

磷细菌 P17 对不同来源磷矿粉的溶磷作用及机制*

钟传青 黄为[†]

(农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京农业大学生命科学学院微生物学系, 南京 210095)

摘要 比较了一株磷细菌 P17 对来自多种产地磷矿粉的溶解能力。通过摇瓶试验、扫描电镜观察提出磷细菌 P17 对不同来源磷矿粉生物风化的证据, 选出了 P17 最适合作用的磷矿粉类型。从摇瓶试验看出, 磷细菌 P17 对来源于黄麦岭、黄金卡黄的变质岩型磷矿粉有较好的溶解能力。经过 P17 长达 70d 的溶解, 磷矿粉的难溶磷逐渐被 P17 菌株溶解下来。连续 10 次接种培养后, P17 菌株能溶解黄麦岭磷矿粉全磷的 81.02%; 而对于黄金卡黄磷矿粉, P17 溶解了全磷总量的 78.97%。试验结果表明磷细菌 P17 能够提高黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉的持续利用率。另外, 培养 7d 后, 磷细菌 P17 能够在以黄麦岭磷矿粉、黄金卡黄磷矿粉为唯一磷源的发酵液中产生 3.10mmol L^{-1} 的挥发性有机酸, 同时能分别产生 40.5mmol L^{-1} 、 51.1mmol L^{-1} 的难挥发性有机酸。经过气相色谱检测, 磷细菌 P17 能够产生柠檬酸、琥珀酸、乳酸以及乙酸等有机酸, 可能整合磷矿粉中的金属离子, 使磷游离出来。初步探讨了磷细菌 P17 的溶磷机制。

关键词 磷细菌; 磷矿粉; 溶磷机制; 生物风化

中图分类号 Q93, S14 文献标识码 A

我国磷矿资源极其丰富, 主要集中于西南部和中南部, 并以海相沉积型磷块岩为主, 几乎全部为地台型, 其余如变质岩磷矿、岩浆岩型磷矿、鸟粪磷矿等约占 0.4%^[1]。在我国磷矿粉直接在农田施用始于 20 世纪 40 年代, 并于 1941 年发表了第一个施用磷矿粉的研究报告^[1]。李庆远先生等长期致力于提高磷矿粉肥效的研究, 为提高磷矿粉在水稻上的肥效, 提出了充分利用对磷吸收能力强的旱前作及酸性水稻土落干时形成的酸性环境、增施有机肥等措施。磷矿粉中有相当一部分磷为植物难以吸收利用的无效态磷。而解磷微生物可以通过活化难溶磷和分泌生长素等物质刺激植物生长^[2~5]。为了提高磷矿粉的利用率、减少有效磷的固定化, 本文研究了磷细菌 P17 对各种来源磷矿粉的溶磷效果及其溶解磷矿粉的作用机制, 以期改善土壤磷素营养提供有效的生物学途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 解磷细菌 P17, 本实验室从磷肥厂磷矿粉堆积地表分离, 按文献^[6]初步鉴定为巨大芽

孢杆菌(*Bacillus megaterium*)。

1.1.2 培养基 (1) 种子培养基: 葡萄糖 10 g, 硫酸铵 0.5 g, 氯化钠 0.3 g, 氯化钾 0.3 g, 七水合硫酸镁 0.3 g, 七水合硫酸亚铁 0.03 g, 一水合硫酸锰 0.03 g, 磷酸二氢钾 2 g, 水 1 000 ml, pH7.0~7.5, 115℃灭菌 30 min; (2) 发酵培养基: 葡萄糖 10 g, 硫酸铵 0.5 g, 氯化钠 0.3 g, 氯化钾 0.3 g, 七水合硫酸镁 0.3 g, 七水合硫酸亚铁 0.03 g, 一水合硫酸锰 0.03 g, 各种磷矿粉 5 g, 水 1 000 ml, pH7.0~7.5, 115℃灭菌 30 min。

1.1.3 磷矿粉 云南海口磷矿粉、湖北黄麦岭磷矿粉、黄金卡黄磷矿粉、贵州开阳磷矿粉、湖北钟祥磷矿粉、湖北谷城石花磷矿粉、四川马边磷矿粉、湖北宜昌磷矿粉、尧治山磷矿粉。供试磷矿粉有效磷含量见表 1。

