

解磷细菌对难溶磷肥的解磷效率比较

毕银丽¹, 于淼¹, 曹楠¹, 王震¹, 黄波²

1. 中国矿业大学(北京)地球科学与测绘学院, 北京 100083

2. 北京工业职业技术学院建筑工程系, 北京 100042

摘要 磷元素是植物生长必需的大量营养元素之一, 土壤中磷素的固定现象严重, 有效磷含量降低, 影响植物的生长发育。解磷细菌能将基质中难溶性磷转化为可溶性磷, 能够提高土壤中有效磷含量。通过玉米盆栽实验, 比较不同菌株及其联合作用对土壤中难溶磷肥的释放及对植物生长的影响。结果表明, 丛枝菌根与解磷细菌联合作用显著地提高了植物地上、地下的生物量, 能够高效地释放出沙土中添加的难溶性磷肥, 使土壤有效磷含量增加; 沙土的 pH 值被提高到接近中性, 使酸性磷酸酶活性升高, 促进有机营养物质转化为无机物, 更易被植物吸收利用; 接种菌根可以显著提高根系的侵染率和菌丝密度, 能够扩大根系的吸收面积, 改善根际土壤的环境, 达到促进植物生长的目的。利用丛枝菌根真菌和解磷细菌进行微生物复垦, 对沙化贫瘠土地的生态修复具有重大意义。

关键词 解磷细菌; 解磷效率; 生态修复

中图分类号 S154.3

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2011.19.001

Phosphate Efficiency Comparison of Phosphorus-Solubilizing Bacteria on Insoluble Phosphorus

BI Yinli¹, YU Miao¹, CAO Nan¹, WANG Zhen¹, HUANG Bo²

1. College of Geoscience and Surveying Engineering, China University of Mining Technology, Beijing 100083, China

2. Department of Architectural Engineering, Beijing Polytechnic College, Beijing 100042, China

Abstract Phosphorus is one of essential elements of a large number of nutrients for the plant growth. The soil contains a lot of insoluble phosphate. When available phosphorus is reduced, the plant growth and development would be affected. Solubilizing bacteria could change the insoluble phosphate into soluble phosphorus in order to increase available phosphorus in the soil. Through the corn pot experiment, the different strains named *Glomus aggregatum* (G.a) and phosphate-solubilizing bacteria isolated from Coal fly Ash (CA), their join effects on the release of insoluble phosphate contained by the land, and the effect on plant growth are compared. The results show that the join effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria significantly increases the plants' aboveground and underground biomass; they efficiently release the insoluble phosphate from adding sand to increase available phosphorus content in the soil; pH is increased from acid to neutral; they increase the activity of acid phosphatase, convert organic nutrients into inorganic one, and make them easily absorb by plants; mycorrhizal inoculation significantly increases root colonization and hyphal density, expands root absorption area, and improves the environment of the rhizosphere soil in order to achieve the purpose for promoting plant growth. Microbial reclamation conducted by arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing bacteria is of great significance to the ecological restoration of desertified barren land.

Keywords phosphorus-solubilizing bacteria; phosphate efficiency; ecological restoration

收稿日期: 2010-09-06; 修回日期: 2011-05-04

基金项目: 教育部博士点基金项目(20090023110009); 霍英东教育基金会第十一届高等院校青年教师基金项目(111081); 中央高校基本科研业务费专项(2009KD01)

作者简介: 毕银丽(中国科协所属全国学会个人会员登记号:E382450003M), 教授, 研究方向为土地复垦及生态恢复技术微生物复垦技术, 电子邮箱: yinlibi2002@yahoo.com.cn

0 引言

磷是植物生长过程中必需的大量营养元素之一,是原生质的重要组分,植物的光合作用和体内的生化过程都必须有磷参加。土壤中的磷素循环是一种典型的沉积循环,主要在土壤、植物和微生物之间进行^[1]。土壤中能被植物吸收利用的有效态无机磷很低,一般只有全磷量的2%—3%,可见土壤中的有效磷含量与全磷量往往并不相关,这就意味着土壤全磷量高时不代表磷素供应充足,而全磷量低,则意味着土壤磷素供应能力不足。易溶性的磷肥施入土壤后,少部分可被植物吸收利用,而大部分与土壤发生反应后移出土壤液相,成为植物难以利用的形态,即磷的固定^[2-3],从而降低了磷肥的利用率。

