

7. MIKROORGANISME PELARUT FOSFAT

Rohani Cinta Badia Ginting, Rasti Saraswati, dan Edi Husen

SUMMARY

Phosphate-solubilizing Microbes. Phosphorous is one of the essential elements which plays a very important role in photosynthesis and root development. A part of the phosphate forms is bound in soil colloids, so that it is not available for plants. A group of the so-called phosphate-solubilizing microorganisms can increase the efficiency of phosphate fertilization. These microorganisms including various bacteria, fungi, and actinomycetes, can solubilize unavailable to available phosphates. Naturally they live in the rhizosphere. The existence of phosphate-solubilizing microorganisms varies from site to site, and their different specific characteristics and optimum environmental conditions influence their effectiveness. Moreover, different phosphate forms in each soil type may cause the different requirement of phosphate-solubilizing inoculant for respective soil type. Phosphate compounds can be solubilized chemically and biologically by phosphate-solubilizing microorganisms. Chemical mechanism becomes the main phosphate solubilization, however, the findings in the last decade shows that there are other mechanisms in phosphate solubilization including proton release in respiration process or NH_4^+ formation, and P chelation by siderophores (ferric-specific chelates) produced by these microorganisms. Besides it is also found that organic acids are not only considered as chelating agents, but as hydrogen ion supplier for hydroxylapatite solubilization. Phosphate-solubilizing microorganisms can be isolated from the soil containing low phosphate particularly in the rhizosphere. The ability of bacteria and fungi to solubilize phosphates varies depending on strain. Currently peat is the most widely used carrier for phosphate-solubilizing microorganisms. Inoculant is applied directly to soils or as seed-coating at the rate of $>10^8$ cells g^{-1} carrier.

Unsur fosfat (P) adalah unsur esensial kedua setelah N yang berperan penting dalam fotosintesis dan perkembangan akar. Ketersediaan fosfat dalam tanah jarang yang melebihi 0,01% dari total P. Sebagian besar bentuk fosfat terikat oleh koloid tanah sehingga tidak tersedia bagi tanaman. Tanah dengan kandungan organik rendah seperti Oksisols dan Ultisols yang banyak terdapat di Indonesia kandungan fosfat dalam organik bervariasi dari 20-80%, bahkan bisa kurang dari 20% tergantung tempat. Demikian juga kebanyakan lahan sawah di Indonesia telah jenuh fosfat. Fosfat tersebut tidak dapat dimanfaatkan semaksimal mungkin oleh tanaman, karena fosfat dalam bentuk P-terikat di dalam tanah, sehingga petani tetap melakukan pemupukan P di lahan sawah walaupun sudah terdapat kandungan P yang cukup memadai. Pada tanah-tanah masam, fosfat akan bersenyawa dalam bentuk-bentuk Al-P, Fe-P, dan *occluded*-P, sedangkan pada tanah-tanah alkali, fosfat akan bersenyawa dengan kalsium (Ca) sebagai Ca-P membentuk senyawa kompleks yang sukar larut.

Adanya pengikatan-pengikatan fosfat tersebut menyebabkan pupuk fosfat yang diberikan tidak efisien, sehingga perlu diberikan dalam takaran tinggi. Pemberian pupuk fosfat ke dalam tanah, hanya 15-20% yang dapat diserap oleh tanaman. Sedangkan sisanya akan terjerap di antara koloid tanah dan tinggal sebagai residu dalam tanah (Buckman dan Brady, 1956; Jones, 1982). Hal ini akan menyebabkan defisiensi fosfat bagi pertumbuhan tanaman.

Salah satu alternatif untuk meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat dalam mengatasi rendahnya fosfat tersedia dalam tanah adalah dengan memanfaatkan kelompok mikroorganisme pelarut fosfat, yaitu mikroorganisme yang dapat melarutkan fosfat tidak tersedia menjadi tersedia sehingga dapat diserap oleh tanaman. Pemanfaatan mikro-organisme pelarut fosfat diharapkan dapat mengatasi masalah P pada tanah masam (Sundara Rao dan Sinha, 1963; Asea *et al.*, 1988; Saleh *et al.*, 1989).

Mikroorganisme pelarut fosfat terdiri atas bakteri (Taha *et al.*, 1969), fungi (Khan & Bhatnagar, 1977) dan sedikit aktinomiset (Rao *et al.*, 1982; Chen *et al.*, 2002). Mikroorganisme yang termasuk dalam kelompok bakteri pelarut fosfat antara lain *Pseudomonas striata*, *P. diminuta*, *P. fluorescens*, *P. cerevisia*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. denitrificans*, *P. rathonis*, *Bacillus polymyxa*, *B. laevolacticus*, *B. megatherium*, *Thiobacillus* sp., *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Escherichia freundii*, *Cunninghamella*, *Brevibacterium* spp., *Serratia* spp., *Alcaligenes* spp., *Achromobacter* spp., dan *Thiobacillus* sp. Kelompok bakteri pelarut fosfat yang banyak terdapat pada lahan pertanian di Indonesia berasal dari genus *Enterobacter* dan *Mycobacterium* (Gunarto dan Nurhayati, 1994).

Sedangkan fungi yang dapat melarutkan fosfat umumnya berasal dari kelompok Deutromycetes antara lain *Aspergillus niger*, *A. awamori*, *P. digitatum*, *P. bilaji*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Aspergillus niger*, dan lain-lain (Alexander, 1977; Shale, 1978; Das, 1963). Fungi pelarut fosfat yang dominan di tanah adalah *Penicillium* dan *Aspergillus* (Suh *et al.*, 1995; Whitelaw *et al.*, 1999). Fungi pelarut fosfat yang dominan ditemukan di tanah masam Indonesia ialah *Aspergillus niger* dan *Penicillium* (Goenadi *et al.*, 1993).

Penyebaran mikroorganisme pelarut fosfat

Umumnya mikroorganisme pelarut fosfat secara alami berada di tanah berkisar 0,1-0,5% dari total populasi mikroorganisme (Kucey, 1983). Populasi mikroorganisme pelarut fosfat dari kelompok bakteri jauh lebih banyak dibandingkan dengan kelompok fungi. Jumlah populasi bakteri pelarut fosfat dapat mencapai 12 juta organisme per gram tanah sedangkan fungi pelarut fosfat hanya berkisar dua puluh ribu sampai dengan satu juta per gram tanah (Alexander, 1977).

