

吴俊林,张正杨,李翔,等.一株高效解钾菌的筛选鉴定及其对烟草吸收钾磷的影响[J].江苏农业科学,2020,48(5):276-280.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.05.054

一株高效解钾菌的筛选鉴定及其对烟草吸收钾磷的影响

吴俊林¹,张正杨²,李翔¹,栗卫华¹,毕乐乐³,冯国胜¹,王红保¹,周权¹,郝浩浩¹,刘建丰⁴,贾峰⁵

(1. 河南省驻马店市烟草公司泌阳县分公司,河南泌阳 463700; 2. 江西省烟草公司,江西南昌 330025; 3. 华环国际烟草有限公司,安徽凤阳 233121; 4. 河南省农业科学院农业经济与信息研究所,河南郑州 450002; 5. 河南工业大学生物工程学院,河南郑州 450001)

摘要:以河南省驻马店市泌阳县植烟区土壤为原料,从中筛选与鉴定了一株高效解钾菌并对其进行实验室和烟田解钾和溶磷试验。结果表明,该解钾菌为不动杆菌,实验室验证该菌株的解钾和溶磷能力比较强;烟草大田试验表明,该解钾菌能够使土壤中的不溶性钾溶解,供烟草吸收和生长需要,对烟叶中钾含量的吸收与利用有协调促进作用,对烟草植株的生长有明显的促进作用,从而提高烟田烟叶的产量和质量,有利于增加植烟的经济效益。

关键词:解钾菌;筛选;烟草;钾吸收;磷吸收

中图分类号: S572.06;S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)05-0276-04

前期研究表明,河南省驻马店市泌阳县植烟土壤里存在大量的缓效钾和缓效磷,但在烟叶生长过程中不能被烟草吸收和利用^[1],这是造成烟叶中钾含量较低的原因之一。农业生产中大量化肥的施用,特别是多施氮磷、不施或少施钾肥,使得北方土壤的缺钾现象越来越严重^[2];而土壤中 95% 的钾为矿物钾形态,可供植物吸收利用的速效钾不超过 2%^[3]。研究发现,微生物解钾菌能够实现矿物钾的生物有效化利用,在延边、云南、福建以及河南烟区都能够分离出解钾菌,能够增加烟草的生长与品质,提高烟农的经济收入^[4-7]。

解钾菌别称硅酸盐细菌,是一类可以将土壤中难溶性的钾(长石或云母等硅酸盐)变为可溶性状态供植物吸收利用的一类微生物。解钾菌分泌有机酸是溶解硅酸盐矿物并释钾的主要原因^[8]。解钾菌产生的特殊酶能破坏矿物晶格结构,或因其表面的物化作用而使钾释放出来^[9-10]。有些解钾菌株能分泌大量相对分子量小的有机酸和胞外多糖,胞外多糖可将解钾菌与矿物包埋在一起使矿物

表面的有机酸浓度大大增加,从而使矿物中的钾被释放出来^[11]。也有学者提出了细菌矿物复合体综合作用假说,即细菌通过表面多糖与矿物质形成细菌矿物复合体,细菌对矿物表面疏松部位产生溶蚀作用,溶蚀后的小颗粒包裹在有机质中使接触面增大,加剧溶蚀作用,该复合体的微环境发生改变,如有机酸富集、氧化还原电位变化等,使溶蚀进一步扩大,矿物颗粒晶格发生形变或崩解,在氢离子的帮助下,钾离子释放,而细菌吸收钾离子,促进钾离子的进一步释放^[12]。

磷是 DNA、RNA、ATP 和磷酸类脂等生命大分子的重要组成部分,也是植物生长发育的关键物质^[13-16],土壤中的磷浓度成为土壤肥力最重要的限制性因素之一^[17-18]。解钾菌一般也有溶出土壤中不溶性矿物磷,提高土壤磷肥力的能力^[19-20]。溶磷微生物肥料的施用,能够缓解长期施用化学肥料引起的土壤板结等问题,而高效、稳定的溶磷菌株的获取,成为构建微生物磷肥的关键^[21-25]。

本研究通过从植烟土壤中分离出的解钾菌,观察其形态特征,在植烟土壤注施该菌种,检测其解钾和溶磷效果并探讨其对大田烟草的生长和烟叶中钾和磷含量的影响,分析该菌种与烟草根系的互作关系,为进一步理解烟草根际微生物群落的互作机制、微生物菌肥的开发和利用、强化烟叶特色提供基础数据和技术支撑,以期利用微生物菌肥解决河南省烟区烟叶钾含量偏低的问题。

