

适应玉米生产的溶磷真菌筛选及其应用

龚明波¹, 范丙全¹, 金振国², 魏国才², 王洪媛¹

(¹ 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

(² 黑龙江省农业科学院绥化分院, 绥化 152052)

摘要:【目的】从土壤中筛选溶磷菌株, 提供适应玉米生产的溶磷微生物。【方法】利用难溶磷无机盐培养基从作物根际土壤样品中筛选溶磷菌株, 通过菌株在土豆液体培养基培养过程中培养液 pH 的变化确定溶磷菌株的溶磷能力。利用菌株在平板和土壤中对玉米根系的适应性, 选择对玉米适应性好的菌株应用到盆栽实验和大田实验。【结果】从土壤中筛选到具有较高溶磷效果的真菌 15 株, 经鉴定其中 9 株为草酸青霉, 2 株为变幻青霉, 1 株为刺孢青霉、1 株为绿色木霉、1 株为黑曲霉、1 株为构巢曲霉。15 株真菌能够显著降低 PDB 溶液的 pH 值, 其中 5 株能够将溶液的 pH 从 7.0 降到 2.0 以下。实验室平板和土培试验发现菌株 Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh 和 Z30 能够在以玉米根系分泌物为 C 源的平板和土壤中很好地生长、定殖, 表明这 5 株菌能够有效利用玉米的根系分泌物。将这 5 株菌进行盆栽种植玉米, 菌株 ZI1 和 Zh 处理后, 能显著的提高土壤中的有效磷含量, 在第 49 天时, 有效磷含量分别高于土壤初始含量的 28.05% 和 37.04%, 收获的玉米干重比对照分别高 26.04% 和 20.21%。将菌株 ZI1 和 Zh 制成菌剂进行大田试验, 试验结果表明菌剂 Zh 使大田玉米产量提高 13.22%, 达到 10873.05 kg/hm²。而使用 ZI1 菌剂的大田玉米产量与 CK 相比没有显著差异。【结论】本实验获得的适应玉米的溶磷菌株 Zh 为构巢曲霉。

关键词: 溶磷菌; 玉米; 定殖; 适应性

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 12-1619-07

磷是植物必需的三大营养元素之一, 虽然自然界中存在大量的磷, 但我国有 74% 的耕地缺磷。我国土壤中全磷含量为 0.2–2.0 g/kg, 平均为 0.5 g/kg, 但土壤溶液中的浓度一般只有 0.1 mg/kg。土壤磷大多以植物难以利用的无机态和有机态存在, 占土壤总磷的 95%。促进土壤中难溶磷向有效磷转化的因素很多, 其中微生物在提高土壤有效磷含量^[1-2], 促进作物的磷肥利用率方面, 有着显著的效果^[3-5]。利用微生物提高土壤磷肥利用率的关键是微生物能够在土壤中定殖、生长, 并协同促进植物对磷的吸收^[6-7]。然而, 不同的植物根系分泌物存在很大的

差异, 造成微生物在土壤中的定殖能力差异很大^[8-9]。本文从植物根际土壤中筛选到多株溶磷能力较强的菌株, 通过对玉米根系分泌物的趋化性研究, 获得适应玉米根际的菌, 并对其在土壤定殖能力和转化土壤磷素的能力进行了研究, 以期为提高玉米的磷肥利用率提供良好的菌剂资源。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 土壤样品来源: 采自北京、河北、东北等地的作物根际土壤样品 200 个。

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2008-13)

作者简介: 龚明波(1979-), 男, 湖北人, 助研, 在职博士研究生, 主要从事微生物资源与利用研究。Tel: +86-10-82108689; E-mail: gongmb@caas.ac.cn, gongcaas@163.com

