

菊芋根系分泌物改良滨海盐土的微生物机制

杨敏, 李帅, 曹慧翔, 黄婷, 李媛, 谢军伟, 赵耕毛

(南京农业大学 资源与环境科学学院/江苏省海洋生物学重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: [目的] 探究菊芋在滨海盐土改良过程中的作用机制, 分析菊芋和碱蓬根系分泌物的组分差异, 明确土壤微生态环境的变化规律, 进一步为盐土改良提供理论依据。[方法] 以种植菊芋和自然碱蓬植被为样地, 对菊芋和碱蓬的根系分泌物进行对比分析, 研究在根系分泌物作用下土壤微生物数量, 微生物量碳、氮, 微生物群落结构以及土壤酶活性的变化, 从而系统地阐明根系分泌物介导下盐土改良的微生物机制。[结果] 菊芋根际土壤中含有果糖(2.343×10^{-3} g/kg)、葡萄糖(4.235×10^{-3} g/kg)、蔗糖(2.670×10^{-3} g/kg), 分别是碱蓬根际土壤的 9.28, 1.52 和 2.43 倍。而菊芋根际与非根际中的果糖含量存在显著性差异($p < 0.05$), 其根际中含量为非根际的 12.02 倍。菊芋土壤还含有低聚果糖(蔗果三糖、蔗果四糖和蔗果五糖), 而碱蓬土壤中未检测出低聚果糖。除糖类外, 菊芋根系分泌物还含有烷烃、酚、醛、酯、有机酸、醇、酮、酰胺, 其组分较碱蓬土壤更为复杂且某些组分为菊芋特有[1-氯一十八烷、正十六烷酸、2-甲基-Z-4-十四碳烯、十二酮、(Z)-9-十八碳酰胺、苯丙酸十六烷基酯等]。功能性根系分泌物(如低聚果糖、果糖、十六烷、十八烷酸等)为根际微生物提供碳源、氮源和营养元素的同时, 使菊芋根际土壤中微生物数量显著增加($p < 0.05$), 土壤微生物量碳、氮显著高于碱蓬土壤($p < 0.05$), 其值分别是碱蓬土壤的 1.95 和 1.6 倍, 且菊芋根际的微生物量碳、氮约为非根际的 1.69 和 1.50 倍, 优势菌群(变形菌门、放线菌门、绿弯菌门、酸杆菌门)所占比重达到 90%, 土壤有益菌群(*Actinobacteria* 和 *Acidobacteria*)的相对丰度显著增加($p < 0.05$), 土壤生物活性提升。此外, 菊芋根际特有的分泌物(十六烷、烯醛等), 抑制了病原菌的生长, 优化了微生物群落结构。除过氧化氢酶外, 土壤脲酶、蔗糖酶和碱性磷酸活性显著提高($p < 0.05$), 其活性分别是碱蓬土壤的 1.83, 1.88 和 3.30 倍。[结论] 种植菊芋后, 通过根际分泌物介导, 改善土壤微生物群落结构与功能, 增加土壤酶活性, 使土壤生物活力得以整体提升, 与原生植被碱蓬相比, 降低了土壤含盐量, 起到了改良盐土的作用。

关键词: 菊芋; 根系分泌物; 盐土改良; 益生作用; 微生物区系; 土壤生物活力

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2021)06-0071-11

中图分类号: S156.4

文献参数: 杨敏, 李帅, 曹慧翔, 等. 菊芋根系分泌物改良滨海盐土的微生物机制[J]. 水土保持通报, 2021, 41(6): 71-81. DOI: 10.13961/j.cnki.stbtb.2021.06.011; Yang Min, Li Shuai, Cao Huixiang, et al. Microbial mechanism of *Helianthus tuberosus* root exudates for improving saline-alkali soil[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2021, 41(6): 71-81.

Microbial Mechanism of *Helianthus Tuberosus* Root Exudates for Improving Saline-alkali Soil

Yang Min, Li Shuai, Cao Huixiang, Huang Ting, Li Yuan, Xie Junwei, Zhao Gengmao

(College of Resources and Environmental Sciences/Jiangsu Provincial Key

Laboratory of Marine Biology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: [Objective] The mechanism of *Helianthus tuberosus* in the improvement of coastal saline soil was explored, the compositional differences of root exudates of *Helianthus tuberosus* and *Suaeda salsa* was analyzed, and the changing laws of the soil micro-ecological environment were clarified, in order to provide a theoretical basis for saline soil improvement. [Methods] The root exudates of *Helianthus tuberosus* and *Suaeda salsa* were compared and analyzed, and the changes of soil microbial quantity, microbial biomass carbon and nitrogen, microbial community structure and soil enzyme activity under the action of root exudates

收稿日期: 2021-04-18

修回日期: 2021-06-11

资助项目: 国家重点研发计划项目“滩涂增养殖技术与生态农牧化新模式”(2019YFD0900702; 2020YFD0900703); 国家自然科学基金中美联合项目(20191J006); 山东省重点研发计划(2019JZZY020614)

第一作者: 杨敏(1995—), 女(汉族), 安徽省宿州市人, 硕士研究生, 研究方向为滩涂生态学。Email: 2018103011@njau.edu.cn.

通讯作者: 赵耕毛(1975—), 男(汉族), 江苏省海门市人, 教授, 主要从事海岸带生态学和盐土农业方面的研究。Email: seawater@njau.edu.cn.

were studied, so as to systematically clarify the microbial mechanism of saline soil improvement mediated by root exudates. [Results] The rhizosphere soil of *Helianthus tuberosus* contained fructose (2.343×10^{-3} g/kg), glucose (4.235×10^{-3} g/kg), and sucrose (2.67×10^{-3} g/kg), which were 9.28, 1.52, 2.43 times of that in *Suaeda salsa* rhizosphere soil. The difference between the content of fructose in the rhizosphere and non-rhizosphere of *Helianthus tuberosus* was significant ($p < 0.05$), and the content in the rhizosphere was 12.02 times of that in the non-rhizosphere. *Helianthus tuberosus* soil also contained oligofructose (sucrose triose, sucrose tetraose and sucrose pentaose), but no fructooligosaccharides were detected in the soil of *Suaeda salsa*. In addition to sugars, *Helianthus tuberosus* root exudates also contained alkanes, phenols, aldehydes, esters, organic acids, alcohols, ketones, and amides. Its components were more complex than *Suaeda salsa* soil and some components were unique to *Helianthus tuberosus* [1-Chloro-octadecane, n-hexadecanoic acid, 2-methyl-Z-4-tetradecene, dodecane, (Z)-9-octadecyl amide, and hexadecyl phenylpropionate Esters.]. Functional root exudates (such as oligofructose, fructose, hexadecane, and octadecanoic acid.) provided carbon source, nitrogen source and nutrient elements for rhizosphere microorganisms. The number of microorganisms in the rhizosphere soil of *Helianthus tuberosus* increased significantly ($p < 0.05$), and the soil microbial biomass carbon and nitrogen were significantly higher than that in *Suaeda salsa* soil ($p < 0.05$), which were 1.95 and 1.6 times of that in *Suaeda salsa* soil, and the microbial biomass carbon and nitrogen of Jerusalem artichoke rhizosphere were about 1.69 times and 1.50 times higher than that in non-rhizosphere soil. And the dominant flora (*Proteobacteria*, *Actinomycota*, *Chloroflexum*, *Acidobacteria*) accounted for 90%. The relative abundance of soil beneficial bacteria (*Actinobacteria* and *Acidobacteria*) increased significantly, and soil biological activity was significantly improved. In addition, the unique secretions of *Helianthus tuberosus* rhizosphere (hexadecane, and enal.) inhibited the growth of pathogenic bacteria and optimized the microbial community structure. Except for catalase, the activities of soil urease, invertase and alkaline phosphate were significantly increased ($p < 0.05$), and their activities were 1.83 times, 1.88 times and 3.30 times higher than those in *Suaeda salsa* soil, respectively. [Conclusion] After planting Jerusalem artichoke, through the mediation of rhizosphere exudates, the structure and function of soil microbial community were improved, soil enzyme activity was increased, and soil biological activity was improved as a whole. Compared with the native vegetation *Suaeda salsa*, it reduces the salt content of the soil and plays a role in improving saline soil.

