مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۳، شماره ۲، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۸۴ تا ۹۶

جداسازی قارچ‌های آزادکننده فسفر از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی با استفاده از منابع مختلف فسفر نامحلول

محدثه توکلی[۱]، نعمت‌الله محمودی[۱*]، حسین کاری دولت آباد[۲]

۱- گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲- موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

چکـــیده

هدف از این تحقیق جداسازی قارچ های آزادکننده فسفر از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی و ارزیابی عملکرد آنها در آزادسازی فسفر از منابع مختلف نامحلول فسفر (تری‌کلسیم فسفات، فسفات آهن، فسفات آلومینیوم و فیتات کلسیم) می‌باشد. برای این منظور از چهار ایستگاه در استان مازندران نمونه برداری انجام و با استفاده از محیط‌کشت جامد NBRIP جداسازی گردید (۴۹ جدایه قارچ شامل ۱۹ جدایه از محیط‌کشت حاوی فسفر آلی و ۳۰ جدایه از محیط‌کشت حاوی انواع فسفر معدنی). سپس، توانایی جدایه‌ها در انحلال فسفر در محیط کشت جامد و مایع مورد ارزیابی قرار گرفت. در میان جدایه‌ها، جدایه‌های PS3D، PS3F و PS5F بهترین عملکرد را در بین جدایه‌های آزادکننده فسفر آلی داشتند (متوسط آزادسازی فسفر ۱۹۱/۰۸- ۱۷۹/۸۵ میلی‌گرم در لیتر). جدایه TS4E نیز به‌عنوان بهترین جدایه آزادکننده فسفر معدنی انتخاب شد. سپس این جدایه‌ها با روش توالی‌یابی ژن ۱۸S rDNA شناسایی مولکولی شدند که به نام‌های *Talaromyces austrocalifornicus* (PS3D)، *Trichoderma harzianum* (PS3F)، *Aspergillus niger* (PS5F) و *Penicillium oxalicum* (TS4E) ثبت شدند. در مرحله نهایی، توانایی این جدایه‌ها در انحلال فسفر در شرایط میکروکازم (ارلن‌های حاوی آب و رسوب) به مدت ۱۵روز مورد ارزیابی قرارگرفت. برخلاف عملکرد این قارچها در محیط‌کشت مایع، مقدار فسفر محلول در شرایط میکروکازم روند کاهشی را نسبت به روز صفر نشان داد. با این وجود، میزان فسفر در تیمارهای حاوی قارچ بیشتر از گروه کنترل بود. درمجموع، عملکرد قارچهای معرفی شده در این مطالعه برای آزادسازی فسفر مثبت بوده است.

کـــلید واژه‌ها: قارچهای آزادکننده فسفر؛ فسفر نامحلول آلی؛ مزارع پرورش ماهیان گرمابی؛ میکروکازم؛ کود زیستی

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

*نویسنده مسئول:
n.mahmoudi@modares.ac.ir

مقدمه

پرورش آبزیان از ارکان مهم فعالیت‌های کشاورزی در کشور است. براساس آخرین گزارش سازمان شیلات ایران تقریبا نیمی از تولیدات آبزی‌پروری کشور به پرورش ماهیان گرمابی اختصاص دارد [۱]. کپورماهیان پرورشی که شامل کپور نقره‌ای، سرگنده، معمولی و علف‌خوار می‌باشند؛ از مهم‌ترین گونه‌های در حال پرورش دنیا محسوب می‌شوند که به‌علت صرفه اقتصادی و طعم مناسب در اغلب کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند [۲]. کپورماهیان در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی از تولیدات طبیعی استخرهای خاکی (فیتوپلانکتون‌ها و سپس زئوپلانکتون‌ها) تغذیه می‌کنند [۳]. فسفر بعد از نیتروژن، مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان و فیتوپلانکتون‌ها می‌باشد. فسفر در تمام فرآیندهای بیوشیمیایی و مکانیزم‌های انتقال انرژی دخالت دارد. به‌علاوه فسفر جزئی از پروتئین‌های سلول بوده و نقش ویژه‌ای به‌عنوان جزئی از غشای سلولی و اسیدهای

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

نوکلئیک ایفا می‌کند [۴]. این عنصر به سه شکل آلی نامحلول، معدنی نامحلول و معدنی محلول وجود دارد. فسفات قابل جذب برای فیتوپلانکتون‌ها در آب‌ها عمدتاً از نوع معدنی محلول (HPO_4^{2-} و $H_2PO_4^-$) می‌باشد [۵].

به‌رغم فراوانی فسفر در رسوبات و خاک، مقدار محلول و قابل جذب این عنصر، کمتر از مقدار لازم برای تامین رشد مناسب گیاهان و فیتوپلانکتون‌ها است. روش متداول برای مقابله با این کمبودها استفاده از کودهای شیمیایی فسفاته می‌باشد که علاوه بر بهای زیاد و بازدهی کم، آلودگی‌های زیست‌محیطی را هم به دنبال دارد [۶].

از مهمترین روشهای افزایش فسفر قابل دسترس و استفاده بهینه از فسفر انباشته شده در رسوبات استخرها (کمپلکسهای آلی و معدنی)، استفاده از ریزجانداران آزادکننده فسفر می‌باشد [۷]. ریزجانداران بخش جدایی‌ناپذیر اکوسیستم‌های آبزی‌پروری می‌باشند که تاثیر مستقیمی برچرخه مواد مغذی، تغذیه آبزیان، کیفیت آب و در نهایت تولید دارند [۸]. یکی از این ریزجانداران قارچ‌ها هستند. شمار زیادی از اجتماعات قارچی در رسوبات استخرهای پرورش ماهیان گرمابی یافت می‌شوند؛ که در بین آنها قارچ‌های آزادکننده‌ی فسفر سه استراتژی را برای محرک ساختن فسفر خاک به کار می‌برند؛ که شامل: آزادسازی آنزیم‌هایی نظیر فسفاتازهای اسیدی و قلیایی و فیتازها، اسیدی شدن خاک، آزادسازی آنیون‌های اسید آلی (مانند سیترات، اگزالات، گلوکونات) می‌باشد [۹].

اگرچه تعداد باکتری‌های آزادکننده فسفر از قارچ‌های آزادکننده فسفر بیشتر است ولی قارچ‌ها توانایی بیشتری برای انجام این عمل دارند. قارچ‌های آزادکننده فسفر فعالیت آزادکنندگی خود را حتی در کشت‌های مکرر در شرایط آزمایشگاهی از دست نمی‌دهند؛ درحالیکه این اتفاق در برخی از باکتری‌های آزادکننده فسفر رخ می‌دهد [۱۰]. به طورکلی، قارچ‌های آزادکننده فسفر اسیدهای بیشتری نسبت به باکتری‌ها تولید می‌کنند و در نتیجه فعالیت آزادکنندگی قوی‌تری نشان می‌دهند [۱۱]. قارچ‌های آزادکننده فسفر نسبت به باکتری‌ها جهت تولید آنزیم‌های فسفاتاز و معدنی کردن فسفرآلی خاک برتری دارند، زیرا هیف‌های آنها می‌توانند فواصل دورتری از خاک را به آسانی در مقایسه با باکتری‌ها طی کنند [۱۲].

