مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۵ شماره ۲، زمستان ۱۳۹۱

بررسی تأثیرات باسیلوس سابتیلیس و کورینه باکتریوم گلوتامیکوم بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک در سطوح مختلف شوری

صفورا جعفری[1*]، مصطفی چرم[2]، نعیمه عنایتی‌ضمیر[3] و حسین معتمدی[4]

۱*- **نویسنده مسئول**: کارشناسی ارشد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز (Jafari_sa64@yahoo.com)

۲- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۴- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱

چکیده

شوری خاک محیط تنش‌زایی را برای ریزجانداران خاک ایجاد می‌کند و باعث کاهش تعداد و فعالیت آن‌ها می‌گردد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک و نیز بررسی تأثیر دو نوع باکتری مقاوم به شوری بر مقدار این شاخص‌ها در خاک می‌باشد. ۳۵ جدایه از خاک‌های ریزوسفری شور جدا شده و توانایی آن‌ها برای رشد در غلظت‌های ۰ تا ۶۰۰ میلی‌مولار نمک ارزیابی شد. از بین آن‌ها ۲ جدایه به‌عنوان باکتری مقاوم به شوری انتخاب شدند که جزء جنس‌های باسیلوس سابتیلیس و کورینه‌باکتریوم گلوتامیکوم شناخته شدند. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل شوری در ٤ سطح (۲، ٤، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر) و باکتری در سه سطح (بدون تلقیح، تلقیح شده با باسیلوس سابتیلیس و تلقیح شده با کورینه‌باکتریوم گلوماتیکوم) در گلخانه اجرا گردید. گیاه کشت شده جو می‌باشد. سطوح مختلف شوری در خاک با اضافه کردن مخلوطی از نمک‌ها شامل کلریدسدیم، کلریدکلسیم و کلریدمنیزیم ایجاد گردید. پس از ۸ هفته مقدار تنفس خاک، کربن زیتوده میکروبی و qCo_2 در خاک اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه آماری نشان داد که تأثیر سطوح شوری بر این شاخص‌ها معنی‌دار ($P<$ ۰/۰۰۱) شد. تلقیح باکتری در سطوح مختلف شوری به طور معنی‌داری باعث افزایش تنفس خاک ($P<$ ۰/۰۵) و کربن زیتوده میکروبی ($P<$ ۰/۰۰۱) و کاهش qCO_2 ($P<$ ۰/۰۰۱) در خاک گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری‌های ریزوسفری مقاوم به شوری، آثار منفی شوری بر شاخص‌های میکروبی خاک را کاهش دادند.

کلید واژه‌ها: شوری، باکتری، تنفس خاک، کربن زیتوده میکروبی، qCO_2

مقدمه

در ابتدای قرن حاضر معلوم شد که تعداد باکتری‌ها در اطراف ریشه گیاه بیش‌تر از خاکی است که در فاصله دورتری نسبت به ریشه قرار دارد؛ این ناحیه نزدیک ریشه را ریزوسفر گویند. تشدید فعالیت میکروبی در این ناحیه مربوط به فعالیت ترشحی ریشه‌ها و پخشیدگی ترکیبات دارای وزن مولکولی کم از ریشه می‌باشد (نوربخش و حاج

عباسی، ۱۳۷۷). جمعیت میکروبی خاک مهم‌ترین بخش زنده خاک هستند که نقش مهمی در چرخه عناصر غذایی، حاصل‌خیزی درازمدت و جریان انرژی در خاک دارند (قول لرعطا و رئیسی[1]، ۲۰۰۷). به گفته هافمن و همکاران [2] (۲۰۰۳) ارزیابی ریزجانداران خاک می‌تواند به‌عنوان ابزاری برای بررسی کیفیت بیولوژیک خاک به‌کار رود. در واقع جمعیت میکروبی خاک به‌عنوان زیتوده میکروبی در نظر گرفته می‌شوند. روش‌های مختلفی برای تخمین توده زنده میکروبی وجود دارد که یکی از آن‌ها اندازه‌گیری میزان کربن زیتوده میکروبی[3] با استفاده از گاز کلروفرم است (علی‌اصغرزاده، ۱۳۸۵). در روش دیگر مقدار تنفس میکروبی پس از اضافه نمودن سوبسترا به خاک و قبل از رشد ریزجانداران اندازه‌گیری می‌شود (یوان و همکاران [4]، ۲۰۰۷). شوری خاک یکی از مهم‌ترین عواملی است که می‌تواند شرایط تنش‌زایی را برای زیست جانداران خاک به‌وجود آورد (لیانگ و همکاران [5]، ۲۰۰۵). تنفس خاک، تنفس برانگیخته با سوبسترا و ضریب متابولیکی (qCo_2) شاخص‌های حساسی برای تعیین اثر تنش‌های غیرزیستی مثل شوری بر فعالیت میکروبی خاک هستند (بویراحمدی و همکاران، ۱۳۸۹). گزارش‌ها نشان می‌دهند که شوری باعث ایجاد تنش در جمعیت میکروبی شده و راندمان متابولیکی آن‌ها را کاهش می‌دهد (اندرسون و دامچ[6]، ۱۹۹۳). هنگامی که جمعیت میکروبی تحت تنش باشد، کربن بیشتری از راه تنفس از دست رفته و کم‌تر وارد فرآیندهای بیوسنتزی و رشد میکروبی می‌شود و نتیجتاً میزان qCo_2 در خاک بیشتر می‌شود (وانسا و همکاران [7]، ۲۰۰۸). یافته‌های بویر احمدی و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که افزایش شوری در هر سه محیط بدون کشت، خاک تحت کشت گندم و خاک تحت کشت شبدر موجب کاهش معنی‌دار تنفس میکروبی، کربن زیتوده میکروبی، تنفس برانگیخته با سوبسترا و افزایش qCo_2 می‌گردد. یوان و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر شوری را بر اندازه، فعالیت و ساختار جمعیت ریزجانداران خاک بررسی و روابط نمایی منفی بین شوری و مقدار کربن و نیتروژن زیتوده میکروبی و میزان تنفس خاک مشاهده کردند ولیکن qCo_2 همبستگی نمایی مثبتی با شوری داشت. این نتایج نشان می‌دهد که شوری زیاد منجر به ایجاد جمعیت میکروبی کوچک‌تر و با کارایی زیستی کم‌تر می‌شود. یکی از راهکارهای مقابله با شوری که اخیراً مورد توجه قرار گرفته، تلقیح خاک با انواعی از باکتری‌ها و قارچ‌های مفید خاکزی می‌باشد (گلیک وهمکاران [8]، ۱۹۹۵). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[9] گروهی از باکتری‌های ریشه‌ای هستند که در ریزوسفر تعدادی از گیاهان حضور داشته و قابلیت ساکن شدن و استقرار یک رابطه مداوم با گیاهان برای افزایش زیتوده، رشد ریشه و بازده اقتصادی را دارند (یائو و همکاران [10]، ۲۰۱۰). تعدادی از این باکتری‌ها تحت عنوان هالوفیل[11] (شوردوست) و هالوتولرنت[12] (مقاوم به شوری) شناخته شده و با شرایط محیطی با نمک زیاد سازگاری یافته‌اند. این باکتری‌ها در شرایط سخت می‌توانند زیست کنند و مکانیسم‌های فیزیولوژی و بیوشیمی آن‌ها در هنگام پاسخ به شرایط نمک زیاد توسعه پیدا کرده است (زنجیربند، ۱۳۸۵). در واقع باکتری‌های مقاوم به شوری طیف وسیعی از باکتری‌ها را تشکیل می‌دهند که در حضور نمک و یا غیاب آن می‌توانند تکثیر شده و رشد

