

## **Solubilisasi Fosfat Anorganik oleh *Burkholderia spp.* pada Rizosfer Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Tanah Mineral Masam**

*Solubilization of Inorganic Phosphate by Burkholderia spp. Associated with Oil Palm Rhizosphere in Mineral Acid Soil*

Gregorius Baskara Aji Nugraha<sup>1\*)</sup>, Ruli Wandri<sup>1</sup>, Dwi Asmono<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Riset dan Pengembangan, PT. Sampoerna Agro, Tbk., Palembang, 30127

<sup>\*</sup>Penulis untuk korespondensi: [baskara.anugraha@gmail.com](mailto:baskara.anugraha@gmail.com)

### **ABSTRACT**

Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) play important role by enhancing phosphate availability bounded with  $Al^{3+}$  or  $Fe^{3+}$  in acidic soils to oil palm plants through release the inorganic phosphate by enzyme or organic acids solubilization. The aims of this study were to isolate of PSB from oil palm rhizosphere and to conduct a comparative analysis of the solubility inorganic phosphates source by selected PSB. The ability of 15 selected PSB to grow and solubilize aluminum phosphate ( $AlPO_4$ ) and iron phosphate ( $FePO_4$ ) was examined and identified. The highest phosphate solubilizing efficiency showed K3.1 isolate with phosphate solubilization index 3.2 on NBRIP media. Quantitative analysis revealed that isolate K3.1 solubilized 53.52 mg/mL phosphate in 5 days after being inoculated in  $AlPO_4$  containing liquid medium, isolate A4 solubilized 63.45 mg/mL phosphate in 5 days after being inoculated in  $FePO_4$  containing liquid medium accompanied by a decrease in pH of the growth medium. Based on the 16s rRNA gene sequence analysis, isolate K3.1 and A.4 were closely related to *Burkholderia arboris* and *Burkholderia gladioli*. This potential isolates can be used in order to make oil palm crops more sustainable especially on marginal soil with low pH and less dependent on inorganic P fertilizers.

Keywords:  $AlPO_4$ ; bacteria;  $FePO_4$ ; NBRIP; 16S rRNA

### **ABSTRAK**

Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) berperan penting dengan meningkatkan ketersediaan fosfat yang terikat kompleks dengan  $Al^{3+}$  atau  $Fe^{3+}$  di tanah masam bagi tanaman kelapa sawit melalui mekanisme pelarutan dengan menggunakan enzim maupun asam organik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi BPF dari rizosfer kelapa sawit dan melakukan analisis komparatif sumber kelarutan fosfat anorganik oleh BPF yang dipilih. Kemampuan 15 isolat BPF terpilih dalam melarutkan aluminium fosfat ( $AlPO_4$ ) dan besi fosfat ( $FePO_4$ ) sudah diteliti dan diidentifikasi. Efisiensi pelarut fosfat tertinggi ditunjukkan isolat K3.1 dengan indeks pelarutan fosfat sebesar 3.2 pada media NBRIP. Pada pengujian kuantitatif, isolat K3.1 melarutkan 53,52 mg/mL fosfat dalam 5 hari setelah diinokulasi dalam media cair yang mengandung  $AlPO_4$ , isolat A4 melarutkan 63,45 mg/mL fosfat dalam 5 hari setelah diinokulasi dalam media cair yang mengandung  $FePO_4$ . Berdasarkan analisis urutan gen 16S rRNA, isolat K3.1 dan A.4 terkait erat dengan *Burkholderia arboris* dan *Burkholderia gladioli*. Isolat potensial ini dapat digunakan untuk membuat pupuk hayati bagi tanaman kelapa sawit terutama pada tanah marginal dengan pH masam dan mengurangi ketergantungan terhadap pupuk P anorganik.

Kata kunci:  $AlPO_4$ ; bakteri;  $FePO_4$ ; NBRIP; 16S rRNA

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan salah satu komoditas unggulan Indonesia karena menghasilkan devisa terbesar dari sektor perkebunan. Kebutuhan minyak nabati dari kelapa sawit untuk industri pangan dan bahan bakar (*biodiesel*) mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk di dunia (Euler *et al.*, 2017; Hoffmann *et al.*, 2017). Perkebunan kelapa sawit di Indonesia merupakan yang terluas di dunia, namun produktivitasnya cukup rendah. Salah satu penyebabnya adalah rendahnya efisiensi pemupukan pada perkebunan kelapa sawit terutama unsur fosfor (Acevedo *et al.*, 2014; Istina *et al.*, 2015).

