

一株耐盐解磷菌的解磷能力及对玉米敏感期生长的影响

李学平, 任加云, 邹美玲, 荣琨

(滨州学院 资源环境系, 山东 滨州 256600)

摘要:从黄河三角洲盐碱化土壤中筛选了一株高效解磷真菌 QL1501, 经鉴定为草酸青霉菌, 菌株 QL1501 对无机磷的解磷能力远大于对有机磷的解磷, 解无机磷最大浓度达 85.21 mg/L。菌株 QL1501 的最适生长 pH 值为 8 时菌体生长极好。当 NaCl 浓度为 1%~5% 时, 菌株解磷能力变化不大, 溶液中有效磷浓度为 76.08~65.37 mg/L。当溶液中 NaCl 浓度高于 7% 时, 菌体生长受到较大影响。接种解磷真菌 QL1501 处理的玉米株高、根干重和植株干重均显著高于未接种的对照处理, 说明该解磷菌作为解磷生物肥料具有良好的效果。

关键词:耐盐解磷菌; 玉米; 无机磷

中图分类号: S144; S513

文献标识码: A

文章编号: 1005-3409(2015)05-0276-03

Phosphate-Solubilizing Ability of a Saline-Alkali Fungus Strain and Effects on the Growth of Corn in Sensitive Period

LI Xueping, REN Jiayun, ZOU Meiling, RONG Kun

(Department of Resources and Environment, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256600, China)

Abstract: Fungi strain QL1501 was screened from the Yellow River Delta in the saline-alkali soil and was identified as penicillium oxalate. The strain QL1501 solubilized more inorganic phosphorus than organophosphorus. The maximum concentration of inorganic phosphorus was up to 85.21 mg/L. The optimum pH which was 8 was the best condition for strain QL1501. Phosphate-solubilizing ability of the strain changed little when NaCl concentration was between 1% and 5%, and the available phosphorus concentration ranged from 76.08 mg/L to 65.37 mg/L. The bacteria growth was affected when the concentration of NaCl was higher than 7%. Height, root dry weight and plant dry weight of the corn were significantly higher in inoculation of phosphate-solubilizing fungi QL1501 treatment than that of unvaccinated fungi treatment. The results suggested that as phosphate-solubilizing biological fertilizer, the phosphate-solubilizing bacterium was effective.

Keywords: saline-alkali fungus strain; corn; inorganic phosphorus

施用解磷微生物有机肥, 不仅可以降低化肥磷的投入, 还可以充分利用土壤中被钝化的磷, 无疑是改善植物磷素营养最经济、有效途径之一。解磷微生物可以提高土壤磷的利用, 在代谢过程中产生各种酶类, 如植酸酶、核酸酶、磷脂酶和有机酸类, 并通过酸化、螯合和离子交换等过程^[1-2]将土壤中的有机磷转化为可溶性无机磷, 或把不溶性无机磷转化为可溶性无机磷^[3], 从而改善土壤磷素养分, 促进作物对 N, K, Ca, Mg, Fe, Zn 等营养元素的吸收, 提高作物产量^[4-8]。

不同种类的解磷微生物的解磷能力不同。郝晶等^[9]研究不同解磷菌群对豌豆生长和产量的影响, 结果表明, 使用解磷菌剂能大幅度提高豌豆产量, 产量多少与接种的菌群关系为: 真菌 > 细菌 > 混合菌, 再一次确认了真菌的解磷能力高于细菌。并且, 菌株解

磷能力强弱主要受菌株自身特性的影响, 也与环境条件有关, 如温度和 pH 值^[10-14]等都影响到解磷菌的解磷能力。黄河三角洲地区有大量的盐碱化土壤, 盐碱化土壤作为一种特殊的盐生环境, 分布着各种耐盐微生物^[6]。但是目前关于盐碱化土壤解磷菌的研究不足, 本研究以从黄河三角洲盐碱地筛选的一株解磷真菌草酸青霉菌为菌种研制的生物肥料为研究对象, 通过盆栽试验研究不同环境因子对菌株解磷能力的影响, 以及该解磷微生物菌剂对玉米苗期生长的影响, 以为该菌剂的进一步推广应用提供理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤: 土壤类型为盐碱化潮土母质土壤; 土壤

