



## Isolation of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria from tea rhizosphere and evaluation of their inoculum effect on soil properties and plant yield

Mohammad Alikhah<sup>1</sup>, Nasrin Ghorbanzadeh<sup>\*2</sup>, Mohammad Bagher Farhangi<sup>3</sup>,  
Maryam Khalili Rad<sup>4</sup>, Ehsan Kahneh<sup>5</sup>

1. M.Sc. Graduate of Soil Science, Dept. of Soil Science, University of Guilan. E-mail: mohammad.alikhah@gmail.com
2. Corresponding Author, Associated Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan. E-mail: nghorbanzadeh@guilan.ac.ir
3. Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan. E-mail: m.farhangi@guilan.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Guilan. E-mail: m\_khalilrad@guilan.ac.ir
5. Assistant Professor, Dep. of Tea Research Center, Lahijan, Iran. E-mail: e.kahneh@areeo.ac.ir

### Article Info

**Article type:**  
Full Length Research Paper

**Article history:**  
Received: 14.12.2022  
Revised: 17.06.2023  
Accepted: 25.09.2023

**Keywords:**  
*Azospirillum*,  
Biofertilizer,  
Plant growth promoting  
bacteria,  
Rhizobacteria,

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Considering the high demand for tea in Iran and the insufficient local production, the use of chemical fertilizers to enhance production per unit area is increasing. The long-term use of chemical fertilizers, especially nitrogen fertilizers, in tea gardens has led to soil acidification which in turn impacted the soil quality and health. Therefore, searching for an alternative method that is as efficient as chemical fertilizers and compensates for the disadvantages caused by the excessive use of chemical fertilizers is essential in tea gardens nutrition.

**Materials and Methods:** In this research, native nitrogen-fixing (*Azospirillum*) and phosphorus solubilizing rhizobacteria were isolated from the rhizosphere of tea plants and then used as biofertilizers for cultivation of Chinese hybrid tea seedlings at tea research center in 1400 under pot experiment. This experiment was conducted in a randomized complete block design with factorial arrangement and three replications. The factors include pH of soil at two levels (4.65 and 5.21), and fertilizer treatments at five levels including blank (B), control; where chemical fertilizer was applied based on soil analysis (C), nitrogen fixing bacteria was applied as biofertilizer (BN), phosphorus solubilizing bacteria was applied as biofertilizer (BP), and nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria were applied as biofertilizer (BNP). After three months of tea planting, the effect of applied biofertilizers on soil biochemical characteristics and yield of tea plant were investigated.

**Results:** The soil pH values in all treatments that received biofertilizers were higher than that of the blank and control treatments. The highest and the lowest soil nitrogen (N) content were observed in BNP and B treatments, respectively. The highest content of soil phosphorus (P) was observed in BNP treatments, which P content in this treatment with BN was not significantly different. The soil available potassium content in treatments that receiving bio and chemical fertilizers did not show a statistically significant difference. The highest and the lowest values of fresh weight, dry weight and yield were observed in BNP and B treatments, respectively. The highest content of N and P in plant were observed in BNP (4.8%) and BP (0.24%) treatments, respectively. The potassium content of plant in

---

---

treatments that received biofertilizers was lower than B, while the potassium content in all biofertilizer treatments were higher than that of the control.

**Conclusion:** In this study biofertilizer treatments, *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria, increased the nitrogen and phosphorus contents in tea plant and soil, respectively. Since these bacteria improved plant growth and soil properties, it seems that native rhizobacteria isolated from tea rhizosphere have the potential to be used as biofertilizers in tea gardens in line with sustainable agriculture. Although, long term investigation during the several growth periods and different seasons of the year is needed for further evaluations.

---

---

Cite this article: Mohammad Alikhah, Nasrin Ghorbanzadeh, Mohammad Bagher Farhangi, Maryam Khalili Rad, and Ehsan Kahneh. 2023. Isolation of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria from tea rhizosphere and evaluation of their inoculum effect on soil properties and plant yield. *Journal of Soil Management and Sustainable*, 13 (4), 23-44.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejsms.2024.20881.2085

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---



## جداسازی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفر از ریزوسفر چای و تاثیر مایه تلقیح آنها بر ویژگی‌های خاک و رشد گیاه

محمد علیخواه<sup>۱</sup>، نسرين قربانزاده\*<sup>۲</sup>، محمد باقر فرهنگي<sup>۳</sup>،  
مریم خلیلی راد<sup>۴</sup>، احسان کهنه<sup>۵</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان. رایانامه: mohammad.alikhah@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان. رایانامه: nghorbanzadeh@guilan.ac.ir
۳. استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان. رایانامه: m.farhangi@guilan.ac.ir
۴. استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه گیلان. رایانامه: m\_khalilrad@guilan.ac.ir
۵. استادیار پژوهشکده چای کشور، لاهیجان، ایران. رایانامه: e.kahneh@areeo.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	سابقه و هدف: با توجه به نیاز بالای کشور ایران به چای و کافی نبودن مقدار تولید داخلی،
مقاله کامل علمی- پژوهشی	استفاده از کودهای شیمیایی جهت افزایش تولید در واحد سطح رو به افزایش است. کاربرد
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳	طولانی مدت کودهای شیمیایی به ویژه کودهای نیتروژن‌دار، سبب اسیدی شدن خاک باغ‌های
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۲	چای شده و سلامت و کیفیت خاک را تحت تاثیر قرار داده است. از این رو، جست‌وجو برای
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۳	یک روش جایگزین و کارآمد که کارایی آن به اندازه کودهای شیمیایی باشد و ضررهای ناشی
	از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی را جبران نماید، ضروری است.
واژه‌های کلیدی:	مواد و روش‌ها: در این پژوهش ابتدا ریزوباکتری‌های بومی تثبیت کننده نیتروژن (آزوسپیریلیوم)
آزوسپیریلیوم،	و حل کننده فسفر از ریزوسفر گیاه چای جداسازی و سپس به عنوان کود زیستی در کشت
باکتری‌های محرک رشد گیاه،	گلدانی نهال‌های چای هیبرید چینی در پژوهشکده چای کشور در سال ۱۴۰۰ مورد استفاده قرار
ریزوباکتری،	گرفتند. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار اجرا
کود زیستی	شد. فاکتورهای آزمایش شامل pH خاک در دو سطح (۴/۶۵ و ۵/۲۱) و تیمارهای کودی در
	پنج سطح شامل شاهد منفی (B)، کود شیمیایی بر اساس آزمون خاک (C)، کود زیستی باکتری
	تثبیت کننده نیتروژن (BN)، کود زیستی باکتری حل کننده فسفر (BP) و کود زیستی دارای
	باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفر (BNP) بودند. پس از گذشت سه ماه از
	کشت نهال چای در گلدان‌ها پیامد استفاده از این کودهای زیستی بر ویژگی‌های خاک و رشد
	گیاه چای مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: مقدار pH خاک در تمامی تیمارهایی که کود زیستی دریافت نمودند نسبت به تیمارهای شاهد و کود شیمیایی بیشتر بود. بیشترین و کمترین مقدار نیتروژن خاک به ترتیب در تیمارهای BNP و B مشاهده شد. بیشترین مقدار فسفر فراهم خاک در تیمار BNP مشاهده شد که البته اختلاف معنی‌داری با تیمار و BN نداشت. مقدار پتاسیم قابل جذب خاک در تیمارهای دریافت کننده کود زیستی و شیمیایی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد. بیشترین و کمترین مقدار وزن تر، وزن خشک و محصول به ترتیب در تیمارهای BNP و B مشاهده شد. بیشترین محتوای نیتروژن و فسفر گیاه به ترتیب مربوط به تیمارهای BNP (۴/۸ درصد) و BP (۰/۲۴ درصد) بود. محتوای پتاسیم گیاه در تیمارهای کود زیستی بیشتر از تیمار شاهد بود، اگرچه درصد پتاسیم در تمامی تیمارهای کود زیستی از تیمار کود شیمیایی کمتر بود.

**نتیجه‌گیری:** در این پژوهش، تیمار کودهای زیستی باکتری آزوسپیریلیوم و حل کننده فسفر به ترتیب سبب افزایش محتوای نیتروژن و فسفر گیاه چای و خاک زیرکشت آن شدند و کاربرد هم‌زمان آن‌ها سبب افزایش کارایی هردو شد. بنابراین، از آن‌جا که این باکتری‌ها سبب بهبود رشد گیاه و ویژگی‌های خاک شدند به نظر می‌رسد رایزوباکترهای بومی جداشده از ریزوسفر چای پتانسیل استفاده در باغ‌های چای به عنوان کود زیستی را در راستای کشاورزی پایدار داشته باشند. اگرچه بررسی طولانی‌مدت در شرایط مزرعه طی چند دوره‌ی رشد و همچنین فصول مختلف سال برای ارزیابی‌های بیشتر مورد نیاز است.

استناد: محمد علیخواه، نسرین قربان‌زاده، محمد باقر فرهنگی، مریم خلیلی راد، احسان کهنه (۱۴۰۲). جداسازی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفر از ریزوسفر چای و تاثیر مایه تلقیح آن‌ها بر ویژگی‌های خاک و رشد گیاه. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۳ (۴)، ۴۴-۲۳.

