

高寒草甸土壤中无机磷溶磷 细菌筛选的研究*

耿博闻 姜文波 赵宝莲 王启兰 杨 涛

(中国科学院西北高原生物研究所)

摘要

从高寒草甸土壤中筛选出16株无机磷溶磷细菌，并测定其溶磷圈。对其中6株活性较高的菌株测定了在不同温度下的溶磷能力和对4种难溶磷酸盐的溶解力。结果表明：在5—30℃范围内的大部分菌株随温度的升高对难溶磷酸盐的溶解能力逐步增强。但菌株 WXM3在5—15℃的低温范围内也有较强的溶解力，而 WCN3在15℃时的溶磷能力最强。各菌株对4种难溶磷酸盐的溶解，以对 CaHPO_4 的平均溶解能力最强，而对磷灰石的平均溶解力最弱。在不同菌株中，以 WIG4和 WCN3对各难溶磷酸盐的溶解力最强。

关键词：无机磷溶磷细菌；高寒草甸土壤

高寒草甸土壤中的磷素有效性甚微。其中高山草甸土磷的有效率为0.03%—0.83%；高山灌丛草甸土为0.11%—0.66%；沼泽土为0.29%—0.59%。（乐炎舟等，1982）说明植物在生长发育过程中磷的供应都比较缺乏。根据土壤营养物质贮量及其供应特点，结合牧草对营养物质需要的分析，每公顷施用磷素肥7.5公斤能增产干草1842公斤；每公顷施用氮素7.5公斤能增产干草387公斤。而施用钾素后则未显示出增产效果（乐炎舟等，1982）。因此，土壤中有效磷含量低已成为限制高寒草甸生态系统初级生产力提高的一个重要制约因素。可是高寒草甸生态系统土壤库中的高山草甸土，每公顷表土的磷贮量为0.6—0.8吨；高山灌丛草甸土的磷贮量为0.9—1.2吨（乐炎舟等，1982）。如能把这些不溶性磷转化为植物可利用的有效磷，无疑将为提高高寒草甸生态系统草场生产力找到一条有效途径。

利用微生物把土壤中的非有效磷转化为有效磷的研究国内外学者多年来一直在进行

* 中国科学院西北高寒草甸生态系统定位站基金资助项目。

鲍新奎副研究员提出宝贵意见，特此致谢。

(鲁宾契克等, 1963; 张美庄等, 1979; Banik 等, 1981), 其成果已应用于农业生产(别列佐娃等, 1957)。用溶磷细菌制成的细菌肥料施于农田后, 其有效磷含量平均增加2ppm。小麦一般增产效果达10%以上(山东省桓台县生产指挥部科技办公室, 1974)。通过本研究, 我们期望能从高寒草甸生态系统土壤中筛选出低温高活性的溶磷菌株。经过人工培养增殖, 再以拌种或高度稀释后喷施的方法施于土壤。以达到提高土壤中溶磷微生物的种群数量。增加土壤中有效磷的释放量。进而提高草场初级生产力的目的。

材料和方法

从采自青海大通、门源和湟中的36个土样中用Pikovskaia (1948) 培养基进行初筛。根据其溶磷透明圈的大小选取若干株测定溶磷性能。

按5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃6个温度梯度参照许光辉 (1986) 方法测定其在不同温度下无机磷的转化。

对不同难溶磷酸盐溶解性能的测定所用的培养基成分为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5克/升, NaCl 0.2克/升, 葡萄糖10.0克/升。难溶无机磷酸盐分别加入 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5.0克/升或 CaHPO_4 , 4.4克/升; 或磷灰石6.5克/升; 或 FePO_4 5.0克/升。其磷当量都等于5.0克的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的磷当量。微量元素溶液1.0毫升, 蒸馏水1000毫升, pH值7.4。微量元素溶液的组成为 H_3BO_3 , 5.0克/升; NaBr , 0.5克/升; ZnSO_4 , 0.2克/升; AlCl_3 0.15克/升。将上述培养基置50毫升于250毫升三角烧瓶中, 灭菌、接种后充分摇匀。在28—30℃下静置恒温培养。每个菌种和每种不溶磷酸盐都设置3个重复。15天后取出用钼兰比色法(中国科学院南京土壤研究所微生物室, 1985) 测定可溶性磷的含量。

