



接种促生菌对尾巨桉—降香黄檀混作幼苗 光合生理特性和生长的影响

林铭业, 廖良宁, 姚贤宇, 邓家珍, 叶绍明*

(广西大学 林学院, 南宁 530004)

摘 要: 该试验以盆栽尾巨桉和降香黄檀幼苗为材料, 设置 BM 处理 (尾巨桉接种巨大芽孢杆菌, 降香黄檀不接种)、RJ 处理 (降香黄檀接种大豆根瘤菌, 尾巨桉不接种) 以及对照组 (CK, 尾巨桉和降香黄檀均不接种), 探究接种 2 种促生细菌对尾巨桉—降香黄檀混作幼苗的光合生理、生长和生物量积累及分配的影响, 明确在混交体系中接种促生菌对促进植物生长的优势。结果显示: (1) BM 处理显著降低尾巨桉的叶绿素含量 ($P < 0.05$), BM 和 RJ 处理均提高了尾巨桉和降香黄檀的苗高、地径以及叶片的氮素含量、净光合速率、气孔导度、蒸腾速率, 但降低了胞间 CO_2 浓度。 (2) RJ 处理显著提高了尾巨桉及降香黄檀叶片和全株生物量, BM 处理仅显著提高降香黄檀根、茎、叶、全株的生物量和尾巨桉叶的生物量 ($P < 0.05$)。 (3) 各接菌处理条件下 2 种植物幼苗叶片净光合速率与其生物量呈显著正相关。研究表明, 接种大豆根瘤菌和巨大芽孢杆菌均促进尾巨桉—降香黄檀混作幼苗的生理代谢, 2 种促生菌能通过增强光合作用来促进植株生物量的累积; 从植株生物量变化来看, 接种菌株的利他作用更明显。

关键词: 尾巨桉; 降香黄檀; 促生菌; 光合参数; 生物量

中图分类号: Q945.79; S792.28; S792.39

文献标志码: A

Effects of Growth-promoting Bacteria Inoculation on the Photosynthetic Physiological Characteristics and Growth of *Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*-*Dallergia odorifera* Intercropping Systems

LIN Mingye, LIAO Liangning, YAO Xianyu, DENG Jiazhen, YE Shaoming*

(College of Forestry, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: In this study, pot experiments were carried out with *Eucalyptus urophylla* × *E. grandis* and *Dallergia odorifera* seedlings as research objects, and two groups of treatments and one group of control were set up as follows: *E. urophylla* × *E. grandis* was inoculated with *Bacillus megaterium*, but *D. odorifera* was not inoculated (BM); *D. odorifera* was inoculated with *Rhizobium japonicum*, but *E. urophylla* × *E. grandis* was not inoculated (RJ); neither *E. urophylla* × *E. grandis* nor *D. odorifera* were inoculated (control group, CK). The effects of two kinds of growth-promoting bacterial inoculation treatments on photosynthetic physiology, growth, and biomass accumulation and distribution in *E. urophylla* × *E. grandis*-*D. odorifera* seedlings were clarified, and the advantages of inoculation for growth promotion were also discussed. The results showed that: (1) The BM treatment significantly reduced the chlorophyll content (Chl) of *E. urophylla* × *E. grandis* ($P < 0.05$), both BM and RJ treat-

收稿日期: 2022-07-22; 修改稿收到日期: 2023-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32260382, 31460169)

作者简介: 林铭业 (1998—), 男, 硕士研究生, 主要从事森林培育研究。E-mail: 774175165@qq.com

* 通信作者: 叶绍明, 教授, 博士生导师, 主要从事森林可持续经营理论与技术研究。E-mail: yshaoming@163.com

ments increased the plant height, ground diameter, nitrogen content of leaves, net photosynthetic rate, stomatal conductance, and transpiration rate, but decreased the intercellular CO₂ concentration. (2) The RJ treatment improved the biomass accumulation of the leaves and whole plant of *E. urophylla* × *E. grandis* and *D. odorifera*, while BM improved the leaves biomass of *E. urophylla* × *E. grandis* and the biomass accumulation of *D. odorifera* including roots, stems, leaves, and whole plant ($P < 0.05$). (3) The net photosynthetic rates in leaves of both seedlings being positively correlated with biomass under all treatments. These results suggest that the physiological metabolism of intercropped *E. urophylla* × *E. grandis*-*D. odorifera* seedlings were stimulated by the inoculation of *Bacillus megaterium* or *Rhizobium japonicum*, and both growth-promoting bacteria promote the accumulation of plant biomass by boosting photosynthesis in both seedlings. In terms of biomass changes, the altruistic effect of the inoculated strains was more obvious.

Key words: *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis*; *Dalbergia odorifera*; growth-promoting bacteria; photosynthetic parameters; biomass

桉树 (*Eucalyptus robusta* Smith.) 因其速生丰产、抗逆性强、经济效益高等优点,已成为中国华南地区的主要商品林之一,为国家木材安全做出了突出贡献。但由于长期以来大面积桉树纯林多代连栽造成的土壤质量退化、生物多样性下降等生态环境问题,已成为了实现桉树可持续经营的最大障碍。利用豆科树种与桉树混交促进桉树吸收氮素和提高豆科树种生物固氮效率^[1-2],维持土壤氮素水平和降低环境污染是解决上述生态问题的有效途径^[3]。如降香黄檀 (*Dalbergia odorifera*) 与桉树混交、马占相思 (*Acacia mangium*) 与桉树混交均可以提高混交系统氮素利用和豆科树种的生物固氮效率^[2,4]。在该系统中,植株—微生物—土壤互作关系是影响地上植株生长的重要因素^[5-6]。其中,根瘤菌在生长过程中发挥着更大的作用,将大气中 N₂ 转化为铵态氮可以供给植株吸收利用^[7]。因此,改善土壤微生物环境可能是提高桉树与固氮树种混交系统营养利用效率的关键。

