

文章编号: 1000-1573(2010)02-0026-06

毛竹根部解磷细菌的筛选及多样性研究

韩 烁¹, 夏冬亮¹, 李潞滨², 韩继刚¹

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002;

2. 中国林业科学研究院 林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘要: 本研究对毛竹(*Phyllostachys pubescens*)根部(包括根际、根面及内生细菌)解磷细菌进行了筛选, 并通过16S rDNA序列分析对其多样性进行了初步研究。从179株毛竹根部细菌中筛选出26株解磷细菌, 包括14株根际细菌、8株根面细菌、4株内生细菌。其中, 芽孢杆菌BK24的解磷活性最高, 其解磷活性达到369.06 mg/L。16S rDNA序列分析表明: 26株解磷细菌中, 13株属于厚壁菌门(Firmicutes, 50.00%), 5株属于变形菌门β亚群(Betaproteobacteria, 19.23%), 4株属于变形菌门γ亚群(Gammaproteobacteria, 15.38%), 4株属于放线菌门(Actinobacteria, 15.38%)。芽孢杆菌属(*Bacillus*, 38.46%)和伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*, 19.23%)为优势菌属。

关键词: 毛竹; 解磷细菌; 多样性

中图分类号: S 795.7

文献标志码: A

Diversity of the phosphate solubilizing bacteria isolated from the root of *Phyllostachys pubescens*

HAN Shuo¹, XIA Dong-liang¹, LI Lu-bin², HAN Ji-gang¹

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: 26 phosphate-solubilizing bacteria were screened from 179 rhizosphere, rhizoplane and root endophytic bacterial strains of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) plants. The phosphate-solubilizing bacteria included fourteen rhizobacteria isolates, eight rhizoplane bacteria isolates, and four endophytic bacteria isolates. *Bacillus* sp. BK24 showed the highest phosphate solubilizing activity (369.06 mg/L). Phylogenetic analysis based on the partial 16S rDNA sequences indicated that the strains were clustered into four groups: thirteen strains of Firmicutes (50.00%), five strains of Betaproteobacteria (19.23%), four strains of Gammaproteobacteria (15.38%) and four strains of Actinobacteria (15.38%). The dominant phosphate-solubilizing bacteria were *Bacillus* and *Burkholderia*, which was 38.46% and 19.23% respectively.

Key words: *Phyllostachys pubescens*; phosphate-solubilizing bacteria; diversity

① 收稿日期: 2009-09-30

基金项目: 上海市科委重大攻关计划(09dz1205001)。

作者简介: 韩 烁(1985-), 女, 在读硕士生, 主要从事植物有益微生物的研究。

通讯作者: 韩继刚(1970-), 男, 河北省保定人, 教授, 主要从事植物—微生物相互作用的研究。Email: shbg_han@gmail.com.

磷是植物生长发育必需的大量元素之一, 尽管土壤中磷的含量十分丰富, 但植物对其利用效率是很低的^[1]。大部分磷与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 结合, 成为不溶性化合物, 造成土壤中可溶性磷酸盐的浓度非常低, 一般 1 kg 土壤中含磷量为 400~1 200 mg^[2]。土壤中可溶性磷的缺乏影响了植物的生产力^[3]。因此, 土壤难溶性的无机磷向可溶性磷的转化和有机磷的生物矿化对植物磷的营养需要十分重要^[4]。目前已知, 土壤中存在的解磷微生物(Phosphate-solubilizing microorganisms), 能够将难溶性磷酸盐转化为植物可吸收利用的形态。解磷微生物能够通过酸化、螯合作用以及交换反应等机制将不溶性磷转化成可溶性磷, 从而增加土壤中可溶性磷的含量^[5]。因此, 开展解磷细菌的筛选及其解磷能力的研究, 对于提高土壤中磷的利用效率, 改善土壤营养环境及提高作物产量都有积极的促进作用。

