

一株人参根区解磷细菌的筛选、鉴定及对人参生长的影响

李 乐, 孙 海, 刘政波, 张春阁, 张亚玉*

(中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘 要: 人参是我国传统名贵中药材, 也是吉林省对外交往中的代名词。吉林参畦土壤有效磷含量低, 但大量施用磷肥又会导致人参品质的下降, 因此, 本研究从人参根区土壤中筛选高效解磷细菌, 接种到人参根部, 研究其对人参生长、品质、土壤速效养分、土壤酶活性的影响, 以期为人参解磷微生物肥料提供优良菌株, 从而促进人参产业绿色发展。采用 PKO 平板初筛及摇瓶复筛从野山参根区土壤筛选高效解磷细菌。盆栽试验以 3 年生人参种苗为材料, 每盆种植 6 棵单株重相同的人参种苗, 设对照 (CK) 和处理组, 待完全展叶后间苗, 留取 4 棵长势一致的人参苗, 采用滴灌的方式将菌液接种在人参苗根部附近, 生长至红果期 (90 d) 取样, 测定植物生长量和叶绿素含量、土壤速效养分、参根和参叶中 NPK 的含量、土壤酶活性、参根中微量元素和 8 种皂苷的含量。结果表明, 1) 平板初筛和摇瓶复筛得到 P1、P7 菌株, 摇瓶培养中, P1 可溶性磷为 472.85 $\mu\text{g/mL}$, P7 可溶性磷为 437.33 $\mu\text{g/mL}$ 。2) P1 处理的人参参根鲜重、干重显著高于 P7、BM、CK 处理, 株高显著高于对照, 叶绿素含量显著高于 P7、BM、CK ($P < 0.05$)。3) P1 处理促进人参对土壤钾元素的吸收, 提高磷素在参根中的积累量。4) 接种菌剂可以不同程度的提高土壤酶活性, 以 P1 处理的效果最显著, P1 处理人参根际土壤脲酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶活性均为最高。5) P1 处理显著提高了人参根中 Fe、Mn、Cu 的含量, 分别较对照增加了 52.74%、127.03%、28.96%, P1 处理 Zn 与对照相比增加 19.96%; 人参根中 8 种单体皂苷 P1 处理均显著高于 P7、BM、CK。6) 经 16S rRNA 分析结合 P1 形态初步鉴定为假单胞菌。

关键词: 人参; 解磷细菌; 土壤酶活; 土壤速效养分; 人参生长及品质

中图分类号: S144; S567.5*1

文献标识码: A

文章编号: 1673-6257 (2017) 06-0163-08

人参系五加科人参属多年生草本植物, 素有“百草之王”的美誉, 具有大补元气、补脾益肺、生津止渴、安神益智的功效, 已被“国家重点保护野生药用动植物名录”列为一类保护植物^[1-2]。1998 年至今, 农田栽参成为我国人参主要的栽培模式^[3]。吉林省人参种植区土壤有效磷含量少, 缺磷可导致人参根系发育不良, 影响根部皂苷等干物质的积累, 降低参根品质^[4-6]。

土壤微生物是土壤具有生命力的主要成分, 植物根际土壤中有相当数量的植物促生细菌, 参与土壤中多种生化反应, 通过提高营养元素的含量、分泌植物激素、拮抗病原微生物等方式促进植物生长^[7]。其中有一些被认为是最有效的解磷微生物, 通过酸解、酶解等多种方式将被土壤固定的矿物态

磷释放出来, 但不同种类解磷微生物的解磷能力和生态适应性方面有很大差异且在植物根际的数量少, 致使其难以发挥活性。林下山参是模拟野山参的生长环境, 生长多年后具有野山参外部形态和药效的人参。因此, 有必要从自然条件生长的野山参根区土壤中筛选高效解磷菌株, 制成菌剂后接种到栽参土壤中以促进土壤中有效磷的提高^[8-9]。本试验从野山参根区土壤中筛选 2 株解磷细菌, 与巨大芽孢杆菌接种到 3 年生人参盆栽试验中, 于人参红果期取样, 研究解磷菌对人参生长及品质、土壤养分状况和土壤酶活性的影响, 旨在为人参筛选到合适的解磷菌株, 并且为不同地区菌株与不同植物之间互作机制研究奠定基础, 促进人参产业的绿色健康发展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土样

采集辽宁宽甸林下参标准化护育基地, 参龄 15 年, 采样深度 0~20 cm, 采样时间 2015 年 9 月份。

收稿日期: 2017-01-03; 最后修订日期: 2017-03-20

基金项目: 吉林省科技厅项目 (20150204053NY)。

作者简介: 李乐 (1991-), 女, 陕西咸阳人, 在读硕士, 研究方向为药用植物营养生理。E-mail: 13154361705@163.com。

通讯作者: 张亚玉, E-mail: zyy1966999@sina.com。

将人参地上部分剪掉,用铁铲挖出大约 20 cm 深的土壤剖面,然后用竹筷沿着参生长的方向取参根附近大约 5 cm 的土壤,置于无菌袋中,冰上保存不超过 24 h 带回实验室。该区位于东经 124°77', 北纬 40°75', 以温带大陆性气候为主,土壤属于暗棕壤,年均气温 6℃,年均降水量 1 100 mm, 近半年无霜期。

