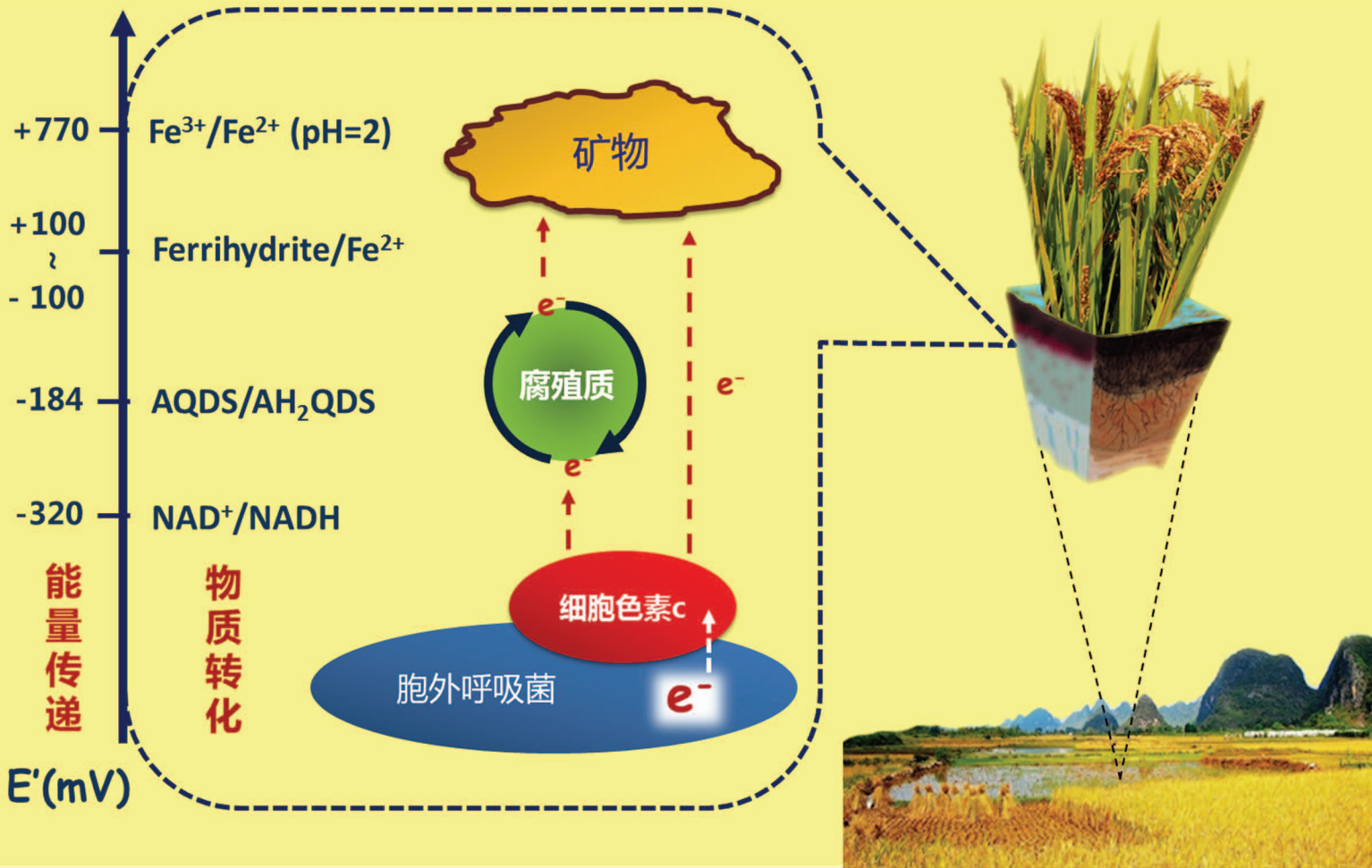


# Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



中国土壤学会 主办  
科学出版社 出版

2016

第53卷 第2期

Vol.53 No.2



# 土壤学报

(Turang Xuebao)



第 53 卷 第 2 期 2016 年 3 月

## 目 次

### 综述与评论

- 土壤微生物—腐殖质—矿物间的胞外电子传递机制研究进展····· 吴云当 李芳柏 刘同旭 (277)  
长期施肥对农田土壤氮素关键转化过程的影响····· 王 敬 程 谊 蔡祖聪等 (292)

### 新视角与前沿

- 土壤学不应忽视对作物土传病原微生物的研究····· 蔡祖聪 黄新琦 (305)

### 研究论文

- 西安少陵塬黄土—古土壤序列 $S_3$ 剖面元素迁移及古气候意义····· 楚纯洁 赵景波 (311)  
基于盲源分离的稀疏植被区土壤含盐量反演····· 刘 娅 潘贤章 石荣杰等 (322)  
基于地类分层的土壤有机质光谱反演校正样本集的构建····· 刘艳芳 卢延年 郭 龙等 (332)  
基于多分辨率遥感数据与随机森林算法的土壤有机质预测研究····· 王茵茵 齐雁冰 陈 洋等 (342)  
鄂东南崩岗剖面土壤水分特征曲线及模拟····· 邓羽松 丁树文 蔡崇法等 (355)  
放水冲刷对红壤坡面侵蚀过程及溶质迁移特征的影响····· 马美景 王军光 郭忠录等 (365)  
汶川震区滑坡堆积体坡面土壤侵蚀率及水动力学参数研究····· 王仁新 何丙辉 李天阳等 (375)  
咸水冻融灌溉对重度盐渍土壤水盐分布的影响····· 张 越 杨劲松 姚荣江 (388)  
基于不同估算方法的贵州省土壤温度状况····· 陆晓辉 董宇博 涂成龙 (401)  
拉萨灌丛草甸区土壤温度变化特征····· 巩玉玲 王兆锋 张懿锂等 (411)  
砂土和黏土的颗粒差异对土壤斥水性的影响····· 杨 松 吴珺华 董红艳等 (421)  
AQDS加速红壤性水稻土中DDT厌氧脱氯效应研究····· 刘翠英 王 壮 徐向华等 (427)  
激发式秸秆深还对土壤养分和冬小麦产量的影响····· 赵金花 张丛志 张佳宝 (438)  
臭氧污染对麦田土壤不同活性有机碳库的影响····· 寇太记 程相涵 张东亮等 (450)  
黑土区水稻土有机氮组分及其对可矿化氮的贡献····· 丛耀辉 张玉玲 张玉龙等 (457)  
水土保持措施对红壤缓坡地土壤活性有机碳及酶活性的影响····· 黄尚书 成艳红 钟义军等 (468)  
祁连山青海云杉林叶片—枯落物—土壤的碳氮磷生态化学计量特征····· 赵维俊 刘贤德 金 铭等 (477)  
基于核酸DNA/RNA同位素示踪技术的水稻土甲烷氧化微生物研究····· 郑 燕 贾仲君 (490)  
适应玉米的溶磷细菌筛选及其对玉米生长的影响····· 梅新兰 闪安琪 蒋 益等 (502)  
旱地红壤线虫群落对不同耕作年限的响应及指示意义····· 王明伟 刘雨迪 陈小云等 (510)  
西藏“玉米田养鹅”模式下养分吸收与养分平衡特征····· 沙志鹏 张宇阳 王 超等 (523)  
加工番茄连作对土壤理化性状及微生物量的影响····· 康亚龙 景 峰 孙文庆等 (533)

