

PHOSPHORUS SOLUBILIZING BACTERIA – REVIEW ARTICLE

BAKTERIE SOLUBILIZUJĄCE FOSFOR – PRZEGLĄD

DOI: 10.30540/sae-2018-027

Abstract

This article reviews the Phosphorus Solubilizing Bacteria, discusses the types of organic acids produced by them, as well as the impact on economy with non-renewable sources, such as phosphate rocks. In addition, the phosphorus solubilization mechanism is discussed.

Keywords: solubilization, phosphorus, bacteria solubilizing phosphorus, organic acids

Streszczenie

W niniejszym artykule dokonano przeglądu bakterii solubilizujących fosfor, omówiono rodzaje produkowanych przez nie kwasów organicznych, a także ich wpływ na gospodarkę źródłem nieodnawialnym, jakim są złoża fosforytowe. Ponadto skomentowano mechanizm solubilizacji fosforu.

Słowa kluczowe: solubilizacja, fosfor, bakterie solubilizujące fosfor, kwasy organiczne

1. INTRODUCTION

The mobility of phosphorus in the soil is limited, which is related to low accessibility for living organisms. As a result of the ions precipitation processes, i.e. Al^{3+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} or Mg^{2+} , hardly soluble salts are formed which inhibits the migration of this element. Organic matter naturally present in the soil has a partially protective role in the formation of phosphorus compounds which are hard to access for plants. This is the result of a possibility of forming various chelate bonds with ions (e.g. Ca^{2+} , Al^{3+}), thus preventing the formation of hardly soluble phosphate salts [1, 20].

Phosphorus in soil solution occurs in three forms, depending on its availability to plants. The first of these is active phosphorus, occurring in the soil in the form of PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- ions, separated as a result of the dissociation of orthophosphoric acid.

The next form is mobile phosphorus. These are the most common phosphates of aluminum, iron, calcium, calcium and magnesium hydrogen phosphates ($\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$, $\text{Mg}(\text{HPO}_4)_2$) and wivianite ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$). In addition, mobile phosphorus also includes compounds of this element, which are adsorbed on the surface of iron and aluminum oxides, present in the hydrated form, adsorbed on calcium

1. WPROWADZENIE

Ruchliwość fosforu w glebie jest ograniczona, co wiąże się z tym, że jest on mało dostępny dla organizmów żywych. W wyniku procesów strącania jonami, tj. Al^{3+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} czy Mg^{2+} , powstają trudno rozpuszczalne sole, które hamują migrację tego pierwiastka. Materia organiczna naturalnie występująca w glebie pełni częściowo funkcję ochronną w procesie powstawania związków fosforu trudno dostępnych dla roślin. Wynika to z możliwości tworzenia różnych połączeń chelatowych z jonami (na przykład Ca^{2+} , Al^{3+}), przez co zapobiega powstawaniu trudno rozpuszczalnych soli fosforanowych [1, 20].

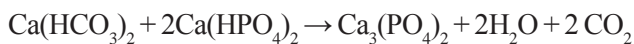
Fosfor w roztworze glebowym występuje w trzech formach, zależnie od jego dostępności dla roślin. Pierwszą z nich jest fosfor aktywny znajdujący się w glebie w formie jonów PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , wyodrębnionych w wyniku dysocjacji kwasu ortofosforowego.

Kolejną formą jest fosfor ruchomy. Są to najczęściej fosforany glinu, żelaza, wapnia, wodorofosforany wapnia i magnezu ($\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$, $\text{Mg}(\text{HPO}_4)_2$) oraz wivianit ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$). Ponadto, do fosforu ruchomego należą również związki tego pierwiastka, które zostają zaadsorbowane na powierzchni tlenków żelaza oraz glinu, występujących w postaci uwodnio-

carbonate molecules and some organic compounds, i.e. phospholipids, phytate or nucleic acids [3, 20].

The last form is supplemental phosphorus, which includes apatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$), variscite ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), strengit ($\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), phosphate rock ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).

With the increase pH value in soil, dissociation of phosphoric acid contained in it increases, which leads to a reduction in the form of mobile phosphorus [13]. The amount of phosphorus available to plants in the soil depends on its pH, humidity and organic matter content. The most available phosphorus occurs in soils with a slightly acid reaction. On soils with an acidic, very acidic or alkaline reaction, phosphorus is re-established, which leads to a decrease in the number of bioavailable forms [21]. At slightly acidic pH, i.e. pH above 5, this element is in the form of H_2PO_4^- ions, which can be immediately absorbed by plants. In soils of neutral or alkaline reaction, containing large amounts of Ca^{2+} ions, reactions occur with superphosphate:



In contrast, in acidic soils with significant amounts of Al^{3+} and Fe^{3+} ions, insoluble AlPO_4 and FePO_4 compounds are formed. As a result, phosphorus is re-established in soil solutions, which means that there are no forms available to plants despite nourishing the soil with phosphate containing fertilizers [3, 6, 20, 21].

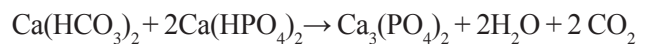
The soil flora consists of various species of microorganisms. Their occurrence is related to the pH of the soil. The alkaline and rich in humus soils are dominated by bacteria with a smaller number of fungi. Soil properties are conditioned by the activity of microorganisms living in the soil. Phosphorus bacteria that live in the soil have particular importance for phosphoric plant nutrition [6]. These microorganisms accumulate themselves within the rhizosphere, where, as a result of life activities, they can influence the transformation of phosphorus in the soil. Phosphorus solubilizing bacteria (PSB – *Phosphorus Solubilizing Bacteria*) produce, among others, organic acids, a product of metabolic processes by which they dissolve hardly accessible forms of phosphorus. Surpluses resulting from these processes can be used by plants. [15].