1 -Ghollarata and Raeisi
2- Hoffman *et al.*
3- Microbial Biomass Carbon
4-Yuan *et al.*
5- Liang *et al.*
6- Anderson and Domsch
7- Vanessa *et al.*
8- Glick *et al.*
9 - Plant Growth Promoting Rhizobacteria
10- Yao *et al.*
11- Halophile
12- Halotolerant

کنند و شامل بعضی از انواع باسیلوس[1]، میکروکوکوس[2]، استرپتوکوکوس[3] و کورینه‌باکتریوم[4] هستند (کفیل‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶). این باکتری‌ها می‌توانند با تغییر و تحول ماده آلی در خاک بر شاخص‌های میکروبی مؤثر باشند (ناهیدان و نوربخش، ۱۳۸۸). باسیلوس‌سابتیلیس[5] و کورینه-باکتریوم به عنوان باکتری‌های مقاوم به شوری برای انجام این پژوهش انتخاب شدند. باسیلوس سابتیلیس دارای فعالیت‌های تنظیمی برای سازگاری با تنش شوری است که مهم‌ترین آن‌ها تشکیل اسپور در غلظت بالای نمک و باقی ماندن آن در این شرایط می‌باشد (هورسبرگ و مویر[6]، ۱۹۹۹). در واقع این باکتری‌ها با تغییر در نسخه‌برداری از ژن‌های کنترل‌کننده افتراق سلولی و تولید پروتئین‌های ویژه‌ای به نام پروتئین‌های تنشی[7] با شرایط تنش شوری سازگاری می‌یابند (دارتویس و همکاران[8]، ۱۹۸۵) همچنین آن‌ها فاکتورهای متناوب σ که مسئوول دستور تشکیل اسپور هستند را فعال می‌کنند (هورسبرگ و مویر، ۱۹۹۹). کورینه‌باکتریوم نیز می‌تواند در شرایط شوری زیاد رشدیافته و باعث افزایش شاخص‌های میکروبی در خاک شوند. سرچشمه‌پور و همکاران (۱۳۸۸) دو جدایه باسیلوس‌سابتیلیس و یک جدایه کورینه‌باکتریوم که توانایی تحمل شوری را تا ۶۰۰ میلی‌مولار داشتند از خاک‌های شور تحت کشت پسته جدا کردند. از آن‌جایی که در شرایط تنش شوری میزان فعالیت میکروبی دستخوش تغییر می‌شود، بنابراین با وارد کردن باکتری‌های مقاوم به شوری می‌توان اثرات نامطلوب شوری را تعدیل نمود. هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییر برخی شاخص‌های میکروبی خاک با افزایش شوری و نیز تأثیر اضافه کردن دو نوع باکتری مقاوم به شوری باسیلوس سابتیلیس و کورینه باکتریوم گلوتامیکوم[9] بر این شاخص‌ها در خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و انتخاب بهترین باکتری‌ها

تعدادی نمونه خاک با شوری بیش از ۱۰ دسی‌زیمنس‌برمتر از زمین‌های کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز جمع‌آوری شدند. جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری، از نمونه‌های خاکی برای ایجاد رقت‌های متوالی با استفاده از محلول نمکی استریل، از نمونه‌ها سوسپانسیون خاکی تهیه و از آن رقت‌های 10^{-2} تا 10^{-6} ایجاد شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-3} و 10^{-6} در محیط کشت آگار مغذی با غلظت نمک ۲۰ میلی‌مولار کشت گردید. برای تهیه محیط کشت، مخلوطی از نمک‌ها شامل کلرید کلسیم، کلرید سدیم و کلرید منیزیم برای ایجاد غلظت نمک ۲۰ میلی‌مولار در محیط کشت آگار مغذی حل شد. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در انکوباتور روی هر پلیت تعدادی کلنی باکتریایی رشد نمودند. از بین آن‌ها ۳۵ جدایه که از نظر شکل، رنگ، حاشیه کلونی و سرعت رشد تفاوت بیشتری با بقیه داشتند، انتخاب شده و روی محیط کشت آگار مغذی با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌مولار نمک کشت داده شدند (ابوالحسنی زراعتکار و همکاران، ۱۳۸۶). جهت اطمینان از اینکه باکتری‌های جدا شده مقاوم به شوری هستند، جدایه‌ها در محیط کشت بدون نمک نیز کشت داده شده و در نهایت با استفاده از روش کشت چهار منطقه‌ای خالص‌سازی گردیدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده ۲ جدایه به عنوان جدایه برتر انتخاب شدند.

1- Bacillus
2 - Micrococcus
3- Streptococcus
4- Corynebacterium
5- *Bacillus subtilis*
6- Horsburgh and Moir
7- General Stress Proteins
8- Dartois *et al.*
9- Corynebacterium glutamicum

شناسایی و تکثیر باکتری‌ها

باکتری‌های انتخابی بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و انجام تست‌های بیوشیمیایی و برمبنای طبقه‌بندی باکتریولوژی برگی شناسایی شدند. رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش بورک (مورای و همکاران[1] ، ۱۹۹۴)، مشاهده اسپور بر اساس روش شافر-فولتون (کاپیکینو[2]، ۱۹۹۲)، آزمون کاتالاز (کاپیکینو، ۱۹۹۲)، آزمون حرکت، تولید اندول و تولید سولفید هیدروژن (هولمز و همکاران[3]، ۱۹۸۴)، آزمون اکسیداز (کاپیکینو، ۱۹۹۲)، آزمون هیدرولیز نشاسته و هیدرولیز ژلاتین (مورای و همکاران، ۱۹۹۴)، آزمون کشت در محیط سه قندی آهن‌دار[4]، سیمون سیترات آگار[5]، آزمون تخمیر- اکسیداسیون (OF)[6]، رشد در محیط مک-کانکی، آزمون متیل‌رد و ووژس پروسکوئر[7] (هولمز و همکاران، ۱۹۸۴) و آزمون مصرف قندها (ونتوسا و همکاران [8] ، ۱۹۸۲) برای هر دو جدایه باکتری انجام و بر اساس نتایج این آزمون‌ها شناسایی شدند. برای تهیه سوسپانسیون باکتری، برای هر باکتری به صورت جداگانه میزان لازم از محیط کشت نوترینت براث (NB) تهیه و چند کلونی از هر باکتری در محیط کشت وارد شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه تکان داده و گرمادهی شدند (شیلو و همکاران[9]، ۲۰۱۰). آن‌گاه جذب نوری (OD) سوسپانسیون باکتری به‌وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد (سرچشمه‌پور و همکاران، ۱۳۸۸) و از طرفی ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با رقت‌های مختلف 10^{-4} تا 10^{-7} روی محیط آگار مغذی کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، جمعیت باکتری‌های رشد یافته در هر پلیت شمارش گردید و باتوجه به آن جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری مشخص شد (اخگر و خاوازی، ۱۳۸۹). پس از این مدت محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سلول‌های باکتری به صورت قرص درآمدند، سپس محلول رویی دور ریخته شد و سلول‌های باکتری دوباره در آب مقطر استریل حل شدند و به این ترتیب سوسپانسیون باکتری برای تلقیح به خاک آماده شد (شیلو و همکاران، ۲۰۱۰).