收稿日期: 2010-04-26; **修回日期:** 2010-07-13

1.1.2 培养基:用于溶磷菌株分离的难溶无机磷培养基、PDA 斜面培养基、PDB 液体培养基^[10]。

1.1.3 全营养液的配方为 (mol/L): K_2SO_4 0.75 × 10^{-3} , $MgSO_4$ 0.65×10^{-3} , KCl 0.1×10^{-3} , $Ca(NO_3)_2$ 2×10^{-3} , KH_2PO_4 0.25×10^{-3} , $CuSO_4$ 1×10^{-7} , $EDTAFe$ 0.1×10^{-3} , $MnSO_4$ 1×10^{-6} , H_3BO_3 1×10^{-5} , $ZnSO_4$ 1×10^{-6} , $(NH_4)_6Mo_7O_4$ 5×10^{-9} 。

1.1.4 主要试剂和仪器:真菌总 DNA 提取试剂盒购自杭州博日科技有限公司, *Taq* 酶和 dNTP 购自天根生化科技(北京)有限公司, 引物为 ITS1 和 ITS2 由上海生工生物技术有限公司合成, 其它试剂均为国产分析纯。PCR 仪为 GeneAmp PCR system 9700, 高速冷冻离心机为 Heraeus 的 Sorvall Biofuge stratos, 光学显微镜为 OLYMPUS BH-2, 外分光光度仪为天美科技有限公司的 UV-7501。

1.2 溶磷菌的分离筛选和鉴定

稀释土壤 $10^2 - 10^4$ 倍, 制成土壤悬液, 将其涂布到难溶无机磷培养基上, $28^\circ C$ 倒置培养 5 d, 选择溶磷圈较大的菌株, 转接到 PDA 固体培养基平板上, 纯化并接入 PDA 斜面保藏。参照文献[11], 依据菌落、菌体形态和产孢特征, 以及其 ITS rDNA 序列进行分类。

1.3 溶磷菌培养过程中溶液 pH 的变化

在 pH 为 7.0 的 50 mL PDB 培养基中加入筛选的菌株, 每瓶 10^6 cfu, $28^\circ C$, 200 r/min 摆床培养 18 h, 用 pH 测定仪测定菌株培养后溶液的 pH 值。

1.4 溶磷菌株对玉米根系适应性

1.4.1 溶磷菌株对平板培养基中玉米根系分泌物的适应性:在 50 mL 的植物全营养液中加入 1 颗发芽的玉米种子, 将玉米根系浸泡在营养液中, $25^\circ C$ 光照培养, 15 d 后, 收集营养液, $60^\circ C$ 水浴抽真空浓缩 10 倍, 得到玉米根系分泌物。将 300 mL 缺碳 Pikovskaya 培养基溶化, 冷却到 $50^\circ C$ 左右, 加入 15 mL 浓缩液, 混匀倒平板, 每个平板 15 mL 培养基。在每个平板上接种直径为 5 mm 的菌块, 每个重复 6 个。4 d 后记录菌株生长情况与溶磷圈的大小。

1.4.2 溶磷菌株对土壤中玉米根系分泌物的适应性:土壤取自东北黑土, 用 50 mL 灭菌烧杯装 80 g 土壤, 加入能够在玉米根系分泌物浓缩液上生长的溶磷菌孢子悬液, 混匀, 使孢子浓度为 10^6 cfu/g, 保持土壤湿度 30% – 50%, 在烧杯正中间, 用玻棒打一个 1 cm 深的孔, 孔中每隔 7 d 加入 10 mL 玉米根

系分泌物浓缩液, 加入 3 次, 在加入玉米根系分泌物浓缩液后, $25^\circ C$ 培养, 在接入菌后的第 7、14 和 21 天取孔周围直径为 2 cm 深 2 cm 的土样, 利用难溶磷无机盐培养基平板计数法测定土壤中溶磷菌的数量, 平板上长出有溶磷透明圈的真菌数在 30 – 100 个的为有效计数结果。测定土壤中有效磷的含量^[12]。

