

植物根际促生菌对高原早熟禾根际土壤氮素及固氮微生物的影响

赵树栋, 陈建坤, 黄才成, 王超, 杨晓蕾, 李建宏

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为研究植物根际促生菌对土壤氮素和固氮微生物含量的影响,通过5株优良植物根际促生菌接种高原早熟禾,研究它们对根际土壤全氮、速效氮含量,土壤脲酶活性、土壤固氮菌、土壤固氮菌 *nifH* 基因相对丰度的影响。结果发现:植物根际促生菌对土壤氮素和固氮微生物含量有明显的提高作用,不同菌株的作用效果不同。使用促生菌后,土壤全氮含量提高了8.3%~41.67%,土壤速效氮的含量提高了3.98%~45.64%,土壤微生物量氮含量提高了21.27%~34.28%,土壤脲酶活性提高了20.0%~28.89%,土壤好气性自生固氮菌含量提高了37.98%~64.52%,土壤嫌气性自生固氮菌含量提高了5.56%~24.6%,土壤固氮菌 *nifH* 基因的相对丰度提高了4.64%~18.5%。说明植物根际促生菌能够促进土壤氮代谢,提高土壤固氮微生物的含量,对于土壤健康具有重要的作用。

关键词:植物根际促生菌;土壤氮素;脲酶活性;固氮菌;*nifH* 基因

中图分类号:Q939.96 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2022)04-0133-06

DOI:10.13817/j.cnki.cycp.2022.04.017



高原早熟禾(*Poa alpigena*)是重要的饲草作物,是甘南草原高寒草地优势牧草之一^[1],具有重要生态及经济价值,也是甘南地区退化草地人工补播的常用草种之一,但作为禾本科植物,对氮、磷元素需求量较大^[2],退化草地氮、磷素的缺乏直接影响了高原早熟禾生存与生态功能的发挥^[3]。传统的草地建植中施肥主要是依靠化肥,但化肥对草地土壤生态有不良影响,且增加了草地建植成本。如张乐^[4]的研究就表明:化肥虽然可以在一定程度上提升草地生产力,但由于

化肥成本高,因此并不能产生更高的经济效益。化肥不仅没有增加土壤养分积累,还造成了草地土壤有机碳的损失。因此,寻找适宜于天然草地土壤肥力提高的方法是一项迫切的任务。

研究表明,在植物的根际系统中定殖着一大类对植物生长有益的细菌,被称为植物根际促生菌菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR),具有固氮、溶磷、解钾、拮抗病原菌或产生植物激素等功能中的一种或多种^[5]。PGPR是宝贵的功能微生物资源,也是微生物肥料和微生物农药的重要原料,对于农业技术的提高和农业可持续发展具有重要的意义^[6-10]。研究表明,植物根际促生菌不仅可以促进植物的生长,更能改良土壤质量、提高土壤肥力。对于解决退化草地补播植物的生长问题和草地土壤肥力问题具有积极意义,已有学者进行了此方面的尝试并取得了富有价值的成果,如何敏^[11]从藏北高原土著植物根际分离筛选的促生菌可以提高植物对不良环境胁迫的耐受能力,促进植物生长,并能改良土壤微生物群落结构,提高土壤活性。马骢毓等^[12]则从阿里地区高寒

收稿日期:2021-04-15; **修回日期:**2021-05-14

基金项目:甘肃农业大学学生科研训练计划项目(编号202102035);甘肃农业大学人才专项经费(2017RCZX-04)

作者简介:赵树栋(1999-),男,甘肃古浪人,主要从事草地生物多样性方面的研究。

E-mail:gsnydxzsd@163.com

李建宏为通信作者。

E-mail:lijianhong@gsau.edu.cn

草地披碱草根际分离筛选了促生菌并将其制成菌剂,结果表明该菌剂不仅能促进披碱草的生长,更能提高披碱草的饲用价值。因此,利用植物根际促生菌进行退化草地修复具有很强的可行性。

