

网络出版时间:2020-09-25 13:45 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2021.03.010
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200924.1246.010.html

温度和干旱胁迫下绳状青霉菌 P1 的溶磷能力研究

张建峰,王冠雄,黄 佳,姚宗沐,张洁婧

(吉林农业大学 生命科学院,吉林 长春 130118)

[摘 要] **【目的】**探究绳状青霉菌(*Penicillium funiculosum*) P1 对绿豆种子萌发的作用及其在温度和干旱胁迫下的溶磷能力,为生物磷肥的研制提供菌种资源和理论依据。**【方法】**将绿豆种子消毒后,用沾蘸法沾绳状青霉菌 P1 菌悬液,置于铺有 2 层湿滤纸的无菌培养皿中 28 ℃ 培养 4 d,以沾无菌水的处理为对照,测定绿豆种子的发芽率、发芽势、鲜质量、干质量、芽长、根长、发芽指数和活力指数,分析 P1 对绿豆种子萌发的影响。测定不同干旱程度(极轻度、轻度、中度、重度)和不同温度(5,10,12,15,20,25,28,35 和 40 ℃)条件下 P1 的溶磷能力,分析环境胁迫对 P1 解磷能力的影响。**【结果】**绳状青霉 P1 对绿豆种子萌发具有良好的促生效果,与对照相比,绳状青霉 P1 使绿豆幼苗的芽长和根长分别增长了 149.14% 和 50.21%,发芽率提高了 86.67%,种子活力提升了 237.25%。绳状青霉 P1 在干旱胁迫下仍具有很强的溶磷能力,在重度干旱胁迫下的溶磷量可达 418.85 mg/L。P1 在 10~35 ℃ 的条件下均能生长且具备溶磷能力,10 ℃ 条件下的溶磷量为 34.67 mg/L,28 ℃ 条件下的溶磷量为 120.52 mg/L,35 ℃ 条件下的溶磷量为 364.97 mg/L。**【结论】**绳状青霉菌 P1 是一株对环境适应性较好且能促进植物生长的菌株,可用于制备微生物菌肥。

[关键词] 溶磷真菌;溶磷能力;绳状青霉菌;干旱胁迫;温度胁迫

[中图分类号] Q939.96

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2021)03-0086-07

Effects of *Penicillium funiculosum* P1 on P-solubilization ability under temperature and drought stress

ZHANG Jianfeng, WANG Guanxiong, HUANG Jia, YAO Zongmu, ZHANG Jiejing

(College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: **【Objective】** The effects of *Penicillium funiculosum* P1 on germination of mung bean seeds and its P-solubilization ability under temperature and drought stress were studied to provide microorganism resources and basis for development of biophosphate fertilizer. **【Method】** The sterilized mung beans were dipped with P1 bacterial suspension and placed in a sterile Petri dish with two layers of wet filter paper and cultured at 28 ℃ for 4 days. Taked sterile water treatment as control. The germination rate, germination potential, fresh weight, dry weight, bud length, root length, germination index and seed vigor of mung beans were determined to analyze the effect of P1 on germination of mung beans. The effect of environmental stress on P-solubilization ability of P1 was also analyzed by studying the P-solubilization ability of P1 under different drought degree (extremely mild drought, mild drought, moderate drought, severe drought) and temperature (5,10,12,15,20,25,28,35,40 ℃) stresses. **【Result】** *Penicillium funiculosum* P1 had good effects on germination of mung beans, and shoot length, root length, germination rate and seed vigor were

[收稿日期] 2020-03-05

[基金项目] 国家自然科学基金国际合作与交流项目(41920104008);吉林省教育厅项目(JJKH20180687KJ);吉林省科技厅项目(20190303070SF);长春市科技局项目(18DY020)

[作者简介] 张建峰(1973—),男,吉林长春人,教授,博士,主要从事农业微生物研究。E-mail:88657158@qq.com

[通信作者] 张洁婧(1983—),女,吉林长春人,副教授,博士,主要从事农业微生物和生物化工研究。E-mail:zjjx124@163.com

increased by 149.14%, 50.21%, 86.67% and 237.25%, respectively. P1 still had strong P-solubilization ability under drought stress, and the amount of dissolved phosphorus reached 418.85 mg/L. P1 could grow at 10–35 °C with p-solubilization ability. The amount of dissolved phosphorus reached 34.67 mg/L at 10 °C, 1 120.52 mg/L at 28 °C, and 364.97 mg/L at 35 °C. 【Conclusion】 With good environmental adaptability and ability of promoting plant growth, *Penicillium funiculosum* P1 has the potential to prepare biophosphate fertilizer.

