

VI SINH VẬT CHUYỂN HÓA LÂN KHÓ TAN TRONG ĐẤT VÀ TIỀM NĂNG ÁP DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP

Phạm Thị Miên*, Phan Minh Thụ

*Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
01 Cầu Đá, Nha Trang, Khánh Hòa*

*Tác giả liên hệ: mien.pham@gmail.com

Ngày nhận bài: 02.02.2021

Ngày chấp nhận đăng: 04.06.2021

TÓM TẮT

Vi sinh vật chuyển hóa lân đã được nghiên cứu từ rất lâu để làm phân bón sinh học cho nhiều giống cây trồng cả ở phòng thí nghiệm và ngoài thực tế. Tuy nhiên, vi sinh vật chuyển hóa lân vẫn chưa được thay thế phân bón hóa học sử dụng trong nông nghiệp thương mại. Bài tổng quan này trình bày cơ chế chuyển hóa lân vô cơ và hữu cơ ở vi sinh vật được gọi là các PSM và các yếu tố chính tác động đến quá trình này. Các PSM điển hình như vi khuẩn *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, vi nấm *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, xạ khuẩn *Actinomyces*, *Streptomyces* và nấm rễ cộng sinh *Azospirillum*, *Rhizobium*. Sự chuyển hóa lân chịu sự tác động chính từ sự hoạt động, tương tác của vi sinh vật trong môi trường đất, do đó chịu sự ảnh hưởng bởi chất dinh dưỡng cũng như các đặc tính lý hóa của đất và của từng vùng khí hậu. Đồng thời, một số chủng tiềm năng như *Azotobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma* đã và đang được áp dụng làm phân bón sinh học cũng được đề cập trong bài báo này, cho thấy việc sử dụng vi sinh vật chuyển hóa photphat sẽ thúc đẩy nông nghiệp phát triển bền vững và công nghệ này đã sẵn sàng để khai thác thương mại trên toàn thế giới.

Từ khóa: Khoáng hóa, hòa tan, photpho, vi sinh vật chuyển hóa photphat (PSM).

Phosphate Solubilizing Microorganisms and Their Potential Application For Agriculture

ABSTRACT

Phosphate solubilizing microorganisms (PSMs) have been studied for a long time to make bio-fertilizer for many crops both in laboratory pots and in the fields. However, PSMs have not yet replaced chemical fertilizers in commercial agriculture. In this review, we have presented the mechanisms of microbial organic and inorganic phosphate solubilization known as PSMs and the key factors which influenced the success of this technology. The most important PSMs included *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Actinomyces*, *Streptomyces*, *Azospirillum* and *Rhizobium*. Phosphate metabolism was mainly influenced by the activities and interactions of microorganisms in the soil, thus affected by nutrients as well as the physical and chemical properties of the soil and the impact of the region atmosphere. In addition, some great potential candidates such as *Azotobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma* for application as bio-fertilizers have reported in this paper, and that was also a suggestion of the use of PSMs will encourage sustainable agriculture and this technology is ready for commercial exploitation worldwide.

Keywords: Mineralized, soluble, phosphorus, PSM.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ rất lâu, người ta đã biết hệ vi sinh vật có vai trò to lớn đối với cây trồng, đặc biệt phải nhắc đến nhóm vi sinh vật tham gia vào vòng tuần hoàn photpho hay còn gọi là vi sinh vật chuyển hóa lân. Cùng với nitơ, photpho (P) là

một trong những nguyên tố thiết yếu cần thiết cho sự phát triển và tăng trưởng của thực vật, photpho chiếm khoảng 0,2% trọng lượng khô của cây (Azziz & cs., 2012). Trung bình hàm lượng lân trong đất khoảng 0,05% (w/w) tuy nhiên, chỉ 0,1% trong số lượng photpho ít ỏi này cây trồng có thể hấp thụ để phục vụ sinh trưởng

và phát triển (Zhu & cs., 2011). Mặc dù P là thành phần chính có trong nước biển, nhưng vẫn có rất nhiều sinh vật thủy sinh không thể hấp thụ đủ nguồn dinh dưỡng này, do P kết tủa trong trầm tích dưới dạng photphát vô cơ và hữu cơ (Vassilev & cs., 2006).

Từ các hệ sinh thái khác đặc biệt như đất và nước bao gồm ven biển, ngoài khơi và rừng ngập mặn, vi khuẩn trong môi trường biển như *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Vibrio*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* và *Flavobacterium* có khả năng thủy phân các hợp chất P vô cơ (Pi), đồng hóa các chất P hữu cơ (Po) và chuyển hóa chúng thành các hợp chất vô cơ hòa tan dễ sử dụng đối với cây trồng (Chen & cs., 2006; Dastager & Damare, 2013; Mudryk, 2004). Các chủng vi khuẩn *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* được phân lập từ trầm tích rừng ngập mặn hòa tan photphát rất tốt và có tiềm năng ứng dụng để sản xuất phân bón hữu cơ áp dụng cho đất ngập mặn (Teymouri & cs., 2016).

Bên cạnh vi khuẩn kể trên, vi nấm cũng được biết đến là có khả năng hòa tan photphát, phổ biến như *Penicillium*, *Aspergillus* (Rodríguez & Fraga, 1999) *Penicillium* (Morales & cs., 2007; Srinivasan & cs., 2020), *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Azospirillum* (Bashan & de-Bashan, 2010). Vi nấm có thể di chuyển trong đất một khoảng cách dài dễ dàng hơn vi khuẩn và có thể quan trọng hơn đối với quá trình hòa tan Pi trong đất, vì chúng thường tiết ra nhiều axit (gluconic, citric, lactic, 2-ketogluconic, oxalic, tartaric và axit acetic) hơn vi khuẩn (Sharma & cs., 2013). Ngoài ra, khoảng 20% xạ khuẩn, như *Actinomyces* sp., *Micromonospora* sp. và *Streptomyces* sp. có thể hòa tan P. Vi khuẩn lam cũng có hoạt động hòa tan photphát (Sharma & cs., 2013).

Ngày nay, phân bón sinh học từ vi sinh vật ngày một được biết đến và ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp giúp cải thiện năng suất cây trồng và góp phần tạo ra các hệ sinh thái nông nghiệp bền vững. Các loại vi sinh vật đất khác nhau (đặc biệt là vi khuẩn và nấm) biểu hiện các đặc điểm thúc đẩy tăng trưởng thực vật PGPM có thể được sử dụng để sản xuất phân bón sinh học hiệu quả (Khalid & cs., 2009). Thực tế cho thấy các chủng PSM như các loài thuộc giống *Azotobacteria*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Thiobacillus*

và *Pseudomonas* đã được khai thác làm phân bón sinh học ở quy mô nhất định (Li & Zhang, 2001).

