



Publisher: Soil Science Society of Iran

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

Research article

Comparison of the plant growth-stimulating ability of epiphyton and epiphyton microbial communities in some rice fields of Guilan province

Mahdiyeh Leylasi Marand¹ , HoseinAli Alikhani*² , AhmadAli Pourbabaie³
and Shayan Shariati⁴

1- Department of Soil Science Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: mahdiyeh.leylasi@ut.ac.ir

2- Corresponding Author, Department of Soil Science Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: halikhan@ut.ac.ir

3- Department of Soil Science Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: pourbabaie@ut.ac.ir

4- Department of Environmental Engineering, Faculty of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: shayan_shariati@ut.ac.ir

Article Info

Received: 2024-12-21

Accepted: 2025-07-9

Keywords: drought, fallow, mineral phosphate, organic phosphate, periphyton, salinity

Corresponding author's email: halikhan@ut.ac.ir

DOI:
10.22092/SBJ.2025.3679
36.272

Extended Abstract

Background and objectives: Rice paddies provide over half of the world's food, yet chemical fertilizers used in them are inefficient with high losses. Hence, biological approaches to enhance rice growth are gaining importance. Epiphyton and epiphyton microbial communities form a diverse and dynamic system in paddies, consisting of phototrophs (such as algae and cyanobacteria) and heterotrophs (such as bacteria and fungi). Their biodiversity boosts microbial activity, increasing stress tolerance and production of growth-promoting substances. Nutrient accumulation and gene transfer within biofilm layers further strengthen microbial resilience. However, the role of periphytic biofilms in promoting plant growth remains unstudied.

Materials and methods: Sampling was conducted in July 2022 from rice paddies located in the villages of Khaleh sara, Gileh sara and Vajargah, as well as from fallow soils in Masal, Guilan Province with three replications. In this study, 21 experimental treatments were sampled. Epiphyton (Ep) samples were taken from the surface soil of the rice paddies using a rectangular box-shaped device (fully open at the front and 1 cm open at the back), while epiphyton (Eph) samples were collected from suspended periphytons in the water that used larger algae as an attachment surface, using sterilized bottles. Fallow field (FF) samples were also taken from the surface of dry soil. The collected samples were transported to the laboratory in iceboxes, revived in BBM liquid medium, and maintained in a greenhouse at a temperature of 28–30°C under a light intensity of 5000 lux. The quantitative potassium solubilization assay was carried out in a modified BBM culture medium containing muscovite and phlogopite over a 7-day period and was read using a flame photometer. Quantitative assays of mineral and organic phosphate solubilization were conducted in Sperber and modified Sperber media containing inositol, respectively, and measured using a spectrophotometer at 470 nm. For siderophore evaluation, CAS-agar medium was prepared, and the drop plate method was used; the diameter of the orange halo around the colony was considered as the evaluation criterion. To assess auxin (IAA) production capability, salkowski reagent was used, and absorbance was measured by a

spectrophotometer at 535 nm. Hydrogen cyanide production was tested in TSA medium, with a change in the color of filter paper placed on the lid of the Petri dish as the indicator. Salt stress was induced in both liquid and solid BBM media with NaCl concentrations of 0% and 8%. Drought stress testing was performed using polyethylene glycol to create osmotic pressures of 0, -2, -5, -10 and -15 bar in BBM medium, and absorbance was measured using a spectrophotometer at 630 nm. Statistical analysis of the results of all experiments (except for the water stress test) was performed using a completely randomized design with three replications, utilizing SAS software. The water stress experiment was conducted using a factorial design with two factors: microbial treatments at 22 levels and osmotic pressure treatments at 4 levels.

Results: The results showed that the highest potassium dissolution was in treatment PF3 Eph(3) (Vajargah Epiphytic sample), with a 3.4-fold increase compared to the control within 7 days. The next ranks were treatments PF1 Eph(1) and PF3 Eph(2), which were in the same statistical group as treatment PF3 Eph(3). The values of these treatments were higher in samples containing phlogopite than in those containing muscovite. For the phosphate dissolution test from the tricalcium phosphate source, treatment PF3 Eph(2) showed a value of 1121 mg/L. Following that, treatments PF2 Eph(2) and PF3 Eph(3) added 989 and 935 mg/L of soluble phosphate to the culture medium, respectively. The lowest dissolution power of insoluble mineral phosphorus was measured in the fallow soil sample, with an average of 266 mg/L. All epiphytic samples had a significantly higher phosphorus dissolution rate compared to the epipelon samples from the same sampling point, showing a statistically significant difference. The phosphate dissolution test from the inositol hexaphosphate source, yielded 427.25 mg/L. The lowest organic phosphate dissolution was reported in treatment FF (1), which pertains to the fallow soil. This treatment, along with the other fallow soil treatments (FF(2) and FF(3)), was placed in the same statistical group. The highest hydrogen cyanide production was observed in epiphytic treatments in the Vajargah rice paddy during the 5-day incubation. The highest siderophore production was measured in periphyton samples number PF1 Eph(2) and then PF1 Eph(1), with halo to colony diameters of 1.62 and 1.41, respectively. These treatments pertain to the Khale Sara rice paddies, and both are from epiphytic samples. However, comparing the halo-to-colony diameter of other treatments shows that epiphytic samples had a higher siderophore production capability. The results of the indole acetic acid test indicate that the highest amount was observed in Gile Sara epipelic sample. This treatment shows a statistically significant difference compared to all other treatments. The results of the salinity test showed that under natural culture conditions, microbial growth was completely normal and turned the culture green, while culturing periphyton in a medium with 8% salt made the culture turbid. Reculturing the periphyton on solid medium showed that in 0% salt conditions, algae, bacteria, and fungi grew, whereas in the solid medium with 8% salt, only fungi were observed. It is noteworthy that no microorganisms grew in the fallow soil samples and treatment number PF3 Eph(3). Comparison of the average results of drought stress showed that the highest density was recorded at zero osmotic pressure, followed by osmotic pressures of -2 and -5, which were in the same statistical group. The highest optical density measured was in periphyton treatment PF2 Ep(3) at zero pressure, which was in the same statistical group as periphytons PF3 Eph(3), PF2 Ep(2), PF3 Ep(2), and PF3 Ep(1). In all experiments except for the drought stress test, the lowest values were recorded from the fallow soil treatment

Conclusion: The overall conclusion of this research indicates that periphyton, including epipelon and epiphyton, has a high potential for growth-promoting characteristics. It is recommended that more greenhouse and field studies be conducted on periphyton, so that if confirmed, it can be utilized in the development of biofertilizers.

Cite this article: Leylasi Marand, M., Alikhani, H.A., Shariati, SH., Pourbabaei, A.A., 2025. Investigating of plant growth promoting mechanisms of Epipelon and Epiphyton microbial communities in some rice paddies of Giulan province. *Journal of Soil Biology*, 13 (1), 39-63.



DOI: 10.22092/SBJ.2025.367936.272

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

مقایسه توانایی تحریک‌کنندگی رشد گیاه جوامع میکروبی اپی‌فایتون و اپی‌پلون در برخی از شالیزارهای استان گیلان

مهديه ليلاسی مرندي^۱، حسینعلی علیخانی^{۲*}، احمد علی پوربابائی^۳ و شایان شریعتی^۴

۱- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mahdihyeh.leyasi@ut.ac.ir

۲- نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: halikhan@ut.ac.ir

۳- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: pourbabaei@ut.ac.ir

۴- گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: shayan_shariati@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱ پذیرش: ۱۴۰۴/۴/۱۸

چکیده

پرفایتون به عنوان جامعه زیستی پیچیده با ترکیب جوامع اتوتروف و هتروتروف، توانایی تنظیم چرخه عناصر غذایی و انرژی را دارد. هدف این مطالعه مقایسه ویژگی‌های محرک رشدی پرفایتون شالیزارها (خاله‌سرا، گیشه‌سرا و واجارگاه) با خاک آیش ۵ ساله (ماسال) استان گیلان بود. آزمایشات به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با تیمارهای آزمایشی شامل نمونه‌برداری از اپی‌پلون و اپی‌فایتون سه شالیزار و سطح خاک آیش (۲۱ نمونه) انجام شد. طبق نتایج، تمام آزمایشات در سطح احتمال ۱٪ اختلاف آماری معنی‌دار با خاک آیش داشتند. بالاترین میزان انحلال پتاسیم در طی ۷ روز در محیط مایع BBM در تیمار اپی‌فایتونی شالیزار واجارگاه، به طور میانگین ۳/۴ برابر شاهد بود. بالاترین میزان انحلال فسفات معدنی در محیط کشت اسپربر در طول ۵ روز، به مقدار ۱۱۲۱ mg/L در تیمار اپی‌فایتونی شالیزار واجارگاه ثبت شد. بالاترین میزان فسفات آلی از تیمارهای اپی‌فایتونی شالیزارهای گیشه‌سرا و واجارگاه با میانگین ۴۲۷/۲۵ mg/L ثبت شد. تولید سیانید هیدروژن در مدت ۵ روز، در تمام تیمارهای اپی‌فایتونی شالیزار واجارگاه، مقدار بیش‌تری داشت. بالاترین میزان تولید سیدروفور بعد از یک هفته در دو نمونه اپی‌فایتون خاله‌سرا به ترتیب با قطر هاله به کلنی ۱/۶۲ و ۱/۴۱ اندازه‌گیری شد. در آزمایش تولید اکسین (IAA) بعد از سه روز، نمونه اپی‌پلونی واجارگاه با مقدار ۸۸/۹۳ µg/ml بیش‌ترین مقدار را داشت. در آزمون تنش خشکی که به روش فاکتوریل دو فاکتوره (تیمار میکروبی، فشار اسمزی) انجام شد، بالاترین رشد میکروبی در فشارهای اسمزی اعمال شده با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (۰، -۲، -۵، -۱۰ و -۱۵ bar)، در نمونه‌های اپی‌پلونی بود که با افزایش فشار اسمزی رشد میکروبی کاهش یافت. طبق نتایج تنش شوری، در شوری ۸٪ فقط قارچ‌ها رشد کردند. کمترین عملکرد به دست آمده به جز تنش خشکی، در تیمارهای خاک آیش بود. نتایج نشان‌دهنده اهمیت بالای کشاورزی در افزایش عملکرد از طریق تأثیر بر جامعه میکروبی فعال می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آیش، پرفایتون، خشکی، شوری، فسفات معدنی و آلی

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش جمعیت جهان و محدودیت منابع، افزایش تقاضا برای تأمین مواد غذایی وجود داشته و بنابراین استفاده بهینه از منابع موجود بسیار مهم می‌باشد (Etesami and Glick., 2020). این در حالی است که غذای بیش از نیمی از جمعیت دنیا از طریق شالیزارها تأمین می‌شود و سطح زیر کشت آن در سراسر جهان معادل 17×10^6 ha است (Ali et al., 2020). طبق آمارهای رسمی در سال ۲۰۲۰ مصرف سرانه برنج در ایران $37/4$ Kg و تقاضای سالانه جمعیت ایران برای این محصول حدود $3/59 \times 10^6$ است (FAO., 2020). کل سطح برداشت و تولید برنج در ایران به ترتیب حدود 529000 ha و $2/3 \times 10^6$ ton برآورد شده است (Kouchaki-Penchah., 2023). بر اساس آخرین گزارش، رتبه اول سطح زیر کشت برنج کشور مربوط به استان گیلان و بعد از آن مربوط به استان مازندران است. استان گیلان یکی از مناطق عمده تولید برنج با سطح خالص کل اراضی شالیزاری حدود 218135 ha می‌باشد (Rezaei et al., 2024). بنابراین توجه به افزایش تولید برنج اهمیت روزافزونی خواهد داشت. اما به دلیل شرایط حاکم بر زمین‌های غرقاب، کارایی مصرف کودهای شیمیایی در شالیزارها کم هست. این مقدار برای مصرف کودهای نیتروژنی $30-35\%$ و برای کودهای فسفوری $10-20\%$ گزارش شده است (Li et al., 2018; Zhou et al., 2014). به عنوان مثال آزاد شدن فسفر از خاک به آب سطحی و هدررفت آن و همچنین کاهش فراهمی زیستی این عنصر به دلیل تشکیل فسفات‌های نامحلول، از عواملی هستند که باعث کاهش کارایی مصرف فسفر در شالیزارها می‌شود. این مسأله باعث مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی در شالیزارها با هدف افزایش عملکرد برنج شده و مشکلاتی مانند آلودگی در

آب‌های زیرزمینی، احتمال وجود مواد سمی و فلزات سنگین در محیط آبی، تأثیرات منفی بر آبزیان، افت کیفیت خاک، صدمه به ریشه گیاه و در نهایت کاهش عملکرد و تولید محصولات کشاورزی می‌شود (Suseendran et al., 2020). بنابراین اهمیت استفاده از کودهای زیستی بیش‌تر نمایان شده و می‌تواند باعث کاهش مصرف کودهای شیمیایی استفاده شود. این امر می‌تواند منجر به بهبود رشد گیاه، ایجاد محیط زیست سالم و افزایش باروری خاک شود (Etesami and Glick., 2020).

