فصل اول-مقدمه

کودهای زیستی یکی از مهم ترین اجزاء کشاورزی آلی (Organic farming) و پایدار (Sustainable Agriculture) محسوب می شوندکه استفاده صحیح از آنها می تواند ضمن افزایش عملکرد کمی و کیفی محصولات کشاورزی و کاهش مصرف بعضی از انواع کودهای شیمیایی، حفظ محیط زیست را نیز به دنبال داشته باشد. خوشبختانه دانش کشاورزان در خصوص مزایای استفاده از اینگونه کودها نیز به شدت رو به گسترش است. با این وجود باید به خاطر داشت که تداوم استقبال کشاورزان از کودهای مذکور بستگی به کیفیت آنها دارد. این در حالی است که چون کشاورزان در هنگام خرید و یا حتی استفاده از کودهای فوق قادر به بررسی کیفیت آنها نمی باشند، تعداد محدودی از تولید کنندگان نیز، برنامه های داخلی کنترل کیفی محصولات خود را به بوته فراموشی سپرده‌اند. اطمینان از اثر بخشی هر محصول، اولین حق هر مصرف کننده است که می بایستی از طریق سازمان ها و یا وزارتخانه های ذیربط تضمین گردد. با پرداخت هرگونه تسهیلات دولتی به واحدهای تولید کننده، اهمیت کنترل کیفی و اطمینان از کارایی محصول نیز دو چندان می شود.کودهای زیستی نیز از این امر مستثنی نبوده و اطمینان از کیفیت اینگونه کودها، اولین حق هر کشاورز است که می بایستی از سوی وزارت جهاد کشاورزی تضمین گردد. با رشد صنعت تولید کودهای زیستی در ایران و همچنین رویکرد جدید دولت در برنامه پنجم توسعه کشور در خصوص مصرف گسترده اینگونه کودها، ضرورت داشت تا دستورالعمل فنی برای ارزیابی کودهای زیستی در ایران تدوین گردد.

در این راستا در سال 1386، بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب مامور تدوین دستورالعمل مذکور شد. در مرحله اول، بررسی منابع بسیار گسترده ای صورت گرفت. این بررسی شامل کلیه منابع داخلی و خارجی مرتبط اعم از کتب، مقالات، پایان نامه ها، مکاتبه با اساتید مشهور بین المللی، استانداردها، دستورالعملها، قوانین و بررسی نحوه

عملکرد سازمان‌های خارجی (چون Canadian Food Inspection Agency, CFIA در کانادا) با این موضوع بود.

پس از بررسی منابع مشخص شد که :

1-دستورالعمل و یا آئین نامه (Regulation) کنترل کیفی از کشوری به کشور دیگر متفاوت بوده و یک مجموعه استانداردهای بین المللی وجود ندارد.

2-فقط در کشورهای برزیل، کانادا، فرانسه و اروگوئه است که اعتبار آئین‌نامه یا دستورالعمل‌های فوق پشتوانه قانونی دارد.

3-کشورهای استرالیا، آفریقای جنوبی و نیوزلند ازنوعی برنامه‌های کنترل کیفی برخوردار بودند که حضور کارخانجات در این برنامه‌ها، داوطلبانه بود.

4-در بسیاری از کشورها از جمله آمریکا، انگلستان و هند، استاندارهای کیفیت محصول، به کارخانجات تولیدکننده واگذار گردیده است.

5- هر کشوری بر اساس یافته های تحقیقاتی، تجارب، شرایط و امکانات خود، استانداردها و برنامه های کنترل کیفی اش را تدوین کرده است.

در مرحله دوم کلیه مطالب با تاکید و الگوبرداری از CFIA در قالب پیش نویس اول دستورالعمل تهیه و سپس از متخصصین بیولوژی خاک بخش نظر خواهی شد. در مرحله سوم مطالب با حضور تعداد زیادی از همکاران متخصص حاصلخیزی خاک به بحث و تبادل نظر گذاشته شد. پس از اجماع کلی، دستورالعمل در هفتمین جلسه شورای تحقیقات موسسه تحقیقات خاک و آب مورخ 1387/4/16 به تصویب رسید. پس از یک دوره آزمون عملی دستورالعمل مورد بازنگری قرار گرفت و مجدد در هجدهمین جلسه شورای تحقیقات موسسه در مورخ16 /1390/11 تایید شد.

در مجموع سعی گردید تا دستورالعمل از چارچوب علمی، جامع و قابل قبولی برخوردار بوده و مشوق و حمایت کننده بخش خصوصی برای فعالیت هر چه بیشتر در این زمینه باشد. از طرفی حافظ کیفیت کود و منافع مصرف کننده نیز باشد.

بی تردید بدون کمک و مساعدت های دلسوزانه همکاران گرامی‌ام در بخش تحقیقات بیولوژی خاک، بخش شیمی، حاصلخیزی و تغذیه گیاه و بخش آزمایشگاه ها تدوین چنین دستورالعملی ممکن نبود. لذا از کلیه زحمات این عزیزان تشکر و قدردانی می نمایم. به هر حال این دستورالعمل عاری از اشکال نبوده و از کلیه خوانندگان گرامی تقاضا دارم تا ما را از نظرات ارزشمندشان محروم نفرمایند.

کاظم خاوازی

فصل دوم-تعاریف

2-1- کود زیستی (Biofertilizer؛ Biological fertilizer): ماده‌ای است جامد، مایع یا نیمه جامد که حاوی تعداد مکفی از یک یا چند میکروارگانیسم مفید ویا متابولیت های آنها بوده و قادر به انجام حداقل یکی از کارهای زیر باشد:

الف – بخشی از نیازهای غذایی گیاه به یک و یا چند عنصر را تامین کند.

ب- تحمل گیاه را در مقابل یک و یا چند تنش غیر زنده (مانند خشکی، شوری، گرما، آلودگی، سرما زدگی و ...) افزایش دهد.

ج – منجر به افزایش عملکرد کمی و یا کیفی گیاه شود.

2-2- مایه تلقیح میکروبی (Microbial inoculant): کود بیولوژیکی است که متناسب با هدف به صورت بذر مال، تلقیح قطعات بذری، نشاء، کودآبیاری، مصرف خاکی وبرگ‌پاشی در گلخانه، مزرعه و یا خزانه استفاده می‌شود. مایه تلقیح‌های ریزوبیومی از نمونه‌های بارز آن می‌باشند.

2-3- مایه تلقیح ریزوبیومی (Rhizobial inoculant): کود بیولوژیکی است حاوی یک یا چند باکتری ریزوبیومی (مانند *Rhizobium*، *Bradyrhizobium*) که به تنهایی و یا به همراه سایر باکتری های کمکی (Helper bacteria) متناسب با گیاه لگوم میزبان به صورت بذرمال و یا مصرف خاکی استفاده می‌شود تا به همراه نیتروژن شروع‌کننده و یا به تنهایی همه و یا بخش قابل ملاحظه‌ای از نیتروژن مورد نیاز گیاه را تامین نماید.

2-4- مایه تلقیح محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Inoculant): کود بیولوژیکی است از انواع مایه تلقیح های میکروبی، حاوی یک یا چند میکروارگانیسم محرک رشد گیاه که قادرند با استفاده از یک مکانیسم مستقیم (مانند تولید هورمون‌های گیاهی و یا حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول و ...) و یا غیر مستقیم (کنترل یک عامل بیماری‌زای گیاهی مانند تولید آنتی‌بیوتیک، سیانید ئیدروژن و ...) رشد گیاه را افزایش دهند.

2-5- مایه تلقیح عنصری (Supplementary nutrient inoculant): کود زیستی است حاوی میکروارگانیسم‌های آزادکننده، حل‌کننده و اکسیدکننده (به ترتیب از اشکال تثبیت شده و فرم‌های نامحلول و گوگرد عنصری اضافه شده به خاک) عناصر غذایی که به منظور تامین بخشی از نیازهای گیاه به این عناصر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

2-6- مایه تلقیح میکوریزی (Mycorrhizal inoculant): کود زیستی است حاوی قارچهای میکوریز اندو و یا اکتو که به منظور تامین بخشی از نیاز گیاه به فسفر، عناصر ریزمغذی و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زنده استفاده می‌شود.

2-7- کود میکروبی (Microbial fertilizer): کود بیولوژیکی است که با یک سری مواد (اعم از مواد معدنی، آلی، کود های شیمیایی و پرکننده ها) فرموله شده و معمولاً مقدار و نحوه مصرف آنها مشابه کود های شیمیایی می باشد. کود های میکروبی فسفاته گرانوله از نمونه های بارز آن می باشد.

2-8- کود میکروبی فسفاته (Phosphatic microbial fertilizer): کود بیولوژیکی است جامد و به شکل گرانوله و یا پودری، حاوی میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات که به منظور تامین بخش قابل ملاحظه‌ای از فسفر مورد نیاز گیاهان استفاده می‌شود.

2-9- کود میکروبی گوگردی (Sulphuric microbial fertilizer): کود بیولوژیکی است جامد و به شکل گرانوله و یا پودری، حاوی میکروارگانیسم‌های اکسیدکننده گوگرد عنصری که به منظور تامین بخشی از نیاز گیاه به فسفر، عناصر میکرو، سولفات و همچنین اصلاح خاک‌های سدیمی و شور سدیمی استفاده می‌شود.

