

# 黄壤溶磷青霉菌的筛选及培养条件优化

乔志伟

(安顺学院 资源环境与工程学院,贵州 安顺 561000)

**摘要:**为深入挖掘溶磷真菌在提高黄壤磷素有效性方面的作用,通过溶磷真菌筛选培养基(PVK)平板分离法从贵州安顺黄壤农田作物根际土壤中分离筛选出8株溶磷真菌。经过多次的分离纯化后,得到1株溶磷能力较强的真菌菌株G8,结合该菌株菌落形态特征和18S rRNA基因序列分析,确定其为青霉菌(*Penicillium* sp.),进一步研究了G8的溶磷特性及最佳培养条件。结果表明:G8以葡萄糖为碳源、硫酸铵为氮源的条件下,在磷酸三钙培养液中有效磷含量最高,为534.24 mg/L。G8在磷酸铝培养液中有效磷含量在第6天达到最大,为589.74 mg/L;G8在磷酸铁培养液中有效磷含量在第5天达到最大,为201.38 mg/L。G8在磷酸铁和磷酸铝培养液中,有效磷含量与pH值呈显著的负相关( $P < 0.05$ )。通过正交试验得到G8最佳培养条件为葡萄糖含量15 g/L、接种量1% (体积比)、培养液最初pH值6、硫酸铵含量0.067 g/L。培养条件优化后G8的溶磷能力明显增强。

**关键词:**黄壤;溶磷青霉菌;溶磷特性;正交试验

中图分类号:S154.39 文献标志码:A 文章编号:1004-3268(2019)05-0056-06

## Screening and Optimization of Culture Conditions for Phosphate Solubilizing *Penicillium* in Yellow Soil

QIAO Zhiwei

(College of Resources and Environment Engineering, Anshun College, Anshun 561000, China)

**Abstract:** To further explore the function of phosphate solubilizing fungi in improving phosphorus availability in yellow soil, eight phosphate solubilizing fungi strains were isolated and screened from the crop rhizosphere of yellow soil in Guizhou province by phospholytic fungi screening medium (PVK) plate method. After repeated isolation and purification, the strain G8 with strong phosphate-solubilizing activity was obtained, and identified as *Penicillium* sp., based on the morphological characteristics and the analysis of 18S rRNA gene sequence, then further studied phosphate solubilizing characteristics of G8 and the optimal culture conditions. The results showed that, under the condition of glucose as carbon source, and ammonium sulfate as nitrogen source, G8 had the highest available phosphorus content in tricalcium phosphate culture solution, which was 534.24 mg/L. The available phosphorus content of G8 in aluminium phosphate culture solution reached the maximum on the 6th day, which was 589.74 mg/L. In ferric phosphate culture solution, the available phosphorus content of G8 reached the maximum on the 5th day, which was 201.38 mg/L. There was a significant negative correlation between available phosphorus content and pH value in iron phosphate and aluminium phosphate culture solution ( $P < 0.05$ ). Orthogonal experiments showed that, the optimum conditions of G8 were glucose content 15 g/L, inoculation amount 1% (volume ratio), initial pH value 6 and ammonium sulfate content 0.067 g/L. The phosphorus solubility of G8 was

收稿日期:2018-11-05

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合基础20181401);贵州省科技厅、安顺市人民政府、安顺学院三方联合基金项目(黔科合LH字2016-7280);贵州省普通高等学校科技拔尖人才项目(黔教合KY字2017091);安顺学院博士科研启动项目(asubsjj201601)

作者简介:乔志伟(1985-),男,山西大同人,副教授,博士,主要从事土壤功能微生物的筛选及应用研究。

E-mail:704725646@qq.com

enhanced after the culture conditions were optimized.

