نگاهی به تکنولوژی مایه‌زنی بذور گیاهان لگومینه

Legume seed inoculation technology

سعید شکیب منش

کارشناس ارشد علوم و تکنولوژی بذر، حوزه مدیریت بذر تحقیقات آموزش، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

مقدمه:

مطالعه‌ی حاضر، نگاهی اجمالی به فناوری مایه‌زنی لگوم‌ها و ارائه‌ی مباحثی در رابطه با بهبود مایه‌زنی بذور لگوم‌ها دارد. هلریگل و ویلفارث (۱۸۸۷) نشان دادند که تثبیت نیتروژن با غده‌های موجود در ریشه‌ی گیاهان لگوم و الزاماً با عوامل موجود در گره‌ها (که تا آن زمان ناشناخته بود) ارتباط دارد. این عوامل از لحاظ توانایی غده‌زایی در گیاهان مختلف، با هم متفاوت بودند. یک سال بعد، بیجرینک (۱۸۸۸)، باکتری‌های موجود در گره‌های ریشه‌ای این گیاهان را شناسایی و جداسازی نمود و در سال ۱۸۹۶، استفاده از این باکتری‌ها برای سایر گیاهان به طور عملی رواج یافت. دیری نپایید که امکان مایه‌زنی لگوم‌هایی که در یک خاک بخصوص یا برای سال‌های متمادی کشت نشدند، میسر شد. استرالیا اولین کشوری بود که این کار را به طور عملی انجام داد چرا که لگوم‌ها بیشترین سطح زیر کشت را در این کشور به خود اختصاص دادند. بعدها دانشمندان دریافتند که رابطه‌ای تخصصی‌تر بین سویه‌های باکتریایی و میزبان‌های لگومی وجود دارد که مربوط به عدم توانایی غده‌زایی و توانایی تثبیت نیتروژن می‌باشد. منظور از مایه‌زنی، فراهم کردن ریزوبیوم‌های با قابلیت زنده‌مانی بالا و اثربخشی زیاد برای القا نمودن غده‌زایی و جایگزینی پس از جوانه‌زنی در لگوم‌ها می‌باشد.

مایه‌زنی گیاهان لگوم

تولید و کنترل کیفی تلقیح در لگوم

به طور عمومی، بذور لگوم را به وسیله‌ی کود گیاهی (پیت) مایه‌زنی می‌کنند. تولید بذور مایه‌زنی شده در استرالیا به طور صنعتی با بهره‌گیری از کود گیاهی خرد شده (حاوی سویه‌های خاصی از باکتری‌ها) در سال ۱۹۵۳ آغاز به کار کرد. پس از شکست‌های متوالی در این خصوص، با شناسایی پنج فاکتور مهم دخیل در این امر، کیفیت مایه‌زنی بهبود داده شد. فاکتورها به شرح زیر می‌باشند:

۱. به نظر می‌رسد که پیت‌ها به صورت مؤثر بازدهی مایه زنی را بالا برده‌اند ولی چون میزان بقا و زنده‌مانی ریزوبیوم‌ها در گیاهانی از قبیل شبدر، یونجه و نخود، بسته به موقعیت و عمق آن‌ها، از گونه به گونه‌ای دیگر از تفاوت بالایی برخوردار می‌باشد لذا آزمایشات زیادی با متغییرهای رنگ و بافت بر روی پیت‌ها صورت گرفته اما متأسفانه در این آزمایشات دلیل تنوع بالای موجود در میزان بقا بیان نشده است.

۲. شرایط اسیدی یکی از پارامترهای حیاتی بوده و لذا آن دسته از پیت‌ها که اسیدی می‌باشند لازم است کلسیم یا منیزیم کربنات اضافه شود.

۳. به منظور فراهم نمودن شرایط رشد برای ریزوبیوم‌های با رشد کند و غلبه‌ی آن‌ها بر عوامل بیماریزای با رشد بالا، استریل کردن پیت با اشعه‌ی گاما امری ضروری می‌باشد.

