

高效溶磷菌株 Bmp5 筛选及活力和培养条件的研究

张毅民¹, 孙亚凯¹, 吕学斌¹, 但汉斌², 王 虹¹

(1 绿色合成与转化教育部重点实验室, 天津大学 化工学院, 天津 300072)

2 纽约城市大学 莱曼学院 生物科学系, 纽约 10468)

摘要: 从不同地区的土壤样品中分离出 11 株微生物菌株, 其中菌株 Bmp5 表现出较高的溶磷活力. 对比研究发现, Bmp5 对磷酸钙、磷酸铁、卵磷脂的溶解能力明显高于荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* As1 867 对磷酸氢钙的溶磷量是巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium* As1 223 的 2.17 倍. 培养条件优化试验表明, Bmp5 的适宜 pH 范围为 5.5~8.0 最适碳源为草酸铵、甘油, 最适氮源为草酸铵, 最佳培养温度为 35℃. 金属离子 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 对 Bmp5 解磷能力有一定的促进作用, 而 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 则抑制其解磷. 经鉴定, Bmp5 为蜡状芽孢杆菌 *B. cereus*.

关键词: 溶磷微生物; 溶磷量; 溶磷率; 培养条件

中图分类号: Q93

文献标识码: A

文章编号: 1004-411X(2006)03-0061-05

Isolation of the High Efficiency Phosphate Solubilization Bacterium Bmp5 and Its Activity and Culture Conditions

ZHANG Yi-min¹, SUN Ya-kai¹, LÜ Xue-bin¹, DAN Han-bin², WANG Hong¹

(1 Key Laboratory for Green Chemical Technology of State Education Ministry College of Chemical Engineering and Technology Tianjin University Tianjin 300072 China)

2 Department of Biological Sciences Lehman College City University of New York New York 10468 USA)

Abstract Eleven strains of phosphate solubilization microorganisms were isolated from different district soil samples. Among them, Bmp5 showed the highest phosphate solubilizing activity. The phosphate solubilization capacity of Bmp5 in calcium orthophosphate, ferric phosphate and lecithin were significantly higher than that of *Pseudomonas fluorescens* As1 867; while the phosphate solubilization capacity in calcium hydrogen phosphate was 1.17 times higher than that of *Bacillus megaterium* As1 223. The optimized culture conditions of the highest phosphate solubilizing activity were pH at 5.5-8.0 using ammonium oxalate, glycerol as carbon source, ammonium oxalate as nitrogen source and temperature at 35℃. The phosphate solubilizing activity further increased in the presence of the Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} in the medium, but decreased in the presence of Cu^{2+} , Ni^{2+} . Bmp5 was identified as *B. cereus*.

Key words phosphate solubilization microorganism; phosphate solubilization capacity; phosphate solubilization efficiency; culture conditions

磷是作物生长发育所必需的重要元素, 而在农业生态系统中大量的磷以不溶形态存在. 尽管可通过施入磷肥来满足作物生长需要, 但是大部分磷会与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 等反应生成难溶的磷酸盐沉积, 使土壤板结, 土壤缺磷状况仍得不到根本缓

解^[1-3]. 将加入溶磷微生物的磷矿粉作为磷肥施入土壤, 溶磷微生物通过自身代谢可促进难溶磷的溶解, 使之变为可供植物直接吸收利用的磷形态, 同时, 还可降低肥料成本, 对环境进行微生物修复, 提高作物产量, 是解决土壤中磷缺乏的重要途径之一. 目前,

收稿日期: 2005-09-20

作者简介: 张毅民 (1961-), 男, 副教授, 博士, Email: Zhangym001@263.net

基金项目: 山西省科委一般资助项目 (030024)

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

已投入工业应用并取得较好田间试验效果的溶磷微生物主要有巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium* 及其变种、荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* 等^[4-6]。由于溶磷微生物受根际微生物及土壤条件影响,在土壤中存活能力受到限制,同时溶磷微生物自身也存在老化问题,因此,从土壤根际中筛选高活性微生物及其溶磷活力的研究仍然是土壤微生物研究领域重要研究课题。本研究从土壤根际中筛选出具有较强溶磷活力的菌株 Bmp5 并与对照菌株荧光假单胞菌 As1.867 和巨大芽孢杆菌 As1.223 的活力进行了比较,对 Bmp5 的培养条件进行了优化研究,为其工业化的应用提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤 样品取自天津郊区农田、湖边及树林,河北武邑县农田及树林,安徽池州殷家汇菜园。

