



## کودهای زیستی فسفات (باکتریهای حل‌کننده فسفات - قارچهای میکوریز)

محمدرضا ساریخانی<sup>۱\*</sup>، میترا ابراهیمی<sup>۲</sup>

۱- استادیار خاکشناسی (بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک) - گروه علوم خاک - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تبریز ۲- دانشجوی کارشناسی

ارشد خاکشناسی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه آزاد واحد کرج

([rsarikhani@yahoo.com](mailto:rsarikhani@yahoo.com))

### چکیده

اگرچه یکی از راههای برطرف ساختن نیاز فسفر گیاهان استفاده از کودهای شیمیایی است ولیکن محدود بودن این منابع، افزایش قیمت تمام شده آن و مخاطرات زیست محیطی ناشی از کاربرد آنها و تثبیت شدن قسمت اعظم کود فسفات مصرفی به شکل غیر قابل استفاده برای گیاه، توجه به کودهای زیستی فسفات را ایجاب می‌کند. نگاهی به طبیعت و سازوکارهایی که اتخاذ نموده است ما را به مدیریت بهتر رهنمون خواهد شد، سازوکارهایی چون سازگاریهای گیاهان و راهکارهای مختلف در جذب فسفات تا دخالت میکروفلور خاک و ریزوسفر در تامین فسفات خاک از این نمونه هستند. اما در برخی موارد نیاز به اعمال مدیریتی است تا میزان و سهم هر یک را افزایش داد. در این میان تغییر جمعیت فعال ریزوسفری خاک معقولانه‌تر به نظر می‌رسد، زیرا که تولید و تکثیر آنها به شیوه‌ای آسان قابل انجام می‌باشد. باکتری‌های حل‌کننده فسفات از جنس *Enterobacter* و *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* برای افزایش فراهمی فسفر مورد نیاز گیاه و همچنین رشد و عملکرد، کارآمدتر به نظر می‌رسند. قارچهای میکوریز گروه متنوعی از قارچهای همزیست را شامل می‌شود ولی مهمترین نوع آن در ارتباط با گیاهان زراعی میکوریز آربوسکولار به حساب می‌آید و در مقایسه با باکتریهای حل‌کننده فسفات که به راحتی می‌توان تکثیر نمود استفاده از قارچهای میکوریز نوع آربوسکولار با محدودیت بزرگی به نام تکثیر این قارچها در محیط مصنوعی و بدون حضور میزبان (موجود زنده) مواجه است. اولین گام در بهره گرفتن از توان زیستی خاک رسیدن به یک ریزسازواره با توان حل‌کنندگی فسفات بالا و در ادامه تهیه زادمایه میکروبی است، که خود شامل انتخاب حامل مناسب و تولید انبوه باکتری حل‌کننده فسفات و در مرحله آخر روش‌های کنترل کیفی و توزیع کود زیستی می‌باشد. در رابطه با قارچهای میکوریز به نظر استفاده از این قارچها در خزانه گیاهی و نهالستان‌ها راه مناسبی برای تکثیر و برقراری این رابطه همزیستی مفید باشد و از توان بالقوه آنها در تولید گیاهانی که از طریق کشت بافت ازدیاد می‌شوند نبایستی غافل شد.

واژه‌های کلیدی: کودهای زیستی، باکتریهای حل‌کننده فسفات، قارچهای میکوریز

### مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی مهم برای گیاهان می‌باشد که در خاک فراهمی کمی دارد. گیاهان فسفر مورد نیاز خود را به شکل آنیون فسفات ( $H_2PO_4^-$  یا  $HPO_4^{2-}$ ) از محلول خاک جذب می‌کنند. البته فسفر در خاکها به دو شکل آلی و معدنی به مقدار فراوان و در محدوده  $400-1200 mg kg^{-1}$  وجود دارد (خان و همکاران ۲۰۰۷، رودریگز و فراگا ۱۹۹۹). ولیکن غلظت فسفات محلول در خاک معمولاً خیلی پایین بوده و در سطح  $1 mg kg^{-1}$  یا کمتر می‌باشد. بنابراین در غالب خاکها از نظر مقدار کل فسفر مشکلی وجود ندارد بلکه فراهمی و در دسترس بودن آن مشکل می‌باشد (پول ۲۰۰۷). تامین فسفات مورد نیاز گیاه



به شیوه استفاده از کودهای شیمیایی تاریخ دیرینه‌ای دارد و به انقلاب سبز و معرفی کودها در کشاورزی بازمی‌گردد. در ایران نیز همگام با تحولات موجود در این زمینه واردات کودهای شیمیایی و استفاده از آنها در بخش کشاورزی شروع شد و همچنین تاسیس اولین کارخانه کود شیمیایی برای تولید سوپر فسفات ساده به سال ۱۳۲۴ باز می‌گردد (فائو ۲۰۰۴).

نیاز به جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی فسفاته زمانی احساس می‌شود که بدانیم استفاده زیاد از کودهای شیمیایی مخاطرات محیطی و خطراتی برای سلامت انسان به همراه دارد و در عمل بازدهی کودهای شیمیایی فسفاته بین ۱۰-۲۵ درصد می‌باشد (ایشورود ۱۹۹۸) این به آن معنی است که تقریباً ۷۵-۹۰ درصد آن در خاک در اثر واکنش با کاتیون‌های فلزی به صورت رسوب و غیرقابل استفاده گیاه تبدیل می‌شود (استیونسن ۲۰۰۵). از طرف دیگر انرژی لازم برای تولید سالانه کودهای شیمیایی فسفاته چیزی بالغ بر ۴ میلیون دلار می‌باشد (گلدشتاین و همکاران ۱۹۹۳).

به طور کلی، تخمین زده می‌شود فسفات معدنی که با فناوری امروز استخراج می‌شود تا ۱۰۰ سال دیگر به اتمام می‌رسد. بنابراین انگیزه زیادی برای تأمین فسفات از منابع جایگزین احساس می‌شود. ضرورت یافتن جایگزینی مناسب برای رهاسازی فسفات‌های تجمع یافته در خاک زمانی بیشتر احساس می‌شود که بر این امر واقف گردیم که منابع فسفاته موجود در خاک قابلیت تأمین مورد نیاز گیاهان برای تولید بهینه آنها را تا ۱۰۰ سال دارا می‌باشد (گلدشتاین و همکاران ۱۹۹۳) بنابراین کافی است که این منبع عظیم فسفر را به صورتی برای گیاه قابل جذب و استفاده نمود. فراهمی زیستی فسفر قابل جذب در خاک به نوع گیاه، شرایط و سطح تغذیه‌ای و فلور میکروبی خاک بستگی دارد (خان و همکاران ۲۰۰۷).

