

王继莲, 王冬玲, 周 茜, 等. 盐碱地旱生芦苇根际解磷菌株筛选及促生特性[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(1): 64-74.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.01.007

盐碱地旱生芦苇根际解磷菌株筛选及促生特性

王继莲^{1,2}, 王冬玲^{1,2}, 周 茜^{1,2}, 张 甜^{1,2}, 李明源^{1,2}

(1.喀什大学生命与地理科学学院, 新疆 喀什 844006; 2.新疆帕米尔高原生物资源与生态自治区重点实验室, 新疆 喀什 844006)

摘要: 为进一步挖掘解磷菌菌种资源, 研制适合于盐碱地作物的促生菌剂, 利用选择性培养基从新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州盐碱地旱生芦苇 (*Phragmites australis*) 根际土壤中筛选解磷菌株。结合限制性片段长度多态性技术与 16S rDNA 测序进行菌株鉴定, 并挑选解磷能力突出的优良菌株开展植物接种试验。本试验共筛选到 47 株解磷菌, 其中 32 株可溶解无机磷, 溶磷量为 55.8~722.3 mg/L; 37 株可溶解有机磷, 溶磷量为 11.8~34.4 mg/L。47 株解磷菌隶属于 7 个属, 以肠杆菌属 (*Enterobacter*) 占绝对优势。解磷菌株有效促进了拟南芥植株的生长和根系发育, 以芽孢杆菌 *Bacillus* sp.PN-2 和类芽孢杆菌 *Paenibacillus* sp.PM-1 的促生作用最显著。解磷菌株对盐碱土中小麦地上部分 (株高、茎粗、地上部分鲜质量和地上部分干质量) 和地下部分 (根鲜质量、根干质量) 也表现出积极影响, 以 *Enterobacter* sp.PM-9 和 *Enterobacter* sp.PM-2 促生作用最突出。本研究筛选的解磷菌株具有一定的应用潜力, 对开发适用于盐碱地的微生物肥料有重要意义。

关键词: 解磷菌; 盐碱土壤; 促生作用; 微生物肥料

中图分类号: Q939.96

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2024)01-0064-11

Screening and growth-promoting characteristics of phosphorus-solubilizing strains from the rhizosphere of *Phragmites australis* in saline-alkali soil

WANG Ji-lian^{1,2}, WANG Dong-ling^{1,2}, ZHOU Qian^{1,2}, ZHANG Tian^{1,2}, LI Ming-yuan^{1,2}

(1. The College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844006, China; 2. Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashi 844006, China)

Abstract: In order to further explore the resources of phosphorus-solubilizing bacteria and develop growth-promoting agents suitable for crops in saline-alkali land, phosphorus-solubilizing bacteria were screened from rhizosphere soil of dryland *Phragmites australis* in Xinjiang Kizilsu Kirgiz Autonomous saline-alkali soil. Strain identification was carried out by combining restriction fragment length polymorphism and 16S rDNA sequencing, and the strains with outstanding phosphorus-solubilizing ability were selected for plant inoculation test. As a result, a total of 47 strains of phosphate-solubilizing bacteria were screened. Among them, 32 strains could dissolve inorganic phosphorus with a phosphorus solubility of 55.8–722.3 mg/L. And 37 strains could dissolve organic phosphorus with a phosphorus solubility of 11.8–34.4 mg/L. The 47 phosphate-solubilizing bacteria belonged to seven genera, and *Enterobacter* was dominant. The phosphate-solubilizing strains could effectively promote the growth and root development of *Arabidopsis thaliana*, especially *Bacillus* sp.PN-2 and *Paenibacillus* sp.PM-1. The above-ground part (plant height, stem diameter, fresh weight and dry weight of above-ground part) and underground part (fresh weight and dry weight of root) of wheat in saline-alkali soil were also positively affected by the phosphate-solubilizing strain, *Enterobacter* sp.PM-9 and *Enterobacter* sp.PM-2 were the most promi-

收稿日期: 2022-11-08

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2021D01A18)

作者简介: 王继莲 (1986-), 女, 山东菏泽人, 硕士, 副教授, 研究方向

为资源微生物。(E-mail) wjilian0710@sina.com

通讯作者: 李明源, (E-mail) mingyuan_lee@yeah.net

the most promi-

ment. The phosphate-solubilizing strains screened in this study have certain application potential and are of great significance for the development of microbial fertilizers suitable for saline-alkali soil.

Key words: phosphorus-solubilizing strains; saline-alkali soil; growth-promoting effects; microbial fertilizer

磷是植物必不可少的矿质元素,对其代谢、生长和繁殖有重要影响^[1-2]。中国超过 70%的耕地土壤缺乏能被植物直接吸收利用的速效磷,主要原因是磷素易被土壤固定,与 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 等反应形成不溶性化合物沉积在土壤中,导致植物生长缓慢或停滞^[3]。为提高农业生产效率,大量施加外源无机磷肥是增加土壤有效磷供应,维持作物高产的主要手段。然而植物对磷肥的利用率极低(<25%),长期大量施肥不仅造成磷素盈余,引起土壤性质恶化,部分土壤磷还会随水体渗流迁移,造成地下水污染,导致更严重的生态问题^[4-5]。因此,如何提升土壤磷的供给,又不给生态环境造成额外负担,成为人们关注的新焦点,微生物肥料应运而生。

微生物在元素循环中扮演着重要角色,一些类群能够将难溶性磷转化为可溶性磷来改善植物磷素供应,称为解磷微生物(Phosphate solubilizing microorganisms, PSM)。研究表明,PSM 主要依赖其代谢产生的多种有机酸来酸化难溶性磷酸盐^[6],还有部分解磷菌可在生长过程中分泌植酸酶、核酸酶、磷脂酶等多种水解酶,通过裂解有机磷化合物的磷脂键使其转化成速效磷^[7-8]。刘玲利等^[9]将解磷菌施入土壤,有效活化了复垦土壤磷素,同时土壤碱性磷酸酶活性增加,促进了油菜生长。巨大芽胞杆菌 *Bacillus megaterium* HZP1 和肠杆菌 *Enterobacter* sp. PSB-1 发酵后,培养基中可溶性磷含量相比对照显著提高,接种大豆和紫云英后,植株地上部分生物量、根瘤鲜质量和根瘤数明显增加^[10]。庄馥璐等^[11]从苹果根际分离的解磷菌株 *Enterobacter* sp. PsbM4 可有效矿化植酸钙产生无机磷,促进拟南芥生长。