2-10- کود میکروبی محرک رشد گیاه (Plant growth promoting microbial fertilizer): کود بیولوژیکی است از انواع کودهای میکروبی، حاوی یک یا چند میکروارگانیسم محرک رشد گیاه که قادرند با استفاده از یک مکانیسم مستقیم (مانند تولید هورمون‌های گیاهی و یا حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول و ...) و یا غیر مستقیم (کنترل یک عامل بیماری‌زای گیاهی مانند تولید آنتی‌بیوتیک، سیانید ئیدروژن و ...) رشد گیاه را افزایش دهند.

2-11- قارچ‌های میکوریزی اندو (Endomycorrhizal Fungi): قارچ‌های میکروسکوپی خاکزی متعلق به کلاس Glomeromycetes می‌باشند که با ریشه انواع گیاهان بازدانه، نهاندانه، سرخس‌ها و خزه‌ها رابطه همزیستی برقرار می‌نمایند.

2-12- قارچ‌های میکوریزی اکتو (Ectomycorrhizal Fungi): قارچ‌های میکروسکوپی خاکزی متعلق به کلاس‌های Basidiomycetes و Ascomycetes که با ریشه انواع گونه‌های درختی، درختچه‌ای و گاهی گیاهان علفی رابطه همزیستی برقرار می‌نمایند.

2-13- زادمایه (Propagule): هر واحد یاخته‌ای که توانایی تشکیل یک جاندار کامل را دارا است. در مورد قارچها، واحد ممکن است یک اسپور جدا، مجموعه‌ای از اسپورها، هیف یا بخشی از یک هیف و یا ریشه های حاوی وزیکول و یا هیف قارچ باشد.

2-14- اسپور فعال (Viable spore) : به انواعی از اسپور قارچ‌های میکوریزی اندو اتلاق می‌شود که پس از گذشت 40 ساعت در محلول MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2-5-diphenyl-2H tetrazolium bromide) به رنگ قرمز درآمده که نشان‌دهنده فعالیت فیزیولوژیکی اسپور می‌باشد.

2-15- خاک سدیمی (Sodic soil): خاک غیر شور دارای سدیم تبادلی در اندازه‌ای که بر تولید محصولات کشاورزی و ساختمان خاک در بیشتر وضعیت‌های خاک و نوع گیاه اثر نامطلوب داشته باشد. حد پایین SAR عصاره اشباع اینگونه خاکها به طور قراردادی 13 تعیین شده است.

2-16- کارآیی همزیستی (Symbiotic effectiveness; S. E.): منظور از کارایی همزیستی، ظرفیت همزیستی سویه‌های ریزوبیومی است که براساس نوع آزمایش گلخانه‌ای از طریق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$S.E.= \frac{\text{مقادیر ذیربط در گیاه شاهد - وزن خشک و یا نیتروژن جذب شده توسط گیاه تلقیح شده با باکتری}}{\text{مقدار ذیربط در گیاه شاهد - وزن خشک یا نیتروژن جذب شده توسط گیاه تیمار نیتروژنه}} *100$$

2-17- خاک شور– سدیمی (Saline-sodic soil): خاکی که در آن سدیم تبادلی به اندازه‌ای است که موجب اختلال در رشد اغلب گیاهان زراعی می‌شود، مقدار چشمگیری

نمک محلول نیز دارد. نسبت سدیم تبادلی بیشتر از 0/15، هدایت الکتریکی عصاره اشباع بیشتر از 4 دسی‌زیمنس بر متر (در 25 درجه سانتی‌گراد) و pH خمیر اشباع 8/5 یا کمتر است.

2-18- اثر بخشی(Effectiveness / Efficacy): به میزان تاثیر گذاری یک کود زیستی بر عملکرد کمی و یا کیفی گیاه و یا ویژگی های خاک مورد آزمایش، اثر بخشی اتلاق می شود.

فصل سوم-نحوه بررسی

گردش کار:

بر اساس ماده 2 آیین نامه اجرایی بند 2 ماده 61 قانون برنامه چهارم توسعه کشور، هیات نظارت بر تولید، توزیع، مصرف و واردات کود در وزارت جهاد کشاورزی متولی ساماندهی امور کود کشور بوده و به طور اختصار در این دستورالعمل واحد وزارتی نامیده شده است.

1- تقاضای بررسی هر نوع کود بیولوژیک بایستی طی نامه‌ای رسمی از سوی اشخاص حقیقی و یا حقوقی به واحد وزارتی ارسال شود.

2- واحد وزارتی تعداد 15 نمونه از کود بیولوژیک متقاضی را از خط تولید برداشت و به صورت پلمپ و با کُد محرمانه، برای اطمینان از عدم وجود هر گونه عامل بیماریزای انسانی به وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ارسال می‌نماید.

3- در صورتی که وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تأیید نمود که کود بیولوژیک متقاضی، حاوی هیچگونه عامل بیماریزای انسانی نیست، واحد وزارتی متقاضی را برای ادامه روند بررسی، تکمیل و ارسال فرم شماره یک راهنمایی خواهد کرد.

4- متقاضی فرم شماره یک را تکمیل و به همراه یک نامه رسمی مبنی بر تقاضای بررسی کود بیولوژیک خود به واحد وزارتی ارسال می‌نماید.

5- فرم شماره یک توسط واحد وزارتی بررسی و در صورت تطبیق داشتن نمونه متقاضی با تعریف کود بیولوژیک (قسمت تعاریف این دستورالعمل) به شرح زیر عمل خواهد شد:

5-1- به منظور بررسی و تائید صلاحیت شرکت متقاضی برای تولید کود زیستی مورد نظر، واحد وزارتی کار گروهی متشکل از متخصصین موسسه تحقیقات خاک و آب را به واحد تولیدی فوق اعزام خواهند نمود.شرکت متقاضی می بایستی علاوه بر جواز تاسیس و پروانه بهره برداری، پروانه ساخت کود زیستی مورد بررسی را نیز قبلا از مراجع قانونی ذیربط اخذ کرده باشد. پس از تأیید صلاحیت کارخانه نسبت به موار زیر اقدام خواهد شد.

5-2- در صورت وجود هر گونه ابهام، تکمیل نبودن فرم شماره یک (بالأخص در مورد سؤالات مهم و اساسی) و نداشتن مبانی علمی و یا منطقی در خصوص بعضی از سؤالات جواب داده شده از سوی متقاضی (موضوع فرم شماره یک)، واحد وزارتی با متقاضی مکاتبه نموده و خواستار پاسخ مناسب متقاضی به سؤالات و یا تکمیل فرم شماره یک به صورت علمی و منطقی خواهد شد. در صورتی که بعد از سه ماه از تاریخ مکاتبه واحد وزارتی با متقاضی، پاسخ نامه داده نشد، موضوع به منزله انصراف متقاضی از ادامه بررسی تلقی خواهد شد.

5-3- واحد وزارتی می‌تواند بنا به اظهارات متقاضی در فرم شماره یک، به دلایل علمی و منطقی، تقاضای متقاضی برای بررسی فرآورده خود را که عنوان نموده کود بیولوژیک است کان‌لم‌یکن تلقی کرده و مراتب را با دلیل به اطلاع متقاضی برساند.

5-4- در صورت تأیید فرم شماره یک از سوی واحد وزارتی، یک نسخه از کلیه مدارک به همراه نامه رسمی واحد وزارتی مبنی بر بررسی کود بیولوژیک متقاضی، به مؤسسه تحقیقات خاک و آب ارسال خواهد شد. مؤسسه پس از بررسی فرم و کلیه مدارک مربوطه متناسب با تعداد و نوع آزمایشات مربوط به تعیین تراکم جمعیت، تعداد نمونه‌های لازم و هزینه‌های مربوطه را به واحد وزارتی اعلام می‌نماید.

5-5- واحد وزارتی موظف است در هنگام ارسال مدارک به نحوی عمل نماید که هویت متقاضی برای مؤسسه تحقیقات خاک و آب مشخص نباشد.

5-6- بر اساس نامه مؤسسه، واحد وزارتی از خط تولید متقاضی نمونه‌ها را برداشت و به صورت پلمپ و با کُد محرمانه و به همراه اصل فیش واریزی (به حسابی که از سوی مؤسسه اعلام شده است) به مؤسسه تحقیقات خاک و آب ارسال می‌نماید.

5-7- مؤسسه تحقیقات خاک و آب در اولین قسمت از بررسی، با استفاده از محیط کشت(های) و یا روش(های) آزمایشگاهی مناسب، تراکم جمعیت میکروارگانیسم (های) مورد نظر را در ده نمونه از کود فوق تعیین می‌نماید.

ملاک پذیرش برای بررسی‌های بعدی، به ترتیب وجود حداقل 1×10^5(CFU/gr)در کودهای میکروبی، 1×10^7(CFU/ml) در مایه تلقیح های مایع، 5×10^7 (CFU/gr) در مایه تلقیح های پودری، 2×10^4(spore/cm^3) در قارچ های میکوریزی اکتو، 30 (propagule/cm^3) برای قارچ های میکوریز اندو، 1×10^5 (propagule/ cm^3) برای مایه تلقیح های قارچ های ساپروفیت مفید خاکزی و 1×10^4(propagule/gr) برای کود میکروبی قارچ های مفید خاکزی در میانگین ده نمونه مورد آزمایش می باشد. در خصوص کودهای زیستی که از چندین میکروارگانیسم مفید تشکیل شده باشند، ملاک ارزیابی میانگین تراکم جمعیت مجموع میکروارگانیسم های موجود در آن کود خواهد بود.

