

研究报告

## 河西走廊盐碱土壤中一株高效溶磷菌的鉴定及条件优化

胡山 牛世全\* 龙洋 李渭娟 赵丹 豆建涛

(西北师范大学生命科学学院 甘肃 兰州 730070)

**摘要:**【目的】探究一株从河西走廊盐碱土壤中分离的高效溶磷菌菌株 Y3-35 的分类地位及其溶磷特性。【方法】通过菌落形态特征、生理生化特性及其 16S rRNA 基因序列分析对其进行分类鉴定,采用溶磷圈法分离溶磷菌,钼锑抗比色法测定溶磷量,并利用单因素试验和正交试验对其溶磷条件进行优化。【结果】鉴定菌株 Y3-35 为 *Pantoea theicola* 的近缘种。菌株 Y3-35 溶磷量与 pH 呈显著负相关,最佳溶磷条件:葡萄糖 20.0 g/L,蛋白胨 15.0 g/L,氯化钠 2.5 g/L,温度为 24 °C;优化条件下菌株 Y3-35 溶磷量最高可达 723.34 mg/L,比优化前增加 251%。【结论】菌株 Y3-35 具有很好的溶磷能力,有较好的应用前景。

**关键词:** 河西走廊, 盐碱土壤, 溶磷菌, 溶磷条件, 优化

## Identification of an efficient phosphorus solubilizing bacteria from saline-alkali soil in the Hexi Corridor and optimization of its condition

HU Shan NIU Shi-Quan\* LONG Yang LI Wei-Juan ZHAO Dan DOU Jian-Tao

(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** [Objective] In order to study the taxonomic status and characteristic of a highly effective phosphate-solubilizing strain Y3-35 which was isolated from the saline-alkali soil. [Methods] The morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics, and 16S rRNA gene sequence of strain Y3-35 were analyzed. The method of halo ring was applied to isolate the phosphate-solubilizing bacteria, the method of Mo-Sb colorimetry was applied to measure phosphorus-dissolving ability. The single factor experiment and the orthogonal experiment were applied to find optimal phosphorus-dissolving condition of strain Y3-35. [Results] The result of identification revealed that phosphate-solubilizing strain Y3-35 can be classified as *Pantoea aff. theicola*. The phosphorus-dissolving ability of strain Y3-35 showed a negative correlation with pH. The result of the orthogonal experiment indicated that the optimal phosphorus-dissolving condition of phosphor bacteria Y3-35 was as follows: glucose 20.0 g/L, peptone 15.0 g/L, NaCl 2.5 g/L, 24 °C. The maximum phosphorus-dissolving ability could be up to 723.34 mg/L and the phosphorus-dissolving ability increased 251% than before. [Conclusion] The result indicates that Y3-35, a highly efficient phosphate-solubilizing bacteria, might act as a potential candidate for the application.

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No. 31260134, 30960078)

\*Corresponding author: E-mail: sqniu@nwnu.edu.cn

Received: September 07, 2016; Accepted: November 24, 2016; Published online (www.cnki.net): December 05, 2016  
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31260134, 30960078)

\*通讯作者: E-mail: sqniu@nwnu.edu.cn

收稿日期: 2016-09-07; 接受日期: 2016-11-24; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-12-05

**Keywords:** Hexi corridor, Saline-alkali soil, Phosphorus-solubilizing bacteria, Phosphorus-dissolving condition, Optimization

磷元素是农作物生长必需的三要素之一<sup>[1]</sup>, 以多种形式参与农作物的生理生化代谢过程, 直接影响农作物的生长代谢及产量。研究表明我国约有74%的耕地土壤缺磷<sup>[2]</sup>, 而耕地土壤中却含有大量的难溶性磷酸盐, 造成这种现象的主要原因是磷元素的固定。在农业生产中主要是通过施加磷肥来解决土壤缺磷问题, 但长期施加磷肥, 不仅对生态环境造成污染, 而且使磷元素固定过程加剧, 破坏土壤结构, 造成土壤板结。因此, 通过生物学的方法寻求高效溶磷微生物迫在眉睫, 对提高土壤中难溶性磷的利用、磷肥的利用率以及生态环境的改善具有重要意义。

溶磷菌是一类能将难溶性磷转化为可溶性磷的微生物。目前, 研究报道的溶磷菌主要有伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)、曲霉属(*Penicillium*)、青霉属(*Aspergillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、埃希氏菌属(*Escherichia*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)等<sup>[3-8]</sup>。溶磷菌一方面可将土壤中的难溶性磷转化为能被植物吸收利用的可溶性磷<sup>[9]</sup>, 为植物提供可吸收的磷元素; 另一方面溶磷菌可降低其生存环境的pH<sup>[10]</sup>, 部分溶磷菌还可以分泌激素, 促进植物生长<sup>[11]</sup>。目前溶磷菌的研究主要集中于作物根际土壤, 盐碱土壤中溶磷菌的研究却未见报道。

