

山东地区钾矿物分解细菌的分离及生物学特性

赵 飞 盛下放 黄 智 何琳燕*

(南京农业大学生命科学学院微生物学系, 农业部农业环境微生物工程重点实验室, 南京 210095)

摘要: 不同土壤类型钾矿物分解细菌资源调查和高效稳定释钾、促生细菌的筛选鉴定有助于丰富微生物资源库, 发掘和利用钾矿物分解细菌以及探究矿物生物风化机理等。作者采用以钾长石为唯一钾源的选择性细菌培养基, 从山东地区不同土壤和不同植物根际土壤中分离纯化23株生长势良好的钾矿物分解细菌, 通过测定细菌代谢产物IAA和铁载体, 研究其产生促生物质的能力, 通过摇瓶试验筛选高效释钾菌株, 采用16S rDNA限制性酶切多态性分析(amplified rDNA restriction analysis, ARDRA)方法研究了钾矿物分解细菌的遗传多样性, 根据16S rDNA同源性对高效释钾菌株进行了鉴定。结果表明, 供试菌株均产吲哚乙酸或其衍生物, 43.5%的分离菌株产极微量铁载体。ARDRA结果表明供试菌株在60%相似性水平上可分为11个基因型, 同一类型土壤上不同作物根际或不同类型土壤上同一作物根际的钾矿物分解细菌存在明显的遗传差异。摇瓶试验结果表明供试菌株中具有较显著释钾能力的菌株占17%, 39%的供试菌株无释钾能力。筛选到2株高效释钾菌株AFM2、AC2, 分别使溶液中钾含量增加了29.8%和25.4%。16S rDNA同源性分析表明菌株AC2、AHZ1与*Bacillus mucilaginosus*聚为一群, 该群与包含菌株AZH4的*Paenibacillus* sp.中的种聚为一大发育分支, 该分支在细菌分类地位上隶属于Firmicutes; 菌株AFM2与*Rhizobium* sp. 和*Agrobacterium tumefaciens*聚为另一大发育分支, 该分支在细菌分类地位上隶属于Alphaproteobacteria。

关键词: 钾矿物分解细菌, IAA, 铁载体, 遗传多样性

Isolation of mineral potassium-solubilizing bacterial strains from agricultural soils in Shandong Province

Fei Zhao, Xiafang Sheng, Zhi Huang, Linyan He*

College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095

Abstract: In the search for mineral potassium-solubilizing bacterial strains with multiple activities that may be relevant for a beneficial plant-microbe interaction—potassium solubilization, indoleacetic acids (IAA) and siderophore production, a total of 23 heterotrophic eugenic strains were isolated from rhizospheric soil in Shandong Province using a medium with feldspar as the sole K source. All strains produced IAA or their derivatives, and 43.5% of the strains displayed a very high level of siderophores. Seventeen percent of the strains showed better growth on feldspar and effects on solubilization of K in liquid cultures, suggesting that they were a valuable pool for discovering plant growth-promoting bacteria. Two bacterial strains, AFM2 and AC2, exhibited greater K release efficiency than other isolates. Amplified rDNA restriction analysis (ARDRA) revealed that all isolates could be divided into 11 groups at the similarity level of 60%. Most strains exhibited a unique 16S rDNA restriction pattern even when strains were isolated from the same soil type or plant species. Strains AC2 and AHZ1 of group XI were highly related to *Bacillus mucilaginosus*, strain AFM2 of group IV shared 99% sequence homology with *Agrobacterium tumefaciens*.

Key words: mineral potassium-solubilizing bacteria, IAA, siderophores, genetic diversity

硅酸盐矿物的风化是在地表发生的最重要的地球化学现象之一,与海洋、土壤营养元素的供给、土壤形成以及全球气候和环境变化紧密相关(Hiebert & Bennett, 1992; Barker *et al.*, 1998; Banfield *et al.*, 1999)。风化过程是非生物和生物共同作用的结果。微生物以多种方式加速风化过程,从而促进土壤演化,并为植物提供磷、钾、硅等营养元素(盛下放和黄为一, 2002; Buss *et al.*, 2007; Hameeda *et al.*, 2008)。钾矿物分解细菌(mineral potassium-solubilizing bacteria)就是一类能分解硅酸盐和铝硅酸盐矿物,并释放钾硅元素的细菌。研究表明其具有提高农作物产量、增强作物抗病能力、改善土壤结构等功能,在采矿、冶金、微生物肥料和饲料工业上具有广阔的应用前景(连宾等, 2002; 李定旭, 2003; Sheng, 2005; 李莎等, 2006)。近年来研究者发现细菌分解钾矿物的效能存在明显差异,分离菌株中仅有15%左右具有较强的释钾能力(Sheng *et al.*, 2002),大部分菌株使溶液中速效钾提高0.66–10.15%(贺积强等, 2003; 何琳燕等, 2004)。性能优良菌株的选育是发挥微生物功效的核心环节,因此,有必要筛选出高效、稳定分解含钾矿物的菌株或菌株群以发挥丰富的含钾矿物的工农业利用效能。山东是我国重要的农业生产基地,矿产丰富,土壤类型多样,对该地区钾矿物分解细菌的资源调查有助于丰富微生物资源库,为农业可持续发展和深入阐明微生物矿物风化作用机制提供基础。