近些年关于植物根际促生菌的研究大多集中在促生菌资源筛选和促生菌对植物生长的影响等方面,但是有研究结果显示 PGPR 对于植物生长的促进作用是通过改良土壤性质,增加土壤有效养分的含量来实现的^[12-14]。因此,要全面理解 PGPR 的机理,须研究其在土壤元素循环以及土壤有益微生物的生长等

方面的作用机理。鉴于此,本试验以前期研究中分离筛选的优良植物根际促生菌为材料,研究促生菌对高原早熟禾根际土壤氮素及土壤固氮微生物的影响,以期为全面的认识植物根际促生菌的作用机理提供理论参考,也为进一步的应用实践奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 供试菌株是研究者前期研究中分离自甘南草原高原早熟禾根际的优良促生菌株。

表1 供试菌株的特性

Table 1 Characteristics of the tested strains

| 菌株 | 名称 | 特点 |
|-------|--|--------------------|
| Pa-2 | 枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>) | 固氮、分泌 IAA、拮抗病原菌 |
| Pa-4 | 蕈状芽孢杆菌(<i>B. mycoides</i>) | 固氮、溶磷 |
| Pa-7 | 枯草芽孢杆菌(<i>B. subtilis</i>) | 固氮、拮抗病原菌、溶磷、分泌 IAA |
| Pa-21 | 不动杆菌(<i>Acinetobacter</i> sp.) | 固氮、溶磷、拮抗病原菌、分泌 IAA |
| Pa-29 | 荧光假单胞菌(<i>Pseudomonas fluorescens</i>) | 固氮、溶磷、拮抗病原菌、分泌 IAA |

1.1.2 供试植物 供试植物种子为高原早熟禾(*P. alpigena*)由研究者采集自甘南州夏河县桑科乡天然草地。

1.1.3 供试土壤 供试土壤采挖自兰州市红古区花庄镇农田。土壤基础特性为:有机质含量 14.11 g/kg、全 N 含量 0.35 g/kg、全 P 含量 0.85 g/kg、速效 P 含量 10.21 mg/kg、速效 K 含量 226.63 mg/kg、pH 值 7.8。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 挑选饱满、无皮损的高原早熟禾种子,70%乙醇表面消毒 1 min,0.1%的 HgCl₂溶液浸泡消毒 2 min,无菌水冲洗 3~5 次,用无菌滤纸吸干其表面水分。25℃下催芽,选取发芽一致的种子播种于花盆内,每盆 10 株,出苗后 10 天间苗,留下长势一致、位置分布均匀的 5 株幼苗进行进一步实验。间苗后用移液枪往幼苗根部准确滴加待测菌液(待测菌株培养液,所用培养液为 NA 培养液,活菌浓度为 10⁹ CFU/mL),每株 2 mL,以不接菌的培养液为对照,每个处理设置 4 盆重复,培养 45 d 后收集早熟禾根际土壤,根际土壤的收集参照 Hafeez 等的方法^[16],并测定根际土壤氮素及固氮微生物各指标。

1.2.2 土壤氮含量的测定 分别采用半微量凯氏定

氮法和 KCl 浸提法^[17]测定土壤全氮和速效氮。

1.2.3 土壤微生物生物量氮(SMBN)测定 先用氯仿熏蒸法^[18]处理土样,然后用 0.5 mol/L K₂SO₄溶液提取,浸提液中氮采用凯氏定氮法测定,计算公式如下:

$$\text{土壤微生物量氮 (mg/kg)} = (E_c - E_{c_0}) / 0.54^{[19]}$$

式中,E_c为熏蒸土壤浸提液中有机氮量;E_{c₀}为不熏蒸土壤浸提液中有机氮量;0.54为校正系数。

1.2.4 土壤脲酶活性的测定 脲酶活性测定采用靛酚蓝比色法^[20]。结果用 24 h 后 1 g 土壤中 NH₃-N 的毫克数来表示。

1.2.5 土壤固氮菌的测定 (1)好气性自生固氮菌的测定 采用改良阿须贝(Ashby)无氮培养基,平板涂布法测定好气性自生固氮菌^[21]。阿须贝无氮培养基配方为:葡萄糖 10 g、K₂HPO₄ 0.2 g、MgSO₄·7H₂O 0.2 g、K₂SO₄ 0.2 g、NaCl 0.2 g、CaCO₃ 5 g、琼脂 18 g、蒸馏水 1 000 mL。