Fosfor (P) adalah unsur hara makro esensial yang berperan penting bagi pertumbuhan terutama tanaman kelapa sawit. Tanaman yang mengalami defisiensi unsur ini berpotensi terhambat pertumbuhan tanamannya sehingga dapat menyebabkan penurunan produksi (Sarker, Talukder, dan Islam, 2014). Kandungan P pada tanah - tanah suboptimal berada dalam jumlah yang sedikit dan sulit larut di dalam air sehingga diperlukan pemupukan P. Pemupukan P pada lahan pertanian yang dilakukan secara intensif menyebabkan tanah menjadi jenuh P. Efisiensi pemupukan P hanya berkisar antara 10% - 30% pada tanah - tanah masam dengan kelarutan Al dan Fe yang tinggi (Panda, Rahman dan Panda, 2016; Zheng *et al.*, 2019). Beberapa mikroorganisme seperti bakteri dan jamur memiliki kemampuan untuk melarutkan P di dalam tanah agar tersedia bagi tanaman. Peran bakteri dalam melarutkan P lebih banyak digunakan karena bakteri juga mampu menghasilkan senyawa lain seperti asam amino, vitamin dan hormon pemacu tumbuh seperti gibberelin dan IAA yang berguna bagi pertumbuhan tanaman (Shahid dan Khan, 2018; Teng *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2019)

Mekanisme kerja bakteri pelarut fosfat (BPF) dalam melarutkan P yang berasal dari tanah maupun P dari aktivitas

pemupukan pada suatu lahan pertanian didasarkan kemampuan bakteri dalam mensekresikan asam-asam organik seperti asam sitrat, asam format, asam oksalat, asam laktat, asam asetat, dan, asam malat. Peningkatan asam organik biasanya diikuti dengan pembentukan kelat dari Al, Fe dan Ca oleh asam organik tersebut sehingga P dapat larut sehingga P tersedia bagi tanaman meningkat (Behera *et al.*, 2014; Chakdar *et al.*, 2018; Shahid dan Khan, 2018). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi BPF dari rizosfer tanaman kelapa sawit yang unggul berdasarkan kemampuannya melarutkan fosfat yang tidak tersedia untuk tanaman, dan mengidentifikasinya menggunakan teknik molekuler berbasis gen 16S rRNA

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel Tanah dan Isolasi Bakteri

Tanah rizosfer di sekitar tanaman kelapa sawit dikumpulkan dan dibawa ke laboratorium. Sampel tanah 10 g dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml dan dipindahkan ke 90 ml larutan 0,85% NaCl steril. Campuran kemudian dikocok selama 30 menit pada 150 rpm. Setelah pengocokan, 10 kali pengenceran suspensi dibuat dengan pipet 1 ml suspensi ke dalam 9 ml larutan NaCl 0,85% steril. Suspensi 0,1 ml sampel dari masing-masing pengenceran ini dituangkan ke cawan petri dengan media agar National Botanical Research Institute Fosfor (NBRIP) yang mengandung 10 g glukosa, 3 g  $\text{AlPO}_4$  atau 5 g  $\text{FePO}_4$ , 5 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g KCl, 0,1 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 10 g agar Gellan dalam air suling 1 L (Nautiyal, 1999). Kadar pH media disesuaikan menjadi 5 menggunakan HCl. Cawan petri diinkubasi selama 7 hari dalam inkubator pada 30° C. Koloni dengan zona halo dianggap bakteri pelarut fosfat. Bakteri ini selanjutnya dimurnikan dan disimpan dalam agar NBRIP pada suhu 30° C. Isolat yang digunakan untuk tahap selanjutnya berjumlah 15 isolat.

