

液培条件下钾细菌对土壤养分的活化作用研究

薛泉宏 李素俭 张俊宏 沈建伟 尚浩博

(西北农业大学资源与环境科学系, 陕西杨凌 712100)

摘 要 采用液体培养法研究供试钾细菌在有 N 无 N 培养条件下, 对黄砂和黄绵土中矿物态 K, P, Si, Ca, Fe, Mn 和 Zn 的生物活化作用。结果表明: ① 供试钾细菌以淀粉、蔗糖和葡萄糖为碳源时均有一定产酸作用。以黄砂和黄绵土为磷钾源时培养液 pH 分别降低 1.2~1.8 和 0.7~1.2; ② 接种钾细菌能促进黄砂和黄绵土中矿物态 K, P, Si, Ca, Fe 及 Mn 元素的显著活化, 较不接种对照分别提高 27.9%~39.2%, 19.3%, 16.1%~71.0%, 342.0%, 150.6% 及 1463.9%; ③ 钾细菌在无 N 培养条件下对矿物态养分的活化作用优于含 N 培养; ④ 钾细菌对黄绵土中的 Zn 元素无明显活化作用。

关键词 钾细菌, 土壤养分, 生物钾肥, 生物活化作用

分类号 S154.381, S144.9

钾细菌是一种胶质芽孢杆菌 (*Bacillus mucilaginosus*), 具有分解含钾矿物的能力^[1-2]。近 20 年来, 先进农业技术的应用使农作物持续高产, 农田钾素携出量远大于补给量, 钾素亏缺日益严重, 钾已成为继 N、P 元素之后限制农作物产量和品质的第 3 种大量元素。我国是一个钾矿资源贫乏的国家, 单靠进口无法满足当前和将来我国农业对钾肥的巨大需求。我国北方广泛分布的黄土性土壤中全钾含量约为 20 g/kg, 主要为矿物态, 有效含量相对较少。因此, 矿物钾的有效化是解决钾素亏缺的重要途径之一。近年来, 尽管钾细菌的解钾作用和钾细菌制剂的肥效研究趋于活跃, 但结果不尽一致^[3-7]。了解钾细菌解钾作用及其对其他营养元素的活化效应是目前急待解决的基础理论问题之一。本研究重点在于探讨钾细菌对我国北方广泛分布的黄土性土壤中钾及其他元素的活化作用, 并用含有钾长石的纯黄砂为参照, 对钾细菌的解钾机理进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 材 料

钾源物质 黄绵土 (粒径 < 0.5 mm), 普通黄砂 (含长石等钾矿物)。

黄砂预处理 取一定量黄砂, 用自来水将所含泥土冲洗干净, 加 0.2 mol/L HCl 浸泡, 自来水冲洗至中性, 105℃ 烘干, 过 18 及 35 目筛, 即得 1~0.5 mm 和 < 0.5 mm 粒径的细砂。

基础培养基 I 号 (含 N 培养基) 碳源物质 (可溶淀粉、葡萄糖或蔗糖) 5.0 g, Na_2HPO_4

收稿日期 1998-01-07

作者简介 薛泉宏, 男, 1957 年生, 副教授, 硕士

2.0 g, (NH₄) SO₄ 1.0 g, CaCO₃ 0.1 g, MgSO₄· 7H₂O 0.5 g, FeCl₃ (10 g° L⁻¹) 0.5 mL, 蒸馏水 1 000 mL.

基础培养基Ⅱ号(无 N 培养基) 蔗糖 5.0 g, MgSO₄· 7H₂O 0.5 g, CaCO₃ 0.1 g, FeCl₃ (10 g° L⁻¹) 1 mL,蒸馏水 1 000 mL.

基础培养基Ⅲ号 Ⅱ号培养基中加 0.5 g 尿素

供试钾细菌 代号 K6,分离自小麦根际, K6具有较强的养分活化能力.

1.2 方 法

按各试验方案(表 1,表 2)要求,称取不同粒径黄砂或黄绵土 5.000 g 于 250 mL 三角瓶中,准确加入基础培养基 100 mL, 12 ℃ 灭菌 30 min, 无菌操作, 每瓶加供试菌悬液 1 mL, 28 ℃ 静置或摇床+ 静置培养 9 d(摇床培养 3 d, 100 r/min; 静置培养 6 d). 静置培养期间,每 12 h 摇瓶 1 次.

