

一株嗜松青霉 JP-NJ4 的解磷特性

乔欢 吴小芹* 王早

(南京林业大学 森林资源与环境学院 江苏 南京 210037)

摘要:【目的】土壤中磷素供应不足是造成马尾松林地力衰退的原因之一。本研究对前期从马尾松根际土样中分离筛选出的一株解磷能力较强的嗜松青霉 JP-NJ4 的解无机磷及解有机磷能力进行探讨。【方法】探究嗜松青霉 JP-NJ4 对 4 种无机磷源及 2 种有机磷源的降解能力, 并对其分泌的有机酸和酶类进行测定, 对其解磷特性进行初步分析。【结果】表明 JP-NJ4 菌株可在 4 种不同无机磷源的培养基中生长, 其中对磷酸钙[Ca₃(PO₄)₂]的解磷效果最好, 对 4 种磷源的解磷能力大小为: 磷酸钙>磷酸铝>磷酸氢钙>磷酸铁; 其分泌的有机酸种类主要为葡萄糖酸、草酸及丙二酸; JP-NJ4 菌株的磷酸酶活性较高, 并具有一定的植酸酶活性; 同时对草甘膦具有较好的生物降解功能, 降解率达 49.6%。【结论】嗜松青霉 JP-NJ4 解磷能力受磷源的结构组成影响, 且解磷能力与发酵液 pH 值呈负相关关系; 该菌株分泌的葡萄糖酸和草酸对磷酸钙及磷酸铝的溶解效果较明显。本研究供试菌株嗜松青霉 JP-NJ4 具有良好的解磷功能, 在作为林业生物菌肥方面具有极大的应用潜力。

关键词: 马尾松, 解磷真菌, 无机磷, 有机磷

Phosphate-solubilizing characteristic of a *Penicillium pinophilum* strain JP-NJ4

QIAO Huan WU Xiao-Qin* WANG Zao

(College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China)

Abstract: [Objective] The shortage of phosphorus in the soil is one of the causes for declining of *Pinus massoniana* stands. One fungal strain *Penicillium pinophilum* JP-NJ4 which had strong capability to soluble phosphate was isolated from *Pi. massoniana* rhizosphere early. The research studied on inorganic phosphorus and organophosphorus-solubilizing capability of the strain. [Methods] Phosphate-solubilizing efficiencies on different phosphorus compounds, secretion of organic acids and enzymes of *P. pinophilum* JP-NJ4 were measured. Then phosphate-solubilizing characteristics of JP-NJ4 were analyzed. [Results] Four insoluble inorganic phosphates were used as a sole phosphorus resource for *P. pinophilum* JP-NJ4. The results showed that the strain JP-NJ4 had the highest phosphate-solubilizing capability for Ca₃(PO₄)₂. The capacity to solubilize four inorganic

基金项目: 国家“十二五”科技支撑专题项目(No. 2012BAD19B0703); 国家林业公益性行业科研专项项目(No. 201004061); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(No. PAPD)

*通讯作者: Tel: 86-25-85427427; 信箱: xqw@njfu.edu.cn

收稿日期: 2013-11-29; 接受日期: 2014-01-16; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-02-18

phosphates was $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{AlPO}_4 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{FePO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. It revealed that *P. pinophilum* JP-NJ4 mainly secreted gluconic acid, oxalic acid and malonic acid. The results of determining the activity of phytase and phosphatase showed that the phosphatase activity of the strain is higher. The strain JP-NJ4 also had certain phytase activity. The strain had a promising biodegradation function and its degradation rate of glyphosate reached 49.6%. **[Conclusion]** It showed that different chemical bonds had different effects on phosphate-solubilizing capability of the strain JP-NJ4. Phosphate-solubilizing capability and pH of fermentation broth was negatively correlated. Gluconic acid and oxalic acid had predominance in solubilizing $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ and AlPO_4 . The tested strain JP-NJ4 had an excellent phosphate-solubilizing function and great application potential on forestry biological fertilizer.

Keywords: *Pinus massoniana*, Phosphate-solubilizing fungi, Inorganic phosphorus, Organic phosphorus

磷是植物生长发育所需的大量和限制性元素之一,我国土壤全磷密度自西北部向东南沿海地区,自干旱、半干旱地区向湿润地区,自寒温带、温带向热带地区呈递减趋势,南方土壤多为酸性,大部分区域处于“贫磷”状态^[1]。马尾松是我国南方地区的主要造林树种。土壤中磷素的供应不足是造成目前马尾松林地力衰退较严重的原因之一^[2]。在自然条件下,土壤中90%以上的磷为无效磷,植被难以直接吸收利用,而施入的磷肥又多与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 等结合成难溶性磷酸盐^[3-4],同时磷肥的过量施用还会造成环境污染。提高土壤磷素利用率,是当今解决土壤磷素供应不足的重要途径。研究表明,解磷微生物可将土壤中难溶性磷转化成植物能够吸收利用的可溶性磷。因此,通过微生物途径改善土壤的磷素供应有助于解决土壤磷素供应不足的问题。

