

高寒冷凉环境中解磷微生物的效果初探

孙 健¹, 张鑫鹏¹, 李松龄^{2*}, 王亚艺^{2*}

(1. 青海大学, 青海 西宁 810016; 2. 青海大学农林科学院土壤肥料研究所, 青海 西宁 810016)

摘 要: 为了筛选出能适应青藏高原冷凉气候环境下的解磷菌株, 以低磷土 (有效磷 1.48 mg/kg、全磷 1.3 g/kg) 为试验土壤, 以作物生长中的特征温度 5、15、25 °C 来模拟青藏高原的冷凉环境, 将胶冻样芽孢杆菌 (*Paenibacillus mucilaginosus*)、巨大芽孢杆菌 (*Priestia megaterium*)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、紫变异链霉菌 (*Streptomyces violovariabilis*)、肉桂褐链霉菌 (*Streptomyces cinnamonofuscus*)、黄团孢链霉菌 (*Streptomyces flavoagglomeratus*) 6 株解磷菌接种到土壤中。通过测定不同温度下土壤的 pH、有效磷含量、土壤中的碱性磷酸酶活性、无机磷组分, 筛选出解磷能力较强的解磷菌。试验结果表明, 接种了紫变异链霉菌的处理在任何温度下土壤有效磷含量、碱性磷酸酶活性都高于接种其他菌株的处理, pH 与土壤有效磷含量呈显著负相关关系。15 °C 下无机磷组分中 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量要高于其他处理。因此, 紫变异链霉菌 (*Streptomyces violovariabilis*) 为适合青藏高原冷凉气候环境的解磷菌株。

关键词: 解磷菌; 冷凉环境; 碱性土壤

磷是植物生长所需的三大矿质营养元素之一, 是继氮之后对植物生长发育第二重要的矿质元素^[1]。磷以多种形式参与植物体内的新陈代谢过程, 是农业生产中重要的物质保障。由于土壤特定的理化性质和磷酸盐特殊的化学性质, 导致土壤中的大量磷素以钙磷、铝磷、铁磷等难溶性无效态的磷酸盐形式存在, 使得土壤有效磷含量不足^[2]。根据调查, 全球缺磷耕地占全球耕地总量的 43%, 而中国有 1.07 亿 hm^2 农田, 其中缺磷的农田有 0.71 亿 hm^2 , 约占全国耕地的三分之二^[3]。青藏高原主要耕作土壤为石灰性土壤, 有效磷含量为 5 ~ 10 mg/kg, 土壤严重缺磷^[4], 必须大量使用可溶性磷肥, 以满足农业生产的需求。长期施用磷肥不仅污染了土壤的生态环境, 加剧了磷的固定过程, 而且破坏了土壤结构, 引起土壤板结, 影响了作物的产量和品质^[5]。青海省位于中国西北部内陆, 平均海拔超过 3000 m, 生态环境脆弱, 极易受到破坏, 且

恢复缓慢。解磷微生物可以将土壤中的无效磷转化为可以被植物吸收利用的有效磷, 故筛选适合于青藏高原气候条件的解磷微生物, 并将其作为土壤接种剂应用到土壤中, 可增加土壤中的有效磷含量, 从而改善植物和农作物的磷营养, 进而使得农产品的产量和质量得到改善^[6]。本研究旨在评价筛选出适合青海冷凉环境的优良解磷菌株。以期丰富青藏高原功能微生物菌种资源, 为青藏高原农业的健康发展提供有实际应用价值的菌种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用的 6 株微生物菌种分别为胶冻样芽孢杆菌 B1 (*Paenibacillus mucilaginosus*)、巨大芽孢杆菌 B2 (*Priestia megaterium*)、蜡状芽孢杆菌 B3 (*Bacillus cereus*)、紫变异链霉菌 S1 (*Streptomyces violovariabilis*)、肉桂褐链霉菌 S2 (*Streptomyces cinnamonofuscus*)、黄团孢链霉菌 S3 (*Streptomyces flavoagglomeratus*), 均购自北京北纳创联生物技术研究院。

1.2 培养基

B1、B2 和 B3 的培养基为营养肉汁琼脂培养基^[7], S1 和 S2 的菌种培养基为高氏合成一号培养基, S3 的培养基为 PDA 培养基, 解磷培养基为无

收稿日期: 2021-12-04; 录用日期: 2022-04-02

基金项目: 青海省科学技术厅重大科技专项 (2019-NK-A11); 青海省中央引导地方科技发展资金项目 (2021ZY016)。

作者简介: 孙健 (1991-), 硕士, 研究方向为有机肥研发。E-mail: 1611499005@qq.com。

通讯作者: 李松龄, E-mail: 465883114@qq.com; 王亚艺, E-mail: 578833756@qq.com。

机磷培养基和有机磷培养基^[7]。

1.3 解磷菌液的制备

将6株微生物菌种分别接种于相应的培养基中, 30℃、180 r/min 振荡培养。其中B1、B2和B3培养24 h, S1、S2和S3培养48 h。均使得菌液浓度达到 2×10^8 CFU/mL, 即符合农用微生物菌剂产品的技术指标。

