



19th Iranian Soil Science Congress
16-18 September, 2025



نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۱۴۰۴ شهریور ۲۷ تا ۲۵



۰۴۲۵۰-۳۲۰۳۱

مدیریت جامع نگر و هوشمند خاک و آب

Holistic and Smart Soil and Water Management

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran



ارزیابی و شناسایی مولکولی باکتریهای حل کننده فسفات (PSB) در خاکهای جنوب استان

فارس

سید حسن نفرجی *

گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی: ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران * hassantafaraji@pnu.ac.ir

چکیده

فسفر غیرقابل جذب در خاک‌های آهکی، چالشی عمده برای کشاورزی پایدار در مناطق خشک ایران است. این پژوهش به منظور شناسایی باکتری‌های بومی حل کننده فسفات (PSB^۱) در جنوب استان فارس انجام شد. پس از غربالگری اولیه ۱۳ جدایه بر اساس شاخص کیفی انحلال فسفر (PSI^۲)، ۹ جدایه منتخب در محیط PKV^۳ مایع حاوی تری کلسیم فسفات ارزیابی شدند. نتایج کمی در زمان ۷۲ ساعت نشان داد جدایه SF1038 با رهاسازی ۴۰۱٫۶۷ mg L⁻¹ فسفر محلول و کاهش pH به ۳٫۸۰، برترین عملکرد را دارد. شناسایی مولکولی این جدایه از طریق توالی‌یابی ژن 16SrRNA طول قطعه: ۹۷۰ جفت باز شباهت ۹۶٫۵۳٪ را با *Bacillus cereus* تأیید کرد و با شماره دسترسی OL946146.1 در GenBank ثبت شد. همبستگی معکوس معنادار ($r < 0,95$) بین کاهش pH و افزایش غلظت فسفر، نقش مکانیسم اسیدی‌سازی را در انحلال فسفر تأیید می‌کند. این مطالعه تأیید می‌کند جدایه بومی *Bacillus cereus* با توانایی انحلال فسفر در خاک‌های آهکی جنوب ایران، پتانسیل بالایی برای تولید کودهای زیستی سازگار با اکوسیستم‌های خشک دارد.

واژگان کلیدی: انحلال فسفر، استان فارس، خاک آهکی، کود زیستی، *Bacillus cereus*

¹ Phosphate Solubilizing Bacteria

² Phosphate Solubilization Index

³ Pikovskaya's Broth

مقدمه

فسفر به دلیل دخالت در فرآیندهای متابولیکی مختلف، عنصر مهمی است که برای رشد مناسب گیاهان مورد نیاز است. غلظت بالایی از فسفات به دلیل استفاده از کودهای شیمیایی به طور طبیعی در خاک یافت می شود (Vessey, 2003)، اما این فسفات در خاک های اسیدی با تشکیل کمپلکس هایی با آهن ($FePO_4$) و آلومینیوم ($AlPO_4$) به سرعت رسوب می کند و در خاکهای آهکی، با تشکیل کمپلکسهای کلسیم [$Ca_3(PO_4)_2$] به اشکال غیرقابل جذب تبدیل می شود (Illmer & Schinner, 1995). این فسفات غیر قابل دسترس، می تواند توسط چندین باکتری حل کننده فسفات به اشکال در دسترس و قابل جذب تبدیل شود (Gyaneshwar et al., 2002). تحقیقات Acevedo و همکاران (2014) نشان داده است که ظرفیت انحلال بسیاری از جدایه های باکتریایی، بدلیل آزادسازی اسیده های آلی توسط آنها و کاهش pH مرتبط است.

مطالعات گسترده ای نقش کلیدی باکتری های حل کننده فسفات (PSB) را در بهبود چرخه فسفر و افزایش حاصلخیزی خاک تأیید کرده اند. به عنوان مثال، تحقیقات (Sharma et al., 2013) نشان داد که سویه های متعلق به جنسهای *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Rhizobium* با تولید اسیده های آلی (مانند گلوکونیک، اگزالیک، و سوکسینیک) و آنزیم های فیتاز، قادر به انحلال منابع معدنی فسفر نظیر تری کلسیم فسفات هستند. این فرآیند نه تنها دسترسی فسفر را برای گیاهان افزایش می دهد، بلکه وابستگی به کودهای شیمیایی را کاهش داده و از آلودگی اکوسیستم های آبی ناشی از روان آب فسفات جلوگیری می کند. علاوه بر این، پژوهش های میدانی در مناطق خشک و نیمه خشک ایران اثربخشی PSB ها را در افزایش جذب فسفر توسط گیاهان زراعی تحت شرایط تنش شوری و خشکی تأیید کرده اند (Zahedi et al., 2016).