**Key words:** Yellow soil; Phosphate-solubilizing penicillium; Phosphate solubilizing characteristics; Orthogonal test

磷是作物生长的重要元素之一<sup>[1]</sup>,由于土壤具有较强的吸磷和固磷特性,土壤中有效磷含量和磷的有效性都较低。可溶性磷肥施入土壤后大部分被结合成难溶态磷酸盐,从而导致磷肥利用率不高,作物缺磷状况明显。将土壤中难溶态磷酸盐转化成可被植物吸收的有效态磷是当前研究的热点。溶磷微生物对土壤磷素有效化有积极的作用,溶磷微生物可以将土壤中的难溶态磷酸盐转化为有效磷,并分泌促生物质促进作物生长。通过溶磷微生物的作用,可提高化学磷肥的利用率,增加土壤中有效磷含量,减少磷素累积,增加作物产量等<sup>[2-4]</sup>。具有这类特性的微生物包括细菌、真菌及放线菌<sup>[5-6]</sup>。不同类型以及同一类型、不同种类溶磷微生物的溶磷能力差异也很大<sup>[7-8]</sup>。研究表明,在溶磷微生物中,真菌的溶磷能力、遗传的稳定性等方面的特性都优于细菌<sup>[9]</sup>。

目前关于溶磷真菌的研究较多<sup>[10-13]</sup>,但是关于贵州黄壤溶磷真菌的研究未见报道。黄壤作为我国西南地区典型的地带性土壤,25.3%集中分布在贵州,其面积分别占贵州总面积、土壤面积的41.9%、46.4%,是贵州主要的农业土壤类型,在贵州农业生产中发挥着重要的作用<sup>[14]</sup>。该区域磷肥利用率较低,本试验通过选用溶磷真菌培养基(PVK)平板培养法,从贵州省安顺市各县区的农田黄壤中分离筛选溶磷真菌,并进一步研究其溶磷特性,为该区域溶磷真菌的研究提供菌株资源,并为其进一步的应用提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 试验土样 土样采集于贵州省安顺市西秀区、开发区等周边的农田土壤,采样地上种植作物为玉米及果树、蔬菜等。采集表层土壤,去除植物根系、杂草等,在24 h内完成溶磷细菌的分离和筛选。

1.1.2 培养基 PVK培养基:葡萄糖10 g、Ca<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 5 g、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g、NaCl 0.2 g、KCl 0.2 g、MgSO<sub>4</sub> 0.1 g、FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.002 g、MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.002 g、0.4%溴酚蓝(pH值6.7)10 mL、酵母浸膏0.5 g、蒸馏水1 L,pH值调节到6。

解磷(NBRIP)液体培养基:葡萄糖10 g、Ca<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 5 g、MgCl<sub>2</sub> 5 g、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 g、KCl 0.2 g、MgSO<sub>4</sub>

0.25 g、蒸馏水1 L,pH值调节到6。

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)液体培养基:土豆200 g、蔗糖20 g、蒸馏水1 L,pH值调节到6。

固体培养基为分别在相应液体培养基里加18~20 g琼脂。

### 1.2 溶磷真菌的分离筛选

称取10 g新鲜土样置于盛有90 mL无菌水的250 mL三角瓶中,并放入几粒灭过菌的小玻璃珠,在150 r/min的恒温振荡箱中振荡25 min,土壤悬浊液中土样含量0.1 g/mL。用灭菌移液管吸取上述土壤悬浊液1 mL,加入9 mL的无菌水,将其稀释10倍,使土壤悬浊液中土样含量为0.01 g/mL。同此操作,将土壤悬浊液依次稀释至土样含量0.001、0.000 1 g/mL。将不同土样含量的土壤悬浊液均匀涂布至PVK培养基上,在28 ℃恒温培养箱中培养5~7 d。观察菌落,根据菌落周围是否产生黄色圈层来初步确定是否产生溶磷真菌,将溶磷真菌通过平板划线分离法纯化后保存于PDA固体培养基制成的试管斜面上。