目前多数研究集中采用微生物解磷作用能够将难溶性磷酸盐转化为水溶性磷,有效地增加土壤速效磷的含量,促进植物的生长^[4]。实验室研究中解磷细菌的解磷效果都比较明显,但是小区、大田实验中效果并不理想。中国西北部地区石灰性土壤分布广泛,石灰性土壤含有大量游离的碳酸钙,土壤中的大部分磷转化成难溶性的磷酸钙盐,使磷的有效性降低。对于挖掘土壤磷资源的利用潜力、节约磷肥投入、降低生产成本,保护中国磷矿资源和农业高效持续发展具有重要的理论意义和实际意义^[5-6]。因此,本文主要利用高效解磷微生物,通过盆栽实验,比较解磷细菌、丛枝菌根真菌及其联合对不同种类磷肥的解磷效率,并研究解磷菌对土壤基质的改良作用及其生态效应,为微生物复垦探索出一条新方法和途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验基质

基质为沙质土壤,在北京通厦小营环岛建材城购买。所用试剂: NH_4OAc (分析纯), KH_2PO_4 (分析纯), NaHCO_3 (分析纯), $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (分析纯), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (分析纯), $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (分析纯),蒸馏水。采用仪器火焰光度计FP6410,上海精密科学仪器有限公司;分光光度计UV-2600,北京瑞利分析仪器公司;pH计FE20,梅特勒FiveEasy系列;电导率仪PD-501型,上海三信仪表厂。测得速效钾含量30mg/kg,有效磷含量为4mg/kg,pH值为5.85,电导率为118.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$,最大持水量16%。过1mm筛,121 $^{\circ}\text{C}$,2h灭菌,风干后备用。

1.1.2 供试植物

以玉米作为供试植物。将玉米种子用10% H_2O_2 溶液浸泡10min表面消毒后,用去离子水冲洗干净,30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中催芽备用。

1.1.3 供试菌种

解磷细菌是本研究室自主分离筛选的一种菌株(CA);丛枝菌根真菌(*Glomus aggregatum*, G.a)剂由北京市农林科学院王幼珊研究员提供,经本实验室扩繁培养。

1.1.4 实验装置

实验采用高11cm,盆口直径13cm,盆底直径9cm的红色小盆。

1.2 实验设计及管理

设计2种不同类的磷肥,分别为 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{P}_1)$ 和 $\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{P}_2)$ 。分别设4种不同接菌处理:不接菌对照(CK),接种(CA),接种G.a,接种G.a+CA。每种处理4个重复,共计32盆。

实验于2009年4月28日种植,种植时接菌。将40g G.a与1kg灭过菌的沙土充分混合装于小盆中,将处于对数生长期的CA菌的菌液按质量分数5%接菌量施于小盆中,并补充水分至基质的最大持水量,待水平平衡后播种催过芽玉米种子,在中国矿业大学(北京)温室中培养3个月后收获。

1.3 实验测定方法

当生长3个月后,分别收获植株地上及地下部,烘干后分别测定其干重。沙土中的磷含量采用钼锑抗比色法;pH值和电导率的测定采用水土质量比5:1^[7]测定;土壤磷酸酶活性的测定采用改进的Tabatabai & Brimmer法^[8];菌根侵染率的测定方法为曲利苯蓝染色法;菌丝密度采用真空泵微孔滤膜抽滤的方法。

2 结果与分析

2.1 对玉米生物量的影响

不同处理对玉米植物生物量的影响如表1所示。在 P_1 处理下,所有接种处理植物地上部分干重均高于CK。其中,接种CA、G.a和G.a+CA的处理植物地上部分干重比CK分别增加28%、4%和36%,除接种G.a菌根与CK未达到显著差异外,其他接种处理与CK均达到显著差异水平。在不同接菌处理下,植物地上部分干重大小依次为G.a+CA>CA>G.a>CK,在加入难溶性磷酸盐条件下,接种解磷菌和菌根处理均能够促进植物地上部分的生长,两种菌混合处理比单独接种更能有效地促进植物地上部分生长。在 P_2 处理下,除接种CA菌植物地上部分干重比CK增加6%外,其他处理均减少并达到显著水平,这可能是由于接种G.a菌根处理产生菌丝,其生长需要消耗大量能量所造成。

