

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (11):1333–1343; 4 November 2014
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.11.011

一株溶磷真菌筛选鉴定及其溶磷促生效果

史发超, 殷中伟, 江红梅, 范丙全*

中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081

摘要: 【目的】从高产农田筛选高效溶磷微生物菌株, 为溶磷微生物肥料开发提供高效菌种资源。【方法】利用菌株的形态学特性、培养特征和 ITS rDNA 序列分析方法进行菌株鉴定, 结合液体培养和土壤培养方法研究菌株的溶磷能力, 进而采用温室盆栽和田间小区试验, 明确溶磷菌 P83 促进作物生长和提高作物产量的作用效果。【结果】溶磷菌株 P83 鉴定为斜卧青霉菌 (*Penicillium decumbens*)。液体条件下培养 10 d, 菌株 P83 表现显著高效的溶磷能力, 对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (5g/L) 的溶解效果, 有效磷达 956 mg/L, 溶解率为 42.68%, 对湖南永和磷矿粉的溶液效果, 有效磷达到 152.8 mg/L; 将 P83 菌株分别接种于施用 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ 和磷矿粉 (RP) 3 种磷源的盆栽试验土壤中, 结果显示, 菌株 P83 对玉米植株促生效果比对照显著提高, 玉米植株鲜重提高 9.5%–89.2%、干重增加 35%–231%, 土壤有效磷提高 2.1–40.5 mg/kg。田间小区玉米产量结果显示, 溶磷菌 P83 增产效果最好 ($P=0.05$), 玉米子粒产量达 9.2 t/hm², 比不接种菌剂的对照增加 2.4 t/hm², 增产率为 35.3%。【结论】获得了一株溶解难溶磷的斜卧青霉菌 P83, 它能够活化多种难溶磷、显著增加土壤有效磷水平, 对玉米生长和增加作物产量具有显著作用, 是一株展现良好应用前景的高效溶磷菌种。

关键词: 斜卧青霉菌, 难溶磷, 溶磷作用, 促生效果

中图分类号: X172 **文章编号:** 0001-6209 (2014) 11-1333-11

磷素是植株生长所必须的三大矿质营养元素之一^[1], 磷肥是粮食增产和粮食安全的重要物质保证, 提高土壤磷素和磷肥的利用效率是节约磷肥和农业持续发展的重要措施。研究表明, 施入土壤的磷肥有 90% 以上转化为难溶磷, 酸性土壤转化为磷酸铁、磷酸铝, 石灰性土壤转化为磷酸钙^[2-3]。为提高作物产量, 磷矿的消费量逐年提高。但我国的磷矿资源具有中低品位磷矿居多, 高品位磷矿较少, 按现有的年消费量, 我国的磷矿使用年限不超过 20 年^[4]。提高磷肥的利用效率, 开发土壤磷资源的潜

能, 增加磷矿资源的使用效率, 对我国农业的可持续发展具有重要意义^[5-7]。

溶磷微生物拥有溶解难溶磷的能力, 被公认为安全、经济、高效的活化土壤难溶磷的生物措施, 具有重大的开发应用价值。自 Staltrom^[8] 发现土壤中存在溶磷微生物以来, 世界各国相继展开了研究。迄今为止, 见诸报导的溶磷微生物已有 36 个属, 89 种微生物, 以及数以万计的溶磷菌株^[9-10], 具有较强溶解难溶磷酸盐的菌株有芽孢杆菌属、埃希氏菌属、青霉菌^[11-13], 能够溶解磷矿粉的菌株有链霉菌属、

基金项目: 国家“863 计划” (2013AA102802); 国家科技支撑计划资助项目 (2011BAD11B03)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-10-82106212; E-mail: bqfan@caas.ac.cn

作者简介: 史发超 (1988–), 男, 山东人, 硕士研究生, 主要从事溶磷微生物资源与利用研究。E-mail: sfchao1988@163.com

收稿日期: 2014-01-20;; **修回日期:** 2014-06-21

小单孢菌属、青霉属、曲霉属,溶解磷矿粉较强的菌株为黑曲霉(*Aspergillus niger*)^[14-15],国际上普遍认可的溶磷能力较强的菌株为拜莱青霉(*Penicillium bilaii*)^[16]。

溶磷微生物能显著提高土壤中有有效磷的含量^[17-19],促进植株的生长^[20-22]。应用溶磷菌株开发的溶磷微生物肥料的效果也较为明显,加拿大 Philom Bios 公司应用拜莱青霉生产溶磷肥料产品 JumpStart,10 年示范研究表明能够提高土壤有效磷含量,作物增产 6% - 9%^[23]。印度主要是应用解磷巨大芽孢杆菌生产溶磷生物肥料系列产品,田间试验 40% 作物增产明显^[24],我国主要应用解磷巨大芽孢杆(*Bacillus megatarium*)生产溶磷生物肥料^[25]。

筛选高效溶磷、农田环境适应能力强的优良菌株是长期以来科学家追求的目标。本研究旨在筛选高效溶磷菌株,探明其对土壤难溶磷活化能力以及促进作物生长的效果,为高效溶磷微生物肥料研究与开发提供优良菌种资源。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 土壤来源:采自河北正定县高产田玉米、大豆作物根际土壤共 600 个,盆栽土壤选自北京市西二旗唐家岭村潮土,土壤有效磷(P) 5.3 mg/kg,速效钾(K₂O) 128.5 mg/kg,含氮量 0.016%,有机质量 18.7 g/kg。

1.1.2 培养基:(1) 菌株筛选与培养:无机磷培养基, PDA 培养基,牛肉膏蛋白胨培养基等^[26]。(2) 鉴定培养基:GA 培养基、CYA 培养基、G25N 培养基^[29]。(3) PDY 培养基:土豆 200 g 与 1000 mL 混合煮沸 20 min 过滤,滤液补水至 1000 mL,加入蔗糖 10 g、酵母粉 1 g。(4) PDYA 培养基:PDY 加琼脂 18 g/L。

1.1.3 供试磷源:(1) 分析纯磷酸三钙 [Ca₃(PO₄)₂ (P₂O₅ 45.8%)]、分析纯磷酸锌 [Zn₃(PO₄)₂ (P₂O₅ 36.8%)] ,购于天津科密欧试剂公司。(2) 湖南省永和磷矿粉(RP, P₂O₅ 33.62%) :矿石粉碎过 100 目(149 μm)。(3) 钒钼黄比色法测定永和磷矿粉全磷含量,钼锑抗比色法测定有效磷含量(P₂O₅ 0.37%)。

