



Статья

Выделение разнообразных веществ, солюбилизирующих фосфат и цинк. Микроорганизмы из разных сред

Самира Ислас-Вальдес 1,2,† , Антисар Афкаирин 1,† , Бенджамин Ровнер ¹ и Хорхе М. Виванко 1,*¹ Факультет садоводства и ландшафтной архитектуры, Университет штата Колорадо, Форт-Коллинз, Колорадо 80523, США; lij15@txstate.edu (SI-V.); antisar.afkairin@colostate.edu (AA); ben.rovner@colostate.edu (Бразилия)² Департамент сельскохозяйственных наук, Техасский государственный университет, Сан-Маркос, Техас 78666, США

* Переписка: j.vivanco@colostate.edu; Тел.: +1-970-491-7170; Факс: 970-491-4895

† Эти авторы внесли одинаковый вклад в эту работу.

Аннотация: В этом исследовании рассматривается задача поиска новых способов растворения фосфора и цинка для сельскохозяйственных целей. Цель состояла в том, чтобы изолировать PSM (микробы, солюбилизирующие фосфор) и ZnSM (микробы, солюбилизирующие цинк) из различных сред (например, почвенных удобрений, землепользования и систем севооборота) и оценить их способность растворять различные нерастворимые источники Р (например, β-трикальцийфосфат (β-ТСР), фитат кальция (СаР) и фосфоритная смесь (RP)) и источники цинка (например, карбонат цинка (ZnC), оксид цинка (ZnO) и фосфат цинка (ZnP)). Здесь было выделено и классифицировано по видам 25 изолятов, способных растворять источники Р или Zn, с использованием секвенирования 16S рРНК и ITS-области. Примечательно, что наиболее эффективными РСМ и ZnSM оказались *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* и *Mucor circinelloides*, выделенные из окультуренных почв и почвенных удобрений. *Mucor circinelloides* продемонстрировал самую высокую солюбилизирующую способность для бульонов, содержащих β-ТСР, СаР, RP, ZnO и ZnP, с log2-кратными изменениями в 3,7, 1,8, 8,9, 7,8 и 2,4 соответственно по сравнению с контролем. Что касается ZnC и ZnO, *Aspergillus awamori* продемонстрировал самую высокую растворимость Zn с изменением в 2,1 и 3,0 log2 раза. Исследование подчеркивает потенциал этих штаммов в качестве биоудобрений и роль родов *Mucor* и *Fusarium* в солюбилизации цинка.



Цитирование: Ислас-Вальдес, С.; Афкаирин, А.; Ровнер, Б.; Виванко, Дж. М. Выделение

разнообразных фосфат- и цинк-

растворимых микроорганизмов из различных сред. Прил.

Микробиол. 2024, 4, 1042–1056.

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

applmicrobiol4030071

Научный редактор: Елена Тамбурини

Поступила: 7 июня 2024 г.

Пересмотрено: 2 июля 2024 г.

Принято: 4 июля 2024 г.

Опубликовано: 7 июля 2024 г.



Копирайт: © 2024 авторов.

Лицензиат MDPI, Базель, Швейцария.

Эта статья находится в открытом доступе. распространяется на условиях и условия Creative Commons

Лицензия с указанием авторства (CC BY)

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

Ключевые слова: Р-солюбилизирующие микроорганизмы; Zn-солюбилизирующие микроорганизмы; поправки к почве; окультуренные почвы; бактерии; грибы

1. Введение

Фосфор (Р) и цинк (Zn) являются важными питательными веществами, необходимыми для развития растений, урожайности и качества зерна [1]. Тем не менее, более 30% возделываемых почв во всем мире являются щелочными с высоким содержанием карбоната кальция, что препятствует усвоению питательных веществ [2–4]. Хотя удобрения Р и Zn устраняют эти недостатки, более 80% применений приводят к образованию труднорастворимых питательных веществ из-за образования нерастворимых форм Р и Zn [5,6]. К ним относятся трикальцийфосфат (ТСР) и фитат кальция (СаР) для Р [5,7] и для соединений Zn, таких как смитсонит (ZnC, карбонат цинка), цинкит (ZnO, оксид цинка) и гопеит (ZnP, цинковый карбонат). фосфат [3]. Эти нерастворимые соединения известны как наследие Р и Zn в почве [8–14].

Ограниченное и неравномерное распределение фосфоритов (RP) резервирует дальнейший рост цен на фосфорные удобрения [15,16]. Кроме того, более 50% почв, возделываемых зерновыми, во всем мире испытывают дефицит цинка, доступного для растений [2,4,5], что затрагивает 30% населения мира [17,18].

Усилия по решению проблемы дефицита цинка посредством агрономической биофортификации зерновых культур (например, пшеницы и кукурузы) сталкиваются с трудностями из-за высоких затрат на цинковые удобрения [2,4].

Использование микроорганизмов, растворяющих Р и Zn (PSM и ZnSM), является экологически чистой и экономически эффективной стратегией переработки устаревших питательных веществ Р и Zn в почве. В эту разнообразную группу входят различные бактерии (например, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* и *Burkholderia*) и грибы (например, *Penicillium*, *Fusarium* и *Aspergillus*) [5,19]. Основная проблема в PSM

выделение — это обычное использование бета-трикальцийфосфата (β -ТКФ) в качестве единственного источника фосфора для идентификации ПСМ [20,21]. Этот метод обсуждается, поскольку бета-трикальцийфосфат неточно представляет разнообразные и сложные формы недоступного фосфора, обнаруженного в природных почвах, что может привести к расхождениям и завышенным оценкам эффективности ФСМ в лабораторных условиях по сравнению с полевыми условиями. Таким образом, для выделения фосфатсолюбилизирующих микроорганизмов (ПСМ) рекомендуется использовать комбинацию нерастворимых источников фосфора, таких как фитин, фосфорнокислая руда (РФ) и фосфат цинка (ZnP) [22,23]. Это связано с тем, что использование одного источника, такого как трикальцийфосфат (ТКФ), имеет ограничения, поскольку многие штаммы, отобранные таким образом, неэффективны в отношении других нерастворимых соединений фосфора и в сельскохозяйственных условиях. Использование нескольких недоступных источников фосфора увеличивает вероятность выделения разнообразного и эффективного диапазона ПСМ, которые лучше подходят для различных почвенных условий [24–26]. Более того, хотя подходы с использованием одного инокулята, объединяющие ПСМ и $ZnSM$, широко изучены, эти подходы обычно проверяют только один тип нерастворимого источника Р и Zn [27–30]. Ограниченная информация доступна о консорциумах ПСМ и $ZnSM$, которые также были протестированы, хотя и с единственным нерастворимым источником Р и Zn [31]. Следовательно, использование консорциумов ПСМ и $ZnSM$ или отдельных штаммов, способных солюбилизовать несколько нерастворимых источников Р и Zn , может оказаться более эффективной стратегией решения проблемы дефицита Р и Zn в сельскохозяйственных

Понимание плотности популяций Р- и Zn -растворимых микроорганизмов (ПСМ и $ZnSM$) в различных средах имеет решающее значение для эффективного скрининга этих микробов. Например, было показано, что методы управления почвой, включая внесение удобрений в почву, совмещение культур или севооборот, увеличивают разнообразие и численность ПСМ и $ZnSM$ [32,33]. Ли и др. [34] сообщили, что ПСМ и $ZnSM$ более плотно заселены в ризосфере, насыпных почвах, компосте и корнях растений, чем в отложениях или водоемах. Землепользование также играет роль: невозделываемые почвы (например, лесные почвы) содержат более богатое разнообразие микробов по сравнению с сельскохозяйственными, пастбищными и шахтными почвами [20,34].

И наоборот, Фернандес и др. [35] сообщили, что структура сообщества ПСМ была на 81% выше в возделываемой почве, чем в естественных почвах (например, на лугах), и отметили различия между отдельными возделываемыми почвами. Эта разница была особенно выражена на возделываемых почвах в системах севооборота (бобово-пшеница) по сравнению с системами монокультуры [3]. В отличие от химических удобрений, которые могут отрицательно повлиять на здоровье почвы, набирают популярность удобрения на основе отходов, такие как биогумус и компост [36]. Эти удобрения на основе отходов известны своим богатым микробным разнообразием, включая роды, способные растворять Р и Zn [37–39]. Таким образом, настоящее исследование предположило, что скрининг микробов из разных сред поможет в выборе элитных ПСМ и $ZnSM$.

Настоящее исследование представляет новый подход к выделению ПСМ и $ZnSM$. Для достижения этой цели наши цели заключались в том, чтобы (1) изолировать ПСМ и $ZnSM$ из разных сред, в том числе с различным землепользованием, системами севооборота и почвенными улучшениями, и (2) количественно и качественно проверить ПСМ и $ZnSM$, способные растворения различных труднорастворимых источников Р (т.е. TCP, CaP и RP) и источников Zn (т.е. ZnC , ZnO и ZnP). Эти полезные микробы потенциально могут быть использованы в сельскохозяйственном биоудобрении.