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل چهار سطح شوری (EC تقریبی ۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر) و سه سطح تلقیح باکتری (بدون تلقیح باکتری، تلقیح باسیلوس سابتیلیس و تلقیح کورینه باکتریوم گلوتامیکوم) بود. خاک مورد استفاده در آزمایش که از مزارع تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران جمع آوری شده بود، با ماسه به نسبت ۳ : ۱ مخلوط گردید (۳ قسمت خاک: ۱ قسمت ماسه). بافت خاک لومی بوده و دارای اسیدیته گل اشباع ۷/۸۱ و هدایت الکتریکی ۲/۲ دسی‌زیمنس برمتر بود. جهت اعمال تیمارهای شوری، از محلول‌های حاوی کلریدسدیم، کلریدکلسیم و کلریدمنیزیم با نسبت ۳:۲:۱ استفاده گردید که با توجه به وزن مولکولی نمک‌ها محلول‌هایی با نسبت مولی مورد نظر تهیه شد (دهقانی و همکاران، ۱۳۸۶). در هر یک از سطل‌های بزرگ آبشویی که دارای مجرای زهکشی در کف آن‌ها و بستر شنی به قطر ۱ سانتی‌متر بودند، به میزان ۲۰ کیلوگرم خاک ریخته و خاک‌ها تا رسیدن به هر یک از سطوح شوری مورد نظر به طور جداگانه با این محلول‌ها آبشویی شدند. در مرحله بعد

1- Muray *et al.*
2 - Cappiccino
3 - Holmes *et al.*
4 - Tripple Sugar Iron Agar
5 - Simmon Citrate Agar
6 - Oxidative-Fermentative
7- Methyl Red -Voges Proskauer
8 - Ventosa *et al.*
9 - Shilev *et al.*

خاک‌ها به درون ۴۰ گلدان ۳ کیلوگرمی منتقل شدند. برای هر سطح شوری ۱۰ گلدان در نظر گرفته شد که یکی از آن‌ها به عنوان گلدان تخریبی برای اندازه‌گیری شوری استفاده شد. گلدان‌ها به گلخانه انتقال یافته و برای کاشت آماده شدند. گیاه مورد استفاده در این آزمایش جو بود که در هر گلدان ۱۰ بذر جو رقم کارون در کویر مادری کاشته شد. هم‌زمان با کاشت بذرها تیمارهای باکتری اعمال گشتند؛ به این منظور برای هر بذر یک حفره ایجاد شد و پس از کاشت بذر ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری که حاوی 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر از آن بود به هر بذر و خاک اطراف آن تلقیح شد. در طول دوره رشد جو آبیاری با آبی که شوری آن کمتر از ۱ دسی‌زیمنس برمتر بود، صورت گرفت. رطوبت خاک گلدان‌ها در این دوره تقریباً در حد ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) نگه داشته شد. پس از گذشت ۸ هفته مقداری از خاک تازه هر گلدان برداشته و جهت تعیین شاخص‌های میکروبی به آزمایشگاه منتقل شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی

برای اندازه‌گیری تنفس پایه خاک ۲۵ گرم از خاک مرطوب تازه هر گلدان در کیسه‌های توری ریخته شد و در ظرف‌های درداری که در هر کدام ۲۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۰/۵ نرمال قرار داشت آویزان کرده و سپس در ظرف‌ها بسته شد. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۲۵ درجه CO_2 پدید آمده از تنفس میکروبی که در سود (NaOH) گردآوری شده با محلول HCl تیتر شد. یک نمونه بدون خاک هم به عنوان شاهد تیتر گردید. در پایان،مقدار CO_2 آزاد شده محاسبه و برحسب میلی گرم CO_2-C در کیلوگرم خاک خشک گزارش گردید (رابطه ۱):

$$\frac{(c-S)\times 2/2\times 100}{SW\times \%dm} = mgCo/gdm.24h \qquad (۱)$$

که در آن C میانگین حجم HCl مصرفی به‌وسیله شاهدها (میلی‌لیتر)، S میانگین حجم HCl مصرفی به‌وسیله نمونه‌ها (میلی‌لیتر)، ۲/۲: فاکتور تبدیل HCl مصرفی به میلی‌گرم CO_2، SW وزن اولیه خاک (گرم) و ۱۰۰/%dm فاکتور تبدیل برای خاک خشک می‌باشد. (اندرسون[1]، ۱۹۸۲؛ ونس و همکاران[2]، ۱۹۸۷). برای اندازه‌گیری کربن زیتوده میکروبی از روش تدخین- استخراج استفاده شد. روش انجام کار به این صورت بود که ۵۰ گرم از خاک مرطوب هر گلدان در دسیکاتور قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت با کلروفرم گازدهی شد. پس از این مدت کلروفرم خارج و خاک تدخین‌شده با محلول سولفات پتاسیم عصاره‌گیری شد. همین کار برای خاک‌های بدون تدخین به عنوان شاهد انجام و مقدار کربن آلی در عصاره‌های به‌دست آمده اندازه‌گیری و مقدار کربن زیتوده میکروبی گزارش شد (رابطه ۲):

$$MBC = \frac{S-C}{./35} \qquad (۲)$$

که در آن MBC میلی‌گرم کربن زیتوده میکروبی در ۱۰۰ گرم خاک خشک، S میانگین تعداد میلی‌گرم کربن آلی در ۱۰۰ گرم خاک خشک تدخین شده و C میانگین تعداد میلی‌گرم کربن آلی در ۱۰۰ گرم خاک خشک تدخین نشده یا شاهد می‌باشد (علی‌اصغرزاده، ۱۳۸۵؛ جنکینسون و پاولسون[3]، ۱۹۷۶). برای برآورد ضریب متابولیکی (qCO_2) تنفس پایه بر مقدار کربن زیتوده میکروبی تقسیم و بر حسب میلی‌گرم کربن حاصل از تنفس در یک روز نسبت به مقدار کربن زیتوده میکروبی در یک روز بیان می‌شود (رابطه ۳):

1- Anderson
2- Vance *et al.*
3- Jenkinson and Powelson

$$qCO2 = \frac{Basal\,Respiration}{MBC} \qquad (۳)$$

که در آن qCO_2 ضریب متابولیکی با واحد زیر است:

$$mg\ C\text{-}CO_2\ .kg^{-1}\ day^{-1}/gr\ C.\ kg^{-1}$$

تجزیه‌های آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد و برای گروه‌بندی میانگین‌ها از روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید. نمودارهای مورد نیاز نیز به وسیله نرم‌افزار EXCEL رسم شد.

