پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

اثر باکتری حل‌کننده‌ی فسفات (*انتروباکتر*) بر تحرک مجدد سرب در دو خاک با بافت متفاوت

سحر شریفی[۱]، شکوفه رضائی[۲*]، علی خانمیرزایی فرد[۳]، عطیه قره داغی شیره جینی[۴]

۱و۴-دانش‌آموخته گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، ۲*-استادیار گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، ۳- استادیار گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

Email: Rezaee_sh@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تغییر شکل‌های شیمیایی فلز سنگین سرب تحت تأثیر باکتری حل‌کننده‌ی فسفات، دو خاک با درصد رس متفاوت ۱۶٪ و ۴۴٪ انتخاب و به هر خاک، تیمار فسفر از منبع نمک KH_2PO_4 و همچنین سرب از منبع نمک نیتراته جهت تشکیل کانی‌های فسفره و آلوده‌سازی خاک اعمال گردید. بعد از ۲ ماه، خاک‌ها با دو گونه‌ی *انتروباکتر* تلقیح یافتند و پس از گذشت ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز، شکل‌های شیمیایی سرب به روش متوالی استخراج و اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد هر دو گونه‌ی باکتری باعث تغییر شکل‌های شیمیایی سرب می‌شود. بیش‌ترین غلظت سرب، به جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز اختصاص داشت. پس از آن جزء کربناتی، مواد آلی و در نهایت بخش محلول - تبادلی قرار داشت. هر دو گونه‌ی باکتری، سرب محلول – تبادلی و کربناتی را افزایش و سرب همراه با اکسید آهن و منگنز و مواد آلی را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده‌ی فسفر، سرب، عصاره‌گیری متوالی

مقدمه

فعالیت‌های صنعتی و افزایش زندگی شهری، به آلودگی‌های زیست محیطی، به ویژه آلودگی با فلزات سنگین منجر شده است و میزان تخلیه آلاینده‌های فلزی به محیط و زمین‌های کشاورزی، روز به روز در حال افزایش است (Jaja and Odoemena, 2004). در بین فلزات سنگین، سرب به دلیل تأثیر زیان‌بار بر بافت‌های بدن موجودات زنده و تجزیه نشدن، حتی در غلظت‌های کم، خطرات جدی دارد (Sloan et al., 1997). از جمله اقدامات انجام شده برای کاهش آلودگی و تثبیت فلزات سنگین استفاده از مواد مختلف آلی(کودهای آلی) و معدنی(ترکیبات فسفره) می‌باشد Abbott et al., 2001; Khadivi et al., 2007; Tessier et al., 1979; Bolan et al., 2003;).کودهای آلی می‌توانند شکل تبادلی و محلول فلزات سنگین را به شکل‌های کربناته، ماده‌ی آلی و هیدروکسید چندگانه، تغییر و فراهمی زیستی آن‌ها را کاهش دهند (Tordoff et al., 2000). همچنین ترکیبات فسفره دسترسی سرب را با تشکیل کانی پایدار پیرومورفایت، کاهش می‌دهد (Melamed et al., 2003). عدم تحرک سرب ناشی از فسفر، بستگی به حلالیت سرب در خاک های آلوده و ترکیبات فسفره‌ی استفاده شده دارد (Laperche et al., 1996). باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات (PSB[1]) از طریق فعالیت آنزیم فسفاتاز و تولید اسیدهای آلی باعث افزایش انحلال فسفر از ترکیبات نامحلول فسفره می‌شوند(Chen et al., 2006; Dey et al., 2004). پارک و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که تثبیت سرب در محیط‌های کشت حاوی ترکیبات فسفره، با افزایش سطوح فسفر پس از گذشت ۱۴ روز از زمان انکوباسیون افزایش یافت در حالی که عدم تحرک سرب در محیط رشد حاوی باکتری نسبت به محیط‌های تلقیح نیافته، کمتر بود. عدم تحرک سرب به وسیله‌ی ترکیبات فسفره در آب و خاک امتحان شده (Chen et al., 2007;

