



Using urease-producing bacteria *Enterobacter cloacae* and *Corynebacterium glutamicum* for stabilizing sandy soil and reducing wind erosion

Maryam Dehghanpour¹, Naeimeh Enayatizamir^{*2}, Ahmad Landi³,
Heidar Ghafari⁴

1. Ph.D. Student, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: maryam.dehghanpour.1364@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: n.enayatizamir@scu.ac.ir
3. Professor, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: landi@scu.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: h.ghafari@scu.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.17.2024
Revised: 09.24.2024
Accepted: 09.30.2024

Keywords:
Erodible fraction,
Mean weight diameter of
soil aggregates,
Penetration resistance,
Shear strength,
Soil loss

ABSTRACT

Background and Objectives: Soil is a reservoir of millions of microorganisms, most of which have beneficial effects on agriculture, soil health, and protection against erosive forces. Some soil bacteria produce the enzyme urease, which, by altering the concentration of hydrogen ions and producing bicarbonate ions in the presence of calcium, leads to the precipitation of calcium carbonate. Biotechnological methods can be used to increase soil resistance against wind forces. In this study, the ability of two bacteria, *Enterobacter cloacae* and *Corynebacterium glutamicum*, to produce urease and their effectiveness in increasing soil resistance and reducing wind erosion were investigated.

Materials and Methods: Sandy soil was collected from a critical wind erosion area in southeast Ahvaz and placed in trays with dimensions of 50×30×3 cm. Fresh cultures of each bacterium, *E. cloacae* and *C. glutamicum*, were separately centrifuged, and the microbial cells were formed into pellets. The supernatant was discarded, and the microbial cells were re-suspended in physiological saline. The bacterial suspension was sprayed onto the trays containing treated soil to achieve a bacterial population of 5×10⁶ CFU/g. Different molar ratios of the chemical solution (urea: calcium chloride, including 1:1, 1:2, and 1:3) were sprayed onto the soil surface. The experiment was conducted in a factorial design within a completely randomized design. The factors included different levels of urea: calcium chloride (no urea and calcium chloride, 1:1 ratio, 1:2 ratio, and 1:3 ratio) and bacterial inoculation (no bacteria, a mixture of the two bacteria, *E. cloacae*, and *C. glutamicum*). The samples were maintained under environmental conditions with 70-75% moisture content for 60 days. Before measurements, the soil samples were dried at room temperature. Some soil properties, including soil loss in a wind tunnel, erodible fraction, mean weight diameter (MWD) of soil aggregates, penetration resistance, and shear strength were measured.

Results: Both bacteria were capable of producing urease. The results showed that the interaction between bacteria and the urea: calcium chloride ratio had a significant effect on the measured characteristics. The lowest soil loss in the wind tunnel was observed in the treatment with the mixture of both bacteria, followed by *E. cloacae* with the application of a urea to calcium chloride ratio of 1:2. The highest soil loss was recorded in the treatment without bacterial inoculation and without adding urea and calcium chloride. The mean weight diameter (MWD) of soil aggregates in the treatment without bacteria, with *C. glutamicum*, *E. cloacae*, and the mixture of both bacteria at a 2:1 urea to calcium chloride ratio were 1.04, 3.79, 3.34, and 3.90 mm, respectively. The lowest erodible fraction in the treatments without bacteria, with *C. glutamicum*, *E. cloacae*, and the mixture of the two bacteria at a 2:1 urea to calcium chloride ratio were 98.7%, 82.68%, 86.92%, and 81.47%, respectively.

Conclusion: The results showed that using a mixture of the two bacteria or using *E. cloacae* with a 1:2 ratio of the urea: calcium chloride cement solution helped increase soil resistance against wind erosion. The increase in soil penetration resistance and shear strength with the treatments is likely due to the lower amount of the erosion-sensitive fraction and the larger MWD in the soil.

Cite this article: Dehghanpour, Maryam, Enayatizamir, Naeimeh, Landi, Ahmad, Ghafari, Heidar. 2025. Using urease-producing bacteria *Enterobacter cloacae* and *Corynebacterium glutamicum* for stabilizing sandy soil and reducing wind erosion. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 14 (4), 75-95.



© The Author(s).

DOI: -----

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

استفاده از باکتری‌های تولیدکننده اوره از *Enterobacter cloacae* و *Corynebacterium glutamicum* برای تثبیت خاک شنی و کاهش فرسایش بادی

مریم دهقان‌پور^۱، نعیمه عنایتی‌ضمیر^{۲*}، احمد لندی^۳، حیدر غفاری^۴

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: maryam.dehghanpoor.1364@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: n.enayatzamir@scu.ac.ir
۳. استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: landi@scu.ac.ir
۴. استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: h.ghafari@scu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹</p>	<p>سابقه و هدف: خاک مخزن میلیون‌ها میکروارگانیسم است که بیشتر میکروب‌های موجود در آن اثرات مفیدی بر کشاورزی، سلامت خاک و حفاظت خاک در برابر نیروهای فرساینده دارند. برخی از باکتری‌های خاک دارای توانایی تولید آنزیم اوره‌آز هستند که با تغییر در غلظت یون هیدروژن و تولید یون‌های بی‌کربنات در حضور کلسیم منجر به رسوب کربنات کلسیم می‌شوند. به کمک فناوری زیستی می‌توان مقاومت خاک را در برابر نیروی باد افزایش داد. در پژوهش حاضر توانایی تولید آنزیم اوره‌آز توسط دو باکتری <i>Enterobacter cloacae</i> و <i>Corynebacterium glutamicum</i> و کارایی آن‌ها در افزایش استحکام خاک و کاهش فرسایش بادی بررسی شده است.</p>
<p>واژه‌های کلیدی: ترسیب کربنات کلسیم، مقاومت فروری، مقاومت برشی، میانگین وزنی قطر خاکدانه، هدررفت</p>	<p>مواد و روش‌ها: خاک شنی از منطقه بحرانی فرسایش بادی در جنوب شرق اهواز تهیه شد و درون سینی‌هایی با ابعاد ۳۰×۳۰×۵۰ سانتی‌متر ریخته شدند. کشت تازه هر یک از دو باکتری <i>E. cloacae</i> و <i>C. glutamicum</i> به‌طور جداگانه سانتریفیوژ شده و سلول‌های میکروبی به‌صورت قرص درآمدند، سپس محلول رویی دور ریخته شد و سلول‌های میکروبی دوباره در سرم فیزیولوژی به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. سوسپانسیون باکتری به مقداری که جمعیت باکتری در خاک (CFU/g) 1×10^6 (۱/۵) گردد، به سینی‌های دارای تیمار باکتری اسپری شدند. سپس نسبت‌های مولی متفاوت محلول شیمیایی (اوره: کلرید کلسیم شامل ۱:۱ و ۲:۱ و ۳:۱) به سطح خاک اضافه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورها شامل سطوح مختلف اوره: کلرید کلسیم (بدون اوره و کلرید کلسیم، نسبت ۱:۱؛ نسبت ۲:۱؛ و نسبت ۳:۱ اوره و کلرید کلسیم) و مایه‌زنی باکتری (بدون باکتری، مخلوط و</p>

باکتری، *E. cloacae* و *C. glutamicum* بودند. نمونه‌ها در شرایط محیطی با حفظ رطوبت در حد ۷۵-۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. نمونه‌های خاک پیش از اندازه‌گیری‌ها در دمای محیط خشک شدند؛ سپس برخی ویژگی‌های خاک شامل هدرروی خاک در تونل باد، جزء حساس به فرسایش، میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها، مقاومت فروری و برشی خاک اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: دو باکتری مورد استفاده دارای توانایی تولید آنزیم اوره‌آز بودند. نتایج نشان داد که اثر متقابل باکتری و نسبت اوره : کلرید کلسیم بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار است. کم‌ترین میزان هدررفت خاک در تونل باد، مربوط به تیمار دارای مخلوط دو باکتری و پس از آن *E. cloacae* با کاربرد نسبت اوره به کلرید کلسیم ۱ به ۲ بود و بیش‌ترین مقدار در تیمار بدون تلقیح باکتری و بدون افزودن اوره و کلرید کلسیم اندازه‌گیری شد. میانگین وزنی قطر خاکدانه در تیمار بدون باکتری، دارای *E. cloacae*، *C. glutamicum* و مخلوط دو باکتری در نسبت ۲:۱ اوره به کلرید کلسیم به ترتیب ۱/۰۴، ۳/۷۹، ۳/۳۴ و ۳/۹۰ میلی‌متر بود. کم‌ترین مقدار جزء حساس به فرسایش در تیمار بدون باکتری، دارای *E. cloacae*، *C. glutamicum* و مخلوط دو باکتری در نسبت ۲:۱ اوره و کلرید کلسیم به ترتیب ۹۸/۷، ۸۲/۶۸، ۸۶/۹۲ و ۸۱/۴۷ درصد اندازه‌گیری شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که استفاده از مخلوط دو باکتری یا استفاده از *E. cloacae* و نسبت ۲:۱ محلول سیمانی اوره: کلرید کلسیم به افزایش مقاومت خاک در برابر نیروی فرساینده باد کمک کرد. افزایش مقاومت فروری و برشی خاک با اعمال تیمارها احتمالاً به دلیل کم‌تر بودن مقدار جزء حساس به فرسایش و بیش‌تر بودن میانگین هندسی قطر ذرات در خاک است.

استناد: دهقان‌پور، مریم، عنایتی‌ضمیر، نعیمه، لندی، احمد، غفاری، حیدر (۱۴۰۳). استفاده از باکتری‌های تولیدکننده اوره‌آز *Enterobacter cloacae* و *Corynebacterium glutamicum* برای تثبیت خاک شنی و کاهش فرسایش بادی. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۴ (۴)، ۷۵-۹۵.

