مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۱، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۱
صفحه ۲۲۹-۲۱۱

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1401.11.2.4.3

DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.4.3

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 2
2023

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

تأثیر باکتری‌های کاهش دهنده نیترات در بهینه‌سازی مصرف کود اوره و افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی

The role of nitrate-reducing bacteria in optimizing urea fertilizer use and increasing tomato plant growth

سونیا سیفی[۱*]، کیوان بهبودی[۲*]، روح الله شریفی[۳]
Sonia Seifi [1*], Keyvan Behbodi [2], Rouhallah Sharifi [3]

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

1. Ph. D. Candidate, Department of Plant Protection, College of Agirculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Protection, College of Agirculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی : *Corresponding Author, Email
seifi_s@ut.ac.ir and behbodi@ut.ac.ir
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۳)

چکیده

امروزه با افزایش هزینه کودهای شیمیایی و برخی اثرهای منفی زیست محیطی آن‌ها، تأثیر فزاینده ریزموجودات مفید و نقش کلیدی آن‌ها در افزایش باروری خاک و محصول مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، جدایه‌های باکتری توانستند افزون بر انحلال فسفر و تولید اکسین، شاخص‌های جوانه‌زنی دانه و شاخص‌های رشدی گیاه را به ترتیب در آزمایشگاه و گلخانه افزایش دهند. برای بررسی تأثیر سطوح گوناگون کود نیتروژن بر عملکرد و انباشت نیترات در گیاه گوجه‌فرنگی آزمایشی فاکتوریل با هشت جدایه باکتری، سه سطح صفر، ۳۰۰ و ۹۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار، و با سه تکرار در چارچوب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. واکاوی داده-های آزمایشی نشان داد که باکتری‌های محرک رشد در شرایطی که کود ازته اضافه نشده بود موجب افزایش وزن خشک شاخساره و غلظت نیترات در مقایسه با شاهد شدند. بررسی میزان نیترات در گیاه نشان داد که افزایش میزان کود دهی به بیش از ۳۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار، به انباشت نیترات در شاهد می‌انجامد. در همه تیمارهای باکتریایی حتی با کاربرد سه برابر کود توصیه شده، میزان نیترات پایین‌تر از شاهد بدون باکتری بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد جدایه‌های پروبیوتیک گیاهی در سامانه‌های تلفیقی مدیریت کودهای ازتی به افزایش بازده کود و عملکرد نیترات و کاهش انباشت نیترات در گیاه می‌انجامد.

واژه‌های کلیدی

انباشت نیترات،
پروبیوتیک گیاهی،
کشاورزی پایدار،
کود اوره،
کود زیستی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 2, 2023

Abstract

With the rising cost of chemical fertilizers and their negative impact on the environment, there is growing interest in the use of beneficial microorganisms to enhance soil and plant fertility. The present study showed that bacterial isolates can produce auxin and solubilized phosphate, which increases germination and plant growth indices under laboratory and greenhouse conditions. To investigate the effects of different nitrogen fertilizer rates on yield and nitrate accumulation in tomato plants, an experiment with eight bacterial treatments and three rates of zero, 300, and 900 kg urea per hectare was set up in a completely randomized factorial trial with three replicates in the greenhouse. Results showed that the growth-promoting bacteria significantly increased shoot dry weight and nitrate concentration in the absence of nitrogen fertilizer compared to the non-inoculated control. Evaluation of nitrate content in the plants showed that excessive fertilization with more than 300 kg of urea may lead to nitrate accumulation in the control plants. In all bacterial treatments, nitrate levels were lower than in the untreated control, even when three times the recommended amount of fertilizer was applied. In conclusion, plant probiotic isolates in integrated nitrogen fertilizer management systems can improve fertilizer efficiency and yield and reduce nitrate accumulation in plants.

Keywords: Biofertilizer, Nitrate accumulation, Plant probiotic, Sustainable agriculture, Urea fertilizer

مقدمه

روش‌های مدیریت مرسوم عناصر غذایی، وابستگی بسیاری به کاربرد کودهای شیمیایی دارد و در بیشتر موارد به توانمندی زیست‌شناختی خاک و گیاه کمتر توجه شده است. با نگرش به این که شمار بسیاری از گیاهان زراعی برای ساخت پروتئین‌های گیاهی و مولکول‌های زیستی خود به عناصر نیتروژن و فسفر بیش از دیگر عناصر نیازمند هستند و کمبود این مواد به کاهش تولید محصولات زراعی می‌انجامد، از این روی، کشاورزان همسو با این اندیشه که کاربرد بیشتر چنین کودهای شیمیایی کارکرد گیاه کشاورزی را می‌افزاید، خودسرانه و با چشم‌پوشی از پیامدهای ناگوار این مواد در بهم خوردن تعادل عناصر خاک، اختلال در حلالیت و جذب عناصر غذایی، عناصر سمی همراه کود و مخاطرات زیست‌محیطی آن‌ها، این دسته از کودها را به کار گرفته‌اند (Tilman *et al*. 2011; Bhattacharyya & Jha 2012). کاربرد کودهای ازتی یکی از راه‌های معمول برطرف کردن این محدودیت است که در سال‌های گذشته برای دستیابی به کارکرد بیشتر، بی‌رویه به کار گرفته شده‌اند آن چنان که در برخی مناطق مقدار کودهای ازتی به کار گرفته شده برای هر گیاه نزدیک به پنج تا هشت برابر نیاز راستین گیاه است. از میان تدابیر مدیریتی در راستای افزایش تولید و کاهش کاربرد نهاده‌های کشاورزی به ویژه کودهای شیمیایی، بر فراریشه و پیدایش پیوندهای دوسویه گیاه–ریززی پافشاری می‌شود. مایه‌زنی خاک با باکتری‌های محرک رشد (PGPRs) یک ابزار امیدوار کننده از سیستم‌های مدیریت تلفیقی برای افزایش بهره‌وری گیاهان از عناصر غذایی از طریق فناوری میکروبی و دستیابی به کشاورزی پایدار است (Benedetto *et al*. 2017). رشد و توسعه ریشه که در واقع سطح تماس گیاه با خاک و در نتیجه سطح جذب کننده‌ی عناصر غذایی را افزایش می‌دهد، می‌تواند به طور مؤثری تحت تأثیر میزان ترکیبات موجود در ریزوسفر و حضور جمعیت‌های مفید ریزموجودات در آن قرار گیرد. نقش باکتری‌های محرک رشد در افزایش رشد و همچنین افزایش بهره‌وری عناصر غذایی بارها در منابع گوناگون آورده شده است (Kloepper *et al*. 1989; Adesemoye *et al*. 2009). از باکتری‌های موفق محرک رشد که توانایی بالایی در تسخیر فراریشه دارند می‌توان جنس‌های: *Azotobacter*، *Serratia*، *Azospirillum*، *Nitrobacter*، *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Bradyrhizobium*، *Acinetobacter*، *Klebsiella*، *Mezorhizobium* و *Rhizobium* را نام برد. سازوکار کنش باکتری‌های محرک رشد بسان کودهای زیستی بیشتر شامل:

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

(۱) تثبیت زیست‌شناختی نیتروژن، (۲) افزایش دسترسی و جذب مواد غذایی از فراریشه، (۳) تحریک افزایش سطح تماس ریشه با تولید ریشه‌های فرعی بیشتر،٤) افزایش سایر همبستگی‌های مفید میزبان و ٥) آمیخته‌ای از سازوکارهای گفته شده است (Ahemad & Kibret 2014). در میان عناصر غذایی ضروری برای گیاه، جذب نیترات متأثر از میزان نیترات قابل دسترس و حضور باکتری‌های محرک رشد است (Forde 2002; Casimiro *et al.* 2003). جذب نیترات و آمونیوم از ریشه ممکن است با تعامل آن‌ها با قارچ‌های میکوریز، باکتری‌های محرک رشد، اسید هیومیک، ترکیبات آللوپاتیک مانند کومارین تحریک و با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن محیط مهارشود (Benedetto *et al.* 2017). نیترات برون‌زاد بیان ژن‌های حامل نیترات را القاء کرده و موجب افزایش تعداد و طول ریشه‌های جانبی قرار گرفته در معرض نیترات می‌شود. در واقع حاملین نیترات به‌عنوان پل ارتباطی با هورمون‌هایی مانند اسید ایندول استیک، اسید آبسیزیک و سیتوکینین کار می‌کنند. پژوهش های بسیاری نقش انواع باکتری‌های آزادزی در رشد گیاه (غیر از بقولات) را بیشتر در پیوند با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن، تسهیل جذب مواد مغذی از خاک، قابلیت انحلال فسفات، افزایش مقاومت به تنش‌ها، تولید ویتامین‌ها و بیوکنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌دانند (Kennedy *et al.* 2004). افزون بر موارد گفته شده در بالا، یکی از دلایل محتمل برای اثبات این موضوع در پیوند با نقش باکتری‌های باکتری‌های محرک رشد در افزایش سطح تماس ریشه یا دگرگونی در معماری ریشه است (Lucy *et al.* 2003). نقش باکتری‌های محرک رشد بر توسعه‌ی ریشه‌های فرعی و تغییر محتوای نیترات را می‌توان به نقش آن‌ها در تغییر محتوای نیترات فراریشه به‌وسیله‌ی فعالیت آنزیم نیترات رِدُکتاز (Nitrate reductase) نسبت داد (Touraine 2003 & Mantelin). با احتمال اینکه باکتری‌های محرک رشد از نیترات به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند، این امکان وجود دارد که غلظت نیترات در سلول‌های سطح ریشه کاهش، اما بهره‌وری استفاده از مواد مغذی افزایش یابد. به طور کلی میزان نیترات در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد به‌میزان قابل توجهی بیشتر از گیاهان شاهد بدون باکتری‌های محرک رشد است (Saudibet *et al.* 2002). از برتری‌های کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاهان، نخست این که افزایش جذب نیتروژن با عوامل زیستی به بهینه سازی کاربری و کاهش کودهای شیمیایی و همچنین افزایش بازده گیاه می‌انجامد. در واقع باکتری‌های محرک رشد گیاهان در سراسر زمان رشد گیاه، نیتروژن را برای گیاه فراهم می‌کنند حال آن که کودهای شیمیایی با زمان‌بندی مشخص و در حجم بالایی به گیاه داده می‌شوند؛ دوم این که جذب نیتروژن با باکتری‌های محرک رشد ملاحظات ناشی از فرونشست کودهای ازته و باقی مانده‌ی کود در خاک‌های زراعی را کاهش می‌دهد. از این روی می‌توان نتیجه گرفت که گسترش سامانه‌های تلفیقی به افزایش بازده کودهای ازتی می‌انجامد آن چنان که کاربرد کود، کمابیش با جذب آن در گیاه برابر خواهد بود و بازمانده نیتروژن خاک نیز با مقدار نخستین نیتروژن خاک برابر است (Adesemoye *et al.* 2008; Adesemoye *et al.* 2009).

مواد و روش‌ها

جداسازی: به منظور جداسازی باکتری، از پساب خروجی پتروشیمی اوره و آمونیاک کرمانشاه و خاک مزارع آبیاری شده با پساب به مختصات جغرافیایی بین ۳۳ درجه و ٤١ دقیقه تا ۳٥ درجه و ۱۸ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ٤٥ درجه و ٢٤ دقیقه تا ٤٨ درجه و ۷ دقیقه طول شرقی گردآوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از هر مزرعه با یکدیگر مخلوط و از هر نمونه یک گرم خاک برداشته شد. نمونه خاک و پساب به صورت جداگانه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون مخلوط و از آن‌ها رقت‌های مختلف سریالی تهیه شد. یک‌صد میکرولیتر از رقت‌های پنج و شش با استفاده از میکروپیپت سترون روی محیط کشت آگار مغذی (NA) منتقل و پخش شد. سپس تشتک‌های کشت داده شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت نگهداری شدند. پرگنه‌هایی که از نظر شکل و رنگ در محیط آگار مغذی متفاوت بودند انتخاب و پس از خالص سازی در لوله‌های آزمایش حاوی آگار مغذی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سرانجام برای دستیابی به تک پرگنه باکتری متحمل به آمونیوم، پیرو روش گفته شده در بخش زیر،

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

باکتری‌های خالص شده روی محیط کشت نمک‌های معدنی حاوی آمونیوم کلراید کشت داده شدند (Seifi *et al.* 20019a).

