

玉米根际溶磷细菌的分离、筛选及溶磷能力研究

白文娟, 胡蓉蓉, 章家恩, 冯丽芳, 徐华勤

(华南农业大学 农学院, 广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室,
农业部生态农业重点开放实验室, 广东 广州 510642)

摘要:采用传统的微生物分离培养法,对玉米根际溶磷细菌进行分离,筛选出38株解无机磷菌株和35株解有机磷菌株,并发现无论是细菌总数,还是溶磷细菌总数,根际土壤都比非根际土壤要多.对筛选获得的73株菌株进行菌落形态观察发现,大多数菌落呈乳白色或黄色、形状不规则或近圆形、光滑黏稠、扁平、不透明、边缘不整齐.进一步利用钼锑抗比色法测定其溶磷能力,发现无机磷菌株溶解的有效磷含量与培养液pH之间存在显著的相关性,有机磷菌株则无明显相关.各菌株溶解磷酸钙和卵磷脂的能力差异较大.无机磷菌株和有机磷菌株对无机磷(磷酸钙)和有机磷(卵磷脂)的溶磷量分别为8.88~108.31和0.51~3.53 mg/L.菌株中SWJ1-4和SWJ3-1溶解无机磷能力较强,RYJ1-6溶解有机磷能力较强,且这3株菌株生长快、生长状况良好,在后续微生物菌肥研制中具有较大潜力.

关键词:溶磷菌; 溶磷能力; 根际; 玉米
中图分类号:S154.36 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2013)02-0167-10

A Study on the Isolation, Screening and Phosphate Solubilizing Capacity of Phosphate Solubilizing Bacteria in the Rhizosphere of Corn

BAI Wenjuan, HU Rongrong, ZHANG Jiaen, FENG Lifang, XU Huaqin
(Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture of the People's Republic of China,
Key Laboratory of Agro-ecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions,
College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Phosphate-solubilizing bacteria were isolated from the rhizosphere of corn, and 38 strains of inorganic phosphate-solubilizing bacteria and 35 strains of organic phosphate-solubilizing bacteria were screened by using traditional method of isolation and culture of microorganisms. The number of both total bacteria and phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere soil was higher than that in the bulk soil. Major bacterial colony was milky or yellow, irregular or roughly round, smooth, thick, flat, non-transparent with ragged edge. Further study on phosphorus solubilizing capacity of the strains by Mo-Sb colorimetry method indicated that pH was significantly correlated with the content of available P of inorganic phosphate-solubilizing bacteria strains, but not correlated with that of organic phosphate-solubilizing bacteria strains. There were great differences between solubilizing calcium phosphate by inorganic phosphate-solubilizing bacteria and solubilizing lecithin by organic phosphate-solubilizing bacteria. Their phosphate-solubilizing capacity ranged from 8.88 to 108.31 and 0.51 to 3.53 mg/L, respectively. The strain SWJ1-4 and SWJ3-1 had a higher ability in solubilizing inorganic phosphate than other strains and strain RYJ1-6 had a higher capacity in solubilizing organic phosphate. The three strains had great potential in further development of microbiological fertilizer because of their stronger phosphate-solubilizing ability,

faster growth rate and better growing state.

Key words: phosphate-solubilizing bacteria; phosphate-solubilizing ability; rhizosphere; corn

磷是植物体生长代谢必需的大量元素之一,植物所利用的磷素主要来源于土壤,而土壤中 95% 以上的磷为无效磷,植物很难利用. 如何提高土壤磷素利用率,分离筛选出高效且具有溶磷作用的微生物菌株并制成微肥已成为近些年土壤学、农学和微生物学领域的研究热点之一. 土壤中存在大量的微生物,能够将植物难以吸收利用的磷转化为可吸收利用的形态,具有这种能力的微生物称为溶磷菌或解磷菌^[1],包括细菌、真菌和放线菌,广泛分布在根际、土壤和作物种子表面^[2]. 应用溶磷菌能够有效地提高农作物产量,对实现农业生态系统的可持续发展具有重要的理论和实践意义^[3-4].

玉米是我国主要的粮食作物之一,在农牧业生产和发展中有着非常重要的意义. 目前,国内外有关植物根际溶磷菌的研究较多,已涉及到红树林^[5-6]、红三叶^[7]、枸杞^[8]、苜蓿^[9-10]、红豆草^[10]、小麦、水稻、大豆、玉米^[11]等多种植物根际,但关于玉米根际溶磷菌的研究报道较少,仅见赵小蓉等^[12-13]对玉米根际与非根际解磷细菌分布特点和溶磷微生物的相关研究. 本试验通过对玉米根际溶磷菌的溶磷能力进行研究,以期筛选出优良溶磷菌株,为玉米产量的提高和微生物肥料研制提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集

供试土壤采自华南农业大学实验基地,在玉米开花期选择无病虫害的植株,分别采集根际和非根际土壤,根际土壤采集采用“抖根法”进行^[14]. 记录采集时间、地点、土壤性质和类型,各样品按常规方法分别混合后装入灭菌信封袋,带回实验室置于 4 ℃ 的冰箱内保存备用.

1.2 培养基

固体培养基为无机磷细菌培养基、卵黄培养基和 LB 培养基;液体培养基为蒙金娜无机磷培养基和蒙金娜有机磷培养基. 培养基制作方法见文献^[15].

1.3 溶磷细菌的分离与纯化

1.3.1 非根际土壤溶磷菌的分离与纯化 称取非根际土壤 10 g,放入盛有 90 mL 质量浓度为 8.5 g/L 灭菌生理盐水的三角瓶中,将盛有土样和玻璃珠的三角瓶在振荡机(转速为 160 r/min)上充分振荡 20 min,使土样均匀分散在生理盐水中成为土壤悬液.

用加样器吸取 1 mL 悬液至盛有 9 mL 灭菌生理盐水中,依次配备浓度为 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 的土壤稀释液. 吹吸 3 次,使之充分混匀,再从 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 稀释液中取 0.1 mL 溶液分别接种于磷酸钙盐无机磷培养基和卵黄培养基上(每个浓度在各培养基上重复 3 次),涂布于培养基表面,倒置约 20 min,并作好标记. 有机磷细菌在 28 ℃ 下培养 2 ~ 3 d,无机磷细菌培养 5 ~ 7 d. 具有透明圈的菌落视为具有溶磷活性的菌落. 同时计数细菌总数. 再经划线分离纯化,将提纯的菌株接种到斜面保存培养基上,置于 4 ℃ 的冰箱中培养保存待用.

1.3.2 根际土壤溶磷菌的分离与纯化 称取 10 g 根际土壤置于盛有 90 mL 无菌水的三角瓶中,振荡 15 min(160 r/min),制成悬液. 将悬浮液按“1.3.1”中的方法接种平板,培养计数. 再经划线分离纯化,将提纯的菌株接种到斜面保存培养基上,置于 4 ℃ 的冰箱中培养保存待用.

