

研究报告

耐盐碱解磷菌的溶磷效果及其对黄豆萌发的影响

李青青，张芮^{*}，高彦婷，张红娟，刘柯含

甘肃农业大学 水利水电工程学院，甘肃 兰州 730070

李青青，张芮，高彦婷，张红娟，刘柯含. 耐盐碱解磷菌的溶磷效果及其对黄豆萌发的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4574-4589.

LI Qingqing, ZHANG Rui, GAO Yanting, ZHANG Hongjuan, LIU Kehan. Phosphorus solubilization effect of saline-tolerant phosphorus-solubilizing bacteria and its effect on soybean germination[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4574-4589.

摘要：【背景】土壤中能够供植物直接吸收利用的磷含量较少，而传统施用磷肥的方式会导致环境污染，并破坏土壤结构和功能等问题。【目的】研究巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)和雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)的耐盐性、溶磷机制及其对黄豆种子萌发的影响，为植物根际盐碱土壤接种定植及促生效果奠定坚实的基础，以期通过根际土壤解磷菌的解磷作用来解决作物缺磷问题。【方法】结合接种针点接法、平板法、液体培养法及发芽盒发芽等试验，剖析了2株解磷菌的耐盐碱性、溶磷效果及其对黄豆萌发的促进效应。【结果】巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌分别在盐浓度为0–10%、0–6%的范围及pH值为7.0–12.0的环境下均可以生长；巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在平板上的D/d值分别达到2.17和2.05，第4天于液体培养基中溶磷量达到峰值，分别为355.53 mg/L和272.17 mg/L，培养介质pH值由7.5分别降至4.61和4.81。巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌溶磷效果随NaCl浓度的增大均呈现“先略增强后持续减弱”的趋势，pH值均呈现“先略减小后持续增大”的趋势，NaCl浓度分别为0.4 mol/L和0.2 mol/L时溶磷效果最好，溶磷量达到峰值364.35 mg/L和285.58 mg/L，培养介质的pH值降至最小值4.28和4.73。巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌对种子发芽率及胚轴、胚根的伸长均有提高，在正常环境和NaCl处理环境下，与对照组相比，经2种菌液浸泡后黄豆的平均发芽率、胚轴及胚根平均增长率分别为2.70%、10.10%、9.00%和5.40%、19.40%、20.30%。【结论】2株菌均具有较强的耐盐性和溶磷效果，能促进种子萌发，可以进一步为解磷菌的接种及应用提供理论依据。

关键词：巨大芽孢杆菌；雷氏普罗威登斯菌；耐受性；溶磷能力；黄豆；种子萌发

资助项目：国家自然科学基金(52169007)；甘肃农业大学“伏羲青年英才”项目(Gaufx-03Y10)；甘肃省水利科学试验研究与技术推广计划(24GSLK060)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52169007), the “Fuxi Youth Talent Training” Program of Gansu Agricultural University (Gaufx-03Y10), and the Gansu Province Water Resources Science Experimental Research and Technology Promotion Program Project (24GSLK060).

*Corresponding author. E-mail: zhr_1029@163.com

Received: 2024-03-13; Accepted: 2024-04-30; Published online: 2024-06-03

Phosphorus solubilization effect of saline-tolerant phosphorus-solubilizing bacteria and its effect on soybean germination

LI Qingqing, ZHANG Rui^{*}, GAO Yanting, ZHANG Hongjuan, LIU Kehan

College of Water Conservancy and Hydropower Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: [Background] The amount of phosphorus available for direct absorption and utilization by plants in the soil is limited, and the traditional methods of applying phosphorus fertilizer can lead to environmental pollution and problems such as damage to soil structure and function. [Objective] This study aimed to investigate the salt tolerance and phosphorus solubilization mechanism of *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri* and their effects on soybean seed germination, to lay a solid foundation for inoculation and colonization of plant rhizosphere in saline-alkali soil. The problem of phosphorus deficiency in crops is expected to be solved through the phosphorus-solubilization effect of phosphorus-solubilizing bacteria in rhizosphere soil. [Methods] The inoculation with needlepoint, plate method, liquid culture method, and box germination experiment were conducted to analyze the salt-alkali tolerance, phosphorus-solubilization effect, and promotion effect on soybean germination of two phosphorus-solubilizing bacteria strains. [Results] Both *B. megaterium* and *P. rettgeri* could grow in environments with salt concentrations ranging from 0–10% and 0–6%, and pH values ranging from 7.0 to 12.0. The D/d values of *B. megaterium* and *P. rettgeri* on plates reached 2.17 and 2.05, respectively. The value of dissolved phosphorus in the liquid medium reached a peak on the 4th day, which were 355.53 and 272.17 mg/L, respectively, and the pH value of the culture medium decreased from 7.5 to 4.61 and 4.81, respectively. The phosphorus solubilization effect of *B. megaterium* and *P. rettgeri* showed a trend of “slightly increasing at first and then continuously decreasing” with the increase of NaCl concentration, and the pH value showed a trend of “slightly decreasing at first and then continuously increasing”. The best phosphorus solubilization effects were observed at NaCl concentrations of 0.4 and 0.2 mol/L, respectively, with the peak solubilization value of 364.35 and 285.58 mg/L, and the pH value of the culture medium decreased to the minimum value of 4.28 and 4.73, respectively. *B. megaterium* and *P. rettgeri* both increased the germination rate of seeds and elongation of the embryonic axis and radicle. Compared with the control group, in normal environments, the average germination rate, and the embryonic axis and radicle elongation rate of soybeans after soaking in the two bacterial solutions were 2.70%, 10.10% and 9.00%; in NaCl-treated environments, the corresponding value were 5.40%, 19.40% and 20.30%. [Conclusion] Both strains have strong salt tolerance and phosphorus solubilization effect and can promote seed germination, providing a theoretical basis for the inoculation and application of phosphorus-solubilizing bacteria.

Keywords: *Bacillus megaterium*; *Providencia rettgeri*; tolerance; phosphorus solubility; soybean; seed germination

磷是植物生长发育必需的矿质元素之一^[1-2]，是对作物生产力的影响程度仅次于氮的植物养分限制因子^[3]。磷素是构成核酸、蛋白质和磷脂等重要物质的组成成分，是植物进行光合作用、呼吸作用、能量储存和传递、细胞分裂等一系列代谢过程的关键因素^[4]。磷在土壤中主要以不溶性、无机或有机化合物的形式存在。据统计，中国大约有 65% 的农田处于缺磷状态^[5]，土壤中 95% 以上的磷为难溶性固态磷，并且供植物直接吸收利用的有效磷含量较少。为了保证农业生产的需求，传统施用磷肥能够解决植物生长发育的缺磷问题，但由于磷肥与土壤亲和力较高^[6]，磷肥中大部分磷与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 等结合，会形成难溶性磷酸盐，积累在土壤中，使作物对施入磷肥的当季利用率仅为 5%–10%^[7-9]，且由于水体富营养化引起的水体生态系统变化等环境污染，造成土壤酸化、破坏土壤结构和功能，不利于农业的可持续发展。目前，磷肥污染现象严重^[10]，但是微生物菌剂能够将土壤中难溶的无机磷活化并充分利用，有效解决目前土壤磷缺失的现状，通过微生物菌剂来提高土壤中有效磷含量，促进植物生长发育，改善土壤环境^[11-12]等研究已引起世界各国的高度重视。随着我国土壤盐碱化程度的加剧^[13]，寻找一种绿色、高效、环保且能够提高盐碱地磷素利用率的方法，对促进盐碱地作物生长、提高作物产量具有重要意义。

自 1903 年 Stalstrom^[14]从土壤中成功分离出解磷菌后，国内外学者陆续开展相关研究^[15-16]。通过筛选出适合当地土壤环境的高效解磷菌，接种并使其定殖在植物根际土壤中，具有提高土壤中磷素的利用效率和土壤磷酸酶活性、提升作物产量和品质、改善土壤微生物群落结构等作用^[17]。江红梅等^[18]研究发现了一株耐盐碱的高效溶磷真菌草酸青霉菌(*Penicillium oxalicum*)，该