以往对钾矿物分解细菌多样性和分类的研究大都建立在形态、生理生化等表型特征基础上(李扬等, 2006),随着现代生物技术的发展,以分子生物学为主要手段、以基因型和遗传多态性为基础的系统发育分析正逐渐应用到钾矿物分解细菌的多样性研究中(胡桦等, 2007; 管莹等, 2007)。16S rDNA限制性酶切多态性分析(amplified rDNA restriction analysis, ARDRA)可以快速地将大量细菌分群,是一种简便、可靠的方法,在细菌资源遗传多样性及分类的研究中广泛应用。如果选择合适的限制性内切酶,可使ARDRA分析结果与16S rDNA全序列分析结果具有很好的一致性(Laguerre *et al.*, 1994)。

本研究采集了山东德州、威海、东营、菏泽、临沂等市县的土壤类型土样55份,分离了钾矿物分解细菌,分析其产生促生物质能力、释钾功能

和16S rDNA限制性酶切多态性,筛选了高效释钾菌株并确定其系统发育关系,为发掘并合理利用钾矿物分解细菌资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 钾矿物分解细菌的分离筛选

根据山东主要土壤类型(潮土、棕壤、褐土、砂姜黑土、草甸盐土、风沙土和碱土),分别在德州市、东营市广饶县、菏泽市曹县、临沂市临沭县、威海市荣成县、文登县等地采集玉米、大豆、高粱、棉花、花生和杂草等不同植物根际土壤和非根际土壤,采集时间为2005年9月10–20日。采用五点取样法采集5–10 cm深的植物根际土壤样品共55份,保存于无菌纸袋中带回实验室。采用改良的硅酸盐细菌培养基(盛下放, 2004)分离纯化钾矿物分解细菌,其中的土壤矿物用等量的阴干水洗钾长石粉代替。挑取隆起、边缘整齐、圆形、湿润、无色透明或半透明且长势良好的典型单菌落,多次纯化后转接于斜面培养,4℃保存备作供试菌株。

1.2 钾矿物分解细菌的功能分析

发酵液中吲哚乙酸(indoleacetic acid, IAA)的测定:参照文献(Dell' Amico *et al.*, 2005)Salkowski方法并作适当改进,菌体培养采用有氮液体培养基(盛下放和黄为一, 2001),28℃,150 r/m振荡培养4 d后进行。

铁载体(siderophore)含量测定:菌体培养采用有氮液体培养基,28℃,150 r/m振荡培养2 d,发酵液12,000 r/m离心10 min,取上清液,参考王平等(1994)CAS法进行。

供试菌株的释钾效能分析:参照文献(Sheng & He, 2006)进行摇瓶释钾试验,并做适当改进。每150 mL三角瓶中加入阴干水洗钾长石粉0.5 g和缺钾培养基50 mL,121℃、25 min灭菌;然后接入供试菌株种子液2.5 mL,对照接等量灭活菌液。接菌和接灭活菌处理各重复3次。28℃振荡培养4 d,取5 mL发酵液加6% H₂O₂、置于沸水浴中煮沸至发酵液澄清,过滤,去离子水定容至50 mL容量瓶中,原子吸收分光光度法测定钾离子含量。

1.3 钾矿物分解细菌的16S rDNA限制性酶切多态性分析

供试菌株的基因组DNA提取及16S rDNA的扩

增见Sambrook等(1989), 所用引物27f: 5'-AGAGT-TTGATCCTGGCTCAG-3'和1492r: 5'-TACGGCTA-CCTTGTACGACTT-3'由大连宝生物工程公司合成。扩增条件为: 95℃预变性5 min; 95℃变性1 min, 55℃退火30 s, 72℃延伸90 s, 30个循环; 最后72℃延伸10 min。0.8%琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增产物, -20℃冰箱贮存备用。选用2种限制性内切酶 *MspI* 和 *Hae III* (TaKaRa公司) 分别对23株供试菌株的16S rDNA扩增产物进行酶切。酶切反应采用10 μL体系: 0.25 μL内切酶, 1 μL酶切反应缓冲液, 0.5 μL PCR产物, 最后加灭菌超纯水至10 μL。反应混合物于37℃, 4 h水浴, 然后加1 μL 10×Loading Buffer终止反应。后取5 μL酶切产物在3%琼脂糖凝胶电泳(150V, 1 h), 染色。凝胶图像经电脑扫描处理后, 在同一位置有带的记为“1”, 没有的记为“0”。采用非加权平均法(UPGMA)进行聚类分析并构建树状图谱。

