نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۶
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر سویه‌های باکتری *Bacillus cereus* بر جذب پتاسیم و آهن توسط یونجه (*Medicago sativa* L.) از بسترهای حاوی موسکویت و فلوگوپیت

محسن سلیمان‌زاده[۱]، حسین خادمی[۲] و *مژگان سپهری[۳]

[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استاد گروه علوم خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان، [۳]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۹٤/۷/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: ریزجانداران مفید خاک از عوامل بیولوژیک مهم جهت بهبود جذب عناصر غذایی ضروری توسط گیاه می‌باشند. ریزجانداران با مکانیسم‌های متعددی باعث آزادسازی عناصر غذایی از کانی‌های خاک می‌شوند. استفاده از باکتری‌های محرک رشدگیاه (PGPBs) جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار در دهه‌های اخیر افزایش چشمگیری یافته است. این پژوهش به‌منظور بررسی اثر دو سویه باکتری *Bacillus cereus* بر میزان جذب عناصر پتاسیم و آهن توسط یونجه از بسترهای حاوی کانی‌های میکایی (موسکویت و فلوگوپیت) انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح محلول غذایی (کامل، بدون آهن و پتاسیم، با آهن و بدون پتاسیم و بدون آهن و با پتاسیم)، نوع کانی‌های پتاسیم‌دار (فلوگوپیت و موسکویت) و سویه باکتری (PTCC 1247، PTCC 1665 و عدم تلقیح) بود. گیاهان مورد مطالعه در طی دوره رشد با چهار نوع محلول غذایی آبیاری شدند، ۱۵۰ روز پس از کاشت، گیاهان برداشت و غلظت پتاسیم و آهن اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب با دستگاه شعله‌سنج و جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که حضور سویه‌های باکتری باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان و همچنین افزایش جذب پتاسیم و آهن در بسترهای مورد مطالعه شد. بیش‌ترین مقدار جذب پتاسیم (۳۵۲/٦٦ میلی‌گرم در گلدان) شاخساره در گیاهان کشت شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت و موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی کامل و دارای پتاسیم و بدون آهن مشاهده گردید. بیش‌ترین مقدار جذب پتاسیم ریشه (۷۹/٤۳ میلی‌گرم در گلدان) در بستر حاوی فلوگوپیت تلقیح شده با سویه PTCC 1247 و تغذیه‌شده با محلول غذایی با پتاسیم و بدون آهن مشاهده شد. میزان جذب آهن در ریشه گیاهان به‌طور قابل‌توجهی بیش‌تر از اندام هوایی آن‌ها بود. غلظت آهن در ریشه گیاهان کشت‌شده در بستر فلوگوپیت بالاتر از موسکویت بود. تلقیح گیاه با سویه‌های باکتری موجب افزایش میزان جذب آهن در ریشه‌های تلقیح شده نسبت به انواع فاقد تلقیح شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان جذب آهن در گیاهان رشدیافته در بسترهای حاوی فلوگوپیت بیش‌تر از بسترهای حاوی مسکویت بود. مقدار جذب عناصر پتاسیم و آهن گیاهان کشت شده در بسترهای حاوی موسکویت با توجه به نوع تیمار محلول غذایی متغیر بود،

* مسئول مکاتبه: mosep1379@yahoo.com

بیش‌ترین مقدار جذب پتاسیم و آهن برای گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی مسکویت، در محلول غذایی کامل مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: حضور باکتری‌ها در ریزوسفر گیاهان می‌تواند باعث آزادسازی عناصر غذایی از کانی‌های خاک شده و در نتیجه موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود. همچنین استفاده بهینه از گونه‌های مفید باکتری می‌تواند باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی در شرایط گلخانه‌ای شود.

واژه‌های کلیدی: مسکویت، فلوگوپیت، پتاسیم، آهن، *Bacillus cereus*

مقدمه

پوشش گیاهی و میکروارگانیسم‌های مرتبط با آن شامل قارچ‌ها و باکتری‌ها باعث انحلال مواد معدنی و تغییر ویژگی‌های شیمیایی محلول خاک می‌شوند. این عمل عمدتاً در افق‌های بالایی خاک که حاوی مواد قابل تجزیه هستند و نیز در چند میلی‌متری اطراف ریشه (ریزوسفر) که فعالیت ریزجانداران به‌شدت توسط مواد آلی تولیدشده از ریشه تحریک می‌شود، اتفاق می‌افتد (۱۳). ریزوسفر به لایه نازکی (معمولاً ۱-۳ میلی‌متری) از خاک اطراف ریشه اطلاق می‌شود که موجودات زنده موجود در آن از نظر کیفی و کمی تحت‌تأثیر فعالیت‌های ریشه مانند تنفس و ترشحات ریشه‌ای قرار دارند (۸ و ۱۱). هوادیدگی مواد معدنی در محیط ریزوسفر بسیار سریع‌تر از محیط خاک اطراف می‌باشد (۱۳). این افزایش هوادیدگی در ناحیه ریزوسفر تحت‌تأثیر چند عامل مانند کاهش pH در اثر ترشحات ریشه، برداشت کاتیون‌های بازی توسط گیاه، دفع پروتون توسط ریشه، تنفس و همزیسی ریشه با قارچ‌ها و باکترهای همزیست و اجتماع باکتری‌های آزادزی باشد. نتایج مطالعات متعدد بیانگر آن است که هوادیدگی مواد معدنی توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها دارای تأثیر زیاد بر چرخه عناصر و تغذیه گیاه می‌باشد (۱٤ و ٤۲).

گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌های موجود در منطقه ریزوسفر ممکن است برای گیاه میزبان مفید، مضر و یا بی‌ضرر باشند (۸). باکتری‌های محرک رشد گیاه[1] (PGPB) به انواع باکتری‌های مفید موجود در ناحیه ریزوسفر اطلاق می‌شود که از طریق مکانیسم‌های مختلف موجب تحریک رشد گیاه می‌شوند (۱۰، ۱۷ و ٤۳). افزایش حلالیت و جذب عناصر غذایی معدنی، تثبیت نیتروژن، سرکوب عوامل بیماریزای خاک‌زی از طریق تولید سیانید هیدروژن، سیدروفور، آنتی‌بیوتیک و یا رقابت بر سر عناصر غذایی، افزایش میزان تحمل گیاه به تنش‌های محیطی مختلف (شوری، خشکی، فلزات سنگین و ...)، تولید هورمون‌های مختلف رشد مانند ایندول استیک اسید از جمله این مکانسیم‌ها می‌باشند. گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش قابل‌توجه رشد و عملکرد گیاهان زراعی در پاسخ به تلقیح باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه وجود دارد. تحریک رشد گیاه توسط باکتری‌های جنس *Flavobacterium*، *Azotobacter*، *Enterobacter*، *Bacillus*، *Arthrobace*، *Clostridium* و *Pseudomonas* گزارش شده است (۱۱). خان (۲۰۰۵) مشاهده کرد که تلقیح تعداد زیادی از باکتری‌های مذکور از جمله جنس‌های *Pseudomonas* و *Acinetobacter* با ریشه گیاهان زراعی موجب افزایش جذب آهن، روی، منیزیم، کلسیم، پتاسیم و فسفر می‌شود (۲۳). برخی از اثرات مثبت ناشی از برقراری رابطه همزیستی این باکتری‌ها با گیاه عبارتند

1- Plant Growth Promoting Bacteria

از: افزایش پارامترهای مختلف مانند سرعت جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه، سطح برگ، محتوای کلروفیل، جذب عناصر غذایی، میزان پروتئین، مقاومت به تنش‌های غیرزیستی، وزن ریشه و اندام هوایی و تأخیر در فرایند پیری (۱).