Mikroorganisme ini hidup terutama di sekitar perakaran tanaman, yaitu di daerah permukaan tanah sampai kedalaman 25 cm dari permukaan tanah. Keberadaan mikroorganisme ini berkaitan dengan banyaknya jumlah bahan organik yang secara langsung mempengaruhi jumlah dan aktivitas hidupnya. Akar tanaman mempengaruhi kehidupan mikroorganisme dan secara fisiologis mikroorganisme yang berada dekat dengan daerah perakaran akan lebih aktif daripada yang hidup jauh dari daerah perakaran.

Keberadaan mikroorganisme pelarut fosfat dari suatu tempat ke tempat lainnya sangat beragam. Salah satu faktor yang menyebabkan keragaman tersebut adalah sifat biologisnya. Ada yang hidup pada kondisi asam, dan ada pula yang hidup pada kondisi netral dan basa, ada yang hipofilik, mesofilik, dan termofilik, ada yang hidup sebagai aerob dan ada yang anaerob, dan beberapa sifat lain yang bervariasi. Masing-masing mikroorganisme memiliki sifat-sifat khusus dan kondisi lingkungan optimal yang berbeda-beda yang mempengaruhi efektivitasnya melarutkan fosfat.

Pertumbuhan mikroorganisme pelarut fosfat sangat dipengaruhi oleh kemasaman tanah. Pada tanah masam, aktivitas mikroorganisme didominasi oleh kelompok fungi sebab pertumbuhan fungi optimum pada pH 5-5,5. Pertumbuhan fungi menurun bila pH meningkat. Fungi dalam tanah berbentuk miselium vegetatif ataupun spora (Waksman dan Starkey, 1981). Miselium atau filamen fungi tersebar di antara partikel tanah dan tersusun dalam hifa-hifa, ada yang berseptata dan ada yang tidak.

Sebaliknya pertumbuhan kelompok bakteri optimum pada pH sekitar netral dan meningkat seiring dengan meningkatnya pH tanah. Secara umum

bakteri pelarut fosfat yang dominan yang diisolasi dari rizosfer tanah termasuk ke dalam golongan mikroorganisme aerob pembentuk spora (Taha *et al.*, 1969), hidup pada kisaran pH 4-10,6 (Sen dan Paul, 1957).

Populasi bakteri pelarut fosfat umumnya lebih rendah pada daerah yang beriklim kering dibandingkan dengan daerah yang beriklim sedang. Karena bentuk dan jumlah fosfat dan bahan organik yang terkandung dalam tanah berbeda-beda, maka keefektifan tiap mikro-organisme pelarut fosfat untuk melarutkan fosfat berbeda pula. Penggunaan mikroorganisme pelarut fosfat masih menghadapi beberapa kendala seperti faktor tanah, karena setiap jenis tanah mempunyai bentuk fosfat yang berbeda-beda antara lain pada lahan masam bentuk fosfat didominasi oleh Al-P, Fe-P atau *occluded*-P sedangkan pada lahan basa didominasi oleh bentuk Ca-P. Jadi masing-masing lahan seperti itu memerlukan inokulan pelarut fosfat yang berbeda.

Mekanisme pelarutan fosfat

Di dalam tanah, fosfat dapat berbentuk organik dan anorganik yang merupakan sumber fosfat penting bagi tanaman. Fosfat organik berasal dari bahan organik, sedangkan fosfat anorganik berasal dari mineral-mineral yang mengandung fosfat. Pelarutan senyawa fosfat oleh mikroorganisme pelarut fosfat berlangsung secara kimia dan biologis baik untuk bentuk fosfat organik maupun anorganik. Mikroorganisme pelarut fosfat membutuhkan adanya fosfat dalam bentuk tersedia dalam tanah untuk pertumbuhannya.

Mekanisme pelarutan fosfat secara kimia merupakan mekanisme pelarutan fosfat utama yang dilakukan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti oksalat, suksinat, tartrat, sitrat, laktat, α -ketoglutarat, asetat, formiat, propionat, glikolat, glutamat, glioksilat, malat, fumarat (Illmer dan Schinner, 1992; Banik dan Dey, 1982; Alexander, 1977; Beauchamp dan Hume, 1997). Meningkatnya asam-asam organik tersebut diikuti dengan penurunan pH. Penurunan pH juga dapat disebabkan karena terbebasnya asam sulfat dan nitrat pada oksidasi kemoautotrofik sulfur dan amonium, berturut-turut oleh bakteri *Thiobacillus* dan *Nitrosomonas* (Alexander, 1977). Perubahan pH berperan penting dalam peningkatan kelarutan fosfat (Thomas, 1985; Asea *et al.*, 1988). Selanjutnya asam-asam organik ini akan bereaksi dengan bahan pengikat fosfat seperti Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , atau Mg^{2+} membentuk khelat organik yang stabil sehingga mampu membebaskan ion fosfat terikat dan oleh karena itu dapat diserap oleh tanaman.

Beberapa hasil penelitian dalam dekade terakhir, antar lain hasil penelitian Moghimi dan Tate (1978) menyimpulkan bahwa asam 2-ketoglukonat yang banyak terdapat pada rizosfir gandum berperan sebagai

penyedia ion hidrogen untuk melarutkan hidroksiapatit, tetapi bukan sebagai agen pengkhelat kalsium. Ditambahkan oleh hasil penelitian Kim *et al.* (1997) yang menyimpulkan bahwa meskipun asam yang diproduksi berperan penting dalam pelarutan hidroksiapatit, mekanisme ini bukan satu-satunya cara mikroorganisme pelarut fosfat melarutkan P-terikat. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pelarutan P dipacu oleh pelepasan proton dalam proses respirasi atau pembentukan NH_4^+ (De Freitas *et al.*, 1997; Bolan *et al.*, 1997).

