مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره سوم (پیاپی ۲۰) پاییز ۱۳۹۳
صفحات ۲۶۴-۲۵۲

Original Article

غربالگری سویه های بومی باکتری های حل کننده پتاسیم و بررسی توانایی جدایه ها در آزادسازی پتاسیم قابل جذب

جعفر درج در[۱]، سجاد یزدان ستاد*[۲]، محمدحسین ارزانش[۳]، هاتف آجودانی فر[۴]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، دامغان، ایران [۲] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دامغان، ایران[۳] استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، بخش خاک و آب، گرگان، ایران [۴] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، دامغان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در حدود ۹۸ درصد پتاسیم موجود در خاک به شکل کانی های معدنی است که برای گیاهان قابل استفاده نمی باشد. باکتری های حل کننده پتاسیم قادرند سیلیکات های معدنی حاوی پتاسیم را تجزیه کرده و پتاسیم قابل جذب برای گیاهان آزاد کنند. این مطالعه با هدف جداسازی باکتری های حل کننده پتاسیم از خاک ریزوسفری گیاهان و بررسی توانایی جدایه ها در محلول سازی سیلیکات ها جهت آزادسازی پتاسیم انجام شد.

مواد و روش ها: باکتری های حل کننده پتاسیم از نمونه های خاک ریزوسفری گیاهان مختلف جداسازی شدند. جدایه ها در محیط کشت الکساندروف کشت و بر اساس تشکیل هاله ناشی از حلالیت پتاسیم بررسی شدند. جدایه ها، با استفاده از روش های ماکروسکوپی، میکروسکوپی، بیوشیمیایی و مولکولی مورد شناسایی قرار گرفتند. به منظور تخمین کمی پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها در محیط مایع الکساندروف و در خاک از روش فلیم فوتومتری استفاده شد.

یافته ها: از مجموع ۳۰ جدایه با قابلیت آزادسازی پتاسیم، تعداد ۵ جدایه توانایی بالایی در حلالیت پتاسیم داشتند. مطالعات بیوشیمیایی و مولکولی نشان داد که جدایه ها متعلق به سه جنس *باسیلوس*، *پانی باسیلوس* و *سودوموناس* بودند. بررسی های فلیم فوتومتری نشان داد که مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها بین ۹۵۰ تا ۱۲۵۰ میلی گرم بر لیتر در محیط مایع و بین ۵۲۵ تا ۵۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در خاک بود.

نتیجه گیری: باکتری های حل کننده پتاسیم از ریزوسفر خاک هایی با توانایی بالای تثبیت پتاسیم جداسازی و شناسایی گردیدند. این جدایه ها توانایی قابل ملاحظه ای در حلالیت کانی ها و آزادسازی پتاسیم معدنی قابل جذب دارند و می توانند در تولید کودهای بیولوژیک به منظور افزایش میزان پتاسیم در دسترس خاک و بهبودی رشد و بازدهی گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: محیط الکساندروف، پتاسیم، *باسیلوس*، *پانی باسیلوس*، *سودوموناس*.

دریافت مقاله: خرداد ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: مرداد ماه ۹۳

مقدمه

پتاسیم هفتمین عنصر موجود در پوسته زمین است که سهم لیتوسفر (سنگ کره) از آن ۲/۵ درصد می باشد (۱). پتاسیم یکی از مواد مغذی ضروری و فراوان ترین کاتیون جذب شده در گیاهان عالی می باشد. این عنصر نقش مهمی را در رشد و نمو گیاهان، فعال سازی آنزیم ها، افزایش فتوسنتز، تنظیم روزنه ها، انتقال قند و نشاسته، جذب نیتروژن، و سنتز پروتئین دارد. پتاسیم علاوه بر ضرورت در متابولیسم گیاه، کیفیت محصول را با افزایش وزن دانه و تقویت ریشه و ساقه بهبود بخشیده و

*) آدرس برای مکاتبه: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان . تلفن: ۰۹۱۴۴۲۶۳۸۶۴ پست الکترونیک: sajjad.yazdansetad@gmail.com

همچنین سبب افزایش مقاومت گیاه به بیماری ها، آفات و تنش ها می گردد (۲). پتاسیم موجود در خاک به سه شکل کانی های خاک، پتاسیم غیر قابل تبادل و پتاسیم قابل تبادل یا محلول یافت می شود. گیاهان پتاسیم را در فرم محلول آن جذب می کنند. با این حال در حدود ۹۰ تا ۹۸ درصد پتاسیم خاک، به شکل ذخایر معدنی و کانی های خاک است و به راحتی برای گیاه در دسترس نمی باشد.

میکروارگانیسم ها نقش مهمی را در تغییر و تبدیل مواد از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس برای گیاهان ایفا می کنند. به طوریکه به واسطه فعالیت آنها مقدار مواد در دسترس و مغذی در خاک افزایش یافته و سبب افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی می شود (۳). برخی از میکروارگانیسم های خاک قادرند کانی های سیلیکاتی حاوی پتاسیم همچون موسکوویت (Muscovite)، اورتوکلاز (Orthoclase)، میکروکلاین (Microcline)، بیوتیت (Biotite)، فلدسپار (Feldspar)، ایلیت (Illite)، میکا (Mica)، ورمیکولیت (Vermiculite)، گلوکونیت (Glauconite)، فلوگوپیت (Phlogopite)، آلوفان (Allophane) و زئولیت (Zeolite) را به فرم محلول درآورده و در دسترس گیاهان قرار دهند (٤).

در سال ۲۰۰۹ بیسواس (Biswas) و باساک (Basak) باکتری های حل کننده پتاسیم را از کانی سیلیکات آلومینیوم جداسازی نمودند (۵). در سال ۲۰۱۲ پراجاپاتی (Prajapati) و مودی (Modi) باکتری های حل کننده پتاسیم را از خاک صنعت سرامیک جدا کردند (٦).

