

盐碱地塔宾曲霉菌的解磷能力及其 对小麦生长的影响

李学平¹, 谢文军², 范延辉²

(1. 滨州学院 资源与环境工程学院, 山东 滨州 256600; 2. 滨州学院 生物工程学院系, 山东 滨州 256600)

摘要: [目的] 研发新型解磷生物菌肥, 提高黄河三角洲盐碱障碍耕地作物产量。[方法] 采用无机磷液体培养基培养的方法, 从黄河三角洲盐碱化菜园根际土壤筛选得到一株解磷真菌 CT₁, 即塔宾曲霉菌 (*Aspergillus tubingensis*), 对其解磷能力进行了深入研究。[结果] 解磷菌 CT₁ 的解磷能力随发酵液盐浓度升高降低, 当发酵液盐浓度在 0.03%~6% 时, 发酵液中有效磷浓度可维持在 523.5~338.5 mg/L, 且解磷菌的溶磷量与发酵液 pH 之间存在明显的负相关。解磷菌 CT₁ 在葡萄糖作为碳源的培养基上生长状况最好, 在 (NH₄)₂SO₄ 作为氮源的培养基上生长状况最好。接入解磷菌 15 d 的小麦与未接菌的小麦相比, 茎长增加了 16.24%, 茎鲜重增加了 12.35%, 根长增加了 21.6%。[结论] 解磷菌 CT₁ 对盐碱地小麦幼苗生长有一定的促进作用, 可作为提高盐碱地作物产量的新型解磷生物菌肥利用。

关键词: 塔宾曲霉菌; 解磷能力; 耐盐解磷菌

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2017)01-0093-04

中图分类号: S182

文献参数: 李学平, 谢文军, 范延辉. 盐碱地塔宾曲霉菌的解磷能力及其对小麦生长的影响[J]. 水土保持通报, 2017, 37(1): 093-096. DOI: 10.13961/j.cnki.stbctb.2017.01.017; Li Xueping, Xie Wenjun, Fan Yanhui. Phosphate-solubilizing ability of *Aspergillus tubingensis* and its effects on growth of wheat in seedling stage [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2017, 37(1): 093-096. DOI: 10.13961/j.cnki.stbctb.2017.01.017

Phosphate-solubilizing Ability of *Aspergillus Tubingensis* and Its Effects on Growth of Wheat in Seedling Stage

LI Xueping¹, XIE Wenjun², FAN Yanhui²

(1. College of Resources and Environment, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256600, China; 2. College of Bioengineering, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256600, China)

Abstract: [Objective] The objective of the study is to research a new biological phosphorus fertilizer in order to improve crop yield in alkaline soil in the Yellow River Delta. [Methods] The cultivating method used in this study was inorganic phosphorus liquid culture medium. Fungi *Aspergillus tubingensis* (CT₁) was screened from the rhizosphere soil in the garden of Yellow River delta. We researched the phosphate-solubilizing ability of fungi. [Results] The phosphate-solubilizing ability of fungi CT₁ was reduced with the increasing of fermented liquid salt concentration. When the concentration of NaCl was between 0.03% and 6%, the concentration of available phosphorus was maintained between 523.5 and 338.5 mg/L. There was an obvious correlation between the available phosphorus concentration and fermented liquid pH vale. CT₁ could grow normally under four different kinds of carbon sources, and the glucose was the best culture medium. CT₁ could grow normally under four different kinds of nitrogen source, and (NH₄)₂SO₄ was the best medium. Compared with uninoculated wheat, fungi CT₁ inoculated wheat, after 15 days of wheat cultivation, the length of the stem increased by 16.24%, the fresh weight of the stem increased by 12.35%, and the root length increased by 21.6%. [Conclusion] Phosphate solubilizing bacteria CT₁ could promote crop

收稿日期: 2016-05-27

修回日期: 2016-09-01

资助项目: 山东省重点研发计划项目“一种新型盐碱地解磷生物菌肥的研发与应用研究”(2015GNC111018); 山东省重点研发计划项目(2015GNC111006); 滨州市科技发展计划项目(2013ZC1002)

第一作者: 李学平(1978—), 女(汉族), 山东省临沂市人, 博士, 副教授, 主要从事陆地环境微生物研究。E-mail: lixueping2008@163.com。

yield of saline-alkali soil, and can be used as a new phosphate-solubilizing fertilizer.

