

Cd^{2+} 对无机磷细菌生长及溶磷作用的影响^①

王玉书¹, 刘 海^{1,2}, 黄建国^{1*}

(1 西南大学资源环境学院, 重庆 400716; 2 贵州省农业科技信息研究所, 贵阳 550006)

摘 要: 无机磷细菌(phosphorus solubilization bacteria, PSB)是重要的土壤有益微生物, 它们将植物不能吸收的难溶性无机磷转化为有效磷, 对土壤磷素供应十分重要。镉是污染土壤的常见重金属, 研究 Cd^{2+} 胁迫下 PSB 的生长和溶磷能力, 可揭示镉污染对土壤无机磷转化供应的影响, 为改善植物磷素供应提供有益信息。试验以重庆市缙云山国家森林公园毛竹林地分离的 4 株假单胞菌为供试菌株, 比较它们的溶磷能力, 研究了不同浓度 Cd^{2+} 对 PSB 生长和溶磷作用的影响。结果表明: 供试菌株溶磷能力 $\text{PSB05} > \text{PSB09} > \text{PSB07} > \text{PSB01}$, 溶磷指数和溶磷率最高值是最低值的 2.08 倍和 4.14 倍。摇瓶培养 120 h 后, 培养液 pH 表现为 $\text{PSB01} > \text{PSB07} > \text{PSB09} > \text{PSB05}$, 并与培养液中的无机磷含量(y)呈显著负相关($y = -83.148 \text{ pH} + 581.96$, $R^2 = 0.9052$, $n = 25$)。在固体培养时, PSB05 的溶磷圈和菌落直径随培养基中 Cd^{2+} 浓度提高而降低。在 Cd^{2+} 浓度 0.5 ~ 2.0 mg/L 液体培养基中, PSB05 数量较无 Cd^{2+} 对照减少 22.09% ~ 68.18%, 草酸、乙酸、柠檬酸和氢离子分泌量显著下降, 溶磷量降低 5.27% ~ 38.45%。供试菌株的溶磷能力差异显著; 高浓度 Cd^{2+} 抑制 PSB05 生长、有机酸和氢离子分泌及溶磷作用, 不利于土壤供给磷素。

关键词: 镉; 无机磷细菌; 溶磷

中图分类号: S144 **文献标识码:** A

磷是植物必需的“三要素”之一, 其重要性仅次于氮。土壤无机磷一般占全磷的 50% ~ 80%, 并以难溶状态为主^[1-2]。无机磷细菌(phosphorus solubilization bacteria, PSB)是重要的土壤有益微生物, 它们将植物不能吸收的难溶性无机磷转化为有效磷, 对土壤磷素供应和作物生长十分重要^[3]。将 PSB 加入土壤, 有效磷提高 5.77 ~ 14.92 mg/kg^[4]。PSB 与过磷酸钙或钢渣磷肥混合施用, 大豆吸磷量分别增加 12.3% 和 6.2%^[5]。Chabot 等^[6]和 Walpola 等^[7]发现, PSB 促进西红柿、洋葱、马铃薯、香蕉、柑橘、咖啡、荞麦、苋菜和玉米等作物吸收磷素营养。Taurian 等^[8]从土壤中分离出 59 株 PSB, 均能不同程度地溶解难溶性磷酸盐, 提高花生生物量, 促进根系生长和根瘤形成。在 PSB 溶解无机磷酸盐的过程中, 所分泌的有机酸和氢离子起重要作用^[9]。

镉(Cd)是土壤污染的常见重金属之一, 居 12 种全球危险性化学物质之首^[10]。我国约有 74% 的耕地缺磷, 必须大量施用磷肥。26 a 的定位试验表明, 长期施用过磷酸钙使土壤 Cd 含量增加 7 倍^[11]。在农业

