



doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.22444

干旱胁迫条件下菌剂对土壤微生物性质和紫花苜蓿生理性质的影响

王翼翔¹, 孔 涛^{1*}, 孙溥璠², 黄丽华¹, 张 开¹

(1. 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院, 辽宁 阜新 123000;
2. 辽宁聚润建设工程咨询有限公司, 辽宁 沈阳 110136)

摘 要: 干旱胁迫条件是矿区生态复垦面临的重要难题。为揭示微生物菌剂在干旱胁迫条件下对矿区土壤性质及对植物生理特性的影响, 以紫花苜蓿为供试植物, 海州露天矿排土场土壤为基质, 在单施哈茨木霉菌 (TH)、枯草芽孢杆菌 (BS) 以及两种菌剂 (TH+BS) 混施条件下, 通过盆栽试验进行干旱胁迫研究, 测定其土壤微生物性质及植物抗逆性。研究表明, 随着干旱胁迫程度加重, 矿区土壤微生物量碳氮含量、酶活性逐渐降低。TH、BS 的施用总体上能提高土壤微生物性质。依据土壤综合指数 (SQI), BS 单施处理在干旱胁迫条件下对土壤微生物性质指标的提升效果最佳, 其 SQI 比 CK 提高了 37.85%, TH 单施处理次之, 提高了 34.94%, TH+BS 混施处理最低, 比 CK 提高了 20.92%。随干旱胁迫程度加重, 紫花苜蓿脯氨酸、可溶性糖、丙二醛含量持续增多, 抗氧化酶活性呈现先增后减的变化趋势。经由植物综合指数 (PQI) 可以发现微生物菌剂的施用能够提高植物抗逆性, BS 单施处理的 PQI 最小, 平均值比 CK 降低了 34.31%, TH 单施次之, 降低了 9.56%, TH+BS 混施处理最大, 比 CK 降低了 6.75%。因此, TH、BS 的单施和混施均能提高干旱胁迫条件下矿区土壤微生物性质和紫花苜蓿的抗逆性, 其中 BS 单施效果最好, 可以作为干旱矿区复垦的一种措施。

关键词: 露天矿排土场; 干旱胁迫; 微生物菌剂; 土壤微生物性质; 植物抗逆性

水分是矿山生态修复的重要限制性因子, 水分缺失也是植物所面临的主要逆境条件之一。干旱胁迫是指植物蒸腾的水分大于根系吸收的水分时, 导致体内水分失衡的现象^[1-2], 是矿区复垦面临的瓶颈问题之一。学者们研究表明干旱胁迫导致植物各器官间水分重新分配、细胞膜受到破坏、光合速率减弱、渗透调节失衡等^[3-5]。排土场是采矿过程中产生的主要损毁地, 面积广阔。因此, 排土场的复垦对于提高我国耕地面积具有积极的作用。然而, 排土场普遍存在养分亏缺、土壤结构破坏等问题。特别在北方半干旱地区, 年降水量较少, 而排土场土壤由于结构受到破坏, 无法保存水分, 导致排土场干旱问题频发, 水已经成为北方半干旱地区排土场植被恢复的主要限制因子。

在排土场复垦过程中, 菌剂应用技术已成为土壤改良、植被恢复的研究热点。哈茨木霉菌 (*Trichoderma harzianum*, TH) 能促进植物的生长和提高植物的抗逆性。枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*, BS) 能产生生长激素促进植物生长, 继而改善农作物生长发育^[6-7]。本课题组前期研究发现, 上述两种菌剂能够共生。然而, 在矿区排土场干旱胁迫条件下, 两菌剂单施、混施对于减轻干旱造成的土壤性质恶化和植物生理性质损伤的程度和规律, 以及单施与混施的效果比较尚不可知。紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 是多年生草本植物, 在多种恶劣环境下具有较高生存率、生长快的特点, 且耐寒、耐旱、耐盐、耐高温^[8]。紫花苜蓿在辽西地区进行植被恢复十分常见, 早在数十年前就已经开始栽培。土壤微生物和酶活性相对于土壤养分含量对土壤质量的变化更为敏感, 可以作为土壤质量变化的预警指标^[9]。本研究是在干旱胁迫条件下, 对排土场土壤进行 TH 和 BS 的单施与混施, 进行紫花苜蓿盆栽试验, 从而探究其对植物的抗逆性和土壤微生物性质的影响, 为以后在干旱地区排土场进行土地复垦奠定理论基础。

收稿日期: 2022-07-20; 录用日期: 2022-08-26

基金项目: 辽宁工程技术大学学科创新团队资助项目 (LNTU 20TD-24)。

作者简介: 王翼翔 (1995-), 硕士研究生, 主要研究方向为生态修复理论与技术。E-mail: bfe.hero@qq.com。

通讯作者: 孔涛, E-mail: kongtao2005@126.com。



1 材料与研究方法

1.1 研究区概况

本研究中排土场土壤样品采自海州露天煤矿,该矿排土场位于阜新市露天矿坑西南部(北纬 $41^{\circ}57'36''$,东经 $120^{\circ}40'12''$),平均海拔175 m。本研究区属温带半干旱大陆性季风气候,年均温 7.3°C ,排土场昼夜温差大,日气温最高达 40.6°C ,最低达 -28.6°C ,年均风速约为 $2.8\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$,年均蒸发量1800 mm,年均降水量485 mm,降水集中在7—9月,春秋两季干燥,属于典型的半干旱地区。该排土场土壤风蚀沙化较严重。早期排土场内多生长草本植物,常见的为狼尾草、隐子草等。近年来排土场地区主要采用栽植乔木、灌木和农作物的手段对其进行土地的复垦。

