



光合细菌和小球藻对石生苔藓种源扩繁的作用

王鹤鸣¹, 卜崇峰^{2,3*}, 吴淑芳¹, 王 春², 莫秋霞⁴

(1 西北农林科技大学 水利与建筑工程学院, 陕西杨凌 712100; 2 西北农林科技大学 水土保持研究所, 陕西杨凌 712100; 3 中国科学院 水利部 水土保持研究所, 陕西杨凌 712100; 4 西北农林科技大学 资源与环境学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 石生苔藓结皮可以从大气中吸收水分及养分, 附着在岩石表面生长, 具有促进矿物分化和植被演替等多种重要的生态功能, 利用人工培育的苔藓结皮进行岩石工程创面生态修复具有广阔的市场前景, 而针对特定地区的优势种探讨高效的种源扩繁技术则成为了首要任务。研究以秦岭北麓长势好、生物量大的石生匍匐型藓种羽枝青藓为研究材料, 考虑沼泽红假单胞菌浓度(高浓度 24 mL/L, 低浓度 12 mL/L, 不添加)和小球藻浓度(高浓度 250 mL/L, 低浓度 125 mL/L, 不添加)开展双因素完全试验, 观测人工气候箱条件下羽枝青藓的盖度、新发芽数和新发芽茎长, 探究沼泽红假单胞菌和小球藻对羽枝青藓的作用效果、最适浓度及组合, 为提高羽枝青藓扩繁效率提供科学依据。结果显示, (1)只添加低浓度沼泽红假单胞菌的处理羽枝青藓生长状况最优, 相比于对照处理(不添加沼泽红假单胞菌和小球藻), 可将盖度提高 14.3%, 新发芽数增加 61.2%, 新发芽茎长增长 34.0%; (2)沼泽红假单胞菌浓度对羽枝青藓的盖度、新发芽数和新发芽茎长均有显著影响; (3)小球藻浓度对羽枝青藓各项生长指标均无显著影响, 其与沼泽红假单胞菌的交互作用对羽枝青藓盖度有显著影响。研究表明, 沼泽红假单胞菌对羽枝青藓的生长发育具有显著促进作用, 在后期石生苔藓结皮种源扩繁实践中应加以考虑和借鉴。

关键词: 石生苔藓结皮; 人工扩繁; 光合细菌; 藻类

中图分类号: Q949.35; Q945.5 **文献标志码:** A

Effects of Photosynthetic Bacteria and *Chlorella vulgaris* on Provenance Cultivation of Lithophytic Moss Crusts

WANG Heming¹, BU Chongfeng^{2,3*}, WU Shufang¹, WANG Chun², MO Qiuxia⁴

(1 College of Water Resources and Architectural Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 Institute of Soil and Water Conservation, CAS and MWR, Yangling, Shaanxi 712100, China; 4 College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The lithophytic moss crusts can absorb water and nutrients from the atmosphere and grow on the rock surface, and it has a variety of important ecological functions, such as promoting mineral differentiation and vegetation succession. The use of artificially cultivated moss crusts for ecological restoration of rock engineering wounds has a broad market prospect, and it has become the primary task to explore efficient provenance cultivation techniques for the dominant species in specific areas. For this reason, in this study, a well-growth and high biomass stone creeping moss in the northern foot of Qinling Mountains, *Brachythecium plumosum* (Hedw.) B. S. G., was used as the research material, considering the concentration of *Rhodopseudomonas palustris* (24 mL/L, 12 mL/L, no addition) and *Chlorella vulgaris* concen-

收稿日期: 2023-04-12; 修改稿收到日期: 2023-05-31
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(42371058); 秦创原西部科技创业湾项目(2022-747); 国家重点研发计划项目(2017YFC0504703); 国家重点研发国际合作项目(2016YFE0203400-05)
作者简介: 王鹤鸣(1997—), 男, 硕士研究生, 主要从事苔藓结皮人工扩繁研究。E-mail: 1029938837@qq.com
* 通信作者: 卜崇峰, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事生物土壤结皮与水土保持工程研发工作。E-mail: buchongfeng@163.com

tration (250 mL/L, 125 mL/L, no addition) to carry out a two-factor complete experiment. The coverage, newly germinated number and newly germinated stem length of moss were observed under the condition of artificial climate box, and the effect, optimum concentration and combination of bacteria and algae were studied, so as to provide scientific basis for improving the efficiency of cultivation. The results showed, (1) only adding low concentration of bacteria was the best performance treatment of moss crusts growth. Compared with the control (no addition of bacteria or algae), it could increase the coverage by 14.3%, the number of new sprouts by 61.2%, and the length of new sprouts by 34.0%. (2) The concentration of bacteria had significant effects on the coverage, number of new sprouted moss and stem length of new sprouted moss. (3) The concentration of algae had no significant effect on the growth indexes of moss crusts, and the interaction with bacteria had a significant effect on the coverage. *Rhodopseudomonas palustris* could significantly promote the growth and development of *Brachythecium plumosum* (Hedw.) B. S. G., which should be considered and used for reference in the future provenance cultivation.