本研究旨在从河西走廊盐碱土壤中分离筛选出一株高效溶磷菌, 探究其分类地位及溶磷特性, 讨

论其溶磷机理, 以期丰富微生物菌株资源, 为河西走廊盐碱土壤微生物资源的开发和应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试土样:** 土壤样品采集于河西走廊荒漠盐碱土, 采用五点采样法, 去除地表土, 取5-15 cm深度土壤, 用已灭菌的密封袋带回实验室冷藏于4 °C 备用。土样信息如表1所示:

**1.1.2 培养基:** 蒙金娜无机解磷培养基即蒙金娜有机培养基<sup>[12]</sup>去除卵磷脂, 牛肉膏蛋白胨琼脂培养基<sup>[12]</sup>, 改良马丁培养基<sup>[12]</sup>。

**1.1.3 主要试剂和仪器:** 细菌基因组DNA提取试剂盒购自天根生化科技有限公司; DNA胶回收纯化试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司。

H-1650R 台式高速冷冻离心机, 湘仪离心机仪器有限公司; 721 可见分光光度计, 上海仪电分析仪器有限公司; EDC-810 基因扩增仪, 东胜创新生物科技有限公司; 凝胶成像系统, 美国伯乐公司; 电泳仪, 北京六一仪器厂。

### 1.2 方法

**1.2.1 溶磷菌的分离:** 采用稀释平板涂布法<sup>[13]</sup>。无菌操作, 取土样5 g 加入45 mL 无菌水中制成 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 三个稀释梯度的土壤悬液, 各梯度取200  $\mu$ L 土壤悬浮液, 接种到蒙金娜无机磷选择培养基平板上, 涂布均匀(每个稀释度设置3个重复), 于28 °C 恒温培养箱中培养5 d后, 挑取有透明圈

表1 土壤基本信息  
Table 1 The basic information of soil

样点编号 Plot No.	采样点 Site	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude (m)	pH	备注 Remarks column
3	广至乡 Guangzhi village	95.578 0°	40.367 2°	1 069.7	8.6	原生 Primary
4	广至乡 Guangzhi village	95.576 3°	40.439 1°	1 073.9	8.5	次生 Secondary
6	黑泉乡 Heiquan village	99.643 9°	39.508 3°	1 273.2	9.0	原生 Primary
7	黑泉乡 Heiquan village	99.933 5°	39.262 5°	1 272.8	9.0	原生 Primary
8	罗城乡 Luocheng village	99.577 7°	39.653 5°	1 252.8	8.8	次生 Secondary

的单菌落在平板上划线纯化,重复 2-3 次,直至获得纯培养。细菌 4 °C 保藏于牛肉膏蛋白胨斜面培养基中,真菌保藏于改良马丁培养基斜面培养基中。

**1.2.2 溶磷菌初筛: 溶磷圈法<sup>[2]</sup>。**无菌操作,将保藏于斜面中的菌种活化后,用接种环点接于蒙金娜固体培养基中,28 °C 培养 5 d。计算溶磷圈直径( $D$ )/菌落直径( $d$ )比值初步判断溶磷能力。

**1.2.3 溶磷菌复筛:** 无菌操作,将初筛得到  $D/d \geq 1.6$  的菌株活化,刮取并制成菌悬液(菌数约为  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL),吸取 1 mL 菌悬液加入装有 150 mL 蒙金娜液体培养基(pH=7.2)的 250 mL 锥形瓶中(每组 3 个重复),设置空白对照组,以接菌算 0 h,28 °C、150 r/min 连续培养 144 h,自接菌开始每 24 h 吸取 9 mL 菌液测定 pH 值后置于 10 mL 离心管中,10 000 r/min 离心 10 min,采用钼锑抗比色法<sup>[14]</sup>700 nm 处测定吸光值,并根据磷标准曲线计算出溶磷量,进一步判断其溶磷能力。

**1.2.4 形态鉴定:** 观察菌落形态特征,对菌株进行革兰氏染色、生理生化试验并对照《细菌伯杰氏细菌鉴定手册·第八版》鉴定菌株。

**1.2.5 分子鉴定:** 参照柯春亮等<sup>[1]</sup>对菌株 B3-5-6 的鉴定方法进行,菌株活化后,利用试剂盒提取细菌基因组 DNA。选取细菌 16S rRNA 基因通用扩增引物 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR。PCR 反应扩增体系为 25  $\mu$ L : 2 $\times$ Taq Master-mix (2.5  $\mu$ mol/L) 15  $\mu$ L,上下游引物 (10  $\mu$ mol/L)各 1  $\mu$ L, DNA 模板 3  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补至 25  $\mu$ L。反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 1 min, 57 °C 1 min, 72 °C 2 min, 25 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,将扩增后的 PCR 产物送至北京天一辉远生物科技有限公司测序,测序结果提交到 GenBank 数据库中,BLAST 进行同源性比对,利用 MEGA 6.0 的邻接法进行系统发育分析。

