نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۹۸
۱۰۷-۱۲۲
http://ejcp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/ejcp.2019.15435.2149

بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای گیاه ذرت (*Zea mays* L.) تلقیح شده با کودهای میکروبی فسفاته حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات متحمل به دما

بهمن خوشرو[1*]، محمدرضا ساریخانی[2]

[1]دانشجوی دکترای علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[2]دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: یکی از کودهای میکروبی مهم کود میکروبی فسفاته می‌باشد و ممکن است به صورت مایع، پودری یا گرانوله تهیه شود که در فرایند گرانول‌سازی، بایستی پس از اختلاط اجزاء تشکیل‌دهنده، از حرارت ملایم (۴۰-۵۰ درجه سلسیوس) جهت خشک نمودن کود تولیدی استفاده شود، چنین شرایطی باعث از بین رفتن باکتری‌های افزوده شده به بستر خواهد شد. استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات متحمل به دما در کودهای میکروبی فسفاته گرانوله یکی از راهکارهای غلبه بر محدودیت تولید این نوع کودها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق کارآیی و اثربخشی کودهای میکروبی فسفاته تهیه شده از دو باکتری حل‌کننده فسفات متحمل به دما (باکتری‌های RPS9 و RPS7) و یک باکتری غیرمتحمل به دما (PS4) (هر سه باکتری *Pantoea agglomerans* می‌باشند) بر بستر پایه خاک فسفات (۴۵ گرم) + گوگرد (۱۵گرم) + باگاس (۳۰ گرم) بر گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای و در قالب طرح کاملاً تصادفی در مجموع با لحاظ نمودن ۷ تیمار آزمایشی در ۳ تکرار به انجام رسید که شامل تیمارهای شاهد منفی (بدون کود میکروبی و کود سوپرفسفات‌تریپل)، شاهد مثبت (کود سوپرفسفات‌تریپل بر اساس آزمون خاک و در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد)، بستر میکروبی (بدون افزودن باکتری) و کود میکروبی فسفاته مربوط به هر ۳ باکتری (PS4، RPS9 و RPS7) بود. آبیاری گلدان‌ها نیز از طریق توزین در ۰/۸ ظرفیت زراعی انجام پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج به‌دست آمده از آزمایشات گلخانه‌ای نشان داد که کاربرد کودهای میکروبی فسفاته در گیاه ذرت رقم سینگل‌کراس ۷۰۴، بر وزن تر و خشک، مقدار و جذب فسفر، پتاسیم، روی و آهن ریشه و بخش هوایی، تأثیر کاملا معنی‌داری دارد ($P<0.01$). تیمار کود میکروبی PS4 دارای بالاترین مقدار جذب فسفر بوده و از این نظر با تیمارهای شیمیایی سوپرفسفات‌تریپل (SPT ۵۰ و ۱۰۰ درصد) در یک گروه قرار گرفت و موجب افزایش میزان جذب فسفر به میزان ۲۵/۰۷ درصد نسبت به شاهد کنترل منفی و ۲۳/۴۹ درصد نسبت به شاهد بدون بستر شد. در پارامتر پتاسیم گیاه نیز تیمار کود (۱۰۰ درصد) SPT و تیمار میکروبی PS4 دارای بیشترین مقدار جذب پتاسیم به‌ترتیب با میانگین ۵۸۵/۶۸۵ و ۵۱۱/۳۴۳ میلی‌گرم بر گیاه بودند. تیمارهای میکروبی PS4 و RPS9 در تأمین فسفر و پتاسیم گیاه ذرت به خوبی تیمار شیمیایی سوپر فسفات تریپل عمل کردند. در پارامتر آهن تیمار کود میکروبی RPS9 و در پارامتر روی تیمار کود میکروبی RPS7 دارای بالاترین کارآیی بودند.

*نویسنده مسئول: bahmankhoshru@yahoo.com

نتیجه‌گیری: به نظر تلقیح کودهای میکروبی حاوی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، تحریک رشد گیاه را به دنبال داشته است و شاهد اثرات افزایشی پارامترهای اندازه‌گیری شده بودیم. تیمار باکتریایی PS4 کارآیی مشابه تیمار سوپرفسفات تریپل ۱۰۰ درصد و تیمار RPS9 مشابه سوپرفسفات تریپل ۵۰ درصد داشتند. RPS7 دارای کارآیی پایین‌تر از دو ایزوله دیگر بود. از میان دو جدایه متحمل به دما که به تازگی جداسازی شده‌اند و هر دو متعلق به گونه *Pantoea agglomerans* هستند به نظر استفاده از RPS9 برای این منظور امیدبخش‌تر باشد.

واژه‌های کلیدی: اثربخشی، باکتری‌های حل‌کننده فسفات، کود زیستی، متحمل به دما

مقدمه

تولید بیشتر محصولات از چالش‌های اصلی کشاورزی است و در این راستا فسفر یکی از عناصر مهم و ضروری برای گیاهان است. برای تأمین فسفر مورد نیاز از کودهای فسفره استفاده می‌شود که معمولاً بعد از افزودن به خاک، به‌صورت نامحلول درآمده و از دسترس گیاه خارج می‌شود. برطرف کردن کمبود عناصر به‌وسیله کاربرد کودهای شیمیایی پرخطر و گران، چاره‌ای مطلوب و ایده‌آل نمی‌باشد و پیامدهای جدی برای محیط زیست ایجاد می‌کند. سالانه بین ۷۵ الی ۹۰ درصد فسفر اضافه‌شده به خاک به‌دلیل آهکی بودن بیشتر خاک‌ها، وجود PH بالا، تنش خشکی و وجود بی‌کربنات در آب آبیاری و کمبود مواد آلی موجود در خاک و هم‌چنین در اثر ترکیب با یون‌های کلسیم، آلومینیوم و آهن در خاک به‌صورت رسوب در می‌آید و از دسترس گیاه خارج می‌شود (۱). مصرف بی‌رویه کودهای فسفاته، گذشته از هزینه‌های ارزی گزاف برای خرید کود از خارج از کشور، اثرات زیانباری نیز به دنبال دارد. از جمله این اثرات می‌توان به مسمومیت فسفری ناشی از جذب بیش از حد فسفر و بالا رفتن غلظت آن در بافت‌های گیاهی و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی، کاهش عملکرد محصول، تجمع بور در گیاه در حد سمیت، کاهش جذب مس، غیرمتحرک شدن آهن در خاک، ممانعت از جذب آهن توسط ریشه، مختل کردن متابولیسم روی درون گیاه، کاهش میکوریزایی شدن ریشه، آلودگی خاک به کادمیوم، تنزل کیفیت محصول، ازدیاد بار منفی خاک و آلودگی آب‌ها به فسفر و بروز پدیده اتروفیکاسیون را اشاره نمود (۲۴). در بیست سال اخیر به دلیل آشکار شدن اثرات سوءمصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و قیمت رو به افزایش آن‌ها استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی مطرح‌شده است (۱۱، ۴، ۸ و ۲۸). در واقع کودهای زیستی به مواد حاصل‌خیزکننده‌ای گفته می‌شود که حاوی تعداد کافی از یک یا چندگونه از موجودات مفید خاکزی هستند که به همراه مواد نگه‌دارنده مناسبی عرضه می‌شوند. مطالعات زیادی بر روی امکان استفاده از کودهای زیستی بر روی محصولات متعدد به عمل آمده است (۵، ۳، ۳۱، ۱۹، ۱۷ و ۱۴). نتایج تحقیقات نشان داده است که میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات قادرند در منطقه ریزوسفر فعالیت نموده و با کمک ترشحات ریشه، ترکیبات نامحلول فسفات مانند تری‌کلسیم فسفات را به صورت محلول و قابل جذب گیاه در آورند (۳۸، ۲۱، ۳۳ و ۳۰). در مطالعه‌ای به بررسی اثرات شش باکتری حل‌کننده فسفات روی گیاه ذرت پرداخته شد. نتایج مشخص کرد همه سویه‌ها اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد داشته و بیشترین کارآیی مربوط به باکتری B1 *Pseudomonas* sp. بود که منجربه افزایش طول ریشه و ساقه و وزن خشک کل شد و همچنین فسفر و نیتروژن کل گیاه را به همراه طول ریشه افزایش داد (۱۸). در پژوهشی دیگر اقدام به تولید کود زیستی