میکروارگانسیم‌های خاک در پاره‌ای از فرایندها دخالت دارند که تغییر شکل فسفر و در نهایت فراهمی آن را برای گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد. مدارکی مبنی بر نقش ریزسازواره‌های ریزوسفری در انحلال فسفات معدنی به سال ۱۹۰۳ برمی‌گردد (ایلمر و شینر ۱۹۹۲). ریزسازواره‌ها از طریق معدنی کردن فسفر آلی و انحلال فسفات‌های رسوب یافته فراهم سازی فسفر برای گیاهان را افزایش می‌دهند (چن و همکاران ۲۰۰۶، کانگ و همکاران ۲۰۰۲، پرادهان و سوکلا ۲۰۰۵). این دسته از ریزسازواره‌ها گرچه فسفر را در ساختار سلولی خود به خدمت می‌گیرند، ولی بخشی از آن که در محیط آزاد شده است در اختیار گیاه قرار می‌گیرد. همچنین فسفر موجود در بیوماس میکروبی که به شکل غیرمتحرک می‌باشد نیز به صورت بالقوه قابل استفاده برای گیاهان می‌باشد (فاگرا یا ۲۰۰۹). باکتری‌ها در مقایسه با قارچ‌ها در انحلال فسفات بسیار موثرترند و جمعیت بالایی را به خود اختصاص می‌دهند (آلام و همکاران ۲۰۰۲). نمونه‌های متنوعی از میکروارگانسیم‌ها قادر به رهاسازی فسفر از منابع رسوب یافته فسفر گزارش شده‌اند. از میان آنها غالب‌ترین گونه‌ها متعلق به جنس *باسیلیوس*، *سودوموناس*، *پنی‌سیلیوم* و *آسپرژیلوس* می‌باشد. بر اساس سنجش‌های غربالگری آزمایشگاهی از نمونه‌های ریزوسفری خاک مشخص شده است که حدود بیش از ۴۰ درصد جمعیت میکروبی قابل کشت و رشد مربوط به میکروارگانسیم‌های حل‌کننده فسفات می‌باشند (فاگرا یا ۲۰۰۹). مهمترین منابع کودهای زیستی، باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت، باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ‌های میکوریز می‌باشد. کودهای زیستی به دست آمده از ریزسازواره‌ها می‌توانند به منظور افزایش محصول جایگزین بخشی از کودهای شیمیایی شوند. این کودها از نظر هزینه ارزان‌تر بوده و بسیار سازگار با محیط می‌باشند (بی‌نام ۲۰۰۶). باکتری‌های حل‌کننده فسفات به عنوان کود زیستی از سال ۱۹۵۰ مورد استفاده قرار می‌گیرند (کوداشف ۱۹۵۶، کراسیلینکف ۱۹۵۷).

تحقیقات عمده در زمینه کودهای زیستی در سالهای گذشته بر روی باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت متمرکز بوده است. اما کودهای زیستی فسفاته در دو بخش قابل پیگیری می‌باشند ۱- باکتری‌های حل‌کننده فسفات و دیگری ۲- قارچ‌ها: که از بین آنها قارچ میکوریز مهمترین به شمار می‌آید.



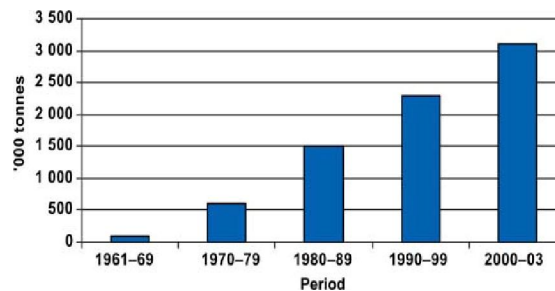
این نوشتار مروری بر روند تولید و مصرف کودهای زیستی فسفاته (باکتریهای حل‌کننده فسفات) در ایران و جهان، علاوه بر آن نگاهی به راههای تولید و تکثیر قارچهای میکوریز و چالش‌های روبرو در مورد کودهای زیستی فسفاته خواهد داشت.

### نگاهی بر روند تولید کود در ایران

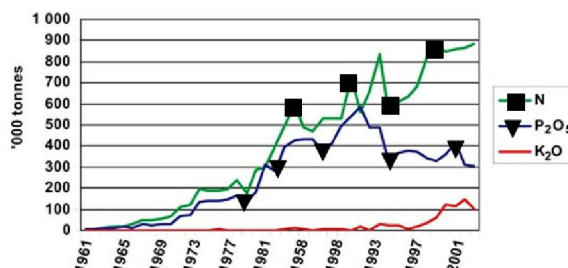
تولید کود در ایران به سال ۱۳۲۴ برمی‌گردد زمانیکه اولین کارخانه تولید کود در ایران در نزدیکی کرج راه‌اندازی شد و ۱۰ سال بعد که مصادف با ورود اولین محموله ۱۷۵ تنی کود وارداتی به کشور بود، میزان تولید این کارخانه با تولید کودهایی نظیر سوپرفسفات ساده و نیترات پتاسیم به حدود ۶۰ تن رسید. با گذشت زمان و راه‌اندازی صنایع پتروشیمی رازی در سال ۱۳۴۹ و با تولید کودهایی از قبیل سوپرفسفات ساده و تریپل، دی‌آمونیم فسفات و سولفات آمونیم واردات کود به کشور محدود گردید (فائو ۲۰۰۵). اما مصرف آنها روند روبه‌رشدی را نشان می‌دهد (شکل ۱).

کارخانجات وابسته به صنعت پتروشیمی کشور سالانه بالغ بر ۱/۸ میلیون تن کودهای اوره و سولفات آمونیم تولید می‌نمایند و در این رابطه بیش از ۲۰۰ واحد تولیدی کوچک و بزرگ در بخش‌های مختلف کشور بیش از ۲ میلیون تن ترکیبات کودی ازت، فسفر و پتاسیم تولید می‌کنند. تولید کودهای مربوط به عناصر کم مصرف از سال ۱۳۷۴ با تولید سولفات روی، مس، منگنز، آهن و اسیدبوریک آغاز شده است (فائو ۲۰۰۵).

روند مصرف کود در ایران نشان می‌دهد که کودهای فسفاته بعد از نیترژن در جایگاه دوم قرار دارند (شکل ۲). سازمان FAO در سال ۲۰۰۵ بر اساس اطلاعات موجود پیش‌بینی کرد که در سال ۱۳۸۹-۱۳۹۰ میزان کل مصرف کودهای شیمیایی چیزی بالغ بر ۵ میلیون تن باشد که از این میان مصرف کودهای فسفاته به میزان ۱ میلیون تن می‌رسد، این مقدار مصرف کود فسفره بعد از ازت به مقدار ۳ میلیون تن و بدون احتساب کودهای بیولوژیک و آلی می‌باشد. بر اساس همین برآورد مقدار مصرف کودهای پتاسیمی، گوگردی و عناصر میکرو به ترتیب ۰/۶، ۰/۲۵ و ۰/۱۵ میلیون تن خواهد بود. در این پیش‌بینی مقدار مصرف کودهای آلی و زیستی ۵۰۰۰۰۰ تن پیش‌بینی شده است (فائو ۲۰۰۵). روند افزایش در مصرف کودهای شیمیایی به ویژه مصرف کود فسفاته (تقریباً دو برابر شدن) در حالی است که میزان واردات کودهای فسفاته در سال ۲۰۰۴ بالغ بر ۵۲۰۰۰۰ تن بوده است. لازم به ذکر است که در میان محصولات مختلف بیشترین مصرف کودهای فسفاته در ارتباط با گندم به میزان ۴۲٪، محصولات باغی و درختان ۱۵٪ و دیگر محصولات به میزان ۴۳٪ بوده است (فائو ۲۰۰۵).