1.2 盆栽试验准备与处理

2019年7月于海州露天矿西排土场进行土壤采集,供试土壤基本理化性质为土壤容重 $1.21\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$,毛管孔隙度39.45%,非毛管孔隙度11.56%,总孔隙度51.01%,土壤含水量10.99%,pH 5.75,有机质 $5.14\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,碱解氮 $92.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有效磷 $23.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $176.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。供试植物为紫花

苜蓿,试验所用菌剂为山东绿陇生物科技有限公司提供的TH粉剂(有效活菌数 ≥ 10 亿个 $\cdot\text{g}^{-1}$)和BS粉剂(有效活菌数 ≥ 200 亿个 $\cdot\text{g}^{-1}$)。干粉形态的菌剂在操作中简便易行,适用于大面积施肥。使用盆栽试验,每盆土壤重1500 g,根据两种菌剂的商家推荐用量结合前期试验,确定TH用量为4.5 g,BS用量为6 g,分别为干土重量的0.3%,0.4%。设置19个处理:干旱胁迫设置为6个梯度,见表1;每个胁迫梯度下菌种的施用处理分别为TH单施、BS单施、两菌(TH+BS)混施;并设置空白对照组。每个处理3处重复,总计57个盆栽试验。试验所用盆上口径14 cm、底径9 cm,高度为11 cm。每盆中装入1500 g的过2 mm筛的排土场干土样,再将菌剂施于土中,搅拌均匀,浇足底水后,每盆撒入100粒紫花苜蓿种子。待紫花苜蓿长至2 cm高时,每盆间苗至10株。待植物生长至15~20 cm高时,进行干旱胁迫条件处理。干旱胁迫处理前,控制土壤水分含量至干旱胁迫梯度,每天采用称重法,维持土壤水分含量保持在相应的胁迫水平,干旱胁迫时间为14 d。干旱胁迫试验结束后,采集紫花苜蓿样本和土样,储存在 4°C 冰箱中,测定紫花苜蓿生理指标、土壤微生物量和酶活性指标。

表1 干旱梯度设置

项目	无胁迫梯度	第一梯度	第二梯度	第三梯度	第四梯度	第五梯度
干旱胁迫类型	无干旱胁迫	极轻度胁迫	轻度胁迫	中度胁迫	重度胁迫	极重度胁迫
土壤含水量占田间持水量的百分比(%)	100	80	65	50	35	20

1.3 测定方法

土壤微生物量碳(MBC)、土壤微生物量氮(MBN)采用氯仿熏蒸浸提法测定;土壤酶活性测定方法^[10]:土壤磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法;土壤蔗糖酶活性测定采用二硝基水杨酸比色法;土壤蛋白酶活性测定采用茚三酮比色法;土壤脲酶活性测定采用次氯酸钠比色法;土壤过氧化氢酶活性测定采用 KMnO_4 滴定法。植物生理指标测定方法^[11]:脯氨酸含量测定采用酸性茚三酮比色法;丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸显色法;过氧化氢酶活性测定采用 KMnO_4 滴定法,过氧化物酶活性测定采用愈创木酚法;可溶性糖含量测定采用蒽酮法。

1.4 土壤微生物质量和植物生理质量评价方法

本研究采用土壤质量综合指数(SQI)来综合评价各菌剂单施、双菌混施和CK的土壤质量。SQI

由标准化处理后的微生物指标通过主成分分析法,以各指标特征值贡献率为权重,加权计算获得。第一步,对各指标的原始数据进行标准化处理,标准化公式为:

$$Q(X_i) = (X_{ij} - X_{i\min}) / (X_{i\max} - X_{i\min}) \quad (1)$$

式1中, $Q(X_i)$ 表示各因子的隶属度值; X_{ij} 为各因子值; $X_{i\max}$ 和 $X_{i\min}$ 分别为第*i*项因子中的最大值和最小值。第二步,运用SPSS 20.0计算因子主成分负荷量,确定各因子在土壤质量评价中的贡献。因子分析结果表明,KMO检验统计量为0.924,大于0.5,同时Bartlett's球状检验的显著度小于0.05,表明本研究数据可以进行主成分分析。土壤各指标权重的公式为:

$$W_i = C_i / \sum_{i=1}^n C_i \quad (2)$$

式2中, W_i 为土壤各指标的权重, C_i 为第*i*个土壤

指标的因子负荷量。最后, 计算 SQI, 公式为:

$$SQI = \sum_{i=1}^m K_i \left[\sum_{j=1}^n W_j \times Q(X_{ij}) \right] \quad (3)$$

式 3 中, n 为评价指标的个数, 取 7; m 为所选主成分个数, 选取特征值大于 1 的主成分进行分析提取, K_i 为第 i 个主成分的方差贡献率。此指标为正向指标, 由综合函数计算得出的指数越高, 意味着土壤环境越好, 反之则越差。