特定的有效菌种是微生物菌肥的核心。迄今微生物菌肥已取得了快速发展,但基于土壤类型、地域和气候的不同,不同宿主植物的根际解磷菌群存在明显差异。因此,生物菌肥产品难以具有普适性,从不同生境植物针对性遴选高效解磷菌株仍然是开发有区域特效的微生物肥料的有效手段。旱生芦苇(*Phragmites australis*)是新疆盐碱地广泛分布的典型盐生植物,适应性广、抗逆性强,其对盐碱的适应

能力与根际菌群密切相关^[12-13]。本研究拟从新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州盐碱地旱生芦苇根际筛选解磷菌,分析其促生特性和分类地位,并通过接种试验观察其对盐碱条件下作物生长的影响,为研制盐碱地专用微生物肥料提供优良菌种资源。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品采自新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州盐碱地(39°40'N, 76°41'E)。该地区全年干旱少雨,土壤 pH 值 8.0~8.5,全盐含量 12.1 g/kg。植被以盐节木(*Halocnemum strobilaceum*)、盐穗木(*Halostachys caspica*)、旱生芦苇(*Phragmites communis*)等耐盐碱植物为主。2021 年 10 月,采用多点采样法沿 S 型线路随机挑取长势良好的旱生芦苇,挖去表面浮土,沿根系生长方向小心挖取根系及周围的土壤。

盆栽供试土壤采集自新疆喀什郊区未耕种的盐碱地,去除表层浮土后挖取 10~30 cm 土层的土壤。土壤 pH 值 8.57,可溶性盐含量 0.36%,碱解氮、速效钾和有效磷含量分别为 28.64 mg/kg、99.57 mg/kg、18.92 mg/kg,有机质含量为 17.36 g/kg。

1.2 培养基

采用 NBRIP 培养基分离解无机磷菌株^[14],采用 Mongina 培养基筛选解有机磷菌株^[15],采用 LB 培养基加 40%甘油保存菌种。

1.3 解磷菌的筛选

称取 10 g 根际土壤样品加入到含有玻璃珠的无菌水中,充分振荡 30 min 使颗粒分散。取上清液依次 10 倍梯度稀释后,分别吸取不同浓度梯度的上清液涂布于 NBRIP 和 Mongina 平板上,每个稀释梯度重复 3 次,28 °C 恒温培养 3~5 d。挑取溶磷圈较大、形态不同的菌落在 LB 平板上多次划线纯化,获得纯菌落。

1.4 溶磷能力测定

用钼锑抗比色法^[16]测定磷含量,分别吸取 5 mg/L 的磷标准溶液 0 ml、1 ml、2 ml、3 ml、4 ml、5 ml、6 ml 于 50 ml 容量瓶中,然后加入碳酸氢钠溶液(0.5 mol/L, pH 值 8.5) 10 ml,再加入钼锑抗试剂 5 ml,用

去离子水定容。以磷浓度为横坐标, OD_{700} 值为纵坐标绘制标准曲线。将解磷菌以 2% 接种量分别接种至 50 ml 的 NBRIP 和 Mongina 液体培养基中, 每株菌株 3 次重复, 以不接菌的培养基作为对照, 28 ℃, 180 r/min 培养 7 d 后测定发酵液 pH 值。同时将发酵液 10 000 r/min 离心 15 min, 取一定量上清液测定磷含量, 并分析磷含量与发酵液 pH 值的相关性。

1.5 16S rDNA 扩增及系统发育分析

用无菌牙签轻轻挑取单菌落, 置于 50 μ l 裂解 Buffer (TaKaRa 公司产品) 中, 80 ℃ 热变性 15 min, 然后低速离心 5 min。取 1~3 μ l 上清液用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATC-CTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3') 对分离物进行扩增。PCR 产物用限制性内切酶 *Msp* I 和 *Hae* III 酶切, 并进行图谱分析, 相同图谱选取 1~2 株代表性菌株由生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 测序结果提交 EZBioCloud 数据库比对, 通过 MEGA 6.0 软件, 用邻接法 (Neighbor-joining) 构建解磷菌株的系统发育树。

1.6 促生试验

1.6.1 种子催芽及接菌处理 拟南芥种子为哥伦比亚野生型, 消毒后用无菌牙签点播于花卉基质 (不含盐碱土壤) 育苗盘, 覆保鲜膜, 待种子发芽至两片嫩叶进行接种处理。分别选取解磷能力较强的前 5 株菌株, 接种于 LB 液体培养基, 培养温度 28 ℃, 180 r/min 振荡培养 36 h, 统一调整菌液 OD_{600} 为 0.8 (活菌数 1×10^9 CFU/ml), 分别接种菌株培养液、灭活的菌株培养液。每 8 d 灌根 1 次, 每次灌根菌液用量为 5 ml, 对照用等量无菌 LB 培养基灌根。每个处理 5 次重复。光照培养室参数设置为 25 ℃, 光照 14 h/黑暗 10 h, 定期补水并调换育苗盘位置, 以保证受光一致, 统一管理 32 d 后取样。测量相关指标, 分析解磷菌株对非盐碱胁迫下植株生长的影响。

将供试盐碱土壤与花卉基质按质量比 7:3 混匀, 高温灭菌后备用。供试小麦品种新冬 60 号系喀什地区主推小麦品种。将健康饱满的种子用 1% 的次氯酸钠浸泡 5 min, 经无菌水冲洗 5 次以上后平铺于湿润的滤纸上, 28 ℃ 催芽 48 h。挑选圆润饱满且芽长一致的种子, 每盆播种 9 粒种子, 同上述方法进行菌液灌根处理, 研究解磷菌株对盐碱土种植小麦的促生效应。

1.6.2 指标测定 随机抽取不同处理的拟南芥幼苗和小麦幼苗, 用卷尺测量株高, 游标卡尺测量茎粗; 将植株地上部分与地下部分分开, 用分析天平精确测量地上部分和地下部分鲜质量。植株经 105 ℃ 高温杀青 30 min 后烘至恒质量, 用分析天平测量地上部分干质量和地下部分干质量, 对拟南芥根系发育情况进行显微观察。采用 SPSS 21.0 和 Origin 8.5 软件对数据进行统计分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 解磷菌株的筛选及解磷能力测定