نتایج و بحث

برای دستیابی به باکتری‌های مقاوم به شوری، سوسپانسیون نمونه‌های خاک در محیط آگار مغذی با غلظت نمک ۲۰ میلی‌مولار کشت شدند. از بین جدایه‌های رشدیافته تعداد ۳۵ جدایه با اشکال متفاوت که از لحاظ فراوانی نیز مناسب بودند، در محیط حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کشت گردیدند، به گونه‌ای که ۳۳ جدایه توانستند در این غلظت نمک به خوبی رشد کنند. در مرحله بعد، از بین جدایه‌ها ۳۲ جدایه در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک رشد خوبی داشتند. در غلظت ۴۰۰ میلی‌مولار ۲۸ جدایه و در غلظت ۶۰۰ میلی‌مولار نیز ۲۰جدایه توانایی رشد مناسب داشتند. از بین ۲۰ جدایه که توانایی رشد در غلظت نمک ۶۰۰ میلی‌مولار را داشتند، ۶ جدایه نتوانستند در محیط آگار مغذی بدون نمک رشد کنند. در نهایت ۱۴ جدایه به عنوان باکتری مقاوم به شوری گزارش شده و از بین آن‌ها ۲ جدایه که بیش‌ترین رشد را در تمام سطوح شوری محیط کشت داشتند انتخاب و آزمون‌های بیوشیمیایی برای شناسایی آن‌ها انجام شد. بر اساس نتایج جدول ۱، جدایه اول جز جنس باسیلوس و گونه باسیلوس‌سابتیلیس قرار گرفت. باسیلوس‌ها در حقیقت باسیل‌های گرم مثبت اسپوردار بوده که متحرّک، هوازی و یا بی‌هوازی اختیاری می‌باشند. باسیلوس‌ها اولین بار توسط کوهن[1] (۱۸۷۲) به عنوان عضوی از خانواده باسیلاسه[2] شناخته شدند (دورکین[3]، ۲۰۰۶). پراکنش جنس باسیلوس نسبت به دیگر جنس‌ها در خاک بیشتر است که این امر به دلیل مقاوم بودن آن در محیط‌های مختلف می‌باشد. این باکتری به هنگام نامساعد شدن شرایط محیطی به اسپور تبدیل شده و زمانی که در محیط مجدداً شرایط مطلوب رشد باکتری فراهم شود به سلول رویشی تبدیل شده و تکثیر می‌یابد. (زایدی و امام[4]، ۱۹۹۹). زهران[5] (۱۹۹۷) در خاک‌های شور مصر گروهی از باسیلوس‌های تثبیت کننده نیتروژن را یافتند؛ آن‌ها همچنین دریافتند که برخی باسیلوس‌های جداشده از این خاک‌ها دارای فعالیت سلولازی و آمیلازی هستند. جدایه ۱ با توجه به داشتن اسپور بیضوی مرکزی، رشد در شرایط هوازی، توانایی هیدرولیز نشاسته، مصرف سیترات و تولید اسید از قندهای گلوکز و مانوز جزء گونه باسیلوس‌سابتیلیس قرار می‌گیرد. باسیلوس‌سابتیلیس توسط بسیاری از محققان به‌عنوان باکتری مقاوم به شوری یاد شده است؛ سرچشمه‌پور و همکاران (۱۳۸۸) جدایه‌هایی از این گونه را جداسازی کردند که تا حد بالایی از شوری (۶۴ دسی‌زیمنس‌برمتر) توانایی رشد داشتند. این باکتری همچنین توسط بسیاری از محققان از جمله رای[6] (۲۰۰۶) و تیلاک و همکاران[7] (۲۰۰۵) به‌عنوان باکتری ریزوسفری محرّک رشد گیاه به‌خصوص از نظر انحلال فسفات‌های نامحلول و نیز تولید سیدروفور شناخته شده است. وویتک و

1- Kohen
2- Bacillaceae
3- Dworkin
4- Zaidi and Imam
5- Zahran
6- Rai
7- Tilak *et al.*

همکاران[1] (۲۰۰۴) نیز از باسیلوس سابتیلیس به عنوان باکتری مقاوم به شوری در خاک شور استفاده و مشاهده نمودند که در تیماری که دارای این باکتری بود رشد گیاه بیش‌تر شد. جدایه ۲ جزء جنس کورینه‌باکتریوم قرار گرفت. کورینه‌باکتریوم‌ها باسیل‌های گرم مثبت با اندازه متوسط هستند که گاهی به شکل خمیده و با انتهای گرزی شکل ظاهر شده و ویژگی مهم آنها غیرمتحرّک بودن است. همچنین این گروه از باکتری‌ها بی‌هوازی اختیاری بوده و دارای رشد هوازی و بی‌هوازی هستند؛ ولی مصرف کربوهیدرات‌ها را عمدتاً به روش تخمیری انجام می‌دهند (دورکین، ۲۰۰۶). این جدایه قادر به مصرف قندهای گالاکتوز و لاکتوز نیست و می‌تواند متعلق به جنس کورینه‌باکتریوم گلوتامیکوم باشد. مطابق یافته‌های لایبل و همکاران[2] (۱۹۹۲) این گونه تولیدکننده گلوتامیک اسید بوده و معمولاً در خاک و روی سطح گیاهان یافت می‌شود و برای زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به عناصر سنگین استفاده می‌گردد. چن و همکاران[3] (۲۰۰۴) یک گونه مقاوم به شوری کورینه‌باکتریوم را از خاک‌های غرب چین جدا کردند که توانایی رشد در غلظت ۰ تا ۲۵ درصد کلریدمنیزیم و کلریدسدیم را داشت. طبق نتایج تحقیقات سرچشمه‌پور و همکاران (۱۳۸۸) کورینه‌باکتریوم‌ها در تولید سیدروفور فعال بوده و نیز گونه‌هایی از آن‌ها به دلیل داشتن توان انحلال فسفات‌های نامحلول و تثبیت غیرهمزیست نیتروژن به عنوان باکتری‌های محرّک رشد گیاه و مقاوم به شوری معرفی شده‌اند (تیلاک و همکاران، ۲۰۰۵).

مطابق نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ تأثیر عامل سطوح شوری و عامل تلقیح باکتری بر میزان کربن زیتوده میکروبی، تنفس میکروبی و qCO_2 خاک در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی‌دار شد. معنی‌دار بودن اثر متقابل شوری و تلقیح باکتری بر کربن زیتوده میکروبی و qCO_2 خاک در سطح ۰/۰۰۱ و بر تنفس میکروبی در سطح ۰/۰۵ مشاهده گردید.

مطابق شکل ۱ سطوح مختلف شوری تأثیر متفاوت و معنی‌داری بر میزان تنفس میکروبی خاک داشتند. بیش‌ترین میانگین تنفس ۵۶۴/۵ میلی‌گرم CO_2 در کیلوگرم خاک و مربوط به سطح شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. با افزایش شوری این فاکتور روند کاهشی نشان داد و به کم‌ترین مقدار در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین ۳۶۹/۱ میلی‌گرم CO_2 در کیلوگرم خاک رسید. آثار گوناگون نمک‌ها در خاک، بر تنفس میکروبی، به دلیل تنش اسمزی و سمیت یونی است که بر فیزیولوژی و مسیرهای متابولیکی سلول‌های میکروبی تأثیر می‌گذارد (رایتز و هاینس[4]، ۲۰۰۳). پاتاک و رائو[5] (۱۹۹۸) نشان دادند که کاهش رشد ریزجانداران در خاک‌های شور به دلیل تنش ناشی از فزونی نمک می‌باشد. با این وجود، احتمال دارد که شوری موجب کاهش کارایی مصرف سوبسترا توسط زیتوده میکروبی گردد و در نتیجه جمعیت میکروبی را کاهش دهد. قول لرعطا و همکاران (۱۳۸۷) نیز کاهش میزان تنفس خاک و کربن زیتوده میکروبی را با افزایش شوری از ۰/۱۲ تا ۱۰ دسی‌زیمنس‌برمتر در ریزوسفر گیاه شبدر مشاهده کردند.

