

溶磷黑曲霉 An510 筛选鉴定及其溶磷机理*

王呈玉^{1,2**}, 关旭雯², 陈美骅², 温芳悦², 罗高扬², 马鑫宇²

1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; 2. 吉林农业大学吉林省商品粮基地土壤资源可持续利用重点实验室, 长春 130118

摘要: 为了活化土壤磷库资源, 解决磷肥大量使用所产生的面源污染问题, 以鉴别培养基从玉米根际土壤中分离到 1 株溶磷真菌 An510, 结合形态特征和 ITS 序列比对的方法对其进行分类鉴定, 从不同碳源和氮源的角度探究其对溶磷量和 pH 的影响, 采用高效液相色谱法分析了其发酵液中有有机酸含量的变化。结果表明: 溶磷真菌 An510 为黑曲霉 (*Aspergillus niger*)。优先利用葡萄糖和硫酸铵进行溶磷, 最高可达 1 366.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其发酵液中有有机酸的种类和含量随培养时间的变化和营养基质的不同而不同; 菌株 An510 可能通过产有机酸螯合发酵液中 Ca^{2+} , 降低发酵液 pH 的方式溶磷。菌株 An510 具有较好的溶磷能力, 在微生物肥料的开发方面具有潜在的应用价值。

关键词: 溶磷真菌; 溶磷机理; 农业面源污染; 根际土壤

中图分类号: S144 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2020)06-0662-07

DOI: 10.13327/j.jlau.2020.4908

引文格式: 王呈玉, 关旭雯, 陈美骅, 等. 溶磷黑曲霉 An510 筛选鉴定及其溶磷机理 [J]. 吉林农业大学学报, 2020 42(6): 662-668.

Screening and Identification of Phosphate-Soluble *Aspergillus niger* An510 and Its Mechanism of Phosphate Solubilization

WANG Chengyu^{1,2**}, GUAN Xuwen², CHEN Meihua², WEN Fangyue², LUO Gaoyang², MA Xinyu²

1. College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2 Key Laboratory of Sustainable Utilization of Soil Resources in the Commodity Grain Bases in Jilin Province, Changchun 130118, China

Abstract: To activate soil phosphorus pool resources and solve the problem of non-point source pollution caused by large-scale use of phosphate fertilizer, a phosphate-soluble fungus An510 was isolated from rhizosphere soil of maize by the medium, and identified by morphological characteristics and ITS sequence comparison. The effects of different carbon and nitrogen sources on phosphorus solubility and pH were investigated. The changes of organic acids in fermentation broth were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the phosphate-soluble fungus An510 was *Aspergillus niger*. It could use glucose and ammonium sulfate preferentially to dissolve phosphorus, and the highest phosphorus solubility was 1 366.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The type and content of organic acids in the fermentation broth varied with culture time and nutrient matrix. Strain An510 may dissolve phosphorus by producing organic acid to chelate Ca^{2+} in the fermentation solu-

* 基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201300), 吉林省大学生科技创新基金项目(201711), 吉林省科技发展计划项目(20140204043NY, 20170101004JC), 国家自然科学基金项目(31301850)

作者简介: 王呈玉, 女, 博士, 副教授, 主要从事环境微生物研究。

收稿日期: 2018-12-02

** 通信作者

tion and reduce pH value of the fermentation solution. In conclusion, strain An510 has good phosphorus solubility and potential application value in the development of microbial fertilizers.

Key words: phosphate-soluble fungus; phosphate-soluble mechanism; agricultural non-point source pollution; rhizosphere soil

磷矿资源的日益枯竭已成为限制农业可持续发展的世界性问题^[1-3]。在生产实践中,为提高作物产量,大量磷肥施入土壤,但约有80%的磷被土壤中的钙、铝、铁、锌等阳离子以难溶性无机磷的形式固定在土壤中,造成土壤全磷含量很高而植物可利用的有效磷含量低^[4-5];同时,磷的径流又存在引发严重环境面源污染(水体富营养化)问题的风险^[6-9]。因此,提高磷肥当季利用率和土壤累积态磷的活化利用是农业资源领域急需解决的重大问题。

