

接种解有机磷细菌对滇重楼品质及土壤肥力的影响

李卓蔚, 郎佳琪, 孟琦, 叶明燕, 王颖, 石汝杰*, 杜慧慧, 周浓*

(重庆三峡学院生物与食品工程学院, 三峡库区道地药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室,
重庆 404120)

[摘要] 目的:研究接种不同解有机磷细菌或复合菌对滇重楼药材品质及根际土壤肥力的影响,为滇重楼人工栽培中生物菌肥的研制和施用提供参考。方法:采用单因素室内盆栽的方式,试验设空白(CK)组、接种 *Bacillus mycoides*(S1)组、接种 *B. wiedmannii*(S2)组、接种 *B. proteolyticus*(S3)组、接种 *B. mycoides* 和 *B. wiedmannii*(S4)组、接种菌株 *B. mycoides* 和 *B. proteolyticus*(S5)组、接种 *B. wiedmannii* 和 *B. proteolyticus*(S6)组、接种 *B. mycoides*、*B. wiedmannii* 和 *B. proteolyticus*(S7)组 8 个处理,分析接种解有机磷细菌对滇重楼根茎总皂苷含量及根际土壤中微生物数量、酶活性和养分含量影响。结果:接种解有机磷细菌的 7 个处理中,滇重楼根茎总皂苷含量与 CK 组比较分别增加了 16.42%、3.83%、16.86%、33.69%、2.11%、13.44%、28.83%;接种解有机磷细菌均不同程度增加了土壤微生物数量,以 S6 和 S7 组的效果最为显著;接种解有机磷细菌提高了酶活性,以 S7 组效果最为显著,酸性磷酸酶、中性磷酸酶、碱性磷酸酶、蛋白酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性分别比 CK 组高 49.96%、104.67%、110.17%、99.61%、26.26%、11.29%;接种解有机磷细菌降低了根际土壤 pH,提高了土壤速效养分含量,S7 组处理下,滇重楼根际土壤碱解氮、有效磷和速效钾含量分别比 CK 组高 181.46%、51.64%、42.62%;相关性分析表明,总皂苷与磷酸酶活性之间呈显著正相关,土壤微生物与土壤酶活性呈显著正相关,土壤各种养分之间呈极显著正相关。结论:接种不同解有机磷细菌或复合菌能提高滇重楼品质和根际土壤肥力,其中以混合接种 3 种解有机磷细菌效果最佳。

[关键词] 滇重楼; 解有机磷细菌; 总皂苷; 微生物计数; 酶活性; 养分含量

[中图分类号] R284.2;S567.239;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)16-0156-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221018

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220624.1156.001.html>

[网络出版日期] 2022-06-25 18:57

Effect of Inoculation with Organophosphate Solubilizing Bacteria on Quality and Soil Fertility of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*

LI Zhuowei, LANG Jiaqi, MENG Qi, YE Mingyan, WANG Jie, SHI Rujie*, DU Huihui, ZHOU Nong*

(College of Food and Biological Engineering, The Chongqing Engineering Laboratory for Green Cultivation and Deep Processing of the Three Gorges Reservoir Area's Medicinal Herbs, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404120, China)

[Abstract] **Objective:** The effect of inoculation with different organophosphate-resolving bacteria or compound bacteria on the quality of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* medicinal materials and rhizosphere soil fertility were studied to provide a reference for the development and application of biological bacterial fertilizer in artificial cultivation of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*. **Method:** The three dominant species of

[收稿日期] 2022-04-15

[基金项目] 重庆市自然科学基金项目(cstc2018jcyjAX0267);“成渝地区双城经济圈建设”科技创新项目(KJCX2020046);重庆市大学生创新创业训练计划项目(202110643009)

[第一作者] 李卓蔚,在读硕士,从事环境微生物与药用植物栽培研究,E-mail:lizhuowei@126.com;

[通信作者] *石汝杰,副教授,从事药用植物种植资源利用与评价研究工作,Tel:023-58102130,E-mail:yusrj@163.com;

*周浓,教授,从事中药炮制与资源研究,Tel:023-58576130,E-mail:erhaizn@126.com

organophosphate-solubilizing bacteria were inoculated separately and in combination in sterilized soil by single-factor indoor pot planting, and no inoculation was used as the control group. The effect of inoculation of organophosphate-solubilizing bacteria on total saponins content in rhizomes of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, as well as microbial numbers, enzyme activities and nutrient contents in rhizosphere soil were analyzed. **Result:** In the seven treatments inoculated with organophosphate-solubilizing bacteria, the total saponin content in the rhizomes of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* was increased by 16.42%, 3.83%, 16.86%, 33.69%, 2.11%, 13.44%, and 28.83%, respectively, compared with the control. Inoculation with organophosphate-solubilizing bacteria increased the number of soil microorganisms to varying degrees, and the effects of S6 and S7 treatments were the most significant. Inoculation with organophosphate-solubilizing bacteria improved the enzyme activity, and the effect of S7 treatment was the most significant. The activities of acid phosphatase, neutral phosphatase, alkaline phosphatase, protease, invertase and catalase were 49.96% and 104.67%, 110.17%, 99.61%, 26.26%, 11.29% higher than those of the control, respectively. Inoculation with organophosphate-solubilizing bacteria reduced the pH of the rhizosphere soil and increased the content of soil available nutrients. Under the S7 treatment, the contents of alkaline hydrolyzable nitrogen, available phosphorus and available potassium in the rhizosphere soil of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* were 181.46%, 51.64% and 42.62% higher than those of the control, respectively. Correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between total saponins and phosphatase activities, a significant positive correlation between soil microorganisms and soil enzyme activities, and a very significant positive correlation between soil nutrients. **Conclusion:** Inoculation of different organophosphate-resolving bacteria or compound bacteria can improve the quality and rhizosphere soil fertility of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*. Among them, the mixed inoculation of three kinds of bacteria and the mixed inoculation of *B. mycoides* and *B. wiedmannii* have the best effect.