تأثیر تلقیح باکتری بر میزان تنفس میکروبی خاک معنی‌دار شد، به طوری که میزان این شاخص در تیمارهای دارای باکتری به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار بدون باکتری بود. کمترین مقدار آن مربوط به تیمار بدون باکتری با میانگین ۴۶۱/۸ میلی‌گرم CO_2 در کیلوگرم خاک بود و بیشترین میانگین مربوط به تیمار دارای باسیلوس سابتیلیس با میانگین ۵۰۲/۱ میلی‌گرم CO_2 در کیلوگرم خاک و که

1- Woitke *et al.*
2- Liebl *et al.*
3 - Chen et al.
4- Rietz and Haynes
5- Pathak and Rao

نشان‌گر فعالیت تنفسی بیشتر این باکتری در شرایط شوری است، به‌طور کلی توانایی تجزیه‌کنندگی کورینه‌باکتریوم نسبت به باسیلوس کمتر بوده و از نظر طیف آنزیمی در حد پایینی قرار دارد (مظفری و همکاران، ۱۳۸۵)؛ با این وجود تفاوت بین دو نوع باکتری اضافه شده معنی‌دار نشد و تیمار بدون باکتری نیز کمترین میزان را در بین تیمارها به خود اختصاص داد.

در تمام سطوح شوری تیمار بدون باکتری تفاوت معنی‌داری با دو تیمار دارای باکتری داشت و میزان تنفس آن کم‌تر از آن‌ها بود. به جز سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر، در سایر سطوح شوری بین دو سطح تلقیح باکتری از نظر میزان تنفس تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بالا بودن تنفس در تیمار دارای باکتری باسیلوس سابتیلیس در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر به جهت توانایی بیشتر این باکتری برای رشد در سطوح شوری زیاد به دلیل تشکیل اسپور و تولید آنزیم‌ها و پروتئین‌های خاص می‌باشد.

تنفس نشان‌دهنده فعالیت جمعیت میکروبی خاک است و زیاد بودن این شاخص بیانگر وضعیت مطلوب جمعیت میکروبی در خاک است (هافمن و همکاران، ۲۰۰۳). در شرایط تنش شوری تعداد و فعالیت آن‌ها کاهش می‌یابد که در این شرایط اضافه شدن باکتری‌ها به خاک هم باعث کاهش اثرات تنشی شوری در خاک می‌شود و هم با ازدیاد جمعیت میکروبی خاک میزان فعالیت تنفسی و تولید CO_2 افزایش می‌یابد.

شاخص‌های تنفس و زیتوده میکروبی تحت تأثیر در دسترس بودن کربن آلی در خاک هستند و هر عاملی که باعث افزایش میزان کربن آلی خاک شود، این دو فاکتور را نیز افزایش می‌دهد. (ناهیدان و نوربخش، ۱۳۸۸). در حقیقت حضور باکتری‌های مقاوم به شوری در شرایط غلظت زیاد نمک در خاک که فعالیت میکروبی کاهش می‌یابد، با افزایش مقدار کربن آلی در خاک باعث افزایش شاخص‌های مذکور می‌گردد.

جدول ۱- مهم‌ترین آزمون‌های بیوشیمیایی انجام شده به منظور شناسایی باکتری‌ها

باکتری	کاتالاز	اکسیداز	ژلاتیناز	حرکت	تولید اندول	تولید H_2S	O	F	مصرف سیترات	VP	MR
۱	+	−	+	+	−	−	+	−	+	+	−
۲	+	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−

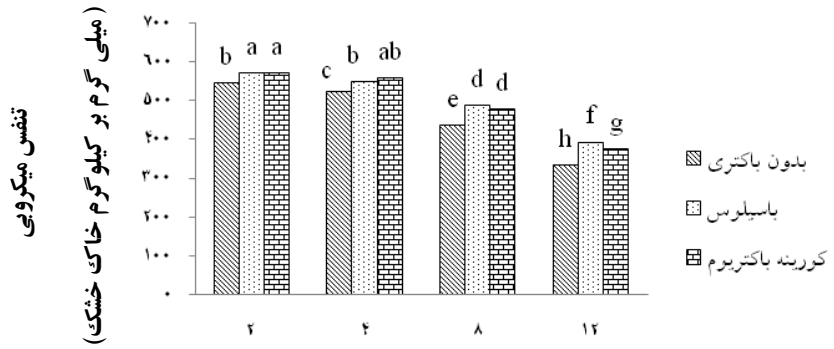
باکتری	TSI	آمیلاز	مانیتول	مالتوز	لاکتوز	آرابینوز	زایلوز	گلوکز	گالاکتوز	مانوز	ساکاروز
۱	K/A	+	+	×	×	×	−	+	−	+	−
۲	K/A	−	×	+	−	×	×	+	−	×	+

+: پاسخ مثبت به آزمون، −: پاسخ منفی به آزمون، ×: عدم نیاز به انجام آزمون

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر میزان کربن زیتوده میکروبی، تنفس میکروبی و qCO_2 خاک

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کربن زیتوده میکروبی	تنفس پایه	qCO_2
شوری	۳	۳۱۶۹/۳۴***	۷۱۰۰۵/۸ ***	۰/۶۷۵***
باکتری	۲	۴۲۹/۴۱۹ ***	۵۸۳۹/۴۶ ***	۰/۳۸***
شوری × باکتری	۶	۴۲/۴۶۴ ***	۲۵۵/۶۵۳ *	۰/۱۵۳***
خطا	۲۴	۱/۴۹۸	۹۱/۶۴۲	۰/۰۱۸

***، ** و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۵



سطح شوری (دسی‌زیمنس بر متر)

شکل ۱- تأثیر متقابل شوری و تلقیح باکتری بر تنفس میکروبی خاک

کربن زیتوده میکروبی یک واحد مستقیم برای بیان تعداد ریزجانداران به ویژه باکتری‌ها بوده و نمایان‌گر کربن تثبیت شده در سلول‌های میکروبی می‌باشد. (ونس و همکاران، ۱۹۸۷). سطوح مختلف شوری تأثیر متفاوت و معنی‌داری بر میزان کربن زیتوده میکروبی خاک داشتند. با افزایش شوری این شاخص روند کاهشی نشان داد، به طوری که سطح شوری ۲ دسی‌زیمنس‌برمتر بیشترین و سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر کمترین میزان کربن زیتوده میکروبی را داشتند. به طور کلی با افزایش شوری و قلیاییت جمعیت میکروبی خاک فشرده‌تر و کوچک‌تر شده و کارایی متابولیکی آن‌ها کم‌تر می‌شود. رایتز و هاینس (۲۰۰۳) روابط نمایی منفی بین EC و کربن زیتوده میکروبی و سایر شاخص‌های میکروبی را در مزرعه نیشکر آبیاری شده با آب شور گزارش کردند. پاتاک و رآئو (۱۹۹۸) گزارش کردند که فراهمی و قابلیت دسترسی به سوبسترا عامل مهمی است که بر فعالیت میکروبی در خاک‌های شور تأثیر می‌گذارد. ساریگ و استینبرگر[1] (۱۹۹۴) نشان دادند که آبیاری با آب شور موجب افزایش کربن و نیتروژن زیتوده میکروبی شد و در برابر آن، سرعت معدنی شدن کربن و نیتروژن، کاهش پیدا کرد.

