

管国强,李 倩,季蓉蓉,等. 1 株溶磷细菌 P0417 的溶磷机制[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):432-435.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.134

1 株溶磷细菌 P0417 的溶磷机制

管国强,李 倩,季蓉蓉,陈 菊,钱静亚,黄达明

(江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江 212013)

摘要:以 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 为磷源,研究溶磷细菌伯克霍尔德氏菌 P0417 产生的有机酸和磷酸酶对其溶磷效果的影响,探讨溶磷细菌 P0417 的溶磷机制。结果发现,溶磷细菌 P0417 液体摇瓶培养 5 d 后,溶磷量达 $503.53 \mu\text{g/mL}$;溶磷细菌 P0417 产生的有机酸包括草酸、酒石酸、苹果酸、丙酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸,浓度总量达 420.59 mg/L ;有机酸的溶磷量为 $493.89 \mu\text{g/mL}$,磷酸酶粗酶液的溶磷量为 $18.37 \mu\text{g/mL}$ 。结果表明,溶磷细菌 P0417 的溶磷机制主要是通过分泌有机酸进行溶磷的。

关键词:溶磷细菌;机制;有机酸;磷酸酶

中图分类号: Q935 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0432-03

磷在农业中起重要的作用,但也是农业生产中重要的限制因素之一。磷在土壤中的存在形式主要以难溶性磷酸盐为主,不易被作物吸收,因此无法满足一般作物的生长需求。在碱性土壤中,难溶性磷盐主要为 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$,酸性土壤中主要的磷盐为 FePO_4 、 AlPO_4 ^[1-2]。土壤中的一些微生物具有溶解难溶性磷酸盐的活性,主要包括细菌、真菌、放线菌等^[3]。不同的微生物溶磷能力有较大的差异,其溶磷量在 $142.1 \sim 643.2 \mu\text{g/mL}$ 之间^[4-6]。土壤溶磷微生物不仅可以提高植物对磷的利用效率,改善植物营养条件,增加抗病能力^[7];而且还可以改善土壤结构,提高有机质含量,改良盐碱地,对培育和充分发挥土壤生态肥力、保持农业生态环境的平衡等均具有极其重要的作用^[8]。

有关溶磷微生物的研究和应用已有多,但其溶磷机理还不十分清楚,从而极大地限制了溶磷微生物的生产应用^[9]。笔者所在的课题组前期已经从桂花树根际土壤中筛选出 1 株具有溶磷功能的细菌,经鉴定为德克霍尔德氏菌 P0417,本研究从该溶磷菌对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的溶磷作用出发,探讨溶磷菌产生的有机酸和磷酸酶对溶磷量的影响,完善溶磷菌的溶磷机理,为提高溶磷菌对难溶性磷的利用效率、开发溶磷微生物肥料等提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

菌株 P0417 由笔者所在的实验室自行筛选,鉴定为德克霍尔德氏菌。

1.2 培养基

PKO 培养基:10 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$,10 g 葡萄糖,0.3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.3 g NaCl ,0.3 g KCl ,0.03 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.03 g

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,pH 值 7.0~7.2,1 000 mL 水。 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 单独灭菌后加入。

1.3 主要试剂及配制方法

供液相分析用有关试剂均为分析纯,流动相水为娃哈哈纯净水。

供液相分析用标准样品的配制:0.01 mg/mL 酒石酸,0.1 mg/mL 草酸,0.005 mg/mL 苹果酸,0.02 mg/mL 柠檬酸,0.000 5 mg/mL 乙酸,0.01 mg/mL 丙酸,0.002 5 mg/mL 琥珀酸。

改进的通用缓冲试剂(MUB)储备液的配制:12.1 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris),11.6 g 顺丁烯二酸,7 g 柠檬酸和 6.3 g 硼酸于 488 mL 1 mol/L NaOH 溶液中,用水稀释至 1 L,储存于冰箱中。

改进的通用缓冲试剂(MUB)的配制:取 200 mL MUB 储存液于 500 mL 烧杯中,用 0.1 mol/L HCl 滴定到溶液中使 pH 值为 6.5,再用水定容至 1 L。用 0.1 mol/L NaOH 滴定另一份 200 mL MUB 储备液使其 pH 值为 11,然后用水定容至 1 L。

