نشریه پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب) / الف / جلد 30 / شماره 4 / 1395

Archive of SID

رهاسازی آهن و پتاسیم از کانی‌های مسکویت و ورمی‌کولیت توسط برخی باکتری‌های محرک رشد گیاه

راحله اسلامی سید محله، احمد لندی، نعیمه عنایتی‌ضمیر[1] و سعید حجتی

دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز؛ r.eslami@yahoo.com

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز؛ foahmad@yahoo.ca

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز؛ n.enayatzamir@scu.ac.ir

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز؛ s.hojati@scu.ac.ir

دریافت: 95/1/21 و پذیرش: 95/9/17

چکیده

پتاسیم و آهن از عناصر غذایی ضروری گیاهان هستند و نقش مهمی در رشد و توسعه گیاهان ایفا می‌کنند. از طرفی، کمبود آهن قابل استفاده در خاک در بیشتر مناطق کشاورزی دنیا و با افزایش آهک خاک و کمبود پتاسیم قابل استفاده در خاک به علت تثبیت، رواناب، آبشویی و فرسایش رخ می‌دهد. تحقیق حاضر با هدف بررسی کارایی باکتری‌های ریزوسفری در آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های نامحلول در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو نوع کانی (مسکویت و ورمی‌کولیت) و چهار سویه از باکتری‌های آزاد کننده پتاسیم شامل *Enterobacter cloacae* سویه‌های (R33 وE1) و *Pseudomonas putida* سویه‌های(E49 و R9) و شاهد (بدون تلقیح با باکتری) در سه دوره زمانی (7، 14 و 28 روز) در سه تکرار انجام شد. محیط کشت الکساندرف حاوی 2 گرم کانی مسکویت و ورمیکولیت برای بررسی توانایی آزادسازی پتاسیم و آهن توسط باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان دهنده معنی‌داری اثر متقابل باکتری، کانی و زمان بر آزادسازی آهن و معنی‌داری اثر متقابل باکتری و کانی در رهاسازی پتاسیم در سطح یک درصد بود. بیشترین مقدار پتاسیم رها شده مربوط به کانی ورمیکولیت و در حضور *E. cloacae* R33 و کمترین مقدار به کانی مسکویت در حضور *P. putida* E49 بود. بیشترین آهن رها شده از کانی ورمیکولیت و مسکویت به*E. cloacae* R33 اختصاص داشت. بطور کلی میزان رهاسازی آهن و پتاسیم از کانی ورمی‌کولیت بیشتر از مسکویت بود. مقدار pH نمونه‌ها در حضور تمام سویه‌ها و هر دو کانی نسبت به شاهد کاهش نشان داد. بنابراین می‌توان از *E. cloacae* R33 به عنوان باکتری کارامد در رهاسازی پتاسیم و آهن در تحقیقات بعدی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: انحلال، ریزوسفر، هوادیدگی خاک، محیط کشت الکساندرف

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده کشاورزی،گروه علوم و مهندسی خاک

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پتاسیم یک عنصر پرنیاز و ضروری برای گیاهان و جانوران است و در بین عناصر غذایی اصلی معمولاً فراوانترین عنصر در خاک به شمار می‌رود. پتاسیم سومین عنصر ضروری برای تولید محصول بعد از نیتروژن و فسفر می‌باشد و نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌ها، سنتز پروتئین، فتوسنتز و افزایش کیفیت محصول دارد (رید و همکاران، 2006). پتاسیم در خاک به چهار شکل محلول، تبادلی، غیرتبادلی و ساختمانی وجود دارد (مارتین و اسپارک، 1985). بخش عمده پتاسیم در خاک در ساختمان کانی‌های پتاسیم‌دار بویژه میکاها، فلدسپارها و ارتوکلازها می‌باشد (شنگ و همکاران،2002). گیاهان پتاسیم مورد نیاز خود را نه تنها از پتاسیم تبادلی بلکه از پتاسیم غیرتبادلی موجود بین لایه‌های کانی‌های رسی 2:1 نیز به‌دست می‌آورند (سوراپانی و همکاران، 2002). آهن عنصر کم مصرف و ضروری شناخته شده برای گیاه است. خاک‌ها به طور معمول حاوی 5-1 درصد آهن می‌باشند که بخش عمده آن در کانی‌های سیلیکاتی، اکسیدها و هیدروکسیدهای آهن و به شکل غیر قابل استفاده برای گیاهان وجود دارد. آهن جزء ساختار سیتوکروم‌ها، فرودوکسین و لگ‌هموگلوبین بوده و در فتوسنتز، تنفس و تثبیت مولکولی نیتروژن نقش دارد (اسکندری، 2011).