DOI: 10.22069/ejsms.2024.20881.2085



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

چای (*Camellia sinensis* L. O. Kuntze) گیاهی درختچه‌ای، چند ساله و همیشه سبز است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در سراسر جهان کشت می‌شود (۱) در مقیاس جهانی، چای تقریباً ۴/۱ میلیون هکتار از اراضی جهان را با تولید سالانه برابر ۰/۶۱ میلیون تن چای خشک دربرمی‌گیرد و برآورد می‌شود که به دلیل مزایای اقتصادی بالا، سطح زیرکشت آن در آینده افزایش پیدا کند. از این مقدار تولید، حدود ۸۰ درصد به قاره آسیا اختصاص دارد که چین از نظر سطح زیر کشت دارای مقام اول می‌باشد (۲). بر اساس آمارهای پژوهشکده چای کشور در سال ۱۳۹۵، سطح زیرکشت چای در ایران حدود ۲۷۰۰۰ هکتار است که این اراضی از منطقه کلار آباد در غرب مازندران تا فومنات در غرب استان گیلان در حاشیه جنوبی دریای خزر واقع شده‌اند.

با این حال، بهره‌وری گیاه چای در سال‌های اخیر کاهش یافته است که از جمله دلایل آن می‌توان به کمبود عناصر غذایی و تنش‌های غیرزیستی اشاره کرد. همچنین برداشت اندام هوایی جدید به صورت سالانه نیز کمبود عناصر غذایی در خاک را تشدید می‌نماید (۳). به منظور برطرف کردن این مشکلات از کودهای شیمیایی بیشتری استفاده می‌شود که سبب عدم تعادل تغذیه‌ای و آلودگی خاک شده و در نهایت بر عملکرد باغ‌های چای نیز تأثیر منفی می‌گذارد (۴). بنابراین، برای کاهش استفاده از کودهای شیمیایی نیاز به رویکردهای جایگزین سازگار با محیط زیست می‌باشد. ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه<sup>۱</sup> (PGPR) به عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین ریزجانداران خاک برای افزایش سلامت و سرعت رشد گیاه بدون آلودگی محیطی در نظر گرفته می‌شوند و به طور قابل توجهی

به کشاورزی پایدار کمک می‌کنند (۵). این باکتری‌ها با محیط زیست سازگارتر هستند و می‌توانند به عنوان جایگزینی ایده آل برای کودهای شیمیایی در نظر گرفته شوند (۶). از طرفی اسیدیته خاک یکی از جدی‌ترین مسائل مربوط به تخریب اراضی به شمار می‌رود که تقریباً نیمی از خاک‌های قابل کشت جهان را تحت تأثیر قرار داده است. علاوه بر فاکتورهای اقلیمی مانند بارندگی و آبشویی، مواد مادری اسیدی و کاربرد طولانی مدت عناصر غذایی معدنی اسیدزا به منظور جایگزینی ذخایر غذایی موجود در خاک یکی دیگر از محرک‌های اصلی اسیدی شدن خاک محسوب می‌شوند (۷ و ۸). با توجه به این که گیاه چای در خاک‌های اسیدی که عموماً در مقدار نیتروژن و فسفر فراهم فقیر هستند رشد می‌کند، در چنین خاک‌هایی می‌توان در دسترس بودن عناصر غذایی برای آن را با افزودن PGPR افزایش داد (۹).

کودهای دارای نیتروژن به منظور بهبود عملکرد و کیفیت گیاه چای استفاده می‌شوند که مقدار مصرف آن‌ها معمولاً بسیار بیشتر از مقدار توصیه شده است (۱۰). علاوه بر این، گیاه چای جذب آمونیوم را برای رشد ترجیح می‌دهد که این پدیده خود سبب اسیدی شدن بیشتر خاک ریزوسفر می‌شود. در ریزوسفر گیاه چای، منابع میکروبی فراوانی شناسایی شده است که این میکرو فلور بومی مرتبط با خاک ریزوسفری گیاه چای نه تنها می‌تواند مصرف کودهای شیمیایی را کاهش دهد، بلکه برای سلامتی خاک و گیاه نیز مفید است (۱۱). در این میان، باکتری‌های تثبیت کننده غیرهمزیست نیتروژن<sup>۲</sup> مانند *Azotobacter* و *Azospirillum* برای محصولاتی مانند چای مناسب می‌باشند (۱۲). دوتا و تاکور (۲۰۱۷) طی پژوهشی بیان کردند که جدایه‌های PGPR کارآمد ارزیابی شده

<sup>2</sup> Asymbiotic

<sup>1</sup> Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

های مرتبط با خاک ریزوسفر چای وجود دارد با این حال، هنوز به پژوهش‌های بیشتری در این زمینه با هدف ارتقای رشد و پایداری کشت چای در مناطق چایکاری نیاز است.

بنابراین با توجه به اهمیت محصول چای در استان گیلان و نیاز به کاربرد صحیح کودها در باغات چای، در این پژوهش ابتدا باکتری‌های بومی همیار تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum*) و حل کننده فسفر از ریزوسفر گیاه چای جداسازی و سپس به عنوان کود زیستی مورد استفاده قرار گرفت. سپس پیامد استفاده از این کودهای زیستی بر ویژگی‌های خاک و رشد گیاه چای بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

**نمونه برداری خاک:** در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ نمونه برداری خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر دو باغ چای دارای pH های متفاوت (عرض جغرافیایی ۳۷،۲۲،۳۷۷۱۳ و طول جغرافیایی ۴۹،۹۵۱۵۳۷۵ و عرض جغرافیایی ۳۷،۲۲۳۶۷۸۹ و طول جغرافیایی ۴۹،۹۴۸۴۰۴۷) واقع در روستای بازکیاگوراب لاهیجان انجام شد. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک و از الک ۲ میلی متری عبور داده شدند و سپس برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت (۱۷)، pH و قابلیت هدایت الکتریکی (۱۸) در سوسپانسیون ۱:۲ خاک به آب، کربن آلی (۱۹) و مقادیر نیتروژن کل و پتاسیم فراهم (۲۰) و فسفر فراهم (۲۱) اندازه‌گیری شد.

**جداسازی باکتری‌ها از خاک ریزوسفری:** به منظور جداسازی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum*) و حل کننده فسفر بومی از خاک ریزوسفری باغات چای مذکور نمونه برداری انجام شد. نمونه‌های خاک از عمق ۵ تا ۳۰ سانتی متر به همراه ریشه گیاه چای جمع‌آوری شدند. به این منظور

شامل *sp. Azotobacter sp. Pseudomonas sp.* در شرایط گلخانه دارای پتانسیل تجاری سازی به عنوان کود زیستی می‌باشند و کاربرد آن‌ها می‌تواند سبب کاهش قابل توجهی در استفاده از کودهای شیمیایی در مناطق چای کاری شود (۱۳). تاثیر باکتری *Bacillus megaterium* TRS-4 که از ریزوسفر چای جداسازی شده بود بر رشد پنج وارسته چای در شرایط گلدانی و مزرعه مورد آزمایش قرار گرفت. افزایش در ارتفاع، ظاهر شدن برگ‌ها و شاخه‌های جدید و افزایش در تعداد برگ و همچنین افزایش در وزن خشک برگ به دنبال کاربرد این باکتری مشاهده شد. کاربرد این باکتری حل کننده فسفات، سبب کاهش مقدار فسفر خاک و افزایش فسفر برگ و ریشه و فعالیت فسفاتاز در خاک شد و محتوای کلروفیل برگ‌ها نیز افزایش یافت (۱۴). نپولن و همکاران (۲۰۱۲) نیز رشد و عملکرد بیشتری را در گیاهان چای به دلیل تلقیح هم‌زمان *Azospirillum* بومی و باکتری‌های حل کننده فسفات نسبت به تیمارهای تلقیح نشده مشاهده کردند (۱۵). تناکن و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که تقریباً ۳۳ و ۵۰ درصد کاهش در مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن دار و فسفردار با استفاده از تلقیح سویه‌های بومی خاک *Azospirillum sp. + Bacillus cereus* در شرایط مزرعه امکان پذیر شد (۱۶).

با توجه به نیاز بالای کشور به چای و کافی نبودن میزان تولید داخلی و همچنین دشوار و پرهزینه شدن واردات چای، کشاورزان به سمت روش‌های افزایش تولید در واحد سطح با استفاده از کودهای شیمیایی ترغیب شده‌اند که مشکل تخریب خاک را در پی دارد و در راستای مدیریت پایدار منابع خاک و آب نیست. از این رو، جست‌وجو برای یک روش جایگزین و کارآمد که در راستای پایداری خاک باشد، ضروری به نظر می‌رسد. اگرچه، گزارش هایی در مورد PGPR

از برخی از کلونی‌های ظاهر شده کشت خطی انجام شد و پس از خالص‌سازی و تکثیر باکتری، کشت آن‌ها در محیط کشت اسپربر<sup>۵</sup> جامد در پتری دیش انجام شد. سوسپانسیون برخی از کلونی‌های انتخاب شده به طور جداگانه در آب تهیه شد و سپس ۲۰ میکرولیتر از آنها با روش قطره‌گذاری در محیط جامد اسپربر کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوباسیون شدند. قطر ناحیه شفاف (هاله) احاطه شده اطراف کلونی‌ها و همچنین قطر کلونی بعد از زمان‌های ۲، ۴ و ۷ روز، در سه تکرار اندازه‌گیری شد. نهایتاً شاخص انحلال فسفر<sup>۶</sup> (PSI) از طریق میانگین نسبت قطر هاله (mm) به قطر کلونی (mm) در روز هفتم محاسبه و آن باکتری که دارای بالاترین نسبت PSI بود برای ادامه آزمایش انتخاب شد (۲۳).