DOI: -----



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فرسایش بادی نقش مهمی در تخریب خاک و کاهش کیفیت زمین‌های کشاورزی دارد و می‌تواند منبع اصلی آلودگی هوا در مناطق خشک و نیمه‌خشک باشد. بادهای با سرعت ۵/۳ متر بر ثانیه قادر به انتقال تپه‌های شنی و پوشش زمین‌های کشاورزی هستند (۱). طوفان شن یک مشکل جدی جهانی است زیرا باعث تخریب زمین در مناطق خشک و نیمه‌خشک شده و منجر به فرسایش‌های روان و انتشار ذرات گرد و غبار می‌شود.

طوفان‌های گرد و غبار در سال‌های اخیر به منابع مهم آلودگی هوا در مناطق وسیعی از ایران تبدیل شده‌اند. این طوفان‌ها، قبلاً محدود به فصل تابستان و غرب ایران بوده است؛ اما امروزه طوفان‌های گرد و غبار در طول هشت ماه از سال رخ می‌دهد و به مناطق مرکزی و جنوب ایران می‌رسد (۲). این امر باعث ایجاد مشکلات فزاینده‌ای برای ساکنان مناطق آسیب دیده، تهدید سلامت آن‌ها و آسیب رساندن به فعالیت‌های اجتماعی، اقتصادی و کشاورزی می‌شود (۲ و ۳). گرد و غبار آلوده که توسط باد گرم غالب شمال غربی به نام شمالی منتقل می‌شود، به یک مشکل بزرگ بهداشتی برای ساکنان اهواز تبدیل شده است (۴). بنابراین، بهبود روش‌های حفاظت از خاک برای کاهش فرسایش بادی برای بهره‌برداری پایدار از خاک، مدیریت زیست‌محیطی و حفظ سلامت انسان در این منطقه و همچنین در سایر مناطق خشک و نیمه‌خشک ضروری است.

روش‌های مختلفی برای کاهش و کنترل فرسایش بادی استفاده می‌شوند، مانند روش‌های زراعی و ایجاد پوشش گیاهی، نفوذ سطحی، افزودنی و پوشش سطحی، تثبیت شیمیایی و روش‌های مهندسی (۵ و ۶). هر یک از روش‌ها دارای محدودیت‌هایی در عملکرد و کاربرد هستند.

در روش استفاده از پوشش گیاهی، ریشه‌ها به نگهداری ذرات خاک در کنار هم کمک می‌کنند، اما در شرایط غذایی و دمایی نامطلوب در خاک توسعه پوشش گیاهی با محدودیت مواجه است (۷). تثبیت‌کننده‌های شیمیایی مسائل زیست‌محیطی ایجاد می‌کنند که عمدتاً مربوط به آلودگی آب‌های زیرزمینی است، بنابراین استفاده از آن‌ها با محدودیت مواجه است (۸). روش‌های مهندسی امکان‌پذیر نیستند زیرا به نیروی انسانی و منابع مالی زیادی نیاز دارند (۹، ۱۰ و ۱۱). یک روش زیستی برای تثبیت خاک با القای رسوب کربنات کلسیم از طریق کاربرد ترکیبی کلسیم، اوره و باکتری‌های هیدرولیزکننده اوره پیشنهاد شده است. این روش رسوب میکروبی کلسیت^۱ (MICP) نامیده می‌شود و برای محیط زیست بی‌ضرر است (۱۲) و برای تقویت ویژگی‌های خاک استفاده شده است (۱۳، ۱۴ و ۱۵). این روش، نه تنها برای ماسه، بلکه برای خاک رس نیز توسعه یافته است (۱۶).

یکی از باکتری‌های هوازی هیدرولیزکننده اوره *Sporosarcina pasteurii* است که به دلیل فعالیت اوره‌آزی بالا در تثبیت خاک استفاده شده است تا مقادیر زیادی کربنات کلسیم را در مدت زمان کوتاه رسوب دهد (۱). برخی پژوهش‌گران دلیل استحکام خاک در برخی مناطق را وجود باکتری *S. pasteurii* و فرایند رسوب زیستی کربنات کلسیم ذکر کرده‌اند (۱۷ و ۱۸). باکتری‌های اوره‌آزی در صورت وجود اوره، موجب هیدرولیز آن به یون‌های آمونیوم و کربنات می‌شوند؛ یون‌های کربنات تولید شده در حضور کلسیم به صورت کربنات کلسیم رسوب می‌کند. رسوب کربنات کلسیم پل‌هایی را در بین ذرات خاک ایجاد کرده و باعث استحکام خاک و محافظت از آن در برابر ضربه باد و کاهش فرسایش

1- Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه خاک: بر اساس مطالعات قبلی و بازدید میدانی، خاک شنی از لایه سطحی مناطق بحرانی فرسایش بادی در جنوب شرق اهواز، با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه ۱۲ دقیقه شمالی و طول ۴۸ درجه ۵۹ دقیقه شرقی تهیه شد (۲۷). یک زیرنمونه از خاک به منظور انجام آزمایش‌های شیمیایی و فیزیکی تهیه شد و پس از عبور دادن از الک ۲ میلی‌متر برخی ویژگی‌ها شامل بافت، کربن آلی، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع و pH اندازه‌گیری شد. برخی ویژگی‌های خاک در جدول ۱ آورده شده است.

تهیه باکتری با فعالیت اوره‌آزی: دو باکتری *Enterobacter cloacae* strain sugR_1 و *Corynebacterium glutamicum* strain 14B MN220554 و KX262849 به ترتیب با کد دسترسی از کلکسیون میکروبی گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز انتخاب شدند. سنجش فعالیت اوره‌آزی در لوله آزمایش حاوی محیط کشت جامد اوره-آگار انجام شد. تغییر رنگ محیط به صورتی توسط باکتری نشان دهنده فعالیت اوره‌آزی باکتری‌ها است. به منظور کمی کردن فعالیت اوره‌آزی، چند کلنی از هر یک از باکتری‌ها به محیط غذایی مایع (۱۰ گرم در لیتر پپتون، ۳ گرم در لیتر عصاره گوشت، ۵ گرم در لیتر کلرید سدیم) و ۲۰ گرم در لیتر اوره (۲۸)، بدون افزودن فنل رد تلقیح شد، سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تکان‌دهنده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. مقدار pH محیط پس از ۲۴ ساعت با pH متر (زاگ شیمی) اندازه‌گیری گردید. به منظور تایید حضور اوره‌آزی به بخشی از محیط معرف فنل رد اضافه شد. برای سنجش مستقیم فعالیت اوره‌آزی، مقدار دو میلی‌لیتر از کشت ۲۴ ساعته (با دانسیته نوری در ۶۰۰ نانومتر معادل ۱) در ظرف حاوی ۱۸ میلی‌لیتر محلول اوره ۱/۱۱ مولار تلقیح شد

خاک می‌شود (۱۹ و ۲۰). رسوب کربنات ناشی از فعالیت میکروبی از مسیرهای متابولیک باکتری‌ها برای تشکیل کربنات کلسیم استفاده می‌کند و ذرات خاک را به یکدیگر متصل می‌کند (۲۱).

تیمار لایه بالایی سطح ماسه توسط باکتری‌ها و محلول سیمانی‌کننده از طریق تکنیک MICP یک لایه نازک یکپارچه ایجاد کرده و از فرسایش بادی جلوگیری می‌کند. با این حال، ذرات تیمار نشده که در زیر لایه قرار دارند، یکپارچه نیستند و در نتیجه باعث جابجایی یک لایه نازک در حضور آب می‌شود و احتمال فرسایش را افزایش می‌دهد (۲۲). در روش MICP کلسیم معمولاً به شکل کلرید کلسیم برای سیمانی شدن اضافه می‌شود (۲۳). رسوبات کربنات کلسیم از منابع مختلف کلسیم در خاک‌ها از نظر مورفولوژی و اندازه متفاوت است. محلول‌های شیمیایی مانند کلرید کلسیم، نیترات کلسیم، استات کلسیم، لاکتات کلسیم و گلوکونات کلسیم برای تامین کلسیم برای MICP استفاده شده است (۲۴). کلسیم یک عنصر اصلی است که می‌تواند از مواد طبیعی به‌عنوان منابع کلسیم بازیافتی برای MICP استخراج شود. هنگامی که یون‌های کلسیم آزاد آب دریا (۲۴)، کلسیم حل شده از پوسته تخم‌مرغ برای تثبیت خاک‌های شنی استفاده شده است؛ این مواد بازیافتی و ارزان‌تر از محلول‌های شیمیایی کلسیم معمولی هستند (۲۵). اوره با عیار کشاورزی و کلرید کلسیم با دو مولکول آب با عیار پایین را نیز می‌توان در روش MICP استفاده کرد (۲۶). پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر باکتری‌هایی با توانایی تولید آنزیم اوره‌آزی و نسبت‌های مختلف اوره : کلرید کلسیم بر افزایش مقاومت خاک شنی و کاهش هدرروی خاک در تونل باد انجام شده است.

شد. به نمونه‌های بدون باکتری، به همان حجمی که برای نمونه‌های دارای باکتری اضافه شد، از محلول حاوی ۰/۳ درصد کلرید سدیم و نوترینت برات استفاده شد. در تیمار مخلوط دو باکتری، دو باکتری به‌گونه‌ای با هم مخلوط شدند که جمعیت نهایی معادل $10^8 \times 10^8$ CFU/ml باشد و از این سوسپانسیون برای اسپری به خاک استفاده شد. سپس نسبت‌های مولی متفاوت محلول شیمیایی (اوره : کلرید کلسیم شامل ۱:۱ و ۲:۱ و ۳:۱) به سطح خاک اسپری شد. اوره از شرکت مرک و کلرور کلسیم از شرکت پتروشیمی کارون تشکر تهیه شد. نمونه‌ها در شرایط محیطی با رطوبت اولیه در حد ۷۵-۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک، خاک درون سینی‌ها در دامای محیط خشک شدند.

