

The Effect of Inoculation of Growth-Stimulating Bacteria on some Leaf Growth Traits and Nutritional Elements of Hazelnut seedlings under Field Conditions

Y. Rostamikia^{1*}, A. Rahmani² and M. Teimouri³

Abstract

Growth-promoting bacteria are among the beneficial soil microorganisms, and by improving the quality of the soil, they increase the growth and nutritional characteristics of the plant. Therefore, in order to investigate the effect of growth-promoting bacteria on the leaf surface, specific leaf surface and absorption of nutritive elements of hazelnut seedlings, a factorial experiment was carried out in the form of a randomized complete block design in the field conditions. The main factor was the origin of the seedling (at two levels: Fandoglou and Makesh) and bacterial inoculation (at five levels: *P. putida*, *B. subtilis* and *E. cloaca*, combination of them and Control) with three replications. 12 seedlings, were planted at a distance of 3 × 3 m in holes with dimensions of 50 × 50 × 50 cm on an area of 3240 m² in the agricultural lands at the neighborhood of Fandoglou forest in Ardabil. The results after four years showed that the inoculated seedlings of both origins were superior in terms of all investigated traits compared to the control (un-inoculated) seedlings. The highest amount of traits was assigned to the seedlings of Fandoglou origin which inoculation with combination of all three bacteria (*P. putida*, *B. subtilis* and *E. cloaca*). The leaf area and specific leaf area were 53.1 and 37.7% more in inoculated seedling compared control, respectively. The concentration of nitrogen, potassium, phosphorous, iron and zinc increased by 59.4, 89.5, 23.7, 45.4 and 60.6% compared to the control seedlings respectively. Finally, it can be concluded that the planting of hazelnut seedlings inoculated with growth stimulating bacteria (combination of the three mentioned bacteria) will have more vegetative growth.

Keywords: Bio-fertilizer, Hazelnut, Leaf area, Nitrogen.

Background and Objective: Hazelnut (*Corylus avellana* L.) is considered one of the most significant species of Ardabil Fandoglou forest in Iran. This species is ecologically and economically important and also is one of the most valuable medicinal plants in the traditional medicine and pharmaceutical. Hazelnut kernels are very important in human nutrition and health as it has different kind of vitamins, healthy oils (mostly oleic acid) B, protein, fiber and antioxidants. Unfortunately, in recent years, conversion of land use, animal

1- Forests and Rangelands Research Dept. Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, I.R. Iran.

2- Forest Research Dept. Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran.

* Corresponding author, Email: younesrostamikia@gmail.com

grazing, fire, and excessive cutting of trees (charcoal production) are among the most important factors in destroying the habitats of this species. Therefore, it is necessary to restore and develop the habitats of this species through the production of healthy and quality seedlings. To increase successful planting programs, the ability of seedlings against environmental stresses should be increased by improving the absorption of water and nutrients. One of the solutions that has been noticed in recent years is the application of growth-promoting bacteria. Plant growth stimulating bacteria are a group of free-living and non-symbiotic rhizosphere improve plant growth by one or more direct and indirect mechanisms. The present research was conducted with the aim of investigating the effect of these microorganisms in order to provide practical solutions for the development of hazelnut nursery in the neighbourhood of the Fandoglou forest of Ardabil.

Methods: In November, homogeneous seedlings were transferred to the area adjacent to the nursery, located in the barren lands of the forest neighborhood. Experiment was carried in randomized complete block design (with two main factors including the origin of seedlings (at two levels: Fandoglou and Makesh) and bacterial inoculation (at five levels: *P. putida*, *B. subtilis*, *E. cloaca* separately, the combination of three bacteria, and control). The seedlings were planted with three replications of 12 at a distance of 3×3 meters in holes with dimensions of $50 \times 50 \times 50$ cm in the agricultural lands at the neighborhood of Fandoglou forest of Ardabil. In the fourth year, the leaf area, specific leaf area, and nutritional elements (nitrogen, phosphorous, potassium, iron and zinc) Hazelnut seedlings were measured.

Results: The results showed that inoculation of hazelnut seedlings (both origins) with bacteria separately and in combination had a significant effect on the leaf growth characteristics and nutritional elements. The maximum leaf area (24.5 cm^2) the specific leaf area ($135.25 \text{ cm}^2/\text{gr}$) were observed in seedlings (Fandoglou origin) inoculated with a combination of three bacteria. In addition, the concentration of nitrogen, phosphorous, potassium, iron and zinc was more 3.56%, 0.36% and 1.35%, 35.04 and 26.10 mg/g in seedlings (Fandoglou origin) inoculated with a combination of three bacteria.

Conclusions: With considering the positive effect of growth-stimulating bacteria on leaf growth characteristics and leaf nutritional conditions of hazelnut seedlings, the combined inoculation of three bacteria (*P. putida*, *B. subtilis* and *E. cloaca*) is suggested for successful planting hazelnut seedlings in the nursery and also in the field.

References:

1. Arias, D., Calvo-Alvarado, J. and Dohrenbusch, A., 2007. Calibration of LAI-2000 to estimate leaf area index (LAI) and assessment of its relationship with stand productivity in six native and introduced tree species in Costa Rica. *Forest Ecology Management* 247:185–193.
2. Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., Smith, D.L., 2018. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Bio-stimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science* 9:1473–1485.

اثر مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد بر برخی از صفات رشدی برگ و عناصر تغذیه‌ای نهال‌های فندق در شرایط عرصه

یونس رستمی کیا^{۱*}، احمد رحمانی^۲ و مریم تیموری^۲

چکیده

باکتری‌های محرک رشد از جمله ریزجانداران مفید خاک هستند که از طریق بهبود کیفیت خاک، سبب افزایش صفات رشدی و تغذیه‌ای گیاه می‌شوند. از این رو، به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر سطح برگ، سطح ویژه برگ و جذب عناصر غذایی نهال‌های فندق، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط عرصه اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل مبدأ نهال در دو سطح (فندقلو و مکش) و مایه‌زنی باکتریایی در پنج سطح (*Bacillus subtilis*، *Pseudomonas putida* و *Enterobacter cloaca* به طور جداگانه، ترکیب سه باکتری و شاهد) با سه تکرار ۱۲ تایی با فاصله ۳ × ۳ متر در چاله‌هایی به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۵۰ سانتی‌متر در سطح ۳۲۴۰ متر مربع در اراضی زراعی حاشیه جنگل فندقلوی اردبیل کاشته شدند. پس از گذشت چهار سال نتایج نشان داد که نهال‌های مایه‌زنی شده هر دو مبدأ، از لحاظ همه صفات مورد بررسی در مقایسه با نهال شاهد (مایه‌زنی نشده) برتر بودند. بیش‌ترین میزان صفات مورد بررسی به نهال‌های مبدأ فندقلو با مایه‌زنی ترکیبی هر سه باکتری (*B. subtilis*، *P. putida* و *E. cloaca*) اختصاص داشت. به طوری که در این نهال‌ها، سطح برگ و سطح ویژه برگ به ترتیب ۵۳/۱ و ۳۷/۷ درصد، جذب عناصر غذایی ازت، فسفر، پتاسیم، آهن و روی به ترتیب ۵۹/۴، ۸۹/۵، ۲۳/۷، ۴۵/۴ و ۶۰/۶ درصد در مقایسه با نهال‌های شاهد افزایش داشت. در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد کاشت نهال‌های فندق مایه‌زنی شده با باکتری‌های محرک رشد (ترکیب سه باکتری مذکور) به دلیل افزایش ویژگی‌های رشدی برگ و نیز بهبود وضعیت تغذیه‌ای رشد رویشی بیش‌تری خواهند داشت.

