

文章编号: 1001-1498(2008)05-0619-06

## 具有解磷能力的相思根瘤菌的筛选

张希涛, 康丽华\*, 马海宾, 江业根

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520)

**摘要:**对海南、福建、广州、清新分离的根瘤菌和实验室保存的部分根瘤菌进行了解磷能力的研究,从 200 多株根瘤菌中筛选出 40 株具有解磷能力的菌株,通过测定根瘤菌在固体培养基和液体培养基中溶解无机磷和有机磷的能力,筛选出 2 株解磷能力较强的菌株 G7-3 和菌株 DH001。菌株 G7-3 在无机磷和有机磷培养基中的解磷量分别是  $4.142, 9.944 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 与其它菌株有明显的差异;在无机磷液体培养基中,菌株 DH001 微克菌体解磷量为  $0.0867 \mu\text{g}$ , 和其它菌株有显著差异。对筛选出的菌株进行了 16S rDNA 测序分析,确定筛选出的菌株除 H1-1-1 和 H2-1-2 外,其它菌株均为根瘤菌。

**关键词:**根瘤菌;解磷能力;解磷量

中图分类号: S144.9

文献标识码: A

## Selection of Acacia Rhizobium Which Have the Ability to Dissolve Phosphorus

ZHANG Xi-tao, KANG Li-hua, MA Hai-bin, JIANG Ye-gen

(Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

**Abstract:** Parts of rhizobium collected from Hainan, Fujian, Guangdong and the specimen stored in the laboratory of Research Institute of Tropical Forestry were used to study their phosphorus-dissolving ability. 40 isolates were selected from over 200 rhizobium isolates. By checking their ability of dissolving inorganic and organic phosphorus in solid media and liquid media, 2 isolates (G7-3 and DH001) which had stronger phosphorus-dissolving ability were chosen. The quantity of phosphorus G7-3 could dissolved in inorganic and organic media were  $4.142 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $9.944 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively, which were significantly different from the others. In inorganic phosphorus liquid media, DH001 in  $\mu\text{g}$  thalli dissolved  $0.0867 \mu\text{g}$  of phosphorus, which had notable difference with the others. 16S rDNA sequence was used to analyze the isolates selected, it is found that all the isolates were rhizobium except H1-1-1 and H2-1-2.

**Key words:** rhizobium; phosphorus-dissolving ability; phosphorus-dissolving quantity

磷是植物生长所必需的大量元素之一,土壤中磷含量较高,但大部分以植物难以利用的无机磷和有机磷的状态存在。在植物的栽培过程中,施用了大量的磷肥,但很快就与土壤中的矿物质作用,成为植物难以利用的磷<sup>[1]</sup>,所以,虽然施用了很多的磷肥,却不能满足植物本身对磷的需求。土壤中很多

微生物可以不同程度的溶解土壤中的非可溶性磷<sup>[2-3]</sup>,具有解磷能力的微生物称为解磷微生物<sup>[4]</sup>。

豆科植物与根瘤菌共生固氮体系的固氮量约占全球生物固氮量的一半<sup>[5]</sup>,在生物固氮中占有重要地位。长期以来,对根瘤菌的研究主要集中在固氮作用及与宿主植物的相互关系上<sup>[6-7]</sup>,而对其它的作

收稿日期: 2007-04-11

基金项目: 国家级星火计划项目“林业专用多功能微生物肥料开发与应用推广(2005EA169010)和国家科技基础条件平台项目“林业微生物菌种资源标准化整理、整合及共享试点(2005DKA21207-4)”

作者简介: 张希涛(1978—),男,山东平原县人,硕士研究生。

\*通讯作者

用研究较少,特别是根瘤菌的解磷作用。本文研究了根瘤菌的解磷作用,筛选既有固氮作用又有解磷能力的根瘤菌,增加根瘤菌的应用功能和范围,为开发有固氮和解磷作用的多功能根瘤菌肥料提供优良菌株。

## 1 材料和方法

### 1.1 根瘤菌的分离

从海南、福建、广州、清新采集根瘤,进行分离纯化、保存。挑取新鲜、饱满、个大的根瘤,自来水冲洗干净表面泥沙,于 95%酒精中浸泡 15~30 s后,放入 0.1%酸性升汞溶液中表面消毒 3~5 min,无菌水冲洗干净。将表面消毒后的根瘤放在 2片无菌载玻片之间,用力挤压使根瘤破碎,用接种针沾取根瘤液在 YMA 平板上划线,28~30℃ 恒温培养箱培养至菌落出现,挑取典型菌落纯化保存<sup>[8]</sup>。