تونل باد: برای ارزیابی تأثیر تیمارها بر میزان فرسایش بادی خاک از یک تونل باد ثابت مدار باز با طول ۸ متر و عرض ۰/۷ متر و یک فن دمنده مدل زیمنس ILA5 با دور موتور ۳۵۲۵ rpm استفاده شد. سینی‌های حاوی نمونه‌های خاک در اتاق آزمون تونل باد قرار گرفتند و هر کدام به‌صورت جداگانه تحت آزمایش قرار گرفتند. سرعت باد از صفر تا ۱۵ متر بر ثانیه با آهنگ ۰/۰۵ متر بر ثانیه افزایش یافت. در حین افزایش سرعت باد، از دریچه شیشه‌ای تونل باد، حرکت ذرات سطح خاک به‌صورت چشمی زیرنظر گرفته شد و سرعتی که در آن ذرات خاک شروع به حرکت کردند به عنوان سرعت آستانه فرسایش بادی در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری سرعت باد از بادسنج نوع سیم داغ مدل TES-1341 استفاده شد. در پایان آزمایش، سینی‌های حاوی نمونه خاک توسط ترازوی دیجیتال وزن شد و مقدار کاهش وزن سینی‌ها نسبت به وزن اولیه به‌عنوان مقدار کل فرسایش (هدرروی خاک) در نظر گرفته شد.

و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس قرار گرفت. مقدار هدایت الکتریکی با هدایت‌سنج (زاگ شیمی) اندازه‌گیری و ثبت شد (۲۹). فعالیت ویژه اوره‌آز (میلی‌مولار اوره هیدرولیز شده در دقیقه در واحد OD) با تقسیم فعالیت اوره‌آز (mM اوره هیدرولیز شده در دقیقه) بر OD600nm زیتوده باکتریایی به‌دست آمد (۳۰). مقدار اوره هیدرولیز شده (میلی‌مولار) از حاصل ضرب مقدار هدایت الکتریکی (mS cm^{-1}) در ۱۱/۱۱ به‌دست آمد (۱۷). هم‌چنین برای سنجش فعالیت اوره‌آز از روش رنگ‌سنجی نیز استفاده شد. مقدار آمونیوم حاصل از هیدرولیز اوره توسط آنزیم اندازه‌گیری شد. به این منظور مقدار ۲۰۰ میکرولیتر معرف نسلر به ۴ میلی‌لیتر نمونه اضافه شد و پس از یک دقیقه مقدار جذب آن در طول موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد. در صورت حضور آمونیوم پس از افزودن معرف نسلر، رنگ زرد می‌شود (۱۷). منحنی استاندارد با استفاده نمک کلرید آمونیوم در غلظت‌های ۰، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیوم تهیه شد (۳۱).

تهیه سینی‌ها: کشت تازه دو باکتری به مدت ۸ دقیقه با قدرت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سلول‌های میکروبی به صورت قرص درآمدند، سپس روش‌ناور دور ریخته شد و سلول‌های میکروبی دوباره در سرم فیزیولوژی به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. کدوری سوسپانسیون میکروبی بر اساس استاندارد مک‌فارلند ($10^8 \times 10^8$ CFU/ml) بود. مقدار معینی خاک (۷ کیلوگرم) پس از عبور از الک ۴/۷۵ میلی‌متر در ظرف‌های فلزی با ابعاد 50×30 و عمق ۳ سانتی‌متر ریخته شد. پس از تعیین جمعیت، از سوسپانسیون باکتری به مقداری که جمعیت میکروبی معادل $10^6 \times 10^6$ CFU/g گردد به محلول حاوی ۳ گرم در لیتر نوترینت برات اضافه و به خاک اسپری

1- Optical density

جدول ۱- برخی مشخصات خاک‌های مورد مطالعه.

Table 1. Some characteristics of the studied soil.

کربن آلی OC (%)	ECe (dS m ⁻¹)	pH	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	بافت خاک Soil texture
0.034	0.67	7.7	3.65	5.35	91	شنی Sandy

که، X_i میانگین قطر، W و W_i وزن خاکدانه‌های باقی‌مانده روی هر الک، TW وزن خاک خشک می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه واریانس داده‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار با نرم‌افزار استاتستیک نسخه ۸/۱ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تلقیح باکتری (بدون تلقیح میکروبی، تلقیح *E. cloacae*، تلقیح *C. glutamicum* و مخلوط دو باکتری) و نسبت‌های مختلف اوره: کلرید کلسیم (بدون اوره: کلرید کلسیم، نسبت ۱:۱ اوره: کلرید کلسیم، نسبت ۲:۱ اوره: کلرید کلسیم و نسبت ۳:۱ اوره: کلرید کلسیم) بودند.

نتایج و بحث

تولید اوره‌آز توسط باکتری‌های مورد بررسی: تغییر رنگ محیط کشت جامد و مایع حاوی اوره توسط هر دو باکتری مورد استفاده به صورتی در شکل ۱ نشان‌دهنده فعالیت اوره‌آزی این باکتری‌ها است. مقدار pH محیط بدون باکتری ۷/۸ و در محیط حاوی *E. cloacae* و *C. glutamicum* پس از تولید آنزیم اوره‌آز به ترتیب ۹/۴۵ و ۹/۰ بود.

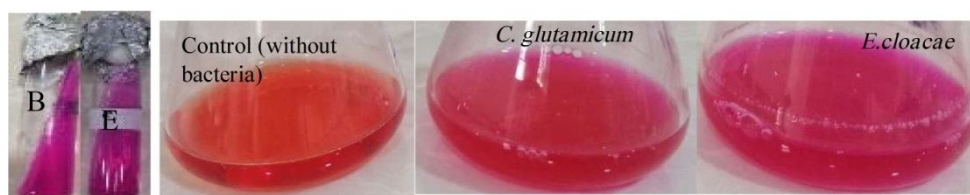
پس از پایان آزمایش تونل باد، مقاومت فروروی خاک توسط دستگاه نفوذسنج دستی مدل ASTM D1558 در چندین نقطه از سطح نمونه خاک‌ها تعیین شد. مقاومت برشی خاک توسط دستگاه پره برشی (شرکت eijkelkamp) اندازه‌گیری شد.

پایداری خاکدانه‌ها و جزء حساس به فرسایش: پایداری خاکدانه‌ها توسط آزمون الک خشک به صورت دستی تعیین شد (۳۲). برای این منظور حدود یک تا ۳۰۰ گرم خاک خشک (TW) از یک سانتی‌متر سطحی خاک برداشته شد و از الک ۱۹ میلی‌متر عبور داده شد. سپس با استفاده از سری الک‌ها شامل ۵، ۲، ۱ و ۰/۵ توسط شیکر رفت و برگشتی به ترتیب در دو نوبت متوالی به مدت نیم و ۵ دقیقه الک شدند. سپس وزن خاک باقی‌مانده روی الک یک میلی‌متر در زمان‌های نیم دقیقه و پنج دقیقه اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده از نیم دقیقه الک کردن برای محاسبه درصد ذرات حساس به فرسایش (EF) و نتایج حاصل از ۵ دقیقه الک کردن برای تعیین میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها (MWD^1) مورد استفاده قرار گرفت.

$$EF = \frac{W_{<1 \text{ mm}}}{TW} \times 100$$

$$MWD = \sum X_i \cdot W_i$$

1- Mean weight diameter



شکل ۱- آزمون تولید اوره‌آز توسط نمونه *C. glutamicum* و *E. cloacae*.

تغییر رنگ از نارنجی به صورتی نشان‌دهنده فعالیت اوره‌آز است.

Figure 1. The urease production test by *E. cloacae* and *C. glutamicum*. The color change from orange to pink indicates urease activity.

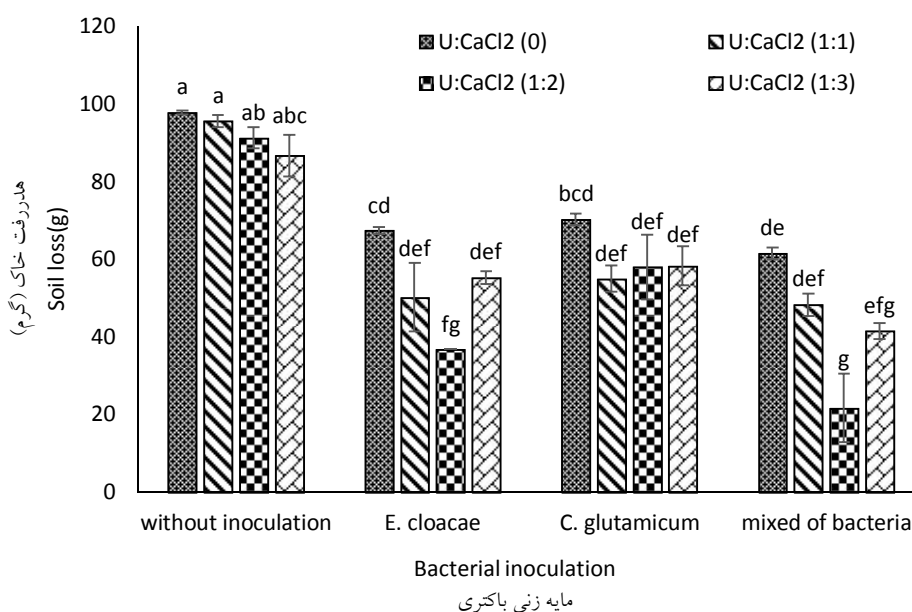
بر فعالیت اوره‌آز و رسوب کلسیم تأثیر می‌گذارند (۳۸). بررسی عوامل مؤثر بر فعالیت اوره‌آز به منظور تولید بهینه آنزیم و حفظ فعالیت ضروری است. تأثیر تیمارها بر هدررفت خاک، مقاومت فروری و برشی خاک: نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارها در خاک شنی در جدول ۲ آورده شده است که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارها بر مقدار هدررفت خاک در سطح احتمال پنج درصد است. آزمون مقایسه میانگین با آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها از نظر مقدار هدررفت خاک است. بیش‌ترین میزان هدررفت خاک در اثر باد (شکل ۲) در تیمار شاهد (بدون افزودن باکتری و محلول کلرید کلسیم : اوره) و کم‌ترین مقدار به ترتیب در تیمارهای مخلوط دو باکتری و *E. cloacae* با کاربرد نسبت ۲:۱ اوره و کلرید کلسیم اندازه‌گیری شد (شکل ۲). تلقیح میکروبی باعث کاهش میزان هدرروی خاک شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارها بر مقدار مقاومت فروری و برشی خاک است. آزمون مقایسه میانگین‌ها نشان داد بین مقاومت فروری خاک‌ها در تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. بیش‌ترین میزان مقاومت فروری خاک در نسبت یک به دو اوره به کلرید کلسیم و در تیمار مخلوط دو باکتری و پس از آن *E. cloacae* اندازه‌گیری شد (شکل ۳).