Key words: lithophytic moss crusts; artificial cultivation; photosynthetic bacteria; algae

秦岭是中国地理、气候分界线、重要的生物基因库,起到涵养水源、调节气候等多种重要的生态功能^[1-2]。高速公路建设、矿产资源开发等活动导致秦岭地区形成了大量裸露岩石坡面^[3-4],严重影响了秦岭的生态功能。其岩体坚硬、完整性好,持水能力差的坡面状况,更增加了植被恢复工作的难度,依靠单一的工程措施难以达到长期稳定的防护效果^[3,5]。苔藓结皮是以苔藓为优势种的生物结皮,可以从大气中吸收水分及养分,附着在岩石表面生长,促进矿物分化和植被演替,是裸岩边坡修复潜在的理想材料^[6-10]。利用人工培育的石生苔藓结皮,进行岩石工程创面的生态修复具有非常广阔的市场前景。但目前人工培育苔藓结皮的效率无法满足修复需求,培育方案亟待优化。

除已有研究关注的物理化学因素外,菌藻添加亦可促进苔藓结皮的生长^[11-12],且藻菌配施添加更有利于培养体系的稳定和持续运行。如巨大芽孢杆菌和小球藻配施可以提高土壤磷有效性,改善土壤理化性质,改变土壤微生物群落结构,提高微生物活性,从而更好地促进作物生长^[13]。因此,不同菌藻的选择尝试及组合对于提高苔藓结皮种源扩繁效率具有重要实践意义。光合细菌是一种植物根际促生菌,可将分子态氮和不溶性磷酸盐转化为植物可吸收的有效养分^[14-16],还可合成植物激素促进植物生长发育^[15,17],目前已被证实能显著促进多种经济作物的生长^[18],改善作物品质^[19],但该类菌对苔藓结皮的作用效果有待验证。藻类分泌的胞外多糖在低浓度下能促进齿肋赤藓原丝体和配子体萌发产生新的茎叶体^[20]。研究表明,添加硅藻和小球藻的复合藻液可显著促进以土生对齿藓为优势种的苔藓结皮的形成^[11]。添加小球藻可显著促进银叶真藓生长,

延缓其衰老。但藻类对秦岭地区石生藓的作用效果及最适浓度仍有待探究。此外,光合细菌可为藻类生长发育提供有效氮、有效磷等养分^[21],二者配施对苔藓生长发育的作用效果是否更佳亦有待尝试。

利用人工培育的苔藓结皮进行岩石工程创面的生态修复具有非常广阔的市场前景,而针对特定地区的优势种探讨高效的种源扩繁技术则成为了首要任务。为此,本研究以秦岭北麓长势好、生物量大的石生匍匐型藓种——羽枝青藓 [*Brachythecium plumosum* (Hedw.) B. S. G.]作为种源,考虑最具代表性,且在种植业应用最广泛的 2 种微生物——沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*)和小球藻(*Chlorella vulgaris*)的浓度两因素,开展室内种源扩繁完全试验,旨在明晰 2 种菌藻的作用效果、最适浓度及组合,从而提高扩繁效率,优化羽枝青藓培育方案,为后期大规模石生苔藓种源扩繁提供技术支撑。

1 材料和方法

1.1 种源采集与材料制备

1.1.1 采样区概况

研究区位于陕西省西安市周至县西南部的翠峰山国家森林公园(34°00′05″—34°10′25″N,107°55′10″—108°05′35″E),总占地面积 3 918 hm²,主体处于秦岭北麓中段,由于园区内山体阻隔明显,开放区仅为泥峪、车峪及其与翠峰山山体交汇的浅山沟谷带,原始景观保存较好^[22]。园区内属温带湿润性气候,年平均气温 12~13.6℃,最低温-5.2℃,最高温 20.5℃;年降水量 650~720 mm,全年降水分布不均,夏季多以暴雨形式出现,秋季常出现连阴雨,洪涝灾害较为频繁;年平均日照时间为 2 002 h;山区

平均风速为 8~15 m/s,多为山谷的狭管效应形成的下山风;地下水 pH 值 7~8,地表水为软水或中等软水,均宜灌溉;翠峰山海拔 1 773 m,土壤分布呈明显的垂直地带性,海拔 1 200 m 以下多为褐土,1 200 m 以上为棕壤;调查区动植物资源丰富,人工林主要为油松(*Pinus tabuliformis* Carr.)、漆树[*Toxicodendron vernicifluum* (Stokes) F. A. Barkl.],刺槐(*Robinia pseudoacacia* Linn.)等;天然林多为高山铁杉[*Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz.],冷杉[*Abies fabri* (Mast.) Craib]、云杉(*Picea asperata* Mast.)等珍稀树种,是当之无愧的生物多样性宝库^[23]。

1.1.2 样品采集

石生苔藓结皮采自陕西省西安市周至县西南部的翠峰山国家森林公园(34°00′05″—34°10′25″N, 107°55′10″—108°05′35″E),海拔 950~1 150 m 之间,干扰较少的山区。采集时选择生境相似,发育状况相近的苔藓结皮作为试验材料。经鉴定,其优势苔藓种为羽枝青藓[*Brachythecium plumosum* (Hedw.) B. S. G.]。采集的苔藓结皮置于阴凉通风处阴干,人工剔除枯落物和石块等杂物后用粉碎机将结皮粉碎,过筛选取 1~3 mm 的茎叶碎片作为室内扩繁试验种源^[23]。

1.1.3 微生物制备

于北京百欧博伟生物技术有限公司 <https://www.biobw.org/> 购买沼泽红假单胞菌(bio-52488=CGMCC 1.2352)菌株液体培养物 10 mL,并在 30 ℃密封条件下用钨丝灯全天照射培养获得沼泽红假单胞菌液(OD₆₀₀=3.231);于中国科学院淡水藻种库(<http://algae.ihb.ac.cn/Default.aspx>)购买普通小球藻(FACHB-2338)藻株液体培养物 10 mL,并在 25 ℃,12 h/12 h(昼/夜)下培养获得普通小球藻藻液(OD₆₈₀=0.814)。

1.2 扩繁试验环境

苔藓结皮种源扩繁试验于陕西省咸阳市杨陵区西北农林科技大学水土保持研究所工程中心 116 实验室人工气候箱内进行。人工气候箱内温度、空气湿度、光照强度及光照时间分别设定为 20 ℃、80%、1 500~2 000 lx 及 16 h/8 h(昼/夜)^[23]。

