

硅酸盐细菌 NBT 菌株释钾条件的研究

盛下放,黄为一

(南京农业大学资源与环境科学学院,南京 210095)

摘要:通过摇瓶与土柱试验对硅酸盐细菌 NBT 菌株的释钾条件进行了研究。摇瓶试验表明,pH 值、装液量、土壤矿物种类、菌株特性均对硅酸盐细菌的释钾效能有重要影响。pH 6.5~8.0 时 NBT 菌株的释钾效能最高,接活菌比接灭活菌对照溶液中的钾含量增加 84.8%~127.9%。在 250 ml 三角瓶中装液量为 40 ml,接菌处理溶液中的钾比接灭活菌对照增加 126.3%,而装液量为 100 ml,接菌处理溶液中的钾比对照仅增加 87.2%;硅酸盐细菌 NBT 菌株对供试矿物的分解能力为伊利石>钾长石>白云母。在供试的不同菌株中,硅酸盐细菌 NBT 菌株的释钾能力最强,28℃振荡培养 7d,NBT 菌株释放出的钾达 35.2 mg/L,比其它供试菌株释放出的钾增加 31.8%~1203.7%。土柱试验表明,硅酸盐细菌 NBT 菌株在 2 种供试土壤中能够存活并表现出一定的解钾作用。接菌处理土壤中硅酸盐细菌细胞数量由 $2.6 \sim 3.0 \times 10^6$ 个/g 土增加到 $6.8 \sim 7.4 \times 10^7$ 个/g 土。NBT 菌株在黄棕壤和水稻土中 28℃培养 7d 后,土壤中的速效钾分别增加 31.2~33.6 mg/kg 土和 21.7 mg/kg 土,分别比接灭活菌对照增加 290.6%和 185.5%。方差分析表明,差异达显著水平。

关键词:硅酸盐细菌;释钾;生物学特性

Study on the Conditions of Potassium Release by Strain NBT of Silicate Bacteria

SHENG Xia-fang, HUANG Wei-yi

(College of Natural Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: Study on the conditions of potassium release from the minerals was carried out through shake flask study and soil column experiment. The results showed that potassium release from the minerals was obviously affected by pH, DO, types of soils and minerals, and the strain used. The strain NBT had the potential of releasing potassium under the suitable pH (pH 6.5 - 8.0). The content of potassium in solution inoculated with bacteria was increased by 84.8% - 127.9% compared with the control inoculated with dead bacteria. Under the 40 ml media in 250 ml Elenmeyer flaskon, the content of potassium released by the cells was increased by 39.1% compared with that of potassium released under the 100 ml media. The effect of potassium-bearing minerals decomposed was as follows: illite > feldspar > muscovite. The strain NBT had the maximum efficacy of releasing potassium in the strains tested. In agitated flask, at 28℃ for 7 days, the strain NBT had the potential of releasing 35.2 mg/L, increased by 31.8% - 1203.7% compared with other strains. The growth and action of strain NBT was also affected by the soils. The soil column test showed that the cells in the soils could produce from $2.6 - 3.0 \times 10^6$ /g soil to $6.8 - 7.4 \times 10^7$ /g soil. The available potassium was increased by 31.2 - 33.6 mg/kg soil (yellow-brown soil) and 21.7 mg/kg soil (paddy soil) by the strain NBT, increased by 290.6% (yellow-brown soil) and 185.5% (paddy soil). Biostatistical analysis showed that the variance was obvious.

Key words: Silicate bacteria; Potassium release; Biological features

据报道,我国的钾肥生产量只占世界的0.34%,除青海、新疆外几乎没有具规模的生产基地,而消耗

收稿日期:2001-07-24

作者简介:盛下放(1963-),男,安徽黄山人,副教授,博士,主要从事土壤养分微生物活化研究。Tel: 025-4395326; E-mail: xfsheng604@sohu.com