1.4 菌株溶磷能力测定

溶磷圈法^[10]: 将培养基制作成平板、分区,每区点植 1 个菌株,28 ℃ 培养 7 d,观察有无溶磷圈生成,测定溶磷圈直径(D)、菌落直径(d). 根据能否产生溶磷圈判断菌株有无溶磷能力;根据 D/d 大小初步确定菌株的溶磷能力. 同时观察并记录菌落的形状、大小、边缘结构、光泽、透明度、颜色等.

钼锑抗比色法^[13]: 于 150 mL 三角瓶中盛入液体培养基 50 mL,高压灭菌 20 min(121 ℃、101 kPa)备用. 分别接种每株溶磷菌的悬液 1 mL 于灭菌的液体培养基中,以不接菌为对照,每个处理 3 次重复,摇床培养(30 ℃、160 r/min)5 d,4 ℃ 条件下离心(无机溶磷菌 10 000 r/min、有机溶磷菌 12 000 r/min)15 min. 取适量的上清液,采用钼锑抗比色法测定其磷含量,并用酸度计测定其 pH.

1.5 数据处理

数据处理采用 Excel 和 SPSS 13.0 软件,利用邓肯氏新复极差检验法(Duncan's multiple range test,DMRT)进行方差分析,结果以“平均值 ± 标准误”表示.

2 结果与分析

2.1 玉米根际与非根际土壤溶磷细菌的数量

根际土壤不仅在物理和化学性质上与非根际土

壤存在极大的差异,而且在生物性质方面也有很大的区别,尤其是与植物生长发育有密切联系的微生物特性一直倍受关注. 已有研究表明,根际微生物的数量比非根际土壤要多,其比值(R/S)一般为10~100^[12]. 从表1可以看出,无论是细菌总数,还是溶磷细菌总数,根际土壤都比非根际土壤要多,细菌总数的 R/S 为10左右,有机磷细菌的 R/S 为7.4,而无机磷细菌的 R/S 为6.6,表现出明显的根际效应. 根际土壤中有机磷细菌数量比无机磷细菌数量要高

21.33%,而非根际土壤无机磷细菌数量与有机磷细菌数量几乎相同. 该结果与赵小蓉等^[12]的研究结果基本一致. 在“根际”这一特殊生态环境中,由于根系不断地向生长介质中分泌大量的有机物质,为根际微生物提供了丰富的营养,因此,根际土壤微生物在数量和种类上都比非根际多,其代谢活动也比非根际区旺盛. 此外,无论是根际还是非根际土壤,溶磷细菌数量要远远少于细菌总数,说明溶磷细菌只占细菌总数很少一部分,并不是根际土壤优势菌种.

表 1 玉米根际与非根际土壤溶磷细菌数量

Tab.1 Phosphate solubilizing bacleria in rhizosphere and non-rhizosphere soil of corn

Mcfu · g⁻¹

项目	有机磷细菌培养			无机磷细菌培养		
	有机磷细菌数	细菌总数	占比 ¹⁾ /%	无机磷细菌数	细菌总数	占比 ¹⁾ /%
根际土壤	5.80 ± 0.25	110.92 ± 3.65	5.2	4.78 ± 0.23	202.36 ± 5.22	2.4
非根际土壤	0.78 ± 0.06	11.00 ± 0.19	7.1	0.72 ± 0.06	20.50 ± 0.38	3.5
R/S ²⁾	7.4	10.1		6.6	9.9	

1) 占比:溶磷细菌数与细菌总数的比值; 2) R/S :根标微生物的数量与非根际土壤微生物数量比.

2.2 溶磷细菌的平板初筛结果

无机磷细菌通过释放有机酸将磷酸钙盐溶解使磷酸钙盐平板变透明,有机磷细菌则是分泌磷酸酶把卵磷脂分解为甘油、脂肪酸、磷酸和胆碱,胆碱再进一步分解为胺、二氧化碳、有机酸和醇,从而使得卵黄培养基平板上呈现出一定的透明圈^[16]. 利用磷酸钙盐平板培养基、卵黄平板培养基对玉米根际和非根际微生物进行筛选,发现分别有68和61个分离物在磷酸钙盐平板培养基、卵黄平板培养基上形成了透明圈. 对上述初筛获得的129个菌株进行进一步分离纯化后,发现其中一部分丧失了溶磷活性,最后得到38株无机磷细菌和35株有机磷细菌.

2.3 溶磷细菌的菌落特征

菌株的生长速度与其竞争能力有一定的关系,生长速度快,占领空间和获得营养的能力强,易在养分竞争中获胜. 因此,若用这类菌株制作生物肥料,其在土壤中存活定居的可能性大,有利于肥效的发挥.

对所分离纯化得到的73株细菌的菌落形态进行观察,观察结果如表2和表3所示. 从表2可以看出:1) 从玉米根际分离得到的溶磷能力较强的38株无机磷细菌中,大部分细菌菌落呈乳白色、形状不规则、光滑黏稠、扁平、不透明或半透明,边缘多为锯齿状和波状;少数细菌菌落呈黄色;少数的形状为近圆形. 2) 大部分无机磷细菌(31.6%菌株)生长速度中等(24 h后可以观察到生长),生长良好;26.3%菌株生长速度快(接种12 h后可观察到生长),生长良

好;21.1%的菌株生长速度较慢(48 h后才可以观察到生长).

从表3可以看出:1) 大多数有机磷菌落呈黄色或乳白色、近圆形、边缘多整齐或波状、不透明、光滑黏稠、扁平. 少数为隆起;2) 在35株有机磷细菌中,31.4%的菌株生长速度较快;34.3%的菌株生长速度中等(24 h后可观察到生长);34.3%的菌株生长速度较慢,要48 h后才可观察到生长. 其中有21.4%的菌株不仅生长速度快,而且生长良好;14.3%的菌株生长速度中等,同时生长良好.

2.4 溶磷细菌在固体培养基上的溶磷能力

溶磷圈直径(D)、菌落生长直径(d)及其比值(D/d)是表征溶磷菌相对溶磷能力的一个指标,可初步确定菌株的溶磷能力. 各菌株溶磷圈测定结果见表4和表5.

根际与非根际微生物溶磷能力没有明显的差异,主要取决于菌株本身的特性. 在38个有明显溶磷圈的无机磷菌株中,溶磷效果极好的($D/d \geq 4$)有12株,占菌株总数的31.6%;溶磷效果好($2.5 \leq D/d < 4$)和溶磷效果较好($1.5 \leq D/d < 2.5$)的各有13株,均占有溶磷圈菌株总数的34.2%;溶磷效果较差的($D/d < 1.5$)则没有. 在35个有明显溶磷圈的有机磷菌株中, $D/d \geq 4$ 的有2株,占菌株总数的5.7%;溶磷效果好($2.5 \leq D/d < 4$)的有14株,占40%;溶磷效果较好($1.5 \leq D/d < 2.5$)的有13株,占有溶磷圈菌株总数的37.2%;溶磷效果较差的($D/d < 1.5$)有6株,占17.1%.

