

# 胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种对排土场 紫花苜蓿生长和土壤性质的影响

孔涛<sup>1</sup>, 任曦玥<sup>1</sup>, 张宇航<sup>2</sup>, 吕刚<sup>1</sup>, 郑爽<sup>1</sup>, 冯奥哲<sup>1</sup>

(1. 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院, 辽宁 阜新 123000;

2. 辽宁工程技术大学应用技术与经济管理学院, 辽宁 阜新 123000)

**摘要:** 为了明确胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌在矿区排土场复垦中的协同作用, 以矿区排土场土壤作为基质进行盆栽试验, 设置两菌单接种处理、双接种处理及对照, 其中胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌用量分别为 1.50% 和 0.25%, 测定紫花苜蓿产量指标、叶片生理指标、土壤速效养分含量和土壤微生物指标。结果表明, 接种胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌的各处理均能显著提高紫花苜蓿的产量指标, 其中以双接种处理效果最优, 将生物量和结瘤量分别比对照显著提高 110.27% 和 124.32%; 在生理指标方面, 双接种处理效果低于单接种处理, 未表现出协同作用; 在土壤养分和微生物性质方面, 单接种胶质芽孢杆菌仅显著提高土壤速效钾含量, 单接种苜蓿根瘤菌对大部分指标均有显著效果, 而双接种处理效果最佳, 土壤碱解氮、速效钾含量比对照分别显著提高 94.14% 和 84.55%, 土壤微生物指标 MBC 含量、呼吸强度、蔗糖酶、脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶活性比对照分别显著提高 204.02%, 65.86%, 212.32%, 91.87%, 30.57%, 51.87%。双接种处理对紫花苜蓿产量指标、养分和微生物指标表现出显著的协同作用。因此, 1.50% 用量胶质芽孢杆菌和 0.25% 用量苜蓿根瘤菌双接种能够有效提高排土场土壤的复垦效果, 具有协同作用, 可以作为矿区排土场复垦的高效方法。

**关键词:** 排土场; 胶质芽孢杆菌; 苜蓿根瘤菌; 双接种

**中图分类号:** S144; S963.22<sup>+</sup> 3.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1009-2242(2021)04-0321-06

**DOI:** 10.13870/j.cnki.stbcxb.2021.04.044

## Effect of Dual Inoculant of *Paenibacillus mucilaginosus* and *Rhizobium meliloti* on Alfalfa Growth and Soil Properties of Dumping in Mining Area

KONG Tao<sup>1</sup>, REN Xiyue<sup>1</sup>, ZHANG Yuhang<sup>2</sup>, LÜ Gang<sup>1</sup>, ZHENG Shuang<sup>1</sup>, FENG Aozhe<sup>1</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000;

2. School of Applied Technology and Management, Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

**Abstract:** In order to clarify the synergistic effect of *Paenibacillus mucilaginosus* and *Rhizobium meliloti* on the reclamation of dumping in mining area, the soil of dumping in the mining area was used as the substrate for a pot experiment, and the single inoculation treatments of two bacteria, dual inoculation treatments and control were set up. The dosages of *P. mucilaginosus* and *R. meliloti* in treatments were 1.50% and 0.25%, respectively. The alfalfa yield, leaf physiological indexes, soil available nutrients contents, soil microbial indexes were determined. The results showed that inoculant of *P. mucilaginosus* and/or *R. meliloti* could improve the yield of alfalfa, and dual inoculation treatment was the highest and better than the control by 110.27% and 124.32% for biomass and nodules index, respectively. As for physiological indexes, the effect of dual inoculation treatment was lower than that of single inoculation treatments, and no synergistic effect was found. In terms of soil nutrients and microbial properties, single inoculation of *P. mucilaginosus* only significantly increased the soil available potassium content, and single inoculation of *R. meliloti* had a significant effect on most indicators. Dual inoculation treatment had the best effect. It increased significantly the contents of available nitrogen and potassium of soil by 94.14% and 84.55% respectively compared with the control. The soil microbial indexes,

收稿日期: 2021-01-16

资助项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1503105); 辽宁工程技术大学学科创新团队项目(LNTU20TD-24)

第一作者: 孔涛(1981—), 男, 汉族, 陕西渭南人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事矿区生态修复研究。E-mail: kongtao2005@126.com