میکاها سیلیکات‌های لایه‌ای ۲:۱ هستند که در آن‌ها لایه اکتاهدارل بین دو لایه تتراهدرال قرار گرفته است. لایه‌های میکا به‌وسیله کاتیون‌ها به‌ویژه پتاسیم به یکدیگر متصل شده‌اند میکاهای اولیه دارای بار لایه‌ای یک مول به‌ازای واحد فرمول هستند ولی میکاهای ثانویه مانند ایلایت و گلوکونیت بار لایه‌ای ۰/٦ تا ۰/۸ مول به‌ازای واحد فرمولی دارند (٤۰). منشا میکاها در اغلب خاک‌ها از مواد مادری می‌باشد که با گذشت زمان به کانی‌های دیگر تبدیل می‌شوند. بنابراین در خاک‌های تکامل‌نیافته و جوان این کانی‌ها فراوان می‌باشند (۳۵). موسکویت و فلوگوپیت به‌ترتیب میکای دی و تری‌اکتاهدارل هستند. میکای‌های تری‌اکتاهدرال (فلوگوپیت و بیوتیت) که در ساختار لایه اکتاهدارل خود دارای آهن (II) هستند در مقایسه با میکاهای دی‌اکتاهدرال (موسکویت) که در لایه اکتاهدارل خود دارای Al^{3+} با سرعت بیش‌تری هوادیده می‌شوند. آهن (II) در نتیجه اکسایش به آهن (III) تبدیل می‌شود. ریزجانداران به‌طور غیرمستقیم بر روی واکنش‌های اکسیدی آهن (II) تأثیر می‌گذارند (۲۱ و ۳۷).

برخی از ریزجانداران در خاک وجود دارند که می‌توانند پتاسیم غیرقابل جذب را قابل استفاده نمایند. این ریزجانداران کانی‌هائی مثل میکاها از جمله ایلیت و ارتوکلازها را به‌وسیله تولید اسیدهای آلی و کلات کردن عناصر تخریب می‌کنند و باعث خارج شدن پتاسیم از بین لایه‌های این کانی‌ها می‌شوند (٦). میکروارگانیسم‌های حل‌کننده پتاسیم با تولید اسیدهای آلی مثل سیتریک، اگزالیک و تارتاریک باعث هوادیدگی کانی‌های پتاسیم‌دار می‌شوند (۳٤). به‌طورکلی میکروارگانیسم‌ها چند مکانیسم برای هوادیدگی مواد معدنی دارند که از جمله آزاد کردن اسیدهای آلی و لیگاندهای دیگرو اکسید و احیا کردن مواد معدنی می‌باشد. این باکتری‌های حل‌کننده پتاسیم[1] (KSB) با تولید اسیدهای آلی و یا کلات‌کردن سیلیسیم باعث آزادسازی سیلیس، پتاسیم و آلومینیوم از کانی‌های نامحلول پتاسیم‌دار مثل میکاها، ایلیت و ارتوکلازها می‌شوند (۹). بدر (۲۰۰٦) از باکتری *Bacillus cereus* به‌عنوان گونه حل‌کننده سیلیکات‌های معدنی استفاده کرد. این مطالعه به‌منظور ارزیابی تأثیر تلقیح باکتری با فلدسپار و کاه و کلش برنج به‌عنوان بیوفرتیلایزر برای آزادسازی پتاسیم برای بهبود رشد گوجه در مزرعه انجام شد. غلظت پتاسیم قابل دسترس آزادشده از فلدسپار در طول فرآیند کمپوست‌سازی افزایش یافت و بیش‌ترین افزایش غلظت پتاسیم وقتی بود که ٤۰ درصد فلدسپار اضافه شده بود. تلقیح باکتری با کمپوست باعث افزایش پتاسیم قابل دسترس نسبت به کمپوست بدون تلقیح با باکتری شد (٤). رشد و فعالیت *Bacillus cereus* باعث خارج شدن آهن از صفحه اکتاهدرال میکا از نمونه حاوی کائولین به‌میزان ٤۹ درصد و نمونه حاوی کوارتز به مقدار ۱۷ درصد بعد از سه ماه شد. تخریب میکا در نمونه‌های با کائولین زیاد (۸-۱۵ درصد میکا، ٦۰-۷۵ درصد کائولینیت و ٤-۷ درصد کوارتز) و کوارتز زیاد (۵-۱۰ درصد میکا، ۳-۸ درصد کائولینیت و ۸۰-۹۰ درصد کوارتز) با آنالیز با دستگاه تفرق اشعه ایکس (XRD) و همچنین دستگاه جذب اشعه مادون قرمز (IR)

1- Potassium Solubilizing Bacteria

مورد بررسی قرار گرفت و تصویر SEM در قبل و بعد از آزمایش تفاوت مورفولوژیکی در ناحیه مرزی میکا با سایر کانی‌ها را نشان داد (۳۸).

استفاده ار ریزجاندارن در کشاورزی برای کمک به بهبود جذب عناصر غذایی توسط گیاه ضروری و مهم می‌باشد. استفاده از باکتری‌های ریزوسفری ارتقاءدهنده رشد گیاه برای کشاورزی پایدار به‌طرز فوق‌العاده‌ای در نقاط مختلف جهان در طول دو دهه گذشته، افزایش یافته است. همچنین با توجه به فراوانی کانی‌های میکایی در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور (۲٤ و ۲۹) این پژوهش تأثیر سویه‌های باکتری باسیلوس سرئوس در محیط ریشه بر آزادسازی عناصر پتاسیم و آهن را از کانی‌های میکایی فلوگوپیت و مسکویت مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی تأثیر دو سویه باکتری *Bacillus cereus* PTCC 1247 و *Bacillus cereus* PTCC 1665 بر رهاسازی پتاسیم و آهن از کانی‌های فلوگوپیت و مسکویت در ریزوسفر گیاه یونجه آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار آزمایشی در گلخانه مرکز کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان به‌مدت پنج ماه انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح محلول غذایی کامل (۳٦) (جدول ۱)، بدون آهن و پتاسیم، با آهن و بدون پتاسیم و بدون آهن با پتاسیم)، کانی‌های پتاسیم‌دار در دو نوع کانی میکایی (فلوگوپیت، موسکویت) و دو سویه باکتری (*Bacillus cereus* PTCC 1247 و *Bacillus cereus* PTCC 1665) و شاهد بود.

جدول ۱- ترکیب محلول‌های غذایی مادر (۳٦).

Table 1. Composition of nutrient solutions stock.

شماره Number	نمک Salt	گرم در لیتر Gram/liter
1	1 M $Ca(NO_3)_2.4H_2O$	236.2
2	1 M $MgSO_4.7H_2O$	246.5
3	1 M KNO_3	101.1
4	1 M KH_2PO_4	136.2
5	0.05 M $Ca(H_2PO_4)$	3.15
6	FeEDDHA	16.66
7	Trace elements	-
	H_3BO_3	2.86
	$MnCL_2.4H_2O$	1.81
	$ZnSO_4.7H_2O$	0.22
	$CuSO_4.5H_2O$	0.08
	$H_2MoO_4.H_2O$	0.028

آزمایش در گلدان‌های ۷۰۰ گرمی حاوی مخلوط شن کوارتزی (به‌عنوان ماده پرکننده)، کوکوپیت (به‌عنوان ماده تامین‌کننده کربن و انرژی سویه‌های باکتری) و کانی‌های میکایی انجام شد. شن کوارتزی و کانی‌های میکایی از معادنی در همدان تهیه شد و به‌منظور بررسی امکان استفاده از آن‌ها، تجزیه عنصری