Keywords: *Helianthus tuberosus*; root exudates; saline soil improvement; probiotics; microbial flora; soil biological vitality

在过去几十年里,土壤盐碱化导致全球主要粮食作物减产超过 50%^[1-3]。据预测,到 2050 年,地球上 1/2 的可耕地将受到土壤盐碱化的影响^[4]。江苏滩涂面积 76.7 万 hm^2 , 占全国总面积的 1/7, 滩涂的开发和利用对江苏乃至中国都具有重大意义^[5-7]。因此,合理开发利用与有效改良盐碱地,增加作物种植面积是我国农业可持续发展的重中之重,是解决粮食供需矛盾的根本途径之一。

盐碱地改良主要包括水利、物理、化学和生物等措施^[8-9]。种植耐盐植物,是一项行之有效的盐土生态改良方法,而且还可以获得一定的经济效益^[10]。植物根系作为联系地上和地下生态系统的主要媒介,能够感应外界胁迫,并通过产生不同的分泌物进行自身调节。根系分泌物为微生物提供重要的营养和能量物质,其成分和数量影响根际微生物的种类和繁殖;根际微生物的代谢作用,直接促进根的营养吸收

和生长,也影响着根际土壤中的物质转化^[11]。甜菜、玉米、大豆的根系分泌物中氨基酸、有机酸等成分使作物土壤微生物数量、微生物量碳氮、土壤酶活性均显著增加,且不同植物分泌物含量不同,微生物活性也存在一定的差异^[12]。在抗盐碱牧草星星草的根系分泌物中含有有机酸,星星草通过根系分泌物中有机酸的作用,调节了外部土壤环境的 pH 值,以此来适应环境的变化^[13]。在小麦的生长发育过程中,根系分泌物的增加,为根际土壤中反硝化细菌的发育创造了良好的生态环境,使根际环境中反硝化细菌数明显增加;同时根系分泌物还能刺激反硝化细菌的代谢活动^[14]。研究显示,根系分泌物在抑制病原菌的生长方面也具有重要的作用,如番茄根系分泌物中咖啡酸增强了生物炭对青枯菌的吸附,抑制了青枯菌的泳动能力,减少了青枯菌数量,降低了发病率^[15]。菊芋作为广受学界关注的耐盐植物,近年来它的生态功能及

其应用价值突显了出来,主要表现在生态适应性强,耐贫瘠,耐寒,耐旱,耐盐碱,抗风沙能力强,其作为能源植物应用潜力巨大^[16]。在莱州湾滨海盐碱地进行“南芋 1 号”连作种植试验,连作 5 a 后,土壤有机质含量呈增加态势,全盐含量下降,还原糖与纤维素含量达到最大值,表明种植菊芋在盐碱地改良方面具有重要的作用^[17]。但是,随着连作年限的增长,土壤性质有所下降,盐碱地改良效果不佳。目前关于菊芋改良盐碱地的研究多集中在其生物量和生理特性等方面^[18-19],鲜有人对菊芋改良盐碱地的生物机制进行研究。为此,本研究通过菊芋种植与原生植物碱蓬对比,试图通过研究菊芋根系分泌物,阐明植物与土壤微生物的关系,揭示菊芋根系分泌物介导的盐土改良的生态学机制,为盐土改良与生境改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及保存

试验地点为南京农业大学大丰滩涂农牧化试验

与成果转化基地,位于江苏省盐城市大丰区大丰港王港新闸附近(120°45'E,33°19'N)。该地区四季分明,气温适中,雨量充沛,年平均气温为 14.1 °C,无霜期 213 d,常年降水量 1 042.2 mm,日照 2 238.9 h。研究区土壤类型为滨海盐土。供试土壤基本理化性质详见表 1。

2019 年 10 月,以菊芋和碱蓬为采样对象,二者生长时间相同,均在 10 月下旬收获,初始菊芋种植样地与碱蓬原生样地一致。野外试验样地设置 3 个重复,每个处理样地面积 60 m²(10 m×6 m),长方形样地上 S 形 5 个点上随机取样。去除表层土,收集距离根 1—2 mm 的土壤和根表面及其黏附的土壤作为根际土,距离根 1—5 cm 的土壤作为非根际土^[20-21]。将 5 个样本的根际土和非根际土各自混匀后,采用四分法取 1~2 kg 土样,去除杂质。一部分土壤样品置于-80 °C 冷冻保存,用于随后的脱氧核糖核酸提取和分析。剩余土壤样品放置阴凉处风干后,分别过 1 和 0.25 mm 筛,用于土壤理化性质分析。

表 1 供试土壤基本理化性质

指标	菊芋		碱蓬	
	根际	非根际	根际	非根际
盐分/(g·kg ⁻¹)	0.35±0.03 ^c	0.38±0.03 ^c	1.84±0.03 ^b	2.56±0.10 ^a
pH 值	7.74±0.01 ^b	7.78±0.04 ^b	7.67±0.006 ^c	8.04±0.007 ^a
有机质/(g·kg ⁻¹)	7.10±0.04 ^a	6.70±0.02 ^a	4.60±0.04 ^b	4.40±0.15 ^b
全氮/(g·kg ⁻¹)	0.58±0.004 ^a	0.44±0.013 ^b	0.34±0.007 ^c	0.28±0.012 ^d
全磷/(g·kg ⁻¹)	0.71±0.02 ^a	0.72±0.006 ^a	0.60±0.02 ^b	0.61±0.002 ^b
全钾/(g·kg ⁻¹)	8.48±0.07 ^c	8.13±0.08 ^d	12.74±0.08 ^a	12.22±0.07 ^b
碱解氮/(mg·kg ⁻¹)	19.83±1.16 ^a	17.50±2.02 ^a	5.83±1.16 ^b	4.67±1.16 ^b
有效磷/(mg·kg ⁻¹)	28.97±0.2 ^a	26.38±0.3 ^b	13.28±0.2 ^c	11.76±0.2 ^d
速效钾/(mg·kg ⁻¹)	132.5±0.76 ^c	135.3±0.17 ^b	137.3±0.44 ^a	138.5±0.5 ^a

注:不同字母代表处理间的差异显著性($p < 0.05$)。下同。

1.2 根系分泌物的组成成分的测定

(1) 土壤中单糖及低聚果糖。按照 Zheng 等^[22]的方法配置单糖和低聚果糖的标准储备液,然后用 60% 乙腈逐级稀释,配成标准品浓度为 2, 1, 0.5, 0.25, 0.1, 0.01 mg/L 的混合标准溶液,于 4 °C 冰箱贮存,备用。

称取 5 g 样品(精确至 0.01 g)置于 50 ml 离心管中,分别加入水 20 ml,涡旋混匀,超声提取 40 min 后,得到浸提液。准确移取浸提液 5 ml 于 10 ml 容量瓶中,用 60% 乙腈定容,涡旋混匀后,5 000 rpm 转速离心 10 min,吸取上清液过 0.2 μm 的滤膜,供液相色谱串联质谱仪分析^[23]。