جهت بررسی توان حل‌کنندگی فسفر، باکتری انتخاب شده به محیط‌های مایع دارای منبع نامحلول فسفات شامل محیط کشت اسپربر<sup>۷</sup> و SMM<sup>۸</sup> مایه‌زنی شد. محیط‌ها یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور-شیکر (۱۲۰ rpm) قرار داده شدند. سپس دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی برداشت و سانتیفریوژ شد (۱۰۰۰۰ rpm، ۱۰ دقیقه) و غلظت فسفر در محلول رویی به روش رنگ‌سنجی وانادومولیدات با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (۲۴). هر دو سویه انتخاب شده در محیط نوترینت براث<sup>۹</sup> (NB) تکثیر شدند و برای اعمال تیمار آماده شدند.

**اعمال تیمارها و کشت گلدانی:** این پژوهش با پنج

پس از انتخاب چند بوته گیاه چای بالغ، ریشه‌های گیاه بریده شد و ریشه و خاک چسبیده به آن جمع‌آوری شد. به منظور جداسازی خاک ریزوسفری ریشه‌ها تکان داده شدند تا خاک اضافی چسبیده به آن‌ها جدا شود. برای جداسازی باکتری‌ها از خاک چسبیده به ریشه‌ها که با تکان دادن جدا نشد و در فاصله چند میلی‌متری سطح ریشه‌ها قرار داشت، استفاده شد. نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از بوته‌های چای مخلوط شدند تا یک نمونه مرکب ساخته شود. نمونه‌های خاک ریزوسفری برداشت شده در دمای ۴ درجه سلسیوس به آزمایشگاه بیولوژی خاک منتقل و تا زمان جداسازی باکتری‌ها در یخچال نگهداری شدند.

به منظور جداسازی باکتری آزوسپریلیوم، محیط کشت نیمه جامد LGI با pH ۶ با ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون خاک مایه‌زنی و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوباسیون شد. پس از رشد باکتری در لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت نیمه جامد LGI، لوله‌هایی که در عمق ۱ تا ۵ میلی‌متری از سطح محیط کشت پس از ۳-۵ روز دارای یک پرده یا هاله‌ی شفاف بودند، برای ادامه‌ی آزمایش انتخاب و در محیط کشت آگاردار همانند محیط کشت LGI به گونه خطی کشت داده شدند. کلونی‌های کوچک، سفید و خمیده پس از ۵ روز ظاهر و جهت ادامه آزمایش انتخاب شدند. به منظور جداسازی و خالص‌سازی باکتری حل کننده فسفر از نمونه‌های خاک ریزوسفری، سری رقت تهیه شد و در محیط کشت نوترینت آگار<sup>۳</sup> (NA) دارای نیستاتین<sup>۴</sup> (۵۰ mg L<sup>-1</sup>) مایه‌زنی انجام و پتری‌ها در دمای ۲۷ درجه سلسیوس انکوباسیون شد. سپس

<sup>7</sup> National Botanical Research Institutes  
Phosphate Growth Medium  
<sup>8</sup> Synthetic Minimal Medium  
<sup>9</sup> Nutrient Broth

<sup>3</sup> Nutrient Agar  
<sup>4</sup> Nystatin  
<sup>5</sup> Sperber  
<sup>6</sup> Phosphorus solubilizing index

بررسی اثر تیمارها، آنالیزهای مربوط به خاک و گیاه انجام شد. وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه اندازه‌گیری و تعداد جوانه انتهایی و برگ اول و دوم نیز شمارش شد. برگ‌های بالایی اندام هوایی هر بوته چای از گلدان‌های آزمایشی نمونه‌برداری و پس از شستشو، در دمای ۸۰ درجه سلسیوس آون خشک و آسیاب شدند. نیتروژن کل نمونه‌های گیاهی پس از هضم (۲۵) توسط دستگاه کج‌دال (۲۶)، مقدار فسفر به وسیله روش رنگ سنجی وانادومولیدات (۲۷) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و مقدار پتاسیم توسط فلیم‌فتومتر تعیین شد (۲۸). نمونه‌های خاک از هر گلدان نمونه‌برداری و پس از انتقال به آزمایشگاه و هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و مقدار فسفر فراهم (۲۱)، نیتروژن کل و پتاسیم فراهم (۲۰)، pH (۱۸)، تنفس پایه میکروبی (۲۹) و کربن زیست توده میکروبی (۳۰) نیز اندازه‌گیری شد.

### آنالیز آماری

این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل pH خاک در دو سطح (۴/۶۵ و ۵/۲۱)، و تیمارهای کودی در پنج سطح شامل شاهد منفی، شاهد مثبت، کود زیستی آروسپریلیوم، کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر و کود زیستی حاوی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر بودند. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با نرم‌افزار SAS 9.4 تحلیل شد و مقایسه میانگین داده‌های نیز با آزمون حداقل تفاوت معنی دار LSD در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

ویژگی‌های باکتری‌های جدا شده: بررسی برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک باکتری

تیمار و سه تکرار در دو خاک با pH متفاوت (۴/۶۵ و ۵/۲۱) انجام شد. تیمارها شامل شاهد منفی (بدون اعمال تیمار کود شیمیایی و زیستی - B)، شاهد مثبت کوددهی بر اساس توصیه کودی بخش تحقیقات خاک و آب پژوهشگاه چای کشور شامل افزایش ۰/۱۸ گرم کود اوره و ۰/۰۵ گرم کود سولفات پتاسیم در گلدان (C)، کود زیستی باکتری *Azospirillum* (BN)، کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر (BP) و تیمار مصرف هم‌زمان دو کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر (BNP) که به خاک گلدان‌ها تلقیح شدند، بود. نهال‌های چای هیبرید چینی از پژوهشگاه چای کشور در گلدان‌های کوچک دو کیلوگرمی تهیه و در زمستان سال ۱۴۰۰ پس از اعمال تیمارها به خاک گلدان‌ها، اقدام به کشت نهال‌ها گردید.

به منظور اعمال تیمارهای دارای کود زیستی پس از کشت انبوه باکتری‌ها روی محیط کشت (NB) و تهیه مایه‌ی تلقیح، نمونه‌های خاک با باکتری‌ها مایه‌زنی شدند. به این منظور ۲ کیلوگرم خاک در یک سینی ریخته شد و غلظت مشخصی (۱۰<sup>۴</sup> سلول در هر گرم خاک درون گلدان) از مایه‌ی تلقیح حاوی باکتری *Azospirillum* و حل‌کننده فسفر بومی جدا شده به خاک‌ها مایه‌زنی شد (۱۶). پس از مایه‌زنی خاک‌ها، تعداد چهار تا پنج عدد نهال ریشه‌دار سه ساله در گلدان‌ها کشت و گلدان‌ها در گلخانه در دمای حدود ۲۷ درجه سلسیوس و در رطوبت حدود ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به مدت ۳ ماه نگهداری شدند. پس از کاشت نهال‌ها در گلدان‌ها تا زمان اطمینان کامل از تثبیت نهال‌ها در گلدان، مراقبت‌های معمول گلخانه‌ای از قبیل آبیاری با سیستم مه‌پاشی، وجین علف‌های هرز بر اساس توصیه بخش تحقیقات خاک و آب پژوهشگاه چای کشور انجام شد.

آنالیز خاک و گیاه پس از برداشت: پس از گذشت سه ماه از کاشت نهال چای در گلدان‌ها به منظور



۳۰ درجه سلسیوس (با دمای بهینه ۲۵) توانایی رشد داشت. pH رشد آن نیز از ۶/۵ تا ۷/۵ متغیر بود. توان حل کنندگی فسفر توسط باکتری انتخاب شده در محیط‌های کشت اسپریر، NBRIP و SMM به ترتیب ۵۷/۴، ۸۲/۵ و ۷۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بود.

**ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک:** برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به pH، خاک‌های ۱ و ۲ به ترتیب در بازه خاک‌ها اسیدی بسیار شدید (۵-۵/۵) و اسیدی شدید (۵/۵-۵/۱) قرار می‌گیرند (۳۱). همچنین هر دو خاک دارای بافت لوم رسی و کربن آلی بالایی هستند.