(2)嫌气性自生固氮菌的测定 采用玉米面培养基,平板涂布法测定嫌气性自生固氮菌^[21]。培养基配方为:玉米面 5 g、CaCO₃ 0.5 g、自来水 1 000 mL。

1.2.6 土壤固氮菌 *nifH* 基因的测定 采用 real-time

PCR 方法测定土壤中固氮菌的含量相对于土壤总细菌的量,以百分比表示^[22]。

(1)基因组 DNA 的提取及检测 土壤总 DNA 的提取采用 OMEGA Soil DNA isolation kit (OMEGA, USA),步骤参照说明书。Total DNA 质量及浓度检测使用紫外分光光度计(Beckman DU 640, USA)法测定。

(2)Real-time PCR 引物 土壤总细菌 16S rRNA 基因片段扩增采用的引物是 341F (5'-CCTACGGG AGGCAGCAG-3') 和 518R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')^[23]。固氮菌 *nifH* 基因扩增所采用的引物是 Pol F (5'-TGCGAYCCSAARGCB GACTC-3') 和 Pol R (5'-ATSGCCATCATYTCRCCGGA-3')^[27]。引物由上海派森诺生物科技有限公司合成。

(3)Real-time PCR 程序 用 SYBR Premix Ex TaqTM (TaKaRa Shuzo, Osaka, Japan) 建立反应体系,具体为:DNA 模板 2 μ L、上游和下游引物各 0.5 μ L、SYBR Green I 荧光染料预混试剂 10 μ L、ddH₂O 12 μ L^[22]。

扩增条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 sec,95 $^{\circ}$ C 变性 5 sec,60 $^{\circ}$ C 退火和延伸 20 sec 并采集荧光信号,45 次循环。

(4)Real-time PCR 数据分析 根据以下公式计算土壤中固氮菌的含量相对于土壤总细菌的量:

目标菌(%总菌 16S rDNA) = $2^{-(Ct_{target} - Ct_{total\ bacteria})}$ $\times 100$, Ct_{target} 为目标菌引物所测 Ct 值, $Ct_{total\ bacteria}$ 为以总细菌为引物所得的 Ct 值^[22]。

1.2.5 数据分析 采用 Excel 2010 整理数据, DPS v 7.65 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 促生菌对土壤含氮量的影响

促生菌对土壤全氮和土壤速效氮含量均有明显的提高作用,但不同菌株的作用效果不同,对土壤全氮而言,作用效果最强的是 *B. subtilis* Pa-7 菌株,根际土壤全氮提高到了 0.51 g/kg,其次是 *P. fluorescens* Pa-29 菌株,也高达 0.49 g/kg,效果较弱的是 *B. mycoides* Pa-4 菌株,其全氮含量为 0.42 g/kg。促生菌对土壤速效氮含量的影响效果强于全氮,使用促生菌后,根际土壤速效氮含量提高更为明显,效果最明显的是 Pa-7 菌株,速效氮含量高达 97.00 mg/kg,其次是