开发高效溶磷微生物资源,探索土壤无效磷素活化—转化—再生的微生物机理及其影响因素,确定最佳的土壤磷素活化条件,为以溶磷微生物为主体的土壤磷素活化增效剂的研制,推动土壤磷素活化增效剂从实验室向田间应用迈进,解决农业资源领域“磷”问题,找出提高磷肥当季利用率和土壤累积态磷的活化利用的最佳途径,为达到农业部“到2020年化肥使用量零增长行动方案”中磷肥减施增效的目的奠定理论基础。

本试验以种植玉米和大豆的农田土壤为研究材料,筛选溶磷真菌,重点研究高效溶磷真菌在不同营养条件下的溶磷模式、代谢物动态变化,从代谢水平上研究培养状态下的溶磷机理。

1 材料与方 法

1.1 土壤样品来源和培养基

土壤取自玉米和大豆根际土壤。

无机磷培养基(NBRIP培养基)^[10]:葡萄糖10.0 g, MgCl₂·6H₂O 5.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.25 g, (NH₄)₂SO₄ 0.1 g, KCl 0.2 g, Ca₃(PO₄)₂ 5.0 g, 去离子水1 000 mL, 琼脂20.0 g, pH 7.5~8.0。

1.2 溶磷真菌的分离和筛选

称取新鲜混合土样10 g,置于100 mL无菌水中,采用平板稀释法制备土壤稀释液,涂布至NBRIP培养基上,30℃培养96 h,挑取具有明显溶磷圈的菌落进行纯化。将纯化后的菌株分别于4℃和-80℃保存备用。

1.3 溶磷真菌 An510 的鉴定

1.3.1 形态鉴定 对分离得到的菌株 An510 用光学显微镜对其菌落和分生孢子结构进行观察,并参照文献[11-12]进行鉴定。

1.3.2 ITS 核苷酸序列的扩增与分子鉴定 取100 mg 菌株 An510 液氮研磨物,用真菌基因组提取试剂盒提取其基因组 DNA,利用 ITS1(5'-TC CGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4(5'-TCCTC CGCTTATTGATATGC-3') 引物进行 PCR 扩增,PCR 反应体系:菌株 An 的 DNA(50 mg/L) 3 μL, ITS1 和 ITS4 引物各 2 μL, Takara Ex Taq 0.5 μL, 加 ddH₂O 至 50 μL。反应条件:94℃ 5 min; 94℃ 45 s, 55℃ 35 s, 72℃ 1 min, 35 个循环; 72℃ 10 min。PCR 扩增产物按照试剂盒说明回收后进行序列测定。

1.3.3 系统发育树构建 将测序得到的 ITS 序列在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 网站中使用 BLAST 比对后,使用 MEGA 6.0 软件 ClustalW 进行聚类分析,以 Neighbour-Joining 法构建分子系统发育树,结合形态鉴定,确定各菌株的亲缘关系及分类地位,对菌株 An510 进行鉴定。

1.4 不同营养基质对菌株 An 溶磷能力的影响

以不同的碳源(葡萄糖、蔗糖、淀粉)和氮源(蛋白胨、尿素、硝酸钾、氯化铵、硫酸铵)分别替代 NBRIP 培养基中相应组分,按1%接种量将菌株接入 NBRIP 培养基中,28℃、160 r/min 摇床培养7 d,每12 h 取发酵液10 mL,发酵液经1万 r/min 离心10 min,利用钼锑抗比色法,测出离心后的发酵液中可溶性磷的含量,pH 计测发酵液的 pH,从而确定溶磷放线菌在不同碳源和氮源条件下的溶磷特性。

1.5 菌株 An 发酵液中有机的分析

对最佳溶磷条件下菌株的发酵产物采用高效液相色谱(HPLC)法进行测定,进一步确定菌株分泌有机酸的种类和浓度。测定有机酸色谱条件:色谱柱为150 mm×4.6 mm 的 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱,柱温35℃,检测波长210 nm,流速1.0 mL/min,流动相为0.1% H₃PO₄ 的超纯水与乙

腓体积比 98 : 2 ,进样量 20 μL 。有机酸标准液分别为琥珀酸、乳酸、草酸、柠檬酸、苹果酸和乙酸的单标准溶液和混标准溶液(质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。将有机酸的标准溶液分别通过 0.22 μm 的微孔滤膜进行过滤,进样量为 20 μL 进行色谱分析,将试验所得的有机酸单标准溶液的色谱图和有机酸的混标准溶液的色谱图进行对比,确定 6 种有机酸的出峰时间。