Keywords: *Aspergillus tubingensis*; phosphate-solubilizing ability; saline-alkali fungus strain

盐碱地的作物产量普遍偏低,为了提高产量,农业生产中通常采用施入大量磷肥的方法,而磷肥施入土壤后,大部分与土壤中的 Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} 等离子结合固化形成难溶性磷酸盐,因此可提供给植物生长发育的有效磷一般都很低,造成了资源的浪费和环境的污染^[1]。土壤解磷微生物可以将土壤中的难溶性磷转化为植物能够吸收利用的可溶性磷,不但能够促进植物对各种营养元素的吸收,提高植物对磷的利用率,而且可以改善土壤结构、提高有机质含量,从而可以改良盐碱条件^[2]。中国各类盐碱化土壤总面积多达 $9.91 \times 10^7 \text{ hm}^2$ ^[3],农业效益相对较低。因此,筛选耐盐碱土壤微生物对提高盐碱障碍耕地磷的利用率、培育和充分发挥土壤生态肥力、作物产量和保持农业生态环境的平衡等均有非常重要的意义。

但是,解磷真菌报道的相对较少,主要局限于青霉(*Penicillium* sp.)、曲霉(*Spergillus* sp.)、小丝核菌(*Sclerotium* sp.)等几个属^[4-5]。真菌的解磷能力是细菌的 10 倍多^[6],且可以始终保持其解磷能力,而细菌则容易失去解磷活性^[7-11]。但在真菌研究方面,目前关于塔滨曲霉菌的选育及其应用鲜见报道。基于此,笔者对黄河三角洲盐碱化土壤中的解磷微生物进行了研究,筛选获得了 1 株高效耐盐解磷真菌,经鉴定为塔滨曲霉菌,本文拟对该菌解磷能力进行深入研究,为塔滨曲霉菌在盐碱地农田的应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 不同盐浓度对解磷菌解磷能力的影响

试验菌株为从黄河三角洲盐碱地菜园根际(0—20 cm 耕层)筛选的解磷菌塔滨曲霉菌(*Aspergillus tubingensis*),命名为 CT₁,采用无机磷液体培养基,NaCl 的加入量分别为 0.03, 2, 4, 6, 8, 10 g/L,其他成分和用量保持不变,将解磷菌活化后制成孢子悬浊液,按照 1% 的接种量接入无机磷液体培养基中,每个盐浓度做 3 个平行,空白组不接菌,于振荡器 28℃ 培养 5 d。

1.2 生物学测定

试验采用单因素试验法,以查氏培养基为基础培养基。

(1) 不同碳源对解磷菌的影响。分别以葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖作为碳源,其他药品及用量保持不变,采用接种针接种于每个培养皿中心,直径约为 0.5 mm,置于 30℃ 光照恒温培养箱中培养 5 d,每种

碳源做 3 个平行试验。每天观察不同平板上真菌菌落生长情况,并用十字交叉法测量菌落直径大小。

(2) 不同氮源对解磷菌的影响。分别以 NaNO_3 , KNO_3 , 尿素 $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为氮源,其他药品及用量保持不变,其它方法同(1)。

1.3 解磷菌对小麦生长的影响

取滨城区菜地土壤为盆栽用土,以土壤中接入解磷菌和未接入解磷菌(该处理作为对照)作为对比进行试验。将活化好的菌株配制成孢子悬浊液,并保证菌悬液浓度达 10^6 cfu/ml 。将小麦种子预先用水浸泡 8 h,使种子充分吸水,然后用潮纱布包好静置一晚。每个花盆(规格 $500 \times 210 \times 150 \text{ mm}$)中装入 100 颗预处理后的小麦种子,浇 1 000 ml(接种菌的花盆浇水 800 ml 和菌悬液 200 ml);之后整个试验过程中,不再施加任何肥料。两种处理方式各做 3 组平行,分别在培养的第 5, 10, 15, 20 d 进行各指标的测定。

1.3.1 植株生物量的测定 按预定时间,从两种处理方法的土壤中随机取 5 株小麦,将整株植株从土壤中取出,先泥沙冲洗干净,再滤纸吸干水分,用直尺测量其根长、茎长;将根和茎分离,用电子天平称量分别其重量,最后取 5 株小麦的平均值。

