



## جداسازی و شناسایی ۱۰ جدایه باکتری گشاینده پتاسیم، فسفر و آهن از خاک پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی در استان همدان

\* معصومه قنبری<sup>۱</sup> و علی‌اکبر صفری سنجان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا، استاد گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۵

### چکیده

**سابقه و هدف:** نزدیک ۹۸ درصد پتاسیم خاک به ریخت کانی‌هایی است که برای گیاهان فراهم نمی‌باشد. از سوی دیگر، کاربرد پیوسته کودهای شیمیایی دارای پیامدهای ناخواسته برای زیستگاه‌های گوناگون است. ریزجانداران اسیدزا می‌توانند سیلیکات‌های کانی دارای پتاسیم را دگرگون کرده و پتاسیم فراهم برای گیاهان رها کنند. این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی باکتری‌های گشاینده پتاسیم و هم‌چنین گشاینده فسفر و آهن از خاک پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی از کانی‌های آن‌ها (سیلیکات‌های پتاسیم، تری کلسیم فسفات و هماتیت) با هدف ساخت کود زیستی از باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** باکتری‌های گشاینده پتاسیم از خاک پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی جداسازی شدند. جدایه‌ها برای بررسی توان رهاسازی پتاسیم از سه کانی بیوتیت، موسکویت و فلدسپات پتاسیم به گونه کیفی با کشت نقطه‌ای و بر پایه پیدایش هاله روشن (روش هالو) و یا دگرش رنگ کشتگاه الکساندروف آزمایش و گزینش شدند. سپس برای برآورد توان کمی جدایه‌ها در رهاسازی پتاسیم، آن‌ها در کشتگاه آبکی الکساندروف کشت شد. برای بررسی توان گشایش کانی تری کلسیم فسفات جدایه‌ها همانند بالا ولی از کشتگاه پیکوفسکیا بهره‌گیری شد. برای ارزیابی توان گشایش آهن نیز از کشتگاه پیکوفسکیای بهبود یافته با کانی هماتیت بهره‌گیری شد. این پژوهش برای رهاسازی پتاسیم به گونه آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی انجام شد که در آن گونه کانی به‌کار رفته در سه سطح (موسکویت، بیوتیت و فلدسپات پتاسیم) فاکتور نخست و ۳۰ جدایه باکتری فاکتور دوم بود. برای رهاسازی فسفر و آهن طرح کاملاً تصادفی بود و تنها توان ۳۰ جدایه با کاربرد یک کانی (تری کلسیم فسفات یا هماتیت) آزمون شد. آنالیزهای آماری با نرم‌افزار SAS انجام شد. جدایه‌ها، با بهره‌گیری از روش‌های ریخت‌شناسی، آزمون بیوشیمیایی و مولکولی بررسی و شناسایی شدند. سپس ۱۰ جدایه برتر شناسایی شده و آزمون‌های توان، افزایش‌دهنده رشد گیاه در آن‌ها آزمون شد.

**یافته‌ها:** از ۳۰ جدایه با توان رهاسازی پتاسیم، فسفر و آهن، ۱۰ جدایه برتر جداسازی و شناسایی گردیدند. بررسی‌های فلیم‌فوتومتری نشان داد که اندازه پتاسیم رها شده با جدایه‌ها در کشتگاه دارای بیوتیت میان ۶۴۷/۱۸

\* مسئول مکاتبه: sahel\_4255@yahoo.com

میلی گرم بر کیلوگرم در کشت شاهد تا ۵۴۱۶/۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۱۰ و در کشتگاه دارای موسکویت دار میان ۱۴۸/۶۸ میلی گرم بر کیلوگرم در جدایه شماره ۲۱ تا ۲۰۲۶/۳۶ میلی گرم بر کیلوگرم در جدایه شماره ۱۰ و در کشتگاه دارای فلدسپات پتاسیم میان ۱۳۲/۷۶ در کشت جدایه ۷ تا ۵۳۴/۸۸ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۱۹ بود. اندازه فسفر گشوده شده از کانی تری کلسیم فسفات میان ۳۵۸۲/۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت شاهد تا ۳۷۰۱۱/۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۲۵ بود. اندازه آهن گشوده شده از کانی هماتیت میان ۸۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۳۳ تا ۲۶۶۱/۶۶ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۴ بود. رهاسازی پتاسیم در این پژوهش از کانی بیوتیت بیشترین اندازه و از کانی فلدسپات پتاسیم کمترین اندازه را داشت. بررسی pH کشتگاه نشان داد که همبستگی بالایی میان اسیدزایی باکتری و توان آن‌ها در گشایش کانی‌ها است.

**نتیجه‌گیری:** ۱۰ جدایه برتر از باکتری‌های گشاینده پتاسیم، فسفر و آهن از خاک پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی جداسازی و شناسایی شدند و از میان آن‌ها باکتری‌های شماره ۲ و ۱۰ که با نام‌های *Acinetobacter pittii* و *Pseudomonas frederiksbergensis* شناسایی شدند. این جدایه‌ها افزون بر توان بالای گشاینده پتاسیم، فسفر و آهن در دیگر ویژگی‌های باکتری‌های PGPR مانند: ساخت اکسین، سایدروفور، مهار قارچ‌های بیماری‌زای سیب‌زمینی نیز توانا بودند. بهره‌گیری از این باکتری‌های جداسازی شده در ساخت کودهای زیستی برای افزایش زیست‌فراهمی پتاسیم، فسفر و آهن برای گیاه و بهبود رشد و بازدهی گیاهان کشاورزی به‌ویژه سیب‌زمینی پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری‌های گشاینده پتاسیم، موسکویت، بیوتیت، فلدسپات پتاسیم، تری کلسیم فسفات، هماتیت، کود زیستی

### مقدمه

پتاسیم به چهار ریخت در خاک یافت می‌شود که از ریخت ساختاری آن در کانی‌ها، پتاسیم تبدلی و محلول رها شده و زیست‌فراهمی آن برای گیاه افزایش می‌یابد که نزدیک ۹۰ تا ۹۸ درصد پتاسیم خاک، به ریخت کانی است که به آسانی برای گیاه در دسترس نمی‌باشد (۳).

ریزجانداران کارایی ویژه‌ای را در دگرگونی مواد از ریخت نافرهم به ریخت فراهم برای گیاهان دارند (۱۴). ریزجانداران خاک می‌توانند پتاسیم در کانی‌های سیلیکاتی هم‌چون موسکویت، بیوتیت، ارتوکلاز، میکروکیلین، فلدسپار، ایلیت، ورمی‌کولیت، گلوگونیت، فلوگوپیت و زئولیت را در سوخت و ساز خود به ریخت گشوده درآورده و در دسترس گیاه قرار دهند (۳). پراجاپاتی و مودی (۲۰۱۲) باکتری‌های گشاینده

فسفر، پتاسیم و آهن از عناصر غذایی ضروری برای گیاهان هستند که کارایی ویژه‌ای در رشد و گسترش گیاهان دارند. پتاسیم هفتمین عنصر پوسته زمین است که ۲/۵ درصد از لیتوسفر را می‌سازد (۳). پتاسیم یکی از عناصر پرنیاز گیاه و فراوان‌ترین کاتیون جذب شده در گیاهان است. این عنصر کارایی ویژه‌ای در رشد و نمو گیاهان، کارکرد آنزیم‌ها، افزایش فتوسنتز، باز و بسته شدن بین روزنه‌ها، ترابری قند و نشاسته، جذب نیتروژن و ساخت پروتئین در گیاهان دارد. پتاسیم افزون بر سوخت و ساز گیاه، بر چگونگی فرآورده‌های گاهی با بهبود ریشه‌دهی و ساقه‌دهی، تأثیر دارد و موجب افزایش پایداری گیاه در برابر بیماری‌ها و تنش‌های دیگر می‌گردد (۳).

این عناصر به کندی از آن‌ها رها می‌گردند. بهره‌گیری از باکتری‌های ویژه افزایش‌دهنده رشد گیاه (PGPR)، به‌ویژه باکتری‌های رها کننده پتاسیم، فسفر و آهن همانند کود زیستی می‌تواند برای تغذیه بهتر گیاه و افزایش کارکرد آن پیشنهاد گردد.

باکتری‌های جنس *باسیلوس* از باکتری‌های فراوان در خاک هستند که کارایی ویژه‌ای در دگرش سیلیکات‌ها در فرایند خاکسازي دارند (۱۳). هان و همکاران (۱۹۹۶) توانایی *باسیلوس مگاتریوم* جدایه فسفوتیکوم را برای دگرش سنگ فسفات گزارش نمودند. باکتری‌های سیلیکاتی رهاکننده پتاسیم و آهن مانند *باسیلوس موسیلوژنوس*، *باسیوس مگاتریوم*، *باسیلوس سریوس* و *باسیلوس پومیلوس* توانایی افزایش پتاسیم و آهن فراهم در خاک و افزایش برداشت این عناصر در گیاه را دارند (۱۳). فلدسپات‌ها با پروتونه شدن و به کمک اسیدهای ساخته شده در خاک به آسانی هوازده می‌شوند. شماری از اسیدهای آلی که می‌توانند فلدسپات‌ها را هوازده کنند، در تخمیر باکتریایی و در زیستگاه بی‌هوازی پدید می‌آیند (۳۱). سوگوماران و جانارتامان (۲۰۰۷) در بررسی خود توان باکتری‌های گشاینده کانی‌های خاک را بر افزایش رشد گیاه بادام‌زمینی گزارش کردند. آن‌ها هم‌چنین پایداری pH خاک را در زمان انکوباسیون کانی‌های سیلیکاته و باکتری‌ها وابسته به تراوش نشدن اسیدهای زیستی از باکتری‌ها و ساخت پلی‌ساکاریدها برای رها شدن پتاسیم از سیلیکات‌ها بیان نمودند. آن‌ها در پژوهش خود رها سازی پتاسیم از کانی‌های سیلیکاته را به ساخت کلات وابسته دانستند (۳۱).