菌在液体培养条件下，能溶解磷酸三钙、磷酸铝等 5 种磷矿粉，溶解率达 48.20%–60.26%，能够显著提高土壤有效磷含量。Cui 等^[19]和周妍等^[20]研究发现了耐盐碱高效解磷菌分散泛菌(*Pantoea dispersa*)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)和微杆菌属(*Micromonas* sp.)能够分泌有机酸降低土壤 pH 值，改善盐碱地土壤养分和酶活性，减缓盐碱胁迫对作物生长的抑制作用。孙健等^[21]通过研究不同土壤温度下解磷菌的解磷效果，筛选出适合青藏高原高寒地区气候环境的高效解磷菌紫变异链霉菌(*Streptomyces violovariabilis*)。ATES 等^[22]筛选出具有产蛋白酶、产铁载体和溶有机磷功能的高原芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)，该菌能够促进玉米生长发育并提高产量，并且对根际微生物群落的多样性和丰度有显著影响。有研究^[23-26]表明，施加解磷菌剂能够显著提高作物根际酶活性和土壤微生物群落丰富度，增加微生物间的相互作用和土壤中速效磷含量，促进作物生长发育。种子能否萌发是植物生长发育的关键因素，而种子在萌发阶段通常对盐分表现更敏感，高盐环境会抑制种子的萌发。王宏燕等^[12]筛选出耐盐碱的高效解磷菌肠杆菌(*Enterobacter* sp.)，该菌株在 NaCl 浓度为 10% 和 pH 值为 10.0 的环境下仍具有较强解磷能力，并且能够显著提高白菜型油菜种子的发芽率。综上，国内外有关从不同生长环境中筛选解磷菌及其对不同作物生长发育、产量、土壤环境和土壤微生物群落等影响的研究较多，但温室设施葡萄根际解磷菌的相关研究鲜有报道，因此筛选出适合温室葡萄生长环境的解磷菌对后期菌株定植具有重要意义；其次，目前已报道的解磷菌种类较多，但雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)鲜见报道。

本研究通过对雷氏普罗威登斯菌与巨大芽

孢杆菌(*Bacillus megaterium*)的耐盐性、溶磷能力、溶磷过程中培养基 pH 值和菌落生长动态变化进行探讨, 掌握解磷菌在高盐环境下的溶磷效果及其对种子萌发的影响程度, 评价筛选出适合甘肃省永登县盐碱土壤环境的优势解磷菌, 以期为温室设施葡萄根际土壤的接种定植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试菌株为巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)和雷氏普罗威登斯菌(*P. rettgeri*), 由商城北纳创联生物科技有限公司提供, 保藏号分别为BNCC190686 和 BNCC186224。

1.2 培养基

牛肉膏蛋白胨培养基参考文献[27]配制; 无机磷培养基参考文献[3]配制。

1.3 主要仪器

恒温生化培养箱, 常州高德仪器制造有限公司; 恒温摇床, 上海博讯医疗生物仪器股份有限公司; 电子数显游标卡尺, 上海九量五金工具有限公司; 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; 立式高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; 超净工作台, 浙江苏净净化设备有限公司; 离心机, 湖南湘立科学仪器有限公司。

1.4 菌株的形态特征观察

将 2 株菌经 30 °C、160 r/min 培养过夜后分别涂布至牛肉膏蛋白胨培养基上, 每组 3 个重复, 静置于 30 °C 的培养箱内培养 24 h, 观察菌落生长形态。

1.5 菌株耐受性的测定

耐盐性试验用牛肉膏蛋白胨固体培养基, 在灭菌前加入 NaCl, 分别配制不同 NaCl 浓度(0、2%、4%、6%、8%、10%)的培养基, 每组 3 个重复, 灭菌后将其制成无菌新鲜平板, 放

置过夜, 将 2 株同浓度的菌液分别用接种环点接于平板中央, 每组 3 个重复, 在各自适宜的培养环境下培养 8 d, 每 2 d 测定菌落直径以判断不同处理下菌株的生长状况。

耐碱性试验用牛肉膏蛋白胨固体培养基, 在灭菌前用 NaOH 调节培养基 pH 值, 配制不同 pH 梯度(7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0)的培养基, 每组 3 个重复, 其他操作同耐盐试验步骤。

1.6 菌株溶磷效果、pH 值的测定

1.6.1 平板法

经无机磷液体培养基过夜培养的菌液, 调节菌悬液浓度一致, 用接种环将菌悬液接种于无机磷固体培养基的中央, 放入 30 °C 恒温生化培养箱 0.5 h 后, 将其倒置培养 10 d, 分别于第 3、7、10 天观察培养基上溶磷圈的大小(每个菌株重复 3 次), 初步测定菌株的溶磷能力。

1.6.2 液体培养法

向装有 100 mL 无机磷培养基的 250 mL 三角瓶中加入 1 mL 菌液, 30 °C, 160 r/min 恒温摇床培养 8 d (每组 3 个重复), 每隔 2 d 在超净工作台无菌环境下取 1 次样, 10 000 r/min, 离心 10 min, 取适量上清液采用钼锑抗比色法测定可溶性磷的含量; 用 pH 计测定培养介质 pH 值^[28]。

1.7 菌株生长动态的测定

每隔 2 d 采用平板稀释涂布法测定无机磷培养基中的活菌数, 以评价解磷过程中菌株生长动态。

1.8 不同 NaCl 浓度下解磷菌溶磷效果及 pH 值

配制不同 NaCl 浓度(0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mol/L)的无机磷液体培养基 100 mL, 灭菌, 将 1 mL 相同浓度(1×10^8 CFU/mL)的菌液加入装有 100 mL 无机磷液体培养基的三角瓶中, 30 °C、160 r/min 恒温摇床培养 4 d, 采用

钼锑抗比色法测定溶磷量,用 pH 计测定 pH 值。

1.9 不同处理下菌株对黄豆萌发影响的测定

用无菌水将菌液按照 1:30 稀释,为避免培养基对种子萌发的影响,同时将牛肉膏蛋白胨培养基也按照同等比例稀释,以无菌水为空白对照,共设 8 个处理,每个处理 3 个重复。每个发芽盒精选大小均一的黄豆 60 粒,经 75% 的酒精浸泡消毒 1 min 后,用无菌水冲洗 4 次,用不同处理液浸泡过夜;配制浓度分别为 0、0.1 mol/L 的 NaCl 溶液,灭菌,待冷却后润湿发芽盒底部的无菌纱布,将浸泡后的黄豆摆放在发芽盒底部,并覆盖经不同 NaCl 溶液润湿的无菌纱布,盖上发芽盒盖,置于 25 °C 培养箱中,为避免种子干燥,每天用不同浓度 NaCl 溶液冲洗黄豆 3 次,5 d 后统计黄豆的发芽率、发芽种子的胚根、胚芽及胚轴长度。

1.10 数据处理

运用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理,采用 SPSS 19.0 进行数据统计分析,通过 Origin 2021 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 不同菌的菌落形态分析

巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)在牛肉膏蛋白胨培养基上培养 24 h 后,其形态特征表现为

直径为 1~2 mm,呈圆形,且边缘褶皱不规则、不透明、正面呈黄色、中间凸起、表面光滑明亮、质地湿润的单菌落(图 1A)。

雷氏普罗威登斯菌(*P. rettgeri*)在牛肉膏蛋白胨培养基上培养 24 h 后,其形态特征表现为直径为 1~2 mm,圆形且边缘不规则不透明、正面黄色、中间凸起、表面光滑明亮、质地湿润的单菌落(图 1B)。

2.2 不同菌株耐受性分析

两株菌均具有较强的耐盐碱性,且耐碱能力明显强于耐盐能力(图 2)。耐盐性试验结果表明,当培养基中 NaCl 浓度介于 0~4% 之间,巨大芽孢杆菌的生长状况良好且活性较好,受 NaCl 浓度影响较小,培养前 4 天,不同 NaCl 浓度培养基上的菌株直径随 NaCl 浓度的增大缓慢减小,随后菌株直径随 NaCl 浓度的增大呈现先缓慢增大后缓慢减小的趋势;当 NaCl 浓度介于 4%~8% 之间,菌株生长受 NaCl 浓度影响较大,不同 NaCl 浓度培养基上菌株直径随 NaCl 浓度增大呈现急剧减小的趋势;当 NaCl 浓度介于 8%~10% 之间,前 2 天无菌凸起生长,第 4 天出现菌凸起生长现象,但生长量较少,第 8 天,NaCl 浓度为 8% 和 10% 处理的菌株直径分别达到 11 mm 和 7.3 mm(图 3A)。当培养基中 NaCl 浓度介于 0~2% 之间,雷氏普罗威登

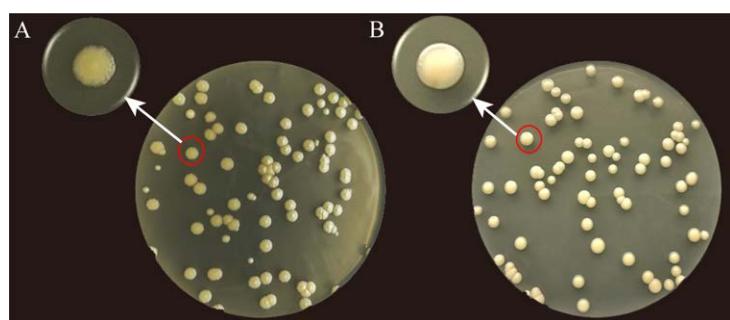


图 1 菌落形态图 A: 巨大芽孢杆菌; B: 雷氏普罗威登斯菌

Figure 1 Colony morphology diagram. A: *Bacillus megaterium*; B: *Providencia rettgeri*.