### Pengujian kualitatif dan kuantitatif pelarutan fosfat

Kultur bakteri berumur 48 jam yang ditumbuhkan sebelumnya diambil sebanyak 3 µl diinokulasikan pada media NBRIP padat dan diinkubasi selama 10 hari pada suhu ruang. Zona bening yang terbentuk diukur dan dihitung indeks pelarutan fosfatnya. Pengujian kuantitatif P yang dilarutkan oleh isolat bakteri terpilih (Peix *et al.*, 2001). Sebanyak 1 ose kultur bakteri diinokulasikan ke dalam 50 ml medium NBRIP cair, kemudian diinkubasi dalam inkubator goyang selama 48 jam. Setelah inkubasi, sebanyak 1 ml kultur diinokulasikan ke dalam 100 ml medium NBRIP cair dengan berbagai bentuk fosfat, dan diinkubasi dalam inkubator goyang selama 7 hari pada suhu 30° C. Setiap 24 jam, sebanyak 1 ml kultur bakteri disentrifugasi pada kecepatan 10.600 g selama 10 menit untuk memisahkan sel bakteri dari supernatan. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 1 ml dan direaksikan dengan pereaksi pembentuk warna (2.5 ml natrium molibdat 2.5% dan 1 ml hidrazin sulfat 0.3%), kemudian dipanaskan selama 10 menit dan didinginkan. Setelah terbentuk warna biru, aktivitas pelarutan P diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 830 nm. Kurva standar dibuat dengan menggunakan konsentrasi KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> untuk standar 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Setiap perlakuan diulang tiga kali dan data dinyatakan sebagai nilai rata-rata ± kesalahan standar (SE).

### Ekstraksi DNA, Amplifikasi PCR, dan Sekuensing Gen 16S rRNA

DNA genom diisolasi menggunakan kit DNA genomik QIAamp® mengikuti instruksi dari pabriknya dan gen 16SrRNA diamplifikasi menggunakan primer universal, 27 f (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') dan 1492 r (5' TACGGCTACCTTGTTACGACTT 3') yang merupakan pelengkap dari wilayah bakteri yang dilindungi untuk bakteri yang

dilindungi. Gen 16Sr RNA. Amplifikasi dilakukan dalam volume reaksi 25 µL yang mengandung instruksi dari pabrik berikut. Volume reaksi disesuaikan hingga 25 µL dengan air suling ganda. Kondisi siklus termal PCR terdiri dari langkah denaturasi awal pada 94 ° C selama 3 menit, diikuti oleh 30 siklus denaturasi (1 menit pada 94° C), anil selama 1 menit pada 57° C dan perpanjangan selama 2 menit pada 72° C, diikuti oleh ekstensi akhir pada 72° C selama 8 menit. Air suling ganda digunakan sebagai kontrol negatif untuk memeriksa false positive sebagai hasil kontaminasi reagen. Produk yang diamplifikasi PCR dipisahkan pada gel agarosa 1,0% dalam buffer 1X TBE pada 70 V cm-1 selama 20 menit. Gen 16S rRNA parsial dari isolat terpilih di masing-masing kelompok diurutkan oleh FIRSTBASE, Malaysia. Akhirnya, urutan 16S rRNA isolat dibandingkan dengan mikroorganisme lain dengan cara BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>).

## HASIL

### Pengujian Kualitatif dan Kuantitatif Pelarutan Fosfat

Strain bakteri yang diisolasi sebanyak 15 isolat mampu melarutkan kalsium fosfat yang ada dalam medium NBRIP dan membentuk zona bening dengan intensitas yang bervariasi (Gambar 1). Efisiensi Pelarut Fosfat (PSE) berdasarkan diameter koloni dan diameter zona halo untuk isolat bakteri ditunjukkan pada Gambar 2. Efisiensi Pelarut Fosfat tertinggi ditunjukkan isolat K3.1 (PSE = 3.2) diikuti oleh isolat A1 (PSE = 2.9).

Hasil penelitian ini (Tabel 1) menunjukkan bahwa isolat A.4 memiliki kemampuan tinggi dalam melarutkan besi fosfat 63,5 mg L-1 dan isolat K3.1 yang mampu melarutkan aluminium fosfat tertinggi dengan 53,5 mg L-1 larut fosfat. Sedangkan isolat K3.3 melarutkan fosfat yang berikatan dengan Ca dengan kelarutan 58,6 mg L-1.

