مقاله کامل علمی- ترویجی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد نهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۹
۴۳-۵۳
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2020.17001.1514

مروری بر معرفی باکتری‌های آزادکننده فسفر مؤثر بر ترکیبات فسفر آلی رسوبات استخرهای پرورش ماهیان گرمابی

واحد ارجمند[۱]، *نعمت‌الله محمودی[۲] و علیرضا فلاح نصرت‌آباد[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، نور،
[۲]استادیار گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، نور،
[۳]دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۱

چکیده

تولیدات ماهیان گرمابی در کشور به تنهایی نیمی از محصولات آبزی‌پروری را به خود اختصاص داده است و یکی از مهم‌ترین عوامل پیشرفت این صنعت در کشور محسوب می‌شود. تغذیه و رشد ماهیان گرمابی به شکل مستقیم و غیرمستقیم به تولیدات اولیه استخرها وابسته است. فسفر یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر تولیدات اولیه در استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی محسوب می‌شود اما در عین‌حال به‌دلیل عدم دسترسی تولیدکنندگان اولیه به این عنصر حیاتی، به‌عنوان یکی از بزرگترین عوامل محدودکننده تولید نیز شناخته می‌شود. با توجه به نوع شرایط مدیریتی حاکم بر این گونه استخرها مانند کوددهی آلی، غذادهی، ورود انواع مواد آلی از طریق آب ورودی و عدم لایروبی سالانه، میزان بار آلی رسوبات بسیار بالا می‌باشد و فسفر آلی نامحلول بخش بزرگی از فسفر کل موجود در این اکوسیستم‌ها را تشکیل می‌دهد. امروزه یکی از مهم‌ترین رویکردهای نوین برای افزایش میزان فسفر محلول در آب با استفاده از منابع فسفر آلی نامحلول موجود در رسوبات، استفاده از باکتری‌های آزادکننده فسفر می‌باشد. این باکتری‌ها با مکانیسم‌های متنوعی مانند ترشح آنزیم‌ها اقدام به انحلال ترکیبات فسفر آلی نامحلول مختلف موجود در رسوبات می‌نمایند. هدف از این مطالعه معرفی و بررسی چالش‌های پیش‌روی انتخاب و استفاده از باکتری‌های آزادکننده فسفر مؤثر بر ترکیبات فسفر آلی نامحلول موجود در رسوبات است زیرا انتخاب صحیح نوع منبع فسفر نامحلول مورد استفاده در طول فرآیند جداسازی این باکتری‌ها می‌تواند گامی مؤثر در جهت بهبود عملکرد باکتری‌های معرفی شده (در قالب کودهای زیستی) برای استفاده در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های آزادکننده فسفر، ترکیبات فسفر آلی نامحلول، رسوبات استخرهای ماهیان گرمابی، کود زیستی

* مسئول مکاتبه: n.mahmoudi360@modares.ac.ir

مقدمه

در کشور ایران سالانه ٤٥٩ هزار تن از انواع محصولات آبزی‌پروری تولید می‌شود و از این نظر ایران دهمین کشور برتر تولیدکننده محصولات آبزی‌پروری جهان (در حوزه آب‌های داخلی) است (فائو، ۲۰۱۸). از مجموع ۲۱ هزار مزرعه فعال در حوزه آبزی‌پروری کشور، حدود ۱۸ هزار مزرعه با مساحتی بالغ بر ۵۳ هزار هکتار مشغول به فعالیت در حوزه پرورش ماهیان گرمابی هستند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۲۰۱۷). تولید سالانه بیش از ۲۰۰ هزار تن از انواع ماهیان گرمابی در کشور سبب شده است این گونه ماهیان به تنهایی حدود نیمی از تولیدات محصولات آبزی‌پروری ایران را به خود اختصاص دهند و به‌عنوان یکی از ارکان اساسی رشد صنعت آبزی‌پروری کشور در سال‌های اخیر محسوب شوند. در این میان استان‌های شمالی کشور (گلستان، مازندران و گیلان) با تولید سالانه ۱۲۰ هزار تن از انواع ماهیان گرمابی و با در اختیار داشتن ٦٠ درصد از کل تولید ماهیان گرمابی کشور نقش به‌سزایی را در شکوفایی این صنعت ایفا می‌کنند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۵). تغذیه و رشد ماهیان گرمابی به‌ویژه ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در استخرهای خاکی به شکل مستقیم و غیرمستقیم به تولیدات طبیعی (فیتوپلانکتون و زئوپلانکتون) استخرها وابسته است (خان و همکاران، ۲۰۰۷) به‌طوری‌که فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها (به‌طور مستقیم) رژیم اصلی تغذیه‌ای ماهی کپور نقره‌ای (فیتوفاگ) و سرگنده (بیگ‌هد) را در استخرهای خاکی پرورش ماهیان گرمابی تشکیل می‌دهند به همین دلیل افزایش بهینه تولیدات طبیعی در استخرهای خاکی پرورش جهت افزایش میزان تولیدات ماهیان گرمابی کشور امری بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد. به همین منظور جهت افزایش سطح مواد مغذی در آب (به‌ویژه فسفر) و به طبع آن افزایش میزان تولیدات طبیعی استخرها انواع مختلفی از کودهای آلی و معدنی در استخرهای گرمابی خاکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (بوید و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین شناخت عوامل تأثیرگذار بر میزان تولیدات اولیه استخرها و هم‌چنین ارائه راهکارهایی به‌منظور بهبود وضعیت تولیدات اولیه استخرهای پرورشی بر پایه سیاست‌های آبزی‌پروری پایدار، امروزه امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر به‌نظر می‌رسد.