收稿日期:2019-02-21

基金项目:河南省驻马店市烟草公司科技计划;河南工业大学校基础研究重点培育基金(编号:2013JCYJ05)。

作者简介:吴俊林(1986—),男,河南确山人,助理农艺师,主要从事烟叶生产与管理研究。E-mail: gryn1226@126.com。

通信作者:郝浩浩,硕士,助理农艺师,主要从事烟叶生理生化研究。
E-mail: haohh108@126.com。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)菌种分离自河南省驻马店市泌阳县烟区植烟根际土壤,由河南工业大学河南省工业微生物菌种保藏与选育工程实验室选育、保藏和提供。

1.2 试验方法

1.2.1 菌体和菌落形态结构观察 将菌株划线分离,形成单菌落。接种于 LB 液体培养基中 37 ℃、200 r/min 培养 16~18 h,于对数生长期进行革兰氏染色观察。接种于硅酸盐细菌培养基,28 ℃ 培养 7 d,观察菌落形态。

1.2.2 钾溶液标准曲线的绘制 采用火焰原子吸收分光光度法测定钾溶液的浓度和吸光度,绘制钾溶液的标准曲线。精确称取恒质量为 0.191 0 g 的氯化钾,溶解到 100 mL 的容量瓶中,钾浓度为 1 000 μg/mL,分别准确稀释到 1、2、3、4 μg/mL 进行检测。

1.2.3 解钾菌的溶磷能力检测 菌液的培养条件参考屈建航等的方法^[26],溶液中磷含量的检测采用钼蓝比色法^[16],培养液 pH 值检测采用 PHS-3C 酸度计,采用无菌培养液代替菌液作为试验对照。

1.2.4 解钾菌制备 将不动杆菌接种于 LB 液体培养基中,37 ℃、200 r/min 摇瓶培养至对数生长末期,直接采用培养基备用。试验在河南省驻马店市烟草公司泌阳县分公司试验田进行,每个小区面积为 333.5 m²。钾肥施用量是常规施肥的 80%,每个处理重复 3 次,按随机区组排列,常规施肥,清水处理作为对照。配制解钾菌处理为高、中、低 3 个,用量分别为 37.5、75.0、112.5 L/hm²。移栽前土壤理化性质分析结果见文献^[27]。烤烟品种为云烟 87,分别于旺长期和打顶后进行烤烟农艺性状情况调查,取烤烟根际土壤测定微生物数量,对圆顶期土壤进行全面理化性质分析。取样均采用五点取样法。

1.2.5 土壤微生物数量测定 细菌计数采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌计数采用改良高氏一号培养基,真菌计数采用马丁氏培养基,解钾菌计数采用硅酸盐细菌培养基。

1.2.6 土壤化学成分的检测 土壤中全氮含量的测定参照 NY/T 1121.24—2012《土壤检测 第 24 部分:土壤全氮的测定 自动定氮仪法》进行;全磷含量的测定参照 NY/T 88—1988《土壤全磷测定法》进行;全钾含量的测定参照 NY/T 87—1988《土壤全

钾测定法》进行;水解性氮含量的测定参照 LY/T 1228—2015《森林土壤氮的测定》进行;有效磷含量的测定参照 NY/T 1121.7—2014《土壤检测 第 7 部分:土壤有效磷的测定》进行;速效钾和缓效钾含量的测定参照 NY/T 889—2004《土壤速效钾和缓效钾含量的测定》进行。

1.2.7 烟叶中化学成分的检测 烟叶中全氮含量的测定参照 NY/T 2419—2013《植株全氮含量测定 自动定氮仪法》进行;全钾含量的测定参照 NY/T 2420—2013《植株全钾含量测定 火焰光度计法》进行;全磷含量的测定参照 NY/T 2421—2013《植株全磷含量测定 钼锑抗比色法》进行;总烟碱含量的测定参照 YC/T 246—2008《烟草及烟草制品 烟碱的测定 气相色谱法》。

2 结果与分析

2.1 解钾菌的形态鉴定

由图 1-A 可知,该菌落经过 2 d 培养,分离得到的菌株呈乳白色、不透明,边缘整齐,表面光滑,无弹性不能成丝,较耐高温,有臭味,实验室记为 BYT-1。由图 1-B 可知,菌体革兰氏染色呈阴性,链珠状,为不动杆菌。