چند منظوره از میکروب‌های حل‌کننده فسفات متحمل به دما شامل باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها و قارچ شد. ایزوله‌ها از کمپوست گیاهی و کودهای آلی جدا شده بودند. بجز *Streptomyces thermophilus* J57 که فاقد پکتیناز بود همه ایزوله‌ها دارای فعالیت آمیلازی، کربوکسی متیل‌سلولازی، کیتیناز، پکتیناز، پروتئازی، لیپازی و نیتروژنازی بودند. همه ایزوله‌ها توان انحلال فسفات کم محلول از منبع کلسیم فسفات و سنگ‌فسفات بودند. برخی از جدایه‌ها هم‌چنین قادر به انحلال فسفات آلومینیوم، فسفات آهن و هیدروکسی آپاتیت بودند. کودهای زیستی تلقیح شده با این میکروب‌ها بطور معنی داری دارای قدرت تحمل دمای بالا، نیتروژن کل و فسفر محلول بالاتری در حامل نسبت به تیمار شاهد بوند (۳). استمفورد و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تلقیح لوبیای برزیلی با کود میکروبی شامل سنگ فسفات، گوگرد و باکتری *Acidithiobacillus* می‌تواند عملکردی شبیه کود شیمیایی سوپرفسفات‌تریپل داشته و رشد گیاه را افزایش دهد چرا که کاهش pH توسط باکتری باعث افزایش فسفر محلول از سنگ‌فسفات شده و متعاقباً رشد گیاه افزایش می‌یابد (۳۳).

یکی از کودهای میکروبی مهم، کود میکروبی فسفاته می‌باشد که به صورت مایع، پودری یا گرانوله تهیه و استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت فسفر به عنوان یکی از عناصر غذایی پرمصرف برای محصولات کشاورزی، استفاده از کود میکروبی فسفاته مورد توجه است (۳۹). در این نوع کود از سنگ فسفات به عنوان منبع تأمین کننده فسفر استفاده می‌شود اما با توجه به پایین بودن میزان انحلال آن، فسفر موجود بایستی از طریق راهکارهای زیستی به فرم محلول درآید. تحقیقات انجام شده جهانی و تحقیقات پراکنده‌ای که در ایران در زمینه استفاده از کودهای میکروبی فسفاتی انجام شده است حاکی از مثبت بودن اثرات مصرف کودهای بیولوژیک است (۱۳، ۱۵ و ۲۱). کودهای میکروبی فسفاته بر بسترهای آلی و شیمیایی ارزان و در دسترس تهیه می‌شوند که در فرمولاسیون آن‌ها به منظور افزایش اثربخشی از باکتری‌ها و قارچ‌های مفید استفاده می‌نمایند. در فرایند گرانول‌سازی، بایستی پس از اختلاط اجزاء تشکیل‌دهنده از حرارت ملایم جهت خشک نمودن کود تولیدی استفاده شود، چنین شرایطی باعث از بین رفتن باکتری‌های افزوده شده به بستر خواهد شد. لذا دستیابی به باکتری‌های حل‌کننده فسفات متحمل به دما و اثربخشی این باکتری‌های مورد استفاده در تهیه این کودها زمینه تحقیق مناسبی است و اطلاعات کمی در این مورد در دسترس می‌باشد. در تحقیق حاضر، باکتری‌های مورد استفاده در فرمولاسیون کود میکروبی (PS4، RPS7 و RPS9) به تازگی جداسازی شده‌اند و هر سه مورد *Pantoea agglomerans* بوده ولی اثربخشی آنها در هیچ آزمایشی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. از میان سه جدایه مورد آزمایش، یک جدایه حساس به دما و دو جدایه دیگر شرایط تحمل دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد را دارند. ضرورت دستیابی به گونه‌های میکروبی کارآمد و قابلیت جایگزینی با کودهای شیمیایی موضوع این تحقیق است و ضرورت پرداختن به آن احساس می‌شود تا با دستیابی به ترکیب مناسب باکتری و بستر شیمیایی- آلی بتوان کود میکروبی فسفاته تولید و به بازار مصرف عرضه داشت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. از یک خاک دارای کمبود فسفر (از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان) از

عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد و سپس برخی ویژگی‌های خاک مورد نظر تعیین گردید (جدول ۱). بعد از هوا خشک کردن خاک مورد نظر و عبور از الک دو میلی‌متری ویژگی‌های مهم خاک شامل بافت (۱۶)، درصد کربن آلی (۲۳)، فسفر قابل جذب (۲۵) و پتاسیم قابل جذب (۳۴) اندازه‌گیری شد. خاک گلدان‌ها در فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت با بخار آب استریل شده و سپس در هر گلدان به مقدار ۳ کیلوگرم استفاده شد. شرایط گلخانه از نظر دما در محدوده ۲۴-۲۷ درجه سلسیوس با محدوه رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد بود.

جدول ۱ - برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک.

Table 1. Some physical and chemical properties of soil.

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC (dS/m)	فسفر قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) P- available (mg/kg)	پتاسیم قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) K- available (mg/kg)	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Cu (mg/kg)	منگنز (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Mn (mg/kg)	روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Zn (mg/kg)	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Fe (mg/kg)	کربن آلی (٪) %OC	کربنات کلسیم معادل (٪) %CCE
لوم شنی	7.56	2.9	3	198.7	0.09	2.43	0.58	0.75	0.17	2.85

آماده‌سازی بذرها: برای آماده‌سازی بذرها (رقم سنگل کراس ۷۰۴)، ابتدا ضدعفونی بذرها با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت و در ادامه بذرهای ذرت در پارچه نخی خیس و مرطوب شد تا رطوبت کافی برای جوانه‌زنی مناسب در اختیار بذرها قرار گیرد. در نهایت بذرهای ذرت به تعداد ۵ عدد در هر گلدان و در ۲-۳ سانتی‌متری سطح خاک کاشته شدند و بعد از جوانه‌زنی و رشد اولیه تعداد بوته در هر گلدان به دو عدد تقلیل یافت.

اعمال تیمار دمایی: ارزیابی تحمل دمایی (تیمار دمای ۵۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۶ ساعت) باکتری‌ها در سه مرحله انجام گرفت، الف: تیمار دمایی اولیه روی خاک‌های نمونه‌برداری شده به‌منظور غربالگری باکتری‌های مقاوم به دما، ب: کشت خالص باکتری (در این حالت از هر جدایه کشت خالصی تهیه شد و سپس کشت نقطه‌ای از آن در محیط اسپربر جامد تهیه شد و در شرایط فوق گرماگذاری شد) و ج: باکتری افزوده شده به بستر. پس از تامین جمعیت میکروبی اولیه مناسب ($CFU/g\ ۱۰^{۷}$) در بستر میکروبی در شرایط فوق گرماگذاری شد (۱۲).