با توجه به نوع شرایط مدیریتی حاکم بر استخرهای پرورش ماهیان گرمابی از قبیل کوددهی آلی در مقیاس بالا، غذادهی، ورود انواع مواد آلی از طریق منبع آب ورودی و همچنین عدم لایروبی رسوبات کف استخرهای پرورش ماهیان گرمابی برای مدت طولانی، میزان بار آلی رسوبات کف استخرها بالا می باشد. بنابراین بازگردانی فسفر تثبیت شده در اجزاء آلی رسوبات به فرم محلول و قابل جذب، می‌تواند سبب افزایش میزان فسفر در دسترس تولیدکنندگان اولیه و کاهش استفاده از کودهای آلی و شیمیایی گردد [۱۳]. فسفر آلی بزرگترین منبع فسفر در اغلب رسوبات محسوب می‌شود و به‌طور میانگین بیش از ۵۰ درصد از فسفر کل را تشکیل می‌دهد [۱۴]. همچنین درصد بسیار زیادی از فسفر (ناشی از کودهای شیمیایی و آلی) در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی به صورت ترکیب با کاتیون‌های فلزی مختلف نظیر کلسیم و منیزیم (در رسوبات با pH قلیایی)، آهن و آلومینیوم (در رسوبات با pH اسیدی) رسوب کرده و از دسترس خارج می‌شود. به این ترتیب ترکیبات مختلف فسفرآلی و فسفر معدنی بخش‌های مختلف فسفر نامحلول رسوبات را تشکیل می‌دهند.

با توجه به اهمیت اکولوژیکی قارچ‌ها و وجود منابع مختلف فسفر نامحلول در استخرهای ماهیان گرمابی، در مطالعه حاضر تلاش شد که قارچ‌های آزادکننده فسفر از کمپلکس‌های آلی و معدنی از رسوبات استخرهای گرمابی مازندران جداسازی گردند. سپس توانایی این قارچ‌ها در آزادسازی فسفر در محیط کشت جامد و مایع و شرایط میکروکازم رسوب ارزیابی شود. علی‌رغم توانایی بالقوه‌ی قارچ‌ها در انحلال فسفر نامحلول، تاکنون این ریزجانداران بعنوان کود زیستی (جایگزین کود شیمیایی) در حوزه آبزی‌پروری مورد مطالعه قرار نگرفتند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از رسوبات مزارع و جداسازی قارچ‌های آزادکننده فسفر

در این تحقیق نمونه‌برداری از عمق ۰ تا ۱۰ سانتی‌متری رسوبات چهار مزرعه پرورش ماهیان گرمابی در استان مازندران (شامل: مناطق نور–ایزدشهر (S2)؛ فریونکنار–فرم (S3)؛ ساری–سید محله (S4) و بهشهر–امام ده (S5)) در اردیبهشت سال ۱۳۹۸ انجام شد. نقاط نمونه‌برداری در گستره ′۵۸ °۳۶ تا ′۷۵ °۳۶ شمالی و ′۶۰ °۵۳ تا ′۱۱ °۵۲ شرقی قرار دارد. برای تهیه یک نمونه واحد، نمونه‌برداری‌های متعددی از نقاط مختلف مزرعه با استفاده از نمونه‌بردار گرب‌ون‌وین ساخت آلمان انجام و سپس با هم مخلوط گردیدند. نمونه‌های رسوب به درون ظروف نمونه‌گیری مخصوص و استریل منتقل شده و برای انتقال به آزمایشگاه درون جعبه یخ نگهداری شدند. در آزمایشگاه نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند [۱۵].

برای جداسازی جدایه‌های قارچی آزادکننده فسفر آلی از نمونه‌های رسوب، از محیط‌کشت NBRIP که دارای ترکیبات آلی فسفر (فیتات کلسیم) بود، استفاده شد (جدول ۱)؛ و به‌منظور جداسازی جدایه‌های قارچی آزادکننده فسفر معدنی از محیط‌کشت NBRIP حاوی (تری کلسیم فسفات، فسفات آهن، فسفات آلومینیوم) استفاده شد (جدول ۱). اسم گذاری قراردادی جدایه به شرح زیر بود حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه.

به‌منظور جداسازی و شمارش قارچ‌های آزادکننده فسفر، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه رسوبات هموژن شده به ۹۰ میلی‌لیتر آب استریل اضافه و به مدت ۶۰ دقیقه بر روی تکان‌دهنده رفت و برگشت (شیکر) قرار داده شده‌است. سپس رقت‌های متوالی تا 10^{-5} تهیه و از هر رقت، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به داخل پتری‌دیش‌های حاوی محیط‌کشت NBRIP و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در سه تکرار، انتقال داده شد. پتری‌دیش‌های کشت شده به درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و به مدت هفت روز در آن نگهداری شدند. پتری‌دیش‌ها به صورت مرتب و روزانه بازبینی شده و قارچ‌هایی که رشد نموده و تشکیل هاله داده‌اند، براساس خصوصیات و تفاوت‌های ریخت‌شناسی کلنی‌ها، به‌طور جداگانه و توسط لوپ استریل برداشته شده و به داخل پتری‌دیش‌های جدید حاوی محیط‌کشت PDA (Potato dextrose agar) محتوی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین خالص‌سازی شدند [۱۶ و ۱۷].

جدول ۱- محیط‌کشت NBRIP حاوی ترکیبات معدنی و آلی فسفر (pH : ۶/۸-۷)

ماده شیمیایی	میزان ماده شیمیایی (گرم در لیتر)
$MgCl_2$	۵
$MgSO_4.7H_2O$	۰/۲۵
KCl	۰/۲
$(NH_4)_2SO_4$	۰/۲
$AlPO_4$ ،$FePO_4$،$Ca_3(PO_4)_2$	۵، ۴/۸، ۳/۹
$C_6H_{16}CaO_{24}P_6$	۳/۷
Glucose	۱۰
Agar	۱۵

اندازه‌گیری شاخص هاله به کلنی و میزان فسفر آزادشده توسط جدایه‌های قارچی

برای مقایسه توانایی جدایه های قارچی در انحلال فسفر آلی و معدنی و انتخاب جدایه‌های کارامدتر، از شاخص حل‌کنندگی (هاله به کلنی) در محیط‌کشت جامد NBRIP استفاده شد. در این راستا، یک کشت تازه از قارچ‌های خالص‌سازی شده در محیط‌کشت PDA انجام گرفته و بعد از

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

رشد جدایه‌ها در کشت جدید، یک قرص میسیلیومی شش میلی‌متری از قارچ برداشته شد و در مرکز پتری‌دیش‌های حاوی محیط‌کشت جامد NBRIP، با سه تکرار قرار داده شد و به مدت هفت روز، در دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داشتند. برای ارزیابی شاخص حل‌کنندگی فسفر در جدایه‌های مورد نظر، پتری‌دیش در برابر نور گرفته شد. نسبت قطر هاله به قطر کلنی اندازه‌گیری و محاسبه شد. بر اساس این شاخص جدایه‌ای که نسبت قطر هاله به قطر کلنی بیشتری داشته باشد، قدرت حل‌کنندگی بالاتری خواهد داشت [۱۷].