[1]- Phosphate solubilizing bacteria

(Mouflih et al., 2006) لیکن در زمینه‌ی اثر باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات بر افزایش و یا کاهش تحرک سرب تحقیقات اندکی انجام شده است. بدین ترتیب پژوهشی به منظور بررسی اثر *انتروباکتر* بعنوان باکتری حل‌کننده فسفات بر تحرک مجدد سرب (Pb) صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

دو نمونه خاک با درصد رس متفاوت انتخاب و پس از آماده سازی، سایر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مانند ماده آلی به روش اکسیداسیون تر (Nelson and Sommers., 1996)، ظرفیت زراعی، فسفر قابل جذب به روش اولسن (Olsen et al., 1954)، سرب کل (Lindsay and Norvell, 1978)، ظرفیت تبادل کاتیونی (Bower et al., 1952)کربنات کلسیم معادل (Leoppert and Suarez, 1996)، کربنات کلسیم فعال (علی احیایی و بهبهانی زاده، ۱۳۷۲)، pH به کمک دستگاه pH سنج و EC به کمک دستگاه هدایت سنج اندازه گیری گردید. به منظور اعمال تیمار فسفر (۲۵۰۰ mg/kg فسفر) و سرب (۵۰۰ mg/kg) به ترتیب از منبع نمک پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و نمک نیترات (N_2O_6Pb) استفاده گردید. نمونه‌های خاک به مدت دو ماه با حفظ رطوبت ظرفیت زراعی در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. سپس ۶ نمونه‌ی صد گرمی از هر خاک توزین و به هر نمونه با رعایت ۳ تکرار، ۱۰ میلی‌لیتر از باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات (*Enterobacter Hormaechei* و *Enterobacter Xianfangensis* با جمعیت 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) اضافه گردید. پس از گذشت ۵، ۲۵، ۶۰ و ۹۰ روز از زمان خوابانیدن، عصاره‌گیری متوالی (Tessier et al., 1979) انجام و مقدار سرب کلیه‌ی نمونه‌ها، با دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مطالعه شده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک های مورد آزمایش

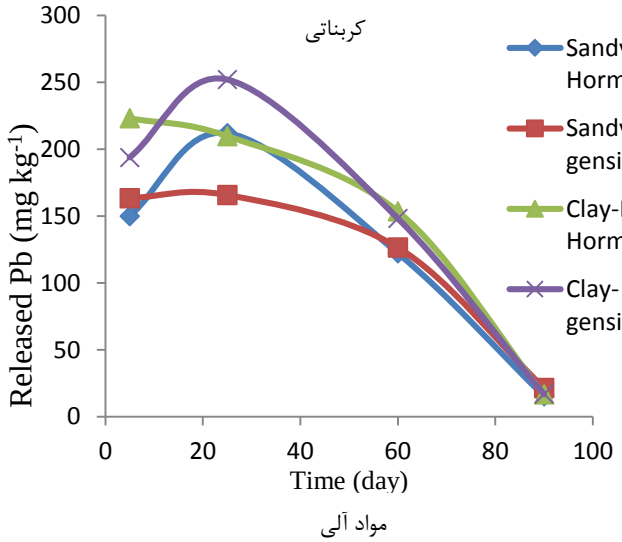
بافت	رس	سیلت	شن	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	کربنات کلسیم فعال	CEC (Cmol +kg^{-1})	pH	EC (dSm^{-1})	فسفرقابل جذب	سرب کل
	(درصد)									(میلی‌گرم بر کیلوگرم)	
لوم شنی	۱۶	۱۰	۷۴	۱	۱۱/۲۵	۲/۷۲	۱۵/۴۷	۷/۵	۱/۱۲	۳	۱۳
لوم‌رسی	۴۴	۱۸	۳۸	۰/۷	۱۳/۷۵	۴/۶۲	۹/۲۵	۷/۲۶	۰/۹۳۲	۵/۹۶	۱۱

جدول ۲، شکل‌های مختلف سرب در خاکهای مورد مطالعه را نشان می‌دهد. اگرچه در همه خاک‌ها توزیع شکل‌های شیمیایی سرب به صورت همراه با اکسیدهای آهن و منگنز> کربناتی > جزء همراه با موادآلی> محلول و تبادلی تخمین زده شد ولی استفاده از باکتری، سرب محلول – تبادلی و کربناتی را افزایش و سرب همراه با اکسید آهن و منگنز و مواد آلی را به طور معنی‌دار کاهش داد. همچنین افزایش میزان رس خاک، باعث کاهش معنی‌دار سرب محلول – تبادلی و افزایش سایر شکل‌های شیمیایی سرب شد که در مورد شکل کربناتی و همراه با مواد آلی افزایش معنی‌دار بود.

