای زیستی قارچی نسبت به کودهای زیستی باکتریایی کارایی بیشتری در بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه و فعالیت‌های آنزیمی خاک نشان می‌دهند. در بین فرمولاسیون‌های مختلف کودهای قارچی، فرم پودری قارچ میکوریز آریسکولار نسبت به فرم مایع از کارایی بیشتری در افزایش مقاومت گندم به تنش خشکی برخوردار بوده است. استفاده از قارچ میکوریز آریسکولار (فرم پودری) در شرایط تنش خشکی شدید (۶۵ درصد نیاز آبی) به‌طور معناداری فعالیت آنزیم‌های خاک (بتا-گلوکوزیداز و فسفاتاز) و شاخص‌های فیزیولوژیکی گندم (کلروفیل و کاروتنوئید) را بهبود بخشید، درحالی‌که باکتری *P. fluorescens* تولیدکننده ACC-دآمیناز تنها در کاهش پرولین (یکی از ۲۰ اسیدآمینو اصلی سازنده ساختمان پروتئین) مؤثر بود. تعامل مثبت بین فعالیت آنزیم‌های خاک و ویژگی‌های گیاهی تحت تأثیر کودهای زیستی، به‌ویژه قارچ‌ها، نقش کلیدی در افزایش مقاومت گندم به خشکی ایفا می‌کند (Hosseini et al., 2024). مایه‌زنی نهال‌ها با کودهای زیستی نیز از جمله موضوعات جذاب تحقیقاتی است. در یکی از این پژوهش‌ها که گیاه فندق مورد آزمایش قرار گرفته بود، نتایج پس از چهار سال نشان داد نهال‌های مایه‌زنی شده، از لحاظ همه مشخصه‌های مورد بررسی در مقایسه با نهال شاهد (مایه-زنی نشده) برتر هستند. به طوری که در این نهال‌ها، سطح برگ و سطح ویژه برگ به ترتیب ۴۰/۹ و ۲۱/۳ درصد و

خشک شاخساره ($16/40 \text{ mg.g}^{-1}$)، به‌عنوان گزینه برتر برای تولید کود زیستی جهت کشت جو شناسایی شد. این قارچ با کلونیزه‌سازی ریشه (بالای ۳۰ درصد) و تقویت شاخص‌های رشدی، راهکاری مؤثر برای افزایش بهره‌وری در کشاورزی است (Sadeghi et al., 2025). استفاده از قارچ مایکوریزا *G. etunicatum* موجب بهبود رشد رویشی (طول ساقه ۶۸,۳۵ سانتیمتر، وزن تر ریزوم ۵,۳۵ g) و افزایش فیبر ریزوم (۲۸/۴ درصد) در گیاه زنجبیل شد، درحالی‌که ترکیب این قارچ با تریکودرما بیشترین میزان اسانس (۴ درصد) و ترکیبات مؤثری مانند ژرانیال و کامفن را تولید کرد. این نتایج نشان می‌دهد کاربرد قارچ‌های مایکوریزا به‌ویژه *G. etunicatum* به‌عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود عملکرد و کیفیت زنجبیل در کشاورزی پایدار است (ezvaninia et al., 2024). ترکیب کودهای زیستی ازتوباکتر، پسودوموناس و باسیلوس با ورمی‌کمپوست (10 ton.h^{-1}) و کود شیمیایی NP (100 kg.h^{-1}) موجب افزایش ۷۶ درصد وزن خشک برگ و ۸۱ درصد وزن خشک بانه زعفران شد و بیشترین عملکرد گل تر (kg.h^{-1}) را در تیمار ورمی‌کمپوست + ۲۰۰ کیلوگرم NP ایجاد کرد (Alizadeh et al., 2024). استفاده ترکیبی از کود آلی (24 ton.ha^{-1}) و کود زیستی (مایکوریزا) یا ایتروباکتر) تحت آبیاری ۸۰ درصد نیاز آبی، عملکرد دانه ماش را تا $124/3 \text{ g.m}^{-2}$ افزایش داد، درحالی‌که آبیاری کامل (۱۰۰ درصد) با همین تیمارها به $126/1 \text{ g.m}^{-2}$ رسید. این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد کودهای آلی و زیستی، کاهش اثرات تنش خشکی و بهبود عملکرد ماش را حتی در شرایط کم‌آبی امکان‌پذیر می‌سازند (Sadeghi et al., 2024). Kochsafhani et al., 2024). استفاده از کودهای شیمیایی اوره و سوپرفسفات موجب افزایش ترکیباتی مانند آلفا-توجون (۲۵/۰ درصد) عملکرد اسانس تا kg.h^{-1} در مریم‌گلی شد، درحالی‌که کودهای زیستی (مایکوریزا و سودوموناس) سطوح لینالول و کامفن را بهبود بخشیدند. اگرچه درصد اسانس تحت تأثیر کودها قرار نگرفت که احتمالاً به علت عوامل ژنتیکی است، ترکیب

تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلیوم* است که علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف مورد نیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاهان مانند اکسین، همچنین ترشح آمینواسیدهای مختلف سبب رشد و توسعه ریشه و اندام‌های هوایی گیاه می‌گردد. در یکی از پژوهش‌هایی که با این ماده انجام شده است، مشخص گردید که استفاده از کود زیستی نیتروکسین به‌طور معناداری موجب بهبود عملکرد دانه (۴۴۳۸ کیلوگرم/هکتار)، پروتئین دانه (۳۲/۷۱ درصد) و موسیلاژ (۲۵/۸۶ درصد) در گیاه گوار می‌شود، درحالی‌که بیوسولفور (حاوی باکتری تیوباسیلوس) بیشترین تأثیر را بر تعداد دانه در نیام (۵/۱۷) و وزن هزار دانه (۳۵/۶۷ g) داشت. این نتایج نشان می‌دهد ترکیب نیتروکسین و بیوسولفور به‌عنوان راهکارهای مؤثر برای بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گوار در کشاورزی پایدار هستند (Jahantigh et al., 2024). قارچ‌های تریکودرما با هیف‌های گسترده یک شبکه قوی برای جذب عناصر غذایی ایجاد می‌کنند و در بهبود رشد گیاه بسیار مؤثرند. استفاده از قارچ‌های تریکودرما جهش‌یافته با تابش گاما به‌عنوان بیواستیمولانت (ریزجاندارانی هستند که هنگامی که به گیاهان یا خاک اعمال می‌شوند، سلامت، رشد یا تحمل به تنش گیاهان را بهبود می‌بخشند، اما به‌عنوان مواد مغذی عمل نمی‌کنند)، بهبود معناداری در سطح کلروفیل، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در گیاه کاهو ایجاد کرد، به‌طوری‌که این جهش‌ها نسبت به گونه‌های وحشی اثرات تقویتی قوی‌تری نشان دادند (Rezalou et al., 2023). استفاده از باکتری باسیلوس سابتیلوس^{۱۸} در شرایط تنش شوری (8 dS.m^{-1}) موجب کاهش نشت یونی برگ، افزایش آنتی‌اکسیدان و تعادل سدیم-پتاسیم در گل جعفری نارنجی شد و عملکرد بهتری نسبت به *Bacillus velezensis* نشان داد. این باکتری با بهبود شاخص‌های رشدی (قطر گل، وزن خشک اندام) و فیزیولوژیک (کلروفیل، پرولین)، راه‌کاری مؤثر

