مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی) جلد 37 شماره 2، زمستان 1393

تاثیر سویه‌های *Bacillus cereus* بر آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های میکایی

محسن سلیمان‌زاده[1]، حسین خادمی[2*]، مژگان سپهری[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

2*- **نویسنده مسوول:** استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (hkhademi@cc.iut.ac.ir)

3- استادیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: 1392/06/20 تاریخ پذیرش: 1392/12/21.

چکیده

ریزجاندارن در فراهم سازی عناصر غذایی برای گیاه و تکامل خاک، کارایی ویژه‌ای دارند. این بررسی برای شناخت پیامد کاربرد دو سویه باکتری *Bacillus cereus* بر آزادسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های میکایی انجام شد. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو گونه کانی (فلوگوپیت و موسکویت)، دو سویه باکتری (PTCC 1247 و PTCC 1665) و شاهد و هشت زمان در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که آزادسازی پتاسیم و آهن بسته به سویه باکتری و گونه کانی ناهمانند است. سویه PTCC 1665 پتاسیم بیشتری آزاد نمود. پتاسیم آزادشده در تیمار مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 در برابر سویه PTCC 1247 و تیمار شاهد بیشتر بود. آهن آزاد شده در آغاز آزمایش افزایش یافت، با گذشت زمان روند کاهشی شد و دوباره روند افزایشی پیدا نمود. روی‌همرفته اندازه آزادشدن آهن از فلوگوپیت بیشتر از موسکویت بود.

کلیدواژها: آزادسازی پتاسیم و آهن، Bacillus cereus، موسکویت، فلوگوپیت

مقدمه

پتاسیم و آهن از عناصر غذایی ضروری برای رشد گیاهان هستند. کاربرد متعادل این عناصر مایه افزایش محصول و بهبود کیفی فراورده‌های کشاورزی می‌گردد. چنانچه این عناصر در حد کمبود باشند، موجب کاهش عملکرد خواهند شد (شمالی و همکاران، 1386).

پتاسیم یک عنصر پرنیاز برای گیاهان و جانوران است (ارنت کیلز و مک کولوم[1]، 1941). این عنصر هم‌چنین جزء اصلی برخی از کانی‌های خاک است. یک هکتار خاک ممکن است تا عمق فرو رفت ریشه، میان چند تا چند صد تن پتاسیم در کانی‌های میکایی یا فلدسپارهای دارای پتاسیم داشته باشد (اسپارکز و هوانگ[2]، 1985). مقدار پتاسیم کل در خاک‌ها در دامنه 3 تا 4% می‌باشد (مارتین و اسپارکز[3]، 1985). پتاسیم سومین عنصر ضروری برای تولید محصول بعد از فسفر و نیتروژن می‌باشد و نقش مهمی در فعال‌کردن آنزیم‌ها، سنتز پروتئین، فتوسنتز و افزایش کیفیت محصول دارد (شنگ و همکاران[4]، 2008). توزیع پتاسیم از خاکی به خاک دیگر نا همانند است و به گونه کانی‌های غالب خاک بستگی دارد. پتاسیم در خاک به چهار ریخت

1- Orent-Keiles and Mccollum

2- Sparks and Huang

3- Martin and Sparks

4- Sheng *et al.*

محلول، تبادلی، غیر تبادلی و ساختمانی بخش بندی می‌شود (ممون و همکاران[1]، 1988). تعادل دینامیکی میان گونه‌های مختلف پتاسیم وجود دارد و پتاسیم غیرتبادلی منبع مهمی از پتاسیم در خاک می‌باشد. پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند که پتاسیم غیرتبادلی می‌تواند پتاسیم مورد نیاز گیاه را در فصل رشد گیاه برآورده کند (دونگ[2]، 2010). درصد چشم گیری از پتاسیم خاک درون کانی‌ها بویژه میکاها، فلدسپارها و فرآورده‌های هوادیدگی آن‌ها است (اسپارکز[3]، 1987؛ اسپارکز و هوانگ، 1985). زیست فراهمی پتاسیم به عوامل فراوانی از جمله مقدار پتاسیم در ریخت‌های گوناگون (محلول، تبادلی و غیرتبادلی) و هوادیدگی کانی‌های پتاسیم‌دار بستگی دارد (اسپارکز، 1987). وید و همکاران[4] (1969) نشان دادند که فراهمی زیستی پتاسیم در میان میکاهای گوناگون به گونه بیوتیت> فلوگوپیت> موسکویت می‌باشد.

آهن نخستین عنصر کم کاربرد و ضروری شناخته شده برای گیاه است. کمبود آهن در بیشتر مناطق کشاورزی دنیا دیده شده و با افزایش واکنش و آهک خاک رخداد این کمبود فراوان‌تر می‌شود (فرناندز و ایبرت[5]، 2005). میزان آهن کل خاک در بیشتر بررسی‌ها بسیار فراوان‌تر از نیاز گیاه بوده، اما به دلیل حلالیت کم ترکیب‌های آهن‌دار در بسیاری از خاک‌ها، جذب آن به خوبی انجام نمی‌شود و مایه آشکار شدن نشانه‌های کمبود آهن در گیاه می‌گردد (لیندسی[6]، 1984). آهن جزء ساختار سیتوکروم‌ها، فرودوکسین‌ها و لگ‌هموگلوبین‌ها بوده و در بسیاری از کارهای زیستی گیاه از مانند فتوسنتز، تنفس و تثبیت مولکولی نیتروژن کارایی دارد.

همچنین آهن در ساختمان پروتئین‌های هِم به‌کار رفته که این ترکیب‌های پیش‌نیاز ساخت کلروفیل می‌باشند (سانچز و همکاران[7]، 2005).

ریزجانداران در هوادیدگی کانی‌ها کارایی ویژه‌ای دارند. بسیاری از سنگ‌ها و مواد کانی دارای عناصر ضروری بویژه پتاسیم و آهن برای رشد ریزجانداران و گیاه می‌باشند. کارکرد ریزجانداران باعث آزادشدن عناصر غذایی از کانی‌ها می‌شود (یورز و همکاران[8]، 2009). شماری از ریزجانداران خاک می‌توانند پتاسیم نافراهم را فراهم نمایند. این ریزجانداران کانی‌هایی مانند میکاها (ایلایت) و ارتوکلازها را با ساخت اسیدهای آلی و کلات‌کردن عناصر هوادیده می‌کنند و باعث رهاشدن پتاسیم می‌شوند (بارکر و همکاران[9]، 1997). ریزجانداران ریزجانداران حل‌کننده پتاسیم با ساخت اسیدهای آلی مانند سیتریک، اگزالیک و تارتاریک باعث هوادیدگی کانی‌های

پتاسیم‌دار می‌شوند (هوانگ و سانگ[10]، 1988). ساخت کربوکسیلیک اسید و پلی‌ساکاریدها در برخی از ریزجانداران باعث آزادسازی پتاسیم از فلدسپار می‌گردد (شنگ و همکاران، 2003). روی‌همرفته ریزجانداران چند مکانیسم برای هوادیدگی کانی‌ها دارند که از آن گروه آزادکردن اسیدهای آلی و لیگاندهای دیگر و اکسید یا احیا کردن عناصر کانی‌ها می‌باشد (دونگ، 2010).