### Ekstraksi DNA, Amplifikasi PCR, dan Sekuensing Gen 16SrRNA

Berdasarkan hasil sekuensing, ketiga isolat dimasukkan dalam genus *Burkholderia* spp. Isolat A.4 diidentifikasi

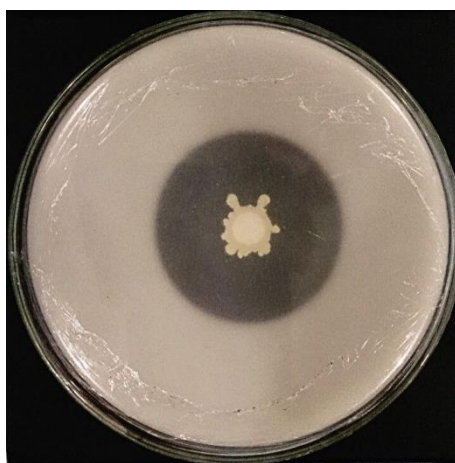
sebagai *Burkholderia gladioli*, isolat K3.1 diidentifikasi sebagai *Burkholderia arboris*, dan isolat K3.3 diidentifikasi sebagai *Burkholderia seminalis* (Gambar 3).

Tabel 1. Pelarut besi fosfat, aluminium fosfat, dan kalsium fosfat oleh isolat terpilih

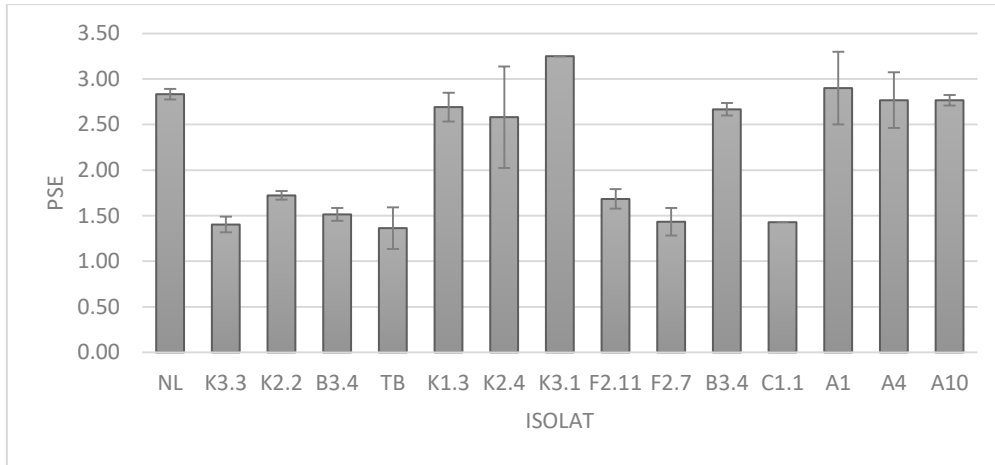
Isolat	Strengit-Besi Fosfat			Variscit-Alumunium Fosfat			Apatit-Kalsium Fosfat					
	Konsentrasi Fosfat Terlarut (mg L-1)			Konsentrasi Fosfat Terlarut (mg L-1)			Konsentrasi Fosfat Terlarut (mg L-1)					
A.1	5.5	±	0.25	a	1.7	±	0.44	a	6.3	±	6.31	a
A.10	7.3	±	0.19	b	45.0	±	1.98	i	51.7	±	51.73	h
A.4	63.5	±	2.28	h	4.6	±	0.18	b	57.7	±	57.70	kl
B3.10	49.1	±	1.71	e	7.6	±	0.14	d	56.4	±	56.43	jk
B3.4	4.1	±	0.03	a	22.7	±	1.25	e	26.7	±	26.72	d
C1.1	4.3	±	0.05	a	43.1	±	0.61	h	47.6	±	47.60	g
F2.11	22.1	±	0.56	c	0.7	±	0.36	a	22.1	±	22.05	c
F2.7	4.3	±	0.27	a	25.3	±	0.86	f	29.6	±	29.58	e
K1.3	4.2	±	0.29	a	48.7	±	1.29	j	54.6	±	54.58	i
K2.2	58.8	±	1.13	g	4.9	±	0.01	b	55.3	±	55.33	ij
K2.4	4.2	±	0.16	a	44.2	±	2.11	hi	47.7	±	47.72	g
K3.1	4.2	±	0.13	a	53.5	±	1.21	k	57.1	±	57.06	k
K3.3	53.6	±	1.99	f	6.3	±	0.13	bc	58.6	±	58.58	l
NL	4.6	±	0.13	a	36.1	±	1.52	g	39.3	±	39.34	f
TB	30.2	±	0.89	d	15.7	±	0.14	d	13.1	±	13.12	b