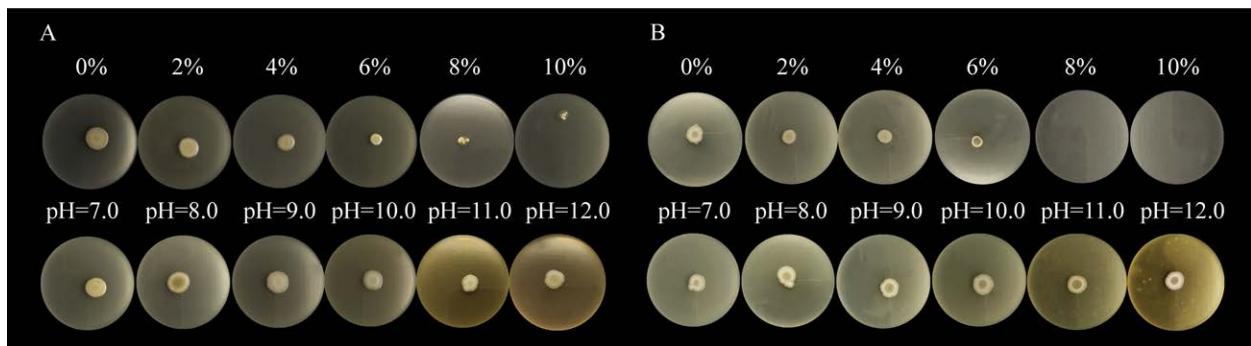


图 2 两株菌耐受性效果图 A: 巨大芽孢杆菌. B: 雷氏普罗威登斯菌

Figure 2 Effect of tolerance of two strains of bacteria. A: *Bacillus megaterium*. B: *Providencia rettgeri*.

斯菌可以正常生长且活性较好, 不同 NaCl 浓度培养基上菌株直径随 NaCl 浓度的增大迅速减小; 当培养基中 NaCl 浓度介于 2%~4% 之间, 该菌株可以生长, 但受 NaCl 浓度的抑制, 菌株直径随 NaCl 浓度的增大缓慢减小; 当 NaCl 浓度为 6% 时, 前 4 天该菌未见生长, 第 6 天开始缓慢生长, 第 8 天, 菌株直径达到 8.17 mm(图 3B)。综上, 巨大芽孢杆菌较雷氏普罗威登斯菌的耐盐性更强, 培养 8 d 之内, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌分别于 0~10% 和 0~6% 的盐浓度下可以生长。

耐碱性试验结果表明, 2 株菌生长受 pH 值影响较小, 在 pH 值为 7.0~12.0 的环境中均可以生长, 但当 pH 值介于 11.0~12.0 之间, 菌株活性表现较差, 其生长呈扁平状态, 中间无凸起, 菌株表面不光滑且不明亮。培养 8 d 内, 巨大芽孢杆菌较雷氏普罗威登斯菌生长状况好, 所以巨大芽孢杆菌耐碱性较强。2 株菌最适生长的碱性条件 pH 值介于 7.0~8.0 之间(图 3C、3D)。

2.3 不同菌株的溶磷能力、pH 值及菌体生长动态变化

2.3.1 不同菌株溶磷能力

1) 平板法

在无机磷固体培养基上出现明显的溶磷圈, 由溶磷指数定性反应菌株的溶磷能力, 测

定菌落直径(D)与所形成的溶磷圈直径(d), 计算溶磷指数(D/d), 表现为巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌均具有很强的溶磷能力(图 4)。

在 10 d 培养期内, 菌落直径(d)、溶磷圈直径(D)及溶磷指数(D/d 值)随培养时间的延长逐渐增大(表 1)。培养前 3 天, 2 株菌的 D/d 值均有明显增大, 培养第 7 天和第 10 天, D/d 值也有明显增大, 但增大速率低于前 3 天, 表明前 3 天巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌的溶磷效果最好, D/d 值在第 10 天分别达到 2.17 和 2.05, 表明 2 株菌均具有很强的溶磷能力, 巨大芽孢杆菌较雷氏普罗威登斯菌 D/d 值大, 所以巨大芽孢杆菌较雷氏普罗威登斯菌解磷效果更强。

2) 液体培养法

不同菌株在无机磷培养基培养 8 d, 第 2、4、6、8 天菌株的溶磷量不同, 2 株菌的溶磷能力整体呈现“先增强后减弱”的趋势(图 5)。培养前 2 天, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌于液体培养基上的溶磷量均显著提高, 第 4 天溶磷量达到峰值, 分别为 355.53 mg/L 和 272.17 mg/L, 溶磷能力最强, 随后溶磷能力出现减弱现象。2 株菌均具有很强的溶磷能力, 但巨大芽孢杆菌的溶磷量显著高于雷氏普罗威登斯菌, 其溶磷效果表现更好, 该结论与平板培养法结论相一致。

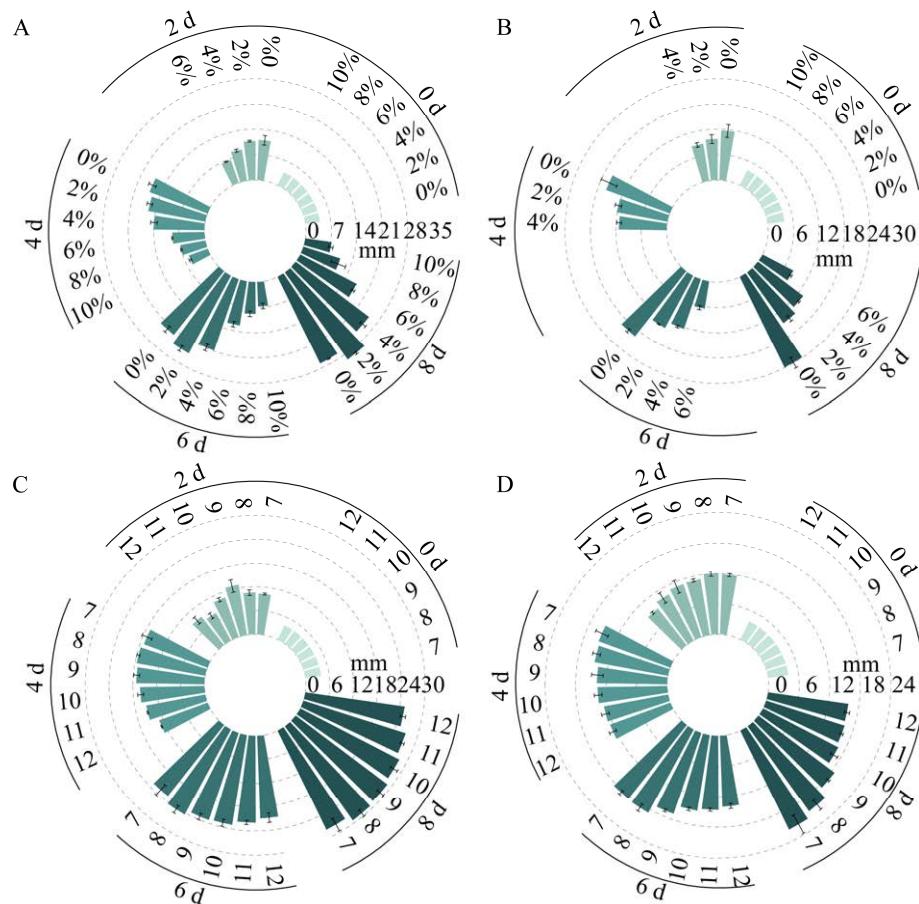


图 3 2 株菌耐盐碱性分析 A: 巨大芽孢杆菌耐盐性图. B: 雷氏普罗威登斯菌耐盐性图. C: 巨大芽孢杆菌耐碱性图. D: 雷氏普罗威登斯菌耐碱性图

Figure 3 Analysis of salinity tolerance of two strains of bacteria. A: Salt tolerance map of *Bacillus megaterium*. B: Salt tolerance map of *Providencia rettgeri*. C: Alkali-resistant map of *Bacillus megaterium*. D: Alkali-resistant map of *Providencia rettgeri*.

