

محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

تأثیر نوع محیط کشت و زمان بر حلالیت کانی سیپولیت در حضور سویه‌های مختلف باکتری

ریحانه نژاد اسدی^{۱*}، عیسی اسفندیارپور بروجنی^۲، محسن حمیدپور^۳، پیمان عباس‌زاده دهجی^۳، سید جواد حسینی‌فرد^۴^۱ دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان^۲ دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان^۳ استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان^۴ استادیار پژوهشکده پسته ایران، رفسنجان

چکیده

شناخت و مطالعه کانی‌های رسی برای اطلاع از ساختار خاک و بررسی فرآیندهای هواپدیدی که منجر به تشکیل خاک می‌شوند، ضروری است. پژوهش حاضر با هدف بررسی کارایی باکتری‌های ریزوسفری در آزادسازی عناصر از کانی سیپولیت در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سویه باکتری شامل *Pseudomonas sp. (K1)*, *Pseudomonas sp. (D1)* و *P. fluorescens (A11)* و *sp. (K2)* و شاهد (بدون تلقیح باکتری) در دو دوره زمانی (۷ و ۱۴ روز) در سه تکرار انجام شد. نتایج پژوهش حاضر، نشان‌دهنده معنی‌داری اثر متقابل باکتری، محیط کشت و زمان بر آزادسازی عناصر از کانی سیپولیت بود. در هر دو زمان میزان قابل توجهی منیزیم از کانی سیپولیت آزاد شد که این آزادسازی، تحت تأثیر نوع محیط کشت (غنی و فقیر) و زمان نبود. بیشترین میزان آزادسازی منیزیم به سویه‌های A11 و D1 (به ترتیب ۱۲۰ و ۱۱۰ میلی‌گرم در لیتر) اختصاص داشت. بیشترین مقدار سیلسیم ره‌اشده از کانی نیز در حضور سویه K1 بود. برخلاف آزادسازی مقدار قابل توجه عناصر از کانی سیپولیت، سویه‌های باکتری قادر به تغییر ساختار کانی در مدت زمان ۱۴ روز نبودند. به نظر می‌رسد که مدت زمان بیشتری برای برهمکنش کانی و باکتری در راستای تغییر ساختار کانی سیپولیت، مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، پراش پرتو ایکس، کانی‌های رسی رشته‌ای، هواپدیدی

مقدمه

شناخت و مطالعه کانی‌های رسی برای اطلاع از ساختار خاک، مکانیسم آزاد شدن و تبادل عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان در خاک و نیز بررسی فرآیندهای هواپدیدی که منجر به تشکیل خاک می‌شود، ضروری است (Velde, 1992). سیپولیت از جمله کانی‌های سیلیکاتی تری‌اکتاهدرل و آبدار محسوب می‌شود که هر واحد ساختمانی آن از دو صفحه چهاروجهی در اطراف و یک صفحه هشت‌وجهی غنی از منیزیم در مرکز تشکیل شده است (Galan, 1996). باکتری‌ها از طریق هواپدیدی کانی‌های سیلیکاتی در خاک، بر چرخه عناصر موجود در پوسته زمین اثرگذار هستند. تعداد زیادی از مطالعات نشان داده‌اند که میکروارگانیزم‌ها می‌توانند با مکانیسم‌هایی چون تولید اسید آلی (Bigham و همکاران ۲۰۰۱، Uroz و همکاران ۲۰۰۹)، تراوش عوامل کلات‌کننده (Brunstad, Adeyemi and Gadd, 2005 و همکاران ۲۰۰۸)، جذب یون‌های حل‌شده توسط دیواره‌های سلولی باکتری (Cuadros و همکاران، ۲۰۱۳) و اکسیداسیون و احیای عناصر (Bigham و همکاران، ۲۰۰۱؛ Hopf و همکاران، ۲۰۰۹)، حلالیت کانی‌ها را افزایش دهند (Cuadros, 2017) و آزادسازی عناصر از کانی‌ها را در شرایط هوازی تسریع کنند (Dai, Singh, 2010) و همکاران ۲۰۱۴، Ren و همکاران ۲۰۱۴، Parmar و همکاران ۲۰۱۶). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) گروهی از باکتری‌ها هستند که با تولید هورمون‌های گیاهی، سیدروفور، اسیدهای آلی و سیانید هیدروژن باعث انحلال ترکیبات کم‌محلول و فراهمی عناصر غذایی از جمله فسفر، روی و آهن در خاک می‌شوند و از طرف دیگر با تولید آنزیم ACC-دآمیناز، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌دهند (Karlidag et al., 2007). اگرچه در رابطه با ره‌اسازی عناصر از کانی‌های رشته‌ای (فیبری)، پژوهش‌هایی انجام شده است؛ لیکن تغییر و تحول کانی سیپولیت در ارتباط با باکتری‌های محرک رشد، کمتر مورد پژوهش قرار گرفته است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ترکیب محیط کشت و زمان تعامل کانی و باکتری بر حلالیت کانی سیپولیت و آزادسازی عناصر از آن انجام گرفت.