1.4 试验设计

取自然土(有效磷1.48 mg/kg、全磷1.3 g/kg)过0.5 mm筛, 除去杂草、石子等杂质后装入一次性纸碗中, 每个碗装土1.8 kg, 添加菌液180 mL, 用蒸馏水调节含水率至25%, 分别设置恒温箱温度为5、15、25℃来模拟冷凉环境, 用蒸馏水代替菌液作为对照(CK), 每个温度设置7个处理。每7 d取样一次, 并测定土壤样品中的pH、有效磷含量、土壤中的碱性磷酸酶活性, 在试验初始和结束时测定无机磷组分^[8]。

2 结果与分析

2.1 不同温度下土壤的有效磷

为了模拟青藏高原的冷凉气候, 依据作物生长中的温度特征, 将不同菌种接种到土壤中并分别放置在5、15和25℃3个不同温度环境。由图1可以看出, 在5℃环境下, 不同菌种处理的土壤磷含量在整个过程中差异较大。接种S1和接种S2的两个处理在第7 d时土壤有效磷含量显著上升, 而其他处理均有所下降, 且B3处理显著低于CK处理; 随着时间的延长, 接种S1和接种S2的两个处理土壤有效磷含量持续增加, 且显著高于其他处理, 第42 d达到最大, 分别为3.75和2.98 mg/kg, 较初始值分别增加86.56%和43.96%。

由图2可以看出, 在15℃环境下, 各处理中的土壤有效磷含量的变化趋势与5℃时相似。接种S1菌种的处理在整个42 d的培养期内显著高于其他处理, 且土壤有效磷含量随时间的延长逐渐升高, 第42 d时达到最高, 为4.92 mg/kg, 较初始值增加了144.77%。接种了S2的土壤有效磷含量在各时期内均较初始值有所升高, 有效磷含量最高为3.24 mg/kg, 较初始值增加了60.39%。在15℃环境下, 接种了B1菌种的土壤有效磷含量也较高, 最大为3.31 mg/kg, 较初始值相比增长了62.25%。而接种B2和B3的处理在整个培养期内有效磷含量均低于初始值。结果表明, 在15℃环境下, S1和S2

菌种的解磷效果较好, 不论哪个时期解磷能力均较强。

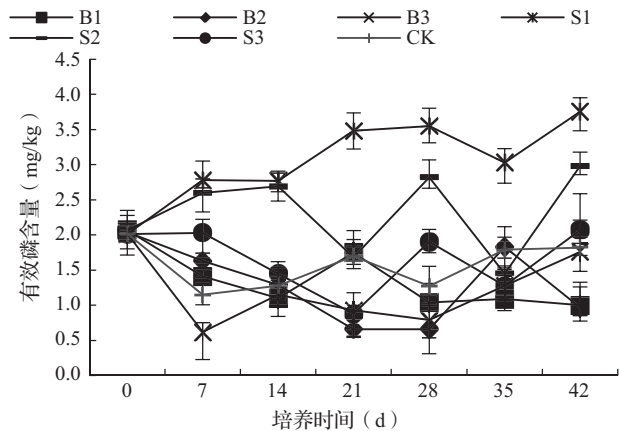


图1 5℃土壤有效磷含量

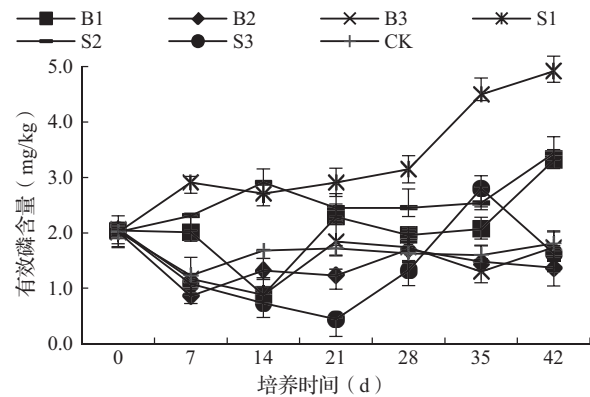


图2 15℃土壤有效磷含量

由图3可以看出, 在25℃环境下各处理的土壤有效磷含量变化趋势与5和15℃相似, 也为接种S1和S2的两个处理较好, 土壤有效磷含量在整体上明显高于其他处理, 最高分别为4.48和3.09 mg/kg, 较初始值分别增加122.88%和51.47%; 而接种了其他解磷菌的处理土壤有效磷含量均低于初始值。

