

溶磷微生物功能基因的研究进展

王向向, 陈静宇, 孟利强, 刘治廷, 张 焯, 李 萌, 曹 旭*

黑龙江省科学院微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年7月25日; 录用日期: 2022年8月17日; 发布日期: 2022年8月26日

摘 要

溶磷微生物是目前世界上公认的安全、经济和有效的生物措施, 关于微生物溶解难溶性磷酸盐的分子机理, 目前大部分学者认可的机理为微生物有机酸的分泌和磷酸酶的水解作用。溶磷机理的研究通常伴随着溶磷基因的挖掘, 本文就有机酸相关基因、磷酸酶相关基因以及其他一些其他溶磷基因做一个简单综述, 为将来溶磷机制的研究提供新的认识和参考。

关键词

溶磷微生物, 溶磷基因, 有机酸, 磷酸酶

Advances in Functional Genes of Phosphorus-Solubilizing Microorganisms

Xiangxiang Wang, Jingyu Chen, Liqiang Meng, Zhiting Liu, Ye Zhang, Meng Li, Xu Cao*

Institute of Microbiology Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin Heilongjiang

Received: Jul. 25th, 2022; accepted: Aug. 17th, 2022; published: Aug. 26th, 2022

Abstract

Phosphorus-solubilizing microorganisms are currently recognized as safe, economical and effective biological measures in the world. As for the molecular mechanism of the dissolution of insoluble phosphate by microorganisms, most scholars agree that the mechanism is the secretion of organic acid by microorganisms and the hydrolysis of phosphatase. The study of the mechanism of phosphorus dissolution is usually accompanied by the excavating of phosphorus soluble genes. In this paper, the organic acid-related genes, phosphatase related genes and some other phosphorus dissolution genes are briefly reviewed to provide new understanding and reference for the study

*通讯作者。

of phosphorus dissolution mechanism in the future.

Keywords

Phosphate-Solubilizing Microorganism, Phosphate-Solubilizing Genes, Organic Acids, Phosphatase

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

磷是植生长必不可少的营养要素, 土壤中可供植物吸收的磷元素较少[1], 因此在耕种过程中一般需要施加磷肥来促进植物的生长, 然而, 磷肥施加到土壤里通常很快会被土壤固定, 造成磷肥利用率低, 磷肥的广泛应用对土壤肥力、农产品质量和环境造成了不利影响[2]。在这方面, 溶磷微生物能够提供安全可靠的技术支持来改善土壤的环境和促进植物的生长[3]。

针对溶磷微生物的研究起源较早, 到目前为止, 已经筛选得到的溶磷微生物有 36 个属, 包括 89 个种的微生物[4]。关于溶磷微生物溶解难溶性磷酸盐的分子机理, 也进行了大量的研究, 无机磷酸盐的主要溶解机制为微生物有机酸的分泌、质子交换和无机酸的释放, 有机磷酸盐的溶解机制主要为磷酸酶的水解作用[5]。随着分子生物学的不断发展, 溶磷微生物的研究逐渐进入分子学水平, 为了探索微生物溶解磷元素的机理机制, 一些溶磷相关的基因逐渐被挖掘出来。目前, 细菌相关溶磷机理在基因层面上进行了广泛的研究, 由于溶磷真菌的研究起步较晚, 关于真菌溶磷基因的报道相对较少。

2. 有机酸相关基因

2.1. PQQ 基因

吡咯喹啉醌(pyrrroloquinoline quinone, PQQ)基因是葡萄糖脱氢酶(GDH)的一个辅酶, 参与到葡萄糖转化的重要过程[6]。1987 年, Goldstein 等将 PQQ 基因从欧文氏菌(*Erwinia herbicola*)中克隆出来, 并转化到大肠杆菌中, 使大肠杆菌获得溶解无机磷的能力, 验证了 PQQ 基因的溶磷作用, 同时检测到代谢产物中有机酸葡萄糖酸(GA)的含量显著提高[7]。Kim 等从产葡萄糖酸的细菌 *Enterobacter intermedium* 中克隆出了一系列的 PQQ 基因, 表明葡萄糖酸的产生需要 PQQ 因子的协助[8]。1990 年, Cleton-Jansen 等对大肠杆菌中编码醌蛋白的 GDH 基因进行克隆和分析, 表明 GDH 是在 PQQ 的协助下完成葡萄糖对葡萄糖酸的转换[9]。经过多年的总结与研究, Goldstein 等提出革兰氏阴性细菌具有溶磷能力的主要原因归咎于葡萄糖酸的溶解, 而葡萄糖酸的合成需要 GDH 以及 PQQ 基因的协助来完成, 两个因素缺一不可, 缺少任何一个, 都会影响机体溶解无机磷的能力[10]。