从旱生芦苇根际土壤中共筛选到 47 株解磷菌株, 其中 32 株能溶解无机磷, 溶磷量为 55.8~722.3 mg/L, 以菌株 PM-9 的解磷能力最强 (图 1A)。有 37 株菌可溶解有机磷, 溶磷量为 11.8~34.4 mg/L, 以菌株 PM-20 的解磷能力最强 (图 1B)。可溶解无机磷菌株的发酵液 pH 值为 4.24~7.46, 发酵液 pH 值与发酵液中可溶性磷含量呈显著负相关 ($R^2 = 0.830$, $P < 0.05$), 说明菌株溶解无机磷能力越强所产生的发酵液 pH 值越低。可溶解有机磷菌株的发酵液 pH 值为 6.04~6.89, 菌株溶解有机磷能力与发酵液 pH 值无明显相关关系。

2.2 25 株代表菌株 16S rDNA 序列分析及系统进化树构建

基于限制性酶切片长度多态性的分析结果, 共选取了 25 株代表菌株进行 16S rDNA 测序, 系统发育树如图 2 所示。所有菌株隶属于 7 个属, 以肠杆菌属 (*Enterobacter*) 为绝对优势属, 占总数的 60%。假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 有 3 株, 占总数的 12%。类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 各 2 株, 各占总数的 8%。芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、*Mammaliicoccus* 和 *Paeniglutamicibacter* 各 1 株, 各占总数的 4%。

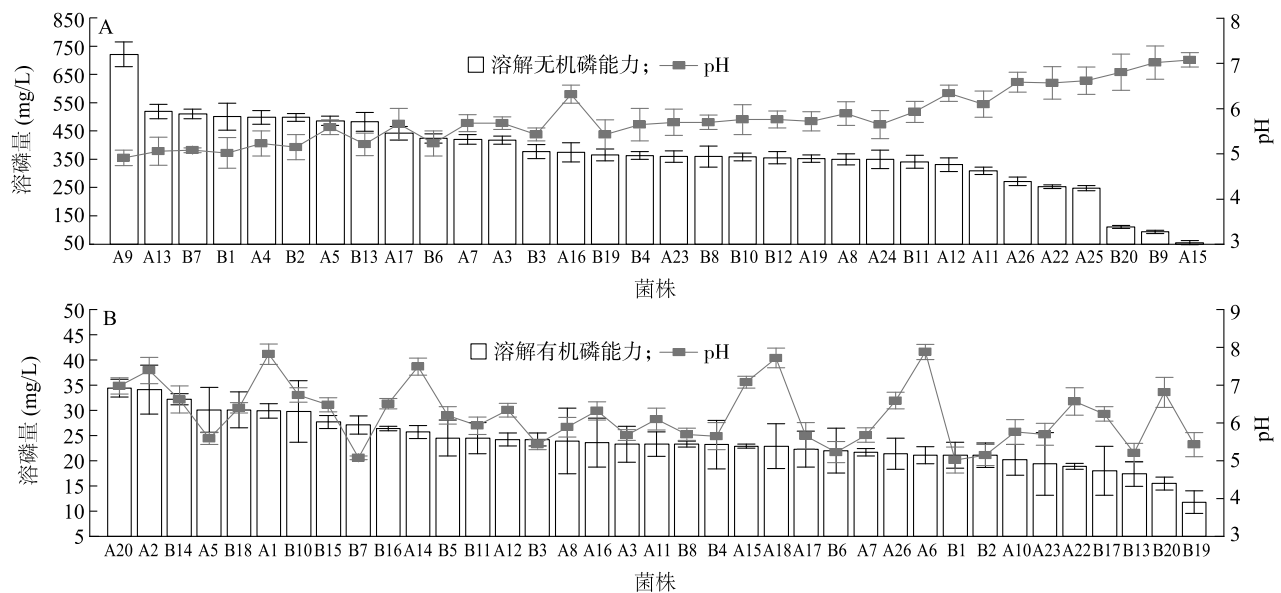
2.3 促生效果

2.3.1 溶解无机磷菌株对拟南芥的促生效果 相较于对照, 灭活的菌株培养液对拟南芥株高均无显著影响 ($P > 0.05$), 未灭活的菌株培养液使拟南芥株高显著提高 11.8%~28.1% ($P < 0.05$) (图 3)。接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-13、未灭活的 *Enterobacter* sp. PN-7 以及灭活的 *Enterobacter* sp. PM-13 培养液的拟南芥地上部分鲜质量显著高

于对照 ($P < 0.05$)。其中接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥地上部分鲜质量最大,相较于对照显著提高 62.4% ($P < 0.05$)。

接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PN-1、未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9、未灭活的 *Enterobacter* sp. PN-7、灭活的 *Pseudomonas* sp. PN-1 以及灭活的 *Enterobacter* sp. PN-7 培养液的拟南芥地上部分干质量显著高于对照 ($P < 0.05$)。在所有处理中,接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥地上部分干质量最大,相较于对照显著

提高 52.2%。接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PN-1、未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-13 培养液的拟南芥地下部分干质量显著高于对照 ($P < 0.05$)。在所有处理中,接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥地下部分干质量最大,相较于对照显著提高 36.0% ($P < 0.05$)。相比对照,接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥主根更发达,侧根数量明显增多(图 4)。总体而言,溶解无机磷菌株中未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液对拟南芥的促生效果更明显。



A9: 菌株 PM-9; A13: 菌株 PM-13; B7: 菌株 PN-7; B1: 菌株 PN-1; A4: 菌株 PM-4; B2: 菌株 PN-4; A5: 菌株 PM-5; B13: 菌株 PN-13; A17: 菌株 PM-17; B6: 菌株 PN-6; A7: 菌株 PM-7; A3: 菌株 PM-9; B3: 菌株 PN-3; A16: 菌株 PM-16; B19: 菌株 PN-19; B4: 菌株 PN-4; A23: 菌株 PM-23; B8: 菌株 PN-8; B10: 菌株 PN-10; B12: 菌株 PN-12; A19: 菌株 PM-19; A8: 菌株 PM-8; A24: 菌株 PM-24; B11: 菌株 PN-11; A12: 菌株 PM-12; A11: 菌株 PM-11; A26: 菌株 PM-26; A22: 菌株 PM-22; A25: 菌株 PM-25; B20: 菌株 PN-20; B9: 菌株 PN-9; A15: 菌株 PM-15; A20: 菌株 PM-20; A2: 菌株 PM-2; B14: 菌株 PN-14; B18: 菌株 PN-18; A1: 菌株 PM-1; B15: 菌株 PN-15; B16: 菌株 PN-16; A14: 菌株 PM-14; B5: 菌株 PN-5; A18: 菌株 PM-18; A6: 菌株 PM-6; A10: 菌株 PM-10; B17: 菌株 PN-17。

图1 发酵液中可溶性磷含量与 pH 值相关性

Fig.1 The correlation between soluble phosphorus content and pH value in fermentation broth

