

3 株耐盐碱促生菌对绿豆根际微生态的影响

王艳宇¹, 刘爽¹, 李鑫¹, 王思文¹, 刘权², 殷奎德¹, 张兴梅¹

(1. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:利用前期从大庆地区盐碱土中分离得到的 3 株耐盐碱促生菌(*Zobellella*, *Serratia* 和 *Bacillus*)进行盆栽试验,研究单株菌和复合菌在盐碱胁迫下对绿豆植株生长的影响,并通过 Biolog-Eco 板和高通量测序技术检测施用耐盐碱促生菌后绿豆根际土壤细菌代谢功能和细菌多样性变化。结果表明,菌株 S29 处理后,绿豆根系鲜重较对照增加了 19.27%,菌株 KM1、NM8 和复合菌处理下绿豆的根系鲜重及干重分别增加了 25.85% 和 25.00%, 22.93% 和 22.73%, 31.22% 和 29.55%;接种促生菌能够提高绿豆根际土壤酶活性和土壤细菌的代谢能力,且复合菌处理下的土壤蔗糖酶和脲酶活性最高,分别是对照的 1.35 倍和 1.16 倍,绿豆根际土壤细菌在培养 240 h 时的每孔颜色变化率(AWCD)为:KM1>复合菌>S29>NM8>CK。高通量测序表明,耐盐碱促生菌能够提高绿豆根际土壤细菌多样性和物种丰富度并促进变形菌门、芽单胞菌门和蓝细菌门有益菌的生长。耐盐碱促生菌能够在盐碱胁迫下促进绿豆根系发育,改善根际微生态,缓解了盐碱胁迫对绿豆的伤害,复合菌的促生效果更好。

关键词:盐碱土;促生菌;绿豆;细菌代谢功能;细菌多样性;根际微生态

中图分类号:S182;S522 **文献标志码:**A

Effects of three saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria on the rhizosphere microecology of mung bean

WANG Yanyu¹, LIU Shuang¹, LI Xin¹, WANG Siwen¹, LIU Quan², YIN Kuide¹, ZHANG Xingmei¹

(1. College of Agricultural, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2. College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: This pot experiment used 3 saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria (*Zobellella*, *Serratia* and *Bacillus*) isolated from the saline-alkali soil in Daqing area to examine the effects of single and compound bacteria on the growth of mung bean plants under saline-alkali stress. The Biolog-Eco board and high-throughput sequencing technology was employed to detect the bacterial metabolic function and bacterial diversity changes in the rhizosphere soil of mung bean after the application of saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria. The results showed that compared with the control, the fresh root weight of mung bean root system increased by 19.27% under the treatment of the strain S29. The fresh weight and dry weight of mung bean root system increased by 25.85% and 25.00%, 22.93% and 22.73%, 31.22% and 29.55% under the treatment of strains KM1, NM8 and compound bacteria, respectively. Inoculation of growth-promoting bacteria improved the soil enzyme activity of mung bean rhizosphere and the metabolic ability of soil bacteria. The soil invertase and urease activities under the compound bacteria treatment were the highest, which were 1.35 times and 1.16 times higher than under the control, respectively. The order of average well color development (AWCD) of mung bean rhizosphere soil bacteria when cultured for 240 h was: KM1>compound bacteria>S29>NM8>CK. High-throughput sequencing showed that saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria increased the bacterial diversity and species richness of mung bean rhizosphere soil and promoted the growth of beneficial Proteobacteria, Gemmatimonadetes and Cyanobacteria. Therefore, saline-alkali

收稿日期:2021-04-29 修回日期:2021-05-19

基金项目:黑龙江省地方特色学科项目“杂粮生产与加工”

作者简介:王艳宇(1997-),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,研究方向为植物微生物互作。E-mail: 1529646441@qq.com

通信作者:张兴梅(1963-),女,黑龙江虎林人,教授,硕士生导师,主要从事植物营养与施肥、植物微生物互作研究。E-mail: zxmnd@163.com

tolerant growth-promoting bacteria promoted the growth of mung bean roots under saline-alkali stress, improved rhizosphere micro-ecology, and alleviated the damage of saline-alkali stress to mung bean. The compound bacteria had better growth-promoting effects.

Keywords: saline-alkali soil; growth-promoting bacteria; mung bean; bacterial metabolism function; bacterial diversity; rhizosphere microecology

据统计,全球盐碱土地面积约达 10 亿公顷^[1],同时,灌溉方式不当、过度使用农药化肥和乱砍乱伐等人为因素导致土壤盐碱化程度更加严重。土壤中的大量无机盐不仅会降低土壤肥力,还会影响植物的正常生理活动,最终造成粮食减产^[2]。因此,利用生态友好且高效的途径改良盐碱地,是当前推动农业发展和生态环境恢复的重要举措^[3]。