Key words: phosphate solubilizing fungi; P-solubilization ability; *Penicillium funiculosum*; drought stress; temperature stress

磷是植物生长发育的必要元素之一^[1],在植物生长过程中起着重要作用^[2]。但是,植物对磷肥的利用效率仅为 5%~25%^[3]。磷肥的过量使用会导致土壤板结、植物根系生长受抑制、土壤中营养比例严重失调等不良结果。因此,提高磷肥使用效率对农业的可持续发展具有重要意义。溶磷微生物通过分泌有机酸或质子,降低土壤 pH,将土壤中的难溶磷转化为可溶性磷。大量研究表明,溶磷微生物不仅能将难溶性磷转化为可溶性磷供植物利用,而且能分泌生长素促进植物生长^[4-5]。Ahmad 等^[6]研究表明,溶磷菌株 Q3 和 Q6 使棉花幼苗芽长分别增加了 71% 和 59%,根长增加了 162% 和 136%,鲜质量分别增加了 75% 和 87%。Ouahmane 等^[7]研究表明,溶磷菌株 PH4 使樟子松幼苗鲜质量增加了 1.43 倍。溶磷微生物数量约占土壤微生物总量的 10%,其种类多样^[8],包括细菌^[9-10]、真菌^[11-12]、放线菌^[13-14]。大多数溶磷微生物只有在适应的环境条件下才会正常溶磷^[15],恶劣的自然环境条件会严重影响其代谢,从而降低其溶磷能力。Hueso 等^[16]和叶德练等^[17]研究表明,干旱胁迫会影响微生物呼吸,从而影响其活性。目前抗旱能力强的溶磷菌株比较少见。林凤莲等^[18]研究发现,大部分溶磷菌株的溶磷量均随着干旱胁迫程度的加剧呈显著下降趋势,在重度干旱胁迫下,P6、P7 和 P25 的溶磷量分别下降了 74.96%, 86.97% 和 44.43%。可见干旱胁迫会严重抑制溶磷菌的溶磷能力。土壤温度也是影响土壤微生物生长最主要的因素^[19],不同的微生物群落有着其特定的温度适应范围。我国北方地区极端最低气温为 -42 °C,极端最高气温可达 36.1 °C^[20],温度过低会使微生物减少或停止正常的代谢活动,而温度过高会破坏微生物呼吸酶导致微生物不能正常生长^[21]。巩文峰等^[22]研究表明,溶磷菌株 PSB19 在 10 °C 的低温条件下生长良好。李鸣晓等^[23]研究表明,在 50 °C 下培养溶磷菌株 P1~P5 7 d 后,其溶磷量为 30.9~47.6 mg/L。目前报道的

温度适应性好、耐干旱的溶磷菌株较少,且多为细菌,尚未见溶磷真菌的相关报道,因此筛选一株抗旱能力强且温度适应性好的溶磷真菌具有重要意义。本课题组前期从吉林西部盐碱土壤中分离鉴定出一株绳状青霉菌 P1,该菌在适宜温度下溶磷能力很强,可以达到 1 120.52 mg/L(目前溶磷能力较强的微生物的溶磷量为 900~1 100 mg/L)。为了探讨绳状青霉菌 P1 对植物生长的作用及干旱和温度胁迫对其溶磷能力的影响,本试验研究了其对绿豆种子萌发的影响及其在不同温度和模拟干旱胁迫下的生物量、溶磷量以及发酵液 pH,以期为生物磷肥的研制提供菌种资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株:绳状青霉菌(*Penicillium funiculosum*)P1,筛选自长春市农安县西的盐碱土壤,为吉林农业大学秸秆生物学与利用教育部重点实验室 - 80 °C 冰箱中保存菌种。绿豆种子为中绿一号,购买于湖北省宜昌市民源种子专营店。

种子培养基为 PDA 培养基:去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 L, pH 自然。NBRIP 培养基:葡萄糖 10 g, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.3 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.03 g, MnSO₄ · 4H₂O 0.03 g, Ca₃(PO₄)₂ 7 g,蒸馏水 1 L, pH 8。

1.2 P1 对绿豆种子萌发的影响

绿豆种子用质量分数 2% 次氯酸钠溶液消毒 1 min,然后用蒸馏水冲洗 5 次。P1 在 PDA 培养基中 28 °C 培养 72 h,用无菌水制成孢子悬液(1 × 10⁴ CFU/mL)。将绿豆种子用沾蘸法沾 P1 菌悬液 5 s,置于铺有 2 层湿滤纸的无菌培养皿中,保持水的高度在种子的 1/2 处,以无菌水处理种子做对照,每处理重复 3 次,在 28 °C 培养箱中培养 4 d,相对湿度为 85%,记录绿豆种子的发芽率、根长、芽长、鲜质量、