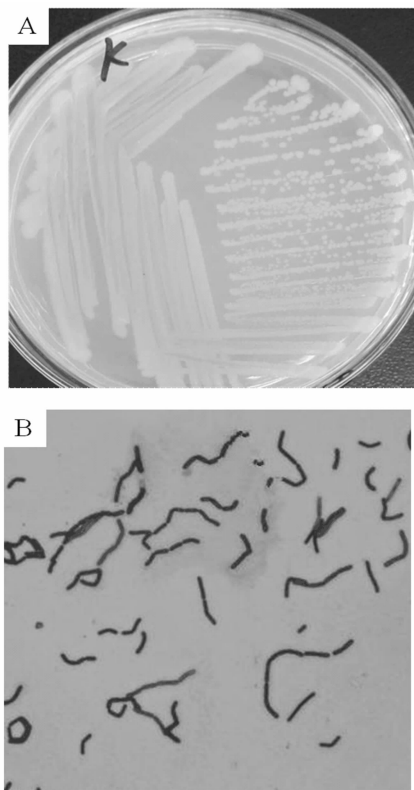


图1 解钾菌 BYT-1 菌落的形态(A)和 40 倍显微镜观察特征(B)

2.2 解钾菌溶液中钾离子浓度的检测

在亚历山德罗夫液体培养基中经过 4 d 培养测定溶液中钾含量,通过标准曲线得出吸光度(y)和浓度(x)之间的关系: $y=0.164\ 1x,r^2=0.997\ 3$,以此为基准方程,根据待测样品的吸光度测量出 BYT-1 的浓度,CK 处理的钾离子浓度为 $0.127\ \mu\text{g/mL}$,BYT-1 处理的钾离子浓度为 $4.951\ \mu\text{g/mL}$,明显高于对照,解钾菌培养时间越长,溶液中钾离子浓度越大。

2.3 解钾菌的溶磷曲线

由图 2 可知,菌种的溶磷曲线表现为 30 h 之前较为缓慢;30~100 h 时溶磷效果较快,在培养 70 h 时无机磷培养基中的磷含量为 $10.0\ \mu\text{mol/mL}$,达到最高值;随后有所下降。培养液中的 pH 值变化表现为在 30 h 之前 pH 值下降较缓慢,30~70 h 之间 pH 值下降与溶液中磷浓度呈负相关,随着磷含量的上升,pH 值不断下降,在 70 h 时达到 3.8,随后不断上升至 5.5 左右。

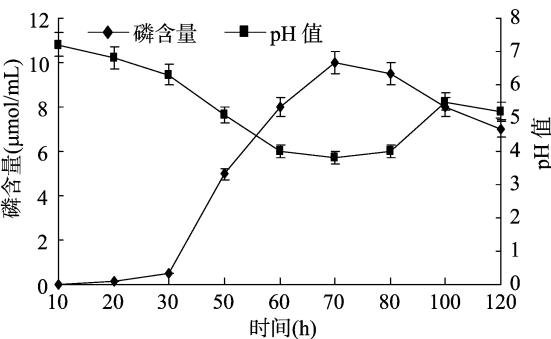


图2 菌株的溶磷量及 pH 值变化曲线

2.4 解钾菌对植烟土壤中解钾菌及微生物总量的影响

由图 3 可知,随着土壤注施解钾菌处理浓度的增加,土壤中解钾菌的数量也不断地增加,对照为 1.70×10^3 个/g,高浓度处理为 4.05×10^3 个/g,高浓度处理是对照的 2.38 倍;土壤中微生物总量也有增加,对照为 1.345×10^6 个/g,高浓度处理为

2.145×10^6 个/g,高浓度处理是对照的 1.59 倍,表明土壤中增施解钾菌液能有效增加土壤中微生物总量,其原因可能与该菌能够与土壤中微生物友好共生有关。

