

ریزوبیوم‌ها و نقش آنها در مدیریت نیتروژن اراضی کشاورزی زیر کشت لگوم‌ها

هوشنگ خسروی^۱

استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. hkhosravi@swri.ir

دریافت: بهمن ۱۳۹۳ و پذیرش: شهریور ۱۳۹۴

چکیده

ریزوبیوم‌ها از مهمترین باکتری‌های خاکزی هستند که با گیاهان خانواده لگومینوز رابطه همزیستی تثبیت کنندگی نیتروژن مولکولی هوا را دارند. سالانه حدود ۳۰ تا ۴۰ میلیون تن نیتروژن توسط سیستم همزیستی تثبیت می‌شود. متوسط مقدار تثبیت نیتروژن در لگوم‌ها حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال می‌باشد. لگوم‌ها نقش مهمی در تغذیه و تأمین پروتئین انسان و دام دارند. بیشترین سطح زیر کشت حبوبات در ایران مربوط به استان لرستان است و حدود ۶۰ درصد از حبوبات در چهار استان لرستان، فارس، خوزستان و آذربایجان شرقی تولید می‌شود. آذربایجان شرقی و غربی بیشترین سطح زیر کشت لگوم‌های علوفه‌ای را دارا هستند. پژوهش‌ها نشان داده است تناوب کشت با لگوم‌ها و همچنین استفاده از آنها به عنوان کود سبز اثرات قابل توجهی در افزایش نیتروژن خاک دارد. از عوامل محدود کننده تثبیت نیتروژن می‌توان به عدم کارایی باکتری بومی در تثبیت نیتروژن، شوری، اسیدیته، کمبود و سمیت عناصر، دما و رطوبت خاک اشاره نمود. بررسی وضعیت ریزوبیوم‌های بومی همزیست با لگوم‌های مورد نظر و ضرورت تلقیح و مطالعه امکان کشت لگوم‌های جدید با توان تثبیت بالا در مناطق مورد نظر و یا در تناوب با سایر محصولات از مهمترین پیشنهادات در این زمینه است. عملیاتی نمودن راهکارهای ارائه شده در این مقاله به همراه آموزش و ترویج پیشرفت‌های اخیر در این زمینه برای آگاهی دادن در جهت فواید و مزایای کود سبز و کشت لگوم به عنوان رهیافتی امیدوارانه در نظر گرفته می‌شود.

واژه های کلیدی: تثبیت نیتروژن، کود زیستی، تناوب.

^۱ - نویسنده مسئول، آدرس: کرج، مشکین دشت، بلوار امام خمینی، ص. پ. ۳۱۱-۳۱۷۸۵.

مقدمه

ازوتروف‌های (تغذیه‌کنندگان از نیتروژن) همزیست، در اختیار گیاه میزبان قرار می‌گیرد. به این ترتیب به یاری دی‌ازوتروف‌ها این عنصر حیات بخش بطور مداوم به درون سیستم خاک تزریق می‌شود و ادامه زندگی را برای سایر موجودات امکان‌پذیر می‌سازد (دیکسون و ویلر، ۱۹۸۶، استیون-سن، ۱۹۸۲).

دی‌ازوتروف‌ها براساس وابستگی به گیاهان به منظور تأمین کربن و انرژی برای تثبیت نیتروژن به سه گروه آزادزی، همیار و همزیست تقسیم‌بندی می‌شوند.

۱- باکتری‌های تثبیت‌کننده آزادزی که به طور مستقل یعنی بدون همکاری یک گیاه میزبان قادر به تثبیت نیتروژن می‌باشند. این موجودات کربن و انرژی لازم برای انجام فرآیند تثبیت نیتروژن را اکثراً با روش هتروتروفی یعنی استفاده از مواد کربنی ساده موجود در خاک و یا فتوتروفی و از طریق انجام فتوسنتز فراهم می‌کنند.

۲- باکتری‌های تثبیت‌کننده همیار که تماس فیزیکی ساده با گیاه برقرار نموده ولی اندام زیستی مشترک و قابل مشاهده با گیاه تشکیل نمی‌دهند

۳- باکتری‌های تثبیت‌کننده همزیست که در ارتباط نزدیکی با گیاه هستند و با تولید اندام زیستی مشترک با گیاه قادر به تثبیت N_2 می‌باشند. مهمترین و شناخته شده-ترین سیستم همزیستی تثبیت نیتروژن مربوط به رابطه همزیستی ریزوبیوم-لگوم است که در این مقاله به طور اجمال به این موضوع پرداخته می‌شود.

برخی مشخصات باکتری‌های ریزوبیوم

ریزوبیوم‌ها باکتری‌های گرم منفی میله‌ای شکل با ابعاد $0.5-0.9$ و $3-1/2$ میکرون و بدون اسپور هستند که معمولاً تحت شرایط رشدی مختلف دارای حالت‌های پلی‌مورفیک می‌باشند. این باکتری‌ها معمولاً بوسیله یک تازه قطبی یا زیر قطبی یا دو یا شش تازه پیرامونی متحرک می‌باشند. کلنی ریزوبیوم‌ها، دایره‌ای، محدب، برآمده و لعابی لزج است که قطر آنها معمولاً بعد از سه تا پنج روز

جمعیت جهان به طور تصاعدی در حال رشد بوده و نیاز جامعه به غذا و از جمله پروتئین در حال افزایش است. بنابراین ارائه راهکارهای مبتنی بر توسعه پایدار و توجه به حفظ سلامت محیط زیست برای افزایش تولید محصولات کشاورزی امری ضروری است. نیتروژن یکی از عناصر پرنیاز و مهم برای رشد گیاهان و جزء جدایی‌ناپذیر ساختمان پروتئین‌ها می‌باشد. با وجود اینکه بیش از ۷۸ درصد ترکیب گازی جو زمین را نیتروژن مولکولی (N_2) تشکیل می‌دهد اما این عنصر به این شکل برای گیاهان قابل جذب نیست. مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی یکی از راه‌های معمول برطرف‌کننده نیاز نیتروژنی محصولات کشاورزی می‌باشد که از یک سو مهمترین نهاد کشاورزی مؤثر در افزایش تولید بوده و از سوی دیگر از پتانسیل آلوده‌سازی بالایی برخوردار است. مصرف بی‌رویه و غیر اصولی کودهای شیمیایی نیتروژنی باعث آلودگی نیتراتی آب‌های سطحی و زیر زمینی و در نهایت موجب مسمومیت انسان، دام و آبزیان می‌شوند. همچنین مشکل افزایش نیترات زدایی (دی-نیتریفیکاسیون) و در نتیجه تولید بیشتر گازهای اکسید نیتروژنی و تخریب لایه حیاتی ازن را به همراه دارند. ظهور این قبیل مسائل مخرب و بسیاری مسائل دیگر ضرورت تجدیدنظر در روش‌های افزایش تولید محصولات و لزوم فراهم‌سازی شرایط برای استفاده بیشتر از فرآیندهای مفید طبیعی مانند تثبیت زیستی نیتروژن را ایجاب می‌کند (دیکسون و ویلر، ۱۹۸۶، استیون-سن، ۱۹۸۲).