پرفایتون‌ها^۱ یک مجموعه پیچیده میکروبی در اکوسیستم‌های آبی هستند که شامل انواع مختلف جلبک، قارچ، باکتری، پروتوزوا و متازوا می‌باشند (Alikhani et al., 2021). پرفایتون‌ها به عنوان یک جامعه زیستی فعال که بیش‌ترین جمعیت آن‌ها مربوط به جامعه فتواتوتروفی می‌باشد، توانایی جذب مقدار زیادی مواد غذایی، تولید آنزیم‌های خارج سلولی را داشته و می‌توانند pH و شرایط رداکس را در طی فتوسنتز با مصرف کربن دی‌اکسید و آزادسازی اکسیژن تغییر دهند (Liu et al., 2016). لایه‌های زیستی^۲ پرفایتیک می‌توانند به عنوان تنظیم‌کننده چرخه عناصر غذایی، جریان انرژی و همچنین بافر زیستی فعال باشند که باعث ایجاد تغییرات پی در پی شکل عناصر غذایی شده و عملاً مخزن/ منبع عناصر غذایی بین خاک و لایه غرقاب بالای آن^۳ باشند (Singh et al., 2017). همچنین دارای توانایی پاسخ به شرایط محیطی هستند (Huang et al., 2018). گروه‌بندی پرفایتون‌ها در اکوسیستم‌های آبی بر اساس بستری است که بر روی آن تشکیل می‌شوند که شامل

^۱ Overlying Water^۱ Periphyton^۲ Biofilms

افزایش عملکرد و تولید محصولات مختلف کشاورزی به کار گرفته می‌شود. میکروفلور محرک رشد گیاه با مکانیسم‌هایی مانند تولید ایندول استیک اسید (Duca and Glick, 2020)، ترشح سیدروفور (Kour et al., 2020; Guo et al., 2020)، انحلال کانی‌های نامحلول فسفر (Tian et al., 2013) و تولید سیانید هیدروژن (Naziya et al., 2021) می‌توانند منجر به بهبود رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد شوند. Lu و همکاران (2017a,b) با شبیه‌سازی شرایط شالیزار، به بررسی تأثیر پریفایتون بر جوانه‌زنی، رشد بذر برنج و دسترسی فسفر پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد، افزایش شاخص جوانه‌زنی، کنترل علف‌های هرز، رشد بهتر گیاه برنج و افزایش دسترسی زیستی آن به فسفر در حضور پریفایتون انجام شد. مطالعات Haghani و همکاران (2024) نیز که با هدف بررسی پتانسیل پریفایتون‌های غنی شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (شباهت ۹۹/۸۶٪ به *Bacillus Cereus*) بر روی ویژگی‌های رشدی و عملکردی برنج انجام شد، نشان داد پریفایتون غنی شده می‌تواند به عنوان کود زیستی کنترل شده باشد. به طوری‌که در مراحل رشد ابتدایی گیاه، هدر رفت فسفر کاهش (به دلیل جذب در ساختار پریفایتون) و در زمان نیاز بیش‌تر گیاه، دسترسی آن به فسفر را افزایش (تجزیه پریفایتون و آزادسازی عناصر) می‌دهد. انجام مطالعات مرتبط با ویژگی‌های محرک رشد گیاه توسط پریفایتون‌ها در سراسر جهان، محدود به مطالعات توانایی انحلال فسفر بوده و در موارد معدود به تأمین نیتروژن و انحلال پتاسیم پرداخته شده است. اما در زمینه دیگر ویژگی‌های محرک رشدی این جامعه میکروبی هیچ مطالعه‌ای انجام نشده است. بنابراین بررسی این ویژگی‌ها می‌تواند بسیار مهم بوده و در صورت موفقیت،

اپیفایتون^۴ (متصل به گیاهان یا جلبک‌های بزرگ)، اپی‌لیتون^۵ (متصل به مواد سخت)، اپی‌پلون^۶ (متصل به سطح رسوبات خاک)، اپی‌سامون^۷ (روی دانه‌های شن و ماسه) و اپی‌زایلون^۸ (سطح چوب درختان) می‌باشد (Allan and Castillo, 2007). پریفایتون‌ها نقش بسیار مهمی در بالابردن پتانسیل تولید اکوسیستم‌های آبی/ غرقاب داشته و همچنین باعث ایجاد تعادل اکولوژیکی می‌شوند که این فرآیندها به دلیل دخالت لایه زیستی پریفایتونی در چرخه عناصر غذایی، محصولات اولیه این اکوسیستم‌ها، بهبود تنوع زیستی و فعالیت‌های بیوژئوشیمیایی انجام می‌گیرد (Alikhani et al., 2021). در لایه‌های زیستی، تجمع عناصر غذایی و انتقال افقی ژن‌ها بین ریزجانداران حاضر در لایه، منجر به افزایش مقاومت بیوفیلم و اجزای میکروبی آن از تنش‌ها، شرایط نامساعد محیطی و همچنین ترکیبات سمی شده، که این عامل باعث ایجاد استقرار پایدار در شرایط ناپایدار می‌شود (Sun et al., 2022; Rummel et al., 2017). از طرفی مواد پلی‌مری برون سلولی تولید شده در این زیست لایه، دارای ترکیبات آلی متنوع مثل پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و مواد هیومیک هستند (Naveed et al., 2019). از عملکردهای این مواد پلی‌مری می‌توان به تولید کربن آلی، عناصر غذایی برای ریزجانداران و ایجاد شرایط دفاعی برای تمام ساکنین این لایه در برابر تنش‌ها اشاره کرد (Decho, 2017; and Gutierrez, 2018; Borah et al., 2018). بنابراین این تنوع زیستی بسیار قدرتمند می‌تواند شامل باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشد گیاه باشد و به عنوان یک کود زیستی عمل کند. سال‌های زیادی است که نقش بسیار قابل توجه باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشد گیاه به خوبی شناخته شده است و در علم کشاورزی به صورت کود زیستی در جهت

^۷ Epissamon^۸ Epixylon^۴ Epiphyton^۵ Epilithon^۶ Epipelon

راه‌کاری مفید برای استفاده از آن به عنوان کود زیستی باشد. از علل دیگر اهمیت و ضرورت این مطالعه می‌توان به مهم بودن برنج در سبد غذایی مردم ایران و همچنین تمرکز شالیزارهای کشور در استان‌های شمالی اشاره کرد. این عوامل باعث افزایش نیاز به کشت زمین‌های آیش می‌شود. بنابراین مقایسه توانایی پریفایتون حاضر در شالیزار و جوامع میکروبی خاک آیش در زمینه ویژگی‌های محرک رشدی گیاه، می‌تواند بسیار مهم باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌های مورد استفاده برای این پژوهش در ابتدای تیر ماه سال ۱۴۰۱ که اکثراً پریفایتون در شرایط بلوغ خود است (۱/۵ ماه بعد از شروع رشد پریفایتون)، از بخش‌های مختلف استان گیلان تهیه شد نمونه‌های جمع‌آوری شده شامل نمونه اپی‌پلون (سطح خاک تا عمق ۵ cm) و اپی‌فایتون

(پریفایتون‌های معلق در آب که اکثراً از جلبک‌های بزرگ‌تر برای استقرار استفاده می‌کنند) جمع‌آوری شده از شالیزارهای واقع در روستاهای خاله‌سرا، گیله‌سرا و واجارگاه و نمونه سطح خاک از زمین آیش با هدف مقایسه توانمندی جوامع میکروبی موجود در آن از نظر ویژگی‌های محرک رشد گیاه واقع در ماسال بود (جدول ۱). لازم به ذکر است برای نمونه‌برداری از اپی‌پلون‌ها، وسیله‌ای به شکل مکعب مستطیل با ارتفاع ۵ cm (تا فقط سطح خاک دارای اپی‌پلون جمع‌آوری شود) طراحی شد که قسمت جلوی آن برای ورود نمونه کاملاً باز و قسمت انتهایی مکعب به میزان ۱ cm باز بود تا بتوان آب موجود در نمونه برداشته شده را خارج کرد. اما برای نمونه‌برداری اپی‌فایتون‌ها از بطری‌های ضد‌عفونی شده استفاده شد. حجم هر نمونه اپی‌پلون و اپی‌فایتون، ۲۵۰ ml بود. انجام نمونه‌برداری از هر زمین در سه تکرار انجام گرفت و در کل تعداد ۲۱ نمونه در جعبه یخ با دمای ۴ °C به آزمایشگاه منتقل شد.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی نقاط نمونه‌برداری

نامگذاری در آنالیزها	طول و عرض جغرافیایی
شالیزار ۱ (خاله‌سرا)	PF1 Eph (1), PF1 Eph (2), PF1 Eph (3), PF1 Ep (1), PF1 Ep (2), PF1 Ep (3)
شالیزار ۲ (گیله‌سرا)	PF2 Eph (1), PF2 Eph (2), PF2 Eph (3), PF2 Ep (1), PF2 Ep (2), PF2 Ep (3)
شالیزار ۳ (واجارگاه)	PF3 Eph (1), PF3 Eph (2), PF3 Eph (3), PF3 Ep (1), PF3 Ep (2), PF3 Ep (3)
زمین آیش (ماسال)	FF (1), FF (2), FF (3)
	۴۹° ۵۹' ۳۱" Y= ۵۹° ۴۸' ۵۹" X=
	۴۹° ۴۹' ۲۳" Y= ۴۹° ۴۹' ۲۳" X=
	۴۹° ۴۹' ۲۳" Y= ۴۹° ۴۹' ۲۳" X=
	۴۹° ۴۹' ۲۳" Y= ۴۹° ۴۹' ۲۳" X=

در جدول فوق، PF (Paddy Field) نشان دهنده شالیزار، Ep (Epipelon) نشان دهنده نمونه‌های اپی‌پلون، Eph (Epiphyton) نمونه‌های اپی‌فایتون، FF (Fallow Field) نمونه‌های خاک آیش، اعداد ۱، ۲ و ۳ نشان دهنده شماره شالیزار، (۱)، (۲) و (۳) نشان دهنده تکرارهای مربوط به هر نمونه می‌باشد.

بازکشت

نمونه‌ها (شامل اپی‌پلون، اپی‌فایتون و خاک آیش) بعد از انتقال به آزمایشگاه، به میزان ۵۰ ml در ۵۰۰ ml محیط کشت ^۹BBM استریل (جدول ۲) (Haghani et al., 2024) مایه‌زنی شدند. لازم به ذکر است نمونه خاک آیش در ابتدا توسط آب مقطر به حالت فوق اشباع مشابه نمونه‌های پریفایتون (حدود ۱ cm آب روی سطح خاک)

درآمد تا بتوان به میزان برابر با نمونه‌های پریفایتونی مایه‌زنی کرد. نمونه‌های تلقیح شده تا زمان بلوغ پریفایتون‌ها که معمولاً بین سه تا شش هفته به طول می‌انجامد، نگهداری شدند تا برای انجام آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار بگیرند. در طول زمان رشد میکروبی برای ایجاد شرایط

^۹ Bold's Basal Medium

مناسب‌تر در انکوباتور، طبق جدول ۳ نگهداری و از تکان‌ها دستی برای هوادهی نمونه‌ها استفاده شد.