* ایمیل نویسنده مسئول: r_nejadasadi@yahoo.com

¹ Plant Growth Promoting Rhizobacteria

مواد و روش‌ها

کانی سپیولیت استفاده شده در این پژوهش از معدن سپیولیت یزد تهیه شد و قبل از انجام مطالعات مورد نظر به منظور اطمینان از خالص بودن آن، آنالیز تجزیه عنصری (XRF) بر روی آن انجام گرفت و خالص سازی کانی به روش Kittrik and Hope (۱۹۶۳) انجام شد. به این صورت که در مرحله اول برای حذف املاح محلول، ۵۰ گرم از کانی مورد نظر در سیلندرهای یک لیتری ریخته شد و با آب مقطر در چند مرحله شست و شو گردید. در مرحله دوم به منظور جدا کردن کربنات‌ها از کانی مورد نظر، از بافر استات سدیم با pH ۵ استفاده شد. به دلیل اینکه این بافر، یک اسید ضعیف است؛ حذف کامل کربنات‌ها به کندی صورت گرفته و این مرحله، چندین بار تکرار شد. برای حذف اکسیدهای آهن احتمالی نیز از محلول بافر سترات سدیم با pH ۷/۳ در حضور دی تیونات سدیم استفاده شد.

در این پژوهش از چهار سویه باکتری دارای توانایی حل کنندگی ترکیبات کم محلول فسفر و روی موجود در بانک باکتری گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان استفاده شد. اطلاعات مربوط به سویه‌های استفاده شده در این پژوهش و برخی از خصوصیات محرک رشدی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. به منظور شناسایی سویه برتر باکتری از بین سویه‌های مورد نظر در انحلال و آزادسازی عناصر از کانی سپیولیت، یک مطالعه آزمایشگاهی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. برای این منظور، دو محیط کشت الکساندروف غنی و فقیر تهیه شد. ترکیب محیط کشت غنی شامل گلوکز ۶ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۳ گرم بر لیتر، پپتون ۱۰ گرم بر لیتر و کلرید سدیم ۵ گرم بر لیتر بود و pH محیط بر روی ۷ تنظیم شد (Dai و همکاران، ۲۰۱۴). محیط کشت فقیر نیز با ترکیب سوکروز ۱۰ گرم بر لیتر، فسفات سدیم ۱ گرم بر لیتر، سولفات آمونیوم ۰/۵ گرم بر لیتر و عصاره مخمر ۰/۵ گرم بر لیتر تهیه شد (Liu و همکاران ۲۰۰۶). ارلن‌های حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت و یک گرم کانی سپیولیت، پس از تلقیح با باکتری‌های مورد نظر، به مدت ۷ و ۱۴ روز در دمای ۲۶ درجه سلسیوس بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از گذشت مدت زمان مزبور، ارلن‌ها از روی شیکر برداشته و در عصاره رویی، میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر (Richards, 1954)، میزان کلسیم و منیزیم به روش کمپلکسومتری (Klute, 1986) و میزان عناصر آهن، آلومینیم و سیلیسیم آزاد شده از کانی با دستگاه جذب اتمی (GBC Avanta) اندازه گیری شد. به منظور بررسی تأثیر فعالیت باکتری بر تغییر و تبدیل کانی، بعد از گذشت مدت زمان معین، کانی را از محیط کشت با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ جدا نموده و باکتری‌های باقی مانده در نمونه با استفاده از آب اکسیژنه از بین برده شدند و سپس تیمارهای اشباع با منیزیم با استفاده از محلول کلرید منیزیم نرمال و اشباع با پتاسیم با استفاده از محلول کلرید پتاسیم نرمال بر روی آن‌ها اعمال و بعد از تهیه سوسپانسیون، پراش نگار پرتو ایکس آن‌ها توسط دستگاه پراش سنج پرتو ایکس فیلیپس مدل PW1840 در محدوده زوایای پراش (۲θ) ۳ تا ۶۰ درجه با ولتاژ ۴۰ کیلوولت و آمپراژ ۴۰ میلی آمپر توسط لامپ پرتوی ایکس با فلز هدف مس تهیه گردید.