۴. زمانی که ریزوبیوم‌ها به پیت‌های از پیش خشک شده در دمای ۱۰۰ درجه اضافه شد به دلیل دمای حاصل از رطوبت (در زمان مایه‌زنی) و تولید مواد بازدارنده حاصل از تیمارهای گرمایی، بقای آن‌ها به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرد.

۵. رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد برای رشد مطلوب و میزان ماندگاری بالای آرایه‌ای سویه‌های ریزوبیوم در محیط‌های کشت پیت ضروری می‌باشد.

۶. تجمع نمک در رسوبات بجا مانده از پیت در فصول خشک، اثرات سوء بر زنده‌مانی و بقای ریزوبیوم‌ها دارد.

بکارگیری یافته‌های بالا در تولید مایه تلقیح، باعث بهبود کنترل کیفی آن‌ها شد. در سال ۱۹۷۱ نتایج حاصل از این یافته‌ها به موسسه‌ی تحقیقات کشاورزی استرالیا انتقال داده شد و پس از کسب استانداردها، مورد استفاده واقع شد. این استانداردها بر پایه‌ی تعداد ریزوبیوم‌های مفید بر روی پیت‌ها برای گیاهانی از قبیل شبدر سفید، لگوم‌های ریز بذر (یونجه، شبدر)، بذور متوسط (ماش، نخود) و بذور درشت (بذر سویا) به این ترتیب: ۵۰۰، 10^3، 10^4، 10^5 می‌باشند. استانداردهایی برای آلاینده‌های موجود در پیت‌ها نیز وجود دارد؛ در استرالیا برای مثال، تعداد آلاینده‌ها بایستی کمتر از 10^7 باشد در حالیکه در فرانسه نباید در طول دوره‌ی انبارداری هیچگونه آلاینده‌ای در پیت موجود باشد. البته باید گفت که افزایش جمعیت در پلیت‌ها خصوصا با غلظت پایین‌تر از ۰/۰۰۰۰۰۱، تشخیص و یافتن آلاینده‌ها را با مشکل مواجه می‌کند.

نیاز به مایه زنی

کاهش چشم‌گیر در محصولات زراعی و نیز وجود نیاز بالا به محصولات با کیفیت در مقیاس بزرگ، باعث شد که مایه‌زنی انجام شود. نتایج بدست آمده از تیمارهای سویه‌ی *Trifolium subterraneum* در خاک‌های نیو والز جنوبی، که در آن‌ها مشکل غده‌زایی (غده‌های دارای ریزوبیوم) وجود داشت، نیاز به مایه‌زنی را به طور چشم‌گیری افزایش داد. از میان ۳۲ مکان آزمایش شده، ۱۴ مکان به مایه‌زنی پاسخ نشان ندادند ولی حضور ریزوبیوم‌های مؤثر به طور طبیعی رخ داده بود اما ارتباط معناداری بین نوع خاک و حضور این ارگانیسم‌ها مشاهده نشد. در ۱۸ مکان دیگر دست کم یکی از روش‌های مایه‌زنی صورت گرفته منجر به غده‌زایی شد. اضافه کردن سنگ آهک خرد شده نتایج بهتری در خاک‌های با pH کمتر از ۵/۵ به همراه داشت و در مقایسه با مایه‌زنی محلول از برتری بیشتری برخوردار بود.