理化性状为:有机质 1.62%、碱解氮 80.5 mg/kg、速效磷(P)27.4 mg/kg、速效钾(K)192 mg/kg;供试作物:玉米品种浚单 29 号(*Zea mays* L.);供试肥料:解磷微生物菌剂使用由草酸青霉菌 QL1501 经扩繁、浓缩后制成的液体菌剂,氮肥使用尿素,磷肥使用重过磷酸钙。

1.2 试验方法

试验设在山东省生态环境重点实验室的科研温室大棚内,采用塑料花盆(直径 25 cm,高 35 cm),每盆装土 3 kg。盆栽试验共设 5 个处理,分别为:CK(对照不施肥)、菌剂、NPK(氮磷钾肥)、NPK+菌剂、NK+菌剂,每个处理重复 4 次,其中菌剂接种量为每盆 50 ml 菌悬浮液(10^8 个/ml)。肥料在玉米播种后均匀的撒施于表面,再在上面覆土。玉米每盆播种 5 粒,生长到 50 d 收获地上部和地下部,测量株高,地上部和地下部烘干称重。由于温室大棚温度较高,需在玉米生长期间定期浇水,土壤湿度维持在田间持水量的状态。

1.3 解磷能力测定

1.3.1 真菌解磷能力测定 将待测菌株接种于装有 150 ml 含磷液体培养基中,温度保持在 30℃,150 r/min 振荡培养 144 h 后测定有效磷的含量,分析菌株对无机磷 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 和有机磷(卵磷脂)的解磷能力大小。对照组接种相同量的灭活菌体,在相同条件下培养,无机磷、有机磷培养基和对照组处理分别重复 4 次。

无机磷培养基:酵母膏 10.0 g,酪蛋白氨基酸 7.5 g,柠檬酸三钠 3.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KCl 1.0 g, FeCl_2 0.36 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.06 g, NaCl 100 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.0 g,其中 NaCl 配成溶液灭菌后加入。

有机磷培养基:以 0.2 g 卵磷脂代替 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$,灭菌后再加无菌 CaCO_3 5.0 g,其他试剂同无机磷培养基。

1.3.2 环境因子对解磷能力的影响 研究酸碱性和盐度对菌株溶解无机磷 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的影响,试验设置如下:

(1) 酸碱度影响试验:灭菌前用 KOH 或者 HCl 将培养基 pH 值调至 7.0,8.0,9.0。

(2) 盐度处理试验:向 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 培养基中添加不同浓度的 NaCl(0.1%,3%,5%,7%,10%)。

以上培养基菌培养 144 h,测定上清液可溶性磷含量。

1.3.3 测定方法 取 10 ml 培养液,5 000 rpm 离心 15 min,消解上清后取 5 ml 液体定容至 10 ml,采用钼蓝比色法测定过滤液有效磷浓度^[15]。

2 结果与分析

2.1 解磷菌解磷能力的时间变化特征

从菌株 QL1501 对无机磷和有机磷的解磷效果可以得出,菌株 QL1501 对无机磷的解磷能力远大于

有机磷(图 1)。培养到 96 h 后,菌株对无机磷的解磷能力显著增强。但无论是无机磷还是有机磷的释放均在解磷 120 h 时达最大值,之后趋于稳定。其中菌株 QL1501 解无机磷最大达 85.21 mg/L,在有机解磷试验中,菌株 QL1501 的最大解磷值为 24.11 mg/L,菌体经历一系列的适应和代谢合成酶作用于无机磷的效果优于有机磷(卵磷脂),可见该菌株解无机磷的能力较强。