Pelarutan fosfat secara biologis terjadi karena mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim antara lain enzim fosfatase (Lynch, 1983) dan enzim fitase (Alexander, 1977). Fosfatase merupakan enzim yang akan dihasilkan apabila ketersediaan fosfat rendah. Fosfatase diekskresikan oleh akar tanaman dan mikroorganisme, dan di dalam tanah yang lebih dominan adalah fosfatase yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Joner *et al.*, 2000). Pada proses mineralisasi bahan organik, senyawa fosfat organik diuraikan menjadi bentuk fosfat anorganik yang tersedia bagi tanaman dengan bantuan enzim fosfatase (Gaur *et al.*, 1980; Paul dan Clark, 1989). Enzim fosfatase dapat memutuskan fosfat yang terikat oleh senyawa-senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia.

Louw dan Webley (1959) meyakini bahwa salah satu mekanisme pelepasan P yang terikat pada besi fosfat terkait dengan hidrogen sulfida (H_2S) yang diproduksi oleh bakteri pelarut fosfat. Pengkhelatan Fe^{3+} dari Fe-P oleh *siderophore* (ferric-specific chelates) yang diproduksi oleh beberapa bakteri pelarut fosfat juga diyakini sebagai salah satu mekanisme pelarutan hara P pada tanah-tanah masam (Mullen, 1998).

Hasil penelitian Louw dan Webley (1958; 1959) menggunakan berbagai sumber P menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri pelarut fosfat yang digunakan mampu melepaskan/melarutkan P dari batuan fosfat Gafsa (hidroksiapatit) dan kalsium fosfat, tetapi tidak satupun dari isolat tersebut mampu melepaskan P dalam bentuk *variscite* ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), *strengite* ($\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dan *taranakite* ($2\text{K}_2\text{O} \cdot 3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 26\text{H}_2\text{O}$) yang banyak terdapat pada tanah-tanah masam. Hasil ini mengindikasikan bahwa ada perbedaan mekanisme pelepasan P-terikat pada tanah-tanah bereaksi netral dan basa dengan tanah-tanah bereaksi masam. Penelitian lebih jauh mengenai mekanisme pelepasan unsur P-terikat pada tanah-tanah masam yang banyak terdapat di daerah tropika seperti di Indonesia masih sangat diperlukan.

Aktivitas mikroorganisme pelarut fosfat sangat tergantung pada pH tanah (Soepardi, 1983). Kecepatan mineralisasi juga meningkat dengan nilai pH yang sesuai bagi metabolisme mikroorganisme dan pelepasan fosfat akan meningkat dengan meningkatnya nilai pH dari asam ke netral. Selain

itu, kecepatan mineralisasi ternyata berkorelasi langsung dengan jumlah substrat. Tanah-tanah yang kaya fosfat organik merupakan tanah yang paling aktif bagi berlangsungnya proses mineralisasi (Alexander, 1977).

Asam-asam organik yang dihasilkan mikroorganisme berbeda kualitas dan kuantitasnya dalam membebaskan fosfat (Soepardi, 1983). Asam-asam organik yang dihasilkan mikroorganisme pelarut fosfat mempunyai kemampuan untuk melarutkan fosfat dari yang terkuat sampai terlemah menurut urutan sebagai berikut: sitrat > oksalat > tartarat > malat > HCl (Kim *et al.*, 1997). Nagarajah *et al.* (1970) menggolongkan asam sitrat dan oksalat sangat efektif dalam melarutkan fosfat dari kaolinit dan gipsit, sedangkan asam malonat, tartarat dan malat, keefektifannya sedang, serta asam asetat dan suksinat digolongkan kurang efektif. Pada tanah vulkanik yang kaya alovon, asam-asam organik (benzoat, p-OH benzoat, salisilat, dan ptalat) tidak mampu melarutkan fosfat. Earl *et al.* (1979) meneliti pengaruh asam organik (sitrat, tartarat, dan asetat) pada gel Al dan Fe terhadap jerapan P. Hasilnya menunjukkan bahwa tanpa anion organik, maka Fe menjerap P dalam jumlah yang sangat banyak. Asam sitrat menjerap P jauh lebih banyak dibanding tartarat, demikian pula dalam hal mengurangi P terjerap. Tetapi jumlah Al yang diikat kedua asam tersebut tidak berbeda. Asam asetat tidak efektif dalam melarutkan fosfat, karena asetat kurang kuat dalam membentuk kompleks dengan Al maupun Fe.

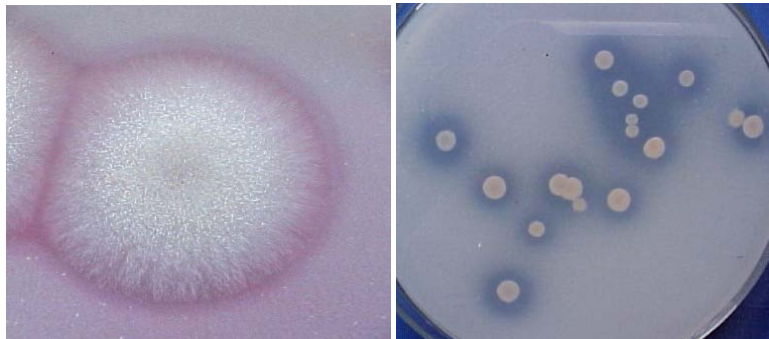
Asam organik dapat meningkatkan ketersediaan P di dalam tanah melalui beberapa mekanisme, diantaranya adalah: (1) anion organik bersaing dengan ortofosfat pada permukaan tapak jerapan koloid tanah yang bermuatan positif, sehingga memperbesar peluang ortofosfat dapat diserap oleh tanaman; (2) pelepasan ortofosfat dari ikatan logam-P melalui pembentukan kompleks logam organik (Beaucamp dan Hume, 1997); dan (3) modifikasi muatan permukaan tapak jerapan oleh ligan organik (Havlin *et al.*, 1999).

Hue *et al.* (1986) melaporkan bahwa beberapa asam organik juga dapat mengurangi daya racun Al yang dapat dipertukarkan (Al-dd) pada tanaman kapas. Kemampuan detoksifikasi asam organik terhadap Al-dd digolongkan dalam tiga kelompok, yaitu kuat (sitrat, oksalat, dan tartarat), sedang (malat, malonat, dan salisilat), dan lemah (suksinat, laktat, asetat, dan ptalat). Selain itu, Premono *et al.* (1992) juga mendapatkan bahwa mikroorganisme pelarut fosfat secara nyata mampu mengurangi Fe, Mn, dan Cu yang terserap oleh tanaman jagung yang ditanam pada tanah masam, sehingga berada pada tingkat kandungan yang normal. Terdapatnya asam-asam organik sitrat, oksalat, malat, tartarat dan malonat di dalam tanah sangat penting artinya dalam mengurangi pengikatan P oleh unsur penjerapnya dan mengurangi daya racun aluminium pada tanah masam.