ایرلند و وینسنت (۱۹۶۸) نشان دادند که سویه‌ی معرفی شده‌ی *R. leguminosarumbv.trifolii* بر روی شبدر سفید اثری سازنده و مثبت و برعکس برروی شبدر معمولی نه تنها مؤثر نبود بلکه غده‌زایی را در آن‌ها به شدت محدود کرد. در خاکی که دارای 10^2 ریزوبیوم غیرفعال بر گرم می‌باشد، اضافه کردن ۱۰ برابری ریزوبیوم به آن‌ها، محصول را به طور چشم‌گیری افزایش داد. با این تفاسیر می‌توان گفت که برای رسیدن به احتمال ۹۰ درصد غده‌زایی، چیزی حدود 10^6 باکتری ریزوبیوم در هر بذر ضروری می‌باشد. ثیس و همکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که در هشت محصول مختلف از تیره‌ی لگوم، مایه‌زنی به طور مؤثر باعث افزایش بازدهی شد و این در حالی بود که خاک آن دارای جمعیت ریزوبیوم بین ۱۰ تا ۱۰۰ در هر گرم خاک بود. با توجه به اینکه میزان بازدهی مایه‌زنی مستلزم حدی از جمعیت آغازی می‌باشد لذا لازم است به خاک مقداری بیشتر از ریزوبیوم‌ها تلقیح شود تا توانایی رقابت با سویه‌های مضر حاصل شود.

تکنیک‌های مایه‌زنی

عمل افزودن ریزوبیوم‌ها ممکن است توسط بذور و یا خاک آغشته به آن‌ها انجام گیرد. اگر این عمل توسط بذر صورت پذیرد، لازم است که بذور حداقل یک هفته قبل از بذرپاشی، آغشته به ریزوبیوم شود و یا انواع تجاری آماده شده ی آن‌ها را تهیه کرد. اما با این حال، علیرغم نیاز روزافزون به بذور مایه‌زنی شده (تلقیح شده) و ظهور آن‌ها در استرالیا در سال ۱۹۷۱، در سال‌های ۱۹۷۴-۱۹۷۲ و نیز ۲۰۰۲-۱۹۹۹ این روش مورد آزمایش واقع شد که در نتیجه میزان زنده‌مانی بسیار پایین حاصل شد و همین باعث شد که این تکنولوژی زیر سوال برود. بنابراین روش‌های جایگزینی از قبیل مایه‌زنی مستقیم خاک با استفاده از کودهای مخلوط در آب یا مایه‌زنی خاک با بهره‌گیری از محلول‌های ویژه یا قرص‌های مخصوص ابداع شده است.

روش‌های مایه‌زنی بذور دارای تنوع بالایی است که اساسی‌ترین آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. پس از مایه‌زنی بذور، متأسفانه بیشتر مواد تلقیح‌کننده هنگام عبور بذر از ماشین بذرپاش، حذف می‌شدند. در مایه‌زنی مرطوب نیز مشکلات عدیده‌ای وجود دارد برای مثال هنگام پاشیدن بذر در صورتیکه بذر رطوبت خود را از دست دهد، مواد تلقیح‌کننده از آن جدا شده به ته تانک بذرپاش فرو می‌ریزد. اما در مایه‌زنی به کمک کود گیاهی، در صورتیکه از یک ماده‌ی چسبنده استفاده شود، بازدهی بالایی خواهد داشت و در این رابطه بایستی این ماده‌ی چسبنده توانایی این را داشته باشد که از جدا شدن ماده‌ی پوششی بذر (مواد تلقیح‌کننده) جلوگیری کند و از طرفی هم به کوتلیدن‌ها آسیبی نرساند. در بذور سویا، قطره‌پاشی مواد تلقیح‌کننده به بذور در تانک بذرپاش، کمی قبل از بذرپاشی، غده‌زایی بسیار بهتری نسبت به مایه‌زنی محلول از خود نشان داده است.