شکل ۱- روند افزایش مصرف کودهای شیمیایی در ایران در سالهای اخیر (فائو ۲۰۰۵).



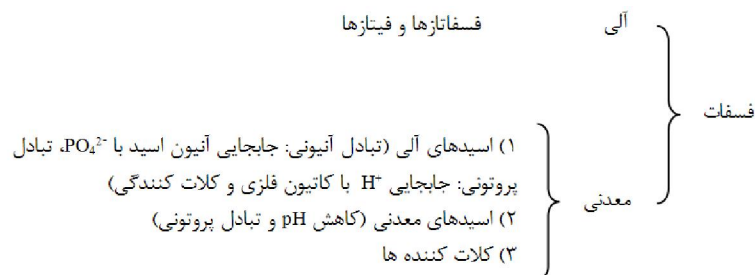


شکل ۲- روند تغییرات مصرف کود در چهار دهه گذشته در ایران (فائو ۲۰۰۵).

### کودهای زیستی فسفات (باکتریهای حل‌کننده فسفات)

در طبیعت گروهی از ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات وجود دارند که با رهاسازی تدریجی فسفر و تبدیل آن به شکل قابل جذب گیاه نیاز به کودهای فسفات شیمیایی را کاسته و کارایی آنها را بالا می‌برند. این ریزسازواره‌ها با استقرار در منطقه ریزوسفر، از ترشحات ریشه استفاده نموده و با تغییر pH و یا ترشح آنزیم‌ها، شرایط را برای تبدیل فسفر نامحلول به شکل قابل استفاده فراهم می‌سازند (در شکل ۳ سازوکارها به شکل خلاصه آورده شده است). در میان باکتری‌های شناخته شده جنس‌های *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Rhizobium* از جمله قوی‌ترین حل‌کننده‌های فسفات به شمار می‌روند (خان و همکاران ۲۰۰۹، رودریگز و فراگا ۱۹۹۹) لازم به ذکر است که در بین قارچ‌های حل‌کننده فسفات دو گونه *Aspergillus* و *Penicillium* حل‌کننده‌های فسفات خوبی به شمار می‌آیند (خان و همکاران ۲۰۰۷، خان و همکاران ۲۰۰۹).

جداسازی ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات و استفاده از آنها به عنوان کود به عنوان راهکاری برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی و بنابراین کاهش آلودگی‌های زیست محیطی به شمار می‌رود. از مهمترین ریزسازواره‌هایی که در تولید کود میکروبی فسفات مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توان قارچ‌های جنس *Aspergillus* و *Penicillium* و باکتری‌های جنس *Bacillus* و *Pseudomonas* را نام برد.



شکل ۳- سازوکارهای درگیر در انحلال فسفات معدنی و معدنی شدن فسفات آلی (استنتاج از رودریگز و فراگا ۱۹۹۹).

### مروری بر روند تولید کودهای زیستی فسفاته (باکتریهای حل کننده فسفات) در ایران و جهان

امروزه کودهای زیستی تجاری شده در دنیا عمدتاً به دو گروه اصلی شامل کودهای حاوی باکتریهای تثبیت کننده ازت و کودهای حاوی ریزسازواره‌های حل کننده فسفات تقسیم می‌شوند (بی‌نام ۲۰۰۶). قدمت استفاده از کودهای زیستی ازت به بیش از ۱۰۰ سال قبل (یعنی سال ۱۸۸۹) بر می‌گردد. کودهای تثبیت کننده ازت تأثیر بسیار زیادی در افزایش محصولات حبوبات (تشکیل دهنده ۲۰٪ از کل حجم پروتئین غذایی مردم جهان) داشتند. بنابراین، استفاده، سرمایه‌گذاری و تولید این کودها در یک قرن گذشته با اقبال خوبی مواجه بوده است. با توجه به معضلات موجود در مورد فسفر، کودهای زیستی حل کننده فسفات نیز توانسته‌اند تأثیر بسیار موفقی را در افزایش محصولاتی مثل گندم و جو داشته باشند. با این که هم اکنون کودهای زیستی فسفاته در مناطق محدودی استفاده می‌شوند ولی با توجه به نتایج به دست آمده پتانسیل رشد بسیار خوبی دارند. در ضمن امروزه در مورد گروه سومی از کودهای زیستی که شامل کودهای محافظت کننده گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا هستند، تلاش‌های زیادی در حال انجام است. با وجودی که اطلاعات کمی در مورد مصرف جهانی آنها در دسترس است با این حال تصور می‌شود این گروه تأثیر بسیار زیادی در افزایش عملکرد دو گروه دیگر داشته باشد (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

یکی از شکل‌هایی که در سطح بین‌المللی بخشی از فعالیت‌های خود را به مطالعه در مورد کودهای زیستی اختصاص داده، انجمن بین‌المللی صنایع کودهای شیمیایی است. بر اساس مطالعات انجام شده در این مرکز حجم تولید سالیانه کودهای زیستی ۷۰۰۰ تن تخمین زده شده است که بر اساس مطالعه بر روی ۷۰ واحد تولیدکننده در دنیا انجام شده است. چهار شرکت بزرگ دنیا که حجم زیادی از کودهای زیستی تثبیت کننده ازت را در آمریکا شمالی و جنوبی و اروپا به فروش می‌رسانند، شامل نیتراجین (Nitragin)، آگروبیوتیکس (Agrobiotics)، امرو (EMRO USA) و بکر (Becker Underwood) می‌باشند (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

اولین محصول تجاری شده کود حل کننده فسفات به نام JumpStar که حاوی قارچ *Penicillium bilaii* می‌باشد در سال ۱۹۹۱ توسط شرکت Philom Bios وارد بازار شد، این کود برای محصولات غیر لگوم مورد استفاده قرار گرفت. این شرکت در سال ۱۹۹۶، اولین کود ترکیبی خود را که شامل میکروب‌های حل کننده فسفات و تثبیت کنندگان ازت بود برای حبوبات عرضه کرد. در حال حاضر، ۴۰۰ میلیون هکتار از مزارع زیر کشت حبوبات قابلیت استفاده از کودهای زیستی حل کننده فسفات و تثبیت کننده ازت را دارا هستند که ۲۰٪ این زمین‌ها در آمریکای شمالی، ۲۰٪ در آمریکای جنوبی و بقیه در آسیا قرار دارند (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵). شرکت Philom Bios یکی از بزرگترین و پیشرفته‌ترین شرکت‌هایی است که در



زمینه تولید محصولات کمک‌کننده به افزایش حاصلخیزی در کشور کانادا فعالیت دارد. قرارگاه این شرکت در ایالت ساسکاچوان است و سال شکل‌گیری آن ۱۹۸۱ می‌باشد. این شرکت با سرمایه‌گذاری‌هایی که در زمینه تحقیق و پیشرفت محصولات خود انجام داده است، همواره در صدد تولید محصولات جدید و ارائه خدمات به کشاورزان موفق بوده است و آنها را در جهت به دست آوردن محصول بیشتر یاری کرده است. مهمترین این سرمایه‌گذاری‌ها عبارتند از:

- تولید اولین کودهای زیستی استریلیزه مدت دار و عرضه در بازار کشور کانادا.
- پیشرو در تولید کودهای زیستی فسفات‌ه به منظور افزایش بازده استفاده از فسفات.
- تولید اولین سری از کودهای چند منظوره که دارای تأثیر و سود آوری بیشتری نسبت به کودهای یک منظوره هستند (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

بیشترین کودهای زیستی تولید شده در کشور استرالیا مربوط به کودهای زیستی تثبیت‌کننده ازت اتمسفری هستند که با استفاده از انواع باکتری‌ها برای حبوبات تولید می‌شوند. از جمله باکتری‌های مورد استفاده در این رابطه *Bradyrhizobium strain WU425* می‌باشد. استفاده از کودهای زیستی فسفات تجاری شده در این کشور به سال ۲۰۰۲ برمی‌گردد. کود میکروبی حل‌کننده فسفات حاوی قارچ *Penicillium radicum* بوده که توسط Hocking & Whitelaw در سال ۱۹۹۱ جدا سازی شد. این محصول توسط شرکت استرالیایی Bio-Care Technology Ltd. با نام تجاری Release Pr70 به بازار عرضه شده است (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

آسیا به عنوان بزرگترین مصرف‌کننده کودهای شیمیایی در دنیا محسوب می‌شود، به طوری که ۴۳٪ از کل حجم مصرفی کودهای شیمیایی دنیا در سال به این قاره اختصاص دارد. در ژاپن از سال ۱۹۹۴، قارچ‌های میکوریزی توسط شرکت Idemitsu (شرکت بزرگ نفتی) و شرکت Central Glass Company به بازار عرضه شده است (نیشرو ۱۹۹۶). غیرتخصصی بودن این شرکت‌ها و تمایل آنها به سرمایه‌گذاری در کودهای زیستی جالب توجه است. به شکلی که این موضوع در کشور چین هم مشاهده می‌شود و بعضی از شرکت‌های تولیدکننده کودهای شیمیایی اقدام به تولید کودهای میکروبی نموده‌اند تا علاوه بر این که با جریان تولید محصولات بی‌خطر زیست محیطی همراه می‌شوند، موقعیت خود را در بازارهای جهانی حفظ کنند. نمونه‌ای از یکی از این شرکت‌ها، Dan lu در کشور چین است که علاوه بر تولید کودهای شیمیایی، اقدام به ایجاد واحد تولیدات کودهای زیستی کرده است و این محصولات را با کیفیت و حجم بالا تولید می‌کند (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

استفاده از کودهای زیستی در هند موضوعی جدی است. کودهای زیستی استفاده شده در هند شامل تثبیت‌کننده‌های ازت (*Rhizobium, Azotobacter, Cyanobacteria*)، باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ‌های میکوریز هستند. به نظر می‌رسد که شرکت‌ها و مؤسساتی که در کشور هند کودهای زیستی تولید می‌کنند، رشد بسیار زیادی داشته‌اند و روز به روز بر تعداد آنها افزوده می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که این کشور مقام اول در زمینه تأسیس شرکت‌های فعال در تولید کودهای زیستی دارد. در میان محصولات کودهای زیستی، بیشترین رشد را کودهای زیستی حل‌کننده فسفات داشته‌اند که ۴۵٪ حجم کل کودهای زیستی تولید شده را در هند به خود اختصاص می‌دهند (فیضی و ملبویی، ۱۳۸۵).

در کشور کره انواع کودهای زیستی به منظورهای مختلف وجود دارد. کودهای زیستی واجد ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات که در گروه عوامل محرک رشد<sup>۱</sup> PGPR قرار می‌گیرند، ۵۰ درصد مصرف محصولات زیستی را به خود اختصاص داده‌اند. محققان کره‌ای نشان داده‌اند میزان حلالیت فسفات معدنی ارتباط مستقیمی با مقدار اسیدپت‌های دارد که در

<sup>۱</sup> Plant Growth Promoting Rhizobacteria



اطراف ریزسازوارها وجود می‌آید. آنها دریافتند در میان ریزسازوارهای جدا شده قدرت حل‌کنندگی فسفات *Aspergillus niger* و *Pseudomonas putida* و *Penicillium sp.* بیشتر است. محققان کره‌ای مطالعه‌ای ویژه روی *Enterobacter agglomerans* به عنوان باکتری حل‌کننده فسفات انجام دادند و نشان دادند که این باکتری توانایی زیادی در آزاد سازی فسفات از هیدروکسی آپاتیت دارد (فیضی و ملبوبی، ۱۳۸۵).

در کشور مالزی بیشتر فعالیت‌های مربوط به کودهای زیستی در زمینه تولید، توزیع و بهبود کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و تولید کودهای حاوی قارچ‌های میکوریز است. کودهای تولید شده در ویتنام در دو گروه قرار می‌گیرند، گروه اول شامل کودهای زیستی تثبیت‌کننده ازت و گروه دوم کودهای زیستی ترکیبی که شامل حل‌کنندگان فسفات نیز می‌باشند. استفاده از کودهای گروه اول سابقه بیست ساله در ویتنام دارد (فیضی و ملبوبی، ۱۳۸۵).

در کشور ایران نیز همگام با تغییرات و تحولاتی که در گوشه و کنار دنیا در حیطه کشاورزی رخ می‌دهد، پژوهش‌ها و تحقیقات نیز با توجه به فضای حاکم و نیاز بخش کشاورزی به سمت کودهای زیستی و به ویژه کود زیستی فسفات سوز یافته است. در جدول ۱ برخی از تولیدکنندگان کود زیستی فسفات آورده شده است. کودهای زیستی یا به صورت کاملاً اختصاصی استفاده می‌شوند به این معنی که دارای یک یا چند گونه حل‌کننده فسفات<sup>۱</sup> می‌باشند یا به صورت مخلوط و همراه با سایر باکتریهای مفید همانند تثبیت‌کنندگان ازت<sup>۲</sup> مورد استفاده قرار می‌گیرند. باکتریهای حل‌کننده فسفات از جنس سودوموناس همراه با باکتریهای تثبیت کننده ازت نظیر ازتوباکتر و آزوسپیریولوم در تولیدات کودهای زیستی نظیر نیتروکسین مشاهده می‌شود.

جدول ۱- فهرستی از کودهای زیستی فسفات تولید داخل (فیضی و ملبوبی، ۱۳۸۵).

