مقایسه جمعیت باکتری‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری نهال‌های پسته در خاک‌هایی با خصوصیات متفاوت

فاطمه حجت‌نوقی[1]، عبدالرضا اخگر[2]، عیسی اسفندیارپور[2]، حسین شیرانی[2]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان
2- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

F_hojjat90@yahoo.com

چکیده

20 نمونه خاک سطحی از باغ‌های پسته مناطق مختلف استان کرمان جمع‌آوری و بذر پسته‌ی رقم بادامی زرند در آن‌ها کاشته شد. با گذشت چهارماه، جمعیت باکتری‌های ریزوسفری (R) و غیرریزوسفری (S) تعیین گردید. باکتری‌های ریزوسفری نسبت به غیرریزوسفری، از جمعیت بالاتری برخوردار بودند؛ به‌طوری‌که نسبت R به S از 1/5 تا 11/4 متغیر بود. همبستگی این نسبت تا 22% رس، معنی‌دار بود و در مقادیر بالاتر، همبستگی خوبی مشاهده نشد. با افزایش EC، نسبت مزبور کاهش یافت؛ اگرچه این روند معنی‌دار نبود. با افزایش کربن آلی خاک تا 1%، نسبت R به S افزایش و در مقادیر بالاتر کاهش یافت.

کلمات کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری، درصد رس، درصد کربن آلی، نسبت R به S، هدایت الکتریکی خاک

مقدمه

ریزوسفر[1] به لایه نازکی (یک تا سه میلی‌متری) از خاک اطراف ریشه گفته می‌شود که موجودات زنده آن ناحیه از نظر کمی و کیفی، تحت تأثیر فعالیت‌های ریشه (نظیر تنفس و ترشحات ریشه‌ای) قرار دارند (Boven & Rovira, 1999). ریشه‌های گیاه مقادیر بسیار زیادی از ترشحات ریشه را به درون ریزوسفر رها می‌کنند که پیامد آن افزایش تراکم و فعالیت میکروبی در این ناحیه است. این مواد ترشح‌شده از ریشه‌ها شامل ترکیبات با وزن مولکولی زیاد و کم، مونومرهایی از جمله گلوکز و اسیدهای آمینه، پلی‌مرهایی مانند پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، بافت‌های فرسوده ریشه‌ها، سلول‌های مرده دیواره سلولی ریشه‌ها، الکترون‌ها، پروتون‌ها، یون‌های کربنات و بی‌کربنات، آب و دی‌اکسیدکربن می‌باشند (Uren, 2007). تراکم باکتری‌هایی که در اطراف ریشه‌های گیاه حضور دارند به‌طور معمول خیلی بیشتر از باکتری‌هایی است که در سایر قسمت‌های خاک (کل توده خاک) وجود دارند (Bartel, 1997). بیشتر بودن تراکم باکتری‌ها در ریزوسفر نسبت به توده خاک نشان می‌دهد که سطح بالایی از مواد غذایی (به‌خصوص مولکول‌های کوچکی چون اسیدهای آمینه، قندها و اسیدهای آلی) در منطقه اطراف ریشه گیاهان یافت می‌شوند که می‌توانند به – سهولت مورد استفاده باکتری‌ها قرارگیرند (Whipps,2001). Bayer و همکاران (1999) در تحقیقی نشان دادند که نوع خاک نسبت به نوع گیاه، تأثیر بیشتری بر تنوع و ساختار جمعیت میکروبی داشت. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که ساختمان خاک بر کلنیزاسیون باکتری‌های ریزوسفری و ریزوپلین[2] تأثیرگذار است و بافت خاک نیز با محدود کردن دسترسی میکروفلور ریزوسفر به ترشحات ریشه نقش مهمی را ایفا می‌کند. همچنین آن‌ها نشان دادند که خاک‌های با ماده آلی زیاد نسبت به خاک‌های با ماده آلی کم، جمعیت بیشتری داشتند. در پژوهش دیگری که بر روی جمعیت میکروبی چهار نوع گیاه علفی در آمریکای شمالی انجام گرفت، مشخص شد که بافت خاک نسبت به نوع گیاه اثر

1- Rhizosphere
2- Rhizoplane

بیشتری داشته است (Groffman *et al.*, 1996). بنابراین، پژوهش حاضر می‌کوشد تا رابطه خصوصیات خاک‌های مختلف باغ‌های پسته استان کرمان را با جمعیت باکتری‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری نهال‌های پسته بررسی کند.