مشخصه‌های فیزیولوژیک شامل فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل و کارایی مصرف آب به ترتیب ۶۶/۸، ۶۵، ۴۰/۸ و ۱۴۶/۵ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشت. نهال‌های فندق میاه‌زنی شده با تریکودرما هارزیانوم در سه مبداء جغرافیایی فندقلو (اردبیل)، مکش (گیلان) و مکیدی (ارسباران) پس از چهار سال، بهبود معناداری در سطح برگ (۴۰/۹ درصد)، فتوسنتز (۶۶/۸ درصد)، هدایت روزنه‌ای (۶۵ درصد) و کارایی مصرف آب (۱۴۶/۵ درصد) نشان دادند، به طوری که نهال‌های مبداء فندقلو با افزایش کلروفیل (۴۰/۸ درصد)، به‌عنوان برترین تیمار برای کشت پایدار فندق در عرصه‌های جنگلی پیشنهاد شدند (Rostamikia et al., 2024). گیاه زعفران نیز از جمله گیاهان بسیار ارزشمندی است که نیازمند توجه بیشتر برای کسب درآمد اقتصادی بیشتر است و چون گیاهی با نیاز تغذیه‌ای و آبی کم است، تیمار آن با کودهای زیستی می‌تواند در تحقق تولید بیشتر راه‌گشای کشاورزان مناطق مختلف باشد. بررسی تأثیر کودهای زیستی و تنش خشکی بر میزان عناصر برگ و بنه و همچنین کیفیت کلاله در زعفران به‌صورت کم آبیاری در سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) به‌عنوان عامل اصلی و باکتری‌های آزادی تثبیت‌کننده نیتروژن (B-N)، باکتری‌های حل‌کننده پتاسیم (B-K)، باکتری‌های حل‌کننده فسفات (B-P)، ترکیب آن‌ها و شاهد بدون کود در هشت سطح به‌عنوان عامل فرعی نتایج جالبی را ایجاد کرده است. استفاده از کود زیستی ترکیبی NPK تحت آبیاری کامل (۱۰۰ درصد نیاز آبی) بیشترین تعداد بنه (۴۱۵ عدد/مترمربع) و وزن خشک کلاله (0.492 g.m^{-2}) را در زعفران ایجاد کرد، درحالی‌که حتی در شرایط تنش خشکی (۵۰-۷۵ درصد نیاز آبی)، کاربرد این کودها به‌طور معناداری عملکرد بنه و گل را بهبود بخشید. این نتایج نشان می‌دهد ترکیب کودهای زیستی با مدیریت آبیاری بهینه، راه‌کاری کلیدی برای کاهش مصرف آب و دستیابی به عملکرد اقتصادی مطلوب در کشت زعفران است (Ali et al., 2024). کود زیستی نیتروکسین حاوی موثرترین‌های

¹⁸*Bacillus subtilis*

برای کشت گل جعفری در خاک‌های شور و کاهش وابستگی به روش‌های شیمیایی است (Grayloo et al., 2024). در پژوهش دیگری از ۹ سویه برتر جنس سودوموناس، ۶ سویه باسیلوس سوبتیلیس و ۵ سویه باسیلوس تورنجینسیس به عنوان باکتری‌های محرک رشد و زیست مهارگر در بهبود رشد قارچ دکمه‌ای استفاده شد. استفاده از سویه‌های سودوموناس و باسیلوس سوبتیلیس، رشد میسلیم قارچ دکمه‌ای را به‌طور معناداری تحریک کرد، درحالی‌که سویه‌های منتخب *B.thuringiensis* به‌ترتیب بیشترین اثر مهارکنندگی را بر قارچ‌های بیماری‌زای تریکودرما و مایکوگون نشان دادند. ترکیب این باکتری‌ها به‌عنوان اجتماع زیستی، راهکاری امیدوارکننده برای افزایش عملکرد قارچ و کنترل همزمان پاتوژن‌ها در صنعت پرورش قارچ است (Asgharzadeh et al., 2024). خلاصه برخی از کودهای زیستی استفاده شده در پژوهش‌های ایرانی و تأثیر آن‌ها بر رشد گیاه در (جدول ۵) نگاشته شده است.

جدول ۵- برخی از کودهای زیستی استفاده شده در ایران و تأثیر آنها بر گیاه
Table 5 - Some of the biofertilizers used in Iran and their effects on plants

رفرنس Reference	سازوکار عمل mechanism of action	کارکرد اصلی Main function	منبع (کود زیستی) Source (biofertilizer)
Mirtayebi et al., 2024	تثبیت نیتروژن، بهبود جذب عناصر غذایی Nitrogen fixation, improved nutrient absorption	افزایش پروتئین و روغن دانه کینوا Increasing protein and oil in quinoa seeds	باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن + قارچ میکوریزا + نانوکود پتاسیمی Nitrogen-fixing bacteria + mycorrhizal fungi + potassium nanofertilizer
Arab et al., 2023	پیش تیمار و محلول‌پاشی، تحریک رشد و متابولیت‌ها Pretreatment and foliar spraying, growth stimulation and metabolites	افزایش عملکرد دانه و درصد پروتئین سویا Increasing grain yield and soybean protein percentage	عصاره جلبک دریایی (Ascophyllum nodosum) Seaweed extract
Zakerian et al., 2025	بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی Improvement of antioxidant enzyme activity and osmotic regulating compounds	افزایش اسانس و بازده تیمول در مرزه Increasing essential oil and thymol yield in savory	قارچ‌های میکوریزا Mycorrhizal fungi Glomus intraradices and G. mosseae
Bakhshi et al., 2025	بهبود شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی Improvement of growth and biochemical indices	افزایش فنول، فلاونوئید و عملکرد اسانس Increasing phenol, flavonoid and tarragon essential oil yield	ترخون Seaweed extract (Sargassum, 2 g/L)
Sharifi et al., 2025	بهبود عملکرد زیستی و کاهش وابستگی به کود شیمیایی Improvement of biological performance and reduction of dependence on chemical fertilizers	افزایش ارتفاع بوته، وزن پیاز مادر و تعداد پیازهای دختر در بن سرخ Increasing plant height, mother bulb weight and number of daughter bulbs in Allium jesdianum	اسید + NPK زیستی کود + گاوی کود ترکیبی جیبرلیک Combination of cow manure + NPK biofertilizer + Gibberellic acid
Rahimkhani et al., 2024	جذب سدیم Increase protein, potassium, chlorophyll and reduce sodium absorption	کاهش اثرات شوری در گل گاوزبان Reducing the effects of salinity in borage	عصاره جلبک دریایی (1500 ppm) Seaweed extract (1500 ppm)
Ashrafi Saeidlou et al., 2025	رها سازی پتاسیم از کانی‌های سیلیکاتی و بهبود جذب فسفر و پتاسیم Release potassium from silicate minerals and improve phosphorus and potassium absorption	افزایش رشد و ارتفاع گیاه ذرت Increase in corn plant growth and height	میکروارگانیسم‌های محلول‌ساز پتاسیم (Pseudomonas fluorescens and Aspergillus niger)
Mohamadabadi & Moghaddam, 2024	کلونیزه‌سازی ریشه و تحریک فعالیت آنزیم‌ها Root colonization and stimulate enzyme activity	بهبود رشد رویشی، صفات بیوشیمیایی و جذب عناصر بادرنجبویه Improvement in vegetative growth, biochemical traits and nutrient uptake of lemon balm	قارچ میکوریزا + اسید هیومیک + اسید سالیسیلیک Mycorrhizal fungi + humic acid + salicylic acid
Raei et al., 2025	بهبود جذب نیتروژن و متابولیت‌ها Improvement of nitrogen and metabolites absorption	افزایش تعداد دانه و عملکرد کلزا Increase in seed number and yield of rapeseed	ترکیب کودهای زیستی از توبرارور و فسفوبارور + نیتروژن Combination of biofertilizers Azotobaror and Phosphobaror + nitrogen
Mohebbi et al., 2024	بهبود رشد رویشی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی Improve vegetative growth and antioxidant enzyme activity	افزایش فنل کل و حفظ آب برگ در علف چشمه Increase in total phenols and leaf water retention in spring grass	ترکیب ورمی کمپوست + ازتوباکتر Combination of vermicompost + Azotobacter
Ghorbani et al., 2024	بهبود جذب آب و عناصر غذایی، تقویت فتوسنتز Improve water and nutrient absorption, enhance photosynthesis	افزایش وزن خشک اندام هوایی، نیتروژن و پروتئین برگ ماریتیغال Increase in shoot dry weight, nitrogen and leaf protein of marigold	میکوریزا + باسیلوس سبیلیس Mycorrhizal fungi + Bacillus subtilis
Parvizi & Ghadami Firoozabadi, 2024	بهبود بهره‌وری آب و کاهش بیماری Improve water efficiency and reduce disease	افزایش عملکرد و کیفیت غده سیب‌زمینی Increase in potato tuber yield and quality	قارچ میکوریزا + سوپر جاذب رطوبتی Mycorrhizal fungi + super moisture absorber