2. Материалы и методы

2.1. Сбор проб почвы и внесение изменений в почву

В мае 2023 года образцы верхнего слоя почвы (глубиной 5–15 см) были собраны в Центре сельскохозяйственных исследований, разработок и образования (ARDEC) Университета штата Колорадо в Форт-Коллинзе, Колорадо (40°36'36,9" с.ш. и 104°59' с.ш.). '38,2" В). Согласно Всемирной справочной базе почвенных ресурсов (WRB), лесная почва (FS) классифицируется как лувисоль, сельскохозяйственные почвы, в том числе пшенично-ячменная почва (WBS), кукурузно-сорговая почва (CSS) и пинто-виговая почва (PCS), относят к черноземам. Эти образцы были получены из сельскохозяйственных почв при различных севооборотах, включая пшеницу-ячмень (ППП), кукурузу-сорго (КСС) и фасоль пинто-вигна (ПКС). Кроме того, образцы верхнего слоя почвы (глубиной 5–15 см) были взяты из невозделываемой лесной почвы (FS) в каньоне Пудре, расположенном на горе Грейрок в Форт-Коллинзе, штат Колорадо. Один составной образец с каждого участка (т. е. сельскохозяйствен

и невозделанные почвы) был получен из шести проб, которые были случайно собраны и затем гомогенизируют. Исследование также включало изучение двух изменений в почве: чистое органическое удобрение червячного лиття (WSA, UNCO Industries, Inc., Юнион Гроув, Висконсин, США) и про овец и торфяной компост (CSA, Permagreen Organics, Co., Арвада, Колорадо, США), оба приобретены у коммерческих поставщиков. Все собранные образцы хранились в 4 С до дальнейшего биологического анализа для оценки их влияния на выделение потенциальных PSM и ZnSM с учетом различных методов управления почвами. Физико-химический Характеристика как образцов почвы, так и почвенных поправок (табл. 1) проводилась с использованием следующие методы: соотношение почвы и воды 1:1 для измерения pH, экстрагируемый DTPA Zn-метод для анализа цинка, метод потерь при прокаливании для определения органических веществ, и метод Менлиха 3 для определения фосфора. Эти анализы были выполнены Уордом Laboratories, Inc. (Кирни, Небраска, США). Превращение фосфора в доступную форму на растения существенно влияют свойства почвы, особенно pH и содержание железа. Эти Факторы влияют на доступность фосфора путем образования растворимых или нерастворимых комплексов. Для Для выделения эффективных фосфорсольюбилизирующих микроорганизмов (ПСМ) крайне важно выбирайте субстраты, которые точно имитируют естественные почвенные условия. Такой подход обеспечивает что выделенные микроорганизмы эффективны не только в лабораторных условиях, но и также способны повысить доступность фосфора в различных сельскохозяйственных условиях. Таким образом, при выборе подложки мы руководствовались этими соображениями, направленными на оптимизацию практической эффективности. применимость изолированных ПСМ.

Таблица 1. Физико-химические свойства сред, выбранных для выделения ПСМ и ZnSM.

Параметры	ФС	ССS	PCS	WBS	CSA	WSA
pH почвы	7.1	8,3	8,6	8.4	8,9	7.2
Доступный Р (мг кг-1)	15	91	73	65	1746	786
Доступный Zn (мг кг-1)	1,62	1,46	1,83	1,36	133,5	119,9
Органическая материя (%)	4.3	2,7	2.6	3.0	19.2	43,5

ФС: лесная почва; ССС: кукурузно-кукурузная почва; PCS: фасоль пинто – вигна; WBS: пшенично-ячменная почва; CSA: добавка к компостной почве ; WSA: червячная добавка к почве.

2.2. Предварительный скрининг и выделение PSM и ZnSM

Для выделения ПСМ и ZnSM в мае 2023 г. по 1 г каждой почвы или поправки. образец гомогенизировали в 9 мл стерильного 0,85% физиологического раствора с последующим 10-кратным серийным разведение (от 10-1 до 10-10) по модифицированной методике [40]. В результате были приостановлены высевали в трех экземплярах на агар для подсчета чашек (PCA, EM Industries, Inc., Дармштадт, Германия) и инкубировали при 30 С в течение ночи для определения разведения, из которого можно было подсчитайте колониеобразующие единицы (КОЕ) для дальнейших исследований.

Для PSM — аликвота серийного разведения объемом 100 мл с указанием количества жизнеспособных колоний каждого суспензию наносили на фосфат Национального института ботанических исследований (NBRIP). средний агар [41] с добавлением β-трикальцийфосфата (β-TCP) (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США), фитат кальция (CaP) (TCI America, Портленд, Орегон, США) или рок фосфат (РФ). Среду NBRIP для RP модифицировали добавлением бромфенолового синего. краситель в концентрации, указанной Li et al. [42] для улучшения визуализации. После семи дни инкубации при 30 С, PSM с прозрачными ореолами (т.е. для β-TCP и CaP) или желтыми ореолами (т.е. для RP) очищали путем пятикратного нанесения штрихов на планшеты со средой NBRIP для получения чистого штаммы. Очищенные штаммы консервировали при -80 С в картофельно-декстрозном бульоне (PDB, Difco Laboratories, Спаркс, Мэриленд, США) с добавлением 50% (по объему) глицерина (Sigma-Aldrich, МО) для дальнейшего анализа.

Аналогичным образом анализировали аликвоту серийного разведения объемом 100 мл с количеством жизнеспособных колоний. оценено для ZnSM на модифицированной среде Пиковской [41] с добавлением 0,1% ZnO (Spectrum Chemical MFG, Нью-Брансуик, Нью-Джерси, США), ZnP (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) или ZnC (MP Biomedicals, LLC, Солон, Огайо, США). Модифицированная Пиковская Среда считается наиболее эффективной средой для скрининга ZnSM [29]. Одинаковый К ZnSM применен метод хранения, аналогичный ПСМ.

2.3. Таксономическая характеристика изолированных

штаммов. В ходе предварительного скрининга в июне 2023 г. из различных сред было получено в общей сложности 25 изолятов, проявляющих способность растворять Р или Zn. Среди этих изолятов 7 штаммов бактерий были идентифицированы посредством анализа 16S рДНК, а 18 штаммов грибов были подвергнуты анализу последовательности гена ITS рДНК. Для идентификации бактерий и грибов отдельные колонии каждого штамма высевали на чашки PDA и инкубировали при 30 °С в течение ночи для получения свежих культур. Впоследствии планшеты PDA были отправлены для выделения и анализа ДНК с использованием услуг по секвенированию ДНК Сэнгера, предоставляемых Azenta Life Sciences-Genewiz, Inc. (Саут-Плейнфилд, Нью-Джерси, США).

2.4. Окончательный скрининг PSM и ZnSM.

Экспериментальная процедура точно повторяла процедуру предварительного скрининга, за исключением того, что для дальнейшего анализа были выбраны только штаммы, стабильно показавшие хорошие результаты в различных средах Р и Zn. Из первоначальных 25 штаммов, выделенных в ходе предварительного скрининга, в общей сложности шесть штаммов были сохранены для дальнейшего анализа. Эти шесть штаммов прошли дополнительное тестирование как в твердом, так и в жидком NBRIP, а также в модифицированной среде Пиковской для выявления штаммов, способных солюбилизовать два или более нерастворимых источника Р и Zn.

Качественная оценка солюбилизации Р и Zn бактериальными изолятами включала инокуляцию 10 мкл логарифмической бактериальной культуры (посевной материал, доведенный до оптической плотности (OD)₆₀₀ = 0,4~2,9 × 10⁸ КОЕ мл⁻¹) в центре NBRIP и модифицированные среды Пиковской, в тех же условиях, что и в эксперименте по предварительному отбору. Для качественной оценки солюбилизации Р и Zn грибными изолятами в центр NBRIP и модифицированной среды Пиковской инокулировали диск диаметром 7 мм. Непривитый NBRIP и модифицированная среда Пиковской служили контролем. Эффективность растворения Р и эффективность растворения Zn рассчитывали по стандартной формуле, как описано Nguyen et al. [43].

Количественная оценка солюбилизации Р и Zn бактериальными изолятами включала инокуляцию 10 мл NBRIP и модифицированного бульона Пиковской (т.е. путем замены β-ТСР на источники Zn) на 100 мкл лог-фазной бактериальной культуры [41]. Эти культуры хранили в инкубаторе-шейкере при 200 об/мин в течение семи дней при температуре 30 °С. Для количественной оценки солюбилизации Р и Zn изолятами грибов использовали методологию, описанную Mittal et al. [44] было проведено. Вкратце, диск диаметром 7 мм инокулировали в 10 мл NBRIP и модифицированного бульона Пиковской. После инкубации супернатант получали центрифугированием при 10 000 об/мин в течение 5 мин и фильтровали через фильтровальную бумагу Whatman 1 [44]. Затем степень солюбилизации Р определяли с использованием модифицированного метода аскорбиновой кислоты при 882 нм [40,45] и измеряли pH с помощью pH-метра (мультиметр HQ40d, Hach, Лавленд, Колорадо, США). Солюбилизацию Zn анализировали в компании Ward Laboratories, Inc. (Кирни, штат Невада, США).

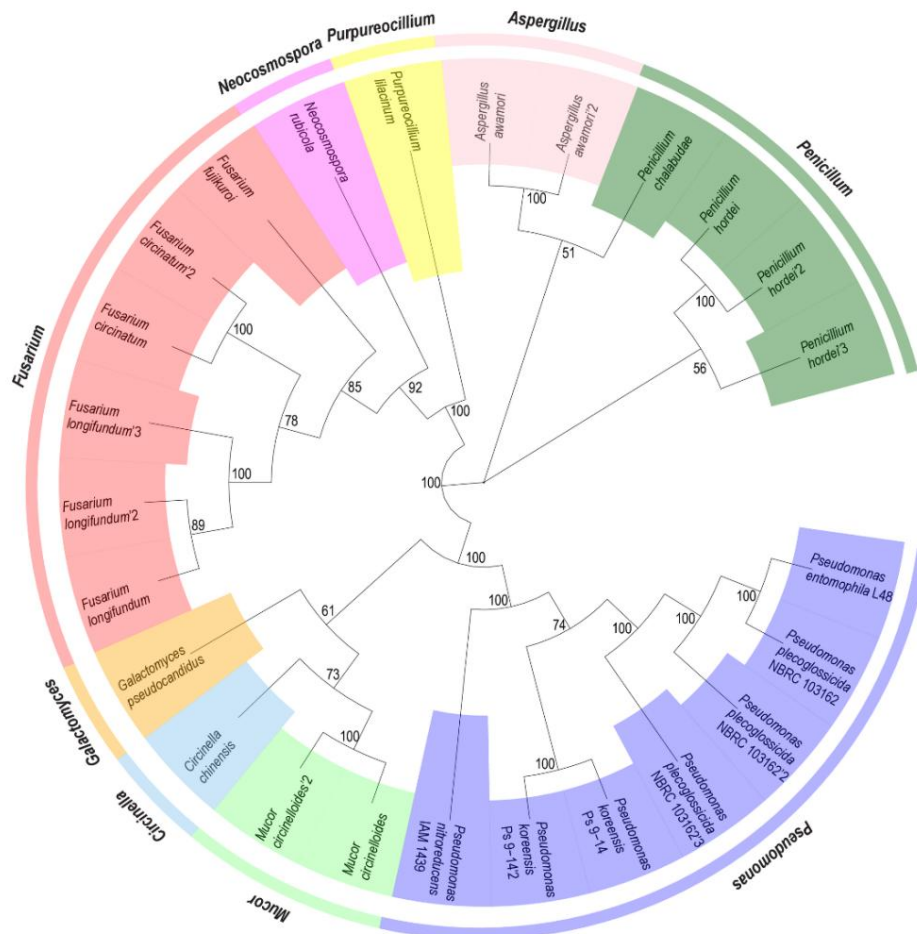
2.5. Статистический анализ.