Pa-29 菌株,为 89.99 mg/kg, Pa-21 对速效氮的效果相对较弱,为 69.25 mg/kg(表 2)。

表 2 土壤全氮和土壤速效氮含量

Table 2 Soil total nitrogen and soil available nitrogen contents

| 菌株 | 土壤全氮/(g·kg ⁻¹) | 土壤速效氮/(mg·kg ⁻¹) |
|-------|------------------------------|-------------------------------|
| CK | 0.36 \pm 0.01 ^d | 66.60 \pm 0.52 ^f |
| Pa-2 | 0.46 \pm 0.01 ^b | 81.39 \pm 0.56 ^c |
| Pa-4 | 0.42 \pm 0.01 ^c | 75.50 \pm 0.37 ^d |
| Pa-7 | 0.51 \pm 0.01 ^a | 97.00 \pm 1.26 ^a |
| Pa-21 | 0.39 \pm 0.01 ^d | 69.25 \pm 0.36 ^c |
| Pa-29 | 0.49 \pm 0.01 ^b | 89.99 \pm 0.70 ^b |

注:表中数据为平均数 \pm 标准误/标准差。同列后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同

2.2 促生菌株对土壤微生物量氮的影响

使用促生菌株能显著提高高原早熟禾根际土壤微生物量氮,但不同菌株的效果不同,其中菌株 Pa-7 对土壤微生物量氮提升的效果最为明显,使用后根际土壤微生物量氮提高了 34.28%,其次是菌株 Pa-4,提高了 31.85%,菌株 Pa-2 对微生物量氮的提高幅度最低,提高了 21.27%,其余菌株 Pa-21 和菌株 Pa-29 居中(表 3)。

表 3 土壤微生物量氮含量和土壤脲酶活性

Table 3 Soil microbial biomass nitrogen and soil urease activity

| 菌株 | 土壤微生物量氮含量/(mg·kg ⁻¹) | 土壤脲酶活性/(mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹) |
|-------|----------------------------------|---|
| CK | 141.08 \pm 0.82 ^e | 0.45 \pm 0.01 ^c |
| Pa-2 | 170.10 \pm 0.80 ^d | 0.54 \pm 0.00 ^b |
| Pa-4 | 186.01 \pm 0.70 ^b | 0.57 \pm 0.01 ^a |
| Pa-7 | 189.44 \pm 1.18 ^a | 0.58 \pm 0.01 ^a |
| Pa-21 | 178.54 \pm 0.58 ^c | 0.57 \pm 0.01 ^{ab} |
| Pa-29 | 176.03 \pm 0.97 ^c | 0.55 \pm 0.00 ^b |

2.2 促生菌株对土壤脲酶活性的影响

土壤脲酶是参与土壤氮素循环的重要活性物质,脲酶活性反应的是土壤中的有机氮向有效氮转化的能力和土壤无机氮的供应能力,是评价土壤质量的一项重要指标。使用植物根际促生菌后,根际土壤中脲酶活性均有明显提高,不同的菌株对脲酶活性影响不同,增幅最为高的是菌株 Pa-7,其次是菌株 Pa-4 和菌株 Pa-21,增幅最小的是菌株 Pa-2(表 3)。

2.3 促生菌株对土壤固氮菌组成的影响

使用促生菌后,土壤中好气性自生固氮菌和嫌气性自生固氮菌的相对含量都有了明显的提高,但好气性自生固氮菌提高的幅度比嫌气性自生固氮菌更为明显。使用菌株 Pa-7 后,土壤中好气性自生固氮菌高达 8.95×10^4 cfu/g,比 CK 提高了 64.52%;其次是菌株 Pa-4,为 7.99×10^4 cfu/g,比 CK 提高了 46.87%;提高幅度最低的是菌株 Pa-2,比 CK 提高了 37.98%。对嫌气性自生固氮菌提高效果最明显的也是菌株 Pa-7,提高了 24.6%,效果相对最差的是菌株 Pa-29,提高了 5.56%,其余菌株效果居中。