生产中, 施用磷肥是造成土壤 Cd 污染的重要原因。Sheik 等^[12]和 Chai 等^[13]分析了不同制革厂周边的土壤样品, 发现重金属污染降低土壤细菌群落多样性, 并分离出能快速溶解大量磷酸钙、磷矿石或磷酸铝等难溶性磷酸盐的 *Penicillium* sp. PSM11-5, 其机理是分泌葡萄糖酸或柠檬酸等溶解磷。在 Cd 污染环境中, 用内生真菌 *Penicillium janthinellum* LK5 接种野生型和脱落酸缺陷突变体的两种番茄植株, 促进植物生长, 提高叶绿素含量和气孔导度, 以及根系磷含量^[14]; 将解磷菌株 *Bacillus subtilis* SJ-101 施入镍污染土壤, 显著增加芥菜生物量^[15]; 在砷污染土壤中, 施用解磷菌株显著增加玉米根系长度^[16]。因此, 重金属污染土壤中可能存在抗性菌株。此外, Cd 对土壤微生物产生多方面的危害, 包括干扰新陈代谢, 降低酶活性, 破坏蛋白质和细胞结构, 妨碍 DNA 复制与修复, 抑制生长繁殖等^[17]。土壤中栖息着 $10^6 \sim 10^9$ 种微生物, 具有不同的生理、生化和生态功能^[18]。但是, 目前关于 Cd^{2+} 对 PSB 活化磷影响的认知还远远不够。

本研究以重庆市缙云山国家森林公园毛竹林地

①基金项目: 贵州省烟草公司遵义市公司科研项目(201503)资助。

* 通讯作者(huang99@swu.edu.cn)

作者简介: 王玉书(1991—), 男, 山西阳泉人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物。E-mail: 969014327@qq.com

中分离的 4 株 PSB 为供试菌株, 比较了它们的溶磷能力, 并在培养液中添加不同浓度的 Cd^{2+} , 研究了溶磷能力最强的菌株——PSB05 的生长及溶磷作用, 旨在揭示 Cd 污染对土壤 PSB 生长和溶磷能力的影响, 为改善树木磷素供应提供有益信息。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株: PSB01、PSB05、PSB07 和 PSB09 等 4 株 PSB, 属于变形菌门(Proteobacteria), γ -变形菌纲(γ -Gammaproteobacteria), 假单胞菌目(Pseudomonadales), 假单胞菌科(Pseudomonadaceae), 假单胞菌属(*Pseudomonas*), 从重庆市缙云山国家森林公园毛竹林地(106°20' E, 29°49' N, 黄壤, pH 4.34)中分离获得, 保存于西南大学资源环境学院微生物实验室。

培养基(g): 琼脂 20, 葡萄糖 10, 磷酸三钙 2.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5, NaCl 0.2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, KCl 0.2, 酵母膏 0.5, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 各 0.002, 蒸馏水 1 000 ml, pH 7.0 ~ 7.5, 液体培养基不含琼脂, 灭菌备用(121℃, 30 min, 下同)。

Cd^{2+} 溶液: 用分析纯 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和无离子水配制 100 mg/L 母液。

1.2 方法

1.2.1 PSB 溶磷能力的测定 取供试 PSB, 接种于琼脂固体培养基, 28℃ 恒温培养 7 d, 用游标卡尺十字交叉法测量培养后的菌落和溶磷圈直径, 计算溶磷指数^[19]: 溶磷指数=(菌落直径+溶磷圈直径)/菌落直径。

同时, 将 PSB 分别接种于液体培养基中, 摇瓶培养 48 h(28℃, 100 r/min, 下同), 稀释至细菌数 $10^2/\text{ml}$ 。取 1 ml 接种于 100 ml 培养液中, 对照为接等量的灭菌稀释液, 重复 5 次, 摇瓶培养 120 h, 离心 10 min (4℃, 10 000 r/min)。取上清液, 用 pH S-3C 精密酸度计测定 pH, 钼蓝比色法测定无机磷含量^[20], 并计算溶磷率^[21]。溶磷率=[(接菌培养液磷含量-无菌培养液磷含量)×培养液体积/磷酸钙中的磷量]×100%。

1.2.2 Cd^{2+} 对 PSB 生长和溶磷能力影响的测定 国

家《土壤环境质量标准》(GB15618—2015)规定, I~III 类农业用地含 Cd 量不超过 0.25 ~ 1.0 mg/kg。因此, 利用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 母液配制 Cd^{2+} 浓度(mg/L)分别为 0(对照)、0.5(低)、1.0(中)和 2.0(高)的液体培养基, 各取 100 ml 于 250 ml 三角瓶中, 灭菌、冷却, 接种 PSB05, 摇瓶培养 120 h, 重复 5 次。