دستیابی به باکتری‌های متحمل به آمونیوم: برای دستیابی به تک پرگنه باکتری متحمل، از باکتری‌های خالص شده از مرحله قبل روی محیط کشت نمک‌های معدنی حاوی ۲/٤٤ گرم در لیتر KH_2Po_4، ۱۲/۲ گرم در لیتر $NaH_2PO_4.2H_2O$، ۰/۲٤۰ گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۰۰۱ گرم در لیتر $CaCl_2.2H_2O$، $٤/٧\times10^{-٤}$ گرم در لیتر $FeCl_2.2H_2O$، $٣/٣\times10^{-٤}$ گرم در لیتر $MnCl_2.2H_2O$، ۳/۸ گرم در لیتر $C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$ تهیه و سپس به این محیط، غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام آمونیوم کلراید اضافه شد. با توجه به اینکه یون‌های Mg^{+2}، NH^{+4} و PO_4^{-3} موجود در محیط نمکی با یکدیگر برهم‌کنش داشته و درصورت اتوکلاو شدن کمپلکس $MgNH_4PO_4$ تشکیل می‌دهند، بنابراین برای جلوگیری از این مشکل، $MgSO_4.7H_2O$ با غلظت ۱۲ گرم در لیتر جداگانه تهیه شد و پس از خنک شدن به سایر مواد اتوکلاو شده در زیر هود و در شرایط سترون به محیط کشت اضافه شد. برای دستیابی به جدایه‌های متحمل به آمونیوم، هر بار غلظت این ماده در محیط کشت افزایش داده شد. سپس باکتری متحمل جهت بررسی دیگر آزمون‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت (Seifi *et al.* 20019a).

تکثیر باکتری در محیط حاوی نیترات جهت بررسی دنیتریفیکاسیون: جهت تعیین مسیر حذف نیتروژن توسط جدایه های متحمل به آمونیوم، محیط کشت دنیتریفیکاسیون (Denitrification) با حضور نیترات پتاسیم به‌میزان ۰/۲٤ گرم در لیتر به‌عنوان منبع نیتروژن تهیه شد. مابقی مواد مطابق ترکیب تهیه شده در مرحله قبل آماده شد. برای رشد و تکثیر باکتری نخست ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سترون حاوی نیترات پتاسیم به فلاسک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری تحت شرایط سترون اضافه شد و تک پرگنه از باکتری‌های مقاوم جداسازی شده از (روی غلظت ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام) مرحله‌ی قبل به محیط مایع منتقل و دهانه فلاسک گذاشته شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد روی شیکر با سرعت ۷۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس در شرایط سترون ٤۵ میلی‌لیتر از محیط کشت دوباره افزوده شد و برای ۲٤ ساعت در شرایط بالا روی شیکر انکوباتور جای داده شد. پس از ۲٤گذشت ساعت محتویات هر فلاسک برای ۱۰ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و مقدار نیترات به روش کاهش کادمیوم اندازه‌گیری شد (Seifi *et al.* 20019a).

آزمون احیای نیترات: این آزمایش بر پایه روش Fahy and Hayward (1983) در یک لیتر آب مقطر انجام شد. پس از آمیختن کامل عصاره مخمر (۵ گرم در لیتر)، نیترات پتاسیم (۳ گرم در لیتر)، آگار (۳ گرم در لیتر)، فسفات دی‌هیدروژن آمونیوم (۱ گرم در لیتر)، کلرید پتاسیم (۰/۲ گرم در لیتر)، سولفات منیزیوم ۷ آبه (۰/۲ گرم در لیتر). نزدیک به دو میلی‌لیتر از آن را داخل لوله مدرج ریخته و اتوکلاو شد. سپس به هر لوله پس از سرد شدن، یک لوپ باکتری مایه‌زنی شد و لوله‌ها برای ۷-۵ روز در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از آن به هر لوله آزمایش یک میلی‌لیتر از محلول ۰/٦ درصد دی‌متیل‌آلفانفتیل‌آمین و یک میلی‌لیتر محلول ۰/۸ درصد اسید سولفانیلیک افزوده شد (هر دو محلول در اسید استیک ۵ نرمال آماده شدند). این محلول برای سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری و پس از گذشت این زمان پیدایش رنگ ارغوانی در لوله‌ها نشانگر کنشگری آنزیم نیترات ردوکتاز در باکتری مورد بررسی بود و مثبت بودن نتیجه آزمون احیای نیترات دانسته شد. دیده نشدن رنگ ارغوانی در محیط کشت می‌تواند به علت نبود احیای نیترات و یا تبدیل نیترات به ترکیبات دیگر نیتروژن باشد. برای تائید نبود احیای نیترات به نیتریت، مقدار بسیار اندکی گرد فلز روی به لوله‌ها افزوده شد. دگرگونی رنگ محیط به ارغوانی، نشانه نبود آنزیم احیای نیترات درجدایه‌های باکتری مورد بررسی است (Schaad *et al.* 2001).

توانایی باکتری در کاهش یون نیترات: برای اندازه‌گیری نیترات از روش کاهش کادمیوم (APHA 2005) ارائه شده توسط شرکت HACH آمریکا برای دستگاه اسپکتروفتومتر DR–2800 و با استفاده از کیت Nitraver 5 مربوط به همین شرکت (HACH 2015) استفاده شد. محدوده‌ی نیترات قابل اندازه‌گیری در این کیت ۳۰-۰/۳ پی‌پی‌ام یون نیترات است. برای تهیه محلول استاندارد، ابتدا ۱/۵ گرم نیترات پتاسیم که قبلاً به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده بود را در آب مقطر دیونیزه

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

عاری از نیترات حل کرده و به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پی‌پی‌ام نیترات تهیه شد. مقدار۱۰ میلی‌لیتر از فاز رویی سوسپانسیون باکتری آماده شده را در لوله‌های مدرج سترون ریخته شد و سپس محتویات کیت با شماره دسترسی (1408100) NI-12 به هر لوله اضافه و پس از انحلال کامل بعد از پـنج دقیقه میزان جذب آن در طول موج ٥٤٠ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از فرمول Y = 0.0911x - 0.0557 غلظت نیترات در هر نمونه محاسبه شد. (https://www.hach.com/p-nitraver-5-nitrate-reagent-powder-pillows-5-ml-pk-100/1403599)

بررسی تولید اکسین: جهت اندازه‌گیری مقدار هورمون اسید اندول استیک تولید شده توسط باکتری، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از کشت تازه باکتری رشد یافته در محیط آبگوشت مغذی (NB) به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت تازه NB دارای ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تریپتوفان منتقل و برای ٤٨ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور دقیقه و دمای ٢٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس سلول‌های باکتری با سانتریفوژ کردن در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شدند. پس از حذف سلول‌ها، یک میلی‌لیتر از مایع رویی با چهار میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفورریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۷/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن سه آبه ۰/۵ مولار) مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و پس از گذشت این زمان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. میزان تولید اسید اندول استیک با همسنجی جذب نوری آن با منحنی استاندارد آماده شده با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (Patten & Glick 2002)

بررسی توان انحلال فسفر معدنی: توانایی جدایه‌های باکتریایی برای تولید فسفاتاز به روش Pikovskaya (1948) آزموده شد. برای این کار از کشت تازه باکتری به صورت لکه‌ای بر روی محیط جامد پایکوفسکی حاوی: گلوکز (۱۰گرم در لیتر) – آگار (۱۵گرم در لیتر)– عصاره مخمر (۰/۵ گرم در لیتر)– فسفات کلسیم (۵ گرم در لیتر)– سولفات آمونیوم (۰/۵گرم در لیتر) – کلرید سدیم (۰/۲ گرم در لیتر) – کلرید پتاسیم (۰/۲ گرم در لیتر)– سولفات منیزیوم هفت آبه (۰/۱ گرم در لیتر)– سولفات آهن هفت آبه (۰/۰۰۲ گرم در لیتر) – سولفات منگنز (۰/۰۰۲ گرم در لیتر) کشت شد. سپس نمونه‌ها به مدت چهار روز در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شدند. توانایی تولید آنزیم با تشکیل هاله شفاف پیرامون محل رشد باکتری ارزیابی شد (Pikovskaya 1948).

آغشته‌سازی بذر با باکتری: بذور گوجه‌فرنگی رقم فلات (تهیه شده از موسسه تحقیقات و اصلاح بذر کرج) به مدت سه دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی سطحی شدند و هیپو کلریت آن‌ها با سه بار شستشو در آب مقطر زدوده شد. برای آغشتن بذور با جدایه باکتری از روش والر و همکاران (1993) بهره گرفته شد. یک لوپ کامل از کشت ٤٨ ساعتی جدایه باکتری روی محیط آگار مغذی (NA) به فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط آبگوشت مغذی (NB) برده شد و برای ٤٨ ساعت روی دستگاه شیکر (۱۲۰ دور در دقیقه) در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. یاخته‌های باکتری با بهره‌گیری از سانتریفوژ (به مدت ۱۰ دقیقه در ٦۰۰۰ دور در دقیقه) رسوب داده شدند و چند بار با محلول سرم فیزیولوژیک (کلرید سدیم ۰/۹ درصد) برای زدوده شدن بازمانده محیط غذایی شستشو انجام گرفت (Weller *et al.* 1993). سپس یاخته‌های باکتری با بهره‌گیری از سانتریفوژ دوباره از این محلول جداسازی شدند و پس از تعیین جمعیت سوسپانسیون هر جدایه به غلظت 10^9واحد تشکیل دهنده پرگنه در میلی‌لیتر (CFU/ml) درمحلول یک درصد کربوکسی متیل سلولز و با بهره‌گیری از فرمول $D_1V_1 + D_2V_2 = D_T (V_1+V_2)$ آماده شد.

D_1= غلظت سوسپانسیون موجود

V_1= حجم سوسپانسیون نخستین

D_2= غلظت باکتری در محلول افزوده شده (در اینجا چون محلول CMC بدون باکتری محلول افزوده شده $D_2=0$ می باشد)

D_T= غلظت سوسپانسیون نهایی

V_2= حجم محلول محلول افزوده شونده

تعداد ۲۰ بذر گوجه‌فرنگی درون سوسپانسیون باکتری ریخته شده و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر انکوباتور (۷۰ دور در دقیقه و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. در تیمار شاهد

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

بذوردرون آب مقطر سترون فاقد باکتری غوطه ور شدند. بذور مایه‌زنی شده تحت تأثیر جریان ملایم هوا در زیر هود خشک شدند.

اثر باکتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی: تعداد ده عدد بذر تیمار شده با هر یک از جدایه های باکتری، درون تشتک پتری به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی کاغذ صافی سترون و مرطوب شده با آب مقطر سترون جای داده شدند و در اتاقک رشد با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۷ درصد نگهداری شدند. تشتک‌های پتری هر روز مورد بررسی قرار گرفته و تعداد بذور جوانه زده یادداشت و در نهایت برای همسنجی تاثیر جدایه‌های باکتریایی پس از هفت روز ارتفاع ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد و درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و شاخص بنیه بذر مطابق فرمول‌های زیر محاسبه شد.