通信作者: 张宇航(1981—), 女, 讲师, 主要从事矿山环境工程研究。E-mail: zyhjoy@126.com

including MBC content, respiration intensity, invertase, urease, phosphatase, and catalase activities, were significantly increased by 204.02%, 65.86%, 212.32%, 91.87%, 30.57% and 51.87%, respectively. The dual inoculation treatment showed a significant synergistic effect on the alfalfa yield, soil nutrient and microbial indexes. Therefore, the dual inoculant of *P. mucilaginosus* at the dosage of 1.50% and *R. meliloti* at the dosage of 0.25% could effectively improve the soil reclamation effect of the dumping with a synergistic effect and could be used as an efficient method for the reclamation of the dumping in the mining area.

**Keywords:** dumping in mining area; *Paenibacillus mucilaginosus*; *Rhizobium meliloti*; dual inoculant

露天煤矿在开采的过程中产生的损毁地主要为排土场,一般占矿山用地的 50%以上,导致土地资源减少。因此,排土场的复垦对于提高矿区土地利用率和生物生产力意义重大。我国目前的排土场复垦以工程措施为主,在此基础上进行化学改良和生物改良。在工程复垦过程中,排土场表层土壤经过机械压实,土壤孔隙度变小,团粒结构受到破坏,同时土壤有机质含量降低,土壤养分极度缺乏,严重影响植物的生长<sup>[1]</sup>。因此,需要对工程复垦后的排土场土壤进一步进行复垦改良。目前,微生物复垦技术已成为矿区复垦研究的热点。应用较多的微生物复垦技术包括丛枝菌根真菌技术<sup>[2]</sup>、木霉菌技术<sup>[3]</sup>和菌肥技术等<sup>[4-5]</sup>。

芽孢杆菌和根瘤菌是农业生产中常用的菌种。芽孢杆菌能够释放土壤难溶性钾,提升土壤肥力,同时分泌有机酸、氨基酸、激素等物质,促进植物生长<sup>[6]</sup>。根瘤菌通过与豆科植物的根系共生结瘤,促进根系固氮,提升植物生物量。然而,根瘤菌存在环境稳定性差、占瘤率低、接种效果低等问题,人们通过将根瘤菌与根际促生菌双接种处理来提高豆科植物结瘤率和接种效果。李馨园等<sup>[7]</sup>研究认为,芽孢杆菌与根瘤菌能够互利共生,双接种后提高豆科植物光合能力,增加产量;刘丽等<sup>[8]</sup>和马鸣超等<sup>[9]</sup>将芽孢杆菌与根瘤菌接种于大豆根部发现,双接种能够显著增加大豆结瘤率,提高土壤肥力和酶活性,有利于土壤由真菌型向细菌型的良性转变,效果显著高于单接种处理。上述研究的接种方式为菌液拌种,双接种总用量为每千克种子需 100~300 mL 菌液。也有研究<sup>[10-11]</sup>将菌液浇灌于盆栽土壤的方式进行双接种,总用量为土壤质量的 1.0%~3.0%。芽孢杆菌与根瘤菌双接种目前仅在农田中进行了研究。在矿区排土场的复垦中,芽孢杆菌与根瘤菌双接种对复垦效果的研究尚未见报道。因此,开展芽孢杆菌和根瘤菌双接种对排土场复垦效果的研究对开发矿区复垦适用的功能复合型生物菌剂具有重要应用前景和推广价值。本研究将芽孢杆菌与根瘤菌进行双接种,应用于矿区排土场中,测定双接种对排土场土壤养分和微生物性质的影响效果,为排土场的微生物复垦提供一种新的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤采自辽宁阜新市海州露天矿排土场的表层土壤(0—20 cm),筛除植物根系、砾石等杂物,风干过 2 mm 筛,供盆栽试验用。该土壤理化性质较差,pH 5.75,容重 1.21 g/cm<sup>3</sup>,毛管孔隙度、非毛管孔隙度、总孔隙度分别为 39.45%,11.56%,51.01%,含水率 10.99%,有机质含量为 5.10 g/kg,碱解氮、有效磷、速效钾含量分别为 92.2,23.3,176.0 mg/kg。胶质芽孢杆菌(*Paenibacillus mucilaginosus*)和苜蓿根瘤菌(*Rhizobium meliloti*)均为辽宁工程技术大学环境生态工程实验室筛选获得的优良菌株,通过发酵方式获得苜蓿根瘤菌悬液( $9.5 \times 10^9$  mL)和根瘤菌悬液( $1.2 \times 10^{10}$  mL),接种方式为菌株发酵液浇施。宿主植物紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.),为豆科多年生草本植物,是重要的栽培牧草,购自北京圣凯华农有限公司,品种名称为“甘农三号”。