研究有关解磷微生物对土壤难溶态磷的转化和利用已有多年。据不完全统计, 目前全世界共筛选出 30 属 89 种解磷微生物, 其中真菌 27 种, 细菌 58 种, 放线菌 4 种^[6-7]。然而由于解磷微生物的分解机制不尽相同并且十分复杂, 对解磷微生物的实际应用并不普遍。一些 20 世纪 40~50 年代的老菌株还没有被替代, 依然作为生产菌株倍受重视。说明在微生物肥料生产中溶磷稳定的高效菌株还比较少, 这为优良菌株的选育工作提出了迫切任务^[8]。

毛竹(*Phyllostachys pubescens*)又名楠竹, 原产于我国, 是我国分布最广、面积最大、经济价值最高的竹种之一。毛竹生长快、产量高、用途广, 是我国森林资源的重要组成部分。

目前, 对毛竹的研究主要集中在毛竹丰产理论^[9]、毛竹遗传多样性^[10]、毛竹病虫害防治^[11]等方面的研究。在微生物方面仅见有关其土壤微生物数量和酶活性, 以及微生物遗传多样性方面的报道^[12-15], 而有关根部溶磷细菌的研究尚处于空白状态。本研究对毛竹根部解磷细菌进行了筛选, 并通过 16S rDNA 序列分析对其多样性进行了初步研究, 以期获得具有解磷活性的细菌资源, 为植物促生细菌的合理开发利用提供新的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

毛竹根部细菌共计 179 株, 其中根际细菌为 87 株, 根面细菌为 64 株, 内生细菌为 28 株, 由本实验室分离自 1 年生天然毛竹林根部。

1.2 培养基

分离培养基为 LB (Luria-Bertani) 培养基^[16], 难溶无机磷培养基为 PKO (Pikovaskaia's) 培养基^[17]。

1.3 毛竹根部解磷菌株的初筛

采用解磷圈法^[18]进行解磷菌株的初筛。将已经活化的菌株点接在 Pikovaskaia's 培养基上, 28 °C 培养 10 d。观察接种菌株周围有无透明圈形成, 以判断该菌株有无解磷能力。将有解磷活性的菌株接于斜面培养基上保存备用。

1.4 毛竹根部解磷菌株的复筛

采用解磷活性定量测定^[19]进行解磷菌株的复筛。将初筛中的阳性菌株接种于 LB 液体培养基中, 待菌悬液的浓度达到 10^8 cell/mL 时, 取 50 μL 菌悬液接种于 100 mL 液体 PKO 培养基中, 28 °C 摇床培养 6 d, 同时设不接种对照, 每个处理 3 次重复。将培养液转入离心管中, 10 000 r/min, 离心 5 min, 吸取上清液用钼酸铵比色法^[20]测定有效磷含量。用酸度计测定上清液的 pH。利用 SPSS 软件进行数据分析。

1.5 解磷细菌的 16S rDNA PCR 扩增

用无菌牙签挑取少量菌体, 悬于 20 μL 无菌 ddH₂O 中, 混匀; 沸水浴 10 min, 冰浴 5 min; 10 000 r/min, 离心 1 min; 上清液作为 PCR 反应模板。采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGHTACCT-TACGACTT-3') 扩增细菌 16S rDNA 部分序列^[21], 引物由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。PCR 扩增体系, dNTP (2.5 mmol/L) 4 μL , 27F (20 pmol/ μL) 1 μL , 1492R (20 pmol/ μL) 1 μL , 10 \times Ex Taq Buffer 5 μL ; Taq DNA 聚合酶 (5U/ μL) (TaKaRa), 补足 ddH₂O 到 50 μL 。PCR 扩增程序, 94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 1 min, 54 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min。PCR 仪为 BIOER 公司 TC-25, 凝胶成像仪为 SIM 公司 Bio-Best 300M。

1.6 解磷细菌的 16S rDNA 序列测定及系统发育学分析

PCR 扩增产物直接送交北京三博远志生物技术有限责任公司测序, 使用 Blastn 程序将所测序列与 GenBank 中的序列进行同源性比较, 获得最相近菌株的 16S rDNA 序列, 采用 MEGA 4.1 软件, Neighbor-joining 法构建系统发育树, 自展数 (Bootstrap) 为 1 000^[22]。