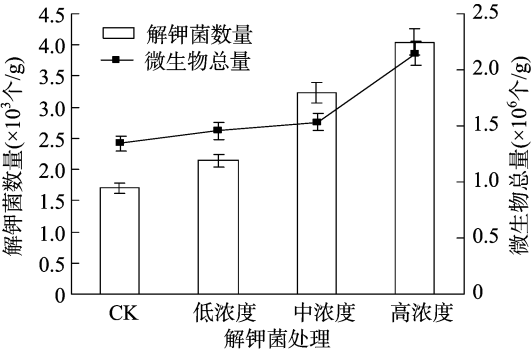


图3 解钾菌对植烟土壤中解钾菌和微生物总量的影响

2.5 解钾菌对植烟土壤主要矿质元素含量的影响

由表 1 可以看出,土壤注施解钾菌处理对土壤中的全磷含量影响不显著;中浓度处理土壤中的全氮含量显著高于对照;解钾菌处理后土壤中的全钾含量随着解钾菌浓度的增加而显著低于对照,表明解钾菌能够有效地降解烟株根系周围土壤中的全钾;土壤注施解钾菌能够降低植烟土壤中的有效磷含量,但与菌液的浓度不成正比,可能与解钾菌在解磷时的机制比较复杂有关;土壤注施解钾菌对植烟土壤中水解性氮含量的影响不显著,可能与解钾菌对氮元素的分解有局限性有关;随着土壤注施解钾菌菌液浓度的增加,植烟土壤中速效钾含量比对照显著升高,表明解钾菌的含量与溶解全钾的能力呈正相关。

2.6 解钾菌对烟草生长的影响

由表 2 可以看出,在烟株的旺长期,土壤注施中、高浓度解钾菌菌液处理的烟草株高显著高于对照和低浓度处理,表明解钾菌能有效促进烟草植株的高度生长;土壤注施低、中浓度解钾菌处理的烟草叶数显著多于对照,而高浓度解钾菌处理与对照相比差异不显著;土壤注施高浓度解钾菌处理的烟

表 1 解磷菌对植烟土壤中主要矿质元素含量的影响

处理	全氮含量 (g/kg)	全磷含量 (g/kg)	全钾含量 (%)	有效磷含量 (mg/kg)	水解性氮含量 (mg/kg)	速效钾含量 (mg/kg)
CK	0.963b	0.461a	1.34a	27.75a	132.00a	147.50d
低浓度	1.090ab	0.455a	1.31a	23.75ab	119.00a	259.00c
中浓度	1.105a	0.465a	1.26ab	27.90a	133.50a	340.00b
高浓度	0.955b	0.446a	1.21b	21.15b	135.00a	472.00a

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。表 2、表 3 同。

表 2 解磷菌对烟草生长的影响

处理	旺长期				中后期			
	株高(cm)	叶片数(片)	最大叶长(cm)	最大叶宽(cm)	株高(cm)	叶数(个)	最大叶长(cm)	最大叶宽(cm)
CK	110.17b	17.33b	58.75b	27.67b	113.33b	12.50b	72.92a	33.08a
低浓度	115.00b	18.83a	63.92ab	33.08a	115.83b	11.83bc	68.50a	28.67a
中浓度	123.17a	18.67a	62.58ab	27.42b	123.67a	11.00c	73.33a	31.50a
高浓度	123.33a	18.33ab	67.58a	32.83a	124.33a	14.17a	73.08a	33.25a

草最大叶长显著高于对照,而低、中浓度解钾菌处理与对照的差异均不显著;土壤注施低、高浓度解钾菌处理的烟草最大叶宽显著高于中浓度处理 and 对照。

烟草打顶之后进入烟株生长的中后期,土壤注施中、高浓度解钾菌处理的株高显著高于对照和低浓度处理;随着成熟烟叶的采摘,烟株叶片数量明显减少,高浓度处理烟株的叶片数量显著多于低、中浓度处理和对照,表明高浓度解钾菌处理可推迟烟叶的衰老;烟株生长的中后期,低、中、高浓度解钾菌处理的最大叶长和最大叶宽与对照相比差异均不显著。

2.7 解钾菌对烤后烟叶中主要理化指标及其产量的影响

由表 3 可以看出,随着土壤注施解钾菌菌液浓度的增加,烤烟烟叶中全磷和全钾含量显著增加,对全氮含量的影响不显著,氯和总烟碱的含量有所下降,但差异不显著。土壤注施解钾菌处理能够提高烤烟产量,随着注施解钾菌菌液浓度的增加,产量由 2 856.0 kg/hm² 提高到 3 177.0 kg/hm²,烟叶的产量提高 321.0 kg/hm²,增加了 11.24%。烟叶增加的产量在于叶片的数量和叶片的大小增加 2 个方面,同时,土壤注施高浓度的解钾菌菌液也延长了烟叶的生长期,增加了烟叶产量。

