

胶质类芽胞杆菌对花生生长和土壤微生物学性状的影响*

常文智^{1,2} 马鸣超^{2,3} 陈慧君^{2,3} 刘丽^{1,2} 杜秉海¹ 李俊^{2,3**}

¹山东农业大学 泰安 271000

²中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 北京 100081

³农业部微生物产品质量安全风险评估实验室 北京 100081

摘要 研究不同施用条件下胶质类芽胞杆菌3016对花生生长、土壤酶活性及微生物多样性等的影响,为揭示该菌种的增产机理提供依据。田间小区试验设置4个处理:T1(对照)、T2(接种3016)、T3(接种3016,50%的常规施肥量)和T4(常规施肥)。结果发现,T3处理花生单株总果数、单株总果重、百仁重、出米率和产量表现均为最高,分别高出对照27.1%、22.9%、7.8%、2.4%和10.4%;花生果仁和茎叶中养分含量与T4处理持平或略高,其中钾含量增加显著($P < 0.05$),分别达到0.55%和1.19%;同时,T3处理土壤细菌、放线菌数量和土壤脲酶活性也显著($P < 0.05$)高于对照,土壤菌群结构得以改善,有助于实现土壤肥力的提高。因此,接种胶质类芽胞杆菌3016配施50%的常规施肥量,不仅能达到花生高产的目的,而且改善了土壤的生物学性状,是一种节本增效的施肥方式。图4表5参32

关键词 胶质类芽胞杆菌3016接种;花生性状;土壤微生物数量;土壤酶活性;PCR-DGGE

CLC TM911.45 : Q936

Effects of *Paenibacillus mucilaginosus* on peanut growth and soil microbiological characteristics*

CHANG Wenzhi^{1,2}, MA Mingchao^{2,3}, CHEN Huijun^{2,3}, LIU Li^{1,2}, DU Binghai¹ & LI Jun^{2,3**}

¹Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China

²Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

³Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Microbial Products (Beijing), Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China

Abstract In order to reveal the yield-increasing mechanism of *Paenibacillus mucilaginosus*, a field experiment with different fertilizing modes was carried out. Four different treatments were designed, including T1 (control), T2 (no fertilizer but *P. mucilaginosus* 3016), T3 (*P. mucilaginosus* 3016 plus half of the regular fertilizer dose), and T4 (the regular fertilizer dose). The effects on peanut growth and soil microbiological characteristics were analyzed. The results showed that peanut characters under T3 were the best. The pod number per peanut plant, pod weight per peanut plant, hundred-pod weight, seed-producing rate and yield were higher under T3 than under T1 by 27.1%, 22.9%, 7.8%, 2.4% and 10.4%, respectively. The nutrient content of kernels, stems and leaves of peanut under T3 was equal or even a little more than that under T4. The contents of K were up to 0.55% in kernels and 1.19% in stems/leaves. Meanwhile, microbial population and soil urease activity under T3 were significantly high than that of T1 ($P < 0.05$), which could be helpful in improving soil quantity, microbial community structure, function and fertility. In conclusion, *P. mucilaginosus* 3016 plus half of the regular fertilizer dose can be an optimal fertilizing measure, not only increasing peanut yield, but also improving soil microbiological characteristics.

Keywords *Paenibacillus mucilaginosus* 3016 inoculation; peanut character; soil microbial population; soil enzyme activity; PCR-DGGE

花生是一种重要的油料作物,我国目前的种植面积超过 $4 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 。多年来,由于连年施用化肥等原因,不仅产生了土

壤微生物区系恶化、病原菌增加、酶活性降低等现象,而且还导致了土壤养分失调、有毒物质积累、肥力减弱等后果^[1]。另一方面,钾在花生生长过程中能提高叶片光合强度,加速光合产物的运转,抑制茎叶徒长,促进氮素吸收和根瘤固氮并提高抗旱和抗寒能力。土壤缺钾不但会影响花生产量,还会减少果仁中脂肪的形成。虽然土壤中蕴藏着丰富的钾素资源,但能被作物利用的有效钾只占土壤总钾的1%-5%,因为绝大部分钾存在于风化程度较低的长石和云母族矿物中,不能被植物直接吸收利用,这就形成了土壤既富钾又缺钾的现象。

收稿日期 Received: 2013-06-03 接受日期 Accepted: 2013-11-28

*国家自然科学基金青年科学基金项目(31200388)、“863”计划(2013AA102802-04)和中央级公益性科研院所专项资金资助项目(IARRP-2014-4)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China For Young Scholars (31200388), the National High-tech R & D Program of China (“863” Program) (2013AA102802-04), and National Nonprofit Institute Research Grant of CAAS (IARRP-2014-4)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: jli@caas.ac.cn)

因此,如何将土壤中的矿物态钾转化为可供作物吸收利用的有效态养分,既提高土壤肥力又改善土壤微生物区系,已逐渐成为国内外学者关注的焦点。

胶质类芽胞杆菌(*Paenibacillus mucilaginosus*)俗称钾细菌,是一种重要的微生物肥料生产菌种^[2-3],具有分解硅酸盐物质^[4]、解钾^[5]、溶磷^[6]、固氮^[7]等作用,其产生的胞外多糖还能够增强植物的非特异性免疫能力^[8]。盛下放等发现硅酸盐细菌能通过破坏钾长石的晶格结构,使矿物中的钾释放出来,其含量可增加37%-162%,并能增加辣椒、水稻和棉花植株中的钾含量^[9]。席琳乔等发现胶质类芽胞杆菌的解钾特性与其分泌的多糖、氨基酸和有机酸如草酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸等有一定的相关性^[10];赵艳等通过试验发现施入胶质类芽胞杆菌菌剂对黑麦草根际土壤脲酶、磷酸酶及过氧化氢酶活性有一定的积极作用^[11]。赵志浩等施用胶质类芽胞杆菌突变株Bm-j使玉米产量增产2 010 kg/hm²,水稻增产9 355 kg/hm²^[12]。所以,在农业生产中,胶质类芽胞杆菌不仅可以提高土壤中可溶性钾的含量,还可以通过调节土壤酶活性和微生物区系来提高土壤肥力并促进植物生长,因此被广泛应用于微生物肥料行业^[2, 13]。