جدول ۱. برخی خصوصیات محرک رشدی سویه‌های باکتری استفاده شده در پژوهش حاضر

حل کنندگی روی		حل کنندگی فسفر		حل کنندگی روی		حل کنندگی فسفر		سویه باکتری
ZnO	ZnCO ₃	سیدروفور	فسفر	ZnO	ZnCO ₃	سیدروفور	فسفر	
قطر هاله به قطر کلونی				میلی گرم در لیتر				
۱/۷۸	۰/۰۰	۲/۱۸	۱/۶۲	۵/۷۱	۰/۰۰	۶۵۰	۶۵۰	<i>Pseudomonas</i> sp. D1
۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	۱/۸۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۷۰۶	۷۰۶	<i>Bacillus</i> sp. K1
۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	۱/۷۲	۰/۰۰	۰/۰۰	۶۶۱	۶۶۱	<i>Pseudomonas</i> sp. k2
۱/۴۰	۱/۷۰	۱/۲۰	۰/۰۰	۶۵/۰	۳۰/۵	۶۰۰	۶۰۰	<i>Pseudomonas fluorescens</i> A11

نتایج و بحث

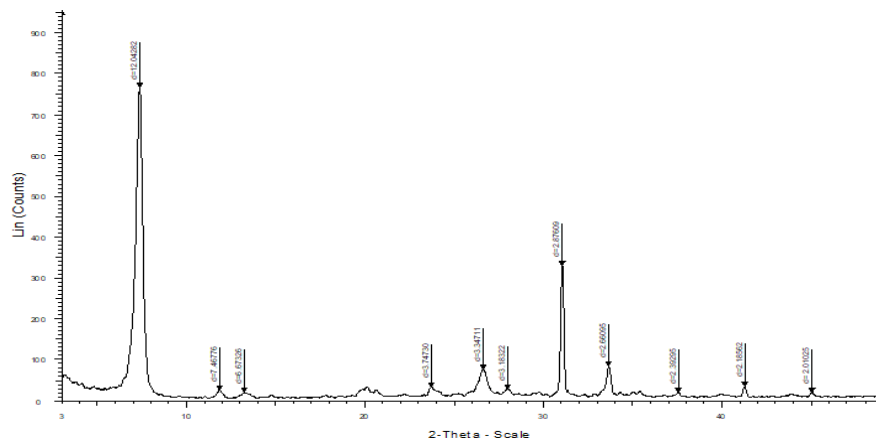
نتایج مربوط به ترکیب عنصری کانی مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه گردیده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بر پایه ترکیب عنصری این کانی میزان آلومینیم، سدیم، پتاسیم و تیتانیم در این نمونه کانی ناچیز است، حال آنکه مقادیر قابل توجهی سیلیسیم و منیزیم در این کانی دیده

² X-ray fluorescence

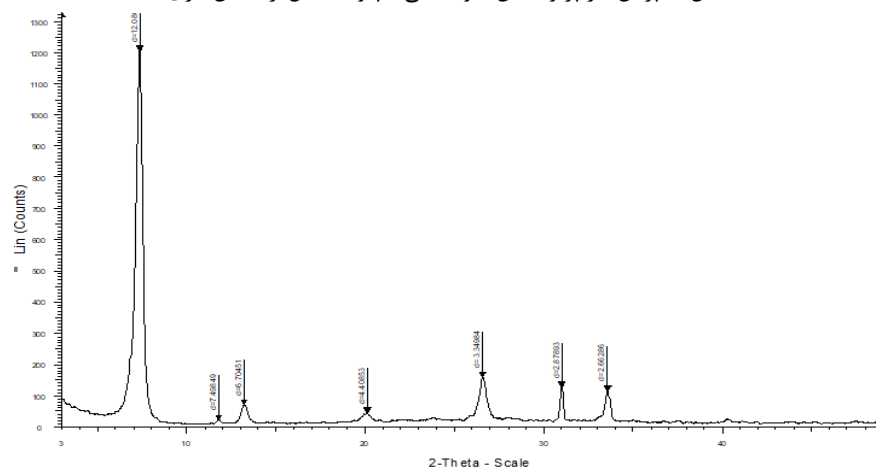
می‌شود. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه پراش پرتو ایکس، بخشی از کلسیم نمونه به واسطه وجود کانی دولومیت همراه با کانی سپیولیت است و از آنجا که کانی سپیولیت به طور عمده در محیط‌های شور و قلیایی و فعالیت زیاد سیلیسیم ولی فعالیت بسیار کم آلومینیم تشکیل می‌شود (Singer, 1989)، بنابراین با مقایسه نتایج XRF و XRD این کانی در دو حالت خالص و ناخالص (جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲)، به نظر می‌رسد که کانی دولومیت به عنوان کانی همراه سپیولیت حضور داشته و با روش معمول حذف ناخالصی‌ها از بین نرفته است. کریمی و همکاران (۱۳۹۶) نیز به نتیجه مشابهی در این ارتباط دست یافتند.