سرعت جوانه‌زنی $\sum GR = \frac{N_i}{T_i}$

Ni: تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز، Ti: تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش

درصد جوانه‌زنی $PG = (n/N)\ 100$ n : تعداد بذور جوانه زده در هر روز، N: تعدادکل بذور

شاخص بنیه بذر $Vi = \frac{Ls \times Pg}{100}$ Pg: درصد جوانه‌زنی نهایی، Ls: میانگین طول گیاهچه (Hampton & Tekrony 2008)

آزمایش‌های گلخانه‌ای

بررسی تأثیر جدایه‌های باکتری بر افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی: برای بررسی نقش باکتری، در میزان افزایش رشد گیاه، آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در شرایط گلخانه انجام گرفت. مقدار ۳۰۰ گرم خاک مزرعه سترون شده به همراه یک سوم حجمی آن، از پرلیت به گلدان‌های ضدعفونی شده با الکل ۷۰ درصد افزوده شد. سه عدد بذر گوجه‌فرنگی که پیشتر در قسمت آغشته‌سازی بذور به جدایه‌های باکتری (Weller *et al*. 1993) بیان گردید، با هر یک از سویه‌ها به صورت جداگانه مایه‌زنی شده و در گلدان‌های مجزا کاشته شدند. گلدان‌های کاشته شده در در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط گلخانه نگهداری و هر دو روز یک‌بار آبیاری انجام شدند. ۳۵ روز پس از کاشت، گیاهان برداشت شده و سنجه‌های رویشی آن‌ها شامل وزن خشک اندام‌های هوائی و وزن خشک ریشه، طول ریشه و بلندی شاخساره اندازه‌گیری شدند.

بررسی تاثیر جدایه‌های باکتریایی در کاهش میزان نیترات گیاه گوجه‌فرنگی: در این آزمون از گلدان‌هایی با دهانه‌ای به قطر ۱۳ و بلندی ۱٤/۵ سانتی‌متر بهره گرفته شد. گلدان‌ها پس از شستشو با آب، با الکل ۷۰٪ سترَون شدند. سپس، همه گلدان‌ها با ۱/۵ کیلوگرم خاک مزرعه پر شدند. ریشه نشاءهای آماده شده از بذور رقم فلات تا نزدیکی طوقه درون سوسپانسیون‌های باکتریایی با غلظت 10^8 CFU/ml برای یک ساعت جای داده شدند و پس از کشت دو نشاء در هرگلدان، مقدار پنج میلی‌لیتر از هر سوسپانسیون نیز روی خاک پیرامون ریشه ریخته و با خاک پوشانده شد. آبیاری از روز پس از کاشت انجام گرفت. کود به کار گرفته شده، نیترات آمونیوم، دو بار در تاریخ‌های ۹۸/۱/۲۱ ده روز پس از کاشت نشاءها و ۹۸/٤/۱ در اوان آغاز گل‌دهی در سه سطح صفر (بدون کود دهی)، ۰/۱۳ گرم/کیلوگرم خاک (برابر میزان کود توصیه شده) و ۰/۳۹ گرم/کیلوگرم خاک (سه برابر کود توصیه شده) مطابق توصیه کودی و با توجه به تجزیه خاک استفاده شده (برابر با ۳۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار) محاسبه شد. گفتنی است که اوره دارای ۰/٤٦ درصد ازت و نیترات آمونیوم دارای ۰/۳۳ درصد ازت است که این نسبت‌ها در محاسبات کودی لحاظ شدند. گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار و برای جلوگیری از هدر رفت کود ازتی به کار گرفته شده و نگهداری نم گلدان‌ها، آبیاری به روش وزنی انجام گرفت. برای این کار، نخست هر گلدان با ترازوی دیجیتال وزن شد و درصد وزنی رطوبت خاک پیش از هر آبیاری محاسبه شد. پس از تعیین کمبود رطوبت خاک، با اضافه کردن آب، به رطوبت حد گنجایش مزرعه رسانیده شد (میزان حد گنجایش مزرعه خاک استفاده شده ۲۳ درصد است) بدین منظور هر دو روز یک‌بار با ۳۰ میلی‌لیتر آب به صورت مرتب آبیاری شده و در گلخانه با دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. با توجه به اینکه نیاز آبی گیاه در طول دوره‌ی رشد افزوده می‌شود بنابراین با لحاظ کردن ضریب مدیریتی گوجه‌فرنگی که از نشریه فائو ٥٦ استخراج شد در بازه‌ی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

پنجاهمین روز تا زمان برداشت ۳۷ میلی‌لیتر آب برای هرگلدان اختصاص داده شد(FAO-56 1998). برای ارزیابی مقدار نیترات موجود در هر تیمار، گیاه گوجه‌فرنگی در تاریخ ۹۸/٤/۳۰ برداشت شد. مقدار کود مصرفی برای هر گلدان از فرمول زیر محاسبه شد (Seifi *et al.* 2019a& Seifi *et al.* 2019b).

$$\text{وزن خاک} = \frac{\text{چگالی خاک Kg}}{\text{حجم خاک } m^3}$$

* با توجه به مساحت یک هکتار زمین به عمق ۳۰ سانتی‌متر و با در نظر داشتن دانسیته‌ی خشک مزرعه معادل ۱/۳ تُن/مترمکعب، وزن خاک خشک آن برابر با ۳۹۰۰ تُن محاسبه شد. همچنین، از آب آشامیدنی برای آبیاری گلدان‌ها بهره گرفته شد و چون برای همه تیمارها از یک منبع مورد بهره‌برداری شد، میزان نیترات آب به کار گرفته شده لحاظ نشد. این آزمون با ۱۰ تیمار (جدایه‌های باکتری) و با سه سطح کود (صفر، کود توصیه شده و سه برابر کود توصیه شده) به شیوه فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گردید و میانگین‌های تیمارها بر پایه آزمون توکی در سطح خطای آماری ۱٪ همسنجی شدند.

اندازه‌گیری نیترات در گیاه به روش کالریمتری پس از احیاء (دی‌آزو): به منظور بررسی میزان نیترات در گیاهان تیمار شده با جدایه‌های باکتری، قسمت‌های هوایی گیاه ۱۰۳ روز پس از انتقال نشاء به گلدان و در ابتدای مرحله گلدهی برداشت شد. سپس قسمت هوایی گیاه در پاکت‌هایی جداگانه در دمای ۵±۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز در داخل آون خشک و سپس وزن خشک شاخساره هر تیمار با ترازوی دیجیتال تعیین شد. برگ‌های خشک شده هر نمونه جداگانه با آسیاب برقی پودر شدند. در کار با هر نمونه، ۰/۳ گرم از آن برداشت و به ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری جداگانه‌ای افزوده شد، و ۵۰ میلی‌لیتر اسید استیک دو درصد به آن افزوده شد و برای ۳۰ دقیقه روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه جای داده شد. برای از میان بردن رنگ عصاره و دستیابی به عصاره‌ای شفاف، ۰/۲ گرم کربن فعال در پنج دقیقه پایانی تکان خوردن روی شیکر، به هریک از نمونه‌ها افزوده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از هر عصاره پالاییده شده با کاغذ واتمن شماره ٤۲ را درون لوله‌های آزمایش ریخته و به آن ۰/۵ گرم از مخلوط آماده‌ی سولفات منگنز مونوهیدارت (۱/۲۵ گرم)، $C_6H_8N_2O_2$ (۰/۵ گرم)، $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ (۰/۲۵ گرم) و یک گرم گرد روی به آن افزوده و برای ۳۰ ثانیه به هم زده شد. سوسپانسیون‌های به دست آمده دوباره از کاغذهای واتمن شماره ٤۲ گذر داده شدند و غلظت نیترات نمونه‌ها با بهره-گیری از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Singh 1988). برای آماده کردن محلول استاندارد، ۰/۷۲۳ گرم نیترات پتاسیم در یک لیتر آب مقطر دوبار تقطیر حل گردید و سپس از آن، سری محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۰، ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آماده کرده شد. غلظت نیترات هر نمونه با نگرش به منحنی استاندارد بر پایه غلظت‌های گفته شده از فرمول $Y = 0.1175X - 0.028$ محاسبه شد.

شناسایی و تعیین توالی کل ژنوم باکتری: استخراج DNA کل، از ۱۰ میلی‌لیتر کشت ٤۸ ساعتی باکتری در محیط مایع آبگوشت مغذی توسط کیتQIAamp DNA Mini Kit (شماره کاتالوگ: ٥۱٥۰٤، شرکت کیاژن، ساخت ایالات متحده آمریکا) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. سپس کمیت و غلظت مناسب اسید نوکلئیک با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از دستگاه نانوداپ مدل ND8000 (شرکت Thermo، ساخت ایالات محده آمریکا) تعیین شد. نمونه‌های استخراج شده DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعیین توالی کل ژنوم باکتری‌های برگزیده با بهره‌گیری از تکنولوژی Illumina Hiseq2500 صورت گرفت. جهت انجام مراحل آماده سازی نمونه با کیت‌های ایلومینا (TruSeq DNA free- PCR)، بارکدگذاری اختصاصی، حذف توالی آداپتور و در پایان توالی‌یابی کل ژنوم، نمونه به بخش بیوکنترل دانشگاه کرنل (Cornell University) منتقل شدند. بعد از اتمام مراحل فوق توالی‌های نوکلئوتیدی خام با استفاده از ابررایانه‌های ٦٤ هسته‌ای Intel Xeon E7-Dell بخش بیوتکنولوژی دانشگاه کرنل جهت مراحل پس‌پردازش توالی نوکلئوتیدی به کار گرفته شدند. سپس توالی‌های کوتاه، توالی‌های جفت نشده و آداپتورها (در صورت وجود) با Trimmomatic Vo.30 و seqPrep Vo. 2013-12-17 از داده‌های خام بارگذاری شده زدوده شدند. برای هم‌ردیف کردن توالی‌ها از نرم‌افزار dimond Vo. 0.9.24 و سپس برای زدودن فاصله‌های درون توالی‌های هم‌ردیف شده از GapFiller 1.11 بهره گرفته شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

گردایش داده‌های مراحل پیشین با نرم‌افزارهای Vo. 3.13.1 SPAdes انجام گرفت. سپس توالی‌های پالایش شده در پایگاه‌های RAST و PATRIC بارگذاری شدند و در بخش PGAAP (Prokaryotic Genomes Automatic Annotation Pipeline) تفسیر و سپس پیش‌بینی پروتئین انجام گرفت. همه نرم‌افزارها در تارنمای بخش بیوتکنولوژی دانشگاه کرنل (https://biohpc.cornell.edu/lab/labsoftware.aspx) در دسترس هستند.

تجزیه و تحلیل آماری: تمامی آزمون‌ها به‌جز بررسی کاهش میزان نیترات گیاه توسط جدایه‌های باکتری که به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد، تمامی آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات به روش حداقل تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) و با استفاده از نرم‌افزار Minitab ver. 17 و گروه‌بندی تیمارها بر اساس آزمون توکی انجام شد. نرمال بودن پراکنش داده‌ها قبل از تجزیه و تحلیل آماری نیز با نرم‌افزار Minitab مورد آزمایش قرار گرفت. در صورت نرمال نبودن منحنی پراکنش داده‌ها، با بهره‌گیری از تابع باکس-کاکس (BoxCox) توسط نرم‌افزار مذکور تبدیل داده‌ها انجام گرفت.