1.2 方法

1.2.1 分离培养基

无机磷液体培养基(以下简记为 PKO 培养基):葡萄糖 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0。

无机磷固体培养基:无机磷液体培养基的基础上加入琼脂粉 15~20 g/L。

溶磷细菌发酵培养基:胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, NaCl 10 g, pH 值 7.0~7.5, 蒸馏水 1 000 mL。

1.2.2 分离方法

称取采集的野山参土样 10 g 加入 90 mL 无菌水中,加入适量玻璃珠,30℃ 摇床振荡 30 min, 取上清液稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 倍,选择 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 5 个梯度,各取 0.1 mL 涂布于 PKO 培养基上,每个浓度重复 3 次,30℃ 培养 7 d,挑取具有明显溶磷圈的菌落在 PKO 培养基进行划线分离及纯化,以获得纯菌株。

1.2.3 溶磷菌株的平板初筛

观察溶磷圈法:将 PKO 固体培养基制作成平板,分 6 区,用灭菌牙签每区点植一个菌株,30℃ 倒置培养 10 d,测量菌落直径和透明圈直径,计算透明圈与菌落直径比。

1.2.4 溶磷菌株的摇瓶复筛

选择透明圈直径和透明圈与菌落直径比较大的菌株接种到装有 100 mL 无机磷液体培养基的 250 mL 三角瓶中,以不产生溶磷圈的菌株为对照,相同条件下,30℃ 往复摇床 170 r/min 培养 7 d 后,培养液以 10 000 r/min 离心后,取适量上清液用钼锑抗比色法测定培养液中的有效磷含量^[10]。

1.3 盆栽试验

1.3.1 试验设计

试验采用单因素完全随机区组设计,于 2016

年 1 月至 4 月在中国农业科学院特产研究所植物营养实验室进行,盆栽土壤购买于长春坤维草炭土贸易有限公司,土壤 pH 值为 5.47,碱解氮 66.96 mg/kg,有效磷 25.00 mg/kg,速效钾 154.57 mg/kg,有机质 188.83 g/kg。试验以 3 年生人参种苗为材料,每盆种植 6 棵单株重相同的人参种苗。对照(CK):接种灭过菌的 LB 培养基 30 mL;处理组:接种解磷菌 30 mL,其中接种的巨大芽孢杆菌 BM (*Bacillus megaterium*) 采购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。每盆装土 1.5 kg,3 次重复,待人参完全展叶间苗,留取 4 棵长势大致相同的人参苗,采用滴灌的方式将菌液接种在人参植株根部附近,在人参植株生长期,每隔 7 d 浇一次水。人参植株生长至红果期时(90 d)取样测定各项指标。

1.3.2 测定指标及方法

采用分光光度法测定人参叶绿素含量^[11],土壤化学性质、植物样品 NPK 及微量元素含量的测定参照《土壤农化分析》^[12]进行,土壤脲酶活性用苯酚钠-次氯酸钠比色法,结果以 24 h 后 1 g 湿土中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示^[13],酸性磷酸酶用磷酸苯二钠法,结果以 37℃ 每克土壤中释放 1 nmol 酚表示,土壤蔗糖酶活性用 3,5-二硝基水杨酸比色法,结果以 24 h 后 1 g 湿土生成葡萄糖的 mg 数表示,土壤过氧化物酶用紫色没食子酸,结果用 24 h 后 1 g 湿土中产生 1 mg 紫色没食子素表示^[14],人参样品皂苷含量参照《中国药典》2015 版^[1]。

1.4 菌株的鉴定

参考文献[15]对溶磷菌进行初步鉴定。采用 Takara 试剂盒提取筛选到的解磷菌基因组 DNA,用细菌通用引物 27f (5'-AGAGTTTG ATCCTGGCT CAG-3') 和 1492r (5'-TACGGCTAC CTGT TACGACTT-3') 进行 PCR 扩增,扩增产物送上海派森诺测序部测序,并与数据库 EzTaxon Server version 2.1 (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) 的 16S rRNA 基因序列进行比较,调出相似性高的菌株序列,采用 MEGA 5.0 软件,采用邻近法(NJ)自举 1 000 次进行置信度检测,以构建系统发育进化树。

1.5 数据处理

数据采用 SAS 9.2 统计软件及 Excel 2010 进行分析。

2 结果与分析

2.1 溶磷细菌的平板初筛结果

根据在 PKO 固体培养基上产生的透明圈, 初筛出 10 株溶磷细菌。表 1 为菌落直径、透明圈直径及透明圈直径 D 与菌落直径 d 比。从表 1 可以看出, 10 株溶磷细菌 P5、P6、P7、P8 的透明圈直径均超过了 11 mm, 其中, P8 的透明圈直径最大, 为 12.67 mm, 但由于其菌落直径较大, 因此 D/d 是在 1.15 ~ 1.40 之间, 而 P1 的 D/d 在 1.69, 因此, 需要对透明圈直径及 D/d 值都较大的菌株进行摇瓶实验, 进一步确定其溶磷能力。