1.1.4 玉米营养液配方:单位为(mol/L)。K₂SO₄ 8 × 10⁻⁴, MgSO₄ 6.5 × 10⁻⁴, KCl 1 × 10⁻⁴, Ca(NO₃)₂ 2 × 10⁻³, CuSO₄ 1 × 10⁻⁷, EDTA-Fe 1 × 10⁻⁷, MnSO₄ 1 × 10⁻⁶, H₃BO₃ 1 × 10⁻⁵, ZnSO₄ 1 × 10⁻⁶, (NH₄)₆Mo₇O₄ 5 × 10⁻⁹。

1.1.5 供试菌株:斜卧青霉(*Penicillium decumbens*) 菌株 P83、拜莱青霉菌(*Penicillium bilaii*) 菌株 ATCC 20851,草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) 菌株 P36、黑曲霉(*Aspergillus niger*) 菌株 P43 为本实验室筛选菌株。拜莱青霉菌 ATCC 20851 作为对照菌株。

1.1.6 主要的试剂和仪器:真菌总 DNA 提取试剂盒、Taq 酶和 dNTP 购自天根生化科技(北京)有限公司;引物为 ITS1 和 ITS2 由上海生工生物技术有限公司合成;其它试剂为国产分析纯。培养箱为 DHP-9162 型购于上海一恒科技有限公司;PCR 仪为 GeneAmp PCR System 9700;高速冷冻离心机为 Heraeus 公司的 Sorvall Biofuge Stratos;光学显微镜为 OLYMPUS BH-2;紫外分光光度仪为天美科技有限公司的 UV-7501。

1.2 菌液及菌剂的制备

1.2.1 溶磷菌液制备方法:卧斜青霉菌 P83、拜莱青霉菌(ATCC20851),菌株 P36(草酸青霉)和 P43(黑曲霉)分别接种接种于 PDYA 液培养基上培养 72 h,将 4 株真菌孢子分别接种盛有 100 mL 无菌水的 300mL 三角瓶中,于 28℃、160 r/min 条件下,震荡 30 min 以分散菌孢子团。吸取孢子悬液 1 mL,置于显微计数板测定孢子数量,约为 1 × 10⁸ cfu/mL,再转接到含有 100 mL PDA 液体培养基的三角瓶中,28℃、160 r/min,摇床培养 3 d。

1.2.2 溶磷菌剂制备方法:将 50 g 草炭置于 500 mL 的三角瓶中,121℃、1.01 MPa,30 min 高压灭菌。供试溶磷菌株接种于 PDY 液体培养基中,28℃、57.24 (×g) 摇床培养 3 d,每日进行平板计数,当菌液密度达到 10⁸ cfu/mL,供试菌株与灭菌草炭按 1:2 体积比例混合均匀,置于 28℃ 培养 3-7d,逐日进行菌丝体和孢子计数,待菌数达到约 5 × 10⁸ cfu/g 菌剂,用于盆栽试验。

1.3 溶磷菌株的分离筛选

采用系列稀释法获得不通稀释倍数的土壤菌悬液。称取 1 g 保藏于冰箱的新鲜土壤,用 0.85% 灭菌的生理盐水将土壤样品稀释至 10⁻²、10⁻³、10⁻⁴ 和 10⁻⁵ 倍,分别吸取 0.1 mL 土壤悬液涂布于无机磷培

培养基平板上,每个土壤悬液浓度涂布 3 个平板。倒置于培养箱中,28℃ 培养 3 d 后,用接种环挑取溶磷圈大的菌株,转接到 PDA 斜面保藏和 PDA 平板纯化。纯化菌株接种到无机磷平板中,每个菌株接种重复 3 次,28℃ 培养 5 d 后,测定溶磷圈与菌落直径大小。

1.4 溶磷菌株的鉴定

1.4.1 菌株 ITS rDNA 的鉴定:将筛选到的菌株接到 PDA 液体培养基中,30℃ 摇床 36h,无菌条件下以灭菌的 14 目铁砂网过滤得到菌丝体,采用真菌 DNA 试剂盒提取菌株总 DNA,用真菌通用引物 ITS1 和 ITS2 扩增 18S rDNA 的 ITS 区域,PCR 扩增产物由上海生工生物技术有限公司测序,将获得的 18S rDNA 序列,输入 GenBank,获得新基因的登录号 (KF977506)。利用 Blast 程序将 18S rDNA 序列与数据库中的所有序列进行比对,选取同源性 95% 以上的菌株序列,并利用 MEGA 5.0 进行系统发育树构建。

1.4.2 菌株的形态学观察:制作切片显微镜观察孢子及菌丝形态,参考中国真菌志 (第三十五卷) – 青霉属^[27] 及其相关有性属,对形态进行描述。

1.5 筛选菌株对难溶磷源的溶解效果研究

将 100mL 浓度为 5g/L 难溶磷的培养液加入 250 mL 三角瓶中,磷源为磷酸三钙与永和磷矿粉。于 121℃、1.01 MPa 高压灭菌 30 min,接种 1 mL 溶磷菌悬液于液体培养基中。试验处理包括:(1) 对照 (CK):不接菌;(2) 拜莱青霉菌:第二对照;(3) 斜卧青霉菌 P83。每个处理 4 次重复。置于 28℃、160 r/min 摇床培养,分别于 3、7 和 10 d,取菌液 5 mL,1118 × g、4℃ 离心 1 min,取上清液测定有效磷含量。

1.6 供试菌株的土壤盆栽溶磷效果研究

土壤取自北京市西二旗唐家岭农田,实验使用塑料盆 (18 cm × 15 cm × 15 cm),每盆装土壤 1 kg。菌剂处理为 (1) 对照 (CK):不接菌,施用难溶磷;(2) 溶磷菌 P83:接菌,施用难溶磷;(3) ATCC20851:接菌,施用难溶磷。供试磷源为 3 种,分别是 Ca₃(PO₄)₂、Zn₃(PO₄)₂ 和永和磷矿粉 (YHRP),每种磷源用量为 1.0 g/kg 土壤。菌剂使用量为 5 g/kg 土壤,菌剂与土壤混合均匀。每个处理重复 8 次,共计 72 盆。室外网室中种植 (5 月份种植,北京白天平均 26℃,夜间平均 14℃),每盆播种 4 粒玉米种子,无机盐营养液 100 mL/周,40 d 收获。采集土壤和

植物样品,测定植株鲜重、干重和土壤有效磷含量。玉米品种为郑单 958。

1.7 供试菌株的小区试验效果研究

2013 年 6 月在北京市唐家岭布置了田间小区试验。供试菌株为 P36、P43 和 P83。ATCC20851 为对照菌株,小区试验地面积为 6 m × 4 m,将其划分为 2 m × 0.75 m 的小区,每个小区接种菌剂 300 g,菌剂处理为 (1) 对照 (CK):不接菌剂;(2) 接菌剂 ATCC20851:(3) 接菌剂溶磷菌 P83;(4) 接菌剂溶磷菌 P43;(5) 接菌剂溶磷菌 P36。每个处理 3 次重复,溶磷菌剂与表层 15 cm 土壤混合均匀后培垄 (200 cm × 20 cm × 20 cm),每个垄种植玉米 10 棵,玉米品种为郑单 958,105 天收获。测定玉米植株鲜重和干重、玉米籽粒鲜重和干重。将小区产量折合为每公顷的产量,收获时采集玉米根部土壤测定土壤有效磷含量。

