



Effects of microbial fertilizers on the chlorophyll a fluorescence responses of tomato plants

Saber Nezamivand Chegini¹, Mojtaba Jafarinia², Ali Akbar Ghotbi Ravandi³

¹PhD student, Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. ²Assistant professor, Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. ³Assistant professor, Department of Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Plant growth-promoting bacteria in rhizosphere improve plants' growth in different ways. In this study, the effects of five growth promoting bacteria, in the form of three biofertilizers were investigated on the chlorophyll *a* fluorescence changes of tomato seedlings.

Materials and Methods: The experiments were conducted as factorial based on a completely randomized design. The bacteria were *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Bacillus lentus*, *Pseudomonas putida* and *Acidithiobacillus thiooxidans*; and biofertilizers were nitroxin, biosporphosphate and biosulfur. Chlorophyll *a* fluorescence changes were recorded using a Handy PEA device and analyzed by the JIP-test method.

Results: The results showed that the use of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum* caused L band formation about 15 microseconds after light exposure, which revealed an improvement in the grouping and connectivity of antenna chlorophylls with photosynthetic reaction centers. Besides, the formation of the K band about 0.3 milliseconds after light exposure showed that the performance of the water-splitting complex was increased under the influence of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum*. The increase in electron transfer efficiency and the rate of reduction of the end electron acceptors in photosystem I were confirmed by the formation of J, H, and G bands in the presence of plant growth-promoting bacteria.

Conclusion: The results of this study proved that the best photosynthetic performance in tomato plants including electron transfer between carriers of the photosynthetic electron transport chain occurred in the nitroxin bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum*.

Key words: Biofertilizer, Chlorophyll *a* fluorescence, Microbial fertilizer, Photosynthesis.

Received: 19 March 2022

Revised: 1 June 2022

Accepted: 20 August 2022

Correspondence to: Mojtaba Jafarinia

Tel: +98 9173109311

E-mail: m.jafarinia@miau.ac.ir

Journal of Microbial World 2022, 15(2): 147-160

DOI:10.30495/jmw.2022.1960320.2023



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



تأثیر کودهای زیستی میکروبی بر پاسخ‌های فلورسنس کلروفیل a در گیاه گوجه فرنگی

صابر نظامیوند چگینی^۱، مجتبی جعفری نیا^{۲*}، علی اکبر قطبی راوندی^۳

^۱ دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. ^۲ استادیار، گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. ^۳ استادیار، گروه علوم و زیست فناوری گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر به روش‌های متفاوتی سبب القای رشد و نمو در گیاهان می‌شوند. در این تحقیق اثرات پنج باکتری محرک رشد در قالب سه کود زیستی بر تغییرات فلورسنس کلروفیل a در گیاه گوجه فرنگی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد. باکتری‌ها شامل ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلیوم لیپوفروم، باسیلوس لتوس، سودوموناس پوتیدا و اسیدیتیبیواسیلوس تیواکسیدانس و کودهای زیستی شامل نیتروکسین، بیوسورفسفات و بیوسولفور بودند. بررسی تغییرات فلورسنس کلروفیل a در برگ گیاهان تحت تیمار کودهای زیستی از طریق دستگاه Handy PEA ثبت و از طریق روش JIP-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: استفاده از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلیوم لیپوفروم سبب ایجاد باند L در حدود ۱۵ میکروثانیه پس از نوردهی شد که نشان از بهبود ارتباط و پیوستگی کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش فتوسنتزی داشت. همچنین تشکیل باند K در حدود ۰/۳ میلی‌ثانیه پس از نوردهی نشان داد عملکرد کمپلکس تجزیه کننده آب تحت تاثیر باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلیوم لیپوفروم افزایش یافته است. افزایش کارایی انتقال الکترون و میزان احیای آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I نیز با تشکیل باندهای J، H و G در حضور باکتری‌های محرک رشد تایید گردید.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد بهترین عملکرد فتوسنتزی در گیاه گوجه فرنگی در کود نیتروکسین و از طریق باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلیوم لیپوفروم، در قسمت انتقال الکترون بین ناقلین زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی اتفاق افتاده است.

واژگان کلیدی: فتوسنتز، فلورسنس کلروفیل a، کود زیستی، کود میکروبی.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۵/۲۹

ویرایش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۱۱

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۲۸

مقدمه

مصرف بی‌رویه این کودها توجه به کودهای زیستی معطوف گردیده است. کودهای زیستی شامل تعدادی از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی بوده که از روش‌های متفاوتی سبب بهبود رشد و نمو گیاهان می‌گردند (۱). این کودهای زیستی علاوه بر هزینه‌های کم در تولید و نداشتن آلودگی‌های زیست‌محیطی، می‌توانند با حفظ و توسعه باروری خاک باعث

استفاده از کودهای شیمیایی و حیوانی برای بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاهان از قدمت زیادی برخوردار است. در سال‌های اخیر با توجه به آلودگی‌های زیست‌محیطی و بهداشتی ناشی از

* آدرس برای مکاتبه: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، ایران.
پست الکترونیک: m.jafarinia@miau.ac.ir
تلفن: ۰۹۱۷۳۱۰۹۳۱۱



سیستم فتوسنتزی در گیاهان می‌توان از روش‌های متفاوتی استفاده نمود که از آن جمله به اندازه‌گیری میزان فتوسنتز، میزان تبادل گازهای فتوسنتزی، میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای، اندازه‌گیری عملکرد گیاه براساس تولید ماده و اندازه‌گیری میزان فلورسنس کلروفیل a اشاره کرد (۱۰).

آنالیز تغییرات کیتیک فلورسنس کلروفیل a اطلاعات مهمی را در مورد ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی، مخصوصاً فتوسیستم II فراهم می‌کند (۱۱). روش JIP-تست یکی از روش‌های جدید بررسی سیستم فتوسنتزی است که می‌تواند اطلاعات اولیه حاصل از کیتیک فلورسنس کلروفیل a را از طریق نرم افزارهای مخصوصی به پارامترهای بیوفیزیکی تبدیل کند. این پارامترها بیانگر بسیاری از اتفاقات فیزیولوژیک است که گیاه در فتوسیستم II و زنجیره انتقال الکترون در شرایط متفاوت با آن مواجه است (۹). این روش به عنوان یک روش سریع و غیرتهاجمی به گیاه در شرایط *in vivo* برای بررسی عملکرد سیستم‌های فتوسنتزی در شرایط متفاوت به خوبی توانسته در تحقیقات بر روی گیاهان مختلف کارایی خود را نشان دهد (۱۲).