解磷微生物主要包括解磷细菌、解磷真菌和解磷放线菌等^[5]。近年来,对于根际土壤高效解磷微生物的研究主要集中在细菌方面^[6-7]。解磷细菌洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cepacia*) IS-16已被用作生物菌肥,施用于多种作物^[8]。Tao等^[6]从土壤中分离出10株具有解磷活性的蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*),发现其在培养条件下对有机磷矿化活性达13.8–62.8 mg/L。研究表明解磷真菌在数量和种类上都少于解磷细菌,但解磷真菌的溶磷能力

一般要强于细菌,甚至是细菌的几十倍,且遗传性状更加稳定^[9]。赵小蓉等^[10]对解磷真菌 *Aspergillus* 2TCiF2 的解磷能力研究发现其解磷量峰值达490 mg/L,而细菌节杆菌(*Arthrobacter* spp.) 1TCRi7 和 1TCRi14 的解磷量仅为 0.08 ± 0.20 mg/L 和 1.05 ± 1.70 mg/L。解磷真菌对于植物根际土壤中磷素循环具有重要作用,除可将难溶磷转变为可溶磷外,还可一定程度上促进植物生长,在作为高效磷肥应用方面具有极大的潜力^[11]。近年有研究发现解磷真菌黑曲霉(*Aspergillus niger*)及点青霉(*Penicillium notatum*)可对花生生长及养分吸收具有显著的促进作用^[12]。宋勇春等^[13]发现内生菌根真菌(*Glomus mosseae*, *Glomus versiforme*, *Gigaspora margarita*)可促进土壤难溶性有机磷有效化。刘辉等^[14]发现林木外生菌根真菌(*Xerocomus chrysenteron*, *Boletus edulis*, *Rhizopogon luteous* 及 *Lactarius insulsus*)对难溶性磷酸盐具有溶解能力。然而目前对解磷真菌,尤其是森林生态系统的解磷真菌研究仍较少^[15-18]。鉴于我国南方地区马尾松林面临的地力衰退现状,从林地根际土壤中筛选高效解磷真菌并研制具解磷功能的微生物肥料,是改善林地土壤养分,促进松树生长的一条有效途径。本重点实验室前期从马尾松林根际土壤分离筛选获得一株解磷真菌嗜松青霉(*Penicillium pinophilum*) JP-NJ4,其对松树具有良好的促生作用^[19],但关于这株真菌的解磷特性目前尚不十分

清楚。为此,本研究对筛选出的这株解磷真菌的解磷特性进行探讨,以期今后研究开发和利用解磷生物菌肥提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

为本实验室分离自南京林业大学后山马尾松林根际土壤(黄棕壤)的嗜松青霉(*P. pinophilum*) JP-NJ4^[19],供试菌株保存于中国典型培养物保藏中心。

1.2 磷标准曲线的绘制

准确吸取磷标准使用液 0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL (分别相当于含磷量 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg)置于刻度试管中,依次加入 2 滴 2,4-二硝基酚,摇匀,静置 5 s。再加入钼锑抗显色剂 5 mL 混合均匀。定容至刻度。室温下静置 30 min。以零管为空白对照,用 UV-160PC 紫外-可见分光光度计测量其在 720 nm 处的吸光度值,以磷含量和吸光度值间的相关关系绘制标准曲线。

1.3 青霉 JP-NJ4 解无机磷能力的测定

1.3.1 青霉 JP-NJ4 液体培养基溶磷量的动态测定:采用磷钼蓝分光光度法分别测定发酵液中可溶性磷的含量。将供试菌株接入含 1.5 L NBRIP 培养基^[20]的发酵罐(上海国强)中发酵(25 °C, pH 7.2),自发酵第 2 天起每隔 12 h 测一次发酵液中可溶磷的含量,用 UV-160PC 紫外-可见分光光度计测定钼蓝在 720 nm 处的吸光度值,对磷含量进行定量分析^[21],共测至 120 h。

1.3.2 青霉 JP-NJ4 对不同无机磷源培养基溶磷量的测定:制作分别含磷酸铝(AlPO_4)、磷酸铁($\text{FePO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、磷酸氢钙($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、磷酸钙 $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ 的 NBRIP 液体培养基,上述不同磷源按每升 NBRIP 培养基中加入相同含量的磷(1 g)折算其加入量,在各培养基中分别接入供试青霉,25 °C 振荡 7 d,测定各发酵培养液中可溶磷的含量(方法见 1.3.1),并按下式计算解磷率^[22]。

$$\text{解磷率}(\%) = (\text{接菌可溶性磷含量} - \text{对照可溶性磷含量}) \div \text{加入无机磷源的量} \times 100$$

