تاثیر لئوناردیت و باکتری حل کننده روی بر رهاسازی و شکل‌های شیمیایی روی در خاک آهکی

فردین حسینی[۱]، بهنام دولتی[۲*] ، محسن برین[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۰)

چکیده

یکی از اهداف پژوهشگران در راستای احیاء کشاورزی پایدار، افزایش انحلالپذیری و قابلیت استفاده عناصر غذایی در خاک است. بدین منظور آزمایش سینتیکی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور میکروبی (بدون باکتری و باکتری حل کننده روی) و لئوناردیت در سه سطح صفر، ۲ و ۴ درصد وزنی طی سه دوره زمانی انکوباسیون (۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ روز) در ۳ تکرار طراحی و اجرا گردید. شکلهای شیمیایی و روی قابل استفاده با استفاده از روش تیسیر (Tessier) و DTPA اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که لئوناردیت و باکتری میزان روی قابل استفاده خاک را به میزان ۵۴ درصد افزایش و pH خاک را ۴/۱ درصد به‌طور معنی‌دار کاهش دادند. ویژگیهای بیولوژیکی خاک از جمله جمعیت میکروبی، تنفس پایه و کربن میکروبی بترتیب ۳۶/۲، ۷۷ و ۷۷ درصد افزایش یافت. توزیع شکل‌های شیمیایی روی و شاخص تحرک پذیری (Mobility factor) نیز تحت تاثیر لئوناردیت و باکتری تغییرات معنی دار داشت بطوریکه باعث افزایش شکلهای تبادلی، متصل به کربن آلی و متصل به بخش کربناته و کاهش بخش روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و روی جذب شده در بخش باقیمانده در خاک شد. شاخص تحرک پذیری روی به‌عنوان یک عامل تحرک بین ۳/۸ الی ۱۱/۵۹ درصد متغییر بود و حداکثر مقدار آن در تیمار لئوناردیت ۴ درصد + باکتری مشاهده شد. به طور کلی نتایج نشان داد که لئوناردیت بعنوان حاصلخیز کننده در تحرک پذیری روی یک سوپر جاذب بوده و کاربرد آن به همراه باکتری های حل کننده، اثرات مثبت در انحلال و افزایش قابلیت استفاده عناصر غذایی را دارد.

واژه‌های کلیدی: لئوناردیت، باکتری‌های حل کننده، شکلهای شیمیایی روی و رهاسازی روی

حسینی، ف.، دولتی، ب، برین، م. ۱۴۰۱. تاثیر لئوناردیت و باکتری حل کننده روی بر رهاسازی و شکل‌های شیمیایی روی در خاک آهکی. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۰، شماره ۲. صفحه: ۱۴- ۲۸.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*پست الکترونیک: b.dovlati@urmia.ac.ir

مقدمه

روی (Zn) یکی از عناصر کم مصرف است که کمبود آن در خاک‌های آهکی به وفور دیده می‌شود. برخلاف سایر عناصر دارای بیش از یک ظرفیت شیمیایی بوده و به صورت دو ظرفیتی Zn^{+2} توسط گیاه جذب می‌گردد و ممکن است در pHهای قلیایی به صورت $Zn(OH)^{+}$ نیز جذب شود (Marshner, 1986). روی برای گیاهان به مقدار کمی مورد نیاز است اما همین مقدار کم تاثیر بسیار زیادی در رشد و عملکرد گیاهان دارا می‌باشد (Farshid & Aref, 2010) همچنین نقش مهمی در بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم گیاهی از جمله دهیدروژناز، آداناز، ایزومراز، پروتئیناز و .... داشته و برای فاکتور رونویسی و انواع کوفاکتورها لازم و ضروری است (FAO, 1996 & Huang 1990). علت اصلی کمبود روی در خاک‌های آهکی و قلیایی، اغلب نه کمی مقدار کل، بلکه کمی قابلیت استفاده شکل‌های شیمیایی عنصر در این خاک‌هاست (Ghaneh & Karimian, Reyhanitabar *et al.*, 2006; 2003). قابلیت استفاده عناصر غذایی برای گیاهان، تحت تاثیر شکل‌های شیمیایی آن‌ها می‌باشد (Cakmak, 2000). عناصر کم مصرف به ویژه روی، در خاک به شکل‌های گوناگون مانند: محلول در آب، قابل تبادل، محلول در اسید یا پیوند یافته با کربنات ها، قابل اکسید شدن یا پیوند یافته با مواد آلی و سولفور قابل احیا شدن یا پیوند یافته با اکسی هیدروکسیدهای آهن و منگنز، شکل باقیمانده یا پیوند شده با سیلیکات‌ها وجود دارند (Adhikari & Rattan, 2007). روی قابل استفاده بخشی از روی کل خاک است که معمولا با عصاره‌گیری‌های شیمیایی اندازه‌گیری می‌شود (Rodriguez *et al.*, 1999) و به توزیع نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف آن در خاک بستگی دارد که تابعی از ویژگی‌های خاک می‌باشد (Kabata-Pendias, 2001). آگاهی از شکل‌ها، غلظت، واکنش‌ها و حرکت روی در خاک، برای افزایش عملکرد محصولات زراعی و حفظ کیفیت خاک لازم و ضروری است. شناخت شکل‌های مختلف روی در ارزیابی وضعیت روی در خاک، حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه مهم است چرا که قابلیت استفاده روی در خاک تابعی از نحوه توزیع شکل‌های شیمیایی آن می‌باشد از طرفی میزان پویایی فلزات به شکل‌های شیمیایی آن‌ها در بین اجزای خاک مربوط می‌شود به‌طوریکه فلزات در شکل‌های مختلف شیمیایی تحرک و قابلیت دسترسی متفاوتی دارند (Macbrid, 1994). کمبود روی به طور جدی سبب کاهش کمیت و کیفیت محصولات زراعی می‌شود. در گیاهانی که کمبود روی دیده می‌شود، غلظت هورمون‌های گیاهی به خصوص جیبرلین کاهش می‌یابد (Suge *et al.*, 1986). گزارش شده است که پس از مصرف کودهای محلول روی در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک بیش از ۹۶ تا ۹۹ درصد از روی محلول و قابل استفاده به اشکال غیر محلول و غیرقابل استفاده تبدیل می‌گردند (Saravanan *et al.*, 2003). اغلب خاک‌های مناطق آذربایجان غربی دارای خاک‌های آهکی با pH های بالا می‌باشد که این شرایط باعث فقر مواد آلی و کاهش عناصر کم مصرف به ویژه روی می‌گردد (Sharifi & Khoshgoftarmanesh, 2011). به طوریکه حدود ۵۰ درصد از اراضی زیر کشت جهان از کمبود روی رنج می‌برند و همین امر سبب کاهش چشمگیر عملکرد محصولات زراعی می‌گردد (White & Chaney 1980). در این میان به دلیل جذب Zn توسط کربنات کلسیم (Udo *et al.*, 1970) و رسوب آن در pHهای قلیایی به صورت هیدروکسید و یا کربنات (Shuman, 1986) و همچنین به‌دلیل افزایش بارهای منفی سطوح ذرات که باعث تبدیل Zn از شکل محلول به شکل نامحلول می‌شوند (Imtiaz *et al.*, 2006)، یکی از دلایل اصلی و شایع کمبود روی در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشند (Sharma *et al.*, 2004). مصرف کودهای کم مصرف بعنوان روشی است که امروزه برای بهبود دسترسی Zn در خاک به صورت جهانی استفاده می‌گردد اما تحقیقات نشان می‌دهد که در خاک‌های آهکی به دلیل انتشار ضعیف یون روی به سطح ریشه این روش کاربرد مناسبی ندارد (Lu *et al.*, 2012). بنابراین استفاده از مواد زیست تخریب پذیر برای افزایش ضریب انتشار روش مناسب و طبیعت پسند می‌باشد. لذا می‌توان از لئوناردیت (Leonardit) که نوعی زغال سنگ بوده و حاصل اکسیداسیون لیگنین (Lignite) می‌باشد و حاوی مقادیر زیادی از مواد هیومیکی هستند استفاده کرد. لئوناردیت موجود در طبیعت می‌تواند حاوی گستره متنوعی از ترکیبات باشد بطوریکه مواد هومیکی آن (اسیدهای هیومیک و فولویک) در محدوده ۴۱ تا ۷۱ درصد متغییر می‌باشد و همینطور کربن موجود باعث فراهم شدن