采用植物质量综合指数 (PQI) 来综合评价各菌剂单施、双菌混施和 CK 的植物生长质量。PQI 由标准化处理后的植物生理指标通过主成分分析法, 以各指标特征值贡献率为权重, 加权计算获得。第一步, 对各指标的原始数据进行标准化处理, 标准化公式为:

$$P(Y_i) = (Y_{ij} - Y_{imin}) / (Y_{imax} - Y_{imin}) \quad (4)$$

$$V_j = \sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_{ij} - \bar{Y}_j)^2 / \bar{Y}_j} \quad (5)$$

$$W_j = V_j / \sum_{j=1}^m V_j \quad (6)$$

式 4 ~ 6 中, $P(Y_i)$ 表示各因子的隶属度值; Y_{ij} 为各因子值; Y_{imax} 和 Y_{imin} 分别为第 i 项因子中的最大值和最小值。 V_j 为标准差系数, W_j 为权重系数。第二步, 运用 SPSS 20.0 计算因子主成分负荷量, 确定各因子在植物质量评价中的贡献。因子分析结果表明, KMO 检验统计量为 0.541, 大于 0.5。最后, 计算 PQI, 公式为:

$$PQI = \sum_{i=1}^m K_i \left[\sum_{j=1}^n W_j \times P(Y_i) \right] \quad (7)$$

式 7 中, n 为评价指标的个数, 取 5; m 为所选主成分个数, 选取特征值大于 1 的主成分进行分析提取, K_i 为第 i 个主成分的方差贡献率。植物脯氨酸、可溶性糖、丙二醛的数值会随着逆境条件的增强而增大, 此指标为负向指标; 过氧化氢酶、过氧化物酶数值会随着逆境条件的增强而减小, 此指标为正向指标; 计算时, 正向指标使用公式 (4), 负向指标

为 1 减去数据代入公式 (4) 得到的结果, 由综合函数计算得出的指数越低, 意味着植物生长质量越好, 反之则越差。

1.5 数据分析

所有试验数据均用 SPSS 20.0 进行分析, 采用 Duncan 多重比较法进行显著性差异分析, 显著性水平为 0.05, 采用 Excel 2019 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下菌剂单施及混施对土壤性质影响

2.1.1 干旱胁迫下菌剂单施及混施对土壤微生物量碳氮影响

在干旱胁迫下, 菌剂单施及混施对土壤 MBC 和 MBN 的影响如图 1 所示。4 种处理 MBC 和 MBN 含量均随干旱胁迫程度增加而减少。在中度以下干旱胁迫条件下, 相比于 CK, 施用菌剂均能提高土壤 MBC 含量。而在重度和极重度胁迫下, 各菌剂处理的 MBC 含量与 CK 差异不显著。各胁迫处理条件下, 仅 BS 单施处理显著提高了各干旱胁迫下土壤的 MBN 含量。不同菌剂之间比较, BS 单施处理的土壤 MBC 和 MBN 含量最高, TH 单施处理次之, TH+BS 混施处理最低, 表明两种菌剂混施对提高 MBC 和 MBN 含量的效果不如单施。随着干旱胁迫程度加重, 各菌剂处理的 MBC 和 MBN 含量相比于 CK 的增幅总体呈现不断降低的趋势, MBC 增幅均值按胁迫梯度依次为 20.67%、21.04%、24.58%、17.55%、4.33%、14.85%, MBN 增幅均值按胁迫梯度依次为 5.44%、6.78%、5.80%、0.002%、8.47%、11.62%, 表明菌剂在中度以下胁迫时效果较好, 而对重度胁迫效果较差。不同梯度之间进行比较, 各处理的 MBC 和 MBN 含量均在极轻度胁迫和无胁迫之间无显著差异, 而在轻度以上胁迫均显著降低, 表明轻度以上胁迫对 MBC 和 MBN 含量造成了影响。

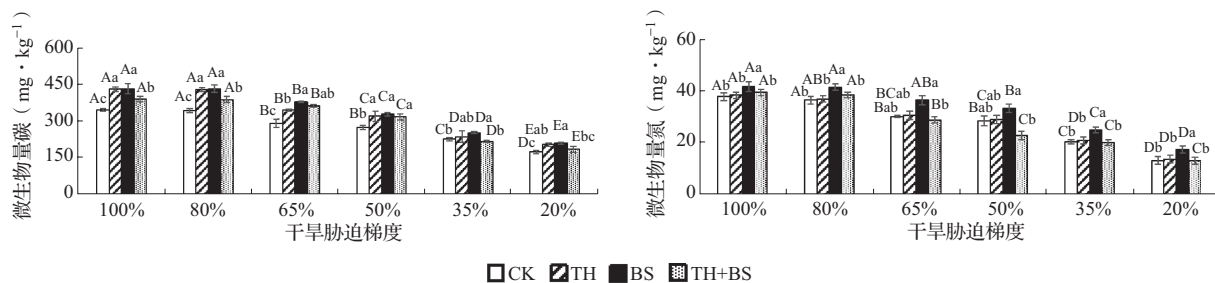
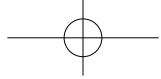


图 1 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下对土壤微生物量碳、氮的影响

注: 不同大写字母表示同一菌剂处理不同胁迫梯度间差异显著, 不同小写字母表示同一胁迫梯度不同菌剂处理间差异显著。下同。



2.1.2 干旱胁迫下菌剂单施及混施对土壤酶活性的影响

如图2所示,在干旱胁迫下,各菌剂处理的5种土壤酶活性均随干旱胁迫程度增加而下降。施用菌剂均能提高土壤酶活性。对于过氧化氢酶和蔗糖酶而言,BS单施处理最高,TH+BS混施处理次之,TH单施处理最低。随着干旱胁迫程度加重,各菌剂处理的过氧化氢酶活性相比于CK的增幅呈现在

