

# 砒砂岩中植物促生芽孢杆菌的筛选及其对土壤的改良作用

邓琳<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 殷涂童<sup>2</sup>, 何琳燕<sup>2</sup>, 杨才千<sup>1</sup>, 梁止水<sup>1</sup>

(1. 东南大学 土木工程学院, 江苏 南京 211189;

2. 农业部农业环境微生物重点实验室 南京农业大学 生命科学学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** [目的] 筛选砒砂岩土壤中植物促生芽孢杆菌, 为微生物强化植物改良砒砂岩土壤的科学设想提供资源和技术基础。[方法] 以产生植物激素 IAA(indole acetic acid)、铁载体和生物膜为筛选指标, 从内蒙古砒砂岩区土壤和植物样品中筛选植物促生芽孢杆菌, 采用盆栽试验探究植物促生芽孢杆菌改良砒砂岩土壤特性和促进苜蓿和黑麦草生长的作用。[结果] 筛选到的 12 株芽孢杆菌产生 IAA、铁载体和生物膜的能力不同, 分别属于 *Bacillus halotolerans*, *B. atrophaeus*, *B. siamensis* 和 *B. zhangzhouensis* 种群。与对照相比, *B. halotolerans* P75 能够显著增加砒砂岩土壤的有机质含量(24.7%)、速效磷含量(11.9%)和速效钾含量(21.0%)等养分指标, 每 1 g 土壤可培养细菌达到 7.4 lg CFU, 土壤蔗糖酶活性显著增强(58.8%)。接种 *B. halotolerans* P75 后, 在砒砂岩土壤中生长的苜蓿和黑麦草干重增加 22.3%~81.5%。[结论] 从生长于砒砂岩土壤的苜蓿根内筛选到 *B. halotolerans* P75, 可提高砒砂岩土壤肥力, 促进苜蓿和黑麦草生长, 具有强化植物改良砒砂岩土壤的潜力。

**关键词:** 砒砂岩; 植物促生细菌; 芽孢杆菌; 改良; 土壤特性

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1000-288X(2019)05-0211-07

**中图分类号:** Q93, S156, S182

**文献参数:** 邓琳, 王涛, 殷涂童, 等. 砒砂岩中植物促生芽孢杆菌的筛选及其对土壤的改良作用[J]. 水土保持通报, 2019, 39(5): 211-217. DOI: 10.13961/j.cnki.stbtb.2019.05.029; Deng Lin, Wang Tao, Yin Tutong, et al. Isolation of plant growth promoting *Bacillus* spp. and their impact on feldspathic sandstone soil characteristics[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2019, 39(5): 211-217.

## Isolation of Plant Growth Promoting *Bacillus* Spp. and Their Impact on Feldspathic Sandstone Soil Characteristics

Deng Lin<sup>1</sup>, Wang Tao<sup>1</sup>, Yin Tutong<sup>2</sup>, He Linyan<sup>2</sup>, Yang Caiqian<sup>1</sup>, Liang Zhishui<sup>1</sup>

(1. School of Civil Engineering, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 211189,

China; 2. Key Laboratory of Agricultural and Environmental Microbiology, Ministry of

Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** [Object] The characteristics of the plant growth promoting *Bacillus* spp. in a feldspathic sandstone soil were investigated in order to provide resources and technical information for feldspathic sandstone soil improvement. [Methods] *Bacillus* spp. was isolated from plants and feldspathic sandstone soil in a region of Inner Mongolia. The bacterium were identified by 16S rDNA sequence analysis. The ability of *Bacillus* spp. for producing indole acetic acid (IAA), siderophores, and biofilms were tested. Greenhouse experiments were conducted to evaluate the effect of *Bacillus* spp. on the quality of feldspathic sandstone soil, and on the growth of alfalfa (*Medicago sativa*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). [Results] Twelve strains of *Bacillus* spp. were screened and had different production of IAA, siderophores, and biofilms, which belong to *B. halotolerans*, *B. atrophaeus*, *B. siamensis* and *B. zhangzhouensis*. The isolated *B. halotolerans* P75 was able to significantly increase the content of soil organic matter (24.7%), available phosphorus (11.9%), and available potassium (21.0%) in the sandstone compared with the non-inoculated control. Soil invertase activity (58.8%) and the number of culturable bacteria (7.4 lg CFU in 1 g soil) also significantly increased

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-04-14

资助项目: 国家重点研发计划项目“砒砂岩区生态安全保障技术”(2017YFC0504505); 国家自然科学基金项目“卤代硝基甲烷在紫外/氯共同消毒过程中生成与降解的特性及机制”(21677032)

第一作者: 邓琳(1973—), 男(汉族), 湖南省永州市人, 副教授, 博士生导师, 研究方向为砒砂岩土壤化改质研究。E-mail: dlwhu@163.com。

after *B. halotolerans* P75 inoculation. Moreover, *B. halotolerans* P75 significantly increased the dry weight of alfalfa and perennial ryegrass grown on the feldspathic sandstone soil by 22.3%~81.5% in comparison to those of the control. [Conclusion] Our results suggest that the *B. halotolerans* P75, isolated from the alfalfa roots growing in feldspathic sandstone area, can increase the fertility of feldspathic sandstone soil and promote the growth of alfalfa and ryegrass, and has great potential for the phytoremediation and improvement of feldspathic sandstone soil.

