نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۳، مرداد – شهریور ۱۳۹۶، ص. ۹۱۴-۹۰۰

Journal of Water and Soil
Vol. 30, No. 3, Jul.-Agu. 2017, p. 900-914

بررسی آزادسازی پتاسیم و تغییرات کانی‌های میکا در نتیجه تلقیح میکروبی

محمدرضا ساریخانی[1*]- امید مدنی[2]- شاهین اوستان[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۳۱

چکیده

پتاسیم یکی از عناصر غذایی ضروری پرمصرف برای رشد و توسعه سیستم‌های زنده محسوب می‌شود. کاربرد و استفاده ریزجانداران خاک یکی از راه‌های افزایش تامین این عناصر و رشد محصول می‌باشند. برخی از باکتری‌ها در رهاسازی پتاسیم از منابع معدنی کارایی لازم را دارا می‌باشند و در سال‌های اخیر توجه به باکتری‌های آزادکننده پتاسیم با هدف تهیه کودهای زیستی بیشتر شده است. در این مطالعه توان چندین جدایه باکتری در آزادسازی پتاسیم از کانی‌های میکا در شرایط درون-شیشه‌ای بررسی شد. برای این منظور در یک آزمایش انکوباسیون میکروبی توانایی آزادسازی پتاسیم توسط پنج جدایه (S6-6، S10-3، S14-3، S19-1 و S21-1) متعلق به جنس *سودوموناس* ارزیابی شد. در این آزمایش به دلیل استفاده از کانی میکا و تری‌کلسیم فسفات در محیط کشت الکساندروف، آزادسازی پتاسیم و فسفر به صورت همزمان در فواصل زمانی پنج روز در طول آزمایش اندازه‌گیری شد. این آزمایش با در نظر گرفتن فاکتورهای باکتری (شامل ۵ جدایه باکتری و یک نمونه شاهد بدون باکتری) و کانی میکا (شامل بیوتیت و موسکویت) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. رهاسازی پتاسیم از منابع کانی‌های پتاسیم‌دار موسکویت و بیوتیت در حضور منبع فسفر نامحلول تری‌کلسیم فسفات بررسی شد. انحلال فسفر از منبع تری‌کلسیم‌فسفات توسط باکتریها به روش آمونیم-وانادات-مولیبدات از طریق اسپکتروفتومتری تعیین شد و پتاسیم آزادشده در محلول از طریق فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که پتاسیم و فسفر محلول در محیط کشت تلقیح شده با باکتری‌های فوق به طور معنی‌داری افزایش یافت و مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه‌ها از این محیط بین ۲/۱۷ تا ۳/۲۳ میلی‌گرم در گرم به دست آمد و بیشترین مقدار پتاسیم آزاد شده مربوط به سویه S14-3 بود که نسبت به شاهد بدون باکتری ۴۸/۸۵ درصد افزایش نشان داد و با سایر جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت. در آنالیز XRD کانی موسکویت (تیمار شده با منیزیم) در حضور تیمار S14-3، پیک ۱۹/۵ انگسترم به‌دست آمد که می‌تواند مربوط به تخلیه فضای بین لایه‌ای و پر شدن آن توسط یک‌سری از متابولیت‌های باکتریایی باشد. چنین به نظر می‌رسد که تخلیه پتاسیم از کانی‌ها رخ داده است و آزمایشات تکمیلی بیشتر برای تایید این موضوع لازم است. افزایش آزادسازی پتاسیم از کانی‌های پتاسیم و انحلال فسفر از تری‌کلسیم فسفات شاید در نتیجه تولید و آزادسازی اسیدهای آلی از باکتریها باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های آزاد کننده پتاسیم، بیوتیت، هوادیدگی زیستی، XRD

مقدمه

چهار شکل مختلف پتاسیم در خاک به ترتیب سهل الوصول بودن برای گیاهان و میکروب‌ها شامل پتاسیم محلول، تبادلی، غیر تبادلی (تثبیت شده) و ساختمانی می‌باشد (۱۷ و ۳۱). تعادل موجود بین شکل‌های مختلف پتاسیم در خاک، باعث تداوم تامین پتاسیم می گردد. نقش پتاسیم غیرتبادلی در تغذیه گیاه کاملاً به اثبات رسیده است، حتی برخی آن را منبع عمده تامین پتاسیم برای گیاه دانسته‌اند (۳۱). پتاسیم هفتمین عنصر فراوان در پوسته زمین است و به طور متوسط لایه سطحی (لیتوسفر) حاوی ۲/۵ درصد پتاسیم است (۲۷). کانی‌های مهم حاوی پتاسیم در خاک‌ها عبارتند از: میکاها و فلدسپارهای پتاسیم‌دار. میکاها کانی‌های سیلیکاته ۲:۱ هستند که بسته به کاتیون موجود در لایه اکتاهدرال به میکای دی‌اکتاهدرال (موسکویت و گلیکونیت) و میکای تری‌اکتاهدرال (بیوتیت و فلوگوپیت) تقسیم‌بندی می‌شوند (۲۶ و ۳۲). عناصر موجود در کانی‌ها زمانی برای گیاهان قابل استفاده خواهند بود که کانی‌ها دچار هوادیدگی شوند. در این میان ریزجانداران خاک شامل قارچ‌ها، باکتریها و اکتینومیست‌ها قادر به تخریب ساختار کریستالی کانی‌ها و رهاسازی پتاسیم محبوس در ساختار آن هستند (۳۲). لیو و همکاران (۱۳) با انجام آزمایشی در حضور باکتری *Bacillus mucilaginosus* تولید همزمان اسید آلی و پلی‌ساکارید را از عوامل انحلال کانی‌های

۱ و ۳- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک و استاد شیمی و آلودگی خاک گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
(*- نویسنده مسئول: Email: rsarikhani@yahoo.com)
۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
DOI: 10.22067/jsw.v31i3.55976

Archive of SID
www.SID.ir

میکا توسط این باکتری دانستند. پلی‌ساکارید تولید شده توسط باکتری قادر است تا مقدار زیادی از اسیدهای آلی را به خود جذب نماید و متصل شدن پلی‌ساکارید در این وضعیت به کانی‌ها باعث ایجاد ناحیه‌ای با غلظت بالای اسیدهای آلی در نزدیکی کانی شده و به انحلال آن کمک می‌نماید. همچنین پلی‌ساکاریدها قادر به جذب سطحی SiO_2 می‌باشند که این موضوع تعادل بین فاز جامد و محلول را تحت تاثیر قرار داده و منجر به انحلال بیشتر SiO_2 و K^+ می‌شود. دو مکانیسم فوق در تجزیه کانی‌های سیلیکاتی به وسیله باکتری فوق مطرح می‌باشند.

نوروزی و خادمی (۲۱) تاثیر سه نوع اسید آلی (اگزالیک، سیتریک و مالیک) در رهاسازی پتاسیم از کانی‌های میکا (موسکویت و فلوگوپیت) و مطالعه تغییرات کانی‌شناسی کانی‌ها تحت تاثیر اسیدهای آلی را بررسی کردند که نتایج نشان داد سرعت رهاسازی پتاسیم بسته به نوع اسیدهای آلی و ترکیب شیمیایی و ساختمان تبلور کانی‌های میکا متفاوت است و اسید سیتریک با غلظت ۴ میلی‌مولار در بین سایر اسیدها پتاسیم بیشتری از کانی‌ها آزاد نمود و با افزایش غلظت اسیدها مقدار پتاسیم آزاد شده از کانی‌ها افزایش یافت، و کانی فلوگوپیت پتاسیم بیشتری را نسبت به مسکویت آزاد نمود. روند رهاسازی پتاسیم غیرتبادلی دارای دو فاز مشخص رهاسازی سریع در مراحل اولیه و رهاسازی با سرعت ثابت تا انتهای آزمایش بود. به نظر می‌رسد اسیدهای آلی از طریق هم‌آرایی گروه‌های کربوکسیلیک و هیدروکسیل با کاتیون‌های فلزی جذب کانی شده و هم‌آرایی قوی اسیدهای آلی، رهاسازی پتاسیم به محلول را افزایش می‌دهند. لیو و همکاران (۱۳) اسیدهای آلی و پلی‌ساکارید تولید شده توسط ریزجانداران را مکانیسم اصلی در رهاسازی پتاسیم بیان کردند. پراجاپاتی و مودی (۲۲) رهاسازی پتاسیم از کانی‌های آلومینیوسیلیکاتی را نتیجه تولید اسیدهای آلی مختلف مثل اسید سیتریک، اسید اگزالیک، اسید مالیک، اسید سوکسینیک و اسید تارتاریک معرفی کردند.