ردیف	نام محصول	نام شرکت تولید کننده	ریزسازوارهای موجود
۱	کود مرکب میکروزول	به‌رشد گیاهی یا تغذیه گیاهی	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bacillus subtilis</i>
۲	فسفات میکربی میکروزول	به‌رشد گیاهی یا تغذیه گیاهی	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bacillus subtilis</i>
۳	بیو فسفات طلائی محتوی روی	ساری کود	تیو باسیلوس
۴	میکربی فسفات	ایران ایگنیشن	PSB
۵	-	کیمیانات	تیو باسیلوس
۶	بارور-۲	زیست فناور سبز	<i>Panteoa agglomerans</i> <i>Pseudomonas putida</i>
۷	-	مؤسسه تحقیقات خاک و آب	قارچ میکوریزی VA

بیوسوپر یا سوپرفسفات بیولوژیکی (شامل سنگ آپاتیت، گوگرد و باکترهای اکسیدکننده گوگرد از جنس تیوباسیلوس می باشد) یا در برخی موارد بیوفسفات طلائی (به ترکیب سنگ فسفات، گوگرد، ماده آلی بعلاوه مایه تلقیح تیوباسیلوس که همراه با عنصر روی می‌باشد) اطلاق می‌شود (پسندیده ۱۳۸۳، بشارتی ۲۰۰۷، پاتیرانتا ۱۹۸۹).

## قارچهای میکوریز

<sup>۱</sup> بارور ۲

<sup>۲</sup> نیتروکسین



آشنایی بشر با قارچهای میکوریز (۱۸۸۵) در مقایسه با باکتریهای حل‌کننده فسفات (۱۹۰۳) به بیش از ۱۲۰ سال پیش باز می‌گردد، زمانی که فرانک اولین بار این واژه را برای همزیستی ریشه گیاهان و قارچ به کار برد. قارچهای مشارکت‌کننده در این همزیستی در یک تقسیم‌بندی کلی به گروههای اندومیکوریز (AM)، اورکید، اریکوئید) و اکتومیکوریز (آربوتوئید، مونوتروپوئید و EM) تقسیم بندی می‌شوند. تفاوت عمده این دو گروه علاوه بر شکل و مورفولوژی همزیستی تفاوت در نوع گیاهان میزبان، نوع قارچهای مشارکت‌کننده و اندامهای خاص قارچی تشکیل شده در این همزیستی می‌باشد. گرچه اغلب قارچهای میکوریز مشارکت‌کننده در همزیستی (متعلق به آسکومیست‌ها، زیگومیست‌ها و بازیدیومیست‌ها) با گیاهان میزبان مختلف به راحتی در محیط‌های کشت آزمایشگاهی تکثیر و استفاده می‌شوند اما قارچهای AM (متعلق به گلوبرومایست) که اغلب با گیاهان زراعی تشکیل همزیستی می‌دهند در این شرایط قابل تکثیر نیستند (اسمیت و رید ۲۰۰۸، پول ۲۰۰۷).

میکوریز از مهمترین و گسترده‌ترین ارتباط‌های همزیستی در سلسله گیاهی است به طوری که اکثر گیاهان حداقل یکی از تیپ‌های میکوریزی را دارا هستند. بنابراین همزیستی میکوریزی نوع آربوسکولار محدود و وسیعی از گیاهان زراعی را شامل می‌شود. قارچ در حالیکه به درون پوست ریشه گیاه نفوذ می‌کند از گیاه میزبان خود کربن دریافت می‌کند و در مقابل فسفر و سایر عناصر معدنی را به وسیله هیفهای گسترده خود در خاک جذب و در اختیار گیاه قرار می‌دهد. همچنین سایر اثرات مفید این همزیستی شامل افزایش مقاومت گیاه به شوری، خشکی، عوامل بیماری‌زا می‌باشد که گیاه از آن بهره‌مند می‌شود (کوئیده و موس ۲۰۰۴، سلواراج و چلاپان ۲۰۰۶). گستردگی هیف قارچی تا فواصل دورتر از ریشه، همچنین ترشح آنزیم خارج سلولی فسفاتاز در هیفوسفر (فاگریا ۲۰۰۹) بعلاوه حضور ژن یا ژنهای رمزکننده پروتئین‌های انتقال‌دهنده فسفات از جمله عوامل دیگری است که در توضیح رفتار قارچهای میکوریز عنوان می‌شود (سلواراج و چلاپان ۲۰۰۶). نقش بارز قارچهای میکوریز در آزادسازی فسفر باعث شده است تا به عنوان کودهای زیستی همواره مورد توجه باشند.

### تولید قارچهای میکوریز

اولین گام در یک برنامه تولید مایه تلقیح قارچی، جداسازی و دسترسی به یک ایزوله توانمند قارچی است که دارای دو شرط اولیه باشد یکی اینکه توانایی بالایی در برقراری همزیستی با گیاه میزبان و ایجاد کلنیزاسیون داشته باشد و دوم اینکه موثر واقع شود و بتواند در فراهمی عناصر غذایی و ترغیب و بهبود رشد گیاه توانمند باشد. ایزوله‌های به دست آمده بایستی در آزمایش‌های گلدانی مورد سنجش قرار بگیرند و در ادامه این آزمایش‌ها با آزمایش‌های مزرعه‌ای و در شرایط واقعی دنبال شود به شکلی که بتوان بهترین ایزوله را برای شرایط تعریف شده و اعمال شده برای استفاده معرفی نمود (سیلویا و همکاران ۲۰۰۴). بایستی در نظر داشت که به هر حال استفاده از قارچهای AM به عنوان کود زیستی فسفات با محدودیت‌هایی مواجه است، اول آنکه این قارچهای بیوتروف همزیست اجباری بوده و در شرایط درون شیشه‌ای<sup>۱</sup> و آزمایشگاهی بدون حضور گیاه قابل تکثیر و کشت نمی‌باشند و برای تکثیر آنها حضور گیاه میزبان ضروری می‌باشد. همچنین در غالب آزمایشات مشخص شده است در شرایطی که خاک دارای میزان کافی فسفر قابل استفاده باشد این قارچها قادر به ایجاد کلنیزاسیون مناسب نمی‌باشند و این همزیستی در چنین شرایطی موفقیت آمیز نیست (گیانشوار و همکاران ۲۰۰۲). اما برخلاف قارچهای AM که تکثیر آنها با مشکلاتی مواجه است، قارچهای EM از نوع ارگانوتروف بوده و به راحتی در محیط‌های کشت قابل تکثیر و استفاده می‌باشند (سیلویا و همکاران ۲۰۰۴).

<sup>1</sup> in vitro





در دهه‌های اخیر تکنیک‌های کشت زیادی برای تهیه مایه تلقیح<sup>۱</sup> قارچهای AM توسعه یافته است. تکنیک‌هایی که بر مبنای استفاده از خاک یا بستر و بدون آن شکل گرفته است. نیاز به تکنیک‌های جدید در تکثیر این دسته از قارچها ناشی از توجه به آنها در حیطه کشاورزی، باغبانی و جنگل می‌باشد. اما به طور کلی روشهای تولید و تکثیر مایه تلقیح قارچی تا به امروز در ۳ روش زیر خلاصه می‌شوند. هر سه روش در جدول ۲ با همدیگر مقایسه شده‌اند.