نتایج

براساس نمونه‌برداری‌های انجام شده در این پژوهش، روی‌هم‌رفته ۵٤۷ جدایه باکتری، دربرگیرنده ۲۸٦ جدایه از ریزوسفر بیرونی، ۱٦۵ جدایه از ناحیه ریزوپلان و ۹٦ جدایه از پساب خروجی پتروشیمی واحد اوره-آمونیاک شهرستان کرمانشاه، جداسازی شدند. همچنین، افزون بر بررسی باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر بیرونی، ریزوپلان و پساب، از هفت جدایه تجاری نیز بهره گرفته شد. پس از جداسازی، غربالگری نخستین بر پایه توانایی رشد جدایه‌ها در بیشینه میزان آمونیوم موجود در محیط کشت نمک‌های معدنی غنی شده با آمونیوم کلراید به‌عنوان تنها منبع نیتروژنی صورت گرفت. براین اساس پس از هفت بار انتقال مرحله‌ای، ۹٦ جدایه که توانایی رشد در محیط کشت با غلظت ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام آمونیوم کلراید را داشتند، به‌عنوان جدایه‌های متحمل به آمونیوم برای انجام آزمون‌های بعدی انتخاب شدند. با توجه به اینکه یکی از اهداف اصلی این تحقیق غربال‌گری جدایه‌های کاهنده نیترات بود، آزمون‌های احیاء نیترات و کاهش یون نیترات در آزمایشگاه به ترتیب صورت گرفت که ۳٤ جدایه در این آزمون مثبت ارزیابی شدند، تمامی جدایه‌های احیاء کننده نیترات فارغ از میزان نیترات باقی‌مانده در محیط توانستند یون نیترات را کاهش دهند. در بین جدایه‌ها، ۹ جدایه بیش از ۹۰ درصد توانایی کاهش یون نیترات را پس از گذشت ۲٤ ساعت داشتند. آنچه که در انتخاب جدایه‌های برتر حائز اهمیت است توانایی چندمنظوره جدایه‌های منتخب در تولید متابولیت‌های باکتریایی و قابلیت افزایش‌دهندگی رشد گیاه منطبق با اهداف پژوهش است. برای این منظور پس از جداسازی و غربال‌گری اولیه جدایه‌ها، سازوکارهای دخیل در توانایی افزایش‌دهندگی رشد گیاه آن‌ها در آزمایشگاه و گلخانه بررسی شدند.

آزمون احیاء نیترات

در این بررسی در مجموع ۳٤ جدایه توانایی احیاء نیترات خود را نشان دادند که از این بین ۳۰ جدایه بعد از پنج روز با ظهور رنگ قرمز، مثبت قلمداد شدند (شکل ٤). با توجه به اینکه توانایی‌های استفاده و احیاء نیترات برای تمامی جدایه‌ها یکسان نیست، مابقی جدایه‌ها سه روز بعد دوباره مورد بررسی قرار گرفتند که ٦۱ جدایه با اضافه کردن پودر فلز روی به لوله‌ها و تولید رنگ قرمز که نشان‌دهنده وجود نیترات در محیط و منفی بودن واکنش بودند جهت انجام بررسی‌های بعدی، حذف شدند. در این بین چهار نمونه منفی کاذب بوده و با اضافه کردن گرد روی تغییر رنگی مشاهده نشد که دلیل آن عدم حضور نیترات و تبدیل آن به گاز نیتروژن و یا اکسید نیترو است (Schaad *et al.* 2001). مقایسه مجموع باکتری‌های جداسازی شده از منابع ریزوسفر، پساب و ریزوپلان نشان داد که به‌ترتیب ٤۹، ۳۰ و ۲۱ درصد از این جدایه‌ها توانایی احیاء نیترات را دارا بودند. در این آزمون از سویه *Alcaligenes faecalis* 1624 (A.F) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به‌عنوان باکتری نیترات‌زدا با توانایی کاهش نیترات به گاز نیتروژن بهره گرفته شد.

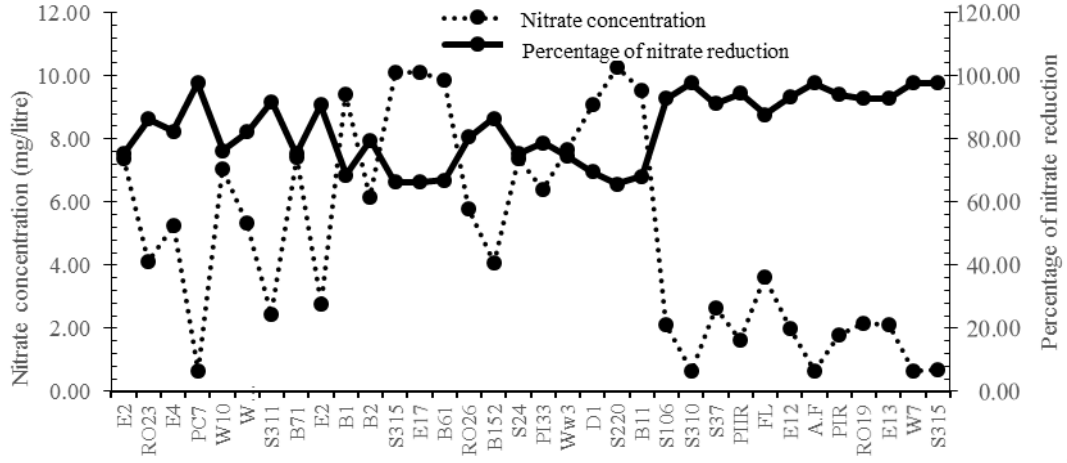
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

توانایی باکتری در کاهش یون نیترات: در این بررسی توانایی کاهش غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام یون نیترات (بر مبنای محدوده‌ی قابل اندازه‌گیری کیت که بین ۰/۳ تا ۳۰ پی‌پی‌ام است) در ۳٤ جدایه باکتری احیاء کننده نیترات بررسی گردید. پنج دقیقه پس از اضافه کردن کیت Nitraver 5 شرکت HATCH آمریکا تمامی جدایه‌ها فارغ از میزان نیترات باقی‌مانده، عکس‌العمل تقریباً یکسانی به منبع نیتروژن (یون نیترات) نشان داده و موجب کاهش نیترات اولیه موجود در محیط رشد شدند. در این بین جدایه‌های PC7، S311، E2، S106، S310، S37، PIIR، FL، E12، A.F، PIR، RO19، E13، W7 و S315 توانستند بیش از ۹۰ درصد نیترات اولیه را در ۲٤ ساعت کاهش دهند. با توجه به اینکه تأکید بیشتر این تحقیق بر غربالگری جدایه‌هایی بود که علاوه بر خاصیت کاهندگی نیترات، پروبیوتیک گیاهی نیز باشند، بنابراین جهت دستیابی به جدایه‌ی برتر، غربالگری بعدی براساس تولید متابولیت‌های باکتریایی دخیل در خاصیت افزایش دهندگی رشدی گیاه گوجه‌فرنگی انجام شد (شکل ۱).

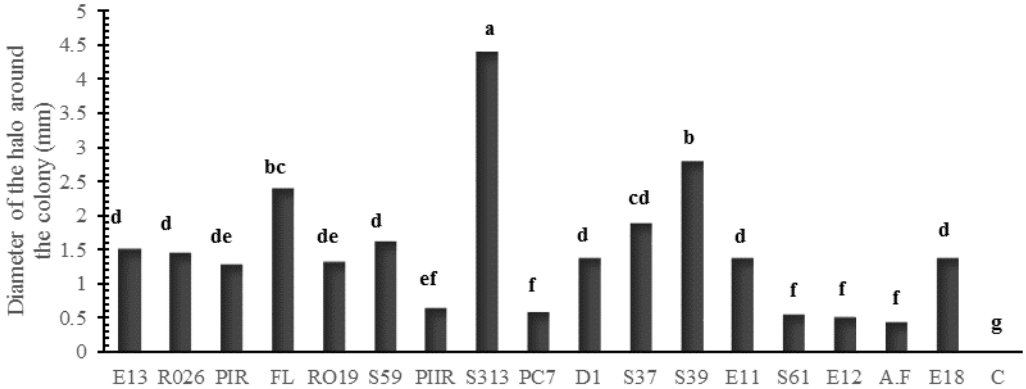
بررسی توان انحلال فسفر معدنی

توانایی جدایه‌ها در انحلال فسفر، به نسبت قطر هاله به قطر پرگنه سنجیده شد. در این آزمون پس از ۹٦ ساعت، ۳٤ جدایه از نظر توانایی انحلال فسفر معدنی در محیط پایکوفسکی و تولید هاله شفاف اطراف پرگنه بررسی گردید. در ۱۷ جدایه هاله شفاف اطراف پرگنه رؤیت شد و از مقایسه قطر هاله‌ی اطراف باکتری، میزان تولید فسفاتاز جدایه‌ها با یکدیگر مقایسه شدند (شکل ۲). در بین جدایه‌ها بیشترین قطر هاله شفاف اطراف پرگنه متعلق به جدایه‌های S313 و S39 بود که به ترتیب دارای ٤/٤ و ۲/۸ میلی‌متر هاله شفاف اطراف پرگنه کشت شده در محیط پایکوفسکی را داشتند (شکل ٤).



شکل ۱- توانایی جدایه‌های باکتری در کاهش یون نیترات

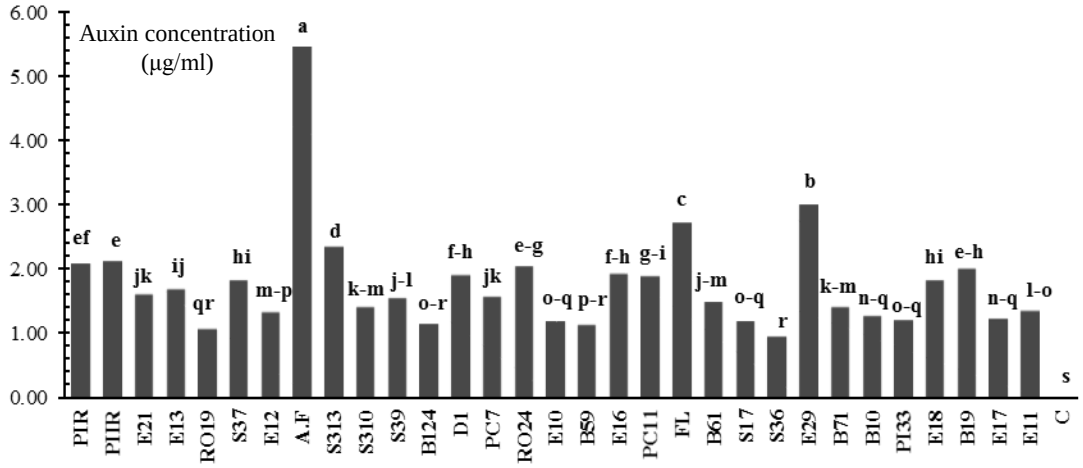
Fig 1. The ability of bacterial isolates to reduce nitrate ions



شکل ۲ -توانایی جدایه‌های باکتری در انحلال فسفر معدنی روی محیط پایکوفسکی. حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Fig 2. The ability of bacterial isolates to dissolve inorganic phosphorus on Pikovskaya medium. Similar letters have no significant difference at the 1% level, based on Tukey's test.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]



شکل ۳ –توانایی جدایه‌های باکتری در تولید اکسین. حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح ۱٪ دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Fig 3. The ability of bacterial isolates to produce auxin. Similar letters have no significant difference at the 1% level, based on Tukey's test.

بررسی تولید اکسین

در این آزمون از بین ۳٤ جدایه مورد بررسی، ۳۱ جدایه پس از گذشت ٤۸ ساعت توانایی تولید اکسین (ایندول ۳–استیک اسید) را داشتند. نتایج مربوط به بررسی تولید اکسین حاکی از این بود که بیشترین میزان اکسین تولید شده در جدایه‌ها ۵/٤۷، ۳/۰۱ و ۲/۷۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و به‌ترتیب در جدایه‌های *A. faecalis* 1624، E29 و Fl مشاهده شد (شکل ۳).