جدول ۲. نتایج XRF کانی سپیولیت قبل و بعد از خالص‌سازی

Na ₂ O	MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	TiO ₂	MnO	Fe ₂ O ₃	اکسید عناصر (درصد)
۰/۰۱	۳۳/۶	۰/۱۵	۳۵/۸	۰/۰۱	۰/۰۳	۳۰/۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲۳	سپیولیت ناخالص
۰/۰۴	۳۳/۴	۰/۰۱۴	۴۲/۰	۰/۰۱	۰/۰۳	۲۴/۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲۶	سپیولیت خالص‌سازی شده



شکل ۱. پراش‌نگار پرتو ایکس نمونه کانی سپیولیت قبل از خالص‌سازی



شکل ۲. پراش‌نگار پرتو ایکس نمونه کانی سپیولیت بعد از خالص‌سازی

خلاصه آماری برخی از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در محیط کشت غنی و فقیر در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است. همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود در محیط غنی، میزان آزادسازی منیزیم و سیلیسیم از کانی سپیولیت با گذشت زمان به ترتیب ۱۹ و ۱۷ درصد نسبت به مدت زمان ۷ روز افزایش یافته است؛ در صورتی که این آزادسازی در مورد عناصر آهن، کلسیم و آلومینیم روند کاهشی داشته است. در محیط کشت فقیر نیز میزان آزادسازی منیزیم و کلسیم از کانی سپیولیت با گذشت زمان به ترتیب ۲۰ و ۱۶ درصد نسبت به مدت زمان ۷ روز افزایش یافته است؛ اما میزان آزادسازی

سیلیسیم و آهن، کاهش ۵۰ درصدی را با گذشت زمان نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از اثر معنی‌دار سویه‌های باکتری بر همه ویژگی‌های تعیین شده می‌باشد. اثر متقابل باکتری، نوع محیط کشت و زمان نیز به‌جزء عنصر منیزیم بر سایر ویژگی‌ها معنی‌دار بوده است. در محیط غنی به دلیل تجزیه پروتئین‌های موجود در محیط (از جمله، پپتون، pH محیط افزایش یافته است؛ در صورتی که در محیط فقیر به دلیل آزاد شدن اسیدهای آلی ناشی از تجزیه فندها، کاهش pH مشاهده می‌شود. همچنین، با گذشت زمان در محیط فقیر، pH تغییر معنی‌داری نداشته است اما در محیط غنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (شکل ۳). Cheng و همکاران (۲۰۱۷) نیز در پژوهشی تولید اسیدهای آلی در محیط فقیر توسط باکتری و کاهش معنی‌دار pH و حل شدن کانی بیوتیت را گزارش نموده‌اند.

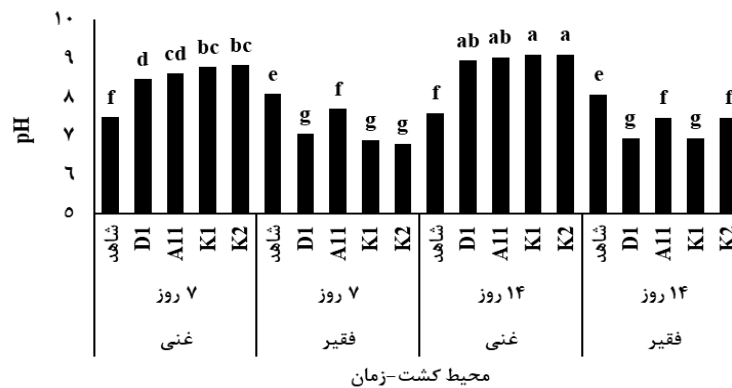
جدول ۳. خلاصه آماری برخی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در محیط کشت غنی بعد از گذشت ۷ و ۱۴ روز