آهن یکی از عناصر ضروری برای ریزجانداران است و بیشتر در شرایط اکسیدی زیست فراهمی اندکی دارد و در تشکیل اکسیدهای آهن نامحلول شرکت می‌کند. ریزجانداران می‌توانند مواد کانی دارای آهن را شناسایی کنند و آزادشدن آهن از آنها را افزایش دهند (دونگ،

1- Memon *et al.*
2- Dong
3- Sparks
4- Weed *et al*
5- Fernandezand Ebert
6- Lindsay

7- Sanchez *et al.*
8- Uroz *et al.*
9- Barker *et al.*
10- Huang and Song

2010؛ کالینوسکی و همکاران[1]، 2000؛ ماوک و روبرت[2]، 2007). شمار فراوانی از باکتری‌های هوازی می‌توانند با ساخت سیدروفور[3] مایه رهاشدن عناصر غذایی ضروری از کانی‌ها بشوند. برای نمونه ساخت سیدروفور در باکتری *Pseudomonas mendocina* مایه رهاشدن آهن از گئوتیت، هماتیت، فری‌هیدرایت وکائولینیت می‌شود (دونگ، 2010). سیلیکات‌هایی مانند میکاهای تری اکتاهدرال که در ساختار خود دارای آهن (II) هستند، در برابر سیلیکات‌های دیگر با تندی بیشتری هوادیده می‌شوند. آهن (II) در نتیجه اکسایش به آهن (III) تبدیل می‌شود. ریزجانداران به طور غیر مستقیم بر روی واکنش‌های اکسیدی آهن (II) تاثیر می‌گذارند (هپف و همکاران[4]، 2008؛ استیراکوا و همکاران[5]، 2004).

پارمر و سیندو[6] (2013) آزادسازی پتاسیم توسط باکتری‌های ریزوسفری را در شرایط تغذیه‌ای و محیطی بررسی کردند. تلقیح 20 سویه باکتری در 137 محیط کشت مایه آزادسازی مقدار چشمگیری پتاسیم از میکا شد. مقدار پتاسیم آزاد شده با سویه‌های گوناگون باکتری از 15 تا 49 میلی‌گرم بر لیتر بود. بیشترین غلظت پتاسیم آزادشده با سویه‌های باکتری زمانی دیده شد که pH نمونه‌ها بر روی 7 تنظیم شده بود.

بدر و همکاران[7] (2006) انحلال کانی‌های دارای فسفر و پتاسیم را با باکتری‌های حل‌کننده سیلیکات‌های معدنی در دو شرایط آزمایش گلدانی و محیط کشت خالص (آزمایشگاه) بررسی کردند و گزارش دادند در محیط کشت خالص رهاسازی پتاسیم و فسفر در تیمارهای مایه زنی شده با سویه‌های باکتری در برابر تیمار بدون مایه زنی افزایش می‌یابد. لیان و همکاران[8] (2008) پیامد کاربرد ریزجانداران بر رهاسازی پتاسیم از کانی‌های دارای پتاسیم را با دو تیمار مایه زنی با قارچ گرما دوست *Aspergillus fumigatus* و تیمار بدون مایه زنی بررسی کردند. اندازه‌گیری‌های 30 روزه نشان داد که غلظت پتاسیم آزادشده در تیمارهای مایه زنی شده با قارچ بسیار بیشتر از تیمارهای بدون مایه زنی است. بر پایه پژوهش‌های انجام شده استیراکوا و همکاران (2003b)، رشد و فعالیت باکتری *Bacillus cereus* پس از سه ماه مایه خروج آهن از صفحه اکتاهدرال میکا در نمونه دارای کائولین به اندازه 49 درصد و در نمونه دارای کوارتز به اندازه 17 درصد شد. توجه به کارایی ریزجانداران بر حلالیت و آزادسازی عناصر غذایی برای کاربرد گیاه و کارایی سودمند آنها در تکامل خاک از یک سو و بهره گیری بیش از اندازه و بهای بالای کود-های شیمیایی و نیز داشواریهای زیست محیطی از سوی دیگر اهمیت بهره‌گیری از ریزجانداران در کشاورزی را دو چندان نموده است. با وجود آن‌که پژوهش‌های گسترده‌ای در این زمینه در کشتزارها و آزمایشگاه انجام شده است، کارایی باکتری *Bacillus cereus* در آزادسازی پتاسیم و آهن در کانی‌های میکایی به خوبی بررسی نشده است. بنابراین این پژوهش با هدف شناخت توان دو کانی موسکویت و فلوگوپیت در رها سازی پتاسیم و آهن در تیمار سویه‌های باکتری در شرایط آزمایشگاهی این پژوهش انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی کارایی دو سویه باکتری *Bacillus cereus* در رهاسازی پتاسیم و آهن از میکاها، پژوهشی در شرایط آزمایشگاهی به مدت 64 روز انجام گردید. در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح

11- Kalinowski *et al.*
2- Mauck and Roberts
3- Siderophore
4- Hopf *et al.*
5- Styriakova *et al.*
6- Parmar and Sindhu
7- Badr *et al.*

8- Lian *et al.*

کاملاً تصادفی با سه تکرار بهره گیری شد. تیمارهای آزمایش شامل دو گونه کانی میکایی (فلوگوپیت و موسکویت)، دو سویه باکتری (PTCC 1247 و *PTCC* 1665) و شاهد (فاقد باکتری) در هشت زمان 12ساعت، 1، 2، 4، 8، 16، 32 و 64 شبانه روز بود.

در این پژوهش از کانی‌های میکائی که از معادن همدان پیش‌تر آماده و آزمایش گردیده بود (نوروزی و خادمی[1]، 2010) بهره گیری شد (جدول 1). کانی‌ها را از الک 140 مش گذرانده و برای جداسازی پتاسیم تبادلی و آلودگی‌های لبه کانی، سطوح تبادلی کانی‌ها با کلسیم اشباع شد. برای این کار از محلول کلریدکلسیم 0/5 نرمال بهره گیری شد و در پایان برای جدا کردن کلر اضافی از نمونه‌ها به آن‌ها آب مقطر افزوده شد و هر بار به مدت ده دقیقه با 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و این کار تا رها شدن کامل کلر ادامه یافت. سپس نمونه‌ها برای خشک شدن در آون با دمای 105 درجه گذاشته شد.