2.3.2 溶解有机磷菌株对拟南芥的促生效果 接种灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2 和 *Enterobacter* sp. PM-20 培养液的拟南芥株高与对照相比无显著差异 ($P > 0.05$), 其他处理拟南芥株高均较对照显著提高, 所有处理中接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 培养液的拟南芥株高最高, 相较于对照显著提高 46.7% ($P < 0.05$) (图 5)。接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-5 培养液的拟南芥

地上部分鲜质量显著高于对照 ($P < 0.05$), 其他处理拟南芥地上部分鲜质量和对照相比无显著差异 ($P > 0.05$)。所有处理中接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 培养液的拟南芥地上部分鲜质量最大, 相较于对照显著提高 58.2% ($P < 0.05$)。接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-5 培养液的拟南芥地上部分干质量显著高于对照 ($P < 0.05$), 其他处理拟南芥地上部分干质量和对照相比无显著差



PN-2; *Bacillus* sp. PN-2; PN-19; *Mammaliococcus* sp. PN-19; PM-1; *Paenibacillus* sp. PM-1; PN-18; *Paenibacillus* sp. PN-18; PN-14; *Paeniglutamicibacter* sp. PN-14; PN-17; *Acinetobacter* sp. PN-17; PM-23; *Acinetobacter* sp. PM-23; PN-15; *Pseudomonas* sp. PN-15; PM-22; *Pseudomonas* sp. PM-22; PN-1; *Pseudomonas* sp. PN-1; PN-3; *Enterobacter* sp. PN-3; PN-4; *Enterobacter* sp. PN-4; PN-9; *Enterobacter* sp. PN-9; PN-7; *Enterobacter* sp. PN-7; PM-5; *Enterobacter* sp. PM-5; PM-8; *Enterobacter* sp. PM-8; PM-2; *Enterobacter* sp. PM-2; PM-12; *Enterobacter* sp. PM-12; PM-13; *Enterobacter* sp. PM-13; PM-25; *Enterobacter* sp. PM-25; PN-5; *Enterobacter* sp. PN-5; PN-6; *Enterobacter* sp. PN-6; PN-8; *Enterobacter* sp. PN-8; PN-12; *Enterobacter* sp. PN-12; PM-9; *Enterobacter* sp. PM-9。

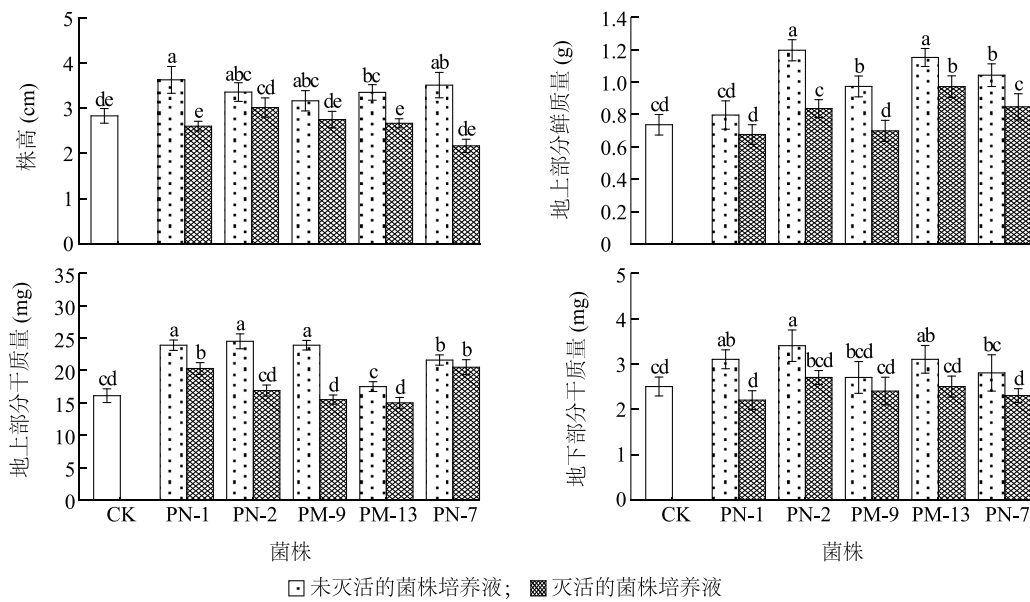
图 2 基于 16S rDNA 碱基序列的解磷菌菌株系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of phosphate solubilizing strains based on 16S rDNA base sequence

异($P>0.05$)。所有处理中接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 培养液的拟南芥地上部分干质量最

大,相较于对照显著提高 79.9% ($P<0.05$)。

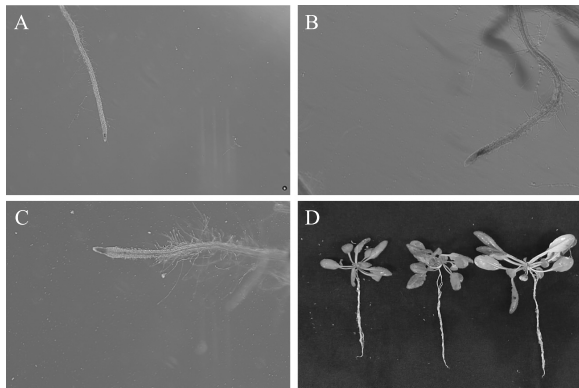
接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1、未灭活的



CK:对照,无菌 LB 培养基;PN-1、PN-2、PM-9、PM-13、PN-7 见图 2 注。不同柱上标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图 3 溶解无机磷菌株对拟南芥生长的影响

Fig.3 Effects of inorganic phosphorus-degrading bacteria on the growth of *Arabidopsis thaliana*



A:接种 LB 培养基的拟南芥根系显微图;B:接种灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥根系显微图;C:接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥根系显微图;D:从左到右分别为接种 LB 培养基、接种灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液、接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的拟南芥植株。

图 4 溶解无机磷菌株对拟南芥的促生作用

Fig.4 The growth-promoting effects of inorganic phosphorus-degrading bacteria on *Arabidopsis thaliana*

Enterobacter sp. PM-2、未灭活的 *Pseudomonas* sp. PN-14、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-5 和灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 培养液的拟南芥地下部分干质量显著高于对照($P<0.05$),其他处理拟南芥地下部分干质量和对照相比无显著差异($P>0.05$)。所有处理