干质量、发芽势、发芽指数和活力指数。具体计算公式^[24]为:发芽率(r)= $N_4/N\times 100\%$,其中 N_4 为处理 4 d 内发芽的种子粒数, N 为供试种子数;发芽势(p)= $N_3/N\times 100\%$,其中 N_3 为处理 3 d 内发芽的种子粒数;发芽指数= $\Sigma(Gt/Dt)$,其中 Gt 为每天发芽种子数, Dt 为发芽时间。活力指数=第 4 天幼苗鲜质量 $\times$ 发芽指数。

1.3 干旱胁迫下 P1 的溶磷能力测定

种子悬液的制备:将保存的 P1 菌种在 PDA 固体培养基上进行活化,培养 72 h 后制成孢子悬液(1×10^8 CFU/mL)。向 NBRIP 培养基中加入聚乙二醇 6000(polyethylene glycol, PEG),制成极轻度(50 g/L PEG)、轻度(100 g/L PEG)、中度(200 g/L PEG)和重度(300 g/L PEG)干旱胁迫培养基^[18]。取 2 mL 种子悬液分别接入到盛有 100 mL NBRIP 培养基的 250 mL 三角瓶中,同时设定不接种处理为对照(CK),于摇床中振荡培养(28 ℃, 160 r/min),每处理 3 个重复。分别在培养的 0,1,2,3,5,7,9,11,13 d 测量溶磷量、pH、P1 生物量。pH 用酸碱度检测仪在室温(25 ℃)下测定。P1 生物量测定前,向三角瓶中添加稀盐酸将剩余磷酸钙完全溶解,蒸馏水洗涤 3 次后再用真空抽滤机过滤,烘干称质量。取 4 mL 菌液于 12 000 r/min 离心 5 min,上

清液用钼蓝比色法测定磷含量。

1.4 温度胁迫下 P1 的溶磷能力测定

P1 种子悬液的制备同 1.3 节。取 2 mL P1 种子悬液分别接入到盛有 100 mL NBRIP 培养基的 250 mL 三角瓶中,同时设定不接种处理为对照,分别于 5,10,12,15,20,25,28,35,40 ℃摇床中振荡培养(160 r/min),每处理 3 个重复。分别在培养的 1,2,3,5,7,9,11,13,15,17 d 测量溶磷量、pH、P1 生物量,测定方法见 1.3 节。

1.5 数据处理

试验数据用“平均值 $\pm$ 标准误”表示,采用 Excel 进行统计,采用 Origin 8.0 制图。

2 结果与分析

2.1 P1 对绿豆种子萌发的影响

由表 1 可知,P1 菌悬液对绿豆种子萌发有明显的促进作用;与 CK 相比,P1 菌悬液使绿豆幼苗的芽长和发芽率分别极显著增长了 149.14% 和 86.67%,绿豆幼苗的根长和鲜质量分别显著增长了 50.21% 和 44.44%;与 CK 相比,P1 菌悬液使绿豆幼苗的发芽势、发芽指数和活力指数分别极显著提高了 95.33%,132.28% 和 237.25%;P1 菌悬液处理与 CK 的干质量无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 绳状青霉菌 P1 对绿豆种子萌发的影响

Table 1 Effect of *Penicillium funiculosum* P1 on mung bean seed germination

处理 Treatment	芽长/mm Shoot length	根长/mm Root length	鲜质量/g Fresh weight	干质量/g Dry weight
P1	80.92 $\pm$ 7.27**	35.60 $\pm$ 5.21*	0.26 $\pm$ 0.04*	0.04 $\pm$ 0.00
CK	32.48 $\pm$ 4.28	23.70 $\pm$ 2.58	0.18 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.00
处理 Treatment	发芽率/% Germination rate	发芽势/% Germination energy	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
P1	93.33 $\pm$ 0.00**	93.33 $\pm$ 0.00**	13.17 $\pm$ 1.25**	3.44 $\pm$ 0.58**
CK	50.00 $\pm$ 3.33	47.78 $\pm$ 1.67	5.67 $\pm$ 0.30	1.02 $\pm$ 0.17

注: * 和 ** 分别表示与对照相比差异达显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)水平。
Note: Compared with the control group, * $P<0.05$ and * * $P<0.01$ represents significant and extremely significant differences, respectively.