Some plants in conditions of deficiency of bioavailable phosphorus emit organic acids, among others citric acid, apple acid, amber acid. Then, in the root zone, the soil solution becomes acidic and

nej, adsorbowane na cząsteczkach węglanu wapnia i niektórych związkach organicznych, tj. fosfolipidy, fityna czy kwasy nukleinowe [3, 20].

Ostatnią formą jest fosfor zapasowy, do którego należą apatyt ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$), waryscyt ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), strengit ($\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), fosforyt ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).

Wraz ze wzrostem pH gleby, wzrasta dysocjacja kwasu fosforowego w niej zawartego, co prowadzi do zmniejszenia się form ruchomych fosforu [13]. Ilość fosforu dostępnego dla roślin w glebie zależy od jej odczynu, wilgotności oraz zawartości materii organicznej. Najwięcej fosforu przyswajalnego znajduje się w glebach o odczynie lekko kwaśnym. Na gruntach o odczynie kwaśnym, bardzo kwaśnym bądź alkalicznym dochodzi do uwstecznienia fosforu, co prowadzi do zmniejszenia się ilości form biodostępnych [21]. Przy odczynie lekko kwaśnym, tj. pH powyżej 5, pierwiastek ten występuje w formie jonów H_2PO_4^- , które mogą być od razu wchłaniane przez rośliny. W glebach o odczynie obojętnym lub zasadowym, zawierających duże ilości jonów Ca^{2+} , zachodzą reakcje z tzw. superfosfatem:



Natomiast w glebach o odczynie kwaśnym, gdzie występują znaczne ilości jonów Al^{3+} i Fe^{3+} , tworzą się nierozpuszczalne związki AlPO_4 i FePO_4 . W wyniku tego dochodzi do tzw. uwsteczniania się fosforu w roztworach glebowych, co oznacza, że nie ma form przyswajalnych dla roślin pomimo nawożenia gleby nawozami zawierającymi fosfor [3, 6, 20, 21].

W skład flory glebowej wchodzi różnorodny gatunki mikroorganizmów. Ich występowanie jest związane między innymi z odczynem pH gleby. W glebach zasadowych i bogatych w próchnicę dominują bakterie, mniej jest grzybów. Właściwości gleby uwarunkowane są działalnością mikroorganizmów bytujących w glebie. Szczególne znaczenie dla odżywiania roślin fosforem mają bytujące w glebie bakterie fosforowe [6]. Drobnoustroje te kumulują się w obrębie ryzosfery, gdzie w wyniku działalności życiowej mogą wpływać na przemiany fosforu w glebie. Bakterie solubilizujące fosfor (PSB – *Phosphorus Solubilizing Bacteria*) wytwarzają m.in. kwasy organiczne, będące produktem procesów metabolicznych, dzięki którym rozpuszczają trudnodostępne formy fosforu. Nadwyżki powstałe w wyniku tych procesów mogą być wykorzystane przez rośliny [15].

Niektóre rośliny w warunkach niedoboru biodostępnego fosforu wydzielają kwasy organiczne, m.in. kwas cytrynowy, jabłkowy, bursztynowy. Wówczas w strefie korzeniowej dochodzi do zakwaszenia roz-

thus the solubility of the phosphates contained in it is increased. This activity is particularly exhibited by legume and cruciferous plants [7]. To improve the process of nutrient uptake and to reduce abiotic stress of plants, it is important to conduct an optimized form of fertilization, thus not jeopardizing the diversity of soil bacteria. Additionally, in order to make the best use of phosphorus in the soil, a selection of microorganisms should be introduced to determine which of them are the most effective for converting forms that are difficult to access into bioavailable forms. This group includes phosphorus solubilizing bacteria – PSB, the use of which seems to be both an economical and environmentally safe alternative [5, 9, 16].

The purpose of this work was to review individual bacteria from the PSB group, thus enabling their use for the production of fertilizer biopreparations depending on the destination.

2. PHOSPHORUS SOLUBILIZING BACTERIA

In recent years, research focussed on the use of phosphorus hardly available in soil has been initiated. Different strains of bacteria belonging to the PSB group were used for this purpose.

Depending on the soil type and its abundance in phosphorus, the phosphorus biopreparations can be applied. On the soil rich in this element, there is no need to introduce additional quantities of biopreparations, while on soils with low phosphorus level it is necessary to consider the possibility of its recovery from waste using bacteria from the PSB group. Such sources include sewage sludge, ashes after biomass and bone combustion. Labuda et al. undertook research into the solubilization of phosphorus from poultry bones and sewage sludge after the third stage of treatment. For the purpose of the experiment, *Bacillus megaterium* bacteria were applied to bone meal tests [11]. It has been proven that the strain is capable of solubilizing phosphorus and the material treated as waste can be used for phosphorus recovery. The same scientific team also conducted experiments on bone meal, introducing this time *Acidithiobacillus* bacteria, which are capable of producing sulfuric acid, what enables intensive dissolution of phosphoric stock. The experiment showed that these bacteria are able to achieve twice the concentration of P_2O_5 in the analyzed samples. This is due to the effect on the bone of sulfuric acid, which is a much stronger acid than organic acids produced by