[Keywords] *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*; organophosphate-solubilizing bacteria; total saponins; microbial count; enzymatic activity; nutrient content

滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)属于延龄草科重楼属多年生草本植物^[1],作为中药重楼药材项下的基原植物之一,主要以干燥根茎入药,具有抗肿瘤、消炎止痛、凉肝定惊等功效^[2-4]。近些年来,由于中药产业的迅速发展,市面上对滇重楼的需求急剧增长,导致野生滇重楼被过度采挖,而滇重楼繁殖率低下,年消耗生物量远超其生长量,从而制约了相关制药产业的可持续发展^[5]。因此,通过引种驯化扩大滇重楼产地和产量来解决药材资源供给矛盾得以广泛实施。

滇重楼在人工栽培过程中,除了受到光照、温度和水分等生态因子影响外,科学合理施肥也是提升滇重楼品质,增加其产量的重要保证。生物菌肥是国内外农业生产中的重要肥源,其作用机制是通过活体微生物的各项生命活动,改善土壤理化特性,促进植物对土壤各种营养元素的吸收利用,从而促进植物生长发育^[6]。目前,利用植物和解有机磷细菌的相互作用来调节植物的生长发育已成为当下研究的热点,许多国内外学者研究了解磷菌对植物的促生效应^[7-10]。已有研究发现,土壤中的解

有机磷细菌能矿化有机磷化合物,使土壤中难溶性的有机磷化合物转化为能被植物直接吸收利用的磷元素^[11],从而缓解植物缺磷的现象,此外,接种解有机磷细菌不仅可以促进植物体内磷、铜和铁的含量^[7-9],还能促进干物质的累积^[12],因此,解有机磷细菌具有加强植物体对土壤磷的吸收利用和促进生长发育的双重作用^[13]。以上研究对象大多以农作物为主,生物菌肥在名贵稀缺中药材种植中的应用研究较少,洗康华等^[14]讨论了不同菌肥对华重楼根际土壤微生物多样性及理化性质的影响,周浓等^[15]和赵晶晶等^[16]也讨论了不同剂量解钾菌和解磷菌对滇重楼生长发育的影响,但对不同种类的解有机磷细菌或复合菌对滇重楼药材品质及根际土壤微生物数量、酶活性和养分含量的影响还未有报道。因此,人工栽培滇重楼过程中,探索通过施用生物菌肥来提高药材产量和品质具有重要意义。

本研究采取单因素室内盆栽的方式进行,以课题组前期保留的3株解有机磷细菌优势种为菌种^[17],分别接种和组合接种于栽培基质中,探讨3种解有机磷细菌及其组合对滇重楼根茎总皂苷含量

及根际土壤微生态的影响,以期为滇重楼生物菌肥的研发和应用提供理论及试验依据。

1 材料

供试种苗为同一批大小一致,且无病虫害的四年生滇重楼实生苗,由云南省大理州永平县杉阳镇普棚村规范化种植基地(25°39'13.56''N, 99°33'58.38''E)提供,滇重楼实生苗采用单株保存,常规处理以保证种质资源的稳定性和均一性,并经保山中医药高等专科学校杨发建副教授鉴定;栽培基质为普通黄壤土、沙土和有机肥按2:1:1的比例配制而成,过2 mm筛,采用高压蒸气灭菌锅121 °C高温灭菌30 min,取出冷却密封放置待用;供试菌株为课题组前期从滇重楼根际土壤中分离筛选出的3株溶磷效果最佳的解有机磷细菌,分别为运动芽孢杆菌(*Bacillus mycoides*)、维德曼芽孢杆菌(*B. wiedmannii*)、蛋白水解芽孢杆菌(*B. proteolyticus*),活化后,用移液枪取少量菌液接种于装有50 mL牛肉膏蛋白胨液培养基的锥形瓶中培养,每种解有机磷细菌菌种培养约4 L。

PHS-2C型台式pH计(杭州齐威仪器有限公司)、752型紫外-可见光分光光度计(上海菁华仪器有限公司)、FP640型火焰光度计(上海悦丰仪器仪表有限公司)、GI54DWS型高压蒸汽灭菌锅(致微仪器有限公司)、SPX-80型生化培养箱、HSY-26型电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器械有限公司)、THZ-82B型气浴恒温振荡器(金坛市精达仪器制造有限公司)、ME204型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)、GT10-1型高速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司)、SB-5200DTN型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。试剂均为分析纯,水为高纯蒸馏水。