بالاگ برونستد و همکاران (۱) در آزمایشی قارچ اکتومیکوریز *Suillus tomentosus* را در محیط مایع با کانی بیوتیت در دمای اتاق تلقیح و مشاهده نمودند که هوادیدگی کانی‌ها توسط قارچ‌ها از طریق اتصال و انتقال مواد غذایی از طریق هیف نیست بلکه ناشی از اسیدی ساختن محیط کشت به وسیله اسیدهای آلی، تنفس قارچ (تولید CO_2) و تولید کمپلکس می‌باشد. احتمالاً قارچ‌ها نقش مهمی در هوادیدگی کانی‌ها و در دسترس قرار دادن مواد غذایی در شرایط کمبود به عهده دارند. چندین فاکتور مهم در درجه یا سرعت انحلال کانی‌های خاک و به تبع آن، رهاسازی پتاسیم مهم می‌باشند که عبارتند از: سرعت پخشیدگی اسیدهای آلی از محلول به محل واکنش و سرعت انتشار محصولات از محل انجام واکنش به تودهٔ محلول، زمان تماس بین اسیدهای آلی و سطح کانی، درجه تفکیک اسیدهای آلی، موقعیت و نوع گروه‌های عامل و مقدار تمایل جذب شیمیایی عوامل کلات‌کننده برای فلزات (۲۵). میلر و دیفاکو (۱۹) بیان کردند که تلقیح *Pseudomonas fluorescens* CHA0 به کانی ورمیکولایت باعث کاهش اندازه کانی و تجمع دانه‌ها و افزایش گرانروی کانی گردید. ساریخانی و همکاران (۲۹) در مطالعه‌ای توانایی ۷ سویه باکتریایی شامل *Pseudomonas putida* P13، *P. putida* Tabriz، *P. fluorescens* Tabriz، *P. fluorescens* Chao، *Pantoea agglomerans* P5 و *Azotobacter* sp. و *Bacillus megaterium* JK3 را در رهاسازی پتاسیم از منابع کانی‌های پتاسیم‌دار موسکویت و بیوتیت در حضور منابع فسفر نامحلول (تری‌کلسیم فسفات) و محلول (دی‌سدیم فسفات) بررسی نمود. نتایج این آزمایش حاکی از آن بود که استفاده از منبع فسفر نامحلول به طور معنی‌داری میزان پتاسیم آزاد شده در محیط سنجش را افزایش داد (۶۶ درصد) و پتاسیم آزادشده از بیوتیت بیشتر از موسکوویت بود. در میان باکتریها بیشترین پتاسیم آزادشده در حضور باکتری *P. putida* P13 به دست آمد که نسبت به شاهد ۲۷ درصد پتاسیم بیشتری آزاد نمود. مقادیر پتاسیم آزادشده توسط این سویه در حضور منابع فسفر نامحلول و محلول به ترتیب ۸/۲۵ و ۴/۸۷ mg/g بود.

تحقیقات مرتبط با بحث‌های فوق به مدیریت بهتر پتاسیم و استفاده از کودهای زیستی پتاسیمی به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی کمک شایانی خواهد کرد. لذا تحقیق حاضر با اهداف: ۱- بررسی اثر تلقیح باکتریایی بر آزادسازی پتاسیم از دو کانی بیوتیت و موسکویت ۲- بررسی اثر تلقیح باکتریایی بر آزادسازی فسفر از منبع نامحلول تری‌کلسیم فسفات موجود در محیط مایع الکساندروف ۳- مقایسه سرعت آزادسازی پتاسیم درکانی‌های بیوتیت و موسکویت ۴- مطالعه تغییرات به وجود آمده در کانی‌ها در نتیجه انکوباسیون میکروبی، انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تلقیح میکروبی، نوع کانی و مدت زمان انکوباسیون بودند. تیمارهای آزمایش شامل پنج جدایه باکتریایی کارآمد در آزادسازی پتاسیم (S6-6، S10-3، S14-3، S19-1 و S21-1) با در نظر گرفتن نمونه شاهد بدون تلقیح و دو نوع میکا (بیوتیت و موسکویت) بودند. این جدایه‌ها همگی متعلق به جنس *سودوموناس* بوده و از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تهیه شدند.

تهیه و آماده‌سازی کانی‌های مورد نیاز

با توجه به غنی بودن کانی‌های فوق از نظر پتاسیم قابل استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

(محلول و تبادلی) قبل از استفاده آنها در محیط کشت الکساندروف مایع، کانی‌ها به صورت زیر پیش‌تیمار شدند. کانی موسکویت از معدن زمان‌آباد همدان و بیوتیت از معدن قره‌باغ ارومیه تهیه شدند (شکل ۷ الف). ۰/۴ گرم از پودر کانی توزین شده و در ۳۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰ دور در دقیقه شیک شد و بعد از سانتریفوژ نمودن در شرایط ۶۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه، محلول رویی دور ریخته شد. مجدداً کانی در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر شیک شده و پس از سانتریفوژ در شرایط فوق، محلول رویی آن دور ریخته شد، مرحله شستشو با آب دوبار تکرار شد. کانی اسیدشویی شده به مدت ۱ شب در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا خشک شود و سپس به مقدار لازم در محیط کشت استفاده شد. این مقدار کانی اسیدشویی شده برای تهیه ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط الکساندروف قابل استفاده می‌باشد. اجزاء تشکیل دهنده محیط الکساندروف بر حسب گرم در لیتر به ترتیب برابر با ۵ گرم گلوکز، ۲ گرم تری‌کلسیم فسفات، ۲ گرم کانی میکا، ۰/۱ گرم کلرید کلسیم، ۰/۵ گرم سولفات منیزیم و ۰/۰۰۵ گرم کلرید آهن است (۱۳).

انکوباسیون در محیط مایع الکساندروف

در این آزمایش پنج جدایه S6-6، S10-3، S14-3، S19-1 و S21-1 متعلق به جنس *سودوموناس* مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام غربالگری در محیط مایع ابتدا کشت شبانه باکتری‌ها در محیط NB انجام پذیرفت و از آنجا که هدف وارد نمودن جمعیت بالایی از باکتریها جهت آزمایش است تا بتوان در مدت انکوباسیون تغییرات بوجود آمده را در کانی مشاهده نمود لذا زادمایه اولیه به شرح زیر تهیه شد. کشت شبانه ۵ ایزوله برتر در ۲۰ میلی‌لیتر NB انجام شد و بعد از رشد مناسب و همگن آنها با انجام سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰، باکتری را در ته فالکون رسوب داده و روشناور دور ریخته شد. به کمک آب مقطر استریل یا سرم نمکی ۰/۹ درصد استریل اقدام به شستشوی رسوب باکتری شد تا هرگونه ناخالصی از آن برطرف شود. سپس رسوب باکتری در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر یا سرم حل شده و در هر ارلن حاوی محیط مایع الکساندروف که به میزان ۴۰ میلی‌لیتر تهیه شده است، ۱ میلی‌لیتر تلقیح می‌شود. پس از تلقیح میکروبی تحت شرایط فوق‌الذکر، انکوباسیون به مدت ۳۰ روز در دمای ۲۶ درجه سانتیگراد با شرایط شیک ۱۵۰ دور در دقیقه انجام گرفت. در زمان‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز، ۲ میلی‌لیتر از محیط‌های فوق برداشته شد و با استفاده از آب مقطر بعد از رساندن به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر در شرایط سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، اجزاء محیط رسوب داده شد و از بخش روشناور برای تعیین میزان پتاسیم آزاد شده و همچنین مقدار فسفر محلول استفاده شد.

اندازه‌گیری پتاسیم آزاد شده و فسفر محلول

برای اندازه‌گیری پتاسیم آزاد شده از منابع کانی میکای موجود در محیط الکساندروف مایع بعد از تلقیح میکروبی، از روش فلیم‌فتومتری استفاده شد. برای اندازه‌گیری فسفر محلول آزاد شده از منبع تری‌کلسیم فسفات موجود در محیط الکساندروف مایع بعد از تلقیح میکروبی، از روش رنگ زرد (معرف نیترواناداومولیبدات) استفاده شد. بعد از افزودن آن به نمونه مورد آزمایش با ایجاد رنگ زرد که ناشی از حضور فسفر و تشکیل کمپلکس فسفووانادومولیبدات است، جذب آن در طول موج ۴۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تیمارهای آماده‌سازی کانی برای XRD

برای مطالعات کانی‌شناسی، نمونه‌هایی انتخاب شدند که بیشترین پتاسیم را در حضور کانی میکا آزاد کردند، همچنین نمونه کانی میکا در تیمار شاهد بدون تلقیح میکروبی نیز برای مقایسه مورد استفاده قرار گرفت. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمایشات پراش پرتو ایکس، در پایان ۳۰ روز تکرارهای هر ایزوله با هم مخلوط شده و بعد از حذف مواد آلی (بیوماس میکروبی) به وسیله آب اکسیژنه، نمونه‌های اشباع با منیزیم تهیه شدند. سپس نمونه‌های اشباع با منیزیم بر روی اسلاید قرار گرفتند.

حذف مواد آلی

در این مرحله نسبت کانی به آب یک به یک تا یک به دو می‌باشد. در ابتدا پنج میلی‌لیتر محلول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۰ درصد حجمی اضافه شد و پس از بهم زدن تا فروکش کردن جوشش صبر گردید. این عمل آنقدر ادامه یافت تا جوششی مشاهده نشود. سپس بشر در حمام آبی با درجه حرارت ۶۵ تا ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و افزودن آب اکسیژنه تا مشاهده عدم جوشش ادامه یافت. پس از آن برای از بین بردن آب اکسیژنه اضافی حدوداً یک ساعت حرارت دادن ادامه یافت در حالی‌که از خشک شدن نمونه احتراز گردید. سپس نمونه به یک لوله سانتریفوژ منتقل شد و در ۱۶۰۰ تا ۲۲۰۰ دور در دقیقه بمدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد. سپس محلول ته‌نشین شده را در پتریدیش ریخته و به داخل آون منتقل شد و در ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس پودر کانی‌های بیوتیت و موسکویت تحت تیمار با منیزیم قرار گرفتند (۱۵).