1.3 试验设计与布置

试验设置沼泽红假单胞菌浓度(高浓度 24 mL/L,低浓度 12 mL/L,不添加)^[24]和普通小球藻浓度(高浓度 250 mL/L,低浓度 125 mL/L,不添加)^[13]两因素三水平完全试验(表 1),共 9 个处理,3 个重复,27

个样品。培育盒规格为 10 cm×10 cm×5 cm,培育盒内加入 4 cm 厚的火山岩,将其表面整理平坦。高温蒸汽灭菌后,铺上两层医用灭菌纱布,在纱布上喷洒菌液或藻液。菌藻液添加量综合参考光合细菌对植物促生研究^[24]及其他微生物菌剂对苔藓促生研究^[25]的用量并适当调整,最终均定为 2 L/m²。无需添加菌藻的处理添加等量蒸馏水。随后,在每培育盒内均匀撒播种源 0.6 g(60 g/m²)。培育期间,每日浇水 1 次,每 8 d 测定苔藓结皮的生长指标(盖度、新发芽茎长、新发芽数)1 次,每次测定指标后喷洒霍格兰营养液(2.1 L/m²)1 次。试验于 2022 年 6 月 2 日开始,2022 年 7 月 3 日结束,历时 32 d^[23]。

表 1 试验处理

Table 1 Experimental treatments

编号 Serial number	处理 Treatment	沼泽红假单胞菌浓度 Concentration of <i>R. palustris</i> (mL/L)	普通小球藻浓度 Concentration of <i>C. vulgaris</i> (mL/L)
I	R1C1	24	250
II	R1C2	24	125
III	R1C0	24	0
IV	R2C1	12	250
V	R2C2	12	125
VI	R2C0	12	0
VII	R0C1	0	250
VIII	R0C2	0	125
IX	CK	0	0

注:R 表示沼泽红假单胞菌;C 表示普通小球藻;数字 1 表示添加高浓度,2 表示添加低浓度,0 表示不添加。下同。

Notes: R represents *Rhodopseudomonas palustris*, C represents *Chlorella vulgaris*, number 1 represents high concentration, 2 represents low concentration, 0 represents no addition. The same as below.

1.4 指标测定及方法

(1)盖度:在培育盒上方放置 10 cm×10 cm 的画有等分 100 个方格的透明亚克力板,每个格子下方有新发芽苔藓计为 1,没有则计为 0,累计数量除以 100 即为该样方苔藓结皮盖度^[23]。

(2)新发芽数:在培育盒上方放置由四线交叉等分为 9 个方格的 10 cm×10 cm 的透明亚克力板,选取 2 条对角线上的 5 个方格测量羽枝青藓种源的新发芽个数,加和除以所占面积即为该样方单位面积的新发芽数^[23]。

(3)新发芽枝长:在培育盒内随机选取 10 根新

发枝芽,用游标卡尺测定其长度,取平均值即为该样方新发芽平均枝长^[23]。

1.5 数据处理

使用 Excel 2019 对数据进行预处理,多重比较和方差分析使用 IBM SPSS Statistics 26 软件完成,作图使用 Origin 2022 软件完成。

2 结果与分析

2.1 菌藻添加对苔藓结皮盖度的影响

从各处理结皮盖度随时间变化趋势(图 1)可以看出,在全培育期内,各处理的结皮盖度均呈稳定上升趋势。培育前期生长速率较快,末期速率减缓,但还有继续生长的空间。培育 32 d 后各处理均能形成稳定的苔藓结皮。在培育期第 16 天后,处理 R2C0 的苔藓结皮盖度始终高于其他处理。第 32 天收获时,添加菌藻的处理其苔藓结皮盖度均高于对照处理。表明播种时添加沼泽红假单胞菌或普通小球藻有益于羽枝青藓更快实现全覆盖。

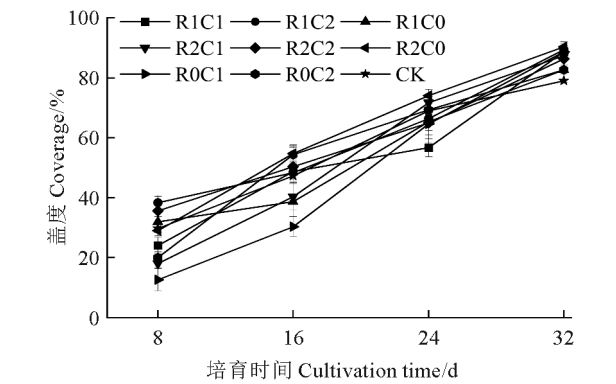


图 1 各处理苔藓结皮盖度随时间的变化
Fig. 1 Changes of moss crust coverage with time in each treatment

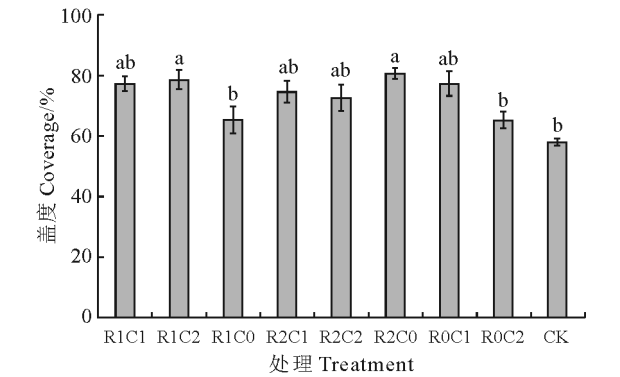
多重比较结果(图 2)表明在试验末期,处理 R1C2 和 R2C0 的盖度显著高于处理 R1C0、R0C2、CK,其中处理 R2C0 盖度最高,达到了 90.33%,对照处理(CK)的盖度最低,仅为 79.00%。添加菌或藻的处理盖度均达到 80.00% 以上。对于添加菌藻的处理,除处理 R1C2 和 R2C0 外,其他处理与 CK 盖度无显著差异。说明播种时仅添加低浓度菌或混合添加高浓度菌和低浓度藻可以显著提高苔藓结皮的盖度。