1.3.3 青霉 JP-NJ4 分泌有机酸种类及含量的测定:将供试菌株接入 50 mL NBRIP 液体培养基,25 °C 摇瓶振荡 4–5 d 后采用高效液相色谱(Agilent1200 液相色谱仪 美国加利福尼亚州 Santa Clara 市)分别对其分泌的有机酸种类及含量进行测定。

测定有机酸色谱条件:色谱柱:Thermo Hypersil Gold, 250 mm×4.6 mm, 5 μm;流动相:50 mmol/L KH_2PO_4 , pH 2.5;流速:1 mL/min;梯度:0–8 min;B 相:0%;8–13 min;B:40%;测定波长:203 nm;进样体积:2 μL。

测定葡萄糖酸色谱条件:色谱柱:Agilent ZORBAX SB-Phenyl, 4.6 mm×250 mm, 5 μm;流动相:A:0.1% H_3PO_4 ;B: CH_3CN ;流速:1 mL/min;梯度:0–4 min;B 相:40%;5–7 min;B:90%;测定波长:203 nm;进样体积:2 μL。

1.4 青霉 JP-NJ4 解有机磷能力的测定

1.4.1 液体培养基溶磷量动态变化的测定:将供试菌株接入含 1.5 L 蒙金娜培养基^[23]的发酵罐(上海国强)中发酵(25 °C, pH 7.2),自发酵第 2 天起每隔 12 h 测一次发酵液中可溶磷的含量(方法见 1.3.1),共测至 120 h。

1.4.2 青霉 JP-NJ4 磷酸酶活性测定:将供试菌株接入 PD 液体培养基^[24]中 25 °C 振荡培养 4–5 d 后,使用 MUB 试剂(检测酸性磷酸酶时所用 MUB 试剂 pH 6.5,碱性磷酸酶时所用 MUB 试剂 pH 11)在 420 nm 比色下对其磷酸酶活性进行测定。

1.4.3 青霉 JP-NJ4 植酸酶活性测定:将供试菌株接入 PD 液体培养基,25 °C 振荡培养 4–5 d 后,取 8 mL 菌液于 1 000 r/min 离心 10 min 后取 1 mL 上清液,水浴 1 h 后加 2 mL 终止液。用 UV-160PC 紫外-可见分光光度计测 415 nm 的吸光值^[25]。

1.4.4 青霉 JP-NJ4 对草甘膦的生物降解:将供试

菌株接入 50 mL 无机盐液体培养基中, 每瓶培养基加入草甘膦 0.04 mL, 25 °C 摇瓶振荡 7 d。

(1) 发酵液中总磷含量的测定。取 5 mL 发酵液于凯氏瓶中, 加入 9 mL 浓硫酸及 1 mL 高氯酸消煮至溶液透明, 冷却后调整 pH 至 7.0 并定容至 50 mL, 测定总磷含量(方法见 1.3.1)。

(2) 发酵液中无机磷含量的测定。取 45 mL 发酵液于离心管中, 加 0.5 g 无磷活性炭, 细胞破碎 20 min 后离心, 取上清液测定无机磷含量(方法见 1.3.1)。

发酵液中总磷含量减去无机磷含量等于供试菌株降解出的有机磷含量。按下式计算解磷率^[9]。

有机磷农药解磷率(%)=(培养前有机磷含量-培养后有机磷含量)÷培养前有机磷含量×100

1.5 数据处理

本试验数据使用 Microsoft Excel 2003 软件、SPSS 17.0 软件等进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 嗜松青霉 JP-NJ4 解磷能力的动态变化

2.1.1 JP-NJ4 菌株解无机磷能力的动态变化: 嗜松青霉 JP-NJ4 种子液接入含 NBRIP 培养基的发酵罐发酵后, 25 °C 经过连续 5 d 培养及解磷能力的动态测定, 发现 0–48 h 解磷量逐渐升高, 在 60 h 时解磷量最大, 为 4.3 g/L。此后其解磷能力出现下降趋势。同期测定嗜松青霉发酵液 pH 值发现, pH 值与解磷量呈负相关的关系, 随着解磷量的增大, pH 值呈明显下降趋势。在 60 h 时达到最低 3.2, 后期变化幅度不大, 但仍保持在较低水平(图 1A)。