فلورسانس پرتو ایکس (XRF) (جدول ۲) بر روی آن‌ها انجام شد (۲۹). شن کوارتزی با توجه به ناچیز بودن پتاسیم و آهن موجود در آن به‌عنوان ماده پرکننده محیط کشت استفاده شد و جهت رفع هر گونه آلودگی احتمالی در آن، توسط آب شهر و اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال شستشو، طی چند مرتبه با آب مقطر استریل شسته و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت در آون خشک شد. کانی‌های مورد مطالعه از الک ١٤٠ مش عبور داده شدند و از ذرات کوچک‌تر از ۰/۱ آن‌ها برای انجام آزمایش استفاده شد. جهت حذف پتاسیم تبادلی، سطوح تبادلی کانی با کلسیم و با استفاده از محلول کلریدکلسیم ۰/۵ نرمال اشباع شد (٢٤ و ٢٩). بدین‌صورت که محلول کلریدکلسیم ابتدا طی سه ساعت و سپس ده ساعت در تعادل با نمونه‌ها قرار گرفت و در پایان برای خارج کردن کلر اضافی از نمونه‌ها، آب مقطر اضافه شد و نمونه‌ها هر بار به‌مدت ده دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و این کار تا خارج شدن کلر ادامه یافت و در نهایت نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

جهت بهسازی محیط کشت و تأمین کربن مورد نیاز باکتری‌ها از کوکوپیت به‌عنوان ماده آلی استفاده شد. کوکوپیت ابتدا با آب شهر شسته، سپس با کلرورآمونیوم یک نرمال به‌مدت ٢٤ ساعت اشباع و بعد با آب مقطر شسته شد. کوکوپیت پس از خشک شدن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢٤ ساعت در آون، آسیاب و از الک ٦٠ مش عبور داد شد و به‌میزان پنج درصد به گلدان‌ها اضافه گردید (٢٤).

سویه‌های باکتری *Bacillus cereus* PTCC 1247 و *Bacillus cereus* PTCC 1665 به‌صورت آمپول‌های فریزشده (لیوفیلیزه) از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی تهران تهیه گردید (۲۲). سپس در شرایط استریل، محیط کشت مایع معدنی (۰/۵ گرم بر لیتر سدیم دی‌هیدروژن فسفات، ۰/۵ گرم بر لیتر منیزیم سولفات هفت آبه ۱ گرم بر لیتر آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم بر لیتر سدیم کلراید و ۲۰ گرم بر لیتر گلوکز در پ‌هاش ۷) مربوط به هر باکتری مطابق دستورالعمل‌های موجود تهیه شد (۳۷، ۳۸ و ٤١) و باکتری‌ها به محیط کشت تهیه شده اضافه گردید و پس از مخلوط شدن کامل با محیط کشت، به لوله‌های بزرگ ۲۰ میلی‌لیتری منتقل شدند. نمونه‌ها درون انکوباتور تکان‌دهنده و در شرایط بدون نور و در دمای مناسب نگهداری شدند تا تعداد سلول باکتری در هر میلی‌لیتر محیط کشت مایع به اندازه کافی (سلول‌های باکتری به مقدار $۱۰^{۹}$–$۱۰^{۷}$ در هر میلی‌لیتر) افزایش یابد، شمارش تعداد سلول‌های باکتری توسط لام نئوبار صورت گرفت (۵). همچنین از قطرات آخر تعلیق باکتری با محیط کشت مایع برای انتقال به پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت جامد استریل (محیط کشت مایع تهیه شده به اضافه ۱۵ گرم در لیتر آگار) استفاده شد. پس از رشد باکتری‌ها، مایه تلقیح باکتریایی با تعداد $۱۰^{۹}$–$۱۰^{۷}$ باکتری در یک میلی‌لیتر مایه تلقیح تهیه شد و مقدار یک میلی‌لیتر از آن به تقریباً هر دو گرم کانی اضافه گردید (۳۷، ۳۸ و ۳۹).

مقدار کانی اضافه شده به هر گلدان به‌گونه‌ای بود که حدود ۰/۳۵ درصد K_2O را تأمین نماید (٢٤ و ٢٩). بذرهای گیاه یونجه رقم رهنانی چندساله پس از ضدعفونی شدن با محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم به تعداد دو عدد در هر گلدان کاشته و سپس با مایه تلقیح مربوط به گلدان‌ها اضافه شد.

آبیاری گلدان‌ها در طول دوره کشت با استفاده از آب مقطر انجام شد و از محلول غذایی در چهار نوع

(کامل، بدون آهن و پتاسیم، با آهن و بدون پتاسیم و بدون آهن با پتاسیم) برای تغذیه گیاهان استفاده شد (۳۶). پس از اتمام دوره کشت (۱۵۰ روز)، بستر کشت همراه با گیاه از گلدان خارج و اندام هوایی و ریشه گیاهان از یکدیگر تفکیک شدند. پس از خشک کردن ریشه و اندام هوایی به‌وسیله هضم خشک از نمونه‌ها عصاره تهیه شد و مقدار پتاسیم و آهن نمونه‌ها به‌ترتیب با دستگاه شعله‌سنج و جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۲۵).

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها برای وزن خشک و جذب پتاسیم و آهن برای ریشه و شاخساره گیاهان در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲- تجزیه عنصری کانی‌های میکایی مورد استفاده در آزمایش با استفاده از فلورسانس پرتو ایکس (بر حسب درصد) (۲۹).

Table 2. Elemental analysis of micaceous minerals used in the experiment using XRF (%).

Total	LOI*	TiO_2	P_2O_5	MnO	Fe_2O_3	CaO	K_2O	SiO_2	Al_2O_3	MgO	Na_2O	گونه کانی
99.54	4.5	0.06	0.03	0.06	1.77	0.17	9.98	48.34	33.99	0.08	0.64	موسکویت
99.63	0.9	0.56	0.037	0.11	4.21	4.12	9.29	42.24	14.6	22.54	0.45	فلوگوپیت

*LOI: کاهش وزن در دمای بالا.

LOI: Loss on Ignition.

جدول ۳- تجزیه واریانس بر پایه میانگین مربعات وزن خشک، جذب پتاسیم و آهن.

Table 3. Analysis of variance based on mean squares of dry weight, potassium and iron uptake.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک Dry weight		جذب پتاسیم Uptake potassium		جذب آهن Uptake iron	
		ریشه Root	اندام هوایی Shoot	ریشه Root	اندام هوایی Shoot	ریشه Root	اندام هوایی Shoot
کانی Mineral	1	85.64**	124.64**	4239.44**	144166.55**	42.64**	1.33**
محلول غذایی Nutrient solution	3	70.09**	111.43**	9326.21**	292434.50**	6.12**	0.91**
باکتری Bacteria	2	10.49**	19.21**	1615.25**	7075.26**	4.35**	0.16**
کانی× محلول غذایی Mineral × Nutrient solution	3	22.87**	21.29**	185.34*	19536.40**	1.97**	0.14**
کانی × باکتری Mineral × Bacteria	2	0.47	8.86*	19.71	958.94	1.48**	0.039
محلول غذایی × باکتری Nutrient solution × Bacteria	6	0.55	1.12	383.62**	1133.21	1.81**	0.052
کانی × نوع محلول × باکتری Mineral × Nutrient solution × Bacteria	6	0.53	0.82	46.19	1003.71	0.88**	0.085*
خطا Error	48	0.44	2.55	63.26	801.18	0.13	0.032

* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد.

* and ** Significant at 5% and 1%, respectively.