1.5 盆栽条件下适应玉米的溶磷微生物筛选

土壤取自东北黑土, 采用盆栽的方法, 盆大小为 $18\text{ cm} \times 15\text{ cm}$, 温室中种植(白天 $30^\circ C$ 左右, 夜间 $20^\circ C$ 左右), 每盆中种植 2 颗种子, 对称分布在盆中, 加入溶磷真菌的孢子悬液, 含量为 10^6 cfu/g 土, 每个重复 6 盆。分别在发芽后第 7、14、21、28、35、42 和 49 天取样, 测定土壤中溶磷菌株的数量和土壤有效磷, 收获时测量植株鲜重、干重和玉米抽穗数。

1.6 溶磷菌株田间应用

选择在盆栽试验中适应玉米根系的菌株 ZH 和 ZI1, 每株菌发酵 20 L 菌液, 将菌液混入灭菌的 5 kg 草炭中, 培养 4 d, 使菌丝形成孢子, 孢子含量分别为 5.4×10^7 cfu/g 和 6.1×10^7 cfu/g。

大田试验选择黑龙江农科院绥化分院实验基地, 玉米种子为正丹 958。试验共设 9 个处理: ① 只加菌剂 ZH; ② 菌剂 ZH + 45 kg 过磷酸钙/ hm^2 ; ③ 菌剂 ZH + 90 kg 过磷酸钙/ hm^2 ; ④ 只加菌剂 ZI1; ⑤ 菌剂 ZI1 + 45 kg 过磷酸钙/ hm^2 ; ⑥ 菌剂 ZI1 + 90 kg 过磷酸钙/ hm^2 ; ⑦ 空白对照; ⑧ 45 kg 过磷酸钙/ hm^2 和 ⑨ 90 kg 过磷酸钙/ hm^2 , 各处理重复 3 个, 随机排列, 每个小区 100 m^2 , 在苗期长到 $15\text{ cm} - 20\text{ cm}$ 高时, 在每颗玉米根部施加菌剂 3 g 左右。底肥施加氮肥和钾肥, 日常管理按照当地的生产管理, 不施磷肥。将玉米含水率换算成 14%, 测量玉米的产量。

2 结果和分析

2.1 溶磷菌的分离筛选与鉴定

以在难溶磷无机培养基上产生明显透明圈为标准, 通过初筛共获得效果较好的真菌 15 株。参照《真菌鉴定手册》, 依据菌落、菌体形态和产孢特征, 以及其 ITS rDNA 序列进行菌株鉴定分类, 其中 Z30、Z29、Z2⁺、Z15⁺、ZQ3、ZQ7、ZI1、ZJ1、ZC 为草酸青霉 (*Penicillium aculeatum*), Z19、Z20 为变幻青霉 (*Penicillium variabile*), Z32 为刺孢青霉 (*Penicillium aculeatum*)、Z33 为绿色木霉 (*Trichoderma viride*)、Z18⁺ 为黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、ZH 为构巢曲霉

(*Aspergillus nidulans*)。

2.2 溶磷菌培养过程中溶液 pH 的变化

在起始 pH 值为 7.0 的 50 mL 的 PDB 培养液中分别接种 15 株真菌的菌悬液培养 18 h 后, 测定溶液的 pH 值, 实验结果(图 1)表明, 各菌株能够显著

降低溶液的 pH 值, 菌株 Z32、Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh 5 株菌能够将溶液的 pH 值从 7.0 降到 2.0 以下, 最低为 1.41。而菌株 Z30、Z2⁺、ZQ7 和 ZJ1 将溶液 pH 值降到 2.0 – 3.0。其它菌株能够将溶液的 pH 值降到 3.23 到 5.67 之间。