### 1.3 溶磷真菌的菌落形态观察和18s rRNA序列测定

观察溶磷真菌在培养基上的菌落形态和颜色。

18s rRNA序列测定:刮取少量在PDA液体培养基上培养24 h的菌丝体,转移至液氮中进行研磨,采取改良后的CTAB法进行DNA的抽提<sup>[15]</sup>,以ITS1:5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3'和ITS4:5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3'为引物对基因组进行聚合酶链式反应(PCR)扩增,扩增后的产物回收并测序,将序列与Blast数据库进行同源性比对分析,确定菌株种属。

### 1.4 溶磷真菌溶磷能力的测定

1.4.1 菌株的活化及培养液有效磷含量测定 将分离纯化后的菌株在PDA液体培养基上培养96 h后接入无菌水中,在振荡器上充分振荡摇匀,制成含有真菌孢子的悬液,待菌数大于10<sup>5</sup> CFU/mL后备用。将上述真菌孢子悬浊液按照1%(体积比)的接种量接入含有100 mL已灭菌的NBRIP液体培养基的三角瓶中,在恒温振荡箱(30 ℃、150 r/min)中振荡培养7 d后,在离心机(4 ℃、6 000 r/min)上离心10 min,取上清液测定有效磷含量以及pH值。

1.4.2 不同碳源、氮源菌株溶磷能力测定 在

NBRIP 液体培养基中, 分别以蔗糖、淀粉、乳糖、甘露醇等量代替葡萄糖作为碳源, 培养基的其他成分不变, 接菌培养并测定培养液中的有效磷含量, 以确定菌株的最佳碳源。之后以  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{NaNO}_3$  为氮源等量替换  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 接菌培养并测定培养液中的有效磷含量, 以此确定菌株的最佳氮源。

#### 1.4.3 溶磷真菌对 $\text{FePO}_4$ 、 $\text{AlPO}_4$ 溶解能力的测定

在 NBRIP 液体培养基中, 分别用  $\text{FePO}_4$ 、 $\text{AlPO}_4$  等量替换  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , 灭菌后按照 1% (体积比) 的接种量接种活化后的溶磷真菌孢子悬浊液, 在恒温振荡箱 ( $30^\circ\text{C}$ 、 $150 \text{ r}/\text{min}$ ) 中振荡培养。分别于第 1、2、3、4、5、6、7 天取发酵液离心后, 取上清液测定有效磷含量和 pH 值, 并设置不接菌处理作为空白对照, 每个处理重复 3 次。

**1.4.4 溶磷真菌培养条件优化** 选取对真菌培养条件影响较大的 4 个因素 [ 碳源、氮源、培养液初始 pH 值、接种量 (体积比) ], 其中, 碳源为葡萄糖、氮源为  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 采用 4 因素 3 水平正交试验表  $L_9(3^4)$  研究最佳培养条件。将菌株悬浊液接种在相应的培养条件下, 培养 7 d 后测定培养液有效磷含量, 每个处理重复 3 次, 试验因素及水平见表 1。

表 1 正交试验因素和水平

Tab. 1 Orthogonal test factors and levels

水平 Level	因素 Factor			
	葡萄糖含 量/(g/L) Glucose content	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含 量/(g/L) Ammonium sulphate content	培养液初始 pH 值 Initial pH value of culture solution	接种量/% Inoculation amount
1	5	0.067	6	1
2	10	0.100	7	2
3	15	0.132	8	3

共设 9 组试验,  $K_{i1}$ 、 $K_{i2}$ 、 $K_{i3}$  中  $i$  代表 4 个因素 [ 碳源 (A)、氮源 (B)、培养液初始 pH 值 (C)、接种量 (D) ], 1、2、3 分别代表 3 个水平。 $K_{A1}$ 、 $K_{B1}$ 、 $K_{C1}$ 、 $K_{D1}$  分别表示在 A、B、C、D 因素下水平为 1 的试验组有效磷含量之和, 同理  $K_{i2}$ 、 $K_{i3}$  分别表示在不同因素下, 水平为 2、3 的试验组有效磷含量之和。 $M_{i1}$ 、 $M_{i2}$ 、 $M_{i3}$  分别是 3 次平行试验的  $K_{i1}$ 、 $K_{i2}$ 、 $K_{i3}$  的均值, 其值大小反映同因素、不同水平对菌株溶磷能力的影响。极差 ( $R_i$ ) 为相应  $M_{i1}$ 、 $M_{i2}$ 、 $M_{i3}$  中最大值与最小值的差,  $R_i$  值越大, 表明该因素对菌株特性影响越大。