每隔 12 h, 用 1.2.1 中的方法测定培养液 pH 和无机磷浓度, 计算溶磷量(即: 培养液无机磷浓度×培养液体积)。培养结束后, 用显微镜(XSP-6C, 上海迪诺力泰公司)观测计数培养液中的 PSB。然后, 用 0.1 mol/L H_2SO_4 酸化培养液, 高效液相色谱测定有机酸浓度。色谱条件为: Ion-300 有机酸分析专用柱(Phenomenex, Torrance, CA, USA), 进样量 20 μl , 流动相 2.5 mmol/L 硫酸, 流速 0.5 ml/min, 柱温 35℃, 压力 450 psi, Diode Array L-7455 紫外检测器, 检测波长 210 nm。检测的有机酸包括草酸、柠檬酸和乙酸, 其出峰时间(min)依次为 9.15、10.51 和 14.91。

1.3 数据处理

分别用 Excel 2010 和 SPSS 17.0 软件对试验数据进行基本计算和统计分析, LSD 进行多重比较, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 PSB 的溶磷能力

从图 1 和表 1 可见, 溶磷圈直径、溶磷指数、培养液水溶性无机磷浓度和溶磷率均以 PSB05 最大, PSB07 和 PSB09 次之, PSB01 最小, 溶磷指数、培养液无机磷浓度、溶磷率 3 指标最高值是最低值的 2.08 倍、3.14 倍和 4.14 倍。此外, 在液培结束时, 培养液 pH 表现为 PSB01 > PSB07 > PSB09 > PSB05, 并与培养液水溶性无机磷浓度(y)呈显著负相关($y = -83.148\text{pH} + 581.96$, $R^2 = 0.9052$, $n = 25$)。

2.2 Cd^{2+} 对 PSB05 菌株生长的影响

考虑到 PSB05 溶磷能力最强, 故以其为对象研究 Cd^{2+} 对 PSB05 菌株生长和溶磷作用的影响。在固体培养时, Cd^{2+} 浓度越高, PSB05 菌落直径越小, 即 Cd^{2+} 抑制生长的作用越强(图 2)。在液体培养时,

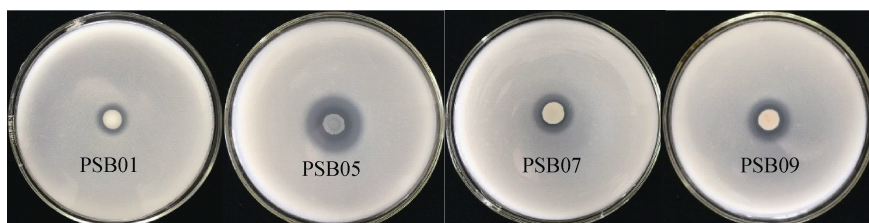


图 1 固体培养 PSB 的溶磷状况

表 1 不同 PSB 菌株的溶磷能力

菌株	固体培养			液体培养		
	溶磷圈直径(cm)	菌落直径(cm)	溶磷指数	pH	水溶性无机磷(mg/L)	溶磷率(%)
CK	—	—	—	6.99 ± 0.02 a	21.42 ± 1.97 d	—
PSB01	0.81 ± 0.01 d	0.73 ± 0.02 b	2.10 ± 0.02 d	6.05 ± 0.04 b	67.60 ± 4.08 c	9.24 ± 0.98 c
PSB05	2.55 ± 0.04 a	0.76 ± 0.03 ab	4.37 ± 0.11 a	4.76 ± 0.02 e	212.6 ± 25.84 a	38.26 ± 1.92 a
PSB07	1.02 ± 0.13 c	0.71 ± 0.04 b	2.44 ± 0.12 c	5.72 ± 0.05 c	89.64 ± 8.12 b	13.65 ± 0.70 b
PSB09	1.32 ± 0.06 b	0.80 ± 0.02 a	2.65 ± 0.38 b	5.57 ± 0.13 d	99.77 ± 10.99 b	15.68 ± 0.88 b