综上所述, 不论哪种温度环境, 接种S1处理的土壤有效磷含量始终高于其他处理, 其次为接种S2的处理, 且从第7 d开始就表现出相对较强的解磷能力, 说明在作物整个生育期, S1和S2均可不同程度地持续溶解土壤中的固定态磷, 增加土壤有效磷含量, 促进作物生长。分析同一菌株接种在不同温度下的土壤有效磷含量可知, 15和25℃时较高, 5℃时最低, 说明环境温度对解磷菌的解磷能力有一定的影响。对于青藏高原地区, 筛选适宜低温的解磷菌尤为必要。

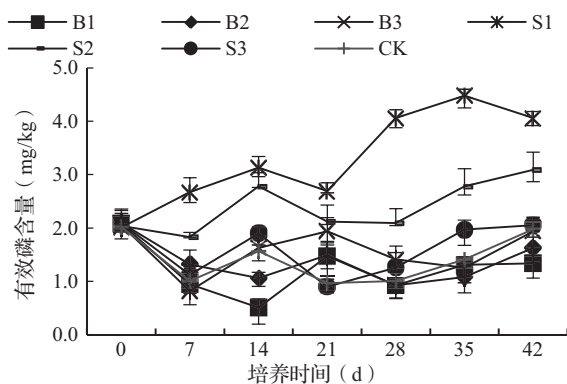


图3 25℃土壤有效磷含量

2.2 不同温度下土壤的碱性磷酸酶活性

图4是在5℃下各处理的碱性磷酸酶活性差异比较,整体上随着培养时间的延长而升高。S1在整个解磷过程中碱性磷酸酶活性均较高,且明显高于其他处理;S3在前期碱性磷酸酶的活性仅次于S1处理,但在14 d后有所下降,在42 d时达到最大,为0.31 mg/g (酚含量);B1和B2处理的碱性磷酸酶活性在整个过程中均低于其他处理;所有处理在42 d时碱性磷酸酶活性均达到最大,超过0.3 mg/g (酚含量)。

由图5可以看出,在15℃下各处理的碱性磷酸酶活性随着培养时间的延长而升高,在此温度下解磷菌的生物活性较5℃有所提高,相应的碱性磷酸酶活性也较5℃有所升高。接种S1的处理从开始到结束时碱性磷酸酶活性始终高于其他处理,并且在第35 d时碱性磷酸酶活性最高,为0.65 mg/g (酚含量),较初始值增加了306.25%;S3处理的碱性磷酸酶活性最高,为0.55 mg/g (酚含量),且在整个解磷过程中仅次于S1;B3溶解有机磷的能力最低,其碱性磷酸酶活性最高仅为0.40 mg/g (酚含量),且在解磷过程中均低于其他处理。B1碱性磷酸酶活性最高时达0.53 mg/g (酚含量),溶解有机磷能力相对较强,S2在5和15℃时均表现一般,且B1和B2在不同温度下的表现不同。

25℃条件下碱性磷酸酶活性的变化趋势与在5和15℃下的变化趋势基本一致,随着培养时间的延长而升高(图6),但是碱性磷酸酶在不同温度下活性不同,表现为15℃>25℃>5℃,在该温度下接种S1的处理在各时刻的碱性磷酸酶活性均高于其他处理,并且在第42 d时的活性最高,为0.56 mg/g (酚含量),较初始值增加了2.5倍。其余5株解磷菌处理的碱性磷酸酶活性相差不大,均超过