تثبیت زیستی نیتروژن در انحصار انواع خاصی از موجودات پروکاریوت می‌باشد که توانائی تولید آنزیم نیتروژناز را دارند. نیتروژناز نقش یک کاتالیزور در احیای N_2 به NH_3 را بر عهده دارد و در دما و فشار معمولی عمل تثبیت نیتروژن را انجام می‌دهد. آمونیم حاصل، در مراحل بعدی به شکل اسیدهای آمینه و سایر ترکیبات نیتروژنی مورد نیاز سلول در می‌آید و یا در مورد دی-

مدیریت همزیستی ریزوبیوم-لگوم به عنوان مهمترین

مشخصه ریزوبیوم‌ها

لگوم‌ها بخش جدایی‌ناپذیر از کشاورزی هزاران ساله بشر هستند. اهمیت ریزوبیوم‌ها به عنوان ریزجانداران همزیست با لگوم‌ها از نظر نقش آنها در تثبیت نیتروژن مولکولی کاملاً مشخص شده بطوریکه لگوم‌ها در کشاورزی و اکوسیستم‌های طبیعی اهمیت بسزایی در تأمین نیتروژن دارند. یکی از موضوعاتی که در مورد افزایش کارایی این موهبت الهی مهم است مسئله مدیریت این ارتباط همزیستی است. در این رابطه می‌توان به رفع عوامل محدود کننده تثبیت همزیستی اشاره نمود. از عوامل محدود کننده تثبیت نیتروژن می‌توان به حضور یا عدم حضور باکتری مورد نظر در خاک، رقابت باکتری با انواع موجود در خاک و توان ایجاد آلودگی در گیاه، میزان شوری، اسیدیته، رطوبت و نیترات خاک، کمبود یا غلظت بالا و سمیت عناصر و سموم کشاورزی، عدم وجود فتوسنتز کافی، بیماری گیاه میزبان، چرای دام‌ها، دمای بسیار بالا یا پایین محیط و عدم وجود عناصری همانند کبالت اشاره نمود (زهران، ۱۹۹۹).

توجه به نقش ریزوبیوتوکسین‌ها در کاهش بیوسنتز اتیلن در گیاه میزبان و نقش آنزیم ACC دآمیناز در ریزوبیوم‌های دارای این آنزیم و کاهش اثرات تنشی عوامل تنش‌زا از دیگر عوامل مهم در مدیریت همزیستی ریزوبیوم-لگوم است. علاوه بر موضوع رفع محدودیت‌ها احتمال دارد در منطقه‌ای امکان کشت لگوم وجود نداشته باشد. همچنین ممکن است در برخی مناطق باکتری ریزوبیوم همزیست با لگوم مورد نظر وجود نداشته و یا اینکه در برخی مناطق باکتری همزیست با لگوم وجود داشته باشد اما کارایی لازم در تثبیت نیتروژن را نداشته باشد.

با توجه به مطالب ذکر شده برای مدیریت صحیح رابطه همزیستی لگوم-ریزوبیوم چه در کشت مستقیم لگوم و یا به صورت تناوب با سایر محصولات، ابتدا لازم است تا حد امکان عوامل محدود کننده مذکور رفع و یا

در انواع تند رشد در محیط کشت (YMA)^۲ به ۴-۲ میلی‌متر می‌رسد. ریزوبیوم‌ها هوازی بوده بطوری‌که اکسیژن در آنها به عنوان پذیرنده نهایی الکترون عمل می‌کند. دمای بهینه برای رشد ریزوبیوم‌ها ۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد و pH مناسب برای آنها شش تا هفت است. ریزوبیوم‌ها شیمیوارگانوتروف بوده و محدوده وسیعی از کربوهیدرات‌ها و نمک اسیدهای آلی را به عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند. نمک‌های آمونیوم، نیترات، نیتريت و اغلب اسیدهای آمینه می‌توانند به عنوان منبع نیتروژن مورد استفاده قرار گیرند. درصد مولی G+C مولکول DNA در ریزوبیوم‌ها بین ۶۴-۵۹ است.

ریزوبیوم‌ها دارای پلاسمیدهای بزرگی هستند که توانایی گره‌زایی توسط ژن‌های مستقر بر روی این پلاسمیدها کد می‌شود. ژن‌های مسئول تثبیت نیتروژن مولکولی (*nif genes*) نیز بر روی این پلاسمیدها واقع شده‌اند. این باکتری‌ها با طیف وسیعی از گیاهان خانواده لگومینوز همزیستی اختصاصی دارند و در ریشه آنها تشکیل گره می‌دهند. باکتری در داخل گره فعال، حالت باکتریوئید^۳ دارد که می‌تواند نیتروژن را به شکل آمونیوم تثبیت نموده و در اختیار گیاه میزبان قرار دهد. باکتریوئید به اشکال گلابی، گریزی یا Y شکل دیده می‌شود (گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵ و اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸).

از نظر تاکسونومیک، ریزوبیوم‌ها متعلق به سلسله باکتری‌ها، شاخه پروتئوباکتری‌ها، رده آلفا پروتئوباکتری‌ها و راسته ریزوبیال می‌باشند. راسته ریزوبیال دارای شش خانواده است. جنس‌های مختلف ریزوبیوم متعلق به چهار خانواده ریزوبیاسه، هیفومیکروبیاسه، برادی ریزوبیاسه و فیلوباکتریاسه می‌باشند. طبقه‌بندی فیلوژنی ریزوبیوم در (جدول ۱) آورده شده است (گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵ و اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸).