Selain mengasimilasi fosfat yang dibebaskannya, mikroorganisme tersebut menghasilkan sejumlah besar fosfat terlarut sebagai kelebihan dari pasokan nutrisinya ke dalam larutan tanah. Dengan pelarutan fosfat oleh mikroorganisme tersebut, maka fosfat tersedia dalam tanah meningkat dan dapat diserap oleh akar tanaman. Untuk dapat mencapai akar secara alami hara fosfat yang larut masuk melalui mekanisme difusi.

Isolasi mikroorganisme pelarut fosfat

Mikroorganisme pelarut fosfat dapat diisolasi dari tanah yang kandungan fosfatnya rendah terutama di sekitar perakaran tanaman, karena bakteri ini menggunakan fosfat dalam jumlah sedikit dan mampu memanfaatkan fosfat tidak tersedia untuk keperluan metabolismenya (Alexander, 1977). Di laboratorium, deteksi dan estimasi kemampuan mikroorganisme pelarut fosfat dilakukan dengan menggunakan metode cawan petri. Media selektif yang umum digunakan untuk mengisolasi dan memperbanyak organisme pelarut fosfat adalah media agar Pikovskaya (Sundara Rao dan Sinha, 1963) yang berwarna putih keruh, karena mengandung P tidak larut seperti kalsium fosfat. Setelah inkubasi (48-72 jam), potensi mikroorganisme untuk melarutkan fosfat tidak tersedia secara kualitatif dicirikan oleh zona bening (halozone) di sekitar koloni mikroorganisme yang tumbuh pada agar trikalsium fosfat (Gambar 1), sementara mikroorganisme yang lain tidak menunjukkan ciri tersebut.



Gambar 1. Mikroorganisme pelarut fosfat yang membentuk zona bening.
Bakteri (kanan), fungi (kiri)

Foto: Rohani Cinta Badia Ginting.

Sumber fosfat yang dapat digunakan dalam medium agar antara lain $\text{Ca}(\text{PO}_4)$, FePO_4 , AlPO_4 , apatit, fosfat alam, atau senyawa fosfat tidak larut yang lainnya sebagai satu-satunya sumber fosfat misalnya $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang disuspensikan ke dalam medium agar. Kemampuan tiap mikroorganisme

pelarut fosfat tumbuh dan melarutkan fosfat berbeda-beda (Tabel 1) yang diidentifikasi dari waktu terbentuk dan luas halozone. Mikroorganisme pelarut fosfat yang unggul akan menghasilkan diameter halozone yang paling besar dibandingkan dengan koloni yang lainnya.

Kemampuan bakteri dan fungi pelarut P dalam melarutkan P berbeda-beda tergantung jenis strain (Gunadi dan Saraswati, 1993; Gunadi *et al.*, 1993). Untuk mengukur kemampuan kuantitatif pelarutan fosfat dari mikroorganisme, dilakukan dengan cara menumbuhkan biakan murni mikroorganisme tersebut pada media cair Pikovskaya. Sumber fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dapat diganti dengan fosfat alam atau senyawa fosfat tidak larut lainnya. Medium disterilisasi dalam autoklaf dan kemudian diisolasi dengan mikroorganisme pelarut fosfat. Selanjutnya biakan tersebut diinkubasi selama 3-7 hari. Kandungan P terlarut media cair tersebut diukur dengan menggunakan metode spektrofotometer.

Tabel 1. Kemampuan mikroorganisme pelarut P dalam melarutkan P

Inokulan	Aktivitas enzim fosfatase		P-terlarut ppm
	Asam	Basa	
	μM nitrofenol $\text{g}^{-1} \text{jam}^{-1}$		
<i>Aspergillus niger</i>	2,3	0,5	6,4
<i>Micrococcus sp.</i>	1,9	0,6	5,5
Tanah steril	0,7	0,4	4,4

Teknik produksi inokulan

Penelitian dan pemanfaatan mikroorganisme pelarut fosfat sudah mulai dilakukan sejak tahun 1930-an (Waksman dan Starkey, 1981; Gerretsen, 1948). Negara yang mula-mula memproduksi mikroorganisme pelarut fosfat sebagai pupuk hayati adalah Rusia pada tahun 1947. Inokulan pelarut fosfat ini dijual secara komersial di beberapa negara Eropa Timur dengan nama dagang fosfobakterin. Selain itu, India, Kanada, dan Mesir juga banyak melakukan penelitian terhadap mikroorganisme ini dengan tujuan untuk melarutkan endapan-endapan Ca-P (Sen dan Paul, 1957; Kundu dan Gaur, 1980; Sundara Rao dan Sinha, 1963).

Untuk memproduksi inokulan dibutuhkan bahan pembawa yang mampu mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme pelarut fosfat. Beberapa bahan pembawa yang telah diuji antara lain tanah-tanah mineral, gambut, zeolit, batu bara, bentonit, vermikulit, dan perlit. Fosfobakterin yang dikomersialkan di negara Rusia menggunakan kaolin yang membawa 7 juta spora bakteri *Bacillus megaterium* varietas *phosphaticum* setiap gram kaolin. Dari berbagai bahan pembawa yang telah

diuji, saat ini gambut merupakan bahan pembawa yang paling banyak digunakan untuk memproduksi inokulan. Namun demikian, bahan pembawa gambut bukan berarti tidak mempunyai masalah, karena beberapa jenis gambut dapat menghambat pertumbuhan strain rhizobia tertentu.

Dari hasil penelitian Premono dan Widiastuti (1994) media pembawa kompos-zeolit (9:1, v/v) yang disimpan pada suhu 28^o C merupakan bahan pembawa yang terbaik. Medium kompos lebih baik dibandingkan gambut dalam mempertahankan populasi *P. putida*, dan penambahan zeolit menjadikan medium pembawa tersebut semakin baik karena zeolit mempunyai sifat khusus yaitu mempunyai kisi-kisi yang saling berhubungan dan mempunyai kapasitas menahan zat alir yang tinggi (Mumpton, 1984).