tworu glebowego, a tym samym do zwiększenia rozpuszczalności fosforanów w nim zawartych. Aktywność tę szczególnie wykazują rośliny z rodziny motylkowatych i krzyżowych [7]. Aby usprawnić proces pobierania składników odżywczych oraz ograniczyć stres abiotyczny roślin, ważne jest, aby prowadzić zoptymalizowaną formę nawożenia, nie zagrażając tym samym różnorodności bakterii glebowych. Dodatkowo, w celu możliwie jak najlepszego wykorzystania zasobów fosforu w glebie, należy wprowadzić selekcję mikroorganizmów, pozwalającą określić, które z nich są najbardziej skuteczne do przeprowadzania form trudnodostępnych w formy biodostępne. Do tej grupy należą bakterie solubilizujące fosfor – PSB, których wykorzystanie wydaje się być zarówno ekonomiczną, jak i bezpieczną dla środowiska alternatywą [5, 9, 16].

Celem niniejszej pracy był przegląd poszczególnych bakterii z grupy PSB, który może pozwolić na ich wykorzystanie do produkcji biopreparatów nawozowych w zależności od przeznaczenia.

2. BAKTERIE SOLUBILIZUJĄCE FOSFOR

W ostatnich latach rozpoczęto badania ukierunkowane na wykorzystanie fosforu trudnodostępnego w glebie. Do tego celu zastosowano różne szczepy bakterii należące do grupy PSB. W zależności od rodzaju gleby i jej zasobności w fosfor można aplikować biopreparaty fosforowe. Na glebach bogatych w ten pierwiastek nie ma potrzeby wprowadzania dodatkowych ilości biopreparatów, natomiast na glebach ubogich w fosfor należy rozpatrywać możliwość jego odzysku z odpadów z wykorzystaniem bakterii z grupy PSB. Do tego typu źródeł zalicza się osady ściekowe, popiół po spaleniu biomasy oraz kości. Labuda i in. podjęli się badań nad solubilizacją fosforu z kości drobiowych oraz osadu ściekowego po trzecim stopniu oczyszczania. Na potrzeby eksperymentu do prób z mączką kostną zostały zaaplikowane szczepy z gatunku *Bacillus megaterium* [11]. Udowodniono, że bakterie te są zdolne do solubilizacji fosforu, a materiał traktowany jako odpad może zostać wykorzystany do odzyskiwania z niego fosforu. Ten sam zespół naukowy przeprowadził doświadczenie również na mączce kostnej, wprowadzając tym razem bakterie z rodzaju *Acidithiobacillus*, które są zdolne do wytwarzania kwasu siarkowego, co umożliwia intensywne roztwarzanie surowca fosforowego. Eksperyment wykazał, że bakterie te są zdolne uzyskać dwukrotnie większe stężenia P_2O_5 w analizowanych próbach. Wynika to z działania na kości dużo silniejszym kwasem, jakim jest kwas siarkowy, aniżeli

B. megaterium [10, 11]. Studies on solubilization of phosphorus from sewage sludge were also conducted by Bezak-Mazur et al. The experiment showed that the application of *Bacillus megaterium* bacteria on the sludge submitted to hygienization with a large dose of calcium oxide effectively affected the dissolution of hard-to-access phosphorus forms, thus increasing the bioavailable ones [2].

In 2007, G. Selvakumar et al. studied the effect of low temperature on the ability to solubilize phosphorus by *Serratia marcescens* strain (MTCC 8708). The experiment was carried out under three temperature conditions, i.e. 4°C, 15°C i 30°C on wheat. Studies have shown that these microorganisms solubilized phosphorus even at the lowest temperature, while biomass and nutrient uptake by wheat seedlings increased significantly [22].

Then in 2009, Malboobi et al. conducted an experiment on potato bulbs by applying three isolates of phosphorus solubilizing bacteria, i.e. the *Pantelea aglomerans*, the *Microbacterium laevaniformans* and the *Pseudomonas putida* to the rhizosphere. It has been shown that the proposed microorganisms effectively hydrolyze insoluble phosphorus. In addition, the introduction of mineral fertilizer containing phosphorus without applied bacteria did not significantly affect the potato yield, while the simultaneous use of *P. aglomerans* and *P. putida* strain allowed the yield to be increased by up to 25% [12].

The study involved the investigation of the influence of phosphorus solubilizing bacteria on the symbiosis of legumes with rhizobia. *Sinorhizobium meliloti* strain, which is a good solubilizer for iron and phosphorus and *Pseudomonas putida* strain which increases phosphorus solubility were applied to alfalfa seedlings. However, *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas putida* were introduced into soybean seedlings. As a result of this experiment there were changes in the root system in soybean seedlings, but not in alfalfa in the presence of *Pseudomonas* strains [18].

Two-year field studies were also conducted to investigate the effects of two types of phosphorus-dissolving bacteria, *Pantoea cypripedii* and *Pseudomonas plecoglossicida*. These bacteria were inoculated for wheat and maize crops alone or together with calcium phosphate fertilization. This experiment was compared to the cycle of cultivation of these plants using fertilization with phosphate fertilizer (diammonium phosphate, DAP). Observations were

kwasy organiczne wytwarzane przez *B. megaterium* [10, 11]. Badania nad solubilizacją fosforu z osadu ściekowego prowadzili również Bezak-Mazur i in. Eksperyment wykazał, że aplikacja bakterii z rodzaju *Bacillus megaterium* na zhygienizowany tlenkiem wapnia osad skutecznie wpłynęła na rozpuszczenie form trudnodostępnych fosforu, a tym samym zwiększenie form biodostępnych [2].