کمبود آهن در بیشتر مناطق کشاورزی ایران مشاهده شده و با افزایش واکنش و آهک خاک این کمبود تشدید می‌شود (اسکندری، 2011). در صورت کمبود آهن قابل استفاده در خاک می‌توان از کودهای شیمیایی مثل سولفات آهن و یا کلات‌های آهن استفاده کرد. وقتی کودهای شیمیایی آهن دار به خاک اضافه می‌شوند آهن اضافه شده در خاک به سرعت تغییر ظرفیت داده و به شکل غیر قابل استفاده برای گیاه در می‌آید. بنابراین استفاده از منابع معدنی خاک مثل فلدسپارها و میکاها می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای ذکر شده باشد (بدر و همکاران، 2006). هر چند کانی‌های آهن و پتاسیم‌دار برای تأمین پتاسیم و آهن مورد نیاز گیاه نسبت به کودها منابع ارزان تری هستند، با این حال بیشتر آنها به راحتی قابل استفاده برای گیاه نیستند. زیرا این عناصر به کندی آزاد شده و استفاده از آنها به عنوان کود اغلب باعث می‌شود که تفاوت معنی‌داری در تولید محصول مشاهده نگردد (زاپاتا و روی، 2004). ریزجانداران در هوادیدگی کانی‌ها کارایی ویژه‌ای دارند. کارکرد ریزجانداران باعث آزاد شدن عناصر غذایی از کانی‌ها می‌شود (یورز و همکاران، 2009). گزارش‌های موجود نشان می‌دهند در خاک غیراستریل نسبت به خاک استریل گیاهان علائم کمبود آهن نشان نمی‌دهند و میزان آهن در ریشه ها زیاد است. این امر می‌تواند به فعالیت ریزجانداران ریزوسفر نسبت داده شود که نقش مهمی در تأمین آهن دارند. مطالعات نشان دادند باکتری‌ها با تجزیه کانی‌های آهن و پتاسیم دار مثل میکا و فلدسپار می‌توانند باعث آزادسازی پتاسیم و عناصر دیگر مثل آهن و سیلیسیم شوند (آلمن و همکاران،1996؛ سونگ و همکاران، 2007). بسیاری از باکتری‌ها می‌توانند با تولید سیدروفور سبب رهاشدن آهن از کانی‌ها شوند. باکتری *Pseudomonas mendocina* با تولید سیدروفور مایه رها شدن آهن از کائولینیت می‌شود (آمز و همکاران، 2002). تحقیقات نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌ها در تجزیه کانی‌ها می تواند به علت تولید و ترشح پروتون، اسیدهای آلی، سیدروفورها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی باشد (گرودیو، 1987). چن و همکاران (2006) گزارش کردند بعضی سویه‌های *Bacillus megaterium* و *Arthrobacter* قادر به تولید اسیدهای آلی و سیدروفور هستند که می‌توانند نقش مهمی در آزادسازی عناصری مثل پتاسیم، آهن و فسفر از کانی‌های بیوتیت و تری کلسیم فسفات ایفا کنند. پارمار و سیندهو (2013) تعداد 20 جدایه باکتری قادر به آزادسازی پتاسیم را از ریزوسفر گندم با استفاده از محیط کشت الکساندروف حاوی کانی میکا به عنوان منبع پتاسیم در یک دوره گرماگذاری 10روزه جداسازی کردند.

میزان رهاسازی پتاسیم جدایه‌ها بین 15 تا 48 میلی-گرم بر لیتر متغیر بود. گزارش‌های مبنی بر رهاسازی پتاسیم از کانی عمدتاً به باکتری‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* تعلق دارد (لیو و همکاران، 2006 و سوگماران و همکاران، 2007). باکتری‌های جنس *Bacillus* جزء باکتری‌های متداول خاک هستند که نقش مهمی در تجزیه سیلیکات‌ها در طی فرایند خاکسازی ایفا می‌کنند (هان و همکاران، 2006؛ لیو و همکاران، 2006). این نشان می‌دهد که باکتری‌های سیلیکاتی آزادکننده پتاسیم و آهن مثل *Bacillus megaterium* ، *Bacillus mucilaginosus*، *Bacillus cereus* و *Bacillus pumilus* قادر به افزایش پتاسیم و آهن قابل استفاده در خاک و افزایش مقدار این عناصر معدنی در گیاه می‌باشند (هو و بویر، 1996؛ شنگ و همکاران، 2002). گزارشات متعددی مبنی بر تأثیر باکتری‌های حل کننده پتاسیم بر رشد و توسعه گیاهانی همچون گندم (شنگ و همکاران، 2006)، ذرت (سینگ و همکاران، 2010)، پنبه (شنگ 2005) وجود دارد. بنابراین استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه شامل باکتری‌های حل کننده فسفر، آزادکننده آهن و پتاسیم به عنوان کود زیستی برای تغذیه بهتر گیاه و

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش تولید به عنوان یک راه حل پایدار است. با وجود آن‌که پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه رهاسازی عناصر از کانیها توسط باکتری‌ها انجام شده است، تاکنون کارایی باکتری‌های بومی منطقه خوزستان در رهاسازی آهن از کانی‌های مسکویت و ورمی‌کولیت بررسی نشده است. هدف از این مطالعه ارزیابی پتانسیل چهار سویه از باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر نیشکر در آزادسازی آهن و پتاسیم از کانی‌های مسکویت و ورمی-کولیت در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

برای بررسی کارایی باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر نیشکر در رهاسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های مسکویت و ورمیکولیت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل دو نوع کانی (مسکویت و ورمیکولیت)، دو سویه از باکتری *Enterobacter cloacae* (R33 و E1) و دو سویه از باکتری *Pseudomonas putida* (E49 و R9) و شاهد (فاقد باکتری) در سه دوره زمانی (7، 14 و 28 روز) و در سه تکرار بود. محیط کشت الکساندرف (جدول1) با pH معادل7/4-7 برای مطالعه رهاسازی پتاسیم و همین محیط کشت بدون افزودن کلرید آهن برای بررسی رهاسازی آهن مورد استفاده قرار گرفت (گیرگیس و همکاران، 2008).