1.8 数据统计分析方法

采用 SAS 9.2 统计软件对数据进行统计分析 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)。

2 结果和分析

2.1 溶磷菌的分离筛选

在河北省正定县的土壤样品中筛选到溶磷效果较好的真菌 6 株 (表 1)。在无机磷平板上培养 5 d,菌株 P83 溶磷圈直径最大达 8.5 cm,菌株 P67 为 6.3 cm,菌株 P54 的溶磷圈直径最小,仅为 4.5 cm。菌株 P67 的菌落直径最大,为 4.7 cm;其次为菌株

表 1. 溶磷菌在平板上的溶磷效果 (5d)

Strains	Ca ₃ (PO ₄) ₂				
	Dissolved			Dissolution	rate / %
	D	d	D/d	Amount / (mg/plate)	
P32	4.8 d	3.8 d	1.26	42.66 e	28.44
P67	6.3 b	4.7 b	1.34	73.50 b	49.00
P34	5.9 c	3.8 d	1.55	64.47 c	42.98
P35	5.7 c	5.1 a	1.12	60.17 d	40.11
P54	4.5 d	4.1 c	1.10	37.50 f	25.00
P83	8.6 a	4.5 b	1.91	136.97 a	91.31
Signif (P =)	0.05	0.05	—	0.05	—

D: diameter of phosphate-dissolving zone (cm); d: colony growth diameter (cm). The letters indicate the significant difference at 5% level.

P83, 平均 4.5 cm。菌株 P83 的溶磷菌圈直径与菌落直径之比 (D/d) 最大为 1.91, 菌株 P34 较低为 1.55, 菌株 P54 仅为 1.1。所有试验菌株相比, P83 的溶磷能力最强, 每平板中溶解磷酸三钙为 136.97 mg, 溶解率达到 91.33%; 其次为菌株 P67, 溶解率达到 49%。拟选取菌株 P83 进行深入的研究。

2.2 溶磷菌的鉴定

2.2.1 形态特征: 将菌株 P83 接种于 PDA, 28℃ 恒温培养 36h, 肉眼可看到清晰的菌丝体。孢子培养 7 d, 菌落直径为 50 mm, 菌丝为青绿色, 反面淡黄色。菌落外缘绒起, 在显微镜下观察, 菌丝成束, 帚状枝单轮生, 壁光滑, 直径为 1.8 μm - 2.2 μm, 长度为 23 μm - 50 μm。瓶梗每轮为 4 - 8 个, 长 8 μm - 10 μm, 分生孢子椭圆形, 光滑较大, 3.2 μm - 3.4 μm。

2.2.2 培养特征: 菌落在 CA 培养基上 25℃ 培养 12 d, 直径为 18 mm - 30 mm。菌斑较薄, 放射状皱纹较少, 中心有脐凸, 分生孢子面灰蓝色。菌丝体白色, 无渗出液, 反面淡黄色。菌落在 CYA 培养基上 25℃ 培养 7 d, 直径 20 mm - 26 mm, 质地绒状兼有絮状, 分生孢子较多, 面为蓝绿色, 菌丝体白色, 反面淡黄色。菌在 G25N 培养基上培养 7 d, 直径 10 mm - 13 mm, 中心较厚, 有不规则的放射性短纹, 分生孢子较多, 呈灰绿色, 反面淡黄色带有褐色, 在 CYA 上 5℃ 培养 7 d, 生长缓慢, 菌株菌落较小。

2.2.3 菌株的 ITS rDNA 序列分析: 利用 ITS rDNA 特异引物对菌株进行 PCR 扩增得到 924 bp 的目的 DNA 片段, 提交到 GenBank (登录号为 KF977506)。利用 Blast 软件与 GenBank 的序列进行同源性比较, 结果显示菌株 P83 与斜卧青霉的同源性达到 100%。

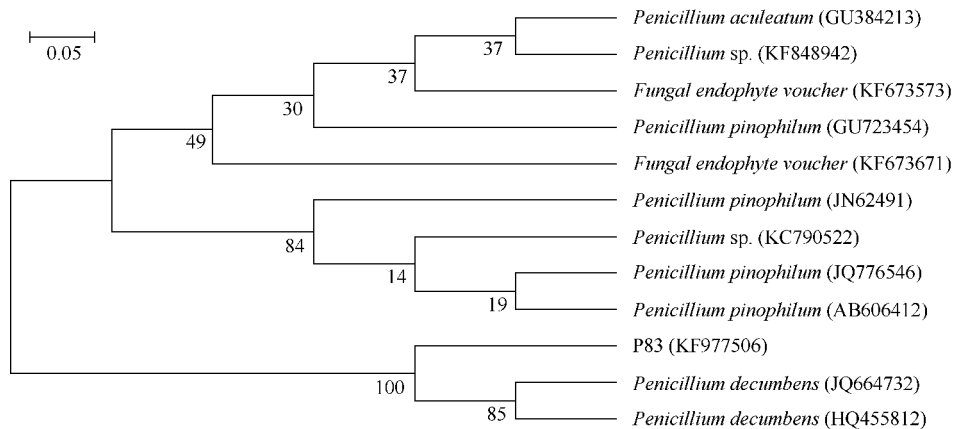


图 1. 菌株 P83 基于 ITS rDNA 序列同源性构建的系统发育树

Figure 1. Phylogenetic tree of strain P83 and reference *Penicillium* species. Evolutionary distances showed in the figure 1 were calculated by MEGA5; Bootstrap = 1000. Bar, 0.05 substitution per nucleotide. Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap.