عملکرد، اثرگذاری و انتقال‌پذیری نتایج به شرایط

مزرعه‌ای

مطالعات انجام‌شده بر محصولات عمده ایران مانند گندم، ذرت و کلزا در محیط‌های کنترل‌شده آزمایشگاهی و گلخانه‌ای افزایش عملکرد ۱۰ تا ۲۰ درصدی را گزارش کرده‌اند. با این حال، کاهش محسوس کارایی در مزرعه به دلیل عوامل محیطی خشن، رقابت میکروبی شدید، خاک‌های قلیایی و شور، و دمای بالا، نشان می‌دهد که انتقال فناوری به مزرعه با فقدان پایداری عملکرد همراه است. نبود داده‌های بلندمدت و چند منطقه‌ای، طراحی‌های آزمایشی ناهمگن، تداخل مصرف کودهای شیمیایی با تلقیح زیستی، و نبود ارزیابی اقتصادی واقعی کارایی باعث شده قابلیت تعمیم نتایج محدود بماند و اعتماد کشاورزان به محصولات زیستی به‌کندی افزایش یابد.

ظرفیت علمی، زیرساخت‌های موجود و نقاط

قوت توسعه

ایران در حوزه پژوهش‌های میکروبی خاک زیرساخت علمی قابل توجهی شامل کلکسیون‌های سویه‌ای، آزمایشگاه‌های استاندارد و تجربه‌های پژوهشی در اختیار دارد. همکاری نسبی میان مراکز تحقیقاتی و برخی واحدهای صنعتی، زمینه تولید چندین محصول ثبت‌شده را فراهم کرده است. افزون بر آن، افزایش توجه به کشاورزی ارگانیک، سلامت غذا و کاهش آثار زیست‌محیطی کودهای شیمیایی فرصت مناسبی برای توسعه بازار کودهای زیستی ایجاد کرده است. رشد آگاهی عمومی و فشارهای زیست-محیطی جهانی نیز تقاضای بالقوه برای جایگزین‌های کم‌کربن را افزایش می‌دهد و این موضوع یکی از نقاط قوت ساختاری کشور در مسیر آینده‌پژوهی کودهای زیستی محسوب می‌شود.

ضعف‌ها و چالش‌های فنی تولید و کاربری

چالش‌های فنی یکی از موانع اصلی موفقیت تجاری کودهای زیستی در ایران است. رقابت میکروبی شدید ریزوسفر، ناپایداری کلونیزاسیون، شوری و قلیائیت گسترده خاک‌های کشور، دوره‌های خشکی و گرمای شدید، و وجود فلزات سنگین در برخی مناطق باعث کاهش بقا و عملکرد میکروارگانیسم‌های تلقیحی می‌شوند. فرمولاسیون-فرمولاسیون‌های تک‌سویه، عدم کنترل کیفیت کافی، محدودیت در فناوری‌های حامل، و نیاز به زنجیره سرد و نگهداری خاص از دیگر عوامل محدودکننده هستند. این چالش‌ها موجب شده کارایی آزمایشگاهی به‌طور کامل به عملکرد مزرعه‌ای قابل اتکا تبدیل نشود؛ پدیده‌ای که یکی از دلایل کاهش پذیرش در میان کشاورزان است. بسیاری از میکروبی‌های مفید که می‌توانند به عنوان کودهای زیستی بالقوه مورد استفاده قرار گیرند، هنوز فراتر از دانش کشاورزان، متخصصان کشاورزی و دانشمندان هستند، زیرا پرداختن به دشواری‌های ایجاد آگاهی و دستیابی به پذیرش گسترده‌تر با سرعت کمی انجام می‌شود. تحقیق و توسعه با شناسایی مشکلات و چالش‌های موجود در تولید و پذیرش کودهای زیستی و ترویج راه‌حل‌ها و استراتژی‌های مربوطه، کلید تولید بیشتر کودهای زیستی است. نوسانات محیطی در زیستگاه طبیعی که باعث کاهش کارایی کودهای زیستی در ایجاد اثرات مفید بر محصولات می‌شود باید مورد دقت ویژه قرار بگیرد. محدودیت عمده دیگری نیز وجود دارد که انتقال کود زیستی از آزمایشگاه به کاربرد مزرعه‌ای است، جایی که جدایه می‌تواند توانایی‌های متفاوتی در افزایش رشد گیاه در شرایط آزمایشگاه و مزرعه داشته باشد. عوامل دیگری که توسعه، تولید، کاربرد و دسترسی به کودهای زیستی را در مقیاس وسیع محدود می‌کنند، شامل موارد زیر می‌شوند: عدم آگاهی، شبکه بازاریابی و تبلیغات، عدم دسترسی به سویه و حامل مناسب، آلاینده‌ها، شرایط محیطی متغیر، کمبود بودجه، مساحت زمین، انبارها، حمل‌ونقل، محدودیت‌های کنترل کیفیت، عدم وجود برچسب‌گذاری نام‌ها و تاریخ‌های استفاده و غیره، از جمله دلایلی هستند

(ریوولی وروئونز ایتالیا)، اتاکمیکال (بمبئی هند)، شرکت بین‌المللی کروماندل (سکوماندر هند)، شرکت ایلسا (آرژینانو ایتالیا)، شرکت سیگما (تگزاس آمریکا)، شرکت بایر کراپ (لورکوزن آلمان)، مارون (دیویس آمریکا)، سام فیتوفارما (هند)، بی‌آس‌اف (آلمان)، کامسون بیو (هند) و ایساگرو (میلانو ایتالیا) سالانه حجم انبوهی از کودهای زیستی را تولید و روانه بازار می‌کنند و حضور قدرتمندی در نقاط مختلف دنیا دارند که در نتیجه تبلیغات صحیح و سرمایه‌گذاری وسیع و ارتباط قوی تحقیقات و کشاورزی است.

خلأهای پژوهشی و مسیرهای آینده توسعه

چالش‌های باقی‌مانده نشان می‌دهد که توسعه واقعی کودهای زیستی در ایران نیازمند پژوهش‌های هدفمند و هماهنگ با مسائل بوم‌شناختی کشور است. خلأهای کلیدی شامل مطالعات بلندمدت ۵-۱۰ ساله، تجزیه و تحلیل اقتصادی-زیست‌محیطی واقعی، شناخت مکانیسم‌های مولکولی پایداری، فرمولاسیون‌های چندمیکروبی، سویه‌های بومی مقاوم به شوری و گرما، و تولید محصولات تلفیقی همراه با قارچ‌های میکوریزا و بیوجار است. در کنار این مسیرها، همگرایی پژوهش-صنعت-کشاورز، ایجاد استانداردهای ملی کیفیت، و شکل‌دهی نظام مشوق مالی می‌تواند فاصله میان دستاوردهای آزمایشگاهی و نیاز واقعی مزرعه را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

در این مرور، مزایای چشمگیر قارچ‌های مایکوریزا و تریکودرما و باکتری‌های محرک رشد در تقویت رشد گیاهان، کنترل آفات، ارتقای اکوسیستمی سالم-سالم‌تر، مبارزه با انواع تنش‌های محیطی از جمله خشک-سالی و غیره، برجسته شده و بر اهمیت روز افزون آن‌ها تأکید شده است. با وجود این مزایا، حضور این محصولات در بازار در مقایسه با کودهای شیمیایی سنتی هنوز محدود