另外一部分供试菌株来自本实验室保存的根瘤菌。

### 1.2 溶磷能力的测定

1.2.1 培养基 无机磷固体培养基:蒙金娜无机磷<sup>[9]</sup>固体培养基加入 0.01%的溴甲酚紫。

有机磷固体培养基:牛肉膏蛋白胨培养<sup>[9]</sup>基中加入 0.3%的蛋黄液(有机磷源)。

蛋黄液的制备:用酒精消毒棉球擦净鸡蛋外壳,用无菌吸管从鸡蛋中抽取蛋黄置一无菌空试管中,加入等量的生理盐水充分摇匀,制成蛋黄液(注意不要混有蛋清)。

无机磷液体培养基:蒙金娜无机磷液体培养基。

有机磷液体培养基:蒙金娜液体培养基用卵磷脂作为磷源。

1.2.2 根瘤菌在固体培养基中解磷能力的测定 将在斜面上培养好的根瘤菌点样到装有 15 mL 的固体解磷培养基平板上,28℃ 培养 96 h,观察解磷圈的大小。

1.2.3 根瘤菌在液体培养基中解磷能力的测定 将培养好的 1 mL 菌种接入 50 mL 灭菌的液体培养基中,28℃ 在摇床上培养 2 d(130 r·min<sup>-1</sup>),离心(7 000 r·min<sup>-1</sup>) 20 min,吸取上清液,根瘤菌解磷能力测定采用钼锑抗比色方法<sup>[10]</sup>。

### 1.3 根瘤菌菌体蛋白质含量的测定

采用考马斯亮兰方法测定菌体蛋白质含量<sup>[11]</sup>。

### 1.4 pH值和解磷能力动态测定

每隔 12 h 取样测定培养液的 pH 值和水溶性磷含量,pH 值采用 pH S-3C 型酸度计测定,磷含量测定采用钼锑抗比色方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 根瘤菌在无机磷固体培养基中的解磷能力

2.1.1 具有解磷能力菌株的初步筛选 将根瘤菌在无机磷固体培养基上划线,根据培养基颜色变化,来判断菌株是否具有解磷能力,从 244 株菌株中初步筛选到 40 株具有解磷能力的菌株,具有解磷能力的菌株占测试菌株的 16.39% (表 1)。

表 1 根瘤菌来源及解磷能力的初步筛选

| 分离地点  | 宿主植物    | 测定菌株数/株 | 具有解磷能力的菌株  |
|-------|---------|---------|--|
| 海南尖峰岭 | 猴耳环     | 12      | 7 株 (H1-1-1, H1-1-2, H1-1-3, 1-1-4, 1-1-5, H2-1-1, H2-1-2)   |
|       | 海南黄檀    | 23      | 无  |
|       | 白格      | 5       | 无  |
| 广东清新  | 马占相思    | 20      | 无  |
|       | 珍珠叶相思   | 20      | 1 株 (F3-2-6)   |
| 福建漳州  | 卷荚相思    | 20      | 无  |
|       | 直杆相思    | 8       | 无  |
|       | 多花相思    | 25      | 1 株 (F7-2-11)  |
|       | 流苏相思    | 21      | 无  |
| 广州    | 黑木相思    | 17      | 1 株 (G1-2)   |
|       | 厚荚相思    | 27      | 7 株 (G5-1, G5-5, G6-3, G7-3, G7-5, G8-2, G8-5)   |
|       | 马占相思    | 21      | 16 株 (G31-1-1, G31-1-2, G31-1-3, G31-1-4, G31-1-5, G31-1-6, G31-1-7, G31-1-8, G31-1-9, G31-1-10, G31-1-11, G31-1-12, G31-2-1, G31-2-2, G31-2-3, G31-2-4) |
| 广州    | 实验室储存菌株 | 25      | 7 株 (IS004 酸-1, LL007 酸, LH001, IS004, DH001, LR025-3, Y <sub>株1</sub> )   |