اشباع با منیزیم

در این مرحله بعد از حذف مواد آلی به مقدار کافی (پنج میلی‌لیتر) استات منیزیم ۵ مولار به نمونه‌ها اضافه گردید. بعد از آن نمونه‌ها به یک لوله سانتریفوژ منتقل شد و به مدت پنج دقیقه در ۱۵۰۰ دور در

Archive of SID

www.SID.ir

دقیقه سانتریفوژ گردیدند و محلول رویی دور ریخته شد. سپس دو بار با استات منیزیم ۰/۵ مولار و دو بار با محلول کلرید منیزیم ۰/۵ مولار و هر بار با ۱۰ میلی‌لیتر شستشو (شامل تکان دادن، سانتریفوژ کردن و دور ریختن محلول زلال رویی) گردید و بدین ترتیب مرحله اشباع‌سازی با منیزیم کامل شد. به منظور حذف املاح اضافی نمونه‌ها یکبار با ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول ۵۰ درصد و یکبار با ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول ۹۵ درصد و در نهایت با ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۹۵ درصد مورد شستشو قرار گرفت. این عمل تا زمانی که با اضافه کردن محلول نیترات نقره ۰/۱ مولار محلول زلال رویی کدر نشود ادامه یافت و سپس نمونه‌ها روی لام هوا خشک شدند (۱۵).

نتایج و بحث

اثر جدایه‌های باکتری، نوع کانی و مدت زمان انکوباسیون در رهاسازی پتاسیم

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که سویه‌های مورد آزمایش اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر آزادسازی پتاسیم در محیط دارند (جدول ۱). غلظت پتاسیم رهاشده از کانی‌های میکایی، تحت تأثیر جدایه‌های باکتریایی مختلف در جدول ۲ آمده است. در بین جدایه‌های مختلف، جدایه‌ی S14-3 توانسته است بیشترین مقدار پتاسیم از کانی‌های میکایی آزاد کند (جدول ۲)، میزان پتاسیم رهاشده در هر دو کانی توسط جدایه‌ی S14-3 با مقدار $3/23\ mg\ g^{-1}$ بود و نسبت به شاهد بدون باکتری ۴۸/۸۵ درصد افزایش نشان داد. از طرفی کمترین غلظت پتاسیم مربوط به تیمار S10-3 با مقدار $2/41\ mg\ g^{-1}$ بود، که نسبت به شاهد بدون باکتری ۱۱ درصد افزایش نشان داد. به صورت کلی می‌توان این طور نتیجه‌گیری کرد که جدایه‌ی S14-3، توانایی بیشتری برای آزاد نمودن پتاسیم از کانی‌ها دارد و با افزایش مدت زمان روند افزایشی مشاهده می‌شود.

بسیاری از ریزجانداران بومی خاک دارای پتانسیل متحرک نمودن عناصر غذایی تثبیت شده از منابع معدنی می‌باشند. باکتری‌های سیلیکاتی قادر به آزادسازی پتاسیم، سیلیسیم و آلومینیوم از مواد معدنی نامحلول یا سیلیکاتها هستند و به همین دلیل به این نام نامگذاری شده‌اند. گزارشاتی مبنی بر تاثیر جامعه میکروبی خاک از جمله قارچ‌های میکوریز (۱۸ و ۳۰)، قارچ‌هایی نظیر *Aspergillus fumigatus*، *Penicillium* (۱۲) و همچنین باکتریهای خاک نظیر جنس‌های *Bacillus* (۱۱)، *Pseudomonas*، *Rhizobium* و *Micrococcus* در رهاسازی پتاسیم از منابع خاکی وجود دارد (۱۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر انکوباسیون جدایه‌های منتخب بر رهاسازی پتاسیم و فسفر از محیط الکساندروف در حضور کانی‌های مسکویت و بیوتیت

Table 1- Analysis of variance the effect of bacterial isolates on potassium releasing and phosphate solubility in Aleksandrov medium containing biotite and muscovite

	میانگین مربعات Mean of Square		
منبع تغییر Source of Variation	درجه آزادی Degree of Freedom	غلظت فسفر Phosphorus concentration	غلظت پتاسیم Potassium concentration
جدایه‌های باکتریایی Bacteria	5	39237.53**	5.37**
کانی Mica	1	21288.74**	202.29**
باکتری × کانی B×M	5	1580.39**	2.33**
زمان Time	6	54857.23**	21.5**
باکتری × زمان B×T	30	3885.98**	0.34**
کانی × زمان M×T	6	819.09**	3.28**
باکتری × کانی × زمان B×T×M	30	500.05**	0.14**
خطا Error	168	282.10	0.193
ضریب تغییرات CV%		19.57	18.75

* و ** به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند و ns یعنی تفاوت معنی‌دار نیست

** Significant at the 1% level, * significant at the 5% level, ns non-significant

سوگومووران و جانارتانام (۳۲) در آزمایشی به بررسی میزان انحلال کانی‌های میکروکلین، موسکویت و اورتوکلاز در حضور باکتری *B. mucilaginosus* MCRCp1 پرداختند. بیشترین میزان انحلال پتاسیم به میزان ۴/۲۹ میلی‌گرم در لیتر مربوط به کانی میکای موسکویت بود. انحلال پودر سنگ حاوی پتاسیم (ذرات بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۰۲ میلی‌متر) به وسیله دو سویه قارچ *A. niger* در آزمایشی به مدت ۳۵ روز تحت شرایط دمای ۳۰ درجه سلسیوس و تکان دادن در ۱۶۰ دور در دقیقه به وسیله لوپزآسد و همکاران (۱۴) بررسی شد. نسبت بالای پتاسیم محلول به پتاسیم کل در پودر سنگ حکایت از پتانسیل بالای قارچ در رهاسازی پتاسیم نامحلول داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

این آزمایش با تلقیح قارچ در محیط کشت فاقد پتاسیم و حاوی پودر سنگ حاوی پتاسیم انجام شد. تیمار شاهد نیز بدون تلقیح قارچ و با در نظر گرفتن تمام اجزای محیط لحاظ شد. آنان عنوان داشتند که دو سویه CCT4355 و CCT911 متعلق به گونه *A. niger* توانایی بالایی در رهاسازی پتاسیم از کانی‌های اولترامافیک دارند و می‌توانند به عنوان کود زیستی از آنها استفاده کرد. هوف و همکاران (۷) تاثیر باکتریهای *Bacillus subtilis*، *Shewanella putrefaciens*، *Streptomyces acisdiscabies*، *Schizophyllum commune* را در انحلال کانی بیوتیت در مدت ۳۵ روز در انکوباسیون در شرایط pH قلیایی (pH=۹/۵) مورد آزمون قرار داده و مشاهده کردند که آزادسازی پتاسیم از بیوتیت در حضور ریزجانداران به صورت غیرمتجانس ابتدا از فضای بین لایه‌ای و سپس از خود لایه‌ها می‌باشد. همچنین خروج پتاسیم از لایه‌ها به دلیل جذب Na^+، H_3O^+ و NH_4^+ بوده و جایگزینی آمونیوم در حضور باکتریها ۶ برابر شاهد بود. رحیم زاده و همکاران (۲۳) اثر باکتری های حل کننده سیلیکات بر آزادسازی پتاسیم از کانی میکایی گلوکونیت در ریزوسفر گیاه کلزا را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که بیش ترین جذب به گیاهان رشد کرده در تیمار تغذیه شده با محلول غذایی کامل و شامل باکتری حل کننده سیلیکات مربوط بوده است. غلظت پتاسیم در تیمار تغذیه شده با محلول غذایی کامل و عاری از باکتری و تیمار تغذیه شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و شامل باکتری اختلاف معنی‌داری نداشته است که این مسأله نشان دهنده تأثیر قابل توجه باکتری حل کننده سیلیکات در تأمین پتاسیم برای گیاه است. سلاجقه تذرجی و همکاران (۲۸) بیان کردند که جدایه‌های مختلف استخراج شده از گیاهان پسته و سورگوم و پیاز و شبدر باعث افزایش کلنیزاسیون میکوریزایی پسته و مشخص شد که تلقیح با میکوریزا، سبب افزایش وزن خشک و ارتفاع و نیز محتوای فسفر، نیتروژن و پتاسیم گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی شدند.

اثر کانی میکا در غلظت پتاسیم آزاد شده

طبق جدول ۱ تجزیه واریانس غلظت پتاسیم آزاد شده از کانی‌های پتاسیم‌دار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. و همچنان که در جدول ۲ دیده می‌شود پتاسیم بیشتری از کانی بیوتیت نسبت به موسکویت آزاد شده است که این امر را می توان به فاکتور-های مختلفی مثل ماهیت کانی‌های پتاسیم‌دار که شامل ساختار کریستالی، ترکیب شیمیایی کانی، درجه تخلیه و تغییر بار لایه‌ای کانی نسبت داد (۳۱). همچنین می‌توان به سهولت هوادیدگی بیوتیت در مقایسه با مسکویت نسبت داد (۴). بیوتیت از نوع تری‌اکتا هدرال بوده ولی موسکویت دی‌اکتاهدرال می‌باشد حضور منیزیم و آهن در این کانی هوادیدگی بیولوژیکی یا شیمیایی آن را آسان‌تر می‌سازد (۳۱). موقعیت هیدروکسیل نسبت به ورقه‌های سیلیکات در مسکویت، مایل بوده و فاصله بین پروتون و پتاسیم زیادتر است و بنابراین کمتر دفع می‌شود ولی در بیوتیت، این موقعیت عمودی بوده و پروتون نزدیک پتاسیم قرار گرفته و نیروی دافعه بیشتری دارد. علاوه بر آن ابعاد ورقه‌های اکتاهدرال در مسکویت، کوچکتر از بیوتیت است، در نتیجه پتاسیم در مسکویت با نیروی بیشتری نگهداری می شود (۹) .در مطالعه نوروزی و خادمی (۲۱) که به بررسی تاثیر سه نوع اسید آلی (اگزالیک، سیتریک و مالیک) در رهاسازی پتاسیم از کانی‌های میکا (موسکویت و فلوگوپیت) پرداختند آنها نیز عنوان داشتند کانی فلوگوپیت پتاسیم بیشتری را نسبت به مسکویت آزاد نمود.