شاه و شاه[2]،(۲۰۱۱) کاهش میزان کربن زیتوده میکروبی را از ۳۹۱ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر تا ۲۰۹ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در شوری بیش از ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر مشاهده کردند. اضافه کردن باکتری به خاک منجر به افزایش میزان کربن زیتوده میکروبی در خاک شد. به طوری که میزان این شاخص در تیمارهای حاوی باکتری تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون باکتری داشت. تیمار دارای کورینه‌باکتریوم با میانگین ۸۸/۲۱ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص داد، ولی تفاوت معنی‌داری با تیمار حاوی باسیلوس نداشت. کربن زیتوده میکروبی به شدت تحت تأثیر جمعیت میکروبی قرار دارد، چون آن‌ها نه تنها قادر به ذخیره مواد غذایی هستند بلکه در چرخه تغییر و تبدیل عناصر غذایی و مواد آلی در خاک دخیل بوده (هافمن و همکاران، ۲۰۰۳) و نقش مهمی در تجزیه ترکیبات پیچیده و آزاد کردن ترکیبات ساده مثل CO_2 دارند (رسول و همکاران[3] ، ۲۰۰۶) و افزایش آن‌ها در خاک باعث افزایش کربن زیتوده میکروبی می‌شود. مطابق شکل ۲ در تمام سطوح شوری تیمار بدون باکتری نسبت به

1- Sarig and Steinberger

2- Shah and Shah

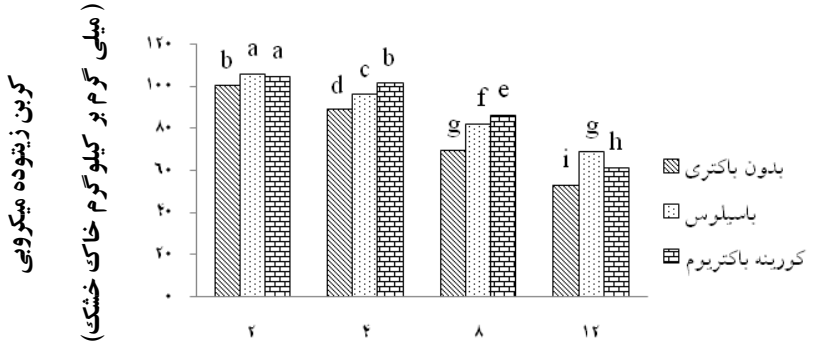
3- Rasul *et al.*

دو تیمار دارای باکتری از میزان کربن زیتوده کم‌تری برخوردار بود و تفاوت معنی‌داری با آنها داشت و با افزایش سطح شوری این تفاوت بیشتر نمود پیدا کرد. بجز سطح شوری ۲ دسی زیمنس برمتر، در دیگر سطوح شوری بین هر سه سطح کاربرد باکتری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. شوری عامل مهمی در کاهش جمعیت میکروبی خاک می‌باشد و با تأثیری که بر این موجودات می‌گذارد، باعث کاهش میزان کربن زیتوده میکروبی می‌شود. در خاک‌های شور سمیت یون‌های کلر و سدیم موجب کاهش رشد و فعالیت ریزجانداران شده (زهران، ۱۹۹۷) و فعالیت آنزیم‌های برون‌سلولی و در نتیجه تجزیه مواد آلی و معدنی شدن کربن کاهش می‌یابد. این مسأله منجر به کاهش میزان تنفس و نیز کربن زیتوده میکروبی می‌گردد (رایتز و هاینس، ۲۰۰۳). اضافه کردن باکتری‌های مقاوم به شوری با افزایش میزان تجزیه مواد آلی و افزایش میزان کربن به شکل CO_2 باعث افزایش تنفس و نیز افزایش میزان کربن تثبیت شده در سلول‌های میکروبی به دلیل افزایش تعداد و اندازه جمعیت میکروبی در خاک می‌گردد. در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر میزان کربن زیتوده در تیمار دارای باسیلوس‌سابتیلیس بیش‌تر از تیمار دارای کورینه‌باکتریوم است که مقاوم بودن بیش‌تر این جنس به دلیل تشکیل اسپور و تولید پروتئین‌های تنشی در شرایط شوری زیاد می‌باشد.

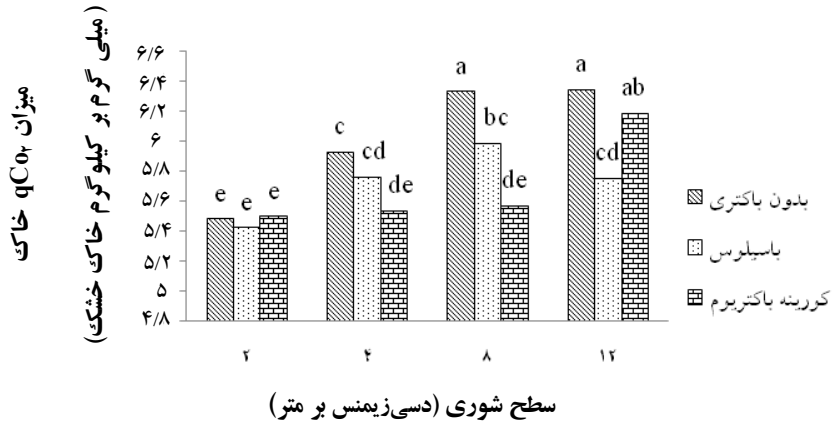
qCO_2 شاخص مناسبی برای ارزیابی اثر تنش‌های محیطی، از جمله شوری، بر جمعیت و فعالیت میکروبی خاک است (بویراحمدی و همکاران، ۱۳۸۹). در حقیقت مقدار تنفس پایه انجام شده در خاک در واحد زیتوده میکروبی به عنوان ضریب متابولیکی یا qCO_2 بیان می‌شود (دلال[1]، ۱۹۹۸). شوری تأثیر متفاوت و معنی‌داری بر میزان qCO_2 خاک در تمام سطوح داشت. با افزایش شوری میزان این شاخص افزایش یافت، به طوری که کم‌ترین مقدار در شوری ۲ و بیش‌ترین مقدار آن در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر مشاهده شد. با افزایش تنش شوری، ریزجانداران خاک CO_2 بیشتری در واحد زیتوده میکروبی در واحد زمان می‌سازند درنتیجه qCO_2 افزایش می‌یابد (اندرسون و دامچ، ۱۹۹۳). رسول و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که در خاک‌های شور ضریب متابولیکی یا qCo_2 افزایش می‌یابد. اضافه کردن باکتری به خاک باعث تفاوت معنی‌دار شاخص qCO_2 در تیمار بدون باکتری نسبت به دو تیمار دارای باکتری شد. بیشترین میزان این شاخص با میانگین ۶/۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم در واحد زیتوده میکروبی در تیمار بدون باکتری مشاهده شد؛ ولی دو تیمار دارای باکتری تقریباً تأثیر مشابهی بر میزان qCO_2 خاک داشتند نتایج ارائه شده در شکل ۳ نشان داد که به جز سطح شوری ۲ دسی‌زیمنس‌بر متر، در تمام سطوح شوری اضافه کردن باکتری به خاک منجر به کاهش میزان qCO_2 نسبت به تیمار بدون باکتری شد. بیش‌ترین میزان این شاخص در تیمار بدون باکتری در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر و کمترین مقدار نیز در سطح شوری ۲ دسی‌زیمنس برمتر با اضافه کردن باکتری باسیلوس سابتیلیس مشاهده شد. در سطوح شوری ۲ و ۴ دسی‌زیمنس‌برمتر تلقیح هر دو نوع باکتری تأثیر مشابهی بر میزان qCO_2 خاک داشت؛ ولی در سطوح شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار دارای باکتری وجود داشت و به ویژه در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر میزان شاخص qCO_2 در تیمار دارای باسیلوس به طور معنی‌داری با دو شاخص دیگر متفاوت بود. در واقع باسیلوس‌سابتیلیس جزء باکتری‌های تحمل‌کننده نمک حقیقی هوازی می‌باشد که با تجمع ترکیبات آلی سازگاری دهنده همچون مولکول‌های آلی قطبی با وزن مولکولی پایین، بدون تأثیر در متابولیسم