پیشینه پژوهش‌های انجام شده: تا به امروز مطالعات مختلفی در زمینه باکتری‌های آزادکننده فسفر در حوزه آبزی‌پروری در سطح جهان انجام شده است (جدول ۱) به‌عنوان مثال به‌منظور کاهش استفاده از کودهای شیمیایی، ساهو و جانا (۲۰۰۰) از باکتری‌های آزادکننده فسفر (جنس *Bacillus*) برای انحلال سنگ فسفات (به‌عنوان جایگزینی ارزان‌قیمت برای کودهای شیمیایی فسفره) در مزارع پرورش ماهیان گرمابی هند استفاده کرد. نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از این باکتری‌ها تأثیر معناداری بر افزایش انحلال سنگ فسفات و آزادسازی فسفر در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی داشت. اثر کاربرد انواع مختلفی از کودهای آلی و معدنی بر جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر در محیط شبیه‌سازی‌شده و محیط طبیعی توسط جانا و همکاران (۲۰۰۱) بررسی شد و نتایج حاصله نشان داد بالاترین جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر در اثر استفاده از کود آلی مرغی ظهور پیدا می‌کنند و کودهای شیمیایی فسفره کم‌ترین تأثیر

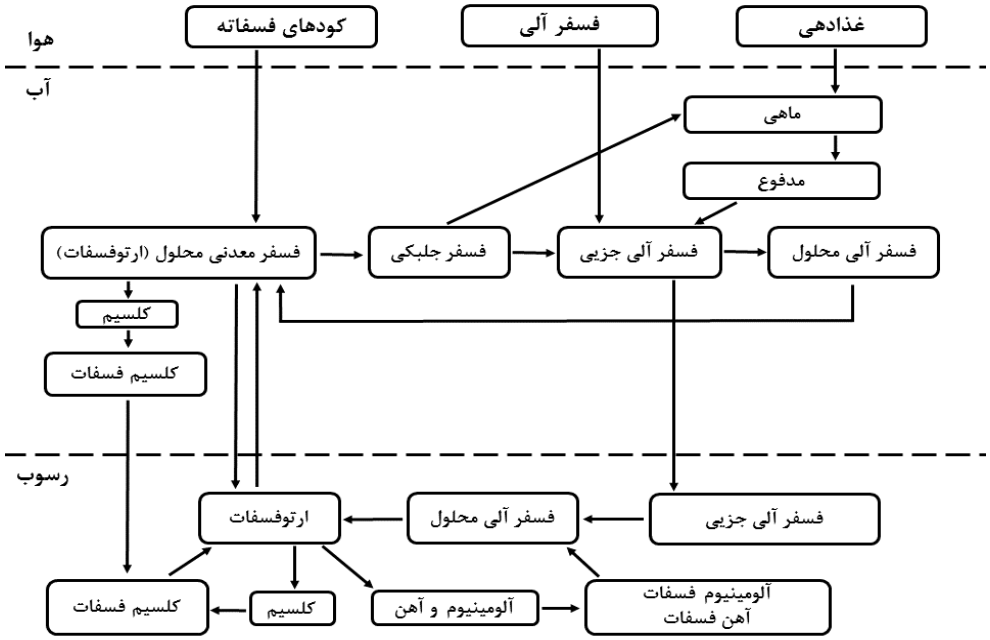
را بر روی جمعیت این باکتری‌ها در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی دارند. به‌منظور کاهش استفاده از کودهای شیمیایی فسفره و افزایش فسفر محلول در آب هو و همکاران (۲۰۱۰) اقدام به جداسازی و شناسایی باکتری‌های آزادکننده فسفر از رسوبات مزارع پرورش ماهیان کردند و پیشنهاد دادند که کاربرد این میکروارگانیسم‌ها باعث افزایش سطح فسفر محلول در آب می‌گردد. هم‌چنین ووک و همکاران (۲۰۱۳) به‌منظور بررسی تأثیر باکتری‌های آزادکننده فسفر بر میزان فسفر در دسترس فیتوپلانکتون‌ها اقدام به تلقیح این باکتری‌ها به استخرهای پرورشی کپور ماهیان نمودند و گزارش کردند تلقیح این نوع باکتری‌ها سبب افزایش ۳/۷-۱/۳ برابری فسفر محلول در استخرهای پرورش کپور ماهیان می‌گردد. پژوهش‌های مایترا و همکاران (۲۰۱۵) بر روی جمعیت و اهمیت اکولوژیک باکتری‌های آزادکننده فسفر در اکوسیستم‌های آبی مختلف مانند استخرهای حاوی کپور ماهیان نشان داد که جمعیت طبیعی این باکتری‌ها متأثر از پارامترهای محیطی و فیزیکو شیمیایی فراوانی است. این پژوهشگران هم‌چنین عنوان کردند برخی باکتری‌ها علاوه بر انحلال ترکیبات فسفر نامحلول معدنی قادر به معدنی‌سازی ترکیبات نامحلول فسفر آلی نیز هستند که این امر می‌تواند سبب افزایش کارآمدی این باکتری‌ها (در قالب کودهای زیستی) در استخرهای پرورش ماهیان شود. در بخش دیگری از نتایج این مقاله آمده است با توجه به حضور این باکتری‌ها به‌میزان زیاد در روده کپور ماهیان، این فرض می‌تواند مطرح شود که این باکتری‌ها ممکن است قادر باشند با استقرار در روده کپور ماهیان به هضم آنزیمی ترکیبات غذایی مورد استفاده ماهیان نیز کمک کنند.

