

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Effect of Inoculation with Different Species of *Pseudomonas* Bacteria in Combination With Biochar on Growth and Yield of Licorice (*Glycyrrhiza Glabra* L.)

Zare¹, M., Khajoei-Nejad^{2*}, Gh. and Ghanbari³, J.

1 and 2. MSc Student and Professor, Respectively, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

3. Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran.

*: Corresponding Author Email: khajoei@uk.ac.ir

Received: 2025/07/15

Accepted: 2025/09/07

Introduction

The rising demand from associated industries, coupled with the restricted availability of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.), an important traditional medicinal plant, has resulted in overharvesting from the natural habitats. To mitigate this overharvesting, the continuous cultivation of this plant should be taken into account (Hayashi and Sudo, 2009). Considering the importance of turning to licorice cultivation to reduce the destruction of the natural habitats of this plant and the essential influence of the soil's physical and biological properties on this process, the application of organic inputs along with growth-promoting microorganisms can improve soil conditions, creates a more favorable environment for root development, which is the economically valuable part of the plant, while promoting sustainable land use. Plant growth-promoting bacteria significantly enhance soil biological conditions, promote plant growth, and protect plants against diseases and abiotic stresses. Acting as biostimulants, such bacteria stimulate various processes that enhance rhizosphere conditions and boost nutrient absorption in plants, thereby improving both the quantity and quality of the product (Emmanuel and Babalola, 2020). Biochar is a solid by-product generated from the decomposition of biomass derived from agroforestry plants, plant residues, or sewage sludge through pyrolysis at elevated temperatures under limited or absent oxygen conditions. Numerous studies have demonstrated the beneficial effects of biochar on soil cation exchange capacity, water retention capacity, and the enhancement of soil organic matter content. Furthermore, biochar is crucial for plant growth and nutrient availability (Rafael *et al.*, 2019). The objective of this research was to examine the impact of biochar application integrated with inoculation with different growth-promoting bacteria on growth and yield of licorice.

Materials and Methods

The study was designed as a factorial experiment within a completely randomized framework, comprising 16 treatment combinations replicated three times in the research greenhouse of Shahid Bahonar University of Kerman during the 2024 growing season. The factors analyzed included the application of biochar at two levels: no application and application at 5% by weight of the soil applied. Additionally, three types of bacteria were used for inoculation: *Bacillus subtilis* (*Bs*), *Pseudomonas chloraphis* (*Pc*), and *Pseudomonas putida* (*Pp*). The inoculation treatments were categorized into eight different combinations, which included control (without bacterial inoculation), individual applications of each bacterial type (*Bs*, *Pc*, and *Pp*), dual applications (*Pp+Pc*, *Pp+Bs*, and *Pc+Bs*), and a combined application of all three bacteria (*Pp+Pc+Bs*). After the growth period, seedling emergence rate, plant height and root length, leaf number, leaf area, root volume, root and shoot dry weight, and bacterial inoculation effect were evaluated.

Results and Discussion

The findings indicated that the application of biochar significantly ($P < 0.01$) influenced growth and the characteristics assessed. Furthermore, inoculation with *Bs* and the combined application of all three bacteria under biochar application, as well as inoculation with *Pp* in both biochar-applied and unapplied conditions, resulted in an increase in the number of leaves and leaf area by 115 and 139 %, respectively, subsequently enhancing the shoot dry weight by 141%. Additionally, inoculation with *Bs*, *Pp+Bs*, and the combined application of all three bacteria under biochar conditions, as well as *Pp* inoculation in both biochar treatments, improved root characteristics, leading to increased fresh and dry root weight by 300-400%. However, the application of *Pc* bacteria did not significantly affect root growth or weight. The findings of this research also indicated that incorporating biochar into the soil by influencing the vegetative growth and root weight of the licorice, enhanced the bacterial inoculation effect (BIE). Additionally, the results revealed varying efficiencies of the assessed bacteria on the growth and yield of licorice roots. Specifically, inoculation with *Bs* in combination with biochar yielded the most favorable outcomes. Conversely, *Pp* demonstrated a notable impact on the growth and root weight of licorice, regardless of whether biochar was applied or not. Furthermore, BIE results revealed that *Bs* exhibited negative efficiency in the absence of biochar. In contrast, *Pp* displayed positive efficiency under both biochar application and non-application conditions, resulting in increased root production. On the other hand,

Zare et al., Effect of Inoculation with Different Species of *Pseudomonas* ...

inoculation with *Pc* did not significantly affect root growth and production, and the application of biochar did not enhance its efficiency.

Conclusions

The results demonstrated that biochar enhanced the of bacterial inoculation effect across all treatments, with the exception of *Pc*. According to these results, the application of *Bs* and its combination with other bacteria under biochar application conditions and the application of *Pp* under both biochar application and non-application conditions are recommended for optimal growth of licorice.

Keywords: Bacterial inoculation effect, Biochar, Growth-promoting bacteria, Licorice growth, Root characteristics.

Citations: Zare, M., Khajoei-Nejad, Gh. and Ghanbari, J. (2026). Effect of Inoculation with Different Species of *Pseudomonas* Bacteria in Combination With Biochar on Growth and Yield of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.), *Plant Production Technology*, 25(2), 69-85. <https://doi.org/10.22084/ppt.2025.31250.2166>
© 2025 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Online ISSN: 2476-5651

Print ISSN: 2476-6321

تأثیر تلقیح گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس در ترکیب با بیوچار بر رشد و عملکرد شیرین

بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

Effect of Inoculation with Different Species of *Pseudomonas* Bacteria in Combination with Biochar on Growth and Yield of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.)

معصومه زارع^۱، غلامرضا خواجهی نژاد^{۲*} و جلال قنبری^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶

(مقاله پژوهشی)

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر کاربرد بیوچار و باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد شیرین بیان بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ ترکیب تیماری در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه باهنر کرمان در سال ۱۴۰۳ اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل کاربرد بیوچار در دو سطح عدم کاربرد و کاربرد براساس ۵ درصد وزنی خاک مورد آزمایش؛ و تلقیح با سه نوع باکتری شامل *Bacillus subtilis* (Bs)، *Pseudomonas chloraphis* (Pc) و *Pseudomonas putida* (Pp) بود. تلقیح با باکتری در ۸ تیمار مختلف منفرد و ترکیبی شامل شاهد (عدم تلقیح با باکتری)، اعمال منفرد هر گونه باکتری (Pp و Pc و Bs)، اعمال هم‌زمان دو گونه (Pp+Pc) و (Pp+Bs و Pc+Bs) و اعمال هم‌زمان هر سه گونه (Pp+Pc+Bs) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار اثر معنی داری ($P < 0/01$) بر رشد و ویژگی‌های مورد ارزیابی داشت. علاوه بر این، تلقیح با Bs و تلقیح ترکیبی هر سه باکتری در شرایط کاربرد بیوچار و همچنین، تلقیح با Pp در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار با افزایش ۱۱۵ درصدی تعداد برگ و ۱۳۹ درصدی سطح برگ، منجر به افزایش ۱۴۱ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. همچنین، تلقیح با Pp+Bs و Bs و تلقیح ترکیبی هر سه باکتری در شرایط کاربرد بیوچار و تلقیح با Pp در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار با بهبود خصوصیات ریشه منجر به افزایش ۳۰۰-۴۰۰ درصدی وزن تر و خشک ریشه نسبت به شاهد شدند. کاربرد باکتری Pc اثر قابل توجهی بر رشد و وزن ریشه نداشت. نتایج کارایی تلقیح باکتری نیز نشان داد که بیوچار کارایی تلقیح باکتری را در تمام تیمارهای تلقیح به جز Pc بهبود داد. براساس این نتایج کاربرد Bs و ترکیب آن با سایر باکتری‌ها در شرایط کاربرد بیوچار و کاربرد Pp در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار برای رشد بهینه شیرین بیان توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، بیوچار، خصوصیات ریشه، رشد شیرین بیان، کارایی تلقیح باکتری.

ارجاع به مقاله: زارع، م.، خواجهی نژاد، غ. و قنبری، ج. (۱۴۰۴). تأثیر تلقیح گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس در ترکیب با بیوچار بر رشد و عملکرد شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) مجله فناوری تولیدات گیاهی، ۲۵(۲)، ۸۵-۶۹. <https://doi.org/10.22084/ppt.2025.31250.2166/>

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License

Attribution (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در

سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.



شاپا چاپی: ۶۳۲۱-۲۴۷۶

شاپا الکترونیکی: ۵۶۵۱-۲۴۷۶

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳. موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران

Email: khajoei@uk.ac.ir

* نویسنده مسئول

۱. مقدمه

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گیاهی علفی چند ساله از خانواده بقولات و یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی سنتی است. ریشه و ریزوم آن حاوی متابولیت ثانویه از جمله گلیسیریزین^۱، گلابریدین^۲ و لیکویریتین^۳ است که دارای خواص ضد توموری و آنتی‌اکسیدانی هستند. به دلیل وجود این ترکیبات، به‌طور گسترده در صنایع دارویی و غذایی در سطح جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین این گیاه در الگوی کشت بسیاری کشورها از جمله چین به‌عنوان یک محصول نقدی مهم به‌شمار می‌رود. تقاضای روزافزون صنایع مرتبط و محدودیت در تأمین، منجر به برداشت بی‌رویه از عرصه‌ها شده است. برای جلوگیری از برداشت بی‌رویه کشت مستمر این گیاه باید مدنظر قرار گیرد (Hayashi and Sudo, 2009).