جدول 1- ترکیبات محیط کشت الکساندرف

ترکیب	گلوکز	$MgSO_4.7H_2O$	$FeCl_3$	$CaCO_3$	$Ca_3(PO_4)_2$	کانی
مقدار ($g.L^{-1}$)	5	0/005	0/01	2	2	2

آماده سازی و اسیدشویی کانی مسکویت و ورمیکولیت

کانی‌ها از معدنی در یزد تهیه و سپس توسط XRFآنالیز شدند(جدول1). به منظور یکنواخت نمودن اندازه کانی‌ها، بعد از آسیاب کردن، پودر هر کانی بطور جداگانه از دو غربال 200 و 270 مش عبور داده شدند و کانی باقی مانده در حد فاصل دو الک برای اسیدشویی استفاده شد. برای حذف پتاسیم قابل تبادل، کانی‌ها با 0/01HCL مولار تا خروج کامل پتاسیم قابل تبادل شسته شدند. مقدار پتاسیم محلول رویی توسط دستگاه جذب اتمی قرائت شد. در این روش تقریباً 90 درصد پتاسیم در همان مرحله اول از کانی استخراج می‌شود اما برای اطمینان از خروج کامل پتاسیم قابل استفاده از کانی پودر شده سه بار به طور متوالی اسیدشوئی انجام گرفت. سپس pH نهایی با هیدروکسید کلسیم به pH اولیه رسانده شد و نمونه‌ها در آون در دمای 50 درجه سلسیوس به مدت 72 ساعت خشک شدند. در نهایت 2 گرم از نمونه خشک شده به محیط کشت اصلاح شده الکساندرف اضافه و در اتوکلاو استریل شد.

آماده سازی مایه تلقیح باکتری

باکتریهای *Enterobacter cloacae* R33، *Enterobacter cloacae* *Pseudomonas putida* E49، E1، *Pseudomonas putida* R9 که قبلاً از ریزوسفر نیشکر جداسازی شده و دارای ویژگی‌های محرک رشدی مانند توانایی انحلال فسفر و پتاسیم، تولید هورمون اکسین بودند، برای این پژوهش انتخاب شدند. قطر هاله و کلنی این باکتری‌ها در محیط کشت جامد الکساندرف در جدول 2 و برخی خصوصیات بیوشیمیایی و ظاهری آنها در جدول 3 ارائه شده است.

جدول 2- قطر کلنی و هاله ایجاد شده توسط باکتری‌های مورد استفاده در پلیت حاوی ورمی‌کولیت و مسکویت

قطر (mm)	کلنی	هاله	هاله به کلنی	کلنی	هاله	هاله به کلنی
باکتری	مسکویت			ورمیکولیت		
E. cloacae E1	6	8	1/3	4/9	7/1	1/4
E. cloacae R33	4/5	9	2	5/4	8/1	1/5
P. putida E49	8/7	6/3	0/72	6/7	5/8	0/86
P. putida R9	5/5	8	1/4	4/4	6/1	1/3

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 3- برخی خصوصیات بیوشیمیایی و ظاهری باکتری‌های مورد استفاده

نوع آزمون / نام باکتری	شکل سلول	آزمون گرم	اکسیداز	کاتالاز	مصرف سیترات	هیدرولیز نشاسته	O/F	TSI	اندول	تولید سولفید هیدروژن	حرکت	ژلاتیناز	اوره‌آز	دنیتریفیکاسیون رشد در حضور نمک 6/5%	VP/MR	رنگ کلنی	اندازه کلنی	حاشیه کلنی
P. putida R9	کوکوباسیل	-	+	+	+	-	+/-	K/K	-	-	+	-	+	-	-/-	زرد	کوچک	صاف
E. cloacae R33	باسیل	-	-	+	+	-	+/+	A/A	-	-	+	-	+	+	+/-	زرد	کوچک	صاف
E. cloacae E1	باسیل	-	-	+	+	-	+/+	A/A	-	+	+	-	+	-	+/-	کرم	بزرگ	نامنظم
P. putida E49	باسیل	-	+	+	+	-	+/-	K/K	-	-	+	-	+	-	-/-	کرم	کوچک	صاف

OF: اکسیداسیون- تخمیر، VP/MR: متیل رد- ووژس پروسکوئر،TSI: تخمیر قندو تولیدسولفیدهیدروژن،A/A: تخمیر دو قند،K/K: عدم تخمیر قند

آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های مورد استفاده

از کشت شبانه هرکدام از باکتری‌ها در ارلن‌های جداگانه حاوی 50 میلی لیتر محیط کشت الکساندرف به میزانی که جمعیت نهایی باکتری در هر ارلن 10^8Cfu/mlباشد (یک میلی‌لیتر)، تلقیح شد و ارلن‌ها به مدت 28 روز در شیکر انکوباتور با سرعت تکان‌دادن 120 دور بر دقیقه و دمای 30 درجه سلسیوس قرار گرفتند (pH محیط کشت برروی 7 تنظیم شد). در زمان‌های 7، 14 و 28 روز محتویات درون ارلن‌ها به مدت 10 دقیقه با سرعت 3000rpm سانتریفیوژ و محلول رویی با کاغذ صافی واتمن شماره 42 صاف شدند. میزان آهن و پتاسیم عصاره‌های برداشت شده به ترتیب با فلیم فتومتر (مدل جنوای) و دستگاه جذب اتمی (مدل سی ای- 2501) قرائت شد. میزانpH نمونه‌ها نیز با pH متر اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار SAS نسخه9/1، تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه عنصری کانی‌های مسکویت و ورمی-کولیت در جدول 4 ارائه شده است. مقدار آهن کانی ورمی‌کولیت نسبت به مسکویت بسیار بیشتر است.

جدول 4- ترکیب عناصر کانی موسکویت و ورمی‌کولیت بر حسب درصد با استفاده از فلورسانس پرتو ایکس

عنصر / نوع کانی	Na_2O	MgO	Al_2O_3	SiO_2	K_2O	CaO	Fe_2O_3
				(%)			
مسکویت	0/64	0/08	33/99	48/34	9/98	0/17	1/77
ورمیکولیت	0/64	11/78	15/08	44/09	5/50	2	15

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 5) نشان داد اثر متقابل باکتری‌های مورد بررسی و کانی بر آزادسازی پتاسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. همچنین اثر زمان بر رهاسازی پتاسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

جدول 5- میانگین مربعات اثر تیمارها بر رهاسازی آهن و پتاسیم

منابع تغییرات	درجه آزادی	آهن	پتاسیم
زمان	2	0/81	36/17
باکتری	4	2/19**	13/29**
نوع کانی	1	0/94**	46/01**
زمان*باکتری	8	0/05**	14/26ns
زمان*کانی	2	0/10**	10/97ns
باکتری*کانی	4	0/13**	16/42**
زمان*باکتری*کانی	8	0/05**	71/56ns
خطا	58	0/01	75/34
ضریب تغییرات		16/68	11/47

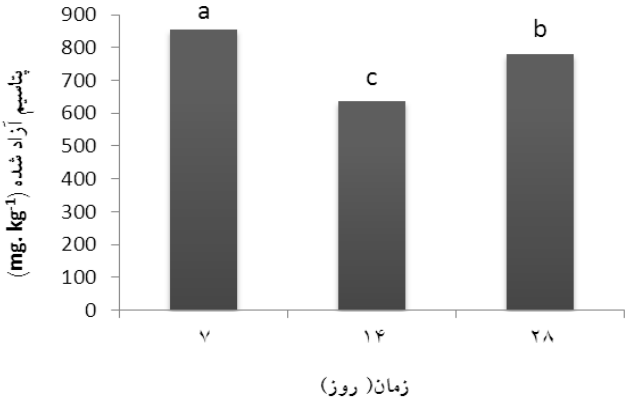
** به ترتیب در سطح احتمال 0/01 و 0/05 معنی‌دار. ns فاقد تفاوت معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

بیشترین و کمترین اندازه رهاسازی پتاسیم به ترتیب در روز هفتم و چهاردهم آزمایش بدست آمد و در روز بیست و هشتم مجدداً افزایش یافت اما همچنان بالاترین رهاسازی مربوط به روز هفتم بود (شکل1). ضرابی وهمکاران (1385) طی بررسی سرعت رهاسازی پتاسیم غیر تبادلی و قابلیت جذب آن با استفاده از اسید مالیک در بعضی از خاک های استان همدان، مشاهده کردند رهاسازی پتاسیم درگام‌های نخستین سریع است و درگام‌های پسین با سرعت کمتری تا پایان آزمایش ادامه دارد.

نوروزی و خادمی (1388) روند همانندی را در بررسی آزادسازی پتاسیم با چند اسیدآلی از مسکویت و فلوگوپیت مشاهده کردند. این پژوهشگران کاهش غلظت پتاسیم آزاد شده را به جذب شدن دوباره یا تثبیت شدن پتاسیم آزاد شده از کانی‌ها نسبت دادند. در پژوهش حاضر مقدار بالای رهاسازی اولیه را می‌توان به آزاد شدن پتاسیم غیرتبادلی از مناطق لبه‌ای و گوه‌ای کانی‌های پتاسیم‌دار که با انرژی کمتری جذب شده است، نسبت داد. در حالیکه در روز چهاردهم آزمایش آزاد شدن پتاسیم غیرتبادلی ناپایدار صورت می‌گیرد (سرینی‌واسارو و همکاران، 2006). البته ممکن است این کاهش به دلیل جذب پتاسیم در یاخته باکتری نیز باشد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل2) نشان داد بیشترین پتاسیم آزاد شده از کانی ورمی‌کولیت به *E. cloacae* R33 و کمترین پتاسیم رها شده از این کانی بعد از شاهد به محیط حاوی *P. putida* E49 اختصاص داشت. بیشترین پتاسیم آزاد شده از کانی مسکویت توسط سویه‌های *E. cloacae* E1 و *E. cloacae* R33 به‌دست آمد. کمترین اندازه پتاسیم رها شده از مسکویت به *P. putida* E49 و *P. putida* R9 اختصاص داشت. اگرچه تولید اسیدهای آلی در این پژوهش بررسی نشده است اما بر اساس گزارش‌های موجود باکتری‌ها با ترشح اسیدهای آلی و معدنی باعث به‌هم‌ریختن ساختار کانی‌ها و خارج شدن عناصر مورد نیاز برای سوخت و ساز بدن خود می‌شوند (آلمن و همکاران، 1996).