در حوزه پژوهش‌های داخلی نیز آرمنده و همکاران (۲۰۱۸) نیز طی پژوهشی اقدام به جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی استان مازندران نمودند و در انتها کارایی سویه‌های شناسایی شده را در شرایط شبیه‌سازی‌شده مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد ۸۳/۳ درصد از نمونه رسوبات جمع‌آوری‌شده از مزارع پرورش ماهیان گرمابی در استان مازندران دارای باکتری‌های حل‌کننده فسفات بودند و جمعیت این باکتری‌ها از صفر تا $3/1\times10^{4}$ cfu/g (در هر گرم رسوب) متغیر بوده است. این پژوهشگران در نهایت اقدام به معرفی ۱۱ سویه باکتریایی با قابلیت انحلال بالای ترکیبات فسفر نامحلول کردند و پیشنهاد دادند استفاده از باکتری‌های بومی حل‌کننده فسفات در قالب کودهای زیستی می‌تواند جایگزینی برای استفاده از کودهای شیمیایی فسفره در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی باشد.

جدول ۱- مهم‌ترین نتایج به‌دست آمده از مطالعات صورت گرفته در حوزه باکتری‌های آزادکننده فسفر.

	منبع	شرح مطالعه	نتایج
تحقیقات خارجی	ساهو و جانا (۲۰۰۰)	استفاده از باکتری‌های آزادکننده فسفر (*Bacillus subtilis* و *Bacillus polymyxa*) برای افزایش انحلال سنگ فسفات به‌منظور جایگزینی سنگ فسفات با کودهای شیمیایی فسفره در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی	تیمار استفاده هم‌زمان از باکتری‌های آزادکننده فسفر به همراه کود کمپوست سبب افزایش معنی‌دار میزان فسفر محلول موجود در رسوب و آب (ناشی از انحلال سنگ فسفات) شد
	جانا و همکاران (۲۰۰۱)	بررسی تاثیر کاربرد انواع مختلفی از کودهای آلی و معدنی از قبیل کود مرغی (۱۲/۵ تن در هر هکتار در سال)، کود گاوی (۲۵ تن در هر هکتار در سال)، کود شیمیایی (۱۰ کیلوگرم در هر هکتار کود اوره و ۴۳/۵ کیلوگرم کود سوپر فسفات در هر هکتار در سال) و کود تلفیقی (تلفیق هر سه کود با نسبت ۱:۱:۱) بر جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی	بالاترین و پایین‌ترین جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر به ترتیب در تیمار کود مرغی و کود شیمیایی ظهور پیدا کرد. بالاترین میزان رشد ماهیان نیز به ترتیب در تیمارهای کود مرغی، کود گاوی و کود شیمیایی مشاهده شد
	هو و همکاران (۲۰۱۰)	جداسازی و شناسایی باکتری‌های آزادکننده فسفر از رسوبات مزارع پرورش ماهیان و همچنین بررسی عملکرد این باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی	جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی *Pantoea stewartii* که قادر به انحلال منبع فسفر نامحلول تری کلسیم فسفات به‌میزان ۵۴۳/۲۶ میلی‌گرم در لیتر و تحمل دامنه وسیعی از پارامترها مانند پی‌اچ (۶-۱۰)، دما (۱۵-۳۵) و شوری (۵-۳۵ درصد) را دارا بود
	ووک و همکاران (۲۰۱۳)	استفاده از باکتری *Paenibacillus polymyxa* در استخرهای پرورش ماهیان کپور به‌منظور بهینه‌سازی میزان فسفر محلول در آب، توسعه تولیدات اولیه و افزایش بیومس ماهیان	تلقیح این باکتری تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان فسفر محلول آب داشت به‌طوری‌که بررسی‌ها بیانگر افزایش ۳/۷-۱/۳ برابری در میزان فسفر محلول گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد بود
	مایترا و همکاران (۲۰۱۵)	بررسی جمعیت، نقش اکولوژیک و تاثیر باکتری‌های آزادکننده فسفر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی اکوسیستم‌های آب شیرین مختلف مانند استخرهای پرورش کپور ماهیان	پارامترهای مختلفی مانند فصل، دسترسی به مواد مغذی، نرخ باکتری‌خواری و لیز ویروسی بر جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر در اکوسیستم‌های آبی مختلف تأثیرگذار هستند. برخی باکتری‌ها علاوه بر انحلال ترکیبات فسفر نامحلول معدنی قادر به معدنی‌سازی ترکیبات نامحلول فسفر آلی نیز هستند
تحقیقات داخلی	آرمنده و همکارن (۲۰۱۸)	جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی استان مازندران و بررسی عملکرد این باکتری‌ها در شرایط شبیه‌سازی‌شده آزمایشگاهی (آکوآریوم)	نتایج این پژوهش منجر به جداسازی ۱۱ سویه باکتریایی مؤثر در ازادسازی فسفر از ترکیب فسفر معدنی نامحلول (تری‌کلسیم فسفات) شد. در نهایت نیز باکتری *Pseudomonas deceptionenesis* توسط این پژوهشگران به‌عنوان کاندیدای استفاده در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی (به‌عنوان کود زیستی) معرفی شد

چرخه فسفر و اشکال آن در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی: فسفر یکی از مهم‌ترین عوامل تولیدات اولیه در اکوسیستم‌های آبی به‌ویژه استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی محسوب می‌شود اما در عین‌حال به‌دلیل عدم دسترسی تولیدکنندگان اولیه به این عنصر حیاتی، این عنصر به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده تولید در این گونه اکوسیستم‌ها در نظر گرفته می‌شود (خان و همکاران، ۲۰۱۴).



شکل ۱- چرخه فسفر و اشکال آن در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی (بوید و تاکر، ۲۰۱۲).