اطلاعات کمی در مورد باکتری های حل کننده کانی های سیلیکاتی، سازوکارهای حلالیت و در دسترس قرار دادن عناصر قابل جذب برای گیاه وجود دارد. هدف از این مطالعه جداسازی باکتری های آزادکننده پتاسیم از نمونه های خاک با توانایی بالای تثبیت پتاسیم، شناسایی مقدماتی و غربال گری جدایه ها با روش های بیوشیمیایی و مولکولی ، بررسی کمی و کیفی توانایی جدایه ها در محلول سازی سیلیکات های حاوی پتاسیم به منظور آزادسازی پتاسیم قابل جذب بود.

مواد و روش ها

الف) جداسازی باکتری های حل کننده پتاسیم: تعداد ۵۰ نمونهٔ خاک با توانایی بالا در تثبیت پتاسیم به صورت مرکب از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی متری از خاک مناطق مختلف استان گلستان (لمسک و رحمت آباد) جمع آوری شد. نمونه های خاک در معرض هوا خشک گردیدند و از الک دو میلی متری عبور داده شدند. سه گرم از هر نمونهٔ خاک به ۲۵ میلی لیتر از محیط مایع الکساندروف (Alexandrov broth) انتقال داده شد و در دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس به مدت ٤٨ ساعت در انکوباتور شیکردار با ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد. از نمونه های موجود با روش رقت سازی متوالی (Serial dilution)، محلول تهیه گردید و در محیط انتخابی الکساندروف آگار (ساکارز ۱۰ گرم بر لیتر، فسفات پتاسیم سه آبه ۲ گرم بر لیتر، سولفات منیزیم هفت آبه ۵ گرم بر لیتر، کربنات کلسیم ۱ گرم بر لیتر، آگار ۲۰ گرم بر لیتر، و میکا ۱۰ گرم بر لیتر و pH ۷/۵) کشت داده شد (۷). نمونه ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس گرماگذاری شدند.

به منظور جداسازی باکتری های حل کننده پتاسیم، از روش لکه گذاری بر روی محیط الکساندروف آگار استفاده شد. از آنجایی که تشکیل هاله در اطراف کلنی باکتری ها نشان دهنده توانایی باکتری در حل کنندگی پتاسیم است (۸)، جدایه هایی که بیشترین قطر هاله حل کنندگی را داشتند به عنوان جدایه های برتر انتخاب شده و برای آزمون های بعدی نگهداری شدند. جدایه ها از نظر مورفولوژی و واکنش گرم مورد بررسی قرار گرفتند. به دنبال آن از آزمون های بیوشیمیایی به منظور شناسایی مقدماتی باکتری ها استفاده گردید.

آزمون های بیوشیمیایی انجام گرفته برای شناسایی مقدماتی جدایه ها شامل کاتالاز، اکسیداز، احیای نیترات، SIM، OF، MR-VP، مصرف سیترات، هیدرولیز نشاسته، هیدرولیز کازئین و هیدرولیز ژلاتین بود (۹).

ب) شناسایی مولکولی جدایه ها با روش تکثیر ه 16S rRNA و توالی یابی آن: استخراج DNA از جدایه ها با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن کره جنوبی

(Sinnagen, Korea) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت.

به منظور تکثیر قطعه *16S rRNA* باکتری از واکنش زنجیره ای پلی مراز با روش استاندارد (۱۰) و با استفاده از پرایمرهای (F: 5'-GTTTGATCCTGGCTCAG-3', R: 5'-TACCTTGTTACGACTTCA-3') استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (Peqlab, UK) در شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹٤ درجه سیلیسیوس و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹٤ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سیلیسیوس به مدت ٤۵ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. سپس محصول واکنش الکتروفورز گردید (۱۱). در نهایت، قطعه تکثیر شده به منظور تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی (MacroGen, Korea) فرستاده شد.

ج) تخمین کمی پتاسیم در محیط مایع الکساندروف: مقدار ۱ میلی لیتر از کشت تازهٔ باکتری به ۲۵ میلی لیتر محیط مایع الکساندروف با سه تکرار تلقیح شد. همچنین به منظور تعیین جمعیت باکتری ها در زمان تلقیح (زمان صفر)، رقت های متوالی از نمونه ها تا رقت 10^{-6} تهیه شد. از هر کدام از رقت های 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به محیط کشت جامد الکساندروف انتقال و به صورت متراکم کشت داده شد. نمونه ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس گرماگذاری شدند. برای شمارش جمعیت باکتری از روش متداول شمارش پلیت (count Plate) استفاده شد (۸). در مرحلهٔ بعد به منظور بررسی مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها در محیط مایع الکساندروف، جدایه ها به همراه نمونهٔ شاهد به مدت ۳ هفته در ۳۰ درجه سیلیسیوس در انکوباتور شیکردار گرماگذاری و هوادهی شد. در نهایت، مقدار پتاسیم آزاد شده در محیط مایع انتخابی در روزهای هفتم، چهاردهم و بیست و یکم با استفاده از روش فلیم فوتومتری (Model 425 Flame Photometer-Camlab, UK) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲).

د) تهیهٔ مایهٔ تلقیح باکتریایی: برای تهیهٔ مایه تلقیح باکتری ها، مقدار ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری ها به ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع مغذی (نوترینت براث) استریل تلقیح شد و در انکوباتور شیکردار با ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد. سپس از سوسپانسیون کشت باکتری ها، مقدار ۱۵۰ میلی لیتر به بسته های ۸۵۰ گرمی حامل های باکتریایی پرلیت (Perlite) و پیت (Peat)، مخلوط پرلیت و پیت به ترتیب به نسبت ۱ به ۳، در شرایط استریل اضافه شد. به منظور تخمین کمی پتاسیم در خاک، مقدار ۲۰ گرم از مایهٔ تلقیح باکتریایی به ازای یک کیلوگرم خاک استفاده شد (۱۲).

ه) تخمین کمی پتاسیم در خاک: به منظور بررسی میزان آزادسازی پتاسیم توسط جدایه ها در خاک، مقدار پتاسیم در دسترس اولیهٔ خاک و آب، با استفاده از روش فلیم فوتومتری تعیین گردید (۱۲). در مرحلهٔ بعد، ۲۰ گرم از مایهٔ تلقیح به یک کیلوگرم از خاک های گلدانی خشک شده و الک شده تلقیح شد. برای تامین رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی، به هر گلدان ۱٦۰ میلی لیتر آب شهر غیر استریل اضافه گردید. گلدان ها به مدت ۲۱ روز در دمای محیط قرار گرفتند. سه گلدان نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که باکتری به آن تلقیح نشده بود. در طول این مدت گلدان ها هر دو روز یکبار توزین شدند. گلدانی که کمبود آب داشت، با آب شهر آبیاری گردید. سپس میزان پتاسیم آزاد شده توسط باکتری ها در خاک، با استفاده از روش فلیم فوتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت (۸ و ۱۲).