برای سنجش فسفر آزاد شده در محیط مایع، براساس پژوهش Reyes و همکاران [۱۸]، جمعیت یکسان از هر جدایه که حاوی $۱۰^{۷} \times ۵–۱$ در میلی‌لیتر کنیدی[1] قارچ می‌باشد، به محیط‌کشت انتقال یافت. در همین راستا، قرص‌های میسیلیومی با قطر شش میلی‌متر (پنج عدد) از محیط‌کشت PDA حاوی $۱۰^{۷} \times ۵–۱$ کنیدی قارچ به ظروف ارلن حاوی محیط‌کشت مایع NBRIP مایه‌زنی و در دمای ۲۸–۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. در فواصل زمانی دو، چهار، شش و هشت روز، مقدار فسفر محلول به روش مولیبدات آبی اندازه گیری شد [۱۹].

شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی

جدایه‌های قارچی از لحاظ ریخت‌شناسی و نهایتا مولکولی شناسایی شدند. جهت شناسایی مولکولی از روش PCR و با استفاده از تکثیر ناحیه ژنی ۱۸S rDNA استفاده گردید. به منظور مطالعه ویژگی‌های مربوط به کلنی قارچ‌های جداسازی شده، ابتدا کلیه جدایه‌ها طی هفت روز در محیط‌کشت PDA در دمای ۲۸–۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. پس از آن ویژگی‌های مربوط به کلنی قارچ‌ها شامل رنگ سطح و پشت کلنی، نوع بافت کلنی قارچی وغیره مورد بررسی قرار گرفتند [۲۰]. برای شناسایی مولکولی، پس از تهیه کشت تازه از هر یک از جدایه‌ها، استخراج DNA ژنومی به روش فنل–کلروفورم انجام شد [۲۱]. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای عمومی ITS1 (5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') و ITS4 (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') صورت پذیرفت. قطعه تکثیر شده جهت توالی یابی به شرکت بایونیر کره جنوبی ارسال گردید. پس از دریافت توالی‌های نوکلئوتیدی، هر یک از توالی‌ها با استفاده از سامانه جستجوی BLAST، با توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) مقایسه شدند. و پس از شناسایی جدایه‌ها در بانک ژن ثبت شدند.

ارزیابی عملکرد جدایه‌های برتر در شرایط میکروکازم

به‌منظور ایجاد محیط میکروکازم، ۲۵ گرم رسوب تازه به همراه ۱۲۵ میلی‌لیتر آب استخر درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری با یکدیگر ترکیب و درون اتوکلاو استریل شد. جمعیت یکسان از هر جدایه که حاوی $۱۰^{۷} \times ۵–۱$ کنیدی قارچ بوده است (قرص‌های میسیلیومی با قطر شش میلی‌متر (پنج عدد) از محیط‌کشت PDA)، به محیط میکروکازم انتقال یافت. گروه بدون تلقیح به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و آزمایش به مدت ۱۵روز به طول انجامید. ارلن‌ها به در دمای ۲۵–۲۸ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور شیکردار نگهداری شدند و سپس اقدام به سنجش فسفر محلول و pHمحیط شد. میزان فسفر آزاد شده همانند مرحله قبل بر اساس روش مولیبدات آبی اندازه‌گیری شد [۲۲ و ۲۳].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور آنالیز توصیفی و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزارهای (Excel نسخه 2016) و (SPSS نسخه۲۳) استفاده گردید. برای مقایسه عملکرد هر یک از جدایه‌ها نسبت به گروه شاهد و انتخاب برترین جدایه‌ها در مراحل مختلف، از آنالیز واریانس یکطرفه (One Way Anova) در سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد.

[1] Conidium

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

نتایج و بحث

جمعیت قارچ‌های آزادکننده فسفرآلی و معدنی

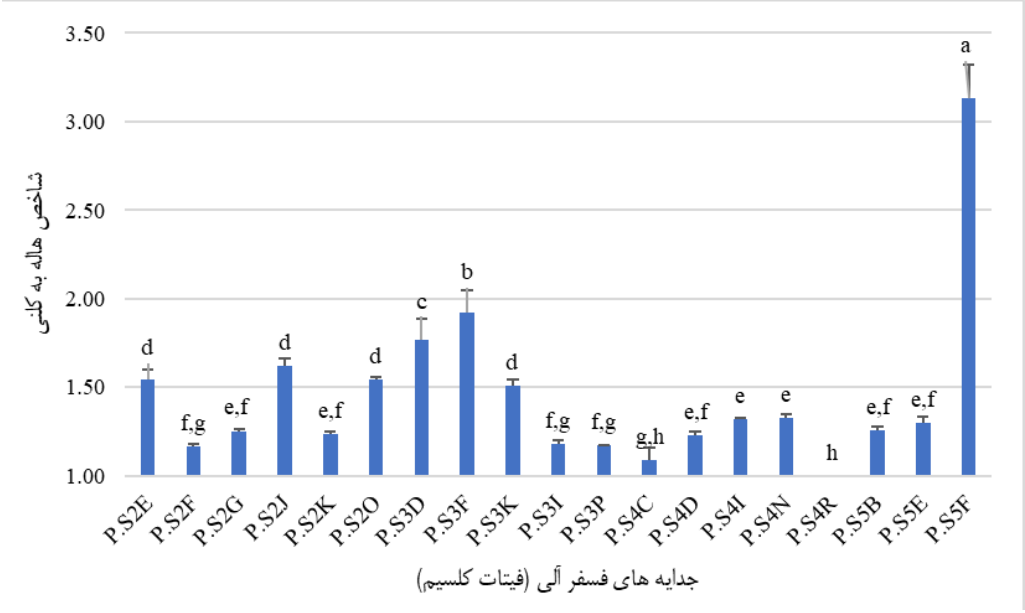
شمارش جمعیت قارچ‌های آزادکننده فسفر آلی (فیتات کلسیم)، از $۱۰^{۳} \times ۲/۵$ تا $۱۰^{۴} \times ۱$ متغیر بوده است. همچنین جمعیت قارچ‌های جداسازی شده از محیط‌کشت NBRIP حاوی تری کلسیم فسفات از $۱۰^{۴} \times ۱/۵$ تا $۱۰^{۳} \times ۱/۱$ و محیط‌کشت حاوی فسفات آهن از $۱۰^{۵} \times ۱/۴$ تا $۱۰^{۳} \times ۲/۶$ و محیط‌کشت حاوی فسفات آلومینیوم از $۱۰^{۴} \times ۱/۱$ تا $۱۰^{۳} \times ۳$ متغیر بود. در این مطالعه، مجموعا ۴۹ جدایه قارچ باتوجه به تفاوت‌های ریخت شناسی از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی جداسازی و نهایتا خالص‌سازی شده‌است که شامل ۱۹ قارچ آزادکننده فسفرآلی و ۳۰ قارچ آزادکننده فسفر معدنی (۱۲ جدایه قارچ از تری‌کلسیم‌فسفات، ۱۴ جدایه قارچ از فسفات‌آهن و چهار جدایه قارچ از فسفات آلومینیوم) می‌باشد.

