

土壤溶磷微生物的研究进展及应用

王向向, 陈静宇, 曹旭, 孟利强, 刘志庭, 张焯, 李萌, 于德水*

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5月10日; 录用日期: 2022年6月13日; 发布日期: 2022年6月22日

摘要

溶磷微生物是一种能将植物难以利用的磷转换为可吸收状态的微生物, 能够通过分泌有机酸、氢离子等降低PH的方式以及酶解作用为植物提供磷元素, 可以有效提高土壤中磷的利用率, 减少环境污染, 对农业可持续发展具有重要意义。本文对溶磷微生物的种类、溶磷机制研究以及溶磷微生物肥料的应用等方面进行了综述, 并对溶磷微生物肥料在生产应用中的问题和今后研究的方向进行了阐述。

关键词

溶磷微生物, 有机磷, 无机磷, 溶磷机制

Research Progress and Application of Phosphate-Solubilizing Microorganisms in Soils

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

Institute of Microbiology Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin Heilongjiang

Received: May 10th, 2022; accepted: Jun. 13th, 2022; published: Jun. 22nd, 2022

Abstract

Phosphate-solubilizing microorganisms are a kind of microorganism that can transform the phosphorus which is difficult to be used by plants into an absorbable state, and can provide phosphorus for plants by reducing PH, including secret organic acids, hydrogen ions and other ways, as well as enzymatic hydrolysis. It can effectively improve the utilization rate of phosphorus in soil and reduce environmental pollution; on the other hand, it is greatly significant to the sustainable development of agriculture. In this paper, the types of phosphate-solubilizing microorganisms, the mechanism of

*通讯作者。

phosphate-solubilizing microorganisms and the application of phosphate-solubilizing microbial fertilizers were reviewed, and the problems in the production and application of phosphate-solubilizing microbial fertilizers and the direction of future research were described.

Keywords

Phosphate-Solubilizing Microorganism, Organic Phosphorus, Inorganic Phosphorus, Phosphorus Solubilization Mechanism

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

磷是植物生长必不可少的营养元素之一，是仅次于氮的第二大限制植物生长的营养要素，参与到植物体内多个生物学过程[1]。据报道，全国有74%的土壤缺少磷元素[2]，为满足植物对磷的需求，耕种过程中一般通过施加磷肥来促进农作物的生长，然而，磷肥施加到土壤中通常很快与Al, Fe, Ca或Mg等离子形成不溶性复合物，造成磷肥当季利用率仅有5%~25% [3]，长此以往下去，再加上磷肥的不合理使用，不仅造成不必要的资源浪费外，还会引起土壤结构恶化和水体富营养化[4]。

虽然我国矿产资源比较丰富，但是相对其他国家而言，我国高品位磷矿资源储量较小，中低品位矿产储量占比达75%左右，随着磷矿资源的大规模开发利用，高品位磷矿储量面临枯竭，只能满足我国未来12年的使用[5]。所以溶磷微生物的参与势在必行，溶磷微生物能有效溶解土壤难溶磷、减少磷肥固定、增加作物吸磷量，从而提高磷肥利用率和提高作物产量，是目前世界上公认的安全、经济和有效的生物措施[6] [7]，倍受各国科学家和政府的关注。高效溶磷微生物的研究与开发利用，对于改善土壤环境、节约磷肥使用量、和促进农业可持续发展具有重大意义[8]。

2. 溶磷微生物的种类

溶磷微生物种类繁多，主要包括细菌、真菌和放线菌，据不完全统计，全球总共筛选得到的溶磷微生物有36个属，包括89个种的微生物，其中细菌58个，真菌27个，放线菌4个[9]。其中，溶磷细菌的种类和数量最多，研究较多细菌种类包括芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、欧文氏菌属(*Erwinia* sp.)、土壤杆菌属(*Agrobacterium* sp.)、根瘤菌属(*Bradyrhizobium* sp.)等[3]，研究发现溶磷真菌在种类和数量上少于细菌，但真菌溶解磷元素的能力明显高于溶磷细菌，并且许多细菌在传代培养过程中会丧失其溶磷能力，而真菌的溶磷能力则比较稳定[10]，目前研究较多的溶磷真菌主要为青霉菌属(*Penicillium* sp.)、曲霉属(*Aspergillus* sp.)和AM菌根菌(*Arbuscularmyces* sp.)等[11] [12]，溶磷放线菌一般都属于链霉菌(*Streptomyces* sp.) [13]。