و) آنالیز آماری: این آزمایش به صورت طرح بلوک تصادفی با پنج باکتری منتخب سیلیکاتی، در ٤ زمان مختلف با سه تکرار و به صورت فاکتوریل انجام شد. در نهایت، نتایج داده های کمی حلالیت پتاسیم توسط جدایه ها، تجزیه واریانس تاثیر جدایه ها روی آزادسازی پتاسیم، و میانگین پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها در هر دو محیط مایع و خاک با استفاده از سیستم آنالیز آماری (SAS) بررسی و تحلیل شد.

یافته ها

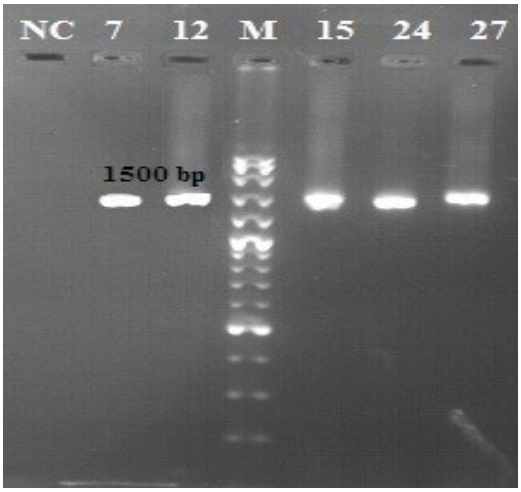
الف) جداسازی و شناسایی باکتری های حل کننده پتاسیم: از مجموع ۵۰ نمونهٔ خاک، تعداد ۳۰ باکتری با قابلیت آزادسازی پتاسیم جداسازی و خالص سازی گردید. جدایه ها بر اساس خصوصیات ماکروسکوپی، میکروسکوپی، واکنش گرم و آزمون های بیوشیمیایی (جدول ۱) مطالعه شدند. تمامی جدایه ها از نظر شکل سلول، میله ای و از نظر رنگ آمیزی اسپور و واکنش گرم به دو گروه تقسیم شدند: گروه اول با واکنش مثبت به هر دو رنگ آمیزی اسپور و رنگ آمیزی گرم اغلب دارای کلنی های پهن، سفید تا زرد، شفاف و کمی براق با حاشیه های نامنظم بودند. گروه دوم با واکنش منفی به هر دو رنگ آمیزی اسپور و رنگ آمیزی گرم اغلب دارای کلنی های گرد و کوچک، سفید رنگ و با حاشیه صاف بودند. از مجموع ۳۰ جدایه با توانایی حل کنندگی پتاسیم، ۵ جدایه از ریزوسفر گیاه کلزا به دست آمد. از این میان ۳ جدایه متعلق به جنس *سودوموناس*، ۱ جدایه متعلق به جنس *باسیلوس* و ۱ جدایه متعلق به جنس *پانی باسیلوس* بود. ۱۰ جدایه از ریزوسفر گیاه باقلا به دست آمد. به طوری که ٦ جدایه متعلق به جنس *سودوموناس*، ۳ جدایه متعلق به جنس *باسیلوس* و ۱ جدایه متعلق به جنس *پانی باسیلوس* بود. ۸ جدایه از ریزوسفر گیاه سیب زمینی به دست آمد. از این میان ۷ جدایه متعلق به جنس *سودوموناس* و ۱ جدایه متعلق به جنس *پانی باسیلوس* بود. ۷ جدایه از ریزوسفر گیاه گندم به دست آمد. به طوری که ۳ جدایه متعلق به جنس *پانی باسیلوس*، ۲ جدایه متعلق به جنس *باسیلوس* و ۲ جدایه متعلق به جنس *سودوموناس* بود (جدول ۱).

ب) ارزیابی کمی توان حلالیت پتاسیم: توانایی باکتری های جدا شده در آزادسازی پتاسیم معدنی بر روی محیط اختصاصی جامد الکساندروف مورد آزمایش قرار گرفت.

از این بین، جدایه های KSB 27، KSB 15، KSB 7، KSB 12 و KSB 24 به ترتیب با قطر ۱۷، ۱٦، ۱٦، ۱۵ و ۱٤ میلی متر دارای بیشترین قطر هاله حل کنندگی پتاسیم بودند.

ج) شناسایی مولکولی: تکثیر قطعه *16S rRNA* جدایه های KSB 27، KSB 15، KSB 7، KSB 12 و KSB 24 با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مراز، باند در حدود ۱۵۰۰ جفت باز را نشان داد که نشان دهنده تکثیر صحیح قطعه ژنی می باشد (شکل ۱). تعیین توالی قطعه ژنی *16S rRNA* جدایه ها و بلاست نوکلئوتیدی با وب سایت NCBI (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) نشان داد که جدایه های KSB 12، KSB 27، KSB 7، KSB 15 و KSB 24 به ترتیب بیشترین شباهت را به *سودوموناس امسون جنسیس* (*Pseudomonas umsongensis*)، *سودوموناس آگاریکی* (*Pseudomonas agarici*)، *سودوموناس براسی کاکروم* (*Pseudomonas brassicacearum*)، *پانی باسیلوس ایلینویسنسیس* (*Paenibacillus illinoisensis*) و *باسیلوس سافنسیس* (*Bacillus safensis*) دارند.

د) ارزیابی کمی حلالیت پتاسیم در محیط مایع: مقدار پتاسیم آزاد شده از موسکوویت میکا توسط باکتری ها در محیط مایع در روزهای ۷، ١٤ و ۲۱ پس از گرماگذاری با استفاده از روش فلیم فوتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها با افزایش زمان گرماگذاری افزایش یافت. به طوری که بیشترین میزان آزادسازی در روز بیست و یکم مشاهده گردید (جدول ۲).