对苔藓结皮盖度数据的正态检验与方差齐性检验,结果均不显著($P>0.05$),满足方差分析的前提假设。方差分析结果(表 2)表明,沼泽红假单胞菌的浓度对苔藓结皮盖度影响显著($F=3.695, P=0.045$);沼泽红假单胞菌和小球藻的交互作用对苔

藓结皮盖度影响显著($F=3.085, P=0.042$);普通小球藻的浓度对苔藓结皮的盖度无显著影响。

2.2 菌藻添加对苔藓新发芽数的影响

从各处理苔藓新发芽数随时间变化趋势(图 3)可以看出,在全培育期内,各处理苔藓新发芽数均呈稳定增加趋势,培育前期生长速率较快,末期速率减缓。处理 R2C0 还有新发芽的趋势,其余处理新发芽速率趋于平缓。



柱状图上不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。
图 2 试验末期各处理苔藓结皮盖度
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same as below.

Fig. 2 Moss crust coverage at the end of each treatment

表 2 试验末期苔藓结皮盖度方差分析结果
Table 2 Analysis of variance of moss crust coverage at the end of experiment

因素 Factor	SS	df	MS	F	P
沼泽红假单胞菌浓度 Concentration of <i>R. palustris</i>	101.556	2	50.778	3.695	0.045
小球藻浓度 Concentration of <i>C. vulgaris</i>	80.222	2	40.111	2.919	0.080
交互作用 Interaction	169.556	4	42.389	3.085	0.042

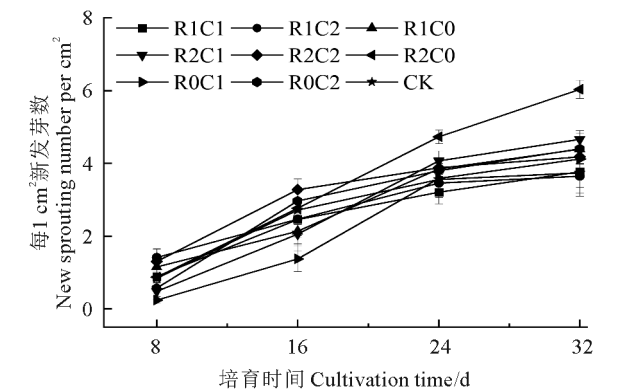


图 3 各处理苔藓新发芽数随时间的变化
Fig. 3 Changes of new sprouting number of moss with time in each treatment

在培育期第 18 天后,处理 R2C0 的苔藓新发芽数始终高于其他处理。第 32 天收获时,处理 R2C0 的新发芽数明显多于其他处理,表明播种时添加低浓度沼泽红假单胞菌可显著增加苔藓的新发芽数。

多重比较结果(图 4)表明在试验末期,处理 R2C0 的新发芽数最多,为 6.04 个/cm²,与处理 4 无显著差异,但显著多于其他处理。处理 R1C2 的新发芽数最少,仅为 3.65 个/cm²。处理 R1C0—R0C2 的新发芽数均达到 4.00 个/cm² 以上。除处理 R2C0 外,其他处理与 CK 新发芽数均无显著差异。表明仅添加低浓度沼泽红假单胞菌可以显著增加苔藓的新发芽数。

对苔藓新发芽数数据进行正态检验与方差齐性检验,结果均不显著($P>0.05$),满足方差分析的前提假设。方差分析结果(表 3)表明,沼泽红假单胞菌的浓度对苔藓新发芽数影响显著($F=4.247, P=0.031$);普通小球藻的浓度以及沼泽红假单胞菌和小球藻的交互作用对苔藓新发芽数无显著影响。

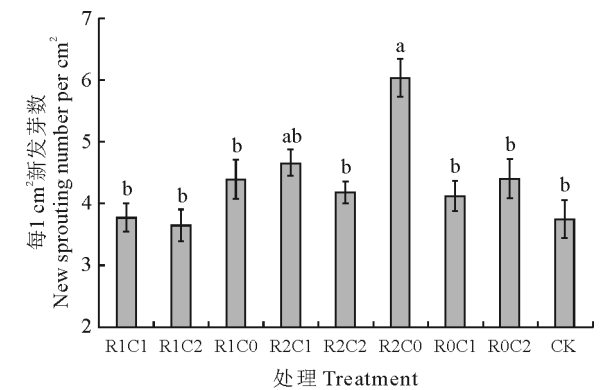


图 4 试验末期各处理苔藓新发芽数

Fig. 4 New sprouting number of moss at the end of each treatment

表 3 试验末期苔藓新发芽数方差分析结果

因素 Factor	SS	df	MS	F	P
沼泽红假单胞菌浓度 Concentration of <i>R. palustris</i>	5.473	2	2.737	4.247	0.031
小球藻浓度 Concentration of <i>C. vulgaris</i>	2.155	2	1.078	1.672	0.216
交互作用 Interaction	5.010	4	1.252	1.944	0.147

2.3 菌藻添加对苔藓新发芽茎长的影响

从各处理苔藓新发芽茎长随时间变化趋势(图 5)可以看出,在全培育期内,各处理苔藓新发芽茎长

均呈稳定增长趋势,且在末期仍保持积极的增长态势。在培育期第 16 天后,处理 R2C0 的苔藓新发芽茎长始终长于其他处理,处理 R0C1 的新发芽茎长增长速率加快。在第 32 天收获时,处理 R0C1 的茎长与处理 R2C0 基本一致,CK 的新发芽茎长最短。