#### 1.5 数据处理

采用 Excel 2003 及 SAS V8.1 对数据进行统计

和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 溶磷真菌的筛选及溶磷能力

对采集的土样经过分离、初筛, 得到具有明显溶磷圈的真菌菌株共 8 株, 将其分别编号为 G1、G2、G3、G4、G5、G6、G7、G8, 各菌株培养液有效磷含量见表 2。8 株溶磷真菌对  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  都具有较强的溶解能力, 各菌株培养液有效磷含量在  $287.53 \sim 533.85 \text{ mg/L}$ , 均显著高于不接菌的空白 (CK)。

表 2 溶磷真菌培养液有效磷含量

Tab. 2 Available phosphorus content in phospholytic fungi culture solution

溶磷真菌 Phosphate solubilizing fungi	有效磷含量/(mg/L) Available phosphorus content	比对照增加的倍数 Multiplier of increase over contrast
G1	296.37fg	8.86
G2	321.91e	9.71
G3	304.57f	9.13
G4	366.94d	11.21
G5	287.53g	8.57
G6	395.31c	12.16
G7	429.26b	13.28
G8	533.85a	16.76
CK	30.05h	—

注: 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ), the same below.

对分离筛选出的 8 株溶磷真菌进一步纯化, 发现其中有 7 株菌株在 PDA 固体培养基平板上生长不好或者溶磷能力显著下降, 只有 G8 长势好且溶磷能力保持稳定。G8 在 PDA 固体平板培养基上的菌落呈现圆形、紧密、灰绿色, 菌落的背面呈现淡棕色。

以 G8 DNA 为模板, 利用 18S rDNA 引物进行 PCR 扩增, 得到扩增产物后, 将 G8 的测序结果采用 Blast 软件与 Genbank 中的序列进行比对, G8 与 *Penicillium* sp. (HQ704712.1) 及 *Penicillium* sp. (FJ647577.1) 的序列同源性均大于 99%, 鉴定其属于青霉菌 (*Penicillium* sp.), 其系统发育树见图 1。

本试验以 G8 作为对象, 研究该菌株在不同难溶态磷源、不同碳源和氮源条件下的溶解能力以及最佳培养条件。

### 2.2 不同碳源、氮源对 G8 溶磷能力的影响

由表 3 可知, 不同碳源条件下, G8 对  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  的溶解能力各不相同, 培养液中有效磷含量在  $177.07 \sim 534.24 \text{ mg/L}$ 。在以葡萄糖为碳源时, G8 培

养液有效磷含量最高, 为 534.24 mg/L, 与其他碳源相比, 其溶磷能力显著增强。以淀粉为碳源时, G8 培养液有效磷含量最低, 仅为 177.07 mg/L, 相应, G8

