

# 烟草根际土壤中解钾细菌的分离与多样性分析\*

张成省<sup>1</sup> 陈雪<sup>2</sup> 张玉芹<sup>3</sup> 刘璇<sup>1</sup> 游偲<sup>1</sup> 孔凡玉<sup>1\*\*</sup> 王静<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院烟草研究所 烟草行业病虫害监测与治理重点实验室 青岛 266101;

2. 贵州省烟草公司毕节市公司 毕节 551700; 3. 中国烟草总公司山东省公司 济南 250000)

**摘要** 土壤中含有丰富的钾元素,但主要以缓效态形式存在于钾长石或云母等硅酸盐矿物中,不能被作物直接吸收利用。解钾微生物能溶解硅酸盐矿物中的钾,提高土壤中作物可利用钾的含量,有望缓解我国钾肥短缺的现状。本研究利用选择性培养基,从烟草根际筛选钾细菌,基于16S rDNA序列分析烟草根际土壤解钾细菌的多样性,通过测定解钾细菌的解钾效能及对烟草的促生作用,筛选有应用潜力的优良解钾细菌菌株。结果表明,从四川、湖北和山东烟区烟草根际土壤分离获得的27株解钾细菌,在解钾固体培养上溶钾圈直径为0.11~0.30 cm。16S rDNA序列分析表明,烟草根际土壤解钾细菌主要包括变形菌门 $\gamma$ 亚群(Gammaproteobacteria, 85.18%)、变形菌门 $\alpha$ 亚群(Alphaproteobacteria, 3.70%)、变形菌门 $\beta$ 亚群(Betaproteobacteria, 3.70%)、放线菌门(Actinobacteria, 3.70%)和拟杆菌门(Bacteroidetes, 3.70%),其中克雷伯菌属(*Klebsiella*)为优势菌属(66.67%)。27个菌株均有一定的解钾能力,解钾活性为0.59~4.40 mg·L<sup>-1</sup>。参试菌株均对烟草有一定的促生作用,利用解钾细菌菌液处理烟株20 d后,与对照相比,株高增加0.97%~38.64%,最大叶长增加4.40%~31.02%。本研究筛选出的菌株XF11、GM2、JM19和GL7具有较高的解钾活性和促进植物生长的能力,展现了良好的应用潜力。

**关键词** 烟草 根际 解钾细菌 多样性 促生

中图分类号: S572 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2013)06-0737-07

## Diversity and isolation of potassium solubilizing bacteria in tobacco rhizosphere soils

ZHANG Cheng-Sheng<sup>1</sup>, CHEN Xue<sup>2</sup>, ZHANG Yu-Qin<sup>3</sup>, LIU Xuan<sup>1</sup>, YOU Cai<sup>1</sup>, KONG Fan-Yu<sup>1</sup>, WANG Jing<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Tobacco Pest Monitoring & Integrated Management, State Tobacco Monopoly Bureau; Tobacco Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China; 2. Bijie Tobacco Corporation, Bijie 551700, China; 3. Shandong Corporation of China National Tobacco Corp, Jinan 250000, China)

**Abstract** The concentration of soluble K in soils is usually very low which implies that a higher proportion of soil K occurs as insoluble rock, minerals and other deposits. K solubilizing bacteria have been noted to dissolve K from insoluble minerals, increase available K content in soils and stimulate plant growth. Application of K solubilizing bacteria may relieve K fertilizer shortage in China. In this research, K solubilizing bacteria were isolated in selective medium from tobacco rhizosphere soils sampled from tobacco areas in Sichuan, Hubei and Shandong Provinces, and the diversity of the bacteria isolates analyzed using the 16S rDNA sequence. 27 K solubilizing bacteria strains were isolated and all the isolated bacteria strains solubilized powdered feldspar in solid and liquid media. The range of the zone of solubilization diameter formed by the strains was 0.11~0.30 cm on the agar medium. All the strains were able to release K (0.59~4.40 mg·L<sup>-1</sup> K of the fermentation broth) and plant-promoting effects (plant height and longest leaf length respectively increased by 0.97%~38.64% and 4.40%~31.02%). Strains XF11, GM2, JM19 and GL7 were high-efficient strains for K release and plant growth promotion and had high application potential. The strains were identified through comparisons of 16S ribosomal DNA sequences. There were 85.18% Gammaproteo-bacteria, 3.70% Alphaproteo-bacteria, 3.70% Betaproteo-bacteria, 3.70% Actins-bacteria and 3.70% Bacteroidetes. Among the isolated strains, the dominant bacteria were the

\* 中国烟草总公司重点科技项目(2012YN42)、湖北省烟草公司重点科技项目(027Y2012-083)、贵州省烟草公司科技项目(201203)和山东烟草公司重大专项(200901)资助

\*\* 通讯作者: 孔凡玉(1969—), 男, 硕士, 研究员, 主要从事植物病理学研究。E-mail: kongfanyu123@126.com

张成省(1976—), 男, 硕士, 副研究员, 主要从事农业资源微生物研究。E-mail: zhchengsheng@126.com

收稿日期: 2012-09-10 接受日期: 2013-03-05

strains for the genera *Klebsiella* bacteria in tobacco rhizosphere soil. Further studies were necessary into the effects of the bacterial strains on mobilizing K-bearing minerals under field conditions.