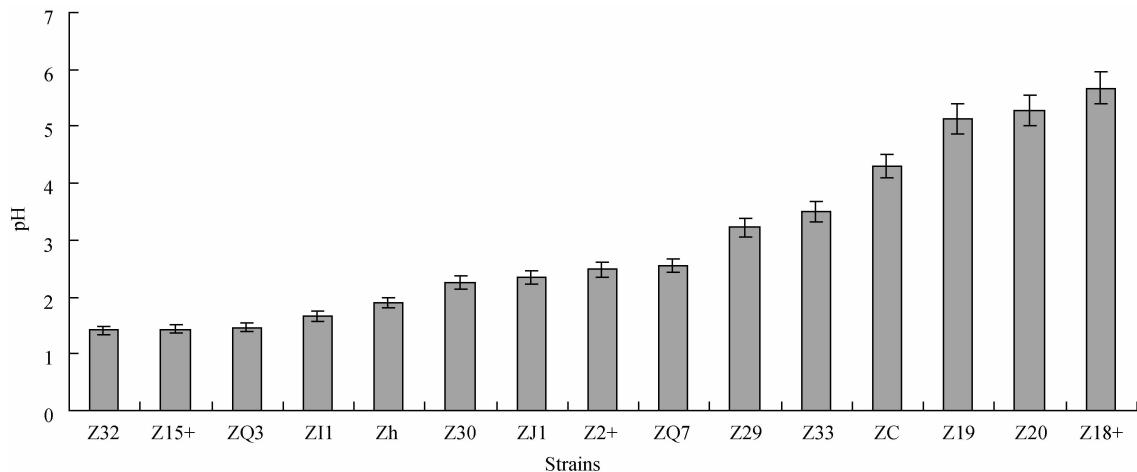


图 1 接种溶磷菌株 18 h 后培养液的 pH 值

Fig. 1 pH value of culture media after strains incubation 18 h

2.3 溶磷菌株对玉米根系分泌物的适应性

在缺碳的 Pikovskaya 培养基中加入玉米根系分泌物后, 不同菌株生长表现出显著差异(表 1), 结果显示, 菌株 Z30 对玉米根系分泌物的利用能力最强, 菌落直径最大, 同时表现了溶磷效果的菌株生长直

径大小依次为 Z30 > Zh > Z2⁺ > ZI1 > Z33 > ZQ3 > Z15⁺ > ZQ7。以溶磷圈的大小和菌落生长直径比值判断, 菌株的溶磷能力的大小依次为 Z15⁺ > Zh > ZQ3 > ZI1 > ZJ1 > Z30 > Z2⁺ > Z33 > ZQ7。Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh 和 Z30 在以玉米根系分泌物为碳源的培养基上生长良好, 而 Z2⁺、Z33、ZQ7 虽然能够生长, 但是溶磷功能减弱, ZC、Z19、Z20 和 Z32 则完全不能在以玉米根系分泌物为碳源的培养基上生长。

根据在平板上的趋化性, 选择 Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh 和 Z30 五株菌作为土壤中的趋化性供试菌株。各菌株都能以玉米根系分泌物为营养进行繁殖, 在 7 d 内迅速定殖, 第 21 天时, 菌株数量为起始的 9.70 – 48.03 倍, 各菌株的菌数存在显著性差异(表 2), 土壤中的定殖效果大小依次为 Zh > ZI1 > ZQ3 > Z15⁺ > Z30。

表 1 不同菌株在玉米根系分泌物为碳源的培养基上生长和溶磷情况

Table 1 The growth diameter and the phosphate-dissolving zone diameter of different strains in culture medium using corn root secretion as sole carbon source

Strains	Diameter/cm		
	d	D	D/d
Z32	-	-	-
Z15 ⁺	2.33	3.69	1.58
ZQ3	2.36	3.41	1.44
ZI1	3.55	4.68	1.32
Zh	4.15	6.38	1.54
Z30	5.34	5.98	1.12
ZJ1	2.15	2.66	1.24
Z2 ⁺	3.64	3.77	1.04
ZQ7	1.74	1.55	0.89
Z29	-	-	0
Z33	2.89	2.92	1.01
ZC	3.11	-	0
Z19	1.33	-	0
Z20	2.17	-	0
Z18 ⁺	-	-	0

d: colony growth diameter (cm), D: diameter of phosphate-dissolving zone (cm)

