مایه تلقیح‌های ریزوبیومی و روش‌های کاربرد آنها در حبوبات

هوشنگ خسروی[۱]

[۱] عضو هیات علمی بخش تحقیقات بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
khosravi_1971@yahoo.com

چکیده

توجه به موضوع امنیت غذایی و سلامت جامعه و اهمیت دادن به مصرف محصولات ارگانیک باعث افزایش استفاده از کودهای زیستی در دهه‌های اخیر شده‌است. کود زیستی فرآورده‌ای حاوی ریزجانداران مفید است که از طریق سازوکارهای مختلف، موجب افزایش رشد و تأمین عناصر موردنیاز گیاهان می‌شود. باکتری‌های ریزوبیوم از اولین و مهم‌ترین ریزجانداران مورداستفاده برای تولید کودهای زیستی هستند. کشورهای اروپایی، استرالیا، برزیل، آمریکا، کانادا، چین، هند و روسیه از مهمترین تولیدکنندگان کودهای زیستی هستند. در ایران نیز توسعه کودهای زیستی و مایه تلقیح‌ها از بیست سال پیش شروع شده‌است. تاکنون یک استاندارد واحد جهانی برای کنترل کیفی و مصرف کودهای زیستی یا مایه تلقیح‌های ریزوبیومی تدوین نشده‌است با این حال در برخی کشورها ازجمله ایران، استاندارد و دستورالعمل‌هایی در این زمینه تدوین شده‌است. مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به اشکال پودری، مایع و گرانول تولید می‌شوند. روش اصلی مصرف و اقتصادی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی برای حبوبات به صورت بذرمال است.