中度胁迫之前持续上升、之后大幅降低的趋势。菌剂在中度以下胁迫时效果较好,而对重度胁迫效果较差。对于土壤蔗糖酶而言,增幅持续上升,表明菌剂在重度、极重度胁迫时有更好的效果。不同梯度之间进行比较,各处理的过氧化氢酶和蔗糖酶活性总体分别从轻度胁迫和极轻度胁迫开始与无胁迫处理存在显著差异,对土壤过氧化氢酶和蔗糖酶活性造成影响。

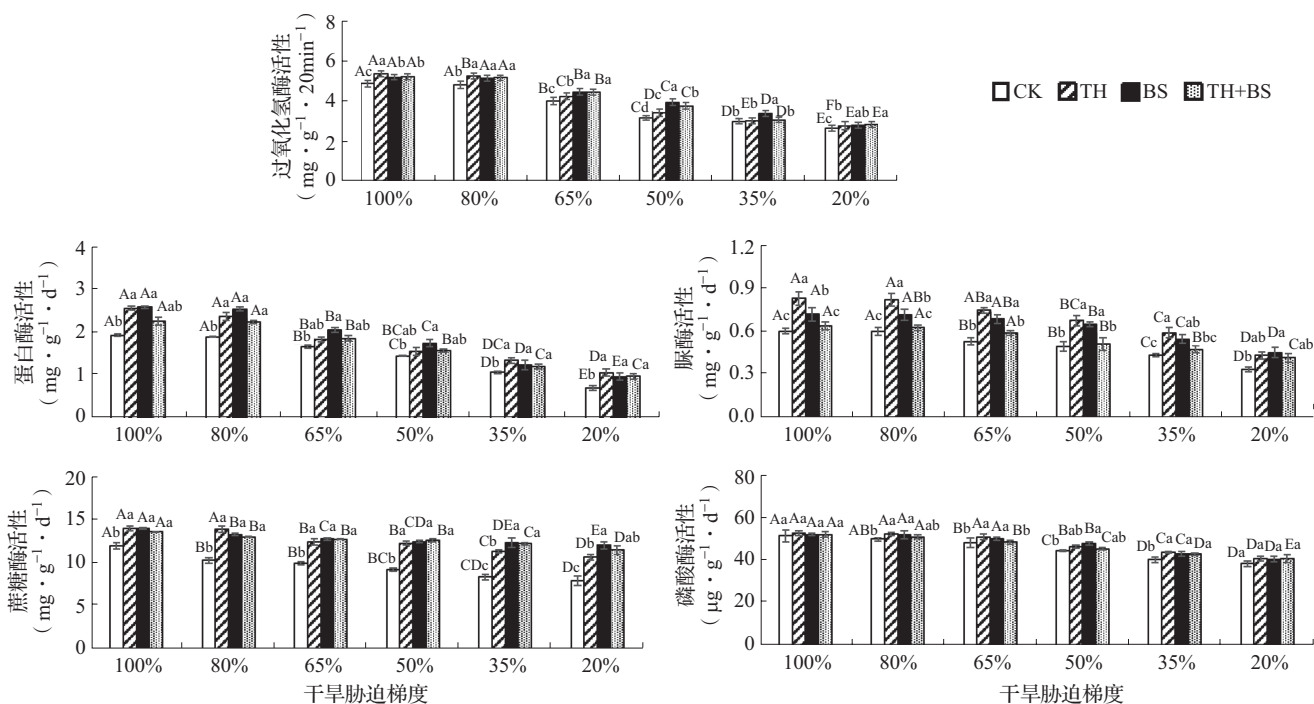


图2 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下对土壤酶活性的影响

对于蛋白酶和磷酸酶而言,BS单施处理最高,TH+BS混施处理次之,TH单施处理最低。随着干旱胁迫程度加重,各菌剂处理的蛋白酶活性相比于CK的增幅呈现在中度胁迫之前降低、之后大幅上升的趋势。菌剂在极轻度以下胁迫和极重度胁迫时效果较好,而对中度胁迫效果较差。对于磷酸酶而言,菌剂在重度、极重度胁迫时有更好的效果。不同梯度之间进行比较,各处理的蛋白酶和磷酸酶活性总体分别从轻度胁迫和中度胁迫开始与无胁迫处理存在显著差异,对土壤蛋白酶和磷酸酶活性造成影响。

对于脲酶而言,TH单施处理最高,BS单施处理次之,TH+BS混施处理最低。随着干旱胁迫程度加重,各菌剂处理的脲酶活性相比于CK的增幅呈现在轻度胁迫之前上升、之后小幅下降的趋势。菌

剂在轻度以上胁迫时效果较好。不同梯度之间进行比较,各处理的脲酶活性总体从中度胁迫开始与无胁迫处理存在显著差异,对脲酶活性造成影响。

2.1.3 干旱胁迫下菌剂单施及混施对土壤综合指数影响

从图3可以看出,微生物菌剂施用处理的SQI随着干旱胁迫程度增大而减小,各处理的SQI从轻度胁迫开始显著低于无胁迫处理,表明干旱从轻度胁迫开始就对土壤性质产生明显影响。各菌剂处理的SQI均显著高于CK。各菌剂之间比较,BS单施处理的SQI最大,平均值比CK提高了37.85%,TH单施处理次之,提高了34.94%,然而两个单施处理之间差异总体并不显著,但显著高于双菌混施处理,双菌混施处理最低,比CK提高了20.92%。