**1.2.6 溶磷条件优化:** 以分离培养基为基础培养基(设置对照组,每组 3 个重复,其中对成分未知的牛肉浸膏和蛋白胨试验组单独设置对照),对 7 种不

同的碳源和 6 种不同的氮源进行筛选,7 种碳源分别是可溶性淀粉、麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、甘油、乳糖、牛肉浸膏,6 种氮源分别是氯化铵、硫酸铵、硝酸铵、硝酸钠、硝酸钾、蛋白胨。以上操作均按照 1.2.3 溶磷菌复筛操作进行(菌数约为  $1.3 \times 10^4$  CFU/mL),连续培养 192 h,每 24 h 测定菌液 pH 及溶磷量。

用 SPSS17.0 软件设计 4 因素 5 水平正交表。以单因素最优培养基为基础培养基,同时参考细菌最常用的牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(每组 3 个重复,葡萄糖浓度梯度依次为 5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 g/L,蛋白胨浓度梯度依次为 0.5、4.0、7.0、10.0、13.0 g/L,氯化钠浓度梯度依次为 0.3、2.5、5.0、10.0、15.0 g/L,温度梯度依次为 19、24、28、32、37 °C),按照 1.2.3 溶磷菌复筛操作进行(菌数约为  $1.3 \times 10^4$  CFU/mL),连续培养 192 h,每 24 h 测定菌液 pH 及溶磷量。

### 1.3 数据处理及作图

用 Excel 2007 软件进行数据的基本处理,Origin 9.0 作图,SPSS 17.0 进行显著性分析,设计正交试验,MEGA 6.0 构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 溶磷菌的分离筛选

蒙金娜无机固体培养基分离及初筛结果表明,5 个土样共得到 15 株溶磷菌,其中  $D/d \geq 1.6$  的菌株有 5 株(表 2)。其中以菌株 Y3-35 的  $D/d$  值最大,与其他菌株的  $D/d$  值相比存在显著差异( $P < 0.05$ ),该菌落直径约为 6.7 mm,溶磷圈直径约为 18.9 mm, $D/d$  约为 2.79(图 1)。

### 2.2 溶磷能力的测定

**2.2.1 菌株溶磷能力的测定:** 对 5 株  $D/d \geq 1.6$  的菌株进行液体培养,结果表明 5 株溶磷菌的溶磷量整体呈先增大后缓慢减小,最后基本稳定的趋势;pH 整体呈先减小后缓慢增大,最后基本保持稳定的趋势(图 2)。其中菌株 Y3-35 在前 144 h 内的溶磷量明显高于其他菌株的溶磷量,该菌株溶磷量在第 72 h 达到 206.06 mg/L;pH 在第 48 h 降到 3.7,因此将该菌株作为后续研究的供试菌株。

表 2 蒙金娜无机培养基筛选结果  
Table 2 Screening results of Mengjin Na inorganic medium

菌株 Strain	溶磷圈直径 D/mm	菌落直径 d/mm	D/d
C9-41	5.8±0.23a	3.6±0.21b	1.61±0.64a
Y3-35	18.9±1.99c	6.7±0.37d	2.79±0.15c
C5-411	9.9±0.57b	4.9±0.21c	2.03±0.04b
C5-410	4.8±0.32a	2.2±0.18a	2.14±0.03b
Y5-31	6.2±0.41a	3.6±0.23b	1.74±0.04a

注：同列数据后不同小字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在  $P<0.05$  水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column show the significantly different at  $P<0.05$  level by Duncan's new multiple range test, respectively.

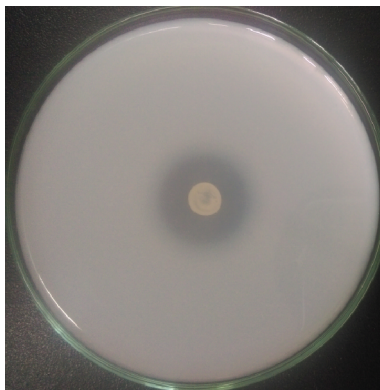


图 1 菌株 Y3-35 产生的溶磷圈  
Figure 1 Phosphorus solubilizing circle generated by stain Y3-35