量占 14.7%,可见我国钾的资源短缺,主要依赖进口^[1]。随着我国农业生产中化肥用量不断增加,有机肥用量减少,氮多、磷少而钾严重不足;复种指数提高,高产耗钾品种推广等已导致我国钾肥供需矛盾日益尖锐,尤其是长江以南地区^[2,3]。钾已成为继氮、磷元素之后限制农作物产量和品质的第 3 种大量元素^[4]。因此,研究土壤养分生物活化作用及其影响因素,缓解钾肥供需矛盾,保护生态环境,提高农业产量和品质就具有重要的理论和实际意义。硅酸盐细菌的解钾作用及其促生作用研究已有不少报道^[5-8]。Zahra 等的研究表明,硅酸盐细菌在土壤生物风化过程中起了显著作用^[9]。Monib 等的研究发现,硅酸盐细菌可促进正长石和云母粉中钾离子和硅离子的溶解^[10]。但也有学者认为,硅酸盐细菌表现不出明显的解钾效果^[11]。本研究室自 20 世纪 80 年代以来一直从事硅酸盐细菌生物学特征、解钾、溶磷及其机制等研究。硅酸盐细菌是土壤中一

种重要的功能菌,其功能的发挥受土壤中多种因素制约。但有关硅酸盐细菌释钾条件系统而深入的研究工作却少见报道。因此,作者进行了本项研究,以期硅酸盐菌剂的科学应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

硅酸盐细菌 NBT 菌株由本研究室分离筛选。供试矿物钾长石由南京地质矿产研究所提供,白云母、伊利石由中国科学院南京土壤研究所提供,其矿物元素组成见表 1;供试土壤分别为黄棕壤和水稻土,其理化性状见表 2;细菌的分离培养选用硅酸盐细菌培养基^[12],细菌解钾作用试验培养基:蔗糖 1.0%, Na₂HPO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.05%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, NaCl 0.01%, CaCO₃ 0.1%, 矿粉(100 目) 1.0%, pH 7.2。

表 1 矿物元素分析

Table 1 The contents of elements in minerals tested (%)

样品	Sample	K ₂ O	SiO ₂	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	CaO	MgO	Al ₂ O ₃
钾长石	Feldspar	13.60	62.73	1.73	0.25	0.05	0.08	15.98
白云母	Muscovite	9.32	52.45	3.15	0.12	0.38	3.86	24.87
伊利石	Illite	4.10	65.65	1.24	0.68	0.49	1.82	20.31

表 2 供试土壤的主要理化性状

Table 2 The basic properties of the soils in experiments

土壤	有机质	全氮	速效磷	缓效钾	速效钾	pH
Soil	O. M.	Total N	Avail. P	Slowly-avail. K	Avail. K	(H ₂ O)
	(g/kg)	(g/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	
黄棕壤	20.18	1.58	11.7	457.8	97.4	6.71
Yellow-brown soil						
水稻土	15.10	1.74	13.2	254.6	122.4	8.00
Paddy soil						

1.2 方 法

硅酸盐细菌的分离、纯化和生物学特性测定均按常规硅酸盐细菌分离方法进行^[12]。摇瓶试验:500 ml 三角瓶中分装上述培养基 100 ml,加入 1.0 g 钾长石粉(100 目),用酸或碱调节,使培养基中 pH 分别为 5.5、6.0、7.0、7.5、8.0 和 9.0,121 °C 灭菌 30 min,接入菌悬液(6.8×10⁸ 个/ml)5 ml,对照接等量灭活菌液和不接菌,28 °C 振荡培养 7d 后待分析;500 ml 三角瓶中分装上述培养基 100 ml,分别加入 1.0 g 钾长石粉或白云母粉或伊利石粉,培养

基 pH 为 7.5,其它接菌、培养和分析方法同上,以测定 NBT 菌株对不同含钾矿物的分解能力;土柱试验:分别取上述供试土壤各 45kg。设不灭菌土壤和灭菌土壤二组(土壤灭菌采用高压蒸汽灭菌,121 °C,2 h)。每组设接菌、接灭活菌和不接菌 3 个处理。分别在各组土壤中接入细菌培养液(2.4×10⁸ 个/ml)或灭活菌及无菌去离子水 20 ml。在无菌条件下菌土混匀装柱(柱高 50 cm,内径 5 cm),每柱装土 1.5 kg。接菌处理的柱子设 3 种培养方式,即不继续培养,在室温下(低于 25 °C)培养 7d 和 28 °C 恒温