Keterangan :

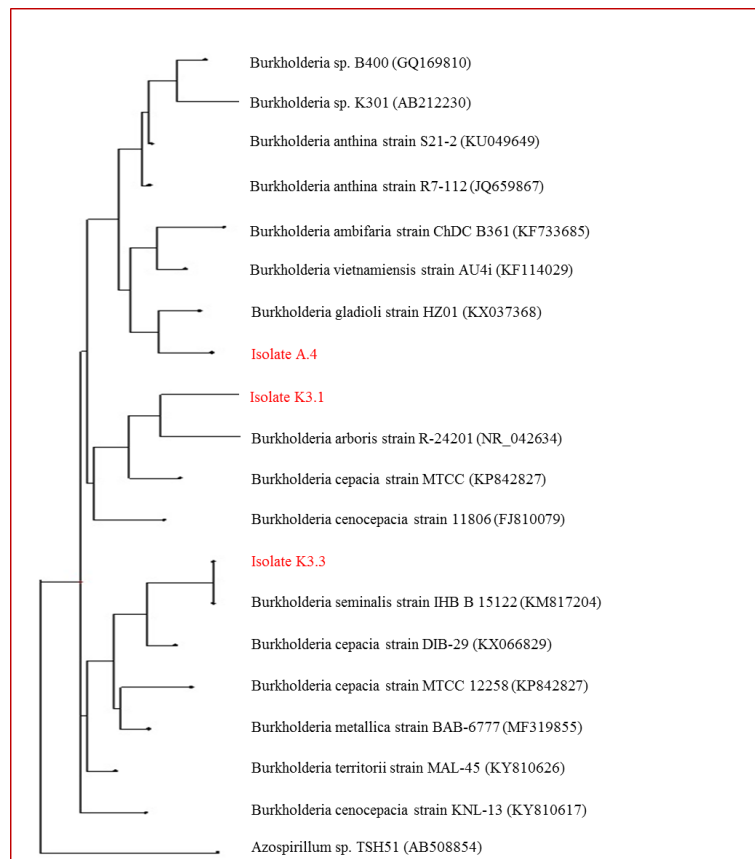
Angka yang di ikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%



Gambar 1. Uji kualitatif bakteri pelarut fosfat isolat K3.1 pada media NBRIP suhu inkubasi 30° C selama 10 hari.



Gambar 2. Efisiensi Pelarut Fosfat (PSE) pada beberapa isolat setelah 10 hari masa inkubasi.



Gambar 3. Pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan antara bakteri pelarut fosfat (BPF) dari rizosfer kelapa sawit berdasarkan urutan gen 16S r.

## PEMBAHASAN

Mikroba pelarut fosfat adalah mikroba yang memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat tak larut menjadi fosfat larut sehingga menjadi bentuk yang tersedia dan dapat diserap oleh tanaman. Mekanisme dari mikroba pelarut fosfat secara umum adalah dengan mensekresikan asam-asam organik jenis tertentu sehingga fosfat yang terikat dengan unsur logam seperti Ca, Al, maupun Fe dapat terlepas. Mikroba yang dapat melarutkan fosfat berasal dari kelompok bakteri, fungi, maupun aktinomisetes (Tam, 2017).

Seluruh isolat hasil isolasi dilakukan pengujian kualitatif dalam pelarutan fosfat dengan substrat  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$  (Qian et al., 2010). Isolat diuji pada media NBRIP modifikasi kemudian ditumbuhkan pada suhu 27°C selama 10 hari dengan pengukuran indeks zona pelarutan dilakukan setiap hari. Hasil ditampilkan pada grafik di bawah ini:

Pada pengujian secara kualitatif didapatkan bahwa isolat yang digunakan dalam penelitian ini mampu menunjukkan zona bening dengan zona pelarutan yang cukup tinggi. Selanjutnya, dilakukan pengujian secara kuantitatif pelarutan fosfat dengan menggunakan spektrofotometer. Pada pengujian ini dihitung kadar fosfat pada media sebelum dan sesudah diinokulasikan dengan isolat BPF. Kadar fosfat yang mengalami peningkatan selama 10 hari inkubasi menunjukkan aktivitas pelarutan fosfat yang tinggi (Li et al., 2017).