合成 PQQ 的过程涉及到 6 个相关基因(pqqABCDEF) [11], 其中 pqqE 对 PQQ 的生物合成显得尤为重要, 较多学者选择 pqqE 作为溶磷基因的研究切入点。杨晓玫等从一株优良植物根际促生菌株 *Bacillus mycoides* Gnyt1 中克隆出溶磷相关基因 pqqA、pqqB、pqqC 和 pqqE, 并分别在大肠杆菌中表达了四个基因, 证明四个重组菌株均具有溶磷能力[12]。焦子伟等水生拉恩氏菌 HX2 的 PQQ 基因簇导入到大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 中, 通过玉米盆栽实验检测基因工程改造菌株 DH5 α 溶解矿质磷的能力, 验证了 PQQ 基因簇的溶磷特性[13]。李欣等利用同源重组技术分别获得 pqqE 和 GDH 基因的缺失突变体, 使内

生细菌 GZJR-8 的溶磷能力下降, 表明 pqqE 和 GDH 基因是 GZJR-8 的相关溶磷基因, 但是 GZJR-8 并未完全丧失溶磷能力, 猜测该菌株还有其他溶解无机磷的途径[14]。陈炯宇等研究了甘蔗内生固氮菌变栖克雷伯菌(*Klebsiella variicola*) DX120E 在不同磷源条件下的 GDH 和 pqqE 基因相对表达量均显著增加, 变化趋势一致, 且不同磷源之间的表达量也具有显著差异性[15]。

2.2. gcd 基因

gcd 基因是编码 GDH 的关键基因, 在溶磷微生物中 GDH 能够协同 PQQ 催化葡萄糖转化为葡萄糖酸, 进而促进难溶磷的溶解[16]。近年来, 有许多学者对 gcd 基因进行了研究, Tripura 等在对 PQQ 与 gcd 基因研究时发现, 阿氏肠杆菌中的 gcd 基因不稳定, 易受外界因素干扰而发生突变, 造成 GDH 合成受阻, 造成菌株溶磷能力的丧失[17]。Pérez 等从委内瑞拉东南部铁矿土壤中分离得到 10 株溶磷效果较好的细菌, 通过 PCR 方法检测到其中有 5 株细菌含有 gcd 基因, 且上清液均检测到葡萄糖酸的存在[18]。Suleman 等首次从小麦根际土壤中分离一株含有 gcd 基因的溶磷细菌, 经过 16S rRNA 测序鉴定为假单胞菌(*Pseudomonas sp*) [19]。目前, 关于 gcd 基因的研究主要集中在一些纯培养的溶磷细菌和环境样本上, 其他方面的研究暂时还比较少。

2.3. gab-y 基因

Babu-khan 等在 1995 年首次从洋葱假单胞菌(*Pseudomonas cepacia*)中克隆出一个和葡萄糖酸相关的溶磷基因 gab-y, 与 PQQ 基因没有同源关系, 该基因编码的蛋白与细胞膜上的膜结合蛋白 HisQ 具有高度同源性, 推测其与细胞膜的通透性有关[20]。后有国内学者从四川省菜园土壤中筛选得到一株高效无机溶磷细菌 YM3-2S, 经 16S rDNA 测序鉴定为洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*), 在该细菌中克隆得到 421bp 的 gab-y 基因, 并将其转入到大肠杆菌 DH5 α 中, 使大肠杆菌获得溶磷能力, 经 SDS-PAGE 分析表明 gab-y 基因编码的表达产物能直接分泌到细胞外发挥作用, 这与溶磷菌株的功能相吻合[21]。