اگر چه اندازه پتاسیم، فسفر و آهن در کانی‌های بیش‌تر خاک‌های سرزمین‌های خشک و نیمه خشک چون ایران بالا و بیش از نیاز گیاهان است (۱۲) ولی زیست‌فراهمی آن‌ها برای بسیاری از گیاهان مانند

پتاسیم را از خاکه سرامیک‌سازی جدا کردند (۲۰). پتاسیم فراهم در خاک به آسانی با فرایندهای برداشت با گیاه، رواناب، آبشویی و فرسایش کاهش یافته و کمبود آن می‌تواند نمایان شود (۲۹).

وقتی که خاک دارای کمبود فسفر فراهم برای گیاه است، این عنصر به گونه کود شیمیایی و فراهم برای گیاهان به خاک افزوده می‌شود. ولی آن به آسانی با کربنات کلسیم در خاک‌های آهکی و یا با اکسیدهای آهن و آلومینیم در خاک‌های اسیدی و با آلومینوسیلیکات‌ها در خاک‌های گوناگون واکنش داده و به ریخت نافرهم برای گیاه در می‌آید (۲۶). بنابراین هنگام بهره‌گیری از کودهای شیمیایی راندمان کاربرد کود در گیاه پایین آمده و کاربرد بیش از اندازه آن‌ها زیانبار و به زیستگاه‌ها آسیب می‌زند (۱۴).

اندازه آهن در خاک‌ها بالا است و آن‌ها دارای ۱-۵ درصد آهن می‌باشند که بیش‌ترین بخش آن در کانی‌های سیلیکاتی، اکسیدها و هیدروکسیدهای آهن و به ریخت نافرهم برای گیاهان است (۲۸). هنگام کمبود آهن فراهم در خاک، می‌توان از کودهای شیمیایی مانند سولفات آهن و یا کلات‌های آهن بهره‌گیری کرد. ولی هنگامی که کودهای شیمیایی آهن‌دار به خاک افزوده می‌شوند، آهن افزوده شده در خاک به تندی اکسید شده و به ریخت نافرهم برای گیاه در می‌آید (۲۸). کلات‌های آهن نیز در خاک پایدار نیستند و در بازه گسترده‌ای از pH خاک دگرگون می‌شوند و عناصری مانند کلسیم، پایداری زیست‌فراهمی آن‌ها را کاهش می‌دهند (۲۸).

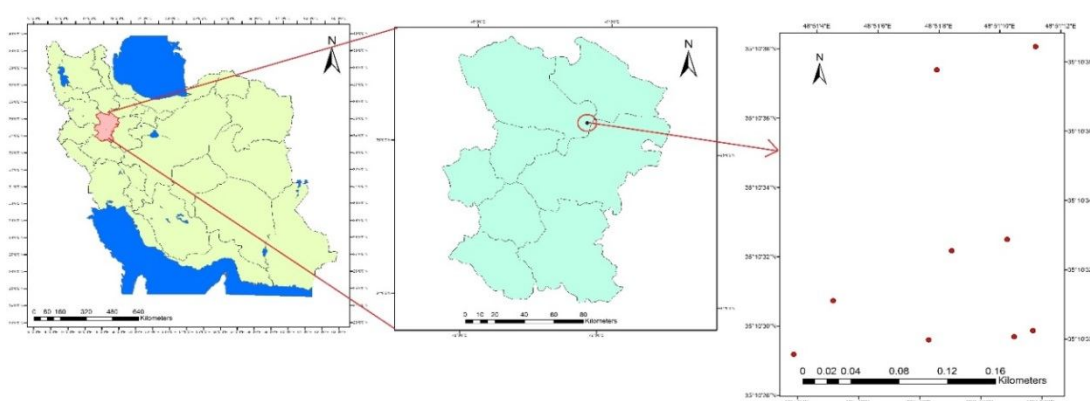
ریزجانداران اسیدزا در خاک کانی‌هایی مانند فلدسپارها، سنگ فسفات و میکاها را می‌توانند دگرگون کنند و عناصر آن‌ها را به آرامی رها کنند. بنابراین آن‌ها جایگزین شایسته‌ای برای کودهای شیمیایی می‌باشند (۴). ولی اندازه عنصر گشوده شده از این گونه کانی‌ها نیاز گیاه را برآورده نمی‌کنند، چون

کشتزارهای تجرک در مرکز پژوهش‌های کشاورزی شهر همدان در ۸ آبان ماه سال ۹۶ انجام شد. یازده کشتزار کشت سیب‌زمینی گزینش شد که زمان کاشت در آن‌ها ۲۴ تیر ماه و زمان برداشت از ۳ تا ۱۵ آبان بود. میانگین تبخیر سالیانه از کشتزارهای یاد شده ۲۱۰۰ میلی‌متر است. رقم‌های کشت شده در کشتزارها آگریا و ماریندا بود که هر دو از گونه‌های دیررس هستند. برداشت میانگین سیب‌زمینی از کشتزارهای تجرک ۴۰ تن در هکتار است. در این سال کود گوسفندی به اندازه ۷ تن در هکتار و هم‌چنین کودهای اوره، سولفات پتاسیم و فسفات امونیم بر پایه آزمون خاک به کشتزارها داده شده است. میانگین کربن خاک کشتزارها دو دهم تا چهاردهم درصد است. نمونه‌برداری به گونه مرکب و بر پایه پهنه هر کشتزار انجام شد. نم خاک هنگام نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌های آن ۱۸ تا ۲۵ درصد بود. پتاسیم فراهم خاک‌ها بسیار ناهمانند و از ۳۱۲ تا ۶۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود.

سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و سویا بسیار کم است. جداسازی و شناسایی باکتری‌های گشاینده پتاسیم، فسفر و آهن برای ساخت کودهای زیستی از این باکتری‌ها می‌تواند راهکار سودمندی برای کاهش این کمبود باشد (۱۲). با توجه به استراتژیک بودن کشت سیب‌زمینی در استان همدان و سطح وسیع زیر کشت این محصول و نیاز بالای این گیاه به پتاسیم، سیب زمینی برای این پژوهش انتخاب گردید. هدف از این پژوهش جداسازی باکتری‌های گشاینده پتاسیم از خاک پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی و آزمون توان رهاسازی فسفر و آهن آن‌ها و سپس سنجش ویژگی‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه این جدایه‌ها برای شناسایی و گزینش بهترین آن‌ها برای ساخت کود زیستی سازگار با خاک‌های همدان است.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک: شکل ۱ جایگاه نمونه‌برداری از خاک و جدول ۱ طول و عرض جغرافیایی جایگاه‌های نمونه‌برداری شده به همراه پتاسیم فراهم خاک‌ها را نشان می‌دهند. نمونه‌برداری از خاک



شکل ۱- جایگاه نمونه‌برداری از خاک.

Figure 1. Soil sampling position.

جدول ۱- طول و عرض جغرافیایی جایگاه‌های نمونه برداری شده به همراه پتاسیم فراهم آن‌ها.

**Table 1. The longitude and latitude coordinates of the sampling positions.**

اندازه پتاسیم فراهم در خاک ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) Potassium value ( $\text{mgkg}^{-1}$ )	عرض جغرافیایی (خورتابی) Latitude (South)			طول جغرافیایی (پاختری) Longitude (North)			نمونه Sample
	ثانیه Second	دقیقه Minutes	درجه Degree	ثانیه Second	دقیقه Minutes	درجه Degree	
312	11	44	48	0	5	35	1
660	5	58	48	2	10.48	35	2
362	7	51.07	48	6	10.54	35	3
312	2	51.1	48	4	10.56	35	4
660	2	51.03	48	1	10.47	35	5
610	0	51.05	48	4	10.47	35	6
610	7	51.06	48	4	10.48	35	7
460	4	51.07	48	1	10.48	35	8
894	8	51.06	48	2	10.47	35	9
510	7	51.03	48	6	10.44	35	10
410	7	51.03	48	6	10.44	35	11

کانی‌های پتاسیم‌دار موسکویت، بیوتیت و فلدسپات پتاسیم در آغاز با آسیاب فلزی آسیاب شده و سپس از الک ۴ دهم میلی‌متری گذرانده شدند. برای رها شدن پتاسیم از ریخت ساختمانی، نیاز است که بخش‌های تبادل‌ی و محلول آن در کانی بسیار کم شود (۱۹ و ۳۰). برای آن هر یک از کانی‌ها با اسید کلریدریک ۰/۰۱ نرمال ۳ بار شسته با الک ۲۰۰ مش گردآوری شد. سپس ۳ بار با آب مقطر شسته شد. پس از آن ۳ بار با هیدروکسید کلسیم نیم نرمال شسته و دوباره ۳ بار با آب مقطر شسته شدند و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

**آماده‌سازی کانی‌ها:** کانی‌های بهره‌گیری شده در این پژوهش برای آزمون (۱) رهاسازی پتاسیم: بیوتیت (خرید شده از املش گیلان)، موسکویت (خرید شده از ازندریان همدان)، و فلدسپات پتاسیم (خرید شده از قروه کردستان)، (۲) رهاسازی فسفر: تری کلسیم فسفات (خریداری شده از شرکت مرک) و برای رهاسازی آهن: هماتیت (محل خرید کاشان)، بود. کانی‌ها پس از خریداری به روش XRF آنالیز شدند (جدول ۲).

جدول ۲- ترکیب عناصر (% کانی‌های بیوتیت، موسکویت، فلدسپات پتاسیم و هماتیت بهره‌گیری شده با بهره‌گیری از فلورسانس پرتو ایکس.

Table 2. XRF of biotite, muscovite, potassium feldspar and hematite.

هماتیت Hematite Weight percent	فلدسپات پتاسیم Potassium feldspar Weight percent	موسکویت Muscovite Weight percent	بیوتیت Biotite Weight percent	ترکیب Composition
4.93	58.46	42.8	32.56	SiO <sub>2</sub>
91.04	0.25	1.65	11.32	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
0.25	19.5	38.54	17.24	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
2.06	1.45	0.04	0.98	CaO
0.39	0.11	0.08	17.46	MgO
0.2	16.86	11.11	9.25	K <sub>2</sub> O
<1	<1	<1	<1	La & Lu <sup>a</sup>
0.26	2.6	0.9	0.45	Na <sub>2</sub> O
0.21	0.17	0.1	0.07	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
0.28	0.28	4.78	2.89	L.O.I <sup>b</sup>
0.03	SO <sub>3</sub>	-	0.08	SO <sub>3</sub>
-	0.23	-	0.69	BaO
0.35	-	-	7.01	TiO <sub>2</sub>

a- عناصر کمیاب (Trace)، لانتانیدهای ردیف اول از لانتانیم تا لوتنتیم

b- درصد وزن از دست رفته نمونه که یک و نیم ساعت در دمای ۹۵۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شده است.