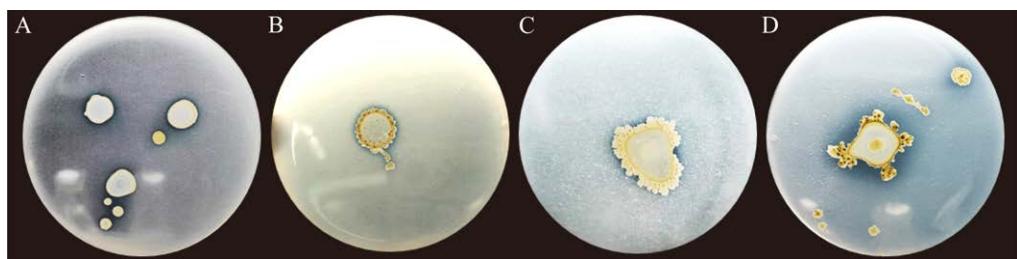


图 4 菌株在平板上溶磷效果图 A、B 为不同时间雷氏普罗威登斯菌在无机磷平板上的溶磷效果;C、D 为不同时间巨大芽孢杆菌在无机磷平板上的溶磷效果

Figure 4 Phosphorus solubilization effect of strains on plates. A and B: The effect of phosphorus solubilization by *Providencia rettgeri* at different times on inorganic phosphorus plates; C and D: The effect of phosphorus solubilization by *Bacillus megaterium* at different times on inorganic phosphorus plates.

表 1 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在固体无机磷培养基的溶磷效果

Table 1 Phosphorus solubilization by *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri* in solid inorganic phosphorus media

菌株 Strain	培养时间 Incubation time (d)	溶磷圈直径 Diameter of dissolved phosphorus ring (D, mm)	菌落直径 Colony diameter (d, mm)	D/d
巨大芽孢 杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	3	12.50	8.17	1.53
雷氏普罗威 登斯菌 <i>Providencia rettgeri</i>	7	20.33	11.00	1.85
	10	26.00	12.00	2.17
巨大芽孢 杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	3	11.67	8.00	1.46
雷氏普罗威 登斯菌 <i>Providencia rettgeri</i>	7	18.33	10.67	1.72
	10	22.50	11.00	2.05

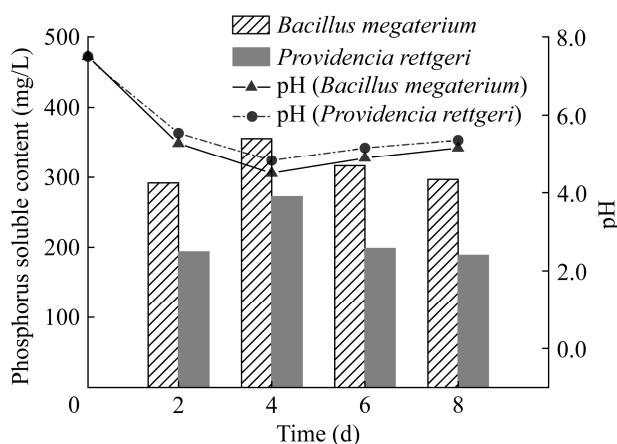


图 5 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在液体培养基上溶磷效果和 pH 分析图

Figure 5 Phosphorus solubilizing effect and pH analysis of *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri* in liquid media.

2.3.2 不同菌株对 pH 值变化的影响

溶磷过程中, 2 株菌培养介质的 pH 值随溶磷时间整体呈现“先下降后缓慢上升”的趋势。前 2 天, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌培养介质的 pH 值下降速率均较快, 至第 4 天, 培养介质的 pH 值由 7.5 缓慢下降至最小值 4.61 和 4.81, 两菌株于无机磷液体培养基上的溶磷量最

高; 随后溶磷量缓慢减小, 培养基 pH 值缓慢上升(图 5)。雷氏普罗威登斯菌于无机磷培养基中的溶磷量与培养基的 pH 值在一定培养时间内呈显著负相关性($P<0.05$), 而巨大芽孢杆菌于液体培养基上溶磷量与培养介质的 pH 值在一定培养时间内呈极显著负相关性($P<0.01$) (图 6)。

2.3.3 溶磷过程中菌株生长动态

巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌接种至无机磷培养基中培养 8 d, 菌落快速生长繁殖, 在培养基中的活菌数整体随溶磷时间延长均呈现先增多后减少的趋势(表 2)。在 2~4 d, 巨大芽孢杆菌

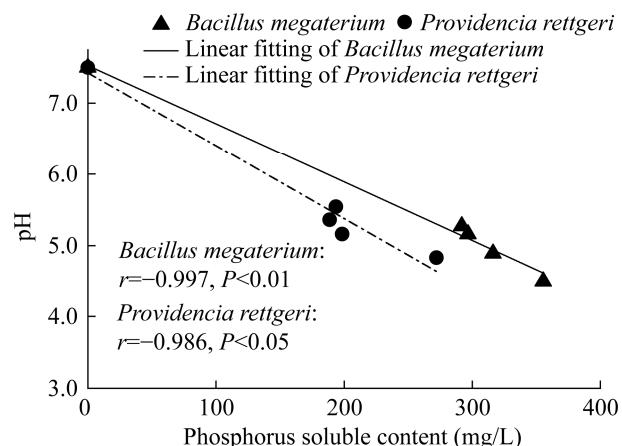


图 6 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌溶磷量和 pH 的相关性图

Figure 6 Correlation plots of phosphorus solubilization and pH of *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri*.

表 2 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在摇瓶培养后的活菌数

Table 2 The viable counts of *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri* mirabilis after incubation in shake flasks (CFU/mL)

时间 Time (d)	CK	巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	雷氏普罗威登斯菌 <i>Providencia rettgeri</i>
0	0.00	0.29×10^9	0.33×10^9
2	0.04×10^8	1.29×10^9	1.11×10^9
4	0.07×10^8	3.23×10^9	2.93×10^9
6	0.09×10^8	3.95×10^9	3.59×10^9
8	0.08×10^8	3.09×10^9	2.78×10^9

和雷氏普罗威登斯菌生长繁殖速率最快, 第6天培养基内活菌数达到最大值 3.95×10^9 CFU/mL 和 3.59×10^9 CFU/mL, 随后减少, 但仍高于第2天培养基内活菌数。培养基中巨大芽孢杆菌的活菌数较雷氏普罗威登斯菌的活菌数更多。

2.4 NaCl 浓度对解磷菌溶磷能力和 pH 变化的影响

培养基内2株菌的溶磷量均随NaCl浓度的增大呈现先略增大后持续减小的趋势, 同时pH值呈现先略减小后持续增大的趋势(图7)。巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌分别于NaCl浓度为0.4 mol/L和0.2 mol/L时溶磷效果最好, 溶磷量达到峰值364.35 mg/L和285.58 mg/L, 同时培养介质pH值降至最小4.28和4.73; 当NaCl浓度继续增加时, 2株菌于培养基中的溶磷量显著减少, NaCl浓度为1.4 mol/L时, 溶磷量降至58.07 mg/L和48.75 mg/L, 2株解磷菌表现出强耐盐能力, 整体来看, 巨大芽孢杆菌的溶磷效果较雷氏普罗威登斯菌更好。

2.5 NaCl 胁迫下2株菌对黄豆萌发的影响

经NaCl浓度处理和未经NaCl浓度处理下, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌浸泡的黄豆种子的发芽率及胚轴、胚根长与对照组(无菌水)存在显著差异, 但胚芽长与对照组不存在显

著差异(图8)。相较于未经NaCl浓度处理下不同溶液浸泡的黄豆, 经0.10 mol/L NaCl浓度处理下不同溶液浸泡的黄豆的发芽率及胚轴、胚芽、胚根的伸长量均有所下降, 表明NaCl浓度对黄豆萌发有一定的抑制作用(表3)。未经NaCl浓度处理下, 对照组的发芽率为90.00%, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌浸泡后黄豆的发芽率分别为92.22%和92.78%, 2株菌浸泡后黄豆的平均胚轴及胚根长分别为47.58、45.17 mm, 与对照组相比增长率分别为10.10%、9.00%; 0.10 mol/L NaCl浓度处理下, 对照组的发芽率为86.67%, 经2株菌浸泡处理后, 黄豆种子发芽率分别为90.56%和92.22%, 2株菌浸泡后黄豆的平均胚轴及胚根长分别为26.39、23.67 mm, 与对照组相比增长率分别为19.40%、20.30%。在正常和盐胁迫环境下, 经2株解磷菌浸泡后的黄豆, 其发芽率及胚轴、胚根的伸长均有显著提高($P < 0.05$), 表明2株解磷菌均可作为候选菌株进行后期接种。