واژه‌های کلیدی: مایه تلقیح، محرک رشد، بذرمال

بیان مسئله

نیاز جوامع به غذا سالیانه در حال افزایش بوده و برآوردها نشان می‌دهد که برای تغذیه بشر نسبت به قرن گذشته به افزایش ۱۰۰ درصدی تولید محصولات کشاورزی نیاز است. مصرف کودهای شیمیایی یکی از راه‌های مرسوم برطرف کردن نیاز تغذیه‌ای محصولات کشاورزی بوده و از پرمصرف‌ترین نهاده‌های کشاورزی در تولید محصول می‌باشند. گرچه کودهای شیمیایی به‌آسانی و به سرعت عناصر موردنیاز گیاه را تأمین نموده و موجبات رشد آن را فراهم می‌کنند با این حال، از پتانسیل آلوده‌سازی بالایی برخوردار بوده بطوریکه استفاده از کودهای شیمیایی موجب افزایش گازهای گلخانه‌ای، افزایش جذب فلزات سنگین توسط محصولات کشاورزی و اثرات منفی بر جامعه میکروبی خاک می‌شوند. مصرف بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی باعث آلودگی آب و خاک شده و درنهایت موجب مسمومیت انسان، دام و آبزیان می‌شوند. بر این اساس تقاضا برای محصولات ارگانیک روند افزایشی به خود گرفته‌است؛ بنابراین ارائه راهکارهای مبتنی بر توسعه پایدار و توجه به حفظ سلامت محیط‌زیست برای افزایش تولید محصولات کشاورزی امری ضروری است. یکی از روش‌های افزایش تولید محصولات کشاورزی استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاک‌زی است. کودهای زیستی فرآورده‌هایی هستند که حاوی تعداد مناسبی از یک یا چند ریزجاندار مفید و یا متابولیت‌های حاصل از فعالیت آن‌ها می‌باشند. کود زیستی یک اصطلاح کلی است با این حال مایه تلقیح نیز اصطلاحی در زیرمجموعه کودهای زیستی است که معمولاً حاوی ترکیبات مؤثر همراه دیگری نیستند و فقط شامل سویه‌ای خالص از یک یا چند ریزجاندار مفید هستند که به گیاه یا خاک تلقیح می‌شوند. مایه تلقیح‌های ریزوبیومی از نمونه‌های مشهور کودهای زیستی هستند که به‌اشکال مایع، جامد، یا نیمه جامد تهیه شده و معمولا به صورت تلقیح به بذر استفاده می‌شوند. اولین کود زیستی و مایه تلقیح با جداسازی باکتری‌های ریزوبیوم از گره‌های ریشه باقلا در سال ۱۸۹۶ در آمریکا و به صورت کشت آگاری در ظروف شیشه‌ای بسته‌بندی و به بازار عرضه شد. هم‌اکنون شرکت‌های چندملیتی وجود دارند که کودهای زیستی تولیدی خود را به سراسر جهان عرضه می‌کنند. امروزه کودهای زیستی در بسیاری از محصولات کشاورزی در دنیا مصرف شده که سبب افزایش محصول معادل ۲۵-۱۰ درصد می‌شوند بطوری که ارزش اقتصادی آن میلیاردها دلار در سال برآورد شده‌است. سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد(فائو)، کودهای زیستی را به عنوان یکی از منابع تأمین‌کننده عناصر غذایی گیاهان به رسمیت شناخته‌است. مواد همراه (حامل)، ماده یا ترکیبی از مواد مختلف است که بتواند جمعیت ریزجاندار موردنظر را در یک حد معین از زمان تولید تا مصرف، نگهداری نماید. از نظر وزنی و حجمی مواد همراه بخش عمده یک مایه تلقیح را تشکیل می‌دهد. مواد همراه همچنین مصرف کود زیستی را تسهیل و ماندگاری آن را افزایش می‌دهند. ماندگاری ریزجانداران در یک کود زیستی مسئله مهمی است و برای این منظور، مواد همراه می‌بایستی شرایط تنفسی، اسیدیته (حدود خنثی برای ریزوبیوم) و میزان رطوبت (۵۰-۴۵ درصد) را برای بقای آن فراهم نماید. مواد لازم برای تهیه همراه مایه تلقیح، بایستی به قدر کافی ریز بوده تا امکان ترکیب با سایر مواد را داشته باشد. همچنین PH مواد همراه بایستی بین ۷ تا ۷/۵، ظرفیت نگهداری آب مناسب، قابلیت استریل شدن و عاری از مواد سمی و مضر برای ریزوبیوم باشد. مواد همراه معمولاً قبل از تلقیح، به وسیله اتوکلاو، اشعه گاما و یا از طریق گاز حاصل از موادی (تدخین) مانند اکسید اتیلن و برمیدمتیل استریل می‌شوند. از رایج‌ترین مواد همراه یا نگهدارندهِ طبیعی برای تولید مایه تلقیح، انواع خاصی از تورب یا پیت است. پیت اغلب به‌اندازه کافی، هوا خشک نمی‌شود و لذا آسیاب کردن آن مشکل است. برای رفع این مشکل، می‌توان پیت را در دمای ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داد. پیت معمولاً به قدری آسیاب می‌شود که حداقل از

الک با سوراخ‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری عبور کند. در ایران در برخی مناطق شمالی پیت به مقدار کم یافت می‌شود که البته به علت مسائل زیست محیطی برداشت از آن ممنوع است. به دلیل فقدان تورب مناسب و کافی در غالب کشورها از مواد گوناگونی همانند لیگنیت پرلیت، بنتونیت، تالک، زغال‌سنگ، زغال چوب، انواع کمپوست، ملاس نیشکر، خاک اره، پودر چوب بلال ذرت، پودر سبوس و کاه گندم و برنج و آرد حبوبات استفاده می‌شود. برای افزایش ماندگاری ریزوبیوم در مایه تلقیح می‌توان از ساکارز، گلوکز، مالتوز، ترهالوز، گلیسیرین و ملاس نیشکر و چغندرقند به عنوان مکمل استفاده نمود. استریل کردن مواد همراه مایه تلقیح به وسیله‌اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و در حالت بسته‌های نیمه‌باز انجام می‌شود. (Thompson, 1984) بسته بندی مایه تلقیح می‌تواند توسط اشعه گاما نیز استریل شود. این اشعه با مقدار ۵۰ کیلوگرمی(kGy) به راحتی از لایه نازک پلی‌اتیلنی بسته‌بندی مایه تلقیح عبور می‌کند. در حال حاضر در ایران، پرلیت به عنوان یک ماده معدنی قابل‌دسترس و ارزان به عنوان همراه مناسب برای تهیه مایه تلقیح پودری مورد استفاده دارد. بر روی یک بسته مایه تلقیح مشخصات شامل نام محصول، جنس و گونه ریزوبیوم، گیاهان هدف، تاریخ تولید و انقضای محصول، دستورالعمل و روش مصرف درج می‌شود. در این مقاله به وضعیت مایه تلقیح‌های ریزوبیوم در جهان و ایران، استانداردهای موجود و چگونگی و روش مصرف انواع آنها در حبوبات پرداخته می‌شود.