室中培养 7d,培养结束后测土壤中水溶性钾、缓效性钾。钾的测定采用火焰光度法,细胞数量采用梯度稀释平板法。

2 结果与分析

2.1 不同硅酸盐细菌菌株释钾效能

从全国十几个省市 45 个土样中共分离到硅酸盐细菌 118 株,摇瓶试验表明,其中 74 株硅酸盐细菌有一定的解钾作用,在 74 株有解钾作用的硅酸盐细菌中筛选出 4 株生长较快且解钾效能较高的菌株,分别为 N1、N2、N3 和 N4。将获得的 4 株菌株的释钾效能与本研究室保存的硅酸盐细菌 NBT 菌株以及枯草芽孢杆菌(N5)和分离的酵母菌菌株(N6)释钾效能进行了比较。由图 1 可以看出,分离的 4 株硅酸盐细菌菌株的释钾效能均比 NBT 菌株的释钾效能为低。NBT 菌株由于代谢活动而释放的钾(35.2 mg/L)比分离的 4 株硅酸盐细菌菌株释放的钾(16.1 ~ 25.8 mg/L)增加 36.4% ~ 118.6%。本研究另设不产荚膜的枯草芽孢杆菌和酵母菌作为对照试验,结果表明,枯草芽孢杆菌的释钾能力很小,其释放出的钾仅比接灭活菌对照增加 12.4%,而酵母菌释放出的钾(26.7 mg/L)比接灭活菌对照增加 107.6%。说明土壤中每种微生物的解钾效能是不同的。

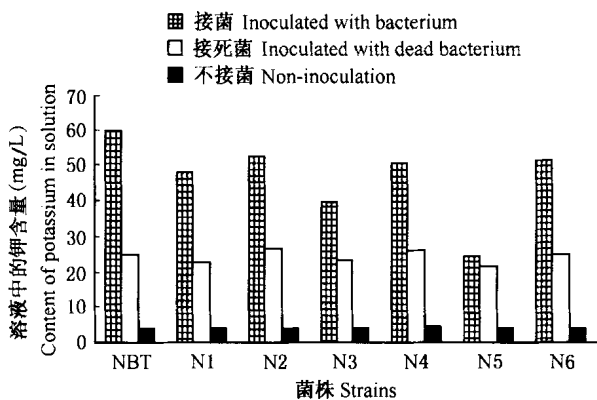


图 1 不同菌株释钾效能

Fig. 1 Effect of potassium release by different strains

2.2 pH 值对 NBT 菌株释钾作用的影响

图 2 表明,酸性条件(pH < 6.0)或碱性条件(pH > 9.0)中 NBT 菌株的解钾作用较差。在适宜 NBT 菌株生长的 pH 值范围内(pH 6.5 ~ 8.0),NBT 菌株的释钾效能最高,接菌处理比接灭活菌对照溶液中的钾含量增加 84.8% ~ 127.9%,经生物学统计分析,差异达显著水平。

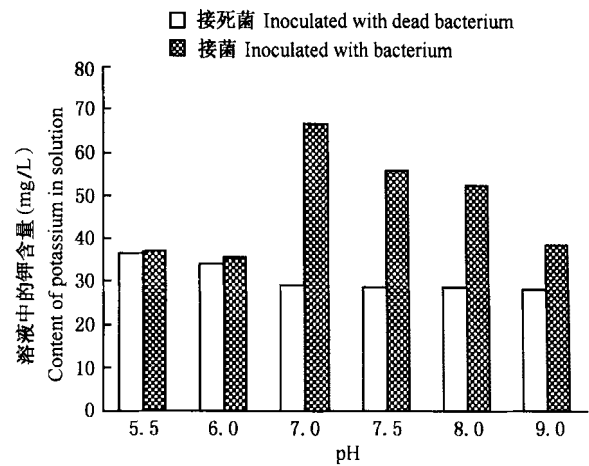


图 2 NBT 菌株在不同 pH 条件下的解钾作用

Fig. 2 Potassium release by the strain NBT under different pH conditions

2.3 装液量对 NBT 菌株释钾作用的影响

硅酸盐细菌 NBT 菌株是兼性需氧菌,良好的通风条件能提高 NBT 菌株对供试矿物中钾的释放效率。在 250 ml 三角瓶中装液量为 40 ml,接菌处理比接灭活菌对照溶液中的钾含量增加 126.3%,而装液量为 100 ml,接菌处理比对照溶液中的钾含量仅增加 87.2%。