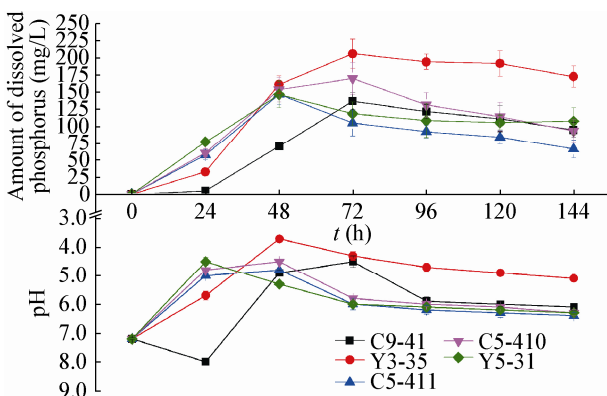


图 2 不同菌株溶磷量及 pH 动态变化  
Figure 2 Dynamic change of dissolved phosphorus content and pH based on different strains

2.2.2 菌株 Y3-35 溶磷量与 pH 相关性分析: 对菌株 Y3-35 在 144 h 内的溶磷量与 pH 进行相关性分析, 结果表明溶磷量与 pH 的 Pearson's  $r$  相关系数为 -0.834, 结合图 3 可知菌株 Y3-35 溶磷量与 pH 呈现显著负相关。

### 2.3 菌株鉴定

在蒙金娜固体培养基上培养时, 前期菌落呈乳白色(图 4A), 表面光滑; 后期菌落呈乳黄色(图 4B), 菌落中间有透明粘液, 表面光滑。

菌株 Y3-35 为革兰氏阴性杆菌, 该菌株生理生化试验结果如下: 淀粉水解试验、吲哚试验和柠檬酸盐试验均呈阴性; 触酶试验、伏普试验、甲基红试验和明胶液化试验均呈阳性, 乳糖发酵试验呈阳性且无气泡产生。

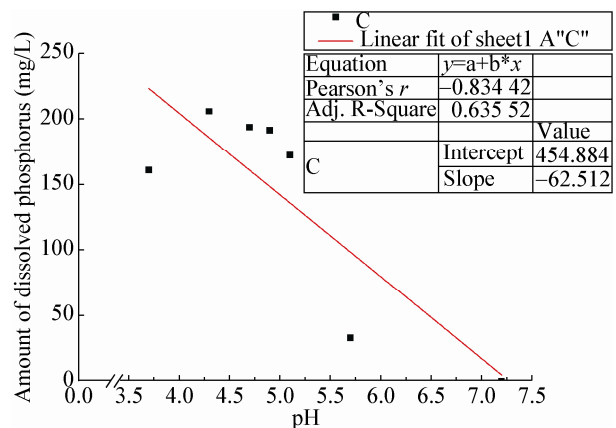


图 3 菌株 Y3-35 溶磷量与 pH 相关性分析  
Figure 3 Phosphate solubilizing content associated with PH analysis of the strain Y3-35

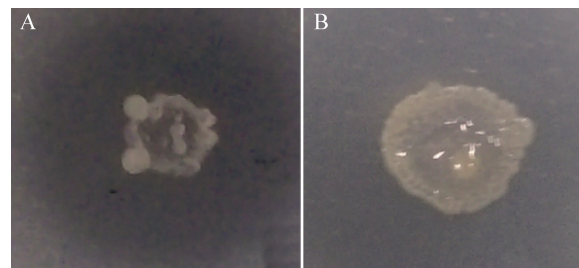


图 4 菌株 Y3-35 的菌落形态  
Figure 4 The Colonial morphology of stain Y3-35

注：A 图为培养 5 d 的菌落；B 图为培养 10 d 的菌落。  
Note: The picture A show colony was cultured for 5 days; The picture B show colony was cultured for 10 days.

将菌株 Y3-35 的 16S rRNA 基因序列(登录号: KX276715)输入 GenBank 数据库中, BLAST 比对分析, 选出 6 条(相似度大于 96%)菌株的 16S rRNA 基因序列, 其中菌株 Y3-35 的 16S rRNA 基因序列与 *Pantoea theicola* 的 16S rRNA 基因序列相似度为 99%, 利用 MEGA 6.0 邻接法构建系统发育树(图 5), Bootstrap 采样次数设置为 1 000。

根据菌落形态特征及生理生化特征, 对照《细菌伯杰氏细菌鉴定手册(第八版)》, 并结合系统发育分析, 鉴定菌株 Y3-35 为 *Pantoea theicola* 的近缘种。

## 2.4 溶磷条件优化

### 2.4.1 碳源优化: 用 7 种不同的碳源分别替换培养

基中的葡萄糖进行溶磷量及 pH 的测定, 结果表明当碳源为葡萄糖时, 该菌株溶磷量明显高于其他碳源条件下的溶磷量; pH 明显低于其他碳源条件下的 pH。该菌株在第 120 h 溶磷量达到 224.05 mg/L, pH 在第 48 h 降到 4.05 (图 6), 说明葡萄糖为该菌株的最优碳源。