تهیه کود میکروبی فسفاته پودری: در این پژوهش از سه جدایه باکتری (PS4، RPS7 و RPS9) حل‌کننده فسفات استفاده شد. این جدایه‌ها به تازگی از خاک‌های زراعی اطراف شهرستان تبریز جداسازی و شناسایی شده‌اند و هر سه جدایه متعلق به جنس *Pantoea* بوده (۱۲) ولی آزمایشات زیادی بر روی آن‌ها تاکنون انجام نشده است. دو باکتری (RPS9 و RPS7) قادر به تحمل دمای (۵۵ درجه سانتی‌گراد) بوده اما باکتری PS4 غیرمتحمل به این دما بوده که به‌دلیل توان انحلال فسفات بالا (توان حل‌کنندگی در محیط اسپربر جامد HD/CD = ۲/۹ و در محیط مایع اسپربر ۵۶۹/۴ میلی‌گرم بر لیتر) استفاده شد (۱۲). همچنین برای تهیه بستر اولیه جهت افزودن مایه تلقیح باکتریایی از بستر پایه سنگ فسفات (با آنالیز: P_2O_5: ۳۶/۵٪، Fe_2O_3: ۳/۷±۰/۱٪، CaO: ۵۰±۰/۴٪، SiO_2: ۳/۵±۰/۱٪، MgO:۱±۰/۵٪، SO_3: ۰/۰۵٪، ۳±۰/۱٪

F: ۰/۰۳٪±۰/۱۸، CL: Cd:۱۰±۵ ppm)، باگاس (از مزارع نیشکر خوزستان) و گوگرد (از پتروشیمی یزد) استفاده شد. این اجزاء به نسبت ۴۵: ۳۰ : ۱۵ استفاده شدند (۱۵). پس از اختلاط اجزاء و تامین رطوبت بهینه برای افزودن باکتری به آن، به صورت زیر عمل شد. پس از اختلاط اولیه ترکیب فوق، به ۹۰ گرم ترکیب اولیه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد تا رطوبت اولیه (۱۰ درصد) تامین شود، سپس از کشت باکتری‌های مورد استفاده در آزمایش، مقدار ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری (تقریباً 10^8 CFU/ml) برداشته و پس از رقیق‌سازی آن با آب مقطر استریل به مقدار ۱۰ برابر، باکتری به بستر مرطوب افزوده و مخلوط شد، از کود میکروبی فسفاته پودری حاصل شده برای تلقیح در گلدان‌ها استفاده شد.

آماده‌سازی گلدان‌ها و تلقیح گیاهان با کودهای میکروبی: در این آزمایش از گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ استفاده شد. بذور ضدعفونی شده به تعداد ۵ عدد در هر گلدان پس از تلقیح با کود میکروبی کشت شدند که در مرحله سه برگی تنها دو بوته حفظ شد. با احتساب وزن ۲ میلیون کیلوگرم خاک در هر هکتار با توجه به وزن خاک گلدان و طبق توصیه کودی (۲۰)، ۱۲۰۰ میلی‌گرم کود اوره و ۶۰۰ میلی‌گرم سولفات پتاسیم برای هر گلدان استفاده شد. اوره و سولفات پتاسیم به همه گلدانها افزوده شد اما کود فسفاته استفاده نشد و به جای آن از کود میکروبی فسفاته تهیه شده (۶۰۰ میلی‌گرم برای هر سه کیلوگرم خاک) استفاده شد. همچنین در تیمار اضافی به عنوان کنترل منفی آزمایش، مقادیر ۶۰۰ میلی‌گرم بستر مورد استفاده در کود میکروبی بدون افزودن هیچ باکتری مد نظر قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در مجموع با لحاظ نمودن ۷ تیمار آزمایشی در ۳ تکرار به انجام رسید که شامل تیمارهای شاهد منفی (بدون کود میکروبی و کود سوپرفسفات تریپل)، شاهد مثبت (کود سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک و در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد)، کود فسفاته پودری (بدون افزودن باکتری)، کود میکروبی فسفاته مربوط به هر ۳ باکتری (PS4، RPS9 و RPS7) بود. آبیاری گلدانها نیز از طریق توزین در ۰/۸ ظرفیت مزرعه انجام پذیرفت.

صفات مورد مطالعه

شاخص کلروفیل برگ: غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن است. مقدار کلروفیل برگ پس از رشد کامل برگ‌ها و در پایان دوره رشد با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (مدل Hansatech CL-01 ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. این دستگاه، غلظت نسبی کلروفیل برگ (شاخص کلروفیل) را در دو طول موج ۶۲۰ و ۶۴۰ نانومتر براساس مقدار نور جذب شده توسط کلروفیل بدن تخریب برگ و سریع به صورت یک عدد تعیین می‌کند که شاخصی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌باشد. برای این منظور پنج برگ سالم و شاداب از هر بوته (در مجموع ۱۰ برگ در هر گلدان) انتخاب شد و پهن‌ترین بخش برگ میان انبرک دستگاه قرار گرفت. سپس شاخص کلروفیل آن اندازه‌گیری شد. میانگین این قرائت‌ها در نهایت به عنوان شاخص کلروفیل برگ برای آن گلدان در نظر گرفته شد.

ارتفاع گیاه: برداشت گیاه در مرحله ظهور گل (۱۰۰ روز پس از کاشت) انجام گرفت و قبل از برداشت ارتفاع گیاه با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه: در پایان دوره رشد، اندام‌های هوایی از محل طوقه قطع گردیده و وزن تر آنها با ترازوی حساس ۰/۰۰۱ گرم تعیین شد. ریشه نیز پس از برداشت با آب معمولی شستشو داده شده و رطوبت اضافی آنها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد و سپس با ترازو وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس بخش هوایی و ریشه داخل پاکت‌های کاغذی به درون آون منتقل شده و به مدت

سه روز در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس نمونه‌ها از آون خارج گردیده و با ترازوی حساس وزن خشک آن‌ها توزین گردید.

هضم نمونه‌های گیاهی به روش ترسوزانی و اندازه‌گیری عناصر: نمونه‌ها بعد از خشک شدن، خرد شده و برای ایجاد نمونه‌ای یکنواخت از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. برای اندازه‌گیری عناصر، هضم نمونه‌های گیاهی به ترسوزانی انجام گرفت (۳۷). برای اندازه‌گیری غلظت فسفر و پتاسیم نمونه‌های گیاهی به ترتیب از دستگاه اسپکتروفتومتر و فلیم‌فتومتر (مدل ۴۱۰ ساخت شرکت Corning انگلستان) و برای عناصر آهن و روی هم از دستگاه جذب اتمی (مدل AA-6300 ساخت شرکت Shimadzu ژاپن) استفاده شد.

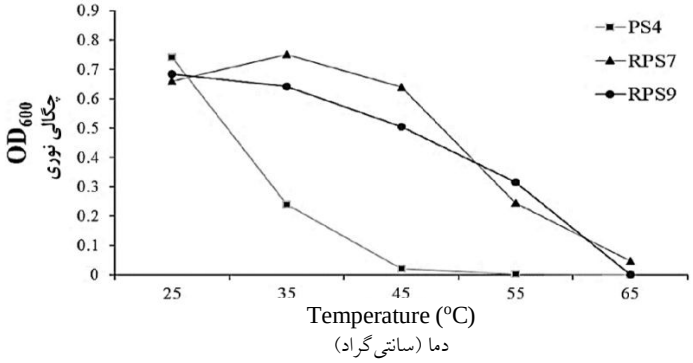
آنالیز آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با اعمال سه گلدان به‌عنوان تکرار برای هر تیمار و کاشت دو گیاه در هر گلدان انجام گردید. آنالیز نتایج با نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت و برای مقایسات میانگین هم از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

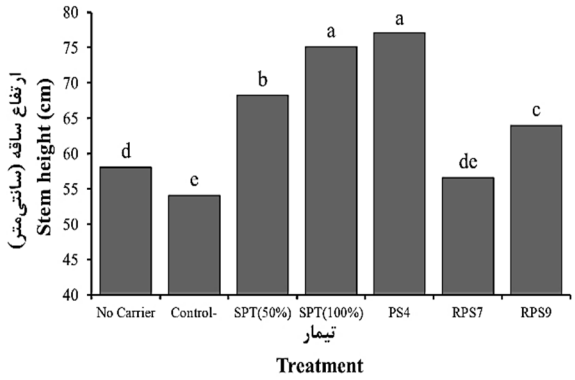
تیمار دمایی: نتیجه تیمار دمایی باکتری‌ها در شکل ۱ آورده شده است. بر طبق نتایج، بالاترین OD برای دو باکتری RPS9 و RPS7 به ترتیب ۰/۶۸ و ۰/۶۶ بوده که براساس آن LD50 بدست آمده برای این دو باکتری به‌ترتیب برابر ۵۵ و ۵۳/۵ درجه سلسیوس محاسبه شد.