براساس گزارش فائو گوجه‌فرنگی با نام علمی (*Lycopersicon esculentum L.*) با تولید بالغ بر ۱۸۵ میلیون تن در سال در جهان یکی از مهمترین گیاهان در جنبه اقتصادی بوده و در سبد غذایی انسان نقش مهمی دارد. گوجه‌فرنگی به علت دارا بودن ویتامین‌های مختلف و مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر و آهن در تأمین انرژی و تقویت بدن نقش موثری ایفا می‌کند. بررسی ترکیبات و مواد موجود در گوجه‌فرنگی نشان می‌دهد که در میوه‌ی گوجه‌فرنگی رسیده، گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و تقریباً تمام آمینواسیدهای اصلی به استثنای تریپتوفان وجود دارد (۱۳). در این تحقیق با توجه به اهمیت گیاه گوجه‌فرنگی و لزوم استفاده کمتر از کودهای شیمیایی در جنبه‌ی زیست محیطی، اثرات استفاده از چند کود زیستی باکتریایی بر تغییرات پارامترهای فتوسنتزی این گیاه از طریق بررسی فلورسنس کلروفیل a و روش JIP-تست مورد بررسی قرار گرفت.

حاصلخیزی بیشتر خاک شده و همچنین کاهش میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی را که به علت استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی و تاثیر تنش‌های محیطی ایجاد می‌شوند، جبران نمایند (۲). کودهای زیستی می‌توانند حاوی باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها یا سایر موجودات خاکزی باشند (۳). تعداد قابل توجهی از گونه‌های باکتریایی دارای روابط کارکردی با گیاهان بوده و می‌توانند از طریق روابط زیستی همچون همزیستی، همیاری یا زندگی آزاد اثرات مفیدی بر رشد و نمو گیاهان اعمال کنند (۲).

از جمله مهمترین باکتری‌های مورد استفاده در کودهای زیستی می‌توان به جنس‌های ازتوباکتر، ریزوبیوم، سودوموناس، آزوسپیریلیوم و باسیلوس اشاره نمود (۲). کودهای زیستی باکتریایی بسته به نوع باکتری استفاده شده در کودها می‌توانند از طریق روش‌های متفاوتی همچون تثبیت زیستی نیتروژن، حل کردن و در دسترس قرار دادن عناصر فسفات، سولفور و پتاسیم، تولید فیتوهورمون‌ها، تولید سیدروفورها، کنترل‌های زیستی و کمک به تامین عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف سبب بهبود شرایط زندگی گیاهان شوند (۴).

در تحقیقات متعددی اثرات مثبت استفاده از کودهای زیستی باکتریایی بر پارامترهای فیزیولوژیک و عملکردی گیاهان مختلف به اثبات رسیده است که از آن جمله می‌توان به تاثیر مثبت بر جوانه زنی و استقرار گیاهچه (۵)، افزایش رشد رویشی (۶)، عملکرد بالاتر در تولید دانه (۷)، بهبود سایز، تعداد و کیفیت میوه (۸) و فرایند فتوسنتز (۱) اشاره نمود. فتوسنتز یکی از مهمترین فرایندهای فیزیولوژیک در گیاهان است که نقش موثری در رشد و نمو و پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند.

فتوسنتز در گیاهان در دو مرحله اساسی انجام می‌گیرد، مرحله‌ی اول آن که به واکنش‌های نوری فتوسنتز معروف است در غشا تیلاکوئید در اندامک کلروپلاست انجام می‌شود. مجموعه‌ی اتفاقات این مرحله از فتوسنتز منجر به تولید ترکیبات پیرانرژی همچون ATP و NADPH می‌شود که نقش مستقیم بر بازده و عملکرد فتوسنتزی گیاهان دارند (۹). برای بررسی عملکرد

مواد و روش‌ها

(Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, UK) Handy PEA

میزان فلورسنس کلروفیل a آن‌ها ثبت گردید.

د) نحوه اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل a: برای بررسی اثر شوری بر فلورسنس کلروفیل a گیاه گوجه‌فرنگی از اطلاعات حاصل از موج OJIP که از نوردهی به نمونه‌های سازگار شده به تاریکی منتشر می‌شود، استفاده گردید. اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل a با استفاده از دستگاه Handy PEA انجام شد. به این منظور ابتدا برگ‌های مشخصی از گیاهان شاهد و تحت تیمار در موقعیت‌های یکسان فیلو تاکسی انتخاب و گیره‌های مخصوصی به آن‌ها اتصال یافت. پس از نوردهی توسط دستگاه میزان فلورسنس کلروفیل a اندازه‌گیری و داده‌ها به کامپیوتر منتقل گردید. در مرحله بعد با استفاده از نرم‌افزار Biolyzer HP4 و با استفاده از روشی موسوم به JIP-test اطلاعات اولیه فلورسنس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (جدول ۱). همچنین برای رسم نمودارهای نرمال شده بین مراحل مختلف موجود بر روی منحنی القایی فلورسنس کلروفیل a از رابطه ۱ استفاده شد:

$$W_{ox} = (F_t - F_o) / (F_x - F_o) \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\Delta W_{ox} = W_{ox(\text{treatment})} - W_{ox(\text{control})}$$

در این فرمول W_{ox} برابر با مقادیر نرمال شده فلورسنس بین مرحله O تا $(J, I \text{ or } P)X$ ، F_o برابر با حداقل مقدار فلورسنس، F_t برابر با مقدار فلورسنس در زمان‌های متفاوت بین دو مرحله مورد نظر و F_x برابر با مقدار فلورسنس در مرحله J، I و یا P می‌باشد (۹).

ه) نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای Biolyzer HP4 و Excel استفاده گردید.

جدول ۱: شاخص‌های اولیه حاصل از اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل a و آزمون JIP-تست.

شاخص	توصیف شاخص
Fo	شدت فلورسنس در ۵۰µs (مرحله O)
FK	شدت فلورسنس در ۳۰۰µs (مرحله K)
FJ	شدت فلورسنس در ۲ms (مرحله J)
FI	شدت فلورسنس در ۳۰ms (مرحله I)
FM	بیشینه شدت فلورسنس (مرحله P)
FV	فلورسنس متغیر بیشینه (FV = FM - Fo)

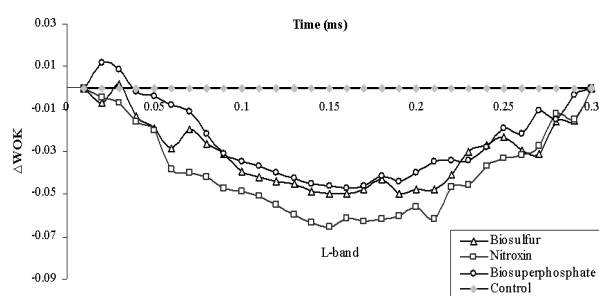
الف) منابع تهیه بذر، نحوه آزمایش و طرح آزمایش: این تحقیق در طی سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید و از بذرهای رقم ردکلود گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum L.*) استفاده گردید.