### 1.2 试验设计

本研究通过盆栽试验进行。试验所用花盆上口径 10 cm,底径 7 cm,高度 8 cm。每盆装入 250 g 风干后的排土场土壤。浇水后,撒入 50 粒紫花苜蓿种子。待紫花苜蓿长至 2 cm 高时,每盆间苗至 20 株。根据前期研究结果,在本研究中,胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌的用量分别选择为 1.50%和 0.25%(菌悬液体积与土壤质量的比例)。设置 4 个处理,分别为对照(CK)、单接种芽孢杆菌、单接种根瘤菌、芽孢杆菌与根瘤菌双接种,每个处理均设置 3 次重复。盆栽试验于温室中进行,培养 120 天后收获,测定植物的株高、根长、生物量、结瘤数等植物产量指标和土壤养分指标和酶活性指标。

### 1.3 指标测定

土壤理化性质和土壤呼吸强度根据《土壤农化分析》<sup>[12]</sup>的方法进行测定。碱解氮含量采用扩散法测定;有效磷含量采用 NaHCO<sub>3</sub> 浸提—钼锑抗比色法测定;速效钾含量采用 NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COOH 浸提—火焰分光光度法测定;土壤呼吸强度采用培养—氢氧化钠吸收法测定;土壤微生物量碳采用熏蒸浸提法<sup>[13]</sup>测定;土壤酶活性采用《土壤酶及其研究方法》<sup>[14]</sup>进行

测定,其中,磷酸酶(PH)活性采用对硝基苯磷酸盐法测定,蔗糖酶(AM)活性采用二硝基水杨酸比色法测定,脲酶(UR)活性采用次氯酸钠比色法测定,过氧化氢酶(CA)活性采用容量法测定。

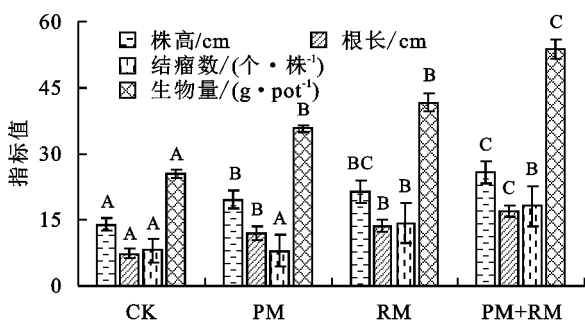
#### 1.4 数据分析

采用 Excel 和 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析,其中差异显著性( $P < 0.05$ )采用单因素方差 ANOVA 法分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 双接种对排土场紫花苜蓿产量的影响

从图 1 可以看出,胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌单接种处理均显著提高紫花苜蓿的株高、根长和生物量,比对照分别显著提高 40.65%, 61.96%, 40.00% 和 52.97%, 85.46%, 63.14%。对于紫花苜蓿根瘤数量而言,单接种胶质芽孢杆菌处理与对照无显著差异,单接种苜蓿根瘤菌处理比对照显著提高 77.30%。苜蓿根瘤菌单接种处理对紫花苜蓿产量指标的提升效果高于胶质芽孢杆菌处理,两者在株高、根长、生物量指标上差异不显著,在结瘤数上差异显著。胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种处理进一步提高紫花苜蓿产量指标,相比于对照,株高、根长、生物量和结瘤数分别显著提高 84.09%, 130.30%, 110.27%, 124.32%。双接种处理比胶质芽孢杆菌单接种处理的株高、根长、生物量、结瘤数 4 个产量指标均分别显著提高 30.89%, 42.20%, 50.20%, 127.42%, 比苜蓿根瘤菌单接种处理的根长、生物量指标显著提高 24.18% 和 28.89%, 而在株高、结瘤数上差异不显著。表明胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌在紫花苜蓿的根长、生物量的提高上具有明显协同作用。