که به موجب آن‌ها کودهای زیستی فراتر از دانش کشاورزان، متخصصان کشاورزی و بوم‌شناسان هستند. تولید کودهای زیستی باید مطابق با پروتکل‌ها و استانداردهای سازمان بین‌المللی استانداردسازی باشد. نظارت توسط مقامات ذی‌ربط، چه از دولت و چه از بخش عمومی، باید انجام شود تا حفظ کیفیت در طول تولید این کودهای زیستی و اعتبار محصول بررسی شود. سویه‌های مناسب، مواد حامل و یک سیستم انتقال خوب نقش مهمی در کارایی، اثربخشی و کاربرد این کودهای زیستی دارند. مواد بیولوژیکی مانند پلی‌ساکاریدها می‌توانند برای کارایی، پایداری و ماندگاری بهتر با کودهای زیستی ترکیب شوند. بهینه‌سازی این کودهای زیستی باید همراه با سایر روش‌های کشاورزی انجام شود. ترویج و ایجاد آگاهی می‌تواند از طریق افزودن مفهوم کودهای زیستی در سرفصل‌های دانشگاهی، برنامه درسی آموزشی، کارگاه‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، آموزش در مؤسسات آموزشی، رسانه‌ها و همکاری‌های تحقیقاتی باشد.

چالش‌های اجتماعی-اقتصادی، سیاست‌گذاری و

بازار

فراتر از مسائل فنی، موانع اجتماعی-اقتصادی و سیاستی نقشی تعیین‌کننده در کندی توسعه فناوری دارند. یارانه گسترده کودهای شیمیایی، فقدان مشوق اقتصادی برای مصرف کود زیستی، ضعف نظام بازاریابی، کمبود آموزش عملی و عدم حضور مؤثر کارشناسان در کنار کشاورزان، فرآیند پذیرش را کند کرده‌اند. آمار رسمی از میزان تولید، مصرف، سهم بازار و بازده اقتصادی کودهای زیستی در کشور منتشر نمی‌شود و این خلأ داده‌ای عملاً مانع ارزیابی بازار، سرمایه‌گذاری صنعتی، و سیاست‌گذاری مؤثر است. نبود استانداردهای ملی کیفیت و عدم الزام آزمایش‌های کارایی مزرعه‌ای پیش از صدور مجوز تولید نیز اعتماد مصرف‌کننده را کاهش می‌دهد و کیفیت بازار را ناهمگون می‌کند. شرکت‌های مطرح بین‌المللی در زمینه تولید کودها و آفت‌کش‌های زیستی مانند شرکت ایتالپولینا

در ایران نیز، یکی از مهم‌ترین پیشنهادها اجرای، توسعه فرمولاسیون‌های بومی‌سازی‌شده متناسب با چالش‌های غالب کشور نظیر شوری، خشکی، دمای بالا و ماده آلی پایین خاک است. استفاده از سویه‌های بومی جداسازی شده از خاک‌های شور و بیابانی، تلفیق آن‌ها با قارچ‌های میکوریزای سازگار با تنش‌های حرارتی، و به‌کارگیری حامل‌های آلی و معدنی مناسب، می‌تواند پایداری و کارایی این کودها را در شرایط میدانی افزایش دهد. تجربه‌های جهانی نشان می‌دهد که فرمولاسیون‌های چندجزئی (پلی‌میکروبی) نسبت به تک‌سویه‌ها، عملکرد پایدارتر و دامنه کاربرد وسیع‌تری دارند.

از منظر اجرایی، استانداردسازی فرمولاسیون‌ها و شاخص‌های کیفی یکی از پیش‌نیازهای اساسی توسعه بازار کودهای زیستی است. تدوین پروتکل‌های ملی برای تعیین جمعیت فعال، پایداری در طول زمان، شرایط نگهداری و بسته‌بندی، و انجام آزمون‌های طول عمر در دما و رطوبت-های مختلف، می‌تواند فاصله میان پژوهش و بازار را کاهش دهد. همچنین، ارزیابی بقای عامل زیستی در فرمولاسیون-های مختلف (پودر، مایع، گرانول یا کپسول)، تحلیل هزینه-فایده و آزمون مقیاس‌پذیری در مزارع تجاری، باید به‌عنوان بخشی از الزامات پژوهشی و صنعتی در نظر گرفته شود.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی متوجه نویسندگان مقاله نمی‌باشد. نویسندگان از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و انتشار دوگانه پرهیز نموده و منافع تجاری در این راستا وجود ندارد. نویسندگان در نوشتن مقاله از هیچ منبعی و جهی دریافت ننموده است.

بیانیه دسترسی به داده‌ها

تمام جملات و منابع استفاده شده از تمام منابع به سهولت قابل دسترسی و آماده‌ارایه به مخاطبان است.

است که لزوم پژوهش و توسعه بیشتر را ضروری می‌سازد. در این مورد ضروری‌ترین عامل ترغیب کشاورزان و آشنا کردن عموم مردم با این نوع از کودهای نوظهور است. همچنین آزمایش کارایی واقعی این کودها در شرایط طبیعی و به دور از شرایط آزمایشگاهی از ضروریات است. حجم مطالعات مربوط به این نوع کودها نیز رو به رشد است و چند گروه محقق داخلی نیز به ایزوله سازی سویه‌های محلی پرداخته‌اند. اما بیشتر نتایج مثبت برای شرایط کنترل شده مانند گلخانه است و مطالعات در شرایط میدانی کمتر گزارش شده است. گاهی مشاهده می‌شود که نمونه‌ها کوچک، تکرارها ناکافی و تحلیل مناسب اثر تعامل (عامل*مکان*سال) صورت نگرفته است. تولید کنندگان مختلف روش‌های متفاوتی برای تعیین جمعیت فعال و کیفیت مایه‌ها به کار می‌برند و استاندارد واحدی در همه مطالعات وجود ندارد. استفاده از توالی یابی کامل و یا حداقل توالی یابی مولکولی برای تضمین هویت و بررسی ژن‌های عملکردی نادر است. بسیاری از مقالات فقط گزارش افزایش عملکرد یا پارامترهای رشدی را داده‌اند؛ اما داده‌های دقیق در مورد تغییرات میکروبیوم خاک، آنزیم‌های خاک، دسترس‌پذیری فسفر/نیتروژن/پتاسیم و مسیریابی مکانیسمی محدود است.

بر اساس جمع‌بندی نتایج این مرور و با توجه به تجربه‌های موفق جهانی، گذار از کاربرد ساده مایه‌کوب‌های میکروبی به توسعه فرمولاسیون‌های کودی پایدار، هدفمند و سازگار با تنش یکی از کلیدی‌ترین عوامل موفقیت کودهای زیستی در کشاورزی مدرن محسوب می‌شود. در بسیاری از کشورها، تمرکز تحقیقات و صنعت از سویه‌محوری صرف، به سمت طراحی فرمولاسیون‌هایی با قابلیت بقای بالا، آزادسازی کنترل‌شده و سازگاری با شرایط متغیر خاک و اقلیم سوق یافته است. این رویکرد باعث شده اثربخشی کودهای زیستی در مقیاس مزرعه‌ای افزایش یافته و اعتماد کشاورزان به این نهادها تقویت شود.