واژه‌های کلیدی: ازت، سطح برگ، فندق، کود زیستی.

مقدمه

جنگل فندقلوی اردبیل در ایران محسوب می‌شود (Rostamikia

and Sharifi, 2019). این گونه به لحاظ اکولوژیک و اقتصادی

فندق با نام علمی (*Corylus avellana* L.) از شاخص‌ترین گونه

۱- بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

۲- بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: younesrostamikia@gmail.com

اهمیت زیادی دارد و یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی با ارزش در طب سنتی و صنایع دارویی است. مغز فندق به دلیل دارا بودن انواع ویتامین‌ها، مواد مغذی، چربی‌های سالم (غالباً اسید اولئیک)، پروتئین، فیبر و آنتی‌اکسیدان‌ها نقش بسیار مهمی در تغذیه و سلامت انسان دارد (Delgado et al., 2010; Esposito et al., 2017; Ivanović et al., 2020). قسمت‌های مختلف این گیاه حاوی متابولیت‌های ثانویه متعددی است که خواص دارویی، ضد سرطانی و ضد میکروبی دارند و برگ‌های آن به دلیل دارا بودن عناصر مهم تغذیه‌ای، کمک فراوانی به بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک می‌نماید (Esposito et al., 2017). در سال‌های اخیر تبدیل کاربری، چرای دام، آتش‌سوزی و قطع بی‌رویه درختان (تهیه زغال) از مهم‌ترین عوامل تخریب رویشگاه‌های این گونه بوده است (Rostamikia and Sharifi, 2019). در این مناطق همگام با تخریب پوشش گیاهی، تخریب خاک نیز صورت گرفته است که در نتیجه، فقر عناصر غذایی و شرایط میکروکلیمای نامساعد باعث شده استقرار نهال‌های کاشته شده در این جنگل‌ها بسیار محدود و با مشکل مواجه شود. برای غلبه بر مشکلات موجود راهکارهایی لازم است تا توانایی نهال‌ها را در برابر تنش‌های محیطی از طریق بهبود جذب آب و مواد غذایی افزایش دهد و بدین ترتیب برنامه‌های نهالکاری را با موفقیت روبه‌رو سازد (Rostamikia and Sharifi, 2019; Rostamikia et al., 2023). از این‌رو ضرورت دارد از طریق تولید نهال‌های سالم و با کیفیت نسبت به احیاء و توسعه رویشگاه‌های این گونه اقدام کرد.

یکی از راهکارهایی که در سال‌های اخیر مورد توجه واقع شده، استفاده از کودهای زیستی (باکتری‌های افزاینده رشد) است (Besharati, 2022). باکتری‌های محرک رشد گیاه گروهی از باکتری‌های ریزوسفری آزادزی و غیر همزیست خاک هستند که می‌توانند با یک یا چند مکانیسم به‌طور مستقیم و غیرمستقیم رشد گیاهان را تسهیل نمایند (Compant et al., 2021; Cipriano et al., 2021; de Andrade et al., 2023). باکتری‌های افزاینده رشد گیاه شامل مجموعه متنوع و نامتجانسی از

باکتری‌های مختلف شامل باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت غیرهمزیست (آزادزی یا همیار) محیط ریشه، محلول‌کننده‌های فسفر، پتاسیم، گوگرد و سلیکات می‌باشند (Basu et al., 2021). طیف وسیعی از این باکتری‌ها، باکتری‌های محلول‌کننده فسفات، تثبیت‌کننده‌های ازت و ترسیب‌کننده‌های آهن هستند که جذب آن‌ها را توسط گیاه میزبان تسهیل می‌کنند. استفاده از این باکتری‌ها تحت عنوان کود زیستی در کاشت محصولات زراعی، باغی و جنگلی رو به افزایش است زیرا باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و مواد شیمیایی می‌شوند (Gamalero and Glick, 2015). باکتری‌های جنس *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Enterobacter* از طریق تولید سیدروفورها، سنتز هورمون‌های گیاهی اکسین، جیبرلین، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، انحلال ترکیبات فسفر و افزایش جذب آن توسط گیاه، تثبیت ازت و تنظیم میزان اتیلن در گیاه، اکسیداسیون ترکیبات گوگرد، آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی پاتوژن‌ها، افزایش مقاومت سیستمیک گیاه، تولید سیانید هیدروژن، ایجاد رقابت با عوامل بیماری‌زا و تولید ترکیبات فرار سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Backer et al., 2018; Basu et al., 2021; Silva et al., 2023; de Andrade et al., 2023). در واقع باکتری‌های محرک رشد علاوه بر توانایی در مبارزه با عوامل بیماری‌زایی گیاهی از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید آنزیم‌ها و قارچ‌کش‌ها، افزایش حلالیت فسفر و دسترسی به آب و عناصر غذایی نقش مهمی در افزایش رشد گونه‌های جنگلی، باغی و زراعی دارند (Du Jardin, 2015; Kumar et al., 2019; Gao et al., 2022). به‌طور کلی، داشتن توان رقابتی بالا در ریزوسفر، توانایی بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیک، ماندگاری دراز مدت بر روی گیاه میزبان، عدم ایجاد خطر برای سلامتی انسان و محیط زیست و تحمل‌پذیری بالا در مقابل تنش‌های محیطی موجود در خاک و گیاه، از شاخص‌ترین ویژگی‌های باکتری‌های محرک رشد هستند (Gamalero and Glick, 2015). در سال‌های اخیر پژوهش‌های متعددی در مورد تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر غلظت عناصر غذایی برگ گونه‌های چوبی انجام شده است. از جمله در پژوهشی کاربرد

غذایی برگ در ۵ کولتیوار سیب باغی نشان داد *Pseudomonas putida* BA-8 افزایش غلظت عناصر ازت و فسفر در برگ را در پی داشت ولی تأثیری در افزایش غلظت کلسیم و سدیم برگ نسبت به شاهد نداشت (Karakurt and Aslantas, 2010). در پژوهشی دیگر کاربرد ترکیبی باکتری‌های محلول‌کننده ازت و فسفر (*Bacillus megaterium* M3 و *Azospirillum sp*-245) روی ارقام باغی سیب بعد از دو سال، سبب افزایش ازت (۴ درصد)، فسفر (۱۴/۱ درصد)، پتاسیم (۹/۸۷ تا ۶/۷۰)، منیزیم (۸/۶ درصد)، کلسیم (۴/۴ درصد)، آهن (۱۲ درصد)، روی (۷/۱ درصد)، منگنز (۹/۶ درصد) و بر (۳/۱ درصد) در برگ‌های آن‌ها گردید (Yildiz et al., 2022). ریزوباکتری‌های *B. subtilis* و *P. putida* جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی هستند (Besharati, 2022) که می‌توانند از طریق تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید و تنظیم میزان هورمون‌های گیاهی با افزایش جذب فسفر و تثبیت ازت موجب بهبود رشد گیاه شوند (Vejan et al., 2016; Basu et al., 2021).