2.2 干旱胁迫对 P1 溶磷能力的影响

由图 1 可知,随着干旱程度的加剧,P1 生物量下降,导致其最大溶磷能力逐渐降低。但是,P1 溶解磷酸钙的能力依然很强,在重度干旱胁迫下的溶磷能力仍可达 418.85 mg/L。在培养前 5 d 内,干旱胁迫处理的溶磷量大于对照,这可能是受干旱胁迫的影响,P1 的产酸能力在生长初期增强,故其溶磷能力随干旱胁迫的增强而增大。

2.3 培养温度对 P1 溶磷能力的影响

由表 2 和表 3 可知,P1 在 10~35 ℃下均能够生长,并具有溶磷能力,且在 28 ℃时生物量最大,溶

磷量在 7 d 后达到平台期,最大溶磷量可达 1 120.52 mg/L。当培养温度低于 28 ℃时,P1 生物量和溶磷量均明显下降,并且进入平台期的时间点会后移,分析可能是由于温度低导致 P1 生长速率变慢,致使产酸速率降低,导致溶磷量下降。如表 2, P1 在 10,12,15,20 和 25 ℃时在 11 d 后达到平台期,最高溶磷量分别为 34.67, 59.62, 493.92, 1 082.90 和 1 092.58 mg/L。当培养温度高于 28 ℃时,P1 的生物量和溶磷量也明显降低,P1 在 35 ℃时,最高溶磷量为 364.97 mg/L,但最大溶磷量和生物量出现的时间点会前移,这与高温增加了微生物

的生长速率,导致产酸速率提高有关。由此可见,温度低于或高于 28 ℃时都会影响 P1 的溶磷能力。

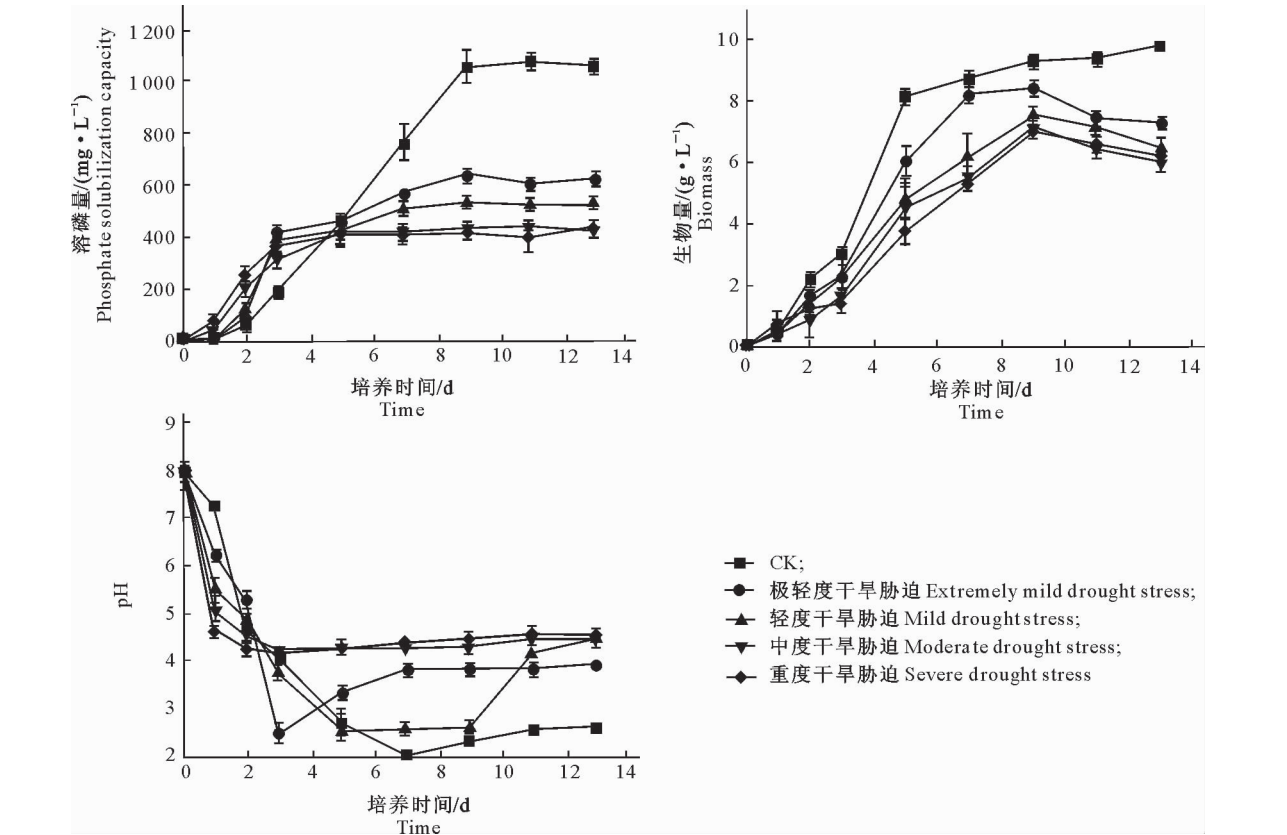


图 1 干旱胁迫对绳状青霉菌 P1 溶磷能力的影响

Fig.1 Effect of drought stress on P-solubilization capacity of *Penicillium funiculosus* P1

