

BİTKİ GELİŞİMİNDE FOSFAT ÇÖZÜCÜ BAKTERİLERİN ÖNEMİ

Ramazan ÇAKMAKÇI

Atatürk Üniversitesi, İspir Meslek Yüksek Okulu, Erzurum

ÖZET

Fosfor bitki gelişmesini sınırlayan temel elementlerdendir. Toprakta genellikle çözünemez formda olduğu için yüksek verim için alınabilir P genellikle yetersizdir. Gübre olarak uygulanan inorganik fosforun da büyük bir kısmı uygulamadan sonra bitkilerce alınamaz şekilde dönüşmektedir. Fosfor noksanlığının karşılanması için yoğun gübre kullanımı, yüksek maliyet ve çevre sorunlarına neden olmaktadır. Tarımda kimyasal gübre kullanımının azaltılması için mikroorganizmaların kullanımı önemlidir. Biyolojik gübrelerin rolünün artması ve yaygınlaşması, kimyasal gübre gereksinimini ve gübrelerin çevresel olumsuz etkilerini azaltacaktır. Bir çok bakteri organik asit üretimi veya diğer mekanizmalarla inorganik ve organik fosfatın çözünürlüğünü artırmakta ve bitkiler için alınabilir forma dönüştürmektedir. Mineral fosfat çözünürlüğünün temel mekanizması organik asit üretimi olurken, asit fosfataz organik fosforun mineralizasyonunda önemli rol oynamaktadır. Fosfat biyolojik gübrelemesinde başarı inokulumun kalitesi, bitki çeşidi, kültür koşulları, toprak özellikleri, sıcaklık, nem rejimi, toprak yapısı, aşılama ve uygulama tekniği, kullanılabilir maddelerin alınabilirliği ve gübreleme düzeyine bağlıdır. Bu derlemede biyolojik gübre etmeni olarak bitki gelişmesini teşvik eden bakterilerin (PGPR) çok yüksek bir potansiyele sahip olduğu, çeşitli bitki, iklim ve toprak koşullarında faydalı olabileceği ortaya konulmuştur. Özellikle PGPR tarafından, bitkisel hormonal maddelerin, bitki tarafından hormon üretimini azaltıcı enzimlerin ve flavonoid maddelerin üretimi, kök yüzey alanını artırarak kök gelişmesini ve morfolojisini değiştirme, besin alımını ve ortak yaşam ilişkilerini etkileyen mekanizmaların tam olarak açıklığa kavuşturulması gereklidir.

Anahtar kelimeler: Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler, fosfat çözünürlüğü, biyolojik gübre

PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA AND THEIR ROLE IN PLANT GROWTH PROMOTION

ABSTRACT

Phosphorus is one of the major plant nutrients limiting plant growth. Available P is generally not sufficient maximum crop yields because most P in soils exists in insoluble forms. A large portion of inorganic phosphates applied to soil as fertilizer is rapidly immobilized after application and becomes unavailable to plants. Large quantities of chemical fertilizers are used to replenish soil N and P, resulting in high costs and severe environmental contamination. In agriculture, it is important to make full use of microorganisms in order to reduce the use of chemical fertilizers as much as possible. Increasing and extending the role of biofertilizers would reduce the need for chemical fertilizers and decrease adverse environmental effects. Several bacteria may also solubilize inorganic phosphate, making soil phosphorus other wise remaining fixed available to the plants due to excretion of organic acids and through other mechanisms. The principal mechanism for mineral phosphate solubilization is the production of organic acids, and acid phosphatases play a major role in the mineralization of organic phosphorus in soil. The success of biofertilizer inoculum depends various factors such as quality of inoculum, crops and cultivars, temperature, moisture regimes, soil composition, inoculation and application technique, available of the utilizable substrates and level of fertilization. This review has shown that there is huge potential for use of PGPR as biofertilizing agents for a wide variety of crop plants in a wide range of climatic and edaphic conditions. In particularly, researches must be investigate the phytohormone production by PGPR, production of enzymes which decrease phytohormone production by the host, root development and morphology resulting in greater root surface area for the absorption of nutrients or enhance host-symbiont relationships.

Key Words. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Phosphate solubilization, biofertilizers

GİRİŞ

Bu yüzyılda insanlığın en büyük başarılarından biri tarımda 'yeşil devrim'dir. Bu gelişme önemli verim artışı sağlamış olmasına rağmen, bu artışın sürekli artan dünya nüfusunu dengelemesi söz konusu değildir ve gelecekte gıda güvenliği bulunmamaktadır. Gelecek 20 yıl içinde dünya nüfusu bu oranda artacak olursa, gıda üretimini % 50 oranında artıracak ikinci bir 'yeşil devrim'in gerekli olacağı öne sürülmektedir (Vasil 1998, Leisinger 1999). Kimyasal gübreler üretim artışında önemli rol oynamış olmakla birlikte, aşırı kullanım toprak verimliliğinde azalma ve çevresel bozulmalara neden olmuştur. Üstelik kimyasal gübrelerin, teorik olarak en yüksek düzeyde kullanımına ulaşılmış olmasının ötesinde, daha fazla verim artışı sağlamaları da söz konusu değildir. Sürdürülebilir tarım için biyolojik gübrelemenin önemi ve kimyasal gübrelemenin maliyet ve çevresel zararları; kimyasal gübrelere çevresel olarak kabul edilebilir biyolojik alternatiflerin araştırılması, geliştirilmesi, adaptasyonu ve benimsenmesini gündeme getirmiştir. Bir çok ülke-

de temiz çevre ve sağlıklı üretim sistemi için biyolojik gübre formülasyonları elde edilmesi amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Fosfat çözücü mikroorganizmalar fosfor alımını artırmak ve bitki gelişmesini teşvik etmek suretiyle, bitki beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Mikroorganizmaların tarımda biyolojik gübre olarak kullanımı için yeni kombinasyonların ortaya konulması, çok önemli ve ümitvar sonuçlar doğurmaktadır. Ancak ileri araştırmalarla çoklu interaksyonların biyokimyasal temellerinin tamamen ortaya konulması gerekmektedir.

Fosfor bitki gelişmesini sınırlayan temel elementtir ve tarım topraklarının çoğunluğunda bitkilerce alınamaz durumdadır. Biyolojik olarak kontrol edilen mineralizasyon ve immobilizasyon oranı P elverişliliğini belirlemektedir. Çoğu durumda toprakta P miktarı yeterli olsa veya düzenli olarak gübreleme yapılsa dahi, bitkilerce alım etkinliği düşük olmaktadır. Alınabilir P yüksek verim için genellikle yetersizdir ve uygulanan inorganik fosfor da gübrelemeden hemen sonra fiksedilmektedir. Uygulanan P gübresi % 75-90

oranında Fe, Al ve Ca bileşikleri şeklinde çökelmektedir (Gyaneshwar ve ark. 2002). Kimyasal gübre fiyatlarının yükselmesi problemi; doğal olarak meydana gelebilen, güvenilir, alternatif P gübrelerinin ortaya konulmasını gündeme getirmiş; kaya fosfatı parçalayan bakterilerin, izolasyonu, tanısı, araştırılması, geliştirilmesi ve kullanımı benimsenmeye başlamıştır. Tohumların P çözücü bakterilerle aşılama toprakta fiks edilmiş ve uygulanan gübre fosforunun alınabilirliğini artırarak bitki gelişmesini teşvik etmektedir (Jones ve Darrah, 1994; Yadav ve Dadarwal 1997). Bazı bakteriler, organik asit salgıları (Kucey ve ark. 1989, Gadd 1999) ve farklı mekanizmalarla (Nautiyal ve ark. 2000) inorganik P çözünürlüğünü artırarak alınabilir forma dönüştürmekte, bitki gelişmesini teşvik etmekte (Kumar ve Narula 1999, Whitelaw, 2000) ve diğer minerallerin alımını artırmaktadır (Biswas ve ark. 2000 a). Biyolojik gübre olarak fosfat bakterilerinin kullanımı ile tarımsal üretimin % 10-15 oranda arttığı ifade edilmiştir (Yadav ve Dadarwal 1997). Serbest azot fiksasyonu ve fosfat çözücü bakteriler şeker pancarı, şeker kamışı, pirinç, mısır ve buğdayda kullanılmaya başlanmıştır (Döbereiner 1997, Hecht-Buchholz 1998, Schilling ve ark. 1998). *Bacillus* türleri ile yürütülen araştırmalarda pirinç, mısır ve diğer tahıllarda önemli verim artışı ortaya konulmuştur (Tiwari ve ark. 1989, Belimov ve ark. 1995, Sukhovitskaya 1998, Çakmakçı ve ark. 1999, 2001, Pal 1999, Öztürk ve ark. 2003).

İlk olarak 1950 yıllarında kullanılan *Megatherium viphosphateum* daha sonra *Bacillus megatherium* var *phosphaticum* olarak adlandırılmış, yörelere göre değişmekle birlikte, bitki verimini %0-70 arasında artırabildiği ifade edilmiştir (Smith ve ark. 1962). Tarımda biyolojik savaş ajanı veya biyogübre olarak kullanılan bakterilere 'bitki gelişimini teşvik eden bakteriler'(plant growth promoting rhizobacteria=PGPR) denilmektedir. PGPR daha çok *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir. Bitki gelişiminin PGPR tarafından teşvik edildiği laboratuvar ve tarla denemeleriyle ortaya konulmuştur. *Ps. putida* ve *Ps. fluorescens* inokulasyonunun kanola, marul ve domateste kök ve gövde uzamasını (Hall ve ark. 1996, Glick ve ark. 1997), patates, turp, pirinç, şeker pancarı, domates, marul elma, turunçgil, bakla, süs bitkileri ve buğday verimini artırdığı belirlenmiştir (Suslov 1982, Kloepper ve ark. 1988, Lemanceau 1992, Kloepper 1994). *Pseudomonas* inokulasyonu, yazlık buğdayda hasat indeksi ve kök kuru ağırlığını (Germida ve Walley 1997) ve şeker pancarında kök ve şeker verimini artırmış (Çakmakçı ve ark. 2001), ıspanakta ise gelişmeyi teşvik etmiştir (Urashima ve Hori 2003). Buğday veriminin *Azotobacter* % 30, *Bacillus* % 43 (Kloepper ve ark. 1989), *B. megatherium* ve *A. chroococcum* kombinasyonu ile % 10-20 (Brown

1974) oranında arttığı ortaya konulmuştur. *Azospirillum spp* mısır, sorgum, ve buğday (Kapulnik ve ark. 1985, Baldani ve ark. 1987, Sarig ve ark. 1990), *Bacillus spp.* ise yerfıstığı, patates, sorgum ve buğday (Broadbent ve ark. 1977, Burr ve ark. 1978, Capper ve Campbell 1986) verimini önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir. *A. chroococcum*'un buğday (Kumar ve Narula 1999), *B. circulans* ve *Cladosporium herbarum* ile buğday (Singh ve Kapoor 1999), *Enterobacter agglomerans* ile domates (Kim ve ark. 1998) ve *Ps. chlororaphi* ve *Ps. putida* ile soya fasulyesi (Cattelan ve ark. 1999) arasında olumlu PGPR etkileri ortaya konulmuştur.