اثر باکتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی

در این آزمون بذور گوجه‌فرنگی رقم فلات در معرض سوسپانسیون ۹ جدایه منتخب از آزمون‌های پیشین قرار گرفتند. با توجه به اینکه جدایه‌های منتخب توانایی تولید اکسین و انحلال فسفر معدنی را داشتند، گمان می‌رفت که به افزایش شاخص‌های رویشی گیاه نیز بینجامند. بنابراین برای اثبات این فرضیه، تأثیر ۹ جدایه منتخب PIR، PIIR، FL، E12، E13، S37، S313، RO19 و *Alcaligenes faecalis* 1624 بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول (۱) مشخص است، جدایه‌های باکتریایی موجب افزایش درصد جوانه‌زنی کل نسبت به شاهد شدند ولیکن از نظر مقایسه میانگین تفاوت معنی‌داری با شاهد در سطح یک درصد نداشتند. با توجه به اینکه بیشترین تغییرات در میزان جوانه‌زنی بذر در روزهای سوم و پنجم نسبت به شاهد در دو روز مذکور ملاحظه شد، بنابراین مقایسه میانگین جوانه‌زنی در طول این دو روز به طور جداگانه محاسبه شد. در بین تیمارهای باکتریایی مورد ارزیابی در روز سوم بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی بذر در تیمار S313 با میانگین ۸/٦۷ بذر جوانه‌زده با ۷۳ درصد جوانه‌زنی و کمترین میزان در تیمار E12 با میانگین ۵/۳۳ بذر جوانه‌زده با ٦/٦۷ درصد جوانه‌زنی مشاهده شد. شایان ذکر است که میانگین تعداد بذور جوانه‌زده شاهد در این روز پنج بذر بود. بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی در روز پنجم مربوط به S313، *Alcaligenes faecalis* 1624 و FL بود که به ترتیب ۱۰٦، ۱۰۰ و ۹۳/۸۷ درصد موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شدند. تلقیح بذور با جدایه‌های منتخب منجر به افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به شاهد شد که بیشترین تأثیر مربوط به جدایه S313 بود (جدول ۱ و شکل٤).

بررسی تأثیر جدایه‌های باکتری بر افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی

در این آزمون تأثیر جدایه‌های PIR، PIIR، E12، E13، FL، S37، S313، RO19 و *Alcaligenes faecalis* 1624 روی بذر گوجه‌فرنگی رقم فلات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از شاخص‌های مورد ارزیابی شامل طول شاخساره، طول ریشه، وزن خشک شاخساره و وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری را در سطح یک درصد با شاهد نشان دادند (جدول ۱). جدایه‌های S313 و FL ارتفاع گیاه را نسبت به شاهد به ترتیب ۱/٦٦ و ۱/٦ برابر افزایش دادند. (شکل٤). بیشترین تأثیر در افزایش شاخص‌های عملکردی

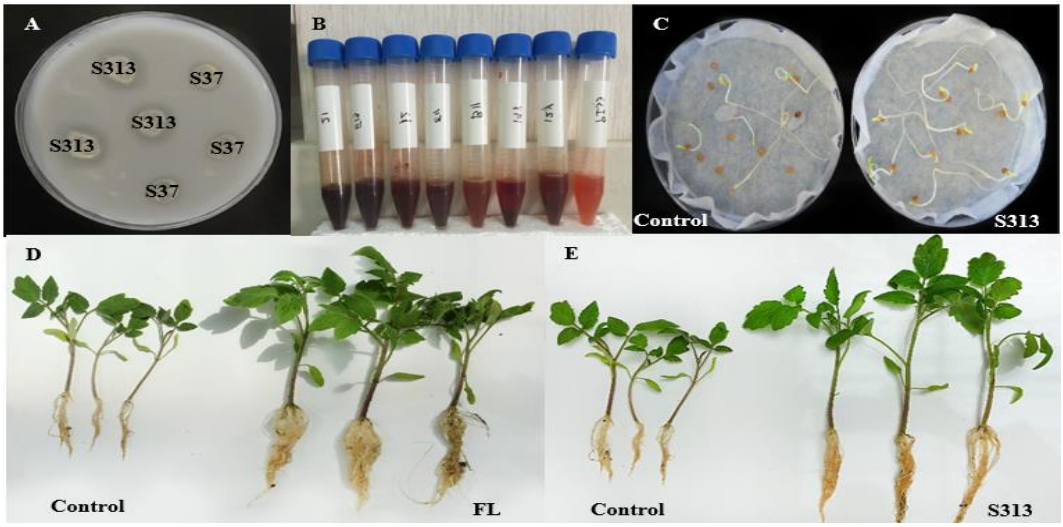
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

وزن خشک گیاه متعلق به جدایه FL بود که موجب افزایش ۱/۷ برابری مجموع وزن خشک گیاه نسبت به شاهد شد.

بررسی تاثیر جدایه‌های باکتریایی در کاهش میزان نیترات گیاه گوجه‌فرنگی

در تحقیق حاضر اثر متقابل جدایه‌ها بر شاخص عملکردی میانگین وزن خشک شاخساره در گیاه گوجه‌فرنگی و غلظت نیترات در هر سه سطح بدون کود، کود تجویز شده (معادل ۳۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار) و سه برابر کود تجویز شده (معادل ۹۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار) در سطح پنج درصد در آزمون توکی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که جدایه‌های منتخب در شرایطی که کود ازته اضافه نشده بود به طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش وزن خشک شاخساره و غلظت نیترات در مقایسه با شاهد شدند. در سطح کودی صفر جدایه‌های PIIR، FL و S313 به طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش وزن خشک شاخساره در مقایسه با شاهد شدند.



شکل ٤–A) ایجاد هاله شفاف اطراف کلنی جدایه‌های S313 و S37 روی محیط پایکوفسکی B) توانایی احیاء نیترات و نمایان شدن رنگ قرمز در جدایه‌ها C) تأثیر جدایه S313 بر افزایش رشد طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مقایسه با شاهد D) تأثیر جدایه FL بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی E) تأثیر جدایه S313 بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

Fig4. A) Clear halo formation around colonies of isolates S37 and S 3131 on Pikovskaya medium. B) The ability to reduce nitrate and the appearance of red color in the isolates. C) The effect of isolate S313 on increasing the growth of radicle and shoot length compared to the control. D) The effect of isolate FL on increasing the growth indices of tomato plant. E) The effect of isolate S313 on increasing the growth indices of tomato plant.

جدول۱– مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌های منتخب بر شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

Table 1.The effect of selected isolates on growth indices of tomato plants

Treatment	Shoot dry weight(g)	Root dry weight (g)	Shoot length (cm)	Root length)cm(	Vigor index	Germination percentage	Radicle length (mm)	Plumule length (mm)
S313	0.144d	0.09b	15.40a	7.16a	709.33a	66.67a	6.30a	5.60a
E12	0.118f	0.072e	13.9ab	5.56bc	360.22bc	42.22a	4.33ab	3.37b
PIR	0.131e	0.081d	14.33ab	5.16c	554.22abc	55.56a	5.50ab	5.20ab
S37	0.157c	0.072e	14.67a	4.50c	500.22abc	55.56a	5.50ab	5.13ab
FL	0.171a	0.100a	14.67a	7.03ab	722.44a	64.44a	6.13a	4.37ab
RO19	0.163b	0.082d	15.17a	5.5bc	640.67ab	55.56a	6.73a	5.07ab
E13	0.169a	0.084c	14.67a	5.63bc	581.33ab	57.78a	6.77a	5.37ab
A.F	o.113g	0.062f	13.83ab	5.5bc	469.33abc	57.78a	5.37ab	4.70ab
PIIR	0.119f	0.081d	13.68ab	5.56bc	496.44abc	53.33a	6.23a	4.73ab
Control	0.112g	0.041g	11b	2.56d	268.22c	35.56a	3.30b	3.50b

حروف غیر مشترک در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ در آزمون توکی است

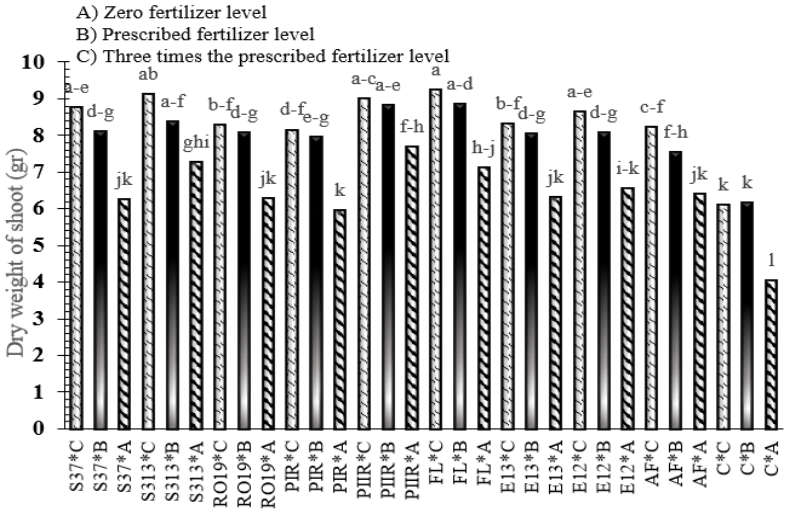
Noncommon letters in each column indicate a significant difference at the 1% level in the Tukey test.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

Source of Variation	df	Mean square	
		Shoot dry weight (g)	Nitrate concentration (mg/kg)
Treatments	9	6.7416**	208.21751*
Interaction	18	0.1390*	318.34194*
Error	60	0.0701	83536

*Significant at the one percent level

**Significant at the five percent level



شکل ۵- تأثیر متقابل جدایه‌های باکتریایی و سه سطح کودی بر وزن خشک شاخساره گوجه‌فرنگی. ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح پنج درصد در آزمون توکی معنی‌دار نیستند. ب) نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل جدایه‌های باکتری بر وزن خشک شاخساره و غلظت نیترات در سه سطح کودی.

Fig. 5. Interaction of bacterial isolates and three fertilizer levels on dry weight of tomato shoots. Columns with common letters aren't significant at the five percent level in Tukey's test. B) The results of the analysis of variance of the interaction effect of bacterial isolates on shoot dry weight and nitrate concentration at three fertilizer levels.

در سطح دوم کود، اگرچه جدایه‌ها عملکرد متفاوتی نشان داده بودند ولیکن تمامی آن‌ها به میزان قابل توجهی موجب افزایش وزن خشک شاخساره نسبت به شاهد شدند. نکته ارزنده این آزمون این بود که در سطح کودی سوم (سه برابر کود به کار گرفته شده) بر خلاف تصور، افزایش وزن چشمگیری در شاخساره دیده نشد. به سخنی دیگر، بیشترین عملکرد شاخساره با کاربرد کود تجویز شده بدست آمد که در میان جدایه‌ها بیشترین اثر در افزایش وزن شاخساره در سه سطح کودی متعلق به جدایه‌های FL، S313 و PIIR بود (شکل ۵). نتایج تجزیه واریانس گویای معنی‌دار شدن اثر میزان کود بر مقدار نیترات در محصول، در سطح ۱٪ است. در سطح کودی صفر، غلظت نیترات در همه تیمارها بیشتر از شاهد بود که در میان تیمارها بیشترین اثرگذاری در افزایش غلظت نیترات در سطح صفر در جدایه‌های FL، PIIR، S313 دیده شد. میزان نیترات برگ در تیمار عدم مصرف کود ازته در شاهد بسیار ناچیز (۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و در مصرف ۹۰۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین مقدار (۳۱۶/۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. در سطح کودی ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن، با اینکه غلظت نیترات در تیمارهای باکتریایی متفاوت بود ولیکن غلظت اندازه‌گیری شده در تمامی تیمارها بیشتر از شاهد بود، در این میان، بیشترین غلظت نیترات در تیمارFL (۱۷۱/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) اندازه‌گیری شد. در سطح سوم کودی (معادل ۹۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره) بیشترین غلظت نیترات در شاهد و جدایه‌های FL به ترتیب با داشتن ۳۱۶/۵۸ و ۲۶۰/۳۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد. کمترین میزان غلظت نیترات در بین تمامی تیمارها و شاهد در هر سه سطح کودی*A. faecalis* 1624 بود. این سویه توانایی کاهش ۴۳/۳۳ درصدی نیترات (۱۷۹/۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به شاهد را در تیمار کاربرد سه برابر کود ازتی داشت (شکل ۵).

