

## 研究报告

## 黑土高效解磷菌的筛选及其对玉米的促生效果

李畅<sup>1,2</sup>, 刘锐<sup>1,2</sup>, 于运凯<sup>3</sup>, 王立达<sup>3</sup>, 季春丽<sup>\*1</sup>, 郑艳宁<sup>\*2</sup>

1 山西农业大学 农学院 分子农业与生物能源研究所, 山西 晋中 030801

2 中国科学院微生物研究所 微生物资源前期开发国家重点实验室, 北京 100101

3 黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

李畅, 刘锐, 于运凯, 王立达, 季春丽, 郑艳宁. 黑土高效解磷菌的筛选及其对玉米的促生效果[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1101-1117.

LI Chang, LIU Rui, YU Yunkai, WANG Lida, JI Chunli, ZHENG Yanning. Screening of efficient phosphate-solubilizing bacteria capable of promoting maize growth from black soil[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1101-1117.

**摘要:**【背景】磷是作物生长的必需营养元素之一, 土壤缺磷会导致玉米等作物产量的降低。解磷菌可以将土壤中难溶性无机磷或有机磷转化为易于作物吸收的可溶性磷, 因此有助于改善土壤质量并进而促进作物生长。【目的】从东北黑土土壤中筛选获得高效解磷菌, 在改善黑土土壤质量的基础上促进玉米生长, 从而为开发适用于东北黑土环境的微生物菌剂提供优良的菌种资源。【方法】利用微生物分离培养和功能表征技术, 对筛选获得的黑土微生物菌株进行解磷和吡啶-3-乙酸分泌能力的测定, 并通过玉米盆栽试验和土壤理化性质分析, 评价解磷菌对土壤质量和玉米生长的影响。【结果】从我国东北黑土土壤中筛选获得 16 株解磷菌, 将其中的葡萄球菌 (*Staphylococcus* sp.) GL-HT-43 和肠杆菌 (*Enterobacter* sp.) W-H-13 等高效解磷菌施加到栽有玉米的黑土中, 玉米的株高、生物量和叶绿素含量均有了显著的提高。此外, 黑土土壤的无机碳、有机碳、有机质及全磷含量也有了明显的增加, 表明高效解磷菌 GL-HT-43 和 W-H-13 具有良好的促进玉米生长和提升黑土土壤肥力效果。【结论】黑土高效解磷菌能够有效促进玉米生长, 改善黑土土壤质量, 展现了良好的解磷微生物菌剂开发潜力。

**关键词:** 黑土; 解磷菌; 玉米促生; 土壤改良

资助项目: 中国科学院 A 类战略性先导科技专项(XDA28030201)

This work was supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA28030201).

\*Corresponding authors. E-mail: ZHENG Yanning, zhengyn@im.ac.cn; JI Chunli, jichunli@sxau.edu.cn

Received: 2024-03-08; Accepted: 2024-05-16; Published online: 2024-12-18

## Screening of efficient phosphate-solubilizing bacteria capable of promoting maize growth from black soil

LI Chang<sup>1,2</sup>, LIU Rui<sup>1,2</sup>, YU Yunkai<sup>3</sup>, WANG Lida<sup>3</sup>, JI Chunli<sup>\*1</sup>, ZHENG Yanning<sup>\*2</sup>

1 Institute of Molecular Agriculture and Bioenergy, College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, Shanxi, China

2 State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China

**Abstract:** [Background] Phosphorus is one of the essential nutrients for crop growth, and phosphorus deficiency in soil can reduce the yields of crops such as maize. Phosphate-solubilizing bacteria can convert insoluble inorganic or organic phosphorus in the soil into soluble phosphorus, which is easily absorbed by crops. This process helps improve soil quality and subsequently promote crop growth. [Objective] To isolate and identify efficient phosphate-solubilizing bacteria from the black soil in northeast China, enhance soil quality, and promote maize growth, providing elite microbial strains for the development of microbial inoculants suited to the black soil environment in northeast China. [Methods] The culture method was employed to isolate microbial strains, and then the phosphate-solubilizing ability and indole-3-acetic acid secretion ability of the isolates screened out were characterized. The effects of phosphate-solubilizing bacteria on soil quality were studied based on the physicochemical properties of soil. Furthermore, pot experiments were carried out to study the effects of the strains on maize growth. [Results] A total of 16 phosphate-solubilizing bacterial strains were isolated from the black soil in northeast China. Among them, *Staphylococcus* sp. GL-HT-43 and *Enterobacter* sp. W-H-13 were applied to the black soil planted with maize, which significantly increased maize plant height, biomass, and chlorophyll content. Additionally, the two strains notably increased the levels of inorganic carbon, organic carbon, organic matter, and total phosphorus in the black soil. These results suggested that GL-HT-43 and W-H-13 had advantages in reducing fertilizer dependency, promoting maize growth, and enhancing the fertility of black soil. [Conclusion] The efficient phosphate-solubilizing bacterial strains GL-HT-43 and W-H-13 promote maize growth and improve the quality of black soil. These strains demonstrate great potential for the development of phosphate-solubilizing microbial inoculants.

**Keywords:** black soil; phosphate-solubilizing bacteria; promoting maize growth; soil improvement

磷是作物生长必需的营养元素之一, 参与植物的光合作用、作物抗旱、蛋白质合成等, 在植物营养和代谢中发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。然而在土壤环境中, 磷主要以不溶性的有机磷或无

机磷的形式存在, 可以直接被植物吸收利用的有效磷含量较少, 因此通过施加磷肥来增加土壤有效磷含量是当前农业生产的主要手段<sup>[2-3]</sup>。

随着人口的不断增加, 粮食需求也与日俱

增, 为了提高粮食产量, 农业生产中磷肥的使用量也在逐年增加, 而磷肥的长期过量使用造成东北黑土区日益严重的环境污染及土壤质量下降等问题<sup>[4]</sup>。解磷菌主要通过酸解和酶解等作用方式, 将土壤中不溶性磷转化为可供植物吸收利用的可溶性磷, 具有促进作物生长、改善土壤健康状况的功能<sup>[5-6]</sup>。酸解是指解磷菌通过产生有机酸, 降低土壤局部 pH, 并与难溶性磷酸盐中的钙、镁、铁等金属离子发生螯合反应, 从而释放磷酸根<sup>[7-8]</sup>。酶解主要通过解磷微生物合成并释放磷酸酶、植酸酶及核酸酶等, 有效降解环境中的磷酸酯等难溶性有机磷, 进而释放出可溶性磷<sup>[6,9]</sup>。

通过田间施加解磷菌剂, 能够改善土壤结构和肥力、促进作物养分吸收、提高作物产量和农产品品质等, 因此高效解磷菌剂的研发日益受到重视。Bakhshandeh 等<sup>[10]</sup>研究表明, 接种水生拉恩氏菌(*Rahnella aquatilis*)等解磷菌具有提高水稻产量、增强水稻光合作用及增加水稻茎粗的作用。而化肥配施假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) L3 等解磷菌, 在一定程度上起到缓解土壤磷缺乏、提高土壤酶活性及增加小麦产量的作用<sup>[11]</sup>。在玉米幼苗栽培过程中, 通过接种川大肠杆菌(*Enterobacter chuandaensis*)等解磷菌可以提高玉米植株磷积累量, 从而促进玉米生长<sup>[12]</sup>。大豆和玉米间作栽培时, 作物根际土壤中的解磷菌如巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)和蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*), 可以通过酸解方式促进磷的溶解, 从而提高土壤中有效磷的含量, 最终促进玉米种子萌发和幼苗生长<sup>[13]</sup>。因此, 开发适用于东北黑土土壤的解磷微生物菌剂, 将为东北黑土地的保护与利用, 以及绿色农业的可持续发展作出贡献。

虽然针对解磷菌剂已经有了广泛的研究,

但面向黑土地的保护与利用, 通过开发高效解磷微生物来改善黑土土壤质量并促进作物生长的研究, 仍然十分有限。本研究从我国东北黑土土壤中分离筛选具有解磷功能的微生物菌株, 并对这些菌株的解磷能力和吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)分泌能力进行评价, 最后通过玉米盆栽试验来进一步验证这些菌株的玉米促生效果, 以期高效解磷菌剂的制备及其在黑土地产能提升中的应用奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样 品

用于筛选菌株的 3 个土壤样品分别采自黑龙江省海伦市(127°31'48"E, 47°42'36"N)的白桦根际土、黑龙江省齐齐哈尔市克山县(125°49'12"E, 48°0'36"N)的玉米根际土及辽宁省铁岭市昌图县(123°33'00"E, 42°26'24"N)的玉米根际土。

用于盆栽种植试验的黑土土壤采自黑龙江省齐齐哈尔市克山县(125°49'12"E, 48°0'36"N)。土壤基本性质为: pH 7.6, 全磷(total phosphorus)含量 669.6 mg/kg, 速效磷(available phosphorus)含量 99.0 mg/kg, 速效氮(available nitrogen)含量 76.7 mg/kg、总碳(total carbon)含量 212.6 mg/kg, 土壤有机质(soil organic carbon)含量 167.7 mg/kg。

用于玉米盆栽试验的供试玉米品种为‘富尔 116’, 齐齐哈尔市富尔农艺有限公司。

### 1.2 主要试剂和仪器

1×PBS: NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.42 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.27 g, 用蒸馏水定容至 1 L, 然后调节 pH 值至 7.0。2×PBS (仅含钠盐): 首先分别将 31.2 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 和 71.6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 定容于 1 L 去离子水, 以分别制备 0.2 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 和 0.2 mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液, 然后将 190 mL 0.2 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 和 810 mL

0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  进行混合, 调节 pH 值至 7.0。4%戊二醛溶液: 25%戊二醛溶液, 采用 0.1 mol/L 的 PBS 配制。磷酸二氢钾, 国药集团化学试剂有限公司; 酒石酸锶钾、钼酸铵, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 抗坏血酸, 北京百灵威科技有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 天根生化科技北京有限公司。2×M5 Semi-Fidelity PCR Mix, 北京聚合美生物科技有限公司。