**Key words** Tobacco, Rhizosphere, K-solubilizing bacteria, Diversity, Growth promotion

(Received Sep. 10, 2012; accepted Mar. 5, 2013)

钾对植物的生长发育非常重要, 参与细胞渗透调节、物质运输, 促进酶的活化、氮素的利用以及蛋白质和糖类的合成, 增强植物的光合作用<sup>[1]</sup>。植物只能从土壤中吸收钾元素。土壤中含有丰富的钾元素, 但可直接被植物吸收的有效钾仅为 1%~2%<sup>[2]</sup>, 约 90%~98%的钾元素以缓效态形式存在于钾长石或云母等硅酸盐矿物中, 不能被作物直接吸收利用<sup>[3]</sup>, 这就导致了土壤既富钾又缺钾的现象。受作物吸收、浸出、流失和腐蚀等多种因素的影响, 土壤中可利用钾素含量大大降低, 土壤缺钾以及钾肥短缺已成为制约我国农业生产发展的重要限制因素<sup>[4]</sup>。植物缺钾会导致叶片沿叶缘出现黄色或呈烧焦状, 且生长缓慢, 根系发育不全。为保证作物的钾素供应, 农业生产中普遍使用化学钾肥, 该方法成本高, 钾肥利用率低, 对生态环境易造成破坏。把土壤中固化的缓效态钾变成可供植物吸收利用的有效钾则更为经济有效。土壤中许多微生物能够溶解以钾矿石形式存在的钾离子, 如云母、伊利石、正长石等, 通过分泌有机酸, 能快速溶解岩石中的钾或通过螯合硅离子将钾离子溶解到土壤中<sup>[5]</sup>。大量研究表明, *Bacillus mucilaginosus* 和 *Bacillus edaphicus*<sup>[6-7]</sup>能通过产生羧酸如酒石酸、柠檬酸以及多糖等物质解钾。利用解钾微生物增加土壤中有效钾离子<sup>[8]</sup>, 有望缓解钾肥短缺的现状。此外, 解钾微生物还可以分泌一些促进植物生长的活性物质<sup>[9]</sup>, 因此解钾微生物的研究和利用对植物生长、生态环境保护具有重要意义。

烟草是中国重要的经济作物, 常年种植面积 100 万  $\text{hm}^2$ 。烟草同时是一种需钾量很大的作物。钾除了作为重要的营养元素发挥作用外, 还能提高烟叶燃烧性, 从而降低焦油产生量, 提高烟制品的安全性。钾含量是判断烟叶品质的重要指标之一。通过增施钾肥, 提升钾的有效性, 能够有效增加烟叶中的钾含量<sup>[10-11]</sup>。但是, 化肥的大量使用不仅增加

了成本, 还会破坏土壤结构, 降低有机质含量<sup>[12]</sup>, 并造成环境污染。近年来, 随着人们对食品与安全的日益重视, 中国有机农业发展迅速, 烟田的有机生产面积也日益增多, 有机烟田化学肥料和农药等农用化学品的施用受到严格限制。为了补充有机农田烟草对钾肥的需求, 钾长石、云母等含钾矿物替代钾肥发挥了巨大作用。钾长石矿含钾量较高(平均含量 13.6%), 是中国分布最广、储量最大的非水溶性钾资源。钾长石通过化学和生物方法可以作为植物的钾素来源: 一种是利用钾长石生产钾肥, 制取困难, 成本高, 国内钾长石主要作为工业原料用于玻璃、陶瓷, 很少用于钾肥生产; 另一种是利用微生物将矿物中的钾转化为植物可吸收利用的形式<sup>[13]</sup>。一些研究已经证明解钾细菌以及添加含钾矿物能够增加土壤中有效钾的含量以及作物对钾的吸收<sup>[4,14]</sup>。利用解钾微生物增加土壤中有效钾含量展现了良好前景。目前有关烟草根际解钾细菌多样性的研究尚少见报道。本研究从烟草根际土壤分离了 27 株解钾细菌, 测定了其解钾活性, 并依据 16S rDNA 序列特征对其进行鉴定和系统发育多样性分析, 初步获得了烟草根际土壤解钾细菌种群的多样性信息, 为烟草根际解钾细菌的研究和应用提供了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

烟草土壤样品分别采自四川省泸州市古蔺县、山东省即墨市和湖北恩施州咸丰县烟田, 于烟草旺长期取 6~10 cm 土层的烟草根系, 抖落根系上的土放入无菌自封袋中。土壤样品的部分理化特性见表 1。

试验用钾矿石为市购钾长石粉(钾元素含量  $100 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 过 100 目筛后无菌水浸泡 3 d, 除去水溶性钾。