آزوسپریلیوم جدا شده نشان داد که باکتری گرم-منفی، بدون توان تولید اسپور، کاتالاز-مثبت با رشد بهینه در شرایط کم‌هوایی، متحرک با تاژک قطبی و به صورت باسیل‌های کشیده با طول و عرض ۱ در ۱/۵ تا ۴ میکرومتر با پیچش مختصر در محور اصلی بود. گرانول‌های PHB<sup>10</sup> در درون یاخته قابل مشاهده بود. باکتری در دامنه دمایی ۷ تا ۳۷ درجه سلسیوس (با دمای بهینه ۳۰) توانایی رشد داشت. pH رشد آن نیز از ۵/۵ تا ۷ متغیر بود. بررسی برخی ویژگی‌های باکتری حل کننده فسفر انتخاب شده نشان داد که باکتری گرم-مثبت، با توان تولید اسپور، کاتالاز-مثبت (هوایی)، متحرک و به صورت باسیل با طول و عرض ۱ در ۱/۵ میکرومتر بود. باکتری در دامنه دمایی ۷ تا

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌ها

Table 1 - Physicochemical properties of the soils

رس	سیلت	شن	پتاسیم فراهم	فسفر فراهم	نیتروژن کل	کربن آلی	قابلیت هدایت الکتریکی	بی‌اچ	ویژگی‌ها
Clay	Silt	Sand	Available potassium	Available phosphorus	Total nitrogen	Organic carbon	Electrical conductivity	pH	Characteristics
g 100g <sup>-1</sup>			mg kg <sup>-1</sup>		g 100g <sup>-1</sup>		dS m <sup>-1</sup>		
34.8	24.6	40.6	229.5	73.3	0.31	2.97	0.9	4.65	خاک ۱ Soil 1
30.8	26.6	42.6	211.8	78.3	0.28	2.81	0.78	5.21	خاک ۲ Soil 2

تمام تیمارهایی که کود زیستی دریافت کردند، مقدار pH نسبت به تیمار شاهد و کود شیمیایی بیشتر بود. وو و همکاران (۲۰۱۸) پس از افزودن باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* به عنوان یک باکتری PGPR به خاک مشاهده کردند که علاوه بر افزایش رشد گیاه و بالا رفتن مقدار کل نیتروژن در گیاه، مقدار pH خاک نیز افزایش می‌یابد. افزایش pH در تیمارهای کود زیستی به ویژه تیمارهای دارای آزوسپریلیوم می‌تواند به دلیل رهاسازی آهسته آمونیوم در محیط خاک به دنبال تثبیت زیستی نیتروژن باشد (۳۲). این

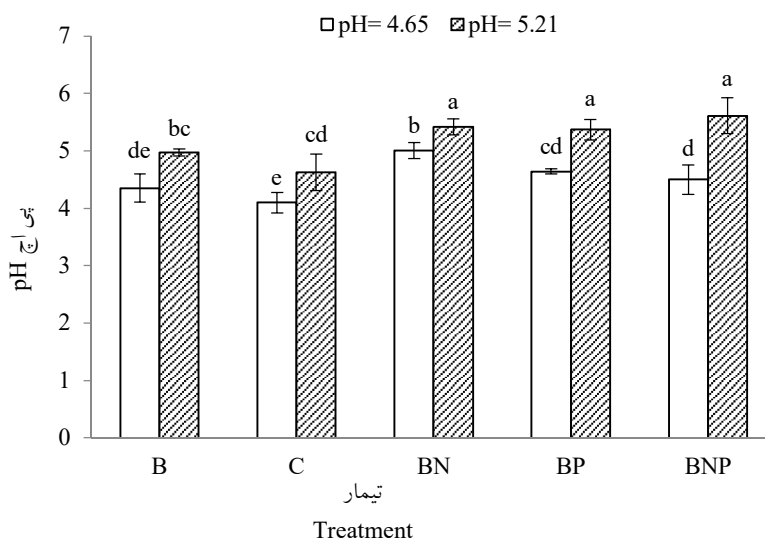
#### تاثیر تیمارها بر ویژگی‌های خاک

**pH خاک:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر pH خاک معنی‌دار است ( $p \leq 0.01$ ). در شکل ۱ اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر pH خاک نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است مقدار pH در تیمار شاهد و کود شیمیایی در هر دو خاک پس از کاشت گیاه نسبت به pH اولیه خاک‌ها (جدول ۱) کاهش یافت. اما در تیمارهای کود زیستی افزایش مقدار pH نسبت به خاک‌های اولیه مشاهده شد. همچنین در

<sup>10</sup> Polyhydroxybutyrate

فعالیت باکتری‌های حل‌کننده فسفر، pH محیط را کاهش داده و به حل شدن فسفر کمک بیشتری می‌کنند (۳۴). نتایج به دست آمده از این پژوهش نیز بیانگر تاثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر روی pH خاک است، هر چند که این تاثیرات قابل توجه نیست. این امر می‌تواند تحت تاثیر pH اولیه خاک‌ها نیز قرار گیرد و به نظر می‌رسد در خاکی که pH اولیه آن کمتر بوده تاثیر باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن روشن‌تر است. علاوه بر این، با توجه به این‌که خاک‌های مورد مطالعه، ظرفیت بافری بالایی در برابر تغییرات pH دارد که با توجه به درصد رس و مواد آلی خاک‌ها قابل توجه است (جدول ۱)، در نتیجه تا زمانی که تمام یون‌های اسیدی سطح کلونیدهای خاک خنثی نشوند، تغییر محسوسی در مقدار pH خاک مشاهده نخواهد شد.

در حالی است که در تیمار کود شیمیایی اویره، نیتروژن آلی به یک‌باره وارد خاک می‌شود و به سرعت توسط جامعه میکروبی هتروتروف خاک تجزیه و سپس آمونیم آزاد شده توسط باکتری‌های کمولیتوتروف اکسیدکننده آمونیم تبدیل به نترات می‌شود که این فرایند کاهش pH خاک را به دنبال دارد (۳۳). همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است، در تیمار BP در هر دو خاک و BNP در خاک ۱ که دریافت کننده کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر بودند، pH نسبت به تیمار BN کمتر بود. مقایسه تیمارهای BP و BN به خوبی تاثیر باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن در افزایش pH خاک را نشان می‌دهد اما به نظر می‌رسد تاثیر حضور هم‌زمان دو باکتری بر pH به نوع خاک وابسته باشد. به طور کلی اسیدهای آلی تولید شده ناشی از



شکل ۱- اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر pH خاک

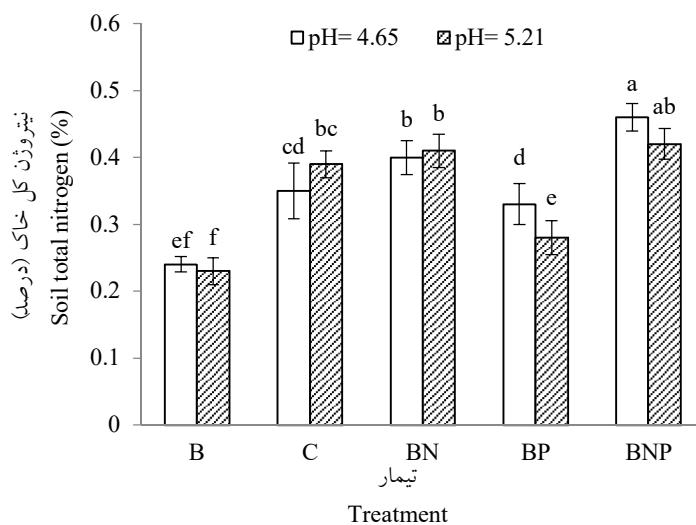
B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر، BNP: کاربرد هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

### Figure 1- The effect of soil interaction and fertilizer treatments on soil pH

B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

موجب افزایش این عناصر غذایی و در نتیجه بهبود باروری خاک باغ‌های چای و به دنبال آن کاهش مصرف کودهای شیمیایی می‌شوند (۱۵). با توجه به استفاده از کود اوره به منظور جبران کمبود نیتروژن در خاک‌های مورد آزمایش، افزایش معنی‌دار درصد نیتروژن در تیمار کود شیمیایی، طبیعی به نظر می‌رسد. هم‌چنین افزایش معنی‌دار درصد نیتروژن در تیمار BNP می‌تواند ناشی از فعالیت باکتری حل‌کننده فسفر و تاثیر مثبت آن روی فعالیت باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن باشد. بنابراین با توجه به روابط متقابل بین دو باکتری حل‌کننده فسفر و تثبیت‌کننده نیتروژن می‌توان در ارتباط با مقدار نیتروژن، به منظور جبران کمبود نیتروژن خاک و هم‌چنین جلوگیری از خطرات زیست‌محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، استفاده تلفیقی از این دو باکتری را توصیه نمود.

**نیتروژن کل خاک:** تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر مقدار نیتروژن کل خاک معنی‌دار است ( $p \leq 0.01$ ). کمترین و بیشترین مقدار نیتروژن به ترتیب در خاک شماره ۱ در تیمار B و BNP مشاهده شد (شکل ۲). در خاک شماره ۲ مقدار نیتروژن در تیمار B کمترین مقدار را نشان داد و بیشترین مقدار نیتروژن در تیمارهای BNP و BN مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند. گزارش شده است که وجود منابع کربن و اکسیژن کافی در اطراف ریشه و نقاطی که باکتری *Azospirillum* فعالیت دارد، سبب افزایش مقدار تثبیت شده می‌شود (۳۵) که با نتایج پژوهش حاضر در رابطه با تیمارهای دریافت کننده کود زیستی باکتری *Azospirillum* هم‌راستا است. نتوپلین و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و فسفر،



شکل ۲- اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر مقدار نیتروژن کل خاک

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر، BNP: کاربرد

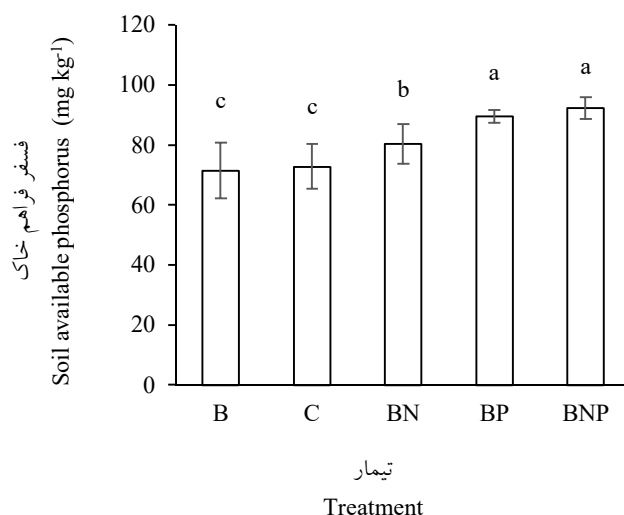
هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

**Figure 2- The effect of soil interaction and fertilizer treatments on soil total nitrogen**

B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

معنی دار نشدن آن در بخش اثر متقابل تیمارها، قابل پیش بینی بود. همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود دو تیمار BNP و BN بیشترین مقدار فسفر فراهم خاک را نشان دادند که اختلاف معنی داری نیز بین این دو تیمار مشاهده نشد.