دگرگونی رنگ کشتگاه بهره‌گیری شد که در آن فنل رد در کشتگاه خنثی از نارنجی با اسیدی شدن زرد می‌شود. کشت و جداسازی یک بار به گونه سری رقت‌ها و بار دیگر به شیوه غنی‌سازی انجام شد. باکتری‌هایی که در پیرامون کلنی خود هاله داشتند و یا موجب دگرگونی رنگ کشتگاه شده بودند، گزینش شدند و برای آزمون‌های کمی نگهداری شدند.

در این بخش از پژوهش از همه باکتری‌هایی که در کشتگاه‌های دارای بیوتیت، موسکویت، فلدسپات پتاسیم، هماتیت و آپاتیت به خوبی رشد کرده و دارای هاله روشن در پیرامون کلنی خود بودند و یا موجب دگرگونی رنگ کشتگاه شده بودند، ۴۰ جدایه ناشناس که با کدهای ۱ تا ۴۰ نامگذاری شدند، جداگردید و برای گام‌های بعدی، خالص‌سازی شدند.

جداسازی جدایه‌های گشاینده پتاسیم، فسفر و آهن به شیوه کیفی: از آنجا که پیدایش هاله روشن در پیرامون کلنی باکتری‌های گشاینده این عناصر، نشانه توان اسیدزایی و گشایش آن‌ها است (۷)، از روش لکه‌گذاری بر کشتگاه‌های الکساندروف با ترکیب جدول ۳ همراه با کاربرد جداگانه موسکویت، بیوتیت و فلدسپات برای باکتری‌های گشاینده پتاسیم، کشتگاه پیکوفسکیا برای باکتری‌های گشاینده فسفر و کشتگاه پیکوفسکیای بهبود یافته که خاستگاه آهن آن هماتیت و خاستگاه فسفر آن دی پتاسیم هیدروژن فسفات است، برای باکتری‌های گشاینده آهن بهره‌گیری شد. از آنجایی که برخی باکتری‌ها توان گشایش پتاسیم و فسفر را بدون پیدایش هاله دارند (۲۷ و ۲۳) بنابراین در یک تکرار از ۳ تکرار آزمون شده، از روش

جدول ۳- کشتگاه‌های الکساندروف و پیکوفسکیا به کاررفته در پژوهش.

Table 3. Aleksandrov & pikovskaya culture media.

پیکوفسکیا		الکساندروف	
مقدار (g) Value (g)	ماده Material	مقدار (g) Value (g)	ماده Material
10	Succrose	5	Glucose
0.1	NaCl	0.1	CaCO <sub>3</sub>
0.5	MgSO <sub>4</sub>	0.006	FeCl <sub>3</sub>
0.2	Yeast extract	2	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
0.5	NH <sub>4</sub> Cl	20	Agar
0.1	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.5	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
2	FeSO <sub>4</sub> (هماتیت)	3	Minerals
5	(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>		

- (در محیط پیکوفسکیای بهبود یافته جهت رهاسازی آهن، به جای سولفات آهن، هماتیت و به جای تری کلسیم فسفات، دی پتاسیم هیدروژن فسفات جایگزین می‌شود).

براث، NB) انجام شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از کشت آبکی هر باکتری با چگالی نوری ۰/۸ به ۳۰ میلی‌لیتر کشتگاه آبدار و بدون آگار الکساندروف و پیکوفسکیا با همان کانی‌های یاد شده در بالا، مایه‌زنی شد. نیاز به یادآوری است که اندازه هرکانی در هر لوله جداگانه ۰/۳ گرم بود. نمونه‌ها در انکوباتور برای ۱۰ روز نگهداری شدند و هرروز برای ۱ ساعت تکان داده شدند و در پایان دوره، پس از یک ساعت تکان، سانتریفوژ گردیده و آنگونه روئین با کاغذ صافی پالایش گردید و pH و سپس پتاسیم با فلیم فتومتر، فسفر به روش رنگ سنجی و به روش زرد (روش وانادات - مولیبدات) با بهره‌گیری از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۴۳۰ نانومتر (۱۶) و آهن با دستگاه جذب اتمی (۸) اندازه‌گیری شد.

توان ساخت سایدروفور: این آزمون با بهره‌گیری از روش اصلاح شده الکساندر و زوبر (۱۹۹۱)، و کشتگاه CAS.B.A (CAS Blu Agar) انجام شد (۱۶). کشتگاه به رنگ آبی است و پیدایش هاله نارنجی رنگ بیانگر ساخت سایدروفور است. در این

آزمون بیماری‌زایی باکتری‌ها: برای ارزیابی توان بیماری‌زایی ۴۰ جدایه جدا شده در آزمون‌های کیفی از پاسخ‌دهی گیاه شمعدانی بهره‌گیری شد (۲، ۵ و ۲۱). اندکی از ماده کاربراندوم به برگ‌ها مالش داده شد تا رویه برگ گیاه شمعدانی خراشیده گردد. سپس پنبه را به کشت آبکی و جوان (۴۸ ساعته) هر باکتری با چگالی نوری ۰/۸ آغشته و رویه برگ با آن آلوده شد. ۴۸ ساعت زمان داده شد و سپس برگ‌های نکروزه شده بررسی شد. نبود نشانه‌ای از نکروزه شدن در برگ‌ها نشان از نایبماری‌زا بودن باکتری‌ها بود که در این بخش گیاه شمعدانی به هیچ کدام از ۴۰ جدایه جدا شده از پیرامون گیاه سیب‌زمینی پاسخ بدی نشان نداد و برای آن بیماری‌زا نبود.

آزمون کمی گشایش پتاسیم، فسفر و آهن از کانی‌های آن‌ها: از ۴۰ جدایه باکتری کشت شده در آزمون‌های کیفی، ۳۰ جدایه که بهترین توان را در آزمون پیشین داشتند، برای آزمون کمی گشودن کانی‌های پتاسیم‌دار، فسفردار و آهن‌دار گزینش شد. کشت جوان و شبانه باکتری‌ها در آبگوشت (نوترینت

قطر کلنی شاهد/ (قطر کلنی تیمار - قطر کلنی شاهد) =  
توان مهار رشد قارچ

**گزینش جدایه‌های برتر و شناسایی آن‌ها:** بر پایه توان رهاسازی پتاسیم، فسفر و همچنین آهن، ده جدایه از میان ۴۰ جدایه گزینش شد. برای شناسایی آن‌ها آزمون‌های بیوشیمیایی کاتالاز، رنگ آمیزی گرم، اکسیداز، ژلاتیناز، سیترات، توان جابجایی، KOH، اوره‌آز، نیترات، ایندول، ساخت سولفید هیدروژن و تریپتوفان انجام شد.

افزون بر آن به کمک ژن 16SrRNA ده جدایه برتر شناسایی گردید. شناسایی مولکولی جدایه‌ها در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران در شهر کرج و در بخش بانک میکرو ارگانیسم‌ها انجام شد. برای شناسایی باکتری‌ها ژن 16SrRNA از کشت خالص بررسی گردید. کیفیت DNA باکتری‌ها پس از جداسازی به روش الکتروفورز آزمون شد. برای فراوان‌سازی ژن به روش PCR از آغازگرهای عمومی 27 F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) پیشرو و 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) پسرو بهره‌گیری شد. واکنش PCR دارای ۳۰ چرخه بود که در دستگاه ترموسایکلر این چرخه‌ها با یک چرخه نخستین PCR با دمای ۹۵ درجه سلسیوس برای ۴ دقیقه، در پی آن دمای ۹۴ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه، دمای ۵۳ درجه سلسیوس (دمای پیوند آغازگر) برای ۱ دقیقه و دمای فراوان شدن ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه بود که در پایان یک چرخه پایانی با دمای ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱۰ دقیقه انجام شد. فرآورده PCR به شرکت فضا پژوه ارسال شد که با کمک یک شرکت خارجی توالی نوکلئوتیدی ژن یاد شده بررسی گردید و به گونه یک فایل کروماتوگرام فرستاده شد که با نرم‌افزار کروماسپروف آزمون شد و برون داد آن به ریخت فایل Not Pad به سایت

روش از نسبت پهنای هاله نارنجی به قطر کلنی باکتری بهره‌گیری شد. چنان‌چه این نسبت میان ۲ تا ۲/۵ میلی‌متر باشد، کلاس یک، اگر میان ۲/۵ تا ۳ میلی‌متر باشد، خوب و در کلاس دو و اگر بزرگ‌تر از ۳ باشد، بسیار خوب و در کلاس سه گروه‌بندی می‌شود (۱۸).

**روش نیمه کمی اندازه‌گیری اکسین:** خاکی پور و همکاران (۲۰۱۲) برای اندازه‌گیری توان ساخت اکسین باکتری‌ها، کشتگاه (Dworkin & Foster Salt) DF (Minimal Medium) را که دارای ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان است، به کار گرفتند (۱۵). در این کشتگاه جامد، ۷ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه ی باکتری با فراوانی  $10^8$  (cfu/ml)، به روش لکه‌گذاری، مایه‌زنی شد. پس از ۴ روز نگهداری در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و رسیدن اندازه کلنی‌ها به نزدیک ۲ میلی‌متر، پیدایش هاله‌ای به رنگ گلی تا سرخ نشانه پیدایش اکسین است که با نسبت هاله سرخ به قطر کلنی باکتری‌ها همانند آزمون سیدروفور در سه گروه دسته‌بندی شدند.