W 2007 roku G. Selvakumar i in. badali wpływ niskiej temperatury na zdolność solubilizacji fosforu szczepu z rodzaju *Serratia marcescens* (MTCC 8708). Eksperyment przeprowadzono w trzech warunkach temperaturowych, tj. 4°C, 15°C i 30°C na pszenicy. Badania wykazały, że mikroorganizmy wykorzystane do doświadczenia solubilizowały fosfor nawet w najniższej temperaturze, a biomasa i pobór składników odżywczych przez sadzonki pszenicy znacznie się zwiększyły [22].

Z kolei w 2009 roku Malboobi i in. przeprowadzili badania na bulwach ziemniaków, wprowadzając w strefę ryzosfery trzy szczepy bakterii solubilizujących fosfor, tj. *Pantelea aglomerans*, *Microbacterium laevaniformans* i *Pseudomonas putida*. Wykazano, że zaproponowane mikroorganizmy skutecznie hydrolizowały nierozpuszczalny fosfor. Dodatkowo, wprowadzenie nawozu mineralnego zawierającego fosfor bez zaaplikowanych bakterii nie wpłynęło znacząco na plon ziemniaka, natomiast zastosowanie jednocześnie szczepu *P. aglomerans* i *P. putida* pozwoliło na zwiększenie plonu do 25% [12].

Badano również wpływ bakterii solubilizujących fosfor na symbiozę roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. Na sadzonki lucerny siewnej zaaplikowano szczep *Sinorhizobium meliloti*, który jest dobrym solubilizatorem żelaza i fosforu, oraz szczep *Pseudomonas putida* zwiększający rozpuszczalność fosforu. Natomiast na sadzonki soi wprowadzono *Bradyrhizobium japonicum* i *Pseudomonas putida*. W wyniku tego eksperymentu zaobserwowano zmiany w systemie korzeniowym w sadzonkach soi. Obecność *Pseudomonas putida* w sadzonkach lucerny nie wpłynęła na wzrost korzeni tych roślin [18].

Przeprowadzono także dwuletnie badania terenowe w celu zbadania wpływu dwóch rodzajów bakterii rozpuszczających fosfor, tj. *Pantoea cypripedii* i *Pseudomonas plecoglossicida*. Bakterie te zostały zaszczerpione na uprawy pszenicy i kukurydzy pojedynczo lub wraz z nawożeniem fosforanem wapnia. Eksperyment ten porównano do cyklu uprawy tychże roślin z wykorzystaniem nawożenia nawozem fosforowym (fosforan diamonu, DAP). Obserwacje pro-

made in terms of crop size, soil fertility and economic profits. PSB inoculation together with calcium phosphate fertilization increased yield growth in terms of shoot height, dry biomass of shoots and roots, grain yield in both maize and wheat crops. Soil fertility in terms of phosphorus availability for plants and the PSB population in both crops was significantly improved with PSB inoculation along with calcium phosphate fertilization. Fertilizing with mineral fertilizer did not give such effects. These studies suggest that the use of phosphate biopreparations together with calcium phosphate fertilization was more economical due to the reduction of fertilizer consumption costs and an increase in the yield [8].

Rojas et al. conducted an experiment in which the synergy between nitrogen-fixing microorganisms and phosphorus solubilizing bacteria was investigated. For this purpose, two species of bacteria were applied to mangrove seedlings; binding nitrogen *Phyllobacterium sp.* and phosphorus-soluble *Bacillus licheniformis*. Studies have shown that after applying both strains at the same time, nitrogen binding and phosphorus solubilization increased compared to the effects observed during the addition of individual cultures [17].

In 2013, an experiment was carried out to determine the effect of phosphorus solubilizing bacteria, i.e. *Kocuria sp.* and *Bacillus subtilis* on coffee plantation of the Castillo variety. The experiment was performed in greenhouse conditions using bacterial strains and calcium phosphate fertilization. The study showed that the best effect was obtained using both variants simultaneously [4].

Recent research (2017) shows that the application of nitrogen and phosphorus bacteria at the same time can significantly affect the yield increase. Rugheim et al. conducted field experiments on fenugreek, for which they used bacteria of the genus *Bacillus megaterium* and *Sinorhizobium meliloti*. The use of *Bacillus megaterium* alone resulted in an increase in the dry weight of the root, while the inoculation of *Sinorhizobium meliloti* on its own facilitated the growth of the plant and the increase in the dry matter of the shoots. The simultaneous application of both types of microorganisms significantly contributed to the growth of roots, shoots and also increased the number of fenugreek seeds [19].

Table 1 presents a list of bacteria capable of solubilizing phosphorus in soil. The solubilization mechanism is related to the production of organic acids by the occurring microorganisms in the soil.

wadzono pod kątem wielkości plonu, żyzności gleby i zysków ekonomicznych. Inokulacja PSB wraz z nawożeniem fosforanem wapnia zwiększyła wzrost plonu pod względem wysokości pędów, suchej biomasy pędów i korzeni, plonu ziarna zarówno w uprawach kukurydzy, jak i pszenicy. Żyzność gleby pod względem dostępności fosforu dla roślin i populacji PSB w obu uprawach uległa znacznej poprawie przy inokulacji PSB wraz z nawożeniem fosforanem wapnia. Nawożenie nawozem mineralnym bez wzbogacenia nie dało takich efektów. Przeprowadzone badania sugerują, że stosowanie biopreparatów fosforowych wraz z nawożeniem fosforanem wapnia było bardziej ekonomiczne ze względu na zmniejszenie kosztów zużycia nawozu i zwiększenie wielkości plonu [8].