محیطی غیر قطبی می‌شود به طوری که امکان خروج ترکیبات آبگریز را بدون رقابت با آب امکان‌پذیر می‌کند (Machovic *et al*, 2000). هیومیک اسید موجود در آن دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و نقش به‌سزایی در رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های مفید خاک دارد. فولویک و هیومیک اسید ترکیبات پایدار مواد هیومیکی هستند که به دلیل داشتن گروه‌های عاملی فراوان تمایل زیادی به یون‌هایی مانند روی دارند و با تشکیل کمپلکس‌های متعدد باعث افزایش انحلال روی می‌گردند (Hafeez, 2013). برخی از پژوهشگران گزارش کردند که مقدار روی قابل استفاده (روی استخراج شده با DTPA) تحت تاثیر افزایش مواد هیومیکی طی روزهای نخست (۶۰-۹۰ روز) بیشتر می‌شود ولی با گذشت زمان بدلیل تشکیل کمپلکس‌های پایدار، Zn قابل استفاده کاهش قابل توجهی را بدنبال داشت. با این حال به نظر می‌رسد کاربرد باکتری های حل کننده می‌تواند از کاهش مجدد آن جلوگیری کند (Smith, 2009). با توجه به اینکه نقش موجودات زنده در تجزیه و آزادسازی عناصر غذایی قابل توجه هستند می‌توانند مواد غذایی موجود در خاک را به شکل قابل جذب برای گیاه تامین کنند (Jachkson, 2008). استفاده از باکتری‌های محرک رشد یکی دیگر از روش‌های زیستی جهت کاهش کمبود عناصر کم مصرف می‌باشد. این باکتری‌ها ریزجاندارانی هستند که اثرات سودمندی برای گیاهان از طریق کلونیزه کردن ریشه آن‌ها دارند (Yildirim *et al.*, 2008). از سوی دیگر باکتری‌ها از راه‌های گوناگون مانند تولید هورمون‌ها (اکسین، سیتوکنین و جبرلین) افزایش رهاسازی عناصر غذایی، تولید دی آمیناز، افزایش حلالیت فسفر، تثبیت نیتروژن، افزایش حلالیت آهن از طریق تولید سیدروفور، انحلال ترکیبات نامحلول Zn که تبعا سبب افزایش جذب عناصر غذایی شده و از اثرات زیان‌بار تنش‌های محیطی (خشکی و شوری) کاسته و سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند (Mehboob *et al.*, 2009). روی قابل استفاده را می‌توان با استفاده از حضور باکتری‌های حل‌کننده روی به شکل قابل استفاده در آورد. تعدادی از سویه‌های سودوموناس و باسیلوس می‌توانند ترکیبات ناملحول روی را به صورت محلول تبدیل کنند که این باکتری‌ها را باکتری‌های حل کننده روی می‌نامند. نقش اصلی این باکتری‌ها در کاهش pH به ۵ یا کمتر از طریق تولید اسیدهای آلی یا معدنی، انحلال روی و فراهمی این عنصر در خاک می‌باشد (Saravanan *et al.*, 2003). محققان فعالیت‌های گسترده‌ای در رابطه با تاثیر باکتریهای حل کننده عناصر در شرایط مختلف (Zhao *et al.*, 2008; Gundala *et al.*, 2013) و همچنین تاثیر لئوناردیت بر تغییر شکل‌های شیمیایی آنها را در خاک‌های مختلف انجام دادند (Dovlati, *et al.*, 2021) ولی با توجه به اینکه تاثیر توام باکتری‌های حل کننده به همراه لئوناردیت بر تغییر شکل های شیمیایی و قابلیت استفاده روی صورت نگرفته است لذا با توجه به اهمیت توسعه کشاورزی پایدار در راستای حفظ و نگهداری محیط زیست از گزند آلاینده‌ها و استفاده از منابع طبیعی و تجدید پذیر، این تحقیق با هدف بررسی تاثیر لئوناردیت و باکتری‌های حل کننده بر قابلیت استفاده و تغییر شکل‌های شیمیایی روی در خاک طی یک دوره انکوباسیون انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات لئوناردیت و باکتریهای حل کننده روی (Zn)، یک نمونه خاک با مقدار روی قابل استفاده کم از مزارع دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه برداشت شد و بعد از هوا خشک کردن جهت آماده‌سازی از الک ۲ میلیمتری عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نظیر بافت خاک به روش هیدرومتری، (Gee & Bauder., 1986)، اسیدیته خاک (pH) به وسیله دستگاه pH متر و هدایت الکتریکی در عصاره ۱:۵ خاک به آب (Thomas, 1996)، مقدار کربن آلی به روش اکسیداسیون تر والکی و بلک (Walky & Black., 1934)، درصد کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون با اسید (Reyment & Higgison., 1992) اندازه گیری شدند. آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. بعد از عبور دادن خاک از الک ۲ میلی‌متری، مقادیر ۰، ۲ و ۴ درصد وزنی لئوناردیت (کمتر از ۰/۵ میلی متر) به ۲۰۰ گرم خاک وزن شده در ظرف‌های پلی اتیلنی مخصوص اضافه گردید سپس تیمار میکروبی در دو سطح (با و بدون تلقیح)، از جنس *Pseudomonas fluorescens* بعنوان باکتری کارا و حل‌کننده روی (جمعیت باکتری در مایه تلقیح حداقل 10^{8} cfu/ml) به مقدار ۱۰ میلی لیتر مایه تلقیح میکروبی به همراه ۱۳ میلی لیتر آب استریل شده به

نمونه‌های خاک دارای تیمار میکروبی اضافه شد. برای نمونه‌های بدون تیمار میکروبی نیز ۱۰ میلی لیتر مایه کشت میکروبی استریل شده و همچنین ۱۳ میلی لیتر آب استریل شده اضافه شد. نموته ها داخل انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ظرفیت مزرعه ای نگهداری شدند. شکلهای شیمیایی روی با استفاده از روش عصاره‌گیری دنباله‌ای (Tessier, 1979) در سه دوره زمانی ۰، ۹۰ و ۱۵۰ روز (جدول ۱) و مقادیر روی قابل استفاده به روش DTPA (Lindsay and Norvel, 1978) طی ۶ دوره زمانی ۰-۳۰-۶۰-۹۰-۱۲۰-۱۵۰ روزه اندازه گیری شد. همچنین شاخص تحرک پذیری فلز به‌عنوان یک عامل تحرک (MF) بر اساس توزیع شکل‌های شیمیایی عناصر محاسبه گردید (Kabala & Singh, 2001). روی کل به روش اسید نیتریک اندازه گیری شد. برخی ویژگی‌های بیولوژیک خاک شامل MBC به روش تدخین استخراج گردید (Jenkinson and Ladd, 1981). جمعیت میکروبی به روش شمارش کلنی و تنفس میکروبی پایه به روش اندرسون (Anderson, 1982) بررسی گردید. داده‌ها با نرم افزار Exel-Solver پردازش، تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین از طریق آزمون دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

جدول ۱- خلاصه روش عصاره‌گیری متوالی تیسیر با اندکی تغییر در این مطالعه (Tessier, 1979)

Table 1. Summary of the Tessier sequential extraction procedure with some chenge used in this study (Tessier, 1979)

Step	Fractions	Reagent	T (C^0)	Time (hour)
F_1	Exchangeable (Ex)	8 ml of 1 M $MgCl_2$ (pH 7) in 1 g soil	25	1
F_2	Bound to carbonates (CAR)	8 ml of NaOAC (pH 5 with HOAc)	25	5
F_3	Amorphous iron-manganese oxides (Ox)	20 ml of 0.04 M hydroxylamine hydrochloride in 25% acetic acid (pH 2 with HNO_3)	95	5-6
		3 ml HNO_3 0.02 M + 5 ml H_2O_2 (pH 2)	85	2-3
F_4	Organic-bound (OM)	3 ml H_2O_2 30% V/V (pH 2)	85	3
		5 ml NH_4Ac 3.2 M (with 20% V/V HNO_3)	25	0.5
F_5	Residual (Res)	14 ml of HCl/HNO_3 (3:1)	95	0.5

نتایج و بحث

خاک مورد بررسی با بافت لومی شنی، با pH تقریباً خنثی و همچنین حاوی ۱۹/۵ درصد کربنات کلسیم بود (جدول ۲). غلظت روی قابل استفاده (DTPA-Zn) نیز به میزان ۰/۵۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد که از حد بحرانی آن در خاک کمتر بود.