**آزمون مهار قارچ‌های بیماری‌زا با کنترل بیولوژیک باکتری‌ها:** برای آزمون مهار قارچ‌های بیماری‌زای سیب‌زمینی از دو قارچ بیماری‌زای سیب‌زمینی با نام‌های رایزوکونیا سولانی و کولتوتریکوم کوکودس بهره‌گیری شد که از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا گرفته شدند. باکتری‌ها و قارچ‌ها جوان‌سازی شدند. باکتری‌ها در کشتگاه نوترینت براث فراوان‌سازی شدند و از چگالی نوری ۰/۷ آن‌ها به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر به گونه لکه‌ای مایه‌زنی و قارچ‌ها در دو سوی کشتگاه PDA (Potato Dextrose Agar) کشت شد و در درون انکوباتور برای ۱۰ روز نگهداری شد. شاهد این آزمایش کشت قارچ بدون مایه‌زنی باکتری بود. پس از ۱۰ روز قطر کلنی قارچ‌ها اندازه‌گیری شد و از رابطه زیر توان مهار رشدی بررسی شد.



۲، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۵، ۲۷، ۳۰، ۳۱ و ۳۷ دارای هاله روشن بودند که نسبت قطر هاله به قطر کلنی برای آن‌ها از ۱/۱ تا ۲ میلی‌متر بود. بالاترین پهنای هاله در کشت جدایه ۱۰ به دست آمد. اگرچه در گزارش‌های دیگران همبستگی مثبتی میان ساخت هاله روشن در کشتگاه جامد و توان حل‌کنندگی باکتری در کشتگاه آبکی دیده می‌شود ولی گزارش‌هایی شده است که برخی باکتری‌هایی که در کشتگاه جامد فسفردار توانایی ساخت هاله نداشته‌اند، در کشتگاه آبکی از توان رهاسازی فسفر بالایی برخوردار بوده‌اند (۲۵). از این رو سنجش و آزمون کمی فسفات رها شده از کانی‌ها در کشتگاه آبکی در بسیاری از پژوهش‌ها انجام شده است.

**ارزیابی کمی توان رهاسازی پتاسیم:** برای ارزیابی‌های کمی گشایش (رهاسازی) عناصر ۳۰ جدایه توانمند از ۴۰ جدایه جداسازی شده، مورد استفاده قرار گرفتند. یافته‌های تجزیه واریانس داده‌های رهاسازی کمی پتاسیم ۳۰ جدایه ناشناس در کشتگاه الکساندروف از کانی‌های بیوتیت، موسکویت و فلدسپات پتاسیم در جدول ۴ آورده شده است. یافته‌های تجزیه واریانس نشان داد که پیامد تیمارها (جدایه باکتری‌ها و گونه کانی به کاررفته) و همچنین برهم‌کنش آن‌ها بر رهاسازی پتاسیم در پایه آماری یک درصد معنی‌دار بود. آزمون میانگین پیامد جدایه باکتری و گونه کانی در رهاسازی پتاسیم در شکل ۲ آورده شده است. رهاسازی پتاسیم از بیوتیت بیش‌تر از موسکویت و از موسکویت بیش‌تر از فلدسپات پتاسیم بود. بنابراین میکا همانند یک کانی دو به یک بهتر از فلدسپارها به شیوه زیستی هوادیده شده و پتاسیم ساختمانی خود را رها می‌سازد. این یافته با گزارش‌های دیگران همخوانی دارد. رهاسازی پتاسیم وابسته به سرشت کانی‌های پتاسیم‌دار مانند ساختار کریستالی، ترکیب شیمیایی کانی، دگرش بار لایه‌ای کانی و جایگاه

Ezbiocloud که یک دیتا بیس معتبر جهانی هست، داده شد و درصد همانندی هر جدایه آزمایش را با گونه‌ای ویژه‌ای آشکار گردید. سپس درخت فیلوژنی کارهای الاین با بهره‌گیری از نرم‌افزار clustax2 بررسی شد و سپس با بهره‌گیری از نرم‌افزار Bioedite ادیت گردید. در پایان با بهره‌گیری از نرم‌افزار Mega6 درخت فیلوژنیک با روش NJ و با ضریب Bootstrap 500 رسم شد. **آماده‌سازی تیمار شاهد:** تیمار شاهد مایه‌زنی باکتری نداشت.

### نتایج و بحث

**ارزیابی کیفی توان گشایش پتاسیم کانی‌ها:** برخی از باکتری‌ها توان پیدایش هاله روشن در پیرامون کلنی و یا دگرش رنگ کشتگاه را با ساخت و رهاسازی اسیدها داشتند. از میان ۴۰ جدایه آزمون شده باکتری‌های ۱، ۲، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۲۷، ۳۰، ۳۱ و ۳۷ هاله روشن با پهنای ۴ تا ۷ میلی‌متر داشته و بیش‌تر مایه دگرش رنگ کشتگاه شدند. اگرچه در گزارش‌های دیگران همبستگی مثبت میان ساخت هاله روشن در کشتگاه جامد و توان گشایش باکتری در کشتگاه آبکی دیده شده است ولی گزارش‌هایی شده است که باکتری‌هایی که توان ساخت هاله در کشتگاه جامد را نداشته‌اند، توان بالایی در گشایش فسفر و یا پتاسیم در کشتگاه آبکی از خود نشان داده‌اند (ابراهیمی هور و همکاران، ۱۳۹۶؛ ملبوبی ۱۳۹۰). پیدایش هاله روشن وابستگی بالایی به ساخت و رهاسازی آگزوپلی ساکارید از باکتری‌های مورد نظر دارد ولی دگرگونی رنگ کشتگاه بیش‌تر وابسته به اسیدی شدن کشتگاه می‌باشد (۲۳).

**ارزیابی توان گشایش فسفر از تری کلسیم فسفات:** از میان ۴۰ جدایه آزمون شده ۳۲ درصد از جدایه‌ها توان ساخت هاله روشن را داشتند که باکتری‌های ۱،

جدایه ۱۹ و کمترین اندازه ۱۳۲/۷۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۷ بود. رهاسازی پتاسیم از خاستگاه بیوتیت، موسکویت و فلدسپات پتاسیم در کشت هر یک از باکتری‌ها در برابر گواه آزمایش (مایه‌زنی نشده) ناهمانندی چشمگیر داشت. رها شدن پتاسیم ساختمانی با کشت جدایه‌ها، می‌تواند به ساخت اسیدهای آلی و کانی، ساخت سایدروفور، اگزوبلی‌ساکاریدها و آنزیم‌هایی وابسته باشد که این ریزجانداران در سوخت و ساز خود در زیستگاه رها می‌سازند (۲۴). سوگوماران و جانارتام (۲۰۰۷)، باکتری‌هایی با توانایی رهاسازی پتاسیم از میکروکلین ارتوکلاز و میکای موسکویت را جداسازی نمودند (۳۱). جواد کشاورز زرچانی و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی با جداسازی جنس‌های باسیلوس و آرتروباکتر از خاک، آن‌ها را گشاینده کارای پتاسیم از کانی موسکویت و بیوتیت گزارش کردند (۱۴). آن‌ها رهاسازی پتاسیم از بیوتیت را با این باکتری‌ها ۳۸-۱/۸۸ میلی‌گرم بر گرم گزارش نمودند. بدر (۲۰۰۶) گزارش کرد که در کشت باکتری‌های گشاینده پتاسیم، اندازه پتاسیم رها شده در زمان ۷ روز ۷۵۸-۹۰ میلی‌گرم در لیتر بوده است (۴). پراجاپاتی و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش خود بهترین جدایه گشاینده پتاسیم را *انتروباکتر هورماچی* (*Enterobacter hormaeche*) گزارش کردند.

هیدروکسیل در برابر لایه‌های سیلیکات است (۸). اسلامی و همکاران (۲۰۱۷) رهاسازی پتاسیم توسط باکتری *انتروباکتر کولئوس* از ورمی کولیت را ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از موسکویت را ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش نمودند (۸). رسولی و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی پیامد باکتری‌ها بر رهاسازی پتاسیم از بیوتیت، موسکویت و فلوگوپیت بررسی کردند. پس از ۱۰ روز انکوباسیون بیش‌ترین پتاسیم رها شده را ۴/۲۷ میکروگرم در میلی‌لیتر از کانی بیوتیت و کم‌ترین آن را ۱/۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از موسکویت گزارش نمودند (۲۴).

همان‌گونه که شکل ۲ نشان می‌دهد اندازه پتاسیم رها شده از کانی‌ها، با جدایه‌های گوناگون ناهمانند می‌باشد. این وابسته به فراوانی و گونه اسیدهای ساخته شده و یا دیگر سازوکارهای باکتری است. بیش‌ترین اندازه پتاسیم رها شده از کانی بیوتیت ۵۴۱۶/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۱۰ و کم‌ترین اندازه ۶۴۷/۱۸ میلی‌گرم در کشت کنترل به‌دست آمد. در کشتگاه الکساندروف دارای موسکویت کم‌ترین اندازه پتاسیم رها شده ۱۴۸/۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۲۱ و بیش‌ترین اندازه آن ۲۰۲۶/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشت جدایه ۱۰ بود. بیش‌ترین اندازه رهاسازی پتاسیم از فلدسپات ۵۳۴/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشت

جدول ۴- تجزیه واریانس داده‌های رهاسازی پتاسیم ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) در تیمارهای جدایه باکتری و گونه کانی به‌کار رفته در کشتگاه.

**Table 4. Analysis of variance based on the effect of the mineral and bacteria types on release of potassium ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).**

میانگین مربعات Mean square	درجه آزادی DF	منابع Source
100079565.0**	2	کانی Mineral
4041186.6**	30	باکتری Bacteria
1552320.0**	60	باکتری*کانی Bacteria* Mineral
44991.2	186	خطا Error

significant difference at  $P < 0.05$ .