1.1.2 培养基 菌株保存活化用肉汤蛋白胨培养基^[7]。液体发酵用 Pikovskaya 解无机磷培养基^[8]: 葡萄糖 10.0 g (NH₄)₂SO₄ 0.5 g NaCl 0.3 g KCl 0.3 g FeSO₄ · 7H₂O 0.3 g MgSO₄ · 7H₂O 0.3 g MnSO₄ · 4H₂O 0.03 g 酵母膏 0.4 g Ca₃(PO₄)₂ 10.0 g 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0~7.5

1.1.3 对照菌株 对照菌株荧光假单胞菌 As1.867 和巨大芽孢杆菌 As1.223 由中国科学院微生物贮藏中心提供。

1.2 溶磷微生物的筛选

用稀释平板培养法分离。称取 1 g 土样溶于 99 mL 无菌水中,用 10 倍稀释法分别配制 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ g/mL 的土壤溶液,分别接种到 Pikovskaya 解无机磷培养基平板上,涂布均匀,30℃培养 5~7 d 观察出现溶磷圈的菌落。将溶磷圈较大的菌株利用平板划线法分离纯化后,4℃下保存于斜面培养基。

1.3 微生物溶磷能力研究

将配制的 Pikovskaya 解无机磷液体培养基 50 mL 装于 300 mL 锥形瓶中,121℃灭菌 20 min 冷却后用接种环各挑 2 环斜面菌株接入培养基中,每株菌各做 3 次重复,同时以不接菌的摇瓶作为空白对照,在 30℃、160 r/min 摇床培养 7 d 后,用 pHS-29A 型酸度计测定发酵液的 pH 值。将发酵液在 4 000 r/min 下离心 30 min 取上清液稀释适当倍数,利用 UV3010 紫外可见分光光度计在 886 nm 处通过钼锑抗比色法^[9]测定光密度并计算有效磷含量。有效磷含量以溶磷量和溶磷率表示。溶磷量为扣除空白对照

值 1 L 上清液中可溶性磷的含量,单位为 mg · L⁻¹。溶磷率为 100 g 难溶磷所溶解出来的水溶性磷量。

1.4 高效菌株的对照试验

取实验室保存的菌株 Bmp5 As1.867 As1.223 转接于肉汤蛋白胨斜面培养基,于 30℃培养 1 d 用无菌水冲洗斜面,制成菌悬液,调节浓度约为 10⁹ cfu/mL 配制 Pikovskaya 解无机磷培养基,另外分别用磷酸铁 (12.088 g/L)、磷酸铝 (8.406 g/L)、磷酸氢钙 (11.096 g/L)、卵磷脂 (0.500 g/L) 替代原培养基中磷酸钙作为磷源,其他成分不变。其中当磷源采用卵磷脂时,另加入 CaCO₃ 5.000 g/L 按每瓶 50 mL 的装液量装入 300 mL 锥形瓶中,121℃灭菌 20 min 冷却后将 3 株菌的菌悬液按每瓶 4% 的接种量分别接入上述 5 种不同磷源的培养基中,每株菌各做 3 次重复,同时对不同磷源分别以不接菌的摇瓶作为空白对照,均于 30℃、160 r/min 条件下摇瓶培养 5 d 按 1.3 中所述的方法测定溶磷量和溶磷率。

1.5 菌株的形态观察、生理生化特性及分类鉴定

将 Bmp5 接种于肉汤蛋白胨平板培养基,30℃培养 48 h 后观察菌落生长情况及菌落特征;24 h 时取部分 Bmp5 染色制片,XSZ-G 型显微镜下观察菌体形态。菌株由中国农业科学院土壤肥料研究所鉴定。