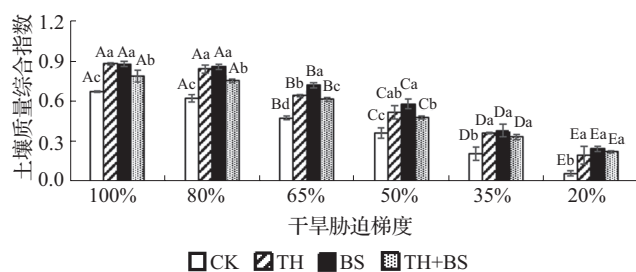
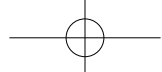


图3 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下的土壤质量综合指数

2.2 干旱胁迫下菌剂单施及混施对植物生理指标的影响

2.2.1 菌剂施用对植物丙二醛含量的影响

丙二醛是植物在逆境条件下,发生膜脂过氧化作用的最终分解产物,含量越多,植物受到的伤害越大。不同微生物菌剂在干旱胁迫条件下对植物丙二醛含量的影响如图4所示。丙二醛含量随干旱胁迫程度增加而增多,各菌剂处理的丙二醛含量均低于CK。各菌剂处理之间进行比较,BS单施处理的丙二醛含量最低,TH单施处理次之,TH+BS混施处理的丙二醛含量最高。随着干旱胁迫程度加重,各处理的丙二醛含量均呈现先缓慢升高后大幅升高的趋势。其中,CK的丙二醛含量从重度干旱胁迫处理开始大幅度升高,菌剂处理的丙二醛含量在极重度干旱胁迫处理下才大幅度提高。

2.2.2 菌剂施用对植物渗透调节物质含量的影响

植物在逆境条件下,常有脯氨酸和可溶性糖的积累,以保持细胞渗透压平衡。如图5所示,各菌剂处理的脯氨酸和可溶性糖含量总体均低于CK。各菌剂处理之间进行比较,BS单施、TH单施、TH+BS混施处理的脯氨酸含量分别比CK降低了15.58%、12.88%、9.37%,可溶性糖含量分别比CK降低了17.19%、15.50%、8.25%。随干旱胁迫程度的增加,脯氨酸含量在极轻度胁迫下与无胁迫处理

间无显著差异,从轻度胁迫开始,缓慢提高,增幅较小,各梯度间平均提高幅度为11.72%。可溶性糖含量也在极轻度胁迫下与无胁迫处理间无显著差异,而从轻度胁迫开始,均有较大幅度提高,各梯度间平均提高幅度为35.45%。

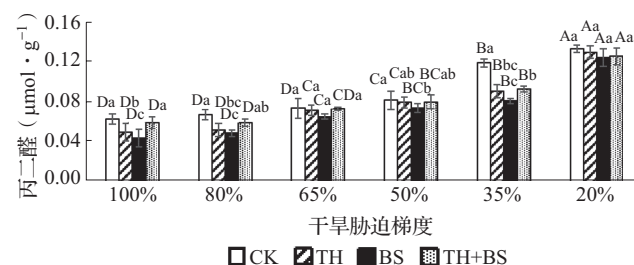


图4 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下对植物丙二醛含量的影响

2.2.3 菌剂施用对植物抗氧化酶活性的影响

如图6所示,各菌剂处理的过氧化氢酶和过氧化物酶活性总体高于CK。菌剂之间比较,BS单施处理的过氧化氢酶和过氧化物酶活性最高;TH+BS混施处理的过氧化氢酶活性次之,TH单施处理的过氧化氢酶活性最低;TH单施处理的过氧化物酶活性次之,TH+BS混施处理的过氧化物酶活性最低。随干旱胁迫程度加重,两种酶活性均呈现先升高后稳定再大幅度降低的趋势。其中CK的两种酶活性均在重度胁迫处理时开始大幅下降,菌剂处理的两种酶活性均在极重度胁迫处理下大幅度降低。

2.2.4 干旱胁迫下菌剂单施及混施对植物综合指数的影响

从图7可以看出,微生物菌剂施用处理的PQI随着干旱胁迫程度增大而增大,各菌剂处理的PQI从极轻度胁迫开始显著高于无胁迫处理,表明干旱从极轻度胁迫开始就对植物生长产生明显影响。各菌剂处理的PQI总体均显著低于CK。各菌剂

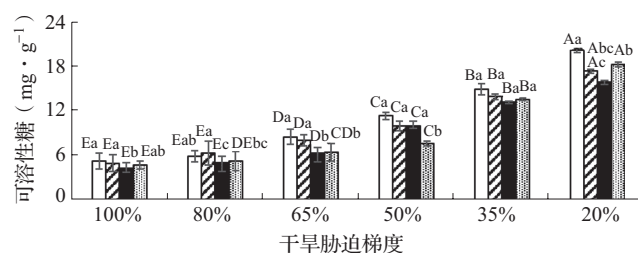
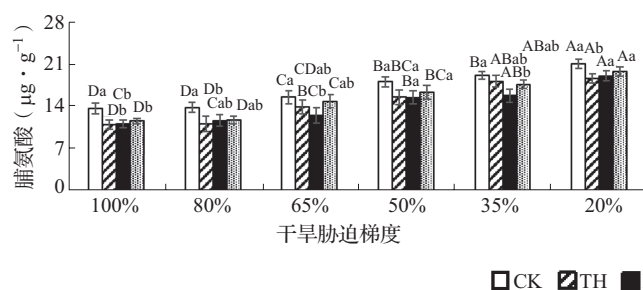