注:猴耳环 (*Pithecellobium clypearia* (Jack) Benth.);海南黄檀 (*Dalbergia hainanensis* Merr et Chun);白格 (*Alibizzia procera* (Roxb) Benth.);马占相思 (*Acacia mangium* Willd);珍珠叶相思 (*A. podalyriifolia* Willd);卷荚相思 (*A. crassicarpa* Willd);直杆相思 (*A. auriculiformis* A. Cunn ex Benth);多花相思 (*A. floriunda* (Vent) Willd);流苏相思 (*A. fimbriata* A. Cunn ex G Don);黑木相思 (*A. melanoxylon* Willd);厚荚相思 (*A. crassicarpa* Willd)。

从筛选出的 40 株具有解磷能力的菌株中随机挑取 20 株具有代表性的菌株进行进一步解磷能力的测定,20 株菌株分别是: H1-1-3、H2-1-2、LRO25-3、IS004 酸 -1、IS004、Y<sub>未1</sub>、LL007 酸、LH001、DH001、G31-1-5、G7-3、G1-2、H1-1-1、H2-1-1、G5-1、G6-3、F3-2-6、F7-2-11、G31-1-1、G31-1-10。

2.1.2 根瘤菌在无机磷固体培养基中的解磷能力

将具有解磷能力的 20 株具有代表性的菌株在平板上点样,培养 96 h 后,测定解磷圈的大小,并通过解磷圈的大小对菌株的解磷能力做初步鉴定。由表 2 看出: 菌株 IS004 的解磷圈最大,说明该菌株在固体无机磷培养基中的解磷能力最强;菌株 LH001 和

表 2 不同菌株在无机磷固体培养基上的解磷圈 cm<sup>2</sup>

| 菌株              | 重复    |       |       | 均值    | LSR <sub>0.05</sub> |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
|                 | 1     | 2     | 3     |       |                     |
| H1-1-3          | 0.589 | 0.306 | 0.353 | 0.416 | a                   |
| H2-1-2          | 0.188 | 0.188 | 0.220 | 0.199 | a                   |
| LRO25-3         | 0.188 | 0.188 | 0.306 | 0.227 | a                   |
| IS004 酸 -1      | 0.667 | 1.484 | 1.625 | 1.259 | b                   |
| IS004           | 2.268 | 1.986 | 1.986 | 2.080 | c                   |
| LH001           | 1.413 | 1.413 | 1.813 | 1.546 | b                   |
| Y <sub>未1</sub> | 0.259 | 0.259 | 0.188 | 0.235 | a                   |
| LL007 酸         | 0.212 | 0.212 | 0.126 | 0.183 | a                   |
| G31-1-5         | 0.188 | 0.220 | 0.306 | 0.238 | a                   |
| G1-2            | 0.259 | 0.157 | 0.220 | 0.212 | a                   |
| H1-1-1          | 0.754 | 0.440 | 0.306 | 0.500 | a                   |
| H2-1-1          | 0.306 | 0.157 | 0.157 | 0.206 | a                   |
| F3-2-6          | 0.157 | 0.157 | 0.157 | 0.157 | a                   |
| G31-1-1         | 0.306 | 0.659 | 0.659 | 0.541 | a                   |