待测液制备 培养结束后将培养液转入 100 mL 离心管离心 (4 000 r/min, 5 min), 上清液倾入大试管 (25 cm× 3.0 cm) 中,测定 pH, 然后向每个试管中加入 0.5 mL 浓 HCl (11.6 mol° L⁻¹) 摇匀,调 pH 为 1 左右,加塞, 121 ℃ 水解 60 min(破坏培养液中的多糖等粘性成分,便于过滤),冷却后加半匙无磷活性碳,振荡、过滤,得无色透明滤液,贮于塑料瓶中,测定 K, P, Si, Mn, Fe, Zn 和 Ca 元素

化学测定 pH 用 Beckman 70 型酸度计测定^[8]; K 用火焰光度法^[8]; P 用钼锑抗比色法^[8]; Si 用硅钼黄比色法^[8]; Fe, Mn, Zn 和 Ca 用日立 180-80 原子吸收分光光度法^[8].

结果计算 生物释钾量 (mg° kg⁻¹) = 总释钾量 (生物释钾量+ 化学溶钾量) - 对照释钾量 (化学溶钾量); 释钾增率 = 生物释钾量 / 对照释钾量,其他元素的计算方法与此相同.

2 结果与讨论

2.1 培养液的 pH

已有研究认为^[1-2],钾细菌生长过程中产酸不明显,其解钾是通过其他机理进行的.本试验用纯砂作钾源,消除了培养液中土壤 CaCO₃对降低 pH 的中和作用,能够较为准确、灵敏地反映钾细菌生长中培养液的 pH 变化(表 1).

表 1 以黄砂为钾源时供试菌株培养液的 pH(I 号基础培养基)

碳 源	砂粒径 /mm	对照	接种培养				
			摇床+ 静置		静置		Δ pH ¹
			pH	Δ pH	pH	Δ pH	
可溶淀粉	< 0.5	7.3	5.8	- 1.5	5.5	- 1.8	- 0.3
	1~ 0.5	7.2	5.8	- 1.4	5.6	- 1.6	- 0.2
	平均	7.3	5.8	- 1.4	5.6	- 1.7	- 0.2
葡萄糖	< 0.5	7.0	5.5	- 1.5	5.2	- 1.8	- 0.3
	1~ 0.5	7.0	5.5	- 1.5	5.2	- 1.8	- 0.3
	平均	7.0	5.5	- 1.5	5.2	- 1.8	- 0.3
蔗 糖	< 0.5	7.2	6.0	- 1.2	5.7	- 1.5	- 0.3
	1~ 0.5	7.2	5.7	- 1.5	5.7	- 1.5	0
	平均	7.2	5.9	- 1.3	5.7	- 1.5	- 0.2

注: 1)对照 n= 3,摇床+ 静置 n= 3,静置 n= 5. 2)Δ pH= 接种培养液 pH- 对照 pH,下同. 3)Δ pH¹= 静置培养 pH (摇床+ 静置)培养 pH.

从表 1 可看出,以可溶淀粉、葡萄糖及蔗糖为碳源,黄砂为钾源时,接入钾细菌培养 9 d 后,培养液 pH 值降低 1.2~1.8,不同碳源间培养液 pH 降低幅度无明显差异,但静置培养 pH 比摇床+静置培养时低 0.2~0.3。这一结果表明,钾细菌利用供试碳源时有较强的产酸能力,产酸可能是钾细菌活化养分的机制之一。这一推论有待进一步试验验证。

从表 2 还可看出,用黄绵土作钾源时,接入钾细菌培养 3 d 后,培养液 pH 也有一定降低,采用无 N 和含 N 培养基时,pH 分别降低 0.7 和 1.2。黄绵土为钾源时培养液 pH 降低幅度小于纯黄砂。

表 2 以黄绵土为钾源时供试菌株培养液的 pH

培养基	pH		Δ pH
	对照 (n= 3)	接菌 (n= 5)	
无 N(II 号)	8.4	7.7	- 0.70
含 N(III 号)	8.6	7.4	- 1.20
平均	8.5	7.6	- 1.00