2 方法

2.1 试验设计 试验采用室内盆栽的方法,于2020年12月在贵州省安顺市安顺学院(26°24'95.21"N, 105°90'75.95''E)的试验种植基地进行种植。试验共分为8组,包括7个试验处理(S1~S7)组和1个空白(CK)组,实验对3株解有机磷细菌优势种采取单株接种、两组组合接种及3种菌混合接种的方式分组培养,处理方式,S1组接种菌株*B. mycoides*、处理组S2接种菌株*B. wiedmannii*、处理组S3接种菌株*B. proteolyticus*、处理组S4接种菌株*B. mycoides*和*B. wiedmannii*、处理组S5接种菌株*B. mycoides*和*B. proteolyticus*、处理组S6接种菌株*B. wiedmannii*和*B. proteolyticus*、处理组S7接种菌株*B. mycoides*、

*wiedmannii*和*B. proteolyticus*,CK组不接种处理。每组重复10次,每盆种植5株生长状况良好的滇重楼实生苗,菌悬液接种量为150 mL/盆,栽培期间按照滇重楼植株室内栽培进行常规管理。一年后采收滇重楼药材,通过抖根法取其根际土壤;将药材于45 °C烘箱中烘干,粉碎后过80目筛,密封干燥保存;新鲜根际土壤用以测定微生物数量,其余根际土壤风干,密封干燥保存备用。

2.2 测定指标及方法

2.2.1 滇重楼根茎总皂苷含量测定 滇重楼总皂苷含量采用杨骁等^[18]优化后的方法测定。

2.2.2 土壤微生物数量测定 采用稀释涂布平板法测定土壤中各种微生物的数量^[19]。称取滇重楼根际新鲜土壤1 g于灭菌锥形瓶中,加入无菌水9 mL置于恒温振荡培养箱,170 r·min⁻¹震荡培养1 h,此为0.1 g·mL⁻¹土壤稀释菌悬液,取0.1 g·mL⁻¹土壤稀释液1 mL于10 mL灭菌离心管中,加入无菌水9 mL摇匀,以此类推,依次制备成质量浓度为0.1~0.000 01 g·mL⁻¹的土壤稀释液。吸取不同浓度梯度菌悬液0.1 mL于固体培养基中,涂布均匀后放置培养箱中培养。其中细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基37 °C培养2 d;固氮菌采用ACCC55培养基28 °C培养4 d;解钾菌采用硅酸盐细菌培养基28 °C培养6 d;解有机磷细菌采用解有机磷细菌培养基37 °C培养2 d;解无机磷细菌采用解无机磷细菌培养基37 °C培养3 d;真菌采用马丁培养基28 °C培养3 d;溶磷真菌采用含100 mg·L⁻¹链霉素和氯霉素的无机磷培养基28 °C培养3 d;放线菌采用高氏1号培养基28 °C培养4 d。

2.2.3 土壤酶活性测定 采用磷酸苯二钠比色法测定3种土壤中磷酸酶活性,以24 h后1 g土壤中释放出酚的质量表示其活性大小;采用茚三酮比色法测定土壤中蛋白酶活性,以24 h后1 g土壤中氨基氮的毫克数表示其活性大小;采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定土壤中蔗糖酶活性,以24 h后1 g土壤生成葡萄糖的毫克数表示其活性大小;采用紫外分光光度法测定土壤中过氧化氢酶活性,以每20 min内1 g土壤分解的过氧化氢毫克数表示其活性大小。具体参照罗玲等^[20]的方法。

2.2.4 土壤理化性质测定 土壤理化性质采用鲍士旦^[21]的常规方法进行测定。其中,土壤pH采用pH计测定;土壤中有机碳和有机质的含量采用重铬酸钾容量法-稀释热法测定;土壤中碱性氮的含量采用碱解扩散法测定;土壤中速效磷含量采用碳酸氢

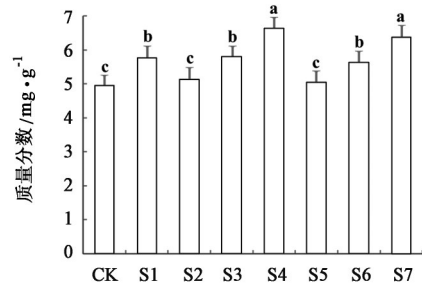
钠浸提-比色法测定;土壤中速效钾采用醋酸铵浸提-原子吸收法测定。

2.3 数据处理 采用 Microsoft Excel 2010、SPSS 22.0 和 Adobe Photoshop CC 2019 软件处理数据和做图。

3 结果

3.1 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根茎总皂苷含量的影响 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根茎总皂苷含量的影响见图1。S1~S7组的总皂苷含量均高于CK组,除S2和S5组外,其余处理组均明显高于CK组($P<0.05$),其中S1、S3和S6组的增长幅度大致相当,表明这3种接种处理方式对滇重楼品质的影响效果相似。含量增长最多的为S4组,其次为S7组,较CK组分别增长33.68%和28.85%,表明混合接种菌株 *B. mycooides* 和 *B. wiedmannii* 及3种菌混合接种能显著提高滇重楼的品质。

3.2 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤微生物数量的影响 与CK组比较,栽培基质接种解有机磷细菌提高了滇重楼根际土壤中细菌、固氮菌、解钾菌和解有机磷细菌的数量,其中,细菌和解钾菌的数量得到了明显提高($P<0.05$);除S1组的解无机磷细菌和真菌及S5组的真菌和溶磷真菌数量较CK组略低,其余处理组的解无机磷细菌、真菌和