جدول ۵- نتایج آزمون مقایسه میانگین برای تأثیر برهم کنش انواع کانی و باکتری بر رهاسازی پتاسیم ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Table 5. The results of comparison of means based on the effect of mineral and bacteria types on release of potassium ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

تیمار Treatment	میانگین ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) Mean ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	انحراف استاندارد Standard deviation
F1	338.8 <sup>x-c'</sup>	26.2
F2	358.8 <sup>w-c'</sup>	44.8
F4	411.9 <sup>u-c'</sup>	40.7
F5	185.9 <sup>b'c'</sup>	20.5
F6	172.6 <sup>c'</sup>	16.3
F7	132.8 <sup>c'</sup>	14.1
F8	166.0 <sup>c'</sup>	26.2
F9	242.4 <sup>z-c'</sup>	50.8
F10	505.0 <sup>r-c'</sup>	32.9
F11	136.1 <sup>c'</sup>	20.5
F12	372.0 <sup>w-c'</sup>	37.3
F15	239.1 <sup>z-c'</sup>	26.2
F17	132.8 <sup>c'</sup>	29.4
F18	136.1 <sup>c'</sup>	41.0
F19	534.9 <sup>r-c'</sup>	70.2
F20	352.1 <sup>w-c'</sup>	63.6
F21	242.4 <sup>z-c'</sup>	45.3
F24	185.9 <sup>b'c'</sup>	24.9
F25	531.6 <sup>r-c'</sup>	21.5
F27	202.6 <sup>ab'c'</sup>	56.4
F29	179.3 <sup>b'c'</sup>	58.9
F30	298.9 <sup>z-c'</sup>	44.8
F31	225.8 <sup>z-c'</sup>	44.8
F32	195.9 <sup>ab'c'</sup>	33.9
F33	152.7 <sup>c'</sup>	24.4
F34	505.0 <sup>r-c'</sup>	49.1
F37	388.7 <sup>v-c'</sup>	49.7
F38	202.6 <sup>ab'c'</sup>	43.1
F39	195.9 <sup>ab'c'</sup>	44.8
F40	235.8 <sup>z-c'</sup>	24.9
F41	146.1 <sup>c'</sup>	36.7
B1	4302.9 <sup>c</sup>	122.1
B2	4103.5 <sup>cd</sup>	40.7
B4	3339.1 <sup>f</sup>	245.3
B5	1461.4 <sup>j-m</sup>	107.7
B6	2608.0 <sup>g</sup>	215.4
B7	2259.0 <sup>h</sup>	186.5
B8	1843.6 <sup>ij</sup>	164.5
B9	2824.0 <sup>g</sup>	224.2

ادامه جدول ۵-

Continue Table 5.

تیمار Treatment	میانگین (mg kg <sup>-1</sup> ) Mean (mg kg <sup>-1</sup> )	انحراف استاندارد Standard deviation
B10	5416.2 <sup>a</sup>	102.4
B11	1361.7 <sup>k-n</sup>	226.6
B12	4834.6 <sup>b</sup>	490.7
B15	879.8 <sup>o-r</sup>	308.2
B17	1494.6 <sup>j-m</sup>	183.5
B18	2009.8 <sup>hi</sup>	162.8
B19	3588.3 <sup>ef</sup>	238.5
B20	3887.4 <sup>de</sup>	310.9
B21	813.4 <sup>o-v</sup>	122.1
B24	1129.1 <sup>m-p</sup>	142.9
B25	3671.4 <sup>ef</sup>	508.9
B27	746.9 <sup>p-y</sup>	142.9
B29	1328.5 <sup>lmn</sup>	102.4
B30	846.6 <sup>o-t</sup>	285.9
B31	4203.2 <sup>cd</sup>	373.0
B32	1810.4 <sup>ij</sup>	0.000
B33	780.1 <sup>p-w</sup>	367.1
B34	863.2 <sup>o-s</sup>	266.9
B37	3688.0 <sup>ef</sup>	531.2
B38	1727.3 <sup>i-l</sup>	310.9
B39	1112.5 <sup>m-p</sup>	215.4
B40	763.5 <sup>p-x</sup>	146.8
B41	647.2 <sup>q-z</sup>	102.4
M1	1677.4 <sup>i-l</sup>	164.5
M2	1660.8 <sup>i-l</sup>	141.0
M4	1195.5 <sup>mno</sup>	102.4
M5	647.2 <sup>q-z</sup>	169.5
M6	414.6 <sup>u-c'</sup>	81.4
M7	314.9 <sup>z-c'</sup>	40.7
M8	746.9 <sup>p-y</sup>	47.0
M9	198.5 <sup>ab'c'</sup>	62.2
M10	2026.4 <sup>hi</sup>	183.5
M11	364.7 <sup>w-c'</sup>	40.7
M12	1743.9 <sup>ijk</sup>	169.5
M15	464.4 <sup>r-c'</sup>	162.8
M17	630.6 <sup>r-a'</sup>	130.8
M18	198.5 <sup>ab'c'</sup>	47.0
M19	1062.6 <sup>n-q</sup>	203.5
M20	1777.1 <sup>ij</sup>	245.3
M21	148.7 <sup>c'</sup>	62.2

ادامه جدول ۵-

Continue Table 5.

تیمار Treatment	میانگین (mg kg <sup>-1</sup> ) Mean (mg kg <sup>-1</sup> )	انحراف استاندارد Standard deviation
M24	447.8 <sup>s-c'</sup>	117.5
M25	1677.4 <sup>i-l</sup>	188.0
M27	830.0 <sup>o-u</sup>	102.4
M29	647.2 <sup>q-z</sup>	310.9
M30	414.6 <sup>u-c'</sup>	146.8
M31	1345.1 <sup>k-n</sup>	124.4
M32	530.9 <sup>r-c'</sup>	188.0
M33	614.0 <sup>r-b'</sup>	141.0
M34	431.2 <sup>t-c'</sup>	142.9
M37	863.2 <sup>o-s</sup>	266.9
M38	331.5 <sup>y-c'</sup>	23.5
M39	813.4 <sup>o-v</sup>	81.4
M40	215.2 <sup>z-c'</sup>	70.5
M41	198.5 <sup>ab'c'</sup>	62.2

F, B و M به ترتیب مربوط به کانی‌های فلدسپار، بیوتیت و مسکوویت هستند. حروف لاتین در جدول نتایج مقایسه میانگین‌ها را بر مبنای آزمون دانکن نشان می‌دهند. در هر ستون حداقل یک حرف لاتین مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) بین تیمارها است.

F, B and M are related to Feldspar, Biotite and Muscovite minerals, respectively. The latin letters in the table show the results of comparison of the averages according to Duncan's test. Similar letters in each column indicate no significant difference between treatments at  $P < 0.05$ .

باکتریایی نیز رسید. در کشتگاه بیوتیت‌دار و هم‌چنین موسکوویت‌دار بیش‌ترین دگرش pH را جدایه ۳۱ نشان داد و در کشتگاه فلدسپات‌دار، بیش‌ترین دگرگونی از آن جدایه ۱ بود. باکتری‌ها در زیست‌هوای خود با ساخت پلی‌ساکاریدهای برون یاخته‌ای مایه کاهش آهسته pH می‌شوند و در زیست‌کم‌هوای بی‌هوای بیش‌تر با ساخت اسیدهای آلی pH را به تندی کاهش می‌دهند (۳۱). کاهش pH در نمونه‌های شاهد بسیار اندک و وابسته به واکنش‌های شیمیایی درون کشتگاه است.

**دگرش pH کشتگاه‌ها:** همبستگی منفی و چشم‌گیری میان اندازه pH و اندازه‌های پتاسیم ره‌اشده در کشتگاه دیده شد (جدول ۶). دامنه دگرش pH در کشتگاه بیوتیت‌دار در نمونه مایه‌زنی نشده (شاهد آزمایش) و نمونه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های گوناگون به ترتیب میان ۶/۸ تا ۵ بود. اندازه pH کشتگاه دارای موسکوویت در تیمار شاهد آزمایش ۶/۸ بود که در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری تا ۵/۲ کاهش یافت. کاهش pH در کشتگاه دارای فلدسپات پتاسیم از ۶/۷ در شاهد آزمایش به ۴/۹ در تیمارهای

جدول ۶- همبستگی میان pH و پتاسیم گشوده از بیوتیت، موسکویت و فلدسپات پتاسیم، فسفر گشوده شده از آپاتیت.

**Table 6. Correlation between pH of culture media and the released potassium from feldspar, biotite and muscovite and phosphorus from tricalcium phosphate.**

تری کلسیم فسفات Tricalcium phosphate	فلدسپات Feldspar	موسکویت Muscovite	بیوتیت Biotite	pH
-0.613**	-0.377*	-0.562**	-0.561**	1
				pH

\* و \*\* به ترتیب نشان دهنده همبستگی معنی دار در سطح ۵ درصد و یک درصد هستند.

\* Correlation is significant at the 0.05 level. & \*\* Correlation is significant at the 0.01 level.

کیلوگرم بود و کمترین آن ۳۵۸۲/۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم در کشت کنترل دیده شد (جدول ۸). در پژوهشی رهاسازی فسفر از تری کلسیم فسفات با هفت جدایه باکتری در شرایط آزمایشگاهی ۶۱/۲۶-۴۴/۹۴ میلی گرم بر گرم گزارش گردید (۱۴).

ارزیابی کمی رهاسازی فسفر: تجزیه واریانس داده‌های رهاسازی فسفر از کانی آپاتیت در جدول ۷ نشان می‌دهد که پیامد جدایه‌های باکتریایی در رهاسازی فسفر از دیدگاه آماری در پایه آماری ۱ درصد معنی دار بود. بیشترین فسفر رهاسازده در کشت جدایه شماره ۲۵ و به اندازه ۳۷۰۱۱/۴۲ میلی گرم بر

جدول ۷- تجزیه واریانس داده‌های رهاسازی فسفر و آهن ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) در کشت جدایه‌ها.

**Table 7. Analysis of variance based on the effect of the bacteria types on release of phosphorus and iron ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).**

منابع Source	درجه آزادی DF	میانگین مربعات (فسفر) Mean square (phosphorus)	میانگین مربعات (آهن) Mean square (iron)
باکتری Bacteria	30	247325541**	597374.64**
خطا Error	62	2639456	19648.92

\* و \*\* به ترتیب معنی دار بودن در سطح ۵ درصد و ۱ درصد.

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

رهاسازی فسفر جدایه‌های فلاووباکتریوم را در کشتگاه اسپربر بررسی کردند و نشان دادند که از ۴۴ جدایه آزمایش شده ۳۴ جدایه توانایی اسیدزایی و رهاسازی فسفر از تری کلسیم فسفات را از ۳۷/۴۸-۰ میکروگرم بر میلی لیتر داشتند (۲۲). تراوش اسیدهای آلی و کانی با کاهش pH و کلاته شدن فلزها موجب افزایش رهاسازی فسفر می‌شوند (۹).