全自动工业分析仪(水质流动分析仪), Thermo Fisher Scientific 公司; 总有机碳分析仪, Vario 公司; 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器公司; 扫描电镜, 日立公司。

### 1.3 培养基

LB 培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0, 酵母提取物 5.0, NaCl 10.0, 固体培养基在液体培养基的基础上添加 10–15 g/L 的琼脂粉<sup>[14]</sup>。蒙金娜无机磷培养基<sup>[15]</sup>, 青岛海博生物技术有限公司; R2A 培养基<sup>[16]</sup>, 北京酷来搏科技有限公司。

### 1.4 黑土解磷菌株的筛选与功能测定

#### 1.4.1 菌株的分离筛选与分子生物学鉴定

称取 1 g 黑土土壤样品, 加入 9 mL 生理盐水, 30 °C、200 r/min 振荡培养过夜, 取出土壤悬液并在室温下静置 15 min。然后通过吸取 100  $\mu\text{L}$  土壤悬液并加入 900  $\mu\text{L}$  无菌水的方式对土壤悬液进行梯度稀释, 依次制备  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  等不同稀释度的土壤稀释液, 再分别取 100  $\mu\text{L}$   $10^{-3}$ – $10^{-6}$  的土壤悬液均匀涂布在蒙金娜无机磷固体培养基上<sup>[17]</sup>。每个梯度 3 个平行, 最后将平板倒置于 30 °C 培养箱中, 定期观察菌落生长情况, 获得的单菌落在新的固体培养基上进一步划线纯化后获得纯培养<sup>[18]</sup>。

对分离获得的纯培养物进行 16S rRNA 基因测序分析, 采用引物 27F (5'-AGAGTTTGTATCC TGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-CTACGGCTACCT TGTACGA-3') 进行 PCR 扩增。以纯化后的菌落

为模板, 反应体系(20.0  $\mu\text{L}$ ): M5 10.0  $\mu\text{L}$ , 引物 27F (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , 引物 1492R (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 9.0  $\mu\text{L}$ ; PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 94 °C 25 s, 退火 55–59 °C 25 s, 72 °C 30 s, 34 个循环; 72 °C 6 min。反应完成之后取 3  $\mu\text{L}$  进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测, 以确认 PCR 扩增片段。将片段大小正确的 PCR 产物进行基因测序分析, 所获得序列使用 EzBioCloud 数据库 (<https://www.ezbiocloud.net/>) 进行 BLAST 同源比对, 以确定与其相似性较高的模式菌株。

#### 1.4.2 解磷活性的测定

采用钼锑抗比色法测定菌液的可溶性磷含量<sup>[17]</sup>。将  $OD_{600}$  为 0.9 的解磷菌按 1%接种量接种到蒙金娜无机磷液体培养基中, 30 °C、200 r/min 培养 3 d 后取样进行可溶性磷含量的测定。解磷菌菌液经超声清洗仪 90 kHz 破碎 30 min, 10 000×g 离心 10 min, 吸取 2.5 mL 上清液, 加入 5 mL 钼锑显色剂, 用容量瓶定容至 50 mL, 测定  $OD_{700}$ 。采用磷酸二氢钾试剂做标准曲线。将实验样品吸光值代入标准曲线计算可溶性磷含量, 同时测定解磷菌上清液 pH。

#### 1.4.3 生长曲线的测定

挑取 LB 固体平板上的单菌落接种至 LB 液体培养基, 30 °C、200 r/min 振荡培养过夜, 然后将菌液按照 1%的接种量接种至 10 mL LB 液体培养基中, 30 °C、200 r/min 振荡培养, 其间每隔一定时间测定菌液的  $OD_{600}$ , 直至  $OD_{600}$  值不再继续增加, 最后以培养时间为横坐标, 以  $OD_{600}$  为纵坐标绘制生长曲线, 并根据菌株生长曲线计算代时<sup>[19]</sup>。

#### 1.4.4 IAA 分泌能力的测定

采用 Salkowski 比色法测定菌株的 IAA 分泌能力<sup>[20]</sup>。将解磷菌在 R2A 培养基中活化过夜, 将菌液按照 1%的接种量接种至含有 100 mg/L L-色氨酸的 R2A 培养基中, 30 °C、200 r/min

振荡培养 5 d 后以 7 000 r/min 离心 5 min 收取上清液, 然后取 1 mL 上清液与 Salkowski 显色液等体积混匀, 避光反应 30 min 后测定混合液在 530 nm 波长处的吸光度, 以不同浓度的 IAA 标准品绘制标准曲线, 计算样品的 IAA 含量。

#### 1.4.5 菌株的细胞形态特征观察

将菌株在 30 °C 恒温振荡培养箱中以 200 r/min 振荡培养过夜, 然后取 0.5 mL 菌液以 3 500 r/min 离心 2 min, 收集菌体细胞并用 0.1 mol/L PBS 溶液(仅含钠盐)清洗 3 次, 再加入 1 mL 4%的戊二醛溶液(由仅含钠盐的 0.1 mol/L PBS 溶液配制而成), 置于室温避光条件下固定细胞 30–50 min, 接着转入 4 °C 继续固定 8 h 以上, 随后使用 30%、50%、70%、85%和 95%的乙醇进行梯度脱水处理(每次脱水浸泡 14 min), 然后用 100%的乙醇洗脱 3 次以获得固定细胞样品, 最后对样品进行 CO<sub>2</sub> 冷冻临界点干燥和喷金镀膜, 通过扫描电镜对菌株的细胞形态特征进行观察<sup>[21]</sup>。

### 1.5 解磷菌对玉米的促生试验

#### 1.5.1 解磷菌制备与玉米种子预处理

将供试解磷菌株在 LB 固体培养基上划线培养, 挑取单克隆接种至 LB 液体培养基, 30 °C、200 r/min 振荡培养过夜后 8 000×g 离心 5 min 收集菌体细胞, 用无菌水重悬菌体制备 OD<sub>600</sub> 为 0.5 的供试菌。

玉米种子用 1%的次氯酸钠溶液浸泡消毒 30 min, 然后用蒸馏水清洗干净, 再用 20 mL 供试解磷菌浸泡玉米种子 2 h, 最后取出用于盆栽播种。

#### 1.5.2 玉米盆栽接种试验

玉米盆栽试验采用风干过筛的黑土, 在每个直径为 19 cm 的塑料盆钵中装入 1.6 kg 黑土, 各个不同处理如下: 施加全肥同时不接菌对照组记为 100%P; 施加 80%磷肥同时不接菌对照

组记为 80%P; 施加 80%磷肥同时接种菌株 GL-HT-43 记为 80%P+GL-HT-43; 施加 80%磷肥同时接种菌株 W-H-13 记为 80%P+W-H-13; 施加 80%磷肥同时接种菌株 W-H-33 记为 80%P+W-H-33; 施加 80%磷肥同时接种菌株 Y-H-21 记为 80%P+Y-H-21。全肥为磷肥(过磷酸钙) 0.2 g/盆, 氮肥(尿素) 0.2 g/盆, 钾肥(氯化钾) 0.1 g/盆。化肥与黑土充分混匀并浇水, 次日按每盆 3 粒玉米种子播种。在光照 14 h、黑暗 10 h 的室温条件下培养 5–7 d 后, 每个玉米盆只保留 1 棵高度一致的玉米幼苗, 除掉同一盆中的另外 2 棵玉米幼苗, 每隔 5 d 浇 250 mL 水, 14 d 后每盆追加 10 mL OD<sub>600</sub> 为 0.1 的供试解磷菌, 对照组加入 10 mL 无菌水, 玉米培养 50 d 后取样测定植株株高、植株生物量、叶片色素含量。

#### 1.5.3 盆栽玉米与土壤指标的测定

玉米生长指标测定: 用软尺测量茎基部至植株自然最高处的长度计为株高; 土壤表面以上玉米所展开的叶片数量计为叶片数; 玉米茎基部在土壤表面以上的植株脱水生物量计为地上干重, 而玉米茎基部在土壤表面以下的脱水生物量计为地下干重, 干重测定前清除根际土壤, 然后将玉米植株在 105 °C 烘箱中放置 30 min, 再将其转移到 70 °C 烘至恒重后称量<sup>[22]</sup>。

玉米叶片色素含量测定: 采用 80%丙酮法测定玉米叶片的色素含量<sup>[23]</sup>。首先将叶片剪成 2 mm 细丝, 称取 0.2 g 放入 25 mL 容量瓶中, 然后加入 80%丙酮后将容量瓶置于暗处, 在室温下浸提过夜, 待叶片变白色后, 用 80%丙酮定容至 25 mL。以 80%丙酮作为空白对照, 测定浸提液在 470、663 和 646 nm 波长处的吸光度, 进而分别对类胡萝卜素、叶绿素 a 和叶绿素 b 进行定量分析。

土壤指标的测定: 土壤与水按 1:5 比例混合后静置 5 min, 采用 pH 计测定土壤酸碱度<sup>[24]</sup>。

将 10 g 土壤加入 40 mL 浓度为 0.5 mol/L 的  $K_2SO_4$  溶液中, 30 °C、200 r/min 振荡浸提 30 min, 稍微静置后上清液经 0.45  $\mu m$  滤膜过滤后即可通过总有机碳分析仪检测总无机碳、总有机碳及总碳含量, 而将土壤总有机碳含量乘以系数 1.724 即可获得土壤有机质含量<sup>[25-26]</sup>。土壤全磷采用钼蓝比色法进行测定<sup>[27]</sup>。土壤铵态氮和硝态氮通过水质流动分析仪测定<sup>[28-29]</sup>。

## 1.6 数据分析

每组实验均为 3 次生物学重复, 使用 SPSS Statistics 24 进行单因素方差分析, 其中多组方差齐次性统计分析方法为 Duncan, 显著水平  $P < 0.05$ , 使用 Origin 2021 进行绘图。