(2) 土壤中烷烃、烯烃、芳烃、酯、醇、酮、醛、有机酸等。利用乙酸乙酯(比例 1:10)对土样进行浸提,

所得提取液过滤,经旋转蒸发仪浓缩,过 0.22 μm 滤膜后,GC-MS 测定分析,色谱和质谱分析条件参考 Wang 等^[24]的方法。

1.3 土壤微生物的测定

采用稀释平板法计数测定土壤中微生物的数量^[25]。土壤微生物量碳氮的测定参考 Brookes 等^[26]的方法。土壤微生物多样性的分析,首先称取 0.3 g 土进行基因组 DNA 抽提,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。利用引物 338 F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806 R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增,采用 20 μL 扩增体系,PCR 反应退火温度 55 °C。

PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切

胶回收 PCR 产物, Tris_HCl 洗脱; 2% 琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 Quanti-Fluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量, 构建 Miseq 文库。Miseq 测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤, 区分样本后进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析。基于 OTU 及其聚类分析结果, 可以对 OTU 进行多种多样性指数以及群落结构的进行统计分析。

1.4 土壤酶活性测定

使用北京索莱宝科技有限公司的土壤过氧化氢酶 (Soil-catalase, S-CAT)、土壤脲酶 (soil-urease, S-UE)、土壤蔗糖酶 (soil-sucrase, S-SC)、土壤碱性磷酸酶 (soil alkaline phosphatase, S-AKP/ALP) 试剂盒测定土壤酶的活性。

1.5 数据统计分析

试验数据使用 SPSS 22 及 Agilent Mass Hunter Quantitative Analysis 软件进行处理、统计, 以平均值 (Mean) 表示, 采用 Duncan 新复极差法进行显著性分析, 最终描述性统计值使用平均值 ± 标准差。并利用 Microsoft Excel 2010, Origin 2020, Qiime 1.9.1 软件等软件进行分析作图。

2 结果与分析

2.1 菊芋根系分泌物的组成

试验确定果糖 (FRU)、葡萄糖 (GLU)、蔗糖 (SUC)、蔗果三糖 (DP₃)、蔗果四糖 (DP₄) 和蔗果五糖 (DP₅) 的分子量分别为 178.9, 178.8, 341.0, 503.4, 665.3 和 827.3 m/z, 以该分子离子峰为母离子, 对其子离子进行全扫描, 获得二级质谱响应较强的子离子 (图 1)。

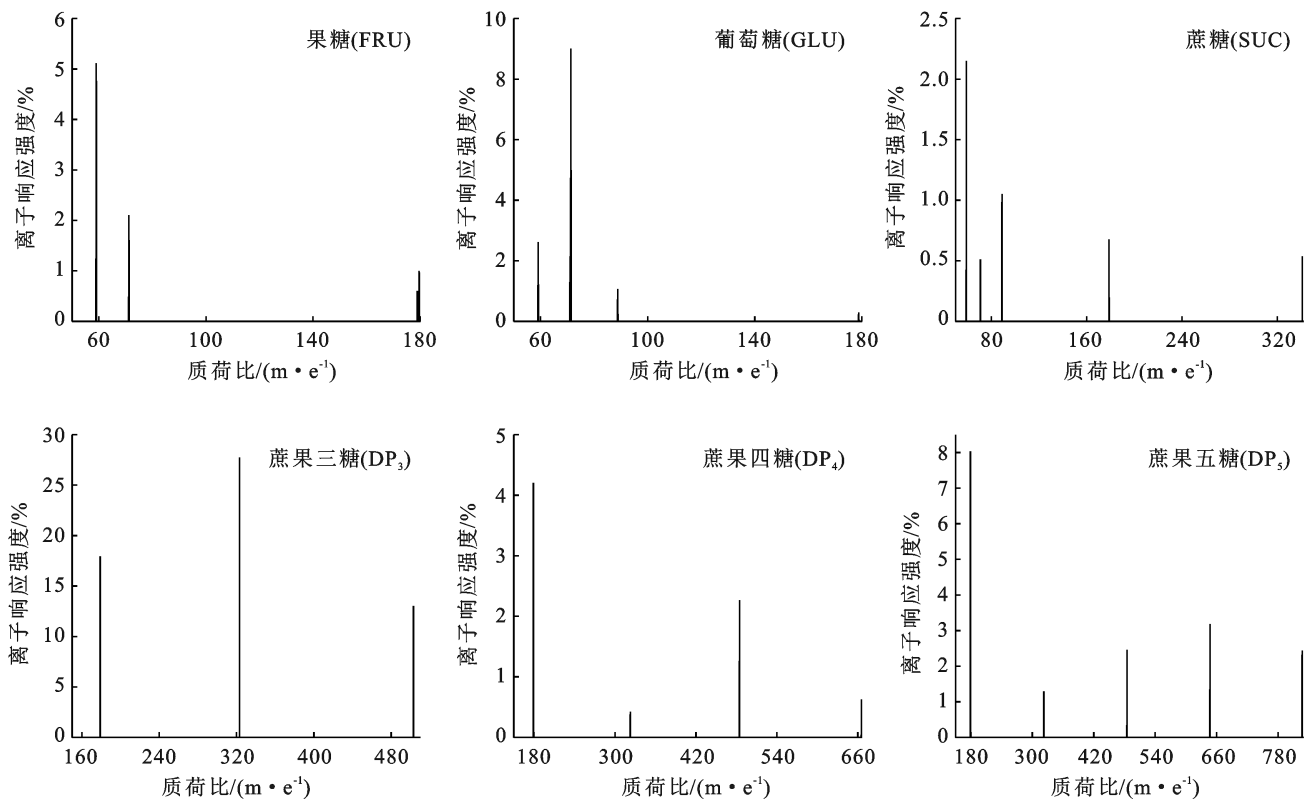


图 1 FRU, GLU, SUC, DP₃, DP₄, DP₅ 标准品的二级扫描质谱图

对每种糖的二级质谱参数如碎裂电压和碰撞能量等进行优化, 使每种糖的定性和定量离子产生的离子对强度比例达到最大值时为最佳, 得到 FRU, GLU, SUC, DP₃, DP₄ 和 DP₅ 的质谱参数 (表 2)。

不同糖类的碎裂电压和碰撞能量不同, 离子响应强度存在差异, 一般碎裂离子稳定好, 离子响应强度也会比较高。通过与标品中定性离子进行对比, 结果发现 FRU, GLU, SUC, DP₃, DP₄, DP₅ 的碎片离子在菊芋根际土壤中均存在, 菊芋非根际和碱蓬土壤中仅

含有 FRU, GLU 和 SUC 的碎片离子 (图 2)。因此, 在菊芋根际土壤中存在果糖、葡萄糖、蔗糖以及低聚果糖, 但是在菊芋非根际和碱蓬土壤中仅存在果糖、葡萄糖和蔗糖, 并没有低聚果糖。

土壤中 DP₃₋₅ 的含量低于 0.01 mg/L, 此时仪器不能自动积分, 手动积分获得的峰面积误差较大, 本试验选取含量大于 0.01 mg/L 的 FRU, GLU 及 SUC 进行定量。以峰面积为横坐标, 浓度为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程 (表 3)。

表 2 果糖、葡萄糖、蔗糖、聚合度 3~5 的菊糖的质谱参数

糖类	定量离子/(m·e ⁻¹)	定性离子/(m·e ⁻¹)	碎裂电压/V	碰撞能量/V
FRU	178.9/59	178.9/71.2 178.9/59	70	155
GLU	178.8/71	178.8/88.8 178.8/71	70	510
SUC	341/89	341/178.834 1/89	135	515
DP ₃	503.4/323.1	503.4/323.1 503.4/179	135	2 020
DP ₄	665.3/484.6	665.3/178.9 665.3/322.7 665.3/484.6	135	303 030
DP ₅	827.3/179.2	827.3/179.2 827.3/322.7 827.3/485 827.3/647.2	195	4 540 4 040