另有学者根据溶磷微生物作用底物的不同，将其分为分解无机磷和有机磷的微生物。无机磷微生物主要分解土壤中如磷酸钙、磷灰石等难溶的磷酸盐，包含假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)以及黄杆菌属(*Flavobacterium* sp.)的一些种，有机磷微生物主要分解土壤中的核酸、磷脂和植素等含磷有机物，包含芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、变形菌属(*Proteus* sp.)和节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)的一些种[14]。然而，链霉菌(*Streptomyces* sp.)的一些种既能分解有机磷，又能分解无机磷，所以这种分类方式并不是十分精确[15]。

3. 溶磷机制的研究进展

3.1. 无机磷的溶磷机制

土壤中的磷元素大致可以分为无机磷和有机磷两种形态,无机磷是植物所能吸收的磷素的主要来源,占土壤全磷的 50%~80% [16]。无机磷通常以磷酸盐的形式存在,大致分为难溶性磷和可溶性磷,难溶性磷主要包括酸性环境中的磷酸铝和磷酸铁、碱性和中性环境中的磷酸镁和磷酸钙及含磷矿物等[17],占无机磷的 95%以上[18];可溶性磷是植物能够直接吸收利用的磷,主要以磷酸氢根和磷酸二氢根离子的形式存在[19],只有不到 5%的可溶性磷酸盐供植物吸收[18]。微生物溶解无机磷的机制复杂多样,大量研究表明,微生物溶磷过程中伴随着 PH 的降低,总结起来微生物溶磷难溶磷原理归咎于产酸机制,溶磷菌所产酸因菌株的不同而有所差异,大致可分为以下几种类型。

3.1.1. 有机酸

目前大部分学者比较认可溶磷微生物的溶磷作用主要归功于有机酸机制,有研究报道超过 80%的溶磷微生物均能够分泌有机酸,如苹果酸、柠檬酸、乳酸、丙酸、葡萄糖酸、琥珀酸、草酸、酒石酸等[20] [21] [22],这些有机酸不仅可以降低土壤介质的 PH 值,在酸性环境下溶解难溶性磷酸盐;另一方面,这些有机酸还可以与 Al、Fe、Ca、Mg 等离子发生螯合作用,促进磷酸根离子的释放。在诸多有机酸中,研究较为深入的有溶磷细菌所分泌的葡萄糖酸,有学者研究表明,微生物在葡萄糖脱氢酶(GDH)和吡咯喹啉奎宁(PQQ)的协同作用下,催化葡萄糖形成葡萄糖酸从而溶解难溶性磷酸盐[23]。另有学者从 *Pseudomonas cepacia* 细菌中克隆出葡萄糖酸溶磷相关基因 *gabY* 并将其转录到大肠杆菌中验证其溶磷活性,且该基因与 PQQ 无同源性[24]。除葡萄糖酸以外,目前对其他有机酸小分子的合成途径了解较少,对溶磷相关的其他关键基因研究比较少。

3.1.2. 质子交换

涉及到溶磷微生物的另一个重要机制为分泌质子,即氢离子。Asea 等发现一些微生物只有在铵根离子存在时才具有溶磷的能力[25]。另有学者研究发现有些微生物在铵根离子同化过程中,利用 ATP 转换时产生的能量,通过质子泵释放大量的氢离子,造成周围介质中 PH 值下降,帮助溶解无机磷,然而在此过程中,并没有任何酸性物质释放[26]。

3.1.3. 无机酸

除有机酸外,一些无机酸,如 H_2S 、 HNO_3 、 H_2CO_3 等的产生也能帮助微生物溶解无机磷。某些微生物通过呼吸作用产生 CO_2 ,形成 HCO_3^- ,降低周围环境中的 PH 值,帮助磷酸盐溶解[27]。有研究发现某些溶磷细菌能释放 H_2S ,与土壤中的磷酸铁发生反应而释放磷酸根离子[28]。Azam 等发现某些溶磷菌能够释放 HNO_3 、 H_2SO_4 来帮助溶解磷酸盐[29]。