Pada tanah masam, kelarutan Al dan Fe sangat tinggi sehingga ion fosfat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) akan segera terikat untuk membentuk senyawa P yang kurang tersedia untuk tanaman. Penggunaan pelarut fosfat mikroba masih menghadapi beberapa kendala seperti faktor tanah, karena masing-masing jenis tanah memiliki bentuk fosfat yang berbeda seperti di tanah didominasi asam fosfat yang didominasi oleh Al-P, Fe-P atau tertambat-P.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat A.4 memiliki kemampuan tinggi dalam melarutkan besi fosfat 63,5 mg L<sup>-1</sup> dan K3.1 isolat yang mampu melarutkan fosfat aluminium tertinggi dengan 53,5 mg L<sup>-1</sup> fosfat terlarut.

Pohon filogenetik menunjukkan hubungan antara bakteri pelarut fosfat (PSB) dari rhizosfer kelapa sawit dalam penelitian ini dan kerabat filogenik terdekat mereka berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA. *Burkholderia* adalah kelompok bakteri yang mampu melarutkan P dengan memproduksi asam organik (Rodríguez and Fraga, 1999; Saikia et al., 2018) dan biasanya dilaporkan sebagai pertumbuhan PGPR yang mempromosikan rhizobakteria) yang mampu menghasilkan zat yang tumbuh seperti IAA (Grichko and Glick, 2001). *Burkholderia* dikenal sebagai bakteri fiksasi N dan memiliki kemampuan (Stephen and Jisha, 2011; Wahdi, Mubarak and Widyastuti, 2016). *Burkholderia* adalah bakteri efisien yang digunakan sebagai pupuk hayati di lahan pertanian (Nautiyal, 1999). Dalam penelitian ini, sampel tanah rhizosfer dari tanaman kelapa sawit disaring untuk isolasi PSB. Di antara 15 isolat pelarut fosfat, dua PSB efisien dipilih untuk studi solubilisasi anorganik. Menurut analisis urutan 16S rRNA, strain diidentifikasi sebagai *Burkholderia* spp. Laporan sebelumnya juga menggambarkan beberapa *Burkholderia* sebagai pelarut fosfat yang efisien (Fuentes-Ramí et al., 2001; Peix et al., 2001; Sin and Viruel, 2011).

## KESIMPULAN

Isolat A.4 memiliki kemampuan tinggi dalam melarutkan besi fosfat 63,5 mg L<sup>-1</sup> dan isolat K3.1 yang mampu melarutkan aluminium fosfat tertinggi dengan 53,5 mg L<sup>-1</sup> larut fosfat. Sedangkan isolat K3.3 melarutkan fosfat yang berikatan dengan Ca dengan kelarutan 58,6 mg L<sup>-1</sup>. Isolat A.4 diidentifikasi sebagai *Burkholderia gladioli*, isolat K3.1 diidentifikasi sebagai *Burkholderia arboris*,

dan isolat K3.3 diidentifikasi sebagai *Burkholderia seminalis*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Semua bagian dalam penelitian ini didukung oleh Departemen Riset dan Pengembangan, PT. Sampoerna Agro, Tbk.