Biyolojik gübre olarak *Bacillus* ların kullanımı bitki gelişme hormonu senteziyle doğrudan gelişmeyi teşvik etmekte (Chabot ve ark. 1996, Amer ve Utkheda 2000), patojenleri bastırabilmekte (Bapat ve Shah 2000, Eşitken ve ark. 2002), antibiyotik sentezlemekte (Marahiel ve ark. 1993, Handlesman ve Staab 1996) ve fungus gelişmesini önlemektedir (Nautiyal 1997). *B. subtilis* toplam bitki ağırlığı ile bitki dokularındaki N ve P konsantrasyonunu artırırken (Toro ve ark. 1997), *B. megaterium* toprağa iyi adaptasyon gösterip, bitki köklerine kolonize olarak şeker pancarı ve arpa verimini (Sukhovitskaya 1998, Çakmakçı ve ark. 1999), pirinçte ise dane verimini artırmıştır (Khan ve ark. 2003). Fosfat çözücü bakteri aşılamaının doğal rizosferdeki fosfat çözücü bakteri (PSB= phosphate solubilizing bacteria) sayısı ve şeker kamışı verimini artırırken, şeker kamışı için gerekli fosforlu gübre gereksinimini % 25 azalttığı ortaya konulmuştur (Sundara ve ark. 2002). *B. megaterium* aşılama şeker kamışı verimi, fosfor alımı ve çimlenme oranını artırdığı belirlenmiştir (Yadav ve Singh 1990). Tohumların PSB *Bacillus sp.* ile aşılamaı darı, mısır, horozibiği, karabuğday, Fransız fasulyesinde vejetatif gelişmeyi artırmıştır (Pal 1998).

PGPR bitki gelişimine etkisi doğrudan ve dolaylı olmaktadır. Bakterilerin antibiyotik (Sivan ve Chet 1992) veya siderophor salgıları ile patojenik mikroorganizmaların kontrolü, dolaylı olarak bitki gelişimi teşvik etmektedir. İndol asetik asit gibi bitkisel hormonların sentezi (Arshad ve Frankenberger, 1998; Xie ve ark., 1996), azot fiksasyonu (Christiansen-Weneger 1992), kök zarları geriliminin azaltılması (Bashan ve Levanony 1991), ACC deaminaz benzeri enzimlerin sentezi ile bitki hormon düzeylerinin ayarlanması (Glick ve ark. 1998), organik P mineralizasyonu ve inorganik P çözünürlüğünün artırılması ile P alınabilirliğinin sağlanması (Kumar ve Narula 1999, Whitelaw 2000) gibi mekanizmalarla bitki gelişimi doğrudan bakteriler tarafından etkilenmektedir.

Fosfat Alınabilirliği ve Mineral P Çözünürlüğü

Mikroorganizmalar fosfor döngüsünde önemli rol oynamaktadır. Bitkiler fosforu HPO_4^{2-} veya $H_2PO_4^-$ formlarında almaktadır. Topraklarda mineral fosfat primer, hidroksi ve oksit apatit benzeri minerallerde tutulmuş halde bulunmaktadır. Toprak fosforunun

bitki ve mikroorganizmalar tarafından alınabilmesi için çözünmesi gerekmektedir. Ayrıca kimyasal gübre olarak uygulanan çözünebilir P, toprağın pH ve tipine bağlı olarak, fiksedilmekte alınamaz forma dönüşmektedir. Araştırmalar P bileşiklerindeki bağlı fosfatın bakterilerce çözülebildiğini göstermiştir (Tablo 1). Bitki ve toprak rizosferinde aerobik ve anaerobik

olmak üzere önemli miktarda P çözücü bakteri bulunmaktadır. Besin ve enerji kaynağı olarak organik maddelerin parçalanması, toprak solüsyonundaki P düzeyini değiştirmektedir. Fosfat çözünürlüğünü bazı elementler etkilemekte, kritik bir K konsantrasyonu optimum P çözünürlüğü için gerekli olmaktadır (Illmer ve Schinner 1992).

Tablo 1. Farklı bakterilerin mineral fosfat ortamında gelişimi ve fosfat akümüasyonu (mg l⁻¹)

Bakteri	Fosfat Kaynağı			Kaynak
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Hidroksiapatit	Kaya fosfat	
<i>Pseudomonas sp.</i>	52	-	-	İllmer ve Schinner 1992
<i>Pseudomonas striata</i>	156	143	22	Arora ve Gaur 1979
<i>Burkholderia cepacia</i>	35	-	-	Rodríguez ve ark. 1996
<i>Rhizobium sp.</i>	-	300	-	Hadler ve Chakrabarty 1993
<i>Rhizobium meliloti</i>	-	165	-	Hadler ve Chakrabarty 1993
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	-	356	-	Hadler ve Chakrabarty 1993
<i>Rhizobium loti</i>	-	27	-	Hadler ve Chakrabarty 1993
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	395	-	-	Vázquez 1996
<i>Bacillus polymyxa</i>	116	87	17	Arora ve Gaur 1979
<i>Bacillus megaterium</i>	82	31	16	Arora ve Gaur 1979
<i>Bacillus pulvifaciens</i>	54	65	13	Arora ve Gaur 1979
<i>Bacillus circulans</i>	11	17	6	Arora ve Gaur 1979
<i>Citrobacter freundii</i>	16	7	5	Arora ve Gaur 1979
<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	17	De Freitas ve ark. 1997
<i>Bacillus sphaericus</i>	-	-	18	De Freitas ve ark. 1997
<i>Bacillus brevis</i>	-	-	19	De Freitas ve ark. 1997
<i>Bacillus polymyxa</i>	-	-	20	De Freitas ve ark. 1997
<i>Bacillus thuringiensis</i>	-	-	20	De Freitas ve ark. 1997
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	-	-	22	Pal 1998
<i>Bacillus sp</i>	-	-	11-45	Pal 1998

Genel olarak hakim fosfat formları asit topraklarda Fe ve Al bileşikleri, kalkerli topraklarda ise Ca fosfatlar şeklindedir. Mikroorganizmalar doğal P döngüsünde başlıca etkidir. Bakteriler trikalsiyum, dikalsiyum, kaya fosfat ve hidroksi apatit şeklindeki çözünemez inorganik fosfatı çözünür hale getirmekte (Goldstein 1986, 1995) ve mineral fosfatların çözünürlüğünde mikroorganizmalarca üretilen organik asitlerin temel mekanizma olduğu kabul edilmektedir (Leyval ve Berthelin 1989, Salih ve ark. 1989, Hadler ve ark. 1990). Mikroorganizmalarının inorganik fosfat materyallerini çözebildiği (Jones ve Darrah 1994, Nautiyal ve ark. 2000) ve çözünmede organik asit benzeri metabolitlerin önemli rol oynadığı (Kucey ve ark. 1989, Gadd 1999, Kumar ve Narula 1999, Vassileva ve ark. 2000, Whitelaw 2000) bilinmektedir. Organik asit üretimi mikrobiyal hücrelerin etrafını asitleştirmektedir. PSB tarafından salgılanan asitler arasında en yaygın olan fosfat çözücü, glukonik asittir. Başlıca organik asit üretici fosfat çözücü bakteriler *Pseudomonas sp* (Illmer ve Schinner 1992), *Erwinia* (Liu ve ark. 1992) ve *Ps. cepacia* (Goldstein ve ark. 1993) olduğu; *R. leguminosarum* (Hadler ve ark. 1990), *R. meliloti* (Hadler ve Chakrabarty 1993), *B. firmus* (Banik ve Dey 1982) gibi fosfat çözücülerinin ise 2-ketoglukonik asit salgıladığı ortaya konulmuştur. *B. liqueniformis* ve *B. amyloliquefaciens* türleri laktik, izovalerik, izobütirik ve asetik asit karışımlarını üretebilmektedir. Glikolik, okzalik, malonik ve succinik (Banik ve Dey 1982, Illmer ve Schinner, 1992), asetat, laktat, oksalat, tartarat, succinat, sitrat, glukonat,

ketoglukonat ve glikolat (Banik ve Day 1982, Goldstein 1986, Cunningham ve Kuiack 1992, Gyaneshwar ve ark. 1998, Kim ve ark. 1998, 1999) gibi organik asitlerin fosfat çözücü bakteriler tarafından üretildiği bilinmektedir. Sıvı kültür ortamlarında fosfat çözücülerin sitrik, glutamik, succinik, laktik, okzalik, maleik, fumerik, tartarik ve ketobütirik gibi organik asitleri üretebildiği ifade edilmiştir (Sundara ve ark. 2002). Mikroorganizmalar tarafından şelat maddeler ile, sülfürik, nitrik ve karbonik asit üretiminin çözünürlük üzerine etkisi olduğu ileri sürülmekte ancak bu yolla alınabilir fosfat artışının önemsiz olduğu vurgulanmıştır (Rodríguez ve Reynaldo 1999).

Fosfat eksikliği fosfor çözünürlüğünü teşvik etmektedir. Mikrobiyal metabolitlerin çözünürlükte önemli rol oynayan toprak pH'sını azalttığı, bunun sonucu olarak kaya fosfattan fosforun serbest hale geldiği vurgulanmıştır (Gyaneshwar ve ark. 1998, Nahas 1996). Toprak pH'sı azaldıkça fosfat minerallerinin çözünmesi artmakta (Stumm ve Morgan 1995), ancak çözünürlüğün tek nedeni asit üretimi olmamaktadır (Nautiyal ve ark. 2000). Bazı durumlarda pH'daki düşüşle mineral fosfatların çözünürlüğü arasında korelasyon bulunmamaktadır (Subba Rao 1982). Benzer olarak diğer bazı araştırmalarda fosfat çözünürlüğü ile pH arasında doğrusal bir ilişkinin olmadığı ortaya konulmuştur (Thomas 1985, Ehrlich 1990, Çakmakçı ve ark. 2004).

Organik Fosfat Çözünürlüğü veya Organik Fosforun Mineralizasyonu

Mineral fosfatların dışında, fosforun ikinci temel kaynağı organik maddedir. Çoğu toprakta organik P toplam fosforun % 30-50' sini meydana getirmektedir. Organik P genellikle inositol fosfat, fosfomonoester veya fosfolipit, nükleik asit ve fosfotriester şeklinde bulunmaktadır. Organik P bitkiler tarafından alınabilmesi için inorganik fosfora hidrolize olması gereklidir. Organik P bileşiklerinin mineralizasyonu fosfataz enzimi yoluyla meydana gelmektedir. Topraklarda önemli miktarda fosfataz enzimi (El-Sawah ve ark. 1993, Bishop ve ark. 1994, Kremer 1994, Sarapatka ve Kraskova 1997) ve mikrobiyal fosfataz (Kirchner ve ark. 1993, Kucharski ve ark. 1996) bulunduğu belirlenmiştir. Asit fosfataz bu proseste temel fonksiyon görmektedir. *Rhizobium* (Abd-Alla 1994), *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* (Thaller ve ark. 1995), *Pseudomonas* (Glick ve ark. 1997) ve *Bacillus* (Skrary ve Cameron 1998) cinslerine ait türler önemli düzeyde asit fosfataz aktivitesi göstermektedir. Toprakta fosfataz aktivitesinin temel kaynağının mikrobiyal orijinli olduğu düşünülmekte (Garcia ve ark. 1992, Xu ve Johnson 1995) ve rizosferde fosfataz aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Tarafdar ve Junk 1987). Fosfataz enziminin yol açtığı organik fosfat çözünürlüğü, organik P mineralizasyonu olarak adlandırılmakta ve topraktaki P içeren bitkisel ve hayvansal artıkların yıkımını ifade etmektedir. Bu proseste asit fosfataz üretimi önemli rol oynamaktadır (Rodríguez ve Fraga 1999). Toprak organik maddesinin ayrışması moleküllerin karbon yapısından ortofosfat radikallerini serbest hale getiren maddeler üretebilen saprofitler tarafından sağlanmaktadır. Organik fosforun mikrobiyal mineralizasyon çevre faktörleri tarafından önemli ölçüde etkilenmekte ve orta alkalite düzeylerinde daha fazla olmaktadır (Paul ve Clark 1988). Organik P bileşiklerinin parçalanması nükleik asit ve fosfolipit gibi moleküllerin fizyokimyasal ve biyokimyasal özelliklerine bağlıdır. Tatlı fosfatlar kolay çözünürken, fitik asit, polifosfat ve fosfonatlar yavaş ayrışmaktadır (McGrath ve ark. 1995, 1998, Ohtake ve ark. 1996).