将菌株最佳溶磷培养条件下的发酵产物 1 万 r/min 离心 10 min,量取发酵液 2 mL,用 0.22 μm 的微孔滤膜进行过滤,进行高效液相色谱分析。对比 6 种有机酸的标准溶液的色谱图并进行数据分析,从而确定菌株分泌的有机酸类型和含量。

1.6 数据分析

采用 Origin9.0 和 Excel 软件进行数据分析并作图。利用 R 语言 function(df) 功能包,结合 ggplot2 对试验过程中发酵液可溶磷含量与发酵液 pH 的变化进行拟合曲线回归分析;利用“corr.test”包(version 1.6.6) 和“corrplot”包(version 0.77) 对不同营养基质条件下产生的有机酸与发酵液可溶性磷含量和 pH 的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 菌株 An510 形态特征

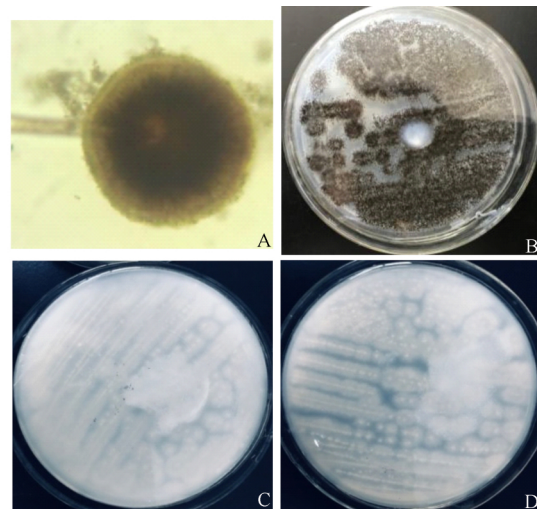
菌株 An510 菌落初白色,后变黑。分生孢子头黑褐色放射状,分生孢子梗长短不一。顶囊球形,双层小梗。分生孢子褐色球形(图 1-A)。

将纯化后的菌株 An 接种于 NBRIP 固体培养基中,待菌株生长完全后,观察菌株生长区的溶磷效果。由图 1 可见,培养 3 d 后,菌株 An 生长区的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 已经明显的溶解并形成了透明的溶磷圈(图 1-C),当培养到 5 d 时,培养基中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 几乎完全溶解(图 1-D)。

2.2 菌株 An510 系统发育树的构建

应用 ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4 有效扩增出 598 bp 的片段。将测序结果在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 上通过 BLAST 软件进行同源性序列比对,以 Neighbour-Joining 法构建系统发育树。由图 2 可见,在分类生态学地位上菌株 An 与已报道的 *Aspergillus niger* (KM259827) 菌亲缘关系

最近,具有较高的同源性,结合形态学分析,将菌株 An510 鉴定为黑曲霉,命名为 *Aspergillus niger* An510。



A. 菌株 An 分生孢子器和分生孢子显微特征; B. 菌株 An 在 NBRIP 培养基上的正面培养特征; C. 培养 3 d 的反面溶磷特征; D. 培养 5 d 的反面溶磷特征

图 1 菌株 An510 微观和宏观形态特征

Fig.1. Micro and macro morphological characteristics of strain An510

2.3 不同营养基质对菌株 An510 溶磷特性的影响

2.3.1 不同碳源对菌株 An510 溶磷特性的影响

分别以葡萄糖、蔗糖和淀粉为 NBRIP 培养基中的碳源,在不改变其他成分的基础上,探究不同碳源对菌株 An510 溶磷性能的影响。由图 3 可见,在以葡萄糖、蔗糖和淀粉为唯一碳源和能源的情况下均能溶解 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$,且发酵液中可溶性磷含量表现出波动上升的趋势。菌株 An510 优先以葡萄糖为碳源和能源进行难溶性磷的溶解,培养 84 h 之前,发酵液中可溶性磷含量均高于蔗糖和淀粉,培养到 48 h 时,发酵液中可溶性磷含量达到最高(1 366.50 \pm 87.92) $\mu\text{g}/\text{mL}$;由于淀粉结构复杂,其对菌株溶磷能力的影响比葡萄糖表现出明显的迟效性,且在培养 96 h 后对溶磷能力的影响超过葡萄糖,发酵液中可溶性磷含量最高,达到(1 499.31 \pm 84.59) $\mu\text{g}/\text{mL}$;蔗糖对菌株 An510 溶磷能力的影响不如葡萄糖和淀粉,其发酵液中可溶性磷含量最高,达到(748.50 \pm 22.44) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