**فسفر فراهم خاک:** تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای کودی بر مقدار فسفر خاک معنی دار بود ( $p \leq 0.01$ ). اما برهم کنش خاک و تیمارهای کودی بر فسفر فراهم خاک معنی دار نبود که با توجه به نتایج آزمون خاک و کافی بودن فسفر فراهم (جدول ۱)،



شکل ۳- اثر تیمارهای کودی بر مقدار فسفر فراهم خاک

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل کننده فسفر، BNP: کاربرد هم زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون ها نشان دهنده نبود تفاوت آماری معنی دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون ها خطای استاندارد است.

**Figure 3- The effect of fertilizer treatments on the soil available phosphorus**

B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

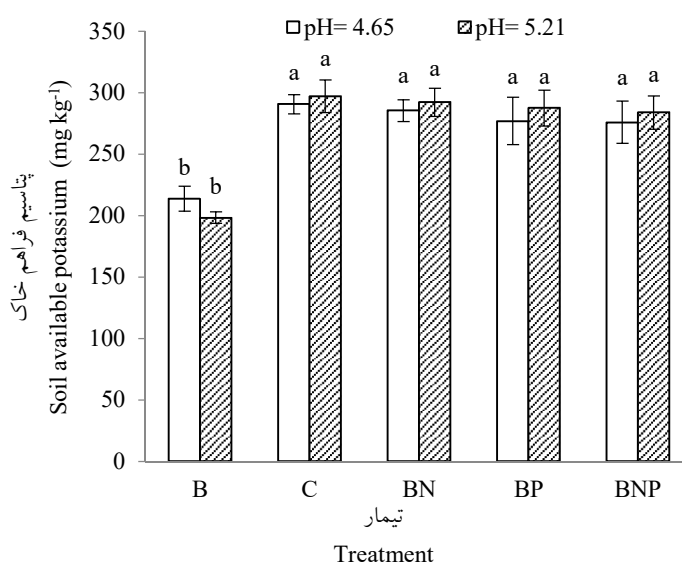
به تیمار BP، می تواند بیان گر این موضوع باشد که باکتری های تثبیت کننده نیتروژن با ایجاد روابط متقابل مثبت، سبب فعالیت بیشتر باکتری حل کننده ی فسفر می شوند.

**پتاسیم فراهم خاک:** تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر برهم کنش خاک و تیمارهای کودی بر مقدار پتاسیم فراهم خاک معنی دار است ( $p \leq 0.01$ ). مقدار پتاسیم فراهم خاک در تیمارهای دریافت کننده کود شیمیایی و زیستی اختلاف آماری معنی داری را با تیمار شاهد نشان دادند. اگرچه بین تیمارهای دریافت کننده کود زیستی و شیمیایی اختلاف آماری معنی داری

اگرچه مقدار فسفر در تیمار BN نسبت به تیمارهای دریافت کننده کود زیستی باکتری حل کننده فسفر کمتر بود اما در مقایسه با تیمار B و C بیشتر بود. نتایج پژوهش حاضر بیانگر نقش موثر کاربرد هم زمان کودهای زیستی *Azospirillum* و باکتری حل کننده فسفر در جذب فسفر توسط خاک بوده و پژوهش های پیشین را تایید می نماید. گزارش شده است که تلقیح هم زمان *Azospirillum lipoferum* و *Bacillus megaterium* به خاک، سبب ایجاد تعادل در فسفر و نیتروژن خاک و جذب آن توسط گیاه می شود (۳۶). افزایش بیشتر مقدار فسفر در تیمار BNP، نسبت

با توجه به جبران کمبود پتاسیم خاک با به کار بردن کود سولفات پتاسیم در تیمار کود شیمیایی افزایش مقدار پتاسیم خاک قابل پیش‌بینی بود، اما افزایش مقدار پتاسیم در تیمارهای BP و BNP به اندازه تیمار C جالب توجه است که بیانگر توانایی باکتری حل‌کننده فسفر در انحلال پتاسیم خاک می‌باشد. بر همین اساس می‌توان اظهار داشت که در تیمار BN نیز باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بر روی فعالیت ریزجانداران بومی حل‌کننده فسفر و پتاسیم در ریزوسفر چای، تاثیر مثبتی گذاشته است.

مشاهده نشد (شکل ۴). اگرچه تمامی تیمارهای مورد بررسی، بجز تیمار شاهد، از لحاظ میزان اثرگذاری بر پتاسیم فراهم خاک، عملکرد تقریباً یکسانی داشتند، اما این تاثیرات در خاک شماره ۲ با  $pH=5.21$  و پتاسیم فراهم اولیه کمتر (جدول ۱) محسوس‌تر بود. اگرچه در این پژوهش باکتری حل‌کننده پتاسیم استفاده نشد، با این حال نشان داده شده است که باکتری‌های *Micrococcus* و *Bacillus Pseudomonas* انحلال فسفر نامحلول خاک نقش حیاتی ایفا می‌کنند، می‌توانند در انحلال پتاسیم خاک نیز موثر باشند (۳۶).



شکل ۴- اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر مقدار پتاسیم فراهم خاک

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر، BNP: کاربرد هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

Figure 4- The effect of soil interaction and fertilizer treatments on soil available potassium

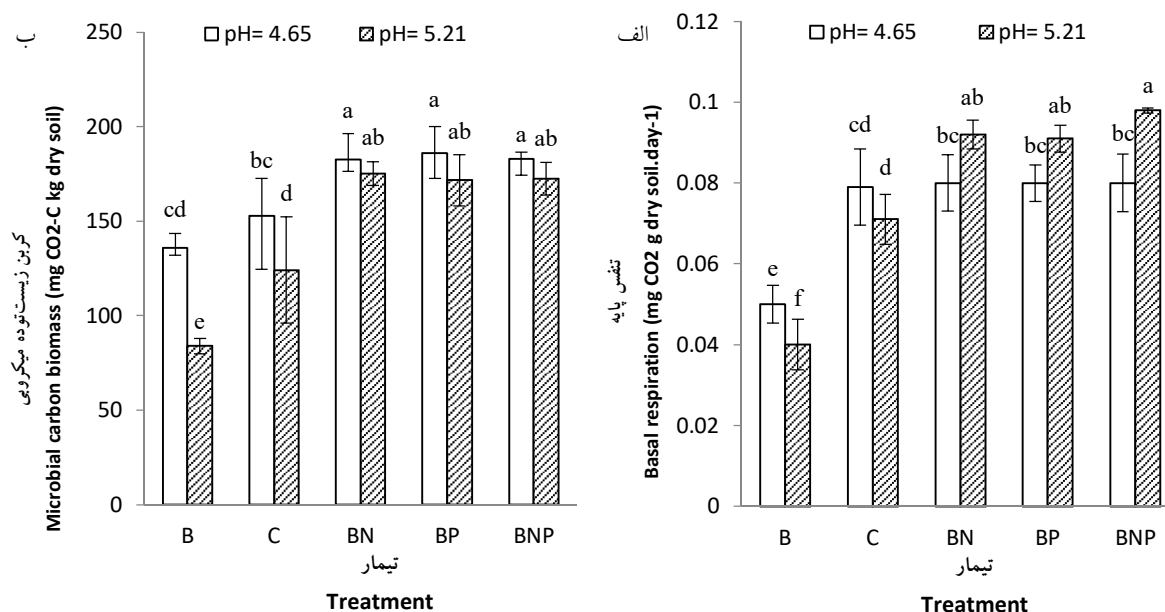
B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

است ( $p \leq 0.01$ ). کمترین مقدار تنفس میکروبی پایه در خاک شماره ۲ در تیمار B به‌دست آمد که تفاوت آماری معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۵-الف). بیشترین مقدار تنفس میکروبی هم در خاک ۲ و

تنفس پایه میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر تنفس پایه میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک معنی‌دار

*Pseudomonas* گزارش کردند (۳۷). افزایش معنی‌دار تنفس پایه میکروبی در تیمارهای کود زیستی می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که با توجه به این‌که باکتری‌های بومی ریزوسفری گیاه چای جداسازی شده‌اند، تغییر نسبت جمعیتی این‌ها نسبت به سایر ریزجانداران ریزوسفری، تاثیر منفی (حداقل) روی فعالیت آن‌ها نداشته و حتی ممکن است اثر مثبت داشته باشد. هرچند تعیین دقیق این ادعا، نیاز به ابزارهای دقیق مولکولی و توالی‌یابی ژنتیکی دارد.