不同接菌处理对植物地下部分的生长影响差异不显著,接种CA(P_1 、 P_2)和G.a+CA(P_2)的干重略高于CK,其余处理均略低于CK。这可能是由盆栽实验植物根部生长受限所致。

接种微生物对于植物的总生物量影响存在差异。对照CK在 P_1 、 P_2 两种磷酸盐条件下,植物的总生物量CK(P_1)<CK(P_2),且差异达到显著水平。可见,沙土中难溶性磷酸盐和可溶性磷酸盐对于植物总生物量的影响存在差异。而接种CA、G.a和G.a+CA的处理,在两种磷酸盐条件下,植物总生物量差异并不显著。在 P_1 条件下CA和G.a+CA处理,玉米植物的总生物量均高于对照CK处理,并达到显著水平。由此可知,接种微生物处理能够有效地促进沙土中难溶性磷酸盐的转化,提高植物对磷元素的吸收能力,并对植物生长有明显促

表 1 不同处理对生物量的影响 (单位: g/盆)

Table 1 Effect of different treatment on dry weight (unit: g/basin)

处理	加 P ₁ 处理			加 P ₂ 处理		
	地上部分	地下部分	总生物量	地上部分	地下部分	总生物量
CK	4.087 c	1.612 a	5.770 bc	5.785 a	1.337 abc	7.122 a
CA	5.238 ab	1.668 a	6.815 a	5.773 a	1.361 abc	7.134 a
G.a	4.233 c	1.370 abc	5.603 bc	4.124 c	1.104 c	5.227 c
G.a+CA	5.563 ab	1.168 bc	6.730 a	4.813 bc	1.558 ab	6.372 ab

注: 用 DPS 软件, 采用 LSD 法进行分析, 同列中标有相同字母表示差异不显著, 反之则表示差异达到显著水平。

Notes: The LSD method is used to analyze the data by means of DPS software, the same column marked with different letters indicates in significant differences between them, otherwise indicates a significant level.

进作用。

2.2 对沙土 pH 值的影响

不同处理对沙土 pH 值的影响如图 1 所示。在 P₁ 处理下, 所有接种处理与 CK 相比, pH 值均明显升高且差异达到显著水平, 其中接种 G.a+CA 菌对 pH 值升高的影响最为显著。这表明解磷菌的释磷活动与 pH 值存在一定的相关性, 培养基质 pH 值的下降并不是微生物解磷的必要条件, 这与赵小蓉等^[9]、张有山等^[10]的研究结果相一致, 同时很多学者也发现二者之间的相关性比较微弱^[11-12]。种植植物前后沙土基质的 pH 值也有很大程度的提高 (未种植前 pH=5.85), 说明接种处理能够使根际沙土 pH 值接近于中性, 更适合于植物生长。

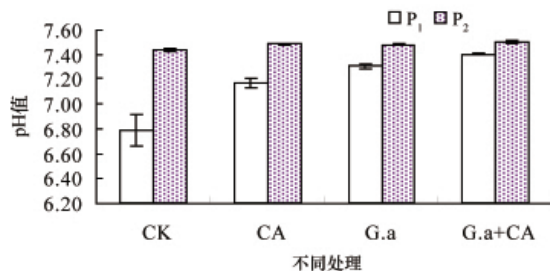


图 1 不同处理对基质 pH 值的影响
Fig. 1 pH change in different treatment

2.3 对沙土电导率的影响

电导率反映了基质中盐基离子的浓度, 不同处理对基质中电导率的影响如图 2 所示。在 P₁ 处理下, 除接种 CA 外, 其他处理与对照 CK 相比基质电导率都明显增大, 其中接种 G.a 处理差异达到显著水平, 双接种处理的电导率要低于单接种 G.a 处理, 这与生物量增加会吸收更多的盐基离子, 从而降低基质中的电导率^[13]相符。而在 P₂ 处理下, 混合接种处理电导率明显高于其他处理。这可能是由于接种 G.a+CA 混合菌处理后基质 pH 值上升较多, 有利于沙土基质中盐基离子的释放。CA 能够高效地释放出基质中的盐基离子, 并对基质中的电导率产生较大影响, 能够增加基质的生物有效性^[13]。