^۲- Yeast Mannitol Agar

^۳- Bacteroid

تعدیل گردد. همچنین بررسی وضعیت ریزوبیوم‌های همزیست با لگوم‌های قابل کشت در مناطق مختلف از نظر وجود و یا عدم وجود در خاک مزارع مورد نظر، همچنین ضرورت تلقیح بذر لگوم‌های مورد نظر با ریزوبیوم‌های مؤثر و کارا و بررسی امکان کاشت لگوم-های متناسب با شرایط اقلیمی منطقه مورد نظر در مناطقی که سابقه کشت لگوم ندارند نیز مورد بررسی قرار گیرد.

لازم به ذکر است هر گونه ریزوبیوم قادر است فقط یک یا چند گونه لگوم خاص را آلوده نماید. از طرف دیگر بعضی باکتری‌های ریزوبیوم بطور کاملاً اختصاصی فقط مربوط به یک گونه یا واریته خاص لگوم می‌باشند و روی ریشه سایر گیاهان قادر به تشکیل گره نمی‌باشند. در جدول ۲ چند لگوم معروف و باکتری ریزوبیوم آلوده کننده آن آورده شده است (گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵، اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸ و ویلمز، ۲۰۰۶).

جدول ۱- طبقه بندی ریزوبیوم (گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵)

| ارکان طبقه‌بندی | جایگاه ریزوبیوم در طبقه بندی |
|------------------|---------------------------------------|
| قلمرو (Domain) | Bacteria |
| سلسله (Kingdom) | Bacteria |
| شاخه (Phylum) | Proteobacteria |
| رده (Class) | Alpha-proteobacteria |
| راسته (Order) | Rhizobiales |
| | BradyrhizobiumBradyrhizobiaceae |
| | AzorhizobiumHyphomicrobiaceae |
| خانواده (Family) | MesorhizobiumPhyllobacteriaceae |
| | <i>Rhizobium</i> |
| | <i>Sinorhizobium</i> |
| | <i>Alorhizobium</i> |
| |Rhizobiaceae |

جدول ۲- نوع گونه ریزوبیوم و گیاه میزبان (ویلمز، ۲۰۰۶)

| گیاهان میزبان | گونه ریزوبیوم |
|--|--|
| Lathyrus | <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>vciciae</i> |
| باقلا، عدس، نخود فرنگی و شیدر | <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> |
| لوبیا | <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i> |
| یاس بنفش | <i>Rhizobium galegae</i> |
| لوبیا | <i>Rhizobium etli</i> |
| لوبیا، یونجه، <i>Leucaena</i> و <i>Macroptilium</i> | <i>Rhizobium tropici</i> |
| لوبیا، <i>Leucaena</i> و <i>Parasponia</i> | <i>Rhizobium sp</i> BR816 |
| دامنه میزبانی وسیع | <i>Rhizobium sp</i> NGR234, MPIK 1030 |
| نخود ایرانی | <i>Mesorhizobium ciceri</i> |
| Lotus و Anthyllis, Lupinus | <i>Mesorhizobium loti</i> |
| Astragalus | <i>Mesorhizobium huakuii</i> |
| Glycyrrhiza, Sophora, Caragana, Halimodendron, Swainsonia, Glycine | <i>Mesorhizobium tianshanense</i> |
| نخود | <i>M. mediterraneum</i> |
| Acacia, Prosopis, Chamaecrista, Leucaena | <i>M. plurifarum</i> |
| <i>Sesbania rostrata</i> | <i>Azorhizobium caulinodans</i> |
| انواع یونجه (Melilotus, Trigonella, Medicago) | <i>Sinorhizobium meliloti</i> |
| Medicago | <i>S. medicae</i> |
| Sesbania, Acacia | <i>S. saheli</i> |
| سویا | <i>S. xinjiangense</i> |
| Sويا و Vigna | <i>S. ferdii</i> |
| دامنه میزبانی وسیع | <i>S. ferdii</i> USDA 257 |
| Vigna و Macroptilium | <i>Bradyrhizobium japonicum</i> |
| Sويا، Vigna و Macroptilium | <i>Bradyrhizobium elkanii</i> |

تثبیت زیستی نیتروژن

۵۱/۸ درصد از آن مربوط به کشت آبی و مابقی مربوط به کشت دیم می‌باشد. بیشترین سطح زیر کشت حبوبات متعلق به نخود است اما از نظر میزان تولید لوبیا با ۴۲/۵ درصد سهم، در رتبه اول و نخود با ۳۸/۵ درصد سهم در رتبه بعدی هستند. بیشترین سطح برداشت حبوبات در کشور متعلق به استان لرستان با ۲۰ درصد و کمترین سطح مربوط به استان قم با ۰/۰۱ درصد است. بیش از نیمی از تولید حبوبات در چهار استان فارس، لرستان، خوزستان و آذربایجان شرقی حاصل شده است. توزیع میزان تولید و سطح زیر کشت حبوبات در مناطق مختلف ایران در شکل ۱ ارائه شده است (بی‌نام، ۱۳۹۲).

وضعیت لگوم‌های علوفه‌ای در ایران

در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹، سطح برداشت گیاهان علوفه‌ای حدود ۹۳۴ هزار هکتار بوده است. از کل سطح برداشت گیاهان علوفه‌ای، سهم یونجه و شبدر حدود ۷۰ درصد و بقیه مربوط به سایر گیاهان علوفه‌ای است. در این سال زراعی آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، خراسان-رضوی و فارس حدود یک سوم سطح برداشت گیاهان علوفه‌ای را به خود اختصاص داده‌اند. کمترین مقدار تولید گیاهان علوفه‌ای در بین استان‌های کشور به استان گیلان با سهم ۰/۰۴ درصد تعلق دارد (شکل ۲).