1.2 方法

1.2.1 摇瓶培养 将 P17 斜面菌种接种在种子培养基中, 旋转式摇床 29℃、120 r min⁻¹ 培养 48 h, 经计数菌体密度达 10^8cfu ml^{-1} 时备用。每种磷矿粉分别设空白、接灭活菌、接活菌 3 个处理, 每种处理设 3 个重复。按 10% 接种量分别将 P17 菌液、灭活 P17 菌液、空白培养基接入液体摇瓶培养基中, 装

* 上海市科技兴农重点攻关项目(农科攻字 98 第 05-2 号)资助

[†] 通讯作者

作者简介: 钟传青(1977~), 女, 博士研究生, 主要从事土壤微生物方面研究。E-mail: zhongchq@163.com

收稿日期: 2003-11-03; 收到修改稿日期: 2004-02-12

表 1 各种磷矿粉的磷含量
Table 1 Phosphorus contents of phosphate rock powders

磷矿粉 Phosphate rock powder	磷含量 Phosphorus content (g kg^{-1})		
	全磷 Total P	有效磷 Available P	水溶性磷 Water-dissolving P
海口磷矿粉 Haikou phosphate rock powder	215.6	19.6	0.20
黄麦岭磷矿粉 Huangmailing phosphate rock powder	214.7	6.02	0.11
黄金卡黄磷矿粉 Huangjinkahuang phosphate rock powder	212.0	7.61	0.24
开阳磷矿粉 Kaiyang phosphate rock powder	216.0	39.68	0.80
钟祥磷矿粉 Zhongxiang phosphate rock powder	217.2	15.01	0.23
石花磷矿粉 Shihua phosphate rock powder	215.7	14.91	0.20
马边磷矿粉 Mabian phosphate rock powder	216.7	15.01	0.23
宜昌磷矿粉 Yichang phosphate rock powder	213.9	30.52	1.50
尧治山磷矿粉 Yaozhishan phosphate rock powder	215.2	17.60	1.50

液量为 50ml。三角瓶置往复式摇床上 29℃ 振荡培养 (90r min^{-1}) 7d。培养结束后, 发酵液 121℃ 灭菌 40 min, 加 6% H_2O_2 2 滴于三角瓶中, 60℃ 水浴 48 h 以破坏菌体。发酵液用无磷滤纸过滤, 定容至 55 ml, 用于检测有效磷含量。将 P17 溶解效果较好的磷矿粉重新装入原三角瓶。添加发酵培养基中除磷矿粉之外的成分, 重新灭菌, 接种, 培养 7 d 并测定滤液中有效磷含量, 反复接种至 P17 不能继续提高磷矿粉溶磷量为止。

1.2.2 发酵液中有效磷含量的测定 滤液有效磷含量测定按文献[7]进行。

1.2.3 发酵液总酸及有机酸含量的测定 用蒸馏法提取挥发性有机酸, 用蒸馏残液提取难挥发性有机酸。取蒸馏液和蒸馏残液, 分别加入 3~4 滴酚酞指示剂, 用滴定法测定挥发性有机酸和难挥发性有机酸的含量, 两者之和为有机酸总量。有机酸检测的色谱条件: 气相色谱仪主机型号: 岛津 GG-14A; 检测器: 火焰离子化检测器 (FID); 分离柱: 大孔径毛细管柱; 记录仪: G-R8A。挥发性有机酸色谱条件: 柱温: 90℃ 保持 3 min, 然后以 $10^\circ\text{C min}^{-1}$ 升至 150℃, 保持温度 3 min; 汽化室温: 240℃; 检测器温:

280℃; 气体流速: 载气为氮气, 氮气压力 20 psi; 空气流速 340 ml min^{-1} ; 氢气流速 30 ml min^{-1} ; 进样量 0.5 μl 。难挥发性有机酸色谱条件: 柱温: 90℃ 保持 3 min, 然后以 $30^\circ\text{C min}^{-1}$ 升至 200℃, 保持温度 5 min; 汽化室温: 240℃; 检测器温: 280℃; 气体流速: 载气为氮气, 氮气压力 20 psi; 空气流速 340 ml min^{-1} ; 氢气流速 30 ml min^{-1} ; 进样量 0.5 μl 。标准有机酸衍生物制备、样品预处理均按照文献[8]进行, 以氯化苄代替溴化苄, 以峰面积计算各有机酸含量。