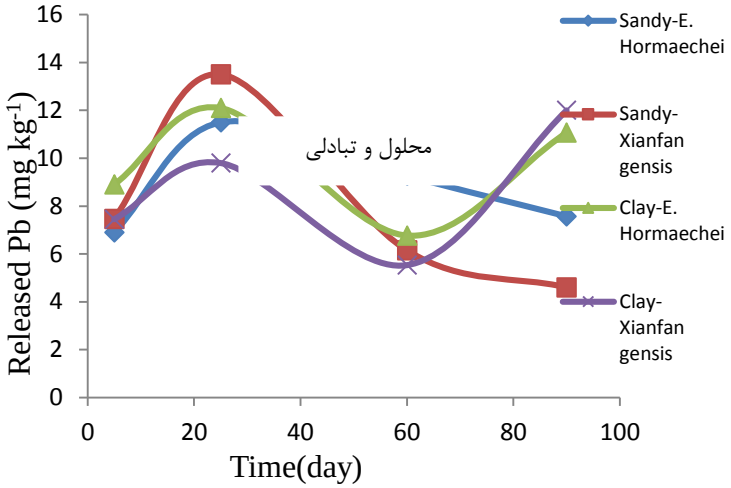
جدول ۲- میانگین غلظت سرب در اجزاء مختلف در خاک‌های مورد مطالعه

خاک	باکتری			میانگین
	شاهد	*E. Hormaechei*	*E. Xianfangensi*	
		جزء محلول - تبادلی		
لوم‌شنی	۱۱/۷۸ (۰)	۸/۸۱ (۱/۰۴)	۷/۹۳ (۲/۰۷)	۹/۵۰ A
لوم‌رسی	۱/۳۵ (۰)	۹/۷۱ (۱/۵۴)	۸/۶۹ (۱/۳۷)	۶/۵۸ B
میانگین	۶/۵۶ B	۹/۲۶ A	۸/۳۱ A	
		جزء کربناتی		
لوم‌شنی	۷۷/۴۹ (۱۵/۶)	۱۲۴/۹۸ (۵/۸۳)	۱۱۹/۳۵ (۶/۵۰)	۱۰۷/۲۷ B
لوم‌رسی	۱۷۲/۴ (۰/۴۸)	۱۵۰/۸۴ (۷/۵۲)	۱۵۲/۸۱(۱۱/۶)	۱۵۸/۷۰ A
میانگین	۱۲۴/۹۷ B	۱۳۷/۹۱ A	۱۳۶/۰۸ AB	
		جزء همراه با اکسیدهای آهن و منگنز		
لوم‌شنی	۳۰۳/۹ (۶۹/۹)	۱۷۵/۵۷ (۹/۸)	۲۰۴/۱۵ (۱۰/۷)	۲۲۷/۸۸ A
لوم‌رسی	۴۲۰ (۶۶/۷۲)	۱۷۶/۰۷ (۱۱/۶)	۱۸۱/۵ (۹/۵)	۲۵۹/۱۹ A
میانگین	۳۶۱/۹۵ A	۱۷۵/۸۳ B	۱۹۲/۸۳ B	
		جزء همراه با مواد آلی		
لوم‌شنی	۴۶/۲۵ (۰/۴۳)	۳۳/۹۱ (۳/۱۴)	۳۲/۴ (۰/۷۸)	۳۷/۵۲ B
لوم‌رسی	۶۲/۷۵ (۳/۹)	۲۹/۰۲ (۱/۲۴)	۳۳/۱۴ (۲/۳)	۴۱/۶۴ A
میانگین	۵۴/۵۰ A	۳۱/۴۷ B	۳۲/۷۷ B	