باکتری‌های محرک رشد گیاه نقش موثرتری در بهبود شرایط زیستی خاک افزایش رشد گیاه و همچنین محافظت از گیاه در برابر بیماری‌ها و تنش‌های غیرزنده برخوردارند. این باکتری‌ها به‌عنوان محرک‌های زیستی، با تحریک فرآیندهای مختلف باعث بهبود شرایط ریزوسفر و افزایش جذب عناصر غذایی در گیاهان مختلف شده و علاوه بر کمیت، کیفیت محصول را نیز بهبود می‌دهند (Emmanuel and Babalola, 2020). گونه‌های متعلق به جنس سودوموناس (*Pseudomonas* spp.) کاندیدای عالی برای این منظور هستند که به دلیل انعطاف‌پذیری متابولیک و تنوع زیاد در محیط خاک همه جا حاضر هستند، همانطور که از توانایی آن‌ها در استفاده از مجموعه وسیعی از ترکیبات به‌عنوان منابع غذایی مشهود است. چندین ویژگی محرک رشد گیاه که در کنترل زیستی و تحریک رشد گیاه نقش دارند گزارش شده است. مکانیسم‌های مختلفی در تقویت رشد گیاه با استفاده از گونه‌های سودوموناس دخیل هستند. افزایش رشد گیاه ممکن است به مکانیسم‌های مستقیمی مانند تولید تنظیم‌کننده‌های گیاهی و انتقال عناصر غذایی نسبت داده شود. درحالی‌که مکانیسم‌های غیرمستقیم شامل کاهش بازدارنده پاتوژن‌های مختلف بر رشد گیاه از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌های هیدرولیتیک و ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان می‌باشد. اغلب، بیش از

یک مکانیسم به شیوه‌ای پیچیده برای افزایش رشد و عملکرد کار می‌کنند (Das et al., 2020). نتایج بررسی اثرات چهار باکتری محرک رشد (PGPB)، *Pantoea agglomerans* (S72)، *Pseudomonas Serratia rubidaea* (S28)، *Pseudomonas azotoformans* (E101) و *frederiksborgensis* (E56) بر جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه شیرین بیان نشان داد که جوانه‌زنی، رشد و استقرار اولیه شیرین بیان تحت تیمارهای باکتریایی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری برتری نشان داد (Goudarzi et al., 2023). همچنین واکنش گیاهان شیرین بیان به تلقیح با *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 همراه با سویه‌های *Mesorhizobium* تحت تنش شوری بررسی شد و نتایج نشان داد که این باکتری‌ها از قابلیت کاهش اثرات تنش برخوردارند. تلقیح با باکتری‌های مذکور، عملکرد و تعداد گره را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان تلقیح شده با تک‌سویه افزایش داد. در نتیجه تلقیح دوگانه با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند به عنوان رویکردی جدید برای افزایش رشد و عملکرد شیرین بیان مد نظر قرار گیرد (Egamberdieva et al., 2016).

در یک آزمایش گلدانی با هدف بررسی پاسخ شیرین بیان (*Glycyrrhiza uralensis*) به تلقیح با باکتری‌های اندوفیت *Acrocalymma vagum* و *Paraboeremia putaminum* تحت تیمارهای مختلف آبیاری، نتایج نشان داد که تلقیح با سویه‌های باکتری بر ترکیب میکروبیوم و رشد گیاه شیرین بیان - بسته به گونه‌ی به‌کار رفته و تیمارهای آبی - اثر مثبت داشت. نتایج حاکی از تأثیر بیشتر گونه *P. putaminum* نسبت به *A. vagum* بر میکروبیوم ریزوسفر شیرین بیان تحت تنش خشکی بود. همچنین، تلقیح با باکتری‌ها فراوانی نسبی قارچ‌های هم‌زیست مفید و باکتری‌های محرک رشد را افزایش و فراوانی نسبی پاتوژن‌ها را در ریزوسفر شیرین بیان کاهش داد (He et al., 2021).

در مطالعات دیگر گزارش شده که تلقیح ریشه گیاه پرپوش (*Catharanthus roseus*) با سویه‌های مختلف PGPR؛ *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum lipoferum*، *Bacillus megaterium* و *Pseudomonas fluorescens* منجر به افزایش محتوای کلروفیل و تغذیه عناصر غذایی N، P و K شد. نتایج این مطالعه در نهایت نشان داد که کاربرد ترکیبی

1. Glycyrrhizin
2. Glabridin
3. Liquiritin

بیان در بستر کودهای آلی-زیستی؛ بررسی و مقایسه نقش گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس و ترکیب گونه‌های مختلف جهت بررسی اثر احتمالی هم‌افزایی آن‌ها در جهت بهبود شرایط رشد شیرین بیان و تلفیق تیمارهای ترکیبی میکروارگانیزم‌های محرک رشد با بیوچار جهت بررسی اثر متقابل احتمالی برای بهبود رشد و عملکرد ریشه شیرین بیان انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر کاربرد بیوچار در شرایط تلقیح و عدم تلقیح باکتری سودوموناس بر عملکرد شیرین بیان، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ ترکیب تیماری در ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه باهنر کرمان در سال ۱۴۰۳ اجرا شد. عوامل مورد آزمایشی شامل کاربرد بیوچار در دو سطح (۱. عدم کاربرد بیوچار و ۲. کاربرد بیوچار براساس ۵ درصد وزنی خاک مورد آزمایش)؛ و تلقیح با سه گونه باکتری سودوموناس شامل *Bacillus subtilis* (Bs)، *Pseudomonas chloraphis* (Pc) و *Pseudomonas putida* (Pp) بود.

اعمال باکتری سودوموناس در ۸ تیمار مختلف منفرد و ترکیبی شامل شاهد (عدم تلقیح با باکتری)، اعمال منفرد هر گونه باکتری (*Pc*، *Bs* و *Pp*) اعمال هم‌زمان دو گونه (*Pp+Pc*، *Pp+Bs* و *Pc+Bs*) و اعمال هم‌زمان هر سه گونه (*Pp+Bs+Pc*)، مورد بررسی قرار گرفت. مایه تلقیح باکتری‌های مورد استفاده از شرکت ریشه گستر ویرا، واقع در رفسنجان تهیه شد. نحوه کاربرد باکتری براساس دستورالعمل شرکت تهیه کننده انجام شد. بر این اساس، در مرحله اول، تلقیح بذور با باکتری سودوموناس قبل از کاشت بذرها در گلدان انجام شد. پس از سبز شدن، در دو مرحله از تیمار باکتری به نسبت ۲/۵ درصد در آب مقطر تهیه شده و در فاصله دو تا سه هفته به صورت محلول در آب همراه با آبیاری در هر گلدان اعمال شد.

تیمار بیوچار براساس درصد وزنی در هنگام آماده‌سازی گلدان‌ها برای کاشت اعمال شد. درصد وزنی مورد استفاده بر اساس آزمایشات قبل و منابع بررسی شده ۵ درصد بود که به صورت وزنی/ وزنی در بستر کاشت به کار رفت. بیوچار تهیه شده از مواد اولیه سلولزی جمع‌آوری شده از چوب و

PGPRها از پتانسیل قابل توجهی برای بهبود رشد گیاه، افزایش جذب عناصر غذایی و عملکرد برخوردارند (Lenin and Jayanthi, 2012). به طور مشابه، تیمار ترکیبی تلقیح با *Azotobacter* و باکتری‌های حل‌کننده فسفات منجر به افزایش رشد ریشی و بهبود سنتز ترکیبات شیمیایی گیاه پریش شد (Attia and Saad, 2001).

به طور مشابه، تلقیح تلفیقی بذر گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) با سویه‌های مختلف از تو باکتر، سودوموناس و آزوسپیریوم و قارچ میکوریزا به طور معنی‌داری رشد، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، کلروفیل و تغذیه با عناصر درشت‌مغذی در برگ و ریشه را بهبود داد (Hosseinzadah et al., 2011).

بیوچار محصولی جانبی جامد است که در اثر تجزیه زیست‌توده حاصل از گیاهان جنگلی-زراعی، بقایای گیاهی یا لجن فاضلاب تحت فرایند پیرولیز در دماهای بالا در شرایط محدودیت یا عدم حضور اکسیژن تولید می‌شود. اثرات مثبت بیوچار بر ظرفیت تبادل کاتیونی خاک، ظرفیت نگهداری آب و افزایش محتوای مواد آلی خاک، تامین و افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی، بهبود جذب عناصر غذایی مانند P، N، K، افزایش فراهمی زیستی و افزایش فعالیت میکروبی دخیل در چرخه عناصر غذایی گزارش شده است (Rafael et al., 2019). کاربرد بیوچار در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد وزنی خاک در آزمایش‌های گلدانی، زیست‌توده اندام هوایی و ریشه شیرین بیان را ۸۰ و ۴۱ درصد در شرایط خاک شور بهبود بخشید. ویژگی‌های ریشه، مانند طول ریشه، سطح و حجم ریشه و صفات گره‌زایی نیز با کاربرد بیوچار در تیمارهای ۲ و ۴ درصد به طور قابل توجهی افزایش یافت (Egamberdieva et al., 2021).

با توجه به اهمیت پرداختن به کشت شیرین بیان و نقش انکارناپذیر ویژگی‌های فیزیکی و بیولوژیکی خاک برای کشت این گیاه، به‌کارگیری نهاده‌های آلی و میکروارگانیزم‌های محرک رشد می‌تواند ضمن بهبود شرایط خاک، محیط مساعدتری برای رشد ریشه به‌عنوان اندام اقتصادی قابل برداشت گیاه فراهم کرده و قابلیت استفاده پایدار از زمین را نیز افزایش دهد. لزوم تحقیق در مورد اثر کاربرد تلفیقی بیوچار و میکروارگانیزم‌ها در بحث افزایش عملکرد احساس می‌شود. بنابر موارد ذکر شده، این مطالعه با اهداف بهبود تولید شیرین

مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد فتوسنتزی و تجمع فرآورده‌های فتوسنتزی توسط گیاه است. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (مدل WinArea- UT- 11) اندازه‌گیری شد.