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های خاک مورد مطالعه

Table 2. Some characteristics of studied soil

Soil texture	CCE	OC	Zn-total	Zn-DTPA	pH	EC
	(%)			($mg\ kg^{-1}$)	-	($dS\ m^{-1}$)
Sandy loam	19.5	0.59	68	0.59	7.69	1

CCE: کربنات کلسیم معادل، OC: کربن آلی، Zn-total: روی کل، Zn-DTPA: روی قابل دسترس، EC: هدایت الکتریکی

لئوناردیت مورد استفاده از شرکت بیوتار (*Biotar*) ترکیه تهیه شده است و حاوی مقادیر مناسب از هیومیک و فولویک اسید (۲۸ درصد) و همچنین مقادیر زیادی از گروه‌های عاملی (کاربوکسیل، فنل، کاربونیل و هیدروکسیل) بوده که در جذب عناصر سنگین در خاک و محیط‌های آبی بسیار موثر می‌باشد (Machovic, 2000). لئوناردیت با pH اسیدی حاوی ۳۶/۵ درصد کربن آلی بود (جدول ۳).

جدول ۳- برخی ویژگی های لئوناردیت

Table 3. Some characteristics of Leonardite

Ec	pH	OC	CEC	HA+FA
dS m^{-1}	–	٪	C mol kg^{-1}	٪
0.45	3.51	36.5	67	28

EC: هدایت الکتریکی، CEC: ظرفیت تبادل کاتیونی، OC: کربن آلی، HA+FA: مجموع فولیک اسید و هیومیک اسید

بررسی ویژگیهای بیولوژیکی خاک

ویژگیهای بیولوژیکی اعم از جمعیت میکروبی، تنفس پایه و کربن میکروبی تحت تأثیر تلقیح میکروبی، سطوح مختلف لئوناردیت و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۴). میانگین جمعیت میکروبی، تنفس پایه و کربن میکروبی خاک تحت تاثیر لئوناردیت و تلقیح باکتری بترتیب ۸/۱۹، ۱۵ و ۷۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول ۵). محققان گزارش کردند که کربن جمعیت میکروبی به شدت تحت تأثیر جمعیت میکروبی قرار دارد، چون آن‌ها نه تنها قادر به ذخیره مواد غذایی هستند بلکه در چرخه تغییر و تبدیل عناصر غذایی و مواد آلی در خاک دخیل بوده (Hoffman *et al.*, 2003) و نقش مهمی در تجزیه ترکیبات پیچیده و آزاد کردن ترکیبات ساده مثل CO_2 دارند و افزایش آن‌ها در خاک باعث افزایش کربن زیتوده میکروبی می‌شود (Rasul *et al.*, 2006). در تایید نتایج این پژوهش مشاهده شد که لئوناردیت تاثیر مثبت در افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی داشت. به نظر می‌رسد علت این امر وجود مقادیر مختلف اجزای آلی مقاوم در لئوناردیت و هیومیک اسید آن نسبت به تجزیه و همچنین اختلاف در شدت تجزیه آن‌ها است (Majumder *et al.*, 2008). فتحی و همکاران (Fathi *et al.*, 2015) مشاهده کردند که منافذ ریز بیوچار که دارای محل‌های تبادلی مثبتی مانند هومیک اسید است می‌تواند شرایط مناسبی را برای میکرواورگانیسم‌های تغییردهنده شکلهای شیمیایی عناصر غذایی فراهم کند که سبب افزایش قابلیت دسترسی بیولوژیک عناصر غذایی شود.

جدول ۴- تجزیه واریانس تاثیر سطوح مختلف لئوناردیت و باکتری بر برخی ویژگی‌های بیولوژی خاک

Table 4. Analysis of variance the effect of different levels of leonardite and bacteria on some soil biological

		MS		
		Microbial population	Basic breathing	Microbial carbon
Bacteria	1	8.45**	0.028***	558125***
Leonardite	2	2.53***	0.0096***	515491***
B*L	2	0.77***	0.0022***	430221***
error	12	0.003	0.00002	15503
CV (%)	-	1	2.90	15.15

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار

* , **and ns: significant at %1, %5 probability level and non- significant respectively

جدول ۵- مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف باکتری و لئوناردیت بر برخی از ویژگیهای بیولوژی خاک

Table 5. Mean comparison of effect of different levels of bacteria and leonardite on some soil biological properties

L*B	Microbial population mg CO_2.(g day)$^{-1}$	Basic breathing mg CO_2.(g day)$^{-1}$	Microbial carbon mg CO_2.(g day)$^{-1}$
Control	5.23^{e}	0.055^{d}	264.1^{c}
L0*B1	6.25^{d}	0.178^{c}	492.53^{bc}
L2*B0	6.52^{d}	0.134^{e}	528.2^{bc}
L2*B1	7.29^{b}	0.191^{b}	616.3^{b}
L4*B0	7.022^{c}	0.168^{c}	1114.6^{a}
L4*B1	8.19^{a}	0.225^{a}	1114.6^{a}

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

Non-identical letters in each column indicate a significant difference between the means at the 5% probability level with the Duncan's test.

Control: شاهد، L0*B1: تلقیح باکتر بدون اعمال لئوناردیت، L2*B0: لئوناردیت ۲ درصد بدون تلقیح باکتری، L2*B1: لئوناردیت ۲ درصد با تلقیح باکتری، L4*B0: لئوناردیت ۴ درصد بدون تلقیح باکتری، L4*B1: لئوناردیت ۲ درصد با تلقیح باکتری

روی قابل استفاده (DTPA)

تجزیه واریانس سطوح مختلف لئوناردیت تلقیح شده و بدون تلقیح با باکتری نشان داد که اثرات اصلی و متقابل آن بر روی قابل استفاده معنی‌دار بود ($p<0.001$) (جدول ۶).

جدول ۶- تجزیه واریانس تاثیر سطوح مختلف لئوناردیت و باکتری بر روی قابل استفاده (Zn-DTAP) طی دوره انکوباسیون

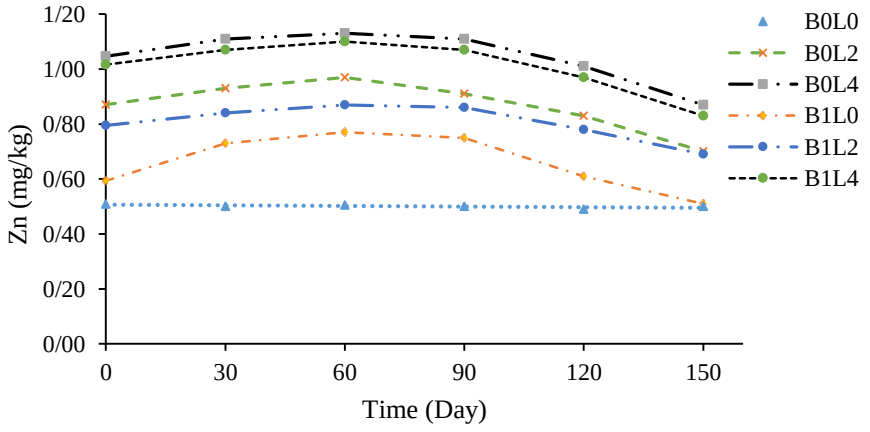
Table 6. Analysis of variance the effect of different levels of leonardite and bacteria on Zn- availabe (Zn-DTAP) at icubation time

Factors	Df	Ms					
		Time (day)					
		0	30	60	90	120	150
Bacteria	1	0.0002^{ns}	0.0057**	0.006**	0.012**	0.0003^{ns}	0.002*
Leonardite	2	0.349***	0.33***	0.334***	0.33***	0.331***	0.205***
B*L	2	0.01***	0.042***	0.047***	0.043***	0.0065***	0.0005^{ns}
error	12	0.0007	0.0003	0.0002	0.0002	0.0002	0.0003
CV (%)	-	3.29	2.04	1.75	1.71	1.92	2.61

**،* و ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار

* , **and ns: significant at %1, %5 probability level and non- significant respectively

مقدار روی قابل استفاده در خاکهای تیمار شده بین ۰/۵۹ الی ۱/۱۳ میلی گرم در کیلوگرم متغییر بود بطوریکه حداکثر آن در تیمار ۴ درصد لئوناردیت و حداقل آن در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۷). تاثیر لئوناردیت در افزایش مقدار روی قابل استفاده نسبت به باکتری بیشتر بود و ماکزیمم مقدار آن در ماه سوم مشاهده شد بطوریکه بیشترین تاثیر مربوط به تیمار ۴ درصد لئوناردیت همراه با تلقیح با باکتری و به میزان ۱/۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ولی بعد از ماه سوم میزان روی قابل استفاده روند نزولی پیدا کرد. گفتنی است میانگین روی در تیمار لئوناردیت ۴ درصد بدون باکتری با لئوناردیت ۴ درصد+ باکتری در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۷). لازم به ذکر است با وجود روند نزولی میزان روی قابل استفاده در دوره های ۱۲۰ و ۱۵۰ روزه، همچنان افزایش رهاسازی روی نسبت به شاهد مشاهده شد به عبارتی تاثیر لئوناردیت در دوره های زمانی کوتاه مدت نسبت به بلند مدت بیشتر بود و با گذشت زمان و مصرف مکانهای تبادلی روند نزولی داشت ولی با این حال پتانسیل رهاسازی را حفظ کرد (شکل ۱).