Rojas i in. przeprowadzili doświadczenie, w którym badano synergizm pomiędzy mikroorganizmami wiążącymi azot a bakteriami solubilizującymi fosfor. Do tego celu na sadzonki mangrowca zaaplikowano dwa gatunki bakterii: wiążące azot *Phyllobacterium sp.* i rozpuszczające fosfor *Bacillus licheniformis*. Badania wykazały, że po zastosowaniu obu szczepów jednocześnie wiązanie azotu, jak i solubilizacja fosforu uległa zwiększeniu w porównaniu z efektami obserwowanymi podczas dodawania pojedynczych hodowli [17].

W 2013 roku prowadzono eksperyment mający na celu określenie wpływu bakterii solubilizujących fosfor, tj. *Kocuria sp.* i *Bacillus subtilis*, na plantację kawy odmiany Castillo. Doświadczenie prowadzono w warunkach szklarniowych z wykorzystaniem szczepów bakterii, jak i nawożenia fosforanem wapnia. Badania wykazały, że najlepszy efekt został uzyskany przy zastosowaniu obu wariantów jednocześnie [4].

Najnowsze badania (2017 r.) wykazują, że aplikacja bakterii azotowych i fosforowych jednocześnie może istotnie wpływać na zwiększenie plonu. Rugheim i in. prowadzili doświadczenia polowe na kozieradce, do których wykorzystali bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium* oraz *Sinorhizobium meliloti*. Zastosowanie jedynie *Bacillus megaterium* spowodowało zwiększenie suchej masy korzeni, natomiast inokulacja tylko *Sinorhizobium meliloti* wpłynęła na wysokość rośliny i zwiększenie suchej masy pędów. Jednoczesna aplikacja obu rodzajów mikroorganizmów znacząco przyczyniła się do wzrostu korzeni, pędów, a także spowodowała wzrost liczby nasion kozieradki [19].

W tabeli 1 podano bakterie zdolne do solubilizacji fosforu w glebie. Mechanizm solubilizacji jest powiązany z produkcją kwasów organicznych przez mikroorganizmy występujące w glebie.

Genus	Species
Bacillus	B. amyloliquefaciens
	B. licheniformis
	B. polymyxa
	B. megaterium
	B. pulvifaciens
	B. circulans
	B. subtilis
	B. atrophaeus
Enterobacter	E. intermedium
	E. aerogenes
	E. tayloraer
	E. asburiae
Pseudomonas	P. fluorescens
	P. Putida
	P. mendocina
	P. striata
	P. Rathonis
	P. aeruginosa

Table 1. Genera of bacteria involved in phosphorus solubilization in soil

Tabela 1. Gatunki bakterii biorących udział w solubilizacji fosforu w glebie

Source: Authors' study based on R. Dhankhar, S. Sheoran, et al. The role of Phosphorus Solubilizing Bacteria (PSB) in soil management – an overview, international Journal of Development Research vol. 3, Issue, 9, 2013, p. 33

3. THE MECHANISM OF PHOSPHORUS SOLUBILIZATION

The production of acid phosphatases and phytases is the main mechanism of mineralization of organic phosphorus forms. Phosphatases use organic phosphorus as a substrate to convert it to inorganic one. These enzymes hydrolyze the organic part of phosphorus contained in the soil. Phytase is the enzyme responsible for the mineralization of organic phosphorus due to the degradation of phytate, which is the main source of organic phosphorus. The following diagram (Fig. 1) shows the mechanism of phosphorus solubilization and mineralization in soil.

3. MECHANIZM SOLUBILIZACJI FOSFORU

Głównym mechanizmem mineralizacji form fosforu organicznego jest produkcja fosfatyz kwasowych i fitazy. Fosfatazy wykorzystują fosfor organiczny jako substrat do przekształcania go w nieorganiczny. Enzymy te hydrolizują organiczną część fosforu zawartego w glebie. Fitaza zaś jest enzymem odpowiedzialnym za mineralizację fosforu organicznego wskutek degradacji fitynianów, które są głównym źródłem fosforu organicznego. Na rysunku 1 przedstawiono mechanizm solubilizacji i mineralizacji fosforu w glebie.

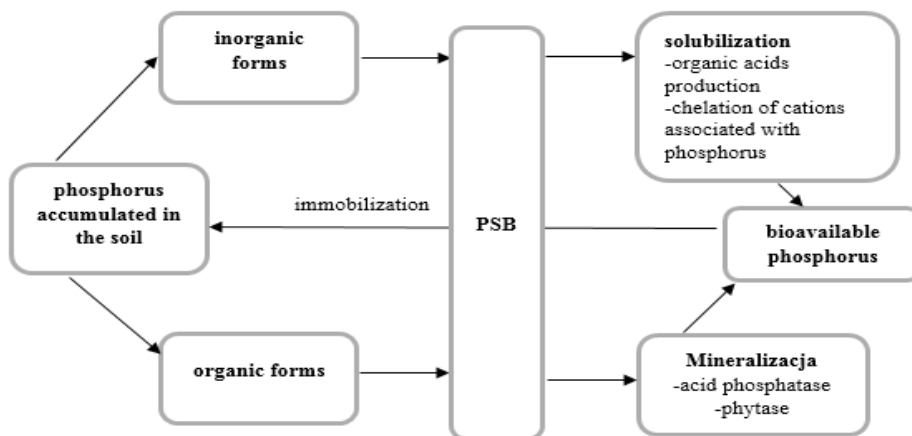


Fig. 1. Mechanism of phosphorus solubilization and mineralization in soil with the participation of PSB

