

# 两株高效溶磷菌的溶磷能力及其对玉米生长 和红壤磷素形态的影响

李 宁<sup>1</sup>, 王珊珊<sup>1</sup>, 马丽丽<sup>1</sup>, 刘耀辉<sup>1</sup>, 修玉冰<sup>1</sup>, 李新华<sup>2</sup>, 项国栋<sup>3</sup>,  
胡冬南<sup>1</sup>, 郭晓敏<sup>1</sup>, 张文元<sup>1\*</sup>

(1 江西农业大学林学院/江西省森林培育重点实验室, 江西南昌 330045; 2 江西省贵溪市国营冷水林场,  
江西贵溪 335413; 3 江西省贵溪市国营双圳林场, 江西贵溪 335414)

**摘要:**【目的】磷在土壤中易于固定, 且向有效态的转化能力弱。研究两株高效溶磷菌活化土壤中的磷素的能力, 为提高红壤供磷能力提供指导。【方法】以溶磷菌株伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) XQP35 (P35)、拉乌尔菌 (*Raoultella*) SQP80 (P80) 为研究对象, 以磷酸铝、磷酸铁、植酸钙和卵磷脂替代液体 NBRIP 培养基中的磷酸钙作为磷源处理, 测定两个菌株对不同磷源的溶解能力。将液体 NBRIP 培养基的 pH 分别调至 4、5、6、7 和 8, 再接种菌株并培养 24、48、72、96、120、144 h, 测定液体培养基中的溶磷量。以玉米为试材进行盆栽试验, 设定不接种菌剂 (CK) 和接种 P35、P80、商品化菌剂 (EM) 4 个处理。在玉米生长 20、40、60、80、100 天后, 取样分析玉米生长、土壤有效磷含量, 并分析了第 100 天时的土壤中和酸性磷酸酶活性, 以及土壤中不同形态磷的含量。【结果】1) 菌株 P35、P80 对难溶性磷酸钙和植酸钙均有较强的溶解能力, 对磷酸铁、磷酸铝和卵磷脂磷的溶解能力较弱。P35 在培养 24 h 内及 P80 在培养 48 h 内, 其溶磷量在不同培养基 pH 处理间差异显著, 随着培养时间的延长, 不同 pH 处理间的溶磷量逐渐接近, 且溶磷量达到一定水平后不再增加。2) 土壤接种菌株 P35、P80 对玉米表现出良好的促生效果, 提高了玉米植株地径、株高、吸磷量和干物质积累量, 干物质质量分别较 CK 增加 32%、36% ( $P < 0.05$ )。3) 在土壤接种菌株 20~100 天内, P35 和 P80 处理的土壤有效磷含量始终高于 CK 和 EM 处理, 有时差异可达显著水平 ( $P < 0.05$ ); 而 EM 处理的土壤有效磷含量始终与 CK 没有显著差异。土壤接种菌株 100 天后, 3 个菌株处理的土壤酸性磷酸酶、中性磷酸酶活性与 CK 均无显著差异, 但对土壤中不同形态磷含量影响不同。P80 处理显著提高  $H_2O$ -Pi 含量, P35 显著提高了  $NaOH$ -Pi、 $NaHCO_3$ -Pi 含量, 且 P80 的磷活化系数也显著高于 CK。【结论】溶磷菌株 P35、P80 对环境 pH 的适应能力较强, 对磷酸钙和植酸钙有较强的溶解能力。P35 活化磷的速度快, 可能在土壤中引起磷的再固定, 最终表现为提高了土壤无机磷中的  $NaOH$ -Pi 和  $NaHCO_3$ -Pi。菌株 P80 对磷的活化速度较 P35 慢, 但其活化的磷主要表现为  $H_2O$ -Pi 含量的提高, 更有利于玉米的吸收利用。

**关键词:** 溶磷菌; 溶磷能力; pH 适应范围; 磷活化系数; 磷素形态; 促生作用

## Phosphate-solubilizing capacity of two bacteria strains and its effect on maize growth and the phosphorus fractions in red soil

LI Ning<sup>1</sup>, WANG Shan-shan<sup>1</sup>, MA Li-li<sup>1</sup>, LIU Yao-hui<sup>1</sup>, XIU Yu-bing<sup>1</sup>, LI Xin-hua<sup>2</sup>, XIANG Guo-dong<sup>3</sup>,  
HU Dong-nan<sup>1</sup>, GUO Xiao-min<sup>1</sup>, ZHANG Wen-yuan<sup>1\*</sup>

(1 College of Forestry, Jiangxi Agricultural University/Jiangxi Key Laboratory of Silviculture, Nanchang 330045, China;  
2 Lengshui State Forest Farm, Guixi, Jiangxi 335413, China; 3 Shuangzhen State Forest Farm, Guixi, Jiangxi 335414, China)

**Abstract:** 【Objectives】 Phosphorous (P) is easily immobilized in soil and hardly converted to available P. The capacity of soil P activation and growth promotion of phosphate-solubilizing bacteria strains were studied for

收稿日期: 2020-08-12 接受日期: 2020-11-16

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD060010402); 中央财政林业科技推广示范资金项目 (JXTG (2020) 25 号); 国家自然科学基金项目 (31560204)。