وضعیت مایه تلقیح‌های ریزوبیومی‌در جهان و ایران

مایه تلقیح‌های ریزوبیومی در نقاط مختلف جهان تولید می‌شوند. شرکت Rhizobacter در سال ۱۹۷۷ در آرژانتین احداث و برای بقولات مختلف کودزیستی ریزوبیوم تولید می‌کند و محصولات آن در ایالات‌متحده‌امریکا، اروپا، آفریقا، آرژانتین، برزیل، بولیوی، پاراگوئه و اروگوئه مصرف می‌شود. سالانه حدود ۶۰ تا ۷۰ هزار تن کود زیستی در برزیل برای محصولات مختلف زراعی و باغی مصرف می‌شود. چندین شرکت بزرگ تولیدکننده در برزیل مشغول تولید کود زیستی هستند ازجمله Embrafós و Biofosfatos که انواعی از کودهای زیستی را تولید می‌کنند. در جنوب آمریکای لاتین سالانه بیش از ۳۰ میلیون هکتار سویا کشت می‌شود که ۷۰ درصد آن با باکتری برادی ریزوبیوم تلقیح می‌شود. اروپا بیش‌ترین رونق در بازار کودهای زیستی را به خود اختصاص داده‌است بطوریکه درآمد آن در سال ۲۰۱۷ بالغ بر ۴۵۰۰ میلیون دلار برآورد شد.

در قاره‌افریقا به جز بخشی از آفریقای جنوبی، بقیه کشاورزان نسبت به مصرف کودهای زیستی مقاومت سرسختانه‌ای از خود نشان می‌دهند و قانع کردن آن‌ها به مصرف کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی کار مشکلی است. قابل‌ذکر است که کشاورزان در کشورهای درحال‌توسعه از آموزش‌های فنی لازم در مورد کشاورزی نوین برخوردار نبوده و بیشتر به انجام روش‌های سنتی تمایل دارند.

در بخش‌هایی از آسیا نیز اگرچه دولت‌ها ترغیب‌کننده کشاورزی پایدار هستند اما کشاورزان معمولاً در برابر تغییر عملیات کشاورزی سنتی مقاومت می‌کنند. یکی از شرکت‌های تولیدکننده مایه تلقیح‌های ریزوبیومی شرکت Tokachi ژاپن است که سه محصول ازجمله Mamezo را برای بقولات مختلف تولید می‌کند. در هندوستان بیش از ۱۰۰ تولیدکننده کود زیستی در ایالت های مختلف فعالیت دارند و یکی از این شرکت‌های مطرح، شرکت Biomax است که سه محصول عمده به نام‌های Biomix، Biozink و Biodine حاوی ریزجانداران تثبیت‌کننده نیتروژن، حل‌کننده فسفات، آهن، روی و منگنز تولید می‌کند که برای