1- Dalal

سلولی، سبب حفظ تعادل اسمزی و مقابله با تنش اسمزی می‌شوند. این ترکیبات آلی که اسمولیت نام دارند، از نظر ساختاری بسیار متنوع بوده و علاوه بر تنظیم فشار اسمزی باعث ثبات آنزیم‌ها در مقابل گرما ، انجماد و خشکی می‌شوند (زنجیربند، ۱۳۸۵). زمانی که جمعیت میکروبی خاک تحت تنش شوری قرار می‌گیرد، مقدار کربنی که از طریق تنفس از دست می‌رود، نسبت به کربنی که تبدیل به هوموس می‌شود کم‌تر می‌باشد. در شرایطی که مقدار تنفس پایه خاک به طور غیرمعمول نسبت به کربن زیتوده میکروبی افزایش می‌یابد، منجر به افزایش نیاز سیستم به انرژی و در نتیجه بالا رفتن ضریب متابولیکی خاک می‌شود. افزایش جمعیت باکتری‌ها در خاک باعث افزایش کربن زیتوده میکروبی شده و در نتیجه از بالا رفتن ضریب متابولیکی جلوگیری می‌شود (اندرسون و دامچ، ۱۹۹۳).



شکل ۲- تأثیر متقابل شوری و تلقیح باکتری بر میزان کربن زیتوده میکروبی



شکل ۳- تأثیر تلقیح باکتری بر میزان qCO_2 خاک

نتیجه‌گیری

از بین باکتری‌های مقاوم به شوری جدا شده از خاک‌های شور، ۲ جدایه به عنوان جدایه برتر انتخاب شدند که بر اساس آزمون‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی متعلق به جنس‌های باسیلوس‌سابتیلیس و کورینه‌باکتریوم شناخته شده و جهت تلقیح به خاک برای بررسی تأثیر آن‌ها بر شاخص‌های میکروبی خاک استفاده شدند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که شوری تأثیرات مضری بر اندازه و فعالیت جمعیت میکروبی خاک، زیتوده میکروبی و فرآیندهای بیولوژیکی خاک دارد. این مسأله منجر به کاهش سرعت معدنی شدن مواد آلی در خاک و کاهش تولید CO_2 و نیز کاهش میزان کربن زیتوده میکروبی در خاک می‌شود. ورود باکتری‌های مقاوم به شوری باعث بهبود شاخص‌های میکروبی مذکور گردید. هر سه شاخص مورد بررسی، در تیمارهای دارای باکتری نسبت به تیمارهای بدون تلقیح باکتری بیشتر بودند. اضافه شدن باکتری‌ها به خاک باعث کاهش اثرات تنش شوری در خاک شده و با ازدیاد جمعیت میکروبی خاک میزان فعالیت تنفسی و تولید CO_2 و مقدار کربن زیتوده میکروبی را در خاک افزایش می‌دهد. باکتری‌های باسیلوس‌سابتیلس و کورینه‌باکتریوم می‌توانند جهت کاهش اثرات منفی شوری بر شاخص‌های میکروبی در خاک به کار برده شوند و به‌خصوص جنس باسیلوس‌سابتیلیس به دلیل فعالیت‌های تنظیمی برای سازگاری با تنش شوری از جمله تشکیل اسپور به‌عنوان یک باکتری مقاوم به شوری مناسب در خاک‌های شور توصیه می‌شود.

سپاس‌گزاری

از گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز که امکانات انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

۱- ابوالحسنی زراعتکار، م.، لکزیان، ا.، حق نیا، غ.ح.، آستارایی، ع.ر. و سرچشمه‌پور، م. ۱۳۸۶. مطالعه جدایه‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی مقاوم به شوری وخشکی درخاک‌های استان کرمان، مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. ۵۸-۵۹.

۲- اخگر، ع.ا. و خاوازی، ک. ۱۳۸۹. نقش آنزیم ACC-دآمیناز باکتریایی در کاهش اثرات منفی شوری بر رشد کلزا. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۴(۱): ۱۵۴- ۱۶۵.

۳- بویراحمدی، م.، رئیسی، ف. و محمدی، ج. ۱۳۸۹. اثر شوری بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک در حضور و عدم حضور ریشه‌های زنده گیاه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، ۱۴(۵۱): ۱۰۳-۱۱۴.

۴- دهقانی، ا.، فتوت، ا.، حق‌نیا، غ.ح. و کشاورز، پ. ۱۳۸۶. تأثیر شوری و کود گاوی بر غلظت و توزیع گونه‌های روی در محلول خاک. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴۱(الف) : ۵۳-۶۰.

۵- زنجیربند، م.، ۱۳۸۵. جداسازی و شناسایی بعضی از باکتری‌های نمک‌دوست و بررسی اثر برخی عوامل موثر بر رشد آن‌ها. پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی. دانشگاه اصفهان.

۶- سرچشمه پور، م.، ثواقبی، غ.ر.، صالح راستین، ن.، علیخانی، ح.ع. و پوربابایی، ا. ۱۳۸۸. جداسازی، غربالگری، شناسایی نسبی و تعیین تحمل به تنش شوری و خشکی جدایه‌های برتر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PGPR) درختان پسته. مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۴۰: ۱۷۷-۱۹۰.

۷- علی‌اصغرزاده، ن. ۱۳۸۵. روش‌های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک. تألیف فرانز شایدز، ریچارد الینگر، الن کاندلر و روزا مارگزین، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تبریز، ص. ۵۴۶.