Филогенетическое дерево было построено с использованием программного обеспечения Мега версии 11 с использованием метода соединения соседей со 100 бутстрап-репликациями. Филогенетическое дерево визуализировали с помощью пакета ggtree [46]. Данные были проанализированы с использованием RStudio Team 2023 версии 4.2.3 (РВС, Бостон, Массачусетс, США). Был проведен однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), а затем апостериорный тест Тьюки HSD. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Допущения модели, включая однородность дисперсии и нормальность остатков, оценивались с использованием теста Шапиро-Уилка, а гомоскедастичность - с использованием теста Левена. Данные, не соответствующие предположениям (т.е. $p < 0,05$), были преобразованы с использованием преобразований sqrt или log. Кроме того, корреляции между изменениями pH и растворимостью Р или Zn в бульонах были проверены с помощью коэффициента корреляции Пирсона ($p < 0,05$) для нормально распределенных наборов данных. Для данных с ненормальным распределением были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмена.

33.Результаты

3.1. Первоначальный скрининг PSM и ZnSM из разных сред

Всего было выделено 25 микрообов, обладающих патогенностью растений и грибов. Из них 7 из 25 семейств и 18 из 25 родов были идентифицированы как бактерии и относятся к классу Proteobacteria, 6 из 25 родов были идентифицированы как грибы и относятся к классу Ascomycota. Среди грибов были обнаружены представители родов *Aspergillus* (2), *Circinella* (1), *Fusarium* (5), *Galactomyces* (1), *Mucor* (2), *Galactomyces* (1), *Mucor* (2), *Neu-Neucosmospora* (1), *Penicillium* (4) и *Purpureocillium* (1).

[illegible][illegible]

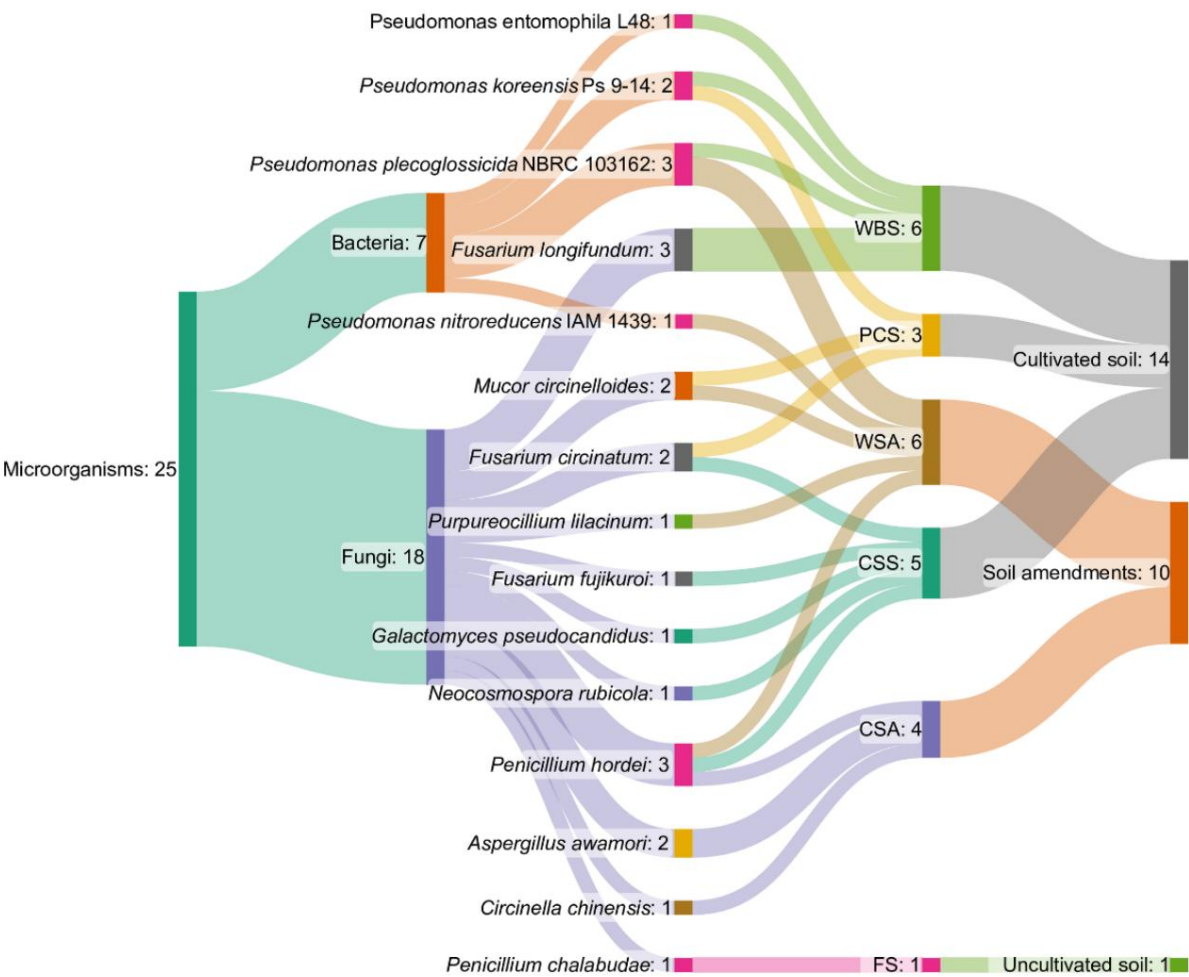


Рисунок 2. Диаграмма Санки, показывающая грибковые и бактериальные изоляты в зависимости от их среды. Диаметр линий пропорционален количеству уникальных или общих штаммов, выделенных из каждой из шести различных сред: WBS: почва в севообороте, PCS: почва пинто-вигны, WSA: червь удобрения для литейной почвы, CSS: кукурузно-сорговая почва, CSA: удобрение для компостной почвы и FS: лесная почва. червячная добавка к почве, CSS: кукурузно-сорговая почва, CSA: компостная добавка к почве и FS: лесная почва.

Филогенетический анализ также выявил два штамма *Aspergillus awamori* и два штамма *Mucor circinelloides* со 100% бутстреп-поддержкой (рис. 1). Аналогичные значения начальной загрузки были наблюдались для двух штаммов *Fusarium circinatum* и для трех штаммов *Fusarium longifundum*. В ходе филогенетического анализа также были кластеризованы два штамма *Aspergillus awamori* и два штамма *Mucor circinelloides* со 100% бутстреп-поддержкой (рис. 1). Кроме того, три штамма *Penicillium hordei* также образовали кладу со сходством 56%. Аналогичные значения бутстреп-поддержки наблюдались для двух штаммов *Fusarium circinatum* и для трех штаммов *Fusarium longifundum*. Более того, три штамма *Penicillium hordei* также образовали кладу со сходством 56%. В целом, 18 штаммов грибов были разделены на 11 различных видов, отражающих их ассоциации. *Penicillium hordei* также образовали кладу со сходством 56%, причем два из них, *Aspergillus awamori* и *Purpureocillium*, субклад со 100% бутстреп-поддержкой. В целом, 18 штаммов грибов были разделены на 11 различных видов, что отражает их связь с соответствующей средой обитания (рис. 2). *Galactomyces pseudocandidus* и *Neocosmospora rubicola* были обнаружены только в культурных почвах, тогда как *Penicillium chababudae* - только в неокультуренных почвах. Напротив, *Mucor circinelloides*, *Fusarium circinatum* и *Aspergillus awamori* были выделены исключительно из почвенных добавок (40%). Аналогично *Fusarium longifundum*, *Fusarium fujikuroi*, *Galactomyces pseudocandidus*, *Penicillium hordei* выделяли как из почвенных удобрений, так и из окультуренных почв.

Это исследование проливает свет на распространенность PSM и ZnSM в различных средах. и *Neocosmospora rubicola* были выявлены исключительно в окультуренных почвах, тогда как *Penicillium chababudae* обнаружен исключительно в почвенных добавках (40%). Среди окультуренных почв наибольшая заболеваемость ПСМ и ZnSM наблюдались в почвах зерновых севооборотов, таких как ПКК (21%).

Среди 15 видов бактерий и грибов 6 продемонстрировали способность растворять данное исследование проливает свет на распространенность ПСМ и ZnSM в различных средах, указывая на их более высокую растворимость в окультуренных почвах (56%) и почвенных удобрениях (40%). По сравнению с необработываемыми почвами (4%). Среди окультуренных почв наибольшая заболеваемость ПСМ и ZnSM наблюдалась в почвах зерновых севооборотов, таких как ПКК (21%).