表 3 解磷菌对烤后烟叶中主要理化指标及其产量的影响

处理	全氮含量(g/kg)	全磷含量(g/kg)	全钾含量(g/kg)	氯含量(%)	总烟碱含量(μg/g)	产量(kg/hm ²)
CK	15.70a	1.80b	13.15c	0.53a	518.00a	2 856.0c
低浓度	17.13a	2.03ab	15.13b	0.53a	492.67a	2 898.0c
中浓度	17.83a	2.42a	18.47a	0.49a	668.00a	2 898.0b
高浓度	17.10a	2.19ab	18.53a	0.49a	457.67a	3 177.0a

3 结论

本试验分离出的解钾菌为不动杆菌,实验室验证该菌株的解钾和溶磷能力比较强。利用该解钾菌在河南省驻马店市泌阳县烟草大田进行试验,结果表明,该菌能够有效增加土壤中的可溶性钾含量,供烟草吸收和生长需要,对烟叶中钾含量的吸收和利用有协调促进作用,对烟草植株的生长有明显的促进作用,从而提高烟叶的产量和质量,有利于提高植烟的经济效益。

参考文献:

[1] 吴俊林,王璐璐,毕乐乐,等. 增施叶面钾肥对烤烟烟叶钾积累和利用的研究[J]. 农技服务,2017,34(5):16-18.

[2] 党雯,郜春花,张强,等. 解钾菌的研究进展及其在农业生产中的应用[J]. 山西农业科学,2014,42(8):921-924.

[3] 连宾. 硅酸盐细菌的解钾作用研究[M]. 贵阳:贵州科技出版社,1998.

[4] 张书泰,杨秋明,陈钦,等. 福建南平不同植烟土壤微生物数量

与养分状况分析[J]. 中国农学通报,2014,30(31):76-81.

[5] 赵辉,赵铭钦,程玉渊,等. 河南南阳烟区不同类型土壤的根际和非根际微生物及酶活性变化[J]. 土壤通报,2010(5):1057-1063.

[6] 韩富根,宋鹏飞,董祥洲,等. 延边烟区不同土壤的根际土壤微生物生态效应研究[J]. 土壤,2010,42(1):33-38.

[7] 罗华元,常寿荣,王绍坤,等. 云烟高端品牌植烟区根际土壤高效解钾菌的筛选[J]. 西南农业学报,2011,24(5):1813-1817.

[8] 蒋先军,黄昭贤,彭盛德,等. 硅酸盐细菌的研究现状及展望[J]. 世界农业,1998(5):28-31.

[9] Vessey J K. Cultivar differences in assimilate partitioning and capacity to maintain N₂ fixation rate in pea during pod-filling[J]. Plant and Soil,1992,139(2):185-194.

[10] Vessey J K, Layzell D B. Regulation of assimilate partitioning in soybean. Initial effects following change in nitrate supply[J]. Plant Physiology,1987,83(2):341-348.

[11] Podgorskiĭ V S. Effect of the pH of the medium on the growth and chemical composition of the methanol-assimilating yeast *Candida boidinii*[J]. Mikrobiologiya,1981,50(6):1084-1087.

[12] 连宾,傅平秋,莫德明,等. 硅酸盐细菌解钾作用机理的综合效应[J]. 矿物学报,2002,22(2):179-183.

兰简琪,谢世友. 有机复合肥对土壤水分入渗特性的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(5):280-286.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.05.055

有机复合肥对土壤水分入渗特性的影响

兰简琪¹, 谢世友^{1,2}

(1. 西南大学地理科学学院, 重庆 400715; 2. 西南大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要:为研究有机复合肥对土壤水分入渗特性的影响,采用室内一维土柱积水入渗试验,试验设置 6 个土样处理组,分别为沼泽盐土(对照组)、竹炭混合沼泽盐土、地富原混合沼泽盐土、盐化潮土(对照组)、竹炭混合盐化潮土和地富原混合盐化潮土。在入渗历时 120 min 后,与沼泽盐土和盐化潮土对照组相比较,竹炭处理组、地富原处理组累积入渗量分别增加 -18.78%、-3.93% 和 25.77%、6.53%,湿润锋位移分别增加 -18.93%、1.64% 和 22.6%、12.5%,湿润锋位移与时间关系符合线性函数;有机复合肥对沼泽盐土和盐化潮土水分初始入渗率的影响较明显,入渗率与时间关系符合幂函数;有机复合肥施用下土壤水分垂直分布表现为土壤表层(5 cm)内含水量变化较小,5~10 cm 土层内为缓慢降低区,10 cm 土层以下为剧烈下降区;相对于对照处理组,施加有机复合肥有利于提高盐化潮土含水量。有机复合肥能够降低沼泽盐土水分入渗能力,提高盐化潮土的水分入渗能力。竹炭相对于地富原,降低沼泽盐土的水分入渗能力和提高盐化潮土渗水性效果更明显。