**Keywords:** feldspathic sandstone; plant growth promoting bacteria; *Bacillus*; improvement; soil quality

中国砒砂岩区域约为  $1.67 \times 10^4 \text{ km}^2$ , 主要分布在以内蒙古鄂尔多斯市准格尔旗为中心的晋陕蒙接壤区<sup>[1]</sup>。裸露的砒砂岩地区生态环境脆弱, 水土流失严重, 养分含量低, 植物难以生长<sup>[2]</sup>。国内外学者采用了一些生物措施和工程措施, 以期解决该地区的植被恢复、土壤改良、水土保持等问题<sup>[3-4]</sup>。毕慈芬等<sup>[5]</sup>在砒砂岩区沟床种植沙棘、形成柔性淤地坝是防治沟床下切的有效生物措施之一。肖培青等<sup>[6]</sup>通过分析砒砂岩岩石成分, 研发了砒砂岩改性材料, 于 2015 年建设了一座砒砂岩改性材料淤地坝示范工程。姚文艺等<sup>[7]</sup>研究了一种环境友好型抗蚀促生技术, 使砒砂岩区产沙量减少 90% 以上。从整体来看, 如何通过新的技术手段改善植被立地条件, 缓解有机质和速效磷等植物生长限制因子, 有效防治水土流失, 仍是当前砒砂岩土壤改良亟待解决的关键技术。

微生物广泛分布于各种环境中, 在一定条件下有利于植物生长。生活在土壤、植物根际或内部的植物促生细菌 (plant growth promoting bacteria, 简称 PGPB) 在农业生产和环境保护领域有很好的应用前景<sup>[8-10]</sup>。目前已鉴定出多种 PGPB 菌株, 主要种类包括芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、固氮螺菌属 (*Azospirillum*) 等。芽孢杆菌是一类能够产生芽孢、抗逆性较强的细菌, 多数菌株能够固氮、溶磷, 并产生生长素等植物激素, 能提高植物对干旱、高盐和重金属的抗逆性<sup>[11]</sup>。砒砂岩土壤中的芽孢杆菌种群及其促生特性还有待挖掘, 国内外对于芽孢杆菌应用于砒砂岩土壤改良的设想也是鲜有报道。

本研究从砒砂岩区域采集土壤和植物样品, 分离筛选抗逆性强的芽孢杆菌, 探究植物促生芽孢杆菌的生物学特性和改善砒砂岩土壤性质的作用, 从而为利用 PGPB 来改善砒砂岩区植被立地条件和防治水土流失的科学设想提供生物资源和试验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

样品为砒砂岩区域道路边坡土壤、煤矿排土场土壤和苜蓿根系。

LB 培养基: 胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, NaCl 10 g, 水 1 000 ml, pH 值 7.0。固体培养基中添加 20 g 琼脂。

供试植物: 黑麦草 (*Lolium perenne*), 苜蓿 (*Medicago sativa*), 种子购自南京市栖霞区春茵种子有限公司。

### 1.2 砒砂岩土壤和植物内生芽孢杆菌的分离筛选

采用热处理和选择性培养基分离、纯化芽孢杆菌。参考杨丽等<sup>[12]</sup>和庞海东等<sup>[13]</sup>的方法, 称取采集的土样 1 g, 放入盛有 99 ml 无菌水的锥形瓶中, 充分振荡。再放入 85 °C 恒温水浴锅中水浴 15 min, 制成浓度为 1/100 的土壤悬液。再吸取 1 ml 土壤悬液加到 9 ml 的无菌水试管中, 混匀, 依次梯度稀释后, 分别取 0.1 ml 稀释液涂布在 LB 固体培养基上。培养 72 h 后选取菌落数适量的平板, 随机挑取长势良好的单菌落, 多次划线分离纯化, 保存待用。

将植物根部用热的去离子水冲洗干净, 用 75% 的酒精和 2.5% 的 NaClO 先后消毒, 并用无菌水浸洗数次。将表面消毒的根部 0.1 g 置于无菌研钵内研磨至匀浆, 加 1 ml 无菌水混匀, 再放入 85 °C 恒温水浴锅中水浴 15 min。取 0.1 ml 悬液涂布于 LB 固体培养基上, 同时取最后一遍浸洗的无菌水 0.1 ml 涂布于 LB 固体培养基, 以检测样品表面消毒是否彻底。28 °C 培养 72 h 后, 若无菌水涂布的平板未长菌, 则从 LB 平板上挑选长势良好的单菌落, 多次划线分离纯化后 4 °C 保存。

### 1.3 菌株的生物学特性测定

将分离纯化得到的芽孢杆菌接种至 LB 液体培养基中培养至对数期, 吸取 50  $\mu\text{l}$  菌液转接到液体 LB 培养基试管中静置 3 d, 观察生物膜产生的情况。挑选产生物膜能力强的菌株于 4 °C 保存。