微生物改良盐碱地是当前的研究热点,其基本原理是应用根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)来改善植物根系微环境,进而缓解盐碱胁迫对植物生长的抑制作用,最终达到改良盐碱土壤的目的。根际土壤作为土壤-植物根系-微生物三者间进行物质循环和能量转化最活跃的区域,对保持生态系统养分动态平衡有着至关重要的作用^[4]。PGPR 是定殖于植物根系的有益菌^[5],具有提高营养元素可得性、分泌植物激素^[6]、产生抗菌物质和诱导植物系统抗性等功能^[7]。当 PGPR 到达植物根系时,土壤微生物群落结构和养分含量会发生改变,这一过程是其发挥促生作用的前提^[8]。目前,国内外研究较多报道了 PGPR 在盐碱胁迫下对植物生长的促生效果^[9-11],关于施用 PGPR 对植物根际土壤微生态影响的研究却鲜有报道。因此,探究盐碱胁迫下 PGPR 对植物根际微生物代谢功能和群落结构的影响,对明确 PGPR 的促生机制来说是必要的。

本研究利用耐盐碱促生菌 S29、KM1 和 NM8,通过盆栽试验探究单一菌株与复合菌系对绿豆生长和土壤酶活性的影响,同时采用 Biolog-Eco 板和高通量测序技术检测绿豆根际土壤细菌代谢功能和群落结构的变化,为提高绿豆耐盐碱能力和改良盐碱土壤提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 绿豆品种 试验用的绿豆品种为“小明绿”,由国家杂粮中心提供。

1.1.2 菌株来源 盆栽试验中接种的菌株 S29、KM1 和 NM8 由黑龙江八一农垦大学植物微生物互作实验室提供,筛选自大庆地区盐碱土,菌株 S29 为

卓贝尔氏菌(*Zobellella*),具有固氮、产铁载体、产吲哚乙酸(IAA)和 ACC 脱氨酶功能;KM1 和 NM8 分别为沙雷氏菌(*Serratia*)和芽孢杆菌(*Bacillus*),均具有固氮、解磷、产 IAA 和 ACC 脱氨酶功能,3 株菌均能够在 pH 9.5 浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ 的培养基上生长。

1.1.3 土壤样品采集 用于绿豆盆栽试验的土壤采集自大庆市植被生长较好的盐碱地草原, pH 8.34,可溶性盐含量 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,碱解氮、速效钾和有效磷含量分别为 86.00 、 398.00 、 $19.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有机质含量为 $33.70 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验方法

1.2.1 菌液的制备 将菌株 S29、KM1 和 NM8 接种于 LB 培养基, 28°C 、 $175 \text{ rpm} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 24 h,用无菌水调节细菌数至 $10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,将调节后的 KM1、NM8 和 S29 菌悬液等体积混合即为复合菌系。

1.2.2 盆栽试验 共设 4 个处理组和 1 个对照组(CK),处理组分别为接种菌株 S29、KM1、NM8 和复合菌。将取回的盐碱土与沙子以 2:1 的比例混合,装入 $31 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$ 方槽中,每个方槽装 7.5 kg 混合土,绿豆种子经次氯酸钠消毒后播种,播种密度为每槽 30 株,重复 3 次,播种后按照 $1 \text{ g} \pm 10^7 \text{ CFU}$ 接种量菌株稀释培养液,CK 组加入等量培养基稀释液,置于人工气候室中培养。出苗 15 天后补接菌液 1 次,接种量为上一次的 50%,同时浇灌 Hoagland 营养液 500 mL ,适时浇灌等量蒸馏水。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 绿豆的生长指标 绿豆生长至 30 d 时统计植株的株高、地上及地下部分的干重和鲜重。

1.3.2 绿豆根际土壤酶活性的测定 利用“抖根法”^[12]收集不同处理下生长 30 d 的绿豆根际土,采集的土壤置于室内自然风干后,参照关松荫^[13]的方法进行碱性磷酸酶、蔗糖酶、过氧化氢酶和脲酶活性测定。

1.3.3 绿豆土壤细菌对不同碳源利用情况的测定 取 5 g 绿豆根际土加入到装有 50 mL 无菌水的三角瓶中,震荡混匀后静置片刻,吸取上清液用无菌水稀释 1 000 倍。取 $115 \mu\text{L}$ 上述稀释液加入到 Biolog-ECO 微孔板中, 30°C 恒温避光培养 10 d,每隔

12 h 采用酶标仪测 590 nm 和 750 nm 处吸光值。土壤细菌群落对碳源利用的能力用每孔颜色变化率表示(Average well color development,AWCD):

$$AWCD = \sum (Ci - R)/31$$

式中,Ci 为所测定的每孔吸光值,R 为对照孔吸光值,31 为 Biolog-Eco 平板上供试碳源数。

1.3.4 绿豆根际土壤细菌多样性测定 取不接种菌株处理下的绿豆根际土壤样品,使用土壤基因组试剂盒提取土壤总 DNA,并采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量;利用通用引物对 515F(5'-GT-GCCAGCMGCCGCGG-3)和 907R(5'-CCGTC AAT-TCMTTTRAGTTT-3')对 DNA 进行扩增,扩增区间为 V4-V5 区,PCR 反应条件、体系和 PCR 产物的纯化参照 Hao 等^[14]的方法。将纯化后的样品采用 Illumina HiSeq 平台进行高通量测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