本研究以实验室筛选的*P. mucilaginosus* 3016^[13-14]为试验菌株,接种到花生上进行小区试验,比较分析花生生育期内的相关性状变化以及对土壤酶活性、微生物数量和种群结构的影响,研究结果对揭示*P. mucilaginosus*的增产机理具有一定的现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

花生品种为‘开农8号’,供试菌株为本实验室分离保存的*P. mucilaginosus* 3016。土壤采自山东省泰安市农业科学院科研基地,为沙壤土,土壤有机质含量为14.1 g kg⁻¹,速效钾128 mg kg⁻¹,全氮3 g kg⁻¹,全磷2.9 g kg⁻¹,全钾6.9 g kg⁻¹,pH为7.42。

将活化的*P. mucilaginosus* 3016接入到高营养固体培养基(大豆蛋白胨3.0 g,蔗糖2.0 g,淀粉6.0 g,酵母膏1.0 g,(NH₄)₂SO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄ 0.5 g, CaCO₃ 1.0 g,琼脂18.0 g, H₂O 1 000 mL, pH 7.2-7.5)茄子瓶斜面上,培养3 d后待用;接种时,每瓶用15 mL无菌水溶解混匀成菌液,拌种使用。

1.2 试验设计

田间试验安排在山东泰安岱岳区马庄镇平家村进行,设4个处理:T1(对照),T2(接种3016),T3(接种3016、50%的常规施肥量),T4(常规施肥)。每个处理4个重复,共16个小区,小区随机排列,每个小区20 m²。施用的化肥为硫酸钾复合肥,含N 18%、P₂O₅ 9%、K₂O 18%,常规施肥量0.75 kg/小区。接种菌液中*P. mucilaginosus* 3016的有效活菌数为3.46 × 10⁸ CFU mL⁻¹,每1 000粒种子与100 mL菌液拌种使用。

1.3 试验方法

1.3.1 花生性状调查 在花生的苗期(播种后第10天)、花针期(播种后第50天)、结荚期(播种后第90天)和成熟期(播种后第130天)取样测量花生的株高;花生收获时每个处理取代表性植株20株,调查花生的单株分枝数、单株重量、

单株总果数、百仁重、出米率等。每个处理选择有代表性的样点收获花生并计算其产量,测定茎叶和果仁的氮磷钾含量,并对花生各个性状进行差异性分析。

1.3.2 土壤微生物数量测定 在花生播种前采集0-20 cm土样,收获后采集植株根际土。每个小区随机取5个点混合作为1次重复,样品于4 ℃下保藏。采用涂布平板法^[15]测定微生物数量,其中细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌采用马丁氏培养基,放线菌采用改良的高氏I号培养基。

1.3.3 土壤酶活性测定 参考文献[15-17]方法测定采集土壤的3种酶活性,其中土壤脲酶的测定采用苯酚钠比色法,蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法,过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法。

1.3.4 土壤微生物PCR-DGGE分析 将各处理4个重复的土样各取一部分混合均匀,采用PowerMax Soil DNA Isolation Kit试剂盒提取土壤总DNA。以此DNA为模板对16S rDNA的V3可变区进行PCR扩增。PCR扩增反应条件及反应体系按照文献[4]方法进行。其中引物序列为:P2(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')、P3(5'-CGCCCCGCCGCGCGCGCGG GCGGGGCGGGG-CACGGGGG GCCTACGGGAGGCAGCAG-3')。DGGE采用Bio-Rad Dcode电泳系统,变性剂梯度为40%-60%的8%聚丙烯酰胺凝胶,在60℃、70 V条件下电泳16 h;用SYBR Green I染色30 min。DGGE条带用Quantity One软件进行UPGMA聚类分析。

1.4 数据处理

数据的统计分析和作图采用Excel 2003和SPSS Statistics 18.0,差异显著性分析利用单因素方差分析(ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 胶质类芽胞杆菌对花生株高的影响

由花生株高统计结果(表1)可知,T2处理除结荚期外花生其他时期的株高均高于T1,表明*P. mucilaginosus* 3016可以在一定程度上促进花生生长。在苗期各处理株高差异不显著,随着花生生长,特别是在花针期和成熟期,T3处理花生株高明显高于其他处理($P < 0.05$)。由此可知,*P. mucilaginosus* 3016配合施用一定量的化肥对花生植株生长的促进效果最好。

表1 不同处理花生在不同时期的株高

Table 1 Peanut height under different treatments in different growing periods

处理 Treatment	不同时期的株高 Peanut height in different growing periods (h/cm)			
	苗期 Seedling stage	花针期 Flowering and pegging stage	结荚期 Podding stage	成熟期 Maturation stage
T1	6.59 ± 0.13 b	10.12 ± 0.16 c	35.28 ± 0.15 b	35.36 ± 0.21 c
T2	6.97 ± 0.17 a	10.82 ± 0.41 b	35.90 ± 0.28 b	37.58 ± 0.65 b
T3	6.77 ± 0.09 ab	11.98 ± 0.19 a	37.66 ± 0.33 a	38.69 ± 0.27 a
T4	6.80 ± 0.11 ab	10.56 ± 0.27 b	37.00 ± 0.49 a	37.12 ± 0.39 b

同列不同小写字母表示在0.05水平显著差异,统计结果采用平均值±标准差。

Statistical results are shown as M ± SD. Lowercases mean significant difference ($P < 0.05$).

