

徐春英,邢芳芳,宋 涛,等. 1 株耐盐碱溶磷菌的溶磷特性及其促生效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):397-399.

1 株耐盐碱溶磷菌的溶磷特性及其促生效果

徐春英,邢芳芳,宋 涛,徐文凤,胡兆平,李新柱

(国家缓控释肥工程技术研究中心/山东金正大生态工程股份有限公司,山东临沂 276700)

摘要:对国家缓控释肥工程技术研究中心分离保藏的 1 株高效溶磷真菌 PFK 的耐盐碱性能及溶磷性能进行研究,并进行盐碱土盆栽试验,研究其在盐碱土中对小麦的促生作用。结果表明,PFK 菌株具有很强的降解无机磷能力,在以 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 为唯一磷源的无机磷培养基中培养 7 d 时,水溶磷含量达到 892.86 mg/L,为对照组的 89.60 倍;pH 值 ≤ 9 的条件对 PFK 菌株降解无机磷的能力影响不大;PFK 菌株在含 10% NaCl 的 PDA 培养基中仍可生长。盆栽试验结果表明:接种解磷真菌 PFK 的处理组小麦的茎粗、株高、根长、鲜干质量显著高于对照组,因而推断 PFK 菌株具有一定的促生作用。

关键词:溶磷菌;耐盐碱;促生效果

中图分类号:S156.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-15182302(2014)07-0397-03

盐碱土是盐土和碱土的总称,大多是由于农田的不合理灌溉以及化肥的过度使用而使土壤受到破坏、植被的生长受到抑制、土地盐碱化加剧而造成的。由于盐碱土的有机质含量少,土壤盐渍化严重,肥力低,理化性状差,普遍缺磷少氮,对作物有害的阴、阳离子较多,导致其中生长的作物不易出苗。中国盐碱土的分布比较广,可开展农业利用的盐碱土地面积近 130 万 hm^2 ,占中国耕地面积的 10% 以上,开发潜力巨大。随着人口膨胀以及耕地面积的减少,盐碱地的治理和改良也越来越受到人们的重视。这方面主要包括工程改良、化学改良及生物改良^[1]。工程改良短期效果明显,但工程投入大;化学改良见效比较快,但成本很高,而且副作用明显。因此,人们的观点逐步转向利用生物措施来治理盐碱地,并且认识到筛选利用耐盐耐碱菌种的重要性,目前大多数研究集中在利用微生物肥料进行盐碱土的改良,其中解磷微生物肥料的应用为研究热点。微生物的解磷作用能够将难溶性磷酸盐转化为水溶性磷,从而有效增加土壤中速效磷的含量,产生有机酸和活性酶类,促进植物的生长^[2]。本研究从生态工程学和盐碱地生态修复的角度出发,利用筛选出的高效溶磷菌株

PFK 进行耐盐碱试验研究,并利用其耐盐、耐碱及高效溶磷特性制备成生物菌剂,用于促进盐碱地植物的生长,以期对盐碱地的改良探索出一条新途径。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

菌株 PFK 由国家缓控释肥工程技术研究中心实验室分离并保藏于同单位的菌种保藏中心。

1.2 培养基

PDA 培养基(1 L):200 g 马铃薯,20 g 葡萄糖,18 g 琼脂,1 000 mL 蒸馏水,自然 pH 值。盐浓度梯度培养基(1 L):200 g 马铃薯,20 g 葡萄糖,1 000 mL 蒸馏水;按比例配制 800 mL 并分装至 8 个 300 mL 三角瓶中,装液量 100 mL,再分别加入 0、1、2、3、4、6、8、10 g 氯化钠,自然 pH 值。

无机磷液体培养基(1 L):10.0 g 葡萄糖,0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,0.3 g NaCl,0.3 g KCl,0.3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.03 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.03 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,5 g $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$,1 000 mL 蒸馏水,pH 值 7.0~7.2,120 °C 高压灭菌 20 min。