مواد و روش‌ها

1) نمونه‌برداری از خاک و کشت نهال‌های پسته:

تعداد 20 نمونه خاک از باغ‌های پسته واقع در مناطق زرند، کرمان، کبوترخان و رفسنجان از عمق 0 تا 30 سانتی‌متری و در محدوده سایه‌انداز درخت تهیه گردید. هر نمونه خاک، پس از هوا خشک‌کردن، کوبیدن و الک‌کردن (با الک دو میلی‌متر) به 20 گلدان 2/5 کیلوگرمی منتقل شد. به‌منظور کشت نهال پسته، از بذرهای پسته رقم بادامی زرند استفاده شد که پس از جداسازی پوست سخت آن‌ها، ضدعفونی سطحی شدند. برای انجام ضدعفونی، بذرها به مدت 10 دقیقه در محلول 10% هیپوکلرید سدیم نگهداری و با آب مقطر استریل چندین مرتبه (8 تا 10 بار) شست‌وشو و به مدت 24 ساعت در یک لیتر آب مقطر استریل نگهداری شدند. آن‌گاه بذرها بر روی محیط واترآگار[3] به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سلسیوس قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. در نهایت، بذرهای جوانه‌دار در خاک گلدان‌ها کشت گردیدند و برای مدت چهار ماه در شرایط گلخانه نگهداری شدند.

2) تعیین جمعیت باکتری‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری:

بدین منظور، برای هر نمونه 10 گرم از ریشه‌ها به همراه خاک ریزوسفری اطراف آن و همچنین 10 گرم از خاک غیر-ریزوسفری به‌طور جداگانه به ارلن 250 میلی‌لیتری حاوی 90 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (کلرید سدیم 0/85 درصد) منتقل و برای مدت 20 دقیقه بر روی شیکر با دمای 28 درجه سلسیوس و 120 دور در دقیقه تکان داده شدند. سپس از ارلن‌های مذکور رقت‌های مختلف (10^2 تا 10^5) تهیه و مقدار 0/1 میلی‌لیتر از هر رقت بر روی ظروف پتری حاوی محیط کشت NA[4] پخش گردید. پس از 48 ساعت از رشد باکتری‌ها در دمای 28 درجه سلسیوس، جمعیت باکتری-های ریزوسفری و غیرریزوسفری با استفاده از روش شمارش کلنی و در سه تکرار تعیین گردید.

3) تعیین برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک:

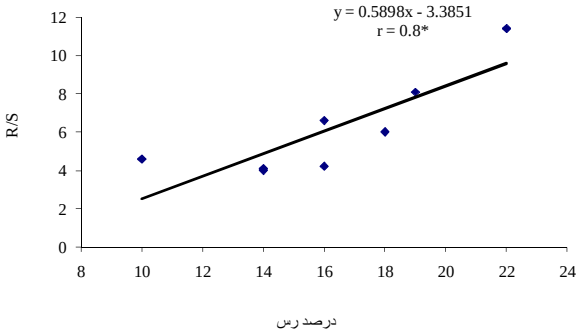
بافت خاک به روش هیدرومتر (Bouyoucos, 1951)، کربن آلی به روش واکی و بلک (Walkey & Black, 1934)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک (Alison & Modie, 1965)، pH و قابلیت هدایت الکتریکی عصاره‌ی اشباع خاک به ترتیب با استفاده از دستگاه pHمتر و هدایت‌سنج (Richards, 1954) اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث

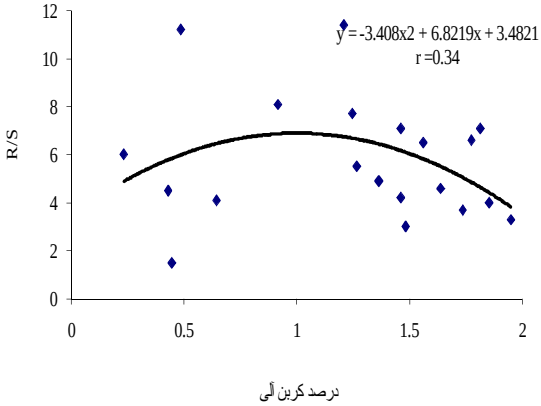
نتایج تعیین جمعیت نشان داد که جمعیت باکتری‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری به ترتیب از $2/3\times10^5$ تا $7/3\times10^6$ و از 7×10^4 تا 2×10^6 سلول به ازای هر گرم خاک متغیر بود. تحقیقات انجام‌شده در این زمینه نشان داده‌اند که ترشحات ریشه‌ای شامل ترکیبات با وزن مولکولی زیاد و کم، قندها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، نوکلئوتیدها، فلاونوئیدها، آنزیم‌ها و هورمون‌ها می‌توانند به راحتی در دسترس میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها قرار گیرند و جمعیت و فعالیت آن‌ها را در ناحیه اطراف ریشه گیاهان افزایش دهند (Baudoin et al., 2001). همچنین نسبت باکتری‌های ریزوسفری به باکتری‌های غیرریزوسفری (R/S) نیز تعیین گردید که این نسبت در خاک‌های زرند از 1/5 تا 5/5، کرمان از 3/7 تا 11/2، کبوترخان از 3 تا 8/1 و رفسنجان از 4 تا 11/4 تغییر می‌کرد.