سویه‌های باکتری *Bacillus* PTCC 1247 *cereus* و *Bacillus cereus PTC*C 1665 به گونه آمپول‌های فریز شده از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی تهران آماده شد. سپس در شرایط سترون، محیط کشت مایع (شامل 5 گرم پپتون[2]، 3 گرم میت-اکستراکت[3] و 1 لیتر آب مقطر استریل) مربوط به هر باکتری بر پایه دستورکار سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران (ایروست[4]، 2013) آماده گردید. پس از تعلیق باکتری‌ها با محیط کشت و یکنواخت کردن کل تعلیق، به لوله‌های بزرگ 20 میلی‌لیتری رسانده شد و درون انکوباتور تکان دهنده در محیط بدون نور و در دمای بهینه 27 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا شمار یاخته باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر محیط کشت مایع به اندازه بسنده افزایش یابد (یاخته‌های باکتری به اندازه 10^8 ×3/2 در هر میلی‌لیتر).

به لوله‌های 100 میلی‌لیتری اندازه 1/25 گرم از کانی‌ها ریخته شد. سپس از محیط کشت (0/5 گرم بر لیتر سدیم دی‌هیدروژن فسفات، 1 گرم بر لیتر آمونیوم سولفات، 0/2 گرم بر لیتر سدیم کلراید و 20 گرم بر لیتر گلوکز) به به اندازه 25 میلی‌لیتر به لوله‌های دارای کانی‌ها افزوده شد (استیراکوا و همکاران، 2004)؛ سپس از مایه باکتری آماده شده اندازه 1/25 میلی‌لیتر به تیمارهای مورد نظر افزوده شد (یاخته‌های باکتری به اندازه 10^7-10^9 در هر میلی‌لیتر) و برای نمونه‌های شاهد محیط کشت بدون باکتری بهره گیری شد؛ سپس نمونه‌ها بر روی شیکر با دور 140 قرار داده شدند و هر دو روز یکبار درب نمونه‌ها در محیط سترون باز شد تا اکسیژن به اندازه کافی به نمونه‌ها برسد و هر سه روز یک‌بار pH نمونه‌ها با سود بر روی 7 تنظیم شد. با نمونه برداری در زمان‌های متفاوت با بهره گیری از کاغذ صافی واتمن شماره 42 از نمونه‌ها عصاره آماده شده و اندازه پتاسیم و آهن آن‌ها اندازه‌گیری گردید. میزان پتاسیم و آهن عصاره‌های برداشت شده در زمان‌های مختلف (12 ساعت، 1، 2، 4، 8، 16، 32 و 64 شبانه روز) به ترتیب با دستگاه‌های شعله‌سنج و جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها در مورد غلظت پتاسیم و آهن آزاد شده نشان می‌دهد که اثر نوع کانی، سویه باکتری و زمان در سطح احتمال یک درصد از نظر آماری معنی‌دار است. اثر متقابل نوع کانی و سویه باکتری، نوع کانی و زمان و سویه باکتری و زمان و همچنین اثر سه گانه نوع کانی و سویه باکتری و زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول 2).

1- Norouzi and Khademi
2- Pepton
3- Meat extract
4- Irost

جدول 1- تجزیه عنصری کانی‌های میکایی بهره گیری شده در آزمایش بر حسب درصد به روش فلورسانس پرتو ایکس (نوروزی و خادمی، 1388)

گونه کانی	Na_2O	MgO	Al_2O_3	SiO_2	K_2O	CaO	Fe_2O_3	MnO	P_2O_5	TiO_2	LOI*	Total
موسکویت	0/64	0/08	33/99	48/34	9/98	0/17	1/77	0/06	0/03	0/06	4/5	99/54
فلوگوپیت	0/45	22/54	14/6	42/24	9/29	4/12	4/21	0/11	0/037	0/56	0/9	99/63

LOI: کاهش وزن در دمای بالا

جدول 2- تجزیه واریانس بر پایه میانگین مربعات غلظت پتاسیم و آهن

منابع تغییرات	درجه آزادی	آهن	پتاسیم
نوع کانی	1	4/054**	4953/577**
سویه باکتری	2	1/833**	1304/731**
زمان	7	0/168**	72/908**
نوع کانی×سویه باکتری	2	1/480**	37/182**
نوع کانی× زمان	7	0/293**	63/488**
سویه باکتری× زمان	14	0/418**	39/618**
نوع کانی× سویه باکتری× زمان	14	0/280**	13/003**
خطا	96	0/011	5/332

** معنی‌دار در سطح یک درصد

تغییرات pH

دامنه تغییرات pH در نمونه‌های شاهد میان 6 تا 7 و در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه‌های باکتری میان 5 تا 7 متغیر بود و با گذشت زمان از شروع آزمایش اندازه این دامنه تغیرات کاهش یافت. کاهش pH در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 در مقایسه با سویه PTCC 1247 بیشتر بود و این تفاوت تا پایان آزمایش وجود داشت. *Bacillus cereus* در شرایط هوازی با ساخت پلی‌ساکاریدهای برون یاخته‌ای مایه کاهش آهسته pH می‌شود و در شرایط میکروآئروفیلیک[1] و بی‌هوازی اسیدهای آلی ساخته شده و pH را به تندی کاهش می‌دهد (استیراکوا و همکاران، 2004).

با وجود این‌که نمونه‌های مایه زنی شده با سویه‌های باکتری هر دو روز یکبار هوادهی می‌شدند، به نظر می‌رسد در برخی از زمان‌ها شرایط بی‌هوازی پدید آمده است. کاهش pH در نمونه‌های مایه زنی شده وابسته به مواد ساخته شده با سویه‌های باکتری و گلوکز محلول بوده و در نمونه‌های شاهد وابسته به گلوکز موجود در محلول بوده است. گونه‌های هتروتروفیک با بهره گیری از گلوکز همانند منبع کربن و انرژی، اسیدهای آلی و اسید کربنیک می‌سازند که این اسیدها می‌توانند pH را

1- Microaerophilic

کاهش داده و سطح کانی‌ها را حل‌کنن (استیراکوا و همکاران، 2012). هیرچ و همکاران[1] (1995) نشان دادند که ساخت اسیدها با ریزجانداران همانند محصولات سوخت وساز بدن آنها، می‌تواند باعث انحلال سنگ‌ها شود. تحقیقات اخیر ساخت اسیدهای آلی را با باکتری‌های هتروتروف در حضور کانی‌های سیلیکاتی گزارش داده‌اند (بارکر و همکاران، 1997).