حجم ریشه با استفاده از روش جابجایی آب در یک استوانهٔ مدرج که تا حجم خاصی با آب پر شده بود تعیین شد. در این روش، تغییر حجم آب پس از قرار گرفتن ریشه‌ی گیاه در آب استوانه به صورت غوطه‌ور، به عنوان حجم ریشه برحسب سانتی‌متر مکعب گزارش شد (Böhm and Böhm, 1979).

جهت تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نمونه‌های برداشت شده به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و بعد از خشک شدن کامل، وزن خشک هر نمونه تعیین شد. وزن تر و خشک بوته و ریشه با استفاده از ترازو و با دقت ۱۰^{-۳} گرم (Shimadzu, Japan) مورد اندازه‌گیری گرفت.

جهت ارزیابی کارایی گونه‌های مختلف باکتری و کاربرد تلفیقی آن‌ها در افزایش وزن خشک ریشه، اثربخشی تلفیح باکتری (BIE)^۲ از اختلاف وزن خشک ریشه تولیدی در شرایط تلفیح (RDW_i) و عدم تلفیح (RDW₀) حاصل شد

$$\text{BIE} = \frac{\text{RDW}_i - \text{RDW}_0}{\text{RDW}_i} \times 100 \quad \text{رابطه ۲}$$

داده‌های حاصل در قالب طرح فاکتوییل، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS ver. 9.0 انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (LSD, $P < 0/05$) استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. میزان ظهور گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد ظهور گیاهچه تحت تأثیر کاربرد بیوجار، تلفیح با باکتری و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر اثر متفاوت تلفیح با باکتری‌های موردبررسی بر ظهور گیاهچه شیرین بیان در شرایط اعمال بیوجار بود. به‌طورکلی، نتایج نشان داد که در

ضایعات جنگلی، در این آزمایش از شرکت صنایع کربن فعال بشل^۱، قائمشهر، مازندران، ایران خریداری شد. روش تهیه و خصوصیات مختلف بیوجار مورد استفاده در مطالعه قبلی و همکاران (Ghanbari et al., 2019) ارائه شده است.

روش تکثیر شیرین بیان در این آزمایش از طریق بذر بود که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذر شیرین بیان دارای درصد جوانه‌زنی پایین و قابلیت استقرار ضعیف هستند. برای رفع مشکل جوانه زنی بذر که حاصل از خواب تحمیل شده از پوسته سخت بذر است، پیش تیمار با اسید سولفوریک پیشنهاد شده است. به‌منظور حذف پوسته سخت بذر، بذرها قبل از کاشت ابتدا به‌مدت ۵۰ دقیقه در اسید سولفوریک ۹۵-۹۷ درصد پیش‌تیمار شده و پس از سه مرتبه شستشو با آب مقطر به‌مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر خیسانده شد. پس از طی مدت مذکور، بذر جوانه‌زده درگلدان‌های از قبل پر شده با بستر کشت، در عمق ۲-۱/۵ سانتی‌متری کشت شدند. در هر گلدان، ۱۶ عدد بذر کشت شد. بستر کشت گلدان‌ها به نسبت ۲ به ۱ از خاک مزرعه و شن و درصدی کود گاوی پوسیده آماده شد.

نگهداری گلدان‌ها در شرایط گلخانه (میانگین دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ۶۰-۷۰ درصد) انجام شد. آبیاری به صورت هر ۳-۴ روز یک بار براساس ظرفیت زراعی خاک گلدان انجام شد. مراقبت‌های موردنیاز در طول دوره رشد برای گلدان‌ها به‌صورت یکسان اعمال شد.

پس از ظهور جوانه، تعداد جوانه ظهور یافته (BN) در هر گلدان شمارش شد. به‌منظور تعیین میزان ظهور گیاهچه (BE)، تعداد جوانه ظهور یافته بر تعداد بذر کاشته شده (S) در هر گلدان تعیین شد.

$$\text{BE} = \frac{\text{BN}}{S} \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

پس از طی دوره رشد (۲۰۰ روز) و در انتهای آزمایش برداشت گیاهان انجام شد. برای این منظور، بستر کل گلدان خارج و با احتیاط ریشه از بستر کاشت جدا و صفات موردبررسی برای گیاهان برداشت شده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

ابتدا ارتفاع بوته و طول ریشه با خط‌کش اندازه‌گیری شد. سپس، تعداد برگ در هر بوته شمارش شد. سطح برگ یکی از

شرایط کاربرد بیوجار ظهور بالاتری مشاهده شد. علاوه بر این، تلقیح با باکتری‌ها نیز در این شرایط اثر بهتری بر ظهور گیاهچه نشان داد. بالاترین میزان ظهور گیاهچه از تلقیح با باکتری‌های (*Pc*) *Pseudomonas chloraphis* و (*Bs*) *Bacillus subtilis* (*Pc+Bs*) در شرایط کاربرد بیوجار (۶۶٪ درصد) حاصل شد که با تلقیح با (*Pp*) *Pseudomonas putida* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوجار، *Pc* در شرایط کاربرد بیوجار و

در شرایط عدم کاربرد بیوجار، *Pp+Bs* در شرایط عدم کاربرد بیوجار تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما نسبت به عدم تلقیح، درصد ظهور را ۸۸ درصد افزایش داد. در شرایط عدم تلقیح باکتری، بیوجار افزایش معنی‌داری در میزان ظهور گیاهچه ایجاد نکرد. در مقابل، کاربرد بیوجار در شرایط تلقیح با تیمارهای *Pc+Bs*، *Pp+Pc*، *Bs*، *Pc* و *Pp+Pc+Bs* درصد ظهور را به‌طور معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد افزایش داد (شکل ۱).

Table 1: Analysis of variance results (mean squares) of the effect of biochar, bacterial inoculation on various vegetative growth and root characteristics of licorice

S.O.V.	df	Emergence rate	Plant height	Leaf number	Leaf area	Root volume	Root length	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root dry weight
Biochar	1	4456**	1331.6**	14906**	110071750**	11.05**	576**	0.73**	1.40**	0.43**
Bacteria inoculation	7	625**	53.4 ^{ns}	1085**	9806319**	2.31**	159**	0.06**	0.43**	0.13**
Biochar × Bacteria	7	569**	43.8 ^{ns}	1128**	8240742**	0.76**	171**	0.05**	0.30**	0.06**
Error	32	73	25.9	158	1218774	0.11	23	0.006	0.02	0.004
CV (%)	-	20.3	21.8	26.1	30	25.7	22.1	26	26.3	25.8

** : Significant at 1% probability level, * : Significant at 5% probability level, and ^{ns}: Not significant.

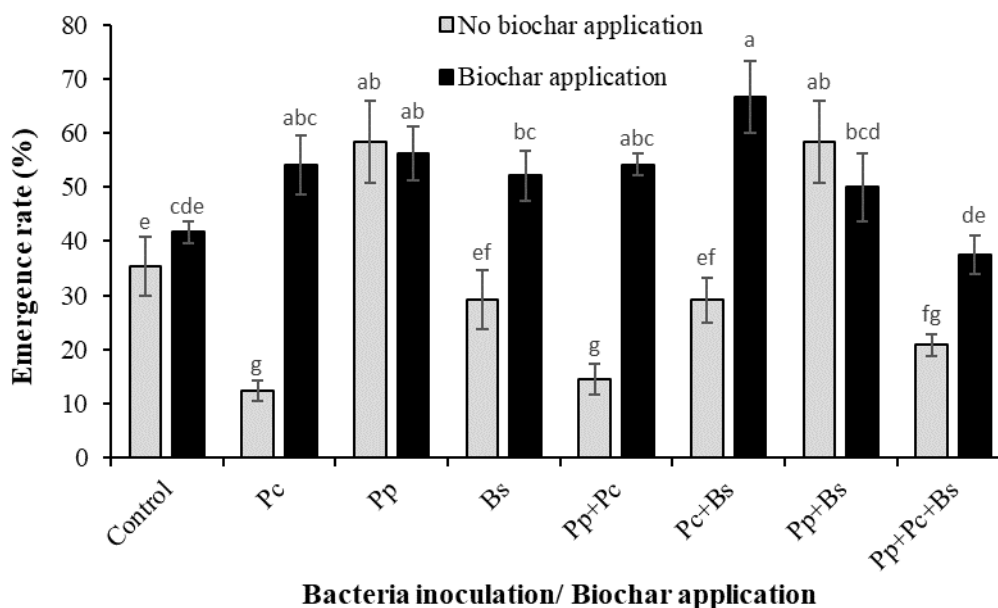


Fig. 1: Licorice seedling emergence rate affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean ± standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

نتایج تجزیه واریانس نشان از اثر معنی‌دار کاربرد بیوجار، تلقیح با باکتری و برهم‌کنش آن‌ها بر تعداد برگ و سطح برگ داشت (جدول ۱). نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوجار تلقیح با *Pp* بیشترین تعداد برگ و سطح برگ را نشان داد (شکل‌های ۳ و ۴). در شرایط عدم کاربرد بیوجار، تلقیح با سایر باکتری‌ها و همچنین تلقیح سایر باکتری‌های موردبررسی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتفاع بوته شیرین بیان تنها تحت تأثیر بیوجار قرار گرفت و اثر معنی‌داری از تلقیح با باکتری و برهم‌کنش آن با بیوجار مشاهده نشد (جدول ۱). نتایج نشان داد که کاربرد بیوجار در بستر کشت ارتفاع بوته را نسبت به عدم کاربرد ۶۸ درصد افزایش داد (شکل ۲).

زارع و همکاران: تأثیر تلقیح گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس در ترکیب...