2.3 溶磷菌株 P83 的溶磷效果研究

接种溶磷菌株的溶磷量明显比对照要高 (图 2, 图 3)。在以磷酸三钙为磷源的处理中, 摇瓶中接种菌株 3 d, 菌株 P83 处理下溶液有效磷含量为 853 mg/L, ATCC20851 菌株处理下溶液有效磷含量为 478 mg/L; 摇瓶中接种菌株 7 d, 菌株 P83 处理下溶液有效磷含量相比于 3 d, 增加 56 mg/L, 达到 909 mg/L, ATCC20851 处理下相比于 3 d, 溶液有效磷含量增加 281 mg/L, 达到 759 mg/L, CK 有效磷含量仅为 145 mg/L; 摇瓶中接种菌株 10 d, 菌株 P83 与菌株 ATCC20851 相比, 有效磷增加 135 mg/L, 达到

956 mg/L, 对磷酸三钙的溶解率为 42.68%, 菌株 ATCC20851 对磷酸钙的溶解率为 36.65%。可见菌株 P83 在磷酸钙溶解上比菌株 ATCC20851 好。

在以永和磷矿粉为磷源的处理中, 与 CK 相比, ATCC20851 与 P83 的溶解量明显增加。摇瓶中接种菌株 3d, 菌株 P83 处理下溶液有效磷含量为 45 mg/L, ATCC20851 菌株处理下溶液有效磷含量为 32 mg/L; 摇瓶中接种菌株 7 d, 菌株 P83 处理下溶液有效磷含量相比于 3 d, 增加 97 mg/L, 增长率为 216%, 达到 141 mg/L, ATCC20851 处理下相比于 3 d, 溶液有效磷含量增加 95 mg/L, 达到 127 mg/L,

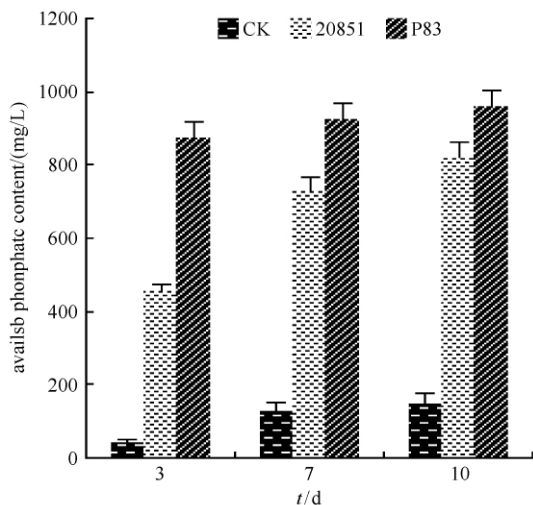


图 2. 菌株对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的溶解量

Figure 2. The dissolving content of phosphorus in $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by strains.

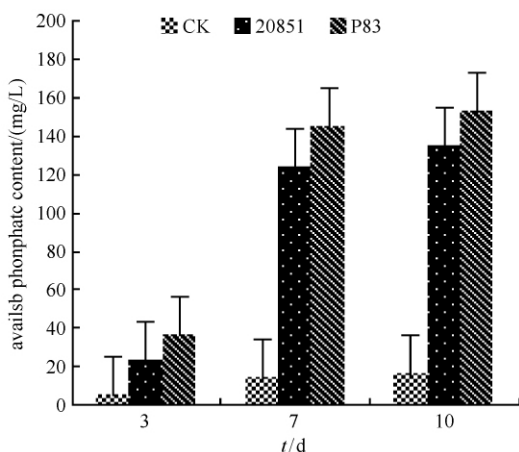


图 3. 溶磷菌株对磷矿粉的溶解量

Figure 3. Solubilizing rate of rock phosphate by various strains.

CK 有效磷含量仅为 17 mg/L; 摇瓶中接种菌株 10 d, 菌株 P83 相比 ATCC20851, 10d 溶解磷矿粉溶磷量增加 18.3 mg/L, 增长率 13.6%, 达到 152.8 mg/L, P83 溶解永和磷矿粉的能力高于 ATCC20851。

综上所述, 菌株 P83 对磷酸钙与磷矿粉的溶解能力大于菌株 ATCC20851, 对磷酸钙的溶解能力显著大于磷矿粉。

2.4 溶磷菌株 P83 对盆栽土壤难溶磷的溶解效果

研究结果显示(表 2), 施加菌株明显提高土壤中有有效磷的含量。以磷酸钙为磷源条件下, 接种溶磷菌 P83 处理土壤的有效磷最高, 达到 23.59 mg/

kg, 与 CK、ATCC20851 相比达到显著差异水平; 与 CK 相比, 溶磷菌 P83 处理土壤有效磷含量增加 15.6 mg/kg, 增长率为 195.2%; ATCC20851 菌株处理下的土壤有效磷达到 20.39 mg/kg, 增长率为 155.2%。以磷酸锌为磷源的条件下, 接种菌株 P83 与 CK 相比, 土壤有效磷含量显著提高, 达到 55.01 mg/kg, 增长率为 278.6%。施加菌剂, 土壤有效磷含量为 P83 > ATCC20851 > CK; 在磷矿粉为磷源的条件下, 接种菌株 P83 处理的土壤有效磷含量与 CK 达到显著性差异水平, 有效磷含量为 6.75 mg/kg, 增长率为 45.8%, 其次为菌株 ATCC20851, 土壤有效磷含量为 6.27 mg/kg。

在土壤条件下, 菌株对不同难溶磷的溶解效果不同, 接种菌株, 土壤中有有效磷含量为磷酸锌 > 磷酸钙 > 磷矿粉。以磷酸锌磷源的接种菌株 P83 的处理, 土壤有效磷含量最高, 以磷矿粉磷源的 CK 处理, 土壤有效磷含量最低。不同磷源处理下, 接种菌株 P83 与 CK 相比, 土壤磷养分达到显著差异水平, 以磷酸锌和磷矿粉为磷源的条件下, 接种菌剂 P83, 土壤有效磷含量大于接种菌剂 ATCC20851, 差异未达到显著水平。综上可知菌株 P83 对土壤磷养分的提高具有明显优势。

2.5 溶磷菌株 P83 对盆栽植株的促生效果

2.5.1 菌株对盆栽玉米地上部分生物量的影响: 研究结果表明(表 3), 接种菌剂 P83 与 CK 相比, 玉米植株地上部分生物量显著提高, 磷酸钙处理下接种菌剂 P83, 植株鲜重增长率最大, 为 113%; 磷酸锌处理下接种 P83, 植株鲜重增加量最少, 为 35.4%。菌株 P83 与 ATCC20851 相比, 植株的干重和鲜重都有增加, 并未达到显著水平。

以磷酸钙为磷源的条件下, 接种菌剂 P83, 与 CK 相比, 鲜重、干重达到显著水平, 分别增加 113% 和 51.7%; 与 ATCC20851 相比, 植株地上部分鲜重增加 6%, 达到 21.26 g, 植株地上部分干重增加 5.2%, 达到 2.61 g。以磷酸锌为磷源的条件下, 接种菌剂 P83 与 CK、ATCC20851 相比, 鲜重、干重分别增加 35.4% 和 26.4%, 9.2% 和 8.6%。以磷矿粉为磷源的条件下, 菌株 P83 相比于 CK、ATCC20851, 植株鲜重增加 35.8% - 24.1%, 植株干重增加 6.4% - 28.2%。不同磷源处理下, 接种菌剂 P83 与 CK 相比, 地上部分干重、鲜重达到显著差异水平; 菌株 P83 与 ATCC20851 相比, 地上部分干重与鲜重都

表 2. 玉米盆栽试验中溶磷菌对土壤有效磷含量的影响

Table 2. Effects of P-solubilizing strains on content of soil available phosphorus in corn experiment

Treatment	c (available phosphorus) / (mg/kg)					
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Growth rate	Zn ₃ (PO ₄) ₂	Growth rate	YHRP	Growth rate
CK	7.99 c	—	14.53 b	—	4.63 b	—
ATCC20851	20.39b	155.2%	53.75 a	267%	6.27 a	35.4%
P83	23.59a	195.2%	55.01 a	278.6%	6.75 a	45.8%
Signif (P =)	0.05	—	0.05	—	0.05	—

The letters indicate the significant difference at 5% level.

