نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۴۰۰، ص. ۹۳-۸۳

Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 1, March-April 2021, p. 83-93

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر باکتری *تیوباسیلوس*، کود گوگردی و فسفری بر جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک

علی رضا فلاح نصرت آباد[1*]- مریم حبیبی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۵

چکیده

این پژوهش با هدف شناسایی باکتری‌هایی با بیشترین توان حل‌کنندگی فسفات برای افزایش کارایی کودهای فسفاتی و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی زرقان در استان فارس به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار کودی در دو حالت کاشت ذرت و بدون کاشت در ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل کود گوگرد و کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* در چهار سطح (عدم مصرف گوگرد و کود زیستی حاوی *تیوباسیلوس* (S_0)، مصرف ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۱۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی *تیوباسیلوس* (S_1)، مصرف ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* (S_2)، مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۴۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی *تیوباسیلوس* (S_3)) و کود سوپرفسفات تریپل در سه سطح (عدم مصرف کود سوپر فسفات تریپل (P_0)، مصرف ۱۰۰ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (P_1) و مصرف ۶۵ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (P_2)). بدین منظور جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات در تیمارهای اعمال شده شمارش و تعداد ۶۰ جدایه فعال جداسازی، خالص‌سازی و از نظر توان حل فسفات معدنی در محیط کشت جامد پیکووسکایا مورد بررسی قرار گرفتند، نتایج نشان داد که همه جدایه‌ها توانایی انحلال فسفر را دارا هستند، اما در این بین تعداد ۱۵ جدایه باکتری توانایی انحلال فسفات بیشتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشتند، که از این تعداد ۷ باکتری متعلق به گونه *Bacillus megaterium*، ۳ باکتری به گونه *Bacillus subtilis*، ۲ باکتری به گونه *Bacillus cereus* و ۳ باکتری متعلق به گونه *Pseudomonas fluorescent* بودند. با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان گامی نو در جهت تولید کودهای بیولوژیک فسفاته برداشت.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های حل‌کننده فسفات، *تیوباسیلوس*، ذرت، فسفر، گوگرد

مقدمه

طبق برآوردهای صورت گرفته، جمعیت جهان در سال ۲۰۳۰ میلادی به ۹ میلیارد نفر خواهد رسید، بر این اساس مهمترین نیاز بشر یعنی تامین غذا به دلیل رشد فزاینده جمعیت و محدودیت در منابع طبیعی یکی از مهمترین چالش‌های پیش‌رو خواهد بود (۱۶). انقلاب سبز گرچه توانست انسان را در تأمین غذای مورد نیازش یاری دهد، اما با معرفی و عرضه کودهای شیمیایی در کنار افزایش تولید، مخاطراتی را برای بشر و محیط زیست به همراه داشت (۲۶). بر طبق مطالعات و تحقیقات سازمان بهداشت و خواروبار جهانی، بیماری‌های ناشی از مواد غذایی آلوده، به یکی از گسترده‌ترین مشکلات بهداشتی جهان در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته تبدیل شده است (۲۶ و ۲۹). از اینرو در سال‌های اخیر، محققان در تلاشند تا از ریزجانداران خاکزی به‌منظور رفع این مشکل و حفظ سلامت گیاه و محیط زیست استفاده نمایند (۵).

فسفر بعد از نیتروژن یکی ازعناصر غذایی پرمصرف درگیاه است که باعث کنترل رشد، بذردهی و تولید میوه در گیاهان زراعی شده و در فرآیندهای بیوشیمیایی نظیر تقسیم سلولی، سنتز اسیدهای نوکلئیک، فتوسنتز، تنفس و انتقال انرژی نقش ویژه دارد (۱۵). این عنصر به‌صورت فسفات معدنی محلول به خاک اضافه می‌شود که مقدار کمی از آن جذب گیاه شده و بخش عمده آن (۸۰ درصد) به دلیل تثبیت فسفات توسط آلومینیوم، آهن، کلسیم، منیزیم و کلوئیدهای خاک به‌صورت ترکیبات غیرقابل حل در خاک تبدیل شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود (۷). نتایج بررسی‌ها نشان می دهد، افزایش مصرف کودهای شیمیایی فسفاته طی سال‌های اخیر نه تنها

۱- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rezafayah@yahoo.com)
۲- دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