تقاضای بررسی کود بیولوژیک ..... (فرم شماره یک)

به : واحد وزارتی شماره :

از : خانم / آقای / شرکت ..... تاریخ :

موضوع: بررسی کود بیولوژیک ..... پیوست:

سلام علیکم، با احترام مستدعی است کود بیولوژیک .....، که مشخصات فنی آن به شرح زیر می‌باشد را از نظر

.....

.....

.....

بررسی و از نتیجه اینجانب / شرکت ..... را مطلع نمایید.

1- نام تجاری کود : .....

2- وضعیت فیزیکی: ☐ جامد ☐ پودری، ☐ گرانول با اندازه ..... میلی‌متر، ☐ مایع، ☐ ژل / نیمه جامد

3- مشخصات بسته‌بندی :

☐کیسه‌های پلاستیکی جنس ..... با ابعاد ..... و تعداد ☐ لایه ..... و وزن .....

☐ ظروف پلاستیکی جنس ..... با حجم(های) .....

☐ سایر موارد لازم .....

4- افزودنی‌های (غیر میکروارگانیسم) موجود در کود:

☐ ندارد ☐ دارد: هورمون‌های گیاهی به شرح ..... و غلظت‌ها ..... از منابع .....

☐ ندارد ☐ دارد: عناصر غذایی به شرح ..... و غلظت‌ها ..... از منابع .....

☐ ندارد ☐ دارد: عصاره‌های گیاهی یا سایر مواد طبیعی و یا مصنوعی و یا رنگ به شرح ..... و غلظت ..... از منابع .....

5- میکروارگانیسم(های) موثر موجود در کود (نام جنس، گونه، سویه):

.....

.....

6- ویژگی‌های تأثیرگذار میکروارگانیسم(های) موجود در کود:

.....

.....

7- تراکم جمعیت میکروارگانیسم(های) موثر موجود در کود (در زمان تولید):

.....

.....

8- نوع و تراکم جمعیت آلودگی میکروارگانیسم(های) موجود در کود (در زمان تولید و انقضاء):

.....

.....

9- نتایج عملی منتج از بکارگیری کود بیولوژیک ... (ادعاهای متقاضی):

.....

.....

(ادامه فرم شماره یک)

10- روش، زمان و مقدار مصرف کود:

.....

.....

11- مدت ماندگاری میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در کود و تراکم جمعیت آنها در تاریخ انقضاء و شرایط نگهداری آن در انبار:

.....

.....

12- نحوه تهیه میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در کود:

12-1- تهیه شده از کلکسیون یا بانک میکروبی ... (مستندات خرید ضمیمه شود).

.....

.....

12-2- جداسازی شده از مایه تلقیح‌ها یا کودهای بیولوژیک (تولید داخل یا خارج) با مشخصات زیر:

.....

.....

12-3- جداسازی شده از ☐ خاک غیرریزوسفری ☐ خاک ریزوسفری ☐ ریشه ☐ فیلوسفر ☐ سایر موارد شامل:

.....

12-4- از محققین خارجی و یا داخلی (مستندات ضمیمه شود).

.....

13- گیاهان هدف:

الف- گیاه ..... ☐ برای هر شرایطی

☐ برای شرایط با مشخصات زیر (بهترین شرایط برای حداکثر اثربخشی):

رقم : .....

اقلیم: .....

خاک: .....

سایر شرایط : .....

* در این قسمت می‌توان کلیه گیاهان مورد نظر با شرایط لازم برای تأیید را ذکر نمود.

سایر توضیحات لازم:

.....

.....

14- ظرفیت تولید سالیانه : .....

15- قیمت کود بیولوژیک ..... برای مصرف کننده : .....

16- آنالیز قیمت کود بیولوژیک :

ادامه دارد

(ادامه فرم شماره یک)

17- تعدادی از کودهای بیولوژیک مشابه کود بیولوژیک .....: ☐ ندارد ☐ دارد به شرح زیر:

کود بیولوژیک : ..... ، کشور ..... ، قیمت ..... به ازاء هر بسته / قوطی ..... گرمی / لیتری

نام شرکت تولید کننده: ..... آدرس الکترونیکی: .....

18- سابقه علمی کود بیولوژیک ..... در ایران و یا سایر کشورها:

.....

19- پروانه ساخت و بهره‌برداری:

☐ ندارد ☐ دارد با مشخصات زیر:

.....

.....

20- ترکیب مواد حامل مورد استفاده:

.....

21- آدرس:

آدرس دفتر مرکزی:

آدرس محل کارخانه:

تلفن دفتر مرکزی و کارخانه: ..... فاکس دفتر مرکزی و کارخانه .....

آدرس الکترونیکی: ..... پست الکترونیکی: .....

22- اینجانب ..... یک نسخه از دستورالعمل **« نحوه بررسی کودهای زیستی مؤسسه تحقیقات خاک و آب »** را تحویل گرفته و کلیه مفاد آن را قبول دارم. چنانچه کود بیولوژیک مورد تقاضای اینجانب به دلایل مطرح شده در این دستورالعمل مورد تأیید قرار نگرفت حق هیچگونه شکایت و یا اعتراضی نداشته و همچنین ادعای خسارت ضرر و زیان نیز نخواهم داشت.

23- اینجانب ..... تعهد می‌نمایم که کلیه موارد و سئوالات خواسته شده در این فرم را درست و صحیح تکمیل نموده در صورت احراز موارد کذب برای واحد وزارتی، هر گونه عوارض و ضرر و زیان‌های ناشی از آن و همچنین خسارات ناشی از مصرف کود بیولوژیک ..... را تقبل و جبران می‌نمایم.

24- اینجانب ..... تعهد می‌نمایم که در صورتی که به هر دلیلی واحد وزارتی تأییدیه صادر شده را لغو نمود، کلیه کودهای بیولوژیک ... موجود در بازار را جمع‌آوری کرده و نسبت به امحاء آنها اقدام نمایم.

نام و نام خانوادگی:

عنوان:

مهر و امضاء

در صورت نداشتن حداقل میکروارگانیسم لازم، نمونه ارسالی کود بیولوژیک تلقی نشده و موضوع به صورت کتبی به واحد وزارتی اعلام می‌گردد. واحد وزارتی موظف است گزارش را دقیقاً همانند گزارش مؤسسه تنظیم و به متقاضی اعلام نماید. نحوه مکاتبه به شرح فرم شماره 2 خواهد بود.

(فرم شماره دو)

به : واحد وزارتی شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب تاریخ :

موضوع: بررسی بخش میکروبی کود..... پیوست:

سلام علیکم، با احترام، بازگشت به نامه شماره ..... مورخ ..... و همچنین درخواست شماره ..... مورخ ..... (در قالب فرم شماره یک) کود ..... و براساس معیارهای **«دستورالعمل نحوه بررسی کودهای زیستی مؤسسه تحقیقات خاک و آب»** به لحاظ حداقل تراکم جمعیت لازم در بخش میکروبی بررسی که مورد تأیید قرار نگرفت، بخشی از نتایج به شرح زیر بود:

.....

.....

.....

.....

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

در صورت وجود حداقل میکروارگانیسم لازم، مؤسسه تحقیقات خاک و آب متناسب با حجم و تعداد آزمایشات و پارامترهای مورد اندازه‌گیری، هزینه آزمایشات مزرعه‌ای و یا آزمایشگاهی لازم و همچنین تعداد نمونه‌های لازم را به واحد وزارتی اعلام خواهد کرد.

(فرم شماره سه)

به : واحد وزارتی — شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب — تاریخ :

موضوع: بررسی بخش میکروبی کود..... — پیوست:

سلام علیکم، با احترام، بازگشت به نامه شماره ..... مورخ ..... و همچنین درخواست شماره ..... مورخ ..... (در قالب فرم شماره یک) کود بیولوژیک .....، به لحاظ وجود میکروارگانیسم‌های مفید مورد بررسی قرار گرفت و از تعداد مکفی میکرو ارگانیسم های مفید برخوردار بود.

این گزارش فقط مخصوص نمونه ارسالی بوده و مؤسسه تحقیقات خاک و آب هیچگونه مسئولیتی در قبال نمونه‌های دیگر کود بیولوژیک ..... و همچنین اثربخشی و اطلاع از توان ماندگاری میکروارگانیسم در کود بیولوژیک ندارد.

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

5-8- واحد وزارتی تعداد 10 نمونه از کود بیولوژیک متقاضی را از خط تولید برداشت و برای اطمینان از عدم وجود عوامل بیماریزای دام و گیاه به ترتیب به قرنطینه دامی (و یا سازمان دامپزشکی کشور) و سازمان حفظ نباتات ارسال می‌نماید.

5-9- در صورتی که واحدهای مذکور در بند 5-8 تأیید نمودند که کود بیولوژیک متقاضی حاوی هیچگونه عامل بیماریزای دام و گیاه نیست، بر اساس نامه مؤسسه، واحد وزارتی از خط تولید متقاضی ، تعداد و یا مقدار مناسبی (با نظر موسسه تحقیقات خاک و آب) نمونه‌ها را برداشت و به صورت پلمپ و با کُد محرمانه به همراه اصل فیش واریزی (به حسابی که از سوی مؤسسه اعلام شده است) به مؤسسه تحقیقات خاک و آب ارسال می‌نماید.