菌株产吲哚乙酸 (IAA) 测定参考 Gordon 等<sup>[14]</sup>的方法, 铁载体能力测定参考 Schwyn 等<sup>[15]</sup>的方法。菌株的鉴定采用 16S rRNA 基因序列同源性分析, 参考 Xi 等<sup>[16]</sup>方法提取细菌总 DNA 和 PCR 扩增 16S rRNA 基因产物, 将 16S rRNA 基因扩增产物送至南京金斯瑞生物科技有限公司测序。用 BLAST 软件将所获得序列与 GenBank (<http://www.ncbi.nlm>

nih.gov)和 EzTaxon (<http://www.eztaxon.org>)中已知的 16S rRNA 基因序列进行比对分析,采用 MEGA7.0 构建系统进化树。

### 1.4 菌株对砒砂岩的改良作用

将供试菌株接种于 LB 液体培养基中,30 ℃,150 r/min 振荡培养至 OD<sub>600</sub> 为 1.0(约 1.00×10<sup>8</sup> CFU/ml)时,取菌液 20 ml 加到 120 g 砒砂岩土壤中(土壤置于塑料杯中),对照添加等量 LB 培养基。再加水 10 ml,用保鲜膜覆盖于塑料杯口,保持土壤的湿度,静置一个月。

采用梯度稀释、平板培养的方法计算土壤中细菌总数。采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法<sup>[17]</sup>测定砒砂岩土壤中蔗糖酶活性,以 24 h 后 1 g 土壤葡萄糖的毫克数表示。参照《土壤农化分析》<sup>[18]</sup>,采用重铬酸钾容量法—稀释热法测量土壤中有机的含量。采用 0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> 浸提—钼锑抗比色法测量土壤中速效磷的含量。采用 NH<sub>4</sub>OAc 浸提—火焰光度法测定土壤中速效钾的含量。

### 1.5 菌株对苜蓿和黑麦草生长的影响

供试土壤采自内蒙古砒砂岩区,布置盆栽试验,每个穴盘装 200 g 砒砂岩土壤,并向穴盘中添加去离子水 20 g,使整个土壤环境保持一定的干旱程度。用 5% 的次氯酸钠溶液对黑麦草和苜蓿种子表面消毒 20 min,均匀地洒在铺有湿润无菌纱布的培养皿中,放置于 30 ℃ 黑暗培养箱中催芽。挑取大小一致露白后的种子播种于育苗盘,当种子芽长到 1 cm 左右时,挑选长势均匀的黑麦草和苜蓿幼苗,用 1.4 方法制备的菌悬液蘸根处理 30 min,对照浸泡无菌 LB 培养基。蘸根结束后将幼苗移栽至穴盘中,每个处理 3 个重复。隔半个月后再接种 20 ml 菌悬液处理,对照接种等量无菌 LB 培养基。一个月后测量黑麦草和苜蓿的地上部干重和根部干重,以评判菌株对植物的促生效果。

### 1.6 统计分析

所有试验数据均采用 Microsoft Office Excel 2010 软件作图,采用 SPSS 25.0 对数据进行单因素方差分析, $p < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试芽孢杆菌的生物学特性

从砒砂岩土壤和苜蓿中共分离得到 12 株芽孢杆菌,其来源见表 1,菌落形态如图 1 a 所示。

表 1 供试芽孢杆菌的来源和促生特性

菌株	来源	铁载体	吡啶乙酸/(mg·L <sup>-1</sup> )
B29	YXS	+++	28.1
C46	YXS	++	28.3
C47	YXS	++	45.6
C48	YXS	++	47.8
F83	109S	++++	49.5
F84	109S	++++	40.9
G36	109S	++	44.9
G37	109S	+++	28.2
P23	CR	+++	39.6
P75	CR	++	23.9
P76	CR	+	35.1
P77	CR	++++	42.6

注:“+”表示产铁载体能力的强弱,“+”越多表示产铁载体的能力越强。YXS 表示永旭煤矿土壤;109S 表示 109 国道边坡土壤;CR 表示苜蓿根内。

12 株芽孢杆菌的菌落均为圆形,颜色介于乳白色和淡黄色之间。菌株 P75 和 P23 的菌落是半透明的,其余菌落均为不透明。菌株 P76, C47, C48 和 F84 菌落边缘不整齐;菌株 F83, G36, B29, G37, C48 和 P77 菌落表面褶皱较为丰富,其余菌株的菌落表面光滑、湿润。