3 讨论

3.1 不同菌株耐盐碱性分析

土壤盐碱化会导致土壤板结、肥力下降, 是限制农作物生长的主要障碍因素之一^[29], 而

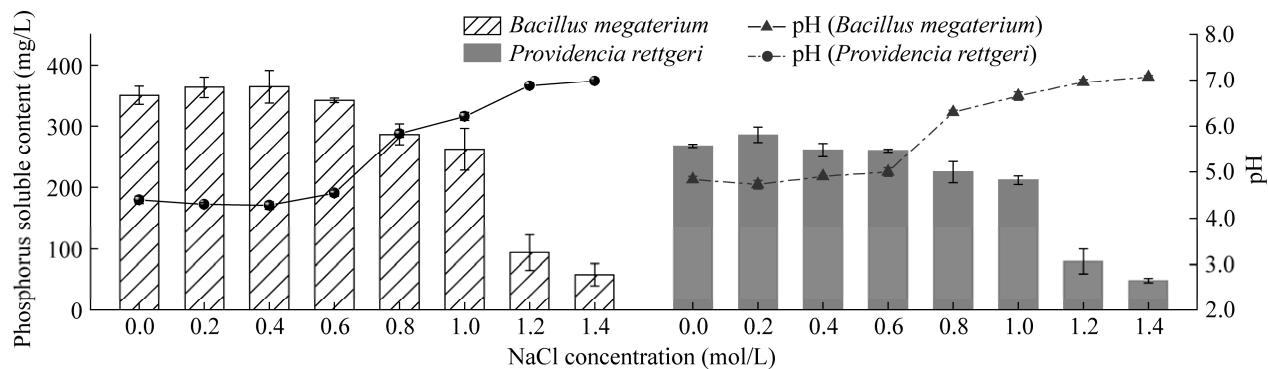


图7 NaCl浓度对巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌溶磷量和pH值的影响

Figure 7 Effect of NaCl concentration on phosphorus solubilization and pH of *Bacillus megaterium* and *Providencia rettgeri*.

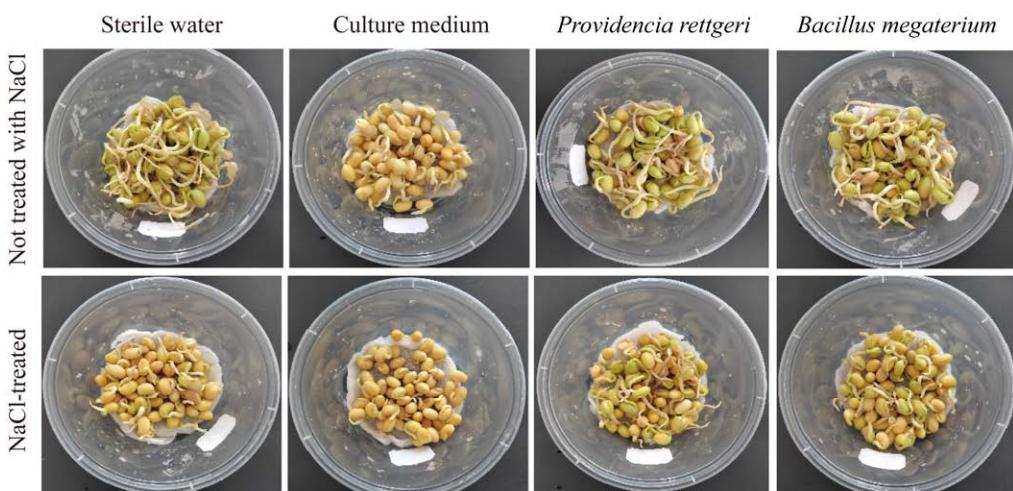


图 8 NaCl 胁迫下 2 株菌对黄豆萌发的影响

Figure 8 Effects of two strains on soybean germination under NaCl stress.

表 3 NaCl 胁迫下 2 株菌对黄豆萌发影响的指标

Table 3 Indicators of the effect of two strains on soybean germination under NaCl stress

处理 Treatment	发芽率 Germination rate (%)	胚轴 Embryonic axis (mm)	胚芽 Plumule (mm)	胚根 Embryonic root (mm)
未经 NaCl 浓度处理 Not treated with NaCl concentrations	90.00±1.67b	43.22±1.57b	9.39±0.54a	41.45±2.27b
无菌水 Sterile water	88.89±0.96b	30.55±1.07c	2.40±0.33b	12.00±0.33c
培养基 Culture medium	92.22±0.96a	47.44±1.26a	9.22±0.19a	45.00±1.00a
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	92.78±0.96a	47.72±0.79a	9.39±0.35a	45.33±1.34a
雷氏普罗威登斯菌 <i>Providencia rettgeri</i>	86.67±1.67b	22.11±1.71b	2.06±0.10a	19.67±0.34b
经 NaCl 浓度处理 Treated with NaCl concentration	87.78±1.92b	17.67±1.00c	1.50±0.00b	7.17±0.84c
无菌水 Sterile water	90.56±0.96a	26.55±0.69a	2.00±0.33a	23.22±1.02a
培养基 Culture medium	92.22±0.96a	26.22±0.39a	2.09±0.14a	24.11±2.17a
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>				
雷氏普罗威登斯菌 <i>Providencia rettgeri</i>				

同行数据后不同小字母表示在正常条件及 NaCl 处理条件下，接种不同解磷菌，黄豆的发芽率及胚轴、胚芽、胚根的长度较无菌水处理差异达到 5% 显著水平 ($P<0.05$)

Different small letters after the same data indicate that the differences in germination rate and lengths of embryonic axis, germ and radicle of soybean reached 5% significant level ($P<0.05$) when inoculated with different dephosphorylating bacteria under normal and NaCl treatment conditions.

施微生物菌肥能够改良盐碱土，但盐碱环境会影响菌株的定植生长，例如，杨海霞等^[30]筛选出适合当地盐碱环境的菌剂，达到改良土壤环境及促进植物生长发育的目的。本研究通过接种针点接法测定菌株的耐盐碱性，研究结果表明，不同 NaCl 浓度培养基上 2 株菌生长随 NaCl 浓度和 pH 值的增大均呈现“先增大后减小”的

趋势，这与胡山^[31]、姜焕焕^[32]研究巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌的耐盐碱性的变化趋势一致。本研究结果表明在培养期间，当 NaCl 浓度介于 0–6% 之间时，巨大芽孢杆菌生长状况较好，受 NaCl 浓度影响较小；当 NaCl 浓度介于 8%–10% 之间，菌株生长受 NaCl 浓度影响较大，前 4 天无菌凸起生长，第 4 天有菌凸起生长。

培养 8 d 内, 巨大芽孢杆菌在盐浓度为 10% 和 pH 值为 12.0 的环境中均可生长, 并且最适生长 pH 值为 7.0–8.0, 钱兰华等^[33]、王松等^[3]研究发现巨大芽孢杆菌在 8% 的盐浓度下均可生长, 最适盐浓度和 pH 值分别为 4%–6% 和 6.0–7.0, 与本研究的结论大体一致。本研究结果表明, 雷氏普罗威登斯菌在盐浓度为 0–6% 和 pH 值为 7.0–12.0 的环境下均可生长, 在 NaCl 浓度为 2%–4% 环境下, 受 NaCl 浓度影响较小, 当 NaCl 浓度为 6% 时, 前 6 天该菌无生长, 第 6 天菌株开始缓慢生长, 这与姜焕焕^[32]利用液体培养法研究发现该菌株在 NaCl 浓度为 9% 和 pH 值为 10.0 的环境下仍可生长的结论不一致, 可能由于测定耐盐碱性的培养方式及培养环境不同, 本研究采用平板接种针点接法。

3.2 不同菌株对溶磷能力、pH 值及生长动态的影响

根际土壤中具有溶磷效果的微生物种类繁多, 主要有假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)等^[34]。陈凯等^[35]研究发现, 巨大芽孢杆菌在蛋黄培养基上有明显的溶磷圈, 溶磷指数 D/d 值达到 4.5, 钱婷等^[36]研究发现, 巨大芽孢杆菌在 NBRIP 培养基上连续培养第 4 天时溶磷量达到 188 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 姜焕焕等^[32]研究发现, 雷氏普罗威登斯菌溶磷量达到 200 mg/L , 溶磷指数达到 2.3, 这与本研究结论一致, 本研究中 2 株菌溶磷能力呈“先增强再缓慢减弱后趋于稳定”的趋势, 在培养第 4 天, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在液体培养基中的溶磷量达到峰值 355.53 mg/L 和 272.17 mg/L , 在无机磷固体培养基上也呈现明显的溶磷圈, 培养前 3 天, D/d 值增长速率最快, 2 株菌的 D/d 值于第 10 天分别达到 2.17 和 2.05, 孙科等^[37]研究发现, 解磷菌培养液中