### 研究简报

- CTMAB对BS-12修饰膨润土的复配修饰模式····· 余 璐 孟昭福 李文斌等 (543)  
不同机械改土方式对白浆土物理特性及酶活性的影响····· 孟庆英 张春峰 贾会彬等 (552)

### 信息

- 《土壤学报》2015年度审稿专家名录····· (560)

封面图片: 微生物胞外电子传递: 能量传递与物质转化 (由吴云当、李芳柏、刘同旭提供)

DOI: 10.11766/trxb201508090307

# 适应玉米的溶磷细菌筛选及其对玉米生长的影响\*

梅新兰<sup>1</sup> 闪安琪<sup>1</sup> 蒋 益<sup>1</sup> 韦 中<sup>1</sup> 王誉瑶<sup>1</sup>  
王世梅<sup>1</sup> 沈其荣<sup>1</sup> 徐阳春<sup>1†</sup> 刘 建<sup>2†</sup>

(1 国家有机类肥料工程技术研究中心, 江苏省有机固体废物资源化协同创新中心, 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 江苏沿江地区农业科学研究所, 江苏如皋 226541)

**摘 要** 从石灰性土壤中分离获得4株高效溶磷细菌X5、X6、Z4和Z8, 研究其生物学特征, 探索其单独及复合的溶磷促生潜能。研究发现菌株X5、X6、Z4和Z8均可以利用玉米根系分泌物作碳源生长。菌株X6和Z4均能产生吲哚乙酸 (IAA) 和铁载体, 菌株Z8可产生IAA不产生铁载体, 菌株X5可产生铁载体不产生IAA。盆栽试验结果表明, 接种单一溶磷菌及4株菌复合处理均可促进玉米生长, 但复合菌群的溶磷促生效果显著高于单一菌株。通过16S rRNA基因序列分析研究菌株的分类地位, 初步鉴定X5、X6、Z4、Z8分别为荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、草假单胞菌 (*Pseudomonas poae*)、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。

**关键词** 溶磷细菌; 吲哚乙酸; 铁载体; 玉米根系分泌物; 复合菌群; 促生效果

**中图分类号** S144.9 **文献标识码** A

在农业生态系统中土壤有效磷是作物生长及高产的限制因子, 植物缺磷生长迟缓, 植株矮小。农田土壤中磷素蕴藏丰富, 但主要以难溶性的矿物态磷存在<sup>[1]</sup>。据全国土壤普查估算, 我国约2/3的耕地缺磷, 土壤有效态磷仅占全磷量的2%~3%<sup>[2]</sup>。尤其我国北方石灰性土壤以Ca-P为主, 约占全磷量的80%左右<sup>[3]</sup>。释放这些土壤中固定的磷对于提高土壤磷素有效性、减少磷肥施用量具有重要意义, 也符合我国当前提出的“减肥、减药”重大战略目标及可持续发展的生态农业方向。土壤中存在一定量的溶磷菌, 通过产酸等机制可将被固定的磷释放出来, 但是溶磷菌在植物根际的数量级较低, 溶磷活性不高。因此, 有必要从土壤环境中筛选高效解磷菌株, 制备生物菌剂, 再回接到植物根际,

以提高溶磷效率及促进植物生长<sup>[4-5]</sup>。

目前普遍采用选择性培养基筛选溶磷菌<sup>[6]</sup>, 并根据产生溶磷圈的直径作为溶磷能力大小的指标, 但是很多实验室获得的高效溶磷菌, 在应用时效果不稳定<sup>[7]</sup>。因为溶磷菌最终要接入植物的根际, 能否充分利用植物根系分泌物, 在根际定殖生长, 是其发挥溶磷作用的关键, 因此, 在筛选时应考虑菌株对根系分泌物的适应性。本试验以选择性培养基从生长在石灰性土壤的植物根际土中筛选溶磷细菌, 研究其利用根系分泌物作碳源的生物量, 检测其分泌吲哚乙酸 (indoleacetic acid, IAA) 及铁载体 (siderophores) 能力及对玉米生长的影响, 旨在为利用功能菌活化土壤磷素、提高磷肥利用效率提供理论依据。

\* 国家科技支撑计划项目 (2013BAD20B05)、农业部948项目 (2011-G27) 和公益性行业 (农业) 项目 (201203001) 资助  
Supported by the National Key Technology R&D Program of China (No. 2013BAD20B05), the Agricultural Ministry of China (No. 2011-G27), and the Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (No. 201203001)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ycxu@njau.edu.cn, ntliuj@sina.com

作者简介: 梅新兰 (1984—), 女, 河南洛阳人, 硕士, 助教, 主要从事农业固体废物资源化与土壤微生物资源开发研究。E-mail: meixinlan@njau.edu.cn

收稿日期: 2015-08-09; 收到修改稿日期: 2015-11-06



## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤：采集自江苏淮安石灰性土壤玉米种植地，用于盆栽试验，土壤理化特性见文献 [4]；同时采集玉米和象草根际土，用于解磷微生物的分离。

Pikovskaya培养基<sup>[8]</sup>：葡萄糖10 g，磷酸三钙5 g，硫酸铵0.5 g，氯化钠0.2 g，硫酸镁0.1 g，氯化钾0.2 g，酵母浸膏0.5 g，硫酸锰0.002 g，硫酸亚铁0.002 g，0.4%溴酚蓝（pH 6.7）6 ml，琼脂18 g，蒸馏水1 000 ml，pH自然。