2 结果与分析

2.1 菌株解磷活性测定

菌株解磷能力的测定结果见表 1。179 株毛竹根部细菌中,具有解磷活性的根际细菌为 14 株,占全部毛竹根际细菌(87 株)的 16.09%;具有解磷活性的根面细菌为 8 株,占全部根面细菌(64 株)的

12.5%;具有解磷活性的内生细菌为 4 株,占全部内生细菌(28 株)的 14.29%。不同菌株溶解无机磷的能力差异显著,其中菌株 BK24 的解磷活性最高,其解磷活性为 369.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。大部分解磷菌株为产酸菌株,培养液的 pH 降低,在 4.06~6.86 之间;菌株 CL20、菌株 CL4、菌株 AL6 为产碱菌株,培养液的 pH 升高,分别为 7.33、7.57、8.07。

表 1 菌株解磷活性的测定
Table 1 Phosphate solubilizing activity of the strains isolated from the root of moso bamboo plants

菌株 Strains	解磷活性/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) Phosphate-solubilizing activity P	培养液 pH Culture pH	菌株 Strains	解磷活性/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) Phosphate-solubilizing activity P	培养液 pH Culture pH
AL12	180.61±22.85	4.25±0.02	CK2	101.02±2.75	5.26±0.59
CL20	38.50±2.34	7.33±0.12	BK2	77.80±0.87	5.03±0.04
CL58	15.07±1.55	4.85±0.06	BK11	186.08±4.05	4.72±0.11
CK53	238.14±11.96	3.83±0.10	BK3	4.92±0.78	6.86±0.08
CL26	74.41±8.69	5.90±0.09	BK10	124.90±13.37	4.68±0.04
AL3	220.66±9.39	4.91±0.11	BK24	369.06±12.32	4.06±0.07
BK29	20.25±3.95	4.42±0.10	CL13	212.62±0.80	4.96±0.02
AK21	80.26±11.68	6.37±0.06	BL8	179.83±9.94	4.83±0.03
BK42	263.56±21.27	4.52±0.10	AL6	29.01±4.27	8.07±0.03
CL28	15.06±1.09	5.42±0.09	CK42	130.84±1.25	4.84±0.12
CL26.2	201.70±7.11	4.80±0.06	CK48	129.76±4.16	4.89±0.10
CL4	21.06±5.31	7.57±0.08	CK33	94.20±7.44	4.71±0.07
CK39	74.15±6.70	5.46±0.05	CL25	250.87±21.66	4.61±0.06

2.2 解磷菌株的系统发育学分析

对 26 株具有解磷活性的毛竹根部细菌进行 16S rDNA 序列 PCR 扩增、测序,并在 GenBank 中进行序列比对(表 2),利用 MEGA 4.1 建立系统发育树(图 1)。结果表明:毛竹根部的解磷菌株分属于 4 大类群。其中,13 株属于厚壁菌门(Firmicutes)(50.0%),分别为芽孢杆菌属(*Bacillus*),类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和 *Lysinibacillus*;5 株属于变形菌门 β 亚群(Betaproteobacteria)(19.2%),均为伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*);4 株属于变形菌门 γ 亚群(Gammaproteobacteria)

(15.4%),分别为假单胞菌属(*Pseudomonas*),单胞菌属(*Stenotrophomonas*),肠杆菌属(*Enterobacter*);4 株属于放线菌门(Actinobacteria)(15.4%),分别为雷弗森菌属(*Leifsonia*)和链霉菌属(*Streptomyces*)。这一结果说明,毛竹根部解磷细菌存在着较为丰富的种群多样性。26 株解磷菌株中,10 株为芽孢杆菌(*Bacillus*),占全部菌株的 38.5%,是毛竹根部解磷细菌的最优势种群;5 株为伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*),占全部菌株的 19.23%,是毛竹根部解磷细菌的第 2 大优势种群。