# 2 结果与分析

## 2.1 黑土解磷菌株的筛选与解磷能力评价

利用蒙金娜无机磷培养基对东北黑土中的解磷菌进行分离培养, 共获得 16 株解磷菌。进一步对 16 株解磷菌的解磷能力进行定量测定, 其中菌株编号为 Y-H-21、W-H-33、W-H-13 和 GL-HT-43 的 4 株解磷菌展现了较强的解磷能力, 解磷量分别为 98.10、73.07、66.13 和 65.14 mg/L (图 1A)。同时发现菌株解磷能力越高, 相应菌株培养液的 pH 值下降越多, 即菌株的解磷能力与产酸能力呈正相关(图 1B)。推测解磷菌在培养过程中通过产生有机酸等酸性物质, 导致培养液 pH 值降低, 进而增强了难溶性无机磷的溶解。接着对该 4 株高效解磷菌进行了生长曲线的测定(图 1C)和代时的计算(图 1D), 发现这些菌株均具有较快的生长速率, 尤其是菌株 Y-H-21 和 GL-HT-43, 代时分别仅为 0.73 h 和 0.77 h, 具有开发为微生物菌剂的良好生长特性。

## 2.2 高效解磷菌株的形态特征与分子生物学鉴定结果

为了更好地认知 Y-H-21、W-H-33、W-H-13、GL-HT-43 等 4 株高效解磷菌, 本研究通过扫描电镜对它们的细胞形态进行观察, 观察发现菌株 GL-HT-43、W-H-33 和 Y-H-21 呈杆状, 长度为 1.0–2.5  $\mu m$ , 而菌株 W-H-13 的细胞形态呈椭圆状, 长径和短径分别约为 1.0  $\mu m$  和 0.7  $\mu m$  (图 2)。进一步对该 4 株高效解磷菌进行 16S rRNA 基因序列分析, 通过与 EzBioCloud 数据库比对, 并采用 MEGA 11 中的 neighbor-joining 方法构建系统发育树(图 3)。分析发现菌株 Y-H-21、W-H-33、W-H-13 和 GL-HT-43 分别属于节杆菌属 (*Arthrobacter*)、副伯克霍尔德氏菌属 (*Paraburkholderia*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 和肠杆菌属 (*Enterobacter*) 这 4 个属, 分别与滋养节杆菌 (*Arthrobacter pascens*) DSM20545<sup>T</sup>、居土副伯克霍尔德氏菌 (*Paraburkholderia terricola*) LMG 20594<sup>T</sup>、沃氏葡萄球菌 (*Staphylococcus warneri*) ATCC 27836<sup>T</sup> 和近桑树肠杆菌 (*Enterobacter quasimori*) WCHEn090040<sup>T</sup> 聚类在一起(图 3), 序列相似度均大于 99.4%, 表明菌株 Y-H-21、W-H-33、W-H-13 和 GL-HT-43 分别为节杆菌、副伯克霍尔德氏菌、葡萄球菌和肠杆菌。

## 2.3 高效解磷菌株的 IAA 分泌能力

IAA 是一种重要的植物激素, 微生物的 IAA 分泌能力是评价其植物促生功能的重要指标之一。本研究通过对 4 株高效解磷菌的 IAA 分泌能力进行测定, 发现菌株 GL-HT-43 的 IAA 浓度高达 127.36 mg/L, 而菌株 W-H-13、W-H-33 和 Y-H-21 这 3 个菌株的 IAA 浓度分别仅为 2.23、1.06 和 2.68 mg/L (图 4), 表明菌株 GL-HT-43 的 IAA 分泌能力明显高于另外 3 株高效解磷菌。

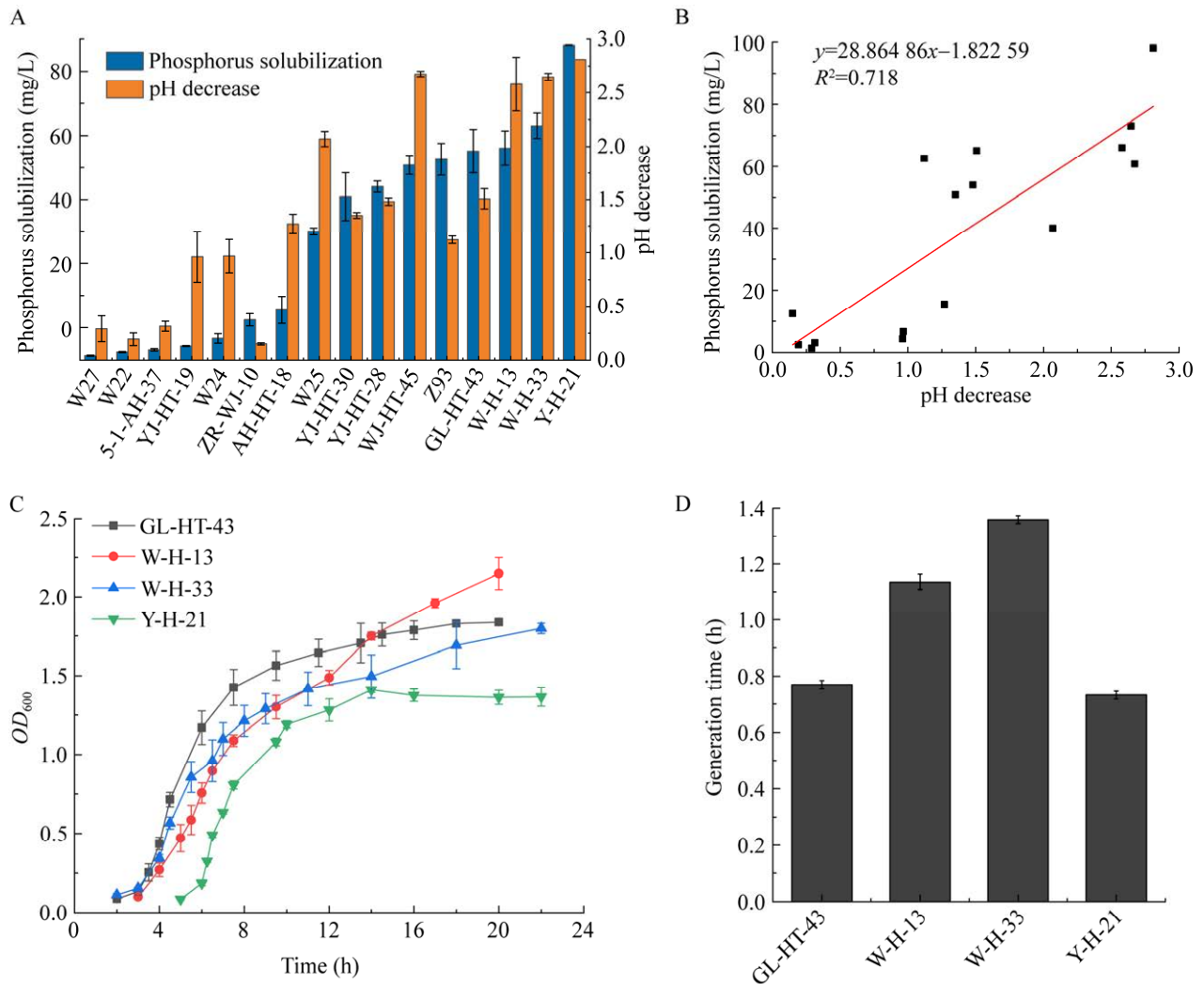


图 1 黑土解磷菌解磷能力定量分析与高效解磷菌生长速率测定 A: 可溶性磷浓度与菌液 pH 降低量; B: 解磷能力与 pH 降低之间的关系; C: 高效解磷菌株的生长曲线; D: 高效解磷菌株的代时。

Figure 1 Quantitative analysis of phosphate-solubilizing abilities of 16 phosphate-solubilizing bacteria isolated from black soil, and measurement of growth rates of 4 efficient phosphate-solubilizing bacteria. A: Soluble phosphorus concentration and pH decrease in bacterial culture The decrease in pH value and the dissolved phosphorus concentration of the cultures; B: Relationship between Phosphate-solubilizing ability and pH decrease; C: Growth curves of efficient phosphate-solubilizing strains; D: Generation time of highly efficient phosphate-solubilizing strains.

## 2.4 高效解磷菌施加对玉米生长的影响

### 2.4.1 高效解磷菌施加对玉米株高与叶片数的影响

为了评价解磷菌施加对玉米株高与叶片数的影响,设置了全磷肥(100%P)、减磷肥 20%

(80%P)以及在减磷肥 20%的基础上分别施加解磷菌 Y-H-21 (80%P+Y-H-21)、W-H-33 (80%P+W-H-33)、W-H-13 (80%P+W-H-13)和 GL-HT-43 (80%P+GL-HT-43)等不同对照组和解磷菌处理组。相较于 80%P 对照组,