اگرچه تنوع PSB ها در اکوسیستم های مختلف ایران مورد مطالعه قرار گرفته است، اما شناسایی مولکولی و ارزیابی عملکردی جدایه های بومی جنوب استان فارس به عنوان یکی از مهم ترین قطب های کشاورزی کشور با خاک های آهکی هنوز به طور جامع بررسی نشده است. داده های اخیر حاکی از آن است که خاک های این منطقه دارای محدودیت های جدی در دسترسی فسفر هستند (Rezaei et al., 2019). از سوی دیگر، مطالعات (Alikhani et al., 2018) بر نیاز فوری به کشف سویه های PSB سازگار با شرایط اقلیمی خاص این منطقه (مانند دمای بالا و pH قلیایی) تأکید دارند، چرا که کارایی باکتری ها در انحلال فسفات به شدت تحت تأثیر ویژگی های محیطی قرار می گیرد (Behera et al., 2017).

بر این اساس، هدف اصلی این پژوهش، ارزیابی جامع توان انحلال فسفر توسط جدایه های باکتریایی بومی جنوب استان فارس و شناسایی مولکولی سویه های برتر است. در گام نخست، عملکرد کیفی جدایه ها از طریق سنجش شاخص حلالیت فسفر (PSI) و قطر هاله های انحلال در محیط جامد PKV بررسی می شود. سپس، کارایی کمی جدایه های منتخب در انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع با اندازه گیری غلظت فسفر آزاد شده و تغییرات pH در بازه ۷۲ ساعت ارزیابی می گردد. در نهایت، شناسایی مولکولی سویه های مؤثر با استفاده از تکنیک 16S rRNA انجام شده و ارتباط بین ویژگی های ژنتیکی و توان انحلال فسفات آن ها تحلیل می شود.

مواد و روش ها

۴۵ نمونه خاک از ریزوسفر محصولات مختلف در مزارع کشاورزی شهر بیرم در جنوب استان فارس (شامل گندم، جو، یونجه، کاهو، جودره، اسفناج، پنیرک و چغندر) جمع آوری شد. خاکهای مورد نظر همگی pH قلیایی در محدوده ۷٫۸ تا ۸٫۵ داشتند و دارای مقادیر زیادی کربنات کلسیم (آهک) بودند. برای جداسازی خاک ریزوسفری، از خاکی که به فاصله ۲-۳ میلی متر از ریشه های مویین فاصله داشت، استفاده شد. نمونه ها در کیسه های پلاستیکی قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل گردید و در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شد.

جداسازی باکتریهای ریزوسفری

در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری، ۱۰ گرم خاک در ۹۰ میلی لیتر محلول نمکی استریل (۰/۸۵ درصد NaCl) معلق شد. سوسپانسیون خاک در شیکر چرخشی در دمای 28 ± 2 درجه سانتی گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد. برای دستیابی به محلولی از رقت 10^{-4} تا 10^{-6} ، ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون به صورت متوالی رقیق شد و ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول سوسپانسیون بر روی محیط استریل نوترینت آگار (۵ گرم پپتون، ۳ گرم عصاره بیف، ۵ گرم نمک کلرید سدیم و ۲۰ گرم آگار) پخش شد. پلیت ها در دمای 28 ± 2 درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور BOD^4 انکوبه شدند. پس از دوره انکوباسیون، پلیت های نوترینت آگار به منظور بررسی اشکال مورفولوژیکی و تعداد کلنی های باکتریایی مشاهده شد. جدایه های باکتریایی با ظاهر مورفولوژیکی متفاوت و رشد سریع روی پلیت آگار به طور تصادفی انتخاب و با رگه های مکرر روی محیط تازه خالص سازی شدند. پس از خالص سازی، این جدایه ها، از نظر توان انحلال فسفات غربالگری شدند.