روند آزادسازی پتاسیم

روند آزادشدن پتاسیم از کانی‌های میکایی همانند تابعی از زمان تحت تاثیر سویه‌های باکتری در شکل (1) نشان داده شده است. در کانی موسکویت افزایش غلظت پتاسیم در محلول با زمان دیده شد. این روند افزایشی از زمان 12ساعت تا 2 شبانه روز در تیمارهای مایه زنی شده باکتری و تیمار شاهد بدون باکتری دیده شد؛ ولی در زمان 4 شبانه روز غلظت پتاسیم در محلول شدیداً کاهش یافت، اما دوباره با گذشت زمان، غلظت پتاسیم در محلول با شدت کمتری افزایش یافت این روند افزایشی در هر دو تیمارمایه زنی شده با سویه‌های باکتری تا زمان 32 روز ادامه داشت و سپس دوباره به آهستگی غلظت پتاسیم در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1247 کاهش یافت اما در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 پس از 32 شبانه‌روز روند تقریبا ثابت شد. در نمونه‌های شاهد روندکاهشی پس از 16 شبانه‌روز آغاز شد.

در کانی فلوگوپیت افزایش غلظت پتاسیم در محلول با زمان دیده شد. روند کاهشی غلظت پتاسیم در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 پس از 1 شبانه‌روز آغاز شد و در 4 شبانه‌روز به کمترین اندازه خود رسید و دوباره غلظت پتاسیم افزایش یافت و در زمان 32 شبانه‌روز به بیشترین اندازه خود رسید و با گذشت زمان روند تقریبا ثابت شد. روند کاهشی غلظت پتاسیم در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1247 پس از 1 شبانه‌روز آغاز شد. غلظت پتاسیم در دو شبانه روز به کمترین اندازه خود رسید و با گذشت زمان دوباره افزایش یافت و در 32 شبانه‌روز به بیشترین اندازه خود رسید و با گذشت زمان روند تغییرات غلظت پتاسیم تقریبا ثابت شد. روند کاهشی غلظت پتاسیم در نمونه‌های شاهد پس از 1 شبانه‌روز آغاز شد و در 4 شبانه‌روز به کمترین اندازه خود رسید و بعد با گذشت زمان غلظت پتاسیم تا 64 شبانه‌روز افزایش یافت.

در زمان آغاز آزمایش غلظت پتاسیم به شدت افزایش یافت که این افزایش در کانی موسکویت بیشتر از فلوگوپیت بود. میان دو کانی افزایش غلظت پتاسیم در 12 ساعت برای کانی موسکویت بیشتر از فلوگوپیت بود. روی‌همرفته رهاسازی زیاد اولیه را می‌توان به آزادشدن پتاسیم از مناطق لبه‌ای و گوه‌ای کانی‌های پتاسیم دار نسبت داد. با پیش روی رهاسازی، لبه‌های کانی‌های میکایی از هم جدا شده و پتاسیم میان لایه‌ای موجود در ساختمان کانی‌ها رها می‌شوند (گولدینگ[2]، 1984). ضرابی و همکاران (1385) نیز در آزمایش خود دیدند رهاسازی پتاسیم در گام‌های نخستین در همه خاک‌ها تند است و در گام‌های پسین با تندی کمتری تا پایان آزمایش ادامه دارد.

روند آزادسازی پتاسیم در همه تیمارها درآغاز افزایشی و با گذشت زمان کاهشی، سپس افزایشی و در پایان تقریبا ثابت شد؛ همچنین بر پایه گزارش استیراکاوا و همکاران (2003a) با قرار گرفتن *A. ferrooxidans* در محلول همراه با بیوتیت به مدت 90 روز آزاد شدن پتاسیم در محلول روند افزایشی نشان داد و با رهاشدن پتاسیم از میان لایه‌ها، کانی مختلط بیوتیت- ورمی‌کولیت پدید آمد. غلظت پتاسیم در زمان‌های پس از 12 ساعت

1- Hirsch *et al*.