شکل ۱: تکثیر قطعه ژنی *16S rRNA* در جدایه های KSB 7، KSB 12، KSB 15، KSB 24 و KSB 27 با اندازهٔ حدود ۱۵۰۰ جفت باز.

جدول ۱: نتایج آزمون های بیوشیمیایی جدایه ها.

جدایه	آزمون های بیوشیمیایی *														جنس و گونهٔ احتمالی
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	
KSB 1	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس لینی*
KSB 2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 3	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*
KSB 4	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 5	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس لینی*
KSB 6	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*
KSB 7	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس لینی*
KSB 8	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 9	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*
KSB 10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 11	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 12	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 13	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 14	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس لینی*
KSB 15	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*
KSB 16	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 17	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 18	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*
KSB 19	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 20	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 21	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 22	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	*سودوموناس لینی*
KSB 23	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 24	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 25	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس اومسون جنسیس*
KSB 26	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 27	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	*سودوموناس آگاریکی*
KSB 28	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	*باسیلوس سافنسیس*
KSB 29	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*سودوموناس لینی*
KSB 30	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	*پانی باسیلوس ایلینویسنسیس*

*آزمون های بیوشیمیایی: ۱-اکسیداز، ۲-کاتالاز، ۳-تجزیه ژلاتین، ٤-تجزیه کازئین، ٥-تجزیه نشاسته، ٦-(Methyl Red) MR، ۷-(Voges Proskauer) VP، ۸- (Oxidation) OF، ۹-(Fermentation) OF، ۱۰-مصرف سیترات، ۱۱-تولید H_2S، ۱۲-حرکت، ۱۳-تولید ایندول از تریپتوفان، ١٤-احیای نیترات.

جدول ۲: حلالیت پتاسیم توسط جدایه ها در محیط مایع.

شماره جدایه	روز ۷ (میلی گرم بر لیتر)	روز ١٤ (میلی گرم بر لیتر)	روز ۲۱ (میلی گرم بر لیتر)
نمونهٔ شاهد	۸۷۵	۸۷۵	۸۷۵
KSB 7	۸۷۵	۱۰۰۰	۹۵۰
KSB 12	۸۷۵	۱۲۰۰	۱۱۵۰
KSB 15	۸۷۵	۹۵۰	۱۱۰۰
KSB 24	۸۷۵	۱۱۲۵	۱۲۵۰
KSB 27	۸۷۵	۱۱۲۵	۱۱۷۵

ه) ارزیابی کمی حلالیت پتاسیم در خاک: مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها در خاک، بعد از پایان زمان تیمار با استفاده از روش فلیم فوتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر به دست آمده در جدول ۳ نشان داده شده است.

و) تاثیر تلقیح جدایه ها روی آزادسازی پتاسیم: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر جدایه ها بر روی آزادسازی پتاسیم در خاک نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد از نظر مقدار پتاسیم تبادلی وجود دارد. در حالی که بر روی بقیه پارامترهای اندازه گیری شده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ٤).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پتاسیم محلول، نشان دهنده افزایش این پارامتر بر اثر تلقیح با جدایه ها بود. این نتایج، افزایش ۱۱/٤۳ درصدی پتاسیم محلول توسط جدایه ها را نشان داد. افزایش پتاسیم محلول توسط جدایه های KSB 12، KSB 15، KSB 24، KSB 27 و KSB 7 به ترتیب ۱٤/۲۹، ۷/۱٤، ۱٤/۲۹، ۱۰/۷۱ و ۱۰/۷۱ درصد بود. بیشترین افزایش مربوط به جدایه های KSB 12 و KSB 24 با ۱٤/۲۹ درصد و کمترین آن مربوط به جدایه KSB 15 با ۷/۱٤ درصد بود. نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین پتاسم تبادلی نیز نشان دهنده افزایش این پارامتر بر اثر تلقیح با جدایه بود. این نتایج، افزایش ٦/۳۹ درصدی پتاسیم تبادلی توسط جدایه ها را نشان داد. افزایش پتاسیم تبادلی توسط جدایه های KSB 12، KSB 15، KSB 24، KSB 27 و KSB 7 به ترتیب ۸/۳۳، ۱۱/۱۱، ٥/٥٦، ۲/۷۸ و ٤/۱۷ درصد بود. بیشترین افزایش مربوط به جدایهٔ KSB 15 با ۱۱/۱۱ درصد و کمترین آن مربوط به جدایه KSB 27 با ۲/۷۸ درصد بود.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پتاسیم مجموع نیز، نشان دهنده افزایش این پارامتر بر اثر تلقیح با جدایه ها بود. این نتایج، افزایش ۷/۸ درصدی پتاسیم مجموع توسط جدایه ها را نشان داد. افزایش پتاسیم مجموع توسط جدایه های KSB 12، KSB 15، KSB 24، KSB 27 و KSB 7 به ترتیب ۱۰، ۱۰، ۸، ٥ و ٦ درصد بود (جدول ٥).

جدول ۳: حلالیت پتاسیم توسط جدایه ها در خاک.

شماره جدایه	پتاسیم قابل جذب در روز ۲۱ (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم)		
	پتاسیم محلول	پتاسیم تبادلی	پتاسیم مجموع
نمونهٔ شاهد	۱٤۰	۳٦۰	٥۰۰
KSB 7	۱٥٥	۳۷٥	٥۳۰
KSB 12	۱٦۰	۳۹۰	٥٥۰
KSB 15	۱٥۰	٤۰۰	٥٥۰
KSB 24	۱٦۰	۳۸۰	٥٤۰
KSB 27	۱٥٥	۳۷۰	٥۲٥

جدول ٤: نتایج تجزیه واریانس تاثیر جدایه ها روی آزادسازی پتاسیم در خاک.

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات		
		پتاسیم محلول	پتاسیم تبادلی	پتاسیم مجموع
تیمارها	٥	۸٥۰/۰۰	۳۰٦۲/٥۰*	٥۳٦۲/٥۰
بلوک	۲	۳۳/۳۳	۳۳/۳۳	۱۳۳/۳۳
خطای آزمایشی	۱۰	۹٦٦/٦۷	٦۷/۱۰٦٦	۳۷٦٦/٦۷
کل	۱۷	۱۸٥۰/۰۰	٥۰/٤۱٦۲	۹۲٦۲/٥۰

* در سطح ٥ درصد از لحاظ آماری معنی دار است.