表2 不同处理的花生性状
Table 2 Peanut characters under different treatments

处理 Treatment	单株分枝数 Branch number per plant	单株总果数 Pod number per plant	单株总果重 Pod weigh per plant (m/g)	百仁重 Hundred-pod weight (m/g)	出米率 Seed-producing rate (r/%)
T1	6.82 ± 0.15 b	10.72 ± 0.23 b	15.68 ± 0.25 c	77.21 ± 0.77 b	71.78 ± 0.59 b
T2	9.63 ± 0.58 a	11.23 ± 0.68 b	17.62 ± 0.42 b	80.94 ± 0.95 a	73.49 ± 0.47 a
T3	8.61 ± 0.47 a	13.59 ± 0.40 a	19.25 ± 0.61 a	83.23 ± 0.84 a	74.23 ± 0.65 a
T4	7.14 ± 0.21 b	13.07 ± 0.33 a	18.74 ± 0.53 a	82.29 ± 0.89 a	73.82 ± 0.44 a

同列不同小写字母表示在0.05水平显著差异, 统计结果采用平均值±标准差。
Statistical results are shown as M ± SD. Lowercases mean significant difference ($P < 0.05$).

表3 不同处理的花生养分含量
Table 3 Peanut nutrient contents under different treatments

处理 Treatment	果仁 Peanut kernels (w/%)			茎叶 Stem and leaves of peanut (w/%)		
	N	P	K	N	P	K
T1	4.98 ± 0.11 ab	0.60 ± 0.05 a	0.43 ± 0.04 c	1.35 ± 0.04 b	0.27 ± 0.04ab	0.88 ± 0.06 b
T2	4.93 ± 0.09 b	0.62 ± 0.07 a	0.50 ± 0.02 b	1.45 ± 0.03 a	0.29 ± 0.01a	0.99 ± 0.07 b
T3	5.14 ± 0.09 a	0.58 ± 0.04 a	0.55 ± 0.02 a	1.44 ± 0.03 a	0.27 ± 0.03ab	1.19 ± 0.05 a
T4	5.15 ± 0.07 a	0.61 ± 0.05 a	0.52 ± 0.03 ab	1.47 ± 0.05 a	0.26 ± 0.02 b	1.03 ± 0.11 b

同列不同小写字母表示在0.05水平显著差异, 统计结果采用平均值±标准差。
Statistical results are shown as M ± SD. Lowercases mean significant difference ($P < 0.05$).

2.2 胶质类芽胞杆菌对花生植株及产量性状的影响

不同处理对花生植株及产量性状的影响见表2. 花生单株分枝数为T2与T3大于T4与T1, 而单株总果数与总果重均为T3与T4大于T2与T1, 且T2单株总果重大于T1. 百仁重和出米率为T3、T4与T2大于T1 ($P < 0.05$). 因此, 施用*P. mucilaginosus* 3016可以改善花生植株及产量性状, 在常规施肥减施50%的基础上接种*P. mucilaginosus* 3016不仅可以满足花生的营养需求, 而且能够显著增加花生单株果数和总果重, 提高花生百仁重和出米率.

2.3 胶质类芽胞杆菌对花生养分含量的影响

花生养分含量在不同处理下存在一定差异(表3), T3、T4处理果仁氮含量显著高于T2; 磷含量各处理间差异不显著; 果仁钾含量T3、T4与T2均显著高于T1 ($P < 0.05$), 且T3显著高于T2 ($P < 0.05$). 各处理茎叶氮含量T4、T2与T3显著高于T1 ($P < 0.05$); 茎叶磷含量除T2显著高于T4 ($P < 0.05$)外无其他显著差异; 茎叶钾含量T4、T2与T1显著低于T3 ($P < 0.05$). 结果表明, *P. mucilaginosus* 3016能够不同程度地影响花生果仁及茎叶养分含量, 尤其能够显著提高花生果仁及茎叶钾含量. 接种3016配施50%常规施肥量的处理T3, 其花生果仁和茎叶中养分含量与常规施肥处理持平或略高, 其中茎叶钾含量明显增加.

2.4 胶质类芽胞杆菌对花生产量的影响

各处理间花生产量统计结果如表4所示. 从平均值来看, T3、T4和T2比T1分别增产10.4%、6.7%和2.9%, 但仅T3、T4较T1差异显著 ($P < 0.05$), 其中又以T3的增产效果最为显著. 因此, 接种*P. mucilaginosus* 3016配施50%的常规施肥可取得节本增产的效果, 应为优先考虑的施肥方式.

表4 不同处理的花生产量
Table 4 Peanut yield under different treatments

处理 Treatment	产量 Peanut yield (y/kg hm ⁻²)
T1	4785 ± 295 c
T2	4924 ± 412 bc
T3	5281 ± 436 a
T4	5107 ± 368 ab

同列不同小写字母表示在0.05水平显著差异, 统计结果采用平均值±标准差。
Statistical results are shown as M ± SD. Lowercases mean significant difference ($P < 0.05$).