در تیمار BNP به‌دست آمد که تفاوت آماری معنی‌دار با تیمارهای BP و BN در این خاک نداشت. در هر دو خاک مقدار تنفس پایه میکروبی در تیمارهایی که کود دریافت کرده بودند نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود، با این حال، در خاک ۱، تفاوت مقدار تنفس میکروبی در تیمارهای دریافت کننده کود با تیمار C معنی‌دار نبود (شکل ۵-الف). مقدار تنفس پایه میکروبی در تیمارهایی که کود زیستی دریافت کرده بودند در خاک شماره ۲ که دارای pH بالاتری می‌باشد بیشتر بود. ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) نیز افزایش تنفس میکروبی در خاک شالیزار را با تلقیح *Azospirillum*



شکل ۵- اثر برهم‌کنش خاک و تیمارهای کودی بر مقدار تنفس پایه میکروبی (الف) و کربن زیست توده میکروبی (ب)

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل‌کننده فسفر، BNP: کاربرد هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل‌کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

**Figure 5- The effect of soil interaction and fertilizer treatments on soil basal respiration (a) and microbial carbon biomass (b)** B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

تیمارهای دارای کود زیستی در هر دو خاک معنی‌دار نبود. در همه تیمارها کربن زیست‌توده در خاک ۱ با

بیشترین مقدار کربن زیست‌توده میکروبی در تیمار BP در خاک ۱ به‌دست آمد اگرچه تفاوت آن با سایر

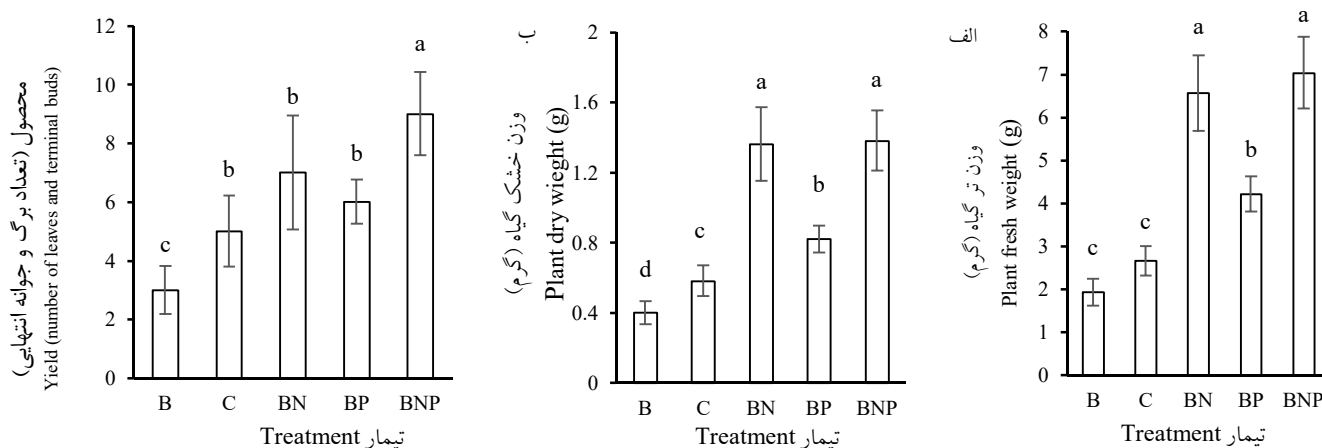
شکل ۶ الف، ب و ج نشان داده شده است. کمترین مقدار وزن تر در تیمار B مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمار C نداشت و بیشترین مقدار در تیمار BNP مشاهده شد که با تیمار BN تفاوت معنی داری نشان نداد (شکل ۶- الف). گزارش شده است که کودهای دارای نیتروژن سبب افزایش عملکرد گیاه چای و مقدار اسیدهای آمینه می‌شود (۳۹). پژوهشی دیگری نشان داده است که پیش تیمار بذره‌های کلزا با سویه‌های متفاوت از باکتری *Pseudomonas* سبب افزایش شاخص‌های رشد از طریق بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی نظیر مقدار آب نسبی برگ و پتانسیل آب برگ در سطوح مختلف شوری می‌شود. بر اساس یافته‌های به دست آمده، استفاده از باکتری‌های محرک رشد نقش قابل توجهی در افزایش رشد گیاهان دارد (۴۰). نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از تاثیر قابل توجه باکتری‌های محرک رشد بر وزن تر گیاه داشته و می‌تواند جهت تقویت بوته‌ی چای و همچنین افزایش عملکرد آن، مورد استفاده قرار گیرد.

در راستای نتایج این پژوهش، گزارش شده است که تلقیح سویه ETR17 باکتری *Serratia marcescens* جداسازی شده از باغ‌های چای واقع در غرب بنگال نیز اثرات ارتقا دهنده رشد را در گیاه چای نشان داد. به طوری که ۵۵ روز پس از تلقیح این باکتری به خاک، طول ساقه و ریشه به ترتیب ۲۰ تا ۳۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت (۴۱). چاکرابورتی و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثرات مثبت این باکتری بر رشد گیاه چای و افزایش تقریباً ۵۰ درصدی ارتفاع نهال را گزارش کردند. اگرچه بیان نمودند که گونه‌های بومی منطقه سازگاری بهتری با شرایط محیطی نشان دادند (۴۲).

pH پایین‌تر، بیشتر از خاک ۲ بود و این تفاوت در تیمار شاهد از همه بیشتر بود (شکل ۵- ب). به نظر می‌رسد کنترل کننده کربن زیست‌توده در این خاک‌ها قارچ‌ها باشند که در خاک‌های اسیدی فراوانی بیشتری از باکتری‌ها دارند (۳۳). به هر حال، تلقیح خاک با باکتری‌ها و همچنین کوددهی سبب نزدیک شدن محتوای کربن زیست‌توده به هم، در دو خاک شده است. زیست توده میکروبی به سرعت و در کوتاه مدت به ورود کربن آلی از منابع مختلف پاسخ می‌دهد و چون اغلب خاک‌ها با محدودیت کربن روبرو هستند، بنابراین با توجه به افزایش مقدار کربن آلی در خاک‌ها به دنبال افزایش کودهای زیستی (شکل ۵- ب) مقدار کربن زیست توده میکروبی نیز افزایش یافته است. در واقع پیامد مثبت تیمارهای دارای کود زیستی نسبت به سایر تیمارها می‌تواند به این دلیل باشد که هر قدر کربن آلی خاک بالا باشد شرایط مناسب‌تری برای ریزجانداران فراهم شده، آن‌ها رشد نموده و زیست‌توده‌ی میکروبی به سرعت افزایش می‌یابد. تیپ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که استفاده از قارچ‌های تولید کننده آنزیم‌های زایلاناز، لیگنیناز و سلولاز تجزیه کننده مواد آلی خاک به عنوان کود زیستی، به طور معنی داری ماده آلی را از ۲/۱۹ تا ۴/۵۶ درصد افزایش و به دنبال آن سبب افزایش فعالیت میکروبی خاک و کربن زیست توده میکروبی شد (۳۸).

#### تاثیر تیمارها بر ویژگی‌های گیاه

وزن تر و خشک گیاه و مقدار محصول: آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای کودی بر ویژگی‌های مورد بررسی گیاه معنی دار و برهم کنش خاک و تیمارهای کودی معنی دار نبود. اثر تیمارهای کودی بر وزن تر، خشک و مقدار محصول گیاه در



شکل ۶- اثر تیمارهای کودی بر مقدار وزن تر گیاه (الف)، وزن خشک گیاه (ب) و مقدار محصول (ج)

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل کننده فسفر، BNP: کاربرد هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

**Figure 6- The effect of fertilizer treatments on plant fresh weight (a), plant dry weight (b) and yield (c)**  
 B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

رشدی گیاه، استفاده از آن‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌های کاربردی در راستای مدیریت تغذیه گیاهی برای سیستم کشاورزی پیشنهاد شده است (۴۳). نتایج این پژوهش نیز تایید می‌نماید که باکتری‌های محرک رشد به‌ویژه *Azospirillum* سبب افزایش وزن خشک گیاه می‌شود.