2.4. mMDH 基因

高晓蓉团队从溶磷真菌草酸青霉菌中克隆得到有机酸代谢途径关键酶基因, 苹果酸脱氢酶基因(mMDH), 将其分别转化到大肠杆菌和烟草中, 增强了大肠杆菌对磷的溶解能力, 转基因烟草对磷元素的吸收分别是野生型的 3.4、3.9、3.2 倍[22]。之后通过 Real Time-PCR 发现草酸青霉菌在低磷环境胁迫下 mMDH 基因的表达先是被抑制, 然后大量表达, 表达量是非磷环境的 8.7 倍, 变化趋势与苹果酸的分泌基本一致[23]。

3. 磷酸酶基因

土壤磷酸酶是一种重要的土壤酶, 主要分为酸性、中性和碱性磷酸酶, 它能够有效矿化土壤有机磷, 使其转变为植物易吸收的无机磷, 促进植物生长。Thaller 等成功从革兰氏阴性菌 *Morganella morgani* 中克隆出编码酸性磷酸酶的基因 acpA、phoC 和 napA, 在 pH 为 6 的条件下, acpA、phoC 和 napA 表现出较强的溶磷能力[24]。Fraga 等将克隆得到的 napA 基因转入到 *Burkholderia cepacia* 菌中, 显著增强了该菌的磷酸酶活性和溶解能力[25]。Feng 等在 *E.coli*-K 菌株处于磷饥饿状态下克隆得到碱性磷酸酶基因 phoA, Wanner 等通过基因重组技术研究发现磷饥饿状态能诱导 phoA 基因的表达[26] [27]。熊梦霞等通过有机磷平板筛选出一株高产碱性磷酸酶的解淀粉芽孢杆菌, 从该菌株中克隆出 phoD 基因, 并成功在大肠杆菌 BL21 中表达[28]。郎明等采用高通量测序技术分析发现长期定位实验中, 随着供磷水平的提高含 phoD 基因细菌群落呈现先不变后降低的趋势, 与土壤有机酸的变化趋势一致, 表明磷元素较低或适

量的情况下,含 *phoD* 基因细菌群落主要参与有机磷的矿化,而在磷元素较高的环境下,含 *phoD* 基因细菌群落的作用不是以溶磷为主,而是与环境抗逆等其他功能有关[29]。Yanping Zhu 等发现天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 中 *MtrA* 基因可以在不同磷浓度下调控磷酸代谢基因 *phoA* 和 *phoP* 的变化,并且 *MtrA* 基因可以与磷酸盐代谢相关基因的启动子区以及 *phoR* 和 *phoU* 之间的基因间区相结合,*MtrA* 基因可能是链霉菌以及其他放线菌中磷酸盐代谢的主要调节因子[30]。

4. 其他溶磷基因

Martín 等发现链霉菌通过高亲和力磷酸盐转运体基因 *pstS* 和低亲和力基因磷酸盐转运体基因 *pitH1* 和 *pitH2* 协作完成磷酸盐的吸收[31]。唐超西等利用 SMART 技术构建 cDNA 文库,从草酸青霉菌 II 中筛选得到一个溶磷相关基因 *pstI* [32],从黑曲霉 H1 中获得一个溶磷相关基因 *psgA*,并将它们转化到大肠杆菌 DH5 α 中,使大肠杆菌获得溶磷能力[33]。龚明波等从黑曲霉 Zh3 和草酸青霉 ZII 中克隆得到溶磷相关基因 *ppq T* 和 *paq T*,并通过利用离子色谱研究发现 *ppq T* 和 *paq T* 基因可以将葡萄糖氧化生成甲酸和乙酸来促进无机磷的溶解[34]。殷中伟等通过构建溶磷真菌 P93 的 cDNA 文库,从功能文库中筛选得到溶磷相关基因 *psf-Y*,并通过农巧菌介导将该基因转化到拟南芥中验证了 *psf-Y* 基因的溶磷功能[35]。Chunju Liu 等烟草根际分离得到具有溶磷效果的洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cenocepacia*) 71-2,通过随机突变获得溶磷能力减弱的菌株 71-2-MT51,通过克隆得到突变体菌株中被破坏的基因 *Eno*,该基因参与编码一种烯醇化酶,这是 *Eno* 基因参与磷溶解的首次报道[36]。