表 2 菌株在土壤中的定殖情况

Table 2 Colonization conditions of 5 strains in soil

Colonies	cfu($\times 10^5$ cfu/g)		
	7 d	14 d	21 d
Z15 ⁺	95.7c	126.3c	144.3c
ZQ3	105.7c	148.3c	159.7c
ZI1	178b	252.3b	314.3b
Zh	252a	441.7a	480.3a
Z30	72.3c	89.3d	97d
signif(p =)	0.01	0.01	0.01

各菌株对土壤中有效磷的含量影响具有显著的差异(表3),随着时间的延长,土壤中的有效磷含量显著升高,在第7天时,经菌株Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh和Z30处理后,土壤中有效磷分别增加46.94%、45.69%、83.24%、105.43%和36.93%,到第21天时,菌株Zh增加土壤有效磷147.55%。供试菌株对土壤中有效磷含量的增加效果为Zh>ZI1>ZQ3>Z15⁺>Z30。

表3 菌株对土壤中的有效磷的影响

Table 3 Effects of strains on the content of available phosphorous in soil

Strains	c(P)/(μg/g soil)		
	7 d	14 d	21 d
CK	12.89d	13.12e	13.08d
Z15 ⁺	18.94c	21.22cd	23.18c
ZQ3	18.78c	22.75c	23.10c
ZI1	23.62b	30.17b	32.38b
Zh	26.48a	33.52a	35.49a
Z30	17.65c	20.31d	21.20c
Signif(p=)	0.01	0.01	0.01

2.4 盆栽条件下适应玉米的溶磷微生物的筛选

由表4可以看出,菌株Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh和Z30在盆栽玉米的土壤中,定殖能力有显著的差异,总体上菌株效果为:Zh>ZI1>ZQ3≥Z15≥Z30。在第7天时,各菌株能够迅速的繁殖,其中,草酸青霉ZI1和构巢曲霉Zh定殖的速度最快,显著高于其它菌株,表现出对玉米根系分泌物良好的趋化性。菌株Zh在第28天时达到最大,其数量为起始的28.03倍,之后菌株开始衰亡,但在第49天时,菌株数量仍为起始数量的16.5倍。菌株ZI1在第35天时,数量达到最大,为起始的24.23倍,之后开始消

亡,但消亡的速度比菌株Zh慢,在第49天时,为起始数量的21.23倍。菌株Z15⁺、ZQ3和Z30表现相同的规律,在第28天时,菌株数量达到最大,之后开始快速地衰亡。

表4 盆栽种植玉米时,不同菌株在土壤中定殖情况

Table 4 Colonization conditions of 5 strains in soil in corn pot experiment

t/d	c(P)/(μg/g soil)				
	Z15 ⁺	ZQ3	ZI1	Zh	Z30
7	35.3d	42.3c	82b	100a	38cd
14	62.7c	53.7d	136.7b	203.3a	55.3d
21	82.3cd	88.7c	210b	250.3a	76.3d
28	100c	92cd	235.7b	280.3a	81.7d
35	78.7c	81.7c	242.3a	220.7b	62d
42	53.3c	44.3d	218.7a	182b	41.7d
49	41c	31d	212.3a	165b	23.7e
Signif(P=)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

由表5看以看出,菌株Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh和Z30对盆栽玉米的土壤中的有效磷含量有显著性的影响,对照处理的盆栽土壤中,有效磷的含量随着玉米的生长期延长而显著降低,在第49天时,含量降低到4.01 μg/g 土。加入溶磷菌的各个处理在第7天时,其有效磷含量随着微生物在玉米根部的定殖而增加,其中Zh处理,土壤有效磷含量增加92.38%。经菌株ZI1和Zh处理的土壤有效磷含量在生长第28天后变化较小,在第49天时,有效磷含量高于土壤初始含量28.05%和37.04%。菌株Z15⁺、ZQ3和Z30表现相同的规律,有效磷的含量随着菌株在玉米根系定殖的变化而变化,有效磷含量先增加后减少,但在第49天时,有效磷含量也显著高于CK处理。