مقدار محصول در تیمار B کمترین مقدار را داشت و تفاوت آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود. در تیمار BNP نیز بیشترین مقدار محصول به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. اگرچه مقدار محصول در تیمارهای BN و BP بیشتر از تیمار C بود ولی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۶-ج) که بیانگر تاثیر بهتر کاربرد هم‌زمان باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفر می‌باشد. در پژوهش‌های مشابه گزارش شده است که تیمارهای زیستی از طریق تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین و جلوگیری از

کمترین مقدار وزن خشک در تیمار B مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. بیشترین مقدار در تیمار BNP مشاهده شد که با تیمار BN تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۶-ب). در یک پژوهش مشابه، کاهش ۱/۳ و ۱/۲ برابری مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار و فسفردار به‌همراه عملکرد یکسان در باغات چای با استفاده از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن *Azospirillum* و حل‌کننده فسفر *Bacillus cereus* مشاهده شد (۱۶). لیو و همکاران (۲۰۲۲) نیز گزارش کردند که تلقیح خاک با باکتری *Serratia marcescens* JW-CZ2 به مدت ۱۸۰ روز به طور معنی‌داری ارتفاع اندام هوایی، قطر ساقه و وزن خشک گیاه چای را به ترتیب ۵۳/۴۴، ۱۱/۳۷ و ۲۹/۳۴ درصد در مقایسه با گیاه شاهد افزایش داد که بیانگر اثرات مثبت این باکتری بر رشد گیاه چای است (۴). با توجه به تاثیر کودهای زیستی به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه بر ویژگی‌های

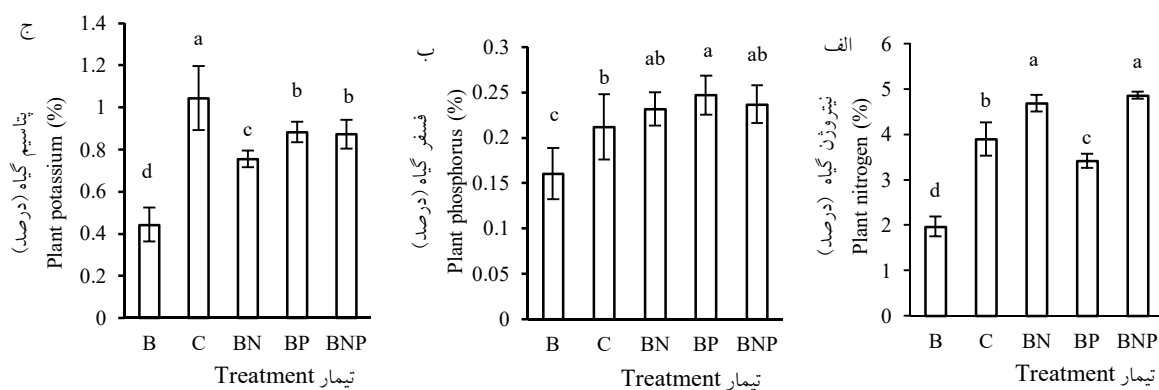


همکاران نیز (۲۰۱۴) گزارش کردند که تلقیح هم‌زمان *Bacillus megaterium* و *Azospirillum lipoferum* در گیاهان، سبب ایجاد تعادل در جذب فسفر و نیتروژن توسط گیاه می‌شوند (۳۶).

در همین راستا نتایج این پژوهش نیز بیانگر تاثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد بر روی درصد نیتروژن گیاه بود. مقدار نیتروژن در تیمار BN به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کود شیمیایی بود. با این حال کاربرد هم‌زمان باکتری حل‌کننده فسفر و تثبیت کننده نیتروژن (تیمار BNP) تاثیر بیشتری بر درصد نیتروژن گیاه داشت. مارکوس و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن با تولید آمونیوم نقش مهمی در رشد گیاه ایفا می‌نمایند و با تجمع نیتروژن به افزایش رشد ریشه، اندام هوایی و تولید زیست توده کمک می‌کنند (۴۶).

تولید هورمون اتیلن موجب بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه شده و مقدار محصول نهایی را افزایش می‌دهد (۴۴). همچنین باکتری‌های محرک رشد از طریق بهبود عملکرد آنزیم‌ها در فرایند فتوسنتز، تنفس سلولی، افزایش تقسیم و توسعه سلولی موجب افزایش رشد گیاه و در نهایت مقدار محصول تولیدی می‌شوند (۴۵). نتایج حاصل از این تحقیق هم نشان داد که باکتری‌های محرک رشد می‌توانند کارایی مناسبی در راستای افزایش محصول تولیدی داشته باشند و نسبت به کودهای شیمیایی بهتر عمل نمایند.

نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاه: مقدار نیتروژن گیاه در تیمار شاهد کمترین مقدار را داشت و تفاوت آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود. بیشترین مقدار نیتروژن گیاه در تیمار BNP مشاهده شد که با تیمار BN اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۷- الف). باردواج و



شکل ۷- اثر تیمارهای کودی بر مقدار نیتروژن (الف)، فسفر (ب) و پتاسیم (ج) گیاه

B: شاهد، C: کود شیمیایی، BN: کود زیستی *Azospirillum*، BP: کود زیستی باکتری حل کننده فسفر، BNP: کاربرد هم‌زمان کود زیستی *Azospirillum* و باکتری حل کننده فسفر. حروف یکسان روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد است. Error bars روی ستون‌ها خطای استاندارد است.

**Figure 7- The effect of fertilizer treatments on nitrogen (a), phosphorus (b) and potassium (c) of plant**  
 B: control, C: chemical fertilizer, BN: biofertilizer of *Azospirillum*, BP: biofertilizer of phosphorus solubilizing bacteria, BNP: Simultaneous application of biological fertilizer *Azospirillum* and phosphorus solubilizing bacteria. Same letters on the columns indicate not significant difference ( $p < 0.05$ ). Different fractions of phosphorus in different soils have been analyzed separately.

به‌طور مستقیم، سبب افزایش جذب پتاسیم در برگ شده و در نهایت رشد گیاه را افزایش می‌دهند (۳۶). با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد که باکتری‌های جداسازی شده از خاک ریزوسفر چای می‌توانند به عنوان کودهای زیستی در باغ‌های چای مورد استفاده قرار گیرند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، توانایی ریزوباکتری‌های بومی باغ‌های چای به عنوان کود زیستی در بهبود شاخص‌های فیزیکیوشیمیایی خاک و ارتقا رشد گیاه چای مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از تاثیر مثبت کاربرد کود زیستی بر ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک بود. همچنین تلقیح ریزوباکتری‌های بومی نه تنها اثر نامطلوبی بر فعالیت سایر ریزجانداران خاک نداشت، بلکه اثر مثبتی را نیز در روابط آن‌ها ایجاد کرد. اگرچه برای تعیین اثرات آن‌ها بر رشد گیاه در شرایط مزرعه به منظور بررسی اثرات متقابل طبیعی این باکتری‌ها با دیگر میکروفلور طبیعی خاک و گیاه میزبان به پژوهش‌های بیشتری نیاز است. در این پژوهش اثر بخشی تیمارهای دارای کود زیستی در بهبود جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش محصول گیاه را می‌توان بهترین جنبه عملکرد باکتری‌های محرک رشد دانست، زیرا که هدف نهایی استفاده از تیمارهای زیستی، بهبود تغذیه گیاه و افزایش عملکرد آن در کنار کمک به حفظ جنبه‌های زیست‌محیطی است. در این راستا می‌توان تیمارهای BNP و BN را به عنوان کودهای موثر در باغ‌های چای پیشنهاد نمود. اگرچه بررسی طولانی‌مدت طی چند دوره‌ی رشد و طی فصول مختلف سال برای ارزیابی‌های بیشتر مورد نیاز است.

درصد فسفر در تیمار BP بیشترین مقدار را نشان داد که با تیمارهای BN و BNP تفاوت معنی‌داری نداشت. اگرچه بین درصد فسفر گیاه در تیمار C با BP اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۷-ب). نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر تاثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با تیمار کود شیمیایی بر مقدار فسفر جذب شده توسط گیاه بود که علت این امر را می‌توان توانایی بالای این باکتری‌ها در تبدیل یون‌های فسفر غیرفراهم به فرم فراهم برای گیاه دانست. تاثیر مثبت کاربرد کودهای زیستی بر مقدار جذب فسفر توسط گیاه در پژوهش‌های گذشته نیز نشان داده شده است (۳۶).

بیشترین درصد پتاسیم گیاه در تیمار C مشاهده شد که در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود که با توجه به استفاده از کود شیمیایی سولفات پتاسیم این افزایش قابل انتظار بود. درصد پتاسیم گیاه در تیمارهای دارای کود زیستی کمتر از تیمار C بود، اگرچه درصد پتاسیم در تمامی تیمارهای کود زیستی بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۷-ج). افزایش درصد پتاسیم در تیمارهای BP و BNP در مقایسه با شاهد را می‌توان به کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر در این تیمارها نسبت داد. گزارش شده است که باکتری‌های حل‌کننده فسفر به دلیل تولید فراورده‌های اسیدی برای انحلال کانی‌های فسفات به بر حل‌الیت کانی‌های دارای پتاسیم نیز موثر بوده و سبب رهاسازی پتاسیم از آن‌ها می‌شوند که افزایش درصد پتاسیم در گیاه را به دنبال خواهد داشت (۴۷). پژوهش‌های مشابه نیز نشان داده‌اند که برخی از باکتری‌های *Pseudomonas* با تولید مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی و افزایش جذب مواد غذایی