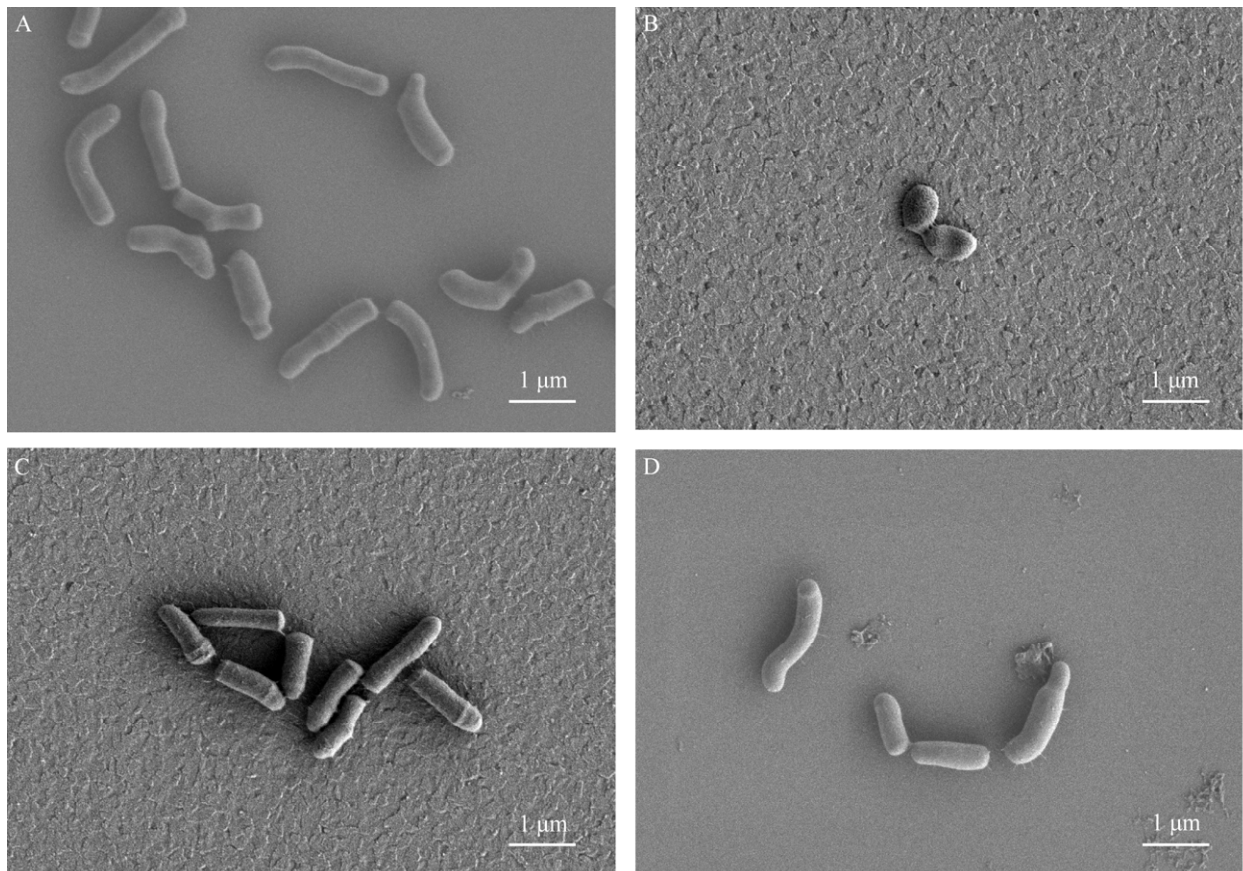


图 2 高效解磷菌细胞形态的扫描电镜图像

Figure 2 Scanning electron microscopy (SEM) images of the cell morphology of 4 efficient phosphate-solubilizing bacteria. A: GL-HT-43; B: W-H-13; C: W-H-33; D: Y-H-21.

80%P+GL-HT-43、80%P+W-H-13、80%P+Y-H-21 等解磷菌处理组的玉米株高显著增加, 其中菌株 W-H-13 对玉米株高的提升最为显著, 80%P+W-H-13 处理组的玉米株高为 114.10 cm, 较 80%P 对照组提高 10.13%, 与 100%P 对照组无显著差异(图 5A)。而栽培 50 d 后平均每盆玉米植株的展开叶片数均为 4–5 叶(图 5B), 解磷菌处理组和对照组无显著差异。

#### 2.4.2 解磷菌施加对玉米生物量的影响

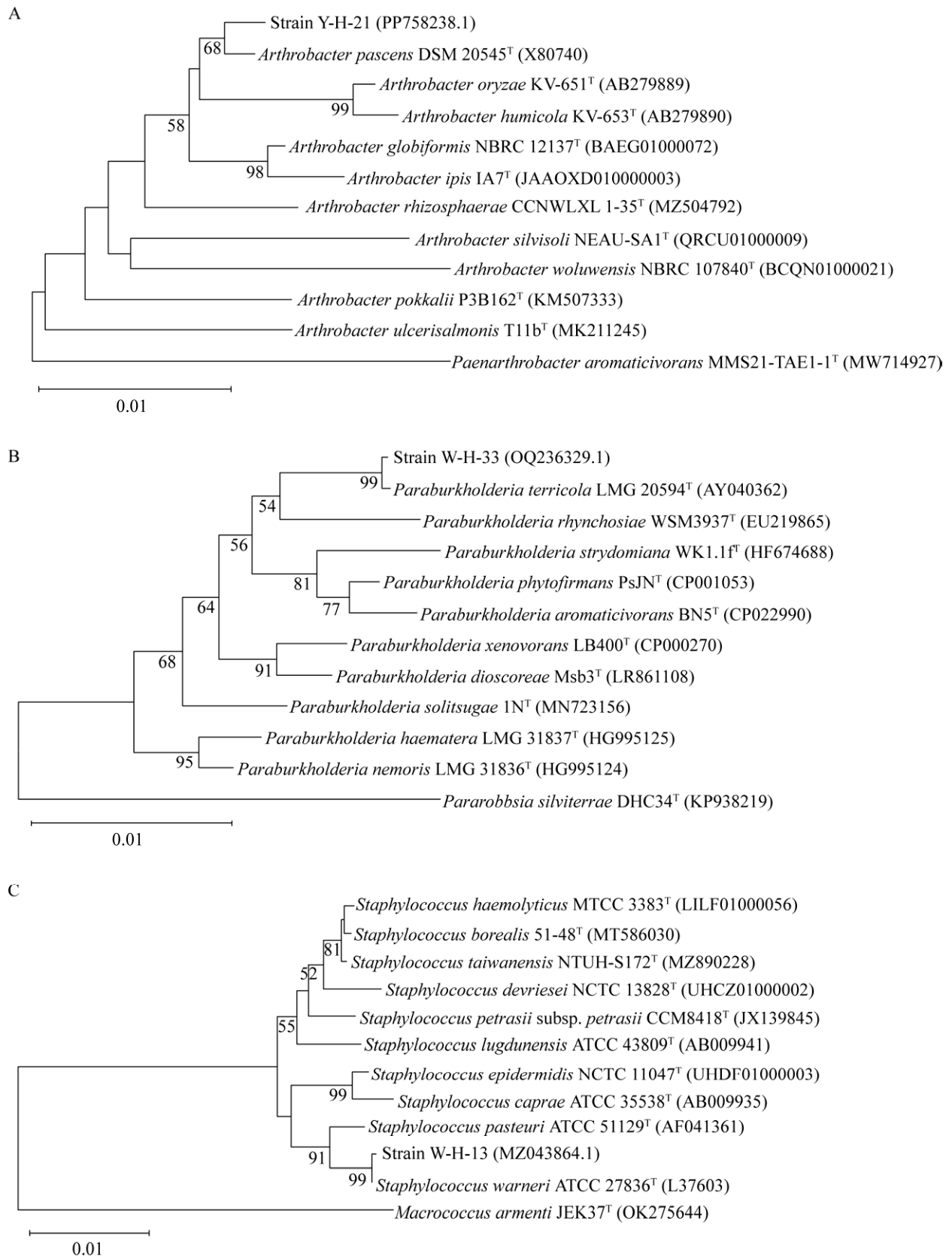
生物量是作物表观性状的重要指标之一, 该研究对玉米植株地上、地下和总生物量进行了测定。除菌株 W-H-33 无显著的促生效果外, 另外 3 株解磷菌均展现了良好的玉米促生效果。

80%P+GL-HT-43、80%P+W-H-13、80%P+Y-H-21 等解磷菌处理组的地上生物量分别为 4.92 g、5.08 g 和 5.12 g, 相较于 80%P 对照组(3.69 g), 分别提高了 33.33%、37.67%和 38.75%。它们的地下生物量分别为 1.77、1.29 和 1.44 g, 相较于 80%P 对照组(1.12 g), 分别提高了 58.03%、15.18%和 28.57% (图 6A)。在总生物量方面, 相较于 80%P 对照组, 分别提高了 38.88%、32.22%和 36.33%, 并且均高于 100%P 对照组(5.85 g) (图 6B)。

#### 2.4.3 解磷菌施加对玉米叶片色素含量的影响

通过对玉米叶片的色素含量进行测定, 发现各解磷菌处理组和 100%P 对照组相比, 各色





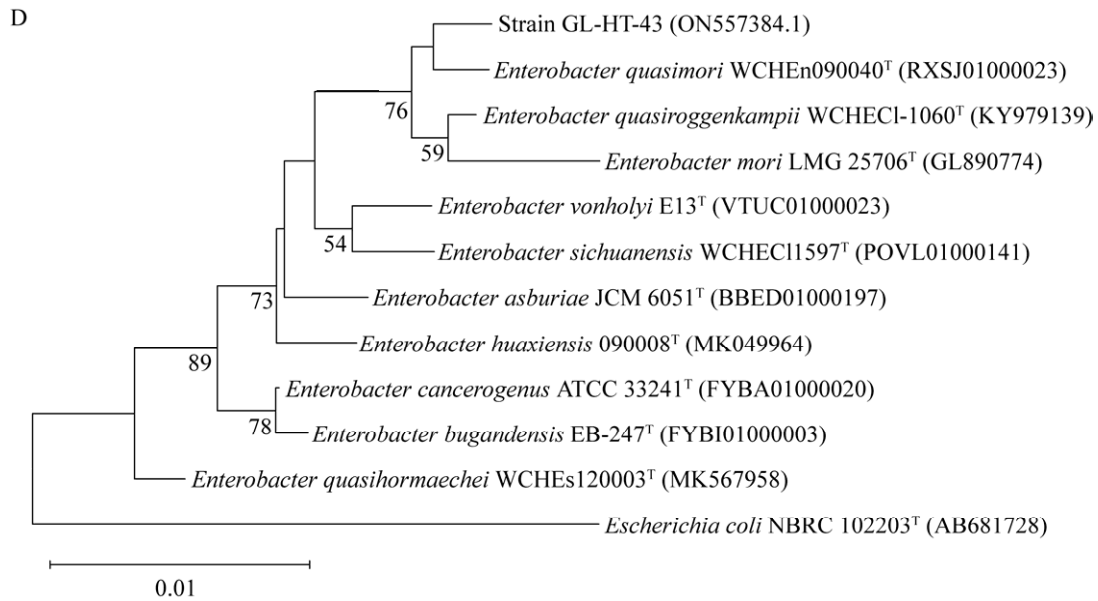


图3 基于菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 分支处数值代表 bootstrap 值(仅显示 $\geq 50\%$ 的数值); 括号内为 GenBank 登录号; 标尺 0.01 为进化距离。

Figure 3 Phylogenetic tree constructed based on 16S rRNA gene sequence of bacterial strains. The numbers at the branch points represent bootstrap values (only values $\geq 50\%$  are shown); The values in parentheses indicate the GenBank accession numbers; The scale bar of 0.01 represents the evolutionary distance.