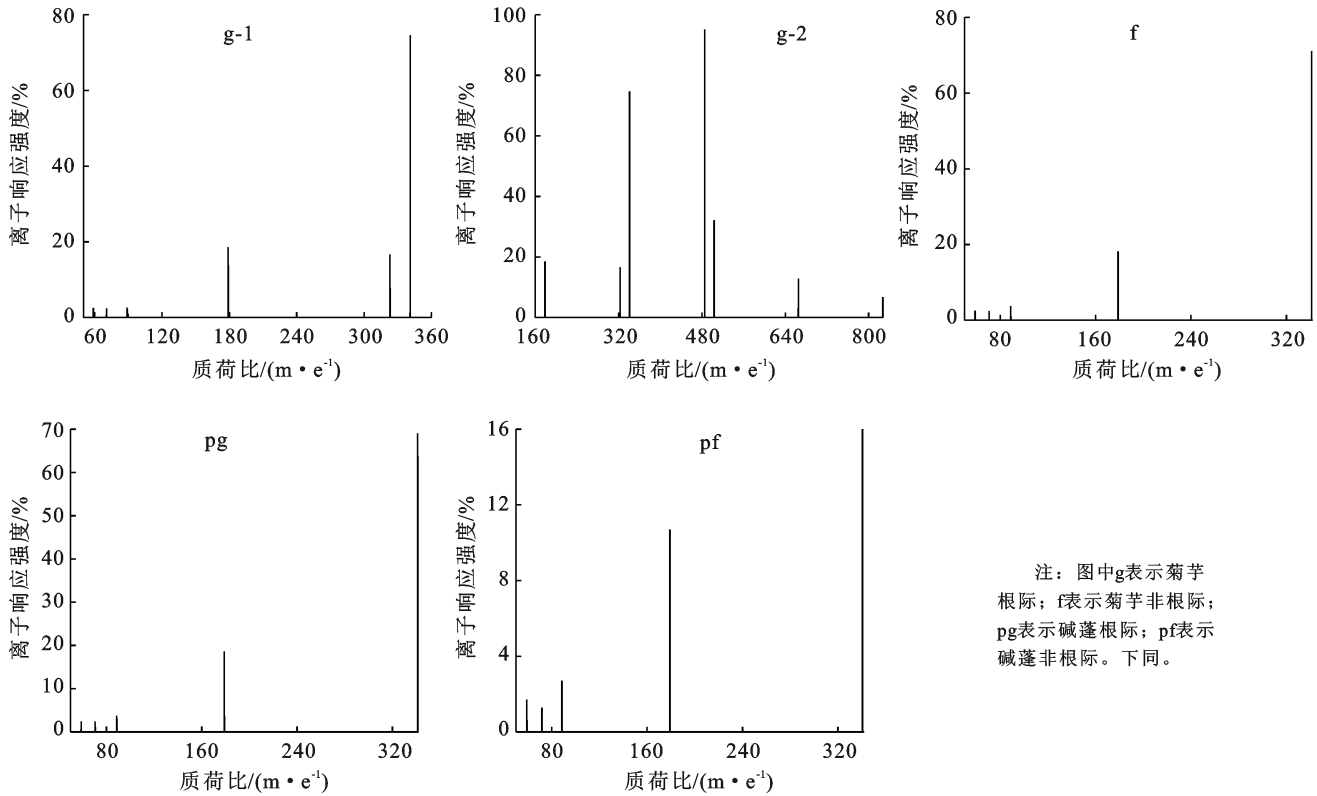


图 2 菊芋根际、菊芋非根际、碱蓬根际、碱蓬非根际的二级扫描质谱图

表 3 FRU, GLU 和 SUC 峰面积和浓度的线性回归方程及相关系数

糖类	线性方程	相关系数	保留时间/min
FRU	$y=0.998 3x-0.5761$	0.999 8	8.0
GLU	$y=0.955 6x-36.478$	0.996 2	9.5
SUC	$y=0.972 8x-16.139$	0.998 0	11.0

结果显示,菊芋土壤中的 FRU, GLU 和 SUC 含量分别为 2.343, 4.235 和 2.67 mg/kg, 均显著高于碱蓬土壤中的含量, 且菊芋根际中的糖含量显著高于非根际 ($p < 0.05$) (表 4)。其中, 以 FRU 含量的变化最明显, 菊芋根际土壤中的 FRU 含量高达 2.163 mg/kg, 约为非根际中 FRU 含量的 12 倍; 在碱蓬土壤中, 根际和非根际的 FRU 含量也存在显著性差异 ($p < 0.05$)

非根际中 FRU 含量为根际的 2.15 倍。

菊芋根系分泌物除了含有各种糖类, 还有一些小分子、易挥发的化合物, 这些物质在菊芋、碱蓬土壤中分布不均, 菊芋根际土壤相较于碱蓬土壤, 分泌物较多, 有 32 种, 包括醇 (6 种)、酚 (1 种)、醛 (3 种)、酮 (2 种)、酸 (2 种)、烃 (11 种)、酰胺 (2 种)、酯 (5 种), 菊芋非根际土壤中有 25 种, 碱蓬根际有 8 种, 非根际有 17 种 (表 5)。菊芋土壤中特有的分泌物有 23 种, 分别为 1-氯一十八烷、正十六烷酸、2-甲基-Z-4-十四碳烯、十二酮、(Z)-9-十八碳酰胺、苯丙酸十六烷基酯等; 菊芋和碱蓬共有的有 6 种, 包括 1-庚四醇、1,54-二溴四环十二烷、五氟丙酸四三烷基酯等。除 9,9-二甲氧基双环^[3.3.1]壬烷-2,4-二酮外, 碱蓬根系分泌物在菊芋土壤中均存在, 无特有的根系分泌物。

表 4 菊芋和碱蓬根际和非根际土壤中 FRU, GLU 和 SUC 的含量

mg/kg

糖类	菊芋		碱蓬	
	根际	非根际	根际	非根际
FRU	2.163+0.012 ^a	0.180+0.001 ^d	0.233+0.005 ^c	0.501+0.005 ^b
GLU	2.397+0.01 ^a	1.838+0.02 ^b	1.579+0.005 ^c	1.119+0.02 ^d
SUC	1.606+0.003 ^a	1.064+0.004 ^b	0.662+0.005 ^c	0.612+0.002 ^d