2.5 胶质类芽胞杆菌对土壤酶活性的影响

如图1所示, 花生收获后, T2与T3处理土壤脲酶活性分别为213、219 mg (100 g)⁻¹ (24 h)⁻¹, 显著高于T1 [183 mg (100 g)⁻¹ (24 h)⁻¹]和T4 [174 mg (100 g)⁻¹ (24 h)⁻¹]处理 ($P < 0.05$); T2处理蔗糖酶活性最高, 为23 mg g⁻¹ (24 h)⁻¹, T3处理为22 mg g⁻¹ (24 h)⁻¹, 显著高于T4 [22 mg g⁻¹ (24 h)⁻¹]和T1 [20 mg g⁻¹ (24 h)⁻¹]处

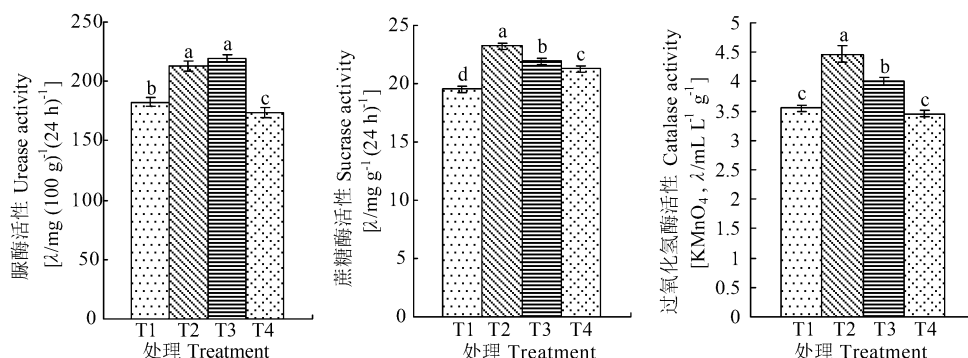


图1 花生收获后不同处理的土壤酶活性。
Fig. 1 Enzyme activity after harvest under different treatments.

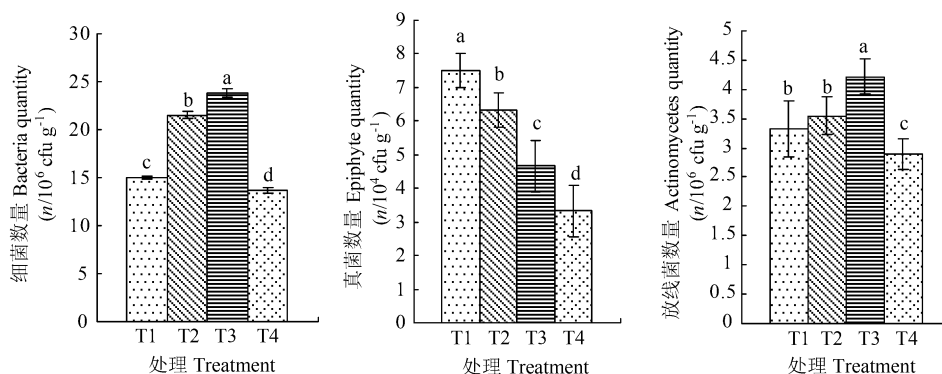


图2 花生收获后不同处理的土壤微生物数量。

Fig. 2 Soil microbial population after harvest under different treatments.

理 ($P < 0.05$)；对于过氧化氢酶活性，结果是表现出 $T2 > T3 > T4 = T1$ 的趋势，其中，T2处理过氧化氢酶活性（以 KMnO_4 计）最高，为 $4.47 \text{ mL L}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ，显著高于其他处理。综上，接种 *P. mucilaginosus* 3016后可以有效提高土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性，从而改善土壤肥力。

2.6 胶质类芽胞杆菌对土壤微生物数量的影响

花生收获后，不同处理土壤微生物数量存在显著差异（图2），其中T2与T3处理土壤细菌数量分别为 $0.22 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$ 和 $0.24 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$ ，显著高于T1 ($0.15 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$) 和T4 ($0.14 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$) 处理 ($P < 0.05$)；真菌数量表现出 $T1 > T2 > T3 > T4$ 的趋势，且相比花生种植前各处理均显著降低 ($P < 0.05$)；放线菌数量T3处理最高，为 $0.04 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$ ，且与其他处理差异显著 ($P < 0.05$)，而T2与T1相比变化不明显，T4放线菌数量降低最多 ($0.03 \times 10^8 \text{ CFU g}^{-1}$)。综合分析可知，*P. mucilaginosus* 3016可以有效增加土壤中细菌的数量而对真菌有轻微抑制作用，对放线菌的影响相对最小。接种3016配施50%常规施肥量的处理则对增加土壤细菌和放线菌数量增加效果显著，有效改善了土壤菌群数量与结构。

2.7 土壤微生物群落的PCR-DGGE分析

通过PCR-DGGE对花生收获前后不同处理花生根际土壤细菌群落进行分析，获得的DGGE图谱见图3。与播种前的CK相比，花生收获后的土壤细菌群落结构出现了一定的变化，T2处理部分条带亮度增强，T3与T1处理变化不明显，而T4与之相比亮度明显减弱。而花生收获后，不同处理土壤样品具有大量共同的细菌条带，但也有个别条带出现亮度的差异，如条带A在T2处理中亮度最高，T3次之，而在T1和T4中最弱；条带B在T2处理中亮度最高，在T4处理中亮度最低；条带C在T2处理中亮度最高；条带D、E在各处理间的亮度相似；条带F在T2、T3中亮度较高，而播种前以及收获后的T1、T4两个处理亮度较低。从结果看出，接种 *P. mucilaginosus* 3016对土壤细菌群落结构产生了一定的影响。将上述条带切胶回收测序，然后进行BLAST比对，结果见表5。