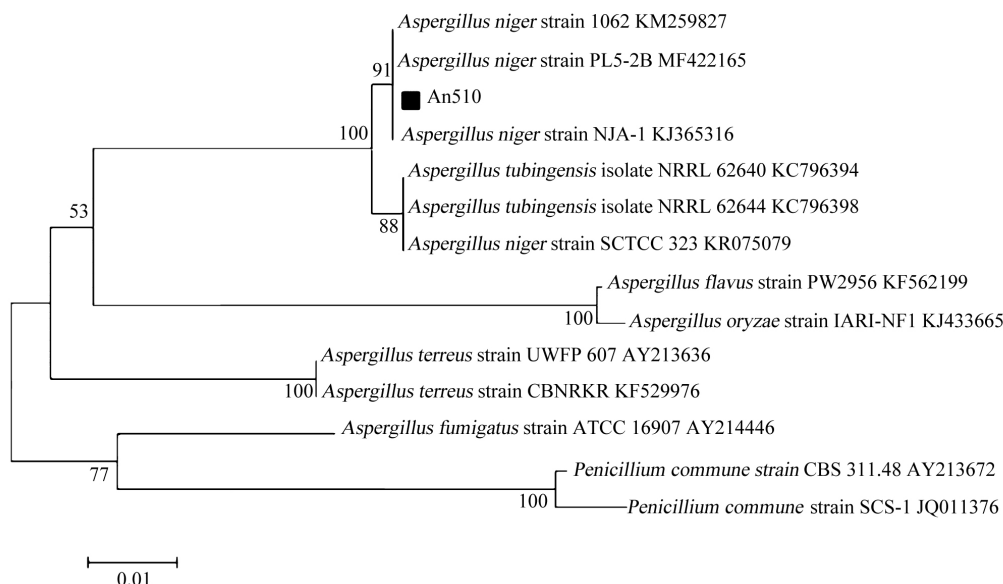


图2 菌株 An510 基于 ITS DNA 序列的系统发育树
Fig.2. Phylogenetic tree of ITS DNA sequence in strain An510

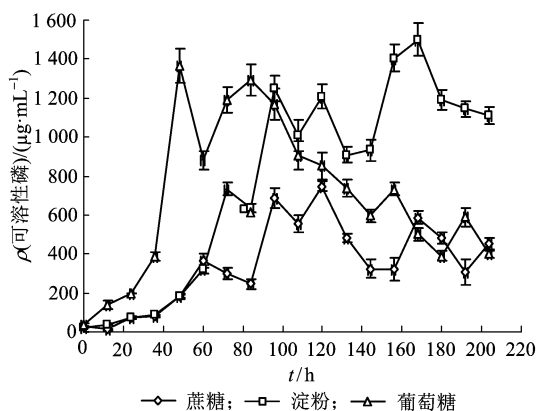


图3 不同碳源对菌株 An510 溶磷能力的影响
Fig.3. Effects of different carbon sources on phosphate solubilizing capacity of strain An510

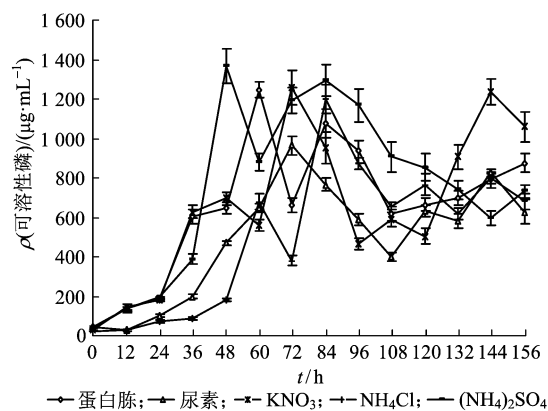


图4 不同氮源对菌株 An510 溶磷能力的影响
Fig.4. Effects of different nitrogen sources on phosphate solubilizing capacity of strain An510

