دانشکده مهندسی آب و خاک

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M. Sc.) در رشته
بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

بررسی توانمندی انحلال فسفات (های) معدنی در باکتری‌های قابل کشت در ریزوسفر برخی گیاهان زراعی استان گلستان

پژوهش و نگارش:
علی اصغر اردشیری لاجیمی

استاد راهنما:
دکتر رضا قربانی نصرآبادی

اساتید مشاور:
دکتر **سید علیرضا موحدی نائینی**
دکتر **مجتبی بارانی مطلق**

پاییز ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی-پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به‌منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

قبل از چاپ پایان‌نامه خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
قبل از چاپ پایان‌نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
انتشار نتایج پایان‌نامه باید بااطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **علی اصغراردشیری لاجیمی** دانشجوی رشته بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم به

گرانقدرانی که اندیشیدن را به من

آموختند نه اندیشه‌ها را...

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس بی پایان ایزد منان را که فرصت کسب علم ارزانیم داشت و با سپاس از کلیه بزرگوارانی که اگر نبود محبت، همکاری و همفکری ارزشمندشان به حق انجام این پژوهش میسر نمی‌گردید. بر حسب وظیفه بر خود لازم می‌دانم مراتب قدردانی خود را به تمام کسانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند تقدیم نمایم، از خانواده ام و همچنین زحمات و راهنمایی‌های ارزنده استاد راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر رضا قربانی نصرآبادی که بی شک بی حضورشان طی این طریق میسر نبود و همواره با حسن خلق مرا به ادامه کار دلگرم و امیدوار می نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از استادان گرامی جناب آقای دکتر سید علیرضا موحدی نائینی و جناب آقای دکتر مجتبی بارانی مطلق که مشاورت این پایان نامه را بر عهده داشتند نهایت قدردانی را دارم.

یاد و خاطره دوستان دوران تحصیل و کلیه عزیزانی که افتخار مصاحبت و همفکریشان را داشتم همیشه در ذهنم باقی خواهد ماند و برای یکایک این عزیزان آرزوی سربلندی و موفقیت روزافزون دارم.

علی اصغر اردشیری لاجیمی

پاییز ۱۳۹۳

چکیده

فسفر یکی از عناصر ضروری و دومین عنصر محدود کننده رشد گیاهان می‌باشد. در نتیجه واکنش‌های شیمیایی قسمت عمده‌ای از فسفر تثبیت و به شکل‌های غیرمحلول و غیرقابل دسترس تبدیل می‌شود. باکتری‌های حل‌کننده‌فسفات می‌توانند فسفر خاک را به فرم قابل دسترس تبدیل و رشد و عناصر غذایی گیاه را افزایش دهند. هدف این تحقیق جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های حل‌کننده‌فسفر از ریزوسفر ذرت و سویا و ارزیابی اثر جدایه‌های منتخب بر روی شاخص‌های رشد و عناصر غذایی در ذرت بود. آزمایشات گلدانی به صورت کاملاً تصادفی با هشت تیمار و در چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل تلقیح باکتری یک (B1) و باکتری دو (B2)، TCP+B1، TCP+B2، تیمار بدون تلقیح با TCP، اکسین+ TCP، اکسین و شاهد بود.

۱۷۵ باکتری از ریزوسفر ذرت و سویا خالص شد. غربالگری اولیه براساس تشکیل هاله بر روی محیط NBRIP صورت گرفت، چهل جدایه برای بررسی آزادسازی فسفر از منابع تری‌کلسیم‌فسفات و آلومینیوم‌فسفات در محیط مایع انتخاب شدند. نتایج ما نشان داد جدایه‌ها فعالیت متفاوتی از لحاظ انحلال فسفر و اسیدی کردن محیط که با آزاد کردن فسفر از TCP مصادف می‌شود دارند. در صورتی که همبستگی بین آزادسازی فسفر از $AlPO_4$ و pH وجود نداشت. هشت جدایه بر اساس اطلاعات 16s rRNA شناسایی شدند. هفت جدایه انتروباکتر و یکی از آنها متعلق به گونه پانتوئیا شناسایی شدند. هر هشت جدایه توانایی تولید IAA را داشتند ولی هیچکدام از آنها HCN تولید نکردند.
دو جدایه انتروباکتر که توانایی متوسط و زیادی در آزادسازی فسفر در محیط مایع داشتند، با ذرت تلقیح کرده، این باکتری‌ها افزایش معنی‌داری در شاخص‌های رشد گیاهی (وزن خشک ساقه و ریشه، سطح برگ) و افزایش در مقدار کلروفیل، فسفر، نیتروژن و پتاسیم را نسبت به گیاه غیر تلقیح نشان دادند.
هر دو سویه پتانسیل خوبی در افزایش رشد و جذب عناصر غذایی در آزمایشات گلدانی نشان دادند، بررسی این جدایه‌ها در آزمایشات مزرعه‌ای نیز ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آزادسازی فسفر، IAA، تری‌کلسیم‌فسفات، انتروباکتر، ذرت