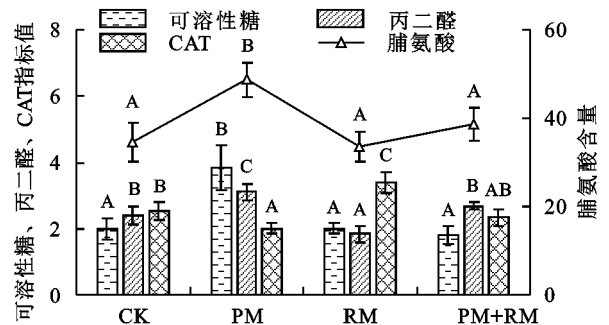
注:图中不同字母表示各处理间差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

图 1 芽孢杆菌(PM)与根瘤菌(RM)双接种对紫花苜蓿株高、根长、生物量、结瘤数的影响

### 2.2 双接种对紫花苜蓿生理性质的影响

与对照相比,单接种胶质芽孢杆菌显著提高紫花苜蓿植株可溶性糖、脯氨酸和丙二醛含量,分别提高 94.92%, 40.85% 和 28.63%, 显著降低过氧化氢酶(CAT)活性 20.55%;单接种苜蓿根瘤菌显著提高过氧化氢酶活性 33.60%, 丙二醛含量比对照显著降低

23.65%, 可溶性糖、脯氨酸含量相比于对照没有显著差异(图 2)。植物可溶性糖、脯氨酸含量与细胞渗透压调节相关,而过氧化氢酶活性、丙二醛含量则与植物抗氧化性质相关。可以看出,两菌单接种处理相比较,在提高植物渗透压方面,单接种胶质芽孢杆菌效果优于单接种苜蓿根瘤菌,在提高植物抗氧化性方面,单接种苜蓿根瘤菌效果优于单接种芽孢杆菌。胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌双接种处理下的 4 种植物生理指标均与对照无显著差异。与两菌单接种处理相比,双接种处理下的植物可溶性糖、脯氨酸、丙二醛含量显著低于胶质芽孢杆菌单接种处理,分别降低 52.86%, 20.64%, 13.55%, 双接种处理的此 3 个生理指标与苜蓿根瘤菌单接种处理无显著差异。双接种处理的过氧化氢酶活性规律与上述指标相反,显著低于苜蓿根瘤菌单接种处理,降低 31.07%, 而与胶质芽孢杆菌单接种处理差异不显著。表明胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌对苜蓿的生理指标没有协同作用。



注:可溶性糖单位为 mg/g; 丙二醛单位为  $\mu\text{mol/g}$ ; CAT 单位为 U/g; 脯氨酸单位为  $\mu\text{g/g}$ 。

图 2 胶质芽孢杆菌(PM)与苜蓿根瘤菌(BM)双接种对紫花苜蓿可溶性糖、脯氨酸、丙二醛含量和过氧化氢酶(CAT)活性的影响

### 2.3 双接种对排土场土壤养分含量的影响

单接种胶质芽孢杆菌处理相比于对照,土壤速效钾含量显著提高 43.09%, 而土壤碱解氮、有效磷含量与对照差异不显著(图 3)。单接种苜蓿根瘤菌的养分效果与单接种胶质芽孢杆菌相反,土壤碱解氮、有效磷含量显著高于对照,分别提高 47.72% 和 37.11%, 土壤速效钾含量则与对照差异不显著。两菌单接种处理之间在土壤碱解氮和有效磷含量方面,单接种苜蓿根瘤菌处理显著高于单接种胶质芽孢杆菌处理,在土壤速效钾含量方面则相反,单接种胶质芽孢杆菌处理显著高于单接种苜蓿根瘤菌处理。双接种处理则进一步提高土壤碱解氮和速效钾含量,比对照分别显著提高 94.14% 和 84.55%, 比胶质芽孢杆菌单接种处理分别显著提高 113.10% 和 28.98%, 比苜蓿根瘤菌单接种处理分别显著提高 31.42% 和 71.97%。双接种处理未能显著提高土壤有效磷含量,与对照差异不显著,与两菌单接种处理差异也不显著,表明胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌

对于土壤碱解氮和速效钾含量的提升存在显著的协同作用,而在排土场土壤有效磷含量的提高方面,胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌之间没有协同作用。