روند رهاسازی پتاسیم از کانی‌های میکایی طی انکوباسیون میکروبی

روند رهاسازی پتاسیم برای کانیهای میکایی به عنوان تابعی از زمان تحت تأثیر جدایه‌های باکتریایی در جدول ۲ آمده است. در طول انکوباسیون رهاسازی پتاسیم در مراحل اولیه کندتر و سپس با گذشت زمان به تدریج افزایش یافت. محققین مختلفی علت این افزایش رهاسازی از کانی‌های آلومینیوسیلیکاتی را نتیجه تولید اسیدهای آلی مختلف مثل اسید سیتریک، اسید اگزالیک، اسید مالیک، اسید سوکسینیک و اسید تارتاریک و پلی‌ساکاریدها تولید شده از ریزجانداران معرفی کردند (۱۳ و ۲۲).

روند رهاسازی پتاسیم برای کانیهای میکایی به عنوان تابعی از زمان تحت تأثیر تیمارهای مختلف باکتریایی در شکل ۱ نشان داده شده است. در تمام این نمونه‌ها، رهاسازی پتاسیم در مراحل اولیه سریع‌تر و سپس با گذشت زمان به تدریج کاهش می‌یابد تا اینکه تعادل ظاهری حاصل شود و سپس رهاسازی با سرعت ثابتی ادامه می‌یابد. تا زمان ۵ روز ، آزاد سازی پتاسیم روند افزایشی داشته و سپس تا زمان ۳۰ روزه افزایش و کاهش‌هایی در بسیاری از تیمارها در زمانهای مختلف مشاهده شد.

حسین پور (۸) مقدار پتاسیم غیرتبادلی آزاد شده به وسیله عصاره‌گیری متوالی با اسید سیتریک را به عنوان تابعی از زمان از رس‌های خالص مطالعه نمود و مشاهده کرد که سرعت آزاد شدن پتاسیم غیر تبادلی در کلیه رس‌ها در مراحل اولیه زیاد، سپس کند شده و با سرعت نسبتاً ثابتی ادامه می‌یابد. ضرابی و همکاران (۳۳) نیز در آزمایش خود مشاهده کردند که رهاسازی در مراحل اولیه در تمام خاکها سریع است و در مراحل بعدی با سرعت کمتری تا انتهای آزمایش ادامه دارد و نتیجه گرفتند که فاکتورهایی مثل اندازه ذرات کانی‌های حاوی پتاسیم و شرایط محیطی خاک بر روی رهاسازی پتاسیم تأثیر می‌گذارد. فرشادی‌راد و همکاران (۳) به بررسی سرعت رهاسازی پتاسیم غیرتبادلی در خاک، بخش رس و سیلت ۴ نمونه از

Archive of SID

www.SID.ir

خاک‌های لسی و شبه لسی استان گلستان با استفاده از کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار پرداختند. رهاسازی پتاسیم در تمام خاک‌ها در مراحل اولیه سریع بود و در مراحل بعدی با سرعت کم‌تری تا پایان آزمایش ادامه یافت. در بین اندازه‌های مختلف ذرات خاک، بخش رس بیش‌ترین مقدار و سرعت آزادسازی پتاسیم را نشان داد.

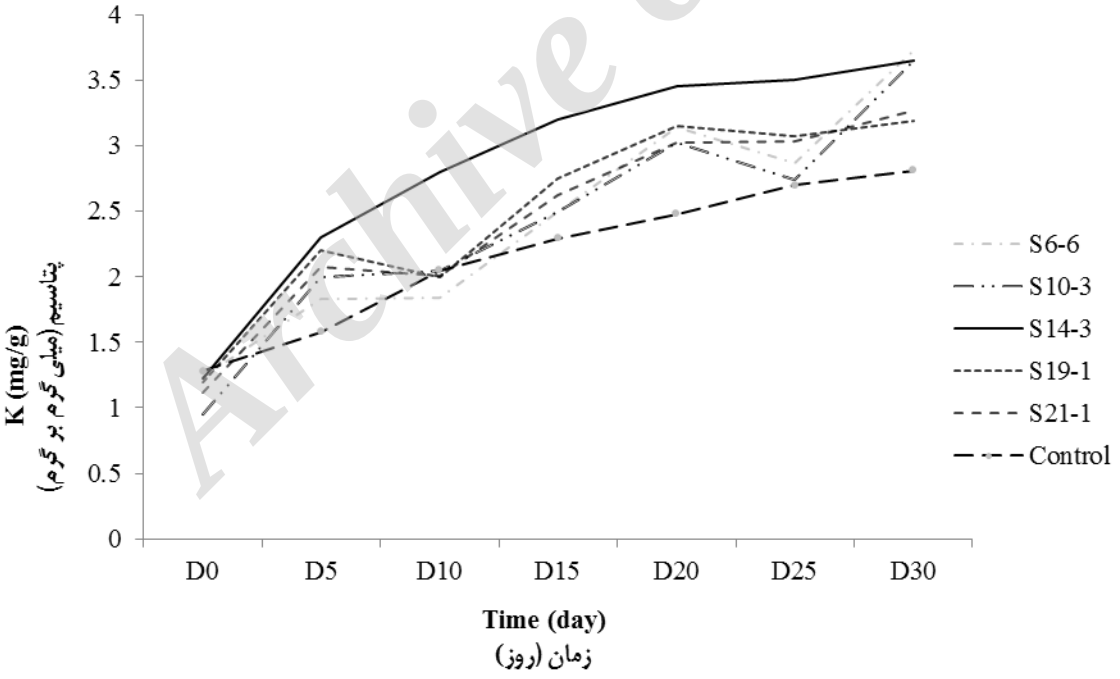
جدول ۲-مقایسه اثر تیمارهای باکتریایی، کانی و زمان در آزاد سازی پتاسیم از کانی‌های میکایی و در انحلال فسفر از منبع نامحلول فسفر

Table 2- Mean comparison the effect of bacteria, mica and time of incubation on potassium releasing from micas and phosphate solubility from insoluble phosphate source

		P (mg/l)	K (mg/g)
تیمار باکتریایی **Bacteria**	S6-6	72.69 c	2.45 b
	S10-3	108.29 a	2.41 b
	S14-3	107.57 a	3.23 a
	S19-1	106.72 a	2.51 b
	S21-1	89.28 b	2.45 b
	Control	30.39 d	2.17 c
کانی **Mica**	Biotite	76.63 b	3.44 a
	Muscovite	95.02 a	1.64 b
زمان **Time**	D0	13.13 e	1.24 e
	D5	71.66 d	2.01 d
	D10	77.85 d	2.14 d
	D15	100.87 b	2.69 c
	D20	92.76 c	3.15 b
	D25	104 b	3.13 b
	D30	140.5 a	3.38 a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند. D0 تا D30: زمان صفر تا ۳۰ روز.

In each column the means with the same letters don't have significant differences at $p<0.05$. D0 t0 D30 represents the time of incubation from 0 to 30 days.



شکل ۱- روند رهاسازی پتاسیم با زمان از کانی های میکایی درتیمارهای مختلف

Figure 1- Trend of potassium release at different time of incubation by bacterial isolates

Archive of SID

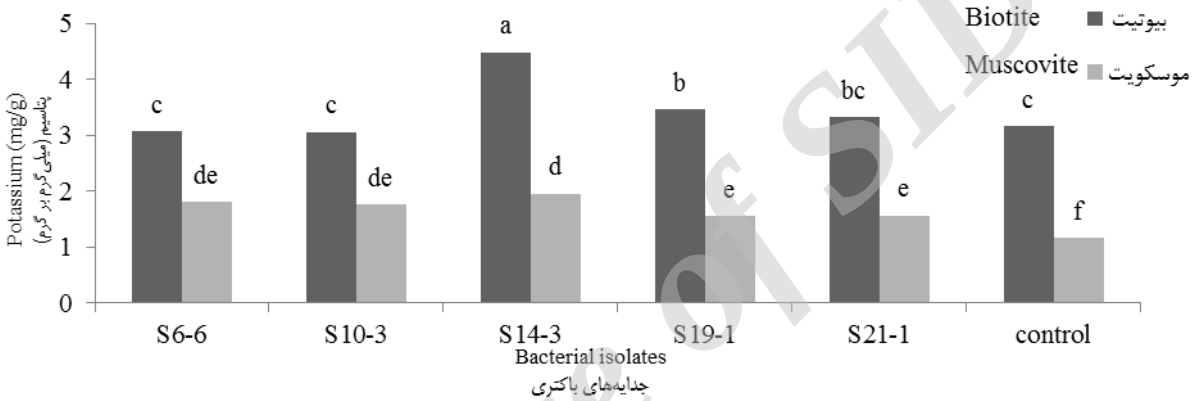
www.SID.ir

اثر متقابل باکتری و کانی بیوتیت و مسکویت در آزاد سازی پتاسیم

تجزیه واریانس جدول ۱ نشان می‌دهد که سویه‌های مورد آزمایش اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر آزاد سازی پتاسیم و فسفر در محیط دارند. همچنین مقایسه میانگین‌ها در شکل ۲ نشان می‌دهد که بیشترین غلظت پتاسیم در حضور کانی بیوتیت و موسکویت مربوط به تیمار S14-3 به ترتیب با مقادیر $4/49\ mg\ g^{-1}$ و $1/96\ mg\ g^{-1}$ بود. از طرفی کمترین غلظت پتاسیم در حضور کانی بیوتیت و موسکویت به ترتیب مربوط به تیمار S10-3 ($3/07\ mg\ g^{-1}$) و S19-1 ($1/56\ mg\ g^{-1}$) بود.