联系方式: 李宁 E-mail: liningab888@163.com; \* 通信作者 张文元 E-mail: zwy15@126.com

solving the problem in this paper. 【 **Methods** 】 *Burkholderia* XQP35 (P35) and *Raoultella* SQP80 (P80), which have been identified as high P solubilizing strains, were used as test materials. The calcium phosphate in liquid NBRIP medium was replaced by aluminum phosphate, iron phosphate, calcium phytate and lecithin respectively as the phosphorus source treatments, and the pH of the liquid NBRIP medium was adjusted to 4, 5, 6, 7 and 8, respectively. The dissolved P amount was measured at 24, 48, 72, 96, 120 and 144 h of incubation. A soil pot experiment was conducted using maize as test material. P35, P80 and commercial bacteria (EM) were inoculated in soil as treatments, taking no strain as control. The maize growth and soil available P contents were measured at the 20, 40, 60, 80 and 100 days of maize growth. The neutral and acid phosphatase activities, and the contents of P fractions in the soil samples of 100 days were measured. 【 **Results** 】 Both strain P35 and P80 were strong in activating calcium phosphate and calcium phytate, and poor in activating aluminum phosphate, iron phosphate and lecithin. The solubilizing capacity was affected by medium pH within 24 h for P35 and 48 h for P80, afterwards, the influence became less and the dissolved P amount reached stable with the incubation time. Strains P35 and P80 improved maize plant height, P uptake and dry weight significantly, and the plant dry weights were increased by 32% and 36%, compared with CK. At the 20, 40, 60, 80 and 100 days, the soil available P contents in both P35 and P80 strain treatments were always higher than those in CK and EM treatments, some time the differences were significant. While the soil available P contents in EM treatment never showed significant differences with CK. At the 100 day, the bacteria strains did not show significant effects on the activities of soil neutral and acid phosphatase, but on the contents of inorganic phosphorus fractions to different extent. P80 significantly increased H<sub>2</sub>O-Pi content, and P35 significantly increased NaOH-Pi and NaHCO<sub>3</sub>-Pi contents, and the phosphorus activation coefficient was increased by P80 as well. 【 **Conclusions** 】 Phosphorous solubilizing strains P35 and P80 have strong solubility to calcium phosphate and calcium phytate and could adapt wide range of environmental pH conditions. P35 is fast in activation of P, which might cause the re-immobilization of P in soil as showed in the increased content of NaOH-Pi and NaHCO<sub>3</sub>-Pi at last. P80 is more effective than P35 as its relatively slow activation of P and mainly increase the content of H<sub>2</sub>O-Pi, which is more conducive to the absorption and utilization of maize.

**Key words:** phosphate-solubilizing bacteria; P activation efficiency; pH adaption; available phosphorus; phosphorus activation coefficient; growth-promoting effect

磷是土壤中一种重要的矿质营养元素, 参与植物的整个生命活动周期<sup>[1-2]</sup>。自然界中的磷素含量很高, 约占地壳的 0.28%, 一般土壤不缺乏磷素, 但缺乏可被植物吸收利用的有效磷, 通常土壤中 95% 的磷为无效磷<sup>[3-5]</sup>。在我国南方丘陵地区土壤类型多以红壤为主, 红壤中磷素有效性低, 磷素向有效磷转化能力差, 造成植物难以吸收利用红壤中磷素<sup>[6-7]</sup>。此外, 随着农林业生产的需求, 磷肥的投入逐渐加大, 但由于没有科学合理的施用, 导致土壤中难利用的磷素大量积累, 造成资源浪费和环境污染<sup>[8-10]</sup>。如何高效而绿色的提高土壤中磷素的有效性, 减少磷肥的施用量, 已成为关注的热点问题。

溶磷菌 (phosphate-solubilizing bacteria, PSB) 是一类具有溶磷作用的微生物, 对土壤磷素形态的转化和有效性影响很大<sup>[11-14]</sup>。它是土壤的重要组成部分,

参与土壤生态系统的物质循环, 有助于动态的养分转换和可持续的植物生产<sup>[15-17]</sup>。一些溶磷菌具有同促生菌一样分泌植物生长素的能力, 直接促进植物生长; 一些溶磷菌具有产生有机酸、酶等小分子物质的能力, 活化土壤中难溶性磷, 间接促进植物生长发育<sup>[9, 18-21]</sup>。溶磷菌活化土壤中磷素的过程十分复杂, 主要是通过酸解、酶解作用, 将土壤中无效磷转化为有效磷, 其中磷酸酶在磷素活化过程中起着重要作用。目前, 已发现的溶磷微生物种类很多, 包括细菌、真菌、放线菌等, 但已报道的仍只占溶磷微生物的一小部分<sup>[22-23]</sup>。大量研究发现, 部分溶磷菌在以磷酸三钙为磷源的摇瓶培养中, 表现出极强的溶磷能力, 溶磷量高达 362.6~586.3 mg/L, 但施入土壤后未表现出对磷素的活化能力, 这与溶磷菌在土壤中的适应性和定殖能力有关<sup>[17, 24]</sup>。因此,

仅以摇瓶培养试验判断溶磷菌株的溶磷能力是不准确的, 需要结合溶磷菌剂的施用验证其效果, 这是目前研究溶磷菌的主要方法之一。

目前, 报道的多数溶磷菌在摇瓶培养中具有较高的溶磷作用, 其在土壤中的磷素活化和促生能力尚未明确, 在一定程度上制约了其广泛应用。本试验选用的溶磷菌株为伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) XQP35、拉乌尔菌 (*Raoultella*) SQP80, 由实验室前期从土壤中筛选获得, 具有较强的溶磷能力<sup>[25]</sup>。研究其在不同难溶性磷源和 pH 条件下的溶磷能力, 探究其对土壤磷素形态和有效磷含量的影响, 有助于丰富溶磷菌的理论研究, 为解决红壤磷素积累和有效磷供给不足的问题提供科学方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试溶磷菌株伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) XQP35 (P35) 和拉乌尔菌 (*Raoultella*) SQP80 (P80) 由江西省森林培育重点实验室张文元课题组前期在土壤中筛选获得, 经 16S rDNA 序列相似性分析溶磷菌 P35 为伯克霍尔德菌, P80 为拉乌尔菌<sup>[25]</sup>。EM 菌剂为商业化菌剂产品, 该菌剂由多个菌种混合而成, 主要菌种为乳酸菌、酵母菌、光合菌、枯草芽孢杆菌, 活性菌含量为  $2 \times 10^{10}$  CFU/mL。

LB 液体培养基: 蛋白胨 10 g, 牛肉膏 5 g, NaCl 10 g, pH 7.0, 蒸馏水 1000 mL。

NBRIP (无机磷) 液体培养基: 葡萄糖 10 g, Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 5 g, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.25 g, KCl 0.2 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 g, pH 7.0, 蒸馏水 1000 mL。

供试玉米: 玉米 (*Zea mays* L.) 种子为郑单 958。

供试土壤: 红壤采自江西农业大学生态科技园, 原始土壤基本理化性质: 土壤 pH 4.61, 有机质 16.66 g/kg, 全磷 0.61 g/kg, 全氮 0.94 g/kg, 有效磷 13.65 mg/kg, 速效钾 77.01 mg/kg。