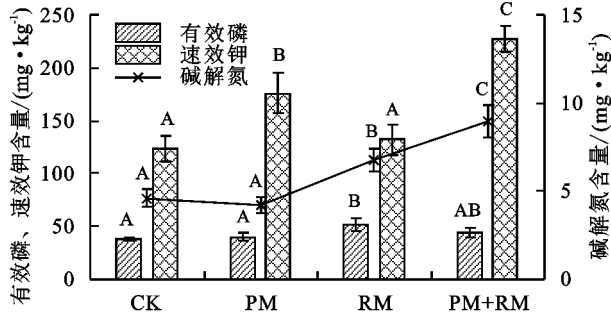


图 3 胶质芽孢杆菌 (PM) 与苜蓿根瘤菌 (RM) 双接种对排土场土壤碱解氮、有效磷和速效钾含量的影响

## 2.4 双接种对排土场土壤微生物性质的影响

2.4.1 土壤微生物量碳和土壤呼吸强度 单接种胶质芽孢杆菌处理与对照相比,土壤微生物量碳 (MBC) 和土壤呼吸强度有所提高,但差异不显著 (图 4)。而单接种苜蓿根瘤菌处理比对照显著提高 MBC 和土壤呼吸强度,分别提高 109.37% 和 27.62%。两菌单接种之间进行比较,单接种苜蓿根瘤菌处理的土壤 MBC 显著高于单接种胶质芽孢杆菌处理,而对于土壤呼吸强度而言,两菌单接种处理之间没有显著差异。两菌双接种处理进一步提高土壤 MBC 含量和土壤呼吸强度,比对照分别提高 204.02% 和 65.86%。两菌双接种处理下的土壤 MBC 比单接种胶质芽孢杆菌和单接种苜蓿根瘤菌处理分别显著提高 152.83% 和 45.22%,土壤呼吸强度比两菌单接种分别显著提高 49.13% 和 29.96%,表明胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌之间对土壤 MBC 和呼吸强度的提升具有协同作用。

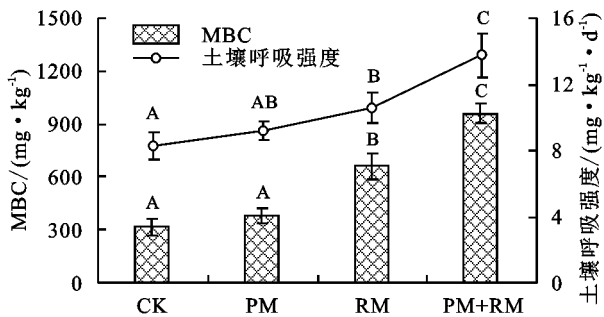


图 4 胶质芽孢杆菌 (PM) 与苜蓿根瘤菌 (RM) 双接种对排土场土壤 MBC 含量和土壤呼吸强度的影响

2.4.2 土壤酶活性 从图 5 可以看出,胶质芽孢杆菌单接种处理下的 4 种土壤酶活性与对照相比均没有显著差异,而苜蓿根瘤菌单接种处理则显著提高土壤蔗糖酶、脲酶和磷酸酶活性,比对照分别显著提高 110.48%, 46.98% 和 72.75%,土壤过氧化氢酶活性变化不显著。单接种处理之间进行比较,在蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性上,单接种苜蓿根瘤菌处理均显著

高于单接种胶质芽孢杆菌处理,而对于过氧化氢酶活性,两菌单接种之间无显著差异。双接种处理下的土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶活性均显著高于对照,分别提高 212.32%, 91.87%, 30.57% 和 51.87%,其中土壤蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶活性均显著高于 2 种单接种处理,比胶质芽孢杆菌单接种处理分别提高 190.98%, 86.90%, 38.54%, 比苜蓿根瘤菌单接种处理分别提高 48.39%, 30.54%, 53.51%。双接种处理下的土壤磷酸酶活性值介于 2 种单接种处理之间,且差异显著,表明胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌之间在提高土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶活性存在显著的协同作用,对土壤磷酸酶活性则不存在协同作用。