结果与讨论

用Pikovskaia (1948) 培养基筛选无机溶磷菌, 共分离到67株菌株。但大部分菌株能在此培养基上生长而不产生透明溶磷圈。产生溶磷圈的菌株共16株, 约占24%。虽然大部分菌株没有产生溶磷圈, 但它们还是能在以难溶无机磷酸盐 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 为唯一磷源的固体培养基上生长, 具有溶磷能力。Louw等(1959)也指出, 许多溶磷细菌虽然在固体培养基上不产生溶磷圈, 但能在液体培养基中检测出溶解无机磷酸盐的能力。根据溶磷圈的大小(表1)选出6株测定其在5—30℃下6个不同温度的溶磷能力和对磷灰石、磷酸三钙、磷酸高铁和磷酸氢钙4种难溶磷酸盐的解磷能力。

根据在不同温度条件下测定解磷活性的结果表明, 它们都具有一个最适温度范围。WCN3的平均溶解能力最高, 在15—25℃的中温范围内有较高的解磷活性。而WXM3在15℃以下的低温范围才有较高的解磷活性。WEG2则在15℃以上的高温范围内才有较高的解磷活性(表2)。

根据高寒草甸年平均气温较低, 无霜期短(杨福国, 1981)的气候特点, 如给生态系统施用磷细菌肥料, 应选择在中、低温下解磷活性较高的WCN3或WXM3为种菌。或以它们为出发菌株, 进行诱变选育, 才能取得良好的效果。

表1 溶磷细菌产生的透明溶磷圈
 Table 1 Phosphate-solubilizing transparent zone(PTZ)
 of phosphate-solubilizing bacteria

菌株编号 Isolate No.	溶磷圈直径(毫米) PTZ diameter(mm)	菌株编号 Isolate NO.	溶磷圈直径(毫米) PTZ diameter(mm)
WMY2	3.6	WMY1	1.5
WMY4	0.5	WMY3	1.6
WXM2	2.0	WXM1	2.0
WCN1	1.5	WXM3	4.3
WCN3	6.5	WCN2	0.8
WCN5	2.8	WCN4	3.3
WEG2	6.0	WEG1	0.7
WGH1	0.3	WEG3	1.8
WGH3	2.0	WGH2	2.3
WGH5	1.5	WGH4	2.7
WGH7	0.8	WGH6	0.3
WGH9	1.2	WGH8	3.0
WIG2	1.6	WIG1	2.2
WIG4	3.2	WIG3	1.6
WIG6	0.9	WIG5	0.5
As. 1. 867 *	3.3		

* 磷细菌肥料种菌,来自中国科学院微生物所。

The inorganic phosphorus fertilizing bacterium from Microbiology Institute, the Chinese Academy of Sciences.

表2 各菌株在不同温度下的溶磷活性
 Table 2 Phosphate-soluble ability of phosphate-solubilizing bacteria
 in different temperature

菌株编号 Isolate No.	可溶磷浓度 Soluble phosphorus concentration(ppm)					
	温 度 Temprature(℃)					
	5	10	15	20	25	30
WMY2	0.000	0.454	3.658	4.270	5.782	6.826
WXM3	4.918	10.138	10.426	3.802	3.190	1.858
WCN3	0.022	4.019	13.306	11.686	9.742	5.386
WEG2	0.000	2.326	9.598	11.110	12.226	12.766
WGH8	0.000	0.000	3.982	2.794	4.306	3.442
WIG4	0.000	0.000	2.614	3.802	7.258	5.746
As. 1. 867 *	0.000	1.102	4.162	6.070	7.438	9.562

* 磷细菌肥料种菌,来自中国科学院微生物所。

The inorganic phosphorus fertilizing bacterium from Microbiology Institute, the Chinese Academy of Sciences.

各菌株对不同难溶磷酸盐的溶解能力的测定结果见表3。在4种难溶磷酸盐中,以磷灰石的平均溶解度最低。磷灰石是一种由含多种磷和不含磷的化合物组成的复合矿物,所以难于溶解。而磷酸氢钙的平均溶解度最高。表3的6株菌中,以 WCN3对各难溶无机磷酸盐的平均溶解力最高。WGH8菌株对磷酸高铁的溶解磷能力最强。WIG4对磷灰石和磷酸氢钙的溶解磷能力最强。WCN3对磷酸三钙和磷酸氢钙和磷酸高铁的溶解磷能力最强。

表3 各菌株对4种难溶磷酸盐的溶磷活性

Table 3 Phosphate soluble ability of phosphate-solubilizing bacteria for four insoluble phosphates