表5 玉米盆栽实验中不同菌株对土壤中有效磷含量的影响

Table 5 Effects of strains on the available phosphorous content in soil in corn pot experiment

t/d	c(P)/(μg/g soil)					
	CK	Z15 ⁺	ZQ3	ZI1	Zh	Z30
7	13.12d	16.78c	16.31c	20.53b	25.24a	17.44c
14	12.44d	15.29c	15.45c	22.19b	27.88a	17.12c
21	10.58e	14.18d	14.10d	21.42b	24.31a	16.54c
28	8.62c	14.22b	13.21b	20.16a	22.05a	13.18b
35	5.33c	12.19b	11.15b	18.33a	19.37a	11.09b
42	4.32c	9.23b	10.46b	17.29a	18.24a	9.32b
49	4.01c	8.65b	9.33b	16.80a	17.98a	8.07b
Signif(P=)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

表 6 各菌株处理的玉米生长指数

Table 6 Conditions of corn growth indexes in corn pot experiment inoculated with strains

Treatment	Stains weight/g	
	Wet	Dry
CK	57.45cd	9.60b
Z15 ⁺	56.60 d	9.97 b
ZQ3	60.96 c	11.30 a
ZI1	72.88 a	12.10 a
Zh	66.37b	11.54 a
Z30	59.46 c	9.81 b
Signif (P =)	0.01	0.01

由表 6 可以看出,在温室盆栽条件,与对照相比,在盆栽收获时经菌剂 ZI1 和 Zh 处理的玉米抽穗量分别为 66.67% 和 58.33%,而 CK 只有 8.33%,玉米抽穗期比 CK 提前了 3~5 d。不同菌株处理后,玉米的干重、湿重有显著的差异,菌株 ZI1 和 Zh 处理后,玉米的湿重显著高于菌株 Z15⁺、ZQ3、Z30 处理后,玉米的湿重显著高于菌株 Z15⁺、ZQ3、Z30

和 CK 的处理。ZQ3、ZI1 和 Zh 处理获得的玉米干重显著高于菌株 Z15⁺、Z30 和 CK 的处理。其中用菌株 ZI1 处理后,玉米湿重最高,比 CK 高 28.86%,干重比 CK 高 26.04%。用菌株 Zh 处理后,玉米湿重比 CK 高 13.44,干重比 CK 高 20.21%。

2.5 溶磷菌株田间应用

玉米收获后,晾干,称重,测量含水率,最后换算成 14% 含水量时的干重。由表 7 结果可以看出,使用磷肥后,玉米产量显著增加,CK 处理使用 45 kg 磷肥/hm² 后,增产 7.18%,施加过量的磷肥并不能显著增加玉米的产量,使用 45 kg 磷肥/hm² 和 90 kg 磷肥/hm² 之间没有差异。使用菌剂 ZI1 处理与 CK 之间没有显著差异。使用菌剂 Zh 后,产量比 CK 显著提高,同时使用 45 kg 磷肥/hm² 处理后,产量最高,达到 10873.05 kg/hm²。

表 7 使用溶磷菌剂后,玉米田间产量

Table 7 The field yield of corn with microbial inoculums treatment

Treatment	SSP(0)		SSP(45 kg/hm ²)		SSP(90 kg/hm ²)	
	yield	percent	yield	percent	yield	percent
CK	8959.45b		9603.10b		9795.42b	
Zh	10193.26a	13.77%	10873.05a	13.22%	10521.33a	7.41%
ZI1	9005.02b	0.51%	9759.12b	1.62%	9768.65b	-0.27%

SSP: calcium superphosphate.