溶磷量与 D/d 值呈显著的正相关性, D/d 值越大, 解磷菌于液体培养基中溶磷量越高, 这与本研究结论一致。

解磷微生物的解磷机理主要有有机酸酸解作用和酶解作用^[38–39]。Narsian 等^[40]研究发现, 溶磷过程中的溶磷量和培养介质 pH 值有显著负相关性。本研究结果表明, 随着 2 株菌溶磷量的“先增加后减小”, 培养介质 pH 值呈现“先减小后缓慢增大”的趋势, 第 4 天培养介质 pH 值达到最小值 4.61 和 4.81, 溶磷量达到最大值, 所以本研究发现巨大芽孢杆菌溶磷量与培养介质 pH 值呈极显著负相关($P<0.01$), 雷氏普罗威登斯菌的溶磷量与培养介质 pH 值呈显著负相关($P<0.05$), 这与 Narsian 等^[40]的研究结论一致。这可能是由于溶磷过程中菌株分泌有机酸, 而有机酸阴离子通过螯合铁、铝、钙等金属阳离子, 使难溶性磷酸盐溶解, 释放磷酸三钙中的磷元素, 从而降低 pH 值^[38–41]。

巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在溶磷过程中, 无机磷培养基中活菌数随溶磷时间的延长呈先增多后减少的趋势, 培养基中活菌数于第 6 天达到峰值, 分别为 $3.95\times 10^9 \text{ CFU}/\text{mL}$ 和 $3.59\times 10^9 \text{ CFU}/\text{mL}$, 该结论与刘胜亮等^[42]研究 4 株解磷菌在溶磷过程中培养基内活菌数变化的结论一致, 符合微生物正常的生长周期。

3.3 NaCl 浓度对解磷菌溶磷能力和 pH 变化的影响

高盐对解磷菌的解磷能力有一定的抑制作用, 研究解磷菌在不同盐浓度下的溶磷能力具有重要意义。白洁等^[43]分离出 7 株均具有一定耐盐碱特征的内生菌, 解有机磷量和无机磷量最高分别达到 342.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 143.61 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 菌株生长最适 NaCl 浓度为 5%, 耐盐碱性较强的菌株可在 NaCl 浓度为 30% 及 pH 值为 13.0 的环境下生长, 表现出极强的嗜盐碱特性。本研究结果表

明 2 株解磷菌在不同 NaCl 浓度的无机磷培养基中溶磷效果及 pH 值均受影响, 2 株解磷菌在 NaCl 浓度为 0–1.4 mol/L 环境下均具有溶磷效果, 溶磷量随 NaCl 浓度的增大呈先略增大后持续降低的趋势, 培养基 pH 值呈先略减小后持续增大的趋势, 这与白洁等^[43]、张巍等^[44]对芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、乙酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter-calcoaceticus*) 和近平滑假丝酵母 (*Candida-parapsilosis*) 的研究结论较一致, 符合解磷菌的解磷特性。两菌株在盐胁迫下仍有很强的解磷效果, 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌分别在 NaCl 浓度为 0.4 mol/L 和 0.2 mol/L 的无机磷培养基中溶磷效果最好, 培养第 4 天, 溶磷量分别达到峰值 364.35 mg/L 和 285.58 mg/L, 这与姜焕焕等^[32]对巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*)、雷氏普罗威登斯菌 (*P. rettgeri*) 的研究结论一致, 在 0–1.4 mol/L NaCl 条件下具有溶磷能力, 溶磷量分别为 156.69–412.19 mg/L 和 59.00–427.27 mg/L, 但随 NaCl 浓度的增大, 溶磷效果会受到抑制。

3.4 NaCl 胁迫下 2 株菌对黄豆萌发的影响

高盐环境会抑制植物生长, 增加植物细胞内丙二醛的含量, 影响细胞膜的通透性^[45]。同时高盐环境也会影响植物种子萌发, 细胞内和土壤中水势的差异, 会造成种子渗透失水, 种子活力指数及发芽率下降的不良影响^[46]。姜焕焕等^[32]利用平板发芽实验研究了在正常条件及 NaCl 浓度处理条件下, 解磷菌对花生发芽率及芽长的影响, 该研究发现 NaCl 浓度会抑制花生种子的发芽率和平均芽长, 但接种解磷菌后, 花生种子发芽率及芽长的增长均达到显著性差异水平 ($P<0.05$), 这与本研究讨论在正常和盐胁迫环境下巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌对黄豆萌发影响的结论一致, 解磷菌均能增加黄豆的发芽率和芽长。本研究探讨了在 NaCl 浓度处理下, 2 株解磷菌对黄豆发芽率及豆芽各部位伸

长的影响效果, 研究结果表明, 盐胁迫会抑制黄豆的发芽率及胚轴、胚根的生长, 对胚芽的伸长无显著影响, 这与徐曼等^[46]的研究结论一致, 可能由于种子胚根、胚轴的生长对盐溶液更敏感。然而, 经巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌浸泡的黄豆种子的发芽率及胚轴、胚根的伸长与对照组存在显著差异, 用解磷菌浸泡后黄豆的发芽率及胚轴、胚根的伸长与对照组相比均显著增加, 但胚芽伸长与对照组不存在显著差异, 这与林志伟等^[47]、王宏燕等^[12]研究解磷菌对大豆种子萌发和白菜型油菜发芽试验研究的结论一致, 证实了解磷菌对种子发芽率及胚轴、胚根的生长均有提高。

溶磷菌能否定殖于土壤中并发挥作用, 不仅取决于菌株耐受性和溶磷能力的强弱, 而且与土壤理化性质有关^[48–49]。然而, 由于实验室条件与自然环境存在巨大差异, 巨大芽孢杆菌、雷氏普罗威登斯菌在实验室环境下表现出良好的耐受性、高溶磷效果及促发芽效果, 但在自然环境中的定殖和溶磷效果有待进一步研究。

4 结论

本研究通过对巨大芽孢杆菌、雷氏普罗威登斯菌的研究, 剖析了两者的耐盐碱性、溶磷效果、生长动态、溶磷量与 pH 值的关系及对黄豆萌发的影响。主要结论如下:

(1) 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌均有较强的耐盐碱性, 分别在 0–10% 和 0–6% 的盐浓度和 pH 值为 7.0–12.0 的环境中下可以生长, 最适生长碱性条件 pH 值为 7.0–8.0 之间。

(2) 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌均为高效解磷菌, 溶磷量在正常培养条件下第 4 天达到峰值 355.53 mg/L 和 272.17 mg/L, 前者溶磷量与 pH 值呈极显著负相关 ($P<0.01$), 后者溶磷量与 pH 值呈显著负相关 ($P<0.05$), 两者的活

菌数在培养第 6 天达到最大，最大值为 3.95×10^9 CFU/mL 和 3.59×10^9 CFU/mL。

(3) 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌在 0–1.4 mol/L 的 NaCl 浓度环境中均具有溶磷效果，NaCl 浓度分别为 0.4 mol/L 和 0.2 mol/L 时溶磷效果最好，溶磷量达到峰值 364.35 mg/L 和 285.58 mg/L，培养介质的 pH 值降至最小 4.28 和 4.73。

(4) 巨大芽孢杆菌和雷氏普罗威登斯菌对种子发芽率及胚轴、胚根的生长均有提高，未经 NaCl 处理和经 NaCl 处理环境下，相较于对照组，经 2 株菌浸泡黄豆的平均发芽率及胚轴、胚根平均增长率分别为 2.70%、10.10%、9.00% 和 5.40%、19.40%、20.30%。