表 3. 溶磷菌株对不同磷源的生物有效性和玉米地上部分的作用效果

Table 3. Effects of P-solubilizing strains on corn shoot weight under phosphorus sources

Treatment	Shoot fresh weight /g			Shoot dry weight /g		
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Zn ₃ (PO ₄) ₂	YHRP	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Zn ₃ (PO ₄) ₂	YHRP
CK	9.98 b	14.90 b	12.66 b	1.72 b	2.65 b	1.69 b
ATCC20851	20.03a	18.48 a	15.56 a	2.48 a	3.08 a	1.71 a
P83	21.26a	20.18 a	16.56 a	2.61 a	3.34 a	2.09 a
Signif (P =)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

The letters indicate the significant difference at 5% level.

有提高。菌株 P83 对植株地上生物量的作用效果优于菌株 ATCC20851。

2.5.2 菌株对于盆栽玉米根生物量的影响:研究结果表明:不同磷源处理下,施加溶磷菌株 P83 与 CK 相比,根鲜重与干重都达到显著差异水平,分别提高 93.3% -231.2% 和 9.5% -89.2% (表 4)。

以磷酸钙为磷源的条件,接种菌剂 P83,玉米植株根的干重、鲜重与接种 CK、ATCC20851 达到显著差异水平,根干重和鲜重分别为 4.14 g 和1.75 g,与 CK、ATCC20851 相比,根鲜重、干重分别增加 231.2% 和 89.2%,8.4% 和 37.8%;以磷酸锌为磷源的条件,接种菌剂 P83 与 CK、ATCC20851 相比,玉米植株根的干重、鲜重到到显著差异水平,根

鲜重、干重分别增加 93.3% 和 51.8%,27.9% 和 2.5%;以磷矿粉为磷源的处理下,接种菌剂 P83 与 CK 相比,根的干重、鲜重达到显著水平;与 ATCC20851 相比,根的干重差异不显著,根干重提高 2.5%。

不同磷源处理间,接种菌剂,根的鲜重、干重大小为磷酸锌>磷矿粉>磷酸钙。为磷酸锌处理下接种菌剂 P83,根鲜重量最大,重达 6.92 g,磷酸钙不接菌的处理根鲜重最小,仅为 1.25 g;磷酸锌为磷源条件下接种菌剂 P83 的处理,根干重量最大,为 2.49 g,最小为磷酸钙不接菌的处理,根鲜重仅为 0.96 g。综上可见,菌株 P83 处理下对植株根的促生效果最好。

表 4. 溶磷菌株对不同磷源生物有效性和玉米根生物量的作用效果

Table4. Effects of P-solubilizing strains on corn root weight under phosphorus sources

Treatment	Root fresh weight /g			Root dry weight /g		
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Zn ₃ (PO ₄) ₂	YHRP	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Zn ₃ (PO ₄) ₂	YHRP
CK	1.25 c	3.58 c	2.20 c	0.96 c	1.64 b	1.67 b
ATCC20851	3.82 b	5.41 b	4.31 b	1.27 b	2.43 a	1.72 ab
P83	4.14 a	6.92 a	4.86 a	1.75 a	2.49 a	1.83 a
Signif (P =)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

The letters indicate the significant difference at 5% level.

2.6 小区试验供试菌株对于玉米秸秆产量的影响
接种菌剂对玉米的生长有明显促生效果,与对照相比,施加菌剂玉米秸秆的干鲜重增加明显对玉

米生物量的促生效果为菌剂 P83 > P43 > 20851 > P36 > CK (图 4)。

添加菌剂 P83 对玉米秸秆的干重、鲜重促生作

用最好,与 CK 相比,菌剂 P83 处理的秸秆干重、鲜重分别增加 16.3% 和 31.1%,鲜重为 28.2 t/hm²,干重为 12.27 t/hm²;施加菌剂 20851,与 CK 相比,玉米秸秆鲜重、干重分别增加 17.5% 和 9.3%,达到 25.3t/hm² 和 11.23 t/hm²;菌剂 P43 处理秸秆的干重、鲜重与 CK 相比,分别提高 14.9% 和 27.9%;菌剂 P36 处理秸秆的干重,鲜重与 CK 相比,分别增加 4.1% 和 9.6%。添加不同的菌剂对玉米植株的促生效果不同,菌株 P83 与菌株 P36、P43 相比,秸秆的鲜重分别增加 4.6 t/hm² 和 0.6 t/hm²,干重分别增加 1.6 t/hm² 和 0.47 t/hm²。菌株 P83 与 ATCC20851 相比,玉米秸秆的鲜重提高 2.9 t/hm²,干重提高 1.04 t/hm²。综上可知,添加菌剂 P83 对小区试验玉米的促生效果最好。

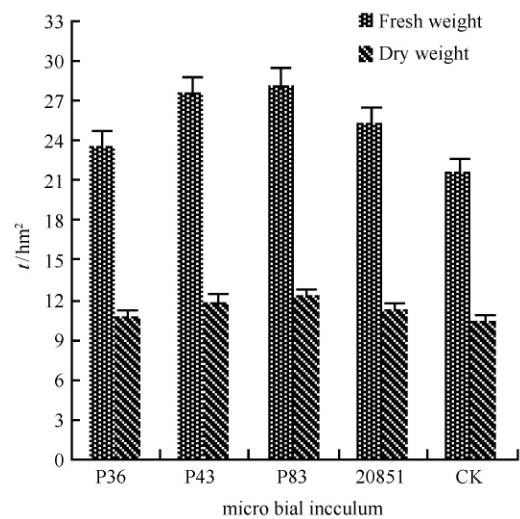


图 4. 不同菌株处理下的玉米植株干鲜重
Figure 4. The shoot dry and fresh weight of corn with different strains.