یک مول اوره به یک مول آمونیاک و یک مول اسید کاربامیک هیدرولیز می‌شود که در مراحل بعدی به‌طور خود به خودی به یک مول دیگر آمونیاک و اسید کربنیک هیدرولیز می‌شود. این دو محصول (H_2CO_3 و NH_3) در آب به تعادل می‌رسند و بیکربنات و دو مول آمونیوم و دو مول یون هیدروکسید تشکیل می‌دهند. یونهای هیدروکسید باعث افزایش pH می‌شوند که می‌تواند تعادل بیکربنات را تغییر دهد و منجر به تشکیل یونهای کربنات شود (۳۳ و ۳۴). مقدار فعالیت ویژه *C. glutamicum* و *E. cloacae* به ترتیب ۱۲/۲۱ و ۴/۴۴ (میلی‌مولار اوره هیدرولیز شده بر دقیقه بر واحد OD) اندازه‌گیری شد. مقدار آمونیوم حاصل از هیدرولیز اوره توسط *C. glutamicum* و *E. cloacae* به ترتیب ۴۳۲ و ۱۴۴ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. انواع مختلفی از باکتری‌ها قادر به تولید مقادیر مختلفی از اوره‌آز و رسوب کربنات کلسیم هستند. گروه باکتری‌های باسیلوس یک نوع رایج از باکتری‌ها است که برای تولید اوره‌آز و رسوب کلسیت استفاده می‌شود. تولید اوره‌آز توسط *B. megaterium* SS3 به مقدار ۶۹۰ u/ml و مقدار رسوب کلسیت ۱۸۷ mg/100ml (۳۵ و ۳۶)، تولید آنزیم توسط *Bacillus* sp. CR2 به مقدار ۴۳۲ u/ml و مقدار رسوب کلسیت ۲/۳۲ mg/cell mass گزارش شده است (۳۷). عوامل زیادی از جمله نوع باکتری، مقدار زیتوده باکتری، pH، دما، و غلظت‌های اوره و کلسیم

جدول ۲- میانگین مربعات اثر تیمارها بر برخی ویژگی‌های فیزیکی خاک شنی.

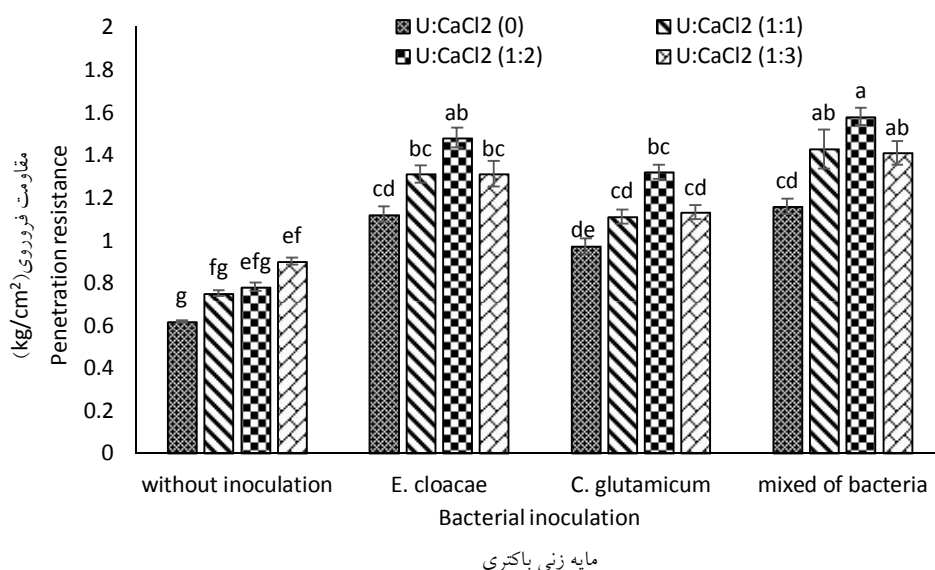
Table 2. Mean square of treatments effect on some physical properties of soil.

EF	MWD	مقاومت برشی	مقاومت فروری	هدرفت خاک	درجه آزادی	منبع تغییرات
755.61*	1.89**	14.039*	0.930**	5622.04**	3	باکتری Bacterium
222.61**	2.80**	1.999**	0.218**	1127.26**	3	اوره : کلرورکلسیم Urea:CaCl ₂
28.77 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.203 ^{ns}	0.085*	147.58*	9	باکتری × اوره به کلرورکلسیم Bacterium×Urea:CaCl ₂
7.71	0.055	0.04	0.005	60.08	32	خطا Error
3.05	9.23	12.59	6.08	12.51		CV



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌ها و نسبت‌های مختلف اوره : کلرور کلسیم بر هدرفت خاک. ستون‌های با حروف مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد با آزمون توکی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 2. Mean comparison of the interaction effect of bacteria and different ratios of urea: CaCl₂ on soil loss. Columns with the same letters are not statistically different at the 5% level with Tukey's test.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌ها و نسبت‌های مختلف اوره : کلرور کلسیم بر مقاومت فروری خاک. ستون‌های با حروف مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد با آزمون توکی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

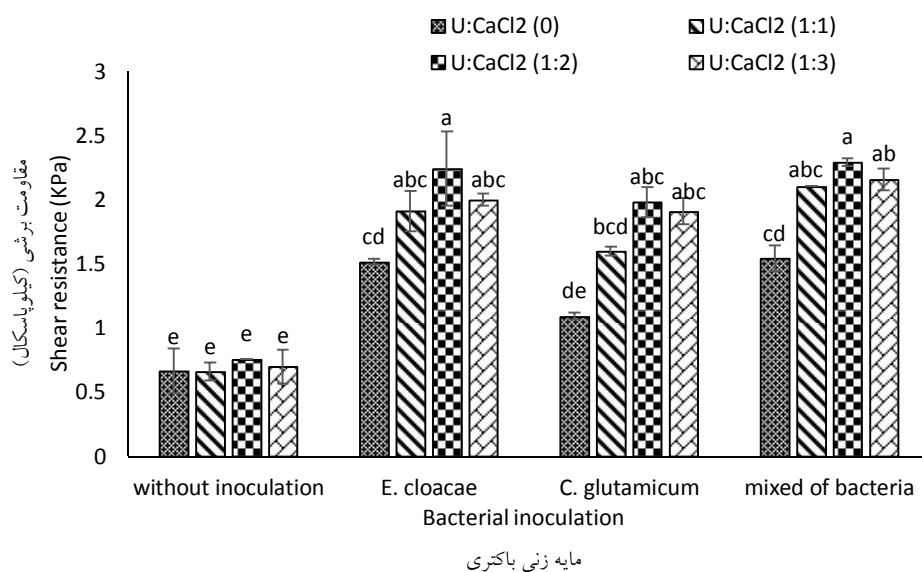
Figure 3. Mean comparison of the interaction effect of bacteria and different ratios of urea: CaCl₂ on penetration resistance of soil.

Columns with the same letters are not statistically different at the 5% level with Tukey's test.

(شکل ۵). میانگین وزنی قطر خاکدانه در تیمار بدون باکتری، *E. cloacae*، *C. glutamicum* و مخلوط دو باکتری در نسبت ۲:۱ اوره : کلرید کلسیم به ترتیب ۱/۰۴، ۳/۷۹، ۳/۳۴ و ۳/۹۰ میلی‌متر بود (شکل ۵). جزء حساس به فرسایش نیز روند مشابهی با میانگین وزنی قطر خاکدانه داشت و در تیمار بدون باکتری، *E. cloacae*، *C. glutamicum* و مخلوط دو باکتری در نسبت ۲:۱ اوره و کلرید کلسیم به ترتیب ۹۸/۷، ۸۲/۶۸، ۸۶/۹۲ و ۸۱/۴۷ درصد بود (شکل ۶). بیش‌ترین جزء حساس به فرسایش در تیمار بدون باکتری و بدون مصرف اوره و کلرید کلسیم بود (شکل ۶). با افزایش پایداری خاکدانه‌ها درصد جزء حساس به فرسایش کاهش یافت. تأثیر *E. cloacae* در بهبود مقاومت خاک در برابر فرسایش بادی بیش‌تر از *C. glutamicum* بود. میانگین وزنی قطر خاکدانه در این تیمار نیز بیش‌تر از تیمار *C. glutamicum* و جزء حساس به فرسایش در آن کم‌تر بود.