1.2.4 扫描电镜观察 分别将接 P17 发酵液、灭活菌液及空白培养基后间隔振荡培养 70 d 的磷矿粉与原样一起烘干, 按常规制样方法用扫描电镜 Philip SEM-505 进行观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 磷细菌 P17 对各种磷矿粉的溶解效果

由表 2 可以看出, 与接空白培养基、接灭活菌液相比, 接种磷细菌 P17 后, 以来源于海口、黄麦岭、黄金卡黄、开阳、钟祥、石花、马边、宜昌、尧治山的磷矿粉为唯一磷源的发酵液中有效磷含量均有增加。可

表 2 磷细菌 P17 对各种磷矿粉的溶解能力
Table 2 P-solubilities of phosphate rock powders to P17 strain

磷矿粉 Phosphate rock powder	各处理滤液有效磷含量 Available phosphorus content in filtrate (mg L^{-1})			
	接培养基 Inoculation with medium	接灭活菌 Inoculation with inactivated bacteria	接活菌 Inoculation with bacteria	接活菌比接 灭活菌增加 Increased by (%)
海口磷矿粉 Haikou phosphate rock powder	105.2	142.1	272.4	91.70
黄麦岭磷矿粉 Huangmailing phosphate rock powder	23.81	49.00	291.5	495
黄金卡黄磷矿粉 Huangjinkahuang phosphate rock powder	24.33	29.88	316.6	959
开阳磷矿粉 Kaiyang phosphate rock powder	121.1	200.0	279.4	39.7
钟祥磷矿粉 Zhongxiang phosphate rock powder	80.19	91.68	120.2	31.1
石花磷矿粉 Shihua phosphate rock powder	71.06	121.8	197.4	62.1
马边磷矿粉 Mabian phosphate rock powder	83.55	107.1	146.8	37.0
宜昌磷矿粉 Yichang phosphate rock powder	45.36	107.5	170.6	58.7
尧治山磷矿粉 Yaoshishan phosphate rock powder	78.30	100.3	173.5	73.3

注:表中数据经 DPS 的 Duncan's 新复极差测验的多重比较及 SSR 检验,各处理间在 5% 水平上差异显著 Note: Data in the table were compared through multiple comparison and SSR test of Duncan's range test. Differences were obvious on 5% level in each treatment

见 P17 能够有效地溶解、转化磷矿粉中的难溶磷。云南海口磷矿、贵州开阳磷矿、湖北宜昌磷矿等为沉积磷块岩,而黄金卡黄磷矿、黄麦岭磷矿则为变质型磷块岩^[1]。各种来源磷矿粉的磷含量如表 1 所示。由表中看出,由于磷矿地质形成条件的不同,磷矿粉的有效磷含量有很大差异。黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉的有效磷含量最低。而经 P17 培养后,黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉溶磷增幅最大,说明变质型磷块岩中的磷易于被细菌 P17 转化、溶解。

2.2 磷细菌 P17 对黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉的持续溶磷效果

为试验磷细菌 P17 对黄麦岭磷矿粉、黄金卡黄磷矿粉的持续溶解效果,又连续 9 次接种培养,共 70d,结果见图 1、图 2。黄麦岭磷矿粉、黄金卡黄磷矿粉累计有效磷含量分别由第一次接种时发酵液中的 291.5mg L^{-1} 、 316.6mg L^{-1} ,增加到 869.7mg L^{-1} 、 837.0mg L^{-1} ,磷矿粉的难溶磷逐渐被 P17 溶解下

来。第十次培养后,黄麦岭磷矿粉全磷的 81.02% 被溶解下来,接活菌滤液中累积有效磷是接培养基的 5.93 倍,接灭活菌是接培养基的 2.54 倍。而对于

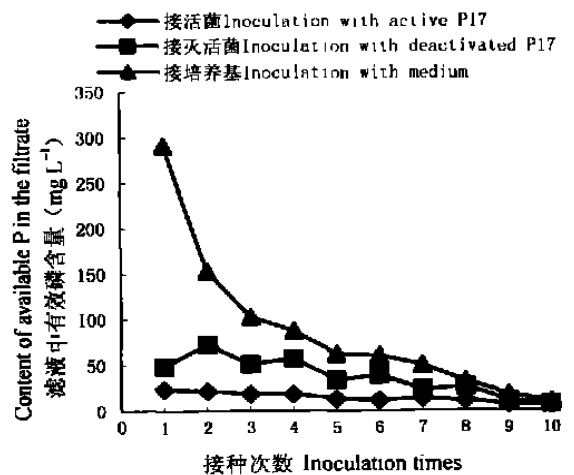


图 1 磷细菌 P17 对黄麦岭磷矿粉的溶磷效果
Fig. 1 P-solubilizing effect of bacteria P17 on Huangmailing phosphate rock powder