باکتری ($Pp+Pc+Bs$) نیز تفاوت معنی‌داری نشان نداد. تلقیح با Pc منجر به کاهش در تعداد و سطح برگ شد و تلفیق آن با سایر باکتری‌ها نیز منجر به کاهش کارایی آن‌ها شد (شکل‌های ۳ و ۴).

با Pp منجر به کاهش معنی‌دار تعداد و سطح برگ شیرین بیان شد. در شرایط کاربرد بیوچار واکنش متفاوتی مشاهده شد. بیشترین اعداد برگ در این شرایط از تلقیح با Bs و تلفیق آن با Pp ($Pp+Bs$) حاصل شد که با تیمار ترکیبی سه

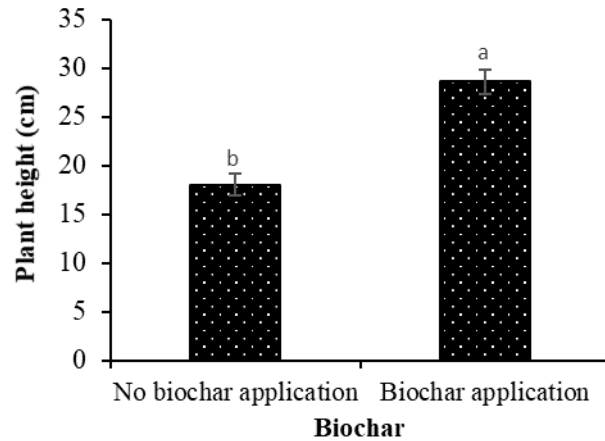


Fig. 2: Effect of biochar on licorice height. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$)

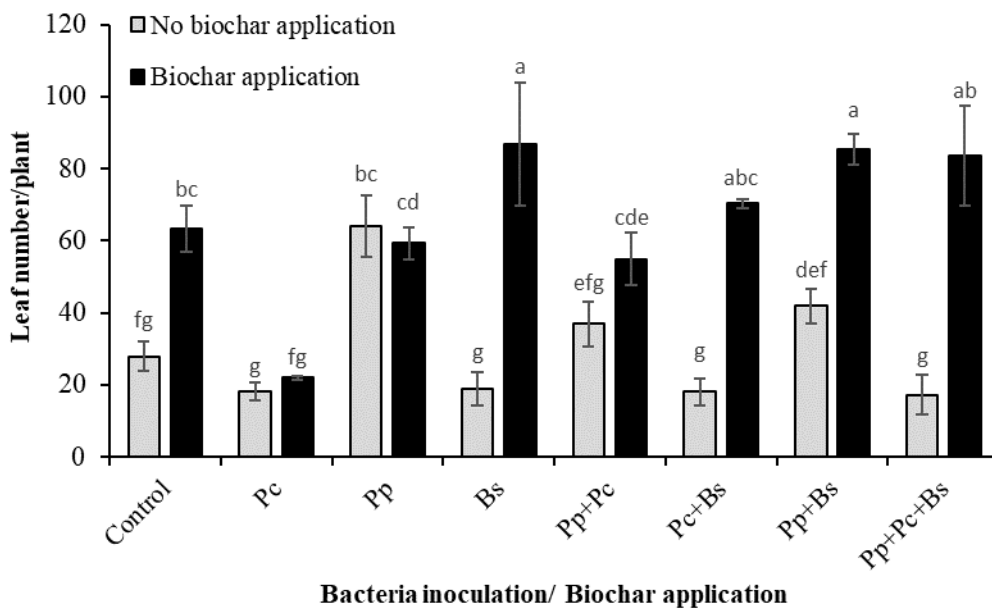


Fig. 3: Licorice leaf number affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

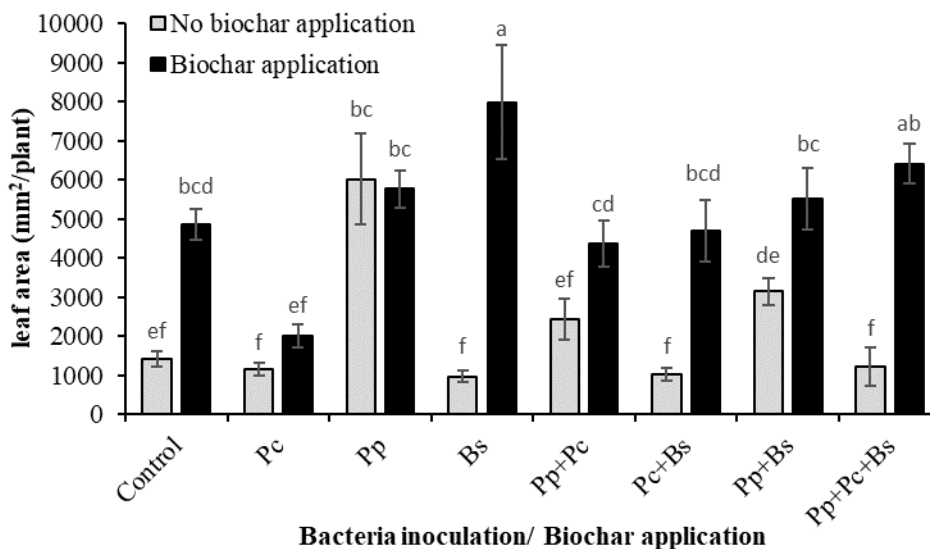


Fig. 4: Licorice leaf area affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

باکتری، کاربرد بیوجار منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی نسبت به عدم کاربرد بیوجار شد (شکل ۵). همچنین نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوجار، تلقیح با *Pp* و تلقیح ترکیبی آن با *Bs* (*Pp+Bs*) نسبت به عدم تلقیح وزن خشک اندام هوایی را بهبود داد. این در حالی بود که کاربرد بیوجار کارایی تلقیح باکتری‌های مورد بررسی (به استثنای *Pc* و تلقیح ترکیبی آن با *Bs* (*Pc+Bs*)) را از نظر وزن خشک اندام هوایی بهبود داده و حتی در شرایط عدم تلقیح نیز منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی شد (شکل ۵).

وزن خشک اندام هوایی تحت تأثیر کاربرد بیوجار، تلقیح با باکتری و برهم‌کنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی از تلقیح با *Bs* در شرایط کاربرد بیوجار حاصل شد که با تلقیح با *Pp* در شرایط کاربرد بیوجار و عدم کاربرد، تلقیح با *Pp* و کاربرد بیوجار بدون تلقیح با باکتری *Pp+Pc*، *Pp+Pc+Bs* تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد. تلقیح با *Pp* تنها تیماری بود که در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوجار وزن خشک قابل توجهی را تولید کرد. در سایر تیمارهای تلقیح با

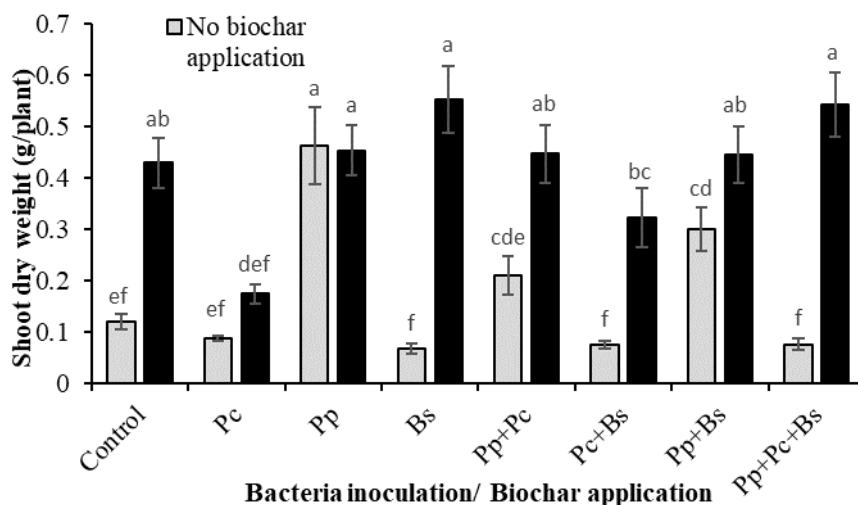
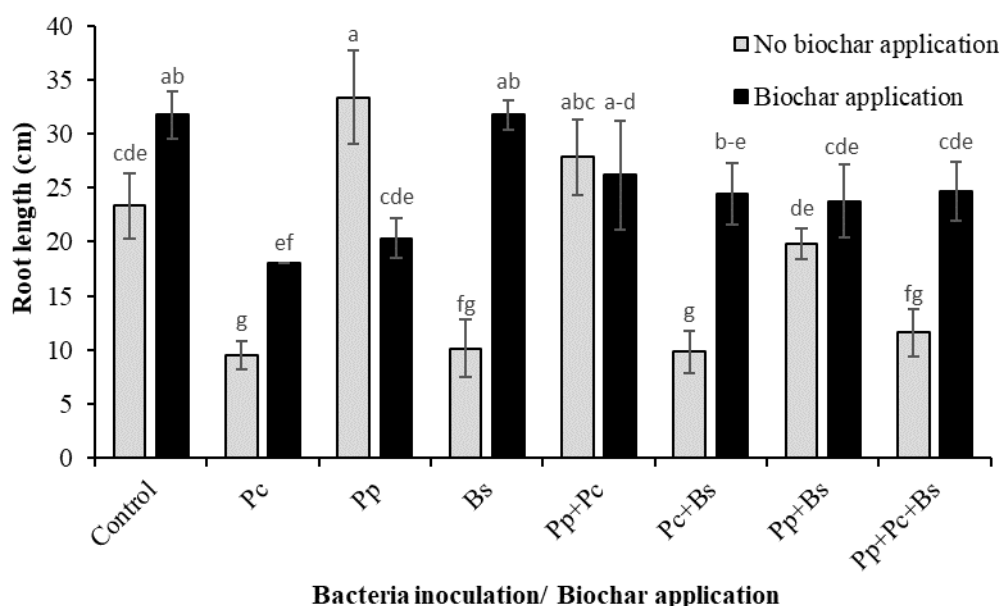