试验用培养基为解钾细菌培养基、牛肉膏蛋白胨培养基<sup>[15]</sup>。

表1 土壤样品的部分理化特性  
Table 1 Some physicochemical properties of the experimental soils

烟田地点 Sampling site	海拔 Elevation (m)	土壤类型 Soil type	有机质含量 Organic matter ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	有效磷 Available P ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	有效钾 Available K ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	碱解氮 Alkali-hydrolysis N ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	pH
古蔺 Gulin	920	黄壤 Yellow soil	21.2	1.35	45.63	132.71	6.5
即墨 Jimo	30	棕壤 Brown Soil	12.0	3.52	62.35	103.56	5.8
咸丰 Xianfeng	850	黄棕壤 Yellow brown soil	17.1	3.10	96.80	119.00	6.8

## 1.2 烟草根际土壤解钾细菌分离及其溶钾能力测定

采用解钾细菌培养基<sup>[15]</sup>筛选土壤中的解钾细菌。取根际土样 5 g 溶于 100 mL 无菌水中, 配制成  $10^{-3}$ ~ $10^{-6}$  稀释度根际土壤菌悬液, 取  $10^{-4}$ ~ $10^{-6}$  稀释度根际土壤菌悬液 50  $\mu$ L 在解钾细菌培养基上涂布, 将平板在 30  $^{\circ}$ C 温箱中培养 72 h, 挑选生长旺盛、具有溶钾圈的菌株至牛肉膏蛋白胨斜面培养基上, 以 cm 为计量单位, 测量溶钾圈的直径, 并分别标注采样地及编号, 4  $^{\circ}$ C 保存, 然后进行解钾效果的测定。

## 1.3 烟草根际土壤解钾细菌解钾能力测定

### 1.3.1 解钾细菌的摇床培养

进一步分析在解钾培养基上显现出溶解圈的菌株在液体培养基中释放钾的能力。将供试解钾细菌菌株接入牛肉膏蛋白胨培养基, 28  $^{\circ}$ C 下培养 24 h 后, 用无菌水洗下菌体制成种子菌悬液。在 250 mL 三角瓶中装入 100 mL 牛肉膏蛋白胨液体培养基, 无菌条件下向每个三角瓶内接入 2 mL 解钾细菌培养液后灭菌, 28  $^{\circ}$ C、180 r $\cdot$ min $^{-1}$  条件下振荡培养 24 h, 系列稀释至  $10^8$  cfu $\cdot$ g $^{-1}$  即得解钾细菌培养液, 备用。

将配好的解钾细菌液体培养基按每瓶 50 mL 的装量加入 250 mL 的三角瓶中, 0.1 MPa、20 min 灭菌, 冷却后接入 1 mL 解钾细菌培养液, 并设置不接种的空白对照。接种后, (28 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C、150 r $\cdot$ min $^{-1}$  振荡培养 7 d, 试验设 3 次重复, 第 7 d 测量发酵液中速效钾含量。

### 1.3.2 上清液速效钾测定

将在三角瓶中培养好的解钾细菌发酵液倒出并定容至 50 mL, 将发酵液在 500 r $\cdot$ min $^{-1}$  下离心 10 min, 除去发酵液中的不溶性物质, 然后取 10 mL 菌液 10 000 r $\cdot$ min $^{-1}$  离心 10 min, 用火焰光度法检测上清液中的钾含量<sup>[16]</sup>。同时, 用不同浓度的 KCl 溶液制备标准曲线。从标准曲线中即可得出菌株对钾的降解量。

## 1.4 解钾细菌的系统发育分析

参考 Kim 等<sup>[17]</sup>和 Rainey 等<sup>[18]</sup>的方法小量提取总 DNA。用无菌牙签挑取少许已纯化的菌体重悬于 2  $\mu$ L 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 中, 100  $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 后, 迅速冰浴 2 min, 4  $^{\circ}$ C 下 12 000 r $\cdot$ min $^{-1}$  离心 5 min 备用。为保证 PCR 效果, 每次用前均离心 1 次。取 3  $\mu$ L 上清液用于 50  $\mu$ L PCR 反应体系。反应使用的上游引物为: 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3', 反应使用的下游引物为: 5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 扩增体系(50  $\mu$ L): 0.5  $\mu$ L 基因组 DNA, 2.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  dNTP 混合物 4  $\mu$ L, 正、反向引物各 1  $\mu$ L, 0.5  $\mu$ L TansTaqDNA 聚合酶(Fermentas), 5  $\mu$ L 反应缓冲液(10 $\times$ buffer), ddH<sub>2</sub>O 38  $\mu$ L。PCR 反应程序: 94  $^{\circ}$ C

1 min, 94  $^{\circ}$ C 30 s, 48  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 5 min, 30 个循环, 72  $^{\circ}$ C 10 min。

PCR 产物由上海英骏生物技术有限公司北京测序部测序。将测序得到的结果在 NCBI 进行 blastn 比对, 寻找具有较高同源关系的 16S rDNA 序列。采用 Kimura<sup>[19]</sup>计算核苷酸差异值, 并用 Neighbor-join 法<sup>[20]</sup>构建系统进化树。