الف) روش کلاسیک، سیستم‌های بنا شده بر بستر کشت (از قبیل خاک، شن، پرلیت، ورمیکولیت و ...) که در آن گیاه میزبان به همراه قارچ در این بسترها کشت شده و تکثیر قارچ اتفاق می‌افتد (شکل ۴). این روش کم‌هزینه بوده و در تولید انبوه بیشتر قابل استفاده است. در این روش با استفاده از کشتهای گلدانی اولیه<sup>۲</sup> اقدام به جداسازی و شناسایی گونه‌های قارچ میکوریز نموده (سیلویا و همکاران ۲۰۰۴، سلواراج و چلاپان ۲۰۰۶، بی‌نام ۲۰۰۶، آیچدو و همکاران ۲۰۱۰) و تائید آنها پس از ارسال به کلکسیون‌های بین‌المللی قارچهای میکوریز نظیر (INVAM, BEG, GINCO) صورت می‌پذیرد، همچنین دریافت گونه‌های مطمئن از این مراکز با امضاء MTA<sup>۳</sup> (موافقت‌نامه جهت انتقال مواد بیولوژیک) انجام‌پذیر می‌باشد. در استفاده از گیاهان میزبان مناسب برای تکثیر قارچ می‌توان گیاهانی را انتخاب نمود که اولاً دوره رشدی کوتاه، سیستم ریشه خوب، سطح کلنیزاسیون مناسب با محدوده وسیعی از قارچهای AM را داشته باشند و همچنین تحمل نسبی به شرایط کمبود فسفر و حساسیت کمتر به پاتوژن‌ها را دارا باشند. در برخی گیاهان میزبان نظیر ذرت و تره مشاهده می‌شود که رنگ ریشه‌های کلنیزه شده با قارچ به رنگ زرد درمی‌آید که از این ویژگی میزبان نیز می‌توان بهره برد. مهمترین محدودیت تولید مایه تلقیح قارچی در حضور گیاه، وابسته بودن اسپورزایی به نوع گیاه میزبان است. در کشتهای قارچ در حضور گیاه میزبان مشاهده شده است که در کشتهای متوالی قارچ با گیاهان C4 نظیر سودان گراس (*Sorghum sudanese*) تعداد اسپورهای قارچی کاهش می‌یابد که در این شرایط تغییر میزبان از C4 به C3 نظیر شبدر توصیه می‌شود (آیچدو و همکاران ۲۰۱۰).

به منظور جلوگیری از آلودگی عوامل بیماریزا، بستر کشت قارچی را با اشعه، حرارت یا بخار استریل نموده و بعداً مورد استفاده قرار می‌گیرد. معمولاً استفاده از پیت و کمپوست زمانی می‌باشد که بستر از نظر حاصلخیزی ضعیف باشد و هدف غنی‌کردن آن باشد و در نقطه مقابل استفاده از پرلیت و ورمیکولیت زمانی مناسب است که هدف کاهش سطح غنای خاک باشد. اندازه ذرات بستر کشت در محدوده ۰/۲۵ تا ۰/۸۵ میلی‌متر بهینه بوده و در رفتار تهویه، زهکشی و رطوبت بستر دخالت دارد (آیچدو و همکاران ۲۰۱۰).



شکل ۴- شیوه تکثیر قارچ میکوریز در حضور بستر کشت، استفاده از گیاهانی نظیر ذرت و الیوم در مقیاس‌های متفاوت (آیچدو و همکاران ۲۰۱۰).

<sup>1</sup> inoculum

<sup>2</sup> rap culture

<sup>3</sup> Material Transfer Agreement

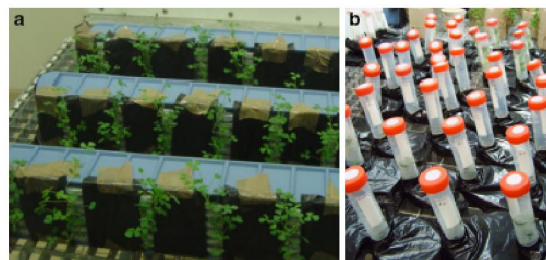


ب) روش سیستم‌های کشت عاری از بستر: این شیوه شامل تکنیک‌های متنوعی است که تکنیک‌های کشت محلول<sup>۱</sup> نیز خوانده می‌شود و تفاوت عمده آنها در شیوه هوادهی و کاربرد محلولهای غذایی است. کشت‌های هواکشت و آبکشت (شکل ۵) به همراه تکنیکهای جریان محلول غذایی<sup>۲</sup> (NFT) در این گروه قرار می‌گیرند. در این روش‌ها ابتدا کشت گیاه انجام شده و بعد از چند هفته تلقیح قارچ بر روی ریشه انجام شده و بعد از استقرار همزیستی در سیستم‌های مربوطه مستقر می‌شود. از بین این روش‌ها به نظر سیستم هواکشت و NFT روشهای مناسبتری در تکثیر مایه تلقیح قارچی در عدم حضور بستر باشد. هزینه تمام شده این روش در مقایسه با روش کشت گلدانی بیشتر می‌باشد و برای مقیاس کوچکتری قابل انجام است. برای مشاهده اطلاعات بیشتر به جدول ۲ مراجعه شود (آیجدو و همکاران ۲۰۱۰، سیلویا و همکاران ۲۰۰۴).



شکل ۵- روش آبکشت در تکثیر قارچ میکوریز، در فقدان بستر کشت (آیجدو و همکاران ۲۰۱۰).

ج) روش سیستم‌های کشت درون شیشه‌ای: اولین تلاش‌ها برای کشت قارچ AM در محیط درون شیشه به اواخر ۱۹۵۰ برمی‌گردد. در میانه سالهای ۱۹۷۰ موس و هیر در محیط ژله‌ای استقرار همزیستی را در ریشه‌های بریده شده گوجه فرنگی و شبدر با موفقیت به انجام رساندند. بعد از آن استفاده از ریشه گیاه هویج تراریخت شده با Ri T-DNA به عنوان میزبان، سیستمی را پایه‌گذاری کرد که به ROC<sup>۳</sup> معروف شد. از آن به بعد سیستم‌های متفاوت تولید مایه تلقیح AM بر پایه ROC مشتق شدند. در تولید مایه تلقیح به روش درون شیشه‌ای علاوه بر استفاده از قطعات بریده شده تراریخت یا ROC، استفاده از گیاه کامل فتوسنتزکننده نیز به کار می‌رود، که در آن بخش هوایی گیاه در خارج از پلیت رشد نموده در حالیکه ریشه و قارچ AM در درون پلیت در محیط ژله‌ای استقرار داشته و رشد می‌نماید (شکل ۶). برخلاف هزینه بالای آن، این روش تضمین کننده تولید مایه تلقیح قارچی عاری از آلودگی و خالص می‌باشد و برای استفاده از گیاهانی که به شیوه کشت بافت تکثیر می‌یابند بسیار مناسب، سازگار و ایده‌آل می‌باشد (آیجدو و همکاران ۲۰۱۰، دکلاک و همکاران ۲۰۰۵).



<sup>1</sup> Solution Culture Techniques

<sup>2</sup> Nutrient Flow Techniques

<sup>3</sup> Root Organ Culture



شکل ۶- روش کشت درون شیشه‌ای مورد استفاده در تکنیک قارچ میکوریز، سیستم دو جزئی با استقرار گیاه کامل (آیجدو و همکاران ۲۰۱۰).