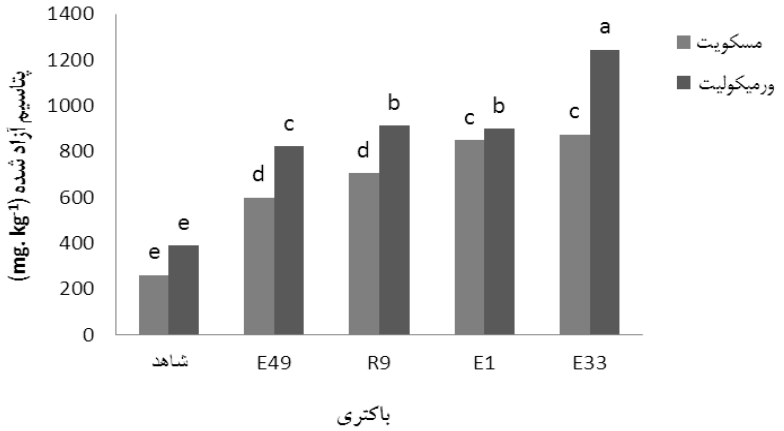
شکل 1- مقایسه میانگین تأثیر زمان در آزادسازی پتاسیم

اسیدهای آلی و سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری‌ها به وسیله سه مکانیسم کاهش pH، تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های سطحی کانی و اتصال اسیدهای آلی و سیدروفورها به پلی ساکاریدهای تولید شده توسط باکتری‌ها در نزدیکی سطح کانی و نهایتاً تشکیل کمپلکس این مجموعه با اکسید سیلیسیم سطح کانی در رهاسازی عناصری مثل پتاسیم، آهن و فسفر از کانی‌ها نقش دارند (چن و همکاران،2006، لیو و همکاران، 2006). پارمر و سیندو (2013) آزادسازی پتاسیم توسط باکتری‌های ریزوسفری را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. تلقیح 20 جدایه مختلف باکتری باعث آزادسازی مقدار چشم‌گیری پتاسیم از میکا شد. مقدار پتاسیم رها شده از کانی ورمیکولیت به مقدار 828 میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که بطور معنی‌داری بیشتر از کانی مسکویت می‌باشد. این تفاوت را می‌توان به فاکتورهای مختلفی مثل ماهیت کانی های پتاسیم‌دار که شامل ساختار کریستالی، ترکیب شیمیایی کانی، درجه تخلیه و تغییر بار لایه‌ای کانی نسبت داد. در مسکویت موقعیت هیدروکسیل نسبت به ورقه‌های سیلیکات، مایل بوده و فاصله بین پروتون و پتاسیم زیادتر است و آزادسازی پتاسیم کمتر خواهد شد. اما در کانی ورمیکولیت این موقعیت عمودی بوده و پروتون نزدیک به پتاسیم قرار گرفته و نیروی دافعه بیشتری دارد، همچنین ابعاد ورقه‌های اکتاهدرال در کانی مسکوویت کوچکتر از کانی ورمی‌کولیت است. در نتیجه پتاسیم در مسکویت با

www.SID.ir

Archive of SID

نیروی بیشتر نگهداری می‌شود (هانگ و سونگ،1998 و خیامیم و همکاران،2010). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 5) نشان داد اثر اصلی تیمارها و همچنین اثر متقابل آنها بر میزان آزادسازی آهن در سطح یک درصد معنی‌دار است. بیشترین رهاسازی آهن توسط *E. cloacae* R33 و *P. putida* R9 به کانی ورمی‌کولیت اختصاص داشت (جدول6) و کمترین رهاسازی آهن از ورمی‌کولیت توسط *E. cloacae* E1 به‌دست آمد. میزان رهاسازی توسط تمام سویه‌ها از کانی ورمی‌کولیت بیشتر از مسکویت بود. بیشترین آهن رها شده از مسکویت به *E. cloacae* R33 و کمترین میزان رهاسازی آهن کانی مسکویت به سایر سویه‌ها اختصاص داشت.



شکل 2- مقایسه میانگین اثر باکتری و کانی در آزادسازی پتاسیم

(باکتری‌ها به ترتیب: *E. cloacae* R33 ،*E. cloacae* E1 ،*P. putida* R9 ،*P. putida* E49)