پارامترها	مینیمم	ماکزیمم	میانگین	انحراف معیار	واریانس	چولگی	افراشتگی
روز ۷							
pH	۷/۴۵	۸/۸۹	۸/۴۲	۰/۵۲	۰/۲۷	-۱/۳۲	۰/۲۱
منیزیم (mg L ⁻¹)	۵۰	۱۱۶	۷۲	۱۸/۵	۳۴۲	۱/۰۵	۰/۸۹
کلسیم (mg L ⁻¹)	۴۰	۱۵۰	۸۱/۳	۲۹/۵	۸۶۹	۰/۵۶	۱/۰۹
آهن (mg L ⁻¹)	۱/۲۱	۲/۴۵	۱/۵۳	۰/۳۳	۰/۱۱	۱/۸۲	۱/۷۰
آلومینیم (mg L ⁻¹)	۰/۰۵	۰/۲۶	۰/۱۶	۰/۰۷	۰/۰۱	-۰/۲۶	-۰/۹۴
سیلیسیم (mg L ⁻¹)	۵/۴۳	۳۲/۸	۱۶	۸/۹	۷۹/۱	۰/۴۱	-۱/۱۷
روز ۱۴							
pH	۷/۵۸	۹/۱	۸/۷۴	۰/۶	۰/۳۶	-۱/۶۲	۰/۸۱
منیزیم (mg L ⁻¹)	۵۶	۱۴۰	۸۸/۸	۲۵/۱	۶۳۱	۰/۶۴	-۰/۴۵
کلسیم (mg L ⁻¹)	۵۰	۹۰	۷۳/۳	۱۱/۷	۱۳۸	-۰/۴۵	-۰/۵۶
آهن (mg L ⁻¹)	۰/۴۶	۲/۴۹	۱/۳۲	۰/۵۹	۰/۳۵	۰/۶۷	-۰/۱۳
آلومینیم (mg L ⁻¹)	۰/۰۹	۰/۲۲	۰/۱۵	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۱۵	-۰/۱۲
سیلیسیم (mg L ⁻¹)	۱۱/۳	۳۵/۷	۱۹/۳	۶/۳۹	۴۰/۹	۱/۰۸	۱/۸۴

جدول ۴. خلاصه آماری برخی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در محیط کشت فقیر بعد از گذشت ۷ و ۱۴ روز

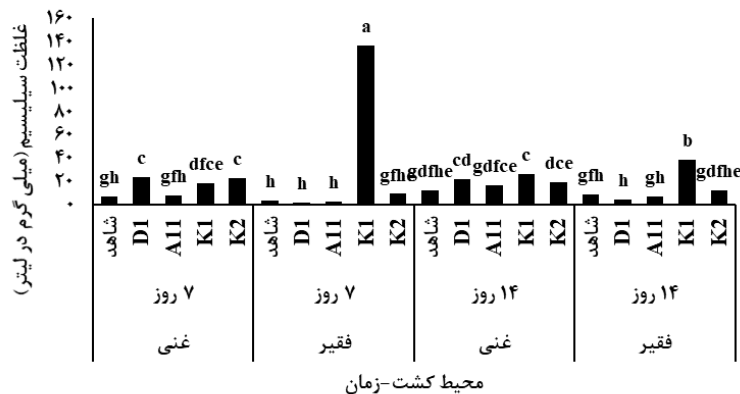
پارامترها	مینیمم	ماکزیمم	میانگین	انحراف معیار	واریانس	چولگی	افراشتگی
روز ۷							
pH	۶/۷۵	۸/۱۲	۷/۳۰	۰/۵۱	۰/۲۶	۰/۵۶	-۱/۵۱
منیزیم (mg L ⁻¹)	۲۶	۱۱۶	۶۶	۲۵/۶	۶۵۶	۰/۰۹	-۰/۷۲
کلسیم (mg L ⁻¹)	۵۰	۱۴۰	۱۰۰	۲۳/۴	۵۴۹	-۰/۳۶	۰/۱۰
آهن (mg L ⁻¹)	۰/۰۵	۱/۲۰	۰/۳۴	۰/۳۸	۰/۱۵	۱/۴۹	۰/۸۶
آلومینیم (mg L ⁻¹)	۰/۱۳	۰/۷۴	۰/۳۴	۰/۲۲	۰/۰۵	۰/۹۳	-۰/۷۵
سیلیسیم (mg L ⁻¹)	۱/۱۶	۱۵۵	۳۰/۷	۵۵	۳۰۲۹	۱/۷۲	۱/۲۴
روز ۱۴							
pH	۶/۷۹	۸/۱۲	۷/۳۷	۰/۴۹	۰/۲۴	۰/۳۰	-۱/۵۷
منیزیم (mg L ⁻¹)	۳۸	۱۴۰	۸۲/۴	۲۸/۴	۸۰۶	۰/۲۲	-۰/۳۸
کلسیم (mg L ⁻¹)	۷۰	۱۸۰	۱۱۹	۴۲/۵	۱۸۰۷	-۰/۰۴	-۱/۹۶
آهن (mg L ⁻¹)	۰/۰۲	۰/۳۳	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۴۸	-۱/۸۷
آلومینیم (mg L ⁻¹)	۰/۱۴	۱/۱۱	۰/۴۲	۰/۳۵	۰/۱۳	۱/۰۲	-۰/۳۸
سیلیسیم (mg L ⁻¹)	۴/۶۱	۴۰/۴	۱۴/۳	۱۳/۰۱	۱۶۹/۲	۱/۴۹	۰/۵۸