جدول ۵: مقایسه میانگین پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها.

تیمارهای آزمایشی	میانگین پتاسیم محلول	میانگین پتاسیم تبادلی	میانگین پتاسیم مجموع
نمونهٔ شاهد	۱٤۰	۳٦۰	۵۰۰
KSB 12	۱٦۰	۳۹۰*	۵۵۰
KSB 15	۱۵۰	٤۰۰*	۵۵۰
KSB 24	۱٦۰	۳۸۰*	۵٤۰
KSB 27	۱۵۵	۳۷۰*	۵۲۵
KSB 7	۱۵۵	۳۷۵*	۵۳۰

* در سطح ۵ درصد از لحاظ آماری معنی دار است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر جدایه ها بر روی آزادسازی پتاسیم در محیط مایع نشان داد که در تیمارهای باکتری، زمان و اثر متقابل باکتری ها بر آزادسازی پتاسیم، اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد وجود دارد (جدول ٦).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پتاسیم آزاد شده در سه بازه زمانی ۷، ١٤ و ۲۱ روز نشان دهنده افزایش این پارامتر بر اثر تلقیح با جدایه ها بود. این نتایج، افزایش ۱۷/۳۳ درصدی آزادسازی پتاسیم توسط جدایه ها را نشان داد. افزایش آزادسازی پتاسیم توسط جدایه های KSB 12، KSB 15، KSB 24، KSB 27 و KSB 7 به ترتیب ۲۲/۸٦، ۱۱/٤۳، ۲۳/۸۱، ۲۰/۹۵ و ۷/٦۲ درصد بود.

با توجه به نتایج (نمودار ۱)، جدایه های KSB 24، KSB 12 و KSB 27 بیشترین میزان آزادسازی پتاسیم را دارا بودند و از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند. اما با تیمار شاهد در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار داشتند.

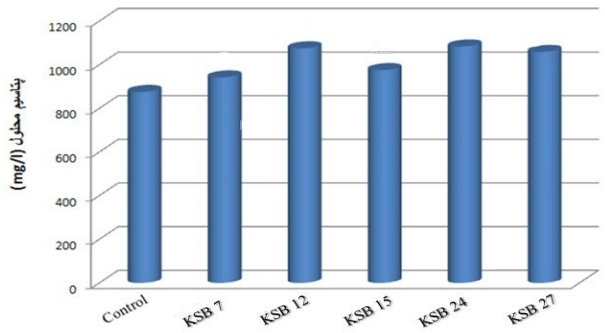
از طرفی جدایه های KSB 15 و KSB 7 نیز پس از جدایه های KSB 24، KSB 12 و KSB 27 از نظر آزادسازی پتاسیم در رتبه های بعدی قرار گرفتند. اما با جدایه های KSB 15، KSB 27 و KSB 7 از نظر میزان آزادسازی پتاسیم اختلاف معنی دار داشتند.

بیشترین میزان آزادسازی پتاسم برای جدایه های KSB 12 و KSB 7 در روز ١٤ بود. بیشترین میزان آزادسازی پتاسیم برای جدایه های KSB 15، KSB 24 و KSB 27 در روز ۲۱ بود. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده برای جدایه های KSB 24، KSB 27 و KSB 15 با افزایش زمان گرماگذاری میزان آزادسازی پتاسیم افزایش یافت. در حالی که برای جدایه های KSB 7 و KSB 12 تا روز ١٤ افزایش و پس از آن کاهش یافت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین پتاسیم آزاد شده

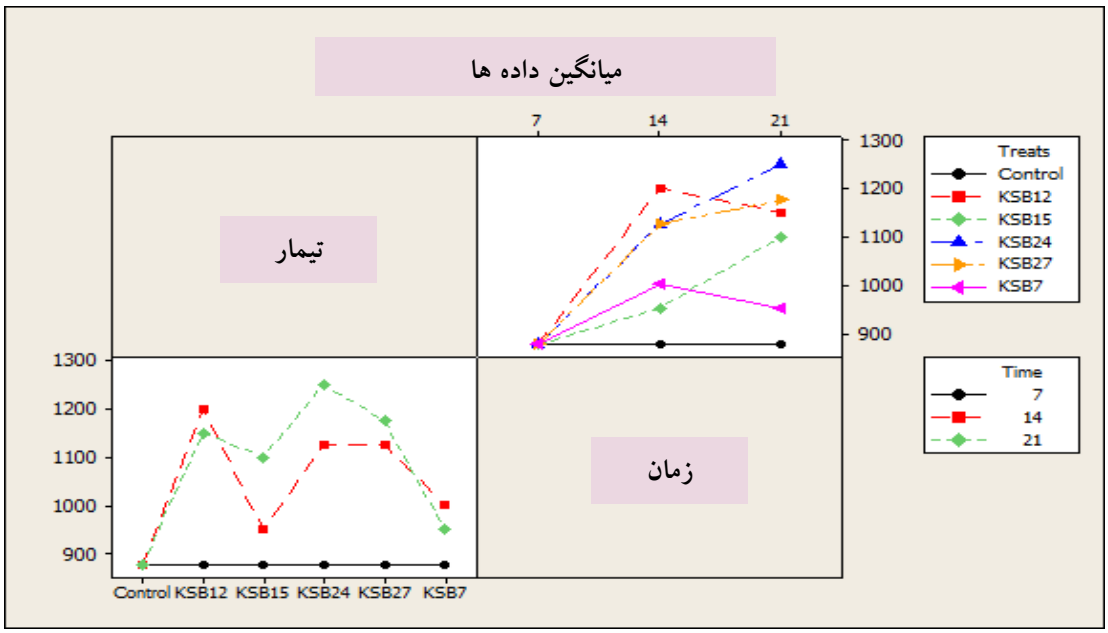
جدول ٦: تجزیه واریانس تاثیر جدایه ها روی آزادسازی پتاسیم در محیط مایع.