2.3.2 不同氮源对菌株 An510 溶磷特性的影响 分别以蛋白胨、尿素、硝酸钾、氯化铵和硫酸铵为 NBRIP 培养基中的氮源,在不改变 NBRIP 培养基其他成分的基础上,探究不同氮源对菌株 An510 溶磷性能的影响。由图 4 可见,分别以蛋白胨、尿素、硝酸钾、氯化铵和硫酸铵为 NBRIP 培养基中的氮源时,发酵液中可溶性磷最高含量分别为 $(1\ 246.55 \pm 38.26)$, (966.36 ± 47.13) , $(1\ 258.81 \pm 85.76)$, $(1\ 199.35 \pm 74.42)$, $(1\ 366.50 \pm 87.92)$ $\mu\text{g}/\text{mL}$; 达到最高溶磷量的时间分别为 60, 72, 72, 84, 48 h。

2.4 菌株 An510 溶磷机理的分析
2.4.1 溶磷量与发酵液 pH 之间的关系 拟合曲线回归分析结果表明,培养过程中菌株 An510 通过溶解 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 释放到发酵液中的磷与发酵液介质的 pH 之间存在显著的负相关性,并且只有当 pH 降低到 5 以下时,才表现出较强的溶磷活性(图 5)。
2.4.2 发酵液中有有机酸与溶磷量和发酵液 pH 之间的相关性 利用 R 语言的“corr.test”包(version 1.6.6)和“corrplot”包(version 0.77)对不同营养基质条件下产生的有机酸与发酵液可溶性磷

含量和 pH 的相关性进行分析。由表 1 可知,菌株 An510 以葡萄糖、蔗糖和淀粉为唯一碳源和能源培养条件下,发酵液中有机的种类及表达量有明显的不同,且发酵液中有机的种类与发酵液可溶性磷和 pH 间的相关性不同;以葡萄糖为基质的条件下,乳酸和琥珀酸与菌株 An510 发酵液中可溶性磷含量呈正相关关系,相关系数分别为 0.55 和 0.38,但乳酸和琥珀酸与菌株 An510 发酵液 pH 相关性低;以蔗糖为基质的条件下,草酸和苹果酸是影响菌株 An510 溶磷的重要有机酸,且草酸对发酵液 pH 下降的贡献最大;以淀粉为基质的条件下,苹果酸和柠檬酸是影响菌株 An510 溶磷的重要有机酸,且苹果酸对发酵液 pH 下降的贡献最大。

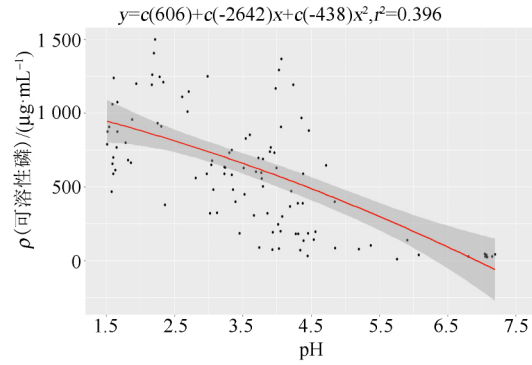


图 5 菌株 An510 溶磷能力与发酵液 pH 的关系
Fig.5. Relationship between phosphate solubilizing ability of strain An510 and pH in fermentation broth

表 1 不同碳源基质条件下有机酸与可溶性磷和发酵液 pH 相关性

Table 1. Correlation between organic acids and soluble phosphorus and pH in fermentation broth under different carbon source matrix conditions

项目		草酸	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸
葡萄糖	可溶性磷含量	-0.04	-0.13	0.55	-0.14	0.20	0.38
	pH	0.26	-0.35	-0.10	0.40	0.20	-0.05
蔗糖	可溶性磷含量	0.20	0.31	0.02	-0.22	-0.06	-0.17
	pH	-0.52	-0.13	0.06	0.04	-0.04	0.00
淀粉	可溶性磷含量	-0.91	0.59	-0.03	NA	0.14	-0.26
	pH	0.93	-0.62	-0.05	NA	-0.21	0.07