### 1.2 液体摇瓶试验

不同难溶性磷源培养基是分别以相同质量的磷酸铝、磷酸铁、植酸钙和卵磷脂替代 NBRIP 培养基中磷酸钙制成; 不同 pH 的 NBRIP 培养基是以 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 为酸碱调节剂, 将 NBRIP 液体培养基 pH 分别调至 4、5、6、7 和 8。在 250 mL 锥形瓶中分别装入不同难溶性磷源、pH 的液体培养基 100 mL, 125℃、25 min 高压灭菌备用。实验室保存的溶磷菌 P35 和 P80 经纯化、复

壮后, 接种于灭菌 LB 液体培养基中培养 24 h, 8000 r/min 离心收集菌体, 用无菌水悬浮制成菌悬液 (OD<sub>600</sub> = 0.5)。按照 1% 的接种量接种于灭菌 NBRIP 液体培养基中, 同时设不接菌对照 (CK), 每个处理重复 3 次, 于 28℃、180 r/min 摇床分别培养 24、48、72、96、120、144 h, 培养液经 10000 r/min 离心 5 min, 采用钼锑抗比色法测定上清液水溶性磷含量<sup>[26]</sup>, 溶磷量的计算方法为接菌培养基中水溶性磷含量减去不接菌对照中水溶性磷含量。

### 1.3 盆栽试验

试验于 2019 年 8 月 17 日至 11 月 28 日在江西农业大学生态科技园进行。盆栽用盆规格为 φ34 cm × 23 cm, 土壤过 2 mm 筛按每盆 10 kg 土壤 (换算成干重) 装盆。盆栽试验共 4 个处理, 分别为添加菌剂 EM、P35、P80 和 CK 对照, 每个处理重复 4 次, 共计 16 盆。玉米种子表面消毒后, 用无菌蒸馏水冲洗 3 次, 转入 25℃ 恒温箱中催芽后, 每盆播种 2 粒玉米种子。将保存好的溶磷菌种接种到 LB 液体培养基, 摇床培养 24 h 后低温保存。溶磷菌液和 EM 菌液经离心后, 用无菌水洗出菌体并调节菌悬液浓度为  $5 \times 10^8$  CFU/mL (采用平板计数法) 制成菌剂。按装土质量的 2%, 以灌根的方式施入土壤, 灌 200 mL 无菌水作为对照 CK。出苗后保留 2 株生长均匀一致幼苗, 温室种植, 盆栽日常管理均按照常用方法, 保持土壤湿度在 65%~75%。

在菌剂施用 20、40、60、80、100 天, 非破坏性取表层土壤各 50 g (干重) 用于测定土壤有效磷含量。在菌剂施用 100 天时, 收获玉米, 测定玉米株高、地径 (苗靠近地表面处的直径)、SPAD、叶面积等生长指标, 采集非根际土壤用于磷分级和土壤磷酸酶活性的测定。

玉米叶片叶绿素相对含量 (SPAD) 使用 SPAD502 叶绿素仪测定, 每盆随机选取叶片 7 个点测量, 取其平均值。植株和土壤全磷采用 HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 消煮后, 钼锑抗比色法测定<sup>[26]</sup>。土壤有效磷采用 NaHCO<sub>3</sub> 浸提—钼锑抗比色法测定<sup>[26]</sup>。土壤磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定<sup>[27]</sup>。

土壤磷分级: 采用 Sui 等<sup>[28]</sup>修正的 Hedley 土壤磷素分级法, 取风干过 0.149 mm 筛的土壤样品 0.5 g, 于 50 mL 离心管中, 逐级加入 30 mL 去离子水 (H<sub>2</sub>O-Pi)、0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> (NaHCO<sub>3</sub>-Pi、NaHCO<sub>3</sub>-Po)、0.1 mol/L NaOH (NaOH-Pi、NaOH-Po)、1 mol/L HCl (HCl-Pi) 溶液震荡 16 h, 10000 r/min 离心后, 取上清液测定各形态磷素。上清液无机磷含量采用钼

钼抗比色法测定, 有机磷含量采用过硫酸铵消解—钼锑抗比色法测定, 有机磷含量为该浸提步骤总磷含量减去无机磷含量, 残余态磷 (Residual-P) 经硫酸—高氯酸高温消煮后测定。

#### 1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据整理与统计, 采用 SPSS 22.0 统计分析软件进行数据分析, 图表中数据为平均值  $\pm$  标准误。

磷素活化系数 = 有效磷/全磷  $\times 100\%$ <sup>[29]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 溶磷菌 P35 和 P80 在不同磷源、pH 条件下的溶磷能力

由图 1 可知, 溶磷菌 P35、P80 对磷酸钙和植酸钙有较强的溶解能力。培养 24 h 后, 以磷酸钙和植酸钙为磷源的悬浮液中接种 P35 的溶磷量分别达到 614.0、600.8 mg/L, 接种 P80 的溶磷量分别达到 205.2、366.9 mg/L。培养 48 h 后, 菌株 P80 在磷酸钙和植酸钙为磷源处理下溶磷量与 P35 接近, 且随培养时间的延长没有显著增加。在培养 144 h 后, P35 对磷酸钙和植酸钙的溶解量分别为 751.9、678.5 mg/L, P80 对磷酸钙和植酸钙的溶解量分别为 724.7、642.0 mg/L。P35 对磷酸铝的最大溶解量 (139.9 mg/L) 大于 P80 (61.6 mg/L), 而 P80 对磷酸铁的最大溶解量 (139.3 mg/L) 大于 P35 (56.5 mg/L), 两株溶磷菌对磷酸铝、磷酸铁和卵磷脂的溶解能力均不高。

溶磷菌 P35 和 P80 对磷酸钙的活化能力在培养 24 h 内受 pH 的影响差异较大, 之后不同 pH 条件下的溶磷量趋于接近 (图 2)。在初始 pH 为 4 和 5 时,

P35 和 P80 对磷酸钙的溶解能力显著高于在 pH 为 6~8 时。在 P35 培养 48 h、P80 培养 72 h 时, 5 个 pH 条件下的溶磷量差异变小, 随着培养时间的延长溶磷量趋于稳定, 这表明溶磷菌 P35 和 P80 对环境的 pH 具有较强的适应性。