注：同列不同小写字母表示不同菌株间差异显著($P<0.05$)，下同。

Cd²⁺对 PSB05 生长的影响类似固体培养，PSB05 数量比无 Cd²⁺对照减少 22.09%~68.18%(图 3)。

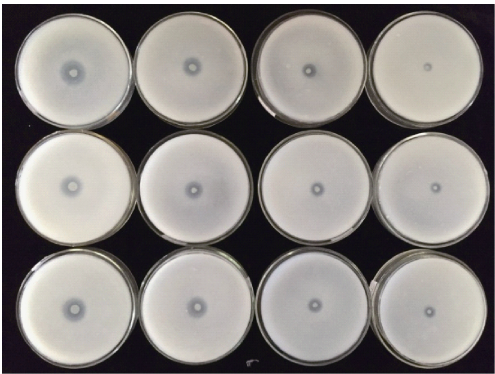
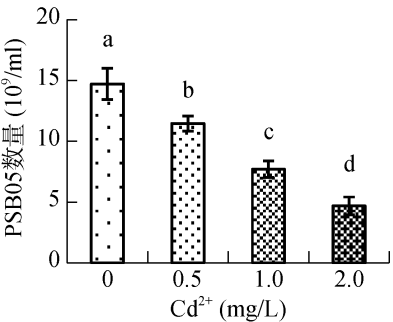


图 2 Cd²⁺对 PSB05 菌株生长的抑制作用



(图中不同小写字母表示处理间差异在 $P<0.05$ 水平显著)
图 3 液体培养中 Cd²⁺对 PSB05 菌株数量的影响

2.3 Cd²⁺ 对 PSB05 分泌有机酸和氢离子的影响

在 PSB05 的培养液中，分别检测到草酸、乙酸和柠檬酸。其中，柠檬酸浓度最高，乙酸次之，草酸最低(表 2)。低、中浓度 Cd²⁺ 促进草酸分泌，提高培养液中的草酸浓度；高浓度 Cd²⁺ 则产生抑制作用，草酸浓度比对照降低 32.55%。随 Cd²⁺ 浓度提高，培养液乙酸含量降低；在高 Cd²⁺ 浓度的培养液中，乙酸含量比对照降低 67.83%。与对照相比，低 Cd²⁺ 促进柠檬酸分泌，培养液柠檬酸含量提高；中、高浓度 Cd²⁺ 则产生抑制作用，降低培养液中的柠檬酸浓度。

由表 2 可见，与乙酸类似，随 Cd²⁺ 浓度提高，培养液中的氢离子含量降低。在高 Cd²⁺ 培养液中，氢离子含量比对照降低 84.16%。

2.4 Cd²⁺ 对 PSB05 菌株溶磷量的影响

在固体培养基中加入 Cd²⁺，不仅菌落直径降低，同时也减小溶磷圈直径(图 2)。在液体培养基中，随培养时间延长，PSB05 的溶磷量逐渐增加，可用对数方程 $y=a\cdot\ln(x)+b$ 描述溶磷量(y)与培养时间(x)之间的关系(图 4)。值得注意的是，Cd²⁺ 显著降低溶磷量，Cd²⁺ 浓度越高，降幅越大。液培 120 h 后，PSB05 的溶磷量(mg/瓶)分别是 19.17(对照)、18.16(低 Cd²⁺)、15.99(中 Cd²⁺)和 11.80(高 Cd²⁺)。

表 2 PSB05 菌株培养液中的有机酸和氢离子浓度

Cd ²⁺ (mg/L)	草酸(mg/L)	乙酸(mg/L)	柠檬酸(mg/L)	H ⁺ (μg/L)
0	40.98 ± 1.89 b	991.50 ± 60.78 a	1 146.4 ± 73.69 b	16.60 ± 1.46 a
0.5	48.84 ± 0.98 a	658.88 ± 22.03 b	1 448.25 ± 24.04 a	9.12 ± 0.31 b
1.0	48.94 ± 5.14 a	621.88 ± 98.39 b	1 070.34 ± 19.70 b	3.98 ± 0.25 c
2.0	27.64 ± 1.02 c	318.92 ± 85.76 c	818.08 ± 72.44 c	2.63 ± 0.14 d