Fig. 5: Shoot dry weight of licorice affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

۳-۳. خصوصیات ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که خصوصیات مختلف ریشه تحت تأثیر کاربرد بیوچار، تلقیح با باکتری و برهم‌کنش آن‌ها قرار گرفتند (جدول ۱). نتایج نشان داد که بیشترین طول ریشه از تلقیح با *Pp* در شرایط عدم کاربرد بیوچار حاصل شد که با تلقیح با *Bs* در شرایط کاربرد بیوچار، *Pp+Pc* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار و کاربرد بیوچار بدون تلقیح با باکتری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در شرایط عدم کاربرد بیوچار، تلقیح با *Pp* و تلقیح ترکیبی آن با *Pc* (*Pp+Pc*)

بیشترین طول ریشه را به‌همراه داشت. در این شرایط، تلقیح با سایر تیمارهای موردبررسی نسبت به عدم تلقیح طول ریشه را کاهش داد. کاربرد بیوچار بدون تلقیح با باکتری و در تلقیح *Bs* بالاترین طول ریشه را در شرایط کاربرد بیوچار به خود اختصاص داد. کاربرد بیوچار در شرایط تلقیح با *Bs*، *Pc+Bs*، *Pp+Pc+Bs* و عدم تلقیح طول ریشه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد در حالی که در شرایط تلقیح با *Pp* کاهش طول ریشه را به‌همراه داشت (شکل ۶).



Bacteria inoculation/ Biochar application

Fig. 6: Root length of licorice affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

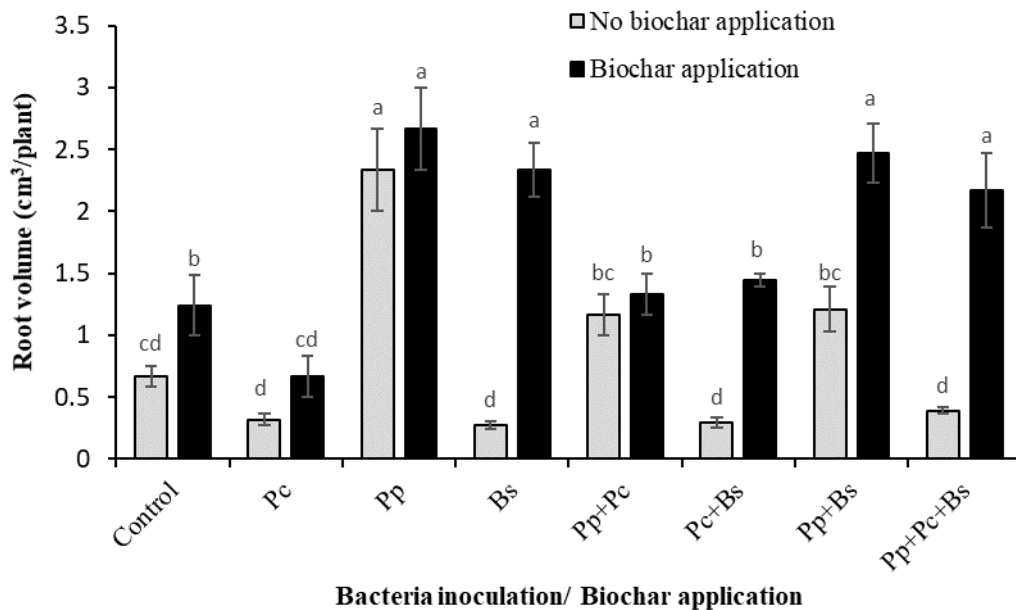
باکتری با سایر باکتری‌های نیز کارایی آن‌ها را برای افزایش در حجم ریشه شیرین بیان کاهش داد (شکل ۷).

نتایج مقایسه میانگین‌ها برای وزن تر ریشه نشان داد که بیشترین وزن تر ریشه (۱/۱۵ گرم در بوته) از تلقیح با *Pp+Bs* در شرایط کاربرد بیوچار حاصل شد که با تلقیح با *Pp* در شرایط عدم کاربرد بیوچار و همچنین تلقیح با *Pp+Pc+Bs* و *Bs* در شرایط کاربرد بیوچار تفاوت معنی‌داری نشان نداد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوچار تلقیح با *Pp* و تیمارهای ترکیبی آن با *Pc* و *Bs* (*Pp+Bs*) و *Pp+Pc* تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای نشان داد و از این نظر بهترین تیمار بود. در شرایط کاربرد بیوچار نیز تلقیح با *Pp+Bs*، *Pp+Pc+Bs* و *Bs* بیشترین وزن تر ریشه را به‌همراه

نتایج نشان داد که بیشترین حجم ریشه (۲/۷ سانتی‌متر مکعب در بوته) از تلقیح با *Pp* در شرایط کاربرد بیوچار حاصل شد که با عدم کاربرد بیوچار در همین تیمار و همچنین تیمارهای تلقیح با *Bs*، *Pp+Bs* و *Pp+Pc+Bs* در شرایط کاربرد بیوچار تفاوت معنی‌داری نشان نداد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوچار تنها تلقیح با *Pp* تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای نشان داد و از این نظر بهترین تیمار بود. در شرایط کاربرد بیوچار نیز تلقیح با همین تیمار به همراه *Bs* و تلقیح ترکیبی تیمارهای مذکور بیشترین حجم ریشه را به همراه داشت (شکل ۷). تلقیح با *Pc* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار کمترین حجم ریشه را به همراه داشت. همچنین نتایج نشان داد که تلقیح ترکیبی این

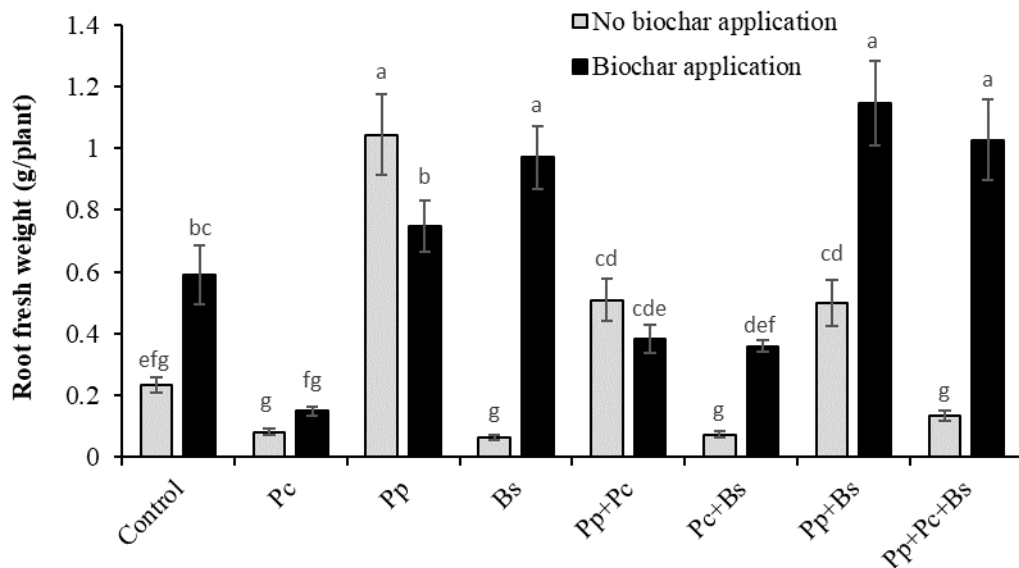
در اکثر تیمارهای مورد بررسی منجر به افزایش در وزن تر ریشه شد، در شرایط تلقیح با *Pp* وزن تر را کاهش داد (شکل ۸).

داشت (شکل ۸). تلقیح با *Pc* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار کارایی لازم را برای افزایش وزن تر ریشه نداشت. همچنین نتایج نشان داد که درحالی که کاربرد بیوچار



Bacteria inoculation/ Biochar application

Fig. 7: Root volume of licorice affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*



Bacteria inoculation/ Biochar application

Fig. 8: Root fresh weight of licorice affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

علاوه بر این، نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوچار تلقیح با *Pp* و تیمارهای ترکیبی آن با *Pc* و *Bs* (*Pp+Bs*) و *Pp+Pc* تفاوت معنی داری با سایر تیمارهای نشان داد. در شرایط کاربرد بیوچار نیز تلقیح با *Pp+Bs*، *Pp+Pc+Bs* و *Pp*

نتایج نشان داد که بیشترین وزن خشک (۰/۵۹ گرم در بوته) از تلقیح با *Pp+Bs* در شرایط کاربرد بیوچار حاصل شد که با تلقیح با *Pp+Pc+Bs* و همچنین تلقیح با *Pp* در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار تفاوت معنی داری نشان نداد.

۳-۴. کارایی تلقیح باکتری

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از کارایی تلقیح باکتری نشان داد که اثر بیوچار بر کارایی تلقیح در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین کارایی تلقیح در بین تیمارهای مختلف تلقیح متفاوت بود. همچنین اثر متقابل معنی‌داری بین کاربرد بیوچار و تلقیح با باکتری مشاهده شد (جدول ۲).

بیشترین وزن خشک ریشه را به همراه داشت (شکل ۹). تلقیح با *Pc* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار کارایی لازم را برای افزایش وزن تر ریشه نداشت. این در حالی بود که تلقیح با *Pp* در هر دو شرایط کارایی بالایی در افزایش وزن خشک ریشه نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که درحالی‌که کاربرد بیوچار در اکثر تیمارهای موردبررسی منجر به افزایش در وزن تر ریشه شد (شکل ۹).