جدول ۲- محیط کشت BBM

اجزاء محیط کشت	غلظت در محلول مادری (گرم در لیتر آب مقطر)	اضافه کردن به یک لیتر محیط کشت (میلی‌لیتر)
NaNO ₃	۲۵	۱۰
MgSO ₄ .7H ₂ O	۷/۵	۱۰
NaCl	۲/۵	۱۰
K ₂ HPO ₄	۷/۵	۱۰
KH ₂ PO ₄	۱۷/۵	۱۰
CaCl ₂ .2H ₂ O	۰/۵	۱۰
NaEDTA	۵۰	۱
KOH	۳۱	۱
FeSO ₄ . 7H ₂ O	۴/۹۸	۱
H ₃ BO ₃	۱۱/۴۲	۱
ZnSO ₄ .7H ₂ O	μM ۳۰۷	۱
MnCl ₂ .4H ₂ O	μM ۲۸	۱
MoO ₃	μM ۴/۹۳	۱
CuSO ₄ .5H ₂ O	μM ۶/۲۹	۱
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	μM ۱/۶۸	۱

جدول ۳- شرایط مناسب برای رشد پریفایتون

دما (درجه سلسیوس)	شدت نور (لوکس)	طول دوره روشنایی/خاموشی (ساعت)
۳۰-۲۸	۵۰۰۰	۱۲/۱۲

از گذشت ۷ روز، پتاسیم محلول توسط فلیم فتومتر (Jenway PFP7) اندازه‌گیری شد (Lu et al., 2016).

ارزیابی کمی انحلال پتاسیم

برای این آزمون از محیط کشت BBM اصلاح شده دارای میکای موسکویت^{۱۰} و فلوگوپیت^{۱۱} استفاده شد. برای این منظور نمک‌های KH₂PO₄ و K₂HPO₄ از محیط کشت حذف و به مقدار ۲/۵ g/L کانی‌های آون خشک شده به محیط کشت اضافه شدند. ۱۰ ml مایه تلقیح در ۱۰۰ ml محیط کشت، مایه‌زنی شده و شرایط نگهداری نمونه‌ها مشابه شرایط نور، دما و طول روشنایی/خاموشی فوق انجام شد (جدول ۳). در نمونه شاهد نیز تمام شرایط یکسان بوده اما به جای ۱۰ ml مایه تلقیح، ۱۰ ml آب مقطر اضافه شد. بعد

ارزیابی کمی انحلال فسفر از منبع معدنی

برای انجام این آزمون از محیط کشت اسپریر مایع (شامل: ۱۰ g گلوکز، ۰/۵ g عصاره مخمر، ۰/۱۴ g کلرید کلسیم، ۰/۳۲ g سولفات منیزیم در ۱۰۰۰ ml آب مقطر) به میزان ۱۵ ml در ارلن‌های ۵۰ ml استفاده شد که منبع فسفر معدنی نامحلول آن تری کلسیم فسفات به میزان ۲/۵ g/L بود. نمونه‌های پریفایتون بازکشت شده (به مدت حداقل سه

^{۱۱} Phlogopite^{۱۰} Muscovite

مانیتول، ۴۹۳ mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۱۱ mg CaCl_2 ، ۰/۰۴ mg H_3BO_3 ، ۱/۴ mg $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۱/۱۷ mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۱/۲ mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ و ۷۰ ml آب مقطر) و محلول $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (۳۰ ml محلول کازآمینواسید ۱۰٪) است. محلول‌های فوق به طور جداگانه تهیه، استریل و مخلوط شدند. از سوسپانسیون‌های میکروبی به میزان ۵ μl میکرولیتر در وسط پتری قطره‌گذاری و در دمای 28°C درجه سلسیوس به مدت یک هفته انکوبه شدند. تغییر رنگ محیط کشت از آبی به نارنجی نشان‌دهنده تولید سیدروفور بود که اندازه‌گیری قطر هاله نارنجی در اطراف کلنی باکتری معیار ارزیابی سیدروفور بود (Twisha and Minocheherhomji., 2018).

ارزیابی توان تولید ایندول استیک اسید

برای سنجش توان تولید این هورمون از روش رنگ‌سنجی با محلول سالکوفسکی (۲۹/۳ ml اسیدپرکلریک ۰/۷۱٪، ۲ ml محلول ۰/۵ mol/L کلرور آهن سه ظرفیتی) استفاده شد. برای این کار از محیط کشت LB (شامل: ۱۰ g تربیتون، ۵ g عصاره مخمر و ۵ g سدیم کلرید) دارای تربیتوفان به میزان ۱۰۰ mg/Kg، استفاده شد. ۵۰ μl از سوسپانسیون میکروبی به ۲۵ ml محیط کشت منتقل شده و نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای 28°C با سرعت ۱۲۰ rpm شیک شدند. ۳۰ ml از سوسپانسیون میکروبی برداشته و با دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. محلول شفاف رویی به نسبت ۲ به ۱ با محلول سالکوفسکی ترکیب شده و توسط اسپکتروفتومتر مدل Unico UV-2100 با طول موج ۵۳۵ nm قرائت شد. (Castellano-Hinojosa., 2017). برای ترسیم منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف از IAA (۰، ۲/۵،

هفته) به مقدار ۲۵ μl در آن مایه‌زنی و در دمای 28°C به مدت ۱۲۰ ساعت شیک (۱۲۵ g) شدند. در مرحله بعد با سانتریفیوژ نمونه‌ها (۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه)، به ۱ ml محلول شفاف رویی، ۳ ml آب مقطر و ۱ ml آمونیوم مولیبدو و انادات اضافه و بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، توسط اسپکتروفتومتر مدل Unico UV-2100 با طول ۴۷۰ nm قرائت شدند. (Wang et al., 2018). برای نمونه شاهد تمام مراحل بدون مایه‌زنی میکروبی انجام شد. لازم به ذکر است از K_2HPO_4 برای تهیه محلول‌های استاندارد ۰، ۱، ۲، ۵ و ۱۲ ppm استفاده شد. شدت رنگ در این استانداردها قرائت، منحنی کالیبراسیون رسم شده و سپس شدت جذب نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

ارزیابی کمی انحلال فسفر از منبع آلی

محیط کشت مورد استفاده در این آزمون، محیط ISP^{12} که حالت اصلاح شده محیط کشت اسپربر است، استفاده شد. در این محیط به جای منبع تری کلسیم فسفات، ۲/۵ g/L منبع اینوزیتول هگزافسفات استفاده شد. ادامه مراحل بعد، مانند آزمون انحلال فسفات معدنی انجام و توسط اسپکتروفتومتر مدل Unico UV-2100 با طول موج ۴۷۰ nm مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Wang et al., 2018). تهیه استاندارد و تیمار شاهد نیز مانند انحلال فسفر معدنی انجام شد.

ارزیابی توان تولید سیدروفور

برای انجام این آزمون از محیط کشت CAS-Agar استفاده شد که دارای چهار محلول معرف رنگی (یک mmol $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ در ۱۰ ml HCL، ۵۰ ml CAS، ۴۰ ml محلول HDTMA، محلول بافر (۳۰/۲۴ g بافر Pipes، ۷۵۰ ml محلول حاوی ۰/۳ g H_2PO_4 ، ۰/۵ g NaCl، ۱ g NH_4Cl و ۱۵ g آگار)، محلول غذایی (۲ g گلوکز، ۲

۵ روز میزان رشد در پلیت‌ها بررسی شد (Castiglione et al., 2021).

ارزیابی تحمل به تنش کم آبی

برای ارزیابی میزان تحمل به سطوح مختلف خشکی از پلی‌اتیلن گلیکول^{۱۴} (با استفاده از PEG6000) استفاده شد تا فشار اسمزی با ۰، -۲، -۵، -۱۰ و -۱۵ bar در محیط کشت BBM ایجاد شود. ۵ ml نمونه میکروبی در ۵۰ ml محیط کشت مایه‌زنی شد و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر دورانی در دمای ۲۹ °C قرار گرفت. میزان رشد در این محیط کشت‌ها، با اندازه‌گیری چگالی نوری در طول موج ۶۳۰ nm توسط اسپکتروفتومتر مدل Unico UV-2100 تعیین شد (Noha et al., 2022).

آنالیز آماری

نتایج تمام آزمون‌های انجام شده (به غیر از آزمون تحمل تنش کم آبی) در این بخش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار SAS، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون تحمل تنش کم آبی به روش آزمایش فاکتوریل (فاکتورهای آزمایش شامل ۱- تیمارهای میکروبی در ۲۲ سطح (۹ نمونه اپی فایتون، ۹ نمونه اپی پلون، ۳ نمونه خاک آیش و شاهد)، ۲- تیمار فشار اسمزی اعمال شده در چهار سطح ۰، -۲، -۵، -۱۰ و -۱۵) بود. مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزیابی کمی انحلال پتاسیم

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) میزان پتاسیم محلول توسط تیمارهای آزمایشی در محیط دارای کانی

۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ mg/L) به روش فوق با محلول سالکوفسکی تیمار و مقدار جذب نوری آن‌ها قرائت شد.

ارزیابی توان تولید سیانید هیدروژن

برای این منظور محیط کشت TSA^{۱۳} (۱۵ g Peptic digest of ۵ g, Pancreatic digest of casein, soybean meal ۵ g، سدیم کلرید، ۱۵ g آگار، ۱ L آب مقطر)، غنی شده با گلیسین (۴/۴ g/L) استفاده و در هر پلیت ۱۰۰ µl از سوسپانسیون میکروبی مایه‌زنی شد. در داخل درب پلیت یک عدد کاغذ صافی آغشته به محلول معرف (شامل: کربنات کلسیم ۲٪ و اسید پیکریک ۰/۵٪) قرار گرفت. ظروف پتری به طول کامل درزگیری شدند تا تمام گاز سیانید هیدروژن تولید شده در داخل پتری محبوس شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ °C نگهداری شدند. سپس تغییر رنگ کاغذ صافی به کرمی، نارنجی، قهوه‌ای روشن و آجری بررسی شد (Donate-Correa et al., 2004).

ارزیابی تحمل شوری

برای این کار از محیط کشت BBM مایع دارای غلظت‌های (۰٪ و ۸٪) نمک NaCl (مازاد بر میزان NaCl مصرفی در داخل خود محیط کشت BBM) استفاده شد. در این آزمایش به ۲۵ ml محیط کشت، ۵۰ µl از سوسپانسیون میکروبی اضافه و بعد از قرار دادن نمونه‌ها در انکوباتور در دمای ۲۸ °C به مدت ۵ روز، رشد آن‌ها بر اساس کدر شدن محیط و مقایسه با نمونه شاهد بدون مایه‌زنی میکروبی، مورد بررسی قرار گرفت. سپس برای بررسی بیش‌تر، کشت در محیط کشت جامد BBM نیز انجام شد. برای این کار سوسپانسیون میکروبی به روش قطره‌گذاری به میزان ۷ µl در پتری‌های دارای نمک ۰٪ و ۸٪، مایه‌زنی شد و بعد از گذشت

^{۱۴} Polyethylene glycol (PEG)