2. CƠ CHẾ VI SINH VẬT CHUYỂN HÓA LÂN KHÓ TAN

Các quá trình chính gồm (1) hòa tan - kết tủa, (2) hấp thụ - giải hấp và (3) khoáng hóa - cố định (chuyển đổi trung gian giữa các dạng Pi và Po dưới tác dụng của vi sinh vật). Các vi sinh vật trong đất có tác dụng hòa tan P thông qua (1) giải phóng các hợp chất tạo phức hoặc các chất có thể hòa tan Po, ví dụ, các anion axit hữu cơ, H^+ , OH^- và CO_2 , (2) giải phóng các enzyme ngoại bào (nhằm hòa tan Po) như phosphatase và (3) giải phóng P trong quá trình phân hủy chất Po (Sharma & cs., 2013).

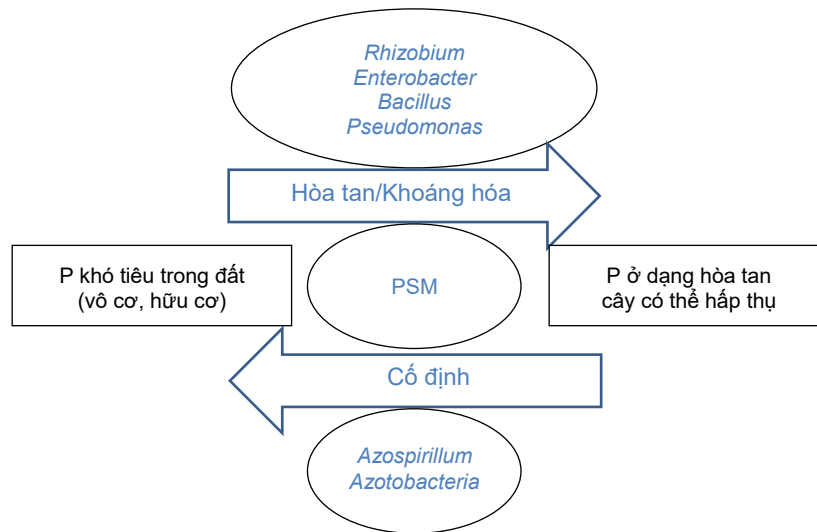
Quá trình PSM tham gia vào vòng tuần hoàn P trong đất được phác thảo chung như ở hình 1 phỏng theo Khan & cs. (2009).

2.1. Sự hòa tan P vô cơ (Pi)

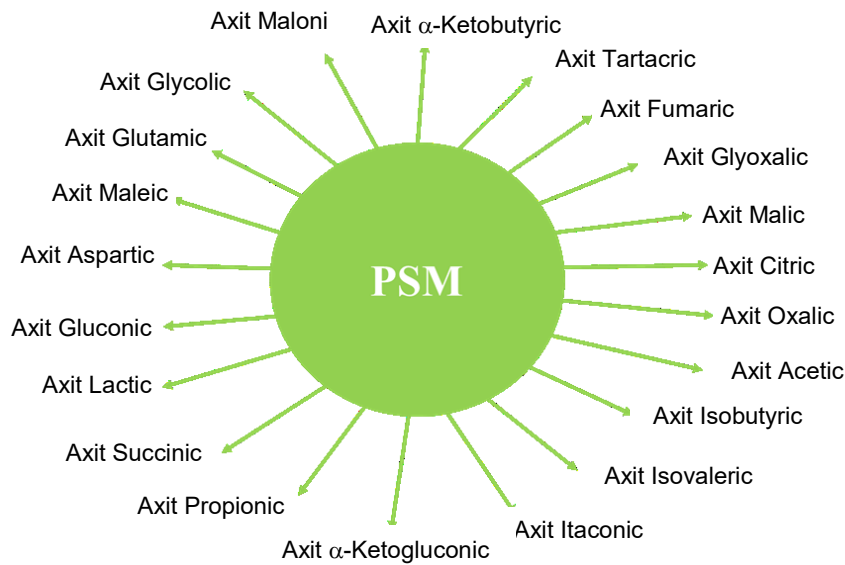
Cơ chế này hoạt động thông qua sản xuất axit hữu cơ bởi vi sinh vật dẫn đến (1) hạ thấp độ pH trong rhizosphere hoặc (2) tăng cường chelate hóa các cation liên kết với P, (3) cạnh tranh với P cho các vị trí hấp thụ trên đất và (4) tạo phức hòa tan với các ion kim loại (Ca, Al, Fe) liên kết với P không tan do đó P được giải phóng. Sự giảm pH của môi trường cho thấy sự giải phóng các axit hữu cơ bởi các vi sinh vật hòa tan P.

Các axit hữu cơ là sản phẩm của quá trình trao đổi chất của vi sinh vật, chủ yếu là do hô hấp oxy hóa hoặc bằng cách lên men các nguồn cacbon (C) hữu cơ, PSM giải phóng axit gluconic, axit oxalic, axit citric, axit lactic, axit tartaric và axit aspartic phỏng theo phỏng theo Alori & cs. (2017) được thể hiện ở hình 2, chúng thường có trọng lượng phân tử thấp và chủ yếu là gluconic (Khan, & cs., 2010). Các axit hữu cơ có thể hòa tan trực tiếp Pi kết quả của sự trao đổi anion của photphát bằng anion axit hoặc có thể chelate các ion Fe, Al và Ca liên kết với P (Omar, 1997). Tuy nhiên, chỉ riêng quá trình axit hóa đường như không phải là cơ chế phổ biến của sự hòa tan. Trong một số trường hợp chính sự thiếu hụt photphát là nguyên nhân thúc đẩy sự hòa tan photphát ở vi sinh vật (Gyaneshwar & cs., 1999).

Vi sinh vật chuyển hóa lân khó tan trong đất và tiềm năng áp dụng trong nông nghiệp



Hình 1. Vi sinh vật chuyển hóa lân tham gia vòng tuần hoàn P trong đất



Hình 2. Các axit hữu cơ tham gia quá trình hòa tan Pi bởi vi sinh vật

Thực sự, sự sinh tổng hợp và giải phóng các axit hữu cơ của các chủng PSM vào môi trường xung quanh làm axit hóa tế bào và môi trường xung quanh của chúng, dẫn đến việc giải phóng các ion P từ P_o bằng cách thay thế H^+ cho cation liên kết với photphat. Việc bài tiết các axit hữu cơ này đi kèm với sự giảm pH dẫn đến axit hóa tế bào vi sinh vật và môi trường xung quanh, do đó, các ion P được giải phóng bằng cách thay thế H^+ cho Ca^{2+} (Goldstein, 1994). Ví dụ, sự đồng hóa của NH_4^+ cùng với sự giải phóng H^+ mang lại sự hòa tan P (Illmer & cs., 1995). Một cơ chế

thay thế để sản xuất axit hữu cơ để hòa tan P_i là giải phóng H^+ ra bề mặt bên ngoài để đổi lấy sự hấp thu cation hoặc với sự trợ giúp của ATPase chuyển vị H^+ (Rodríguez & Fraga, 1999). Sự đồng hóa NH_4^+ trong tế bào vi sinh vật đi kèm với việc giải phóng các proton và điều này dẫn đến quá trình hòa tan P_i mà không tạo ra bất kỳ axit hữu cơ nào (Sharma & cs., 2013). Tuy nhiên, hiệu quả của các axit vô cơ và các chất chelate trong việc giải phóng P trong đất kém hơn so với các axit hữu cơ, việc sản xuất axit hữu cơ trong quá trình hòa tan P_i

nhờ PSM không phải là lý do duy nhất làm tăng nồng độ P trong môi trường nuôi cấy (Kim & cs., 1997). Một nghiên cứu khác công bố dịch nuôi cấy *Pseudomonas* sp. không phát hiện thấy bất kỳ axit hữu cơ nào được sinh ra trong khi đó quá trình hòa tan photphát vẫn xảy ra, nguyên nhân có thể quá trình hòa tan photphát mà không tạo ra axit là giải phóng proton đi kèm với hô hấp hoặc đồng hóa NH_4^+ (Illmer & cs., 1995). Các cơ chế hoạt động của quá trình hòa tan Pi (Mineral Phosphate Soluble) đã được nghiên cứu ở chủng *Penicillium rugulosum* Mps⁺ (chủng phân lập IR94-MF1) và ở các thể đột biến âm tính (Mps⁻) và siêu dương tính (Mps⁺⁺). Các hoạt động MPS được đo trong môi trường lỏng sử dụng sucrose làm nguồn C, bốn nguồn N (arginine, nitrat, nitrat + amoni và amoni) và nguồn P (KH_2PO_4 , hydroxyapatite, FePO_4 và AlPO_4). Amonium làm giảm đáng kể khả năng hòa tan photphát và hoạt tính này ở thể Mps⁺⁺ cao hơn 1-66 lần so với ở chủng phân lập IR94-MF1, tùy thuộc vào nguồn P và N được sử dụng. Kiểu hình Mps⁺ có liên quan chặt chẽ đến việc sản xuất axit gluconic hoặc axit citric. Đối với MPS⁻ có sự tham gia của cơ chế bơm H^+ trong quá trình hòa tan một lượng nhỏ photphát (Reyes & cs., 1999), điều đó cho thấy vai trò trực tiếp của axit hữu cơ hoặc vô cơ đã bị loại trừ. Đối với một số vi sinh vật, giải phóng proton do NH_4^+ là cơ chế duy nhất để thúc đẩy quá trình hòa tan photphát. Hai chủng nấm *Penicillium bilaji* và *Penicillium cf. fuscum* được áp dụng để hòa tan photphát trong môi trường nuôi cấy lỏng. Sự hòa tan Pi có liên quan trực tiếp đến sự giảm pH ở cả hai chủng khi được bổ sung nitơ trong môi trường nuôi. Nguồn nitơ (ở dạng NH_4^+) trong môi trường cần thiết để tăng khả năng hòa tan P của chủng *P. bilaji*. Các nguồn nitơ ảnh hưởng đến pha tiềm phát (lag phase) trước khi mỗi chủng bắt đầu hòa tan P, tốc độ và trọng lượng Pi được hòa tan (Asea & cs., 1988). Trong một nghiên cứu khác chỉ ra rằng ở vi khuẩn hòa tan photphát *Pseudomonas fluorescens*, dạng C cung cấp (glucose, fructose) chứ không phải nitơ cung cấp (NH_4^+ , NO_3^-) có ảnh hưởng nhất đến sự giải phóng proton (Park & cs., 2009).

2.2. Khoáng hóa P hữu cơ (Po)

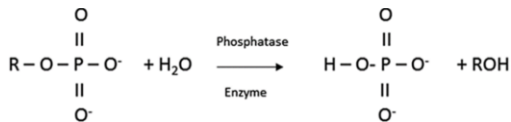
Hàm lượng Po trong đất có thể cao tới 30-50% tổng lượng P và phần lớn chúng ở dạng inositol phosphate (phytate trong đất). Các hợp chất Po khác đã được đề cập như phosphomonoesters, phosphodiesteres, phospholipid, axit nucleic và phosphotriesters (Rodríguez & Fraga, 1999). Ngoài ra, một lượng lớn xenobiotic photphonat (thuốc trừ sâu, phụ gia tẩy rửa, kháng sinh và chất chống cháy) thường xuyên được thải ra ngoài môi trường cũng chứa Po và do đó phải được chuyển hóa sinh học thành photphát ion hòa tan (Pi , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-), hoặc Pi trọng lượng phân tử thấp, để được tế bào thực vật đồng hóa (Peix & cs., 2001). Sự khoáng hóa P là quá trình phân hủy chất hữu cơ có chứa P để dần chuyển hóa P thành dạng Po dễ hòa tan. Sự loại bỏ P liên tục dẫn đến sự hòa tan các hợp chất Ca-P trong quá trình trao đổi chất của vi sinh vật. Do đó, sự phân hủy P trong các chất hữu cơ luôn tương quan với hàm lượng P trong sinh khối của PSM. Quá trình sinh học này đóng một vai trò quan trọng trong chu trình P trong đất (Alori & cs., 2017).

Các nhóm enzyme khác nhau tham gia vào việc này. Photpho có thể được giải phóng từ các hợp chất hữu cơ trong đất bởi ba nhóm enzyme: (1) Phosphatase (axit phosphataza) không đặc hiệu, giải phóng PO_4^{3-} từ các chất hữu cơ có chứa photphát nhờ phá vỡ liên kết phospho-ester hoặc phosphoanhydride trong chất hữu cơ, (2) Phytases, đặc hiệu và tham gia vào quá trình giải phóng P từ axit phytic và (3) Phosphonatasen và C-P Lyasen- là các enzyme thực hiện sự phân cắt C-P trong các muối organophosphonat. Vì sự hiện diện chủ yếu của các cơ chất có trong đất, do đó hoạt động hòa tan chuyển hóa photphát chính trong đất là nhờ axit phosphataza và phytases (Rodríguez & cs., 2006).

2.2.1. Nonspecific acid phosphohydrolases (NSAPs)/phosphatases enzyme không đặc hiệu

Nhiều vi sinh vật đất như *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Bacillus*, sinh ra các phosphatases là nhóm enzyme không đặc

hiệu (Nonspecific acid phosphohydrolases-NSAPs). Chúng được tiết ra dưới dạng protein hòa tan trong chu chất (periplasmic) hoặc tồn tại dưới dạng lipoprotein liên kết với màng ngoài tế bào vi sinh vật (outer membranes). Đây là những enzyme thủy phân các chất hữu cơ có chứa P như nucleotides, sugar phosphates, axit phytic... và do đó giải phóng photphat PO_4^{3-} nhờ phá vỡ các liên kết phosphoester hoặc phosphoanhydride.



Các NSAPs được xếp vào lớp B ít có đại diện trong môi trường biển và trên cạn, phản ánh mối liên hệ của chúng với vi khuẩn đường ruột và vi khuẩn gây bệnh. Các NSAP lớp A ở chu chất và lớp C liên kết với màng ngoài tìm thấy phổ biến hơn. NSAP có nhiều ở vi sinh vật biển hơn hệ sinh thái trên cạn và gen loại C phong phú hơn gen loại A, ngoại trừ trong than bùn có tính axit nơi gen loại A chiếm ưu thế. Các gen loại C phân bố rộng rãi hơn khi chúng liên kết với màng ngoài của tế bào vi khuẩn và do đó chúng có vai trò rõ ràng trong chu trình Po, đặc biệt là trong đất (Neal & cs., 2018).

Các nhóm enzyme khác nhau tham gia vào việc này. Nhóm enzyme đầu tiên là những enzyme dephosphorylat hóa liên kết phosphoester hoặc phosphoanhydrid của các hợp chất hữu cơ. Chúng là các phosphatase axit không đặc hiệu (NSAP). Được nghiên cứu nhiều nhất trong số các enzyme NSAPs do PSM giải phóng, là các phosphomonoesterase còn được gọi là phosphatase (Nannipieri & cs., 2011). Độ pH của hầu hết các loại đất nơi có hoạt động hòa tan photphat sinh học nằm trong khoảng từ giá trị axit đến trung tính. Điều này cho thấy NSAPs đóng vai trò chính trong quá trình này (Rodríguez & Fraga, 1999).

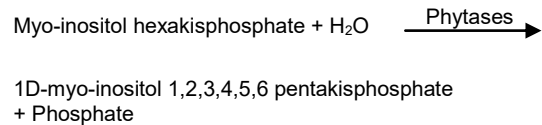
Phosphatase axit chiếm ưu thế ở đất chua, trong khi phosphatase kiềm có nhiều hơn ở đất trung tính và đất kiềm. Ngược lại với phosphatase được tạo ra bởi thực vật, phosphatase có nguồn gốc vi sinh vật có ái lực lớn hơn với Po. Hoạt động phosphatase trong

đất cũng tăng tuyến tính với hàm lượng chất hữu cơ trong đất, hàm lượng P trong đất, độ pH của đất, điều kiện độ ẩm và nhiệt độ (Nannipieri & cs., 2011).

2.2.2. Phytases

Enzyme phytase (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase) là nhóm enzyme thủy phân phytic axit (myo-inositol hexakisphosphate) là nguồn P khó tiêu trong các mô thực vật đặc biệt trong quả và hạt thành các Pi có thể sử dụng được (Mullaney & cs., 2000).

Axit phytic có sáu nhóm photphat có thể được giải phóng bởi phytase với tỉ lệ khác nhau và theo thứ tự khác nhau. Các phytases thủy phân photphat từ axit phytic theo cách từng bước, tạo ra các sản phẩm trở thành chất nền cho quá trình thủy phân tiếp theo. Hầu hết các phytase có thể phân cắt năm trong sáu nhóm photphat từ axit phytic. Các phytases đã được phân nhóm dựa trên vị trí photphat đầu tiên của axit phytic bị thủy phân.



Enzyme phytases được tìm thấy trong động vật, thực vật, nấm, vi khuẩn, tuy nhiên nấm và vi khuẩn là đối tượng sản sinh enzyme đáng kể nhất (Mullaney & Ullah, 2003). Thực vật thường không thể thu nhận photpho trực tiếp từ phytate, tuy nhiên, sự hiện diện của PSM trong tầng sinh quyển có thể bù đắp cho việc cây không có khả năng thu nhận photpho trực tiếp từ phytate (Richardson & Simpson, 2011).

2.2.3. Phosphonatasen và C-P Lyases

Những enzyme này phá vỡ liên kết C-P của organophosphonates (Rodríguez & cs., 2006). Vi sinh vật đất sản sinh ra một loạt các phosphatase và khi được nuôi cấy trong môi trường phòng thí nghiệm có khả năng sử dụng P từ các dạng Po khác nhau có trong đất như inositol photphat (phytate; myoinositol hexakisphosphate cùng với các đồng phân khác và các dẫn xuất bậc thấp hơn), Bünemann (2008) công bố rằng 60% tổng lượng Pi thường

có thể bị thủy phân bởi phosphatase với lượng cao nhất được giải phóng bởi phytases. Cả phosphatase thực vật và vi sinh vật đều có hiệu quả trong việc giải phóng orthophosphat từ Pi trong đất, với một số bằng chứng cho thấy các enzyme vi sinh vật có hiệu quả giải phóng P cao hơn (Tarafdar & cs., 2001)

3. YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH HÒA TAN PHỐT PHÁT CỦA VI SINH VẬT

Khả năng chuyển hóa lân hữu cơ và vô cơ không hòa tan của PSM liên quan đến độ giàu dinh dưỡng của đất, tình trạng sinh lý và sinh trưởng của sinh vật. PSM từ môi trường khắc nghiệt như đất mặn - kiềm, đất có mức độ thiếu dinh dưỡng cao hoặc đất từ môi trường nhiệt độ khắc nghiệt có xu hướng hòa tan nhiều photphát hơn PSM từ đất ở điều kiện ôn hòa hơn (Zhu & cs., 2011). White & cs. (1997) đã tìm thấy 20-25°C là nhiệt độ tối ưu để vi sinh vật hòa tan photphát, trong khi một số nghiên cứu khác là 28°C (Narsian & Patel, 2000). Ngoài ra, những người khác như Bidondo & cs. (2011), Rosado & cs. (1998) và Johri & cs. (1999), đã ghi nhận 30°C là nhiệt độ tốt nhất để hòa tan photphát. Nautiyal & cs. (2000) công bố có sự hòa tan photphát ở nhiệt độ 45°C trong đất sa mạc.

Trong số các yếu tố khác ảnh hưởng đến quá trình hòa tan photphát là sự tương tác với các vi sinh vật khác trong đất, sinh thái, loại đất vùng khí hậu, loại cây trồng, các đặc tính lý hóa của đất (Seshachala & Tallapragada, 2012). Photpho được hòa tan nhanh hơn ở vùng khí hậu ẩm ẩm và chậm hơn ở vùng khí hậu khô mát. Đất được thông khí tốt sẽ dễ dàng cho phép hòa tan photphát nhanh hơn so với đất ướt bão hòa. Zhang & cs. (2014) công bố việc bổ sung một lượng nhỏ Pi vào sinh quyển có thể thúc đẩy quá trình khoáng hóa axit phytic bởi vi khuẩn và do đó cải thiện dinh dưỡng photpho của thực vật. Vôi và phân trộn, được sử dụng làm chất cải tạo đất, cũng có tác dụng tích cực đối với chất hòa tan photphát, quần thể vi khuẩn đa dạng và phong phú hơn sau khi luân canh cây trồng (Azziz & cs., 2012). Đất giàu chất hữu cơ sẽ tạo điều kiện cho vi sinh vật phát

triển và do đó tạo điều kiện cho vi sinh vật hòa tan P. Mối tương quan nghịch đã được quan sát thấy giữa lượng photphát được hòa tan bởi *B. cepacia* SCAUK0330 và sự sụt giảm pH liên quan đến quá trình này. Sự giảm pH dẫn đến sự gia tăng khả năng hòa tan photphát (Zhao & cs., 2014). Khả năng hòa tan photphát phần lớn phụ thuộc vào loại chất chuyển hóa được tạo ra và tốc độ giải phóng của nó (Zhu & cs., 2011). Photphát hòa tan có sẵn ở môi trường ngoại sinh có ảnh hưởng đến hoạt động của quá trình hòa tan photphát, axit hóa môi trường, sự tăng trưởng và sự tiết axit hữu cơ của vi khuẩn phân giải photphát *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2, quá trình hòa tan photphát giảm khi tăng nồng độ photphát ngoại sinh và pH môi trường tăng (Zeng & cs., 2016).

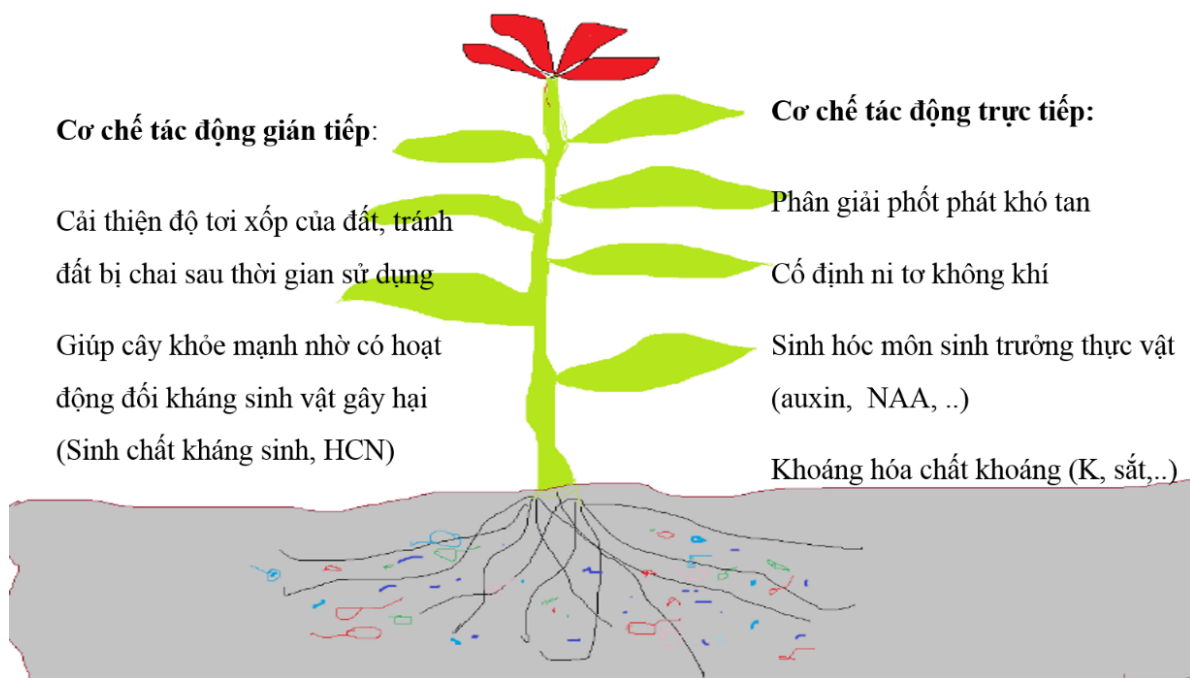
Cũng như một số chất dinh dưỡng thực vật khác, P trong đất bị ảnh hưởng nhiều bởi độ pH của đất. Độ pH của đất "lý tưởng" là gần trung tính và đất trung tính được coi là nằm trong phạm vi từ độ pH hơi chua là 6,5 đến độ pH hơi kiềm là 7,5. Người ta đã xác định rằng hầu hết các chất dinh dưỡng thực vật đều có sẵn một cách tối ưu cho cây trồng trong phạm vi pH từ 6,5 đến 7,5. Ở các giá trị pH kiềm, lớn hơn pH 7,5 các ion PO_4^{3-} có xu hướng phản ứng nhanh với canxi (Ca) và magiê (Mg) để tạo thành các hợp chất ít hòa tan hơn. Ở các giá trị pH có tính axit, các ion PO_4^{3-} phản ứng với nhôm (Al) và sắt (Fe) để tạo thành các hợp chất ít hòa tan hơn. Do vậy trong nông nghiệp người ta sản xuất hai dạng lân chính phân super và phân lân nung chảy cho phù hợp với nhiều loại đất có pH khác nhau.

5. TIỀM NĂNG ÁP DỤNG VI SINH VẬT CHUYỂN HÓA LÂN TRONG NÔNG NGHIỆP

PSM là tác nhân kiểm soát sinh học chống lại một số mầm bệnh thực vật, quản lý mầm bệnh bằng cách tạo ra các hợp chất chống nấm (phenolics và flavonoid), kháng sinh, hydro xyanua, ức chế sự phát triển của mầm bệnh thực vật. Nhiều vi sinh vật trong đất và thân rễ có khả năng hòa tan và khoáng hóa photphát làm cho đất không bị phú dưỡng và giảm thiểu ô nhiễm P ở các mạch nước ngầm (Bhattacharyya & Jha, 2012). Các vi sinh vật

đất chịu mặn hoặc ưa mặn cũng thể hiện khả năng hòa tan photpho không hòa tan tạo điều kiện phát triển nông nghiệp dựa trên đất mặn-kiềm (Zhu & cs., 2011). Ngoài ra PSM khoáng hóa các chất dinh dưỡng khác cho cây như K, Mg, tác động gián tiếp của PSM như nhờ có hoạt động sinh trưởng và phát triển của chúng trong đất trồng đã giúp đất tơi xốp, giữ cân

bằng pH cho đất, ngoài ra chúng còn cố định nitơ, sản sinh axit hữu cơ, loại bỏ kim loại ô nhiễm (Biswas & cs., 2018; Gupta & cs., 2016; Hariprasad & Niranjana, 2009; Jiang & cs., 2008). Với những tính năng rất có ích cho cây trồng, thực sự PSM là nhóm những vi sinh vật hữu ích (plant growth promoting) cho cây trồng (Hình 3).



Hình 3. Tác dụng của vi sinh vật hữu ích với cây trồng

Bảng 1. Một số ứng dụng của vi sinh vật hữu ích đối với cây trồng

Đối tượng	Tác động lên	Vi sinh vật	Tài liệu tham khảo
Ngô, cà chua	Tăng năng suất	<i>B. amyloliquefaciens</i> <i>Trichoderma virens</i>	Akladiou & Abbas, 2014; Molla & cs., 2012
Cây mè	Tăng năng suất hạt vừng và dầu mè	<i>Azospirillum Azobacter</i>	Shakeri & cs., 2016
Lúa mì	Tăng năng suất	<i>Azotobacter chroococcum</i> và <i>Bacillus subtilis</i>	Kumar & cs., 2014; Kumar & cs., 2001
Súp lơ xanh	Tác động lên sự sinh trưởng, hấp thu dinh dưỡng và năng suất	<i>Bacillus cereus Brevibacillus reuszeri</i> và <i>Rhizobium rubi</i>	Ertan & cs., 2011
Cà chua	Thúc đẩy tăng trưởng, độ dài rễ và chồi cao hơn 9,4 và 6,4%, năng suất quả tăng 3,0%	<i>Rhodotorula</i> sp. PS4	Mundra & cs., 2011
Cây đậu xanh <i>Vigna radiata</i>	Thúc đẩy sinh trưởng và phát triển, tăng khả năng hấp thụ P	<i>Aspergillus awamori</i> S29	Jain & cs., 2012
Lúa	Thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển toàn diện của cây (tốt hơn chế phẩm thương mại từ chủng <i>Azotobacter</i> sp. (AzC))	<i>Azotobacter</i> sp. chủng Avi2 (MCC 3432)	Banik & cs., 2019
Cây dầu cọ	Tăng khả năng sử dụng P của cây	<i>Burkholderia gladioli</i> và <i>Penicillium aculeatum</i>	Istina & cs., 2015
Củ cải đường	Tăng cường khả năng chống chịu stress oxy hóa ở cây	<i>Azotobacter</i> sp.	Štajner & cs., 1997

Aspergillus niger 1107 đã được phân lập và xác định là một loại nấm hòa tan photphát hiệu quả. Chúng này được dùng để sản xuất chế phẩm phân bón P sinh học với vật liệu mang như than bùn, lõi ngô với perlite (CCP), trấu lúa mì với perlite (WHP) và phân gia súc với perlite (CCMP). Đối với chế phẩm với WHP, hơn $2,0 \times 10^7$ g⁻¹ bào tử của chế phẩm *A. niger* sống sót sau 7 tháng bảo quản. Khi bón chế phẩm này cho cây bắp cải trồng trong chậu, đã có $5,6 \times 10^6$ bào tử *A. niger* g⁻¹ đất trước khi thu hoạch cây. Chế phẩm với than bùn và WHP cho cây phát triển hơn ($P < 0,05$) so với cây trồng trong đất được xử lý bằng chế phẩm với CCMP. Ngoài ra, phân bón sinh học P dựa trên than bùn và WHP tăng hàm lượng P sẵn có trong đất (Wang & cs., 2015). Sự sinh sôi và ổn định của *Azotobacter chroococcum* NV 11 và đột biến NV 43 được đánh giá với các lô đất thí nghiệm và rễ của cây lúa mì ở thời gian 7, 15 ngày sau khi gieo ngoài tự nhiên và 45 ngày với các chậu trồng trong nhà. Có sự sụt giảm rõ ràng về mật độ của cả hai chủng trong đất, ngược lại ở vùng rễ thì có sự gia tăng ổn định từ 10^3 đến 10^4 vi khuẩn trên mỗi gram rễ. Các chủng *Azotobacter* có thể tồn tại, sinh sôi và phát triển tốt trong vùng rễ cây lúa mì và giúp cây phát triển bền vững (Kumar & cs., 2000). Một số ứng dụng của PSM-vi sinh vật hữu ích đối với cây trồng được ghi chú trong bảng 1.

Vi sinh vật đóng một vai trò không thể thiếu trong chu trình P của đất, vì chúng làm trung gian cho sự vận chuyển chất dinh dưỡng từ đất đến cây trồng (Alori & cs., 2017; Richardson & Simpson, 2011). So với thực vật, vi sinh vật đường như có khả năng trao đổi chất đa dạng hơn để cải thiện khả năng tiếp cận sinh học của các dạng P khác nhau trong đất (Rodríguez & cs., 2006).

5. KẾT LUẬN

Vi sinh vật thuộc các giống vi khuẩn như *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* xạ khuẩn *Streptomyces* vi nấm như *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* và nấm rễ cộng sinh *Azospirillum*, *Rhizobium* đã được biết đến là

những giống có khả năng chuyển hóa lân vô cơ và hữu cơ rất hiệu quả. Áp dụng PSM để giúp cây trồng chuyển hóa lân trong đất làm tăng tính khả dụng sinh học của photphát trong đất. Ngoài chuyển hóa lân một số chủng thuộc các giống *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Trichoderma* còn mang nhiều đặc tính thúc đẩy tăng trưởng thực vật như kháng vi sinh gây bệnh, sinh các hormone sinh trưởng nội sinh và cố định nitơ tự do, nên được gọi chung là vi sinh vật hữu ích với cây trồng. Một số chủng tiên năng như *Azotobacter*, *Bacillus*, *Trichoderma*, đã và đang được áp dụng làm phân bón sinh học và thu được hiệu quả nhất định. Từ đó có thể thấy, việc sử dụng vi sinh vật hữu ích làm phân bón sinh học trên diện rộng nhằm thay thế phân bón hóa học giảm thiểu tác động tiêu cực đến môi trường để phát triển nông nghiệp bền vững có tính khả thi rất cao. Tuy nhiên, cần phải phát triển các sản phẩm phân bón sinh học riêng biệt phù hợp với các loại đất khác nhau để thu được hiệu quả tốt nhất khi áp dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akladios S.A. & Abbas S.M. (2014). Application of *Trichoderma harzianum* T22 as a Biofertilizer potential in maize growth. *Journal of Plant Nutrition*. 37(1): 30-49.
- Alori E.T., Glick B.R. & Babalola O.O. (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology*. 8: 971-978.
- Asea P.E.A., Kucey R.M.N. & Stewart J.W.B. (1988). Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 20(4): 459-464.
- Azziz G., Bajsa N., Haghjou T., Taulé C., Valverde Á., Igual J.M. & Arias A. (2012). Abundance, diversity and prospecting of culturable phosphate solubilizing bacteria on soils under crop-pasture rotations in a no-tillage regime in Uruguay. *Applied Soil Ecology*. 61: 320-326.
- Banik A., Dash G.K., Swain P., Kumar U., Mukhopadhyay S.K. & Dangar T.K. (2019). Application of rice (*Oryza sativa* L.) root endophytic diazotrophic *Azotobacter* sp. strain Avi2 (MCC 3432) can increase rice yield under green house and field condition. *Microbiological Research*. 219: 56-65.
- Bashan Y. & de-Bashan L.E. (2010). Chapter Two - How the Plant Growth-Promoting *Bacterium*

- Azospirillum* Promotes Plant Growth-A Critical Assessment. In D.L. Sparks (Ed.). *Advances in Agronomy*. 108: 77-136.
- Bhattacharyya P.N. & Jha D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol*. 28(4): 1327-1350.
- Bidondo L.F., Silvani V., Colombo R., Pèrgola M., Bompadre J. & Godeas A. (2011). Pre-symbiotic and symbiotic interactions between *Glomus* intraradices and two *Paenibacillus* species isolated from AM propagules. *In vitro* and *in vivo* assays with soybean (AG043RG) as plant host. *Soil Biology and Biochemistry*. 43(9): 1866-1872.
- Biswas J.K., Banerjee A., Rai M., Naidu R., Biswas B., Vithanage M. & Meers E. (2018). Potential application of selected metal resistant phosphate solubilizing bacteria isolated from the gut of earthworm (*Metaphire posthuma*) in plant growth promotion. *Geoderma*. 330: 117-124.
- Bünemann E.K. (2008). Enzyme additions as a tool to assess the potential bioavailability of organically bound nutrients. *Soil Biology and Biochemistry*. 40(9): 2116-2129.
- Chen Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W.A. & Young C.C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 34(1): 33-41.
- Dastager S.G. & Damare S. (2013). Marine Actinobacteria Showing Phosphate-Solubilizing Efficiency in Chorao Island, Goa, India. *Current Microbiology*. 66(5): 421-427.
- Ertan Y., Huseyin K., Metin T., Atilla D. & Fahrettin G. (2011). Growth, Nutrient Uptake, and Yield Promotion of Broccoli by Plant Growth Promoting Rhizobacteria with Manure. *HortScience horts*. 46(6): 932-936.
- Goldstein A.H. (1994). Involvement of The Quinoprotein Glucose Dehydrogenase: In The Solubilization of Exogenous Phosphates by Gram-negative Bacteria (A. Torriani-Gorini, E. Yagiland, & S. Silver Eds.). Washington (DC): ASM Press.
- Gupta R., Bisaria V.S. & Sharma S. (2016). Response of rhizospheric bacterial communities of *Cajanus cajan* to application of bioinoculants and chemical fertilizers: A comparative study. *European Journal of Soil Biology*. 75: 107-114.
- Gyaneshwar P., Parekh L.J., Archana G., Poole P.S., Collins M.D., Hutson R.A. & Kumar G.N. (1999). Involvement of a phosphate starvation inducible glucose dehydrogenase in soil phosphate solubilization by *Enterobacter asburiae*. *FEMS Microbiology Letters*. 171(2): 223-229.
- Hari Prasad P. & Niranjana S.R. (2009). Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant and Soil*. 316(1): 13-24.
- Illmer P., Barbato A. & Schinner F. (1995). Solubilization of hardly-soluble $AlPO_4$ with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*. 27(3): 265-270.
- Istina I.N., Widiastuti H., Joy B. & Antralina M. (2015). Phosphate-solubilizing Microbe from Saprist Peat Soil and their Potency to Enhance Oil Palm Growth and P Uptake. *Procedia Food Science*. 3: 426-435.
- Jain R., Saxena J. & Sharma V. (2012). Effect of phosphate-solubilizing fungi *Aspergillus awamori* S29 on mungbean (*Vigna radiata* cv. RMG 492) growth. *Folia Microbiologica*. 57(6): 533-541.
- Jiang C.-y., Sheng X.-f., Qian M. & Wang Q.-y. (2008). Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*. 72(2): 157-164.
- Johri J.K., Surange S. & Nautiyal C.S. (1999). Occurrence of Salt, pH, and Temperature-tolerant, Phosphate-solubilizing Bacteria in Alkaline Soils. *Current Microbiology*. 39(2): 89-93.
- Khan M.S., Zaidi A., Ahemad M., Oves M. & Wani P.A. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 56(1): 73-98.
- Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Naqvi S.M.S. & Rasheed M. (2009). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. *J. Agric. Biol. Sci*. 1(1): 48-58.
- Kim K.Y., McDonald G.A. & Jordan D. (1997). Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium. *Biology and Fertility of Soils*. 24(4): 347-352.
- Khalid A., Arshad M., Shaharoon B., Mahmoud T. (2009). Plant growth promoting rhizobacteria and sustainable agriculture: In *Microbial Strategies for Crop Improvement* (M.S Khan, A. Zaidi & J. Musarrant Eds.) (Berlin: Springer-Verlag).
- Kumar S., Baudh K., Barman S.C. & Singh R.P. (2014). Amendments of microbial biofertilizers and organic substances reduces requirement of urea and DAP with enhanced nutrient availability and productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecological Engineering*. 71: 432-437.
- Kumar V., Aggarwal N.K. & Singh B.P. (2000). Performance and persistence of phosphate solubilizing *Azotobacter chroococcum* in wheat rhizosphere. *Folia Microbiologica*. 45(4): 343-347.