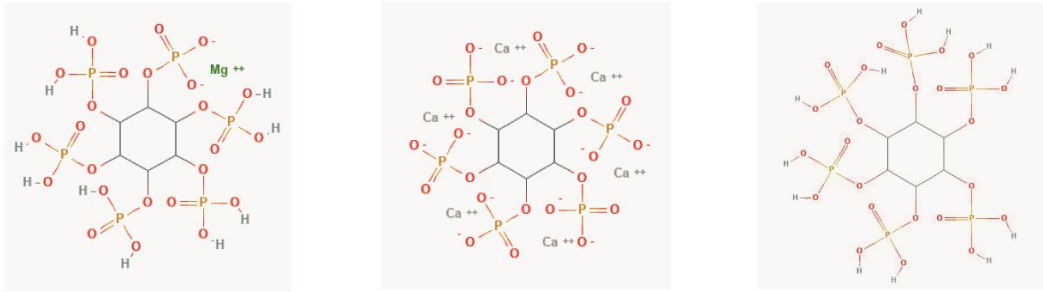
در استخرهای پرورشی میزان فسفر محلول در آب به‌طور میانگین ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر و در بخش رسوب ۱/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسوب اندازه‌گیری شده است (بانرجه و همکاران، ۲۰۰۹)، این در حالی است که میزان فسفر بهینه در استخرهای پرورشی آبزیان به‌طور میانگین ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر عنوان شده است (ووک و همکاران، ۲۰۱۳). به‌عبارت دیگر میزان فسفر محلول موجود در استخرهای پرورشی ۱۰ برابر کم‌تر از حد بهینه آن است به همین دلیل به‌منظور جبران کمبود مواد مغذی و هم‌چنین غنی‌سازی آب استخرهای پرورشی در طول دوره پرورش، حدود ۸۰۰ الی ۱۲۰۰ کیلوگرم از انواع کودهای شیمیایی (کود فسفاته و ازته) و ۱۰ الی ۱۲ تن از انواع کودهای حیوانی به‌ازای هر هکتار از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی به‌کار می‌رود (پورغلام و همکاران، ۲۰۱۳). در مورد اهمیت و تأثیر فسفر در استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی نیز پژوهش‌ها نشان داده که به‌ازای هر کیلوگرم P_2O_5 میزان تولید کپور ماهیان تا حداکثر ۲۸ کیلوگرم قابل افزایش است (دس و همکاران، ۱۹۹۶).

فسفر به سه شکل آلی نامحلول، معدنی نامحلول و معدنی محلول در اکوسیستم‌های آبی وجود دارد که فسفر قابل‌جذب برای فیتوپلانکتون‌ها در آب‌ها عمدتاً از نوع معدنی محلول می‌باشد (HPO_4^{2-} و $H_2PO_4^-$) می‌باشد (جانا، ۲۰۰۷؛ خان و همکاران ۲۰۰۷). فسفر آلی بزرگ‌ترین منبع فسفر در اغلب اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شود و به‌طور میانگین بیش از ۵۰ درصد از فسفر کل رسوبات را تشکیل می‌دهد اما تا به امروز به‌دلیل ماهیت پیچیده ترکیبات فسفره به این منبع بزرگ فسفر نهفته در رسوبات توجه کم‌تری معطوف شده است (مک لاولین و همکاران، ۱۹۹۰).

جدول ۲- غلظت ترکیبات مختلف شناسایی شده در نمونه رسوبات یک اکوسیستم آبی با استفاده روش ^{31}P NMR بر حسب (µg/g).

نمونه	فسفر کل	فسفر معدنی	فسفر آلی	فسفولیپید	DNA	پیروفسفات	فسفر آلی ناشناخته	منبع
*	۱۰۸	٤٤/۲	٥٨	٦/۳	۱۸/۳	۱/۸	۱/۳	
*	۸٦	۲۸/۲	٥۰	۳	۱۸/٤	۰/٦	۱/۷	
*	۹۲	۲٤/۲	٦۳	٤/٤	۲۲/۳	۲/۳	۱/٤	
*	٦۹	۱۹/۹	٤۳	۲/۳	۱۳/۸	۰/٦	۲	بی و
*	۹۱	۲۸/۱	٦۱	–	۱۲/٥	۰/۸	۲/۱	همکاران
*	۷۲	۲۳/٥	٤٦	۲/٤	۱۰/۸	۰/۹	۰/۸	(۲۰۰۹)
*	۸۱	۲٦/۳	٥۱	۳/٥	۱۸/٥	۰/۳	۲/٦	
*	۱۰٤	۳٤/٥	٦۰	٤/۱	۲۰/۹	۱	۱/۲	
*	۱۰۲	۳٥/۸	٦۷	٤/۷	۱۹/۷	۰/۷	۱/٤	

پژوهش‌های انجام شده بروی انواع نمونه رسوبات اکوسیستم‌های آبی نشان داده (جدول ۲) اشکال مختلفی از فسفر آلی مانند فسفولیپیدها (۱-۵ درصد)، نوکلئیک اسیدها (۲/۵-۰/۲ درصد)، فسفوپروتئین‌ها (کمیاب)، فسفونات‌ها (۰/۳- ۰/۰۸ درصد) و فسفربیوماس میکروبی در رسوبات اکوسیستم‌های آبی وجود دارند اما بیش‌ترین فرم این نوع از فسفر اینوزیتول فسفات (فیتات) می‌باشد و حدود ۱۰ الی ۵۰ درصد از فسفر آلی را تشکیل می‌دهد (بی و همکاران، ۲۰۰۹؛ خان و همکاران، ۲۰۱٤؛ ژو و همکاران، ۲۰۱۵) (شکل ۲).