2.1.2 JP-NJ4 菌株解有机磷能力的动态变化: 对嗜松青霉 JP-NJ4 在 25 °C 经连续 5 d 发酵培养及解卵磷脂能力进行动态测定, 发现其在 0–60 h 时的解磷量逐渐升高, 至 72 h 时解磷量达最大, 为 0.1 g/L。此后该菌株的解磷能力出现下降趋势。同期测定发酵液 pH 值发现, pH 值与解磷量呈负相关的关系, 随着解磷量的增大, pH 值呈明显下降趋势, 在 72 h

时达到最低, pH 为 3.6, 后期 pH 保持上升趋势(图 1B)。

2.2 嗜松青霉 JP-NJ4 对不同无机磷源的解磷能力

供试青霉 JP-NJ4 菌株在 4 种含不同无机磷源的培养基上均能生长, 但其对不同磷源的溶解效果明显不同(图 2A)。其中对于磷酸钙的溶解效果最好, 解磷量为 1 390 mg/L (图 2A), 解磷率为 24.1% (图 2B)。JP-NJ4 菌株对 4 种磷源的解磷效果为: 磷酸钙>

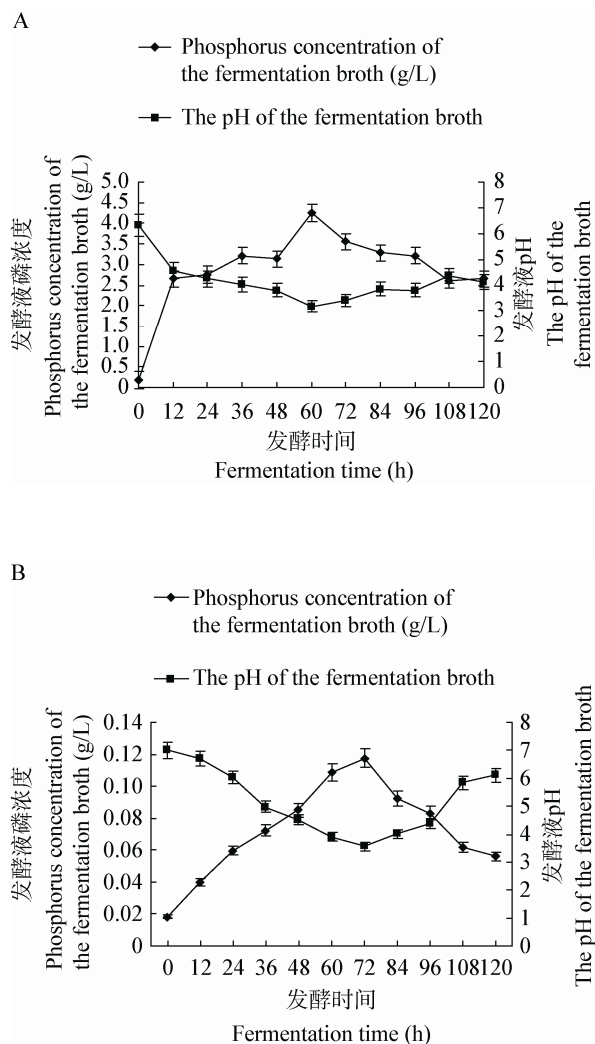


图 1 嗜松青霉 JP-NJ4 的解无机磷(A)及解有机磷(B)动态曲线

Figure 1 Inorganic phosphorus-solubilizing (A) and organophosphorus-solubilizing (B) curve of *P. pinophilum* JP-NJ4

磷酸铝>磷酸氢钙>磷酸铁, 溶磷率分别为 24.1%、14.0%、8.7%、6.0%。它们在 1%水平上具有极显著差异(图 2B)。

试验表明, 供试菌株发酵滤液的 pH 值较未接种的对照都有不同程度的降低(图 3A)。且在不同无机磷源的发酵滤液中可滴定酸含量相差很大, 可滴定酸含量与 pH 值呈正相关关系(图 3B)。嗜松青霉 JP-NJ4 在以磷酸铁为磷源时, 可滴定酸含量为 1.0 mmol/L, 在 1%水平上具有极显著差异, 表明该磷源培养滤液中含有的可滴定酸量最高。JP-NJ4 菌株在不同无机磷源发酵液中产生可滴定酸的量为: 磷酸铁>磷酸铝>磷酸氢钙>磷酸钙。