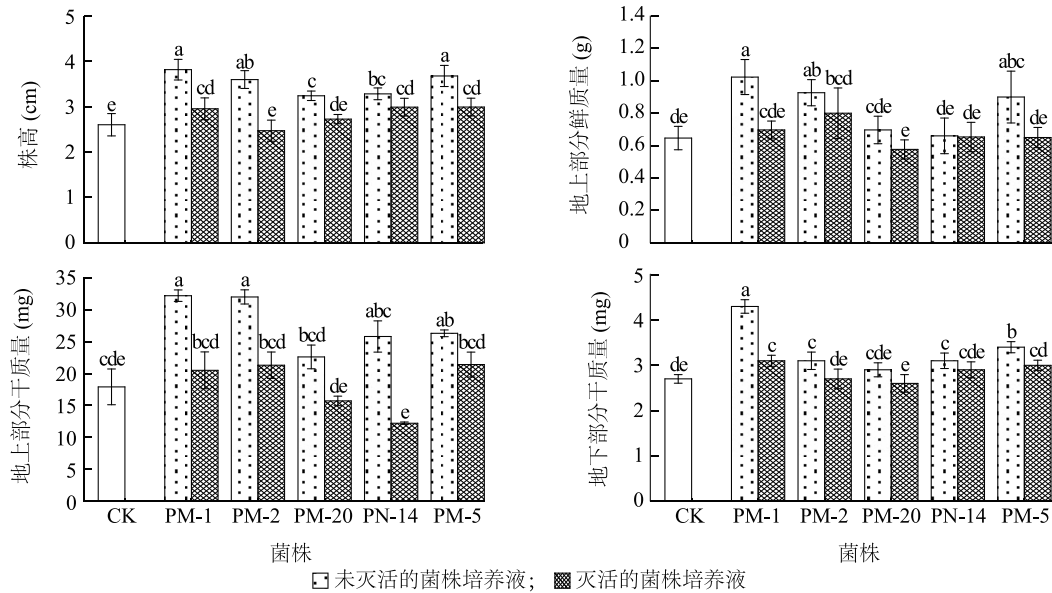
中接种未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 培养液的拟南芥地下部分干质量最大,相较于对照显著提高 59.3%($P<0.05$)。总体而言,溶解有机磷菌株中未灭活的 *Pseudomonas* sp. PM-1 对拟南芥的促生作用最明显,具有较大开发潜力。

2.3.3 溶解无机磷菌株对盐碱胁迫下小麦的促生效果 所有处理中,接种未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9 培养液的小麦地上部分鲜质量、株高、地上部分干质量、地下部分鲜质量、地下部分干质量最大(图 6、图 7)。接种未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9 培养液的小麦地上部分鲜质量较对照显著提高 40.3%($P<0.05$),株高较对照显著提高 18.1%($P<0.05$),地上部分干质量较对照显著提高 57.5%($P<0.05$),地下部分鲜质量较对照显著提高 39.0%($P<0.05$),地下部分干质量较对照显著提高 74.9%($P<0.05$)。接种未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的小麦茎粗最大,较对照显著提高 18.1%。总体而言,溶解无机磷菌株中 *Enterobacter* sp. PM-9 对盐碱胁迫下小麦的促生效果最佳。

2.3.4 溶解有机磷菌株对盐碱胁迫下小麦的促生效果 所有处理中,接种未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2 培养液的小麦地上部分鲜质量、地上部分干质量、茎粗、地下部分干质量最大(图 8)。接种未

灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2 培养液的小麦地上部分鲜质量较对照显著提高 34.7% ($P < 0.05$), 地上部分干质量较对照显著提高 74.4% ($P < 0.05$), 茎粗较对照显著提高 56.1% ($P < 0.05$), 地下部分干质量较对照显著提高 26.4% ($P < 0.05$)。接种未灭活的

Pseudomonas sp. PM-1 培养液的小麦地下部分鲜质量最大, 较对照显著提高 41.9%。接种未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-5 培养液的小麦株高最大, 较对照显著提高 71.9%。总体而言, 溶解有机磷菌株中未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-2 的促生效果更突出。



CK: 对照, 无菌 LB 培养基; PM-1、PM-2、PM-20、PN-14、PM-5 见图 2 注。不同柱上标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 5 溶解有机磷菌株对拟南芥生长的影响

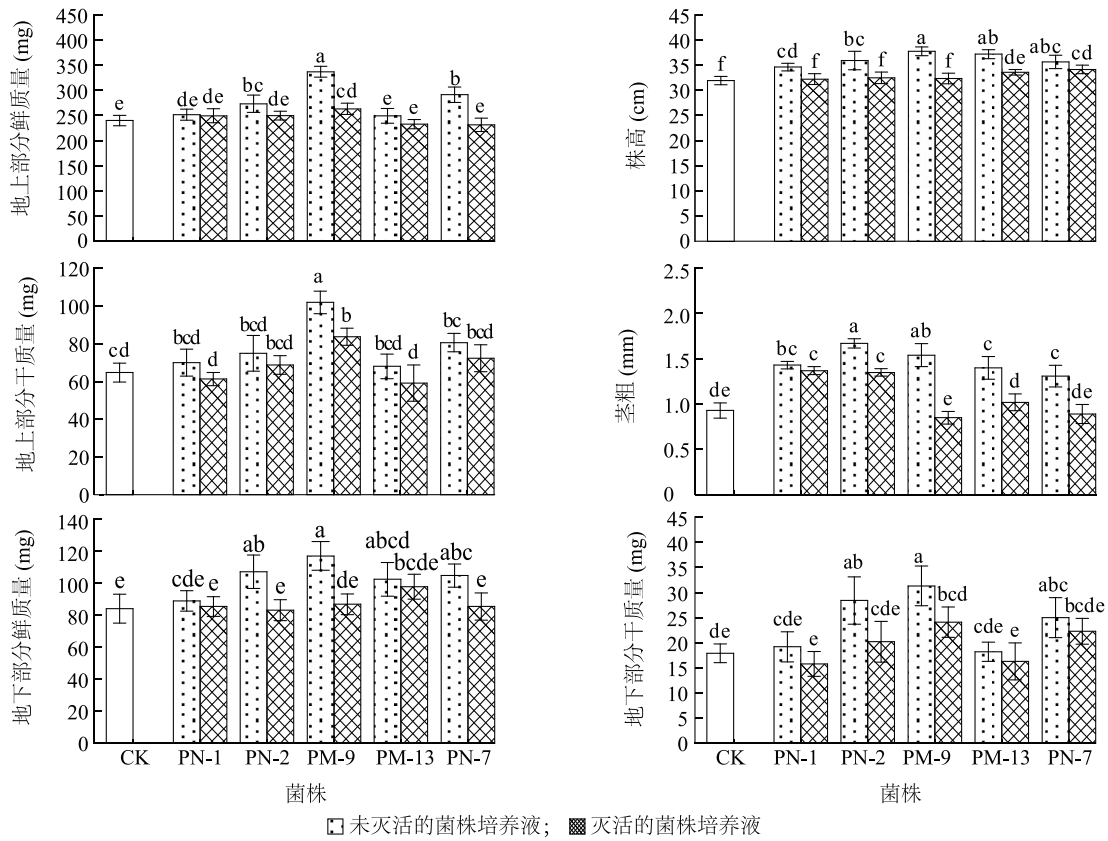
Fig.5 Effects of organic phosphorus-degrading bacteria on the growth of *Arabidopsis thaliana*