## 1.5 解钾细菌的促生作用

将分离的解钾细菌组合进行盆栽测试。选择 40 d 苗龄(4 叶 1 心)的“小黄金 1025”烟苗, 移至钵钵, 每钵 1 株, 每个组 5 株。对照: 将无菌水 10 mL 浇灌于烟草根部; 处理: 将预先繁殖的稳定细菌菌株配制成  $10^6$  cfu $\cdot$ mL $^{-1}$  的菌悬液, 浇灌于烟草根部, 每株 10 mL。按照温室常规管理, 以接种日为起点日, 第 21 d 调查烟株的株高、叶长。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草根际土壤解钾细菌的分离

从四川古蔺、湖北咸丰和山东即墨烟草根际土壤中共分离获得 27 株解钾细菌, 其中古蔺 7 株, 菌株编号为 GL4、GL6、GL7、GL9、GL10、GL11、GL13; 即墨 11 株, 菌株编号为 JM2、JM3、JM5、JM10、JM11、JM12、JM13、JM14、JM16、JM17 和 JM19; 咸丰 9 株, 菌株编号为 XF2、XF4、XF6、XF7、XF9、XF11、XF13、XF15、XF16。采用解钾细菌培养基平板对上述菌株溶钾能力进行定性测定, 结果如图 1 所示, 所有参试菌株均表现一定的溶钾能力, 溶解圈直径为 0.11~0.30 cm, 其中 XF11 菌株溶解圈直径最大, 达 0.30 cm, 其次为 GL7、JM2、JM19, 溶解圈分别为 0.264 cm、0.260 cm 和 0.258 cm, JM5 最小, 仅为 0.11 cm。

### 2.2 菌株的解钾活性测定

27 株烟草根际解钾细菌解钾能力测定结果如图 2 所示。结果表明, 所有参试菌株均有一定的解钾能力, 但菌株间差异较大, 有效钾含量范围分布在 0.59~4.40 mg $\cdot$ L $^{-1}$ , 其中 1.0 mg $\cdot$ L $^{-1}$  以下的菌株有 15 株, 占 55.56%, 1.0~2.0 mg $\cdot$ L $^{-1}$  的菌株有 8 株, 占 29.63%, 2.0 mg $\cdot$ L $^{-1}$  以上的 4 株, 占 14.81%。解钾效果最好的菌株 XF11 有效钾含量为 4.40 mg $\cdot$ L $^{-1}$ , 是对照组的 8.8 倍。其次为菌株 JM2, 有效钾含量为 3.34 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。其他解钾效果较好的菌株是 GL7 和 XF4, 有效钾含量在 2.0 mg $\cdot$ L $^{-1}$  以上。

### 2.3 烟草根际土壤解钾细菌的系统发育分析

对 27 株解钾细菌的 16S rDNA 进行序列测定, 将获得的序列通过 BLAST 程序与 GenBank 数据库中已报道的 16S rDNA 序列进行相似性比对分析。

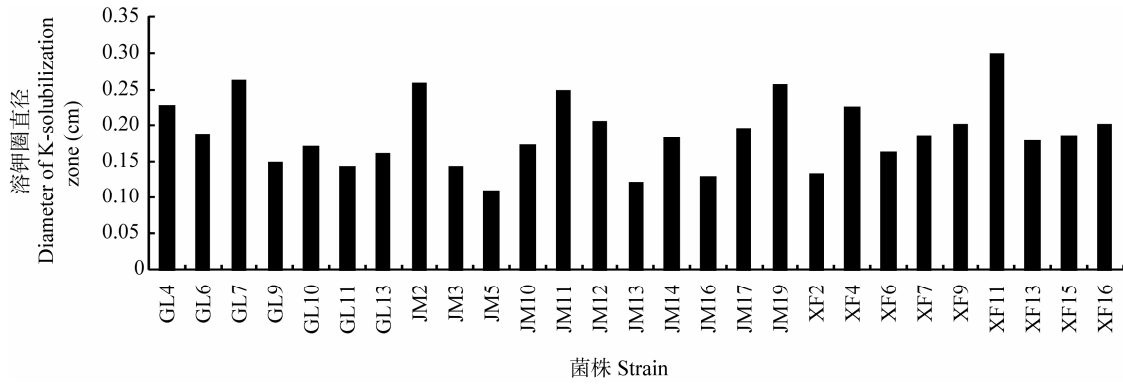


图1 分离自烟草根际土壤的解钾细菌不同菌株在平板上的溶钾能力测定

Fig. 1 *In vitro* potassium solubilities of different strains of K solubilizing bacteria isolated from tobacco rhizosphere soil