1.4 高效释钾菌株的分子鉴定

将成功扩增的16S rDNA采用琼脂糖凝胶回收试剂盒(TianGen公司)纯化后连接pMD19-T 载体 (TaKaRa公司), 连接产物转化大肠杆菌DH5α感受态细胞, 在含有X-gal(40 μg/mL)、IPTG(40 μg/mL)、Amp(100 μg/mL)的 LA 平板上筛选并快速检测含有重组子的白色菌落。挑取阳性克隆由上海英骏生物技术有限公司完成16S rDNA 序列的测定。将所测序列用 BLAST 软件与 GenBank 中已知的16S rDNA 序列进行比对分析, 选取若干同源性较高的参比菌株16S rDNA序列, 经ClustalX1.83软件对其格式编辑后用MEGA 4.0软件包(Tamura *et al.*, 2007)构建系统发育树并计算序列相似性。

2 结果

2.1 钾矿物分解细菌的分离筛选

采用以钾长石为唯一钾源的选择性培养基, 从

表1 菌株的来源及代谢产物吲哚乙酸(IAA)和铁载体的分泌特征
Table 1 Indoleacetic acid (IAA) and siderophore production of isolates obtained from the rhizosphere of various plants in different soils types, Shandong Province

菌株 Strains	采样地点 Sampling sites	土壤类型 Soil type	植物种类 Plants	代谢产物 Metabolism products	
				吲哚乙酸 IAA	铁载体 Sidersphore
AC2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	无 Bulk	++	++
ACY2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	玉米 Maize	++	++
ACM2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	棉花 Cotton	+	+
ACG2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	高粱 Sorghum	++	—
ACD2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	大豆 Soybean	+	++
ACZ2	德州 Dezhou City	潮土 Fluvo-aquic soil	杂草 Weeds	++	++
ACY3	曹县 Caoxian County	潮土 Fluvo-aquic soil	玉米 Maize	++	—
ACZ3	曹县 Caoxian County	潮土 Fluvo-aquic soil	杂草 Weeds	+	—
AZZ4	临沭 Linshu County	棕壤 Brown earth	杂草 Weeds	++	++
AZH4	临沭 Linshu County	棕壤 Brown earth	红薯 Sweet potato	+	+
AZZ5	威海 Weihai City	棕壤 Brown earth	杂草 Weeds	++	++
AHY1	广饶 Guangrao County	褐土 Cinnamon soil	玉米 Maize	++	—
AHZ1	广饶 Guangrao County	褐土 Cinnamon soil	杂草 Weeds	+	++
ASY1	广饶 Guangrao County	砂姜黑土 Lime concretion black soil	玉米 Maize	+	++
ASG1	广饶 Guangrao County	砂姜黑土 Lime concretion black soil	高粱 Sorghum	+	++
ASZ1	广饶 Guangrao County	砂姜黑土 Lime concretion black soil	杂草 Weeds	++	—
AZY2	德州 Dezhou City	草甸盐土 Meadow solonchak	玉米 Maize	++	+
AZZ2	德州 Dezhou City	草甸盐土 Meadow solonchak	杂草 Weeds	+	+
AF2	德州 Dezhou City	风沙土 Aeolian soil	无 Bulk	+	—
AFM2	德州 Dezhou City	风沙土 Aeolian soil	棉花 Cotton	++	—
AFY2	德州 Dezhou City	风沙土 Aeolian soil	玉米 Maize	+	+
AY3	曹县 Caoxian County	碱土 Solontz	无 Bulk	+	++
AYM3	曹县 Caoxian County	碱土 Solontz	棉花 Cotton	+	+

“+ +”表示强阳性; “+”表示阳性; “—”表示阴性 + + Strong positive; + Positive; — Negative

55份供试土壤样品中共分离、纯化、保存生长势良好的典型钾矿物分解细菌23株, 菌株编号、分离源和土壤类型见表1。所分离的钾矿物分解细菌在钾长石选择性培养基上菌落均为圆形, 粘稠, 透明或半透明, 不产色素。