2.7 小区试验菌株对玉米产量及土壤有效磷的影响

研究结果表明(表 5),施加菌剂与 CK 相比,玉米的鲜重与玉米籽粒重达到显著差异水平。施加菌剂 P83,与 CK 相比,玉米鲜重增加 2.75 t/hm²,达到 16.95 t/hm²,施加菌剂 P36 与施加菌剂 P43 具有相同的玉米鲜重,与 CK 相比,玉米鲜重增加 1.73 t/hm²,达到 15.93 t/hm²,菌剂 ATCC20851 处理与 CK 差异显著,玉米鲜重增加 1.38 t/hm²,施加菌剂之间也存在显著差异,菌剂 P83 比 ATCC20851 处理的玉米鲜重增加 1.37 t/hm²。

对玉米籽粒重量影响最大的为菌剂 P83,与 CK 相比,玉米籽粒重每公顷增加 2.4 t,增产率高达 35.3%,达到 9.2 t/hm²;其次为菌剂 P43,玉米籽粒重每公顷增加 1.4 t,增产率为 20.6%,达到 8.2 t/hm²;菌剂 ATCC20851 籽粒重增加 1.3 t/hm²,增产率为 19.1%。菌剂 P83 与其他菌剂处理达到显著差异水平,与 ATCC20851 相比,每公顷玉米增产 1.1 t;菌剂 P36、P43 与 ATCC20851 差异不显著。

添加菌剂能够显著提高土壤中有有效磷的含量,处理之间达到显著差异水平(表 5)。处理 P83 与 CK 相比,显著提高土壤中有有效磷含量,增加量为 17.4 mg/kg,达到 26.12 mg/kg,菌剂 P36 与 P43,与 CK 比较,土壤有效磷含量分别增加 9.2 mg/L 与 12.4 mg/L,达到 17.71 mg/kg 和 21.19 mg/kg。菌剂 ATCC20851 与 CK 相比,每千克土壤有效磷增加 9.8 g。菌剂处理之间差异显著,菌剂 P83 与 ATCC20851 相比,土壤有效磷含量增长 42.6%。

综上可见菌剂 P83 在小区实验中对玉米产量以及土壤磷养分促进效果最好。

表 5. 不同溶磷菌株对玉米产量和土壤有效磷的作用效果
Table 5. Effects of P-solubilizing strains on corn yield and soil available phosphorus

Treatment	Fresh weight / (t/hm ²)	Dry weigh / (t/hm ²)	Increased production / (t/hm ²)	Increased rate / %	Soil available phosphorus / (mg/kg)
CK	14.20 d	6.8 c	—	—	8.72 e
ATCC20851	15.58 c	8.1 b	1.3	19.1	18.32 c
P36	15.93 b	7.8 b	1	14.7	17.71 d
P43	15.93 b	8.2 b	1.4	20.6	21.19 b
P83	16.95 a	9.2 a	2.4	35.3	26.12 a
Signif (P =)	0.05	0.05	—	—	0.05

The letters indicate the significant difference at 5% level.

3 讨论

土壤中大量存在能够溶解难溶磷源的微生物, 研究报道的溶磷微生物菌株数以万计^[10], 主要研究的溶磷真菌有青霉属、曲霉属、链霉菌属、根霉菌属等^[14], 本试验分离筛选的溶磷青霉菌鉴定斜卧青霉, 还未有溶磷的相关报道。

微生物溶解难溶磷源是一个动态平衡过程, 微生物在其自身生长的同时通过自身的机制溶解释放有效磷, 文献报道摇瓶培养 7 d - 10 d 测定菌株溶解难溶磷释放有效磷含量较为准确, 菌株对不同难溶磷源也具有选择性, 菌株能溶解的难溶磷源越多, 则菌株的溶磷特性越好^[28-31]。钟传青^[32]测定青霉菌 F4 对于磷酸钙的溶解量为 150.6 mg/L, 杨慧^[30]筛选的青霉菌 P21 与 P32 对于磷酸钙溶解能力为 862.34 mg/L 和 742.42 mg/L, 溶解率为 37.69% 和 32.45%; 本试验 P83 菌株对磷酸钙溶解量为 956 mg/L, 溶解率为 42.68%, 在溶解磷酸钙上要优于 P21 与 P32 菌株。杨慧测定菌株 P36 对永和磷矿粉的溶解量为 82.32 mg/L, 溶解湖北宜昌磷矿粉 10 d, 有效磷含量约为 100 mg/L; 刘干文^[33]选取的磷矿粉为云南昆阳与江西吴村磷矿粉, 菌株 C5-A 在这两种磷矿粉中溶磷量分别 279.38 mg/L 和 149.55 mg/L, 但菌株对磷酸钙的溶解量仅为 125.79 mg/L, P83 对永和磷矿粉的溶解能力为 148 mg/L, 菌株 P83 较 C5-A 具有一定的溶磷优势。

青霉菌在土壤中转化难溶无机磷具有很好的效果, 能够促进植株的生长已被广泛报道^[20-22], 肖春桥^[34]研究发现在土壤中添加 *P. expansum* HB-1 与磷矿粉, 植株的茎与根的干重分别增加 10.1% 与 12.5%, 土壤中的有效磷含量增加 17.5%。胡晓峰^[35]研究溶磷菌 P5 在盆栽中对玉米的促生作用中, 与对照组相比地上与地下的干物质增加 128% 与 43.3%, Salih^[36]接种溶磷青霉菌 *Penicillium* sp. 于土壤中, 不但显著增加了土壤中的有效磷含量, 还促进作物的生长。

ATCC20851 为拜莱青霉, 在国际上被公认溶磷促生效果较好的真菌菌株。在溶解难溶磷方面, 菌株 P83 对磷酸钙与永和磷矿粉的溶解效果优于 ATCC-20851, 培养 10d 溶磷量分别增加 135 mg/L 和 18.3 mg/L, 在土培试验中, 试验菌株都能提高土

壤中有效磷的含量, 菌株 P83 比菌株 ATCC20851 更能够提高土壤有效磷含量, 在磷酸钙、磷酸锌、磷矿粉处理中有效磷含量分别增加 3.2 mg/kg、1.26 mg/kg 和 0.5 mg/kg。菌株对植株的促生效果研究表明, 菌株 P83 对植株地上部分生物量与 ATCC20851 相比, 干鲜重增加但没达到显著水平, 干鲜重分别增加 6% - 9.2% 和 5.2% - 28.2%, 菌株 P83 对根部的促生效果与 ATCC20851 达到显著水平, 鲜干重分别提高 2.5% - 37.8% 和 8.4% - 27.9%。在小区实验中, 菌剂 P83 处理下, 玉米植株的干重、鲜重, 玉米的产量, 土壤有效磷含量相比于菌剂 ATCC20851 都有显著提高。

邵春花等^[37]应用自行研制的解磷菌剂在小麦、玉米、甘蓝、青菜、筱麦等作物上进行应用效果试验, 在不同作物上都表现出明显的增产效应, 接种作物生长长势较好, 同时提高了土壤有效磷含量。Chabot 等^[38]报道在土壤上接种溶磷菌株在玉米和莴苣上, 作物吸收磷量分别增加了 8% 和 6%。Sharma^[39]将土壤中接种溶磷菌拜莱青霉的菌剂, 小麦产量干重增加 16%。本实验的菌株 P83, 接种菌剂玉米与对照相比增产 38.9%, 有效磷含量增加约 17 mg/L。是一株具有良好应用前景的菌种资源。