的溶磷能力最低。不同碳源条件下 G8 的溶磷能力依次为葡萄糖 > 甘露醇 > 蔗糖 > 乳糖 > 淀粉。

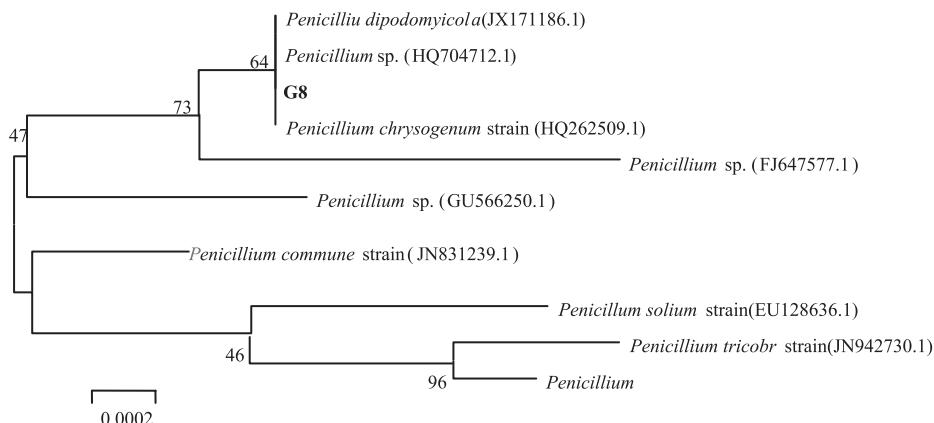


图 1 溶磷真菌 G8 的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of phosphorus-soluble fungus G8

表 3 不同碳源、氮源条件下 G8 培养液有效磷含量

Tab. 3 Available phosphorus content in G8 culture solution under different carbon and nitrogen sources mg/L

碳源 Carbon source	有效磷含量 Available phosphorus content	氮源 Nitrogen source	有效磷含量 Available phosphorus content
葡萄糖 Glucose	534.24 ± 9.81a	硫酸铵 Ammonium sulphate	534.24 ± 9.81a
蔗糖 Sucrose	342.39 ± 20.04b	硝酸铵 Ammonium nitrate	492.38 ± 18.73b
淀粉 Starch	177.07 ± 17.46d	氯化铵 Ammonium chloride	413.10 ± 21.17c
乳糖 Lactose	230.18 ± 2.63c	硝酸钾 Potassium nitrate	356.32 ± 6.59d
甘露醇 Mannitol	375.09 ± 18.41b	硝酸钠 Sodium nitrate	371.26 ± 15.39d

不同氮源条件下 G8 溶磷能力依次为  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{NH}_4\text{Cl} > \text{NaNO}_3 > \text{KNO}_3$ 。以  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  为氮源时, G8 溶磷能力最高, 为 534.24 mg/L。以  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NaNO}_3$  为氮源时, G8 培养液中有效磷含量分别为 492.38、413.10、356.32、371.26 mg/L。可见, 以铵态氮为氮源时, G8 的溶磷能力要显著高于硝态氮。

### 2.3 G8 对难溶态磷酸盐的溶解能力

由图 2 可知, 以  $\text{AlPO}_4$  为难溶态磷源时, 培养液中有效磷含量总体呈现上升的趋势, 并在第 6 天达到最大, 为 589.74 mg/L。培养液 pH 值总体呈下降的趋势, 同时在第 6 天达到最低, 为 1.35。培养液中有效磷含量和 pH 值的决定系数( $R^2$ ) = 0.84, 呈显著负相关( $P < 0.05$ )。

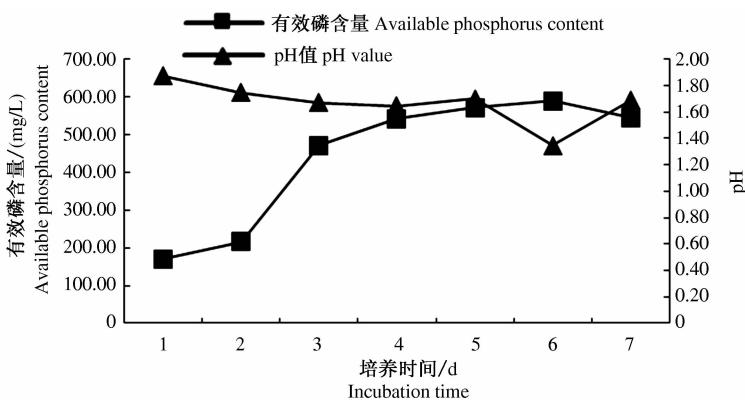


图 2 G8 对  $\text{AlPO}_4$  的溶解动态及培养液 pH 值变化

Fig. 2 Dissolution dynamics of aluminum phosphate of G8 and change of pH value in culture solution