0.025 mol/L 对硝基苯磷酸二钠溶液的配制:溶解 0.630 g 对硝基苯磷酸二钠于 40 mL 改进的通用缓冲液中,缓冲液 pH 值为 6.5 时用于检测酸性磷酸酶,pH 值为 11 时用于检测碱性磷酸酶,用相同 pH 值的 MUB 储备液将溶液稀释到 50 mL,放置冰箱中,现配现用。

1.4 有机酸的测定

液相色谱分离条件:色谱柱为 Hypersil C_{18} (250 mm × 4.6 mm);流动相为 0.02 mol/L KH_2PO_4 缓冲溶液—甲醇溶液(98%:1%),用 1 mol/L 磷酸调节 pH 值至 2.6,紫外检测波长 210 nm;进样量 10 μL ,流速 0.5 mL/min,柱温为室温。

1.4.1 有机酸标准品的定性定量测定 将 7 种有机酸标准品按上述色谱分离条件在高效液相色谱上样,分别得出其出峰时间。并将不同浓度的有机酸标准液进样,以峰面积为纵坐标,以有机酸浓度作为横坐标绘制标准曲线对其定量分析。

1.4.2 发酵液中有机的定性定量测定 将菌株用 LB 液体培养基制成菌悬液(浓度约为 10 亿个/mL,即波长 600 nm, D 值 1.0),按菌悬液与 PKO 液体培养基比例为 1:100 接种,

收稿日期:2014-10-11

作者简介:管国强(1975—),男,安徽巢湖人,讲师,主要从事生物反应器及发酵工艺研究。E-mail:guoqianguan@126.com。

通信作者:黄达明,教授,主要从事农产品生物转化及综合利用研究。E-mail:damingh@163.com。

即每 100 mL 培养基接菌悬液 1 mL,以不接菌空白 PKO 液体培养基为对照,在 28 ℃、150 r/min 条件下摇床培养 120 h。取发酵液 2 mL,10 000 r/min 离心,再经 0.22 μm 滤膜真空抽滤后上液相色谱,将其图谱与标准样品图谱进行比对。

1.4.3 有机酸对磷酸钙的溶解作用 人工模拟配制菌株 P0417 发酵产生的有机酸,即向与发酵液相同浓度的有机酸混合溶液加入与培养基同质量的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 于三角瓶中,与接菌的培养基在相同条件下培养 120 h,做 3 组平行试验,以不加有机酸溶液为空白对照组,测定溶磷量^[10-11]。

1.5 磷酸酶活性测定

1.5.1 发酵液中磷酸酶活性的测定^[12] 标准曲线的绘制:取 6 支试管,依次吸取 1 g/L 标准对硝基酚溶液 0、1、2、3、4、5 mL 分别装于试管中,用无菌水定容至 5 mL,在每个试管中再加入 1 mL 0.5 mol/L 氯化钙和 4 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠,振荡后过滤,测定 420 nm 条件下滤液吸光度。以 1 h 1 L 发酵液中作用于底物并释放出产物的微摩尔数称为 1 个酶活力单位,记为 μmol/(L·h)。

吸取 1 mL 发酵液,加入 4 mL pH 值为 6.5 的 MUB,再加 1 mL 0.025 mol/L 对硝基苯磷酸二钠溶液,振荡几秒钟。塞住瓶塞,37 ℃ 条件下培养 1 h 后,加入 1 mL 0.5 mol/L 氯化钙和 4 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠,振荡后用折叠滤纸过滤悬液。将澄清滤液在 420 nm 比色。此为酸性磷酸酶活性测定方法,碱性磷酸酶时所用 MUB 试剂 pH 值为 11。

1.5.2 发酵液中磷酸酶对磷酸钙的溶解作用

1.5.2.1 磷酸酶粗酶液的制备及分离纯化 按“1.4.2”节的方法接菌振荡培养 72 h,并参照黄毅等的方法^[13-14]略加修改,取发酵液过滤后滤液在 4 ℃、12 000 r/min 条件下离心 20 min,收集上清液;向其中加入硫酸铵至 40% 饱和度,4 ℃ 静置 3 h 后,4 ℃、12 000 r/min 条件下离心 30 min,收集上清液;再向其加入硫酸铵至 70% 饱和度,4 ℃ 条件下盐析 3 h 后,在 4 ℃、12 000 r/min 条件下离心 30 min,收集沉淀;沉淀用含 0.5 mol/L NaCl 的 0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 值为 8.6)溶解后超滤,滤管通过离心力使有机酸等小分子通过,大分子蛋白截留得到粗酶液。