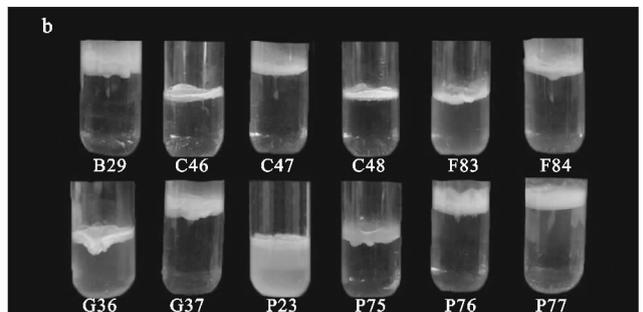
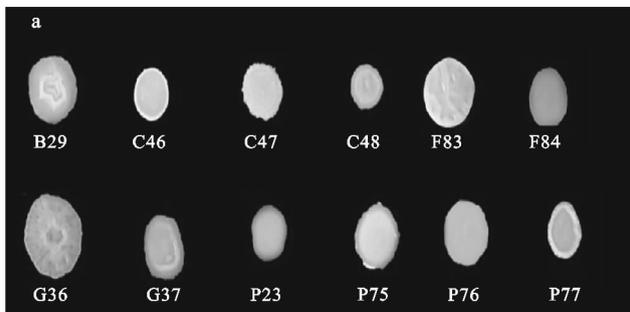


图 1 供试芽孢杆菌的菌落形态(a)和形成的生物膜(b)

供试芽孢杆菌在 LB 液体培养基表面上均能形成生物膜(图 1b)。除菌株 P23 的生物膜较少之外,

其余菌株产生物膜的能力都很强。菌株能够在液体 LB 培养基和空气交汇的界面处产生厚厚的一层膜,

产膜细菌主要生存和聚集在这层膜中,所以下层 LB 培养基比较澄清,而产膜弱的菌株不能很好地形成生物膜,所以下层 LB 液体呈浑浊状。生物膜的产生可以提高菌株对不良环境的抗逆性,同时可以提高菌株在植物根系的定殖能力<sup>[19-20]</sup>。

植物促生细菌在其生长代谢过程中能够产生一些促进植物生长发育的化合物,其中 IAA 被认为能够使植物产生更多的次级根和不定根,促进植物生长;铁载体被认为能够结合铁离子,缓解植物在不良环境下缺铁的症状,促进植物的生长<sup>[8]</sup>。供试芽孢杆菌的促生特性如表 1 所示。这些芽孢杆菌都能产生铁载体和吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)。除菌株 P76 以外,其他菌株产铁载体的含量均很高,尤其是菌株 F84 的铁载体产量达到+++++。不同菌株的 IAA 产量在 18.3~49.5 mg/L 之间,其中菌株 P75 的 IAA 产量最低,F83 的 IAA 产量最高。

以菌株总 DNA 为模板,采用通用引物进行 PCR 扩增 16S rDNA,PCR 产物经纯化、测序,用 BLAST

软件将序列与 GeneBank 中参比菌株的 16S rDNA 序列进行比对,构建的系统发育树如图 2 所示。菌株 F83,F84,P75,P76 和 P77 均与 *B. halotolerans* 相近,同源性达到 99.9%,且 P75 与 F83,P76 与 P77 更相近,同源性为 100%,归为 *B. halotolerans* 同一种。菌株 C46,C47,C48 与 *B. siamensis* 相近,而 B29,G36,G37 与 *B. atrophaeus* 的同源性更近,同源性为 99.9%。P23 与其他筛选菌株的同源性都较远,与 *B. zhangzhouensis* 的同源性为 99.9%。

## 2.2 供试芽孢杆菌对砒砂岩土壤特性的影响

有机质、速效磷和速效钾在一定程度上能够反映土壤肥力<sup>[18]</sup>。由图 3 可知,接菌处理可以影响砒砂岩土壤有机质、速效磷和速效钾含量。如图 3a 所示,与对照(CK)相比,除菌株 B29,C46,C48 和 P23 以外,9 株供试芽孢杆菌都能够显著增加砒砂岩土壤的有机质含量(5.0%~24.7%),尤其是菌株 G37 和 P75 处理的砒砂岩土壤有机质含量分别显著增加了 23.9%和 24.7%( $p < 0.05$ )。