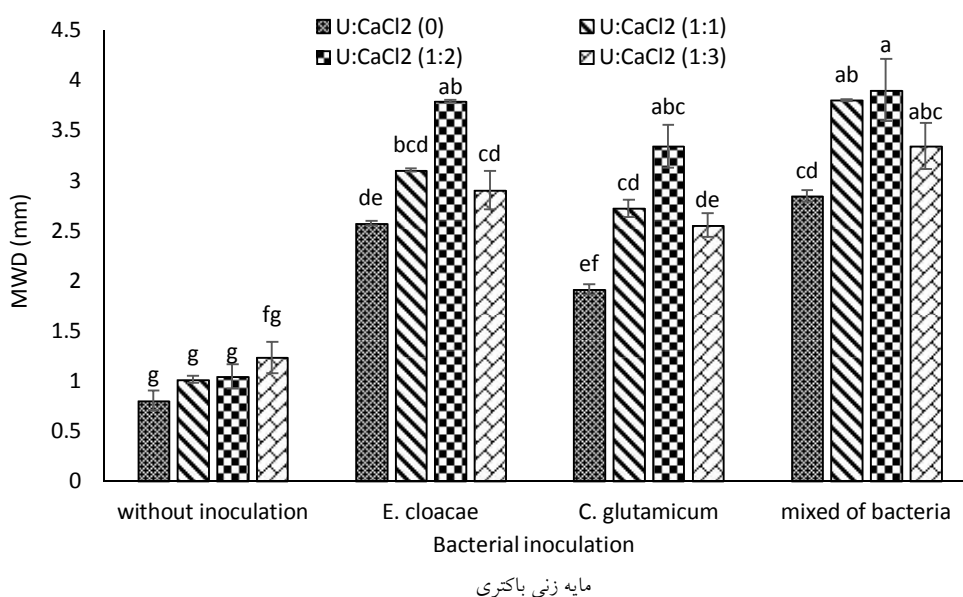
بیش‌ترین مقاومت برشی در تیمار مخلوط دو باکتری و پس از آن در تیمار *E. cloacae* و با کاربرد نسبت یک به دو اوره به کلرید کلسیم اندازه‌گیری شد (شکل ۴). در مطالعه حاضر تأثیر *E. cloacae* در افزایش استحکام خاک و کاهش فرسایش خاک بیش‌تر از *C. glutamicum* بود. علت این امر می‌تواند به فعالیت بیش‌تر اوره‌آز باکتری *E. cloacae* مرتبط باشد. البته، به منظور تأیید این موضوع، نیاز به بررسی اوره‌آز با مقادیر متفاوت فعالیت است تا مشخص شود آیا فعالیت بالاتر اوره‌آز واقعاً برای کاربردهای MICP مفید است یا خیر.

تأثیر تیمارها بر میانگین وزنی قطر خاکدانه و جزء حساس به فرسایش: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارها بر میانگین وزنی قطر خاکدانه و جزء حساس به فرسایش خاک است. آزمون مقایسه میانگین اثر نوع باکتری نشان‌دهنده تأثیر مخلوط دو باکتری و پس از آن *E. cloacae* بر میانگین وزنی قطر خاکدانه است



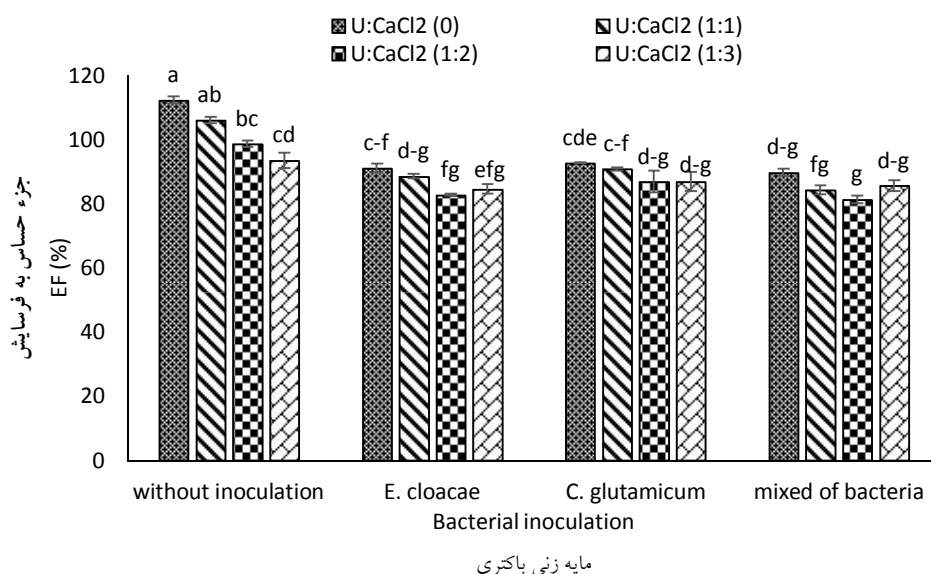
شکل ۴- آنالیز مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌ها و نسبت‌های مختلف اوره : کلرور کلسیم بر مقاومت برشی خاک. ستون‌های با حروف مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد با آزمون توکی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 4. Transmission Mean comparison of the interaction effect of bacteria and different ratios of urea: CaCl₂ on shear resistance of soil.
Columns with the same letters are not statistically different at the 5% level with Tukey's test.



شکل ۵- آنالیز مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌ها و نسبت‌های مختلف اوره : کلرور کلسیم بر میانگین وزنی قطر خاکدانه. ستون‌های با حروف مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد با آزمون توکی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 5. Mean comparison of the interaction effect of bacteria and different ratios of urea: CaCl₂ on mean weight diameter of aggregates (MWD).
Columns with the same letters are not statistically different at the 5% level.



شکل ۶- آنالیز مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌ها و نسبت‌های مختلف اوره : کلرور کلسیم بر جزء حساس به فرسایش (EF). ستون‌های با حروف مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد با آزمون توکی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 6. Mean comparison of the interaction effect of bacteria and different ratios of urea: CaCl₂ on erodible fraction (EF).

Columns with the same letters are not statistically different at the 5% level.

پیش‌تر، تشکیل رسوب کربنات کلسیم از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند فتوستتیز (۳۹)، هیدرولیز اوره (۱۳)، کاهش سولفات (۴۰)، اکسیداسیون سولفید بی‌هوازی (۴۱)، بیوفیلم و مواد پلیمری خارج سلولی (۴۲) پیشنهاد شده بود. با این حال، رسوب کربنات کلسیم توسط باکتری‌ها از طریق هیدرولیز اوره، رایج‌ترین روش مورد استفاده است (۲۸). باکتری‌های تولیدکننده اوره‌آز به دلیل ویژگی‌های بار سطحی و مواد پلیمری خارج سلولی به ذرات خاک متصل می‌شوند (۴۳). این میکروارگانیسم‌ها متصل شده با در دسترس بودن مواد مغذی فعال می‌شوند و در حضور یک محیط سیمانی (منبع اوره و کلسیم)، کریستال‌های کربنات کلسیم را بر روی سطح خاک یا در منافذ خاک رسوب می‌دهند (۴۴). با پوشش سطحی، اصطکاک بین ذرات خاک بهبود می‌یابد و موجب مقاومت در برابر حرکت ذرات می‌شود. خاک با پرشدن منافذ متراکم می‌شود؛ بنابراین، انتظار می‌رود که فرسایش‌پذیری خاک با روش بیوسیمانی در برابر جریان باد/آب کنترل شود. ایجاد کربنات کلسیم به‌عنوان نتیجه‌ای از فعالیت متابولیکی باکتری‌ها که باعث افزایش pH محیط می‌شود، رخ می‌دهد. باکتری از اوره به‌عنوان منبع نیتروژن و انرژی نیز استفاده می‌کند (۴۵). سطوح سلول‌های میکروبی دارای بار منفی هستند و به‌عنوان جاذب کاتیون‌ها، به ویژه یون کلسیم در محیط‌های آبی عمل می‌کنند و آن‌ها را به سطح سلول‌های خود متصل می‌کنند. افزایش pH اغلب باعث می‌شود که خود میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان سایت‌های هسته‌زایی برای تبلور عمل کنند. در نتیجه علاوه بر هیدرولیز اوره توسط آنزیم اوره‌آز و رسوب کلسیت، یون‌های کلسیم بر روی سطح میکروارگانیسم‌هایی که دارای بار سطحی منفی هستند، رسوب کرده و سپس رسوب کلسیت در سطح سلول که به‌عنوان سایت هسته‌زایی عمل می‌کند، اتفاق می‌افتد (۴۶). بنابراین، منبع و غلظت ایده‌آل کلسیم برای رسوب کربنات کلسیم مهم است.

پیش‌تر، تشکیل رسوب کربنات کلسیم از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند فتوستتیز (۳۹)، هیدرولیز اوره (۱۳)، کاهش سولفات (۴۰)، اکسیداسیون سولفید بی‌هوازی (۴۱)، بیوفیلم و مواد پلیمری خارج سلولی (۴۲) پیشنهاد شده بود. با این حال، رسوب کربنات کلسیم توسط باکتری‌ها از طریق هیدرولیز اوره، رایج‌ترین روش مورد استفاده است (۲۸). باکتری‌های تولیدکننده اوره‌آز به دلیل ویژگی‌های بار سطحی و مواد پلیمری خارج سلولی به ذرات خاک متصل می‌شوند (۴۳). این میکروارگانیسم‌ها متصل شده با در دسترس بودن مواد مغذی فعال می‌شوند و در حضور یک محیط سیمانی (منبع اوره و کلسیم)، کریستال‌های کربنات کلسیم را بر روی سطح خاک یا در منافذ خاک رسوب می‌دهند (۴۴). با پوشش سطحی، اصطکاک بین ذرات خاک بهبود می‌یابد و موجب مقاومت در برابر حرکت ذرات می‌شود. خاک با پرشدن منافذ متراکم می‌شود؛ بنابراین، انتظار می‌رود که فرسایش‌پذیری خاک با روش بیوسیمانی در برابر