اسیدهای آلی ترشح شده توسط باکتری‌ها از جمله اسید اگزالیک، سالیسیلیک و سیتریک می‌توانند هوادیدگی کانی کائولینیت را با تشکیل کمپلکس در محلول خاک تشدید کنند. بازاک و بیسواس (2009) تأثیر اسیدهای آلی مترشحه از جدایه‌های باکتری را بر فرآیند هوادیدگی کانی میکا مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که با افزایش این اسیدها میزان رهاسازی پتاسیم افزایش می‌یابد. استریکاوا و همکاران (2012) نشان دادند با قرار گرفتن فلوگوپیت در تماس با باکتری *Bacillus cereus* غلظت آهن در محلول افزایش می‌یابد. میزان آهن آزاد شده از کانی ورمی‌کولیت با توجه به بالاتر بودن میزان آهن این کانی بیشتر از مسکویت بود (جدول5)، که البته این امر بستگی به نوع و ساختمان کانی دارد و با توجه به اینکه کانی ورمی‌کولیت در ساختار اکتاهدرال خود دارای Fe^{+2} و Mg^{+2} هستند، نسبت به کانی دی اکتاهدرال مسکویت که در ساختار اکتاهدرال خود دارای Fe^{+3} یا Al^{+3} است پس از قرار گرفتن در معرض باکتری آهن بیشتری رها می‌کند. نوروزی و خادمی (1388) میزان رهاسازی آهن از کانی‌های فلوگوپیت و مسکویت را که در معرض اسیدهای آلی قرار داشتند 4/21 و 1/77 درصد گزارش کردند. آنها بالا بودن میزان رهاسازی فلوگوپیت را میزان بیشتر آهن در صفحه اکتاهدرال آن عنوان کردند.

در کانی‌های ورمی‌کولیت و مسکویت میزان رهاسازی آهن در روز هفتم به بیشترین میزان خود رسید و در روز 14ام کاهش یافت و در نهایت در روز 28ام افزایش نشان داد. در حالی که انتظار می‌رفت با گذشت زمان به تدریج غلظت آهن آزاد شده از کانی‌ها افزایش یابد تا یکنواختی حاصل گردد اما کاهش غلظت آهن آزاد شده را به جذب شدن دوباره یا تثبیت شدن آهن آزاد شده از کانی‌ها می‌توان نسبت داد.

سلیمان زاده و همکاران (1393) طی آزمایش رها سازی آهن از کانیهای مسکویت و فلوگوپیت توسط سویه‌های *Bacillus cereus* نشان دادند آهن آزاد شده در آغاز آزمایش افزایش یافت و با گذشت زمان روند کاهشی و مجدداً روند افزایشی نشان داد. با توجه به اینکه غلظت آهن در فلوگوپیت بیشتر ازمسکویت بود و فلوگوپیت ساختمان ضعیف‌تری دارد میزان آزادسازی آهن از فلوگوپیت بیشتر از مسکویت بود. باتی و همکاران (2011) نشان دادند با قرار دادن بیوتیت در تماس با *Bacillus ferrooxidans* و محلول 120 میلی مولار آهن در آغاز غلظت آهن در محلول افزایش و با گذشت زمان کاهش، سپس افزایشی و در پایان تقریباً ثابت شد. بویل و همکاران (1974) بیان کردند تأثیر متقابل تماس کانی بیوتیت با جدایه‌های باکتری بر میزان آزادسازی آهن در

www.SID.ir

Archive of SID

زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دارند، در اثر تماس اسیدهای آلی مترشحه از باکتری با کانی بیوتیت، رهاسازی آهن اتفاق می‌افتد. ضرابی و همکاران (1385) نیز در آزمایش خود مشاهده کردند که رهاسازی آهن در مراحل اولیه در تمام خاک‌های مورد مطالعه سریع است و در مراحل بعدی با سرعت کمتر و در انتهای آزمایش با سرعت ثابت اتفاق می‌افتد. نتیجه گرفتند که فاکتورهایی مثل اندازه ذرات کانی های حاوی آهن و شرایط محیطی خاک بر روی رهاسازی آهن تأثیر می‌گذارد.

جدول 6- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان، باکتری و نوع کانی بر رهاسازی آهن (میلی‌گرم بر گرم)

زمان (روز)	7	14	28	7	14	28
باکتری	مسکویت			ورمیکولیت		
شاهد	0/13 d	0/11 d	0/12d	0/18 d	0/13 d	0/16 d
P. putida E49	0/91 b	0/71 c	0/65c	1/1 b	0/77 c	0/95 b
E. cloacae E1	0/91b	0/53 c	0/62 c	1/0 b	0/62 c	0/82 c
P. putida R9	0/72c	0/59c	0/69 c	1/69 a	0/76 c	1/06 b
E. cloacae R33	1/16 b	0/86c	0/82 c	1/38 b	0/87 c	1/09 b

همبستگی منفی و معنی‌داری بین مقدارpH و مقادیر آهن و پتاسیم محیط مشاهد شد (جدول7). در نمونه‌های شاهد مقدارpH تا انتهای آزمایش کاهش ناچیزی پیدا کرد و در حدود 6/8 در پایان آزمایش بود، اما در نمونه‌های مایه‌زنی شده با سویه‌های مختلف مقدار آن با گذشت زمان از شروع آزمایش کاهش یافت و بین 4 تا 5 متغیر بود. کاهش pH در نمونه‌های مایه‌زنی شده با باکتری وابسته به مواد ساخته شده توسط سویه‌ها است. باکتری‌های هتروتروف با بهره‌گیری از منبع کربن موجود در محیط اسیدهای آلی مانند اگزالیک، سیتریک و تارتاریک اسید و اسیدهای معدنی می‌سازند که این اسیدها می‌توانند pH را کاهش داده و باعث انحلال کانی شوند (گریگ و همکاران، 2008 و بیبینوبین، 2011). افزایش حلالیت کانی بوسیله ریزجانداران به قدرت اسید ترشح شده و اثر آن بر pH بستگی دارد.