1.6 高效菌株培养条件的优化

1.6.1 培养基初始 pH 用 1 mol/L 的 HCl 溶液和 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 Pikovskaya 解无机磷液体培养基初始 pH 分别为 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 如 1.4 所述方法接入 Bmp5 菌悬液,并分别作相应的空白对照,均于 30℃、160 r/min 摇瓶培养 5 d 按 1.3 中所述的方法测定溶磷量。

1.6.2 碳源 分别以蔗糖、麸皮、淀粉、草酸铵、醋酸铵、甘油、甘露醇、淀粉 5 g+乙醇 5 g 淀粉 5 g+麸皮 5 g、麸皮 5 g+乙醇 5 g 替代葡萄糖作为碳源物质,其他成分不变,配制 Pikovskaya 解无机磷液体培养基,调节各培养基的 pH 为 7.0 如 1.4 所述方法接入 Bmp5 菌悬液,并对不同碳源分别作相应的空白对照,均于 30℃、160 r/min 摇瓶培养 5 d 按 1.3 中所述的方法测定培养液的 pH 值和溶磷量。

1.6.3 氮源 分别以尿素 0.227 g/L 草酸铵 0.538 g/L 氯化铵 0.405 g/L 蛋白胨 0.884 g/L 柠檬酸铵 0.611 g/L 硝酸铵 0.364 g/L 硝酸钠 0.644 g/L 替代硫酸铵作为氮源物质,其他成分不变,配制 Pikovskaya 解无机磷液体培养基,调节各培养基的 pH 为 7.0 如 1.4 所述方法接入 Bmp5 菌悬液,并对不同氮源分别作相应的空白对照,培养、测定同 1.6.2

1.6.4 温度 将接好菌悬液的培养基分别控制温

度为 20、30、35、40、50 ℃, 并分别作相应的空白对照, 培养、测定同 1.6.2

1.6.5 金属离子 在 Pikovskaya 解无机磷液体培养基中分别加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 6.250 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7.175 g/L, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 6.775 g/L, CaCl_2 2.775 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4.225 g/L, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 4.575 g/L, 使其中金属离子浓度均为 0.025 mol/L, 调节各培养基 pH 为 7.0 如 1.4 所述方法接入 Bmp5 菌悬液, 同时对加入不同金属离子和未加金属离子的各个培养基分别作相应的不接菌液的空白对照, 培养、测定同 1.6.2

1.7 数据统计分析

所有数据均采用 SPSS12.0 进行分析.

2 结果与分析

2.1 单株菌活力

利用 Pikovskaya 解无机磷平板培养基, 从不同的土壤样品中筛选得到 11 株溶磷微生物, 通过液体发酵试验, 测定其溶磷活力, 结果见表 1. 结果表明 Bmp5 具有较高的溶磷能力, 故选择 Bmp5 作为目的菌株进一步考察.

表 1 菌株活力比较¹⁾

Tab. 1 Comparison in activities of the strains

菌株编号		最终 pH	溶磷量 phosphate	溶磷率 phosphate
strain	$D_{886\text{ nm}}$		solubilization	solubilization
number		final pH	capacity (mg L ⁻¹)	efficiency %
Bm p1	0 063 0	5. 02	197. 50	6 17
Fmp2	0 031 3	5. 63	125. 56	4 50
Fmp3	-0 003 7	5. 31	46. 06	1 54
Fmp4	0 072 0	4. 52	217. 94	7 00
Bm p5	0 189 3	3. 29	968. 50	30 67
Bm p6	0 318 6	3. 60	777. 50	22 68
Bm p7	0 142 7	3. 27	756. 88	25 23
Bm p8	0 012 7	5. 53	83. 31	2 43
Fmp9	0 203 0	4. 78	515. 38	16 11
Fmp10	0 027 0	5. 01	115. 81	3 38
Fmp11	0 000 2	5. 23	59. 00	2 11