由图 3 可知, 以  $\text{FePO}_4$  为难溶态磷源时, 培养液

中有效磷含量表现出先增长后略有下降的趋势。在

第 5 天培养中有效磷含量达到最大,为 201.38 mg/L。同时,培养液 pH 值达到最低,为 1.08。培养液中有效

磷含量与 pH 值的决定系数( $R^2$ )=0.96,呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。

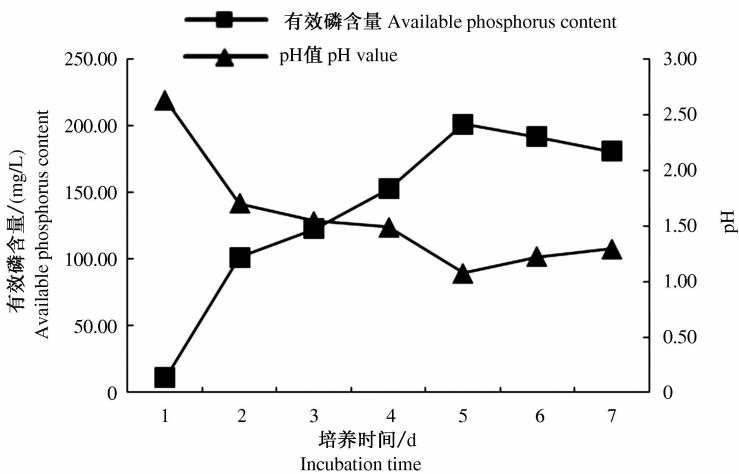


图 3 G8 对 FePO<sub>4</sub> 的溶解动态及培养液 pH 值变化

Fig. 3 Dissolution dynamics of ferric phosphate of G8 and change of pH value in culture solution

## 2.4 G8 培养条件优化结果

表 4 中 1~9 分别代表 1~9 组试验。由表 4 可知,  $M_{A_3} > M_{A_2} > M_{A_1}$ ,  $M_{B_1} > M_{B_2} > M_{B_3}$ ,  $M_{C_1} > M_{C_2} > M_{C_3}$ ,  $M_{D_1} > M_{D_2} > M_{D_3}$ , 由此确定 G8 最适培养条件为葡萄糖含量 15 g/L、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 含量 0.067 g/L、培养液初始 pH 值 6、接种量 1% (体积比)。4 个因素的 R 值分别为 300.73、37.36、36.92、7.68, 对 G8 溶磷特性影响大小依次为碳源 > 氮源 > 培养液初始 pH 值 > 接种量。

表 4 G8 培养条件正交试验结果

Tab. 4 G8 culture condition orthogonal test results

项目 Item					有效磷含量/ (mg/L) Available phosphorus content
	A	B	C	D	
1	1(5)	1(0.067)	1(6)	1(1)	303.86
2	1(5)	2(0.100)	2(7)	2(2)	259.95
3	1(5)	3(0.132)	3(8)	3(3)	221.90
4	2(10)	1(0.067)	2(7)	3(3)	480.95
5	2(10)	2(0.100)	3(8)	1(1)	441.27
6	2(10)	3(0.132)	1(6)	2(2)	459.56
7	3(15)	1(0.067)	3(8)	2(2)	562.04
8	3(15)	2(0.100)	1(6)	3(3)	572.55
9	3(15)	3(0.132)	2(7)	1(1)	553.32
K <sub>11</sub>	785.71	1 346.85	1 335.97	1 298.45	
K <sub>12</sub>	1 381.78	1 273.77	1 294.22	1 281.55	
K <sub>13</sub>	1 687.91	1 234.78	1 225.21	1 275.40	
M <sub>11</sub>	261.90	448.95	445.32	432.82	
M <sub>12</sub>	460.59	424.59	431.41	427.18	
M <sub>13</sub>	562.64	411.59	408.40	425.13	
R <sub>i</sub>	300.73	37.36	36.92	7.68	