多重比较结果(图 6)表明在试验末期,处理 R2C0 和 R0C1 的新发芽茎长最长,为 6.45 mm,与处理 R1C1—R2C2 无显著差异,显著长于处理 R0C2 和 CK。CK 的新发芽茎长最短,仅为 4.81 mm。处理 R1C1—R0C1 的新发芽茎长均达到 5 mm 以上。处理 R1C1、R1C2、R1C0、R2C2 与 CK 新发芽数均无显著差异。对苔藓新发芽茎长数据进行正态检验与方差齐性检验,结果均不显著($P>0.05$),满足方差分析的前提假设。方差分析结果(表 4)表明,沼泽红假单胞菌的浓度对苔藓新发芽茎长影响显著($F=4.185, P=0.032$);普通小球藻的浓度以及沼泽红假单胞菌和小球藻的交互作用对苔藓新发芽茎长无显著影响。

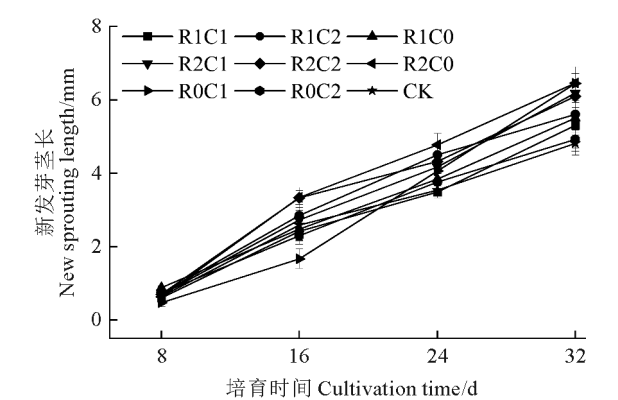


图 5 各处理苔藓新发芽茎长随时间的变化

Fig. 5 Changes of new sprouting length of moss with time in each treatment

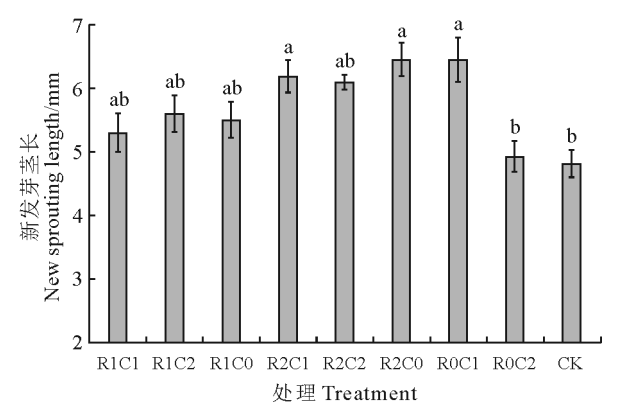


图 6 试验末期各处理苔藓新发芽茎长

Fig. 6 New sprouting length of moss at the end of each treatment

表 4 试验末期苔藓新发芽茎长方差分析结果

Table 4 Analysis of variance of new sprouting length of moss at the end of experiment

因素 Factor	SS	df	MS	F	P
沼泽红假单胞菌浓度 Concentration of <i>R. palustris</i>	3.973	2	1.987	4.185	0.032
小球藻浓度 Concentration of <i>C. vulgaris</i>	1.029	2	0.515	1.084	0.359
交互作用 Interaction	4.330	4	1.082	2.280	0.101

3 讨 论

3.1 沼泽红假单胞菌对羽枝青藓生长的影响

沼泽红假单胞菌的添加显著促进了羽枝青藓的生长发育。具体表现为:相比对照处理,添加低浓度沼泽红假单胞菌将羽枝青藓盖度提高了 14.3%、新发芽数增加了 61.2%、新发芽茎长增长了 34.0%。这可能与光合细菌自身的生理特性有关。光合细菌可通过自身代谢和生物固氮功能,将大气中的分子态氮及土壤中的不溶性磷酸盐转化为植物可吸收的离子态氮磷,为作物提供有效养分^[14-16]。此外,光合细菌能提高土壤中铵态氮的含量,为放线菌提供氮源,从而提高土壤中放线菌含量^[26]。而放线菌和光合细菌一样可以提高土壤中有效磷的含量,释放植物激素促进多种植物生长^[27-28]。这可能也是光合细菌促进羽枝青藓生长的一个原因。

试验结果表明,低浓度沼泽红假单胞菌相较于高浓度菌对羽枝青藓的促生效果更好。可能是因为高浓度菌产生的植物激素浓度较高,抑制了苔藓的生长。光合细菌的胞外分泌物中含有大量植物激素,如吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, ALA)等^[29]。这些外源激素也可被植物吸收利用,从而影响植物生长^[30]。高叶青等人通过短叶对齿藓愈伤组织生长对不同浓度 IAA 响应效果的研究发现,低浓度 IAA 处理的愈伤组织,其分化出的原丝体长度最长,直径最大,而高浓度 IAA 处理的愈伤组织其原丝体短而稠密^[31],这表明高浓度 IAA 会对苔藓茎长产生抑制作用。此外,尽管光合细菌可以促进溶磷放线菌的繁殖,提高基质中有效磷的含量,但放线菌会和苔藓争夺铵态氮^[26],降低基质中铵态氮含量。因此,过高浓度的沼泽红假单胞菌可能使放线菌和苔藓的共生平衡转化为竞争关系,这也可能是高浓度菌对羽枝青藓促生效果较差的原因。