با توجه به این‌که در داخل کشور پژوهش‌هایی در زمینه تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر بهبود عناصر غذایی نهال‌های جنگلی در شرایط عرصه (طبیعت) گزارش نشده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر این ریزجانداران بر صفات مذکور در عرصه به‌منظور ارائه راهکارهای اجرایی برای توسعه نهالکاری فندق انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

این پژوهش در حاشیه جنگل فندقلو (اراضی زارعی دیم واقع در روستای خانقاه سفلی) با مختصات ۳۸ درجه و ۲۴ دقیقه و ۱ ثانیه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۳۲ دقیقه و ۲۷ ثانیه طول شرقی و ارتفاع ۱۴۵۰ متر از سطح دریا انجام گرفت. میانگین دمای سالانه ۹/۱ سانتی‌گراد، میانگین دمای حداکثر ۲۰/۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین دمای حداقل ۴/۵ درجه سانتی‌گراد، میانگین بارش سالانه ۳۷۸/۹ میلی‌متر و اقلیم منطقه نیمه‌مرطوب با زمستان‌های سرد است (Rostamikia and Sharifi, 2019).

باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر بهبود صفات رویشی نهال‌های دو گونه *Quercus coccifera* و *Pinus halepensis* نشان داد پارامترهای رویشی گیاه از قبیل سطح برگ، وزن خشک برگ، غلظت ازت برگ، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و پتانسیل آبی نهال‌های مایه‌زنی شده با باکتری در مقایسه با شاهد بیش‌تر است (Esitken et al., 2006). ارزیابی اثر بخشی مایه‌زنی باکتری‌های *Bacillus OSU-* و *Pseudomonas BA-8* به‌طور مجزا و ترکیبی بر عملکرد و ترکیبات عناصر غذایی برگ رقم باغی گیلاس *Prunus avium* cv. 0900 Ziraat در استان قونیه ترکیه نشان داد بیش‌ترین غلظت ازت، فسفر و پتاسیم به‌ترتیب با ۲/۴۳، ۰/۲۲ و ۰/۵۱ درصد در تیمار مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌ها افزایش یافت و همچنین بیش‌ترین غلظت آهن و روی برگ به‌ترتیب ۵۰/۵ و ۳۵/۵ درصد در تلفیح ترکیبی هر دو باکتری نسبت به شاهد مشاهده شد (Rincón et al., 2008). اورهان و همکاران نشان دادند مایه‌زنی بوته‌های تمشک (*L. Rubus idaeus*) با دو سویه (OSU-142 و M3) در منطقه ارزروم ترکیه سبب افزایش رشد رویشی ساقه، تعداد خوشه در ساقه و غلظت فسفر و ازت برگ شد (Orhan et al., 2006). بررسی تأثیر مایه‌زنی سویه‌های *Bacillus OSU-142*، *Bacillus M3* و *Microbacterium FS01* بر عناصر تغذیه‌ای برگ پایه‌های سیب گرنی اسمیت (*Malus domestica* L. cv Granny Smith.) در منطقه Malatya ترکیه در سال پنجم نشان داد همه عناصر به‌جز منیزیم تحت تأثیر مایه‌زنی باکتری‌ها قرار گرفت. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان ازت (۳/۳۸ درصد) و فسفر (۰/۴۲ درصد) در مایه‌زنی ترکیبی هر سه باکتری به‌دست آمد (Karlidag et al., 2007). کاربرد ترکیبی و مجزای باکتری‌های *Pseudomonas Acinetobacter lwoffii* و *P. extremaustralis chlororaphis* در نهال‌های کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* var. *mongolica*) علاوه بر بهبود ساختار میکروبی خاک، افزایش سطح برگ و عناصر ازت، فسفر و پتاسیم نهال‌های مایه‌زنی شده را در پی داشت (Song et al., 2022). مطالعه تأثیر چهار جدایه از باکتری‌های محرک رشد بر روی رشد رویشی و عناصر

جدول ۱. مشخصات جغرافیایی و رویشگاهی محل جمع‌آوری بذرهای فندق

Table 1. Geographical and habitat characteristics of the place where hazelnut seeds were collected

اقليم Climate	جهت جغرافیایی Geographical direction	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع از سطح دریا (متر) Above sea level (m)	رویشگاه Habitat
نیمه مرطوب سرد با چهار ماه فصل خشک Semi-humid cold with four months of dry season	Southern	48° 36' 28"	38° 19' 16"	1430-1470	فندقلو Fandoglou
مرطوب سرد با دو ماه فصل خشک Humid cold with two months of dry season	Southern and Southwest	47° 53' 10"	37° 43' 02"	1550-1620	مکش Makesh

روش پژوهش

مایه‌زنی) با سه تکرار ۱۲ تایی با فاصله ۳ × ۳ متر در چاله‌هایی به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۵۰ سانتی‌متر در سطح ۳۲۴۰ مترمربع در اراضی زراعی حاشیه جنگل فندقلوی اردبیل کاشته شدند. مراقبت و نگهداری نهال‌ها شامل حذف علف‌های هرز و سله‌شکنی پای نهال‌ها، در صورت لزوم، انجام شد. قبل از کاشت نهال‌ها، جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از عمق‌های ۰ تا ۲۰ و ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متری خاک، چهار نمونه برداشت شده و پس از مخلوط کردن، نمونه‌ها برای آنالیز به آزمایشگاه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل منتقل شدند (جدول ۲).

اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی برگ

در سال چهارم، برای تعیین سطح برگ ابتدا سه برگ سالم و کاملاً توسعه‌یافته از بالاترین قسمت هر نهال در مردادماه برداشته شد و سطح آن‌ها با دستگاه اسکنر CRLA1 Leaf Area Meter اندازه‌گیری شد. سطح ویژه برگ با استفاده از رابطه

$$SLA = \frac{LA(\text{cm}^2)}{LW(\text{g})}$$

برگ (سانتی‌مترمربع بر گرم)، LA سطح برگ و LW وزن خشک برگ است (Arias et al., 2007). برای اندازه‌گیری وزن خشک برگ نهال‌ها، نمونه‌ها به مدت زمان ۴۸ ساعت به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند و سپس وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد (Yang et al., 2007).

در اوایل مهرماه ۱۳۹۵ میوه‌های فندق از درختان مادری سالم با مشخصه‌های یکسان (قطر و ارتفاع) از دو رویشگاه جنگلی فندقلو و مکش جمع‌آوری شدند (جدول ۱). بذرها بعد از ضدعفونی با قارچ‌کش کاربوکسین تیرام (۲ در ۱۰۰۰) جهت شکست خواب بذر به مدت چهارماه در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگهداری شدند (Rostamikia et al., 2018). سپس در اوایل اردیبهشت در گلدان‌های پلاستیکی (به ابعاد ۱۵ × ۱۵ × ۲۰ سانتی‌متر) حاوی خاک استریل در نهالستان فندقلوی اردبیل کاشته شدند. پس از یک ماه، عمق پنج سانتی‌متری خاک اطراف ریشه نونهال‌ها با ۳۰ میلی‌لیتر از باکتری‌های *FzB24*, *DSM291 Pseudomonas putida*، *Bacillus subtilis* و *E1 Enterobacter cloaca* با جمعیت ۱۰^۸ واحد کلنی سلول در هر میلی‌لیتر به‌طور جداگانه و ترکیبی از سه باکتری مایه‌زنی شد.