منبع تغییرات	مجموع مربعات	
	درجه آزادی	پتاسیم آزاد شده
تیمارها	۵	۳۲۰۵۲۱/۰۰*
زمان	۲	٤٤۳۹۵۸/۰۰*
میان کنش	۱۰	۲۱٦۰٤۲/۰۰*
خطای آزمایشی	۳٦	۳۳۸۵۰/۰۰*
کل	۵۳	۱۰۱٤۳۷۱/۰۰*

* در سطح ۵ درصد از لحاظ آماری معنی دار است.



نمودار ۱: مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف باکتریایی بر آزادسازی پتاسیم در محیط مایع.



نمودار ۲: مراحل آزادسازی پتاسیم از کانی موسکویت میکا توسط جدایه ها در مدت ۲۱ روز.

نشان داد که در مجموع با افزایش زمان گرماگذاری آزادسازی پتاسیم نیز افزایش می یابد (نمودار ۲).

بحث

میکروارگانیسم ها نقش مهمی را در چرخهٔ پتاسیم در طبیعت ایفا می نمایند. برخی از گونه های باکتریایی قادرند پتاسیم را در خاک به شکل محلول و قابل دسترس تغییر دهند. جمعیت قابل توجهی از باکتری های آزادکننده پتاسیم در خاک و ریزوسفر وجود دارند که پتاسیم موجود در کانی های خاک را با تولید اسید به شکل محلول درآورده و در دسترس گیاه قرار می دهند (۱۳ و ۱٤).

میزان در دسترس بودن پتاسیم وابسته به محتوای سیلیکات های معدنی، شرایط محیطی، وجود و فعالیت باکتری های آزاد کننده پتاسیم است (۱۲ و ۱۵). در این مطالعه، باکتری های سیلیکاتی حل کننده پتاسیم از ریزوسفر خاک هایی با قدرت بالای تثبیت پتاسیم جداسازی شدند. با آزمون های میکروب شناسی و مولکولی مشخص گردید که غالب ترین جدایه ها متعلق به سه جنس *سودوموناس*، *باسیلوس* و *پانی باسیلوس* می باشند. نورکینا (Norkina) و پامپیناسکایا (Pumpynaskaya) نیز دو جنس *باسیلوس* و *سودوموناس* را از خاک ریزوسفری گیاهان زراعی مختلف به عنوان باکتری های غالب حل کننده پتاسیم جداسازی نمودند (۱٦).

علاوه بر این، گائور (Gaur) و همکاران (۱۷)، داف (Duff) و همکاران (۱۸) نیز باکتری های *سودوموناس* تولید کننده ۲-کتوگلوکونیک اسید را که قادر به انحلال کانی های کوارتز و سیلیکات بودند، از ریزوسفر غلات جداسازی کردند.

فردریش (Fredrich) و همکاران گروه های مختلفی از میکروارگانیسم ها مانند *باسیلوس موسیلاجینوس* و *تیوباسیلوس تیواکسیدانس* را که قادر به انحلال سیلیکات ها بودند، جداسازی کردند (۱۹). هو (Hu) و همکاران دو گونه *باسیلوس* که قادر به انحلال پتاسیم و فسفر در خاک بودند را با استفاده از محیط حاوی کانی های پتاسیم و فسفر از قبیل کائولینیت و فلدسپار، جداسازی کردند (۷).

به طور مشابه فانگ (Fang) و یان (Yan) باکتری *باسیلوس موسیلاجینوس* را که قادر به انحلال کانی های پتاسیم مانند ایلیت و فلدسپار بودند را جداسازی نمودند (۲۰). مطالعات

انجام شده نشان می دهد که دو جنس *باسیلوس* و *سودوموناس* با تولید اگزوپلی ساکاریدهای متعدد، اسیدهای آلی به ویژه اسید اگزالیک و اسید سیتریک، توانایی فعالیت در محدوده وسیعی از نمک و pH، و قابلیت استفاده از منابع متعدد کربوهیدراتی در حل کنندگی پتاسیم را دارا می باشند (٦).

ارزیابی توانایی جدایه ها در آزادکنندگی پتاسیم از موسکوویت میکا در محیط مایع نشان داد که مقدار پتاسیم آزاد شده از موسکوویت میکا توسط جدایه ها از ۹۵۰ میلی گرم بر لیتر تا ۱۲۵۰ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است. از میان جدایه ها، جدایه KSB 24 (*Bacillus safensis*) بیشترین میزان آزادسازی پتاسیم (۱۲۵۰ میلی گرم) را از خود نشان داد.

این نتایج به خوبی با یافته های هو (Hu) و بویر (Boyer) (۲۱) مطابقت دارد. آنها گزارش کردند که گونه های *باسیلوس* (*باسیلوس مگاتریوم*) به میزان قابل توجهی قادر به انحلال میکا می باشند. در مطالعه دیگر، هو (Hu) و همکاران نیز گزارش کردند که گونه های *باسیلوس* (*باسیلوس مگاتریوم* و *باسیلوس موسیلاجینوس*) در انحلال کانی های پتاسیم و فسفر توانایی بیشتری دارند. بنا به گزارش آنها، تلقیح هم زمان این دو گونه *باسیلوس* تاثیر شایان توجهی در حلالیت کانی های پتاسیم داشته است (۷).

همچنین، مطالعه حاضر نشان داد که گونه های *سودوموناس* نیز توانایی بالایی در آزادسازی پتاسیم از میکا دارند. توانایی باکتری ها در آزادسازی پتاسیم تا حد زیادی به نوع و ماهیت کانی های پتاسیم وابسته است (۲۲). از طرفی اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری های سیلیکاتی مانند اسید اگزالیک، اسید تارتاریک، اسید سیتریک، اسید مالیک و اسید سوکسینیک نیز در حلالیت کانی های سیلیکاتی موثر می باشند (۱۵ و ۲۵-۲۳). ارزیابی پتاسیم آزاد شده از موسکوویت میکا توسط جدایه ها در محیط مایع در روزهای ۷، ١٤ و ۲۱ از گرماگذاری با استفاده از روش فلیم فوتومتری، نشان داد که میزان پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها با طولانی شدن زمان گرماگذاری افزایش می یابد. به طوری که بیشترین میزان آزادسازی در روز بیست و یکم مشاهده گردید. افزایش زمان تیمار، به دلیل تولید بیشتر اسیدهای آلی توسط باکتری ها عامل افزایش حلالیت پتاسیم می باشد (۲۳).