促生菌能维持土壤生态功能和促进植物养分循环^[8],是影响植物生长的关键因素。如解磷菌类能提高植物可利用态磷含量,改善土壤磷利用率^[9];固氮菌类可以提高豆科植物生物固氮效率,减少氮肥投入^[10],为生物固氮体系做出了重要贡献^[11-12]。在混交体系中接种根瘤菌等促生菌能更大化促进植物对养分的吸收,提高土壤养分的利用与循环^[13]。此外,接种促生菌还能增强植物抗逆性^[14],提高有机物的产量^[15],改善植物的光合特性^[16],有助于植物生长。如固氮菌通过调节钠排斥和钾吸收来改善盐胁迫条件下的玉米生长^[17],共同接种的固氮菌与真菌通过增强合成生长素等激素使青蒿地上干重增长翻倍^[18]。这些微生物被用作生物肥料,以补偿甚至

增加化肥带来的生长效果。

植物接种促生菌还可能通过改变植株叶片叶绿素含量来影响其对光能的利用,增强植株光合作用,从而提高生产力^[19]。虽然已证实根瘤菌等促生菌对单作豆科作物的生长具有优势^[20],但对豆科—非豆科树种混交体系的影响却较少涉及。在混作体系中接种根瘤菌等促生菌类是否能通过改变光合作用,进而影响苗木生长也尚不明确。因此,本试验模拟桉树与豆科树种混交系统,以尾巨桉 (*Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*) 与降香黄檀混作为对象,探究在非灭菌的自然生产状态下接种巨大芽孢杆菌与大豆根瘤菌如何影响混作系统植株生理代谢,分析接种不同细菌后植株适应性和生长指标差异,为实现桉树人工林的可持续经营提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地位于广西南宁市广西大学林学院试验基地大棚(108°17′30.3″E, 22°51′4.79″N),属亚热带季风气候,年均气温 21.6 °C,极端最低气温 -2.4 °C,极端最高气温 40.4 °C。年均降雨量 1 304 mm,干湿季分明,降雨集中在 4—9 月,平均相对湿度为 79%。

1.2 试验材料

供试苗木为长势均匀的 3 个月生尾巨桉(平均苗高为 39.50 cm,地径 5.08 mm) 和一年生降香黄檀(平均苗高为 66.33 cm,地径 7.08 mm)。一种供试菌为巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*, BM),菌株编号 DU07,该菌株由广西大学林学院黄宝灵研究员提供,具有解磷、固氮的能力^[21]。另一种供试菌为大豆根瘤菌 (*Rhizobium japonicum* IOC 113-2, RJ),菌株编号 DSM1203,由上海保藏生物技术中心 (SHB-

CC) 提供,大豆根瘤菌与黄檀属植物具有较好的共生关系^[22]。试验土壤为偏酸性赤红黏土,土壤全氮含量为 0.96 mg/g,全磷含量为 0.64 mg/g,全钾含量为 11.85 mg/g,pH 为 4.65。

1.3 试验设计

试验采用尾巨桉—降香黄檀幼苗混交盆栽方式,设置 2 个接种处理和 1 个不接种对照,即对尾巨桉接种巨大芽孢杆菌,降香黄檀不接种 (BM);对降香黄檀接种大豆根瘤菌,尾巨桉不接种 (RJ);对照组不做接种处理 (CK)。采用浆根法接种菌液,然后取尾巨桉和降香黄檀苗各 1 株,共同栽植于 1 个盆钵 (直径 40 cm,高 45 cm) 中,种植株间距 15 cm。试验采用完全随机区组设计,每个处理设置 3 个重复,每个重复栽植 15 盆。根据天气状况每日浇水以保持土壤湿润,每月进行松土和除草。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长指标 分别采用钢卷尺与电子数显游标卡尺测量尾巨桉和降香黄檀幼苗的苗高和地径,种植后每 30 d 测定 1 次,共测量 6 次。

1.4.2 光合生理指标 植株根系接菌处理定殖 6 个月后测定尾巨桉和降香黄檀幼苗叶片光合气体交换参数及叶绿素含量。于晴天上午 (9:00—11:30),使用 Li-6400 便携式光合测定系统分析仪 (美国 Li-Cor 公司,人工光源,环境 CO₂ 浓度为 400 μmol/mol) 测定尾巨桉和降香黄檀叶片的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、胞间 CO₂ 浓度 (C_i) 和蒸腾速率 (T_r),指标测定时分别选取植株中部具有完好功能的叶片,每个重复随机选取 8 枚叶片并取平均值,重复 3 次。叶绿素含量 (Chl) 采用乙醇丙酮混合提取法测定^[23]。

1.4.3 生物量 幼苗盆栽后 180 d 采用全株收获法将尾巨桉和降香黄檀收集带回实验室,将根、茎、叶分装,先置于 105 ℃烘箱杀青 2 h,后于 70 ℃条件下烘干至恒重,用高精度分析天平 (±0.01 g) 称重,分别记录植株各器官的生物量 (干重)。

1.4.4 植株氮含量 将烘干的尾巨桉和降香黄檀植株的根、茎、叶分别放入粉碎机进行粉碎并过 0.2 mm 筛,每份样品称取 0.250 0 g 加入 5 mL 浓硫酸消煮制备待测液,用连续流动分析仪 (AA3) 测定植株各器官全氮含量。

1.5 数据分析

数据采用 Microsoft Excel 2016 进行计算,通过 SPSS 23 软件对不同菌种处理差异数据进行单因素方差 (one-way ANOVA) 分析及多重比较 (Dun-

can),并采用最小显著性差异法 (LSD) 进行差异显著性检验 ($P<0.05$)。采用 Pearson 相关性分析各指标间相关关系的显著性。使用 Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 接种促生菌对尾巨桉—降香黄檀混作幼苗氮素积累的影响