碱浓度梯度无机磷液体培养基:140 g 马铃薯,14 g 葡萄糖,700 mL 蒸馏水,分装至 7 个 300 mL 三角瓶中后,分别调节 pH 值为 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0。

1.3 小麦盆栽试验

1.3.1 供试土壤 试验在笔者所在单位的温室试验基地内进行,土样为山东省东营地区的盐碱土,其基本组分为 0.70% 有机质,1 015.1% 全氮,950 mg/kg 全磷,

收稿日期:2013-10-28

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAD11B02)。

作者简介:徐春英(1985—),女,山东菏泽人,硕士,工程师,主要从事新型肥料的研发及其施肥研究。Tel:(0539)7198803;E-mail:xuchunying508@126.com。

通信作者:宋涛,男,山东潍坊人,博士,工程师,主要从事新型肥料的研发及其施肥研究。E-mail:songtao@kingenta.com。

[12]马 闯,高 定,陈同斌,等. 新型调理剂 CTB-2 污泥堆肥的氧气时空变化特征研究[J]. 生态环境学报,2012,21(5):929-932.

[13]马 闯,李明峰,赵继红,等. 通风策略对废弃物好氧堆肥的影响综述[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):350-353.

[14]Schloss P D,Chaves B,Walker L P. The use of the analysis of variance to assess the influence of mixing during composting[J]. Process Biochemistry,2000,35(7):675-684.

[15]郑卫聪,王 俊,王晓明,等. 不同堆置措施对园林有机废弃物堆肥有机物降解的影响[J]. 华南农业大学学报,2012,33(1):28-32.

[16]Saidi N,Kouki S,M'hiri F,et al. Microbiological parameters and maturity degree during composting of *Posidonia oceanica* residues mixed with vegetable wastes in semi-arid pedo-climatic condition[J]. Journal of Environmental Sciences - China,2009,21(10):1452-1458.

283.18 mg/kg 速效钾, pH 值 8.81。

1.3.2 供试作物 供试作物种子为小麦, 从当地种子站购得, 为当地常用品种。

1.3.3 供试肥料 解磷微生物菌剂为 PFK 菌株扩繁、干燥、粉碎后的菌剂; 氮肥、钾肥是根据需要自行调配而成的, 按氮含量 225 kg/hm²、氮: 磷: 钾 = 2: 0: 1 的比例添加尿素和氯化钾。

1.4 试验方法

1.4.1 试验菌株在液体培养基中解磷能力的测定 取斜面保藏的试验菌株, 接种于 PDA 培养基斜面, 在 28 ℃ 条件下活化培养 3 d, 制备孢子悬浮液, 等量接种于无机磷液体培养基中, 于 28 ℃、120 r/min 条件下培养, 每隔 1 d 用钼蓝比色法测定培养液中的可溶性磷含量, 连续测定, 以确定试验菌株对难溶无机磷的分解情况。

1.4.2 试验菌株耐盐、碱能力的测定 取斜面保藏的试验菌株, 接种于 PDA 培养基斜面上, 于 28 ℃ 活化培养 3 d, 制备孢子悬浮液, 等量接种于不同 pH 值的无机磷液体培养基和不同 NaCl 浓度的 PDA 液体培养基中, 于 28 ℃、120 r/min 条件下培养 7 d, 过滤洗涤菌丝体, 烘干称重, 确定试验菌株在不同 pH 值、NaCl 浓度条件下的生长、溶磷情况。

1.4.3 盆栽试验设计 试验设表 1 中 3 个处理, 每个处理 3 个重复, 每盆装土 2 kg, 氮肥、钾肥的施用量共为 1 350 kg/hm², 全部肥料作为基肥一次性施入土壤。每盆均播种 10 株以上的小麦种子, 于 2013 年 4 月 7 日播种, 2013 年 5 月 7 日收获, 共 30 d; 小麦长出 2 张针叶后间苗定植, 每盆 2 株, 于收获时测定茎粗、株高、鲜质量、根长, 烘干后称干质量。