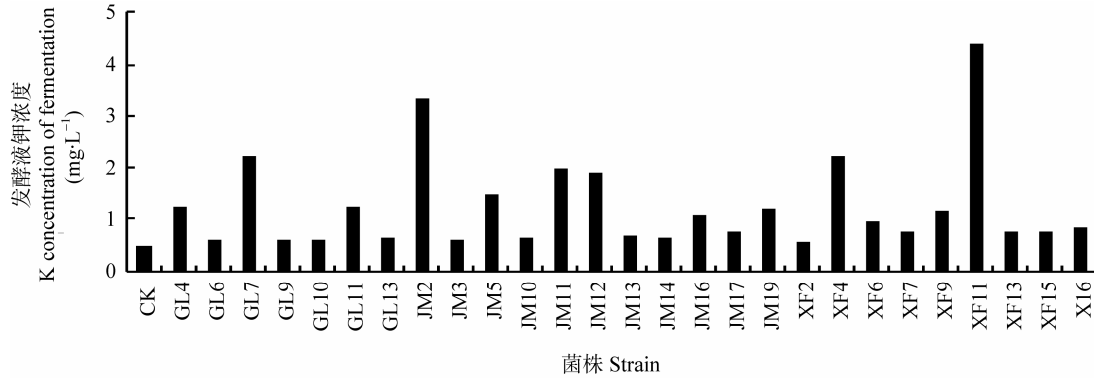


图 2 分离自烟草根际土壤的解钾细菌不同菌株解钾效能测定

Fig. 2 Potassium releasing ability of different strains of K solubilizing bacteria isolated from tobacco rhizosphere soil

结果表明, 27 株烟草根际土壤解钾细菌主要分属于 5 大类群(表 2、图 3)。其中, 23 株属于变形菌门  $\gamma$  亚群, 占 85.19%, 其余 4 株分别属于变形菌门  $\alpha$  亚群、变形菌门  $\beta$  亚群、放线菌门和拟杆菌门。其中 18 株 (66.67%) 在系统发育上与克雷伯氏菌 (*Klebsiella*) 关系密切, 16S rDNA 序列相似性 98%~100%, 成为分离获得的最优势菌属。4 株 (14.81%) 与肠杆菌 (*Enterobacter*) 系统关系密切, 为分离获得的第 2 优势菌属。

### 2.4 解钾细菌菌株对烟草生长的影响

温室盆栽试验结果表明(图 4), 参试菌株对烟草生长均有一定程度的促进作用。利用解钾细菌菌液处理烟株 20 d 后, 与对照相比, 株高增加 0.97%~38.64%, 最大叶长增加 4.40%~31.02%, 以菌株 XF11 促生效果最为明显, 株高和最大叶长较对照分别增加 38.64%和 31.02%, 其次为 GM2、JM19 和 GL7。

## 3 讨论与结论

钾是植物生长和发育的主要大量元素。土壤中绝大多数钾存在于各种不可溶解的岩石、矿物及各种沉积岩中<sup>[3]</sup>, 在某种情况下它们可以被溶解并被植物利用。微生物在自然界的钾循环中发挥了重要

表 2 分离自烟草根际土壤的解钾细菌系统发育分析  
Table 2 Phylogenetic analysis of K solubilizing bacteria isolated from tobacco rhizosphere soil

类群 Genus	菌株 Strain	最相近菌株(登陆号) Closest strain (accession no.)	序列相似性 Sequence similarity (%)
<i>Klebsiella</i>	GL4	<i>K. variicola</i> (NR_025635)	100
	GL6	<i>K. variicola</i> (CP001891)	99
	GL9	<i>K. variicola</i> (HQ407252)	99
	JM2	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	JM3	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	JM5	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	JM10	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	JM12	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	JM13	<i>K. variicola</i> (HQ407252)	99
	JM14	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	98
	JM16	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	XF4	<i>K. variicola</i> (CP001891)	99
	XF6	<i>K. variicola</i> (JF690980)	100
	XF7	<i>K. variicola</i> (CP001891)	99
	XF9	<i>K. variicola</i> (CP001891)	99
	XF11	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	XF13	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
	XF16	<i>K. variicola</i> (HQ259961)	99
<i>Enterobacter</i>	GL7	<i>E. cloacae</i> (JF772064)	99
	JM11	<i>E. cloacae</i> (JF772064)	99
	XF2	<i>E. asburiae</i> (HQ455820)	99
	XF15	<i>E. aerogenes</i> (EU855208)	99
<i>Pantoea</i>	GL10	<i>P. agglomerans</i> (AM184264)	99
<i>Agrobacterium</i>	GL11	<i>A. tumefaciens</i> (FN433082)	99
<i>Microbacterium</i>	JM17	<i>M. foliorum</i> (EU714341)	100
<i>Burkholderia</i>	GL13	<i>B. cepacia</i> (FN178432)	100
<i>Myroides</i>	JM19	<i>M. odoratimimus</i> (GU186112)	99