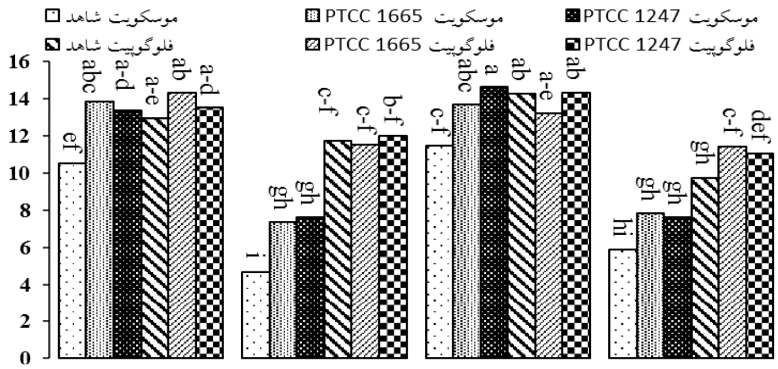
وزن خشک ریشه و اندام هوایی: طبق نمودار مربوط به وزن خشک شاخساره گیاهان (شکل ۱- الف) بیش‌ترین وزن خشک شاخساره (۱٤/٦٤ گرم در گلدان) در بسترهای حاوی موسکویت تلقیح‌شده با سویه PTCC 1247 و تغذیه شده با محلول غذایی با پتاسیم و بدون آهن مشاهده گردید. کم‌ترین وزن خشک‌های شاخساره در بسترهای حاوی موسکویت فاقد تلقیح با سویه‌های باکتری و تغذیه‌شده با محلول‌های غذایی بدون پتاسیم و آهن و نیز بدون پتاسیم اما دارای آهن مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در هر دو بستر کشت فلوگوپیت و موسکویت تلقیح‌شده و بدون تلقیح با سویه‌های باکتری، وزن خشک شاخساره گیاهان تغذیه‌شده با محلول‌های غذایی دارای پتاسیم و فاقد آهن و همچنین محلول غذایی کامل بیش‌تر از گیاهان تغذیه‌شده با دو محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم و دارای آهن بود. وزن خشک شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی موسکویت تلقیح‌شده با هر دو سویه باکتری و تغذیه‌شده با هر چهار محلول غذایی بیش‌تر از بسترهای بدون تلقیح گزارش شد. وزن خشک شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت تلقیح‌شده با سویه‌های باکتری و تغذیه‌شده با محلول غذایی کامل و محلول غذایی بدون پتاسیم و دارای آهن بیش‌تر از بسترهای بدون تلقیح با سویه‌های باکتری بود. اما وزن خشک شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با سویه‌های باکتری و تغذیه‌شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن و محلول غذایی دارای پتاسیم ولی فاقد آهن تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند.

همان‌گونه که در شکل ۱- ب نشان داده شده است، بیش‌ترین وزن خشک ریشه گیاهان کشت‌شده در بسترهای کشت حاوی فلوگوپیت و موسکویت تلقیح‌شده و فاقد تلقیح با سویه‌های باکتری، مربوط به دو تیمار محلول غذایی کامل و با پتاسیم و بدون آهن مشاهده گردید. کم‌ترین وزن خشک ریشه مربوط به گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با محلول های غذایی بدون پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم ولی دارای آهن گزارش شد. وزن خشک ریشه گیاهان کشت شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت تلقیح‌شده با دو سویه باکتری و تغذیه‌شده با هر چهار نوع محلول‌های غذایی بیش‌تر از بسترهای بدون تلقیح با سویه‌های باکتری مشاهده شد. همچنین وزن خشک گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی موسکویت تلقیح‌شده با سویه‌های باکتری و تغذیه‌شده با محلول غذایی کامل و محلول حاوی پتاسیم و بدون آهن بیش‌تر از بسترهای بدون تلقیح بود. اما بین گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی موسکویت و تلقیح‌شده با دو سویه باکتری و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی فاقد پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم و دارای آهن، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

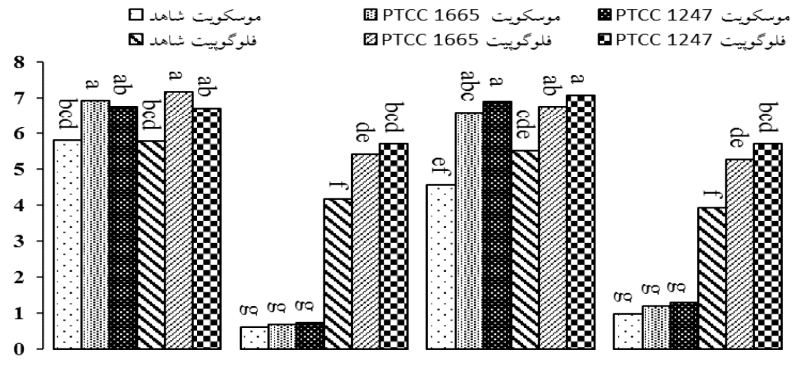
به‌طورکلی گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت و موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی پتاسیم‌دار (کامل - دارای پتاسیم و فاقد آهن) دارای رشد قابل‌قبولی بودند و مقدار وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان تغذیه شده با محلول‌های غذایی مذکور بیش‌تر از سایر تیمارها بود. همچنین گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی بدون پتاسیم (بدون پتاسیم و آهن - بدون پتاسیم و با آهن) رشد خوبی از خود نشان دادند و وزن خشک شاخساره و ریشه بالایی داشتند. چنین می‌توان بیان نمود که گیاهان کشت‌شده در بسترهای دارای فلوگوپیت و تغذیه‌شده با چهار نوع محلول غذایی در طول فصل رشد به مقدار کافی پتاسیم دریافت کرده بودند و به همین دلیل در طول فصل رشد، علائم کمبود نشان ندادند. اما گیاهان کشت‌شده در بسترهای دارای موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم و با آهن با افزایش دوره کشت، علائم کمبود نشان دادند (۲۵). گیاهان مبتلا به کمبود پتاسیم معمولاً از

طراوت و شادابی کم‌تری برخوردار هستند و در شرایط کم‌آبی به راحتی پژمرده می‌شوند. بنابراین مقاومت به خشکی و شوری در آن‌ها پایین و حساسیت به آسیب سرما، بیماری‌ها و آفات نیز در آن‌ها بیش‌تر است (۱۶).

به‌طورکلی نتایج نشان داد که در اکثر تیمارها، تلقیح گیاه با سویه‌های باکتری باعث افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه در طول دوره کشت گیاه نسبت به شرایط فاقد تلقیح شدند. باکتری‌ها می‌توانند با تولید مواد محرک رشد باعث افزایش رشد شاخساره و ریشه گیاه شوند. گزارش‌های متعدد بیانگر تولید هورمون‌های رشد مختلف توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه است که ایندول استیک اسید از مهم‌ترین آن‌ها در توسعه ریشه گیاه می‌باشد (۲). آرجو و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که اکسین تولیدشده توسط جدایه‌های باکتری *Bacillus subtilis* باعث افزایش رشد سویا می‌شود (۳). دردی‌پور و همکاران (۱۳۸۹) با مطالعه بر روی تأثیر باکتری‌های *Azospirillum lipoferum* و *Azotobacter chrococoum* بر قابلیت جذب پتاسیم به‌وسیله گیاه سویا نشان دادند که تلقیح خاک با باکتری‌های مذکور سبب افزایش وزن خشک و میزان جذب پتاسیم توسط گیاه در مقایسه با تیمار بدون باکتری شد (۱۶).