2.4.2 氮源优化: 用 6 种不同的氮源分别替换液体培养基中的硫酸铵进行溶磷量及 pH 的测定, 结果表明, 当氮源为蛋白胨时, 该菌株溶磷量明显高于其他氮源条件下的溶磷量, pH 明显低于其他氮源条件下的 pH。该菌株在培养第 144 h 溶磷量达到 370.65 mg/L, pH 在第 72 h 时降到 3.95 (图 7), 说明蛋白胨为该菌株的最优氮源。

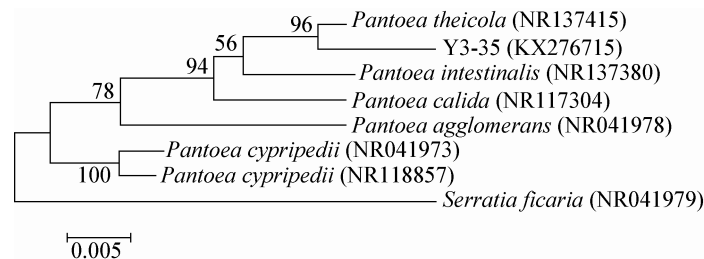


图 5 菌株 Y3-35 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Figure 5 Phylogenetic tree of stain Y3-35 constructed based on sequences of 16S rRNA gene

注: Bootstrap 次数设置为 1 000, 邻接法构建系统发育树; 分支位置中的数字表示 Bootstrap 支持率; 括号中为相关细菌的 GenBank 的登录号; 尺标表示每个核苷酸位点上的 0.005 替换值。

Note: The number at branch nodes are the percentage bootstrap support based on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resample data sets. The numbers in each branch points denote the percentages supported by bootstrap. The numbers in parentheses represent the sequence accession numbers in GenBank. The scale bar corresponds to 0.005 substitutions per nucleotide position.

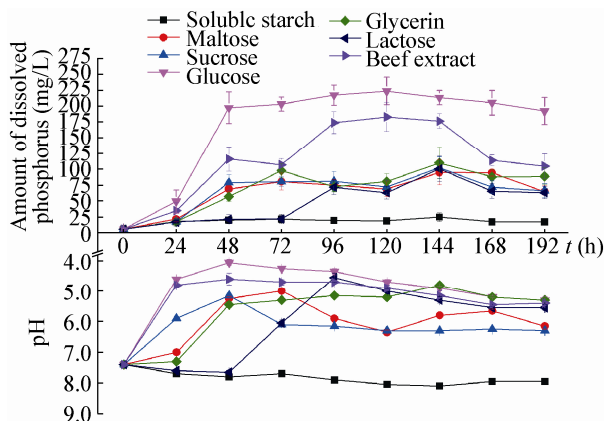


图 6 不同碳源对 Y3-35 菌株溶磷量及 pH 的影响  
Figure 6 Effects of different carbon sources on phosphate solubilizing content and pH of Y3-35 strain

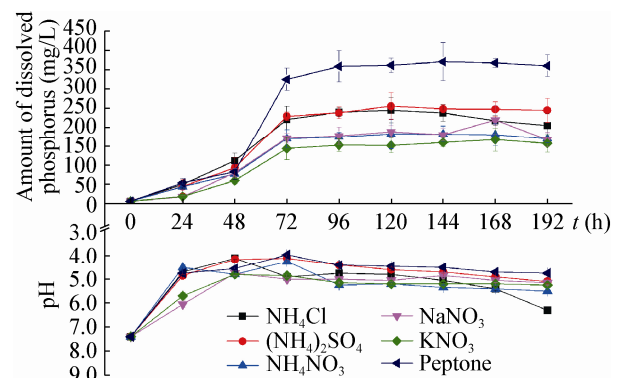


图 7 不同氮源对 Y3-35 菌株溶磷量及 pH 的影响  
Figure 7 Effects of different nitrogen carbon sources on phosphate solubilizing content and pH of Y3-35 strain

**2.4.3 正交试验:** 对菌株 Y3-35 进行 4 因素 5 水平正交试验(表 3), 结果表明 4 个因素对该菌株溶磷量的影响主次为葡萄糖>温度>蛋白胨>氯化钠。正交试验初步得到的最优溶磷条件为 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 20.0 g/L、蛋白胨 15.0 g/L、NaCl 2.5 g/L、培养温度 24 °C, 其他同基础培养基配方。

在最优溶磷条件下, 验证试验结果表明该菌株

在第 144 h 溶磷量达到 723.34 mg/L, pH 在第 72 h 降到 4.0, 该菌株在 192 h 内平均溶磷量为 497.65 mg/L。

### 3 结论与讨论

土壤中溶磷菌在土壤磷循环过程中担任着重要的角色<sup>[15]</sup>。溶磷菌广泛存在于土壤中, 溶磷菌可将土壤中的无效磷转化为有效磷, 供植物利用。研

表 3 L<sub>25</sub>(5<sup>4</sup>)正交试验结果  
Table 3 The result of L<sub>25</sub>(5<sup>4</sup>) orthogonal test