میزان تثبیت نیتروژن در لگوم‌ها

گزارش شده سالانه حدود ۱۳۹ تا ۱۷۵ میلیون تن نیتروژن در سال توسط ریزجانداران دارای آنزیم نیتروژناز تثبیت می‌شود که برآورد شده حدود ۳۵ تا ۴۴ میلیون تن آن مربوط به سیستم همزیستی باشد. مقدار تثبیت نیتروژن توسط سیستم ریزوبیوم- لگوم در گونه‌های مختلف گیاهان لگوم متفاوت و بین ۲۰۰ تا ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال است. در جدول ۳، مقدار تثبیت و ارزش اقتصادی لگوم‌های مختلف با اندکی تغییرات آورده شده است (اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸). همچنین برآورد شده است که افزایش عملکرد ناشی از محصولی که بعد

تثبیت زیستی نیتروژن مولکولی پدیده‌ای منحصر به فرد است که در اختیار گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها به نام دی‌ازوتروف‌ها می‌باشد. مهمترین سیستم تثبیت کننده نیتروژن، همزیستی لگوم-ریزوبیوم است (رویمامو و کوندرا، ۱۹۸۹). پدیده تثبیت نیتروژن اتمسفری در گره‌ها رخ می‌دهد. احیاء نیتروژن مولکولی به آمونیاک، توسط یک کمپلکس آنزیمی بنام نیتروژناز انجام می‌شود. نیتروژناز نقش یک کاتالیزور در احیاء N_2 به NH_3 را به عهده دارد و می‌تواند واکنش احیاء N_2 را طبق معادله $N_2 + 16 ATP + 8e^- + 8H^+ \rightarrow 2NH_3 + 16ADP + 16 P_i + H_2$ در

فشار و دمای معمولی هدایت کند. برای انجام واکنش

$3H_2 + N_2 \rightarrow 2NH_3$ ($\Delta G = -33.39 \text{ KJ mol}^{-1}$) در صنعت، دمای

۳۰۰ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد و فشار ۳۰ تا ۱۰۰ مگاپاسکال لازم است. نیتروژناز از دو قسمت پروتئین آهن و پروتئین آهن-مولیبدن تشکیل شده است. بخش پروتئینی آهن دارای وزن مولکولی حدود ۵۷ تا ۷۲ کیلو دالتون و متشکل از دو زیر واحد مشابه است. توالی اسیدهای آمینه در این پروتئین عمدتاً در بین موجودات مختلف حفاظت شده است. بخش پروتئین آهن-مولیبدن با وزن مولکولی ۲۲۰ کیلو دالتون دارای چهار زیر واحد دو به دو مشابه ($\beta\beta$, $\alpha\alpha$) می‌باشد (گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵ و اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸).

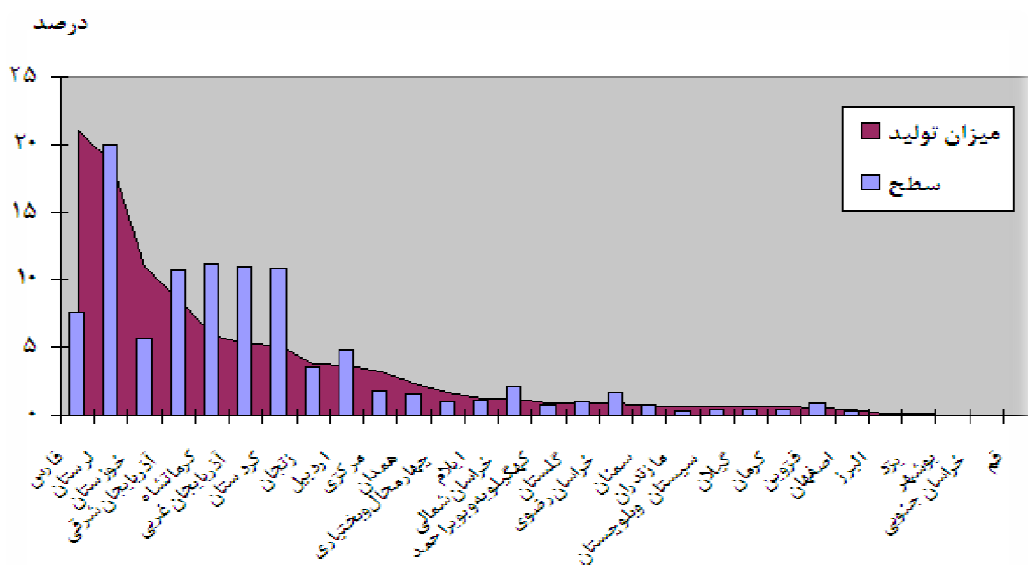
کشت لگوم‌های دانه‌ای (حبوبات) در ایران

حبوبات از نظر تأمین نیاز غذایی جامعه نقش مهمی را ایفاء و یکی از مهمترین محصولات زراعی به شمار می‌آیند. حبوبات به علت دارا بودن ۳۲-۱۸ درصد پروتئین، ۶۵-۵۳ درصد کربوهیدرات و میزان قابل توجهی کلسیم و آهن در تأمین نیازهای تغذیه‌ای انسان اهمیت دارند. در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹، حدود ۶۸۰ هزار هکتار معادل ۵/۶ درصد سطح برداشت محصولات زراعی در ایران به حبوبات اختصاص یافته است. میزان تولید حبوبات در سال حدود ۶۰۷ هزار تن می‌باشد که

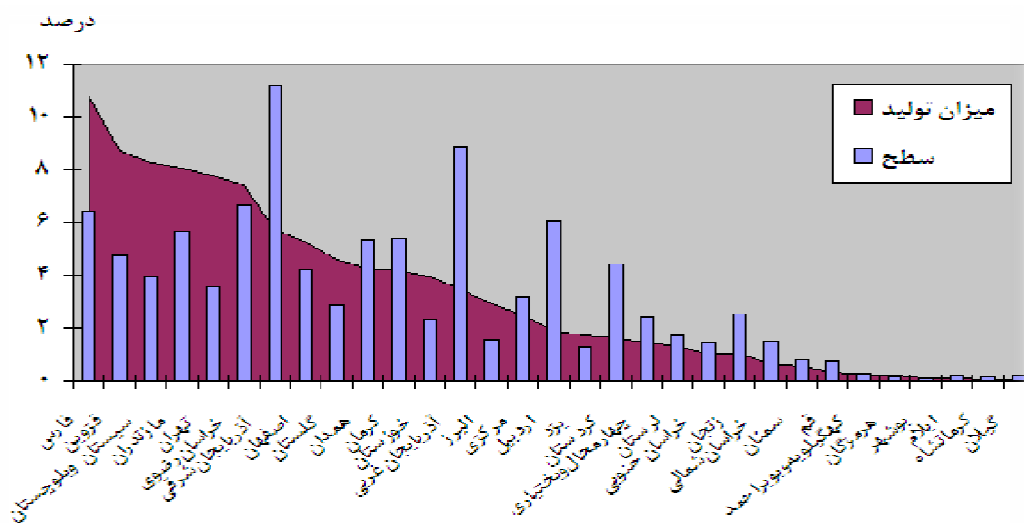
برخی مناطق استرالیا در جدول ۵ ارائه شده است. در جدول ۶ مقدار نیتروژن مشتق شده از اتمسفر در بررسی‌های آزمایشگاهی و مزارع کشاورزان نشان داده شده است. بیشترین درصد نیتروژن تامین شده از طریق تثبیت همزیستی در هر دو مورد مربوط به باقلا می‌باشد (هریج و همکاران، ۲۰۰۸).