1.3.2 土壤总磷、有效磷的测定 土壤总磷采用 $\text{HClO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$ 法测定,土壤有效磷采用 NaHCO_3 浸提法^[13],分别测量原土壤、种植小麦未接种菌的土壤、种植小麦接种菌的土壤的总磷的有效磷含量,比较其变化,土壤类型为盐化潮土。

表 1 土壤基本化学性质

pH 值	有机质/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效磷/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全磷/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	碱解氮/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
7.98	22.62	18.2	446	80.5	70.0

2 结果与分析

2.1 不同盐浓度对解磷菌解磷能力的影响

盐浓度对解磷菌解磷能力的影响主要表现为渗透压对菌株生长代谢的影响^[1]。解磷菌 CT₁ 在盐浓度在 0.03% 时解磷能力最强(图 1),可达 523.5 mg/L。在 0.03%~6% 解磷菌 CT₁ 的解磷能力随发酵液盐浓度升高降低,但下降不太大,发酵液中有效磷浓度可以维持在 523.5~338.5 mg/L。

当发酵液中盐浓度为 8% 时,解磷菌 CT₁ 的解磷能力大幅下降。当发酵液中盐浓度为 10% 时,溶液

中有效磷含量仅为 16.5 mg/L。随发酵液盐浓度的升高,解磷菌 CT₁的解磷能力下降,发酵液可溶性磷含量下降,溶液 pH 值下降幅度也减小;当发酵液盐浓度在 0.03%~6%时发酵液 pH 值维持在 4 左右,当盐浓度为 8%~10%时,发酵液 pH 值在 5 左右,这和解磷量有明显的相关性,但没有呈现明显的线性关系。

目前对解磷菌解无机磷机理的研究侧重于“酸解机理”,即随着解磷菌产酸的增加,溶磷能力逐渐增强,本研究的结论与“酸解机理”相一致。

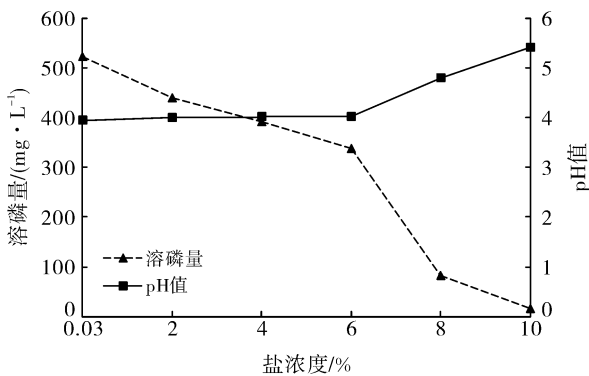


图 1 不同盐浓度下解磷菌的解磷能力及发酵液 pH 值

2.2 解磷微生物的生物学特性研究

2.2.1 不同碳源对解磷菌的影响 解磷真菌 CT₁在 4 种碳源(葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖)下均能正常生长(图 2),但在不同碳源培养基上的生长状况不同。从整个生长过程来看,在葡萄糖、蔗糖、麦芽糖作为碳源的培养基上的生长状况良好且差距很小,其中在葡萄糖作为碳源的培养基上生长状况最好,在乳糖作为碳源的培养基上的生长状况最差。不同碳源对菌丝体及菌落形态也有影响。在葡萄糖、蔗糖、麦芽糖作为碳源的培养基上,菌丝体较为粗壮,菌落浓密;麦芽糖作为碳源的培养基上外围白色菌丝区所占比例较大;在乳糖作为碳源的培养基上的菌丝比较稀疏,且外围白色菌丝区较大。