طیف وسیعی از گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. برآورد شده‌است که در بیش از ۱۰۰ هزار هکتار مزارع کشت ارگانیک هندوستان حدود ۱/۵ میلیارد دلار صرف کودها و آفت‌کش‌های زیستی شده‌است. در چین نیز از سال ۱۹۹۶ کودهای زیستی توسط وزارت کشاورزی این کشور به ثبت رسیده‌است بطوریکه هم اکنون صدها محصول در شرکت‌های مختلف تولید می‌شوند. شرکت China Bio-Fertilizer AG (CBF) محصولی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفر و پتاسیم است که سبب افزایش ۳۰ درصدی محصول و کاهش ۳۰ درصدی مصرف کودهای شیمیایی می‌شود. اولین کود زیستی مورداستفاده در ایران، ریزوبیوم بنام تجاری نیتراژین بود که در سال ۱۳۴۰ به کشور وارد و درکشت سویا مصرف شد. در سال ۱۳۷۵ با ایجاد بخش تحقیقات بیولوژی خاک در مؤسسه تحقیقات خاک و آب، جداسازی، شناسایی و ارزیابی کارایی باکتری‌های ریزوبیوم بومی همزیست با سویا، نخود، لوبیا، باقلا، یونجه و عدس انجام شد. در ادامه پژوهش‌ها، سویه‌های کارآمد ریزوبیوم طی آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای انتخاب شدند. فرمولاسیون و دانش فنی تولید انبوه این مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به بخش خصوصی واگذار شدند. اولین کود زیستی تولید داخل، کود زیستی ریزوبیوم سویا بود که تولید تجاری آن از سال ۱۳۷۹ آغاز و موجب قطع واردات آن از خارج گردید. عناوین دانش‌های فنی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی که توسط مؤسسه تحقیقات خاک و آب تجاری‌سازی شده نشان داده شده‌است(جدول۱). در دانشگاه‌های مختلف ایران نیز پژوهش‌های مختلفی در مورد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی‌انجام شده‌است؛ اما با توجه به‌اینکه معمولاً هر دانشگاه به‌طور مستقل عمل می‌کند لذا کارهای موازی زیادی مشاهده می‌شود همچنین هر کدام از آن‌ها از ریزجانداران مختلفی استفاده می‌کنند، لذا جمع‌بندی نتایج آن‌ها در سطح ملی به‌آسانی امکان‌پذیر نخواهد بود.

جدول ۱- مشخصات مایه تلقیح‌های ریزوبیومی تجاری‌سازی شده تحت لیسانس مؤسسه تحقیقات خاک و آب

ردیف	عنوان دانش فنی	محصول هدف
۱	مایه تلقیح ریزوبیوم سویا	سویا
۲	مایه تلقیح ریزوبیوم لوبیا	انواع ارقام لوبیا
۳	مایه تلقیح ریزوبیوم نخود	نخود ایرانی
۴	مایه تلقیح ریزوبیوم باقلا	باقلا

تدوین استاندارد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی در ایران

تاکنون برای مایه تلقیح‌های ریزوبیومی یک استاندارد بین المللی و مورد توافق اکثر کشورها ارائه نشده‌است. با این حال در برخی کشورها استانداردهای ملی و منطقه‌ای در این مورد تدوین شده‌است. در ایران با همکاری سازمان ملی استاندارد و مؤسسه تحقیقات خاک و آب برای برخی کودهای زیستی استانداردهایی تدوین شده‌است. بر اساس این استانداردها هر کدام از این کودها بایستی دارای ویژگی‌هایی باشند که تولیدکنندگان ملزم به رعایت آن‌ها می‌باشند. در زیر خلاصه‌ای از این استانداردها ارائه شده‌است. مشخصات کامل استانداردهای کودهای زیستی مختلف بر روی سایت سازمان ملی استاندارد ایران قراردارد. (http://isiri.gov.ir/portal)

ویژگی کودهای زیستی حاوی باکتری‌های ریزوبیوم بر اساس استاندارد ملی ایران (شماره ۲۲۳۰۲)، در فرمولاسیون‌های جامد و مایع مطابق با جدول ۲ می‌باشد این ویژگی‌ها باید در تمام مدت تولید تا زمان انقضای محصول احراز شوند(بی نام ۲، ۱۳۹۶).