مطالعه راثو و همکاران، ۲۰۱۷، محلولی که حاوی یک مولار کلرید کلسیم و یک مولار اوره به نسبت مساوی بود، شرایط بهتری را برای تولید کلسیت فراهم کرد (۵۱). هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط لی و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد، از *S. pasteurii* و غلظت‌های اوره (۰/۱۲، ۰/۴ و ۱/۵ مولار) و کلرید کلسیم (۰/۰۵۵، ۰/۲ و ۰/۷۵ مولار) برای MICP در یک خاک شنی استفاده کردند. آن‌ها هم‌چنین بیکربنات سدیم و کلرید آمونیوم را به محیط کشت باکتری اضافه کردند. در مطالعه آن‌ها ۱/۵ مولار اوره و ۰/۷۵ مولار کلرید کلسیم بالاترین کارایی را در MICP داشت و مقدار هدرروی خاک در این نمونه‌ها پایین بود. عامل مهم دیگر برای محلول سیمانی، افزودن بیکربنات سدیم و کلرید آمونیوم به محیط کشت باکتری بود و در نمونه‌هایی که فاقد این مواد بودند، هیچ فعالیت MICP مشاهده نشد (۵۲). افزودن غلظت بالاتر مواد سیمانی ممکن است باعث شوری خاک شود. مقدار قابل‌توجه شوری تأثیر مهاری بر فعالیت میکروبی، تولید اوره‌آز و رسوب کلسیت دارد که عمدتاً توسط نمک‌های کلسیم ایجاد می‌شود (۵۲). در برخی موارد، تولید اوره‌آز برای فرآیند MICP در شوری بالا هم‌چنان قابل انجام است. با این‌حال، نسبت کلسیت رسوب کرده با افزایش غلظت واکنش‌دهنده‌ها کاهش می‌یابد (۵۲). غلظت‌های بالای اوره: کلرور کلسیم اثر مهارکنندگی بر فعالیت اوره‌آز دارند و تولید کربنات کلسیم را کاهش می‌دهند (۱۸). در مطالعه حاضر نسبت ۲:۱ اوره: کلرید کلسیم به‌عنوان نسبت بهینه انتخاب شد. البته تأثیر غلظت‌های مختلف بر فعالیت آنزیم اوره‌آز نیاز به بررسی دارد. ژائو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که فعالیت اوره‌آز بالا منجر به تولید بیش‌تر کربنات کلسیم در نمونه‌های شنی و افزایش مقاومت فشاری از ۰/۳۲ مگاپاسکال به ۱/۳۹ مگاپاسکال می‌شود (۵۳). مطالعه

منابع مختلف کلسیم باعث تشکیل کریستال‌هایی با اشکال مختلف می‌شوند. تفاوت‌های مورفولوژیکی در تشکیل کریستال ممکن است به دلیل تفاوت در گونه باکتری و فعالیت اوره‌آز باشد. این تفاوت‌ها می‌تواند بازتاب آگزوپلی‌ساکارید خاص تولید شده توسط انواع مختلف باکتری‌ها باشد (۳۵ و ۴۷)، زیرا آگزوپلی‌ساکارید خاص ممکن است به‌طور خاص به یون کلسیم متصل شوند و موجب رسوب کربنات شوند (۳۵). ترکیب محیط رشد یا کشت نیز ممکن است بر مورفولوژی کریستال تأثیر بگذارد؛ زیرا گونه‌های مختلف باکتری قادر به رسوب مقادیر، اشکال و انواع مختلف کریستال‌های کربنات از همان محیط سنتتیک هستند (۳۶). در مطالعه‌ای با استفاده از *S. pasteurii* و *B. megaterium* رسوب کربنات کلسیم با حضور مواد پلیمری خارج سلولی (EPS) همبستگی دارد و EPS خالص شده از دو سویه باکتریایی باعث افزایش رسوب کربنات کلسیم در شرایط آزمایشگاهی شد (۴۸). مواد پلیمری خارج سلولی اغلب شامل ساختارهای دارای بار منفی مانند DNA و پروتئین‌ها و هم‌چنین پلی‌ساکاریدهای آبدوست هستند (۴۵).

گفته شده است که غلظت‌های بالای اوره و کلرید کلسیم (بیش از ۰/۵ مولار) کارایی رسوب کلسیت را کاهش می‌دهند (۴۹). بهترین غلظت‌های اوره و کلرید کلسیم برای رسوب کلسیت توسط دی‌مونیک و همکاران (۲۰۱۰) به ترتیب ۰/۵ و ۰/۲۵ مولار گزارش شده است (۵۰). کاتیون کلسیم احتمالاً توسط فرآیندهای متابولیکی استفاده نمی‌شود، بلکه در خارج از سلول تجمع می‌یابد، جایی که به‌راحتی برای رسوب کربنات کلسیم در دسترس است و مقدار رسوب کربنات کلسیم بیش‌تر به غلظت کلسیم بستگی دارد تا غلظت اوره (۴۹). فعالیت آنزیم در حضور کلسیم در مقایسه با عدم حضور کلسیم افزایش می‌یابد (۴۰). در

بزرگ می‌شود. افزایش مقاومت فروروی و برشی خاک با اعمال تیمارها احتمالاً به دلیل کم‌تر بودن مقدار جزء حساس به فرسایش و بیش‌تر بودن میانگین هندسی قطر ذرات در خاک است. ریزجانداران و ترشحات پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی آن‌ها نیز موجب افزایش پایداری خاکدانه‌ها و مقاومت برشی خاک می‌شود.

نتایج سایر پژوهش‌گران نیز بیانگر افزایش مقاومت فروروی خاک در اثر کاربرد باکتری تولیدکننده اوره‌آز در حضور اوره و کلرید کلسیم است (۵۶ و ۵۷). این نتیجه نشان‌دهنده تشکیل لایه مقاوم در سطح خاک است. مطالعه‌ای بر روی بهینه‌سازی محلول سیمان‌کننده توسط شارما و همکاران (۲۰۲۱ b) انجام شد و نشان داد که تزریق یا پاشش محلول سیمان‌کننده با حجم ۰/۵ حجم منفذی^۱ هر ۲۴ ساعت منجر به رسوب کلسیت و بهبود استحکام شد (۱۹). نتایج آزمایش یک مطالعه نشان داد که افزودن *S. pasteurii* با 10^5 CFU/ml، مقاومت فشاری بتن را ۲۲٪ افزایش داد (از ۲۴ به ۲۸ مگاپاسکال افزایش یافت) (۵۸). مطالعه دیگری نشان داد که مقاومت بتن می‌تواند با MICP بر اساس غلظت بهینه سلول‌های *B. megaterium* به میزان 10^5 CFU/ml × ۳۰ به حداکثر برسد (۵۹). استفاده از جمعیت 10^6 CFU/ml و 10^7 CFU/ml باکتری‌های *B. sphaericus* و *Streptococcus aureus* تاثیر یکسانی در میزان سیمانی شدن میکروبی در یک دوره ۳۶۵ روز داشته است (۶۰).

سرعت اصطکاک آستانه برای خاک شنی بیابانی حدود ۲۰ کیلومتر در ساعت گزارش شده است (۶۱). مطالعات موجود نشان داده‌اند که محتوای کم کربنات کلسیم تا ۴٪ می‌تواند فرسایش را در برابر سرعت باد تا ۴۵-۵۵ کیلومتر در ساعت متوقف کند (۱۱ و ۶۱).

انجام شده توسط کنستانتینو و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده است که سطوح بالای فعالیت اوره‌آز می‌تواند برای سیمانی‌شدن زیستی خاک شنی بدون نیاز به عمق نفوذ بالا مؤثر باشد و موجب کنترل گرد و غبار شود (۵۴).

در مطالعه راجاسکار و همکاران (۲۰۲۴) از دو باکتری *Bacillus subtilis* و *Comamonas fluminis*. ۰/۵ مولار اوره و ۰/۵ مولار کلرید کلسیم برای سیمانی‌شدن خاک شنی استفاده کردند. مقدار کربنات کلسیم اندازه‌گیری شده در نمونه تیمار شده با مخلوط دو باکتری ۹/۸۸ درصد به‌ازای ۱۰ گرم شن مورد استفاده در آزمایش بود؛ در حالی‌که در نمونه دارای هر یک از باکتری‌ها به تنهایی به ترتیب ۷/۸ و ۷/۳ درصد بود. توانایی برتر تجزیه اوره در کنسرسيوم باکتریایی در مقایسه با سویه‌های منفرد، پتانسیل هم‌افزایی میکروبی را برای فرآیند MICP برجسته می‌کند. فعالیت‌های متابولیکی ترکیبی از گونه‌های مختلف باکتری ممکن است منجر به افزایش کارایی هیدرولیز اوره و رسوب کربنات شود و در نتیجه اثربخشی سیمانی‌شدن زیستی را تقویت کند. در یک رابطه هم‌افزایی، یک گونه ممکن است در هیدرولیز اوره برتر باشد؛ گونه دیگر ممکن است در هسته‌زایی مواد معدنی کارآمدتر باشد، که منجر به عملکرد برتر و کارآمد MICP می‌شود (۲۸). در مطالعه حاضر، احتمالاً کربنات کلسیم تشکیل شده در بین ذرات شن قرار گرفته و از حرکت آن‌ها توسط نیروی فرساینده باد جلوگیری می‌کند؛ هم‌چنین ترشحات پلی‌ساکاریدی باکتری و مواد موسیلاژی نیز به هم‌آوری ذرات کمک می‌کنند. باکتری *E. cloacae* محرک رشد گیاه است و از ریزوسفر نیشکر جداسازی شده است قادر به ترشح مواد پلی‌ساکاریدی و اسیدهای آلی است (۵۵). این ترکیبات شرایط اتصال ذرات را فراهم می‌کند و با اتصال ذرات به یکدیگر باعث تشکیل خاکدانه‌های

بوه چین، منگ و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که یک پوسته خاکی با ضخامت ۱/۲۵ سانتی‌متر و محتوای ۰/۵۷ درصد کربنات کلسیم توانست سرعت باد ۳۰ متر بر ثانیه را تحمل کند و میزان فرسایش حتی پس از ۳۰ روز تقریباً صفر بود. آن‌ها از اوره و کلرید کلسیم با غلظت ۰/۲ مولار و نرخ کاربرد ۴ لیتر در مترمربع استفاده کردند (۶۴). تأثیر تخریبی محیط سیمانی با غلظت بالاتر مشاهده شده است (۶۵). با این‌حال، باید توجه داشت که نیاز به آب برای سیمانی شدن زیستی در بیابان‌ها و خشکی‌ها، علاوه‌بر شرایط آب و هوایی سخت، یک نگرانی جدی است.