شکل ۱- تأثیر نسبت‌های مختلف لئوناردیت و باکتری بر میزان روی قابل استفاده طی دوره انکوباسیون

Figure 1. The effect of different ratios of leonardite and bacteria on Zinc availabe at incubation time

جدول ۷- مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف باکتری و لئوناردیت بر روی قابل استفاده (Zn-DTAP) طی دوره انکوباسیون
Table 7. Mean comparison of effect of different levels of bacteria and leonardite on Zn- availabe (Zn-DTAP) at icubation time

	Time (day)					
L*B	0	30	60	90	120	150
Control	0.51^{e}	0.51^{f}	0.53^{f}	0.50^{f}	0.5^{f}	0.49^{d}
Bacteria	0.6^{d}	0.73^{e}	0.77^{f}	0.75^{e}	0.56^{e}	0.47^{d}
L2*B0	0.87^{b}	0.93^{c}	0.97^{c}	0.91^{c}	0.83^{c}	0.70^{c}
L2*B1	0.8^{c}	0.8^{c}	0.87^{d}	0.86^{d}	0.78^{d}	0.69^{c}
L4*B0	1.05^{a}	1.12^{a}	1.13^{a}	1.11^{a}	1.01^{a}	0.86^{a}
L4*B1	1.02^{a}	1.1^{b}	1.12^{a}	1.07^{b}	0.97^{b}	0.83^{b}

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.
Non-identical letters in each column indicate a significant difference between the means at the 5% and 1% probability level with the Duncan's test.

Control: شاهد، L0*B1: تلقیح باکتر بدون اعمال لئوناردیت، L2*B0: لئوناردیت ۲ درصد بدون تلقیح باکتری، L2*B1: لئوناردیت ۲ درصد با تلقیح باکتری، L4*B0: لئوناردیت ۴ درصد بدون تلقیح باکتری، L4*B1: لئوناردیت ۲ درصد با تلقیح باکتری

یکی از دلایل تاثیر لئوناردیت در افزایش جذب روی، افزایش مکان‌های تبادلی و تشکیل کمپلکس‌های نامحلول روی-هیومیک اسید-خاک است (Piri *et al.*, 2019). همچنین یکی از عوامل تعیین کننده در جذب و رهاسازی عناصر در حضور مواد هیومیکی و اسیدی، تشکیل کمپلکس‌های اسید-فلز می‌باشد. بنابراین در زمان‌های اولیه که غلظت مواد هیومیکی و اسیدی بالا بود، جایگاه های تبادلی از اهمیت بالایی برخوردار هستند و به همین دلیل در ابتدا در غلظت‌های بالا به دلیل وجود مکان‌های تبادلی بیشتر، رهاسازی فلزات به نقطه ثابتی نرسیده و افزایش می‌یابد (Ghasemi *et al.*, 2017). بنابراین ممکن است در این پژوهش، ابتدا لئوناردیت و باکتری با کاهش pH و متعادل کردن آن برای فعالیت میکرواورگانیسم‌ها و همچنین وجود مکان‌های تبادلی، باعث افزایش روند رهاسازی روی شدند و با گذشت زمان و کاهش pH به کمتر از آستانه تحمل میکرواورگانیسم‌ها و همچنین عدم وجود مکان‌های تبادلی، رهاسازی روی کاهش پیدا کرد. در پژوهشی که توسط دولتی و همکاران (Dovlati *et al.*, 2021) انجام گرفت، نتایج به دست آمده حاکی از آن است که زمان تماس لئوناردیت با خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هست و بیشترین مقدار واجذب فلزات سنگین در زمان‌های ابتدایی رخ داده است و به مرور زمان کاهش یافته و به حالت یکنواخت می‌رسد. همچنین در یافته‌های زاقلول و خاطر (Zaghloul & Khater, 2002)، سوداماشای و همکاران (Sodaeimashaei *et al.*, 2007) و ریحانی تبار و همکاران (Reyhanitabar *et al.*, 2011) نیز در رابطه با رها سازی روی مشاهده شد که در زمان‌های ابتدایی میزان واجذب روی افزایش پیدا کرده و با گذشت زمان روند نزولی پیدا می‌کند. با افزایش زمان انکوباسیون میزان pH در تیمارهای تلقیح یافته به دلیل تولید اسیدهای آلی به تدریج کاهش می‌یابد و حالت اسیدی پیدا می‌کند. تجزیه کانی‌ها در اثر کاهش pH محیط کشت (به دلیل تولید اسیدهای آلی)، تشکیل کمپلکس با کاتیون‌های سطحی کانی (به‌واسطه اسیدهای آلی و سیدروفور تولیدشده) و پلی -ساکاریدهای تولیدشده توسط باکتری‌ها که به‌طور غیرمستقیم در رها سازی عناصر نقش دارند، از مکانیسم‌های اصلی باکتری‌ها در رهاسازی عناصر محسوب می‌شوند. پلی ساکاریدها، اسیدهای آلی و سیدروفورها را به شدت جذب کرده و منجر به تشکیل غلظت بالایی از اسیدهای آلی و سیدروفورها در نزدیکی سطح کانی شده و با اکسید سیلیسیم موجود در سطح کانی کمپلکس ایجاد می‌کند، به این ترتیب عناصر از سطح کانی آزاد شده و وارد محیط کشت محلول می‌شوند (Lian *et al.*, 2007). با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش و تطابق آن با مطالعات صورت گرفته مشاهده شده است که ریزجانداران موجود در ریزوسفر ممکن است در اثر ورود ترکیبات آلی از ریشه تحریک شوند و باعث افزایش حلالیت روی در خاک و در نتیجه زیاد شدن روی قابل استخراج گردند (Motaghian & Hosseinpur, 2013).

توزیع شکل های شیمیایی روی

توزیع شکل‌های شیمیایی روی در خاک تحت تاثیر شرایط محیطی و حتی افزودن جاذب‌های مختلف دستخوش تغییرات می‌شوند. شکل‌های شیمیایی روی شامل بخش تبادلی (Ex)، بخش کربناتی (Car)، بخش اکسیدی (Ox)، بخش متصل به ماده آلی (OM) و بخش باقیمانده (Re) تحت تاثیر لئوناردیت و تلقیح باکتری تعیین شد. مقدار روی کل در خاک مورد مطالعه به میزان ۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم برآورد شد. اثرات اصلی و متقابل لئوناردیت و باکتری بر توزیع شکل‌های شیمیای روی تاثیر معنی دار داشت ($p<0.001$) و باعث افزایش شکلهای تبادلی، متصل به کربن آلی و متصل به بخش کربنات و همچنین کاهش بخش روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز شد. به طور کلی بیشترین تاثیر بر توزیع شکل‌های شیمیایی روی مربوط به تیمار لئوناردیت ۴ درصد بود. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار روی در بخش باقیمانده و کمترین مقدار آن در بخش تبادلی مشاهده شد. این تغییرات در زمانهای مختلف انکوباسیون متفاوت بود (جدول ۸). لینگار و همکاران (Lyengar *et al*., 1981) گزارش کردند که بیشتر مقدار روی در خاک‌های شرق ایالات متحده به ترتیب در شکل باقیمانده و اکسیدی قرار دارد. نتایج مشابه در مطالعه صورت گرفته توسط مورال (Moral 2005) در رابطه با تاثیر لئوناردیت بر توزیع شکل‌های مختلف روی مشاهده شد.