ارزیابی کمی رهاسازی آهن از هماتیت: تجزیه واریانس داده‌های رهاسازی آهن نشان داد که پیامد باکتری‌ها در پایه آماری ۱ درصد معنی دار است (جدول ۷). آزمون میانگین‌ها نشان داد که بیشترین آهن رها شده در کشت جدایه ۴ و به اندازه ۲۶۶۱/۶۶ میلی گرم بر کیلوگرم و کمترین اندازه آن در کشت جدایه ۳۳ و

مایه‌زنی باکتری‌ها موجب کاهش pH کشتگاه آپاتیت‌دار گردید. دامنه دگرش pH از ۶/۲ در شاهد تا ۴/۴ در تیمارهای باکتریایی بود. جدول ۵ همبستگی منفی و معنی داری را نشان می‌دهد. در این کشتگاه با کاهش pH فسفر رها شده افزایش یافته است. ابراهیمی و همکاران (۹۶) میانگین فسفر رهاسازده توسط ازتوباکتری‌ها را در کشتگاه دارای تری کلسیم فسفات ۱۴۵/۳ میلی گرم بر لیتر و در کشتگاه دارای سنگ فسفات ۱۴/۱ میلی گرم بر لیتر گزارش نمودند. گوانگ کن (۱۱)، اندازه فسفر رها شده در کشتگاه دارای تری کلسیم فسفات مایه‌زنی شده با برخی از باکتری‌های گرم منفی را ۷۸/۸ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر کشتگاه گزارش نمود. رفیعی و اسدی رحمانی (۱۳۹۲) توانایی

به اندازه ۸۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. اسلامی و همکاران (۲۰۱۷) اندازه آهن رها شده از ورمی‌کولیت را در روز ۱۴ با باکتری *انتروباکتر کولئوس* ۱/۳۸ میلی‌گرم بر گرم گزارش کردند (۸). سلیمان‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) رهاسازی آهن را از کانی‌های موسکویت و فلوگوپیت بررسی کردند و رهاسازی آهن را از جدایه باسیلوس سرئوس *Bacillus cereus* از فلوگوپیت بیش‌تر از موسکویت گزارش دادند (۸).

جدول ۸- آزمون میانگین‌های فسفر ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) و آهن ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) رها شده در کشتگاه‌های مایه‌زنی شده با باکتری‌های جدا شده.

**Table 8. The comparison of means of the released phosphorus and iron ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) in inoculation of culture media with isolated bacteria.**

انحراف استاندارد	آهن رها شده	انحراف استاندارد	فسفر رها شده	جدایه باکتری
Standard deviation	The released Fe	Standard deviation	The released P	Bacterial isolate
192.931	1766.667 <sup>cd</sup>	712.70	17201.90 <sup>ef</sup>	1
141.951	1810.000 <sup>cd</sup>	2336.73	22249.52 <sup>d</sup>	2
135.790	2661.667 <sup>a</sup>	1069.04	14725.71 <sup>f</sup>	4
108.012	1050.000 <sup>h-l</sup>	587.09	7201.90 <sup>k-n</sup>	5
29.533	958.333 <sup>kl</sup>	971.24	5106.67 <sup>mo</sup>	6
99.331	1110.000 <sup>b-k</sup>	712.70	8059.05 <sup>i-n</sup>	7
89.660	1431.667 <sup>fg</sup>	1553.29	7392.38 <sup>k-n</sup>	8
62.361	883.333 <sup>kl</sup>	1069.04	11297.14 <sup>hi</sup>	9
117.851	2083.333 <sup>b</sup>	2033.73	34725.71 <sup>ab</sup>	10
52.015	931.667 <sup>kl</sup>	712.70	15487.62 <sup>efg</sup>	11
20.548	1023.333 <sup>i-l</sup>	1366.92	21201.90 <sup>d</sup>	12
29.439	940.000 <sup>kl</sup>	466.57	5011.43 <sup>no</sup>	15
204.342	1393.333 <sup>fg</sup>	1366.92	10820.95 <sup>hij</sup>	17
64.807	2060.000 <sup>b</sup>	841.12	8154.29 <sup>j-m</sup>	18
81.650	1100.000 <sup>h-l</sup>	1234.43	18154.29 <sup>e</sup>	19
62.361	1216.667 <sup>g-j</sup>	1406.17	26820.95 <sup>c</sup>	20
190.671	1246.667 <sup>ghi</sup>	1517.85	15487.62 <sup>efg</sup>	21
20.950	921.667 <sup>kl</sup>	1655.06	9678.10 <sup>ijk</sup>	24
88.066	1096.667 <sup>h-l</sup>	2468.85	37011.43 <sup>a</sup>	25
183.953	1031.667 <sup>h-l</sup>	587.09	13487.62 <sup>gh</sup>	27
82.698	1118.333 <sup>h-k</sup>	1899.99	9201.90 <sup>ijk</sup>	29
43.205	1560.000 <sup>ef</sup>	485.62	8344.76 <sup>i-l</sup>	30
108.012	1600.000 <sup>def</sup>	1166.42	23582.86 <sup>d</sup>	31
173.269	1253.333 <sup>ghi</sup>	1406.17	6630.48 <sup>k-n</sup>	32
206.074	830.000 <sup>l</sup>	749.91	5392.38 <sup>l-o</sup>	33
153.641	1128.333 <sup>h-k</sup>	2103.88	13392.38 <sup>gh</sup>	34
83.367	1965.000 <sup>bc</sup>	1866.28	33011.43 <sup>b</sup>	37
116.833	1300.000 <sup>gh</sup>	587.09	16535.24 <sup>ef</sup>	38
62.361	833.333 <sup>l</sup>	617.21	5582.86 <sup>l-o</sup>	39
40.277	923.333 <sup>kl</sup>	1166.42	9297.14 <sup>ijk</sup>	40
23.921	921.667 <sup>kl</sup>	233.28	3582.86 <sup>o</sup>	Control

در هر ستون داشتن دست کم یک حرف لاتین یکسان نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار در پایه آماری ۵ درصد است.

Similar letters in each column indicate no significant difference between treatments at  $P < 0.05$ .

باشد (۱۸). پهنای هاله نارنجی پیرامون باکتری از ۵ میلی‌متر در کشت جدایه ۱ تا ۲۰ میلی‌متر در کشت جدایه ۱۰ بود. همه جدایه‌ها توان ساخت سایدروفور را داشتند. گزارش شده است که گذشته از لاکتوباسیلوس‌ها دیگر باکتری‌ها توان ساخت سایدروفور را دارا می‌باشند (۱۷). ریزجانداران خاک در کمبود آهن (غلظت آهن کم‌تر از ۱۰ میکرومولار)، با تراوش سایدروفور که هم‌تافته (کمپلکس) پایداری با آهن می‌دهد، آن را به ریخت رها شده و فراهم درمی‌آورند (۱۷). احمد و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی توان ساخت سایدروفور ۶ جدایه از *ازتوباکتر* و *سودوموناس* دریافتند که توان *سودوموناس*‌ها در ساخت سایدروفورها بالاتر است (۱).

**مهار قارچ‌های بیماری‌زا با باکتری‌ها:** از میان همه جدایه‌ها تنها ۱۰٪ از آنها توانا در مهار دو قارچ بیماری‌زای سیب‌زمینی بهره‌گیری شده در این پژوهش بودند. باکتری‌های شماره ۲، ۱۰، ۲۵ و ۳۷ از میان جدایه‌های آزمون شده بر قارچ *رایزوکتونیا سولانی* نشان بازدارنده بیش‌تری داشتند که بیش‌ترین توان مهار را جدایه ۲ و ۲۵ داشت. قارچ بیماری‌زا در کنار آن‌ها توان رشد نداشت و توان بازدارندگی آن‌ها ۱ ارزیابی شد. توان بازدارندگی جدایه‌های ۱۰ و ۳۷ نیز به ترتیب ۰/۸ و ۰/۷ ارزیابی گردید زیرا بدون باکتری پهنای رشد کلنی قارچ ۲۵ میلی‌متر بود که در کنار آن‌ها به ترتیب به ۵ و ۷ میلی‌متر رسید.

از میان جدایه‌های آزمون شده باکتری‌های شماره ۲ و ۴، ۱۰ و ۳۱ بر قارچ *کولتوتریکوم کوکودس* نشان بازدارنده بیش‌تری داشتند، به‌ویژه باکتری شماره ۱۰ که مایه ایست رشد این قارچ نیز شد (توان بازدارندگی ۱). پس از آن جدایه‌های ۳۱، ۲ و ۴ بود که پهنای رشد کلنی قارچ در کنار آن‌ها به ترتیب برابر ۵، ۷، و ۱۰ میلی‌متر بود که توان بازدارندگی آن‌ها به ترتیب ۰/۸، ۰/۷ و ۰/۶ برآورد شد. این بخش از

آزمون اکسین: بررسی توان ساخت اکسین نشان داد که قطر هاله به قطر کلنی در جدایه‌های ۱، ۲، ۴، ۱۰، ۱۲، ۱۹، ۲۰، ۲۵، ۳۱ و ۳۷ به ترتیب برابر ۲، ۰، ۲، ۳، ۲/۵، ۳، ۲، ۰، ۳ و ۳ بود. از میان همه جدایه‌ها تنها ۳۵٪ از آن‌ها توان ساخت اکسین را دارا بودند که از آن ۲۵ درصد از جدایه‌ها در کلاس یک و ۱۰ درصد از جدایه‌ها در کلاس دو ساخت اکسین بودند. ۶۵ درصد جدایه‌ها توان ساخت اکسین را در زمان آزمایش نداشتند. جدایه‌های ۱۰، ۱۹، ۳۱ و ۳۷ بیش‌ترین توان ساخت اکسین را از خود نشان دادند. اکسین یکی از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی است که بر رشد و نمو و دانه بندی گیاه کارایی دارد (۱۰). احمد و همکاران (۲۰۰۸) جدایه‌های باکتری جنس‌های *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، *مزوریویوم* و *باسیلوس* را از دیدگاه ساخت اکسین بررسی کردند و دیدند که به ترتیب ۸۰ درصد از سه جنس نخست توان ساخت ایندول استیک اسید را دارند در برابر آن‌ها تنها ۲۰ درصد از جنس *باسیلوس* توانستند ایندول استیک اسید بسازند (۱). خاکی‌پور و همکاران (۹۰) در پژوهشی که بر جدایه‌های *سودوموناس فلورسنس* و *سودوموناس پوتیدا* انجام دادند، ۷۲ درصد از جدایه‌ها را توانا در ساخت اکسین گزارش کردند (۱۵). خوش‌رو و همکاران (۹۳)، با بررسی ویژگی‌های جدا شده از کودهای زیستی بارور ۲-، بیوسوپرفسفات، سوپر نیتروپلاس و نیتروکسین دریافتند همه جدایه‌های جدا شده از این کودهای زیستی می‌توانند اکسین بسازند و بیش‌ترین توان ساخت اکسین در جدایه N4 (جدا شده از نیتروکسین) به اندازه ۱۵/۱ میلی‌گرم بر لیتر دیده شد (۱۶).