جدول ۲- ویژگی‌های مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

ردیف	ویژگی		حد قابل‌قبول
۱	تعداد باکتری	جامد (در گرم)	حداقل ۱۰۷× ۵
۲		مایع (در میلی‌لیتر)	حداقل ۱۰۷× ۱
۳	کارایی		ایجاد گره‌های فعال تثبیت‌کننده نیتروژن
۴	آلودگی میکروبی	بر روی محیط کشت گلوکز-پپتون آگار	در رقت ۵-۱۰ هیچ آلودگی مشاهده نشود

ویژگی جنس و نوع ماده بسته‌بندی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

جنس و نوع ماده بسته بندی و فضای موجود در آن بایستی طوری باشد که بر اساس استاندارد ملی ایران تا پیش از تاریخ انقضاء تعداد لازم ریزجانداران موردنظر را داشته باشد. ظرف بسته‌بندی باید به نور و رطوبت غیرقابل نفوذ باشد همچنین ماده مورداستفاده در بسته‌بندی بایستی قابلیت استریل شدن توسط اتوکلاو و یا اشعه گاما را داشته باشد. امروزه مواد پلاستیکی و پلی اتیلنی استفاده زیادی در بسته‌بندی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی دارند. پلی اتیلن، قابلیت تبادل هوای مناسبی داشته بطوریکه‌اجازه خروج CO_2 و ورود O_2 را به داخل کود زیستی می‌دهد. در استرالیا پلی اتیلن با ضخامت ۰/۰۵-۰/۰۳۸ میلی متر استفاده می‌شود و به وسیله‌اشعه گاما استریل می‌شوند. مقاومت پلی اتیلن نسبت به‌از دست رفتن رطوبت بیشتر از تبادل هوا است بطوریکه در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد در یک دوره شش‌ماهه در انواع مواد همراه پیت، حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد رطوبت آن از دست می‌رود. در هر حال برای رفع این مشکل می‌توان از پلی اتیلن یا پروپیلن‌های ضخیم‌تر نیز استفاده کرد. البته باید توجه کرد که پلی‌پروپیلن برخلاف پلی‌اتیلن در برابر اشعه گاما آسیب می‌بیند و برای این منظور مناسب نیست. در هندوستان از نایلون‌های پلی‌اتیلنی با ضخامت ۰/۴ میلی‌متر استفاده می‌شود که به علت ضخامت بیشتر می‌توان آن را با اتوکلاو استریل نمود. برای کاهش صدمه به نایلون در اتوکلاو از فشار ۱۰ به جای ۱۵ اتمسفر استفاده می‌شود. با توجه به‌اینکه حرارت موجب کاهش نفوذپذیری هوا می‌شود. توصیه می‌شود قبل از بستن نایلون آن را از هوا پر کرده یا با ایجاد یک دریچه عمل هوادهی آن بعد از اتوکلاو و سرد شدن انجام شود.

کنترل کیفی مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

برای ارائه یک کود زیستی باکیفیت، مؤلفه‌هایی شامل ارائه‌دهنده دانش فنی، تولیدکننده کود زیستی و نهاد دولتی مربوطه که حامی‌و ناظر است دخیل هستند. کنترل کیفیت مایه تلقیح‌های ریزوبیومی بایستی با دقت و به‌طور مداوم انجام شود. بعضی از آزمایش‌های کمی و کیفی شامل کشت از نظر آلودگی‌های میکروبی، pH محیط کشت، رنگ آمیزی گرم، کشت خطی بر روی محیط کشت جامد و مشاهده سلول زنده یا شمارش کلنی و همچنین مراجعه به‌استانداردهای مربوطه توصیه می‌شود.

نگهداری مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

مایه تلقیح‌های ریزوبیومی لازم است در مکانی دور از نور مستقیم خورشید، خشک و خنک و ترجیحاً دمای ۱۰-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند و دقت شود تا دچار یخزدگی نشوند. انواع فریز-خشک نیز نبایستی در فریزر نگهداری شوند یخچال یا