确定最佳培养条件后,在 NBRIP 液体培养基中,加入葡萄糖 15 g/L、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.067 g/L, Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 5 g/L、MgCl<sub>2</sub> 5 g/L、KCl 0.2 g/L、MgSO<sub>4</sub>

0.25 g/L, 调节初始 pH 值为 6, 灭菌后按照 1% (体积比)的接种量接种 G8 悬浊液。此条件下培养并测定培养液有效磷含量为 604.59 mg/L, 与未优化前的 534.24 mg/L 相比增加了 70.35 mg/L, G8 的溶磷能力增强。

## 3 结论与讨论

本试验通过 PVK 平板分离法从贵州安顺黄壤农田作物根际土壤中分离筛选出 8 株溶磷真菌。经过多次的分离纯化后得到 1 株溶磷能力较强的真菌菌株 G8,结合该菌株菌落形态特征和 18S rRNA 基因序列分析确定其为青霉菌 (*Penicillium* sp.)。

土壤中存在的溶磷微生物种类繁多,由于土壤类型、作物类型及其他环境因素不同,导致不同的溶磷微生物溶解难溶态磷的机制也不尽相同<sup>[16]</sup>。解磷微生物通过代谢,分泌低分子质量有机酸类物质是重要的机制之一<sup>[17]</sup>。低分子质量有机酸和铁、铝、钙等离子发生螯合反应,使难溶态或不溶态磷转化为有效态磷。有研究表明,溶磷微生物通过分泌有机酸对培养液的酸碱度产生影响,培养液有效磷含量与 pH 值有显著的相关性<sup>[15]</sup>。同时也有其他研究表明,培养液有效磷含量与 pH 值之间没有必然的联系<sup>[18-19]</sup>。本试验中,AlPO<sub>4</sub> 和 FePO<sub>4</sub> 培养液有效磷含量与 G8 发酵液 pH 值之间呈显著负相关,说明 G8 主要通过分泌有机酸来溶解难溶态磷,并导致培养液 pH 值下降。G8 产生的有机酸越多,pH 值就越低,难溶态磷溶解量就越多,培养液中有效磷含量也越高。

培养基中碳源、氮源的种类对微生物溶磷特性的影响较大,碳源、氮源通过影响有机酸产生的种类

及浓度进而影响菌株的溶磷能力<sup>[20]</sup>。不同菌株对碳源和氮源的利用率也不尽相同,张建峰等<sup>[21]</sup>研究表明,以蔗糖为碳源时,溶磷真菌疣蓝状菌的溶磷量较高。本试验中,不同碳源条件下,以葡萄糖为碳源时G8培养液有效磷含量最高,为534.24 mg/L,以淀粉为碳源时G8培养液有效磷含量最低,仅为177.07 mg/L。不同碳源条件下,G8的溶磷能力依次为葡萄糖>甘露醇>蔗糖>乳糖>淀粉,研究结果与张建峰等<sup>[21]</sup>的不一致。这可能是因为溶磷真菌的种类和筛选区域不同,造成其对不同碳源的利用表现出较大差异。不同氮源条件下,G8培养液中有效磷含量在356.32~534.24 mg/L,以(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>为氮源时G8培养液有效磷含量最高,为534.24 mg/L。

微生物所处的环境对其生长、繁殖、代谢活动都会产生较大的影响,研究最适的环境条件对于微生物的应用有重要意义。微生物在培养条件优化后可以显著增加某一些方面的特性和能力<sup>[22-24]</sup>。本试验中,通过对G8培养条件优化,培养液中有效磷含量达到604.59 mg/L,比优化前增加了70.35 mg/L,培养条件优化后G8的溶磷能力增强。