در مطالعه حاضر در اکثر نمونه‌های رسوبات، قارچ‌های آزادکننده فسفر آلی و معدنی حضور داشتند. حضور ریزجانداران آزادکننده فسفرنشان می‌دهد که در استخرهای خاکی علیرغم استفاده از کودهای فسفره، کمبود و محدویت فسفر قابل دسترس برای تولید کنندگان وجود دارد. در تأیید این موضوع، Goldstein [۲۴] نیز گزارش داد که در اکوسیستم‌های دارای کمبود فسفر، ریزجاندارانی که قادر به آزادسازی فسفر از ترکیبات فسفر نامحلول هستند، توسعه می‌یابند. محققین مختلفی در این زمینه گزارش کردند که جمعیت ریزجانداران آزادکننده فسفر به نوع و میزان کوددهی (آلی و معدنی) [۲۵ و ۲۶]، سطح فسفات محلول در آب [۲۷]، میزان آهک پاشی [۲۵]، ویژگی فیزیکی رسوبات و عواملی نظیر میزان هوادهی در ارتباط می‌باشد [۱۵]. همچنین نوع محیط‌کشت به‌کار گرفته شده به منظور شمارش و جداسازی قارچ‌های آزادکننده فسفر بروی میزان جمعیت می‌تواند اثرگذار باشد. تا به امروز محیط‌کشت‌های متنوعی مانند Pikovskaya (PVK)، Sperber (SP) و NBRIP به منظور شمارش و جداسازی قارچ‌های آزادکننده فسفر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این تحقیق بدلیل مزیت‌هایی همچون عدم وجود عصاره مخمر در ترکیبات تشکیل‌دهنده محیط‌کشت NBRIP، از این محیط‌کشت در طول فرآیندهای جداسازی و بررسی عملکرد قارچ‌های آزادکننده فسفر استفاده شده است.

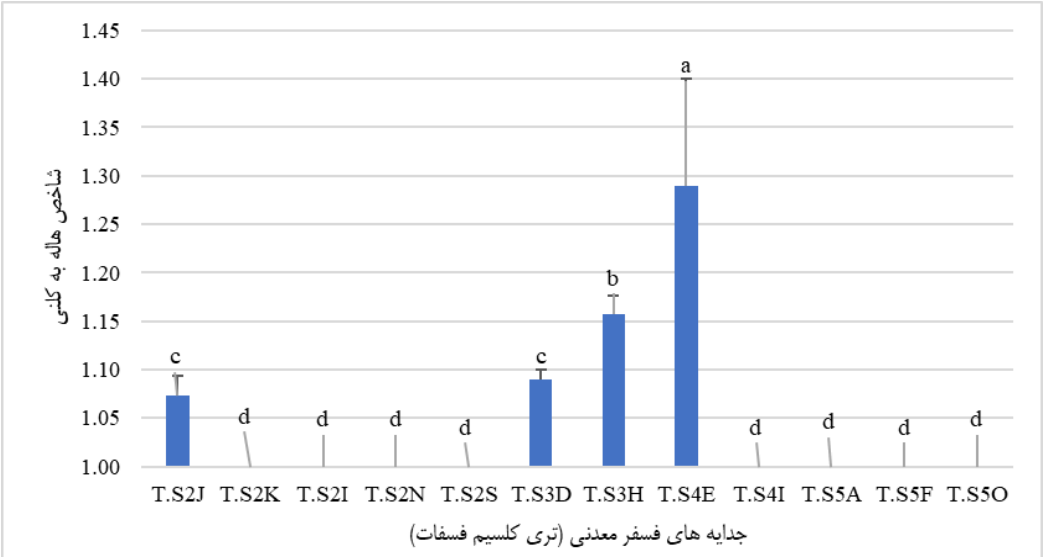
غربالگری و ارزیابی توانایی قارچ‌ها در محیط کشت جامد و مایع

در طی فرآیندهای انحلال فسفر آلی و معدنی در محیط‌کشت جامد، هاله‌ی شفافی در اطراف کلنی تشکیل می‌گردد که نسبت اندازه این هاله به اندازه کلنی نشان‌دهنده قدرت آن سویه در آزادسازی فسفر است. نتایج شاخص هاله به کلنی نشان داد که از میان ۱۹ جدایه آزادکننده فسفر آلی (فیتات‌کلسیم)، هفت جدایه P.S5F، P.S3F، P.S3D، P.S2J، P.S2O، P.S2E، P.S3K دارای هاله بزرگتری نسبت به بقیه بودند. دامنه این شاخص در بین جدایه‌های آزادکننده فسفر آلی بین ۱ تا ۳/۱۳ متغیر بوده است (شکل ۱). همچنین از بین ۳۰ جدایه آزادکننده فسفر معدنی، چهار جدایه T.S4E، T.S3H، T.S3D، T.S2J از محیط‌کشت حاوی تری‌کلسیم‌فسفات، هفت جدایه Fe.S2D، Fe.S4A، Fe.S3S، Fe.S4I، Fe.S5I، Fe.S4B، Fe.S5Z از محیط‌کشت حاوی فسفات آهن دارای هاله بزرگتری نسبت به سایر جدایه‌ها بوده‌اند. دامنه این شاخص در بین جدایه‌های آزادکننده فسفر از ترکیب تری‌کلسیم فسفات، بین ۱ تا ۱/۲۹ و در بین جدایه‌های آزادکننده فسفر از ترکیب فسفات آهن، بین ۱ تا ۲/۴۱ متغیر بوده است. همچنین جدایه‌های محیط‌کشت حاوی فسفات آلومینیوم فاقد هاله مشخص بوده‌اند. شکل ۲ نتایج شاخص هاله به کلنی جدایه‌ها در محیط‌کشت جامد NBRIP حاوی تری کلسیم‌فسفات و شکل ۳ نتایج شاخص هاله به کلنی جدایه‌ها در محیط‌کشت جامدNBRIP حاوی فسفات آهن را نشان می‌دهد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