(الف)



(ب)

شکل ۱- میانگین وزن خشک شاخساره (الف) و ریشه (ب) در بسترهای کشت حاوی موسکویت و فلوگوپیت تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی و دو سویه باکتری. میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

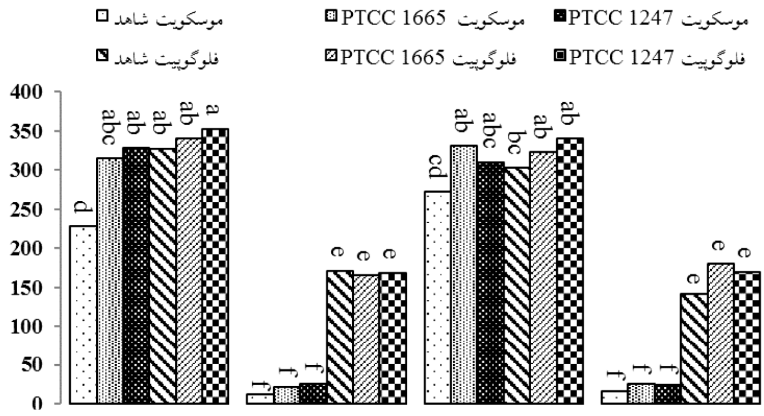
Figure 1. Mean of shoot (a) and root (b) dry weight in media containing phlogopite and muscovite, affected by four nutrient solutions and two strains of bacteria. Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

جذب پتاسیم اندام هوایی و ریشه: میانگین جذب پتاسیم شاخساره یونجه در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگویت و موسکویت تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی در شکل ۲- الف نشان داده شده است. بیش‌ترین مقدار جذب پتاسیم شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای فلوگوپیت و موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی کامل دارای پتاسیم و بدون آهن مشاهده گردید. کم‌ترین مقدار جذب پتاسیم شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی مسکویت و تغذیه‌شده با محلول‌های غذایی بدون پتاسیم و آهن و نیز بدون پتاسیم و با آهن مشاهده گردید. حضور سویه‌های باکتری در بسترهای کشت حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با محلول‌های غذایی پتاسیم‌دار (کامل و با پتاسیم و بدون آهن) موجب افزایش جذب پتاسیم شاخساره نسبت به بسترهای بدون تلقیح شد. اما اثر افزایشی سویه‌های باکتری بر میزان جذب پتاسیم شاخساره در بسترهای حاوی فلوگوپیت در گیاهان تغذیه‌شده با دو محلول غذایی با پتاسیم و بدون آهن و بدون پتاسیم و با آهن مشاهد گردید. شایان ذکر است که بین دو سویه باکتری مورد مطالعه از لحاظ مقدار جذب پتاسیم تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد.

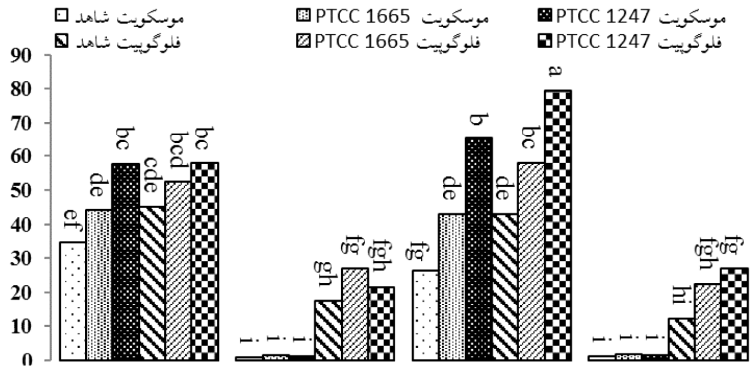
میانگین جذب پتاسیم ریشه در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگویت و موسکویت تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی در شکل ۲- ب نشان داده شده است. بیش‌ترین مقدار جذب پتاسیم ریشه (۷۹/۴۳ میلی‌گرم در گلدان) در بستر حاوی فلوگوپیت تلقیح‌شده با سویه PTCC 1247 و تغذیه شده با محلول غذایی با پتاسیم و بدون آهن مشاهده شد. کم‌ترین مقدار جذب پتاسیم ریشه در بسترهای حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی بدون پتاسیم (بدون پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم و با آهن) مشاهده گردید. حضور سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی پتاسیم‌دار (کامل و با پتاسیم و بدون آهن) باعث افزایش جذب معنی‌دار پتاسیم ریشه نسبت به بسترهای بدون تلقیح‌شده است و سویه PTCC 1247 نسبت به سویه PTCC 1665 باعث افزایش بیش‌تر مقدار پتاسیم ریشه شد. اما اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار پتاسیم ریشه بین بسترهای مسکویت تلقیح‌شده و بدون تلقیح با باکتری و تغذیه‌شده با محلول‌های محلول غذایی بدون پتاسیم (بدون پتاسیم و آهن و بدون پتاسیم و با آهن) مشاهده نشد. حضور سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگوپیت و تغذیه شده با هر چهار تیمار محلول غذایی باعث افزایش جذب پتاسیم ریشه نسبت به بسترهای بدون تلقیح شد و در تمام تیمارهای محلول غذایی به‌جز تیمار بدون پتاسیم و آهن، سویه PTCC 1247 نسبت به سویه PTCC 1665 از اثربخشی بیش‌تری بر جذب پتاسیم ریشه برخوردار بود.

جذب بیش‌تر پتاسیم توسط گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت نسبت به موسکویت به ساختار ضعیف کانی فلوگوپیت مربوط می‌گردد، بدین‌صورت که این کانی به سرعت در محیط ریشه هوادیده می‌شود و پتاسیم بین‌لایه‌ای خود را در اختیار گیاه قرار می‌دهد. نوروزی و خادمی (۲۰۱۰) در مطالعه خود نشان دادند که گیاه یونجه پس از ۹۰ روز

کشت، توانایی بالایی در جذب پتاسیم بین‌لایه‌ای کانی‌های فلوگوپیت و بیوتیت دارد، در حالی‌که کانی موسکویت پتاسیم کمی در اختیار گیاه قرار می‌دهد (۲۹). همچنین خیامیم و همکاران (۱۳۸۸) توانایی کانی فلوگوپیت را در تأمین پتاسیم مورد نیاز گیاه جو را نشان دادند (۲٤). نتایج مطالعات متعدد بیانگر آن است که فرایند آزادسازی پتاسیم از مکان‌های غیرتبادلی و یا ساختمانی کانی‌های خاک می‌تواند نقش مؤثری در میزان جذب پتاسیم جذب توسط گیاه داشته باشد (۳۳). هینسینجر و همکاران (۱۹۹۳) با کاشت گیاه کلزا در بستر حاوی فلوگوپیت به‌عنوان منبع تأمین‌کننده پتاسیم و منیزیم دریافتند که میزان جذب این عناصر توسط گیاه افزایش یافته است (۲۰). افزایش جذب پتاسیم شاخساره در بسترهای تلقیح‌شده با سویه‌های باکتری را می‌توان به مواد تولیدشده توسط این باکتری‌ها نسبت داد که باعث تحریک رشد بیش‌تر شاخساره و ریشه گیاهان می‌شوند. اکثر باکتری‌های جنس باسیلوس جزء باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه می‌باشند و این باکتری‌ها از طریق ترشح مواد محرک رشد در محیط ریشه باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند. همچنین وجود میکروارگانیسم‌ها در ناحیه ریشه با تولید و ترشح مواد مختلف باعث افزایش جذب و حلالیت پتاسیم برای گیاه می‌شود (۳۲). خان (۲۰۰۵) مشاهده کرد که تلقیح ریشه گیاهان زراعی با تعداد زیادی از باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله جنس‌های *Pseudomonas* و *Acinetobacter* موجب افزایش جذب عناصر آهن، روی، منیزیم، کلسیم، پتاسیم و فسفر توسط گیاه شد (۲۳). هی و شنگ (۲۰۰٦) بهبود جذب پتاسیم توسط گندم تلقیح‌شده با باکتری *Bacillus edaphicus* و چهار گونه جهش‌یافته این باکتری در بستر کشت حاوی کانی‌های ایلیت و ارتوکلاز راگزارش نمودند. آن‌ها چنین بیان داشتند که باکتری‌های مورد مطالعه با تولید اسیدهای آلی (اگزالیک، تارتاریک، سیتریکوآلفاکتوگلوکونیک) و ایجاد کلات با عناصر فلزی باعث آزادشدن پتاسیم از کانی‌های پتاسیم‌دار می‌شود (۳۱). هان و لی (۲۰۰۵) افزایش جذب پتاسیم و فسفر توسط گیاه در خاک محتوی سنگ فسفات و کانی‌های پتاسیم‌دار و تلقیح‌شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفر (*Bacillus mucilaginosus*) و پتاسیم (*Bacillus megaterium*) را گزارش کردند (۱۹). به‌طورکلی جذب بیش‌تر پتاسیم توسط ریشه در بسترهای تلقیح‌شده با باکتری‌ها را می‌توان به تأثیر آن‌ها بر افزایش رشد ریشه گیاهان و در نتیجه افزایش سطح ریشه جهت بهبود جذب پتاسیم توسط ریشه گیاه مربوط دانست. کاسمن و همکاران (۱۹۹۵) با مطالعه بر روی برنج به این نتیجه رسیدند که این گیاه بیش‌تر نیاز پتاسیمی خود را از طریق پتاسیم غیرتبادلی تأمین می‌نماید و دلیل آن را تراکم بالای ریشه برنج و غلظت کم پتاسیم در محلول خاک بیان کردند (۱۸).