2.3 嗜松青霉 JP-NJ4 分泌有机酸种类及含量的比较

采用高效液相色谱分析了嗜松青霉 JP-NJ4 发

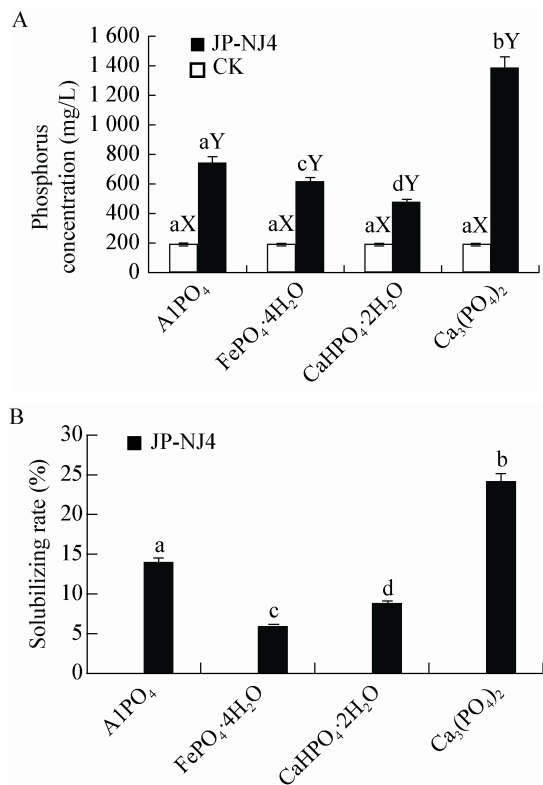


图 2 嗜松青霉 JP-NJ4 对不同无机磷源的溶解能力(A)及解磷率(B)
Figure 2 Solubilization of different inorganic insoluble phosphates (A) and phosphate-solubilizing rate (B) by *P. pinophilum* JP-NJ4
Note: $P<0.01$.

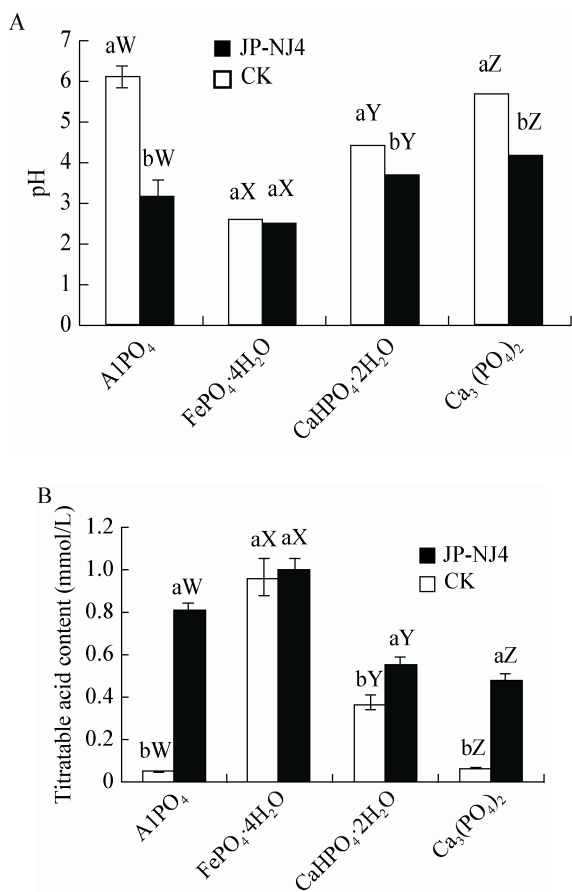


图 3 嗜松青霉 JP-NJ4 在对不同磷源培养基 pH (A)及可滴定酸含量(B)的影响
Figure 3 Changes of the pH of the culture filtrate (A) and titratable acidity values produced by *P. pinophilum* JP-NJ4 in liquid media containing different insoluble phosphates
Note: $P<0.01$.

酵液中主要分泌的有机酸种类与浓度(表 1)。结果显示, JP-NJ4 菌株主要分泌葡萄糖酸、草酸及丙二酸 3 种, 有机酸总量为 7.2 g/L, 其中葡萄糖酸含量最高, 为 6.1 g/L; 其次为草酸和丙二酸, 分别为 0.9 g/L 和 0.2 g/L。

2.4 嗜松青霉 JP-NJ4 对草甘膦生物降解的动态变化

嗜松青霉 JP-NJ4 接入含草甘膦的无机盐液体培养基中 25 °C 振荡培养 5 d 后, 对培养基中草甘膦的降解率进行了测定, 发现嗜松青霉 JP-NJ4 在 72 h 时的降解率达到最大, 为 49.6%。该菌株降解

表 1 嗜松青霉 JP-NJ4 分泌的有机酸种类与浓度				
Table 1 The type and concentration of organic acids secreted by <i>P. pinophilum</i> JP-NJ4				
菌株 Strain	有机酸种类 Organic acid species (g/L)			总酸含量 Total acids (g/L)
	葡萄糖酸 Glucose acid	草酸 Oxalic acid	丙二酸 Malonic acid	
嗜松青霉 JP-NJ4 <i>P. pinophilum</i> JP-NJ4	6.1	0.9	0.2	7.2