图 1 显示,接种巨大芽孢杆菌 (BM) 和大豆根瘤菌 (RJ) 后,尾巨桉、降香黄檀幼苗的全株氮素含量均显著高于不接菌对照 (CK),尾巨桉幼苗在 BM、RJ 处理下增幅分别为 71.89% 和 69.81%,降香黄檀幼苗较 CK 分别增长 55.37% 和 79.47% ($P<0.05$)。在不接菌处理下,尾巨桉各器官的氮素含量表现为叶>根>茎,而降香黄檀表现为叶>茎>根;在接菌 BM、RJ 处理下,尾巨桉和降香黄檀各器官的氮素含量均表现为叶>根>茎。其中,BM、RJ 处理下尾巨桉幼苗叶片氮素含量分别为 7.84、7.57 mg/g,较对照分别增加 33.79% 和 29.18%,降香黄檀幼苗叶片氮素含量分别为 15.46、16.86 mg/g,较对照分别增加 43.95% 和 56.98%。可见,BM 处理对尾巨桉整株和叶片含氮量的增效优于 RJ 处理,RJ 处理对降香黄檀整株和叶片含氮量的增效优于 BM 处理。

2.2 接种促生菌对尾巨桉—降香黄檀混作幼苗叶片光合生理特性的影响

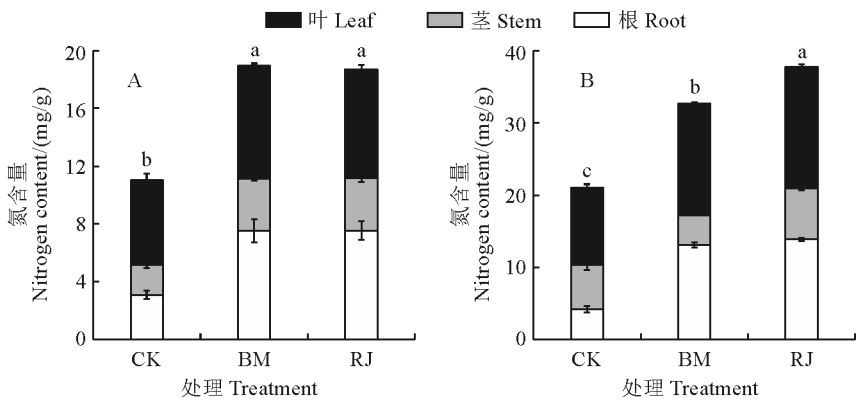
2.2.1 叶绿素含量 尾巨桉叶片叶绿素 a 含量表现为 RJ>CK>BM,叶绿素 b 含量表现为 CK>RJ>BM,且处理间均差异显著;叶绿素总量表现为 RJ 处理与 CK 无显著差异,而 BM 处理的叶绿素总量 (1.38 mg/g) 较 CK 显著下降 25.41% (图 2,A)。同时,降香黄檀叶绿素 a 含量和叶绿素总量均表现为 RJ>BM>CK,且处理间均差异显著,而叶绿素 b 含量在处理间均无显著差异;降香黄檀 BM 和 RJ 处理叶片叶绿素总量比 CK 分别显著增长 79.05% 和 94.76% (图 2,B)。

2.2.2 净光合速率 (P_n) 接种 2 种促生菌对尾巨桉和降香黄檀幼苗的 P_n 均有显著促进作用,该促进作用在尾巨桉中以 RJ 处理最高,分别比 BM 和 CK 显著提高 10.87% 和 232.75%,而在降香黄檀以 BM 处理最高,分别比 RJ 和 CK 显著提高 18.30% 和 108.23% (图 2,C)。

2.2.3 胞间 CO₂ 浓度 (C_i) 尾巨桉和降香黄檀幼苗的 C_i 在 BM 和 RJ 处理下均显著低于 CK;尾巨桉幼苗 C_i 在 BM 和 RJ 处理下分别比 CK 显著降低

32.28%和28.96%,且BM和RJ处理间差异显著($P<0.05$),而降香黄檀C_i在RJ和BM处理下分

别较CK显著降低了24.84%和26.52%,但BM和RJ处理间差异不显著(图2,D)。



CK表示2种幼苗均不接种处理,BM表示尾巨桉幼苗接种巨大芽孢杆菌、降香黄檀不接种处理,RJ表示降香黄檀接种大豆根瘤菌、尾巨桉不接种处理;不同的小写字母a、b、c表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

图1 不同细菌接种处理下尾巨桉(A)与降香黄檀(B)植株各器官及全株氮素含量的变化

CK indicates that neither seedling was inoculated, BM indicates that *E. urophylla* × *E. grandis* seedlings inoculated with *Bacillus megatherium* and *D. odorifera* were not inoculated, RJ indicates that *D. odorifera* seedlings inoculated with *Rhizobium japonicum* and *E. urophylla* × *E. grandis* were not inoculated. Different lowercase letters (a,b,c) indicate significant difference among different treatments at 0.05 level. The same as following.

Fig. 1 The change of nitrogen content in organs and plants of *E. urophylla* × *E. grandis* (A) and *D. odorifera* (B) seedlings under different inoculation treatments