从表5可以看出，条带A、E为未培养细菌，条带C、D为鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas* sp.)，条带B、F属于芽胞杆菌属 (*Bacillus* sp.)。鞘氨醇单胞菌是清理土壤中无毒物质的最有效的微生物类群之一，该菌通过其自身具有的大质粒上携带的降解苯系及杂环的酶系基因，按照毒物的空间分布在土壤中分布。除了其解毒特性，植物根际分离的该菌还可以通

过不同方式促进植物生长^[18]。芽胞杆菌与农业生产的关系密切，在生物肥料、生物农药的生产中有广泛的应用。从测序结果可以看出，*P. mucilaginosus* 3016可以一定程度上影响鞘氨醇单胞菌以及芽胞杆菌的菌群，从而刺激了这些土壤有益菌的生长。

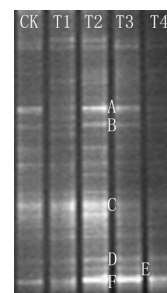


图3 不同处理花生根际土壤细菌的DGGE图谱。CK为播种前的土壤样品，T1-T4分别为收获后不同处理的土壤样品。

Fig. 3 DGGE profile of soil bacteria under different treatments. CK: soil sample before peanut growth; T1-4: soil samples after harvest under different treatments.

表5 DGGE图谱中的近缘菌株

Table 5 Identities of DGGE bands

序号 No.	相似菌株 Similar strain	NCBI登录号 Accession number	相似性 Similarity
A	Uncultured bacterium clone PB17012-2_F08	JX172071	95%
B	<i>Bacillus</i> sp. O-NR35	JN613475	99%
C	<i>Sphingomonas</i> sp. TW_R2A_DS3	JX402643	98%
D	<i>Sphingomonas</i> sp. 1PNM-26	JQ608334	88%
E	Uncultured bacterium clone RS-D58	KC541274	100%
F	<i>Bacillus</i> sp. Za	KC774026	100%

对花生收获后土壤的DGGE图谱进行UPGMA聚类分析（图4），结果表明，接种 *P. mucilaginosus* 3016对花生土壤根际细菌群落产生了一定的影响，但是由于施用化肥的影响，从而使T3和T4聚为了一类。这个结果也进一步表明，相对于施用 *P. mucilaginosus*，化学肥料对花生土壤根际细菌群落的影响更为显著。

3 讨论

在我国农业生产中，过量施用化肥、不合理使用农药和长期使用除草剂等现象，导致农田土壤退化、有机污染累积

严重、土壤生产力下降和农产品质量安全威胁等严重问题。微生物肥料因其具有培肥地力, 提高化肥利用率, 抑制农作物对硝态氮、重金属、农药的吸收, 净化和修复土壤, 降低农作物病害发生, 促进农作物秸秆腐解利用, 节本增效, 保护环境, 以及提高农作物产品品质和食品安全等多方面的独特作用, 已成为发展绿色生态农业的物质保障, 并在农业生产中得到越来越广泛的应用^[19]。近年来, 我国微生物肥料产业发展迅速, 已形成了800多家生产企业, 产能800万吨, 产值超百亿元的产业规模^[3]。*P. mucilaginosa*作为土壤中一种重要的植物根际促生菌, 在农业生产中表现出提高土壤速效钾与速效磷含量、促进作物生长、提高作物产量和品质等多方面的效应, 目前已成为我国微生物肥料产业应用最为广泛的功能菌株^[2, 13]。

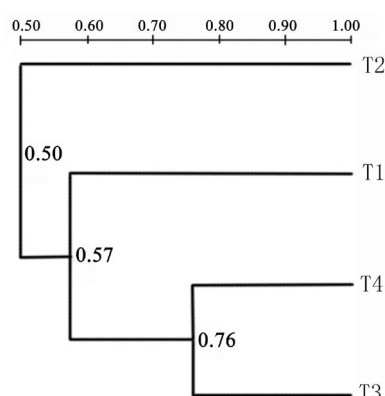


图4 花生收获后土壤DGGE图谱的UPGMA聚类分析。

Fig. 4 UPGMA cluster analysis of DGGE profile of peanut after harvest.

在本研究中, 选取*P. mucilaginosa* 3016和喜钾作物花生为研究材料, 对花生生育期内相关生长和土壤微生物学性状进行分析, 这对揭示*P. mucilaginosa*的增产机理具有一定的现实意义。研究表明, 土壤酶活性能表征土壤养分转化速率的快慢, 对土壤养分的转化和活化起到有益的作用。土壤酶活性是土壤生物学活性的表现, 也是衡量土壤肥力水平的重要指标。隋跃宇等通过试验发现, 土壤过氧化氢酶、磷酸酶、转化酶活性与大豆产量显著相关, 从而得出土壤酶活性可以作为评价土壤肥力高低的活性指标^[20]。徐雄等通过分析果-草人工生态系统中土壤养分与土壤酶的关系, 发现脲酶、纤维分解酶是促进有机质积存的主要生物因素, 蔗糖酶是影响氮、磷、钾速效养分的最主要因子, 过氧化氢酶、多酚氧化酶、纤维分解酶只是选择性地对有机质的积存和氮、磷、钾速效养分的形成起作用^[21]。杜广红等通过采用不同施肥处理试验发现, 土壤脲酶和纤维素酶与小麦和玉米产量都呈现显著正相关, 说明土壤酶活性在一定程度上促进了作物养分的吸收进而反映土壤肥力状况^[22]。在本研究中, 接种*P. mucilaginosa* 3016的两个处理T2和T3的土壤酶活性显著高于其他两个处理 ($P < 0.05$), 接种后, 能在短期内使土壤中微生物数量快速增加, 而增殖和裂解微生物细胞的释放是土壤酶的主要来源。因此, 接种*P. mucilaginosa*可以在一定程度上通过提高土壤酶活性而改善土壤肥力, 有利于产量的提高。