Pemberian inokulan pelarut fosfat pada tanaman biasanya harus dengan kepadatan yang tinggi, yaitu lebih dari 10⁸ sel gram⁻¹ media pembawanya. Dengan kepadatan yang tinggi diharapkan mikroorganisme pelarut fosfat yang diberikan tersebut dapat bersaing dengan mikroorganisme yang ada di dalam tanah. Dengan demikian mampu mendominasi di sekitar perakaran tanaman.

Pemanfaatan mikroorganisme pelarut fosfat untuk efisiensi pemupukan fosfat

Pemanfaatan mikroorganisme pelarut fosfat sebagai pupuk hayati dilakukan dengan cara menginokulasi tanah secara langsung pada tanaman benih atau diberikan ke biji (seed coating) (Paul dan Clark, 1989). Inokulasi biasanya dilakukan pada saat tanam bersamaan dengan pemupukan P. Pada tanah-tanah yang kandungan P tinggi akibat akumulasi atau residu pemberian pupuk P yang menumpuk, maka mikroorganisme ini dapat digunakan sebagai penambang fosfat dari tanah-tanah tersebut. Dengan pemberian mikroorganisme pelarut fosfat tersebut, diharapkan dapat meningkatkan kelarutan P dari pupuk P yang diberikan maupun senyawa P yang berasal dari residu pemupukan sebelumnya di dalam tanah.

Kemampuan berbagai jenis mikroorganisme pelarut fosfat dalam menyediakan unsur P banyak dilaporkan. Bakteri *P. putida*, *Citrobacter intermedium*, dan *Serratia mesenteroides* mampu meningkatkan P yang larut dalam medium AlPO₄ dari batuan fosfat sebanyak 6-19 kali lipat, yaitu sekitar 0,57-22,0 ppm, tetapi tidak mampu melarutkan FePO₄ (Premono *et al.*, 1991). Isolat bakteri yang digunakan Sundara Rao dan Sinha (1963) mampu melarutkan Ca₃(PO₄)₂ sampai 172 ppm. Goenadi *et al.* (1993) mengisolasi bakteri pelarut fosfat dari tanah Andisol, Ultisol, dan dari pupuk kandang, dan diperoleh bahwa bakteri pelarut fosfat tersebut dapat melarutkan fosfat 10-184 kali lebih banyak daripada kontrol.

Sen dan Paul (1957) menggunakan fosfobakterin galur fosfo-24, *Bacillus subtilis*, *Bacterium mycoides*, dan *B. mesentericus* untuk melarutkan P-organik (glisero fosfat, lesitin, dan tepung tulang) dan P-anorganik (Ca-P, Fe-P) yang dilakukan secara *in vitro*. Hasilnya menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu melarutkan FePO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, gliserofosfat, lesitin, dan tepung tulang berturut-turut sebanyak 2-7, 3-9, 3-13, 5-21, dan 14%. Banik dan Dey (1982) memanfaatkan *Bacillus* sp. dan dua galur *Bacillus firmus*, hasil percobaannya menunjukkan bahwa ketiga bakteri tersebut masing-masing hanya mampu melarutkan berturut-turut 0,3, 0,9, dan 0,3% dari senyawa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang diberikan, dan tidak mampu melarutkan AlPO_4 dan FePO_4 .

Fungi lebih mampu melarutkan P dalam bentuk AlPO_4 (pada tanah masam), sedangkan bakteri lebih efektif melarutkan fosfat dalam bentuk Ca_3PO_4 pada tanah basa (Banik dan Dey, 1982). Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa jenis-jenis fungi tertentu mempunyai kemampuan yang lebih tinggi daripada bakteri (Beever dan Burns, 1980; Banik dan Dey, 1982; Kucey, 1983; Illmer dan Schinner, 1992; Goenadi dan Saraswati, 1993). Menurut Goenadi dan Saraswati (1993), kemampuan fungi melarutkan fosfat berkisar dari 12-162 ppm di medium Pikovskaya yang mengandung sumber P- AlPO_4 yang relatif lebih sukar larut dari sumber P lainnya. Lestari dan Saraswati (1997) melaporkan bahwa fungi pelarut P tersebut meningkatkan kadar fosfat terlarut sebesar 27-47% di tanah masam. Lingkungan pertumbuhan yang berbeda ini memberi peluang yang baik untuk mengembangkan fungi di daerah tropis karena fungi lebih menyukai tanah masam.

Tanaman dapat menyerap fosfat dalam bentuk ion H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} . Tetapi pada umumnya ion H_2PO_4^- lebih tersedia dibandingkan dengan HPO_4^{2-} . Hara fosfat diperlukan dalam proses metabolisme tanaman antara lain untuk merangsang pertumbuhan tanaman, perkembangan akar, pertumbuhan buah, ikut dalam pembelahan sel, memperkuat batang, meningkatkan ketahanan terhadap rebah, memperbaiki kualitas, dan memperkuat daya tahan terhadap hama dan penyakit.

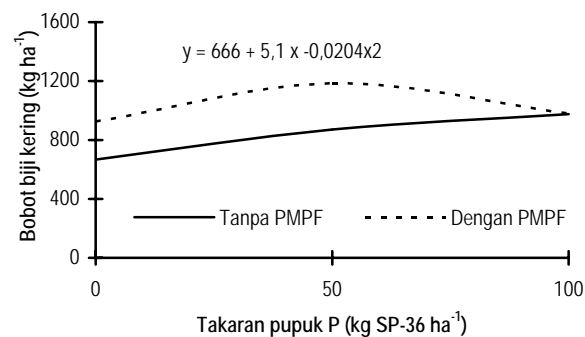
Sejumlah tanaman yang pernah diinokulasi dengan mikroorganisme pelarut fosfat antara lain gandum, gula bit, kubis, *barley*, kedelai, jagung, padi, kacang panjang, kacang tanah, tomat, kentang, kapas, timun, dan dapat meningkatkan hasil 10-15%. Pemanfaatan *Pseudomonas putida* dan *Citrobacter intermedium* mampu meningkatkan bobot kering tanaman sampai 30% (Premono *et al.*, 1991).