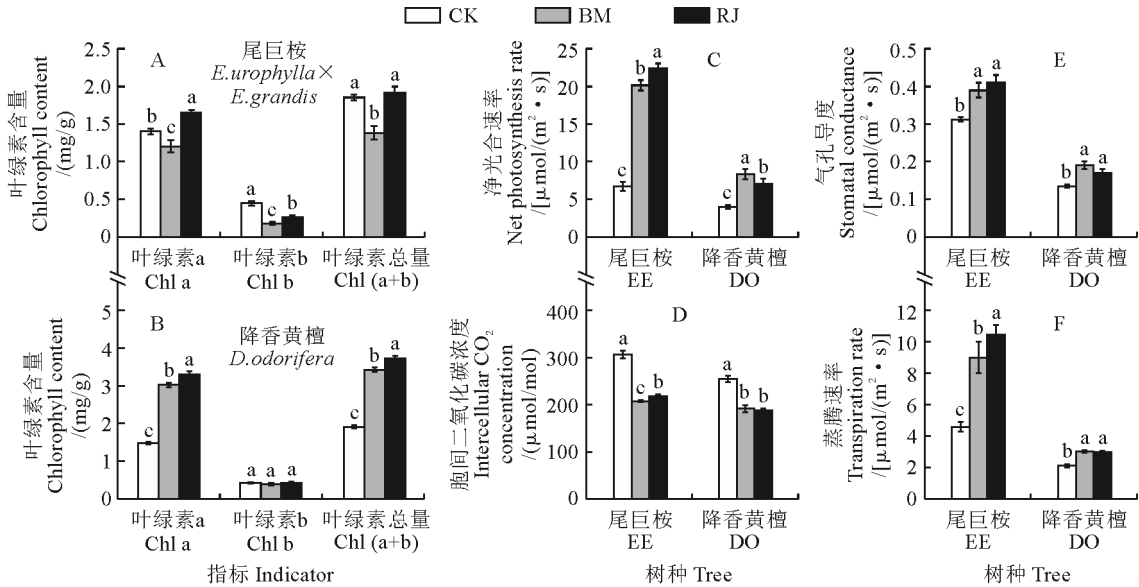


图2 不同细菌接种处理下尾巨桉(EE)和降香黄檀(DO)植株叶绿素含量和光合生理特性的变化

Fig. 2 The change of chlorophyll content, photosynthetic physiological characteristics of *E. urophylla* × *E. grandis* (EE) and *D. odorifera* (DO) seedlings under different inoculation treatments

2.2.4 气孔导度 (G_s) 尾巨桉和降香黄檀幼苗叶片的 G_s 均表现为BM和RJ处理显著高于CK($P<0.05$),但BM与RJ处理间均无显著差异(图2,E)。其中,尾巨桉的 G_s 在BM和RJ处理下较CK处理分别显著增长23.48%和29.89%,降香黄檀的 G_s 则分别较CK处理显著增长38.89%和24.07%。

2.2.5 蒸腾速率 (T_r) 尾巨桉和降香黄檀幼苗的 T_r 均表现为RJ和BM处理显著高于CK,尾巨桉幼苗的增幅分别为127.3%和95.74%,且RJ处理又显著高于BM处理($P<0.05$),而降香黄檀幼苗 T_r 的增幅分别为42.59%和41.71%,但BM和RJ处理之间无显著差异(图2,F)。

综合以上结果可知,接种 RJ 对尾巨桉和降香黄檀幼苗叶片叶绿素含量的提升比接种 BM 更显著,且降香黄檀幼苗提升幅度更大;接种 2 种促生菌均能显著提高尾巨桉和降香黄檀幼苗叶片的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率,却显著降低胞间二氧化碳浓度。

2.3 接种促生菌对尾巨桉—降香黄檀混作幼苗生长的影响

2.3.1 苗高和地径 接菌均能促进尾巨桉和降香黄檀苗高和地径的生长,但 BM 处理与 RJ 处理对植株的生长促进效果不同(图 3)。其中,尾巨桉的苗高表现为 RJ 处理始终高于同期 BM 和 CK 处理,并在 90~180 d 达到显著水平;RJ 处理使尾巨桉不同时期的苗高比相应 CK 增长 14.3%~93.1%,并以第 30 天的促生效果最佳;试验结束时,RJ 处理的苗高比同期 BM 处理显著提高 36.61%(图 3,A)。降香黄檀的苗高表现为 BM 处理始终高于同期 RJ 和 CK 处理,且除处理 90 d 外均达到显著水平,但

RJ 处理各时期对降香黄檀苗高的影响始终不显著;BM 处理在前 30 d 时对苗高提升效果最明显,相比 CK 处理增长了 53.7%(图 3,B)。

同时,BM 与 RJ 处理对各时期尾巨桉和降香黄檀的地径生长均有不同程度的促进效果,但两接菌处理间大多无显著差异。与 CK 相比,尾巨桉的地径在 RJ 处理 30~90 d 时显著提高,但仅在 BM 处理 30 d 时显著提高(图 3,C);降香黄檀的地径生长在 BM 处理下始终得到显著促进,而在 RJ 处理下除 60,150 d 外增幅也均达到显著水平(图 3,D)。在 150 d 时,BM 和 RJ 处理尾巨桉地径分别比同期 CK 提高 1.15%和 16.27%,此时 BM 处理的提升效果不显著;在 30 d 时,BM 和 RJ 处理下降香黄檀的地径的增长率最高,分别达到 53.74%和 50.61%。可见,接种 RJ 对尾巨桉的苗高和地径生长的促进效果更明显,而接种 BM 则对降香黄檀的苗高和地径生长促进效果更佳、更持久。