3 讨论

土壤有效磷对 PSB 的溶磷作用产生负反馈调节作用，低磷促进 PSB 溶解磷酸盐，高磷则产生抑制作用^[22]。因此，在农业生产中，大量施用磷肥使 PSB

的效果欠佳。森林一般不施肥，主要依靠土壤供给磷素^[23-24]，热带和亚热带森林土壤有效磷极低，故微生物活化土壤无机磷对于树木磷素供应十分重要^[25]。

在培养液中加入 Cd²⁺，PSB05 数量成倍减少，说明 Cd²⁺ 对 PSB 具有强烈毒性，类似 Cd²⁺ 对固氮

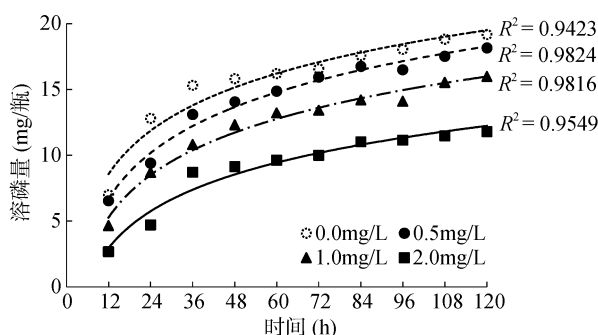


图 4 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下 PSB05 菌株的溶磷量

菌、枯草芽孢杆菌和大肠杆菌等生长繁殖的影响^[26-27]。 Cd^{2+} 与微生物 DNA 和 RNA 中的磷酸结合, 抑制复制和转录或使碱基配对错误^[26]; Cd^{2+} 与蛋白质分子中的羟基、氨基、巯基结合后, 改变其空间结构与功能; Cd^{2+} 还能竞争或破坏酶活性位点, 干扰土壤微生物的相关代谢^[28-30]。因此, 在培养条件下, 外源 Cd^{2+} 强烈抑制稻田土壤功能微生物——厌氧固氮菌及产甲烷菌的生物活性, 但抑制强度存在显著的种群差异^[26]。谢晓梅^[31]发现, Cd^{2+} 对土壤微生物具有广谱毒性, 抑制细胞生长繁殖, 减少种群数量, 降低多样性。在 Cd 污染土壤中, 可培养微生物总数大幅度减少, 但不同种群的微生物对 Cd^{2+} 的敏感性不一样, 导致微生物种群结构改变^[32]。 Cd^{2+} 对明亮发光杆菌 (*Photobacterium phosphoreum*) 的毒性强弱可能与细胞壁对 Cd^{2+} 的亲性和性密切相关, 这是因为光合细菌的细胞壁含有羧基、羟基、醛基等带负电荷的基团, 可吸附带正电荷 Cd^{2+} , 故微生物细胞壁的负电荷越多, 对 Cd^{2+} 亲和性则越强, 其毒性也越大^[33-34]。因此, Cd^{2+} 可能干扰 PSB05 细胞分裂, 妨碍新陈代谢, 抑制生长或造成死亡。在 Cd 本底值较高或遭受 Cd 污染的森林土壤中, 除 Cd 与磷酸盐结合 ($K_{sp}=2.53 \times 10^{-33}$) 降低可溶性磷含量之外, 还可能通过抑制 PSB 生长繁殖, 妨碍溶磷, 引起植物缺素。

PSB 主要依赖于分泌低分子量的有机酸和氢离子活化土壤难溶性磷酸盐^[35-36]。在 PSB05 培养液中, 检测到柠檬酸、草酸和乙酸, 柠檬酸与钙、铁、铝的络合(沉淀)常数($\lg\beta$)分别为 3.42、25.00、20.00; 草酸与钙、铁、铝的依次是 3.00、20.20、16.30, 远高于相应钙、铁、铝等离子与磷的络合(沉淀)常数^[37-39]。因此, PSB 分泌的柠檬酸和草酸可溶解土壤难溶性钙、铁、铝磷酸盐, 释放无机磷^[40]。草酸和乙酸还是较强的有机酸, 能电离大量的氢离子, 直接溶解氟磷灰石、氯磷灰石、羟磷灰石等。供试 4 株 PSB 均能溶解磷酸三钙, 培养液的 pH 与水溶性无机磷浓度