Bitki Gelişme Promotorü Olarak Fosfat Çözücü Bakteriler

Topraklarda önemli miktarda fosfat çözücü bakteri bulunmakla beraber, genellikle sayıları rizosferde mevcut diğer bakterilerle rekabet edebilecek düzeyde değildir. Ayrıca rizosferik bakteriler her zaman PGPR etkisi göstermemektedir. Nitekim kanola rizosferinde bulunan *Bacillus* sp ve *Xanthomonas maltophilia* bitki gelişimi üzerine olumlu etki göstermekle birlikte bitki fosforunu etkilememiştir (De Freitas ve ark. 1997). Beş rizosferik izolatin sadece ikisinin P alımını artırarak soya üzerine olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir (Cattelan ve ark. (1999). Topraklarda doğal olarak bulunan PSB bitki gelişimi için yeterli olamamaktadır. Bu nedenle topraklarda bulunandan daha yüksek kon-

santrasyonlarda P çözücü bakteri inokulasyonu ile bitki gelişiminin teşvik edilmesi gerekli görülmektedir. Bakteriler tarafından salgılanan bitkisel hormon, anti-biyotik, siderofor ve diğer maddeler bitkiler için P alınabilirliği ve gelişmeyi teşvik etmektedir (Kloepper ve ark. 1989). PGPR biyolojik aktif metabolitler, enzim, toksin ve bitki gelişiminde temel rol oynayan bitki gelişimini regule eden maddeler salgılamakta ve sulu bakteri süspansiyonlarının bitkisel gelişmeyi etkilemektedir (Weissmann ve Gerhardson 2001).

Bakterilerin bitki gelişimine etkisi çok yönlü olmakta ve çoğu mikroorganizma P alımını artırmaktadır. Mısır ve marulda mikroorganizmaların mineral fosfatları çözerek gelişimi artırdığı (Chabot ve ark. 1996), *Burkholderia cepacia*'nın önemli miktarda P çözdüğü ve belli ölçüde fosfataz aktivitesi gösterdiği ortaya konulmuştur (Rodríguez ve ark. 1996). *Ps. putida* bitki kök ve gövde gelişimini teşvik etmiş ve kanolada P alımını artırmıştır (Lifshitz ve ark. 1987). *B. megaterium*, *B. brevis*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *X. maltophilia* suşlarının çok iyi P çözebildiği belirlenmiştir (De Freitas ve ark. 1997). Piriñç fidelerinin *Azospirillum lipoferum* ile aşılması, P oranını, kök uzunluğu ve kuru bitki ağırlığını artırmış (Murty ve Ladha 1988), *B. firmus* (Data ve ark. 1982), *B. polymyxa* (Gaur ve Ostwal 1972) ve *B. cereus* (Fernández ve ark. 1984) aşılmasından sonra P alımı ve bitki verimi artmıştır. İndol asetik asit kök oluşumu, hücre bölünmesi ve genişlemesini etkilemekte, gibberallinler ise bitki morfolojisini değiştirebilmektedir (Salisbury 1994). İAA hormonu PGPR tarafından yaygın olarak üretilmektedir (Barazani ve Friedman 1999). İAA üreten PGPR kök gelişmesi ve kök uzunluğunu artırmakta, sonuçta bitkiler daha geniş bir kök yüzey alanı ile topraktan besin elementlerini daha iyi alabilmektedir. İAA üretebilen *B. firmus* P noksanlığı gösteren ve kaya fosfat uygulanan toprakta piriñçte dane verimi ve P alımını artırmıştır (Data ve ark. 1982). *B. pumilis* ve *B. licheniformis* bakterilerinin değişik formlarda GA üretebildiği belirlenmiştir (Gutierrez-Manero ve ark. 2001). Hücre çoğalması, hücre genişlemesi ve belli bitkilerde doku genişlemesi üzerine etki gösteren sitokininlerin PGPR tarafından üretildiği ortaya konulmuştur (Tablo 2). Aminocyclopropan karboksilaz deaminaz aktivitesi köklerdeki etilen üretimini azaltmakta ve kökler uzamaktadır. Bu teori bir çok araştırmacı tarafından genetiksel modifiye PGPR üzerine yürütülen araştırmalarla ortaya konulmuştur (Mayak ve ark. 1999, Holguin ve Glick 2001). Fitohormonların üretimi bitki gelişimini teşvik etmekte ve PGPR direkt olarak kök solunumunu etkileyerek kök gelişmesini artırabilmektedir. Nitekim farklı bitkilere aşılana *Azospirillum* kök solunumunu artırmıştır (Vedder-Weiss ve ark. 1999). PGPR bitki simbiyosis ilişkilerini de etkilemektedir. Baklagil-rizobia ilişkisi, nodül oluşumu, sayısı, fiksasyon oranı ile kök ve gövde gelişmesi PGPR tarafından etkilenmektedir (Cattelan ve ark. 1999, Vessey ve Buss 2002). *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Vibrio*,

Xanthobacter, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Pseudomonas* ve *Chryseomonas* cinslerine ait 13 bakterinin P çözebildiği belirlenmiştir (Vazquez ve ark. 2000). PGPR doğal bitki hormonları ile gelişmeyi uyardığı (Amer ve Utkheda 2000), besin alım ekinliğini artırdığı (Bashan ve ark. 1990), bitki hastalıklarının kontrolünü sağladığı (Kiewnik ve ark. 2001, Georgakopoulos ve ark. 2002, Estevez de Jensen ve ark. 2002), çıkış ve fide gelişimini teşvik ettiği (Biswas ve ark. 2000b, Peng ve ark. 2002) belirlenmiştir. Buğday ve arpa

rizosferinden izole edilen *Bacillus RC01*, *Bacillus M-13*, *Bacillus RC02*, *Rhodobacter RC04*, *Paenibacillus RC05*, *Pseudomonas RC06* ve *Bacillus OSU-142* bakterileri aşılama arpa kök ağırlığını sırasıyla % 21.4, 17.9, 25.0, 21.4, 28.6, 21.4 ve 32.1, gövde ağırlığını ise % 39.0, 30.5, 28.8, 32.2, 54.2, 32.2 ve 47.6 oranında artırmış; bu suşların biyolojik gübre olabilecek önemli potansiyele sahip olduğu ortaya konulmuştur (Çakmakçı ve ark. 2004).

Tablo 2. PGPR Tarafından Bitkisel Hormon Üretimi (Vessey 2003' den değiştirilerek)

Üretilen madde	PGPR	Bitki	Kaynak
İAA	<i>Aeromonas veronii</i>	Pirinç	Mehnaz ve ark. 2001
	<i>Agrobacterium sp</i>	Marul	Barazani ve Friedman 1999
	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Marul	Barazani ve Friedman 1999
	<i>Azospirillum brasilense</i>	Buğday	Kaushik ve ark. 2000
	<i>Bradyrhizobium sp</i>	Turp	Antoun ve ark. 1998
	<i>Comamonas acidovorans</i>	Marul	Barazani ve Friedman 1999
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Pirinç	Mehnaz ve ark. 2001
	<i>Enterobacter sp.</i>	Şeker kamışı	Mirza ve ark. 2001
	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Turp	Antoun ve ark. 1998
Sitokinin	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Buğday	Timmusk ve ark. 1999
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Soya fasulyesi	De Salamone ve ark. 2001
	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Çam	Bent ve ark. 2001
Gibberallin ACC deaminaze	<i>Bacillus sp.</i>	Kızılbaş	Gutierrez-Manero ve ark. 2001
	<i>Alcaligenes sp.</i>	Kolza	Belimov ve ark. 2001
	<i>Bacillus pumilis</i>	Kolza	Belimov ve ark. 2001
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Kolza	Saleh ve Glick 2001
	<i>Pseudomonas cepacia</i>	Soya Fasulyesi	Cattellan ve ark. 1999
	<i>Pseudomonas putida</i>	Mung fasulyesi	Mayak et a. 1999
	<i>Pseudomonas sp</i>	Kolza	Belimov ve ark. 2001
<i>Variovorax paradoxus</i>	Kolza	Belimov ve ark. 2001	

Kombine Biyolojik Gübre Uygulamaları

Fosfat çözücü bakteri aşılama çalışmalarında önemli bir alternatif yaklaşım farklı mikroorganizmaların karışık kültürüdür. Araştırmalar fosfat çözücü bakterilerin *Azotobacter* ile birlikte inokulasyonunun bitki verimi ile birlikte N ve P alımını da artırdığını ortaya koymuştur (Kundu ve Gaur 1984, Monib ve ark. 1984). Tekli aşılama göre, *Ps. striata*'nın *B. polymyxa* ile birlikte aşılama fosfat çözücü etkinliğini, *Azospirillum brasiliense* ile birlikte kullanılmasının ise, N ve P alımını artırdığı bildirilmiştir (Alagawadi ve Gaur 1992). Fosfat çözücü *Agrobacterium radiobacter*'in azot fikseri *Azospirillum lipoferum* ile birlikte inokulasyonu arpa dane verimini tekli aşılama göre önemli düzeyde artırmıştır (Belimov ve ark., 1995). Birlikte aşılama besin elementleri dengesini sağlamakta, bu nedenle N ve P alımı artmaktadır. Bazı araştırmalarda karışık kültürlerin tekli aşılama kıyasla buğday (Han ve New 1998) ve diğer bitkilerde (Chiarini ve ark. 1998) ilave bir avantaj sağlamadığı belirlenmiştir. Oysa bunun aksine olarak kombine uygulamaların tekli aşılama kıyasla sorgumda dane ve kuru madde verimini (Alagawadi ve Gaur 1992), arpa ve şeker pancarı verimini (Çakmakçı ve ark. 1999), bitki gelişimi ve P alımını teşvik ettiği (Whitelaw ve ark. 1997) ortaya konulmuştur. Fosfat çözücü ve azot fiksasyon bakterilerinin kombine

inokulasyonu ile P alımının attığı ve bitki gelişmesinin teşvik edildiği (Whitelaw ve ark. 1997), bakterilerin birbirlerini teşvik veya engelleyici etkilerinin bulunduğu (Isopi ve ark. 1995, Rojas ve ark. 2001) bilinmektedir.

Karışık inokulasyon bakteri etkinliğini artırabilmektedir. Fosfat çözücü *B. licheniformis* ve azot fikseri *Phyllobacterium sp* karışımı tekli aşılama kıyasla fosfatın çözünürlüğü ve azot fiksasyon oranını artırmıştır (Rojas ve ark. 2001). Fosfat çözücü bakterilerin N₂ fikserleri ile ikili aşılama çalışmalarında şeker pancarı verimi % 11.9-12.4, arpa verimi % 7.4-9.3, üçlü aşılama ise şeker pancarı ve arpa verimi % 12.7 ve 9.3 artmıştır (Şahin ve ark. 2004). Fosfat çözücülerin azot fikserleri ile karışım halinde kullanılması ile, bitki besin dengesinin sağlanabildiği (Belimov ve ark. 1995), patojenlerin daha iyi kontrol edilebildiği (Fukui ve ark., 1994) bildirilmiştir. Fosfat çözücü *Bacillus türleri* P beslenmesi ile gelişmeyi uyarmakta (Banik ve Ninawe 1988, Whitelaw ve ark. 1997) ve diğer elementlerin alımını artırmaktadır (Biswas ve ark. 2000 a).