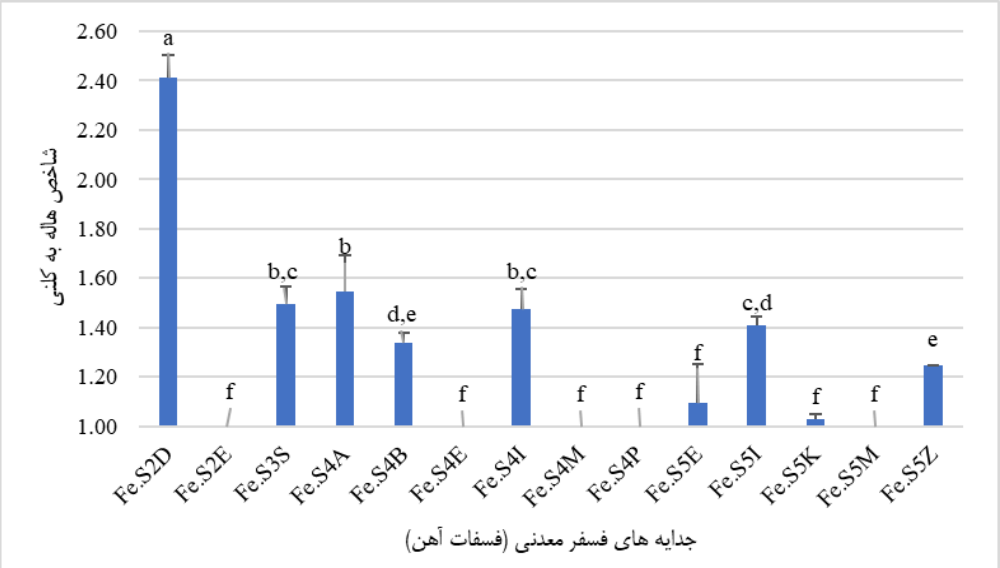


شکل ۱- نتایج شاخص هاله به کلنی جدایه‌های قارچی در محیط‌کشت حاوی فیتات‌کلسیم. (اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه).



شکل ۲- نتایج شاخص هاله به کلنی جدایه‌های قارچی در محیط‌کشت حاوی تری‌کلسیم‌فسفات. (اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]



شکل ۳- نتایج شاخص هاله به کلنی جدایه‌های قارچی در محیط‌کشت حاوی فسفات آهن. (اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه).

سویه‌هایی که در این بخش عملکرد بهتری از خود نشان دادند برای ارزیابی و غربالگری نهایی توانایی آزادکنندگی فسفر در محیط‌کشت مایع NBRIP حاوی فسفر آلی و معدنی مورد بررسی قرار گرفتند. دامنه نوسانات میزان فسفر محلول در محیط‌کشت حاوی فسفر آلی (فیتات‌کلسیم) بین ۱۱۴/۴۸ و ۱۹۱/۰۸ میلی‌گرم در لیتر قرائت شد. جدایه‌های P.S5F، P.S3D و P.S3F به ترتیب با ۱۹۱/۰۸، ۱۸۶/۵۷ و ۱۷۹/۸۵ میلی‌گرم در لیتر فسفر محلول، بهترین عملکرد را در آزادسازی فسفر از ترکیب آلی فیتات کلسیم دارا بودند. pH محیط‌کشت‌ها نیز مورد سنجش قرار گرفته است؛ که دامنه نوسانات آن از ۲/۶ تا ۵/۴ متغیر بوده است (جدول ۲).

جدول ۲- میزان فسفر آزاد شده و pH در محیط‌کشت مایع حاوی فیتات‌کلسیم حاصل از جدایه‌های قارچی

جدایه	pH	فسفر آزاد شده (میلی‌گرم در لیتر)
P.S2E	۴/۶	۱۲۸/۸۰^{d,e} ± ۹/۹۶
P.S2J	۵/۴	۱۵۶/۶۱^{b,c} ± ۱/۸۸
P.S2O	۴/۵	۱۴۳/۱۷^{c,d} ± ۱۲/۶۲
P.S3D	۲/۷	۱۸۶/۵۷^{a} ± ۱۳/۶۳
P.S3F	۳/۶	۱۷۹/۸۵^{a,b} ± ۴/۹۵
P.S3K	۵/۴	۱۱۴/۴۸^{e} ± ۳/۸۴
P.S5F	۲/۶	۱۹۱/۰۸^{a} ± ۸/۷۳
شاهد	۶/۹	۶۲/۴۳^{f} ± ۰/۵۶

(اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه)

دامنه نوسانات میزان فسفر محلول در محیط‌کشت حاوی فسفر معدنی (تری‌کلسیم‌فسفات) بین ۱۶۴/۱۰ و ۲۲۷/۲۶ میلی‌گرم در لیتر قرائت شد. جدایه T.S4E با ۲۲۷/۲۶ میلی‌گرم در لیتر فسفر محلول، بهترین عملکرد را در آزادسازی فسفر از ترکیب معدنی تری‌کلسیم‌فسفات دارا بود. pH محیط‌کشت‌ها نیز مورد سنجش قرار گرفته است؛ که دامنه نوسانات آن از ۲/۲ تا ۴/۹ متغیر بوده است (جدول ۳).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

جدول ۳- میزان فسفر آزاد شده و pH در محیط‌کشت مایع حاوی تری‌کلسیم‌فسفات حاصل از جدایه‌های قارچی

جدایه	pH	فسفر آزاد شده (میلی‌گرم در لیتر)
T.S2J	۴/۹	۱۶۴/۱۰^{b} ± ۱۰/۰۳
T.S3D	۴	۱۶۴/۷۷^{b} ± ۰/۰۲
T.S3H	۴	۱۷۳/۹۹^{b} ± ۶/۲۰
T.S4E	۲/۲	۲۲۷/۲۶^{a} ± ۲۱/۵۵
شاهد	۷	۱۰۳/۷۵^{c} ± ۳/۷۵

(اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه)

جدول ۴ نتایج میزان فسفر آزاد شده جدایه‌های قارچی را در محیط‌کشت مایع NBRIP حاوی فسفر معدنی (فسفات آهن) نشان می‌دهد.

جدول ۴- میزان فسفر آزاد شده و pH در محیط‌کشت مایع حاوی فسفات آهن حاصل از جدایه‌های قارچی

جدایه	pH	فسفر آزاد شده (میلی‌گرم در لیتر)
Fe.S2D	۴/۷	۱۵۰/۳۰^{b} ± ۲۴/۱۹
Fe.S3S	۶/۳	۳۱/۱۴^{d,e} ± ۳۴/۲۳
Fe.S4A	۶/۳	۲۱۱/۴۰^{a} ± ۱۲/۸۸
Fe.S4B	۵/۲	۲۰۴/۳۳^{a} ± ۹/۸۷
Fe.S4I	۶/۶	۲۱۶/۰۵^{a} ± ۶/۲۴
Fe.S5I	۲/۷	۱/۰۶^{e} ± ۰/۷۲
Fe.S5Z	۴/۱	۵۱/۱۳^{d} ± ۲۰/۵۷
شاهد	۶/۶	۱۱۴/۷۷^{c} ± ۰/۶۵

(اسم گذاری جدایه: حرف اول منبع فسفات، حرف دوم نام ایستگاه و حرف سوم اسم گونه)