注 “-”表示负相关,差异显著 $P < 0.05$; NA 表示没有检测到该有机酸。下表同

由表 2 可知,菌株 An510 以蛋白胨和尿素为唯一氮源培养条件下,发酵液中草酸和柠檬酸含量与发酵液可溶性磷含量呈正相关关系,相关系数分别为 0.25、0.35 和 0.31、0.55,且草酸对发酵液中 pH 下降的作用高于柠檬酸;以氯化铵为唯一氮源培养条件下,发酵液中乳酸含量与发酵液可溶性磷含量呈正相关,相关系数为 0.51;以硝酸钾唯一氮源培养条件下,发酵液中草酸和苹果酸含量与发酵液可溶性磷含量呈正相关,相关系数

分别为 0.53、0.41,且草酸对发酵液中 pH 下降的作用高于苹果酸,相关系数分别为 -0.56 和 -0.08;以硫酸铵为唯一氮源培养条件下,发酵液中苹果酸、乳酸和琥珀酸含量与发酵液可溶性磷含量呈正相关,相关系数分别为 0.21、0.52、0.33,且苹果酸含量与发酵液 pH 呈负相关,相关系数为 -0.51,而乳酸和琥珀酸含量与发酵液 pH 相关系数只有 -0.12 和 -0.07。

表 2 不同氮源基质条件下有机酸与可溶性磷和发酵液 pH 相关性

Table 2. Correlation between organic acids and soluble phosphorus and pH in fermentation broth under different nitrogen source matrix conditions

项目		草酸	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸
蛋白胨	可溶性磷含量	0.25	NA	-0.21	-0.55	0.35	-0.05
	pH	-0.40	NA	0.17	0.40	-0.07	0.21

续表 2

Continued table 2

项目	草酸	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸	
尿素	可溶性磷含量	0.31	-0.15	0.16	0.16	0.55	-0.24
	pH	-0.67	0.09	0.30	0.06	-0.03	0.00
NH ₄ Cl	可溶性磷含量	-0.40	-0.16	0.51	-0.22	-0.26	-0.18
	pH	0.19	0.10	-0.68	0.07	0.21	0.09
KNO ₃	可溶性磷含量	0.53	0.41	-0.62	0.03	-0.11	-0.14
	pH	-0.56	-0.08	0.74	0.15	0.22	0.24
(NH ₄) ₂ SO ₄	可溶性磷含量	-0.16	0.21	0.52	-0.30	0.13	0.33
	pH	0.27	-0.51	-0.12	0.43	0.19	-0.07

3 讨论与结论

一般认为微生物溶磷的机理有如下 5 个方面^[8, 13-18]: ①溶磷微生物的一个重要溶磷机制是通过分泌低分子有机酸(琥珀酸、苹果酸、草酸、乙酸、乳酸、柠檬酸), 这些低分子有机酸不仅能与 Ca²⁺、Al³⁺、Fe³⁺ 等离子络合, 释放与之结合的磷酸根, 还能够使生长环境的 pH 降低, 从而促进难溶性磷溶解。微生物分泌有机酸产生的溶磷能力不但与有机酸的种类及数量有关, 还与磷酸根结合态阳离子有关。②溶磷微生物的另一个溶磷机理是分泌质子。微生物借助质子泵将氢离子释放到细胞膜外, 从而降低介质的 pH, 引起磷酸盐的溶解。一些溶磷微生物具有溶解难溶性磷的能力, 是因为介质中含有 NH₄⁺, 由 NH₄⁺ 同化作用释放出质子而降低 pH, 促进难溶性磷的溶解; 有些不分泌有机酸的微生物, 也有溶磷的作用, 其本质可能是通过 NH₄⁺ 的同化作用释放质子, 使得磷酸盐溶解。③解磷微生物可以通过分泌核酸酶、植酸酶、磷酸酶等活性酶, 将有机磷化物中的磷酸酯键打开, 从而溶解有机磷。酶解作用是溶解有机磷的主要途径, 酶解释放的磷酸, 可以为植物提供所需的磷营养。④通过呼吸作用释放出 CO₂, 降低 pH, 引起磷酸盐的溶解。⑤释放出的 H₂S 与磷酸铁反应产生硫酸亚铁和可溶性的磷酸盐。本试验分离到的菌株 An510, 以不同碳源和氮源为基质的条件下可以产生多种有机酸, 且各种有机酸的含量随培养时间变化而不断变化。有机酸的产生是菌株 An510 具有溶磷能力的主要原因, 但不同种类的有机酸的溶磷机理不同: 发酵液中草