Sera koşullarında *B. Polymyxa*, *B. megaterium* ve iki bakterinin birlikte aşılama ile şeker pancarı kök ağırlığında % 16.5, 6.6 ve 18.9 oranında artış gözlenmiştir (Çakmakçı ve ark. 1999). *B. polymyxa* ve *B. megaterium*, arpa dane verimini kumlu tında % 12.4

ve 9.2, killi tında ise %17.1 ve 7.8 oranında artırmış; birlikte inokulasyon ise kumlu tında %17.0, killi tında ise %19.4 oranında dane verimi artışına neden olmuştur (Çakmakçı ve ark. 1999). Serbest azot fikseden *Bacillus* OSU-140 ve *Bacillus* OSU-142 bakterileri şeker pancarı kök verimini % 9.8-11.0, azot fiksasyon ve PSB üçlü aşılama şeker pancarı ve arpa verimini % 12.7 ve % 9.3 oranında artırmıştır (Çakmakçı ve ark. 2003). Fosfat çözücü ve azot fiksasyon bakterilerinin kombine inokulasyonunda bakteriler birbirlerini teşvik veya engelleyici etki göstermiş, azot gübresinin olumsuz etkilediği pancar kalitesi bakteri aşılama daha dengeli bulunmuştur (Çakmakçı ve ark. 2003).

Bakteri ve Fungusların Kombine Uygulamaları

Fosfat çözücü organizmalar her yerde bulunur ve sayıları topraktan toprağa değişiklik gösterir. Topraklarda doğal populasyonun % 1-50' sini fosfat çözücü bakteri, % 0.5-0.1' ini ise fosfat çözücü funguslar oluşturur. Genel olarak fosfat çözücü bakterilerin sayısı funguslardan 2-150 kat fazladır (Kucey ve ark. 1989). Funguslar tarım topraklarında doğal olarak bulunmakta, P beslenmesini artırmakta, organik asit üretebilmekte ve mineral fosfatların çözünürlüğünü artırabilmektedirler. Fosfat çözücü bakterilerin funguslarla birlikte kombine aşılamalarından ümitvar sonuçlar alınmıştır. Karışık fungus-bakteri aşılama ile bitkilerin kaya fosfatlardan fosforu daha iyi alabildiği ve besin noksanlığı olan toprakta buğday veriminin arttığı vurgulanmıştır (Singh ve Kapoor 1999). Bitkilerin fosfat çözücü bakterilere risponsu düşük P içerikli topraklarda daha yüksek olmaktadır. Bakteri ve mantar kombinasyonu P çözünürlüğü ve bitki gelişmesini artırmıştır (Leyval ve Berthelin 1989).

Kalsiyum fosfat minerallerinin *Erwinia herbicola* (Liu ve ark. 1992), *Penicillium sp* (İllmler ve Schinner 1995), kaya fosfatın *Penicillium variabile* (Vassilev ve ark., 1996) ve *Ps. frequentans* fungusu (De la Torre ve ark., 1993) ve asit üretici *Yarrowia lipolytica* mayası (Vassileva ve ark. 2000) tarafından çözünebildiği araştırmalarla ortaya konulmuştur. *Aspergillus niger* fungusunun sitrik asit ürettiği ve fosfat çözebildiği belirlenmiştir (Vassileva ve ark. 1998, Vazquez ve ark. 2000). Fosfat çözücü *Penicilium radicum* fungusunun bitki gelişmesini teşvik ettiği, buğday verimini artırdığı, P alımını artırdığı ve CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ve koloidal alüminyum fosfatı çözdüğü, çözünürlüğün temel mekanizmasının pH düşüşünden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Whitelaw ve ark. 1997, 1999).

PGPR genellikle patojenler üzerine antagonistik etki yapmaktadır. Bazı durumlarda PGPR rizosferik fungusların etkinliğini teşvik ederek bitki gelişmesini artırmaktadır. PGPR bitki ve fungus arasındaki ilişkiyi artırabilmektedir. *Glomus etunicatum* fungusu veya fosfat çözücü *Enterobacter agglomerans* domateste P içeriğini artırmış, ancak en yüksek N ve P miktarına iki organizmanın birlikte aşılama ile ulaşılmıştır (Kim ve ark. 1998). *Glomus aggregatum* fungusu ile *B.*

polymyxa ve *Azospirillum brasilense* karışımının, çözünmez inorganik fosfat kaynağı ile birlikte uygulamasının aromatik palmaroza da P içeriği ve biomass verimini en yüksek seviyeye çıkardığı belirlenmiştir (Ratti ve ark. 2001). Diğer taraftan, *Enterobacter sp.* ve *B. subtilis*'in *Glomus intraradices* fungusunun yerleşmesini teşvik ederek, bitki biyoması ile dokuların N ve P içeriğini artırdığı belirlenmiştir (Toro ve ark. 1997). Araştırmalarda bakterilerin fungusların aktivitelerini artırdığı ortaya konulmuş olmakla birlikte bu ilişki her zaman olumlu olmamaktadır. Nitekim, Walley ve Germida (1997) buğday ile yürüttükleri araştırmalarda *Ps. cepacia*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens* ve *Ps. putida* suşlarının funguslarla birlikte inokulasyonundan farklı sonuçlar elde etmişlerdir.

Fosfat Çözücülerin Diğer Elementler Üzerine Etkileri

Bitki rizosferinde bulunan bir çok bakteri organik ve inorganik maddeleri bitkiler için yararlı hale getirmektedir. Mikroorganizmalar fosfat çözebilme yetisine ilave olarak bitki gelişmesini teşvik edici maddelerin üretimi yoluyla Fe, Zn gibi elementlerin de alınmasını da artırmaktadır (Kucey ve ark. 1989). Fosfat bakterileri kayında köklerin gelişme ve P, Mg, Al, K ve Fe alımını artırarak gelişmeyi teşvik ettiği ortaya konulmuştur (Leyval ve Berthelin 1989). Mineral elementlerin elverişli hale gelmesi kök gelişmesiyle ilgili olduğu kadar rizosfere salgılanan organik asit miktarı ile de yakından ilgilidir. Fosfat biyolojik gübreleri biyolojik nitrojen fiksasyonu etkinliğini de artırarak bitki gelişmesini teşvik etmektedir. N_2 fiksasyonu alınabilir P tarafından sınırlanmaktadır (MacDermott 1999). Fosfat çözücü *Bacillus spp.* P beslenmesi yoluyla bitki gelişmesini teşvik etmekte (Whitelaw ve ark. 1997), N, P, K ve Fe alımını artırmaktadır (Biswas ve ark. 2000 a). Bazı bakteriler organik asit salgıları ve diğer mekanizmalarla P ve diğer minerallerin alınabilirliğini artırmaktadır. PGPR kombinasyonu halinde uygulanan biyolojik gübreler azot ve fosfor dışındaki elementlerin de alımını artırabilmekte ve bitki gelişim ve morfolojisi üzerine olumlu etki göstermektedir. Rizosferde organizmaların birbirini etkilemesi nedeniyle biyolojik gübrelerin rizosfere iyice yerleşip çoğalabilmesi ve gelişmeyi teşvik etmesi gereklidir. Bu konuda kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

Mineral ve Organik Fosfat Çözünürlüğünün Genetiği

Farklı bakterilerin organik asit üretiminin temelle-ri ve rizosferde kolonize olabilmeleri en iyi anlaşıl-mış konudur. Rizosfer etkinliği inokulantın etkinliğini belirleyen en bariz etkendir. Glukonik asit salgılanması gram negatif bakterilerin P çözebilmesinde temel mekanizma olarak kabul edilmektedir (Golstein 1995, Kim ve ark. 1998). Ancak, mineral fosfat çözücülerin genetiği tamamen anlaşılammıştır. Çünkü çözünürlük için temel mekanizma olan organik asit üretiminde hangi genlerin asit sentezini determine ettiği tam ola-

rak ortaya konulmamıştır (Goldstein ve Liu 1987). *Ps. cepacia*' dan mineral fosfat çözünürlüğünü belirleyen gen (*gabY*) izole edilmiştir (Babu-Khan ve ark., 1995). Glukonik asit kofaktör olarak PQQ (kofaktör pyrroloquinoline quinone) gerektiren glikoz dehidrojenaz tarafından glikozun oksidatif metabolize edilmesi yoluyla üretilmektedir. *Pseudomonas* spp. ve diğer önemli rizosfer etkinliği gösteren bakteriler oksidatif glikoz metabolizması yoluyla glukonik asit formunu oluşturabilmektedir. Fosfat çözücü bakterilerin glukonik asit üretiminde, glikozun glukonata dönüşümünden sorumlu glikoz dehidrojenaz enzimi, *Ervinia herbicola*'dan elde edilen iki gen, PQQ sentezini kodlayan bir gen ve taşıyıcı olduğu kabul edilen ikinci bir gen izole edilmiştir (Goldstein ve Liu 1987, Goldstein 1995). Benzer yaklaşımla fosfat çözücü *Rahnella aquatilis*' ten *pqqD* ve *pqqE* genleri izole edilmiştir (Kim ve ark. 1998). Ayrıca fosfat çözücüler için model bakteri olarak ele alınan *Escherichia coli* üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmektedir (Wanner 1996). Salisilat kullanım genlerinin gelişmeyi teşvik eden bakterilere aktarılması ve rekombinant bakterilerin yabancı tiplere kıyasla bitki gelişmesini ve canlı kalma oranını artırdığı ortaya konulmuştur (Colbert ve ark. 1993).

Organik fosfat çözünürlüğünde farklı fosfataz aktivitesi gösteren bakteriler çoğunlukla *Enterobacteriaceae* familyasına dahildir. Fosfataz enzimi üretimi kompleks bir regülatör mekanizması tarafından kontrol edilmekte ve bu enzimin aktivitesi belli koşullarda ortaya çıkmaktadır. Fosfat üretiminin temel ayarlanma mekanizması inorganik fosfat konsantrasyonu tarafından belirlenmektedir. Bu mekanizma *E.coli*'de (*phoA* geni) P konsantrasyonunun 100 mM den 0.16mM' ye düştüğünde alkali fosfataz üzerine tam etki gösterecek şekilde aniden aktifleştiği belirlenmiştir (Torriani-Gorini 1994). *Morganella morganii*, *E. coli*, *Ps. fluorescens*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri* fosfat tarafından bastırılabilen alkalın fosfataz üretebilmektedir (Thaller ve ark. 1994). *Ps. Fluorescens*'ta asit fosfataz enzimlerini determine eden genler belirlenmiştir. *M. morganii*, *Pr. stuartii*, *Pr. rettgeri* ve *Zymomonas mobilis* gibi organizmalardan fosfataz kodlayan bir çok gen izole edilmiştir (Thaller ve ark. 1994, Riccio ve ark. 1997).