1) $n=3$ $SE<0.02$

2.2 Bmp5 与对照菌株对不同磷源物质的活力比较

通过液体发酵试验比较 Bmp5 与对照菌株 As1.867 和 As1.223 对不同磷源物质溶解活力的差异, 结果见表 2. 由表 2 可以看出, 以磷酸钙为磷源时, Bmp5 的活力为 As1.867 的 124.9%, 为 As1.223 的 97.7%. Bmp5 对磷酸铝的溶解能力相对 2 株对照菌株要弱, 仅有 As1.223 的 18.1%. Bmp5 对于磷酸铁、卵磷脂的溶解能力较强, 都高于对照菌株. 而以磷酸

氢钙为磷源时, Bmp5 的溶磷量是 As1.867 的 85.7%, 是 As1.223 的 2.17 倍. 总体看来, Bmp5 有着较高的溶磷活力, 是一株有利用潜力的优良菌株. 表 2 的结果也表明, 不同微生物菌株对相同的磷源溶解效果差异很大, 同一菌株对不同磷源的溶解效果也不一致. 这可能是由微生物复杂的溶磷机制、磷源化学成分和结构差异等多种因素引起的^[10-11].

表 2 Bmp5 与对照菌株对不同磷源的溶解活力比较¹⁾

Tab. 2 Comparison in activities of Bmp5 As1.867 and As1.223 in different phosphate sources

菌株编号	溶磷量 phosphate solubilization capacity (mg· L ⁻¹)				
strain No	Ca ₃ (PO ₄) ₂	AlPO ₄	FePO ₄	CaHPO ₄	卵磷脂 lecithin
Bmp5	265.63	145.31	61.13	497.88	1.22
As1.867	212.75	149.31	48.93	581.19	0.81
As1.223	277.00	803.00	52.20	229.31	1.06

1) $n=3$ $SE<0.05$

2.3 菌株的形态观察、生理生化特性及分类鉴定

Bmp5 在肉汤蛋白胨培养基上生长速度快, 48 h 后观察到菌落呈乳白色, 具有蜡质光泽, 显微镜下观察到细胞杆状, 产生芽孢 (图 1). 生理生化试验结果显示: Bmp5 为革兰氏反应阳性, 氧化酶阳性, 能够利用葡萄糖产酸, 不能利用甘露醇、木糖、阿拉伯糖产酸, 不能利用葡萄糖产气; V-P 反应阳性; 明胶液化阳性; 尿素酶反应阳性. 将该菌株 16S rDNA 在序列 NCBI 中 BLAST 的结果与蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 的相似性为 99%. 经中国农业科学院土壤肥料研究所鉴定, Bmp5 为蜡状芽孢杆菌.

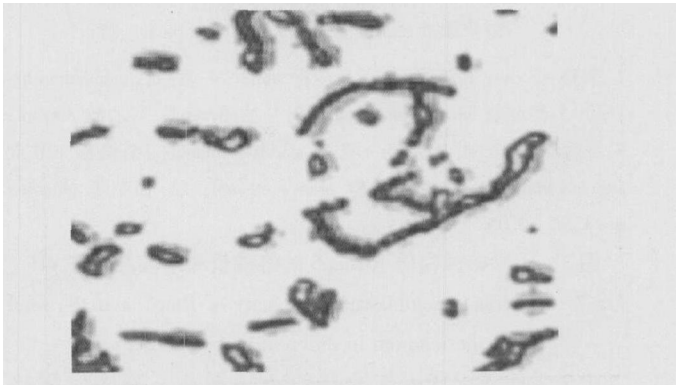


图 1 Bmp5 菌体形态照片 (×640)

Fig. 1 The photograph of the morphology of Bmp5 (×640)

2.4 Bmp5 培养条件的优化

2.4.1 培养基初始 pH 对 Bmp5 溶磷能力的影响
Bmp5 在培养液不同初始 pH 下的溶磷量如图 2 所示. 从图 2 可见, Bmp5 在 $\text{pH}<5.5$ 和 $\text{pH}>8.0$ 时, 溶磷活力有所下降; 在 $\text{pH} 5.5 \sim 8.0$ 内出现平台, 能有效地发挥其溶磷能力. 如此较广的适用范围, 有利于工业化培养和应用.