表 2 无机溶磷细菌培养 5 d 的菌落特征

Tab. 2 The colony characteristics of inorganic phosphate-solubilizing bacteria strains incubated for 5 days

菌株	形状	表面	高度	透明度	颜色	边缘	生长快慢 ¹⁾	生长状况 ²⁾
SWJ1-1	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶	中等	+++
SWJ1-4	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶状	快	+++
SWJ 1-5	不规则	光滑黏	扁平	半透明	乳白	整齐	慢	+
SWJ 1-8	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳黄	锯齿状	中等	+++
SWJ 2-1	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶状	快	+++
SWJ 2-3	不规则	光滑黏	扁平	半透明	乳白	不规则	慢	+
SWJ 3-1	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	快	+++
SWJ 3-7	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	快	+++
SWJ 3-9	近圆	光滑黏	扁平	不透明	淡黄	锯齿	中等	++
RWJ1-1	不规则	较干黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	中等	+++
RWJ1-2	近圆	光滑黏	扁平	透明	透明	整齐	慢	+
RWJ1-3	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	慢	++
RWJ1-5	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	中等	++
RWJ1-6	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	中等	+++
RWJ1-7	不规则	光滑黏	扁平	不透明	黄	波状	快	+++
RWJ1-9	近圆	光滑黏	凸	不透明	黄褐	波状	中等	+++
RWJ1-10	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	快	+++
RWJ1-12	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	++
RWJ1-14	圆	光滑黏	凸	不透明	乳黄	整齐	中等	+++
RWJ2-2	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶状	快	+++
RWJ2-3	不规则	光滑黏	扁平	半透明	乳白	锯齿	慢	+
RWJ2-4	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	慢	+
RWJ2-6	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	整齐	慢	+
RWJ2-8	不规则	光滑黏	凸	半透明	白	整齐	中等	++
RWJ2-9	近圆	光滑黏	凸	不透明	淡黄	波状	中等	+++
RWJ2-10	近圆	光滑黏	扁平	不透明	明黄	波状	中等	+++
RWJ2-11	不规则	光滑黏	扁平	不透明	淡黄	波状	中等	++
RWJ2-12	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	慢	+
RWJ2-13	圆	光滑黏	凸	不透明	乳黄	整齐	快	+++
RWJ2-14	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	+++
RWJ3-1	近圆	光滑黏	凸	半透明	淡黄	整齐	中等	+++
RWJ3-2	近圆	光滑黏	凸	半透明	乳白	整齐	中等	++
RWJ3-3	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	+++
RWJ3-4	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	锯齿	中等	++
RWJ3-5	不规则	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶状	快	+++
RWJ3-6	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	++
RWJ3-7	近圆	光滑黏	扁平	半透明	乳白	锯齿	中等	+++
RWJ3-8	不规则	光滑黏	扁平	不透明	淡黄	裂叶状	快	+++

1) 快——12 h 后可观察到生长,中等——24 h 后可观察到生长,慢——48 h 后可观察到生长;2) - 不生长, + 生长较差, ++ 生长一般, +++ 生长良好.

2.5 溶磷细菌在液体培养基上的溶磷能力

通过在固体培养基上对分离物溶磷圈的观察,只可定性测定其溶磷能力,为了对其溶磷能力进行具体描述,用液体培养法对菌株的溶磷能力进行了定量测定.

2.5.1 溶解无机磷(磷酸钙)的能力

本研究利用磷酸钙作为唯一无机磷源,来测定菌株分解无机磷能力的大小. 38 株无机磷细菌在数量相同(约 10^8 mL^{-1})的情况下,在蒙金娜无机磷液体培养液中培养 5 d 后,测得 pH 和有效磷含量见表 6. 从表 6 可

表3 有机溶磷细菌培养3 d的菌落特征

Tab.3 The colony characteristics of organic phosphate-solubilizing bacteria strains incubated for 3 days								
菌株	形状	表面	高度	透明度	颜色	边缘	生长快慢 ¹⁾	生长状况 ²⁾
RYJ1-1	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	锯齿	中等	++
RYJ1-3	近圆	光滑黏	凸	不透明	乳黄	不规则	慢	++
RYJ1-4	近圆	干黏	扁平	不透明	黄	整齐	慢	+
RYJ1-5	近圆	光滑黏	扁平	不透明	橙	波状	慢	++
RYJ1-6	近圆	光滑黏	扁平	不透明	橙	波状	快	+++
RYJ1-7	近圆	光滑黏	扁平	不透明	黄	波状	快	+++
RYJ1-9	近圆	干黏	扁平	不透明	黄	整齐	慢	++
RYJ1-10	近圆	光滑黏	凸	不透明	橙	整齐	慢	++
RYJ1-13	圆	光滑黏	凸	不透明	乳白	整齐	中等	++
RYJ1-15	近圆	光滑黏	扁平	不透明	黄	整齐	中等	+++
RYJ1-16	圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	整齐	中等	+++
RYJ2-1	近圆	较干黏	扁平	不透明	乳白	波状	慢	+++
RYJ2-2	近圆	光滑黏	凸	不透明	黄	整齐	中等	+
RYJ2-5	近圆	干黏	扁平	不透明	黄	裂叶状	中等	++
RYJ2-7	近圆	干黏	扁平	不透明	黄	波状	中等	++
RYJ2-10	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	整齐	中等	+++
RYJ2-11	近圆	光滑黏	扁平	不透明	黄	整齐	快	+++
RYJ2-12	近圆	光滑黏	凸	不透明	乳白	整齐	中等	++
RYJ3-6	近圆	光滑黏	扁平	不透明	黄	锯齿	快	+++
RYJ3-7	近圆	较干黏	扁平	不透明	淡黄	波状	慢	+
RYJ3-9	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	波状	慢	+
RYJ3-10	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	波状	快	++
RYJ3-13	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	整齐	快	+++
RYJ3-17	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶状	慢	+++
RYJ3-19	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	不规则	中等	++
RYJ3-21	近圆	干黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	+++
RYJ3-22	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	波状	慢	++
RYJ3-23	近圆	较干黏	扁平	不透明	黄	波状	慢	++
RYJ3-24	近圆	干黏	扁平	不透明	黄	整齐	快	+
RYJ3-25	近圆	光滑黏	扁平	不透明	黄	整齐	快	+++
SYJ1-1	近圆	光滑黏	扁平	不透明	乳白	裂叶	快	++
SYJ2-1	近圆	干黏	扁平	不透明	乳白	波状	中等	+++
SYJ2-4	近圆	较干黏	扁平	不透明	乳白	波状	慢	+++
SYJ3-1	近圆	光滑黏	扁平	不透明	浅棕红	裂叶状	快	+++
SYJ3-2	近圆	干黏	扁平	不透明	乳白	波状	快	+++