غربالگری مقدماتی برای انحلال فسفات بر روی محیط آگار Pikovskaya (گلوکز، 10 گرم؛ $Ca_3(PO_4)_2$ ، 5 گرم؛ $(NH_4)_2SO_4$ ، 0.5 گرم؛ NaCl، 0.2 گرم؛ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 0.1 گرم؛ KCl، 0.2 گرم؛ عصاره مخمر، 0.5 گرم؛ $MnSO_4 \cdot H_2O$ ، 0.002 گرم؛ و $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 0.002 گرم) انجام شد. حجم ۵ میکرولیتر از کشت باکتریها، روی پلیت های آگار Pikovskaya کشت داده شد و در دمای 28 ± 2 درجه سانتی گراد انکوبه شد و پس از ۳ روز انکوباسیون، کلنی های باکتریایی مورد مشاهده واقع شد. ناحیه هاله اطراف کلنی اندازه گیری و به عنوان باکتری های حل کننده فسفات تایید شد (Vazquez *et al.*, 2000).

تجزیه و تحلیل کمی انحلال فسفات در محیط مایع با استفاده از تری کلسیم فسفات نامحلول انجام شد. پس از انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ روز روی شیکر چرخشی (۲۰۰ دور در دقیقه) pH محیطهای کشت اندازه گیری شد و کشت ها با سرعت ۱۷۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. غلظت فسفات محلول در مایع رویی با استفاده از جذب رنگ زرد در ۴۳۰ نانومتر در زمان ۷۲ ساعت با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Perkin Elmer, Lambda2) اندازه گیری شد. مقدار فسفر حل شده با کمک منحنی استاندارد KH_2PO_4 اندازه گیری گردید (Jeon *et al.*, 2003).

شناسایی مولکولی جدایه های PSB با توالی یابی ژن 16S rRNA

ژن 16S rRNA از DNA باکتری با استفاده از پروتکل های استاندارد PCR تکثیر شد. پرایمرهای 5'-27F (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3') و 3'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG (1492R) برای تکثیر ژن های ریبوزومی 16S rRNA استفاده شدند. محصولات PCR با الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد به مدت ۲ ساعت و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید جدا شدند. محصولات تکثیر (با اندازه ۱۵۰۶ جفت باز) در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. محصول PCR تحت توالی یابی چرخه ای در جهت های رو به جلو قرار گرفت (Singh *et al.*, 2010). واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad T100; USA) در شرکت ایرانیان نوین ژن انجام شد. تجزیه و تحلیل توالی با استفاده از BLAST (مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی [http://www.ncbi.nlm.nih.gov]) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمایش ها در سه تکرار انجام شد. داده های به دست آمده از طریق تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد ($P \leq 0.05\%$) مقایسه شدند.

⁴ Biological Oxygen Demand

نتایج و بحث

میزان انحلال فسفر در محیط PKV با سه تکرار برای هر جدایه طی روز هفتم بعد از انکوباسیون، قطر کلونی، قطر هاله و شاخص PSI که از تقسیم قطر هاله بر قطر کلونی بدست می آید محاسبه گردید که اطلاعات آن در جدول (۱) نشان داده شده است. داده های درون جدول شامل میانگین ۳ تکرار از هر جدایه همراه با خطای استاندارد (Standard Error) است و حداقل یک حرف مشابه نشان می دهد بین میانگینها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود ندارد.

جدول ۱- تخمین کیفی انحلال فسفر در مدت ۷ روز پس از انکوباسیون

شماره جدایه	انحلال فسفر در مدت ۷ روز پس از انکوباسیون			شاخص حلالیت فسفر (PSI)
	قطر هاله (mm)	قطر کلونی (mm)	قطر کل (mm)	
SF1006	13.33±0.67 de	4.67±0.33 d	18.00±0.58 e	3.90±0.32 abcd
SF1025	14.00±0.58 cde	5.67±0.33 bc	19.67±0.67 cde	3.49±0.18 d
SF1031	13.33±0.33 de	5.00±0.00 cd	18.33±0.33 de	3.67±0.07 cd
SF1032	16.00±0.58 c	4.67±0.33 d	20.67±0.67 cd	4.47±0.29 a
SF1038	13.67±0.67 de	5.00±0.00 cd	18.67±0.67 cde	3.73±0.13 bcd
SF1044	18.33±0.33 b	6.00±0.00 b	24.33±0.33 b	4.06±0.06 abcd
SF1063	14.33±0.33 cde	4.33±0.33 d	18.67±0.67 cde	4.33±0.17 ab
SF1082	15.00±0.58 cd	6.00±0.00 b	21.00±0.58 c	3.50±0.10 d
SF1107	12.67±1.20 e	5.00±0.00 cd	17.67±1.20 e	3.53±0.24 d
SF1124	16.00±1.15 c	4.67±0.33 d	20.67±1.45 cd	4.43±0.12 a
SF1160	23.00±0.58 a	7.00±0.00 a	30.00±0.58 a	4.29±0.08 abc
SF1167	14.33±0.33 cde	5.00±0.00 cd	19.33±0.33 cde	3.87±0.07 abcd
SF1178	13.67±0.33 de	4.67±0.67 d	18.33±0.88 de	4.03±0.36 abcd