注:图中不同字母表示差异有统计学意义 $P<0.05$ (图2同)

图1 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根茎总皂苷含量的影响

Fig. 1 Effect of inoculation with different organophosphate-solubilizing bacteria on content of total saponins in rhizomes of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*

溶磷真菌数量均有所提高;接种解有机磷细菌对滇重楼根际土壤中的放线菌数量影响较小,只有S6和S7组提高了土壤中放线菌的数量。此外,S3组的固氮菌数量增长幅度最大,增长率为71.64%;S6组的细菌、解钾菌和解无机磷细菌数量增长幅度最大,增长率分别为1400.02%、97.19%、10%;S7组的解有机磷细菌、真菌、溶磷真菌和放线菌数量增长幅度最大,增长率分别为78.22%、115.08%、134.18%、44.84%。总的来看,S6和S7组对滇重楼根际土壤中的微生物数量影响最大,对土壤中细菌的数量影响十分显著。见表1。

表1 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤微生物数量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effects of inoculation with different organophosphate-solubilizing bacteria on microbial population in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	细菌 ($\times 10^8$)	固氮菌 ($\times 10^7$)	解钾菌 ($\times 10^7$)	解有机磷细菌 ($\times 10^7$)	解无机磷细菌 ($\times 10^7$)	真菌 ($\times 10^5$)	溶磷真菌 ($\times 10^5$)	放线菌 ($\times 10^7$)
CK组	1.533±0.151 ^d	1.703±0.248 ^c	4.733±0.044 ^c	2.117±0.124 ^c	5.667±0.147 ^c	2.433±0.226 ^{de}	1.267±0.254 ^{bc}	3.100±0.170 ^b
S1组	7.133±0.346 ^c	2.300±0.060 ^{bc}	8.900±0.156 ^a	2.513±0.053 ^{bc}	4.867±0.031 ^c	2.000±0.050 ^{de}	1.467±0.208 ^{bc}	2.583±0.095 ^b
S2组	6.300±0.124 ^c	2.290±0.114 ^{bc}	6.400±0.118 ^{bc}	2.717±0.107 ^{bc}	6.167±0.244 ^c	3.100±0.116 ^{cd}	1.433±0.315 ^{bc}	2.247±0.107 ^b
S3组	6.633±0.335 ^c	2.923±0.110 ^a	9.200±0.043 ^a	2.463±0.131 ^{bc}	6.233±0.401 ^c	3.833±0.287 ^{bc}	1.267±0.241 ^{bc}	2.443±0.143 ^b
S4组	8.367±0.197 ^c	2.057±0.172 ^c	5.733±0.096 ^{bc}	2.263±0.045 ^c	7.100±0.065 ^{bc}	3.067±0.105 ^{cd}	1.567±0.288 ^{bc}	2.003±0.273 ^b
S5组	9.433±0.256 ^c	2.033±0.121 ^c	6.000±0.115 ^{bc}	2.153±0.086 ^c	6.067±0.176 ^c	1.600±0.125 ^e	1.033±0.497 ^c	2.120±0.231 ^b
S6组	23.033±0.072 ^a	2.660±0.171 ^{ab}	9.333±0.194 ^a	3.183±0.146 ^{ab}	11.770±0.229 ^a	4.533±0.200 ^{ab}	1.967±0.193 ^b	4.313±0.258 ^a
S7组	13.966±0.199 ^b	2.060±0.049 ^c	6.867±0.110 ^b	3.773±0.234 ^a	9.400±0.197 ^{ab}	5.233±0.110 ^a	2.967±0.097 ^a	4.490±0.208 ^a

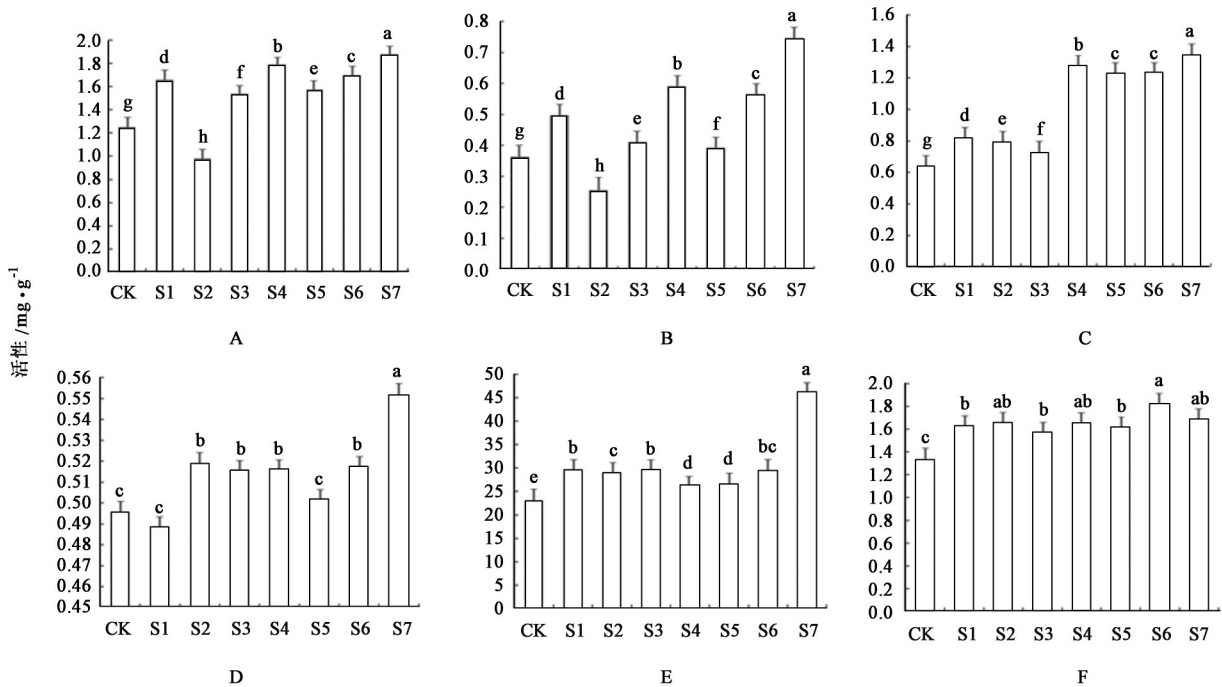
注:每组同列不同的小写字母代表 $P<0.05$ (表2同)