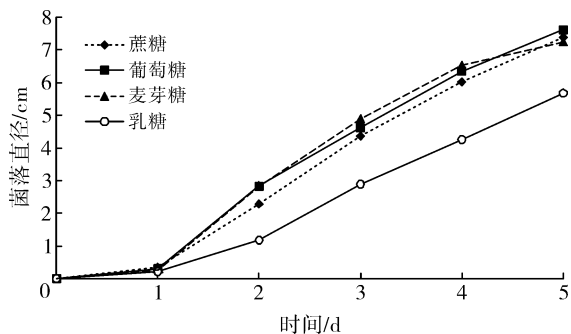


图 2 不同碳源对解磷菌的影响

2.2.2 不同氮源对解磷菌的影响 解磷真菌 CT₁在 4 种氮源(NaNO₃, KNO₃, 尿素、(NH₄)₂SO₄)下均能正常生长(图 3),但在不同氮源培养基上的生长状况不同。从整个生长过程来看,在 NaNO₃, KNO₃, (NH₄)₂SO₄作为氮源的培养基上的生长状况良好且差距很小,其中在(NH₄)₂SO₄作为氮源的培养基上生长状况最好,在尿素作为氮源的培养基上的生长状况最差。不同氮源对菌丝体及菌落形态也有影响。在 NaNO₃, KNO₃, (NH₄)₂SO₄为氮源的培养基上,菌丝体较为粗壮,菌落浓密;在尿素作为氮源的培养基上的菌丝比较稀疏。

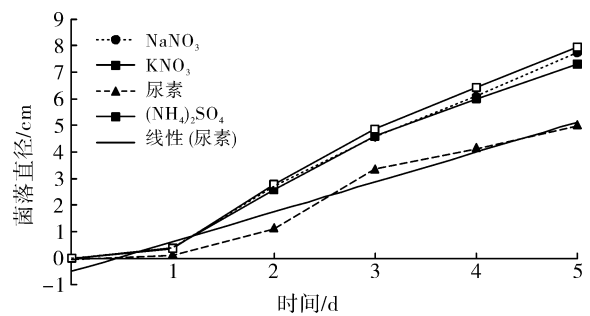


图 3 不同氮源对解磷菌的影响

2.3 解磷微生物对小麦苗期生长的影响

2.3.1 土壤的磷含量特点 接种解磷菌提高了盐碱土壤中有磷的含量(表 2)。土壤中的磷大多以不溶性的无机或有机磷的形式存在,所取土壤中有磷源仅占土壤全磷含量的 4.08%,但是 20 d 后处理小麦+CT₁有效磷含量占土壤全磷含量的 5.15%,说明该解磷菌溶解了土壤中固化的磷。试验组接种解磷菌的土壤和未接种解磷菌的土壤中的有效磷含量都有所增加,其中接种解磷菌的土壤的有效磷含量比未接种解磷菌的土壤中的有效磷含量高 0.37%,虽然小麦生长时间较短,但是解磷菌仍表现出一定的解磷效果。

表 2 土壤磷含量变化

处理	原土壤	种植小麦的土壤	小麦+CT ₁ 的土壤
总磷/(mg·kg ⁻¹)	446.0	410.0	396.0
有效磷/(mg·kg ⁻¹)	18.2	19.6	20.4
有效磷/总磷	4.08%	4.78%	5.15%

2.3.2 解磷菌 CT₁对小麦苗期生长的影响 接种解磷菌后促进了小麦苗期的生长(图 4)。在小麦生长的第 5,10,15 和 20 d 分别测定了小麦的根长、茎长和生物量。由图 4 可以看出,在小麦生长的前 5 d,接菌 CT₁的小麦茎长、茎重与未接菌的小麦相比没有表现出明显的优势,可能是一方面由于小麦根系刚开始

生长,并没有和土壤大量接触,另一方面解磷菌处于适应期。但是,之后解磷菌逐渐表现出明显的解磷效果,在小麦生长到 20 d 时,与未接菌的小麦相比,接种解磷菌的小麦茎长增加了 5.45%,茎鲜重增加了 5.5%;尤其在小麦生长到 15 d 时差距最大,分别为茎长增加了 16.24%,茎鲜重增加了 12.35%。接菌 CT₁ 的小麦根长与未接菌的小麦相比一开始就表现出了优势,在小麦生长到 20 d 时,与未接菌的小麦相比,根长增加了 15.65%;且这种优势在第 15 d 时最大为 21.6%。说明该解磷菌有较好的增产效果。