表 2 解磷菌株的 16S rDNA 序列相似性分析
Table 2 16S rDNA sequence analysis of the phosphate-solubilizing bacteria strains

类群 Genus	菌株 Strains	最相近菌株(登录号) Closest strains (accession no.)	序列相似性/% Sequence similarity
<i>Bacillus</i>	BK3	<i>Bacillus thuringiensis</i> (FJ235080)	100
	BK10	<i>Bacillus thuringiensis</i> (AM747225)	99
	BK11	<i>Bacillus mycoides</i> (EU5867900)	100
	CL28	<i>Bacillus altitudinis</i> (FJ174641)	98
	BK2	<i>Bacillus pseudomyoides</i> (AM747227)	97
	CK2	<i>Bacillus</i> sp. (FJ796223)	99
	CL4	<i>Bacillus</i> sp. (FJ495142)	97
	CL26.2	<i>Bacillus</i> sp. (FJ495143)	99
	BK24	<i>Bacillus</i> sp. (FJ267543)	99
	CK39	<i>Bacillus</i> sp. (AM988968)	100

续表

类群	菌株	最相近菌株(登录号)	序列相似性/ %
Genus	Strains	Closest strains (accession no.)	Sequence similarity
<i>Paenibacillus</i>	CL13	<i>Paenibacillus</i> sp. (EU 741009)	99
	BL8	<i>Paenibacillus taichungensis</i> (EU 179327)	99
<i>Lysinibacillus</i>	AL6	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (FJ174634)	100
	AL12	<i>Burkholderia cepacia</i> (FJ608714)	100
<i>Burkholderia</i>	CK53	<i>Burkholderia cepacia</i> (FJ907187)	100
	CL58	<i>Burkholderia cepacia</i> (FJ907187)	99
	CL20	<i>Burkholderia</i> sp. (EF149007)	99
<i>Pseudomonas</i>	CL26	<i>Burkholderia</i> sp. (EU 677416)	99
	AL3	<i>Pseudomonas pavonaceae</i> (D84019)	99
	BK29	<i>Pseudomonas</i> sp. (EU 681015)	100
<i>Stenotrophomonas</i>	AK21	<i>Stenotrophomonas maltophili</i> (X95924)	99
<i>Enterobacter</i>	BK42	<i>Enterobacter hormaechei</i> (EF428236)	97
	CK42	<i>Leifsonia</i> sp. (AB366295)	99
<i>Leifsonia</i>	CK48	<i>Leifsonia</i> sp. (AB366295)	99
	CK33	<i>Leifsonia</i> sp. (AB028941)	100
<i>Streptomyces</i>	CL25	<i>Streptomyces aureofaciens</i> (AY207608)	99

本研究还发现, 具有解磷活性的根际细菌为 14 株, 分别属于 5 个已知属, 占全部毛竹根际细菌 (87 株) 的 16.09%; 具有解磷活性的根面细菌为 8 株, 分别属于 4 个已知属, 占全部根面细菌 (64 株) 的 12.5%; 具有解磷活性的内生细菌为 4 株, 分别属于 3 个已知属, 占全部内生细菌 (28 株) 的 14.29%。