دمای بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد باعث از بین رفتن ریزوبیوم و کاهش تعداد آن‌ها در مایه تلقیح می‌شود. مواد شیمیایی و سموم در سطح بذر ممکن است در هنگام مصرف مایه تلقیح‌های ریزوبیومی باعث کاهش کیفیت آن‌ها شوند. اختلاط بذر و مایه تلقیح نباید با استفاده از وسایل اختلاط‌کننده و ظروفی که قبلاً از آن برای علف کش‌ها، قارچ کش‌ها، آفت کش‌ها و همچنین مواد شیمیایی حاوی غلظت زیاد روی و جیوه یا کودهای شیمیایی حاوی مولیبدن، روی و منگنز استفاده شده صورت گیرد. معمولاً مایه تلقیح‌های ریزوبیومی با مواد همراه جامد حدود شش ماه دوام دارند. در انواع مایع می‌توان مواد غذایی و محافظت‌کنندگان از سلول به آن‌ها اضافه و درنتیجه ماندگاری ریزجانداران را افزایش داد به طوری که انواع مایه تلقیح‌های ریزوبیومی مایع تا دو سال نیز ماندگاری دارند و ازاین‌رو انواع مایع قیمت بالاتری نسبت به انواع جامد دارند.

روش‌های مصرف مایه تلقیح‌های ریزوبیومی

مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به‌اشکال مایع، پودری، گرانول، ژله‌ای، چیپس مانند یا فریز-خشک، فرموله می‌شوند. جمعیت ریزجانداران معمولاً بر حسب کیلوگرم یا گرم برای انواع مایه تلقیح‌های ریزوبیومی جامد و میلی لیتر یا لیتر برای انواع مایع توصیه می‌شوند. مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به صورت آغشته کردن یا غوطه‌ور کردن بذر مصرف می‌شوند.

معمول‌ترین، مؤثرترین و اقتصادی‌ترین شیوه کاربرد مایه تلقیح‌های ریزوبیومی روش تلقیح بذری یا بذرمال کردن است. در مایه تلقیح‌های ریزوبیومی با مواد همراه جامد و پودری همانند پرلیت که چسبندگی آن‌ها به سطح بذر کم است معمولاً نیاز است که قبل از تلقیح، سطح بذر به وسیله یک ماده چسباننده مناسب آغشته شود. از مواد چسباننده مناسب برای این منظور می‌توان به صمغ عربی، صمغ سلولز (کربوکسیل-متیل سلولز)، سلوفاز(متیل سلولز)، پلی وینیل پیرووِیدون(PVP) ، روغن‌های گیاهی و محلول شکر اشاره کرد. در مایه تلقیح‌های ریزوبیومی به صورت مایع معمولاً به ماده چسباننده نیازی نیست. اشعه‌های نور خورشید ممکن است برای باکتری مضر باشد لذا بهتر است اختلاط بذرها با کود زیستی در سایه انجام شود. نحوه اختلاط بذر، ماده چسباننده و کود زیستی با توجه به مقدار سطح کشت و یا مقدار بذر مورداستفاده متفاوت خواهد بود. عمل تلقیح در سطح یک تا دو هکتار را می‌توان به روش دستی و در پلاستیک‌های خیاری یا سطل انجام داد بدین روش که ابتدا بذر و ماده چسباننده باهم مخلوط و پس از به هم زدن کافی، کود زیستی نیز اضافه خواهد شد. پس از اختلاط کامل و اطمینان از اینکه کود زیستی تقریباً به طور یکنواخت روی سطح بذور توزیع شده‌است بذور تلقیح شده قبل از کاشت، در سایه پهن شده و حدود یک ساعت هوادهی انجام می‌شود. در صورتی که سطح زیر کشت بیش از دو هکتار باشد به علت حجم زیاد بذور می‌توان از دستگاه‌های کارنده استفاده کرده و کود زیستی، محلول چسباننده و بذور را در مخازن مخصوص ریخته تا پس از اختلاط، عملیات کاشت انجام شود. در مایه تلقیح‌های بر اساس پیت یا فریز-خشک، بهتر است به صورت آبکی و دوغاب استفاده شود؛ معمولاً آب باران و آب آشامیدنی برای این منظور مناسب است. در مواردی از یک ماده پوشاننده بر روی سطح بذر پیش تلقیح شده استفاده می‌شود. در هنگام نگهداری، انتقال و تلقیح، از قرار دادن کود زیستی در محیط گرم می‌بایستی خودداری شود. همچنین از اختلاط کود زیستی با هرگونه سموم و کودهای شیمیایی می‌بایستی اجتناب شود. روش بذرمال برای انواع حبوبات، غلات، دانه‌های روغنی، گیاهان علوفه‌ای، گیاهان علفی و گیاهان زینتی کاربرد دارد. در برنج‌کاری در مرحله تولید نشا مقدار ۲

کیلوگرم کود زیستی با ۶۰ لیتر آب (اگر مثلاً ۶۰ کیلوگرم بذر مصرف می‌شود) با بذور مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و کشت می-شوند. برای اختلاط بذر و کود زیستی می‌توان از خلاطه های مختلف دستی و برقی استفاده نمود (شکل ۱).