شکل ۲- ساختار ترکیبات اسید فیتیک، فیتات کلسیم و منیزیم فیتات (NCBI, PubChem Database، ۲۰۱۹).

فسفر آلی به‌طور مستقیم قابلیت جذب و استفاده برای اغلب جوامع فیتوپلانکتونی را دارا نمی‌باشد و تحت فرآیندهای معدنی شدن می‌تواند به شکل محلول و قابل‌جذب برای میکروارگانیسم‌ها درآید (کیم و همکاران، ۲۰۰۳). در بسیاری از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی به‌دلیل بالا بودن pH و فراوانی یون کلسیم ناشی از اعمال فرآیندهای مدیریتی مانند آهک پاشی، مقدار فسفر محلول و قابل‌جذب کم‌تر از مقدار لازم برای رشد مناسب تولیدکنندگان اولیه است. پژوهش‌های اخیر نیز نشان داده، تنها ۱۰ درصد از کل فسفر موجود در یک اکوسیستم به‌صورت محلول و قابل‌دسترس در اختیار تولیدکنندگان اولیه قرار می‌گیرد و درصد بسیار زیادی از فسفر در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی

به‌صورت ترکیب با کلسیم (در رسوبات با pH قلیایی)، آهن و آلومینیوم (در رسوبات با pH اسیدی) رسوب کرده و در رسوبات تجمع پیدا می‌کند، در نتیجه از دسترس تولیدکنندگان خارج می‌گردد، به همین دلیل اغلب غلظت فسفر قابل‌جذب در آب بسیار کم و محدود می‌باشد (دس و همکاران، ۱۹۹٦؛ هو و همکاران، ۲۰۱۰). پژوهش‌های مختلف نیز نشان داده جمعیت باکتری‌های آزادکننده فسفر به‌طور طبیعی در محیط پرورشی ماهیان گرمابی برای آزاد کردن فسفر نامحلول آلی و معدنی کافی نیستند (جانا، ۲۰۰۷؛ هو و همکاران، ۲۰۱۰) بنابراین اضافه‌کردن باکتری‌های بومی آزادکننده فسفر در قالب کودهای زیستی به‌طوری‌که بتوانند در محیط‌های آبی مانند استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی با کم‌ترین میزان تخریب زیست‌محیطی به خوبی تثبیت گردند و باعث افزایش میزان فسفر محلول و قابل‌دسترس گردند امری منطقی و ضروری به‌نظر می‌رسد (لی و شی، ۲۰۰٦؛ سونگ و همکاران، ۲۰۰۷؛ وو و همکاران، ۲۰۰۹).

استفاده از باکتری‌های آزادکننده فسفر مؤثر بر معدنی‌سازی ترکیبات فسفر آلی: گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتینومیست و حتی فیتوپلانکتون‌ها دارای توانایی آزادسازی فسفر از ترکیبات فسفر نامحلول موجود در خاک هستند که از بین آن‌ها باکتری‌ها و قارچ‌ها دارای اهمیت بیش‌تری می‌باشند (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹؛ وایت لا، ۲۰۰۰؛ سائو و همکاران، ۲۰۱۰). جنس‌های *Pseudomonas* و *Bacillus* به‌عنوان مهم‌ترین باکتری‌های آزادکننده فسفر شناخته می‌شوند، جنس‌های دیگری مانند *Enterobacter*، *Pantoea*، *Klebsiella* و *Paenibacillus* نیز از باکتری‌های آزادکننده فسفر می‌باشند (وازکز و همکاران، ۲۰۰۰؛ ووک و همکاران، ۲۰۱۳).

در دو دهه گذشته توسعه و استفاده از باکتری‌های آزادکننده فسفر (در قالب کودهای زیستی) در ایران و جهان، با هدف کاهش اثرات مخرب زیست‌محیطی استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی و هم‌چنین افزایش میزان فسفر محلول و در دسترس تولیدکنندگان اولیه به سرعت در حال رشد بوده است، اما علی‌رغم مشاهده اثرات مثبت کودهای زیستی در شرایط محیط‌کشت و پایلوت‌های تحقیقاتی، تا به امروز تجاری‌سازی و کاربرد وسیع کودهای زیستی در حوزه‌های مختلف کشاورزی (زراعی و باغی) و شرایط طبیعی استخرهای پرورشی ماهیان پیشرفت چشم‌گیری نداشته است و تنها تعداد کمی از جدایه‌های معرفی شده به‌عنوان کود زیستی قادر بوده‌اند به‌طور مؤثر اقدام به انحلال و معدنی‌سازی ترکیبات فسفره در شرایط طبیعی نمایند (لی و همکاران، ۲۰۱٦). مطالعات اخیر نیز عملکرد نامناسب مکمل‌های تجاری و وجود چالش‌های مختلف در این عرصه را تأیید کرده‌اند (بالاچاندار، ۲۰۱۲؛ هرمان و همکاران، ۲۰۱۳؛ ماهانتی و همکاران، ۲۰۱۷). این پژوهشگران لحاظ نشدن برهمکنش باکتری‌ها با عوامل زیستی و غیرزیستی اکوسیستم و هم‌چنین جداسازی، ارزیابی و شناسایی میکروارگانیسم‌ها بر اساس یک منبع خاص (عدم استفاده از همه منابع یک ماده مغذی در اکوسیستم) را از جمله دلایل عدم نتیجه بخش بودن این مکمل‌ها ذکر کرده‌اند (هو و همکاران، ۲۰۱۰؛ مایترا و همکاران، ۲۰۱۵). در اغلب مطالعات گذشته و محصولات تجاری عرضه شده، شناسایی و جداسازی باکتری‌های آزادکننده فسفر در بیش‌تر محیط‌کشت‌ها تنها بر مبنای ترکیبات معدنی فسفر مثل تری‌کلسیم فسفات بوده است و به سایر ترکیبات فسفره موجود در رسوبات از جمله ترکیبات فسفر آلی کم‌تر توجه شده است به‌طوری‌که با توجه به نوع شرایط مدیریتی حاکم بر استخرهای پرورش