3.2 小球藻对羽枝青藓生长的影响

单独添加小球藻对羽枝青藓的各项生长指标均无显著影响。这与陈祥舟等人的研究结果^[23]一致。但也有众多对其他藓种的研究证实,藻类可以释放胞外多糖促进苔藓茎叶体萌发,也可提高土壤内有机质等养分含量,促进植物生长^[20]。白雪强等人的研究表明,添加小球藻可延缓银叶真藓植株衰老,使其保持较好的生长状况^[12]。鞠孟辰等人的研究也表明,添加小球藻和硅藻可以提高土生对齿藓结皮的微生物多样性,促进结皮发育^[11],这些均与本研究结果不符。这可能因不同藓种的生理习性而异,土生对齿藓和银叶真藓大多为土生直立型藓,而羽枝青藓为石生匍匐型藓,大多定植在养分贫瘠的岩石表面,其对有机质的需求和养分吸收方式可能与土生直立藓不同,所以没有呈现出一致的促生效果。另一方面,沼泽红假单胞菌的添加会促进放线菌生长^[26],羽枝青藓的优势内生菌也是放线菌^[32],而放线菌可产生抗生素裂解绿藻^[33],所以小球藻可能因被抑杀而没有体现出应有的促生效果。此外,藻类过度繁殖时,其对苔藓的促生作用就会转化为竞争关系^[20],也可能是小球藻对羽枝青藓促生效果不明显的原因。在以往的研究中,小球藻的施加时间均为种源播撒时或播撒后,提前施加小球藻可改善养分环境,也可避免苔藓与藻类的竞争,可能会达到较为理想的效果。

3.3 菌藻交互作用对羽枝青藓生长的影响

微生物间的营养互作、信号交流等都在同时进行^[34],与单一微生物培养体系相比,多种微生物共生体系具有更丰富的物种多样性,更有利于培养体系的稳定和持续运行^[35]。如张娜等人^[36]的研究表明,沼泽红假单胞菌和枯草芽孢杆菌混施比 2 种微生物单施对水稻产量和结实率的增产效果更好。但本研究表明,菌藻混施促生效果不如单独施加沼泽红假单胞菌,这可能与小球藻和沼泽红假单胞菌的生理特性有关。放线菌可产生抗生素裂解绿藻^[33],光合细菌的添加又可显著提高土壤中放线菌的含量^[37]。意味着同时添加沼泽红假单胞菌和小球藻会增强放线菌对小球藻的抑杀作用。沼泽红假单胞菌可以提高土壤中铵态氮、硝态氮、有效磷的含量,促进植物生长^[38],而绿藻会争夺这些养分合成细胞^[21],其常被用于处理富营养化的水体,也是利用了这一生理习性。因此,光合细菌的添加对绿藻可能存在抑制作用,绿藻也可能会限制光合细菌对植物的促生效果,二者间的关系变化自然会影响到其对植物促生效果的呈现。

除二者间相互作用外,二者对羽枝青藓单独的

作用效果也会因浓度及施用量的改变而异。李靖宇等人^[39]的研究表明在藻结皮向藓结皮演替的过程中,部分放线菌相对丰度出现显著下降,这意味着随着结皮演替,苔藓与放线菌之间可能会出现竞争关系。说明光合细菌对放线菌的促生作用过强会对苔藓产生不利影响。藻类过度繁殖时,其对苔藓的促生作用也会转化为竞争关系^[20]。因此,找出适宜的浓度配比才能更好地协调菌藻的关系,实现二者对植物促生效果的最大化。

菌藻交互作用对羽枝青藓的新发芽数和茎长均无显著影响,但对羽枝青藓的盖度有显著影响。这可能与盖度的计算规则有关,本研究盖度的计算依靠新发芽数情况进行判定,对盖度有影响只能说明菌藻混施处理的羽枝青藓发芽比较均匀,但不代表发芽数多,苔藓结皮的生长状况还要考虑新发芽数和茎长进行综合评价。可能的原因是藻类利用了高浓度菌产

生的养分,抑制了过剩的养分对羽枝青藓的不利作用,使二者混施对羽枝青藓的促生效果更显著。

4 结 论

沼泽红假单胞菌的添加对羽枝青藓各项生长指标(盖度、新发芽数、新发芽茎长)均有显著的促进作用。单独添加小球藻对羽枝青藓的生长无显著影响,但和沼泽红假单胞菌混施可提高结皮盖度。羽枝青藓扩繁的最优处理为“添加低浓度($OD_{600}=3.231,12\text{ mL/L}$)沼泽红假单胞菌”。人工气候室条件下(温度 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、空气湿度 80% 、光照强度 $1\,500\sim2\,000\text{ lx}$ 、光照时间 $16\text{ h}/8\text{ h}$ (昼/夜))培育 32 d 后,最优处理相比对照可将盖度提高 14.3% ,新发芽数增加 61.2% ,新发芽茎长增长 34.0% 。沼泽红假单胞菌可显著促进羽枝青藓生长发育,建议在后期石生苔藓结皮种源扩繁实践中多加考虑和借鉴。

参考文献:

- [1] 杜雨阳,王征强,于庆和,等. 基于生境质量模型和电路理论的区域生态安全格局构建:以秦岭(陕西段)为例[J]. 农业资源与环境学报, 2022, **39**(5): 1 069-1 078.

DU Y Y, WANG Z Q, YU Q H, *et al.* Construction of a regional ecological security pattern based on a habitat quality model and circuit theory: A case study of the Qinling Mountains (Shaanxi section) [J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, **39**(5): 1 069-1 078.
- [2] 刘 康,马乃喜,胥艳玲,等. 秦岭山地生态环境保护与建设[J]. 生态学杂志, 2004, **23**(3): 157-160.

LIU K, MA N X, XU Y L, *et al.* Protection and construction of eco-environment in Qinling Mountainous area[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, **23**(3): 157-160.
- [3] 王博煜. 秦岭山区高速公路石质边坡植物防护技术研究[J]. 城市建设理论研究, 2014(10): 36-39.