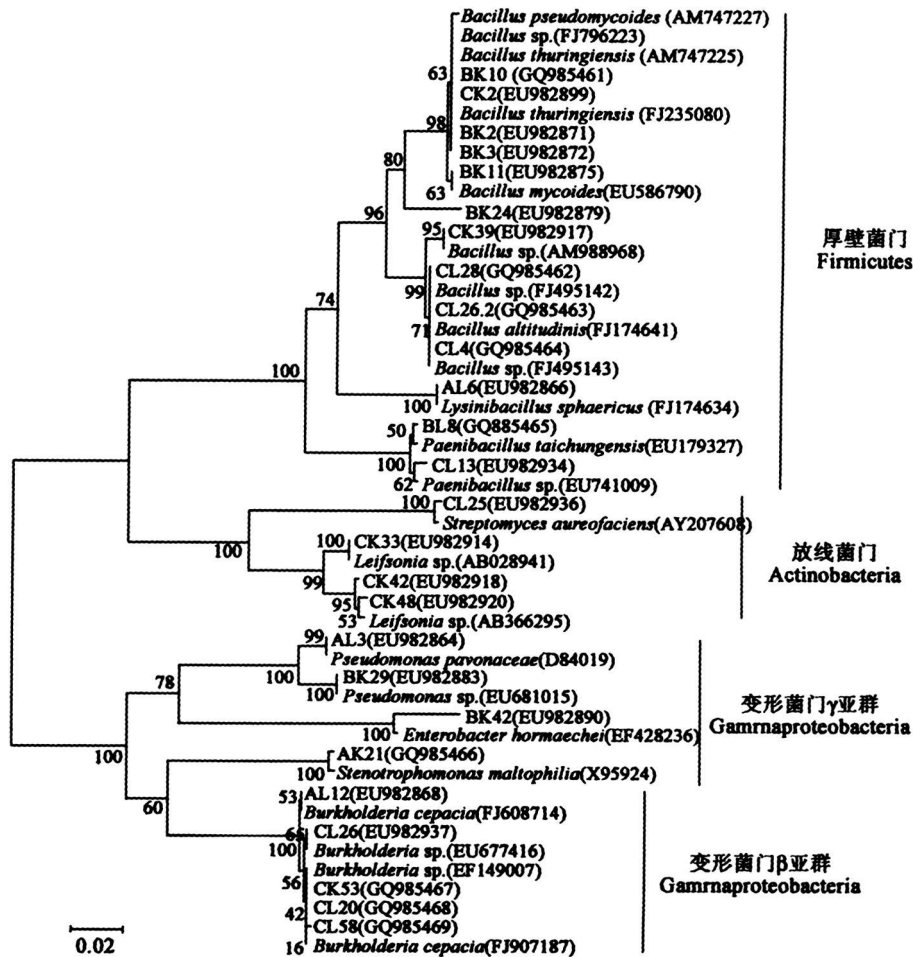


图 1 基于 16S rDNA 序列分析的解磷菌株系统发育树

Fig. 1 Neighbor-joining tree of the phosphate-solubilizing bacterial strains

3 讨论与结论

土壤中的磷多以难溶性或者微溶性的磷酸钙、羟磷灰石、磷酸铝等形式存在,使得土壤中可以被植物利用的磷酸盐的含量很少^[23],当缺乏可利用的磷酸盐时,植物的生长通常会受到限制。因此,研究土壤中磷的转化具有重要的现实意义。

目前已知,土壤微生物在磷的转化方面有重要作用,土壤中的一些细菌和真菌都具有解磷活性。其中,芽孢杆菌是发现最早、解磷效果最好、推广应用最广的一类解磷细菌^[24]。本研究中发现,毛竹根部解磷细菌中,芽孢杆菌属为优势种群。

伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)广泛存在于自然界中,但是却很少作为溶磷微生物被报道。本研究却发现伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)作为解磷细菌的第2优势种群存在于毛竹根部。推测这一结果与竹类植物根部特殊的生理结构和生理活动有关。植物在生长发育过程中,许多病原微生物会对寄主植物造成伤害,也可能对解磷菌具有毒害作用,而伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)在农业领域中具有生物防治、生物降解等多种生物学功能^[25]。因此,可以对分离出的具有解磷活性的伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)进行更深入的研究,以期获得更加稳定、高效的溶磷菌株。