(الف)



(ب)

شکل ۲- میانگین جذب پتاسیم شاخساره (الف) و ریشه (ریشه) در بسترهای حاوی فلوگوپیت و موسکویت، تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی و دو سویه باکتری. میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Figure 2. Mean of shoot (a) and root (b) potassium uptake in media containing phlogopite and muscovite, affected by four nutrient solutions treatments and two strains of bacteria. Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

جذب آهن اندام هوایی و ریشه: میانگین جذب آهن شاخساره گیاه یونجه در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگویت و موسکویت تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی در شکل ۳- ب نشان داده شده است. بیش‌ترین مقدار جذب آهن شاخساره (۱/۳۱ میلی‌گرم در گلدان) در بسترهای حاوی موسکویت تلقیح‌شده با سویه PTCC 1247 و فلوگوپیت تلقیح‌شده با سویه PTCC 1665 و تغذیه‌شده با محلول غذایی کامل مشاهده گردید. کم‌ترین مقدار جذب آهن شاخساره (۰/۳۶ میلی‌گرم در گلدان) در بستر حاوی موسکویت تلقیح‌نشده با سویه‌های باکتری و تغذیه‌شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن مشاهده شد. حضور سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگوپیت

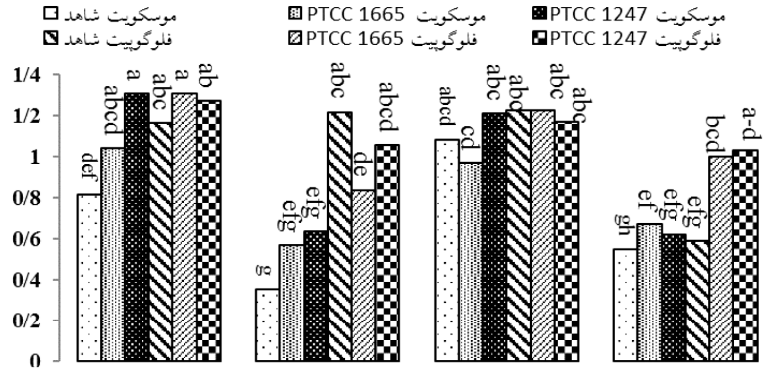
تغذیه‌شده با دو محلول غذایی کامل و بدون پتاسیم و با آهن باعث افزایش جذب آهن شاخساره نسبت به بسترهای بدون تلقیح گردید. بیش‌ترین مقدار جذب آهن شاخساره در بستر حاوی فلوگوپیت تغذیه‌شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن و فاقد تلقیح باکتری مشاهده شد. حضور سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با تمام تیمارهای محلول غذایی به‌جزء تیمار غذایی دارای پتاسیم و بدون آهن باعث افزایش جذب آهن شاخساره نسبت به بسترهای بدون تلقیح شد. تأثیر سویه PTCC 1247 بر افزایش جذب آهن گیاهان کشت‌شده در بسترهای موسکویت تغذیه‌شده با تمام تیمارهای محلول غذایی به‌جزء محلول غذایی بدون پتاسیم و دارای آهن بیش‌تر از سویه PTCC 1665 گزارش گردید.

میانگین جذب آهن ریشه یونجه در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگویت و موسکویت تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی در شکل ۳- ب نشان داده شده است. بیش‌ترین مقدار جذب آهن ریشه در گیاهان کشت‌شده در بستر حاوی فلوگوپیت تلقیح‌شده با سویه PTCC 1665 و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی آهن‌دار (کامل و بدون پتاسیم و با آهن) مشاهده شد. کم‌ترین مقدار جذب آهن در بسترهای حاوی موسکویت و تغذیه‌شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن مشاهده شد. نتایج نشان داد که حضور سویه‌های باکتری در بسترهای حاوی فلوگوپیت و تغذیه‌شده با تمام تیمارهای محلول غذایی به‌جزء تیمار تغذیه‌ای فاقد پتاسیم و دارای آهن باعث افزایش جذب آهن ریشه نسبت به بسترهای بدون تلقیح‌شده است. همان‌طور که در شکل ۳- ب مشاهده می‌شود در دو تیمار تغذیه‌ای کامل و بدون پتاسیم و دارای آهن و بسترهای حاوی فلوگوپیت تأثیر سویه PTCC 1665 بر جذب آهن ریشه بیش‌تر از سویه PTCC 1247 بود. اما تأثیر سویه PTCC 1247 بر مقدار آهن ریشه در بسترهای حاوی فلوگوپیت و تغذیه‌شده با دو محلول غذایی بدون پتاسیم و آهن و با پتاسیم و بدون آهن بیش‌تر از سویه PTCC 1665 گزارش شد.

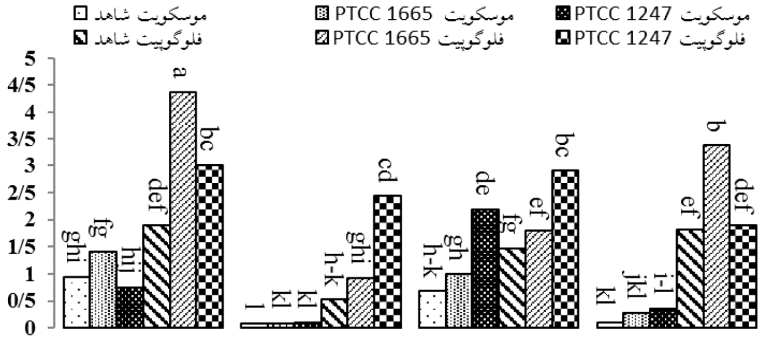
جذب بیش‌تر آهن شاخساره گیاهان کشت‌شده در بسترهای تلقیح شده با سویه‌های باکتری را می‌توان به تولید شاخساره بیش‌تر در گیاهان تلقیح‌شده در نتیجه تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد گیاه توسط سویه‌های باکتری نسبت داد. باکتری‌ها محرک رشد گیاه علاوه بر تولید هورمون‌های رشد، از طریق تولید اسیدهای آلی و کاهش pH ریزوسفر و نیز تولید مواد کلات‌کننده باعث افزایش جذب آهن در این ناحیه می‌شوند. نتایج پژوهش‌های متعدد بیانگر آن است که تولید عوامل کلات‌کننده توسط باکترهای محرک رشد گیاه به تحرک و انتقال عناصری مانند Fe^{3+} و Al^{3+} که حلالیت کمی دارند کمک می‌کند و در نتیجه باعث افزایش حلالیت کانی‌های حاوی این عناصر می‌گردد (۱۲). تعداد زیادی از ریزجاندارهای هوازی با تولید سیدروفور باعث رها شدن عناصر غذایی ضروری از کانی‌های حاوی این عناصر و افزایش قابلیت جذب آن‌ها توسط گیاه می‌شوند. دوانگ (۲۰۱۰) گزارش داد که سیدرفور تولیدشده توسط باکتری *Pseudomonas mendocina* باعث خارج شدن آهن از کانی‌های گئوتیت، هماتیت، فری‌هیدرایت و کائولینیت می‌شود (۱۵). نتایج پژوهش‌های شنگ (۲۰۰۵) نشان داد که تلقیح باکتری *Bacillus edaphicus* به گیاهان پنبه و کلزا در

شرایط گلخانه‌ای موجب افزایش وزن خشک ریشه هر دو گیاه به‌میزان ۱۹ درصد شد اما تلقیح باکتری وزن خشک اندام هوایی این گیاهان را به‌ترتیب به‌میزان ٢٤ و ٢١ درصد نسبت به گیاهان شاهد فاقد تلقیح باکتری افزایش داد. همچنین تلقیح باکتری مزبور باعث شد تا غلظت پتاسیم در پنبه حدود ٣٤-٣١ درصد و در کلزا ٣١-٢٨ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یابد. تلقیح باکتری همچنین موجب افزایش غلظت نیتروژن و فسفر در گیاهان مذکور شد. جذب بیش‌تر عناصر غذایی به‌وسیله گیاهان تلقیح‌شده با باکتری را می‌توان به توسعه رشد ریشه در اثر تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (اکسین) در منطقه ریزوسفر گیاه توسط باکتری و در نتیجه جذب بهتر آب و عناصر غذایی از خاک نسبت داده می‌شود (۳۰).