REFERENCES

- [1] 杜雷, 王素萍, 陈钢, 洪娟, 黄翔, 张利红, 叶莉霞, 练志诚, 张贵友. 一株高效解磷细菌的筛选、鉴定及其溶磷能力的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2017(3): 136-141.
DU L, WANG SP, CHEN G, HONG J, HUANG X, ZHANG LH, YE LX, LIAN ZC, ZHANG GY. Isolation and identification of efficient phosphate-solubilizing bacterial strain and its phosphate-solubilizing capacity[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2017(3): 136-141 (in Chinese).
- [2] SCHMIDT JJ, GAGNON GA, JAMIESON RC. Microalgae growth and phosphorus uptake in wastewater under simulated cold region conditions[J]. Ecological Engineering, 2016, 95: 588-593.
- [3] 王松, 张小凡. 解磷菌株 YR-P31 的分离、鉴定、生物学特性及其促生作用[J]. 中国土壤与肥料, 2022(12): 206-212.
WANG S, ZHANG XF. Isolation, identification, biological characteristic of phosphate-solubilizing bacterial strain YR-P31 and its growth promoting effect[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022(12): 206-212 (in Chinese).
- [4] ZHAO DY, DING YQ, CUI YR, ZHANG YN, LIU K, YAO LT, HAN XB, PENG YL, GOU JY, DU BH, WANG CQ. Isolation and genome sequence of a novel phosphate-solubilizing rhizobacterium *Bacillus altitudinis* GQYP101 and its effects on rhizosphere microbial community structure and functional traits of corn seedling[J]. Current Microbiology, 2022, 79(9): 249.
- [5] WALPOLA B, YOON MH. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake[J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7: 266-275.
- [6] BELTRAN-MEDINA I, ROMERO-PERDOMO F, MOLANO-CHAVEZ L, GUTIÉRREZ AY, SILVA AMM, ESTRADA-BONILLA G. Inoculation of phosphate-solubilizing bacteria improves soil phosphorus mobilization and maize productivity[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2023, 126(1): 21-34.
- [7] 贺梦醒, 高毅, 胡正雪, 徐瑶, 龙瑞, 孙庆业. 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.
HE MX, GAO Y, HU ZX, XU Y, LONG R, SUN QY. 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).
- [8] PODILE AR, KISHORE GK. Plant growth-promoting rhizobacteria[M]//Plant-Associated Bacteria. Dordrecht: Springer, 2007: 195-230.
- [9] KHOURCHI S, ELHAISSEUF W, LOUM M, IBNYASSER A, HADDINE M, GHANI R, BARAKAT A, ZEROUAL Y, RCHIAD Z, DELAPLACE P, BARGAZ A. Phosphate solubilizing bacteria can significantly contribute to enhance P availability from polyphosphates and their use efficiency in wheat[J]. Microbiological Research, 2022, 262: 127094.
- [10] PAHALVI HN, RAFIYA L, RASHID S, NISAR B, KAMILI AN. Chemical fertilizers and their impact on soil health[M]//Microbiota and Biofertilizers, Vol 2. Cham: Springer, 2021: 1-20.
- [11] WANG ZH, ZHANG HH, LIU L, LI SJ, XIE JF, XUE X, JIANG Y. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion[J]. BMC Microbiology, 2022, 22(1): 296.
- [12] 王宏燕, 韩凯鑫, 冯丽荣, 于志鹏, 王露, 范金霞, 章圣龙, 孙岩. 耐盐解磷菌筛选鉴定及生理特性研究[J]. 东北农业大学学报, 2023, 54(5): 28-37.
WANG HY, HAN KX, FENG LR, YU ZP, WANG L, FAN JX, ZHANG SL, SUN Y. Screening and identification of salt-resistant phosphorus bacteria and its physiological characteristics[J]. Journal of Northeast

- Agricultural University, 2023, 54(5): 28-37 (in Chinese).
- [13] 郭世乾, 崔增团, 傅亲民. 甘肃省盐碱地现状及治理思路与建议[J]. 中国农业资源与区划, 2013, 34(4): 75-79.
- GUO SQ, CUI ZT, FU QM. Idea and suggestions on saline-alkali soil status quo and managements in Gansu Province[J]. Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning, 2013, 34(4): 75-79 (in Chinese).
- [14] STALSTROM VA. Beitrag Zur Kenntnis der einwirkung von sterilizer und in garung befindlicher straffe any dillosses hkeit der phosphorus are destrical cum phosphours[J]. Zbt Bakt Abt II, 1903, 11: 724-732.
- [15] 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]. 中国土壤与肥料, 2010(3): 67-69.
- LI J, WANG WL, LU BL. Effect of phosphate-solubilizing microorganism agent on the growth and yield of oilseed rape[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2010(3): 67-69 (in Chinese).
- [16] 蒋欣梅, 夏秀华, 于锡宏, 倪淑君, 张树春. 微生物解磷菌肥对大棚茄子生长及土壤有效磷利用的影响[J]. 浙江大学学报(理学版), 2012, 39(6): 685-688.
- JIANG XM, XIA XH, YU XH, NI SJ, ZHANG SC. Effect of phosphorus-dissolving microbes fertilizer on growth of eggplant and utilization of available phosphorus in soil in the vinyl tunnel[J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2012, 39(6): 685-688 (in Chinese).
- [17] 韩凯鑫. 耐盐解磷菌筛选及对土壤细菌群落结构的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2023.
- HAN KX. Screening of salinity-tolerant phosphorus bacteria and their effects on soil bacterial community structure[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [18] 江红梅, 殷中伟, 史发超, 刘彩月, 程明芳, 范丙全. 一株耐盐溶磷真菌的筛选、鉴定及其生物肥料的应用效果[J]. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(3): 728-742.
- JIANG HM, YIN ZW, SHI FC, LIU CY, CHENG MF, FAN BQ. Isolation and functional evaluation of phosphate-solubilizing fungi with salt-tolerant characteristics[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2018, 24(3): 728-742 (in Chinese).
- [19] CUI Y, ZHAO YJ, CAI R, ZHOU H, CHEN JX, FENG LR, GUO CH, WANG D. Isolation and identification of a phosphate-solubilizing *Pantoea dispersa* with a saline-alkali tolerance and analysis of its growth-promoting effects on silage maize under saline-alkali field conditions[J]. Current Microbiology, 2023, 80(9): 291.
- [20] 周妍, 王丽娜, 张美珍, 刘权, 殷奎德. 耐盐碱解磷菌的筛选鉴定及对绿豆的促生作用[J]. 西北农业学报, 2022, 31(4): 488-497.
- ZHOU Y, WANG LN, ZHANG MZ, LIU Q, YIN KD. Screening and identification of phosphate solubilizing bacteria tolerant to salt-alkali and its growth-promoting effect on mung bean[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2022, 31(4): 488-497 (in Chinese).
- [21] 孙健, 张鑫鹏, 李松龄, 王亚艺. 高寒冷凉环境中解磷微生物的效果初探[J]. 中国土壤与肥料, 2023(1): 217-223.
- SUN J, ZHANG XP, LI SL, WANG YY. Screening of phosphorus solubilizing microorganisms under high latitude and cold environment[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2023(1): 217-223 (in Chinese).
- [22] ATEŞ Ö, ÇAKMAKÇI R, YALÇIN G, TAŞPINAR K, ALVEROĞLU V. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and effect of growth and nutrient uptake of maize under pot and field conditions[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2022, 53(16): 2114-2124.
- [23] 李正昀, 王舒, 张扬, 张林平, 李冬. 施加解磷菌剂对油茶根际微生物和土壤酶活性的影响[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(1): 188-192.
- LI ZY, WANG S, ZHANG Y, ZHANG LP, LI D. Effects of different phosphate-solubilizing bacteria on rhizosphere microorganism and enzyme activities of *Camellia oleifera*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(1): 188-192 (in Chinese).
- [24] 强茹茹, 曾捷, 达布希拉图. 添加解磷菌剂的生物炭对冬马铃薯磷吸收和土壤细菌群落组成的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(4): 717-726.
- QIANG RR, ZENG J, DABU XLT. Effect of phosphate liberation bacteria added in biochar on the phosphorus absorption and soil bacterial community composition in winter potatoes[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2021, 36(4): 717-726 (in Chinese).
- [25] 杜雷, 陈钢, 王素萍, 洪娟, 黄翔, 张利红, 叶莉霞, 张贵友, 练志诚. 解磷菌剂对生菜根际土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(11): 70-74.
- DU L, CHEN G, WANG SP, HONG J, HUANG X, ZHANG LH, YE LX, ZHANG GY, LIAN ZC. Effects of phosphate-solubilizing bacteria on rhizosphere