3 讨论

解磷菌的解磷活性对土壤磷素转化有重要意义, 但不同植物因根系分泌物、地理生境等的差异, 其根际微生物群落组成有较大差别, 这势必会影响解磷菌的遗传多样性。孟建宇等^[17]从内蒙古荒漠灌木根际土壤中分离的解磷菌分属 6 纲 21 属, 以 *Bacillus* 为优势菌属; 庄馥璐等^[11]从苹果根际土壤中分离的解磷促生菌主要属于 *Pseudomonas* 和 *Enterobacter*; 杜慧慧等^[18]从不同生境滇重楼根际土壤中筛选的解磷菌均属于 *Bacillus*。本研究从旱生芦苇根际土壤中分离出的解磷菌包括肠杆菌属、假单胞菌属、不动杆菌属和芽孢杆菌属等 7 个属, 以肠杆菌属占绝对数量优势, 反映出不同生境的植物根际蕴藏的解磷菌种群有较大差异。相似的土壤质地、气候条件等环境因素趋于塑造相近的微生物群落。许芳芳^[19]从内蒙古荒漠植物根际土壤中获得的耐

盐碱解磷菌优势属, 主要包括肠杆菌属、芽孢杆菌属和假单胞菌属; 柳鑫鹏等^[20]从松嫩平原盐碱土植物根际土壤中筛选的促生菌主要为不动杆菌属、假单胞菌属和肠杆菌属, 与本研究结果有相似之处。说明肠杆菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属和假单胞菌属等作为重要的解磷菌资源, 在荒漠盐碱土中广泛分布。

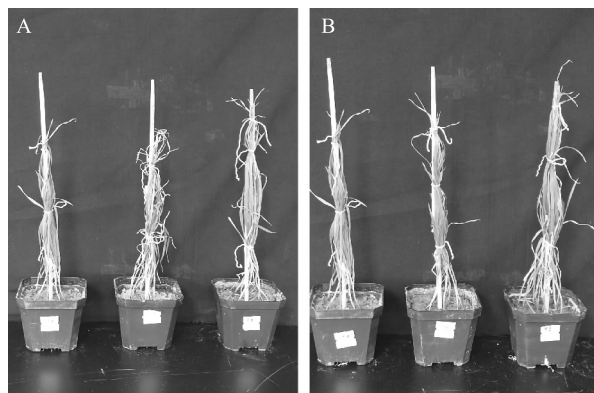
土壤速效磷含量是评价土壤供磷水平、确定磷肥用量、评估农田磷环境风险的重要指标, 但不同细菌种类溶解无机磷和矿化有机磷的能力差异较大。陈岩岩等^[21]分离自板栗根际土壤中的菌株 *Burkholderia cepacia* P6 能够溶解无机磷、有机磷的量分别为 75.98 mg/L、40.30 mg/L。骆韵涵等^[22]从红树林根际土壤中筛选出 2 株溶解无机磷菌 *Bacillus cepacia* NBRC14074 和 *Bacillus pumilus* ATCC7061, 溶磷量分别为 409.9 mg/L 和 90.79 mg/L。王艳霞等^[23]从田菁根际土壤中分离的肠杆菌 *Enterobacter*



CK: 对照, 无菌 LB 培养基; PN-1、PN-2、PM-9、PM-13、PN-7 见图 2 注。不同柱上标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 6 溶解无机磷菌株对盐碱胁迫下小麦生长的影响

Fig.6 Effects of inorganic phosphorus-degrading bacteria on the growth of wheat under saline-alkali stress



A 图中从左到右为接种 LB 培养基、灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液、未灭活的 *Bacillus* sp. PN-2 培养液的小麦; B 图中从左到右为接种 LB 培养基、灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9 培养液、未灭活的 *Enterobacter* sp. PM-9 培养液的小麦。

图 7 溶解无机磷菌株对小麦的促生作用

Fig.7 The growth-promoting effects of inorganic phosphorus-degrading bacteria on wheat