1)快——12 h后可观察到生长,中等——24 h后可观察到生长,慢——48 h后可观察到生长;2) - 不生长, + 生长较差, ++ 生长一般, +++ 生长良好。

以看出,所有接种处理培养液中的有效磷质量浓度均要高于CK(7.29 mg/L),说明各菌株对磷酸钙均有一定的溶解作用.38个菌株间分解无机磷能力差异显著,其有效磷质量浓度范围为8.88~108.31 mg/L,与CK相比,有效磷增量在1.59~101.02 mg/L之间,增幅为CK的0.2~13倍(20.08%~1 275.50%).培养液中磷质量浓度最高的为SWJ1-4(108.31 mg/L),比对照增加近13倍,其溶磷率达3.37%;其次为菌株SWJ3-1,其培养液磷质量浓度为

104.04 mg/L,增幅是CK的12倍,溶磷率达3.23%,但二者之间无显著差异.其他菌株培养液磷含量均显著低于SWJ1-4和SWJ3-1.总之,在供试的38株溶磷菌中,菌株SWJ1-4和SWJ3-1对磷酸钙的溶磷效果最好,可以考虑作为研制微生物肥料的重点菌种.

相对于未接种的培养液(pH为6.94),接种溶磷细菌后,各菌株培养液的pH均有不同程度的下降,其pH在3.40~6.03范围之间,降幅在0.79~3.42个pH单位之间.说明这些细菌在培养过程中,能够

表 4 无机溶磷细菌的溶磷能力比较¹⁾

Tab. 4 Phosphate-solubilizing capacity of inorganic phosphate-solubilizing bacteria isolated by plate culture method								
菌株	D/mm	D/d	菌株	D/mm	D/d	菌株	D/mm	D/d
SWJ1-1	12.7 ± 0.9	2.2 ± 0.05	RWJ1-5	7.0 ± 0.0	2.3 ± 0.00	RWJ2-9	5.3 ± 0.3	1.6 ± 0.06
SWJ1-4	10.3 ± 0.3	2.4 ± 0.10	RWJ1-6	7.0 ± 0.0	3.5 ± 0.00	RWJ2-10	9.3 ± 0.3	2.8 ± 0.17
SWJ1-5	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.00	RWJ1-7	17.7 ± 0.3	4.4 ± 0.08	RWJ2-11	10.7 ± 0.7	4.7 ± 0.33
SWJ1-8	7.0 ± 0.6	2.2 ± 0.12	RWJ1-9	6.0 ± 0.0	3.0 ± 0.00	RWJ2-12	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.00
SWJ2-1	11.7 ± 0.3	1.8 ± 0.04	RWJ1-10	9.3 ± 0.3	1.8 ± 0.04	RWJ2-13	17.0 ± 0.6	2.2 ± 0.05
SWJ2-3	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.00	RWJ1-12	14.7 ± 0.3	7.3 ± 0.17	RWJ2-14	6.7 ± 0.3	2.9 ± 0.07
SWJ3-1	13.7 ± 0.7	3.2 ± 0.08	RWJ1-14	12.3 ± 0.3	1.8 ± 0.05	RWJ3-1	15.3 ± 0.3	7.7 ± 0.17
SWJ3-7	13.3 ± 0.9	3.1 ± 0.08	RWJ2-2	10.0 ± 1.0	1.9 ± 0.07	RWJ3-2	10.3 ± 0.9	4.5 ± 0.29
SWJ3-9	11.7 ± 0.7	5.4 ± 0.10	RWJ2-3	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.33	RWJ3-3	7.3 ± 0.3	2.2 ± 0.11
RWJ1-1	16.3 ± 0.9	5.4 ± 0.29	RWJ2-4	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.00	RWJ3-4	5.0 ± 0.0	2.5 ± 0.00
RWJ1-2	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.00	RWJ2-6	4.7 ± 0.3	4.7 ± 0.33	RWJ3-5	10.3 ± 0.3	2.4 ± 0.10
RWJ1-3	7.7 ± 0.3	3.3 ± 0.10	RWJ2-8	6.7 ± 0.3	3.3 ± 0.17	RWJ3-6	6.7 ± 0.3	2.2 ± 0.11
RWJ3-7	7.7 ± 0.3	3.8 ± 0.17	RWJ3-8	17.7 ± 0.6	3.5 ± 0.07			

1) D:透明圈直径; d:菌落直径.

表 5 有机溶磷细菌的溶磷能力比较¹⁾

Tab. 5 Phosphate-solubilizing capacity of organic phosphate-solubilizing bacteria isolated by plate culture method								
菌株	D/mm	D/d	菌株	D/mm	D/d	菌株	D/mm	D/d
SYJ1-1	14.3 ± 0.3	1.4 ± 0.06	RYJ1-10	11.3 ± 0.3	1.5 ± 0.24	RYJ3-6	9.3 ± 0.7	1.9 ± 0.11
SYJ2-1	25.0 ± 0.0	1.4 ± 0.03	RYJ1-13	11.3 ± 0.7	2.4 ± 0.03	RYJ3-9	8.3 ± 0.9	3.6 ± 0.20
SYJ2-4	30.3 ± 0.9	2.3 ± 0.18	RYJ1-15	16.3 ± 0.9	1.5 ± 0.06	RYJ3-10	19.0 ± 0.6	3.0 ± 0.18
SYJ3-1	27.7 ± 3.9	1.7 ± 0.25	RYJ1-16	33.0 ± 1.5	1.7 ± 0.08	RYJ3-13	23.3 ± 1.7	2.3 ± 0.08
SYJ3-2	27.7 ± 0.3	1.6 ± 0.04	RYJ2-1	25.7 ± 0.3	1.8 ± 0.04	RYJ3-17	37.0 ± 1.5	2.0 ± 0.02
RYJ1-1	15.7 ± 1.5	2.6 ± 0.03	RYJ2-2	12.7 ± 0.9	2.4 ± 0.12	RYJ3-19	19.0 ± 1.0	2.6 ± 0.06
RYJ1-3	15.3 ± 0.9	2.9 ± 0.06	RYJ2-5	17.0 ± 0.6	3.7 ± 0.40	RYJ3-21	24.7 ± 0.3	2.5 ± 0.03
RYJ1-4	12.3 ± 0.3	4.1 ± 0.11	RYJ2-7	10.0 ± 1.0	2.5 ± 0.25	RYJ3-22	11.0 ± 1.0	2.4 ± 0.11
RYJ1-5	7.0 ± 0.6	1.5 ± 0.06	RYJ2-10	12.3 ± 0.3	1.5 ± 0.02	RYJ3-23	9.3 ± 0.3	2.6 ± 0.22
RYJ1-6	20.7 ± 1.2	4.8 ± 0.12	RYJ2-11	31.0 ± 1.5	2.5 ± 0.05	RYJ3-24	16.3 ± 1.3	2.5 ± 0.04
RYJ1-7	26.7 ± 1.2	2.7 ± 0.14	RYJ2-12	15.0 ± 1.7	3.0 ± 0.00	RYJ3-25	17.7 ± 0.3	2.0 ± 0.16
RYJ1-9	17.7 ± 1.2	3.6 ± 0.21	RYJ3-7	9.0 ± 0.0	2.0 ± 0.15			

1) D:透明圈直径; d:菌落直径.