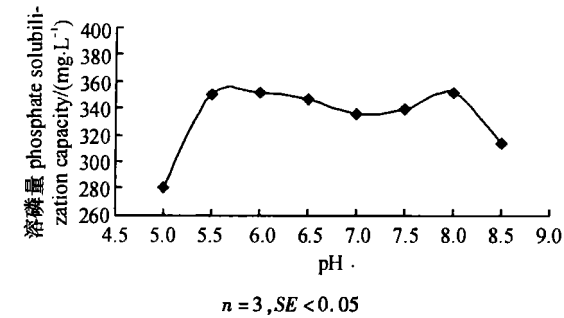


图 2 培养基初始 pH 对 Bmp5 溶磷能力的影响
Fig 2 Phosphate solubilization capacity of Bmp5 in different original medium pH

2 4 2 碳源对 Bmp5 溶磷能力的影响 液体发酵培养基中的氮源物质不变, 加入不同碳源物质, 测定培养液溶磷量, 结果如图 3 所示. 由图 3 可以看出, 在不同的碳源物质条件下, Bmp5 显示出不同的溶解磷酸盐能力. 当草酸铵和甘油为碳源时, 溶磷量较高. 单独以淀粉、麸皮为碳源时溶磷量较低. 而以淀粉 + 麸皮、淀粉 + 乙醇为碳源时, 溶磷量可达到相当高度. 因此, 从经济角度考虑, 这些组合为适合工业应用的碳源物质.

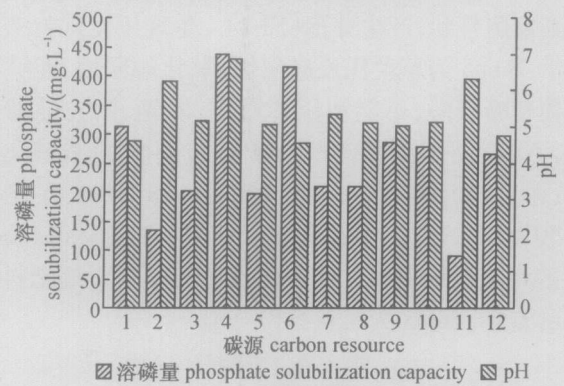


图 3 不同碳源物质下 Bmp5 的溶磷量和培养液最终 pH
Fig 3 Phosphate solubilization capacity of Bmp5 and the final pH of the medium in different carbon sources

2 4 3 氮源对 Bmp5 溶磷能力的影响 液体发酵培养基以葡萄糖为碳源, 加入不同氮源, 测定培养液溶磷量, 结果见图 4. 从图 4 可以看出, 不同的氮源物质对 Bmp5 的解磷能力影响较大. 以尿素、硝酸钠和蛋白胨为氮源时, 溶磷量很低; 以硫酸铵、柠檬酸铵、氯化铵、硝酸铵为氮源时, 溶磷量较高, 尤以草酸铵为氮源时, 溶磷量可达 475.19 mg/L, 比以硫酸铵为氮源时高出 120.3%, 为最适氮源. 试验中还发现草酸铵也是提高 Bmp5 溶磷活力的碳源物质 (图 3). 赵小蓉等^[12]和 Narsian 等^[13]研究发现碳源、氮源和

碳氮比的变化能极大地影响微生物代谢, 从而显著影响溶磷微生物的溶磷能力. Reyes 等^[14]认为, 氮源物质可以改变溶磷微生物产有机酸或释放 H^+ 的溶磷机制, 改变其溶磷能力. 在本研究中, 草酸铵为提高 Bmp5 溶磷能力的适宜碳源和氮源物质, 而其培养液最终 pH 值分别为 6.87、6.91, 明显高于其他碳、氮源物质, 说明以草酸铵为碳、氮源时, Bmp5 溶磷不遵循释放 H^+ 机理. 同样, 以柠檬酸铵为氮源时, 较高的溶磷量对应了较高培养液最终 pH 值. 而甘油为碳源情况下溶磷量较高, 培养液 pH 值却明显降低, 可能与 H^+ 排放有关. 碳、氮源对微生物溶磷机理的影响较为复杂, 不同碳、氮源物质可能诱使 Bmp5 遵循不同的溶磷机理.