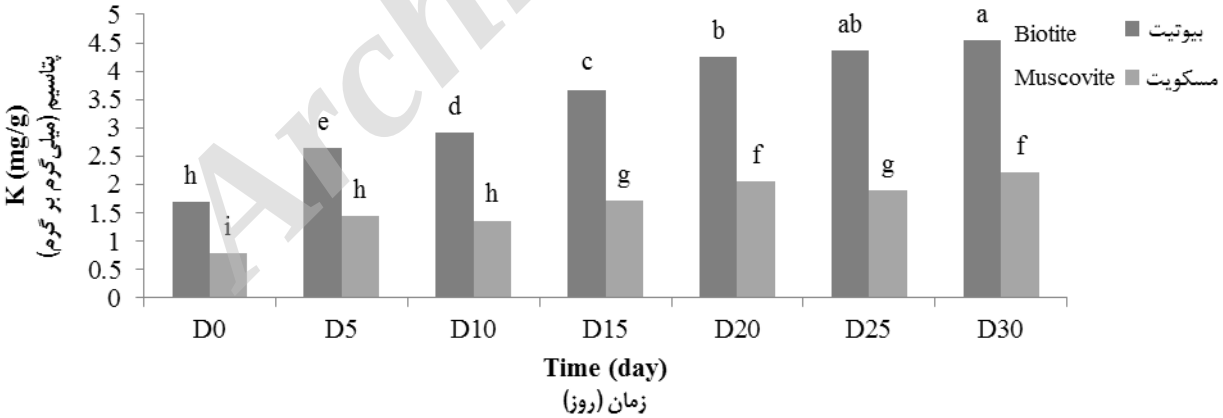
در مسکویت اولاً موقعیت هیدروکسیل نسبت به ورقه‌های سیلیکات، مایل بوده و فاصله بین پروتون و پتاسیم زیادتر است و بنابراین کمتر دفع می‌شود ولی در بیوتیت، این موقعیت عمودی بوده و پروتون نزدیک پتاسیم قرار گرفته و نیروی دافعه بیشتری دارد. ثانیاً ابعاد ورقه‌های اکتاهدرال در مسکویت، کوچکتر از بیوتیت است. در نتیجه پتاسیم در مسکویت با نیروی بیشتری نگهداری می شود (۹).

در بررسی اثر متقابل زمان و کانی میکا در آزاد سازی پتاسیم، همان‌طور که در شکل ۳ آمده است روند افزایشی با گذشت زمان قابل مشاهده است و بیشترین افزایش در حضور کانی بیوتیت مشاهده می‌شود.



شکل ۲- اثر متقابل ۵ جدایه کارآمد با کانی بیوتیت و مسکویت در آزاد سازی پتاسیم

Figure 2- Interaction effect of mineral type and bacterial isolates on releasing of potassium from muscovite and biotite



شکل ۳- اثر متقابل زمان و کانی بیوتیت و مسکویت در آزاد سازی پتاسیم

Figure 3- Interaction effect of mineral type and incubation time on releasing of potassium from muscovite and biotite

اثر جدایه‌های باکتریایی در انحلال فسفر

با توجه به اینکه در محیط الکساندروف از تری‌کلسیم فسفات به عنوان منبع فسفر استفاده می‌شود می‌توان همزمان در این محیط میزان انحلال فسفات را نیز سنجید بر همین اساس در حضور دو

Archive of SID

www.SID.ir

کانی میکا انحلال فسفر نیز سنجیده شد.

تجزیه واریانس جدول ۱ نشان می‌دهد که سویه‌های مورد آزمایش اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر آزادسازی فسفر در محیط دارند. غلظت فسفر رهاشده از منبع نامحلول تری‌کلسیم فسفات، تحت تأثیر جدایه‌های باکتریایی مختلف در جدول ۲ آمده است در بین جدایه‌های مختلف، جدایه‌ی S10-3 توانسته است بیشترین مقدار فسفر را از منبع تری‌کلسیم فسفات آزاد کند (جدول ۲)، میزان فسفر رهاشده توسط جدایه‌ی S10-3 با مقدار $mg\ l^{-1}$ ۱۰۸/۲۹ که نسبت به شاهد بدون باکتری حدود ۳/۶ برابر افزایش نشان داد. از طرفی کمترین غلظت فسفر مربوط به تیمار S6-6 با مقدار $mg\ l^{-1}$ ۷۲/۶۹ بود، که نسبت به شاهد بدون باکتری تقریباً ۲/۴ برابر افزایش نشان داد.

گزارش‌های متعددی از توانایی گونه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات معدنی کم محلول از قبیل تری‌کلسیم فسفات، دی-کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و سنگ فسفات وجود دارد. در بین باکتری‌هایی با این قابلیت، جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Rhizobium*، *Burkholderia*، *Agrobacterium*، *Achromobacter*، *Flavobacterium* (۲۴) و *Pantoea agglomerans* (۱۰ و ۱۶) مشاهده می‌شود.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود میزان آزادسازی فسفر از منبع نامحلول تری‌کلسیم فسفات موجود در محیط الکساندوف در حضور کانی مسکویت نسبت به بیوتیت بیشتر بوده است. این موضوع به نوعی بیانگر مکانیسم تقریباً مشابه آزادسازی پتاسیم و انحلال فسفر می باشد. ساریخانی و همکاران (۲۹) نشان دادند زمانیکه منابع فسفر نامحلول در مقایسه با فسفر محلول استفاده می شود، آزادسازی پتاسیم افزایش می یابد و بالعکس زمانیکه کانی سخت رهاشونده‌ای مثل موسکویت در مقایسه با بیوتیت استفاده می شود انحلال فسفر افزایش می یابد. این موضوع می تواند مکانیسم مشترک و هم‌افزایی انحلال فسفر و آزادسازی پتاسیم در حضور منابع نامحلول و سخت رهاشونده را نشان دهد.

روند رهاسازی فسفر از کانی‌های میکا طی انکوباسیون میکروبی

روند رهاسازی فسفر برای کانیهای میکا به عنوان تابعی از زمان تحت تأثیر جدایه‌های باکتریایی در جدول ۲ آمده است. در طول انکوباسیون رهاسازی فسفر در مراحل اولیه کندتر و سپس با گذشت زمان به تدریج افزایش یافتند. به‌طور کلی پذیرفته شده است که اسیدهای آلی تولید شده توسط ریزجانداران مکانیسم اصلی برای انحلال فسفات معدنی خاک است (۳۱). تولید اسیدهای آلی منجر به اسیدی شدن سلولهای میکروبی و ناحیه‌ی اطراف آن می‌شود. به نظر می‌رسد اسیدگلوکونیک، مهم‌ترین عامل انحلال فسفات معدنی باشد (۳۲).

روند انحلال فسفر با زمان از منبع نامحلول فسفر درتیمارهای مختلف

روند رهاسازی فسفر از منبع نامحلول تری‌کلسیم فسفات موجود در محیط مایع الکساندروف به عنوان تابعی از زمان تحت تأثیر تیمارهای مختلف باکتریایی در شکل ۴ آمده است. در تمام این نمونه‌ها، به جزء تیمار S6-6 و شاهد، در بقیه تیمارها رهاسازی فسفر در مراحل اولیه سریع‌تر و سپس با گذشت زمان به تدریج کاهش می‌یابد تا اینکه تعادل ظاهری حاصل شود و سپس رهاسازی با سرعت ثابتی ادامه می‌یابد. تا زمان ۵ روز، آزاد سازی فسفر به جزء تیمار S6-6 و شاهد روند افزایشی داشته و سپس تا زمان ۳۰ روز افزایش و کاهش‌هایی در بسیاری از تیمارها در زمانهای مختلف مشاهده شد.

اثر متقابل باکتری و کانی بیوتیت و مسکویت در انحلال فسفر

تجزیه واریانس جدول ۱ نشان می‌دهد که سویه‌های مورد آزمایش اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر انحلال فسفر دارند. همچنین مقایسه میانگین‌ها در شکل ۵ نشان می‌دهد که بیشترین غلظت فسفر در حضور کانی بیوتیت و موسکویت مربوط به تیمار S10-3 به ترتیب با مقادیر $mg\ l^{-1}$ ۱۱۷/۶۱ و $mg\ l^{-1}$ ۹۸/۹۷ بود. از طرفی در بین باکتریها کمترین غلظت فسفر در حضور دو کانی مربوط به تیمار S6-6 با مقادیر $mg\ l^{-1}$ ۷۳/۳۶ و $mg\ l^{-1}$ ۷۲/۰۳ بود.

در بررسی اثر متقابل زمان و کانی میکا در انحلال پتاسیم، همان‌طور که در شکل ۶ آمده است روند افزایشی با گذشت زمان قابل مشاهده است و بیشترین افزایش در حضور کانی بیوتیت مشاهده می‌شود.