表 1 施肥方案

处理	施肥方法	用量 (g/kg)
对照(CK)	不施肥, 不加菌剂	0
T ₁	2% 解磷微生物菌剂	1.2
T ₂	氮肥、钾肥 + 2% 解磷微生物菌剂	1.2

1.4.4 指标测定及数据分析 无机磷的测定: 将 PFK 菌株接种到无机磷液体培养基中, 对照组中接入灭活菌液, 于 28 ℃、120 r/min 条件振荡培养, 每隔 1 d 取 1 个摇瓶, 离心后取上清液, 用钼锑抗比色法测定培养基中的有效磷含量^[3]。在小麦的苗期(30 d)调查茎粗(第 2 节位)、株高、根长, 然后取小麦地上部分称鲜质量、烘干后的干质量。试验数据采用 Excel 处理, 用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 菌株 PFK 液体解磷能力的测定结果

由图 1 可以看出, 菌株 PFK 具有很强的分解难溶无机磷 Ca₃(PO₄)₂ 的能力, 并且含解磷细菌培养基中的水溶性磷含量呈现 S 形曲线变化; 在整个培养过程中, 第 3 天的分解速度最快, 培养基中的水溶磷含量由 278.4 mg/L 升至 633.5 mg/L; 水溶磷含量在第 5 天达到最大值 935.4 mg/L, 是对照组(对照组水溶磷含量 9.966 mg/L)的 93.86 倍, 之后解磷速度变缓; 继续培养发现, 6 d 时有效磷含量有所减少, 以后几天有效磷又有所增加, 培养 7 d 时, 水溶磷含量为 892.86 mg/L, 为对照

的 89.60 倍。由图 1 还可以看出, 随着溶磷量的增加, pH 值呈现逐渐降低的趋势, 培养液的 pH 值在开始 3 d 内大幅度下降, 5 d 以后 pH 值的变化波动很小, 至第 8 天, 培养基 pH 值降至最低, 为 1.87。培养液 pH 值在第 4 天达到了相对较低点, 而速效磷含量在第 5 天才达到最高值, 说明溶磷效果与 pH 值间存在滞后现象。

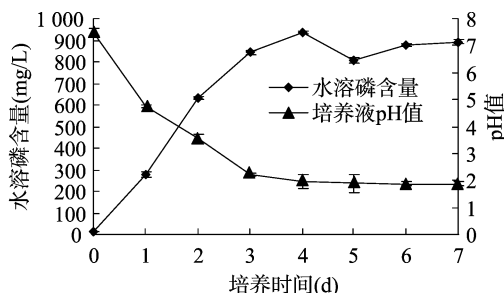


图1 菌株PFK对无机磷的降解效果及发酵液的pH值变化

2.2 菌株 PFK 的耐盐、碱能力测定结果

从图 2 可以看出, 菌株 PFK 在不含 NaCl 的溶液中生长最旺盛, 培养 7 d 后菌丝干质量最大, 可达 7.6 mg/mL。在含有 NaCl 的培养基中, 菌体的生长情况随着 NaCl 浓度的升高而降低, 高浓度的 NaCl 对 PFK 菌株不会产生致死作用, 但会抑制其生长; 试验用 10% NaCl 培养液培养菌株后, 得到菌丝体干质量为 2.7 mg/mL, 生长量为不加 NaCl 的 36%。从发酵液的 pH 值来看, 添加不同比例的 NaCl 对发酵液 pH 值影响较大; 随着氯化钠加入量的增大, pH 值呈直线升高趋势, 当 NaCl 添加量为 0 时, 培养液的 pH 值最低, 为 2.4; 当 NaCl 添加量升高到 10% 时, 发酵液的 pH 值为 4.2, 可能是高盐浓度使菌体生长受抑制, 代谢过程受到影响。