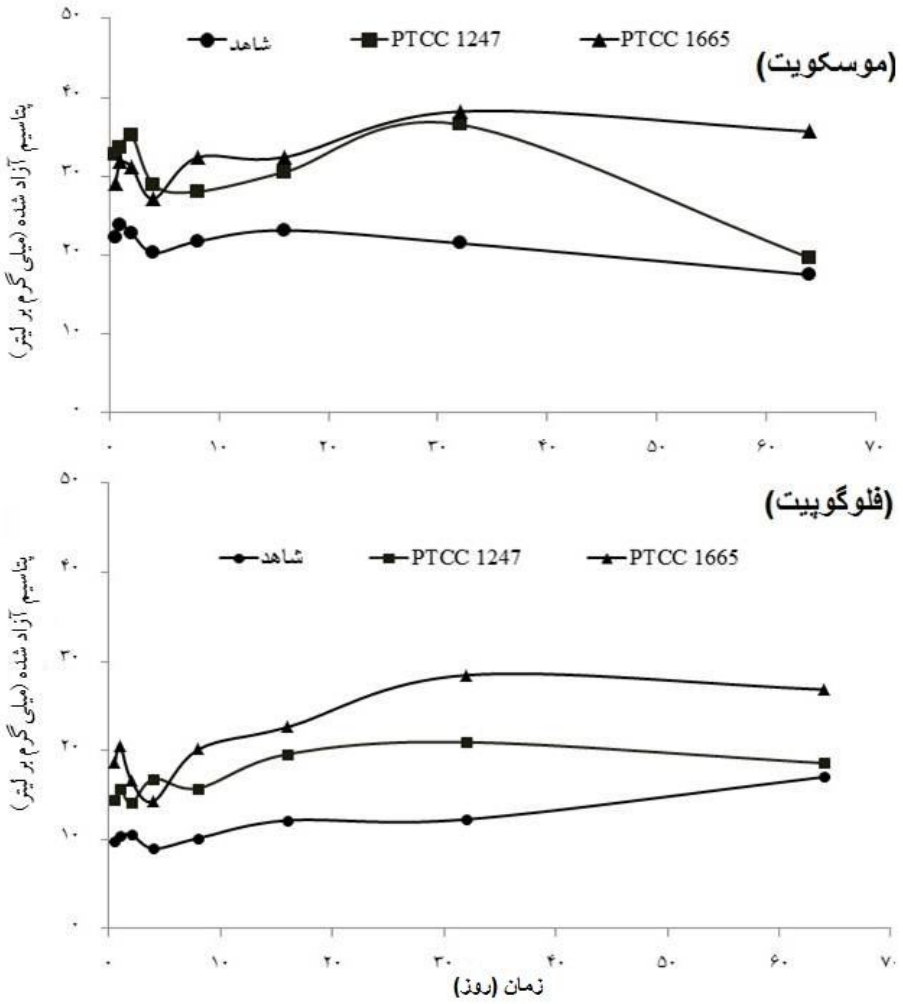
2- Goulding

تا 4 شبانه‌روز در همه تیمارها کاهش یافت در حالی‌که انتظار می‌رفت با گذشت زمان به تدریج غلظت پتاسیم آزادشده ازکانی‌ها افزایش یابد تا یکنواختی حاصل گردد. همچنین نوروزی و خادمی (1388) روند همانندی را در بررسی آزادسازی پتاسیم با چند اسید آلی از موسکویت و فلوگوپیت دیدند. این پژوهشگران کاهش غلظت پتاسیم آزادشده را به جذب شدن دوباره یا تثبیت شدن پتاسیم آزادشده از کانی‌ها نسبت دادند. کاهش غلظت پتاسیم در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه‌های باکتری بیشتر از نمونه‌های شاهد بود که به نظر می‌رسد این کاهش بیشتر به‌دلیل جذب پتاسیم در یاخته سویه‌های باکتری باشد. با توجه به این‌که هر سه روز یکبار از سود برای تنظیم pH بهره گیری شد، افزایش غلظت سدیم و اثر رقابتی سدیم با پتاسیم احتمالاً سرعت آزادشدن پتاسیم از رویه تبادلی کانی‌ها به درون محلول را افزایش داده است. مرتلند و لاوتون[1] (1961) نیز افزایش تندی آزادشدن پتاسیم را از بیوتیت در نتیجه اضافه کردن کلرید سدیم گزارش کرده‌اند. تندی جایگزینی پتاسیم در محلول بستگی به کاتیون‌های محلول دارد (رید و اسکات[2]، 1962). روی‌هم‌رفته، در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه‌های باکتری آزادسازی پتاسیم در همه زمان‌ها بیشتر از نمونه شاهد بود که این افزایش نشان دهنده تاثیر سویه‌های باکتری بر آزادسازی پتاسیم از کانی‌های میکایی می‌باشد. استیراکاوا و همکاران (2003b) گزارش دادند فعالیت دو سویه باکتری *Bacillus cereus* و *Bacillus pumilus* مایه آزادشدن پتاسیم و آهن به ترتیب از فلدسپار و اکسی‌هیدرواکسیدها می‌شود. هیف و همکاران (2008) با بررسی اثر ریزجانداران بر آزادسازی کاتیون‌ها از بیوتیت در شرایط آزمایشگاهی در مدت 35 روز نشان دادند که در تیمارهای مایه زنی شده با میکروب کاتیون-ها در برابر تیمارهای شاهد با تندی کمتری وارد محلول شده و باکتری *Bacillus subtilis* اندازه سیلیسیم، پتاسیم و منیزیم آزادشده را حدود 50% افزایش می‌دهد. شنگ و همکاران (2003) گزارش دادند که باکتری‌های حل‌کننده سیلیکات‌ها پتاسیم فراهم برای جذب با گیاه را افزایش می‌دهند. استیراکاوا و همکاران (1999) گزارش دادند باکتری *Bacillus cereus* با ساخت اسیدهای آلی مانند اسید استیک همانند متابولیت اصلی و به اندازه کمتری اسیدهای لاکتیک، پیرویک، بوتیریک و فرمیک باعث آزادسازی عناصر از فلوگوپیت می‌شود. شنگ و همکاران (2008) آزادسازی پتاسیم و سیلیسیم از ارتوکلاز، موسکویت و بیوتیت را به‌وسیله ساخت اسیدهای آلی بویژه اسید گلوکونیک همانند عامل اصلی با سویه باکتری *Bacillus globisporus* Q12 گزارش کردند.

روند آزادسازی آهن

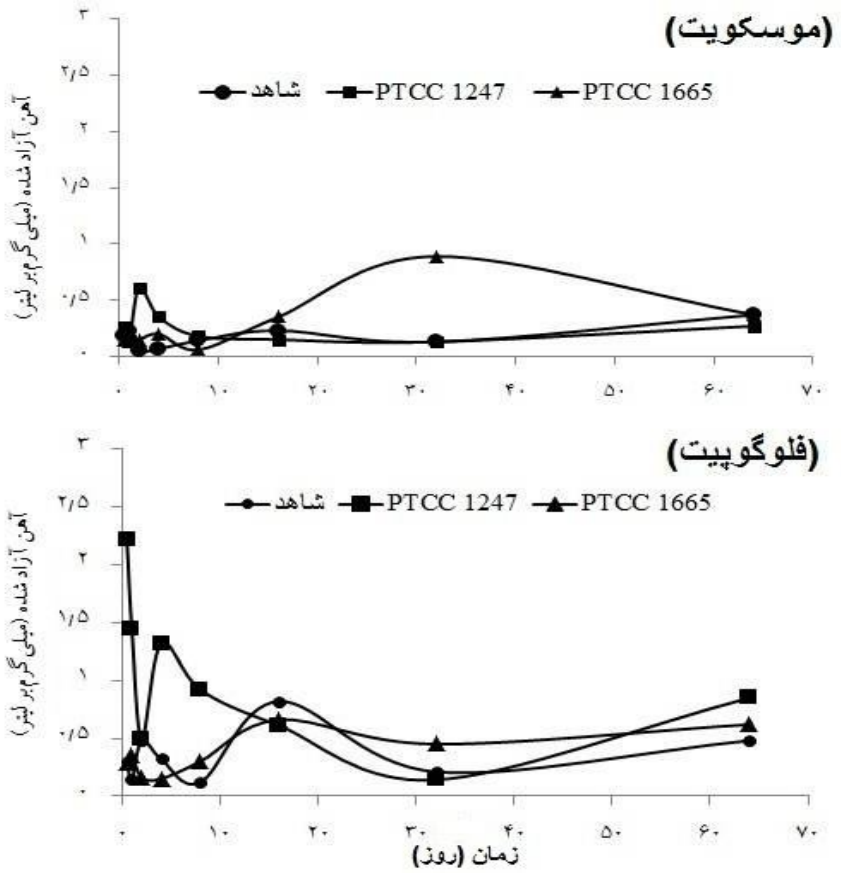
روند آزادشدن آهن از کانی‌های میکایی همانند تابعی از زمان تحت تاثیر سویه‌های باکتری در شکل (2) نشان داده شده است. در کانی موسکویت افزایش غلظت آهن در محلول با زمان دیده شد. نتایج مربوط به این کانی نشان داد که در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1247 کاهش غلظت آهن در 1 شبانه روز دیده شد و با گذشت زمان تا 2 شبانه‌روز غلظت آهن به بیشترین اندازه خود رسید و سپس با گذشت زمان روند کاهشی شروع و در نهایت روند تقریبا ثابتی یافت؛ اما در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 غلظت آهن در 8 شبانه روز به کمترین اندازه خود رسید و با گذشت زمان غلظت آهن در 32 شبانه روز به بیشترین اندازه رسید و با گذشت زمان دوباره غلظت آهن کاهش یافت. نتایج مربوط به تیمار شاهد نشان داد که در 2 شبانه روز غلظت آهن کاهش یافت؛ اما با گذشت زمان دوباره با شیبی کم افزایش نشان داد، به طوری‌که در 32 شبانه