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه و کلیات ۱
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- اهداف و نحوه‌ی اجرای این طرح ۵
سابقه تحقیق ۷
۲-۱- فسفر ۸
۲-۲- فسفر در گیاهان ۹
۲-۳- جذب فسفر توسط گیاه ۱۰
۲-٤- مدیریت استفاده از فسفر ۱۰
۲-۵- باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) ۱۱
۲-٦- استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB) به منظور کشاورزی پایدار ۱۱
۲-۷- استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به عنوان محرک رشد گیاه ۱۲
۲-۸- مهمترین گروه‌های ریزموجودات حل‌کننده فسفات ۱۳
۲-۹- باکتری‌های حل‌کننده فسفات ۱۳
۲-۱۰- روش‌های انحلال فسفات ۱۷
۲-۱۱- روش‌های PGPR ی توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات ۲۰
۲-۱۲- تولید مواد افزایش دهنده رشد گیاهان و هورمون‌های گیاهی ۲۲
۲-۱۳- تثبیت نیتروژن ۲٤
۲-۱٤- کنترل بیولوژیک پاتوژن‌های گیاهی ۲۵
۲-۱۵- اثر ریزموجودات حل‌کننده فسفات بر عملکرد محصول ۲۷
مواد و روش‌ها ۳۱
۳-۱-۱- نمونه برداری خاک ۳۱

عنوان | صفحه

۳-۱-۲- جداسازی و خالص‌سازی ۳۱
۳-۱-۳- تست تشکیل هاله ۳۲
۳-۱-٤- توانایی انحلال فسفات‌معدنی نامحلول (تری‌کلسیم‌فسفات و آلومینیوم‌فسفات) ۳۳
۳-۱-۵- شناسایی جدایه‌ها ۳۳
۳-۱-٦- اثر سطوح مختلف تری‌کلسیم‌فسفات بر میزان آزاد سازی فسفات ۳٤
۳-۱-۷- اثر سطوح مختلف درصد تلقیح محیط پیش کشت بر آزادسازی فسفر ۳۵
۳-۱-۸- اثر منابع مختلف نیتروژن بر آزادسازی فسفر از تری‌کلسیم‌فسفات و آلومینیوم-
فسفات ۳۵
۳-۱-۹- اثر منابع مختلف کربن بر آزادسازی فسفر ۳۵
۳-۱-۱۰- اندازه‌گیری توانایی آزادسازی فسفر در محیط بافر ۳۵
۳-۱-۱۱- اندازه‌گیری آزادسازی فسفر در محیط اسپربر و پایکووسکی ۳٦
۳-۱-۱۲- اندازه‌گیری توان آزادسازی پتاسیم از کانی مسکوویت ۳۷
۳-۱-۱۳- اندازه‌گیری توان کمی تولید اکسین (IAA) ۳۷
۳-۱-۱٤- اندازه‌گیری سطوح مختلف تریپتون بر تولید اکسین ۳۸
۳-۱-۱۵- اندازه‌گیری توان تولید سیانیدهیدروژن ۳۹
۳-۱-۱٦- توانایی تولید آنزیم α- آمیلاز ۳۹
۳-۱-۱۷- توانایی تولید پروتئاز ۳۹
۳-۱-۱۸- توانایی تولید سلولاز ٤۰
۳-۱-۱۹- بررسی توانایی کنترل بیولوژیک ٤۰
۳-۲-۱- کشت گلدانی ٤۰
۳-۲-۲- آماده کردن خاک مناسب ٤۱
۳-۲-۳- تلقیح کردن بذر ٤۱
۳-۲-٤- طرح آماری و اجرای آزمایش ٤۲
۳-۲-۵- عملیات کاشت، داشت و برداشت ٤۳