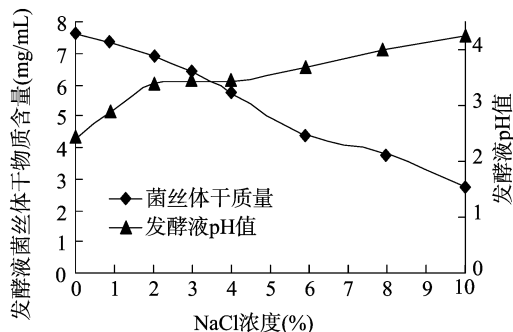


图2 菌株PFK在不同NaCl浓度条件下的生长量及pH值变化

测定菌株 PFK 的耐碱能力及其在碱性条件下的溶磷效果, 设置不同 pH 值梯度的无机磷培养基进行接种培养。由图 3 可以看出, 菌株 PFK 在 pH 值 6.0~9.0 的范围内生长比较稳定, 培养液中菌丝体干质量维持在 7.5~7.8 mg/mL 之间, 说明碱性环境对菌株 PFK 的生长量无影响。由图 3 还可以看出, 菌株 PFK 在 pH 值 6.0~9.0 的范围内溶磷量稳定, 不同 pH 值梯度条件下培养液的水溶性磷含量为 (0.885 ± 0.02) g/L, 说明 pH 值 ≤ 9.0 的碱性环境对该菌株的溶磷能力没有影响。

2.3 PFK 菌剂对小麦苗期生长的促进作用

表 2 结果表明, 单独添加 PFK 菌剂的每个处理样在接种解磷真菌后, 小麦的茎粗、株高、根长、鲜质量、干质量分别较

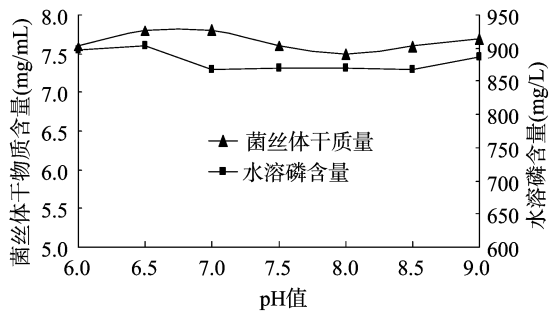


图3 菌株PFK在不同pH值条件下的生长量及解无机磷能力

表 2 不同处理对小麦苗期生长的影响

处理	茎粗 (mm)	株高 (cm)	根长 (cm)	鲜质量 (g)	干质量 (g)
对照(CK)	2.88 ± 0.08b	27.78 ± 1.30b	10.38 ± 0.91b	7.94 ± 0.10c	0.42 ± 0.05c
T ₁	3.10 ± 0.28ab	32.33 ± 0.27a	13.26 ± 0.45a	9.54 ± 0.32b	0.55 ± 0.01b
T ₂	3.53 ± 0.13a	32.96 ± 0.96a	13.27 ± 0.23a	11.27 ± 0.26a	0.62 ± 0.02a

注:同列数字后标有不同字母者表示差异显著($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

石灰性土壤中富含石灰质,但是可溶性磷含量比较低,使用磷肥后大部分磷与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 等结合形成难溶性磷酸盐而不能被植物吸收利用,尤其是在石灰性土壤中,磷被固定得速度更快,因此在石灰性土壤中磷的利用率更低^[4]。研究发现,微生物对土壤中磷的转化起关键作用^[5],有益微生物在其生命活动过程中能产生大量有机酸,不断释放出土壤中的迟效态氮磷钾,能有效改善土壤的理化性质,提高土壤肥力,这些因素都会对盐碱地种植作物和改良盐碱土起到一定的积极作用,因此研究利用生物肥改良、利用盐碱土具有重要的意义^[6-7]。严慧峻等认为,施用微生物复混肥可以明显增加土壤细菌数量,降低土壤容重、含盐量和白菜中硝酸盐含量,提高白菜可溶性糖的含量,对白菜产量的提高也有一定作用^[8]。逢焕成等认为,施用微生物菌剂明显改善了土壤营养与环境状况,有利于土壤中钾细菌、枯草芽孢杆菌的生长繁殖,有利于提高土壤有机质、速效磷、速效钾的含量,一定程度增加土壤碱解氮含量,降低土壤 pH 值,加速淋盐,抑制返盐,降低土壤表层盐分含量,促进玉米株高、叶片数的增加和地上部分干物质的积累^[9]。