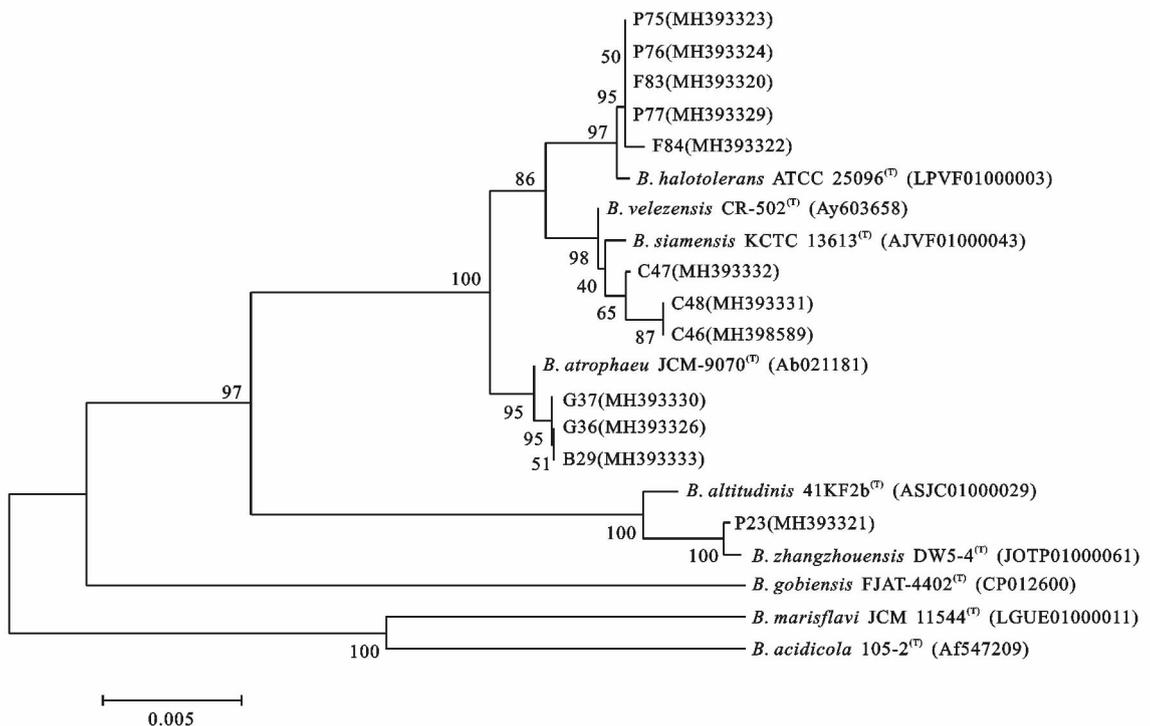
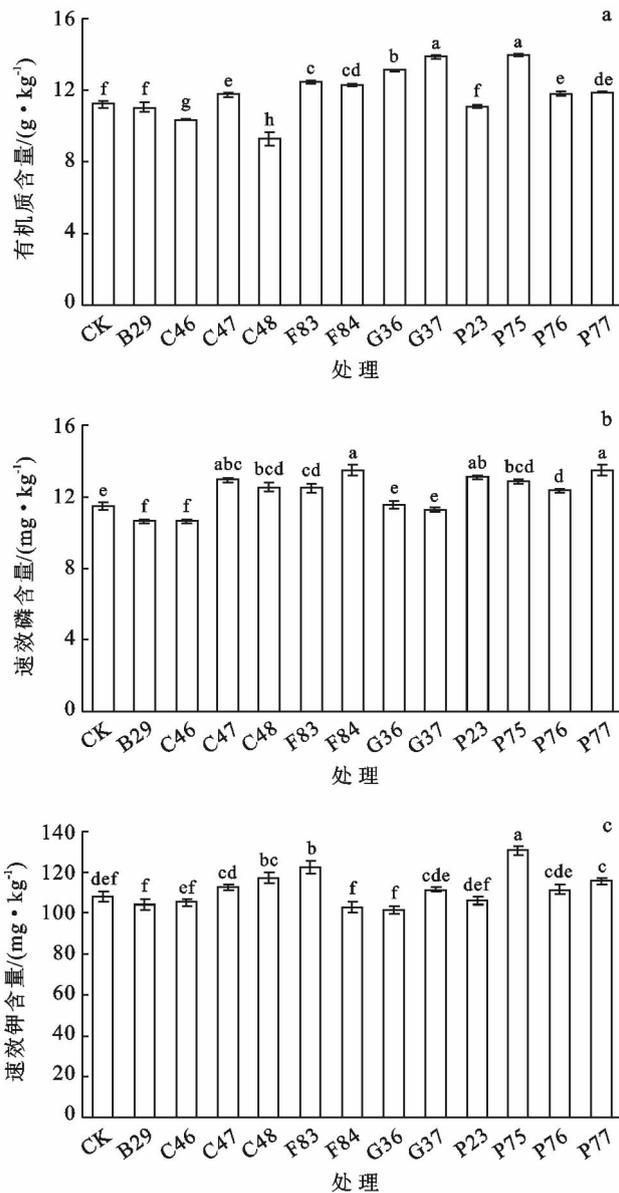


图 2 基于供试芽孢杆菌 16S rDNA 序列构建的系统发育树

注:编号加粗的菌株为供试芽孢杆菌,其他为参比模式菌株,括号中字母数字表示菌株 16S rDNA 或基因组序列在 GenBank 中登录号,分支长度表示遗传距离即菌株同源性,节点上的数字表示可信度。

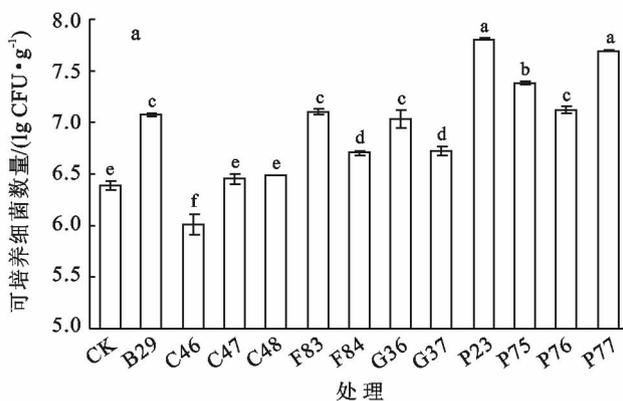
如图 3b 所示,除菌株 B29,C46,G36 和 G37 以外,其他菌株均能显著提高砒砂岩土壤中速效磷的含量(7.2%~17.1%, $p < 0.05$ ),尤其是菌株 C47,F84,P23,P75 和 P77 能够使速效磷含量显著提高 10%以上。