3 讨论

溶磷菌株广泛存在土壤中,目前已经筛选出大量的溶磷微生物,其中真菌 27 个种^[13~14],本实验筛选到 15 株高效溶磷菌株,分属 4 个属 6 个种。这些菌株都具有很强的溶磷功能,5 株菌代谢物能够将溶液的 pH 值从 7.0 降到 2.0 以下,最低达到 1.41。而产生有机酸能与铁、铝、钙等离子螯合,从而使难溶磷转化为有效磷,这是溶磷菌溶磷的一种主要方式^[15~16]。

越来越多地研究发现,不是所有分离得到的溶磷微生物在土壤中能够溶磷,许多溶磷微生物在将它们接入土壤后,其溶磷作用减弱甚至消失^[17~18],而且,仅有少数溶磷菌在不添加任何有机物的土壤中能够定殖^[19]。大多数菌株的生长对碳源都具有特异性,不同作物产生的根系分泌物差异性很大,当微生物利用植物根系分泌物作为碳源生长的情况下,菌株生长表现出显著的差异^[20~21],通过室内平

板和土培实验,表明菌株 Z15⁺、ZQ3、ZI1、Zh 和 Z30 在含有玉米根系分泌物的培养皿中和土壤中都能够迅速的生长,对玉米的根系分泌物表现出良好的适应性。

在盆栽条件下,菌株能够利用玉米的根系分泌物生长,从而促进土壤中难溶磷的释放,在没有使用菌剂的情况下,土壤中有效磷迅速减少,而在使用菌剂后,土壤中有效磷含量始终保持较高的含量,与室内试验结果一致,而不同菌株表现出差异性,其中菌株 ZI1 和 Zh 效果较好,因此选用菌株 ZI1 和 Zh 制成菌剂应用在大田中。菌剂 Zh 的效果明显好于菌剂 ZI1,在盆栽条件下,湿度较高,利于菌株 ZI1 的生长,从而转化出更多的有效磷,而在大田条件下,菌株 ZI1 难以生长,而菌株 Zh 构巢曲霉在干旱的条件下也能很好的生长,能更有效的释放难溶磷,从而促进作物的生长。因此,本实验获得适应大田玉米生产的溶磷真菌为构巢曲霉 Zh。

参考文献

- [1] Raychaudhuri SV, Singh AL. Yield response of groundnut (*Arachis hypogaea*) to dual inoculation and liming of an acid hill Ultisol of Manipur. [Journal article] Indian Journal of Agricultural Sciences. *Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, India*, 2003,73(2):86-88.
- [2] 王延秋,徐浩林,徐光云. AP-2 号溶磷菌 *Aspergillus niger* 在烟草种植上的应用效果. 生物技术 (*Biotechnology*),1993,3(1):38-41.
- [3] 范丙全,金继运,葛诚. ^{32}P 示踪法研究溶磷真菌对磷肥转化固定和有效性的影响. 应用生态学报 (*Chinese Journal of Applied Ecology*), 2004, 15 (11): 2142-2146.
- [4] Kucey, RM. Increased phosphorous uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorous-solubilizing *Penicillium bilai* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987,53(12):2699-2703.
- [5] Rasal PH, Sangale BB, Pawar KB. Effects of phosphate solubilizing and sulphur oxidizing micro organisms on yield and phosphorus uptake of soybean. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, 2004, 29 (1): 51-53.
- [6] Freitas, JR, Banerjee MR, Germida JJ. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorous uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biology and Fertility of soils*, 1997,24(4): 358-364.
- [7] Katiyar V, Goel R. Solubilization of inorganic phosphate and plant growth promotion by cold tolerant mutants of *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiol*, 2003,158(2):163-168.
- [8] Domey S. Occurrence of phosphate mobilizing bacteria in the rhizosphere of agricultural plants growing in soils with middle or high phosphorus contents. *Zentralblatt-für Mikrobiologie*, 1992,147 (3-4):270-276.
- [9] Kim KY, Jordan D, McDonald GA. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils*, 1998,26: 2, 79-87.
- [10] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 第一版. 北京:科学出版社, 1985:44-51.
- [11] 魏景超. 真菌鉴定手册. 第一版. 上海:上海科学技术出版社, 1979: 495-512.
- [12] 顾益初,蒋柏藩. 石灰性土壤磷分级的测定方法. 土壤 (*soil*), 1990,(2):101-103.
- [13] 杨慧,范丙全,龚明波,李全霞. 一株新的溶磷草生欧文氏菌的分离、鉴定及其溶磷效果的初步研究. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*),2008(1):51-56.
- [14] Hanane H, Mohamed H. Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *Applied Soil Ecology*, 2008,38(1): 12-19.
- [15] Rashid M, Khalil S, Ayub N. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2004 ,7 (2): 187-196.
- [16] Sperber JI. Solution of mineral phosphate by soil bacteria. *Nature*, 1957,180:994-995.
- [17] Banik S, Dey BK. Phosphate-solubilizing potentiality of the microorganisms capable of utilizing aluminium phosphate as a sole phosphate source. *Zentralblatt für Mikrobiologie*,1983 , 138(1):17-23.
- [18] Suresh CP, Nath S, Poduval M, Sen SK.. Effect of bio-fertilizers on the growth of cashew root stock. *Cashew*, 1998,12(1):10-14.
- [19] Thomas GV, Shantaram MV. Solubilization of inorganic phosphates by bacteria from coconut plantation soils. *Journal-of-Plantation-Crops*. 1986 , 14 (1):42-48.
- [20] Casanova E, Salas AM, Toro M. The use of nuclear and related techniques for evaluating the agronomic effectiveness of phosphate fertilizers, in particular rock phosphate, in Venezuela: II. Monitoring mycorrhizas and phosphate solubilizing microorganisms. *International Atomic Energy Agency Technical Documents IAEA TECDOCs*. 2002 ,(1272): 101-106.
- [21] Loganathan P, Nair S. Crop-specific endophytic colonization by a novel, salt-tolerant, N₂-fixing and phosphate-solubilizing *Gluconacetobacter* sp. from wild rice. *Biotechnology Letters* ,2003,25 (6): 497-501.