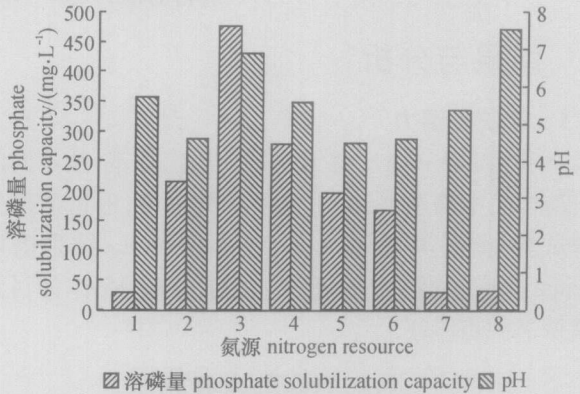


图 4 不同氮源条件下 Bmp5 的溶磷量和培养液最终 pH
Fig 4 Phosphate solubilization capacity of Bmp5 and the final pH of the medium in different nitrogen sources

2 4 4 温度对 Bmp5 溶磷能力的影响 测定 Bmp5 在不同温度下培养上清液的有效磷含量, 以温度对溶磷量作曲线 (图 5). 由图 5 可见, 溶磷量在 20 ~ 35 °C 时随温度升高而逐渐上升, 35 °C 达到最大, 超过 35 °C 以后就逐渐下降, 在 50 °C 时活力基本消失. 因此, 在 35 °C 左右, Bmp5 达到最佳溶磷状态.

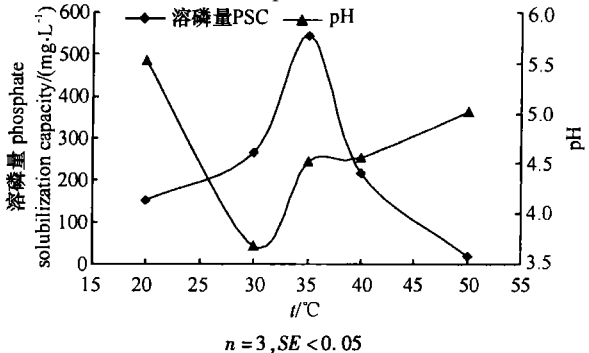


图 5 不同温度条件下 Bmp5 的溶磷量和培养液最终 pH
Fig 5 Phosphate solubilization capacity of Bmp5 and the final pH of the medium in different temperatures

2 4 5 金属离子对 Bmp5 溶磷能力的影响 在液体培养基中加入不同的金属离子, 考察金属离子对 Bmp5 溶磷活力的影响, 所得结果见图 6。由图 6 可以看出, Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 都可以提高 Bmp5 的溶磷活力, 当加入 Mn^{2+} 时, 溶磷量比在原 Pikovskaya 解无机磷液体培养基条件下培养提高了 47%, 而加入 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} , 使 Bmp5 的溶磷活力受到一定的抑制作用。林启美等^[15] 研究发现去掉培养基中的铁、锰、镁、钠等无机盐, 溶磷细菌 1TCR i7 和 2VCP 1 溶磷活力显著提高。而本试验菌株 Bmp5 的培养基中加入 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 溶磷活力反而提高。考察图 5 和图 6 中培养液的最终 pH 值和溶磷量的相互关系可得, 较低的 pH 值对应于较高的溶磷量, 金属离子、温度对溶磷活力的促进作用可能与 H^{+} 的释放有关。

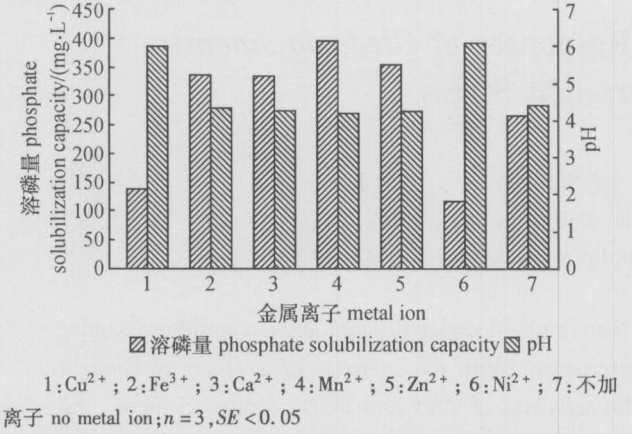


图 6 加入不同金属离子的 Bmp5 溶磷量和培养液最终 pH
Fig 6 Phosphate solubilization capacity of Bmp5 and the final pH of the medium in the presence of different metal ions in the medium