此外,与未接菌对照相比,菌株 C48,F83,P75 和 P77 能够显著提高砒砂岩土壤的速效钾含量(图 3c),其中菌株 F83 和 P75 处理可使速效钾含量分别显著增加 13.3%和 21.0%。



注:不同小写字母表示处理间有显著差异 ( $p < 0.05$ ), 下同。

图 3 供试菌株对砒砂岩土壤有机质含量(a)、速效磷含量(b)和速效钾(c)的影响



如图 4a 所示,与未接菌对照相比,C46,C47 和 C48 菌株处理没有增加砒砂岩土壤可培养细菌数量,除此以外,其他菌株都增加了砒砂岩土壤中的可培养细菌数量,其中接种 B29,F83,G36,P23,P75,P76 和 P77 菌株的砒砂岩土壤中可培养细菌数量均超过  $10^7$  CFU/g,且数量差异表现为:P23>P77>P75>P76>F83>B29>G36。

蔗糖酶活性反应了土壤有机碳积累与分解转化的规律,蔗糖酶活性的提高有助于土壤的改良<sup>[17]</sup>。如图 4b 所示,接菌处理能够改变砒砂岩土壤中蔗糖酶的活性。与对照相比,B29,C46,F83,F84,P75,P76 和 P77 菌株能够显著提高土壤蔗糖酶活性(42.4%~65.7%, $p < 0.05$ ),其中,菌株 C46,F83,P75 和 P76 处理的砒砂岩土壤蔗糖酶活性显著增加了 50%以上。

### 2.3 供试芽孢杆菌对苜蓿和黑麦草的促生作用

供试芽孢杆菌在不同植物上的促生效果表现出差异(如表 2 所示)。与对照相比,在砒砂岩土壤中菌株 F83,P75 和 P76 能促进苜蓿根部干重增加明显(81.7%~86.1%, $p < 0.05$ ),但苜蓿地上部干重增加量差异不显著。此外菌株 P75 能够显著增加黑麦草的地上部干重(22.3%)和根部干重(29.9%, $p < 0.05$ )。由此可见,菌株 P75 对苜蓿和黑麦草均有促生作用。

## 3 讨论

植物根际促生细菌是土壤生态系统中的活跃组分,影响着土壤有机质的转化和养分循环,在促进植物多样性形成、退化生态系统的恢复与重建过程中具有十分重要的作用<sup>[21]</sup>。迄今为止,国内外已发现的植物促生细菌以芽孢杆菌和假单胞菌为主,芽孢杆菌以其抗逆性强等优点又成为了农业和环境应用领域的热点之一。砒砂岩土壤无水坚硬如石,遇水松软如泥,对该特殊土壤中微生物种群的调查研究较少。