分泌一些酸性物质,导致 pH 下降,使难溶性磷得以溶解.许多研究者也发现,培养介质酸度的提高,是微生物溶磷的重要表征之一^[10,17].

综合分析 38 株溶磷菌培养 5 d 后其有效磷含量与培养液 pH 之间的关系时发现,两者之间存在显著负相关关系(图 1).

2.5.2 分解有机磷(卵磷脂)的能力 卵磷脂是磷脂化合物的一种,可被微生物分泌的卵磷脂酶分解为甘油、脂肪酸、磷酸和胆碱^[15].蒙金娜有机培养基中以卵磷脂为唯一磷源,卵磷脂用量为 0.2 g.将分离到的 35 株有机磷细菌在数量相同(10^8 mL⁻¹, $D_{660\text{ nm}}=0.500$)的情况下,在蒙金娜有机磷液体培养基中培养 5 d 后,测定其 pH 和有效磷含量.结果

(表 7)表明,35 个菌株分解有机磷能力差异显著,有效磷含量在 0.51 ~ 3.53 mg/L 之间,与不接菌对照(0.60 mg/L)相比,有效磷增量在 - 0.09 ~ 2.93 mg/L 之间,增幅在 15% ~ 488% 之间,在菌株 RYJ1-5 和 RYJ1-6 的溶解作用下,培养液中有效磷质量浓度分别为 3.53 和 3.51 mg/L,均比 CK 增加了近 5 倍,有效磷转化率为 1.46% 和 1.45%,溶磷效果非常显著;菌株 RYJ2-10 的溶磷量为 3.21 mg/L,明显低于菌株 RYJ1-5 和 RYJ1-6;菌株 RYJ3-24 的溶磷量为 2.04 mg/L,有效磷转化率为 0.72%,与菌株 RYJ2-10 差异显著;其余菌株的有效磷质量浓度均低于 2 mg/L.此外,菌株 RYJ3-13、SYJ2-1、RYJ3-6、RYJ2-7、RYJ3-10、RYJ1-13 的溶磷量分别为 0.60、0.59、0.57、

表 6 无机磷液体培养基中接种 5 d 的溶磷量¹⁾

Tab. 6 Phosphate-solubilizing capacity in inorganic P liquid culture medium after 5-day incubation

菌株	$D_{660\text{ nm}}$	pH	溶磷量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	磷增量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	磷转化率/%
CK	0	6.82 ± 0.05a	7.29 ± 0.16r		0
SWJ1-4	0.499	3.48 ± 0.10q	108.31 ± 3.07a	101.02 ± 3.07a	3.37
SWJ3-1	0.499	4.33 ± 0.12op	104.04 ± 1.42a	96.75 ± 1.42a	3.23
SWJ2-1	0.498	4.46 ± 0.15mnop	98.05 ± 1.56b	90.76 ± 1.56b	3.03
SWJ1-8	0.499	3.40 ± 0.09q	93.50 ± 2.91bc	86.21 ± 2.91bc	2.87
RWJ1-7	0.502	4.47 ± 0.21mnop	89.92 ± 1.88cd	82.63 ± 1.88bcd	2.75
SWJ1-1	0.491	3.41 ± 0.14q	88.89 ± 1.76cde	81.60 ± 1.76cde	2.72
RWJ3-2	0.499	4.46 ± 0.11mnop	87.17 ± 1.44def	79.88 ± 1.44def	2.66
RWJ1-12	0.498	4.23 ± 0.19p	85.31 ± 2.79defg	78.02 ± 2.79 defg	2.61
RWJ1-3	0.508	4.43 ± 0.17mnop	84.48 ± 2.76efg	77.19 ± 2.76 efg	2.57
RWJ1-10	0.521	4.79 ± 0.14klmn	83.52 ± 0.95fgh	76.23 ± 0.95fgh	2.54
RWJ1-14	0.513	4.67 ± 0.15lmno	83.17 ± 1.33fgh	75.88 ± 1.33fgh	2.53
RWJ2-2	0.518	4.93 ± 0.16jkl	82.97 ± 1.86fgh	75.68 ± 1.86fgh	2.52
RWJ1-1	0.520	4.68 ± 0.15lmno	81.59 ± 1.42gh	74.30 ± 1.42gh	2.48
RWJ2-11	0.494	4.40 ± 0.08nop	80.14 ± 1.82gh	72.85 ± 1.82gh	2.43
RWJ3-7	0.526	4.66 ± 0.10lmno	79.11 ± 1.62hi	71.82 ± 1.62hi	2.39
RWJ3-5	0.514	4.84 ± 0.06klm	78.83 ± 2.22hi	71.54 ± 2.22hi	2.38
SWJ1-5	0.520	4.65 ± 0.14lmno	78.63 ± 1.56hi	71.34 ± 1.56hi	2.38
RWJ1-6	0.496	4.49 ± 0.09mnop	74.91 ± 2.20i	67.62 ± 2.20i	2.25
RWJ1-5	0.499	4.82 ± 0.20klmn	68.09 ± 1.65j	60.80 ± 1.65j	2.03
RWJ2-4	0.516	5.17 ± 0.07ijk	66.57 ± 1.84jk	59.28 ± 1.84jk	1.98
RWJ2-6	0.498	5.24 ± 0.10hij	63.06 ± 1.80k	55.77 ± 1.80k	1.86
RWJ3-1	0.502	5.28 ± 0.10ghij	54.31 ± 1.91l	47.02 ± 1.91l	1.57
SWJ3-7	0.494	5.46 ± 0.08efghi	47.02 ± 1.11m	39.73 ± 1.11m	1.32
SWJ2-3	0.512	5.44 ± 0.20efghi	45.60 ± 1.56mn	38.31 ± 1.56mn	1.28
RWJ2-3	0.509	5.51 ± 0.17defghi	41.93 ± 1.97n	34.64 ± 1.97n	1.15
RWJ1-2	0.526	5.94 ± 0.04c	37.28 ± 1.33o	29.30 ± 1.33o	1.00
RWJ3-4	0.498	5.19 ± 0.02ijk	36.99 ± 1.05o	29.70 ± 1.05o	0.99
RWJ2-13	0.497	5.37 ± 0.15fghi	32.55 ± 1.89op	25.26 ± 1.89op	0.84
RWJ3-3	0.514	5.43 ± 0.14efghi	30.61 ± 0.92p	23.32 ± 0.92p	0.78
RWJ3-8	0.524	5.37 ± 0.11fghi	25.70 ± 0.32q	18.41 ± 0.32q	0.61
RWJ2-10	0.492	5.65 ± 0.08cdefgh	22.23 ± 1.31q	14.94 ± 1.31q	0.50
RWJ2-8	0.523	5.84 ± 0.08cde	11.93 ± 0.20r	4.64 ± 0.20r	0.15
SWJ3-9	0.513	5.74 ± 0.06cdef	11.39 ± 0.29r	4.10 ± 0.29r	0.14
RWJ2-12	0.495	5.93 ± 0.12cd	10.91 ± 0.41r	3.62 ± 0.41r	0.12
RWJ2-9	0.514	5.89 ± 0.09cd	10.80 ± 0.22r	3.51 ± 0.22r	0.12
RWJ2-14	0.493	6.03 ± 0.17a	10.54 ± 0.22r	3.25 ± 0.22r	0.11
RWJ1-9	0.516	5.68 ± 0.10cdefg	10.08 ± 0.21r	2.79 ± 0.21r	0.10
RWJ3-6	0.495	5.62 ± 0.10cdefgh	8.88 ± 0.17r	1.59 ± 0.17r	0.05