### 2.2 施用菌剂对玉米生长的影响

由表 1 可知, 菌剂 P35、P80 施用后均表现出良好的促生能力, 其中菌剂 P80 促生效果最好, 玉米株高、SPAD 和干物质量分别为 80.68 cm、26.18 和 12.13 g/plant, 相较 CK 处理分别提高 58%、30% 和 36%, 具有显著性差异。菌剂 P35 相较 CK 处理株高、SPAD 和干物质量分别提高 28%、28% 和 32%, 具有显著性差异, 对玉米地径、叶面积无显著影响。EM 菌剂对玉米的地径、叶面积、干物质量影响较小, 与 CK 处理没有显著性差异。菌剂处理相较 CK 处理显著提高了玉米的吸磷量, 但不同菌剂处理无显著性差异。综上所述, 溶磷菌剂 P35、P80 均可以促进玉米的生长, P80 对玉米的促生长能力更强。

### 2.3 施用菌剂对土壤有效磷含量的影响

由图 3 可知, 施用菌剂 P35 和 P80 在一定程度上提高了土壤有效磷含量, 菌剂 P35 与 P80 处理之间无显著差异。在施用菌剂第 20 和 100 天, P35 和 P80 相较 CK 处理具有显著差异, P35 处理土壤有效磷含量最大为 16.85 mg/kg, P80 处理土壤有效磷含量最大为 16.83 mg/kg, 分别是 CK 处理有效磷含量的 108.7%~120.0%、108.9%~119.2%。EM 菌剂相较 CK 处理对土壤有效磷含量无显著影响。

### 2.4 施用菌剂对土壤磷酸酶活性的影响

由图 4 可知, 与不施用菌剂对照相比, 施用菌

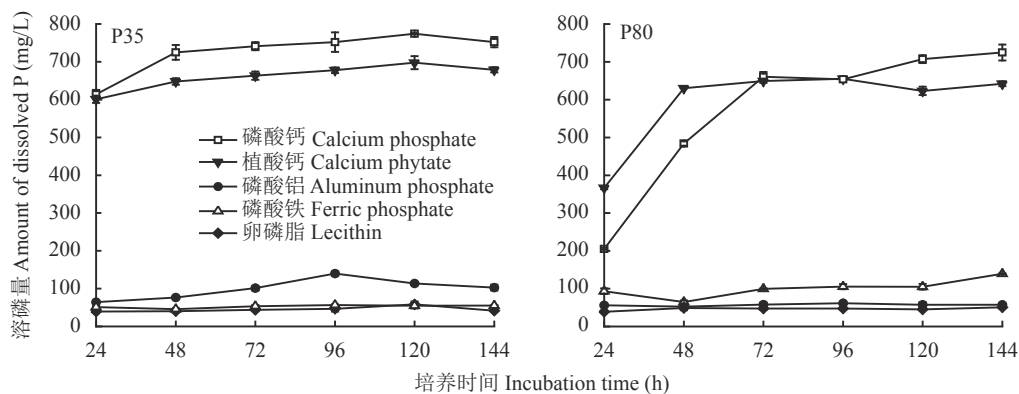


图 1 溶磷菌 P35 和 P80 在不同磷源悬浮液中的溶磷量

Fig. 1 The amount of dissolved phosphorus in liquid NBRIP medium containing different phosphorus sources after inoculated with P35 and P80 strain

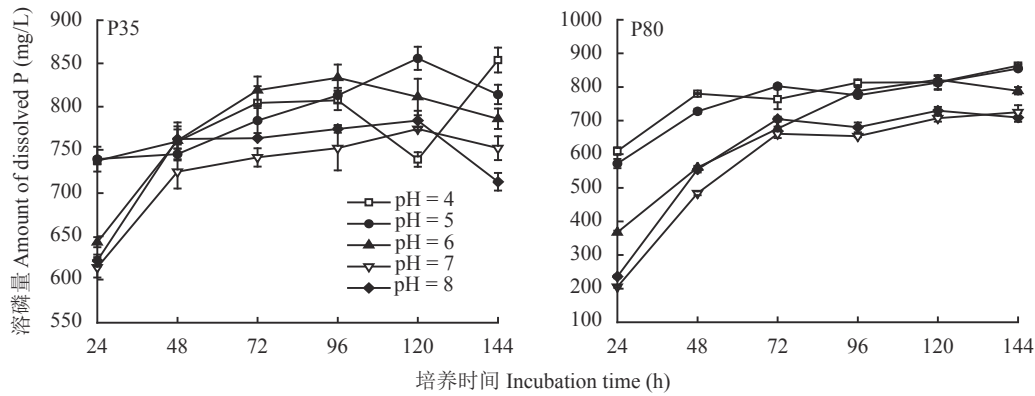


图 2 溶磷菌 P35 和 P80 在不同 pH 条件下的溶磷量

Fig. 2 The amount of dissolved P by P35 and P80 under different pH conditions in liquid NBRIP medium

表 1 不同菌剂对玉米生长及吸磷含量的影响

Table 1 Effects of different bacteria agents on maize growth and P uptake

处理 Treatment	地径 Ground diameter (mm)	株高 Plant height (cm)	叶面积 Leaf area (cm <sup>2</sup> )	干物质量 Dry weight (g/plant)	吸磷量 P uptake (mg/pot)	SPAD值 SPAD value
CK	6.12 ± 0.4 b	50.98 ± 1.6 c	65.38 ± 3.5 a	8.93 ± 0.6 b	26.9 ± 3.0 b	20.18 ± 0.6 b
EM	7.20 ± 0.1 b	73.25 ± 2.9 ab	74.36 ± 7.9 a	10.39 ± 0.7 ab	40.2 ± 4.8 a	25.70 ± 0.2 a
P35	7.33 ± 0.3 b	65.28 ± 2.2 b	79.73 ± 2.8 a	11.75 ± 0.5 a	40.2 ± 2.9 a	25.98 ± 0.2 a
P80	7.40 ± 0.5 a	80.68 ± 6.7 a	90.69 ± 15.0 a	12.13 ± 0.4 a	47.0 ± 5.0 a	26.18 ± 0.4 a

注 (Note): 不同字母表示不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Values followed by different letters are significantly different among treatments ( $P < 0.05$ ).