NBRIP培养基<sup>[9]</sup>：葡萄糖10.0 g，磷酸三钙5.0 g，六水合氯化镁5.0 g，七水合硫酸镁0.25 g，氯化钾0.2 g，硫酸铵0.1 g，蒸馏水1 000 ml，pH 7.0。

### 1.2 溶磷细菌平板初筛

将从石灰性土壤中采集的玉米根系、象草根系，分别剪成小段，置入装有100 ml无菌水的250 ml三角瓶中，摇床振荡30 min，取上清液系列稀释至 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ ，分别取0.1 ml涂布于Pikovskaya平板培养基上，每个稀释度重复3次，28 ℃培养3 d，挑取有水解圈的菌落在平板上划线纯化，选择仍有较大水解圈的不同单菌落转移至斜面培养，然后置于4 ℃冰箱保存。

### 1.3 溶磷细菌摇瓶复筛

将初筛获得的菌株，在斜面上活化，分别接种2环至装有100 ml NBRIP培养液的250 ml三角瓶中，30 ℃摇床170 r min<sup>-1</sup>培养7 d，测定培养液中有效磷含量及pH的变化。有效磷测定方法：将培养液以5 000 r min<sup>-1</sup>离心10 min，取上清液经适当稀释后，用钼锑抗比色法测定有效磷含量，具体方法参照文献 [10]。

### 1.4 溶磷细菌对玉米根系分泌物的适应性

水培玉米植株并收集玉米根系分泌物，方法参照文献 [11]，冷冻干燥，所得粉末用收集液1/5体积的无菌双蒸水溶解，10 000 r min<sup>-1</sup>离心10 min，留上清液，得到浓缩的水溶性根系分泌物，检测其水溶性有机碳（DOC）含量。

将20 ml过滤除菌的浓缩根系分泌物（DOC含量40 mg ml<sup>-1</sup>），加入至已融化并冷却至50 ℃左右的100 ml无碳Pikovskaya培养基中，混匀倒平板，每平板点接筛选获得的溶磷菌株，培养4 d，记录菌株生长情况与溶磷圈的大小。

在80 ml NBRIP液体培养基中，将20ml浓缩的根系分泌物（DOC含量40 mg ml<sup>-1</sup>）替代葡萄糖做碳源，115 ℃灭菌10 min，接种溶磷菌菌苔2环，摇瓶培养2 d，活菌计数检测溶磷菌的生物量。

### 1.5 溶磷细菌分泌吲哚乙酸及铁载体能力的测定

根据复筛情况及对玉米根系分泌物适应性的实验结果，选择4株不同特征的溶磷菌（菌株X5、X6、Z4、Z8），测定其分泌IAA及铁载体能力。菌株分泌IAA的能力采用Salkowski比色法测定<sup>[12]</sup>。采用改良CAS平板<sup>[13]</sup>，根据菌落周围晕圈的大小，定性检测溶磷细菌分泌铁载体能力。

### 1.6 溶磷细菌对玉米促生效果试验

选择溶磷菌X5、X6、Z4、Z8，盆栽试验考察其对玉米促生效果。供试玉米品种为郑单958，设空白不接种对照、接种单一菌处理、接种复合菌处理，每盆装土5.0 kg，种植玉米2株，接种量为每盆50 ml培养液（ $1.0 \times 10^6$  CFU ml<sup>-1</sup>），4个重复。N、K肥的用量分别为每盆尿素2.0 g、氯化钾1.4 g。玉米生长49 d后收获，测量玉米的株高、植株干重，测定植株全磷量及根际土壤中有效磷的含量<sup>[10]</sup>。

### 1.7 溶磷细菌的分子生物学鉴定

菌株DNA提取及16S rDNA PCR扩增测定参照文献 [14]，PCR产物经南京金思特公司纯化测序，根据16SrDNA测序结果，在<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>在线查询分析，与GenBank数据库中的已有序列进行Blast分析，同源性比对，运用Clustal 1.81和Mega 4.1软件进行序列分析并构建系统发育树，以确定该菌株的分类地位。

## 2 结 果

### 2.1 溶磷菌的筛选及溶磷效果比较

根据Pikovskaya培养基上菌落周围黄色透明圈的大小，筛选出20株溶磷细菌，溶磷圈直径（D）在7.9~20 mm之间。在初筛试验的基础上，选择菌落形态不同且溶磷圈直径较大的10株细菌进行摇瓶复筛（表1）。复筛结果表明6株G<sup>-</sup>菌的平均溶磷能力为449.7 μg ml<sup>-1</sup>，菌株Z3、Z5和X6溶解释放的有效磷浓度均超过了500 μg ml<sup>-1</sup>，其中菌株Z3溶解释放的磷浓度最高，达到562.2 μg ml<sup>-1</sup>。所获得G<sup>+</sup>菌株溶磷能力相对较低，其中溶磷最高的菌株Z4溶解释放的磷浓度为46.9 μg ml<sup>-1</sup>；4株G<sup>+</sup>菌株的平均溶磷能力为29.3 μg ml<sup>-1</sup>，仅为革兰氏阴性菌株平

表1 溶磷细菌在NBRIP摇瓶中的溶磷能力比较

Table 1 Effect of PSBs on solubilization of insoluble phosphate in NBRIP culture

菌株 Strain	革兰氏染色 Gram stain	水溶性磷浓度 Water soluble phosphate ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	pH
Z9	+	13.25i	7.13a
Z8	+	22.95h	6.44b
Z7	+	26.24h	6.23b
Z4	+	44.20g	6.22b
X3	-	265.17f	5.26c
Z2	-	322.61e	4.59d
X5	-	486.69d	3.84e
Z5	-	504.91c	3.85e
X6	-	543.12b	3.73e
Z3	-	559.57a	3.79e

注：不同字母表示处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )；“+”代表革兰氏反应呈阳性；“-”代表革兰氏反应呈阴性。Note: Different letters in the same column represent significance in difference between treatments at  $p < 0.05$  (Duncan's multiple range test); “+” means Gram reaction is positive, while “-” means Gram reaction is negative.