انتقال نهال‌ها به عرصه

در آبان ماه، نهال‌های تولیدشده همگن (به طول ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر)، به عرصه مجاور نهالستان، واقع در اراضی بایر حاشیه جنگل منتقل شدند. سپس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (با دو فاکتور شامل مبدأ نهال در دو سطح (فندقلو و مکش) و مایه‌زنی باکتری در پنج سطح (*B. subtilis*، *P. putida* و *E. cloaca* به‌طور جداگانه، ترکیب سه باکتری و شاهد (بدون

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه مورد پژوهش

Table 2. Physical and chemical properties of soil in the study area

عمق خاک	اسیدیته	هدایت الکتریکی	بافت خاک	مواد آلی	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی
Soil depth (cm)	pH	EC (ds/m)	Soil texture	OM (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Z (mg/kg)
0-20	6.45	0.433	Clay-loamy	1.36	0.12	11.22	111	20.22	1.52
20-40	7.16	0.266	Sandy-loamy	0.98	0.10	16.07	158	16.80	0.92

تعیین غلظت عناصر غذایی برگ

در سال چهارم، جهت تعیین پویایی عناصر غذایی، نمونه برداری برگ در مردادماه (اوج رشد برگ) انجام شد. از هر تکرار سه نهال انتخاب و از برگ‌های یک سوم پایینی نهال سه برگ، برداشت شد. نمونه‌ها در داخل دستگاه آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حداقل به مدت ۴۸ ساعت خشک سپس با دستگاه آسیاب پودر شدند، و غلظت عناصر غذایی پرمصرف (ازت، فسفر و پتاسیم) تعیین شد. یک گرم از نمونه در اسید سولفوریک غلیظ هضم و سپس میزان ازت به روش کج‌لدال (Jackson, 1958) اندازه‌گیری شد. برای تعیین فسفر برگ، ۴ سی سی عصاره برگ را به محلول آمونیوم مولیبدات، آمونیوم وانادات و اسید نیتریک افزوده و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (Jackson, 1958). پتاسیم به روش تهیه خاکستر و عصاره‌گیری با اسید نیتریک غلیظ و با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد (Isaac and Johnson, 1975). برای تعیین غلظت آهن و روی، یک گرم از برگ را در لوله‌های مخصوص هضم ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک به آن اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جهت خشک شدن در آون قرار داده شدند. سپس بعد از سرد شدن، صاف کرده و به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شدند. سپس با رسم منحنی استاندارد با دستگاه جذب اتمی مدل فیلیپین P.U.9400 قرائت شدند (Emami, 1996).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت.

نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگن بودن واریانس داده‌ها با استفاده از آزمون لون تعیین شد. بررسی اثر معنی‌داری تیمارهای اصلی و تأثیر متقابل آن‌ها بر مشخصه‌های رشدی برگ و عناصر تغذیه‌ای نهال‌ها از طریق آزمون تجزیه واریانس دوطرفه و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)، در سطوح آماری پنج و یک درصد و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

مشخصه‌های رشدی برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد هر دو صفت مورد بررسی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفتند به طوری که اثرات اصلی مبدأ نهال و باکتری در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر سطح برگ در سطح احتمال یک درصد و بر سطح ویژه برگ نهال‌های فندق در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

مطابق شکل (۱)، بیش‌ترین اندازه سطح برگ با ۲۴/۵ سانتی‌متر مربع در مایه‌زنی ترکیبی سه باکتری (*B. P. putida*، *E. cloacae* و *subtilis*) در نهال‌های با مبدأ فندق و کم‌ترین میزان آن با ۱۵/۱ سانتی‌متر مربع در نهال‌های شاهد (بدون مایه‌زنی) با مبدأ مکش مشاهده شد. همچنین بیش‌ترین اندازه سطح برگ در تیمار مایه‌زنی مجزا باکتری‌های *B. P. putida*، *E. cloacae* و *subtilis* به ترتیب با ۲۲/۲۵، ۱۹/۴۰ و ۱۷/۵ سانتی‌متر مربع در نهال‌های با مبدأ فندق به دست آمد (شکل ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیش‌ترین اندازه سطح ویژه برگ با ۱۳۵/۲۵ سانتی‌متر مربع بر گرم در مایه‌زنی ترکیبی سه

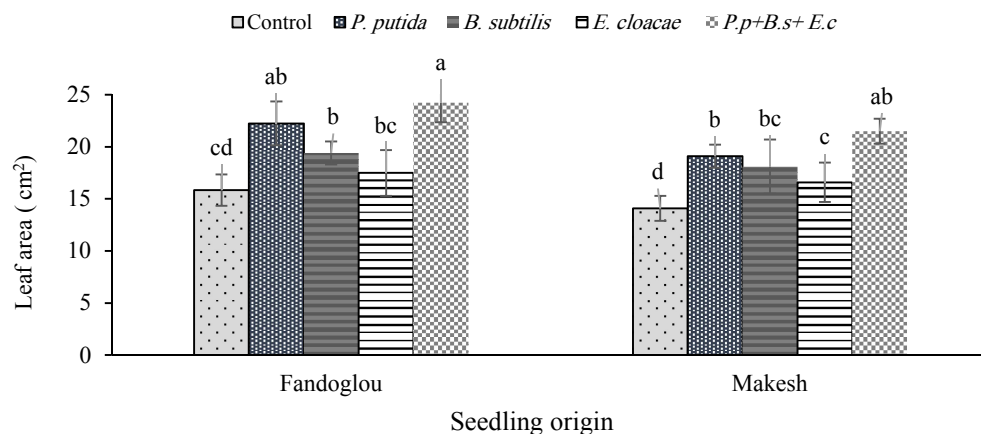
جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر مبدأ نهال و باکتری بر صفات رشدی برگ نهال‌های فندق در سال چهارم

Table 3. Analysis of variance (mean squares) of the effect of seedling origin and bacteria on the leaf growth characteristics of hazelnut seedlings in the fourth year

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی Degree of freedom	سطح برگ (Leaf area)	سطح ویژه برگ (Specific leaf area)
مبدأ نهال Seedling origin	1	55.05*	95.10**
باکتری Bacteria	4	47.12*	100.15*
مبدأ نهال × باکتری Bacteria × seedling origin	4	33.09**	81.10*
خطا Error	18	10.20	14.35
خطای کل Total error	29	6.45	10.52
ضریب تغییرات (cv%)	-	15.27	12.3

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح یک و پنج درصد.