برای مقابله با اثرات زیانبار مواد اسیدی موجود در خاک یا سوپرفسفات‌ها بر زنده‌مانی ریزوبیوم‌ها، پودر بسیار ریز سنگ آهک ($CaCO_3$) اضافه شد چرا که بسیاری از سویه‌های ریزوبیوم از قبیل *R. legumino-sarumbv.trifolii* (Jensen, 1943) و *Sinorhizobium meliloti* (Amarger, 1980) حساسیت بسیار زیادی به شرایط اسیدی دارند. لونرگان و همکاران (۱۹۵۵) به این نتیجه رسیدند که می‌توان با اضافه کردن سنگ آهک به بذر و فرم دادن آن‌ها به شکل پلیت (قرصی شکل) و سپس اضافه کردن مواد تلقیح‌کننده با روش کود گیاهی (پیت) نتیجه‌ای بسیار مطلوب به اندازه‌ی تیمار آهکی بدست آورد در عین حال اینکه بسیار مقرون به‌صرفه و اقتصادی می‌باشد. راگلی و همکاران (۲۰۰۴)، در این‌باره نشان دادند که قرار دادن مواد تلقیح‌کننده در لابلای یک پلیت مخصوص نسبت به نوع آبکی آن، شرایط نگه‌داری بهتری را فراهم می‌کند همچنین باید افزود که این عمل نه تنها باعث حفاظت ریزوبیوم‌ها در برابر خاک می‌شود بلکه چندین مزیت در رابطه با بقا و ماندگاری آن‌ها به همراه دارد. این عمل مخصوصاً زمانی که بین مایه‌زنی و بذرپاشی تأخیر وجود داشته باشد، بسیار مؤثر و مقرون به صرفه خواهد بود. مایه‌زنی مستقیم بستر بذر در زمان بذرپاشی با استفاده از محلول‌پاشی و مایه‌زنی بذور، علاوه براینکه مشکل مربوط به حساسیت پوسته‌ی پوششی بذر را تا حدی کاهش می‌دهد، اثرات مخرب حشره‌کش‌ها و قارچ‌کش‌ها بر ریزوبیوم‌ها را خنثی می‌کند. روشن است که این روش، از دست رفتن باکتری‌ها را حین

بذرپاشی کاهش می‌دهد. لگوم‌های دانه ریز پاسخ بسیار بهتری به محلول پاشی بستر نشان داده‌اند چرا که در زمان جوانه‌زنی، لازم نیست انرژی زیادی صرف کنند. تنها مشکلی که در این رابطه می‌تواند بر سر راه مایه‌زنی این قبیل بذرها خصوصاً بذر سویا پیدا شود این است که به دلیل پراکندگی و از طرفی تراکم بالای ریزوبیوم‌ها در شربت پاشیده شده به بستر بذر، باعث غده‌زایی‌های اولیه و رشد بی‌رویه‌ی ریزوبیوم‌ها می‌شود. مایه‌زنی دانه‌ای (گرانولار) برای یونجه‌ی آمریکایی در نیوزلند در سال ۱۹۷۱ انجام شد و نتیجه‌ی بسیار مطلوبی هم حاصل شد. کود گیاهی دانه‌ای (پیت گرانولار) به طور اختصاصی در صنعت تولید بادام‌زمینی استفاده شده است. بدون شک هر دو روش مایه‌زنی خاک و بذر خود دارای نکات مثبت و منفی می‌باشند که انتخاب هرکدام از آن‌ها وابسته به نوع ابزار، اندازه‌ی بذر و میزان حساسیت کوتیلدون، وجود بذر مورد نظر و در نهایت تسهیلات لازم برای انجام آن می‌باشد.

جدول ۱ روش‌های مایه‌زنی بذور

Technique	Description
Seed inoculation	
Dusting	Peat inoculant is mixed with the seed without re-wetting
Slurry	Seed is mixed with a water solution of peat often with the addition of an adhesive
Lime or phosphate pelleting	Seed is treated with a slurry peat inoculant followed by a coating of calcium carbonate (superfine limestone) or rock phosphate
Vacuum impregnation	Rhizobia is introduced into or beneath the seed coat under vacuum
Soil inoculation	
Liquid inoculation	Peat culture mixed with water or liquid inoculant applied to the seedbed at the time of sowing (liquid inoculants may also be applied to seed)
Granular inoculation	Granules containing inoculum sown with seed in seedbed

Summarised from Brockwell, J., 1977; Bio-Care Technology Pty. Ltd. Inoculant Brochure 1998; Thompson, J., 1988).

منبع:

-Deaker, R., Roughley, R. J., Kennedy, I. R. (2004). Legume seed inoculation technology. Soil Biology and Biochemistry. 36 ;1275-1288.