۸- قول لرعطا، م.، رئیسی، ف. و نادیان، ح.ا. ۱۳۸۷. بررسی اثر شوری و فسفر خاک بر تنفس، زیست‌توده میکروبی و فعالیت فسفاتازها (*Trifolium alexandrinum* L.) در ریزوسفر گیاه شبدر برسیم. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۲(۲): ۲۱۷-۲۲۳.

۹- کفیل‌زاده، ف.، جاوید، ح. و کارگر، م. ۱۳۸۶. جداسازی میکروارگانیسم‌های هالوفیل و هالوتولرانت از دریاچه بختگان و اثر فاکتورهای فیزیکی- شیمیایی بر فراوانی آن‌ها. مجله آب و فاضلاب، ۶۳: ۸۱-۸۷.

۱۰- مظفری، ن.ا.، نوری، ن. و صفری، ر. ۱۳۸۵. فون باکتری‌های گرم‌مثبت تجزیه‌کننده فنانترن از آب‌های بنادر امیرآباد و نوشهر و مقایسه آنها از نظر اصلاح زیستی. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۹: ۱۰۱-۱۰۸.

۱۱- ناهیدان، ص. و نوربخش، ف. ۱۳۸۸. تأثیر تاریخچه مدیریت کربن آلی بر برخی از خصوصیات بیولوژیکی خاک. مجموعه مقالات یازدهمین کنگره علوم خاک ایران، ۸۵ – ۸۶.

۱۲- نوربخش، ف. و حاج عباسی، م.ع. ۱۳۷۷. بیولوژی خاک. تألیف مارتین وود، چاپ اول، انتشارات غزل، تهران. ص. ؟؟.

13- Anderson, J. P. E. 1982. Soil respiration. In Page, A. L. (ed), Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Methods. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI, pp: 831-871.

14- Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1993. The metabolic quotient for CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 25: 393–398.

15- Cappiccino, J. 1992. Microbiology: a laboratory manual. The Benjamin Cummings Publishing Company, Redwood City, California. 94065.

16- Chen, H.H., Li, W.J., Tang, S.K., Kroppenstedt, R.M., Stackebrandt, E., Xu, L.H., and Jiang, C.L. 2004. Corynebacterium halotolerans sp. nov., isolated from saline soil in the

west of China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54: 779–782.

17- Dartois, V., Debarbouille, M., Kunst, F., and Rapoport, G. 1998. Characterization of a novel member of the Deg S-Deg U regulon affected by salt stress in *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology, 180(7): 1855–1861.

18- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., and Stackebrandt, E. 2006. The Prokaryotes. Third edition, Chief. pp: 530-580.

19- Ghollarata, M. and F. Raiesi. 2007. The adverse effect of soil salinization on the growth of *Trifolium alexandrinum* L. and associated microbial and biological properties in a soil from Iran. Soil Biology and Biochemistry, 39: 1699-1702.

20- Glick, B.R., Karaturovic, D.M., and Newell, P.C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *pseudomonads*. Canadian Journal of Microbiology, 41: 533-536.

21- Hoffman, J., Bezchlebova, J., Dusek, L., Dolezal, L., Holoubek, I., Andel, P., Ansorgova, A., and Maly, S. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. Environment International, 28: 771-778.

22- Holmes, B., Owen, R., and McMeekin, T. 1984. Bergeys manual of systematic Bacteriology. Vol.1, PP: 302-400.

23- Horsburgh, M.J., and Moir, A. 1999. σ^M, an ECF RNA polymerase sigma factor of Bacillus subtilis 168, is essential for growth and survival in high concentrations of salt. Molecular Microbiology, 32(1): 41-50.

24- Jenkinson, D.S., and Powelson, D.S. 1976. The effect of biocidal treatments of metabolism in soil: A method for measuring soil biomass. Soil Biology and Biochemistry, 8: 209-213.

25- Liang, Y., Nikolic, M., Peng, Y., Chen, W., and Jiang, Y. 2005. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization, Soil Biology and Biochemistry, 37, 185–1195.

26- Liebl, W., Sinskey, A.J., and Schleifer, K.H. 1992. Expression, secretion, and processing of staphylococcal nuclease by *Corynebacterium glutamicum*. Journal of Bacteriology, 174: 1854–1861.

27- Muray, R.G., Doetsch, E., and Robinow, C.E. 1994. Determinative and cytological light microscopy, a method for general and molecular bacteriology. PP: 21-41.

28- Pathak, H., and Rao, D.L.N. 1998. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. Soil Biology and Biochemistry, 35: 695-702.

29- Rai, M.K. 2006. Hand book of microbial biofertilizers. Food products press, an imprint of the Haworth press, Inc. PP: 137-182.

30- Rasul, G., Appuhn, A., Muller, T., and Joergensen, R.G. 2006. Salinity-induced changes in the microbial use of sugarcane filter cake added to soil. Applied Soil Ecology, 31: 1-10.

31- Rietz, D.N., and Haynes, R.J. 2003. Effects of irrigation- induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry, 35: 845–854.

32- Sarig, S., and Steinberger, Y. 1994. Microbial biomass response to seasonal fluctuation in soil salinity under the canopy of desert halophytes. Soil Biology and Biochemistry, 26: 1405-1408.

33- Shah, A.S., and Shah, Z. 2011. Changes in soil microbial characteristics with elevated salinity. Sarhad Journal of Agriculture, 27(2): 233-244.

34- Shilev, S., Sancho, D.E., and Benlloch-Gonzalez, M. 2010. Rhizosphericm bacteria alleviate salt-produced stress in sunflower. Journal of Environmental Management, 3: 1-5.

35- Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Nautiyal, C.S., Mittal, S., Tripathi, A.K., and. Johri, B.N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science, 89(1): 136-150.

36- Vance, W.H., Brookes, P.C., and Jenkinson, D.J. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 19: 703–707.

37- Vanessa, N.L., Wong.Ram, C., Dalal.Richard, S., and Greene, B. 2008. Salinity and sodicity effects on respiration and microbial biomass of soil. Biology and Fertility of Soils, 44: 943–953.

38- Ventosa, A., Nieto, J.J., and Oren, A. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62(2): 504-544.

39- Woitke, M., Hanafi, A., and Schnitzler, W.H. 2004. Effect of Salinity and *Bacillus subtilis* on White Fly (Trialeurodes vaporariorum,Westwood) in Hydroponically Grown Tomatoes (*Lycopersicon esculentum Mill*). Acta Horticulturae, 659: 323-329.

40- Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., and Li, C. 2010. Growth promotion and protection against salt stress by Pseudomonas putida Rs-198 on cotton. European Journal of Soil Biology, 46: 49-54.

41- Yuan, B.C., Li, Z.Z., Liu, H., Gao, M., and Zhang, Y.Y. 2007. Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. Applied Soil Ecology, 35: 319–328.

42- Zahran, H.H. 1997. Diversity, adaption and activity of the bacterial flora in saline environments. Biology and Fertility of Soils, 25: 223-211.

43- Zaidi, R.B., and Imam, S.H. 1999. Factors affecting microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrenein the caribben coastal water. Marine Pollution Bulletin, 38(8): 737-742.