ارتفاع ساقه و شاخص کلروفیل: ارتفاع ساقه ذرت و نیز شاخص کلروفیل تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین ارتفاع ساقه در شکل ۲ آورده شده است. تیمار باکتریایی PS4 دارای کارآیی مشابه با کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل (۱۰۰ درصد) بود (احتمالاً تیمار PS4 علاوه بر تأمین فسفر گیاه مکانیزم‌های دیگری نیز اتخاذ کرده به‌عنوان مثال تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین یا جیبرلین) و تیمار (۵۰ درصد) STP در رتبه بعدی قرار داشت، تیمار باکتریایی RPS7 دارای پایین‌ترین کارآیی از نظر این پارامتر بوده و از نظر آماری با تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار داشت. مطابق شکل ۳ شاخص کلروفیل برای تیمار کنترل مثبت (سوپرفسفات تریپل ۱۰۰ درصد) و تیمار باکتریایی PS4 به ترتیب با میانگین ۸/۳۰ و ۷/۴۴ بالاترین مقدار بدست آمد. تیمارهای باکتریایی RPS7 و RPS9 از نظر شاخص کلروفیل با تیمار بدون بستر کودی (No Carrier) و بستر بدون میکروب (کنترل منفی) اختلاف معنی‌داری نداشتند.



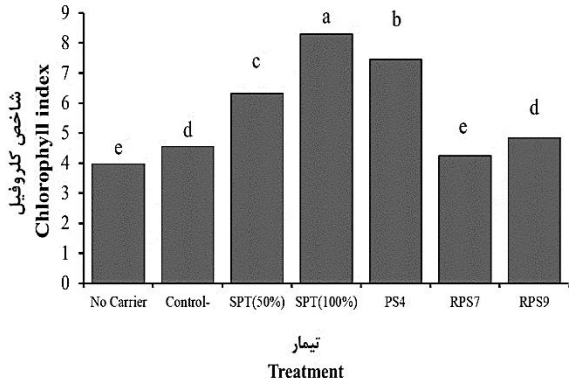
شکل ۱- ارزیابی تحمل دمایی باکتری‌ها

Figure 1. Evaluation of temperature tolerance of bacteria



شکل ۲- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر ارتفاع ساقه در گیاه ذرت

Figure 2. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on stem height in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

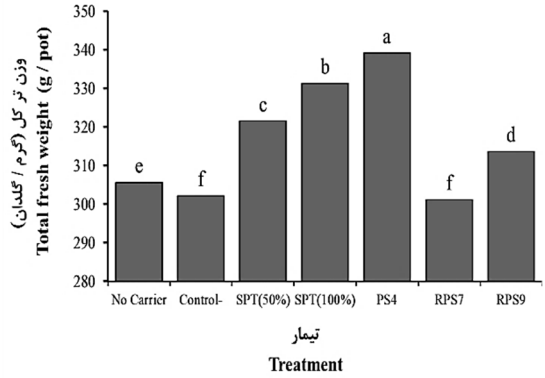


شکل ۳- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر شاخص کلروفیل در گیاه ذرت

Figure 3. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on chlorophyll index in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

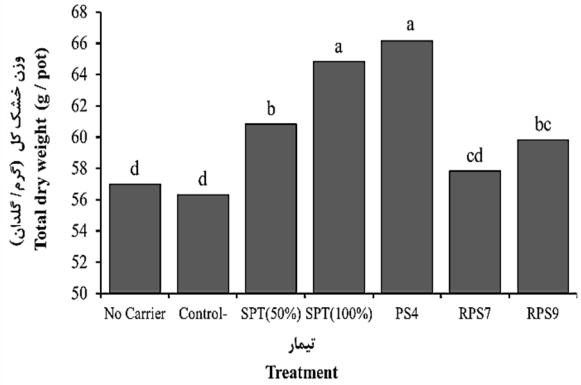
میشرا و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که مایه‌زنی سویه‌های *Pseudomonas* به گیاه عدس موجب افزایش کلروفیل و جذب فسفر و آهن گردید(۲۲). باست‌میا و همکاران (۲۰۱۰)، نیز افزایش میزان کلروفیل گیاه را به وسیله باکتری‌های افزاینده رشد گیاه گزارش کرده‌اند(۲). خوشرو و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کاربرد کود میکروبی فسفاته حاوی باکتری حل‌کننده فسفات *P. fluorescens* در گیاه ذرت باعث افزایش ارتفاع ساقه به میزان ۳۲/۶۹ درصد نسبت به گیاه کنترل شد. افزایش ارتفاع بوته در نتیجه افزایش فسفر قابل دسترس توسط گیاه را می‌توان این چنین توجیه نمود که عنصر فسفر با اثرات مثبتی که بر افزایش توسعه سیستم ریشه‌ای دارد، میزان جذب آب و عناصر غذایی ضروری به ویژه نیتروژن را افزایش داده است که این امر موجب بهبود ارتفاع ساقه شده است (۴).

وزن تر کل و خشک کل: وزن تر کل (مجموع وزن تر ریشه و بخش هوایی) در گیاه ذرت تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). وزن تر کل برای تیمار باکتریایی PS4 با میانگین ۳۳۹/۱ گرم بالاترین مقدار بود و تیمارهای شیمیایی سوپرفسفات تریپل در سطوح ۱۰۰ و ۵۰ درصد به ترتیب با مقادیر ۳۳۱/۳ و ۳۲۱/۵ در رتبه بعدی قرار داشتند. تیمار باکتریایی RPS9 با مقدار ۳۱۳/۶ گرم بالاتر از تیمارهای شاهد بود و تیمار باکتریایی RPS7 هم از نظر آماری در گروه کنترل منفی (بستر بدون باکتری) قرار داشت (شکل ۴). تیمار کنترل منفی (بستر بدون باکتری) از نظر آماری دارای کارآیی پایین‌تر از تیمار بدون بستر است (در حالی که انتظار می‌رفت بستر مورد استفاده به دلیل داشتن موادآلی، گوگرد و منبع فسفر کم محلول دارای کارآیی بالاتری نسبت به حالت بدون بستر باشد که به نظر می‌رسد اثرات مثبت بستر تنها در صورت حضور میکروب‌های مفید در آن آشکار می‌گردد و بدون حضور میکروب استفاده از بستر برای گیاه مفید نخواهد بود). وزن خشک کل گیاه ذرت نیز تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. وزن خشک کل برای تیمار باکتریایی PS4 و شیمیایی سوپرفسفات (۱۰۰ درصد) با میانگین ۶۶/۱ و ۶۴/۸ گرم به‌ترتیب بالاترین مقدار بود. تیمار باکتریایی RPS9 از نظر آماری با تیمار شیمیایی (۵۰ درصد) STP برابری می‌کرد و تیمار RPS7 با تیمارهای شاهد از نظر وزن خشک کل دارای تفاوت معنی‌داری نبود (شکل ۵).