References

1. Abbaszadeh, B., Layegh Haghghi, M., Azimi, R., and valizadeh, N., 2024. A study on the effects of chemical and biological fertilizers on the essential oil content of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Productions*, 47(3), pp.455-474. DOI: 10.22055/ppd.2024.47372.2188. (In Persian).
2. Adnan, M., Fahad, S., Saleem, M. H., and Lal, R., 2025. Sustainable phosphorus management in calcareous soils: problems and prospects. *Journal of Plant Nutrition*, pp.1-22. DOI: 10.1080/01904167.2025.2477269.
3. Aghababapoor Dehkordi, A., Houshmand, S., Mohammady, S., and Ravash, R., 2024. Effects of Mycorrhizal Fungi Symbiosis on Some Morpho-Physiological Traits of *Zataria multiflora* Boiss. Ecotypes under Drought Stress Conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 40(3), pp.449-466. DOI: 10.22092/ijmapr.2024.363502.3375. (In Persian).
4. Aghakouchak, A., Mirchi, A., Madani, K., Di Baldassarre, G., Nazemi, A., Alborzi, A., Anjileli, H., Azarderakhsh, M., Chiang, F., and Hassanzadeh, E., 2021. Anthropogenic drought: Definition, challenges, and opportunities. *Wiley Online Library*. DOI: 10.1029/2019RG000683.
5. Akbari Mohammadabad, N., Azimi, M. S., Yegane, H., Khoshalsarmast, M., Malekzadeh, E., 2025. Study of some soil characteristics and arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis with the yellow fritillaria (*Fritillaria raddeana* Regel). *The Journal of Range and Watershed Management*. 78(2), pp.159-172. DOI: 10.22059/jrwm.2024.376990.1765. (In Persian).
6. Akbari, S. I., Prismantoro, D., Permadi, N., Rossiana, N., Miranti, M., Mispan, M. S., Mohamed, Z., and Doni, F., 2024. Bioprospecting the roles of *Trichoderma* in alleviating plants' drought tolerance: Principles, mechanisms of action, and prospects. *Microbiological Research*, 283, p.127665. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127665.
7. Ali, R., Zulaykha, K. D., and sajjad, N., 2020. Genetically modified microbes as biofertilizers. *Bioremediation and Biotechnology*, Vol 4: Techniques for Noxious Substances Remediation, pp.275-293. DOI: 10.1007/978-3-030-48690-7_13.
8. Ali, S., 2024. Saffron (*Crocus sativus* L.) as a Promising Complementary Treatment for Depression: A Review of Basic and Clinical Studies. *Journal of Saffron Research*, 12(2), pp.208-226. DOI: 10.22077/jsr.2025.8449.1250. (In Persian).
9. Alikhani, H.A., Shariati, S., Etesami, H. and Fallah Nosrat Abad, A., 2022. *Azotobacter* as a Rice Plant (*Oryza sativa* L.) Growth Promoting Biofertilizer. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 53(3), pp.633-661. DOI: 10.22059/ijswr.2022.337184.669182. (In Persian).
10. Alizadeh, M. B., Makarian, H., Ebadi, A., Eizadi Darbandi, E., Gholami, A., and Nasiri dehsorkhi, A. 2024., Evaluation of the effect of different fertilizer sources on some characteristics of the corm and flower yield of saffron. *Crop Science Research in Arid Regions*, 6(3), pp.171-184. DOI: 10.22034/CSRAR.2024.390675.1331. (In Persian).
11. Arab, S., Firouzabadi, M. B., Gholami, A., and haydari, M., 2023. The Effect of Seaweed Extract (*Ascophyllum nodosum*) on Quantitative and Qualitative Yield of Soybean. *Agroecology*, 1(16), 143-147. DOI: 10.22067/AGRY.2022.78292.1124. (In Persian).
12. Araganji, S., Kumari, S., Solanki, P., and Yadav, R., 2025. Biofertilizer mediated growth promotion in jackfruit (*artocarpus heterophyllus* l.) cv. chandra: a study on ksb and pseudomonas application. *Plant Archives*, 25(1), 1431-1436. DOI: 10.51470/plantarchives.2025.v25.supplement-1.196.
13. Asgharzadeh, A., Saghafi, K., Fattahifar, E., Jenaghi, M., and Alizadeh, N., 2024. Impact of plant growth-promoting bacteria on the growth of button mushroom hyphae and control of pathogenic factors under in vitro conditions. *Journal of Soil Biology*, 11(2),

- pp.139-154. DOI: 10.22092/SBJ.2024.361318.245. (In Persian).
14. Ashnavar, M., Rahnama, K., Sarmast, M. K., and Ghasemnezhad, A., 2022. The role of endophytic fungi isolated from native Iranian yew (*Taxus baccata*) in biological control of *Fusarium oxysporum*. *Ecology of Iranian Forests*. 10(20), pp.1-10. DOI: 10.52547/ifej.10.20.1. (In Persian).
 15. Ashrafi Saeidlou, S., Rasouli-Sadaghiani, M. H., Samadi, A., Barin, M., and Sepehr, E., 2025. Study of Silicate-Solubilizing Microorganisms Impact on the Dissolution of Soil Non-Exchangeable Potassium, Growth Indices of Maize (*Zea mays* L.), and Nutrient Uptake. *Applied Soil Research*, 12(4), pp.15-29. DOI: 10.30466/ASR.2025.55524.1858. (In Persian).
 16. Babalola, B. J., Li, J., Willing, C. E., Zheng, Y., Wang, Y. L., Gan, H. Y., Li, X. C., Wang, C., Adams, C. A., and Gao, C., 2022. Nitrogen fertilisation disrupts the temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae but not spore density and community composition in a wheat field. *New Phytologist*, 234(6), pp.2057-2072. DOI: 10.1111/nph.18043.
 17. Baghani, F., Rahnama, K., Aghajani, M., and Dehghan, M., 2012. Biological control of *Fusarium* head blight (*Fusarium graminearum*) by application of three native *Trichoderma* species in field. *International Journal of Plant Production*. 19(2), pp.123-140. DOI: 20.1001.1.23222050.1391.19.2.8.6. (In Persian).
 18. Bahraminejad, F., Nasibi, F., Oloumi, H., and Arab, R., 2023. A comparative study of inoculation with two growth-promoting and siderophore-producing bacteria (*Enterobacter cloacae* and *Bacillus cereus*) on iron availability in pistachio seedlings (*Pistacia Vera* L.). *Applied Biology*. 36(1), pp.85-108. DOI: 10.22051/jab.2023.40791.1493. (In Persian).
 19. Bakhshi, A., Abdossi, V., and Ghanbari Jahromi, M., 2025. Effects of seaweed extract on the growth and biochemical characteristics of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 41(1), pp.145-163. DOI: 10.22092/ijmapr.2024.364983.3425. (In Persian).
 20. Bilal, S., Shahzad, R., Imran, M., Jan, R., Kim, K. M., and lee, I.-J., 2020. Synergistic association of endophytic fungi enhances *Glycine max* L. resilience to combined abiotic stresses: Heavy metals, high temperature and drought stress. *Industrial Crops and Products*, 143, p.111931. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111931.
 21. Breedts, G., Korsten, L., and Gokul, J. K., 2025. Enhancing multi-season wheat yield through plant growth-promoting rhizobacteria using consortium and individual isolate applications. *Folia Microbiologica*, 1-10. DOI: 10.1007/s12223-025-01245-9.
 22. Czarnes, S., Mercier, P. E., Lemoine, D. G., Hamzaoui, J., and Legendre, L., 2020. Impact of soil water content on maize responses to the plant growth-promoting rhizobacterium *Azospirillum lipoferum* CRT1. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(5), pp.505-516. DOI:10.1111/jac.12399.
 23. Darini, E., Alizadeh, H., Khanamani, M. and Sedaratian-Jahromi, A., 2025. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on biological and reproductive parameters of two-spotted spider mite in cucumber. *Plant Pest Research*. 14(4), pp.45-57. DOI: 10.22124/IPRJ.2025.29302.1618. (In Persian).
 24. Dzvene, A. R., Zhou, L., Slayi, M., and Dirwai, T. L., 2025. A scoping review on challenges and measures for climate change in arid and semi-arid agri-food systems. *Discover Sustainability*, 6(1), pp.151. DOI: 10.1007/s43621-025-00945-z.
 25. Fouzia, A., Allaoua, S., Hafsa, C.-S., and Mostefa, G., 2015. Plant growth promoting and antagonistic traits of indigenous fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from wheat rhizosphere and *A. halimus* endosphere. *European scientific journal*, 11(24).
 26. Ghorbani, L., Salehi, A., Movahhdi Dehnavi, M., Balouchi, H., and Rostampour, P., 2024. Investigating the effects of biofertilizers on the absorption

