Impact of Phosphate-Solubilizing Bacteria on the Microbial Activity and Inorganic Fractions of Phosphorus in Sugarcane Cultivated Calcareous Soil

Akbar Karimi[1]*, Saeed Safirzadeh[2], Nematallah Zakavi[3], Shila Khajavi-Shojaei[4], Pardis Khaji[5], Naeimeh Enayatizamir[6]

(Received: September, 2024 Accepted: May, 2025)

Abstract

Phosphate solubilizing bacteria are effective in improving phosphorus availability in calcareous soils by different mechanisms. The objective of this study was to investigate the effect of phosphate solubilizing bacteria inoculation on microbial activity, phosphorus availability, and inorganic phosphorus fractions in calcareous soil cultivated with second ratoon sugarcane. The study was conducted in a research field (CP73-21 variety) at the Dabal Khozaei Agro-industry in Khuzestan. The experiment followed a randomized complete block design with three treatments: 1- control (C), 2- inoculation with Enterobacter cloacae R33 (B33), and inoculation with a bacterial consortium (Enterobacter cloacae R33, Brevundimonas sp. Staphylococcus hominis 9E) (Bmix). Phosphate solubilizing bacteria were applied using the soil spraying method. Three months after the treatments inoculated, basal microbial respiration, microbial biomass carbon, soil available phosphorus, and chemical fractions of phosphorus in the soil were measured. The results indicated that phosphate solubilizing bacteria inoculation caused a significant increase in microbial respiration, microbial biomass carbon, and soil available phosphorus. In the B33 and Bmix treatments, available soil phosphorus concentrations were 52.5% and 24.6% higher than in the control treatment, respectively. B33 inoculation led to a significant increase in the Ca2-P and Ca8-P fractions and a decrease in Al-P and Ca10-P fractions in the soil. The proportion of inorganic phosphorus fractions in the control treatment was as follows: Ca10-P > Ca8-P > Fe-P > Al-P > Ca2-P, while in the B33 treatment, the trend was: Ca8-P > Ca10-P > Fe-P > Ca2-P > Al-P. The results revealed that the B33 treatment was more effective in enhancing phosphorus availability in the soil than the Bmix treatment. In general, the results of this study demonstrated that inoculation of Enterobacter cloacae R33 can effectively increase phosphorus availability in calcareous soil by converting phosphorus from less available fractions to more available forms.

Key words: *Enterobacter cloacae*, Inoculation, Microbial biomass, Phosphorus availability

Karimi A., Safirzadeh S., Zakavi N., Khajavi-Shojaei Sh., Khaji P., Enayatizamir N. 2025. Impact of Phosphate-Solubilizing Bacteria on the Microbial Activity and Inorganic Fractions of Phosphorus in Sugarcane Cultivated Calcareous Soil. *Applied Soil Research*. 13(3): 37-48.

1 & 3. Researcher, Department of Agronomy Research, Khuzestan Sugarcane Research and Training Institute, Ahvaz, Iran
2. Director of Applied Research, Hakim Farabi Agro-Industry CO., Khuzestan, Iran
3. Researcher, Soil & Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Head of Soil Science, Debal Khozaei Agro-Industry CO., Ahvaz, Iran
5. Head of Water, Soil and Plant Laboratory, Debal Khozaei Agro-Industry CO., Ahvaz, Iran
6. Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
* Corresponding Author Email: akbar.karimi84@yahoo.com

تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر فعالیت میکروبی و شکل‌های معدنی فسفر در خاک آهکی تحت کشت نیشکر

اکبر کریمی[1*]، سعید صفیرزاده[2]، نعمت‌الله زکوی[3]، شیلا خواجوی شجاعی[4]، پردیس خاجی[5]، نعیمه عنایتی‌ضمیر[6]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۳)

چکیده

باکتری‌های حل‌کننده فسفات با راهکارهای مختلف در بهبود فراهمی فسفر در خاک‌های آهکی مؤثرند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های حل کننده فسفر بر فعالیت میکروبی، فراهمی و توزیع شکل‌های معدنی فسفر در یک خاک آهکی تحت کشت نیشکر در سن بازرویی دوم بود. بدین منظور، این پژوهش در یک مزرعه تحقیقاتی (واریته CP73-21) در کشت و صنعت دعبل خزاعی خوزستان انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار ۱- شاهد (C)، ۲- مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 (B_{33}) و ۳- مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌ها (سه سویه *Enterobacter cloacae* R33، *Staphylococcus hominis 9E* و *Brevundimonas* sp.) (B_{mix}) و در سه تکرار انجام شدند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات به‌روش اسپری کردن خاک اعمال شدند. سه ماه پس از اعمال تیمارها تنفس میکروبی پایه، کربن زیست‌توده میکروبی، فسفر قابل دسترس خاک و شکل‌های شیمیایی فسفر در خاک اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات سبب افزایش معنی‌دار تنفس میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر قابل دسترس خاک شد. در تیمارهای B33 و Bmix غلظت فسفر قابل دسترس خاک به‌ترتیب ۵۲/۵ و ۲۴/۶ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود. مایه‌زنی تیمار B_{33} سبب افزایش معنی‌دار غلظت شکل‌های Ca_2-P و Ca_8-P و کاهش معنی‌دار غلظت شکل‌های Al-P و Ca_{10}-P در خاک شد. فراوانی نسبی شکل‌های معدنی فسفر در خاک، در تیمار شاهد، بدین ترتیب بود: Ca_{10}-P > Ca_8-P > Fe-P> Al-P > Ca_2-P. در حالی‌که در تیمار B_{33} این روند بدین ترتیب بود: Ca_8-P > Ca_{10}-P > Fe-P > Ca_2-P > Al-P. نتایج نشان داد تیمار B_{33} در افزایش فراهمی فسفر در خاک مؤثرتر از تیمار B_{mix} بود. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 می‌تواند با تبدیل شکل‌های با فراهمی کم فسفر به شکل‌های با فراهمی بیش‌تر در افزایش فراهمی فسفر در خاک مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: انتروباکتر کلواسه، زیست‌توده میکروبی، فراهمی فسفر، مایه‌زنی

کریمی ا.، صفیرزاده س.، زکوی ن.، خواجوی شجاعی ش.، خاجی پ.، عیمه عنایتی‌ضمیر ن. ۱۴۰۴. تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر فعالیت میکروبی و شکل‌های معدنی فسفر در خاک آهکی تحت کشت نیشکر. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۳، شماره ۳. صفحه: ۳۷-۴۸.

۱ و ۳- محقق گروه تحقیقات به‌زراعی، مؤسسه تحقیقات و آموزش نیشکر خوزستان، اهواز، ایران

۲- مدیر مطالعات کاربردی، کشت و صنعت حکیم فارابی خوزستان، اهواز، ایران

۴- سرپرست خاکشناسی، شرکت کشت و صنعت دعبل خزاعی، اهواز، ایران

۵- رئیس آزمایشگاه آب، خاک و گیاه، شرکت کشت و صنعت دعبل خزاعی، اهواز، ایران

۶- استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* پست الکترونیک: akbar.karimi84@yahoo.com

مقدمه

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی پرمصرف ضروری و در رشد و تغذیه گیاهان می‌باشد. پس از نیتروژن بیشترین مصرف کود در کشاورزی مربوط به کودهای فسفر است (Fan *et al*., 2020; Jamal *et al*., 2023; Kodaolu *et al*., 2023). در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک، بخش زیادی از فسفر کودهای شیمیایی افزوده شده به خاک به شکل‌های نامحلول فسفات کلسیم تبدیل می‌شود و تثبیت فسفر یکی از مشکلات مهم در تغذیه گیاهان در این خاک‌ها می‌باشد. بنابراین یافتن راهکاری برای بهبود فراهمی فسفر در خاک‌های آهکی ضروری است (Karimi *et al*., 2020; Safirzadeh *et al*., 2021).

کاربرد کود فسفر در مزارع نیشکر قبل از کشت قلمه انجام می‌شود و در مزارع بازرویی نیشکر به‌دلیل موانع اجرایی کوددهی فسفر انجام نمی‌شود. نتایج مطالعات نشان داده است که اثر باقی‌مانده کوددهی فسفر قبل از کشت قلمه نیشکر، برای برآوردن نیازهای نیشکر بازرویی کافی نیست و این عامل سبب کاهش جذب فسفر در نیشکر بازرویی می‌شود (de Oliveira *et al*., 2011). بنابراین بهبود فراهمی فسفر در خاک از طریق راهکارهای مختلف، برای رفع نیاز تغذیه‌ای فسفر در مزارع بازرویی نیشکر ضروری است (Zambrosi *et al*., 2021).

استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفر به‌عنوان راهکاری امیدبخش در بهبود فراهمی فسفر در خاک و افزایش جذب آن توسط گیاهان، مورد توجه قرار گرفته است (Safirzadeh *et al*., 2019). این باکتری‌ها می‌توانند با مکانیسم‌های مختلف از جمله ترشح پروتون، تولید اسیدهای آلی و معدنی و تولید کلات‌کننده‌ها، حلالیت فسفر در خاک را افزایش دهند (Cheng *et al*., 2023). باکتری‌های حل کننده فسفر گروهی از باکتری‌های مفید هستند که از طریق مکانیسم‌های مختف سبب افزایش فراهمی فسفر در خاک می‌شوند. رابطه بین گیاهان و باکتری‌های حل‌کننده فسفات به عنوان یک رابطه سینرژیستی یا هم‌افزایی در طبیعت شناخته می‌شود، زیرا از یک طرف باکتری فسفر محلول را برای گیاه فراهم می‌کند و از طرف دیگر، گیاه از طریق ترشحات ریشه خود ترکیبات کربنه مورد نیاز را برای رشد باکتری آزاد می‌کند (Kumar & Verma, 2019).

آزاد کردن اسیدهای آلی یا پروتون در خاک اطراف ریشه و کلات کردن از جمله مکانیسم‌های باکتری‌های حل کننده فسفر در افزایش فراهمی فسفر در خاک است. اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌ها می‌توانند مستقیماً فسفات‌های معدنی را حل کرده که نتیجه‌ای از تبادل آنیونی یا تشکیل کلات با یونهای Fe^{+3} و Al^{+3} متصل به فسفر باشد. در نهایت فسفر غیرمحلول به‌صورت یون‌های محلول $H_2PO_4^-$ و HPO_4^{-2} تبدیل می‌شود (Silva *et al*., 2023; Pang *et al*., 2024). نتایج مطالعه استرادا و همکاران (Estrada-Bonilla *et al*., 2021) در برزیل نیز نشان داد مایه‌زنی سویه‌های باکتری *Bacillus* sp. و *Rhizobium* sp. سبب افزایش فسفر قابل دسترس خاک، خاک تحت کشت نیشکر (واریته RB 86-7515) شد. Rezaeinasab *et al*., (2020) با بررسی توزیع شکل‌های شیمیایی فسفر در یک خاک آهکی تحت کشت ذرت گزارش کردند مایه‌زنی باکتری‌های *Staphylococcus hominis* و *Brevundimonas* sp. سبب افزایش فعالیت میکروبی و فسفر قابل دسترس خاک و دی‌کلسیم فسفات و کاهش معنی‌دار آپاتیت شد.

آگاهی از توزیع شکل‌های شیمیایی فسفر در درک شیمی فسفر در خاک مؤثر بوده و و می‌توان با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده برای افزایش فراهمی فسفر برای گیاه، راهکار مدیریتی مناسبی پیشنهاد کرد. با توجه به فراهمی کم فسفر در خاک‌های مزارع نیشکر و غلظت زیاد فسفر کل در خاک، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند یکی از راهکارهای استفاده از منابع فسفر خاک و بهبود فراهمی آن برای نیشکر باشد (Karimi *et al*., 2024a). با توجه به کاهش دسترسی به منابع کودهای فسفر، فراهمی کم فسفر در خاک‌های آهکی مزارع تحت کشت نیشکر (Karimi *et al*., 2024b)، چند ساله بودن گیاه نیشکر و عدم کاربرد کود فسفر در مزارع بازرویی نیشکر به‌دلیل مشکلات اجرایی آن، بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر فراهمی و توزیع شکل‌های شیمیایی فسفر در خاک در مزارع نیشکر ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به این‌که تاکنون مطالعات چندانی در مورد تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفر بر توزیع شکل‌های شیمیایی فسفر در خاک در مزارع بازرویی نیشکر انجام نشده است، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر فراهمی و توزیع شکل‌های شیمیایی فسفر در خاک در یک مزرعه بازرویی دوم نیشکر انجام شد.

مواد و روش ها

برای انجام این پژوهش ابتدا از خاک مزرعه محل اجرای پژوهش، نمونه مرکب خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک اندازه‌گیری شدند (Carter & Gregorich, 2008). خاک مزرعه مورد مطالعه دارای بافت لومی رسی، هدایت الکتریکی ۳/۴۲ دسی‌زیمنس بر متر، pH معادل ۷/۸۲، کربنات کلسیم معادل ۴۶/۵ درصد، کربن آلی ۰/۴۲ درصد، نیتروژن کل ۰/۵۲ گرم بر کیلوگرم، فسفر قابل دسترس ۷/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

این پژوهش در شرایط مزرعه‌ای، در مزرعه آزمایشی واقع در کشت و صنعت دعبل خزاعی در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام شد. این پژوهش در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی، با سه تیمار و در سه تکرار انجام شد. بر اساس نتایج پژوهش‌های پیشین سه تیمار ۱) بدون کاربرد باکتری یا شاهد (C)، ۲) کاربرد باکتری *Enterobacter cloacae* R33 (B33) و ۳) کاربرد ترکیبی از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (Bmix) شامل *Enterobacter cloacae* R33، *Staphylococcus hominis* *9E* و *Brevundimonas* sp. برای انجام این پژوهش انتخاب شدند. مساحت هر کرت آزمایشی نیم هکتار (۲۲ فارو به-طول ۲۵۰ متر) بود.

باکتری *Enterobacter cloacae* R33 مورد استفاده در این پژوهش از ریزوسفر نیشکر (مزارع کشت و صنعت دعبل خزاعی) جداسازی شده و توانایی انحلال فسفر را داشت (Lamizadeh *et al*., 2016) و باکتری‌های *Staphylococcus hominis* 9E و *Brevundimonas* sp. از باکتری‌های حل کننده فسفر می‌باشند (Rezaeinasab *et al*., 2020) که از کلکسیون میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند. با توجه به نتایج پژوهش پیشین (Rezaeinasab *et al*., 2020) در این پژوهش از تیمار ترکیبی بعنوان تیمار برتر حاصل از نتایج آزمایشات گلخانه‌ای جهت اجرا در شرایط مزرعه‌ای انتخاب شد. برای تهیه زادمایه باکتری‌ها از سویه‌های مورد نظر، ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت Nutrient Agar کشت شدند. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به‌مدت پنج روز انکوبه شدند. سپس برای تهیه زادمایه باکتری‌ها از سویه‌های مورد نظر با لوپ استریل مقداری از کلنی موجود در هر پلیت برداشته شد و در ارلن مایر یک لیتری حاوی محیط کشت Nutrient Broth استریل، مایه‌زنی شد. سپس به‌منظور یکنواخت شدن محیط کشت مایع و جهت آماده نمودن برای اعمال تیمارها در مزرعه، به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در شیکر انکوباتور قرار داده شدند.

در این پژوهش پس از رشد باکتری‌ها در محیط کشت مایع، مایه‌زنی باکتری‌ها به‌روش اسپری کردن خاک به‌مقدار چهار لیتر زادمایه رقیق شده با ۴۰۰ لیتر آب آبیاری در هر هکتار و با استفاده از مخزن محلولپاشی توسط تراکتور، در ابتدای رشد دوباره نیشکر در مزرعه بازرویی انجام شد. جمعیت باکتری‌های مورد استفاده در هر یک از تیمارها جهت اعمال در مزرعه $۱/۶۷ \times ۱۰^{۷}$ cfu mL^{-1} برآورد شد. پس از اعمال تیمارها بلافاصله آبیاری انجام شد. سایر عملیات‌های زراعی و کوددهی در تیمارهای مختلف یکسان انجام شد.

جهت ارزیابی اثر تیمارهای اعمال شده بر ویژگی‌های خاک، سه ماه پس از اعمال تیمارها (در دوره رشد سریع نیشکر) نمونه‌برداری خاک (به‌صورت مرکب)، از کرت‌های آزمایشی مربوط به تیمارهای مختلف، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری انجام شد. در نمونه‌های خاک تهیه شده، غلظت فسفر قابل دسترس خاک به‌روش استخراج با بی‌کربنات سدیم عصاره‌گیری و غلظت آن به‌روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Apel PD-303 UV)، اندازه‌گیری شد (Olsen *et al*., 1954). شکل‌های معدنی فسفر در خاک شامل دی‌کلسیم فسفات (Ca_2-P)، اکتاکلسیم فسفات (Ca_8-P)، فسفات آلومینیوم (Al-P)، فسفات آهن (Fe-P) و آپاتیت (Ca_{10}-P) به‌روش عصاره‌گیری متوالی اندازه‌گیری شدند (Jiang & Gu, 1989). همچنین جهت ارزیابی فعالیت میکروبی در تیمارهای مختلف، نمونه خاک تهیه شد و تنفس میکروبی پایه به‌روش گردآوری CO_2 آزاد شده در هیدروکسید سدیم و تیتراسیون برگشتی مقدار باقی‌مانده آن با اسیدکلریدریک (Anderson *et al*., 1982) و کربن زیست‌توده میکروبی به‌روش تدخین-عصاره‌گیری اندازه‌گیری شد (Jenkinson & Ladd, 1982).

تجزیه آماری داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همبستگی میان شکل‌های معدنی فسفر و فسفر قابل دسترس خاک با استفاده از نرم‌افزار R بررسی شد. نمودارها نیز در محیط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک تحت کشت هر دو واریته نیشکر (CP73-21 و CP69-1062) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد مایه‌زنی هر دو تیمار باکتری‌های حل‌کننده فسفات (B33 و Bmix)، سبب افزایش معنی‌دار تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). مقایسه تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک در دو تیمار مایه‌زنی باکتری (B33 و Bmix) نشان داد که تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک در تیمار B33 بیش‌تر از تیمار Bmix بود، اگرچه اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار (P<0.05) نبود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارها بر تنفس میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر قابل دسترس خاک

Table 1. Analysis of variance (mean squared error) of the effect of treatments on microbial biomass carbon and available P concentration

Source of variation	df	Mean square		
		Microbial Basal Respiration	Microbial Biomass carbon	Soil available P
Block	2	58.8^{ns}	194.1^{ns}	1.75^{ns}
Treatment	2	5097^{**}	2677^{**}	11.1^{**}
Error	4	96.1	60.8	0.03
CV (%)		8.97	4.61	3.78

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ns and ** are non-significant and significant at the 1% probability level, respectively

تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی نشان‌دهنده تنوع زیستی و فعالیت ریزجانداران خاک هستند. افزایش تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی در تیمارهای مایه‌زنی باکتری حل‌کننده فسفات به‌ویژه تیمار B33 نشان‌دهنده فعالیت باکتری‌های مایه‌زنی شده در خاک است. Rouydel *et al*. (2021) نیز با انجام پژوهشی گزارش کردند مایه‌زنی باکتری‌های *Pseudomonas* و *Stenotrophomonas*، تنفس میکروبی را در یک خاک آهکی به‌طور معنی‌داری افزایش داد. کربن زیست‌توده میکروبی به‌عنوان کربن فعال و قابل دسترس، نشان‌دهنده تعداد ریزجانداران (به‌ویژه باکتری‌ها) در یک نمونه خاک و مقدار کربن تثبیت شده در سلول‌های میکروبی است (Rouydel *et al*. 2021). Santos *et al*., (2022) با انجام پژوهشی در برزیل گزارش کردند همزیستی باکتری *Bacillus velezensis* سبب افزایش کربن زیست‌توده میکروبی خاک تحت کشت نیشکر واریته RB966928 شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر تنفس میکروبی، کربن زیست‌توده میکروبی و فسفر قابل دسترس خاک

Table 2. Comparison of means for the effect of treatments on microbial biomass carbon and available P concentration in the soil

Treatments	Microbial Basal Respiration ($mg\ kg^{-1}\ day^{-1}$)	Microbial Biomass carbon ($mg\ kg^{-1}$)	Soil available P ($mg\ kg^{-1}$)
C	174.3^{b}	197.7^{b}	7.33^{c}
B33	253.5^{a}	248.3^{a}	11.18^{a}
Bmix	233.6^{a}	237.9^{a}	9.14^{b}
$LSD_{0.05}$	20.8	15.1	0.73

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری (P<0.05) ندارند.

C، B_{33} و B_{mix}: به‌ترتیب شاهد (بدون مایه‌زنی باکتری)، مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 و مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌های *Enterobacter cloacae* R33، *Staphylococcus hominis 9E* و *Brevundimonas* sp.

Means with similar letter(s) are not significantly different according to the LSD's test (P<0.05)

C, B33 and Bmix: control (without bacterial inoculation), *Enterobacter cloacae* R33 inoculation and *Enterobacter cloacae* R33, *Staphylococcus hominis* E9 and *Brevundimonas* sp. inoculation respectively.

فسفر قابل دسترس خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر غلظت فسفر قابل دسترس خاک معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد مایه‌زنی هر دو تیمار باکتری‌های حل‌کننده فسفات (B_{33} و B_{mix})، غلظت فسفر قابل دسترس خاک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۲). مقایسه دو تیمار B_{33} و B_{mix} نشان‌دهنده تأثیر بیش‌تر تیمار B_{33} در افزایش غلظت فسفر قابل دسترس خاک بود (جدول ۲). به‌طور کلی بیش‌ترین غلظت فسفر قابل دسترس خاک مربوط به تیمار B_{33} بود. به‌طوری‌که غلظت فسفر قابل دسترس خاک در این تیمار B_{33} به‌ترتیب ۵۲/۵ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود (جدول ۲).

باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از باکتری‌های حل‌کننده فسفات بودند و توانایی انحلال فسفر را داشتند. یکی از مکانیسم‌های باکتری‌های حل‌کننده فسفات گیاه آزاد کردن اسیدهای آلی (مانند اگزالیک، سیتریک و گلوکونیک اسید) یا پروتون در محیط اطراف ریشه و به‌دنبال آن حل کردن ترکیبات فسفر می‌باشد. اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند به‌طور مستقیم فسفات‌های معدنی را حل کنند و در نهایت فسفر غیرمحلول به‌صورت یون‌های محلول $H_2PO_4^-$ و HPO_4^{-2} تبدیل می‌شود (Karimi *et al*., 2013; Rawat *et al*., 2021; Islam *et al*., 2024). توانایی اسیدهای آلی در انحلال فسفر نسبت به اسیدهای معدنی بیش‌تر است. این تفاوت به تأثیر کلات کنندگی اسید آلی ترشح شده توسط ریزجانداران نسبت داده می‌شود. اسیدهای آلی، دارای گروه‌های عاملی هیدروکسیلی و کربوکسیلی هستند که می‌توانند با مسدود کردن جایگاه‌های فعال جذب و ترسیب فسفر، حلالیت و فراهمی فسفر را در خاک افزایش دهند (Hasan *et al*., 2024).

از دیگر مکانیسم‌های انحلال ترکیبات نامحلول فسفر، تولید اسیدهای معدنی توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات است. تولید اسیدهای معدنی، روشی غیرمستقیم در انحلال فسفر است که با تولید دی‌اکسیدکربن توسط این باکتری‌ها سبب تبدیل شکل‌های نامحلول فسفر به شکل قابل دسترس برای گیاه می‌شود (Cheng *et al*., 2023). باکتری‌های حل‌کننده فسفات همچنین با استفاده از هیدرولیز آنزیمی توسط آنزیم‌های ترشحی فسفاتاز، می‌توانند فسفر آلی خاک را معدنی می‌کنند (Li *et al*., 2023). به‌طور مشابه شارما و همکاران (Sharma *et al*., 2023) با بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات (دو سویه *Pseudomonas fluorescens* PSB28 و *Bacillus cereus* PSB29) بر فراهمی فسفر در یک خاک تحت کشت نیشکر (واریته Co 0238) در هندوستان گزارش کردند کاربرد هر دو سویه باکتری سبب افزایش معنی‌دار غلظت فسفر قابل دسترس خاک شد. آیه و همکاران(Aye *et al*., 2021) نیز با بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری حل‌کننده فسفات (*Bacillus subtilis*) بر غلظت فسفر قابل دسترس خاک، گزارش کردند مایه‌زنی باکتری سبب افزایش معنی‌دار جمعیت باکتریایی و غلظت فسفر قابل دسترس خاک تحت کشت نیشکر شد.

شکل‌های معدنی فسفر در خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر شکل‌های معدنی دی‌کلسیم فسفات، اکتاکلسیم فسفات، فسفات آلومینیوم و آپاتیت معنی‌دار بود در حالی‌که اثر آن‌ها بر فسفات آهن معنی‌دار نبود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارها بر شکل‌های معدنی فسفر در خاک

Table 3. Analysis of variance (mean squared error) of the effect of treatments on inorganic P fractions in the soil

Source of variation	df	Mean square				
		Ca_2-P	Ca_8-P	Al-P	Fe-P	Ca_{10}-P
Block	2	0.19^{ns}	3.01^{ns}	2.18^{ns}	2.08^{ns}	26.6^{ns}
Treatment	2	36.5^{**}	50.8^{*}	20.9^{*}	12.6^{ns}	242.5^{**}
Error	4	0.14	2.94	2.61	2.94	9.25
CV (%)		5.01	4.63	13.2	4.63	4.80

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

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

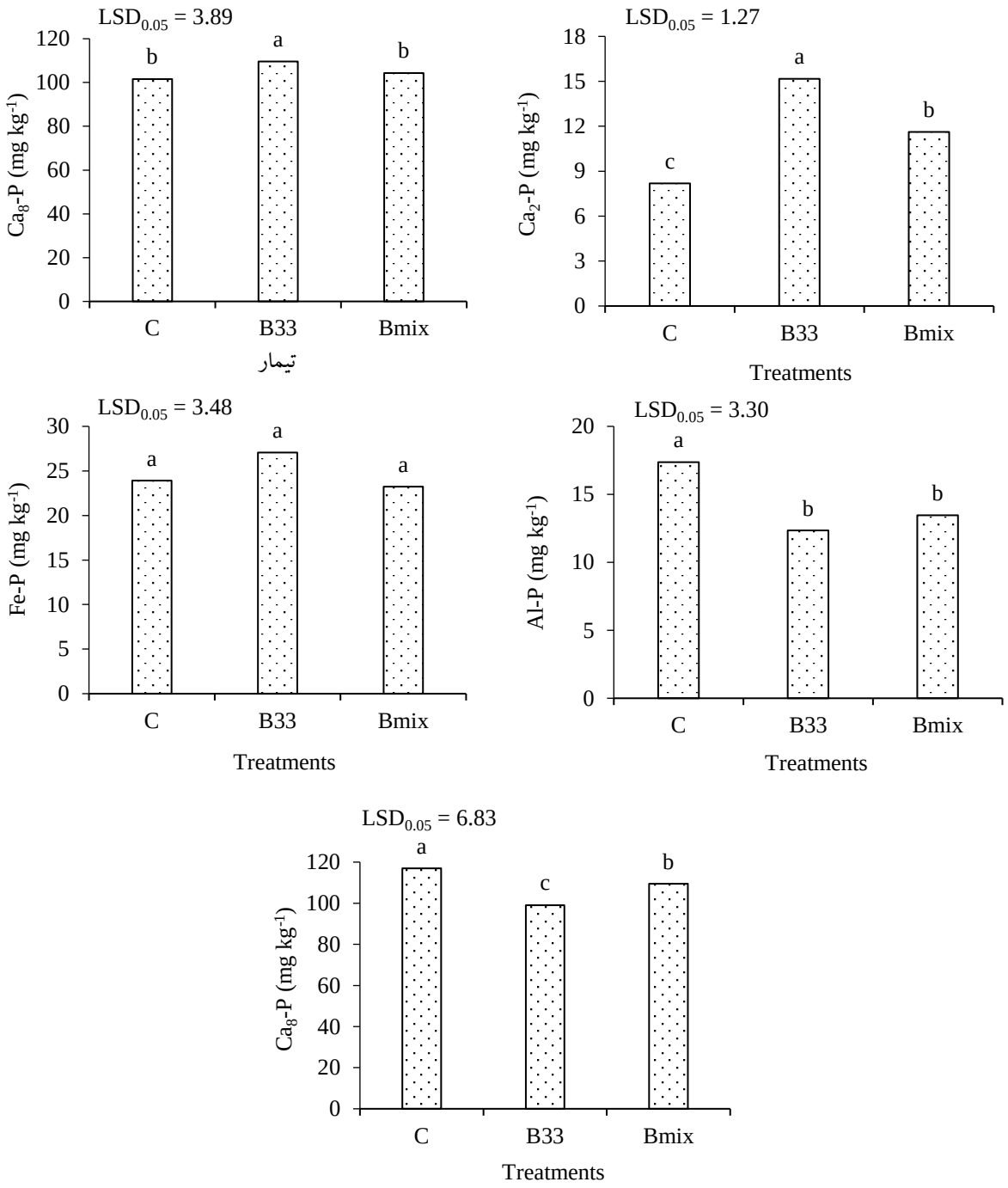
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد مایه‌زنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات (B_{33} و B_{mix})، سبب افزایش معنی‌دار غلظت دی‌کلسیم فسفات، در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل ۱). بدین‌ترتیب که غلظت دی‌کلسیم فسفات در تیمارهای B_{33} و B_{mix} به‌ترتیب ۱/۸۵ و ۱/۴۲ برابر تیمار شاهد بود (شکل ۱). نتایج همچنین نشان داد مایه‌زنی B_{33} غلظت اکتاکلسیم فسفات خاک، را در مقایسه با تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری (۷/۹ درصد) افزایش داد. تیمار Bmix نیز غلظت اکتاکلسیم فسفات خاک را افزایش داد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. هر دو تیمار B_{33} و Bmix غلظت فسفات آلومینیوم و آپاتیت را نسبت به تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش دادند. به‌طوری‌که در تیمار B_{33} غلظت فسفات آلومینیوم و آپاتیت به‌ترتیب ۲۸/۹ و ۱۷/۹ درصد کم‌تر از تیمار شاهد بود (شکل ۱). به‌طور کلی نتایج نشان داد تیمار B_{33} در افزایش غلظت شکل‌های با فراهمی بیش‌تر فسفر مانند Ca_2-P و کاهش شکل‌های با فراهمی کم و یا غیر قابل دسترس فسفر در خاک مانند Al-P و Ca_{10}-P مؤثرتر از تیمار B_{mix} بود (شکل ۱).

اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند به‌طور مستقیم فسفات‌های معدنی را حل کرده که نتیجه‌ای از تبادل آنیونی یا تشکیل کلات با یون‌های Fe^{+3} و Al^{+3} متصل به فسفر باشد. اسیدهای آلی و معدنی تولید شده توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند فسفات‌های نامحلول را از طریق کلات کردن کاتیون‌ها، آن‌ها را حل کرده و در اختیار گیاه قرار دهند. کلات کردن فرآیندی است که طی آن یک ترکیب شیمیایی با یک یون فلزی ترکیب شده و آن را از دسترس گیاه خارج می‌کند. روش کلات‌های آلی در حلالیت فسفاتهای نامحلول و کانی‌های معدنی فسفاتی به تشکیل کمپلکس با آهن یا آلومینیوم نسبت داده می‌شود که در نتیجه آن سبب آزادسازی فسفر به‌شکل قابل دسترس برای گیاه می‌شوند (Timofeeva *et al*., 2022). نتایج پژوهش‌های پیشین نیز نشان داده است که اسیدهای آلی با کلات کردن اکسیدهای آهن و آلومینیوم، جذب فسفر توسط ذرات خاک را تحت تأثیر قرار داده و با کاهش تشکیل فسفات‌های آهن و آلومینیوم در حضور اسیدهای آلی، فسفر قابل دسترس خاک می‌تواند افزایش یابد (Safian *et al*., 2020). بنابراین کاهش غلظت فسفات آلومینیوم و افزایش غلظت دی کلسیم فسفات در خاک در تیمار B_{33} در مزرعه مورد مطالعه (شکل ۱) را به این مکانیسم باکتری نسبت داد.

کاهش غلظت آپاتیت در تیمار B33 در این پژوهش می‌تواند به‌این دلیل باشد که اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات، می‌توانند سطوح کربنات کلسیم را اشغال کرده و از تشکیل رسوب هیدروکسی آپاتیت جلوگیری کنند (Cheng *et al*., 2023; Islam *et al*., 2024). این نتایج با نتایج پژوهش Safirzadeh *et al*., (2021) مشابه بود. آن‌ها نیز با انجام پژوهشی تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر تغییرات شکل‌های معدنی فسفر در یک خاک آهکی در ریزوسفر نیشکر (واریته CP57-614) را بررسی کردند و گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات (دو سویه *Enterobacter cloacae*) سبب کاهش غلظت آپاتیت و افزایش غلظت شکل‌های با فراهمی بیش‌تر فسفر در خاک، مانند دی‌کلسیم فسفات در ریزوسفر نیشکر شد. مرادی و رسولی‌صدقیانی (۲۰۱۹) نیز گزارش کردن کاربرد زادمایه باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus megaterium* سبب افزایش شکل Ca_2-P و کاهش غلظت Ca10-P در یک خاک آهکی شد.

توزیع نسبی شکل‌های معدنی فسفر در خاک

نتایج فراوانی نسبی شکل‌های معدنی فسفر در خاک نشان داد مایه‌زنی تیمارهای تأثیر تیمارهای باکتری‌های حل‌کننده فسفات، به‌ویژه B_{33} قرار گرفت (شکل ۲). در تیمار B_{33}، دی‌کلسیم فسفات از ۳/۰۶ به ۵/۷۶ و اکتاکلسیم فسفات از ۳۷/۹ به ۴۱/۷ درصد، نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در این تیمار همچنین فسفات آلومینیوم از ۶/۴۸ به ۴/۶۹ و آپاتیت از ۴۳/۶ به ۳۷/۶ درصد کاهش یافت (شکل ۴-۱۱). از طرف دیگر در این تیمار نسبت به تیمار شاهد، فسفات آلومینیوم از ۶/۲۷ به ۴/۴۰ و آپاتیت از ۴۴/۹ به ۳۹/۲ درصد کاهش یافت (شکل ۴-۱۲). به‌طور کلی فراوانی نسبی شکل‌های معدنی فسفر در خاک، در تیمار شاهد، بدین ترتیب بود: Ca_{10}-P > Ca_8-P > Fe-P> Al-P > Ca_2-P. در حالی‌که در تیمار B_{33} این روند بدین ترتیب بود: Ca_8-P > Ca_{10}-P > Fe-P > Ca_2-P > Al-P. این نتایج نشان دهنده تأثیر چشم‌گیر باکتری *Enterobacter cloacae* R33 در توزیع شکل‌های معدنی فسفر در خاک و نقش مؤثر آن در افزایش فراهمی فسفر برای گیاه است.



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت شکل‌های معدنی فسفر در خاک

Figure 1. Comparison of the mean effects of treatments on chemical fractions of phosphorus in the soil

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) ندارند.

C، B_{33} و B_{mix}: به‌ترتیب شاهد (بدون مایه‌زنی باکتری)، مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 و مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌های *Enterobacter cloacae* R33، *Staphylococcus hominis 9E* و *Brevundimonas* sp.

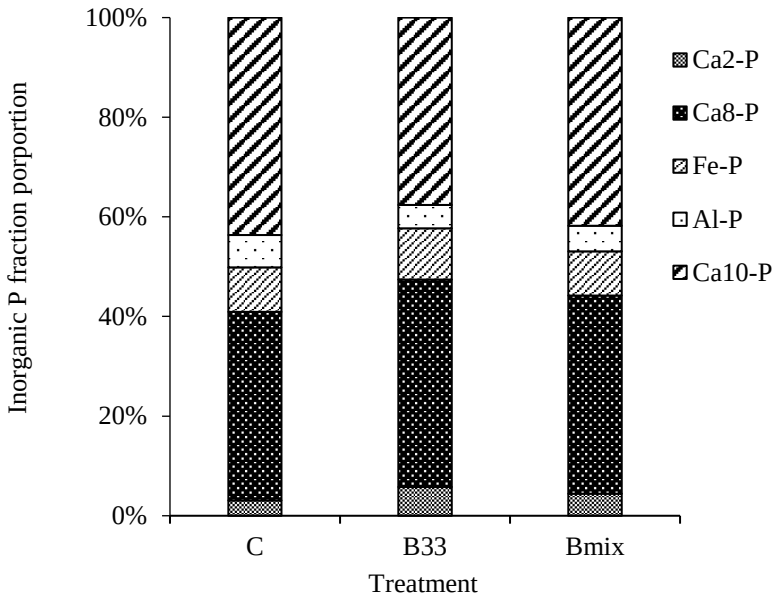
Means with similar letter(s) are not significantly different according to the LSD's test ($P<0.05$)

C, B33 and Bmix: control (without bacterial inoculation), *Enterobacter cloacae* R33 inoculation and *Enterobacter cloacae* R33, *Staphylococcus hominis* E9 and *Brevundimonas* sp. inoculation respectively.

نتایج همبستگی شکل‌های معدنی فسفر در خاک نشان داد میان شکل‌های دی‌کلسیم فسفات و اکتاکلسیم فسفات با فسفر قابل دسترس خاک همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. در حالی‌که همبستگی منفی و معنی‌داری میان فسفر قابل دسترس خاک با فسفات آلومینیوم و آپاتیت مشاهده شد (شکل ۳). این نتایج نشان می‌دهد که در خاک

مورد مطالعه احتمالاً رابطه‌ای پویا میان شکل‌های مختلف معدنی فسفر در خاک مورد مطالعه وجود داشته و این شکل‌ها می‌توانند در خاک به شکل‌های دیگر تبدیل شوند. نتایج نشان‌دهنده نقش شکل‌های معدنی دی‌کلسیم فسفات و اکتاکلسیم فسفات در فسفر قابل دسترس برای گیاه و تأمین نیاز تغذیه‌ای گیاه می‌باشد. همبستگی مثبت و معنی‌دار میان فسفر قابل دسترس خاک با دی‌کلسیم فسفات در پژوهش‌های پیشین انجام شده در خاک‌های آهکی تیمار شده با باکتری حل‌کننده فسفات گزارش شده است (Rezaeinasab *et al*., 2020; Safirzadeh *et al*., 2021).

نتایج همچنین نشان داد بین فسفات آهن و فسفر قابل دسترس خاک همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. این نتیجه نشان می‌دهد احتمالاً فسفات آهن در خاک مورد مطالعه نمی‌تواند به شکل قابل دسترس برای گیاه تبدیل شود. این نتایج با نتایج پژوهش‌های پیشین در خاک‌های آهکی هم‌خوانی دارد (Rezaeinasab *et al*., 2020).



شکل ۲- توزیع نسبی شکل‌های معدنی فسفر در تیمارهای مختلف

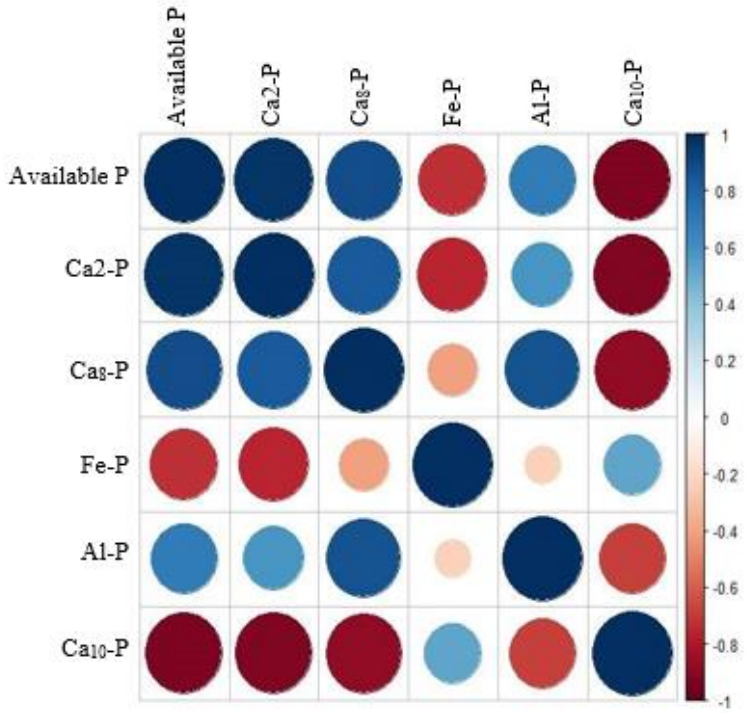
Figure 2. Proportion of P chemical fractions in different treatments

Ca_2-P: دی‌کلسیم فسفات؛ Ca_8-P: اکتاکلسیم فسفات؛ Fe-P: فسفات آهن؛ Al-P: فسفات آلومینیوم؛ Ca_{10}-P: آپاتیت

C، B_{33} و B_{mix}: به‌ترتیب شاهد (بدون مایه‌زنی باکتری)، مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 و مایه‌زنی ترکیبی باکتری‌های *Enterobacter cloacae* R33، *Staphylococcus hominis 9E* و *Brevundimonas* sp.

Ca2-P: Di calcium phosphate; Ca_8-P: Octa Calcium phosphate; Al-P: Aluminum phosphate; Fe-P: Iron phosphate; Ca_{10}-P: Apatite

C, B33 and Bmix: control (without bacterial inoculation), *Enterobacter cloacae* R33 inoculation and *Enterobacter cloacae* R33, *Staphylococcus hominis* E9 and *Brevundimonas* sp. inoculation respectively.



شکل ۳- همبستگی میان شکل‌های معدنی فسفر با فسفر قابل دسترس خاک

Figure 3. Correlation of inorganic P fractions with available P

نتیجه‌گیری کلی

با نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیر مثبت مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 در خاک آهکی تحت کشت نیشکر، بر افزایش فعالیت میکروبی، افزایش شکل‌های معدنی دی‌کلسیم فسفات و اکتا کلسیم فسفات و کاهش شکل‌های فسفات آلومینیوم و آپاتیت بود. بنابراین با توجه به اهمیت تغذیه فسفر و پیامدهای منفی ناشی از کمبود فسفر در مزارع بازرویی و بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مایه‌زنی باکتری *Enterobacter cloacae* R33 می‌تواند در بهبود فراهمی فسفر در خاک‌های آهکی تحت کشت نیشکر بازرویی مؤثر باشد. بنابراین با توجه به غلظت بالای فسفر کل در اغلب مزارع نیشکر خوزستان، در مزارع با سن بازرویی دوم و بیش‌تر، به‌منظور کاهش وابستگی تولید محصول به کودهای شیمیایی، استفاده از توانایی میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات در بهبود فراهمی فسفر برای نیشکر، می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی "بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر فراهمی فسفر در خاک، تغذیه و عملکرد نیشکر" با شماره مصوب ۱۲۷۸۰۱۰۱ مؤسسه تحقیقات تحقیقات و آموزش نیشکر می‌باشد. نویسندگان مقاله از مؤسسه تحقیقات و آموزش نیشکر و شرکت کشت و صنعت دعبل خزاعی برای حمایت مالی و مساعدت در مراحل مختلف این تحقیق تشکر و قدردانی می‌کنند.

Referrence

Aye P.P., Pinjai, P., and Tawornpruek, S. 2021. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on soil available phosphorus and growth and yield of sugarcane. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 18(12): 10754-9.

Carter M.R. and Gregorich, E.G. 2008. Soil Sampling and Methods of Analysis (2nd Ed.). CRC Press. Boca Raton, Florida, 1204p.

Cheng Y., Narayanan M., Shi X., Chen X., Li Z., and Ma Y. 2023. Phosphate-solubilizing bacteria: Their agroecological function and optimistic application for enhancing agro-productivity. *Science of the Total Environment*, 166468.

de Oliveira C.L.B., Cassimiro J.B., Lira M.V.D.S., Boni A.D.S., Donato N.D.L., Reis Jr R.D.A., and Heinrichs R. 2022. Sugarcane ratoon yield and soil phosphorus availability in response to enhanced efficiency phosphate fertilizer. Agronomy, 12(11): 2817.

Estrada-Bonilla, G. A., Durrer, A., and Cardoso, E. J. 2021. Use of compost and phosphate-solubilizing bacteria affect sugarcane mineral nutrition, phosphorus availability, and the soil bacterial community. *Applied Soil Ecology*, 157: 103760.

Fan B., Ding J., Fenton O., Daly K. and Chen Q. 2020. Understanding phosphate sorption characteristics of mineral amendments in relation to stabilizing high legacy P calcareous soil. *Environmental Pollution*, *261*, 114175.

Hasan A., Tabassum B., Hashim M., and Khan N. 2024. Role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as a plant growth enhancer for sustainable agriculture: A review. *Bacteria*, 3(2): 59-75.

Islam M., Siddique K.H., Padhye L.P., Pang J., Solaiman, Z.M., Hou, D., Srinivasarao, C., Zhang, T., Chandana, P., Venu, N. and Prasad, J.V.N.S. 2024. A critical review of soil phosphorus dynamics and biogeochemical processes for unlocking soil phosphorus reserves. Advances in Agronomy, 185: 153-249

Jamal, A., Saeed, M.F., Mihoub, A., Hopkins, B.G., Ahmad, I. and Naeem A. 2023. Integrated use of phosphorus fertilizer and farmyard manure improves wheat productivity by improving soil quality and P availability in calcareous soil under subhumid conditions. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1034421.

Jenkinson D.S., and Ladd, J.N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. *Soil Biochemistry*, 5(1): 415-471.

Jiang B., and Gu Y. 1989. A suggested fractionation scheme of inorganic phosphorus in calcareous soils. *Fertilizer Research*, 20: 159-165.

Karimi A., Khodaverdiloo H., and Rasouli-Sadaghiani. M.H. 2013. Enhanced soil Pb extraction by Acroptilon (*Acroptilon repens*) through inoculation with some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Water and Soil Conservation*, 20(3): 193-210. (In Persian)

Karimi A., Moezzi A., Chorom M., and Enayatizamir N. 2020. Influence of sugarcane bagasse biochar on nutrient availability and biological properties of a calcareous soil. *Applied Soil Research*, 8(1): 1-17. (In Persian)

Karimi A., Zakavi N., Safirzadeh S., Noroozi H., and Ariz A. 2024a. Evaluation of sugarcane nutritional status by deviation from optimum percentage (DOP) method in Khuzestan province. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 55(3): 449-466. (In Persian)

Karimi, A., Zanganeh-Yusefabadi, E. and Safirzadeh, S. 2024b. Comparison of availability and uptake of phosphorus and potassium in sugarcane under subsurface drip irrigation and furrow irrigation. *Irrigation Sciences and Engineering*, 47(3): 57-67. (In Persian)

Kodaolu B., Mohammed I., Wang Y., Zhang T., Audette Y., and Longstaffe, J. 2024. Assessment of phosphorus status in a calcareous soil receiving long-term application of chemical fertilizer and different forms of swine manures. *Journal of Environmental Quality*. Vol. 53(1): 112-122.

Lamizadeh E., Enayatizamir N. and Motamedi, H. 2016. Isolation and identification of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from the rhizosphere of sugarcane in saline and non-saline soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(10): 1072-83.

Li H.P., Han Q.Q., Liu Q.M., Gan Y.N., Rensing C., Rivera W.L., Zhao Q., and Zhang J.L. 2023. Roles of phosphate-solubilizing bacteria in mediating soil legacy phosphorus availability. *Microbiological Research*, 127375.

Moradi N., and Rasouli-Sadaghiani, M. 2019. Effect of Phosphate-solubilizing bacteria (PSB) on distribution of phosphorus forms in a calcareous soil. *Applied Soil Research, 7*(2), 67-81. (In Persian)

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe E.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *United States Department of Agriculture Circular*, 939: 1-18.

Pang F., Li Q., Solanki M.K., Wang Z., Xing Y.X., and Dong D.F. 2024. Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1383813.

Rawat P., Das, S., Shankhdhar D., and Shankhdhar S.C. 2021. Phosphate-solubilizing microorganisms: Mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. Journa*l of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1): 49-68.

Rezaeinasab F., Enayatizamir N., Zalaghi R., and moradi, N. 2020. Impact of Phosphate Solubilizing Microorganisms on Mineral and Organic Forms of Phosphorus and its Availability in Soil under Maize (*Zea mays* L.) Cultivation. *Applied Soil Research, 9*(1), 102-116. (In Persian)

Rouydel Z., Barin M., Rasouli-Sadaghiani M.H., Khezri M., Vetukuri R.R., and Kushwaha S. 2021. Harnessing the potential of symbiotic endophytic fungi and plant growth-promoting rhizobacteria to enhance soil quality in saline soils. *Processes*, 9(10), 1810.

Safian M., Motaghian H., and Hosseinpur, A. 2020. Effects of sugarcane residue biochar and P fertilizer on P availability and its fractions in a calcareous clay loam soil. *Biochar*. 2: 357–367.

Safirzadeh S., Chorom M., and Enayatizamir N. 2019. Effect of phosphate solubilising bacteria (*Enterobacter cloacae*) on phosphorus uptake efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Soil Research, 57(4): 333-341. (In Persian)

Safirzadeh S., Chorom M., and Enayatizamir N. 2021. Speciation and fractionation of phosphorus affected by enterobacter cloacae in the rhizosphere of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21: 187-199.

Safirzadeh S., Karimi A., and Ariz A. 2023. Comparison of phosphorus uptake efficiency and effective mechanisms in commercial varieties of sugarcane. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54(8): 1179-1196. (In Persian)

Santos H.L., Silva G.F.D., Carnietto M.R.A., Oliveira L.C., Nogueira C.H.D.C., and Silva M.D.A. 2022. *Bacillus velezensis* associated with organomineral fertilizer and reduced phosphate doses improves soil microbial—Chemical properties and biomass of sugarcane. *Agronomy*, 12(11), 2701.

Sharma L., Shukla S.K., Jaiswal V.P., and Gaur A. 2023. Novel strains of pseudomonas fluorescens and bacillus cereus and their integrated use with inorganic fertilizers enhancing p availability, crop growth parameters, and sugarcane yield in subtropical India. *Sugar Tech*, 25(6): 1467-1485.

Silva L.I.D., Pereira M.C., Carvalho A.M.X.D., Buttrós V.H., Pasqual M., and Dória, J. 2023. Phosphorus-solubilizing microorganisms: a key to sustainable agriculture. *Agriculture*, *13*(2), 462.

Timofeeva A., Galyamova M. and Sedykh S. 2022. Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture. *Plants*, 11(16), 2119.

Zambrosi F.C.B. 2021. Phosphorus fertilizer reapplication on sugarcane ratoon: opportunities and challenges for improvements in nutrient efficiency. *Sugar Tech*, 23: 704-708.