شکل ٤- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر وزن تر کل در گیاه ذرت

Figure 4. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on total fresh weight in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

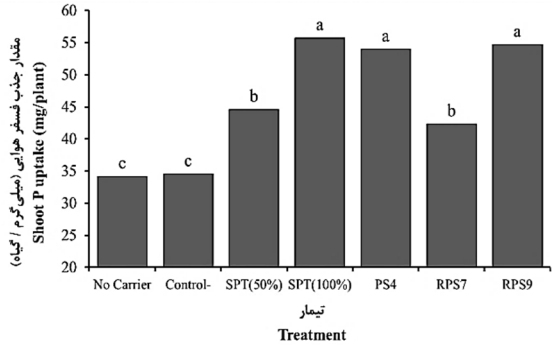


شکل ٥- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر وزن خشک کل در گیاه ذرت.

Figure 5. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on total dry weight in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

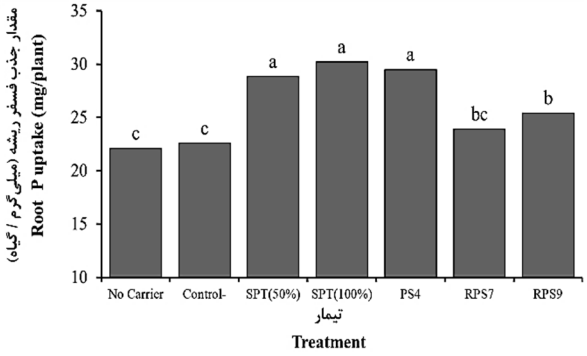
تیمارهای باکتریایی بکاررفته به‌عنوان حل‌کننده فسفات می‌توانند از طریق تولید اسیدهای آلی و افزایش جذب فسفر، تولید و سنتز هورمون‌هایی چون اکسین، جیبرلین، تولید سیدروفور و افزایش جذب نیتروژن و سایر عناصر ضروری به واسطه اثرات هم‌افزایی، رشد گیاه را افزایش دهند (۲۹). صادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که وزن خشک کل ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به کار رفته بود، افزایش یافت(۲۷). شارما (۲۰۰۲) گزارش کرده است که کاربرد کودهای زیستی منجر به افزایش بیوماس و ماده خشک گیاهی می‌شود. وی اعتقاد دارد که افزایش انحلال فسفر دلیل افزایش بیوماس گیاهی می‌باشد(۳۲). ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تلقیح سویه های باکتریایی *Acinetobacter* M01، *Acinetobacter* M04 و *Ochrobactrum* M11 وزن خشک بخش هوایی را به ترتیب ۳۰/۵ ، ۳۲/۶ و ۲۶/۲ درصد و وزن خشک ریشه را به ترتیب ۲۷/۱، ۳۳/۱ و ۲۵/۶ درصد افزایش دادند(۳۸).

جذب فسفر در بخش هوایی و بخش ریشه: میزان جذب فسفر بخش هوایی تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). تیمار کود میکروبی PS4 و RPS9 دارای بیشترین مقدار جذب فسفر بودند که از نظر آماری با تیمار شیمیایی سوپرفسفات تریپل (۱۰۰ درصد) برابری می‌کرد. تیمار باکتریایی RPS7 نیز با تیمار سوپرفسفات تریپل ۵۰ درصد برابری می‌کرد (شکل ۶). میزان جذب فسفر ریشه نیز تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). تیمار کود میکروبی PS4 دارای بالاترین مقدار جذب فسفر ریشه بوده و از این نظر با تیمارهای شیمیایی SPT (۱۰۰ و ۵۰ درصد) در یک گروه قرار گرفت و موجب افزایش میزان جذب فسفر به میزان ۲۵/۰۷ درصد نسبت به شاهد کنترل منفی و ۲۳/۴۹ درصد نسبت به شاهد بدون بستر شد. تیمارهای میکروبی RPS7 و RPS9 در یک سطح آماری قرار داشتند (شکل ۷).



شکل ٦- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب فسفر هوایی در گیاه ذرت.

Figure 6. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on shoot P absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)



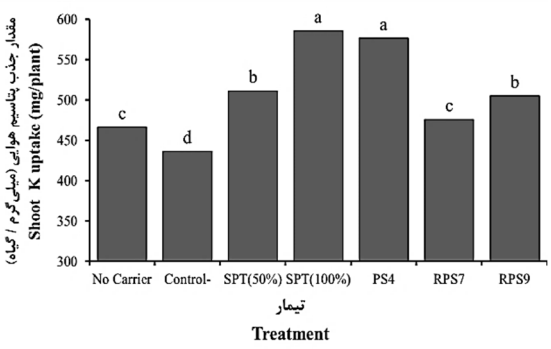
شکل ۷- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر مقدار جذب فسفر ریشه در گیاه ذرت.

Figure 7. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on root P absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

کاربرد ایزوله‌های موجود در کود زیستی بارور۲ در شرایط کشت با گیاه گندم در خاک استریل بهبود تغذیه فسفری را به دنبال داشت (۲۷). نتایجی که از تأثیرگذاری حل‌کننده‌های فسفاته بر محتوای فسفر بخش هوایی در گیاه مریم‌گلی به دست آمد، حاکی از آن است که افزایش میزان جذب فسفر توسط ریشه گیاهان تیمار شده با کودهای زیستی فسفاته به علت افزایش قابلیت دسترسی به فسفر و متعاقب آن بهبود ظرفیت ریشه برای جذب فسفر و انتقال آن به بخش هوایی گیاه می‌باشد (۱۰). ویرول و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که تلقیح گیاه ذرت با باکتری حل کننده فسفات *Pseudomonas koreensis* SP28 منجر به افزایش ۵۶ درصد محتوای فسفر گیاه شد(۳۶).

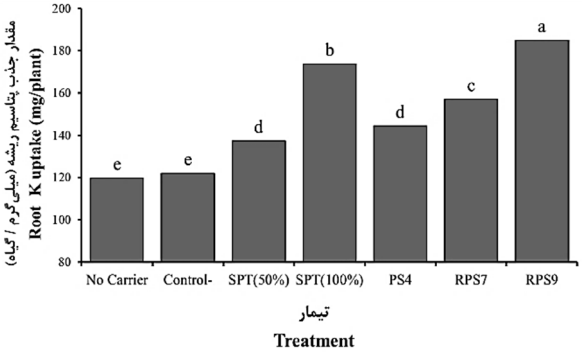
جذب پتاسیم بخش هوایی و بخش ریشه: میزان جذب پتاسیم بخش هوایی و ریشه تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). تیمار کود سوپرفسفات تریپل (۱۰۰ درصد) و تیمار میکروبی PS4 دارای بیشترین مقدار جذب پتاسیم به‌ترتیب با میانگین ۵۸۵/۶۸۵ و ۵۱۱/۳۴۳ (میلی‌گرم بر گیاه) بودند. تیمار شیمیای SPT (۵۰ درصد) و میکروبی RPS9 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند. تیمار میکروبی RPS7 با تیمار بدون بستر اختلاف معنی‌داری نداشت و تیمار بستر بدون کود (کنترل منفی) با مقدار ۴۳۶/۲۷۴ (میلی‌گرم بر گیاه) دارای کمترین مقدار پتاسیم بخش هوایی بود (شکل ۸). در بخش ریشه کود میکروبی RPS9 با میانگین ۱۸۴/۹ (میلی‌گرم بر گیاه) دارای بالاترین مقدار جذب پتاسیم در ریشه بود به‌طوری‌که تیمار شیمیایی (۱۰۰ درصد) STP با میانگین ۱۷۳/۷ (میلی‌گرم بر گیاه) در رتبه دوم قرار داشت. تیمار میکروبی RPS7 در رتبه سوم قرار داشته و تیمار PS4 و (۵۰ درصد) STP نیز در یک گروه آماری قرار داشتند. تیمارهای بدون بستر و بستر بدون میکروب (کنترل منفی) هم باهمدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۹).