^{۱۳} Tryptic Soy Agar

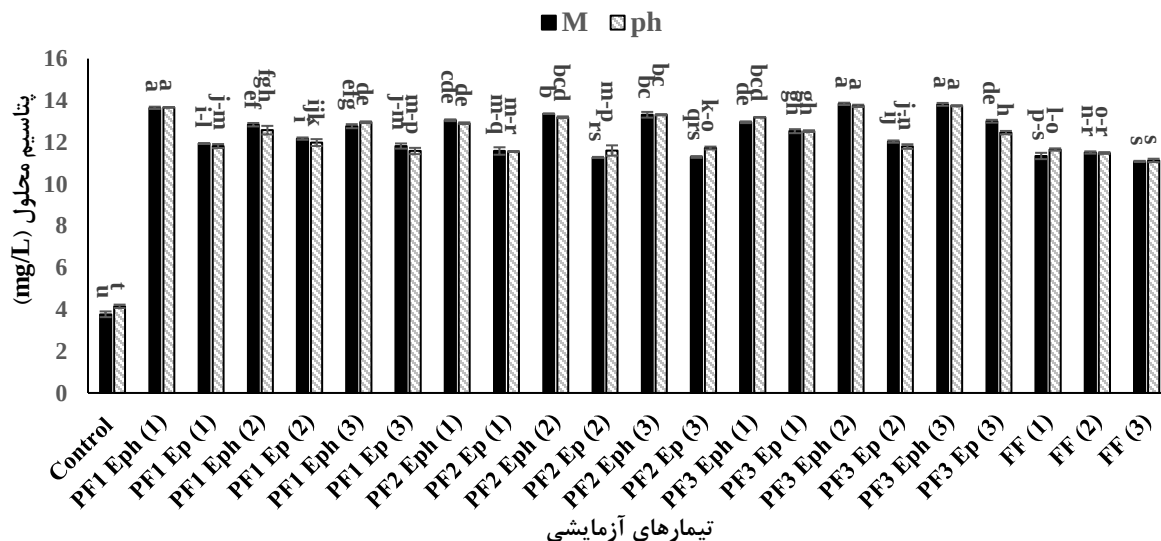
فلوگوپیت، ایلات و موسکویت بود (صادقی‌آزاد و همکاران، ۱۳۹۷). همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود کمترین میزان انحلال پتاسیم متعلق به تیمارهای مایه‌زنی شده با خاک آیش می‌باشد که با شاهد دارای اختلاف آماری معنی‌دار است و بالاترین مقادیر پتاسیم محلول در پریفایتون‌های معلق در آب (اپی‌فایتون‌ها) بوده است. می‌توان این‌گونه استدلال کرد، چون این گروه از پریفایتون‌ها در تمام قسمت‌های محیط کشت رشد می‌کنند، احتمالاً دسترسی بالاتری به کانی‌های نامحلول پیدا کرده و از این طریق باعث افزایش میزان انحلال می‌شوند. مطالعات متعددی ریزجانداران مفید خاک مانند باکتری‌های ساپروفیت، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها برای انحلال پتاسیم از مکانیسم‌هایی مانند تولید اسیدهای آلی و معدنی، پلی‌ساکاریدها، کلاته کردن و تبادل استفاده می‌کنند (Sadeghi et al., 2017; Etesami et al., 2017). از این بین گونه‌های میکروبی مثل *Cenococcum*, *Pisolithus*, *Bacillus*, *Acidithiobacillus*, *Pseudomonas* و *Aspergillus* در انحلال پتاسیم بسیار مؤثر بوده و باعث افزایش عملکرد گیاهان می‌شوند (Liu et al., 2012; Meena et al., 2015; Sarikhani et al., 2018).

نامحلول پتاسیمی در سطح احتمال ۹۹ درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. تمام نمونه‌ها در تیمارهای موسکویتی و فلوگوپیتی دارای تفاوت آماری معنی‌دار نسبت به شاهد هستند. به طوری‌که بالاترین میزان پتاسیم محلول در بین تیمارها مربوط به پریفایتون PF3 Eph(3)، PF1 Ep(1) و PF3 Eph(2) بود که در تیمارهای موسکویتی به ترتیب ۱۳/۸۱، ۱۳/۶۴ و ۱۲/۷۶ و در تیمارهای فلوگوپیتی به ترتیب ۱۳/۷۴، ۱۳/۶۶ و ۱۲/۹۵ mg/L می‌باشد. از نظر تفاوت انحلال در بین تیمارهای فلوگوپیتی و موسکویتی به غیر از پریفایتون‌های PF3 Ep(3)، PF2 Ep(3)، PF2 Ep(2) و FF(1) بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری باهم ندارند اما در کل میزان انحلال در اکثر نمونه‌های دارای فلوگوپیت بالاتر از تیمارهای دارای موسکویت می‌باشد (شکل ۱). این نتیجه در تیمار شاهد به وضوح دیده می‌شود که دلیل این مسأله مربوط به انحلال پذیری بالاتر و ناپایداری بیش‌تر فلوگوپیت نسبت به موسکویت می‌باشد. آزمایش صادقی‌آزاد و همکاران هم نشان داد که سویه‌های قارچی مورد استفاده در آزمایش قادر به آزادسازی پتاسیم از سیلیکات‌ها بودند اما بیش‌ترین میزان رهاسازی پتاسیم از منابع مورد استفاده به ترتیب بیوتیت،

جدول ۴- تجزیه واریانس پتاسیم محلول در محیط BBM

منابع تغییر	درجه آزادی	K
تیمار	۴۳	۱۱/۶۹۲**
خطای آزمایشی	۸۸	۰/۲۵۸
ضریب تغییرات (%)		۱/۳۳۵

**معنی‌دار در سطح ۱٪



شکل ۱- پتاسیم محلول محیط کشت BBM (mg/l) از منبع M (موسکویت) و Ph (فلوگویت) حروف کوچک تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن)

ارزیابی کمی انحلال فسفر از منبع معدنی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) میزان انحلال فسفر از منبع معدنی تری کلسیم فسفات توسط تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال ۹۹ درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. با توجه به شکل (۲)، پریفایتون شماره PF3 Eph(2) با 1121 mg/L بیش‌ترین میزان انحلال فسفر را داشته که مربوط به اپی‌فایتون شالیزار واجارگاه بود و با بقیه تیمارها دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد. پریفایتون PF2 Eph(2) و PF3 Eph(3) به ترتیب با مقادیر ۹۸۹ و ۹۳۵ mg/L در رده بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان قدرت انحلال فسفر نامحلول معدنی در نمونه‌های خاک آیش (با میانگین 266 mg/L) اندازه‌گیری شد. تمام نمونه‌های اپی‌فایتونی نسبت به نمونه اپی‌پلونی همان نقطه نمونه‌برداری (به عنوان مثال PF1 Eph(1) در مقابل PF1 Ep(1)) میزان انحلال پتاسیم بیش‌تری داشتند و دارای اختلاف آماری معنی‌دار با هم هستند. علت این امر می‌تواند به دلیل معلق بودن اپی‌فایتون‌ها در آب مربوط باشد که امکان ارتباط با فضای بیش‌تری را به آن‌ها داده و در نتیجه باعث افزایش انحلال شود. عامل دیگر این نتیجه می‌تواند به ترکیب جمعیتی متفاوت اپی‌پلون‌ها و اپی‌فایتون‌ها مربوط باشد. در

پژوهشی با شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات در مزارع شالیزاری هند، مشخص شد بیش‌ترین باکتری‌های جداسازی شده از جنس *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus* بودند. مهم‌ترین ساز و کار باکتری‌ها برای انحلال فسفات تولید اسیدهای آلی از نوع گلوکونیک، سیتریک، تارتاریک، اگزالیک، سوکسونیک و فورموئیک اسید می‌باشد (Chawngthu et al., 2020). Yin و همکاران (2015) عنوان کردند از جدایه‌های قارچی مهم در انحلال فسفات‌های نامحلول می‌توان به *Penicillium* و *Aspergillus* اشاره کرد که میزان انحلال کلسیم فسفات از محیط مایع را بین ۱۴۰۰-۱۸۰۰ mg/L گزارش کردند. Qarni و همکاران (2021) نیز میزان انحلال تری‌کلسیم فسفات را برای دو جدایه جدایه *Bacillus firmus* و *Bacillus safenis* ۸۸/۶۷ و ۶۷/۹۱ mg/L گزارش کردند. از بین این میکرواورگانیزم‌ها، قارچ‌های حل‌کننده فسفات توانایی بالاتری نسبت به باکتری‌ها دارند که می‌تواند به دلیل ساختار هیف و توان نفوذ در اعماق بیش‌تر خاک باشد (Kouhad et al., 2011). تولید اسیدهای آلی و آنزیم‌های فسفاتاز مهم‌ترین مکانیسم قارچ‌های حل‌کننده فسفات می‌باشد (Doilom et al., 2020). گزارش شده است قارچ‌های حل‌کننده فسفات

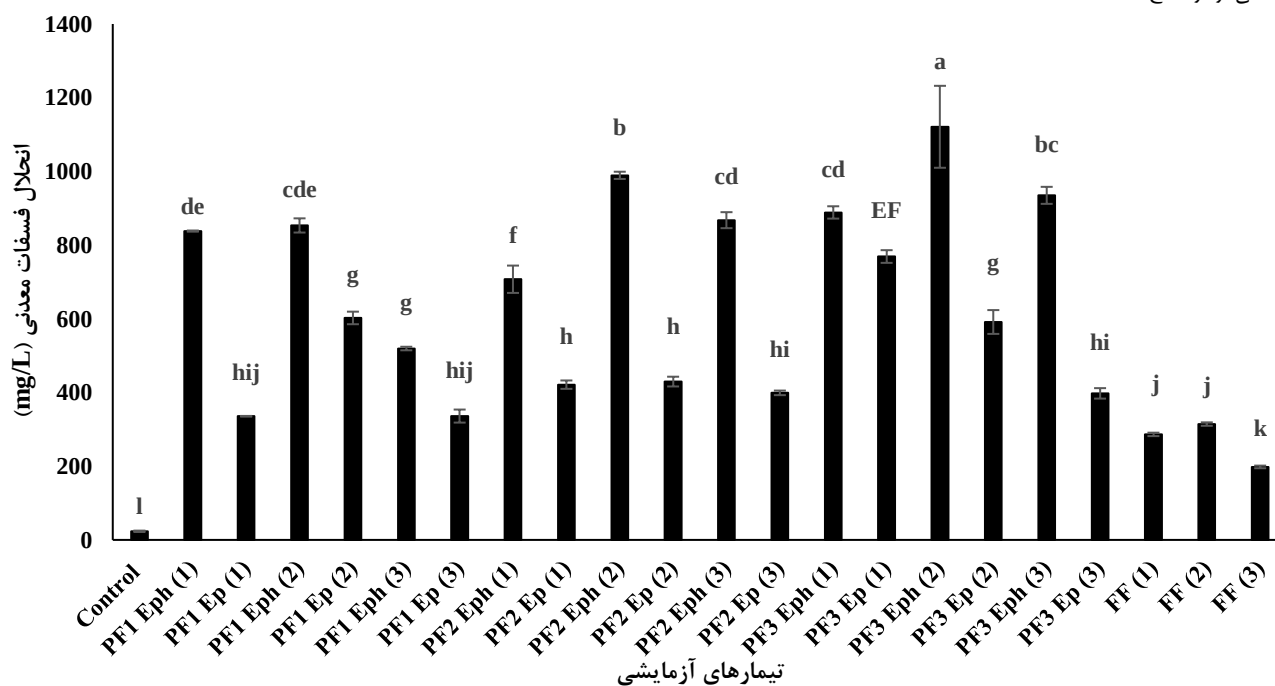
مولکولی این جدایه قارچی نشان داده بود که به سویه *Talaromyces miniluteu* بیش‌ترین شباهت را داشت (Alikhani et al., 2023). در مطالعه Fallah و همکاران (2024) که به بررسی کارایی حل‌کنندگی فسفات معدنی چند سویه سیانوباکتر پرداختند، نتایج نشان داد بیش‌ترین قدرت انحلال برای تری‌کلسیم فسفات $47/5 \text{ mg/L}$ و مربوط به سویه *Microcystis sp.* بود.