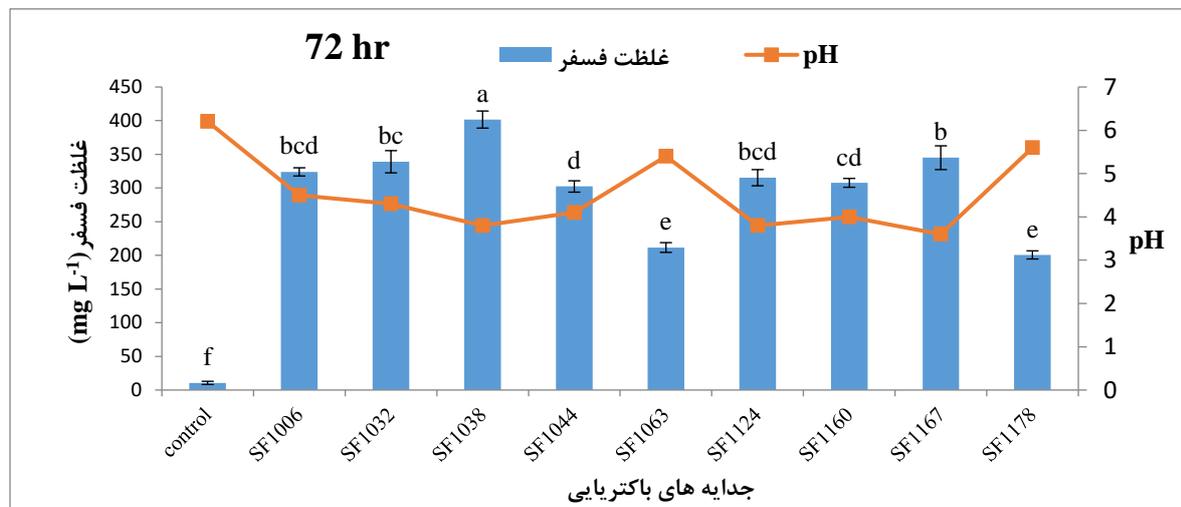
در این مرحله، ۴ جدایه SF1025، SF1031، SF1082 و SF1107 که شاخص حلالیت فسفر پایین تری داشتند حذف گردیدند و برآورد کمی انحلال فسفر بر روی ۹ جدایه باقیمانده صورت گرفت.



شکل ۱- انحلال فسفر در محیط PKV در مدت ۷ روز پس از انکوباسیون

پس از برآورد کیفی انحلال فسفر، جدایه های موثرتر که شامل ۹ جدایه (SF1006، SF1032، SF1038، SF1044، SF1063، SF1124، SF1160، SF1167 و SF1178) بودند، در محیط PKV مایع که حاوی تری کلسیم فسفات است، برآورد کمی

انحلال فسفر مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در شکل (۲) نشان داده شده است. علامت (I) بر روی هر میله نشان دهنده خطای استاندارد (SE) هر جدایه است و میله های دارای حروف یکسان، اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



شکل ۲- برآورد کمی انحلال فسفر در محیط PKV مایع حاوی تری کلسیم فسفات در زمان ۷۲ ساعت

بر اساس نتایج شکل (۲) جدایه SF1038 در زمان ۷۲ ساعت بیشترین غلظت فسفر را در محیط PKV مایع حاوی تری کلسیم فسفات نشان دادند که در نتیجه کاهش pH در محیط نسبت به تیمار شاهد (control) حاصل شده است. بیشترین آزاد سازی فسفر به میزان 401.67 mg L^{-1} در جدایه SF1038 مشاهده شد که pH معادل ۳.۸۰ را نشان داد. نسبت معکوس pH با غلظت فسفر در همه جدایه ها مشهود است. ثابت شده است که تغییرات در pH محیط PKV مایع در حضور باکتریهای حل کننده فسفات (PSB) می تواند نقش مهمی در حل شدن تری کلسیم فسفات نامحلول داشته باشد (Xiang et al., 2011), (Chen et al., 2006). به همین ترتیب، مطالعه (Pande, Kaushik, Pandey, & Negi, 2020) و (Ghosh, Barman, Mukherjee, & Mandal, 2016) شتاب حل شدن مواد معدنی را با افزایش اسیدی شدن محیط نشان دادند. باکتریهای حل کننده فسفات (PSB) انواع مختلفی از اسیدهای آلی مانند اسید استیک، اسید آدیپیک، اسید بوتیریک، اسید فوماریک، اسید گلیکونیک، اسید مالونیک، اسید مالیک، اسید لاکتیک، اسید اگزالیک، اسید سوکسینیک را تولید می کنند، که منجر به کاهش pH محیط مایع می شود و در نتیجه غلظت فسفر را افزایش می دهد (Liang et al., 2020; Rodríguez & Fraga, 1999).