عنوان | صفحه

۳-۲-٦- اندازه‌گیری صفات مورد بررسی..... ٤٣
۳-۲-۷- اندازه‌گیری مقدار کلروفیل..... ٤٤
٤- نتایج و بحث ٤٧
٤-۱- جداسازی و خالص‌سازی ٤٧
٤-۲- تست هاله ٤٨
٤-۳- توانایی انحلال فسفات‌معدنی نامحلول (تری‌کلسیم‌فسفات)..... ٥١
٤-٤ - توانایی انحلال فسفات‌معدنی نامحلول (آلومینیوم‌فسفات) ٥٦
٤-٥- شناسایی جدایه‌ها ٥٨
٤-٦- اثر سطوح مختلف تری‌کلسیم‌فسفات بر میزان آزادسازی فسفر ٥٩
٤-۷- اثر سطوح مختلف درصد تلقیح محیط پیش کشت بر آزادسازی فسفر..... ٦٠
٤-۸- اثر منابع مختلف نیتروژن بر آزادسازی فسفر از تری‌کلسیم‌فسفات..... ٦٠
٤-۹- اثر منابع مختلف نیتروژنی بر روی pH..... ٦٢
٤-۱۰- اثر منابع مختلف نیتروژن بر آزادسازی فسفر از آلومینیوم‌فسفات..... ٦٤
٤-۱۱- اثر منابع مختلف کربن بر آزادسازی فسفر..... ٦٥
٤-۱۲- توانایی آزادسازی فسفر در محیط بافر..... ٦٦
٤-۱۳- تغییرات pH در شرایط بافر..... ٦٨
٤-۱٤- آزادسازی فسفر در محیط اسپربر و پایکووسکی..... ۷۰
٤-۱٥- تغییرات pH در محیط‌های کشت مختلف..... ۷۱
٤-۱٦- توان آزادسازی پتاسیم از کانی مسکوویت..... ۷۲
٤-۱۷- توان کمی تولید اکسین (IAA) ۷٤
٤-۱۸- اثر سطوح مختلف تریپتون بر تولید اکسین..... ۷٥
٤-۱۹- توان تولید سیانید هیدروژن..... ۷٦
٤-۲۰- توانایی تولید α- آمیلاز و پروتئاز..... ۷۷
٤-۲۱- توانایی تولید سلولاز..... ۷۸
٤-۲۲- کنترل بیولوژیک..... ۸۰

عنوان | صفحه

٤-٢٣- جدایه‌های انتخابی برای آزمایشات گلدانی ٨٢
٤-٢٤- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه..... ٨٣
٤-٢٥- بررسی اثر باکتری‌ها بر گیاه..... ٨٣
٤-٢٦- اثر تیمارها بر وزن خشک اندام هوایی..... ٨٤
٤-٢٧- اثر تیمارها بر وزن خشک ریشه..... ٨٥
٤-٢٨- اثر باکتری‌ها بر سطح برگ گیاه ذرت..... ٨٧
٤-٢٩- اثر تیمارها بر غلظت فسفر ریشه ذرت..... ٨٩
٤-٣٠- اثر تیمارها بر غلظت نیتروژن ریشه ذرت..... ٩٠
٤-٣١- اثر تیمارها بر غلظت پتاسیم ریشه ذرت..... ٩١
٤-٣٢- اثر تیمارها بر غلظت فسفر اندام هوایی ذرت..... ٩٣
٤-٣٣- ا اثر تیمارها بر غلظت نیتروژن اندام هوایی ذرت..... ٩٤
٤-٣٤- اثر تیمارها بر غلظت پتاسیم اندام هوایی ذرت..... ٩٥
٤-٣٥- اثر تیمارها بر مقدار کلروفیل برگ ذرت..... ٩٧
٤-٣٦- نتیجه‌گیری ٩٩
٤-٣٧- پیشنهادات..... ١٠٠
منابع ١٠٢