1) 同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示处理间差异不显著($P>0.05$, DMRT 法)。

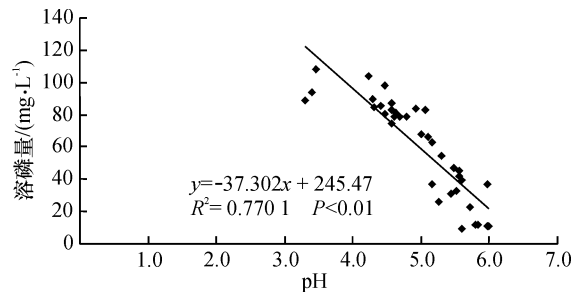


图 1 无机磷细菌溶磷量与 pH 的相关性

Fig. 1 The correlation between phosphate-solubilizing capacity of inorganic P bacteria and the pH

0.57、0.56、0.51 mg/L,有效磷增量为 0 或负值,产生这一现象的原因可能是菌体吸收利用所溶解出来的

磷,导致净溶磷量为 0,甚至为负值. 总之,在供试的 35 株溶磷菌中,菌株 RYJ1-5 和 RYJ1-6 溶解有机磷的能力较其他菌株强,但由于菌株 RYJ1-6 生长快、生长状况良好,而菌株 RYJ1-5 生长慢且生长状况一般,因此菌株 RYJ1-6 可作为研制微生物肥料的优选菌种.

各菌株培养液的 pH 范围在 6.10 ~ 6.49 之间,与未接种培养液 pH(6.82)相差不大. 这一现象与它们的溶磷机制有关.

有机磷细菌培养液的溶磷量与 pH 之间没有显著的相关性(图 2). 这一结果与无机磷细菌不同,主要原因是有机磷细菌主要是通过分泌胞外植酸酶、核酸酶和磷酸酶等非有机酸类物质将有机磷分解^[18],而这些物质对培养液的 pH 改变不大.

表 7 有机磷液体培养基接种 5 d 的溶磷量¹⁾

Tab.7 Phosphate-solubilizing capacity in organic P liquid culture medium after 5-day incubation

菌株	$D_{660\text{ nm}}$	pH	溶磷量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	磷增量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	磷转化率/%
CK	0	6.82 ± 0.05	0.60 ± 0.01e	0	0
RYJ1-5	0.500	6.19 ± 0.08	3.53 ± 0.12a	2.93 ± 0.12a	1.46
RYJ1-6	0.512	6.16 ± 0.05	3.51 ± 0.07a	2.91 ± 0.07a	1.45
RYJ2-10	0.511	6.10 ± 0.06	3.21 ± 0.09b	2.61 ± 0.09b	1.30
RYJ3-24	0.502	6.19 ± 0.06	2.04 ± 0.07c	1.44 ± 0.07c	0.72
RYJ1-16	0.497	6.25 ± 0.05	1.46 ± 0.03d	0.86 ± 0.03d	0.43
RYJ2-11	0.498	6.47 ± 0.07	1.27 ± 0.03e	0.67 ± 0.03e	0.33
RYJ1-15	0.512	6.33 ± 0.12	1.19 ± 0.02e	0.59 ± 0.02e	0.30
RYJ3-19	0.496	5.77 ± 0.04	1.02 ± 0.02f	0.42 ± 0.02f	0.21
RYJ1-10	0.505	6.21 ± 0.05	1.01 ± 0.02fg	0.41 ± 0.02fg	0.20
RYJ3-23	0.489	6.21 ± 0.04	0.92 ± 0.02gh	0.32 ± 0.02gh	0.16
RYJ1-3	0.515	6.37 ± 0.06	0.91 ± 0.01ghi	0.31 ± 0.01ghi	0.15
RYJ1-7	0.504	6.32 ± 0.07	0.91 ± 0.02ghi	0.31 ± 0.02ghi	0.15
SYJ3-1	0.491	6.49 ± 0.10	0.82 ± 0.02hij	0.22 ± 0.02hij	0.11
SYJ3-2	0.513	6.37 ± 0.05	0.81 ± 0.02ij	0.21 ± 0.02ij	0.10
RYJ3-22	0.513	6.14 ± 0.07	0.80 ± 0.02j	0.20 ± 0.02j	0.10
RYJ2-5	0.505	6.15 ± 0.05	0.72 ± 0.02j	0.12 ± 0.02j	0.10
RYJ2-2	0.503	6.25 ± 0.08	0.78 ± 0.02jk	0.18 ± 0.02jk	0.09
RYJ3-17	0.525	6.25 ± 0.05	0.77 ± 0.02jk	0.17 ± 0.02jk	0.08
RYJ3-9	0.498	6.14 ± 0.04	0.74 ± 0.02jkl	0.14 ± 0.02jkl	0.07
SYJ1-1	0.515	6.43 ± 0.04	0.73 ± 0.02jklm	0.13 ± 0.02jklm	0.07
SYJ2-4	0.521	6.42 ± 0.05	0.72 ± 0.02jklm	0.12 ± 0.02jklm	0.06
RYJ1-9	0.515	6.39 ± 0.05	0.72 ± 0.02jklm	0.12 ± 0.02jklm	0.06
RYJ1-4	0.521	6.47 ± 0.03	0.72 ± 0.02jklm	0.12 ± 0.02jklm	0.06
RYJ3-7	0.487	6.21 ± 0.04	0.70 ± 0.01jklmn	0.10 ± 0.01jklmn	0.05
RYJ2-12	0.526	6.35 ± 0.04	0.70 ± 0.01jklmn	0.10 ± 0.01jklmn	0.05
RYJ3-25	0.497	6.23 ± 0.08	0.68 ± 0.02klmno	0.08 ± 0.02klmno	0.04
RYJ1-1	0.519	6.43 ± 0.08	0.65 ± 0.01lmnop	0.05 ± 0.01lmnop	0.02
RYJ2-1	0.499	6.34 ± 0.04	0.65 ± 0.01lmnop	0.05 ± 0.01lmnop	0.02
RYJ3-21	0.495	6.29 ± 0.07	0.62 ± 0.02mnopq	0.02 ± 0.02mnopq	0.01
RYJ3-13	0.534	6.25 ± 0.04	0.60 ± 0.02nopq	0.00 ± 0.02nopq	0
SYJ2-1	0.505	6.38 ± 0.06	0.59 ± 0.01nopq	-0.01 ± 0.01nopq	-0.01
RYJ3-6	0.524	6.27 ± 0.06	0.57 ± 0.01opq	-0.03 ± 0.01opq	-0.02
RYJ2-7	0.525	6.17 ± 0.07	0.57 ± 0.01opq	-0.03 ± 0.01opq	-0.02
RYJ3-10	0.518	6.27 ± 0.06	0.56 ± 0.01pq	-0.04 ± 0.01pq	-0.02
RYJ1-13	0.508	6.35 ± 0.06	0.51 ± 0.01q	-0.09 ± 0.01q	-0.04