DOI: 10.22067/jsw.2021.14974.0

عملکرد محصولات زراعی را افزایش نداده بلکه باعث بر هم خوردن تعادل عناصر غذایی و کاهش محصول شده است (۱۲). برای حل این مشکلات، استفاده از عوامل زیستی به‌ویژه میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات که در طیف وسیعی از فرآیندهای تغییر و تبدیل فسفر خاک دخیل بوده و کامل کننده چرخه فسفر در خاک می‌باشند، می‌تواند نقش مهمی در تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و کاهش آسیب‌های جدی به اکوسیستم‌های کشاورزی و طبیعی داشته باشد (۱). میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات در خاک به دو گروه اصلی باکتری و قارچ تقسیم می‌شوند. از باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک می‌توان به *Rhizobium*، *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Agrobacterium*، *Achromobacter*، *Enterobacter* و *Burkholderia* اشاره کرد که مهمترین آنها *Bacillus* sp. و *Pseudomonas flourescens* می‌باشند (۲۳ و ۳۳). این ریزجانداران با مکانیسم‌های مختلف مانند ترشح اسیدهای آلی، آزادسازی پروتون در عمل تنفس یا مصرف یون آمونیوم و تولید آنزیم فسفاتاز (۳۲)، می‌توانند فسفر تثبیت شده در خاک و فسفری که به صورت کودهای شیمیایی به خاک اضافه می‌شود را آزاد نموده و در اختیار گیاه قرار دهند (۱۲). در خاک‌های آهکی استفاده از باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد، علاوه بر تأمین کوگرد مصرفی گیاه با کاهش pH خاک سبب افزایش قابلیت جذب فسفر و سایر عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه می‌شوند (۱۳ و ۲۴). در تحقیقی که در خاک‌های شمال ایران انجام شد، نتایج نشان داد تقریبا ۸۸ درصد از جمعیت میکروبی حل‌کننده فسفات را باکتری‌ها تشکیل می‌دهند که فراوانی آنها بین ۱۰۷-۰ سلول در هر گرم خاک می‌باشد (۹). همچنین مطالعه یزدانی و همکاران (۳۳) نشان داد تلقیح بذر ذرت با باکتری‌های حل‌کننده فسفات و محرک رشد موجب افزایش حدود ۲۶/۷۹ درصدی بازده زراعی کود فسفر در تیمار مصرف توأم باکتری‌های حل‌کننده فسفات و کود فسفات شد که نسبت به تیمار کود فسفات به تنهایی و شاهد به‌ترتیب ۱۶/۳۸ و ۳۷ درصد افزایش داشت. کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات هم درکشت مستقیم و هم در راتون در نیشکر از یک سو باعث افزایش جذب فسفر و عملکرد گیاه و از سوی دیگر سبب کاهش مصرف کود فسفر تا ۲۵ درصد شد (۲۷). همچنین در پژوهشی دیگر تلقیح بذر ذرت با باکتری‌های *Rhodococcus* sp.، *Pseudomonas* sp. و *Arthrobacter nicotinovorans* در خاک‌های بدون کود فسفات و کود دهی با فسفات پتاسیم و تری‌کلسیم فسفات، بیشترین زیست‌توده ریشه و ساقه و غلظت فسفر در ریشه در تیمار *Pseudomonas* sp و فسفات پتاسیم مشاهده شد (۱۹) با توجه به اهمیت فسفر و میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات در کشاورزی و کارآمد بودن کودهای زیستی نسبت به کودهای شیمیایی و در نظر داشتن مقادیر زیاد فسفر در خاک‌های قلیایی زراعی، این تحقیق در جهت افزایش انحلال فسفات‌های نامحلول بوسیله میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات و شناسایی گونه‌های کارآمدتر حل‌کننده فسفات صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر گوگرد، کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* و کود سوپر فسفات تریپل بر روی جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات مطالعه‌ای به‌صورت مزرعه‌ای و آزمایشگاهی اجرا شد. بخش مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار کودی در دو حالت کاشت ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ و بدون کاشت در ۳ تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی زرقان در استان فارس انجام شد. فاکتورهای کودی مورد مطالعه در این پژوهش شامل کود گوگرد و کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* در چهار سطح (عدم مصرف گوگرد و کود زیستی حاوی *تیوباسیلوس* (S_0)، مصرف ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۱۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* (S_1)، مصرف ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* (S_2)، مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۴۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی حاوی باکتری *تیوباسیلوس* (S_3)) و کود سوپرفسفات تریپل در سه سطح (عدم مصرف کود سوپر فسفات تریپل (P_0)، مصرف ۱۰۰ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (P_1) و مصرف ۶۵ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (P_2)) بودند.

برای اجرای آزمایش، مزرعه مورد نظر به‌گونه‌ای انتخاب شد که خاک آن از لحاظ فسفر زیر حد بحرانی (۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. قبل از شروع آزمایش از خاک مزرعه یک نمونه شش کیلوگرمی مرکب تهیه و اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن به‌روش‌های زیر انجام شد: بافت خاک به روش هیدرومتری، هدایت الکتریکی به‌وسیله دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی، اسیدیته خاک در گل اشباع با استفاده از دستگاه pH متر، کل مواد خنثی‌شونده به روش تیتراسیون برگشتی با سود (۱۷)، مواد آلی به روش والکلی و بلاک (۳۰)، فسفر به روش آمونیوم مولیبدات وانادات در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (۳۱)، پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر (۳۱) و نیتروژن خاک به روش کجلدال (۳۱). با توجه به نتایج آنالیز خاک و در نظر گرفتن حداکثر پتانسیل تولید ذرت علوفه‌ای در منطقه، میزان کودهای مورد نظر بر اساس کتاب " تعیین حد بحرانی عناصر غذایی موثر در خاک ، گیاه و میوه در راستای عملکرد کمی و کیفی محصولات استراتژیک کشور " تعیین شدند. گوگرد به‌صورت گرانوله و از پژوهشگاه صنعت نفت و باکتری‌های تیوباسیلوس مورد استفاده با جمعیت تقریبی 10^8 باکتری در هر گرم مایع تلقیح از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید. برای اعمال تیمارهای