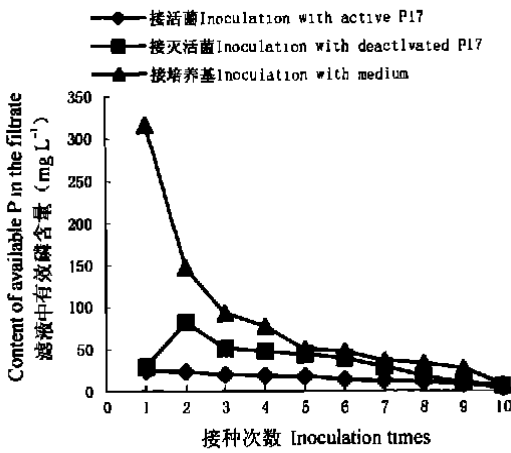


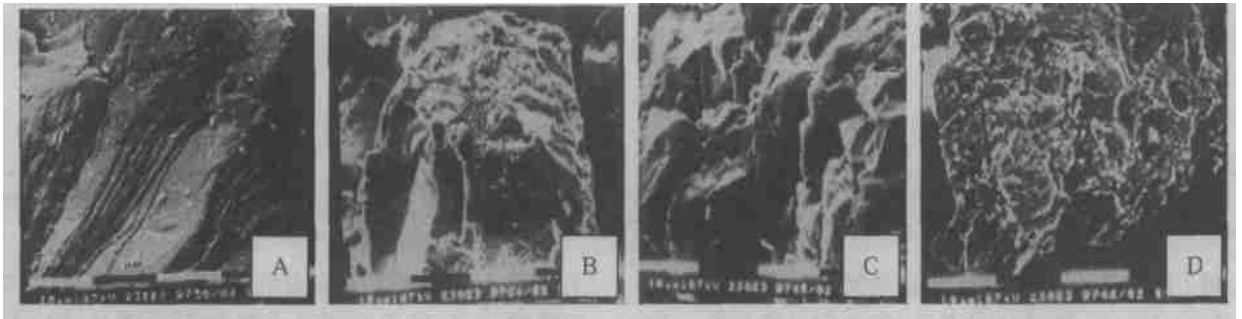
图2 磷细菌 P17 对黄金卡黄磷矿粉的溶磷效果
Fig 2 P-solubilizing effect of bacteria P17 on Huangjinkahuang phosphate rock powder

黄金卡黄磷矿粉, P17 溶解了全磷总量的 78.97%, 接活菌滤液中累积有效磷是接培养基处理的 5.4 倍, 接灭活菌是接培养基处理的 2.32 倍。接灭活菌由于带进了代谢产物如难挥发性有机酸等作用于磷

矿粉, 有机酸能够整合金属离子^[9], 使磷矿粉的磷游离出来, 滤液中有效磷含量增加。属于变质型磷块岩的黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉适于巨大芽孢杆菌 P17 的生长及有效代谢产物的产生, 从而易受侵蚀。经过 P17 的长期作用, 大部分难溶磷转化为有效磷。为进一步证实上述结果, 将磷矿粉进行了扫描电镜观察。继续接种培养时, 接活菌、接灭活菌、接空白培养基各处理间没有显著差异, 说明磷矿粉中仍有少部分磷不能被 P17 溶解下来。