3.3 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤酶活性的影响 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤酶活性大小的影响,见图2。栽培基质接种解有机磷细菌对滇重楼根际土壤酸性磷酸酶和中性磷酸酶活性影响较为一致,除S2组两种磷酸酶活性低于CK组外,其余均明显高于CK组($P<0.05$),且酶活性最大的均为S7组,与CK组比较增长率为

分别为49.96%和104.67%,其次为S4组。所有处理组的碱性磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性均明显高于CK组($P<0.05$),其中,碱性磷酸酶活性最大的为S7组,其增长率为110.17%,其次是S4组;蔗糖酶活性最大的是S7组,且S7组增长幅度较其余处理组跨度大,与CK组比较增长率为99.61%;过氧化氢酶活性最大的为S6组,其增长率为36.76%,其次为

S7组和S4组。各处理对根际土壤蛋白酶活性影响表现为S1组低于CK组,S5组高于CK组,其余组的酶活均明显高于CK组($P<0.05$),酶活最大的为S7组,较CK组增长了11.29%。综合来看,几种接种处

理方式中,酶活性最大的为S7组,表明3种菌混合处理能显著增强土壤酶活大小,其次为S4组和S6组,碱性磷酸酶和中性磷酸酶的增长幅度最大,其原因可能与土壤中的pH呈弱碱性相关联。



注:A.酸性磷酸酶;B.中性磷酸酶;C.碱性磷酸酶;D.蛋白酶;E.蔗糖酶;F.过氧化氢酶($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)

图2 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤酶活性的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 2 Effect of inoculation with different organophosphate-solubilizing bacteria on enzyme activities in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* ($\bar{x}\pm s, n=10$)

3.4 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤养分含量的影响 解有机磷细菌后,根际土壤pH变化在7.081~7.599,与CK组比较,pH均有所降低。除S1组的碱解氮,所有处理组碱解氮、有效磷和速效钾均显著高于CK组($P<0.05$)。碱解氮含量最高的是S7组,含量高达 $141.023\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,与CK组比

较,增长率为181.46%,其次是S6组;有效磷含量最高的为S7组,含量高达 $146.290\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,较CK组增长了51.64%,其次为S5和S6组;速效钾含量最高的为S5组,其含量高达 $978.586\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,增长率为45.88%,其次为S7组。综合来看,S7组的根际土壤养分含量最高,其次为S5和S6组。见表2。

表2 接种不同解有机磷细菌对滇重楼根际土壤pH和养分含量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of inoculation with different organophosphate-solubilizing bacteria on pH value and nutrient content of rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	pH	碱解氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
CK组	7.668±0.040 ^a	50.104±14.113 ^d	96.535±0.701 ^e	670.804±1.703 ^g
S1组	7.303±0.066 ^c	69.910±9.218 ^d	130.279±2.209 ^{cd}	935.981±0.742 ^c
S2组	7.410±0.196 ^{bc}	93.300±17.600 ^c	127.691±3.015 ^d	851.152±2.380 ^e
S3组	7.279±0.120 ^c	100.253±24.568 ^{bc}	132.319±0.617 ^c	839.149±2.399 ^f
S4组	7.599±0.041 ^a	108.393±3.412 ^{bc}	128.256±0.636 ^d	839.804±4.774 ^f
S5组	7.543±0.059 ^{ab}	120.052±2.126 ^{ab}	137.877±3.292 ^b	978.586±3.733 ^a
S6组	7.251±0.061 ^{cd}	138.779±2.129 ^a	137.675±0.222 ^b	899.189±0.428 ^d
S7组	7.081±0.100 ^d	141.023±2.201 ^a	146.390±1.177 ^a	956.705±0.577 ^b