图5 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下对植物脯氨酸、可溶性糖含量的影响

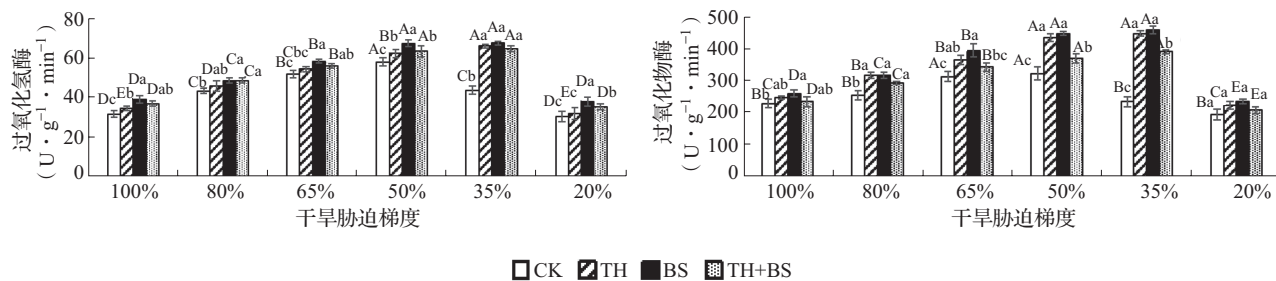


图6 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下对植物抗氧化酶活性的影响

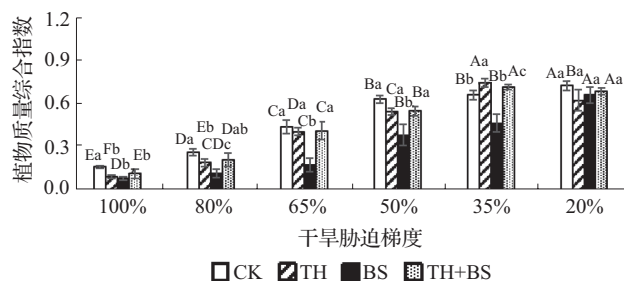


图7 不同微生物菌剂施用处理在干旱胁迫下的植物质量综合指数

之间比较, BS单施处理的PQI最小, 效果最好, 平均值比CK降低了34.31%, 并且显著低于另外两种菌剂处理。TH单施处理次之, 降低了9.56%, TH+BS混施处理最大, 比CK降低了6.75%。而且TH单施与TH+BS混施处理差异总体并不显著。

3 讨论

3.1 菌剂单施及混施对土壤性质的影响分析

本研究中, 无菌剂施用条件下矿山排土场土壤MBC、MBN、酶活性等指标随着干旱胁迫的逐渐增大均降低, 表明干旱胁迫对排土场的土壤造成不同程度的影响, 其中下降最为明显的是极重度干旱胁迫条件。两种菌剂单独施用与两菌混施处理的排土场土壤各项土壤指标也随着干旱胁迫程度的增大而逐渐下降, 但各项土壤指标均大于无菌剂施用处理。导致这一结果的原因主要在于微生物菌剂的施用改善了干旱胁迫下排土场的土壤环境, 让土壤微生物的活性增强^[12], 促进土壤酶活性提高。

总体来看, 菌剂处理的矿山排土场土壤指标从大到小的顺序分别为BS单施>TH单施>TH+BS混施。BS单施处理效果最好, 原因在于BS在逆境中能产生大量芽孢, 而芽孢可以降低干旱高温、盐等胁迫对微生物细胞的伤害。同时, BS能活化土壤养分, 而土壤养分作为土壤微生物的能源物质, 促进了土壤微生物

群落的大量繁殖, 进而促进了土壤微生物量的提升, 同时土壤酶活性主要来源于土壤微生物的分泌, 因而也促进了土壤酶活性的提升。在干旱胁迫梯度下, 各菌剂处理中, 两菌混施处理的土壤指标最小, 原因在于排土场土壤养分匮乏, 而两种菌剂的生长繁殖需消耗养分, 导致两种菌剂之间产生竞争作用, 两种菌剂的功能发挥均受到抑制。从干旱重度胁迫开始各菌剂施用处理的土壤指标间基本无显著性差异, 原因在于微生物菌剂施用处理对排土场土壤的提升效果远小于干旱胁迫对土壤的损伤, 且对微生物菌剂存活率产生严重的影响。宋以玲等^[13]对复合微生物菌剂的研究也证实了这一点。

3.2 菌剂单施及混施对植物生理指标的影响分析

本研究中, 各菌剂施用处理与CK处理的植物丙二醛、脯氨酸、可溶性糖含量均呈现随干旱胁迫加重而增大的变化规律, 且各种处理的最大值均产生在极重度干旱胁迫条件, 同时菌剂处理均小于CK。丙二醛含量能反映植物遭受伤害的程度^[14-15]。植物在受到干旱、高温、盐胁迫时, 会通过增加小分子有机渗透调节物质(脯氨酸、可溶性糖), 维持细胞膨压、防止细胞脱水、增强细胞持水力等, 并对细胞生物膜起到保护作用^[16-17]。张艺伟^[18]通过在不同矿区下对紫花苜蓿进行干旱胁迫, 结果表明植物丙二醛含量大幅增加; 李素等^[18]研究发现干旱使油菜脯氨酸及可溶性糖含量增大; Pinto等^[20]研究发现植物在干旱状态下丙二醛含量随之增大; Anjum等^[21]也得出相似的结果。这均与本研究结果相一致。导致此结果的原因是, 干旱胁迫严重影响植物正常生长发育, 导致植物细胞膜通透性增大, 细胞膜受到破坏, 进而使植物细胞膜的酯化作用增强, 植物体内的丙二醛含量增加^[22]。植物体内的渗透压随着干旱胁迫加重而不断升高, 为了维持渗透压的平衡和减少水分流失, 植物分泌大量的游离态脯氨酸与可溶性糖来调