شکل ۱- نحوه‌اختلاط کود زیستی و بذر به وسیله خلاطه

ضرورت تلقیح معمولاً در مواردی است که سابقه کشت بقولات موردنظر در منطقه وجود نداشته و یا اینکه در طی چهار سال گذشته در مزرعه موردنظر کشت نشده و یا یک گیاه جدید کشت شود. اگر یک سویه جدید و مؤثر از ریزوبیوم موردنظر است تلقیح با سویه جدید ضروری خواهد بود. شرایط اسیدی یا قلیایی خاک، خشکی، گرما و شوری هم شرایط را برای بقای ریزوبیوم محدود می‌کند و این مسئله احتمالاً سبب ضروری شدن تلقیح خواهد شد.

توصیه مایه تلقیح‌های ریزوبیومی‌در ایران و برخی کشورها

توصیه مایه تلقیح‌های ریزوبیومی‌در ایران به طور کلی ۲ کیلوگرم یا لیتر در هکتار توصیه می‌شود.

شکل ۲- مایه تلقیح‌های ریزوبیوم ویژه لوبیا، نخود و سویا تحت لیسانس موسسه تحقیقات خاک و آب

مقدار مایه‌تلقیح‌های ریزوبیوم توصیه‌شده در استرالیا برای بقولات با بذر ریز (یونجه و شبدر) یک کیلوگرم و برای بقولات با بذر متوسط (عدس، ماش، ماشک و خلر) ۲۰۰ و برای انواع بذر درشت (باقلا، نخود، بادام‌زمینی و لوبیا) ۴۰۰ گرم کود زیستی به‌ازای حداکثر ۱۰۰ کیلوگرم بذر توصیه شده‌است. لازم به ذکر است جمعیت استاندارد کود زیستی ریزوبیوم در استرالیا ۱۰۹ سلول در گرم یا میلی‌لیتر کود زیستی است. مقادیر توصیه شده ریزوبیوم در هنگام کاشت بقولات دانه‌ای برای انواع دانه درشت (باقلا،

نخود و لوبیا) ۱۰۵، برای انواع دانه ریز (ماش و عدس) ۱۰۴، برای بقولات مرتعی دانه متوسط (شبدر و یونجه) ۱۰۳، برای بقولات مرتعی دانه ریز مثل شبدر سفید ۵×۱۰۲ سلول باکتری ریزوبیوم به‌ازای هر بذر محاسبه می‌شود. استاندارد حداقلی برای کودهای زیستی ریزوبیومی در استرالیا در جدول ۳ ارائه شده‌است.

جدول ۳- استاندارد حداقلی برای کودهای زیستی ریزوبیومی‌در استرالیا

ردیف	حالت کود زیستی	واحد شمارش	شمارش بلافاصله بعد از تولید	شمارش در طی دوره	
				ماندگاری	شش ماه پس از تولید
	پیت	(CFU.g-1)*	≥۱×۱۰۹	≥۱×۱۰۸	۱×۱۰*
	مایع	(CFU.ml-1)	≥۵×۱۰۹	≥۱×۱۰۹	۶
	گرانول	(MPN.ha-1)**	≥۱×۱۰۱۰	≥۱×۱۰۱۰	۶
	فریز-خشک	(CFU/vial)	≥۱×۱۰۱۲	≥۵×۱۰۱۱	۶

CFU: Colony Forming Unit**MPN: Most Probable Number; *

۹۲ درصد مایه تلقیح‌های ریزوبیوم در استرالیا در مواد همراه از نوع پیت، ۵ درصد گرانول و ۳ درصد به صورت فریز-خشک عرضه می‌شوند. بسته های کود زیستی ریزوبیوم در استرالیا با توجه به نوع و اندازه بذر از ۲۵۰ تا ۲۵۰۰ گرم متغیر هستند. مقادیر مایه تلقیح‌های ریزوبیوم در کانادا برای انواع بذور درشت، متوسط و ریز به ترتیب تعداد ۱۰۵، ۱۰۴ و ۱۰۳ سلول باکتری ریزوبیوم به‌ازای هر بذر توصیه شده‌است.