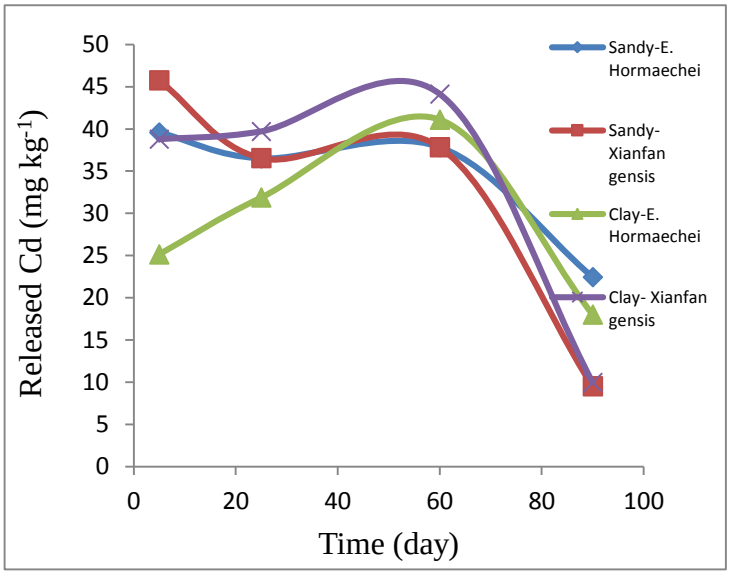
با توجه به شکل ۱ مقدار سرب محلول – تبادلی در خاک لوم‌رسی آغشته به هر دو نمونه‌ی باکتری، با گذشت زمان ابتدا روند افزایشی و سپس روند کاهشی و در نهایت روند افزایشی داشت. در صورتی که در خاک لوم‌شنی با هر دو باکتری، این روند در ابتدا افزایشی و در نهایت کاهشی بود. غلظت سرب در جزء دوم (کربناتی) خاک لوم‌رسی تلقیح شده با باکتری *E. Hormaecheie* و لوم‌شنی تلقیح شده با باکتری *E. Xianfangensis* با گذشت زمان روند کاهشی داشت در حالی‌که مقدار سرب خاک لوم‌شنی و لوم‌رسی تلقیح یافته با همین گونه‌های باکتریایی، ابتدا روند افزایشی و سپس روند کاهشی داشتند. سرب همراه ا اکسیدهای آهن و منگنز در هر چهار خاک با گذشت زمان ابتدا کاهش و سپس روند افزایشی اندک داشت. غلظت سرب همراه با مواد آلی در خاک لوم‌رسی تلقیح شده با دو گونه باکتری، ابتدا روند افزایشی و سپس روند کاهشی داشت این در حالی است که این مقدار در خاک لوم‌شنی تلقیح یافته با باکتری‌ها، با گذشت زمان کاهش یافت.



مواد آلی



اکسید آهن و منگنز



منابع

علی احیایی، م. و بهبهانی زاده، ع ا. ۱۳۷۲. شرح روش های تجزیه شیمیایی خاک. نشریه ی مؤسسه‌ی تحقیقات خاک و آب، شماره ۸۹۲.

Abbott D.E., Essington M.E., Mullen M.D. and Ammons J.T. 2001. Fly ash and lime-stabilized biosolid mixtures in mine spoil reclamation: simulated weathering. Journal Environ. Qual, 30(2): 608- 616.

Bolan N.S., Adriano D.C. and Naidu R. 2003. Role of phosphorus in (Im) mobilization and bioavailability of heavy metals in the soil-plant system. *Rev. Environ. Contam. Toxical*, 177: 1-44.

Bower C.A., Reitemeier F.F. and Fireman M. 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. *Soil Sci*, 73: 251-261.

Chen Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W.A. and Young C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol*, 34: 33-41.

Chen S., Xu M., Ma Y. and Yang J. 2007. Evaluation of different phosphate amendments on availability of metals in contaminated soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf*, 67: 278-285.