Fosfat Çözücü ve PGPR Etkileri

Bitki gelişme ve verimi üzerine PSM (fosfat çözücü mikroorganizma) inokulasyonunun etkinliği bir çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Uygulanan PSM etkinliği çok değişken olmaktadır. Bir çok araştırmada seçilen ve dışarıdan inokule edilen PSM ile, doğal PSM arasında ciddi engellemeler ve karşılıklı sınırlamalar meydana gelebildiği ortaya konulmuştur. PSM etkinliği: Rizosferde inokule edilen PSM kolonize olması ve yaşamının devamlılığı; doğal mikroorganizmalarla rekabet edebilme özelliği; toprak ve bitki çeşidi ve özellikleri; rizosferde besin elementini yetersizliği ile toprak fosfatlarının çözünmesi için

yeterli organik asit üretimi ve toprak fosfatının çözünmesi için mevcut PSM 'nin yetersizliği gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Mineral ve organik fosfat çözünürlüğünü artırıcı yönde fosfat çözücü bakterilere yapılan genetik manüplasyonlar, onların bitki gelişimine olan etkilerini artırmaktadır.

PGPR genel olarak biyolojik azot fiksasyonu, rizosferdeki besin elementleri alımının artırılması, kök yüzey alanının artırılması, diğer faydalı ilişkileri geliştirmek ve uygun aksiyon sağlayarak bitki besin durumunu ve gelişmesini teşvik etmektedir. Araştırmalarda PGPR etkinliği, genellikle sadece ölçülebilen toplam veya toprak üstü biomass verimi ile ortaya konulmaktadır. Aksiyon şeklinin tam ortaya konulabilmesi gerekli ve faydalı olacaktır. *Azospirillum brasilense* tarafından salgılanan indol 3-asetik asitin (Dobbelaere ve ark. 1999, Vande Broek ve ark. 1999) ve bazı PGPR tarafından üretilen 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (Mayak ve ark. 1999, Holguin ve Glick 2001) bitki gelişimine etkisinin ortaya konulması PGPR'nin genetik seviyede aksiyon şeklini gösteren önemli çalışmalardır. Rizosferden izole edilen bakteriler rizosferde yaşayan ve PGPR olarak kabul edilen popülasyondan çok farklı aksiyon gösterebilmektedir. Rizosferden izole edilen PGPR özelliği taşıyan 22 farklı izolatın sadece 6'sı ACC deaminaze, 4'ü siderofor ve 3'ü glukonaz üretimi ve 2 tanesi ise P çözünürlüğünü artırarak, soya fasulyesi gelişimini teşvik etmiştir (Cattelan ve ark. 1999).

Fosfat Çözücü İnokulantın Yaşamını Sürdürmesi

Fosfat çözücüler ve doğal mikroorganizmaların rekabeti toprakta canlı kalma ve çoğalma yeteneğine bağlıdır. Kullanılan PSM bu özelliklerinin anlaşılması bir çok faktör tarafından engellenmektedir ve ortaya konulması oldukça zordur. Genellikle inokule edilen mikroorganizmaların sayısı inokulasyondan belli bir süre sonra azalmaktadır. İnokule edilen türlerin yaşaması toprak yapısı ve sıcaklık faktörüne bağlıdır (Bashan ve ark. 1995, Van Veen ve ark. 1997). Rekabet, birbirini yok etme ve mikroorganizmalara besin maddeleri sağlayan kök gelişmesi gibi biyotik faktörlere ilave olarak, tekstür, pH, sıcaklık, nem oranı ve topraktaki alınabilir besin maddeleri gibi abiyotik faktörler de inokulantın canlı kalmasını etkilemektedir (Paul ve Clark 1988, Van Elsas ve ark. 1992). Biyotik faktörler inokule edilmiş suşların canlı kalmasında çok önemli role sahiptir ve steril olmayan toprakta azalırken steril toprakta ortadan kalkabilmektedir (Heijnen ve Van Veen, 1991). Ancak, bazı çalışmalarda ilave edilen popülasyonda artış belirlenmiştir. Besin maddelerinin alınabilirliği genellikle mikrobiyal inokulantın başarısını etkilemektedir (Gyaneshwar ve ark. 2002). İnokulantın etkinliği fizyolojik durumuna da bağlıdır. Farklı bakterilerin inokulantının canlılığını sürdürmesi alınabilir C veya seçilen engelleyicilere bağlı olmadığı, sadece başlangıçtaki inokulum yoğunluğuna bağlı olduğu belirlenmiştir (Jjemba ve

Alexander 1999). Herbisit ve pestisitler bakterilerin etkinliği ve canlılığını etkileyebilmektedir. Uygun nem ve yağış PGPR etkinliğini artırmaktadır (Çakmakçı 2002). Bakterilerin etkinliği ve bitki gelişmesi üzerine faydalı olabilmeleri çevre koşulları, bakteri suşları, bitki ve toprak özelliklerine bağlı olmaktadır. Mikrobiyal interaksiyon bakterilerin aktivitelerini engelleyici veya teşvik edici olabilmektedir (Şahin ve ark. 2004).

Fosfat çözücü PGPR ile Bitki İlişkileri

PGPR, uygulanan bitkinin besin elementi alımını artırmak yolu ile bitki gelişimini teşvik etmektedir. PGPR ile bitki ilişkisi mikroorganizmanın nerede ve nasıl kolonize olduğuna bağlı olmaktadır. Bu ilişki rizosferik ve endofitik olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir. Rizosferik ilişkide PGPR rizosferde kolonize olabilmekte kök yüzeyleri veya hücreler arası boşluklara yüzeysel olarak yerleşebilmektedir. Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısının değişmesi, rizosferde PGPR kolonize olmasını etkileyebilmektedir. Bu farklılık, toprak pH düzeyi, su potansiyeli, kısmi oksijen basıncı ve salgılanan maddelerin neden olduğu bir çok fiziksel ve kimyasal özellikten kaynaklanmaktadır (Tavaria ve Zuberer 1998, Griffiths ve ark. 1999, Revsbech ve ark. 1999, Xu 2000). Çoğu rizosferik ilişkide PGPR bitki yüzeyine yerleşmekte ve kök yüzeylerinde bakterilerin yerleşmesi üniform olmamaktadır. Endofitik ilişkide ise PGPR bitki içindeki apoplastik boşluklarda yaşar. Bir çok endofitik ilişkide özel kök nodülü veya formasyonu oluşmaktadır. Bitki ve kullanılan bakteri türüne bağlı olarak PGPR bitkinin tohum, kök, gövde, yaprak, meyve gibi bütün kısımlarında bulunabilir (Vessey, 2003). Endofitlerin bu organlarda parankima dokusunun arasındaki hücreler arası apoplastik boşluklarda (Dong ve ark. 1997) ve ksilemlerde (Fuentes-Ramirez ve ark. 1999) yaşayabildiği ortaya konulmuştur.

Organik Gübreleme ve Bakteri İlişkileri

Serbest yaşayan bakteriler gıda kaynağı olarak toprak organik maddesine bağımlı olmakta, uygun koşullar altında aktiviteleri artmakta, azot fiksasyonu ve P çözüme yeteneğine ilave olarak doğal gelişme hormonları ile bitki gelişimini teşvik etmektedir. Sulama ve ortam şartlarının daha uygun olduğu sera şartlarında bakteri etkisinin daha fazla olması, biyolojik gübrelemenin mineral gübrelemeye alternatif oluşturabileceğini göstermektedir (Çakmakçı ve ark. 1999). Tarımsal kökenli bitki artıkları, yeşil gübreler, hayvan artıkları, şehir ve tarımsal endüstri artıkları organik gübre olarak kullanılabilir. Saman, çiftlik gübresi, melas ve nişasta gibi maddeler fosfat çözücü bakteri sayısı ve rizosferdeki elverişli P miktarını artırmaktadır. Toprağa organik madde uygulaması mikrobiyal populasyon, mikrobiyal aktivite ve enzim aktivitesini artırmaktadır (Martyniuk ve Wagner 1978). Mikroorganizmalar toplam organik maddenin %1-3'lük kısmını oluşturmakta ve ayrışma prosesinde katalizör olarak fonksiyon görmektedir (McGill ve ark.

1986). Farklı kültüvasyon sistemlerinde fosfataz aktivitesinin organik madde ve organik P konsantrasyonu ile korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Lima ve ark. 1996).

Organik madde ve kimyasal gübre uygulamalarının topraklarda mikrobiyal populasyon ve mikrobiyal enzim aktivitesini artırabildiği, organik gübrelerin mikrobiyal populasyon üzerine, kimyasal gübrelerden daha fazla etkin olduğu vurgulanmıştır (Goyal ve ark. 1992). Bakteri ve fungus sayısının dekara 10 kg P dozuna kadar arttığı, bu düzeyden itibaren artan gübre dozlarıyla azaldığı, triple süper fosfatın mikrobiyal gelişmeyi azalttığı, artan kanalizasyon artıkları ile birlikte topraktaki mikrobiyal populasyon, mikrobiyal biomass, dehidrogenaz ve üreaz aktivitesinin arttığı ortaya konulmuştur (Lima ve ark. 1996). Organik artıklar mikrobiyal gelişme için gerekli olduğundan (Sakamoto ve Oba 1991), organik gübreler mikrobiyal populasyon ve mikrobiyal karbonu artırmaktadır (Goyal ve ark. 1992, Lima ve ark. 1996). Topraklara uygulanan organik enerji kaynakları P çözücülerini teşvik etmektedir (Kim ve ark. 1998). Organik artıkların ayrışması P çözücüler için enerji kaynağı olan basit şekerleri sağlamaktadır. Fosfat çözünme oranı karbon kaynağı olan glikoz konsantrasyonu artırmaktadır (Nautiyal 1999). Tarımsal artıkların rizosferin fizyokimyasal özellikleri ve mikrobiyal aktivitesinin değişmesine neden olduğu (Iyamurenya ve Dick 1996) ve normal koşullarda besin noksanlığının mikroorganizmaların metabolik aktivitesi ve gelişmesini kısıtladığı (Rodríguez ve ark. 1999) bilinmektedir. Organik gübre buğday rizosferinde P çözücülerin aktivitesini ve gelişimini teşvik etmiş (Dey ve ark. 1976), zengin enerji içerikli maddeler PSM'nin kaya fosfat üzerine etkinliğini ve fosforun elverişliliğini artırmıştır (Poi 1986). Mikroorganizmalar gelişebilmeleri için karbona gereksinim duymakta ve karbon toprağa organik madde ilavesiyle sağlanmaktadır. *Bacillus sp.* yeşil aksamı gelişmesini, fotosentat kapasitesini ve kök salgılarını artırmaktadır (Petersen ve ark. 1996).