ماهیان گرمابی مانند کوددهی آلی در مقیاس بالا، غذادهی نامتعارف، ورود انواع مواد آلی از طریق منبع آب ورودی، عدم لایروبی سالانه و انباشت چندین ساله مواد آلی در رسوبات استخرها، میزان بار آلی رسوبات کف بسیار بالا می‌باشد بنابراین شناسایی باکتری‌هایی که قادر به معدنی‌سازی مؤثر ترکیبات آلی نامحلول فسفره در استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی باشند باید در فرآیند جداسازی این‌گونه باکتری‌ها مورد توجه قرار گیرد. امروزه اغلب پژوهش‌ها و جداسازی‌های انجام شده در محیط کشت‌های مختلف بر اساس منبع تری کلسیم فسفات بوده است اما پژوهش‌های اخیر نشان داده اغلب جدایه‌هایی که با این منبع جداسازی و به‌عنوان کاندیدای کود زیستی معرفی می‌شوند در شرایط طبیعی عملکرد مطلوبی را از خود نشان نمی‌دهند زیرا فرآیند آزادشدن زیستی فسفر یک پدیده کاملاً پیچیده است که متأثر از فاکتورهای فراوانی مانند نوع خاک، پی‌اچ خاک، نوع ترکیبات فسفره نامحلول موجود در خاک است و انتخاب نوع منبع فسفر مورد استفاده در فرآیند جداسازی باکتری‌ها باید با در نظر گرفتن و توجه به این فاکتورها انتخاب شود. بنابراین با توجه به این‌که بخش بزرگی از فسفر موجود در اکوسیستم‌های آبی ما مانند استخرهای پرورش ماهیان گرمابی از نوع فسفر آلی (۵۰ الی ۹۰ درصد) می‌باشد، استفاده از یک منبع فسفر آلی نامحلول و جایگزینی آن با ترکیبات معدنی مختلفی که امروزه در محیط کشت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌تواند به عملکرد و تثبیت بهتر سویه‌های شناسایی شده و معرفی شده برای استفاده در مزارع پرورش ماهیان گرمابی کمک شایانی نماید.

باکتری‌های آزادکننده فسفر با استفاده از مکانیسم‌های متنوعی مانند ترشح اسیدهای آلی و معدنی، آزادسازی H^+، ترشح سیدروفور و ترشح اگزو پلی‌ساکاریدها اقدام به آزاد کردن فسفر از ترکیبات فسفاته معدنی می‌کنند. اما در مورد ترکیبات فسفاته آلی این باکتری‌ها با استفاده از سه گروه از آنزیم‌های مختلف اقدام به انحلال این ترکیبات می‌کنند که این آنزیم‌ها شامل؛

۱- فسفاتاز (فسفوهیدرولاز): باعث شکسته شدن پیوندهای فسفو دی استر در مواد آلی و آزادسازی فسفر می‌شوند

۲- فیتاز: به‌صورت اختصاصی سبب آزادسازی فسفر از ترکیب فیتیک اسید می شوند

۳- فسفوناتاز: این آنزیم با هیدرولیز پیوندهای کربن-فسفر (C-P) سبب آزادسازی فسفر می‌شوند

به‌نظر می‌رسد فسفاتازها مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در انحلال ترکیبات فسفر آلی به‌شمار می‌روند و بسته به pH بهینه عملکردیشان به دو گروه اسیدی و قلیایی تقسیم‌بندی می‌شوند. هم‌چنین مطالعات انجام شده بیانگر آن است که ترشح آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌صورت اختصاصی تنها به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها انجام می‌شود (ایلمر و اسکینر، ۱۹۹۵).

این آنزیم‌ها با کاتالیز فرآیند هیدرولیز پیوندهای فسفو استری موجود در اسیدهای نوکلئیک، اینوزیتول فسفات، فسفولیپیدها و قندهای فسفاته سبب آزادسازی فسفر به‌صورت محلول و قابل‌جذب می‌شوند.

فیتازها گروه ویژه‌ای از فسفاتازها می‌باشند که به‌صورت اختصاصی عمل کرده و با اثر بر فیتات باعث آزادسازی تدریجی فسفر از این منبع نامحلول فسفر آلی می‌شوند. با توجه به این‌که فیتات در حدود ۵۰ درصد از فسفر آلی موجود در اکوسیستم‌های آبی را تشکیل می‌دهد به‌نظر می‌رسد توجه ویژه به این آنزیم در هنگام جداسازی باکتری‌های آزادکننده فسفر سبب افزایش کارایی کودهای زیستی در شرایط طبیعی می‌گردد.

فسفوناتازها نیز توسط گروه‌های خاصی از میکروارگانیسم‌ها تولید و ترشح می‌گردد که آن‌ها را قادر به زیستن در همه محیط‌ها کرده است، زیرا آنزیم فسفوناتاز با هیدرولیز پیوندهای کربن- فسفر (C-P) علاوه بر آزادشدن فسفات، موجب افزایش دسترسی کربن و ازت نیز می‌گردد (دومورا و همکاران، ۱۹۸۹).