Penggunaan mikroorganisme pelarut fosfat dapat mensubstitusi sebagian atau seluruhnya kebutuhan tanaman akan pupuk P, tergantung pada kandungan P tanahnya dan memberikan hasil yang positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Prihatini *et al.* (1997) melaporkan bahwa inokulan bakteri pelarut fosfat memberikan hasil yang sama dengan pemberian pupuk TSP. Premono dan Widyastuti (1994) menggunakan batuan

fosfat yang dikombinasi dengan *P. putida* dan diperoleh bahwa kombinasi tersebut dapat menggantikan pupuk, sehingga penggunaan pupuk TSP dapat dikurangi atau sebagian dapat disubstisusi dengan batuan fosfat. Isgitani *et al.* (2005) mendapatkan bahwa bakteri pelarut fosfat yang digunakannya dapat meningkatkan jumlah dan berat biji, dan secara nyata meningkatkan pertumbuhan vegetatif sorgum. Sunarlim *et al.* (2000) melaporkan bahwa penggunaan pupuk mikroba pelarut fosfat (PMPF) di lokasi yang belum pernah ditanami kedelai, di Seputih Banyak, Lampung dapat menekan kebutuhan pupuk P pada kedelai hingga 50-60% (Tabel 2). Pada tanaman kedelai dengan menggunakan PMPF hanya memerlukan 50 kg SP-36 ha⁻¹, sedangkan pada tanaman kedelai tanpa PMPF membutuhkan 125 kg SP-36 ha⁻¹ (Gambar 2).

Tabel 2. Interaksi pupuk P dan pupuk mikroorganisme pelarut fosfat (PMPF) terhadap serapan N tanaman kedelai 42 hari setelah tanam

Takaran pupuk P	Tanpa PMPF	PMPF
50 kg ha ⁻¹	29,6 a	70,5 d
100 kg ha ⁻¹	40,9 ab	46,9 bc



Gambar 2. Pengaruh interaksi antara takaran pupuk P dan pupuk mikroorganisme pelarut fosfat terhadap bobot biji kering kedelai pada lahan kering masam

Santosa *et al.* (1997) menunjukkan bahwa inokulasi bakteri pelarut fosfat dan aplikasi P-alam (rock phosphate) pada tanah masam Ultisols mampu meningkatkan ketersediaan P, serapan P, dan bobot biji kering kacang tanah (Tabel 3). Hasil ini memperlihatkan peran bakteri pelarut fosfat dalam mempercepat proses pelarutan P dari P-alam, namun belum banyak menjelaskan peran mikroorganisme tersebut dalam melepaskan P yang terikat pada mineral tanah.

Tabel 3. Pengaruh inokulasi bakteri pelarut fosfat (BPF) dan P-alam terhadap kandungan P tanah, serapan P pada saat tanaman berbunga, dan hasil panen kacang tanah di tanah masam (rumah kaca)

P-alam	Tanpa inokulasi	<i>Proteus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	Rerata
ppm P ₂ O ₅		P-total (HCl 25%), mg 100g ⁻¹		
0	8,15	8,51	7,33	8,00 a
30	9,88	11,59	9,51	10,31 a
60	18,57	19,03	23,65	20,41 b
90	21,83	26,22	27,99	25,35 c
Rata-rata	14,61 a	16,34 a	17,2 a	
		P-tersedia (Bray I), ppm P ₂ O ₅		
0	5,84	8,22	7,62	7,22 c
30	7,32	9,76	8,50	8,52 b
60	9,04	10,07	9,58	9,56 b
90	11,23	11,64	12,14	11,67 a
Rata-rata	8,36 b	9,92 a	9,46 a	
		Serapan P, mg P tanaman ⁻¹		
0	1,84	2,28	2,20	2,11 c
30	2,96	3,80	3,25	3,34 b
60	3,44	3,64	3,83	3,62 b
90	3,70	4,72	4,01	4,14 a
Rata-rata	2,98 c	3,61 a	3,32 b	
		Bobot biji kering, g tanaman ⁻¹		
0	2,43 d	3,00 b	1,53 d	2,32
30	5,97 c	8,60 a	6,70 c	7,09
60	7,83 b	8,83 a	8,40 b	8,35
90	9,83 a	9,40 a	10,63 a	9,95
Rata-rata	6,51	7,46	6,81	

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang angka pada baris atau lajur yang sama pada tiap parameter pengamatan tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT.

Sumber: Santosa *et al.* (1997)

Banyak di antara mikroorganisme pelarut fosfat, selain dapat meningkatkan ketersediaan fosfat, juga mampu mengkolonisasi rizosfir dan menghasilkan zat pengatur tumbuh, antara lain *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. striata*, dan *Bacillus megaterium*. Mikroba tersebut dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti asam indol asetat (IAA) dan asam giberelin (GA3) (Arshad dan Frankenberger, 1993; Patten dan Glick, 1996) (lihat Bab 9 pada buku ini).

Beberapa mikroorganisme pelarut fosfat juga dapat berperan sebagai biokontrol melalui proteksinya terhadap penyakit. Dilaporkan bahwa *Pseudomonas* sp. dapat mencegah tanaman dari patogen fungi yang berasal dari tanah dan potensialnya sebagai agen biokontrol untuk digunakan secara komersial di rumah kaca maupun di lapangan (Arshad dan Frankenberger, 1993). *Pseudomonas fluorescens* dapat mengontrol perkembangan penyakit *damping-off Pythium ultimum* (Fenton *et al.*, 1992). Selain itu, bakteri *P. fluorescens* ini juga dapat mengontrol perkembangan jamur *Sclerotium rolfsii* pada tanaman kacang-kacangan.

Dari beberapa keberhasilan BPF meningkatkan pertumbuhan tanaman, sebagian diantaranya terkait dengan peran ganda BPF. Beberapa strain dan jenis BPF dilaporkan mampu menghasilkan fitohormon yang turut berperan dalam perkembangan tanaman (Pietr *et al.*, 1991; De Freitas *et al.*, 1997). Hasil penelitian Berthelin *et al.* (1991) pada tanaman tahunan yang diinokulasi oleh *Agrobacterium* sp. menunjukkan peningkatan pertumbuhan tanaman yang tidak berkaitan langsung dengan kandungan P tanaman (Tabel 4). Namun, karakter fungsional tambahan ini memberi keuntungan dalam pemanfaatan rizobakteri ini sebagai agen pemacu tumbuh tanaman.