1.5.2.2 粗酶液对磷酸钙的溶解作用 加入 1% 磷酸钙到粗酶液中,测定溶磷量。

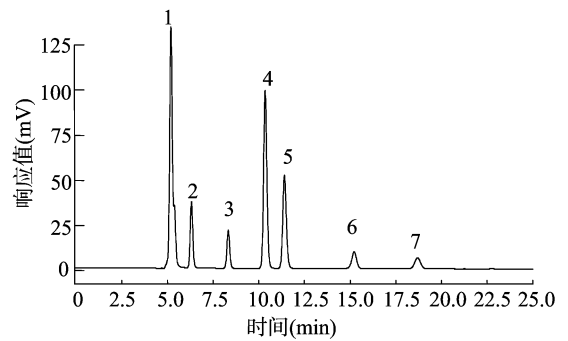
2 结果与分析

2.1 溶磷细菌分泌产生的有机酸的种类及其溶磷效果

2.1.1 有机酸标准品的高效液相色谱图 7 种有机酸的出峰时间分别是草酸 5.201 min,酒石酸 6.420 min,苹果酸 8.510 min,丙酸 10.486 min,乙酸 11.301 min,柠檬酸 15.250 min,琥珀酸 18.445 min(图 1)。

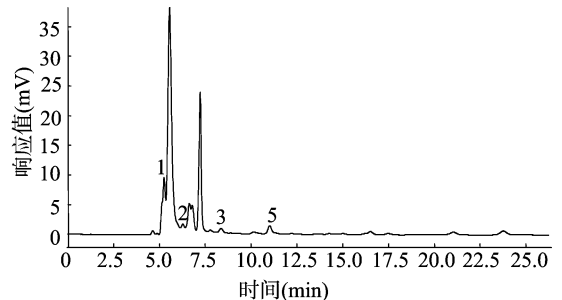
2.1.2 发酵液中有机酸的色谱图 与标准样品色谱图的出峰时间进行比对后,发现不接菌空白样品的色谱图中只有草酸、酒石酸、苹果酸和乙酸存在,且含量较少,未见丙酸、柠檬酸和琥珀酸。而接菌的样品发酵液色谱图中 7 种有机酸均存在,而且草酸的含量明显增高(图 2、图 3)。

2.1.3 菌株产有机酸的质量浓度 分别将不同浓度的有机酸标准液进样,以峰面积为纵坐标,以有机酸浓度作为横坐标绘制标准曲线(表 1),通过比对相应有机酸标准曲线得到该



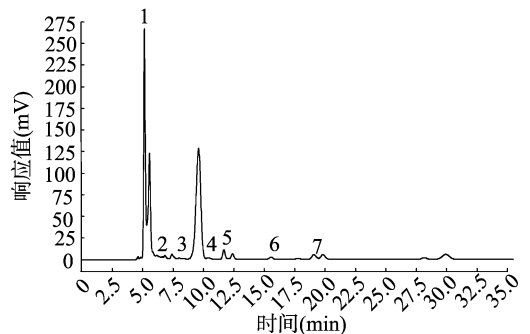
1—草酸; 2—酒石酸; 3—苹果酸; 4—丙酸; 5—乙酸; 6—柠檬酸; 7—琥珀酸

图1 标准对照品色谱图



1—草酸; 2—酒石酸; 3—苹果酸; 5—乙酸

图2 不接菌空白样品色谱图



1—草酸; 2—酒石酸; 3—苹果酸; 4—丙酸; 5—乙酸; 6—柠檬酸; 7—琥珀酸

图3 接菌样品色谱图

表 1 有机酸标准曲线的回归方程和线性范围

有机酸	回归方程	相关系数	线性范围 (mg/mL)
酒石酸	$y = 2.9 \times 10^6 x - 6\,248.4$	0.996 0	0.01 ~ 0.06
草酸	$y = 1.3 \times 10^7 x + 2.1 \times 10^5$	0.996 9	0.1 ~ 0.6
苹果酸	$y = 1.2 \times 10^6 x - 164.67$	0.998 1	0.005 ~ 0.03
柠檬酸	$y = 1.5 \times 10^6 x + 2029.8$	0.999 8	0.02 ~ 0.07
乙酸	$y = 7.8 \times 10^8 x + 8670.8$	1.000 0	0.000 5 ~ 0.003
丙酸	$y = 1.4 \times 10^6 x - 379.44$	0.999 9	0.01 ~ 0.4
琥珀酸	$y = 7.5 \times 10^5 x - 323.07$	0.999 8	0.002 5 ~ 0.015