می‌تواند توانایی‌های دیگری از جمله تولید اکسین، سیدروفور و سیانید هیدروژن نیز داشته باشند (Naziya et al., 2020; Inaji et al., 2020; Meents et al., 2019). باکتری‌های حل‌کننده فسفات موجود در مجموعه پرفایتون می‌توانند ترکیبات فسفات کلسیم را به طور مؤثر حل کرده و آن‌ها را از فرم رسوب به شکل فعال درآورند (Yang et al., 2020; Shujie et al., 2020). در مطالعه‌ای که به جداسازی باکتری‌ها و قارچ‌های حل‌کننده فسفات از جوامع پریفایتونی پرداخته بودند، نشان داد بالاترین میزان توان انحلال فسفات از منبع تری کلسیم فسفات مربوط به یک جدایه قارچی (جداسازی شده از اپی‌فایتون و به میزان $818 \pm 7 \text{ mg/L}$) بود. نتیجه شناسایی

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس صفات فسفر معدنی، فسفر آلی، سیدروفور و ایندول استیک اسید

منابع تغییرات	درجه آزادی	انحلال فسفر معدنی	انحلال فسفر آلی	سیدروفور	ایندول استیک اسید
تیمار	۲۱	۲۵۸۲۰۳/۱۹**	۴۰۱۵۰/۷۱**	۰/۲۷**	۷۲۹/۲۶**
خطای آزمایشی	۴۴	۲۴۶۳/۸۱	۲۶۱/۰۶	۰/۰۰۸	۳/۸۶
ضریب تغییرات (%)		۸/۵۱	۷/۱۸	۸/۰۵	۴/۸۹

**معنی‌دار در سطح ۱٪

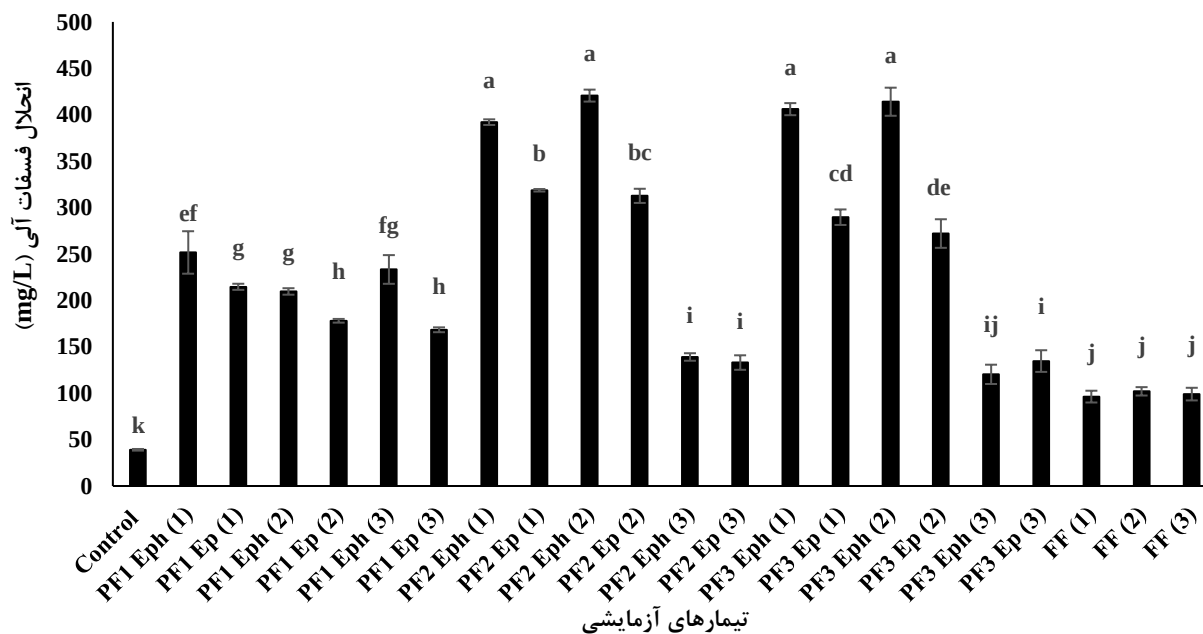


شکل ۲- انحلال فسفات معدنی (mg/l) در محیط کشت اسپریر دارای تری کلسیم فسفات، حروف کوچک تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن)

ارزیابی کمی انحلال فسفر از منبع آلی

شده است که پریفایتون نقش خیلی مهمی در چرخه فسفر داشته و می‌تواند یک منبع بالقوه از فسفر باشد (Weigelhofer et al., 2018). پریفایتون می‌تواند با تولید فسفات‌های قلیایی فسفات‌های نامحلول آلی را به فرم قابل استفاده معدنی تبدیل کند (Lu et al., 2014). Shujie و همکاران (2021) بیان کردند فسفات‌های لایه پریفایتون دارای ویژگی‌های پیچیده‌تری نسبت به جوامع تک میکروبی و تک گونه‌ای بوده و در آن فسفات‌های قلیایی بیش‌تر از فسفات‌های اسیدی است. همچنین گزارش کردند هیدرولیز اینوزیتول هگزا فسفات توسط لایه زیستی پریفایتون بسیار شدید بوده و همین امر اهمیت بیش‌تر پریفایتون برای فراهمی زیستی فسفر را نشان می‌دهد.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) میزان انحلال فسفر از منبع آلی اینوزیتول هگزا فسفات توسط تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال ۹۹ درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. بالاترین میزان انحلال در پریفایتون‌های شماره PF2 Eph(2)، PF3 Eph(1)، PF3 Eph(2) و PF2 Eph(1) (مربوط به نمونه‌های اپی‌فایتونی شالیزارهای خاله‌سرا و گیل‌سرا) به ترتیب با مقادیر ۴۹۰، ۴۱۹، ۴۱۰ و ۳۹۰ mg/L به دست آمد و با هم در یک گروه آماری قرار گرفتند. نمونه FF(1) مربوط به خاک آیش کمترین توان انحلال فسفر آلی را داشت که با FF(2)، FF(3) (خاک آیش) و PF3 Eph(3) در یک گروه آماری قرار گرفتند. در مطالعات متعددی گزارش



شکل ۳- انحلال فسفات آلی (mg/l) در محیط کشت اسپربر دارای اینوزیتول هگزا فسفات، حروف کوچک تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن)

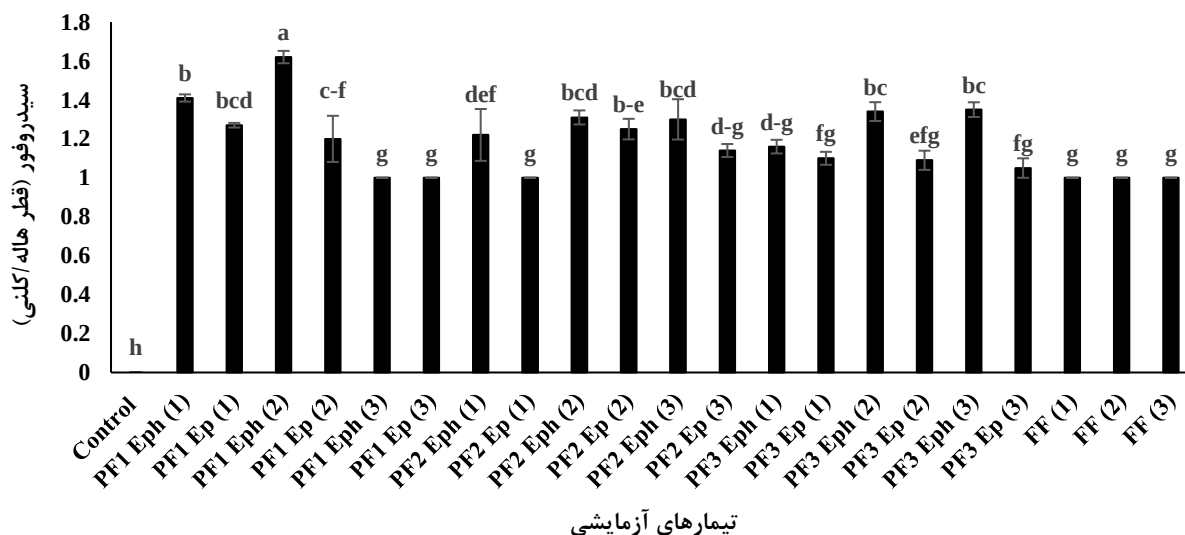
ارزیابی توان تولید سیدروفور

میزان تولید سیدروفور توسط تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال ۹۹ درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. نشان داد بالاترین میزان سیدروفور در تیمار PF1 Eph(1) و PF1 Eph(2) به ترتیب با نسبت ۱/۶۲ و ۱/۴۱ به دست آمد. این تیمارها متعلق به شالیزار خاله‌سرا بوده و هر دو از نمونه‌های اپی‌فایتون

تولید سیدروفور که ۷۲ ساعت بعد از مایه‌زنی در محیط کشت و در نتیجه تعیین نسبت قطر هاله به کلنی به دست آمده است، نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان داد

کلنی ۶/۸ و ۱ بود. مطالعه Peek و همکاران (2012) و Saharan و Nehra (2011) گزارش کردند *Bacillus enthracis* و *Pseudomonas aeruginosa* سویه‌های تولید کننده سیدروفور هستند. در مطالعه Otadi و همکاران (2025) چهار گروه باکتری *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Azotobacter* و *Azospirillum* جداسازی شده از خاک‌های ایران از نظر تولید سیدروفور مورد مقایسه قرار گرفتند و نتایج نشان داد تولید سیدروفور در گروه *Pseudomonas* با بقیه دارای اختلاف آماری معنی‌دار بوده و بیش‌ترین میزان قطر هاله به کلنی ۳/۳۸ ثبت شد.

می‌باشند. به غیر از تیمار Ep(2) PF1 که تشکیل هاله نارنجی در آن دیده نشد و هیچ تفاوتی بین نمونه‌های اپی‌فایتون و اپی‌پلون وجود ندارد، در بقیه تیمارها، نمونه‌های اپی‌فایتونی قطر هاله به کلنی بیش‌تری نسبت به نمونه‌های اپی‌پلونی داشتند. تیمارهای خاک آیش (FF(1)، FF(2) و FF(3) نیز هاله‌ای در اطراف کلنی‌ها تشکیل نشد. در مطالعه Beheshti (2021) بیش‌ترین قطر هاله به کلنی در آزمون تولید سیدروفور در باکتری‌ها با نسبت ۳/۷ و کمترین آن با نسبت یک بود که توانایی در تولید سیدروفور نشان ندادند. در نمونه‌های قارچی بالاترین و پایین‌ترین نسبت قطر هاله به



شکل ۴- نتایج قطر هاله به کلنی در تولید سیدروفور، حروف کوچک تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن)

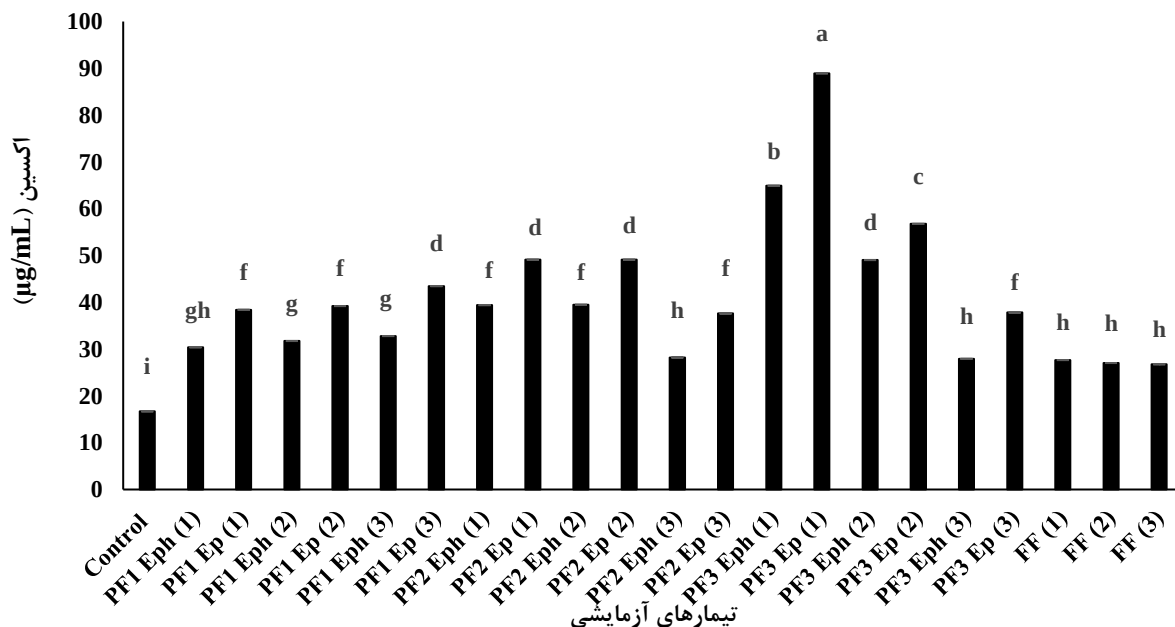
شالیزار و اجارگاه هستند. کمترین میزان تولید IAA مربوط به تیمار شاهد بود و با تمام تیمارها از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. مطالعه Beheshti و همکاران (2022) که به بررسی توان تولید هورمون ایندول استیک اسید توسط جدایه‌های باکتریایی و قارچی جدا شده از پریفایتون پرداختند، نشان داد بالاترین و پایین‌ترین میزان IAA تولید شده توسط باکتری‌ها به ترتیب ۲۰۵/۷ و ۱۱/۷ $\mu\text{g/ml}$ و در

ارزیابی توان تولید ایندول استیک اسید

تجزیه واریانس نتایج تولید ایندول استیک اسید (جدول ۵) نشان داد، این صفت مورد بررسی در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. با توجه به شکل (۴) بالاترین میزان تولید ایندول استیک اسید مربوط به نمونه PF3 Ep(1) و بعد از آن PF3 Ep(1) می‌باشد که با هم دارای اختلاف آماری معنی‌دار بوده و هر دو مربوط به

کردند بیش از ۸۰٪ باکتری‌های ریزوسفری توان تولید ایندول استیک اسید را دارند که از آن جمله می‌توان به *Enterobacter* *Azotobacter* *Azospirillum* *Pseudomonas* و *Staphylococcus* اشاره کرد.