5-10- تاریخ تولید و انقضاء کود بیولوژیک متقاضی بایستی بر روی آن به وضوح حک شده باشد.

بطور کلی کودهای بیولوژیک به شرح زیر تقسیم‌بندی و مورد ارزیابی قرار می‌گیرند.

1- مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

برای بررسی اثربخشی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی، ابتدا نمونه ارسالی از نظر کارایی همزیستی (Symbiotic Effectiveness; S.E.) در شرایط گلخانه‌ای بررسی خواهد شد. این آزمایش در قالب یک طرح تصادفی در 4 تکرار و با 3 تیمار شامل

1) شاهد بدون تلقیح،

2) تیمار تلقیح با مایه تلقیح موردنظر و

3) تیمار کود نیتروژنی اجرا خواهد شد.

در صورتی که S.E. مایه تلقیح ریزوبیومی از 70 درصد کمتر باشد، کارایی مایه تلقیح فوق تأیید نشده و بررسی سایر مراحل امکان‌پذیر نخواهد بود. در این صورت مراتب کتباً به واحد وزارتی و آن واحد نیز موظف است عیناً به شرح گزارش مؤسسه، مراتب را به متقاضی اعلام نماید. نحوه مکاتبه به شرح فرم شماره چهار خواهد بود.

(فرم شماره چهار)

به : واحد وزارتی — شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب — تاریخ :

موضوع: بررسی اثربخشی کود بیولوژیک ..... — پیوست:

سلام علیکم، با احترام، بازگشت به نامه شماره ..... مورخ .....، کود بیولوژیک ..... به لحاظ اثربخشی مورد بررسی قرار گرفت که در اولین مرحله از ارزیابی به دلیل پایین بودن کارایی همزیستی آن، مورد تأیید قرار نگرفت و شرایط لازم برای ادامه بررسی‌ها را نداشت.

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

در صورتی که .S.E مایه تلقیح ریزوبیومی مساوی و یا بیش از 70 درصد بود، همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری باکتری در مایه تلقیح و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد.

در خصوص ماندگاری باکتری در مایه تلقیح، بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت باکتری تعیین خواهد شد. در خصوص مایه تلقیح‌های ریزوبیومی از دو روش شمارش کلونی (Plate count) با استفاده از محیط کشت YMA+CR (Yeast extract mannitol Agar + Congo red) و یا آزمون MPN-Plant Infection استفاده خواهد شد. در مورد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی با فرمولاسیون پودری بایستی تراکم جمعیت باکتری ریزوبیوم موردنظر، در دوره دو ماهه بعد از تولید از 5×10^7 (روش شمارش کلونی) و یا 5×10^5 (MPN) سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 5×10^6 (روش شمارش کلونی) و یا 5×10^4 (MPN) سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی با فرمولاسیون مایع بایستی تراکم جمعیت باکتری ریزوبیوم موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^7 (روش شمارش کلونی) و یا 1×10^5 (MPN) سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^6 (روش شمارش کلونی) یا 1×10^4 (MPN) سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی با فرمولاسیون گرانول بایستی تراکم جمعیت باکتری ریزوبیوم موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^6 (روش شمارش کلونی) یا 1×10^4 (MPN) سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^5 (روش شمارش کلونی) یا 1×10^3 (MPN) سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد.

بدیهی است اعداد مذکور مربوط به میانگین ده نمونه مورد آزمایش می باشد. در خصوص مایه تلقیح های ریزوبیومی حاوی باکتری های کمکی (Helper Bacteria)، ملاک ارزیابی فقط باکتری های ریزوبیومی خواهد بود.

در خصوص تراکم جمعیت آلودگی در مایه تلقیح‌های ریزوبیومی (اعم از هر نوع فرمولاسیون) نیز بایستی در فاصله دوره دو ماهه پس از تولید بر روی پلیت‌های رقت 10^{-5} محیط کشت GPA (Glucose Peptone Agar) آلودگی مشاهده نشود.

در صورتی که مایه تلقیح ریزوبیوم موردنظر ویژگی‌های مذکور را داشت از نظر توان نگهداری باکتری مورد تأیید می‌باشد.

اثربخشی مایه تلقیح نیز برای گیاه لگوم مناسب خود، به مدت یک سال در 10 مکان مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه موردنظر را پوشش دهد. این آزمایش شامل

1) تیمار شاهد بدون تلقیح و بدون مصرف کود شیمیایی نیتروژنی
2) تیمار کود شیمیایی نیتروژنی بر اساس آزمون خاک (شاهد مثبت)،
3) تیمار مایه تلقیح ریزوبیومی همراه کود شیمیایی نیتروژنی استارتر
4) تیمار کود شیمیایی نیتروژنی به میزان 50 درصد مقدار مصرف شده در تیمار اول خواهد بود که در قالب یک طرح بلوک کاملاً تصادفی و در 4 تکرار انجام خواهد شد.

ملاک قابل قبول بودن اثربخشی مایه تلقیح آن است که در حداقل 80 درصد از نقاط مورد آزمایش، به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری (تا سطح 10 درصد) بین عملکرد تیمار سوم و دوم و یا سوم و چهارم وجود نداشته باشد.

در صورت تأیید اثربخشی مایه تلقیح ریزوبیومی و همچنین توان ماندگاری باکتری در مایه تلقیح، مایه تلقیح تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد مایه تلقیح به واحد وزارتی کتباً و به شرح فرم شماره شش اعلام خواهد شد.

تأییدیه **(فرم شماره پنج)**

به : واحد وزارتی شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب تاریخ :

موضوع: بررسی اثربخشی کود بیولوژیک ..... پیوست:

و ماندگاری میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن

سلام علیکم، با احترام، بازگشت به نامه شماره ..... مورخ .....، کود بیولوژیک ..... به لحاظ اثربخشی و توان ماندگاری میکروارگانیسم مؤثر موجود در آن بررسی و به شرح زیر مورد تأیید قرار گرفت.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

توجه:

مدت اعتبار این تأییدیه تا دو سال پس از صدور آن خواهد بود.

صدور این تأییدیه به منزله تضمین خرید دولتی آن و یا پرداخت تسهیلاتی چون یارانه نمی‌باشد.

تولیدکننده کود بیولوژیک ... می‌تواند بر روی لیبل، بروشور و کاتالوگ‌های خود این جمله را ذکر کند که «این محصول دارای تأییدیه شماره ..... مورخ ..... واحد وزارتی بوده و برای ☐ زراعت / ☐ باغات ..... در سطح کشور قابل مصرف می‌باشد.».

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

(فرم شماره شش)

به : واحد وزارتی شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب تاریخ :

موضوع: بررسی اثر بخشی کود بیولوژیک ..... پیوست:

و توان ماندگاری میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن

سلام علیکم، بازگشت به نامه شماره .....مورخ .....،کود بیولوژیک ..... به لحاظ تراکم جمعیت میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن بررسی و مورد تأیید قرار نگرفت. خلاصه‌ای از نتایج به شرح زیر بود.

.....

.....

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

(فرم شماره هفت)

به : واحد وزارتی شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب تاریخ :

موضوع: بررسی اثر بخشی کود بیولوژیک ..... در استان ..... پیوست:

و توان ماندگاری میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن

سلام علیکم، بازگشت به نامه شماره .....مورخ .....،کود بیولوژیک ..... در استان ..... به لحاظ جمعیت میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن مورد بررسی و مورد تأیید قرار نگرفت. خلاصه‌ای از نتایج به شرح زیر بود.

.....

.....

.....

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

تأییدیه استانی **(فرم شماره هشت)**

به : واحد وزارتی شماره :

از : مؤسسه تحقیقات خاک و آب تاریخ :

موضوع: بررسی اثر بخشی کود بیولوژیک ..... در استان ..... پیوست:

و توان ماندگاری میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن

سلام علیکم، با احترام، بازگشت به نامه شماره ..... مورخ ..... کود بیولوژیک ..... در استان ..... به لحاظ اثر جمعیت میکروارگانیسم(های) مؤثر موجود در آن بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. توصیه کلی مؤسسه به شرح زیر است:

.....

.....

.....

توجه:

مدت اعتبار این تأییدیه تا دو سال پس از صدور و فقط مخصوص مصرف کود بیولوژیک ..... در استان ..... خواهد بود.

صدور این تأییدیه به منزله تضمین خرید دولتی آن و یا پرداخت تسهیلاتی چون یارانه نمی‌باشد.

تولیدکننده کود بیولوژیک ... می‌تواند بر روی لیبل، بروشور و کاتالوگ‌های کود مذکور این جمله را ذکر کند که «این محصول دارای تأییدیه شماره ..... مورخ ..... واحد وزارتی بوده و برای ☐ زراعت / ☐ باغات ..... در سطح استان ..... قابل مصرف می‌باشد.».