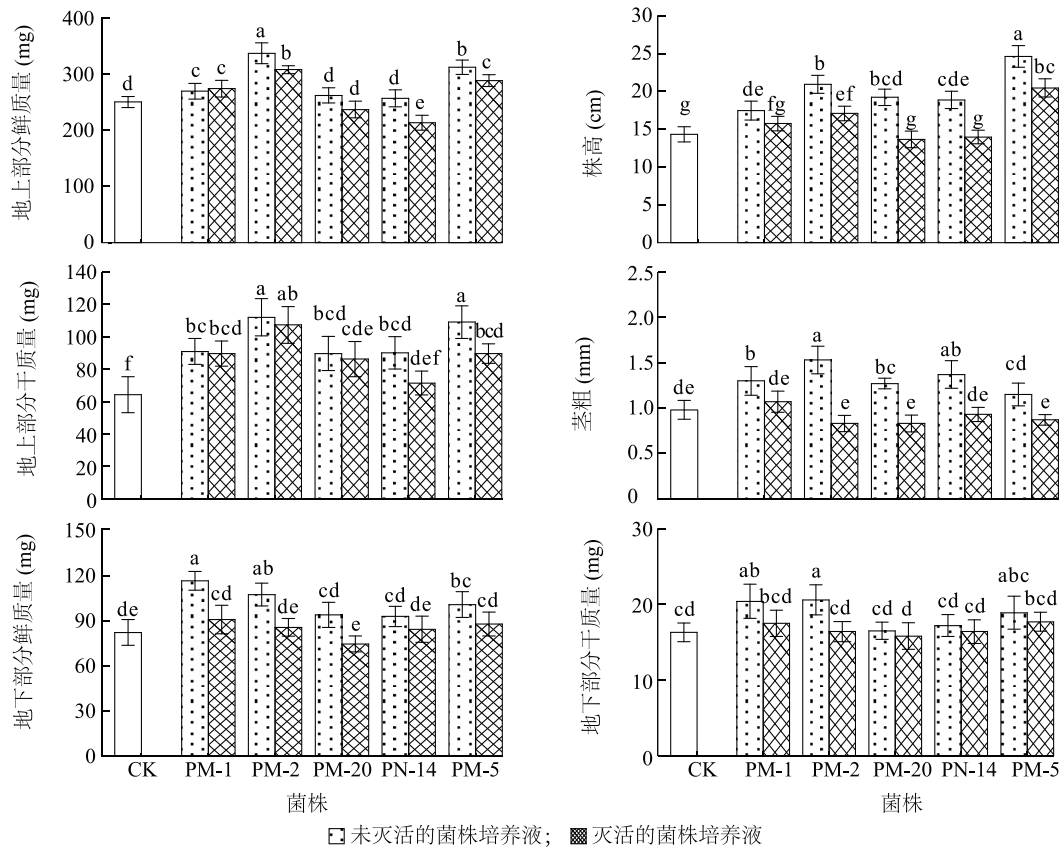
sp. N102 能够溶解无机磷和有机磷的量分别为

36.29 mg/L 和 1.23 mg/L。而本研究中有有机磷溶磷量超过 30 mg/L 的菌株有 5 株, 无机磷溶磷量超过 400 mg/L 的有 12 株, 与上述报道相比具有更高的解磷能力。此外, 本研究结果表明, 菌株培养液 pH 值与菌株溶解无机磷能力呈显著负相关, 与骆韵涵等^[22]的研究结果一致。有研究结果表明, 溶解无机磷菌株在培养过程中会产生多种有机酸, 导致培养液的 pH 值下降^[24]。因此推测本研究中解磷菌的溶磷过程中伴随有机酸的积累, 菌株通过酸化作用释放磷酸三钙中的磷元素。而盐碱土壤中, 解磷菌富集的有机酸能较好地降低盐碱土的 pH 值, 缓解高盐碱环境的胁迫。Al-enazy 等^[25]发现, 耐盐碱解磷菌菌剂配施磷石膏, 提高了碱化土壤质量, 土壤酶活和理化性质得到显著改善。而有机磷的矿化主要依靠菌株分泌胞外磷酸酶, 把有机磷水解为简单的无机磷酸盐来增加土壤中有效磷含量, 对土壤 pH 值影响相对较小。不足的是, 本研究目前仅通过盆栽试验评价了解磷微生物的生物学效应, 后期会进

一步考察其对土壤中磷素形态转化及植株磷素吸收的影响,为解磷菌改良盐碱土壤提供更多理论支持。

一般的解磷微生物虽具有促生特性,但耐盐碱能力有限,在高盐碱土壤中的存活力较低,严重影响了其促生能力的发挥。*Bacillus* sp.PN-2、*Paenibacillus* sp.PM-1 等对拟南芥表现出促生效应,进一步发现其对盐碱土种植的小麦也有促生作用,但能否最终实际应用到大田有待后续验证。由于本试验的供试土壤为事先灭菌的,最大程度排除了土壤中土著菌群、原生动物、线虫等因素的干扰,更能客观反映菌株对作物的促生作用。但是在野外田间条件下,

扰动微生物在根际定殖的因素错综复杂,涉及根系分泌物的种类和数量、植物生长状况、细菌营养型、趋化性及自我调节机制等。如马铃薯根系分泌物和酚酸能吸引萎缩芽孢杆菌 QHZ3 在根际定殖^[26],稗草根分泌物对根际微生物的定殖有选择性^[27],植物根系构型的改变可诱导不同种群的定殖^[28],根系生长速率影响假单胞菌的积累^[29]。此外,微生物的定殖与土壤温度、质地、含水量、含氧量等非生物因素也有密切关系^[30]。鉴于实验室与田间自然生境的巨大差异,考虑到后期的实际应用,追踪、比较解磷菌在控制条件及野外的定殖动态有重要意义。



CK:对照,无菌 LB 培养基;PM-1、PM-2、PM-20、PN-14、PM-5 见图 2 注。不同柱上标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图 8 溶解有机磷菌株对盐碱胁迫下小麦生长的影响

Fig.8 Effects of organic phosphorus-degrading bacteria on the growth of wheat under saline-alkali stress

盐碱化问题是制约新疆,乃至中国西北地区土地资源深度利用的重要限制因素^[31-32]。但在这类生境中却生长着抗逆性极强的植物种质,其以强悍的耐盐碱特性成为不同盐碱化地区的优势植被。其根际促生菌可释放多种信号分子来改变植物生理状态,增加对恶劣环境的抵抗力^[33-35]。因此,对盐碱

地土著植物根际土壤中解磷菌进行筛选,有助于发掘新的功能菌株资源,具有重要的经济和生态效益。此外有研究结果表明^[36],根际促生菌能介导根际环境中整个微生物群落结构,使其与植物形成良性互作关系,以此促进植物生长^[37]。芦苇的抗逆性强,在传统淡水作物无法生长的盐碱地上仍生长良好,

具有短期成型、快速成景、生物量高的优点,其广泛的适应性和强悍的抗逆性与根际促生菌的互作机制有待进一步探究。

4 结 论

本试验从新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州盐碱地旱生芦苇根际土壤中筛选出 47 株解磷细菌,其中溶解无机磷菌株 32 株,溶磷量为 55.8~722.3 mg/L,溶磷量与发酵液 pH 值呈显著负相关;溶解有机磷菌株 37 株,溶磷量为 11.8~34.4 mg/L。所有菌株隶属于 7 个属,以肠杆菌属 (*Enterobacter*) 占绝对优势。盆栽试验结果表明,解磷菌株对非盐碱胁迫下生长的拟南芥及盐碱胁迫下生长的小麦幼苗有促生作用,解磷菌株有效促进了拟南芥植株的生长和根系发育,以芽孢杆菌 *Bacillus* sp. PN-2 和类芽孢杆菌 *Paenibacillus* sp. PM-1 对非盐碱胁迫下拟南芥植株的促生作用最突出,以 *Enterobacter* sp. PM-9 和 *Enterobacter* sp. PM-2 对盐碱胁迫下小麦的促生作用最突出。本研究筛选出的解磷菌株在盐碱地植物促生方面具有一定应用潜力。

参考文献:

- [1] 徐冰石,陈伏生,张林平,等. 土壤产气肠杆菌的解磷特性及其对毛竹苗的促生作用[J]. 林业科学研究,2022,35(3):38-46.
- [2] LIU J, PENG J, XIA H, et al. High soil available phosphorus favors carbon metabolism in cotton leaves in pot trials[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2020, 40(3):974-985.
- [3] MEENA V, MEENA S K, VERMA J P, et al. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review[J]. Ecological Engineering, 2017, 107:8-32.
- [4] 都江雪,柳开楼,黄 晶,等. 中国稻田土壤有效磷时空演变特征及其对磷平衡的响应[J]. 土壤学报,2021,58(2):476-486.
- [5] LI H, LIU J, LI G, et al. Past, present, and future use of phosphorus in Chinese agriculture and its influence on phosphorus losses[J]. Ambio, 2015, 44(2):274-285.
- [6] 张艺灿,刘凤之,王海波. 根际溶磷微生物促生机制研究进展[J]. 中国土壤与肥料,2020(2):1-9.
- [7] RALIYA R, TARAFDAR J C, BISWAS P. Enhancing the mobilization of native phosphorus in the mung bean rhizosphere using ZnO nanoparticles synthesized by soil fungi[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(16):3111-3118.
- [8] JORQUERA M A, HERNÁNDEZ M T, RENGEL Z, et al. Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44(8):1025-1034.
- [9] 刘玲利,卫 迎,刘 洋,等. 不同解磷菌群对复垦土壤磷素形态及油菜产量的影响[J]. 华北农学报,2017,32(6):229-234.
- [10] 胡 倡,李慧明,伍 惠,等. 解磷菌和根瘤菌复合接种对大豆和紫云英共生固氮的影响[J]. 华中农业大学学报,2020,39(4):38-45.
- [11] 庄馥璐,柴小粉,高蓓蓓,等. 苹果根际解磷菌的分离筛选及解磷能力[J]. 中国农业大学学报,2020,25(7):69-79.
- [12] 贺帅兵,胡文革,靳希桐,等. 艾比湖湿地芦苇根际土壤氨氧化古菌的多样性和群落结构[J]. 微生物学报,2019,59(8):1576-1585.
- [13] 王 婷,李朝周,焦 健,等. 不同生境芦苇根茎生长发育与根际微环境的比较研究[J]. 干旱区研究,2021,38(1):233-240.
- [14] PARK J H, BOLAN N, MEGHARAJ M, et al. Concomitant rock phosphate dissolution and lead immobilization by phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter* sp.) [J]. Journal of Environmental Management, 2011, 92(4):1115-1120.
- [15] NATH D, MAURYA B R, MEENA V S. Documentation of five potassium-and phosphorus-solubilizing bacteria for their K and P-solubilization ability from various minerals[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017, 10:174-181.
- [16] 兰晓君. 六种甘肃乡土草根际促生菌资源筛选、评价及促生机理研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2020.
- [17] 孟建宇,李 蓓,杨鸿儒,等. 内蒙古荒漠灌木根际解磷菌多样性及其解磷和产铁载体能力[J]. 环境科学研究,2021,34(11):2714-2721.
- [18] 杜慧慧,朱芙蓉,杨 敏,等. 不同生境滇重楼根际解磷菌的筛选与鉴定[J]. 中国中药杂志,2021,46(4):915-922.
- [19] 许芳芳. 荒漠植物耐盐碱 PGPR 的分离筛选及其对盐胁迫下三种植物的促生效应和机理[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2017.
- [20] 柳鑫鹏,臧淑英,智 刚,等. 盐碱土耐盐碱细菌筛选及其植物促生能力研究[J]. 土壤通报,2022,53(3):567-576.
- [21] 陈岩岩,叶项宇,常肖锐,等. 板栗根际高效解磷菌的筛选[J]. 经济林研究,2021,39(2):132-139.
- [22] 骆韵涵,柯志滨,钟 超,等. 红树林土壤解磷菌的分离鉴定及解磷特性[J]. 中国环境科学,2020,40(6):2664-2673.
- [23] 王艳霞,解志红,张 蕾,等. 田菁根际促生菌的筛选及其促生耐盐效果[J]. 微生物学报,2020,60(5):1023-1035.
- [24] COLLAVINO M M, SANSBERRO P A, MROGINSKI L A, et al. Comparison of *in vitro* solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth[J]. Biology and Fertility of Soils, 2010, 46:727-738.
- [25] AL-ENAZY A A, AL-BARAKAH F, AL-OUED S, et al. Effect of phosphogypsum application and bacteria co-inoculation on biochemical properties and nutrient availability to maize plants in a saline soil[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2018, 64(10):1394-1406.
- [26] 陈兰兰,邱慧珍,董爱菊,等. 马铃薯根系分泌物及酚酸类物质

- 对萎缩芽孢杆菌促生菌株 QHZ3 趋化成膜的介导作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3642-3654.
- [27] 张 奇, 张清旭, 陈 尧, 等. 稗草根系分泌物诱导下水稻化感抑草潜力及根际土壤微生物多样性变化[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(4): 936-942.
- [28] HARDOIM P R, VAN-OVERBEEK L S, ELSAS J D V. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth [J]. Trends in Microbiology, 2008, 16(10): 463-471.
- [29] WATT M, MCCULLY M E, KIRKEGAARD J A. Soil strength and rate of root elongation alter the accumulation of *Pseudomonas* spp. and other bacteria in the rhizosphere of wheat [J]. Functional Plant Biology, 2003, 30(5): 483-491.
- [30] 孙 真, 郑 亮, 邱浩斌. 植物根际促生细菌定殖研究进展 [J]. 生物技术通报, 2017, 33(2): 8-15.
- [31] 何振嘉, 王启龙, 罗林涛, 等. 不同水稻品种在陕北盐碱地的适宜性[J]. 排灌机械工程学报, 2022, 40(8): 857-864.
- [32] 舒志万, 韩 睿, 王智博, 等. 盐碱土壤中嗜盐微生物促进植物生长与代谢调节研究进展[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(16): 27-36.
- [33] BERG M, KOSKELLA B. Nutrient-and dose-dependent microbiome-mediated protection against a plant pathogen [J]. Current Biology, 2018, 28(15): 2487-2492.
- [34] LI H, QIU Y, YAO T, et al. Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings [J]. Soil & Tillage Research, 2020, 199: 104577.
- [35] 孙韵雅, 陈 佳, 王 悦, 等. 根际促生菌促生机理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1203-1215.
- [36] RANA A, SAHARAN B, JOSHI M, et al. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat [J]. Annals of Microbiology, 2011, 61(4): 893-900.
- [37] 何宏涛, 王玉虎, 周洪友, 等. 番茄根际产生素菌株分离及其对番茄和马铃薯幼苗的促生作用[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(19): 219-225.

(责任编辑: 成纾寒)