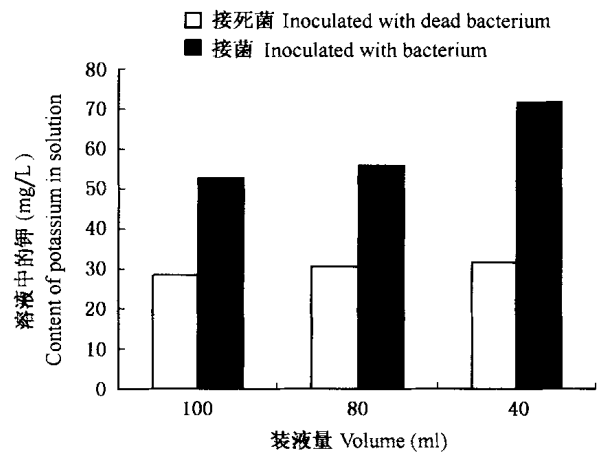


图 3 装液量对 NBT 菌株释钾作用的影响

Fig. 3 Potassium release by strain NBT under the various volume media in 250 ml Elenmeyer flaskon

2.4 NBT 菌株对不同含钾矿物的分解作用

硅酸盐细菌 NBT 菌株对不同的含钾矿物表现出不同的分解能力。由图 4 可以看出,在同样条件下,分别以钾长石、白云母和伊利石为唯一钾源,接菌处理比接灭活菌对照溶液中的钾含量分别增加 81.5%、67.8%和 82.6%,而溶液中有效硅的含量分别增加 102.2%、78.6%和 116.8%。说明 NBT

菌株不仅能够释放供试矿物中的钾而且能释放出其中的硅。另外, NBT 菌株对供试矿物的分解能力为:伊利石 > 钾长石 > 白云母, 这也反映了不同的含钾矿物抗生物分解的能力不同。一般来说, 层状结构的含钾矿物(白云母、伊利石)由于其中的钾离子位于层状结构间比架状结构的含钾矿物(钾长石, 其中的钾离子位于矿物晶格中)中的钾易于释放出来。本研究表明, NBT 菌株对供试钾长石的分解作用大于对白云母的分解作用, 这与供试钾长石已有部分风化现象有关。

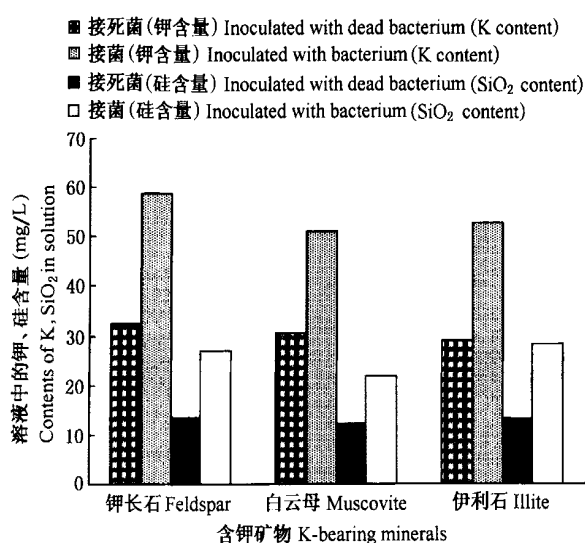


图 4 NBT 菌株对不同钾矿物的分解作用

Fig. 4 Discompose of different potassium-bearing minerals by strain NBT

表 3 NBT 菌株解钾作用¹⁾

Table 3 Potassium release by the strain NBT

土壤类型 Soil	处理 Treatment		缓效钾降低量 Decrease of slowly avail. K (mg/kg)		速效钾增加量 Increase of avail. K (mg/kg)		细胞数 No. of cells (g soil)
			I	II	I	II	
黄棕壤 Yellow-brown soil	接菌 + Bacterium	A	29.8	28.6	33.6	31.2	7.4×10^6
		B	17.4	16.9	16.8	17.4	3.2×10^6
	接灭活菌 + Dead bacterium	C	5.2	4.9	4.4	3.9	3.0×10^6
		A	9.7	9.4	8.6	8.2	
水稻土 Paddy soil	接菌 + Bacterium	A	4.2	3.8	3.9	3.5	
		B	18.8	16.9	21.7	20.8	6.8×10^6
	接灭活菌 + Dead bacterium	C	12.6	12.1	13.4	13.1	2.9×10^6
		A	4.4	4.1	4.2	3.8	2.6×10^6
不接菌 No bacterium	A	8.9	8.4	7.6	7.4		
	A	4.7	4.2	3.4	3.2		