#### 参考文献:

- [1] VASSILEV N, VASSILEVA M, NIKOLAEVA I. Simultaneous P solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: Potentials and future trends [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 71(2):137-144.
- [2] MOHAMMAD S K, ALMAS Z, MLUNEEES A, et al. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi-current perspective [J]. Archives of Agronomy & Soil Science, 2010, 56(1):73-98.
- [3] PRADHAN M, SAHOO R K, PRADHAN C, et al. Contribution of native phosphorous-solubilizing bacteria of acid soils on phosphorous acquisition in peanut [J]. Protoplasma, 2017, 254(6):2225-2236.
- [4] WASEEM H, HINA A, USMAN I, et al. Analysis of ecological attributes of bacterial phosphorus solubilizers, native to pine forests of Lower Himalaya [J]. Applied Soil Ecology, 2017, 112:51-59.
- [5] 李文红,施积炎.西湖沉积物中溶磷菌的分离纯化及溶磷能力[J].应用生态学报,2006,17(11):2112-2116.
- [6] 朱培森,杨兴明,徐阳春,等.高效溶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.
- [7] 葛菁萍,蔡柏岩,宋刚,等.土壤中功能真菌的分离及其溶磷能力的初步研究[J].中国土壤与肥料,2009,(6):84-86.
- [8] YU X, ZHU T H, LIU X, et al. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization [J]. Biol Fertil Soils, 2011, 47:437-446.
- [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[J].微生物学报,2002,42(2):236-241.
- [10] 龚明波,范丙全,王洪媛.一株新的溶磷棘孢青霉菌Z32的分离、鉴定及其土壤定殖与溶磷特性[J].微生物学报,2010,50(5):580-585.
- [11] 史发超,殷中伟,范丙全,等.一株溶磷真菌筛选鉴定及其溶磷促生效果[J].微生物学报,2014,54(11):1333-1343.
- [12] 李娜,乔志伟,洪坚平,等.溶磷混合菌肥对石灰性褐土磷素养分及解析特性的影响[J].应用与环境生物学报,2014,20(4):662-668.
- [13] 刘文干,曹慧,何园球,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.
- [14] 李渝,刘彦伶,张雅蓉,等.长期施肥条件下西南黄壤旱地有效磷对磷盈亏的响应[J].应用生态学报,2016,27(7):2321-2328.
- [15] 康贻军,胡健,单君,等.两株解磷真菌的解磷能力及其解磷机理的初步研究[J].微生物学通报,2006,33(5):22-27.
- [16] CHEN Y P, REKHA P D, ARUN A B, et al. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities [J]. Applied Soil Ecology, 2006, 34:33-41.
- [17] BEHBAHANI M. Investigation of biological behavior and colonization ability of Iranian indigenous phosphate solubilizing bacteria [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 124:393-399.
- [18] 席琳乔,冯瑞章.植物根际溶磷菌的研究进展[J].塔里木大学学报,2006,18(4):57-61.
- [19] 郝晶,洪坚平,刘冰,等.石灰性土壤中高效溶磷细菌菌株的分离筛选及组合[J].应用与环境生物学报,2006,12(3):404-408.
- [20] REYES I, BERNIER L, SIMARD R R, et al. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 28(3):281-290.
- [21] 张建峰,苗天瑶,张洁婧,等.盐碱地中溶磷真菌的筛选及培养条件优化[J].吉林农业大学学报,2016,38(2):169-174.
- [22] 李俊刚,姜立春,马家俊,等.高效烟碱降解菌A4发酵条件的优化[J].江苏农业科学,2016,44(5):431-434.
- [23] 巩文峰,邢瑜琪,卓玛曲措,等.一株色季拉山长鞭红景天根际溶磷菌的分离、鉴定及其低温适应性分析[J].南方农业学报,2018,49(2):280-286.
- [24] 屈建航,张璐洁,符运会,等.1株高效溶磷细菌的分离、鉴定和溶磷能力研究[J].河南农业科学,2018,47(3):55-58,91.