Screening and application of phosphate-dissolving microorganism suitable for corn production

Mingbo Gong^{1*}, Binquan Fan¹, Zhenguo Jin², Guocai Wei², Hongyuan Wang¹

(¹ Chinese Academy of Agricultural Sciences Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Beijing 100081, China)

(² Suihua Sub-academy of Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Suihua 152052)

Abstract: [Objective] To obtain phosphate-dissolving strains which can be suitable for corn production. [Methods] We screened phosphate-dissolving strains from soil samples. We conducted the plate experiment and soil experiment in laboratory, pot experiment in greenhouse and field experiment to test the insoluble phosphate dissolving ability of the strains. [Results] Fifteen strains of phosphate-dissolving fungi were isolated from soil samples, including 9 *Penicillium oxalicum*, 2 *Penicillium varabile*, 1 *Penicillium aculeatum*, 1 *Trichoderma viride*, 1 *Aspergillus niger*, and 1 *Aspergillus nidulans*. The 15 strains could obviously drop the pH in culture media. Five strains (Z15⁺, ZQ3, ZI1, Zh and Z30) reduced the pH value from 7.0 to below 2.0 in 18 h. The plate experiment and soil experiment in laboratory indicated that these 5 strains could propagate in plates and soil by using the root secretion of corn as sole carbon source. The pot experiment inoculating with the 5 strains was conducted in greenhouse by planting corn. The result demonstrated that the content of available phosphorous was increased remarkably with strains ZI1 and Zh. The content of available phosphorous at 49th day increased 28.05% and 37.04%, respectively, than initial content in strains ZI1 and Zh treatment. The dry matter yield of corn significantly increased 26.04% and 20.21% than the control, respectively. Then strains ZI1 and Zh were used in field experiment as microbial inoculums. The yield of corn treated with strain Zh increased 13.22% than that of the control, reaching 10873.05 kg/ha. However, the yield of corn treated with strain ZI1 presented no significant difference with the control. [Conclusion] The phosphate-dissolving strain Zh obtained in this experiment was identified as *Aspergillus nidulans*, which is suitable for corn production.

Keywords: phosphate-dissolving microorganism; corn; colonization; adaptability

(本文责编:王晋芳)