由表 2~4 可知,P1 的溶磷能力与 pH 呈负相关关系,与生物量基本呈正相关关系,这说明生物量的累积会增加 P1 分泌有机酸或质子的数量从而促进溶磷,也进一步说明产酸是 P1 溶解磷酸盐的主要原因。

表 2 培养温度对绳状青霉菌 P1 溶磷量的影响

Table 2 Effect of temperature on P-solubilization capacity of *Penicillium funiculosus* P1

温度/℃ Temperature	溶磷量/(mg · L ⁻¹) P-solubilization capacity				
	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
10	0.00±0.00	0.00±0.00	2.28±0.68	5.95±1.51	9.46±0.92
12	0.00±0.00	0.00±0.00	2.28±0.68	3.13±3.12	7.94±6.45
15	0.00±0.00	0.00±0.00	2.72±1.37	5.90±3.14	29.04±8.97
20	0.00±0.00	0.00±0.00	5.63±1.48	126.65±9.08	237.67±13.58
25	0.00±0.00	13.48±5.38	55.65±19.02	397.80±66.81	644.17±51.96
28	4.67±2.08	63.15±14.25	186.43±21.03	457.20±25.91	763.42±73.00
35	9.08±1.59	19.12±5.52	43.28±10.02	295.23±37.43	335.94±49.40
40	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

温度/℃ Temperature	溶磷量/(mg · L ⁻¹) P-solubilization capacity				
	9 d	11 d	13 d	15 d	17 d
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
10	14.11±1.97	26.97±5.24	34.67±4.72	31.83±6.02	34.40±6.08
12	16.32±2.48	24.83±4.64	45.32±13.10	58.30±11.01	59.62±13.00
15	85.70±10.30	175.82±12.17	484.33±7.67	477.94±27.84	493.92±31.71
20	377.15±40.20	634.24±132.99	1 062.68±97.59	1 039.54±43.42	1 082.90±79.29
25	823.60±49.46	869.95±62.26	1 045.85±22.08	1 043.60±43.61	1 092.58±13.64
28	1 056.7±64.22	1 120.52±37.60	1 065.29±24.10	1 074.66±32.98	1 040.68±16.68
35	347.29±8.40	364.97±13.50	343.64±4.93	350.13±23.73	364.08±15.82
40	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

表 3 培养温度对绳状青霉菌 P1 生物量的影响
Table 3 Effect of temperature on biomass of *Penicillium funiculosum* P1

温度/℃ Temperature	生物量/(g·L ⁻¹) Biomass				
	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.58±0.15	1.87±0.05
12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.48±0.15	1.87±0.10
15	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.05±0.17	1.77±0.22
20	0.00±0.00	0.00±0.00	0.24±0.08	2.57±0.19	3.62±0.28
25	0.33±0.08	2.11±0.12	2.78±0.32	4.40±0.17	8.51±0.24
28	0.46±0.02	2.25±0.17	3.06±0.17	8.20±0.10	8.74±0.21
35	1.32±0.26	2.50±0.24	3.46±0.24	3.61±0.11	3.84±0.15
40	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

温度/℃ Temperature	生物量/(g·L ⁻¹) Biomass				
	9 d	11 d	13 d	15 d	17 d
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
10	1.93±0.15	2.02±0.13	2.26±0.07	2.04±0.10	2.27±0.13
12	1.78±0.38	2.08±0.09	1.94±0.28	2.12±0.13	2.05±0.14
15	2.38±0.14	3.03±0.15	3.68±0.12	3.48±0.10	3.41±0.15
20	6.82±0.08	6.48±0.20	6.64±0.27	6.05±0.12	5.88±0.07
25	9.15±0.16	9.24±0.22	9.56±0.28	8.66±0.15	8.33±0.19
28	9.35±0.16	9.41±0.16	9.81±0.13	8.54±0.14	8.20±0.08
35	3.59±0.28	3.79±0.31	3.38±0.32	3.63±0.25	3.54±0.25
40	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

表 4 培养温度对绳状青霉菌 P1 pH 的影响
Table 4 Effect of temperature on pH of *Penicillium funiculosum* P1