مقدار و نحوه مصرف مایه تلقیح‌های ریزوبیوم در کنیا به صورت گرانول ۲۵۰ گرم و به صورت پودری ۷۵ گرم در هکتار توصیه شده‌است. تعداد سلول باکتری ریزوبیوم ۱۰۸ در گرم یا میلی لیتر مایه تلقیح به عنوان استاندارد تعیین شده‌است.

مقدار توصیه کود زیستی ریزوبیوم برای محصولات مختلف در اتیوپی در جدول ۴ نشان داده شده‌است.

جدول ۴- مقدار توصیه کودهای زیستی ریزوبیومی در اتیوپی

مقدار کود زیستی (گرم)	نوع محصول و مقدار مصرف					
	باقلا		سویا		عدس	
	به‌ازای بذر (کیلوگرم)	به‌ازای سطح (هکتار)	به‌ازای بذر (کیلوگرم)	به‌ازای سطح (هکتار)	به‌ازای بذر (کیلوگرم)	به‌ازای سطح (هکتار)
۵۰۰	۷۲	۰/۵	۸۰	۱	۸۴	۱

نتیجه گیری

تا به‌امروز، یک استاندارد و روش کار واحد برای توصیه، مصرف و کاربرد کودهای زیستی در دنیا ارائه نشده‌است. در برخی کشورها و ایران برای کودهای زیستی مختلف دستورالعمل‌های منطقه‌ای تدوین شده‌است. در این مقاله دستورالعمل‌های مختلف مصرف کودهای زیستی در دنیا و ایران بررسی و مرور شده‌است.

فهرست منابع

۱- بی نام . ۱۳۹۶. استاندارد ملی کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های ریزوبیوم-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی شماره ۲۲۳۰۲، سازمان ملی استاندارد ایران.

۲- خسروی, ه. و اسدی رحمانی, ه. ۱۴۰۱. مصرف کودهای زیستی حاوی باکتری‌های ریزوبیوم در اراضی زیر کشت لگوم‌ها (روش‌ها، پتانسیل‌ها، مزایا و محدودیت‌ها), مدیریت اراضی ۱۰(۱): ۱۱۰-۹۵.

3 - Cirera, X. and Masset, E., 2010. Income distribution trends and future food demand. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 365(1554), pp.2821-2834.

4 - Drew, E., Herridge, D., Ballard, R., O'Hara, G., Deaker, R., Denton, M., Yates, R., Gemell, G., Hartley, E., Phillips, L. and Seymour, N., 2012. Inoculating legumes: a practical guide. Grains Research and Development Corporation.

5 - Forum for Nuclear Cooperation in Asia (FNCA),. 2006. Biofertilizer Manual. FNCA Biofertilizer Project Group, 124 pages.

6 - Masson-Boivin, C. and Sachs, J.L., 2018. Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia—the roots of a success story. Current opinion in plant biology, 44, pp.7-15.

7 - Thomas, L. and Singh, I., 2019. Microbial biofertilizers: types and applications. In Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment (pp. 1-19). Springer, Cham.

8 - Thompson, J.A. 1984. Production and quality control of carrier legume inoculants. Internationals Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Information Bulletin No. 17. 37 pages.

9 - USDA. 2015. Legume Seed Inoculation Plant Materials. Natural resource Conservation Service Technical Note, No: TX-PM-15.

10 - Westhoek, A., Field, E., Rehling, F., Mulley, G., Webb, I., Poole, P.S. and Turnbull, L.A., 2017. Policing the legume-Rhizobium symbiosis: a critical test of partner choice. Sci Rep 7: 1419.

تصاویر بیشتر: