



Artikel

Isolierung diverser Phosphat- und Zinksolubilisatoren Mikroorganismen aus unterschiedlichen Umgebungen

Samira Islas-Valdez 1,2,†, Antisar Afkairin 1,†, Benjamin Rovner 1 und Jorge M. Vivanco 1,*

¹ Abteilung für Gartenbau und Landschaftsarchitektur, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, USA; lij15@txstate.edu (SI-V.); antisar.afkairin@colostate.edu (AA); ben.rovner@colostate.edu (BR)

² Abteilung für Agrarwissenschaften, Texas State University, San Marcos, TX 78666, USA

* Korrespondenz: j.vivanco@colostate.edu; Tel.: +1-970-491-7170; Fax: 970-491-4895

† Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

Zusammenfassung: Diese Studie befasst sich mit der Herausforderung, neue Wege zur Solubilisierung von Phosphor und Zink für landwirtschaftliche Zwecke zu finden. Ziel war es, PSMS (phosphorlösliche Mikroben) und ZnSMs (zinklösliche Mikroben) aus verschiedenen Umgebungen (z. B. Bodenverbesserungen, Landnutzungen und Fruchtfolgesysteme) zu isolieren und ihre Fähigkeit zu bewerten, verschiedene unlösliche P-Quellen (z. B. γ -Tricalciumphosphat (γ -TCP), Calciumphytat (CaP) und Rohphosphat (RP)) und Zn-Quellen (z. B. Zinkcarbonat (ZnC), Zinkoxid (ZnO) und Zinkphosphat (ZnP)) zu solubilisieren. Hier wurden 25 Isolate isoliert, die entweder P- oder Zn-Quellen solubilisieren konnten, und mithilfe von 16S-rRNA- und ITS-Region-Sequenzierung nach Art klassifiziert. Insbesondere *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* und *Mucor circinelloides*, die aus Kulturböden und Bodenverbesserungsmitteln isoliert wurden, erwiesen sich als die wirksamsten PSMS und ZnSMs. *Mucor circinelloides* zeigte die höchste Solubilisierungsfähigkeit für Brühen, die γ -TCP, CaP, RP, ZnO und ZnP enthielten, mit log2-fachen Veränderungen von 3,7, 1,8, 8,9, 7,8 bzw. 2,4 im Vergleich zur Kontrolle. Bei ZnC und ZnO zeigte *Aspergillus awamori* die höchste Zn-Solubilisierung mit einer 2,1- bzw. 3,0-log2-fachen Veränderung. Die Studie unterstreicht das Potenzial dieser Stämme als Biofertilisatoren und unterstreicht die Rolle der Gattungen *Mucor* und *Fusarium* bei der Zink-Solubilisierung.

Schlüsselwörter: P-solubilisierende Mikroorganismen; Zn-solubilisierende Mikroorganismen; Bodenverbesserungsmittel; kultivierte Böden; Bakterien; Pilze



Zitat: Islas-Valdez, S.; Afkairin, A.; Rovner, B.; Vivanco, JM Isolierung diverser phosphat- und zinklöslicher Mikroorganismen aus unterschiedlichen Umgebungen. Appl. 2024, 4, 1042–1056.

<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4030071>

Wissenschaftliche Lektorin: Elena Tamburini

Erhalten: 7. Juni 2024

Überarbeitet: 2. Juli 2024

Akzeptiert: 4. Juli 2024

Veröffentlicht: 7. Juli 2024



Copyright: © 2024 bei den Autoren.
Lizenznehmer MDPI, Basel, Schweiz.

Dieser Artikel ist ein Open Access-Artikel
vertrieben unter den Bedingungen und
Bedingungen der Creative Commons

Namensnennungslizenz (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Einleitung

Phosphor (P) und Zink (Zn) sind wichtige Nährstoffe für die Pflanzenentwicklung, den Ernteertrag und die Getreidequalität [1]. Dennoch sind über 30 % der weltweit kultivierten Böden alkalisch und weisen einen hohen Gehalt an Kalziumkarbonat auf, was die Nährstoffaufnahme behindert [2–4]. Obwohl P- und Zn-Düngemittel diese Mängel beheben, führen über 80 % der Anwendungen zu schwer löslichen Nährstoffen aufgrund der Bildung unlöslicher Formen von P und Zn [5,6]. Dazu gehören Tricalciumphosphat (TCP) und Calciumphytat (CaP) für P [5,7] und für Zn-Verbindungen wie Smithsonit (ZnC, Zinkcarbonat), Zinkit (ZnO, Zinkoxid) und Hopeit (ZnP, Zinkphosphat) [3]. Diese unlöslichen Verbindungen werden als P- und Zn-Erbgut im Boden bezeichnet [8–14].

Begrenzte und ungleichmäßig verteilte Rohphosphatreserven (RP) führen zu einem weiteren Anstieg der P-Düngemittelpreise [15,16]. Darüber hinaus weisen weltweit über 50 % der mit Getreide angebauten Böden einen Mangel an pflanzenverfügbarem Zn auf [2,4,5], was 30 % der Weltbevölkerung betrifft [17,18].

Bemühungen, den Zinkmangel durch agronomische Biofertilisierung in Getreide (z. B. Weizen und Mais) zu beheben, stehen aufgrund der hohen Kosten für Zinkdünger vor Herausforderungen [2,4].

Die Verwendung von P- und Zn-löslichen Mikroorganismen (PSMS und ZnSMs) ist eine umweltfreundliche und kostengünstige Strategie zum Recycling von P- und Zn-Nährstoffen im Boden. Zu dieser vielfältigen Gruppe gehören verschiedene Bakterien (z. B. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* und *Burkholderia*) und Pilze (z. B. *Penicillium*, *Fusarium* und *Aspergillus*) [5,19]. Ein Hauptproblem

Isolierung ist die herkömmliche Verwendung von Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP) als einzige Phosphorquelle zur Identifizierung von PSMs [20,21]. Diese Methode ist umstritten, da Beta-Tricalciumphosphat die vielfältigen und komplexen Formen von nicht verfügbarem Phosphor in natürlichen Böden nicht genau repräsentiert, was zu Diskrepanzen und einer Überbewertung der Wirksamkeit von PSMs unter Laborbedingungen im Vergleich zu Feldbedingungen führen kann. Daher wird empfohlen, eine Kombination aus unlöslichen Phosphorquellen wie Phytin, Rohphosphat (RP) und Zinkphosphat (ZnP) zur Isolierung von phosphatlöslichen Mikroorganismen (PSMs) zu verwenden [22,23]. Dies liegt daran, dass sich die Verwendung einer einzigen Quelle wie Tricalciumphosphat (TCP) als begrenzt erwiesen hat, da viele auf diese Weise ausgewählte Stämme gegenüber anderen unlöslichen Phosphorverbindungen und unter landwirtschaftlichen Bedingungen unwirksam sind. Die Verwendung mehrerer nicht verfügbarer Phosphorquellen erhöht die Wahrscheinlichkeit, eine vielfältige und wirksame Palette von PSMs zu isolieren, die besser für unterschiedliche Bodenbedingungen geeignet sind [24–26]. Obwohl Einzelinokulierungsmethoden, die PSMs und ZnSMs integrieren, bereits umfassend untersucht wurden, testen diese Methoden normalerweise nur eine Art unlöslicher P- und Zn-Quelle [27–30]. Es liegen nur begrenzte Informationen über PSM- und ZnSM-Konsortien vor, die ebenfalls getestet wurden, allerdings mit einer einzigen unlöslichen P- und Zn-Quelle [31]. Daher könnte sich die Verwendung von PSM- und ZnSM-Konsortien oder einzelnen Stämmen mit der Fähigkeit, mehrere unlösliche P- und Zn-Quellen zu solubilisieren, als effektivere Strategie zur Behebung von P- und Zn-Mangel unter landwirtschaftlichen Bedingungen erweisen [31].

Das Verständnis der Populationsdichte von P- und Zn-solubilisierenden Mikroorganismen (PSMs und ZnSMs) in verschiedenen Umgebungen ist für die effektive Untersuchung dieser Mikroben von entscheidender Bedeutung. So wurde beispielsweise gezeigt, dass Bodenbewirtschaftungspraktiken, einschließlich Bodenverbesserungsmittel, Zwischenfruchtanbau oder Fruchtwechsel, die Vielfalt und Häufigkeit von PSM und ZnSM erhöhen [32,33]. Li et al. [34] berichteten, dass PSMs und ZnSMs in der Rhizosphäre, in Schuttböden, im Kompost und in Pflanzenwurzeln dichter besiedelt sind als in Sedimenten oder Gewässern. Auch die Landnutzung spielt eine Rolle, da unbebaute Böden (z. B. Waldböden) eine größere Vielfalt an Mikroben beherbergen als landwirtschaftliche Böden, Grünlandböden und Bergbauböden [20,34]. Umgekehrt berichteten Fernández et al. [35], dass die PSM-Gemeinschaftsstruktur in kultivierten Böden um 81 % höher war als in natürlichen Böden (z. B. Grasland), und stellten Unterschiede zwischen verschiedenen kultivierten Böden fest. Dieser Unterschied war in kultivierten Böden unter Fruchtfolgesystemen (Leguminosen-Weizen) im Vergleich zu Monokultursystemen besonders ausgeprägt [3]. Im Gegensatz zu chemischen Düngemitteln, die sich negativ auf die Bodengesundheit auswirken können, gewinnen abfallbasierte Düngemittel wie Wurmkompost und Kompost an Beliebtheit [36]. Diese abfallbasierten Düngemittel sind für ihre reiche mikrobielle Vielfalt bekannt, darunter Gattungen, die P und Zn solubilisieren können [37–39]. Daher ging die vorliegende Forschung davon aus, dass das Screening von Mikroben aus verschiedenen Umgebungen bei der Auswahl von Elite-PSMs und ZnSMs hilfreich sein wird.

Die vorliegende Studie stellt einen neuartigen Ansatz zur Isolierung von PSMs und ZnSMs vor. Um dies zu erreichen, bestanden unsere Ziele darin, (1) PSMs und ZnSMs aus verschiedenen Umgebungen zu isolieren, darunter solche mit unterschiedlicher Landnutzung, Fruchtfolgesystemen und Bodenverbesserungen, und (2) PSMs und ZnSMs quantitativ und qualitativ zu untersuchen, die in der Lage sind, verschiedene schwerlösliche P-Quellen (d. h. TCP, CaP und RP) und Zn-Quellen (d. h. ZnC, ZnO und ZnP) zu solubilisieren. Diese nützlichen Mikroben können potenziell in der landwirtschaftlichen Biodüngung eingesetzt

2. Materialien und Methoden

2.1. Bodenprobenentnahme und Bodenverbesserung

Im Mai 2023 wurden Oberbodenproben (5–15 cm tief) vom Agricultural Research, Development, and Education Center (ARDEC) der Colorado State University in Fort Collins, CO (40°36'36.9" N und 104°59'38.2" W) entnommen. Laut der World Reference Base for Soil Resources (WRB) wird Waldboden (FS) als Luvisol klassifiziert, landwirtschaftliche Böden, darunter Weizen-Gersten-Boden (WBS), Mais-Sorghum-Boden (CSS) und Pintobohnen-Kuherbsen-Boden (PCS), werden als Schwarzerde klassifiziert. Diese Proben wurden aus landwirtschaftlichen Böden unter verschiedenen Fruchtfolgesystemen entnommen, darunter Weizen-Gersten-Boden (WBS), Mais-Sorghum-Boden (CSS) und Pintobohnen-Kuherbsen-Boden (PCS). Zusätzlich wurden Oberbodenproben (5–15 cm tief) aus einem unkultivierten Waldboden (FS) im Poudre Canyon am Greyrock Mountain in Fort Collins, CO, entnommen. Eine einzelne zusammengesetzte Probe von jedem Standort (d. h. landwirtschaftlich

und unkultivierten Böden) wurde aus sechs Proben gewonnen, die zufällig gesammelt wurden und dann homogenisiert. Die Studie umfasste auch eine Untersuchung von zwei Bodenverbesserungsmitteln: reiner Wurmkompost-Dünger (WSA, UNCO Industries, Inc., Union Grove, WI, USA) und pro Schaf- und Torfkompost (CSA, Permagreen Organics, Co., Arvada, CO, USA), beide von kommerziellen Lieferanten gekauft. Alle gesammelten Proben wurden bei 4 °C bis weitere biologische Analysen zur Beurteilung ihrer Auswirkungen auf die Isolierung potenzieller PSMs und ZnSMs unter Berücksichtigung unterschiedlicher Bodenbewirtschaftungspraktiken. Die physikochemischen Die Charakterisierung der Bodenproben und Bodenverbesserungsmittel (Tabelle 1) erfolgte mit Die folgenden Methoden: ein 1:1 Boden-Wasser-Verhältnis für die pH-Messung, die DTPA-extrahierbare Zn-Methode zur Zinkanalyse, Glühverlustmethode zur Bestimmung organischer Stoffe, und die Menlich-3-Methode zur Phosphorbestimmung. Diese Analysen wurden von Ward durchgeführt. Die Umwandlung von Phosphor in eine Form, die zugänglich ist für Pflanzen wird maßgeblich von den Bodeneigenschaften beeinflusst, insbesondere vom pH-Wert und Eisengehalt. Diese Faktoren beeinflussen die Verfügbarkeit von Phosphor durch die Bildung löslicher oder unlöslicher Komplexe. Isolierung effektiver phosphorlöslicher Mikroorganismen (PSMs) ist es von entscheidender Bedeutung, Wählen Sie Substrate, die diese natürlichen Bodenbedingungen genau nachahmen. Dieser Ansatz stellt sicher dass die isolierten Mikroorganismen nicht nur unter Laborbedingungen wirksam sind, sondern können außerdem die Phosphorverfügbarkeit in zahlreichen landwirtschaftlichen Umgebungen erhöhen. Daher wurde unsere Substratauswahl von diesen Überlegungen geleitet, um die praktische Anwendbarkeit der isolierten PSMs.

Tabelle 1. Physikochemische Eigenschaften der zur Isolierung von PSMs und ZnSMs ausgewählten Umgebungen.

Parameter	FS	CCS	PCS	WBS	CSA	WSA
pH-Wert des Bodens	7.1	8,3	8.6	8.4	8,9	7.2
Verfügbares P (mg kg ⁻¹)	15	91	73	65	1746	786
Verfügbares Zn (mg kg ⁻¹)	1,62	1,46	1,83	1,36	133,5	119,9
Organische Substanz (%)	4.3	2.7	2.6	3.0	19.2	43,5

FS: Waldboden; CCS: Mais-Mais-Boden; PCS: Pintobohnen-Augenbohnen; WBS: Weizen-Gersten-Boden; CSA: Kompost-Bodenverbesserung ; WSA: Wurmkompost-Bodenverbesserung.

2.2. Vorabprüfung und Isolierung von PSMs und ZnSMs

Für die Isolierung von PSMs und ZnSMs im Mai 2023 1 g jedes Bodens oder Zusatzes Die Probe wurde in 9 ml steriler 0,85%iger Kochsalzlösung homogenisiert, gefolgt von einer 10-fachen seriellen Verdünnung (10⁻¹ bis 10⁻¹⁰) nach einer modifizierten Methode [40]. Die resultierenden Suspensionen wurden in dreifacher Ausfertigung auf Plate Count Agar (PCA, EM Industries, Inc., Darmstadt, Deutschland) ausplattiert und über Nacht bei 30 °C inkubiert, um die Verdünnung zu ermitteln, aus der es möglich war, Zählen Sie koloniebildende Einheiten (CFUs) für weitere Studien.

Für PSMs wird ein 100-ml-Aliquot der Serienverdünnung mit der Anzahl lebender Kolonien jedes Suspension wurde auf dem Phosphat des National Botanical Research Institute (NBRIP) verteilt Medium Agar [41] ergänzt mit γ-Tricalciumphosphat (γ-TCP) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), Calciumphytat (CaP) (TCI America, Portland, OR, USA) oder Gestein Phosphat (RP). Das NBRIP-Medium für RP wurde durch Zugabe von Bromphenolblau modifiziert. Farbstoff in der von Li et al. [42] angegebenen Konzentration zur Verbesserung der Visualisierung. Nach sieben Tage Inkubation bei 30 °C, PSMs mit klaren Halos (d. h. für γ-TCP und CaP) oder gelben Halos (d. h. für RP) wurden durch fünfmaliges Ausstreichen auf NBRIP-Medienplatten gereinigt, um reine Stämme. Die gereinigten Stämme wurden bei 80 °C in Kartoffeldextrosebrühe (PDB, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA) ergänzt mit 50% (v/v) Glycerin (Sigma-Aldrich, MO) zur weiteren Analyse.

Ebenso wurde ein 100 mL Aliquot der Serienverdünnung mit der Anzahl lebender Kolonien evaluiert für ZnSMs auf modifiziertem Pikovskaya-Medium [41] ergänzt mit 0,1% ZnO (Spectrum Chemical MFG, New Brunswick, NJ, USA), ZnP (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) oder ZnC (MP Biomedicals, LLC, Solon, OH, USA). Modifizierte Pikovskaya Das Medium wird als das effizienteste Medium für das Screening von ZnSMs angesehen [29] . Auf ZnSMs wurde die gleiche Speichermethode wie für PSMs angewendet.

2.3. Taxonomische Charakterisierung isolierter Stämme

Im Juni 2023 wurden während der Voruntersuchung insgesamt 25 Isolate aus verschiedenen Umgebungen gewonnen, die entweder P- oder Zn-solubilisierende Eigenschaften aufwiesen. Unter diesen Isolaten wurden 7 Bakterienstämme durch 16S-rDNA-Analyse identifiziert, während 18 Pilzstämme einer ITS-rDNA-Gensequenzanalyse unterzogen wurden. Zur Identifizierung der Bakterien und Pilze wurden einzelne Kolonien jedes Stammes auf PDA-Platten aufgebracht und über Nacht bei 30 °C inkubiert, um frische Kulturen zu erhalten. Anschließend wurden die PDA-Platten zur DNA-Extraktion und -Analyse verschickt, wobei die Sanger-DNA-Sequenzierungsdienste von Azenta Life Sciences-Genewiz, Inc. (South Plainfield, NJ, USA) genutzt wurden.

2.4. Abschließende Prüfung von PSMS und

ZnSMs Das experimentelle Verfahren folgte genau dem der Vorprüfung, mit der Ausnahme, dass nur Stämme, die in verschiedenen P- und Zn-Medien durchweg gute Ergebnisse zeigten, für die weitere Analyse ausgewählt wurden. Von den anfänglich 25 Stämmen, die bei der Vorprüfung isoliert wurden, wurden insgesamt sechs Stämme für die weitere Analyse zurückbehalten. Diese sechs Stämme wurden zusätzlichen Tests in festem und flüssigem NBRIP und modifiziertem Pikovskaya-Medium unterzogen, um diejenigen zu identifizieren, die in der Lage sind, zwei oder mehr unlösliche P- und Zn-Quellen zu solubilisieren.

Die qualitative Abschätzung der P- und Zn-Solubilisierung durch die Bakterienisolate umfasste die Inokulation von 10 µl einer logarithmischen Bakterienkultur (Inokulum eingestellt auf eine optische Dichte (OD)600 = 0,4 – 2,9 × 10⁸ KBE /mL) in die Mitte von NBRIP und modifiziertem Pikovskaya-Medium, wobei die gleichen Bedingungen wie im Vorscreening-Experiment eingehalten wurden. Zur qualitativen Abschätzung der P- und Zn-Solubilisierung durch Pilzisolate wurde eine 7-mm-Scheibe in die Mitte von NBRIP und modifiziertem Pikovskaya-Medium inokuliert. Nicht inokuliertes NBRIP und modifiziertes Pikovskaya-Medium dienten als Kontrollen. Die P-Solubilisierungseffizienz und die Zn-Solubilisierungseffizienz wurden nach der von Nguyen et al. [43] beschriebenen Standardformel berechnet .

Zur quantitativen Bestimmung der P- und Zn-Solubilisierung durch Bakterienisolate wurden 10 ml NBRIP und modifizierte Pikovskaya-Brühe (d. h. durch Ersetzen von γ-TCP durch Zn-Quellen) mit 100 µl einer Bakterienkultur in der Log-Phase beimpft [41]. Diese Kulturen wurden sieben Tage lang bei 30 °C in einem Inkubator-Schüttler bei 200 U/min aufbewahrt . Zur quantitativen Bestimmung der P- und Zn-Solubilisierung durch Pilzisolate wurde die von Mittal et al. [44] beschriebene Methode angewendet. Kurz gesagt wurde eine 7-mm-Scheibe mit 10 ml NBRIP und modifizierter Pikovskaya-Brühe beimpft. Nach der Inkubation wurde das Überstand durch Zentrifugation bei 10.000 U/min für 5 Minuten erhalten und mit Whatman 1-Filterpapier gefiltert [44]. Anschließend wurde der Grad der Phosphor-Solubilisierung mit einer modifizierten Ascorbinsäure-Methode bei 882 nm [40,45] bestimmt und der pH-Wert mit einem pH-Meter (HQ40d-Multimeter, Hach, Loveland, CO, USA) gemessen. Die Zink-Solubilisierung wurde von Ward Laboratories, Inc. (Kearney, NE, USA) analysiert.

2.5. Statistische Analyse Ein

phylogenetischer Baum wurde mithilfe der Mega-Software Version 11 mithilfe der Neighbor-Joining-Methode mit 100 Bootstrap-Replikaten erstellt. Der phylogenetische Baum wurde mithilfe des ggtree-Pakets [46] visualisiert . Die Daten wurden mithilfe von RStudio Team 2023 Version 4.2.3 (PBC, Boston, MA, USA) analysiert. Es wurde eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt, gefolgt von einem post-hoc Tukey-HSD-Test. Unterschiede wurden bei $p < 0,05$ als signifikant angesehen. Modellannahmen, einschließlich der Homogenität der Varianz und der Normalität der Residuen, wurden mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests und Homoskedastizität mithilfe des Levene-Tests bewertet. Daten, die die Annahmen nicht erfüllten (d. h. $p < 0,05$), wurden mithilfe von sqrt- oder logarithmischen Transformationen transformiert . Zusätzlich wurden Korrelationen zwischen pH-Änderungen und P- oder Zn-Solubilisierung in den Brühen mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson ($p < 0,05$) für normalverteilte Datensätze getestet. Für nicht normalverteilte Daten wurden die Korrelationskoeffizienten nach Spearman berechnet.

Insgesamt wurden 25 Mikroben gefunden, die entweder P- oder Zn-löslich machten. Sieben dieser isolierten Stämme wurden als Bakterien identifiziert und in die Kategorie der (Abbildung 1), während ein 18 Stämme wurden als Pilze identifiziert. Gattung *Pseudogymnospora* (Abbildung 1), die ersten 16, sieben Gattungen (*Aspergillus* (2), *Circinella* (1), *Fusarium* (6), *Galactomyces* (1), *Mucor* (2), *Neucosmospora* (1), *Penicillium* (4) und *Purpureocillium* (1).

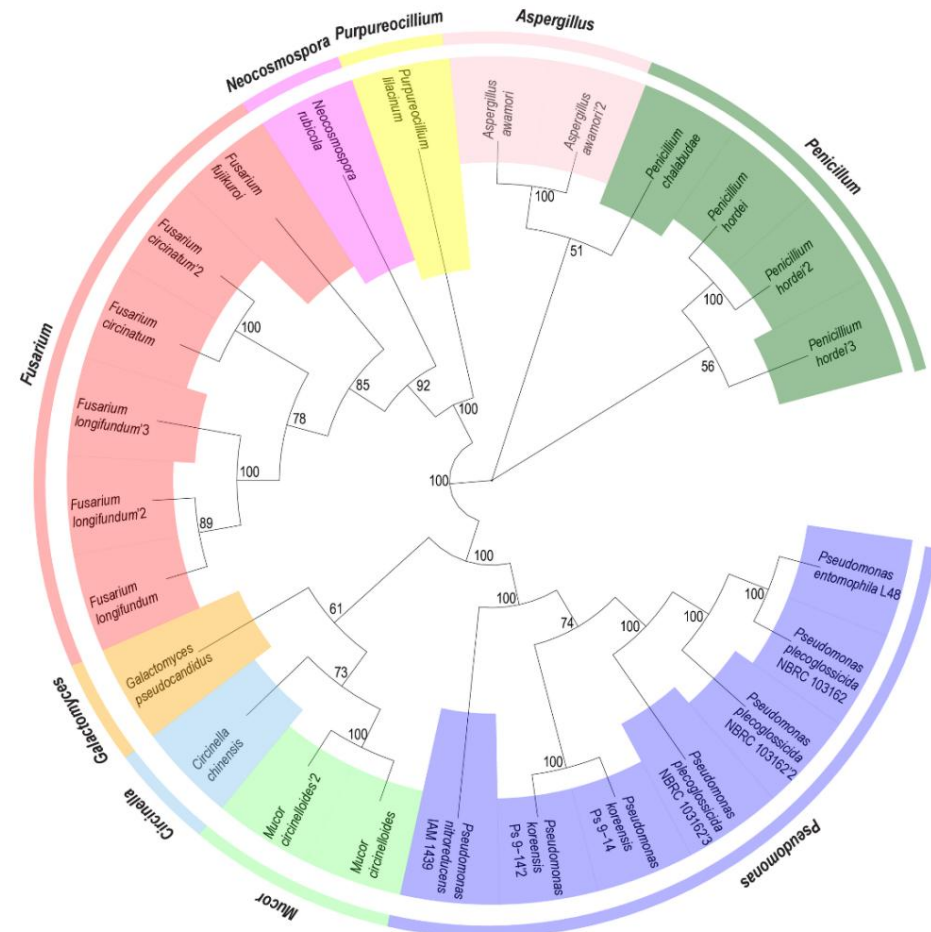


Abbildung 1: Wadenbar-Verknüpfungs - Stammbaum von 25 isolierten Stämmen mit der roten Schmierbrutspore. Die Zahlen basieren auf 16S rRNA Gensequenzen. Die Zahlen in den Knoten repräsentieren die Distanzen der isolierten Unterstämme basierend auf der Distanzmatrix. Die Zahlen in der Box stellen die Distanzen der isolierten Unterstämme basierend auf der Distanzmatrix dar.

[illegible]

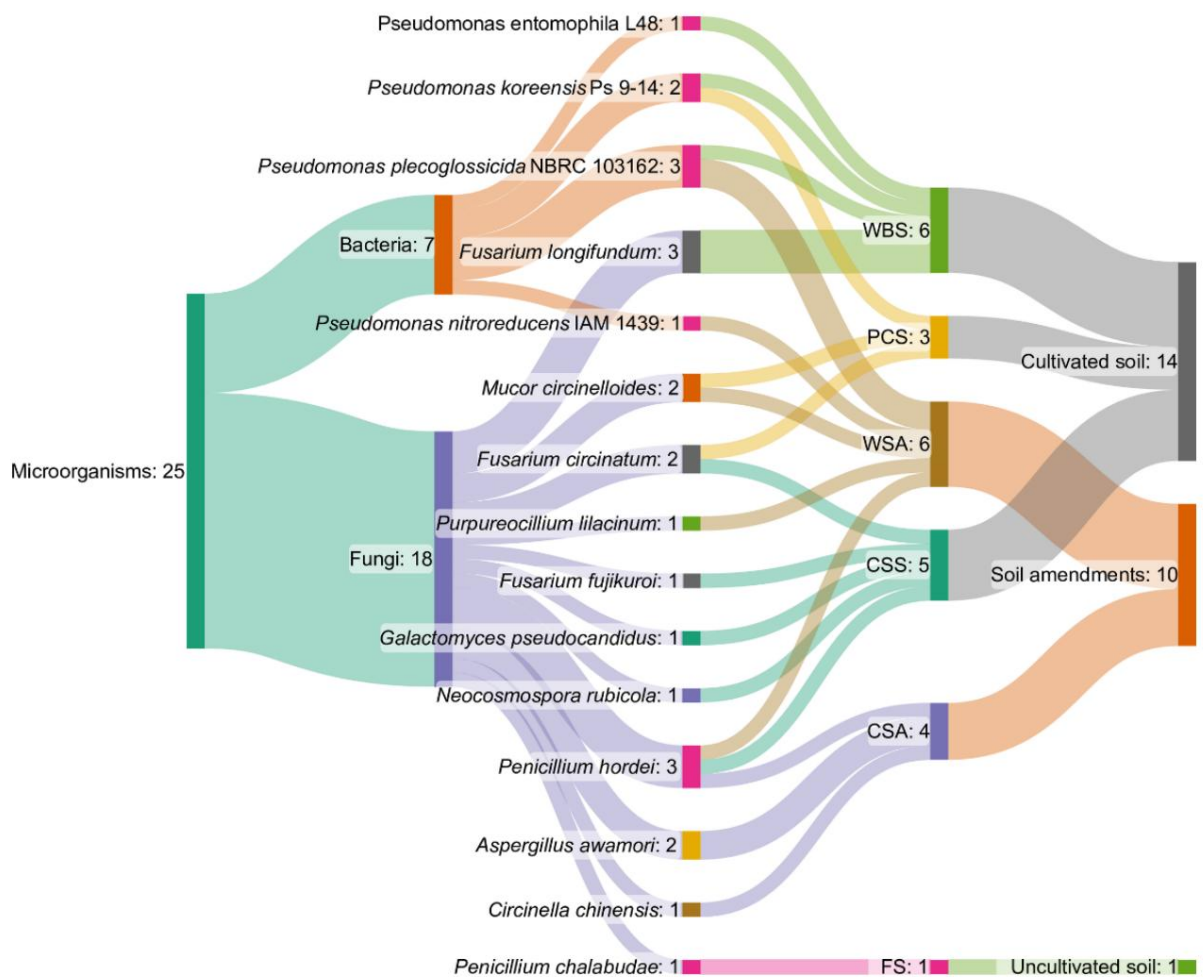


Abbildung 2. Sankey-Diagramm, das die Pflanz- und Bakterienisolate basierend auf ihrer Umgebung veranschaulicht. Der Durchmesser der Linien ist proportional zur Anzahl der einzigartigen oder gemeinsamen Stämme, die von jeder isoliert werden. Die Isolate sind in sechs verschiedene Umgebungen unterteilt: WBS (Wurmbodenverbesserung), PCS (Pestizid-Bodenverbesserung), WSA (Wurmkot-Bodenverbesserung), CSS (Mais-Sorghum-Erde), CSA (Kompost-Bodenverbesserung) und FS (Walderde).

Die phylogenetische Analyse ergab auch zwei *Aspergillus awamori*-Stämme und zwei *Mucor circinelloides*-Stämme mit 100% Bootstrap-Unterstützung (Abbildung 1). Ähnliche Bootstrap-Werte wurden bei zwei Stämmen von *Fusarium circinatum* und bei drei Stämmen von *Fusarium longifundum* beobachtet. Die phylogenetische Analyse gruppierte auch zwei *Aspergillus awamori*-Stämme und zwei *Mucor circinelloides*-Stämme mit 100 % Bootstrap-Unterstützung (Abbildung 1). Ähnliche Bootstrap-Werte wurden für zwei Stämme von *Fusarium circinatum* und für drei Stämme von *Fusarium longifundum* beobachtet. Darüber hinaus bildeten drei *Penicillium hordei*-Stämme eine Klade mit 56% Ähnlichkeit, mit zwei davon bilden eine terminale Untergruppe mit 100% Bootstrap-Unterstützung. Insgesamt 18 Pilzstämme wurden in 11 verschiedene Arten eingeteilt, was ihre Assoziationen widerspiegelt. Stämme ebenfalls eine Klade mit 56% Ähnlichkeit, wobei zwei von ihnen eine terminale Unterklade mit 100 % Bootstrap-Unterstützung bildeten. Insgesamt wurden die Pilzstämme in drei verschiedene Gruppen unterteilt: Bodenverbesserungsassoziation, mit ihren jeweiligen Umgebungen (Abbildung 2). Insbesondere *Aspergillus awamori*, *Purpureocillium lilacinum* und *Circinella chinensis* wurden ausschließlich aus Bodenverbesserungsmitteln isoliert. Ebenso wurden *Fusarium longifundum*, *Fusarium fujikuroi*, *Galactomyces pseudocandidus* und *Neocosmospora rubicola* nur in unkontaminierten Böden nachgewiesen, während *Penicillium chabudae* nur in unkontaminierten Böden (40%) und Bodenverbesserungsmitteln (40%) vorkommt.

Diese Studie beleuchtet die Verbreitung von PSMs und ZnSMs in verschiedenen Umgebungen. und *Neocosmospora rubicola* wurde ausschließlich in kultivierten Böden nachgewiesen, während *Penicillium* häufiger in kultivierten Böden (36%) und Bodenverbesserungsmitteln (40%) vorkommt. *Penicillium chabudae* wurde nur in unkontaminierten Böden (40%) und Bodenverbesserungsmitteln (40%) vorkommt. Im Vergleich PSMs *Fusarium circinatum* und *Penicillium hordei* mit *Galactomyces pseudocandidus* und *Neocosmospora rubicola* in kultivierten Böden. (36 %), im Gegensatz zu Leguminosen-Fruchtfolgen wie PCS (21 %).

Von den 15 Bakterien- und Pilzarten zeigten 6 die Fähigkeit zur Solubilisierung. Diese Studie beleuchtet die Verbreitung von PSMs und ZnSMs in verschiedenen Umgebungen und zeigt, dass sie in kultivierten Böden (56 %) und Bodenverbesserungsmitteln (40 %) häufiger vorkommen als in unkontaminierten Böden. Solubilisieren alle drei unökologischen P-Quellen, während *Fusarium circinatum* und *Fusarium longifundum* (4 %) unter den kultivierten Böden die höchste Häufigkeit von PSMs und ZnSMs in Böden mit Getreidefruchtfolgen wie WBS (43 %) beobachtet. und CSS (36 %), im Gegensatz zu Leguminosen-Fruchtfolgen wie PCS (21 %).

Unter den 15 Bakterien- und Pilzarten zeigten 6 die Fähigkeit, mltl nslbl P ndr Zn sracs zu solubilisieren. Ntbl *Psdmns lclsscd* NBRC 103162

Die sechs Stämme, die bei der ersten Untersuchung eine Solubilisierung mehrerer unlöslicher P- und/oder Zn-Quellen zeigten (Abbildung 3), wurden einer weiteren Untersuchung unterzogen, um ihre Fähigkeit zur Solubilisierung aller getesteten unlöslichen P- und Zn-Quellen in NBRIP und modifiziertem Pikovskaya-Medium zu beurteilen.

Appl. Microbiol. 2024

4 Plattenuntersuchungen zeigten, dass *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* und *Penicillium hordei* alle drei getesteten unlöslichen P-Quellen mit unterschiedlicher Effizienz solubilisierten (Abbildung 4). *Penicillium hordei* zeigte eine hohe Effizienz bei der RP-Solubilisierung, während *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC bei der CaP-Mineralisierung hervorragte. Beide Stämme zeigten zusammen mit *Aspergillus awamori* eine ähnliche γ -TCP-Solubilisierung. Insbesondere *Fusarium longifundum* könnte ein vielversprechendes Isolat für die RP-Solubilisierung sein, obwohl es die beiden anderen getesteten unlöslichen P-Quellen nicht solubilisieren konnte. Die anderen beiden getesteten unlöslichen P- und Zn-Quellen zu bewerten.

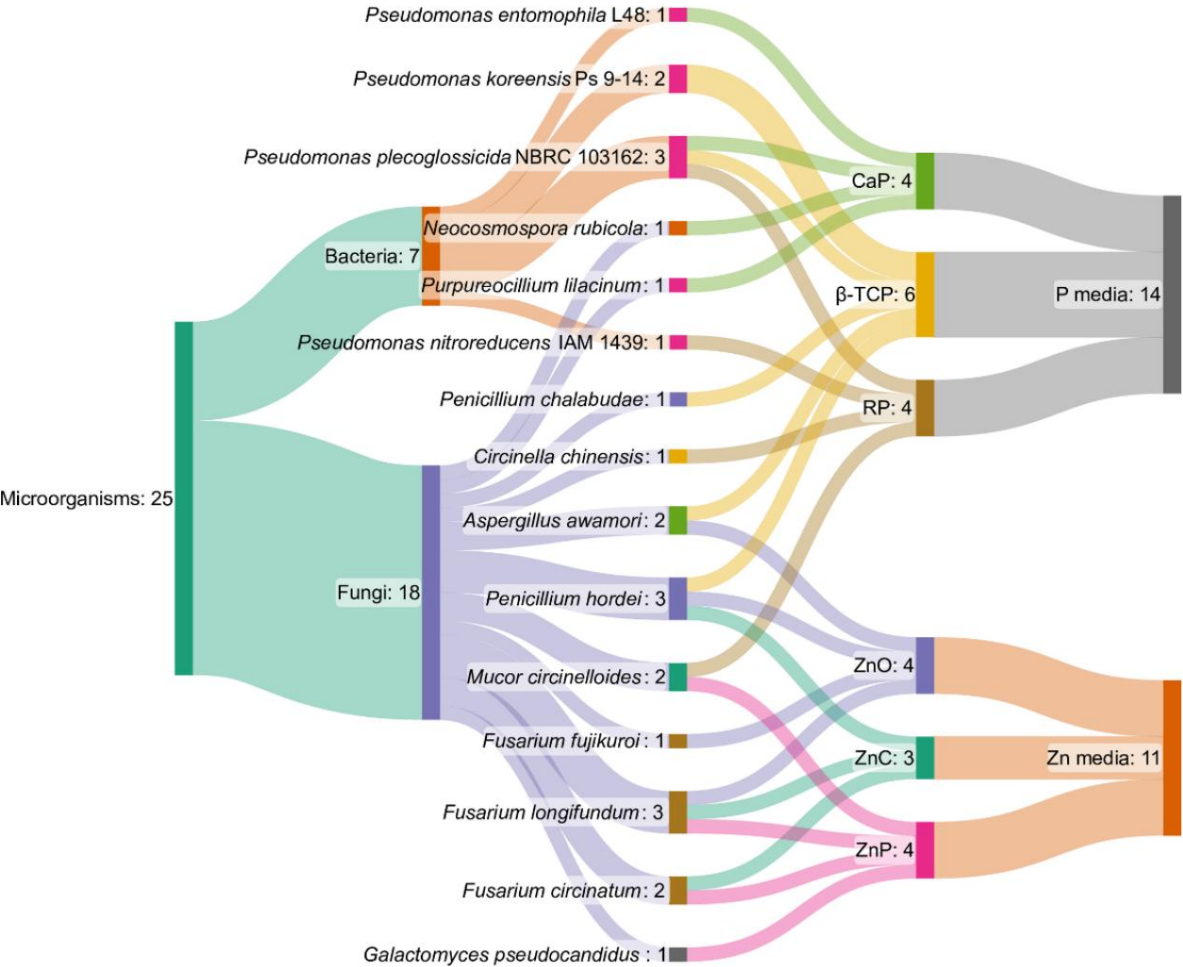


Abbildung 3. Sankey-Plot, der die Anzahl der Pilz- und Bakterienisolats auf jedem Knoten veranschaulicht, basierend auf ihrer Fähigkeit, P- und Zn-Quellen zu solubilisieren, während der ersten Screening-Dezision. Die Knoten sind proportional zur Anzahl einzelner Stämme, die die sechs unlöslichen Quellen solubilisieren konnten. CaP: Calciumphosphat, β -TCP: β -Trikalciumphosphat, RP: Röntgenphosphat, ZnO: Zinkoxid, ZnC: Zinkcarbonat und ZnP: Zinkphosphat.

3.2. Screening von PSMS und ZnSMS mit mehreren nicht verfügbaren P- und Zn-Quellen

Die sechs Stämme, die mehrere unlösliche P- und/oder Zn-Quellen solubilisieren im ersten Screening (Abbildung 3) wurden einer weiteren Bewertung unterzogen, um ihre Fähigkeit zu beurteilen zur Solubilisierung aller getesteten unlöslichen P- und Zn-Quellen in NBRIP und modifiziertem Pikovskaya Medien. Plattenuntersuchungen zeigten, dass *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* und *Penicillium hordei* solubilisierten alle drei getesteten unlöslichen P-Quellen mit unterschiedlichem Effizienz (Abbildung 4). *Penicillium hordei* zeigte eine hohe Effizienz bei der RP-Solubilisierung, während *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC war hervorragend bei der CaP-Mineralisierung. Beide Stämme, zusammen mit *Aspergillus awamori* zeigte eine ähnliche γ -TCP-Solubilisierung. Insbesondere *Fusarium longifundum* könnte ein vielversprechendes Isolat für die RP-Solubilisierung sein, obwohl es nicht in der Lage war, Die anderen beiden getesteten unlöslichen P-Quellen waren.

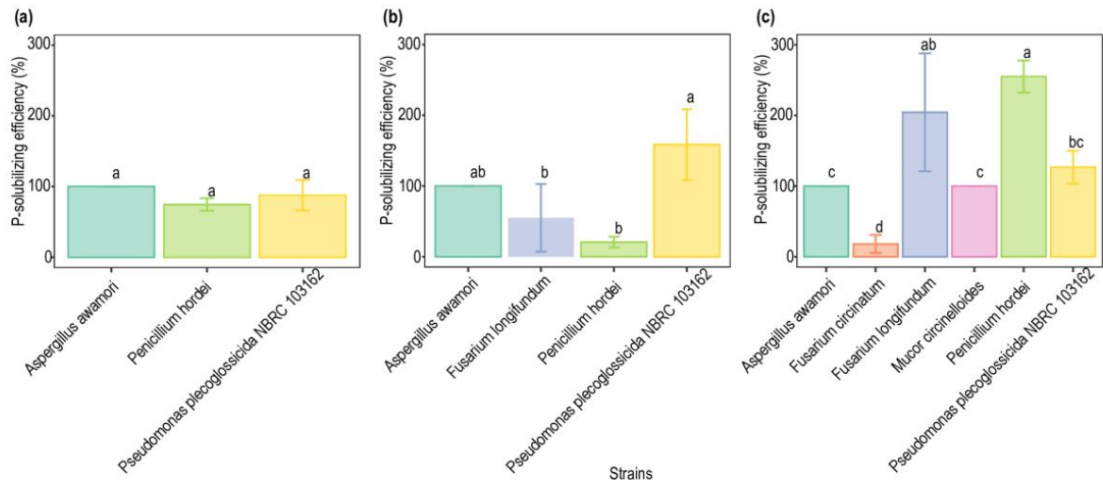


Abbildung 4. Die P-Solubilisierungseffizienz von 6 ausgewählten Stämmen in festem NBRI-P-Medium, das (a) TGP, (b) CaP und (c) RP enthält. Die Ergebnisse stellen den Mittelwert von drei Replikaten dar. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar. Die unterschiedlichen Kleinbuchstaben über den Spalten zeigen einen signifikanten Unterschied an ($p < 0,05$), gemäß dem ANOVA-Test, gefolgt von Tukeys HSD-Test. Die Daten für RP wurden mit der Quadratwurzeltransformation normalisiert.

Die Ergebnisse des Zn-Solubilisierungstests zeigten, dass *Aspergillus awamori*, *Penicillium hordelii* und *Mucor circinellus* die drei besten unlöslichen Zn-Quellen (Abbildung 5). *Penicillium hordelii* und *Mucor circinellus* zeigten eine hohe Effizienz für ZnP, während *Aspergillus awamori* und *Penicillium hordelii* eine hohe Effizienz für ZnO zeigten. *Pseudomonas plecoglossicida NBRC 103162* zeigte auch ein hohes Solubilisierungspotenzial, was auf seine Fähigkeit hinweist, verschiedene unlösliche P-Quellen zu solubilisieren.

Dies weist auf die Fähigkeit hin, verschiedene unlösliche P-Quellen zu solubilisieren.

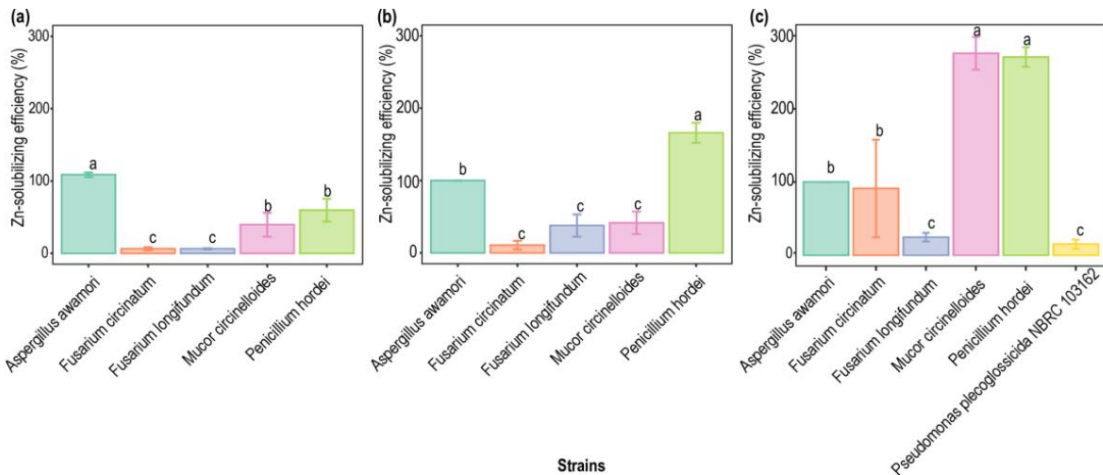


Abbildung 5. Die Zn-Solubilisierungseffizienz von 6 ausgewählten Stämmen in fester modifizierter Pikovskaya-Mittel, die (a) ZnCO₃, (b) ZnO und (c) Zn₃P₂ enthält. Die Ergebnisse repräsentieren den Mittelwert von drei Replikaten. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar. Die unterschiedlichen Kleinbuchstaben über den Spalten zeigen einen signifikanten Unterschied an ($p < 0,05$), gemäß dem ANOVA-Test, gefolgt von Tukeys HSD-Test. Die Daten für ZnO und ZnP wurden mit der Quadratwurzel und dem Logarithmus transformiert vor der ANOVA-Analyse.

3.3. Screening von PSMs und ZnSMs in flüssiger Brühe und pH-Änderungen

Die sechs ausgewählten Isolate wurden einem quantitativen Test aller unlöslichen P-Quellen in Abhängigkeit sowohl von der unlöslichen P-Quellen als auch der unlöslichen P-Quellen zeigten.

der inokulierte Stamm. *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* und

Stämme	y-TCP		Deckel		RP	
	Stämme	pH	y-TCP	pH	Deckel	RP
<i>awamori</i> d Aspergillus		5,30 ± 0,07 d	pH	6,01 ± 0,03 ° C	pH	5,11 ± 0,05 ° C
n 5,25 ± 0,02 <i>Mucorambria</i> Bodes 9, 0,23 Fusarium circinatum 5,50 ± 0,02 c Fusarium				5,84 ± 0,03 d	4,95 ± 0,02 d ^c	5,11 ± 0,05 ^c
4,87 ± 0,03 <i>Penicillium hordei</i> 6,37 ± 0,01 b 5,88 ± 0,08 b b <i>Penicillum</i>				5,78 ± 0,04 Diophtien ^d	5,84 ± 0,03 ^c	4,65 ± 0,12 ^D
0,08 <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> NBRC				5,51 ± 0,08 e _t	5,78 ± 0,04 ^d	4,52 ± 0,16 ^D
					5,51 ± 0,08 _t	3,69 ± 0,13 b _t
					b 6,37 ± 0,01	6,27 ± 0,09
103162			d 5,14 ± 0,02		d 5,83 ± 0,02	5,09 ± 0,01 ^c
Steuerung			6,77 ± 0,14 ^A		6,75 ± 0,02 ^A	7,53 ± 0,16 ^A

$$7,53 \pm 0,16 \text{ a}$$

	pH	pH-Wert	pH-Wert
<i>Aspergillus awamori</i>	6,77 ± 0,02 b	6,73 ± 0,02 b	ZnKod 1 ± 0,06 c
Stämme	pH	pH	pH
<i>Aspergillus awamori</i>	b 6,77 ± 0,02	6,73 ± 0,07 ^{cd}	5,11 ± 0,06 Dioptrierf
<i>Fusarium circinatum</i>	7,16 ± 0,14 ^A	b 7,06 ± 0,03 b	4,71 ± 0,11 5,00
<i>Fusarium longifundum</i>	7,18 ± 0,04 ^A	7,01 ± 0,09 d	± 0,06 4,40 ± ^C
<i>Mucor circinelloides</i>	7,18 ± 0,05 ^A	± 0,06 bc 6,89 ± ^{6,68}	0,01 b ^t
<i>Penicillium hordei</i>	7,26 ± 0,04 ^A	0,09	5,96 ± 0,09
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> NBRC 103162	7,22 ± 0,06 ^A	b 6,99 ± 0,08	6,74 ± 0,06 ^A
Kontrolle	7,29 ± 0,05 ^A	7,26 ± 0,05 ^A	6,94 ± 0,09 ^A

4. Diskussion

Angesichts der vielfältigen chemischen Zusammensetzung von Böden ist die Verwendung von γ -TCP als universelle unlösliche P-Quelle zur Isolierung von PSMs nicht zuverlässig [24]. Daher wurden verschiedene unlösliche P-Quellen (γ -TCP, CaP und RP) oder Zn-Quellen (ZnCl₂, ZnO und ZnP) verwendet, um während der ersten Untersuchung in Medien 25 Bakterien- und Pilzstämmen mit entweder P- oder Zn-solubilisierenden Fähigkeiten zu isolieren. Unter den 25 isolierten mikrobiellen Stämmen wurde festgestellt, dass 6 Stämme der Gattungen *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* und *Pseudomonas* die Fähigkeit besitzen, mehrere unlösliche P- und/oder Zn-Quellen in Medien zu solubilisieren. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Studien, in denen Mikroben der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Pseudomonas* als dominante PSMs und ZnSMs in landwirtschaftlichen Böden festgestellt wurden [32–34,44,47–52].

Um ein effektives Verfahren zur Auswahl von PSMs und ZnSMs zu etablieren, wurden die sechs Arten aus der ersten Untersuchung unter verschiedenen Bedingungen an allen unlöslichen P- und Zn-Quellen getestet. Dabei zeigten sich Unterschiede zwischen den Medien und den Brühen. *Mucor circinelloides*, *Fusarium circinatum* und *Fusarium longifundum* zeigten beispielsweise bei allen unlöslichen P-Quellen in den Medien keine Halos, konnten aber alle unlöslichen P-Quellen in den Brühen solubilisieren. *Pseudomonas plecoglossicida* zeigte bei allen unlöslichen P-Quellen in den Medien Halos, solubilisierte aber nur γ -TCP in den Brühen. Dies steht im Einklang mit früheren Berichten, denen zufolge die Gattung *Pseudomonas* eine schlechte Solubilisierung und Mineralisierung von P aufweist [53].

Ähnliche Tendenzen wurden bei Zn-Medien beobachtet. *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162 zeigte einen Halo in Medien, aber keine Zn-Solubilisierung in Brühen. Im Gegensatz dazu zeigte *Aspergillus awamori* die höchste prozentuale Zn-Solubilisierungseffizienz in Medien mit ZnCl₂, ähnlich seiner Fähigkeit, die größte Menge Zn in Brühe mit derselben unlöslichen Quelle zu solubilisieren. Ähnliche Ergebnisse wurden für *Mucor circinelloides* in Medien und Brühen mit ZnP gefunden. Diese Tendenz wurde jedoch nicht bei Medien oder Brühen mit ZnO beobachtet. In Übereinstimmung mit diesen Erkenntnissen haben andere Forscher eine schlechte Korrelation zwischen Medien und Brühen für PSMs aufgrund von Variationen in den Diffusionsraten verschiedener organischer Säuren, die in Medien abgesondert werden, festgestellt [24,47].

Die Brühen, die PSMs und ZnSMs enthielten, zeigten eine inverse Beziehung zwischen löslichem P oder Zn und dem pH-Wert. Diese Tendenz war besonders deutlich bei *Aspergillus awamori* und *Mucor circinelloides*, was die mögliche Rolle der Produktion organischer Säuren bei der Solubilisierung von P und Zn unterstreicht, wie bereits von anderen Autoren berichtet [24,47,49,54]. Obwohl Pilze mehr organische Säuren produzieren als Bakterien [49,53], können Art und Menge der produzierten organischen Säuren je nach Inkubationszeit und Temperatur sowie der unlöslichen Quelle variieren [47,55]. Dies könnte möglicherweise erklären, warum Pilze in dieser Studie eine größere Fähigkeit zur Solubilisierung von P und Zn zeigten als Bakterien, sowie die Unterschiede in der Solubilisierungskapazität der Isolate. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit anderen Studien, in denen Pilze im Vergleich zu Bakterien eine höhere Wirksamkeit bei der Solubilisierung unlöslicher P-Quellen wie γ -TCP und RP [56] sowie Zn-Quellen wie ZnO, ZnP und Zn-Sulfat [29] zeigten. Bei *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* und *Mucor circinelloides*, die ebenfalls die Fähigkeit zeigten, unlösliche organische P-Quellen zu mineralisieren, könnte diese Fähigkeit auf Enzyme wie Phosphatasen und Phytasen zurückgeführt werden [24,47,53].

Während in einigen Studien auch über die Fähigkeit der Gattungen *Mucor* und *Fusarium* berichtet wurde, P zu solubilisieren [47,55,57–60], liegen keine Informationen über ihre Fähigkeit vor, Zn zu solubilisieren. Diese Forschung hat jedoch zum ersten Mal gezeigt, dass Stämme der Gattungen *Mucor* und *Fusarium* Zn solubilisieren können.

Diese Studie enthüllte, dass Pilze in landwirtschaftlichen Böden unter Fruchtfolgesystemen und Bodenverbesserungsmitteln eine größere potenzielle Effizienz als PSMs und ZnSMs zeigten als Bakterien. *Fusarium circinatum* und *Fusarium longifundum* wurden aus kultivierten Böden unter Fruchtfolgesystemen isoliert. *Mucor circinelloides* wurde auch in kultivierten Böden und Bodenverbesserungsmitteln identifiziert, während *Aspergillus awamori* in Bodenverbesserungsmitteln gefunden wurde. Die unterschiedlichen Bodenbedingungen in unkultivierten Böden und Bodenverbesserungsmitteln stellten jedoch Herausforderungen bei der Bestimmung dar, wie diese Bedingungen das Vorhandensein und die Effizienz verschiedener mikrobieller Arten beeinflussen. Ähnliche Ergebnisse wurden in Studien gezeigt, die zeigten, dass effiziente PSMs und ZnSMs in Fruchtfolgesystemen häufiger vorkommen als in unkultivierten Umgebungen aufgrund

an die Wurzeln von Nutzpflanzen, indem sie spezifische Nährstoffe liefern, die ein unterschiedliches mikrobielles Wachstum fördern, was wiederum die Zusammensetzung und Dichte der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden beeinflusst [35]. In einer anderen Studie wurden die Populationsdichte und biogeografische Verteilung von PSMs an 40 verschiedenen Standorten in ganz China verglichen. Dabei wurde festgestellt, dass PSMs in landwirtschaftlichen Böden häufiger vorkommen als in Wüsten-, Wald-, Grasland- und Bergbauböden [34]. In einer früheren Studie wurde ebenfalls nachgewiesen, dass die Landnutzung (z. B. unbebaute und kultivierte Böden) einen deutlichen Einfluss auf die Solubilisierungsfähigkeit zwischen Stämmen haben kann, sogar zwischen denen derselben Gattung [20,61,62]. In dieser Studie berichteten die Autoren, dass unbebaute Böden effizientere PSMs als kultivierte Böden aufwiesen. Dies liegt an der geringen Fähigkeit von PSMs in kultivierten Böden aufgrund intensiver landwirtschaftlicher Praktiken. Zur Förderung effizienter PSMs wurde in der Studie die Einführung nachhaltiger landwirtschaftlicher Praktiken und organischer Düngemittel empfohlen. Diese Studie zeigt also, dass organische Bodenverbesserungen und gute landwirtschaftliche Praktiken wie Fruchtwechsel die Wirksamkeit von PSMs und ZnSMs fördern können. Die Bewertung der Beziehung zwischen ihrer Verbreitung und Parametern wie verfügbaren P- und Zn-Werten sowie dem Anteil organischer Stoffe erwies sich jedoch aufgrund von Schwankungen dieser Parameter als schwierig, da Bodenverbesserungen im Vergleich zu kultivierten Böden höhere Werte aufwiesen.

Die vorliegende Studie hat auch hervorgehoben, dass es zwar wichtig ist, PSMs und ZnSMs durch Verwendung verschiedener unlöslicher P- und Zn-Quellen in Medien zu screenen, das qualitative Screening jedoch durch ein quantitatives Screening in Brühen ergänzt werden sollte, um effiziente PSMs und ZnSMs zu identifizieren. Diese Studie unterstreicht auch das Potenzial der Verwendung mikrobieller Konsortien zur Solubilisierung/Mineralisierung verschiedener unlöslicher Bodenquellen, was die Ernteerträge und -qualität deutlich verbessern könnte. Die Einbeziehung spezifischer Pilze wie *Fusarium circinatum* und *Fusarium longifundum* sowie *Mucor circinelloides* und *Aspergillus awamori* bereichert dieses Potenzial. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Bedeutung verschiedener mikrobieller Arten für eine verbesserte Bodenbiofortifizierung und damit für eine höhere landwirtschaftliche Produktivität.

5. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ein effizienterer Ansatz zur Identifizierung effizienter PSMs und ZnSMs darin besteht, Stämme aus verschiedenen Böden oder Bodenbewirtschaftungspraktiken wie Fruchtfolgesystemen oder Bodenverbesserungsmitteln zu isolieren. Unsere Ergebnisse zeigten, dass einige Pilzstämme keine Halozonen auf Agarplatten produzierten, aber eine Solubilisierung in flüssigen Medien zeigten, während Bakterienstämme Halozonen produzierten, aber eine geringere Solubilisierung in flüssigen Medien zeigten als die Pilzstämme. Dies unterstreicht, dass die Solubilisierung von P und Zn je nach unlöslichen Quellen und den inokulierten Stämmen variiert. Während Tests in Medien mit verschiedenen unlöslichen P- und Zn-Quellen gleichzeitig als wertvolle Vorscreeningmethode zur Eingrenzung der Stämme dienen, sind zusätzliche Tests in Brühen ratsam, um einen akzeptablen Hinweis auf die Solubilisierungsfähigkeit von P und Zn zu erhalten und effiziente PSMs und ZnSMs zu identifizieren. Von den 25 Isolaten wurden *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* und *Mucor circinelloides* als die effizientesten Stämme zur Solubilisierung von P und Zn ausgewählt. Diese Studie zeigte auch, dass Stämme der Gattungen *Mucor* und *Fusarium* Zn solubilisieren können. Trotz ihrer Fähigkeit, P sowohl aus organischen als auch aus anorganischen Quellen sowie Zn aus verschiedenen Quellen freizusetzen, sollten angesichts der Komplexität der Bodenbedingungen im Vergleich zu In-vitro-Umgebungen weitere Studien zu ihren Wechselwirkungen durchgeführt werden, bevor über Anwendungen nachgedacht wird. Weitere Studien sollten auch die kombinierten Auswirkungen dieser PSMs und ZnSMs aus verschiedenen Umgebungen untersuchen, mit dem Ziel, einen zusammengesetzten Biodünger mit hochwertigeren und multifunktionalen Eigenschaften zu entwickeln. Dies könnte die Bioverfügbarkeit von P und Zn steigern und ihre Wirksamkeit unter Feldbedingungen verbessern, trotz herausfordernder Faktoren wie Bodeneigenschaften, Umweltbedingungen und Konkurrenz mit einheimischen Bodenmikroorganismen.

Beiträge der Autoren: Konzeptualisierung, SI-V., AA und JMV; Methodik, SI-V. und AA; formale Analyse, SI-V.; Schreiben – Vorbereitung des Originalentwurfs, SI-V.; Schreiben – Überprüfung und Bearbeitung, SI-V., AA, BR und JMV; Visualisierung, SI-V.; Überwachung, JMV; Mittelbeschaffung, JMV. Alle Autoren haben die veröffentlichte Version des Manuskripts gelesen und stimmen ihr zu.

Finanzierung: Diese Forschung wurde durch die USDA-ARS-Pulse Crop Health Initiative mit der Zuschussnummer 58-30602032 finanziert.

Erklärung zur Datenverfügbarkeit: Die Daten, die die Ergebnisse dieser Studie stützen, sind auf angemessene Anfrage beim entsprechenden Autor erhältlich.

Interessenkonflikte: Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte bestehen.

Verweise

- Hawkesford, M.; Horst, W.; Kichey, T.; Lambers, H.; Schjoerring, J.; Møller, IS; White, P. Kapitel 6 – Funktionen von Makronährstoffen. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3. Auflage; Marschner, P., Hrsg.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2012; S. 135–189, ISBN 978-0-12-384905-2.
- Cakmak, I.; Kutman, UB Agronomische Biofortifizierung von Getreide mit Zink: Eine Übersicht. *Eur. J. Soil Sci.* **2018**, *69*, 172–180. [\[CrossRef\]](#)
- Haroön, M.; Khan, S.; Malik, A. Zinklösliche Bakterien: Eine Möglichkeit, die Zinkaufnahme von Pflanzen zu erhöhen. In *Mikrobielle Biodünger und Mikronährstoffverfügbarkeit*; Springer: Cham, Schweiz, 2022; S. 207–238, ISBN 978-3-030-76608-5.
- Prasad, R.; Shivay, Y.; Kumar, D. Kapitel Zwei. Agronomische Biofortifizierung von Getreidekörnern mit Eisen und Zink. In *Advances in Agronomy*; Elsevier: Amsterdam, Niederlande, 2014; Band 125, S. 55–91, ISBN 978-0-12-800137-0.
- Zhu, J.; Li, M.; Whelan, M. Phosphoraktivatoren tragen zur Phosphorverfügbarkeit in landwirtschaftlichen Böden bei: Eine Übersicht. *Sci. Total Environ.* **2018**, *612*, 522–537. [\[CrossRef\]](#)
- Dinesh, R.; Srinivasan, V.; Hamza, S.; Sarathambal, C.; Anke Gowda, SJ; Ganeshamurthy, AN; Gupta, SB; Aparna Nair, V.; Subila, KP; Lijina, A.; et al. Isolierung und Charakterisierung potenzieller Zn-solubilisierender Bakterien aus dem Boden und ihre Auswirkungen auf die Zn- Freisetzungsraten im Boden, im Boden verfügbares Zn und den Zn-Gehalt von Pflanzen. *Geoderma* **2018**, *321*, 173–186. [\[CrossRef\]](#)
- Li, H.-P.; Han, Q.-Q.; Liu, Q.-M.; Gan, Y.-N.; Rensing, C.; Rivera, WL; Zhao, Q.; Zhang, J.-L. Rolle phosphatlöslicher Bakterien bei der Vermittlung der Phosphorverfügbarkeit im Boden. *Microbiol. Res.* **2023**, *272*, 127375. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Gupta, DK; Chatterjee, S.; Datta, S.; Veer, V.; Walther, C. Rolle von Phosphatdüngern bei der Aufnahme von Schwermetallen und der Entgiftung von giftigen Metalle. *Chemosphere* **2014**, *108*, 134–144. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mahanty, T.; Bhattacharjee, S.; Goswami, M.; Bhattacharyya, P.; Das, B.; Ghosh, A.; Tribedi, P. Biofertilizers: Ein möglicher Ansatz für eine nachhaltige Landwirtschaftsentwicklung. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*, 3315–3335. [\[CrossRef\]](#)
- Xu, J.; Fan, L.; Xie, Y.; Wu, G. Recycling-Gleichgewichtsstrategie zur Kontrolle der Phosphogips-Verschmutzung in Phosphatdüngemittelfabriken. *Prod.* **2019**, *215*, 175–197. [\[CrossRef\]](#)
- Indraratne, SP; Spengler, M.; Hao, X. Rindergüllebelastung und Auswirkungen auf die Kupfer- und Zinkverfügbarkeit bei Regenfeldbau und bewässerten Bedingungen. *Can. J. Soil. Sci.* **2021**, *101*, 305–316. [\[CrossRef\]](#)
- Aboyeji, C.; Dunsin, O.; Aruna Olasekan, A.; Suleiman, K.; Chinedum, C.; Faith, O.; Joseph, A.; Ejue, W.; Adesola, O.; Olofintoye, J.; et al. Synergistische und antagonistische Auswirkungen von im Boden angewendeten P- und Zn-Düngemitteln auf die Leistung, Mineralien und Schwermetallzusammensetzung von Erdnüssen. *Open Agric.* **2020**, *5*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
- Pavinato, PS; Cherubin, MR; Soltangheisi, A.; Rocha, GC; Chadwick, DR; Jones, DL Aufdeckung von Phosphorvorkommen im Boden zur Förderung einer nachhaltigen Landwirtschaft in Brasilien. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 15615. [\[CrossRef\]](#)
- Sánchez-Rodríguez, AR; Rey, M.-D.; Nechate-Drif, H.; Castillejo, M.Á.; Jorrín-Novo, JV; Torrent, J.; del Campillo, MC; Sacristán, D. Kombination von P- und Zn-Düngung zur Verbesserung von Ertrag und Kornqualität bei auf mediterranen Böden angebautem Mais. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 7427. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zou, T.; Zhang, X.; Davidson, EA Globale Trends der Phosphornutzung auf Ackerland und Nachhaltigkeits Herausforderungen. *Nature* **2022**, *611*, 81–87. [\[CrossRef\]](#)
- Afkairin, A.; Dixon, MM; Buchanan, C.; Ippolito, JA; Manter, DK; Davis, JG; Vivanco, JM Nutzung von phosphor (P) düngemittelunempfindlichen Bakterien zur Verbesserung der P-Bioverfügbarkeit in der Rhizosphäre von Leguminosen. *Microorganisms* **2024**, *12*, 353. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- FAO. Die Zukunft der Ernährung und Landwirtschaft: Trends und Herausforderungen; Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen: Rom, Italien, 2017; ISBN 978-92-5-109551-5.
- Natasha, N.; Shahid, M.; Bibi, I.; Iqbal, J.; Khalid, S.; Murtaza, B.; Bakhat, HF; Farooq, ABU; Amjad, M.; Hammad, HM; et al. Zink im Boden-Pflanze-Mensch-System: Eine Datenanalyse. *Sci. Total Environ.* **2022**, *808*, 152024. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dixon, MM; Afkairin, A.; Davis, JG; Chitwood-Brown, J.; Buchanan, CM; Ippolito, JA; Manter, DK; Vivanco, JM Die Domestizierung von Tomaten anstelle nachfolgender Züchtungsprozesse reduziert mikrobielle Assoziationen im Zusammenhang mit der Phosphorrückgewinnung. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 9934. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kaur, R.; Kaur, S. Variationen bei den phosphatlöslichen Bakterien aus jungfräulichen und landwirtschaftlichen Böden des Punjab. *Curr. Microbiol.* **2020**, *77*, 2118–2127. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- He, Y.; Pantigoso, HA; Wu, Z.; Vivanco, JM Die gleichzeitige Inokulation von *Bacillus* sp. und *Pseudomonas putida* in verschiedenen Entwicklungsstadien wirkt als Biostimulans und fördert Wachstum, Ertrag und Nährstoffaufnahme von Tomaten. *J. Appl. Microbiol.* **2019**, *127*, 196–207. [\[Querverweis\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Tariq, MR; Shaheen, F.; Mustafa, S.; ALI, S.; Fatima, A.; Shafiq, M.; Safdar, W.; Sheas, MN; Hameed, A.; Nasir, MA Aus Heilpflanzen isolierte phosphatlösliche Mikroorganismen verbessern das Wachstum von Minze. *PeerJ* **2022**, *10*, e13782. [\[CrossRef\]](#)

23. Wang, C.; Pan, G.; Lu, X.; Qi, W. Phosphorlösliche Mikroorganismen: Potentielle Förderer landwirtschaftlicher und ökologischer Ingenieurwesen. Vorderseite. Bioeng. Biotechnol. **2023**, *11*, 1181078. [\[CrossRef\]](#)
24. Armandeh, M.; Mahmoudi, N.; Nosratabad, A. Screening und Bewertung von phosphatlöslichen Bakterien aus Aquakulturreichen in einer schrittweisen Strategie als potenzieller Biodünger. J. Appl. Microbiol. **2022**, *133*, 15660. [\[CrossRef\]](#)
25. Pantigoso, HA; He, Y.; Manter, DK; Fonte, SJ; Vivanco, JM Phosphor-solubilisierende Bakterien, isoliert aus der Rhizosphäre der Wildkartoffel *Solanum bulbocastanum*, steigern das Wachstum moderner Kartoffelsorten. Bull. Natl. Res. Cent. **2022**, *46*, 224. [\[CrossRef\]](#)
26. Tallapragada, P. Solubilisierung verschiedener anorganischer Phosphate durch *Aspergillus niger* und *Penicillium oxalicum*. Adv. Bioresearch **2015**, *6*, 113–119.
27. Iqbal, U.; Jamil, N.; Ali, I.; Hasnain, S. Wirkung von Zinkphosphat-solubilisierenden Bakterienisolaten auf das Wachstum von *Vigna radiata*. Ann. Microbiol. **2010**, *60*, 243–248. [\[CrossRef\]](#)
28. Zaheer, A.; Malik, A.; Sher, A.; Mansoor Qaisrani, M.; Mehmood, A.; Ullah Khan, S.; Ashraf, M.; Mirza, Z.; Karim, S.; Rasool, M. Isolierung, Charakterisierung und Wirkung phosphat-zinklöslicher Bakterienstämme auf das Wachstum von Kichererbsen (*Cicer arietinum* L.). Saudi J. Biol. Sci. **2019**, *26*, 1061–1067. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Shaikh, S.; Saraf, M. Optimierung der Wachstumsbedingungen für Zink solubilisierende, pflanzenwachstumsassoziierte Bakterien und Pilze. J. Adv. Res. Biotechnol. **2017**, *2*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
30. Eshaghi, E.; Nosrati, R.; Owlia, P.; Malboobi, MA; Ghaseminejad, P.; Ganjali, MR Zinksolubilisierungseigenschaften effizienter siderophorproduzierender Bodenbakterien. Iran. J. Microbiol. **2019**, *11*, 419–430. [\[CrossRef\]](#)
31. Ahmad, I.; Ahmad, M.; Hussain, A.; Jamil, M. Integrierte Nutzung des phosphatlöslichen *Bacillus subtilis* Stamms IA6 und des zinklöslichen *Bacillus* sp. Stamms IA16: Ein vielversprechender Ansatz zur Verbesserung des Baumwollwachstums. Folia Microbiol. **2021**, *66*, 115–125. [\[Querverweis\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Bolo, P.; Mucheru-Muna, MW; Mwirichia, RK; Kinyua, M.; Ayaga, G.; Kihara, J. Einfluss der Stallmistanwendung auf die potenzielle Zink solubilisierende mikrobielle Artenvielfalt in einem Ferralsol im Westen Kenias. Agriculture **2023**, *13*, 2217. [\[CrossRef\]](#)
33. Bolo, P.; Kihara, J.; Mucheru-Muna, M.; Njeru, EM; Kinyua, M.; Sommer, R. Die Anwendung von Rückständen, anorganischem Dünger und Kalk beeinflusst Phosphor solubilisierende Mikroorganismen und mikrobielle Biomasse unter verschiedenen Bodenbearbeitungs- und Anbausystemen in einem Ferralsol. Geoderma **2021**, *390*, 114962. [\[CrossRef\]](#)
34. Li, J.; Lu, J.; Wang, H.; Fang, Z.; Wang, X.; Feng, S.; Wang, Z.; Yuan, T.; Zhang, S.; Ou, S.; et al. Eine umfassende Synthese enthüllt die Geheimnisse phosphatlöslicher Mikroben. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. **2021**, *96*, 2771–2793. [\[CrossRef\]](#)
35. Fernández, LA; Agaras, B.; Wall, LG; Valverde, C. Häufigkeit und Ribotypen phosphatsolubilisierender Bakterien in argentinischen landwirtschaftliche Böden unter Direktsaat. Ann. Microbiol. **2015**, *65*, 1667–1678. [\[CrossRef\]](#)
36. Jayakumar, P.; Gurusamy, R.; Sakthivel, N. Mikrobiom von rhizosphärischem Boden und Wurmkompost und ihre Anwendung in Bodenfruchtbarkeit, Schädlings- und Krankheitserregermanagement für nachhaltige Landwirtschaft. In Bodenfruchtbarkeitsmanagement für nachhaltige Entwicklung; Springer: Singapur, 2019; S. 189–210, ISBN 9789811359033.
37. Matteoli, FP; Passarelli-Araujo, H.; Reis, RJA; da Rocha, LO; de Souza, EM; Aravind, L.; Olivares, FL; Venancio, TM Genomsequenzierung und Bewertung der pflanzenwachstumsfördernden Eigenschaften eines aus Wurmkompost isolierten *Serratia marcescens*-Stammes. BMC-Genom. **2018**, *19*, 750. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Hameeda, B.; Harini, G.; Rupela, OP; Wani, SP; Reddy, G. Wachstumsförderung von Mais durch phosphatsolubilisierende Bakterien isoliert aus Kompost und Makrofauna. Microbiol. Res. **2008**, *163*, 234–242. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Karnwal, A. *Pseudomonas* spp., ein Zink-Zulubilisierendes Wurmkompostbakterium mit pflanzenwachstumsfördernder Wirkung, mildert Zink Biofortifizierung in Tomaten. Int. J. Veg. Sci. **2021**, *27*, 398–412. [\[CrossRef\]](#)
40. Rodríguez, JB; Self, JR; Soltanpour, PN Optimale Bedingungen für die Phosphoranalyse mit der Ascorbinsäure-Molybdänblau- Methode. Soil Sci. Soc. Am. J. **1994**, *58*, 866–870. [\[CrossRef\]](#)
41. Nautiyal, CS Ein effizientes mikrobiologisches Wachstumsmedium zum Screening phosphatlöslicher Mikroorganismen. FEMS Microbiol. Lett. **1999**, *170*, 265–270. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Li, KS; Zeghbrock, JV; Liu, Q.; Zhang, S. Isolierung und Charakterisierung von phosphorlöslichen Bakterien aus Rhizosphären von einheimische Pflanzen, die in kalkhaltigen Böden wachsen. Front. Environ. Sci. **2021**, *9*, 802563. [\[CrossRef\]](#)
43. Nguyen, C.; Yan, W.; Le Tacon, F.; Lapeyrie, F. Genetische Variabilität der Phosphat-Solubilisierungsaktivität durch monokaryotische und dikaryotische Myzelien des Ektomykorrhizapilzes *Laccaria bicolor* (maire) pd orton. Plant Soil **1992**, *143*, 193–199. [\[CrossRef\]](#)
44. Mittal, V.; Singh, O.; Nayyar, H.; Kaur, J.; Tewari, R. Stimulierende Wirkung phosphatlöslicher Pilzstämme (*Aspergillus awamori* und *Aenicillium citrinum*) auf den Ertrag von Kichererbsen (*Cicer arietinum* L. cv. gpf2). Soil Biol. Biochem. **2008**, *40*, 718–727. [\[Querverweis\]](#)
45. Afkairin, A.; Ippolito, JA; Stromberger, M.; Davis, JG Solubilisierung von organischen Phosphorquellen durch Cyanobakterien und eine kommerziell erhältliches Bakterienkonsortium. Appl. Soil Ecol. **2021**, *162*, 103900. [\[CrossRef\]](#)
46. Yu, G.; Smith, DK; Zhu, H.; Guan, Y.; Lam, TT-Y. Ggtree: Ein r-Paket zur Visualisierung und Annotation von phylogenetischen Bäumen mit ihren Kovariaten und anderen zugehörigen Daten. Methods Ecol. Evol. **2017**, *8*, 28–36. [\[CrossRef\]](#)
47. Brazhnikova, YV; Shaposhnikov, AI; Sazanova, AL; Belimov, AA; Mukasheva, TD; Ignatova, LV Phosphatmobilisierung durch kultivierbare Pilze und ihre Fähigkeit, die P-Verfügbarkeit im Boden zu erhöhen und das Gerstenwachstum zu fördern. Curr. Microbiol. **2022**, *79*, 240. [\[Querverweis\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Kkan, A.; Jilani, G.; Akhtar, M.; Naqvi, SMS; Rasheed, M.; Khan, A.; Akhtar, M.; Muhammad, S.; Naqvi, S.; Rasheed, M. Phosphorlösliche Bakterien: Vorkommen, Mechanismen und ihre Rolle im Pflanzenbau. J. Agric. Biol. Sci. **2009**, *1*, 48–58.

49. Sharma, SB; Sayyed, RZ; Trivedi, MH; Gobi, TA Phosphatlösliche Mikroben: Nachhaltiger Ansatz zur Bekämpfung Phosphormangel in landwirtschaftlichen Böden. SpringerPlus **2013**, *2*, 587. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Hassan, M.; Awad, M. Molekulare Charakterisierung des phosphatlöslichen Pilzes *Aspergillus niger* und seine Korrelation mit nachhaltige Landwirtschaft. J. Environ. Biol. **2020**, *41*, 592–599. [\[CrossRef\]](#)
51. Yadav, LS; Kushwaha, V.; Jain, A. Isolierung und Screening von phosphatlöslichen Pilzen aus Okra-Rhizosphärenboden und ihre Auswirkung auf das Wachstum der Okrapflanze (*Abelmoschous esculentus* L.). Trop. Plant Res. **2020**, *7*, 277–284. [\[CrossRef\]](#)
52. Tian, J.; Ge, F.; Zhang, D.; Deng, S.; Liu, X. Rollen phosphatlöslicher Mikroorganismen von der Bewältigung von Phosphormangel im Boden bis zur Vermittlung des biogeochemischen Phosphorkreislaufs. Biology **2021**, *10*, 158. [\[CrossRef\]](#)
53. Alori, ET; Glick, BR; Babalola, OO Mikrobielle Phosphorsolubilisierung und ihr Nutzungspotenzial in der nachhaltigen Landwirtschaft. Vorderseite. Microbiol. **2017**, *8*, 971. [\[CrossRef\]](#)
54. Rawat, P.; Das, S.; Shankhdhar, D.; Shankhdhar, S. Phosphat-solubilisierende Mikroorganismen: Mechanismus und ihre Rolle in Phosphatsolubilisierung und -aufnahme. J. Soil Sci. Plant Nutr. **2020**, *21*, 49–68. [\[CrossRef\]](#)
55. Selvi, K.; JJA, P.; Velu, V.; K, S. Analyse der Wirksamkeit phosphatsolubilisierender Mikroorganismen durch Anreicherungskulturtechniken. Biochem. Mol. Biol. J. **2017**, *3*, 1–7. [\[CrossRef\]](#)
56. Turan, M.; Ataoğlu, N.; Sahin, F. Bewertung der Kapazität von phosphatlöslichen Bakterien und Pilzen auf verschiedene Formen von Phosphor in Flüssigkultur. J. Sustain. Agric. **2006**, *28*, 99–108. [\[CrossRef\]](#)
57. Suleman, D.; Sani, A.; Suaib, S.; Ambardini, S.; Yanti, NA; Boer, D.; Yusuf, DN; Faad, H. Isolierung und Identifizierung potenzieller Bioinokulantien auf Basis phosphatlöslicher Schimmelpilze aus verschiedenen pflanzlichen Rhizosphären. KnE Life Sci. **2022**, *7*, 99–109. [\[CrossRef\]](#)
58. Xiao, C.-Q.; Chi, R.-A.; Huang, X.-H.; Zhang, W.-X.; Qiu, G.-Z.; Wang, D.-Z. Optimierung der Rohphosphat-Solubilisierung durch Phosphat-solubilisierende Pilze aus Phosphatminen. Ecol. Eng. **2008**, *2*, 187–193. [\[CrossRef\]](#)
59. Zhang, X.; Rajendran, A.; Grimm, S.; Sun, X.; Lin, H.; He, R.; Hu, B. Screening von auf Kalzium und Eisen ausgerichtetem Phosphor Solubilisierung von Pilzen für die landwirtschaftliche Produktion. Rhizosphere **2023**, *26*, 100689. [\[CrossRef\]](#)
60. Weyers, E.; Strawn, DG; Peak, D.; Moore, AD; Baker, LL; Cade-Menun, B. Phosphorspeziation in kalkhaltigen Böden nach jährliche Güllezusätze für Milchviehbetriebe. Soil Sci. Soc. Am. J. **2016**, *80*, 1531–1542. [\[CrossRef\]](#)
61. Afkairin, A.; Stromberger, M.; Storteboom, H.; Wickham, A.; Sterle, DG; Davis, JG Reaktionen der Bodenmikrobengemeinschaft auf Cyanobakterien im Vergleich zu herkömmlichen organischen Düngemitteln. Agriculture **2023**, *13*, 1902. [\[CrossRef\]](#)
62. Dixon, M.; Simonne, E.; Obreza, T.; Liu, G. Reaktion von Nutzpflanzen auf niedrige Phosphor-Bioverfügbarkeit mit Schwerpunkt auf Tomaten. Agronomie **2020**, *10*, 617. [\[CrossRef\]](#)

Haftungsausschluss/Anmerkung des Herausgebers: Die in allen Veröffentlichungen enthaltenen Aussagen, Meinungen und Daten sind ausschließlich die der einzelnen Autoren und Mitwirkenden und nicht die von MDPI und/oder den Herausgebern. MDPI und/oder die Herausgeber lehnen jegliche Verantwortung für Personen- oder Sachschäden ab, die aus den im Inhalt erwähnten Ideen, Methoden, Anweisungen oder Produkten resultieren.