Среди 15 видов бактерий и грибов 6 продемонстрировали способность солубилизировать mltl nsibl P ndr Zn srcs. Ntbl Psdmns lclsscd NBRC 103162

Шесть штаммов, демонстрировавших солюбилизацию нескольких нерастворимых источников Р и/или Zn при первоначальном скрининге (рис. 3), подверглись дальнейшей оценке для оценки их способности солюбилизировать все протестированные нерастворимые источники Р и Zn в NBRIP и модифицированной среде Пиковской. Прил. Микробиол. 2024 1., 4- планшетный анализ показал, что *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* и *Penicillium hordei* растворяют все три протестированных нерастворимых источника фосфора с различной эффективностью (рис. 4). *Penicillium hordei* показал высокую эффективность в солюбилизации РП, тогда как *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC превосходила минерализацию СаР. Оба штамма, наряду с *Aspergillus awamori*, *Aspergillus awamori*, *Mucor circinelloides* и *Penicillium hordei* продемонстрировали способность солюбилизировать нерастворимые источники Р и Zn. Следовательно, эти штаммы могут быть многообещающим изолятом для солюбилизации РР, хотя они не способны растворять два других протестированных нерастворимых источника фосфора.

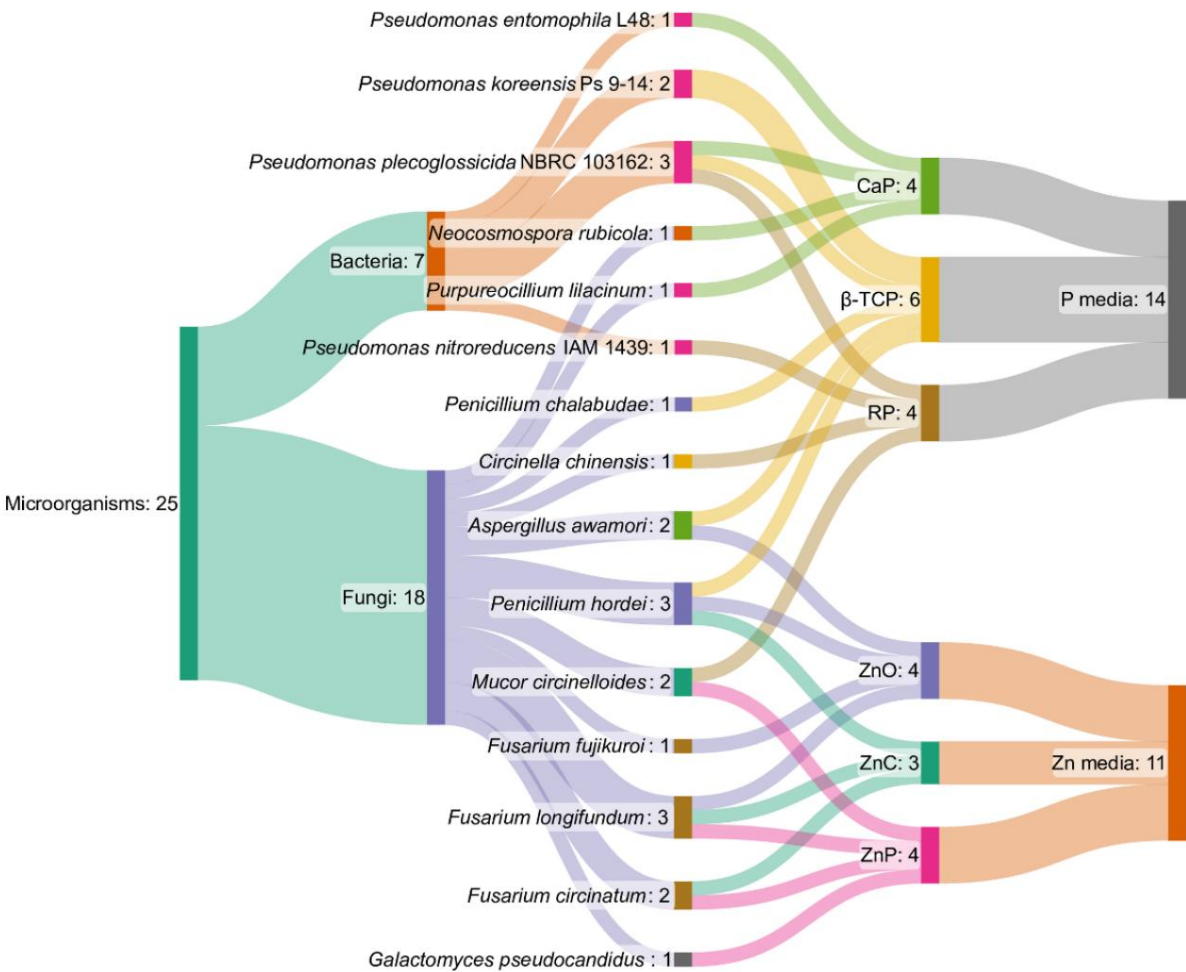


Рисунок 3. Диаграмма графика Санкеи, иллюстрирующая количество грибов и бактериальных изолятов, связанных с каждым источником фосфора и цинка, на основе их способности растворять Р или Zn в рамках первоначального скрининга. Диаметр линий зависит от их способности пропорционально количеству фосфора или цинка, растворенного в среде. Легенда: CaP: фитат кальция, β-TCP: β-трикальцийфосфат, RP: кристаллический фосфор, ZnO: оксид цинка, ZnC: карбонат цинка, ZnP: фосфат цинка.

3.2. Скрининг PSM и ZnSM с несколькими недоступными источниками Р и Zn

Шесть штаммов, демонстрирующих солюбилизацию нескольких нерастворимых источников Р и/или Zn при первоначальном скрининге (рис. 3) прошли дальнейшую оценку для оценки своих возможностей растворить все протестированные нерастворимые источники Р и Zn в НБРИП и модифицированной Пиковской СМИ. Планшетный анализ показал, что *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* и *Penicillium hordei* солюбилизировали все три протестированных нерастворимых источника фосфора с различной эффективностью (рис. 4). *Penicillium hordei* показал высокую эффективность в солюбилизации РП, тогда как *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC превосходно показала минерализацию СаР. Оба штамма вместе с *Aspergillus awamori* демонстрировал аналогичную солюбилизацию β-TCP. В частности, *Fusarium longifundum* может быть многообещающим изолятом для солюбилизации РР, даже несмотря на то, что он не способен солюбилизировать два других протестированных нерастворимых источника фосфора.

2024, 4 и привитый штамм. *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum*,

и *Mucor circinelloides* продемонстрировали значительную способность к солубилизации и минерализации в бульонах NBRIP, содержащих R-TPC. СР-РР, содержащих 600 мг/л РР, не способствовали минерализации *Mucor circinelloides*.

6). Примечательно, что Мейсидингс и др. [10] обнаружили, что у животных, содержащихся в СР-СЕНТРАРИИ по сравнению с контролем (рис. 6). Примечательно, Бульоны NBRIP, содержащие BtGP-PCR, не могут использоваться в качестве матрицы для амплификации Р для бульонов NBRIP.

изменения составил 7,518 и 8,9 соответственно. Напротив, Ренсбург и Виллингс в содержащих β -plecoglossida NBRC и 0,3962 может только на против Ренсбург и Виллингс растворимой ацилированной NBRC. CaP и β -TCP соответственно 10,362 можно использовать, подтверждая, что они обладают способностью к адгезии (CaP и β -TCP соответственно).

по сравнению с контролем, что подтверждает их ограниченную способность растворять различные нерастворимые
Источники П.

Источники П.

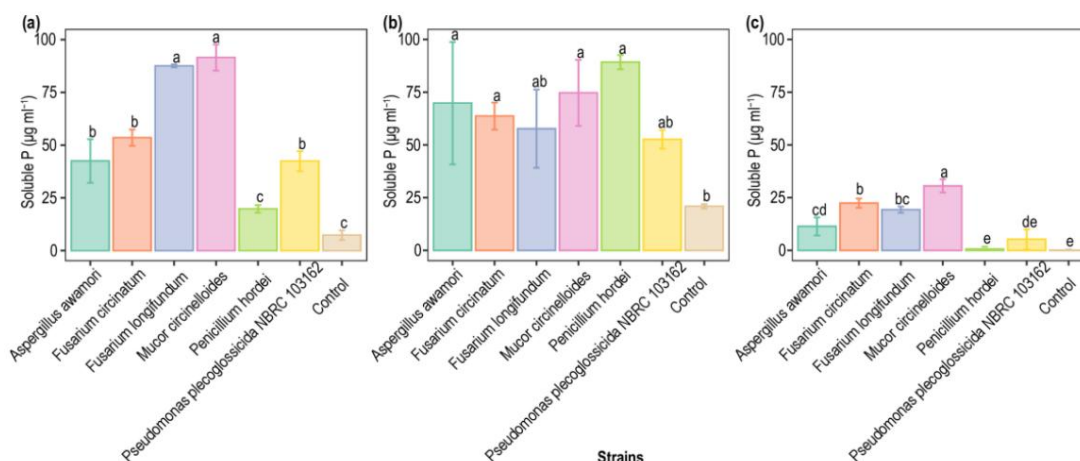


Рисунок 6. Концентрация солибилизированного Р для шести выбранных штаммов и контроля в бульоне NBRP, содержащем (a) β -TCP: β -трикальцийфосфат, (b) СаР: фитат кальция и (c) РР: фосфат камня после (a) β -TCP: β -трикальцийфосфат, (b) СаР: фитат кальция и (c) РР: фосфорит после семи дней инкубации. Результаты представляют собой среднее значение трех повторов с погрешностью в представляющие стандартные отклонения ($n=3$). Различные строчные буквы над столбцами обозначают значительные различия по критерию Стьюдента ($p < 0.05$). Различные строчные буквы над столбцами обозначают различия по критерию Стьюдента ($p < 0.05$).

значительная разница ($p < 0.05$) согласно тесту ANOVA с последующим тестом Тьюки HSD.