Gelecekteki Beklentiler ve Uygulamalar

Fosfat çözücü bakteriler bitki tarafından P alımını artırarak bitki beslenmesinde önemli rol oynamaktadır ve bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin biyolojik gübre olarak kullanımı önemlidir. Bakteriyel inokulant olarak PSB kullanımı ve geliştirilmesi yönünde yeni ve kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır. Fosfat çözücü ve bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin yeni kombinasyonların kullanımı önemli sonuçlar doğuracaktır. Özellikle sinerjistik interaksiyonların biyokimyasal temellerinin ortaya konulması için ileri araştırmalar gereklidir. Diğer taraftan fosfat çözücü bakterilerin fosfat çözme etkinliklerinin artırılması için genetik manüplasyonu ve farklı bitki türlerinde kullanımı ekolojik tarım için bir zorunluluktur. Organik asit ve fosfataz aktiviteleri yüksek mutantların genetik metotlarla seçiminin etkin olabileceği gibi, sonuçları önceden kestirilemeyen yeni yaklaşımlar

olacaktır. Benzer ve farklı metabolik aktiviteye sahip daha fazla mikroorganizma farklı çevre şartlarında araştırılarak etkin biyolojik gübre kombinasyonları belirlenmelidir. Demir ve alüminyum fosfatların mikrobiyal olarak çözünürlüğü ve topraktaki mevcut organik fosfat rezervlerinin mobilizasyonu üzerinde kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

Mikrobiyal kültürlerin uygulanmasında kültür metodunun basit, ucuz ve taşınabilir olması, yüksek metabolik aktivite göstermesi ve uzun süre depolanabilir özellikte olması gereklidir. Uzun dönemde lokal mikro flora üzerine inokulantın etkileri ve ekolojik sonuçları ortaya konulmalıdır. Farklı çevre koşullarına bağlı olarak mikroorganizmaların benzer ve farklı metabolik aktivite göstereceği dikkate alınmalıdır. Birlikte aşılardan beklenen olumlu yanıtın alınabilmesi için topraklara enerji kaynağının organik madde ilavesiyle sağlanması, bakteri etkileşimlerinin ortaya konulması, alternatif enerji kaynaklarının sağlanıp antagonistik baskılar açıklığa kavuşturuluncaya kadar, farklı kombinasyonların değişik koşul ve bitkilerde denemesi gerekmektedir. Organik atıklar bakteri sayısını ve fosfat çözünürlüğünü artırabildiğinden, PGPR etkinliğinin artırılabilmesi için gerekli organik enerji kaynaklarının kullanımını üzerine kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır. Ticari biyogübrelerin birden fazla bakteri içermesi için araştırmalar yapılması ve yeni kombinasyonların ortaya konulması gerekmektedir.

Rekombinant DNA teknolojisi ile genetik manüplasyonlar gelişmiş suşların elde edilmesinde önemli olanaklar sunmaktadır. Mineral fosfat çözücülüğü, organik asit sentezi ve fosfataz aktivitesini belirleyen genler genetik manüplasyon çalışmalarında ilk adımlar olacaktır. Seçilmiş suşların çözücülük kapasitesinin geliştirilmesi için genlerin klonlanması, ekspresyonu ve konukçulara transferi önemli sonuçlar verebilir. Belli fosfat çözücülük aktivitesi kazandırılacak alıcı ırkların geliştirilmesi ve bitki gelişimini teşvik edebilme özellikleri ile kombine edilmeleri çözünmeyen fosfatın çözünürlüğüne ilave olarak büyük yararlar sağlayacaktır. Gelecekte araştırmalarla, doğal ve genetik olarak modifiye ırkların topraklara aşılmasını ile fosfat çözücülerin stabilite ve performansları ortaya konulmalıdır. Toprağa aşılacak türlerin düşük rekabetle yaşamlarının ve rizosfere yerleşmelerinin sağlanması inokulasyonun etkinliğini artıracaktır. Genetik mühendisliği inokule edilecek türlerin, diğer mikroorganizmalardan daha fazla belli besinleri kullanarak canlı kalmalarının artmasında etkin olabilecektir. Diğer taraftan genetik olarak riskli kabul edilen diğer organizmalara DNA transferi çalışmaları önem kazanacaktır. Bu konuda genetik reporter sistemleri, biyoluminesens genleri, yeşil flüoresans protein genleri bu organizmaların ölümü ve yaşamlarının devamlılığında rol oynayabilir.

KAYNAKLAR

- Abd-Alla, M.H. 1994. Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum biovar. viceae* phosphatases. *Biol Fertil Soils* **18**, 216–218.
- Alagawadi A. R. and Gaur A. C. 1992. Inoculation of *Azospirillum brasilense* and phosphate-solubilizing bacteria on yield of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) in dry land. *Trop Agric* **69**, 347–350.
- Amer, G. A. and Utkheda, R. S. 2000. Development of formulation of biological agents for management of root rots of lettuce and cucumber. *Can J Microbiol* **46**, 809-816.
- Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R. And Lalonde, R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant Soil* **204**, 57-67.
- Arora D. and Gaur, C. 1979. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. *Indian J Exp Biol* **17**,1258–1261.
- Arshad, M. and Frankenberger, W.T.Jr., 1998. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere. Microbial production and functions. *Adv Argon* **62**, 46-151.
- Babu-Khan S., Yeo, T.C., Martin, W.L., Duron, M.R., Rogers, R.D. and Goldstein, A.H. 1995. Cloning of a mineral phosphate-solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia*. *Appl Environ Microbiol* **61**, 972–978.
- Baldani, V.L.D. Baldani J.I. and Döbereiner, J. 1987. Inoculation on field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. *Biol Fert Soils* **4**, 37–40.
- Banik, S. and Dey, B.K., 1982. Available phosphate content of an alluvial soil is influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganisms. *Plant Soil* **69**, 353–364.
- Banik, S. and Ninawe, A., 1988. Phosphate solubilising microorganism in water and sediments of a tropical estuary and the adjacent coastal Arabian Sea, in relation to there physicochemical properties. *J Indian Soc Coast Agric Res* **6**, 75–83.
- Bapat, S., and Shah, A. K. 2000. Biological control of fusarial wilt of pigeon pea by *Bacillus brevis*. *Can J Microbiol* **46**, 125-132.
- Barazani O., Friedman J., 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? *J Chem Ecol*, **25**, 2397-2406.
- Bashan, Y. and Levanony, H. 1991. Alterations in membrane potential and in proton efflux in plant roots induced by *Azospirillum brasilense*. *Plant Soil* **137**, 99–103.

- Bashan, Y., Harrison, S. K. and Whitmoyer, R. E. 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. *Appl Environ Microbiol* 56, 769-775.
- Bashan, Y., Puente, M.E., Rodrique, M.N., Toledo, G., Holguin, G., Ferrera-Cerrato, R. and Pedrin S., 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Appl Environ Microbiol* 61, 1938-1945.
- Belimov, A. A., Kojemiakov, P. A. and Chuvarliyeva, C. V. 1995. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. *Plant Soil* 173, 29-37.
- Belimov, A.A., Safronova, V.I., Sergeyeva, T.A., Egorova, T.N., Matveyeva, V.A., Tsyganov, V.E., Borisov, A.Y., Tikhonovich, I.A., Kluge, C., Preisfeld, A., Dietz, K.J., Stepanok, V.V., 2001. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can J Microbiol*, 47, 642-652.
- Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C.P., Enebak, S., 2001. Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Can J Microbiol*, 47, 793-800.
- Bishop, M.L, Chang, A.C. and Lee, R.W.K. 1994. Enzymatic mineralization of organic phosphorus in a volcanic soil in Chile. *Soil Sci* 157, 238-243.
- Biswas, J. C., Ladha, J. K. and Dazzo, F. B. 2000a. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci Soc Am J* 64, 1644-1650.
- Biswas, J. C., Ladha, J.K. Dazzo, F.B., Yani, Y.G. and Rolfe, B.G. 2000 b. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agron. J.* 92, 880-886.
- Broadbent, P., Baker, K.F. Franks, N. and Holland, J. 1977. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. *Phytopathology* 67, 1027-1034.
- Brown, M.E, 1974. Seed and root bacterization. *Annu Rev Phytopatol* 12,181-197.
- Burr, T.J. Schroth M.N. and Suslow, T. 1978. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Phytopathology*, 68, 1377-1383.
- Çakmakçı, R., 2002. Azot Fiksasyonu ve Fosfat Çözücü Bakteri Aşlamalarının Şeker Pancarı Verim ve Kalitesine Etkisi. II. Şeker Pancarı Üret. Semp., 257-270.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Algur, Ö.F. 1999. Sugar beet and barley yield in relation to *Bacillus polymxa* and *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum* inoculation. *J Plant Nutr Soil Sci*, 162, 437-442.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Şahin, F. 2001. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J Plant Nutr Soil Sci*, 164, 527-531.
- Çakmakçı, R., Şahin F., Kantar F. 2003. Tek başına ve birlikte azot fiksasyonu ve fosfat çözücü bakteri aşlamalarının şeker pancarı verim ve kalitesine etkisi. Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi, Diyarbakır.
- Çakmakçı, R., Dönmez, F., Aydın, A. and Şahin, F. 2004. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, soil properties and bacterial counts. *Can J Microbiol* (sunuldu).
- Capper, A.L. and Campbell, R. 1986. The effect of artificially inoculated antagonistic bacteria on the prevalence of take-all disease of wheat in field experiment. *J Appl Bacteriol* 60,155-160.
- Cattelan, A.J., Hartel, P.G., Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci Soc Am J*, 63, 1670-1680.
- Chabot, R., Hani, A. and Cescas, P.M., 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant Soil*. 184, 311-321.
- Chiarini, L., Bevivino A., Tabacchioni, S. and Dalmastrì, C. 1998. Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. *Soil Biol Biochem* 30, 81-87.
- Christiansen-Weneger, C. 1992. N₂-fixation by ammonium-excreting *Azospirillum brasilense* in auxin-induced tumours of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biol Fertil Soils* 12, 85-100.
- Colbert, S.F., Henderson, M., Feri, M. and Schroth M.N., 1993. Enhanced growth and activity of a biocontrol bacterium genetically engineered to utilize salicylate. *Appl Environ Microbiol* 59, 2071-2076.
- Cunningham, J.E. and Kuiacac, C., 1992. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphates by *Penicillium bilaii*. *Appl Environ Microbiol*, 58, 1451-1458.
- Data, M., Banish, S. and Gupta, R.K. 1982. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. *Plant Soil*, 69, 365-373.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R., Germida, J.J., 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of