表 5 菊芋和碱蓬土壤中根系分泌物的种类变化

根系分泌物名称	菊芋		碱蓬	
	根际	非根际	根际	非根际
1,2,3,4,5-环戊烯戊醇(1,2,3,4,5-Cyclopentanepentol)	+	-	-	-
3,7,11-三甲基-1-十二烷醇(3,7,11-trimethyl-1-Dodecanol)	+	+	-	-
2-己基-1-癸醇(2-hexyl-1-Decanol)	+	+	-	-
植物醇(Phytol)	+	+	-	+
叔十六烷硫醇(tert-Hexadecanethiol)	+	-	-	-
1-庚四醇(1-Hentetracontanol)	+	+	+	+
2-丁基-1-辛醇(2-butyl-1-Octanol)	-	+	-	-
2,4-双(1,1-二甲基乙基)苯酚[2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-Phenol]	+	+	+	+
2,5-二甲基苯甲醛(2,5-dimethyl-Benzaldehyde)	+	+	-	+
(Z)-7-十六碳烯醛[(Z)-7-Hexadecenal]	+	-	-	-
(5β)-胆甾醇-3-一,环状 1,2-乙二基乙醛[(5β)-Cholestan-3-one, cyclic 1,2-ethanediylal]	+	-	-	-
正十六烷酸(n-Hexadecanoic acid)	+	+	-	-
十八烷酸(Octadecanoic acid)	+	+	-	-
八烷基叔丁基五氟丙酸(Octatriacontyl pentafluoropropionate)	-	+	+	+
庚三烷(Hentriacontane)	+	+	+	+
N 间氨基苯乙炔(N m-Aminophenylacetylene)	+	-	-	-
3,5,24-三甲基-一四孔三烷(3,5,24-trimethyl-Tetracontane)	+	+	+	+
3-三氟乙酰氧基十五烷(3-Trifluoroacetoxypentadecane)	+	-	-	-
四十三烷(Tritetracontane)	+	+	-	+
十八烷(Nonadecane)	+	+	-	+
1-氯-一十八烷(1-chloro-Octadecane)	+	-	-	-
十六烷(Hexacosane)	+	+	-	-
2-甲基-Z-4-十四碳烯(2-Methyl-Z-4-tetradecene)	+	-	-	-
1,54-二溴四环十二烷(1,54-dibromo-Tetrapentacontane)	+	+	+	+
1-十六烷(1-Hexacosene)	+	+	-	-
2,6,10-三甲基-一十二烷(2,6,10-trimethyl-Dodecane)	-	+	-	-
1-氟-一十二烷(1-fluoro-Dodecane)	-	+	-	-
1,1-双(十二烷氧基)-十六烷[1,1-bis(dodecyloxy)-Hexadecane]	-	+	-	+
十二酮(Dodecanal)	+	-	-	-
7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸-6,9-二烯-2,8-二酮[7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione]	+	-	-	-
9,9-二甲氧基双环(3,3,1)壬烷-2,4-二酮[9,9-Dimethoxybicyclo(3,3,1)nona-2,4-dione]	-	-	-	+
{3,6-二氯-2,7-双(2-二乙基氨基乙氧基)苄-9-亚烷基}氨基-2,2-二甲基丙酰胺[{3,6-dichloro-2,7-bis(2-diethylaminoethoxy)fluorene-9-alkylene}amino-2,2-dimethylpropionamide]	+	-	-	-
(Z)-9-十八碳酰胺[(Z)-9-Octadecenamide]	+	-	-	-
1-十八碳磺酰氯(1-Octadecanesulphonyl chloride)	-	+	-	-
苯丙酸十六烷基酯(Benzenepropanoic acid, hexadecyl ester)	+	-	-	-
碳酸异丁基十四烷基酯(Isobutyl tetradecyl carbonate)	+	-	-	-
邻苯二甲酸二十二烷基酯(Didodecyl phthalate)	+	-	-	-
十七烷酸十七烷基酯(Heptadecanoic acid, heptadecyl ester)	+	-	-	-
五氟丙酸四三烷基酯(Tetatriacontyl pentafluoropropionate)	+	+	+	+
环丙烷羧酸-1-羟基-(2,6-二叔丁基-4-甲基苯基)酯[Cyclopropanecarboxylicacid, 1-hydroxy-(2,6-di-t-butyl-4-methylphenyl)ester]	-	+	-	-
四氟庚酸七氟丁酸酯(Tetatriacontyl heptafluorobutyrate)	-	+	-	+
八烷基叔丁基三氟乙酸酯(Octatriacontyl trifluoroacetate)	-	+	+	+

注：“+”代表土壤中含有此分泌物；“-”代表土壤中不含此分泌物。

2.2 根系分泌物对土壤微生物生物量的影响

菊芋土壤的微生物量碳、氮明显高于碱蓬土壤,其值分别是碱蓬土壤的 1.95 和 1.6 倍,且菊芋根际的

微生物量碳、氮约为非根际的 1.69 和 1.50 倍(表 6)。菊芋根际土壤的微生物量碳氮比约为碱蓬土壤的 1.11 倍,但是并无显著性差异。

表 6 土壤微生物生物量碳氮和碳氮比

生物量	菊 芋		碱 蓬	
	根 际	非根际	根 际	非根际
MBC/(mg · kg ⁻¹)	120.30±0.02 ^a	71.11±0.01 ^b	54.52±0.10 ^c	43.85±0.06 ^d
MBN/(mg · kg ⁻¹)	23.95±0.02 ^a	15.95±0.06 ^b	12.79±0.04 ^b	12.10±0.02 ^b
MBC/MBN	5.03±0.09 ^a	4.97±0.06 ^a	4.52±0.06 ^a	3.65±0.02 ^a

2.3 根系分泌物对土壤微生物数量的影响

菊芋土壤中微生物数量均显著高于碱蓬($p < 0.05$),约为碱蓬土壤的 102~103 倍,其中以土壤细菌数量

占优势(表 7)。在菊芋根际土壤中细菌、真菌、放线菌数量显著高于非根际($p < 0.05$),其数量约为非根际的 1.13 和 2.24 倍。

表 7 菊芋和碱蓬根际土壤中的微生物数量

微生物数量	菊 芋		碱 蓬	
	根 际	非根际	根 际	非根际
细菌/(10 ⁶ CFU · g ⁻¹)	2.70±0.04 ^a	2.39±0.01 ^b	0.14±0.01 ^c	0.12±0.004 ^c
真菌/(10 ⁴ CFU · g ⁻¹)	15.5±0.08 ^a	6.93±0.22 ^b	1.34±0.02 ^c	0.84±0.008 ^c
放线菌/(10 ⁴ CFU · g ⁻¹)	14.67±0.10 ^a	5.90±0.06 ^b	1.20±0.01 ^c	0.71±0.001 ^d

2.4 根系分泌物对土壤微生物群落结构的影响

菊芋和碱蓬根际土壤的微生物组成相似,相对丰度前 10 的优势种群分别为变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、Patescibacteria 等,但是每种菌群的分布存在差异,在菊芋土壤中变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆

菌门(Acidobacteria)丰富度明显高于碱蓬,所占比重达 90%(图 3)。在这 4 个优势种群中,菊芋土壤中的放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)的相对丰度显著高于碱蓬($p < 0.05$),变形菌门(Proteobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)无显著性差异(表 8)。在菊芋土壤中存在一些特有的物种,包括硝棘菌门(Nitrospinae)、盐厌氧菌门(Halanaerobaeota)、柔膜菌门(Tenericutes)、达达菌门(Dadabacteria)、螺旋体门(Spirochaetes)(图 4)。

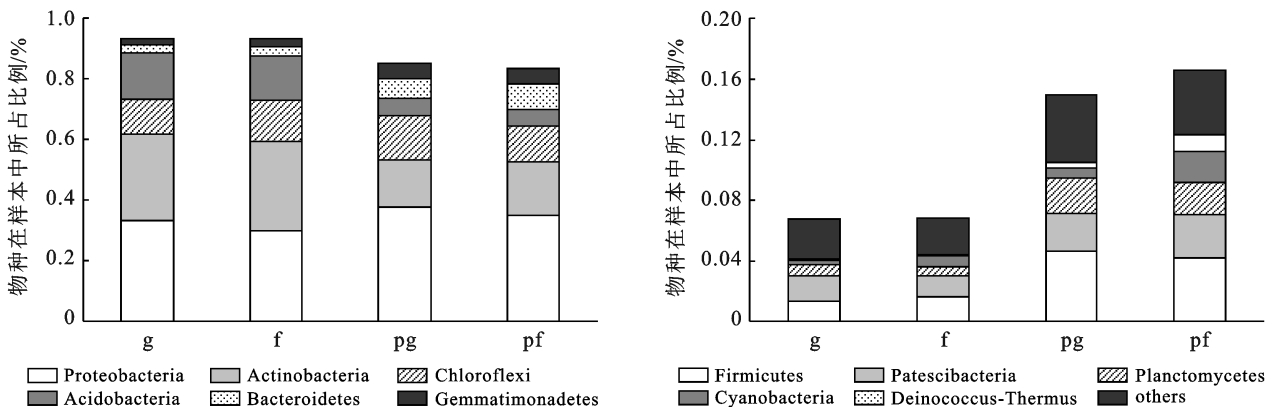


图 3 菊芋和碱蓬根际土壤的微生物门水平下的相对物种丰富度

2.5 根系分泌物对土壤酶活性的影响

菊芋土壤的蔗糖酶、脲酶及碱性磷酸酶活性均显著高于碱蓬土壤($p < 0.05$),其中菊芋根际土壤

约为碱蓬土壤的 1.97,1.86 和 2.44 倍,非根际较碱蓬土壤增加了 0.69,0.92 和 3.80 倍,但菊芋土壤过氧化氢酶活性降低,根际和非根际土壤分别降低 1.03 和