表 1 溶磷细菌的平板初筛结果

菌株	d (mm)	D (mm)	D/d
P1	4.33 ± 0.88	7.00 ± 0.58	1.69
P2	6.67 ± 0.33	7.83 ± 0.44	1.17
P3	6.00 ± 0.01	6.33 ± 0.08	1.06
P4	1.00 ± 0.01	1.10 ± 0.01	1.07
P5	10.17 ± 0.17	11.67 ± 0.33	1.15
P6	9.33 ± 0.33	11.33 ± 0.88	1.21
P7	8.33 ± 0.33	11.67 ± 0.33	1.40
P8	10.33 ± 0.67	12.67 ± 0.33	1.23
P9	6.37 ± 0.32	7.33 ± 0.33	1.15
P10	8.83 ± 0.27	9.67 ± 0.33	1.10

注: D 透明圈直径; d 菌落直径。

2.2 溶磷细菌的摇瓶复筛结果

在初筛的基础上, 选择透明圈直径及 D/d 较大

的菌株 P1、P6、P7、P8 进行摇瓶实验, 以不接菌为对照。相同条件培养 7 d 后, 对照 (CK) 培养液中可溶性磷的浓度仅为 4.88 $\mu\text{g/mL}$, 所有接种处理均为 CK 的 9 ~ 11 倍, 其中 P1 浓度最高, 为 472.85 $\mu\text{g/mL}$, P6 浓度最低, 仅为 381.23 $\mu\text{g/mL}$, 统计分析显示, P1、P7、P8、P6、CK 依次呈显著性变化。

表 2 溶磷细菌的摇瓶筛选结果 ($\mu\text{g/mL}$)

菌株	可溶性磷	菌株	可溶性磷
P1	472.85 ± 6.94A	P7	437.33 ± 8.30B
P6	381.23 ± 5.93D	P8	417.33 ± 6.96C
CK	4.88 ± 0.41E		

注: 不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

2.3 不同处理对人参植株的生物指标的影响

表 3 显示, P1 处理人参植株的鲜重、干重均显著高于 P7、BM、CK, 而 P7、BM、CK 处理之间无显著差异, 说明 P1 处理较其他处理能促进参根的生长及干物质的积累。P1 处理株高高于 P7、BM、CK 3 个处理, 其中与 CK 相比, 达到了显著水平, 4 个处理人参叶面积均无显著差异, 但 P1 处理比 P7 高 27.16%、比 BM 处理高 6.14%、比 CK 处理高 26.09%, 以上数据说明了 P1 处理能不同程度的提高人参植株的生物量。P1 处理叶片叶绿素含量显著高于 P7、BM、CK; P7 处理叶片叶绿素含量显著高于 BM、CK, 而 BM、CK 处理之间叶片叶绿素含量无显著差异, 说明不同菌液对人参光合作用存在差异, P1 效果最好, BM 效果最差。

表 3 不同处理人参植株的生物量指标

处理	株高 (cm)	鲜重 (g)	干重 (g)	叶面积 (mm^2)	叶绿素 (mg/kg)
P1	30.33 ± 1.36A	46.23 ± 2.24A	12.62 ± 1.10A	44.94 ± 1.07A	21.54 ± 1.27A
P7	26.80 ± 1.88AB	35.21 ± 4.10B	9.72 ± 0.83B	35.34 ± 4.26A	17.61 ± 0.70B
BM	27.00 ± 1.41AB	31.45 ± 2.71B	8.45 ± 0.48B	42.34 ± 1.84A	10.33 ± 0.81C
CK	22.75 ± 0.95B	31.13 ± 1.27B	9.14 ± 0.09B	35.64 ± 6.12A	12.92 ± 0.59C

2.4 不同处理对土壤 pH 值、有机质及速效氮磷钾养分的影响

从表 4 可以看出, 人参在一个生育期过后, 对照 (CK) 土壤 pH 值较栽参前降低了 0.29, 土壤有效磷较栽参前增加了 10 mg/kg , 这可能是人参在自然生长过程中, 根系分泌物有机酸和酚酸类化合物逐渐增多, 降低了根际土壤 pH 值的同时促进营养元素的吸收^[16]。施用菌剂后, 土壤 pH 值、碱解氮、

有机质、有效磷含量与对照相比无显著差异, 但总体表现为碱解氮含量 $P1 > P7 > BM > CK$, 有机质含量 $P1 > CK > BM > P7$, 有效磷含量 $BM > P1 > P7 > CK$, 其中 P1 碱解氮、有机质较对照增加 8.28%、6.08%, BM 有效磷较对照增加 16.59%, 说明溶磷菌在增加土壤有效磷的同时并未改变土壤 pH 值; CK 土壤速效钾含量显著高于 P1、P7、BM 3 个处理, P7 和 BM 处理之间速效钾无差异但其速效钾含量均显著高于 P1。