نتیجه‌گیری کلی

باکتری‌های با فعالیت اوره‌آزی در تولید سیمان زیستی نقش دارد. استفاده از سویه‌های بومی و سازگار با شرایط اقلیمی منطقه برای تثبیت خاک‌های شنی و کاهش انتقال ریزگردها می‌تواند مؤثر و کاربردی باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده نسبت ۲:۱ اوره : کلرید کلسیم و استفاده از مخلوط دو باکتری و *E. cloacae* موجب افزایش مقاومت خاک در برابر نیروی فرساینده باد و کاهش هدرروی خاک شد. میانگین هندسی قطر ذرات در خاک، مقاومت فروری و برشی خاک در این تیمارها بالاتر و مقدار جزء حساس به فرسایش کم‌تر بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (SCU.AS1402.248) و هم‌چنین شرکت پتروشیمی کارون تشکر و قدردانی می‌نمایند.

با این‌حال، تعیین سرعت اصطکاک آستانه برای خاک‌های بیوسیمانی شده به‌دلیل محدودیت‌های ابزاری در تولید سرعت‌های باد بالاتر دشوار است (۶۱). با این وجود، چالش‌های متعددی در ارتباط با اجرای در مقیاس میدانی و دوام روش MICP برای کاهش فرسایش بادی وجود دارد. تأثیر MICP برای به حداقل رساندن فرسایش ناشی از باد در خاک شنی توسط وانگ و همکاران (۲۰۱۸) بررسی شد. آن‌ها باکتری *S. pasteurii* و نسبت مولی ۱:۱ اوره : کلریدکلسیم را بر روی خاک اسپری کردند. نمونه‌های تیمار شده به‌مدت ۲۸ روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵ درصد نگهداری شدند. پس از قرار دادن نمونه در تونل باد دریافتند که نرخ میزان فرسایش خاک تیمار نشده با باکتری و محلول سیمانی‌کننده ۱۰/۲۳ درصد بود؛ در حالی‌که در خاک تیمار شده کم‌تر از ۰/۰۴٪ بود (۶۲). در یک مطالعه از *Pseudogracilibacillus* محلول سیمانی کلرید کلسیم و اوره با غلظت‌های ۰/۲۵ تا یک مولار در خاک شنی به‌منظور سیمانی شدن زیستی استفاده شد. کربنات کلسیم با استفاده از محلول سیمانی ۰/۵ مولار به مقدار ۱/۳ درصد رسوب کرده بود. حداکثر مقاومت در برابر فرسایش با غلظت یک مولار از محلول سیمانی و در سرعت باد بالای ۵۵ کیلومتر در ساعت اندازه‌گیری شد (۶۱). در یک آزمایش گومز و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که سطح بیوسیمانی شده با ۲/۱ درصد کربنات کلسیم که با محلول سیمانی 10^8 سلول در لیتر *S. pasteurii*، ۱۵ گرم در لیتر اوره و ۱۳/۸۷ گرم در لیتر کلرید کلسیم) در خشکی‌های استان ساسکاچوان کانادا تشکیل شده بود، توانست یک زمستان سخت را تحمل کند (۶۳). در دیگر آزمایش‌های میدانی انجام شده در صحرای اولان

منابع

1. Maleki, M., Ebrahimi, S., Asadzadeh, F., & Emami Tabrizi, M. (2016). Performance of microbial-induced carbonate precipitation on wind erosion control of sandy soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13, 937-944. doi: 10.1007/s13762-015-0921-z.
2. Nikseresht, F., Landi, A., Sayyad, G., Ghezelbash, G. R., & Schulin, R. (2020). Sugarcane molasse and vinasse added as microbial growth substrates increase calcium carbonate content, surface stability and resistance against wind erosion of desert soils. *Journal of Environmental Management*, 268, p. 110639. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110639.
3. Keramat, A., Marivani, B., & Samsami, M. (2011). Climatic change, drought and dust crisis in Iran. *WASET* 6, 3-10.
4. Broomandi, P., Dabir, B., Bonakdarpour, B., & Rashidi, Y. (2017). Identification of the sources of dust storms in the City of Ahvaz by HYSPLIT. *Pollution*, 3 (2), 341-348. doi: 10.7508/PJ.2017.02.015.
5. Anderson, J., Bang, S., Bang, S. S., Lee, S. J., Choi, S. R., & Dho, N. Y. (2014). Reduction of wind erosion potential using microbial calcite and soil fibers. In *Geo-Congress 2014: Geo-characterization and Modeling for Sustainability* (pp. 1664-1673). Doi: 10.1061/9780784413272.163.
6. Goudie, A. S., & Middleton, N. J. (2006). *Desert dust in the global system*. Springer, New York, USA.
7. Gadi, V. K., Bordoloi, S., Garg, A., Kobayashi, Y., & Sahoo, L. (2016). Improving and correcting unsaturated soil hydraulic properties with plant parameters for agriculture and bioengineered slopes. *Rhizosphere*, 1, 58-78. doi:10.1016/j.rhisph.2016.07.003.
8. Karol, R. H. (2003). *Chemical grouting and soil stabilization*. Marcel Dekker, New York, USA.
9. Deléglise, C., Loucougaray, G., & Alard, D. (2011). Effects of grazing exclusion on the spatial variability of subalpine plant communities: a multiscale approach. *Basic and Applied Ecology*, 12 (7), 609-619. doi.org/10.1016/j.baae.2011.08.006.
10. Verdoodt, A., Mureithi, S. M., Ye, L., & Van Ranst, E. (2009). Chronosequence analysis of two enclosure management strategies in degraded rangeland of semi-arid Kenya. *Agriculture, ecosystems & environment*, 129 (1-3), 332-339. doi: 10.1016/j.agee.2008.10.006.
11. Zomorodian, S. M. A., Ghaffari, H., & O'Kelly, B. C. (2019). Stabilisation of crustal sand layer using biocementation technique for wind erosion control. *Aeolian Research*, 40, 34-41. doi: 10.1016/j.aeolia.2019.06.001.
12. Meyer, F. D., Bang, S., Min, S., Stetler, L. D., & Bang, S. S. (2011). Microbiologically-induced soil stabilization: application of *Sporosarcina pasteurii* for fugitive dust control. In *Geo-frontiers 2011: Advances in Geotechnical Engineering* (pp. 4002-4011). doi:10.1061/41165(397)409.
13. Sharma, M., Satyam, N., & Reddy, K. R. (2021a). Rock-like behavior of biocemented sand treated under non-sterile environment and various treatment conditions. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, 13 (3), 705-716. doi: 10.1016/j.jrmge.2020.11.006.
14. Sun, X., Miao, L., Tong, T., & Wang, C. (2019). Study of the effect of temperature on microbially induced carbonate precipitation. *Acta Geotechnica*, 14, 627-638. doi: 10.1007/s11440-018-0758-y.
15. Chou, C. W., Seagren, E. A., Aydilek, A. H., & Lai, M. (2011). Biocalcification of sand through ureolysis. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 137 (12), 1179-1189. doi: 10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000532.

16. Tiwari, N., Satyam, N., & Sharma, M. (2021). Micro-mechanical performance evaluation of expansive soil biotreated with indigenous bacteria using MICP method. *Scientific Reports*, 11 (1), p. 10324. doi: **10.1038/s41598-021-89687-2**.
17. Whiffin, V. S., Van Paassen, L. A., & Harkes, M. P. (2007). Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal*, 24 (5), 417-423. doi: **10.1080/01490450701436505**.
18. Al-Thawadi, S. (2008). High strength in-situ biocementation of soil by calcite precipitating locally isolated ureolytic bacteria (Doctoral dissertation, Murdoch University).
19. Sharma, M., Satyam, N., & Reddy, K. R. (2021b). Hybrid bacteria mediated cemented sand: Microcharacterization, permeability, strength, shear wave velocity, stress-strain, and durability. *International Journal of Damage Mechanics*, 30 (4), 618-645. doi: **10.1177/1056789521991196**.
20. Moravej, S., Habibagahi, G., Nikooee, E., & Niazi, A. (2018). Stabilization of dispersive soils by means of biological calcite precipitation. *Geoderma*, 315, 130-137. doi: **10.1016/j.geoderma.2017.11.037**.
21. Bu, C., Wen, K., Liu, S., Ogbonnaya, U., & Li, L. (2018). Development of bio-cemented constructional materials through microbial induced calcite precipitation. *Materials and Structures*, 51, 1-11. doi: **10.1617/s11527-018-1157-4**.
22. Poulsen, T. G., Cai, W., & Garg, A. (2020). Water evaporation from cracked soil under moist conditions as related to crack properties and near-surface wind speed. *European Journal of Soil Science*, 71(4), 627-640. doi: **10.1111/ejss.12926**.
23. Mujah, D., Shahin, M. A., & Cheng, L. (2017). State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite precipitation (MICP) for soil stabilization. *Geomicrobiology Journal*, 34 (6), 524-537. doi: **10.1080/01490451.2016.1225866**.
24. Liang, S., Chen, J., Niu, J., Gong, X., & Feng, D. (2020). Using recycled calcium sources to solidify sandy soil through microbial induced carbonate precipitation. *Marine Georesources & Geotechnology*, 38 (4), 393-399. doi: **10.1080/1064119X.2019.1575939**.
25. Choi, S. G., Chu, J., Brown, R. C., Wang, K., & Wen, Z. (2017). Sustainable biocement production via microbially induced calcium carbonate precipitation: Use of limestone and acetic acid derived from pyrolysis of lignocellulosic biomass. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5 (6), 5183-5190. doi: **10.1021/acssuschemeng.7b00521**.
26. Gowthaman, S., Nawarathna, T. H. K., Nayanthara, P. G. N., Nakashima, K., & Kawasaki, S. (2021). The amendments in typical microbial induced soil stabilization by low-grade chemicals, biopolymers and other additives: A review. *Building Materials for Sustainable and Ecological Environment*, 49-72. doi: **10.1007/978-981-16-1706-5_4**.
27. Dargahian, F., Loftinasabasl, S., & Khosroshahi, M. (2018). Analysis of the role of internal dust sources in creating critical conditions in Ahvaz with an emphasis on the southeastern area. *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, 16 (32): 157-170. doi: **10.22092/ijfrpr.2018.110809.1277**.
28. Rajasekar, A., Zhao, C., Wu, S., Murava, R. T., & Wilkinson, S. (2024). Synergistic biocementation: harnessing Comamonas and Bacillus ureolytic bacteria for enhanced sand stabilization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40 (7), p. 229. doi: **10.1007/s11274-024-04038-3**.
29. Harkes, M. P., Van Paassen, L. A., Booster, J. L., Whiffin, V. S., & van Loosdrecht, M. C. (2010). Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation

- for ground reinforcement. *Ecological Engineering*, 36 (2), 112-117. doi:10.1016/j.ecoleng.2009.01.004.
30. Whiffin, V. S. (2004). Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement (Doctoral dissertation, Murdoch University).
31. Sarikhani, M. R., & Moradi, Sh. (2015). Measurement of urease activity of several microbial species by electrical conductivity and Nessler's method. 14th Iranian Soil Science Congress. Rafsanjan.
32. Katra, I. (2020). Soil erosion by wind and dust emission in semi-arid soils due to agricultural activities. *Agronomy*, 10 (1), 89. doi:10.3390/agronomy10010089.
33. Lapierre, F. M., & Huber, R. (2024). Revisiting the urease production of MICP-relevant bacterium *Sporosarcina pasteurii* during cultivation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 55, p. 102981. doi:10.1016/j.bcab.2023.102981.
34. Mazzei, L., Musiani, F., & Ciurli, S. (2020). The structure-based reaction mechanism of urease, a nickel dependent enzyme: tale of a long debate. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 25 (6), 829-845. doi:10.1007/s00775-020-01808-w.
35. Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonate polymorphs by the bacterial strains isolated from calcareous sites. *Journal of Microbiology & Biotechnology*, 23, 707-714. doi:10.4014/jmb.1212.11087.
36. Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2014). Synergistic role of bacterial urease and carbonic anhydrase in carbonate mineralization. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 172, 2552-2561. doi:10.1007/s12010-013-0694-0.
37. Achal, V., & Pan, X. (2014). Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173, 307-317. doi:10.1007/s12010-014-0842-1.
38. Anbu, P., Kang, C. H., Shin, Y. J., & So, J. S. (2016). Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *Springerplus*, 5, 1-26.
39. McConnaughey, T. A., & Whelan, J. F. (1997). Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake. *Earth-Science Reviews*, 42 (1-2), 95-117.
40. Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J., Verstraete, W., & Siciliano, S. D. (2003). Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation. *Applied and environmental microbiology*, 69 (8), 4901-4909. doi: 10.1128/AEM.69.8.4901-4909.2003.
41. Warthmann, R., Van Lith, Y., Vasconcelos, C., McKenzie, J. A., & Karpoff, A. M. (2000). Bacterially induced dolomite precipitation in anoxic culture experiments. *Geology*, 28 (12), 1091-1094. doi:10.1130/0091-7613(2000)28<1091:BiDPIA>2.0.CO;2.
42. Arias, J. L., & Fernández, M. S. (2008). Polysaccharides and proteoglycans in calcium carbonate-based biomineralization. *Chemical reviews*, 108 (11), 4475-4482. doi:10.1021/cr078269p.
43. Datta, S., Manna, S., & Roy, D. (2022). Attachment of extracellular metabolic products of *lysiniibacillus* sp. DRG3 on sand surface under variable flow velocities and bioprocesses. *Journal of Environmental Engineering*, 148 (11), p. 04022069.
44. Xiao, Y., He, X., Zaman, M., Ma, G., & Zhao, C. (2022). Review of strength improvements of biocemented soils. *International Journal of Geomechanics*, 22 (11), p. 03122001. doi:10.1061/(ASCE)GM.1943-5622.0002565.
45. Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., & Reddy, M. S. (2009). Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *Journal of industrial Microbiology and Biotechnology*, 36 (7), 981-988. doi:10.1007/s10295-009-0578-z.

46. DeJong, J. T., Fritzges, M. B., & Nüsslein, K. (2006). Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. *Journal of geotechnical and geoenvironmental engineering*, 132 (11), 1381-1392. **doi:10.1061/(ASCE)1090-0241(2006)132:11(1381).**
47. Lian, B., Hu, Q., Chen, J., Ji, J., & Teng, H. H. (2006). Carbonate biomineralization induced by soil bacterium *Bacillus megaterium*. *Geochimica et cosmochimica acta*, 70 (22), 5522-5535. **doi:10.1016/j.gca.2006.08.044.**
48. Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonate polymorphs by the bacterial strains isolated from calcareous sites. *Journal of Microbiology & Biotechnology*, 23, 707-714. **doi:10.4014/jmb.1212.11087.**
49. Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2014). Synergistic role of bacterial urease and carbonic anhydrase in carbonate mineralization. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 172, 2552-2561. **doi:10.1007/s12010-013-0694-0.**
50. Zhang, C., Yin, L., Ou, Y., Yang, G., Huang, L., & Li, F. (2021). Contribution of selective bacterial extracellular polymeric substances to the polymorphism and morphologies of formed Ca/Mg carbonates. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 160, p. 105213. **doi:10.1016/j.ibiod.2021.105213.**
51. Okwadha, G. D., & Li, J. (2010). Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*, 81 (9), 1143-1148. **doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.066.**
52. De Muynck, W., De Belie, N., & Verstraete, W. (2010). Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecological engineering*, 36 (2), 118-136. **doi:10.1016/j.ecoleng.2009.02.006.**
53. Rao, M. S., Reddy, V. S., & Sasikala, C. (2017). Performance of microbial concrete developed using bacillus subtilus JC3. *Journal of the Institution of Engineers (India): Series A*, 98, 501-510.
54. Lee, C., Lee, H., & Kim, O. B. (2018). Biocement fabrication and design application for a sustainable urban area. *Sustainability*, 10 (11), p. 4079. **doi:10.3390/su10114079.**
55. Zhao Y., Xiao, Z., Lv, J., Shen, W., & Xu, R. (2019). A novel approach to enhance the urease activity of *Sporosarcina pasteurii* and its application on microbial-induced calcium carbonate precipitation for sand. *Geomicrobiology*, 36, 819-825. **doi:10.1080/01490451.2019.1631911.**
56. Konstantinou, C., Wang, Y., Biscontin, G., & Soga, K. (2021). The role of bacterial urease activity on the uniformity of carbonate precipitation profiles of bio-treated coarse sand specimens. *Science Report*. 11, 6161.
57. Pourjasem, L., Landi, A., Enayatizamir, N., & Hojati, S. (2020). The release of some elements from vermiculite during the short periods of incubation by heterotrophic bacteria. *Eurasian Soil Science*, 53, 223-229. **doi:10.1134/S106422932002009X.**
58. Gurbuz, A., Sari, Y. D., Yuksekdog, Z. N., & Cinar, B. (2011). Cementation in a matrix of loose sandy soil using biological treatment method. *African Journal of Biotechnology*, 10 (38), 7432-7440.
59. Li, M., Li, L., Ogbonnaya, U., Wen, K., Tian, A., & Amini, F. (2016). Influence of fiber addition on mechanical properties of MICP-treated sand. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 28 (4), p.04015166. **doi:10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001442.**
60. Chahal, N., Siddique, R., & Rajor, A. (2012a). Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of fly ash concrete. *Construction and Building*

- Materials*, 28 (1), 351-356. doi:10.15224/978-1-63248-062-0-28.
61. Andalib, R., Abd Majid, M. Z., Hussin, M. W., Ponraj, M., Keyvanfar, A., Mirza, J., & Lee, H. S. (2016). Optimum concentration of *Bacillus megaterium* for strengthening structural concrete. *Construction and Building Materials*, 118, 180-193. doi:10.3221/IGF-ESIS.59.32.
62. Shukla, A., Gupta, N., Singh, K. R., Kumar Verma, P., Bajaj, M., Khan, A. A., & Ayalew, F. (2022). Performance evaluation of bio concrete by cluster and regression analysis for environment protection. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2022 (1), p. 4411876. doi:10.1155/2022/4411876.
63. Dubey, A. A., Devrani, R., Ravi, K., Dhami, N. K., Mukherjee, A., & Sahoo, L. (2021). Experimental investigation to mitigate aeolian erosion via biocementation employed with a novel ureolytic soil isolate. *Aeolian Research*, 52, p. 100727. doi:10.1016/j.aeolia.2021.100727.
64. Wang, Z., Zhang, N., Ding, J., Lu, C., & Jin, Y. (2018). Experimental study on wind erosion resistance and strength of sands treated with microbial-induced calcium carbonate precipitation. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2018. doi:10.1155/2018/3463298.
65. Gomez, M. G., Martinez, B. C., DeJong, J. T., Hunt, C. E., deVlaming, L. A., Major, D. W., & Dworatzek, S. M. (2015). Field-scale bio-cementation tests to improve sands. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Ground Improvement*, 168 (3), 206-216.
66. Meng, H., Gao, Y., He, J., Qi, Y., & Hang, L. (2021). Microbially induced carbonate precipitation for wind erosion control of desert soil: Field-scale tests. *Geoderma*, 383, p. 114723. doi: 10.1016/j.geoderma.2020.114723.
67. Coban, O., De Deyn, G. B., & van der Ploeg, M. (2022). Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375 (6584), p. abe0725. doi:10.1126/science.abe0725.

Uncorrected Proof