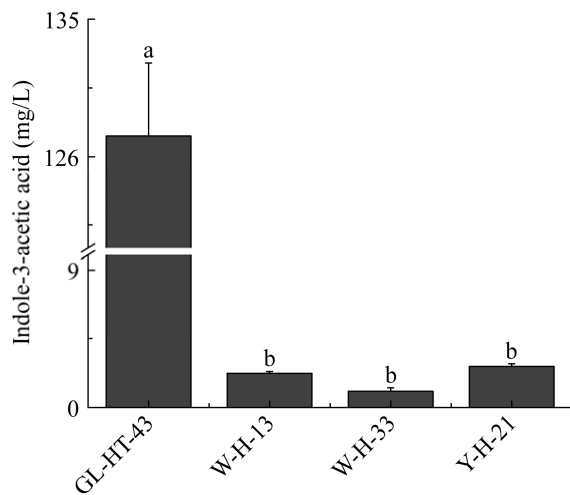


图4 高效解磷菌培养物的 IAA 浓度测定 不同小写字母表示差异显著, 下同。

Figure 4 Measurement of IAA concentration in the cultures of efficient phosphate-solubilizing bacteria. Different lowercase letters indicate significant differences, the same below.

素含量无显著差异, 但是和 80%P 对照组相比, 80%P+GL-HT-43、80%P+W-H-13 处理组的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量均显著增加。80%P+GL-HT-43 的叶绿素 a (2.08 mg/g) 和叶绿素 b (0.752 mg/g) 含量分别比 80%P 对照组增加 10.10% 和 26.38%, 而 80%P+W-H-13 组的叶绿素 a (2.12 mg/g) 和叶绿素 b (0.743 mg/g) 含量分别比 80%P 对照组增加 12.04% 和 24.90% (图 7A)。各解磷菌处理组的类胡萝卜素与对照组相比, 含量无显著差异(图 7B)。

## 2.5 解磷菌施加对土壤质量的影响

### 2.5.1 解磷菌施加对土壤碳含量的影响

土壤碳对于维持土壤健康和生物多样性具有重要作用。相较于 80%P 对照组, 解磷菌处理组的无机碳含量无显著差异, 仅 80%P+W-H-13 (119.76 mg/kg) 处理组和 100%P 对照组 (115.22 mg/kg)

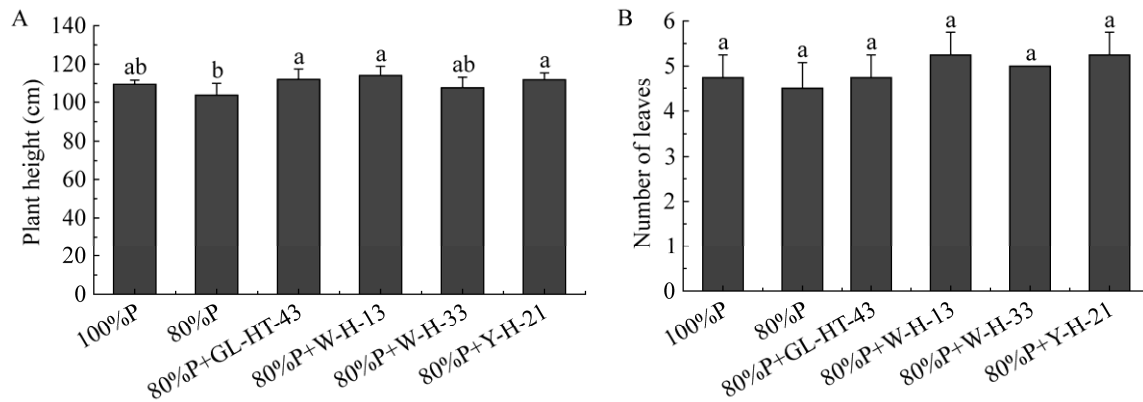


图 5 玉米株高(A)和叶片数(B)的测定

Figure 5 Measurements of plant height (A) and number of leaves (B) of maize.

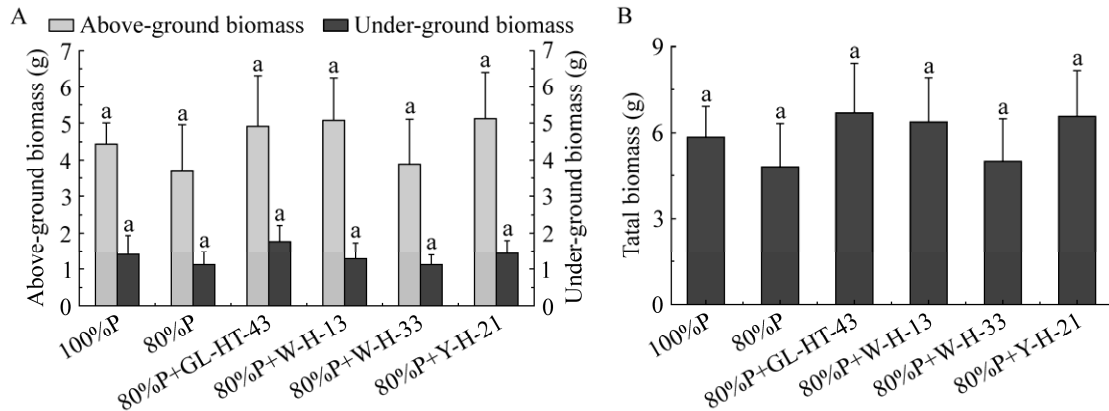


图 6 玉米植株生物量的测定 A: 玉米植株的地上生物量和地下生物量; B: 玉米植株的总生物量。

Figure 6 Biomass measurements of maize plants. A: Above-ground and underground biomass of maize plants; B: Total biomass of maize plants.

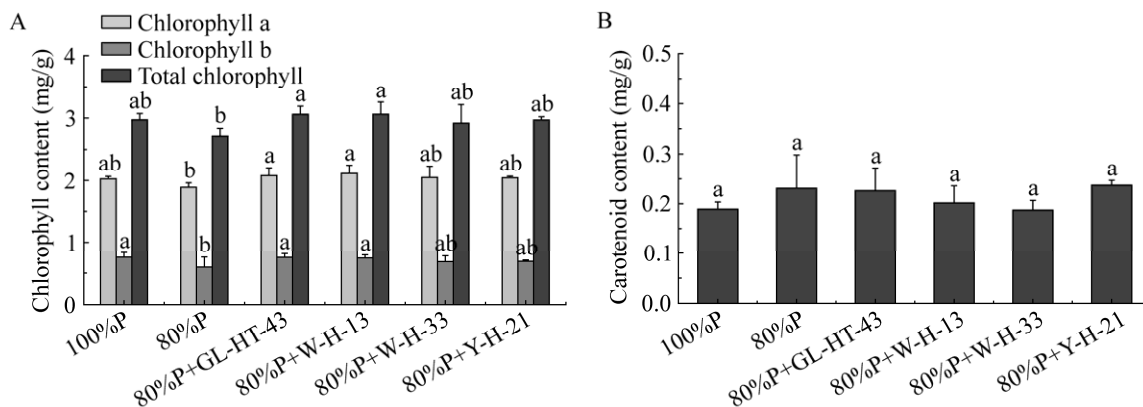


图 7 玉米叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量(A)及类胡萝卜素(B)的测定

Figure 7 Measurements of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content (A), and carotenoid contents (B) in maize leaves.

相比,无机碳含量提高了 3.9% (图 8A)。与 100%P (98.09 mg/kg)和 80%P (96.01 mg/kg)对照组相比, 80%P+GL-HT-43 处理组的土壤有机碳含量(121.57 mg/kg)分别提高了 23.9%和 26.6%, 而其他 3 个解磷菌处理组无显著差异(图 8B)。80%P+GL-HT-43 处理组的土壤总碳含量为 238.97 mg/kg, 较 100%P 和 80%P 对照组分别增加了 12.0%和 12.8% (图 8C)。同时 80%P+GL-HT-43 处理组也展现了最高的有机质含量, 达到 209.58 mg/kg, 较 100%P 和 80%P 对照组分别

提升 23.9%和 26.6%, 其他 3 个解磷菌处理组和对对照组无显著差异(图 8D)。以上结果表明通过施加解磷菌 GL-HT-43, 显著提升了土壤总碳和有机质含量。

### 2.5.2 解磷菌施加对土壤 pH 与全磷的影响

土壤 pH 和磷含量是土壤质量的重要指标。相较于 80%P 对照组, 所有解磷菌处理组的土壤 pH 均降低, 其中 80%P+GL-HT-43 处理组的 pH 降低最为显著(图 9A)。在全磷含量方面, 100%P 对照组的土壤全磷含量最高, 为 1.01 g/kg。而