Chlopecka A., Bacon J.R., Wilson M.J. and Kay J. 1996. Forms of Cadmium, Lead and Zinc in contaminated soils from southwest Poland. *J. Environ. Qual*, 25: 69-79.

Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea L.*) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res*, 159: 371-394.

Jaja E.T. and Odoemena C.S.I. 2004. Effect of Pb, Cu and Fe compounds on the germination and early seedling growth of tomato varieties. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 8(2): 51-53.

Khadivi boroujerdi E., Nourbakhsh F., Afyuni M. and Shariatmadari H. 2007. Chemical forms of Pb, Ni and Cd in Calcareous soil treated with sewage sludge. Journal of Science and Technology of Agricultu re and Natural Resources, 1: 40-53.

Laperche V., Traina S.J., Gaddam P. and Logan T.J. 1996. Chemicaland mineralogical characterization of Pb in a contaminated soil: reactions with synthetic apatite. *Environ. Sci. Technol*, 30: 3321-3326.

Leoppert R.H. and Suarez D.L. 1996. Carbonate and gypsum, in Methods of soil analysis, (Eds.: D. L. Spaarks, SSSA, Madison, Wisconsim, p. 438-474.

Lindsay W. L. and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 42: 421-428.

Maiz I., Arambarri I., Garcia R. and Millan E. 2000. Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. *Environ. Pollut*, 110: 3-9.

Melamed R., Cao X., Chen M. and Ma L.Q. 2003. Field assessment of lead immobilization in a contaminated soil after phosphate application. *Sci. Total Environ*, 305: 117-127.

Mouflih M., Aklil A., Jahroud N., Gourai M. and Sebti S. 2006. Removal of lead from aqueous solutions by natural phosphate. *Hydrometallurgy*, 81: 219-225.

Nelson D.W. and Sommers L.E. 1996. in Methods of soil analysis (Eds.: D.L. Sparks,), SSSA, Madison, Wisconsin, pp.961-1010.

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S. and Dean L. A. 1954. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. U. S. Department of Agriculture Circular No. 939. Banderis, A. D., D. H. Barter and K. Anderson. Agricultural and Advisor.

Park J.H., Bolan N., Megharaj M. and Naidu R. 2011. Concomitant rock phosphate dissolution and lead immobilization by phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter sp.*). Journal of Environmental Management. 92: 1115-1120.

Sloan J.J., Dowday R.H., Dolan M.S. and Linden D.R. 1997. Long-term effect of biosolids applications on heavy metal bioavailability in agricultural soils. Journal of Environ Qual, 26: 966-974.

Tessier A., Campbell P.G.C. and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem*, 51: 844-851.

Tordoff G.M., Baker A.J.M. and Willis A.J. 2000. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. Chemosphere 41: 219-228.

Waterlot C., Pruvot C., Ciesielski H. and Douay F. 2011. Effects of a phosphorus amendment and the pH of water used for watering on the mobility and phytoavailability of Cd, Pb and Zn in highly contaminated kitchen garden soils. Ecol. Eng. 37(7): 1081–1093.

"Effects of Phosphorus Solubilizing Bacteria on Remobilization of Lead in Two Different Textural Soils"

Abstract

In order to study the changes in chemical forms of lead under the influence of phosphate solubilizing bacteria, two soils with different amount of clay were selected. Phosphorus (P) as (KH_2PO_4) and lead (Pb) as ($Pb(NO_3)_2$ were added to the soils to promote the formation of P-Pb minerals. After two months, soils were treated with two species of *Enterobacter* and incubated for 90 days with constant moisture content at 25˚C. Soils were sampled 5, 25, 60 and 90 days during the incubation to determine the Pb fractions using sequential extraction schema. The results showed that the presence of phosphate solubilizing bacteria changed the chemical forms of lead. The concentrations of soluble+exchangeable and carbonatic fractions were increased and the concentrations of and Fe- Mn oxide and organic

fractions were decreased in the presence of *Entrobacter* species during the incubation time. The proportion of the chemical forms of lead were Fe and Mn oxide> carbonates>organic matter > soluble+exchangeable fractions, respectively.

Keyword: Lead**,** Phosphate Solubilizing Bacteria**,** Sequential extraction