注:表中同列相同字母表示无显著差异,不同字母表示差异显著(P=0.05),下同。

表 4 20 株根瘤菌在无机磷液体培养基中的解磷能力

| 菌株              | 菌液中磷含量                   |                     | 菌体蛋白质含量 /<br>(μg · mL <sup>-1</sup> ) | 菌体蛋白质解磷量                 |                     | 磷转化率 /% |
|-----------------|--------------------------|---------------------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------|---------|
|                 | (μg · mL <sup>-1</sup> ) | LSR <sub>0.05</sub> |                                       | (μg · μg <sup>-1</sup> ) | LSR <sub>0.05</sub> |         |
| H1-1-3          | 0.830                    | abcd                | 37.111                                | 0.022                    | abcd                | 0.412   |
| H2-1-2          | 0.904                    | bcd                 | 31.492                                | 0.029                    | bcde                | 0.447   |
| LRO25-3         | 0.599                    | abcd                | 27.639                                | 0.022                    | abcd                | 0.289   |
| IS004 酸 -1      | 0.294                    | ab                  | 100.000                               | 0.003                    | a                   | 0.147   |
| IS004           | 1.177                    | d                   | 71.724                                | 0.016                    | abc                 | 0.587   |
| LH001           | 1.839                    | e                   | 69.518                                | 0.026                    | bcde                | 0.919   |
| DH001           | 1.047                    | d                   | 12.841                                | 0.082                    | h                   | 0.557   |
| Y <sub>未1</sub> | 0.799                    | abcd                | 107.070                               | 0.007                    | ab                  | 0.399   |
| LL007 酸         | 0.796                    | abcd                | 20.462                                | 0.039                    | def                 | 0.398   |
| G31-1-5         | 1.924                    | e                   | 43.499                                | 0.044                    | ef                  | 1.012   |
| G7-3            | 4.142                    | f                   | 134.021                               | 0.031                    | cdef                | 2.069   |
| G1-2            | 2.039                    | e                   | 41.053                                | 0.050                    | fg                  | 1.027   |
| H1-1-1          | 0.275                    | abc                 | 56.321                                | 0.005                    | ab                  | 0.210   |
| H2-1-1          | 0.128                    | a                   | 48.402                                | 0.003                    | a                   | 0.084   |
| G5-1            | 1.966                    | e                   | 57.049                                | 0.034                    | cdef                | 0.983   |
| G6-3            | 0.100                    | cd                  | 54.501                                | 0.002                    | a                   | 0.489   |
| F3-2-6          | 0.799                    | abcd                | 52.633                                | 0.015                    | abc                 | 0.401   |
| F7-2-11         | 0.210                    | a                   | 49.676                                | 0.004                    | a                   | 0.104   |
| G31-1-10        | 1.965                    | e                   | 55.798                                | 0.035                    | cdef                | 0.983   |
| G31-1-1         | 2.449                    | e                   | 35.993                                | 0.068                    | gh                  | 1.249   |
| CK              | 1.390                    |                     |                                       |                          |                     |         |

IS004 酸 -1 的解磷圈次之,和其它菌株间差异显著,其余菌株间差异不显著。解磷能力最强的菌株 IS004 的解磷圈面积是解磷能力差的菌株 F3-2-6 的 13.25 倍。另外菌株 G31-1-10、G6-3、G5-1、G7-3、DH001、F7-2-11 在无机磷固体培养基中溶磷圈面积为 0.05 ~ 0.10 cm<sup>2</sup>。

2.1.3 不同培养时间对根瘤菌解磷能力的影响

随机挑取 6 个菌株研究不同培养时间与根瘤菌在无机磷液体培养基中解磷能力的关系,结果见表 3。从表 3 看出:根瘤菌在无机磷液体培养基中培养 48 h 时,H1-1-3 菌株的解磷量最高,LRO25-3 菌株的最少;培养 96 h 时,IS004 酸 -1 菌株的解磷量最高;但总的趋势是,随着培养时间的延长,不同菌株的解磷量都有不同程度的增加。

表 3 根瘤菌在无机磷液体培养基中不同培养时间的磷含量

| 菌株         | 磷含量 / (μg · mL <sup>-1</sup> ) |       |
|------------|--------------------------------|-------|
|            | 48 h                           | 96 h  |
| H1-1-3     | 1.990                          | 2.249 |
| H2-1-2     | 1.619                          | 1.965 |
| LRO25-3    | 0.105                          | 1.398 |
| IS004 酸 -1 | 1.461                          | 3.376 |
| IS004      | 1.366                          | 2.060 |
| LH001      | 0.862                          | 1.177 |

2.1.4 根瘤菌在无机磷液体培养基中的解磷能力

20 株根瘤菌在无机磷液体培养基中的溶磷能力见表 4。从表 4 可见:供试菌株对磷的转化率在 0.084% ~ 2.069% 之间,转化率越高表明该菌株的溶磷能力

越强;菌株 G7-3 的磷转化率最高 (2.069%), 菌株 G31-1-1 的次之, 其转化率为 1.249%, 菌株 H2-1-1 的溶磷能力最弱, 转换率为 0.084%。LSR 分析可知, 菌株 G7-3 的溶磷能力与其它菌株之间差异显著。通过比较, 初步筛选出溶磷能力最强的菌株是 G7-3。菌体蛋白质含量可以反映根瘤菌在培养基中的生长情况, 表 4 表明, 菌株 G7-3 的菌体蛋白质含量最高, 说明此菌株在该无机磷液体培养基中生长良好。

菌体蛋白质解磷量越高, 表明该菌株在菌体蛋白质含量相同的情况下解磷能力越强。表 4 中菌体蛋白质解磷量表明: 菌株 DH001 的解磷量最高, 菌株 G31-1-1 的次之, 与其它菌株的解磷能力有显著差异, 而 IS004 酸-1、H2-1-1、F7-2-11、G6-3 的溶磷能力较差。