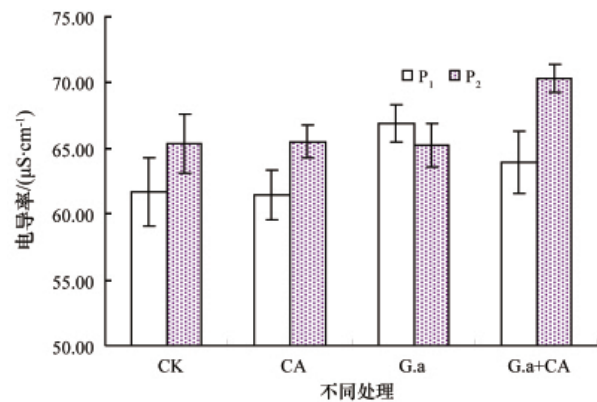


图 2 不同处理对基质电导率的影响
Fig. 2 Electric conductivity of different treatment

2.4 对沙土基质中速效磷的影响

不同处理对沙土基质中速效磷含量的影响如图 3 所示。在 P₁ 条件下, 所有接种处理与 CK 相比, 沙土基质中速效磷含量均明显增加且差异达到显著水平, 其中接种 G.a+CA 混合菌对沙土基质速效磷的释放效果最为显著, 而单接种 CA 基质中的速效磷含量要高于单接种 G.a。说明 CA 具有较好的释放基质中磷元素的能力, 这与邵春花等^[14]研究的解磷菌具备解磷溶磷能力, 能增强土壤磷素的供应强度结果相一致。CA 对沙土基质中难溶性磷肥具有积极的作用, 对于缺磷地区生态改良具有重要意义。

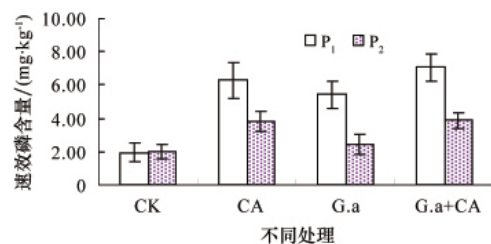


图 3 不同处理对基质中速效磷的含量的影响
Fig. 3 Olsen-P concentration of different treatment

2.5 对沙土中酸性磷酸酶活性的影响

酸性磷酸酶 (APA) 是植物体和土壤中一种重要的水解

酶,它能够酶促土壤有机磷化合物的酯磷键发生水解性裂解,释放出相应的醇和无机磷,提高土壤磷素的有效性^[5]。

不同处理对沙土基质中酸性磷酸酶活性的影响如图4所示。接种CA的植株APA活性明显高于其他处理,与CK相比差异达到了显著水平。Edwards等^[16]研究发现土壤中微生物量与磷酸酶活性同时达到最高峰值,说明接种CA的基质中解磷细菌的数量最多,其解磷效率最高,所以其速效磷含量较高。当磷是土壤微生物和植物生长的主要限制因子时,微生物和植物根就分泌胞外酸性或碱性磷酸酶,水解有机磷,将含磷有机化合物转化为简单的无机化合物^[17]。G.a对酸性磷酸酶活性的影响不大,对磷的释放影响较小。CA增加了APA的活性,提高了沙土基质中磷的有效性。

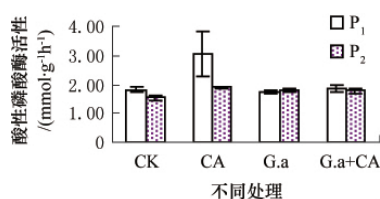


图4 不同处理对基质中磷酸酶活性的影响

Fig. 4 Acid phosphatase activity in different treatment

2.6 对侵染率的影响

菌根侵染率是反映植物根系菌根真菌感染程度的指标,也是反映丛枝菌根对植物亲和程度的指标^[18]。

不同处理对侵染率的影响如图5所示。所有接菌处理的侵染率都显著高于对照CK。在P₁条件下,混合接菌处理的侵染率高于单接种G.a处理,但未达到显著差异。接种G.a的植株在P₂条件下侵染率最高,与其他接菌处理相比差异均达到显著水平。刘灵等^[19]研究表明,低磷条件下,接种菌根真菌侵染率较高;高磷条件下,接种菌根真菌效果不显著,菌根侵染率较低。P₁接菌处理速效磷含量较高,所以侵染率相对较低。但P₂条件下,同时接种G.a和CA的植株,侵染率较低,可能是由于两种菌之间存在抑制作用,或者是盆栽实验时间有限,未体现出菌根对植物真正的影响趋势。