قارچ‌ها ۳۱۷/۷ و ۴۵ $\mu\text{g/ml}$ می‌باشد. Qarni و همکاران (2021) در دو جدایه *Penicillium* و *Penicillium* sp. Oxalicum میزان تولید هورمون ایندول استیک اسید را ۲۵ و ۲۳ $\mu\text{g/ml}$ گزارش کردند. Bag و همکاران (2022) اعلام



شکل ۴- تولید ایندول استیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر)، حروف کوچک تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن)

هیدروژن می‌باشد، قرار گرفتند. نمونه‌های فوق با نتیجه مثبت در تولید سیانید هیدروژن مربوط به نمونه‌های اپی‌فایتون می‌باشند. Faridian و همکاران (2023) توان تولید سیانید هیدروژن را در تعدادی جدایه قارچی بررسی و بیان کردند تنها ۶/۹۲٪ جدایه‌ها توانایی تولید سیانید هیدروژن را داشتند و بالاترین میزان تولید در قارچ *Penicillium oxalicum* مشاهده شد. Prasad و همکاران (2017) گزارش کردند قارچ‌های حل‌کننده فسفات توانایی تولید سیانید هیدروژن را دارند.

ارزیابی توان تولید سیانید هیدروژن

نتایج جدول (۶) نشان می‌دهد بالاترین میزان تولید سیانید هیدروژن در تیمارهای PF3 Eph(1)، PF3 Eph(2) و PF3 Eph(3) (شالیزار خاله‌سرا) بود و نمونه‌ها باعث تغییر رنگ کاغذ صافی به رنگ نارنجی شد که نشان دهنده تولید نسبتاً کم سیانید هیدروژن هستند. سپس نمونه‌های PF1 Eph(1)، PF1 Eph(2)، PF1 Eph(3) (شالیزار واجارگاه) (به رنگ کرمی) که نشان دهنده توان تولید حداقل سیانید

جدول ۶- نتایج توان تولید سیانید هیدروژن

درجه بندی	رنگ کاغذ صافی	تیمارهای آزمایشی
۲	کرمی	PF1 Eph(3) PF1 Eph(2), PF1 Eph(1),
۱	زرد	PF2 Eph(2), PF2 Eph(3), PF2 Ep(1), PF1 Ep(1), PF1 Ep(2), PF1 Ep(3), PF2 Eph(1), FF(1), FF(2), FF(3) PF2 Ep(3), PF3 Ep(1), PF3 Ep(2), PF3 Ep(3), PF2 Ep(2),
۳	نارنجی	PF3 Eph(1), PF3 Eph(2), PF3 Eph(3)

ارزیابی تحمل شوری

نتایج آزمایش (جدول ۷) نشان داد کشت پریفایتون در محیط مایع در غلظت نمک ۰٪ که شرایط طبیعی محیط کشت BBM می باشد، شرایط رشد طبیعی بوده و باعث سبز شدن محیط کشت شد. اما در زمان کشت در محیط مایع دارای ۸٪ نمک محیط کشت در تمام تیمارها کدر شد. به همین دلیل برای بررسی بیش تر در محیط جامد بدون نمک و دارای نمک ۸٪ کشت دوباره انجام شد. نتایج نشان داد در محیط جامد بدون نمک میکروارگانیسم های رشد یافته روی پلیت در تمام تیمارها شامل باکتری، قارچ و جلبک/سیانوباکتر می باشد. اما در پلیت های حاوی ۸٪ نمک به غیر از نمونه های خاک آیش و نمونه شماره PF3 Ep(3)، فقط قارچ رشد کرد. در کل رشد قارچی در نمونه های اپی فایتونی (به غیر از نمونه PF3 Eph(3)) بیش تر از نمونه های اپی پلونی بود. مطالعه Mukerji و Giri (2004) بیان کرد قارچ میکوریزا از طریق جذب برقرار رابطه همزیستی و جذب عناصر غذایی باعث بهبود تحمل شرایط نامساعد و تنش شوری می شود.

Safarzadeh و همکاران (2023) توان رشد ۱۰ جدایه باکتری را در سطوح شوری مختلف بررسی کردند، نتایج نشان داد در سطح شوری ۲ mol/L، تمام جدایه ها، در سطح شوری ۳ mol/L، ۸ جدایه و در ۴ mol/L فقط دو جدایه *Halomonas* و *Klebsiella* قادر به رشد بودند. ریزوباکترهای محرک رشد گیاه در برابر شرایط محیطی نامناسب غذا، دما، رطوبت، تنش اکسیداتیو و شوری تکامل پیدا کرده اند (Remonsellez et al., 2022; Barbaccia et al., 2018). قارچ پریفورموسپورا/ایندیکا نیز تحمل به شوری

بالایی داشته و در حد ۴۰۰ mmol کلرید سدیم را از طریق ساز و کارهای مختلف تحمل می کند (Zarea et al., 2014). در پژوهش های مختلف تأثیر مثبت مایه زنی قارچ اندوفیت بر افزایش زیست توده گزارش شده است (Farias et al., 2020; Saddique et al., 2018; Zaman et al., 2021). Morsy و همکاران (2020) نیز تأثیر مثبت قارچ *Penicillium brevicompactum* در تنش شوری را گزارش کردند.

جدول ۷- نتایج تنش شوری

پریفایتون	نمک + % محیط مایع	نمک + % محیط جامد	نمک + % محیط جامد	نمک + % محیط مایع
PF1 Eph(1)	+	+	B, A, F	F
PF1 Ep(1)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF1 Eph(2)	+	+	B, A, F	F
PF1 Ep(2)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF1 Eph(3)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF1 Ep(3)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF2 Eph(1)	+	+	B, A, F	F
PF2 Ep(1)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF2 Eph(2)	+	+	B, A, F	F
PF2 Ep(2)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF2 Eph(3)	+	+	B, A, F	F
PF2 Ep(3)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF3 Eph(1)	+	+	B, A, F	F
PF3 Ep(1)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF3 Eph(2)	+	+	B, A, F	F
PF3 Ep(2)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF3 Eph(3)	+	+	B, A, F	رشد ضعیف F
PF3 Ep(3)	+	+	B, A, F	-
FF (1)	+	+	B, A, F	-
FF (2)	+	+	B, A, F	-
FF (3)	+	+	B, A, F	-

B (Bacteria) نشان دهنده رشد باکتری، F (Fungi) نشان دهنده رشد قارچ و A (Algae) نشان دهنده رشد جلبک

ارزیابی میزان تحمل به تنش کم آبی

تجزیه واریانس نتایج نشان می‌دهد اثر ساده غلظت‌های مختلف PEG_{۶۰۰۰}، اثر ساده تیمارهای میکروبی و اثر دوگانه جامعه میکروبی × PEG در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند (جدول ۸). مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های مختلف PEG (فشارهای اسمزی متفاوت) نشان داد بالاترین چگالی قرائت شده در فشار اسمزی ۰ (PEG_۰) و در رده بعدی فشار اسمزی ۲ و ۵ bar از نظر آماری در یک گروه آماری قرار گرفتند. نتیجه مقایسه میانگین اثر ساده پریفایتون نشان داد بالاترین مقادیر، در تیمارهای PF3 Ep(1)، PF3 Ep(2) و PF3 Ep(3) به ترتیب با ۳/۵۶، ۳/۷ و ۳/۶۵ اندازه‌گیری شد که با بقیه تیمارها دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند.

مقایسه میانگین اثر دوگانه جامعه میکروبی × PEG (جدول ۹)، نشان داد بالاترین مقدار چگالی نوری قرائت شده مربوط به تیمار با فشار اسمزی صفر و پریفایتون PF2 Ep(3) بود که با تیمارهای PEG_۰ × PF3 Ep(3)، PEG_۰ × PF2 Ep(2)، PEG_۰ × PF3 Ep(2) و PEG_۰ × PF3 Ep(1) در یک گروه آماری قرار گرفتند. کمترین رشد میکروبی در تیمار پریفایتونی Control در فشار اسمزی ۱۰ بار (PEG_{۱۰} × Control) اندازه‌گیری شد که با فشار اسمزی ۰، ۲، ۵ و ۱۵ bar در همین تیمار پریفایتونی (PEG_۲ × Control، PEG_۵ × Control، PEG_{۱۵} × Control)، PEG_۰ × Control، در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۹). در پژوهش Khodadadi و همکاران (2019) اعلام

کردند افزایش سطح پلی اتیلن گلیکول در سطوح ۵-، ۱۰- و ۲۰- bar به ترتیب ۵۸/۸، ۷۲/۲ و ۹۲/۹ درصد کاهش یافت. Ashraf و همکاران (2004) بیان کردند جدایه‌هایی که توان بالایی در تحمل تنش خشکی دارند با تولید پلی ساکارید برون سلولی و همچنین تجمع برخی از آنزیم‌ها، به رشد خود ادامه می‌دهند.

جدول ۸- جدول تجزیه واریانس تحمل تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	خشکی
پریفایتون	۴	۴/۶۳۵**
PEG	۲۱	۱۲/۳۴**
پریفایتون×PEG	۸۴	۰/۳۹**
خطای آزمایشی	۲۲۰	۰/۰۳۹۸
ضریب تغییرات (%)		۱۱/۱۹

** معنی دار در سطح ۱٪

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر دوگانه PEG × جامعه میکروبی

جامعه میکروبی* PEG	PEG ₀	PEG ₂	PEG ₅	PEG ₁₀	PEG ₁₅
PF1 Eph(1)	۰/۶۳opp	۲/۱۵cc-kk	۱/۲۹v-hh	۰/۸۲ll-pp	۰/۷۳nn-pp
PF1 Ep(1)	۱/۳۹t-dd	۱/۵۳o-bb	۱/۶۱m-v	۱/۲۸w-ii	۱/۰۴gg-nn
PF1 Eph(2)	۰/۸۷kk-pp	۰/۹۲jj-pp	۰/۹۸hh-oo	۰/۷۷mm-pp	۰/۷۳nn-pp
PF1 Ep(2)	۱/۳۶t-ff	۱/۵۰p-bb	۱/۵۶n-y	۱/۳۰u-gg	۱/۰۷ff-nm
PF1 Eph(3)	۱/۳۷t-ff	۰/۸۵kk-pp	۰/۹۳jj-pp	۰/۸۰ll-pp	۰/۶۳pp
PF1 Ep(3)	۲/۱۱i-l	۱/۵۴o-aa	۱/۴۳s-cc	۱/۴۱t-dd	۱/۱۱dd-ll
PF2 Eph(1)	۲/۳۳hi	۱/۵۵n-z	۱/۷۶l-r	۱/۲۳z-zj	۰/۹۷hh-oo
PF2 Ep(1)	۲/۴۱hi	۱/۹۱klm	۱/۸۶k-n	۱/۵۷n-y	۱/۳۵t-gg
PF2 Eph(2)	۲/۲۵hij	۱/۴۷r-cc	۱/۶۱m-u	۱/۰۳gg-nn	۱/۰۴gg-nn
PF2 Ep(2)	۳/۹۷abc	۲/۵۲h	۳/۰۳g	۱/۷۹l-q	۱/۵۷n-y
PF2 Eph(3)	۱/۱۱fg	۲/۱۱m-s	۱/۷۷m-r	۱/۴۹p-bb	۰/۹۶ii-oo
PF2 Ep(3)	۴/۱۱a	۳/۲۵fg	۲/۴۹h	۱/۸۱k-p	۱/۵۳o-bb
PF3 Eph(1)	۱/۲۲aa-zj	۱/۹۷jkl	۱/۶۱m-v	۱/۶۱m-v	۱/۳۰u-gg
PF3 Ep(1)	۳/۹۱a-d	۳/۶۴de	۳/۵۹e	۳/۴۷ef	۳/۱۹fg
PF3 Eph(2)	۱/۲۱bb-zj	۲/۱۱ijk	۱/۵۰o-bb	۱/۳۳u-gg	۱/۲۶y-ii
PF3 Ep(2)	۳/۹۷abc	۳/۶۸b-e	۳/۷۸b-e	۳/۶۸b-e	۳/۴۷ef
PF3 Eph(3)	۱/۳۰u-gg	۱/۶۷m-t	۱/۲۸x-ii	۱/۲۷y-zj	۱/۸۳k-o
PF3 Ep(3)	۳/۹۹ab	۳/۵۸e	۳/۶۷cde	۳/۶۲de	۳/۴۱ef
FF (1)	۱/۵۷n-y	۱/۴۸q-bb	۱/۴۱t-dd	۱/۵۰p-bb	۱/۳۴u-gg
FF (2)	۱/۵۵n-z	۱/۵۳o-bb	۱/۵۹n-x	۱/۵۶n-y	۱/۴۴s-cc
FF (3)	۱/۵۸n-y	۱/۶۰m-w	۱/۵۷n-y	۱/۵۵n-aa	۱/۴۸q-bb
Control	۰/۲۹qq	۰/۲۹qq	۰/۲۹qq	۰/۲۹qq	۰/۲۹qq

حروف کوچک تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد (آزمون دانکن).