- of nutrients, physiological characteristics and shoot dry weight of milk thistle (*silybum marianum*) medicinal plant under different irrigation regimes *Journal of Crops Improvement*. 26(4), pp.861-881. DOI: 10.22059/jci.2024.360095.2822. (In Persian).
27. Golestanifar, F., Mahmoodi, S., Fallahi, H., and Shahidi, A., 2024. Evaluation of some growth traits of quinoa cultivars (*Chenopodium quinoa* Willd.) affected by moisture levels and planting date in two regions of South Khorasan. *Journal of Plant Production*. 31(3), pp.231-261. DOI: 10.22069/JOPP.2024.21908.3089. (In Persian).
 28. Grayloo, A., Aelaei, M., Mortazavi, S. N., Arghavani, M., and Salehi, F. 2024. The effect of *Bacillus subtilis* and *Bacillus velezensis* bacteria on tolerance to salinity stress in orange marigold (*Tagetes erecta* L.). *Journal of Plant Production Research*. 31(1), pp.189-211. DOI: 10.22069/JOPP.2023.21438.3049. (In Persian).
 29. Habib-ur-Rahman, M., Ahmad, A., Raza, A., Hasnain, M.U., Alharby, H.F., Alzahrani, Y.M., Bamagoos, A.A., Hakeem, K.R., Ahmad, S., Nasim, W. and Ali, S., 2022. Impact of climate change on agricultural production; Issues, challenges, and opportunities in Asia. *Frontiers in Plant Science*, 13, p.925548. DOI: 10.3389/fpls.2022.925548.
 30. Hawkins, H.-J., Cargill, R. I., Van Nuland, M. E., Hagen, S. C., Field, K. J., Sheldrake, M., Soudzilovskaia, N. A., and Kiers, E. T., 2023. Mycorrhizal mycelium as a global carbon pool. *Current Biology*, 33,(11), pp. R560-R573. DOI: 10.1016/j.cub.2023.02.027.
 31. Heidarzadeh, N., Baghaee-Ravari, S., Rouhani, H., and Mahdikhani Moghaddam, E., 2016. Study the effects of some *Trichoderma* spp. on tomato growth parameters using three inoculation methods. *Journal of plant production research*. 23(1), pp. 23-29. DOI: 10.5897/AJB10.1600. (In Persian).
 32. Heydari, N., 2019. Visions and Approaches for Adapting to Climate Change, from Agricultural Water Management and Food Security Aspects. *Journal of Water Management in Agriculture*. 6(1), pp.23-36. (In Persian).
 33. 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), pp.65-88. DOI: 10.22092/SBJ.2024.365435.263.
 34. Hou, X., Wu, F., Wang, X.-J., Sun, Z.-T., Zhang, Y., Yang, M.-T., Bai, H., Li, S., and Bai, J.-G., 2018. *Bacillus methylotrophicus* CSY-F1 alleviates drought stress in cucumber (*Cucumis sativus*) grown in soil with high ferulic acid levels. *Plant and Soil*, 431(1), pp.89-105. DOI: 10.1007/s11104-015-2464-y.
 35. Jahantigh, T., Raissi, A., and Piri, H., 2024. Investigating the Effect of Biological Fertilizers on Some Quantitative and Qualitative Characteristics of Guar Plant (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) in Iranshahr City. *Journal of Crops Improvement*, 26(2), pp.471-485. DOI: 10.22059/jci.2024.353499.2787. (In Persian).
 36. Kavehnia, A., Samsampour, D., and Askari Seyahoei, M., 2023. Isolation and morphological and molecular identification of important endophyte fungi of *Pistacia mutica* in Hormozgan province and their effect on increasing salt stress tolerance of California Wonder 3 pepper seedlings. *Journal of Plant Production Research*. 30(3), pp.41-64. DOI: 10.22069/JOPP.2023.20576.2962.
 37. Khoshmanzar, E., Aliasgharzad, N., Neyshabouri, M., Khoshru, B., Arzanlou, M., and Asgari Lajayer, B., 2020. Effects of *Trichoderma* isolates on tomato growth and inducing its tolerance to water-deficit stress. *International journal of environmental science and technology*. 17(2), pp.869-878. DOI: 10.1007/s13762-019-02405-4.
 38. Khoshru, B., Mitra, D., Khoshmanzar, E., Myo, E. M., Uniyal, N., Mahakur, B., Mohapatra, P. K. D., Panneerselvam, P., Boutaj, H., and Alizadeh, M., 2020. Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: an economic valuable resource for the agriculture revival under stressful

- conditions. *Journal of Plant Nutrition*. 43(20), pp.3062-3092. DOI: 10.1080/01904167.2020.1799004.
39. Khosravi, H., 2022. Biofertilizers: Extension, Recommendations and Methods of consumption in Agricultural Crops. *Popularization of Science*. 13(1), pp.76-91. DOI: 10.22034/POPSCI.2022.308930.1133. (In Persian).
 40. 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*. 7, p.100268. DOI: 10.1016/j.crmicr.2024.100268.
 41. Kumar, H., Bajpai, V. K., Dubey, R., Maheshwari, D., and Kang, S. C., 2010. Wilt disease management and enhancement of growth and yield of *Cajanus cajan* (L) var. Manak by bacterial combinations amended with chemical fertilizer. *Crop protection*, 29(6), pp. 591-598. DOI: 10.1016/j.cropro.2010.01.002.
 42. Li, Z., Wen, W., Qin, M., He, Y., Xu, D., and Li, L., 2022. Biosynthetic mechanisms of secondary metabolites promoted by the interaction between endophytes and plant hosts. *Frontiers in microbiology*, 13, p.928967. DOI: 10.3389/fmicb.2022.928967.
 43. Liang, C., Schimel, J. P., and Jastrow, J. D., 2017. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature microbiology*, 2(8), pp.1-6. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.105.
 44. Lutz, S., Bodenhausen, N., Hess, J., Valzano-Held, A., Waelchli, J., Deslandes-Herold, G., Schlaeppli, K., and Van Der Heijden, M. G., 2023. Soil microbiome indicators can predict crop growth response to large-scale inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature microbiology*, 8(12), pp.2277-2289. DOI: 10.1038/s41564-023-01520-w.
 45. Mao, L., Pan, J., Jiang, S., Shi, G., Qin, M., Zhao, Z., Zhang, Q., An, L., Feng, H., and Liu, Y., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungal community recovers faster than plant community in historically disturbed Tibetan grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 134, pp.131-141. DOI: 10.1016/j.soilbio.2019.03.026.
 46. Meena, V. S., Bahadur, I., Maurya, B. R., Kumar, A., Meena, R. K., Meena, S. K., and Verma, J. P., 2016. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture, pp.1-20. DOI: 10.1007/978-81-322-2776-2_1.
 47. Mirtayebi, M., Bostani, A., Diyanat, M., and Amin, A., 2024. Effects of application of biofertilizer and potassium nanofertilizer on yield and some physiological traits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) under drought stress. *Applied Field Crops Research*, 36(1), pp.65-42. DOI: 10.22092/AJ.2024.359942.1625. (In Persian).
 48. Mirzaei, J., Jaafarian, N., Jafari, M., and Hoseinzadeh, J., 2023. Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Natural and Agricultural Land and their relationship with soil properties in Zagros Forest. *Journal of Soil Biology*. 11(1), pp.47-62. DOI: 10.22092/SBJ.2023.361383.246. (In Persian).
 49. Mohammadi, E., Mehrabi, A. A., Motamedvaziri, B., 2023. Investigating the necessity of a comprehensive water law in Iran. *Watershed Engineering and Management*. 15(3), pp.467-480. DOI: 10.22092/ijwmse.2022.354374.1894. (In Persian).
 50. Mohebbi, S., Ghanbari Jahromi, M., and Weisany, W., 2024. The Effect of Azotobacter and Vermicompost Application on Growth and Physiological Characteristics of Watercress (*Nasturtium officinale*) under Water Stress. *Journal of Crops Improvement*, 26(4), pp.825-841. DOI: 10.22059/jci.2024.367825.2864. (In Persian).
 51. Negi, N. P., Narwal, P., and Sharma, A., 2023. Plant–microbe interaction in alleviating drought stress. In *The Chemical Dialogue Between Plants and Beneficial Microorganisms*. pp. 49-65. Academic Press. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-323-91734-6.00022-3.
 52. Nosratabad, A.R.F., Etesami, H. and Shariati, S., 2017. Integrated use of organic fertilizer and bacterial inoculant improves phosphorus use efficiency in