3.5 相关性分析 滇重楼根茎总皂苷含量及根际土壤微生物数量、酶活性大小、pH和养分含量的相关性分析,见表3。总皂苷含量与酸性磷酸酶和碱性磷酸酶呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.761和0.818;细菌与碱解氮呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.827,与解无机磷细菌和过氧化氢酶呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.923和0.848;固氮菌和解钾菌呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.886;解有机磷细菌与解无机磷细菌和蛋白酶呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.737和0.814,与真菌、溶磷真菌和蔗糖酶呈正相关($P<0.01$),相关系数分别为0.859、0.934、0.892;解无机磷细菌与真菌和碱解氮呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.792和0.782;真菌与溶磷真菌和蔗糖酶呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.827和0.721,与蛋白酶呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.868;溶磷真菌与中性磷酸酶和蛋白酶呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.818和0.827,与蔗糖酶呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.901;酸性磷酸酶与碱性磷酸酶呈正相关($P<0.05$),与中性磷酸酶呈正相关($P<0.01$),相关系数分别为0.719和0.905;中性磷酸酶和碱性磷酸酶呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.728;碱性磷酸酶与碱解氮呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.852;蛋白酶与蔗糖酶和碱解氮呈正相关($P<0.05$),相关系数为0.826和0.732;过氧化氢酶与碱解氮和速效钾呈正相关($P<0.05$),相关系数分别为0.804和0.734,与有效磷呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.842;碱解氮与有效磷呈正相关($P<0.01$),相关系数为0.855;有效磷和速效钾呈正相关($P<0.01$),相关系数高达0.917;pH与解钾菌、真菌、溶磷真菌和有效磷含量呈负相关($P<0.05$),相关系数分别为-0.710、-0.726、-0.723、-0.723,pH与解有机磷细菌和蔗糖酶含量呈极显著负相关($P<0.01$),相关系数为-0.867和-0.835。

4 讨论

重楼皂苷是滇重楼的主要有效成分,研究表明重楼皂苷具有很强的抗肿瘤的作用,其作用机制主要通过细胞增殖抑制作用、抑制肿瘤血管生成、降低瘤细胞耐药性等作用调控^[22],近年来大量研究揭示了重楼皂苷在抑制癌细胞增殖,并诱导其凋亡等方面的作用^[23-25],因此,滇重楼总皂苷的含量可作为评价滇重楼药材品质的重要指标。土壤中微生物数量的多少直接决定土壤中微生物量的大小,其中土壤中的细菌和真菌能参与土壤腐殖质的形成、有机质的分解等作用;放线菌能分解抗生素,拮抗病

原菌,保护植株健康生长^[26];固氮菌可以与土壤中的固氮酶作用,将大气中的氮转化为植物可直接吸收利用的铵态氮^[27];解磷菌具有加强植物体对磷元素的吸收利用和促进生长发育的双重作用^[14];解钾菌能将土壤中矿化钾转化成可溶性钾,改善根际土壤微生态环境,提高土壤中速效钾含量^[28],因此,土壤中微生物数量是反映土壤养分潜力的重要指标。土壤酶参与土壤中有机的合成、转化与分解,是土壤生态系统的重要组成部分^[29]。其中土壤磷酸酶是衡量土壤磷素物质转化强度的重要指标;土壤蛋白酶能促进土壤中蛋白质转化为植物生长所需氮源物质;土壤蔗糖酶可以通过水解有机物质,从而增加土壤中易溶性营养物质的含量^[26];土壤过氧化氢酶参与酚类物质的降解,促进土壤腐殖质的形成^[30],因此,土壤中的各种酶活性大小可以作为评价土壤肥力大小的重要指标。pH反映土壤的酸碱度,酸碱度能影响土壤酶及土壤养分的活性,进而影响植物的生长发育及品质,土壤养分含量影响土壤的酶活性、微生物含量,是土壤肥力的重要指标^[31]。

在本研究中,接种解有机磷细菌或复合菌后,对滇重楼品质及根际土壤微生物数量、酶活性大小和土壤养分含量的影响程度各不相同。接种解有机磷细菌后,滇重楼根茎中的总皂苷含量都有所提高,且混合接种的效果高于单接种,表明接种解有机磷细菌能提高滇重楼的药用成分含量,进而提高滇重楼的品质。此外,除放线菌外,与CK组比较,处理组的土壤微生物数量总体上都有增加,且细菌增长的幅度最大,数量增长超14倍。土壤酶活性均有不同程度的增加,磷酸酶活性增长幅度最大,综合所有土壤酶活性来看,3种菌混合处理效果最明显,表明接种解有机磷细菌可以提高滇重楼土壤微生物量,提高土壤酶活力,进而提高土壤肥力。处理组中的pH较CK组都有所降低,而滇重楼生长最适pH是6.5~7.5,从所得结果来看,接种处理后,都已达到了滇重楼生长所需的最适土壤pH^[32]。从土壤养分含量变化可以看出,土壤中碱解氮、有效磷和速效钾与CK组比较,都有了明显提高,含量增长幅度最大的为碱解氮和有效磷,增长了1.5~2倍,表明接种解有机磷细菌能显著提高滇重楼土壤的养分含量,提高滇重楼土壤肥力,从而提高滇重楼的品质。相关性分析表明,总皂苷含量与磷酸酶活性大小之间呈显著正相关,表明土壤磷酸酶活性与滇重楼品质之间密切相连。土壤中各种微生物之间,