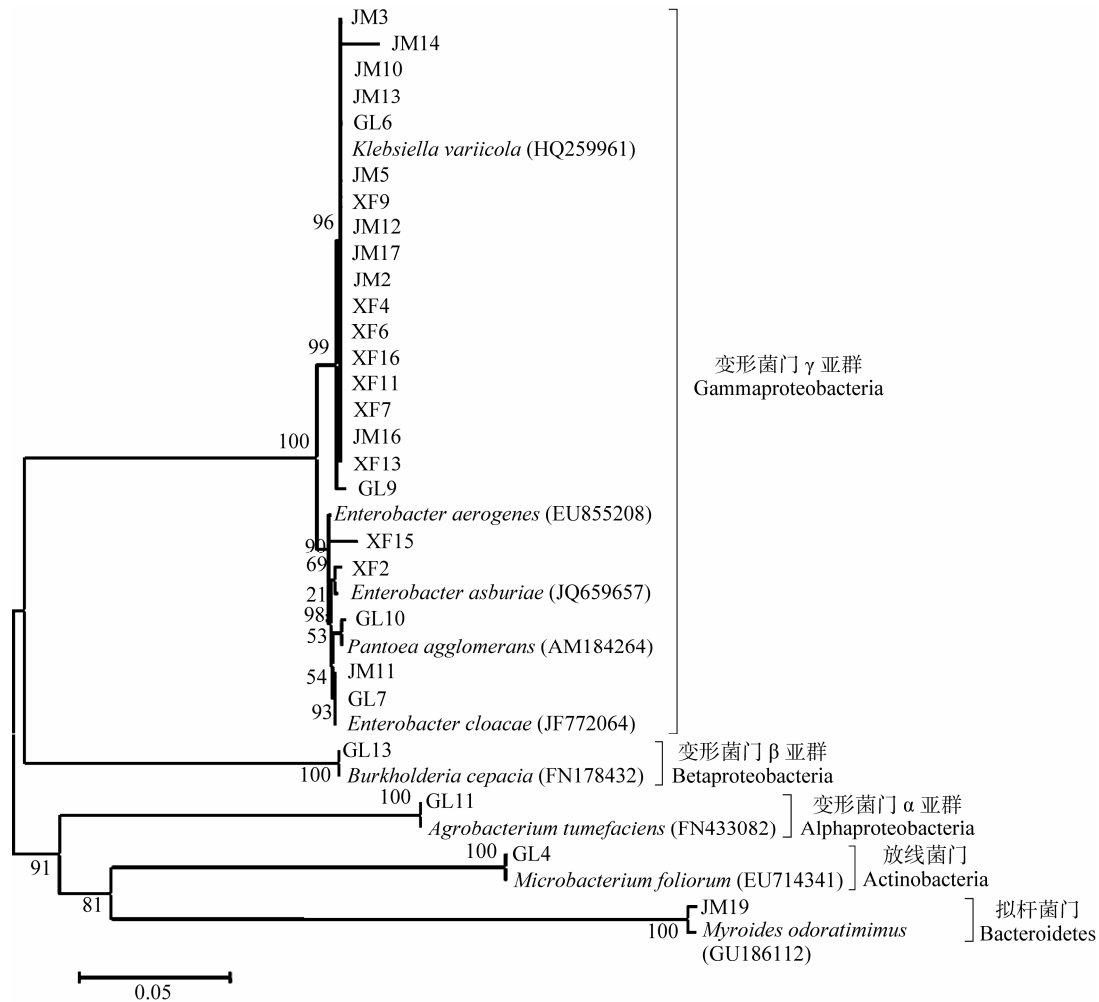


图 3 基于 16S rDNA 序列同源性的烟草根际土壤解钾细菌系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of K solubilizing bacteria isolated from tobacco rhizosphere soil based on 16S rDNA sequences

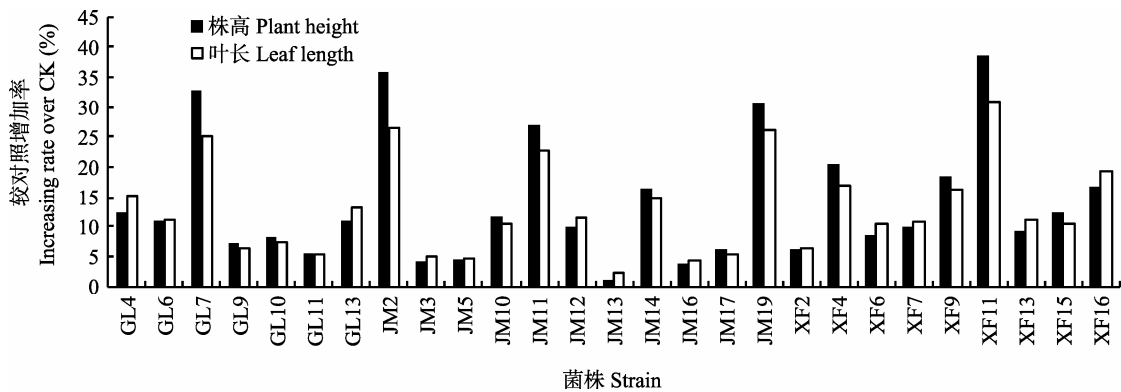


图 4 烟草根际土壤解钾细菌不同菌株对烟草生长的影响

Fig. 4 Effect of different strains of K solubilizing bacteria isolated from tobacco rhizosphere soil on growth of tobacco