**and * significant at 1 and 5%, respectively.



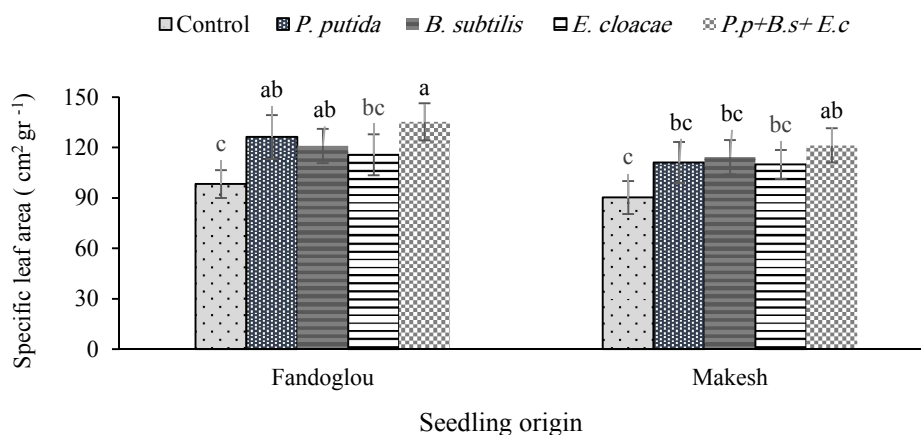
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر سطح برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف

معنی دار ۵ درصد)

Fig. 1. Mean comparison of interaction effect of seedling origin × bacteria on leaf area of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$))

مایه‌زنی ترکیبی سه باکتری توانست ۳۷/۶ درصد اندازه سطح ویژه برگ نهال‌های فندق را (از مبدأ فندقلو) افزایش دهد. مایه‌زنی مجزای باکتری‌های *P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae*

باکتری (*P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae*) در نهال‌های با مبدأ فندقلو) و کم‌ترین اندازه آن با ۹۰/۲۴ سانتی‌متر مربع بر گرم در نهال شاهد مبدأ مکش مشاهده شد (شکل ۲). در واقع



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر سطح ویژه برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار ۵ درصد)

Fig. 2. Mean comparison of Interaction effect of seedling origin × bacteria on specific leaf area of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$))

غلظت آهن در برگ نهال‌های فندق با مبدأ فندقلو (۳۵/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیش از نهال‌های فندق با مبدأ مکش (۲۹/۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و اثر افزایشی ترکیب سه باکتری (*P. putida*, *B. subtilis* و *E. cloacae*) بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۶). به طوری که نهال‌های فندق با مبدأ فندقلو ۴۵/۸ درصد و مکش ۳۸/۲ درصد آهن بیش‌تری در مقایسه با نهال‌های شاهد خود داشتند (شکل ۶).

غلظت روی در برگ نهال‌های فندق با مبدأ فندقلو (۲۶/۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیش از نهال‌های فندق با مبدأ مکش (۲۳/۷۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و اثر افزایشی ترکیب سه باکتری (*P. putida*, *B. subtilis* و *E. cloacae*) بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۷). به طوری که نهال‌های فندق با مبدأ فندقلو ۶۰/۶ درصد و مکش ۵۶/۴ درصد روی بیش‌تری در مقایسه با نهال‌های شاهد خود داشتند (شکل ۷).

بحث

در پژوهش پیش‌رو، اثر باکتری‌های محرک رشد بر برخی از ویژگی‌های رشدی و وضعیت تغذیه‌ای نهال‌های دو جمعیت فندق در شرایط عرصه بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که صفات رشدی برگ نهال این دو اکوتیپ فندق (فندقلو و

به ترتیب با ۲۸/۱، ۲۳/۱ و ۱۷/۸ درصد سبب افزایش میزان سطح ویژه برگ در نهال‌های فندق از مبدأ فندقلو شدند (شکل ۲).

تأثیر باکتری محرک رشد بر غلظت عناصر غذایی نهال‌های فندق

نتایج تجزیه واریانس نشان داد غلظت همه عناصر مورد بررسی تحت تأثیر تیمار باکتری قرار گرفتند به طوری که اثرات اصلی مبدأ نهال برای عناصر ازت و پتاسیم در سطح احتمال یک درصد و برای عناصر فسفر، آهن و روی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر اصلی باکتری برای همه عناصر غذایی مورد بررسی به جز روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری برای عناصر فسفر و آهن در سطح احتمال یک درصد و برای ازت، پتاسیم و روی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیش‌ترین غلظت ازت، فسفر و پتاسیم به ترتیب با ۳/۵۶، ۰/۳۶ و ۱/۳۵ درصد در مایه‌زنی ترکیبی سه باکتری (*P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae*) در نهال‌های فندق (مبدأ فندقلو) و کم‌ترین غلظت این عناصر به ترتیب با ۲/۱، ۰/۱۵ و ۰/۸۱ درصد در نهال‌های شاهد (مایه‌زنی نشده) مبدأ مکش به دست آمد (شکل‌های ۳ الی ۵).

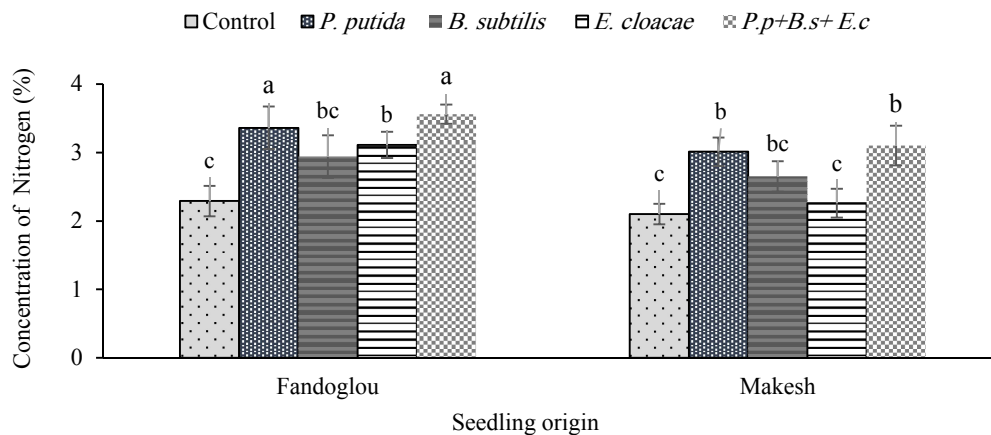
جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر مبدأ نهال و باکتری بر جذب عناصر غذایی برگ در نهال‌های فندق در سال چهارم

Table 4. Analysis of variance (mean squares) of the effect of seedling origin and bacteria on the absorption of leaf nutrients in hazelnut seedlings in the fourth year

منابع تغییرات	درجه آزادی	ازت	فسفر	پتاسیم	آهن	روی
Source of variance	df	N	P	K	Fe	Z
مبدأ نهال	1	1.88**	2.02*	4.17**	5.04*	0.62*
Seedling Origin						
باکتری	4	0.93**	1.12**	8.61**	1.11**	2.29*
Bacteria						
مبدأ نهال × باکتری	4	1.12*	7.01**	10.08*	1.54**	2.14*
Bacteria × Seedling Origin						
خطا	18	14.35	10.20	8.09	6.78	13.47
Error						
خطای کل	29	0.80	0.07	1.07	0.12	0.19
Total error						
درصد ضریب تغییرات		15.06	10.41	11.79	10.17	13.32
(coefficient of variation %)						