### DAFTAR PUSTAKA

- Acevedo E. *et al.* 2014. 'Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia', *Applied Soil Ecology*, 80:26–33. doi: 10.1016/j.apsoil.2014.03.011.
- Behera BC. *et al.* 2014. 'Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove-A review', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Elsevier, 3(2):97–110. doi: 10.1016/j.bcab.2013.09.008.
- Chakdar H. *et al.* 2018. 'Characterization of mineral phosphate solubilizing and plant growth promoting bacteria from termite soil of arid region', *3 Biotech*. Springer International Publishing, 0(0), p. 0. doi: 10.1007/s13205-018-1488-4.
- Euler M. *et al.* 2017. 'Oil Palm Adoption, Household Welfare, and Nutrition Among Smallholder Farmers in Indonesia', *World Development*. Elsevier Ltd, 93: 219–235. doi: 10.1016/j.worlddev.2016.12.019.
- Fuentes-Ramı LE. *et al.* 2001. 'Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Gluconacetobacter johanne* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, pp. 1305–1314. doi: 10.1099/00207713-51-4-1305.
- Grichko VP, Glick BR. 2001. 'Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria', *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(1):11–17. doi: 10.1016/S0981-9428(00)01212-2.
- Hoffmann MP. *et al.* 2017. 'Yield gap analysis in oil palm: Framework development and application in commercial operations in Southeast Asia', *Agricultural Systems*. Elsevier Ltd, 151, pp. 12–19. doi: 10.1016/j.agsy.2016.11.005.
- Istina IN. *et al.* 2015. 'Phosphate-solubilizing Microbe from Saprist Peat Soil and their Potency to Enhance Oil Palm Growth and P Uptake', *Procedia Food Science*. Elsevier Srl, 3, pp. 426–435. doi: 10.1016/j.profoo.2015.01.047.
- Li Y. *et al.* 2017. 'Colonization and Maize Growth Promotion Induced by Phosphate Solubilizing Bacterial Isolates'. doi: 10.3390/ijms18071253.
- Nautiyal CS. 1999. 'An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms', 170(436), pp. 265–270.
- Panda B, Rahman H, Panda J. 2016. 'Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens', *Rhizosphere*. Elsevier, 2, pp. 62–71. doi: 10.1016/j.rhisph.2016.08.001.
- Peix A. *et al.* 2001. 'Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions', 33, pp. 1927–1935.
- Qian, Y. *et al.* 2010. 'Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria in Sediments from a Shallow Eutrophic Lake and a Wetland: Isolation, Molecular Identification and Phosphorus Release Ability Determination', pp. 8518–8533. doi: 10.3390/molecules15118518.

- Rodríguez H, Fraga R. 1999. 'Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion', 17, pp. 319–339.
- Saikia J. *et al.* 2018. 'Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India', *Scientific Reports*. Springer US. 8(1):1–16. doi: 10.1038/s41598-018-21921-w.
- Sarker A, Talukder NM, Islam T. 2014. 'Phosphate solubilizing bacteria promote growth and enhance nutrient uptake by wheat', 1, pp. 86–93. doi: 10.1080/00207729508929050.
- Shahid M, Khan MS. 2018. 'Glyphosate induced toxicity to chickpea plants and stress alleviation by herbicide tolerant phosphate solubilizing *Burkholderia cepacia* PSBB1 carrying multifarious plant growth promoting activities', 3 *Biotech*. Springer Berlin Heidelberg, 8(2):1-17. doi: 10.1007/s13205-018-1145-y.
- Sin F, Viruel E. 2011. 'Plant growth promotion traits of phosphobacteria isolated from Puna, Argentina', pp. 489–496. doi: 10.1007/s00203-011-0692-y.
- Stephen J, Jisha MS. 2011. 'Gluconic acid production as the principal mechanism of mineral phosphate solubilization by *Burkholderia* sp. (MTCC 8369)', 49(Mtcc 8369), pp. 99–103.
- Tam HM. 2017. 'Isolation and Identification of Rhizospheric Bacteria in Sugarcane (*Saccharum* spp. L.) Cultivated on Acrisols of Tay Ninh Province, Vietnam', 8(2): 323–335.
- Teng Z. *et al.* 2018. 'Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soils of the Yeyahu Wetland in Beijing, China', *Environmental Science and Pollution Research*. Environmental Science and Pollution Research. doi: 10.1007/s11356-018-2955-5.
- Wahdi E, Mubarik NR, Widyastuti R. 2016. 'Characterization of Phosphate Solubilising Bacteria from Limestone Quarry in Cirebon Indonesia'. 11(4):312–317.
- Zheng B-X. *et al.* 2019. 'Responses to soil pH gradients of inorganic phosphate solubilizing bacteria community', *Scientific Reports*, 9(1):25. doi: 10.1038/s41598-018-37003-w.