作用。大量研究表明, 土壤中含大量具有解钾能力的微生物<sup>[5]</sup>。这些微生物能够分解钾长石、云母等硅酸盐类矿物, 把土壤中的固态钾分解、转化成为可以被作物直接吸收的有效钾, 同时它还可以分泌一些促进植物生长的活性物质<sup>[9]</sup>, 其作为生物肥料在农业和环境保护中的应用成为研究热点。

从作物根际更易于分离获得解钾细菌<sup>[21]</sup>, 人们从水稻<sup>[22]</sup>、玉米<sup>[23]</sup>、椰子<sup>[22]</sup>等作物上分离了大量解

钾细菌。目前分离的解钾细菌多为 *Bacillus* sp.和 *Pseudomonas* sp., 特别是胶质芽孢杆菌 *B. mucilaginosus* 研究最为广泛<sup>[16,22,24-25]</sup>。有关烟草根际解钾细菌报道较少, 张朝辉等<sup>[26]</sup>从烟草根际分离了解钾细菌 K03 菌株, 罗华元等<sup>[15]</sup>筛选了 1 株高效解钾菌株侧孢芽孢杆菌(*Bacillus Lateraporus*)K77。本研究从烟草根际分离出 27 株解钾细菌, 经 16S rDNA 序列测定, 初步鉴定分属于 7 个种, 其中 18 株为变形克

雷伯氏菌, 2 株为阴沟肠杆菌, 2 株为阿是肠杆菌, 成团泛菌、*Agrobacterium tumefaciens*、*Microbacterium foliorum*、*Burkholderia cepacia*、*Myroides odoratimimus* 各 1 株, 以便栖克雷伯氏菌和阿氏肠杆菌为优势种群。从研究结果可以看出, 烟草与其他作物根际解钾细菌种群差异较大, 说明不同作物间根际解钾细菌多样性差异较大。

在解钾细菌培养基上, 不同菌株溶钾圈差异较大, 直径为 0.11~0.30 cm。进一步测定各菌株的解钾能力, 结果表明不同菌株解钾能力差异很大, 解钾活性为 0.59~4.40 mg·L<sup>-1</sup>。同种菌株的解钾能力也表现较大差异。18 株变栖克雷伯氏菌中, 解钾效能最低的 GL6、GL9 和 JM3, 解钾活性仅为 0.60 mg·L<sup>-1</sup>, 而最高的 XF11 菌株则达 4.40 mg·L<sup>-1</sup>。这一研究结果与 Sugumaran 等<sup>[16]</sup>和 Mikhailouskaya 等<sup>[27]</sup>研究结果基本一致。阴沟肠杆菌和阿氏肠杆菌菌种间解钾效能差异相对较小, 可能与分离菌株数量较少有关。

此前研究表明解钾微生物能促进植物的生长<sup>[28]</sup>。Lin 等<sup>[7]</sup>和 Egamberdiyeva 等<sup>[29]</sup>证明, 接种细菌导致促生作用以及植物钾含量增加。Basak 等<sup>[30]</sup>研究表明, 接种解钾细菌后, 可以促进黑麦草的生长以及对氮、钾的营养吸收。本研究筛选的解钾细菌菌株均能不同程度地促进烟草的生长, 以 XF11 菌株促生效果最佳。这种促生作用, 是因为解钾细菌分泌生长素, 还是使土壤中有效钾含量增高, 有待于进一步研究。