样品产有机酸的浓度(表 2)。

菌株 P0417 的发酵液中,不仅有机酸的种类增多,而且含量也增加。发酵液中有机酸的浓度最终可达 420.59 mg/L,约是空白对照组的 10 倍,其中草酸和琥珀酸的增加量最多(表 2)。

表 2 细菌发酵液中有机酸浓度

菌株	有机酸浓度 (mg/L)							总计
	草酸	酒石酸	苹果酸	丙酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸	
P0417	173.2	12.1	6.5	11.5	0.19	35.7	181.4	420.59
对照	30.4	3.86	15.3	0	0.019	0	0	49.579

2.1.4 有机酸对磷酸钙的溶解作用 在不接溶磷菌条件下,向培养基中加入同种浓度的 7 种有机酸混合液,得出 7 种有机酸混合液的溶磷量是 493.89 $\mu\text{g/mL}$,而溶磷菌 P0417 的溶磷量为 503.53 $\mu\text{g/mL}$ (表 3),说明溶磷菌的溶磷作用可能存在多种机制,而有机酸的螯合作用是溶磷菌 P0417 溶磷的主要途径。

表 3 溶磷菌 P0417 与 7 种有机酸对磷酸钙的溶解效果比较

处理	溶磷量 ($\mu\text{g/mL}$)
接菌	503.53 \pm 2.5a
未接菌	10.70 \pm 0.2c
加入有机酸混合液	493.89 \pm 7.8b

注:表中数据为 3 个重复的平均值,数值后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平上差异显著。

2.2 溶磷细菌分泌产生的磷酸酶活性及其溶磷效果

2.2.1 发酵液中磷酸酶活性的测定 在相同条件下同时测定 120 h 内发酵液中酸性磷酸酶活力的变化和碱性磷酸酶活力的变化,发现酸性磷酸酶活力随时间变化而不断变化,且在 72 h 时达到最高,达 2 186 $\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$,碱性磷酸酶活性也随时间变化,且在 72 h 时达到最高,为 2 571 $\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 。此外,在以磷酸钙为单一磷源的培养基中,碱性磷酸酶的活力明显高于酸性磷酸酶的活力(图 4)。

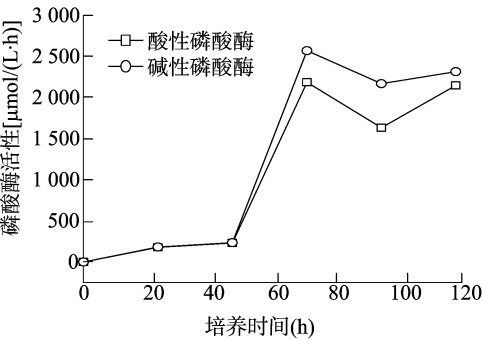


图 4 不同培养时间酸性、碱性磷酸酶活性变化

2.2.2 发酵液中磷酸酶对磷酸钙的溶解作用 提取溶磷细菌 P0417 代谢产生的磷酸酶粗酶液,加入一定量磷酸钙反应后测其溶磷量为 18.37 $\mu\text{g/mL}$ 。说明磷酸酶也会产生一定的溶磷效果,但这种作用不是溶磷菌产生溶磷作用的主要原因。

3 结论与讨论

20 世纪初,人们就开始研究土壤微生物与磷转化之间的关系,利用土壤溶磷菌降解土壤中丰富的难溶性磷源具有广阔的应用前景。目前,有关溶磷的研究多集中在菌株筛选及应用效果等方面,有关溶磷机制的研究仍比较薄弱,樊磊等认为微生物对土壤溶磷的机理涉及有机酸、质子和酶解等作用^[15]。关于有机酸溶磷的观点认为,在微生物代谢过程中分泌的各种小分子量有机酸能与复合磷酸盐中的钙、铁和铝螯

合释放出磷酸根形成稳定的可溶性复合物而被植物体吸收利用^[16]。关于质子溶磷的观点认为,微生物在代谢活动中产生大量的质子可以与磷酸盐发生交换,使酸度提高,从而使磷矿粉溶解^[17]。关于磷酸酶溶磷的观点是指,溶磷微生物分泌的磷酸酶能够溶解无机难溶磷^[18]。也有研究报道有的菌株同时存在这几种溶磷机制^[19]。Narsian 等认为溶磷的最主要原因是溶磷微生物能够产生大量的有机酸及磷酸酶等^[20]。