序号 Number	A 葡萄糖 C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	B 蛋白胨 Peptone	C 氯化钠 NaCl	D 温度 Temperature	平均溶磷量 The average amount of dissolved phosphorus (mg/L)
1	2	2	4	2	287.20
2	5	1	2	2	435.80
3	4	1	3	3	369.86
4	1	2	5	3	255.75
5	3	1	4	4	50.62
6	2	3	3	4	53.89
7	4	2	2	5	190.03
8	5	2	1	4	189.25
9	5	4	4	3	195.81
10	4	4	5	4	289.50
11	3	4	1	5	100.31
12	2	4	2	1	94.01
13	2	1	5	5	50.74
14	4	3	1	2	364.83
15	1	3	4	5	51.51
16	1	1	1	1	40.83
17	3	2	3	1	291.77
18	5	5	3	5	240.76
19	1	4	3	2	64.71
20	3	5	5	2	68.87
21	2	5	1	3	47.83
22	4	5	4	1	276.50
23	5	3	5	1	163.72
24	1	5	2	4	69.78
25	3	3	2	3	128.32
K <sub>1</sub>	96.51	189.57	148.61	173.36	
K <sub>2</sub>	106.73	242.80	183.59	244.28	
K <sub>3</sub>	127.98	152.45	204.20	199.51	
K <sub>4</sub>	298.14	148.87	172.33	130.61	
K <sub>5</sub>	245.07	140.75	165.72	126.67	
R	201.63	102.05	55.59	117.61	
最优水平 Optimal level	4	2	3	2	
主次顺序 The important order				A>D>B>C	

研究表明,溶磷菌溶磷能力测定的方法主要有:溶磷圈法、土培或砂培法、同位素测定法、钼磷抗比色法、熏蒸消煮法等<sup>[16]</sup>。本试验采用溶磷圈法初筛,钼磷抗比色法复筛,得到一株高效溶磷菌菌株 Y3-35,通过形态特征、生理生化特性以及 16S rRNA 基因序列分析,鉴定该菌株为 *Pantoea theicola* 的近缘种。不同土壤环境中溶磷微生物也有不同的特性,本研究中的菌株 Y3-35 分离于河西走廊盐碱土壤,盐碱土壤中的溶磷微生物有嗜盐碱的特性<sup>[17]</sup>,这种特性可能是盐碱土壤对其自然选择的结果。

研究表明,不同的溶磷菌在溶磷能力方面存在差异,戴沈艳等<sup>[3]</sup>分离筛选得到的伯克霍尔德菌属菌株 T4 溶磷菌在无机磷液体培养时,溶磷量达到 193.1 mg/L。李文红等<sup>[18]</sup>分离的 NOP3、NOP4 溶磷菌在无机磷液体培养时溶磷量分别为 68.83 mg/L、4.50 mg/L。本研究分离得到的菌株 Y3-35 液体培养 72 h 时溶磷量达到 206.06 mg/L,与上述报道相比,该菌株溶磷能力更强,同时也验证说明了不同溶磷菌的溶磷能力存在差异。研究表明,溶磷菌在不同组分培养基条件下,液体培养时溶磷能力也存在显著差异<sup>[19]</sup>。柯春亮等<sup>[1]</sup>的菌株 B3-5-6 在碳源为蔗糖时溶磷量为 33.26 mg/L,氮源为硫酸铵时溶磷量为 22.23 mg/L。本研究中的菌株 Y3-35 在不同组分培养基条件下溶磷量也存在差异,当碳源为  $C_6H_{12}O_6$  时,该菌株液体培养 120 h 时溶磷量为 224.05 mg/L;当氮源为蛋白胨时,该菌株液体培养 144 h 时溶磷量为 370.65 mg/L,这与 Reyes 等<sup>[19]</sup>的研究结果相一致。本研究为进一步优化该菌株的溶磷条件,对其进行正交试验,结果表明,当培养基中各成分的量不同时,菌株液体培养溶磷量也存在显著差异<sup>[20]</sup>。菌株 Y3-35 的最佳溶磷条件: $C_6H_{12}O_6$  含量为 20.0 g/L、蛋白胨含量为 15.0 g/L、NaCl 含量为 2.5 g/L、培养温度为 24 °C,其他成分同原培养基,该菌株在该条件下培养 144 h 时溶磷量可高达 723.34 mg/L,与优化前相比溶磷量增加 251%。