表 4 土壤自生固氮菌含量

Table 4 Effects of PGPR on soil autogenous nitrogen-fixing bacteria

| 菌株 | 好气性自生固氮菌/ ($\times 10^4$ cfu/g) | 嫌气性自生固氮菌/ ($\times 10^4$ cfu/g) |
|-------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| CK | 5.44 \pm 0.09 ^e | 1.26 \pm 0.01 ^f |
| Pa-2 | 7.49 \pm 0.01 ^d | 1.54 \pm 0.01 ^b |
| Pa-4 | 7.99 \pm 0.01 ^b | 1.49 \pm 0.01 ^c |
| Pa-7 | 8.95 \pm 0.01 ^a | 1.57 \pm 0.00 ^a |
| Pa-21 | 7.62 \pm 0.01 ^c | 1.40 \pm 0.02 ^d |
| Pa-29 | 7.54 \pm 0.03 ^{cd} | 1.33 \pm 0.01 ^e |

2.4 不同菌株对土壤固氮菌 *nifH* 基因的影响

nifH 基因是固氮微生物固氮酶相关的基因,土壤 *nifH* 基因的相对丰度是定量反应土壤微生物相对丰度的指标。菌株 Pa-4 对土壤 *nifH* 基因的相对丰度的影响最为明显,使用菌株 Pa-4 后,*nifH* 基因的相对丰度提高了 18.5%,其次是菌株 Pa-7,*nifH* 基因的相对丰度提高了 16.55%,提升效果相对较弱的是菌株 Pa-21,*nifH* 基因的相对丰度提高了 4.64%,其余菌株居中(表 5)。

表 5 土壤中 *nifH* 基因相对丰度

Table 5 Influence of plant growth-promoting rhizobacterium strains on the relative content of *nifH* gene in soil

| 菌株 | <i>nifH</i> 基因相对丰度/ 10^3 % |
|-------|-------------------------------|
| CK | 1.51 \pm 0.01 ^d |
| Pa-2 | 1.75 \pm 0.01 ^b |
| Pa-4 | 1.79 \pm 0.01 ^a |
| Pa-7 | 1.76 \pm 0.01 ^{ab} |
| Pa-21 | 1.58 \pm 0.01 ^c |
| Pa-29 | 1.75 \pm 0.01 ^b |

3 讨论

本研究的结果显示植物根际促生菌可以显著提高土壤中氮素的含量,土壤中的全氮、速效氮以及微生物量氮的含量都有了不同程度的提高,柴晓虹等^[24]、李永斌等^[25]的研究也得出了相似的结论。当今种植业中,氮肥是必不可少的,但是传统农业的氮肥主要是化学肥料,近几十年来,随着农产品供应压力的增大,化肥用量的不断增加,不合理施用等引发的一系列农业环境质量问题的日益凸现^[26-31],特别是土壤酸化、土壤板结、土壤污染等与土壤质量有关的问题逐渐引起关注。由于土壤在农业生态系统中不可替代的基础性作用,可持续农业的前提就是土壤的可持续性,因此土壤质量是重中之重。本研究的结果显示,优良的促生菌尤其是具有较强固氮能力的菌株可以有效增加土壤中氮素的含量,不仅如此,研究还发现了使用促生菌后,土壤中的固氮微生物的相对丰度有了明显的提高,土壤微生物是土壤中的活性成分,可以反映土壤健康程度,是土壤可持续发展的重要指标。促生菌不仅可以有效提高土壤氮素含量,还能有效提高土壤微生物的活性。

本研究发现土壤自生固氮菌和 *nifH* 基因的变化规律能很好地吻合,目前发现的土壤固氮菌不仅有自生固氮菌,还有共生固氮菌和联合固氮菌,分属于 59 个属,但它们都是原核生物^[31]。所有的固氮菌都含有固氮酶,该酶由 *nifD* 和 *nifK* 基因编码的钼铁蛋白和由 *nifH* 基因编码的铁蛋白构成的^[32],即所有的固氮菌都含有 *nifH* 基因,另一方面,*nifH* 基因也是长期进化过程中最古老的功能基因,只存在于固氮微生物中^[33],系统进化关系与 16S rDNA 相一致。因此,*nifH* 基因是研究固氮菌群落结构最好的标记基因,在不同自然环境中的 *nifH* 基因呈现出差异性和多样性,固氮菌的群落结构也表现出明显的差异^[34],本研究验证了 *nifH* 基因在研究土壤肥力变化方面具有优势,是土壤质量监控和研究工作中的有力工具。