- canola (*Brassica napus* L.). *Biol Fertil Soils*, 24, 358-364.
- De La Torre, M.A., Gomez-Alarcon, G., Vizcaino, C. and Garcia, M.T., 1993. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments. *Biogeochemistry* 19, 129-147.
- De Salamone, I.E.G., Hynes, R.K., Nelson, L.M., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can J Microbiol*, 47, 404-411.
- Dey, B. K., Banik, S. and Nath, S., 1976. residual effect of organic manures on the microbial population and phosphate-solubilizing power of wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere soils. *Indian Agric* 20, 245-249.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande, B.A., Vanderleyden, J., 1999. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil*, 212, 155-164.
- Döbereiner, J., 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social and economic contributions. *Soil Biol Biochem*, 29, 771-774.
- Dong, Z., McCully, M.E. and Canny, M.J. 1997. Does *Acetobacter diazotrophicus* live and move in the xylem of sugarcane stems? Anatomical and physiological data. *Ann Bot* 80, 147-158.
- Ehrlich, H.L., 1990. Mikrobiologische und biochemische Verfahrenstechnik. In: Einsele, A. Finn, R.K. and Samhaber, W. Eds., *Geomicrobiology* (2nd ed.), VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- El-Sawah, M.M.A, Hauka, F.I.A. and El-Rafey, H.H. 1993. Study on some enzymes cleaving phosphorus from organic substrates in soil. *J Agric Sci* 18, 2775-2785.
- Eşitken, A., Karlıdağ, H. Ercişli, S. and Sahin, F. 2002. Effect of foliar application of *Bacillus subtilis* Osu-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (*Corneum blight*) of apricot. *Gartenbauw.* 67, 139-142.
- Estevez de Jensen C., Percich, J. A. and Graham, P. H. 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. *Field Crop Res* 74, 107-115.
- Fernández, H.M., Carpena, A.O. and Cadakia, L.C. 1984. Evaluacion de la solubilizacion del fósforo mineral en suelos calizos por *Bacillus cereus*. *Ensayos de invernadero. Anal Edaf Agrobiol* 43, 235-245.
- Fuentes-Ramirez, L.E., Cabellero, M.J., Sepulveda, J. and Martinez, R.E., 1999. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization. *FEMS Microbiol Ecol* 29 117-128.
- Fukui, R., Schroth, M. N., Henderson, M. and Hancock, J. G. and Firestone, M. K. 1994. Growth patterns and metabolic activity of *Pseudomonas* in sugar beet spermospheres: Relationship to pericarp colonization by *Pythium ultimum*. *Phytopathol* 84, 1331-1338.
- Gadd, G. 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: Importance of metal specification, physiology and biogeochemical processes. *Adv Microb Physiol* 41, 47-92.
- Garcia, C., Fernandez T., Costa, F., Cerranti, B. and Masciandaro, G. 1992. Kinetics of phosphatase activity in organic wastes. *Soil Biol Biochem* 25, 361-365.
- Gaur, A.C. and Ostwal, K.P., 1972. Influence of phosphate dissolving Bacilli on yield and phosphate uptake of wheat crop. *Indian J Exp Biol* 10, 393-394.
- Georgakopoulos, D. G., Fiddaman, P., Leifert, C. and Malathrakis, N. E. 2002. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. *J Appl Microbiol* 92, 1078-1086.
- Germida, J.J. and Walley, F.L. 1997. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting patterns and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-grown spring wheat. *Biol Fertil Soil*, 23, 113-120.
- Glick, B.R, Changping, L. Sibdas, G. and Dumbroff, E.B. 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biol Biochem* 29, 1233-1239.
- Glick, B.R, Penrose, D.M. and Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J Theor Biol* 190, 63-68.
- Goldstein, A.H and Liu, S.T. 1987. Molecular cloning and regulation of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola*. *Biotechnology* 5, 72-74.
- Goldstein, A.H, 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *Am J Altern Agric* 1, 51-57.
- Goldstein, A.H., 1995. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by gram negative bacteria. *Biol Agric Hort* 12, 185-193.
- Goldstein, A.H., Rogers, R.D. and Mead, G. 1993. Mining by microbe. *Bio/Technology* 11, 1250-1254.
- Goyal, S., Mishra, M. M., Hooda, I. S., and Sing, R. 1992. Organic matter-microbial biomass

- relationships in field experiments under tropical conditions. *Soil Biol Biochem* 24, 1081-1084.
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Ebbelwhite, N., Dobson, G., 1999. Soil microbial community structure: Effects of substrate loading rates. *Soil Biol Biochem*, 31, 145-153.
- Gutierrez, M.F.J., Ramos, S.B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol Plant*, 111, 206-211.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G.N., Parekh, L.J., Poole, P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil*. 245, 83-93.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G.N., Parekh, L. J, 1998. Effect of buffering on the phosphate-solubilizing ability of microorganisms. *W J Microbiol Biotchnol* 14, 669-673.
- Hadler, A.K. and Chakrabartty, P.K. 1993. Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiol* 38, 325-330.
- Hadler, A.K., Mishra, A.K. Bhattacharyya P. and Chakrabartty, P.K. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*.. *J Gen Appl Microbiol* 36, 81-92.
- Hall, J.A., Pierson, D., Ghosh S. and Glick, B.R. 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Isr J Plant Sci* 44, 37-42.
- Han, S. O. and New, P. B. 1998. Variation in nitrogen fixing ability among natural isolates of *Azospirillum*. *Microb Ecol* 36, 193-201.
- Handlesman, J., and Staab, E. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell*. 8, 1855-1869.
- Hecht-Buchholz, C., 1998. The apoplast- habitat of endophytic dinitrogen - fixing bacteria and their significance for the nitrogen nutrition of nonlegumious plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 161, 509-520.
- Heijnen, C.E. and Van Veen, A., 1991. A determination of protective microhabitat for bacteria introduced into soil. *FEMS Microbiol Ecol* 85, 73-80.
- Holguin, G., Glick, B.R., 2001. Expression of the ACC deaminase gene from *Enterobacter cloacae* UW4 in *Azospirillum brasilense*. *Microbial Ecol*, 41, 281-288.
- Illmer, P. and Schinner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol Biochem* 24, 389-395.
- Illmer, P. and Schinner, F., 1995. Solubilisation of inorganic calcium phosphates: solubilisation mechanisms. *Soil Biol Biochem* 27, 257-263.
- Isopi, R., Fabbri, P., Del Gallo, M. and Puppi, G. 1995. Dual inoculation of *Sorghum bicolor* (L.) Moench ssp. *bicolor* with vesicular arbuscular mycorrhizas and *Acetobacter diazotrophicus*. *Symbiosis* 18, 43-55.
- Iyamuremye, F. and Dick, R. P. 1996. Organic amendments and phosphorus sorption by soils. *Adv Agron* 56, 139-185.
- Jjemba P.K. and Alexander, M., 1999. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. *Soil Biol Biochem* 31, 623-632.
- Jones, D.L. and Darrah, P.R. 1994. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil* 166, 247-257.
- Kapulnik, J., Gafny, R. and Okon, Y. 1985. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO₃ uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic systems. *Can J Bot* 63, 627-631.
- Kaushik, R., Saxena, A.K., Tilak, K.V.B.R., 2000. Selection of Tn5: lacZ mutants isogenic to wild type *Azospirillum brasilense* strains capable of growing at sub-optimal temperature. *W J Microbiol Biotechnol*, 16, 567-570.
- Khan, M. R., Talukdar, N. C. and Thakuria, D. 2003. Detection of *Azospirillum* and PSB in rice rhizosphere soil by protein and antibiotic resistance profile and their effect on grain yield of rice. *Indian J Biotec* 2, 246-250.
- Kiewnik, S., Jacobsen, B.J., Braun-Kiewnick, A., Eckhoff, J.L.A., Bergman, J.W. 2001. Integrated control of *Rhizoctonia crown* and root rot of sugar beet with fungicides and antagonistic bacteria. *Plant Disease*, 85, 718-722.
- Kim, K. Y, Jordan D. and McDonald G. A., 1998. *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilizing bacteria, and microbial activity in soil: Effect of carbon sources. *Soil Biol Biochem* 30, 995-1003.
- Kim, K. Y, McDonald G. A., and Jordan D., 1999. Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned E. Coli in culture medium. *Biol Fert Soil*, 24, 347-352.
- Kirchner, M.J., Wollum A.G. and King, L.D. 1993. Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. *Soil Sci Soc Amer J* 57, 1289-1295.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K. and Zablotowicz, R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7, 39-43.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K. and Schroth, M.N. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci Anim Plant Sci*, 60-64.
- Kloepper, J.W. 1994. Plant growth promoting bacteria (other systems). In: J. Okon Editor,

- Azospirillum*/Plant Association CRC Press, Boca Raton, FL, 137–154.
- Kremer, R. J. 1994. Determination of soil phosphatase activity using a microplate method. *Commun Soil Sci Plant Anal* 25, 319–325.
- Kucey, R. M. N., Janzen, H. H. and Legett, M. E. 1989. Microbially mediated increases in plant available phosphorus. *Adv Agron* 42, 199–228.
- Kucharski, J., Cieccko, Z. Niewolak, T. and Niklewska-Larska, T. 1996. Activity of microorganisms in soils of different agricultural usefulness complexes fertilized with mineral nitrogen. *Acta Acad Agric Tech.-Olst.* 62, 25–35.
- Kumar, V. and Narula, N. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum*. *Biol Fert Soils*, 28, 301–305.
- Kundu, B.S. and Gaur, A.C. 1984. Rice response to inoculation with N₂-fixing and P-solubilizing microorganisms. *Plant Soil* 79, 227–234.
- Leisinger, K. M. 1999. Biotechnology and food security. *Curr Sci* 76, 488–500.
- Lemanceau, P. 1992. Effets benefiques de rhizobacteries sur les plantes: exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescent. *Argon* 12, 413–437.
- Leyval, C. and Berthelin, J. 1989. Interaction between *Laccaria laccata*, *Agrobacterium radiobacter* and beech roots: Influence on P, K, Mg, and Fe mobilization from minerals and plant growth. *Plant and Soil* 117, 103–110.
- Lifshitz, R., Kloepper, J.W., Kozlowski, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping E.M. and Zalesca, I. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can J Microbiol* 33, 390–395.
- Lima, J. A., Nahas, E. and Gomes, A. C. 1996. Microbial populations and activities in sewage sludge and phosphate fertilizer-amended soil. *Appl Soil Ecology* 4, 75–82.
- Liu, T.S., Lee, L.Y., Tai, C.Y., Hung, C.H., Chang, Y.S., Wolfram, J.H., Rogers R. and Goldstein, A.H. 1992. Cloning of an *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB101. *J Bacteriol* 174, 5814–5819.
- MacDermott, T.R., 1999. Phosphorus assimilation and regulation in Rhizobia. In *Nitrogen Fixation in Prokaryotes: Molecular and Cellular Biology*. Ed. EW Triplett. Horizon Sci. Pres USA.
- Marahiel, M. A., Nakano, M. M. and Zabar, P. 1993. Regulation of peptide antibiotic production in *Bacillus*. *Mol Microbiol* 7, 631–636.
- Martyniuk, S. and Wagner G. M. 1978. Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. *Soil Sci* 125, 343–350.
- Mayak, S., Tirosh, T. and Glick B.R., 1999. Effect of wild-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J Plant Growth Regul*, 18, 49–53.
- McGill, W.B. Cannon, K.R. Robertson I.A. and Cook, F.D. 1986. Dynamics of soil microbial biomass and water-soluble organic C in Breton L after 50 years of cropping to two rotations. *Can J Soil Sci* 66, 1–19.
- McGrath, J.W, Hammerschmidt, F. and Quinn, J.P. 1998. Biodegradation of phosphonmycin by *Rhizobium huakuii* PMY1. *Appl Environ Microbiol* 64,356–358.
- McGrath, J.W., Wisdom, G.B., McMullan, G., Lrakin, M.J. and Quinn, J.P. 1995. The purification and properties of phosphonoacetate hydrolase, a novel carbon-phosphorus bond-cleaving enzyme from *Pseudomonas fluorescens* 23F. *Eur J Biochem* 234, 225–230.
- Mehnaz, S., Mirza, M.S., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., Bano, A. and Malik, K.A., 2001. Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Can J Microbiol* 47,110–117.
- Mirza, M.S., Ahmad, W., Latif F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P. and Malik, K.A., 2001. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growthpromoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant Soil*, 237, 47–54.
- Monib, M., Hosny, I. and Besada, Y.B. 1984. Seed inoculation of castor oil plant (*Ricinus communis*) and effect on nutrient uptake. *Soil Biol Conserv Biosphere* 2, 723–732.
- Murty, M.G. and Ladha, J.K. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil* 108, 281–285.
- Nahas, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *W J Microbiol Biotechnol* 12, 567–572.
- Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microb Lett*, 170, 265–270.
- Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R. and Verma, D. 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microb Lett* 182, 291–296.
- Nautiyal, C. S., 1997. Method for Selection and Characterization of Rhizosphere-Competent Bacteria of Chickpea. *Curr Microbiol* 34, 12–17.