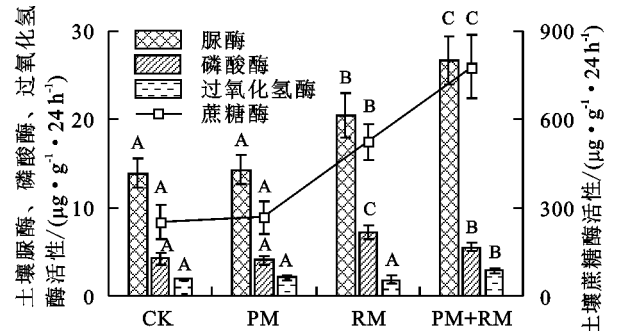


图 5 胶质芽孢杆菌 (PM) 与苜蓿根瘤菌 (RM) 双接种对排土场土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性的影响

## 3 讨论

### 3.1 植物产量指标和生理性质

胶质芽孢杆菌是一种植物根际促生菌 (PGPR), 可分解矿物, 促进钾素释放, 自身也可分泌激素等物质刺激植物生长。苜蓿根瘤菌与豆科植物共生结瘤, 而根瘤能够固定大气中的氮素, 转化为自身的蛋白质, 促进植物生长。基于上述原因, 本研究中的胶质芽孢杆菌和苜蓿根瘤菌的单接种处理均显著提高豆科植物紫花苜蓿的产量指标, 其中根瘤菌单接种处理还显著提高紫花苜蓿的结瘤数量, 与王涛等<sup>[15]</sup> 和 杨何宝等<sup>[16]</sup> 的研究结果一致。胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种对紫花苜蓿的产量指标具有显著的协同作用, 表明 2 种菌之间存在互利共生关系, 原因在于胶质芽孢杆菌的代谢产物胞外多糖促进根瘤菌的结瘤率<sup>[17]</sup>, 进而促进紫花苜蓿生长。学者们在芽孢杆菌与根瘤菌双接种的促产效果上进行了研究, 在大豆<sup>[8-9]</sup>、鹰嘴豆<sup>[17]</sup>、云扁豆<sup>[18]</sup>、小扁豆<sup>[19]</sup> 的产量指标上均具有协同作用, 支持本研究的结论, 即双接种处理相比于对照, 对生物量的提升在 10%~65% 范围内, 远低于本研究 110% 的提升效果, 原因估计在于双接种处理的土壤不同, 上述学者处理的土壤属于普

通的农田土,而本研究的土壤属于排土场土壤,土壤质量较差,在芽孢杆菌和根瘤菌双接种处理后,更易呈现较好的效果。

在植物生理指标方面,可溶性糖和脯氨酸是植物细胞渗透调节的重要物质,逆境条件下,植物可通过积累可溶性糖和脯氨酸来提高细胞内渗透压,稳定酶分子活性构象,增强植物适应环境的能力<sup>[20]</sup>。植物过氧化氢酶活性、丙二醛含量与植物抗氧化能力密切相关。丙二醛是细胞膜脂过氧化产物,能够破坏细胞膜结构,而过氧化氢酶活性能催化细胞内的过氧化氢分解,防止过氧化,是生物防御系统的关键酶。单接种胶质芽孢杆菌显著提高紫花苜蓿叶片的可溶性糖和脯氨酸含量,表明胶质芽孢杆菌通过调节细胞渗透压来提高紫花苜蓿的抗逆性,可以让紫花苜蓿在矿区的逆境环境下生存。单接种苜蓿根瘤菌则恰好相反,显著提高叶片过氧化氢酶活性,降低丙二醛含量,表明根瘤菌通过提高植物的抗氧化能力来提高紫花苜蓿的抗逆性。胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种处理在紫花苜蓿生理指标上未表现出协同作用,原因在于 2 种菌对于过氧化氢酶活性和丙二醛含量的作用效果恰好相反,芽孢杆菌增加膜脂过氧化,而根瘤菌降低膜脂过氧化,因此双接种后 2 种菌的作用相互抵消,进而影响到其他生理性质,没有产生协同效果。Larimer 等<sup>[21]</sup>研究发现,并非所有的双接种都对植物生理具有协同作用,主要取决于生物与非生物环境,其研究支持了本研究结果。