草甘膦的过程中在 72 h 和 96 h 出现了 2 次降解高峰，此后该解磷青霉对草甘膦的降解率呈下降趋势(图 4)。

2.5 嗜松青霉 JP-NJ4 磷酸酶和植酸酶活性

从表 2 可知，嗜松青霉 JP-NJ4 具有较高的磷酸酶活性，酸性和碱性磷酸酶活性均达 2 100 U/L 以上。胞内酸性及碱性磷酸酶活性无显著差异，胞外酸性及碱性磷酸酶活性在 1%水平上有显著差异。供试菌株 JP-NJ4 的磷酸酶活性对其解卵磷脂能力具有一定影响。同时，嗜松青霉 JP-NJ4 具有一定的植酸酶活性(表 2)，说明 JP-NJ4 菌株对植酸盐也具有一定的降解能力。

3 结论与讨论

溶磷圈法是判定菌株是否具有解磷能力的常用

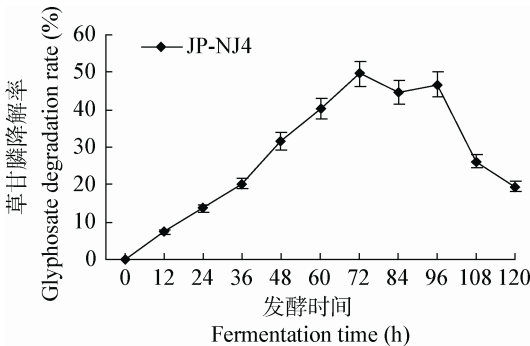


图 4 嗜松青霉 JP-NJ4 降解草甘膦的动态曲线
Figure 4 Glyphosate-degrading curve of *P. pinophilum* JP-NJ4

方法，但存在一定的局限性^[20,26]，相对于溶磷圈判定法，使用液体培养基测定更为合理和科学^[27]。本试验对采用溶磷圈法初筛出来的高效解磷真菌嗜松青霉 JP-NJ4 利用发酵罐液体培养对其解磷量进一步进行了测定，表明该青霉菌株具有较好的解无机磷能力。徐爱芳等^[28]测定春兰(*Cymbidium goeringii*)根内生解有机磷细菌伯克霍尔德菌(*Burkholderia arboris*) N85 水解卵磷脂能力为 0.03 g/L，本试验中嗜松青霉 JP-NJ4 菌株对卵磷脂的溶解性为 0.1 g/L，说明其具有良好的解有机磷能力。

微生物的解磷能力除取决于微生物本身的遗传特性外，还与不同难溶性磷源的结构和组分有关^[10, 29-30]。由于不同无机磷源结构组成差别很大，因此解磷微生物对其解磷效果也会产生较大差异。本试验中嗜松青霉 JP-NJ4 在 4 种不同磷源的培养基上均能生长，其中对磷酸钙溶解效果最好，解磷量为 1 390 mg/L，其次是磷酸铝，说明解磷青霉的解磷能力受磷源的结构组成影响。Reddy 等^[31]对解磷真菌塔宾曲霉(*Aspergillus tubingensis*)和黑曲霉溶解 4 种磷矿粉的结果表明，不同菌株对不同磷矿粉的溶磷效率相差很大；可利用淀粉酶的解磷真菌马昆德拟青霉(*Paecilomyces marquandii*) AA1 在不同地区的磷矿粉、不同的氮源种类和培养条件下解磷能力也均有差异^[32]。

有研究表明解磷能力与溶液 pH 值及可滴定酸含量相关^[33-36]，但也有些结果证明两者间不存在显

表 2 嗜松青霉 JP-NJ4 磷酸酶及植酸酶活性					
Table 2 Phosphatase and phytase activity of <i>P. pinophilum</i> JP-NJ4					
菌株 Strain	胞内 Intracellular		胞外 Extracellular		植酸酶活性 Phytase activity (U/L)
	酸性磷酸酶活性 Acid phosphatase activity (U/L)	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity (U/L)	酸性磷酸酶活性 Acid phosphatase activity (U/L)	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity (U/L)	
JP-NJ4	2 107.70±0.03B	2 107.80±0.03B	2 110.20±0.10A	2 109.00±0.05B	111.50±1.60

Note: $P<0.01$.