3- Water-Agar
4 - Nutrient agar

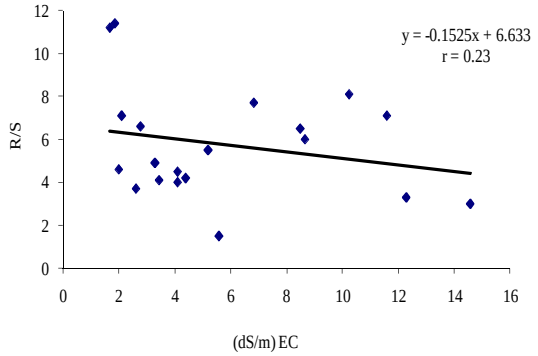
نسبت R/S برای گیاهان مختلف، متفاوت است. Katzholson & Rouat (1961) نسبت R/S را برای شش گیاه زراعی شبدر قرمز، جو، کتان، گندم، ذرت و غلات به ترتیب 24، 6، 5، 6، 3 و 3 گزارش کردند. رابطه بین مقدار R/S با خصوصیات خاک، حاکی از همبستگی بالا و معنی‌دار (در سطح 5 درصد) نسبت R/S با مقدار رس (تا 22 درصد) بود (شکل 1) و در مقادیر بالاتر رس، همبستگی خوبی بین مقدار رس و نسبت R/S مشاهده نشد. همچنین با افزایش EC، نسبت R/S کاهش یافت اگرچه روند کاهشی R/S با EC همبستگی معنی‌داری را نشان نمی‌داد (شکل 2). در مورد رابطه بین R/S با درصد کربن آلی نتایج نشان داد که با افزایش ماده آلی (تا یک درصد) نسبت R/S افزایش و در مقادیر بالاتر، کاهش یافت (شکل 3).



شکل 1- همبستگی بین R/S با درصد رس



شکل 2- همبستگی بین R/S با درصد کربن آلی



شکل 3- همبستگی بین R/S با EC

منابع:

Alison LE, and Modie CD, 1965. Carbonat. P:1379-1396. In: C. A. Black et al. (eds.), Methods of soil analysis. Part II, Am. Soc. Agron., Madison, WI.

Bartel B, 1997. Auxin biosynthesis. Annu. Rev. plant Physiol. Plant. Mol. Biol. 48: 51- 66.

Baudoin E, Benizri E and Guckert A, 2001. Metabolic fingerprint of microbiol communities from distinct maize rhizosphere compartments. European Journal of Soil Biology 37: 85- 93.

Bouyoucos GJ, 1951. A recalibration of hydrometer method for making mechanical analysis of soil. Agron. J. 43:434-438.

Boven GD and Rovira AD, 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66:1-102.

Buyer JS, Roberts DR and Russek–Cohen E, 1999. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. Can. J. Microbiol. 45:138-44.

Groffman Pm, Hanson CC, Kiviat E and Stervens G, 1996. Variation in microbial biomass and activity in four different wet land types. Soil Sci. Soc. AM. J. 60:622-29.

Richards LA, 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. U. S. D. A. handbook No. 60. Washington D. C., U. S. A.

Rouat JW and Katznelson H, 1961. Astudy of the bacteria on the rootsurface and in the rhizosphere soil of crop plants. In: Journal of Applied Bacteriology. Vol. 24, No. 2, P: 164- 171.

Uren NC, 2007. Types, amounts and possible functions of compounds released in to rhizosphere by soil- grown plants. In: Pinton R, Varanini Z and Nannipieri P (eds.). The Rhizosphere. Biochemistry and Organic Substances at the Soil- plant Interface. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, pp 1- 21.

Walkey A and Back TA, 1934. An examination of the degtijareff method for determining organic matter and a proposed modification of choromic acidtitration method. Soil Sci. 37:29-38.

Whipps JM, 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal. Of Experimental Botany 52.