0.40 mg/g (酚含量),其中B1处理相对较高,达0.47 mg/g (酚含量),S3处理相对较低,为0.41 mg/g (酚含量)。

综上所述,S1不论在哪个温度环境下,碱性磷酸酶活性均最高。

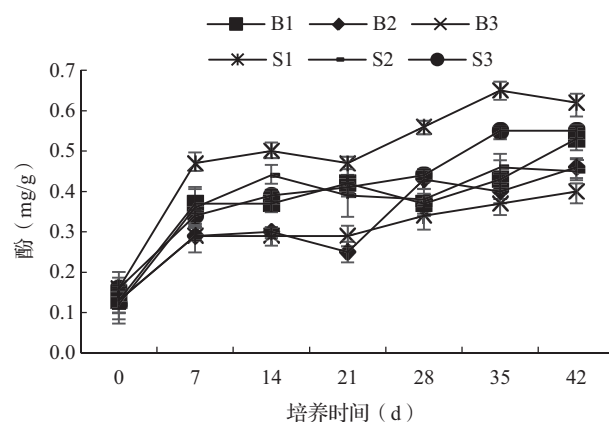


图4 5℃环境温度下的磷酸酶活性

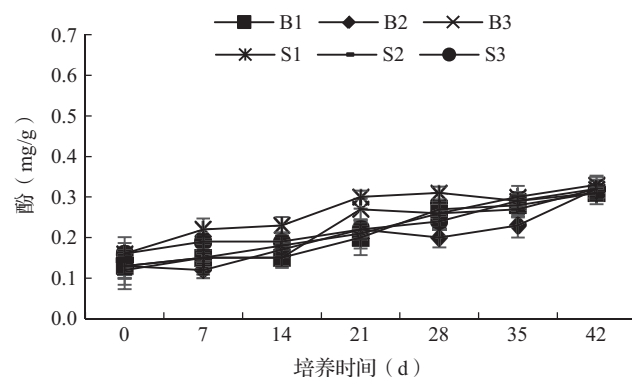


图5 15℃环境温度下的磷酸酶活性

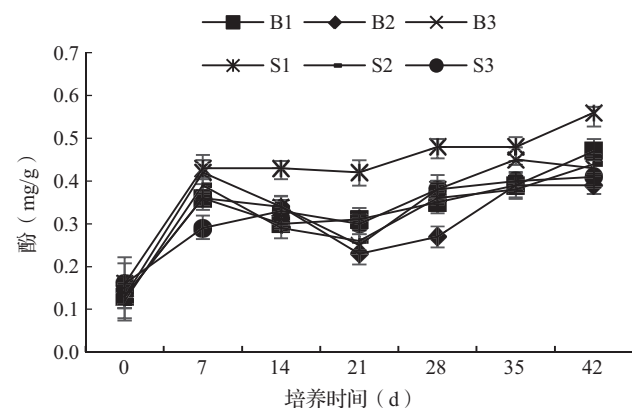


图6 25℃环境温度下的磷酸酶活性

2.3 不同温度下土壤的 pH

通过测定不同处理 pH (图7~9) 可得,加入解磷菌后土壤 pH 比初始均有下降,其中变化最大

的是 15℃ 下接种 S1 的处理, 其 pH 下降了 10.4%, 其次是接种 B2 的处理, 为 8.52%。之后是 25℃ 下接种 B1 的处理, 为 8.4%, 其他处理的 pH 则变化不大。S1 在 3 个温度下, 有效磷含量与 pH 呈显著负相关, B1 和 S2 在 5℃ 时有效磷含量与 pH 呈显著负相关 (表 1)。

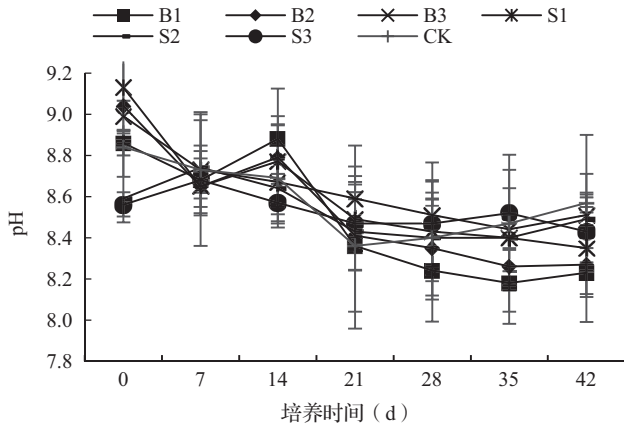


图 7 5℃土壤 pH

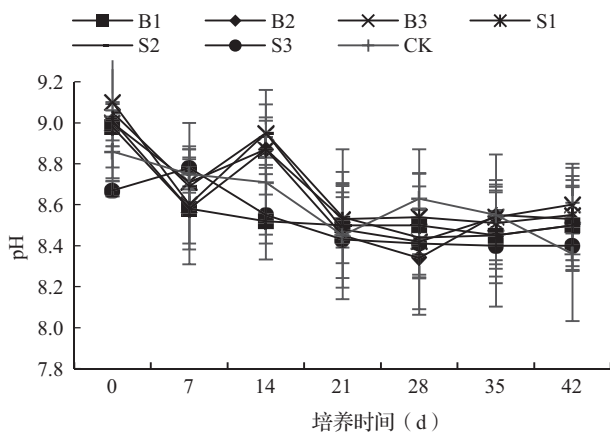


图 8 15℃土壤 pH

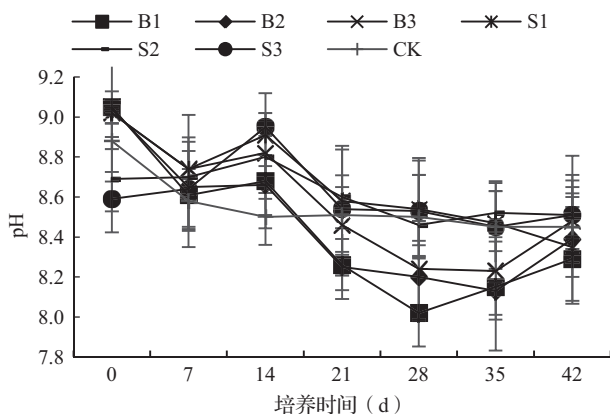


图 9 25℃土壤 pH

表 1 不同温度下各处理有效磷含量与 pH 相关关系

指标	B1	B2	B3	S1	S2	S3
5℃	0.789*	0.699	0.619	-0.880**	-0.865*	0.431
15℃	-6.190	0.279	0.239	-0.808*	-0.145	-0.072
25℃	0.318	0.650	0.234	-0.798*	-0.173	0.102