از لگوم کشت می‌شود معادل افزایش ناشی از ۳۰ تا ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار کود شیمیایی نیتروژنی است. بیشترین مقدار تثبیت نیتروژن در بین حبوبات مهم مربوط به باقلا است.

مقدار تثبیت نیتروژن در مقایسه با کل نیتروژن جذب شده در لگوم‌های مختلف در اروپا در جدول ۴ ارائه شده است (بادیلی و همکاران، ۲۰۱۴). مقدار تخمینی نیتروژن تثبیت شده توسط لگوم‌های مختلف در



شکل ۱- میزان تولید و سطح حبوبات در ایران در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹



شکل ۲- میزان تولید و سطح گیاهان علوفه‌ای در ایران در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹

جدول ۳- نوع لگوم و مقدار تثبیت نیتروژن تثبیت شده توسط آنها (اسپانک و همکاران، ۱۹۹۸)

| نوع لگوم | نام علمی | میانگین N ₂ تثبیت شده در هکتار در هر فصل زراعی (کیلوگرم) | میانگین نیتروژن بدست آمده از اتمسفر (درصد) | ارزش اقتصادی معادل تولید کود نیتروژنی در اثر تثبیت (دلار) |
|-----------------------------|------------------------------|---|--|---|
| لگوم‌های برگی | | | | |
| شبدر قرمز | <i>Trifolium pretense</i> | ۱۷۰ | ۵۹ | ۱۱۹ |
| شبدر یا پرنده‌ای | <i>Lotus corniculatus</i> | ۹۲ | ۵۵ | ۶۴ |
| یونجه | <i>Medicago sativa</i> | ۱۸۰ | ۷۰ | ۱۲۶ |
| ماشک | <i>Vicia sativa</i> | ۱۳۰ | ۷۰ | ۹۱ |
| شبدر سفید | <i>Trifolium repens</i> | ۱۷۲ | ۷۵ | ۱۲۰ |
| | <i>Desmodium sp</i> | ۲۰۰ | ۸۵ | ۱۴۰ |
| لگوم‌ها بیچند منظوره | | | | |
| نخود فرنگی | <i>Pisum sativum</i> | ۷۲ | ۳۵ | ۵۰ |
| سویا | <i>Glycine max</i> | ۱۲۰ | ۵۳ | ۸۴ |
| بادام زمینی | <i>Arachis hypogaea</i> | ۱۱۴ | ۵۷ | ۷۹ |
| لوبیا | <i>Phaseolus vulgaris</i> | ۶۵ | ۴۰ | ۴۵ |
| نوعی لوبیا | <i>Vigna angularis</i> | ۸۰ | ۷۰ | ۵۶ |
| باقلا | <i>Vicia faba</i> | ۱۵۱ | ۸۰ | ۱۰۵ |
| نوعی لوبیاگرگی | <i>Lupinus angustifolius</i> | ۱۷۰ | ۶۵ | ۱۱۹ |
| عدس | <i>Lens culinaris</i> | ۱۰۰ | ۶۳ | ۷۰ |

جدول ۴- مقدار تثبیت نیتروژن در مقایسه با کل نیتروژن جذب شده در لگوم‌های مختلف در اروپا بر حسب کیلوگرم نیتروژن در تن محصول تولیدی (بادیلی و همکاران، ۲۰۱۴).

| لوبیا | باقلا | نخود | عدس | لوبین | نخودفرنگی | سویا | ماش | سایر لگوم‌های دانه‌ای | کل نیتروژن جذب شده نیتروژن تثبیت شده بالانس نیتروژن |
|-------|-------|------|------|-------|-----------|-------|------|-----------------------|---|
| ۶۴/۲ | ۸۹/۲ | ۸۹/۸ | ۹۰/۶ | ۸۴/۰ | ۶۳/۶ | ۱۰۶/۹ | ۹۴/۵ | ۸۲/۲ | شده |
| ۲۸/۴ | ۶۸/۷ | ۴۴/۹ | ۶۳/۴ | ۶۸/۹ | ۴۴/۵ | ۵۵/۶ | ۶۸/۰ | ۵۳/۸ | شده |
| -۹/۴ | ۲۳/۹ | ۱۱/۴ | ۱۹/۲ | ۱۴/۱ | ۶/۱ | -۵/۶ | ۲۳/۵ | ۷/۷ | |

جدول ۵- تخمین نیتروژن تثبیت شده توسط لگوم‌های مختلف در استرالیا (پیلز و همکاران، ۲۰۰۱)

| مکان | نوع لگوم | مقدار تثبیت نیتروژن (kgN/ha/yr) | میانگین محدوده |
|-----------------------|--------------------|---------------------------------|----------------|
| ایالت ویکتوریا | | | |
| Hursham | باقلا | ۸۲-۱۷۴ | ۱۲۸ |
| | عدس | ۶۰-۱۱۰ | ۹۰ |
| | نخود فرنگی | ۸۵-۱۶۶ | ۱۳۸ |
| | ماشک | ۷۲-۱۶۰ | ۱۱۶ |
| | یونجه یکساله | ۲-۹۰ | ۳۹ |
| Rutherglen | یونجه | ۱۹-۹۰ | ۴۳ |
| | لوبین | ۵۹-۲۴۴ | ۱۵۰ |
| ایالت نیو ساوت ولز | شبدر زیرزمینی | ۹۹-۲۳۸ | ۱۶۰ |
| | نخود فرنگی | ۱۳۳-۱۸۳ | ۱۶۰ |
| | شبدر زیرزمینی | ۲۱-۱۱۸ | ۵۶ |
| | یونجه | ۱۰۳-۱۶۷ | ۱۲۸ |
| | باقلا | ۱۱۲-۱۴۶ | ۱۲۳ |
| | لوبین / نخود فرنگی | ۱۲-۸۳ | ۴۵ |
| Stokhinbingal/Temora | لوبین | ۲۶-۹۳ | ۵۱ |
| | نخود فرنگی | ۳۵-۱۱۱ | ۵۸ |
| Condobalin | یونجه | ۱۳-۸۲ | ۳۷ |
| Trangie | یونجه | | |