ب) کودهای زیستی مورد استفاده: در این آزمایش اثرات کودهای زیستی در چهار سطح شامل: ۱- کود زیستی نیتروکسین (حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن شامل *Azospirillum lipoferoum* و *Azotobacter chroococum*) ۲- کود زیستی بیوسوپرفسفات (شامل دو باکتری حل کننده فسفر *Pseudomonas putida* و *Bacillus lentus*) ۳- کود زیستی بیوسولفور (شامل باکتری‌های جنس اسیدی تیوباسیلوس *Acidithiobacillus thiooxidans*) ۴- عدم تلقیح با کود زیستی به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. کودهای زیستی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت فناوری زیستی مهر آسیا تهیه گردیدند.

ج) نحوه کشت و اعمال کودهای زیستی: کشت گیاهان در ظروف کشت پلاستیکی انجام شد. به این منظور ۱۲ ظرف بزرگ ۴۵ خانهای به ابعاد ۶۳×۳۳/۵ سانتی‌متر با طول و ارتفاع هر خانه ۶×۵/۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت و در هر خانه تقریباً ۱۰۰ گرم خاک اضافه گردید. بذرها پس از آغشته شدن به کودهای زیستی در تاریکی خشک و سپس در ظروف کشت گردید. با توجه به اینکه تیمار کودهای زیستی مورد استفاده شامل تیمار شاهد (نمونه بدون کود)، تیمار کود زیستی نیتروکسین، تیمار کود زیستی بیوسوپرفسفات و تیمار کود زیستی بیوسولفور بود برای هر تیمار سه ظرف ۴۵ خانهای و به عنوان سه تکرار در نظر گرفته شد. همچنین پس از جوانه زنی و رشد گیاهچه‌ها در آبیاری دوم و چهارم نیز مجدداً کودهای زیستی در آب آبیاری بر اساس دستورالعمل هر کود تهیه و به گیاهان اضافه گردید. یک ماه پس از آخرین کوددهی گیاهان جهت اندازه‌گیری میزان فلورسنس کلروفیل a به آزمایشگاه منتقل شدند و از طریق دستگاه

یافته‌ها

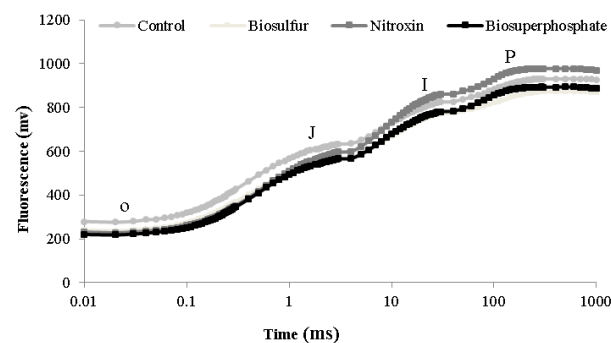
جمع‌کننده نور و تغییر در میزان پیوستگی و ارتباط کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش فتوسنتزی در فتوسیستم II است (۹). در صورتی که میزان فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در این نقطه اوج مثبت باشد نشانه اختلال در ارتباط، پیوستگی و عملکرد کلروفیل‌های آنتن و مراکز واکنش فتوسیستم II است و در صورتی که فلورسنس نسبی منفی باشد نشانه عملکرد بهتر این مجموعه می‌باشد. نتایج شکل ۲ نشان می‌دهد که گرچه هر سه کود توانسته‌اند سبب بهبود عملکرد کلروفیل‌های آنتن در کمپلکس‌های جمع‌کننده نور و میزان پیوستگی و ارتباط کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش فتوسنتزی در فتوسیستم II شوند، اما کارایی کود زیستی نیتروکسین که حاوی باکتری‌های *ازتوباکتر کروکوکوم* و *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* می‌باشد در ۱۵۰ میکروثانیه پس از نوردهی نسبت به دو کود زیستی دیگر بهتر است. تاثیر باکتری‌های *باسیلیوس لتوس*، *سودوموناس پوتیدا* و *اسیدی تیوباسیلیوس تیواکسیدانس* گرچه سبب بهبود ارتباط و پیوستگی کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش شد اما این تاثیر به اندازه تاثیر باکتری‌های *ازتوباکتر کروکوکوم* و *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* موجود در کود نیتروکسین نبوده است.



شکل ۲: تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a*، مرحله OK در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای متفاوت کود زیستی.

ب) تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در مرحله OJ: شکل ۳ تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* از لحظه‌ی شروع نوردهی تا ۲ میلی‌ثانیه پس از نوردهی که به مرحله OJ معروف است را نشان می‌دهد. تشکیل یک پیک یا قله در ۰/۳ میلی‌ثانیه (K band) پس از نوردهی نشانگر وجود اختلاف در عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب در مجاورت فتوسیستم II در دستگاه

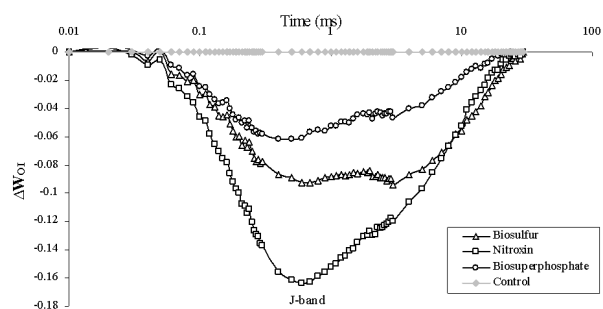
منحنی مربوط به میزان فلورسنس کلروفیل *a* در زمان‌های متفاوت پس از نوردهی به برگ از لحظه صفر تا یک ثانیه پس از آن در نمونه‌های شاهد و تحت تیمار کودهای مختلف زیستی شامل نیتروکسین، بیوسوپرفسفات و بیوسولفور در گیاه گوجه‌فرنگی در شکل ۱ مشخص شده است. همان‌طور که در منحنی OJIP مشخص است مراحل متفاوتی در منحنی وجود دارد که به نام‌های مراحل O, J, I, و P نامگذاری گردیده است و نشان دهنده میزان فلورسنس کلروفیل *a* به ترتیب در لحظه ۲۰ میکروثانیه، ۲ میلی‌ثانیه، ۳۰ میلی‌ثانیه و ۳۰۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی می‌باشد. نتایج این منحنی نشان می‌دهد که بین نمونه‌های شاهد و تحت تیمار کودهای مختلف زیستی در مراحل مختلف منحنی فلورسنس کلروفیل *a* تفاوت وجود دارد. جهت تفسیر بهتر و دقیق‌تر تغییرات این منحنی از طریق روش JIP-تست تست، منحنی در شکل‌های ۲ الی ۶ مرحله به مرحله در نقطه ابتدا و انتها نرمال شد و به صورت فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در نمونه‌ها مورد بحث و نتیجه‌گیری قرار گرفت.



شکل ۱: میانگین فلورسنس کلروفیل *a* در تیمارهای متفاوت کود زیستی از ابتدا تا ۱ ثانیه پس از نوردهی در گیاه گوجه‌فرنگی.