2.2 供试菌株功能分析

由表1可知, 供试菌株均产吡啶乙酸或其衍生物, 其中呈强阳性反应的占总供试菌株的47.8%。供试菌株中有16株分泌铁载体(即 $A/Ar < 1$ 者, A 和 Ar 分别为接菌和未接种上清反应液在630 nm波长处的吸光值, A/Ar 比值越小表明产铁载体的量越多), 其中有10株菌株的 A/Ar 在0.029–0.125之间, 达到极高水平, 占总供试菌株的43.5%。30.4%的供试菌株不产铁载体。

由图1可知, 供试菌株AC2、AZH4、AHZ1、AFM2和接菌处理发酵液中的钾离子含量较对照有显著提高, 增加了16.8–29.8%。其中菌株AFM2和AC2的释钾能力最强, 接菌处理发酵液中的钾离子含量分别达到52.9 mg/L和56.7 mg/L, 较接灭活菌对照分别增加了29.8%和25.4%。6株供试菌株的释钾能力中等, 接菌处理发酵液中钾离子含量较对照增加5.3–13.8%; 4株释钾能力较弱, 其中ACZ3的释钾能力最弱, 接菌处理发酵液中的钾离子含量仅比

对照增加了0.9%。另外有39%的供试菌株无释钾能力。由此可见, 供试钾矿物分解细菌菌株释钾能力存在差异。

2.3 钾矿物分解细菌的16S rDNA限制性酶切多态性分析

本研究对供试23株钾矿物分解细菌进行了16S rDNA限制性酶切多态性分析。以27f和1492r引物对供试菌株16S rDNA基因片段进行扩增, 所得片段大小约为1.5 kb, 后采用限制性内切酶*Hae* III、*Msp* I对PCR产物分别进行酶切。*Hae* III酶切图谱中多数供试菌株在320 bp、280 bp和220 bp处有一条共同的条带, 分别占总供试菌株的57%、61%和61%, 因此可以认定这三条带可作为*Hae* III酶切的特征带; 而用*Msp* I进行酶切所得的图谱中多数供试菌株在297 bp和140 bp处有一条共同的条带, 分别占总供试菌株的57%和83%, 可以认定297 bp和140 bp为*Msp* I酶切的特征带。对两种限制性内切酶酶切条带综合分析并构建UPGMA树状图, 可见全部供试菌株在22%的相似性水平上聚在一起, 在60%相似性水平上可分为11种ARDRA遗传型(图2), 70%的供试菌株集中在遗传型IV、VII、VIII和XI中, 其中群XI中包含的菌株最多, 群VIII次之。ASY1等7个菌株则单独形成了7个基因型, 在系统发育关系上

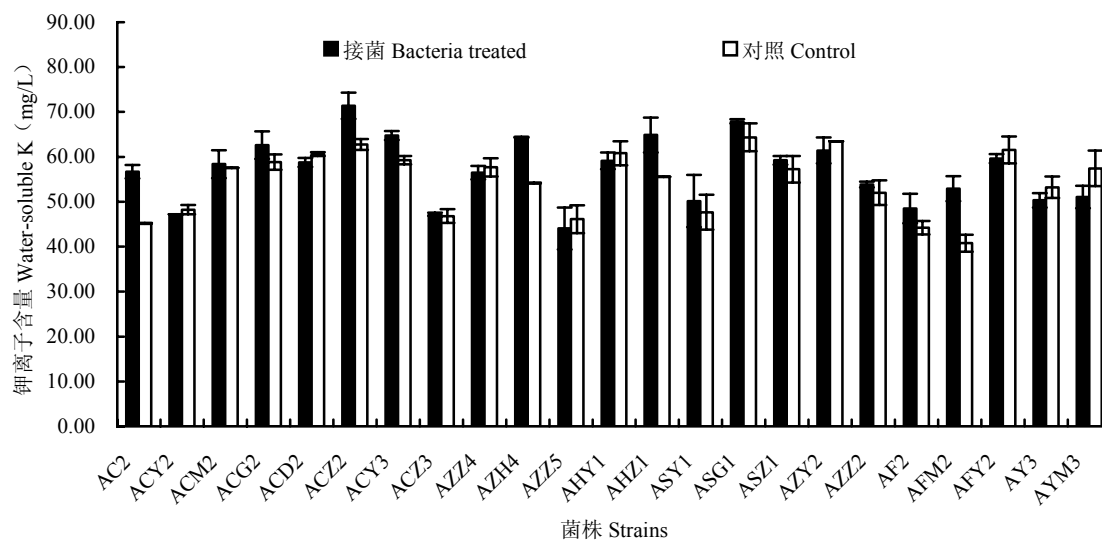


图1 液体培养条件下不同菌株分解钾长石释钾效能比较, 接灭活菌为对照。

Fig. 1 Amount of potassium (K) released by bacterial strains after four days inoculation in liquid cultures. Controls were inoculated by autoclaved inocula.