Bmp5 的培养条件优化试验可为其工业发酵过程提供参数依据, 但农作物根际土壤环境复杂, 营养成分相对缺乏, Bmp5 在土壤中生长及作用情况有待于进一步研究。

3 结论

从土壤中筛选出的生长较快, 溶磷活力较高的 Bmp5 对磷酸钙、磷酸铁、卵磷脂的溶解能力明显高于荧光假单胞菌 As1.867 对磷酸铝、磷酸氢钙的溶磷量分别为 As1.867 的 97.3%、85.7%。对磷酸氢钙的溶磷量是 As1.223 的 2.17 倍, 对磷酸铁、卵磷脂的溶解能力略高于巨大芽孢杆菌 As1.223, 但对磷酸钙、磷酸铝的溶磷量分别为 As1.223 的 97.7%、18.1%。

Bmp5 的适宜 pH 值范围是 5.5~8.0 最适碳、氮源物质均为草酸铵, 最佳培养温度为 35℃。加入 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} , 对其解磷能力有一定的促进作用, 而 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 会抑制其解磷。

经鉴定, Bmp5 为蜡状芽孢杆菌。

致谢: 感谢中国农业科学院土壤肥料研究所提供菌株鉴定报告。

参考文献:

[1] 周克琴, 王光华, 金剑, 等. 土壤微生物对提高植物磷素营养的作用 [J]. 农业系统科学与综合研究, 2003 19 (3): 232-236

[2] K M K Y, JORAN D, KRISHNAN H B. *Rahnella aquatilis* a bacterium isolated from soybean rhizosphere can solubilize hydroxyapatite [J]. FEMS Microbiology Letters 1997 153: 273-277.

[3] 刘丽丽, 陈立新, 王广朝, 等. 磷细菌 9320 SD 的溶磷动力学研究 [J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2002 35 (1): 28-32

[4] 李华, 王光华, 谷守玉, 等. 磷细菌突变株生理特性的研究 [J]. 高校化学工程学报, 1999 113 (3): 240-244

[5] SAHU S, NATARAJAN N, HARIK. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields [J]. Field Crops Research 2002 77: 43-49.

[6] 陈廷伟. 解磷巨大芽孢杆菌分类名称、形态特征及解磷性能述评 [J]. 土壤肥料, 2005 (1): 7-9

[7] 黄秀梨. 微生物学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1999 114

[8] 林启美, 王华, 赵小蓉, 等. 一些细菌和真菌的解磷能力及机理初探 [J]. 微生物学报, 2001 28(2): 26-29

[9] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000 76-78

[10] 钟传青, 黄为一. 不同种类解磷微生物的溶磷效果及其磷酸酶活性的变化 [J]. 土壤学报, 2005 42 (2): 286-294

[11] ILLMER P, SCHINNER F. Solubilization of inorganic calcium phosphates solubilization mechanisms [J]. Soil Biol Biochem 1995 27 (3): 257-263

[12] 赵小蓉, 林启美, 李保国. C/N 源及 C/N 比对微生物溶磷的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2002 8 (2): 197-204

[13] NARSIAN V, PATEL H. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer [J]. Soil Biol Biochem 2000 (32): 559-565

[14] REYES J, BERNIER L, SMARD R R, et al. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants [J]. FEMS Microbiology Ecology 1999 (28): 281-290

[15] 林启美, 赵海英, 赵小蓉. 4 株溶磷细菌和真菌溶解磷矿粉的特性 [J]. 微生物学通报, 2002 29 (6): 24-28

【责任编辑 李晚升】