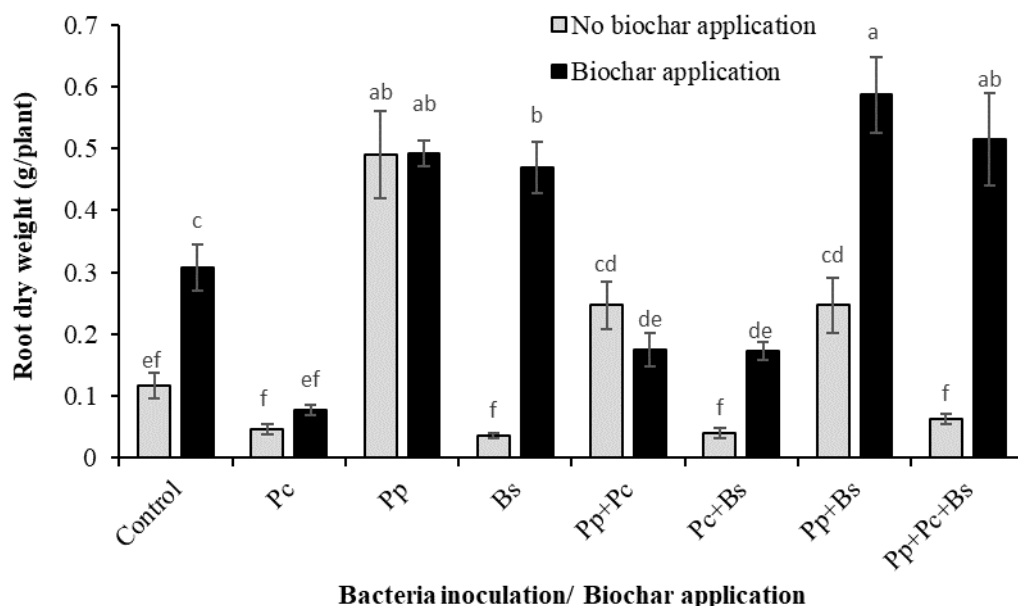


Fig. 9: Root dry weight of licorice affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). *Bs*: *Bacillus subtilis*, *Pc*: *Pseudomonas chloraphis*, and *Pp*: *Pseudomonas putida*

Table 2: Analysis of variance results (mean squares) of the effect of biochar, bacterial inoculation on bacteria inoculation effect in licorice

S.O.V.	df	Bacteria inoculation effect
Biochar	1	16.5**
Bacteria inoculation	6	3.92**
Bacteria \times Biochar	6	2.54**
Error	28	0.126

** : Significant at 1% probability level

کاربرد بیوچار کارایی تلقیح را افزایش داد اما در شرایط تلقیح با *Pc* کارایی تلقیح منفی نشان داد که نشان می‌دهد در شرایط تلقیح با این باکتری، کاربرد بیوچار نیز در بهبود تولید ریشه کارایی لازم برخوردار نبوده است (شکل ۱۰).

نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد بیوچار، تلقیح با *Pp* و کاربرد ترکیبی آن با *Pp* و *Bs* بالاترین کارایی تلقیح را نشان داد و کارایی تلقیح در سایر تیمارهای موردبررسی منفی بود. این در حالی بود که کمترین کارایی تلقیح از کاربرد *Bs* در شرایط عدم کاربرد بیوچار حاصل شد. همچنین با وجود این‌که

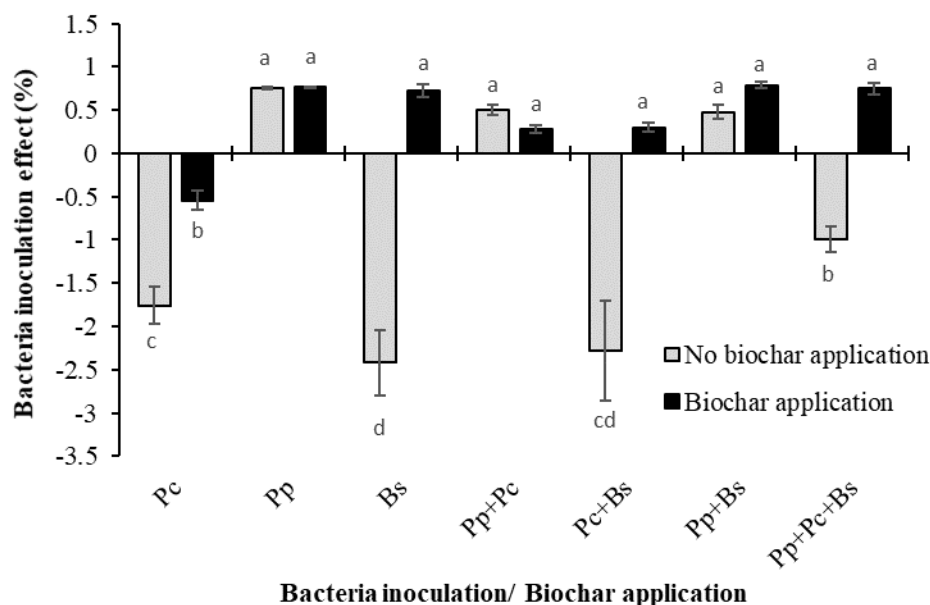


Fig. 10: Bacteria inoculation effect affected by the interaction effect of biochar and bacterial inoculation. The means (mean \pm standard error) with similar letter(s) does not indicate a statistically significant difference according to the least significant difference test (LSD; $P \leq 0.05$). Bs: *Bacillus subtilis*, Pc: *Pseudomonas chloraphis*, and Pp: *Pseudomonas putida*

تأثیر گذار بودند. تیمارها همچنین تأثیر معنی داری بر طول ریشه گیاهچه داشتند (Głodowska et al., 2016).

علاوه بر نقش برجسته باکتری‌های *P. phytofirmans* و *Bacillus sp.* ظرفیت نگهداری بیشتر آب و مواد مغذی، خاصیت تبادل یونی و سطح ویژه بالای بیوچار، آن را به یک افزودنی خاک کارآمد تبدیل می‌کند که حداکثر جذب و استفاده از آب و عناصر غذایی را در گیاهان تضمین می‌کند (Paetsch et al., 2018). در همین زمینه، ساکسنا و همکاران (Saxena et al., 2013) پس از انجام یک آزمایش مزرعه‌ای گزارش کردند که تنش آبی به شدت بر عملکرد محصول تأثیر می‌گذارد، اما تیمار *Bacillus sp.* همراه با بیوچار باعث افزایش نسبت ریشه به ساقه، تعداد غلاف و عملکرد اقتصادی *Phaseolus vulgaris* شد. هم‌افزایی بین باکتری‌های *P. phytofirmans* و *Bacillus sp.* با بیوچار به دلیل ساختار متخلخل بیوچار است که از تکثیر بیشتر این سویه‌های باکتریایی با هوادهی مناسب حمایت کرده و بنابراین اطمینان از دسترسی و جذب بیشتر عناصر غذایی و همچنین تحمل بیشتر سویه‌ها در برابر شرایط مختلف محیطی سخت از جمله تنش خشکی را تضمین می‌کند (Sangeetha and Stella, 2012).

افزایش وزن خشک اندام هوایی در تلقیح با *Bs* و تلقیح ترکیبی هر سه باکتری در شرایط کاربرد بیوچار و تلقیح با *Pp*

نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار در محیط کشت و همچنین تلقیح با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند عامل اثرگذاری بر میزان ظهور گیاهچه شیرین بیان حاصل از بذر باشد. به طور کلی کاربرد بیوچار اثر قابل توجهی بر میزان ظهور گیاهچه داشت. تأثیر مثبت پوشش بذر بر رشد گیاهچه ذرت در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است. بیوچار به بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی ذرت کمک کرده است. فرض بر این است که دلیل اصلی بهبود رشد گیاهچه، پوشش بیوچار است که آب را در اطراف بذر حفظ کرده و در نتیجه شرایط مطلوبی برای رشد گیاهچه ایجاد می‌کند (Głodowska et al., 2016).

برهم‌کنش بیوچار در شرایط تلقیح با باکتری‌های کاربردی نشان داد که بهترین نتایج از تلقیح با *Pc+Bs* در شرایط کاربرد بیوچار و تلقیح با *Pp* و ترکیب آن با *Bs* در شرایط عدم کاربرد بیوچار حاصل شد (شکل ۱). در همین زمینه، نتایج مطالعات نشان داد که بذور ذرت پوشش داده شده با بیوچار و بیوچار تلقیح شده با سودوموناس (*P. libanensis*) از نظر جوانه‌زنی و رشد اولیه بهتر از تیمار شاهد عمل کردند (Głodowska et al., 2016). آزمایش جوانه‌زنی نشان داد که پوشش و تلقیح بذر بر وزن خشک گیاهچه و درصد جوانه‌زنی تأثیری نداشت. با این حال، تیمارها بر سرعت جوانه‌زنی و بر شاخص بنیه بذر