获得下机原始数据后,使用 Trimmomatic 软件质控,再采用 FLASH 软件进行拼接,得到优化数据后按照 97% 的相似性进行分类操作单元(Operational taxonomic units,OTU)聚类,用于微生物多样性分析。

1.4 数据处理与分析

数据的计算与处理采用 Microsoft Excel 2007 软

件,采用 SPSS 22. 0 软件对数据进行统计分析,柱形图的制作使用 Origin 8.5 软件。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫下 3 株促生菌对绿豆生长的影响

由表 1 可以看出,单株菌 S29 处理下的绿豆根系鲜重较对照增加了 19.27%,菌株 KM1、NM8 和复合菌处理下的绿豆根系鲜重分别增加了 25.85%、22.93%和 31.22%,根系干重分别增加了 25.00%、22.73%和 29.55%。可见,接种促生菌能够促进盐碱胁迫下绿豆根系的生长,复合菌促生效果比单株菌促生效果好。

2.2 盐碱胁迫下 3 株促生菌对绿豆根际土壤酶活性的影响

由表 2 可知,所有接菌处理均能够显著提升土壤碱性磷酸酶活性和蔗糖酶活性,其活性排序分别为 S29>S+N+K>NM8>KM1>CK 和 S+N+K>NM8>S29>KM1>CK;菌株 S29 及复合菌处理能够显著增加土壤脲酶活性,脲酶活性排序为 S+N+K>S29>NM8>CK>KM1,其中 S29 处理的土壤碱性磷酸酶活性较 CK 增加了 25.23%,复合菌处理后的土壤蔗糖酶和脲酶活性分别是 CK 的 1.35 倍和 1.16 倍,而所有接菌处理的过氧化氢酶活性均为下降的趋势。

表 1 促生菌对绿豆植株生长的影响
Table 1 Effects of PGPRs on the growth of mung bean plants

处理 Treatment	株高 Stem length/cm	茎叶鲜重 Fresh weight of stems and leaves/g	根鲜重 Fresh weight of roots/g	茎叶干重 Dry weight of stems and leaves/g	根干重 Dry weight of roots/g
CK	17.13±0.76b	1.016±0.117a	0.410±0.016c	0.107±0.012a	0.044±0.004b
S29	18.00±1.64ab	1.128±0.182a	0.489±0.015b	0.118±0.019a	0.052±0.004ab
KM1	18.90±0.76ab	1.167±0.184a	0.516±0.018ab	0.123±0.019a	0.055±0.006a
NM8	17.63±1.01ab	1.105±0.218a	0.504±0.032ab	0.116±0.023a	0.054±0.005a
S+N+K	19.70±1.35a	1.318±0.201a	0.538±0.036a	0.138±0.021a	0.057±0.007a

注:CK—未接种菌株处理,S29—接种菌株 S29 处理,KM1—接种菌株 KM1 处理,NM8—接种菌株 NM8 处理,S+N+K—接种菌株 S29、KM1 和 NM8 的复合菌处理,下同。

Note: CK— inoculate without strains, S29— inoculate with the strain S29, KM1— inoculate with the strain KM1, NM8— inoculate with the strain NM8, S+N+K— inoculate with the strain S29, KM1 and NM8, the same below.

表 2 促生菌对绿豆根际土壤酶活性的影响
Table 2 Effects of PGPRs on soil enzyme activities of mung bean rhizosphere

处理 Treatment	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	蔗糖酶活性 Sucrase activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	过氧化氢酶活性 Catalase activity /(mL · g ⁻¹ · h ⁻¹)	脲酶活性 Urease activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)
CK	5.35±0.10d	20.71±1.07d	1.27±0.07a	0.58±0.01b
S29	6.70±0.09a	23.60±0.93bc	0.97±0.08b	0.67±0.08a
KM1	5.65±0.11c	23.09±1.43c	1.24±0.04a	0.57±0.02b
NM8	5.81±0.06c	25.34±0.37b	1.21±0.10a	0.63±0.02ab
S+N+K	6.04±0.08b	27.91±1.15a	1.04±0.08b	0.67±0.02a

2.3 盐碱胁迫下 3 株促生菌对绿豆根际土壤细菌利用碳源的影响

2.3.1 绿豆根际土壤细菌代谢活性 对单株促生菌、复合促生菌和未接菌处理的绿豆根际土进行了 Biolog-Eco 测定(图 1)。结果表明,随着培养时间的延长,不同处理下的土壤细菌对碳源的利用率逐渐增大。菌液处理下的土壤 *AWCD* 值均高于对照组,且 KM1 的 *AWCD* 值最高,最高值为 1.39。培养土壤细菌前 84 h,不同处理下的 *AWCD* 值增长较快,具有较高的斜率,碳源被大量利用;120 h 后 *AWCD* 值增长速率降低,曲线接近于平缓,说明细菌的代谢能力有所下降。从整体来看,菌液 KM1 处理下的 *AWCD* 值增长最为明显,说明其土壤细菌代谢能力最强;在整个培养过程中,各处理下的 *AWCD* 值为: KM1>复合菌>S29>NM8>CK,说明菌液处理下的根际土壤细菌代谢能力较强。

2.3.2 绿豆根际土壤细菌碳源利用种类 选取培养时间为 240 h 的 *AWCD* 值分析不同菌液处理下的土壤微生物对 6 类碳源的利用情况。由图 2 可以看出,KM1、NM8 和复合菌处理下的土壤细菌对 6 种碳源的利用率均高于对照组。在所有接菌处理中,施用菌液 KM1 后的土壤细菌对 6 种碳源的利用率最高,其大小顺序依次为胺类、氨基酸类、酚酸类、羧酸类、多聚物类和碳水化合物类,*AWCD* 值分别达到了 1.61、1.49、1.46、1.41、1.35 和 1.25;NM8 和复合菌处理土壤细菌群落中的优势代谢碳源分别为酚酸类、胺类和氨基酸类,*AWCD* 值分别 1.20、1.17 和 1.15、1.31、1.37 和 1.23;S29 处理对酚酸类利用率最差,但对于其他种类碳源的利用程度均高于对照组。因此,接菌处理会在一定程度提高土壤细菌对碳源的利用率。

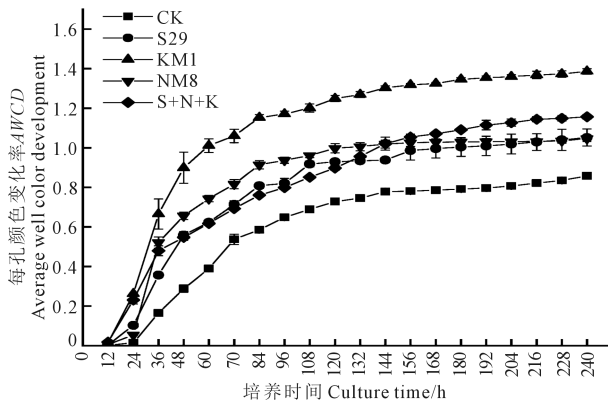


图 1 绿豆根际土壤细菌平均吸光值变化
Fig.1 Variation of average well color development of bacteria in mung bean rhizosphere soil

2.4 盐碱胁迫下 3 株促生菌对绿豆根际土壤细菌多样性及群落结构的影响

2.4.1 绿豆根际土壤细菌 Alpha 多样性和 OTU 通过采用 Illumina HiSeq 平台对不同接种处理下的绿豆根际土 DNA 进行测序,其覆盖率均大于 97%,说明测序结果足够反应样本的真实情况,存在遗漏的可能性较小。表 3 为测序土壤样品 Alpha 多样性指数结果,其中菌株 S29、NM8、KM1 以及复合菌处理的土壤 Shannon 指数均显著高于对照土壤,Simpson 指数则呈现相反的结果,说明接种不同的耐盐碱促生菌能够提高盐碱胁迫下绿豆根际土壤的细菌多样性;除此之外,4 种接菌处理下的土壤的 Chao1 也得到了显著提升,表明促生菌可以提高土壤细菌的物种丰富度。

2.4.2 绿豆根际土壤群落组成 细菌门水平的相对丰度如图 3 所示,在 S29、KM1、NM8 和 S+N+K 组土壤样品中,放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度均小于其对照组,且 3 个菌门在复合菌处理的土壤中相对丰度最低,分别为 16.16%、11.12%和 3.82%;另外 6 个菌门在接菌处理土壤中的相对丰度均高于对照土壤,变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和蓝细菌门(Cyanobacteria)在 S+N+K 组土壤中的相对丰度较高,分别为 42.67%、11.05%、5.93%、2.90%和 1.07%。

属水平上来看,不同处理间属水平的细菌组成差异明显。其中卓贝尔氏菌属(*Zobellella*)在 CK、KM1 和 NM8 组的相对丰度为 0,未被检测到,在 S29

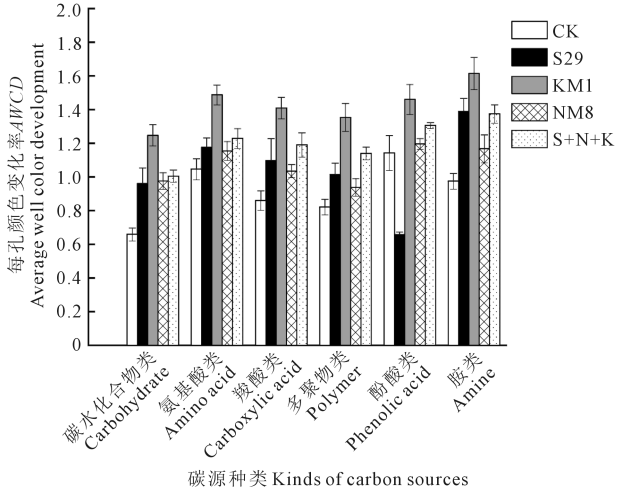


图 2 绿豆根际土壤细菌对不同碳源的利用率
Fig.2 Utilization ratio of different carbon sources by mung bean rhizosphere soil bacteria

表 3 细菌群落 Alpha 多样性指数
Table 3 Alpha diversity index of bacterial community

样品 Sample	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖率 Coverage/%
CK	5.567±0.114b	0.018±0.003a	2525.302±19.880a	2483.687±33.402c	97.8
S29	5.869±0.187a	0.011±0.003b	2655.577±61.339a	2641.855±70.267a	97.7
NM8	5.864±0.209a	0.010±0.003b	2538.859±116.474a	2520.624±100.027bc	97.9
KM1	5.929±0.121a	0.009±0.002b	2601.393±81.642a	2588.165±48.242abc	97.8
S+N+K	5.867±0.100a	0.012±0.000b	2643.285±32.976a	2618.372±25.135ab	97.8

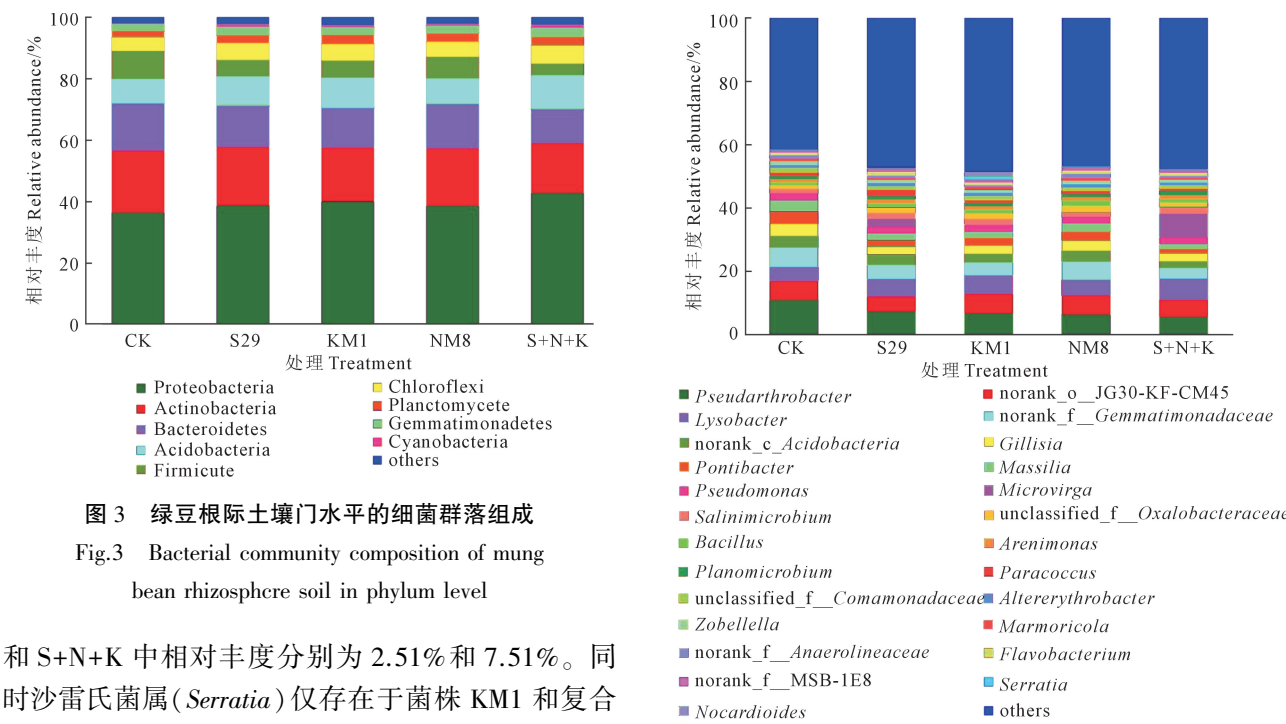


图 3 绿豆根际土壤门水平的细菌群落组成
Fig.3 Bacterial community composition of mung bean rhizosphere soil in phylum level

和 S+N+K 中相对丰度分别为 2.51% 和 7.51%。同时沙雷氏菌属(*Serratia*) 仅存在于菌株 KM1 和复合菌处理的土壤中,相对丰度分别为 1.36%和 0.19%。此外,在 4 种接菌处理的土壤中,norank_c_Acidobacteria、norank_f_Anaerolineaceae、norank_f_MSB-1E8、*Nocardioides*、norank_o_JG30-KF-CM45、norank_f_Gemmatimonadaceae、*Altererythrobacter* 和 *Marmoricola* 的相对丰度均高于 CK。

2.4.3 绿豆根际土壤细菌 Beta 多样性 对 OTU 数据进行 PCA 分析(Principal component analysis),即主成分分析,结果如图 5 所示。同一处理的 3 个样本距离较近,重复性较好,且 5 个处理间有一定距离,表明样本间存在一定差异。主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的贡献率分别为 58.99%和 18.68%,S+N+K 组和 S29 组沿主成分 1 与 NM8、KM1、CK 组明显区分,且 NM8 和 KM1 组沿主成分 2 与 CK、S+N+K 组明显区分,表明组间微生物差异较大,而 NM8 组与 KM1 组距离不明显,微生物差异较小。

3 讨论

目前利用 PGPR 促进植物生长已成为当下的研究热点,然而单株菌在促生功能和环境适应上存在

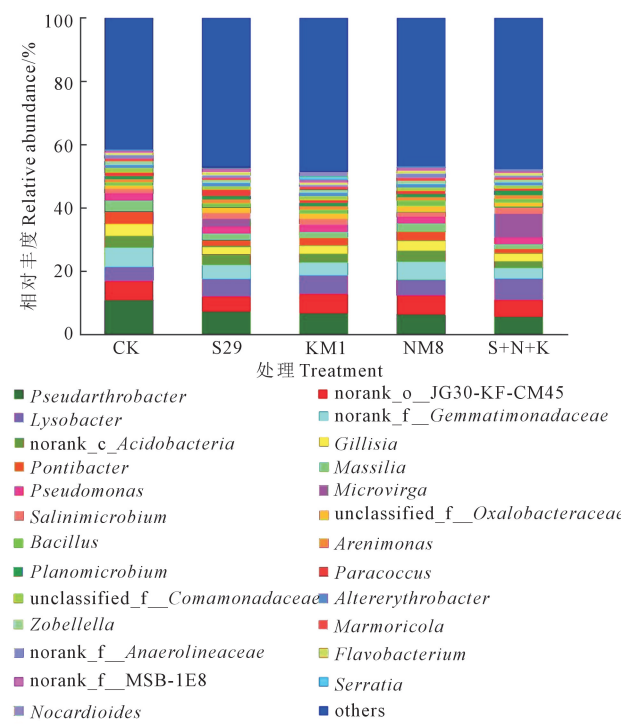


图 4 绿豆根际土壤属水平的细菌群落组成
Fig.4 Bacterial community composition of mung bean rhizosphere soil in genus level

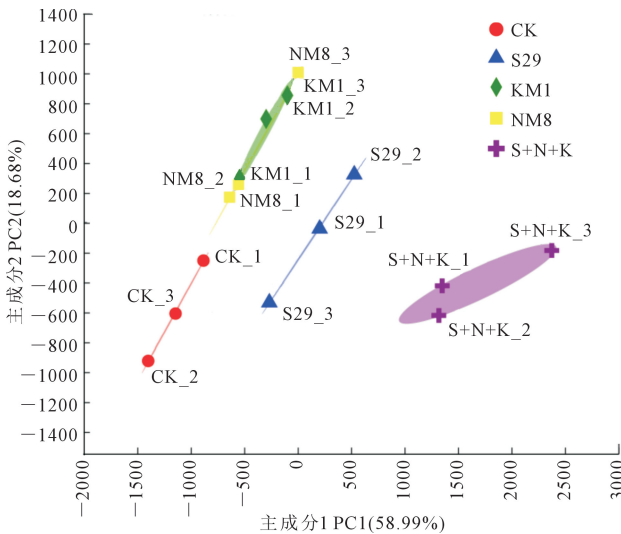


图 5 绿豆根际土壤细菌菌群主成分分析
Fig.5 Principal component analysis of soil bacterial flora in mung bean rhizosphere

一定的局限性,因此将具有不同促生功能的菌株复合施用是当下提高其稳定性的重要手段^[15]。刘冠一等^[16]研究发现盐碱胁迫下,复合菌对苜蓿的促生作用明显优于单株菌。花生的盆栽试验中,接种复合菌后花生的株高和鲜重较对照增加了 37.60%和 63.90%,土壤养分含量也得到显著提高^[17]。在本试验中,在盐碱土中接菌处理下绿豆根系鲜重和干重得到显著提高,且复合菌处理下促生效果更明显,反映了不同促生菌的共同施用能够相互协同促进植物的生长。

土壤酶作为植物与养分之间的纽带,既能客观地反映土壤的肥力情况,又能间接地影响土壤中营养元素的循环^[18-19],其活性受微生物数量和种类影响较大,同时也是衡量土壤微生物功能多样性的指标^[20]。在本试验中,接菌处理后的绿豆根际土壤的碱性磷酸酶和蔗糖酶活性均高于对照;其中菌株 S29、NM8 和复合菌能够增加土壤脲酶活性,且复合菌处理对土壤脲酶和蔗糖酶的提高比例高于单株菌。这是因为促生菌的施用一方面能够加快土壤中有有机物分解速度,为酶促反应提供底物,另一方面充足的碳源和氮源促进了微生物的生长繁殖,其代谢产物是土壤酶的重要组成^[21]。过氧化氢酶能够分解对植物有毒害作用的过氧化氢,在土壤和生物体中分布广泛。试验中所有促生单菌或复合菌处理后,土壤过氧化氢酶都有下降的趋势,这可能由于施用促生菌后土壤微生态环境发生了变化,盐碱胁迫得以缓解,对植物有害的过氧化氢含量有所减少。总体来看,耐盐碱促生菌的施用提高了盐碱胁迫下绿豆根际土壤酶活性,对改良盐碱土壤有一定作用。

Biolog-Eco 平板法能够评价土壤微生物群落结构并获得大量功能多样性方面的信息^[22]。施用微生物菌剂能够使土壤微生物功能发生改变,形成不同代谢类型的土壤微生物种群,进而改变土壤微生物群落结构^[23]。本试验测定了 240 h 内不同接种处理下的土壤细菌对碳源的利用情况,菌株 KM1、NM8 和复合菌处理能够增强其土壤细菌对六大碳源的利用率,其他研究也得到了相似的结果^[24-25]。值得注意的是,菌株 S29 处理后,土壤细菌对酚酸类碳源的利用能力有所下降,其原因可能是不同菌株的施用影响了根系分泌物的数量和种类^[22],其与微生物之间的相互作用形成了差异性的效应。因此,探究接种不同促生菌对绿豆根际分泌物的影响将是今后研究的重要内容。

高通量测序技术能够更加全面地揭示土壤微

生物群落结构的复杂性和多样性^[26]。研究结果表明,所有接菌处理下的 Shannon 和 Chao1 指数高于对照,Simpson 指数呈现相反的结果,说明接种促生菌能够提高绿豆根际土壤细菌多样性和丰富度。在一定范围内,酸杆菌门的相对丰度与 pH 值成反比^[27],酸杆菌门在所有接菌处理的土壤中相对丰度均有所增加,猜想可能是促生菌的施用降低了盐碱土的 pH 值,土壤环境更加适合酸杆菌的生长。虽然门水平上的接菌处理优势细菌组成与对照组基本相同,但变形菌门、芽单胞菌门和蓝细菌门等有益菌^[28-29]的相对丰度在接菌处理组中表现为增加,复合菌处理表现得尤为明显。卓贝尔氏菌和沙雷氏菌分别存在于菌株 S29、KM1 和复合菌处理的土壤中,芽孢杆菌在所有土壤中均被检测到,表明试验所施用的菌株均能够在盐碱条件下生存且在绿豆根际定殖。因此,试验中接种的耐盐碱促生菌能够调节绿豆根际土壤细菌群落结构,增加土壤中有有益菌的相对丰度,从而间接地促进绿豆生长。

4 结 论

研究结果表明,盐碱胁迫下,促生菌能够显著增加根系鲜重和干重,复合菌促生效果更明显。所有接菌处理均能够提高土壤碱性磷酸酶和蔗糖酶活性,并增加绿豆根际土壤细菌对碳源的利用能力、土壤细菌多样性和物种丰富度并促进有益菌的生长,说明促生菌的施用明显改善了绿豆根际微生态,缓解了盐碱胁迫对于绿豆生长的不利影响。

参 考 文 献:

[1] SHI Y L, LIU X R, ZHANG Q W. Effects of combined biochar and organic fertilizer on nitrous oxide fluxes and the related nitrifier and denitrifier communities in a saline-alkali soil [J]. Science of the Total Environment, 2019, 686: 199-211.

[2] ZHANG J L, SHI H Z. Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance [J]. Photosynthesis Research, 2013, 115(1): 1-22.

[3] LIU S L, MAIMAITAILI B, JOERGENSEN R G, et al. Response of soil microorganisms after converting a saline desert to arable land in central Asia [J]. Applied Soil Ecology, 2016, 98: 1-7.

[4] 杨阳,刘秉儒.荒漠草原不同植物根际与非根际土壤养分及微生物量分布特征[J].生态学报, 2015,35(22):7562-7570.

YANG Y, LIU B R. Distribution of soil nutrient and microbial biomass in rhizosphere versus non-rhizosphere area of different plant species in desertified steppe [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(22): 7562-7570.

[5] PANKAJ U, SINGH D N, MISHRA P, et al. Autochthonous halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria promote bacoside A yield of *Bacopa monnieri* (L.) Nash and phytoextraction of salt-affected soil

- [J]. *Pedosphere*, 2020, 30(5): 671-683.
- [6] VACHERON J, DESBROSSES G, BOUFFAUD M L, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 356.
- [7] XIANG N, LAWRENCE K S, KLOEPPER J W, et al. Biological control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton [J]. *Plant Disease*, 2017, 101(5): 774-784.
- [8] MARSCHNER P, CROWLEY D, YANG C H. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type [J]. *Plant and Soil*, 2004, 261(1): 199-208.
- [9] KEARL J, MCNARY C, LOWMAN J S, et al. Salt-tolerant halophyte rhizosphere bacteria stimulate growth of alfalfa in salty soil [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1849.
- [10] 朱浩,刘珂欣,刘维维,等.极端耐盐碱菌株的筛选及其菌肥对盐碱条件下小麦生长和土壤环境的影响[J].*应用生态学报*,2019,30(7):2338-2344.
- ZHU H, LIU K X, LIU W W, et al. Screening of extreme salt-alkali tolerant strain and effect of its fertilizer on wheat growth and soil environment under saline-alkali condition[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(7): 2338-2344.
- [11] 张志东,顾美英,唐琦勇,等.盐爪爪根际耐盐促生菌的筛选及穴栽验证[J].*中国农业科技导报*,2021,23(3):186-192.
- ZHANG Z D, GU M Y, TANG Q Y, et al. Screening of salt-tolerant and growth-promoting bacteria in the rhizosphere of *Kalidium foliatum* and the functional identification in pot experiments[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(3): 186-192.
- [12] WANG X, ZABOWSKI D. Nutrient composition of Douglas-fir rhizosphere and bulk soil solutions[C]//BOX J E. Root demographics and their efficiencies in sustainable agriculture, grasslands and forest ecosystems. Dordrecht: Springer Science, Business Media Dordrecht, 1998: 89-103.
- [13] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986.
- GUAN S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986.
- [14] HAO D C, SONG S M, MU J, et al. Unearthing microbial diversity of taxus rhizosphere via MiSeq high-throughput amplicon sequencing and isolate characterization [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22006.
- [15] 赵思崎,王敬敬,杨宗政,等.微生物复合菌剂的制备[J].*微生物学通报*,2020,47(5):1492-1502.
- ZHAO S Q, WANG J J, YANG Z Z, et al. Preparation of microbial compound agents[J]. *Microbiology*, 2020, 47(5): 1492-1502.
- [16] 刘冠一,刘艳玲,刘博文,等.含 ACC 脱氢酶活性的复合菌株提高苜蓿抗盐碱能力研究[J].*核农学报*,2017,31(5):1022-1028.
- LIU G Y, LIU Y L, LIU B W, et al. Research on enhanced alfalfa tolerance to saline-alkali stress by strain combinations containing ACC deaminase[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(5): 1022-1028.
- [17] 刘畅,黄文茂,韩丽珍.PGPR 复合菌系对花生生长及根际土壤微生物的影响[J].*西南农业学报*,2019,32(10):2367-2372.
- LIU C, HUANG W M, HAN L Z. Effect of PGPR compound flora on peanut seedling growth and rhizosphere soil microorganism[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(10): 2367-2372.
- [18] FU B J, LIU S L, CHEN L D, et al. Soil quality regime in relation to land cover and slope position across a highly modified slope landscape [J]. *Ecological Research*, 2004, 19(1): 111-118.
- [19] YANG W T, ZHOU H, GU J F, et al. Application of rapeseed residue increases soil organic matter, microbial biomass, and enzyme activity and mitigates cadmium pollution risk in paddy fields [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 264: 114681.
- [20] SALAM A K, KATAYAMA A, KIMURA M. Activities of some soil enzymes in different land use systems after deforestation in hilly areas of West Lampung, South Sumatra, Indonesia [J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1998, 44(1): 93-103.
- [21] 张美存,程田,多立安,等.微生物菌剂对草坪植物高羊茅生长与土壤酶活性的影响[J].*生态学报*,2017,37(14):4763-4769.
- ZHANG M C, CHENG T, DUO L A, et al. Effects of microbial agents on the growth of turfgrass *Festuca arundinacea* and soil enzyme activity [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(14): 4763-4769.
- [22] 刘燕,李世雄,尹亚丽,等.基于 Biolog 指纹解析黑土滩退化草地土壤微生物群落特征[J].*生态环境学报*,2019,28(7):1394-1403.
- LIU Y, LI S X, YIN Y L, et al. Analysis on soil microbial community characteristics of black soil beach degraded grassland based on Biolog fingerprint[J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2019, 28(7): 1394-1403.
- [23] 马锋敏,杨利民,肖春萍,等.施用微生物菌剂对参后地土壤微生物功能多样性的影响[J].*吉林农业大学学报*,2015,37(3):317-322.
- MA F M, YANG L M, XIAO C P, et al. Effect of microbial inoculants on soil microbial functional diversity of old ginseng land [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2015, 37(3): 317-322.
- [24] CHEN S N, GU J, GAO H, et al. Effect of microbial fertilizer on microbial activity and microbial community diversity in the rhizosphere of wheat growing on the Loess Plateau [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, 5(2): 137-143.
- [25] 武志海,刘晶晶,付丽,等.溶磷菌对大豆根际土壤酶活性及微生物群落的影响[J].*中国农业大学学报*,2017,22(11):58-67.
- WU Z H, LIU J J, FU L, et al. Effects of phosphate-solubilizing bacteria on the soil enzyme activities and microecology of soybean rhizosphere[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2017, 22(11): 58-67.
- [26] SHOKRALLA S, SPALL J L, GIBSON J F, et al. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research [J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1794-1805.
- [27] LAUBER C L, STRICKLAND M S, BRADFORD M A, et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [28] SCIUTO K, MORO I. Cyanobacteria: the bright and dark sides of a charming group [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2015, 24(4): 711-738.
- [29] ZHANG H, SEKIGUCHI Y, HANADA S, et al. *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003, 53(4): 1155.