### 3.2 土壤养分和微生物性质

胶质芽孢杆菌对土壤中云母和长石等含钾的硅酸盐矿石具有较强的分解能力,因而导致本研究中单接种胶质芽孢杆菌处理下的土壤速效钾含量显著提高,但该处理未能显著提高土壤微生物量、呼吸强度和酶活性,表明胶质芽孢杆菌未能明显提高土壤的生物活性和土壤肥力水平。陈雪丽等<sup>[22]</sup>和曾庆宾等<sup>[23]</sup>分别研究胶质芽孢杆菌对土壤微生物群落结构和土壤酶活性的影响表明,施用胶质芽孢杆菌对土壤微生物和酶活性没有明显的影响,这与本研究结果是一致的。根瘤菌是一类分布较广泛的土壤细菌,苜蓿根瘤菌能够定殖在紫花苜蓿的根部,可改变植物的次级代谢产物,促使植物根部分增加有机酸的分泌量,而有机酸的增加会对土壤养分起到解离作用。因而,导致单接种苜蓿根瘤菌处理下土壤碱解氮和有效磷含量的显著提高,同时也显著提高土壤 MBC、土壤呼吸强度以及土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性,表明苜蓿根瘤菌在矿区排土场土壤生物活性的提升方面具有

显著的效果,这与众多学者<sup>[24-28]</sup>的研究结果一致。胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种处理对土壤养分含量和土壤微生物性质含量的提升上具有显著的协同作用,原因在于根瘤菌能够促进豆科植物根部分泌类黄酮<sup>[29]</sup>,而类黄酮有利于芽孢杆菌孢子萌发,同时根瘤菌自身还能分泌低分子量有机酸,可以作为土壤微生物的能量,促进土壤微生物性质的提升,进而提高养分含量。学者们<sup>[8-9,17]</sup>研究了芽孢杆菌与根瘤菌双接种对土壤养分、土壤微生物数量和酶活性的影响表明,双接种处理的土壤微生物数量和酶活性高于或显著高于单菌接种处理,具有一定的协同作用,支持本研究结果。胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种的协同效果直接影响土壤微生物群落结构、土壤微生物量和酶活性外,并通过改变土壤的化学成分而影响土壤肥力,进而影响地上植被的生长状况及植物生理性质。

通过上述分析可以看出,胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种对排土场紫花苜蓿产量和土壤性质的提高效果显著,在接下来的试验中以本研究结果的菌种用量为依据,设计现场应用的合理用量水平,为复合接种微生物技术应用于露天矿排土场土地复垦奠定理论基础,提供数据参考。

## 4 结论

(1)单接种胶质芽孢杆菌能够显著提高紫花苜蓿的株高、根长、生物量和叶片可溶性糖、脯氨酸含量,显著提高排土场土壤的速效钾含量,对土壤微生物性质提高效果不显著。

(2)单接种苜蓿根瘤菌能够显著提高紫花苜蓿的株高、根长、生物量、结瘤数,显著提高排土场土壤的碱解氮、有效磷含量,显著提高土壤 MBC、呼吸强度和蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性。

(3)胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种,对紫花苜蓿的株高、根长、生物量、结瘤数、排土场土壤碱解氮、速效钾含量、土壤 MBC、呼吸强度以及蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶活性具有显著的协同作用,对叶片生理指标未表现出协同作用。

(4)综合来说,单接种苜蓿根瘤菌对排土场复垦的效果优于单接种胶质芽孢杆菌,而 1.5% 胶质芽孢杆菌与 0.25% 苜蓿根瘤菌双接种处理相比,单接种显著提高排土场的土壤熟化程度和复垦效果,具有较好的协同作用。

### 参考文献:

- [1] 郭义强,罗明,王军.中德典型露天煤矿排土场土地复垦技术对比研究[J].中国矿业,2016,25(2):63-68.