呈线性负相关。有人从豆科植物根际分离出 12 种芽孢杆菌(*Bacillus* sp.), 与假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) 相似, 均能分泌氢离子溶解磷酸钙^[41-42]; 伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia* CC-A174)能分泌葡萄糖酸, 电离出质子, 溶解各类磷灰石^[43]; 在石灰性土壤中, 青霉(*Penicillium bilaji* 和 *Penicillium fuscum*)能在 NH_4^+ 存在时溶解磷酸盐, 溶磷量与 pH 呈负相关^[44-45]。因此, 高 Cd^{2+} 抑制 PSB05 分泌草酸、乙酸、柠檬酸和氢离子, 这可能是固体培养溶磷圈减小和液体培养溶磷量降低的直接原因。

PSB 合成与分泌有机酸的速率关系到培养液中的有机酸含量。在 PSB05 培养液中, 高 Cd^{2+} 降低有机酸浓度, 意味着合成或分泌受到抑制。由于 Cd^{2+} 降低三羧酸循环(TAC)多种酶的活性^[46], 直接涉及柠檬酸和乙酸生物合成, 它们同时也是草酸合成的直接(乙酸)和间接前体(柠檬酸)^[47]。 Cd^{2+} 抑制 TAC 酶活性可能降低 PSB 有机酸生物合成。此外, Cd^{2+} 与微生物 DNA 和 RNA 中的磷酸结合^[26], 可能抑制有机酸合成酶基因组表达, 减少相关酶的合成量。有机酸经细胞膜上的阴离子通道分泌进入培养液^[48], Cd^{2+} 对阴离子通道蛋白的变构作用抑制其活性, 降低有机酸分泌速率。因此, Cd^{2+} 可能既抑制 PSB 有机酸合成又妨碍其分泌。但是, 在 Cd^{2+} 浓度较低时, 促进 PSB 分泌草酸和柠檬酸, 有益于螯(络)合 Cd^{2+} , 减轻伤害, 这种现象可视为保护性生理反应, 也意味着 PSB 合成分泌有机酸对高低浓度的 Cd^{2+} 有不同响应。

4 结论

4 株假单胞菌的溶磷能力差异较大; 高浓度 Cd^{2+} 抑制 PSB 生长、有机酸和氢离子分泌及溶磷作用。研究不同菌株的溶磷作用及其对 Cd^{2+} 的抗性有望获得高效优良的 PSB, 可用于 Cd 污染土壤的修复及改善。

参考文献:

- [1] 盛荣, 肖和艾, 谭周进, 等. 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(6): 1505-1510
- [2] 陈哲, 吴敏娜, 秦红灵, 等. 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
- [3] 王同, 孔令雅, 焦加国, 等. 盆栽条件下溶磷菌对花生生长的影响[J]. 土壤, 2014, 46(2): 313-318
- [4] Ahemad M, Khan M S. Phosphate-solubilizing and plant-growth-promoting *Pseudomonas aeruginosa* PS1 improves greengram performance in quizalafop-p-ethyl and clodinafop amended soil[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 58(2): 361-372