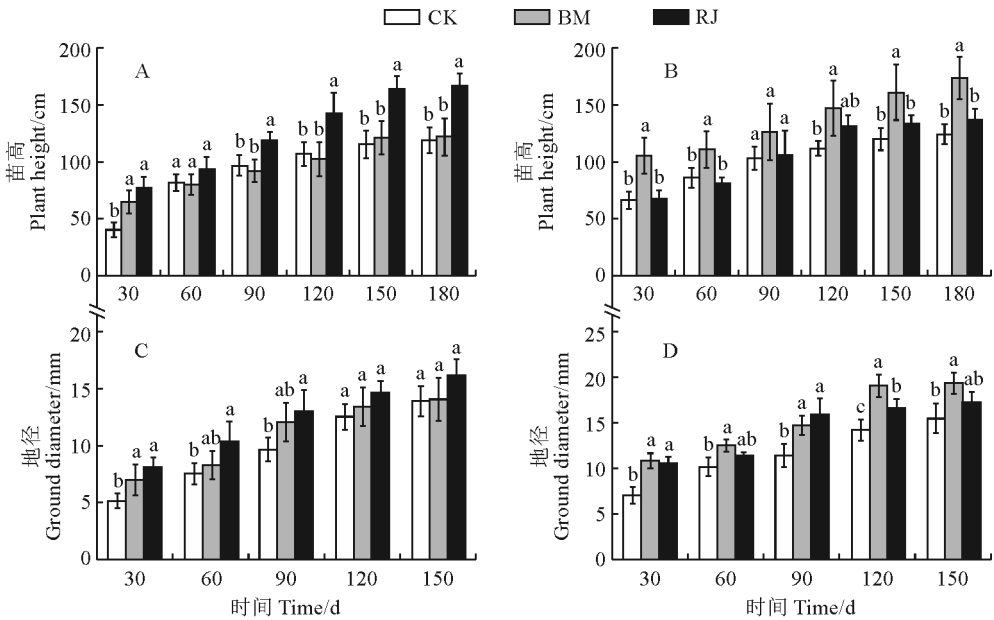


图 3 不同细菌接种处理下尾巨桉(A、C)和降香黄檀(B、D)苗高和地径生长动态
Fig. 3 The height and ground diameter growth dynamics *E. urophylla* × *E. grandis* (A,C) and *D. odorifera* (B,D) seedlings under different inoculation treatments

2.3.2 生物量积累与分配 BM 处理尾巨桉的植株总生物量和根、茎、叶生物量均与 CK 无显著差异,而 RJ 处理尾巨桉各器官生物量均不同程度高于对照,但仅总生物量和叶生物量与 CK 差异显著,根、茎生物量无显著变化;RJ 处理尾巨桉的各器官生物量均不同程度高于 BM 处理,且总生物量和茎生物量差异达到显著水平(表 1)。降香黄檀根、茎、叶和总生物量在 BM 和 RJ 处理下大多显著高于

CK,而 BM 处理又均显著高于相应的 RJ 处理。可见,BM 对降香黄檀的促生效果显著高于 RJ 处理,对尾巨桉的促生效果低于 RJ 处理。

同时,尾巨桉各器官的生物量分配比例在不接种对照为茎>根>叶,接种 BM 和 RJ 后转变为叶>茎>根(图 4,A);而降香黄檀各器官生物量的分配不同接种处理下均表现为茎>根>叶,但接菌提高了其根生物量占全株生物量的比例,促进了根系

发育(图 4,B)。2 种不同促生细菌对降香黄檀器官生物量分配的影响不同,RJ 处理下的叶生物量占比提升较显著,BM 处理下的根生物量占比提升更显著。

著。总体而言,幼苗期尾巨桉根、茎、叶的生物量分配较均匀,而降香黄檀茎生物量的占比明显较大(约达 50%)。

表 1 不同细菌接种处理下尾巨桉与降香黄檀植株各器官生物量

Table 1 The accumulation of dry biomass in each part of *E. urophylla* × *E. grandis* and *D. odorifera* seedlings under different inoculation treatments

树种 Tree	处理 Treatment	干重 Dry biomass/g			
		根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	全株 Plant
尾巨桉 <i>E. urophylla</i> × <i>E. grandis</i>	CK	55.75±4.92a	61.75±5.52ab	50.40±2.77b	167.90±8.77b
	BM	50.28±8.16a	56.67±9.43b	60.12±8.16ab	167.07±14.46b
	RJ	56.67±4.71a	68.57±3.27a	73.67±17.02a	213.91±12.06a
降香黄檀 <i>D. odorifera</i>	CK	40.58±3.98c	81.30±3.53b	33.93±1.89c	155.80±2.82c
	BM	87.58±3.73a	139.87±6.27a	60.89±3.98a	288.34±12.34a
	RJ	53.58±2.71b	83.87±4.50b	46.82±2.87b	184.27±9.75b

注:不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments at 0.05 level.

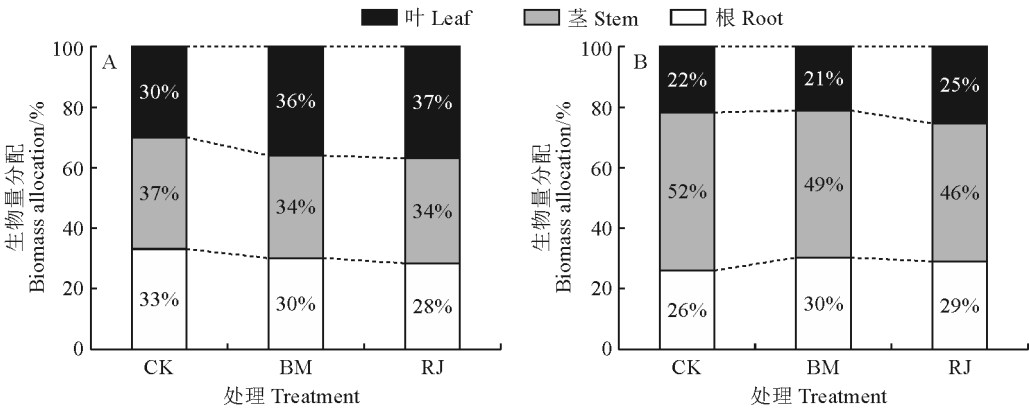
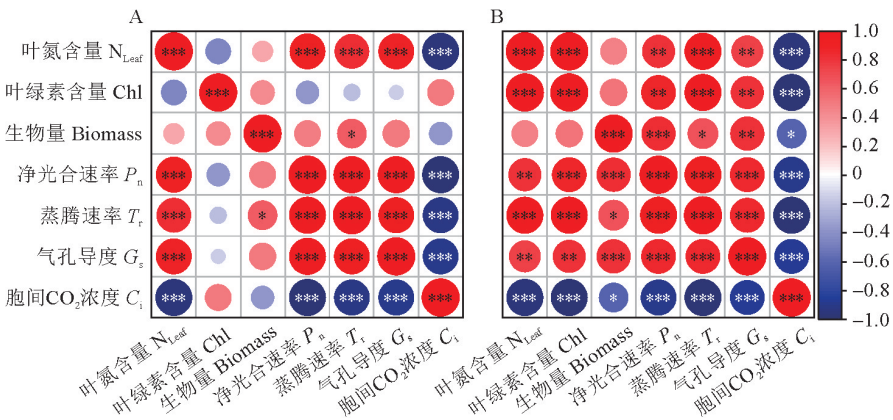