- Kumar V., Kumar Behl R. & Narula N. (2001). Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under green house conditions. *Microbiological Research*. 156(1): 87-93.
- Li Z. & Zhang H. (2001). Application of Microbial Fertilizers in Sustainable Agriculture. *Journal of Crop Production*. 3(1): 337-347.
- Mobley D.M., Chengappa M.M., Kadel W.L. & Stuart J.G. (1984). Effect of pH, temperature and media on acid and alkaline phosphatase activity in "clinical" and "nonclinical" isolates of *Bordetella bronchiseptica*. *Can J Comp Med*. 48(2): 175-178.
- Molla A.H., Manjurul Haque M., Amdadul Haque M. & Ilias G.N.M. (2012). Trichoderma-Enriched Biofertilizer Enhances Production and Nutritional Quality of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and Minimizes NPK Fertilizer Use. *Agricultural Research*. 1(3): 265-272.
- Morales A., Alvear M., Valenzuela E., Rubio R. & Borie F. (2007). Effect of inoculation with *Penicillium albidum*, a phosphate-solubilizing fungus, on the growth of *Trifolium pratense* cropped in a volcanic soil. *Journal of Basic Microbiology*. 47 (3): 275-280.
- Mudryk Z.J. (2004). Decomposition of organic and solubilisation of inorganic phosphorus compounds by bacteria isolated from a marine sandy beach. *Marine Biology*. 145(6): 1227-1234.
- Mullaney E.J., Daly C.B. & Ullah A.H.J. (2000). Advances in phytase research. In *Advances in Applied Microbiology*. 47: 157-199.
- Mullaney E.J. & Ullah A.H.J. (2003). The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 312(1): 179-184.
- Mundra S., Arora R. & Stobdan T. (2011). Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel temperature, pH, and salt-tolerant yeast, *Rhodotorula* sp. PS4, isolated from seabuckthorn rhizosphere, growing in cold desert of Ladakh, India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27(10): 2387-2396.
- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L. & Renella G. (2011). Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In E. Bünemann, A. Oberson, & E. Frossard (Eds.): *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*, in Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. pp. 215-243.
- Narsian V. & Patel H.H. (2000). *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. *Soil Biology and Biochemistry*. 32(4): 559-565.
- Nautiyal C.S., Bhadauria S., Kumar P., Lal H., Mondal R. & Verma D. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*. 182(2): 291-296.
- Neal A.L., Blackwell M., Akkari E., Guyomar C., Clark I. & Hirsch P.R. (2018). Phylogenetic distribution, biogeography and the effects of land management upon bacterial non-specific Acid phosphatase Gene diversity and abundance. *Plant and Soil*. 427(1): 175-189.
- Omar S.A. (1997). The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbusular-mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 14(2): 211-218.
- Park K.H., Lee C.Y. & Son H.J. (2009). Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Letters in Applied Microbiology*. 49(2): 222-228.
- Peix A., Mateos P.F., Rodriguez-Barrueco C., Martinez-Molina E. & Velazquez E. (2001). Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 33(14): 1927-1935.
- Reyes I., Bernier L., Simard R.R. & Antoun H. (1999). Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microbiology Ecology*. 28(3): 281-290.
- Richardson A.E. & Simpson R.J. (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiol*. 156(3): 989-996.
- Rodríguez H. & Fraga R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*. 17(4): 319-339.
- Rodríguez H., Fraga R., Gonzalez T. & Bashan Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*. 287(1): 15-21.
- Rodríguez H. & Fraga R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*. 17(4): 319-339.
- Rosado Azevedo D., Cruz D., Elsas V. & Seldin (1998). Phenotypic and genetic diversity of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from the rhizoplane or rhizosphere soil of different grasses. *Journal of Applied Microbiology*. 84(2): 216-226.
- Seshachala U. & Tallapragada P. (2012). Phosphate Solubilizers from the Rhizosphere of *Piper nigrum*

- L. in Karnataka, India. Chilean journal of Agricultural Research. 72: 397-403.
- Shakeri E., Modarres-Sanavy S.A.M., Amini Dehaghi M., Tabatabaei S.A. & Moradi-Ghahderijani M. (2016). Improvement of yield, yield components and oil quality in sesame (*Sesamum indicum* L.) by N-fixing bacteria fertilizers and urea. Archives of Agronomy and Soil Science. 62(4): 547-560.
- Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H. & Gobi T A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus. 2: 587-601.
- Srinivasan R., Prabhu G., Prasad M., Mishra M., Chaudhary M. & Srivastava R. (2020). Chapter 32 - Penicillium. In N. Amaresan, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, & A. Sankaranarayanan (Eds.): Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Academic Press. pp. 651-667.
- Štajner D., Kevrešan S., Gašić O., Mimica-Dukić N. & Zongli H. (1997). Nitrogen and *Azotobacter chroococcum* enhance oxidative stress tolerance in sugar beet. Biologia Plantarum. 39 (3): 441-445.
- Tarafdar J.C., Yadav R.S. & Meena S.C. (2001). Comparative efficiency of acid phosphatase originated from plant and fungal sources. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 164(3): 279-282.
- Teymouri M., Akhtari J., Karkhane M. & Marzban A. (2016). Assessment of phosphate solubilization activity of Rhizobacteria in mangrove forest. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 5: 168-172.
- Vassilev N., Medina A., Azcon R. & Vassileva M. (2006). Microbial solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. Plant and Soil. 28(1): 77-84.
- Wang H.-y., Liu S., Zhai L.-m., Zhang J.-z., Ren T.-z., Fan B.-q. & Liu H.-b. (2015). Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste. Journal of Integrative Agriculture. 14(1): 158-167.
- White C., Sayer J.A. & Gadd G.M. (1997). Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: key biogeochemical processes for treatment of contamination. FEMS Microbiology Reviews. 20: 503-516.
- Zeng Q., Wu X. & Wen X. (2016). Effects of Soluble Phosphate on Phosphate-Solubilizing Characteristics and Expression of *gcd* Gene in *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2. Current Microbiology. 72(2): 198-206.
- Zhang L., Ding X., Chen S., He X., Zhang F. & Feng G. (2014). Reducing carbon: phosphorus ratio can enhance microbial phytin mineralization and lessen competition with maize for phosphorus. Journal of Plant Interaction. 9(1): 850-856.
- Zhao K., Penttinen P., Zhang X., Ao X., Liu M., Yu X. & Chen Q. (2014). Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. Microbiological Research. 169(1): 76-82.
- Zhu F., Qu L., Hong X. & Sun X. (2011). Isolation and Characterization of a Phosphate-Solubilizing Halophilic Bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the Coast of Yellow Sea of China. Evid Based Complement Alternat Med. pp. 32-38.