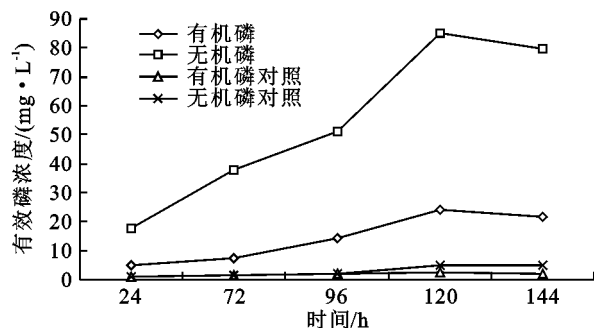


图1 解磷能力的时间变化特征

2.2 酸碱度对解磷能力的影响

如图2所示,当 pH 值为 7 时,溶液有效磷浓度为 78.58 mg/L,菌体在此时长势良好;当 pH 值为 8 时,菌体生长极好,溶液有效磷浓度为 85.74 mg/L;当溶液 pH 上升到 9 时,溶液中的有效磷大大降低。可见,菌株 QL1501 的溶磷作用并非来自菌体代谢产生质子的酸解作用,溶磷与培养介质的酸碱度之间没有必然关系。

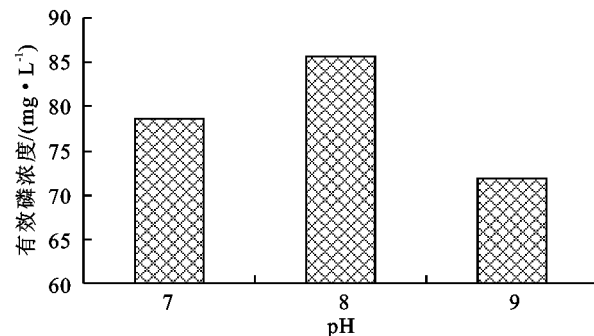


图2 酸碱度对菌株解磷能力的影响

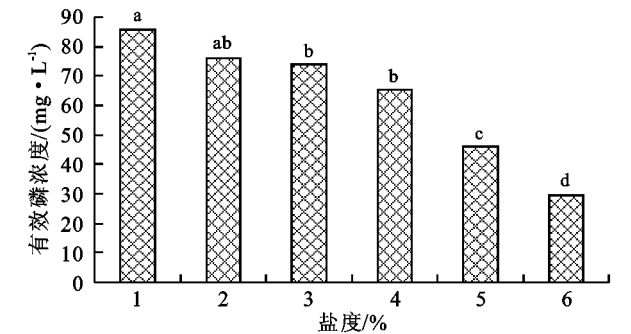
2.3 盐度对解磷能力的影响

Na^+ 对菌株 QL1501 解磷的影响主要为渗透压影响菌株的正常生长和代谢过程,从而影响菌株的溶磷效果(图 3)。当 NaCl 浓度为 1%~5% 时,菌株解磷能力变化不大,溶液中有有效磷浓度为 76.08~65.37 mg/L。当溶液中 NaCl 浓度高于 7% 时,由于高渗透压的影响菌体的解磷能力受到的影响越来越大,特别是当 NaCl 浓度为 10% 时,菌体生长受到极大影响,溶液中有有效磷的含量仅为 29.22 mg/L。

2.4 解磷菌剂对玉米苗期生长的影响

从研究结果来看,接种解磷真菌对玉米苗期的生长影响较大(表 1)。在不施磷的情况下,单独接种解

磷真菌就可以促进玉米的生长,被接种的玉米的株高显著高于未接种的对照,另外根干重和植株干重也明显增加。经过 NPK+菌剂处理的玉米的株高、根干重和植株干重均高于其他处理,比单独施用 NPK 的玉米分别高 21.9%,38.4%,12.1%,比单独施用菌剂的玉米分别高 54.0%,47.5%,30.9%。说明解磷菌作为解磷生物肥料具有良好的效果。



注:不同小写字母表示差异显著水平 $p<0.05$ 。

图 3 盐度对菌株解磷能力的影响

表 1 解磷菌 QL1501 对玉米苗期株高和干重的影响

处理	株高	植株干重	根干重
CK	50.0±4.9c	6.84±0.42b	3.08±0.19b
菌剂	60.7±4.2bc	7.91±0.51b	3.75±0.13b
NPK	76.7±5.3b	8.43±0.24ab	4.38±0.21ab
NPK+菌剂	93.5±5.6a	11.67±0.35a	4.91±0.29a
NK+菌剂	85.6±3.7a	10.51±0.56a	4.55±0.23a