注: ** 表示在 0.01 水平上显著相关, * 表示在 0.05 水平上显著相关。

2.4 不同温度下土壤的无机磷组分

为了研究加入解磷菌对土壤无机磷的贡献, 测定了土壤中初始和结束时的无机磷组分含量 (表 2 ~ 4)。结果表明在 5℃ 环境温度下, 与初始值相比, 土壤中的无机磷组分含量均无显著变化。

在 15℃ 环境温度下, 各个菌株对不同磷组分的影响较大 (表 3)。对于 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 含量来说, 在培养结束时所有处理的 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 含量均有不同程度地增加, 其中添加 S1 和 S2 两个处理的 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 含量较高, 分别达 22.67 和 23.26 mg/kg, 分别比初始增加 38.3% 和 41.9%; 其次为 B1, 比初始增加 23.3%; 而 B3 和 B2 对 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 的影响不明显。结合土壤有效磷含量的结果分析, 说明 S1 和 S2 能够将其其他形态的难溶性磷转化为可利用的 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 形态磷; 分析 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 组分可知, 不同菌株对 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量的影响趋势与 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 一致, 即 S1 和 S2 两个处理的 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量较高, 比初始分别增加 21.6% 和 15.5%, B1 对 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 组分影响不大, 而添加 B2、B3 和 S3 3 个处理的 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量略有降低,

由表 5 可以看出, 在 25℃ 下 S1 和 S2 处理的土壤中 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量均较高, $\text{Ca}_2\text{-P}$ 含量比初始值分别增加 16.8% 和 16.4%, $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量则分别增加 9.4% 和 11.7%, 该趋势与 15℃ 时相同; S1 对 Al-P 的溶解能力也较强, Al-P 含量比初始值增加 20.2%, 而 Fe-P 、 O-P 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 在此温度下与初始值相比无显著变化, 且 25℃ 环境温度下 B1 对 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 的影响要弱于 15℃ 环境温度下的影响。

表 2 5℃各处理无机磷组分 (mg/kg)

组分	$\text{Ca}_2\text{-P}$	$\text{Ca}_8\text{-P}$	Al-P	Fe-P	O-P	$\text{Ca}_{10}\text{-P}$
B1	16.11a	10.91a	9.58a	5.06a	10.55a	85.36a
B2	15.86a	9.82a	10.67a	5.50a	9.96a	85.14a
B3	15.78a	11.58a	10.64a	5.49a	10.72a	85.81a
S1	15.80a	10.24a	10.55a	5.14a	10.25a	85.73a
S2	16.01a	9.95a	9.96a	5.35a	11.30a	85.25a
S3	14.98a	10.49a	10.38a	4.92a	9.50a	83.95a
初始	16.39a	12.62a	10.76a	5.31a	11.20a	85.86a

注: 不同小写字母差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

表 3 15 °C各处理无机磷组分 (mg/kg)

组分	Ca ₂ -P	Ca ₈ -P	Al-P	Fe-P	O-P	Ca ₁₀ -P
B1	20.21a	13.13a	9.96a	4.60a	10.34a	84.26a
B2	16.62b	11.83b	10.72a	5.38a	10.51a	83.04a
B3	16.72b	12.22b	10.97a	5.64a	10.88a	84.92a
S1	22.67a	15.35a	9.92a	4.68a	11.30a	85.21a
S2	23.26a	14.58a	12.06a	4.80a	11.18a	85.95a
S3	17.96b	12.35b	11.93a	4.79a	10.42a	84.32a
初始	16.39b	12.62b	10.76a	5.31a	11.20a	85.86a

表 4 25 °C各处理无机磷组分 (mg/kg)

组分	Ca ₂ -P	Ca ₈ -P	Al-P	Fe-P	O-P	Ca ₁₀ -P
B1	15.70a	12.28b	11.62b	4.84a	9.87a	85.02a
B2	17.18a	11.00b	11.39b	5.39a	10.84a	83.91a
B3	16.37a	12.40b	12.93a	4.64a	10.38a	84.87a
S1	19.15a	13.80a	12.55a	5.39a	11.43a	85.29a
S2	19.07a	14.10a	10.25b	4.75a	11.72a	84.74a
S3	15.78a	12.40b	11.58b	5.40a	11.01a	85.19a
初始	16.39a	12.62b	10.76b	5.31a	11.20a	85.86a