گوگردی ابتدا گوگرد و باکتری‌های *تیوباسیلوس* به خوبی با هم مخلوط شده و سپس به کرت‌های مورد نظر اضافه و پس از مخلوط شدن با خاک، جوی و پشته‌ها ایجاد گردید. همزمان با برداشت ذرت و در شرایطی که خاک مزرعه از رطوبت مناسبی برخوردار بود، بطور متوسط مقدار دو کیلوگرم خاک از هر یک از چهار خط کاشت هر کرت برداشته و پس از مخلوط کردن نمونه‌ها و عبور از الک دو میلی‌متری یک نمونه ۵ کیلوگرمی تهیه و در کیسه‌های پلاستیکی دو جداره (خیاری) گذاشته و لیبل‌گذاری گردید. بدین ترتیب با توجه به وجود ۱۲ تیمار در سه تکرار در دو سطح کاشت و نکاشت، تعداد ۷۲ نمونه ۵ کیلوگرمی از هر یک از کرت‌ها تهیه و به آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب در شهرستان کرج منتقل شد. نمونه‌های خاک با رعایت شرایط استریل در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

شمارش، جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌ها: به منظور جداسازی جدایه‌های باکتری‌های حل‌کننده فسفات از هر یک از تیمارها ۱۰ گرم خاک تهیه و ۹۰ سی‌سی آب مقطر استریل به آن اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر (۱۵۰ دور در دقیقه) قرار گرفت و سپس رقت‌های 10^{1} تا 10^{7} از این مخلوط تهیه و از هر رقت ۰/۱ میلی‌لیتر در سه تکرار روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت جامد پیکووسکایا ریخته و پتری‌ها در دمای ۳۰-۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند. برای شناسایی کلنی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از خصوصیت شفاف‌سازی محیط پیرامون کلنی استفاده شده و شمارش در ظرف مدت یک الی ۱۴ روز بعد از کشت انجام شد. کلنی‌ها ابتدا بر مبنای خصوصیات ریخت‌شناسی مانند شکل، رنگ و اندازه‌شان جداسازی شده و سپس با استفاده از کشت خطی خالص‌سازی شدند. در نهایت از کلنی‌های حاصل از کشت خطی ۶۷ جدایه باکتری خالص‌سازی شدند که برای مقایسه توانایی حل‌کنندگی فسفات مورد استفاده قرار گرفتند (۲۰).

بررسی توان انحلال فسفات نامحلول توسط باکتری‌ها در محیط کشت جامد پیکووسکایا: این آزمون با ۶۷ جدایه باکتری در ۶ زمان اندازه‌گیری با فاصله زمانی ۷۲ ساعت در ۳ تکرار در قالب طرح کامل تصادفی به مدت ۱۹ روز (زمانی که رشد کلونی و هاله ایجاد شده توسط باکتری ثابت ماند) در محیط کشت جامد پیکووسکایا با فسفات‌های نامحلول شامل هیدروکسی آپاتیت و فسفات دی‌هیدروژن کلسیم انجام شد. هر جدایه باکتری روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت پیکووسکایا به‌صورت لکه‌ای کشت داده شد و سپس در دمای ۲۹ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند. بعد از ۷۲ ساعت اولین اندازه‌گیری قطر کلنی و هاله شفاف ایجاد شده که فعالیت مثبت باکتری درحل فسفات معدنی محسوب می‌شود به‌وسیله خط‌کش انجام شد. از نسبت قطر هاله به قطر کلنی به‌عنوان معیاری برای تشخیص توانایی باکتری در انحلال فسفات استفاده شد. در نهایت از ۶۷ جدایه باکتری تعداد ۱۵ جدایه که توانایی انحلال فسفات بیشتری نسبت با سایر جدایه‌ها داشتند برای شناسایی ملکولی انتخاب شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی ملکولی باکتری‌های حل‌کننده فسفات: آزمون‌های مختلفی بر مبنای کتاب طبقه بندی سیستماتیک باکتری‌های برجی برای شناسایی ملکولی باکتری‌های حل‌کننده فسفات انجام که به شرح زیر می‌باشند: رنگ‌آمیزی گرم (gram stain) و رنگ‌آمیزی اسپور، تست کاتالاز، هیدرولیز نشاسته، اکسیداز، متیل رد، سیترات و رشد در نمک ۷ درصد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری: پس از انجام آزمایش و اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر در خاک، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و SPSS و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی اثر تیمارهای مختلف بر جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات در محیط کشت جامد پیکووسکایا: نتایج این بررسی نشان داد که اثر ساده و متقابل هر یک از تیمارهای کود گوگرد و کود زیستی *تیوباسیلوس*، فسفر و گیاه بر جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات در محیط کشت پیکووسکایا معنی‌دار شد و کاربرد منفرد و توأم هر یک از آنها باعث افزایش معنی‌دار جمعیت باکتری‌ها نسبت به شاهد در سطح احتمال یک درصد شد (جدول ۲).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Chemical and physical properties of the soil

بافت خاک Soil texture	پتاسیم K ($mg\ kg^{-1}$)	فسفر P ($mg\ kg^{-1}$)	نیتروژن N (%)	کربن آلی OC (%)	کل مواد خنثی شونده TNV (%)	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته خاک pH
لومی رسی Loam clay	242	10.5	0.09	0.6	32	1.31	8.1