در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوجار می‌تواند با افزایش سطح برگ در این تیمارها مرتبط باشد که خود نیز می‌تواند ناشی از افزایش تعداد برگ در بوته در این تیمارها باشد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵). نتایج مطالعات مشابه نشان داده که تلقیح بذر گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) با قارچ میکوریزا و سویه‌های مختلف از توپاکتر، سودوموناس و آزوسپیریلوم با افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای عناصر درشت مغذی به طور قابل توجهی پارامترهای رشد، وزن خشک اندام هوایی در برگ و ریشه را افزایش داد (Hosseinzadah et al., 2011). اخیراً برهمکنش بین سویه‌های *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 همراه با سویه‌های *Mesorhizobium* در شیرین بیان در آزمایش گلدانی بررسی و نتایج نشان از افزایش رشد و تولید زیست‌توده، تعداد گره‌ها و محتوای نیتروژن گیاه پس از تلقیح ترکیبی با باکتری‌های مورد بررسی داشت (Egamberdieva et al., 2017). کاربرد بیوجار به همراه باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) می‌تواند یک استراتژی زراعی مناسب برای افزایش رشد و عملکرد گیاهان باشد. با این حال، در حال حاضر اطلاعات کمی از مزیت هم‌افزایی آن‌ها وجود دارد. در مطالعه‌ای، پاسخ فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط کاربرد بیوجار به صورت منفرد یا در ترکیب با سویه‌های *Pseudomonas* sp. تحت تنش آبی مورد ارزیابی قرار گرفت. کاربرد هم‌زمان بیوجار و سودوموناس با بهبود تغذیه و تنظیم پارامترهای فیزیولوژیک اثر مثبت و معنی‌داری در پاسخ کلزا به تنش خشکی و بهبود صفات زراعی داشت (Sun et al., 2024). سان و همکاران (Gul-Lalay et al., 2024). پتانسیل بقا و کلونیزاسیون ریشه سودوموناس پوتیدا (2016) را در بیوجار چوب کاج که توسط تجزیه در اثر حرارت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید شده بود، ارزیابی کردند. آن‌ها دریافتند که بیوجار به عنوان یک حامل تلقیح مؤثر است و از جمعیت بالایی از باکتری‌ها حمایت می‌کند و این سویه قادر است به طور مؤثر ریزوسفر گیاهان را کلونیزه کند که می‌تواند منجر به افزایش زیست‌توده گیاهی شود.

در مطالعه حاضر کاربرد باکتری باسیلوس به همراه بیوجار یکی از مؤثرترین تیمارها در افزایش وزن خشک گیاه شیرین بیان بود. به طور مشابه، استفاده ترکیبی از بیوجار و

باسیلوس رشد ذرت، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم و عملکرد را بهبود بخشید، که ممکن است به دلیل افزایش حلالیت عناصر غذایی از طریق تولید اسید باشد، همراه با سایر ویژگی‌های محرک رشد مانند تولید سیدروفور، تولید آگروپلی ساکاریدها و تولید HCN که توسط این سویه نشان داده شده است (Ahmad et al., 2020)، همان‌طور که در مطالعات قبلی گزارش شده است (Gul-Lalay et al., 2024; Nawaz et al., 2023). در آزمایشی برای ارزیابی تأثیر بیوجار به دست آمده از منابع مختلف در ترکیب با *Bacillus* sp. ZM20 بر خواص بیولوژیکی خاک و رشد ذرت، نتایج نشان داد که زیست‌توده تر و خشک، وزن هزارانه و عملکرد دانه با استفاده از بیوجار در هر دو شرایط تلقیح و عدم تلقیح با باسیلوس به طور معنی‌داری بهبود یافت. کاربرد بیوجار همراه با باکتری همچنین خواص بیولوژیکی خاک از جمله ماده آلی خاک، کربن زیست‌توده میکروبی و محتوای نیتروژن آمونومی و نیتراتی را بهبود بخشید. همچنین مشاهده شد که کاربرد ترکیبی بیوجار با باکتری باسیلوس مؤثرتر از کاربرد جداگانه بیوجار بود (Ahmad et al., 2020). همچنین، اثر باکتری محرک رشد *Bacillus sonorensis* در کشت فلفل (*Capsicum annuum* L.) در شرایط کاهش مقدار کاربرد کود شیمیایی، با افزایش رشد و عملکرد، بدون تأثیر نامطلوب بر رشد، تغذیه و عملکرد گیاه، باعث افزایش کارایی مصرف عناصر می‌شود (Thilagar et al., 2016).

افزایش وزن تر و خشک ریشه در تلقیح با *Bs*، *Pp+Bs* و تلقیح ترکیبی هر سه باکتری در شرایط کاربرد بیوجار و تلقیح با *Pp* در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوجار می‌تواند با اثر تحریک‌کنندگی این تیمارهای در افزایش سرعت رشد مرتبط باشد. افزایش رشد می‌تواند منجر به افزایش رشد ریشه از جمله حجم ریشه و طول ریشه شود که در نهایت منجر به افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شود (شکل‌های ۶ تا ۹). در همین زمینه، گزارش شده که کاربرد بیوجار بیشترین فواید را برای رشد ریشه و اندام هوایی شیرین بیان و همچنین جذب نیتروژن و فسفر و تخصیص کربن در شرایط نرمال و شوری خاک داشت (Egamberdieva et al., 2018). چندین مطالعه مکانیسم‌های احتمالی اثرات مثبت بیوجار بر رشد گیاه را شرح داده‌اند. کاهش شستشوی عناصر غذایی و افزایش کیفیت خاک

از آب و عناصر غذایی را در گیاهان تضمین می‌کند (Paetsch et al., 2018).

در مقابل، نتایج نشان داد که تلقیح با *Pc* افزایش در رشد و تولید ریشه نداشت. برخلاف باکتری *Bs*، کاربرد بیوچار نیز در این شرایط تفاوت معنی‌داری در کارایی باکتری *Pc* ایجاد نکرد (شکل ۱۰). بررسی نتایج حاصل از کارایی تلقیح باکتری نیز نشان داد که کاربرد بیوچار نیز از قابلیت افزایش کارایی تلقیح این باکتری برخوردار نبود (شکل ۱۰). علاوه‌براین، نتایج تجزیه فسفر نشان داد که غلظت فسفر بافت گیاهی در شاهد تفاوت معنی‌داری با بافت گیاهان تلقیح شده نداشت (Głodowska et al., 2016). همچنین، تیمارهای بیوچار تلقیح شده با سودمونات غلظت فسفر را در بافت ذرت افزایش ندادند (Głodowska et al., 2016). علاوه‌بر این، با وجود مشاهده اثرات مؤثر باکتری *Bs* در افزایش رشد و تولید ریشه شیرین‌بیان در شرایط کاربرد بیوچار، این باکتری در شرایط عدم کاربرد بیوچار اثر قابل توجهی بر رشد و وزن ریشه نشان نداد (شکل‌های ۷، ۸ و ۹). نتایج بررسی کارایی تلقیح این باکتری نیز تایید کرد که کاربرد این باکتری در شرایط عدم کاربرد بیوچار کمترین کارایی تلقیح را در بین باکتری‌های مورد بررسی نشان داد (شکل ۱۰). در مطالعه‌ای، اثرات بیوچار به همراه سویه‌های باکتری‌های محرک رشد *Bacillus sp.* و *Paraburkholderia phytofirmans* تحت تنش آبی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه با شاهد، مقدار کاهش با اعمال تنش خشکی در رنگدانه‌های فتوسنتزی و ویژگی‌های تبادل گازی به‌طور قابل توجهی در گیاهان تیمار شده با بیوچار و PGPR کمتر بود. با این حال، حداکثر افزایش در فتوسنتز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در گیاهان تیمار شده با بیوچار و *P. phytofirmans* ثبت شد، درحالی‌که هیچ افزایش معنی‌داری در گیاهان تیمار شده با ترکیب بیوچار و *Bacillus sp.* مشاهده نشد (Nawaz et al., 2023). بنابراین به نظر می‌رسد عدم کارایی گونه‌های باکتری در افزایش رشد ناشی از عدم کارایی در بهبود تغذیه گیاه باشد.

پس از استفاده از بیوچار یکی از مکانیسم‌های احتمالی است (Laird et al., 2010). در مطالعه‌ای در همین زمینه، کاربرد بیوچار منجر به افزایش محتوای C، N و P در بافت‌های گیاهی شیرین‌بیان شد (Egamberdieva et al., 2018). پتانسیل بیوچار برای افزایش رشد گیاه با افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی ضروری برای رشد و نمو گیاه توضیح داده شده است (Amini et al., 2016). همچنین، جذب عناصر غذایی از جمله N، P، K و Mg در بافت گیاهی ذرت با افزودن بیوچار در خاک قلیایی تحریک شد (Zhao et al., 2020). بیوچار سرشار از کربن آلی و مواد معدنی است و عناصر غذایی اضافی را برای خاک فراهم می‌کند و وضعیت تغذیه گیاه و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Qayyum et al., 2012). ال‌نگار و همکاران (El-Naggar et al., 2015) افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) خاک را پس از افزودن بیوچار مشاهده کردند که با حفظ بیشتر عناصر غذایی مرتبط است.

افزایش قابل توجهی در وزن تر و خشک ریشه سویا با کاربرد بیوچار مشاهده شد (Nawaz et al., 2023). پیش از این، لیو و همکاران (Liu et al., 2021) گزارش کردند که کاربرد بیوچار تأثیر مثبتی بر مورفولوژی و رشد ریشه دارد. آن‌ها بر این عقیده بودند که اثر کاربرد بیوچار در افزایش زیست‌توده ریشه می‌تواند به دلیل توانایی آن در کاهش چگالی ظاهری خاک باشد، در نتیجه، تخلخل خاک را بهبود بخشیده که باعث گسترش در سیستم ریشه می‌شود. همراه با افزایش نسبت کربن آلی در خاک آهکی، بیوچار دسترسی عناصر غذایی مانند نیتروژن (N)، فسفر (P) و پتاسیم (K) را برای ریشه گیاه افزایش می‌دهد که در نهایت رشد ریشه را بهبود می‌بخشد (Amin and Mihoub, 2021). دوسی و همکاران (Ducey et al., 2013) به این نتیجه رسیدند که حضور بیوچار در خاک می‌تواند فضای زندگی را برای میکروارگانیسم‌ها فراهم کند که در نهایت سلامت خاک را بهبود می‌بخشد و در نتیجه محیط مناسبی برای رشد بهتر ریشه فراهم می‌کند. علاوه‌بر نقش برجسته باکتری‌های *P. phytofirmans* و *Bacillus sp.*، ظرفیت نگهداری بیشتر آب و عناصر غذایی، خاصیت تبادل یونی، و سطح ویژه بالای بیوچار، آن را به یک افزودنی خاک کارآمد تبدیل می‌کند که حداکثر جذب و استفاده

۴. نتیجه‌گیری

کاربرد بيوچار کارایی مثبت نشان داد و منجر به افزایش تولید ریشه شد. در مقابل، تلفیح با *Pseudomonas chloraphis* (Pc) اثر قابل توجهی بر رشد و تولید ریشه نداشت و کاربرد بيوچار نیز منجر به افزایش کارایی این باکتری نشد. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که برای تولید پایدار گیاهان باید باکتری محرک رشد مناسب آن گیاه را در شرایط خاص تولید مدنظر قرار داد.