سابقه تحقیق مرتبط با ریزوبیوم-لگوم در ایران سیستانی (۱۳۷۱) در آزمایشی سه ساله در مزرعه ایستگاه تحقیقات خاک و آب و کرج اثر چند سویه خارجی و بومی را بر رشد سویا بررسی و گزارش دادند که در سال‌های دوم و سوم بیشترین عملکرد معنی‌دار از مصرف یک نوع مایه تلقیح وارداتی بدست آمد. رجالی و صالح راستین (۱۳۷۵) گزارش دادند در تناوب شنبدر- برنج در خاک‌هایی که جمعیت ریزوبیوم مناسب است علیرغم افت جمعیت در دوره غرقاب، جمعیت در دوره غیرغرقاب جبران می‌شود و فقط در خاک‌های با جمعیت بسیار کم تلقیح جواب مثبتی می‌دهد. خسروی و همکاران (۱۳۸۰) در پژوهشی اثر چند نوع مایه تلقیح ریزوبیوم باقلا در منطقه صفی‌آباد دزفول را ارزیابی و گزارش کردند که عملکرد تیمارهای تلقیحی بین ۳۵ تا ۶۹ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند. گزارش شده که این مایه تلقیح‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای کود شیمیایی اوره باشند. خسروی و رمضان‌پور (۱۳۸۳) اثر چند مایه تلقیح ریزوبیوم بر رشد و عملکرد باقلا در مازندران را آزمایش و نتایج قابل توجهی را نسبت به شاهد بدست آوردند.

اسدی رحمانی (۱۳۸۴) در یک پژوهش ضمن جداسازی سویه‌های بومی ریزوبیوم همزیست با لوبیا در ۱۲ استان ایران و پس از غربالگری در مراحل آزمایشگاهی، گلخانه-ای و مزرعه‌ای گزارش دادند که در تمام مناطق مورد بررسی عملکرد دانه و سایر شاخص‌های رشد افزایش یافتند.

افشاری و ارزانش (۱۳۸۵) گزارش دادند ریزوبیوم بومی همزیست با عدس موجب افزایش عملکرد ۲۰ تا ۳۰ درصدی عدس در شرایط گلخانه‌ای شد. راعی و همکاران (۱۳۸۷) در پژوهشی مزرعه‌ای اثر تلقیح برادی ریزوبیوم، اوره و وجین علف هرز را بر سویا بررسی و نتیجه گرفتند تلقیح اثر قابل توجهی بر عملکرد و درصد پروتئین دانه داشت. خسروی (۱۳۹۴) اثر دو نوع مایه تلقیح ریزوبیوم به نام‌های F43 و F46 را بر کشت باقلا در مزارع کشاورزان استان گلستان بررسی و گزارش داد که استفاده از این مایه تلقیح‌ها باعث افزایش عملکرد می‌شود. نتایج این پژوهش در (جدول ۷) ارائه شده است.

جدول ۶- درصد نیتروژن مشتق شده از تثبیت در حبوبات مختلف (هریج و همکاران، ۲۰۰۸)

| نوع حبوبات | در آزمایشات | در مزارع کشاورزان |
|---|-------------|-------------------|
| لوبیا | ۴۰ | ۳۶ |
| نخود، عدس، ماش، نخود فرنگی، لوبیا چشم بلبلی | ۶۳ | ۶۵ |
| سویا و بادام زمینی | ۶۸ | ۵۸ |
| باقلا | ۷۵ | ۶۸ |

جدول ۷- اثر دو نوع مایه تلقیح انتخابی در مزارع کشاورزان در استان گلستان

| تلقیح | عملکرد دانه | افزایش عملکرد دانه | عملکرد کلش | افزایش عملکرد کلش | نیتروژن کلش | جذب نیتروژن کلش | افزایش جذب نیتروژن |
|-------|------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------|------------------|--------------------|
| | کیلوگرم در هکتار | درصد | کیلوگرم در هکتار | درصد | درصد | کیلوگرم در هکتار | درصد |
| +F43 | ۲۶۵۵ | ۱۰/۵ | ۲۴۳۸ | ۱۶/۵ | ۶/۶ | ۱۶۱ | ۵۸ |
| -F43 | ۲۴۰۲ | - | ۲۰۹۲ | - | ۴/۹۵ | ۱۰۳ | - |
| +F46 | ۲۲۳۶ | ۲۹ | ۲۵۱۴ | ۶۵ | ۶/۶ | ۱۶۶ | ۶۵ |
| -F46 | ۱۷۳۳ | - | ۱۵۲۳ | - | ۴/۰۲ | ۶۱ | - |

+F43: تلقیح با سویه، -F43: بدون تلقیح، +F46: تلقیح با سویه، -F46: بدون تلقیح.

در آزمایشی دو ساله در منطقه خرمدره زنجان دو رقم لوبیا چیتی امید بخش، قرمز اختر و قرمز درخشان با تیمارهای مختلف ریزوبیوم تلقیح شدند. نتایج نشان داد در تیمارهای تلقیحی به ویژه در رقم لوبیای چیتی

در آزمایشی دو ساله در منطقه خرمدره زنجان دو رقم لوبیا چیتی امید بخش، قرمز اختر و قرمز درخشان با

بقایای سورگوم علوفه‌ای حاصل شد. میزان نیتروژن کل خاک در مورد گیاه شبدر سفید و پنج ماه بعد از برگشت بقایای آن بدست آمد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق گیاه شبدر سفید به دلیل داشتن نسبت کربن به نیتروژن پایین، افزایش میزان نیتروژن کل و نیتروژن معدنی قابل استفاده برای گیاه بعدی، به عنوان بهترین کود سبز در بین گیاهان مورد مطالعه معرفی شد (عبدی و همکاران، ۱۳۹۱). فلاح و همکاران (۱۳۷۹) گزارش دادند برگرداندن شبدر برسیم به خاک در تناوب با برنج موجب تأمین ۵۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن مورد نیاز گیاه برنج شد.