- microorganism and enzyme activities of lettuce[J]. *Hebei Agricultural Sciences*, 2019, 58(11): 70-74 (in Chinese).
- [26] LIU YH, NESSA A, ZHENG QY, HU DN, ZHANG WY, ZHANG MY. Inoculations of phosphate-solubilizing bacteria alter soil microbial community and improve phosphorus bioavailability for moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) growth[J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 189: 104911.
- [27] 银婷婷, 王敬敬, 柳影, 梁亚杰, 王兴彪, 韩一凡, 王夏, 程美娟, 黄志勇. 高效解磷菌的筛选及其促生机制的初步研究[J]. 生物技术通报, 2015, 31(12): 234-242.
YIN TT, WANG JJ, LIU Y, LIANG YJ, WANG XB, HAN YF, WANG X, CHENG MJ, HUANG ZY. The screening of efficient phosphorus-solubilizing bacteria and the primary study on its mechanism of plant-growth-promoting[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(12): 234-242 (in Chinese).
- [28] 杨顺, 杨婷, 林斌, 刘杏忠, 向梅春. 2株溶磷真菌的筛选、鉴定及溶磷效果的评价[J]. 微生物学报, 2018, 58(2): 264-273.
YANG S, YANG T, LIN B, LIU XZ, XIANG MC. Isolation and evaluation of two phosphate-dissolving fungi[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(2): 264-273 (in Chinese).
- [29] 王君, 范延辉, 尚帅, 李学平, 张玉苗, 吴涛, 许骥坤. 一株根际解磷菌的筛选鉴定及溶磷促生作用[J]. 中国土壤与肥料, 2022(6): 195-203.
WANG J, FAN YH, SHANG S, LI XP, ZHANG YM, WU T, XU JK. Isolation and identification of a rhizosphere phosphate-solubilizing strain and its plant growth promotion[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2022(6): 195-203 (in Chinese).
- [30] 杨海霞, 刘希曼, 潘奕臣, 赵香林, 黄海东. 耐盐碱溶磷菌Y2R2的分离鉴定及溶磷特性[J]. 生物技术通报, 2020, 36(10): 127-134.
YANG HX, LIU XM, PAN YC, ZHAO XL, HUANG HD. Isolation, identification and characterization of salt-alkali-tolerant and phosphorus-dissolving bacterium Y2R2[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(10): 127-134 (in Chinese).
- [31] 胡山. 一株耐盐碱溶磷菌溶磷特性及对盐碱土壤理化性质的影响[D]. 兰州: 西北师范大学硕士学位论文, 2017.
HU S. The characteristic of phosphorus dissolution of a salt-tolerant and alkaline-tolerant phosphate-solubilizing bacteria and the effect on physical and chemical properties of saline-alkaline soil[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Northwest Normal University, 2017 (in Chinese).
- [32] 姜焕焕. 耐盐碱解磷菌与磷石膏联用改良盐碱土的效果与机制[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学博士学位论文, 2019.
JIANG HH. Saline-alkali soil remediation by the combined application of halotolerant phosphate solubilizing microorganism and rock phosphate[D]. Harbin: Doctoral Dissertation of Harbin Institute of Technology, 2019 (in Chinese).
- [33] 钱兰华, 钱玮, 沈雪林, 胡翠英, 刘乾, 蒋晨威, 朱响飚, 王桃云. 耐盐促生菌的筛选、鉴定及其对黄瓜的促生作用[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 160-163.
QIAN LH, QIAN W, SHEN XL, HU CY, LIU Q, JIANG CW, ZHU XY, WANG TY. Screening and identification of salt-tolerant bacteria and its promoting effect on cucumber[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(18): 160-163 (in Chinese).
- [34] 张云霞, 雷鹏, 许宗奇, 冯小海, 徐虹, 许仙菊. 一株高效解磷菌 *Bacillus subtilis* JT-1的筛选及其对土壤微生态和小麦生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5): 1073-1080.
ZHANG YX, LEI P, XU ZQ, FENG XH, XU H, XU XJ. Screening of a high-efficiency phosphate solubilizing bacterium *Bacillus subtilis* JT-1 and its effects on soil microecology and wheat growth[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 32(5): 1073-1080 (in Chinese).
- [35] 陈凯, 李纪顺, 杨合同, 张新建, 魏艳丽, 黄玉杰. 巨大芽孢杆菌P1的解磷效果与发酵条件研究[J]. 中国土壤与肥料, 2010(4): 73-76.
CHEN K, LI JS, YANG HT, ZHANG XJ, WEI YL, HUANG YJ. Phosphate solubilizing abilities of *Bacillus megaterium* strain P1 and its fermentation conditions[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2010(4): 73-76 (in Chinese).
- [36] 钱婷, 叶建仁. 巨大芽孢杆菌ZS-3溶无机磷机制及其对樟树的促生作用[J]. 生物技术通报, 2020, 36(8): 45-52.
QIAN T, YE JR. The mechanism of dissolving inorganic phosphorus by *Bacillus megaterium* ZS-3 and its growth promotion of *Cinnamomum camphora*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(8): 45-52 (in Chinese).
- [37] 孙科, 耿凤英, 于秋菊, 王锋. 牛蒡根际土壤中解钾菌筛选、鉴定及解钾条件优化[J]. 中国酿造, 2020, 39(10): 103-108.

- SUN K, GENG FY, YU QJ, WANG F. Screening and identification of potassium-dissolving bacterium in burdock rhizosphere soil and optimization of potassium-dissolving conditions[J]. China Brewing, 2020, 39(10): 103-108 (in Chinese).
- [38] 唐岷宸, 李文静, 宋天顺, 谢婧婧. 一株高效解磷菌的筛选及其解磷效果验证[J]. 生物技术通报, 2020, 36(6): 102-109.
- TANG MC, LI WJ, SONG TS, XIE JJ. Screening of a highly efficient phosphate-solubilizing bacterium and validation of its phosphate-solubilizing effect[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(6): 102-109 (in Chinese).
- [39] ZHU J, LI M, WHELAN M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review[J]. The Science of the Total Environment, 2018, 612: 522-537.
- [40] NARSIAN V, PATEL HH. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(4): 559-565.
- [41] RODRÍGUEZ H, FRAGA R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion[J]. Biotechnology Advances, 1999, 17(4/5): 319-339.
- [42] 刘胜亮, 朱舒亮, 郭先慧, 李晓原, 张富玮, 杨文英, 李建贵. 四株解磷菌分泌有机酸与溶解磷酸三钙能力的研究[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(6): 1114-1121.
- LIU SL, ZHU SL, QI XH, LI XY, ZHANG FW, YANG WY, LI JG. Study on organic acid secreted from four strains phosphorus-solubilizing bacteria and calcium phosphate dissolving ability[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2017, 54(6): 1114-1121 (in Chinese).
- [43] 白洁, 姚拓, 王占军, 雷杨, 杨晓蕾, 张蔚. 欧李内生促生菌分离、鉴定及促生、耐盐碱特性[J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(1): 132-138.
- BAI J, YAO T, WANG ZJ, LEI Y, YANG XL, ZHANG W. Isolation and identification as well as growth enhancement and saline-alkali tolerance properties of *Cerasus humilis* plant growth-promoting endophytes[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2022, 40(1): 132-138 (in Chinese).
- [44] 张巍, 冯玉杰, 胡纯国, 王鑫. 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.
- ZHANG W, FENG YJ, HU CG, WANG X. Isolation, identification and phosphate-solubilizing capability of saline-alkali tolerance PSMs[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2009, 40(3): 572-575 (in Chinese).
- [45] 胡玉婕, 朱秀玲, 丁延芹, 杜秉海, 汪城墙. 芽孢杆菌的耐盐促生机制研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 64-74.
- HU YJ, ZHU XL, DING YQ, DU BH, WANG CQ. Research progress on salt tolerance and growth-promoting mechanism of *Bacillus*[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(9): 64-74 (in Chinese).
- [46] 徐曼, 王茜, 王奕骁, 刘冬, 王诗惠, 李志坚, 周帮伟. 不同盐胁迫对长穗偃麦草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国草地学报, 2020, 42(1): 15-20.
- XU M, WANG Q, WANG YX, LIU D, WANG SH, LI ZJ, ZHOU BW. Effects of different salt stress on seed germination and seedling growth of *Elytrigia elongata*[J]. Chinese Journal of Grassland, 2020, 42(1): 15-20 (in Chinese).
- [47] 林志伟, 肖翠红, 白鑫雨, 孙冬梅. 解磷菌 DQ-N 对大豆种子萌发及苗期生长的影响[J]. 大豆科学, 2021, 40(5): 676-681.
- LIN ZW, XIAO CH, BAI XY, SUN DM. Effects of DQ-N strain on seed germination and seedling growth of soybean[J]. Soybean Science, 2021, 40(5): 676-681 (in Chinese).
- [48] KE CL, LI SJ, DUAN YJ. Effects of phosphate-solubilizing bacteria on the growth of banana seedlings and physical and chemical factors[J]. Natural Science Journal of Hainan University, 2017, 35(3): 253-259.
- [49] SARIKHANI MR, KHOSHRU B, GREINER R. Isolation and identification of temperature tolerant phosphate solubilizing bacteria as a potential microbial fertilizer[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(8): 126.