2.1.5 溶磷量及对应 pH 值动态曲线 选取 3 株菌, 接种后每 12 h 观察 1 次, 测定菌液中磷的含量及对应的 pH 值, 溶磷量及对应 pH 值动态曲线见图 1~3。从图 1~3 看出: 在接种根瘤菌后, 菌液中磷含量逐渐增加, 随着培养时间的延长, 接种 G7-3 菌株的菌液的磷含量增加明显, 在 96 h 时解磷量达  $5.79 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 接种 H2-1-2 菌株的菌液在培养 12 h 时菌液的 pH 值最低, 而接种 G7-3 和 F7-2-11 菌株的菌液在培养 24~36 h 时菌液的 pH 值最低, 但在 36 h 后菌液的 pH 值逐渐升高, 具体原因, 有待于进一步研究。

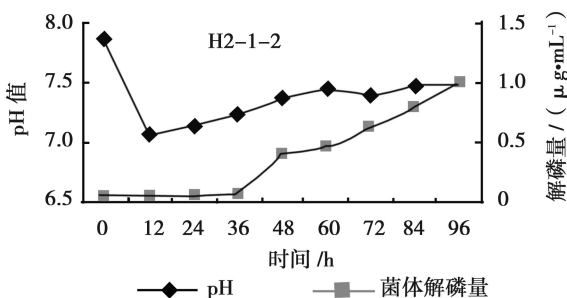


图 1 接种 H2-1-2 菌株的菌液的溶磷量及 pH 值

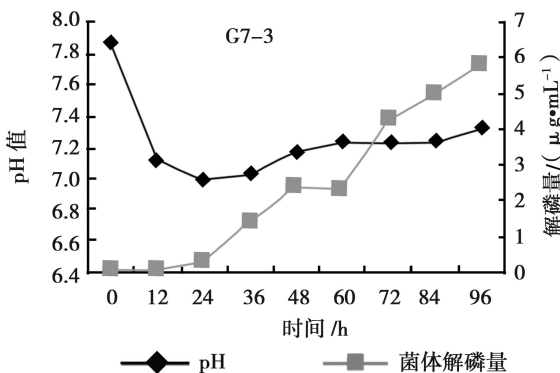


图 2 接种 G7-3 菌株的菌液的溶磷量及 pH 值

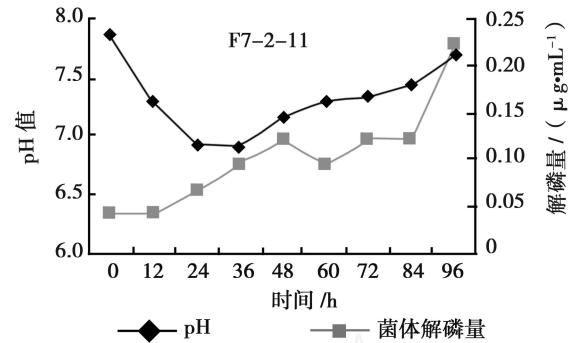


图 3 接种 F7-2-11 菌株的菌液的溶磷量及 pH 值

## 2.2 根瘤菌在有机磷固体培养基上的解磷能力

2.2.1 根瘤菌在有机磷固体培养基上的解磷能力 表 5 表明: 不同菌株在有机磷固体培养基中的溶磷圈大小存在显著差异, 菌株 G31-1-5 的解磷圈最大, 故溶磷能力也最强, 菌株 G5-1 的次之, 与其它菌株存在显著差异, 菌株 H2-1-2、Y<sub>未1</sub>、F3-2-6、DH001、LH001、G1-2、G31-1-10、H1-1-3、H2-1-1、LL007 酸在有机磷固体培养基上无溶磷圈产生。