مقایسه میانگین نتایج حاصل از اثر مصرف سطوح مختلف کود گوگرد و کود زیستی *تیوباسیلوس* بر جمعیت باکتری‌ها (سلول در هر گرم خاک خشک) حاکی از افزایش معنی‌دار در جمعیت باکتری‌ها بود (جدول ۳). بالاترین جمعیت باکتری‌ها در پایین‌ترین سطح، یعنی با مصرف تیمار S_1 بدست آمد به‌طوری‌که با افزایش سطوح کود گوگرد و کود زیستی *تیوباسیلوس* بیش از این مقدار بر جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات روندی کاهشی داشت و در بالاترین سطح گوگرد و کود زیستی *تیوباسیلوس* کمترین جمعیت باکتری مشاهده شد. باکتری‌های حل‌کننده فسفر نقش مهمی در چرخه بیوژئوشیمیایی فسفر در اکوسیستم خشکی و آبی ایفا می‌کنند، آنها با تولید اسیدهای آلی، ترکیبات فنولی، پروتون‌ها و سیدروفورها قادر به انحلال منابع مختلف فسفات نامحلول در خاک می‌باشند (۲۷). در پژوهشی مصرف کود NPK حاوی ۲ درصد گوگرد در مقایسه با کود NPK متداول در گندم سبب افزایش قابل ملاحظه جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات در ۹۱ و ۱۲۵ روز پس از کاشت گیاه و به تبع آن افزایش غلظت فسفر در اندام هوایی گیاه شد که علت این افزایش به دلیل تأثیر مثبت گوگرد بر جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات و فراهمی فسفر نسبت داده شد (۳). تمام خاک‌ها دارای باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد هستند ولی تعدادشان به علت کمبود ترکیبات گوگردی و مواد آلی ناچیز می‌باشند. افزودن ترکیبات احیا گوگردی به خاک موجب افزایش جمعیت اکسیدکننده‌ها و بالا رفتن توان اکسایش در خاک می شود (۲). همچنین مطالعه اثر مصرف فسفر بر جمعیت باکتری‌ها نشان داد کود فسفر در هر دو سطح، جمعیت باکتری‌ها (سلول در هر گرم خاک خشک) را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد (عدم مصرف فسفر) افزایش داد (جدول ۳). بهترین تیمار کودی در کاربرد فسفر، تیمار P_1 بود که بیشترین تأثیر را بر جمعیت باکتری‌ها نسبت به تیمار P_2 در محیط پیکووسکایا داشت. همچنین در این آزمایش جمعیت باکتری‌ها (سلول در هر گرم خاک خشک) در شرایط کاشت گیاه ذرت بیشتر از شرایط بدون گیاه بود و این افزایش جمعیت تقریباً در تمام سطوح مختلف گوگرد و فسفر مشاهده شد (جدول ۳ و ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر گوگرد، فسفر و گیاه بر جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات خاک

Table 2- Variance analysis of the effect of sulfur, phosphorus and plant on population of soil phosphate solubilizing bacteria

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (Df)	میانگین مربعات Mean squares
		جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات Population of Phosphate Solubilizing Bacteria
بلوک (Block)	2	852335555
گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* (Sulfur & *Thiobacillus* bacteria)	3	29385973472**
فسفر (Phosphorus)	2	48420663472**
گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* × فسفر (Sulfur & *Thiobacillus* bacteria × Phosphorus)	6	23048781806**
خطا (Error)	22	306413888
ذرت (Corn)	1	85870586806**
گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس*× ذرت (Sulfur & *Thiobacillus* bacteria × Corn)	3	28861222731**
فسفر × ذرت (Phosphorus × Corn)	2	55418376806**
گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* × فسفر× ذرت (Sulfur & *Thiobacillus* bacteria × Phosphorus × Corn)	6	23909185509**
خطای کل (Total Error)	24	363339305
ضریب تغییرات (CV)		39.8

ns، * و** به ترتیب نبود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

در مقایسه میانگین اثرات متقابل بیشترین جمعیت باکتری در تیمار S_1P_2 در شرایط کاشت ذرت مشاهده شد (جدول ۴). بین گیاهان و باکتری‌های حل‌کننده فسفات رابطه همزیستی سینرژیستی وجود دارد. بدین ترتیب که اکثر میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات هتروتروف می‌باشند که فسفر را در اختیار گیاه قرار داده و در مقابل از ترکیبات کربنی ترشح شده از ریشه گیاه تغذیه کرده و جمعیت آنها افزایش می یابد (۱۸). تلقیح بذر گیاهان با باکتری *Bacillus* spp. می‌تواند فسفر نامحلول خاک را به فرم قابل جذب درآورد (۲۲). اسکافید و همکاران (۱۹۸۱) کاربرد سنگ فسفات همراه با گوگرد و باکتری تیوباسیلوس (بیوسوپر) به عنوان منبع کود فسفر در سه نوع خاک آهکی در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار داده و دریافتند که همانند کود سوپر فسفات استفاده از بیوسوپر باعث افزایش عملکرد شبدر و جذب فسفر در گیاه شد. بر این اساس آنها نشان دادند که کود بیوسوپر می‌تواند به عنوان منبع فسفر برای تولید محصول در خاک‌هایی با فسفر کم تا متوسط مورد استفاده قرار گیرد (۲۵).