本试验对溶磷微生物分泌的有机酸及产生的磷酸酶进行了研究。通过液相色谱对发酵液分析后得出该微生物产生了草酸、酒石酸、苹果酸、丙酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸等多种有机酸,总浓度达 420.59 mg/L ,其中草酸和琥珀酸的分泌量最多。有机酸对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的溶解量为 493.89 $\mu\text{g/mL}$,而溶磷菌的溶磷量为 503.53 $\mu\text{g/mL}$,说明该微生物的溶磷作用主要来源于有机酸的分泌,这与 Agnihotri 的研究结果^[21]基本一致。这些酸一方面使培养液的 pH 值下降,另一方面还与 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 等离子以多种形式结合,使难溶性磷释放出来^[22]。溶磷过程中磷酸酶的活力随时间的变化先增强后减弱又增强,说明磷酸酶活力与溶磷量无关,Patgiri 等的研究结果也表明高效溶磷菌株的溶磷量与磷酸酶的活力无关,而与蛋白质的分泌量有关^[23]。提取发酵粗酶液进行溶磷效果分析时发现,微生物分泌的磷酸酶也具有一定的溶磷效果,但溶磷量只有 18.37 $\mu\text{g/mL}$ 。因此,在溶磷菌的溶磷作用中,溶磷菌分泌的有机酸主要起溶磷作用。

在细菌 P0417 代谢过程中,草酸和琥珀酸的浓度相对较高,但菌体溶磷作用是否与这 2 种酸的产生有关需要进行进一步研究。Deubel 等指出,溶磷细菌分泌的有机酸种类和数量并不是一成不变的,随着外界碳源的改变,培养液中有有机酸种类和含量都会发生变化^[24],今后有必要在这方面开展深入研究。

参考文献:

[1] 伊 垦. 高效解磷细菌的筛选及解磷机理的研究[D]. 大连:大连理工大学,2011.

[2] Chung H, Park M, Madhaiyan M, et al. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(10): 1970 - 1974.

[3] 陈华癸撰. 土壤微生物学[M]. 北京:商务印书馆,1950:225 - 228.

[4] 金术超,杜春梅,平文祥,等. 解磷微生物的研究进展[J]. 微生物学杂志,2006,26(2):73 - 78.

[5] 赵小蓉,林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. 土壤肥料,2001(3):7 - 11.

[6] 何玉龙,周青平. 解磷微生物研究进展[J]. 青海畜牧兽医杂志,2012,42(2):36 - 38.

[7] 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.

[8] 冯月红,姚 拓,龙瑞军. 土壤解磷菌研究进展[J]. 草原与草坪,2003(1):3 - 7.

[9] 王莉晶,高晓蓉,孙嘉怡,等. 土壤解磷微生物作用机理及解磷菌肥对作物生长的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(14):5948 - 5950,5958.

邱 阳,苗作云,刘学芝. 贡湖壬子港藻体堆积下黑水团发生风险研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):435-439.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.135

贡湖壬子港藻体堆积下黑水团发生风险研究

邱 阳¹,苗作云²,刘学芝³

(1. 江苏省环境科学研究院,江苏南京 210029;2. 黄河科技学院,河南郑州 450063;3. 国环宏博(北京)节能环保科技有限公司,北京 100035)

摘要:利用室内实验装置,通过分别添加 2 000、5 000、8 000 g/m² 藻细胞以模拟高、中、低 3 种藻华聚集密度水体,研究不同藻华细胞聚集模拟水体发生黑水团的风险。结果表明,试验 3 d,上覆水体中溶解氧含量降低到 2 mg/L 以下,高藻华聚集模拟水体中的 NH₄⁺-N 含量增加到 14 mg/L 以上,PO₄³⁻-P 含量增加到 0.20 mg/L,总氮、总磷含量分别高达 15、2.0 mg/L;水体中叶绿素含量呈现快速下降趋势,3 d 后含量下降为 1 500 mg/m³;水体浑浊度增加,COD_{Mn} 含量从 50 mg/L 快速上升为 120 mg/L,大量藻细胞聚集,出现快速死亡,藻华聚集区出现黑水团现象。