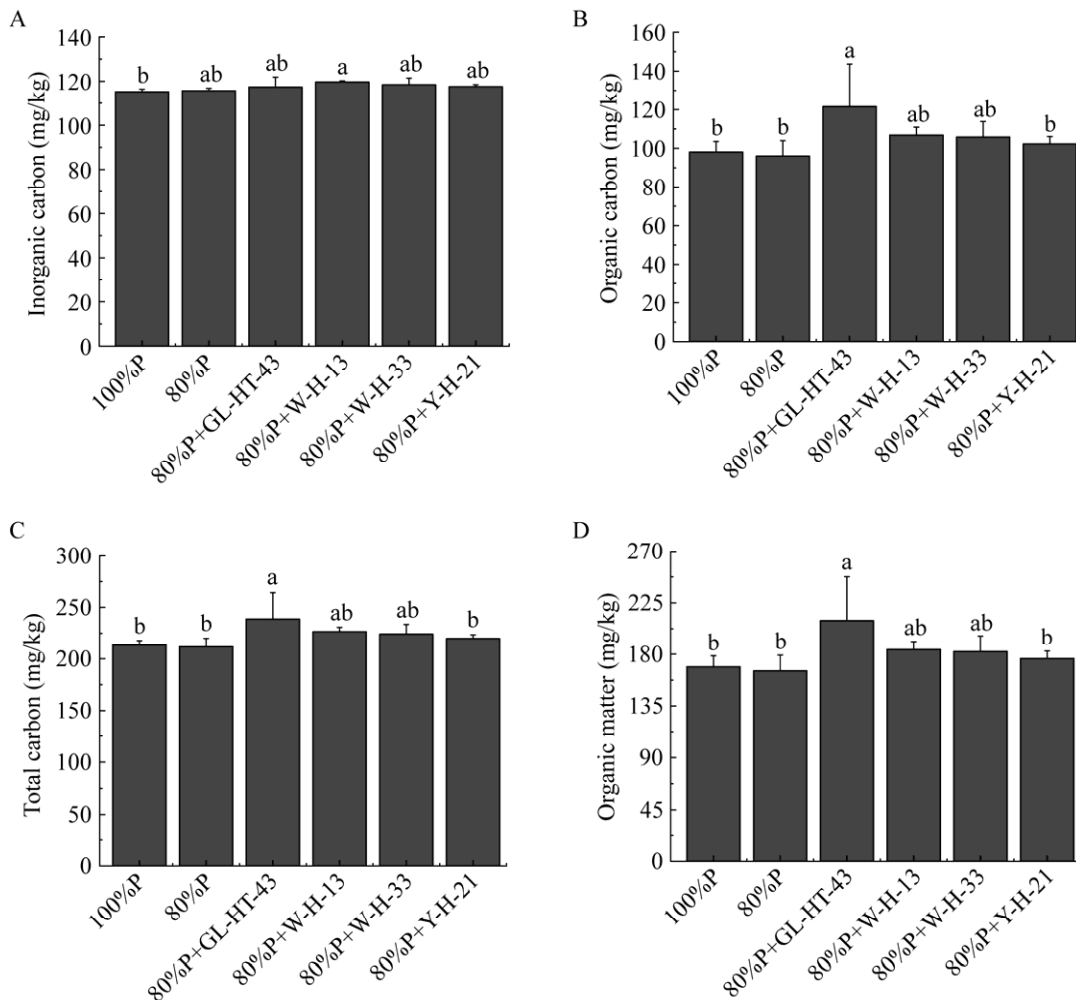


图 8 黑土土壤中无机碳(A)、有机碳(B)、总碳(C)以及有机质(D)含量的测定

Figure 8 Measurements of inorganic carbon (A), organic carbon (B), total carbon (C) and organic matter (D) contents in black soil.

80%P+GL-HT-43 和 80%P+W-H-13 解磷菌处理组的土壤全磷含量为 1.00 g/kg 和 0.98 g/kg, 较 80%P 对照组(0.91 g/kg)分别提高了 10.06%和 8.18% (图 9B), 说明这 2 种解磷菌的施加能够改善土壤磷含量。

### 2.5.3 解磷菌施加对土壤铵态氮与硝态氮的影响

氮是限制作物生长的关键营养元素, 因此是表征土壤肥力的重要指标。相较于 80%P 对照组(3.57 mg/kg), 除了 80%P+W-H-33 处理组的铵态氮含量略微降低 2.7%外, 80%P+GL-HT-43、80%P+W-H-13、80%P+Y-H-21 等其他 3 个解磷菌处理组的土壤铵态氮含量分别提高了 77.7%、70.0%和 27.5% (图 10A)。在硝态氮方面, 80%P+GL-HT-43 处理组的土壤硝态氮含量最高, 达到 48.45 mg/kg, 较 80%P 对照组(35.66 mg/kg)提高了 35.9% (图 10B)。上述结果表明解磷菌的施加刺激了土壤速效氮的产生和释放。

## 3 讨论

磷元素通过多种途径参与植物和微生物的

代谢过程, 在维持植物生理功能和稳定土壤结构方面发挥着重要作用。然而农田土壤普遍缺乏有效磷, 而传统化学磷肥的过量施用造成了环境污染与土壤退化, 因此微生物磷肥的开发与利用为可持续农业绿色发展提供了新思路。土壤中具有丰富的解磷微生物资源, 通过微生物-土壤磷循环<sup>[30]</sup>、微生物-作物根系磷循环<sup>[31]</sup>、微生物-微生物磷转化<sup>[32]</sup>等机制来解决土壤磷利用率低的问题。研究表明, 将大麦根际中分离获得的明斯特小陌生菌(*Advenella mimigardefordensis*)和真菌伯克霍尔德里氏菌(*Burkholderia fungorum*)应用于大麦种植, 能够显著提高大麦的穗干重和穗上积累的淀粉量, 进而提高了大麦产量<sup>[33]</sup>。此外, 适当施加磷肥并将摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*)、巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)等菌株接种紫花苜蓿, 可以显著提高紫花苜蓿的地上生物量及叶片叶绿素含量<sup>[34]</sup>。Kaur 等<sup>[35]</sup>研究表明, 接种杀香鱼假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*) PSB-5, 不仅能够显著提高玉米产量和总磷吸收量, 还能够提高土壤速效磷及有机碳含量等。因此, 微生物菌剂的施加, 不仅能够改善植物

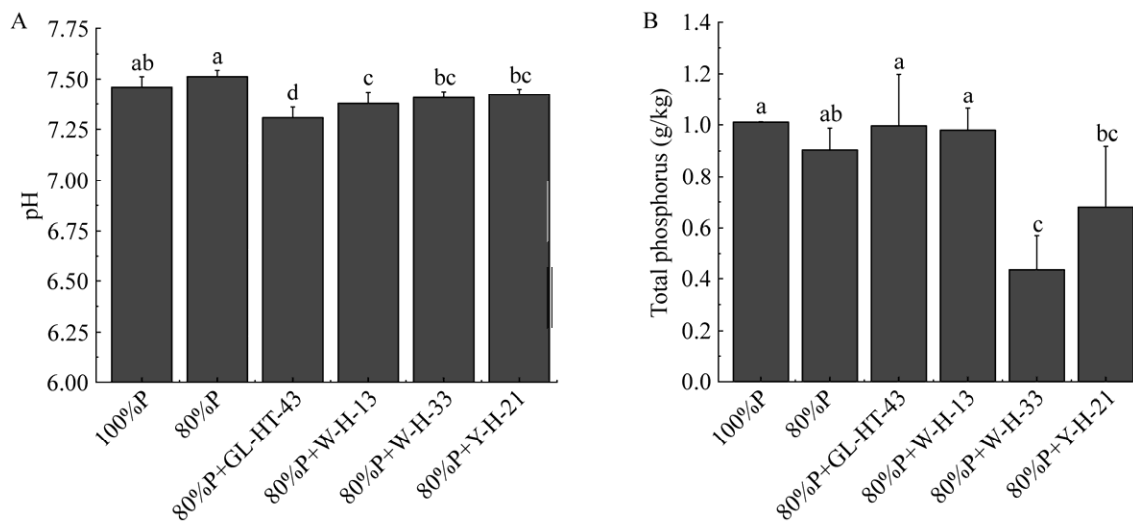


图 9 黑土土壤 pH (A) 以及全磷含量 (B) 的测定

Figure 9 Measurements of pH values (A) and total phosphorus content (B) of black soil.

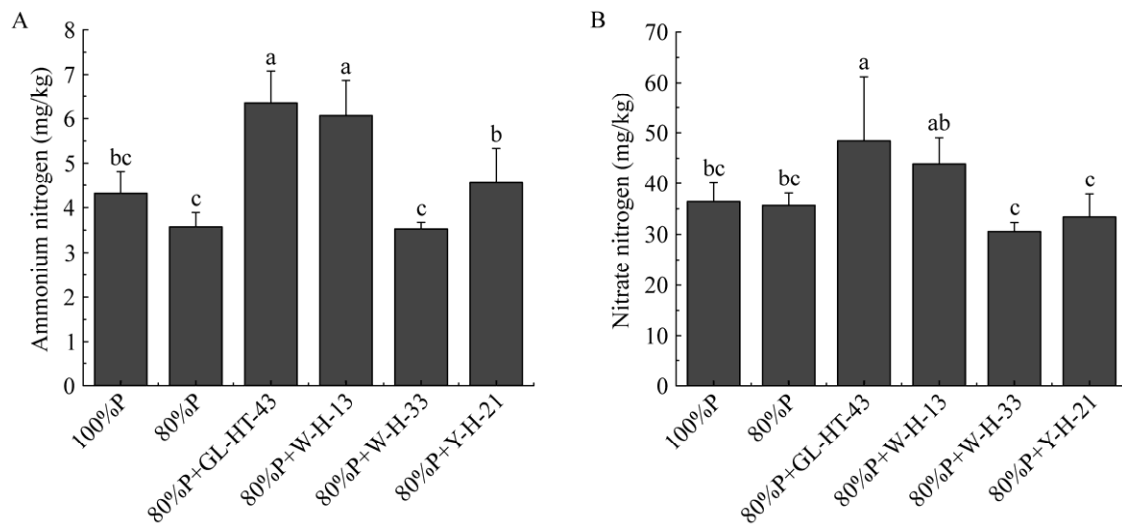


图 10 黑土土壤中铵态氮(A)和硝态氮(B)含量的测定

Figure 10 Measurements of ammonium nitrogen (A) and nitrate nitrogen (B) contents in black soils.