مقایسه حلالیت فسفر در باکتری‌های حل‌کننده فسفات در دو محیط حاوی فسفات دی‌هیدروژن کلسیم و هیدروکسی آپاتیت: نتایج حاصل از آزمون T وابسته (t=5.96) نشان داد توانایی باکتری‌ها در انحلال فسفر در دو محیط حاوی فسفر نامحلول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین دو محیط بیانگر این نکته بود که باکتری‌ها در محیط حاوی فسفات دی‌هیدروژن کلسیم توانایی انحلال فسفات بیشتری نسبت به محیط حاوی هیدروکسی آپاتیت داشتند (شکل ۱). گزارش‌های متفاوتی از توانایی گونه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات معدنی نامحلول چون تری‌کلسیم فسفات، دی کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و سنگ فسفات وجود دارد (۲۵). با جداسازی ۲۰ جدایه باکتری حل‌کننده فسفات از خاک و بررسی توان انحلال آنها از منابع سنگ فسفات پورولیا، سنگ فسفات میسوری، فسفات آهن و فسفات آلومینیوم نتایج حاکی از آن بود که ۷۵ درصد جدایه‌ها در باروری پایین خاک از سنگ فسفات پورولیا به‌عنوان منبع فسفر استفاده کردند (۲۷). همچنین در تحقیقی دیگر خان و همکاران (۱۴) نشان دادند که میزان انحلال فسفر توسط باکتری *P. fluorescens* از سه منبع تری کلسیم فسفات، فسفات آلومینیوم و آهن به ترتیب به مقدار ۱۰۰، ۹۲ و ۵۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

شناسایی ملکولی باکتری‌ها: در مجموع از ۷۲ نمونه خاک که برای حضور باکتری‌های حل‌کننده فسفات مورد بررسی قرار گرفت تعداد ۶۷ جدایه باکتری جداسازی شد که همگی توانایی تشکیل هاله شفاف در محیط پیکووسکایا را داشتند که از این تعداد ۱۵ جدایه توان انحلال فسفات بالایی نسبت به بقیه جدایه‌ها را داشتند، که نتایج حاصل از آزمون‌های میکروسکوپی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه‌ها نشان داد (جدول ۵) که شماره ۳، ۵، ۹، ۱–۲۱، ۳۹، ۱–۴۳، ۱–۴۸، ۱–۵۵، ۲–۵۵، ۲–۵۶، ۲–۶۰ و ۷۲ دارای اندوسپور بوده و متعلق به جنس باسیلوس می‌باشند. به‌ترتیب شماره‌های ۱–۲۱ و ۲–۶۰ به‌گونه *Bacillus cereus* و شماره‌های ۱–۴۳، ۲–۵۶ و ۷۲ به گونه *Bacillus subtilis* و شماره‌های ۳، ۵، ۹، ۳۹، ۱–۴۸، ۱–۵۵ و ۲–۵۵ متعلق به گونه *Bacillus megaterium* می‌باشند. باکتری‌های شماره ۶، ۴ و ۱–۶۸ تولید رنگ فلورسنس کرده و به عنوان گونه *Pseudomonas fluorescens* شناسایی شدند.

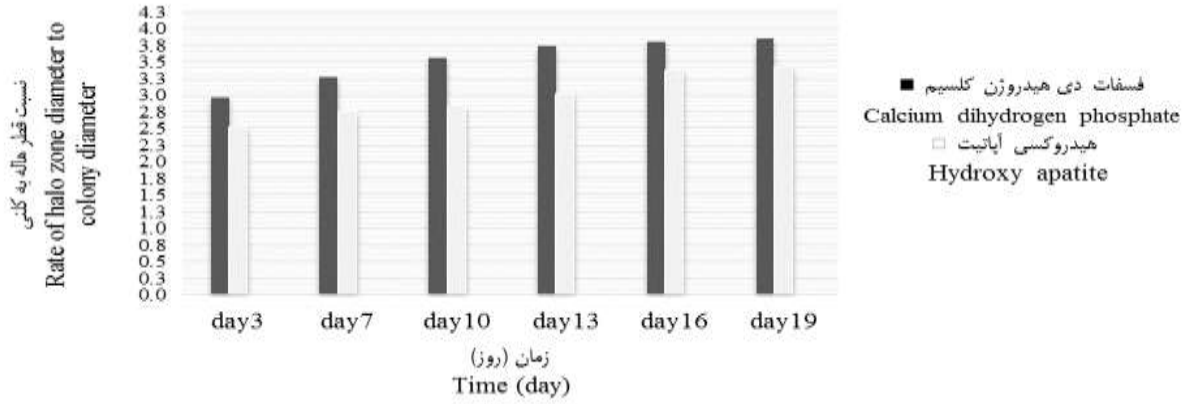
جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی گوگرد، فسفر و گیاه بر جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات خاک

Table 3- Comparison of means of main effects of sulfur, phosphorus and plant on population of soil phosphate solubilizing bacteria

تیمار Treatment	سطوح تیمار Treatment levels	جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات Population of phosphate solubilizing bacteria (Cell per gram of dry soil)
ذرت (Corn)	کاشت (Planted)	82408[a]
	بدون کاشت (Not planted)	13399[b]
گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* (Sulfur & *Thiobacillus* bacteria)	S0	20239[c]
	S1	103322[a]
	S2	52306[b]
	S3	15628[c]
فسفر (Phosphorus)	P0	18367[b]
	P1	99567[a]
	P2	25688[b]

S0: بدون مصرف گوگرد و تیوباسیلوس، S1: مصرف ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۱۰ کیلوگرم تیوباسیلوس، S2: مصرف ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۲۰ کیلوگرم تیوباسیلوس و S3: مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۴۰ کیلوگرم تیوباسیلوس در هکتار و P0: بدون مصرف کود سوپر فسفات تریپل، P1: مصرف ۱۰۰ درصد کود سوپر فسفات تریپل و P2: ۶۵ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک.

S0: without sulfur and biofertilizer containing *Thiobacillus*, S1: application of 500 kg S + 10 kg biofertilizer containing *Thiobacillus*, S2: 1000 kg S + 20 kg biofertilizer containing *Thiobacillus*, S3: 2000 kg S + 40 kg biofertilizer containing *Thiobacillus* per hectare and P0: without triple super phosphate, P1: with 100% triple super phosphate, P2: with 65% triple super phosphate based on soil test.