**توان ساخت سایدروفور:** توان ساخت سایدروفور جدایه‌ها به روش کیفی آزمون شد. همه جدایه‌ها توانایی ساخت سایدروفور را داشتند. پهنای هاله نارنجی می‌تواند نشانی از توان ساخت سایدروفور



همه کاتالاز مثبت بودند ولی از همه باکتری‌ها تنها ۴۵٪ سیتوکروم اکسیداز مثبت بودند. در آزمون‌های بیوشیمیایی دیده شد که از میان جدایه‌ها تنها ۵٪ آن‌ها توانا در هیدرولیز نشاسته، ۴۰٪ توانا در بهره‌گیری از اوره و ۷۲٪ از سیترات بودند. در کنار آن ۵۲٪ از باکتری‌ها توانا در بهره‌گیری از ژلاتین و ۷۰٪ دارای آنزیم نیترات رداکتاز بودند. همچنین ۲۰٪ جدایه‌ها توانا در ساخت سولفید هیدروژن بودند.

پژوهش نشان از توانایی خوب جدایه‌های ۲ و به‌ویژه ۱۰ در کاهش رشد قارچ‌های بیماری‌زا دارد.

**آزمون‌های بیوشیمیایی جدایه‌های برتر:** برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ۱۰ جدایه برتر از باکتری‌های آزمون شده در جدول ۹ آورده شده است. همه باکتری‌های توانا در رهاسازی پتاسیم، فسفر و آهن ریختی میله‌ای، گرم منفی با کلنی‌هایی به رنگ‌های گرمی، زرد و نارنجی بودند. همه آن‌ها توان جابجایی داشته و گذشته از جدایه ۱

جدول ۹- ریخت‌شناسی و پاسخ جدایه‌ها به آزمون‌های بیوشیمیایی.

Table 9. The results of biochemical tests.

37	31	25	20	19	12	10	4	2	1	Strain name	نام جدایه
Yellow	Cream	Cream	Yellow	Yellow	orange	Cream	orange	Cream	Cream	Colony color	رنگ کلنی
Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Shape	شکل
+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	KOH test	آزمون KOH
-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	Gram test	آزمون گرم
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Catalase	کاتالاز
+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	Citrate test	آزمون سیترات
+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	Gelatinase test	آزمون ژلاتیناز
-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	Starch test	آزمون نشاسته
-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	Oxidase test	آزمون اکسیداز
+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	Nitrite reductase	نیتريت رداکتاز
+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	Nitrate reductase	نیترات رداکتاز
+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	Urease	اوره آز
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Motility	توان جابجایی
-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	H2S	سولفید هیدروژن

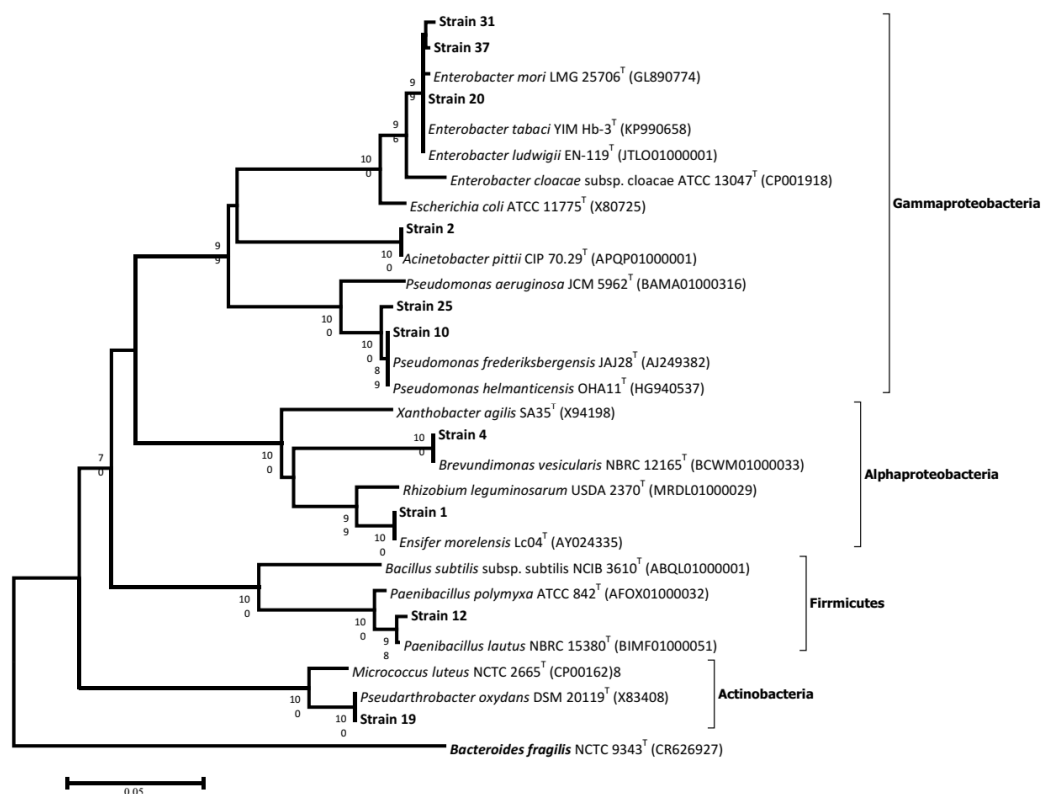
باکتری‌شناسی سیستماتیک برگی انجام شد. یافته‌های شناسایی مولکولی ۱۰ جدایه برتر رهاکننده پتاسیم، فسفر و آهن در جدول ۱۰ و رسم درخت فیلوژنی باکتری‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. شکل ۲ نشان‌دهنده درخت فیلوژنیک 16S rDNA بوده و نمایانگر خویشاوندی میان جدایه‌های بررسی شده با جنس‌های شناخته‌شده‌ای است که خوشه‌های ویژه‌ای دارند.

**شناسایی مولکولی ۱۰ جدایه برتر:** در این گام از میان ۴۰ جدایه بررسی شده در گام درون‌شیشه‌ای، تنها ۱۰ جدایه که دارای توان بالایی در رهاسازی کیفی و کمی پتاسیم فسفر و آهن داشتند و همچنین توان بالایی از دیدگاه ویژگی‌های افزاینده رشد گیاه داشتند، به روش مولکولی شناسایی شدند. شناسایی باکتری‌های جدا شده بر پایه آزمون‌های بیوشیمیایی و کتابچه راهنمای

جدول ۱۰- جدول شناسایی ۱۰ جدایه برتر.

Table 10. 16SrDNA sequence of isolates 1, 2, 4, 10, 12, 19, 20, 25, 31 and 37.

درصد شباهت Identify	همتادریانک ژن GenBankmatch	شماره ورودی Accessionnumber	نوکلئوتید Nucleotid(pb)	ارگانیسم Organism	جدایه Strain
99.8	Lc04(T)	Ay024335	1342	<i>Ensifer morelensis</i>	1
99.9	CIP70.29(T)	APQP01000001	1404	<i>Acinetobacter pittii</i>	2
100	NBRc12165(T)	BCWM01000033	1322	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	4
99.4	JAJ28(T)	Aj249382	1405	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	10
98.8	NRRLNRS666(T)	O78473	938	<i>Paenibacillus lautus</i>	12
99.5	DSM20119(T)	X83408	1394	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	19
100	YIMHb-3(T)	Kp990658	1043	<i>Enterobacter tabaci</i>	20
99.5	OHA11(T)	HG940537	1398	<i>Pseudomonas helmanticensis</i>	25
99.2	LMG25706(T)	GL890774	1042	<i>Enterobacter mori</i>	31
99.6	EN-119(T)	Jtlo01000001	1008	<i>Enterobacter ludwigii</i>	37



شکل ۲- درخت فیلوژنی باکتری‌ها.

Figure 2. Phylogenetic tree Of Bacteria.

پتاسیم نامزد شوند. همراستا با پژوهش‌های دیگر این پژوهش نشان داد که توان رهاسازی پتاسیم، فسفر و آهن جدایه‌ها با توان اسیدزایی و کاهش pH کشتگاه وابسته است. از میان این ۱۰ جدایه، باکتری‌های شماره ۲ و ۱۰ که با نام‌های *Acinetobacter pittii* و *Pseudomonas frederiksbergensis* شناسایی شدند که در بسیاری از آزمون‌ها برتر از دیگر جدایه‌ها بودند. با انجام آزمایش‌های بیش‌تر به‌ویژه کشت گلدانی و میدانی همراه با ارزیابی پیامد بر گیاه، آن‌ها می‌توانند برای ساخت کود بهره‌گیری شوند.