Tabel 4. Pertumbuhan, serapan dan kandungan P, kandungan asam organik pada rizosfir cemara dan pinus umur 2 tahun yang diinokulasi oleh *Agrobacterium* sp. dan ditaman pada media campuran pasir + mika + P-alam (rumah kaca)

Uraian	Cemara		Pinus	
	+ RPTT	- RPTT	+ RPTT	- RPTT
Pertumbuhan (g tanaman ⁻¹)				
- Tajuk	2,37 a	1,22 b	4,40 c	4,37 c
- Akar	2,38 a	1,48 b	3,54 c	2,52 d
Serapan P (mg P tanaman ⁻¹)	10,3 a	5,9 b	11,2 c	9,5 d
Kandungan P (‰)				
- Tajuk	2,6 a	3,5 a	1,4 c	1,3 c
- Akar	1,5 a	1,8 a	1,5 c	1,4 c
Asam organik di rizosfir (me tanaman ⁻¹)	42,9 a	20,4 a	103,3 c	63,2 d

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang angka pada baris yang sama pada tiap dua perlakuan perbandingan inokulasi (+ RPTT) dan tanpa inokulasi (- RPTT) tidak berbeda nyata

Sumber: Berthelin *et al.* (1991)

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Mycrobiology. 2nd Ed. John Wiley and Sons. New York. 467 p.
- Arshad, M. and W.T. Frankenberger. 1993. Microbial production of plant growth regulators. p. 307-347. *In* F.B. Metting (Ed.). Soil Microbial Ecology. Marcel Dekker, Inc. New York, Bassel, Hongkong.
- Asea, P.E.A., R.M.N. Kucey, and J.W.B. Stewart. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biol. Biochem.* 20: 459-464.
- Banik, S. and B.K. Dey. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing micro-organisms. *Plant Soil* 69: 353-364.
- Beauchamp, E.G. and D.J. Hume. 1997. Agricultural soil manipulation: The use of bacteris, manuring, and plowing. p. 643-664. *In* J.D. van Elsas, J.T. Trevors, and E.M.H. Wellington (Eds.). *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, New York.
- Beever, R.E. and D.J.W. Burns. 1980. Phosphorus uptake, storage, and utilization by fungi. *Adv. Bot. Res.* 8: 127-219.
- Berthelin, J., C. Leyval, F. Laheurte, and P. De Guidici. 1991. Some consideration on the relations between phosphate solubilizing rhizobacteria and their effect on seedlings and plants growth related to phosphorus mobilization. p. 359-364. *In* C. Keel, B. Koller, and G. Defago (Eds.). *Plant Growth-Promoting Rhizo-bacteria-Progress and Prospects*. The Second International Workshop on PGPR. Interlaken, Switzerland, October 14-19, 1990.
- Bolan, N.S., J. Elliott, P.E.H. Gregg, and S. Weil. 1997. Enhanced dissolution of phosphate rocks in the rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils* 24: 169-174.
- Buckman, H.O. and N.C. Brady. 1956. *The Nature and Properties of Soils*. 5th ed. Macmillan, New York.
- Chen, X., J.J. Tang, Z.G. Fang, and S. Hu. 2002. Phosphate-solubilizing microbes in rhizosphere soils of 19 weeds in southeastern China. *Journal of Zhejiang University Science* 3: 355-361
- Das, A.C. 1963. Utilization of insoluble phosphate by soil fungi. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 11: 203-207.
- De Freitas, J.R., M.R. Banerjee, and J.J. Germida. 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol. Fertil. Soils* 24: 358-364.

- Earl, K.D., J.K. Syers, and J.R. Mc Laughlin. 1979. Origin of the effect of citrate, tartarate, and acetate on phosphate sorption by soils and synthetic gels. *Soil Sci. Am. J.* 43: 474-678.
- Fenton, A.M., P.M. Stephens, J. Crowley, M.O. Callaghan, and F. O'Gara. 1992. Exploitation of genes involved 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3.873-3.878.
- Gaur, A.C., R.S. Mathur, and K.V. Sadasivam. 1980. Effect of organic materials and phosphate-dissolving culture on the yield of wheat and greengram. *Indian. J. Agron.* 25: 501-503.
- Gerretsen, F.C. 1948. The influence of microorganism on the phosphorus uptake by the plant. *Plant Soil* 1: 51-81.
- Goenadi, D.H., R. Saraswati, dan Y. Lestari. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat bakteri asal tanah dan pupuk kandang sapi. *Menara Perkebunan* 61(2): 44-49.
- Goenadi, D.H., dan R. Saraswati. 1993. Kemampuan melarutkan fosfat dari beberapa isolat fungi pelarut fosfat. *Menara Perkebunan* 61(3): 61-66.
- Gunarto, L. dan L. Nurhayati. 1994. Karakterisasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat pada tanah-tanah di Indonesia. Makalah disampaikan pada Seminar Tahunan 1994 Hasil Penelitian Tanaman Pangan, Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor, 29-30 Maret 1994.
- Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. 1999. *Soil Fertility and Fertilizers. An Introduction to Nutrient Management.* 6th ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Hue, N.V., G.R. Craddock, and F. Adamet. 1986. Effect of organic acids on aluminium toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 28-34.
- Illmer, P. and F. Schinner. 1992. Solubilization of inorganic phosphate by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 24(4): 389-395.
- Isgitani, M., S. Kabirun, dan S.A. Siradz. 2005. Pengaruh inokulasi bakteri pelarut fosfat terhadap pertumbuhan sorghum pada berbagai kandungan P tanah. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan* 5(1): 48-54.
- Jones, U.S. 1982. *Fertilizers and Soil Fertility.* 2nd ed. Reston Publ. Co. Reston, Virginia.
- Joner, E.J., I.M. Aarle, and M. Vosatka. 2000. Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhiza hyphae: a review. *Plant Soil* 226: 199-210.