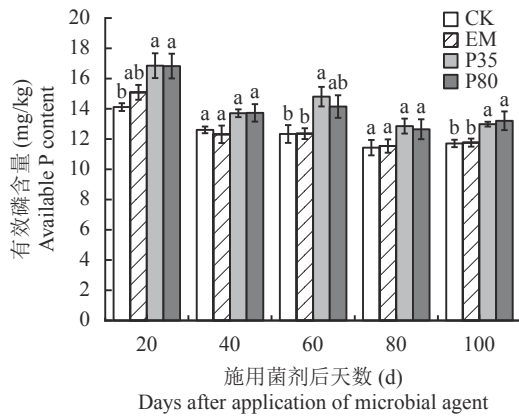


图 3 施用菌剂后不同时间土壤的有效磷含量

Fig. 3 Soil available P content in different days after application of bacteria agents

[注 (Note): 柱上不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different letters above the bars indicate significant difference among treatments in the same time ( $P < 0.05$ ).]

剂 EM、P35、P80 的土壤中酸性磷酸酶、中性磷酸酶的活性均未表现出显著差异。

### 2.5 施用菌剂对土壤磷素形态的影响

由图 5 可知, 在菌剂施用第 100 天, 菌剂

P80 处理的土壤中  $H_2O-Pi$  含量 (9.34 mg/kg) 显著高于其他 3 个处理, 相较 CK 显著提高 67%; 菌剂 P35 处理土壤中  $NaHCO_3-Pi$  和  $NaOH-Pi$  含量最高, 分别为 17.59 和 120.70 mg/kg, 显著高于 CK 处理 ( $P < 0.05$ )。菌剂 EM、P35、P80 对  $NaHCO_3-Po$ 、 $NaOH-Po$  影响较小, 无显著性差异。各形态磷素的变化影响着磷素活化系数, 菌剂 P80 的磷素活化系数最高为 2.44%, 显著高于 CK 处理。

### 2.6 红壤不同磷素形态与有效磷的相关分析

由表 2 可知,  $NaOH-Pi$  对有效磷含量的响应最强, 相关系数为 0.924,  $H_2O-Pi$ 、 $NaHCO_3-Pi$  响应次之, 相关系数分别为 0.819、0.857。

土壤有效磷含量与各形态磷素组分的多元回归分析模型为:

$$y = 2.469 + 0.514x_1 + 0.142x_2 + 0.179x_3 + 0.048x_4 + 0.017x_5 - 0.071x_6 - 0.004x_7 (R^2 = 0.939, P < 0.001)$$

回归模型参数中,  $P < 0.001$  达到极显著水平, 说明有效磷含量关于  $H_2O-Pi$  ( $x_1$ )、 $NaHCO_3-Pi$  ( $x_2$ )、 $NaHCO_3-Po$  ( $x_3$ )、 $NaOH-Pi$  ( $x_4$ )、 $NaOH-Po$  ( $x_5$ )、 $HCl-Pi$  ( $x_6$ )、 $Residual-P$  ( $x_7$ ) 间的通径分析是有意义的。

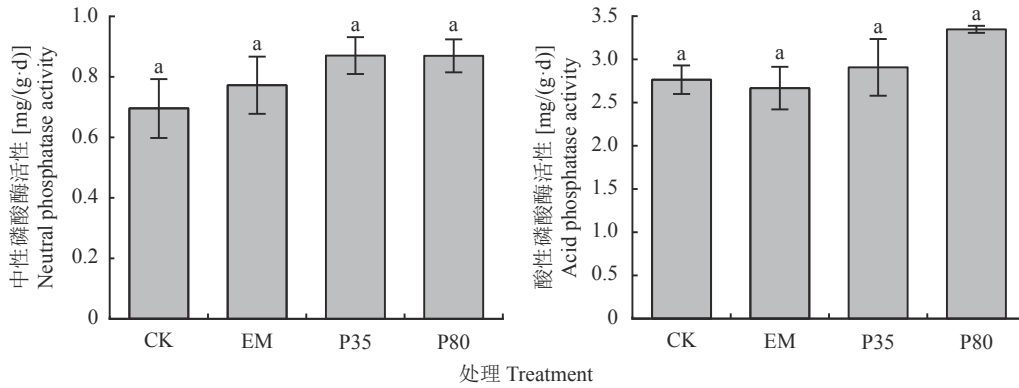


图 4 接种菌剂 100 天时土壤的中性磷酸酶和酸性磷酸酶活性

Fig. 4 Neutral and acid phosphatase activities in soils at 100 days of inoculation of bacteria strains

[注 (Note) : 柱上不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ].