نتایج نشان داد که میزان آزادسازی منیزیم در هر دو محیط کشت با گذشت زمان، افزایش یافته است و این آزادسازی به سویه باکتری، ترکیب محیط کشت و زمان وابسته نبوده است. انحلال ترجیحی منیزیم در کانی سیپولیت نسبت به سایر فیلوسیلیکات‌ها ممکن است به دلیل ورقه‌های هشت‌وجهی غیرمتمم موجود در ساختار این کانی باشد. به دیگر سخن، در سایر فیلوسیلیکات‌ها انحلال و آزادسازی منیزیم توسط ورقه چهاروجهی که به ورقه هشت‌وجهی متصل است، محدود شده است؛ این در حالی است که کانال‌های داخل سیپولیت، این ورقه‌های هشت‌وجهی را در معرض قرار داده و بدون نیاز به انحلال ورقه چهاروجهی، منیزیم از ساختار کانی آزاد می‌شود. علاوه بر این، باکتری‌ها با سازوکارهای مختلفی از جمله تراوش عوامل کلات‌کننده (مانند اگزالیک اسید، سیتریک اسید و سیدورفور) و اتصال آن‌ها به فلزات (به‌طور عمده، آهن و آلومینیم) حلالیت کانی‌ها را افزایش می‌دهند (Cuadros, 2017). همان‌طور که در جدول ۲ مشخص است تمامی سویه‌ها توانایی حل‌کنندگی ترکیبات کم‌محلول فسفر را داشته‌اند که از بین آن‌ها بیشترین حل‌کنندگی مربوط به سویه K1 و کمترین آن مربوط به سویه A11 بوده است. در مورد حل‌کنندگی روی نیز فقط سویه‌های D1 و A11 قادر به حل‌کنندگی ترکیبات کم‌محلول روی بوده‌اند و سایر جدایه‌ها این توانایی را دارا نمی‌باشند. توان انحلال فسفر و روی توسط باکتری‌های محرک رشد عمدتاً در ارتباط با تولید اسیدهای آلی توسط این سویه‌ها و کاهش pH محیط می‌باشد. همچنین تمامی سویه‌ها توانایی بالایی در تولید سیدورفور داشته‌اند که یکی از ترکیبات مهم در مورد هوادیدگی کانی‌های آهن‌دار است. این لیگاند با تشکیل کمپلکس‌های محلول سیدورفور و آهن، منجر به حلالیت کانی و افزایش غلظت آهن قابل دسترس میکروارگانیسم‌ها و گیاهان می‌شود. به‌طور کلی، تأثیر سیدورفورها بر هوادیدگی کانی‌ها مؤثرتر از اسیدهای آلی است؛ زیرا کمپلکس ایجادشده بین سیدورفور و آهن پایدارتر می‌باشد (Ahmed and Holmstrom, 2014). Shirvani and Nourbakhsh (۲۰۱۰) نیز افزایش آزادسازی آهن از کانی‌های سیپولیت و پالیگورسکیت را با افزایش غلظت سیدورفور دسفرال گزارش نمودند.



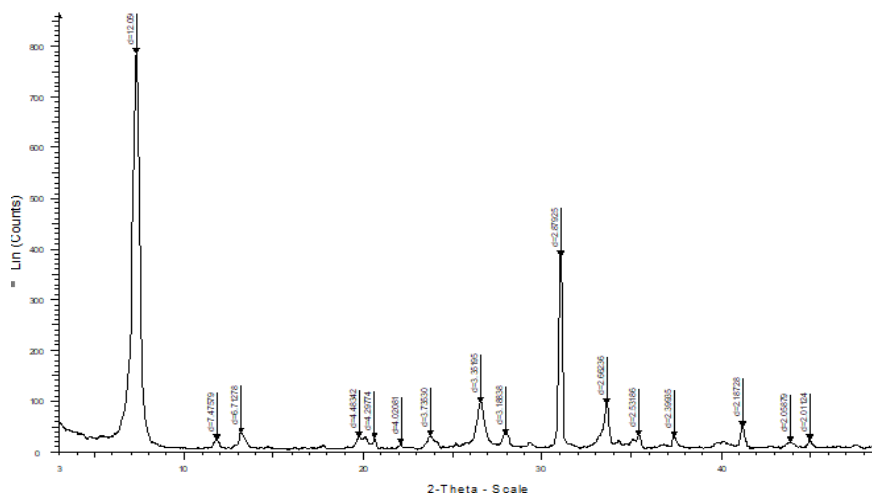
شکل ۳. مقایسه میانگین پی‌اچ در محیط کشت باکتری