另一方面, 土壤微生物群落结构多样性关乎土壤生态

系统的稳定发展, 可缓解土壤微生物生态环境的恶化^[23], 对土壤肥力至关重要。研究表明, 花生的多年连作会使土壤微生物区系恶化, 土壤类型由细菌型向真菌型转化^[24], 导致微生物多样性减少、病原菌增加、土传病害严重等问题。DGGE技术是分析土壤微生物多样性的重要方法, 可以分离长度相同而序列不同的DNA条带, 而且条带多少说明了微生物多样性的丰富度, 条带信号的亮暗说明了微生物数量的多少, 进而可以反映微生物种类和数量^[25]。但不同的施肥处理对土壤微生物区系的影响结果也不尽相同。张慧通过DGGE技术研究微生物有机肥对棉花连作土壤中微生物的影响中发现施用微生物有机肥可以丰富土壤中的细菌种类^[26]。而有些研究发现施用微生物有机肥后根际土壤中的细菌多样性变化不大^[27]。丁茵等研究了半干旱区土壤酶活性与其理化性质及微生物的关系, 结果表明, 土壤微生物含量与土壤肥力有显著的相关性^[28]。高雪莲等采用DGGE技术的研究结果显示, 施用微生物有机肥后, 甜瓜根际土壤细菌和放线菌数量明显要比对照土壤多, 病原菌和真菌的数量明显减少^[29]。在本研究中, 不同处理间土壤微生物多样性存在一定差异, 尤其是单接种*P. mucilaginosa* 3016的T2处理, 部分条带呈现变亮的趋势, 通过DGGE图谱的UPGMA聚类分析, T3和T4聚为一类, 表明施用化肥对花生土壤根际细菌群落的影响比较明显。通过对土壤微生物数量的影响分析发现接种*P. mucilaginosa* 3016的处理T2和T3能够有效地提高土壤中的细菌数量, 细菌在微生物三大类群中数量最多、比例最大, 决定着植物根域微生态环境的菌群平衡和物质能量的转化速度, 同时对真菌有一定的抑制作用, 而且接种3016和减施50%化肥的T3处理的效果更加明显, 细菌的增长和真菌的抑制与花生的良性生长具有一定关系, 对实现土壤由“真菌型”向“细菌型”的转变、减少真菌性病害具有重要意义^[30-32]。

因此, 通过对花生根系接种*P. mucilaginosa* 3016, 可以有效地提高土壤酶活性, 增加土壤中细菌数量, 改善土壤微生物区系和功能结构, 提高土壤微生物数量和土壤酶活性, 又可以加快土壤养分的活化和循环, 从而增加土壤速效养分含量, 提高土壤肥力, 为植株对营养元素的吸收和利用提供理想的生长环境。在本研究中, 接种*P. mucilaginosa* 3016配施50%常规施肥量增加了不同生育时期花生株高、单株果数、单株总果重, 花生百仁重和出米率。同时, 该处理条件下, 增产效果最为显著 (增产10.4%, 且在 $P < 0.05$ 水平下差异显著), 且茎叶和果仁的养分含量中K含量均高于其它处理, 分别达到0.05显著水平。

4 结论

接种*P. mucilaginosa*可以通过提高土壤酶活性和改善土壤微生物区系提高土壤肥力, 配合50%常规施肥, 可以显著地增加生育期内花生单株总果数、单株总果重、百仁重和出米率, 并实现花生增产10.4%, 且花生果仁和茎叶中养分含量中钾含量增加显著, 对花生种植是一种节本增效的施肥措施。研究结果对丰富微生物肥料的生产菌种资源和生产实践具有重要的现实意义和理论价值。

参考文献 [References]