均溶磷能力的1/15。G<sup>-</sup>菌株能够显著降低培养液的pH，菌株Z3、X5、Z5、X6能将溶液的pH从初始时的7.0降至4.0以下，而所获得的G<sup>+</sup>菌未有表现出明显的降低pH能力，可能与其对难溶性磷酸盐的溶解机制不同有关。

## 2.2 溶磷菌株对玉米根系分泌物的响应

选取溶磷能力较强的G<sup>-</sup>与G<sup>+</sup>菌各4株，接种在以玉米根系分泌物为碳源的Pikovskaya培养基中，

结果显示，8株菌均能在以根系分泌物为碳源的培养基上生长，以玉米根系分泌物为碳源，菌株溶磷能力（溶磷圈直径/菌落直径）的大小次序为X5 > X6 > Z3 > Z5 > Z8 > Z9 > Z4 > Z7，显示出与表1结果不同的顺序。而在以玉米根系分泌物为碳源的摇瓶实验中，8株菌的生物量依次为X6 > X5 > Z5 > Z3 > Z4 > Z8 > Z9 > Z7，反映了菌株间对玉米根系适应性的差异（表2）。

表2 不同菌株在玉米根系分泌物为碳源的培养基上生长情况

Table 2 Growths of the strains on substrate using corn root exudate as sole carbon source

菌株 Strain	溶磷圈直径D	菌落直径d	D/d	菌体数量
	Diameter of phosphate solubilization halo (mm)	Diameter of bacterial colony (mm)		Bacterial population Lg (cfu ml <sup>-1</sup> )
Z7	5.6	4.2	1.33	5.44g
Z9	12.9	9.1	1.42	5.60f
Z8	8.3	5.7	1.46	5.64f
Z4	10.9	8.1	1.35	5.85e
Z3	15.8	8.5	1.86	6.07d
Z5	7.5	4.7	1.60	6.50c
X5	10.9	5	2.18	6.73b
X6	11	5.1	2.16	6.86a

### 2.3 溶磷细菌产生吲哚乙酸 (IAA) 及铁载体的能力

微生物产生植物激素类物质如吲哚-3-乙酸, 可促进植物根系有效地吸收土壤中的水分和养分, 促进植物的生长发育, 并调控植物体其他生命活动<sup>[15-16]</sup>。微生物分泌铁载体, 在缺铁的土壤环境中铁载体螯合铁离子形成螯合物, 在满足微生物自身生长需要的同时, 也能够被植物直接吸收利用, 改善植物的铁营养状况<sup>[17-18]</sup>, 从而促进植物生长。由表3可见, 菌株X6和Z4均能产生IAA和铁载体, 菌株Z8能产生IAA, 但不能产生铁载体, 菌株X5不能产生IAA, 但可产生铁载体。

表3 菌株X5、X6、Z4、Z8产生吲哚乙酸及铁载体的情况

Table 3 Productions of indoleacetic acid (IAA) and siderophore by Strain X5, X6, Z4 and Z8

菌株 Strain	吲哚乙酸 IAA	铁载体 Siderophore
X5	-	+
X6	++	+
Z4	+++	+
Z8	+++	-

注：“+”代表菌株能产生IAA或者铁载体；“-”代表菌株不能产生IAA或者铁载体。Note：“+” denotes strains of bacteria capable of producing IAA or siderophore, while “-” strains of bacteria unable to produce IAA or siderophore

### 2.4 溶磷细菌对玉米的促生效应

接种不同特征的单一溶磷菌 (X5、X6、Z4、Z8) 及复合菌 (Z8+X5+X6+Z4) 对玉米生长及土壤有效磷含量变化的影响见图1。由图可见, 接种溶磷菌的处理, 无论玉米株高、干重、植株全磷及土壤有效磷含量均较不接种对照有所提高, 菌株Z4处理与对照相比有显著差异。且接种复合菌的处理又较接种单一菌株的处理显著增加。接种单一溶磷菌Z8、X5、X6、Z4处理的株高较对照增加25.6%、23.9%、20.0%、27.36%, 复合菌处理则较对照增加35.5%; 接种单一溶磷菌Z8、X5、X6、Z4处理的植株干重, 较对照增加26.2%、47.0%、23.4%、33.9%, 复合菌处理则较对照增加73.5%; 接种单一溶磷菌Z8、X5、X6、Z4处理的植株全磷较对照增加37.4%、49.5%、41.0%、86.4%, 复合菌处理则较对照增加142.6%; 从土壤有效磷看, 接种单一溶磷菌Z8、X5、X6、Z4的处

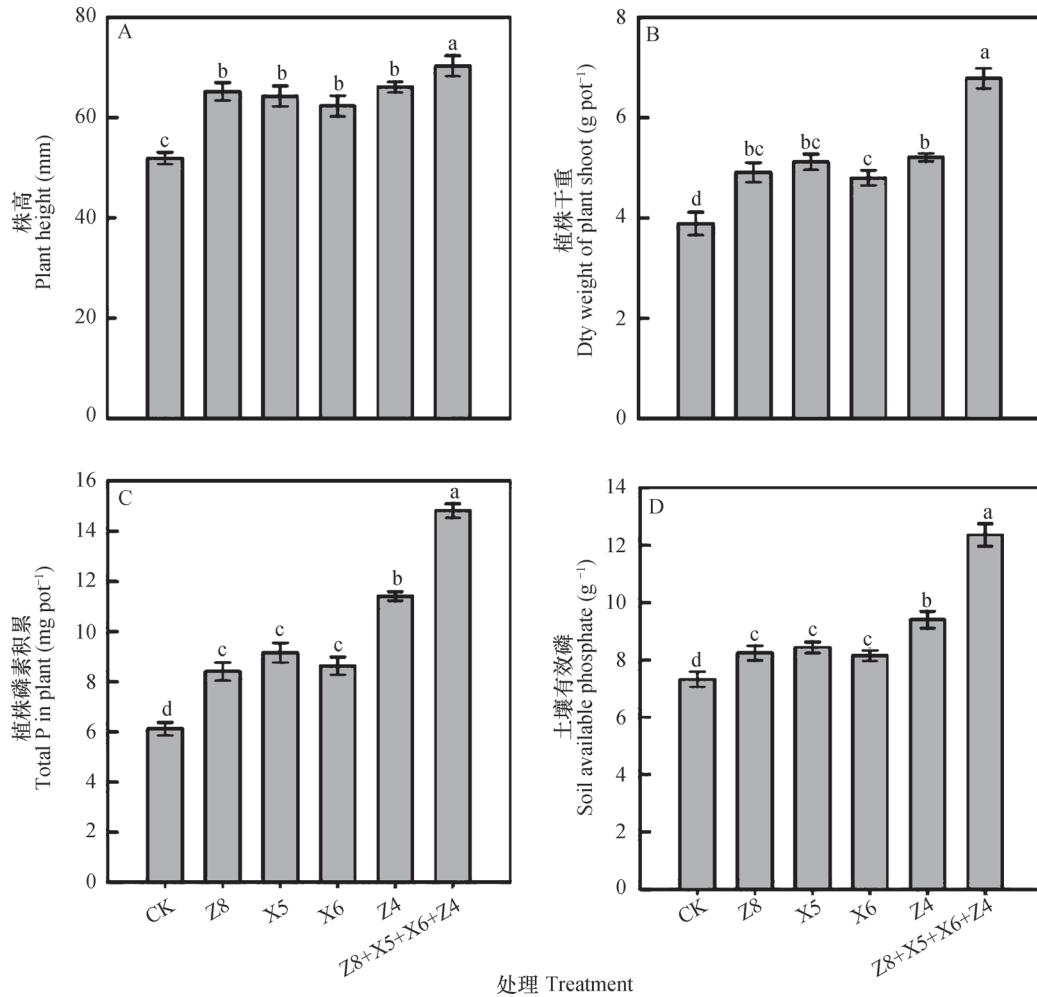
理较对照增加12.6%、15.2%、11.3%、28.4%, 复合菌处理则较对照增加68.9%。