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول ۳-۱- ترکیبات محیط کشت NBRIP..... ۳۲
جدول ۳-۲- ترکیبات محیط اسپربر..... ۳۶
جدول ۳-۳- ترکیبات محیط پایکووسکی..... ۳۶
جدول ۳-٤- ترکیبات محیط الکساندرف..... ۳۷
جدول ۳-٥- ترکیبات محیط LB..... ۳۸
جدول ۳-٦- تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش..... ٤۲
جدول٤-۱- نسبت قطر هاله به کلنی جدایه‌ها..... ٥۰
جدول٤-۲- آزادسازی فسفر توسط جدایه‌های مختلف در زمان‌های مختلف..... ٥۲
جدول٤-۳- آزادسازی فسفر و تغییرات pH در محیط حاوی آلومینیوم‌فسفات توسط جدایه‌های مختلف..... ٥۷
جدول ٤-٤- میزان تشابه جدایه‌های به دست آمده با باکتری‌های ثبت شده بر اساس ترادف نوکلئوتیدهای ژن 16S rRNA در ژنوم ٥۸
جدول ٤-٥- اثر سطوح مختلف تری‌کلسیم‌فسفات بر میزان آزادسازی فسفر توسط جدایه‌های منتخب..... ٥۹
جدول ٤-٦- اسیدهای آلی مترشحه توسط ریزموجودات مختلف..... ٦۷
جدول ٤-۷- آزادسازی پتاسیم در زمان‌های مختلف توسط هشت جدایه انتخابی در محیط الکساندروف..... ۷۲
جدول ٤-۸- تولید اکسین در زمان‌های مختلف توسط تمامی جدایه‌ها به روش اسپکتروفتومتری..... ۷٤
جدول ٤-۹- توانایی تولید آنزیم‌های مختلف توسط ۱٦ جدایه انتخابی..... ۷۹
جدول ٤-۱۰- خصوصیات جدایه‌های انتخابی..... ۸۲
جدول ٤-۱۱- خصوصیات خاک مورد مطالعه..... ۸۳

عنوان صفحه

جدول ٤-١٢- جدول تجزیه واریانس خصوصیات ظاهری.....۸۳
جدول ٤-١٣- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت عناصر ریشه ذرت.....۸۸
جدول ٤-١٤- تجزیه واریانس اثر تیمارها روی غلظت عناصر در اندام هوایی و میزان کلروفیل.....۹۲

فهرست شکل‌ها

عنوان | صفحه

شکل۲-۱- تشکیل هاله اطراف کلنی ۱٦
شکل ۲-۲- روش‌های انحلال فسفر توسط باکتری..... ۱۹
شکل ۲-۳- روش‌های درگیر در فرآیندهای PGPR توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات..... ۲۲
شکل٤-۱- جداسازی باکتری‌های ریزوسفری قابل کشت با استفاده از محیط نوترینت آگار..... ٤۷
شکل٤-۲- تست اولیه تشکیل هاله در جدایه‌های خالص سازی از ریزوسفر سویا و ذرت..... ٤۹
شکل٤-۳- سنجش میزان آزادسازی فسفر بر اساس اسپکتروفتومتری به روش آمونیوم وانادات..... ٥٤
شکل٤-٤- تغییر پی اچ و مقدار حداکثر فسفر آزاد شده در جدایه‌های مختلف ٥٥
شکل٤-٥- اثر سطوح مختلف تلقیح بر آزادسازی فسفر از منبع تری‌کلسیم‌فسفات ٦۰
شکل٤-٦- اثر منبع مختلف نیتروژنی بر آزادسازی فسفر در محیط NBRIP..... ٦۲
شکل ٤-۷- اثر منابع مختلف نیتروژنی بر pH توسط جدایه های مختلف در محیط NBRIP..... ٦۳
شکل ٤-۸- اثر منابع مختلف نیتروژن بر آزادسازی فسفر از منبع آلومینیوم‌فسفات..... ٦٤
شکل٤-۹- اثر منابع مختلف کربن بر آزادسازی فسفر توسط هفت جدایه انتخابی ٦٦
شکل٤-۱۰- آزادسازی فسفر در محیط بافر در محیط حاوی آمونیوم‌سولفات..... ٦۷
شکل٤-۱۱- آزادسازی فسفر در محیط بافر در محیط حاوی سدیم‌نیترات..... ٦۸
شکل ٤-۱۲- تغییرات pH در محیط بافر حاوی آمونیوم‌سولفات..... ٦۹
شکل ٤-۱۳- تغییرات pH در محیط بافر حاوی سدیم‌نیترات..... ٦۹
شکل ٤-۱٤- انحلال فسفر در محیط‌های مختلف توسط جدایه‌های منتخب..... ۷۰
شکل ٤-۱٥- تغییرات pH در محیط متفاوت توسط جدایه‌های منتخب..... ۷۱
شکل ٤-۱٦- آزاد سازی پتاسیم و تغییرات pH توسط جدایه‌های منتخب..... ۷۳
شکل ٤-۱۷- تولید اکسین در سه سطح مختلف تریپتوفان..... ۷٦
شکل ٤-۱۸- توانایی تولید آنزیم آمیلاز..... ۷۸
شکل ٤-۱۹- تولید هاله شفاف اطراف کلنی ۱٥٦ و ۱۳۰..... ۷۸
شکل ٤ -۲۰- کلنی فاقد توانایی تولید هاله..... ۷۹