جدول 7- ضریب همبستگی پیرسون بین pH و مقادیر آهن و پتاسیم محیط

	pH	آهن	پتاسیم
pH	1	0/72**	0/60**
آهن	0/72**	1	-
پتاسیم	0/60**	-	1

روابط مشاهده شده بین کاهش pH و مقدار آهن آزاد شده از محیط کشت حاوی ورمی‌کولیت و مسکویت نشان می‌دهد که به احتمال زیاد اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌ها نقش معنی‌داری در اسیدی کردن محیط کشت ایفا می‌کنند. توانایی *Bacillus pumilus* و *Bacillus cereus* در رهاسازی آهن، پتاسیم و سیلیس از فلدسپار با افزایش تولید اسیدهای آلی توسط باکتری و در نتیجه کاهش pH گزارش شده است (استیریاکوا و همکاران، 2003).

نتیجه‌گیری

با توجه به کاهش قابلیت دسترسی گیاه به پتاسیم و آهن، استفاده از پتانسیل ریزموجودات بومی با قابلیت رهاسازی این دو عنصر حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر چهار سویه باکتری ریزوسفری قادر به رهاسازی آهن و پتاسیم از کانی‌های ورمیکولیت و مسکویت در شرایط آزمایشگاهی بودند، هر چند پتانسیل آزادسازی این عناصر بین باکتری‌های مورد آزمایش متفاوت بود. به نظر می‌رسد نوع و مقدار ترکیبات آلی تولید شده توسط سویه‌های مورد آزمایش متفاوت بوده است. در بین سویه‌های مورد آزمایش *E. cloacae* R33 و *P. putida* R9 در آزادسازی آهن (به ترتیب به میزان 950 و 760 میلی‌گرم بر کیلوگرم از مسکویت و 1120 و 1117میلی‌گرم بر کیلوگرم از ورمیکولیت در روز 28ام از شروع آزمایش) و پتاسیم (به ترتیب به میزان 874/55 و 704/77 میلی‌گرم بر کیلوگرم از مسکویت و 1244 و 916/66 میلی‌گرم بر کیلوگرم از ورمی‌کولیت در روز 28ام از شروع آزمایش) از محیط کشت حاوی ورمیکولیت و مسکویت نسبت به دو سویه دیگر کارامدتر بودند. همچنین میزان آزاد سازی

www.SID.ir

Archive of SID

پتاسیم و آهن از کانی مسکویت نسبت به ورمی‌کولیت کمتر بود. بنابراین می‌توان این سویه‌ها به‌ویژه *E. cloacae* R33 را به عنوان باکتری کارآمد در آزادسازی پتاسیم و آهن در کارهای تحقیقاتی آتی استفاده کرد. البته از آن‌جا که این آزمایش در انکوباتور با دمای ثابت و بهینه در داخل ارلن مایر صورت گرفته لذا نتایج آزمایش فقط برای شرایط مندرج در این تحقیق صادق است و برای تعمیم دادن آن به سایر شرایط و طبیعت باید آزمایش تکمیلی صورت پذیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه شهید چمران اهواز به لحاظ فراهم نمودن اعتبار پژوهشی این تحقیق در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد تقدیر و تشکر می‌نمایند.

فهرست منابع:

1. سلیمان‌زاده، م، خادمی، ح و م، سپهری. 1393. تأثیر سویه‌های *Bacillus cereus* بر آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی-های میکایی. مجله مهندسی زراعی، جلد 37، شماره 2، 72-59.
2. ضرابی، م. جلالی، م و ش، مهدوی حاجیلویی.1385. بررسی سرعت رهاسازی پتاسیم غیر تبادلی و قابلیت جذب آن با استفاده از اسید مالیک در بعضی از خاک های استان همدان. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد37، 6: 964-951.
3. نوروزی، س، ح، خادمی. 1388. آزادسازی پتاسیم از مسکویت و فلوگوپیت توسط چند اسید آلی. مجله آب و خاک (علوم و منابع کشاورزی). ج 23، ش 1 . 263- 273.
4. a Department of Civil Engineering and Geological Sciences, University of Notre Dame, 156 Fitzpatrick Hall, Notre Dame, IN 46556 5602, USA
5. b Life Sciences Division, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM 87545, USA
6. a Department of Civil Engineering and Geological Sciences, University of Notre Dame, 156 Fitzpatrick Hall, Notre Dame, IN 46556 5602, USA
7. b Life Sciences Division, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM 87545, USA
8. Received 10 October 2001, Accepted 18 April 2002, Available online 3 June 2002
9. Ams, D. A., Maurice, P., Hersman, L., and Forsythe, J. 2002. Siderophore production by an aerobic *Pseudomonas mendocina* bacterium in the presence of kaolinite. Chemical Geology, 188(3-4): 161-170.
10. Badr, M. A., Shafei, A. M., and Sharaf El-Deen, S. H. 2006.The dissolution of K and P-bearing minerals by silicate dissolving bacteria and their effect on sorghum growth. Res. J. Agric. Biol. Sci. 2: 5–11.
11. Basak, B.B., and Biswas, D.R., 2009. Influence of potassium solubilizing microorganisms (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by Sudangrass (*Sorghum vulgare*) grown under two alfisols. Plant Soil. 317: 235–255.
12. Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Vuorinen, A., and O.H. Tuovinen. 2011. Weathering of biotite in *Acidithiobacillus ferrooxidans* cultures. Geomicrobiol. J. 28: 130-134.
13. Binbin, M.O. and L. Bin. 2011. Interactions between *Bacillus mucilaginosus* and silicate minerals (weathered adamellite and feldspar): Weathering rate, products, and reaction mechanisms. Chin. J. Geochem. 30: 187–192.
14. Boyle, J. R. Voigt, G. k. and Sawhney, B.L. 1974.Chemical weathering of biotite by organic acids. Soil Sci. 11(1): 42-45.
15. Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., and F.T. Shen. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Appl. Soil Ecol. 34: 33–41.
16. Eskandari,H. 2011. 2011. The importance of iron (Fe) in plant products and mechanism of its uptake by plant. J. Appl. Environ. Biol. Sci. 1(10): 448-452.