تحلیل نتایج پژوهش‌های مرتبط با ریزوبیوم در ایران

مجموع تحقیقات مرتبط با ریزوبیوم-لگوم در ایران نشان می‌دهد که تلقیح در بسیاری موارد موجب افزایش عملکرد محصول و لگوم مورد نظر می‌شود. این موضوع را می‌توان به این شکل تحلیل نمود که یا باکتری ریزوبیوم مورد نظر در خاک وجود نداشته و جمعیت آن کم است و یا اینکه باکتری ریزوبیوم وجود دارد اما کارایی لازم برای تثبیت نیتروژن را ندارد. در هر حال تلقیح ریزوبیومی لگوم‌های زیر کشت در خاک‌های ایران در بسیاری موارد ضرورت دارد. همچنین غربالگری باکتری-های بومی به منظور دستیابی به سویه‌های برتر و تهیه مایه تلقیح از سویه‌های انتخابی نیز ضروری بوده و پژوهش-های تکمیلی در مورد جمعیت و کارایی باکتری‌های بومی در مزارع و مسئله رقابت انواع تلقیح شده با انواع بومی خاک لازم است. استفاده از مایه تلقیح‌های حاوی سویه-های ریزوبیوم مؤثر و برتر از نظر توان تثبیت زیستی نیتروژن در کشت لگوم‌ها موجب کاهش یا عدم مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی خواهد شد که حاصل آن، حفظ سلامت خاک، آب، گیاه، دام و در نهایت انسان خواهد بود. این موضوع گامی در جهت کشاورزی ارگانیک و توسعه پایدار خواهد بود. تناوب لگوم‌ها با سایر محصولات که از اعصار قدیم مفید تشخیص داده

COS16 صفات رشدی بیشتر تحت تاثیر قرار گرفت و بیشترین افزایش عملکرد دانه حدود ۶۰ درصد نسبت به شاهد بود (طاهر خانی و همکاران، ۱۳۸۸).

انصاری و همکاران (۱۳۸۸) در آزمایشی دو رقم لوبیای سفید و قرمز را با چهار سویه ریزوبیوم تلقیح و در مزرعه ایستگاه تحقیقات خاک و آب کرج مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد عملکرد دانه و و برخی دیگر از خصوصیات رشد به طور معنی‌داری با شاهد بدون تلقیح اختلاف نشان دادند.

افشاری (۱۳۹۱) مایه تلقیح‌های مختلف برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم را بر رشد سویا در مناطق مختلف ایران بررسی و گزارش دادند که در برخی استان‌ها تلقیح موجب افزایش معنی‌دار عملکرد شد. در رابطه با بحث تناوب، در زمان‌های قدیم کشاورزان برای تقویت زمین-های کشاورزی، گیاهان لگومینوز را کشت می‌کردند و براین باور بودند که باکشت این گیاهان، میزان حاصلخیزی خاک افزایش پیدا می‌کند. تحقیقات در دانشگاه وندا در آفریقای جنوبی در مورد اثر تناوب کود سبز و لگوم‌های بومی بر عملکرد ذرت نشان داد افزایش بیوماس ذرت بین ۰/۸ تا ۱۳/۸ و افزایش عملکرد دانه ۲/۶ تا ۱۰/۶ تن در هکتار بود ضمن اینکه میزان علف‌های هرز نیز در اثر تناوب با لگوم‌ها به طور قابل توجهی کاهش یافت (اودهیامبو و همکاران، ۲۰۱۰). آزمایشات در مورد تناوب غلات ذرت، ارزن، سورگوم با لگوم‌های بادام زمینی و لوبیا چشم بلبلی در مناطق مختلف غرب آفریقا نشان داد که تناوب با بادام زمینی موجب افزایش ۲۶ تا ۸۵ درصدی وزن خشک کل غلات مذکور شده است (بورکرت و همکاران، ۲۰۰۱).

در پژوهشی گیاهان خانواده‌های گرامینه شامل سورگوم، ارزن، یولاف و از خانواده لگومینوز شامل شبدر سفید، شبدر قرمز، شبدر برسیم، اسپرس، ماشک و گاودانه و از خانواده براسیکاسه، منداب به عنوان کودسبز، بررسی و فرآیند تغییرات عناصر غذایی خاک بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان کربن آلی در اثر برگرداندن

شده‌اند لازم است از نظر کارایی همزیستی ریزوبیوم بررسی و در صورت نیاز با سویه‌های مؤثر ریزوبیوم تلقیح شوند تا استفاده از تثبیت زیستی نیتروژن به حداکثر برسد.

۳- بررسی امکان کاشت لگوم‌های متناسب با شرایط اقلیمی منطقه مورد نظر در مناطقی که سابقه کشت لگوم ندارند

مشکلات و محدودیت‌ها

- ۱- در همه مناطق امکان کشت لگوم وجود ندارد.
- ۲- در برخی مناطق باکتری همزیست با لگوم مورد نظر وجود ندارد.
- ۳- در برخی مناطق باکتری همزیست با لگوم وجود دارد اما کارایی لازم در تثبیت نیتروژن را ندارد.

راهکارهای پیشنهادی

- ۱- بررسی وضعیت ریزوبیوم‌های همزیست با لگوم‌های قابل کشت در مناطق مختلف از نظر وجود و یا عدم وجود در خاک مزارع مورد نظر
- ۲- بررسی ضرورت تلقیح بذر لگوم‌های مورد نظر با ریزوبیوم‌های مؤثر و کارا

رهیافت ترویجی

تثبیت همزیستی ریزوبیوم - لگوم یک موهبت الهی است که در قرون گذشته نیز به اهمیت آن پی برده شده بود، لذا مدیریت این مزیت زیستی می‌تواند قدمی در راستای کشاورزی ارگانیک و حفظ سلامت محیط زیست باشد. بسیاری از اراضی کشاورزی ایران استعداد کشت لگوم‌ها را داشته و پتانسیل مناسبی برای بهره‌مندی از مزایای این محصولات مهم چه از نظر تامین پروتئین و چه از نظر استفاده به عنوان کود سبز وجود دارد. بنابراین عملیاتی نمودن راهکارهای ارائه شده در این مقاله به همراه آموزش و ترویج پیشرفت‌های اخیر در این زمینه برای آگاهی دادن در جهت فواید و مزایای کود سبز و کشت لگوم به عنوان یک منبع غنی از پروتئین به عنوان رهیافتی امیدوارانه در نظر گرفته می‌شود.