شناسایی و تعیین توالی کل ژنوم باکتری

پس از دریافت نتیجه توالی‌یابی، داده‌های خام پردازش شده و کیفیت آن‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار FastQc آزموده شد. نمودار تک نمایی و متقارن با چولکی و کشیدگی صفر در جدایه‌های بررسی شده نشان دهنده‌ی کیفیت مطلوب ژنوم برای انجام مراحل بعدی شناسایی ژنوم بود. سپس خوانش‌های کوتاه حذف، توالی مورد نظر گردایش و از دیدگاه میزان آلودگی بررسی شد. همه مراحل در محیط لینوکس و با بهره‌گیری از فرمان‌های هر بخش انجام شدند. سرانجام داده‌ها در پایگاه RAST وPATRIC بارگذاری شدند. توالی‌های رمزگردان و مکان‌های ژنومی مشخص و تفسیرشد. در پایان، توالی‌های نوکلئوتیدی جدایه‌های E12، E13، PIR، PIIR، RO19، FL، S3 و S313 در بانک اطلاعاتی NCBI و

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

SEED بارگذاری و با توالی‌های موجود همسنجی شدند. میزان همانندی جدایه‌های شناسایی شده در زیر آورده شده است:

جدایه FL: به‌میزان ۱۰۰ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Bacillus velezensis* LB002با شماره دسترسی CP037417.1 دارد.

جدایهE12: به‌میزان ۹۹/۹۲ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Pseudomonas fluorescens* Pt14 با شماره دسترسی CP017296.1 دارد.

جدایهE13: به‌میزان ۱۰۰ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Bacillus thuringiensis* 185 با شماره دسترسی CP014282.01 دارد.

جدایهS313: به‌میزان ۹۹/۹۱ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Serratia marcescens* UMH6 با شماره دسترسی CP018926.1 دارد.

جدایهS37: به‌میزان ۹۹/۰۲ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Stenotrophomonas maltophilia* ISMMS2 با شماره دسترسی CP011305.1 دارد.

جدایهRO19: به‌میزان ۱۰۰ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Bacillus thuringiensis* QZL38 با شماره دسترسی CP032608.1دارد.

جدایهPIR: به میزان ۹۹/۹۱ درصد تشابه با با توالی کامل ژنوم جدایه *Bacillus thuringiensis* C25 با شماره دسترسی CP022345.1دارد.

جدایهPIIR: به‌میزان ۹۹/۰٤ درصد تشابه با توالی کامل ژنوم جدایه *Delftia tsuruhatensis* CM13 با شماره دسترسی CP017420.1 دارد.

بحث

در بیشتر نقاط دنیا از جمله کشور ایران، بخش عظیمی از هزینه‌های اصلی عملیات کشاورزی صرف سموم و کودهای شیمیائی می‌شود. از سویی کاربرد بی‌رویه این نهاده‌های شیمیائی برای افزایش مقدار تولید در واحد سطح پیامدهای ناخواسته‌ای را در افزایش آلودگی منابع آب و خاک نیز به همراه داشته است. از این روی با نگرش به مخاطرات زیست‌محیطی، ناکارآمدی و همچنین افزایش هزینه‌های روزافزون در تولید نهاده‌های شیمیایی، جستجو برای روش‌های سازگاری زیستی که توان افزایش باروری خاک، فراهمی عناصر غذایی برای گیاه و همچنین سلامت نسبی آن را در پی داشته باشد، مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین در این پژوهش به منظور دستیابی به جدایه‌های بومی باکتریایی، که جمیع صفات مطلوب درافزایش رشد و کاهش نهاده‌های شیمیایی را داشته باشند، نمونه‌برداری و بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای متعددی صورت گرفت. در این پژوهش کوشش شد که باکتری‌هایی با توانایی تولید دامنه گسترده‌ای از متابولیت‌های ارزشمند که در رشد گیاه و کاهش کاربری کودهای شیمیایی ازتی مؤثر باشند از طبیعت جداسازی و شناسایی گردند. برای این کار، روی‌هم‌رفته، ٥٤٧ جدایه از ریزوسفر بیرونی، ریزوپلان و پساب پتروشیمی واحد اوره و آمونیاک کرمانشاه جداسازی شدند که از این میان ٣٤ جدایه توانایی کاهش نیترات را داشتند. بسیاری از پروکاریوت‌های جداسازی شده از خاک توانایی کاهش نیترات به اشکال دیگر آن را دارند. حضور این باکتری‌ها در خاک‌های زراعی به علت میزان نیترات برون‌زاد و در دسترس بودن منبع نیتروژن ۱۰ برابر بیشتر از خاک‌های دست‌نخورده و کاشت‌نشده است، آن چنان که همه جمعیت کاهنده نیترات بیش از پنج درصد جمعیت میکروبی خاک را تشکیل می‌دهند (Henry *et al*. 2004). فرض بر این است که نیترات‌زدایی می‌تواند یک برتری گزینشی برای جدایه‌های پیرامون ریشه باشد و این فرآیند می‌تواند به دگرگونی و تعدیل ترکیب ویژه‌ای از جوامع باکتری ناحیه ریزوسفر درونی و بیرونی بینجامد (Clays-josserand *et al*. 1995). به طور کلی ریزوپلان به دلیل برخورداری از ترشحات ریشه گیاه و فراهم کردن کربن لازم جهت کسب انرژی در فرآیندهای نیترات‌زدایی و همچنین کاهش فشار اکسیژن بستری مناسب جهت فعالیت باکتری‌های نیترات‌زدا است (Clays-josserand *et al*. 1995). یکی از اثرهای قابل توجه پروبیوتیک‌های گیاهی، تأثیر آن‌ها در افزایش رشد گیاه میزبان است. این گروه از باکتری‌ها از طریق سازوکارهای مختلفی مانند توانایی باکتری در حل فسفات، تثبیت نیتروژن و تولید هورمون‌هایی نظیر اکسین، سیتوکینین و بازداری از سنتز اتیلن نقش مهمی در افزایش رشد، گسترش ریشه و به دنبال آن بهبود جذب آب و عناصر غذایی با ریشه‌ی گیاه می‌گردند (Borriss *et al*. 2011). در گیاهانی که با بذر تکثیر می‌شوند مرحله جوانه‌زنی به

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

علت تأثیری که بر انبوهی گیاه دارد بسیار ارزنده و حساس است زیرا زنده‌مانی گیاه و استقرار آن به مرحله آغاز رشد وابستگی بیشتری دارد. بررسی نتایج تیمار بذر با جدایه‌های منتخب نشان داد که این جدایه‌ها نقش مؤثری بر درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه دارند که نشان دهنده‌ی قدرت رشد گیاهچه‌ی بذر است. با توجه به اینکه بیشترین میزان اثربخشی باکتری بر شاخص جوانه‌زنی در روزهای سوم و پنجم آزمون جوانه‌زنی در تشتک پتری بود، بنابراین مبنا را بر میزان جوانه‌زنی در این دور روز معطوف کرده و نتایج مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بخش از پژوهش نشان داد که در در میان تیمارهای باکتریایی ارزیابی شده در روز سوم، بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی بذر در تیمار*Serratia marcescens* S313 و کمترین میزان در تیمارهای *Alcaligenes faecalis* 1624، *Pseudomonas fluorescens* E12 و *Bacillus velezensis* FL دیده شدند. بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی در روز پنجم در تیمار با *S. marcescens* S313، *A. faecalis* 1624، و *B. velezensis* FL یافته شد که به ترتیب با درصد جوانه‌زنی ۱۰۶، ۱۰۰ و ۹۳/۸۷ درصد به افزایش درصد جوانه‌زنی انجامیدند و کمترین میانگین درصد جوانه‌زنی در این روز مربوط به *P. fluorescens* E12 بود. در مورد نقش مؤثر پیش تیمار بذر توسط باکتری‌های محرک رشد مطالعات متعددی صورت گرفته وتأثیر آن‌ها در افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر به کرات اثبات شده است که دلیل این افزایش‌دهندگی را به سازوکارهای مختلفی نظیر تبدیل فسفات معدنی به آلی، افزایش جذب آب و مواد غذایی، تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین و جیبرلین نسبت می‌دهند (Schippers *et al.* 1990). بنابراین با توجه به اینکه تمامی جدایه‌های منتخب توانایی تولید اکسین و حلالیت فسفات معدنی را داشتند می‌توان اثر افزایشی جدایه‌ها را در شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاه به تولید سازوکارهای مذکور نسبت داد. در این پژوهش تلقیح بذور با جدایه‌های منتخب منجر به افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به شاهد شد. نکته‌ی دیگر، مشاهده ریشه‌های فرعی در مراحل اولیه رشدی بذور پیش تیمار شده با جدایه‌های *B. velezensis* FL، *B. thuringiensis* E13، *B. thuringiensis* RO19، *S. marcescens* S313 بود که در سایر تیمارها و هیچیک از تکرارهای شاهد دیده نشد. توانایی باکتری در تولید اسید اندول استیک، آمونیوم و ACC–دآمیناز نقش مهمی در گسترش ریشه و افزایش رشد گیاه دارد. گسترش ریشه‌های فرعی و توسعه گسترش سامانه ریشه‌ای گیاه یکی از روش‌های چیرگی بر ناتوانی جابجایی گیاه به سوی آب و منابع غذایی است که در این میان اکسین تولید شده توسط باکتری بسان انگیزنده انشعابات ریشه‌ای کار می‌کنند و به افزایش گسترش افقی ریشه در خاک می‌انجامد که افزایش بازده گیاه را در پی خواهد داشت (Zhang *et al.* 2007). افزون بر این، ترکیبات فرار باکتریایی موجب افزایش رونوشت‌های مربوط به سنتز و پاسخ به هورمون اکسین می‌شود (Sharifi & Ryu 2018a). با توجه به اینکه جدایه‌های*B. velezensis* FL، *B. thuringiensis* E13، *Serratia marcescens* S313، *B. thuringiensis* RO19 توانایی احیاء نیترات را دارند، می‌توان وجود ریشه‌های فرعی در مرحله‌ی ریشه‌چه را علاوه بر تولید اکسین به احتمال مولکول حد واسط نیتریک اکسید تولید شده نسبت داد. به طور کلی دو فرضیه در نقش و همکاری نیتریک اکسید با اکسین وجود دارد که عبارت است از: نیتریک اکسید به‌عنوان فرم فعال نیتروژن، آنتی اکسیدان‌هایی را در محیط تولید می‌کند که اکسین را از اکسیداسیون محافظت می‌کند و همچنین نیتریک اکسید به‌عنوان تنظیم کننده ژن‌های چرخه سلولی یا فعالیت‌های آنزیمی درگیر در انتقال سیگنال اکسین عمل می‌کند (Aragunde *et al.* 2004). در حقیقت نیتریک اکسید به‌عنوان بخشی از مجموعه پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی ایفا نقش می‌کند. مطالعه شریفی و ریو مؤید آن است که نیتریک اکسید با منشاء باکتریایی قابلیت جذب و اثرگذاری در گیاه را دارد (Sharifi & Ryu 2018b). یکی دیگر از دلایل اصلی اثربخشی باکتری در افزایش رشد گیاه را می‌توان توانایی باکتری در انحلال فسفر معدنی بیان نمود. ریزموجودات حل‌کننده فسفات قادرند از طریق سازوکارهایی مانند ترشح اسیدهای آلی، آزادسازی یون‌های هیدروژن در سطح خارج سلولی باکتری و تولید اسیدهای غیرآلی سبب آزادسازی فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی خاک شوند. در پژوهش حاضر، تمامی باکتری‌های مذکور توانایی انحلال فسفر معدنی را داشتند که در بین جدایه‌ها بیشترین قطر هاله اطراف پرگنه در محیط پایکوفسکی مربوط به جدایه‌های *Serratia marcescens* S313 و *Bacillus velezensis* FL بود. یافته‌های به