表 4 不同处理对土壤 pH 值、有机质及速效氮磷钾养分的影响

处理	pH 值	碱解氮 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	有机质 (g/kg)	有效磷 (mg/kg)
P1	5.17 ± 0.06A	67.71 ± 1.44A	76.91 ± 3.32C	195.60 ± 7.53A	38.75 ± 1.26A
P7	5.17 ± 0.14A	66.05 ± 2.88A	88.11 ± 2.48B	167.26 ± 11.17A	37.43 ± 2.62A
BM	5.18 ± 0.05A	64.29 ± 1.95A	87.37 ± 0.99B	181.27 ± 16.32A	40.97 ± 4.16A
CK	5.25 ± 0.05A	62.53 ± 2.31A	109.54 ± 2.22A	184.39 ± 6.72A	35.14 ± 2.30A
栽参前土壤	5.47 ± 0.02	66.96 ± 0.67	154.75 ± 4.68	188.83 ± 6.02	25.00 ± 0.63

2.5 不同处理对人参根、叶全量氮磷钾的影响

从表 5 可以看出, 4 个处理之间根中全氮含量无显著差异, 人参叶中全氮含量 P7 处理显著高于 CK, 与 P1、BM 处理之间无显著差异, P1、BM、CK 之间无显著差异; 4 个处理之间人参根中全钾

含量无显著差异, 人参叶中全钾含量 P1 处理显著高于 BM 处理, 与 P7、CK 处理之间无显著差异。人参根中全磷含量 P7、P1、BM 处理均显著高于 CK, 人参叶中 4 个处理之间无显著差异。

表 5 不同处理对人参根、叶全量氮磷钾含量的影响 (%)

处理	全氮		全钾		全磷	
	根	叶	根	叶	根	叶
P1	2.18 ± 0.20A	2.11 ± 0.12AB	1.24 ± 0.07A	1.44 ± 0.10A	3.55 ± 0.20A	3.31 ± 0.55A
P7	2.11 ± 0.11A	2.38 ± 0.06A	1.41 ± 0.09A	1.34 ± 0.05AB	3.71 ± 0.63A	3.83 ± 0.34A
BM	2.04 ± 0.08A	2.02 ± 0.15AB	1.30 ± 0.06A	1.16 ± 0.06B	3.29 ± 0.10A	3.76 ± 0.67A
CK	1.98 ± 0.13A	1.76 ± 0.13B	1.19 ± 0.11A	1.20 ± 0.07AB	2.60 ± 0.30B	3.91 ± 0.11A

2.6 不同处理对人参土壤酶活性的影响

图 1 表明, P1 处理的脲酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶均高于 P7、BM、CK, 其中脲酶活性和酸性磷酸酶活性达到了显著水平, 过氧化物酶活

性 P1、BM 处理显著高于 P7 处理但与 CK 无显著性差异, P7、CK 处理之间无显著性差异; 蔗糖酶活性 P7、P1、BM、CK 4 个处理之间无显著性差异。