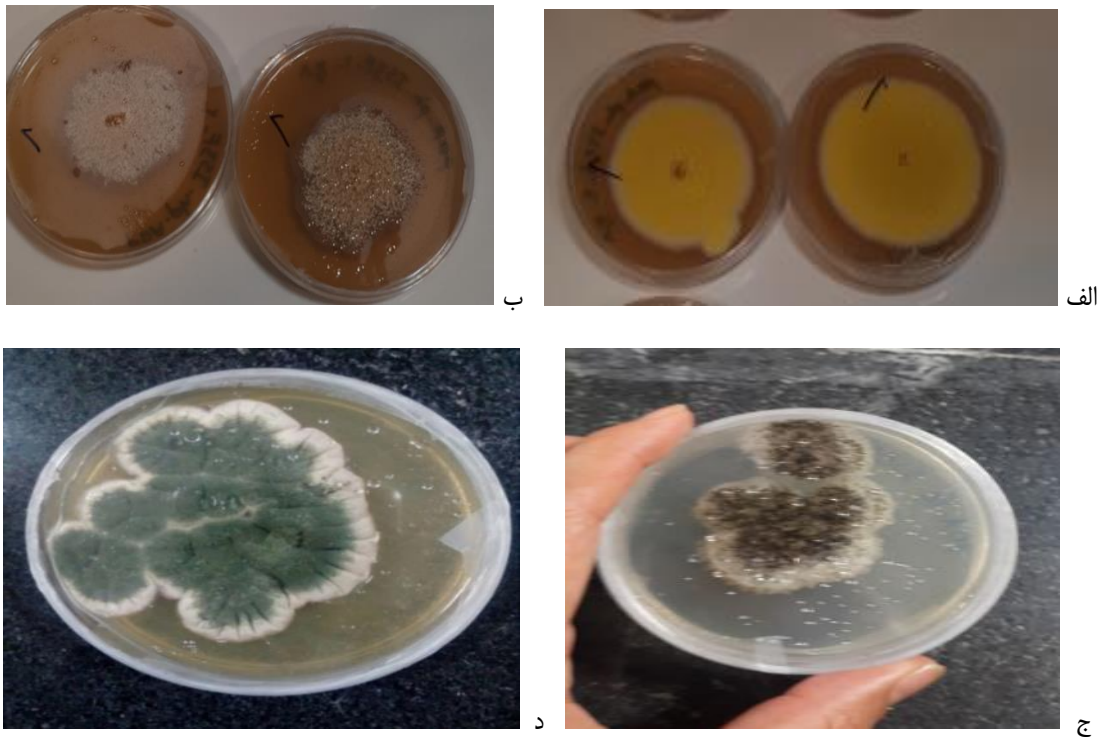
در این مطالعه استفاده از منابع مختلف فسفر آلی و معدنی (فیتات کلسیم، تری کلسیم فسفات، فسفات آهن و فسفات آلومینیوم) سبب جداسازی قارچ‌های متنوع‌تری نسبت به استفاده از صرفا یک منبع نامحلول فسفر شده است. در مقاله Bashan و همکاران [۲۸] اشاره شده است که استفاده از تنها یک منبع تری کلسیم فسفات برای جداسازی و بررسی ریزجانداران آزادکننده فسفر یک انتخاب ضعیف و غیرقابل اعتماد می‌باشد. بنابراین توصیه می‌شود از سایر ترکیبات فسفر نامحلول برای جداسازی و غربالگری ریزجانداران آزادکننده فسفر استفاده شود. عملکرد ریزجانداران آزادکننده فسفر در محیط‌کشت‌های جامد و مایع حاکی از این بوده است که هر کدام از جدایه‌ها باتوجه به مکانیزم‌های خودشان در آزادسازی فسفر کارآمد بوده‌اند (آزادسازی آنزیم‌هایی نظیر فسفاتازها برای حل کردن فسفر آلی نامحلول و آزادسازی اسید آلی نظیر سیترات برای حل کردن فسفر معدنی نامحلول). تفاوت در معرفی جدایه‌های کارآمدتر بین ترکیبات آلی فسفر و ترکیبات معدنی فسفر به دلیل تفاوت در نوع و مقدار اسیدهای آلی و آنزیم‌هایی می‌باشد که توسط این سویه‌ها تولید شدند.

شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی برتر

پس از بررسی نتایج عملکرد جدایه‌های قارچی در محیط‌کشت جامد و مایع، چهار جدایه P.S3D، P.S3F، P.S5F و T.S4E به‌عنوان جدایه‌های برتر در آزادکنندگی فسفر آلی و معدنی، برای شناسایی مولکولی انتخاب شدند. نتایج بلاست توالی ۱۸S rDNA جدایه‌های مورد مطالعه با سایر توالی‌های ۱۸S rDNA موجود در بانک جهانی ژن (NCBI) ارائه شده‌است. نتایج این مرحله نشان داد که توالی مربوط به جدایه‌های P.S3D، P.S3F، T.S4E و P.S5F به ترتیب به قارچ‌های *Talaromyces austrocalifornicus* (کد دسترسی: MW897776)، *Trichoderma harzianum* (کد دسترسی: MW897777)، *Penicillium oxalicum* (کد دسترسی: MW897778) و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

Aspergillus niger (کد دسترسی: MW897780) تعلق داشت. ویژگی ظاهری کلنی قارچ‌های شناسایی شده در شکل ۴ به تصویر کشیده شد.



شکل ۴- کلنی قارچ‌های شناسایی شده: *T. austrocalifornicus* (الف)، *T. harzianum* (ب)، *A. niger* (ج)، *P. oxalicum* (د).

بررسی عملکرد قارچ‌های کارآمدتر در محیط میکروکازم

نتایج سنجش میزان فسفر آزاد شده توسط قارچ‌ها در محیط میکروکازم نشان داد فسفر محلول در تمام تیمارها از روز صفر تا روز ۱۵ کاهش یافته است؛ اما گروه شاهد نسبت به تیمارهای تلقیح شده کاهش بیشتری تا روز ۱۵ از خود نشان داد که تفاوت معناداری با سایر تیمارها داشته است (جدول ۵).