目前,对于解磷微生物方面的研究主要集中于土壤和根际中,但是对于内生细菌具有解磷活性方面的研究还未见报道,但是本研究却发现有些内生细菌也具有解磷活性。植物内生细菌定植在宿主体内,能避免与其他土著微生物的竞争,不易受到外界环境条件的干扰,更有利于充分发挥其功效。它们可以通过生物固氮作用、合成铁载体协助宿主植物从土壤中离解、合成或促进植物合成多种植物生长激素(如乙烯、生长素和细胞分裂素等)、提高寄主植物对有害环境条件及有害病原生物的敏感性等方面来促进植物生长。因此,本研究还可以对所发现的具有解磷活性的内生菌其它方面的功能进一步深入研究,充分发挥其有益的生物学功效。此外,本文首次报道了 *Lysinibacillus* 和雷弗森菌(*Leifsonia*)具有解磷活性。

一般认为,微生物解磷的机制在于可以分泌有机酸,通过降低环境 pH,以及与铁、铝、钙等离子螯合,从而使难溶性的磷转化为有效磷^[19,29]。本研究中,大部分菌株(88.46%)液体发酵时培养基的 pH 都降低了,表明这些菌株是产酸的,这一结果与上述

文献报道相一致。但是,也有研究证明,解磷菌株的解磷机制因不同的菌株而有所不同,不产酸的微生物同样可以具有解磷作用^[4,27]。本研究中,CL20、CL4、AL6 等菌株液体培养时培养基的 pH 都升高了,从最初的 7.1 分别升高到 7.33、7.57 和 8.07。微生物解磷作用的强弱不仅取决于分泌酸的种类和数量,还与有机酸螯合的离子的种类和数量有关,尤其是土壤 Ca^{2+} 的数量有关^[28]。由于不同形态的磷酸盐,其结构和组成不同,微生物对其溶解能力具有差异。本研究中仅利用磷酸钙作为唯一磷源,可能造成菌株解磷能力的低估。为了对微生物解磷能力进行全面评价,可采用不同形态的磷酸盐。

解磷细菌在土壤中的分布呈现出一定的规律性,即大部分解磷细菌出现在植物根际土壤中。解磷细菌的分布表现出强烈的根际效应,根际土壤解磷细菌数量比非根际多^[29]。这可能与根圈磷素营养亏缺诱导有关,但由于根圈微生物的群落结构受根系分泌物及根脱落物的影响,导致不同植物根圈微生物的组成差别很大,这也将影响解磷细菌的种群组成^[30]。本研究发现,毛竹根际的解磷细菌种类和数量都多于毛竹根面、根内解磷细菌的种类和数量。因此,有理由推测,根际是土壤微生物进行解磷活动最为活跃的区域。

植物根部解磷细菌,是植物根部促生细菌的重要组成部分。这些有益微生物与植物具有密切的关系,开展植物促生细菌的研究对植物微生物学科的基础研究有重要的理论价值;同时,这些微生物资源在生态农业的可持续发展过程中也有着重要的应用价值。本研究过程中,首次对毛竹根部具有解磷功能的细菌得多样性进行了研究,探索了解磷细菌与毛竹之间的相互关系,为植物促生细菌的合理开发利用提供了新的有应用价值的菌种资源。

参考文献:

- [1] Selvaraj P, Munusamy M, Tongmin S. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from Chinese cabbage and their effect on growth and phosphorus utilization of plants[J]. J Microbiol Biotechnol, 2008, 18(4): 773-777.
- [2] Mathurot C, Saisamorn L. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2009, 25: 305-314.
- [3] Sridevi M, Mallaiah K V. Phosphate solubilization by rhizobium strains[J]. Indian J Microbiol, 2009, 49: 98-102.