## منابع

1. Wang, X., Han, C., Zhang, J., Huang, Q., Deng, H., Deng, Y., & Zhong, W. (2015). Long-term fertilization effects on active ammonia oxidizers in an acidic upland soil in China. *Soil Biology and Biochemistry*, 84: 28-37. doi:org/10.1016/j.soilbio.2015.02.013.
2. International Statistical Yearbook, (2018). National Bureau of Statistics of China. China Statistics Press Available at. doi:http://data.stats.gov.cn/files/latestpub/gjnj/2018/zk/indexch.htm.
3. Upadhyaya, H., & Panda, S.K. (2013). Abiotic stress responses in tea [*Camellia sinensis* L (O) Kuntze]: an overview. *Reviews in Agricultural Science*, 1: 1-10. doi: 10.7831/ras.1.1.
4. Liu, H., Chen, G.H., Sun, J.J., Chen, S., Fang, Y., & Ren, J.H. (2022). Isolation, characterization, and tea growth-promoting analysis of JW-CZ2, a bacterium with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity isolated from the rhizosphere soils of tea plants. *Frontiers in Microbiology*, 13:792876. doi: 10.3389/fmicb.2022.792876.
5. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Boyce, A.N. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability. *A Review Molecules*, 21: 573.
6. Ramakrishna, W., Yadav, R., & Li, K. (2019). Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138: 10-18. doi: 10.3390/molecules21050573.
7. Yirga, C., Erkossa, T., & Agegnehu, G. (2019). Soil acidity management; Ethiopian Institute of Agricultural Research (EIAR): Addis Ababa, Ethiopia.
8. Hu, Z., Ji, L., Wan, Q., Li, H., Li, R., & Yang, Y. (2022). Short-term effects of bio-organic fertilizer on soil fertility and bacterial community composition in tea plantation soils. *Agronomy*, 12: 2168. doi:10.3390/agronomy12092168.
9. Bhattacharjee, R.B., Singh, A., & Mukhopadhyay, S.N. (2008). Use of nitrogen fixing bacteria as biofertilizer for non-legumes: prospects and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 199-209. doi: 10.1007/s00253-008-1567-2.
10. Tang, S., Liu, Y.J., Zheng, N., Li, Y., Ma, Q.X., Xiao, H., Zhou, X., Xu, X.P., Jiang, T.M., He, P., & Wu, L.H. (2020). Temporal variation in nutrient requirements of tea (*Camellia sinensis*) in China based on QUEFTS analysis. *Science Report*, 10: 1745. doi: 10.1038/s41598-020-57809-x.
11. Wang, H., & Han, L.Z. (2019). Identification of four plant growth-promoting rhizobacteria isolated from tea rhizosphere. *Microbiology China*, 46: 548-562. doi: 10.13344/j.microbiol.china.180149
12. Gebrewold, A.Z. (2018). Review on integrated nutrient management of tea (*Camellia sinensis* L.). *Cogent Food and Agriculture*, 4(1): 1543536. doi: org/10.1080/23311932.2018.1543536.
13. Dutta, J., & Thakur, D. (2017). Evaluation of multifarious plant growth promoting traits, anta gonistic potential and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with commercial tea plants grown in Darjeeling, India. *PLoS ONE*, 12(8): e0182302. doi: 10.1371/journal.pone.0182302.
14. Chakraborty, U., Chakraborty, B.N., & Chakraborty, A.P. (2012). Induction of plant growth promotion in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium* and its bioformulations. *World Journal of Agricultural Sciences*, 8 (1): 104-112. Corpus ID: 18543293.
15. Nepolean, P., Jayanthi, R., Pallavi, R.V., Balamurugan, A., Kuberan, T., Beulah, T., & Premkumar, R. (2012). Role of biofertilizers in increasing tea productivity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1443-1445. doi:10.1016/S2221-1691(12)60434-1.
16. Tennakoon, P.L.K., Rajapaksha, R.M.C.P., & Hettiarachchi, L.S.K. (2019). Tea yield maintained in PGPR inoculated field plants despite significant reduction in fertilizer application. *Rhizosphere*, 10: 100146. doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100146.
17. Bouyoucos, G.J. (1936). Directions for making mechanical analyses of soils by the hydrometer method. *Soil Science*, 42(3): 225-230.
18. Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., & Sumner, M.E. (1996). Chemical methods, Methods of soil analysis. *SSSA Books Series*, 5, 961-1010.
19. Walkley, A., & Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1): 29-38.

20. Rowell, D.I. (1994). Soil science method and application, longman group, Limitation Score. *Computers and Geosciences*, 33: 1316-1326.
21. Olsen, S.R., & Watanabe, F.S. (1957). A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the Langmuir isotherm. *Soil Science Society of America Journal*, 21(2): 144-149. doi.org/10.2136/sssaj1957.03615995002100020004x.
22. Safari, A.A., Sharifi, Z., & Safari, M. (2010). Methods in Applied Microbiology. *Bualisina University press*. No: 200/k. (In Persian).
23. Sperber, J.I. (1958). The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research*, 9(6): 778-781. doi.org/10.1071/AR9580778.
24. Mehta, S., & Nautiyal, C. S. (2001). An efficient method for qualitative screening of phosphate solubilizing bacteria. *Journal of Current Microbiology*, 43: 51-56. doi: 10.1007/s002840010259
25. Jackson, M.L. (1958). Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ, 498 p.
26. Gupta, P.k. (1999). Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi, India. 350 pages.
27. Bremner, J.M., & Malvaney, C.S. 1982. Total nitrogen. In: Page, L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 2(2)*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, U.S.A, pp. 595-622.
28. Horneck, D.A., & Hanson, D. (2019). Determination of potassium and sodium by flame emission spectrophotometry. In *Handbook of reference methods for plant analysis* (pp. 153-155). CRC press.
29. Anderson, T.H., & Domsch, K. (1993). The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) 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(3): 393-395. doi.org/10.1016/0038-0717(93)90140-7.
30. Jenkinson, D. S. and Ladd, J. N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. in: Paul, E. A. and Ladd, J. N. (ed.) *Soil biochemistry: Volume 5* New York Marcel Dekker, Inc. pp. 415-471.
31. USDA-NCRS. 2017. The Plants Database National Plant Data Team U Plants [http://plants. Usda. Gov, accessed 26 November].
32. Wu, S., Zhuang, G., Bai, Z., Cen, Y., Xu, S., Sun, H., Han, X. & Zhuang, X. (2018). Mitigation of nitrous oxide emissions from acidic soils by *Bacillus amyloliquefaciens*, a plant growth-promoting bacterium. *Global Change Biology*, 24(6): 2352-2365. doi: 10.1111/gcb.14025.
33. Paul, E.A. ed., (2014). *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic press.
34. Nosheen, S., Ajmal, I., & Song, Y. (2021). Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production. *MDPI*, 13: 1-20. doi.org/10.3390/su13041868.
35. Dommelen, A.V., & Vanderleyden, J. (2007). *Biology of the Nitrogen Cycle*. Elsevier, 179-192.
36. Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K. & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13: 1-10. doi:10.1186/1475-2859-13-66.
37. Zhang, J.H., Huang, J., Hussain, S., Zhu, L.F., Cao, X.C., Zhu, C.Q., Jin, Q.Y., & Zhang, H. (2021). Increased ammonification, nitrogenase, soil respiration and microbial biomass N in the rhizosphere of rice plants inoculated with rhizobacteria. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(10): 2781-2796. doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63454-2.
38. Thiep, N.V., Soyong, K., Thi Kim Oanh, N., Huy Quang, P., & Hai Yen, P. 2019. Reserch and development of enzymatic producing fungi as biofertilizer for tea and arabica coffee production in Northern Vietna. *International Journal of Agricultural Technology*, 15(5): 797-806. http://www.ijat-aatsea.
39. Lifeng, M., Xiangde, Y., Yuanzhi, S., Xiaoyun, Y., Lingfei, J., Yi, Ch., Kang, N., & Jianyun, R. (2021). Response of tea yield, quality and soil bacterial characteristics to long-term nitrogen fertilization in an eleven-year field experiment. *Soil Ecology*, 166: 1-11. doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103976.
40. Enjavi, F., Taghvaei, M., Sadeghei, H., & Hassanli, H. 2015. Effects of superabsorbent polymer on early vigor and water use efficiency of (*Calotropis procera* L.) seedlings under drought stress. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, 22 (2): 216-230. doi: org/10.22092/ijrdr.2015.101641
41. Dhar Purkayastha, G., Mangar, P, Saha, A., & Saha, D. (2018). Evaluation of the biocontrol efficacy of a *Serratia marcescens*

- strain indigenous to tea rhizosphere for the management of root rot disease in tea. *PLoS ONE*, 13(2): e0191761. doi: 10.1371/journal.pone.0191761.
42. Chakraborty, U, Chakraborty, B.N., Chakraborty, A.P., Sunar, K., & Dey, P.L. (2013). Plant growth promoting rhizobacteria mediated improvement of health status of tea plants. *Indian Journal of Biotechnology*, 12: 20-31. WOS:000318531500003.
43. Sharma, A.K. (2003). Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios. India. 407p.
44. Chinnusamy, V., Schumaker, K. & Zhu, J.K. (2004). Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 55: 225-236. doi: 10.1093/jxb/erh005.
45. Nadjafi, F. (2002). Effect of irrigation intervals and plant density on quantity and quality of Isubgol (*Plantago ovate* Forsk). M.Sc.Thesis. 5: 45-52.
46. Marques, J.M., Mateus, J.R., da Silva, T.F., de Almeida Couto, C.R., Blank, A.F., & Seldin, L. (2019). Nitrogen fixing and phosphate mineralizing bacterial communities in sweet potato rhizosphere show a genotype-dependent distribution. *Diversity*, 11(12): 231. doi: org/10.3390/d11120231.
47. Panda, P., Choudhury, A., Chakraborty, S., Ray, D.P., Deb, S., Patra, P.S., Mahato, B., Paramanik, B., Singh, A.K., & Chauhan, R.K. (2017). Phosphorus solubilizing bacteria from tea soils and their phosphate solubilizing abilities. *International Journal of Bioresource Science*, 4(2): 113-125. doi:10.5958/2454-9541.2017.00018.4