### 2.5 溶磷菌株的分子生物学鉴定

将菌株X5、X6、Z4和Z8的16S rDNA基因序列提交至GenBank中进行Blast比对, 菌株X5与*Pseudomonas fluorescens* (JF449445) 的同源性达到100%; X6与*Pseudomonas sp.* (DQ536513) 的同源性达到99%; 菌株Z4与*Bacillus megaterium* (HQ423376), *Bacillus megaterium* IMER B5-12 (FJ772019) 的同源性分别均达到99%; 菌株Z8与*Bacillus subtilis* 的同源性达到100%。将其中与菌株X5、X6、Z4和Z8相似性较高的模式菌株运用clustalX1.81软件进行多重比对后, 用邻接法 (neighbor-joining method) 通过Mega4.1软件构建系统发育树, 初步鉴定X5、X6、Z4、Z8分别为荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*)、草假单胞菌 (*P. poae*)、巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*) 和枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*)。

## 3 讨论

溶磷菌作为有益微生物在活化土壤磷素, 促进植物在低肥力土壤生长方面起着举足轻重的作用<sup>[19-20]</sup>, 一些功能多样兼具根际促生性能的溶磷菌 (*Azotobacter*、*Pseudomonas*、*Rhizobium*、*Actinomycetes*) 亦陆续被分离出来, 接种至植物根际可以增加植物生长及磷素吸收<sup>[21]</sup>。研究中发现, 在实验室分离获得的高效溶磷菌株, 应用到盆栽试验的效果与摇瓶实验并不一致。尤其G<sup>+</sup>菌株*B. megaterium* Z4在摇瓶培养检测溶磷效率仅为46.86, 但是盆栽试验的效果较两株G<sup>-</sup> (*P. fluorescens* X5、*P. sp.* X6) 处理的效果好, G<sup>+</sup>菌株*B. subtilis* Z8液体培养磷效率仅为25.61, 盆栽效果与两株G<sup>-</sup> (*P. fluorescens* X5、*P. sp.* X6) 处理的效果相当。分析原因, 可能与菌株分泌的IAA有关, 菌株*B. megaterium* Z4、*B. subtilis* Z8能分泌IAA的能力较强 (表3), 对植物生长的刺激作用更强。另一个因素, 可能与溶磷菌在根际的定殖有关, 张小兰等<sup>[11]</sup>研究发现G<sup>+</sup>较G<sup>-</sup>更易于长期定殖于植株的根际, 其实验结果表明在初始接种浓度一致条件下, 培养8 d后, 菌株*Bacillus megaterium* X14 (G<sup>+</sup>) 在玉米根际定殖的数量较菌株*Acinetobacter parvus* X32 (G<sup>-</sup>) 高1个数量级。



注：含有相同字母者表示差异不显著 ( $p=0.05$ , 新复极差检验) Note: Data in the figure affixed with the same letter indicated no significant difference ( $p=0.05$ , Duncant's test)

图1 不同溶磷细菌处理对玉米的促生效果

Fig. 1 Effects of phosphate-solubilizing bacteria on growth of corn relative to strain of the bacteria

Gupta等<sup>[22]</sup>研究发现, 溶磷菌*Burkholderia gladioli* 10216 和*Enterobacter aerogenes* 10208 对磷矿粉的溶解能力分别为1.4 和15.2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 后者为前者的13.8倍。盆栽试验中接种这两株菌的处理, 作物的株高、生物量、磷吸收量差异并不显著, 但均显著高于不接种对照, 其原因是*B. gladioli* 10216 在作物根际的定殖数量 ( $3.0 \times 10^9 \text{cfu g}^{-1}$ 土) 较*E. aerogenes* 10208 ( $4.1 \times 10^7 \text{cfu g}^{-1}$ 土) 高2个数量级, 表明溶磷菌的定殖能力起着重要作用, 定殖能力强弥补了溶磷能力弱的不足。因此后续实验应进一步检测溶磷菌在根际的定殖。

室内试验发现*B. subtilis* Z8不能产生铁载体, 而*B. megaterium* Z4、*P. fluorescens* X5和*P. spoea* X6均能产生铁载体(表3)。对照表1和表2可以

发现, 不能产生铁载体的*B. subtilis* Z8菌株在缺铁NBRIP液体培养中溶磷能力较差, 利用根系分泌物的能力也显著低于其他3株菌。这说明菌株铁载体的产生与溶磷能力可能有交互作用。比如, 柠檬酸的产生常被认为是微生物溶磷的重要机制<sup>[23]</sup>, 然而学者们也发现柠檬酸亦是微生物螯合铁的重要载体<sup>[24]</sup>。