### نتیجه‌گیری کلی

جداسازی، غربالگری و بررسی ویژگی‌های ۴۰ جدایه باکتری از پیرامون ریشه‌های سیب‌زمینی نشان داد که بسیاری از باکتری‌های پیرامون ریشه گیاه سیب‌زمینی می‌توانند از راه‌های گوناگونی مایه افزایش رشد گیاه شوند. بررسی رهاسازی پتاسیم، فسفر و آهن از کانی‌های آن‌ها نشان داد که از میان ۴۰ جدایه بررسی شده، ۱۰ جدایه توان بیش‌تری در گشایش پتاسیم، فسفر و آهن داشته و بسته به دیگر توانایی آن‌ها مانند ساخت اکسین، ساییدروفور، بازدارندگی و مهار دو قارچ بیماری‌زای سیب‌زمینی، هر یک از این ۱۰ جدایه می‌توانند در ساخت کود زیستی رها کننده

### منابع

- Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*. 163: 2. 173-181.
- Amani, B. 1967. Soft rot of ornamental and vegetables. *Iranian Journal of Plant Pathology*. 4: 1-13. (In Persian)
- Archana, D.S., Nandish, M.S., Savalagi, V.P., and Alagawadi, A.R. 2013. Characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from rhizosphere soil. *Bioinfolet*. 10: 1. 248-257.
- Badr, M.A., Shafei, A.M., and El-Deen, S.S. 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.
- Bahar, M., and Danesh, D. 1986. Occurrence of potato black leg in Isfahan. *Proceeding Eighteen plant protection congo of Iran*. 105p. (In Persian)
- Clarridge, J.E. 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17: 4. 840-862.
- Dorjdor, J., Yazdanesad, S., Arzanesh, M.H., and Ajoudanifar, H. 2014. Screening of indigenous potassium-solubilizing bacterial strains and evaluation of their ability in solubilisation of absorbable potassium. *Journal of Microbial World*. 7: 3. 252-264. (In Persian)
- Eslami Seyyedmahaleh, R., Landi, A., Enayatizamir, N., and Hojati, S. 2017. Iron and Potassium Release from Muscovite and Vermiculite by Some Plant Growth Promoting Bacteria. *The Iranian Journal of Soil Research (IJSR)*. 30: 4. 487-496. (In Persian)
- Fankem, H., Nwaga, D., Deubel, A., Dieng, L., Merbach, W., and Etoa, F.X. 2006. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology*. 5: 2450-2460.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41: 2. 109-117.
- Guang-Can, T.A., Shu-Jun, T.I., Miao-Ying, C.A., and Guang-Huang-Hui, X.I. 2008. Phosphate-Solubilizing and-Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated from soils. *Scholars, the Ministry. Pedosphere*. 18: 515-23.

12. Hosseinpour, A., and Kalbasi, M. 2002. Kinetics of non-exchangeable potassium release from soils soil separates in some central region of Iran. Proseeding of 17th WCSS; 2002 Aug 14-21; Thailand, Symposium. 54: 231. 1-11.
13. Hu, X., and Boyer, G.L. 1996. Siderophore-Mediated Aluminum Uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 4044-4048.
14. Keshavarz Zarjani, J., Aliasghar Zad, N., Oustan, S., Emadi, M., and Ahmadi, A. 2013. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 59: 12. 1713-1723.
15. Khakipour, N., Khavazi, K., and Akhgar, A. 2012. Identification of indole compounds produced by a selection of fluorescent pseudomonas and their induction effect on canola growth. *Iranian Journal of Soil Research*. 26: 4. 415-423. (In Persian)
16. Khoshrou, B., Sarikhani, M.R., Aliasghar Zad, N., and Zare, P. 2015. Assessment the important PGPR features of isolates used in biofertilizers Barvar2, Biosuperphosphate, Supernitroplus and Nitroxin. *Applied Soil Reserch*. 3: 1. 39-52. (In Persian)
17. Leoni, L., Ambrosi, C., Petrucca, A., and Visca, P. 2002. Transcriptional regulation of pseudobactin synthesis in the plant growth-promoting *Pseudomonas* B10. *FEMS Microbiology Letters*. 208: 2. 219-225.
18. Loper, J.E., and Henkels, M.D. 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 12. 5357-5363.
19. Martin, H.W., and Sparks, D.L. 1983. Kinetics of Nonexchangeable Potassium Release from Two Coastal Plain Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 47: 883-887.
20. Prajapati K.B., and Modi, H.A. 2012. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria from ceramic industry soil. *CIBTech Journal of Microbiology*. 1: 2-3. 8-14.
21. Pratama, D., and Suwarno, I. 2016. Ability of Potassium-Solubilizing Microbes to Solubilize Feldspar and Their Effects on Sorghum Growth. *Malaysian Journal of Soil Science*. 20: 163-175.
22. Rafiei, S., and Asadi Rahmani, H. 2013. Survey the ability of flavobacterium sp. bacteria in solubilization of insoluble phosphate. *Journal of Soil Biology*. 26: 4. 479-472. (In Persian)
23. Rajawat, M.V.S., Singh, S., Tyagi, S.P., and Saxena, A.K. 2016. A Modified Plate Assay for Rapid Screening of Potassium-Solubilizing Bacteria. *Pedosphere*. 26: 5. 768-773.
24. Rasouli Sadaghiani, M.H., Sadeghi, S., Barin, M., Sepehr, E., and Dovlati, B. 2017. The Effect of Silicate Solubilizing Bacteria on Potassium Release from Mica Minerals and its Uptake by Corn Plants. 20: 78. 89-102.
25. Rodriguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*. 17: 4. 319-339.
26. Sample, E.C., Soper, R.J., and Racz, G.J. 2015. Reactions of Phosphate Fertilizers in Soils. In *The Role of Phosphorus in Agriculture* (eds F. Khasawneh, E. Sample and E. Kamprath). Wiley Press, Pp: 263-310.
27. Sarikhani, M.R., Malbobi, M.A., and Ebrahimi, M. 2014. Phosphate soluble bacteria: Separation of phosphate soluble bacteria and encoding genes, mechanism and genetics of phosphate dissolution. *Agricultural Biotechnology Journal*. 6: 1. 77-110. (In Persian)
28. Schulte, E.B. 2004. Soil and applied iron. *Understanding Plant Nutrient*, A3554, University of Wasconsin-Extension, RP08-2004 (I 09/92).
29. Sheng, X.F., He, L.Y., and Huang, W.Y. 2002. The Conditions of Releasing Potassium by a Silicate-dissolving Bacterial Strain NBT. *Agricultural Sciences in China*. 1: 6. 662-666.
30. Sparks, D.L. 1987. Potassium Dynamics in Soils. In: Stewart B.A. (eds) *Advances in Soil Science*. Advances in Soil Science, Springer, New York, NY, Pp: 1-63.
31. Sugumaran, P., and Janarthanam, B. 2007. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3: 3. 350-355.



## **Isolation and identification of 10 strains of potassium, phosphorus and iron solubilizing bacteria from the soil around the Potato roots in Hamadan province**

**\*M. Ghanbari<sup>1</sup> and A.A. Safari Sinigani<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. Student, Dept. of Soil Science, Bu-Ali Sina University of Hamedan, Iran,

<sup>2</sup>Professor, Dept. of Soil Science, Bu-Ali Sina University of Hamedan, Iran

Received: 06.04.2020; Accepted: 09.15.2020

### **Abstract**

**Background and Objectives:** About 98% of the soil's potassium is in the form of minerals that are not available to plants. On the other hand, the continuous use of fertilizers has unintended consequences for different habitats. Acid producing microorganisms can transform silicate minerals that contain potassium and release available potassium for plants. The aim of this study was to isolate and identify potassium, phosphorus and iron solubilizing bacteria from the minerals of these elements (potassium silicate, tricalcium phosphate, and hematite) from the soil around potato roots in order to make biofertilizers from plant growth-promoting bacteria.

**Materials and Methods:** Potassium solubilizing bacteria were isolated from the soil around potato roots. The isolates were tested and selected in terms of their ability to release potassium from three minerals (biotite, muscovite, and feldspar potassium) qualitatively by spot cultivation based on the emergence of the halo (Halo method) or changing the color of Aleksandrov medium. Then, to estimate the ability of the isolates for releasing potassium, they were cultured in Aleksandrov liquid medium. To investigate the ability for solubilizing tricalcium phosphate the isolates were cultured in the same way as described above, but in the Pikovskaya medium. To investigate the ability for solubilizing iron, the modified Pikovskaya medium with hematite mineral was used. This study was performed by a completely randomized factorial design, in which, the minerals used in three levels (muscovite, biotite and feldspar potassium) were the first factor and 30 bacterial isolates were the second factor to release potassium. To analyze the release of phosphorus and iron, a completely randomized design was used and only the ability of 30 isolates for solubilizing of one mineral (tricalcium phosphate or hematite) was tested separately. Statistical analysis was performed with SAS software. Isolates were examined and identified using morphological, biochemical and molecular tests. Then, 10 superior isolates were identified and the plant growth promoting ability tests were performed on them.

**Results:** Among 30 isolates, 10 top isolates were separated and identified for potassium, phosphorus and iron releasing ability. Flame photometric studies showed that the amount of potassium released by the isolates in the medium containing biotite was 647.18 mg/kg from control to 5416.16 mg/kg from number 10, in the medium containing muscovite was 148.68 mg/kg from number 21 to 2026.36 mg/kg from number 10, and in the medium containing potassium feldspar was 132.76 mg/kg from number 7 to 534.88 mg/kg from number 19. The amount of phosphorus released by the isolates was 3582.85 mg/kg from control to 37011.42 mg/kg from number 25 and the amount of iron was 830.00 mg/kg from number 33 to 2661.66 mg/kg from number 4. In this study the released potassium from biotite and feldspar minerals by bacterial isolates was the highest and the lowest one, respectively. There was a high correlation between bacterial acid production and solubilizing minerals ability.

\* Corresponding Author; Email: sahel\_4255@yahoo.com

**Conclusion:** 10 top isolates were separated and identified from the soil around potato roots based on evaluating potassium, phosphorus and iron releasing ability. In addition to being potent for releasing potassium, these isolates were also capable of producing auxin and siderophores, and also inhibiting pathogenic fungi (which are characteristics of PGPR bacteria). It is suggested to utilize these isolated bacteria in the production of biofertilizers to increase the bioavailability of potassium, phosphorus and iron for plants and to improve the growth and productivity of crops, especially potatoes.

**Keywords:** Biofertilizer, Biotite, Hematite, Muscovite, Potassium Feldspar, Potassium Solubilizing Bacteria, Tricalcium phosphate