5. 结论与展望

溶磷微生物在植物生长过程中发挥着极其重要的作用,直接或间接的影响土壤健康、植物生长和作物生产力。然而,微生物溶解难溶磷的机制复杂多样,其中涉及到的功能基因也各式各样,甚至同一菌种在不同环境下溶磷机理也各有不同。在过去的几十年里,由于基因克隆和大规模的基因组测序的发展,我们见证了大量溶磷基因的挖掘,然而目前所报道的分子研究还是以细菌为主,其中研究较为清晰的是 *PQQ* 基因与 *GDH* 协作合成葡萄糖酸途径中的相关基因,涉及其他有机酸和磷酸酶的合成机制目前尚不明确,且相关基因之间的相互作用与联系尚不清楚。随着这些分子技术、基因组工具和宏基因组学的发展,在分子水平上了解微生物溶解难溶性磷的机制已经取得了快速的发展。尽管如此,关于一些未知的磷酸盐溶解机制及其相关基因的信息仍然有限甚至有些途径还静待发现,现阶段大多研究主要集中在葡萄糖酸等有机酸合成和磷酸酶的编码基因方面,关于单个基因的研究也仅停留在功能验证层面,上下游代谢机制的深度研究还较为浅薄。

建议未来研究从下面几个方面加强研究:

1) 进一步挖掘溶磷相关基因,特别是溶磷真菌中功能基因的研究。以往研究大多集中在溶磷细菌的相关基因,关于真菌溶磷基因的报道相对较少,而大多溶磷真菌不管是溶磷能力还是遗传性状上来看均优于细菌,所以溶磷真菌中功能基因的挖掘大有前景。

2) 运用新型分子生物学手段进行溶磷基因的挖掘。现阶段各种基因特殊引物正在被设计用于溶磷微生物的鉴定,我们可以通过最新的 PCR 技术、蛋白质组学等技术用于发现新的溶磷相关基因,利用 qPCR 技术检测不同环境下溶磷基因的表达情况。

3) 基于溶磷微生物的高通量测序结果,利用 PICRUST 等软件进行溶磷基因的预测,运用高通量技术分析已知特定溶磷基因的相对丰度以及土壤植物根部的不同溶磷微生物群落结构。