注:不同小写字母表示差异显著水平 $p<0.05$ 。

就干重来说,CK 和单独施用菌剂的玉米差异不显著。经 NPK+菌剂处理的玉米与施用菌剂的玉米和 CK 均存在显著差异,同时也比施用 NPK 的玉米明显高。说明该菌株能在植物根际大量繁殖,能显著增加植物的产量,能非常好地发挥其解磷作用。

3 结论与讨论

(1) 菌株 QL1501 对无机磷的解磷能力远大于对有机磷的解磷,解无机磷最大达 85.21 mg/L,在有机解磷试验中,菌株 QL1501 的最大解磷值为 24.11 mg/L。

(2) 菌株 QL1501 的最适生长 pH 值为 8,此时菌体生长极好,溶液有效磷浓度为 85.74 mg/L。当 NaCl 浓度为 1%~5%时,菌株解磷能力变化不大,溶液中有效磷浓度为 76.08~65.37 mg/L。当溶液中 NaCl 浓度高于 7%时,菌体生长受到极大影响。

(3) 接种解磷真菌 QL1501 的玉米的株高显著高于未接种的对照处理,另外根干重和植株干重也明显增加,说明在本研究中该解磷菌作为解磷生物肥料具有良好的效果。

由于解磷菌株耐盐性普遍不高,在盐碱地中的溶磷效果较差,因此,筛选新的适宜盐碱地条件下生长的耐盐解磷菌至关重要。刘长霞等^[12]从滨海盐碱土

壤中筛选了一株解磷真菌,该菌株在 10%NaCl 条件下仍然保持较高的解无机磷的能力。此外,段秀梅等^[14]从植物根际土壤分离了两株解磷细菌,具有耐 3%NaCl 的耐盐能力,进行盆栽试验发现菌株对玉米具有一定的促生作用。本研究所筛选的菌株属于草酸青霉菌属,在 5%NaCl 浓度条件下仍具有较好的解磷能力。关于该菌在大田中解磷效果及影响因素还需要进一步研究。本研究结果对于进一步筛选适宜盐碱地生长的解磷微生物,促进盐碱地农业发展具有重要的理论价值。

参考文献:

[1] 蔡天明,管莉波,崔中利,等.恶臭假单胞菌(Pseudomonasputida)GM6 的聚磷特性研究[J].土壤学报,2006,43(1):117-123.

[2] 刘月娟,汪金舫.β-甘油磷酸钠的加入对土壤有机磷组分和速效磷含量的影响[J].土壤,2007,39(3):469-473.

[3] 龚明波,范丙全,王洪媛.一株新的溶磷棘孢青霉菌 Z32 的分离、鉴定及其土壤定殖与溶磷特性[J].微生物学报,2010,50(5):580-585.

[4] Gyaneshwar P, Kumar G N, Parekh L J, et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants[J]. Plant & Soil,2002,245(1):83-93.

[5] Gulden R H, Vessey J K. Penicillium bilaii inoculation increases root-hair production in field pea[J]. Canadian Journal of Plant Science,2000,80(4):801-804.

[6] 邵春花,王岗,董云中.解磷菌剂盆栽及大田施用效果[J].山西农业科学,2003,31(3):40-43.

[7] 李娟,王文丽,卢秉林.解磷微生物菌剂对油菜生长及产量的影响[J].中国土壤肥料,2010(3):66-69.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 李鸣晓,席北斗,魏自民.耐高温解磷菌的筛选及解磷能力研究[J].环境科学研究,2008,21(3):165-169.

[11] Malboobi M A, Owlia P, Behbahani M, et al. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology,2009,25(8):1471-1477.

[12] 刘长霞,谭天伟,翟洪杰.盐碱条件对真菌解磷能力的影响[J].微生物学通报,2003,30(5):69-72.

[13] 张巍,冯玉杰,胡纯国,等.耐盐碱解磷菌的分离鉴定及解磷能力研究[J].土壤通报,2009,40(3):572-575.

[14] 段秀梅,高晓蓉,吕军,等.两株土壤分离菌的解磷能力及对玉米的促生作用[J].中国土壤与肥料,2010(2):79-85.

[15] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2002.