هان و لی (۲۰۰۵) به بررسی اثر دو باکتری حل‌کننده فسفات *B. megaterium* و آزادکننده پتاسیم *B. mucilaginosus* بر جذب عناصر فسفر و پتاسیم و رشد گیاه بادمجان پرداختند. آزمایش آن‌ها به این نتیجه‌گیری منجر شد که استفاده همزمان منابع معدنی فسفات و پتاسیم با تلقیح باکتری‌های فوق باعث افزایش فراهمی این دو عنصر شده و میزان جذب آن‌ها در گیاه افزایش یافته و رشد گیاه را افزایش می‌دهد(۹). گائو و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تلقیح گیاه تنباکو با باکتری‌های حل‌کننده فسفات، باعث افزایش جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم گردید(۶).



شکل ۸- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب پتاسیم هوایی در گیاه ذرت.

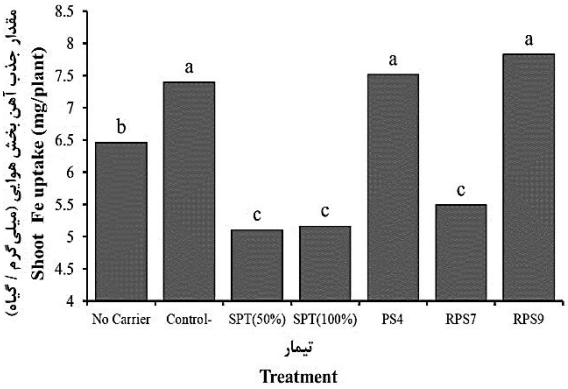
Figure 8. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on shoot K absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)



شکل ۹- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب پتاسیم بخش ریشه گیاه ذرت.

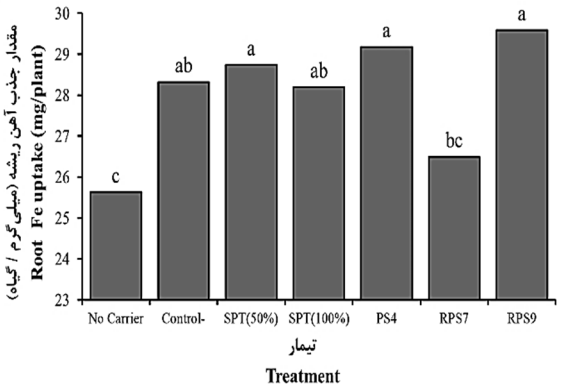
Figure 9. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on root K absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

مقدار جذب آهن در بخش هوایی و بخش ریشه: مقدار جذب آهن در بخش هوایی و ریشه تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). میزان جذب آهن بخش هوایی برای تیمارهای RPS9، PS4 و کنترل منفی بالاترین میانگین و به‌ترتیب برابر ۷/۸۲۵ ، ۷/۵۱۳ و ۷/۳۹۳ (میلی‌گرم بر گرم) بدست آمد. تیمار میکروبی RPS7 با تیمارهای شیمیایی SPT در یک گروه آماری قرار گرفت که هر سه این تیمارها از نظر مقدار جذب آهن بخش هوایی پایین‌تر از تیمار شاهد کنترل منفی بودند. گفتنی است که تیمار کنترل منفی (بستر بدون میکروب) احتمالاً بدلیل حضور گوگرد در بستر و در مرحله بعدی اکسیداسیون آن و در نهایت با کاهش pH باعث افزایش در مقدار جذب آهن در گیاه شده است (شکل ۱۰). مقدار آهن ریشه هم تحت تأثیر تلقیح کودهای فسفاته در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. این مقدار برای تیمارهای RPS9، PS4 و SPT (۵۰ درصد) بیشترین مقدار و به‌ترتیب برابر ۲۹/۵۸۲، ۲۹/۱۷۷ و ۲۸/۷۳۴ میلی‌گرم بر گرم بود و تیمارهای SPT (۱۰۰ درصد) و تیمار کنترل منفی دارای کارآیی مشابه بوده و در یک گروه آماری قرار داشتند. مشاهده می‌گردد که با افزایش سطح فسفر در تیمار شیمیایی، مقدار جذب آهن دچار مشکل می‌گردد ولی در تیمارهای میکروبی علی رغم داشتن قدرت بالا در انحلال فسفات کم محلول، در جذب آهن گیاه اختلالی پیش نمی‌آید. فسفات افزوده شده به خاک می‌تواند به اشکال مختلف نظیر فسفات کلسیم یا آهن و غیره رسوب نماید اما باکتریهای حل‌کننده فسفات بیشتر از مکانیسم تولید اسیدهای آلی و کاهش pH می‌توانند این اشکال رسوب یافته و نامحلول را برای گیاه قابل استفاده نمایند. این مکانیسم در تامین سایر عناصر برای گیاه نیز می‌تواند مفید باشد همانگونه که باعث افزایش جذب آهن و روی در گیاه شده است. تیمار میکروبی RPS7 نیز با مقدار ۲۶/۴۸۷ میلی‌گرم بر گرم با تیمار شاهد بدون بستر در یک گروه آماری قرار داشت. مقایسه دو تیمار کنترل منفی و بدون بستر نشان می‌دهد که بستر موجود از نظر تأمین آهن خوب عمل کرده و اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون بستر دارد (شکل ۱۱).



شکل ۱۰- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب آهن هوایی در گیاه ذرت.

Figure 10. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on shoot Fe absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

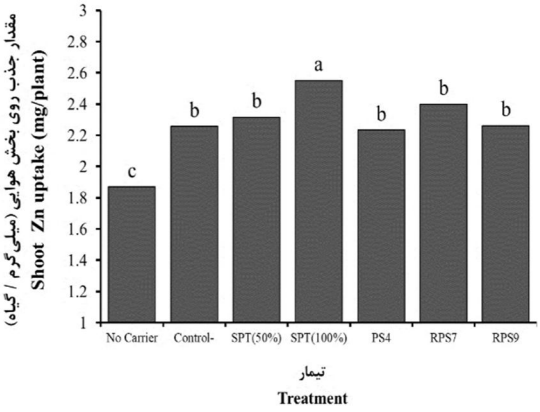


شکل ۱۱- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب آهن بخش ریشه گیاه ذرت.