Наблюдаемая солюбилизация Р совпала со сдвигом рН в кислую область после

семь дней инкубации (табл. 2). *Mucor circinelloides* индуцировал наиболее значительный pH в течение семи дней инкубации (таблица 2). *Mucor circinelloides* индуцировал наиболее значительный pH снижение β -ТСР, СаР и РР по сравнению с контролем (-0,5, -0,3 и -1,0 $\log_2$ -кратное изменения соответственно). Этот штамм демонстрировал самое низкое значение pH и высокие концентрации растворимого фосфора, что может указывать на продукцию органических кислот и последующую концентрацию растворимого фосфора в среде, что может указывать на продукцию органических кислот и последующее подкисление. Корреляционный анализ дополнительно подтвердил эту взаимосвязь между pH и подкислением среды. Корреляционный анализ еще раз подтвердил эту связь между сморщивание бульонов и увеличение солиобилизации Р. Отрицательными корреляциями были снижение pH в бульонах и увеличение солиобилизации фосфора. Отрицательные корреляции были служил для бульонов NBRIP, содержащих β -ТСР ($r = -0,71$; $p < 0,001$) и РР ($r = -0,94$; $p < 0,0001$) по непараметрическому корреляционному тесту Спирмена. Однако неси-г ($p < 0,0001$) согласно непараметрическому корреляционному тесту Спирмена. Однако незначимая корреляция ($r = -0,38$; $p > 0,05$) наблюдалась для СаР по Пирсону. Коррелятивная корреляция ($r = -0,38$; $p > 0,05$) наблюдалась для СаР по Пирсону.

латационный тест.

корреляционный тест.

Таблица 2. Среднее значение pH булона NBVRP после семи дней инкубации с каждым из шести выбранных штаммов.

Штаммы	β-TCР		Кепка		РП	
	Штаммы	рН	рН	Кепка	рН	РП
<i>Aspergillus awamori</i> d		5,30 ± 0,07 д	рН	6,01 ± 0,03 в	5,11 ± 0,05 с	
<i>Fusarium circinatum</i> 5,50 ± 0,02 с				4,69 ± 0,09 с		5,11 ± 0,05 с
<i>Mucor</i> 5,25 ± 0,02				5,84 ± 0,03 д		
<i>Penicillium hordei</i> 6,37 ± 0,01 б				5,84 ± 0,03 д		4,65 ± 0,12 д
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> NBRC				5,78 ± 0,04 д	4,52 ± 0,16 д	4,65 ± 0,12 д
				5,51 ± 0,08 е	5,78 ± 0,04 д	4,52 ± 0,16 д
					5,51 ± 0,08 е	3,69 ± 0,13 б
					6,37 ± 0,01	6,27 ± 0,09
103162		5,14 ± 0,02	д	5,83 ± 0,02	д	5,09 ± 0,01 с
Управление		6,77 ± 0,14	а	6,75 ± 0,07	а	7,53 ± 0,16 а

Pseudomonas plecoglossicida NBRC 103162	5,14 ± 0,02 д.	5,83 ± 0,02 д 5,09 ± 0,01 с	
Прил. Микробиол. 2024, 4			1051
Контроль	6,77 ± 0,14 а	6,75 ± 0,07 а	7,53 ± 0,16 а

Среди шести штаммов, оцененных по способности растворять весь протестированный нерастворимый Zn источники, Aspergillus awamori, Fusarium circinatum и Fusarium longifundum продемонстрировали источники, продемонстрировали Aspergillus awamori, Fusarium circinatum и Fusarium longifundum умение растворять их все (рис. 7). Среди этих штаммов Aspergillus awamori продемонстрировал самую высокую солюбилизацию ZnС и ZnO по сравнению с контролем, продемонстрировав самую высокую солюбилизацию ZnС и ZnO по сравнению с контролем, продемонстрировав 2,1. Изменение в 2,1 и 3,0 log2 раза соответственно. Между тем, Mucor circinelloides продемонстрировал изменение в 3,0 log2 раза соответственно. Между тем, Mucor circinelloides представил высшую оценку, наибольшая способность солюбилизовать Zn в бульонах, содержащих ZnO и ZnP, по сравнению с контролем, способность солюбилизовать Zn в бульонах, содержащих ZnO и ZnP, по сравнению с контролем, при с log2-кратными изменениями в 7,8 и 2,4 соответственно. Примечательно, что Penicillium hordei и Pseudolog2 monas plecoglossicida NBRC 103162 не смогли растворить больше Zn, чем контроль.

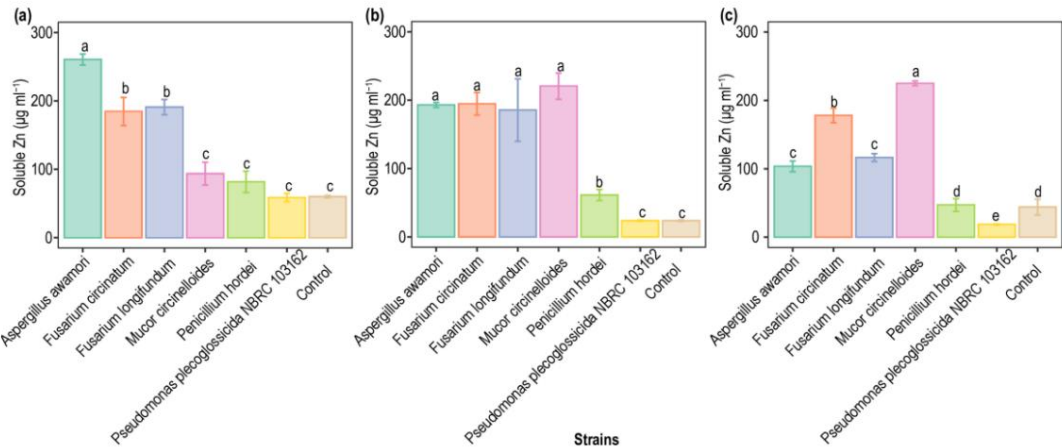


Рисунок 7. Концентрация растворенного Zn для шести выбранных штаммов и контроля в модифицированном Бульоны Пиковской, содержащий (а) ZnС: карбонат Zn, (б) ZnO: оксид Zn и (в) ZnP: фосфат Zn. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартной ошибки (n = 3). Различные строчные буквы над столбцами обозначают значительную разницу (p < 0,05) согласно тесту ANOVA, за которым следует тест Тьюки HSD. Данные для ZnO были нормализованы по логарифмическим преобразованиям перед анализом ANOVA. Согласно тесту ANOVA, за которым следует тест Тьюки HSD. Данные для ZnO нормировались по логарифму преобразования перед анализом ANOVA.

Солюбилизация Zn сопровождалась заметным сдвигом pH в сторону кислой области после семи дней инкубации (таблица 3). Растворение Zn сопровождалось заметным сдвигом pH в сторону кислой среды. значительное снижение pH для ZnO и ZnP по сравнению с контролем (диапазон -0,1 и -0,7 log2 раза после семи дней инкубации (табл. 3). Mucor circinelloides индуцировал наиболее изменения соответственно). Аналогичным образом, Aspergillus awamori продемонстрировал наибольшее снижение pH, значительное снижение pH для ZnO и ZnP по сравнению с контролем (-0,1 и -0,7 log2 раза). по сравнению с контрольным лечением (изменение в -0,1 log2 раза). Эти штаммы представили изменения соответственно). Аналогичным образом, Aspergillus awamori продемонстрировал наибольшее снижение pH. самая высокая концентрация растворимого Zn наряду с самым низким значением pH, что можно предположить по сравнению с контрольной обработкой (изменение в -0,1 log2 раза). Эти штаммы представили производство органических кислот и последующее подкисление сред. Корреляционный анализ выявил самую высокую концентрацию растворимого Zn наряду с самым низким значением pH, что может указывать на подтвердили обратную зависимость между снижением pH бульонов и количеством продукции органических кислот и последующим подкислением среды. Корреляционный анализ далее растворимого Zn, демонстрируя отрицательные корреляции для модифицированных бульонов Пиковской, ZnC (r = -0,65; p = 0,01), ZnO (r = -0,60; p < 0,01) и ZnP (r = -0,93; p < 0,0001) в соответствии с растворимым Zn, подтверждающая обратную зависимость между снижением pH бульонов и количеством демонстрируя отрицательные корреляции для модифицированной Пиковской бульоны, содержащие прибегая к непараметрическому корреляционному тесту Спирмена. ZnC (r = -0,65; p = 0,01), ZnO (r = -0,60; p < 0,01) и ZnP (r = -0,93; p < 0,0001) согласно к непараметрическому корреляционному тесту Спирмена.

Таблица 3. Среднее значение pH модифицированного бульона Пиковской после семи дней инкубации с каждым из штаммов. Данные представляют собой среднее значение ± стандарт ошибки (n = 3). Разные буквы в одних и тех же столбцах обозначают значительную разницу (p < 0,05) согласно тесту ANOVA, за которым следует критерий Тьюки. Таблица 3. Среднее значение pH модифицированного бульона Пиковской после семи дней инкубации с каждым из шесть отобранных штаммов. Данные представляют собой среднее значение ± стандарт ошибки (n = 3). Разные буквы в одном и том же столбцы обозначают значительную разницу (p < 0,05) согласно тесту ANOVA, за которым следует критерий Тьюки. HSD-теста.

Штаммы	pH		pH pH		ЗнП
	6,77 ± 0,02 6		6,73 ± 0,07 кд	5,11 ± 0,06 кд	
Аспергилл авамори	pH		pH		pH
Аспергилл авамори	6,77 ± 0,02		6,73 ± 0,07	кд	5,11 ± 0,06 д. с
Фузариум кольцевидный	7,16 ± 0,14	а	6,76 ± 0,03 6		4,71 ± 0,11 5,00
Фузариоз лонгифундум	7,18 ± 0,04	а	± 0,09 г 6,68 ± 7,01		± 0,06 4,40 ± с
Мукор циркулеллоидес	7,18 ± 0,05	а	6к 6,89 ± 0,09 0,06		0,01 6 е
Пенициллум Хордей	7,26 ± 0,04	а			5,96 ± 0,09
Pseudomonas plecoglossicida NBRC 103162	7,22 ± 0,06	а	6 6,99 ± 0,08		6,74 ± 0,06 а
Контроль	7,29 ± 0,05	а	7,26 ± 0,05 а		6,94 ± 0,09 а

4. Дискуссия

Учитывая разнообразный химический состав почв, использование β -ТКФ в качестве универсального нерастворимого источника фосфора для выделения ПСМ ненадежно [24]. Таким образом, различные нерастворимые источники Р (β -TCP, CaP и RP) или источники Zn (ZnC, ZnO и ZnP) были использованы для выделения 25 бактериальных и грибковых штаммов с Р- или Zn-растворимыми способностями во время первоначального скрининга в СМН. Было обнаружено, что среди 25 изолированных микробных штаммов 6 штаммов из родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* и *Pseudomonas* обладают способностью солюбилизовать несколько нерастворимых источников Р и/или Zn в средах. Эти результаты согласуются с предыдущими исследованиями, в которых микробы, принадлежащие к родам *Aspergillus*, *Penicillium* и *Pseudomonas*, были обнаружены в качестве доминирующих PSM и ZnSM в сельскохозяйственных почвах [32–34,44,47].