- wheat (*Triticum aestivum* L.) fertilized with triple superphosphate. *Rhizosphere*, 3, pp.109-111. DOI: 10.1016/j.rhisph.2017.03.001.
53. Parvizi, K., and Ghadami f#, A., 2024. Improving water use efficiency, estimating economic benefits and increasing potato tuber quality by the combined application of super absorbent polymer and mycorrhizal biofertilizer. *Advanced Technologies in Water Efficiency*, 4(4), pp.35-50. DOI: 10.22126/ATWE.2024.10836.1130. (In Persian).
54. Pavithra, D., and Yapa, N., 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances drought stress tolerance of plants. *Groundwater for Sustainable Development*, 7, pp.490-494. DOI: 10.1016/j.gsd.2018.03.005.
55. Pehlivan, N., Saruhan-Guler, N., and Alpay-Karaoglu, Ş., 2018. The effect of Trichoderma seed priming to drought resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 46(2), pp. 263-272. DOI: 10.15671/HJBC.2018.234.
56. Raei, Y., Azarnejad, S., Nasrollahzadeh, S., and Kheirizadeh Arough, Y., 2025. Impact of biological and chemical fertilizers on some morphophysiological traits and yield of Canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 34,(4) pp.85-101. DOI: 10.22034/SAPS.2023.58690.3125. (In Persian).
57. Rahimkhani, B., Naseri, M., Ahmadian, A., and Alipanah, M., 2024. The Effect of Foliar Application of Seaweed Extract on Morphological and Physiological Traits of *Echium amoenum* Fisch. and Mey Seedlings under Salinity Stress. *Journal Of Horticultural Science*, 38(4), pp.704-693. DOI: 10.22067/jhs.2024.88537.1353. (In Persian).
58. Rajini, S. B., Nandhini, M., Udayashankar, A. C., Niranjana, S. R., Lund, O. S., and Prakash, H. S., 2020. Diversity, plant growth-promoting traits, and biocontrol potential of fungal endophytes of *Sorghum bicolor*. *Plant pathology*, 69(4), pp.642-654. DOI: 10.1111/ppa.13151.
59. Rawal, R., Scheerens, J. C., Fenstemaker, S. M., Francis, D. M., Miller, S. A., and Benitez, M.-S., 2022. Novel Trichoderma isolates alleviate water deficit stress in susceptible tomato genotypes. *Frontiers in plant science*, 13, p.869090. DOI: 10.3389/fpls.2022.869090.
60. Rezalou, Z., Shahbazi, S., Alilou, A. A., and Ghorbani, A., 2023. Biostimulant impact of Trichoderma species on physiological characteristics of beans. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding (IJGPB)*, 12(2), pp.(48-37). DOI: 10.30479/IJGPB.2024.19355.1356. (In Persian).
61. Rezvaninia, F., Ebadi, M.-T., and Safaie, N., 2024. Investigating the Use of Mycorrhiza and Trichoderma Fungi on Rhizome Yield and Active Ingredients of Ginger. *Journal of Horticulture Science*. 3(38), 551-562. DOI: 10.22067/jhs.2024.85675.1308.
62. Rostami, T., Abbasdokht, H., Makarian, H., Gholipoor, M. and Karimzadehasl, K., 2024. Effect of mycorrhiza and phosphorus on phytochemical and antioxidant properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in intercropping system. *Journal of Plant Production Research*. 31(4), 69-88. DOI: 10.22069/JOPP.2023.21943.3096. (In Persian).
63. Rostamikia, Y., Matinizadeh, M., and Rahmani, A., 2024. Evaluation and physiological traits of hazelnut seedlings inoculated with Trichoderma harzianum Rifai fungus in field conditions. *Journal of Soil Biology*, 12(1), pp.89-104. DOI: 10.22092/SBJ.2024.363916.258. (In Persian).
64. Sadeghi, A., Farsi, M., Taheri, P., and Sinegani, A., 2025. Effect of Fungi Isolated from the Chenopodiaceae Family on the Growth Characteristics and Increasing Phosphorus Absorption of Barley (*Hordeum vulgare*) Plant. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 22(4), pp.359-371. DOI: 10.22067/jcresc.2024.86058.1289. (In Persian).
65. Sadeghi Kochsafhani, P., Mousavi Mirkalaeia, S. A., Moballegghi, M., Samdeliri, M., and Akbarpour, M., 2024. The effect of biological and organic fertilizers on the quantitative and

- qualitative production of mung bean under water stress. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 55(8), 1345-1358. DOI: 10.22059/IJSWR.2024.373798.669678. (In Persian).
66. Saeidnia, F., and Hamid, R., 2024. Drought stress memory and its relationship with morpho-physiological, biochemical and molecular changes in crop plants. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 26(1), pp. 71-93. DOR: 20.1001.1.23223243.2021.19.1.29.0. (In Persian).
67. Scholz, S. S., Barth, E., Clement, G., Marmagne, A., Ludwig-Muller, J., Sakakibara, H., Kiba, T., Vicente-Carbajosa, J., Pollmann, S., and Krapp, A., 2023. The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* supports nitrogen-starved *Arabidopsis thaliana* seedlings with nitrogen metabolites. *International journal of molecular sciences*, 24(20), pp.15372. DOI: 10.3390/ijms242015372.
68. Sedri, M.H., Niedbała, G., Roohi, E., Niazian, M., Szulc, P., Rahmani, H.A. and Feiziasl, V., 2022. Comparative analysis of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of rainfed wheat. *Agronomy*, 12(7), p.1524. DOI: 10.3390/agronomy12071524.
69. Sekmen Cetinel, A. H., Gokce, A., Erdik, E., Cetinel, B., and Cetinkaya, N., 2021. The effect of trichoderma citrinoviride treatment under salinity combined to rhizoctonia solani infection in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Agronomy*, 11(8), p.1589. DOI: 10.3390/agronomy11081589.
70. Sepasi, N., Taheri, A., Zamani, S. M., Jahani, M. and Farashiani, M., 2024. Effect of ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* on some physiological and morphological characteristics of *Populus alba* under drought stress and cytospora canker conditions. *Journal of Plant Production Research*, 31(1), pp.47-68. DOI: 10.22069/JOPP.2023.21018.3008. (In Persian).
71. Shafiee, A., and Azmi, A., 2024. Assessment of the effects of sustainable agriculture on water and soil resources (Case study: Homil District of Islamabad Gharb County). *Journal of Agricultural Economics Research*, 16(2). 15-29. DOI: 10.30495/jae.2023.31328.2367. (In Persian).
72. Shariati Sh., Alikhani H.A., Shariati Sh. 2019. Using plant growth promoting bacteria inoculants- *Pseudomonas fluorescens*- to increase growth and nutrient uptake of wheat. *Applied Soil Research*, 7(1): 165-176. (In Persian).
73. Sharifi, Z., Eisvand, H. R., Akbari, N., and Akbarpour, O. A., 2025. Effects of cow manure, biological fertilizer, and gibberellin on reproduction and yield of the endangered medicinal plant *Allium jesdianum* Boiss. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 41(1), pp164-181. DOI: 10.22092/ijmapr.2025.366188.3457. (In Persian).
74. Sheoran, S., Kumar, S., Kumar, P., Meena, R. S., and Rakshit, S., 2021. Nitrogen fixation in maize: breeding opportunities. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(5), pp.1263-1280. DOI: 10.1007/s00122-021-03791-5.
75. Sneha, G., Annayya, Hembrom, B. B., Varghese, E., Yadav, R. K., and Abraham, G., 2023. Screening and selection of *Anabaena* spp. for desiccation tolerance through physiological parameters and multivariate analysis. *Journal of Applied Phycology*, 35(3), pp.1273-1284. DOI: 10.1007/s10811-023-02942-z.
76. Soliman, M. H., Alnusaire, T. S., Abdelbak y, N. F., Alayafi, A. A., Hasanuzzaman, M., Rowezak, M. M., El-Esawi, M., and Elkelish, A., 2020. Trichoderma-induced improvement in growth, photosynthetic pigments, proline, and glutathione levels in *Cucurbita pepo* seedlings under salt stress. *Phyton*, 89(3), 473. DOI: 10.32604/phyton.2020.08795.
77. Taufiq, A., and Yusnawan, E., 2020. Influence of Trichoderma as a seed treatment on the growth and yield of groundnut under saline environment. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 8(1), p. 2401. DOI: 10.15243/jdmlm.2020.081.2401.
78. Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., Rajput, V. D., Chauhan, P. K., Bhojiya, A. A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., and Minkina, T., 2022. Root exudates: mechanistic insight of plant