* و **: به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

**and* significant at 1 and 5%, respectively.

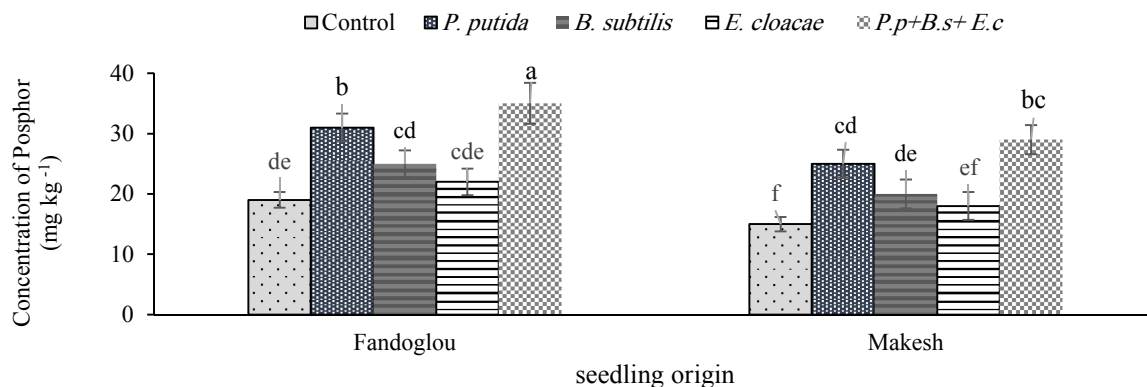


شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر غلظت ازت در برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

Fig. 3. Mean comparison of interaction effect of seedling origin × bacteria on nitrogen concentration in the leaf of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$)

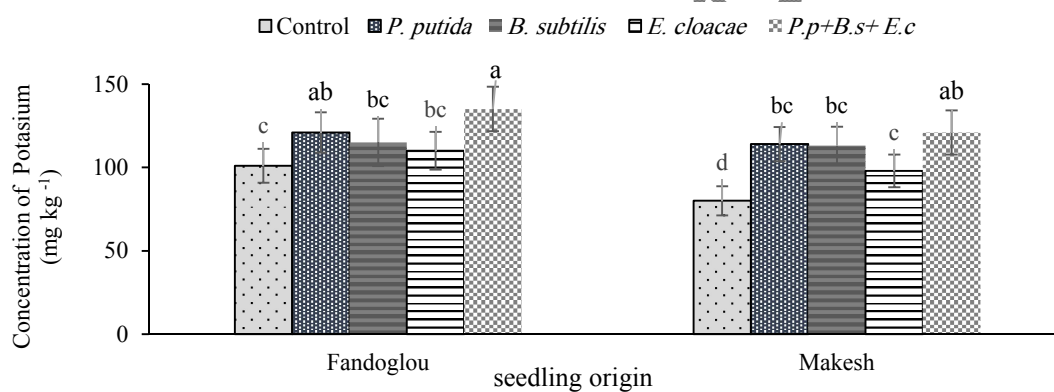
ویژه برگ نهال‌های فندق (مبدأ فندقلو) را به ترتیب ۵۳/۱ و ۳۷/۷ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد. درحالی‌که مایه‌زنی مجزای باکتری‌های *P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae* به ترتیب ۴۰/۴، ۲۲/۵ و ۱۶/۵ درصد سبب افزایش اندازه سطح

مکش) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار مایه‌زنی باکتری قرار گرفتند به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان سطح برگ و سطح ویژه برگ با مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌ها به‌دست آمد. در حقیقت، مایه‌زنی ترکیبی سه باکتری توانست اندازه سطح برگ و سطح



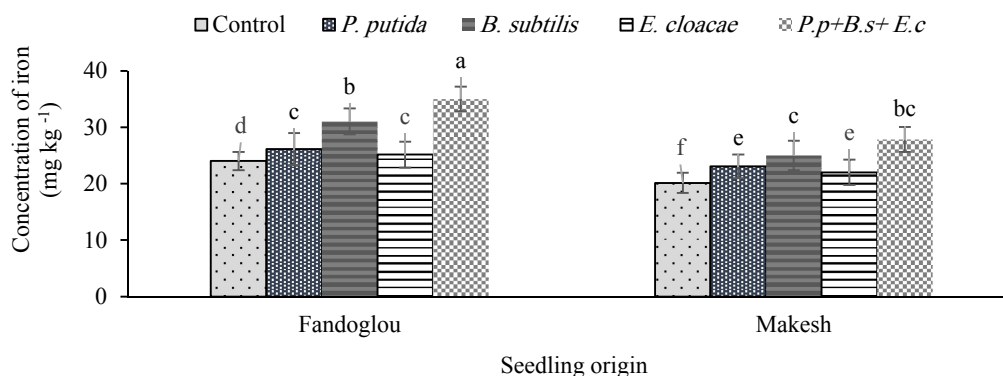
شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر غلظت فسفر در برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

Fig. 4. Mean comparison of interaction effect of seedling origin × bacteria on phosphorous concentration in the leaf of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$)



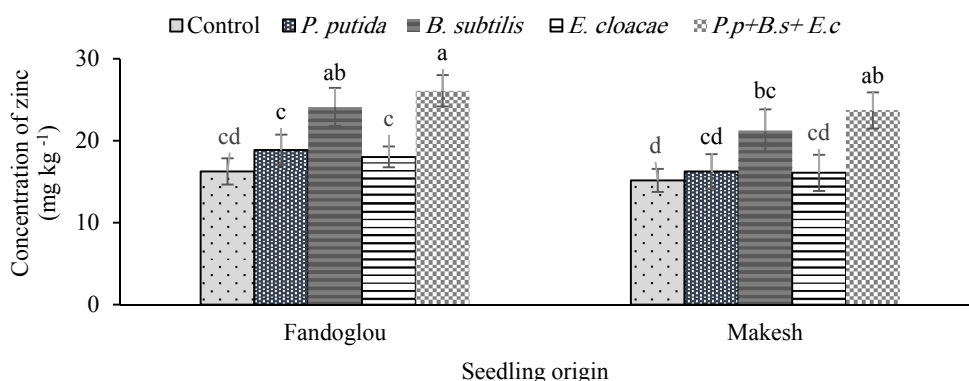
شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر غلظت پتاسیم در برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

Fig. 5. Mean comparison of Interaction effect of seedling origin × bacteria on potassium concentration in the leaf of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$)



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر غلظت آهن در برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

Fig. 6. Mean comparison of interaction effect of seedling origin × bacteria on iron concentration in the leaf of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$)



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل مبدأ نهال × باکتری بر غلظت روی در برگ نهال‌های فندق (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است).