WANG B Y. Study on plant protection technology for stone slope of expressway in Qinling Mountain area[J]. *China Industrial Economics*, 2014(10): 36-39.
- [4] 赵法锁,王雁林,刘婧玮,等. 秦岭北麓生态脆弱区矿山地质环境问题及恢复治理探讨:以户县甘岔沟废弃灰岩矿山采场为例[C]//第一届中国西部矿山地质环境保护学术论坛论文摘要集. 西安:陕西省地质调查院, 2017: 70.
- [5] 王 栋,李家春,高明永. 京昆高速公路秦岭段生态修复技术[J]. 公路, 2013, **58**(2): 189-193.

WANG D, LI J C, GAO M Y. Ecological restoration techniques in Qinling area along Beijing to Kunming highway[J]. *Highway*, 2013, **58**(2): 189-193.
- [6] 杨 涛,国 辉,周金星,等. 苔藓结皮对碳酸盐岩的风化作用研究进展[J]. 中国岩溶, 2023, **42**(3): 448-455.

YANG T, GUO H, ZHOU J X, *et al.* Research progress on the effect of moss crust on the weathering of carbonate rocks [J]. *Carsologica Sinica*, 2023, **42**(3): 448-455.
- [7] 迈克·费斯特. 土壤生物结皮在干旱半干旱地区退化生态系统恢复中的作用[J]. 中国水土保持科学, 2005, **3**(4): 42-47.

VESTE M. Importance of biological soil crusts for rehabilitation of degraded arid and semi-arid ecosystems[J]. *Science of Soil and Water Conservation*, 2005, **3**(4): 42-47.
- [8] 郑云普,赵建成,张丙昌,等. 荒漠生物结皮中藻类和苔藓植物研究进展[J]. 植物学报, 2009, **44**(3): 371-378.

ZHENG Y P, ZHAO J C, ZHANG B C, *et al.* Advances on ecological studies of algae and mosses in biological soil crust [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2009, **44**(3): 371-378.
- [9] 周诗晶,韩炳宏,姜佳昌,等. 陇中黄土高原典型草原生土壤结皮发育对土壤养分的影响[J]. 西北植物学报, 2023, **43**(1): 147-154.

ZHOU S J, HAN B H, JIANG J C, *et al.* Effect of biological soil crusts development on soil nutrients in a typical grassland on the loess plateau of central Gansu[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, **43**(1): 147-154.

- [10] 周雯娟, 卜崇峰, 韦应欣. 秦岭石生苔藓结皮的微生物群落组成和多样性特征[J]. 西北植物学报, 2022, **42**(9): 1 600-1 610.
- ZHOU W J, BU C F, WEI Y X. Microbial community composition and diversity characteristics of lithophytic moss biocrusts of Qinling Mountains[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(9): 1 600-1 610.
- [11] 鞠孟辰, 卜崇峰, 王清玄, 等. 藻类与微生物添加对高陡边坡生物结皮人工恢复的影响[J]. 水土保持通报, 2019, **39**(6): 124-128.
- JU M C, BU C F, WANG Q X, *et al.* Effects of algae and microorganism addition on restoration of biocrusts on steep slope[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2019, **39**(6): 124-128.
- [12] 白雪强, 田 畅, 李亚红, 等. 外源添加物对沙地苔藓结皮扩繁发育的促进作用[J]. 水土保持学报, 2020, **34**(6): 172-177.
- BAI X Q, TIAN C, LI Y H, *et al.* Promoting effect of exogenous additives on propagation of moss biocrusts in sand-land [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2020, **34**(6): 172-177.
- [13] 张慧洁, 刘俊琢, 吴永红. 藻、菌配合施用对水稻土磷有效性及微生物群落的影响[J]. 土壤学报, 2022, **59**(5): 1 369-1 377.
- ZHANG H J, LIU J Z, WU Y H. Effects of combined application of algae and bacteria on paddy soil phosphorus availability and microbial community[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, **59**(5): 1 369-1 377.
- [14] HAMEEDA B, HARINI G, RUPELA O P, *et al.* Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna [J]. *Microbiological Research*, 2008, **163**(2): 234-242.
- [15] KOH R H, SONG H G. Effects of application of *Rhodopseudomonas* sp. on seed germination and growth of tomato under axenic conditions [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, **17**(11): 1 805-1 810.
- [16] NDONA R K, FRIEDEL J K, SPORNBERGER A, *et al.* ‘effective micro-organisms’ (EM): An effective plant strengthening agent for tomatoes in protected cultivation[J]. *Biological Agriculture & Horticulture*, 2011, **27**(2): 189-203.
- [17] SAKPIROM J, KANTACHOTE D, NUNKAEW T, *et al.* Characterizations of purple non-sulfur bacteria isolated from paddy fields, and identification of strains with potential for plant growth-promotion, greenhouse gas mitigation and heavy metal bioremediation[J]. *Research in Microbiology*, 2017, **168**(3): 266-275.
- [18] SAKARIKA M, SPANOGHE J, SUI Y X, *et al.* Purple non-sulphur bacteria and plant production: Benefits for fertilization, stress resistance and the environment[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, **13**(5): 1 336-1 365.
- [19] KONDO K, NAKATA N, NISHIHARA E. Effect of the purple non-sulfur bacterium (*Rhodobacter sphaeroides*) on the Brix, titratable acidity, ascorbic acid, organic acid, lycopene and β -carotene in tomato fruit[J]. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 2010, **8**: 743-746.
- [20] 王敬竹, 玛依努尔·依克木. 生物结皮中几种优势藻和齿肋赤藓(*Syntrichia caninervis* Mitt.)种间关系研究[C]//生态文明建设中的植物学: 现在与未来(植物生态与环境保护). 南昌: 中国植物学会, 2013: 92.
- [21] CAI T, PARK S Y, LI Y B. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013, **19**: 360-369.
- [22] 魏 婷, 宋保平, 刘智兴. 基于旅游非优区理论的森林公园旅游发展探讨: 以陕西省翠峰山森林公园为例[J]. 河南科学, 2014, **32**(3): 466-470.
- WEI T, SONG B P, LIU Z X. Research of forest park tourism development based on the perspective of the subpar tourism area theory: Taking Cuifeng forest park in Shaanxi as example[J]. *Henan Science*, 2014, **32**(3): 466-470.
- [23] 陈祥舟, 卜崇峰, 王 春, 等. 羽枝青藓切茎繁殖及其生长影响因子[J]. 中南林业科技大学学报, 2022, **42**(6): 117-126.
- CHEN X Z, BU C F, WANG C, *et al.* Propagation by cutting stems of *Brachythecium plumosum* and its growth factors[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2022, **42**(6): 117-126.
- [24] 肖 娴, 桂一峰, 朱 艳, 等. 微生物菌肥对水稻土壤细菌群落结构与活性的影响[J]. 西南农业学报, 2021, **34**(10): 2 174-2 181.
- XIAO X, GUI Y F, ZHU Y, *et al.* Effects of microbial inoculations on structure and activity of paddy soil bacterial community[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, **34**(10): 2 174-2 181.
- [25] 陈祥舟. 秦岭北麓石生苔藓的物种多样性与培育恢复[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [26] 丛新华, 赵江华, 温芳悦, 等. 溶磷放线菌 *Micromonospora nigra* SY7 的溶磷特性与抗病促生活性测定[J]. 吉林农业大学学报, 2021, **43**(1): 95-101.
- CONG X H, ZHAO J H, WEN F Y, *et al.* Phosphorus solubilizing characteristics and disease resistance and promoting activity of actinomycetes *Micromonospora nigra* SY7 [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2021, **43**(1): 95-