- Khan, J.A. and R.M. Bhatnagar. 1977. Studies on solubilization of insoluble phosphates by microorganisms. I. Solubilization of Indian phosphate rocks by *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. Fert. Technol. 14: 329-333.
- Kim, K. Y., G. A. McDonald, and D. Jordan. 1997. Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium. Biol. Fertil. Soils 24: 347-352.
- Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Can. J. Soil Sci. 63: 671-678.
- Kundu, B.S. and A.C. Gaur. 1980. Establishment of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. Plant Soil 57: 223-230.
- Lestari, Y. Dan R. Saraswati. 1997. Aktivitas enzim fosfatase jamur pelarut fosfat pada tanah Podzolik Merah Kuning. *Dalam* Prosiding Seminar Pembangunan Pertanian Berkelanjutan Menyongsong Era Globalisasi, Banjarmasin, 13-14 Maret 1997.
- Louw, H.A. and D.M. Webley. 1958. A plate method for estimating the numbers of phosphate-dissolving and acid-producing bacteria in soil. Nature, 182, 1317.
- Louw, H.A. and D.M. Webley. 1959. A study of soil bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds. J. appl. Bact. 22: 227-233.
- Lynch, J.M. 1983. Soil Biotechnology: Blackwell Sci. Pub. Co., London. 191 p.
- Moghimi, A. and M.E. Tate. 1978. Does 2-ketogluconate chelate calcium in the pH range 2.4 to 6.4. Soil Biol. Biochem. 10: 289-292.
- Mullen, M.D. 1998. Transformation of other elements. p. 369-386. *In* Silvia *et al.* (Ed.). Principles and Application of Soil Microbiology. Prentice Hall. New Jersey.
- Mumpton, F.A. 1984. The Role of Natural Zeolites in Agriculture. J. Animal. Sci. 12: 3-24.
- Nagarajah, S., A.M. Posneer, and J.P. Quirk. 1970. Description of phosphate from kaolinite by citrate and bicarbonate. Soil Sci. Am. J. 32: 507-510.
- Paul, E.A. and F.E. Clark. 1989. Phosphorus transformation in soil. *In* Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publ.n New York.

- Patten, C.L. and B.R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42: 207-220.
- Pietr, S.J., B. Karon, and M. Stankiewicz. 1991. Influence of rock phosphate-dissolving rhizobacteria on the growth and P-uptake by cereals: Preliminary results. p. 81-84. *In* C. Keel, B. Koller, and G. Defago (Eds.). *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Progress and Prospects*. The Second International Workshop on PGPR. Interlaken, Switzerland, October 14-19, 1990.
- Premono, M.E., R. Widyastuti, dan I. Anas. 1991. Pengaruh bakteri pelarut fosfat terhadap senyawa P sukar larut, ketersediaan P tanah dan pertumbuhan jagung pada tanah masam. Makalah Pertemuan Ilmiah Tahunan, Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Bogor, 2-3 Desember 1991 (Tidak dipublikasikan).
- Premono, M.E., R. Widyastuti, dan I. Anas. 1992. Pengaruh bakteri pelarut fosfat terhadap serapan kation unsur mikro tanaman jagung pada tanah masam. Makalah Pertemuan Ilmiah Tahunan, Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Bandung, 31 Juli-1 Agustus 1992.
- Premono, M.E. dan R. Widyastuti. 1994. Stabilitas *Pseudomonas putida* dalam medium pembawa dan potensinya sebagai pupuk hayati. *Hayati* 1 (2): 55-58.
- Prihatini, T., S. Komariah, A. Hamzah, dan E. Suhaeti. 1997. Penambahan residu P secara biologis di lahan sawah. hlm. 89-98 *Dalam* *Prosiding Penelitian Tanah*.
- Rao, A.V., B. Venkateswarin, and P. Kami. 1982. Isolation of a phosphate dissolving soil actinomycete. *Curr. Sci.* 51: 1.117-1.118.
- Saleh, H.M., A.I. Yahya., A.M. Abdul-Rahem, and H. Munam. 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.
- Santosa, E., T. Prihatini, S. Widati, dan Sukristiyonubowo. 1997. Pengaruh bakteri pelarut fosfat dan fosfat alam terhadap beberapa sifat tanah dan respon tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea*. L). *Dalam* *Prosiding Seminar Nasional Pupuk, HITI-Universitas Lampung*.
- Sen, A. and N.B. Paul. 1957. Solubilization of phosphatase by some common soil bacteria. *Curr. Sci.* 26: 2-22.
- Shale, A.J. 1978. *MacGraw Fundamental Principles of Bacteriology*. 7^{ed}. MacGraw-Hill Publ. Co. Ltd. New Delhi. 226 p.
- Soepardi, G. 1983. *Sifat dan Ciri Tanah*. Institut Pertanian Bogor. 591 hlm.

- Sunarlim, N., S. Hutami, and R. Saraswati. 2000. Aplikasi pupuk mikroba pelarut fosfat pada tanaman jagung di tanah Podsolik Merah Kuning. *Dalam* Prosiding Seminar Tahunan Agronomi.
- Sundara Rao, W.V.B. and M.K. Sinha. 1963. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. *Indian J. Agric. Sci.* 33: 272-278.
- Suh, J.S., S.K. Lee, K.S. Kim, and K.Y. Seong. 1995. Solubilization of insoluble phosphates by *Pseudomonas putida*, *Penicillium* sp. and *Aspergillus niger* isolated from Korean Soils. *J.Kor. Soc. Soil Sci. Fert.* 28(3): 278-286.
- Taha, S.M., and S.A.Z. Mahmoud, A.H. El-Damaty, and A.M. Abd. El-Hafez. 1969. Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. *Plant Soil* 31(1): 149-160.
- Thomas, G.V. 1985. Occurrence and availability of phosphate-solubilizing fungi from coconut plant soils. *Plant Soil* 87: 57-364.
- Whitelaw, M.A., R.J. Harden, and K.R. Helyar. 1999. Phosphate solubilization in culture by soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biol. Biochem.* 31: 655-665.
- Waksman, S.A. and R.L. Starkey. 1981. *The Soil and The Microbe*. John Wiley and Sons, Inc. New York.