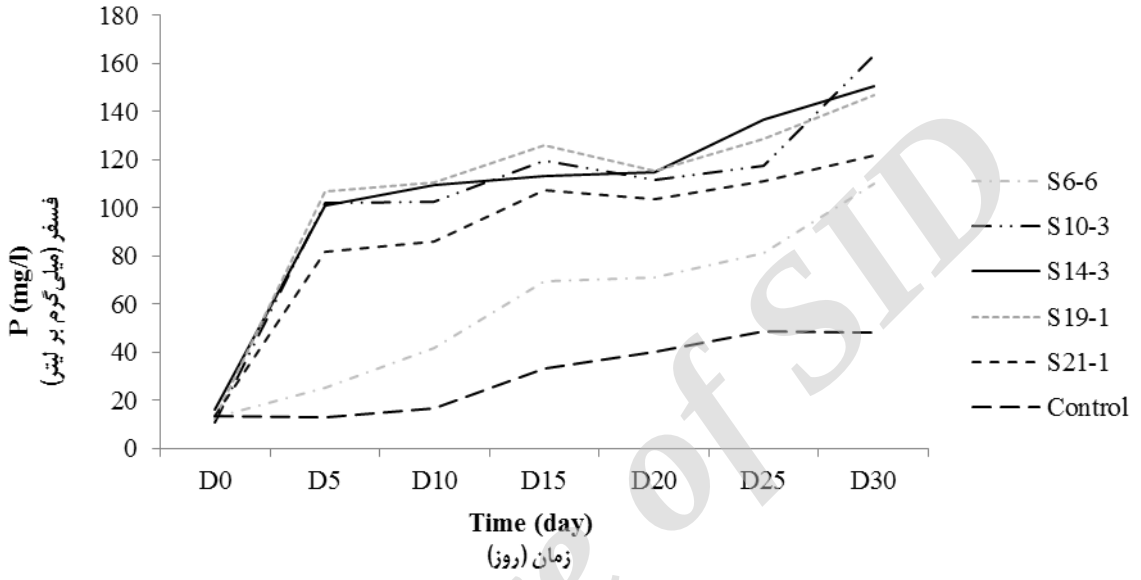
مطالعه پراش پرتو ایکس به منظور بررسی تغییر شکل کانی‌های میکایی تحت تأثیر جدایه‌های باکتریایی

به منظور بررسی تغییرات کانی شناسی در کانی‌های میکایی پس از انکوباسیون ۳۰ روزه با جدایه‌های کارآمد در آزادسازی پتاسیم، از مطالعه پراش پرتو ایکس (XRD) استفاده شد. در مورد کانی موسکویت دیفرکتوگرام تیمار اشباع با منیزیم برای نمونه شاهد و پس از تیمار شدن با باکتری S14-3 در شکل ۷-ب نشان داده شده است. بطور کلی از مشخصه کانی میکا وجود دو مرتبه پیک ۱۰ انگستروم و ۵ انگستروم است که در شکل‌های ۷ الف و ۷ ب مشخص است. همان‌طور که در شکل مشخص است ظهور پیک ۱۹/۵ انگستروم

Archive of SID

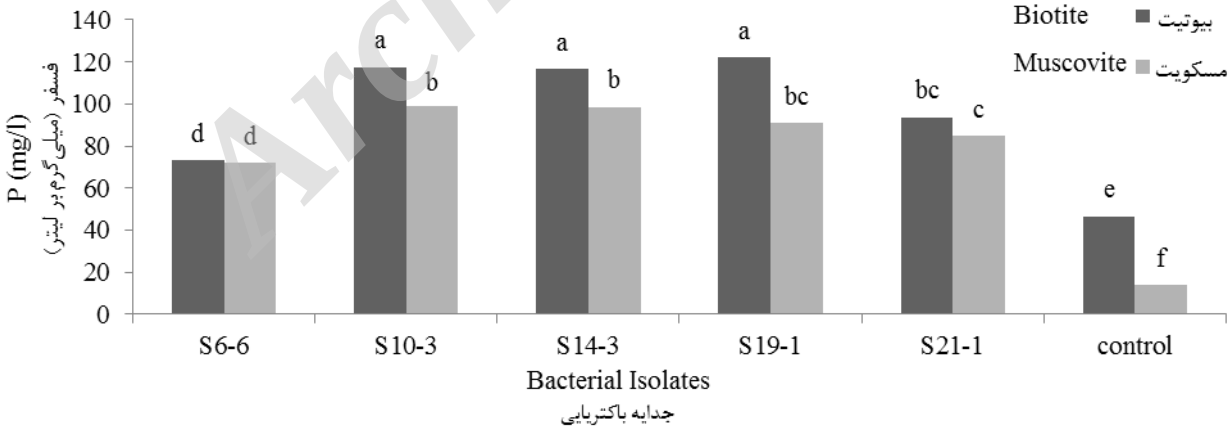
www.SID.ir

احتمالاً مربوط به فضای بین لایه‌ای است که توسط یکسری از متابولیت‌های باکتریایی پر شده است. پیشنهاد شده است که لیگاندهای آلی کوچک ممکن است با ورود به فضای بین لایه‌ای در خارج نمودن پتاسیم دخالت داشته باشند (۱۲). محققین مختلفی تولید ترکیبات آلی مختلف همانند سیترات، اگزالات، مالات، سوکسینات و تارتارات و پلی‌ساکاریدها تولید شده از ریزجانداران را در این امر دخالت می‌دانند و آن را عاملی برای علت این افزایش رهاسازی پتاسیم از کانی‌های آلومینیوسیلیکاتی می‌دانند (۱۳ و ۲۲). تخلیه پتاسیم بین لایه‌ای و جایگزینی آن با این متابولیت‌ها می‌تواند باعث این تغییر باشد. البته انجام آزمایشات بیشتر در این مورد ضروری به نظر می‌رسد. آزاد سازی پتاسیم در بیوتیت نسبت به مسکویت بیشتر بوده که این امر را می‌توان به فاکتورهای مختلفی مثل ماهیت کانی‌های پتاسیم‌دار که شامل ساختار کریستالی، ترکیب شیمیایی کانی، درجه تخلیه و تغییر بار لایه‌ای کانی نسبت داد (۳۱).



شکل ٤- روند رهاسازی فسفر با زمان از منبع نامحلول فسفر در تیمارهای مختلف

Figure 4- Trend of phosphate solubility from insoluble source of phosphate by bacterial isolates at different time of incubation

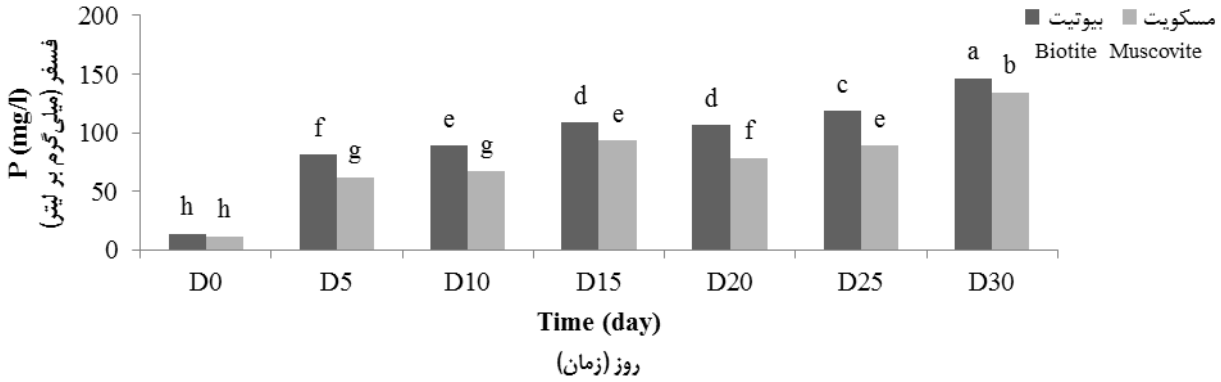


شکل ٥- اثر متقابل ٥ جدایه کارآمد با کانی بیوتیت و مسکویت در آزاد سازی فسفر

Figure 5- Interaction effect of mineral type and bacterial isolates on P solubility

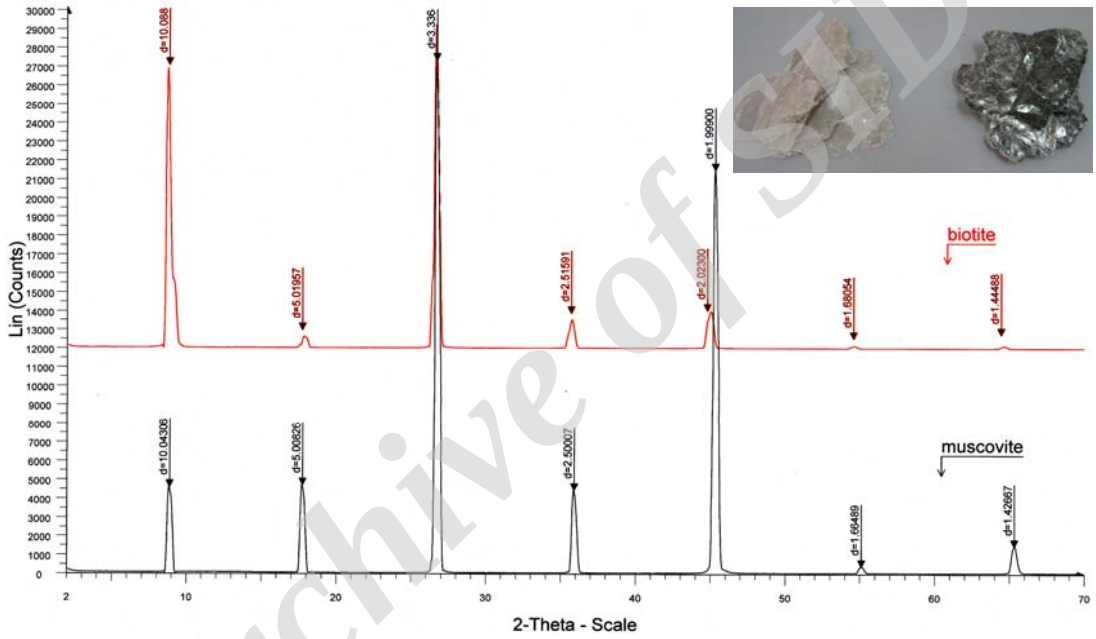
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٦- اثر متقابل زمان و کانی بیوتیت و مسکویت در آزاد سازی فسفر