Figure 11. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on root Fe absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

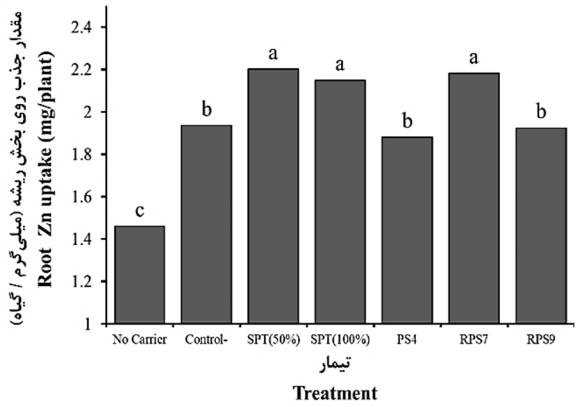
تامین آهن توسط تیمارهای میکروبی گرچه هدف اصلی این آزمایش نبوده است اما این نتایج گویای آن است که باکتری‌های مورد نظر در تأمین آهن برای ذرت موفق عمل کرده‌اند. شاید راهکارهایی نظیر تولید سیدروفور یا عوامل‌کلات‌کننده هم‌چنین احیاء اشکال اکسید آهن موجود در خاک را بتوان به عنوان مکانیسمی در تأمین آهن توسط این باکتری‌ها تصور نمود. در پژوهشی که توسط رجایی و همکاران (۲۰۰۷) درباره اثرات افزاینده رشدی سویه‌های بومی *Azotobacter chroococcum* بر رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم با جداسازی ۱۴ ایزوله کارآمد (از نظر تولید اکسین، سیدروفور و تولید هیدروژن سیانید) برای آزمون گلخانه‌ای در استان چهارمحال بختیاری انجام گرفت، مشخص شد که اثر کاربرد این سویه‌ها طبق نتایج بر غلظت عنصر آهن و هم‌چنین میزان جذب آن‌ها در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد(۳۶). قبادی و همکاران (۲۰۱۱) عنوان کردند کودهای بیولوژیک فسفاته علاوه بر تأمین فسفر و پتاسیم مورد نیاز گیاه باعث بهبود شرایط تغذیه گیاه و سایر عناصر غذایی نظیر آهن در غده‌های سیب‌زمینی شدند(۷).

مقدار جذب روی (Zn) بخش هوایی و بخش ریشه: مقدار روی بخش هوایی و ریشه تحت تأثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود ($P<0.01$). در بخش هوایی میزان جذب روی برای تیمار SPT (۱۰۰ درصد) بیشترین مقدار بود (۲/۵۵۱ میلی‌گرم بر گیاه). تیمارهای RPS9، RPS7، PS4 و SPT (۵۰ درصد) با تیمار کنترل منفی (بستر بدون باکتری) اختلاف معنی‌دار نداشته و در یک گروه آماری قرار داشتند. تیمار شاهد بدون بستر نیز با مقدار ۱/۸۶۹ (میلی‌گرم بر گیاه) در پایین‌ترین سطح قرار داشت (شکل۱۲). در بخش ریشه بالاترین میزان جذب روی ریشه برای تیمارهای RPS7، (۵۰ درصد) SPT و (۱۰۰ درصد) SPT به‌ترتیب با مقادیر ۲/۱۸۲، ۲/۲۰۱ و ۲/۱۴۹ (میلی‌گرم بر گیاه) بدست آمد. در رتبه بعدی تیمارهای RPS9، PS4 و شاهد کنترل منفی از نظر آماری در یک گروه قرار داشتند. تیمار شاهد بدون بستر نیز در پایین‌ترین مقدار قرار داشت (شکل ۱۳). با وجود اینکه RPS7 در تأمین عناصر فسفر، پتاسیم و آهن برای گیاه ذرت کارآیی خوبی نداشت ولی به نظر می‌رسد که از نظر تأمین روی گیاه کارآمد بوده و این مورد بایستی در آزمایش‌های آینده با محوریت روی مورد بررسی بیشتر قرار بگیرد.



شکل ۱۲- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب روی هوایی در گیاه ذرت.

Figure 12. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on shoot Fe absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)



شکل ۱۳- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب روی بخش ریشه گیاه ذرت.

Figure 13. Effect of phosphatic microbial fertilizers inoculation on root Zn absorption in Maize. (No Carrier: Treatment without microbial fertilizer and Superphosphate, Control -: Carrier Without Bacteria)

وایـد و همکـاران (۲۰۱۴) گـزارش کردنـد کـه استفاده از باکتری‌های افزاینـده رشـد در گیـاه بـرنج، باعث افزایش جذب روی در این گیاه به میـزان ۵۲/۵ درصد گردید(۳۵).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از آزمایشات گلخانـه‌ای نشـان داد که کاربرد کودهای میکروبی فسفاته در گیـاه ذرت رقم سینگل‌کراس ۷۰۴، بر وزن تر و خشـک ریشـه و بخش هوایی، مقدار و جذب فسـفر، پتاسـیم، آهـن و روی بخـش ریشـه و بخـش هـوایی، تـأثیر کـاملاً معنی‌داری داشت. تلقـیح کودهـای میکروبـی حـاوی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، منجربه بهمبود وضعیت گیاه شده است و شاهد اثـرات افزایشـی پارامترهـای اندازه‌گیری شده بـودیم. تیمارهـای میکروبـی PS4 و RPS9 در تامین فسـفر و پتاسـیم گیـاه ذرت بخـوبی تیمار شیمیایی سوپرفسـفات تریپـل عمـل کردنـد. در پارامتر آهن تیمار کود میکروبـی RPS9 و در پـارامتر روی تیمـار کـود میکروبـی RPS7 دارای بـالاترین کارآیی بودند. می‌توان گفت که یکـی از دلایـل برتـر بودن تیمارهای باکتریایی نسبت بـه تیمـار شـیمیایی، اثرهای چندگانه تیمارهای باکتریایی در مقابل اثر تـک بعدی کودهای فسفره اسـت. کـود شـیمیایی فسـفاتی فقط در جهت برآورد نیاز فسـفری گیـاه عمـل کـرده است ولی تیمارهای باکتریایی عملکرد چندگانه علاوه برتامین نیاز فسفری داشته‌اند که از جمله آن مـی‌تـوان به سایر ویژگی‌های تحریک‌کنندگی رشـد گیـاه مثـل تولید هورمون‌های محرک رشد و تولید سـیدروفور و غیره اشاره کـرد. بـا وجـود اینکـه تیمـار PS4 دارای بالاترین قدرت حل‌کننـدگی بـود ولـی چـون تحمـل دمـایی نـدارد لـذا اسـتفاده از ایـن بـاکتری در کـود میکروبی گرانوله مناسب نیست زیرا ماندگاری و بقـاء باکتری نامناسب است. بـا توجـه بـه یافتـه‌هـای ایـن تحقیق استفاده از باکتری حل‌کننده فسفات و متحمـل بـه دمـا RPS9 *P. agglomerans* کـه بـه تـازگی جداسازی و شناسایی شده اسـت، بـرای تولیـد کـود میکروبی گرانوله در صنعت می‌تواند مورد توجه قـرار گیرد. بایستی عنوان کرد که با توجه بـه نـوع بـاکتری اسـتفاده شـده در کودهـای میکروبـی، جـواب‌هـای متفاوتی از باکتری‌ها به دست می‌آید که در جمع‌بندی یک آزمایش همه این مـوارد بایسـتی در نظـر گرفتـه شود.