1.02 倍(图 5)。菊芋根际土壤的脲酶和蔗糖酶活性较非根际显著增加,分别为非根际土壤的 1.06 和

1.18 倍。可见连续种植 6 a 菊芋部分土壤酶活性显著增加。

表 8 菊芋和碱蓬土壤中优势功能菌群的差异显著性分析

名称	菊芋				碱蓬				P_{value}
	根际 -Mean/%	根际 -Sd/%	非根际 -Mean/%	非根际 -Sd/%	根际 -Mean/%	根际 -Sd/%	非根际 -Mean/%	非根际 -Sd/%	
Proteobacteria	33.05	8.252	29.83	4.087	37.96	3.127	34.83	0.880 3	0.183 4
Actinobacteria	28.56	1.596	29.52	1.982	15.88	1.087	17.6	0.681 5	0.028 62 *
Chloroflexi	11.74	2.837	13.56	2.407	13.97	2.195	12.1	0.555 3	0.644 4
Acidobacteria	15.22	7.345	14.66	3.888	5.977	1.322	5.323	0.5783	0.037 ⁸ 1 *
Bacteroidetes	2.439	0.479	2.989	0.179 2	6.118	0.119	8.444	0.827 9	0.021 62 *
Gemmatimonadetes	2.196	0.651	2.63	0.117 9	5.197	0.695	5.052	0.264 2	0.034 46 *
Firmicutes	1.367	0.311	1.629	0.665 7	4.803	0.849	4.199	0.427 2	0.034 46 *
Patescibacteria	1.68	0.078	1.368	0.1495	2.406	0.173	2.898	0.325 5	0.018 79 *
Planctomycetes	0.715 8	0.304	0.595 9	0.150 1	2.291	0.660	2.1	0.549 6	0.037 81 *
Cyanobacteria	0.318	0.160	0.7701	0.297 5	0.654 4	0.183	2.064	0.382	0.041 48 *

注: Mean(%)为物种在不同分组中的平均相对丰度; Sd(%)为标准差; P_{value} 为假阳性概率值,是统计学中常用的判定值,一般来说 $P_{\text{value}} < 0.05$ 时差异显著。