الف) تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در مرحله OK: شکل ۲ تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* از لحظه‌ی شروع نوردهی تا ۳۰۰ میکروثانیه پس از نوردهی که به مرحله OK معروف است را نشان می‌دهد. تشکیل یک نقطه اوج در حدود ۱۵۰ میکروثانیه (L band) پس از نوردهی نشانگر وجود تغییراتی در عملکرد کلروفیل‌های آنتن در کمپلکس‌های

فتوسنتزی است (۹). در صورتی که میزان فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در این نقطه اوج مثبت باشد نشانه اختلال در عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب است و در صورتی که فلورسنس نسبی منفی باشد نشانه عملکرد بهتر کمپلکس تجزیه‌کننده آب می‌باشد. نتایج شکل ۳ مشخص می‌کند که کودهای بیوسوپرفسفات و بیوسولفور گرچه توانسته‌اند سبب بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب شوند، اما تفاوت عملکرد این دو کود با هم اختلاف معنی‌داری ندارند. نتایج شکل ۲ در مورد کود نیتروکسین نشان از تاثیر مناسب‌تر این کود نسبت به دو کود زیستی دیگر در بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب دارد.

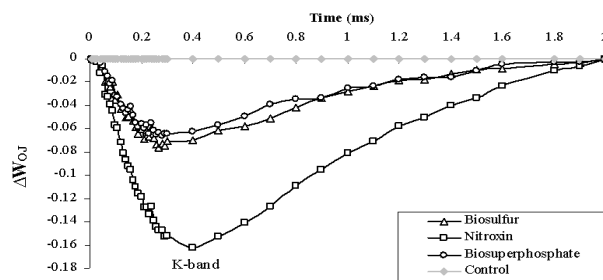


شکل ۴: تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a*، مرحله OI در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای متفاوت کود زیستی.

د) تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در مرحله II: شکل ۵ تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* از ۲ میلی‌ثانیه پس از نوردهی تا ۳۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی که به مرحله II معروف است را نشان می‌دهد. تشکیل یک نقطه اوج در حدود ۱۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی (H-band) نشانگر وجود اختلال در انتقال الکترون بین ناقلین انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی در حدواسط فتوسیستم II و فتوسیستم I است (۹).

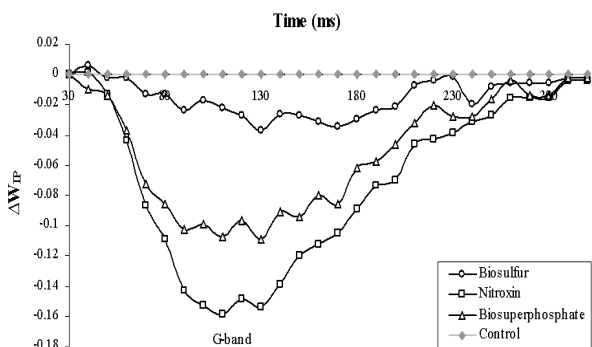
پس از انتقال الکترون به گیرنده کوئینونی QA الکترون‌ها به ناقل بعدی یعنی QB تحویل داده می‌شوند و پس از آن به مخزن پلاستوکوئینون رفته و پس از انتقال به کمپلکس b6f به پلاستوسیانین و سپس به فتوسیستم I می‌رسند. نتایج شکل ۵ نشان می‌دهد که در بین کودهای زیستی استفاده شده در این

فتوسنتزی است (۹). در صورتی که میزان فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در این نقطه اوج مثبت باشد نشانه اختلال در عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب است و در صورتی که فلورسنس نسبی منفی باشد نشانه عملکرد بهتر کمپلکس تجزیه‌کننده آب می‌باشد. نتایج شکل ۳ مشخص می‌کند که کودهای بیوسوپرفسفات و بیوسولفور گرچه توانسته‌اند سبب بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب شوند، اما تفاوت عملکرد این دو کود با هم اختلاف معنی‌داری ندارند. نتایج شکل ۲ در مورد کود نیتروکسین نشان از تاثیر مناسب‌تر این کود نسبت به دو کود زیستی دیگر در بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب دارد.



شکل ۳: تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a*، مرحله OI در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای متفاوت کود زیستی.

ج) تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در مرحله OI: شکل ۴ تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* از لحظه‌ی شروع نوردهی تا ۳۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی که به مرحله OI معروف است را نشان می‌دهد. تشکیل یک نقطه اوج در ۲ میلی‌ثانیه پس از نوردهی (J-band) نشانگر وجود اختلاف در تعادل ورود و خروج الکترون از مراکز واکنش فتوسنتزی است (۹). الکترون‌ها پس از آزاد شدن از مراکز واکنش در فتوسیستم II، به گیرنده فتوفایتین و سپس به گیرنده کوئینونی QA تحویل داده می‌شوند. کمبود الکترون موجود در مراکز واکنش می‌بایستی توسط تامین الکترون‌ها از کمپلکس تجزیه‌کننده آب جبران شود. در صورتی که عاملی سبب برهم خوردن این تعادل شود میزان فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در حدود ۲ میلی‌ثانیه پس از نوردهی اوج می‌گیرد. در صورتی که

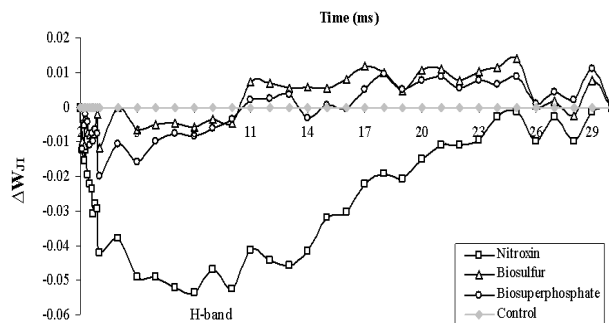


شکل ۶: تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a*، مرحله IP در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای متفاوت کود زیستی.

بحث

بررسی تغییرات کینیتیک فلورسنس کلروفیل *a* از طریق روش JIP-تست به عنوان یک روش دقیق، سریع، ارزان و غیرتهاجمی به گیاه در سال‌های اخیر به خوبی کارآمدی خود را در بررسی دستگاه فتوسنتزی گیاهان مختلف نشان داده است (۱۲). با استفاده از این روش می‌توان در حالت زنده، دستگاه فتوسنتزی گیاه را مورد رصد قرار داد و تفسیرهای فیزیولوژیکی دقیقی از نحوه رفتار دستگاه فتوسنتزی از لحظه دریافت فوتون‌های نوری تا هنگام تشکیل دو ماده پرانرژی NADPH و ATP ارائه داد (۱۴). بررسی تغییرات فلورسنس کلروفیل *a* از طریق روش JIP-تست در تحقیق حاضر مشخص کرد که کودهای زیستی باکتریایی توانسته‌اند سبب بهبود شرایط عملکردی فتوسنتز در مراحل مختلف این فرایند شوند. نتایج این تحقیق نشان داد که از بین کودهای زیستی استفاده شده در این تحقیق، کود نیتروکسین بیشترین تاثیر را بر افزایش کارایی فتوسنتزی گیاه گوجه‌فرنگی داشته است. دو باکتری از توپاکتر کروکوکوم و آروسپیریلیوم لیپوفروم موجود در کود زیستی نیتروکسین از جمله باکتری‌های تثبیت کننده ازت به شمار می‌آیند. از توپاکتر گروهی از باکتری‌های گرم منفی، آزادی و هوازی تثبیت‌کننده نیتروژن هستند که در محیط خاک و به خصوص ریزوسفر ساکن هستند. شکل آن‌ها بیضی یا کروی است و در برابر شرایط نامساعد محیطی کیست‌هایی با دیواره ضخیم برای پایداری و مقاومت تشکیل می‌دهند.