Fig. 7. Mean comparison of interaction effect of seedling origin × bacteria on zinc concentration in the leaf of hazelnut seedlings (Bars with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$)

روزنه‌ای و پتانسیل آبی شد (Rincón et al., 2008). مایه‌زنی باکتری‌های *P. chlororaphis*، *P. extremaustralis* و *Acinetobacter lwoffii* A07 در نهال‌های کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* var. *mongolica*) علاوه بر بهبود ساختار میکروبی خاک، سبب افزایش صفات رویشی به ویژه سطح برگ نهال‌های مایه‌زنی شده شد (Song et al., 2022). در حقیقت، افزایش اندازه سطح برگ سبب افزایش سطح تماس شده و به دلیل نازک بودن سطح برگ، نرخ فتوسنتز، جذب دی‌اکسید کربن، تعرق و در نتیجه میزان رشد گیاه افزایش می‌یابد (Close et al., 2005).

در پژوهش حاضر، کاربرد هر سه تیمار میکروبی سبب افزایش معنی‌دار سطح ویژه برگ نهال که شاخصی از ضخامت برگ است نسبت به تیمار شاهد شد. ولی بیش‌ترین میزان این صفت به ترتیب در مایه‌زنی ترکیبی هر سه باکتری نهال‌های هر دو مبدأ فندقلو و مکش مشاهده شد. دلیل گسترش سطح برگ و کاهش ضخامت برگ را می‌توان به توانایی این باکتری‌ها در افزایش نرخ فتوسنتز و در ادامه افزایش آماس سلولی برگ مرتبط دانست (Singh et al., 2020). از سوی دیگر، این باکتری‌ها با تولید آنزیم ACC دآمیناز باعث افزایش رشد طولی ریشه‌ها و بهبود جذب آب از اعماق خاک شده و کارایی استفاده از آب را برای توسعه سطح برگ و رشد گیاه از طریق

برگ در نهال‌های فندق (مبدأ فندقلو) شدند. به عبارت دیگر، مایه‌زنی مجزای هر یک از باکتری‌ها بر بهبود صفات رویشی برگ تأثیر اندکی داشتند ولی کاربرد ترکیبی آن‌ها سبب افزایش معنی‌داری این دو صفت شد که این نتایج اثر هم‌افزایی باکتری‌ها را تأیید می‌کند. با توجه به این که باکتری‌ها در طبیعت همراه گونه‌های دیگر وجود داشته و عمل می‌کنند مایه‌زنی آن‌ها به صورت ترکیبی از مایه تلقیح‌های مختلف می‌تواند علاوه بر از بین بردن اثرات مضر احتمالی سبب افزایش اثر تشدیدکنندگی آن‌ها در جذب عناصر تغذیه‌ای و بهبود رشد نهال‌ها شود (Rincón et al., Kumar et al., 2019; Singh et al., 2020) (2008);

سطح برگ گیاهان عامل مهم و تعیین‌کننده در بسیاری از فرآیندهای زیستی از قبیل فتوسنتز، تنفس، عبور نور از تاج پوشش، تبخیر و تعرق، چرخه کربن و ازت می‌باشد و گیاه برای سازگار شدن با شرایط محیطی موجود، آن را تغییر می‌دهد (Close et al., 2005). پژوهندگان زیادی، افزایش سطح برگ را در تعدادی از گونه‌ها با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند که با نتایج ما مطابقت دارد. مایه‌زنی *P. fluorescens* در نهال‌های دو گونه *Quercus coccifera* و *Pinus halepensis* سبب افزایش شاخص‌های رویشی گیاه از قبیل سطح برگ، وزن خشک برگ و غلظت عناصر غذایی، میزان فتوسنتز، هدایت

افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی (به‌ویژه فسفر) بیش‌تر می‌کنند (Ahemad and Kibret, 2014; Singh et al., 2020). مایه‌زنی باکتری‌ها در این پژوهش، نه تنها در افزایش صفات رشدی برگ نهال‌ها تأثیرگذار بود، بلکه وضعیت تغذیه‌ای برگ نهال‌ها را نیز تحت تأثیر قرار داد و غلظت عناصر ازت، فسفر، پتاسیم، آهن و روی در برگ نهال‌های فندق هر دو مبدأ با کاربرد مجزا و ترکیبی هر سه باکتری افزایش یافت و اثر کاربرد ترکیبی سه باکتری بیش‌تر بود. بنابراین هم‌افزایی باکتری‌ها نقش مؤثری در جذب این عناصر توسط برگ داشته است. پژوهش‌های زیادی در خصوص اثر بخشی مایه‌زنی ترکیبی قارچ باکتری‌ها در افزایش رشد رویشی و عناصر غذایی برگ در گونه‌های مختلف گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌های *Pseudomonas* BA-8 و *Bacillus* OSU-142 در مقایسه با کاربرد مجزای آن‌ها افزایش بیش‌تری در غلظت ازت، فسفر و پتاسیم به‌ترتیب با ۲/۰۰، ۰/۱۷ و ۰/۴۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (Esitken et al., 2010). مایه‌زنی ترکیبی سویه‌های *Bacillus* M3، *Bacillus* OSU-142 و *Microbacterium* FS01 بر عناصر تغذیه‌ای برگ سیب (*cv. Granny Smith Malus domestica*) باعث افزایش عناصر (ازت، فسفر، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، آهن، منگنز و روی) در مقایسه با مایه‌زنی مجزای باکتری‌ها شد (Karlidag et al., 2007). در این راستا کاربرد ترکیبی *Azospirillum* sp-245 و *Bacillus megaterium* M3 (ارقام باغی سیب بعد از دو سال، سبب افزایش ازت (۴ درصد)، فسفر (۱۴/۱ درصد)، پتاسیم (۹/۸۷ تا ۶/۷۰)، منیزیم (۸/۶ درصد)، کلسیم (۴/۴ درصد)، آهن (۱۲ درصد)، روی (۷/۱ درصد)، منگنز (۹/۶ درصد) و بر (۳/۱ درصد) در برگ‌های آن‌ها شد (Yildiz et al., 2022).

در پژوهش حاضر، صرف‌نظر از مایه‌زنی ترکیبی سه باکتری، بیش‌ترین میزان صفات رشدی برگ (سطح برگ و سطح ویژه برگ)، عناصر ماکرو و میکرو نهال‌های هر دو مبدأ در کاربرد جداگانه باکتری‌های *B. subtilis* و *P. putida* در مقایسه با *E. cloacae* با عنایت به اثرهای متفاوت باکتری‌های استفاده شده در پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که اثر افزایشی مایه‌زنی ترکیبی هر سه باکتری *E. cloacae*، *B. subtilis*، *P. putida* در افزایش شاخص‌های رشدی برگ و جذب عناصر غذایی در نهال‌های

نتیجه‌گیری

با عنایت به اثرهای متفاوت باکتری‌های استفاده شده در پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که اثر افزایشی مایه‌زنی ترکیبی هر سه باکتری *E. cloacae*، *B. subtilis*، *P. putida* در افزایش شاخص‌های رشدی برگ و جذب عناصر غذایی در نهال‌های

۰۹-۳۷-۲ در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شده است.