关键词:藻华聚集;黑水团;风险;上覆水;溶解氧;贡湖

中图分类号: X524 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0435-05

近年来,不少水体因藻华堆积使氮磷过量累积而引起水体富营养化,导致水体发生质的变化,发生“水体黑臭”现象。2007 年 5 月,因藻华聚集造成无锡贡湖水厂取水口水质恶化而发生饮用水供应危机,引起国内外广泛关注^[1]。2008 年以来,太湖多次发生这种现象,主要分布在太湖的竺山湖和西部的部分沿岸水域,且发生面积远大于 2007 年,对当地生产和生活用水造成极大影响^[2-3]。近 10 年来,随着湖泊富营养化程度的加剧,水污染现象频发,甚至已严重威胁到城市供水,“水体黑臭”成为继藻类暴发现象后又一类湖泊灾害问

题^[4-6]。因此,弄清湖泊中水体黑臭发生的原因和风险,对治理太湖环境问题是迫切和重要的。

“水体黑臭”是一种俗称,在湖泊中又称黑水团、湖泛等,与周边正常水体颜色在视觉感官上有明显不同,水体黑色,边缘清晰可辨,且多伴有臭味,水域明显缺氧,溶解氧含量多在 0~4 mg/L 之间,化学需氧量、氨氮、硫化物和异味物质等含量高,有底泥参与、可移动,事发水面多无藻类聚集等。目前,河道黑臭的发生原因已较为清楚,有关湖泊黑水团问题至今没有定论。

湖泊主要指太湖、巢湖等,黑水团发生的原因当前主要有 4 种观点,即藻源说、泥源说、河源说和混合源说。藻源说指黑臭的发生是由于藻类聚集后死亡,沉降于湖底并分解而导致缺氧;泥源说指湖底底泥中因富含有机质,水温上升等外在因素作用下,底泥中微生物对有机质分解速度加剧,产生分解不完全的产物,连同因缺氧环境产生的硫化物随挥发性气体

收稿日期:2015-05-19

基金项目:太湖流域管理局课题(编号:BS20071612011)。

作者简介:邱 阳(1979—),女,硕士,工程师,主要从事环境监测、环境工程和环境科研等工作。E-mail:49489209@qq.com。

通信作者:刘学芝,硕士,工程师,主要从事环境监测及环境影响评价等工作。E-mail:395552443@qq.com。

- [10] 虞伟斌,杨兴明,沈其荣,等. K₃ 解磷菌的解磷机理及其对缓冲容量的响应[J]. 植物营养与肥科学报,2010,16(2):354-361.
- [11] 贺梦醒,高 毅,胡正雪,等. 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.
- [12] 钟传青. 解磷微生物溶解磷矿粉和土壤难溶磷的特性及其溶磷方式研究[D]. 南京:南京农业大学,2004.
- [13] 黄 毅,徐榕敏,江信红,等. 黄鳝碱性磷酸酶的分离纯化及其部分性质研究[J]. 水生生物学报,2005,29(3):323-328.
- [14] 孙 芳,任美凤,胡瑞斌,等. 韭菜酸性磷酸酶的分离纯化及酶学性质[J]. 食品科学,2013,34(17):187-191.
- [15] Bopaiah B M. Occurrence of phosphate solubilizing microorganisms in the root region of arecanut palms[J]. Plantation Crops,1985,13(1):60-62.
- [16] Li X L, George E, Marschner H. Extention of the phosphorous depletion zone in a VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil[J]. Plant and Soil,1991,136:41-48.
- [17] Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms[J]. Soil Biology and Biochemistry,1995,27(3):257-263.

- [18] 范丙全. 北方石灰性土壤中青霉菌 P8 (*Penicillium oxalicum*) 活化难溶磷的作用和机理研究[D]. 北京:中国农业科学院,2001.
- [19] 赵小蓉,林启美,李保国. 微生物溶解磷矿粉能力与 pH 值及分泌有机酸的关系[J]. 微生物学杂志,2003,23(3):5-7.
- [20] Narsian V, Patel H H. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer[J]. Soil Biology and Biochemistry,2000,32(4):559-565.
- [21] Agnihotri V P. Solubilization of insoluble phosphates by soil fungi isolated from nursery seedbeds[J]. Canadian Journal of Microbiology,1970,16(9):877-880.
- [22] 樊 磊,叶小梅,何加骏,等. 解磷微生物对土壤磷素作用的研究进展[J]. 江苏农业科学,2008(5):261-263.
- [23] Patgiri I, Bezbarah B. Strain contributing to phosphorus mobilization in acid soils[J]. India Journal of Agricultural Sciences,1990,60(3):197-200.
- [24] Deubel A, Gransee A, Merbach W. Transformation of organic rhizodeposits by rizoplane bacteria and its influence on the availability of tertiary calcium phosphate[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science,2000,163:387-392.