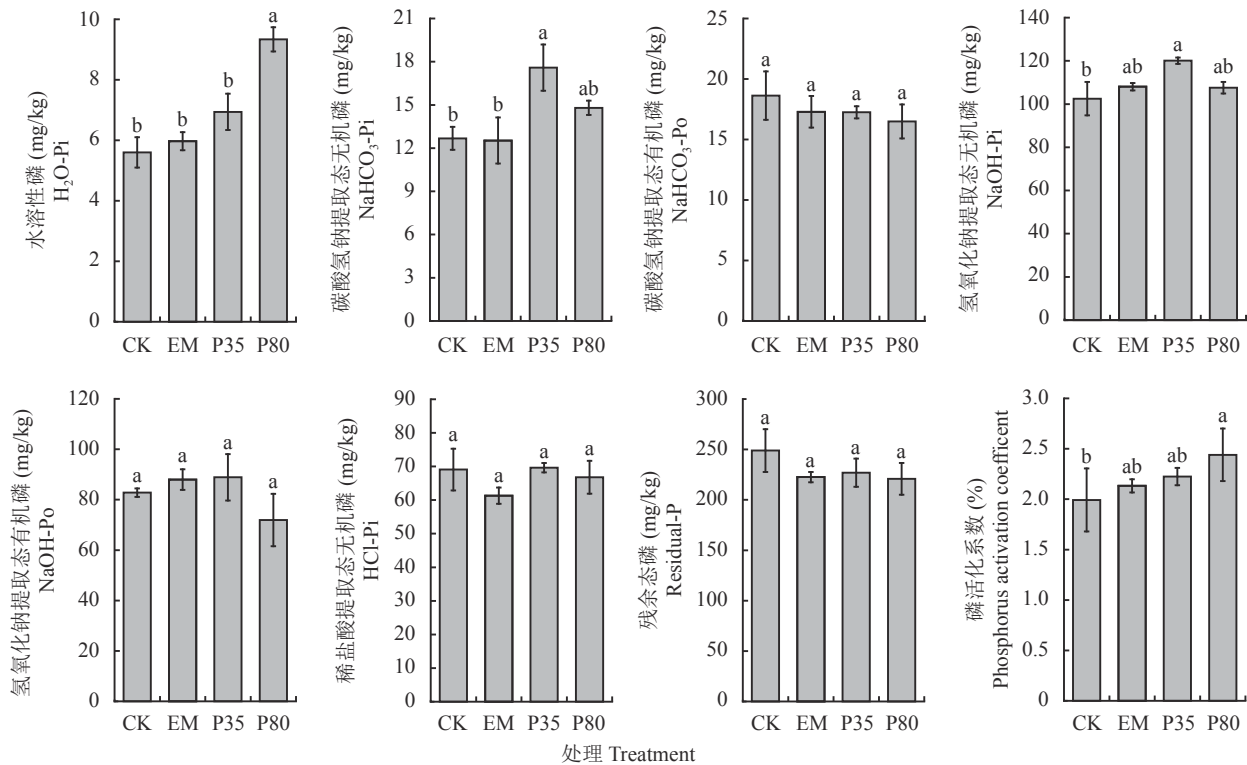


图 5 菌剂处理 100 天后土壤中各形态磷的含量和磷活化系数

Fig. 5 Content of phosphorus fractions and phosphorus activation coefficient in soil after 100 days inoculation of bacteria strains

[注 (Note) : 柱上不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ].

由通径系数 (表 2) 可以看出, 各形态磷素对有效磷含量的直接响应顺序为 NaOH-Pi > H<sub>2</sub>O-Pi > NaHCO<sub>3</sub>-Pi > NaHCO<sub>3</sub>-Po > NaOH-Po > Residual-P > HCl-Pi, 其中 NaOH-Pi、H<sub>2</sub>O-Pi、NaHCO<sub>3</sub>-Pi、NaHCO<sub>3</sub>-Po、NaOH-Po 对有效磷含量具有正向直接效应, 且 NaOH-Pi 和 NaHCO<sub>3</sub>-Pi 的直接响应大于

NaHCO<sub>3</sub>-Po 和 NaOH-Po, 说明有效磷的直接响应主要通过无机磷形态的改变。通过逐步回归分析验证通径分析的结果, 得出逐步回归分析方程为:

$$y = 3.397 + 0.066x_4 + 0.515x_1 - 0.076x_6 + 0.181x_3$$

$$(R^2 = 0.924, P < 0.001)$$

这进一步说明 NaOH-Pi、H<sub>2</sub>O-Pi 的增加可以促

表 2 土壤各形态磷与有效磷 ( $y$ ) 的相关系数和通径系数  
 Table 2 Correlation and path coefficients of P fractions to available phosphorus

自变量 Variable	$r_{yi}$	$p_{yi}$	$r_{yi}p_{yi}$	通径系数 Path coefficient							合计 Sum
				$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$x_6$	$x_7$	
$x_1$	0.819	0.316	0.259		0.116	0.025	0.359	0.010	-0.017	0.010	0.503
$x_2$	0.857	0.164	0.141	0.223		0.029	0.391	0.033	0.010	0.006	0.693
$x_3$	0.324	0.138	0.045	0.058	0.035		0.116	-0.001	-0.031	0.009	0.186
$x_4$	0.924	0.475	0.439	0.239	0.135	0.034		0.041	-0.004	0.004	0.449
$x_5$	0.432	0.079	0.034	0.039	0.068	-0.001	0.249		-0.002	0.000	0.353
$x_6$	-0.089	-0.155	0.014	0.034	-0.011	0.028	0.012	0.001		0.003	0.067
$x_7$	-0.227	-0.036	0.008	-0.086	-0.029	-0.033	-0.056	0.000	0.013		-0.191

注 (Note):  $r_{yi}$ —相关系数 Correlation coefficient;  $p_{yi}$ —通径系数 Path coefficient;  $r_{yi}p_{yi}$ —变量对  $R^2$  的总贡献 Total contribution of variable to  $R^2$ ;  $y$ —土壤有效磷含量 Soil available phosphorus content;  $x_1$ — $H_2O$ -Pi;  $x_2$ — $NaHCO_3$ -Pi;  $x_3$ — $NaHCO_3$ -Po;  $x_4$ — $NaOH$ -Pi;  $x_5$ — $NaOH$ -Po;  $x_6$ — $HCl$ -Pi;  $x_7$ —Residual-P.

进有效磷含量的增加。

某一形态的磷素对有效磷含量的响应分为直接响应 (直接通径系数) 和该形态磷通过其他形态磷产生的间接响应 (间接通径系数)。由直接通径系数、间接通径系数 (表 2) 可知,  $H_2O$ -Pi、 $NaHCO_3$ -Pi、 $NaHCO_3$ -Po、 $NaOH$ -Po 的直接通径系数均小于间接通径系数,  $NaOH$ -Pi 的直接通径系数 (0.475) 大于间接通径系数 (0.449)。这表明磷素形态对有效磷的响应主要通过磷素形态间的相互转化作用, 间接的响应有效磷含量, 而  $NaOH$ -Pi 主要通过直接途径响应土壤中有有效磷含量。