بعد از تولید و تکثیر مایه تلقیح قارچی روش‌های مختلفی برای استفاده از مایه تلقیح میکوریز AM ارائه شده است. استفاده از ترکیبات آلزیناتی برای تولید مایه‌های تلقیح به شکل قرص و کپسول و استفاده از آنها در کنار بذر گیاه در موقع کشت آن، یا استفاده مایه تلقیح به شکل ساده و عادی به همراه بذر، استفاده از مایه تلقیح قارچی در خزانه‌های کشت گیاه (نهال، نشاء) که در این مرحله بیشتر شکل‌گیری همزیستی و انتقال آن به مزرعه مطرح می‌باشد. پوشش‌دار کردن بذر با ماده تلقیحی به عنوان راهکارهای جدید مورد توجه و استفاده می‌باشد (سیلویا و همکاران ۲۰۰۴).

### چالش‌ها و راهکارها

در ارتباط با باکتری‌های حل‌کننده فسفات آنچنانکه شرح داده شد استفاده از کودهای ترکیبی به این معنی که چندین باکتری حل‌کننده فسفات حضور داشته باشند مناسب‌تر به نظر می‌رسد. در غالب خاکهای ایران با توجه به شرایط حاکم به ویژه پایین بودن میزان ماده آلی خاک تاکید بر ایزوله‌های حل‌کننده فسفات از نوع مولدهای اسیدهای آلی شاید کارسازتر باشد. زیرا که در خاکها مقدار منابع فسفاته معدنی نسبت به آلی بیشتر بوده و با توجه به رهاسازی فسفات معدنی از طریق اسیدهای آلی و کاهش pH یا تولید ترکیبات کلات‌کننده به نظر این گزینه قابل تامل می‌باشد. هرچند تلفیق نمودن ایزوله‌ای با تولید اسیدهای آلی به همراه ایزوله‌های با توان تولید آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز احتمال معدنی شدن فسفاتهای آلی را نیز افزایش داده و گزینه مطلوبتر و کاملتری می‌باشد.

همچنین با توجه به طیف گسترده اثرات مثبت برخی از باکتری‌های سودمند از قبیل تولید سایدرفور، تولید هورمون‌ها و ویژگی بیوکنترلی آنها بر ضد قارچها و عوامل بیماریزا به نظر تمرکز نمودن بر تحقیقاتی که منجر به حصول چنین میکروارگانیسم‌های چند منظوره‌ای باشد بسیار مثر خواهد بود. و با کاربرد چنین سویه‌های PGPR ای می‌توان چندین هدف را همزمان دنبال کرد.

توانایی اثربخشی ایزوله‌های کارآمد حل‌کننده فسفات به دست آمده از تحقیقات بایستی در استفاده و کاربرد زراعی و باغی مورد ارزیابی‌های مختلف قرار گرفته باشد. آزمونهای مختلف در شرایط اقلیمی متفاوت و در حضور گیاهان میزبان متفاوت و پایش اثرات مثبت کودهای زیستی از مقدماتی‌ترین مراحل کاری قبل از تجاری‌سازی و تولید انبوه آن می‌باشد.

اما در مورد قارچهای میکوریز آربوسکولار (AM) طبیعت بیوتروف اجباری این دسته از قارچها، تولید، استفاده موثر و کم‌هزینه آنها را مشکل نموده است و یکی از دلایل اصلی عدم رشد تولید تجاری آنهاست. هر چند تولید قارچهای میکوریز از نظر مقیاس (آزمایشگاهی و مقیاس بزرگ)، هزینه، فاکتورهای نظیر گیاه میزبان و نوع قارچ، شرایط تغذیه و بستر کشت متفاوت است با این حال شیوه‌ها و تکنیکهای مرسوم در استفاده از آنها در سالهای اخیر همراه با پیشرفتهایی بوده است. به نظر روش عملی‌تر در استفاده از آنها، به کارگیری در خزانه‌های کشت گیاهان خزانه‌ای نظیر گوجه فرنگی و برنج و همچنین در نهالستانهای درختان میوه و استفاده فراگیر از روش کشت در بستر در مقیاسهای بزرگ برای تولید اینوکولوم قارچی در حضور قارچ میکوریز و گیاه میزبان مناسب است. بعلاوه استفاده از قارچهای میکوریز در ارتباط با گیاهانی که از طریق کشت بافت ازدیاد و تکثیر می‌شوند را نبایستی فراموش نمود، آینده این روش بسیار روشن بوده ولی بایستی در نظر داشت که در استفاده این قارچها در کشت بافت پرهیز از آلودگیهای ناخواسته، کاری سخت و دشوار می‌باشد. در ارتباط با قارچهای میکوریز آربوسکولار علاوه بر مساله تولید آنها که به تفصیل بدان پرداخته شد، به مواردی چون تهیه مایه تلقیح عاری از آلودگی، کنترل



## اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود

۱۲-۱۰ اسفند ۸۹ تهران - هتل المپیک

The 1<sup>st</sup> Iranian Fertilizer Challenges Congress  
Half a Century of the Fertilizer Consumption

کیفیت مایه تلقیح قارچی و اینکه چه معیارهایی برای کیفیت آن بایستی در نظر داشت باید توجه نمود. تا به حال معیارهای مشخص برای کنترل کیفیت مایه تلقیح تجاری وجود نداشته است اما برای ممانعت از انتقال آلودگی به همراه مایه تلقیح قارچی می‌توان در مرحله ابتدایی تولید دقت‌های لازم را اتخاذ نمود تا این مشکل برطرف شود.

در بحث کودهای زیستی (باکتری و قارچ میکوریز) جدا از آنکه نوع پاسخ حاصل از تلقیح آنها با محصولات مختلف کاملاً وابسته به نوع گیاه است، علاوه بر آن کیفیت کود تولیدی به لحاظ عدم وجود آلودگی، جمعیت و شمار باکتری زنده یا پروپاگولهای قارچی، نوع باکتری یا قارچ، شرایط خاک، وضعیت عناصر غذایی به ویژه فسفر، اقلیم و سایر عوامل در آن دخالت دارند.



# اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود

۱۲-۱۱ اسفند ۸۹ تهران - هتل المپیک

## The 1<sup>st</sup> Iranian Fertilizer Challenges Congress Half a Century of the Fertilizer Consumption

جدول ۲- مقایسه سه روش تولید و تکثیر قارچهای AM از نظر شرایط مختلف و مزایا و معایب آن (استنتاج از منبع آبیچدو و همکاران ۲۰۱۰).