3 讨论

青藏高原地理气候环境特殊,传统物理化学技术很难发挥作用,解磷微生物在改良土壤和增加土壤肥力中发挥着不可替代的作用^[9]。已有的研究表明,解磷菌能否将土壤中的难溶性磷释放成可溶性磷不仅取决于菌株解磷能力的强弱,也与供试土壤理化性质有关,低水平的可溶性磷酸盐会诱导解磷菌产生解磷作用,而在高水平外源可溶性磷酸盐的作用下则会被抑制^[10]。故本试验首次选用有效磷含量低的自然土壤(有效磷 1.48 mg/kg、全磷 1.3 g/kg)进行模拟青藏高原冷凉气候环境的试验,青藏高原土壤为石灰性土壤,以难溶性钙磷为主。试验结果表明,施加解磷菌后土壤有效磷含量显著升高,主要是在磷胁迫下诱导解磷菌株分泌多种有机酸和磷酸酶,在一定程度上溶解了土壤中的难溶性磷^[11]。但也有研究认为,解有机磷细菌分泌的有机酸、蛋白质和多糖可能在一定程度上矿化了土壤中的难溶性磷^[12]。在不同温度下解磷能力的试验中分别测定了接种 6 种解磷菌的土壤中可溶性磷含量、碱性磷酸酶活性、pH 和石灰性土壤的无机磷组分。结果表明在接种了 S1(紫变异链霉菌)的土壤中,不同的温度下土壤有效磷含量、碱性磷酸酶活性和 Ca₂-P、Ca₈-P 含量显著高于其他处理。

有研究认为土壤中有有机磷的组分较为复杂,根据化学结构可分为磷酸单酯,如肌醇磷酸盐即植酸盐,磷酸双酯,如磷脂和核酸、磷酸酐以及磷酸酯、含磷芳香族化合物,其中丰度最高的是以植酸盐为代表的磷酸单酯^[13]。而石灰性土壤无机磷可分为 Ca₂-P、Ca₈-P、Al-P、Fe-P、O-P、Ca₁₀-P 6 种形态。其中, Ca₂-P 是作物最有效的磷源, Ca₈-P、Al-P、Fe-P 可视为缓效磷源,而 O-P、Ca₁₀-P 则是短期内难以被植物吸收利用且被视为潜在的磷源。所以本试验认为,高活性的碱性磷酸酶促进了有机磷尤其是磷酸单酯和磷酸双酯的降解,而 Ca₂-P 和 Ca₈-P 这些有效磷源和缓效磷源的增加则间接地影响了土壤无机磷的含量,最终导致了土壤有效磷含量的增加。

3.1 不同温度培养下磷酸酶的活性

通过磷酸酶活性结果的分析说明, S1 菌种在任何温度下都能够持续分泌较多的碱性磷酸酶,具有较强溶解有机磷的能力,可应用于作物的整个生育期,而 B1 和 B2 则对有机磷的溶解能力相对较弱。B1 在 15 和 25 °C 时碱性磷酸酶活性较高,而在 5 °C 时较低,说明该菌不适宜在低温环境下施用,而在合适的温度时溶解有机磷的能力较强;其他菌株总体表现一般。这表明土壤的磷酸酶活性随培育温度的升高而增强,当达到一定温度后,土壤的磷酸酶活性随温度的波动较小^[14]。

3.2 不同温度培养下的 pH

Braz 等^[15]经研究发现,在液体培养时,当培养液的 pH 范围在 4.2 ~ 5.0 之间时,可溶磷含量与 pH 之间显著相关。本研究中, S1 在 3 个温度下,有效磷含量与 pH 呈显著负相关, B1 和 S2 在 5 °C 时有效磷含量与 pH 呈显著负相关。原因可能是解磷微生物在培养的过程中分泌了有机酸,如葡萄糖酸、草酸、甲酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、乳酸等^[16]。这些有机酸既能降低培养液的 pH,使难溶性磷在酸性条件下溶解,又能与 Fe³⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Al³⁺ 等螯合,释放 PO₄³⁻^[17],从而使培养液中的可溶性磷含量增加。结合碱性磷酸酶活性结果考虑, S1 解磷菌不仅能分泌较多的碱性磷酸酶,更能有效分泌有机酸,从而解磷能力更强。

3.3 不同温度培养下的无机磷组分

根据顾益初等^[18]提出的石灰性土壤中无机磷的分级方法,石灰性土壤中的无机磷主要分为 Ca₂-P、Ca₈-P、Al-P、Fe-P、Ca₁₀-P 及 O-P 等形态。

$\text{Ca}_2\text{-P}$ 水溶性磷是在土壤中的初期反应, 是对土壤有效磷影响最显著的磷源。 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 属于中等有效的缓效性磷源, $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 有效性则极低。 Al-P 在石灰性土壤中是一种相当有效的无机磷源, Fe-P 的有效性低, 大致处于中等偏下的水平。 O-P 由于其 Fe_2O_3 胶膜的抗蚀性较强, 在理论上很难作为有效磷源^[19]。