图 4 不同细菌接种处理下尾巨桉 (A) 和降香黄檀 (B) 植株器官的生物量分配比例
Fig. 4 The biomass allocation of *E. urophylla* × *E. grandis* (A) and *D. odorifera* (B) seedlings under different inoculation treatments



*、** 和 *** 分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平相关性显著;红色表示正相关,蓝色表示负相关。
图 5 尾巨桉 (A) 和降香黄檀 (B) 植株的叶绿素含量、光合指数、生物量间相关性分析
*, **, and *** indicate significant correlation at 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively. Red is a positive correlation, while blue is a negative correlation.

Fig. 5 The correlation between chlorophyll content, photosynthetic index, and biomass of *E. urophylla* × *E. grandis* (A) and *D. odorifera* (B) seedlings

2.4 尾巨桉—降香黄檀混作幼苗叶氮含量、叶绿素含量、光合参数及生物量相关性分析

图 5 显示,尾巨桉叶氮含量、净光合速率均与叶绿素含量呈负相关,降香黄檀叶氮含量、净光合速率均与叶绿素含量呈极显著正相关 ($P < 0.001$);尾巨桉和降香黄檀叶氮含量均与其净光合速率呈极显著正相关,但降香黄檀的相关系数小于尾巨桉。尾巨桉叶氮含量、叶绿素含量、净光合速率均与其生物量呈正相关关系,降香黄檀叶氮含量、叶绿素含量与生物量也呈正相关性,且降香黄檀的相关系数均大于尾巨桉,但均未达到显著水平;降香黄檀净光合速率与其生物量呈极显著正相关性 ($P < 0.001$)。在光合指标中,净光合速率、蒸腾速率和气孔导度之间都存在极显著正相关关系,且它们都与胞间 CO_2 浓度呈极显著负相关。

3 讨论

3.1 尾巨桉与降香黄檀混作系统植株叶片氮素含量及光合生理指标对接种促生菌的响应

叶片氮素含量、叶绿素含量、光合作用三者息息相关,叶绿素含量可以间接反映光合作用强度和植物氮素供给水平^[24]。本试验中接种大豆根瘤菌(RJ)处理使尾巨桉、降香黄檀叶片氮素含量、叶绿素含量显著上升,与陈书琳等^[25]在大豆上的相关研究结果相似,说明接种根瘤菌有利于提高 2 种混作植株氮素含量,促进它们叶绿素的合成;同时,接种巨大芽孢杆菌(BM)处理显著降低了尾巨桉的叶绿素含量,但显著提升了降香黄檀叶绿素的含量,这可能与芽孢杆菌属的作用会受植物种类以及菌种代谢产物浓度等因素的影响有关,从而影响叶绿素的合成^[26]。此外,微生物菌剂的施用有助于增大植物净光合速率、蒸腾速率、气孔导度等^[27],从而增强植物光合作用能力,本研究结果与其前人结果一致。气孔导度决定气孔的密度、大小和开放程度,气孔导度越大,表明光合作用和蒸腾速率越高^[28]。本研究中气孔导度与净光合速率呈正相关也证实了这一结果。接种 2 种不同促生细菌均显著提高了尾巨桉和降香黄檀的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率,而降低了胞间 CO_2 浓度,这与接菌后叶片氮素含量升高,叶片气孔打开,胞间二氧化碳消耗增大有关,与前人研究^[29]一致。此外,不同处理下降香黄檀的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率均低于尾巨桉,但降香黄檀净光合速率与生物量的相关性却较尾巨桉更显著,这在一定程度上说明降香黄檀的光合利用效

率更高。

本研究中,2 种植物的叶片氮素含量在整株各器官中均最高,2 种接种处理均使尾巨桉叶片氮素含量和净光合速率显著增长,且二者之间呈极显著正相关,但 BM 处理显著降低了尾巨桉的叶绿素含量,导致整体上尾巨桉的叶绿素含量与净光合速率呈负相关,这说明叶片氮素含量能够调控尾巨桉的光合能力,叶绿素含量不是反映光合作用的唯一指标,还可能与叶片光能的吸收、能量的转化以及电子传递活性的强弱有关^[30]。降香黄檀的叶片氮素含量、叶绿素含量均与净光合速率呈极显著正相关关系,说明降香黄檀能够通过生物固氮作用吸收氮素,促进叶片叶绿素合成,进而提高其光合作用效率。

3.2 尾巨桉与降香黄檀混作系统植株生长指标对接种促生菌的响应

苗高和茎粗是植株生长差异的直观反映^[31]。本研究中,接种两种促生细菌均能够明显促进尾巨桉和降香黄檀苗高、地径的生长,与前人的研究结果^[32]一致,说明接种促生菌能促进单作植株和混作体系中另一植株的生长发育,但在未灭菌的条件下接种菌剂对植物生长的促进效果并不一致,这在一些研究中也得到证实^[33-34]。供试菌株巨大芽孢杆菌是具有固氮能力的溶磷菌^[21],而在本研究中接种固氮芽孢杆菌前期对尾巨桉苗高、地径的促进效果不明显,甚至低于 CK,这可能与菌株对植物叶绿素等物质合成的抑制或接种菌与土壤原有菌株之间的竞争有关^[6],也可能表现为菌株促生功能的长效缓释^[21]。大豆根瘤菌的接种能促进混作体系中非豆科树种树高和胸径的生长,这一点在赤桉—紫云英混交林中也得到了验证^[13]。当本土根瘤菌存在时,根瘤菌的引进或增施有助于菌株间产生协同效应,促进植物地上部生物量和氮素的积累^[35],而本研究在非灭菌条件下接种大豆根瘤菌使植物全株氮素含量升高、增产的结果与前人研究结果一致,这对实际生产中菌肥的应用具有指导意义。