- Noel, T.C., Sheng, C., Yost, C.K., Pharis, R.P., Hynes, M.F., 1996. Rhizobium leguminosarum as a plant growth-promoting rhizobacterium: Direct growth promotion of canola and lettuce. *Can J Microbiol*, 42, 279-283.
- Ohtake, H., Wu, H. Imazu, K., Ambe, Y., Kato J. and Kuroda, A. 1996. Bacterial phosphonate degradation, phosphite oxidation and polyphosphate accumulation. *A Res Conserv and Recycling* 18, 125-134.
- Öztürk, A., Çağlar, O. and Sahin, F. 2003. Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization. *J Plant Nutr Soil Sci* 166, 1-5.
- Pal, S. S., 1999. Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant Soil*, 213, 221-230.
- Pal, S.S., 1998. Interactions of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant and Soil*, 198, 169-177.
- Paul, E.A and Clark. F.E. 1988. *Soil Microbiology and Biochemistry* Academic Press, San Diego, CA.
- Peng, S., Biswas, J. C., Ladha, J. K., Gyaneshwar, P. and Chen, Y. 2002. Influence of rhizobial inoculation on photosynthesis and grain yield of rice. *Agron J* 94, 925-929.
- Petersen, D. J., Srinivasan, M. and Chanway, C. P. 1996. *Bacillus polymyxa* stimulates increased *Rhizobium etlii* populations and nodulation when co-resident in the rhizosphere of Phaseolus vulgaris, *FEMS Microbiol Lett*, 142, 271-276.
- Poi, S. C., 1986. A study of performance of some phosphate-solubilizing microorganisms in presence of some energy sources. *Zentralblatt für Mikr.*, 141, 97-102.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., Gautam, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. *Microbiol Res* 156, 145-149.
- Revsbech, N.P., Pedersen, O., Reichardt, W., Briones, A., 1999. Microsensor analysis of oxygen and pH in the rice rhizosphere under field and laboratory conditions. *Biol Fertil Soils*, 29, 379-385.
- Riccio, M.L., Rossolini, G.M., Lombardi, G., Chiesurin A. and Satta, G. 1997. Expression cloning of different bacterial phosphatase-encoding genes by histochemical screening of genomic libraries onto an indicator medium containing phenolphthalein diphosphate and methyl green. *J Appl Bacteriol* 82, 177-185.
- Rodriguez, H and Reynaldo F. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech Avdan* 17, 319- 339.
- Rodríguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech Adv* 17, 319-339.
- Rodríguez, H., Goire, I. and Rodríguez, M. 1996. Caracterización de cepas de *Pseudomonas* solubilizadoras de fósforo. *Rev ICIDCA* 30, 47-54.
- Rodríguez, R. Vassilev, N. and Azcon, R. 1999. Increases in growth and nutrient uptake of alfalfa grown in soil amended with microbially-treated sugar beet waste. *Appl Soil Ecol* 11 (1), 9-15.
- Rojas, A., Holguin, G., Glick, B.R. and Bashan, Y. 2001. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N₂-fixer) and *Bacillus licheniformis* (P-solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere. *FEMS Microbiol Ecol*, 35, 181-187.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F. 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil* (basımda).
- Sakamoto, K. and Oba, Y. 1991 Relationship between the amount of organic material applied and soil biomass content. *Soil Sci Plant Nutr*, 37, 387-397.
- Saleh, S.S., Glick, B.R., 2001. Involvement of *gacS* and *rpoS* in enhancement of the plant growth-promoting capabilities of *Enterobacter cloacae* CAL2 and UW4. *Can J Microbiol*, 47, 698-705.
- Salih, H.M., Yahya, A.Y., Abdul-Rahem A.M. and Munam, B.H. 1989. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate dissolving fungi. *Plant Soil* 120, 181-185.
- Salisbury, F., 1994. The role of plant hormones. In *plant-Environment Interactions*. Ed. Wilkinson R.E., pp.39-81. Marcel Dekker, New York, USA.
- Sarapatka, B. and Kraskova, M. 1997. Interactions between phosphatase activity and soil characteristics from some locations in the Czech Republic. *Rostlinna-Vyroba* 43, 415-419.
- Sarig, S., Okon, Y. and Blum, A. 1990. Promotion of leaf area development and field in *Sorghum bicolor* inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Symbiosis* 9, 235-245.
- Schilling, G., Gransee, A. Deubel, A. Ležovič, G. and Ruppel, S. 1998. Phosphorus availability, root exudates, and microbial activity in the rhizosphere. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 161, 465-478.
- Singh, S. and Kapoor, K.K. 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improve drv matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol Fertil Soil*. 28, 139-144.

- Sivan, A. and Chet, I. 1992. Microbial control of plant diseases. In: R. Mitchell Editor, Environmental Microbiology Wiley-Liss, New York, 335-354.
- Skrary, F.A. and Cameron, D.C. 1998. Purification and characterization of a *Bacillus licheniformis* phosphatase specific for D-alpha-glycerophosphate. Arch Biochem Biophys 349, 27-35.
- Smith, J.H., Allison F.E. and Soulides, D.A. 1962. Phosphobacteria as a soil inoculant. Tech US Dept Agricult Bul 1, 63-70.
- Stumm, W., Morgan, J.J., 1995. Aquatic Chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters, 3rd ed. John Wiley, New York.
- Subba Rao, N.S., 1982. Advances in agricultural microbiology. In: Subba Rao N.S. Ed., Studies in the Agric. and Food Sci. Butterworth Scientific, London, 295-303.
- Sukhovitskaya, L. A., 1998. Survival rates and growth-stimulating effects of *Bacillus megatherium* and *Arobacterium radiobacter* strains introduced into soil. Appl Biochem Microbiol, 34, 81-83.
- Sundara, B., Natarajan, V. and Hari, K., 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field Crop Res, 77 (1), 43-49.
- Suslov, T.V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. In: M.S. Mount and G.H. Lacy Ed., Phytopat. Prok. Academic Press, London, 187-223.
- Tarafdar, J.C. and Junk, A. 1987. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. Biol Fertil Soil 3, 199-204.
- Tavaria, F.K., Zuberer, D.A., 1997. Effect of law pO(2) on colonization of maize roots by a genetically altered *Pseudomonas putida* [PH 6(L1019)]. Biol Fertil Soils, 26, 43-49.
- Thaller, M.C., Berlutti, F., Schippa, S., Iori, P., Passariello C. and Rossolini, G.M. 1995. terogeneous patterns of acid phosphatases containing low-molecular-mass Polipeptides in members of the family *Enterobacteriaceae*. Int J Syst Bacteriol 4, 255-261.
- Thaller, M.C., Berlutti, F., Schippa, S., Lombardi, G. and Rossolini, G.M. 1994. Characterization and sequence of PhoC, the principal phosphate-irrepressible acid phosphatase of *Morganella morganii*. Microbiology 140, 1341-1350.
- Thomas, G.V., 1985. Occurrence and ability of phosphate-solubilizing fungi from coconut plant soils. Plant Soil 87, 357-364.
- Tiwari, V. N., Lehri, L. K. and Pathak, A. N. 1989. Effect of inoculating crops with phospho-microbes. Exp Agric, 25, 47-50.
- Toro, M., Azcon, R., Barea, J.M., 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (P-32) and nutrient cycling. Appl Environ Microbiol, 63, 4408-4412.
- Torriani-Gorini, A. 1994. Regulation of phosphate metabolism and transport. In: A. Torriani et al. Ed., Phosphate in Microorganisms: Cell. Mol. Biol. ASM Press, Washington, DC, 1-4.
- Vassilev, N., Fenice, M. and Federici, F., 1996. Rock phosphate solubilization with gluconic acid produced by immobilized *Penicillium variabile* P16. Biotech Tech 10, 585-588.
- Vassileva, M., Azcon, R., Barea, J. M. and Vassilev, N. 2000. Rock phosphate solubilization by free and encapsulated cells of *Yarrowia lipolytica*. Proc Bioch, 35 693-697.
- Vassileva, M., Azcon, R., Barea, J.M. and Vassilev, N., 1998. Application of an encapsulated filamentous fungus in solubilization of inorganic phosphate. J Biotechnol 63, 67-72.
- Urashima, Y., and Hori K. 2003. Selection of PGPR which promotes the growth of spinach. Japanese J Soil Sci Plant Nutr 74, 157-162.
- Van Elsas, J.D., Trevors, J.T., Jain, D., Wolters, A.C., Hiejnen, C.E. and Van Overbeek, L.S., 1992. Survival of, and root colonization by, alginate-encapsulated *Pseudomonas fluorescens* cells following introduction into soil. Biol Fert Soils 14, 14-22.
- Van Veen, J.A., Overbeek, L.S. and Van Elsas, J.D., 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. Microbiol Mol Biol Rev 61, 121-135.
- Vande Broek, A., Lambrecht, M., Eggermont K. And Vanderleyden, J., 1999. Auxins upregulate expression of the indole-3-pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasilense*. J Bacteriol 181, 1338-1342.
- Vasil, I. K. 1998. Biotechnology and food security for 21 st century: A real world perspective. Nature Biotech 16, 399-400.
- Vázquez México P. 1996. Bacterias solubilizadoras de fosfatos inorgánicos asociadas a la rizosfera de los mangles: *Avicennia germinans* (L.) L y *Laguncularia racemosa* (L.) Gerth. Tesis para el título de Biologo Marino. Univ. Autónoma de Baja California.
- Vazquez, P., Holguin G., Puente, M. E., Lopez-Cortes A., Bashan Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biol Fertil Soils, 30,460-468.
- Vedder-Weiss, D., Jurkevitch, E., Burdman, S., Weiss, . and Okon, Y. 1999. Root growth,

- respiration and beta-glucosidase activity in maize (*Zea mays*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Symbiosis*, 6, 363-377.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586.
- Vessey, J.K., Buss, T.J., 2002. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes: Controlled-environment studies. *Can J Plant Sci*, 82, 282-290.
- Walley, F. L., and Germida J. J. 1997. Response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT4. *Biol Fertil Soils* 24, 365-371.
- Wanner, B.L. 1996. Phosphorus assimilation and control of phosphate regulon. In *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cel. Mol. Biol. Eds. Neidhart F.C., et al., 1357-1381. ASM Pres. Washington.
- Weissmann, R. and Gerhardson, B. 2001. Selective plant growth suppression by shoot application of soil bacteria. *Plant Soil*, 234, 159-170.
- Whitelaw, M. A., Harden, T. J. and Helyar, K. R., 1999. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biol Biochem* 31, 655-665.
- Whitelaw, M. A., Hardenand, T. A. and Bender, G. L. 1997. Plant growth promotion of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. nov. *Australian J Soil Res* 35, 291-300.
- Whitelaw, M. A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv Agron* 69, 99-151.
- Xie, H, Pasternak, J.J. and Glick, B.R. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Curr Microbiol* 32, 67-71.
- Xu, H.L. 2000. Soil-root interface water potential in sweet corn as affected by organic fertilizer and a microbial inoculant. *J Crop Prod* 3, 139-156.
- Xu, J.G. and Johnson R. L. 1995. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. *Plant Soil* 173, 3-10.
- Yadav, K. And Singh, T. 1990. Effect of *Bacillus megaterium* on the solubilization of phosphatic fertilizers influencing yield and uptake by sugarcane. *Bharatiya sugar*, 15,15-23.
- Yadav, K. S., and Dadarwal, K. R. 1997. Phosphate solubilization and mobilization through soil microorganisms. In: *Biot. Appr. Soil Micr. Sust. Crop Prod.* 293-308. *Sci Publis Jodhpur*.