شکل ۱- حلالیت فسفر در دو محیط حاوی فسفات دی هیدروژن کلسیم و هیدروکسی آپاتیت

Figure 1- Comparison of phosphorus solubility in two media containing calcium dihydrogen phosphate and hydroxyl apatite

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر توأم گوگرد، فسفر و گیاه بر جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات خاک پس از برداشت ذرت

Table 4- Comparison of means of interactions effects of sulfur, phosphorus and plant on population of soil Phosphate solubilizing bacteria

ذرت Corn	فسفر Phosphorus	گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* Sulfur & *Thiobacillus* bacteria	جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات Population of phosphate solubilizing bacteria (Cell per gram of dry soil)
کاشت (Planted)	P0	S0	0^{f}
		S1	5233^{ef}
		S2	12200^{ef}
		S3	20667^{c-f}
	P1	S0	33667^{c-f}
		S1	49667^{cd}
		S2	15267^{def}
		S3	34500^{c-f}
	P2	S0	5167^{ef}
		S1	493333^{a}
		S2	19000^{c-f}
		S3	52667^{c}
بدون کاشت (Not planted)	P0	S0	28333^{c-f}
		S1	41333^{cde}
		S2	10833^{ef}
		S3	220000^{b}
	P1	S0	5833^{ef}
		S1	7500^{ef}
		S2	5267^{ef}
		S3	17000^{c-f}
	P2	S0	10000^{ef}
		S1	24333^{c-f}
		S2	14500^{def}
		S3	22667^{c-f}

S0: بدون مصرف گوگرد و تیوباسیلوس، S1: مصرف ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۱۰ کیلوگرم تیوباسیلوس، S2: مصرف ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۲۰ کیلوگرم تیوباسیلوس و S3: مصرف ۲۰۰۰ کیلوگرم گوگرد + ۴۰ کیلوگرم تیوباسیلوس در هکتار و P0: بدون مصرف کود سوپر فسفات تریپل، P1: مصرف ۱۰۰ درصد کود سوپر فسفات تریپل و P2: ۶۵ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک. میانگین‌هایی با حروف یکسان تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

جدول ۵- خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جدایه‌ها

Table 5- Physiological and biochemical properties of strains

آزمایش‌ها (Experiments)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
رنگ آمیزی گرم (Gram staining)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
رنگ آمیزی اسپور (Spor staining)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
فلورسانس (Fluorescence)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
تست کاتالاز (Catalase test)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
اکسیداز (Oxidase)	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
متیل رد (Methyl red)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
هیدرولیز نشاسته (Strach hydrolysis)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
رشد در نمک ۷٪ (Grown in salt 7%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
تست سیترات (Citrate test)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

الکومی (۸) در مطالعه‌ای اظهار داشتند که باکتری‌های جنس *Pseudomonas fluorescent* و *Bacillus megaterium* توانایی انحلال فسفر بالایی را در محیط خاک دارند. در پژوهشی دیگر با جداسازی ۷ جدایه باکتری از ریزوسفر سیب‌زمینی و بررسی توانایی انحلال سنگ فسفات توسط آنها در شرایط این ویترو نتایج حاکی از آن بود که تنها چهار جدایه توانایی انحلال سنگ فسفات را داشتند اما در شرایط مزرعه و تلقیح غده‌های سیب‌زمینی با همه جدایه‌ها نشان داد دو باکتری متعلق به جنس *Bacillus cereus* و *Achromobacter xylosoxidans* بالاترین کارایی را هم در رشد و نمو گیاه و هم انحلال سنگ فسفات داشتند (۷). قدس علوی و همکاران (۱۰) با جداسازی ۴۰ جدایه از ریزوسفر گیاه سنبل‌الطیب نشان دادند که بیشترین فراوانی باکتری متعلق به جنس*Pseudomonas* و*Bacillus* بود در حالی که بالاترین توان انحلال فسفر در محیط جامد اسپربر متعلق به جنس‌های *Pseudomonas* و *Xanthomonas* بود.

نتیجه‌گیری

در این بررسی نتایج نشان داد که کاربرد کود گوگرد توأم با کود زیستی *تیوباسیلوس* و کود سوپرفسفات تریپل در شرایط کاشت ذرت سبب افزایش جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات نسبت به شاهد در محیط پیکووسکایا شد. بنابراین مصرف گوگرد با باکتری تیوباسیلوس همراه با منابع معدنی کودهای فسفاته می‌تواند از یک سو سبب افزایش فراهمی زیستی فسفر و بهینه‌سازی مصرف کودهای شیمیایی و از سوی دیگر کاهش آلودگی زیست محیطی و هزینه‌های اقتصادی شود. همچنین در این میان دو باکتری متعلق به جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* بیشترین توانایی را در انحلال فسفر داشتند که می‌توان از این ریزجانداران به‌عنوان کودهای زیستی کارآمد در کشاورزی پایدار استفاده کرد.

منابع

1- Batool S., and Iqbal A. 2018. Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). Saudi Journal of Biological Sciences 2018: 1-11.

2- Besharati H., Khosravi H., Khavazi K., Ziaeian A., Mirzashahi K., Ghaderi J., Zabihi H.R., Mostashari M., Sabah A., and Rashidi N. 2018. Effects of biological oxidation of sulfur on soil properties and nutrient availability in some soils of Iran. Journal of Soil Research 31(3): 393-404. (In Persian with English abstract)

3- Bouranis D.L., Venieraki A., Chorianopoulou S.N., and Katinakis P. 2019. Impact of elemental sulfur on the rhizospheric bacteria of durum Wheat crop cultivated on a calcareous Soil. Plants 8: 1-21.