عنوان | صفحه

شکل ٤-٢١- تشکیل هاله در اطراف کلنی..... ٧٩
شکل ٤-٢٢- کنترل قارچ ماکروفومینا توسط ١٥٦..... ٨١
شکل٤-٢٣- کنترل بیولوژیک قارچ فوزاریوم توسط جدایه ١٢٢..... ٨٢
شکل٤-٢٤ – رشد قارچ و باکتری بر روی یکدیگر..... ٨٢
شکل ٤-٢٥- گیاهان کشت شده..... ٨٤
شکل ٤-٢٦- اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت..... ٨٥
شکل٤-٢٧- اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشه گیاه ذرت..... ٨٦
شکل ٤-٢٨- اثر تیمارها بر سطح برگ تولید شده ذرت..... ٨٨
شکل ٤-٢٩- اثر تیمارها بر ٪ غلظت فسفر ریشه ذرت..... ٩٠
شکل ٤-٣٠- اثر تیمارها بر ٪ غلظت نیتروژن ریشه ذرت..... ٩١
شکل ٤-٣١- اثر تیمارها بر ٪ غلظت پتاسیم ریشه ذرت..... ٩٢
شکل ٤-٣٢- اثر تیمارها بر ٪ غلظت فسفر اندام هوایی ذرت..... ٩٤
شکل ٤-٣٣- اثر تیمارها بر ٪ غلظت نیتروژن اندام هوایی ذرت..... ٩٥
شکل ٤-٣٤- اثر تیمارها بر ٪ غلظت پتاسیم اندام هوایی ذرت..... ٩٧
شکل ٤-٣٥- اثر تیمارها بر میزان کلروفیل در برگ ذرت..... ٩٨

فصل اول

مقدمه و کلیات

فصل اول

۱-۱- مقدمه

مطابق پیش‌بینی‌های به عمل آمده جمعیت جهان در سال ۲۰۳۰ میلادی به بیش از ۹ میلیارد نفر می‌رسد. با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و در نتیجه استفاده بیشتر از منابع طبیعی و همچنین استفاده بیش از حد توان از زمین‌های کشاورزی، باعث بروز مشکلات فراوان زیست محیطی شده است. در حال حاضر علاوه بر تخریب ۱۰ درصد از اراضی بالقوه زمین، ۲۵ درصد از اراضی کشاورزی در معرض نابودی قرار خواهد گرفت. با بررسی سه دهه گذشته توسط سازمان خوار و بار جهانی و تصویر چشم انداز کشاورزی جهان در سال های ۲۰۱۵ و ۲۰۳۰ که انقلاب سبز و تحولات آن در تولیدات جهانی غذا را مورد بررسی قرار داده، بیان کننده آن است که از تمام منابع برای تولید غذای مورد نیاز جمعیت در حال افزایش استفاده شده است و در دهه‌های آینده همچنان با جمعیت رو به رشد و نیاز غذایی بیشتری مواجه هستیم اما منابع موجود برای تامین این تقاضا بسیار محدود است. این بدان معناست که پاسخ به این تقاضا در دهه‌های آینده از طریق افزایش سطح زیر کشت به سختی امکان پذیر است و باید بر افزایش تولید در واحد سطح تاکید کرد. در خصوص افزایش تولید در واحد سطح، حاصلخیزی پایدار خاک به عنوان عاملی کلیدی به شمار می‌آید و در آن کود نقشی اساسی دارد. با توجه به سابقه طولانی ایران در انجام فعالیت‌های کشاورزی، به طورطبیعی و تجربی به زیرکشت برده شده و در سال‌های اخیر تنها مقدار کمی افزایش سطح زیرکشت اتفاق افتاده که مربوط