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

دست آمده درباره توانایی انحلال فسفر معدنی با یافته‌های پیشین (Mohamed *et al.* 2018) همخوانی داشتند. این پژوهشگران، باکتری *Serratia marcescens* جداسازی شده از ریشه گوجه‌فرنگی را به‌عنوان یکی از باکتری‌های موفق در تولید اسیدهای آلی و انحلال فسفر معدنی بیان کردند. در این پژوهش روشن شد که قطر هاله شفاف پیرامون پرگنه *S. marcescens* از *B. subtilis* روی محیط کشت پایکوفسکی بیشتر است (Mohamed *et al.* 2018). در بررسی دیگر نیز دیده شد که جدایه‌هایS499 و *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 در شرایط کمبود فسفات توانایی تولید آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز را دارند (Ameen *et al.* 2017). بنابراین با استناد به مطالعات پیشین و توانایی تولید جدایه‌ها در تولید اکسین و فسفر معدنی و هم‌چنین نتایج حاصل از شاخص‌های جوانه‌زنی بذر، به‌نظر می‌رسد به‌کارگیری جدایه‌های باکتریایی منتخب نقش مؤثری بر افزایش قدرت رشد گیاهچه‌ی بذر داشته باشند. به عبارتی بین سرعت جوانه‌زنی با ظهور گیاهچه و استقرار مناسب آن و متعاقباً افزایش رشد طولی و وزنی گیاه در آزمون‌های گلخانه‌ای ارتباط مثبتی وجود دارد. در آزمون گلخانه‌ای در میان تیمارهای انجام شده بیشترین اثرگذاری در جدایه‌های *S. marcescens* S313 و *B. velezensis* FL یافته شد که در همسنجی با شاهد، به ترتیب به افزایش ٦٦، ٥٨ درصدی ارتفاع گیاه انجامیدند. در این میان، جدایه *B. velezensis* FL توانست شاخص‌های عملکردی وزن خشک گیاه را مجموعاً ۱/۷ برابر نسبت به شاهد افزایش دهد. بسیاری از پژوهشگران تأثیر مثبت ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه را بر عملکرد شاخص‌های رشدی گیاهان کشاورزی گوناگون نشان داده‌اند و آن را با ترشح هورمون‌های گیاهی، تولید و آزادسازی انواع اسیدهای آلی در خاک، تثبیت نیتروژن و فراهم کردن عناصر غذایی برای گیاه در پیوند می‌دانند (Kim *et al.* 2011). تأثیر گونه‌های باسیلوس بر افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشدی گوجه‌فرنگی نشان داده شده، و همبستگی میان شاخص‌های گفته شده و توانایی تولید اکسین و انحلال فسفر معدنی مثبت ارزیابی شده است (Cendales *et al.* 2016). به طور کلی حضور باکتری‌های محرک رشد نقش مهمی در جذب عناصر غذایی و معماری ریشه‌ی گیاه دارد. به‌عبارتی باکتری‌های محرک رشد گیاه با تولید فسفتاز و ACC–دآمیناز و هورمون‌هایی مانند اسید اندول استیک، منجر به افزایش سطح تماس ریشه با خاک و درنتیجه جذب بیشتر عناصر غذایی از توده‌ی خاک اطراف ریشه می‌گردند. در این بخش از پژوهش، همه جدایه‌ها در تیمار کودی صفر (بدون کود) در همسنجی با شاهد به افزایش غلظت نیترات انجامیدند که در میان جدایه‌ها بیشترین غلظت‌های نیترات در جدایهFL *Bacillus velezensis* و S313 *Serratia marcescens* یافته شدند. در سطح کودی تجویز شده (برابر با ۳۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار)، فارغ از میزان غلظت نیترات، همه جدایه‌ها غلظت نیترات در برگ را نسبت به سطح کودی صفر و همچنین شاهد افزایش دادند. در بین جدایه‌ها به ترتیب جدایه‌های FL *B. velezensis*، PIIR *Delftia tsuruhatensis* و 313 *S. marcescens* بیشترین غلظت نیترات را در سطح کودی تجویز شده داشتند. در سطح کودی سه برابر کود تجویز شده، بیشترین غلظت نیترات در شاهد مشاهده شد و پس از آن بیشترین میزان غلظت نیترات در جدایه FL *B. velezensis* و کمترین میزان نیترات در جدایه 1624 *A. faecalis* رؤیت شد. به طور کلی در بین تمامی سطوح کودی بیشترین غلظت نیترات مربوط به شاهد در سطح کودی دو (سه برابر کود تجویز شده) و جدایه FL *B. velezensis* در سطح کودی یک (کود تجویز شده) بود. از نظر نقش جدایه‌ها بر شاخص وزن خشک شاخساره نتایجی که بدست آمد نشان داد در سطوح کودی صفر و یک تمامی جدایه‌ها توانسته بودند شاخص وزنی شاخساره را افزایش دهند. جالب اینکه در سطح کودی تجویز شده و سه برابر کود تجویز شده بین شاهد از نظر مقایسه میانگین تفاوت معنی‌داری در وزن خشک شاخساره دیده نشد، یعنی با افزایش نیتروژن بیشتر عملاً عملکرد بیشتری در شاهد بوجود نیامد. به طور کلی، بیشترین میزان وزن خشک شاخساره در شاهد در تیمار کودی تجویز شده اندازه‌گیری شد. در مطالعات بسیاری دیده شده است که تلقیح بذور با ریزموجودات محرک رشد، موجب افزایش جذب عناصر غذایی بخصوص نیتروژن از خاک و یا محلول غذایی در سیستم‌های آبکشت شده است (Adesemoye *et al.* 2008; Adesemoye *et al.* 2009) آدسموی و همکاران، ترکیب سویه‌های *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a، *B. pumilus* T4 و قارچ میکوریز *Glomus intraradices* را در افزایش بهره‌وری مواد مغذی، عملکرد کود ازته شیمیایی و

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

هم‌چنین شاخص وزنی گیاه گوجه‌فرنگی مؤثر دانستند، به گونه‌ای که استعمال ۷۵ درصدی توصیه کودی به همراه باکتری‌ها و قارچ نتایجی مشابه مصرف ۱۰۰ درصدی کود ازته بدون تلقیح باکتری و قارچ در افزایش وزن تر و خشک گیاه را داشت. علاوه بر این، جذب نیتروژن در هر گرم از بافت و هم‌چنین میزان نیتروژن در کل گیاه به میزان قابل توجهی در گیاهان تیمار شده با باکتری‌های مذکور بیشتر از شاهد بدون باکتری بود (Adesemoye *et al.* 2009). در سال بعد آدسموی و همکاران نتایج جالبی را در مقاله‌ای با ردیابی ایزوتوپ N^{15} در گیاه گوجه‌فرنگی گزارش کردند. زمانی که از مقادیر بالای کود به همراه دو باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a و *B. pumilus* T4 استفاده شده بود، میزان ایزوتوپ N^{15} کمتری در هر گرم از بافت گیاه ردیابی شد. در حالی‌که در تیماری که ۸۰ درصد توصیه کودی به همراه باکتری‌ها بود میزان بیشتری از ایزوتوپ N^{15} (۰/۱۱٤٦) مشاهده شد که البته از میزان نیتروژن (۰/۱۱۸٤) ردیابی شده در توصیه کامل کودی بدون باکتری‌ها کمتر بود (Adesemoye *et al.* 2009). نتایج پژوهش حاضر با نتایج بدست آمده از این مقاله مطابقت داشت، در پژوهش آدسموی و همکاران نیز با افزایش کود در حد تجویز شده میزان نیتروژن بیشتری در گیاهان تیمار شده با باکتری نسبت به شاهد بدون باکتری دیده شد. ضمناً این پژوهشگران نشان دادند که با افزایش بیشتر کود در تیمارهای تلقیح شده با باکتری میزان نیتروژن بیشتری در گیاه ردیابی نشد. ریشه‌ها در سراسر دوره‌ی حیات خود نیتروژن را جذب کرده و با افزایش رشد و توسعه گیاه نیازمند به جذب نیتروژن بیشتری از فراریشه هستند. باکتری‌های محرک رشد با تولید اکسین موجب افزایش سطح ریشه و متعاقباً جذب بیشتر نیترات توسط ریشه می‌گردند (Lucy *et al.* 2003). با توجه به اینکه تمامی جدایه‌های منتخب توانایی تولید اکسین را داشتند، بنابراین می‌توان یکی از دلایل جذب بیشتر نیترات در ریشه‌های تلقیح شده نسبت به شاهد را به این موضوع نسبت داد. امیلی و همکاران (۲۰۱۵) نیز بر نقش انکار ناپذیر باکتری‌های محرک رشد بر معماری ریشه و جذب نیتروژن تأکید ورزیده و عنوان کردند که میزان غلظت نیتروژن در گیاه ارتباط تنگاتنگی با مشخصات ریشه مانند طول ریشه، غلظت نیتروژن اطراف ریشه و توانایی و ترجیح گیاه در جذب فرم نیتروژنی دارد، علاوه بر این عنوان کردند که نیترات‌زدایی نیز با رشد گیاه مرتبط است (Ame´lie *et al.* 2015). یکی دیگر از فرضیات محتمل در افزایش جذب نیترات در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، توانایی آن‌ها در انحلال فسفر معدنی است. اگرچه میزان قابل توجهی از فسفر در خاک موجود است اما مقدار فسفر کل خاک هیچ رابطه‌ای با فراهمی فسفر برای گیاه ندارد. نقش فسفر در رشد ریشه و افزایش توده زیستی گیاه بارها مورد بررسی قرار گرفته است ولیکن نقش فسفر به همین جا ختم نمی‌شود. بر مبنای نتایج پژوهشگران، جذب نیتروژن را می‌توان به تعامل فسفر با آن نسبت داد. بر پایه یافته‌های پژوهشگران، می‌توان جذب نیتروژن را در پیوند با برهمکنش فسفر با آن دانست، به طوری که با تحریک ژن‌های دخیل در جذب سوخت و ساز فسفر مقدار جذب نیترات گیاه افزایش یافته و در نتیجه به صورت غیرمستقیم و از طریق افزایش جذب نیتروژن موجب القاء رشد گیاه گردد (Ruzicka *et al.* 2010). از آنجایی که جدایه‌های منتخب فارغ از تفاوتشان در میزان انحلال فسفر معدنی، توانایی حل‌کردن فسفات معدنی و تبدیل آن به فرم قابل جذب برای گیاه را داشتند و با تکیه بر پژوهش‌های متعدد و شواهد و نتایج ملموس از به‌کارگیری این باکتری‌ها بر افزایش رشد گیاه می‌توان یکی از احتمالات دخیل در افزایش میزان نیترات در سطوح کودی صفر و تجویز شده را به تأثیر غیرمستقیم فسفر جذب شده از خاک نیز نسبت داد. در سطح کودی دو که معادل ۹۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار بود با اینکه میزان نیترات در گیاه شاهد به شدت افزایش یافته بود اما این میزان افزایش در هیچیک از تیمارهای باکتریایی مشاهده نشد. دلیل این امر را می‌توان به ارتباط بین میکروب-گیاه در ناحیه فراریشه و ریزوپلان نسبت داد. با افزایش رشد ریشه، فعالیت فتوسنتزی گیاه و متعاقب آن مواد مترشحه از ریشه فزونی می‌یابد. افزایش ترشحات ریشه همراه با افزایش رشد گیاه منجر به تحریک فعالیت و زیست توده میکروبی می‌شود که این افزایش همراه با کاهش غلظت اکسیژن در خاک و تحریک حسگرهای NarxI (حسگرهای دخیل در تنفس نیتراتی) در فضای پری‌پلاسمیک باکتری گشته و منجر به گردش تنفس اکسیژنی باکتری به فاز تنفسی نیتراتی می‌شود. به‌عبارتی سنتز آنزیم‌های دخیل در دنیتریفیکاسیون قابل القاء بوده و فعالیت و فراوانی باکتری‌های نیترات‌زدا وابسته به آن است (Florio