在 5℃ 环境温度下, 土壤中的无机磷组分含量均无显著变化。原因可能有两方面, 一方面解磷菌是通过获得高的生长速率来提升解磷的速度, 初期解磷菌在新的生长环境中处于适应期, 需要大量无机磷来满足自身的繁殖, 而环境温度在 5℃ 时解磷菌代谢缓慢, 又使得这个适应期延长^[20]。另一方面, 有研究表明, 解磷菌对无机磷的溶解主要是通过分泌次生代谢产物有机酸进行的。而此时解磷菌大多处于生长期, 对次生代谢产物分泌很少^[21]。综合以上两方面的原因使得在该温度下, 土壤中的无机磷组分含量均低于初始值。

由 15 和 25℃ 下的无机磷组分可知, $\text{Ca}_8\text{-P}$ 对有效磷库起着重要的调节作用, 结果说明, S1 和 S2 能有效调节植物根系周围的磷库。对于其他组分的磷来说, 6 种解磷菌对其含量影响不大, 这可能是由于 Al-P 、 Fe-P 、 O-P 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 的有效性低, 植物的潜在磷源在短时间内很难被有效化。也有可能是在不同温度下解磷菌的解磷机制有所不同^[22]。

综上所述, 不论在哪种环境温度下, 解磷菌对 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 的影响较大, 溶解能力较强, 而对 Al-P 、 Fe-P 、 O-P 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 组分无明显影响, 尤其是 O-P 含量变化不大, 原因可能是 Al-P 、 Fe-P 、 O-P 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 的有效性低, 结构稳定, 且石灰性土壤中 O-P 被氧化胶膜包被, 这类磷酸盐在有机酸弱酸下很难分解, 所以解磷菌对其影响很小^[23]。不同解磷菌解磷结果显示, 添加 S1 和 S2 的两个处理的 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 含量在 15 和 25℃ 时增加幅度较大, 而在 5℃ 时呈不同程度地减少, 说明这两株菌在合适的温度范围内能有效地将其他难溶性的磷转化为植物可吸收利用的磷形态, 并能有效地调节植物根系周围的磷库。

3.4 小结

解磷微生物作为生物肥料, 施用后不仅能提高土壤中的有效磷含量, 促进植物生长, 还能改良盐碱地, 改善土壤结构, 对保持生态环境平衡具有重要意义。本研究在低磷土壤培养条件下开展了解磷

微生物对土壤中有效磷的试验, 然而, 解磷微生物却受温度、土壤 pH、土壤微生物等因素的影响。向土壤中添加外源解磷微生物势必与土壤中原有的微生物群落产生相互作用, 可能对土壤微生物群落结构产生一定的影响。有研究表明, 解磷菌的施用可以明显改变根际微生物群落中细菌、真菌及放线菌数量, 微生物总量也随之变化^[24]。因此, 在后续的试验中, 将进行盆栽试验对 S1 的解磷能力做进一步验证, 并对 S1 的发酵工艺微生物菌剂研制等方面做进一步研究, 为其在肥料应用中的推广进行深入探索。

4 结论

通过接种 6 个不同的解磷菌种, 研究其在不同环境温度下, 在低磷土中对土壤的 pH、有效磷含量、土壤中的碱性磷酸酶活性、无机磷组分的影响, 确定紫变链霉菌 (*Streptomyces violovariabilis*) 为最适合青藏高原冷凉气候环境的解磷菌种。

参考文献:

- [1] Khan M S, Zaidi A, Ahemad M, et al. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi: current perspective [J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2010, 56 (1): 73-98.
- [2] 余旋, 朱天辉, 刘旭. 不同解磷菌剂对美国山核桃根际微生物和酶活性的影响[J]. 林业科学, 2012, 48 (2): 117-123.
- [3] 池景良, 郝敏, 王志学, 等. 解磷微生物研究及应用进展[J]. 微生物学杂志, 2021, 41 (1): 1-7.
- [4] 王亚艺. 使用解磷细菌对小油菜产量及土壤磷含量的影响[J]. 北方园艺, 2014 (5): 155-158.
- [5] 柯春亮, 陈宇丰, 周登博, 等. 香蕉根际土壤解磷细菌的筛选、鉴定及解磷能力[J]. 微生物学通报, 2015, 42 (6): 1032-1042.
- [6] 唐岷宸, 李文静, 宋天顺, 等. 一株高效解磷菌的筛选及其解磷效果验证[J]. 生物技术通报, 2020, 36 (6): 102-109.
- [7] 王亚艺, 李松龄, 蔡晓剑, 等. 青藏高原溶磷菌菌株的分离筛选[J]. 北方园艺, 2012 (15): 161-163.
- [8] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 25-82.
- [9] 余炜敏, 梁嘉伟, 王荣萍, 等. 不同有机肥对菜地根际土壤磷素形态及蔬菜生长的影响[J]. 中国农学通报, 2018, 34 (32): 90-94.
- [10] 周鑫斌, 洪坚平, 谢英荷. 溶磷细菌肥对石灰性土壤磷素转化的影响[J]. 水土保持学报, 2005 (6): 72-75.
- [11] 潘虹, 曹翠玲, 林雁冰, 等. 石灰性土壤解磷细菌的鉴定及其对土壤无机磷形态的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43 (10): 114-122, 151.