存在着一定的差异。

2.4 高效释钾菌株的系统发育分析

释钾效能较强的菌株AHZ1、AC2、AFM2和AZH4分别分离自褐土、潮土、风沙土和棕壤。经16S rDNA 扩增克隆测序后所得的序列与GenBank 中相关数据进行相似性分析,AFM2、AHZ1、AC2、

A Z H 4 在 G e n B a n k 上的登录号依次为EU592041–EU592044。选取亲缘关系最近的*Bacillus*, *Paebacillus*, *Rhizobium*和*Agrobacterium*属的菌种与AFM2等4株菌采用N-J法构建系统发育树, 结果表明(图3), 菌株AFM2与土壤杆菌属中的根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)相似性最

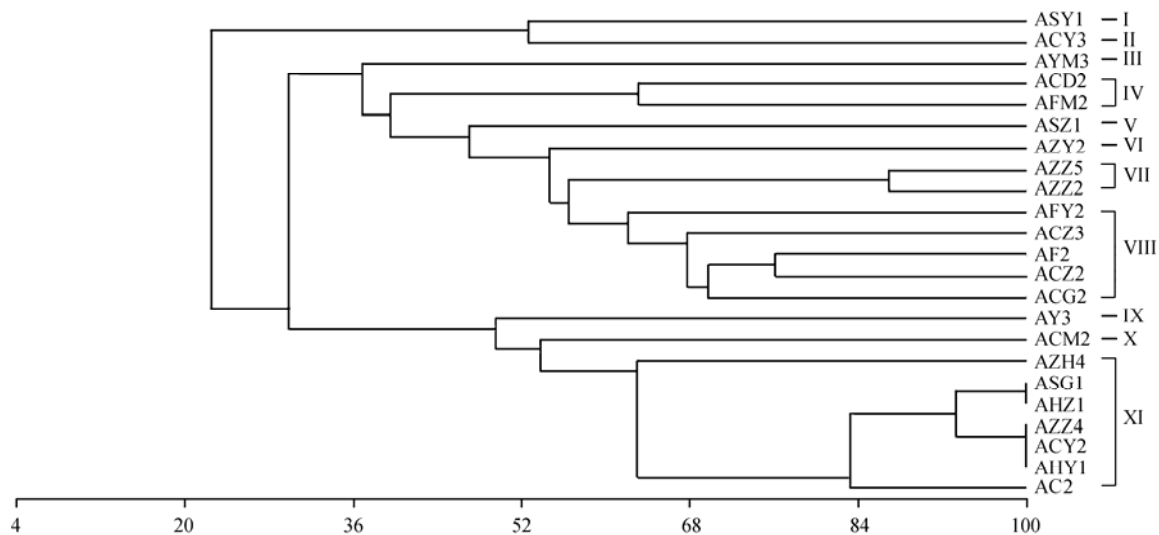


图2 根据16S rDNA限制性酶切片片段分析得到的供试菌株聚类树状图
Fig. 2 A UPGMA dendrogram of 23 potassium-releasing bacterial strains based on amplified rDNA restriction analysis (ARDRA) patterns from *Hae* III and *Msp* I digestion.