研究表明,不同的溶磷微生物有着不同的溶磷机理,溶磷过程极其复杂<sup>[10]</sup>。目前研究已发现的溶

磷机制主要有 3 种:(1) 有机酸溶磷机制,溶磷菌在自身代谢的过程中释放出酸类物质降低其生存环境 pH,溶解磷酸盐<sup>[21]</sup>;(2) 质子溶磷机制,溶磷菌通过  $NH_4^+$  的同化释放质子降低 pH,溶解磷酸盐<sup>[22]</sup>;(3) 产酶溶磷机制,郝晶等<sup>[23]</sup>通过对 7 株溶磷菌溶磷动力学研究发现,磷酸盐的溶解主要是通过磷酸酶催化来完成的。本研究中菌株 Y3-35 溶磷量与液体培养介质 pH 的 Pearson's  $r$  相关系数为 -0.834,呈现显著负相关,这与席琳乔等<sup>[24]</sup>的研究结果相一致,初步推断该菌株的溶磷机制为有机酸溶磷或质子溶磷,但具体是有机酸溶磷机制还是质子溶磷机制,需进一步研究。

利用溶磷菌的溶磷产酸特性改良盐碱土壤以及利用溶磷菌促进植物生长的研究已有报道,赵国杰等<sup>[25]</sup>对 4 株无机解磷菌处理碱化土的理化性质及质量评价结果表明,与对照组相比,施用无机解磷微生物菌剂各组均可提高碱化土壤质量水平,其中 I-B-14 处理组速效磷含量增加了 300%,pH 降低了 0.34;梅新兰等<sup>[26]</sup>的研究表明,与对照组相比,接种溶磷菌处理的各试验组,无论玉米株高、干重、植株全磷含量较不接菌对照均有所提高,且 4 株溶磷菌处理组土壤中速效磷含量增加了 68.9%。溶磷菌来自于土壤又应用于土壤,相比于施用化肥,施用微生物菌剂更加绿色环保,且长期有效。因此,溶磷菌的研究对提高磷肥的利用、促进植物生长以及盐碱土改良等方面具有重要的意义。笔者在后续试验中,将对溶磷菌的应用以及溶磷微生物菌剂制备等方面进行研究。

## 参 考 文 献

- [1] Ke CL, Chen YF, Zhou DB, et al. Isolation, identification and phosphate solubilization analysis of phosphate-solubilizing bacteria derived from banana rhizosphere soil[J]. Microbiology China, 2015, 42(6): 1032-1042 (in Chinese)  
柯春亮, 陈宇丰, 周登博, 等. 香蕉根际土壤解磷细菌的筛选、鉴定及解磷能力[J]. 微生物学通报, 2015, 42(6): 1032-1042
- [2] Li HY, Niu SQ, Kong WB, et al. Screening and identification of a phosphate solubilizing strain isolated from pig manure compost and determination of its phosphate solubilizing capacity[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, 35(5): 1464-1470 (in Chinese)  
李海云, 牛世全, 孔维宝, 等. 猪粪堆肥中一株溶磷菌的筛选鉴定及溶磷能力初步测定[J]. 环境科学学报, 2015, 35(5): 1464-1470