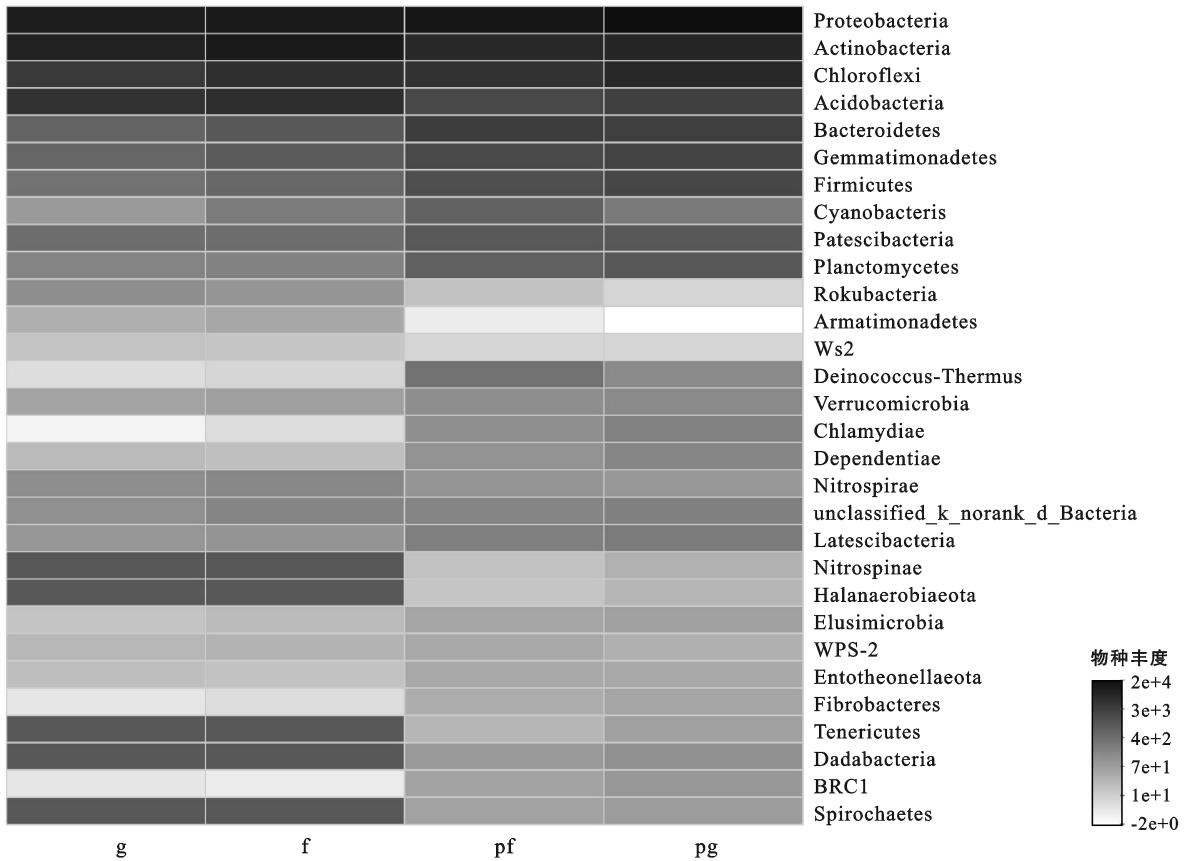


图 4 门水平下的物种 Heatmap 图

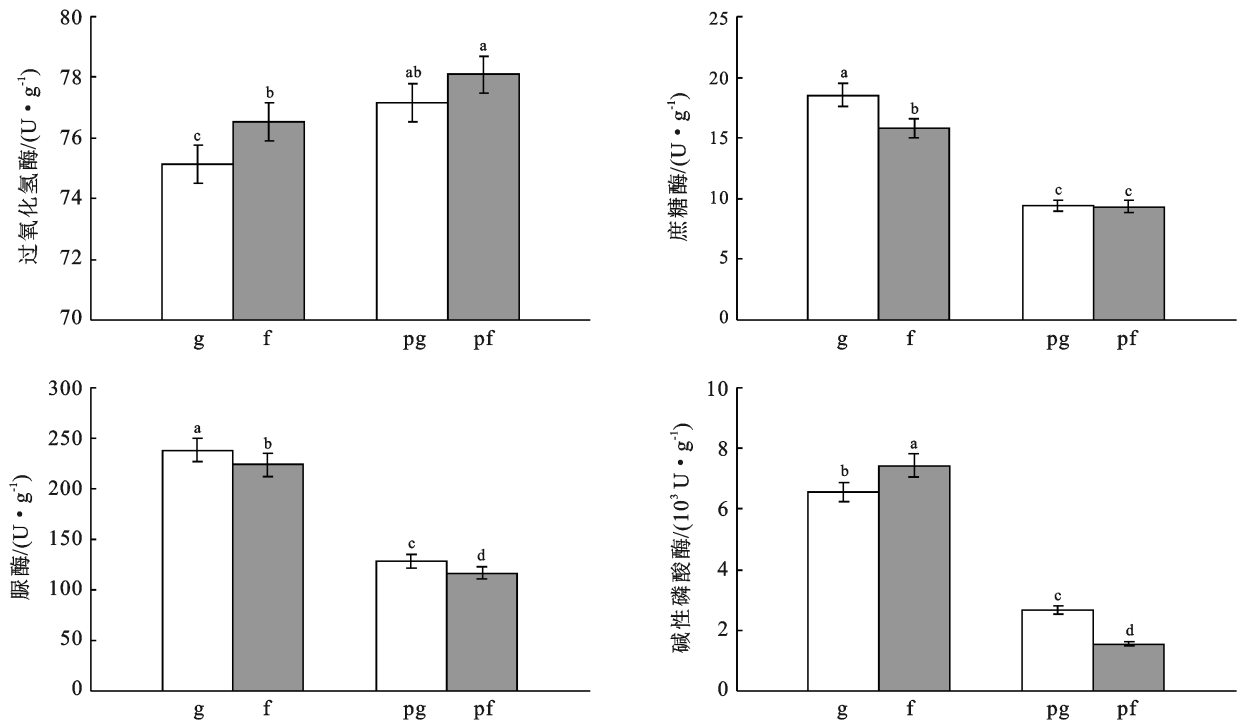
3 讨论

土壤中微生物数量巨大、种类繁多,微生物多样性影响着土壤的结构、肥力及植物的生长发育等,而

植物主要通过根际分泌物影响根际的微生物群落结构,进而提高养分利用率,改善土壤性质^[27]。本研究明确了菊芋根系分泌物的组成成分,在菊芋根际土壤中含有果糖,葡萄糖,蔗糖,蔗果三糖,蔗果四糖及蔗

果五糖,菊芋非根际和碱蓬土壤中只含有果糖,葡萄糖和蔗糖,没有低聚果糖。菊芋根际土壤中,以果糖含量变化最明显,约为碱蓬土壤的 12 倍,这是因为低聚果糖是由果糖分子聚合而成,经根系分泌到土壤中,不会长期存在,而是在各种酶(内切和外切)的作用下,会被进一步分解生成单糖,供植物微生物利用^[28-29]。在菊芋根系分泌物中还发现了正十六烷酸,

十八烷酸等各种有机酸类物质,与杨慧等的试验结果一致^[30]。除此之外,低聚果糖作为钙、镁、铁等矿物质和微量元素的活化因子,在微生物菌群(乳酸菌等)的作用下发酵也会生成有机酸^[31]。这些存在于土壤中的有机酸能够与 Ca, Fe, Al 等金属元素形成内络盐,导致周围土壤内的难溶性磷等营养物质释放,活化与稳固植物根际潜在的营养成分^[32-33]。



注:图中不同字母表示处理间差异显著 $p < 0.05$ 。

图 5 菊芋和碱蓬根际及非根际土壤的酶活性

菊芋根系分泌物种类多、含量高,分泌物中的糖类(果糖、葡萄糖、低聚果糖等)、氨基酸等,为土壤微生物提供了丰富的营养物质。分泌物经根系进入土壤中,被土壤中微生物分解利用,为根际微生物的生长和繁殖提供充足的碳源、氮源和其他一些营养元素,例如芽孢杆菌,一类好氧或兼性厌氧的革兰氏阳性细菌,能分泌多种胞外产物,包括蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶,还包括一些对碳水化合物有较强的消化能力的酶,帮助分解土壤中低聚糖类,供植物和土壤微生物利用^[34-35]。

根际分泌物的种类和数量影响土壤微生物的数量、种类以及在土壤中的分布^[36]。在根系分泌物的作用下,菊芋土壤中微生物数量及微生物生物量显著高于碱蓬,功能菌如放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)的相对丰度显著高于碱蓬。已知放线菌门大部分为腐生菌,促使土壤中的动物和植物遗骸腐烂,在自然界的氮素循环中也起着一定的

作用^[37];酸杆菌门,为嗜酸菌,是土壤中最丰富的细菌菌群之一,丰度与土壤碳含量密切相关^[38]。根系分泌物中十六烷、十三醇、苯酚等类物质,均被看作具有一定程度的化感作用,十六烷分子量较小,化学结构并不复杂,可能是菊芋根系中十六酸的还原产物,具有很强的化感作用,能够抑制病原菌的生长;苯丙酸十六烷基酯,属于酚酸类物质,它能够抑制微生物产生气体以及挥发性脂肪酸,有效的减少微生物对其生长介质的消耗^[39-40]。

土壤微生物数量的增加及生物活性的提高等,让更多的胞外酶释放到土壤中,使土壤酶活性增加。土壤酶是土壤中具有生物活性的蛋白质,它与微生物一起推动着土壤的生物化学过程,同时在物质转化过程中起重要的作用,土壤酶活性高低是土壤肥力的重要指标之一。本研究中菊芋土壤的蔗糖酶、脲酶及碱性磷酸酶活性均显著高于碱蓬,与杨生伟的研究结果一致^[41],土壤酶活性的增加促进了土壤有机化合物的

分解和矿化作用,使土壤中有效养分的含量提高,促进了植物对养分的吸收利用。过氧化氢酶活性低于碱蓬,这是因为菊芋土壤的盐分含量低于碱蓬,抑制了一些活性氧物质(过氧化物和丙二醛)的产生,使土壤的过氧化氢酶活性降低^[42]。

土壤底层和地下水中易溶性盐类随着土壤毛管水位的上升,在土壤表层逐渐积聚起来,造成盐分堆积,使土壤出现盐渍化现象^[43]。种植菊芋使土壤微生物大量繁殖,提高了土壤有机质、速效磷、碱解氮等的含量,降低了土壤pH值,改善了土壤结构,从而使毛细管水运动的速度降低和减少了水分的无效蒸发,加速淋盐、抑制返盐,降低了土壤表层盐分含量。此外,微生物分解有机物质产生的有机酸也能使土壤吸附的钙活化,加强了对土壤吸附性钠的置换作用,导致脱盐。综上所述,菊芋通过根系分泌物(低聚果糖,有机酸,酚酸等)的作用,使土壤中微生物数量、生物量显著增加,且土壤有益菌数量增多,改善了土壤微生物群落结构与功能,增加了土壤酶活性,提升了土壤生物活力,降低了土壤含盐量,达到了改良盐土的目的。

4 结论

(1) 菊芋根系分泌物较碱蓬土壤更为复杂,种类多、含量高,且含有特有的分泌物如低聚果糖(蔗果三糖、蔗果四糖和蔗果五糖)、十八烷酸、十六烷等,为土壤微生物提供了丰富的营养物质。

(2) 连年种植菊芋后,在根系分泌物的介导下土壤微生物大量繁殖,微生物总数量显著增加,生物活性明显提高,土壤有益菌群(*Actinomarinales*, *Acidobacteria*)相对丰度显著增加($p < 0.05$),土壤微生物群落结构得到优化。

(3) 菊芋根系分泌物使土壤微生物活跃,促进了脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶的活性显著增加($p < 0.05$),酶活性的提高加速了土壤中有机化合物的分解和矿化作用,提高了土壤有效养分含量,改善了盐渍土壤性质。

[参 考 文 献]