- [12] 何园球, 沈其荣, 孔宏敏, 等. 水稻旱作条件下土壤水分对红壤磷素的影响[J]. 水土保持学报, 2003 (2): 5-8.
- [13] 沈仁芳, 蒋柏藩. 石灰性土壤无机磷的形态分布及其有效性[J]. 土壤学报, 1992 (1): 80-86.
- [14] 张淑红. 1株溶磷细菌的筛选及其溶磷物质分析[J]. 河南农业科学, 2014, 43 (8): 64-67.
- [15] Braz R R, Ely N. Synergistic action of both *Aspergillus niger* and *Burkholderia cepacea* in co-culture increases phosphate solubilization in growth medium[J]. Fems Microbiology Letters, 2012 (1): 84-90.
- [16] 乔欢, 吴小芹, 魏伟. 两株溶磷青霉对马尾松根际土壤的微生物生态效应及其促生作用[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2016, 40 (6): 109-116.
- [17] Villegas J, Fortin J A. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO_3^- as nitrogen source [J]. Canadian Journal of Botany, 2002, 80 (5): 571-576.
- [18] 顾益初, 蒋柏藩. 石灰性土壤无机磷分级的测定方法[J]. 土壤, 1990 (2): 101-102, 110.
- [19] 苏翔, 汪桂玲, 李家乐. 不同温度下2种沼虾磷酸酶活性变化的研究[J]. 水产科学, 2011, 30 (3): 168-170.
- [20] 王可莹. 松嫩草地土壤有机磷组分及土壤磷矿化对氮添加的响应[D]. 吉林: 东北师范大学, 2020.
- [21] 刘雅淑, 孟春风, 刘延鹏, 等. 森林土壤磷酸酶活性变化特征及其影响因素[J]. 湖北农业科学, 2016, 55 (4): 850-854.
- [22] 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.
- [23] 钱婷, 叶建仁. 巨大芽孢杆菌 ZS-3 溶无机磷机制及其对樟树的促生作用[J]. 生物技术通报, 2020, 36 (8): 45-52.
- [24] 余晨兴, 林洪, 苏玉萍, 等. 闽江口-平潭海域有机解磷菌多样性及群落特征[J]. 应用生态学报, 2021, 32 (5): 1863-1872.

Screening of phosphorus solubilizing microorganisms under high latitude and cold environment

SUN Jian¹, ZHANG Xin-peng¹, LI Song-ling^{2*}, WANG Ya-yi^{2*} (1. Qinghai University, Xining Qinghai 810016; 2. Academy of Agricultural Forestry Sciences, Qinghai University, Xining Qinghai 810016)

Abstract: Phosphorus application to infertile agricultural soils has greatly contributed to achieving increased crop yield and food production. However, the excessive and long-term use of phosphates negatively impacts the environment and causes crop yield decreasing. Using alternative and sustainable approaches including phosphorus-solubilizing microorganisms are imperative. As such, this study aimed to screen phosphorus-soluble strains that can adapt to the cold climatic environment of the Qinghai-Tibet Plateau. *Paenibacillus mucilaginosus*, *Priestia megaterium*, *Bacillus cereus*, *Streptomyces violovariabilis*, *Streptomyces cinnamofuscus*, and *Streptomyces flavoagglomeratus* were inoculated in low phosphorus soil (available phosphorus: 1.48 mg/kg, total phosphorus: 1.3 g/kg), and experimental soils were incubated at 5, 15 and 25 °C to simulate characteristic temperatures of crop growth in the cold environment of the Qinghai-Tibet Plateau. Soil pH, available phosphorus content, alkaline phosphatase activity, and inorganic phosphorus composition at different temperatures were analyzed, and the phosphorus-solubilizing bacteria with strong phosphorus-solubilizing ability were screened. The results showed that the available phosphorus content and alkaline phosphatase activity of soil inoculated with *S. violovariabilis* were higher than those of other inoculated strains at any temperature, and there was a significant negative correlation between pH and available phosphorus content of soil. The contents of $\text{Ca}_2\text{-P}$ and $\text{Ca}_3\text{-P}$ in inorganic phosphorus at 15 °C were higher than those of other treatments. Therefore, *S. violovariabilis* is a phosphorus solubilizing strain suitable for the cold climate environment in Qinghai.

Key words: phosphate solubilizing bacteria; cold environment; alkaline soil