盆栽试验发现, 施入土壤的4株复合菌的应用效果好于任何单一菌株的效果, 分析其原因, 可能是单一菌株易受到环境胁迫, 影响其功能发挥。复合菌群, 团体作战, 协同共栖, 对根际资源的占有量增加, 更利于溶磷作用的发挥。接种至植物根际的外源微生物必须经过与先期定殖的土著微生物竞争才能在根际定殖并发挥作用<sup>[25]</sup>。因此在后续研



究中应该加强溶磷菌群落之间及与植物根际交互作用的深入研究, 明确溶磷菌在根际发生作用的过程, 进一步稳定溶磷菌活化磷素的效率。

## 4 结 论

从石灰性土壤中分离获得的4株溶磷细菌 *P. fluorescens* X5、*P. poae* X6、*B. megaterium* Z4 和 *B. subtilis* Z8 均可以利用玉米根系分泌物作碳源生长。菌株 *P. poae* X6 和 *B. megaterium* Z4 均能产生 IAA 和铁载体, 但菌株 *B. subtilis* Z8 可产生 IAA 不产生铁载体, 菌株 *P. fluorescens* X5 可产生铁载体不产生 IAA。接种单一溶磷菌及4株复合溶磷菌均可促进玉米的生长, 但复合菌群的溶磷促生效果显著高于单一菌株。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 程明芳, 何萍, 金继运. 我国主要作物磷肥利用率的研究进展. 作物杂志, 2010 ( 1 ) : 12—14  
Cheng M F, He P, Jin J Y. Advance of phosphate recovery rate in Chinese main crops ( In Chinese ). Crops, 2010 ( 1 ) : 12—14
- [ 2 ] 熊毅, 李庆逵. 中国土壤. 北京: 科学出版社, 1987  
Hseung Y, Li Q K. Chinese soil ( In Chinese ). Beijing: Science Press, 1987
- [ 3 ] 安卫红, 张淑民. 石灰性土壤无机磷的分级及其有效性的研究. 土壤通报, 1991, 22 ( 1 ) : 35—37  
An W H, Zhang S M. The classification of calcareous soil inorganic phosphorus and its effectiveness ( In Chinese ). Chinese Journal of Soil Science, 1991, 22 ( 1 ) : 35—37
- [ 4 ] 朱培森, 杨兴明, 徐阳春, 等. 高效解磷细菌的筛选及其对玉米苗期生长的促进作用. 应用生态学报, 2007, 18 ( 1 ) : 107—112  
Zhu P M, Yang X M, Xu Y C, et al. High effective phosphate-solubilizing bacteria: Their isolation and promoting effect on corn seedling growth ( In Chinese ). Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18 ( 1 ) : 107—112
- [ 5 ] 刘文干, 曹慧, 樊建波, 等. 一株红壤花生根际溶磷真菌的分离、鉴定及溶磷能力的研究. 土壤学报, 2012, 49 ( 5 ) : 988—995  
Liu W G, Cao H, Fan J B, et al. Isolation, identification and characterization of a phosphate-solubilizing strain of fungi in rhizosphere of peanuts growing in red soil ( In Chinese ). Acta Pedologica Sinica, 2012, 49 ( 5 ) : 988—995
- [ 6 ] 王同, 孔令雅, 焦加国, 等. 红壤溶磷菌的筛选及溶磷机制. 土壤学报, 2014, 51 ( 2 ) : 373—380  
Wang T, Kong L Y, Jiao J G, et al. Screening of phosphate-solubilizing bacteria in red soil and their acting mechanisms ( In Chinese ). Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 ( 2 ) : 373—380
- [ 7 ] Gyaneshwar P, Naresh K G, Parekh L J, et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant and Soil, 2002, 245 ( 1 ) : 83—93
- [ 8 ] Gupta R, Singal R, Shankar A, et al. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. Journal of General and Applied Microbiology, 1994, 40: 255—260
- [ 9 ] Elizabeth P, Miguel S, Mar í a M B. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the southeastern Venezuelan region. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39 ( 11 ) : 2905—2914
- [ 10 ] 鲍士旦. 土壤农化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000  
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis ( In Chinese ). 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000
- [ 11 ] 张小兰, 韦中, 梅新兰, 等. 一种基于根际定殖能力筛选溶磷菌的方法. 南京农业大学学报, 2014, 37 ( 2 ) : 79—84  
Zhang X L, Wei Z, Mei X L, et al. A method for screening phosphate solubilizing bacteria based on the rhizosphere colonization ability of strains ( In Chinese ). Journal of Nanjing Agricultural University, 2014, 37 ( 2 ) : 79—84
- [ 12 ] Sadowski A, Dziuban R, Kowalik P, et al. Potassium nutrition of apple and sour cherry nursery trees as affected by rootstock cultivar, and fertilization. Journal of Plant Nutrition, 1987, 10: 916—918
- [ 13 ] Schwyn B, Neilands J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry, 1987, 160 ( 1 ) : 47—56
- [ 14 ] 奥斯伯 F M. 精编分子生物学实验指南. 北京: 科学出版社, 2005: 1457—1574  
Ausubel F M. Manual of molecular biology experiment ( In Chinese ). Beijing: Science Press, 2005: 1457—1574
- [ 15 ] Wani P A, Khan M S, Zaidi A. Chromium reduction, plant growth promoting potentials and metal solubilization by *Bacillus* sp. isolated from alluvial soil. Current Microbiology, 2007, 54 ( 3 ) : 237—243
- [ 16 ] Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva I.



- Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: Potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 71: 137—144
- [ 17 ] Shenker M, Oliver I, Helman M, et al. Utilization by tomatoes of iron mediated by a siderophores produced by *rhizopusarrhizus*. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, 15: 2173—2182
- [ 18 ] Yehuda Z, Chen Y, Marino P G, et al. The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by graminaceous plants. *Plant Physiology*, 1996, 112: 1273—1280
- [ 19 ] Chabot R, Antoun H, Cescas M P. Growth promotion of corn and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant and Soil*, 1996, 184 ( 2 ) : 311—321
- [ 20 ] Gupta M, Kiranc S, Gulatic A, et al. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin—A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiological Research*, 2012, 167 ( 6 ) : 358—363
- [ 21 ] Newwani V, Doshi P, Saha T, et al. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2010, 1: 9—14
- [ 22 ] Gupta M, Bisht S, Singh B, et al. Enhanced biomass and steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* treated with phosphate-solubilizing bacteria andro rock phosphate. *Plant Growth Regulation*, 2011, 65 ( 3 ) : 449—457
- [ 23 ] 宋金凤, 崔晓阳, 王政权. 柠檬酸/柠檬酸盐对暗棕壤磷的释放效应及机制. *水土保持学报*, 2008, 22 ( 2 ) : 182—186
- Song J F, Cui X Y, Wang Z Q. Effects and mechanism of citric acid /citrate loading on phosphorus release of dark brown forest soil ( In Chinese ) . *Journal of Soil and Water Conservation*, 2008, 22 ( 2 ) : 182—186
- [ 24 ] Winkelmann G, Drechsel H. *Biotechnology*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999
- [ 25 ] 李阜棣. 土壤微生物学. 北京: 中国农业出版社, 1996
- Li F D. *Soil microbiology* ( In Chinese ) . Beijing: China Agriculture Press, 1996