سویه باکتری K1 بیشترین آزادسازی سیلیسیم از سیپولیت را در محیط فقیر بعد از گذشت ۷ و ۱۴ روز (به ترتیب ۱۳۶ و ۳۸ میلی‌گرم بر لیتر) داشته است و این آزادسازی در ۷ روز اول، به میزان ۷۰ درصد، بیشتر از ۱۴ روز بوده و با گذشت زمان، باکتری سیلیسیم آزادشده از کانی را مصرف نموده است (شکل ۴). این سویه از نوع باسیلوس بوده که در منابع مختلف به‌عنوان باکتری حل‌کننده سیلیس شناخته شده و نقش آن در آزادسازی سیلیسیم از کانی به اثبات رسیده است (Bakhshandeh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Bakhshandeh و همکاران، ۲۰۱۱؛ Parmar و همکاران، ۲۰۱۳).



شکل ۴. مقایسه میانگین غلظت سیلیسیم در محیط کشت باکتری

با مقایسه پراش‌نگارهای پرتو ایکس کانی سپیولیت، قبل و بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باکتری، تغییر خاص و بارزی در آن‌ها مشاهده نشد (شکل‌های ۲ و ۵). به عبارت دیگر، نتایج حاکی از آن بود که برخلاف آزادسازی عناصر و کاهش pH محیط، ساختار کانی سپیولیت تغییر چندانی نکرده و باکتری قادر به تغییر ساختار این کانی در مدت زمان ۱۴ روز نبوده و برای این تغییر، نیازمند مدت زمان بیشتر و یا کاهش بیشتر pH می‌باشد.



شکل ۵. پراش‌نگار پرتو ایکس نمونه سپیولیت حاوی باکتری K1 در محیط فقیر بعد از ۱۴ روز

نتیجه‌گیری

هرچند چهار سویه باکتری ریزوسفری مورد استفاده در پژوهش حاضر، قادر به رهاسازی عناصر از کانی سپیولیت در شرایط آزمایشگاهی بودند؛ لیکن پتانسیل آزادسازی این عناصر بین باکتری‌های مورد آزمایش، متفاوت بود. همچنین ترکیب محیط کشت باکتری با تأثیر مستقیمی که بر تغییر pH می‌گذارد یک عامل مهم در تعیین مسیر انحلال کانی محسوب می‌شود. در بین سویه‌های مورد آزمایش، سویه *Bacillus sp.* در رهاسازی عناصر مختلف از کانی سپیولیت کارآمدتر بوده و می‌توان از آن در کارهای پژوهشی آتی استفاده کرد. البته برخلاف آزادسازی عناصر از کانی سپیولیت، باکتری به‌تنهایی قادر به انحلال کامل و یا تبدیل کانی در بازه زمانی ۱۴ روز نبوده است و برای این تغییر، نیازمند محیطی با شرایط مناسب‌تر (مانند ریزوسفر گیاه) و یا مدت زمان بیشتر برای برهمکنش باکتری و کانی می‌باشد.