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

et al. 2017). در بین جدایه‌ها کمترین میزان نیتروژن در سطح کودی دو (معادل ۹۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره) متعلق به *Alcaligenes faecalis* 1624 بود. گونه *Alcaligenes faecalis* به واسطه دارا بودن تمامی آنزیم‌های دخیل در فرآیند دنیتریفیکاسیون یکی از گونه‌های شناخته شده‌ی نیترات‌زدا محسوب می‌شود (Rinaldo & Cutruzzolà 2007). بیشترین میزان نیترات‌زدایی در طبیعت در پیوند با جنس‌های Alcaligenes، Bacillus و Pseudomonas است که فعالیت آن‌ها اغلب در خاک سطحی و پیرامون ریشه دیده می‌شود. در اثر فعالیت این باکتری‌ها سالانه بیش از ۳۰ درصد کودهای ازتی در فرآیند نیترات‌زدایی از بین می‌روند. (Per-Ambus & Zechmeister-Boltenstern 2007). در پژوهشی دیگر، افزایش نیترات‌زدایی در ریزوسفر گیاه جو با غلظت نیترات در دسترس همبستگی مثبت داشت، آن چنان که با افزایش میزان کود ازتی از ۳۰ کیلوگرم در هکتار به ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نرخ نیترات‌زدایی ۲/۵ برابر افزایش یافته بود (Vinter *et al.* 1984). بررسی‌های گسترده‌ای درباره بی‌تأثیر بودن نیترات بیشتر از مصرف گیاه بر عملکرد گیاه کشاورزی نیز انجام گرفته‌اند. بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن محلول غذایی (۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن) بر عملکرد و کیفیت خیار سبز نشان دادند که بیشترین عملکرد در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و با افزایش سطوح نیتروژن به بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد، تعداد میوه و میانگین طول، قطر و وزن تک میوه کاهش یافت (Kotsiras *et al.* 2005). در سطوح کودی صفر و یک با توجه به اینکه باکتری‌های منتخب از جمله باکتری‌های محرک رشد بودند که نقش آن‌ها در افزایش شاخص‌های رشدی گیاه اثبات شد و با دلایلی که قبلاً در بخش اثر این جدایه‌ها در شاخص‌های رشدی گیاه مورد بحث قرار گرفت، موجب افزایش وزن خشک شاخساره در تیمارهای تلقیح شده با باکتری شدند، بنابراین افزایش شاخساره در این دو سطح کودی قابل توجیه است. نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری‌های بومی جداسازی شده از ناحیه ریزوپلان سهم بیشتری در تولید سازوکارهای دخیل در افزایش رشد ریشه مانند تولید اکسین و انحلال فسفر معدنی داشتند. این نتیجه در واقع نشان از برتری اکولوژیکی جدایه‌های ریزوپلان در تسخیر ریشه گیاه است. با استعمال این جدایه‌ها در پیش‌تیمار بذور در آزمایشگاه آنچه که به‌دست آمد حاکی از آن بود که جدایه‌هایی مانند *Alcaligenes faecalis* 1624، *Serratia marcescens* S313 و *Bacillus velezensis* FL که توان بیشتری در انحلال فسفر معدنی و تولید اکسین داشتند، نسبت به سایر جدایه‌ها در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی نیز موفق‌تر بودند. آنچه که مسلم است جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار مناسب گیاه در گلخانه و یا مزرعه می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد. در گیاهانی که با بذر تکثیر می‌گردند این نکته حائز اهمیت‌تر بوده و توانایی بالای بذر در سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر نقش مهمی در استقرار مناسب گیاه و سلامتی آن دارد. در بین جدایه‌های ذکر شده جدایه *B. velezensis* FL به میزان قابل توجهی توانست شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی را در گلخانه افزایش دهد. این جدایه موجب افزایش ۱/۷ برابری وزن خشک گیاه و ۱/٦ برابری ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شد. نتایج نشان داد که تلقیح خاک با جدایه‌های منتخب در این پژوهش موجب افزایش جذب نیتروژن از طریق ریشه می‌شود. باید توجه داشت که اثربخشی ریزوباکتری‌های افزاینده‌ی رشد در افزایش عملکرد و فراهمی عناصر غذایی برای گیاه به معنای استفاده مفرد این عوامل در سیستم‌های کشاورزی نیست بلکه تأکید بر استفاده این عناصر در سیستم‌های تلفیقی با کودهای شیمیایی است به گونه‌ای که با حداقل ورود نهاده‌های شیمیایی بیشترین نتیجه حادث گردد. آنچه که حائز اهمیت است این است که، اولاً افزایش جذب نیتروژن توسط ریزوباکتری‌های افزاینده رشد، منجر به بهینه‌سازی مصرف کود شده و موجب کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش راندمان محصول می‌شود. در واقع باکتری‌های محرک رشد در تمام طول مدت رشد گیاه نیتروژن را در دسترس گیاه قرار می‌دهند حال آنکه کودهای شیمیایی در زمان‌بندی مشخصی و در حجم بالایی به گیاه داده می‌شود (Klopper& Adesemoye 2009). بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان از جدایه‌هایی که موجب افزایش غلظت نیترات شده بودند در سیستم‌های تلفیقی در ترکیب با میزان کمتری از کودهای ازته بهره برد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

منابع

Adesemoye AO, Kloepper JW. 2009. Plant-microbes' interactions in enhanced fertilizer use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85 (1): 1-12.

Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW. 2008. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system, *Canadian Journal of Microbiology*, 10 (4): 876-886.

Ahemad M, Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting Rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University Science*, 26 (1): 1-20.

Ameen A, Deravel J, Krier F, Béchet M, Ongena M. 2018. Biofilm formation is determinant in tomato rhizosphere colonization by *Bacillus velezensis* FZB42. *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (30): 29910-29920.

Amelie A, Cantarel M, Pommier T, Desclos-theveniau M, Diquelou M, Dumont M, Grassein F, Schloter M. 2015. Using plant traits to explain plant-microbe relationships involved in nitrogen acquisition. *Ecology*, 96 (3): 788-799.

APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.

Aragunde NC, Graziano M, Lamattia L. 2004. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. *Planta*, 218 (6): 900-905.

Benedetto NA, Corbo MR, Campaniello D, Cataldi MP, Bevilacqua A, Sinigaglia M, Flagella Z. 2017. The role of Plant Growth Promoting Bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS Microbiology*, 3 (3): 413-434.

Bhattacharyya PN, Jha DK. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (4): 1327-1350.

BioHPC–Cloud: Software. **Nd.** https://biohpc.cornell.edu/lab/labsoftware.aspx.

Borriss R, Chen XH, Rueckert C, Blom J, Becker A, Baumgarth B, Fan B, Pukall R, Schumann P, Sproer C, Junge, H, Vater J, Puhler A, Klenk, HP. 2011. Relationship of *Bacillus amyloliquefaciens* clades associated with strains DSM 7T and FZB42T: a proposal for *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *amyloliquefaciens* subsp. nov. and *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* subsp. nov. based on complete genome sequence comparisons. *International Journal of Systemic and Evolutionary*, 61 (8): 1786-1801.

Casimiro A, Beeckman T, Graham N, Bhalerao R, Zhang H, Casero P, Sandberg G, Bennett MJ. 2003. Dissecting Arabidopsis lateral root development. *Trends in Plant Science*, 8 (4): 165-171.

Cendales TC, Rodríguez González CA, Cuásquer CP, Tapasco Alzate OA, Rodríguez AH. 2016. Bacillus effect on the germination and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L). *Acta biologica Colombia*, 22 (1): 37-44.

Clays-Josserand A, Lemanceau P, Philippot L, Lensi R. 1995. Influence of two plant species (Flax and Tomato) on the distribution of nitrogen dissimilative abilities within fluorescent *Pseudomonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (5): 1745-1749.

FAO 56. 1998. Dual Crop Coefficient Method for Estimating Evaporation from Soil and Application Extensions. http:// www.fao.org/docrep/X0490E/X0490E00.htm, accessed November 10, 2004.

Florio A, Pommier T, Gervaix J, Berard A, Roux L X. 2017. Soil C and N statuses determine the effect of maize inoculation by plant growth-promoting rhizobacteria on nitrifying and denitrifying communities. *Nature*, 7 (1): 1-12.

Forde BG. 2002. Local and long-range signaling pathways regulating plant response to nitrate. *Annual Review of Plant Biology*, 53 (1): 203-224.

Hampton JG, Tekrony DM. 1995. Handbook of Vigor test methods. *International. Seed Testing Association*, 3rd *Edition, ISTA, Zurich, Switzerland*, 117 Pp.

Henry S, Baudoin E, Lopez-Gutierrez JC, Martin-Laurent F, Brauman A, Philippot L. 2004. Quantification of denitrifying bacteria in soils by nirK gene targeted real-time PCR. *Journal of Microbiology Methods*, 59 (3): 327-335.

Kennedy IR, Choudhury AT, Kecske´s LM. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 1229-1244.

Kim YC, Leveau HJ, Gardener BM, Pierson EA, Pierson LS, Ryu CM. 2011. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (5): 1548-1555.

Klemedtsson L, Svensson BH, Rosswall T. 1987. Dinitrogen and nitrous oxide produced by denitrification and nitrification in soil with and without barley plants. *Plant Soil*, 99 (2): 303-310.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]

Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM. 1989. Free-living bacterial inoculum for enhancing crop productivity, *Trends in Biotechnology*, 7 (2): 39-44.

Lucy M, Reed E, Glick BR. 2004. Application of free-living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86: 1-25.

Mantelin S, Touraine B. 2003. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability Impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany*, 55: 27-34.

Mohamed EAH, Farag A, Youssef SA. 2018. Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* isolated from tomato plant rhizosphere, *journal of Environmental Protection*, 9 (3): 266-277.

Nitraver reagent. Nd. https://www.hach.com/p-nitraver-5-nitrate-reagent-powder-pillows-5-ml-pk-100/1403599.

Patten CL, Glick, BR. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole- acetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (8): 3795-3801.

Pikovskaya RI. 1948. Mobilization of phosphorus and soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiology*, 17: 362-70.

Rinaldo S, Cutruzzola C. 2007. Nitrite reductases in denitrification, *Biology of the nitrogen cycle*, In Newton, W. E (ed.), university of Oxford, Elsivier B. V, 452 Pp.

Ruzicka DR, Felipe HBM, Hausmann NT, Schatman DP. 2010. Tomato root transcriptome response to a nitrogen-enriched soil patch. *BMC plant biology*, 10 (1): 75-86.

Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2001. Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. third edition. *The American phytopathological society*, st Paul, Minnesota USA, 373 Pp.

Schippers B, Bakker AW, Bakker P, Peer RV. 1990. Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interaction. *Plant Soil*, 129: 75-83.

Seifi S, Behbodi K, Sharifi R, Shapleigh J. 2019b. Introduction, mechanisms of action and genomic description in plant probiotic bacterium *Bacillus velezensis. Iranian Journal of Plant Protection Science*, 50 (2): 159-175. (In Farsi with English abstract)

Seifi S. 2019a. Screening of nitrate removal bacteria and effect of these bacteria on biological control of *Fusarium* wilt disease in tomato. *PhD thesis, University of Tehran, Karaj, Iran*, 178 Pp. (In Farsi with English abstract)

Sharifi R, Ryu MC. 2018a. Revisiting bacterial volatile-mediated plant growth promotion: lessons from the past and objectives for the future. *Annals of Botany*, 122 (3): 349-358.

Sharifi R, Ryu MC. 2018b. Sniffing bacterial volatile compounds for healthier plants. *Current opinion in plant biology*, 44: 88-97.

Singh JP. 1988. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extract, *Plant and soil*, 110: 137-139.

Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (50): 20260-20264.

Weller DM. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria, *Annual Review of Phytopathology*, 26: 379-407.

Zhang H, Kim MS, Krishnamachari V, Payton P, Sun Y, Grimson M, Farag MA, Ryu CM, Allen R, Melo IS, Pare PW. 2007. Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in Arabidopsis. *Planta*, 226 (4): 839-851.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.2.19.8]