1- Mortland and Lawton
2- Reed and Scott



شکل 1- روند آزاد شدن پتاسیم از کانی‌های میکایی با زمان در تیمارهای سویه‌های باکتری

روز کاهش جزئی و در 64 شبانه روز دوباره روند افزایشی شد. مشاهدات مربوط به کانی فلوگوپیت حاکی از افزایش غلظت آهن در محلول با زمان می‌باشد. غلظت آهن در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1247 پس از 12 ساعت روند کاهشی خود را آغاز کرد و پس از 2 شبانه‌روز به کمترین اندازه خود رسید؛ اما در ادامه پس از گذشت 4 شبانه‌روز، دارای روند افزایشی شد و دوباره پس از طی این زمان روند کاهشی و در 32 شبانه-روز به کمترین اندازه خود رسید؛ در حالی که غلظت آهن پس از این زمان دوباره افزایش یافت و تقریبا در 64 شبانه‌روز روند تغییرات آن ثابت شد. روند کاهشی غلظت آهن در نمونه‌های مایه زنی شده با سویه PTCC 1665 پس از 12 ساعت آغاز شد. پس از زمان 1 شبانه‌روز تا 2 شبانه روز غلظت آهن افزایش یافت و با گذشت زمان روند کاهشی غلظت آهن آغاز شد. پس از زمان 8 شبانه‌روز روند افزایشی آغاز شد و در 16 شبانه-روز غلظت آهن به بیشترین اندازه خود رسید و با گذشت زمان روند کاهشی شد که در 32 شبانه‌روز کاهش ناچیزی در غلظت آهن دیده شد و با گذشت زمان روند تغییرات ثابت شد. اندازه آهن در تیمار شاهد پس از 12 ساعت آغاز به افزایش کرد و تا 2 شبانه‌روز ادامه یافت؛ اما پس از این زمان، در زمان 8 شبانه‌روز دچار کاهش شد؛ با این حال پس از آن روند افزایشی آغاز و بیشترین مقدار آن در زمان 16 شبانه روز دیده شد



شکل 2 – روند آزاد شدن آهن از کانی‌های میکایی با زمان در تیمارهای سویه‌های باکتری

و دوباره روند کاهشی آغاز گردید؛ اما در 64 شبانه‌روز تقریبا روند تغییرات ثابت گردید. روی‌هم‌رفته روند کاهشی در زمان‌های پس از 12ساعت وابسته به باز جذب آهن با رویه و کاربرد با سویه‌های باکتری می‌باشد.

باتی و همکاران[1] (2011) نشان دادند با قرار دادن بیوتیت در تماس با *Acidithiobacillus ferrooxidans* و محلول 120 میلی‌مولار آهن (II) در آغاز غلظت آهن در محلول افزایش و با گذشت زمان کاهش یافت. استریکاوا و همکاران (2012) نشان دادند با قرار گرفتن فلوگوپیت در تماس با باکتری *Bacillus cereus*، غلظت آهن، پتاسیم، منیزیم، سیلیسیم و آلومینیوم در محلول افزایش یافت. با توجه به اینکه درصد آهن در فلوگوپیت بیشتر از موسکویت می‌باشد و فلوگوپیت ساختمان ضعیف‌تری دارد اندازه آزادسازی آهن از فلوگوپیت بیشتر از موسکویت می‌باشد. آهن یکی از عناصر ضروری برای رشد ریزجانداران می‌باشد؛ با خارج شدن آهن از ساختمان کانی، عنصر با سویه‌های باکتری کاربرد می‌شود و به همین علت کاهی اندازه آهن موجود در تیمارهای مایه زنی شده کمتر از تیمار شاهد می‌باشد. گیرگیس و همکاران[2] (2008) نشان دادند که سویه‌های باکتری باسیلوس با ساخت اسیدهای آلی به طور اختصاصی باعث به هم ریختن ساختار کانی‌های و خارج شدن عناصر مورد نیاز برای سوخت و ساز بدن خود می‌شوند.