## Screening of Phosphate-solubilizing Bacteria Adaptable to Corn and Effects of the Bacteria on the Growth of Corn

MEI Xinlan<sup>1</sup> SHAN Anqi<sup>1</sup> JIANG Yi<sup>1</sup> WEI Zhong<sup>1</sup> WANG Yuyao<sup>1</sup> WANG Shimei<sup>1</sup> SHEN Qirong<sup>1</sup>  
XU Yangchun<sup>1†</sup> LIU Jian<sup>2†</sup>

( 1 National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Utilization, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China )

( 2 Institute of Agricultural Sciences of the Yangtze River Bank District, Rugao, Jiangsu 226541, China )

**Abstract** Phosphate-solubilizing bacteria ( PSB ) are a group of beneficial bacteria capable of hydrolyzing organic and inorganic phosphorus from insoluble compounds. P-solubilization ability of the microorganisms is considered to be one of the most important traits associated with plant phosphate nutrition. A number of PSB strains have been screened out from soils in laboratory, however, few reports are available on their successful application in fields. More and more evidence suggests that root colonization of PSB is very important for phosphate solubilization; therefore, survivability of PSB in plant rhizosphere is one of the basic principles for PSB screening. In present study, 20 strains of PSB with phosphate solubilization halos ranging from 7.9 ~ 20 mm were isolated from the rhizosphere of the corn growing in calcareous soil with the Pikovskaya medium plate method. Ten of the 20 strains of PSB, coded as X3, X5, X6, Z2, Z3, Z4, Z5, Z7, Z8 and Z9, with bigger phosphate solubilization halos were further tested for phosphate-solubilizing capacity in the NBRIP medium. Results show that gram-negative ( G<sup>-</sup> ) PSB ( X3, X5, X6, Z2, Z3 and Z5 ) solubilized much more phosphate than gram-positive ( G<sup>+</sup> ) ones ( Z4, Z7, Z8 and Z9 ) did. The mean phosphate concentration in the NBRIP medium of the G<sup>-</sup> PSB treatments was 449.7 μg ml<sup>-1</sup>, with phosphate concentration in Treatment G<sup>-</sup> PSB Z3 being the highest, reaching to 562.2 μg ml<sup>-1</sup>. However, the highest phosphate

concentration obtained by  $G^+$  PSB was only  $46.9 \mu\text{g ml}^{-1}$ . In further experiment, 8 strains of PSB ( $G^+$ : Z4, Z7, Z8 and Z9; and  $G^-$ : X5, X6, Z3 and Z5) were evaluated for corn root exudate utilization capacity. All of the 8 strains of PSB were found to be able to utilize corn root exudate as sole carbon source and the  $G^-$  PSB grew much better than  $G^+$  ones. Consistent with the findings in the culture in NBRIP medium,  $G^-$  PSB solubilized much more phosphate than  $G^+$  PSB did when using corn root exudate as sole carbon source. Based on phosphate-solubilization and root exudate utilization capacities, two  $G^-$  strains of PSB, X5 (*Pseudomonas fluorescens*) and X6 (*Pseudomonas poae*), and two  $G^+$  strains of PSB, Z4 (*Bacillus megaterium*) and Z8 (*Bacillus subtilis*) were selected for further experiment to test their IAA and siderophore production and phosphate solubilization capacities and effect on corn growth in greenhouse. X6 and Z4 was found to be able to produce both IAA and siderophore. Z8 was able to produce IAA but not siderophore, and X5 was able to produce siderophore but not IAA. The greenhouse experiment shows that application of mixture or any one of the four strains of PSB increased corn biomass and soil available phosphate, as compared with the control (no inoculation). Z4 was found to be the highest in effect on plant growth (plant height and dry weight) among the four tested strains of PSB. The treatments inoculated with mixture of PSB strains were significantly higher than the treatments inoculated with only one single strain in soil available phosphate content and corn biomass. Therefore, it can be concluded that X5 (*P. fluorescens*), X6 (*P. poae*), Z4 (*B. megaterium*) and Z8 (*B. subtilis*) are potential PSB that can be prepared into a mixed inoculum or an efficient bio-fertilizer for use in areas deficient in P to improve overall performance of the crops therein.

**Key words** Phosphate-solubilizing bacteria (PSB); Indoleacetic acid (IAA); Siderophore; Root exudate of corn; Complex bacteria; Plant promotion effect

(责任编辑：卢萍)

CONTENTS

**Reviews and Comments**

- Mechanism of Extracellular Electron Transfer among Microbe-Humic-Mineral in Soils: A Review ..... WU Yundang, LI Fangbai, LIU Tongxu ( 290 )  
 Effects of Long-term Fertilization on Key Processes of Soil Nitrogen Cycling in Agricultural Soil: A Review ..... WANG Jing, CHENG Yi, CAI Zucong, et al. ( 303 )

**Insights and Perspectives**

- Soil-borne Pathogens Should not Be Ignored by Soil Science ..... CAI Zucong, HUANG Xinqi ( 310 )