养分供给、促进植物生长发育,而且还能够平衡土壤养分、改善土壤结构、提升土壤质量。

本研究从黑土土壤中筛选获得 16 株解磷菌,发现这些菌株的解磷能力和产酸能力呈正相关,这与文献[36]一致。除解磷功能外,部分菌株同时具有分泌 IAA 等植物生长激素的能力,解磷菌主要通过色氨酸合成途径来进行 IAA 的生物合成<sup>[37]</sup>,进而对植物生长起到促进作用。通过对高效解磷菌的 IAA 分泌能力进行评价,发现菌株的解磷能力和 IAA 分泌能力无相关性。该研究获得的 4 株高效解磷菌分别属于 *Enterobacter*、*Paraburkholderia*、*Staphylococcus* 和 *Arthrobacter* 这 4 个属。已有研究表明, *Enterobacter* 的霍氏肠杆菌 (*Enterobacter hormaechei*)具有固氮和 IAA 分泌能力,能够有效促进番茄生长,是一种植物促生长细菌<sup>[38]</sup>。将 *Paraburkholderia* sp. Msb3 施加于番茄,可以增加番茄生物量高达 40%,表现出显著的生长促进作用<sup>[39]</sup>。而巴氏葡萄球菌 (*Staphylococcus pasteurii*)和滋养节杆菌 (*A. pascens*)可以促进植物-微生物协同作用,改善植物根系修复的能力,

增加植物的抗逆性<sup>[40-41]</sup>。因此,本研究供试菌株在促进作物生长、增强作物抗逆性、调节土壤氮磷养分及改善土壤结构等方面展现了良好的应用潜力。

作物株高和地上生物量是评价作物生长发育情况和养分利用效果的重要指标。80%P+GL-HT-43、80%P+W-H-13 和 80%P+Y-H-21 等解磷菌处理组的玉米株高和生物量均较 80%P 对照组有所提高,表明这些解磷菌的施加能够促进玉米的生长和养分利用,部分替代磷肥的使用。磷素缺乏影响植物的光合作用,而叶片色素含量的高低能够反映光合作用的强弱。80%P+GL-HT-43 和 80%P+W-H-13 处理组的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量均较 80%P 对照组有所增加,色素含量增加表明这 2 株解磷菌能够和玉米植株产生良好的相互作用,增强了玉米对磷元素的吸收和利用。

土壤中的碳含量主要受到生物因素和非生物因素两方面的影响,其中生物因素主要包括玉米残叶和微生物残体的分解等,而非生物因素包括土壤温度、湿度及耕作土壤深度<sup>[42]</sup>。相

较于 80%P 对照组, 80%P+GL-HT-43 处理组显著提高了土壤有机碳、总碳及有机质含量。本研究的玉米栽培环境是稳定一致的, 因此土壤碳含量主要受到生物因素影响。解磷菌在磷的溶解与释放过程中, 随着土壤可利用磷含量的增加, 推动了土壤微生物数量和多样性的增加, 从而提高了土壤碳含量<sup>[43-44]</sup>。

相较于 80%P 对照组, 80%P+GL-HT-43 和 80%P+W-H-13 的土壤全磷水平提高了 10.06%和 8.18%, 达到了 100%P 对照组的土壤全磷水平。土壤磷元素大多数以不溶性磷的形式存在于土壤中, 解磷菌的施加显著降低了土壤 pH, 而土壤 pH 影响土壤有效磷的溶出。有研究表明, 土壤 pH 降低与解磷菌在代谢过程中释放有机酸等酸性物质有关, 同时解磷菌产生磷酸酶分解有机磷等, 促进土壤磷元素的循环与供给<sup>[45-46]</sup>。磷元素参与植物能量代谢和光合作用, 缺磷导致植株氮磷水平失调, 影响叶片色素合成, 导致作物植株生长缓慢且矮小, 进而影响作物的生物量<sup>[47-49]</sup>。

土壤中的游离态氮可以直接被作物吸收利用, 80%P+GL-HT-43 和 80%P+W-H-13 处理组的土壤铵态氮和硝态氮含量显著高于对照组。菌株 GL-HT-43 和 W-H-13 可能具有更好的土壤环境适应性, 更好地发挥了土壤解磷功能, 土壤磷含量的增加进一步提高了土壤微生物固氮速率, 进而将更多的氮气转化为铵态氮。菌株 GL-HT-43 或 W-H-13 也可能激活了作物根际和土壤中的氨化细菌, 促进更多的有机氮转化为铵态氮, 进而提升了土壤铵态氮含量。此外, 铵态氮可以进一步被硝化细菌转化为硝态氮, 从而提高了土壤中硝态氮的含量。

## 4 结论

本研究从东北黑土中筛选获得了具有高解

磷活性的植物促生菌, 其中菌株 GL-HT-43 和 W-H-13 这 2 株解磷菌能够显著促进玉米的生长, 同时有效改善土壤肥力, 有望开发为面向黑土地产能提升的微生物菌剂, 进而为东北黑土地的保护与利用发挥作用。

## REFERENCES

- [1] SUN YF, HU Z, WANG XW, SHEN X, HU SW, YAN Y, KANT S, XU GH, XUE Y, SUN SB. Overexpression of OsPHR3 improves growth traits and facilitates nitrogen use efficiency under low phosphate condition[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 166: 712-722.
- [2] LI HP, HAN QQ, LIU QM, GAN YN, RENSING C, RIVERA WL, ZHAO Q, ZHANG JL. Roles of phosphate-solubilizing bacteria in mediating soil legacy phosphorus availability[J]. *Microbiological Research*, 2023, 272: 127375.
- [3] TIMOFEEVA A, GALYAMOVA M, SEDYKH S. Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture[J]. *Plants*, 2022, 11(16): 2119.
- [4] 高燕, 梁爱珍, 黄丹丹, 张延, 张旻, 王阳, 张士秀, 陈学文. 长期免耕对黑土氮磷硫循环微生物功能潜力的影响[J]. *应用生态学报*, 2023, 34(4): 913-920. GAO Y, LIANG AZ, HUANG DD, ZHANG Y, ZHANG Y, WANG Y, ZHANG SX, CHEN XW. Effects of long-term no-tillage on the functional potential of microorganisms involved in the nitrogen, phosphorus and sulfur cycles of black soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, 34(4): 913-920 (in Chinese).
- [5] ADNAN M, FAHAD S, ZAMIN M, SHAH S, MIAN IA, DANISH S, ZAFAR-UL-HYE M, BATTAGLIA ML, NAZ RMM, SAEED B, SAUD S, AHMAD I, YUE Z, BRTNICKY M, HOLATKO J, DATTA R. Coupling phosphate-solubilizing bacteria with phosphorus supplements improve maize phosphorus acquisition and growth under lime induced salinity stress[J]. *Plants*, 2020, 9(7): 900.
- [6] PAN L, CAI BY. Phosphate-solubilizing bacteria: advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(12): 2904.
- [7] BARGAZ A, ELHAISSOUFI W, KHOURCHI S, BENMRID B, BORDEN KA, RCHIAD Z. Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus[J]. *Microbiological Research*, 2021, 252: 126842.
- [8] CHENG YY, NARAYANAN M, SHI XJ, CHEN XP, LI ZL, MA Y. Phosphate-solubilizing bacteria: Their agroecological function and optimistic application for enhancing agro-productivity[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 901: 166468.
- [9] GUO L, WANG C, SHEN RF. Stronger effects of maize rhizosphere than phosphorus fertilization on phosphatase