رئیس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

2- مایه تلقیح یا کود زیستی محرک رشد گیاه

برای تأیید مایه تلقیح یا کود زیستی محرک رشد گیاه همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری باکتری در مایه تلقیح و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد. در خصوص ماندگاری باکتری در مایه تلقیح، بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های مؤثر در مایه تلقیح تعیین خواهد شد. در خصوص مایه تلقیح‌های مذکور متناسب با نوع باکتری، محیط کشت(های) (انتخابی، نیمه

انتخابی و یا عمومی) تهیه و بر اساس شمارش کلونی، تراکم جمعیت باکتری‌ها تعیین خواهد شد. در مورد مایه تلقیح‌های محرک رشد گیاه با فرمولاسیون پودری بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 5×10^7 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 5×10^6 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های محرک رشد گیاه با فرمولاسیون مایع بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر، در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^7 سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^6 سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های محرک رشد گیاه با فرمولاسیون گرانول بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^6 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^5 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد.

بدیهی است اعداد مذکور مربوط به میانگین ده نمونه مورد آزمایش بوده و در خصوص مایه تلقیح های محرک رشد گیاه حاوی چند میکروارگانیسم مفید، ملاک ارزیابی میانگین تراکم جمعیت مجموع میکروارگانیسم های موجود در آن خواهد بود.

در صورتی که میکروارگانیسم مؤثر موجود در مایه تلقیح محرک رشد گیاه، قارچ بود آنگاه ملاک قابل قبول بودن توان ماندگاری میکروارگانیسم در مایه تلقیح آن است که به ترتیب در دوره دو ماهه و شش ماهه پس از تولید، تراکم جمعیت زاد مایه قارچ به ترتیب از 1×10^6 و 1×10^5 کمتر نباشد.

در صورتی که مایه تلقیح محرک رشد گیاه مذکور ویژگی‌های فوق را داشت، از نظر توان نگهداری میکروارگانیسم(های) هدف مورد تأیید می‌باشد.

اثربخشی مایه تلقیح‌های محرک رشد گیاه نیز برای هر گیاه هدف مورد ادعا به مدت یک سال در 10 مکان مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی

حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه مورد نظر را پوشش دهد. آزمایش شامل دو تیمار ذیل خواهد بود.

1- تلقیح با مایه تلقیح یا کود بیولوژیک محرک رشد گیاه

2- شاهد بدون تلقیح

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در 4 تکرار انجام خواهد شد. ملاک قبولی اثربخشی یک مایه تلقیح محرک رشد گیاه آن است که در حداقل 80 درصد از نقاط مورد آزمایش، عملکرد گیاه در تیمار مایه تلقیح نسبت به تیمار شاهد به لحاظ آماری افزایش معنی‌داری (تا سطح 10 درصد) داشته باشد. در صورت تأیید اثربخشی مایه تلقیح و پس از اطمینان از توانایی ماندگاری میکروارگانیسم(های) هدف در مایه تلقیح، آنگاه مایه تلقیح مورد آزمایش تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد مایه تلقیح به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق است.

3- مایه تلقیح‌های عنصری

برای تأیید مایه تلقیح‌های عنصری مانند انواع مایه تلقیح‌های فسفاتی حاوی میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات، مایه تلقیح‌های حاوی میکروارگانیسم‌های اکسیدکننده گوگرد و مایه تلقیح‌های حاوی میکروارگانیسم‌های حل‌کننده سیلیکات و انواع مشابه که مدعی تأمین بخشی از نیاز گیاه به یک عنصر معین می‌باشند؛ همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری باکتری در مایه تلقیح و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد.

در خصوص ماندگاری باکتری در مایه تلقیح، بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های مؤثر در مایه تلقیح تعیین خواهد شد. در خصوص مایه تلقیح‌های مذکور متناسب با نوع باکتری و صفت ادعا شده محیط

کشت(های) (انتخابی، نیمه انتخابی و یا عمومی) تهیه و بر اساس شمارش کلونی، تراکم جمعیت باکتری‌ها تعیین خواهد شد. در این قسمت، تراکم جمعیت میکروارگانیسم(های) هدف بر روی محیط با ویژگی‌های ادعا شده ملاک گزارش قرار خواهد گرفت. به عنوان مثال اگر مایه تلقیح فسفاتی وجود دارد که حاوی باکتری سودوموناس می‌باشد، ملاک گزارش تراکم جمعیت، عددی است که از کشت باکتری روی محیط اسپربر (Sperber) حاصل شده است. بنابراین تراکم جمعیت بر اساس محیط کشت(های) Nutrient Agar و KingB گزارش نمی‌شود چون ممکن است بسیاری از کلونی‌ها توانایی حل‌کنندگی فسفات را نداشته باشند. در مورد مایه تلقیح‌های عنصری با فرمولاسیون پودری بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 5×10^7 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 5×10^6 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های عنصری با فرمولاسیون مایع بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^7 سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^6 سلول به ازای هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بیشتر باشد. در مورد مایه تلقیح‌های عنصری با فرمولاسیون گرانول، بایستی تراکم جمعیت هر یک از باکتری‌های موردنظر در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^6 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^5 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بیشتر باشد.

در صورتی که میکروارگانیسم مؤثر موجود در مایه تلقیح عنصری، قارچ بود آنگاه ملاک قابل قبول بودن توان ماندگاری میکروارگانیسم در مایه تلقیح آن است که به ترتیب در دوره دو ماهه و شش ماهه پس از تولید، تراکم جمعیت زاد مایه قارچ به ترتیب از 1×10^6 و 1×10^5 کمتر نباشد.

در صورتی که مایه تلقیح عنصری مذکور ویژگی‌های فوق را داشت، از نظر توان نگهداری باکتری مورد تأیید می‌باشد.

بدیهی است اعداد مذکور مربوط به میانگین ده نمونه مورد آزمایش بوده و در خصوص مایه تلقیح های عنصری حاوی چند میکروارگانیسم مفید، ملاک ارزیابی میانگین تراکم جمعیت مجموع میکروارگانیسم های موجود در آن خواهد بود.

در خصوص اثربخشی مایه تلقیح‌های عنصری نیز تیمارها بر اساس ادعاهای متقاضی طراحی خواهد شد. در این خصوص خاکهایی برای آزمایش انتخاب خواهند شد که به لحاظ عناصر غذایی مذکور، غلظت آنها کمتر از حد بحرانی باشد (اعداد اعلام شده از سوی موسسه تحقیقات خاک و آب) اثربخشی مایه تلقیح فوق به مدت یک سال در 10 مکان و با استفاده از گیاه شاخص برای عنصر موردنظر، مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه موردنظر را پوشش دهد. آزمایش شامل

1) تیمار کود شیمیایی مناسب، براساس آزمون خاک (شاهد مثبت)،

2) تیمار استفاده از مایه تلقیح و مصرف کود شیمیایی تیمار اول به مقدار حداکثر 65 درصد کود شیمیایی مصرف شده در تیمار اول،

3) تیمار شاهد بدون تلقیح و بدون مصرف کود شیمیایی انجام می‌گیرد (شاهد منفی)

4) تیمار تلقیح با مایه تلقیح

که در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی و در 4 تکرار انجام خواهد شد.

ملاک اثربخش بودن مایه تلقیح آن است که در 80 درصد از نقاط آزمایش اولا اثر تیمار معنی دار شده باشد(تا سطح 10 درصد) و به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری (تا سطح 10 درصد) بین عملکرد تیمار 4 با 1 و یا 2 وجود نداشته باشد و هم چنین تیمار شاهد منفی(3) تفاوت معنی داری (تا سطح 10 درصد) با سایر تیمارها داشته باشد.

در صورت تأیید اثربخشی مایه تلقیح و همچنین توانایی ماندگاری میکروارگانیسم(های) هدف در مایه تلقیح، آنگاه مایه تلقیح مورد آزمایش تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت

مراتب رد مایه تلقیح به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق خواهد بود.

4- مایه تلقیح‌ها یا کودهای میکوریزی

برای بررسی مایه تلقیح‌های میکوریزی براساس ادعاهای متقاضی به شرح زیر عمل خواهد شد:

الف– مایه تلقیح یا کود میکوریزی مناسب برای احداث باغات: همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری قارچ در مایه تلقیح و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد. در خصوص ماندگاری قارچ در مایه تلقیح بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت اندام فعال قارچ‌های میکوریزی اندو اندازه‌گیری و نتایج در فرم شماره 5 و یا 6 لحاظ خواهد شد. در خصوص مایه تلقیح حاوی قارچ‌های میکوریز اندو و اکتو از روش‌های غربالگری مرطوب استفاده خواهد شد. در مورد قارچ‌های میکوریزی که فقط حاوی انواع اندو باشند، بایستی تراکم جمعیت اندام فعال در دوره دو ماهه پس از تولید بیشتر از 50 (پنجاه) اندام فعال قارچ به ازاء هر سانتی متر مکعب مایه تلقیح و در شش ماه پس از تولید بیشتر از 30 (سی) اندام فعال قارچ به ازاء هر سانتی متر مکعب مایه تلقیح باشد. در خصوص مایه تلقیح قارچ‌های میکوریزی که حاوی انواع اندو و اکتو می‌باشند، بایستی تراکم جمعیت اندام فعال اندو و اکتو در دوره دو ماهه پس از تولید به ترتیب بیشتر از 50 (پنجاه) و 30 (سی) هزاراندام فعال به ازاء هر سانتی متر مکعب مایه تلقیح و در شش ماه پس از تولید به ترتیب بیشتر از 30 (سی) و 20 (بیست) هزار اندام فعال به ازاء هر سانتی متر مکعب مایه تلقیح باشد. در صورتی که مایه تلقیح میکوریزی موردنظر ویژگی‌های مذکور را نداشت، از نظر توانایی نگهداری قارچ مورد تأیید نمی‌باشد.