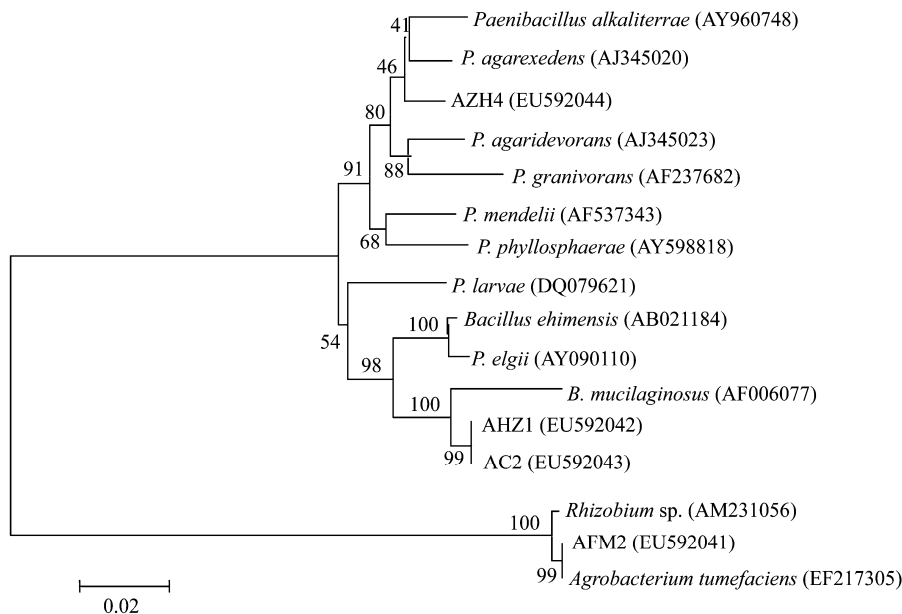


图3 基于2个高效释钾菌株AC2、AFM2和2个中等释钾效能菌株AHZ1、AZH4以及亲缘关系相近的菌株(分别属于*Bacillus*, *Paebacillus*, *Rhizobium*和*Agrobacterium*属)的16S rDNA序列构建的系统发育树, 标尺代表进化距离。
Fig. 3 The phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequences of four potassium-bearing mineral-dissolved bacteria strains and those of related species in the genus *Bacillus*, *Paebacillus*, *Rhizobium*, and *Agrobacterium*. Scale bar indicates evolutionary distance.

高, 相似系数达99%; 菌株AC2、AHZ1与胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)的同源性最高, 相似性系数达100%; 而菌株AC2与AHZ1也非常相似, 相似性系数达99%。菌株AZH4与类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)的各菌株聚为一个分支, 但其中的相似性均较低, 初步定为类芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.)。从N-J法构建的系统发育树上(图3)可以看出菌株AC2、AHZ1与*B. mucilaginosus* 聚为一群, 该群与包含菌株AZH4的*Paenibacillus*中的各菌株聚为一大发育分支, 该分支在细菌分类地位上隶属于厚壁菌门(Firmicutes)芽孢杆菌纲(Bacilli); 而菌株AFM2与*Rhizobium* sp. 和*A. tumefaciens*聚为另一大发育分支, 该分支在细菌分类地位上隶属于变形杆菌门(Proteobacteria) α -变形杆菌纲(Alpha-proteobacteria)。

3 讨论

3.1 钾矿物分解细菌的生物多样性

因受生物、气候、地域等因素影响, 山东地区农业土壤类型多样, 主要有潮土、棕壤、褐土等(张漱茗等, 1999)。本研究从山东地区潮土、棕壤、褐土、砂姜黑土、风沙土、草甸盐土和碱土等多种土壤中均分离到钾矿物分解细菌, 说明钾矿物分解细菌在不同类型土壤和植物根际广泛分布。其中有56.5%的钾矿物分解细菌来自于潮土、棕壤和褐土, 而这三种类型土壤pH呈中性, 与盛下放(2004)认为在速效钾含量较高且pH接近中性的土壤中矿物分解细菌数量较多的结论相似。而在砂姜黑土、风沙土、草甸盐土和碱土等性质特殊的土壤中也能够分离到钾矿物分解细菌, 其分布规律与土壤水分、温度、有机质和元素等各生态因子的相关性有待进一步研究。

据报道, 吲哚乙酸是一种重要的植物生长促进激素, 对植物的生长具有一定的促生效应(Glick, 1995)。铁载体是微生物产生的一种对 Fe^{3+} 具有超强络合力的低分子量有机化合物, 铁载体产量丰富的根际细菌能够抑制有害微生物在植物根际的生长与繁殖并表现出生防作用(王平等, 1994; Compant *et al.*, 2005), 而细菌产生铁载体类配合体螯合钙、铁等金属可能促进铝硅酸矿物的进一步分解(Kainowski *et al.*, 2000; Rogers & Bennett, 2004;

Buss *et al.*, 2007)。因此, 本文研究了钾矿物分解细菌分泌IAA和铁载体及分解钾长石释放元素钾的功能, 结果表明分离菌株均能够产生IAA, 43.5%的菌株产生极高量铁载体, 菌株AFM2和AC2具有高效释钾能力。这一结果与前人报道(Sheng *et al.*, 2002; 贺积强等, 2003; 何琳燕等, 2004)基本一致。

目前, 微生物加强矿物风化、促进土壤演化、提供植物营养元素的机制主要有以下三点假设: (1) 细菌生长时产生的低分子量有机酸腐蚀岩石(Banfield *et al.*, 1999); (2) 细菌产生铁载体类配合体螯合钙、铁等多种金属促进矿物表面腐蚀坑的形成而加速铝硅酸矿物分解(Buss *et al.*, 2007); (3) 细菌借助胞外多糖包围矿物颗粒, 通过细菌产生的有机酸、氨基酸的酸溶以及有机酸、氨基酸和荚膜多糖的络合作用共同破坏长石的晶格结构(盛下放和黄为一, 2002)。本研究发现液体培养条件下分离菌株的释钾效能和分泌铁载体的能力没有密切相关性, 释钾机理不确定。钾矿物分解细菌的这些功能将有助于这类细菌促进植物生长并在农业上开发应用, 但促生效应及微生物分解硅酸盐矿物所释放的矿质元素形成土壤—植物营养流的途径和效率等等问题还需要进一步的盆栽或田间应用试验。