منابع

1. Anonymous, 2015. Protocols for registration of fertilizers material. Institute of Soil and Water Research. Karaj, Iran.
2. Basetmia, M.A., Shamsuddin, Z.H., Wahab, Z., and Marziah, M. 2010. Effect plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen incorporation of tissue-cultured Musa plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. Aust. J. Crop Sci., 4(2):85–90.
3. Chang, C.H., and Yang, S.S. 2009. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. Bioresour. Technol., 100(4):1648-1658.
4. Dordas, C. 2009. Dry matter, nitrogen and phosphorus accumulation: partitioning and remobilization as affected by N and P fertilization and source-sink relation. Eur. J. Agro., 30: 129-139
5. Ehteshami, S., Hakimian, F., and Yousefirad, M. 2012. Effect of integration of phosphate fertilizer and phosphate solubilizing bacteria on quantitative and qualitative yield of two barley cultivars. Agri. Mag., 102: 141-150. (In Persian).
6. Gao, L., Kong, F., Feng, C., Wang, J., Gao, J., Shen, G., and Zhang, C. 2016. Isolation, Characterization, and Growth Promotion of Phosphate-Solubilizing Bacteria Associated with Nicotiana Tabacum (Tobacco). Pol. J. Environ. Stud., 25(3):993-1003.
7. Ghobadi, M., Jahanbin, S.H., Matlabifard, R., and Parvizi, K.h. 2011. Effect of phosphate biofertilizers on yield and yield components of potato. J. Agri. Sci. Sust. Prod., 21(2):28-39. (In Persian).
8. Gilani, Z., Pirdashti, H. and Bakhshandeh, A. 2019. Effect of plant growth prompting microorganisms on vegetative traits and grain yield of rice in different quantities of potassium fertilizer, J. Crop Prod., 11(2): 197-214. (In Persian).
9. Han, H.S., and Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Res. J. Agric. Biol. Sci., 1: 210–215.
10. Hashem Abadi, D., Zaredost, F., Barari Ziyabari, M., Zarchini, M., Kaviani, B., Jadid Solimandarabi, M., Torkashvand, A.M., and Zarchini, S. 2012. Influence of phosphot biofertilizer on quantity and quality features of marigold. Aust. J. Crop Sci., 6(6): 1101-1109.
11. Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernandze, G., and Rolan, A. 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegtation of a mining area under subtropical conditions. Appl. Soil. Ecol., 30: 3-10
12. Khoshru, B., and Sarikhani, M.R. 2018. Isolation of temperature resistant phosphate solubilizing bacteria for use in phosphatic microbial fertilizer. J. Soil Water., 32(1): 155-167. (In Persian).
13. Khoshru, B., Sarikhani, M.R., and Lotfollhi, A. 2017. Inoculation effect of some phosphatic microbial fertilizers prepared using thermal resistant PSB on *Zea mays*. The 15th Congress of Soil Science. 6-8 September. Isfahan. Iran.
14. Khoshru, B., Sarikhani, M.R., and Aliasgharzad, N. 2017. Application and non-application of sulfur in the formulation of *Pseudomonas fluorescens* phosphatic microbial fertilizer on Corn (*Zea mays* L.). J. Agri. Sci. Sust. Prod., 27(3):119-136. (In Persian).
15. Khoshru, B., Sarikhani, M.R., and Ebrahimi, M. 2017. Isolation of temperature resistant phosphate solubilizing bacteria for use in phosphatic microbial fertilizer. The 15th Congress of Soil Sci., 6-8 September. Isfahan. Iran.
16. Klute, A. 1986. Methods of soil analysis. Part I: physical and mineralogical methods. ASA, Inc. SSSA Inc. Madison, Wisconsin USA.
17. Leylasi, M. and Sarikhani M.R. 2019, The effect of some bacterial isolates on potassium absorption and transfer on maize. J. Crop Prod., 11(3): 61-75. (In Persian).

18. Li, Y., Liu, X., Hao, T., and Chen, S. 2017. Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. Int. J. Mol. Sci., 18(7):12-53.
19. Liu, R.J., and Chen, Y.L. 2007. Mycorrhizology. Science Press (www.sciencep.com), Beijing. p 447.
20. Malakoti, M.J. 1995. Sustainable agriculture and increase performance by optimizing the use of fertilizers in Iran. Dissemination of Agricultural Education. Karaj. Iran.
21. Manzoor, M., Abbasi, M.K., and Sultan, T. 2017. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from maize rhizosphere and their potential for rock phosphate solubilization–mineralization and plant growth promotion. Geomicrobiol. J., 34(1): 81-95.
22. Mishra, P.K., Bisht, S.C., Ruwari, P., Joshi, G.K., Singh, G., Bisht, J.K., and Bhatt, J.C. 2011. Bio-associative effect of cold tolerant *Pseudomonas* spp. and *Rhizobium leguminosarum*-PR1 on iron acquisition, nutrient uptake and growth of lentil (*Lens culinaris* L.). Eur. J. Soil Biol., 47: 35-43.
23. Nelson, D.W., Sommers, L.E., Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, P.R. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter., Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties. Soil Science Society of America. pp. 539-580
24. Nobahar, A., Sarikhani, M.R., and Chalabianlou, N. 2017. Buffering capacity affects phosphorous solubilization assays in rhizobacteria. Rhizosphere. 4: 119-125.
25. Olsen, S.R., and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR. (eds.) Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy (ASA) and Academic Press. The General Editor of Monographs. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. Pp. 403-430.
26. Rajai, S., Alikhani, H.A., and Raeisi, F. 2007. Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. J. Agric. Nat. Resour. Sci., 41: 296-285.
27. Sadeghi, S., Heidari, G.R. and Sohrabi, Y. 2015. Effect of biofertilizers and fertility management on some growth indices of two-grain corn. J. Agri. Sci. Sustain. Prod., 25(3):43-60. (In Persian)
28. Saleki, M., Rahimi, A., Torabi, B., Akhgar, A., and Dadrasi, A. 2019. Effect of bio fertilizer application on *Panicum miliaceum* in salted conditions, J. Crop Product. 11(3): 1-14. (In Persian).
29. Salimpur, S., Khavazi, K., Nadian, H., and Miransari, M. 2010. Enhancing phosphorous availability to canola (*Brassica napus* L.) Using P solubilizing and sulfur oxidizing bacteria. Aust. J. Crop Sci., 4(5): 330-334.
30. Sarikhani, M.R., Aliasgharzad, N., and Khoshru, B. 2018. Effectiveness study of phosphate solubilizing bacteria in the formulation of phosphatic microbial fertilizers on Corn. Iran. J. Soil Water Res., 3(1): 81-71.
31. Sarikhani, M.R., Khoshru, B., and Oustan, S. 2016. Efficiency of some bacterial strains in potassium release from mica and phosphate solubilization under in vitro conditions. Geomicrobiol. J., 33(9): 832-838.
32. Sharma, A.K., and Johri, B.N. 2002. Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in Plants, Rhizosphere and Soils. Oxford and IBH Publishing. New Delhi. 308p.
33. Stamford, N.P., Santos, P.R., Santos, C.E.S., Freitas, A.D.S., Dias, S.H.L. and Lira Jr, M.A. 2007. Agronomic effectiveness of biofertilizers with phosphate rock, sulphur and *Acidithiobacillus* for yam bean grown on a brazilian tableland acidic soil. Bioresource Technol., 98(6):1311-1318.
34. Thomas, G.W. 1982. Exchangeable Cations. Pp. 159-165. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR. (eds.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
35. Vaid, S.K., Kumar, B., Sharma, A., Shukla, A.K., and Srivastava, P.C. 2014. Effect of Zn solubilizing bacteria on growth promotion and Zn nutrition of

rice. J. Soil Sci. Plant Nut., 14(4):889-910.
36. Viruel, E., Erazzú, L.E., Martínez Calsina, L., Ferrero, M.A., Lucca, M.E., and Siñeriz, F. 2014. Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria: effect on plant growth and yield., J. Soil Sci. Plant Nut., 14(4):819-831.
37. Waling, I., Vark, W.V., Houba, V.J.G., and Vanderlee, J.J. 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, The Netherland.
38. Zhang, J., Wang, P, Zhang, Q.A., Yan, C., and Chen, J. 2017. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from mushroom residues and their effect on tomato plant growth promotion. Pol. J. Microbiol., 66(1):57-65.
39. Ziaian, A., Salimpour, S., Silybipour, M., and Safari, H. 2009. Evaluation of some chemical and biological fertilizers of phosphorus on corn. 1th congress on fertilizer challenges in Iran: half a century of fertilizer use. 10-12 March, Tehran, Iran.