本文从烟草根际分离获得 27 株解钾细菌, 对其解钾能力以及种群多样性进行了研究, 利用盆栽试验测定了解钾菌株对烟草的促生作用、营养吸收的影响以及土壤中钾含量的影响。结果表明, XF11 和 JM3 菌株对烟苗株高、叶长有明显促进作用。本研究筛选的 XF11 和 JM3 菌株展现了作为生物钾肥的良好应用潜力, 但本试验结果是在温室条件下获得的, 有关解钾菌株的作用机理及田间应用效果有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Sparks D L, Huang P M. Physical chemistry of soil potassium[M]//Munson R D. Potassium in Agriculture. American Society of Agronomy, 1985: 201-276
- [2] Malinovskaya I M, Kosenko L V, Votselko S K, et al. Role of *Bacillus mucilaginosus* polysaccharide in degradation of silicate minerals[J]. Microbiology, 1990, 59(1): 49-55
- [3] Goldstein A H. Involvement of the quino protein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous mineral phosphates by gram negative bacteria[J]. In Phosphate in Micro-Organisms: Cellular and Molecular Biology, 1994: 197-203
- [4] Sheng X F, Huang W Y. Mechanism of potassium release from feldspar affected by the strain NBT of silicate bacterium[J]. Acta Pedol Sin, 2002, 39(6): 863-871
- [5] Friedrich S, Platonova N P, Karavaiko G I, et al. Chemical and microbiological solubilization of silicates[J]. Acta Biotech, 2004, 11(3): 187-196
- [6] Richards J E, Bates T E. Studies on the potassium-supplying capacities of southern Ontario soils. III. Measurement of available K[J]. Canadian Journal of Soil Science, 1989, 69(3): 597-610
- [7] Lin Q M, Rao Z H, Sun Y X, et al. Identification of a silicate-dissolving bacterium and its effect on tomato[J]. Sci Agric Sin, 2002, 35(1): 59-62
- [8] Barker W W, Welch S A, Chu S, et al. Experimental observations of the effects of bacteria on aluminosilicate weathering[J]. Am Miner, 1998, 83: 1551-1563
- [9] Sheng X F, He L Y, Huang W Y. The conditions of releasing potassium by a silicate-dissolving bacterial strain NBT[J]. Agric Sci China, 2001, 1(6): 662-666
- [10] 马朝文. 中国烟叶含钾量研究现状及其提高途径探讨[J]. 作物研究, 2006, 20(2): 190-193
- [11] Ma C W. Status of potassium studies and approaches to improving potassium content in tobacco leaves in China[J]. Crop Research, 2006, 20(2): 190-193
- [12] 李强, 李章海, 黄义德. 中国烟叶低钾含量的成因及解决途径探讨[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 452-453, 455
- [13] Li Q, Li Z H, Huang Y D. Research advance and expectation of tobacco nutrition and potassium content in tobacco leaf[J]. J Anhui Agri Sci, 2007, 35(2): 452-453, 455
- [14] 马光庭. 生态有机肥与农业可持续发展[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(3): 191-193
- [15] MA G T. Ecological organic fertilizers and sustainable development of agriculture[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2004, 12(3): 191-193
- [16] Nishanth D, Biswas D R. Kinetics of phosphorus and potassium release from rock phosphate and waste mica enriched compost and their effect on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum*)[J]. Biores Technol, 2008, 99(9): 3342-3353
- [17] Sheng X F. Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*[J]. Soil Biol Biochem, 2005, 37(10): 1918-1922
- [18] 罗华元, 常寿荣, 王绍坤, 等. 云烟高端品牌植烟区根际土壤高效解钾菌的筛选[J]. 西南农业学报, 2011, 24(5): 1813-1817
- [19] Luo H Y, Chang S R, Wang S K, et al. Screening of highly effective potassium bacteria in rhizosphere soil of high-end brand tobacco in Yunnan[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(5): 1813-1817
- [20] Sugumaran P, Janarthanam B. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth[J]. World J Agric Sci, 2007, 3(3): 350-355
- [21] Kim S B, Yoon J H, Kim H, et al. A phylogenetic analysis of the genus *Saccharomonospora* conducted with 16S rRNA gene sequences[J]. International Journal of Systematic Bacte-

- riology, 1995, 45(2): 351–356
- [18] Rainey F A, Ward-Rainey N, Kroppenstedt R M, et al. The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(4): 28–96
- [19] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111–120
- [20] 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
- [21] Altamare C, Norvell W A, Bjorkman T, et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and bacterial fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1296-22[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(7): 2926–2933
- [22] Murali G, Gupta A, Nair R V. Variations in hosting beneficial plant-associated microorganisms by root wilt-diseased and field-tolerant coconut palms of west coast tall variety[J]. Curr Sci, 2005, 89(11): 1922–1927
- [23] Lian B. Study on silicate bacteria dissolve potassium[M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Press, 1998: 103–108
- [24] 刘光焯, 林洋, 黄昭贤. 硅酸盐细菌解钾兼拮抗活性菌株的筛选[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 66–68  
Liu G Y, Lin Y, Huang Z X. Screening of silicate bacteria with potassium-releasing and antagonistical activity[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2001, 7(1): 66–68
- [25] Zhou H B, Zeng X X, Liu F F, et al. Screening, identification and desilication of a silicate bacterium[J]. Journal of Central South University Technology, 2006, 13(4): 337–341
- [26] 张朝辉, 王豹祥, 席淑雅, 等. 一株烤烟根际解钾细菌的鉴定及其在烤烟生产中的应用[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(3): 553–558  
Zhang C H, Wang B X, Xi S Y, et al. Identification of a silicate bacterium from flue-cured tobacco rhizosphere and application in flue-cured tobacco production[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2011, 23(3): 553–558
- [27] Mikhailouskaya N, Tcherhysh A. K-mobilizing bacteria and their effect on wheat yield[J]. Latvian J Agron, 2005, 8: 154–157
- [28] Basak B B, Biswas D R. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols[J]. Plant Soil, 2009, 317(1/2): 235–255
- [29] Egamberdiyeva D, Höflich C. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures[J]. Soil Biol Biochem, 2003, 35(7): 973–978
- [30] Basak B B, Biswas D R. Co-inoculation of potassium solubilizing and nitrogen fixing bacteria on solubilization of waste mica and their effect on growth promotion and nutrient acquisition by a forage crop[J]. Biol Fertil Soils, 2010, 46(6): 641–648