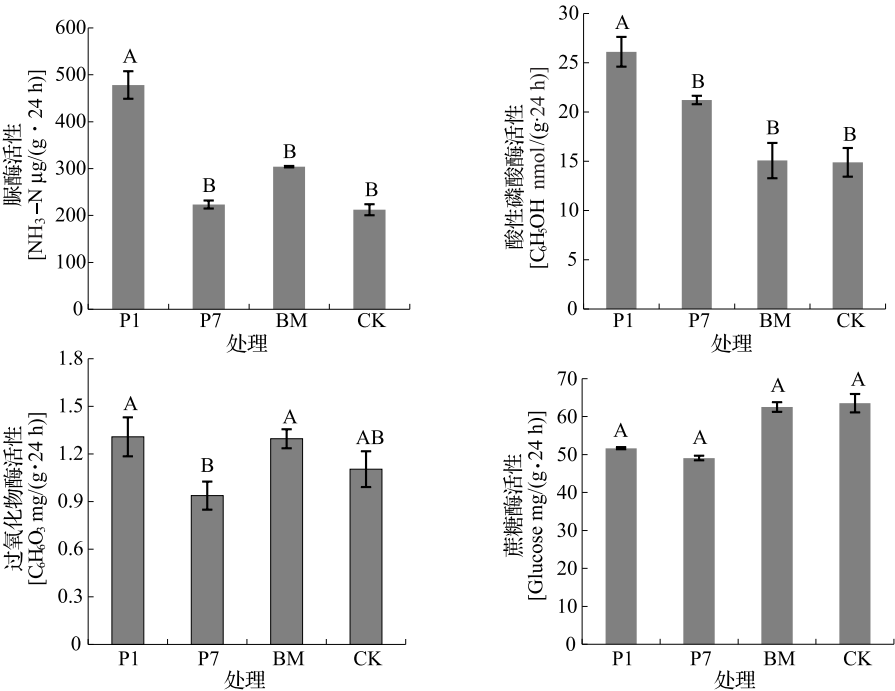


图 1 不同处理对土壤脲酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶、蔗糖酶活性的影响

注: 柱上不同字母表示处理间差异显著 (P < 0.05)。

2.7 不同处理对人参根微量元素的影响

微量元素影响药用植物药效的发挥,补益中药所具有的补气补血,提高机体免疫力均与所含铁、锰、锌、铜较高有关^[17-18]。由表6可知,不同处理对人参根中微量元素的影响存在差异,P1处理人参根中Fe、Mn、Cu的含量显著的高于对照,分

别增加了52.74%、127.03%、28.96%,Zn与对照相比增加19.96%,P1处理人参根中Fe含量与BM处理无显著性差异,显著高于P7处理,Cu含量P1、P7、BM无显著性差异。P7,BM、CK3个处理人参根中Fe、Zn、Mn、Cu含量无显著性差异。

表6 不同处理对人参根微量元素含量的影响

处理	Fe (g/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (g/kg)	Cu (mg/kg)
P1	0.223 ± 0.053A	31.507 ± 4.177A	0.084 ± 0.003A	16.557 ± 0.552A
P7	0.138 ± 0.008B	26.448 ± 2.789A	0.043 ± 0.009B	13.718 ± 1.056AB
BM	0.185 ± 0.008AB	29.067 ± 2.817A	0.050 ± 0.003B	14.801 ± 0.947AB
CK	0.146 ± 0.003B	26.266 ± 2.294A	0.037 ± 0.004B	12.839 ± 0.912B

2.8 不同处理对人参皂苷含量的影响

研究证明,人参皂苷能够重现人参主要的生理活性,因此对人参的质量评价主要集中在对其干燥根皂苷类含量的研究^[19]。表7表明,施用菌剂均

能不同程度地影响人参根中8种单体皂苷的含量。其中,P1处理8种单体皂苷的含量显著的高于其它处理,P7、BM、CK3个处理之间根中单体皂苷Rg₁、Re、Rf、Rc、Rb₂、Rd、Rb₃无显著性差异。

表7 不同处理对人参根皂苷含量的影响

(%)

处理	Rg ₁	Re	Rb ₁	Rf
P1	0.731 ± 0.048A	0.546 ± 0.041A	1.241 ± 0.060A	0.199 ± 0.012A
P7	0.461 ± 0.064B	0.388 ± 0.065B	0.848 ± 0.018B	0.125 ± 0.013B
BM	0.395 ± 0.028B	0.307 ± 0.027B	0.625 ± 0.011C	0.108 ± 0.001B
CK	0.491 ± 0.064B	0.292 ± 0.032B	0.619 ± 0.001C	0.113 ± 0.011B
处理	Rc	Rb ₂	Rd	Rb ₃
P1	0.573 ± 0.068A	0.559 ± 0.048A	0.076 ± 0.007A	0.515 ± 0.077A
P7	0.337 ± 0.061B	0.306 ± 0.053B	0.043 ± 0.008B	0.266 ± 0.032B
BM	0.240 ± 0.027B	0.257 ± 0.021B	0.043 ± 0.003B	0.251 ± 0.024B
CK	0.320 ± 0.050B	0.330 ± 0.060B	0.046 ± 0.008B	0.250 ± 0.020B

2.9 菌株P1的初步鉴定

在PKO培养基上30℃培养40h后的菌落呈乳白并略泛绿,边缘不规则,表面湿润,有粘液;细胞呈革兰氏阴性、菌体杆状(图2)。16S rRNA基因序列分析表明(图3),P1与*Pseudomonas yamanorum*8H1^T、*Pseudomonas brenneri*CFML 97-391^T相似性为99.85%、99.56%,结合菌株形态和16S rRNA初步认为P1菌株是假单胞菌。

3 讨论

土壤酶是土壤微生物、植物根系和土壤中其它生物细胞产生的一类存在于土壤中具有催化能力的生物活性物质,参与土壤中的各种代谢过程和能量

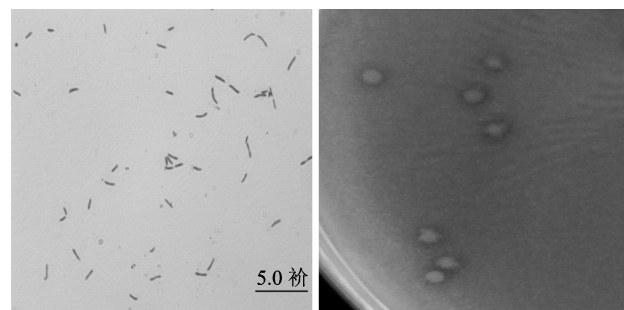


图2 菌株P1革兰氏染色(左)和在PKO培养基上的菌落(右)