فندق (هر دو مبدأ) بیش‌تر است. بنابراین استفاده ترکیبی هر سه باکتری *P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae* برای مایه‌زنی نهال‌های فندق در نهالستان و کاشت آن‌ها در عرصه پیشنهاد می‌گردد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ‌گونه تضاد منافی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

تشکر و سپاسگزاری

این مقاله از طرح پژوهشی با شماره مصوب ۰۸-۹۷۱۰۲۲-

منابع مورد استفاده

1. Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J. King saud Univ. 26, 1–20.
2. Arias, D., Calvo-Alvarado, J., Dohrenbusch, A., 2007. Calibration of LAI-2000 to estimate leaf area index (LAI) and assessment of its relationship with stand productivity in six native and introduced tree species in Costa Rica. For. Ecol. Manage. 247, 185–193.
3. Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., Smith, D.L., 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Front. Plant Sci. 871, 1473. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
4. Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., Enshasy, H. El, 2021. Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. Sustain. 13, 1–20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
5. Besharati, H., 2022. Plant growth-promoting bacteria and their application in agriculture. J. Sol Biol. 10, 135–162.
6. Biology, H.B.-J. of S., 2022, undefined, 2022. Plant growth-promoting bacteria and their application in agriculture. Sbj.Areeo.Ac.Ir 10, 135–162.
7. Cipriano, M.A.P., Freitas-Iório, R. de P., Dimitrov, M.R., de Andrade, S.A.L., Kuramae, E.E., da Silveira, A.P.D., 2021. Plant-growth endophytic bacteria improve nutrient use efficiency and modulate foliar n-metabolites in sugarcane seedling. Microorganisms 9, 1–19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030479>
8. Close, D.C., Beadle, C.L., Brown, P.H., 2005. The physiological basis of containerised tree seedling ‘transplant shock’: a review. Aust. For. 68, 112–120.
9. Compant, S., Cambon, M.C., Vacher, C., Mitter, B., Samad, A., Sessitsch, A., 2021. The plant endosphere world – bacterial life within plants. Environ. Microbiol. 23, 1812–1829. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15240>
10. de Andrade, L.A., Santos, C.H.B., Frezarin, E.T., Sales, L.R., Rigobelo, E.C., 2023. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. Microorganisms 11, 1088. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>
11. Delgado, T., Malheiro, R., Pereira, J.A., Ramalhosa, E., 2010. Hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts. Ind. Crops Prod. 32, 621–626. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.019>
12. Du Jardin, P., 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Sci. Hortic. (Amsterdam). 196, 3–14.
13. Emami, A., 1996. Description of plant analysis method. Publ. by Soil Water Institute, Tehran, 113p (In Persian).
14. Esitken, A., Pirlak, L., Turan, M., Sahin, F., 2006. Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. Sci. Hortic. (Amsterdam). 110, 324–327. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.023>
15. Esitken, A., Yildiz, H.E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., Gunes, A., 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. Sci. Hortic. (Amsterdam). 124, 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.012>
16. Esposito, T., Sansone, F., Franceschelli, S., Del Gaudio, P., Picerno, P., Aquino, R.P., Mencherini, T., 2017. Hazelnut (*Corylus avellana* L.) shells extract: Phenolic composition, antioxidant effect and cytotoxic activity on human cancer cell lines. Int. J. Mol. Sci. 18, 392. <https://doi.org/10.3390/ijms18020392>
17. Gamalero, E., Glick, B.R., 2015. Bacterial modulation of plant ethylene levels. Plant Physiol. 169, 13–22.

<https://doi.org/10.1104/pp.15.00284>

18. Gao, B., Chai, X., Huang, Y., Wang, X., Han, Z., Xu, X., Wu, T., Zhang, X., Wang, Y., 2022. Siderophore production in pseudomonas SP. strain SP3 enhances iron acquisition in apple rootstock. *J. Appl. Microbiol.* 133, 720–732.
19. Isaac, R.A., Johnson, W.C., 1975. Collaborative Study of Wet and Dry Ashing Techniques for the Elemental Analysis of Plant Tissue by Atomic Absorption Spectrophotometry. *J. AOAC Int.* 58, 436–440. <https://doi.org/10.1093/jaoac/58.3.436>
20. Ivanović, S., Avramović, N., Dojčinović, B., Trifunović, S., Novaković, M., Tešević, V., Mandić, B., 2020. Chemical composition, total phenols and flavonoids contents and antioxidant activity as nutritive potential of roasted hazelnut skins (*Corylus avellana* L.). *Foods* 9, 430. <https://doi.org/10.3390/foods9040430>
21. Jackson, M.L., 1958. *Soil chemical analysis* prentice Hall. Inc., Englewood Cliffs, NJ 498, 183–204.
22. Karakurt, H., Aslantas, R., 2010. Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple. *J. Fruit Ornament. Plant Res.* 18, 101–110.
23. Karlidag, H., Esitken, A., Turan, M., Sahin, F., 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Sci. Horticult. (Amsterdam)*. 114, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.04.013>
24. Kumar, A., Patel, J.S., Meena, V.S., Ramteke, P.W., 2019. Plant growth-promoting rhizobacteria: strategies to improve abiotic stresses under sustainable agriculture. *J. Plant Nutr.* 42, 1402–1415.
25. Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., Sahin, F., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Horticult. (Amsterdam)*. 111, 38–43.
26. Rincón, A., Valladares, F., Gimeno, T.E., Pueyo, J.J., 2008. Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. *Tree Physiol.* 28, 1693–1701. <https://doi.org/10.1093/treephys/28.11.1693>
27. Rostami Kia, Y., Sharifi, J., 2019. The Fandoglu Forest, the largest common hazel forest reserve in Iran. *Iran Nat.* 3, 90–99.
28. Rostamikia, Y., Rahmani, A., Teimouri, M., 2023. Improvement of growth -physiological traits of hazelnuts provenances inoculated with growth promoting bacteria under field conditions. *Iran. J. For.* 15, 211–225. <https://doi.org/10.22034/ijf.2022.344665.1872>
29. Rostamikia, Y., Tabari Kouchaksaraei, M., Asgharzadeh, A., Rahmani, A., 2018. Effect of cold stratification on seed germination traits in three ecotypes of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *For. Wood Prod.* 71, 1–12.
30. Silva, L.I. da, Pereira, M.C., Carvalho, A.M.X. de, Buttrós, V.H., Pasqual, M., Dória, J., 2023. Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture. *Agric.* 13, 462. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>
31. Singh, T.B., Sahai, V., Goyal, D., Prasad, M., Yadav, A., Shrivastav, P., Ali, A., Dantu, P.K., 2020. Identification, characterization and evaluation of multifaceted traits of plant growth promoting rhizobacteria from soil for sustainable approach to agriculture. *Curr. Microbiol.* 77, 3633–3642.
32. Song, Q., Deng, X., Song, R., Song, X., 2022. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Promote Growth of Seedlings, Regulate Soil Microbial Community, and Alleviate Damping-Off Disease Caused by *Rhizoctonia solani* on *Pinus sylvestris* var. *mongolica*. *Plant Dis.* 106, 2730–2740. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2562-RE>
33. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrullah Boyce, A., 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. *Molecules* 21, 573.
34. Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q., Yin, H.J., 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica* 45, 613–619.
35. Yildiz, E., Yaman, M., Ercisli, S., Sumbul, A., Sonmez, O., Gunes, A., Bozhuyuk, M.R., Kviklys, D., 2022. Effects of rhizobacteria application on leaf and fruit nutrient content of different apple scion–rootstock combinations. *Horticulturae* 8, 550.