菌株编号 Isolate No.	可溶磷浓度 Soluble phosphorus concentration (ppm)				
	磷灰石 Phosphatic rock	磷酸三钙 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	磷酸氢钙 CaHPO_4	磷酸高铁 FePO_4	平均 Mean
WMY2	2.481	3.547	4.289	1.484	2.945
WXM3	3.800	0.857	7.118	0.000	2.944
WCN3	1.200	7.466	8.348	5.008	4.255
WEG2	2.759	4.104	7.837	1.321	4.005
WGH8	0.572	2.712	4.011	7.397	3.673
WIG4	4.289	3.733	5.588	4.474	4.516
平均(mean)	2.517	3.735	6.368	3.314	3.986
As. 1.867 *	0.000	1.762	4.545	1.298	1.894

* 磷细菌肥料菌种,来自中国科学院微生物研究所。

The inorganic phosphorus fertilizing bacterium from Microbiology Institute, the Chinese Academy of Sciences.

根据不同土壤类型的无机磷形态组成不同,如沼泽土、碳酸盐高山草甸土和高山草甸草原土中均以磷酸钙盐为主,而高山灌丛草甸土和高山草甸土中的磷酸铁盐和磷酸铝盐却占较大比例(赵宝莲等,1985)。因此,对磷酸钙盐溶解能力较强的 WCN3菌株可应用于沼泽土、碳酸盐高山草甸土和高山草甸草原土。面对含较多铁磷的高山灌丛草甸土和高山草甸土,最适合的菌种是对磷酸铁盐有较强溶解能力的 WIG4和对磷酸钙盐有较强分解力的 WCN3。

参 考 文 献

- 山东省桓台县生产指挥部科技办公室,1974,农用微生物生产技术,科学出版社,43—54。
 中国科学院南京土壤研究所微生物室,1985,土壤微生物研究法,科学出版社。
 乐炎舟、左克成、张金霞、赵宝莲、王在模、郭建华,1982,高寒草甸生态系统。甘肃人民出版社,19—33。
 许光辉、郑洪元,1986,土壤微生物分析方法手册,246—248。
 别列佐娃,1957,细菌肥料的应用,科学出版社,107—122。
 张美庄、丁安林,1979,磷细菌肥料的研究。微生物学通报,6(3),1—4。
 杨福国,1982,高寒草甸生态系统定位站自然概况,高寒草甸生态系统,甘肃人民出版社,1—8。
 赵宝莲、左克成、鲍新奎、郭建华,1985,青海高寒草甸土壤无机磷形态组成的初步研究,高原生物学集刊,4:135—139。
 鲁宾契克,1963,细菌肥料的制备和应用,农业出版社,142—149。
 Banik S, Dey B K, 1981, Phosphate-solubilizing Microorganisms of a Lateritic soil Zbl. Bakt. I. Abt. 136: 493—501.

- Louw H A, Webley D M, 1959, A study of soil bacterial dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds. *J. appl. Bact.* 22(2):227—233.
Pikovskais R I, 1948, Mobilization of phosphates in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Microbiological* 17:362—370.

ISOLATION AND SCREENING OF INORGANIC PHOSPHATE- SOLUBILIZING BACTERIA IN ALPINE MEADOW SOIL

Geng Bowen Jiang Wenbo Zhao Baolian Wang Qilan Yang Tao

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences)

Abstract

Thirty-six strains of inorganic phosphate-solubilizing bacteria were isolated from the alpine meadow soil, and their phosphate-solubilizing abilities (PSA) were measured.

The PSA of 6 isolated strains in different temperature and the effect of solubilization to the phosphatic rock, calcium hydrogen phosphate, calcium phosphate and ferric phosphate were tested.

The results revealed that PSA of many strains were risen in temperature at 5—30°C. The PSA of WXM3 strain was higher in low temperature range between 5—15°C, and the PSA of WCN3 strain was higher at 15°C.

The average soluble ability of WCN3 was the highest on each insoluble inorganic phosphates (see Table 3). But the phosphate soluble ability of WGH8 strain was the highest on the ferric Phosphate, that of WIG4 was the highest on the phosphatic rock and the calcium hydrogen phosphate, and that of WCN3 was strong on the calcium phosphate, the calcium hydrogen phosphate and the ferric phosphate.

So we suggested that the most strong soluble ability strain of WIG4 adapted to apply the ferric phosphate soil and WCN3 to apply the calcium phosphate soil in alpine meadow.

Key words: Inorganic phosphate-solubilizing bacteria; Alpine meadow soil