4 结论

溶磷微生物具有转化土壤难溶磷, 提高土壤有效磷的含量, 促进作物生长的作用, 被称为高效环保型的生物措施。研究报道的溶磷真菌的溶磷的能力比细菌强, 但溶磷真菌报道的种类比细菌要少, 本试验以高产田作物根际土壤为材料, 进行溶磷真菌的筛选、鉴定、溶磷及促生效果研究, 取得了以下主要的结论:

(1) 以磷酸三钙为磷源筛选到一株具有较强溶磷能力的真菌 P83, 通过真菌 ITS 序列分析与形态学观察, 溶磷菌株 P83 被鉴定为斜卧青霉菌 (*Penicillium decumbens*)。尚未见斜卧青霉菌溶磷的研究报道。

(2) 固体培养基、液体培养基和土壤条件下的研究结果显示, 斜卧青霉菌 P83 菌株对磷酸钙、磷酸锌和磷矿粉等难溶磷展现较强的溶解能力。液体培养条件下, 斜卧青霉菌 P83 溶解难溶磷的效果显著大于菌株 ATCC20851; 盆栽与田间小区试验条件

下,菌株 P83 对土壤难溶磷生物有效性的作用效果显著高于 ATCC20851。

(3)斜卧青霉菌菌株 P83 在本试验条件下,具有显著促进玉米生长、提高玉米产量的效果。盆栽试验结果显示,溶磷菌株能够提高盆栽植株的生物量,菌株 P83 效果最好。田间条件下,菌剂 P83 显著提高玉米产量,与 ATCC20851 相比,玉米增产 1.1 t/hm²,产量增加 13.6%;菌剂 P83 与不使用溶磷菌剂的对照相比,产量提高 2.4 t/hm²,增产率达 35.3%。

参考文献

- [1] Vessey JK, Heisnger KG. Effect of *Penicillium bilaii* inoculation and phosphorus fertilization on root and shoot parameters of field-grown pea. *Canadian Journal of Plant Science*, 2001, 81(3):361-366.
- [2] Raychaudhuri M, Ngachan SV, Raychaudhuri S, Singh AL. Yield response of groundnut (*Arachis hypogaea*) to dual inoculation and liming of an acid hill Ultisol of Manipur. *Indian Journal of Agricultural Science*, 2003, 73(2): 86-88.
- [3] Wang H, Appan A, Gulliver J S. Modeling of phosphorus dynamics in aquatic sediments: II-examination of model performance. *Water Research*, 2003, 37(16): 3939-3953.
- [4] Tao J. Locate correctly the present status and outlook for phosphate rock resources reserves of China-analysis on serve life of phosphate rock resources in China. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2009, 5:6-16. (in Chinese)
陶俊法. 应正确定位我国磷矿资源的现状与前景—我国磷矿资源服务年限分析. 磷肥与复肥, 2009, 5: 6-16.
- [5] Zhao X, Lin Q, A review of phosphate-dissolving microorganisms. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2001, (3): 7-11. (in Chinese)
赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展. 土壤肥料, 2001(3): 7-11.
- [6] Gulden RH, Vessey JK. *Penicillium bilaii* inoculation increases root hair production in field pea. *Canadian Journal of Plant Science*, 2000, 80(4): 801-804.
- [7] Reyes I, Berber L, Antoun H. Rock phosphate solubilization and colonization of maize rhizosphere by wild and genetically modified strains of *penicillium rugulosum*. *Microbiology Ecology*, 2002, 44(1): 39-48.
- [8] Stalstrom VA. Beitrag Zur Kenntniss der einwirkenden sterilizer and in garung befindlicher striffe any diloslieshkeit der phosphorus are destrical cum phosphours. *Zbt Bakt Abt II*, 1903, 11:724-732.
- [9] Rivas R, Trujillo ME, Sanchez MS, Mateos PF. *Microbacterium ulmi* sp. nov. a xylanolytic, phosphate-solubilizing bacterium isolated from sawdust of *Ulmus nigra*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(2): 513-517.
- [10] Rivas R, Peix A, Mateos PF, Trujillo ME. Biodiversity of populations of phosphate solubilizing rhizobia that nodulates chickpea in different Spanish soils. *Plant and soil*, 2006, 287:23-33.
- [11] Wu P, Zhang D, Hao L, Qin Z. Status quo and prospects of phosphate soluble microorganisms. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2008, 10(3): 40-46. (in Chinese)
吴鹏飞, 张冬明, 郝丽虹, 漆志平. 解磷微生物研究现状及展望. 中国农业科技导报, 2008, 10(3): 40-46.
- [12] Singh S, Kapoor KK. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 28(2): 139-144.
- [13] Sundara-Rao WVB, Sinha MK. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. *Indian Journal of Agricultural Science*, 1963, 33(4): 272-278.
- [14] Paul NB, Rao WS. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. *Plant and soil*, 1971, 35(1-3): 127-132.
- [15] Steven A, Wakelin, Rosemary A, Warren, Paul R, Harvey, Maarten H, Ryder. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40: 36-43.
- [16] Molla MAZ, Chowdhury AA, Islam A, Hoque S. Microbial mineralization of organic phosphate in soil. *Plant and Soil*, 1984, 78(3): 393-399.
- [17] Dastager SG, Damare S. Marine actinobacteria showing phosphate-solubilizing efficiency in Chorao Island, Goa, India. *Current Microbiology*, 2013, 66(5): 421-427.
- [18] Kucey RMN, Leggett ME. Increased yields and phosphorus uptake by Westar canola (*Brassica napus* L.) inoculated with aphosphate-solubilizing isolate of *Penicillium bilaii*. *Canadian Journal of Soil Science*, 1989, 69(2): 425-432.
- [19] Guertal E A, Howe J A. Influence of phosphorus-