نتیجه گیری

توانمند در اکثر زمینه‌های محرک رشدی گیاه می‌تواند مؤثر باشد. در آزمایشات انحلال پتاسیم، فسفات معدنی، فسفات آلی، تولید سیانید هیدروژن و تولید سیدروفور، اپی فایتون‌ها در شرایط بهتری قرار داشتند و در این بین، به غیر از آزمون

نتایج این پژوهش ثابت کرد پریفایتون چه از نوع اپی پلونی یا اپی فایتونی به عنوان یک جامعه زیستی بسیار

پیشنهاد می‌شود به دلیل تأیید ویژگی‌های محرک رشدی لایه زیستی پریفایتونی، پژوهش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای بیش‌تر مورد مطالعه قرار گیرند و امید است گام بزرگی در جهت تولید کودهای زیستی مناسب با شرایط شالیزار و مدیریت چرخه عناصر غذایی موجود در آن برای رسیدن به کشاورزی پایدار باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مجموعه بنیاد ملی علم ایران (Iran National Science Foundation) که ما را در جهت تأمین هزینه‌های مالی این پژوهش (به شماره طرح ۴۰۰۰۷۳۶) کمک کردند، نهایت تشکر و سپاسگزاری را داریم.

تولید سیدروفور که بالاترین میزان تولید آن مربوط به شالیزار خاله‌سرا بود، در بقیه آزمایشات اپی‌فایتون‌های شالیزارهای گیله‌سرا و واجارگاه عملکرد بهتری داشتند. در حالیکه در آزمون توان تحمل خشکی و تولید هورمون ایندول استیک اسید اپی‌پلون‌ها در مقایسه با اپی‌فایتون‌ها قدرت بالاتری داشتند. از طرفی طبق نتایج به دست آمده از تمام آزمایشات، نمونه‌های گرفته شده از خاک آیش کمترین عملکرد را در ویژگی‌های محرک رشدی نشان دادند. بنابراین با توجه به این پتانسیل میکروبی بالقوه، می‌توان راهی به سوی استفاده مفید از این جامعه زیستی داشت. بنابراین توصیه می‌شود تأثیر اجزای میکروبی مفید حاضر در انواع پریفایتون‌ها به صورت جداگانه مطالعه شود تا بتوان باکتری‌ها و قارچ‌های مفید حاضر در پریفایتون را مورد شناسایی قرار داد. همچنین

References

1. Adesemoye, A.O. Torbert, H.A. and Kloepper, J.W., 2009. Plant growthpromoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58, pp.921-929. DOI: 10.1007/s00248-009-9531.
2. Ali, W. Mao, K. Zhang, H. Junaid, M. Xu, N. Rasool, A. Feng, X. and Yang, Z., 2020. Comprehensive review of the basic chemical behaviors, sources, processes, and endpoints of trace element contamination in paddy soil-rice systems in rice-growing countries. *Journal of Hazardous Materials*, 397, 122720. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122720
3. Alikhani H.A. Beheshti, M. Pourbabaei A.A. Etesami H. Asadi Rahmani, H. and Noroozi, M., 2023. The Effect of Natural and Enriched Periphyton by Plant Growth Promoting Microorganisms on Rice Growth Indices in a Greenhouse Experiment. *Water and Soil Science*, 33(3), pp. 143-162. DOI: 10.22034/ws.2022.52020.2475 [In Persian]
4. Alikhani, H.A. Emami, S. Etesami, H., 2021. Periphyton and Its Key Role in Paddy Fildes and Environmental Health. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52(2), pp. 451-467. DOI: 10.22059/ijswr.2021.315436.668835 [In Persian]
5. Allan, J.D. and Castillo, M.M., 2007. Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters, 2nd Edition, Chapman and Hall, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-5583-6>
6. Ashraf, M. Hasnain, S. Berge, O. and Mahmood, T., 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40(3), pp.157-162. DOI:10.1007/s00374-004-0766-y
7. Bag, S. Mondal, A. and Banik, A., 2022. Exploring tea (*Camellia sinensis*) microbiome: insights into the functional characteristics and their impact on tea growth promotion. *Microbiological Research*, 254, 126890. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126890
8. Barbaccia, P. Gaglio, R. Dazzi, C. Miceli, C. Bella, P. Lo Papa, G. and Settanni, L., 2022. Plant Growth Promoting Activities of Bacteria Isolated from an Anthropogenic Soil Located in Agrigento Province. *Microorganisms* 10(11), pp.1-13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112167>
9. Beheshti, M. Alikhani H.A. Pourbabaei A.A. Etesami H. Asadi Rahmani, H. and Noroozi, M., 2022. Investigating the role of periphyton types in the release and uptake of insoluble phosphorus in an in vitro experiment. *Iranian Journal of Soil and Water Research*. 53(6), pp. 1387-1402. DOI: 10.22059/ijswr.2022.340359.669229 [In Persian]
10. Beheshti, M., 2021. The effect of periphyton on phosphorus content and seedling growth indices of rice (*Oryza sativa* L.) in a greenhouse study, A Thesis For fulfillment of the Requirements for PhD Degree in Soil Science. University of Tehran. Iran. [In Persian]
11. Borah, D. Nainamalai, S. Gopalakrishnan, S. Rout, J. Alharbi, N.S. Alharbi, S.A. and Nooruddin, T., 2018. Biolubricant potential of exopolysaccharides from the cyanobacterium *Cyanothece epiphytica*. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, pp.3635-3647. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8892-x>
12. Castellano-Hinojosa, A. and Bedmar, E. J., 2017. Methods for evaluating plant growth-promoting rhizobacteria traits. P 255-274, In: H.B. Singh, B. K. Sarma, and C. Keswani (eds), *Advances in PGPR Research*. Wallingford UK:

- CABI.
DOI:10.1079/9781786390325.0255
13. Castiglione, S. Oliva, G. Vigliotta, G. Novello, G. Gamalero, E. Lingua, G. Cicatelli, A. and Guarino, F., 2021. Effects of compost amendment on glycophyte and halophyte crops grown on saline soils: Isolation and characterization of rhizobacteria with plant growth promoting features and high salt resistance. *Applied Sciences*, 11(5), pp.1-15. DOI:10.3390/app11052125
 14. Chawngthu, L. Hnamte, R. and Lalfakzuala, R., 2020. Isolation and Characterization of Rhizospheric Phosphate Solubilizing Bacteria from Wetland Paddy Field of Mizoram, India. *Geomicrobiology Journal*, 37(4), pp. 366-375.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1709108>
 15. Debasis, M. Snežana, A. Panneerselvam, P. Ansuman, S. Tanja, V. Ganeshamurthy, A.N. Manisha, Ch. Navendra, U. Bhaswatimayee, M. and Radha, T.K., 2020. Phosphate-Solubilizing Microbes and Biocontrol Agent for Plant Nutrition and Protection: Current Perspective. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(5), DOI:10.1080/00103624.2020.1729379
 16. Decho, A.W. and Gutierrez, T., 2017. Microbial extracellular polymeric substances (EPSs) in ocean systems. *Frontiers in microbiology*, 8, 922. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00922
 17. Doilom, M. Guo, J-W. Phookamsak, R. Mortimer, P.E. Karunarathna, S.C. Dong, W. Liao, C-F Yan, K. Pem, D. Suwannarach, N. Promputtha, I. Lumyong, S. and Xu, J-C., 2020. Screening of phosphate-solubilizing fungi from air and soil in Yunnan, China: four novel species in *Aspergillus*, *Gongronella*, *Penicillium*, and *Talaromyces*. *Frontiers in microbiology*, 11, 585215. DOI: 10.3389/fmicb.2020.585215
 18. Donate-Correa, J. Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R., 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree shrub legume endemic to the Canary Island. *Plant Soil*, 266, pp.261-272. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-0754-5>
 19. Duca, D.R. and Glick, B.R., 2020. Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, pp.8607–8619. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10869-5>.
 20. Etesami H, and Glick B.R., 2020. Halotolerant plant growth-promoting bacteria: prospects for alleviating salinity stress in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104124. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104124>
 21. Etesami, H. Emami, S. and Alikhani, H.A., 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), pp.897-911. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017000400005>
 22. Fallah Nosratabad, A. Alishiri Junaghani, M. and Bazazzadeh, R., 2024. Solubilizing efficiency of inorganic phosphate and insoluble organic phosphorus by cyanobacteria isolated from fish Culture ponds. *Journal of Soil Biology*, 11(2), pp. 155-165. doi.org/10.22092/sbj.2024.362289.251
 23. Farhat, F. Tariq, A. Waseem, M. Masood A. Raja, S. Ajmal, W. Iftikhar, I. Zulfiqar, U. and Maqsood, M.F., 2023. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Induced Improvements in the Growth, Photosynthesis, Antioxidants, and Nutrient Uptake of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Gesunde Pflanzen*, 75, pp. 2075–2088. <https://doi.org/10.1007/s10343-023-00845-0>
 24. Farias, G.C. Nunes, K.G. Soares, M.A. de Siqueira, K.A. Lima, W.C. Neves, A.L.R. and de Lacerda, C.F., 2020. Dark

- septate endophytic fungi mitigate the effects of salt stress on cowpea plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, pp.243-253. DOI: 10.1007/s42770-019-00173-4
25. Faridian, L. Baharlouei, J. Fallah, A.R. Kari-Dolatabad, H., 2023. Isolation and evaluation of plant growth-promoting characteristics of phosphate solubilizing fungi from Iranian soils. *Journal of Soil Biology*, 10(2), pp. 163-176. DOI: 10.22092/sbj.2021.355140.220 [In Persian]
26. Giri, B. and Mukerji, K.G., 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field condition: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*, 14, pp.307-312. DOI: 10.1007/s00572-003-0274-1
27. Guo, J. Muhammad, H. Lv, X. Wei, T. Ren, X. Jia, H. Atif, S. and Hua, L., 2020. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: A review. *Chemosphere*, 246, 125823. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.125823
28. Haghani, Z. Alikhani, H.A. Amirhosseini, K. Emami, S. and Etesami, H., 2024. Assessing the potential of functionally-enhanced periphyton in supplying rice plant phosphorus nutrition in paddy fields. *Rhizosphere*, 31, 100951. DOI : 10.1016/j.rhisph.2024.100951
29. Huang, W. Liu, X. Peng, W. Wu, L. Yano, S. Zhang, J. and Zhao, F., 2018. Periphyton and ecosystem metabolism as indicators of river ecosystem response to environmental flow restoration in a flow-reduced river. *Ecological indicators*, 92, pp.394-401. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.1.025>
30. Inaji, A. Okazawa, A. Taguchi, T. Nakamoto, M. Katsuyama, N. Yoshikawa, R. Ohnishi, T. Waller, F. and Ohta, D., 2020. Rhizotaxis modulation in *arabidopsis* induced by diffusible compounds produced during the cocultivation of *Arabidopsis* and the endophytic fungus *Serendipita indica*. *Plant and Cell Physiology*, 61, pp.838–850. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa008>
31. Khodadadi, R. Ghorbani-Nasrabadi, R. Olamaee, M. and Movahedi Naeini, S.A.R., 2019. Isolation and screening of native azotobacter from salt affected soils and measurement of their growth promoting properties. *Applied Soil Research*, 7(2), pp. 109-122. [In Persian]
32. Kouchaki-Penchah, H. Alizadeh, M.R. and 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. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2023.103281>
33. Kour, D. Kaur, T. Devi, R. Chaubey, K.K. and Yadav, A.N., 2023. Co-inoculation of nitrogen fixing and potassium solubilizing *Acinetobacter* sp. for growth promotion of onion (*Allium cepa*). *Biologia*, 78, pp. 2635-2641. <https://doi.org/10.1007/s11756-023-01412-8>
34. Kuhad, R.C. Singh, S. Lata. and Singh, A., 2011. Phosphate-solubilizing microorganisms. In: Singh A, Parmar N, Kuhad RC, editors. Bioaugmentation, biostimulation and biocontrol. chapter 4. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 65-84. https://doi.org/10.1007/978-3-642-19769-7_4
35. Li, Y. He, N. Hou, J. Xu, L. Liu, C. Zhang, J. Wang, Q. Zhang, X. and Wu, X., 2018. Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, pp. 6: 64. DOI:10.3389/fevo.2018.00064
36. Liu, D. Lian, B. and Dong, H., 2012. Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. *Geomicrobiology Journal*, 29, 413-421.