3.3 尾巨桉与降香黄檀混作系统生物量积累与分配对接种促生菌的响应

绝大部分作物生物量被认为是光合作用的产物^[36]。相关性分析表明,尾巨桉、降香黄檀的生物量均与植株氮含量、净光合速率呈正相关,说明根瘤菌等固氮菌的接种优势可能不仅局限于根际固氮效应,还归因于地上部分光合作用的提高^[37],这与施加氮肥提高生物产量的结果^[38]类似。相较 CK 而言,本研究中尾巨桉接种巨大芽孢杆菌显著增加了

降香黄檀生物量,而降香黄檀接种大豆根瘤菌则更显著增加了尾巨桉生物量。也有研究表明桉树幼苗接种巨大芽孢杆菌会降低桉树生物量^[39],与本研的结果相似,这可能也与上述芽孢杆菌属细菌的特性有关。而降香黄檀接种根瘤菌后混作的尾巨桉生物量的累积比尾巨桉直接接种固氮芽孢杆菌的效果更好,可能是接种根瘤菌使得降香黄檀的共生固氮效应加强,可通过根系等途径供给、转移给尾巨桉的氮素量也随之增加,进而提高了尾巨桉的生物量^[2,40]。此外,在豆科树种中,蝶形花亚科的平均结瘤率为94%,自然状态下的降香黄檀通常已经结瘤^[41],因此本土根瘤菌已在降香黄檀上定殖可能是导致在降香黄檀上接种大豆根瘤菌的促生效益不如巨大芽孢杆菌的原因。总而言之,不同固氮菌的施用效果不一,暗示了不同条件下固氮微生物对植物的适配性不同,在植物混作体系中施用不同菌株能否再取得更好的生长效果,仍需进一步研究。

另外,器官的生物量分配可以体现植物获取养分的策略^[42]。本研究发现接种2种促生细菌均增加了尾巨桉、降香黄檀的叶生物量,且接菌增加了尾巨桉叶生物量的比例和降香黄檀根生物量的比例。接种固氮菌后,氮素吸收量的增加有助于尾巨桉向

地上部分分配碳水化合物^[43],符合植物的生物量最优分配理论^[44],即尾巨桉优先将生物量和氮素分配给叶片,以充分利用光合作用促进植物生长。而接种根瘤菌会显著促进降香黄檀根系固氮结瘤的能力,影响了根生物量的比重。此外,在生长过程中,尾巨桉的生长速度显著快于降香黄檀,遮挡了部分阳光,因此降香黄檀在与尾巨桉竞争的过程中要维持水分和养分供应,降香黄檀根系生长优先于地上器官,以加强对土壤限制性资源的吸收^[45]。

4 结 论

在尾巨桉—降香黄檀混作体系中接种大豆根瘤菌和巨大芽孢杆菌2种促生菌能改善幼苗的光合生理代谢,从而提高植株生物量。在混作体系中降香黄檀接种根瘤菌对尾巨桉的促进效果更明显,尾巨桉接种巨大芽孢杆菌对降香黄檀的促进效果明显。降香黄檀接种根瘤菌能增强其生物固氮能力,并间接促进了尾巨桉氮素和生物量的累积。降香黄檀光合作用参数与生物量之间存在正相关关系,体现了光合作用在幼苗生长中的重要地位,在混作体系中接种促生菌能同时促进根际固氮和叶片的光合作用。

参考文献:

[1] PAULA R R, BOUILLET J P, M GONÇALVES J L, *et al.* Nitrogen fixation rate of *Acacia mangium* Wild at mid rotation in Brazil is higher in mixed plantations with *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden than in monocultures[J]. *Annals of Forest Science*, 2018, **75**(1): 1-14.

[2] YAO X Y, LI Y F, LIAO L N, *et al.* Enhancement of nutrient absorption and interspecific nitrogen transfer in a *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* and *Dalbergia odorifera* mixed plantation [J]. *Forest Ecology and Management*, 2019, **449**: 117 465.

[3] BINKLEY D, SENOCK R, BIRD S. Twenty years of stand development in pure and mixed stands of *Eucalyptus saligna* and nitrogen-fixing *Facaltaria moluccana*[J]. *Forest Ecology and Management*, 2003, **182**(1/2/3): 93-102.

[4] BOUILLET J P, LACLAU J P, GONCALVES J L M, *et al.* Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil [J]. *Forest Ecology and Management*, 2008, **255**(12): 3 918-3 930.

[5] YAO X Y, ZHANG Q C, ZHOU H J, *et al.* Introduction of *Dalbergia odorifera* enhances nitrogen absorption on *Eucalyptus* through stimulating microbially mediated soil nitrogen-cycling[J]. *Forest Ecosystems*, 2021, **8**(4): 789-800.

[6] WANG Q Q, SHENG J D, WANG Y J, *et al.* The relative contribution of indigenous and introduced arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to plant nutrient acquisition in soybean/maize intercropping in unsterilized soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 168: 104 124.

[7] 燕永亮,田长富,杨建国,等. 人工高效生物固氮体系创建及其农业应用[J]. 生命科学, 2021, **33**(12): 1 532-1 543.

[7] YAN Y L, TIAN C F, YANG J G, *et al.* Establishment of artificial efficiency biological nitrogen fixation system and its agricultural application[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2021, **33**(12): 1 532-1 543.

[8] ZHANG P, LI X F, XUE S Y, *et al.* Effects of weeding and fertilization on soil biology and biochemical processes and tree growth in a mixed stand of *Dalbergia odorifera* and *Santalum album*[J]. *Journal of Forestry Research*, 2021, **32**(6): 2 633-2 644.

[9] ZAIDI A, KHAN M S, AHEMAD M, *et al.* Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria[J]. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2009, **56**(3): 263-284.