Чтобы установить эффективный процесс выбора PSM и ZnSM, шесть видов, прошедших первоначальный отбор, были протестированы на всех нерастворимых источниках Р и Zn в различных условиях. Были обнаружены различия между средами и бульонами. Например, хотя *Mucor circinelloides*, *Fusarium circinatum* и *Fusarium longifundum* не имели ореолов для всех нерастворимых источников Р в средах, они были способны солюбилизовать все нерастворимые источники Р в бульонах. *Pseudomonas plecoglossicida* обнаруживала ореолы для всех нерастворимых источников Р в средах, но только для растворенного β -TCP в бульонах. Это согласуется с предыдущими сообщениями о том, что род *Pseudomonas* имеет плохую растворимость и минерализацию Р [53].

Аналогичные тенденции наблюдались и для Zn-носителей. *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162 демонстрировала ореол в среде, но не солюбилизацию Zn в бульонах. Напротив, *Aspergillus awamori* продемонстрировал самый высокий процент эффективности растворения Zn в средах, содержащих ZnC, что аналогично его способности солюбилизовать наибольшее количество Zn в бульоне с тем же нерастворимым источником. Аналогичные результаты были получены для *Mucor circinelloides* на средах и бульонах, содержащих ZnP. Однако эта тенденция не наблюдалась для сред и бульонов, содержащих ZnO. В соответствии с этими выводами другие исследователи сообщили о плохой корреляции между средами и бульонами для PSM из-за различий в скорости диффузии различных органических кислот, секретируемых в средах [24,47].

В бульонах, содержащих ПСМ и ZnSM, обнаружена обратная зависимость между растворимым Р или Zn и pH. Эта тенденция была особенно очевидна у *Aspergillus awamori* и *Mucor circinelloides*, что подчеркивает потенциальную роль продукции органических кислот в солюбилизации Р и Zn, как ранее сообщалось другими авторами [24,47,49,54]. Несмотря на то, что грибы производят больше органических кислот, чем бактерии [49,53], тип и количество образующихся органических кислот могут варьироваться в зависимости от времени и температуры инкубации, а также от нерастворимого источника [47,55]. Это потенциально может объяснить, почему в этом исследовании грибы продемонстрировали большую способность солюбилизовать Р и Zn по сравнению с бактериями, а также различия в способностях к солюбилизации между изолятами. Этот результат согласуется с другими исследованиями, в которых грибы продемонстрировали большую эффективность в растворении нерастворимых источников Р, таких как β -TCP и RP [56] и источников Zn, включая ZnO, ZnP и сульфат Zn [29], по сравнению с бактериями. Для *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* и *Mucor circinelloides*, которые также продемонстрировали способность минерализовать нерастворимые источники органического фосфора, эта способность может быть связана с такими ферментами, как фосфатазы и фитазы [24,47,53]. Хотя в некоторых исследованиях также сообщалось о способности родов *Mucor* и *Fusarium* растворять Р [47,55,57–60], информации об их способности растворять Zn нет. Однако это исследование впервые продемонстрировало, что штаммы родов *Mucor* и *Fusarium* способны растворять Zn.

Это исследование показало, что грибы показали большую потенциальную эффективность в качестве PSM и ZnSM, чем бактерии в сельскохозяйственных почвах в условиях севооборота и почвенных удобрений. *Fusarium circinatum* и *Fusarium longifundum* были выделены из обрабатываемых почв в условиях севооборота. *Mucor circinelloides* также был идентифицирован как в возделываемых почвах, так и в почвенных добавках, а *Aspergillus awamori* был обнаружен в почвенных добавках. Однако разнообразные почвенные условия в невозделываемых почвах и почвенных добавках создают проблемы в определении того, как эти условия влияют на присутствие и эффективность различных видов микробов. Аналогичные результаты были продемонстрированы в исследованиях, показывающих, что эффективные PSM и ZnSM более распространены в системах севооборота, чем в невозделываемых средах из-з

выращивать корни растений, обеспечивая определенные питательные вещества, которые способствуют дифференциальному росту микробов, что, в свою очередь, влияет на состав и плотность почвенного микробного сообщества [3]. Другое исследование сравнило плотность населения и биогеографическое распределение PSM из 40 различных мест по всему Китаю и показало, что PSM более распространены в сельскохозяйственных почвах, чем в пустынях, лесах, лугах и минированных почвах [34]. Аналогичным образом, предыдущее исследование также продемонстрировало, что использование земель (например, невозделываемая почва и культивируемые почвы) может оказывать выраженное влияние на способность солюбилизации штаммов, даже принадлежащих к одному и тому же роду [20,61,62]. В этом исследовании авторы сообщили, что невозделываемые почвы демонстрируют более эффективные ПСМ по сравнению с возделываемыми почвами из-за низкой способности ПСМ в возделываемых почвах в результате интенсивных сельскохозяйственных методов. Для продвижения эффективных УЗП в исследовании рекомендуется применять устойчивые методы ведения сельского хозяйства и органические удобрения. Таким образом, это исследование показывает, что органические удобрения почвы и хорошие сельскохозяйственные методы, такие как севооборот, могут способствовать эффективному использованию PSM и ZnSM. Тем не менее, оценить взаимосвязь между их распространенностью и такими параметрами, как доступные уровни Р и Zn, а также процентное содержание органических веществ, оказалось затруднительно из-за различий в этих параметрах, поскольку почвенные добавки имели более высокие значения по сравнению с возделываемыми почвами.

Настоящее исследование также показало, что, хотя важно проверять PSM и ZnSM с использованием различных нерастворимых источников Р и Zn в средах, качественный скрининг должен дополняться количественным скринингом в бульонах для выявления эффективных PSM и ZnSM. Это исследование также подчеркивает потенциал использования микробных консорциумов для растворения/минерализации различных нерастворимых источников почвы, что может значительно повысить урожайность и качество сельскохозяйственных культур. Включение специфических грибов, таких как *Fusarium circinatum* и *Fusarium longifundum*, а также *Mucor circinelloides* и *Aspergillus awamori*, увеличивает этот потенциал. Эти результаты подчеркивают важность разнообразных видов микробов в улучшении биофортификации почвы и, следовательно, продуктивности сельского хозяйства.

5. Выводы

В заключение, принятие более эффективного подхода к идентификации эффективных PSM и ZnSM предполагает изоляцию штаммов из различных почв или методов управления почвой, таких как системы севооборота или удобрения почвы. Наши результаты показали, что некоторые штаммы грибов не образовывали гало-зоны на чашках с агаром, но проявляли солюбилизацию в жидких средах, тогда как бактериальные штаммы образовывали гало-зоны, но демонстрировали более низкую солюбилизацию в жидких средах по сравнению со штаммами грибов. Это подчеркивает, что солюбилизация Р и Zn варьируется в зависимости от нерастворимых источников и инокулированных штаммов. Таким образом, хотя тесты в средах с различными нерастворимыми источниками Р и Zn в тандеме служат ценным методом предварительного скрининга для сужения штаммов, дополнительные тесты в бульонах целесообразны, чтобы обеспечить приемлемые показатели солюбилизирующей способности Р и Zn, а также выявить эффективные ПСМ и ЗНСМ. Из 25 изолятов *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* и *Mucor circinelloides* были выбраны как наиболее эффективные штаммы для растворения Р и Zn. Это исследование также показало, что штаммы родов *Mucor* и *Fusarium* способны растворять Zn. Несмотря на их способность высвобождать Р как из органических, так и из неорганических источников, а также Zn из различных источников, учитывая сложность почвенных условий по сравнению с условиями *in vitro*, перед рассмотрением вопроса о применении следует провести дальнейшие исследования их взаимодействия. Дальнейшие исследования также должны изучить совместное воздействие этих PSM и ZnSM из разных сред с целью разработки композитного биоудобрения с более качественными и многофункциональными свойствами. Это может повысить биодоступность Р и Zn и повысить их эффективность в полевых условиях, несмотря на сложные факторы, такие как свойства почвы, условия окружающей среды и конкуренция с местными почвенными микроорганизмами.

Вклад авторов: концептуализация, SI-V., AA и JMV; методология, СИ-В. и AA; формальный анализ, СИ-В.; письменность — подготовка первоначального черновика, СИ-В.; написание — рецензирование и редактирование, SI-V., AA, BR и JMV; визуализация, СИ-В.; надзор, JMV; приобретение финансирования, JMV. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи.

Финансирование: Это исследование финансировалось за счет гранта Министерства сельского хозяйства США-ARS-Pulse Crop Health Initiative номер 58-30602032.

Заявление о доступности данных: данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у соответствующего автора по обоснованному запросу.

Конфликты интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Рекомендации

1. Хоксфорд, М.; Хорст, В.; Кичей, Т.; Ламберс, Х.; Шёрринг, Дж.; Мёллер, И.С.; Уайт, П. Глава 6 – Функции макронутриентов. В «Минеральном питании высших растений» Маршнера, 3-е изд.; Маршнер, П., ред.; Academic Press: Сан-Диего, Калифорния, США, 2012 г.; стр. 135–189, ISBN 978-0-12-384905-2.