¹⁾ A: 28 °C 培养 7d, B: 室温培养 7d, C: 不培养。I: 灭菌土; II: 未灭菌土

A: Culture at 28 °C for 7 days; B: Culture at room temperature for 7 days; C: No-culture. I: Sterilized soil; II: Non-sterilized soil

2.5 NBT 菌株对不同类型土壤钾的活化作用

土壤类型对硅酸盐细菌存活及其功能的发挥有重要的影响。由表 3 可以看出, 硅酸盐细菌 NBT 菌株在 2 种供试土壤中能够存活并表现出一定的解钾作用。接菌处理土壤中硅酸盐细菌细胞数量由 $2.6 \sim 3.0 \times 10^6$ 个/g 土增加到 $6.8 \sim 7.4 \times 10^7$ 个/g 土。NBT 菌株在黄棕壤中 28 °C 培养 7d 后, 土壤中的速效钾增加 31.2 ~ 33.6 mg/kg 土, 比接灭活菌和不接菌对照分别增加 290.6% ~ 761.5%, 方差分析表明, 差异达显著水平; 在水稻土中, NBT 菌株使土壤中速效钾的含量增加 21.7 mg/kg 土, 比接灭活菌和不接菌对照分别增加 185.5% ~ 538.2%, 方差分析表明, 差异达显著水平。另外, 在接菌处理的土壤中, 由于培养方式不同, 土壤中速效钾的含量就不同。在 28 °C 恒温培养的土壤中速效钾的含量分别比室温培养(温度低于 25 °C)增加 100% (黄棕壤) 和 61.9% (水稻土)。这是因为 NBT 菌株在较低温度下使细胞不能生长繁殖, 其解钾功能的发挥受到抑制。从表 3 还可以看出, 接菌处理并在 28 °C 恒温培养的土壤中的速效钾的增加量(21.7 ~ 33.6 mg/kg 土) 大于缓效钾降低量(18.8 ~ 29.8 mg/kg 土), 说明无论在黄棕壤还是水稻土中, 在合适的条件下, NBT 菌株能够释放出土壤矿物钾使土壤中速效钾含量增加。另外, NBT 菌株在灭菌或不灭菌土壤中的释钾能力相当。在黄棕壤中 NBT 菌株细胞的存活状况、释钾作用均比在水稻土中的存活状况、释钾作用为好。

3 讨论

硅酸盐细菌是土壤中的一种重要功能菌,硅酸盐细菌能活化土壤中的多种营养元素供作物吸收利用^[4]。虽然硅酸盐细菌分布广泛,但本研究表明,分离菌株中仅有 15%左右菌株具有较显著的释钾能力。硅酸盐细菌释钾作用是受多种因素制约的,其中有土壤矿物种类和含量、土壤类型、pH 值和土壤温度等。硅酸盐细菌 NBT 菌株的解钾作用还与环境中钾离子浓度有关,砂培试验表明,环境中钾离子浓度在 26.5 ~ 75.8 mg/kg 时,NBT 菌株的释钾效能最大^[8]。硅酸盐细菌解钾量与矿粉粒径密切相关,随矿粉粒径的减小而增加^[7]: $y = 9.675x^{-0.721}$, $r = -0.992$ 。因此,要使硅酸盐细菌充分发挥高效、稳定的解钾功能,促进作物生长,减少化学钾肥的投入,降低成本,保护环境,首先必须筛选出高效、稳定的释钾溶磷菌株,另外,要满足硅酸盐细菌良好生长的条件,可通过驯化、诱变甚至分子生物学方法提高硅酸盐细菌解钾、溶磷性能和抗逆性。本研究是在实验室人为控制条件下获得的结果。硅酸盐细菌在大田自然条件下易受到各种环境条件的影响,如植物的种类、土壤肥力、水分、温度以及其它土壤生物的影响等。因此,硅酸盐细菌基因标记跟踪,以及在土壤中的动态变化及其影响因素值得进一步研究。