由于土壤理化性质、微域地形、气候以及植被存在不同, 客观上为钾矿物分解细菌遗传多样性的产生提供了条件。本研究结果表明, 23株供试菌株在60%相似水平上可被快速分为11种遗传型, 70%的供试菌株集中在遗传型IV、VII、VIII和XI中。释钾效能高的菌株AC2、AHZ1、AZH4均聚在群XI中, 属于芽孢杆菌科(Bacillaceae)。菌株AFM2属于 α -变形杆菌纲(Alphaproteobacteria), 其所在群IV与群VIII、VII之间的亲缘关系更近。由此可见, 结合16S rDNA全序列分析, ARDRA能较好地反映出供试菌株间的遗传多样性和系统发育关系。而ASY1、ACY3、AY3、ACM2等具有独立基因型、分离自独特土壤的菌株, 与芽孢杆菌科、 α -变形杆菌纲关系较远, 其系统发育关系有待进一步研究。本研究中, 群XI中7株供试菌株分离自不同类型土壤, 包括潮土、褐土、棕壤和砂姜黑土, 并分布于不同植物根际或非根际环境。而分离自潮土的AC2等8株供试菌株在60%相似性水平上可分为5种基因型, 来源于玉米根际土壤的ACY2等6株菌可分为5种基因型, 菌株聚类与

地理来源、植物种类没有明显的联系, 土壤类型对钾矿物分解细菌遗传特性的影响尚需进一步探讨。

3.2 高效钾矿物分解细菌的筛选

尽管文献报道的钾矿物分解细菌种类很多, 包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)的一些种以及嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)、胶质芽孢杆菌(*B. mucilaginosus*)、土壤芽孢杆菌(*B. edaphicus*)、环状芽孢杆菌(*B. circulans*)等(Barker *et al.*, 1998; Sheng, 2005; 李莎等, 2006; Calvaruso *et al.*, 2006), 但是根据农业部关于硅酸盐细菌生产菌种标准的要求, 解钾能力 $\geq 20\%$ 的菌株为高效菌株, 主要应用菌种为胶质芽孢杆菌(*B. mucilaginosus*)和土壤芽孢杆菌(*B. edaphicus*)(朱昌雄等, 2005; 李俊等, 2006), 因此, 本研究认为经鉴定分别属于根癌农杆菌(*A. tumefaciens*)和胶质芽孢杆菌(*B. mucilaginosus*)的菌株AFM2、AC2为释钾高效菌株, 能分泌IAA和铁载体类物质, 具有潜在的植物促生效应和良好的应用前景, 丰富了高效钾矿物分解细菌的资源库和基因库, 进一步研究菌株在土壤-植物系统中的行为特征有助于其发挥实际作用。