اثربخشی مایه تلقیح یا کود میکوریزی برای احداث باغات نیز برای هر یک از نهال‌های یکساله هدف مورد ادعا به مدت یک سال در 10 مکان و در شرایط خزانه انجام

خواهد شد. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه موردنظر را پوشش دهد. این آزمایش شامل

1) تیمار استفاده از مایه تلقیح میکوریزی،

2) تیمار بدون استفاده از مایه تلقیح میکوریزی است که همانند تیمار اول، کلیه عملیات با استفاده از مایه تلقیح میکوریزی اتوکلاو شده (شاهد منفی) و

3) تیمار بدون تلقیح (شاهد مطلق)

که در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی و در 4 تکرار انجام خواهد شد.

ملاک قبولی اثربخشی یک مایه تلقیح میکوریزی مناسب برای احداث باغات آن است که به لحاظ آماری در 80 درصد از نقاط آزمایش، تفاوت معنی‌داری (در سطح 10 درصد) بین کاهش درصد تلفات و یا همچنین رشد سرشاخه‌های تیمار کود میکروبی میکوریزی و تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) و یا شاهد مطلق وجود داشته باشد. در صورت تأیید اثربخشی مایه تلقیح میکوریزی و همچنین توان نگهداری قارچ موردنظر در مایه تلقیح، آنگاه مایه تلقیح مورد آزمایش تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد مایه تلقیح به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). حداقل تعداد نهال مورد استفاده در هر مکان آزمایشی برای هر تیمار 10 اصله خواهد بود که با احتساب 4 تکرار برای هر تیمارحداقل تعداد نهال مورد استفاده در این آزمایش 120 اصله خواهد بود. کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق است.

ب- مایه تلقیح یا کود میکوریزی مناسب زراعت: همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری قارچ در مایه تلقیح ویا کود میکوریزی و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد. در خصوص ماندگاری قارچ در مایه تلقیح بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت اسپور قارچ‌های میکوریزی اندو اندازه‌گیری و نتایج در فرم شماره 5 و یا 6 لحاظ خواهد شد. در خصوص مایه تلقیح قارچ‌های میکوریز اندو از روش غربالگری مرطوب استفاده خواهد شد. در مورد قارچ‌های میکوریزی که حاوی انواع اندو

باشند، بایستی تراکم جمعیت اندام فعال در دوره دو ماهه پس از تولید بیشتر از 50 (پنجاه) اندام فعال به ازاء هر سانتی متر مکعب مایه تلقیح و در شش ماه پس از تولید بیشتر از 30 (سی) اندام فعال به ازاء هر سانتیمتر مکعب مایه تلقیح باشد. در صورتی که مایه تلقیح میکوریزی موردنظر ویژگی‌های مذکور را نداشت، از نظر توانایی نگهداری قارچ مورد تأیید نمی‌باشد.

اثربخشی مایه تلقیح یا کود میکوریزی مناسب زراعت نیز برای هر گیاه هدف مورد ادعا به مدت یک سال در 10 مکان مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیرکشت گیاه موردنظر را پوشش دهند.

با توجه به اثرات مثبت و متنوع قارچهای میکوریزی بر گیاهان میزبان که یکی از مهمترین آنها افزایش جذب فسفر مورد نیاز گیاه می‌باشد، لذا چنانچه بر اساس ادعای شرکت متقاضی، هدف از بکارگیری مایه تلقیح یا کود میکوریزی، تأمین فسفر مورد نیاز گیاه عنوان گردد، اثربخشی این فرآورده زیستی با استفاده از تیمارهای زیر و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام خواهد شد.

1- مصرف کود سوپرفسفات تریپل براساس آزمون خاک (توصیه شده توسط موسسه تحقیقات خاک و آب) (شاهد مثبت)

2- تیمار استفاده از مایه تلقیح میکوریزی و مصرف کود شیمیایی تیمار اول به مقدار حداکثر 65 درصد کود شیمیایی مصرف شده در تیمار اول

3- تیمار شاهد بدون مایه تلقیح و بدون مصرف کود شیمیایی مورد نظر (شاهد منفی)

4- تیمار استفاده از مایه تلقیح میکوریزی

بدیهی است آزمایشات در خاک هایی انجام خواهد شد که میزان فسفر قابل جذب گیاه کمتر از حد بحرانی (توصیه شده توسط موسسه تحقیقات خاک و آب) باشد. ملاک قبولی اثربخشی آن است که در 80 درصد از نقاط آزمایش، به لحاظ آماری تفاوت معنی داری (تا سطح 10 درصد) بین عملکرد تیمار دو یا تیمار چهار، باتیمار یک وجود نداشته

باشد. همچنین تفاوت آماری معنی داری (تا سطح 10 درصد) بین تیمار سوم با سایر تیمارها وجود داشته باشد.

درصورت تأیید اثربخشی مایه تلقیح و همچنین توان نگهداری قارچ موردنظر در مایه تلقیح، آنگاه مایه تلقیح یا کود میکوریزی مورد آزمایش تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد مایه تلقیح به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق خواهد بود.

چنانچه مایه تلقیح یا کود میکوریزی معرفی شده بر اساس ادعای شرکت متقاضی به غیر از افزایش جذب فسفر، سایر جنبه های مثبت همزیستی میکوریزی از قبیل افزایش جذب عناصر معدنی غیر از فسفر مثل نیتروژن، آهن، روی و ... افزایش جذب و کارایی مصرف آب، کاهش اثرات تنش های زنده و غیر زنده، افزایش رشد و عملکرد گیاه از طریق سنتز هورمونهای رشد و غیره عنوان گردد، با تامین بخشی یا تمامی فسفر مورد نیازگیاه، اثربخشی این فراورده زیستی با استفاده از تیمارهای زیر و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام خواهد شد.

1- مصرف کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (نظر بخش تحقیقات شیمی، حاصلخیزی و تغذیه گیاه) (شاهد مثبت)

2- تیمار اول به همراه استفاده از مایه تلقیح میکوریز

3-مصرف سوپر فسفات تریپل به میزان 65 درصد تیمار اول

4- تیمار سوم به همراه استفاده از مایه تلقیح میکوریز

بدیهی است آزمایشات در خاک هایی انجام خواهد شد که میزان فسفر قابل جذب گیاه کمتر از حد بحرانی (توصیه شده توسط موسسه تحقیقات خاک و آب) باشد. ملاک قبولی اثربخشی آن است که در 80 درصد از نقاط آزمایش، اولاً اثر تیمار (تا سطح 10 درصد) معنی دار گردد. در درجه دوم تیمار دوم نسبت به تیمار اول و یا تیمار چهارم نسبت به تیمار سوم تفاوت معنی دار مثبتی (تا سطح 10 درصد) داشته باشد.

مرجع نهایی تصمیم گیری در مورد استفاده از هریک از دو روش فوق بر اساس ادعای شرکت متقاضی و بر عهده کمیته فنی بخش تحقیقات بیولوژی خاک می باشد.

5- کودهای میکروبی عنصری

5-1- کود میکروبی فسفاته

برای تأیید کود میکروبی فسفاته همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری باکتری در کود میکروبی فسفاته و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد.

در خصوص ماندگاری باکتری در کود میکروبی فسفاته بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات اعم از باکتری یا قارچ تعیین خواهد شد. در خصوص کود میکروبی فسفاته محیط کشت اسپربر (Sperber) تهیه و بر اساس شمارش کلونی تراکم جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های حل‌کننده فسفات تعیین خواهد شد. در مورد کود میکروبی فسفاته بایستی تراکم جمعیت باکتری در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^5 سلول به ازای هر گرم کود و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^4 سلول به ازای هر گرم کود بیشتر باشد. در مورد تراکم جمعیت قارچ نیز در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^5 زاد مایه به ازاء هر گرم کود و در شش ماه پس از تولید از 1×10^4 پروپاگول به ازاء هر گرم کود بیشتر باشد.

در صورتی که کود میکروبی فسفاته مذکور ویژگی‌های فوق را داشت، از نظر توان نگهداری باکتری مورد تأیید می‌باشد.

اثربخشی کود میکروبی فسفاته نیز با استفاده از گیاه شاخص (مانند ذرت) و به مدت یک سال در 10 مکان مورد بررسی قرار خواهد گرفت. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه مورد نظر را پوشش دهد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در 4 تکرار و با استفاده از تیمارهای زیر انجام خواهد شد:

1- مصرف کود سوپرفسفات تریپل براساس آزمون خاک (شاهد مثبت)

2- مصرف کود میکروبی فسفاته معادل P_2O_5 مصرفی در تیمار اول

3- مصرف توأم کود سوپرفسفات تریپل و کود میکروبی فسفاته به نحوی که 65 درصد از محل کود شیمیایی و 35 درصد از P_2O_5 کود میکروبی تأمین گردد.