روی متصل به بخش تبادلی (Zn-Ex)

میانگین داده‌ها نشان داد که لئوناردیت و باکتری بترتیب باعث افزایش ۲۵/۱ و ۱۴/۶ درصدی شکل تبادلی روی شده است. بیشترین مقدار بخش تبادلی روی (۰/۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در ماه سوم مربوط به تیمار ۴ درصد لئوناردیت و کمترین مقدار آن (۰/۵۷ میلی گرم بر کیلوگرم) در تیمار شاهد بود (جدول ۸). لئوناردیت به دلیل دارا بودن مواد هیومیکی و فولویک اسید، باعث تعدیل pH خاک و افزایش بارهای منفی (افزایش رقابت کاتیونی) شد و از این طریق باعث افزایش بخش قابل استفاده روی در خاک شد. محققان گزارش کردند که اسید هیومیک می‌تواند با تعدیل pH خاک و افزایش بارهای منفی وابسته به pH باعث جذب بیشتر عناصری مانند مس، روی و ... شود که باعث افزایش تحرک‌پذیری عناصر می‌شود (Pérez-Esteban *et al*., 2019). اسیدی شدن محیط و انحلال کانیها تحت تاثیر ترشحات ناشی از فعالیت باکتریها باعث افزایش روی قابل استفاده شد. همچنین در تحقیقی مشخص شد که pH خاک تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد از ۶/۷ به ۶ کاهش یافت و این کاهش را می‌توان به کلونیزه شدن باکتری‌ها در خاک و تولید اسیدهای ارگانیکی نسبت داد. جمعیت میکروبی خاک در این طرح با افزایش لئوناردیت و تلقیح باکتری به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد و بیشترین جمعیت میکروبی (۸/۱۹) در سطح ۴ درصد لئوناردیت همراه با تلقیح باکتری و کمترین جمعیت میکروبی (۵/۲۲) نیز مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۸). از سوی دیگر می‌توان به تولید متابولیت‌های ثانویه اشاره کرد که می‌تواند باعث بهبود شرایط جذب و فراهمی عناصر در خاک شود (Lind *et al*., 2003). مویرا و همکاران (Moira et al., 1963) بیان کردند که میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌های محرک رشد، قارچ‌ها و ...) اسید سیتریک و اسید اگزالیک را که به طور عمده در تجزیه یا انحلال سیلیکات‌های طبیعی و در انتقال یون‌های فلزی مؤثرند، تولید می‌کنند.استفاده از لئوناردیت باعث می‌شود که خاک در معرض تعامل با سلول‌های زیستی حساس‌تر شود، زیرا مواد هیومیک می‌توانند ساختار و فعالیت میکرواورگانیسم‌ها را در منطقه ریزوسفر بهبود بخشند و با افزایش واجذب عناصر توسط افزایش فعالیت میکرواورگانیسم‌ها توسط لئوناردیت و اسیدی کردن محیط و همچنین سست شدن پیوندهای اتمی عناصر قابل دسترس خاک نیز افزایش پیدا کند (Canellas & Olivares, 2014).

جدول ۸- میانگین مقادیر شکل های شیمیایی روی در بخشهای مختلف جذب شده طی دوره انکوباسیون

Table 8. Average values of Zn chemical forms in different parts adsorption at incubation time

Bacteria	Leonardite	Ex			Car			OC		
		T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
No inoculation	0	0.57^{cd}	0.67^{bcd}	0.65^{cd}	0.69^{f}	0.71^{f}	0.64^{f}	1^{gh}	1.21^{fg}	1.03^{gf}
	2	0.57^{cd}	0.76^{abc}	0.61^{cd}	1.92^{de}	2.99^{bc}	1.7^{e}	1.25^{fg}	2.33^{c}	1.43^{ef}
	4	0.64^{cd}	0.95^{a}	0.66^{cd}	2.21^{d}	3.22^{b}	1.85^{de}	1.35^{fg}	2.71^{ab}	2.02^{cd}
By inoculation	0	0.51^{d}	0.79^{abc}	0.48^{d}	1.95^{de}	2.71^{c}	1.93^{d}	0.67^{h}	1.84^{d}	1.75^{de}
	2	0.95^{a}	0.88^{ab}	0.58^{cd}	2.11^{d}	2.58^{bc}	2.26^{c}	1.25^{fg}	2.38^{bc}	1.96^{d}
	4	0.69^{bcd}	0.96^{a}	0.59^{cd}	2.16^{d}	3.61^{a}	2.9^{bc}	1.47^{ef}	2.91^{a}	2.80^{a}

ادامه جدول ۸- میانگین مقادیر شکل های شیمیایی روی در بخشهای مختلف جذب شده طی دوره انکوباسیون

Continues of Table 8. Average values of Zn chemical forms in different parts adsorption at incubation time

Bacteria	Leonardite	OX			Re		
		T1	T2	T3	T1	T2	T3
No inoculation	0	10.01^{ab}	8.79^{dc}	10.06^{ab}	52.9^{a}	52.2^{abc}	52.3^{ab}
	2	9.07^{bc}	7.75^{def}	8.27^{cde}	52.1^{abc}	51.1^{bcde}	51.4^{abcd}
	4	8.67^{cde}	6.67^{f}	7.74^{def}	50.7^{bcde}	50.1^{cde}	50.5^{cde}
By inoculation	0	10.4^{a}	7.59^{cde}	10.23^{a}	52.3^{ab}	52^{abc}	52.2^{abc}
	2	9.98^{ab}	7.83^{de}	8.77^{dc}	51.7^{abc}	51.1^{bcde}	51.2^{abcde}
	4	8.6^{cde}	7.54^{df}	8.43^{cde}	49.8^{ed}	49.6^{e}	49.9^{e}

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال۵ درصد و ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

Non-identical letters in each column indicate a significant difference between the means at the 5% and 1% probability level with the Duncan's test.

T1: 30, T2: 90 and T3: 150 day

روی متصل به بخش کربناته(Zn-Ca)

لئوناردیت به‌تنهایی موجب افزایش ۷۰ درصد روی متصل به بخش کربناته شد و باکتری نیز ۶۴/۴ درصد میزان روی متصل به بخش کربناته را افزایش داد. بیشترین میزان روی در بخش کربناته ۳/۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار ۴ درصد لئوناردیت + باکتری و کمترین مقدار آن ۰/۶۴ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد مشاهده گردید. (جدول ۸). تیمار باکتری توانست روی جذب شده در این بخش را از ۰/۷۱ به ۲/۷۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم معادل ۷۴ درصد طی ۹۰ روز انکوباسیون افزایش دهد (شکل ۲). افزودن موادآلی به خاک آهکی باعث افزایش روی در شکل کربناتی می‌شود و دلیل آن می‌تواند افزایش حلالیت آهک خاک و رسوب آن به صورت شکل کربناته باشد (Usman *et al*., 2004). عباسپور و گلچین (Abbaspour & Golchin, 2011) و حسینیان رستمی و همکاران (Hosseiniane rostami et al., 2013) نیز با اضافه کردن کمپوست و کود گاوی که حاوی مواد هومیکی بودند افزایش Pb در شکل کربناتی را گزارش کردند. اینکه در ماه اول میزان بخش کربناتی روی کاهش پیدا کرد این است که باکتری هنوز کربن مورد نیاز خود را برای تامین انرژی لازم برای شروع فعالیت از محیط دریافت نکرده است و یا pH محیط به میزان تعادل خود برای فعالیت باکتری نرسیده است.

روی متصل به بخش کربن آلی (Zn-OC)

کاربرد لئوناردیت موجب افزایش روی متصل در بخش ماده آلی طی انکوباسیون شد و بیشترین میزان آن ۲/۹۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط به سطح ۴ درصد لئوناردیت بود، همچنین مقدار روی در تلقیح با باکتری و بدون لئوناردیت طی دوره انکوباسیون بین ۱/۰۷ الی ۱/۸۴ میلی گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۸). می‌توان به توانایی اسید هیومیک در پوشش دادن سطوح جذبی کانی های رسی در افزایش تحرک‌پذیری عناصر و غلظت در بخش محلول، تبادلی و آلی خاک اشاره کرد. افزایش تحرک فلزات از جمله روی تحت تاثیر مواد هیومیک و فولویک اسید گزارش شده است (Pérez-Esteban *et al*., 2019). همچنین در گزارشی دیگر، افزایش کاربرد هیومیک و فولویک اسید در خاک باعث افزایش انتشار روی در خاک شد (Clemente & Bernal, 2006). میکرواورگانیسم‌ها موجب افزایش کمیت و کیفیت تراوش‌های ریشه‌ای می‌شوند و موجب تغییر در نوع و مقدار سیدروفور تولید شده توسط میکرواورگانیسم‌ها و در نهایت تغییر ترکیب جمعیت میکروبی خاک می‌گردد که این عامل سبب

جذب بهتر عناصر از طریق برآورد بخش باقیمانده آن در خاک توسط میکرواورگانیسم‌ها می‌گردد (Amindeldar *et al.*, 2014).

روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز (Zn-OX)

بیشترین میزان اکسید روی ۱۰/۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد و کمترین آن ۶/۷ میلی گرم در کیلوگرم در تیمار ۴ درصد لئوناردیت مشاهده شد (جدول ۸). میانگین داده ها نشان داد که لئوناردیت باعث کاهش ۲۹/۹ درصدی بخش روی متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در تیمار ۴ درصد و کمترین آن ۱/۵ درصد در تیمار ۲ درصد لئوناردیت طی ۹۰ روز انکوباسیون شد (جدول ۸). تغییرات جزئی در این بخش اکسیدی تحت تاثیر تلقیح با باکتری رخ داد ولی معنی‌دار نشد (جدول ۸). طی تحقیقاتی گزارش شده است که پوشش سطوح اکسیدهای آهن و منگنز توسط هیومیک اسید موجود در لئوناردیت باعث کاهش سطح جذبی فلز و همچنین تشکیل کمپلکس با Fe و Mn باعث سهولت واجذب و کاهش سطح ویژه برای جذب روی شده است (Das & Naik, 2007). دولتی (Dovlati 2015) احتمال داد که افزایش مقدار سرب در فاز تبادلی- محلول، کربناته و مواد آلی ناشی از انتقال سرب از فاز اکسیدی و باقیمانده باشد. پاول و همکاران (Pavel 2010) نیز اعلام کردند که لینیت باعث کاهش pH و همچنین کاهش عناصر جذب شده در شکل اکسیدی شد و ابراز داشتند که Cd با پیوندی ضعیف به شکل تبادلی و اکسیدهای Mn, Fe متصل شده است و تحت تاثیر تغییر شرایط از قبیل کاهشpH ، اکسایش و کاهش به راحتی آزاد می‌شوند. در تحقیقی گزارش شده است که با کاربرد باکتری‌های محرک رشد مثل سودوموناس میزان عناصری چون آهن، روی، منگنز، منیزیم و پتاسیم ازدیاد پیدا می‌کند که یکی از دلایل این افزایش را زیاد شدن CEC در تیمارهای تلقیح شده با باکتری نسبت به تیمارهای شاهد بیان کرده‌اند (Esitken *et al*., 2010).

روی جذب شده در بخش باقیمانده (Zn-Re)

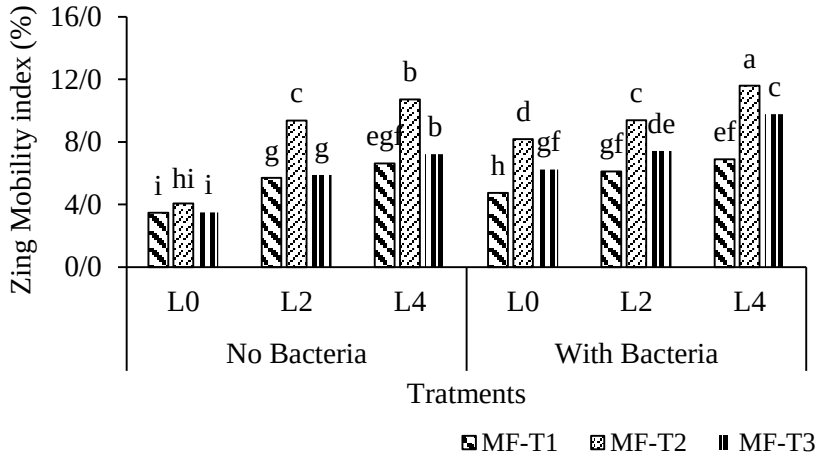
نتایج نشان داد که بیشترین مقدار روی در بخش باقیمانده و کمترین مقدار آن در بخش تبادلی مشاهده شد. این تغییرات در زمانهای مختلف انکوباسیون متفاوت بود (جدول ۸). نتایج مشابه در رابطه با تاثیر لئوناردیت بر توزیع شکل‌های مختلف روی در مطالعه Moral (۲۰۰۵).

مقدار روی جذب شده در بخش باقیمانده بین ۴۹/۶ الی ۵۲/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم متغییر بود بطوریکه حداکثر آن در تیمار شاهد و حداقل آن در تیمار لئوناردیت و تلقیح با باکتری مشاهده شد. تاثیر لئوناردیت در کاهش بخش باقیمانده نسبت به باکتری بیشتر بود بطوریکه میزان کاهش توسط لئوناردیت بین ۱/۵ الی ۵/۲ درصد (بترتیب لئوناردیت ۴ و ۲ درصد) و در باکتری بین ۰/۲ تا ۱/۰ درصد بود لذا این نتایج نشان از اهمیت قدرت رهاسازی عناصر در خاک توسط لئوناردیت نسبت به باکتری های حل کننده می باشد (جدول ۵). فلورنکیو و همکاران (Florencio *et al.*, 2012) افزایش شکل تبادلی فلزات را به خارج شدن آن از بخش باقیمانده نسبت دادند. با توجه به نتایج شاخص‌های بیولوژیکی که حاکی از بهبود جمعیت و کربن میکروبی بود می توان بهبود شرایط رشد و افزایش ترشحات ریشه و باکتری را بیان کرد. بر این اساس میتوان تاثیر باکتری در کاهش بخش باقیمانده را به این نکته معطوف داشت چرا که محققان بیان کردند که عملکرد بیشتر در اثر کاهش اسیدیته و افزایش هدایت الکتریکی در تیمارهای مربوط به باکتری محرک رشد دور از انتظار نبود (Esitken *et al*., 2010). به طور کلی بیشترین تاثیر بر توزیع شکل‌های شیمیایی روی مربوط به لئوناردیت بدون تلقیح با باکتری بود.

شاخص تحرک پذیری روی (Zn-Mobility Factor)

شاخص تحرک پذیری فلز به‌عنوان یک عامل تحرک بوده و بر اساس توزیع شکل‌های شیمیایی عناصر محاسبه می‌شود (Kabala & Singh 2001). نتایج نشان داد که اثرات اصلی و متقابل لئوناردیت، باکتری و زمان بر شاخص تحرک پذیری (MF) روی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۸). حداقل مقدار شاخص تحرک پذیری روی در نمونه شاهد (۳/۴۸ درصد) و حداکثر آن (۱۱/۶ درصد) در تیمار لئوناردیت ۴ درصد همراه با تلقیح باکتری در ماه سوم مشاهده شد. بین تیمار ۲ و ۴ درصد لئوناردیت در افزایش شاخص تحرک پذیری روی تفاوت چشمگیری وجود داشت (شکل ۲). طبق کلاس بندی ارائه شده توسط رودری و همکاران (Rodri *et al.*, 2009) شاخص تحرک پذیری عناصر در چهار گروه تحرک کم (۱۰%≤MF≤۱%)، متوسط (۳۰%≤MF≤۱۰%)، زیاد (۵۰%≤MF≤۳۰%) و خیلی زیاد (MF ≥50%) معرفی شد

که بر اساس آن میتوان گفت همه تیمارها بجز لئوناردیت ۴ درصد همراه با باکتری (۱۱/۶ درصد) بقیه بین ۱ الی ۱۰ درصد واقع شده اند لذا بر اساس طبقه بندی یاد شده در گروه تحرک پذیری کم قرار می گیرند. مقادیر بالای MFبه‌عنوان علائم افزایش سستی بین پیوندهای مولکولی و در دسترس بودن فلزات سنگین در خاک تفسیر شده است (Topcuoğlu, 2016). بر همین اساس می‌توان نتیجه گرفت که لئوناردیت و باکتری به دلیل افزایش بخش‌های قابل استفاده روی (بخش تبادلی، کربناتی و متصل به ماده آلی) و کاهش بخش‌های غیر تبادلی و غیر قابل استفاده (بخش اکسیدی و باقیمانده) باعث تحرک بیشتر روی در خاک و تسهیل در قابل دسترس بودن آن برای گیاه شدند.