- <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.576602>
37. Liu, J. Danneels, B. Vanormelingen, P. and Vyverman, W., 2016. Nutrient removal from horticultural wastewater by benthic filamentous algae *Klebsormidium* sp., *Stigeoclonium* spp. and their communities: from laboratory flask to outdoor Algal Turf Scrubber (ATS). *Water research*, 92, pp.61-68. DOI: 10.1016/j.watres.2016.01.049
 38. Lu, H. Liu, J. Kerr, P.G. Shao, H. and Wu, Y., 2017a. 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. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.191
 39. Lu, H. Wan, J. Li, J. Shao, H. and Wu, Y., 2016. Periphytic biofilm: A buffer for phosphorus precipitation and release between sediments and water. *Chemosphere*, 144, pp.2058-2064. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.129>
 40. Lu, H. Xu, Z. and Shao, H., 2017b. Paddy periphyton: an important regulator in phosphorus migration between the soil and water interface in coastal reclaimed land. 19th EGU General Assembly, EGU2017, proceedings from the conference held 23-28 April, 2017 in Vienna, Austria p.1780. 2017EGUGA. 19.1780L
 41. Lu, H. Yang, L. Shabbir, S. and Wu, Y., 2014. The adsorption process during inorganic phosphorus removal by cultured periphyton. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, pp.8782-8791. DOI: 10.1007/s11356-014-2813-z
 42. Meena, V.S. Maurya BR, Verma, J.P. Aeron, A. Kumar, A. Kim, K. and Bajpai, V.K., 2015. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. *Ecological Engineering*, 81, pp. 340-347. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2015.04.065
 43. Meents, A.K. Furch, A.C.U. Almeida-Trapp, M. Özyürek, S. Scholz, S.S. Kirbis, A. Lenser, T. Theißen, G. Grabe, V. Hansson, B. Mithöfer, A. and Oelmüller, R., 2019. Beneficial and pathogenic arabidopsisroot-interacting fungi differently affect auxin levels and responsive genes during early infection. *Frontiers in microbiology*, 10, 380. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00380>
 44. Morsy, M. Cleckler, B. and Armuelles-Millican, H., 2020. Fungal Endophytes Promote Tomato Growth and Enhance Drought and Salt Tolerance. *Plants*, 9(7), 877. <https://doi.org/10.3390/plants9070877>
 45. Naveed, S. Li, C. Lu, X. Chen, S. Yin, B. Zhang, C. and Ge, Y., 2019. Microalgal extracellular polymeric substances and their interactions with metal (loid) s: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(19), pp.1769-1802. DOI: 10.1080/10643389.2019.1583052
 46. Naziya, B. Murali, M. and Amruthesh, K. N., 2020. Plant growth-promoting fungi (PGPF) instigate plant growth and induce disease resistance in *Capsicum annuum* L. upon infection with *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler & Bisby. *Biomolecule*, 10(41), doi:10.3390/biom10010041. DOI: 10.3390/biom10010041
 47. Noha, M.A. Bothania, A.A, Shereen, A.M, Omnia A.M.B. Mohammad, T.S. and Ahmed, E., 2022. Utilization of drought-tolerant bacterial strain isolated from harsh soil as a plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), pp. 1760-1769. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.10.054
 48. OECD-FAO Agricultural Outlook., 2022. [Data set].
 49. Otadi, A. Etesami, H. Khosravi, H. and Alikhani, H.A., 2025. Evaluation and comparative analysis of plant growth-promoting traits in diverse groups of rhizosphere bacteria. *Soil Biology Journal*, 12(2), pp. 235-260. DOI: 10.22092/SBJ.2025.36 7286.271

50. Peek, M.E. Bhatnagar, A. McCarty, A. and Zughaier, S.M., 2012. Pyoverdine, the major siderophore in *Pseudomonas aeruginosa*, evades NGAL recognition. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1155/2012/843509>
51. Prasad, M.R. Sagar, B.V. Devi, G.U. Triveni, S. Rao, S.R.K. and Chari, K.D., 2017. Isolation and Screening of Bacterial and Fungal Isolates for Plant Growth Promoting Properties from Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (8), pp.753-761. DOI:10.20546/ijcmas.2017.608.096
52. Qarni, A. Billah, M. Hussain, K. Shah, S.H. Ahmed, W. Alam, S. Sheikh, A.A. Jafri, L. Munir, A. and Malik, K.M., 2021. Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Rock Phosphate Mines and their Potential Effect for Sustainable Agriculture. *Sustainability*, 13, 2151. <https://doi.org/10.3390/su13042151>
53. Remonsellez, F. Castro-Severyn, J. Pardo-Esté, C. Aguilar, P. Fortt, J. Salinas, C. Barahona, S. León, J. Fuentes, B. and Saavedra, C. P., 2018. Characterization and salt response in recurrent halotolerant *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from sediments of Salar de Huasco, Chilean Altiplano. *Frontiers in Microbiology*, 9, pp.1-17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02228>
54. Rezaei, M. Amiri, E. and Kamali, M., 2024. Estimating the area under rice cultivation in Guilan province using remote sensing technology and GEE. *Journal of Soil Research*, 38(2), pp. 113-124. DOI. 10.22092/ijsr.2024.366254.750 [In Persian]
55. Rosas, S.B. Avanzini, G. Carlier, E. Pasluosta, C. Pastor, N. and Rovera, M., 2009. root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, pp.1802-1806. DOI: 10.1016/j.soilbio.2008.10.009
56. Rummel, C.D. Jahnke, A. Gorokhova, E. Kühnel, D. and Schmitt-Jansen, M., 2017. Impacts of biofilm formation on the fate and potential effects of microplastic in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology Letters*, 4(7), pp.258-267. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.7b00164>
57. Saddique, M.A.B. Ali, Z. Khan, A.S. Rana, I.A. and Shamsi, I.H., 2018. Inoculation with the endophyte *Piriformospora indica* significantly affects mechanisms involved in osmotic stress in rice. *Rice*, 11, pp.1-12. DOI: 10.1186/s12284-018-0226-1
58. Sadeghi, S. Rasouli-Sadaghiani, M.H. Dovlti, B. and Vahedi, R., 2017. Influence of K- Solubilizing Fungi on Potassium Release from Silicate Minerals and some Growth Indices of Corn (*Zea mays* L.). *Applied Soil Research*, 6(2), pp. 96-108. [In Persian]
59. Safarzadeh, T. Olamaee, M. Malekzadeh, E. Movahedi naini, S.A.R. and Pakdin-Parizi, A., 2023. Isolation and identification of salt tolerant-plant growth promoting bacteria from the rhizosphere of halophyte plants. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 13(3), pp. 100-115. DOI. 10.22069/ejsms.2023.21627.2115 [In Persian]
60. Saharan, B. and Nehra, V., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21, pp. 1-30. <https://sid.ir/paper/631031/en>
61. Sarikhani, M.R. Oustan, S. Ebrahimi, M. and Aliasgharzad, N., 2018. Isolation and identification of potassium releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. *European Journal of Soil Science*, 69, pp. 1078–1086. DOI: <https://doi.org/10.1111/ejss.12708>
62. Shujie, C. Kaiying, D. Jun, T. Rui, S. Hailong, L. Jiuyu, L. Yonghong, W. and Renkou, X., 2020. Characterization of

- extracellular phosphatase activities in periphytic biofilm from paddy field. *Pedosphere*, 31, pp.116-124. DOI:10.1016/S1002-0160(20)60061-3
63. Singh, S. James, A. and Bharose, R., 2017. Biological assessment of water pollution using periphyton productivity: A Review. *Nature Environment & Pollution Technology*, 16(2), pp. 559-567.
64. Sun, P. Liu, Y. Sun, R. Wu, Y. and Dolfing, J., 2022. Geographic imprint and ecological functions of the abiotic component of periphytic biofilms. *Metagenomics & Bioinformatics Journal*, e60. DOI: 10.1002/imt2.60
65. Suseendran, K. Stalin, P. Kalaiyarasan, C. Jawahar, S. Murugan, G. Vinod Kumar, S.R. and Arivukkarasu, K., 2020. Studies on the integrated nutrient and weed management practices on growth, yield and economics of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Archives*, 20 (1).pp.1963-1969. e-ISSN:2581-6063 (online), ISSN:0972-5210
66. Tian, J. Ge, F. Zhang, D. Deng, S. and Liu, X., 2021. Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biogeochemical P cycle. *Biology*, 10, 158. <https://doi.org/10.3390/biology10020158>
67. Twisha, M. and Minocheherhomji, P., 2018. Isolation and Characterization of Several Siderophore Producing Bacteria from Cotton Plant. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 7(1), pp.159-166. DOI:10.15680/IJIRSET.2018.0701026
68. Wang, W. Wu, Z. He, Y. Huang, Y. Li, X. and Ye, B. C., 2018. Plant growth promotion and alleviation of salinity stress in *Capsicum annuum* L. by *Bacillus* isolated from saline soil in Xinjiang. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164, pp.520-529. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.070>
69. Weigelhofer, G. Ramião, J.P. Pitzl, B. Bondar-Kunze, E. and O'Keefe, J., 2018. Decoupled water sediment interactions restrict the phosphorus buffer mechanism in agricultural streams. *Science of the Total Environment*, 628, pp.44-52. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.030>
70. Yang, X. Zhang, R. Wang, J. He, K. and Chen, J., 2021. Fluxes and mechanisms of phosphorus release from sediments in seasonal hypoxic reservoirs: a simulation based experimental study. *Journal of Soils and Sediment*, 21, pp. 3246–3258. DOI:10.1007/s11368-021-02946-7
71. Yin, Z. Shi, F. Jiang, H. Roberts, D.P. Chen, S. and Fan, B., 2015. Phosphate solubilization and promotion of maize growth by *Penicillium oxalicum* P4 and *Aspergillus niger* P85 in a calcareous soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 61, pp.913-923. DOI: 10.1139/cjm-2015-0358
72. Zaman, K.A.U. Wu, X. Hu, Z. Yoshida, W. Hou, S. Saito, J. Avad, K.A. Hevener, K.E. Alumasa, J.N. and Cao, S., 2021. Antibacterial kaneoeic acids AF from a Hawaiian fungus *Fusarium* sp. FM701. *Phytochemistry*, 181, 112545. DOI: 10.1016/j.phytochem.2020.112545
73. Zarea, M.J. Miransari, M. and Karimi N., 2014. Plant physiological mechanisms of salt tolerance induced by mycorrhizal Fungi and *Piriformospora indica*, In: M. Miransari (ed.), *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses*, Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0721-2_8
74. Zhou, L. Rong, X. Xie, G. Wang, X. and Xie, Y., 2014. Effects of different nitrogen fertilizers on rice yield and nitrogen use efficiency. *Soils*, 46, 971-975.