2. Чакмак И.; Кутман Ю.Б. Агрономическая биофортификация зерновых цинком: Обзор. Евро. Дж. Почвоведение. 2018, 69, 172–180. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

3. Харун, М.; Хан, С.; Малик, А. Бактерии, солюбилизирующие цинк: возможность увеличения поглощения цинка растениями. В микробных биоудобрениях и доступность микроэлементов; Шпрингер: Чам, Швейцария, 2022 г.; стр. 207–238, ISBN 978-3-030-76608-5.

4. Прасад Р.; Шивай, Ю.; Кумар, Д. Глава вторая. Агрономическая биофортификация зерна зерновых культур железом и цинком. В достижениях в агрономии; Elsevier: Амстердам, Нидерланды, 2014 г.; Том 125, стр. 55–91, ISBN 978-0-12-800137-0.

5. Чжу Дж.; Ли, М.; Уилан, М. Активаторы фосфора способствуют сохранению унаследованного фосфора в сельскохозяйственных почвах: обзор. наук. Тотальная среда. 2018, 612, 522–537. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

6. Динеш Р.; Шринивасан, В.; Хамза, С.; Саратамбал, К.; Анке Гауда, SJ; Ганешамурти, АН; Гупта, СБ; Апарна Наир, В.; Субила, КП; Лижина, А.; и другие. Выделение и характеристика потенциальных бактерий, растворяющих Zn, из почвы и их влияние на скорость высвобождения Zn из почвы, доступный Zn в почве и содержание Zn в растениях. Геодерма 2018, 321, 173–186. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

7. Ли, Х.-П.; Хан, Q.-Q.; Лю, Ц.-М.; Ган, Ю.-Н.; Ренсинг, К.; Ривера, WL; Чжао, К.; Чжан, Ж.-Л. Роль фосфатолубилизирующих бактерий в обеспечении доступности фосфора в почве. Микробиол. Рез. 2023, 272, 127375. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

8. Гупта, Д.К.; Чаттерджи, С.; Датта, С.; Вир, В.; Вальтер, К. Роль фосфорных удобрений в поглощении тяжелых металлов и детоксикации токсичные металлы. Хемосфера 2014, 108, 134–144. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[PubMed\]](#)

9. Маханти, Т.; Бхаттачарджи, С.; Госвами, М.; Бхаттачарья, П.; Дас, Б.; Гош, А.; Трибеди, П. Биоудобрения: потенциальный подход для устойчивого развития сельского хозяйства. Окружающая среда. наук. Загрязнение. Рез. 2017, 24, 3315–3335. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

10. Сюй, Дж.; Фан, Л.; Се, Ю.; Ву, Г. Стратегия равновесия рециркуляции для контроля загрязнения фосфогипсом на заводах по производству фосфорных удобрений. Дж. Чистый. Прод. 2019, 215, 175–197. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

11. Индраратне, СП; Шпенглер, М.; Хао, Х. Загрузка навоза крупного рогатого скота и влияние наследия на доступность меди и цинка в условиях неорошаемого земледелия. и орошаемые условия. Может. Дж. Почва. наук. 2021, 101, 305–316. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

12. Абоеджи, К.; Дансин, О.; Аруна Оласекан, А.; Сулейман, К.; Чинедум, К.; Вера, О.; Джозеф, А.; Эджуэ, В.; Адесола, О.; Олофинтойе, Дж.; и другие. Синергетическое и антагонистическое влияние внесенных в почву фосфорных и цинковых удобрений на продуктивность, минеральный состав и состав тяжелых металлов арахиса. Открытое сельское хозяйство. 2020, 5, 1–9. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

13. Павинато, П.С.; Черубини, М.Р.; Солтангейзи, А.; Роча, GC; Чедвик, ДР; Джонс, Д.Л. Выявление фосфора, находящегося в почвенном наследии, продвигать устойчивое сельское хозяйство в Бразилии. наук. Отчет 2020, 10, 15615. [\[CrossRef\]](#)

14. Санчес-Родригес, Арканзас; Рей, доктор медицины; Нечате-Дриф, Х.; Кастильехо, магистр искусств; Йоррин-Ново, СП; Торрент, Дж.; дель Кампилио, MC; Сакристан, Д. Сочетание фосфорных и цинковых удобрений для повышения урожайности и качества зерна кукурузы, выращенной на средиземноморских почвах. наук. Отчет 2021, 11, 7427. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

15. Цзоу, Т.; Чжан, Х.; Дэвидсон, Е.А. Глобальные тенденции использования фосфора в пахотных землях и проблемы устойчивого развития. Природа 2022, 611, 81–87. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

16. Афакирин А.; Диксон, MM; Бьюкенен, К.; Ипполито, Дж.А.; Мантер, ДК; Дэвис, Дж. Г.; Виванко, Дж. М. Использование бактерий, нечувствительных к фосфорным (P) удобрениям, для повышения биодоступности фосфора в ризосфере бобовых. Микроорганизмы 2024, 12, 353. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

17. ФАО. Будущее продовольствия и сельского хозяйства: тенденции и проблемы; Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций: Рим, Италия, 2017 г.; ISBN 978-92-5-109551-5.

18. Наташа Н.; Шахид, М.; Биби, И.; Икбал, Дж.; Халид, С.; Муртаза, Б.; Бахат, ХФ; Фарук, ABU; Амджад, М.; Хаммад, Его Величество; и другие. Цинк в системе почва-растение-человек: обзор анализа данных. наук. Тотальная среда. 2022, 808, 152024. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

19. Диксон, MM; Афакирин, А.; Дэвис, Дж. Г.; Читвуд-Браун, Дж.; Бьюкенен, CM; Ипполито, Дж.А.; Мантер, ДК; Виванко, Дж. М. Одомашнивание томатов, а не последующее размножение, снижает микробные ассоциации, связанные с восстановлением фосфора. наук. Представитель 2024, 14, 9934. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

20. Каур, Р.; Каур, С. Изменение бактерий, солюбилизирующих фосфаты, из целинных и сельскохозяйственных почв Пенджаба. Курс. Микробиол. 2020, 77, 2118–2127. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[PubMed\]](#)

21. Он, Ю.; Пантигосо, штат Ха; Ву, З.; Виванко, Дж. М. Совместная инокуляция Bacillus sp. и pseudomonas putida на разных стадиях развития действуют как биостимуляторы, способствующие росту, урожайности и усвоению питательных веществ томатами. Дж. Прил. Микробиол. 2019, 127, 196–207. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[PubMed\]](#)

22. Тарик, MR; Шахин, Ф.; Мустафа, С.; АЛИ, С.; Фатима, А.; Шафик, М.; Сафдар, В.; Шис, Миннесота; Хамид, А.; Насир, М.А. Фосфаторастворимые микроорганизмы, выделенные из лекарственных растений, улучшают рост мяты. ПерДж 2022, 10, e13782. [\[Перекрестная ссылка\]](#)