- 1 王兴祥, 张桃林, 戴传超. 连作花生土壤障碍原因及消除技术研究

- 进展[J]. 土壤, 2010, **42** (4): 505-512 [Wang XX, Zhang TL, Dai CC. Advance in mechanism and countermeasures of peanut succession monocropping obstacles [J]. *Soil*, 2010, **42** (4): 505-512]
- 2 李俊, 沈德龙, 林先贵. 农业微生物研究与产业化进展[M]. 北京: 科学出版社, 2011. 49-50
- 3 Liu WX, Xu XS, Wu XH, Yang QY, Luo YM, Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture [J]. *Environ Geochem Health*, 2006, **28**: 133-140
- 4 Sheng XF, He LY. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat [J]. *Can J Microbiol*, 2006, **52**: 66-72
- 5 Basak BB, Biswas DR. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols [J]. *Plant Soil*, 2009, **317**: 235-255
- 6 Chen S, Lian B, Liu CQ. Effect of *Bacillus mucilaginosus* on weathering of phosphorite and a preliminary analysis of bacterial proteins [J]. *Chin J Geochem*, 2008, **27**: 209-216
- 7 Wu JG, Wang JF, Zhang XH, Zhang SS, Hu XF, Chen JS. A gyrB-targeted PCR for rapid identification of *Paenibacillus mucilaginosus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, **87**: 739-747
- 8 Li X, Wu ZQ, Li WD, Yan RX, Li L, Li J, Li YH, Li MG. Growth promoting effect of a transgenic *Bacillus mucilaginosus* on tobacco planting [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, **74**: 1120-1125
- 9 盛下放, 黄为一, 殷永娴. 硅酸盐菌剂的应用效果及其解钾作用的初步研究[J]. 南京农业大学学报, 2000, **23** (1): 43-46 [Sheng XF, Huang WY, Yin YX. Effects of application of silicate bacterium fertilizer and its potassium release [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 2000, **23** (1): 43-46]
- 10 席琳乔, 宋爱民, 龚明福, 张利莉. 棉花根际硅酸盐细菌解钾机理的初步研究[J]. 西北农林学报, 2009, **18** (3): 309-314 [Xi LQ, Song AM, Gong MF, Zhang LL. Preliminary study on the potassium-dissolving mechanism of silicate bacteria from cotton rhizosphere [J]. *Acta Agric Bor-occid Sin*, 2009, **18** (3): 309-314]
- 11 赵艳, 张晓波. 施用胶质芽胞杆菌菌剂对黑麦草根际土壤脲酶、磷酸酶及过氧化氢酶活性的影响[J]. 微生物学杂志, 2011, **31** (6): 49-52 [Zhao Y, Zhang XB. Effects of *Bacillus mucilaginosus* agents on the activities of urease, phosphatase and catalase in ryegrass rhizosphere soil [J]. *J Microbiol*, 2011, **31** (6): 49-52]
- 12 赵志浩, 徐银荣, 邱龙. 胶质芽胞杆菌的发酵工艺研究和田间应用[J]. 湖南农业科学, 2004, **5**: 34-37 [Zhao ZH, Xu YR, Qiu L. Study on the fermented craft of *Bacillus mucilaginosus* and its application [J]. *Hunan Agric Sci*, 2004, **5**: 34-37]
- 13 王璇, 马鸣超, 关大伟, 姜昕, 李力, 丁延芹, 李俊. 胶质类芽胞杆菌PCR快速检测方法[J]. 微生物学报, 2011, **51** (11): 1485-1493 [Wang X, Ma MC, Guan DW, Jiang X, Li L, Ding YQ, Li J. Rapid identification for *Paenibacillus mucilaginosus* by PCR [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2011, **51** (11): 1485-1493]
- 14 Ma MC, Wang ZY, Li L, Jiang X, Guan DW, Cao FM, Chen HJ, Wang X, Shen DL, Du BH, Li J. Complete genome sequence of *Paenibacillus mucilaginosus* 3016, a bacterium functional as microbial fertilizer [J]. *J Bacteriol*, 2012, **194** (10): 2777-2778
- 15 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996. 136-137
- 16 李卓棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 136-137
- 17 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986. 274-340
- 18 Adhikari TB, Joseph CM, Yang G, Phillips DA, Nelson LM. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice [J]. *Can J Microbiol*, 2001, **47** (10): 916-924
- 19 李俊, 马鸣超, 姜昕, 沈德龙. 生物肥料与绿色生态农业. 绿色经济在中国[M]. 北京: 人民邮电出版社, 306-316
- 20 隋跃宇, 焦晓光, 刘晓冰, 张兴义, 刘洪家. 长期施肥对农田黑土酶活性及作物产量的影响[J]. 土壤通报, 2010, **41** (3): 608-610 [Sui YY, Jiao XG, Liu XB, Zhang XY, Liu HJ. Effects of long-term fertilizations on the black soil enzyme activities and crop yields [J]. *Chin J Soil Sci*, 2010, **41** (3): 608-610]
- 21 徐雄, 张健, 张猛. 果-草人工生态系统中土壤微生物、土壤酶与土壤养分的关系[J]. 水土保持学报, 2005, **19** (6): 178-181 [Xu X, Zhang J, Zhang M. Relationship between biological factors and soil nutrients in artificial fruit-grass ecosystem [J]. *J Soil Water Conserv*, 2005, **19** (6): 178-181]
- 22 杜广红, 周晓琳, 马鸣超, 马强, 曹凤鸣, 李子双, 王薇, 赵同凯, 沈德龙. 不同施肥处理对土壤生物活性和作物产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2012, **5**: 22-26 [Du GH, Zhou XL, Ma MC, Ma Q, Cao FM, Li ZS, Wang W, Zhao TK, Shen DL. Effects of different fertilizing treatments on soil microbiological properties and crop yield. *Soil Fertil Sci China*, 2012, **5**: 22-26]
- 23 焦晓丹, 吴凤芝. 土壤微生物多样性研究方法的进展[J]. 土壤通报, 2004, **35** (6): 789-792 [Jiao XD, Wu FZ. Progress of research methods for soil microbial diversity [J]. *Chin J Soil Sci*, 2004, **35** (6): 789-792]
- 24 徐瑞富, 王小龙. 花生连作田土壤微生物群落动态与土壤养分关系研究[J]. 花生学报, 2003, **32** (3): 19-24 [Xu RF, Wang XL. Relation of microbial population dynamics and nutrient in soil of continuous cropping with peanut [J]. *J Peanut Sci*, 2003, **32** (3): 19-24]
- 25 姜昕, 马鸣超, 李俊, 李力, 钟佐桑. 用DGGE技术分析污水人工快速渗滤系统中微生物种群分布[J]. 微生物学通报, 2007, **34** (6): 1179-1183 [Jiang X, Ma MC, Li J, Li L, Zhong ZS. Analysis of microbial community distribution in constructed rapid infiltration system (CRI) by DGGE [J]. *Microbiol China*, 2007, **34** (6): 1179-1183]
- 26 张慧. 防治棉花黄萎病微生物有机肥的研制及其生物效应[D]. 南京: 南京农业大学, 2008 [Zhang H. Development of a bio-organic fertilizer against cotton verticillium wilt and their effect on the soil-cotton system [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2008]
- 27 薛超, 黄启为, 凌宁, 高雪莲, 曹云, 赵青云, 何欣, 沈其荣. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, **48** (3): 612-618 [Xue C, Huang QW, Ling N, Gao XL, Cao Y, Zhao QY, He X, Shen QR. Analysis, regulation and high-throughput sequencing of soil microflora in mono-cropping system [J]. *Acta Pedol Sin*, 2011, **48** (3): 612-618]
- 28 丁茜, 胡海波, 王人潮. 半干旱区土壤酶活性与其理化及微生物的关系[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2007, **3** (2): 13-18 [Ding H, Hu