تحقیق کود نیتروکسین بهترین عملکرد را در انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی داشته است.



شکل ۵: تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a*، مرحله JI در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای متفاوت کود زیستی.

تغییرات فلورسنس نسبی کلروفیل *a* در مرحله IP: شکل ۶ (۳۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی تا ۳۰۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی) را نشان می‌دهد. تشکیل یک نقطه اوج در حدود ۱۰۰ میلی‌ثانیه پس از نوردهی (G-band) نشانگر وجود اختلال در احیای آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I است. این پذیرنده‌ها شامل فیلوکوئینون، ناقلین آهن-گوگرددار، فرودوکسین، فرودوکسین نترات ردوکتاز و NADH^+ می‌باشد که پس از انتقال الکترون به پذیرنده نهایی سبب تولید NADPH خواهد شد (۹).

شکل‌گیری مقادیر منفی در منحنی فلورسنس نسبی کلروفیل *a* نشانگر ظرفیت بالاتر گیرنده‌های موجود در فتوسیستم I است. نتایج شکل ۶ نشان می‌دهد که با شکل‌گیری G-band با مقادیر منفی در پی استفاده از کودهای زیستی، این کودها اثر مثبتی بر افزایش ظرفیت پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I داشته‌اند. نتایج شکل ۶ همچنین نشان داد که تاثیر کود زیستی نیتروکسین در این قسمت از دستگاه فتوسنتزی بیشتر از دو کود زیستی دیگر بوده است. نتایج همچنین نشان داد کود بیوسوپرفسفات در این قسمت از دستگاه فتوسنتزی تاثیر بهتری نسبت به کود زیستی بیوسولفور داشته است.

همچون سیتوکینین، جیبرلین، اکسین، سالیسیلیک اسید، آبسزیک اسید و ویتامین‌هایی همچون نیاسین، تیامین و پانتوتیک اسید و قابلیت ترشح سیدروفورها می‌توانند تاثیرات زیادی در رشد و نمو گیاهان ایفا کنند (۱۷). همچنین باکتری آروسپیریلیوم با داشتن ترکیبات ضد میکروبی و ضد قارچی می‌تواند موازنه رقابتی برای عناصر غذایی، آب و سایر ترکیبات مورد نیاز را به نفع گیاه در محیط ریزوسفر تغییر دهد (۱۸). باکتری آروسپیریلیوم دارای ترکیبات اسیدی همچون سیتریک اسید، سوکسینیک اسید، فوماریک اسید و گلوکونیک اسید می‌باشد که می‌تواند سبب حل شدن بیشتر فسفر خاک و در دسترس قرار دادن این عنصر برای گیاه شوند (۱۷). تحقیقات نشان می‌دهد سیستم فتوسنتزی گیاهانی که در ارتباط با آروسپیریلیوم هستند دارای رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتری همچون کلروفیل a و کلروفیل b و همچنین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوان‌تر همچون وایولاگزانتین، آنتراگزانتین، زئاگزانتین، نئوگزانتین، لوتین و بتا کاروتن باشند که موجب بهبود عملکرد فتوسنتزی گیاه به خصوص در شرایط تنش شود (۱۷). در مجموع گیاهانی که با آروسپیریلیوم تلقیح شده‌اند ۱۰ تا ۱۵ درصد افزایش محصول، جذب بیشتر مواد غذایی، محتوای بیشتر نیتروژن در بافت‌ها و توسعه بیشتر در سیستم ریشه‌ای، برگ و قسمت‌های هوایی خود هستند (۱۷ و ۱۸). باکتری‌های متفاوت استفاده شده در کود نیتروکسین احتمالاً با تکیه بر توانایی خود در خصوص تثبیت زیستی ازت، آزاد کردن فسفر از منابع خاکی، فراهم سازی سایر مواد غذایی و تولید طیف متنوعی از ترکیبات محرک رشد سبب بهبود شرایط تغذیه ای گیاه گوجه‌فرنگی شده‌اند. دستگاه فتوسنتزی گیاه به عنوان یکی از مهمترین اجزای تامین‌کننده انرژی، ترکیبات احیایی و اسکلت‌های کربنی کاملاً به شرایط تغذیه‌ای گیاه وابسته است و همان‌گونه که کمبود مواد غذایی سبب کاهش عملکرد فتوسنتزی گیاه می‌شود، دسترسی بهتر به عناصر غذایی می‌تواند سبب بهبود ساختمان و اجزای فرایندی پدیده‌ی فتوسنتز شود (۱۹). Kalaji و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی نقش کمبود عناصر غذایی فسفر، کلسیم، نیتروژن، منیزیم، گوگرد و آهن بر تغییرات فلورسنس کلروفیل a در گیاه