### 3 讨论

摇瓶培养试验和盆栽试验是判断菌株溶磷能力常用的两个方法, 单一摇瓶法测定的溶磷能力有时与菌株对土壤磷素活化的能力不一致<sup>[30-31]</sup>。在本研究对不同磷源的摇瓶试验中, 溶磷菌株 P35、P80 对磷酸钙和植酸钙有较好的溶解能力, 对磷酸铝、磷酸铁和卵磷脂的溶解能力较弱; 溶磷菌株 P80 对难溶磷的活化在前 24 h 低于 P35, 但在第 72 h 与 P35 基本相同, 总的溶磷能力与 P35 差异不大 (图 1)。在不同 pH 条件的摇瓶试验中, 在 pH 为 4、5 时, 菌株在试验初期的溶磷能力受 pH 的影响较为显著, pH 为 4 和 5 的培养悬浮液中磷的溶解量显著高于 pH 为 6、7 和 8 的摇瓶悬浮液, 但具体来说, 随着培养时间的延长, 在培养超过 72 h 后, pH 对菌株溶磷能力的影响不再显著, 但两个菌株的溶磷量保持了一定的增长 (图 2), 说明这两株溶磷菌具有较广泛的 pH 适应性。在盆栽试验中, P80 对玉米的促生效

果均优于 P35 (表 1), 两株溶磷菌对土壤磷素的活化能力均显著优于 CK 和商业菌株 EM, 这表明磷的活化不是越快越好, 土壤中溶解的有效磷有可能再次被土壤固定, P80 优于 P35 的促生长效果说明其对磷的活化可能更有利于玉米的吸收。

磷分级体系中将土壤磷素分为无机态磷和有机态磷两部分, 其中有机磷主要有磷酸肌醇、磷酯以及微生物量磷, 可在酶的作用下矿化分解成无机态的磷<sup>[28,32]</sup>。本研究表明, 在接种了菌剂 P35、P80 后, 与有效磷含量直接相关的磷形态依次为  $NaOH$ -Pi >  $H_2O$ -Pi >  $NaHCO_3$ -Pi >  $NaHCO_3$ -Po >  $NaOH$ -Po > Residual-P >  $HCl$ -Pi, 其中  $NaOH$ -Pi、 $H_2O$ -Pi、 $NaHCO_3$ -Pi、 $NaHCO_3$ -Po、 $NaOH$ -Po 对有效磷含量具有正向直接效应, 且  $NaOH$ -Pi 和  $NaHCO_3$ -Pi 的直接响应大于  $NaHCO_3$ -Po 和  $NaOH$ -Po, 这表明菌剂 P35、P80 主要通过活化  $NaOH$ -Pi 和  $NaHCO_3$ -Pi 提高了土壤有效磷含量。苟小梅等<sup>[6]</sup>也发现, 在红壤中无机态磷更容易转化。有研究发现, 残留态磷在自然条件下很难转化成活性态磷被植物利用, 限制了土壤的供磷能力, 但可以通过解吸、矿化等过程转换为活性态磷<sup>[33-34]</sup>。

### 4 结论

溶磷菌株 P35、P80 对环境 pH 适应能力较强, 对磷酸钙和植酸钙有较强的溶解能力。P35 活化磷的速度快, 可能在土壤中引起磷的再固定, 最终表现为提高了土壤无机磷中的  $NaOH$ -Pi 和  $NaHCO_3$ -Pi。菌株 P80 对磷的活化较 P35 慢, 但其活化的磷主要表现为  $H_2O$ -Pi 含量的提高, 这更有利于玉米的吸收利用。

## 参 考 文 献:

- [1] Mo Q F, Li Z A, Sayer E J, *et al.* Foliar phosphorus fractions reveal how tropical plants maintain photosynthetic rates despite low soil phosphorus availability[J]. *Functional Ecology*, 2019, 33(3): 503–513.
- [2] 盘金文, 郭其强, 孙学广, 等. 不同林龄马尾松人工林碳、氮、磷、钾养分含量及其生态化学计量特征[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(4): 746–756.
- Pan J W, Guo Q Q, Sun X G, *et al.* Contents and stoichiometric characteristics of C, N, P and K under different stand ages of *Pinus massoniana* plantations[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(4): 746–756.
- [3] 李芳, 徐丽娇, 谢伟, 等. 菌根化育苗对玉米生长和养分吸收的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(1): 42–50.
- Li F, Xu L J, Xie W, *et al.* Effects of seedling mycorrhization on the growth and nutrient uptake of maize[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(1): 42–50.
- [4] 高天一, 李娜, 彭靖, 等. 连续施用生物炭对棕壤磷素形态及有效性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(9): 1451–1460.
- Gao T Y, Li N, Peng J, *et al.* Effect of consecutive application of biochar on phosphate morphology and availability in brown soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(9): 1451–1460.
- [5] Asmeret A B, Rebecca T B, Johan S, *et al.* Role of soil erosion in biogeochemical cycling of essential elements: Carbon, nitrogen, and phosphorus[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2018, 46: 521–548.
- [6] 苟小梅, 王昌全, 李冰, 等. 玉米种植制度对红壤磷素形态及其有效性的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(3): 883–889.
- Gou X M, Wang C Q, Li B, *et al.* Effects of corn-based cropping systems on phosphorus fractions and availability in red soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(3): 883–889.
- [7] 陈利军, 蒋瑀霁, 王浩田, 等. 长期施用有机物料对旱地红壤磷组分及磷素有效性的影响[J]. *土壤*, 2020, 52(3): 451–457.
- Chen L J, Jiang Y J, Wang H T, *et al.* Effects of long-term application of organic materials on phosphorus fractions and availability in red soil[J]. *Soils*, 2020, 52(3): 451–457.
- [8] Hameeda B, Rupela O P, Reddy G, *et al.* Application of plant growth-promoting bacteria associated with composts and macrofauna for growth promotion of Pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.)[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, 43(2): 221–227.
- [9] VinodBabu S, Triveni S, Subhash R R, *et al.* Screening of maize rhizospheric phosphate solubilizing isolates for plant growth promoting characteristics[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, 6(10): 2090–2101.
- [10] 杨振兴, 周怀平, 解文艳, 等. 长期施肥培土不同磷组分对磷素盈余的响应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(5): 924–933.
- Yang Z X, Zhou H P, Xie W Y, *et al.* Response of phosphorus components to phosphate surplus in cinnamon soil under long-term fertilization[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(5): 924–933.
- [11] Gouda S, Kerry R G, Das G, *et al.* Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture[J]. *Microbiological Research*, 2018, 206: 131–140.
- [12] Zhang Y, Chen F, Wu X, *et al.* Isolation and characterization of two phosphate-solubilizing fungi from rhizosphere soil of mosobamboo and their functional capacities when exposed to different phosphorus sources and pH environments[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e199625.
- [13] Fraser T D, Lynch D H, Bent E, *et al.* Soil bacterial *phoD* gene abundance and expression in response to applied phosphorus and long-term management[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 137–147.
- [14] 范丙全. 我国生物肥料研究与应用进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(6): 1602–1613.
- Fan B Q. Advances in biofertilizer research and development in China[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2017, 23(6): 1602–1613.
- [15] 江红梅, 殷中伟, 史发超, 等. 一株耐盐溶磷真菌的筛选、鉴定及其生物肥料的应用效果[J]. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24(3): 728–742.
- Jiang H M, Yin Z W, Shi F C, *et al.* Isolation and functional evaluation of phosphate-solubilizing fungi with salt-tolerant characteristics[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2018, 24(3): 728–742.
- [16] 王誉瑶, 韦中, 徐阳春, 等. 溶磷菌株组合的溶磷效应及对玉米生长的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(1): 262–268.
- Wang Y Y, Wei Z, Xu Y C, *et al.* Dissolving capacity of phosphate dissolving bacteria strains combination and their effects on corn growth[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2017, 23(1): 262–268.
- [17] 吕俊, 于存. 一株高效溶磷伯克霍尔德菌的筛选鉴定及其对马尾松幼苗的促生作用[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(9): 2923–3934.
- Lü J, Yu C. Screening and identification of an efficient phosphate-solubilizing *Burkholderia* sp. and its growth-promoting effect on *Pinus massoniana* seedling[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(9): 2923–3934.
- [18] 陈倩, 刘善江, 白杨, 等. 山西矿区复垦土壤中解磷细菌的筛选及鉴定[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(6): 1505–1516.
- Chen Q, Liu S J, Bai Y, *et al.* Screening and identification of phosphate-solubilizing bacteria from reclaimed soil in Shanxi mining area[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2014, 20(6): 1505–1516.
- [19] Wang Z, Xu G, Ma P, *et al.* Isolation and characterization of a phosphorus-solubilizing bacterium from rhizosphere soils and its colonization of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1270.
- [20] Nikitha M S, Sadhana E, Vani S S. Phosphorous and phosphate solubilizing bacteria and their role in plant nutrition[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, 6(4): 2133–2144.
- [21] 林欣, 王立立, 杨平, 等. 一株溶磷菌对盐碱蓬修复盐渍土Cd污染的促进效应[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(5): 883–891.
- Lin X, Wang L L, Yang P, *et al.* The promoting effect of phosphorus-solubilizing bacteria on remediation of cadmium-contaminated saline soil by *Suaeda salsa*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(5): 883–891.
- [22] Ismail M, Nidal F, Mohamed H, *et al.* Plant growth enhancement