表 5 不同菌株在有机磷固体培养基上的解磷圈  $\text{cm}^2$

| 菌株        | 重复    |       |       | 均值    | LSR <sub>0.05</sub> |
|-----------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
|           | 1     | 2     | 3     |       |                     |
| G31-1-5   | 5.521 | 3.776 | 4.611 | 4.636 | e                   |
| IS004     | 2.010 | 2.332 | 1.130 | 1.824 | abc                 |
| H1-1-1    | 0.353 | 1.884 | 0.754 | 0.997 | ab                  |
| IS004 酸-1 | 0.542 | 0.628 | 0.628 | 0.599 | a                   |
| G6-3      | 1.004 | 3.768 | 2.897 | 2.556 | bcd                 |
| LR025-3   | 0.628 | 0.628 | 1.037 | 0.764 | ab                  |
| G7-3      | 0.589 | 3.367 | 1.413 | 1.789 | abc                 |
| F7-2-11   | 2.355 | 2.190 | 2.669 | 2.405 | abcd                |
| G31-1-1   | 2.669 | 2.355 | 5.365 | 3.463 | cde                 |
| G5-1      | 5.020 | 3.392 | 3.298 | 3.903 | de                  |

2.2.2 根瘤菌在有机磷液体培养基上的解磷能力 从表 6 可见: 在有机磷液体培养基中, 接种 G7-3 菌株的磷含量和微克菌体蛋白解磷量最高, 说明对有机磷的解磷能力最强, 与其它菌株间差异显著; G31-1-5、Y<sub>未1</sub>、DH001 菌株的解磷能力次之。表 6 还表明: 菌株 DH001 在有机磷液体培养基中的菌体蛋白质含量最高, 说明此菌株在有机磷液体培养基中生长良好。

由表 5、6 可以看出: 根瘤菌在有机磷液体培养基和固体培养基中的解磷能力存在差异, 这可能与根瘤菌最适的培养条件有关。

## 2.3 16S rDNA 序列分析

对筛选到的解磷能力较强的菌株进行了测序, 采用 Clustal X 和 Treeconw 软件获得菌株的系统发

表 6 根瘤菌在有机磷液体培养基中的解磷能力

| 菌株              | 菌液中磷含量                                 |                     | 菌体蛋白质含量 /<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | 菌体蛋白质解磷量                                 |                     |
|-----------------|--|---------------------|---|--|---------------------|
|                 | ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | LSR <sub>0.05</sub> |   | ( $\mu\text{g} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ ) | LSR <sub>0.05</sub> |
| H1-1-3          | 0.197                                  | a                   | 122.167   | 0.0016                                   | a                   |
| H2-1-2          | 0.265                                  | a                   | 114.543   | 0.0023                                   | a                   |
| LRO25-3         | 0.241                                  | a                   | 110.263   | 0.0022                                   | a                   |
| ISOO4酸-1        | 0.232                                  | a                   | 117.120   | 0.0020                                   | a                   |
| ISOO4           | 0.145                                  | a                   | 115.310   | 0.0013                                   | a                   |
| LH001           | 3.269                                  | bcd                 | 95.927  | 0.0341                                   | cde                 |
| DH001           | 5.162                                  | g                   | 132.690   | 0.0389                                   | de                  |
| Y <sub>木1</sub> | 6.113                                  | h                   | 113.787   | 0.0537                                   | f                   |
| LL007酸          | 2.256                                  | b                   | 125.50  | 0.0179                                   | b                   |
| G31-1-5         | 6.314                                  | h                   | 118.737   | 0.0532                                   | f                   |
| G7-3            | 9.944                                  | i                   | 89.877  | 0.1106                                   | g                   |
| G1-2            | 3.085                                  | bc                  | 111.40  | 0.0277                                   | bcd                 |
| H1-1-1          | 4.159                                  | defg                | 100.923   | 0.0412                                   | e                   |
| H2-1-1          | 4.342                                  | efg                 | 103.883   | 0.0418                                   | e                   |
| G5-1            | 3.722                                  | cde                 | 116.737   | 0.0319                                   | cde                 |
| G6-3            | 3.033                                  | bc                  | 109.26  | 0.0278                                   | bcd                 |
| F3-2-6          | 4.089                                  | cdef                | 128.833   | 0.0317                                   | cde                 |
| F7-2-11         | 3.418                                  | cde                 | 127.733   | 0.0268                                   | bc                  |
| G31-1-1         | 3.958                                  | cdef                | 115.973   | 0.0341                                   | cde                 |
| G31-1-10        | 4.848                                  | fg                  | 111.547   | 0.0435                                   | ef                  |
| CK              | 4.290                                  |                     |   |  |                     |

育树状图。从系统发育树可看出: H1-1-1和 H2-1-2与根瘤菌的亲缘关系较远,在 GenBank上进行比对, H1-1-1和 H2-1-2属于类芽孢杆菌,具有固氮能力,同时具有解磷能力,其余菌株均为根瘤菌, G6-3、G31-1-5、G31-1-10、G7-3、LR025-3属于 *Rhizobium*, F7-2-11属于 *B. radyrhizobium*, DH001、LH001、LL007酸、G5-1、Y<sub>木1</sub>、F3-2-6属于 *Mesorhizobium*。