温度/℃ Temperature	pH				
	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d
5	7.92±0.10	7.68±0.08	7.75±0.12	7.49±0.03	7.48±0.12
10	7.79±0.09	7.70±0.09	7.62±0.07	7.02±0.18	6.48±0.15
12	7.83±0.06	7.74±0.12	7.61±0.11	7.05±0.25	6.71±0.12
15	7.82±0.10	7.72±0.10	7.42±0.09	6.95±0.11	6.18±0.07
20	7.68±0.03	7.13±0.11	6.45±0.11	4.63±0.11	3.94±0.06
25	7.50±0.05	5.45±0.10	4.72±0.11	3.51±0.07	2.13±0.02
28	7.27±0.03	4.68±0.03	4.09±0.07	2.70±0.29	2.01±0.01
35	5.82±0.17	5.31±0.14	4.87±0.14	3.59±0.17	3.54±0.08
40	7.78±0.07	7.75±0.22	7.91±0.08	7.93±0.17	7.90±0.09

温度/℃ Temperature	pH				
	9 d	11 d	13 d	15 d	17 d
5	7.42±0.10	7.51±0.16	7.54±0.07	7.57±0.13	7.55±0.08
10	6.26±0.06	6.27±0.17	6.28±0.15	6.24±0.07	6.21±0.07
12	6.33±0.09	6.20±0.06	6.21±0.05	6.27±0.08	6.33±0.11
15	5.77±0.06	4.27±0.05	4.49±0.04	4.50±0.19	4.46±0.15
20	2.79±0.07	2.21±0.04	2.32±0.06	2.48±0.11	3.39±0.13
25	2.05±0.02	2.22±0.05	2.25±0.01	3.61±0.10	3.85±0.06
28	2.34±0.05	2.55±0.04	2.61±0.02	3.79±0.24	4.41±0.11
35	3.63±0.08	3.54±0.09	3.65±0.08	3.66±0.06	3.90±0.05
40	7.74±0.04	7.96±0.13	7.90±0.24	7.54±0.25	7.93±0.10

3 讨 论

种子萌发是植物生命周期中最关键的阶段之一,研究表明根际促生菌(PGPR)可促进种子萌发^[25]。Yoo^[26]研究表明,萝卜种子接种 *A. chroococcum* 孢子悬浮液(1×10⁷ CFU/mL)培养 4 d 后,

与未接种对比,芽长提高了 20 mm,根长提高了 28 mm,发芽率提高了 41.67%。Delgado-Sánchez 等^[27]的研究表明,真菌的孢子悬液有助于打破种子休眠期而提升发芽率。Zhao 等^[28]研究发现,接种 HPP16 菌悬液的绿豆发芽率比 CK 提高了 35.48%。本研究中,P1 对绿豆种子萌发的促生作用

明显优于 HPP16。菌株 P1 的菌悬液对绿豆种子萌发有较好的促生效果,可能是其菌悬液在接种至绿豆种子的 4 d 内,孢子萌发形成菌丝体,菌丝体释放生长素(IAA 和铁载体),促进了绿豆种子萌发。但是,大多数溶磷微生物只有在适宜的环境条件下才会正常溶磷^[29],恶劣的自然环境条件会严重影响微生物的代谢,从而影响其功能。P1 如果具有良好的环境适应性,将是一株非常有潜力应用于农业生产的溶磷菌。因此,后续试验应对 P1 的环境适应能力进行研究。

干旱胁迫会严重影响微生物呼吸、生长和活性^[16-17]。在本研究中,随着干旱程度的加剧,P1 的最大溶磷能力逐渐降低,这与林凤莲等^[18]的研究结果相似,但 P1 在重度干旱胁迫下的溶磷量仍然可达 418.85 mg/L,是文献[18]中菌株 P8 和 P19 溶磷量的 3 倍多。

温度是影响微生物活性的重要因素,低温会对细胞膜、酶活性及 DNA 复制和细胞结构造成严重的破坏^[30]。同样,温度过高酶会失去活性,使代谢发生障碍。因此筛选一株对温度适应性强的溶磷菌株在农业生产中有重大意义。巩文峰等^[22]研究表明,溶磷菌株 PSB19 在 4~30 ℃ 的条件下均能生长,但在 20 ℃ 以下生长有所延迟。P1 在 10~35 ℃ 的条件下均能生长,在 20 ℃ 以下生长延迟且生物量低,这是因为随着温度的降低,微生物细胞内的酶活性下降,使得代谢过程中各种生化反应速度减慢,破坏了生化反应的协调性,导致微生物的繁殖速度减慢^[21]。但 P1 的解磷能力与同类菌相比仍然较高,梁艳琼等^[31]的研究结果表明,黑曲霉 PSFM 在 34 ℃ 下培养 6 d 后,发酵液中溶磷量达到 317.45 mg/L,而菌株 P1 在 35 ℃ 时溶磷量可达 364.97 mg/L。