表3 各指标间相关性分析

Table 3 Correlation analysis of index

指标	总皂苷	细菌	固氮菌	解钾菌	解有机磷细菌	解无机磷细菌	真菌	溶磷真菌	放线菌	酸性磷酸酶
总皂苷	1.000									
细菌	0.300	1.000								
固氮菌	0.150	0.407	1.000							
解钾菌	0.210	0.521	0.886 ²⁾	1.000						
解有机磷细菌	0.418	0.682	0.226	0.365	1.000					
解无机磷细菌	0.330	0.923 ²⁾	0.282	0.325	0.737 ¹⁾	1.000				
真菌	0.524	0.617	0.389	0.355	0.859 ²⁾	0.792 ¹⁾	1.000			
溶磷真菌	0.595	0.567	-0.022	0.150	0.934 ²⁾	0.682	0.827 ¹⁾	1.000		
放线菌	0.037	0.479	-0.115	0.091	0.662	0.662	0.629	0.689	1.000	
酸性磷酸酶	0.761 ¹⁾	0.535	0.103	0.319	0.380	0.452	0.363	0.528	0.239	1.000
中性磷酸酶	0.818 ¹⁾	0.577	-0.021	0.206	0.651	0.605	0.613	0.818 ¹⁾	0.494	0.905 ²⁾
碱性磷酸酶	0.550	0.699	-0.100	-0.026	0.471	0.646	0.374	0.559	0.174	0.719 ¹⁾
蛋白酶	0.541	0.462	0.132	0.035	0.814 ¹⁾	0.627	0.868 ²⁾	0.827 ¹⁾	0.404	0.324
蔗糖酶	0.524	0.411	0.089	0.228	0.892 ²⁾	0.449	0.721 ¹⁾	0.901 ²⁾	0.475	0.473
过氧化氢酶	0.423	0.848 ²⁾	0.518	0.566	0.597	0.676	0.475	0.448	0.036	0.435
pH	-0.397	-0.583	-0.559	-0.710 ¹⁾	-0.867 ²⁾	-0.513	-0.726 ¹⁾	-0.723 ¹⁾	-0.428	-0.409
碱解氮	0.439	0.827 ¹⁾	0.323	0.285	0.661	0.782 ¹⁾	0.637	0.592	0.230	0.565
有效磷	0.481	0.668	0.463	0.512	0.619	0.478	0.452	0.503	-0.031	0.573
速效钾	0.290	0.543	0.260	0.419	0.443	0.259	0.119	0.337	-0.127	0.523

指标	中性磷酸酶	碱性磷酸酶	蛋白酶	蔗糖酶	过氧化氢酶	pH	碱解氮	有效磷	速效钾
总皂苷									
细菌									
固氮菌									
解钾菌									
解有机磷细菌									
解无机磷细菌									
真菌									
溶磷真菌									
放线菌									
酸性磷酸酶									
中性磷酸酶	1.000								
碱性磷酸酶	0.728 ¹⁾	1.000							
蛋白酶	0.579	0.547	1.000						
蔗糖酶	0.689	0.460	0.826 ¹⁾	1.000					
过氧化氢酶	0.445	0.668	0.452	0.410	1.000				
pH	-0.531	-0.257	-0.615	-0.835 ²⁾	-0.598	1.000			
碱解氮	0.589	0.852 ²⁾	0.732 ¹⁾	0.587	0.804 ¹⁾	-0.557	1.000		
有效磷	0.524	0.692	0.576	0.661	0.842 ²⁾	-0.723 ¹⁾	0.855 ²⁾	1.000	
速效钾	0.411	0.637	0.291	0.531	0.734 ¹⁾	-0.577	0.678	0.917 ²⁾	1.000

注:两指标间相关性¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

且微生物量与蛋白酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性之间均呈现出显著正相关,pH与土壤微生物、酶活性均呈现出负相关,土壤碱解氮、有效磷和速效钾相互间呈现出正相关,表明土壤微生物量、酶活性及土壤养分含量之间可以相互影响,协同调节滇重楼根际土壤肥力,这对滇重楼的生长发育十分有利。

本实验所接种的3种解有机磷菌是3种不同属的芽孢杆菌,从混合接种效果来看,不同属的菌株相互组合后产生了不同程度的互作效应,各接种处理下滇重楼皂苷含量均高于对照,但S5组双菌混合接种比S1和S3组单菌接种下的皂苷含量稍低,而S4组双菌混合接种比S1和S2组单菌接种下的皂苷含量显著增高,3菌混合接种下的皂苷含量也显著高于单接种处理,对滇重楼根际土壤酶活性影响也大致如此。原因可能是接种菌株*B. mycoides*和*B. proteolyticus*(S5组),两种芽孢杆菌属于强-强菌株组合,受竞争影响,共生效应弱化,呈现弱协同互作效应。接种*B. mycoides*和*B. wiedmannii*(S4组)、以及3菌混合接种,是强-弱菌株组合,增强了协同效应。

综上所述,接种不同解有机磷细菌或复合菌,能提高滇重楼的品质,增加滇重楼根际土壤中微生物数量、酶活性以及养分含量,进而提高土壤肥力。同时,本研究结果也表明,混合接种解有机磷细菌的效果强于单接种,3种菌混合接种以及混合接种菌株*B. mycoides*和*B. wiedmannii*这两种方式对滇重楼的影响效果最佳,因此,可将这两种解有机磷细菌的接种方式推广应用到滇重楼人工种植过程中,从而提高土壤肥力和改善滇重楼品质。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 沈昱翔,陈朝儒,张雪妹,等. 丛枝菌根对滇重楼幼苗生长及光合特性的影响[J]. 作物杂志,2020,36(4):170-177.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:271-272.