- solubilizing compounds on soil P and P uptake by perennial ryegrass. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49 (5) : 587-596.
- [20] Ouahmane L, Revel J C, Hafidi M, Thioulouse J, Prin Y, Galian A, Duponnois R. Responses of *Pinus halepensis* growth, soil microbial catabolic functions and phosphate-solubilizing bacteria after rock phosphate amendment and ectomycorrhizal inoculation. *Plant and Soil*, 2009, 320 (1-2) : 169-179.
- [21] Xiao CQ, Chi R, He H, Qiu GZ, Wang DZ, Zhang WX. Isolation of Phosphate-Solubilizing Fungi from Phosphate Mines and Their Effect on Wheat Seedling Growth. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2009, 159 (2) : 330-342.
- [22] Singh S, Kapoor KK. Effects of inoculation of phosphate-solubilizing microorganisms and an arbuscular mycorrhizal fungus on mungbean grown under natural soil conditions. *Mycorrhiza*, 1998, 7 (5) : 249-253.
- [23] Gleddie SC, Hnatowich GL, Polonenko DR. A summary of wheat response to PROVIDE TM (*Penicillium bilaji*) in western Canada. *Proceeding of Alberta Soil Science Workshop*, 1991: 306-313.
- [24] Rao NSS. Biofertilizers. *Interdisciplinary Science Reviews*, 1982, 7 (3) : 220-229.
- [25] Ge C, Wu W. Microbial fertilizer production, application and problems. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 1994, (3) : 24-28. (in Chinese)
葛诚, 吴薇. 我国微生物肥料的生产应用及问题. 中国农学通报, 1994, (3) : 24-28.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2000, 81-83: 264-271.
- [27] 孔华忠. 中国真菌志 (第三十五卷)-青霉属及其相关有性型属. 北京: 科学出版社, 2007: 197-199.
- [28] Gothwal RK, Nigam, VK, Mohanl, MK, Sasmal D, Ghosh P. Phosphate solubilization by rhizospheric bacterial isolates from economically important desert plants. *Indian Journal of Microbiology*, 2006, 46 (4) : 355-361.
- [29] Cai L, Li W, Zhang K. Isolation and screening of highly-effective strain in phosphorus-dissolving and effect on the growth of wheat. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33 (1) : 44-46. (in Chinese)
蔡磊, 李文鹏, 张克勤. 高效解磷菌株的分离、筛选及其对小麦苗期生长的促进用研究. 土壤通报, 2002, 33 (1) : 44-46.
- [30] Yang H, Fan B, Gong M, Li Q. Isolation and identification of a novel phosphate-dissolving strain P21. *Acta Microbiologica Sinica*, 2008, 48 (1) : 51-56. (in Chinese)
杨慧, 范丙全, 龚明波, 李全霞. 1 株新的溶磷草生欧文氏菌的分离、鉴定及其溶磷效果的初步研究. 微生物学报, 2008, 48 (1) : 51-56.
- [31] Rengel Z, Marschner P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. *New Phytologist*, 2005, 168 (2) : 305-312.
- [32] Zhong C, Huang W. Effects and mechanism of p-solubilizing bacillus P17 strain on phosphorus solubilization of different phosphate rocks. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41 (6) : 931-937. (in Chinese)
钟传青, 黄为一. 磷细菌 P17 对不同来源磷矿粉的溶磷作用及机制. 土壤报, 2004, 41 (6) : 931-937.
- [33] Liu G, He Y, Zhang K, Fan J, Cao H. Isolation, identification and characterization of a strain of phosphate-solubilizing bacteria from red soil. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52 (3) : 326-333. (in Chinese)
刘文干, 何园球, 张坤, 樊建波, 曹慧. 一株红壤溶磷菌的分离、鉴定及溶磷特性. 微生物学报, 2012, 52 (3) : 326-333.
- [34] Xiao CQ, Chi R, He H, Qiu GZ, Wang DZ, Zhang WX. Isolation of phosphate-solubilizing fungi from phosphate mines and their effect on wheat seedling growth. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2009, 159: 330-342
- [35] Hu X, He Y, Yue N, Zhou J, Chen J, Xue Y. Effects of different phosphate-solubilizing bacteria bio-fertilizers on growth of maize seedling and available phosphorus concentration in soil. *Hunan Agricultural Sciences*, 2012, (11) : 74-77. (in Chinese)
胡晓峰, 何元胜, 岳宁, 周佳, 陈俊秋, 徐阳春. 不同溶磷菌生物有机肥对玉米苗生长和土壤磷养分的影响. 湖南农业科学, 2012, (11) : 74-77.
- [36] Salih HM, Yahya AL, Abdul-Rahem AM. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate-dissolving fungi. *Plant and Soil*, 1989, 120 (2) : 181-185.
- [37] Gao C, Wang G, Dong Y. Effect of phosphate bacteria in the pot and filed. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2003, 31 (3) : 40-43. (in Chinese)
郜春花, 王岗, 董云中. 解磷菌剂盆栽及大田施用效果. 山西农业科学, 2003, 31 (3) : 40-43.
- [38] Chabot R, Antoun H, Kloepper J W, Beauchamp CJ. Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Applied and*

Environmental Microbiology, 1996, 62(8): 2767-2772.

- [39] Sharma JP, Singh M. Response of rice to phosphatic and nitrogenous fertilizers with and without phosphobacterin

culture. *Indian Journal of Agronomy*, 1971, 16(1): 15-18.

Screening, identification of P-dissolving fungus P83 strain and its effects on phosphate solubilization and plant growth promotion

Fachao Shi, Zhongwei Yin, Hongmei Jiang, Bingquan Fan*

Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: [Objective] To isolate phosphate-solubilizing microorganisms from farmland, and to provide P-solubilizing microbial resource for bio-fertilizer production. [Methods] Phosphate-solubilizing fungus was identified using morphological and cultural characteristics and ITS rDNA sequence analysis. The phosphate-solubilizing capacity of strain P83 was measured by Petri dishes, broth medium and soil pot experiment. The effect of strain P83 on plant growth was studied in field trials. [Results] Strain P83 was identified as *Penicillium decumbens* with a strong ability to dissolve insoluble phosphates. P83 dissolved 42.68% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (5g/L) and the concentration of available phosphorus was 956 mg/L during a 10-d shaking incubation. The concentration of available phosphorus dissolved from Yonghe rock phosphate by P83 was 152.8 mg/L after 10d shaking incubation at 28°C and a speed of 180r/min. *P. decumbens* P83 had a significant growth promotion effect on corn in Chao soil under three phosphates such as $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ and rock phosphate. Compared with the control, inoculation with P83 increased the fresh weight of corn biomass by 9.5% - 89.2% and dry weight of corn biomass by 35% - 231%, and soil available phosphorus content increased 2.1 mg/kg - 40.5 mg/kg. Field trials show that *P. decumbens* P83 had a greater effect on enhancement of corn grain yield, the yield was average 9.2 t/hm² and 35.3% higher than the control. [Conclusion] One new phosphate-solubilizing strain P83 was obtained and identified as *P. decumbens*. It solubilized insoluble phosphates in petri dishes, broth medium and pot experiments. *P. decumbens* P83 could increase corn yield significantly in field trials. *P. decumbens* P83 strain has the potential for bio-fertilizer production in the future.

Keywords: *Penicillium decumbens*, insoluble phosphate, phosphate solubilization, plant growth promotion effect

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National High Technology Research and Development of China (2013AA102802) and by the Key Projects in National Science & Technology Pillar Program during the 12th Five-year Plan Period (2011BAD11B03)

Corresponding author. Tel: + 86-10-82106212; E-mail: bqfan@caas.ac.cn

Received: 20 January 2014 / Revised: 21 June 2014