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، مقدار جذب آهن در ریشه چندین برابر مقدار جذب آهن در شاخساره گیاه است. افزایش غلظت آهن ریشه در بسترهای دارای فلوگوپیت تلقیح‌شده با سویه‌های باکتری در هر چهار تیمار محلول غذایی بیش‌تر از بقیه بسترها بود. غلظت بالای آهن در ریشه گیاه تحت‌تأثیر تولید موادی مانند اسیدهای آلی توسط ریشه و سیدروفور تولیدی سویه‌های باکتری قرار دارد. ترکیبات مذکور پس از ایجاد کلات با آهن (III) در منطقه ریزوسفر گیاه و ورود این کلات‌ها به منطقه آپوپلاست ریشه، فلز آهن تحت‌تأثیر واکنش‌هایی از کلات جدا و وارد آوند چوبی می‌شود. اسیدهای آلی و سیدروفور موجود درمحیط ریشه برای جذب آهن با یکدیگر رقابت می‌کنند و در این رقابت سیدروفور نسبت به اسیدهای آلی از قدرت بیش‌تری در نگهداری آهن برخوردار است. سیدروفورها در فضای آپوپلاست آهن را به راحتی در اختیار گیاه قرار نمی‌دهد و باعث تجمع آهن در ریشه گیاه می‌شود، اما گذشت زمان موجب انتقال مقداری از آهن تجمع یافته در ریشه به اندام هوایی گیاه می‌شود (۷، ۲۷ و ٤٤). فراونی جذب آهن در ریشه گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی فلوگوپیت و تلقیح‌شده با باکتری‌های مورد مطالعه در تیمارهای تغذیه‌ای بدون آهن و آهن‌دار دلیلی است بر این موضوع که ترکیبات سیدروفوری تولیدشده توسط سویه‌های باکتری با تجمع در ریشه گیاهان موجب کاهش انتقال آهن به شاخساره شده‌اند. ماسالا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش دادند که مقدار جذب آهن در گیاهان کشت‌شده در خاک غیراستریل بیش‌تر از گیاهان کشت‌شده در شرایط استریل می‌باشد (۲۸).



(الف)



(ب)

شکل ۳- میانگین جذب آهن شاخساره (الف) و ریشه (ریشه) در بسترهای حاوی فلوگوپیت و موسکویت، تحت‌تأثیر چهار تیمار محلول غذایی و دو سویه باکتری. میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Figure 3. Mean of shoot (a) and root (b) iron uptake in media containing phlogopite and muscovite, affected by four nutrient solutions treatments and two strains of bacteria. Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

نتیجه‌گیری

حضور سویه‌های باکتری *Bacillus cereus* در ریزوسفر گیاه یونجه باعث افزایش رشد و جذب آهن و پتاسیم توسط گیاه یونجه می‌شود. میزان آهن جذب‌شده در گیاهان تلقیح‌یافته با سویه‌های باکتری بیش‌تر از میزان این عنصر در قسمت هوایی این گیاهان گزارش شد. مقدار جذب آهن و پتاسیم در بسترهای کشت حاوی فلوگوپیت در تمام تیمارهای محلول غذایی نسبتاً زیاد بود، اما مقدار جذب عناصر پتاسیم و آهن گیاهان کشت‌شده در بسترهای حاوی موسکویت بسته به نوع تیمار محلول غذایی متغیر بود، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار جذب این عناصر در تیمار محلول غذایی کامل مشاهده گردید. باتوجه به فراوانی کانی‌های میکایی در خاک‌های کشور می‌توان از باکتری‌های ارتقاء دهنده رشد گیاه برای فراهمی عناصر غذایی به‌خصوص آهن و پتاسیم برای محصولات کشاورزی استفاده کرد. نیاز است منابع این کانی‌ها در خاک‌ها به‌طور دقیق مشخص شده و در جهت تلقیح با سویه‌های مختلف ریزجانداران ارتقاءدهنده رشد گیاه برای استفاده به‌عنوان کود زیستی برای بهتر شدن رشد گیاهان استفاده شود.

منابع

1.Adesemoye, A.O., and Kloeppe, J.W. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85: 1-12.

2.Aloni, R., Aloni, E., Langhans, M., and Ulrich, C.I. 2006. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. Ann. Bot. 97: 883-893.

3.Araujo, F.F., Henning, A.A., and Hungria, M. 2005. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. World J. Microb. Biot. 21: 1639-1645.

4.Badr, M. 2006. Efficiency of K-feldspar combined with organic materials and silicate-dissolving bacteria on tomato yield. J. Appl. Sci. Res. 2: 1191-1198.

5.Barbedo, J.G.A. 2013. Automatic object counting in neubauer chambers. In *Embrapa* Informática Agropecuária-Artigo em anais de congresso (ALICE), SIMPÓSIO BRASILEIRO DE TELECOMUNICAÇÕES.

6.Barker, W.W.S., Welch, A., and Banfield, J.F. 1997. Biogeochemical weathering of silicate minerals. Rev. Mine. Geochem. 35: 391-428.

7.Bar-Ness, E., Hadar, Y., Chen, Y., Romheld, V., and Marschner, H. 1992. Short-term effects of rhizosphere microorganisms on Fe uptake from microbial siderophores by maize and oat. Plant Physiol. 100: 451-456.

8.Benizri, E., Baudoin, E., and Guckert, A. 2001. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. Biocontrol. Sci. Technol. 11: 557-574.

9.Bennett, P., Choi, W., and Rogera, J. 1998. Microbial destruction of feldspars. Mineral. Manag. 8: 149-150.

10.Boer, S.D., and Copeman, R. 1974. Endophytic bacterial flora in *Solanum tuberosum* and its significance in bacterial ring rot diagnosis. Can. J. Plant Sci. 54: 115-122.

11.Bowen, G., and Rovira, A. 1999. Therhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66: 1-102.

12.Buffle, J., and Chalmers, R.A. 1988. Complexation reactions in aquatic systems: an Analytical Approach. Ellis Horwood, Chichester, U.K. Pp: 199-200, 216-258 and 296-299.

13.Calvaruso, C., Mareschal, L., Turpault, M.P., and Leclerc, E. 2009. Rapid clay weathering in the rhizosphere of Norwayspruce and oak in an acid forest ecosystem. Soil Sci. Soc. Am. J. 73: 331-338.

14.Calvaruso, C., Turpault, M.P., and Frey-Klett, P. 2006. Root-associated bacteria contribute to mineral weathering and to mineral nutrition in trees: a budgeting analysis. Appl. Environ. Microbiol. 72: 1258-1266.

15.Dong, H. 2010. Mineral-microbe interactions: a review. Front. Earth Sci., China. 4: 127-147.