3.2. 有机磷的溶磷机制

土壤中有机磷包括核酸、磷脂和植素等含磷有机物,占土壤全磷的 20%~50%。目前普遍认为有机磷的溶解机制为酶解作用,当土壤中有效磷含量过低时,溶解有机磷的微生物会通过代谢合成生物酶类,如磷酸酶、核酸酶、植酸酶及 C-P 裂解酶等[30] [31]将难溶性的有机磷转化植物可以吸收利用的有效磷[32]。上述酶中,磷酸酶与植酸酶研究较多,其中磷酸酶可以通过水解磷酸酯键来释放无机磷,主要分为酸性磷酸酶和碱性磷酸酶。谢安强[33]等发现青霉属的内生真菌在不同低磷环境胁迫下使得土壤中酸性磷酸酶的含量随着磷胁迫程度的加重而逐渐增加,从而在磷酸酶的作用下提高植物对磷的利用率。在长期肥料定位实验中发现,土壤有效磷与碱性磷酸酶、微生物量磷存在显著的正相关关系[34]。植酸酶(肌醇

六磷酸酶)作为一种胞外酶,可以通过催化肌醇六磷酸中磷酸单酯键的水解,释放出无机磷酸酯,为植物提供磷源。Richardson 等研究表明,无菌条件下,当向拟南芥中植入植酸酶基因 *phyA* 时,显著促进了转基因植物的生长和磷素的吸收,植物根系植酸酶活性较空白组提高了 10 倍[35]。

4. 溶磷微生物肥料的应用

针对溶磷微生物的研究比较早,也获得了具有溶磷能力的许多菌株,然而由于微生物本身的退化、在植物根际的定殖能力以及与其他微生物的竞争能力等因素,能够应用于实践的菌株比较少。早在 1935 年,前苏联专家蒙基娜从土壤中分离得到一株可以分解有机磷的巨大芽孢杆菌,后在实践应用中能将土壤有效磷提高 15% 以上。印度在研究和开发利用微生物肥料方面比较多,长期使用巨大芽孢杆菌生产溶磷微生物系列产品,田间试验中有 40% 左右的土地获得增产效果[36]。加拿大将一株拜莱青霉应用于微生物肥料生产,据统计,该产品能使作物平均增产 6% 左右[37]。古巴开发出一株伯克霍尔德氏菌作为溶磷微生物肥料产品,施用于多种植物[38]。

我国关于溶磷微生物的研究起步比较晚,1950 年,前东北农科所从东北土壤中分离出一株巨大芽孢杆菌能够有效溶解有机磷,同年,中国科学院前林业土壤研究所从土壤中分离出一株假单胞菌,也具有分解卵磷脂和核酸的能力。目前我国主要应用于实践的溶磷微生物菌株为巨大芽孢杆菌,据统计,截止 2022 年 4 月,登记在册的包含巨大芽孢杆菌在内的复合菌剂产品证号有 462 个,占有所有登记证号的 4.8%,相对比于其他溶磷菌株如假单胞菌(78 个)、伯克霍尔德氏菌(4 个)、黑曲霉(87 个)、拜赖青霉(34 个)、毕赤酵母(17 个)来说,巨大芽孢杆菌占比较大。

5. 展望与小结

我国作为一个农业大国,每年化肥使用量占全球的三分之一,化肥长期的不合理使用,不仅会引起土壤结构恶化,而且还会造成严重的环境污染。利用溶磷微生物虽然可以在一定程度上缓解这些问题,然而尽管对溶磷微生物的研究经历了挺长时间,但是溶磷微生物肥料在实际大田中的应用不够深入和广泛。制约溶磷菌肥发展的主要因素有:

- 1) 能够分离得到的溶磷微生物菌株种类和数量有限;
- 2) 筛选得到的菌株不符合微生物肥料应用标准;
- 3) 发酵水平限制部分微生物菌株的应用;
- 4) 溶磷微生物菌株与不同环境土壤的适配能力弱;
- 5) 菌株溶磷能力随着传代次数的增加而退化。

针对上述问题,可以在以下几个方面改进和深入研究:

- 1) 继续筛选高效溶磷菌株,扩大溶磷微生物资源库;
- 2) 对高效溶磷微生物菌株的应用潜力进行评估,通过急性毒性实验和优化发酵条件等;
- 3) 扩大盆栽或田间小区域实验的作物种类,探索高效溶磷菌株对不同作物的作用效果;
- 4) 探究溶磷菌株与其他功能菌株的相互作用,研制复合微生物菌剂;
- 5) 应用基因工程相关技术改造溶磷微生物菌株,获得既有高效溶磷能力又能在土壤中定殖的菌株;
- 6) 政府应加大微生物肥料的推广与利用,减少化学肥料的使用。