### 3 讨论

(1)根瘤菌的解磷量和 pH 值变化存在一定的关系,林启美<sup>[3]</sup>等发现培养介质酸度升高是溶解磷矿粉的重要条件,但不是必要条件,许多人发现解磷量与培养介质的 pH 值之间缺乏相关性<sup>[12-13]</sup>,从图 1~3 可以看出,解磷量和 pH 值之间不存在必然的相关性,但也有报道二者之间存在显著的相关性<sup>[14]</sup>。

(2)在根瘤菌解磷能力的研究中,发现在固体培养基中具有很强解磷能力的菌株,在液体培养基中解磷能力降低,相反,很多菌株在固体培养基中解磷能力较差,而在液体培养基中却表现出很强的解磷能力。

部分菌株在无机磷培养基中有很强的解磷能力,但在有机磷培养基中解磷能力不高;在有机磷培养基中表现出很强的解磷能力的菌株,在无机磷培养基中的解磷能力却较差。可以看出,菌株在不同培养基中的解磷能力表现出很大的差异,不同培养基对菌株的解磷能力有显著的影响。

(3)测定根瘤菌在液体培养基的解磷能力时发现,部分菌株菌液中的可溶性磷含量比对照的还要

少,赵小蓉研究表明<sup>[3]</sup>:这是由于菌体在生长中会利用一部分磷构建细胞成分。培养基的磷酸三钙微溶于水,当菌体溶解的磷不能满足本身需要时,就会消耗培养基中微溶的磷。不同菌株的解磷能力存在差异,当根瘤菌溶解的磷超过本身的需要时就会释放磷到菌液中,培养基中的磷增加,相反则减少。

(4)本研究中解磷能力最好的根瘤菌为 G7-3 菌株,在无机磷液体培养基中的解磷能力为  $4.142 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,在有机磷液体培养基中的解磷能力为  $9.944 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,该结果和文献中报道的解磷菌的解磷能力有一定的差异:林启美等<sup>[2]</sup>发现以磷矿粉作为唯一的磷源培养解磷细菌时,可溶性磷的含量最高可达  $11.73 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,解磷能力较强的菌株为假单胞菌属和欧文氏菌属;A sea等<sup>[17]</sup>发现 2 株青霉菌 *P. bilaji*和 *P. fuscum* 菌株在纯培养条件下溶解磷矿粉的能力分别为  $203$ 、 $298 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,而在土壤培养条件下,分别为  $77.4$ 、 $57.8 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ 。Kucey<sup>[18]</sup>报道真菌的解磷能力一般是细菌的 10 倍,许多细菌在进一步的纯化中失去部分或全部的解磷能力,而真菌则始终保持其解磷活力;细菌的解磷能力一般为  $0.08 \sim 2.65 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,而大部分真菌的溶磷能力均超过能力最好的细菌,最高可达  $12.8 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 参考文献:

- [1] Pradhan N, Sukla L B. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil[J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 5 (10): 850 - 854
- [2] 林启美,赵小蓉,孙焱鑫,等. 四种不同生态环境土壤中解磷细菌