[3] 赵晶晶,李卓蔚,许凌峰,等. 核桃凋落叶分解对滇重楼生理特性及药用品质的影响[J]. 生态学杂志,2021,40(12):3982-3989.

[4] 晏秀祥,潘齐冬,孙浩云,等. 滇重楼民族民间应用及传统功效的物质基础研究[J]. 中国中药杂志,2021,46(24):6343-6352.

[5] 赵飞亚,陶爱恩,夏从龙. 基于国内专利结合资源、应用与开发现状的重楼发展策略探讨[J]. 中国中药杂

志,2018,43(2):404-409.

[6] 刘晓倩,杜杏蓉,谭玉娇,等. 增施不同配比解磷菌、解钾菌生物菌肥对烤烟生长发育和根际土壤酶活性的影响[J]. 云南农业大学学报:自然科学,2019,34(5):845-851.

[7] HAMEEDA B, HARINI G, RUPELA O P, et al. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna[J]. Microbiol Res,2008,163(2):234-242.

[8] RAJ J, BAGYARAJ D J, MANJUNATH A. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate dissolving bacterium on plant growth and 32p-up take [J]. Soil Biol Biochem, 1981,13(1):105-108.

[9] BASHAN Y, KAMNEV A A, DE-BASHAN L E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: A proposal for an alternative procedure[J]. Biol Fertility Soils,2013,49(4):465-479.

[10] 白文娟,胡蓉蓉,章家恩,等. 溶磷菌对玉米苗期生长和磷素吸收的影响[J]. 生态科学,2014,33(3):401-407.

[11] 秦利均,杨永柱,杨星勇. 土壤溶磷微生物溶磷、解磷机制研究进展[J]. 生命科学研究,2019,23(1):59-64+86.

[12] KOBUS J. The distribute on of microorganisms mobilizing phosphorus in different soils [J]. Acta Microbio Plo,1962,11(7):255-264.

[13] YADAV B K, TARAFDAR J C. *Penicillium purpurogenum*, unique P mobilizers in arid agroecosystems [J]. Arid Soil Res Rehabilita, 2011, 25(11):87-99.

[14] 沈康华,苏江,付传明,等. 不同菌肥对华重楼根际土壤微生物多样性及理化性质的影响[J]. 广西科学,2021,28(6):616-625.

[15] 周浓,许凌峰,杨敏,等. 不同剂量解钾菌对滇重楼生长发育的影响[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(9):1548-1557.

[16] 赵晶晶,郭冬琴,杨敏,等. 不同剂量解磷菌对滇重楼生长发育的影响[J]. 环境化学,2022,41(2):761-769.

[17] 杜慧慧,朱芙蓉,杨敏,等. 不同生境滇重楼根际解磷菌的筛选与鉴定[J]. 中国中药杂志,2021,46(4):915-922.

[18] 杨骁,张振秋. 重楼中总皂苷的含量测定[J]. 中华中医药学刊,2007,25(11):2420-2422.

[19] 赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版

- 社, 2002: 69-73.
- [20] 罗玲, 钟奇, 刘伟, 等. 地面覆盖对避雨葡萄园土壤水分、温度及酶活性的影响[J]. 核农学报, 2020, 34(12): 2839-2849.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 14.
- [22] 方海雁, 龚晓燕, 洪星辉, 等. 重楼总皂苷对人胃癌MKN-45细胞凋亡及Fas/FasL信号通路的影响[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1388-1391.
- [23] 吴夏慧, 薛娇, 胡文静, 等. 重楼总皂苷提取分离及其对人胃癌细胞BGC823的抑制作用[J]. 江苏中医药, 2011, 43(8): 84-86.
- [24] 朱丽丽, 李惠芬. 重楼皂苷对SGC-7901细胞增殖抑制及诱导凋亡的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1501-1502.
- [25] 陈志红, 龚先玲, 刘义. 重楼总皂苷对人鼻咽癌细胞CNE-2Z周期及凋亡的影响[J]. 中成药, 2011, 33(1): 25-29.
- [26] 魏祖晨, 赵顺鑫, 李卓蔚, 等. 混合接种不同丛枝菌根真菌对云木香根际微生物及土壤酶活性的影响[J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(8): 6-11, 26.
- [27] 王加龙, 刘驰, 雷丽, 等. 非共生固氮菌及其固氮作用[J]. 微生物学报, 2022, doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20210697.
- [28] 吴洪生, 陈佳宏, 刘正柱, 等. 钾细菌制剂对土壤钾素的影响探讨[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(3): 92-94.
- [29] 陈小花, 陈宗铸, 雷金睿, 等. 清澜港红树林湿地土壤酶活性与理化性质的关系[J]. 林业科学研究, 2022, 35(2): 171-179.
- [30] BURNS R G, DEFOREST J L, MARXSEN J, et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions [J]. Soil Biol Biochem, 2013, 58: 216-234.
- [31] 季琳琳, 陈素传, 吴志辉, 等. 生草对山核桃林地土壤养分及土壤酶活性的影响[J]. 经济林研究, 2022, 40(1): 19-25, 44.
- [32] 毛玉东, 梁社往, 何忠俊, 等. 土壤pH对滇重楼生长、养分含量和总皂甙含量的影响[J]. 西南农业学报, 2011, 24(3): 985-989.

[责任编辑 顾雪竹]