1) 同列数据后凡是有一个相同小写字母者,示处理间差异不显著($P>0.05$, DMRT 法).

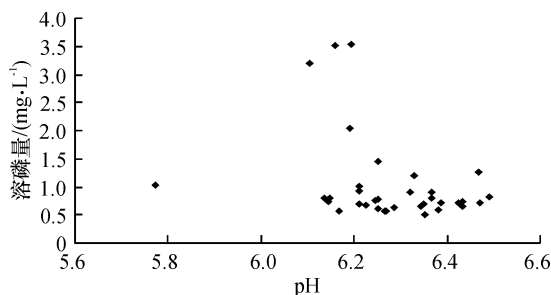


图2 有机磷细菌溶磷量与pH的相关性

Fig. 2 The correlation between phosphate-solubilizing capacity of organic P bacteria and the pH

2.6 D/d 与溶磷量的相关性

无论是无机磷细菌还是有机磷细菌,其溶磷量与 D/d 的相关性均较差(图3),这主要是因为 D/d 并不能准确反映菌株的溶磷能力,有时甚至与溶磷量表现出相反的结果^[19].

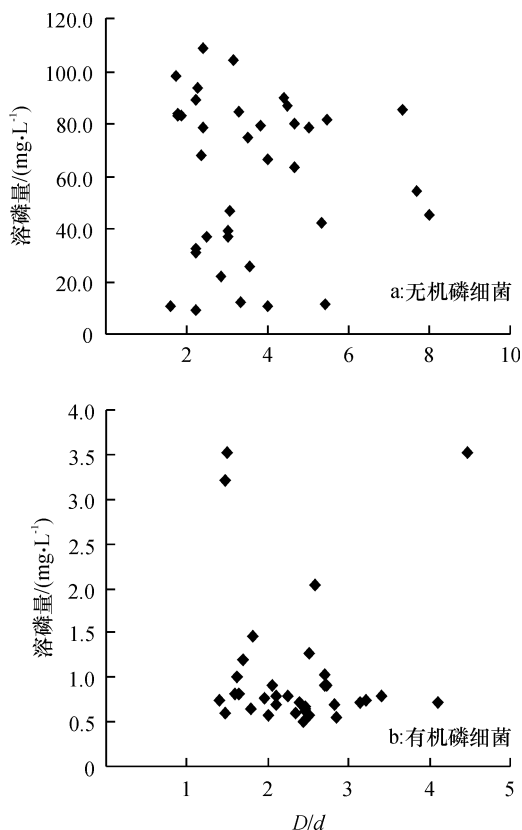
图3 溶磷细菌 D/d 与溶磷量的相关性

Fig. 3 The correlation between D/d and phosphate-solubilization capacity of phosphate-solubilizing bacteria

3 讨论

本研究分离的代表性无机磷溶磷细菌 SWJ1-4 和 SWJ3-1 的溶磷量分别为 108.31 和 104.04 mg/L. 林启美等^[15]发现以磷矿粉(磷酸钙)作为唯一的磷源培养溶磷细菌,5 d 后培养液中可溶性磷的质量浓度最高达 11.73 mg/L. 本试验 38 个菌株中有

96.67% 均大于该溶磷细菌,而且 SWJ1-4 的溶磷量是它的 9 倍. 李凤霞等^[8]测得宁夏产枸杞根际溶磷菌对无机磷的溶磷强度最大为 91.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,略低于本研究结果. 范丙全等^[20]测得溶磷草酸霉菌 *Penicillium oxalicum* P8 培养 10 d 时,溶解无机磷的量为 194.2 mg/L,其溶磷能力高于菌株 SWJ1-4 和 SWJ3-1. 李玉娥等^[10]测得春小麦和苜蓿根际溶磷菌最大溶磷量为 227.1 mg/L,也高于 SWJ1-4 和 SWJ3-1. 可见,与其他农作物根际无机磷溶磷细菌的研究相比,本研究分离的代表性菌株的溶磷能力处于中等水平. 另外,由于卵磷脂中磷元素的含量相对较低,所以有机磷菌株的溶磷量相对无机磷源要小得多,但仍然具有一定的溶磷能力^[21]. 本研究分离的代表性有机磷溶磷菌 RYJ1-6 菌株溶磷量为 3.51 mg/L,高于吕学斌等^[21]研究结果(其研究中得到的菌株溶解有机磷最高约为 1.25 mg/L).

本研究发现,无机磷细菌溶磷量与其培养介质的 pH 之间呈显著的负相关,而有机磷细菌溶磷量与 pH 之间相关性较弱. 溶磷量与 pH 之间的关系比较复杂,已有的研究结论并不一致. 有的研究表明溶磷量和培养介质的 pH 之间存在显著相关性^[10,17,22],这说明 pH 可能是菌株溶磷过程的一个关键因素;而有的研究表明二者之间没有显著相关性^[5,9,23-25],这可能与微生物分泌的有机酸的种类相比其数量对溶解难溶性磷酸盐更为重要这一结论有关^[6]. 这种差异主要与菌株本身的特性有关,也是溶磷菌的溶磷机理多元化的表现. 有些微生物的溶磷作用主要是代谢过程中分泌的有机酸(如草酸、苹果酸、酒石酸和丙二酸等)起作用,这些有机酸降低了培养介质的 pH,进而使磷酸根从铁、铝、钙和镁等难溶性磷酸盐中溶解出来,从而使难溶性磷转化成可溶性形态^[13,22]. 有些微生物的溶磷作用主要是其代谢过程中分泌的质子起作用,这些质子能够与磷矿粉中的铁、铝、钙和镁离子发生交换反应,从而使磷矿粉溶解. 而有些菌株这 2 种机制都存在^[13].