Figure 6- Interaction effect of mineral type (muscovite or biotite) and time of incubation on P solubility



شکل ۷ الف- دیفرکتوگرام‌های پرتو ایکس برای کانیهای بیوتیت (میکای سیاه) و موسکویت (میکای سفید) بدون هیچ گونه تیمار میکروبی

Figure 7a- The XRD diffractograms of biotite (black mica) and muscovite (white mica) minerals without any bacterial treatments

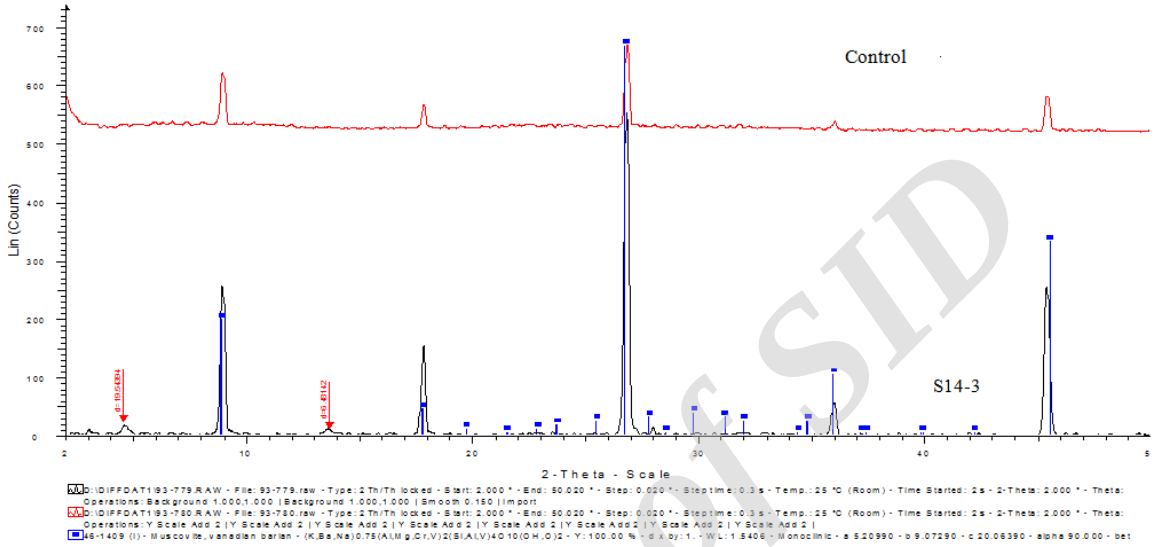
مولر (۲۰) تغییرات شیمیایی، کانی‌شناسی و رئولوژیکی ورمی‌کولایت را در تلقیح با سویه‌های موتان CHA631، CHA77، CHA400، CHA89، CHA661 که از باکتری *P. fluorescens* CHA0 وحشی حاصل شده بودند مورد آزمایش قرار داده و بیان کردند که حضور CHA631، CHA89 و CHA77 باعث کاهش اندازه دانه‌های ورمیکولایت شد و این در حالی است که سویه‌های CHA400 و CHA661 به علت تجمع و هم‌آوری باعث افزایش اندازه دانه‌ها گردیدند. همچنین این دو سویه اجازه تبادل پتاسیم و منیزیم را با سدیم در ورمی‌کولایت دادند. بعلاوه مولر و دیفاکو (۱۹) بیان کردند که تلقیح *P. fluorescens* CHA0 به کانی ورمیکولایت باعث کاهش اندازه کانی و تجمع دانه‌ها و افزایش ویسکوزیته کانی گردید. چیانگ و همکاران (۲) تغییرات شیمیایی، کانی‌شناسی و رئولوژیکی الیوین و ولاستونیت را در تلقیح با سویه‌های باکتریهای *B. mucilaginosus*، *B. circulans*، *B. licheniformis* و *Sporosarcina ureae* مورد آزمایش قرار دادند و بیان کردند که باز شدن لایه‌ها در هر دو کانی، نتیجه تولید اسیدهای آلی از قبیل اسید گلوکونیک و اگزو پلی‌ساکارید از میگروارگانیسم‌ها می‌باشند.

نوروزی و خادمی (۲۱) تاثیر سه نوع اسید آلی (اگزالیک، سیتریک و مالیک) در رهاسازی پتاسیم از کانی‌های میکا (موسکویت و فلوگوپیت) و مطالعه تغییرات کانی‌شناسی کانی‌ها تحت تاثیر اسیدهای

Archive of SID

www.SID.ir

آلی را بررسی کردند که نتایج نشان داد سرعت رهاسازی پتاسیم بسته به نوع اسیدهای آلی و ترکیب شیمیایی و ساختمان تبلور کانی‌های میکای متفاوت بوده و اسید سیتریک با غلظت ۴ میلی مولار در بین سایر اسیدها پتاسیم بیشتری از کانی‌ها آزاد نموده و با افزایش غلظت اسیدها مقدار پتاسیم آزاد شده از کانی‌ها افزایش یافت، و کانی فلوگوپیت پتاسیم بیشتری را نسبت به مسکویت آزاد نمود. روند رهاسازی پتاسیم غیرتبادلی دارای دو فاز مشخص رهاسازی سریع در مراحل اولیه و رهاسازی با سرعت ثابت تا انتهای آزمایش بود. به نظر می‌رسد اسیدهای آلی از طریق هم آرایی گروه‌های کربوکسیلیک و هیدروکسیل با کاتیون‌های فلزی جذب کانی شده و هم‌آرایی قوی اسیدهای آلی، رهاسازی پتاسیم به محلول را افزایش می‌دهند.



شکل ۷ ب- دیفرکتوگرام‌های پرتو ایکس تیمارهای اشباع از منیزیم برای کانی‌های میکایی مسکویت، در نمونه شاهد و پس از تیمار شدن با باکتری S14-3

Figure 7b- The XRD diffractogram of the magnesium saturated muscovite in the non-bacterial control (up) and inoculated treatment with Pseudomonas strain S14-3 (down)

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که جدایه‌های مورد استفاده در این آزمایش به خوبی قادر به رهاسازی پتاسیم از منابع کانی بیوتیت و موسکویت بودند و علاوه بر آن انحلال فسفات از منبع تری‌کلسیم فسفات در آنها دیده شد. مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه‌ها از محیط الکساندروف حاوی کانی مسکویت و بیوتیت بین ۲/۱۷ تا ۳/۲۳ میلی‌گرم در گرم به دست آمد (جدول ۲) و بیشترین مقدار پتاسیم و فسفر آزاد شده به ترتیب مربوط به جدایه S14-3 و S10-3 بود. طی آزمایش انکوباسیون مشخص شد که سویه‌ها توانایی آزادسازی پتاسیم را از کانی‌های پتاسیم‌دار بیوتیت و مسکویت دارند. آزادسازی پتاسیم در بیوتیت نسبت به مسکویت بیشتر بود که این امر را می‌توان به ماهیت کانی‌های پتاسیم‌دار نسبت داد. در آنالیز XRD، پیک ۱۹/۵ انگستروم بدست آمده در کانی موسکویت (تیمار شده با منیزیم) در حضور تیمار S14-3مربوط به فضای بین لایه‌ای است که توسط یکسری از متابولیت‌های باکتریایی پر شده است. با توجه به قابلیت آزادسازی پتاسیم و انحلال فسفر توسط این جدایه‌ها، استفاده آنها در شرایط کشت با گیاه و در شرایط واقعی می‌تواند نتایج امیدبخشی را به دنبال داشته باشد.

منابع

1- Balogh-Brunstad Z., Keller C.K., Dickinson J.T., Stevens F., Li, C.Y., and Bormann B.T. 2008. Biotite weathering and nutrient uptake by ectomycorrhizal fungus, Suillus tomentosus, in liquid-culture experiments. Geochimica et Cosmochimica Acta, 72: 2601–2618.

2- Chiang Y.M., Rafael M.S., Monballiu A., Ghyselbrecht K., Johan A.M., MariaLaura T.M., Gerven T.V., and Boudewijn M. 2013. Effects of bioleaching on the chemical, mineralogical and morphological properties of natural and waste-derived alkaline materials. Minerals Engineering, 48:116–125.