- [1] Mirjam H B, Kroes J G, Ruud P B, et al. Quantification of the impact of hydrology on agricultural production as a result of too dry, too wet or too saline conditions [J]. *Soil*, 2016, 2(3): 391-402.
- [2] Panagea I S, Daliakopoulos I N, Tsanis I K, et al. Evaluation of promising technologies for soil salinity amelioration in Timpaki(Crete): A participatory approach [J]. *Solid Earth*, 2016, 7(1): 177-190.
- [3] Yang Hui, Hu Jinxiang, Long Xiaohua, et al. Salinity altered root distribution and increased diversity of bacterial communities in the rhizosphere soil of Jerusalem artichoke [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 20687.
- [4] Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance [J]. *Planta*, 2003, 218(1): 1-14.
- [5] 王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述 [J]. *地理学报*, 2011, 66(5): 673-684.
- [6] Li Jianguo, Pu Lijie, Han Mingfang, et al. Soil salinization research in China: Advances and prospects [J]. *Journal of Geographical Sciences*, 2014, 24(5): 943-960.
- [7] Li Lianqing, Wang Dan, Liu Xiaoyu, et al. Soil organic carbon fractions and microbial community and functions under changes in vegetation: A case of vegetation succession in karst forest [J]. *Environmental Earth Sciences*, 2014, 71(8): 3727-3735.
- [8] Alvarez B, Dioselina C. Improvement of saline soils with *Vicia sativa* L. from a semiarid region [J]. *Bragantia*, 2018, 77(3): 501-509.
- [9] Banaras N, Jelte R. Improvement of saline soil productivity through farm yard manure, amendment and coated seeds for fodderbeet cultivation [J]. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2002, 1(2): 82-84.
- [10] Li Zhigang, Liu Xiaojing, Zhang Xiumei. Infiltration of melting saline ice water in soil columns: consequences on soil moisture and salt content [J]. *Agricultural Water Management*, 2008, 95(4): 498-502.
- [11] Hooper D, Lavelle P, van der Putten W, et al. Interactions between above and below ground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks [J]. *Bioscience*, 2000, 50(2): 1049-1061.
- [12] 殷博. 几种作物根系分泌物对土壤微生物的影响[D]. 黑龙江 哈尔滨: 黑龙江大学, 2009.
- [13] 郭立泉. 星星草抗碱生理适应机制的研究[D]. 吉林 长春: 东北师范大学, 2009.
- [14] 朱丽霞, 章家恩, 等. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境*, 2001, 2(1): 102-105.
- [15] 谷益安. 土壤细菌群落和根系分泌物影响番茄青枯病发生的生物学机制[D]. 江苏 南京: 南京农业大学, 2017.
- [16] 刘丹梅, 姜吉禹, 杨君. 菊芋的生态功能研究[J]. *北方园艺*, 2009(10): 140-142.
- [17] 胡涛, 刘泽鑫, 张晓, 等. 改良东北滨海盐碱地的优良作物—菊芋[J]. *农村经济与科技*, 2017, 28(11): 62-63.
- [18] Long Xiaohua, Zhao Jie, Liu Zhaopu, et al. Applying geostatistics to determine the soil quality improvement by Jerusalem artichoke in coastal saline zone [J]. *Ecological Engineering*, 2014, 70(1): 319-326.

- [19] Long Xiaohua, Shao Hongbo, Liu Ling, et al. Jerusalem artichoke: A sustainable biomass feedstock for biorefinery [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2016, 54(1):1382-1388.
- [20] Joy E J M, Broadley M R, Young S D, et al. Soil type influences crop mineral composition in Malawi [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 505(1):587-595.
- [21] Chenery S R, Izquierdo M, Marzouk E, et al. Soil plant interactions and the uptake of Pb at abandoned mining sites in the Rookhope catchment of the N. Pennines, UK; A Pb isotope study [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 433(1):547-560.
- [22] Zheng Jie, Li Gairu, Cheng Yufeng, et al. Determination of the content of oligofructose in thorn sugar by HPLC/ESI-MS method [J]. *Chinese New Drugs and Clinical Pharmacology*, 2015, 26(5):671-675.
- [23] Wang Hao, Liu Yanqin, Yang Hongmei, et al. Determination of fructose, glucose, sucrose, maltose and lactose in sugar-free food by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(6):873-876.
- [24] 王艳颖, 胡文忠, 庞坤, 马莹, 高效液相色谱-蒸发光散射法测定苹果中可溶性糖的含量 [J]. *食品与发酵工业*, 2008, 45(6):129-131.
- [25] Mo Jixian, Wang Zhigang, Wang Changhe. Comparison of common microbial quantity determination methods [J]. *Biology Teaching*, 2012, 37(1):42-43.
- [26] Brookes P C, Landman A, Pruden G, et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1985, 17(6):837-842.
- [27] 王学翠, 童晓茹, 温学森, 等. 植物与根际微生物关系的研究进展 [J]. *山东科学*, 2007(6):40-50.
- [28] 胥九兵, 王乃强, 刘宗利, 等. 菊芋资源开发利用研究进展 [J]. *精细与专用化学品*, 2012, 20(11):18-20.
- [29] Yang Wanqin, Zhong Zhangcheng, Tao Jianping, et al. The relationship between forest soil enzyme activity and plant diversity in Jinyun Mountain [J]. *Forestry Science*, 2001, 37(4):124-128.
- [30] 杨慧. 盐胁迫对菊芋根系及根际土壤主要特征影响的研究 [D]. 江苏南京: 南京农业大学, 2016.
- [31] Rao A V. Dose-response effects of inulin and oligofructose on intestinal bifidogenesis effects [J]. *The Journal of Nutrition*, 1999, 129(7):1442-1445.
- [32] Shen Jianbao, Zhang Fusao, Huang Qin, et al. Determination of organic acids in plant root exudates by high performance liquid chromatography [J]. *Pedosphere*, 1999, 8(1):45-52.
- [33] 周华君, 王校常, 吴文彬. 根系分泌物对几种难溶磷活化作用的研究 [J]. *西南农业大学学报*, 2001, 23(5):401-403.
- [34] Chikkerur J, Samanta A K, Kolte A P, et al. Production of short chain fructo-oligosaccharides from inulin of chicory root using fungal endoinulinase [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2020, 191(2):695-715.
- [35] Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, et al. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: A dose-response relationship study in healthy humans [J]. *Nutrition Journal*, 2006, 28(5):8-13.
- [36] Yuan Renwen, Liu Lin, Zhang Rui, et al. Research progress on the mechanism of interaction between plant rhizosphere exudates and soil microorganisms [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(2):26-35.
- [37] Sykes E G, Skinner F A. Actinomycetales: Characteristics and practical importance [M]. *Academic*, 1973, 24(1):339.
- [38] Liu Junjie, Sui Yueyu, Yu Zhenhua, et al. Diversity and distribution patterns of acidobacterial communities in the black soil zone of Northeast China [J]. 2016, 95(21):212-222.
- [39] Murray A H, Iason G R, Stewart C. Effect of simple phenolic compounds of heather (*Calluna vulgaris*) on rumen microbial activity in vitro [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1996, 22(8):1493-1504.
- [40] Ola A, Doda I C, Quinton J N. Can we manipulate root system architecture to control soil erosion [J]. *Soil*, 2015, 1(2):603-612.
- [41] 杨生伟. 保护地草莓连作土壤微生物区系及酶活性变化研究 [D]. 甘肃兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [42] Poulami C, Sandipan S, Rangasamy A, et al. Beneficial soil bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* OS261 augments salt tolerance and promotes red pepper plant growth [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8(1):705-713.
- [43] 张建锋, 张旭东, 周金星, 等. 世界盐碱地资源及其改良利用的基本措施 [J]. *水土保持研究*, 2005, 12(6):28-30.