已有研究表明,许多不产生透明圈的菌株在液体培养时也能表现出较高的解磷能力^[26],即菌株溶磷能力与平板上的溶磷圈大小并没有相关性^[19]. 本研究支持这一结论. 究其原因可能是由 2 种培养方式的不同而引起的. 有些微生物在振荡条件下,其生长状况或溶磷能力表现较好. 因此,在选择最佳培养方式时,可同时在振荡与非振荡 2 种培养条件下,对所需微生物进行培养,比较其生长状况和溶磷量的大小,从而确定最佳培养方式.

本研究以磷酸钙和卵磷脂作为磷源分别测定了

菌株分解无机磷和有机磷能力的大小,由于不同土壤中磷化合物种类不同且多元化,故本试验结果不一定能对溶磷细菌的溶磷能力进行全面评价,因而有关溶磷菌株对不同磷源的溶磷能力及其在土壤中的溶磷特性还有待进一步研究.而且,还需对溶磷效果好的溶磷细菌进行进一步的分子鉴定,以有利于今后的深度开发利用.另外,未来的研究还可采用高效液相色谱分析菌株液体培养基中有机酸的种类与浓度,以深入探讨溶磷细菌的溶磷机理.

本研究结果表明:菌株溶解无机磷(磷酸钙)的过程中其有效磷含量与培养液 pH 之间存在显著的相关性,有机磷菌株则无明显相关;各分离物溶解磷酸钙和卵磷脂的能力差异较大,38 株无机磷细菌分解无机磷(磷酸钙)的有效磷质量浓度范围在 8.88~108.31 mg/L 之间,大于 100 mg/L 的菌株有 2 个,分解有机磷(卵磷脂)的有效磷质量浓度范围为 0.51~3.53 mg/L,大于 2 mg/L 的菌株有 4 个;分离得到 SWJ1-4、SWJ3-1 和 RYJ1-6 共 3 株溶磷能力强、生长快、生长状况良好的菌株,可作为微生物肥料开发时优选的菌株.

参考文献:

- [1] 赵小蓉,林启美.微生物解磷的研究进展[J].土壤肥料,2001(3):7-11.
- [2] 林启美,赵海英,赵小蓉.溶磷微生物对不同磷矿粉的溶解能力[J].中国农业科学,2002,35(10):1232-1235.
- [3] 冯瑞章,姚拓,周万海,等.溶磷菌对燕麦生物量及植株氮、磷含量的影响[J].水土保持学报,2009,23(2):188-192.
- [4] 张宇龙,卢小良,杨成德.东祁连山高寒草地土壤无机磷溶解菌分离及溶磷能力初探[J].草地学报,2011,19(4):560-564.
- [5] 陆俊锟,陈俊,康丽华,等.华南红树林溶磷菌 16S rDNA PCR-RFLP 分析及其溶磷能力[J].林业科学,2009,45(5):137-142.
- [6] 陈俊,陆俊锟,康丽华,等.红树林溶磷菌的初步鉴定、溶磷能力测定及其优化培养[J].微生物学通报,2009,36(8):1183-1188.
- [7] 朱颖,姚拓,李玉娥,等.红三叶根际溶磷菌分离及其溶磷机制初探[J].草地学报,2009,17(2):259-263.
- [8] 李凤霞,梁锦秀,周涛.宁夏产枸杞根际溶磷菌分离及溶磷能力分析[J].植物资源与环境学报,2006,15(2):29-32.
- [9] 冯瑞章,冯月红,姚拓,等.春小麦和苜蓿根际溶磷菌筛选及其溶磷能力测定[J].甘肃农业大学学报,2005,40(5):604-608.
- [10] 李玉娥,姚拓,朱颖,等.兰州地区苜蓿和红豆草根际

溶磷菌筛选及菌株部分特性研究[J].中国草地学报,2009,31(1):46-51.

- [11] 臧威,孙剑秋,王鹏,等.东北地区四种农作物根际磷细菌的分布[J].中国生态农业学报,2009,17(6):1206-1210.
- [12] 赵小蓉,林启美,孙焱鑫,等.玉米根际与非根际解磷细菌的分布特点[J].生态学杂志,2001,20(6):62-64.
- [13] 赵小蓉,林启美,李保国.微生物溶解磷矿粉能力与 pH 及分泌有机酸的关系[J].微生物学杂志,2003,23(3):5-7.
- [14] RILEY D, BARBER S A. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface[J]. Soil Science Society of America Journal, 1969, 33(6): 905-908.
- [15] 林启美,赵小蓉,孙焱鑫,等.四种不同生态环境土壤中溶磷细菌的数量及种群分布[J].土壤与环境,2000,9(1):34-37.
- [16] 覃丽金,杨礼富,袁坤,等.10种热带牧草根际高效解磷细菌的筛选及其培养条件[J].热带作物学报,2009,30(11):1630-1636.
- [17] 石在强,岳海涛,郑元元,等.解盐促生菌 Rs-5 溶磷动力学及其机制[J].农业工程学报,2008,24(增刊1):24-28.
- [18] 覃丽金,王真辉,陈秋波.根际解磷微生物研究进展[J].华南热带农业大学学报,2006,12(2):44-49.
- [19] 朱培森,杨兴明,徐阳春,等.高效解磷细菌的筛选及其对玉米苗期生长的促进作用[J].应用生态学报,2007,18(1):107-112.
- [20] 范丙全,金继运,葛诚.溶磷草酸青霉菌筛选及其溶磷效果的初步研究[J].中国农业科学,2002,35(5):525-530.
- [21] 吕学斌,孙亚凯,张毅民.几株高效溶磷菌株对不同磷源溶磷活力的比较[J].农业工程学报,2007,23(5):195-197.
- [22] 刘文干,何园球,张坤,等.一株红壤溶磷菌的分离、鉴定及溶磷特性[J].微生物学报,2012,52(3):326-333.
- [23] ILLMER P, SCHINNER F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1992, 24(4): 389-395.
- [24] NARSIAN V, PATEL H H. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32(4): 559-565.
- [25] 赵小蓉,林启美,李保国.溶磷菌对 4 种难溶性磷酸盐溶解能力的初步研究[J].微生物学报,2002,42(2):236-241.
- [26] GUPTA R, SINGAL R, SKANKAR A, et al. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 1994, 40(3): 255-260.