شنگ (Sheng) و همکاران نیز مشاهده کردند که آزادسازی پتاسیم توسط باکتری های حل کننده پتاسیم در دمای ۲۸ درجه سیلیسیوس و در ٨-٦/٥ pH در مدت ۷ روز، ۳۵/۲ میلی گرم بر لیتر است و با افزایش زمان این مقدار افزایش می یابد (۲٦). بدر (Badr) و همکاران نیز مقدار پتاسیم و فسفر آزاد شده توسط باکتری های سیلیکاتی را مورد مطالعه قرار داده و مقدار آزادسازی پتاسیم را در محدوده ٤۹۰ میلی گرم بر لیتر تا ۷۵۸ میلی گرم بر لیتر در ٨-٦/٥ pH گزارش نمودند (۲۷).

جانارتانام (Janarthanam) و سوگوماران (Sugumaran) نیز حلالیت پتاسیم توسط جدایه *باسیلوس موسیلاجینوس* در محیط غنی شده با موسکوویت میکا را ٤/۲۹ میلی گرم بر لیتر گزارش دادند که این مقدار با افزایش زمان به طور فزاینده افزایش می یافت (۱۲). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد.

در این مطالعه مقدار پتاسیم آزاد شده توسط جدایه ها در روز ۲۱ از ۹۵۰ میلی گرم بر لیتر تا ۱۲۵۰ میلی گرم بر لیتر نوسان داشت. از میان جدایه ها، به ترتیب جدایه های KSB 24 (۱۲۵۰ میلی گرم بر لیتر)، KSB 27 (۱۱۷۵ میلی گرم بر لیتر)، KSB 12 (۱۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) بیشترین مقدار آزادسازی پتاسیم را دارا بودند.

این نتایج نشان دهنده افزایش آزادسازی پتاسیم در محیط مایع در روز ۲۱ از ۸/۵۷ درصد تا ٤۲/۸۵ درصد بود. بنابراین، آزادسازی پتاسیم توسط جدایه های KSB 7 به میزان ۸/۵۷ درصد، KSB 12 به میزان ۳۱ درصد، KSB 15 به میزان ۲۵/۷۱ درصد، KSB 24 به میزان ٤۲/۸۵ درصد و KSB 27 به میزان ۳٤/۲۸ درصد افزایش پیدا کرد. بررسی توانایی باکتری های حل کننده پتاسیم در خاک نیز نشان دهنده افزایش میزان آزادسازی پتاسیم توسط جدایه ها با افزایش زمان گرماگذاری ناشی از تولید اسیدهای آلی بیشتر بود (۲۳).

به طوری که میزان آزادسازی پتاسیم در مقایسه با نمونهٔ شاهد پس از ۲۱ روز، ۵ تا ۱۰ درصد افزایش یافت. افزایش میزان آزادسازی در جدایه های KSB 12 و KSB 15 بیشتر از سایر جدایه ها بود. افزایش آزادسازی در جدایه های KSB 12 و KSB 15 به میزان ۱۰ درصد، در جدایه KSB 24 به میزان ۸ درصد، در جدایه KSB 7 به میزان ٦ درصد و در جدایه KSB 27 به میزان ۵ درصد ارزیابی گردید. این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه جانارتانام و سوگوماران (۱۲) مطابقت دارد.

محققین یاد شده باکتری *باسیلوس موسیلاجینوس* را به ریزوسفر گیاه بادام زمینی تلقیح نمودند. پس از گذشت ۹۰ روز مقدار پتاسیم در دسترس از ۸٦/۵۷ میلی گرم بر کیلوگرم به ۹۰/٦۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش یافت. این نتایج افزایش ۱۵/۰۵ درصدی آزادسازی پتاسیم توسط جدایه ها را نسبت به نمونهٔ شاهد نشان داد. میشوستین (Mishustin) و همکاران نیز توانستند در مدت دو هفته از گرماگذاری باکتری سیلیکاتی *ازتوباکتر کروکوکوم*، حدود ۷ درصد پتاسیم آزاد شده از کانی ارتوکلاز به دست آورند (۲۸).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، باکتری های حل کننده پتاسیم (KSB) از ریزوسفر خاک هایی با توانایی بالای تثبیت پتاسیم جداسازی و در سه جنس *باسیلوس*، *پانی باسیلوس* و *سودوموناس* شناسایی گردید. این جدایه ها توانایی قابل ملاحظه ای در حلالیت کانی ها و آزادسازی پتاسیم معدنی قابل جذب داشتند. بنابراین می توانند در تولید کودهای بیولوژیک جهت افزایش میزان پتاسیم در دسترس و بهبودی رشد و بازدهی گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به تنوع میکروارگانیسم های سیلیکاتی، جداسازی سویه های بومی بیشتر با توانایی آزادسازی عناصر مورد نیاز گیاهان از منابع معدنی نامحلول و مطالعه سازوکارهای حلالیت و در دسترس سازی عناصر قابل جذب و بررسی تاثیر آنها بر روی رشد گیاه پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Archana DS, Nandish MS, Savalagi VP, Alagawadi AR. Characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from rhizosphere soil. Bioinfolet. 2013; 10 (1): 248-257.
2. Han HS, Lee KD. Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant. Res J Agric Biol Sci. 2005; 1(2): 176-180.
3. Keshavarz J, Aliasgharzad N, Oustan S, Emadi M, Ahmadi A. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. Arch Agro Soil Sci. 2013; 59 (12): 1713-1723.
4. Parmar P, Sindhu SS. Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. J Microbiol Res. 2013; 3(1): 25-31.
5. Biswas DR and Basak BB. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by Sudan grass (*Sorghum vulgare*) grown under two Alfisols. Plant Soil Environ. 2009; 317 (1-2): 235-255.
6. Prajapati KB and Modi HA. Isolation and characterization of potassium solubilization bacteria from ceramic industry soil. CIB Tech J Microbiol. 2012; 1(2-3): 8-14.