- using rhizospheric halo tolerant phosphate solubilizing bacterium *Bacillus licheniformis* QA1 and enterobacter *asburiae* QF11 isolated from *Chenopodium quinoa* willd[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(6): 948.
- [23] 何迪, 耿丽平, 郭佳, 等. 草酸青霉菌HB1溶磷能力及作用机制[J]. *农业工程学报*, 2020, 36(2): 255–265.  
He D, Geng L P, Guo J, *et al.* Ability and mechanism of *Penicillium oxalicum* HB1 solubilizing phosphates[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(2): 255–265.
- [24] Chawngthu L, Hnamte R, Lalfakzuala R. Isolation and characterization of rhizospheric phosphate solubilizing bacteria from wetland paddy field of Mmizoram, India[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(4): 366–375.
- [25] 嵇晗瑞. 基于磷添加毛竹根际土壤细菌及溶磷细菌种群多样性研究[D]. 南昌: 江西农业大学硕士学位论文, 2018.  
Ji H R. Diversity of bacteria and phosphate solubilizing bacteria in rhizosphere soil of *Phyllostachys edulis* based on phosphorus[D]. Nanchang: MS Thesis of Jiangxi Agricultural University, 2018.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005. 70–89.  
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis (3rd edition)[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005. 70–89.
- [27] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1983. 274–399.  
Guan S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1983. 274–399.
- [28] Sui Y B, Thompson M L, Shang C. Fractionation of phosphorus in a mollisol amended with biosolids[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, 63(5): 1174–1180.
- [29] 王琼, 展晓莹, 张淑香, 等. 长期有机无机肥配施提高黑土磷含量和活化系数[J]. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24(6): 1679–1688.  
Wang Q, Zhan X Y, Zhang S X, *et al.* Increment of soil phosphorus pool and activation coefficient through long-term combination of NPK fertilizers with manures in black soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2018, 24(6): 1679–1688.
- [30] 冯哲叶, 陈莎莎, 王文超, 等. 几株溶磷细菌的筛选和鉴定及其溶磷效果[J]. *南京农业大学学报*, 2017, 40(5): 842–849.  
Feng Z Y, Chen S S, Wang W C, *et al.* Screening and identification of several phosphate-solubilizing bacteria and effect of their P-solubility[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2017, 40(5): 842–849.
- [31] 舒健虹, 王普昶, 李显刚, 等. 无机磷溶解菌的分离筛选及其对扁穗雀麦生长的影响[J]. *草业学报*, 2017, 26(5): 173–180.  
Shu J H, Wang P C, Li X G, *et al.* Isolation and screening of inorganic phosphate-solubilizing bacteria and their effect on the growth of *Bromus cartharticus*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(5): 173–180.
- [32] Cao D, Lan Y, Liu Z, *et al.* Responses of organic and inorganic phosphorus fractions in brown earth to successive maize stover and biochar application: A 5-year field experiment in Northeast China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(5): 2367–2376.
- [33] Maranguit D, Guillaume T, Kuzyakov Y. Land-use change affects phosphorus fractions in highly weathered tropical soils[J]. *CATENA*, 2017, 149: 385–393.
- [34] Teng Z, Zhu Y, Li M, *et al.* Microbial community composition and activity controls phosphorus transformation in rhizosphere soils of the Yeyahu Wetland in Beijing, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 628–629: 1266–1277.