**Research Articles**

- Element Migration in S<sub>3</sub> Profile of the Shaolingyuan Loess-Paleosol Sequence in Xi'an and Its Paleoclimatic Implication ..... CHU Chunjie, ZHAO Jingbo ( 320 )  
 Estimation of Soil Salt Content over Partially Vegetated Areas Based on Blind Source Separation ..... LIU Ya, PAN Xianzhang, SHI Rongjie, et al. ( 330 )  
 Construction of Calibration Set based on the Land Use Types in Visible and Near-Infrared ( VIS-NIR) Model for Soil Organic Matter Estimation ..... LIU Yanfang, LU Yannian, GUO Long, et al. ( 340 )  
 Prediction of Soil Organic Matter based on Multi-resolution Remote Sensing Data and Random Forest Algorithm ..... WANG Yinyin, QI Yanbing, CHEN Yang, et al. ( 353 )  
 Characteristic Curves and Model Analysis of Soil Moisture in Collapse Mound Profiles in Southeast Hubei ..... DENG Yusong, DING Shuwen, CAI Chongfa, et al. ( 363 )  
 Research on Sediment and Solute Transport on Red Soil Slope under Simultaneous Influence of Scouring Flow ..... MA Meijing, WANG Junguang, GUO Zhonglu, et al. ( 373 )  
 Research on Soil Erosion Rate and Hydrodynamic Parameters of Landslide Accumulation Slope in Wenchuan Earthquake Area ..... WANG Renxin, HE Binghui, LI Tianyang, et al. ( 386 )  
 Effects of Saline Ice Water Irrigation on Distribution of Moisture and Salt Content in Coastal Saline Soil ..... ZHANG Yue, YANG Jingsong, YAO Rongjiang ( 399 )  
 Soil Temperature Regime in Guizhou Province Relative to Assessment Method ..... LU Xiaohui, DONG Yubo, TU Chenglong ( 409 )  
 Characteristics of Variation of Soil Temperature in Shrub Meadow Area of Lhasa ..... GONG Yuling, WANG Zhaofeng, ZHANG Yili, et al. ( 419 )  
 Soil Water Repellency of Sands and Clay as Affected by Particle Size ..... YANG Song, WU Junhua, DONG Hongyan, et al. ( 426 )  
 Effect of AQDS Accelerating Anaerobic Dechlorination of DDT in Hydragric Acrisols ..... LIU Cuiying, WANG Zhuang, XU Xianghua, et al. ( 436 )  
 Effect of Straw Returning via Deep Burial Coupled with Application of Fertilizer as Primer on Soil Nutrients and Winter Wheat Yield ..... ZHAO Jinhua, ZHANG Congzhi, ZHANG Jiabao ( 448 )  
 Effects of Ozone Pollution on Different Active Organic Carbon Stocks in Wheat Farmland Soil ..... KOU Taiji, CHENG Xianghan, ZHANG Dongliang, et al. ( 455 )  
 Soil Organic Nitrogen Components and Their Contributions to Mineralizable Nitrogen in Paddy Soil of the Black Soil Region ..... CONG Yaohui, ZHANG Yuling, ZHANG Yulong, et al. ( 466 )  
 Effects of Soil and Water Conservation Measures on Soil Labile Organic Carbon and Soil Enzyme Activity in Gentle Slope Land of Red Soil ..... HUANG Shangshu, CHENG Yanhong, ZHONG Yijun, et al. ( 475 )  
 Ecological Stoichiometric Characteristics of Carbon, Nitrogen and Phosphorus in Leaf-Litter-Soil System of *Picea Crassifolia* Forest in the Qilian Mountains ..... ZHAO Weijun, LIU Xiande, JIN Ming, et al. ( 488 )  
 The Application of Biomarker Genes for DNA/RNA-Stable Isotope Probing of Active Methanotrophs Responsible for Aerobic Methane Oxidation in Six Paddy Soils ..... ZHENG Yan, JIA Zhongjun ( 500 )  
 Screening of Phosphate-solubilizing Bacteria Adaptable to Corn and Effects of the Bacteria on the Growth of Corn ..... MEI Xinlan, SHAN Anqi, JIANG Yi, et al. ( 508 )  
 Response of Soil Nematode Community to Cultivation in Upland Red Soil Relative to Cultivation History and Its Significance as Indicator ..... WANG Mingwei, LIU Yudi, CHEN Xiaoyun, et al. ( 521 )  
 Nutrient Absorption and Nutrient Balance in an Agro-pastoral Compound Production Pattern of "Raising Geese in Corn Fields" in Tibet ..... SHA Zhipeng, ZHANG Yuyang, WANG Chao, et al. ( 531 )  
 Effects of Continuous Cropping of Processing Tomato on Physical-chemical Properties of and Microbial Biomass in the Soil ..... KANG Yalong, JING Feng, SUN Wenqing, et al. ( 542 )

**Research Notes**

- Mechanism of CTMAB Modifying BS-12 Modified Bentonite ..... YU Lu, MENG Zhaofu, LI Wenbin, et al. ( 550 )  
 Effects of Mechanical Soil Amelioration Method on Physical Properties of and Enzyme Activity in Planosol ..... MENG Qingying, ZHANG Chunfeng, JIA Huibin, et al. ( 559 )

**Cover Picture:** Microbial Extracellular Electron Transfer: Energy Transfer and Substance Transformation ( by WU Yundang, LI Fangbai, LIU Tongxu )



# 《土壤学报》编辑委员会

主 编：史学正

执行编委：(按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任：陈德明

责任编辑：卢 萍 檀满枝 陈荣府

## 土 壤 学 报

### Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第 53 卷 第 2 期 2016 年 3 月

## ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 53 No. 2 Mar., 2016

编 辑 《土壤学报》编辑委员会  
地址：南京市北京东路 71 号 邮政编码：210008  
电话：025 - 86881237  
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica  
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China  
Tel: 025 - 86881237  
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正  
主 管 中 国 科 学 院  
主 办 中 国 土 壤 学 会  
承 办 中国科学院南京土壤研究所

Editor-in-Chief Shi Xuezheng  
Superintended by Chinese Academy of Sciences  
Sponsored by Soil Science Society of China  
Undertaken by Institute of Soil Science,  
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社  
地址：北京东黄城根北街 16 号 邮政编码：100717

Published by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司  
总发行 科 学 出 版 社  
地址：北京东黄城根北街 16 号 邮政编码：100717  
电话：010 - 64017032  
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company  
Distributed by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China  
Tel: 010 - 64017032  
E-mail: journal@mail.sciencep.com

国外发行 中国国际图书贸易总公司  
地址：北京 399 信箱 邮政编码：100044

Oversea distributed by China International Book Trading Corporation  
Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一连续出版物号：CN 32-1119/P

国内邮发代号：2-560

国外发行代号：BM45

定价：60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929