www.SID.ir

Archive of SID
17. Girgis, M. G. Z., Khalil, H.M.A. and M.S. Sharaf. 2008. In Vitro evaluation of rock phosphate and potassium solubilizing potential of some *Bacillus* strains. Aust. J. Basic Appl. Sci. 2 (1):68-81.
18. Groudev, S.N. 1987. Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology. Acta Biotechnologica. 7: 299–306.
19. Han, H., Supanjani, S., and K.D. Lee. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Environ. 52: 130-136.
20. Hu, X., and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium*ATCC 19213. Applied and Environmental Microbiology. 62: 4044-4048.
21. Huang, P. M., and S, Song. 1988. Dynamics of potassium release from potassiumbearing minerals as influenced by oxalic and citric acids. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 383-390.
22. Khyamim, F., Khademi, H., and M. H. Salehi. 2010. Mineralogical changes in clay-sized phlogopite and muscovite as affected by endophyte fungi-tall fescue symbiosis. J. Water Soil. 24: 3. 545-556.
23. Liu, W., Xu, X., Wu, X., Yang, Q., Luo, Y., and P. Christie. 2006. Decomposition ofsilicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. Environ. Geochem. Health. 28: 133-140.
24. Martin, W. H., and Sparks, D. L.1985.On the behavior of non-exchangeable potassium in soils.Commun. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 16:133-162.
25. Parmar , P., and S. S. Sindhu. 2013. Passium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. J. Microbiol. Res. 3(1): 25-31.
26. Read, J.J., Reddy, K.R., and J.N. Jenkins. 2006. Yield and quality of upland cotton as influenced by nitrogen and phosphorus. European Journal of Agronomy. 24: 282-290.
27. Sheng, X.F. 2005. Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*. Soil. Biol. Biochem. 37: 1918-1922.
28. Sheng, X.F. and L. Y. He. 2006. Solubilization of potassium bearing minerals by a wild type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Can. J. Microbiol. 52: 66 -72.
29. Sheng, X.F., He, L.Y., and W.Y. Huang. 2002. The conditions of releasing potassium by a silicate-dissolving bacterial strain NBT. Agric. Sci. China.1: 662–666.
30. Singh, G., Biswas, D.R. and T.S. Marwah. 2010. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (Zea mays) and wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Plant Nutr. 33: 1236-1251.
31. Song, W., Ogawa, N., Oguchi, C.T., Hatta, T., and Y. Matsukura. 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on granite weathering: a laboratory experiment. Catena. 70: 275-281.
32. Srinivasarao, C., Rupa, T. R., Subba Rao, A., Ramesh, G and S. K. Bansal. 2006. Release kinetics of nonexchangeable potassium by different extractants from soils of varying mineralogy and depth. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 37(3): 473-491.
33. Štyriakova, I., Galko, I., and P. Bezdicka. 2003. The release of iron-bearing minerals and dissolution of feldspars by heterotrophic bacteria of *Bacillus* specie. Ceramics − Silikáty, 47 (1): 20-26.
34. Styriakova, I., Styriak, I., and H. Oberhansli. 2012. Rock weathering by indigenous heterotrophic bacteria of *Bacillus* spp. at different temperature: a laboratory experiment. Miner. Petrol. 105:135–144.
35. Sugumaran, P. and B. Janarthanam. 2007. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. W. J. Agricu. Sci. 3(3): 350-355.
36. Surapaneni, A., Palmer, A.S., Tillman, R.W., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 2002. Themineralogy andpotassium supplying power of some loessial and related soils of New Zealand. Geoderma.110: 191– 204.
www.SID.ir

Archive of SID
37. Ullman, W.J., Kirchman, D.L., and S.A. Welch. 1996. Laboratory evidence for microbial mediated silicate mineral dissolution in nature. Chem. Geol. 132:11–17.
38. Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M. P., and P. Frey-Klett. 2009. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. Trends Microbiol. 17(18): 378-387.
39. Zapata, F., and R.N.Roy. 2004. Use of phosphate rock for sustainable agriculture. FAO and IAEA, Rome, Italy.
www.SID.ir