本研究还发现,虽然所采用的 5 株促生菌都是好气性自生固氮菌,但是使用后不仅土壤中好气性自生固氮菌的含量有了明显的增加,而且嫌气性自生固氮菌的含量也有明显的增加,原因是促生菌的使用提高了土壤质量,改善了土壤微生物的生存环境,因此土

壤嫌气性自生固氮菌的含量也有所增加。

4 结论

植物根际促生菌对土壤氮素和固氮微生物含量有明显的提高作用,使用促生菌后,土壤好气性自生固氮菌和嫌气性自生固氮菌含量均增加,土壤固氮菌 *nifH* 基因相对丰度提高。说明植物根际促生菌能够促进土壤氮代谢,提高土壤固氮微生物的含量,对于土壤健康具有重要的作用。

参考文献:

- [1] 白小明,张咏梅,陈辉,等. 甘肃野生草地早熟禾(*Poa pratensis*)分布区土壤养分状况[J]. 中国沙漠,2020,40(6):242-249.
- [2] 候文慧,张玉霞,王红静,等. 施氮水平对羊草叶片光合特性和叶绿素荧光特性的影响[J]. 草地学报,2021,29(3):531-536.
- [3] 杨彦东. 不同封育年限对退化草原土壤理化性质和微生物的影响[J]. 草原与草业,2021,33(1):41-46.
- [4] 孙韵雅,陈佳,王悦,等. 根际促生菌促生机理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报,2020,28(5):1203-1214.
- [5] 张乐. 内蒙古典型草原区退化草地修复工程措施评价[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2019.
- [6] Raaijmakers J M, Mazzola M. Ecology Soil immune responses[J]. Science,2016,352(6292):1392-1393.
- [7] Bakker P A H M, Pieterse C M J, de Jonge R, et al. The soil-borne legacy[J]. Cell,2018,172(6):1178-1180.
- [8] Bhattacharyya P N, Jha D K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture[J]. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2012, 28(4): 1327-1350.
- [9] Vejan P, Abdullah R, Khadiran T, et al. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review[J]. Molecules,2016,21(5):573.
- [10] Backer R, Rokem J S, Ilangumaran G, et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Bio-stimulants for Sustainable Agriculture [J]. Frontiers in Plant Science,2018,9:1473.
- [11] 何敏. 藏北土著植物促生菌对当地典型牧草的促生作用及其机制研究[D]. 镇江:江苏大学:43-55.
- [12] 马骢毓,张英,孙广正,等. 披碱草根际促生菌筛选及其接种剂的促生作用[J]. 植物营养与肥料学报,2016,22(4):1039-1048.
- [13] 贺字典,高玉峰,王燕,等. 植物根际促生菌(PGPR)解磷菌的筛选及其对番茄促生作用的研究[J]. 西南农业学报,2020,32(12):2891-2896.
- [14] 曹桂林. 植物根际促生菌和微生物肥料研究进展浅析[J]. 南方农业,2020,14(37):209-210.
- [15] 李建宏,李雪萍,张建贵,等. 饲用玉米根际促生菌资源筛选及其特性研究[J]. 草原与草坪,2017,37(1):44-50.
- [16] Hafeez F Y, Malik K A. Manual on Bio-fertilizer Technology[M]. Pakistan:NIBGE,2000.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京:中国农业出版社,2000:25-38.
- [18] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社,1986.
- [19] 王理德,姚拓,王方琳,等. 石羊河下游退耕地土壤微生物变化及土壤酶活性[J]. 生态学报,2016,36(15):1-11.
- [20] 姚槐应,黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京:科学出版社,2006.
- [21] 姚拓,龙瑞军,师尚礼,等. 高寒草地不同扰动生境土壤微生物氮素生理群数量特征研究[J]. 土壤学报,2007,44(1):122-129.
- [22] 吴小虎,氟磺胺草醚对土壤微生物多样性的影响[D]. 北京:中国农业大学,2014.
- [23] Muyzer G, De Waal E. C, Uitterlinden A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. Applied and Environmental Microbiology,1993,59(3):695-700.
- [24] 柴晓虹,姚拓,李录山,等. 12株植物根际促生菌促生功能稳定性评价及鉴定[J]. 草原与草坪,2020,40(5):68-75.
- [25] 李永斌,李云龙,美国华,等. 植物根际促生菌的筛选、鉴定及其对小麦的减肥增产效果[J]. 农业生物技术学报,2020,28(8):1471-1476.
- [26] 赵玉芬,尹应武. 我国肥料使用中存在的问题及对策[J]. 科学通报. 2015,60(36):3527~3534.
- [27] 张卫峰,张福锁. 中国肥料发展研究报告[M]. 北京:中国农业大学出版社,2013:26-59.
- [28] Charlotte Hebebrand. IFA: Global production and use of fertilizer: Issues and Challenges [J]. Potassium Potash,