جدول ۵- pH و میزان فسفر آزاد شده (میلی‌گرم در لیتر) توسط قارچ‌ها در محیط میکروکازم

قارچ	روز ۰		روز ۵		روز ۱۵	
	فسفر	pH	فسفر	pH	فسفر	pH
Control	۰/۰۷۱^{a}	۸/۱	۰/۰۲۱^{b} ±۰/۰۴	۷/۸	۰/۰۱۸^{b} ±۰/۰۵	۷/۸
T. austrocalifornicus	۰/۰۷۱^{a}	۷/۹	۰/۰۵۴^{b} ±۰/۰۶	۸	۰/۰۵۱^{b} ±۰/۰۷	۷/۹
T. harzianum	۰/۰۷۱^{a}	۸	۰/۰۵۸^{b} ±۰/۰۶	۷/۹	۰/۰۵۲^{c} ±۰/۰۳	۸
P. oxalicum	۰/۰۷۱^{a}	۷/۷	۰/۰۵۹^{b} ±۰/۰۷	۷/۶	۰/۰۵۸^{b} ±۰/۰۳	۷/۹
A. niger	۰/۰۷۱^{a}	۸	۰/۰۶۰^{b} ±۰/۰۷	۷/۸	۰/۰۴۸^{c} ±۰/۰۵	۷/۹

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

از آنجایی که شرایط محیطی و مدیریتی حاکم بر استخرهای پرورش ماهیان گرمابی بسیار پیچیده‌تر از شرایط کنترل شده آزمایشگاهی است، ارزیابی جدایه‌ها در شرایط مشابه و نزدیک به محیط طبیعی میتواند امری بسیار مهم در مسیر دستیابی به کودهای زیستی کارا باشد. عدم ارزیابی عملکرد جدایه‌ها در شرایط شبیه‌سازی شده محیط طبیعی نظیر میکروکازم، مزوکازم وغیره (پیش از معرفی به عنوان کاندیدای کود زیستی)، می‌تواند یکی از دلایل مهم ناکارآمدی کودهای زیستی در شرایط طبیعی باشد. در تایید این موضوع برخی محققین نظیر Liu و همکاران [۲۹] نیز عنوان کرده‌اند که ارزیابی عملکرد جدایه‌ها تنها در محیط‌کشت‌های جامد و مایع نمی‌تواند نتایج قابل اطمینانی را از میزان کارآمدی جدایه‌ها در شرایط طبیعی ارائه دهد، از همین رو این محققین پیشنهاد کرده‌اند علاوه بر ارزیابی جدایه‌ها در محیط‌کشت‌های مایع و جامد، از محیط‌های شبیه‌سازی شده طبیعی نیز به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر عملکرد این جدایه‌ها استفاده شود.

برخلاف عملکرد این قارچ‌ها در محیط‌کشت مایع، مقدار فسفر محلول در شرایط میکروکازم روند کاهشی را نسبت به روز صفر نشان داد. با این وجود، میزان فسفر در تیمارهای حاوی قارچ بیشتر از گروه کنترل بود و به نظر می‌رسد بخش زیادی از تغییرات میزان فسفات محلول در روزهای مختلف و اختلاف معنادار بین گروه تیمار و شاهد، ناشی از اثر قارچ‌ها بر روی کمپلکس‌های معدنی و آلی فسفر باشد. در مورد دلایل کاهش عملکرد جدایه‌ها در این مرحله می‌توان به موضوع عدم توانایی این جدایه‌ها در تطابق با شرایط ویژه رسوبات آبی اشاره کرد. دراین راستا، تقریبا تمامی محیط‌کشت‌های مورد استفاده برای جداسازی ریزجانداران آزادکننده فسفر برای محیط خشکی طراحی شده‌اند و ممکن است تفاوت‌ها در نوع و میزان منابع کربن، فسفر و نیتروژن تاثیری مهمی در میزان توانایی جدایه‌ها به‌منظور آزادسازی فسفرداشته باشد [۳۰]. به همین دلیل، طراحی و ساخت محیط‌کشت‌های متناسب با شرایط خاص رسوبات اکوسیستم‌های آبی (از نظر منابع کربن، فسفر و نیتروژن) برای جدسازی سویه‌های کارامدتر توصیه می‌شود. از دیگر فرضیه‌های موجود می‌توان به اتصال سریع فسفر آزادشده توسط جدایه‌ها به سایر کاتیون‌های فلزی نظیر کلسیم موجود در رسوبات اشاره کرد که با توجه به ماهیت قلیایی رسوبات، پدیده‌ای محتمل و شناخته شده است [۳۱]. به‌علاوه مصرف فسفر توسط خود قارچ‌ها هم موضوعی است که باید مورد بررسی قرار گیرد. اطلاعات در زمینه متابولیسم ریزجانداران، نرخ تولید اسیدهای آلی و آنزیم و سرعت اثرگذاری هر کدام از این فرآیندها (اسید آلی و آنزیم) بسیار محدود است و مطالعات تکمیلی برای درک اثرات اسیدهای آلی و آنزیم و زمان و شدت اثرگذاری آن‌ها بر کمپلکس‌های آلی و معدنی پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری نهایی

مطالعه قارچ‌های آزادکننده فسفر در استخرهای آبزی‌پروری می‌تواند صنعتی نویدبخش در آبزی‌پروری کشور باشد. کاربرد قارچ‌های بومی آزادکننده فسفر به‌عنوان کود زیستی در استخر ماهیان گرمابی می‌تواند با آزادسازی فسفر ذخیره شده در رسوبات موجب کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفاته و کودهای آلی، صرفه اقتصادی بیشتر، کاهش تخریب محیط زیست و تولید محصول سالم گردد. در مطالعه حاضر، قارچ‌های آزادکننده فسفر آلی *T. austrocalifornicus*، *T. harzianum* و *A. niger* در کنار قارچ *P. oxalicum*، بعنوان قارچ آزادکننده فسفر معدنی، با توجه به عملکرد نسبتا خوبی که از خود نشان دادند می‌توان بعنوان مکمل زیستی آزادکننده فسفر آلی و معدنی به مزارع پرورش ماهیان گرمابی معرفی نمود. مطالعات گسترده‌تر برای بهبود کارایی قارچ‌ها در شرایط میکروکازم و حتی شرایط واقعی پرورش ماهیان گرمابی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از پرسنل محترم دانشگاه تربیت مدرس و موسسه خاک و آب کشور در فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام مطالعه حاضر قدردانی می نمایند.

تاییدیه‌های اخلاقی: موردی توسط نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

منابع مالی: این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس و موسسه خاک و آب کشور انجام شده است.

سهم نویسندگان: طراحی و ارائه تحقیق توسط محمودی و کاری دولت‌آباد؛ نمونه‌برداری و انجام کارهای آزمایشگاهی توسط توکلی انجام شد. همه نویسندگان در تجزیه و تحلیل داده‌ها و نگارش مقاله همکاری داشتند.