بر اساس شناسایی مولکولی مبتنی بر توالی یابی ناحیه 16S rRNA طول قطعه: ۹۷۰ جفت باز، جدایه برتر SF1038 با درصد تشابه ۹۶.۵۳٪ به *Bacillus cereus* متعلق بود و شماره دسترسی OL946146.1 در پایگاه داده GenBank به آن اختصاص یافت (جدول ۲). این جدایه که در ارزیابی های کیفی و کمی (به ویژه در زمان ۷۲ ساعت) بالاترین غلظت فسفر محلول (mg L^{-1}) (۴۰۱.۶۷) و کاهش معنادار pH به ۳.۸۰ را نشان داد، قابلیت تولید اسیدهای آلی مؤثر در انحلال تری کلسیم فسفات را تأیید می کند. عملکرد برجسته SF1038 در خاک های آهکی جنوب فارس، پتانسیل کاربرد آن را به عنوان کود زیستی اختصاصی مناطق خشک با محدودیت فسفر قابل جذب تقویت می کند (Zahedi et al., 2016).

جدول ۲- شناسایی مولکولی جدایه برتر در آزادسازی فسفر

شماره دسترسی Genbank	طول باند (bp)	درصد مشابهت (%)	نزدیکترین تطابق پایگاه داده NCBI	شماره جدایه
OL946146.1	970	96.53%	<i>Bacillus cereus</i>	SF1038

Bacillus cereus strain SF1038 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OL946146.1

```

LOCUS       OL946146                970 bp    DNA     linear   BCT 04-JAN-2022
1  ccttttttta agcttttttg ttgaaacctt tttttaattg ggctcccccg gtcttttttt
61  ttttaatttc tcctcgctcg gatgaacgct ggacggcggt ccttattaca tgcaagtcga
121  gtgaaatgga ttaagagctt gctcttatga agttacgcgg cggaaacgct gagtaatcac
181  gtgggtaacc ttcccataag acctgggata actccgggat aaccgggtgc taataccgga
241  taacattttg aaactgcatg gttcgaatt  gaaaggcggc ttcggctgtc acttatggat
301  ggaccocgct cgcattagtt agttggtgag gtaacggctc accaaggcaa cgatgcgtag
361  ccgacctgag aggggtgatc gccacactgg tactgagaca cggcccagac tcgtagggga
421  ggcagcagta gggaaatctc cgcaatggac gaaagtctga cggagcaacg ccgctgagat
481  gatgatggct ttcgggtcgt aaacctctgt tgtagggaa  gaacaactcc tagttgaata
541  agctggcacc ttgccggtac ctaaccagaa agccacggct aactacgtgc cagcagccgc
601  ggtaataact aggtggcaag cgttatccgg aattattggg cgtaaagcgt gcgcaggtgg
661  tttcctaagt ttgatgtgaa agcccacggc tcaaccgtgg agggtcattg gaaactggga
721  gacttgagtg cagaagagga aagtggaatt ccatgtgtag cggtgaaatg cgtagagata
781  tggaggaaca ccagtggcga aggcgacttt ctggtctgta actgacagtg aggcgcgaaa
841  gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac gccgtaaacg atgagtgcta
901  agtgtagtag ggtttccgcc ctttagtgct gaagctaacg cataagcact ccgcctggat
961  acaccaacgg

```

//

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که جدایه‌های بومی جنوب استان فارس، به‌ویژه سویه SF1038 ثبت‌شده در GenBank با شماره دسترسی OL946146.1 توانایی بالایی در انحلال فسفر معدنی از طریق مکانیسم اسیدی‌سازی محیط دارند. کاهش معنادار pH، همراه با تولید اسیدهای آلی مؤثر (مانند گلوکونیک و اگزالیک)، این جدایه‌ها را به کاندیداهای امیدبخشی برای تولید کودهای زیستی منطقه‌محور تبدیل می‌کند. شناسایی مولکولی تأیید کرد که SF1038 متعلق به گونه‌ی *Bacillus cereus* است. این پژوهش گامی اساسی در جهت کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی و توسعه‌ی کشاورزی پایدار در مناطق خشک کشور محسوب می‌شود.