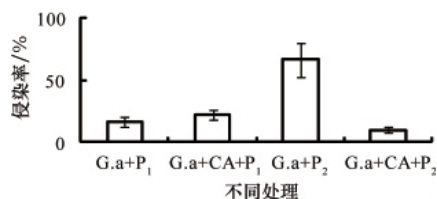


图5 不同处理对植物侵染率的影响

Fig. 5 Infection rate in different treatments

2.7 对沙土中菌丝密度的影响

根外菌丝密度是反映菌根在促进植物生长、营养吸收等方面能力,菌丝越多,越有利于根系对营养和水分吸收和运输^[20]。

接种菌根处理的玉米根际菌丝密度显著高于对照(图6),表明接种菌根真菌能够显著提高根外菌丝长度,能够扩

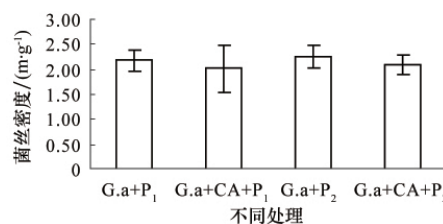


图6 不同处理对菌丝密度的影响

Fig. 6 Hyphal density in different treatments

大根系生存空间和作用范围,更有利于生态恢复和营养吸收^[21],对于土地贫瘠地区的微生物复垦工作有重要意义。

3 结论

比较了CA、G.a及其联合作用对沙质土壤中难溶磷肥的生态效应,得到以下结论:(1)丛枝菌根真菌与解磷细菌联合作用显著地提高了植物地上、地下的生物量,同时能够高效地释放出沙土中添加的难溶性磷肥,使土壤有效磷含量增加;(2)沙土的pH值被提高到接近中性,APA活性升高,促进有机营养物质转化为无机物,更易被植物吸收利用;(3)接种菌根可以显著提高根系的侵染率和菌丝密度,能够扩大根系的吸收面积,改善根际土壤的环境,达到促进植物生长的目的;(4)该菌株的释磷作用机制还有待进一步研究,对于CA在缺磷沙化土地中的推广利用还需要深入地探索。

参考文献 (References)

- [1] 李卓棣, 胡正嘉. 微生物学 [M]. 5版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 228.
Li Fudi, Hu Zhengjia. Microbiology [M]. 5th ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 228.
- [2] 王光华, 赵英, 周德瑞, 等. 解磷菌的研究现状与展望 [J]. 生态环境, 2003, 12(1): 96-101.
Wang Guanghua, Zhao Ying, Zhou Derui, et al. Ecology Environment, 2003, 12(1): 96-101.
- [3] 张宝贵, 李贵桐. 土壤生物在土壤磷有效化中的作用 [J]. 土壤学报, 1998, 35(1): 104-111.
Zhang Baogui, Li Guitong. Acta Pedologica Sinica, 1998, 35(1): 104-111.
- [4] 梅汝鸿, 徐维敏. 植物微生态学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 104-105.
Mei Ruhong, Xu Weimin. Micro-ecology of plants [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998: 104-105.
- [5] 郝晶, 洪坚平, 刘冰, 等. 不同解磷菌群对豌豆生长和产量影响的研究 [J]. 作物杂志, 2006(1): 73-76.
Hao Jing, Hong Jianping, Liu Bing, et al. Crops, 2006(1): 73-76.
- [6] 尹瑞龄. 我国旱地土壤的溶磷微生物 [J]. 土壤, 1988, 20(5): 243-246.
Yin Ruiling. Soil, 1988, 20(5): 243-246.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
Bao Shidan. Agricultural chemical soil analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [8] 赵兰坡, 姜岩. 土壤磷酸酶活性测定方法的探讨 [J]. 土壤通报, 1986, 17(3): 138-142.
Zhao Lanpo, Jiang Yan. Chinese Journal of Soil Science, 1986, 17(3): 138-142.