7. Hu XF, Chen J, Guo JF. Two phosphate and potassium solubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. World J Micro Biotech. 2006; 22(9): 983-990.

8. Aleksandrov VG, Blagodyr RN, Iiiev IP. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. Mikrobiyol Zh (Kiev). 1967; 29(2): 111-114.

9. John GH, Noel RK, Peter HS, James TS and Stanley TW. Bergey´s manual of determinative bacteriology (In Russian). 9th Ed. Moscow: Mir Publishers 2; 1997.

10. Sambrook J, Russell D, Irwa N. Eds. Molecular cloning, a laboratory manual. 3rd Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

11. Anzai Y, Kim H, Park JY, Wakabayashi H, Oyaizu H. Phylogenetic affiliation of the Pseudomonads based on *16S rRNA* sequence. Int J Syst Evol Microbiol. 2000; 50(4): 1563-1589.

12. Sugumaran P, Janarthanam B. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. World J Agric Sci. 2007; 3(3): 350-355.

13. Luo H, Chang R, Wang S, Xu J, Zhou X, Zhang J. Screening of highly effective potassium bacteria in rhizosphere soil of high-end brand tobacco in Yunnan, Southwest China. J Agric Sci. 2011; 24 (5) 1816-1817.

14. Diep CN, Hieu TN. Phosphate and potassium solubilizing bacteria from weathered materials of denatured rock mountain, Ha Tien, Kien Giang Province, Vietnam. Am J Life Sci. 2013; 1 (3): 88-92.

15. Han HS and Lee KD. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Environ. 2006; 52 (3): 130-136.

16. Norkina SP, Pumpyansakya LV. Certain properties of silicate bacteria dokl. Crop Sci Soc Japan. 1956; 28(1): 35-40.

17. Gaur AC, Madan M, Ostwal KP. Solubilization of phosphatic compounds by native microflora of rock phosphates. Indian J Exp Biol. 1973; 11(1): 427-429.

18. Duff RB, Webley DM, Scott RO. Solubilization of minerals and related materials by 2 ketogluconic acid producing bacteria. Soil Sci. 1963; 95(2): 105-114.

19. Friedrich S, Platonova NP, Karavaiko GI, Stichel E, Glombitza F. Chemical and microbiological solubilization of silicates. Acta Biotech. 2004; 11(3): 187-196.

20. Fang SX, Yan LH. Solubilization of potassium bearing minerals by wild type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium by wheat. Can J Microbiol. 2006; 52(1): 66-72.

21. Hu X, Boyer GL. Siderophore mediated aluminium uptake by *Bacillus megatherium* ATCC 19213. Appl Environ Microbiol. 1996; 62(11): 4044-4048.

22. Zeng X, Liu X, Tang J, Hu S, Jiang P, Li W, Xu L. Characterization and potassium solubilizing ability of *Bacillus circulans* Z1-3. Adv Sci Lett. 2012; 10 (1): 173-176.

23. Osman AG. Study of some characteristics of silicate bacteria. J Sci Technol. 2009; 10 (3): 27-35.

24. Sheng XF, He LY. 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. 2006; 52(1): 66-72.

25. Liu W, Xu X, Wu S, Yang Q, Luo Y, Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. Environ Geochem Health. 2006; 28(1-2): 133-140.

26. Sheng XF, Huang WY. Study on the conditions of potassium release by strain NBT of silicate bacteria scientia. Agricultura Sinica. 2002; 35(6): 673-677.

27. Badr MA, Shafei AM, Sharaf SH. The dissolution of K and phosphorus bearing minerals by silicate dissolving bacteria and their effect on sorghum growth. Res J Agr Bio Sci. 2006; 2(1): 5-11.

28. Mishustin EN, Smirnova GA, Lokhmachea RA. The decomposition of silicates by microorganisms and the use of silicate bacteria fertilizer. Biologic Bull Academic Sci. 1981; 8(5): 400-409.

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 3, October 2014

Original Article

Screening of indigenous potassium-solubilizing bacterial strains and evaluation of their ability in solubilisation of absorbable potassium

Jafar Dorjdor[1], Sajjad Yazdansetad[2], Mohammad Hossein Arzanesh[3], Hatef Ajoudanifar[4]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Damgham Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
[2]M.Sc., Department of Microbiology, Young Researchers and Elite Club, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
[3]Assistant Professor, Department of Water and Soil, Agriculture and Natural Resources Research Center, Gorgan, Iran.
[4]Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Approximately 98% of total potassium in soil is in unavailable mineral forms for plants. Potassium-solubilizing bacteria are able to dissolve potassium bearing silicate minerals and release available form of potassium to the plants. The present study was intended to isolate potassium-solubilizing bacteria from rhizosphere soil of crop plants and to evaluate the ability of isolates in solubilisation of absorbable potassium.

Material & Methods: Potassium-solubilizing bacteria were isolated from the rhizosphere of different crop plants. The isolates were grown on optimized Aleksandrov agar and were assayed based on the diameter of zone of potassium solubilization. The selected isolates were identified using macroscopic, microscopic, biochemical, and molecular methods. The Flame photometry was used to quantify potassium released by isolates in Aleksandrov broth and soil.

Results: Totally, 5 out of 30 isolates with ability to release potassium showed high activity in potassium solubilisation. The biochemical and molecular studies indicated that these isolates belonged to the genera *Bacillus*, *Paenibacillus*, and *Pseudomonas*. The flame photometry results showed that the amount of potassium released by the isolates ranged from 950 to 1250 mg/l in broth media and 525 to 550 mg/kg in soil.

Conclusion: The potassium-solubilizing bacteria were isolated and identified from rhizosphere samples and identified. These isolates showed high ability for solubilisation of silicate minerals and release of absorbable potassium and therefore they can be used in biofertilizers to enhance the availability of potassium in the soils and to improve the growth and yield of crop plants.

Keywords: Aleksandrov agar, Potassium, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas.*

Correspondence to: Sajjad Yazdansetad

Tel: +989144263864

E-mail: sajjad.yazdansetad@gmail.com

Journal of Microbial World 2014, 7(3): 252-264.