著相关性^[11]。本试验表明,嗜松青霉 JP-NJ4 针对同一种无机磷源时,解磷能力与发酵液 pH 值呈负相关的关系,当该菌株解磷量达最大时其 pH 值最低,说明解磷真菌可分泌可滴定酸溶解难溶磷源。

有机酸的生成是解磷真菌解磷的重要机理之一^[37-38]。有机酸的种类和含量对阴离子抑制磷酸根吸附阳离子及有机酸与 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子结合能力具有极大的影响^[36,39-40]。Hameeda 等^[41]研究发现葡萄糖酸产量对解磷能力具有较大影响,Cunningham^[42]认为草酸是溶解磷酸钙的主要机制。本研究使用液相色谱分析表明供试菌株可分泌 3 种有机酸,其中葡萄糖酸含量最高,为 6.1 g/L,其次为草酸。说明该菌株对磷酸钙和磷酸铝的溶解过程中,葡萄糖酸及草酸发挥了较大的作用。

当真菌受到低磷胁迫时,会分泌植酸酶和磷酸酶等物质使有机磷酸盐转化成可溶性磷^[43-44]。本试验对嗜松青霉磷酸酶及植酸酶活性测定发现,JP-NJ4 菌株具有较高的磷酸酶活性。一般认为,解磷微生物对有机磷酸酯的分解主要是通过分泌磷酸酶进行酶解实现^[45]。另据研究,碱性磷酸酶的活性对有机磷农药的降解具有较大的影响^[46]。草甘膦是目前世界上使用面积最大的除草剂品种,虽然具有经济、高效、广谱等优点,但长期施用对非靶标生物和环境的毒害作用较强^[47],因此有关草甘膦的环境修复技术近年来成为热点问题^[48]。嗜松青霉 JP-NJ4 具有较强的碱性磷酸酶活性,对草甘膦也具有较好的生物降解功能,降解率达 49.6%。嗜松青霉 JP-NJ4 除可分泌磷酸酶外,还可分泌一定量的植酸酶。因此嗜松青霉 JP-NJ4 不仅可分解卵磷脂,还具有降解植酸盐的能力,故其对有机磷的分解是其植酸酶及磷酸酶共同作用的结果。

嗜松青霉对难溶性无机磷及有机磷均具有较好的降解能力。磷是土壤营养的重要组成成分之一,解磷微生物肥料的应用效果往往与土壤类型及其酸碱度相关^[25]。我国北方和西北地区土壤多数为石灰性、碱性或中性土壤,钙含量较高^[49],而南方酸性土壤铝含量较高。因此,嗜松青霉 JP-NJ4

作为解磷生物菌肥在我国北方和南方地区开发及应用均具有较大的潜力。关于该菌对植物促生作用及对土壤微环境的影响等有待进一步研究。本研究不仅丰富了林业解磷真菌资源,还为更有效地改善林分土壤磷素的利用及解磷真菌生物肥料的研制提供了参考依据。

参 考 文 献

- [1] 汪涛, 杨元合, 马文红. 中国土壤磷库的大小、分布及其影响因素[J]. 北京大学学报: 自然科学版, 2008, 44(6): 945-952.
- [2] 靳爱仙. 马尾松人工林健康评价及生态恢复模式研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学硕士学位论文, 2012.
- [3] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. 土壤肥料, 2001, 5(3): 7-11.
- [4] 杨珏, 阮晓红. 土壤磷素循环及其对土壤磷流失的影响[J]. 土壤与环境, 2001, 10(3): 256-258.
- [5] 冯月红, 姚拓, 龙瑞军. 土壤解磷菌研究进展[J]. 草原与草坪, 2003, 1(1): 3-7.
- [6] Tao GC, Tian SJ, Cai MY, et al. Phosphate-solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils[J]. Pedosphere, 2008, 18(4): 515-523.
- [7] Amadou HB, Hani A, Amadou HD, et al. Effect of *Pseudomonas* sp. on wheat roots colonization by mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms, wheat growth and P-uptake[J]. Intercontinental Journal of Microbiology, 2012, 1(1): 1-7.
- [8] Rodriguez H, Goire I, Rodriguze M. Caracterización de cepas de *Pseudomonas solubilizadoras* de fósforo[J]. Review of ICIDCA, 1996, 30: 47-594.
- [9] 金术超, 杜春梅, 平文祥, 等. 解磷微生物的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(2): 73-78.
- [10] 李露莉, 邱树毅, 谢晓莉, 等. 解磷真菌的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(7): 125-128.
- [11] Villegas J, Fortin JA. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO_3^- as nitrogen source[J]. Botany, 2002, 80(5): 571-576.
- [12] Jitendra M, Kiran S, Vaibhavi J. Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of ground nut (*Arachis hypogaea*) plants[J]. Advances in Bioresearch, 2011, 2(2): 110-113.
- [13] 宋勇春, 李晓林, 冯固. 泡囊丛枝(VA)菌根对玉米根际磷酸酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 593-596.
- [14] 刘辉, 吴小芹, 陈丹. 4种外生菌根真菌对难溶性磷酸盐的溶解能力[J]. 西北植物学报, 2010, 30(1): 143-149.
- [15] Barroso CB, Nahas E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble

- phosphates[J]. Applied Soil Ecology, 2005(29): 73-83.
- [16] Edwards KA, Mcculloch J, Kershaw GP, et al. Soil microbial and nutrient dynamics in a wet Arctic sedge meadow in late winter and early spring[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(9): 2843-2851.
- [17] 陈俊, 陆俊锬, 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.
- [18] 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, 2006, 17(2): 259-263.
- [19] 魏伟. 马尾松根际高效解磷真菌的筛选鉴定及其促生效应[D]. 南京: 南京林业大学硕士学位论文, 2012.
- [20] Shekhar NC. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms[J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 170(1): 265-270.
- [21] 王莉晶, 高晓蓉, 吕军, 等. 解磷真菌 C₂' 的分离鉴定及其在土壤中实际解磷效果的研究[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 771-775.
- [22] 刘辉. 解磷细菌与外生菌根菌互作对杨树的促生机制[D]. 南京: 南京林业大学博士学位论文, 2010.
- [23] 江丽华, 刘兆辉, 石璟, 等. 真菌 F₂ 的解磷能力及其生长动态研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 42-46.
- [24] 杜秉海. 微生物学实验[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 133-134.
- [25] 符玲. 一株解磷酵母菌的筛选及其特性研究[D]. 天津: 天津大学硕士学位论文, 2010.
- [26] Jone DL, Darrah PR. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere[J]. Plant and Soil, 1994, 166(2): 247-257.
- [27] 齐文娟, 龙瑞军, 周万海, 等. 溶磷菌在5种不同培养基中溶解磷矿粉的性能比较[J]. 草原与草坪, 2007, 124(5): 37-41.
- [28] 徐爱芳, 武永秀, 刘莹. 春兰根内生解有机磷细菌的筛选[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(4): 1515-1516, 1529.
- [29] Chuang CC, Kuo YL, Chao CC, et al. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus nige*[J]. Biology and Fertility of Soils, 2007, 43(5): 575-584.
- [30] Xiao CQ, Chi RA, Huang XH, et al. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines[J]. Ecological Engineering, 2008, 33(2): 187-193.
- [31] Reddy MS, Kumar S, Babita K, et al. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*[J]. Bioresource Technology, 2002, 84(2): 187-189.
- [32] Ahuja A, Ghosh SB, D'Souza SF. Isolation of a starch utilizing, phosphate solubilizing fungus on buffered medium and its characterization[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(17): 3408-3411.
- [33] 王光华, 周克琴, 周德瑞, 等. 三种溶磷真菌对不同磷源溶解效果的比较研究[J]. 土壤通报, 2004, 35(4): 462-465.
- [34] Gyaneshwar P, Naresh KG, Parekh LJ. Effect of buffering on the phosphate solubilizing ability of microorganisms[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1998, 14(5): 669-673.
- [35] Nahas E. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1996, 12(6): 567-572.
- [36] Chen GC, He ZL, Wang YJ. Impact of pH on microbial biomass carbon and microbial biomass phosphorus in red soils[J]. Pedosphere, 2004, 14(1): 9-15.
- [37] 范丙全, 金继运, 葛诚. 溶磷草酸青霉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.
- [38] 席琳乔, 王静芳, 马金萍, 等. 棉花根际解磷菌的解磷能力和分泌有机酸的初步测定[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(5): 70-74.
- [39] 安志装, 介晓磊, 李有田, 等. 不同水分和添加物料对石灰性土壤无机磷形态转化的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 58-64.
- [40] 燕红, 代英杰, 彭显龙. 微生物资源及利用[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2012: 279.
- [41] Hameeda B, Reddy YH, Rupela OP, et al. Effect of carbon substrates on rock phosphate solubilization by bacteria from composts and macrofauna[J]. Current Microbiology, 2006, 53(4): 298-302.
- [42] Cunningham JE. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992(5): 1451.
- [43] 梁锦锋. 解磷细菌 (*Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum*) 生长条件及解磷机理的研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2001.
- [44] 王义, 贺春平, 郑肖兰, 等. 土壤解磷微生物研究进展[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(9): 60-64.
- [45] Wallander H. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonized by different ectomycorrhizal fungi[J]. Plant and Soil, 2000, 218(1/2): 249-256.
- [46] 鲜莹. 高效产胞外酶菌株的筛选及其对鱼塘水体有机 N、P 的转化作用[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2010.
- [47] 汤鸣强, 尤民生. 抗草甘膦酵母菌 ZM-1 的分离鉴定及其生长降解特性[J]. 微生物学通报, 2010, 37(9): 1402-1409.
- [48] Stephan B, Dominique W, Marguerite L, et al. Chlorination kinetics of glyphosate and its by-products modeling approach[J]. Water Research, 2006, 40(11): 2113-2124.
- [49] 孙向阳. 土壤学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005: 220.