- [2] 毕银丽.丛枝菌根真菌在煤矿区沉陷地生态修复应用研究进展[J].菌物学报,2017,36(7):16-22.
- [3] 孔涛,黄舒漫,梁冰,等.木霉菌对煤矸石分解和绿化效果的影响[J].煤炭学报,2018,43(11):3204-3211.
- [4] 珊丹,何京丽,邢恩德,等.微生物菌肥对草原矿区排土场土壤微生物与土壤酶活性的影响[J].水土保持通报,2017,37(3):81-85.
- [5] 毛骁,孙保平,张建锋,等.微生物菌肥对干旱矿区土壤的改良效果[J].水土保持学报,2019,33(2):203-208.
- [6] 刘五星,徐旭士,杨启银,等.胶质芽孢杆菌对土壤矿物的分解作用及机理研究[J].土壤,2004,36(5):547-550.
- [7] 李馨园,王守义,王淑荣,等.根瘤菌配施胶质类芽孢杆菌对大豆叶绿素荧光特性、产量及品质的影响[J].大豆科学,2014,33(4):541-544,549.
- [8] 刘丽,马鸣超,姜昕,等.根瘤菌与促生菌双接种对大豆生长和土壤酶活的影响[J].植物营养与肥料学报,2015,21(3):644-654.
- [9] 马鸣超,刘丽,姜昕,等.胶质类芽孢杆菌与慢生大豆根瘤菌复合接种效果评价[J].中国农业科学,2015,48(18):3600-3611.
- [10] 刘磊.根瘤菌与促生菌双接种对铜污染土壤螯合诱导植物修复的影响[D].陕西 杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [11] 高亚敏.AM菌根真菌、PGPR促生菌与根瘤菌的互作研究[D].兰州:甘肃农业大学,2019.
- [12] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2016.
- [13] 吴金水,林启美,黄巧云,等.土壤微生物生物量测定方法及其应用[M].北京:气象出版社,2011.
- [14] 关荫松.土壤酶及其研究方法[M].北京:中国农业出版社,1986.
- [15] 王涛,杨怡钧,邓琳,等.不同固体微生物菌剂对砒砂岩土壤性质和紫花苜蓿生长的影响[J].农业工程学报,2020,36(8):96-102.
- [16] 杨何宝,李继泉,王俊娟,等.施肥和苜蓿接种根瘤菌对苜蓿生长及铁尾矿砂基质理化性质的影响[J].草业学报,2016,25(2):68-76.
- [17] Saadia L, Zineb F B, Zoulikha B, et al. Impact of single and co-inoculations with Rhizobial and PGPR isolates on chickpea (*Cicer arietinum*) in cereal-growing zone soil[J]. Journal of Plant Nutrition, 2017, 40(11): 1616-1626.
- [18] Korir H, Mungai N W, Thuita M, et al. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus Soil[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8(1): 1-10.
- [19] Zafarulhye M, Ahmad M, Shahzad S M. Short communication synergistic effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on the growth and nodulation of lentil seedlings under axenic conditions [J]. Soil and Environment, 2013, 32(1): 79-86.
- [20] Yang C W, Chong J N, Li C Y, et al. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions [J]. Plant and Soil, 2007, 294(2): 263-276.
- [21] Larimer A L, Clay K, Bever J D. Synergism and context dependency of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia with a prairie legume [J]. Ecology, 2016, 95(4): 1045-1054.
- [22] 陈雪丽,王光华,金剑,等.两株芽孢杆菌对黄瓜和番茄根际土壤微生物群落结构影响[J].生态学杂志,2008,27(11):1895-1900.
- [23] 曾庆宾,李涛,王昌全,等.微生物菌剂对烤烟根际土壤脲酶和过氧化氢酶活性的影响[J].中国农学通报,2016,32(22):46-50.
- [24] 任豫霜,朱丹,姜伟,等.酸性土壤中接种耐酸根瘤菌对豆科植物根际微生态的影响[J].植物营养与肥料学报,2017,23(4):1077-1088.
- [25] 王俊娟,杨何宝,王薇,等.苜蓿接种根瘤菌和施肥对铁尾矿砂基质改良效果的影响[J].水土保持学报,2016,30(1):272-277.
- [26] Ju W L, Jin X L, Liu L, et al. Rhizobacteria inoculation benefits nutrient availability for phytostabilization in copper contaminated soil: Drivers from bacterial community structures in rhizosphere [J/OL]. Applied Soil Ecology, 2020, 150. DOI: 10.1016/j.apsoil.2019.103450.
- [27] Jaborova D, Wirth S, Kannepalli A, et al. Co-inoculation of rhizobacteria and biochar application improves growth and nutrients in soybean and enriches soil nutrients and enzymes [J/OL]. Agronomy, 2020, 10(8): 1142. DOI:10.3390/agronomy10081142.
- [28] 何国兴,宋建超,温雅洁,等.不同根瘤菌肥对紫花苜蓿生产力及土壤肥力的综合影响[J].草业学报,2020,29(5):112-123.
- [29] Abdel-Lateif K, Bogusz D, Hoche V. The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbioses with arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia and Frankia bacteria [J]. Plant Signaling and Behavior, 2012, 7(6): 636-641.