转化,是影响土壤微生态环境的重要因素,也是反映土壤肥力的一个重要指标^[20-21]。Marcote等^[22]研究表明,施用微生物肥料有利于改善土壤理化性质

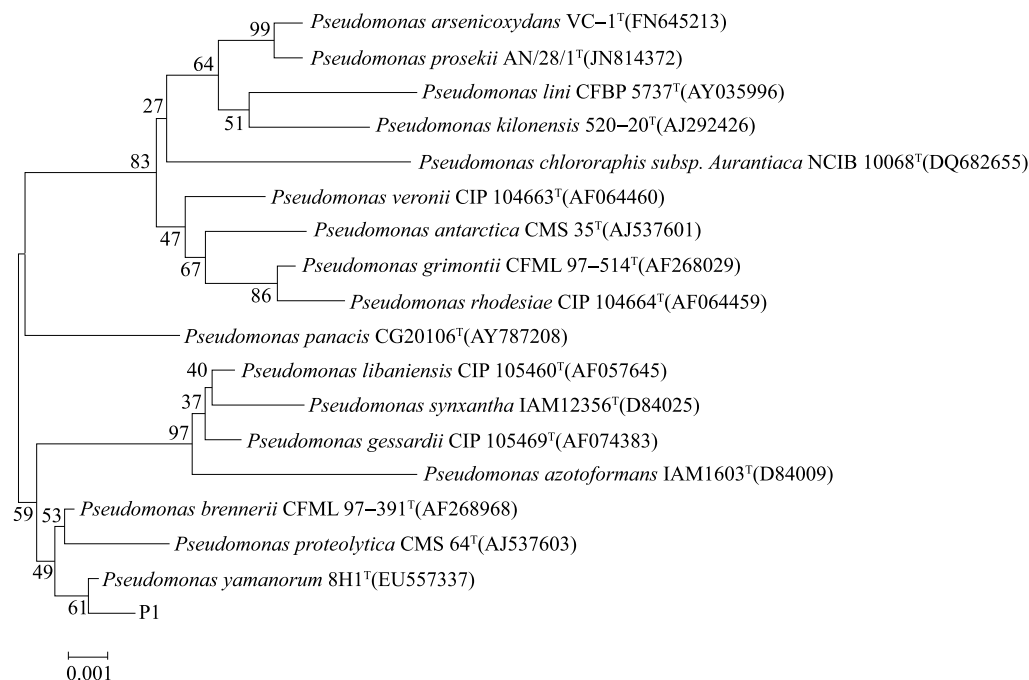


图3 菌株 P1 及其相关种属的系统进化树

和微生物区系, 提高土壤微生物数量和土壤转化酶、磷酸酶、过氧化物酶和脲酶活性。本试验结果显示, 试验菌株 P1 处理土壤脲酶、酸性磷酸酶活性显著性的高于 P7、BM、CK 3 个处理, 过氧化物酶高于 P7、BM、CK, 可能与人参根系生长活动及营养元素活化有关。P1 菌株分离自人参根际土壤, 相较于其它菌株, 进入土壤后刺激人参根系分泌物增多, 影响根际土壤微生物的生物活性, 使其分泌更多的胞外酶, 促进土壤养分的转化和释放, 而根际微生物通过吸收更多的土壤养分, 形成了近根养分供应库^[23-24], 减缓根际微生物的衰减, 从而有利于脲酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶的提高。

溶磷微生物溶解矿质磷机理之一是通过微生物代谢分泌有机酸, 降低植物根际土壤 pH 值, 使难溶性磷转化为植物可以吸收的有效磷^[25]。本研究中 P1 菌株无论在液体培养条件下还是接种于土壤中, 均提高了有效磷含量, P1 处理参根中全磷显著性的高于对照, 而土壤 pH 值降低了。由此可以推断所选解磷菌种通过分泌有机酸降低了土壤 pH 值, 活化了土壤中难溶磷, 提高了有效磷的含量。

人参属于多年生宿根性草本植物, 同一地点生长多年, 生长过程中对根际土壤养分是一个逐年消耗的过程, 生长后期养分供应尤其是微量元素难以满足需求。解磷微生物 P1 菌株促进人参对 K、Fe、Mn、Cu、Zn 的吸收、提高人参皂苷含量。可能的

原因有两个: 一是酸性土壤环境促进土壤中被固定的 P、Fe、Mn、Cu、Zn 等元素的活化, 提高其可利用性, 改善了人参根系周围的营养环境^[26-27]; 二是通过溶磷菌代谢分泌 IAA、GA₃ 等生长调节物质, 促进了人参根系尤其是侧根的生长, 侧根有较大的根表面积, 根系周围被活化的营养元素通过根系上的特定载体运输进入人参根部^[28-29]。K⁺ 易移动, 随着植物的生长, 不断向代谢最旺盛的部位转移^[30], Fe²⁺、Mn²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 在植物体内的移动性差, 在根部积累^[27], 最终促进人参生长发育, 加速人参次生代谢物质形成, 提高品质。