به زمین‌های دارای محدودیت (زمین‌های سنگلاخی، شور و ...) بوده است. از طرف دیگر، قرار گرفتن کشور در کمربند خشک و نیمه‌خشک جهان نشان‌دهنده دومطلب است. اول اینکه، از این پس امکان کشت برای زمین‌های جدید به سادگی وجود ندارد؛ دوم اینکه، برای زمین‌های در حال کشت نیز با کمبود آب مواجه هستیم. با توجه به مطالب ذکر شده مشخص می‌شود احتمال افزایش سطح زیر کشت پایین است و حداکثر تلاش باید روی افزایش تولید در واحد سطح تمرکز یابد. بنا به گزارش سازمان خواروبار و کشاورزی جهانی، بین ۳۳ تا ٦۰ درصد افزایش تولیدات کشاورزی در جهان در چند دهه گذشته مرهون مصرف کودهای شیمیایی بوده است. از این رو، مصرف بهینه کود، مؤثرترین، سهل‌الوصول‌ترین و اقتصادی‌ترین راه تحقق طرح افزایش عملکرد هکتاری محصولات کشاورزی و پایداری در تولید است. از طرف دیگر توجه به اثرات سوء کودهای شیمیایی بویژه ترکیبات نیتروژنه و فسفاته بر محیط زیست و سلامت انسان و همچنین جنبه‌های اقتصادی تولید و مصرف کود باعث شده کشورهای صنعتی در این خصوص اقدام جدی بعمل آورند.

مصرف سالانه کود فسفره در جهان حدود از ۳۳ میلیون تن کود در سال ۲۰۰۲ به ٤۲/۲ میلیون تن در سال ۲۰۱۲ رسیده. درصد رشد سالانه مصرف جهانی کود فسفره ۲/۸ درصد است رشد بیشتری را در مقایسه با نیتروژن و پتاسیم دارد. بین کشورهایی که در خاورمیانه قرار دارند ایران بیشترین مصرف کود فسفره را داراست (فائو[1]). بیشتر از ۸۰ % کود فسفره مصرفی به دلیل جذب سطحی، رسوب و تبدیل به شکل آلی هدر می‌رود و غیرقابل استفاده می‌شود (هالفورد ۱۹۹۱). فسفری که به عنوان کود شیمیایی فسفره به کار می‌رود باعث مشکلات اقتصادی و محیطی می‌شود، تولید کود شیمیایی فسفره بسیار گران و هزینه بر می‌باشد (شارپلی ۱۹۸۵).

طبیعت خاک‌های کربناتی که بخش عمده‌ای از اراضی زراعی و باغی کشورمان را نیز شامل می‌گردد باعث شده تا استفاده از کودهای شیمیایی فسفره از کارایی کمی در اینگونه اراضی برخوردار بوده و بدین دلیل کشاورزان برای حصول نتیجه مورد نظر هر ساله مقادیر از این نهاده شیمیایی را به اراضی