۵. سپاسگزاری

هزینه اجرای این پژوهش به‌عنوان قسمتی از طرح شماره ۷۴۱۴/۰۱، توسط پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه افصلی پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان تأمین شده است که صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید.

نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد بيوچار در محیط کشت گیاه شیرین‌بیان می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر رشد رویشی و وزن ریشه گیاه داشته باشد به‌طوری‌که کاربرد بيوچار کارایی تلفیح باکتری‌ها را افزایش داد. همچنین نتایج بیانگر کارایی متفاوت باکتری‌های مورد ارزیابی بر رشد و تولید ریشه شیرین‌بیان بود. براین اساس، تلفیح با باکتری *Bacillus subtilis* (Bs) در شرایط کاربرد بيوچار بهترین نتایج را در پی داشت. با این وجود، باکتری *Pseudomonas putida* (Pp) در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد بيوچار اثر قابل توجهی بر رشد و وزن ریشه شیرین‌بیان داشت. نتایج بررسی کارایی تلفیح باکتری‌ها نیز نشان داد که کارایی Bs در شرایط عدم کاربرد بيوچار منفی بود. در مقابل، Pp در هر دو شرایط کاربرد عدم

۶. منابع

- Ahmad, M., Wang, X., Hilger, T. H., Luqman, M., Nazli, F., Hussain, A. and Mustafa, A. (2020). Evaluating Biochar-Microbe Synergies for Improved Growth, Yield of Maize, and Post-Harvest Soil Characteristics in a Semi-Arid Climate. *Agronomy*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy10071055>
- Amin, A. E.-E. A. Z. and Mihoub, A. (2021). Effect of sulfur-enriched biochar in combination with sulfur-oxidizing bacterium (*Thiobacillus* spp.) on release and distribution of phosphorus in high calcareous P-fixing soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(3), 2041-2047. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00500-5>
- Amini, S., Ghadiri, H., Chen, C. and Marschner, P. (2016). Salt-affected soils, reclamation, carbon dynamics, and biochar: a review. *Journal of Soils and Sediments*, 16, 939-953. <https://doi.org/10.1007/s11368-015-1293-1>
- Attia, F. A. and Saad, O. A. O. (2001). Biofertilizers as partial alternative of chemical fertilizer for *Catharanthus roseus* G. Don. *Journal of Plant Production*, 26(11), 7193-7208. <https://doi.org/10.21608/jpp.2001.258123>
- Böhm, W. and Böhm, W. (1979). Root parameters and their measurement. *Methods of Studying Root Systems*, 125-138. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67282-8_12
- Das, K., Abrol, S., Verma, R., Annapragada, H., Katiyar, N. and M, S. (2020). Chapter 8 - Pseudomonas. In N. Amaran, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, and A. Sankaranarayanan (Eds.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 133-148). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00008-3>
- Ducey, T. F., Ippolito, J. A., Cantrell, K. B., Novak, J. M. and Lentz, R. D. (2013). Addition of activated switchgrass biochar to an aridic subsoil increases microbial nitrogen cycling gene abundances. *Applied Soil Ecology*, 65, 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.01.006>
- Egamberdieva, D., Hua, M., Reckling, M., Wirth, S. and Bellingrath-Kimura, S. D. (2018). Potential effects of biochar-based microbial inoculants in agriculture. *Environmental Sustainability*, 1(1), 19-24. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0010-6>
- Egamberdieva, D., Li, L., Lindström, K. and Räsänen, L. A. (2016). A synergistic interaction between salt-tolerant *Pseudomonas* and *Mesorhizobium* strains improves growth and symbiotic performance of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish.) under salt stress. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(6), 2829-2841. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7147-3>
- Egamberdieva, D., Ma, H., Alaylar, B., Zoghi, Z., Kistaubayeva, A., Wirth, S. and Bellingrath-Kimura, S. D. (2021). Biochar amendments improve licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) growth and nutrient uptake under salt stress. *Plants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102135>
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Li, L., Abd-Allah, E. F. and Lindström, K. (2017). Microbial cooperation in the rhizosphere improves liquorice growth under salt stress. *Bioengineered*, 8(4), 433-438. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1250983>
- El-Naggar, A. H., Usman, A. R. A., Al-Omran, A., Ok, Y. S., Ahmad, M. and Al-Wabel, M. I. (2015). Carbon mineralization and nutrient availability in calcareous sandy soils amended with woody waste biochar. *Chemosphere*, 138, 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.052>
- Emmanuel, O. C. and Babalola, O. O. (2020). Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research*, 239, 126569. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126569>
- Ghanbari, J., Khajoei-Nejad, G., Van Ruth, S. M. and Aghighi, S. (2019). The possibility for improvement of flowering,

- corm properties, bioactive compounds and antioxidant activity in saffron (*Crocus sativus* L.) by different nutritional regimes. *Industrial Crops and Products*, 135, 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.064>
- Glódowska, M., Husk, B., Schwinghamer, T. and Smith, D. (2016). Biochar is a growth-promoting alternative to peat moss for the inoculation of corn with a pseudomonad. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(1), 21. <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0356-z>
- Goudarzi, T., Tabrizi, L., Alikhani, H. A., Nazeri, V. and Najafi, F. (2023). Phytostimulation Properties of Indigenous Plant Growth-promoting Bacteria from Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): Benefits for Seed Germination and Seedling Growth. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 10(1), 53-68. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2022.323243.466>
- Gul-Lalay, Ullah, S., Shah, S., Jamal, A., Saeed, M. F., Mihoub, A., ... Radicetti, E. (2024). Combined Effect of Biochar and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Physiological Responses of Canola (*Brassica napus* L.) Subjected to Drought Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(6), 1814-1832. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-11219-1>
- Hayashi, H. and Sudo, H. (2009). Economic importance of licorice. *Plant Biotechnology*, 26(1), 101-104. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.26.101>
- He, C., Zeng, Q., Chen, Y., Chen, C., Wang, W., Hou, J. and Li, X. (2021). Colonization by dark septate endophytes improves the growth and rhizosphere soil microbiome of licorice plants under different water treatments. *Applied Soil Ecology*, 166, 103993. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103993>
- Hosseinzadah, F., Satei, A. and Ramezani, M. R. (2011). Effects of mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in *Calendula officinalis* L. *Middle East Journal of Scientific Research*, 8(5), 947-953.
- Laird, D., Fleming, P., Wang, B., Horton, R. and Karlen, D. (2010). Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158, 436-442. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.05.012>
- Lenin, G. J. N., Jayanthi, M. and Nagar, A. (2012). Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on enhancement of growth, yield and nutrient content of *Catharanthus roseus*. *Agricultural and Food Sciences*, 2, 37-42.
- Liu, B., Li, H., Li, H., Zhang, A. and Rengel, Z. (2021). Long-term biochar application promotes rice productivity by regulating root dynamic development and reducing nitrogen leaching. *GCB Bioenergy*, 13(1), 257-268. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12766>
- Nawaz, F., Rafeeq, R., Majeed, S., Ismail, M. S., Ahsan, M., Ahmad, K. S., ... Haider, G. (2023). Biochar amendment in combination with endophytic bacteria stimulates photosynthetic activity and antioxidant enzymes to improve soybean yield under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(1), 746-760. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01079-1>
- Paetsch, L., Mueller, C. W., Kögel-Knabner, I., Von Lütow, M., Girardin, C. and Rumpel, C. (2018). Effect of in-situ aged and fresh biochar on soil hydraulic conditions and microbial C use under drought conditions. *Scientific Reports*, 8(1), 6852. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25039-x>
- Qayyum, M. F., Steffens, D., Reisenauer, H. P. and Schubert, S. (2012). Kinetics of carbon mineralization of biochars compared with wheat straw in three soils. *Journal of Environmental Quality*, 41(4), 1210-1220. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0058>
- Rafael, R. B. A., Fernández-Marcos, M. L., Cocco, S., Ruello, M. L., Fornasier, F. and Corti, G. (2019). Benefits of Biochars and NPK Fertilizers for Soil Quality and Growth of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in an Acid Arenosol. *Pedosphere*, 29(3), 311-333. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(19\)60805-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(19)60805-2)
- Sangeetha, D. and Stella, D. (2012). Survival of plant growth promoting bacterial inoculants in different carrier materials. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 3(1), 170-178.
- Saxena, J., Rana, G. and Pandey, M. (2013). Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans. *Scientia Horticulturae*, 162, 351-356. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.002>
- Sun, D., Hale, L. and Crowley, D. (2016). Nutrient supplementation of pinewood biochar for use as a bacterial inoculum carrier. *Biology and Fertility of Soils*, 52, 515-522. <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1093-9>
- Thilagar, G., Bagyaraj, D. J. and Rao, M. S. (2016). Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 198, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.021>
- Zhao, W., Zhou, Q., Tian, Z., Cui, Y., Liang, Y. and Wang, H. (2020). Apply biochar to ameliorate soda saline-alkali land, improve soil function and increase corn nutrient availability in the Songnen Plain. *Science of the Total Environment*, 722, 137428. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137428>