4) 通过基因组学和蛋白质组学方法进行有机酸和酶等代谢物的分析,将基因和蛋白质结合起来进一步阐述磷酸盐的溶解机制。

溶磷相关基因的研究具有跨时代的意义,通过基因层面揭示溶磷微生物溶解难溶磷的代谢机制,为

溶磷微生物修复土壤健康、提高磷肥利用率和促进植物生长提供科学依据。

基金项目

黑龙江省科学院青年创新基金项目(CXM2022SW02), 黑龙江省科学院院长基金项目(YZ2022SW01)。

参考文献

- [1] Saber, K., Nahla, L., Ahmed, D., *et al.* (2005) Effect of P on Nodule Formation and N Fixation in Bean. *Agronomy for Sustainable Development*, **25**, 389-393.
- [2] Wen, W.J., Zhuang, Y.H., Zhang, L., *et al.* (2021) Preferred Hierarchical Control Strategy of Phosphorus from Non-Point Source Pollution at Regional Scale. *Environmental Science and Pollution Research (International)*, **28**, 60111-60121. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14138-4>
- [3] El-Gawad, A.M.A., Hendawey, M.H. and Farag, H.I.A. (2009) Interaction between Biofertilization and Canola Genotypes in Relation to Some Biochemical Constituents under Siwa Oasis Conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, **5**, 82-96.
- [4] Rivas, R., Peix, A., Mateos, P.F., *et al.* (2006) Biodiversity of Populations of Phosphate Solubilizing Rhizobia That Nodulates Chickpea in Different Spanish Soils. *Plant and Soil*, **287**, 23-33. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9062-y>
- [5] 王向向, 陈静宇, 曹旭, 孟利强, 刘志庭, 张焯, 李萌, 于德水. 土壤溶磷微生物的研究进展及应用[J]. *农业科学*, 2022, 12(6): 453-458.
- [6] Han, S.H., Kim, C.H., Lee, J.H., Paris, J.Y., Cho, S.M., Park, S.K., *et al.* (2008) Inactivation of pqq Genes of *Enterobacter intermedium* 60-2G Reduces Antifungal Activity and Induction of Systemic Resistance. *FERNS Microbiology Letters*, **282**, 140-146. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01120.x>
- [7] Goldstein, A.H. and Liu, S.T. (1987) Molecular Cloning and Regulation of a Mineral Phosphate Solubilizing Gene from *Erwinia herbicola*. *Biotechnology*, **5**, 72-74. <https://doi.org/10.1038/nbt0187-72>
- [8] Kim, K.Y., Jordan, D. and Krishnan, H.G. (1998) Expression of Genes from *Ranella aquatilis* That Are Necessary for Mineral Phosphate Solubilization in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, **159**, 121-127. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(97\)00558-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(97)00558-2)
- [9] Cleton-Jansen, A.M., Goosen, N., Fayet, O. and van, P. (1990) Cloning, Mapping, and Sequencing of the Gene Encoding *Escherichia coli* Quinoprotein Glucose Dehydrogenase. *The Journal of Applied Bacteriology*, **172**, 6308-6315. <https://doi.org/10.1128/jb.172.11.6308-6315.1990>
- [10] Goldstein, A.H., Braverman, K. and Osorio, N. (1999) Evidence for Mutualism between a Plant Growing in a Phosphate-Limited Desert Environment and a Mineral Phosphate Solubilizing (MPS) Rhizobacterium. *FEMS Microbiology Ecology*, **30**, 295-300. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00657.x>
- [11] Li, L., Jiao, Z.W., Lauren, H., *et al.* (2014) Disruption of Gene pqqA or pqqB Reduces Plant Growth Promotion Activity and Biocontrol of Grown Galldisease by *Rahnella aquatilis* HX2. *PLOS ONE*, **9**, e115010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115010>
- [12] 杨晓玫. 珠芽蓼根际促生菌 *Bacillus mycoides* Gnyt1 比较基因组及其功能基因研究[D]: [博士学位论文]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- [13] 焦子伟, 张相锋, 努尔买买提, 任艳利, 吾尔恩, 郭岩彬. pqq 基因簇在 *Escherichia coli* DH5 α 中表达及对其溶磷促生的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2016, 33(1): 43-48.
- [14] 李欣, 张磊, 胡景江. 拐枣七内生细菌溶磷相关基因的鉴定[J]. *西北植物学报*, 2017, 37(8): 1500-1506.
- [15] 陈炯宇, 覃英, 谢显秋, 黄毓燕, 董登峰, 邢永秀, 李杨瑞. 甘蔗内生固氮菌 *Klebsiella variicola* DX120E 溶磷基因 GDH 和 pqqE 的克隆及溶磷特性分析[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(10): 2819-2827.
- [16] Sashidhar, B. and Podile, A.R. (2010) Mineral Phosphate Solubilization by Rhizosphere Bacteria and Scope for Manipulation of the Direct Oxidation Pathway Involving Glucose Dehydrogenase. *Journal of Applied Microbiology*, **109**, 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04654.x>
- [17] Tripura, C., Sashidhar, B. and Podile, A. (2005) Transgenic Mineral Phosphate Solubilizing Bacteria for Improved Agricultural Productivity. In: Satyanarayana, T. and Johri, B.N., Eds., *Microbial Diversity Current Perspectives and Potential Applications*, West Sussex, West Sussex, 375-392.
- [18] Pérez, E., Sulbarán, M., Ball, M.M., *et al.* (2007) Isolation and Characterization of Mineral Phosphate-Solubilizing Bacteria Naturally Colonizing a Limonitic Crust in the South-Eastern Venezuelan Region. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 2905-2914. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.017>