منابع

[1] Iranian Fisheries Research Organization. IFO (2016) Tehran, Iran.
[2] FAO, the State of World Fisheries and Aquaculture. Towards Blue Transformation. FAO (2022) Rome,
[3] Boyd C.E, Wood C.W, Thunjai T. Aquaculture pond bottom soil quality management. Pond Dynamics/Aquaculture Collaborative Research Support Program, (2002) Oregon State University.
[4] Antoun H. Beneficial microorganisms for the sustainable use of phosphates in agriculture. Procedia Engineering. (2012) 46: 62–67.
[5] Jana B.B. Distribution pattern and role of phosphate solubilizing bacteria in the enhancement of fertilizer value of rock phosphate in aquaculture ponds: state-of-the-art. In first international meeting on microbial phosphate solubilization (pp. 229–238). (2007) Springer, Dordrecht.
[6] Sahu S.N, Jana B.B. Enhancement of the fertilizer value of rock phosphate engineered through phosphate-solubilizing bacteria. Ecological Engineering. (2000) 15 (1): 27–39.
[7] Armandeh M, Mahmoudi N, Fallah Nosratabad A. Screening and evaluation of phosphate-solubilizing bacteria isolated from aquaculture ponds in a step-by- step strategy as potential biofertilizer. Journal of Applied Microbiology. (2022) 133: 1581–1596.
[8] Moriarty D.J. The role of microorganisms in aquaculture ponds. Aquaculture. (1997) 151(1–4): 333-349.
[9] Xiao C, Chi R, He H, Qiu G, Wang D, Zhang W. Isolation of phosphate-solubilizing fungi from phosphate mines and their effect on wheat seedling growth. Applied biochemistry and biotechnology. (2009) 159(2): 330–342.
[10] Fitriatin B.N, Joy B, Subroto T. The Influence of organic phosphorous substrate on phosphatase activity of soil microbes. (2008) In Proceeding of International Seminar of Chemistry (pp. 30–31).
[11] Venkateswarlu B, Rao A.V, Raina P. Evaluation of phosphorus solubilisation by microorganisms isolated from Aridisols. Journal of the Indian Society of Soil Science. (1984) 32(2): 273–277.
[12] Kucey R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Canadian Journal of Soil Science. (1983) 63 (4): 671–678.
[13] Arjmand V, Mahmoudi N, Fallah Nosratabad A. Evaluation of different insoluble phosphorus sources to isolate phosphorus-releasing bacteria in fish ponds. Journal of Soil Biology. (2023) 10 (2): 215–229 (in Persian).
[14] Khan M.D, Zaidi A, Ahmad E. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In Phosphate solubilizing microorganisms (pp. 31–62). (2014) Springer, Cham.
[15] Chen J, Lu S, Zhao Y, Wang W, Huang M. Effects of overlying water aeration on phosphorus fractions and alkaline phosphatase activity in surface sediment. Journal of Environmental Sciences. (2011) 23(2): 206–211.
[16] Singh H, Reddy M.S. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. European Journal of Soil Biology. (2011) 47(1): 30–34.
[17] Nautiyal C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS microbiology Letters. (1999) 170(1): 265–270.
[18] Reyes I, Bernier L, Simard R.R, Antoun H. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. FEMS Microbiology Ecology. (1999) 28(3): 281–290.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[19] Murphy J, Riley J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytica Chimica Acta. (1962) 27: 31–36.
[20] Doyle J.J, Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. (1987) (No. RESEARCH).
[21] Moallemzadeh S.A, Yadegari M.H, Rajabi Bazl M, Kachuei R. The simple molecular method for confirming identification of the main species of fungi Candida, Aspergillus and Dermatophyte. Studies in Medical Sciences. (2014) 25 (2): 105–112 (in Persian).
[22] Medeiros A, Duarte S, Pascoal C, Cássio F, Graça M. Effects of Zn, Fe and Mn on leaf litter breakdown by aquatic fungi: a microcosm study. International Review of Hydrobiology. (2010) 95(1): 12–26.
[23] Deaker R, Kecskés M.L, Rose M.T, Amprayn K, Ganisan K, Tran T.K.C, Kennedy I.R. Practical methods for the quality control of inoculant biofertilisers. (2011) Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
[24] Goldstein A.H. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by gram negative bacteria. Biological Agriculture & Horticulture. (1995) 12(2): 185–193.
[25] Jana B.B, Chatterjee J, Ganguly S, Jana T. Responses of phosphate solubilizing bacteria to qualitatively different fertilization in simulated and natural fish ponds. Aquaculture International. (2001) 9: 17–34.
[26] Zheng B.X, Hao X.L, Ding K, Zhou G.W, Chen Q.L, Zhang J.B, Zhu Y.G. Long-term nitrogen fertilization decreased the abundance of inorganic phosphate solubilizing bacteria in an alkaline soil. Scientific Reports. (2017) 7(1): 42284.
[27] Mikanova O, Novakova J. Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensitivity to soluble phosphate. Rostlinna Vyroba. (2002) 48(9): 397–400.
[28] Bashan Y, Kamnev A.A, de-Bashan L.E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. Biology and Fertility of Soils. (2013) 49(4): 465–479.
[29] Liu Z, Li Y.C, Zhang S, Fu Y, Fan X, Patel J.S, Zhang M. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. Applied Soil Ecology. (2015) 96: 217–224.
[30] Li Z, Bai T, Dai L, Wang F, Tao J, Meng S. A study of organic acid production in contrasts between two phosphate solubilizing fungi: *Penicillium oxalicum* and *Aspergillus niger*. Scientific Reports. (2016) 6: 1–8.
[31] Maitra N, Manna S.K, Samanta S, Sarkar K, Debnath D, Bandopadhyay C, Sharma A.P. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems. Hydrobiologia. (2015) 745(1): 69–83.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume 13, Issue 2, Spring 2024
Pages: 84-96

Isolation of phosphate-solubilizing fungi from the sediments of warm-water fish ponds using different sources of insoluble phosphorus

Mohadeseh Tavakoli [1], Nemat Mahmoudi [1*], Hossein Kari Dolatabad [2]

1- Department of Fisheries Science and Engineering, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2- Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

ABSTRACT

This research aims to isolate phosphorus-solubilizing fungi from the sediments of warm-water fish farms and evaluate their performance in phosphorus solubilizing from various insoluble sources of phosphorus (tricalcium phosphate, iron phosphate, aluminum phosphate, and calcium phytate). For this purpose, four stations in Mazandaran province were sampled and isolated using NBRIP solid culture medium (49 mushroom isolates, including 19 isolates from organic phosphorus-containing culture medium and 30 isolates from inorganic phosphorus-containing culture medium). Then, the ability of isolates to dissolve phosphorus in solid and liquid culture medium was evaluated. Among the isolates, isolates PS3D, PS3F, and PS5F had the best performance among isolates solubilizing organic phosphorus (average phosphorus release 179.85-191.08 mg/liter). TS4E isolate was also selected as the best inorganic phosphorus solubilizing isolate. Then these isolates were molecularly identified by S18 rDNA gene sequencing and were registered as *Talaromyces austrocalifornicus* (PS3D), *Trichoderma harzianum* (PS3F), *Aspergillus niger* (PS5F) and *Penicillium oxalicum* (TS4E). In the final stage, the ability of these isolates to dissolve phosphorus in microcosm conditions (water and sediment-containing jars) was evaluated for 15 days. Contrary to the performance of these fungi in a liquid culture medium, the amount of soluble phosphorus in microcosm conditions showed a decreasing trend compared to day zero. However, the amount of phosphorus in the treatments containing mushrooms was higher than the control group. In general, the performance of the fungi introduced in this study has been positive in phosphorus release.

KEYWORDS: Phosphorus-solubilizing fungi; Organic insoluble phosphorus; Warm water fishponds; Microcosm; Bio-fertilizer

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 01 May 2024
Accepted: 04 June 2024
ePublished: 19 June 2024

* Corresponding Author:
Email address: n.mahmoudi@modares.ac.ir
Tel: 01144998000
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]