فهرست منابع

۱. اسدی رحمانی، ه. ۱۳۸۴. کاهش مصرف کودهای ازتی از طریق افزایش پتانسیل تثبیت زیستی ازت در مناطق زیر کشت لوبیا. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، نشریه شماره ۱۲۲۷، مؤسسه تحقیقات خاک و آب.
۲. افشاری م. و م.ح. ارزانش. ۱۳۸۵. بررسی درجه کارایی باکتری‌های بومی *Rhizobium bv. viciae leguminosarum* همزیست با عدس در خاک‌های استان اردبیل. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، نشریه شماره ۱۲۷۴، مؤسسه تحقیقات خاک و آب.
۳. افشاری، م. ۱۳۹۱. بررسی کارایی مایه تلقیح‌های مختلف برای افزایش تثبیت نیتروژن و عملکرد سویا. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، نشریه شماره ۱۷۳۴، مؤسسه تحقیقات خاک و آب.
۴. انصاری، م.ح.، ح.ج. شریف آزاد، ه. اسدی رحمانی، ع. حسینی. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کاربرد سویه‌های همزیست لوبیا بر رشد و عملکرد دو رقم لوبیا در منطقه کرج. پژوهش‌های زراعت در پژوهش و سازندگی، ۸۲: ۱-۱۰.
۵. بی نام. ۱۳۹۲. آمارنامه کشاورزی جلد اول محصولات زراعی سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹. مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات، ۱۲۳ صفحه.
۶. خسروی، ه.، ک. خاوازی و ک. میرزا شاهی. ۱۳۸۰. استفاده از مایه تلقیح باقلا به جای کود شیمیایی اوره در منطقه صفی آباد دزفول. مجله خاک و آب، ۱۲: ۱۶۲-۱۴۶.

۷. خسروی، ه. و م.ر. رمضانپور. ۱۳۸۳. بررسی کارایی چند مایه تلقیح ریزوبیوم بر رشد باقلا در مازندران. مجله علوم خاک و آب، ۱۸(۲): ۱۶۷-۱۶۱.
۸. خسروی ه.، میرزاشاهی ک.، رمضانپور م.، کلهر م.، میررسولی ا.، ۱۳۹۴. بررسی اثربخشی برخی از جدایه‌های ریزوبیوم بومی بر عملکرد باقلا در ایران. نشریه زیست شناسی خاک، جلد ۳ شماره ۱: صفحات ۹۱-۸۳.
۹. راعی، ی.، م. صدقی، ر. سید شریفی. ۱۳۷۸. آثار تلقیح برادی ریزوبیوم، کاربرد اوره و وجین علف هرز بر روند رشد و سرعت پر شدن دانه سویا. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴۳ (الف): ۹۱-۸۱.
۱۰. رجالی، ف. و ن. صالح راستین. ۱۳۷۵. بررسی تغییرات جمعیت ریزوبیوم تریفولی و نیاز به تلقیح آن در چند ایستگاه زیر تناوب برنج-شیدر در استان مازندران. پنجمین کنگره علوم خاک ایران، ۱۳-۱۰ شهریور ۱۳۷۵ کرج، ایران.
۱۱. طاهرخانی، م.، ق. نور محمدی، م.ج. میرهادی، ح. شریف آباد، ا. شیرانی راد. ۱۳۸۸. ارزیابی تاثیر تلقیح سویه-های مختلف باکتری *Rhizobium leguminosarumbv. Phaseoli* در تثبیت نیتروژن در ارقام مختلف لوبیا. مجله دانش نوین کشاورزی، ۱۴: ۳۶-۲۳.
۱۲. سیستانی، ه. ۱۳۷۱. طرح بررسی تاثیر باکتری ریزوبیوم میلیوتی بر روی عملکرد محصول یونجه. نشریه شماره ۸۴۸، مؤسسه تحقیقات خاک و آب. ۲۳ صفحه.
۱۳. عبدی، س. م. تاجبخش. ب. عبدالهی مند ولکانی، م.ح. رسولی صدقیانی. ۱۳۹۱. بررسی اثرکود سبز بر میزان ماده آلی و نیتروژن خاک. مجله دانش زراعت، سال پنجم، شماره ۷: ۱۴۴-۱۲۷.
۱۴. فلاح، ا.، م. مظاهری، ع. گرامی. ۱۳۷۹. مقایسه شیدر برسیم و کود ازت در عملکرد برنج. دومین همایش ملی استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی، بهمن ۱۳۷۹- کرج.
15. Baddeley, J.A., S. Jones, C.F.E. Topp, C.A. Watson, J. Helming, F.L. Stoddard. 2014. Biological nitrogen fixation (BNF) in Europe. Legume Futures Report 1.5. Available from www.legumefutures.de.
16. Burkert, A., M. Bagayoko, S. Alvey and A. Bationo. 2001. Causes of legume-rotation effects in increasing cereal yields across the Sudanian, Sahelian and Guinean zone of West Africa. W. J. Horst et al. (Eds), Plant nutrition. Food Security and Sustainability of Agro-ecosystems. Pp. 972~973.
17. Dixon, R.O.D., and C.T. Wheeler, 1986. Nitrogen Fixation in Plants. Chapman and Hall, New York.
18. Garrity, G.M., J.A. Bell, T. Lilburn. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), New York: Springer.
19. Herridge D.F., M.B Peoples, D.F. Robert and M. Boddey. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. Plant and Soil, 311:1-18.
20. Odhiambo, J.J.O., B.O. John Ogola and T. Madzivhandila. 2010. Effect of green manure legume - maize rotation on maize grain yield and weed infestation levels. African Journal of Agricultural Research, 5(8): 618-625.
21. Peoples M.B., A.M. Bowman, R.R. Gault, D.F. Herridge, M.H. McCallum, K.M. McCormick, R.M. Norton, I.J. Rochester, G.J. Scammell, G.D. Schwenke. 2001. Factors regulating the contributions of fixed nitrogen by pasture and crop legumes to different farming systems of eastern Australia. Plant and Soil, 228: 29-41.

22. Rweyemamu, C.L. and Z.P. Kondra. 1989. Nitrogen fixation in fababean (*vicia faba* L.) and its economic benefit in central Alberta, Canada. FABIS-Newsletter (ICARDA). 25: 14-18.
23. Spaink H.P., A. Kondorosi, P.J.J. Hooykaas. 1998. The Rhizobiaceae (Molecular biology of model plant- associated bacteria). Kluwer academic publishers. Netherlands, 566 p.
24. Steven-son, F.J. 1982. Nitrogen in agricultural soils. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, U.S.A., 940 p.
25. Willems, A. 2006. The taxonomy of Rhizobia: an overview. Plant and Soil, 287:3–14.
26. Zahran, H.H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 63(4): 968-989.