- activity and phosphorus-mineralizing-related bacteria in acidic soils[J]. *Rhizosphere*, 2022, 23: 100555.
- [10] BAKHSHANDEH E, RAHIMIAN H, PIRDASHTI H, NEMATZADEH GA. Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in northern Iran[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2015, 119(5): 1371-1382.
- [11] DASILA H, SAH VK, JAGGI V, KUMAR A, TEWARI L, TAJ G, CHATURVEDI S, PERVEEN K, BUKHARI NA, SIANG TC, SAHGAL M. Cold-tolerant phosphate-solubilizing *Pseudomonas* strains promote wheat growth and yield by improving soil phosphorous (P) nutrition status[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1135693.
- [12] LONG H, WASAKI J. Effects of phosphate-solubilizing bacteria on soil phosphorus fractions and supply to maize seedlings grown in lateritic red earths and cinnamon soils[J]. *Microbes and Environments*, 2023, 38(2): ME22075.
- [13] SONG C, WANG WJ, GAN YF, WANG LF, CHANG XL, WANG Y, YANG WY. Growth promotion ability of phosphate-solubilizing bacteria from the soybean rhizosphere under maize-soybean intercropping systems[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(4): 1430-1442.
- [14] 胡展, 雷平, 郭照辉, 杨华, 肖蓉, 罗璐君, 黄军, 付祖姣. 生防放线菌 Ahn75 的荧光标记及其在水稻中的定殖[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(10): 2612-2619.
- HU Z, LEI P, GUO ZH, YANG H, XIAO R, LUO RJ, HUANG J, FU ZJ. Fluorescent marker of biocontrol actinomycetes Ahn75 and its colonization in rice[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(10): 2612-2619 (in Chinese).
- [15] WANG ZH, ZHANG HH, LIU L, LI SJ, XIE JF, XUE X, JIANG Y. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1): 296.
- [16] 邹卫玲, 冯广达, 李华平, 朱红惠. 废弃铅锌矿石和钙矿砂中可培养细菌多样性分析[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(5): 450-458.
- ZOU WL, FENG GD, LI HP, ZHU HH. Diversity analyses of culturable bacteria in abandoned lead-zinc ore and tungsten sands[J]. *Current Biotechnology*, 2018, 8(5): 450-458 (in Chinese).
- [17] 吕俊, 于存. 一株高效溶磷伯克霍尔德菌的筛选鉴定及对马尾松幼苗的促生作用[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(9): 2923-2934.
- LYU J, YU C. Screening and identification of an efficient phosphate-solubilizing *Burkholderia* sp. and its growth-promoting effect on *Pinus massoniana* seedling[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(9): 2923-2934 (in Chinese).
- [18] 邵锴, 邱业先, 徐婧. 高效溶磷菌的筛选、鉴定及其溶磷特性[J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(8): 253-257.
- SHAO K, QIU YX, XU J. Screening, identification and characterization of High efficiency phosphorus-solubilizing bacteria[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(8): 253-257 (in Chinese).
- [19] 张琴, 李艳宾. 六株耐酸苜蓿根瘤菌的筛选及生长特性研究[J]. *中国农学通报*, 2007(9): 435-439.
- ZHANG Q, LI YB. Screening and growth characteristics of six acid-tolerant alfalfa rhizobia[J]. *China Agricultural Science Bulletin*, 2007(9): 435-439 (in Chinese).
- [20] 王慧, 靳海洋, 陈哲, 靳鹏辉, 张燕辉, 胡天龙, 周蓉, 张静如, 蔺兴武, 谢祖彬. 稻田高效固氮蓝细菌的筛选鉴定及其促生潜力[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(10): 4043-4057.
- WANG H, JIN HY, CHEN Z, JIN PH, ZHANG YH, HU TL, ZHOU R, ZHANG JR, LIN XW, XIE ZB. Screening and identification of efficient nitrogen-fixing cyanobacteria with plant growth-promoting potential from paddy fields[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(10): 4043-4057 (in Chinese).
- [21] 刘清怡, 熊海容, 张莉. 一株耐盐葡萄球菌的分离鉴定及其特性分析[J]. *微生物学杂志*, 2022, 42(2): 50-57.
- LIU QY, XIONG HR, ZHANG L. Isolation, identification, and characteristics analysis of a salt-tolerant *Staphylococcus* strain[J]. *Journal of Microbiology*, 2022, 42(2): 50-57 (in Chinese).
- [22] HUANG X, WANG CY, HOU JF, DU CY, LIU SJ, KANG J, LU HF, XIE YX, GUO TC, MA DY. Coordination of carbon and nitrogen accumulation and translocation of winter wheat plant to improve grain yield and processing quality[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 10340.
- [23] SINGH DP, SINGH V, SHUKLA R, SAHU P, PRABHA R, GUPTA A, SARMA BK, GUPTA VK. Stage-dependent concomitant microbial fortification improves soil nutrient status, plant growth, antioxidative defense system and gene expression in rice[J]. *Microbiological Research*, 2020, 239: 126538.
- [24] 陈富伟, 李伟. 土壤酸碱度、含水量和有机质测量方法对比[J]. *云南化工*, 2020, 47(8): 4-6.
- CHEN FW, LI W. Comparison of measuring method of soil pH, water content and organic matter content[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2020, 47(8): 4-6 (in Chinese).
- [25] SHARMA R, SHRIVAS VL, SHARMA S. Effect of substitution of chemical fertilizer by bioinoculants on plant performance and rhizospheric bacterial community: case study with *Cajanus cajan*[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2021, 52(1): 373-386.
- [26] 周海军, 孙静萍, 崔敏, 团良, 白力军. 呼伦贝尔地区草原表层土壤中总有机碳与有机质初探[J]. *中国环境监测*, 2013, 29(5): 111-113.
- ZHOU HJ, SUN JP, CUI M, TUAN L, BAI LJ. Preliminary study on organic carbon and organic matter of grassland surface soils of Hulunbeir[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2013, 29(5): 111-113 (in Chinese).
- [27] 叶祥盛, 吴晓荣, 赵竹青. 流动注射仪法与传统方法测定土壤全磷的比较[J]. *实验室研究与探索*, 2010, 29(3): 50-53.
- YE XS, WU XR, ZHAO ZQ. Comparison on the determination of soil total phosphorus concentration by continuous flow injection analyzer and traditional analysis methods[J]. *Research and Exploration in Laboratory*, 2010, 29(3): 50-53 (in Chinese).
- [28] RUSSOW R, APELT B. Determining the content and <sup>13</sup>C abundance of total dissolved carbon in water samples by TOC analyser-mass spectrometer



- coupling[J]. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2003, 39(4): 311-314.
- [29] 王新刚, 韩旭, 吴东洋. 土壤速效氮含量速测方法研究[J]. *现代农业科技*, 2011(18): 296, 299.
- [30] LIANG JL, LIU J, JIA P, YANG TT, ZENG QW, ZHANG SC, LIAO B, SHU WS, LI JT. Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(6): 1600-1613.
- [31] SRIVASTAVA S, SRIVASTAVA S. Prescience of endogenous regulation in *Arabidopsis thaliana* by *Pseudomonas putida* MTCC 5279 under phosphate starved salinity stress condition[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 5855.
- [32] WANG L, WANG J, YUAN J, TANG ZH, WANG JD, ZHANG YC. Long-term organic fertilization strengthens the soil phosphorus cycle and phosphorus availability by regulating the pqqC- and phoD-harboring bacterial communities[J]. *Microbial Ecology*, 2023, 86(4): 2716-2732.
- [33] IBÁÑEZ A, DIEZ-GALÁN A, COBOS R, CALVO-PEÑA C, BARREIRO C, MEDINA-TURIENZO J, SÁNCHEZ-GARCÍA M, COQUE JJR. Using rhizosphere phosphate solubilizing bacteria to improve barley (*Hordeum vulgare*) plant productivity[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(8): 1619.
- [34] LIU JY, LIU XS, ZHANG QB, LI SY, SUN YL, LU WH, MA CH. Response of alfalfa growth to arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria under different phosphorus application levels[J]. *AMB Express*, 2020, 10(1): 200.
- [35] KAUR G, SUDHAKARA REDDY M. Phosphate solubilizing rhizobacteria from an organic farm and their influence on the growth and yield of maize (*Zea mays* L.)[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2013, 59(4): 295-303.
- [36] LIU ZG, LI YC, ZHANG SA, FU YQ, FAN XH, PATEL JS, ZHANG M. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 217-224.
- [37] KESWANI C, SINGH SP, CUETO L, GARCÍA-ESTRADA C, MEZAACHE-AICHOOR S, GLARE TR, BORRIS R, SINGH SP, BLÁZQUEZ MA, SANSINENA E. Auxins of microbial origin and their use in agriculture[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(20): 8549-8565.
- [38] RANAWAT B, BACHANI P, SINGH A, MISHRA S. *Enterobacter hormaechei* as plant growth-promoting bacteria for improvement in *Lycopersicon esculentum*[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(4): 1208-1217.
- [39] HERPELL JB, SCHINDLER F, BEJTOVIĆ M, FRAGNER L, DIALLO B, BELLAIRE A, KUBLIK S, FOESEL BU, GSCHWENDTNER S, KEROU M, SCHLOTTER M, WECKWERTH W. The potato yam phyllosphere ectosymbiont *Paraburkholderia* sp. Msb3 is a potent growth promotor in tomato[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 581.
- [40] ZHENG XH, ABORISADE MA, WANG H, HE P, LU S, CUI N, WANG SY, ZHANG HL, DING H, LIU KB. Effect of lignin and plant growth-promoting bacteria (*Staphylococcus pasteurii*) on microbe-plant co-remediation: a PAHs-DDTs co-contaminated agricultural greenhouse study[J]. *Chemosphere*, 2020, 256: 127079.
- [41] LI WM, ZHANG Z, SUN B, HU SJ, WANG DS, HU F, LI HX, XU L, JIAO JG. Combination of plant-growth-promoting and fluoranthene-degrading microbes enhances phytoremediation efficiency in the ryegrass rhizosphere[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28(5): 6068-6077.
- [42] 吕静雅, 吕汪汪, 孙建平, 李博文, 周阳, 阿旺, 刘云霞, 贾跃凤, 伍晶, 刘世章, 斯确多吉, 汪诗平. 影响土壤有机碳含量和组分及其稳定性的关键因素[J]. *西藏科技*, 2023(11): 6-21, 2.
- [43] LV JY, LYU WW, SUN JP, LI BW, ZHOU Y, AWANG, LIU YX, JIA YF, WU J, LIU SZ, SI Queduoji, WANG SP. Key factors influencing soil organic carbon content and composition and its stability[J]. *Xizang Science and Technology*, 2023(11): 6-21, 2 (in Chinese).
- [44] DING WL, CONG WF, LAMBERS H. Plant phosphorus-acquisition and-use strategies affect soil carbon cycling[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2021, 36(10): 899-906.
- [45] ZHANG L, XU MG, LIU Y, ZHANG FS, HODGE A, FENG G. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium[J]. *New Phytologist*, 2016, 210(3): 1022-1032.
- [46] ILLMER P, SCHINNER F. Solubilization of inorganic calcium phosphates: solubilization mechanisms[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(3): 257-263.
- [47] ELHAISSOUFI W, GHOULAM C, BARAKAT A, ZEROUAL Y, BARGAZ A. Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 38: 13-28.
- [48] FERROL N, AZCÓN-AGUILAR C, PÉREZ-TIENDA J. Review: arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: an overview on the mechanisms involved[J]. *Plant Science*, 2019, 280: 441-447.
- [49] HAN Y, WHITE PJ, CHENG LY. Mechanisms for improving phosphorus utilization efficiency in plants[J]. *Annals of Botany*, 2022, 129(3): 247-258.
- [50] POIRIER Y, JASKOŁOWSKI A, CLÚA J. Phosphate acquisition and metabolism in plants[J]. *Current Biology*, 2022, 32(12): R623-R629.