参考文献

- Banfield JF, Barker WW, Welch SA, Taunton A (1999) Biological impact on mineral dissolution: application of the lichen model to understanding mineral weathering in the rhizosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **96**, 3404–3411.
- Barker WW, Welch SA, Chu S, Banfield JF (1998) Experimental observations of the effects of bacteria on aluminosilicate weathering. *American Mineralogist*, **83**, 1551–1563.
- Buss HL, Lüttge A, Brantley SL (2007) Etch pit formation on iron silicate surfaces during siderophore-promoted dissolution. *Chemical Geology*, **240**, 326–342.
- Calvaruso C, Turpault MP, Frey-Klett P (2006) Root-associated bacteria contribute to mineral weathering and to mineral nutrition in trees: a budgeting analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 1258–1266.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka E (2005) Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 4951–4959.
- Dell'Amico E, Cavalca L, Andreoni V (2005) Analysis of rhizobacterial communities in perennial Gramineae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, **52**, 153–162.
- Glick BR (1995) The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, **41**, 109–114.
- Guan Y (管莹), Li DY (李登煜), Chen Q (陈强), Zhou JC (周俊初), Zhang WT (张伟涛), Jing GJ (荆光军) (2007) Genetic diversity of silicate bacteria isolated from saline-alkali soils in northern China by RAPD and BOXAIR PCR analysis. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), **26**, 2043–2047. (in Chinese with English abstract)
- Hameeda B, Harini G, Rupela OP, Wani SP, Reddy G (2008) Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research*, **163**, 234–242.
- He JQ (贺积强), Li DY (李登煜), Zhang XP (张小平), Chen Q (陈强), Liang RY (梁如玉) (2003) Phenotypic aspects and phosphorus-releasing and potassium-releasing ability of silicate bacteria isolated from purple soils. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境微生物学报), **9**, 71–77. (in Chinese with English abstract)
- He LY (何琳燕), Sheng XF (盛下放), Lu GX (陆光祥), Huang WY (黄为一) (2004) Physiological and biochemical characteristics of silicate-dissolving bacteria in different soils and their capacities of releasing potassium. *Soils* (土壤), **36**, 434–437. (in Chinese with English abstract)
- Hiebert FK, Bennett PC (1992) Microbial control of silicate weathering in organic-rich ground water. *Science*, **258**, 278–281.
- Hu H (胡桦), Chen Q (陈强), Li DY (李登煜), Wu SS (吴思思), Xie ZL (谢卓霖), He JQ (贺积强), Zhou JC (周俊初) (2007) Genetic diversity of silicate bacteria isolated from purple soils. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), **44**, 379–383. (in Chinese with English abstract)
- Kalinowski BE, Liermann LJ, Brantley SL, Barnes A, Pantano CG (2000) X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **64**, 1331–1343.
- Laguerre G, Allard M, Revoy F (1994) Rapid identification of rhizobia by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 56–63.
- Li DX (李定旭) (2003) Study on the effects of silicate bacteria on the growth and fruit quality of apples. *Journal of Fruit Science* (果树学报), **20**, 64–66. (in Chinese with English abstract)
- Li J (李俊), Jiang X (姜昕), Li L (李力), Shen DL (沈德龙) (2006) Development of microbial fertilizer and maintaining of soil biological fertility. *Soil and Fertilizer Sciences in China* (中国土壤与肥料), (4), 1–5. (in Chinese with English abstract)
- Li S (李莎), Li FC (李福春), Cheng LJ (程良娟) (2006) Recent development in bio-weathering research. *Mineral*

- Resources and Geology* (矿产与地质), **20**, 577–582.
- Li Y (李扬), Li DY (李登煜), Huang MY (黄明勇), Chen Q (陈强), Zhang XP (张小平), Liu X (刘旭) (2006) Study on biological characteristics of several silicate bacteria isolated from saline soil. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), **37**, 206–208. (in Chinese with English abstract)
- Lian B (连宾), Fu PQ (傅平秋), Mo DM (莫德明), Liu CQ (刘丛强) (2002) A comprehensive review of the mechanism of potassium releasing by silicate bacteria. *Acta Mineralogica Sinica* (矿物学报), **22**, 179–183. (in Chinese with English abstract)
- Rogers JR, Bennett PC (2004) Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chemical Geology*, **203**, 91–108.
- Sambrook J, Maniatis T, Fritsch EF (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Sheng XF (2005) Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*. *Soil Biology and Biochemistry*, **37**, 1918–1922.
- Sheng XF, He LY (2006) Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. *Canadian Journal of Microbiology*, **52**, 66–72.
- Sheng XF (盛下放) (2004) Distribution of silicate-dissolving bacteria in soils of China. *Soils* (土壤), **36**, 81–84. (in Chinese with English abstract)
- Sheng XF (盛下放), Huang WY (黄为一) (2001) Physiological characteristics of strain NBT of silicate bacterium. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), **38**, 569–574. (in Chinese with English abstract)
- Sheng XF (盛下放), Huang WY (黄为一) (2002) Mechanism of potassium release from feldspar affected by the strain NBT of silicate bacterium. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), **39**, 863–871. (in Chinese with English abstract)
- Sheng XF, He LY, Huang WY (2002) The conditions of releasing potassium by a silicate-dissolving bacterial strain NBT. *Agricultural Sciences in China*, **1**, 662–666.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 1596–1599.
- Wang P (王平), Dong B (董颀), Li FD (李阜棣), Hu ZJ (胡正嘉) (1994) Detection and determination of the siderophores produced by wheat rhizobacteria. *Microbiology* (微生物学通报), **21**, 323–326. (in Chinese with English abstract)
- Zhang SM (张漱茗), Yan H (闫华), Liu GD (刘光栋), Liu ZH (刘兆辉) (1999) Soil potassium supplying capacity and release of non-exchangeable potassium in Shandong soils. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), **5**(1), 26–31. (in Chinese with English abstract)
- Zhu CX (朱昌雄), Li J (李俊), Shen DL (沈德龙), Jiang X (姜昕) (2005) Research progress of bio-fertilizer standardization in China and some suggestions. *Phosphate and Compound Fertilizer* (磷肥与复肥), **20**(4), 5–7, 22. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 东秀珠 责任编辑: 时意专)