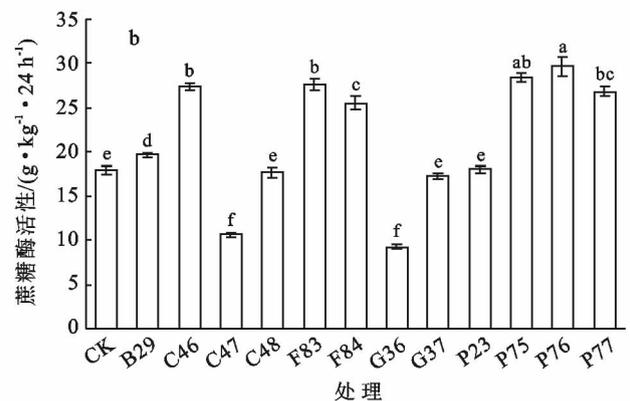


图 4 接菌处理对砒砂岩土壤可培养细菌数量(a)和蔗糖酶活性(b)的影响

表 2 供试芽孢杆菌对苜蓿和黑麦草的地上部和根部干重的影响

处理	苜蓿干重/g		黑麦草干重/g	
	地上部	根部	地上部	根部
CK	0.12±0.01 <sup>abc</sup>	0.04±0.00 <sup>b</sup>	0.33±0.02 <sup>bc</sup>	0.07±0.01 <sup>bc</sup>
B29	0.11±0.01 <sup>bc</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.32±0.02 <sup>bc</sup>	0.06±0.01 <sup>bc</sup>
C46	0.10±0.01 <sup>c</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>	0.29±0.02 <sup>c</sup>	0.06±0.00 <sup>c</sup>
C47	0.11±0.01 <sup>c</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>	0.29±0.02 <sup>c</sup>	0.06±0.01 <sup>c</sup>
C48	0.11±0.02 <sup>bc</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.31±0.02 <sup>bc</sup>	0.06±0.01 <sup>bc</sup>
F83	0.15±0.02 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>bc</sup>	0.08±0.01 <sup>ab</sup>
F84	0.13±0.01 <sup>abc</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.34±0.01 <sup>bc</sup>	0.07±0.00 <sup>bc</sup>
G36	0.12±0.02 <sup>bc</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>	0.31±0.02 <sup>bc</sup>	0.06±0.01 <sup>bc</sup>
G37	0.13±0.01 <sup>abc</sup>	0.04±0.01 <sup>ab</sup>	0.34±0.03 <sup>b</sup>	0.07±0.02 <sup>abc</sup>
P23	0.12±0.02 <sup>bc</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	0.32±0.02 <sup>b</sup>	0.06±0.00 <sup>bc</sup>
P75	0.15±0.01 <sup>ab</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.00 <sup>a</sup>
P76	0.16±0.02 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.35±0.01 <sup>b</sup>	0.08±0.00 <sup>ab</sup>
P77	0.13±0.02 <sup>abc</sup>	0.04±0.01 <sup>ab</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>abc</sup>

本研究从砒砂岩土壤和苜蓿中筛选产生 IAA、铁载体和生物膜的芽孢杆菌,发现这 12 株芽孢杆菌可以分为 4 个类群,具有功能多样性、遗传多样性和种群多样性,为植物促生细菌资源挖掘和改良砒砂岩土壤肥力提供了丰富的菌株资源。

砒砂岩区域土壤肥力低下,植物难以生长,成为黄土高原侵蚀最剧烈、治理难度最大的地区,因此提高土壤肥力是改良砒砂岩的重要环节之一。土壤肥力包括土壤物理、化学和生物学性质,有机质、速效磷钾含量和土壤酶活性是其重要指标<sup>[18]</sup>。砒砂岩土壤有机质含量通常较低<sup>[22]</sup>。本研究中有 9 个接菌处理组显著增加了砒砂岩土壤的有机质含量(5.0%~24.7%),而对照组因为添加了以胰蛋白胍和酵母提取物为主的 LB 培养基,有机质含量增加达到 11.2 g/kg,说明添加有机质和接菌处理可以在一定时间内快速提高砒砂岩土壤的有机质含量。菌株 P75 增加土壤有机质含量的作用更显著,可能与接菌处理后可培养细菌数量和蔗糖酶活性显著增加有关,因为细胞通常富含有机质,蔗糖酶可以促进土壤有机碳转化。

砒砂岩区域的植被恢复和重建是防治水土流失的重要工程,沙棘、紫花苜蓿、柠条锦鸡儿和多年生黑麦草等植物被大量试种<sup>[22-25]</sup>,考虑到多年生黑麦草根系发达、紫花苜蓿能够固氮增肥,选作本研究的供试植物材料。在实验室条件下 *B. halotolerans* P75 菌株能够促进黑麦草和苜蓿幼苗在砒砂岩土壤中的生长,其他菌株的促生作用不显著。通常认为能够分泌 IAA 和铁载体的细菌具有良好的促生作用,但本研究中 F83 和 F84 产生较多 IAA 和铁载体,其对苜蓿和黑麦草的促生作用一般,而产生 IAA 和铁载体较少的 P75 菌株促生作用最好,由于 P75 菌株分离自生长

于砒砂岩土壤中苜蓿内,可能更适应植物。此外,植物促生芽孢杆菌 P75 对植物生长和修复砒砂岩土壤的影响也会受多种因素共同作用,其促生作用机制和改良砒砂岩的工程化应用还需进一步研究。

## 4 结论

砒砂岩地区的水土流失引起了严重的环境生态问题,其修复治理涉及化学、物理、植物、农业、生态和工程等诸多方面。植物措施在一定程度上减少水土流失,但有局限性,利用植物促生细菌强化植物修复,有望发展修复治理砒砂岩土壤的新途径。本文从内蒙古典型砒砂岩土壤和当地优势植物中筛选得到 12 株产生 IAA、铁载体和生物膜的芽孢杆菌,反映出砒砂岩土壤细菌的生物多样性。其中 *B. halotolerans* P75 菌株可以提高砒砂岩土壤的有机质含量、速效磷钾含量和可培养细菌数量,增强土壤蔗糖酶活性,还能促进苜蓿和黑麦草在砒砂岩土壤中生长,为微生物强化植物改良砒砂岩土壤提供了理论依据和生物资源。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 王愿昌,吴永红,寇权,等. 砒砂岩分布范围界定与类型区划分[J]. 中国水土保持科学,2007,5(1):14-18.
- [2] 何京丽,殷丽强,郭建英,等. 砒砂岩地区沙棘生态工程的土壤修复效果分析[J]. 国际沙棘研究与开发,2013,11(3):19-23.
- [3] Yang Fangshe, Cao Mingming, Li Huaian, et al. Simulation of sediment retention effects of the single seabuckthorn flexible dam in the Pisha Sandstone area [J]. Ecological Engineering, 2013,52(3):228-237.
- [4] 肖培青,姚文艺,刘慧. 砒砂岩地区水土流失研究进展与