4 结 论

绳状青霉菌 P1 对绿豆种子萌发有良好的促生效果,使绿豆幼苗的芽长和根长分别增长了 149.14% 和 50.21%,使发芽率提高了 86.67%,种子活力指数提升了 237.25%。P1 在干旱胁迫下仍具有很强的溶磷能力,在重度干旱胁迫下溶磷量可达 418.85 mg/L。P1 在 10~35 ℃ 的条件下均能生长且具备溶磷能力,10 ℃ 时溶磷量可达 34.67 mg/L,35 ℃ 时溶磷量可达 364.97 mg/L。由此可见,绳状青霉 P1 是一株对环境适应性较好且能促进植物生长的菌株,是制备微生物菌肥的良好菌种。

[参考文献]

- [1] Maharajan T, Ceasar S A, Ajeesh Krishna T P, et al. Utilization of molecular markers for improving the phosphorus efficiency in crop plants [J]. *Plant Breeding*, 2017, 137(1): 10-26.
- [2] Munir A, Mahtab A, Ahmed H, et al. Aging effects of organic and inorganic fertilizers on phosphorus fractionation in a calcareous sandy loam soil [J]. *Pedosphere*, 2018, 28(6): 873-883.
- [3] Schnug E, Haneklaus S H. The enigma of fertilizer phosphorus utilization [J]. *Phosphorus in Agriculture: 100% Zero*, 2016(2): 7-26.
- [4] Awais M, Tariq M, Ali A, et al. Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2017(11): 312-321.
- [5] Mehta P, Chauhan A, Mahajan R, et al. Strain of *Bacillus circulans* isolated from apple rhizosphere showing plant growth promoting potential [J]. *Current Science*, 2010, 98(4): 538-542.
- [6] Ahmad M, Ahmad I, Hilger T H, et al. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions [J]. *PeerJ*, 2018(6): e5122.
- [7] Ouahmane L, Revel J C, Hafidi M, et al. Responses of *Pinus halepensis* growth, soil microbial catabolic functions and phosphate-solubilizing bacteria after rock phosphate amendment and ectomycorrhizal inoculation [J]. *Plant and Soil*, 2009, 320(1/2): 169-179.
- [8] 林启美, 赵海英, 赵小蓉. 4 株溶磷细菌和真菌溶解磷矿粉的特性 [J]. *微生物学通报*, 2002, 29(6): 24-28.
Lin Q M, Zhao H Y, Zhao X R. The characteristics of solubilizing rock phosphate by four isolates of bacteria and fungi [J]. *Microbiology China*, 2002, 29(6): 24-28.
- [9] Zheng B X, Ibrahim M, Zhang D P, et al. Identification and characterization of inorganic-phosphate-solubilizing bacteria from agricultural fields with a rapid isolation method [J]. *AMB Express*, 2018, 8(1): 47-58.
- [10] Suleman M, Yasmin S, Rasul M, et al. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(9): e0204408.
- [11] 魏 伟, 吴小芹, 乔 欢. 马尾松根际高效解磷真菌的筛选鉴定及其促生效应 [J]. *林业科学*, 2014, 50(9): 82-88.
Wei W, Wu X Q, Qiao H. Screening and identification of phosphate-solubilizing fungi of *Pinus massoniana* rhizosphere and its application [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2014, 50(9): 82-88.
- [12] Silva U D C, Mendes G D O, Silva N M R M, et al. Fluoride-tolerant mutants of *aspergillus niger* show enhanced phosphate solubilization capacity [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(10): e110246.
- [13] 丛新华. 2 株溶磷放线菌溶磷特性研究及抗病促生活性初探 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.