شکل ۲- تأثیر نسبت‌های مختلف لئوناردیت و باکتری بر شاخص تحرک‌پذیری روی در طی زمان‌های مختلف

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

Figure 2. Effect of different ratios of leonardite and bacteria on zinc mobility index during different times
Non-identical letters indicate significance at the 1% probability level using the Duncan's test.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده تاثیر مثبت لئوناردیت و باکتری در افزایش میزان روی قابل استفاده خاک مورد مطالعه مشاهده شد و حداکثر مقدار آن در تیمار لئوناردیت ۴ درصد + تلقیح با باکتری طی دوره زمانی ۶۰ روز تعیین گردید. همچنین توزیع شکل‌های شیمیایی روی در بخشهای مختلف جذبی تحت تاثیر لئوناردیت و باکتری تغییرات معنی داری را نشان داد بطوریکه میزان روی در بخش تبادلی، کربناته و کربن آلی افزایش یافت ولی بخش اکسیدی و باقیمانده کاهش یافت. حداکثر مقادیر شکلهای تبادلی، کربناته و آلی طی دوره ۹۰ روز تعیین شد. شاخص تحرک پذیری روی در خاک مورد مطالعه تحت تاثیر تیمارها به میزان ۱۱/۶ درصد افزایش یافت و حداکثر مقدار آن در تیمار لئوناردیت ۴ درصد همراه با باکتری مشاهده شد ولی با این وجود در گروه تحرک پذیری کم واقع شد. نتیجتا این که کاربرد توام لئوناردیت و باکتری های حل کننده در راستای بهبود وضعیت تغذیه ای روی در خاک مناسب می باشد.

Reference

Abbaspour A. and Golchin A. 2011. Immobilization of heavy metals in a contaminated soil in Iran using diammonium phosphate, vermicompost and zeolite. *Environmental Earth Science*, 63:935-943.

Adhikari T. and Rattan R. K. 2007. Distribution of zinc fractions in some major soils of India and the impact on nutrition of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38(19-20):2779-2798.

Amindeldar Z., Ehteshami S.M.R., Shahid Komala A. and Khawazi K. 2014. Effect of Pseudomonas bacteria on soil chemical-biological properties, yield and yield components of two rice cultivars. *Journal of Production and Processing of Crops and Horticultural Products*, 4 (11): 149-159.

Anderson, T. H., and Domasch, K. H. 1990. Application of eco-physiological quotients on microbial biomass from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry*, 22: 1-255.

Cakmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Philologist*, 146, 2: 85-200.

Canellas L.P. and Olivares F.L. 2014. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 1: Pp3.

Chidanandappa H. M., Khan H. Chikkaramappa T. Shivaprakash B. L. 2008. Forms and distribution of zinc in soils under mulberry (Morus indica L.) of multivoltine seed area in Karnataka. *Journal of Agricultural Science*, 42: 26-32.

Clemente R. and Bernal M.P. 2006. Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids. *Chemosphere*, 64: 1264–1273.

Dovlati B, 2015. The effect of leonardite on the chemical deformation of cadmium and lead in soils derived from different parent materials. *Journal of Water and Soil Knowledge*, 25 (1): 165-179.

Dovlati B., Suzu Doru Ek S. and Moradi N. 2021. The effect of Leonardite on the kinetics and adsorption of heavy metals in soils contaminated with different parent materials. *Natural Environment, Natural Resources of Iran*, 73 (1): 23-36.

Esitken A., Yildiz H., Ercisli E.S., Donmez M.F., Turan M. and Gunes A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticuiturae* 124: 62-66.

FAO/WHO/IAEA. 1996. Trace Elements in Human Nutrition and Health. WHO, Geneva.

Farshid A. 2010. Influence of zinc and boron interactions on residual available iron and manganese in the soil after corn harvest. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*.8: 677-772.

Fathi A., Rouhani Nejad A.A. And Hosseini H. 2015. Effect of biochar on soil nutrient deformation, 5 International Conference on Applied Research in Agriculture.

Florencio I., Maria J.M., Maria D.S., Antonio G. and Leonor L. 2012. Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost. *Journal of Environmental Management*, 9: 104-109.

Gee G. W. and J. W. Bauder. 1979. Particle size analysis by hydrometer- a simplified method for routine textural analysis and a sensitivity test of measurement parameters. *Soil Science Society of America Journal*. 1004-1007.

Ghaneh H and Karimian N. 2003. Distribution of different forms of zinc in Persian calcareous soils and their relationship with soil properties. *8th Congress of Soil Sciences*, 641-642.

Ghasemi A., Fotovat A., Khorasani, R. And Emami H. 2017. Comparison of Zn and Pb Adsorption in the Presence of Fulvic Acid in a Calcareous Soil. *Journal of Soil Research (Soil and Water Sciences)*, 31 (3): 432-440.

Gundala P.B., Chinthala P., and Sreenivasulu B. 2013. A new facultative alkaliphilic, potassium solubilize Bacillus Sp. SVUNM9 isolated from mica cores of Nellore District, Andhra Pradesh, India. Research and Reviews. *Journal of Microbiolgy and Biotechnology*, 2(1): 1-7.

Hafeez B., Khanif Y. M., and Saleem M. 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. *Journal of Experimental Agriculture International*, 374-391.

Hoffman J., Bezchleb J., Dusek L., Dolezal L., Holoubek I., Andel P., Ansorgova A. and Maly S. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environment International*, 28: 771-778.

Hosseinian Rostami Q., Gholam Alizadeh Ahangar, A. Leczian A. 2013. Effect of time on the distribution of lead forms in contaminated soil. *Journal of Water and Soil (Agricultural Sciences and Industries*), 27 (5): 1057-1066.

Huang C. P. Huan, C. and Morehart A. L. 1990. The removal of Cu (II) from dilute aqueous solutions by Saccharomyces cerevisiae, *Water Research*. 24-433–439.

Hwangbo H., R. D., Park Y. W., Kim, Y. S., Rim K., Park H., Kim H. J. S., Suh and Kim, K. Y. 2003. 2- Ketogluconic production and phosphate solubilization by Enterobacter intermedium. *Current Microbiology*, 47: 87–92.

Imtiaz M. Alloway B. J. Aslam M. Memon M. Y. Khan P. Siddiqui S. U. H. and Shah S. K. H. 2006. Zinc sorption in selected soils. *Communications in soil science and plant analysis*. 37 (11-12): 1675-1688.

Jackson J. A. Mehl J. P. and Neuendorf K. K. E. 2008. Glossary of Geology, *American Geological Instituite*. pp 800.

Jenkinson, D. S. and Ladd, J. N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Powl EA, Ladd J. N. (Eds*) Soil biochemistry. Dekker*, New York, pp 415-417.

Kabata Pendias. A and H. Pendias. 1992. Trace elements in soils and plants. 2nd Ed, CRC Press, Boca Raton, F .L.

Khater, A.H., zaghloul, A.M., 2002. Copper and zinc desorption kinetics from soil: Effect of pH. Paper presented at the 17th world conference on soil science Thailand, symposium No.47, pp. 1-9.

Kumar Chikkappa C., Karjagi S. L., Yathish K.R. Singh K.S, Y., Hooda Abhijit Kr., Mukri J.C, G., Ramesh Kumar R, S. and Kumar, S. 2012. Maize biology: an introduction. *Indian Council of Agricultural Research*: pp 1-25.

Lian B., Wang B., Pan M., Liu, C. and Teng H.H. 2007. Microbial release of potassium from Kbearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. Geochimical et Cosmochimica Acta, 72: 87–98.

Lind K., Lafer G., Schloffer K., Innerhoffer G. and Meister H. 2003. Organic Ruit Growing. CABI Pub., Wallingford, UK.

Lindsay, W. L., and Norvel, W. A. 1978. Development of a DTPA as a soil response investigation of Mn2+ complexation in natural and synthetic *organic Soil Science Society of America Journal*,46: 1137-43.

Lu A. Zhang S. and Shan X. 2005. Time effect on the fractionation of heavy metals. Geoderma, 125: 225-234.

Lyengar S.S., Martens D.C. and Miller W.P. 1981 Distribution and availability of soil Zn fractions. *Soil Science Society of America Journal.* 45:735-739.

Macbrid M. B. 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford University press New York.