- [19] Suleman, M., Yasmin, S., Rasul, M., *et al.* (2018) Phosphate Solubilizing Bacteria with Glucose Dehydrogenase Gene for Phosphorus Uptake and Beneficial Effects on Wheat. *PLOS ONE*, **13**, e0204408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>
- [20] Babu-khan, S., Yeo, T.H. and Martin, W. (1995) Cloning of a Mineral Phosphate-Solubilizing Gene from *Pseudomonas cepacia*. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**, 972-981. <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.972-978.1995>
- [21] 赵珂. 溶磷菌 YM3-2S 溶磷特性及溶磷基因的克隆[D]: [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2007.
- [22] 吕军. 转基因烟草对土壤磷吸收利用的研究[D]: [博士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2011.
- [23] 张健. 低磷胁迫下草酸青霉菌 BK 溶磷的分子机制[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2014.
- [24] Thaller, M.C., Berlutti, F., Schippa, S., *et al.* (1994) Characterization and Sequence of PhoC, the Principal Phosphate-Irrepressible Acid Phosphatase of *Morganella morganii*. *Microbiology*, **140**, 1341-1350. <https://doi.org/10.1099/00221287-140-6-1341>
- [25] Fraga, R., Rodríguez, H. and González, T. (2001) Transfer of the Gene Encoding the Napa Acid Phosphatase from *Morganella morganii* to a *Burkholderia cepacia* Strain. *Acta Biotechnologica*, **21**, 359-369. [https://doi.org/10.1002/1521-3846\(200111\)21:4<359::AID-ABIO359>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1521-3846(200111)21:4<359::AID-ABIO359>3.0.CO;2-B)
- [26] Feng, K., Lu, H.M., Sheng, H.J., Wang, X.L. and Mao, J. (2004) Effect of Organic Ligands on Biological Availability of Inorganic Phosphorus in Soils. *Pedosphere*, **14**, 85-92.
- [27] Wanner, B.L. and McSharry, R. (1982) Phosphate Controlled Gene Expression in *E. coli* K12 Using MudI-Directed LacZ Fusions. *Molecular Biology*, **158**, 347-363. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90202-9](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90202-9)
- [28] 熊梦霞, 廖华媛, 郑金, 何景锋, 曹锟, 余兴龙. 一株产高酶活性碱性磷酸酶解淀粉芽孢杆菌的分离及其 *phoD* 碱性磷酸酶基因的克隆与表达[J]. 微生物学通报, 2022, 49(2): 505-513.
- [29] 郎明, 李佳颖, 苏卫华, 邹温馨, 刘于, 陈新平. 长期施磷对石灰性土壤中编码碱性磷酸酶基因的细菌群落的影响[J]. 微生物学报, 2022, 62(1): 242-258.
- [30] Zhu, Y.P., Zhang, P.P., Lu, T., *et al.* (2021) Impact of MtrA on Phosphate Metabolism Genes and the Response to Altered Phosphate Conditions in *Streptomyces*. *Environmental Microbiology*, **23**, 6907-6923. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15719>
- [31] Martín, J.F., Liras, P., *et al.* (2021) Molecular Mechanisms of Phosphate Sensing, Transport and Signalling in *Streptomyces* and Related Actinobacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 1129. <https://doi.org/10.3390/ijms22031129>
- [32] 唐超西, 龚明波, 李顺鹏, 朱昌雄. 草酸青霉菌 I1 的 cDNA 文库构建及其溶磷相关基因的筛选[J]. 中国农业科学, 2012, 45(18): 3792-3800.
- [33] 唐超西, 龚明波, 李顺鹏, 朱昌雄. 黑曲霉 H1 的 cDNA 文库构建及其溶磷相关基因的筛[J]. 微生物学报, 2012, 52(3): 311-317.
- [34] 龚明波. 溶磷微生物分离、应用及其相关基因的克隆与功能鉴定[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [35] 殷中伟. 真菌溶磷相关基因的克隆与功能分析[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [36] Liu, C.J., Mou, L., Yi, J.L., *et al.* (2019) The *Eno* Gene of *Burkholderia cenocepacia* Strain 71-2 Is Involved in Phosphate Solubilization. *Current Microbiology*, **76**, 495-502. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01642-7>