23. Ван, К.; Пан, Г.; Лу, Х.; Ци, В. Микроорганизмы, растворяющие фосфор: потенциальные промоторы сельскохозяйственных и экологических проблем. инженерия. Передний. Биоинж. Биотехнология. 2023, 11, 1181078. [\[CrossRef\]](#)
24. Арманде, М.; Махмуди, Н.; Носратабад, А. Скрининг и оценка бактерий, солюбилизирующих фосфаты, выделенных из прудов для аквакультуры, в пошаговой стратегии в качестве потенциального биоудобрения. Дж. Прил. Микробиол. 2022, 133, 15660. [\[CrossRef\]](#)
25. Пантисого, ХА; Привет.; Мантер, ДК; Фонте, С.Дж.; Виванко, Дж. М. Фосфорорастворимые бактерии, выделенные из ризосферы дикого картофеля *solanum Bulbocastanum*, повышают рост современных сортов картофеля. Бык. Натл. Рез. Цент. 2022, 46, 224. [\[CrossRef\]](#)
26. Таллапрагада, П. Солюбилизация различных неорганических фосфатов *Aspergillus niger* и *Penicillium oxalicum*. Адв. Биоисследования 2015, 6, 113–119.
27. Икбал, У.; Джамил, Н.; Али, И.; Хаснайн, С. Влияние бактериальных изолятов, солюбилизирующих цинк-фосфат, на рост *vigna radiata*. Анна. Микробиол. 2010, 60, 243–248. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
28. Захир, А.; Малик, А.; Шер, А.; Мансур Кайсрани, М.; Мехмуд, А.; Улла Хан, С.; Ашраф, М.; Мирза, З.; Карим, С.; Расул, М.
Выделение, характеристика и влияние штаммов бактерий, солюбилизирующих фосфат-цинк, на рост нута (*Cicer arietinum* L.). Саудовская Дж. Биол. наук. 2019, 26, 1061–1067. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)
29. Шейх, С.; Сараф, М. Оптимизация условий роста солюбилизирующих цинк бактерий и грибов, связанных с ростом растений. Дж. Адв. Рез. Биотехнология. 2017, 2, 1–9. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
30. Эшаги Э.; Носрати, Р.; Оулия, П.; Мальбуби, Массачусетс; Гасеминежад, П.; Гянджали, М.Р. Характеристики солюбилизации цинка у эффективных почвенных бактерий, продуцирующих сидерофоры. Иран. Дж. Микробиол. 2019, 11, 419–430. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
31. Ахмад И.; Ахмад, М.; Хусейн, А.; Джамил, М. Комплексное использование фосфорорастворимого штамма *Bacillus subtilis* IA6 и цинксолюбилизирующего штамма *Bacillus* sp. Штамм IA16: многообещающий подход к улучшению роста хлопка. Фолиа Микробиол. 2021, 66, 115–
[\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)
32. Боло, П.; Мучеру-Муна, МВТ; Мвиричия, РК; Киньюа, М.; Аяга, Г.; Кихара, Дж. Влияние внесения навоза на фермах на потенциальное обилие микробных видов, солюбилизирующих цинк, в ферралсоле западной Кении. Сельское хозяйство 2023, 13, 2217. [\[CrossRef\]](#)
33. Боло, П.; Кихара, Дж.; Мучеру-Муна, М.; Нджеру, ЕМ; Киньюа, М.; Зоммер, Р. Внесение остатков, неорганических удобрений и извести влияет на растворяющие фосфор микроорганизмы и микробную биомассу при различных системах обработки почвы и земледелия в ферралсоле. Геодерма 2021, 390, 114962. [\[CrossRef\]](#)
34. Ли, Дж.; Лу, Дж.; Ван, Х.; Фанг, З.; Ван, Х.; Фэн, С.; Ван, З.; Юань, Т.; Чжан, С.; Оу, С.; и другие. Комплексный синтез раскрывает тайны микробов, солюбилизирующих фосфаты. Биол. Преподобный Кэмб. Филос. Соц. 2021, 96, 2771–2793. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
35. Фернандес, Луизиана; Агарас, Б.; Уолл, LG; Вальверде, К. Численность и риботипы фосфатсолюбилизирующих бактерий у аргентинцев. сельскохозяйственные почвы при нулевой обработке почвы. Анна. Микробиол. 2015, 65, 1667–1678. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
36. Джаякумар, П.; Гурусами Р.; Сактивел, Н. Микробиом ризосферной почвы и биогуруса и их применение для повышения плодородия почвы, борьбы с вредителями и патогенами для устойчивого сельского хозяйства. В области управления плодородием почвы в целях устойчивого развития; Спрингер: Сингапур, 2019 г.; стр. 189–210, ISBN 9789811359033.
37. Маттеоли, ФП; Пассарелли-Араужо, Х.; Рейс, RJA; да Роча, Луизиана; де Соуза, ЕМ; Аравинд, Л.; Оливарес, Флорида; Венансио, Т.М. Секвенирование генома и оценка свойств, способствующих росту растений, штамма *serratia marcescens*, выделенного из биогуруса. БМК Геном. 2018, 19, 750. [\[CrossRef\]](#) [\[ПабМед\]](#)
38. Хамида, Б.; Харини, Г.; Рупела, ОП; Вани, СП; Редди, Г. Стимулирование роста кукурузы фосфорорастворимыми бактериями выделены из компостов и макрофауны. Микробиол. Рез. 2008, 163, 234–242. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)
39. Карнвал, А. *Pseudomonas* spp., бактерии биогуруса, растворимые в цинке и способствующие росту растений, замедляющие содержание цинка. биофортификация томатов. Межд. Дж. Вег. наук. 2021, 27, 398–412. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
40. Родригес, Дж.Б.; Селф, младший; Солтанпур, П.Н. Оптимальные условия для анализа фосфора методом аскорбиновой кислоты с молибденовым синим. Почвоведение. Соц. Являюсь. Дж. 1994, 58, 866–870. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
41. Наутиял, К.С. Эффективная микробиологическая питательная среда для скрининга фосфорорастворимых микроорганизмов. ФЭМС Микробиол. Летт. 1999, 170, 265–270. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)
42. Ли, К.С.; Зегбрук, СП; Лю, К.; Чжан С. Выделение и характеристика бактерий, солюбилизирующих фосфор, из ризосфер местные растения, выращенные на известковых почвах. Передний. Окружающая среда. наук. 2021, 9, 802563. [\[CrossRef\]](#)
43. Нгуен, К.; Ян, В.; Ле Такон, Ф.; Лапери, Ф. Генетическая изменчивость солюбилизирующей активности фосфатов монокариотическим и дикариотическим мицелием эктомикоризного гриба *laccaria bicolor* (maire) pd orton. Растительная почва 1992, 143, 193–199. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
44. Миттал В.; Сингх, О.; Найяр, Х.; Каур, Дж.; Тевари, Р. Стимулирующее влияние фосфатолубилизирующих штаммов грибов (*aspergillus awamori* и *aenicillium citrinum*) на урожайность нута (*cicer arietinum* L. cv. grpf2). Почвенная биол. Биохим. 2008, 40, 718–727.
[\[Перекрестная ссылка\]](#)
45. Афакирин А.; Ипполито, Дж.А.; Стромбергер, М.; Дэвис, Дж.Г. Солюбилизация органических источников фосфора цианобактериями и коммерчески доступный бактериальный консорциум. Прил. Почвенная Экол. 2021, 162, 103900. [\[CrossRef\]](#)
46. Ю, Г.; Смит, ДК; Чжу, Х.; Гуань, Ю.; Лам, ТТ-Ю. Ggtree: пакет r для визуализации и аннотирования филогенетических деревьев. с их ковариатами и другими связанными данными. Методы Экол. Эвол. 2017, 8, 28–36. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
47. Бражникова Ю.В.; Шапошников А.И.; Сазанова А.Л.; Белимов А.А.; Мукашева, Т.Д.; Игнатова Л.В. Мобилизация фосфатов культивируемыми грибами и их способность увеличивать доступность фосфора в почве и способствовать росту ячменя. Курс. Микробиол. 2022, 79, 240. [\[Перекрестная ссылка\]](#) [\[ПабМед\]](#)
48. Ккан А.; Джилани, Г.; Ахтар, М.; Накви, СМС; Рашид, М.; Хан, А.; Ахтар, М.; Мухаммед, С.; Накви, С.; Рашид, М.
Бактерии, солюбилизирующие фосфор: возникновение, механизмы и их роль в растениеводстве. Дж. Агрик. Биол. наук. 2009, 1, 48–58.

49. Шарма, С.Б.; Сайед, Р.З.; Триведи, Миннесота; Гоби, Т.А. Микробы, солюбилизирующие фосфаты: устойчивый подход к управлению дефицит фосфора в сельскохозяйственных почвах. SpringerPlus 2013, 2, 587. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Хасан, М.; Авад, М. Молекулярная характеристика фосфатолубилизирующих грибов *aspergillus niger* и ее корреляция с устойчивое сельское хозяйство. Дж. Энвайрон. Биол. 2020, 41, 592–599. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
51. Ядав, Л.С.; Кушваха, В.; Джайн, А. Выделение и скрининг фосфатолубилизирующих грибов из почвы ризосферы бамии и их влияние на рост растения бамии (*Abelmoschous esculentus* L.). Троп. Завод Рес. 2020, 7, 277–284. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
52. Тиан, Дж.; Ге, Ф.; Чжан, Д.; Дэн, С.; Лю, Х. Роль микроорганизмов, солюбилизирующих фосфат, от управления дефицитом фосфора в почве до обеспечения биогеохимического р-цикла. Биология 2021, 10, 158. [\[CrossRef\]](#)
53. Алори, ЕТ; Глик, БР; Бабалола О.О. Микробная солюбилизация фосфора и возможности ее использования в устойчивом сельском хозяйстве. Передний. Микробиол. 2017, 8, 971. [\[CrossRef\]](#)
54. Рават, П.; Дас, С.; Шанхдхар, Д.; Шанхдхар, С. Фосфаторастворимые микроорганизмы: механизм и их роль в солюбилизация и поглощение фосфатов. Дж. Почвоведение. Растение Нутр. 2020, 21, 49–68. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
55. Сельви, К.; Джа, П.; Велю, В.; К, С. Анализ эффективности микроорганизмов, солюбилизирующих фосфат, с помощью методов накопительных культур. Биохим. Мол. Биол. Дж. 2017, 3, 1–7. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
56. Туран, М.; Атаоглу, Н.; Сахин, Ф. Оценка способности бактерий и грибов, солюбилизирующих фосфат, на различных формах фосфор в жидкой культуре. Дж. Сустейн. Сельское хозяйство. 2006, 28, 99–108. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
57. Сулеман, Д.; Сани, А.; Суайб, С.; Амбардини, С.; Янти, Северная Каролина; Бур, Д.; Юсуф, Д.Н.; Фаад, Х. Выделение и идентификация потенциальных биоинокулянтов на основе солюбилизирующих фосфат плесеней из различных ризосфер растений. KnE Life Sci. 2022, 7, 99–109. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
58. Сяо, Ц.-К.; Чи, Р.-А.; Хуанг, Х.-Х.; Чжан, W.-Х.; Цю, Г.-З.; Ван, Д.-З. Оптимизация растворения фосфатов путем Фосфатсолюбилизирующие грибы, выделенные из фосфатных рудников. Экол. англ. 2008, 2, 187–193. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
59. Чжан Х.; Раджендран, А.; Гримм, С.; Солнце, Х.; Лин, Х.; Ее.; Ху, Б. Скрининг фосфора, ориентированного на кальций и железо. солюбилизирующие грибы для сельскохозяйственного производства. Ризосфера 2023, 26, 100689. [\[CrossRef\]](#)
60. Вейерс, Э.; Струн, Д.Г.; Пик, Д.; Мур, АД; Бейкер, LL; Каде-Менун, Б. Видообразование фосфора в известковых почвах по ежегодные поправки на молочный навоз. Почвоведение. Соц. Являюсь. Дж. 2016, 80, 1531–1542. [\[Перекрестная ссылка\]](#)
61. Афкаирин А.; Стромбергер, М.; Стортебум, Х.; Уикхэм, А.; Стерл, генеральный директор; Дэвис, Дж.Г. Реакция почвенного микробного сообщества на цианобактерии по сравнению с традиционными органическими удобрениями. Сельское хозяйство 2023, 13, 1902. [\[CrossRef\]](#)
62. Диксон, М.; Симонна, Э.; Обреза, Т.; Лю, Г. Реакция сельскохозяйственных культур на низкую биодоступность фосфора с акцентом на томаты. Агрономия 2020, 10, 617. [\[CrossRef\]](#)

Отказ от ответственности/Примечание издателя: Заявления, мнения и данные, содержащиеся во всех публикациях, принадлежат исключительно отдельному автору(ам) и соавторам(ам), а не MDPI и/или редактору(ам). MDPI и/или редактор(ы) не несут ответственности за любой вред людям или имуществу, возникший в результате любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в контенте.