Archive of SID

www.SID.ir

3- Farshadirad A., Dordipour E., and Khormali F. 2013. Kinetic of non-exchangeable potassium release with $CaCl_2$ from soils and its components. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 3(1): 113-129.
4- Feigenbaum S.R., Edelston E., and shainberg I. 1981. Release rate of K and structural cations from micas to ion exchange in dilute solution. Soil Science Society of America Journal, 45: 501-506
5- Goldstein A.H., Rogers R.D., Mead G. 1993 .Mining by microbe. Biology and Technology. 11: 1250–1254.
6- Halder A.K., Mishra A.K., Bhattacharya P., and Chakrabarty P.K. 1990. Solubilization of inorganic phosphate by Rhizobium. Indian Journal of Microbiology, 30: 311-314.
7- Hopf J., Langenhorst F., Pollok K., Merten D., and Kothe E. 2008. Influence of microorganisms on biotite dissolution: An experimental approach. Chemie der Erde, 69: 45–56.
8- Hosseinpur A. 1999. Study Potassium Fixation, The quantity of intensity and the rate of non-exchangeable Potassium In soils of Iran. PhD thesis soil. College of Agriculture, Isfahan University of Technology. 223 pages.
9- Huang P.M., and Song S.K. 1988. Dynamic of potassium release from potassium- bearing minerals as influenced by oxalic and citric acids Siol. Soil Science Society of America Journal, 52: 383 -390.
10- Jung I., Park D.H., and Park K. 2002. A study of the growth condition and solubilization of phosphate from hydroyapatite by pantoea agglomerans. Biotechnology Bioprecess Enginiering, 7: 201-2015.
11- Keshavarzzarjani J., Aliasgharzad N., and Oustan SH. 2013. Effects of Six Strains of Potassium Releasing Bacteria on Growth and Potassium Uptake of Tomato Plant. Journal of Soil and Water, 23(2): 245- 255.
12- Lian B., Fu P.Q., Mo D.M., Liu C.Q. 2002. A comprehensive review of the mechanism of potassium releasing by silicate bacteria. Acta Mineralogica Sinica, 22: 179–183.
13- Liu W., Xu X., Wu X., Yang Q., Luo Y., and Christie P. 2006. Decomposition of silicate minerals by Bacillus mucilaginosus in liquid culture. Environmental Geochemistry and Health, 28:133–140.
14- Lopes-Assad M.L., Avansini SH., Erler G., Márcia Maria Rosa. M.M., Carvalho J.R.P., and Ceccato-Antonini, S.R. 2010. Rock powder solubilization by *Aspergillus niger* as a source of potassium for agroecological systems. World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, 219-221.
15- Mahdizade shahri H., Mossavi M.H., and Ghorbani H. 2010. Mineralogical study of soils formed on Aghajari formation in Masjed Soleiman and Castle eunuch. Journal of Islamic Azad University, 20(77): 151-172.
16- Malboobi M.A., Owlia P., Behbahani M., Sarokhani E., Moradi S., Yakhchali B., Deljou A., and Morabbi Heravi K. 2009. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25 :1471–1477.
17- Martin W.H., and Sparks D.L. 1985. On the behavior of nonexchangeable potassium in soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 16: 133-162.
18- Mojallali H., and Weed, S.B. 1978. Weathering of micas by mycorrhizal soybean plants. Soil Science of American Journal, 42: 367-372.
19- Muller B., and Defago G.V. 2006. Interaction between the bacterium Pseudomonas fluorescens and vermiculite: Effects on chemical, mineralogical, and mechanical properties of vermiculite. Journal of geophysical research, vol. 111, G02017.
20- Muller B. 2009. Impact of the bacterium *Pseudomonas fluorescens* and its genetic derivatives on vermiculite: Effects on trace metals contents and clay mineralogical properties. Geoderma, 153:94-103.
21- Norouzi S., and Khademi H. 2009. Potassium release from muscovite and phlogopite as influenced by selected
22- organic acids. Journal of Water and Soil, 23(1): 263-273.
23- Prajapati K.B., and Modi H.A. 2012. Isolation and characterition of potassium solubilizing bacteria from ceramic Industry soil.CIBTech Journal of Microbiology, 1 (2-3): 8-14.
24- Rahimzadeh N., Olamaei M., Khormali F., Dordipour E., and Amini A. 2013. The effect of silicate dissolving bacteria on potassium release from glauconite in Canola (*Brassica napus*) rhizosphere. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 3(2): 169-185.
25- Rodrıguez H., and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17: 319 –339.
26- Russel E.W. 1961. Soil Conditions and Plant Growth. Longman. London. 1014 pages
27- Ruzhen J., and Yuhong P. 2010. Preliminary Study on Phosphate Solubilization and K-releasing Abilities of Rhizobium tropici Martinez-Romero et al. Strains from Woody Legumes. World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World. 104-107.
28- Sheldrick W.F. 1985. World potassium reserves. P: 3-29. In. R.D. Munson. (Ed.), Potassium in Agriculture. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI.
29- Salajegheh Tezerji F., Sarcheshmehpour M., and Mohammadi H. 2014. Investigation of mycorrhizal colonization of Pistachio (*Pistacia vera*) seedlings in Kerman province and evaluation of some isolates via greenhouse experiment. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 4(3): 113-133.
30- Sarikhani M.R., Ebrahimi M., Oustan Sh. and Aliasgharzad N. 2013. Application of Potassium Solubilizing Bacteria a Promising Approach in Sustainable Agriculture - Increasing of potassium releasing from k-containing

Archive of SID

www.SID.ir

minerals in presence of insoluble phosphate. The 1st International Conference on Environmental Crises and its Solutions. 13-14 Ferruary 2013. Islamic azad university, Khozestan, Kish, Iran.
31- Sarikhani M.R., and Aliasgharzad N. 2005. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on potassium uptake and yield of potatoes. Ninth Congress of Soil Science. September, Tehran, Iran.
32- Sparks D.L., and Huang P.M. 1985. Physical chemistry of soil potassium. In: Munson RD (Ed.), Potassium in Agriculture. Amatuer Softball Association (ASA), pp: 201–276.
33- Sugumaran P., and Janarthanam B. 2007. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. World Journal of Agriculture Sciences, 3(3): 350-335.
34- Zarabi M., Jalali M., and Mahdavi hajiloii SH. 2006. Rapid release and absorption of the non-exchangeable Potassium investigated using Malic acid in some soils of Hamadan state. Journal of Agricultural Sciences, 37(6): 951-964.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Water and Soil
Vol. 30, No. 3, Jul.-Agu. 2017, p. 900-914

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۳، مرداد – شهریور ۱۳۹۶، ص. ۹۱۴-۹۰۰

Study on Potassium Release from Mica Minerals and its Alteration as Influenced by Microbial Inoculation

M. R. Sarikhani[1]*- O. madani[2] – Sh. Oustan[3]

Received: 05-06-2016
Accepted: 21-06-2017

Introduction: Potassium (K) is one of the major essential macronutrients for biological growth and development. The ability of some bacteria to release potassium from unavailable forms is an important feature for increasing plant yields of high-K-demand crops. Application of soil microorganisms is one approach to enhance crop growth. Some bacteria are efficient in releasing K from mineral sources and in recent years in order to produce and make of potassium biofertilizers, attention to the potassium releasing bacteria has been increased. Production of organic acids and acidic polysaccharides by the microorganisms are the main mechanisms by which K is released. Microorganisms play a central role in the natural P and K cycles. Many microorganisms in the soil are able to solubilize 'unavailable' forms of K-bearing minerals, such as micas, illite and orthoclases, by excreting organic acids which either directly dissolves rock K or chelate silicon ions to bring the K into solution. Recently, attention to the release of potassium from bacteria has been increased because some of efficient bacteria can be used as potassium biofertilizers to meet plant K needs. Hence, the objectives of this study were to in-vitro assessment of potassium releasing of some isolates belonged to *Pseudomonas* genus.

Materials and Methods: A laboratory dissolution study was carried out using a completely randomized design with three replicates. The factorial experiment contained two factors; 1-bacteria (including five bacterial treatments and un-inoclated treatment) and 2- mica minerals (including biotite and muscovite). Micas flakes were powdered and passed through a 0.5 mm sieve. Available forms of K were removed by washing with 0.1 M HCl and then distilled water, before adding the minerals to Aleksandrov medium For this reason, a microbial incubation study in the Aleksandrov liquid medium containing mica and tricalcium phosphate was designed for a period of one month and 5 strains of potassium releasing bacteria belonged to the genus *Pseudomonas* (S6-6, S10-3, S14-3, S19-1 and S21-1) along with the un-inoculated treatment (control) were applied. In this experiment, the release of potassium and phosphorus in liquid Aleksandrov medium were measured at intervals of 5 days in incubation period of 30 days. Nutrient Broth was used to prepare an overnight culture of bacteria to inoculate Aleksandrov medium. It should be mentioned that Aleksandrov medium was used to determine the amount of released P from tricalcium phosphate (TCP) while muscovite was added to the medium as a sole source of potassium. Concentration of P was determined spectrophotometrically by ammonium-vanadate-molybdate method and K was determined by flame photometry.

Results: The results showed that dissolved potassium and phosphorus in the inoculated medium were significantly increased and the amount of potassium released by the isolates was between 2.17 and 3.23 mg g^{-1} and the highest potassium release was achieved with isolate S14-3 (3.23 mg g^{-1}), which that compared to the non-bacterial control showed an increase of 48.85 %, and significant difference was found with other isolates. Bacterial incubation experiment indicated the ability of isolates to release potassium from K-containing minerals such as biotite and muscovite and the XRD analysis revealed an alter in chemical structure of clay minerals. Especially, presence of 19.5Å peak in muscovite (saturated with magnesium) treated with isolate S14-3 showed the released space of K from the interlayer is filled or associated with a number of bacterial metabolites. It seems that the same mechanisms could be effective in releasing K from micas and P from TCP, in other words there is a co-solubilizing mechanism for mica and TCP.

Discussion and conclusion: It appears tha depletion of potassium from minerals has occurred but further tests will confirm this topic. The enhanced releasing of mineral K might be attributed to the release of organic acids from the bacteria, a mechanism which plays a pivotal role in solubilizing phosphate from inorganic source of phosphate. The mechanism of potassium release from minerals is still not clear. Productions of acids or chelates are main mechanisms to release K from potassium containing minerals. Among the bacterial strains under study, *Pseudomonas sp.* S14-3 was the most efficient strain in K release from micas and phosphate

1, 3- Associate Professor of Biology and Biotechnology and Professor of Soil Chemistry, Department of Soil Science, Faculty of
Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*-Corresponding Author Email: rsarikhani@yahoo.com)
2- Former M.Sc Student of Soil Biology and Biotechnology, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Archive of SID

www.SID.ir

solubilization from TCP. However, more experiments need to be done especially in pot and field experiments to study the role of these strains in K nutrition of crops.

Keywords: Potassium releasing bacteria, Biotite, Biological weathering, XRD

Archive of SID

www.SID.ir