Rys. 1. Mechanizm solubilizacji i mineralizacji fosforu w glebie przy udziale PSB

Source: Authors' study based on S.B. Sharma, R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi, T.A. Gobi, Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils, PMC, 2013

Phosphorus bacteria secrete organic acids, which reduces the pH level of the environment in which they occur. These acids can dissolve phosphate by chelation of calcium, iron or aluminum ions that are bound to phosphates. The ability of bacteria to solubilize is not the same, because individual species emit different organic acids, which may affect this process in a different way. The bacterial growth phases are characteristic of particular species as well as the conditions of culture [9, 16]. These stages can be determined based on the curve designated for a given culture of microorganisms and divided into four stages. Phase I is a phase of stagnation. Bacteria at this stage adapt to the new environment, it covers the period from the moment of application to the beginning of intensive cell division. The number of ribosomes and the RNA content are increased. The length of this process depends on the conditions in which the microorganisms are located. Phase II is the logarithmic – exponential phase, during which the number of cells increases rapidly. This stage is of particular importance when using microorganisms belonging to the PSB group for the dissolution of phosphorus. Rapid multiplication of microorganisms depending on the species leads to the production of organic acids by metabolic processes that alter the pH value of the environment, which affects the solubilization of this element. After completing the logarithmic phase, the balance phase follows. Then the reproduction of cells is stopped and their number is balanced. In the last stage, i.e. the dieback phase, the number of living cells decreases, some microorganisms change into spores [23].

The Table 2 presents the acids produced by these microorganisms.

Table 2. Types of organic acids produced by individual PSB

Tabela 2. Rodzaje kwasów organicznych produkowanych przez poszczególne PSB

Type of PSB	Type of organic acid produced	Parameters of individual phases of bacterial growth		
		initial pH (stagnation phase)	final pH (end of the logarithmic phase)	Logarithmic phase [h]
Arthrobacter Hy-505	citric acid gluconic acid lactic acid oxalic acid	7.0-7.5	5.5	120
Arthrobacter sp. (CC-BC03)	citric acid lactic acid	6.8-7.0	4.9	72
A. ureafaciens (CC-BC02)	citric acid	6.8-7.0	5.0	72
Azotobacter Hy-510	succinic acid fumaric acid gluconic acid lactic acid oxalic acid tartaric acid	7.0-7.5	4.7	120

Bakterie fosforowe wydzielają kwasy organiczne, co powoduje obniżenie poziomu pH środowiska, w jakim występują. Kwasy te mogą rozpuszczać fosforany poprzez chelatację jonów wapnia, żelaza lub glinu, które są związane z fosforanami. Zdolność bakterii do solubilizacji nie jest jednakowa, bowiem poszczególne gatunki wydzielają różne kwasy organiczne, które mogą inaczej wpływać na ten proces. Fazy wzrostu bakterii są charakterystyczne dla poszczególnych gatunków, a także warunków hodowli [9, 16]. Etapy te można określić na podstawie krzywej wyznaczanej dla danej hodowli mikroorganizmów i podzielić na cztery etapy w cyklu życiowym kolonii bakterii. Faza I to faza zastoju. Bakterie na tym etapie przystosowują się do nowego środowiska, obejmuje ona okres od momentu aplikacji do momentu rozpoczęcia się intensywnej podziałów komórkowych. Zwiększa się ilość rybosomów oraz zawartość RNA. Długość tego procesu jest zależna od warunków, w jakich drobnoustroje się znajdują. Faza II to faza wzrostu logarytmicznego, podczas której liczba komórek gwałtownie wzrasta. Etap ten ma szczególne znaczenie przy wykorzystaniu mikroorganizmów należących do grupy PSB do roztworzenia fosforu. Szybkie namnażanie się drobnoustrojów w zależności od gatunku prowadzi do wytwarzania w procesach metabolicznych kwasów organicznych, które zmieniają odczyn środowiska, a to z kolei wpływa na solubilizację tego pierwiastka. Po zakończeniu fazy logarytmicznej następuje faza równowagi, w której reprodukcja komórek zostaje zatrzymana, a ich liczba się równoważy. W ostatnim etapie, tj. fazy zamierania, spada liczba żywych komórek, część mikroorganizmów przechodzi w formy przetrwalnikowe [23].

W tabeli 2 podano kwasy produkowane przez te mikroorganizmy.

Bacillus megaterium (CC-BC10)	citric acid lactic acid propionic acid	6.8-7.0	5.1	72
Chryseobacterium (CC-BC05)	citric acid	6.8-7.0	6.0	72
Delftia (CC-BC05)	succinic acid	6.8-7.0	6.0	72
Enterobacter sp. Fs-11	gluconic acid malic acid	7.0	4.5	240
Enterobacter Hy-401	succinic acid citric acid fumaric acid gluconic acid malic acid lactic acid oxalic acid	7.0-7.5	4.3	120
Enterobacter Hy-402	succinic acid citric acid fumaric acid gluconic acid lactic acid oxalic acid tartaric acid	7.0-7.5	4.7	120
Phyllobacterium myrsinacearum (CC-BC19)	gluconic acid	6.8-7.0	5.2	72
Pseudomonas spp. (BIHB 751)	gluconic acid malic acid 2 α -ketogluconic acid formic acid oxalic acid	6.8-7.2	4.2	120
Pseudomonas trivialis (BIHB 769)	succinic acid gluconic acid malic acid 2 α -ketogluconic acid lactic acid formic acid	6.8-7.2	3.7	120
P. poae (BIHB 808)	succinic acid citric acid gluconic acid malic acid 2 α -ketogluconic acid	6.8-7.2	3.6	120
Rhodococcus erythropolis (CC-BC11)	gluconic acid	6.8-7.0	5.3	72
Serratia marcescens (CC-BC14)	succinic acid citric acid gluconic acid lactic acid	6.8-7.0	4.9	72