منابع

- کریمی، ع.، مومن، م.، حلاج‌نیا، ا. و میرحسینی موسوی، پ. ۱۳۹۶. یک روش ساده فیزیکی خالص‌سازی سپیولیت. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۳۱ (شماره ۵): ۱۴۵۵-۱۴۴۷.
- Ahmed, E. and Holmstrom, S. J. M. 2014. Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3): 196–208.
- Bakhshandeh, E., Pirdashti, H., Shahsavarpour, KH. 2017. Lendeh Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. *Ecological Engineering*, 103: 164–169.
- Bakhshandeh, S.H., Khormali, F., Dordipour, E., Olamaei, M. and Kehl, M. 2011. Comparing the weathering of soil and sedimentary palygorskite in the rhizosphere zone. *Applied Clay Science*, 54: 235–241.
- Cheng, Ch., Qi, W., Linyan, H. and Xiafang, Sh. 2017. Change in mineral weathering behaviors of a bacterium *Chitinophaga jiangningensis* JN53 under different nutrition conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 57 (4): 293-301.
- Cuadros, J. 2017. Clay minerals interaction with microorganisms: a review. *Clay Minerals*, 52: 235–261.
- Dai, Q., Zhao, Y., Dong, F., Wang, B. and Huang, Y. 2014. Interaction between bentonite and *Bacillus litoralis* strain SWU9. *Applied Clay Science*, 100: 88–94.
- Galan, E. 1996. Properties and applications of palygorskite – sepiolite clays. *Clay Minerals*, 31: 443-453.
- Karlidag, H., Esitken, A., Turan, M. and Sahin, F. 2007. Effects of root inoculation of plantgrowth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient elements contents of leaves of apple. *Scientia Horticulturae*, 114: 16-20.
- Kittrick, J. A. and Hope, E. W. 1963. A procedure for the particle size separation of soils for X-ray diffraction analysis. *Soil Science*, 96: 312–325.
- Klute, A. 1986. *Methodes of Soils Analysis*. Part 1, Physical and mineralogical methods. Soil Science Society of America Book Series Number 5, Madison, WI.
- 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.
- Parmar, K. B., Mehta, B. P. and Kunt, M. D. 2016. Isolation, characterization and identification of potassium solubilizing bacteria from rhizosphere soil of maize (*Zea mays*). *International Journal of Science, Environment and Technology*, 5 (5): 3030–3037.
- Parmar, P. and Sindhu, S. S. 2013. Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. *Journal of Microbiology Research*, 3: 25-31.
- Ren, X., Li, F., Cai, Y., Li, Y., Jin, J., Li, X. and Chen, J. 2016. *Paenibacillus* sp. strain SB-6 induces weathering of Ca-montmorillonite: illitization and formation of calcite. *Geomicrobiology Journal*, 34 (1): 524-529.
- Richards, L. A. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Agriculture Handbook. No. 60. United States Department of Agriculture, Washington.
- Shirvani, M. and Nourbakhsh, f. 2010. Desferrioxamine-B adsorption to and iron dissolution from palygorskite and sepiolite. *Applied Clay Science*, 48: 393–397.
- Singer, A., 1989. Palygorskite and sepiolite group minerals. in: Dixon, J. B. & Weed, S. B. (eds.) *Minerals in Soil Environments*. Soil Science Society of America, Madison, WI, PP. 829–872.
- Singh, G., Biswas, D. R. and Marwah, T. S. 2010. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea Mays*) and wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 33: 1236-1251.
- Velde, B. 1992. *Introduction to Clay Minerals. Chemistry, Origins, Uses and Environmental Significance*. Chapman and Hall, New York, Melbourne, 198 pp.



16th Iranian Soil Science Congress

University of Zanjan, Iran, August 27-29, 2019



Topic for submission: Soil Biology and Biofertilizers

Effect of culture medium and time on solubility of sepiolite in presence of different strains of bacteria

Nejadasadi^{*1}, R., Esfandiarpour Boroujeni, I.², Hamidpour, M.², Abbaszadeh-dahaji, P.³, Hosseinifard, S. J.⁴

¹ PhD Student, Soil Science Department, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran

² Associate Prof., Soil Science Department, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran

³ Assistant Prof., Soil Science Department, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran

⁴ Assistant Prof., Pistachio Research Center, Rafsanjan, Iran

Abstract

The study of clay minerals is essential for notice of soil structure and investigating the processes that lead to soil formation. This research was carried out to dissolve elements from sepiolite mineral by rhizospheric bacteria. The experiment was done as factorial with completely randomized design. Treatments with four strains of bacteria include *P.seudomonas sp.* (D1), *Bacillus sp.* (K1), *Pseudomonas sp.* (k2) and *P.fluorescens* (A11) and the control (without inoculation) during two time periods (7 and 14 days). The results showed significant interaction effects of strains, culture medium and time on elements release from sepiolite. At both 7 and 14 days, a significant amount of Mg was released from sepiolite that was not affected by the type of culture medium (rich and poor) and time and the highest amount was dedicated to A11 and D1 strains (120 and 110 mg L⁻¹, respectively). The highest release of Si from sepiolite was related to the presence of K1 strains. Contrary to the release of a considerable amount of elements from sepiolite, the bacteria can not change the mineral structure within 14 days. It seems that more time is needed for the interaction of mineral and bacteria in order to change the structure of sepiolite.

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria, X-ray diffraction, Fibrous clay minerals, Weathering

* Corresponding author, Email: r_nejadasadi@yahoo.com