相信随着未来科研的不断深入研究,溶磷微生物的应用会合并或取代磷肥的使用,在增加作物产量的同时,改良土壤环境,促进农业健康可持续发展。

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 Pon Nodule Formation and N Fixation in Bean. *Agronomy for Sustainable Development*, **25**, 389-393. <https://doi.org/10.1051/agro:2005034>
- [2] 李杰, 石元亮, 陈智文. 我国南方红壤磷素研究概况[J]. 土壤通报, 2011, 42(3): 763-768.
- [3] 秦利均, 杨永柱, 杨星勇. 土壤溶磷微生物溶磷、解磷机制研究进展[J]. 生命科学研究, 2019, 23(1): 59-64+86.
- [4] 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>
- [5] 李维, 高辉, 罗英杰, 高骏. 国内外磷矿资源利用现状、趋势分析及对策建议[J]. 中国矿业, 2015, 24(6): 6-10.
- [6] Morales, A., Alvear, M., Valenzuela, E., Rubio, R. and Borie, F. (2007) Effect of Inoculation with *Penicillium albidum*, a Phosphate-Solubilizing Fungus, on the Growth of *Trifolium pratense* Cropped in a Volcanic Soil. *Journal of Basic Microbiology*, **47**, 275-280. <https://doi.org/10.1002/jobm.200610255>
- [7] 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.
- [8] Jiang, Y.F., Tian, J. and Ge, F. (2020) New Insight into Carboxylic Acid Metabolisms and pH Regulations during Insoluble Phosphate Solubilisation Process by *Penicillium oxalicum* PSF-4. *Current Microbiology*, **77**, 3. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02238-2>
- [9] 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>
- [10] 陈哲, 吴敏娜, 秦红灵, 魏文学. 土壤微生物溶磷分子机理研究进展[J]. 土壤学报, 2009, 46(5): 925-931.
- [11] Ruangsanka, S. (2014) Identification of Phosphate-Solubilizing Fungi from the Asparagus Rhizosphere as Antagonists of the Root and Crown Rot Pathogen *Fusarium oxysporum*. *Science Asia*, **40**, 16-20. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2014.40.016>
- [12] Etesami, H., Jeong, B.R. and Glick, B.R. (2021) Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphate-Solubilizing Bacteria, and Silicon to P Uptake by Plant. *Frontiers in Plant Science*, **12**, Article ID: 699618. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.699618>
- [13] 高桂凤, 党博, 蔡柯, 霍勤. 1 株解磷菌株鉴定及影响其解磷能力因素[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(1): 102-104+109.
- [14] 张淑云. 土壤解磷微生物研究进展[J]. 内蒙古林业科技, 2015, 41(1): 39-41+52.
- [15] Li, F.-D. and Hu, Z.-J. (2000) *Microbiology*. Version 5. China Agriculture Press, Beijing, 228.
- [16] 盛荣, 肖和艾, 谭周进, 丁龙君, 谢达平. 土壤解磷微生物及其磷素有效性转化机理研究进展[J]. 土壤通报, 2010, 41(6): 1505-1510.
- [17] 陈俊, 陆俊锬, 康丽华, 等. 红树林溶磷菌的初步鉴定、溶磷能力测定及其优化培养[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1183-1188.
- [18] Wang, H., Appan, A. and Gulliver, J.S. (2003) Modeling of Phosphorus Dynamics in Aquatic Sediments: II Examination of Model Performance. *Water Research*, **37**, 3939-3953. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00305-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00305-1)
- [19] 冀建鹏, 徐志方. 磷酸盐的氧同位素示踪磷来源及循环研究进展[J]. 环境科学与技术, 2010(s2): 360-363.
- [20] Yadav, H., Gothwal, R.K., Solamki, P.S., *et al.* (2015) Isolation and Characterization of Thermo-Tolerant Phosphate-Solubilizing Bacteria from a Phosphate Mine and Their Rock Phosphate Solubilizing Abilities. *GeoJournal*, **32**, 475-481. <https://doi.org/10.1080/01490451.2014.943856>
- [21] Zhu, F., Qu, L., Hong, X., *et al.* (2014) Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Betel Nut (*Areca catechu*) and Their Effects on Plant Growth and Phosphorus Mobilization in Tropical Soils. *Biology & Fertility of Soils*, **50**, 927-937. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0913-z>
- [22] 刘胜亮, 朱舒亮, 祁先慧, 等. 四株解磷菌分泌有机酸与溶解磷酸三钙能力的研究[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(6): 1114-1121.
- [23] Kim, K.Y., Hwangbo, H. and Kim, Y.W. (2002) Organic Acid Production and Phosphate Solubilization by *Enterobacter intermedium* 60-2G. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, **35**, 59-67.
- [24] Babu, K.S., Yeo, T.C., Martin, W.L., Duron, M.R., Rogers, R.D. and Goldstein, A.H. (1995) Cloning of a Mineral Phosphate-Solubilizing Gene from *Pseudomonas Cepacia*. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**, 972-978. <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.972-978.1995>