- 2013(5):17–22.
- [29] West P C, Gerber J S, Engstrom P M, *et al.* Leverage points for improving global food security and the environment[J]. *Science*, 2014, 345:325–328.
- [30] 赖力, 黄贤金, 王辉, 等. 中国化肥施用的环境成本估算[J]. *土壤学报*, 2009, 46(1):63–69.
- [31] 宋成军, 马克明, 傅伯杰, 等. 固氮类植物在陆地生态系统中的作用研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(2):869–877.
- [32] Zehr J P, Jenkins B D, Short S M. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison [J]. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(7):539–554.
- [33] 张晶, 张惠文, 李新宇, 等. 土壤微生物生态过程与微生物功能基因多样性[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(6):1129–1132.
- [34] 康文龙, 台喜生, 李师翁, 等. 祁连山高寒草原碱性土壤固氮微生物数量及固氮基因(*nifH*)群落结构研究[J]. *冰川冻土*, 2013, 35(1):208–216.
- [32] Zehr J P, Jenkins B D, Short S M. Nitrogenase gene di-

Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on nitrogen and nitrogen-fixing microorganisms in rhizosphere soil of *Poa alpigena*

ZHAO Shu-dong, WANG Chao, CHEN Jian-kun, HUANG Cai-cheng,
YANG Xiao-lei, LI Jian-hong

(College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To investigate the effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the contents of soil nitrogen and nitrogen-fixing microorganisms, five excellent PGPR strains which were obtained in previous study were explored on their effects on soil total nitrogen, available nitrogen content, soil urease activity, soil nitrogen-fixing bacteria and soil *nifH* gene. The results showed that PGPR could significantly increase the contents of soil nitrogen and nitrogen-fixing microorganisms, and the degrees of effect varied among the strains. After PGPR application, the soil total nitrogen increased by 8.3%~41.67%, the soil available nitrogen increased by 3.98%~45.64%, the soil microbial biomass nitrogen increased by 21.27%~34.28%, the soil urease activity increased by 20.0%~28.89%, the soil aerobic autotrophic nitrogen-fixing bacteria increased by 37.98%~64.52%, the content of soil anaerobic autotrophic nitrogen-fixing bacteria increased by 5.56%~24.6%, and the relative abundance of *nifH* gene in soil nitrogen-fixing bacteria increased by 4.64%~18.5%. In this study, the effects of PGPR on soil were investigated from the perspectives of soil nitrogen and nitrogen-fixing microorganisms. The results suggested that PGPR could play an important role in soil health through promoting soil nitrogen metabolism, improve the soil nitrogen-fixing microorganisms.

Key words: plant growth promoting rhizobacteria; soil nitrogen; urease activity; nitrogen-fixing bacteria; *nifH* gene