1- Bhatti *et al.*

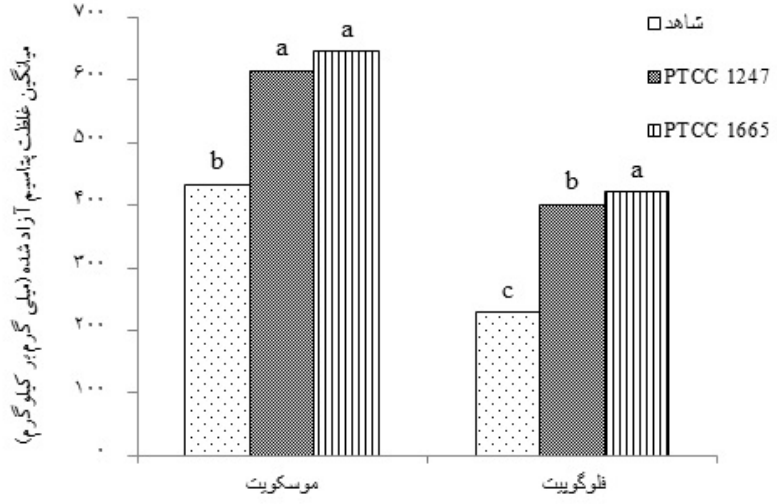
2- Girgis *et al.*

تاثیرگونه‌کانی میکایی در اندازه پتاسیم آزاد-شده با سویه‌های باکتری

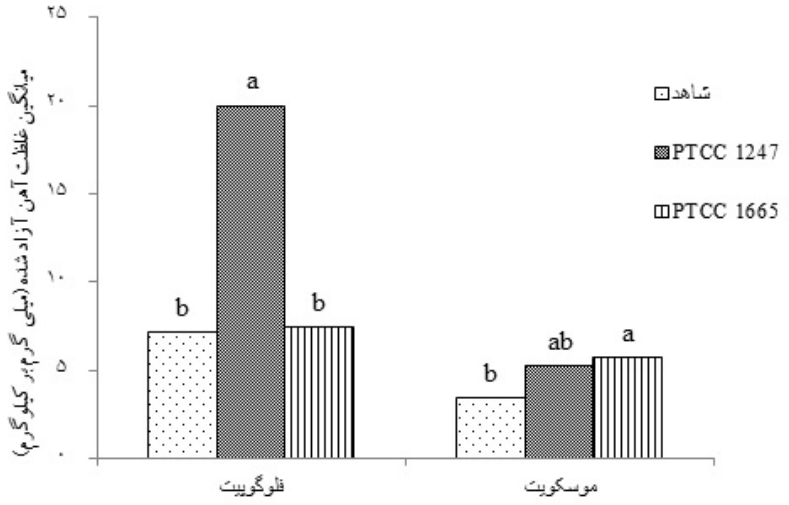
اندازه پتاسیم آزادشده از کانی‌های میکایی، تحت تاثیر سویه‌های باکتری در (شکل 3) نشان داده شده است. میان دو سویه باکتری، بیشترین اندازه پتاسیم آزاد شده از کانی‌های موسکویت و فلوگوپیت به ترتیب متعلق به سویه‌های PTCC 1665 و PTCC 1247 می‌باشد. هر دو سویه باکتری، بیشترین اندازه پتاسیم را از کانی موسکویت آزاد کردند و در سطح 5 درصد تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد نشان دادند. اندازه پتاسیم آزاد شده تحت تاثیر سویه PTCC 1665 از موسکویت 1/54 برابر فلوگوپیت است و اندازه پتاسیم آزادشده تحت تاثیر سویه PTCC 1247 از موسکویت 1/8 برابر فلوگوپیت است. این بررسی آزادسازی بیشتر پتاسیم از موسکویت را در برابر فلوگوپیت نشان داد که احتمالا نواقص ساختمانی و یا نوع موسکویت بهره گیری شده در این تحقیق باعث شده پتاسیم بیشتری آزاد نماید. مرتلند و لاوتون (1961) گزارش دادند که وجود برخی نواقص ساختمانی در میکاها نیز از عوامل تاثیرگذار برآزادسازی پتاسم از آنها می‌باشد. بعضی موسکویت‌ها گاهی دارای ناپیوستگی در طول قاعده‌ای می‌باشند؛ این صفحات ناپیوسته در آغاز تندی آزادسازی عناصر را افزایش می‌دهند، و با گذشت زمان با کاهش فشار حاصل از خم‌شدگی، آزادشدن پتاسیم کاهش می‌یابد. حسینی‌فرد و همکاران (1388) نشان دادند پتاسیم استخراج شده از کانی موسکویت به وسیله عصاره‌گیرهای استات آمونیوم و کلرید باریم بیشتر از فلوگوپیت و بیوتیت بوده است.

تاثیرگونه کانی میکایی در اندازه آهن آزاد شده با سویه‌های باکتری

اندازه آهن آزادشده از کانی‌های میکایی، تحت تاثیر سویه‌های باکتری در شکل (4) نشان داده شده است. میان دو سویه باکتری بیشترین اندازه آهن آزاد شده از کانی فلوگوپیت تحت تاثیر سویه PTCC 1247 دیده شد که دارای تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد با شاهد و سویه PTCC 1665 می‌باشد. برای کانی فلوگوپیت میان تیمار شاهد و سویه PTCC 1665 در اندازه آهن آزاد شده تفاوت معنی‌داری دیده نشد.



شکل 3- میانگین غلظت پتاسیم آزاد شده از موسکویت و فلوگوپیت در تیمارهای سویه‌های باکتری. میانگین‌های دارای حرف مشترک در مورد هر یک از کانی‌ها در سطح 5 درصد از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.



شکل 4- میانگین غلظت آهن آزادشده از موسکویت و فلوگوپیت در تیمارهای سویه‌های باکتری. میانگین‌های دارای حرف مشترک در مورد هر یک از کانی‌ها در سطح 5 درصد از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

برای کانی موسکویت بیشترین اندازه آهن تحت تاثیر سوی PTCC 1665 آزاد شد. با توجه به این‌که اندازه آهن موجود در کانی فلوگوپیت بیشتر از موسکویت می‌باشد (جدول 1) و فلوگوپیت همانند یک میکای تری‌اکتاهدرال ساختمان ضعیف‌تری دارد، آزادسازی آهن آن در برابر کانی موسکویت بیشتر می‌باشد. نوروزی و خادمی (1388) با تجزیه عنصری فلوگوپیت و موسکویت میزان اکسید آهن این دو کانی را به ترتیب 1/77 و 4/21 درصد گزارش دادند. به دلیل این‌که صفحه اکتاهدرال کانی فلوگوپیت دارای آهن فراوان می‌باشد و دارای قابلیت آزادسازی بالاست؛ لذا اندازه بیشتری آهن در برابر کانی موسکویت وارد محلول شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که در هشت زمان مختلف، تاثیر دو سویه باکتری بر آزاد سازی پتاسیم بیشتر از تیمار شاهد بوده است؛ به‌علاوه، تاثیر سویه PTCC 1665 بیشتر از سویه PTCC 1247 بوده است که دلیل این امر را می‌توان به فعالیت بیشتر سویه PTCC 1665 در برابر سویه PTCC 1247 و ساخت اسیدهای آلی بیشتر مربوط دانست. ساخت اسیدهای آلی با سویه‌های باکتری و کاهش pH از عوامل اصلی در آزادسازی پتاسیم و آهن از فلوگوپیت و موسکویت می‌باشد.

با توجه به این‌که سویه PTCC 1645 فعال تر از سویه PTCC 1247 می‌باشد، در زمان‌های اولیه میزان کاربرد آهن آن بیشتر از سویه PTCC 1247 بوده است و با گذشت زمان با به تعادل رسیدن جمیعت سویه‌های باکتری مشاهد شد که تاثیر سویه PTCC 1665 در آزاد سازی آهن از موسکویت در برابر فلوگوپیت که مقاوم‌تر است، بیشتر می‌باشد. از عوامل تاثیرگذار بر آزادسازی عناصر از کانی‌های میکایی نوع و ساختمان کانی می‌باشد و با توجه به این‌که میکاهای تری‌اکتاهدارل در ساختار اکتاهدارل خود دارای Fe^{2+} و Mg^{2+} هستند، با تندی بیشتری در برابر میکاهای دی‌اکتاهدارل که در ساختار اکتاهدارل خود Al^{3+} یا Fe^{3+} هستند پس از قرار گرفتن در معرض ترکیبات ساختی با سویه‌های *Bacillus cereus* بیشتری را با تندی آهن آزاد می‌کنند.

سپاس‌گزاری

بودجه مورد نیاز و وسایل و امکانات لازم جهت انجام این پژوهش در دانشگاه صنعتی اصفهان تامین گردیده است که بدین‌وسیله قدر دانی می‌شود.

منابع

1. حسینی‌فرد، س. ج.، خادمی، ح. و کلباسی، م. 1388. اثر عصاره‌گیر و دفعات عصاره‌گیری بر آزادسازی پتاسیم از میکاها. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد 50 شماره 13، 105-117.

2. شمالی، ر.، عبدل‌زاده، ا.، حدادچی، غ. و صادقی‌پور، ح. ر. 1386. تاثیر مقادیر پتاسیم و آهن بر رشد، میزان تجمع یون‌ها و برخی صفات بیوشیمیایی گیاه برنج. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد 14 شماره 5، 64-77.

3. ضرابی، م.، جلالی، م. و مهدوی حاجیلویی، ش. 1385. بررسی سرعت رهاسازی پتاسیم غیر تبادلی و قابلیت جذب آن با استفاده از اسید مالیک در بعضی از خاک‌های استان همدان. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد 37 شماره 6، 951-964.