节植物体内的渗透压平衡。微生物菌剂的施用刺激了根系的生长发育,促进了土壤养分循环,改善了植物根系生长的微环境,减轻了胁迫程度,因而,植物分泌的丙二醛、脯氨酸和可溶性糖含量减少。

在干旱胁迫条件下,植物体内积累的氧自由基可激活抗氧化保护酶系统,它们能及时清除氧自由基、抑制膜脂过氧化而维持氧自由基代谢平衡^[23-24]。菌剂施用处理在干旱胁迫条件的植物过氧化氢酶和过氧化物酶活性均呈现先增大后减小的变化规律,这与杨伟等^[25]、王松等^[26]、Khan 等^[27]的研究相一致。CK 的变化趋势与菌剂施用处理相同,但其过氧化物酶、过氧化氢酶活性最大值出现在不同的干旱胁迫梯度,CK 的最大值均产生在中度干旱胁迫下,而菌剂施用处理的最大值均产生在重度干旱胁迫下。产生这种结果的原因是干旱胁迫条件损伤了植物的生理特性,造成植物的细胞膜发生脂化作用,产生活性氧并使植物细胞发生氧化作用,植物因而通过合成更多的过氧化氢酶和过氧化物酶来抵抗氧化作用^[28-29]。无菌剂处理在中度干旱胁迫酶活性最大,当干旱胁迫进一步加重,其强度已经超过植物所能承受的范围,致使细胞被破坏,大量植物抗氧化酶失活,从而其酶活性下降;而菌剂施用时,提高了植物对干旱的抗性,在最大干旱胁迫时植物依然能够通过合成最大量的过氧化物酶和过氧化氢酶来抵抗干旱胁迫。

4 结论

(1) 随着干旱胁迫程度的增加,土壤 MBC、MBN、土壤蛋白酶、蔗糖酶、过氧化氢酶、脲酶、磷酸酶活性均不同程度减小,在极重度干旱胁迫梯度下最小。说明干旱逆境是造成植物生长发育的主要限制因子。在不同程度的干旱胁迫下及无干旱胁迫条件下,菌剂的施用总体上对土壤微生物性质具有促进作用。依据 SQI,在中度及更轻的干旱胁迫时,BS 单施效果最佳,而在重度胁迫以上时,各菌剂处理的效果基本一致。

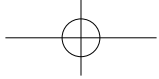
(2) 随干旱胁迫程度增加,植物丙二醛、脯氨酸、可溶性糖含量持续升高,过氧化物酶和过氧化氢酶活性先升后降。菌剂处理对植物生理指标的效果均高于无菌剂处理,其中,由于 BS 单施能够分泌促进作物生长的活性物质,增加土壤养分,效果最好。依据 PQI,在重度及更轻的干旱胁迫时,BS

单施效果最佳,而在极重度胁迫时,各菌剂处理的效果基本一致。

(3) 从土壤微生物指标和植物生理指标综合考虑,BS、TH 单施及混施均能降低干旱胁迫的不利影响,其中 BS 单施效果最佳,可以作为干旱胁迫条件下矿区排土场复垦的一种措施。

参考文献:

- [1] 陈爱萍,隋晓青,王玉祥,等. 干旱胁迫及复水对伊犁绢蒿幼苗生长及生理特性的影响[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1216-1225.
- [2] 刘洋,王娟,白婷玉,等. 4 种园林植物幼苗对干旱胁迫的生长和生理响应[J]. 干旱区资源与环境, 2021, 35(4): 173-179.
- [3] Fábrián A, Jäger K, Barnabás B. Developmental stage dependency of the effect of drought stress on photosynthesis in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties [J]. Acta Agronomica Hungarica, 2013, 61(1): 13-21.
- [4] 郑盛华,严昌荣. 水分胁迫对玉米苗期生理和形态特性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(4): 1138-1143.
- [5] 李振松,万里强,李硕,等. 苜蓿根系构型及生理特性对干旱复水的响应[J]. 草业学报, 2021, 30(1): 189-196.
- [6] 汪坤,魏跃伟,姬小明,等. 生物炭基肥与哈茨木霉菌剂配施对烤烟和植烟土壤质量的影响[J]. 作物杂志, 2021(3): 106-113.
- [7] 李安,舒健虹,刘晓霞,等. 干旱胁迫下枯草芽孢杆菌对玉米种子抗旱性及生理指标的影响[J]. 作物杂志, 2021(6): 217-223.
- [8] 张小芳,魏小红,刘放,等. PEG 胁迫下紫花苜蓿幼苗内源激素对 NO 的响应[J]. 草业学报, 2021, 30(4): 160-169.
- [9] 刘辉,范东芳,黄引娣,等. 农村混合污水灌溉对土壤养分含量、酶活性及微生物多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2019, 38(8): 2426-2432.
- [10] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-339.
- [11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 161-169.
- [12] 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.
- [13] 宋以玲,于建,陈士更,等. 复合微生物菌剂对棉花生理特性及根际土壤微生物和化学性质的影响[J]. 土壤, 2019, 51(3): 477-487.
- [14] 陈卫东,张玉霞,丛百明,等. 钾肥对紫花苜蓿根颈丙二醛、可溶性蛋白含量与抗氧化系统的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(4): 717-723.
- [15] 徐亚军,赵龙飞,邢鸿福,等. 内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸和丙二醛的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(11):