4 结论

通过平板初筛和摇瓶复筛的方法从人参根区土壤中筛选到一株高效溶磷菌 P1, 经菌株形态和 16S rRNA 初步鉴定为假单胞菌。盆栽接种 3 年生人参苗结果表明, 该菌株能改善土壤脲酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶的活性, 提高人参株高、根干重、鲜重、叶绿素含量, 增加土壤的速效养分含量, 促进人参对磷、钾、铁、锰、锌、铜的吸收, 加速人参次生代谢物质形成。农田栽参土壤肥力不可能满足人参多年生的生长需求, 因此本文所筛选到的溶磷微生物可以作为人参解磷微生物肥料的功能性菌株, 促进人参产业的绿色发展。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015. 8-9.
- [2] 谢彩香, 索凤梅, 贾光林, 等. 人参皂苷与生态因子的相关性 [J]. 生态学报, 2011, 31 (24): 7551-7563.
- [3] 张亚玉. 论人参种植业发展途径 [A]. 吉林省科学技术学术年会论文集 [C]. 长春: 吉林省科学技术协会, 2008. 8653-8654.
- [4] 刘兆荣. 人参营养与施肥及人参去向施肥模型的研究 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2012.
- [5] 陈光, 于海, 史焕之, 等. 不同供磷水平对人参干物质积累及磷素吸收利用的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 1997, (S1): 63-66.
- [6] 韩建萍, 梁宗锁, 王敬民. 矿质元素与根类中草药根系生长发育及有效成分累积的关系 [J]. 植物生理学报, 2003, 39 (1): 78-82.
- [7] 李乐, 孙海, 刘宁, 等. 微生物肥料的作用、机理及发展方向 [J]. 东北农业科学, 2016, 41 (4): 63-69.
- [8] Igual J M, Valverde A, Cervantes E, et al. Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: Use of updated molecular techniques in their study [J]. Agronomie, 2001, 21 (6): 561-568.
- [9] 朱培森, 杨兴明, 徐阳春, 等. 高效溶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.
- [10] 张祥胜. 钼锑抗比色法测定磷细菌发酵液中有效磷含量测定值的影响因素分析 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (12): 4822-4823.
- [11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 134.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005. 250-251.
- [13] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010. 52-62.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986. 274-340.
- [15] 蔡妙英, 东秀珠. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [16] 李勇, 黄小芳, 丁万隆. 营养元素亏缺对人参根分泌物主成分的影响 [J]. 应用生态学报, 2008, 19 (8): 1688-1693.
- [17] 王刚, 陈荣达. 中药中微量元素测定的研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22 (2): 151-155.
- [18] 邵红, 边才苗. 7种补益中药微量元素的含量及溶出率测定 [J]. 广东微量元素科学, 2002, 9 (11): 51-54.
- [19] 郝建勋. 人参产品的质量评价及其影响因素 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [20] 罗明, 庞峻峰, 李叙勇, 等. 新疆天山云杉林区森林土壤微生物学特性及酶活性 [J]. 生态学杂志, 1997, 16 (1): 26-30.
- [21] Douglas C L, Allmaras R R, Rasmussen P E, et al. Wheat straw composition and placement effects on decomposition in dryland agriculture of the Pacific Northwest [J]. Soil Science Society of America Journal, 1980, 44 (4): 833-837.
- [22] Marcote I, Hernández T, García C, et al. Influence of one or two successive annual applications of organic fertilizers on the enzyme activity of a soil under barley cultivation [J]. Biore-source Technology, 2001, 79 (2): 147-154.
- [23] 郭天财, 宋晓, 马冬云, 等. 施氮量对冬小麦根际土壤酶活性的影响 [J]. 应用生态学报, 2008, 19 (1): 110-114.
- [24] Aon M A, Cabello M N, Sarena D E, et al. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil [J]. Applied Soil Ecology, 2001, 18 (3): 239-254.
- [25] 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.
- [26] 千淋兆, 龚明波, 顾金刚, 等. 溶磷微生物菌剂对土壤营养元素及玉米生长的影响 [J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31 (5): 425-431.
- [27] Hänsch R, Mendel R R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12 (3): 259-266.
- [28] Holguin G, Patten C L, Glick B R. Genetics and molecular biology of Azospirillum [J]. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29 (1): 10-23.
- [29] Richardson A E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants [J]. Functional Plant Biology, 2001, 28: 897-906.
- [30] Szczerba M W, Britto D T, Kronzucker H J. K⁺ transport in plants: Physiology and molecular biology [J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166 (5): 447-466.