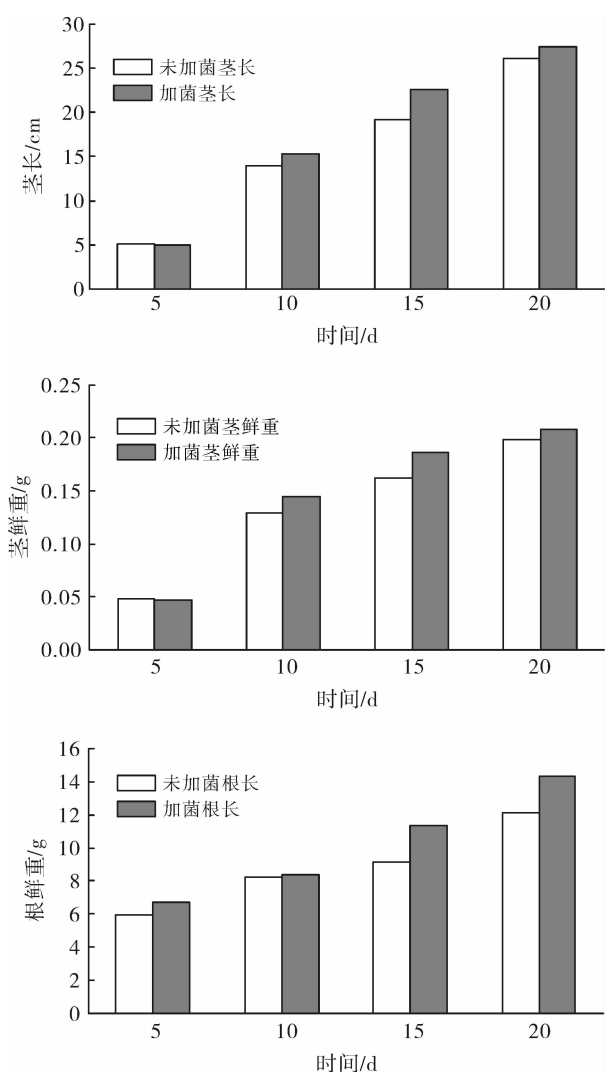


图 4 CT₁ 对小麦生长的促进作用

3 结论

盐浓度在 0.03%~6% 时,解磷菌 CT₁ 的解磷能力随发酵液盐浓度升高降低,发酵液中有效磷浓度可维持在 523.5~338.5 mg/L。当发酵液中盐浓度为 8%~10% 时,发酵液 pH 值下降至 5% 左右,本研究

的结论与“酸解机理”相一致。

CT₁ 在葡萄糖作为碳源的培养基上生长状况最好,在乳糖作为碳源的培养基上的生长状况最差。其中在 (NH₄)₂SO₄ 作为氮源的培养基上生长状况最好;在尿素作为氮源的培养基上的生长状况最差。

在介入解磷菌 20 d 后,与未接菌的小麦相比,茎长增加了 5.45%,茎鲜重增加了 5.5%,根长增加了 15.65%。尤其在小麦生长到 15 d 时接种菌与为接菌的小麦差距最大,分别为茎长增加了 16.24%,茎鲜重增加了 12.35%,根长增加了 21.6%。

[参 考 文 献]

- [1] 刘文干. 三株红壤高效溶磷菌的分离、鉴定、溶磷特性及其对花生促生效应的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [2] 王莉晶. 高效解磷菌的筛选及其对小麦生长的影响[D]. 辽宁大连: 大连理工大学, 2008.
- [3] 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.
- [4] 龚明波. 溶磷微生物分离、应用及其相关基因的克隆与功能鉴定[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [5] Kucey R. Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils[J]. Canadian Journal of Soil Science, 1983, 63(4): 671-678.
- [6] 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[J]. 土壤学报, 2012, 49(5): 988-995.
- [7] 艾力·吐热克. 草酸青霉菌(P-O-41)的解磷与诱导抗性的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2006.
- [8] 段秀梅, 高晓蓉, 吕军, 等. 两株土壤分离菌的解磷能力及对玉米的促生作用[J]. 中国土壤与肥料, 2010, 6(2): 79-85.
- [9] 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[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1): 107-112.
- [10] Babana A H, Antoun H. Biological system for improving the availability of Tilemsi phosphate rock for wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in Mali[J]. Nutrient Cycling in Agroeco-systems, 2005, 72(2): 147-157.
- [11] Hameeda B, Srijana M, Rupela O P. Effect of bacteria isolated from composts and macrofauna on sorghum growth and mycorrhizal colonization[J]. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2007, 23: 883-887.
- [12] 刘长霞, 谭天伟, 翟洪杰. 盐碱条件对真菌解磷能力的影响[J]. 微生物学通报, 2002, 30(5): 69-72.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.