روش‌های تولید و تکثیر AM	قارچ	میزبان	بستر	تغذیه	فاکتورهای دیگر	مزایا و معایب
کشت قارچ در حضور بستر (گلدانی یا در بسترهای بزرگ)	موفق برای همه گونه‌ها، گونه قارچی منفرد یا مخلوط گونه‌ها، تانید و دریافت نمونه از کلکسیون‌های بین‌المللی قارچ میکوریز ( INVAM, BEG, GINCO)	پیاز، ذرت، آلیوم، علف باهیا (C4)، علف سودان (C4)	شن، پرلیت، ورمیکولیت، کمپوست، پیت و خاک (به شکل منفرد یا مخلوط)	تغذیه (به جز فسفر، غلظت ۲۰ میکرومولار بهینه) و شرایط فتوسنتزی مطلوب گیاه میزبان	دما، رطوبت، pH و ...	مزیت: ساده و ارزان، طبیعی، اجرایی‌تر عیب: احتمال آلودگی ناخواسته
کشت قارچ در فقدان بستر (هواکشت، آبکشت و NFT)	عدم موفقیت برخی گونه‌ها در این روش	گیاهان فوق، گندم، و استفاده از گیاهان سازگار با اکوسیستم‌های آبی	ندارد	محلولهای غذایی هوگلدند و اشتون با کمی تغییرات (غلظت اندک فسفر بین ۲۴-۱ میکرومولار)	دما، رطوبت، pH و شدت نور، ممانعت از تابش نور به ظروف نگهدارنده ریشه و رشد جلبک	مزیت: مایه تلقیح عاری از بستر، مایه تلقیح خالص‌تر، روش هواکشت مناسبتر عیب: احتمال آلودگی به ویژه جلبک، در محیط‌های مایع احتمال آلودگی میکروبی بالا می‌رود
کشت درون شیشه‌ای (ROC و با حضور گیاه کامل)	تنوع کمتر قارچهای تکثیر شده در مقایسه با روش گلدانی (بالغ بر ۱۰۰ سویه به این روش تولید شده، گونه غالب <i>G. intraradices</i> )	ابتدا از ریشه‌های بریده شده، و ریشه‌های تراریخت هویج در سیستم ROC استفاده شد. استفاده از گیاه کامل (یونجه، سیب زمینی)	محیط کشت M-medium و MSR (حاوی عناصر میکرو و ماکرو بعلاوه ویتامین‌ها و ساکاروز در حضور عوامل ژله‌کننده)، عدم استفاده از ساکاروز و ویتامین در سیستم کشت با حضور گیاه کامل	نیاز به افزودن آب و عناصر غذایی در طول رشد گیاه (۳-۴ ماه)	عواملی که در رشد گیاه کامل تاثیرگذار می‌باشد (دما، رطوبت و ...)، پلیت حاوی ریشه گیاه از نور محافظت می‌شود	مزیت: مایه تلقیح عاری از آلودگی و خالص، در گیاهان کشت بافتی قابل استفاده است معایب: گران، نیاز به دانش فنی، مهارت و تجهیزات آزمایشگاهی، ریشه تراریخت در ROC

INVAM: International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi

GINCO: Glomeromycota In vitro Collection

BEG: Banque Europeenne des Glomales

ROC: Root Organ Culture

NFT: Nutrient Flow Technique

MRS: modified Strullu Romand medium

AM: Arbuscular Mycorrhiza

### منابع

- فیضی، ا.، و ملبوبی، م. ع. ۱۳۸۵. مروری بر روند تولید و مصرف کودهای زیستی فسفات در جهان و ایران. واحد پژوهش و توسعه شرکت زیست فناوری سبز.
- پسندیده، م.، ملکوتی، م. ج.، و کشاورز، پ. ۱۳۸۳. بررسی ترکیبات متفاوت کود محتوی روی در رهاسازی فسفر و غلظت فسفر برگ درختان سیب. مجله علوم خاک و آب. جلد ۱۸، شماره ۱.
- Alam, S., Khalil, S., Ayub, N., and Rashid, M. 2002. In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganism (PSM) from maize rhizosphere. Intl. J. Agric. Biol. 4:454-458.
- Anonymous. 2006. FNCA Biofertilizer Project Group. Biofertilizer Manual. Japan Atomic Industrial Forum
- Besharati, H., Atashnama, K., and Hatami, S. 2007. Biosuper as a phosphate fertilizer in a calcareous soil with low available phosphorus. African Journal of Biotechnology 6: 1325-1329.



6. Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arunshen, A.B., Lai, W.A., and Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol.* 34:33-41.
7. Declerck, S., Strullu, D.G., and Fortin, J.A. 2005. *In Vitro Culture of Mycorrhizas*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
8. Fageria, N.K. 2009. *The use of nutrients in crop plants*. CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC. USA. New York.
9. FAO. 2004. *Use of phosphate rocks for sustainable agriculture*. Rome.
10. FAO. 2005. *Fertilizer use by crop in the Islamic Republic of Iran*. Rome.
11. Goldstein, A.H., Rogers, R.D. and Mead, G. 1993. Mining by microbe. *Bio. Technol.* 11:1250-1254.
12. Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L.J., and Poole, P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil.* 245:83-93.
13. Ijdo, M., Cranenbrouck, S., and Declerck, S. 2010. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza*.
14. Illmer, P., and Schinner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 24:389-395.
15. Isherword, K.F. 1998. Fertilizer use and environment. p. 57-76. In: N. Ahmed and A. Hamid (eds.), *Proc. Symp. Plant Nutrition Management for Sustainable Agricultural Growth*. NFDC, Islamabad.
16. Kang, S.C., Hat C.G., Lee, T.G., and Maheshwari D.K. 2002. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. *PS 102. Curr. Sci.* 82:439-442.
17. Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Saqlan Naqvi, S.M., and Rasheed, M. 2009. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. *J. Agric. Biol. Sci.* 1(1):48-58.
18. Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Agronomy for sustainable development. Agron. Sustain.* 27:29-43.
19. Koide, R.T., and B. Mosse. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza.* 14:145-163.
20. Krasilnikov, N.A. 1957. On the role of soil micro-organism in plant nutrition. *Microbiologiya.* 26:659-72.
21. Kudashev, I.S. 1956. The effect of phosphobacterin on the yield and protein content in grains of autumn wheat, maize and soybean. *Dokl. Akad. Skh. Nauk.* 8:20-23.
22. Miyasaka, S.C., Habte, M., Friday, J.B., and E.V. Johnson. 2003. *Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Production and Inoculation Techniques*. Soil and Crop Management.
23. Nishro, M. 1996. *Microbial fertilizers in Japan*. National Institute for Agro-Environmental Sciences, Ibaraki, Japan.
24. Pathiratna, L.S.S, Waidyanatha, U.P.S. and O.S. Perirs. 1989. The effect of apatite and elemental sulfur mixtures on growth and P content of *Centrocema pubescens*. *Fertilizer Research* 21: 37-43.
25. Paul, E.A. 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. 3<sup>rd</sup> Edition. Academic Press is an imprint of Elsevier.
26. Pradhan, N., and Sukla, L.B. 2005. Solubilization of inorganic phosphate by fungi isolated from agriculture soil. *African J. Biotechnol.* 5:850-854.
27. Rodriguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* 17:319-339.
28. Sellvaraj, T., and Chellappan, P. 2006. Arbuscular Mycorrhizae: A Diversity Personality. *J. Cent. Euro. Agri.* 7(2): 349-358.
29. Smith, S.E., and Read, D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3<sup>rd</sup> edition. Academic Press is an imprint of Elsevier.
30. Stevenson, F.J. 2005. *Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley and Sons, New York.
31. Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., and Zuberer, D.A. 2004. *Principles and applications of soil microbiology*. 2<sup>nd</sup> edition. Prentice Hall.