4. نوروزی، س. و خادمی، ح. 1388. آزادسازی پتاسیم از مسکویت و فلوگوپیت توسط چند اسید آلی. مجله آب و خاک، جلد 23 شماره 1، 263-273.

5. 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. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2: 5–11.

6. Barker, W.W., Welch, S. A., and Banfield, J. F. 1997. Geomicrobiology of silicate minerals weathering. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 35: 391- 428.

7. Bhatti, T. M., Bigham, J. M., Vuorinen, A., and Tuovinen, O. H. 2011. Weathering of biotite in *Acidithiobacillus ferrooxidans* cultures. Geomicrobiology Journal, 28: 130-134.

8. Dong, H. 2010. Mineral-microbe interactions: a review. Frontiers of Earth Science, China, 4(2):127–147.

9. Fernandez, V., and Ebert, G. 2005. Foliar iron fertilization- a critical review. Journal of Plant Nutrition, 28: 2113-2124.

10. Girgis, M. G. Z., Khalil, H. M. A., and Sharaf, S. M. 2008. In viro evaluation of rock phosphate and potassium solubilizing potential of some *Bacillus* strains. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(1): 68-81.

11. Goulding, K. W. T. 1984. The availability of potassium in soils to crops as measured by its release to a calcium saturated cation exchange resin. Journal of Agricultural Science, 103: 265-275.

12. Hirsch, P., Eckhardt, F. E. W., and Palmer, R. J. 1995. Methods for the study of rock-inhabitating microorganisms-a mini review. Journal of Microbiological Methods, 23:143–167.

13. Hopf, J., Langenhorst, F., Pollok, K., Merten, D., and Kothe, E. 2008. Influence of microorganisms on biotite dissolution: an experimental approach. Chemie Der Geochemistry, 6: 45–56.

14. Huang, P. M., and Song, S. 1988. Dynamics of potassium release from potassium-bearing minerals as influenced by oxalic and citric acids. Soil Science Society of America Journal, 52: 383-390.

15. Iranian Research Organization for Science and Technology. 2013. http: // 62. 60. 136. 235 / persian/ ptcc/ medium_view.asp? medium_no=2. (Accessed on feb. 20, 2012).

16. Kalinowski, B. E., Liermann, L. J., Brantley, S. L., Barnes, A., and Pantano, C. G. 2000. X-ray photoelectron evidence for bacteria enhanced dissolution of hornblende. Geochemica et Cosmochimica Acta, 64 (8): 1331–1343.

17. Lian, B., Wang, B., Pan, M., Liu, C. Q., and Teng, H. H. 2008. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigates*. Geochimica et Cosmochimica Acta, 72: 87–98.

18. Lindsay, W. L. 1984. Soil and plant relationships associated with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions. Journal of Plant Nutrition, 7: 489–500.

19. 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.

20. Mauck, B. S., and Roberts, J. A. 2007. Mineralogic control on abundance and diversity of surface-adherent microbial communities. Geomicrobiology Journal, 24 (3): 167–177.

21. Memon, Y. M., Fergus, I. F., Hughes, J. D., and Page, D. W. 1988. Utilization of non-exchangeable soil potassium in relation to soil types, plant species and stage of growth. Australian Journal of Soil Research, 26: 489–496

22. Mortland, M. M., and Lawton, K. 1961. Relationships between particle size and potassium release from biotite and its analogues. Soil Science Society of America Proceedings, 25: 473-476.

23. Norouzi, S., and Khademi, H. 2010. Ability of alfalfa (*Medicago sativa L.*) to take up potassium from different micaceous minerals and consequent vermiculitization. Plant and Soil, 328: 83-93.

24. Orent-Keiles, E., and Mccollum, E. V. 1941. Potassium in animal nutrition. Journal of Biological Chemistary. 140: 337-352.

25. Parmar, P., and Sindhu, S. S. 2013. Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. Journal of Microbiological Research, 3: 25–31.

26. Reed, M. G., and Scott, A. D. 1962. Kinetics of potassium release from biotite and muscovite in sodium tetraphenylboron solutions: Soil Science Society of America Proceedings, 26: 437-440.

27. Sanchez, A. S., Juarez, M., Sanchez-Abreu, J., Jorda, J., and Bermúdez, D. 2005. Use of humic substances and amino acids to enhance iron availability for tomato

plants from applications of the chelate FeEDDHA. Journal of Plant Nutrition, 28: 1877–1886.

28. Sheng, X. F., He, L. Y., and Huang, W. Y. 2003. Conditions of releasing potassium by a silicate dissolving bacteria strain NBT. Agricultureral Sciences in China, 1(6): 662-666.

29. Sheng, X. F., Zhao, F., He, L. Y., Qiu, G., and Chen, L. 2008 . Isolation and characterization of silicate mineral-solubilizing *Bacillus globisporus* Q12 from the surfaces of weathered feldspar. Canadian Journal of Microbiology, 54:1064–1068.

30. Sparks, D. L. 1987. Potassium dynamics in soils. Advances in Soil Science. 6: 1-63.

31. Sparks, D. L., and Huang, P. M. 1985. Physical chemistry of soil potassium. In: R. D. Munson. (Ed). Potassium in agriculture. American Society of Agronomy – Crop Science Society of America – Soil Science Society of America Madison, WI. Pp: 201–276.

32. Styriakova, I., Bhatti, T. M., Bigham, J. M., Styriak, I., Vuorinen, A., and Tuovinen, O. H. 2004. Weathering of phlogopite by *Bacillus cereus* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Canadian Journal of Microbiology, 50:213- 219.

33. Styriakova, I., Styriak, I., and Oberhansli, H. 2012. Rock weathering by indigenous heterotrophic bacteria of *Bacillus spp*. at different temperature: a laboratory experiment. Mineralogy and Petrology, 105:135–144.

34. Styriakova, I., Styriak, I., Nandakumar, M. P., and Mattiasson, B. 2003a. Bacterial destruction of mica during bioleaching of kaolin and quartz sand by *Bacillus cereus*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19 (6): 583-590.

35. Styriakova, I., Styriak, I., Galko, I., Hradil, D., and Bezdicka, P. 2003b. The release of iron-bearing minerals and dissolution of feldspar by heterotrophic bacteria of *Bacillus* species. Ceramics Silicaty, 47(1): 20-26

36. Styriakova, I,. Styriak, I., and Kusnierova, M. 1999. The release of sulphidic minerals from aluminosilicates by *Bacillus* strains. Process Metallurgy, 9: 589–596.

37. Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M. P., and Frey-Klett, P. 2009. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. Trends in Microbiology, 17 (8)*:* 378–387

38. Weed, S.B., Davey, C.B., and Cook, M.G. 1969. Weathering of mica by fungi. Soil Science Society of America Proceedings, 33:702–706.