منابع

- Acevedo, E., Galindo-Castañeda, T., Prada, F., Navia, M., & Romero, H. M. (2014). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia. *Applied Soil Ecology*, 80, 26-33.
- Alikhani, H. A., Saleh-Rastin, N., & Antoun, H. (2018). Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. *Plant and Soil*, 287(1-2), 35-41.
- Behera, B. C., Yadav, H., Singh, S. K., Mishra, R. R., Sethi, B. K., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. (2017). Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 169-178.

- Chen, Y., Rekha, P., Arun, A., Shen, F., Lai, W.-A., & Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, 34(1), 33-41.
- Ghosh, R., Barman, S., Mukherjee, R., & Mandal, N. C. (2016). Role of phosphate solubilizing Burkholderia spp. for successful colonization and growth promotion of *Lycopodium cernuum* L.(Lycopodiaceae) in lateritic belt of Birbhum district of West Bengal, India. *Microbiological research*, 183, 80-91.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G. N., Parekh, L., & Poole, P. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and soil*, 245(1), 83-93.
- Illmer, P., & Schinner, F. (1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates—solubilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(3), 257-263.
- Jeon, J.-S., Lee, S.-S., Kim, H.-Y., Ahn, T.-S., & Song, H.-G. (2003). Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41(4), 271-276.
- Liang, J.-L., Liu, J., Jia, P., Yang, T.-t., Zeng, Q.-w., Zhang, S.-c., . . . Li, J.-t. (2020). Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining. *The ISME journal*, 14(6), 1600-1613.
- Pande, A., Kaushik, S., Pandey, P., & Negi, A. (2020). Isolation, characterization, and identification of phosphate-solubilizing Burkholderia cepacia from the sweet corn cv. Golden Bantam rhizosphere soil and effect on growth-promoting activities. *International Journal of Vegetable Science*, 26(6), 591-607.
- Rezaei, H., Khormali, F., Dordipour, E., & Gharanjik, K. (2019). Phosphorus fractions and availability in calcareous soils of Northern Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(3), 585–598.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319-339.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), Article 587.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M., Lopez-Cortes, A., & Bashan, Y. (2000). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*, 30(5-6), 460-468.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
- Xiang, W.-l., Liang, H.-z., Liu, S., Luo, F., Tang, J., Li, M.-y., & Che, Z.-m. (2011). Isolation and performance evaluation of halotolerant phosphate solubilizing bacteria from the rhizospheric soils of historic Dagong Brine Well in China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(11), 2629-2637.
- Zahedi, H., Noormohammadi, G., Shirani-Rad, A. H., & Habibi, D. (2016). Screening of phosphate solubilizing bacteria in the rhizosphere of cereal crops in calcareous soils of Iran. *Soil Science and Plant Nutrition*, 62(4), 339–347.

Evaluation and Molecular Identification of Phosphate-Solubilizing Bacteria (PSB) in Soils of Southern Fars Province, Iran

Seyed Hassan Tafaraji

Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), P.O.Box 19395-4697, Tehran, Iran

Abstract

The limited bioavailability of phosphorus in calcareous soils poses a major challenge to sustainable agriculture in arid regions of Iran. This study aimed to identify indigenous phosphate-solubilizing bacteria (PSB) in southern Fars Province. Following preliminary screening of 13 isolates based on qualitative phosphate solubilization index (PSI), nine selected isolates were evaluated in PKV liquid medium containing tricalcium phosphate. Quantitative results at 72 hours revealed that isolate SF1038 demonstrated superior performance, releasing 401.67 mg L⁻¹ soluble phosphorus while reducing pH to 3.80. Molecular identification through 16S rRNA gene sequencing (970 bp fragment) confirmed 96.53% similarity to *Bacillus cereus*, with GenBank accession number OL946146.1. A significant negative correlation ($r < -0.95$) between pH reduction and phosphorus concentration confirmed the pivotal role of acidification in phosphate dissolution. This study demonstrates the biotechnological potential of

indigenous *Bacillus cereus* strains for phosphate solubilization in calcareous soils of southern Iran, supporting their application in developing region-specific biofertilizers for arid ecosystems.

Keywords: *Bacillus cereus*, Biofertilizer, Calcareous soil, Fars Province, Phosphate solubilization