- growth promoting rhizobacteria for sustainable crop production. *Frontiers in microbiology*, 13, p.916488. DOI: 10.3389/fmicb.2022.916488.
79. Valojai, S. T. S., Niknejad, Y., Fallah, H., and Tari, D. B., 2021. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium nano-fertilizers on growth and seed of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *journal of crop ecophysiology*, 15(57), pp.37-56. DOI: 10.22034/SAPS.2022.49296.2783. (In Persian).
80. Yasmeen ,R., and Shaheed Siddiqui, Z., 2017. Physiological responses of crop plants against *Trichoderma harzianum* in saline environment. *Acta Botanica Croatica*, 76(2), pp.154-162. DOI: 10.1515/botcro-2016-0054.
81. Zakerian, F., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B., Kalatejari, S., Layeghhaghighi, M., and Hadi, N., 2025. Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 41(1), pp.46-65. DOR: 20.1001.1.16807073.2020.22.3.20.0. (In Persian).
82. Ziaeiian, A., Moradi, A., Zareian, G., and Hosseini, M., 2020. Effect of Mycorrhiza Inoculation and Biochar Application on Phosphorus Availability, Growth, and Yield of Sorghum and Some Soil Chemical Properties. *Soil Research*. 33(4), 473-483. DOI: 10.22092/IJSR.2020.127000.461. (In Persian).

Contents

Subject	Page
Study of <i>Serendipita indica</i> and <i>Sinorhizobium meliloti</i> on Concentration and Kinetics of Zinc Release in Alfalfa Rhizosphere Contaminated with Zinc Oxide Nanoparticles.....	127
Leila Tabande, Vahid Mohasseli and Sohrab Sadeghi	
Feasibility of Isolating Heterotrophic and Autotrophic Diazotrophs from Periphyton Biofilm in Rice Fields and Evaluating Their Effects on Rice Growth under Greenhouse Conditions.....	147
Mehran Gholami, Hossein Ali Alikhani, Hassan Etesami, Zahra Karami, Mohaddeseh Shirinzadeh and Hamidreza Zare Guildehi	
Implication of Biological Indices for Assessing Soil Health.....	171
Nasser Aliasghar zad	
Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province.....	193
Seyed Hassan Tafaraji	
Enhancing Maize Growth and Nutrient Uptake Through Foliar Application of Phyllosphere-Derived Plant Growth-Promoting Bacteria Under Field Conditions.....	213
Vahid Allah Jahandideh Mahjenabadi, Hadi Asadi Rahmani, Mahdieh Shamsiripour and Kazem Khavazi	
Enhancing Agricultural Sustainability through Biofertilizers: A Comprehensive Review of Endophytic Fungi, <i>Trichoderma</i>, Mycorrhiza, and PGPR with a Reflection on Iranian Research	229
Ahmad Akhavan	

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

Vol. 13, No 2

2026

Manager-in-Charge; K. Bazargan, PhD

Associate Professor, Soil and Water Research Institute

Editor-in-Chief: Hadi Asadi Rahmani, PhD

Professor (Research), Soil and Water Research Institute

Editorial Board

Hadi Asadi Rahmani, PhD

Professor (Research), Soil and Water Research Institute

Hossein Ali Alikhani, PhD

Professor, University of Tehran

Naser Aliasgharzad, PhD

Professor, University of Tabriz

Hossein Besharati, PhD

Professor, Soil and Water Research Institute

Alireza Fallah Nosratabad, PhD

Associate Professor, Soil and Water Research Institute

Ahmad Golchin, PhD

Professor, University of Zanjan

Amir Lakzian, PhD

Professor, Ferdowsi University of Mashhad

Habibollah Nadian Ghomshe, PhD

Professor, Ramin Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan

Farshid Norbakhsh, PhD

Professor, Isfahan University of Technology

Abdol Hossein. Ziaeiian, PhD

Associate Professor of Agricultural and Natural Resources Research Center of Fars

English Editor:

Amir Lakzian, PhD

Technical Editor:

Eng. Kiana khamehchi

Address: P. O. Box: 31785-311, Karaj – IRAN

Tel / Fax: 026-36208796

SSSI Website: www.soiliran.org

Soil and Water Research Institute Website: www.swri.ir

Journal Website: www.sbj.areeo.ir

E-mail: jsb.soilbiology@yahoo.com



Journal of Soil Biology



ISSN: 2345-2536

Vol. 13, No. 2, 2025

Contents

Subject	Page
Study of <i>Serendipita indica</i> and <i>Sinorhizobium meliloti</i> on Concentration and Kinetics of Zinc Release in Alfalfa Rhizosphere Contaminated with Zinc Oxide Nanoparticles.....	127
Lcila Tabande, Vahid Mohasseli and Sohrab Sadeghi	
Feasibility of Isolating Heterotrophic and Autotrophic Diazotrophs from Periphyton Biofilm in Rice Fields and Evaluating Their Effects on Rice Growth under Greenhouse Conditions.....	147
Mehran Gholami, Hossein Ali Alikhani, Hassan Etesami, Zahra Karami, Mohaddeseh Shirinzadeh and Hamidreza Zare Guildehi	
Implication of Biological Indices for Assessing Soil Health.....	171
Nasser Aliasgharzad	
Frequency Distribution and Molecular Identification of Indigenous Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Southern Fars Province.....	193
Seyed Hassan Tafaraji	
Enhancing Maize Growth and Nutrient Uptake Through Foliar Application of Phyllosphere-Derived Plant Growth-Promoting Bacteria Under Field Conditions.....	213
Vahid Allah Jahandideh Mahjenabadi, Hadi Asadi Rahmani, Mahdich Shamshiripour and Kazem Khavazi	
Enhancing Agricultural Sustainability through Biofertilizers: A Comprehensive Review of Endophytic Fungi, <i>Trichoderma</i>, Mycorrhiza, and PGPR with a Reflection on Iranian Research	229
Ahmad Akhavan	