- [4] 田宏, 李凤霞, 张德罡, 等. 草坪草解磷菌筛选及解磷能力的初步研究[J]. 草业科学, 2005, 22(10): 92-96.
- [5] Pankaj T, Tongmin S. *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures[J]. Curr Microbiol, 2008, 56: 140-144.
- [6] 杨慧, 范丙全, 龚明波, 等. 一株新的解磷草生欧文氏菌的分离、鉴定及其解磷效果的初步研究[J]. 微生物学报, 2008, 48(1): 51-56.
- [7] Popavath R N, Gurusamy R, Kannan B N, *et al.* Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil[J]. BMC Microbiology, 2008, 8: 230-243.
- [8] 范丙全, 金继运, 葛诚. 溶磷草酸青霉菌筛选及其溶磷效果的初步研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(5): 525-530.
- [9] 丁新新, 吴承祯, 洪伟, 等. 毛竹林丰产施肥技术研究[J]. 防护林科技, 2009, 2: 54-56.
- [10] 郭文霞, 牛树奎, 张彦龙, 等. 经营强度对毛竹林植物多样性的影响[J]. 河北农业大学学报, 2009, 32(4): 46-52.
- [11] 张飞萍, 尤民生. 管理措施对毛竹林节肢动物群落害虫与天敌相互作用的影响[J]. 林业科学, 2007, 43(10): 90-94.
- [12] 徐秋芳, 姜培坤. 毛竹竹根区土壤微生物数量与酶活性研究[J]. 林业科学研究, 2001, 14(6): 648-652.
- [13] 王奇赞. 应用 PCR-DGGE 方法研究毛竹土壤细菌群落结构及其遗传多样性[D]. 杭州: 浙江林学院, 2009.
- [14] 李潞滨, 刘敏, 杨淑贞, 等. 毛竹根际可培养微生物种群多样性分析[J]. 微生物学报, 2008, 48(6): 772-779.
- [15] Jigang H, Dongliang X, Lubin L, *et al.* Diversity of culturable bacteria isolated from root domains of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. Microb Ecol, 2009, 58(2): 363-373.
- [16] 沈萍, 范秀荣, 李广武. 微生物学实验[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 221.
- [17] 余贤美, 王义, 沈奇宾, 等. 解磷细菌 PSB3 的筛选及拮抗作用的研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(9): 1398-1403.
- [18] 冯月红. 苜蓿和小麦根际高效解磷细菌筛选及其解磷效果的初步研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2003.
- [19] 杨慧. 解磷高效菌株筛选鉴定及其解磷作用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [20] 武金霞. 生物化学实验原理与技术[M]. 保定: 河北大学出版社, 2005: 71-73.
- [21] Volker G, Vilma A S. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA region[J]. Microbiology, 1996, 142: 3-16.
- [22] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425.
- [23] Babita K J, Mohandass G P, Jean C, *et al.* Simultaneous phosphate solubilization potential and antifungal activity of new fluorescent pseudomonad strains *Pseudomonas aeruginosa*, *P. plecoglossicida* and *P. mosselii*[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2009, 25: 573-581.
- [24] 杨慧, 范丙全, 龚明波, 等. 一株新的解磷草生欧文氏菌的分离、鉴定及其解磷效果的初步研究[J]. 微生物学报, 2008, 48(1): 51-56.
- [25] 罗远婵, 谢关林. 洋葱伯克氏细菌是我们的敌人还是朋友?[J]. 微生物学报, 2005, 45(4): 647-652.
- [26] Loveleen R, Pankaj K, Sudhakara M R. Effect of carbon and nitrogen sources on phosphate solubilization by a wild-type strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensis*[J]. Curr Microbiol, 2008, 57: 401-406.
- [27] Pandey A, Trivedi P, Kumar B, *et al.* Characterization of a phosphate solubilizing and antagonistic strain of *Pseudomonas putida* (B0) isolated from a sub-alpine location in the Indian Central Himalaya[J]. Current Microbiology, 2006, 53: 102-107.
- [28] 李玉娥, 姚拓, 朱颖, 等. 兰州地区苜蓿和红豆草根际解磷菌筛选及菌株部分特性研究[J]. 中国草地学报, 2009, 31(1): 45-51.
- [29] 刘敏, 李潞滨, 杨凯, 等. 冷箭竹根际土壤中可培养细菌的多样性[J]. 生物多样性, 2008, 16(1): 91-95.
- [30] 王光华, 赵英, 周德瑞, 等. 解磷菌的研究现状与展望[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 96-101.

(编辑: 宗淑萍)