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه کلی این مطالعه در دو بخش قابل ارائه می‌باشد. بخش اول مبحث فرآیند جداسازی و شناسایی باکتری‌های آزادکننده فسفر در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد به‌طوری‌که این مطالعه سعی کرده است در جهت بهبود عملکرد باکتری‌های جداسازی‌شده به هنگام استفاده در شرایط طبیعی استخرهای پرورش ماهیان گرمابی (در قالب کودهای زیستی)، با دیدگاه نوآورانه‌ای به بررسی عدم عملکرد مناسب باکتری‌های جداسازی‌شده در شرایط طبیعی بپردازد و استفاده از ترکیبات نامحلول فسفر آلی از قبیل فیتات، فیتین و لسیتین (طرفدار و کلاسن، ۱۹۸۸؛ کیان و همکاران، ۲۰۱۰؛ ایرشاد و همکاران؛ ۲۰۱۱) را به‌عنوان منبع فسفر آلی نامحلول، به هنگام انجام مراحل جداسازی این باکتری‌ها از رسوبات مزارع پرورش ماهیان گرمابی پیشنهاد دهد. با توجه به این‌که بخش بزرگی از فسفر آلی نامحلول رسوبات اکوسیستم‌های آبی را ترکیبات شبه فیتات تشکیل می‌دهد (هیتون و همکاران، ۲۰۱۲؛ ژو و همکاران، ۲۰۱۳؛ ژو و همکاران، ۲۰۱۵) استفاده از این گونه ترکیبات (به‌عنوان مثال فیتات کلسیم) به هنگام جداسازی باکتری‌های آزادکننده فسفر می‌تواند ما را در جداسازی سویه‌های متناسب و نزدیک به محیط طبیعی رسوبات (حاوی مقادیر بالای ترکیبات فسفر آلی نامحلول) استخرهای پرورش ماهیان گرمابی یاری کند. پژوهش‌های اخیر نیز ثابت کرده باکتری‌های آزادکننده فسفر از ترکیبات آلی از لحاظ منبع فسفر مورد استفاده و هم‌چنین مکانیسم آزادسازی فسفر نسبت به باکتری‌های آزادکننده فسفر از ترکیبات معدنی متفاوت هستند (تائو و همکاران؛ ۲۰۰۸).

بخش دوم اختصاص به پیشنهادات در عرصه اجرایی دارد. با توجه به نتایج اندک پژوهش‌های داخلی انجام‌شده (آرمنده و همکاران، ۲۰۱۸) در رابطه با جداسازی و شناسایی باکتری‌های آزادکننده فسفر از مزارع پرورش ماهیان گرمابی کشور، به‌نظر می‌رسد گونه‌های باکتریایی جنس سودوموناس (*Pseudomonas*) و باسیلوس (*Bacillus*) باکتری‌های غالب آزادکننده فسفر در رسوبات استخرهای پرورش ماهیان گرمابی کشور می‌باشند و از کارایی خوبی نیز در انحلال ترکیبات نامحلول فسفر آلی و معدنی رسوبات برخوردار هستند بنابراین استفاده از باکتری‌های جنس سودوموناس و باسیلوس (در قالب کود زیستی) در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی کشور به‌صورت تلقیح در ۵-۳ روز متوالی به‌منظور ایجاد و تثبیت تراکم باکتریایی حداقل 10^6 (آرمنده و همکاران، ۲۰۱۸) می‌تواند مورد پیشنهاد واقع گردد.

رهیافت‌های ترویجی

با توجه به این‌که ترکیبات فسفر آلی تشکیل‌دهنده بخش اعظم فسفر موجود در استخرها می‌باشند و باکتری‌های آزادکننده فسفر در بستر عظیمی از ترکیبات آلی (رسوبات) فعالیت می‌کنند، در این مطالعه سعی شده است بر استفاده از این ترکیبات (مانند فیتات) به‌عنوان منبع فسفر نامحلول در محیط کشت برای جداسازی باکتری‌های آزادکننده فسفر اکوسیستم‌های آبی مانند استخرهای پرورش ماهیان گرمابی تاکید گردد. این ایده می‌تواند یکی از عوامل موفقیت فن‌آوری کودهای زیستی فسفاته در شرایط طبیعی استخرها محسوب گردد.