4- شاهد منفی (بدون مصرف کود سوپرفسفات تریپل و کود میکروبی فسفاته)

ملاک قبولی آن است که در 80 درصد از نقاط ازمایش اولا اثر تیمار (تا سطح 10 درصد) معنی دار بوده و بین دو تیمار 3 و 2 و یا 2و1 به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری (در سطح 10 درصد) وجود نداشته باشد و هم چنین تفاوت معنی داری بین تیمار 4 با سایر تیمارها وجود داشته باشد. بدیهی است این آزمایش نیز در خاکی انجام خواهد شد که میزان فسفر قابل جذب گیاه کمتر از حد بحرانی خاک باشد (نظر بخش تحقیقات شیمی، حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه). در صورت تأیید اثربخشی و همچنین توان نگهداری میکروارگانیسم مؤثر موجود در کود، آنگاه کود میکروبی مورد آزمایش تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد کود میکروبی به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق خواهد بود.

2-5- کود میکروبی گوگردی

برای تأیید کود میکروبی گوگردی همزمان دو آزمایش شامل بررسی ماندگاری باکتری در کود میکروبی گوگردی و همچنین اثربخشی در مقیاس وسیع انجام خواهد شد.

در خصوص ماندگاری باکتری در کود میکروبی گوگردی بر اساس ادعاهای متقاضی در بند 11 فرم شماره 1، تراکم جمعیت میکروارگانیسم‌های اکسیدکننده گوگرد اعم از باکتری یا قارچ تعیین خواهد شد. در خصوص کود میکروبی گوگردی محیط کشت پستگیت (Postgate) و یا سایر محیط کشت های مناسب تهیه و بر اساس شمارش کلونی تراکم جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های اکسیدکننده گوگرد تعیین خواهد شد. در مورد کود

میکروبی گوگردی بایستی تراکم جمعیت باکتری و یا قارچ اکسیدکننده گوگرد در دوره دو ماهه بعد از تولید از 1×10^5 سلول به ازای هر گرم کود و در 6 ماه پس از تولید از 1×10^4 سلول به ازای هر گرم کود بیشتر باشد. در مورد تراکم جمعیت قارچ نیز در دوره دو ماهه پس از تولید از 1×10^5 پروپاگول به ازاء هر گرم کود و در شش ماه پس از تولید از 1×10^4 پروپاگول به ازاء هر گرم کود بیشتر باشد.

در صورتی که کود میکروبی گوگردی مذکور ویژگی‌های فوق را داشت، از نظر توان نگهداری باکتری مورد تأیید می‌باشد.

برای بررسی اثربخشی کود میکروبی گوگردی نیز بر اساس ادعاهای متقاضی به شرح زیر عمل خواهد شد:

الف– کود میکروبی گوگردی تأمین‌کننده فسفر و عناصر کم مصرف:

در مورد این کود میکروبی گوگردی نیز، اثربخشی با استفاده از یک گیاه شاخص (مانند کلزا) به مدت یک سال در 10 مکان انجام خواهد شد. بدیهی است 10 مکان انتخاب شده بایستی حداقل 50 درصد از سطح زیر کشت گیاه موردنظر را پوشش دهد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با 4 تکرار و 4 تیمار شامل:

1- شاهد منفی (نیتروژن و عندالزوم پتاسیم مصرف می شود ولی گوگرد، فسفر و عناصر کم مصرف مصرف نمی شود)،

2- تیماری که بر اساس آزمون خاک کلیه عناصر غذایی مورد نیاز را دریافت کرده است (شاهد مثبت)،

3- مصرف حداقل 500 کیلوگرم کود میکروبی گوگردی (بدون استفاده از فسفر، گوگرد اضافه و عناصر کم مصرف) و

4- مصرف 65 درصد کودهای شیمیایی گوگردی، فسفری و عناصر کم مصرف در تیمار دوم به همراه حداقل 500 کیلوگرم کود میکروبی گوگردی خواهد بود.

ملاک قبولی آن است که در 80 درصد از نقاط ازمایش اولا اثر تیمار (تا سطح 10 درصد) معنی دار بوده و بین عملکرد تیمارهای 2 و 3 یا 2 و 4 به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری (در سطح 10 درصد) وجود نداشته باشد و همچنین بین تیمار شاهد منفی و سایر تیمارها تفاوت معنی داری (تا سطح 10 درصد) وجود داشته باشد. بدیهی است آزمایش در خاکی انجام خواهد شد که میزان فسفر و عناصر میکرو مورد نظر کمتر از حد بحرانی باشد (توصیه موسسه تحقیقات خاک و آب).

در صورت تأیید اثربخشی و همچنین توان نگهداری باکتری یا قارچ اکسیدکننده گوگرد، کود میکروبی مورد تأیید خواهد بود (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد کود میکروبی به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق خواهد بود.

ب- کود میکروبی گوگردی اصلاح کننده خاک:

در صورتی که متقاضی مدعی اصلاح خاک توسط کود میکروبی گوگردی بود برای اثربخشی به شرح زیر عمل خواهد شد. به مدت یک سال در 10 مکان به شرح زیر انجام خواهد شد.

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در 4 تکرار و 2 تیمار شامل:

1- مصرف کود میکروبی گوگردی اصلاح کننده خاک

2- تیمار شاهد منفی اجرا خواهد شد.

- لازم به ذکر است که در هر 10 مکان مورد آزمایش سایر عملیات به صورت یکسان انجام خواهد شد.

ملاک قبولی اثربخشی کود فوق آن است که در 80 درصد از نقاط ازمایش، بین دو تیمار از نظر همه پارامترها شامل: کاهش ESP، افزایش نفوذ آب در خاک و تغییرات مثبت میزان سدیم محلول و تبادلی و افزایش شوری خاک (EC) تفاوت معنی‌داری به لحاظ

آماری (در سطح 10 درصد) وجود داشته و همچنین توان نگهداری باکتری و یا قارچ اکسیدکننده گوگرد موجود در کود نیز تأیید شود، آنگاه کود میکروبی تأیید خواهد شد (فرم شماره 5). در غیر این صورت مراتب رد کود میکروبی به متقاضی اعلام خواهد شد (فرم شماره 6). کلیه تبصره‌ها در مورد این کود نیز صادق خواهد بود.

فصل چهارم- تبصره ها

تبصره 1: در صورتی که واحد وزارتی اعلام نمود که فقط به بخش اول نتایج بسنده کرده است، مؤسسه تحقیقات خاک و آب در قالب فرم شماره 3 به واحد وزارتی پاسخ داده و آن واحد نیز موظف است مراتب را همانند پاسخ مؤسسه تنظیم و به اطلاع متقاضی برساند.

تبصره 2: در صورت درخواست مجدد واحد وزارتی، کلیه مراحل با اخذ هزینه‌ها و شرایط مندرج در این دستورالعمل مجدداً بررسی خواهد شد.

تبصره 3: در صورت تقاضای واحد وزارتی، به منظور اطمینان از تداوم اثربخشی کود های بیولوژیک زیستی که موفق به اخذ مجوز شده اند و تمدید دو سالانه مجوز، تراکم جمعیت میکروارگانیسم(های) هدف در کود بیولوژیک ذیربط مورد بررسی خواهد گرفت. بدین منظور از سوی واحد وزارتی تعداد 15 نمونه تازه (حداکثر دو ماهه) از کود بیولوژیک متقاضی (10 نمونه از خط تولید کارخانه تولیدکننده و 5 نمونه از انبار نمایندگی‌های فروش شرکت) تهیه و برای تعیین تراکم جمعیت میکروارگانیسم(های) فوق به مؤسسه ارسال خواهد شد. در صورتی جمعیت میکروارگانیسم(های) مذکور در کود بیولوژیک فوق مورد تأیید است که از شرایط مندرج در بند 5-8 این دستورالعمل برخوردار با شد. در صورتی تأییدیه (فرم شماره 5) مجدداً برای دو سال دیگر تمدید خواهد شد که کود فوق در این قسمت به لحاظ جمعیت میکروارگانیسم(های) هدف در کود بیولوژیک تأیید شود (موضوع تبصره 3). در غیر این صورت مراتب لغو تأییدیه به نحو مقتضی به اطلاع واحد وزارتی خواهد رسید.

واحد وزارتی موظف است ضمن اطلاع‌رسانی به متقاضی، مراتب را به نحو مقتضی به سایر بخش‌های وزارت جهاد کشاورزی و بالاخص سازمان‌های جهاد کشاورزی، تعاونی‌های تولید، کشت و صنعت‌ها، اتحادیه تعاونی‌های روستایی، واحدهای بازرگانی وزارتخانه و ... اعلام نماید.

واحد وزارتی موظف است تولیدکننده را مجبور به جمع‌آوری کلیه کودهای

بیولوژیک رد صلاحیت شده از بازار نموده و مراتب را به نحو مقتضی از طریق مجاری قانونی پیگیری نماید.

تبصره 4: در صورتی که در بیش از یک ایستگاه تحقیقاتی حادثه‌ای (مانند سیل، زلزله، آتش‌سوزی و ...) رخ داد. در صورت نیاز، مؤسسه در قبال پرداخت هزینه‌ها از سوی واحد وزارتی، در سال زراعی بعد آزمایش را اجرا می‌نماید.