- 3726–3737.
- [16] 邓凤飞, 杨双龙, 龚明. 细胞信号分子对非生物胁迫下植物脯氨酸代谢的调控 [J]. 植物生理学报, 2015, 51 (10): 1573–1582.
- [17] 罗巧玉, 王彦龙, 陈志, 等. 水分逆境对发草脯氨酸及其代谢途径的影响 [J]. 草业学报, 2021, 30 (5): 75–83.
- [18] 张艺伟. 山西工矿区耐性植物-土壤系统对干旱胁迫的响应研究 [D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [19] 李素, 万林, 李心昊, 等. 3 种类型油菜对干旱胁迫的生理响应 [J]. 中国油料作物学报, 2020, 42 (4): 563–572.
- [20] Pinto N, Campos L M, Evangelista A, et al. Antimicrobial *Annona muricata* L. (soursop) extract targets the cell membranes of gram-positive and gram-negative bacteria [J]. Industrial Crops & Products, 2017, 107: 332–340.
- [21] Anjum S A, Xie X Y, WANG L C, et al. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress [J]. African Journal of Agriculture Research, 2011, 6 (9): 2026–2032.
- [22] Farooq M, Hussain M, Siddique K. Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2014, 33 (4): 331–349.
- [23] 彭丹, 张霞, 张富春. 盐穗木过氧化氢酶基因的克隆与功能分析 [J]. 西北植物学报, 2013, 33 (10): 1933–1939.
- [24] 李宁宁, 齐菲, 安满霞, 等. 3 种锦鸡儿属植物过氧化物酶基因的克隆及表达分析 [J]. 西北植物学报, 2016, 36 (9): 1743–1751.
- [25] 杨伟, 刘文辉, 马祥, 等. 干旱胁迫对 2 种不同抗旱性老芒麦幼苗 ROS 积累及抗氧化系统的影响 [J]. 草地学报, 2020, 28 (3): 684–693.
- [26] 王松, 武敏, 康红梅, 等. 干旱胁迫对 2 种地被植物生理指标的影响 [J]. 山西农业科学, 2020, 48 (9): 1424–1430.
- [27] Khan A A, Rahmani A H, Aldebasi Y H, et al. Biochemical and pathological studies on peroxidases –an updated review [J]. Journal of Global Health, 2014, 6 (5): 87–98.
- [28] 赵春程, 李晓宁, 张寅坤, 等. 4 个多年生黑麦草品种对干旱胁迫的生理响应 [J]. 草业科学, 2020, 37 (4): 669–677.
- [29] 郑清岭, 杨忠仁, 张晓艳, 等. 干旱胁迫对沙芥和斧形沙芥抗坏血酸含量及其代谢相关酶的影响 [J]. 植物生理学报, 2018, 54 (12): 1865–1874.

Effects of microbial agents on soil microbial properties and physiological properties of *medicago sativa* L. under drought stress

WANG Yi-xiang¹, KONG Tao^{1*}, SUN Pu-fan², HUANG Li-hua¹, ZHANG Kai¹ (1. College of Environment Science and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin Liaoning 123000; 2. Liaoning Jurun Construction Engineering Consulting Co. Ltd., Shenyang Liaoning 110136)

Abstract: Drought stress conditions are an important challenge for ecological reclamation in mining areas. To reveal the effects of microbial agents on soil properties and plant physiological characteristics in mining areas under drought stress conditions, a drought stress study was carried out with *Medicago sativa* L. as the test plant and the soil of the Haizhou open pit mine drainage site as the substrate, under the conditions of single application of *Trichoderma harzianum* (TH) and *Bacillus subtilis* (BS) and mixed application of both agents (TH+BS) to determine the soil microbial properties and plant stress resistance in a pot experiment. The results of the study showed that the microbial biomass carbon and nitrogen content and enzyme activities of soil microorganisms in the mining area decreased with increasing drought stress, while the application of TH and BS generally improved the soil microbial properties. Based on the soil quality index (SQI), BS single treatment was the most effective on improving soil microbial properties under drought stress, with an increase of 37.85% in SQI compared to CK, followed by TH single treatment, with an increase of 34.94%, and then followed by the mixture of TH + BS treatment, with the lowest increase of 20.92% compared to CK. As drought stress increased, the proline, soluble sugar and malondialdehyde contents of *Medicago sativa* L. continued to increase, and the antioxidant enzyme activities showed a trend of increasing and then decreasing. The plant quality index (PQI) showed that the application of microbial bacterial agents improved the plant stress resistance. The PQI of BS single treatment treatment was the smallest, TH single treatment was the second largest and TH+BS mixture treatment was the largest, with a mean value of 34.31%, 9.56% and 6.75% lower than that of CK, respectively. Therefore, both single and mixed applications of TH and BS could improve the microbial properties of the mine soil and the resistance of *Medicago sativa* L. under drought stress conditions, with BS single treatment being the most effective and could be used as a measure for reclamation of drought mine sites.

Key words: open pit mine drainage site; drought stress; microbial agents; soil microbial properties; plant stress resistance