2.3 黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉处理前后扫描电镜结果

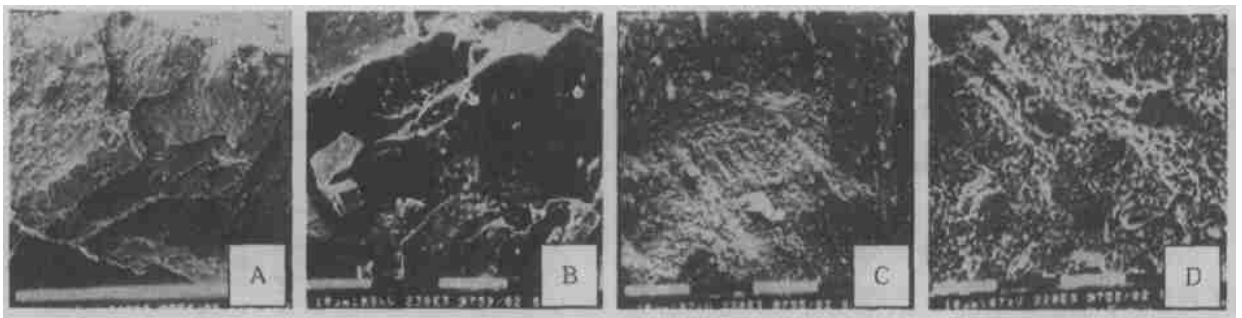
与原样相比, 接空白培养液、灭活菌液及活菌液处理的磷矿粉表面结构均有很大差别。接菌液处理的磷矿粉表面凹凸不平, 有可能是磷细菌 P17 积聚并在磷矿粉上生存、繁殖时, 利用了部分难溶磷的结果, 也有可能是代谢产物如酸、螯合剂等, 使磷矿粉的磷溶解下来。黄麦岭磷矿粉、黄金卡黄磷矿粉的各处理中, 接灭活菌液、空白培养基处理后的磷矿粉结构在电镜照片上差异显著(图 3, 图 4)。表明 P17



A: 原样 Original sample; B: 接空白培养液 Inoculation with medium; C: 接 P17 灭活菌液 Inoculation with deactivated bacteria P17; D: 接 P17 活菌液 Inoculation with active bacteria P17

图3 黄麦岭磷矿粉经处理后的扫描电镜图(× 2 300)

Fig 3 SEM-photos of treated Huangmailing phosphate rock powder (× 2 300)



A: 原样(× 845) Original sample (× 845); B: 接空白培养液(× 2 300) Inoculation with medium (× 2 300); C: 接 P17 灭活菌液(× 2 300) Inoculation with deactivated bacteria P17 (× 2 300); D: 接 P17 活菌液(× 2 200) Inoculation with active bacteria P17 (× 2 200)

图4 黄金卡黄磷矿粉经处理后的扫描电镜图

Fig. 4 SEM-photos of treated Huangjinkahuang phosphate rock powder

作用于黄金卡黄磷矿粉的部分有效成分经灭活后仍然起作用。P17 发酵液经灭活后, 挥发性酸被挥发、酶失活, 难挥发性酸仍然能够起作用。空白培养液中含有大量的阴阳离子, 可以和磷矿粉表面的离子进行交换, 从而引起表面部分结构的变化。

2.4 发酵液有机酸含量检测结果

由表 2 可知, P17 对黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉有很好的溶磷效果, 为研究 P17 的溶磷机制, 又分别检测了 P17 以黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉为磷源时培养 7 d 后发酵液终止 pH 值、有机酸含量及有机酸总量。

表 3 磷细菌 P17 发酵液终止 pH 及其有机酸含量

Table 3 Terminal pH and acids contents in the fermentation liquid of bacteria P17

磷矿粉 Phosphate rock powder	pH	挥发性酸含量 Contents of volatile organic acids (mmol L ⁻¹)	难挥发性酸含量 Contents of non-volatile organic acids (mmol L ⁻¹)	有机酸总量 Gross of organic acids (mmol L ⁻¹)
黄麦岭磷矿粉 Huangmailing phosphate rock powder	3.90	3.10	40.5	43.6
黄金卡黄磷矿粉 Huangjinkahuang phosphate rock powder	4.20	3.10	51.1	54.2

表 4 磷细菌 P17 发酵液中有有机酸组成及含量

Table 4 Compositions and contents of the organic acids in the fermentation liquid of bacteria P17

磷矿粉 Phosphate rock powder	有机酸 Organic acids(μg mL ⁻¹)							
	挥发性有机酸 Volatile organic acids				难挥发性有机酸 Non-volatile organic acids			
	甲酸 Formic acid	乙酸 Acetic acid	丙酸 Propionic acid	丁酸 Butyric acid	乳酸 Lactic acid	琥珀酸 Succinic acid	苹果酸 Malic acid	柠檬酸 Citric acid
黄麦岭磷矿粉 Huangmailing phosphate rock powder	19.5	95.7	—	—	47.1	563	105	71.8
黄金卡黄磷矿粉 Huangjinkahuang phosphate rock powder	— ¹⁾	75.1	—	—	102	375	—	73.7