دهند. حدود ۶ گونه از جنس ازتوباکتر گزارش شده است که برخی از آن‌ها با استفاده از تاژک‌های پری‌تریکس حرکت می‌کنند و برخی دیگر غیرمتحرک هستند (۱۵). این باکتری با داشتن آنزیم نیتروژناز توانایی تثبیت ازت مولکولی را دارد و گزارشات نشان می‌دهد که می‌تواند تا ۲۰ کیلوگرم ازت در هر هکتار در سال را تثبیت نماید (۱۶). ازتوباکتر به شرایط اسیدی خاک، غلظت بالای نمک و دماهای بالا حساس است، اما آن‌ها اثرات مفیدی بر رشد و عملکرد گیاهان از طریق بیوستتر مواد فعال بیولوژیکی، تحریک میکروپ‌های ریزوسفری، تولید مهارکننده‌های بیماری‌زای گیاهی، تغییر جذب مواد مغذی و در نهایت افزایش تثبیت بیولوژیکی نیتروژن دارند (۱۵). تحقیقات نشان می‌دهد ازتوباکتر کروکوکوم به عنوان مهمترین گونه این جنس، علاوه بر تثبیت زیستی ازت، توانایی تولید هورمون‌های گیاهی را دارد. وجود ایندول ۳-استیک اسید یا هورمون اکسین، ۵ نوع سیتوکینین و همچنین سه ترکیب شبه جیبرلینی در ازتوباکتر کروکوکوم گزارش شده است که می‌تواند در تعامل با گیاهان شرایط رشد و نمو آن‌ها را به طور چشمگیری بهبود دهد (۱۶). توانایی تولید سیدروفورها از دیگر روش‌های باکتری ازتوباکتر برای کمک به گیاهان است. این ترکیبات می‌توانند سبب جذب بهتر آهن و سایر عناصر غذایی به گیاهان شوند و حتی با داشتن تاثیرات مهارکنندگی بر پاتوژن‌های گیاهی سبب بهبود شرایط به نفع گیاه در ریزوسفر شوند (۱۵). وجود ۳۵ ترکیب کلات شونده به عناصر را در ازتوباکتر در تحقیقات نشان داده شده است (۱۶). دیگر باکتری موجود در کود نیتروکسین آروسپیریلیوم است. این باکتری گرم منفی و میله‌ای شکل سرشار از گرانول‌های پلی-بتا-هیدروکسی بوتیرات و قطرات چربی است و تاکنون ۱۹ گونه از این باکتری در ارتباط با سیستم‌های همزیستی و همیاری با گیاهان شناسایی شده‌اند (۱۷). گرچه این باکتری به علت داشتن آنزیم نیتروژناز توانایی تثبیت ازت مولکولی را دارد اما اثرات مثبت استفاده از این باکتری در کودهای زیستی به سایر خصوصیات القایی این باکتری در رشد گیاهان تکیه دارد. تحقیقات نشان می‌دهد باکتری آروسپیریلیوم با داشتن ترکیبات فیتوهورمون‌هایی

پروتئینی و آنزیمی در درون گیاه دارند، لذا این دو باکتری احتمالاً توانسته‌اند با نقش مثبت خود سبب تثبیت و عملکرد بهتر این کمپلکس پروتئینی شوند. همچنین باکتری آروسپیریلیوم قادر است با تولید طیف وسیعی از ترکیبات محرک رشد همچون فیتوهورمون‌ها سبب رشد و توسعه ریشه گردد و باعث جذب بیشتر عناصر غذایی شود (۲). فراهم شدن بهتر عناصر منگنز، کلسیم و کلر با توجه به نقش مستقیم در ساختمان کمپلکس تجزیه‌کننده آب می‌تواند از دلایل احتمالی عملکرد بهتر این کمپلکس در استفاده از کود نیتروکسین باشد (۲۵). همچنین سایر کودهای زیستی در این تحقیق نیز سبب بهبود عملکرد این کمپلکس شده بودند که فراهم شدن عنصر فسفر و گوگرد به عنوان دو جزء ساختمانی مهم در ترکیبات پروتئینی می‌تواند باعث این اثر مثبت باشد. در تحقیقی Paul و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که فراهم بودن بهتر عناصر غذایی نیتروژن، کلسیم و منگنز می‌تواند سبب بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب شود (۲۶). همچنین Gupta و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی ساختمان و عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب در گیاهان نشان دادند فراهم بودن عناصر اصلی دخیل در ساختمان و عملکرد این کمپلکس همچون نیتروژن، منیزیم، کلسیم، فسفر و گوگرد می‌تواند سبب بهبود الکترون‌دهی این کمپلکس و متعاقب آن عملکرد بهتر دستگاه فتوسنتزی در گیاهان شوند (۲۵). در تحقیقی دیگر Anli و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های الفاکاننده رشد در گیاه نخل نشان دادند این کودها با افزایش سطح عناصر نیتروژن و فسفر در ساقه، سبب بهبود عملکرد دستگاه فتوسنتزی در این گیاه شده‌اند (۱). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از کودهای زیستی سبب افزایش ارتباط و پیوستگی کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش و جذب بهتر نور در سیستم فتوسیستم‌ها شده است. تشکیل L-band در تحقیقات متعددی همچون تاثیر کودزیستی حاوی آروسپیریلیوم و باسیلوس در گیاه بارهنگ (۲۲)، تاثیر هورمون سیتوکینین بر گیاه آیکمیا (۲۱)، استفاده از ماده سدیم نیتروپروساید در گیاه جو دوسر (۲۳) نشان داده شده است. تحقیقات نشان می‌دهد فراهم شدن

ذرت و گوجه‌فرنگی نشان دادند که روش JIP-تست و نحوه تغییرات فلورسنس کلروفیل a از حساسیت کافی برای مشخص نمودن تاثیر منفی کمبود عناصر غذایی بر دستگاه فتوسنتزی برخوردار است (۱۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از کودهای زیستی به خصوص کود نیتروکسین سبب بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب در مجاورت فتوسیستم II شده است. تشکیل K-band به عنوان نشانه‌ای از عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده محسوب می‌شود (۲۰). در تحقیق Rosa و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده شد که ترکیبات محرک رشد می‌تواند K-band را در محدوده منفی فلورسنس کلروفیل a گیاه آیکمیا ایجاد کنند که مطابق تحقیق حاضر نشانه‌ای از بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب است (۲۱). نتایج مشابهی در مورد عملکرد بهتر کمپلکس تجزیه‌کننده آب و پدیدار شدن K-band در هنگام استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های آروسپیریلیوم و باسیلوس در گیاه بارهنگ وجود دارد (۲۲). همچنین Chen و همکاران (۲۰۲۱) با تحقیق بر تاثیر انواع تراکم رشد بر خصوصیات فلورسنس کلروفیل a در گیاه ذرت نشان دادند تشکیل K-band در منحنی فلورسنس کلروفیل می‌تواند عملکرد کمپلکس را در شرایط تراکم کمتر و تراکم بیشتر به خوبی منعکس کند (۲۰). در شرایط نامساعد محیطی نیز تشکیل K-band به عنوان معیاری از اختلال در عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده در تنش شوری در گیاه جو دوسر (۲۳)، در تنش خشکی در گیاه ریحان (۲۴) و در تنش کمبود عناصر تغذیه‌ای در ذرت و گوجه‌فرنگی (۱۹) مشخص شده است. کمپلکس تجزیه‌کننده آب متشکل از چهار عنصر منگنز است که به یک کمپلکس کوچک پروتئینی موسوم به مجموعه آزاد کننده اکسیژن متصل است. همچنین عناصر کلسیم و کلر نقش ساختمانی و فعال‌کنندگی در این کمپلکس دارند. این کمپلکس توسط پروتئین‌های پیرامونی مانند PsbO، PsbP، PsbQ و PsbR واقع در سمت لومن محافظت می‌شود (۲۵). کود زیستی نیتروکسین حاوی دو باکتری ازتوباکتر و آروسپیریلیوم است که دارای فعالیت تثبیت زیستی ازت می‌باشند. از آنجا که ترکیبات نیتروژنه نقش بسیار مهمی در تولید ساختمان‌های