[1] FAO

زیر کشت اضافه نمایند محدودیت منابع فسفر در دنیا و قیمت روز افزون کودهای فسفره واردات آنها را به کشور با مشکل روبرو ساخته و مصرف بی‌رویه آنها در کشور آلودگی‌های زیست محیطی را بدنبال داشته است. چنانچه بتوان فسفر تجمع یافته در خاک را به فرم قابل استفاده گیاه تبدیل نمود می‌توان ضمن کاهش مصرف کودهای فسفره رشد و عملکرد مناسب گیاهان را نیز تضمین نمود. گروهی از ریزموجودات خاکزی اعم از قارچ‌ها و باکتری‌ها این توانایی را دارند که با استفاده از روش‌های ویژه‌ای در خاک اطراف ریشه گیاهان، فسفر را از فاز تثبیت شده خارج نمایند. جداسازی، شناسایی و تکثیر این ریزموجودات اساس و پایه تولید نوع جدیدی از کودهای زیستی به نام کودهای بیولوژیک فسفاتی را تشکیل داده است. در کشورهای توسعه یافته هم اکنون این نوع فرآورده‌های زیستی از فرم تک کاربردی خارج شده و فرمولاسیون‌های جدید حاوی چند نوع ریزموجودات متفاوت با کاربردهای مختلف از جمله تامین عناصر مورد نیاز گیاه بویژه فسفر و افزایش مقاومت گیاه میزبان به انواع تنش‌های زنده و غیرزنده می‌باشد. سابقه استفاده از این نوع فرآورده‌های زیستی در کشور به یک دهه قبل برمی‌گردد. انواعی از ریزموجودات بکار گرفته شده در کشور شامل ریزموجودات اکسیدکننده گوگرد، حل‌کننده فسفات و قارچ‌های میکوریزی بوده‌اند. نتایج تحقیقات صورت گرفته در ارتباط با این نوع نهاده‌های زیستی نشان داده است که دامنه تاثیر آنها بسته به نوع گیاه میزبان و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک متفاوت بوده وکاربرد آنها توانسته است ۲۵٪ تا ۵۰٪ از نیاز فسفره گیاه میزبان را تامین نمایند. حرکت به سمت استفاده از تکنولوژی‌های مدرن برای تولید این ریزموجودات و استفاده از روش‌های جدید می‌تواند ضمن افزایش زمینه کاربرد این ترکیبات زیستی در کشور زمینه مناسبی را برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفره فراهم آورد.

پس با توجه به محدودیت‌هایی که برای افزایش استفاده از کود فسفره وجود دارد (تثبیت سریع فسفر در داخل خاک، محدودیت منابع اولیه برای تولید کود فسفره، آلودگی زیست محیطی و .....)، نیاز مبرم به درک بهتر چرخه فسفر گیاه -خاک -میکروب را با هدف کاهش اتکاء به کودها، کاملاً مشخص نموده و باید به دنبال راه‌های جدیدی برای تامین و جایگزینی کودهای شمیایی بود. پیش‌بینی‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که منابع سنگ‌فسفات با کیفیت، با فرض مصرف کنونی جهت تولید کود

شیمیایی فسفاته، تا سال ۲۱۰۰ به پایان خواهد رسید (ون وورن و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین یافتن راه حلی که بتوان از سویی ضمن تامین فسفر مورد نیار گیاه، سیاست‌های مربوط به استفاده حداقل از نهاده‌های شیمیایی را نیز دربر داشته باشد، ضروری است.

یکی از این راه‌ها استقاده از ریزموجودات خاکزی می‌باشد باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB) نقش مهم و اساسی در تبدیل فسفر از شکل نامحلول به شکل محلول و قابل استفاده برای گیاه ایفا می‌کنند، می‌توان از آنها به عنوان کود زیستی استفاده نمود.

نخستین کود زیستی در اواخر قرن بیستم مورد استفاده قرار گرفت و از آن به بعد سایر کودها ساخته شد. ریزموجوداتی که در تولید کودهای بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند، عمدتا از محیط زیست جدا می‌شوند و در شرایط آزمایشگاهی رشد، تکثیر وآماده مصرف می‌شوند. با توجه به سازگاری ریزموجودات خاص با شرایط خاص و بومی هر منطقه، احتمالا استفاده از باکتری‌های غیربومی برای تولید کودهای زیستی مناسب و مفید نخواهد بود.

۱-۲- اهداف و نحوه اجرای این تحقیق

۱- جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های برتر در انحلال تری‌کلسیم فسفات

۲- بررسی میزان انحلال فسفات در منابع تری‌کلسیم‌فسفات و آلومینیوم‌فسفات در محیط مایع

۳- تعیین میزان اثر بخشی تلقیح جدایه برتر حاصل از آزمایشات بالا بر میزان جذب فسفر در ذرت

٤- اندازه‌گیری برخی مولفه‌های محرک رشد گیاه توسط جدایه‌های خالص‌سازی شده شامل:

الف- ارزیابی توان تولید ایندول‌استیک‌اسید

ب- ارزیابی توان تولید هیدروژن‌سیانید

ج- بررسی اثر تلقیح جدایه‌های منتخب روی شاخص‌های رشد و جذب فسفر توسط ذرت