关键词:有机复合肥;湿润锋;累积入渗量;入渗率;土壤含水量

中图分类号: S156 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)05-0280-07

有机复合肥是指将有机肥料和无机肥料按一定比例混合,含有多种有效辅助微生物和高剂能化

合物的农业生产用肥料^[1]。其中,有机肥料又称“农家肥料”,主要来自植物或动物,经过一段时间的发酵分解或加工后施用于土壤,为植物提供含碳物料,其类型包括人粪尿、厩肥、堆肥、绿肥、饼肥、沼气肥等。无机肥料又称“化学肥料”,不含有机物,由无机物组成,主要包括氮肥、磷肥、钾肥等单质肥料和复合肥料。有机肥料与无机肥料相配合施用,可以取长补短。近年来,有机复合肥作为一种新型化肥和改良剂备受关注。与无机复合肥相

收稿日期:2019-09-19

基金项目:重庆市自然科学基金重点项目(编号:CSTC2009BA0002);
中央高校基本业务费专项资金(编号:XDJK2015C006、SWU114058)。

作者简介:兰简琪(1994—),女,湖北孝感人,硕士研究生,从事自然地理、水土保持、生态环境研究。E-mail:2418170776@qq.com。
通信作者:谢世友,博士,教授,主要从事自然地理、水土保持、生态环境等方面研究。E-mail:xiesy@swu.edu.cn。

[13] 吕淑芳,彭媛,江静. ACS2 参与拟南芥幼苗根生长响应低磷反应的机制[J]. 植物生理学报,2017,53(8):1435-1443.

[14] 魏凌云,刘生鹏,王建华,等. 生命从磷开始[J]. 生命的化学,2016,36(3):298-302.

[15] 林立金,廖明安,梅洛银,等. 不同生态型小飞蓬对镉胁迫砷木樱桃植株磷钾吸收的影响[J]. 中国生态农业学报,2013,21(12):1565-1568.

[16] 赵玉芬. 磷与生命化学[J]. 科学(中文版),2000(2):61-62.

[17] 杨绍琼,党廷辉,戚瑞生,等. 低分子量有机酸对不同肥力土壤磷素的活化作用[J]. 干旱地区农业研究,2012,30(4):60-64.

[18] 李慶遠. 从土壤肥力、磷矿性质及农业条件来看中国的磷肥问题[J]. 科学通报,1959(24):18-21.

[19] 戴沈艳,贺云举,申卫收,等. 一株高效解磷细菌的紫外诱变选育及其在红壤稻田施用效果[J]. 生态环境学报,2010,19(7):1646-1652.

[20] 徐旗升. 如何提高土壤中磷肥的利用率[J]. 安徽农业,2002

(11):26-26.

[21] 屈建航,周佳,李海峰,等. 一株高效聚磷细菌的分离及其聚磷特性研究[J]. 生物技术,2014,24(3):57-60.

[22] 陈哲,赵永锋,张建嶺. 长期施用复合微生物肥对农田土壤速效养分的影响[J]. 现代农业科技,2014(19):241-241,245.

[23] 屈建航,王福芳,晏加照,等. 西流湖界面沉积物中溶磷细菌筛选及其溶磷能力研究[J]. 河南农业大学学报,2012,46(5):584-588.

[24] 李海峰,李志建,屈建航. 解磷微生物及其应用的研究进展[J]. 贵州农业科学,2012,40(10):108-110.

[25] 张成林,刘丽丽. 施用不同肥料对土壤状况的影响[J]. 天津师范大学学报(自然科学版),2008,28(2):5-7,10.

[26] 屈建航,张璐洁,符运会,等. 1 株高效溶磷细菌的分离、鉴定和溶磷能力研究[J]. 河南农业科学,2018,47(3):55-58,91.

[27] 吴风光,王豹祥,汪健,等. 益生菌肥对植烟土壤和烤烟生产的影响[J]. 土壤,2010,42(1):53-58.