Screening and identification of phosphate-solubilizing bacteria from ginseng root zone and its effect on ginseng growth

LI Le, SUN Hai, LIU Zheng-bo, ZHANG Chun-ge, ZHANG Ya-yu* (Institute of Special Animal and Plant of Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun Jilin 130112)

Abstract: Ginseng is one of the famous traditional Chinese medicines. The available phosphorus is low in Jilin Ginseng soil. However, the excessive application of phosphate fertilizer will lead to a decline in the quality of ginseng. Therefore, a serious of experiment was carried out to isolate high effective phosphate-solubilizing bacteria to reveal the effect of phosphate-solubilizing bacteria on soil fertility, soil enzyme activities and ginseng growth and quality. By PKO plate method and liquid medium, the

high effective phosphate-solubilizing bacteria was isolated from soil of wild ginseng root zone. There were six ginseng seedlings with the same weight planted in 6 pots separately, based on the materials of 3-year-old ginseng seedlings. The control and treatment groups were set for comparison. After the leaves were fully planted, the phosphate-solubilizing bacteria were inoculated around four uniform ginseng roots by drip irrigation. The plant growth, chlorophyll content, soil available nutrient content, the content of NPK in leaves and roots, soil enzyme activities, the contents of trace elements and 8 kinds of saponins in the roots were determined at the 90 days of red fruit period. The results showed that: 1) With PKO plate method and liquid medium, P1 and P7 strains were obtained, the soluble P in the cultures of strains P1 and P7 reached 472.85 and 437.33 $\mu\text{g/mL}$, respectively. 2) The fresh weight and dry weight of ginseng in P1 treatment were higher than those of P7, BM and CK treatment ($P < 0.05$), and the plant height of P1 treatment was higher than the control group. The chlorophyll content of P1 treatment was higher than that of P7, BM and CK. 3) P1 treatment promoted the uptake of potassium by ginseng and increased the accumulation of phosphorus in roots significantly. 4) Inoculation agents could increase the activity of soil enzyme in different degree. The effect of P1 treatment was most significant. The activities of urease, acid phosphatase and peroxidase of rhizosphere soil in P1 treatment were highest. 5) The roots' contents of Fe, Mn, Cu and Zn in P1 treatment were the highest, and increased by 52.74%, 127.03%, 28.96% and 19.96% respectively relative to those in the CK. The content of 8 saponins were higher than those in the P7, BM, CK treatment. 6) The strains P1 was identified as *Pseudomonas* by 16S rRNA analysis and bacterial morphology.

Key words: ginseng; phosphate solubilizing bacteria; soil enzyme activity; soil available nutrients; growth and quality of ginseng



江苏省淮安大华生物科技有限公司 为您提供……
高效、绿色、环保发酵剂——酵素菌速腐剂



许可证号：微生物肥（2003）准字（0107）号、国环有机农业生产资料认证号：OP-0109-932-201

淮安市大华生物科技有限公司是以研制生产酵素菌系列微生物制品为主的科技型企业，集科研、生产、销售于一体，技术力量雄厚、设备先进、设施完善。本公司主要产品微生物发酵剂——酵素菌速腐剂，是采用生物技术制成的一种好（兼）气性复合微生物制剂，高效、绿色、环保，内含大量有益微生物、活性酶，适用于秸秆腐熟、畜禽粪便处理、垃圾堆肥、污泥堆肥和饼粕肥、农家肥等有机物固体发酵和人畜粪便液体发酵，是生产有机生物肥的优质、高效发酵剂。

主要功效：1. 发酵分解能力强，快速腐熟有机材料。2. 改良土壤，增强地力。3. 增产效果显著。4. 减轻病虫害，克服连作障碍。5. 改善农产品品质。我公司可为生物有机肥生产厂家提供发酵原料配比、工艺等资料。

机插秧育苗专用肥——机插水稻育苗基质

[苏农肥（2005）准字 0365-02 号]

机插水稻育苗基质（拌土型）是根据无土栽培学、植物营养学、肥料学、土壤微生物生态学原理研制而成，内含有多钟有益微生物、有机物及植物所需的大量、微量平衡营养元素，既是一种栽培基质又是一种良好的土壤调理剂。根据江苏农垦多年应用结果，具有“五省三增”的效果，即：省工、省肥、省药、省地、省机械费用，增加产量、增强抗病性、增加效益。

功效特点：1. 改良育秧土壤结构，提高土壤通透性和保水性能，提高养分利用率。2. 有机、无机、微生物肥三元配比科学，营养全面，苗期无需追肥。3. 根际形成的优势菌种能抑制和减少病原菌的产生，减轻病虫害的发生，增强植物抗性。4. 采用天然可降解有机物等经多重生化处理制成，属绿色环保型产品，符合绿色无公害农业的要求。5. 节本增效，每盘育苗成本仅需 0.2 元。

我公司还生产国环有机认证产品“华丰有机液肥”，并为有机基地提供种植方案，现诚征各地经销代理商。

地址：江苏省淮安市楚州区白马湖农场 邮编：223216

电话：0517-85751101、85751488 传真：0517-85751488

联系人：陈忠良 手机：18952315919 网址：<http://www.jsdh.com> E-mail: dahua@jsdh.com