Source: M. Khan, A. Zaidi, M. Oves, *Functional aspect of phosphate solubilizing bacteria: importance in crop production [in:] Bacteria in agrobiolgy: crop productivity. Berlin, 2013*

Based on the Table 2 it can be concluded that the initial pH during the stagnation phase in all presented strains was at a similar level. The largest reduction of pH at the end of the logarithmic phase occurred in *Pseudomonas* bacteria and in particular in the species *Pseudomonas. poae* (BIHB 808) (pH = 3.6) and *Pseudomonas trivialis* (BIHB 769) (pH = 3.7). This may be due

Na podstawie danych zamieszczonych w tabeli 2 można stwierdzić, że pH początkowe podczas fazy zastoju u wszystkich przedstawionych szczepów było na podobnym poziomie. Do największego obniżenia pH przy końcu fazy logarytmicznej doszło u bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, a w szczególności u gatunków *Pseudomonas. poae* (BIHB 808) (pH = 3,6) oraz *Pseudomonas trivialis* (BIHB 769)

to the fact that these microorganisms are able to produce several acids simultaneously as opposed to *Chryseobacterium* bacteria that produce only citric acid or *Delftia* sp. secreting only succinic acid. In both cases there was a slight decrease in pH value. In addition, an analysis of the values mentioned in Table 2 can be helpful in the production of phosphorus biopreparations and their selection considering soil conditions. Hypothetically, with alkaline soils requiring acidification, it would be appropriate to use *Pseudomonas* bacteria, while in the lower alkalinity soils the *Chryseobacterium* sp. or *Delftia* sp. application seems to be a good choice. Moreover, strain selection can be considered in terms of biopreparation duration. At the required long-term period of operation it is reasonable to use *Enterobacter* sp. *Fs-11* bacteria, whose logarithmic phase time is up to 240 hours.

4. SUMMARY

The above review of phosphorus solubilizing bacteria allows for a comprehensive insight into the properties of these microorganisms. The presented research results confirm that the PSB's share in fertilization gives much better effects than the superphosphate used so far. The ability of these microorganisms to convert hard-to-access phosphorus forms into the bioavailable ones, makes it possible to use the phosphorus present in the soil without introducing additional amounts of this element. Thus, phosphorous biopreparations reduce the use of chemical fertilizers, which at the same time limits the costs of agricultural economy. In addition, materials that are treated as a waste, i.e. sewage sludge or bones, can be used for this purpose. In combination with microorganisms that solubilize phosphorus, they become an invaluable fertilizer material. The use of the acquired knowledge may contribute to the development of the production of fertilizer biopreparations and simultaneous reduction in the depletion of non-renewable sources, such as phosphate rock.

(pH = 3,7). Może to być spowodowane tym, że mikroorganizmy te są zdolne do wytwarzania kilku kwasów jednocześnie, w przeciwieństwie do bakterii *Chryseobacterium* sp., które produkują jedynie kwas cytrynowy, czy *Delftia* sp. wydzielające wyłącznie kwas bursztynowy. W obu przypadkach doszło do nieznacznego obniżenia odczynu pH. Dodatkowo, analiza wytwarzanych kwasów przez poszczególne PSB może być przydatna przy produkcji biopreparatów fosforowych. Analiza ta pozwoli na dobranie odpowiednich mikroorganizmów do danych warunków glebowych. Hipotetycznie, przy glebach zasadowych wymagających zakwaszenia, odpowiednie mogłoby być zastosowanie bakterii *Pseudomonas*, natomiast na ziemiach o niższej zasadowości dobrym wyborem wydaje się być aplikacja *Chryseobacterium* sp. czy *Delftia* sp. Ponadto dobór szczepu można rozpatrywać pod względem długości działania biopreparatu. Przy wymaganym długoterminowym okresie działania zasadne jest wykorzystanie bakterii *Enterobacter* sp. *Fs-11*, których czas fazy wzrostu logarytmicznego wynosi aż 240 godzin.

4. PODSUMOWANIE

Powyższy przegląd bakterii solubilizujących fosfor pozwala na szersze zapoznanie się z właściwościami tych mikroorganizmów. Przedstawione wyniki badań potwierdzają, że udział PSB w nawożeniu daje znacznie lepsze efekty niż stosowany do tej pory superfosfat. Zdolność tych drobnoustrojów do przekształcania fosforu trudnodostępnego w biodostępny daje możliwość wykorzystania fosforu obecnego w glebie, bez wprowadzania dodatkowych ilości tego pierwiastka. Tym samym biopreparaty fosforowe ograniczają zużycie nawozów chemicznych, co jednocześnie obniża koszty gospodarki rolnej. Ponadto na ten cel mogą być wykorzystane surowce, które są traktowane jako odpad, tj. osady ściekowe czy kości. W połączeniu z mikroorganizmami solubilizującymi fosfor stają się nieocenionym materiałem nawozowym. Wykorzystanie zdobytej wiedzy może przyczynić się do rozwoju produkcji biopreparatów nawozowych przy jednoczesnym ograniczeniu eksploatacji złóż fosforytowych.