本研究通过对菌株 PFK 的 pH 值、解磷转化率的动态研究发现,PFK 溶磷菌具有较强的降解难溶性无机磷 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的能力,在无机磷液体培养基中培养 6 d 时,无机磷浓度达到 886.2 mg/L, pH 值达到 1.87, pH 值与解磷量关系密切。通过设置不同的 pH 值梯度、NaCl 浓度梯度对 PFK 的耐盐碱性能进行的研究发现,PFK 具备很强的耐碱性能,当 pH 值达到 9.0 时,其生长量、解磷能力均不受影响,PFK 的生长受盐离子浓度影响较大,随着离子浓度的升高生长量逐渐降低,当培养液中 NaCl 浓度达到 10% 时仍能生长,但生长量

对照(CK)增加 7.64%、16.38%、27.75%、20.15%、30.95%;当 PFK 菌剂与氮肥、钾肥共同施用后,小麦的茎粗、株高、根长、鲜质量、干质量分别较 CK 增加 22.57%、18.65%、27.84%、41.94%、47.62%,且单独接种 PFK 菌的处理与 CK 之间有显著差异(除茎粗外),说明试验条件下 PFK 解磷菌剂与化学磷肥具有相同的效果,也可显著提高小麦苗的各项生理指标;由表 2 还可见,将 PFK 菌剂与氮肥、钾肥一同施入土壤时,小麦的茎粗、株高、根长、鲜质量、干质量显著增加。由此可见,PFK 菌剂能将东营盐碱土中的固态磷转化为植物可以直接吸收利用的有效磷,从而有助于节约磷源,大大促进植株生长。

很小。小麦盆栽试验表明:PFK 菌剂对盐碱土上小麦的生长有促进作用。添加 PFK 菌剂能使小麦茎粗、株高和根长都显著增加,鲜质量、干质量分别增产 20.15%、30.95%;添加 2% PFK 菌剂和氮肥、钾肥的增产效果最好,鲜质量、干质量分别增产 41.94%、47.62%,与空白对照处理相比差异极显著。总体来看,PFK 菌剂在低肥力和盐渍化土壤中表现出较好的效果,其具体机制还有待于进一步研究,对于 PFK 在盐碱土的改良中的推广还需要深入系统地探索。

参考文献:

[1] 闫治斌,秦嘉海,王爱勤,等. 盐碱土改良材料对草甸盐土理化性质与玉米生产效益的影响[J]. 水土保持通报,2011,31(2):122-127.
[2] Navarro - Noya Y E, Hernández - Mendoza E, Morales - Jiménez J, et al. Isolation and characterization of nitrogen fixing heterotrophic bacteria from the rhizosphere of pioneer plants growing on mine tailings [J]. Applied Soil Ecology, 2012, 62: 52-60.
[3] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000:179-180.
[4] 朱培森,杨兴明,徐阳春,等. 高效解磷细菌的筛选及其对玉米苗期生长的促进作用[J]. 应用生态学报,2007,18(1):107-112.
[5] 杨宁,张荣标,张永春,等. 基于微生物生态效益的土壤肥力综合评价模型[J]. 农业机械学报,2013,44(5):108-112.
[6] 刘长霞,谭天伟,翟洪杰. 盐碱条件对真菌解磷能力的影响[J]. 微生物学通报,2003,30(5):69-72.
[7] 向文良,冯玮,郭建华,等. 一株解磷中度嗜盐菌的分离鉴定及解磷特性分析[J]. 微生物学通报,2009,36(3):320-327.
[8] 严慧峻,逢焕成,李玉义,等. 微生物复混肥对盐碱土及白菜品质改良的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(12):270-273.
[9] 逢焕成,李玉义,严慧峻,等. 微生物菌剂对盐碱土理化和生物性状影响的研究[J]. 农业环境科学学报,2009,28(5):951-955.