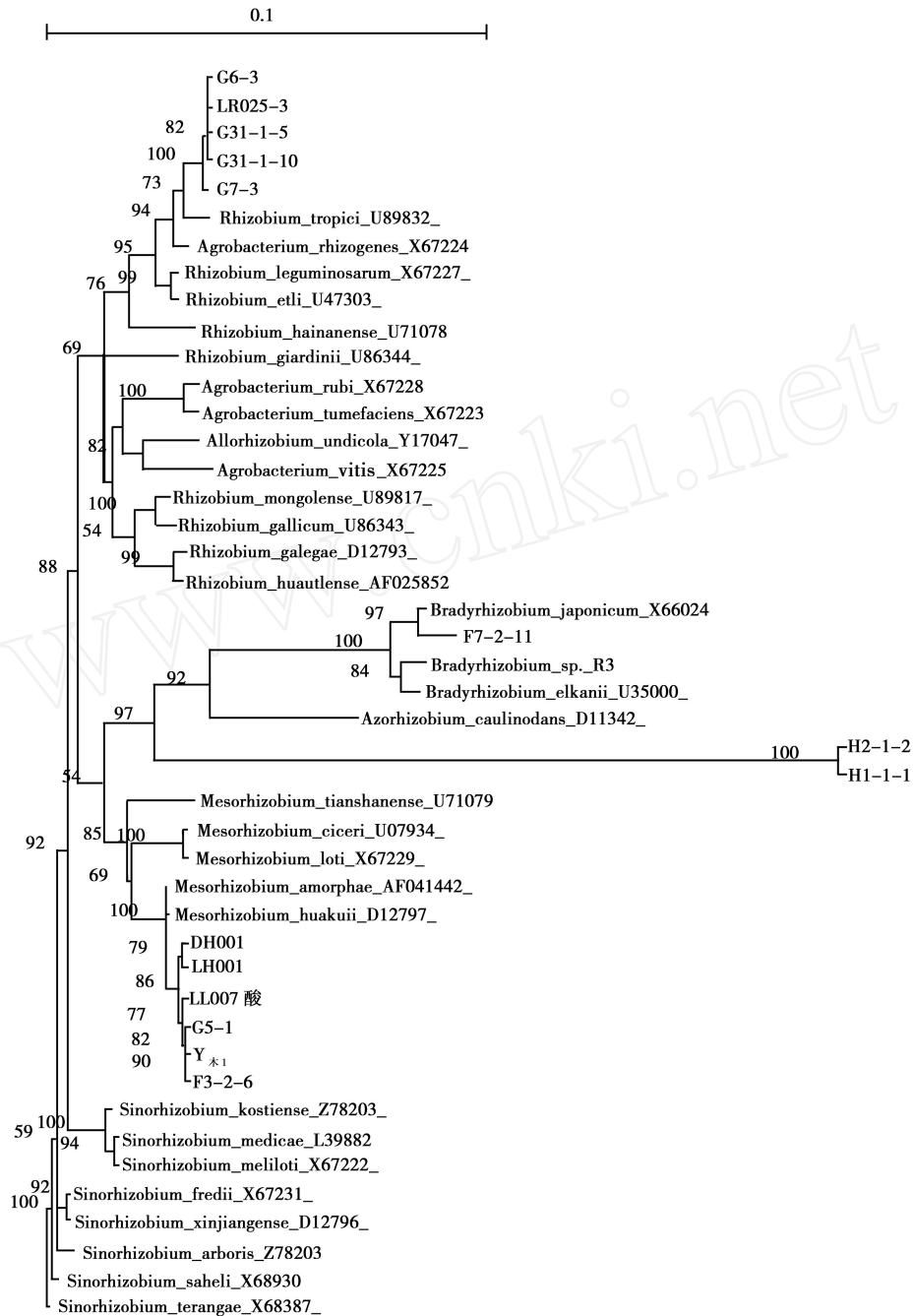


图 4 菌株的系统发育树状图

- 的数量及种群分布[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1): 34 - 37
- [3] 赵小蓉, 林启美, 孙焱鑫, 等. 小麦根际与非根际解磷菌的分布[J]. 华北农学报, 2001, 16(1): 111 - 115
- [4] 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
- [5] 李庆远. 我国土壤科学发展与展望[J]. 土壤学报, 1989, 26(3): 207 - 216
- [6] 尚军红, 康丽华, 罗玉萍, 等. 相思根瘤菌和解磷菌培养基优化及解磷能力研究[J]. 林业科学研究, 2005, 18(2): 177 - 182
- [7] 孙成毅, 吕成群, 方丽英, 等. 根瘤菌对厚荚相思组培苗的效应[J]. 林业科学研究, 2008, 21(1): 79 - 83
- [8] 康丽华, 李素翠. 相思苗木接种根瘤菌的研究[J]. 林业科学研究, 1998, 11(4): 343 - 349
- [9] 林启美, 王华, 赵小蓉, 等. 一些细菌和真菌的解磷能力及其机理初探[J]. 微生物学通报, 2001, 28(2): 26 - 30
- [10] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学试验技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996
- [11] 王多宁, 赵雁武, 田芙蓉. 考马斯亮蓝微盘比色法测定蛋白质含量[J]. 第四军医大学学报(JFourthMiMedUniv), 2001, 22(6): 528 - 529
- [12] Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic phosphate by microorganisms isolated from forest soils[J]. Soil Biochem, 1992, 24(4): 389 - 395