- HB, Wang RC. The relationships between soil enzyme activity and soil physical-chemical properties of microbial biomass in semi-arid area [J]. *J Nanjing For (Nat Sci Ed)*, 2007, **3**(2): 13-18]
- 29 高雪莲, 邓开英, 张鹏, 冉伟, 沈其荣, 杨兴明. 不同生物有机肥对甜瓜土传枯萎病防治效果及对根际土壤微生物区系的影响[J]. 南京农业大学学报, 2012, **35** (6): 55-60 [Gao XL, Deng KY, Zhang P, Ran W, Shen QR, Yang XM. Effect of different bio-organic fertilizers on fusarium wilt control and on the rhizosphere microbial community with muskmelon [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 2012, **35** (6): 55-60]
- 30 李振方, 杨燕秋, 谢冬凤, 张自冠, 黄木极, 刘宗泉, 张重义, 林文雄. 连作条件下地黄药用品质及土壤微生物生态特性分析[J]. 中国生态农业学报, 2012, **20** (2): 217-224 [Li ZF, Yang QY, Xie DF, Zhang ZG, Huang MJ, Liu ZQ, Zhang ZY, Lin WX. Effects of continuous cropping on the quality of *Rehmannia glutinosa* L. and soil micro-ecology [J]. *Chin J Eco-Agric*, 2012, **20** (2): 217-224]
- 31 高玉峰, 贺字典. 影响土壤真菌多样性的土壤因素[J]. 中国农学通报, 2010, **26** (10): 177-181 [Gao YF, He ZD. Study on soils effect factors to fungi diversity in Hebei province [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2010, **26** (10): 177-181]
- 32 张艳群, 来航线, 韦小敏, 王旭东. 生物肥料多功能芽孢杆菌的筛选及其作用机理研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, **19** (2): 489-497 [Zhang YQ, Lai HX, Wei XM, Wang XD. Selection of multifunctional bacillus strains of biological fertilizer and the study of their mechanisms on plant growth [J]. *Plant Nutr Fertil Sci*, 2013, **19** (2): 489-497]



施肥与土壤重金属污染修复——当代土壤与环境科学专著

作者: 徐明岗 出版时间: 3/1/2014

内容简介

《施肥作为农业增产的主要措施,也能显著影响土壤重金属的生物有效性。《施肥与土壤重金属污染修复》论述了通过合理施肥,在实现作物养分供应的同时,又实现土壤重金属钝化修复的原理与技术,包括不同形态化肥、有机肥和改良剂及其组合修复土壤重金属特别是铅、镉污染土壤的原理与技术。主要内容包括:铅、镉等典型重金属在土壤中的老化机制及其影响因素;不同磷肥、钾肥、有机肥和改良剂及其组合改变土壤中重金属的吸附特性、pH和重金属形态,以及改善作物生长和重金属吸收性,提出了调节土壤中铅、镉生物有效性的施肥与改良剂修复技术和途径;研制出钝化土壤重金属活性的专用肥料和改良剂产品,研发了重金属复合污染农田土壤的联合修复技术。本书是国内施肥修复重金属污染土壤研究领域的第一部专著,论述了该领域的最新研究成果。

石油污染土壤生态修复技术与原理

作者: 唐景春 出版时间: 3/1/2014

内容简介

《石油污染土壤生态修复技术与原理》针对石油烃污染土壤生态修复中存在的问题,总结近几年该领域国内外最新研究成果并结合作者的相关研究内容,阐述石油烃污染土壤主要生态修复技术及原理。首先分析国内外石油烃污染状况,特别是油田采油过程中的污染及存在的问题、石油烃的性质及生态影响。其次对主要生态修复技术及原理进行归纳总结,包括微生物修复技术及原理、植物修复技术及原理、植物-微生物联合修复技术及原理、物理化学-生物耦合修复技术及原理等。原理阐述部分结合了最新研究成果及最新方法,如分子生物学技术中的PCR-DGGE和降解基因等。在此基础上总结油田或污染区域生态恢复技术方案,通过实例说明石油烃生态修复中不同技术的应用方法及注意事项。最后提出生态修复过程中的风险评价及管理措施,为石油烃污染土壤生态修复的管理服务。本书系国家863重点项目研究成果;既有国内外研究进展,又有作者独创性研究成果;原理与技术并重,语言简洁,图文并茂,可读性强。

订购方式1: 网上购书

淘宝商城科学出版社旗舰店: <http://kxcbs.tmall.com/>; 卓越亚马逊: <http://www.amazon.cn/>;

当当网: <http://www.dangdang.com/>; 京东图书: <http://book.360buy.com/>

订购方式2: 电话购书

联系人: 科学出版社 贾海涛 13501022258 010-64017321

订购方式3: 邮件购书

生物分社: lifescience@mail.sciencep.com; 贾海涛: 13501022258@139.com