تبصره 5: در صورتی که متقاضی فقط قصد بررسی کود بیولوژیک خود را در یک استان داشت، آزمایش‌ها عیناً همانند بخش قبلی تأییدیه در سطح ملی، به مدت یک سال در5 مکان اجرا و بررسی خواهد شد. در صورت تأیید اثربخشی و همچنین توان ماندگاری میکروارگانیسم(های) هدف در کود بیولوژیک ذیربط، کود مذکور برای استان ذیربط تأیید خواهد شد (فرم شماره 7). مراتب رد نیز به شرح فرم شماره 8 خواهد بود.

تبصره 6: در صورتی که به هر دلیلی اثربخشی در چند سال و چند نقطه مختلف انجام شود بایستی برای بررسی نتایج اثربخشی، حداقل حاصلضرب تعداد نقطه آزمایشی در تعداد سال از 10 کمتر نباشد.

تبصره 7: کلیه کودهای بیولوژیکی که بر اساس این دستورالعمل موفق به اخذ تأییدیه شده‌اند از نظر فنی قابلیت معرفی به واحدهای ذیربط در وزارت جهاد کشاورزی برای اخذ هر گونه تسهیلات دیگر را خواهند داشت.

تبصره 8: اخذ تأییدیه شماره پنج هیچگونه الزامی را برای خرید کود بیولوژیک توسط وزارت جهاد کشاورزی ایجاد نمی‌کند.

تبصره 9: در صورت ارجاع موارد خاص خارج از موضوعات مطروحه در این دستورالعمل، موضوع در بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب مورد بررسی قرار گرفته و در خصوص آن تصمیم‌گیری و اقدام خواهد شد.

تبصره **10-** این دستورالعمل بر اساس موارد ارجاع شده و تجارب بدست آمده هر دو سال یکبار قابل بررسی و به روز شدن خواهد بود.

نسخه اول ودوم(فعلی) این دستورالعمل به ترتیب در هفتمین جلسه مورخ 1387/4/16 و هجدهمین جلسه مورخ16 /1390/11 شورای تحقیقات موسسه تحقیقات خاک و آب تایید شد.

منابع مورد استفاده:

1. خاوازی، ک و ملکوتی، م. ج. 1380. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. نشر آموزش کشاورزی، کرج.

2. خاوازی، ک.، اسدی رحمانی، هـ.، ملکوتی، م. ج. 1384. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. چاپ دوم. انتشارات سنا. تهران.

3. صالح راستین، ن. 1377. کودهای بیولوژیک. مجله علمی پژوهشی خاک و آب. ویژه نامه کودهای بیولوژیک. جلد 12، شماره 3، ص. 36-1.

4. Albareda, M., Rodriguez-Navarro, D. N., R., Camacho, M., Temprano, J. F. 2008. Alternatives to peat as a carrier for rhizobia inoculants: Solid and liquid formulations. Soil Biology & Biochemistry 40: 2771–2779.

5. Bagyaraj, D. J. 2004. Quality control and constraints in biofertilizer production technology. In: Kannaiyan, S., kumar, K. and Govindarajan, k. (eds.). Biofertilizer Technology,Scientific Publishers,India.

6. Bashan, Y., Hernandez, J. P., Leyva, L. A., Bacilio, M. 2002. Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria. Biology and Fertility of Soils 35:359-368.

7. Bullard, G. K., Roughley, R. J., Pulsford, D. J. 2005. The legume inoculants industry and inoculants quality control in Australia: 1953-2003. Australian Journal of Experimental Agriculture 45: 127-140.

8. CFIA. 1997. Guideline for field testing supplements:T-4-108. Canadian Food Inspection Agency. http:// www. inspection. gc. ca/eng/ 1297964599443/ 1297965645317.

9. CFIA. 2007. Guideline for research authorization for testing of novel supplements: T-4-103. Canadian Food Inspection Agency. http://www.inspection.gc. ca/eng/ 1297964599443/ 1297965645317

10. CFIA. 2005. Methods for testing legume inoculant and pre-inoculated seed products. Canadian Food Inspection Agency. http://www.inspection.gc.ca/ eng/1297964599443/1297965645317.

11. CFIA. 2000. Microbial supplements. Canadian Food Inspection Agency. http://www.inspection.gc.ca/eng/1297964599443/1297965645317.

12. CFIA. 1997. Plant growth regulators: T-4-94. Canadian Food Inspection Agency. http://www.inspection.gc.ca/eng/1297964599443/1297965645317.
13. CFIA. 2005. Registration of supplements under the *fertilizers act*: T-4-107. Canadian Food Inspection Agency. http://www.inspection. gc.ca/eng/ 1297964599443/ 1297965645317.
14. Corkidi, L., Allen, E. B, Merhaus, D., Allen, M. F., Downer, J., Bohn, J., Evans, M. 2004. Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions. Journal of Environmental Horticulture 22: 149-154.
15. Denton, M. D., Pearce, D. J., Ballard, R. A., Hannah, M. C., Lesley A. Mutch, L. A., Norng, S., Slattery, J. F. 2009. A multi-site field evaluation of granular inoculants for legume nodulation. Soil Biology & Biochemistry 41: 2508–2516.
16. FNCA. 2006. Biofertilizer Manual. Forum for nuclear cooperation in Asia, Japan Atomic Industrial Forum(JIAF), Japan.
17. Herridge, D., Gemell, G., Hartley, E. 2002. Legume Inoculants and Quality Control. In: Herridge, D. (ed.). Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam. ACIAR Proceedings 109e.
18. Gandhi, A. Saravanakumar, K. 2009. Studies on shelf life of *Azospirillum lipoferum* ,*Bacillus megaterium* and *Pseudomonas fluorescens* in vermicompost carrier. Journal of Phytology 2: 100–107.
19. Gianinazzi, S., Vosatka, M. 2004. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: science meets business. Canadian Journal of botany 82:1264-1271.
20. Gaur, A. C. 1990. Phosphate Solubilizing Microorganisms. Omega Scientific Publishers, New delhi, India.
21. Hann, P. D., Mahon, D., Meer, P.V.D. 1995 .Safety Consideratins on Biotechnology: Scale–up of Microorganisms and Biofertilizers. OCED Publication, France.
22. Quirico Migheli, Q., Ruiz Sainz, J. E. 2001. Quality control and efficacy assessment of microbial inoculants: need for standard evaluation protocols. COST 830 Working Group 4
23. IBMA Quality and Standard Working Group, Proceedings of the joint meeting held in Seville (Spain). 25 to 28 October. European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research.
24. Kannaiyan, S. 2002. Biotechnology of Biofertilizers. Narosa Publishing House, New Delhi, India.

25. Khavazi, K., Rejali, F., Seguin, P., Miransari, M. 2007. Effects of carrier, sterilisation method, and incubation on survival of *Bradyrhizobium japonicum* in soybean (*Glycine max* L.) inoculants .Enzyme and Microbial Technology 41: 780–784.
26. Lal, L. 2002. Phosphatic Bioferilizers.Agrotech Publishing Academy,New Delhi,India.
27. Lupwayi, N. Z., Olsen, P. E., Sande, E. S., Keyser, H. H., Collins, M. M., Singleton, P. W., Rice, W. A. Inoculant quality and its evaluation. Field Crops Research 65: 259-270.
28. Miyasaka, S. C., hbte, M., Friday, J. b., Johnson, E. V. 2003. Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus production and Inoculation Techniques. Cooperative Extention Service, Collage of Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawall at Mano.
29. Motsara, M. R., Bhattacharyya, P., Srivastava, B. 1995. Biofertilizer Technology, Marketing and Usage–A sourcebook-Cum_ Glossary. fertilizer development and Consultation Organization, new Delhi, India.
30. Okon,Y, and Labandera–Gonzalez, C. A. 1994. Agronomic application of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years in microbial community structure and function in soil. Plant and Soil 232; 135-145.
31. Rai, M. K. 2006. Handbook of Microbial Biofertilizer. Food Product Press. Binghamton. India.
32. Rebah, F. B., Prévost, D., Yezza, A., Tyagi, R. D. 2007. Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: A review. Bioresource Technology 98: 3535–3546.
33. Sharma, A. K. 2002. Biofertilizer for Sustainable Agriculture. Agrobios, India.
34. Singleton, P., Keyser, H., Eve Sande, E. 2002. Development and evaluation of liquid inoculants. In: Herridge, D. (ed.). Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam. ACIAR Proceedings 109e.
35. Somani, L. L., Shilpkar, P., Shilpkar, D. 2011. Biofertilizers: Commercial Production Technology and Quality Control. Agrotech Publishing Academy, India.
36. Suba Rao, N. S. 2002. An appraisal of biofertilizer in India.In: Kannaiyan, S. (ed.). Biotechnology of Biofertilizers, Narosa Publishing House, PP. 1-8.
37. Suneja, P., Dudeja, S. S., Narul, N. 2007. Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. Archives of Agronomy and Soil Science. 53: 221–230.

38. Stephens, J. H. G., Rask, H. M. 2000.Inoculant production and formulation. Field Crops Research 65: 249-258.
39. Tarbell, T. J., Koske, R. E. 2007. Evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inocula in a sand /peat medium. Mycorrhiza 18: 51-56.
40. Thompson, G, A. 1984. Production and Quality Control of Carier-based Legume inoculants. Information Bulletin No. 17, ICRISAT, India.
41. Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil 255; 571-586.