1) “—”表示未检出 “—” denotes zero detection

3 讨论

本研究表明, 溶磷细菌 P17 对不同来源、不同类型磷矿粉的溶解效果不同。这与溶磷微生物的溶磷机制及磷矿粉的复杂结构有关。溶磷微生物能够产生大量的挥发性酸、难挥发性酸及磷酸酶等^[3, 4, 12], 有机酸对难溶性无机磷酸盐的生物有效性有重要作用^[13]。而磷灰石可以分为沉积岩、变质岩、岩浆岩,

由表 3 可以看出, 巨大芽孢杆菌 P17 以黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉为磷源时产生的有机酸总量分别为 43.6 mmol L⁻¹、54.2 mmol L⁻¹, 且能使发酵液 pH 降低到 4 左右, 说明能产生大量有机酸。P17 在含黄麦岭磷矿粉和黄金卡黄磷矿粉培养基中能产生乳酸、琥珀酸、柠檬酸、乙酸等有机酸, 如表 4 所示。琥珀酸、柠檬酸等有机酸对金属离子有螯合作用^[9]; 随着土壤中有机酸浓度的增加, 有效磷含量升高^[10, 11], 有可能与磷矿粉中金属离子螯合, 使其中的磷释放出来, 从而达到溶磷的目的。

其化学通式为 A₁₀(XO₄)₆Z₂, A 可以为 Ca、Sr、Pb、Mn、Zr 等; X 可以为 P、Si、S、Al 等; XO₄ 可以为 CO₃F、CO₃OH; Z 可以是 F、OH、Cl、Br、I、F 等^[1]。磷矿粉的类型与元素组成会影响溶磷微生物对不同磷矿粉的溶解能力, 如沉积型磷块岩的开阳磷矿粉, 接种磷细菌 P17 培养 7 d 后, 接活菌的滤液有效磷含量增加比接灭活菌增加 39.7%。而对于变质型磷块岩的黄麦岭磷矿粉, 接活菌处理比接灭活菌滤液中有效磷含量增加 495%。磷矿粉组成元素中的铅、氟等