- [3] Dai SY, Shen WS, He YJ, et al. Screening of efficient phosphate-solubilizing bacterial strain and its application in red paddy soil to rice cultivation[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2011, 17(5): 678-683 (in Chinese)  
戴沈艳, 申卫收, 贺云举, 等. 一株高效解磷细菌的筛选及其在红壤性水稻土中的施用效果[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 678-683
- [4] Acevedo E, Galindo-Castañeda T, Prada F, et al. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 80: 26-33
- [5] Delgado M, Mendez J, Rodríguez-Herrera R, et al. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from the arid soils of a semi-desert region of north-east Mexico[J]. Biological Agriculture & Horticulture, 2014, 30(3): 211-217
- [6] Babu-Khan S, Yeo TC, Martin WL, et al. Cloning of a mineral phosphate-solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(3): 972-978
- [7] Peix A, Rivas R, Santa-Regina I, et al. *Pseudomonas lutea* sp. nov., a novel phosphate-solubilizing bacterium isolated from the rhizosphere of grasses[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(3): 847-850
- [8] Wu PF, Zhang DM, Hao LH, et al. Status quo and prospects of phosphate-soluble microorganisms[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2008, 10(3): 40-46 (In Chinese)  
吴鹏飞, 张冬明, 郝丽虹, 等. 解磷微生物研究现状及展望[J]. 中国农业科技导报, 2008, 10(3): 40-46
- [9] Khan MS, Zaidi A, Ahmad E. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms[A]/Khan MS, Zaidi A, Musarrat J. Phosphate Solubilizing Microorganisms[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2014: 31-62
- [10] Park JH, Bolan N, Megharaj M, et al. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185(2/3): 829-836
- [11] Laheurte F, Berthelin J. Effect of a phosphate solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of labile phosphorus[J]. Plant and Soil, 1988, 105(1): 11-17
- [12] Li ZG, Luo YM, Teng Y. The Research Method of Soil and Environmental Microorganism[M]. Beijing: Science Press, 2008: 52-61 (in Chinese)  
李振高, 骆永明, 腾应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 52-61
- [13] Xiao KB, Wu PT, Lei JY, et al. Bio-reclamation of different halophytes on saline-alkali soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(12): 2433-2440 (in Chinese)  
肖克隧, 吴普特, 雷金银, 等. 不同类型耐盐植物对盐碱土生物改良研究[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(12): 2433-2440
- [14] He MX, Gao Y, Hu ZX, et al. Screening, identification, and phosphate-solubilizing capability of phosphate-solubilizing bacterial strain B25[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(1): 235-239 (in Chinese)  
贺梦醒, 高毅, 胡正雪, 等. 解磷菌株 B25 的筛选、鉴定及其解磷能力[J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 235-239
- [15] Shi GY, Mo YM, Cen ZL, et al. Identification of an inorganic phosphorus-dissolving bacterial strain BS06 and analysis on its phosphate solubilization ability[J]. Microbiology China, 2015, 42(7): 1271-1278 (in Chinese)  
史国英, 莫燕梅, 岑贞陆, 等. 一株高效解无机磷细菌 BS06 的鉴定及其解磷能力分析[J]. 微生物学通报, 2015, 42(7): 1271-1278
- [16] Li HY, Kong WB, Da WY, et al. Research progress of phosphate-solubilizing microorganisms[J]. Bulletin of Biology, 2013, 48(7): 1-5 (in Chinese)  
李海云, 孔维宝, 达文燕, 等. 土壤溶磷微生物研究进展[J]. 生物学通报, 2013, 48(7): 1-5
- [17] Xiang WL, Feng W, Guo JH, et al. Identification of a moderate Halophilic phosphate-dissolving bacterium and its phosphate-solubility[J]. Microbiology China, 2009, 36(3): 320-327 (in Chinese)  
向文良, 冯玮, 郭建华, 等. 一株解磷中度嗜盐菌的分离鉴定及解磷特性分析[J]. 微生物学通报, 2009, 36(3): 320-327
- [18] Zhao XR, Lin QM, Li BG. The relationship between rock phosphate solubilization and pH and organic acid production of microorganisms[J]. Journal of Microbiology, 2003, 23(3): 5-7 (in Chinese)  
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
- [19] 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
- [20] Hao J, Hong JP, Liu B, et al. Isolation, screening and combination of highly-effective phosphorus solubilizing bacterial strains in calcareous soil[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2006, 12(3): 404-408 (in Chinese)  
郝晶, 洪坚平, 刘冰, 等. 石灰性土壤中高效解磷细菌菌株的分离、筛选及组合[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(3): 404-408
- [21] Xi LQ, Wang JF, Ma JP, et al. Determination for solubilizing phosphate ability and organic acids secretion of phosphobacteria in the cotton rhizosphere[J]. Journal of Microbiology, 2007, 27(5): 70-74 (in Chinese)  
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
- [22] Li WH, Shi JY. Isolation, purification, and phosphate-solubilizing capability of phosphorous bacteria in West lake sediment[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(11): 2112-2116 (in Chinese)  
李文红, 施积炎. 西湖沉积物中解磷菌的分离纯化及其解磷能力[J]. 应用生态学报, 2006, 17(11): 2112-2116
- [23] Reyes I, Valery A, Valdúz Z. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine[J]. Plant and Soil, 2006, 287(1/2): 69-75
- [24] Zeng QW, Wen XY, Wu XQ. Phosphate solubilizing traits and conditions of a *Pseudomonas frederiksbergensis* strain JW-SD2[J]. Journal of Microbiology, 2016, 36(1): 11-16 (in Chinese)  
曾庆伟, 温心怡, 吴小芹. 1株 *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2 的解磷特性及解磷条件研究[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(1): 11-16
- [25] Zhao GJ, Niu SQ, Da WY, et al. Assessment of soil quality and physicochemical properties of the alkaline soil amended with four inorganic phosphate-dissolving microbial inoculants[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2014, 45(4): 996-1002 (in Chinese)  
赵国杰, 牛世全, 达文燕, 等. 四株无机解磷菌处理碱化土壤的理化性质及质量评价[J]. 土壤通报, 2014, 45(4): 996-1002
- [26] Mei XL, Shan AQ, Jiang Y, et al. Screening of phosphate-solubilizing bacteria adaptable to corn and effects of the bacteria on the growth of corn[J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, 53(2): 502-509 (in Chinese)  
梅新兰, 闪安琪, 蒋益, 等. 适应玉米的溶磷细菌筛选及其对玉米生长的影响[J]. 土壤学报, 2016, 53(2): 502-509