Machovic V. Mizera J. Sykorova, I. Borecka L. 2000. Ion-exchange properties of Czech oxidized coals, *Acta Montana.*

Majumder B., Mandal B., Bandyopadhyay P.K., Gangopadhyay A., Mani P.K., Kundu A.L. and Mazumdar D. 2008. Organic amendments influence soil organic carbon pools and rice-wheat productivity. Soil Sci. Soc. Am. J. 72: 775-785.

Marshner H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic press, Inc. New York, NY. 674 p.

Mehboob I., Naveed M.and Zahir Z. A. 2009. Rhizobial association with non-legumes: mechanisms and applications. Critical Reviews in *Plant Science*, 28 (6), 432-456.

Moira E. K., Henderson M. E. K. and Duff R. B. 1963. The release of metallic and silicates ions from minerals, rocks and soils by fungal activity. *Journal of Soil Science* . 14: 237-245.

Mora V., Bacaicoa E., Zamarreño A.M., Aguirre Em., Garnica M., Fuentes M. García-Mina J.M. 2010. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shootdistribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. *Journal of Plant Physiology*. 167(8), 633-642.

Motaghian H. and Hosseinpur A. 2013. Zinc desorption kinetics in wheat (*Triticum Aestivum* L.) rhizosphere in some sewage sludge amended soils. *Jornal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13: 3. 664-678.

Mottaqi M. 2018. Cultivation of corn seedlings, a solution to reduce water consumption and increase grain yield. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Hamedan, 15(60):1-6.

Naik S.K. and Das D.K. 2007. Effect of lime, humic acid and moisture regime on the availability of zinc in alfisol. *The Scientific World Journal*. 7:1198-1206.

Pavel J., Jana V., Lucie H. and Vera P. 2010. Effects of inorganic and organic amendments on the mobility (*leachability*) of heavy metals in contaminated soil, a sequential extraction study. Science direct, *Geoderma*, 159: 335–341.

Pérez-Esteban J., Escolástico C., Sanchis I., Masaguer A. and Moliner A. 2019. Effects of pH Conditions and Application Rates of Commercial Humic Substances on Cu and Zn Mobility in Anthropogenic Mine Soils. *Sustainability*, 11(4844): 1-13.

Piri M., Sepehr E. and Rengel Z. 2019. Citric acid decreased and humic acid increased Zn sorption in soils. *Geoderma*, 341: 39- 45.

Rasul G., Appuhn A., Muller T. and Joergensen R.G. 2006. Salinity-induced changes in the microbial use of sugarcane filter cake added to soil. *Applied Soil Ecology*, 31: 1- 10.

Rayment G. E., and Higginson F. R. 1992. Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods. Melbourne, In kata Press.

Reyhanitabar A. Karimian N. Ardalan M. Savaghebi G. H. R. and Ghanadha M. R. 2006. Zinc Fractions of Selected Calcareous Soils of Tehran Province and Their Relationships with Soil Characteristics. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 3: 125-136 (In Persian)

Reyhanitabar A., Ardalan M.M., Karimian N., Savaghebi G.R. and Gilkes R.J., 2011. Kinetics of Zinc Sorption by Some Calcareous Soils of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(2): 263-272.

Rodrı´Guez L, Ruiz E, Alonso-Azca´rate J, Rinco´N J. 2009. Heavy metal distribution and chemical speciation in tailings and soils around a Pb-Zn mine in Spain. J Environ Manage. 90:106–116

Rodriguez J. B., Self J. R. and Westfall D. G. 1999. Sodium bicarbonate-DTPA test for macro and micro nutrient elements in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 30 (7-8): 957-970.

Saravanan V. S. Subramoniam S. R. and Ra S. A. 2003. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (zsb) isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 121-125.

Saravanan V. S. Subramoniam S. R. and Ra S. A. 2003. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (zsb) isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 121-125.

Sharifi H. and Khoshgoftarmanesh A. 2011. Selecting zinc efficient wheat genotypes with high grain yield using a stress tolerance index.

Sharma B. D., Arora H. Kumar R. and Nayyar V. K. 2004. Relationships between soil characteristics and total and DTPA-extractable micronutrients in Inceptisols of Punjab. *Communications in soil science and plant analysis*. 35 (5-6): 799-818.

Shuman L. M. 1986. Effect of ionic strength and anions on zinc adsorption by two soils. *Soil Science Society of America Journal*, 50: 1438–1442.

Smith S R. 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environment International*. 2009; 35: 142–156.

Sodaeimashaei S., Aliasgharzadeh N. and Ostan S.h., 2007. Kinetics of mineralization of nitrogen in a soil treated with compost, vermicompost, and cow manure. *Journal of Science and Technology Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science* 42, 405-414.

Suge H. Takahashi H. Artia S. and Takaki H. 1986. Gibberlin relationships in zinc deficiency plants. *Plant CellPhysiology*, 27: 1005-1012.

Sumner M. E. and W. P. Miller. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficients. Methods of soil analysis part 3-chemical methods, (methodsofsoilan3). pp. 1201-1229.

Tessier A., Cambell P. G. C. and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for specification of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*. 51: 844-851.

Thomas G. W. 1996. Soil and Soil acidity. pp: 475-490. In: D. L. Sparks et al. Methods of Soil Analysis. Part.3rd Ed., *Am. Soc. Agron*., Madison, WI.

Udo E. J. Bohn H. L. and Tucker T. C. 1970. Zinc adsorption by calcareous soils. *Soil Science Society of AmericanJournal*, 34: 405-407.

Usman A.R.A., Kuzyakov Y. and Stahr K. 2004. Dynamics of organic C mineralization and the mobile fraction of heavy metals in a calcareous soil incubated with organic wastes. *Water, Air, and Soil Pollution*, 158:401-418.

Walkley A. and Black I. A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acidtitration method. *Soil science*. 37 (1): 29-38.

White M. C., Chaney R. L. 1980. Zinc, Cadmium and Manganese Uptake by Soybean from Two Zinc- and Cadmium-Amended Coastal Plain Soil1. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 44, 308-313.

Yildirim E. R. T. A. N., Turan M. E. T. I. N. and Donmez M. F. 2008. Mitigation of salt stress in radish (Raphanus sativus L.) by plant growth promoting rhizobacteria. Roumanian Biotechnol Lett, 13, 3933-3943.

Zhao F., Sheng X.F., and Huang Z. 2008. Isolation of mineral potassium solubilizing bacterial strains from agricultural soils in Shandong province. Biodiversity Science, 16:593–600.

Effect of Leonardite and Zinc Solvent Bacteria on Release and Chemical Forms of Zinc in Calcareous Soil

Fardin Hosseini [1] , Behnam Dovlati[2] *, Mohsen Barin[3]

(Received: May 2021 Accepted: September 2021)

Abstract

The aim of researchers in order to revive sustainable agriculture is to increase the solubility and availability of nutrients in the soil. For this purpose, this study was carried out to assess the effect of leonardite and bacteria on the chemical forms of zinc (Zn) in calcareous soils. A factorial experiment was conducted with three levels of leonardite (0, 2 and 4%) and with two microbial factors (without bacteria and zinc-soluble bacteria) at three incubation time (30, 90, 150 days) in three replications. The chemical fractionation and available forms of Zn in the soil was assayed by using the Tessier and DTPA methods. The results showed that leonardite and bacterial significantly increased Zn available forms (54%) and decreased soil pH (4.1%) during incubation time. Soil biological properties such as microbial population, basal respiration and microbial carbon increased by 36.2%, 77% and 77%, respectively. The distribution of Zn chemical forms and mobility factor also had significant changes affected of leonardite and bacteria as, it increased the exchange forms, binds to organic carbon and the carbonate part, as well as decreased the Zinc binds to Fe and Mn oxides in the soil. The mobility index of Zn ranged from 3.8 to 11.59% and its maximum value was observed in the treatment of leonardite 4% + bacteria. As a result, leonardite as a fertilizer plays an important role in element motility and its application along with solvent bacteria has positive effects on dissolution and increasing the availability of the elements.

Keywords: Zn Chemical form, Leonardite, Zinc release, Solvent bacteria

Hosseini, F., Dovlati, B and Barin, M. 2022. Effect of Leonardite and Zinc Solvent Bacteria on Release and Chemical Forms of Zinc in Calcareous Soil. *Applied Soil Research*, 10(2): 14-28.

1- MSc. students of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University
2- Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University
3- Associated Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University
* Corresponding Author Email: b.dovlati@urmia.ac.ir