- [5] 李淑高. 解磷微生物的研究[J]. 土壤通报, 1981(5): 33-37
- [6] Chabot R, Antoun H, Cescas MP. Growth-stimulation for corn and cos lettuce using phosphorus-solubilizing microorganisms[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1993, 39(10): 941-947
- [7] Walpole B C, Yoon M H. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake[J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7: 266-275
- [8] Taurian T, Anzuay M S, Angelini J G, et al. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities[J]. Plant and Soil, 2010, 329(1): 421-431
- [9] Kimy H, Bae B, Choung Y K. Optimization of biological phosphorus removal from contaminated sediments with phosphate-solubilizing microorganisms[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 99(1): 23-29
- [10] 肖春文, 罗秀云, 田云, 等. 重金属镉污染生物修复的研究进展[J]. 化学与生物工程, 2013, 30(8): 1-4
- [11] 黄青青, 刘星, 张倩, 等. 磷肥中镉的环境风险及生物有效性分析[J]. 环境科学与技术, 2016(2): 156-161
- [12] Sheik C S, Mitchell T W, Rizvi F Z, et al. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. PloS One, 2012, 7(6): e40059
- [13] Chai B, Wu Y, Liu P, et al. Isolation and phosphate-solubilizing ability of a fungus, *Penicillium* sp. From soil of an alum mine[J]. Journal of Basic Microbiology, 2011, 51(1): 5-14
- [14] Khan A L, Waqas M, Hussain J, et al. Fungal endophyte *Penicillium janthinellum* LK5 can reduce cadmium toxicity in *Solanum lycopersicum* (Sitiens and Rhe)[J]. Biology and Fertility of Soils, 2014, 50(1): 1-11
- [15] Zaidi S, Usmani S, Singh B R, et al. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*[J]. Chemosphere, 2006, 64(6): 991-997
- [16] Shagol C C, Krishnamoorthy R, Kim K, et al. Arsenic-tolerant plant-growth-promoting bacteria isolated from arsenic-polluted soils in South Korea[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2014, 21(15): 9356-9365
- [17] 向彬, 王彬, 徐卫红, 等. 重金属 Cd, Zn, Cu, Pb 对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(3): 4-8
- [18] 徐丽华. 微生物资源学[M]. 科学出版社出版. 2010, 1-5
- [19] Seshadri S, Ignacimuthu S, Lakshminarsimhan C. Variation in heterotrophic and phosphate solubilizing bacteria from Chennai, southeast coast of India[J]. Indian J. Mar. Sci., 2002, 31: 69-72
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版, 2000: 76-79
- [21] 李娟, 王文丽, 卢秉林, 等. 甘肃省河西高钙土溶磷菌筛选及其溶磷能力初步研究[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(2): 8-9
- [22] 范丙全, 唐玉霞, 孟春香, 等. 长期施肥对土壤溶磷微生物的影响[J]. 河北农业科学, 1999, 3(3): 9-12
- [23] 李延茂, 胡江春, 汪思龙, 等. 森林生态系统中土壤微生物的作用与应用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1943-1946
- [24] 杨海君, 肖启明, 刘安元. 土壤微生物多样性及其作用研究进展[J]. 南华大学学报: 自然科学版, 2005, 19(4): 21-26
- [25] 徐文思, 姜瑛, 李引, 等. 一株植物促生菌的筛选, 鉴定及其对花生的促生效应研究[J]. 土壤, 2014, 46(1): 119-125
- [26] 段学军, 闵航. 镉对稻田土壤典型微生物种的胁迫生理毒性[J]. 生态环境, 2005, 14(6): 865-869
- [27] 李淑英, 马玉琪, 苏亚丽, 等. 重金属胁迫培养对微生物生长的影响[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(2): 90-94
- [28] Lee S W, Gliedmann E, Cooksey D A. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator[J]. Appl. Environ. Microbio., 2001, 67: 1437-1444
- [29] Hetzer A, Daughney C J, Morgan H W. Cadmium ion biosorption by the thermophilic bacteria *Geobacillus stearothermophilus* and *G. thermocatenulatus*[J]. Appl. Environ. Microbio., 2006, 72: 4020-4027
- [30] Nies D, Mergeay M, Friedrich B, et al. Cloning of plasmid genes encoding resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus* CH34[J]. Journal of Bacteriology, 1987, 169: 4865-4868
- [31] 谢晓梅. 镉污染对红壤微生物生态特性的影响[J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(9): 54-59
- [32] Roane T M, Pepper I L. Microbial responses to environmentally toxic[J]. Microbial Ecol., 1999, 38(4): 358-364
- [33] 吴淑杭, 周德平, 徐亚同, 等. 重金属汞, 镉和铬对明亮发光杆菌的生物毒性[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(12): 2446-2450
- [34] 修垒, 李专, 安平. 镉和铬对不同生物的毒性效应的研究[J]. 科技创新导报, 2014(31): 64-67
- [35] 龚松贵, 王兴祥, 张桃林, 等. 低分子量有机酸对红壤无机磷活化的作用[J]. 土壤学报, 2010, 47(4): 692-697
- [36] Illmer P, Barbato A, Schinner F. Solubilisation of hardly-soluble $AlPO_4$ with P-solubilizing microorganisms[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(2): 265-270
- [37] Fox T R, Comerford N B, McFee W W. Phosphorus and aluminum release from a spodic horizon mediated by organic acids[J]. Soil Science Society of America Journal, 1990, 54(4): 1763-1767
- [38] 陈时洪. 分析化学[M]. 北京: 中国农业出版社出版. 2013: 184-191