می‌شود که این موضوع می‌تواند با توجه به هدف بودن غشا تیلاکوئید در بسیاری از تنش‌های زیستی که به صورت معمول در اطراف گیاه وجود دارد شرایط انتقال الکترون در غشا تیلاکوئید را بهبود بخشد (۲۷ و ۲۸). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که با ظهور G-band، میزان احیای آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I در حضور کودهای زیستی افزایش یافته است. ظهور G-band در تحقیقات مختلفی با استفاده از روش JIP-تست تست نشان داده شده است (۹ و ۲۰ و ۲۹). وجود سطوح بالاتر از نیتروژن در گیاه سبب افزایش اسیدآمینها می‌شود که نقش مهمی در ساختن پروتئین‌های پذیرنده الکترون در فتوسیستم I دارد (۶). استفاده از کودهای زیستی و سطوح بالاتر نیتروژن و سولفور در گیاه می‌تواند مقدار پذیرنده‌هایی همچون $NADP^+$ را افزایش دهد (۶). فراهم بودن عناصر غذایی تاثیر مثبتی بر آنزیم‌های مسیر سنتز فیلوکوئینون دارد (۳۰). همچنین عواملی که بتوانند شرایط تغذیه‌ای گیاه را بهبود ببخشند می‌توانند سبب تحریک ساختن آنزیم فرودوکسین نترات ردوکتاز در گیاهان شوند (۳۱). مجموعه این عوامل و دلایل ذکر شده در مورد نقش مثبت کودهای زیستی در افزایش سطح جذب آب و مواد معدنی از محیط ریشه و افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌تواند سبب افزایش ظرفیت پذیرش الکترون در فتوسیستم I و تولید بیشتر عامل احیای NADPH باشد. در تحقیقی در سال ۲۰۱۹ تاثیر مثبت کود زیستی حاوی سیانوباکتری‌ها بر افزایش ظرفیت احیای پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I تایید شده است (۵). در تحقیقی دیگر افزایش هورمون سیتوکینین که در اثر استفاده از کود زیستی آزوسپیریلیوم تولید می‌شود سبب افزایش احیای آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم I و بروز G-band در منحنی فلورسنس نسبی کلروفیل a در گیاه آیکمیا شده است (۲۱).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که کود نیتروکسین با دارا بودن دو باکتری ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلیوم لیپوفروم

عناصر غذایی در پی استفاده از کودهای زیستی می‌تواند سبب افزایش تولید کلروفیل‌ها و رنگدانه‌های دریافت کننده نور شود. در تحقیقی Cham و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت کننده ازت، آزاد کننده فسفر و القاگر رشد سبب افزایش میزان کلروفیل‌ها شده است (۲۷). در تحقیق دیگری Anli و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که کودهای زیستی حاوی باکتری‌های القاگر رشد و حل کننده فسفر می‌توانند با افزایش سطح کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدها شرایط جذب نور و انتقال موثرتر انرژی به مراکز واکنش فتوسنتزی را بهبود بخشند (۱). در تحقیقی دیگر Vitale و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که کودهای زیستی حاوی باکتری باسیلوس می‌تواند با افزایش مقدار رنگدانه‌های جذب کننده نور، عملکرد کوانتومی فتوسنتز را در گیاه اسفناج افزایش دهد (۲۸). نتایج تحقیق حاضر بر روی گوجه‌فرنگی نشان داد شرایط انتقال الکترون در بین ناقلین زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی در حضور کودهای زیستی بهبود یافته است. این نتیجه‌گیری که براساس پدیدار شدن H-band و J-band در منحنی فلورسنس کلروفیل a بود در تحقیقات دیگری نیز مشاهده شده است (۲۰ و ۲۱ و ۲۹). بسیاری از ناقلین الکترون در غشا تیلاکوئید از جنس پروتئین هستند و همچنین کمپلکس‌های درگیر در انتقال الکترون از پروتئین و عناصر غذایی متفاوت در ساختمان خود بهره می‌برند. لذا عواملی مثل کودهای زیستی که می‌توانند با پروسه‌هایی نظیر تثبیت زیستی ازت و فراهم کردن شرایط بهتر برای جذب سایر عناصر غذایی از خاک سبب بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه شوند می‌توانند شرایط انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی را بهبود بخشند. افزایش میزان ازت و در نتیجه افزایش حلقه‌های پورفرینی برای تشکیل کلروفیل، افزایش اسید آمینه آلانین برای سنتز بیشتر کلروفیل، وسیع تر شدن سطح برگ، افزایش نقل وانتقالات گازی می‌توانند موجب افزایش کلروفیل‌های آنتن و مراکز فعال و افزایش انتقال الکترون از کلروفیل‌های آنتن به اولین گیرنده الکترون Q_A شوند (۱۹). همچنین تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از کودهای زیستی سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی و توجه به اصول زیست محیطی در مورد استفاده از ترکیبات و میکروارگانیسم‌های استفاده شده در تحقیق را رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت در خصوص حمایت‌های اجرایی در انجام تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

وجود ندارد.

بیشترین تاثیر مثبت را بر بهبود عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه گوجه‌فرنگی داشته است. کودهای بیوسوپرفسفات و بیوسولفور نیز با دارا بودن باکتری‌های *باسیلوس لتتوس*، *سودوموناس پوتیدا* و *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* گرچه دارای تاثیر مثبت بر سیستم فتوسنتزی گیاه گوجه‌فرنگی بوده‌اند، اما این تاثیرات کمتر از کود نیتروکسین بوده است. حضور باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت، حل‌کننده فسفر، مهیاکننده گوگرد و تولید کننده مواد محرک رشد در کودهای زیستی در این تحقیق با بهبود دسترسی گیاه به مواد معدنی و آلی در سطح خاک سبب تاثیر مثبت بر سیستم فتوسنتزی شدند. این تاثیرات مثبت که در مراحل جذب نور و به دام اندازی انرژی در کلروفیل‌های آنتن مشخص بود سبب بهبود انتقال انرژی به مراکز واکنش فتوسنتزی و در نتیجه انتقال الکترون کارآمدتر در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی شد. همچنین عملکرد بهتر کمپلکس تجزیه کننده آب در حضور کودهای زیستی، در نهایت سبب افزایش کارایی انتقال الکترون و تولید بیشتر NADPH در انتهای فتوسیستم I گردید.