[9] 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.
Zhao Xiaorong, Lin Qimei. *Soil and Fertilizers*, 2001, 5(3): 7-11.

[10] 张有山, 姚军, 孙焱鑫, 等. 细菌解磷能力测定方法的研究[J]. 微生物学通报, 2001, 28(1): 1-4.
Zhang Youshan, Yao Jun, Sun Yanxin, *et al.* *Microbiology*, 2001, 28(1): 1-4.

[11] Kucey R M N. Effect of penicillium bilaji on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat [J]. *Can J Soil Sci*, 1988, 68: 261-270.

[12] Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1992, 24(4): 389-395.

[13] 毕银丽, 郭婧婷, 刘榕榕. 解磷微生物对煤系废弃物粉煤灰的改良效应[J]. 环境工程学报, 2008, 2(9): 1235-1238.
Bi Yinli, Guo Jingting, Liu Rongrong. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008, 2(9): 1235-1238.

[14] 邵春花, 张强, 卢朝东, 等. 选用解磷菌剂改善缺磷土壤磷素的有效性[J]. 农业工程学报, 2005, 21(5): 56-59.
Gao Chunhua, Zhang Qiang, Lu Chaodong, *et al.* *Transactions of Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2005, 21(5): 56-59.

[15] Goldstein A H, Bartlein D A, Medaniel R G. Phosphate starvation inducible metabolism in *Lycopersicon esculentum*. I. Excretion of acid phosphatase by tomato plants and suspension cultured cells [J]. *Plant*

Physiology, 1988, 87: 711-715.

[16] Edwards K A, McCulloch J, Kershaw G P, *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: 2843-2851.

[17] Molla M A Z, Chowdhury A A. Microbial mineralization of organic phosphate in soil[J]. *Plant and Soil*, 1984, 78: 393-399.

[18] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄. 菌根研究及应用 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.
Gong Mingqin, Chen Yinglong, Zhong Chonglu. *Mycorrhizal research and application*[M]. Beijing: China Forestry Press, 1997.

[19] 刘灵, 廖红, 王秀荣, 等. 磷有效性对大豆菌根侵染的调控及其与根构型、磷效率的关系[J]. 应用生态学报, 2008, 19(3): 564-568.
Liu Ling, Liao Hong, Wang Xiurong, *et al.* *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(3): 564-568.

[20] 毕银丽. 丛枝菌根培养新技术及其对土地复垦生态效应[M]. 北京: 地质出版社, 2007.
Bi Yinli. *New technology of arbuscular mycorrhizal and its ecological effects of land reclamation*[M]. Beijing: Geological Press, 2007.

[21] 杜善周, 毕银丽, 王义, 等. 丛枝菌根对神东煤矿区塌陷地的修复作用与生态效应[J]. 科技导报, 2010, 28(7): 41-44.
Du Shanzhou, Bi Yinli, Wang Yi, *et al.* *Science and Technology Review*, 2010, 28(7): 41-44.

(责任编辑 岳臣)

·学术动态·



“2012 年智能检测与高端装备国际研讨会”征文

由中国人工智能学会、中国印刷及设备器材工业协会主办的“2012 年智能检测与高端装备国际研讨会”将于 2012 年 3 月在北京召开。

征文范围: 智能控制; 自适应控制系统; 学习控制系统; 混合智能系统; 智能过程控制; 智能运动控制; 模糊控制与神经网络控制; 智能过程规划; 专家控制系统; 智能控制理论与应用; 智能管理; 自动化技术; 自动检测技术; 自动识别技术; 工业现场总线技术; 伺服控制与无轴传动; DCS 与 CIMS 系统; 自动化生产技术; 自动套准技术; 印品质量在线检测技术; 墨色遥控与闭环控制技术; 远程故障诊断; 机电系统动态检测与稳定性研究; 防伪印刷与信息隐藏; 数字图像处理; 新能源变换技术; 建模与仿真; 高端装备与智能制造; 高端装备设计理论与方法; 绿色制造; 智能制造; 数控机床和基础制造装备; 关键的基础设施组件, 部件和通用部件; 数字印刷与印刷数字化技术; 印刷电子装备及工艺; 绿色印刷包装装备; 虚拟现实技术等。

会议网站: www.leaderstudio.net。

电子信箱: idaa@leaderstudio.net, 联系电话: 010-62222430。