References

- [1] Xie J C. Present situation and prospects for the world's fertilizer use. *Plant and Nutrition and Fertilizer Science*, 1998, 4(4): 321 - 330. (in Chinese)
谢建昌. 世界肥料使用的现状与前景. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(4): 321 - 330.
- [2] Jing J Y. The progress of soil potassium. *Acta Pedologica Sinica*, 1993, 30(1): 94 - 100. (in Chinese)
金继运. 土壤钾素研究进展. 土壤学报, 1993, 30(1): 94 - 100.
- [3] Xue Q H, Shen J W, Tang L. Effect of the K bacteria on nutrients activation in loess soil. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2000, 9(3): 67 - 71. (in Chinese)
薛泉宏, 沈建伟, 汤莉. 钾细菌对土养分活化作用的研究. 西北农业学报, 2000, 9(3): 67 - 71.
- [4] Xue Q H, Li S J, Zhang J H, Shen J W, Shang H B. Dissolving effect of the silicate bacteria to soil nutrients. *Acta Universitatis Agric. Boreali-occidentalis*, 1999, 27(2): 33 - 37. (in Chinese)
薛泉宏, 李素俭, 张俊宏, 沈建伟, 尚浩博. 液培条件下钾细菌对土壤养分的活化作用研究. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 33 - 37.
- [5] Li Y F. The properties and actions of silicate bacteria fertilizer. *Soil Fertilizer*, 1994, (4): 48 - 49. (in Chinese)
李元芳. 硅酸盐细菌肥料的特性和作用. 土壤肥料, 1994(4): 48 - 49.
- [6] Li F T, Hao Z R, Yang Z Y, Zhang C L. Studies on the ability of silicate bacteria H M8841 strain dissolving potassium. *Acta Microbiologica Sinica*, 1997, 37(1): 79 - 81. (in Chinese)
李凤汀, 郝正然, 杨则媛, 张春莉. 硅酸盐细菌 H M8841 菌株解钾作用的研究. 微生物学报, 1997, 37(1): 79 - 81.
- [7] Luo W, Xie D T, Huang Z X, Peng S D, Yang X M. Role of silicate bacteria in releasing potassium from minerals and soils. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1998, 20(1): 5 - 8. (in Chinese)
罗微, 谢德体, 黄昭贤, 彭用德, 杨雪梅. 硅酸盐细菌对矿粉和土壤的解钾作用研究. 西南农业大学学报, 1998, 20(1): 5 - 8.
- [8] Sheng X F, Huang W Y, Yin Y X. Effects of application of silicate bacteria fertilizer and its potassium release. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2000, 23(1): 43 - 46. (in Chinese)
盛下放, 黄为一, 殷永娟. 硅酸盐菌剂的应用效果及其解钾作用的初步研究. 南京农业大学学报, 2000, 23(1): 43 - 46.
- [9] Zahra M K, Monib M, Abdel-AL S I, Heggo A. Significance of soil inoculation with silicate bacteria. *Zentralblatt fur Mikrobiologie*, 1984, 139(5): 349 - 357.
- [10] Monib M, Zahra M K, Abdel-AL S I, Heggo A. Role of silicate bacteria in releasing K and Si from biotite and orthoclase. *Soil Biology and Conservation of the Biosphere*, 1986: 733 - 743.
- [11] Lu Y G, Qian X G, Long J. Releasing potassium of silicate-bacteria on potassium-bearing minerals. *Guizhou Agricultural Sciences*, 1999, 27(3): 26 - 28. (in Chinese)
陆引罡, 钱晓刚, 龙键. 硅酸盐细菌对含钾矿物的解钾作用. 贵州农业科学, 1999, 27(3): 26 - 28.
- [12] Institute of Soil Science, Nanjing, Chinese Academy of Science. *Methods of Soil Microorganism Research*. Beijing: Science Press, 1985: 51 - 57, 154 - 162. (in Chinese)
中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985: 51 - 57, 154 - 162.