16.Dordipour, E., Farshadirad, A., and Arzanesh, M.H. 2010. Influence of Azospirillum lipoferum and Azotobacterchrococoum on the release of soil potassium in pot culture of soybean (Glycine max var. Williams). J. Agroecol. 2: 4. 593-599. (In Persian)

17.Figueiredo, M.D.V.B., Seldin, L., De Araujo, F.F., and Mariano, R.D.L.R. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. P 21-43, In: D.K. Maheshwari (Ed.), Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Springer, Berlin.

18.Gassman, K. 1995. The influence of moisture regime, organic matter and root-eco-physiology on the availability and acquisition of potassium: implications for tropical lowland rice. Proceedings of the Institute on Potassium in Asis. IPI Basel, Pp: 135-156.

19.Han, H., and Lee, K. 2005. Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant. Res. J. Agric. Biol. Sci. 1: 176-180.

20.Hinsinger, P., Elsass, F., Jaillard, B., and Robert, M. 1993. Rootinduced irreversible transformation of a trioctahedral mica in the rhizosphere of rape. J. Soil Sci. 44: 535-545.

21.Hopf, J., Langenhorst, F., Pollok, K., Merten, D., and Kothe, E. 2009. Influence of microorganisms on biotite dissolution: an experimental approach. Chemie. Der. Erde. 69: 45-56.

22.Iranian Research Organization for Science and Technology. 2013. http://62.60.136.235/persian/ptcc/mediumview.asp.

23.Khan, A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. J. Trace. Elem. Med. Biol. 18: 355-364.
24.Khayamim, F. 2009. Effect of plant type and endophyte fungus on plant ability to take up potassium from some micaceous minerals and the possibility of their mineralogical changes. Soil Sciences Master Thesis, college of agriculture, Isfahan university of Technology, 112p. (In Persian)
25.Khoshgoftarmanesh, A.H. 2007. Principles of Plant Nutrition .Isfahan University of Technology Press. (In Persian)
26.Malakooti, M.J., and Tehrani, M.M. 2005. Effect of micronutrient on increase of yield and improve the quality of agricultural crops. Tarbiat Modares University Press. (In Persian)
27.Marschner, P., Crowley, D., and Rengel, Z. 2011. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the rootaxis–model and research methods. Soil Biol. Biochem. 43: 883-894.
28.Masalha, J., Kosegarten, H., Elmaci, O., and Mengel, K. 2000. The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. Biol. Fertil. Soils. 30: 433-439.
29.Norouzi, S., and Khademi, H. 2010. Ability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to take up potassium from different micaceous minerals and consequent vermiculitization. Plant Soil. 328: 83-93.
30.Sheng, X. 2005. Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*. Soil Biol. Biochem. 37: 1918-1922.
31.Sheng, X.F., and He, L.Y. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Can. J. Microbiol. 52: 66-72.
32.Shi, W., Wang, X., and Yan, W. 2004. Distribution patterns of available P and K in rape rhizosphere in relation to genotypic difference. Plant Soil. 261: 11-16.
33.Snapp, S., Koide, R., and Lynch, J. 1995. Exploitation of localized phosphorus-patches by commonbean roots. Plant Soil. 177: 211-218.
34.Song, S., and Huang, P. 1988. Dynamics of potassium release from potassium-bearing minerals as influenced by oxalic and citric acids. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 383-390.
35.Sparks, D.L. 1987. Potassium dynamics in soils. Adv. Soil Sci. 6: 1-63.
36.Stegner, R. 2002. plant Nutrition Studies. Lamotte Company, Maryland, USA. 76p.
37.Styriakova, I., Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Tyriak, I., Vuorinen, A., and Tuovinen, O.H. 2004. Weathering of phlogopite by *Bacillus cereus* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Can. J. Microbiol. 50: 213-219.
38.Styriakova, I., Styriak, I., Nandakumar, M., and Mattiasson, B. 2003. Bacterial destruction of mica during bioleaching of kaolin and quartz sandsby *Bacillus cereus*. W. J. Microb. Biot. 19: 583-590.
39.Štyriaková, I., Štyriak, I., and Oberhänsli, H. 2012. Rock weathering by indigenous heterotrophic bacteria of Bacillus spp. at different temperature: a laboratory experiment. Miner. Petrol. 105: 3-4. 135-144.
40.Thompson, M.L., Ukrainczyk, L., Dixon, J., and Schulze, D. 2002. Micas. P 431-466, In: J.B. Dixon and D.G. Schulze (Eds.), Soil mineralogy with environmental applications. Soil Sci. Sco. Am. Madison, WI.
41.Tyriaková, I., Bhatti, T.M., Bigham, J.M., tyriak, I., Vuorinen, A., and Tuovinen, O.H. 2004. Weathering of phlogopite by Bacillus cereus and Acidithiobacillus ferrooxidans. Can. J. Microbiol. 50: 3. 213-219.
42.Wallander, H.K. 2000. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonised by different ectomycorrhizal fungi. Plant Soil. 218: 249-256.
43.Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil. 255: 571-586.
44.Wiren, N.V., Römheld, V., Shioiri, T., and Marschner, H. 1995. Competition between micro-organisms and roots of barley and sorghum for iron accumulated in the root apoplasm. New Phytol. 130: 511-521.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 7(2), 2017
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Effect of *Bacillus cereus* strains on potassium and iron uptake from substrates containing muscovite and phlogopite

M. Soleimanzadeh[1], H. Khademi[2] and *M. Sepehri[3]
[1]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
[2]Professor, Dept.of Soil Science, Isfahan University of Technology,
[3]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Shiraz University
Received: 09/29/2015; Accepted: 01/02/2017

Abstract
Background and Objectives: Beneficial soil microorganisms are important biological factors in improving take up micronutrient by plants. Microorganisms help the release of nutrients from soil minerals using different mechanisms. The use of plant growth promoting bacteria (PGPBs) for sustainable agriculture has increased tremendously in the last decades. This study was conducted to investigate the effect of two strains of *Bacillus cereus* on potassium and iron uptake by alfaalfa from substrates containing micaceous minerals (muscovite and phlogopite).
Materials and Methods: The greenhouse experiment was achieved using a completely randomized design in factorial arrangement with three replications. The treatments included four levels of nutrient solution (complete, iron- and potassium-free, potassium-free and iron-free), two types of potassium bearing minerals (phlogopite and muscovite), three bacterial treatments (PTCC 1247 and PTCC 1665 and non-inoculated). The studied plants which were irrigated with four nutrient solutions during the growing seasons were harvested after 150 days of planting and potassium and iron of the shoots and roots were measured by flame photometry and atomic absorption spectrometery, respectively.
Results: The results showed that the presence of bacteria strains resulted in increased shoot and root dry weights and also take up of potassium and iron from studied substrates. The highest uptake of shoot potassium observed in the plants Cultivated at substrates containing muscovite and phlogopite and Nutrition with two nutrient solutions, complete and iron free. The highest uptake of root potassium observed at substrate containing phlogopite inoculated with strain PTCC 1247 and nutrient with nutrient solution iron free. The uptake of iron in plant roots was several folds greater than the shoot. Iron concentration in the roots of growing plants in phlogopite substrate was higher than muscovite. Plant inoculation with bacterial strains resulted in increased iron uptake in inoculated roots compared to non-inoculated ones. The obtained results showed the content of iron concentration in growing plants in phlogopite substrates was greater than substrates containing muscovite. The uptake of potassium and iron was different Due to different treatment Nutrient solution. The highest uptake potassium and iron were observed for plants cultivated at substrates containing muscovite and Nutrient with Complete nutrient solution.
Conclusion: The presence of bacteria in plant rhizosphere could release nutrients from soil minerals and lead to improve growth and yield of plants. In conclusion, the optimal use of useful type of bacteria could decrease chemical fertilizer application under greenhouse conditions.

Keywords: Muscovite, Phlogopite, Potassium, Iron, *Bacillus cereus*

* Corresponding Author; Email: mosep1379@yahoo.com