- [25] Asea, P., Kucey, R., Stewart, J., *et al.* (1988) Inorganic Phosphate Solubilization by Two *Penicillium* Species in Solution Culture and Soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **20**, 459-464. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90058-2)
- [26] Khan, M.S., Zaidi, A. and Ahmad, E. (2014) Mechanism of Phosphate Solubilization and Physiological Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganisms. Springer, Berlin, 31-62. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5_2
- [27] Kim, K.Y., Jordan, D. and McDonald, G.A. (1997) Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae on Tomato Growth and Soil Microbial Activity. *Biology and Fertility of Soils*, **26**, 79-87. <https://doi.org/10.1007/s003740050347>
- [28] Seema, B.S., Riyaz, Z.S., Mrugesh, H.T., *et al.* (2013) Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. *Springerplus*, **2**, 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- [29] Azam, F. and Memon, G.H. (1996) Soil Organisms. In: *Soil Science*, National Book Foundation, Islamabad, 200-232.
- [30] Behera, B.C., Singdevsachan, S.K., Mishra, R.R., *et al.* (2014) Diversity, Mechanism and Biotechnology of Phosphate Solubilising Microorganism in Mangrove—A Review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **3**, 97-110. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>
- [31] Stefanoni Rubio, P.J., Godoy, M.S., Della Mónica, I.F., *et al.* (2016) Carbon and Nitrogen Sources Influence Tricalcium Phosphate Solubilization and Extracellular Phosphatase Activity by *Talaromyces flavus*. *Current Microbiology*, **72**, 41-47. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0914-7>
- [32] Priyanka, A. and Anita, P. (2019) Phosphate Solubilization Potential of Endophytic Fungi Isolated from *Taxus wallichiana* Zucc. Roots. *Rhizosphere*, **9**, 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.11.002>
- [33] 谢安强, 洪伟, 吴承祯, 洪滔, 林勇明. 内生真菌对低磷胁迫下尾巨桉生理及土壤特性的影响[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33(3): 1-7.
- [34] 郭玉冰, 刘建玲, 郭巨秋, 廖文华, 吴晶, 谢娇. 长期施用磷肥和有机肥对菜地土壤磷素有效性的影响[J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(4): 76-82.
- [35] Richardson, A.E., Hadobas, P.A. and Hayes, J.E. (2001) Extracellular Secretion of *Aspergillus phytase* from Arabidopsis Roots Enables Plants to Obtain Phosphorus from Phytate. *The Plant Journal*, **25**, 641-649. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113x.2001.00998.x>
- [36] Sharma, S.N. and Prasad, R. (2004) Yield and P Uptake by Rice and Wheat Grown in a Sequence as Influenced by Phosphate Fertilization with Diammonium Phosphate and Mussoorie Rock Phosphate with or without Crop Residues and Phosphate Solubilizing Bacteria. *Microbial Research*, **108**, 947-954.
- [37] Vessey, J.K. and Heisinger, K.G. (2001) Effect of *Penicillium bilaii* Inoculation and Phosphorus Fertilization on Root and Shoot Parameters of Field Growth Pea. *Canadian Journal of Plant Science*, **81**, 361-366. <https://doi.org/10.4141/P00-083>
- [38] Chabot, R., Antoun, H. and Cescas, M.P. (1993) Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des micro-organismes dissolvant le phosphore en organique. *Canadian Journal of Microbiology*, **39**, 941-947. <https://doi.org/10.1139/m93-142>