101.

[27] 陈 杰, 乔美霞, 郭一晓, 等. 外源放线菌对谷子生长和成熟期根际可培养微生物的影响[J]. 土壤, 2022, **54**(5): 978-985.

CHEN J, QIAO M X, GUO Y X, *et al.* Effects of exogenous actinobacteria on growth of foxtail millet(*Setaria italica*) and culturable microorganisms in rhizosphere soil at mature stage[J]. *Soils*, 2022, **54**(5): 978-985.

[28] 孙于森, 吴慧玲, 张涛涛, 等. 5406 放线菌对西瓜的促生作用及对西瓜枯萎病的防控[J]. 科学技术与工程, 2021, **21**(15): 6 242-6 248.

SUN Y M, WU H L, ZHANG T T, *et al.* The growth promoting effect of 5406 actinomycetes on watermelon and the control of watermelon *Fusarium* wilt[J]. *Science Technology and Engineering*, 2021, **21**(15): 6 242-6 248.

[29] SASAKI K, WATANABE M, SUDA Y, *et al.* Applications of photosynthetic bacteria for medical fields[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, **100**(5): 481-488.

[30] GLICK B R, PENROSE D M, LI J P. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1998, **190**(1): 63-68.

[31] 高叶青, 任冬梅, 赵小丹, 等. 短叶对齿藓组织培养的研究[J]. 西北植物学报, 2016, **36**(9): 1 900-1 904.

GAO Y Q, REN D M, ZHAO X D, *et al.* Tissue culture of *Didymodon tectorum*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(9): 1 900-1 904.

[32] 高 昕. 4 种藓类内生菌多样性及其功能性研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2018.

[33] 喻 融. 溶藻微生物的分离及溶藻特性的初步研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2006.

[34] KOUZUMA A, WATANABE K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, **33**: 125-129.

[35] 张安龙, 孙文昕, 苏琰儒, 等. IAA 高产菌-农杆菌(*Agrobacterium*)对小球藻生长代谢的影响[J]. 陕西科技大学学报, 2021, **39**(4): 21-27.

ZHANG A L, SUN W X, SU Y R, *et al.* Effects of IAA-producing bacterium-*Agrobacterium* on the growth and metabolism of *Chlorella*[J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology*, 2021, **39**(4): 21-27.

[36] 张 娜, 朱 艳, 肖 娴, 等. 沼泽红假单胞菌与枯草芽孢杆菌混施对水稻根域细菌多样性与功能的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, **28**(1): 58-71.

ZHANG N, ZHU Y, XIAO X, *et al.* Effects of co-inoculation of *Rhodopseudomonas palustris* and *Bacillus subtilis* on the diversity and function of soil bacteria in rice root zone[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, **28**(1): 58-71.

[37] 杨盼盼, 张海春, 刘丽辉, 等. 高效光合细菌菌剂对土壤微生物的影响[J]. 生物技术进展, 2015, **5**(5): 371-376.

YANG P P, ZHANG H C, LIU L H, *et al.* Effects of photosynthetic bacteria inoculants on soil microorganisms[J]. *Current Biotechnology*, 2015, **5**(5): 371-376.

[38] 许书华, 罗凯军, 方 炜, 等. 利用光合菌微生物肥料降低水耕叶菜类中的硝酸盐含量[J]. 作物、环境与生物资讯, 2015, **12**(1): 30-41.

[39] 李靖宇, 张肖冲, 陈 韵, 等. 腾格里沙漠东南缘藻结皮与藓结皮放线菌多样性及其潜在代谢功能[J]. 生态学报, 2020, **40**(5): 1 590-1 601.

LI J Y, ZHANG X C, CHEN Y, *et al.* Potential functions of Actinobacteria diversity in cyanobacteria and moss crusts in the southeastern Tengger Desert[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(5): 1 590-1 601.

(编辑:潘新社)