2.2 钾释放量

由表 3 可知,以黄砂为钾源时,供试菌株有较强的解钾能力。在摇床+静置及静置培养条件下,<0.5 mm 砂粒组分的生物释钾量分别为 16.3 及 24.1 mg° kg⁻¹,较对照增加 24.6% 和 36.4%,静置培养的生物释钾量略高于摇床+静置培养,这与静置培养液的 pH 略低于摇床+静置培养液的 pH 一致,证明产酸可能是钾细菌解钾的机制之一。以黄绵土为钾源时,无氮及含氮条件下的生物释钾量分别为 18.5 和 17.1 mg° kg⁻¹,平均增率为 17.8% (表 4)。

表 3 以黄砂为钾源时供试菌株钾、硅的释放量(I 号培养基)

释放元素	粒径 /mm	对照 释钾量 / (mg° kg ⁻¹)	接菌处理					
			摇床+ 静置			静置		
			总释放量 / (mg° kg ⁻¹)	生物释放量 / (mg° kg ⁻¹)	增率 %	总释放量 / (mg° kg ⁻¹)	生物释放量 / (mg° kg ⁻¹)	增率 %
K	<0.5	66.2	82.5	16.3	24.6	90.3	24.1	36.4
	1~ 0.5	43.0	56.4	13.4	31.2	61.0	18.0	41.9
	平均	54.6	69.4	14.8	27.9	75.6	21.1	39.2
Si	<0.5	95.1	106.8	11.7	12.3	112.4	17.3	18.2
	1~ 0.5	78.9	94.5	15.6	19.8	122.9	44.0	55.8
	平均	87.0	100.6	13.6	16.1	117.6	30.6	37.0

注:对照 n= 3;摇床(3 d)+静置(6 d),n= 5;静置处理 9 d,n= 5。

表 4 黄绵土为钾源时钾细菌的钾、硅释放量

释放元素	培养基	对照 / (mg° kg ⁻¹)	接菌处理 / (mg° kg ⁻¹)	生物释放量 / (mg° kg ⁻¹)	增率 %
K	无 N(II 号)	94.0	112.5	18.5	19.7
	含 N(III 号)	108.2	125.3	17.1	15.8
	平均	101.1	129.0	27.8	17.8
Si	无 N(II 号)	35.2	66.5	31.3	88.9
	含 N(III 号)	30.0	45.9	15.9	53.0
	平均	32.6	56.2	23.6	71.0

注:对照 n= 3;接菌处理 n= 5,下表同。

2.3 硅释放量

硅是植物营养元素之一。钾细菌破坏含钾矿物释放钾^[1-2],同时伴随着 Si 的活化(表 3,表 4)。从表 3 看出,供试菌株对 < 0.5 mm 及 1~ 0.5 mm 黄砂中 Si 的生物释放量,在静置条件下分别为 17.3 和 44.0 mg° kg⁻¹,分别较对照高 18.2% 和 55.8%,平均增幅 37.0%。摇床与静置结合培养条件下 Si 生物释放量略低于静置培养。以黄绵土为磷、钾源物质时,无 N 与有 N 培养条件下的生物释 Si 量分别为 31.3 和 15.9 mg° kg⁻¹,较对照分别高出 88.9% 和 53.0%,平均增幅 71.0%。由表 4 还可以看出,无 N 培养时的生物释 Si 量大于有 N 培养,这与无 N 条件下钾细菌荚膜较厚,培养液粘度较高的现象一致。

2.4 磷、钙释放量

由表 5 看出,供试菌株对黄绵土中 P、Ca 均有一定活化作用。在无 N 及有 N 条件下,生物释 P 量分别为 470 和 420 mg° kg⁻¹,较对照分别提高 19.9% 和 18.7%。无 N 和有 N 培养条件下的生物释 Ca 量分别为 3 130 和 1 800 mg° kg⁻¹,较对照提高 444.8% 和 236.8%,平均增幅 342.0%。由表 5 还可以看出,无 N 培养条件下的 P、Ca 释放量高于有 N 培养,这可能与无 N 条件下钾细菌胞外粘性分泌物较多、荚膜较厚有关。