- [39] Gadd G M. Fungal production of citric and oxalic acid: Importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1999, 41: 47–92
- [40] 房福力, 李玉中, 李巧珍, 等. 柠檬酸与土壤磷相互作用的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(18): 26–30
- [41] Paul N B, Sundara Rao W V B. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes[J]. *Plant and Soil*, 1971, 35: 127–132
- [42] Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, 27(3): 257–263
- [43] Lin T F, Huang H I, Shen F T, et al. The protons of gluconic acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC-A174[J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97: 957–960
- [44] Asea P E A, Kucey R M N, Stewart J W B. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 1988, 20: 459–464
- [45] Paul NB, Sundararao W V B. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes[J]. *Plant and Soil*, 1971, 35: 127–132
- [46] 赵丽娟, 解静芳, 张洪, 等. 气相色谱/质谱(GC-MS)结合自动解卷积与鉴定系统(AMDIS)软件分析镉胁迫对玉米幼苗代谢产物的影响[J]. *环境化学*, 2015(6): 1227–1230
- [47] 金朝霞. 草酸盐高效降解菌的筛选及其酶学性质研究[D]. 辽宁大连: 大连理工大学, 2008
- [48] 聂磊, 全国明, 陈路书. 铅胁迫下景天属和花生属植物根系有机酸分泌特性分析[J]. *广东林业科技*, 2013, 29(6): 14–20

Effects of Cadmium on Growth and Phosphate Dissolving Abilities of Inorganic Phosphorus Bacteria

WANG Yushu¹, LIU Hai^{1,2}, HUANG Jianguo^{1*}

(1 College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China;
2 Guizhou Institute of Agricultural Science and Technology Information, Guiyang 550006, China)

Abstract: Phosphorus (P) solubilization bacteria (PSB) is a group of important beneficial microbes which influence the ability of soil P supply due to the transformation of insoluble inorganic P unavailable for plants into available state. Cadmium (Cd) is a heavy metal commonly found in pollution soils. To study the growth and P dissolving ability of PSB under Cd²⁺ stress could be helpful to further understand the effects of P transformation and supply in Cd polluted soils and to provide the beneficial information on the improvement of plant P nutrition. In this paper, 4 PSB strains in *Pseudomonadaceae* genus isolated from moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) soil in Jinyun National Forest Park in Chongqing, were used to compare their P-dissolving abilities, and to study the changes in their growth and P solubilization in the culture mediums with Cd²⁺ added in different concentrations. The results showed that P dissolving abilities changed in a sequence of PSB05 > PSB09 > PSB07 > PSB01. The highest P dissolving index and P dissolving rate were 2.08 times and 4.14 times than those of the lowest, respectively. After being shaken for 120 hours, pH of culture solution showed an order of PSB01 > PSB07 > PSB09 > PSB05, and a negative correlation was found between soluble inorganic P and pH value (soluble inorganic P = -83.148 pH + 581.96, R² = 0.9052, n = 25). The colony and P-dissolving-ring diameters of PSB05 strains grown on solid culture mediums were decreased with Cd²⁺ concentrations increased. In liquid culture mediums with Cd²⁺ 0.5–2.0 mg/L, the number of PSB05 strains was reduced by 22.09%–68.18% compared with no Cd²⁺. Simultaneously, the efflux of oxalate, acetate, citrate and proton was inhibited by PSB05 strains, and the amount of inorganic P that dissolved from insoluble phosphates was reduced by 5.27%–38.45%. PSB strains tested in the present experiment varied significantly in P dissolving abilities. Cd²⁺ inhibited microbial growth, organic acid and proton efflux and P solubilization at high concentrations, which is unbeneficial to P supply for in trees in forests.

Key words: Cadmium; Inorganic phosphorus bacteria; Soluble phosphorus