- 治理途径[J]. 人民黄河, 2014, 36(10): 92-94, 109.
- [5] 毕慈芬, 徐双民, 李桂芬. 砒砂岩地区沟道沙棘植物"柔性坝"原型拦沙研究[J]. 国际沙棘研究与开发, 2003, 1(1): 6-12.
- [6] 肖培青, 姚文艺, 申震洲, 等. 黄河中游砒砂岩区抗蚀促生技术研究[J]. 中国水土保持, 2016(9): 73-75.
- [7] 姚文艺, 刘慧, 梁止水. 砒砂岩区生态恢复的新途径: 一种环境友好型抗蚀促生技术[J]. 水土保持通报, 2018, 38(4): 118-124.
- [8] 刘丹丹, 李敏, 刘润进. 我国植物根围促生细菌研究进展[J]. 生态学杂志, 2016, 35(3): 815-824.
- [9] Burd G I, Dixon D G, Glick B R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2000, 46(3): 237-245.
- [10] Yang Jungwook, Kloepper J W, Ryu C M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(1): 1-4.
- [11] 余劲聪, 何舒雅, 曾润颖, 等. 芽孢杆菌修复土壤重金属镉污染的研究进展[J]. 广东农业科学, 2016, 43(1): 73-78.
- [12] 杨丽, 燕传明, 贺卓, 等. 重金属耐性芽孢杆菌的筛选及其对辣椒吸收镉的阻控效应[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6): 1086-1093.
- [13] 庞海东, 贺卓, 燕传明, 等. 耐重金属的植物促生芽孢杆菌筛选及其强化香蒲去除 Cd 的作用[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(11): 2314-2321.
- [14] Gordon S A, Weber R P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid [J]. Plant Physiology, 1951, 26(1): 192-195.
- [15] Schwyn B, Neilands J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. Analytic Biochemistry, 1987, 160(1): 47-56.
- [16] Xi Jun, He Linyan, Huang Zhi, et al. *Bacillus qingshengii* sp. nov., a rock-weathering bacterium isolated from weathered rock surface [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2014, 64: 2473-2479.
- [17] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-276, 294-297.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Vlamakis H, Chai Yunrong, Beaugard P, et al. Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way [J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(3): 157-168.
- [20] Xu Zhihui, Zhang Ruifu, Wang Dandan, et al. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2014, 80(9): 2941-50.
- [21] 徐文静, 靳晓东, 杨秋生. 植物根际微生物的影响因素研究进展[J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 6-12.
- [22] 王浩, 杨方社, 李怀恩, 等. 沙棘柔性坝对砒砂岩沟道泥沙粒径分布及有机质影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(5): 158-163.
- [23] 卢立娜, 赵雨兴, 胡莉芳, 等. 沙棘 (*Hippophae rhamnoides*) 种植对鄂尔多斯砒砂岩地区土壤容重、孔隙度与贮水能力的影响[J]. 中国沙漠, 2015, 35(5): 1171-1176.
- [24] 刘龙, 姚云峰, 郭月峰, 等. 准格尔旗砒砂岩区三种典型造林树种蒸腾耗水研究[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(3): 124-131.
- [25] 梁止水, 吴智仁, 杨才千, 等. 基于 W-OH 的砒砂岩抗蚀促生机理研究[J]. 水利学报, 2016, 47(9): 1160-1166.

(上接第 210 页)

- [16] 张彩霞, 杨勤科, 李锐. 基于 DEM 的地形湿度指数及其应用研究进展[J]. 地理科学进展, 2005, 24(6): 116-123.
- [17] 尹超, 王艳芳, 张爱国. 基于 NDVI 的临汾市植被覆盖动态变化遥感监测研究[J]. 山西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 25(3): 125-128.
- [18] 王全喜, 孙鹏举, 刘学录, 等. 基于随机森林算法的耕地面积预测及影响因素重要性分析: 以甘肃省庆阳市为例[J]. 水土保持通报, 2018, 38(5): 341-346.
- [19] 甄亿位, 郝敏, 陆宝宏, 等. 基于随机森林的中长期降水量预测模型研究[J]. 水电能源科学, 2015, 33(6): 6-10.
- [20] Shrestha S, Kang T S, Suwal M. An ensemble model for co-seismic landslide susceptibility using GIS and random forest method[J]. ISPRS International Journal of Geo-Information, 2017, 6(11): 365.
- [21] 王运生, 谢丙炎, 万方浩, 等. ROC 曲线分析在评价入侵物种分布模型中的应用[J]. 生物多样性, 2007, 15(4): 365-372.
- [22] 刘润幸. 使用 SPSS 作多变量观察值的 ROC 曲线分析[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(9): 1151-1152.
- [23] 刘艺梁, 殷坤龙, 刘斌. 逻辑回归和人工神经网络模型在滑坡灾害空间预测中的应用[J]. 水文地质工程地质, 2010, 37(5): 92-96.