表 5 黄绵土为钾源时钾细菌对磷、钙、铁、锰、锌的释放量

释放元素	培养基	对照 / (mg° kg ⁻¹)	接种处理 / (mg° kg ⁻¹)	生物释放量 / (mg° kg ⁻¹)	增率 /%
P	无 N (II 号)	2360	2830	470	19.9
	含 N (III 号)	2250	2670	420	18.7
	平均	2310	2750	440	19.3
Ca	无 N (II 号)	700	3830	3130	447.1
	含 N (III 号)	760	2560	1800	236.8
	平均	730	3200	2460	342.0
Fe	无 N (II 号)	14.3	41.0	26.7	186.7
	含 N (III 号)	17.8	38.2	20.4	114.6
	平均	16.1	39.6	23.6	150.6
Mn	无 N (II 号)	1.7	34.0	32.3	1900.0
	含 N (III 号)	1.9	20.3	18.4	1027.8
	平均	1.8	27.2	25.4	1463.9
Zn	无 N (II 号)	14.5	15.6	1.1	7.6
	含 N (III 号)	18.0	16.4	- 1.6	- 8.9
	平均	15.6	15.9	0.3	- 0.7

2.5 铁、锰及锌的释放量

由表 5 看出,供试菌株在实验室培养条件下对黄绵土中 Fe、Mn 有明显的活化作用,对 Zn 的活化作用不明显。在无 N 培养条件下,Fe、Mn 的生物释放量分别为 26.7 和 32.3 mg° kg⁻¹,较对照高 186.7% 和 1 900.0%;在有 N 培养条件下,Fe、Mn 生物释放量分别为 20.4 和 18.4 mg° kg⁻¹,较对照提高 114.6% 和 1 027.8%,同样表现出无 N 培养条件下的活化作用大于有 N 培养。

致谢: 本研究得到程丽娟教授、尉庆丰教授指导,在此谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 鲁宾契克等著.细菌肥料的制备与应用.凌 魁,凌涓清译.北京:农业出版社,1963. 73~ 80
- 2 萨茂依洛夫等著.微生物在植物营养中的作用.吴继林,周 启,王芳久译.北京:财政经济出版社,1957. 115~ 24
- 3 冷惠兰.施用生物钾肥的增产效果.云南农业,1994(10): 26~ 27
- 4 黄 斌.关于水稻施用生物钾肥问题的探讨.作物杂志,1994(2): 19~ 21
- 5 祁耀林.生物钾肥在农作物上的应用效果.云南农业,1995(10): 18~ 19
- 6 王 乔.硅酸盐细菌在农业上的应用.湖北农业科学,1995(2): 30~ 32
- 7 葛 诚.微生物肥料的生产应用及其发展.北京:中国农业科技出版社,1996. 66~ 74, 166~ 168
- 8 南京农业大学.土壤农化分析.第 2版.北京:农业出版社,1990

Dissolving Effect of the Silicate Bacteria to Soil Nutrients

Xue Quanhong Li Siujian Zhang Jiuhong Shen Jianwei Shang Haobo

(Department of Resources and Environmental Science, Northwestern
Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The dissolving effect of the silicate bacteria to the K, P, Si, Ca, Fe, Mn and Zn elements in the mineral of loess soil and sand at the culture condition with nitrogen and no nitrogen by the liquid culture and chemical analyses methods. The results indicated that^① The silicate bacteria tested can produce acid in the liquid culture with the carbon source of starch, glucose and sucrose. The pH of the cultural liquid decreased 1.2 ~ 1.8 pH unite and 0.7~ 1.2 pH unite at adding sand and loess soil to supporting the phosphorous-potassium element, respectively.^② The quantity of the K, P, Si, Ca, Fe and Mn elements dissolved enhanced 27.9% ~ 39.2%, 19.3%, 16.1% ~ 71.0%, 342.0%, 150.6% and 1463.9% than the check experiment by the silicate bacteria, respectively.^③ The dissolving effect of the silicate bacteria to the elements in the mineral was strong in the culture with nitrogen than without nitrogen.^④ The zinc element didn't dissolved by silicate bacteria in loess soil.

Key words biological potassium fertility, silicate bacteria, soil nutrient, biological dissolving effect