منابع

1. Armandeh, M., Mahmoudi, N., and Fallah Nosrat Abad, A. 2018. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from warm water fishponds as candidate for phosphorus biofertilizer, 6: 4. 121-140.
2. Bai, X., Ding, S., Fan, C., Liu, T., Shi, D., and Zhang, L. 2009. Organic phosphorus species in surface sediments of a large, shallow, eutrophic lake, Lake Taihu, China. *Environmental Pollution*, 157: 8-9. 2507-2513.
3. Balachandar, D. 2012. Biofertilizers–what next. *J. Biofertil Biopestici*. 3: 4.
4. Banerjee, A., Chattopadhyay, G.N., and Boyd, C.E. 2009. Determination of critical limits of soil nutrients for use in optimizing fertilizer rates for fish ponds in red, lateritic soil zones. *Aquacultural Engineering*, 40: 3. 144-148.
5. Boyd, C.E., Wood, C.W., and Thunjai, T. 2002. *Aquaculture pond bottom soil quality management*. Pond Dynamics/ Aquaculture Collaborative Research Support Program, Oregon State University.
6. Boyd, C.E., and Tucker, C.S. 2012. *Pond aquaculture water quality management*. Springer Science & Business Media, 66p.
7. Das, S.K., and Jana, B.B. 1996. Pond fertilization through inorganic sources: an overview. *Indian Journal of fisheries*, 43: 2. 137-155.
8. Dumora, C., Lacoste, A.M., and Cassaigne, A. 1989. Phosphonoacetaldehyde hydrolase from Pseudomonas aeruginosa: purification properties and comparison with Bacillus cereus enzyme. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 997: 3. 193-198.
9. FAO. 2018. The Status of the World Fisheris and Aquaculture, FAO, Rome, Italy.
10. Guang-Can, T.A.O., Shu-Jun, T.I.A.N., Miao-Ying, C.A.I., and Guang-Hui, X.I.E. 2008. Phosphate-solubilizing and-mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere*, 18: 4. 515-523.
11. Herrmann, L., and Lesueur, D. 2013. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied microbiology and biotechnology*, 97: 20. 8859-8873.
12. Hu, X.J., Li, Z.J., Cao, Y.C., Zhang, J., Gong, Y.X., and Yang, Y.F. 2010. Isolation and identification of a phosphate-solubilizing bacterium Pantoeastewartii subsp. stewartii g6, and effects of temperature, salinity, and pH on its growth under indoor culture conditions. *Aquaculture international*, 18: 6. 1079-1091.
13. Illmer, P., and Schinner, F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 3. 257-263.
14. Iranian fisheries organization. 2017. Statistical Yearbook of Fisheries.
15. Irshad, U., Brauman, A., Villenave, C. and Plassard, C. 2012. Phosphorus acquisition from phytate depends on efficient bacterial grazing, irrespective of the mycorrhizal status of Pinus pinaster. *Plant and Soil*, 358: 1-2. 155-168.
16. Jana, B.B. 2007. 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). Springer, Dordrecht.
17. Jana, B.B., Chatterjee, J., Ganguly, S. and Jana, T. 2001. Responses of phosphate solubilizing bacteria to qualitatively different fertilization in simulated and natural fish ponds. *Aquaculture International*, 9: 1. 17-34.
18. Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Agronomy for sustainable development*, 27: 1. 29-43.
19. Khan, M.S., Zaidi, A., and Ahmad, E. 2014. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In *Phosphate solubilizing microorganisms* (pp. 31-62). Springer, Cham.

20. Kim, L.H., Choi, E., and Stenstrom, M.K. 2003. Sediment characteristics, phosphorus types and phosphorus release rates between river and lake sediments. *Chemosphere*, 50: 1. 53-61.
21. Li, W., and Shi, J. 2006. Isolation, purification, and phosphate-solubilizing capability of phosphorous bacteria in West Lake sediment. *Ying yong sheng tai xue bao= The journal of applied ecology*, 17: 11. 2112-2116.
22. Li, Y., and Boyd, C.E., 2016. Laboratory tests of bacterial amendments for accelerating oxidation rates of ammonia, nitrite and organic matter in aquaculture pond water. *Aquaculture*, 460: 45-58.
23. Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., and Tribedi, P. 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 4. 3315-3335.
24. Maitra, N., Manna, S.K., Samanta, S., Sarkar, K., Debnath, D., Bandopadhyay, C., Sahu, S.K., and Sharma, A.P. 2015. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems. *Hydrobiologia*, 745: 1. 69-83.
25. McLaughlin, M.J., James, T.R., Baker, T.G., and Rundle, J.A. 1990. Distribution and forms of phosphorus and aluminium in acidic topsoils under pastures in south-eastern Australia [Victoria; New South Wales]. *Australian Journal of Soil Research (Australia)*.
26. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database https:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, (accessed on Oct. 7, 2019).
27. Pour Gholam, R., Nasrollah Zade, H., Saiedi, A.A., Makhlogh, A., Vahedi, F., and Rostamian, M.T. 2013. Investigation of biological and non-biotic factors of warm water fish farming pools Enriched with chemical fertilizer and cow manure leachate in Mazandaran province. J. Aquacul. Dev. 7: 3. 11-22.
28. Qian, Y., Shi, J., Chen, Y., Lou, L., Cui, X., Cao, R., Li, P., and Tang, J. 2010. Characterization of phosphate solubilizing bacteria in sediments from a shallow eutrophic lake and a wetland: isolation, molecular identification and phosphorus release ability determination. *Molecules*, 15: 11. 8518-8533.
29. Sahu, S.N., and Jana, B.B. 2000. Enhancement of the fertilizer value of rock phosphate engineered through phosphate-solubilizing bacteria. *Ecological Engineering*, 15: 1-2. 27-39.
30. Song, W., Yuan, L.N., Xiao, L., Zhan, Z., Yang, L.Y., and Jiang, L.J. 2007. ALPase activity and the distribution of phosphate solubilizing bacteria and the relationship between them in sediments of Lake Taihu. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue*, 28: 10. 2355-2360.
31. Tarafdar, J.C., and Claassen, N. 1988. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. *Biology and fertility of soils*, 5: 4. 308-312.
32. Vovk, N.I., Bazaeva, A.V., and Didenko, A.V. 2013. Use of the phosphate-solubilizing bacterial preparation polymyxobacterin in pond aquaculture. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 1. 1-9.
33. Wu, G.F., Hu, J., and Wu, J. 2009. Distribution of cultivable bacterial communities in two eutrophic aquatic ecosystems, eastern China. *Hydrobiologia*, 618: 1. 65-76.
34. Zhu, Y., Wu, F., He, Z., Guo, J., Qu, X., Xie, F., Giesy, J.P., Liao, H., and Guo, F. 2013. Characterization of organic phosphorus in lake sediments by sequential fractionation and enzymatic hydrolysis. *Environmental science & technology*, *47*: 14. 7679-7687.
35. Zhu, Y., Wu, F., He, Z., Giesy, J.P., Feng, W., Mu, Y., Feng, C., Zhao, X., Liao, H., and Tang, Z. 2015. Influence of natural organic matter on the bioavailability and preservation of organic phosphorus in lake sediments. *Chemical Geology*, 397: 51-60.