4- Chen Y.P., Rekha P.D., Arunshen A.B., Lai W.A., and Young C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Applied Soil Ecology 34: 33-41.

5- Dabaghian Z., Pirdashti H., Abasian A., and Bahari Saravi S.H. 2014. The effect of biofertilizers, Thiobacillus, Azotobacter, Azospirillum and organic sulfur on nodulation process and yield of soybean (*Glycine max* L. Merr.). Agronomy Journal 107: 17-25. (In Persian with English abstract)

6- Dawwam G.E., Elbeltagy A., Emara H.M., Abbas I.H., and Hassan M.M. 2013. Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. Annals of Agricultural Science 58(2): 195-201.

7- Ekin Z. 2010. Performance of phosphate solubilizing bacteria for improving growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in the presence of phosphorus fertilizer. African Journal of Biotechnology 9(25): 3794-3800.

8- El-Komy H.M.A. 2005. Co-immobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful

phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants. Food Technol. Biotechnol 43(1): 19-27.
9- Fallah A. 2006. Abundance and distribution of phosphate solubilizing bacteria and fungi in some soil samples from north of Iran. 18th World Congress of Soil Science, July 9-15, 2006, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
10- Ghodsalavi B., Soleimani M., Ahmadzade M., and Soleimani S. 2014. Phosphate dissolution potential and symbiotic efficiency of bacteria isolated from the rhizosphere Valerian medicinal plant. Science and Techniques of Greenhouse Culture 4(13): 61-71. (In Persian with English abstract)
11- Gull M., Hafeez F.Y., Saleem M., and Malik K.A. 2004. Phosphorus uptake and growth Promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and a mixed rhizobial culture. Australian Journal of Experimental Agriculture 44: 623-628.
12- Karimian N. 2009. Consequences of excessive consumption of phosphate fertilizers. Journal of Soil and Water Sciences 12: 1-12. (In Persian with English abstract)
13- Khavazi K., Jahandideh Mahjen Abadi V.A., and Taghipoor F. 2018. Effect of Sulfur, *Thiobacillus* bacteria and phosphorus on the yield and nutrient elements uptake of wheat in calcareous soil. Journal of Soil Management and Sustainable 8(2): 23-41. (In Persian with English abstract)
14- Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Saqlan Naqvi S.M., and Rasheed M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. Journal of Agricultural and Biological Science 1(1): 48-58.
15- Malakooti M.G., Keshavarz P., and Karimian N.A. 2005. Comprehensive method of diagnosis and optimal recommendation of fertilizer for sustainable agriculture. Tarbiat Modarres University Press, Tehran.
16- Mashayekhi P., and Solhi M. 2010. Perspective of fertilizer consumption in Iran and the world. P. 26- 33. 1th congress of fertilizer challenges in Iran: Half century of fertilizer consumption. 10-12 March. 2010 Tehran, Iran.
17- Nelson R.E. 1982. Carbonate and Gypsum. In: A.L. Page (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part2. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin. USA, 45-75.
18- Pérez E., Sulbarán M., Ball M.M., and Yarzabál L.A. 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the southeastern Venezuelan region. Soil Biology and Biochemistry 39(11): 2905-2914.
19- Pereira S.I.A., and Castro P.M.L. 2014. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils. Ecological Engineering 73: 526-535.
20- Pikovskaya R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362-370
21- Puente M., and Bashan Y. 2004. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock- weathering desert plants. Growth promotion of cactus seedlings. Plant Biology 6: 643-650
22- Rodrıguez H., and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances 17: 319–339.
23- Sadeghipour Marvi M., Pourbabaee A.A., Alikhani H.A., Haidari A., and Manafi Z. 2017. Isolation and identification of sulfur oxidizing bacteria in agricultural soil and evaluating sulfur oxidation yield. Biological Journal of Microorganism 6(22): 113-125. (In Persian with English abstract)
24- Salimpour S., Khavazi K., Nadian H., Besharati H., and Miransari M. 2010. Enhancing phosphorous availability to canola (*Brassica napus* L.) using P solubilizing and sulfur oxidizing bacteria. Australian Journal Crop Science 4(5): 330-334.
25- Sarikhani M.R., Malboobi M.A., and Ebrahimi M. 2015. Phosphate solubilizing bacteria: Isolation of bacteria and phosphate solubilizing genes, mechanism and genetics of phosphate solubilization. Journal of Agriculture Biotechnology 6(1): 75-110. (In Persian with English abstract)
26- Saha N., and Biswas S. 2009. Mineral phosphate solubilizing bacterial community in agro-ecosystem. African Journal of Biotechnology 8(24): 6863-6870.
27- Sundra B., Natarajan V., and Hari K. 2002. Influence of Phosphorus solubilizing bacteria of chenges in soil available phosphorus and sugarcane and suger yield. Field Crops Research 43-49.
28- Tashakori Fard E., Pirdashti H., and Taghavi Ghasemkhili F. 2010. The importance and position of fertilizers in traditional and sustainable agriculture in Iran and the world. P. 39-47. 1th congress of fertilizer challenges in Iran: Half century of fertilizer consumption. 10-12 March. 2010 Tehran, Iran.
29- Vazquez P., Holguin G., Puente M.E., Lopez-Cortes A., and Bashan Y. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biology and Fertility of Soils 30: 460-468.
30- Walkly A., and Black I.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
31- Westerman R.E.L. 1990. Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America.
32- Whitelaw M.A., Harden T.J., and Bender G.L. 1997. Plant growth promotin of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. Australian Journal of Soil Research 35: 291-300.
33- Yazdani M., Pirdashti H., Esmaili M.A., and Bahmanyar M.A. 2011. Effect of inoculation phosphate solubilization

microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on nutrient use efficiency in corn (*Zea mays* L.) cultivation. 3(2): 65-80. (In Persian with English abstract)

Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 1, March-April 2021, p. 83-93

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، فروردین –اردیبهشت ۱۴۰۰، ص. ۹۳-۸۳

Effect of *Thiobacillus*, Sulfur and Phosphorus on Population of Phosphate Solubilizing Bacteria in Soil

A.R. Fallah Nosratabad[1*]- M. Habibi[2]

Received: 27-04-2020
Accepted: 15-12-2020

Introduction: According to WHO and FAO studies, the diseases caused by contaminated foods are of the most widespread threats to human health in developing and developed countries. Therefore, in recent years, researchers have been trying to use soil microorganisms to solve this problem and maintain the health of plants and the environment. Phosphorus after nitrogen, is a major macronutrient in plants which controls the growth, seeding and fruit production and involves in basic biological functions such as cell division, nucleic acids synthesis, photosynthesis and respiration and energy transfer. However, high amount of soluble inorganic phosphate is annually applied to the soil as chemical fertilizer but a large portion of it is immobilized rapidly after application due to phosphate fixation by aluminum, calcium, iron, magnesium and soil colloids and becomes unavailable to plants. The use of biological agents especially phosphate solubilizing microorganisms, can play an important role in supplying plant nutrients and improves crop health and productivity without causing any harm in agricultural and natural ecosystems. Bacteria and fungi are the two important groups of phosphate solubilizing microorganisms. Phosphate solubilizing bacteria in soil include *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Enterobacter* and *Burkholderia*, and the most important ones i.e., *Bacillus* sp. and *Pseudomonas flourescens*.

Material and Methods: In order to evaluate the effect of *Thiobacillus*, sulfur and phosphorus application on population of phosphate solubilizing bacteria in soil, a field experiment was conducted at Zarghan Agricultural and Natural Resources Research Center of Iran in a factorial, based on complete randomized block design with 3 replications. Treatments consisted of three levels of sulfur fertilizer with biofertilizer containing *Thiobacillus* bacteria (without sulfur and biofertilizer containing *Thiobacillus* (S0), application of 500 kg S + 10 kg biofertilizer containing *Thiobacillus* (S1), 1000 kg S + 20 kg biofertilizer containing *Thiobacillus* (S2) and 2000 kg S + 40 kg biofertilizer containing *Thiobacillus* (S3) per hectare), three levels of triple super phosphate (without phosphorus (P0), 100% (P1) and 65% (P2) percent phosphorus recommended based on the soil test) in two corn planted and not planted states. After harvesting, 72 soil samples were collected from each plot and transferred to the biology laboratory of soil and water research institute of Karaj. Soil samples were stored in sterile conditions at 4°C. In order to isolate phosphate solubilizing bacteria, 10 gram of soil from each sample was suspended in 90 ml of sterilized water to make 1:10 dilution. Then, series of dilution were made ($10^1 – 10^7$) and 0.1 ml of suspensions of the diluted soil sample were transferred to petri dishes containing pikovskaya medium and incubated at 28- 30°C. To identify PSP from halos surrounding characterized colonies was used and counting was performed 1-14 days after cultivation. The colonies were isolated on the basis morphological characteristics such as shape, color and size and then purified by linear culture. Finally, 60 strains were purified that were used to compare phosphate solubilizing capability.

Results and Discussion: The results of this study showed that the main and interaction effects of sulfur fertilizer and biofertilizer treatments of *Thiobacillus*, phosphorus and plants on the population of phosphate-solubilizing bacteria (cells per gram of dry soil) in Pikovskaya medium were significant at 0.01 level probability. The highest population of bacteria was obtained at the lowest level (S1). Increasing the level of sulfur fertilizer and *Thiobacillus* biofertilizer decreased the population of phosphate-solubilizing bacteria and the highest level of sulfur and *Thiobacillus* biofertilizer led to the lowest bacterial population. Also, the study of phosphorus application on the bacterial population showed that phosphorus fertilizer at both levels significantly increased the

1- Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, (AREEO), Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: rezafayah@yahoo.com)
2- Ph.D. Student, Department of Agronomy, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
DOI: 10.22067/jsw.2021.14974.0

bacterial population compared to the control (no application phosphorus). The best fertilizer treatment for phosphorus application was P1 which had the greatest effect on bacterial population compared to P2 treatment in Pikovskaya environment. In this experiment, the population of bacteria in corn planted conditions was higher than in non-planted conditions and this population increase was observed in almost all different levels of sulfur and phosphorus fertilizers. The highest bacterial population was observed in combined treatment of S1P2 under corn planted conditions. The results of microscopic, physiological and biochemical tests of the strains showed that all 60 bacterial strains were capable to form clear zone in Pikovskaya medium. Among them, 15 strains (7, 3, 2 and 3 strains belonging to *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescent*, respectively*)* had higher phosphate solubility than the others.

Keywords: Corn, Phosphate solubilizing bacteria, Phosphorus, Sulfur, *Thiobasillus*