References

- [1] Bezak-Mazur E., Stoińska R., *The importance of phosphorus in the environment review article* [in:] Archive of Waste Management and Environmental Protection, 2013,15 (3), 33-42.
- [2] Bezak-Mazur E., Stoińska R., Szelağ B., *The influence of the Bacillus megaterium on speciation and phosphorus in the sewage sludge* [in:] Architecture Civil Engineering Environment 2015, (4),81-87.
- [3] Chemistry: phosphorus compounds in chemistry, agriculture, medicine and environmental protection. Group work. Scientific Works of the University of Economics in Wrocław, Wrocław 2008, 4, (1204).
- [4] Cisneros-Rojas C. A., Sánchez-de Prager M., Menjivar-Flores J.C., *Effect of phosphate solubilizing bacteria coffee*. Mesoamerican Agronomy: Vol. 28, Issue 1, 149-158.
- [5] Dhankhar R., Sheoran S., et al. *The role of Phosphorus Solubilizing Bacteria (PSB) in soil management - an overview*, International Journal of Development Research, 2013, 3, (9), 31-36.
- [6] Gorlach E, Mazur T. Agricultural chemistry PWN Publisher, 2002 Warsaw.
- [7] Grzebisz W., Potarzycki J., *Mechanisms of phosphorus uptake by arable crops - from theory to practice*. [in:] Scientific papers of the University of Economics Oskar Lange in Wrocław. Chemistry. Phosphorus compounds in chemistry, agriculture and medicine, 2004, No. 1017, 88-99.
- [8] Gurdeep Kaur G., Reddy M., S., *Effects of Phosphate-Solubilizing Bacteria, Rock Phosphate and Chemical Fertilizers on Maize-Wheat Cropping Cycle and Economics* [in:] Pedosphere Volume 25, Issue 3, June 2015, 428-437
- [9] Khan M., Zaidi A., Oves M., *Functional aspect of phosphate solubilizing bacteria: importance in crop production* [in:] Bacteria in agrobiolgy: crop productivity. Berlin, 2013, 29-43.
- [10] Labuda M., Saeid A., Chojnacka K., Górecki H., *The use of Bacillus megaterium in solubilisation of phosphorus* [in:] Przemysł Chemiczny, 2012, 91 (5), 837-840.
- [11] Labuda M., Saeid A., Chojnacka K., Wyciszkievicz M., *The use of microorganisms in the production of phosphate fertilizers* [in:] Przemysł Chemiczny, 2012, 91 (5), 956-958.
- [12] Malboobi M. A., Behbahani M., Owlia P. *Performance evaluation of potent phosphate solubilizing bacteria in potato rhizosphere* [in:] World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 9-38.
- [13] Mercik S. Agricultural chemistry Wydawnictwo SGGW, 2002 Warsaw.
- [14] Mohammadi K. *Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production*, Resources and Environment 2012, 2 (1), 80-85.
- [15] Ponmurugan, P., Gopi, C., *In vitro production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria*. [in:] African Journal of Biotechnology. 2006, 5 (4): 348-350.
- [16] Rodríguez H, Fraga R. *Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion*. Biotechnol Adv. 1999 Oct; 17 (4-5): 319-339.
- [17] Rojas A., Gina Holguin G., Glick BR, Bashan Y., Synergism between Phyllobacterium sp. (N₂-fixer) and Bacillus licheniformis (P-solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere [in:] FEMS Microbiology Ecology , Volume 35, Issue 2, 1 April 2001, 283-292.
- [18] Rosas S., Andrés J., Rovera M., Correa N., *Phosphate-solubilizing Pseudomonas putida can influence the rhizobia-legume symbiosis* [in:] Soil Biology and Biochemistry Volume 38, Issue 12, December 2006, 3325-3520.
- [19] Rugheim A., *Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria inoculation on fenugreek symbiotic properties, growth and yield* [in:] International journal of Horticulture, Agriculture and Food Science (IJHAF), 2014, 42-47.
- [20] Sapek A., *Phosphorus in the human food chain and the environment in Poland* [in:] Inżynieria Ekologiczna, 2009, 21, 62-73.
- [21] Sapek B. *Nagromadzenie i uwalnianie fosforu w glebach – źródła, procesy, przyczyny*. [in:] WODA-ŚRODOWISKO-OBSZARY WIEJSKIE, 2014 (I–III). T. 14. Z. 1 (45), 77-100.
- [22] Selvakumar G., Mohan M., Kundu S., Gupta A.D., Joshi P., Nazim S., Gupta H.S., *Cold tolerance and plant growth promotion potential of Serratia marcescens strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (Cucurbita pepo)* [in:] Letters in Applied Microbiology 2008, 171-175.
- [23] Schlegel H.G. *Mikrobiologia ogólna*, Wydawnictwo PWN, 1996 Warszawa.
- [24] Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A., *Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils*, PMC, 2013, 2:587.

Acknowledgments:

The work was financed by Kielce University of Technology, part of the statutory work No. 05.0.10.00/2.01.01.01.0034. MNSP.IKTW.16.001

Podziękowania:

Praca była finansowana przez Politechnikę Świętokrzyską, w ramach pracy statutowej nr: 05.0.10.00/2.01.01.01.0034. MNSP.IKTW.16.001