- Cong X H. Phosphate solubilizing characteristics of two strains of phosphate solubilizing actinomycetes and preliminary study on their resistance to disease and promoting growth [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.
- [14] Zhang B H, Salam N, Cheng J, et al. *Modestobacter lacusdi-anchii* sp. nov. a phosphate-solubilizing actinobacterium with ability to promote microcystis growth [J]. PLoS ONE, 2016, 11(8): e0161069.
- [15] Mundra S, Arora R, Stobdan T. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel temperature-, pH-, and salt-tolerant yeast, *Rhodotorula* sp. PS4, isolated from seabuckthorn rhizosphere, growing in cold desert of Ladakh, India [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2011, 27(10): 2387-2396.
- [16] Hueso S, García C, Hernández T. Severe drought conditions modify the microbial community structure, size and activity in amended and unamended soils [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2012, 50: 167-173.
- [17] 叶德练, 齐瑞娟, 管大海, 等. 免耕冬小麦田土壤微生物特征和土壤酶活性对水分调控的响应 [J]. 作物学报, 2015, 41(8): 1212-1219.
- Ye D L, Qi R J, Guan D H, et al. Response of soil microbial characteristics and soil enzyme activity to irrigation method in no-till winter wheat field [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(8): 1212-1219.
- [18] 林凤莲, 俞新玲, 林勇明, 等. 不同磷酸盐条件和 PEG 模拟干旱胁迫下桉树根际解无机磷细菌的溶磷能力 [J]. 东北林业大学学报, 2016, 44(9): 93-98.
- Lin F L, Yu X L, Lin Y M, et al. Phosphate-solubilizing capacity of phosphate-solubilizing bacteria in eucalyptus rhizosphere under drought stress simulated by PEG and different insoluble phosphates conditions [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2016, 44(9): 93-98.
- [19] Davidson E A, Belk E, Boone R D. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest [J]. Global Change Biology, 1998, 4(2): 217-227.
- [20] 付 强, 马梓昇, 李天霄, 等. 北方高寒区不同覆盖条件下土壤温度差异性分析 [J]. 农业机械学报, 2014, 45(12): 152-159.
- Fu Q, Ma Z A, Li T X, et al. Variability of soil temperature under different coverage conditions in alpine region of China [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(12): 152-159.
- [21] 施邑屏. 温度与微生物 [J]. 微生物学通报, 1982, 9(6): 41-44.
- Shi Y P. Temperature and microorganisms [J]. Microbiology China, 1982, 9(6): 41-44.
- [22] 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.
- Gong W F, Xing Y Q, Zhuoma Q C, et al. Isolation, identification and low temperature adaptation of a phosphorus solubilizing bacteria from rhizosphere soil of *Rhodiola fastigiata* in Sehgya Mountains [J]. Journal of Southern Agriculture, 2018, 49(2): 280-286.
- [23] 李鸣晓, 席北斗, 魏自民, 等. 耐高温解磷菌的筛选及解磷能力研究 [J]. 环境科学研究, 2008(3): 165-169.
- Li M X, Xi B D, Wei Z M, et al. Screening and characterization of phosphate-solubilizing microorganisms at high temperature [J]. Research of Environmental Sciences, 2008(3): 165-169.
- [24] 陈士林. 玉米种子活力与田间苗期性状相关性研究 [J]. 种子, 2003, 21(4): 35-37.
- Chen S L. Genetic of seed pigment of black kernel wheat [J]. Seed, 2003, 21(4): 35-37.
- [25] 花东来, 欧秀玲, 祝建波, 等. PGPR 菌液处理对新疆加工番茄种子萌发的影响 [J]. 新疆农业科学, 2013, 50(3): 484-489.
- Hua D L, Ou X L, Zhu J B, et al. Effect of PGPR bacterial liquid on germination of Xinjiang processing tomato seed [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2013, 50(3): 484-489.
- [26] Yoo J H. Effects of inoculation of rhizomicrobial strains on plant growth at the early germination stage [J]. Journal of Applied Biological Chemistry, 2014, 57(2): 153-157.
- [27] Delgado-Sánchez P, Ortega-Amaro M A, Jiménez-Bremont J F, et al. Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae) [J]. Plant biology, 2011, 13(1): 154-159.
- [28] Zhao H, Yan H X, Zhou S X, et al. The growth promotion of mung bean (*Phaseolus radiatus*) by *Enterobacter asburiae* HPP16 in acidic soils [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(63): 13802-13814.
- [29] 赵小蓉, 林启美, 李保国. C、N 源及 C/N 比对微生物溶磷的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2002(2): 197-204.
- Zhao X R, Lin Q M, Li B G. Effect of C, N sources and C/N ratio on the solubilization of rock phosphate by some microorganisms [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2002(2): 197-204.
- [30] D'Amico S, Collins T, Marx J C, et al. Psychrophilic microorganisms: challenges for life [J]. EMBO Reports, 2006, 7(4): 385-389.
- [31] 梁艳琼, 雷照鸣, 贺春萍, 等. 解磷菌株黑曲霉 PSFM 发酵条件优化研究 [J]. 南方农业学报, 2011, 42(3): 240-245.
- Liang Y Q, Lei Z M, He C P, et al. Optimization of fermentation condition for phosphate solubilizing fungi (*Aspergillus niger*) [J]. Journal of Southern Agriculture, 2011, 42(3): 240-245.