有可能影响溶磷微生物的生长、繁殖及代谢产物的产生,使溶磷微生物对不同磷矿粉的溶解效果有所差异。P17 产生的琥珀酸、柠檬酸、苹果酸等能够螯合磷矿粉中的金属离子^[9],使其中的磷释放出来。根据摇瓶试验和有效磷的测定,并利用扫描电镜观察溶磷细菌 P17 风化磷矿粉的过程,证明微生物能够提高不同来源磷矿粉的持续利用率,为磷矿粉的生物风化提出了物理学和化学证据。针对磷矿粉直接施用肥效低的问题,本文提出在磷矿粉中添加微生物菌剂的方法,以期达到溶蚀磷矿粉、提高磷矿粉田间施用效果的目的。磷矿粉的田间施用效果还与土壤类型及其酸碱度、作物种类、田间温度等因素有关,为更有效地改善土壤磷素营养、提高磷矿粉的利用率,在磷矿粉田间最佳施用条件下巨大芽孢杆菌 P17 与土著微生物的竞争关系及其在土壤中定殖情况有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 李庆远, 蒋柏藩, 鲁如坤编著. 中国磷矿的农业利用. 南京: 江苏科学技术出版社, 1992. 12~ 13, 20, 35. Li Q K, Jiang B F, Lu R K. Phosphate Rock for Agriculture Use in China (In Chinese). Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1992. 12~ 13, 20, 35
- [2] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展. 土壤肥料, 2001, 3: 7~ 11. Zhao X R, Lin Q M. Review about P-solubilization by microbes (In Chinese). Soil Fertilizer, 2001, 3: 7~ 11
- [3] 林启美, 王华, 赵小蓉, 等. 一些细菌和真菌的解磷能力及其机理初探. 微生物学通报, 2001, 28(2): 26~ 30. Lin Q M, Wang H, Zhao X R, *et al.* Phosphorus-dissolving ability and initial discuss of phosphorus-dissolving mechanism of some bacteria and fungi (In Chinese). Chinese Journal of Microbiology, 2001, 28(2): 26~ 30
- [4] Nansian Varsha, Patel H H. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32: 559~ 565
- [5] 张宝贵, 李贵桐. 土壤生物在土壤磷有效化中的作用. 土壤学报, 1998, 35(1): 104~ 111. Zhang B G, Li G T. Roles of soil organisms on the enhancement of plant availability of soil phosphorus (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1998, 35(1): 104~ 111
- [6] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001. 43~ 64. Dong X Z, Cai M Y. System Identification Manual of Familiar Bacteria (In Chinese). Beijing: Science Press, 2001. 43~ 64
- [7] 南京农业大学主编. 土壤农化分析(第二版). 北京: 农业出版社, 1996. 69, 311~ 312. Nanjing Agricultural University. Soil Agricultural Chemistry Analysis (In Chinese). 2nd Ed. Beijing: Agriculture Press, 1996. 69, 311~ 312
- [8] 王林权, 周春菊, 王俊儒. 鸡粪中的有机酸及其对土壤速效养分的影响. 土壤学报, 2002, 39(2): 268~ 275. Wang L Q, Zhou C J, Wang J R. Organic acids in chicken feces and their effects on availability of nutrients in loess soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(2): 268~ 275
- [9] 赵小蓉, 林启美, 李保国. 溶磷菌对 4 种难溶性磷酸盐溶解能力的初步研究. 微生物学报, 2002, 42(2): 236~ 241. Zhao X R, Lin Q M, Li B G. Preliminary study on solubilization of 4 insoluble phosphates by P-solubilizing microorganisms. Acta Microbiologica Sinica, 2002, 42(2): 236~ 241
- [10] Han X G., Jordan C F. Mobilization of phosphorus by naturally occurring organic acids in oxisols and ultisols. Pedosphere, 1995, 5(4): 289~ 303
- [11] Tong Y P, Li J Y. Mobilization of phosphorus in calcareous soils by organic acids. Pedosphere, 1999, 9(4): 379~ 382
- [12] 王光华, 赵英, 周德瑞, 等. 解磷菌的研究现状与展望. 生态环境, 2003, 12(1): 96~ 101. Wang G H, Zhao Y, Zhou D R. Review of P solubilizing microorganisms (In Chinese). Ecology and Environment, 2003, 12(1): 96~ 101
- [13] Feng K, Lu H M, Sheng H J, *et al.* Effect of organic ligands on biological availability of inorganic phosphorus in soils. Pedosphere, 2004, 14(1): 85~ 92

EFFECTS AND MECHANISM OF P-SOLUBILIZING *BACILLUS* P17 STRAIN ON PHOSPHORUS SOLUBILIZATION OF DIFFERENT PHOSPHATE ROCKS

Zhong Chuanqing Huang Weiyi

(Key Lab of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture;
Microbiology Department, College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Effect of *Bacillus megaterium* P17 strain on solubilization of different phosphate rocks was evaluated. Through shaking flask experiment and SEM photos, optimum phosphate rocks for P-solubilizing bacillus P17 strain were screened out. Results showed that bacillus P17 strain could dissolve phosphate rock powders of different sources, especially those from Huangmailing and Huangjinkahuang mines of diagenetic metamorphism phosphorites. After 70 days of culture and 10 times of inoculation, about 81.02% and 78.97% of the total phosphorus in the Huangmailing and Huangjinkahuang phosphate rock powders was solubilized, respectively. Results of the experiment showed that P17 strain could improve the continuous exploitation rate of some phosphate rocks. In addition, after 7 days of culturing, 3.10 mmol L⁻¹ volatile organic acids and 40.5 mmol L⁻¹ and 51.1 mmol L⁻¹ non-volatile organic acids were detected in the medium with Huangmailing and Huangjinkahuang phosphate rock powders as its single phosphorus source, separately; Gas chromatography revealed that bacillus P17 could also generate organic acids, such as lactic, succinic, malic, citric and acetic acids, which can chelate metal ions, thus releasing P from phosphate rocks. P-solubilization mechanism of bacteria P17 was discussed in this article.

Key words Phosphobacteria; Phosphate rock; P-solubilizing mechanism; Biological weathering