Reference

1. Anli M, Baslam M, Tahiri A, Raklami A, Symanczik S, Boutasknit A, et al. Biofertilizers as Strategies to Improve Photosynthetic Apparatus, Growth, and Drought Stress Tolerance in the Date Palm. *Front Plant Sci.* 2020;11(October):1–27.
2. Itelima J, Wj B, MD S, Ia O, Oj E. A review : Biofertilizer - A key player in enhancing soil fertility and crop productivity. *Microbiol Biotechnol Rep.* 2018;2(1):22–8.
3. Mitter EK, Tosi M, Obregón D, Dunfield KE, Germida JJ. Rethinking Crop Nutrition in Times of Modern Microbiology: Innovative Biofertilizer Technologies. *Front Sustain Food Syst.* 2021;5(February):1–23.
4. de Souza R, Ambrosini A, Passaglia LMP. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet Mol Biol.* 2015;38(4):401–19.
5. Younesi H, Hassani SB, Ghotbi Ravandi AA, Soltani N. Plant Growth Promoting Potential of *Phormidium* sp. ISC108 on Seed Germination, Growth Indices and Photosynthetic Efficiency of Maize (*Zea mays* L.). *J Phycol Res.* 2019;3(2):375–85.
6. Al-Bdairi SHJ, Kamal JA. The Effect of Biofertilizer of *Azolla*, Phosphate and Nitrogen Fertilizers on some Growth Traits of Rice. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2021;735(1).

7. Suma N, Srimathi P, Roopa VM. Original Research Article Influence of Biofertilizer pelleting on seed and seedling quality characteristics of *Sesamum indicum* At the time of germination count , ten normal seedlings were taken at random . The length between the collar and tip of the prim. 2014;3(6):591–4.
8. Ye L, Zhao X, Bao E, Li J, Zou Z, Cao K. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-56954-2>
9. Zagorchev L, Atanasova A, Albanova I, Traianova A, Mladenov P, Kouzmanova M, et al. Functional characterization of the photosynthetic machinery in smicronix galls on the parasitic plant *cuscuta campestris* by jip-test. *Cells*. 2021;10(6).
10. Bagheenayat, N., Barzin, G., Jafarinia, M., Pishkar, L. and Entezari M. Investigation of the effects of salinity stress on the performance of photosynthetic electron transport chain in different species of *Salvia* probed by JIP test. *J Plant Process Funct* [Internet]. 2021;10(44): 77–92. Available from: <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1464-en.html>
11. Shahsavandi F, Eshghi S, Gharaghani A, Ghasemi-fasaei R, Jafarinia M. *Scientia Horticulturae* Effects of bicarbonate induced iron chlorosis on photosynthesis apparatus in grapevine. *Sci Hortic (Amsterdam)* [Internet]. 2020;270(December 2019):109427. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109427>
12. Kalaji HM, Jajoo A, Oukarroum A, Brestic M. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol Plant*. 2016;38(102):1–11.
13. Collins EJ, Bowyer C, Tsouza A, Chopra M. *Tomatoes: An Extensive Review of the Associated Health Impacts of Tomatoes and Factors That Can Affect Their Cultivation*. *Biology (Basel)*. 2022;11(2).
14. Jafarinia M, Shariati M. Effects of salt stress on photosystem II of canola plant (*Barassica napus* , L .) probing by chlorophyll a fluorescence measurements. *Iran J Sci Technol*. 2012; 71–6.
15. Das HK. *Azotobacters as biofertilizer* [Internet]. 1st ed. Vol. 108, *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier Inc.; 2019. 1-43 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.07.001>
16. Sumbul A, Ansari RA, Rizvi R, Mahmood I. *Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management*. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2020;27(12):3634–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004>
17. Raffi MM, Charyulu PBBN. *Azospirillum-biofertilizer for sustainable cereal crop production: Current status* [Internet]. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*. Elsevier Inc.; 2021. 193-209 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-821406-0.00018-7>

18. Suhameena B, Devi S, Gowri R, Kumar A. Utilization of Azospirillum as a Biofertilizer – An Overview. *Int J Pharm Rev Res*. 2020;62(22):141–5.
19. Kalaji HM, Oukarroum A, Alexandrov V, Kouzmanova M, Brestic M, Zivcak M, et al. Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2014 Aug [cited 2014 Aug 31];81(April):16–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24811616>
20. Chen W, Jia B, Chen J, Feng Y, Li Y, Chen M, et al. Effects of Different Planting Densities on Photosynthesis in Maize Determined via Prompt Fluorescence, Delayed Fluorescence and P700 Signals. *Plants*. 2021;10(276):1–17.
21. Rosa WS, Martins JPR, Rodrigues ES, de Almeida Rodrigues LC, Gontijo ABPL, Falqueto AR. Photosynthetic apparatus performance in function of the cytokinins used during the in vitro multiplication of *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae). *Plant Cell Tissue Organ Cult* [Internet]. 2018;133(3):339–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-018-1385-x>
22. Zubek S, Turnau K, Tsimilli-Michael M, Strasser RJ. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Mycorrhiza* [Internet]. 2009 Feb [cited 2014 Sep 1];19(2):113–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19011910>
23. Khalilpoor M, Jafarinia M. Investigation the Effects of Salinity and Nitric Oxide on the Changes of Chlorophyll a Fluorescence in Oat (*Avena sativa* L.) Plant Probed by JIP-Test. *Iran J plant biol*. 2017; 9(31): 87-98.
24. Motamed S, Jafarinia M, Kholdebarin B. Investigating the effects of drought stress on photosynthetic electron transport chain of two basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars by measuring “Chlorophyll - a” fluorescence. *J Biodivers Environ Sci*. 2015;7(1):564–71.
25. Gupta R. The oxygen-evolving complex: a super catalyst for life on earth, in response to abiotic stresses. *Plant Signal Behav* [Internet]. 2020;15(12). Available from: <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1824721>
26. Paul S, Neese F, Pantazis DA. Structural models of the biological oxygen-evolving complex: Achievements, insights, and challenges for biomimicry. *Green Chem*. 2017;19(10):2309–25.
27. Cham R, Ali S, Jafarinia M, Yasrebi J. South African Journal of Botany Physiological responses of *Dracocephalum kotschy* Boiss. to drought stress and Bio-fertilizers. *South African J Bot* [Internet]. 2022;148:180–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.04.008>
28. Vitale L, Vitale E, Guercia G, Turano M, Arena C. Effects of different light quality and biofertilizers on structural and physiological traits of Spinach plants. *Photosynthetica* [Internet]. 2020;58(4):932–43. Available from: <https://doi.org/10.32615/ps.2020.039>

29. Dimitrova S, Paunov M, Pavlova B, Dankov K, Kouzmanova M, Velikova V, et al. Photosynthetic efficiency of two platanus orientalis l. Ecotypes exposed to moderately high temperature – jip-test analysis. *Photosynthetica* [Internet]. 2020;58(Special Issue):657–70. Available from: <https://doi.org/10.32615/ps.2020.012>
30. Basset GJ, Latimer S, Fatihi A, Soubeyrand E, Block A. Phylloquinone (Vitamin K1): Occurrence, Biosynthesis and Functions. *Mini-Reviews Med Chem*. 2017;17(12).
31. Corpas FJ, González-Gordo S, Palma JM. Nitric oxide and hydrogen sulfide modulate the NADPH-generating enzymatic system in higher plants. *J Exp Bot*. 2021;72(3):830–47.