酸含量与 pH 的相关系数较大, 其可能是通过降低发酵液中 H⁺ 浓度, 从而增加发酵液中可溶性磷的含量; 发酵液中苹果酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸在不同基质培养条件下的含量与 pH 的相关性不同, 在以氯化铵为氮源时, 主要通过乳酸降低发酵液的 pH 来达到增加发酵液中可溶磷含量的目的; 而以尿素和硫酸铵为氮源时, 乳酸可能通过螯合发酵液中的 Ca²⁺, 从而增加发酵液中可溶磷的含量, 发酵液中柠檬酸和琥珀酸的含量与发酵液 pH 的相关性较低, 推测菌株 An510 可能也是通过柠檬酸和琥珀酸的螯合作用来促进发酵液中难溶性磷的溶解。

本研究结果表明, 菌株 An510 在不同碳源与氮源的培养条件下可能通过产有机酸螯合发酵液中 Ca²⁺, 同时降低发酵液 pH 的方式进行溶磷。

参考文献:

- [1] Cordell D, Drangert J O, White S. The story of phosphorus: global food security and food for thought [J]. *Global Environmental Change*, 2009, 19(2): 292-305.
- [2] 王呈玉, 萧龙珍, 都郁馨, 等. 兼具抗病促生活性的溶磷聚磷菌 XF1 的分离、鉴定与特性分析 [J]. *吉林农业大学学报*, 2018, 40(3): 290-298.
- [3] Weikard H P. Phosphorus recycling and food security in the long run: a conceptual modelling approach [J]. *Food Security*, 2016, 8(2): 405-414.
- [4] 张建峰, 苗天瑶, 张洁婧, 等. 盐碱地中溶磷真菌的筛选及培养条件优化 [J]. *吉林农业大学学报*, 2016, 38(2): 169-174.
- [5] 萧龙珍, 崔俊涛, 刘淑霞, 等. 玉米根际溶磷菌 *Bucillus megaterium* XS2 的筛选鉴定与溶磷特性分析 [J]. *吉林农业大学学报*, 2018, 40(1): 71-79.
- [6] Gong M, Tang C, Zhu C. Cloning and expression of delta-1-

- pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase in *Escherichia coli* DH5 α improves phosphate solubilization [J]. *Canadian Journal of Microbiology* ,2014 ,60 (11) : 761-765.
- [7] Pii Y ,Mimmo T ,Tomasi N ,et al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process: a review [J]. *Biology and Fertility of Soils* ,2015 ,51(4) : 403-415.
- [8] Sharma S B , Sayyed R Z , Trivedi M H , et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils [J]. *Springer Plus* ,2013 ,2 (1) : 587-600.
- [9] Long X E , Yao H , Huang Y , et al. Phosphate levels influence the utilisation of rice rhizodeposition carbon and the phosphate-solubilising microbial community in a paddy soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry* ,2018 ,118(3) : 103-114.
- [10] Elizabeth Pe´rez , Miguel Sulbar´n , Mar´a M Ball , et al. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region [J]. *Soil Biology and Biochemistry* ,2007 ,39: 2905-2914.
- [11] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学出版社 ,1979: 129-135.
- [12] 齐祖同. 中国真菌志: 曲霉属及其相关有性型 [M]. 北京: 科学出版社 ,1997: 100-102.
- [13] Miller S H , Browne P , Prigent-Combaret C , et al. Biochemical and genomic comparison of inorganic phosphate solubilization in *Pseudomonas* species [J]. *Environmental Microbiology Reports* ,2010 ,2(3) : 403-411.
- [14] Walpola B C , Yoon M H. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils [J]. *African Journal of Microbiology Research* ,2012 ,6: 6600-6605.
- [15] Ahmed N. Phosphate solubilization: their mechanism genetics and application [J]. *The Internet Journal of Microbiology* ,2011 ,9: 4408-4412.
- [16] Bü nemann Else K , Oberson Astrid , Frossard Emmanuel. Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling [M]. Berlin: Springer ,2011: 169-198.
- [17] Krishnaraj P U , Dahale S. Mineral phosphate solubilization: concepts and prospects in sustainable agriculture [J]. *Proceedings of the Indian National Science Academy* ,2014 ,80 (2) : 389-405.
- [18] Behera B C , Singdevsachan S K , Mishra R R , et al. Diversity , mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove-a review [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* ,2014 ,3(2) : 97-110.

(责任编辑: 林海涛)