[10] 沈仁芳,赵学强. 土壤微生物在植物获得养分中的作用[J].

生态学报, 2015, **35**(20): 6 584-6 591.

SHEN R F, ZHAO X Q. Role of soil microbes in the acquisition of nutrients by plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, **35**(20): 6 584-6 591.

[11] CHEN W X, SHEN X L, YE C Y, *et al.* Species and functions of rhizobia growing on trees and colonization mechanisms[J]. *Agricultural Biotechnology*, 2021, **10** (5): 65-68.

[12] 沈世华, 荆玉祥. 中国生物固氮研究现状和展望[J]. 科学通报, 2003, **48**(6): 535-540.

SHEN S H, JING Y X. Research status and prospect of biological nitrogen fixation in China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, **48**(6): 535-540.

[13] PAGANO M, CABELLO M, BELLOTE A, *et al.* Inter-cropping system of tropical leguminous species and *Eucalyptus camaldulensis*, inoculated with rhizobia and/or mycorrhizal fungi in semiarid Brazil [J]. *Agroforestry Systems*, 2008, **74**(3): 231-242.

[14] NAJAFI S, NAZARI NASI H, TUNCTURK R, *et al.* Application enhances drought stress tolerance and alters the antioxidant enzymes in medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*) [J]. *Horticulturae*, 2021, **7** (12): 588.

[15] ONDURU D D, DU PREEZ C C, MUCHENA F N, *et al.* Exploring options for integrated nutrient management in semi-arid tropics using farmer field schools: A case study in Mbeere District, eastern Kenya[J]. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 2008, **6**(3): 208-228.

[16] 张旭辉, 马绍英, 马 蕾, 等. 接种根瘤菌对重茬豌豆植株生长及光合特性的影响[J]. 草地学报, 2021, **29**(6): 1 234-1 241.

ZHANG X H, MA S Y, MA L, *et al.* Effects of rhizobium inoculation on the growth and photosynthetic characteristics of pea plants[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, **29**(6): 1 234-1 241.

[17] LATEF A A H A, ALHMAD M F A, KORDROSTAMI M, *et al.* Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2020, **39**(3): 1 293-1 306.

[18] ARORA M, SAXENA P, ABDIN M Z, *et al.* Interaction between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* L. [J]. *Symbiosis*, 2018, **75** (2): 103-112.

[19] ZHANG W J, XIE Z C, ZHANG X J, *et al.* Growth-promoting bacteria alleviates drought stress of *G. uralensis* through improving photosynthesis characteristics and water status [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2019, **14**(1): 580-589.

[20] MAHMOOD A, ATHAR M. Cross inoculation studies: Response of *Vigna mungo* to inoculation with rhizobia from tree legumes growing under arid environment[J]. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 2008, **5** (1): 135-139.

[21] 覃小红. 固氮巨大芽孢杆菌在桉树栽培上的应用初探[D]. 南宁: 广西大学, 2013.

[22] GAO J L, SUN J G, LI Y, *et al.* Numerical taxonomy and DNA relatedness of tropical rhizobia isolated from Hainan Province, China[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, **44**(1): 151-158.

[23] HE J, QIN L. Growth and photosynthetic characteristics of sweet potato (*Ipomoea batatas*) leaves grown under natural sunlight with supplemental LED lighting in a tropical greenhouse [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2020, **252**: 153 239.

[24] 黄小辉, 吴焦焦, 王玉书, 等. 不同供氮水平的核桃幼苗生长及叶绿素荧光特性[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, **46**(2): 119-126.

HUANG X H, WU J J, WANG Y S, *et al.* Growth and chlorophyll fluorescence characteristics of walnut (*Juglans regia*) seedling under different nitrogen supply levels[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Science Edition), 2022, **46**(2): 119-126.

[25] 陈书琳, 毕银丽, 齐礼帅, 等. 接种菌根大豆叶绿素含量差异的光谱特征分析[J]. 中国矿业大学学报, 2015, **44**(1): 170-175.

CHEN S L, BI Y L, QI L S, *et al.* Hyperspectral characteristics difference and estimation for chlorophyll content of soybean inoculated with mycorrhiza[J]. *Journal of China University of Mining & Technology*, 2015, **44**(1): 170-175.

[26] 杨 蓉, 房世杰, 杨文琦, 等. 植物根际促生细菌(PGPR)分离筛选与鉴定[J]. 新疆农业科学, 2011, **48**(12): 2 337-2 342.

YANG R, FANG S J, YANG W Q, *et al.* Sieving and identification of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, **48**(12): 2 337-2 342.

[27] BOROWIAK K, WOLNA-MARUWKA A, NIEWIADOMSKA A, *et al.* The effects of various doses and types of effective microorganism applications on microbial and enzyme activity of medium and the photosynthetic activity of scarlet sage[J]. *Agronomy*, 2021, **11**(3): 603.

[28] NAJAR R, AYDI S, SASSI-AYDI S, *et al.* Effect of salt stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Medicago truncatula*[J]. *Plant Biosystems - an International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 2019, **153**(1): 88-97.

[29] 段如雁, 韦小丽, 安常蓉. 接种不同根瘤菌对花榈木幼苗光合生理的影响及促生效应[J]. 浙江农林大学学报, 2018, **35** (6): 1 098-1 106.

DUAN R Y, WEI X L, AN C R. Growth of *Ormosia henryi* seedlings and photosynthetic and physiological characteristics with rhizobia inoculation[J]. *Journal of Zhejiang A&F*

University, 2018, **35**(6): 1 098-1 106.

[30] 张子山, 杨 程, 高辉远, 等. 保绿玉米与早衰玉米叶片衰老过程中叶绿素降解与光合作用光化学活性的关系[J]. 中国农业科学, 2012, **45**(23): 4 794-4 800.

ZHANG Z S, YANG C, GAO H Y, *et al.* Relationship between photochemistry activity and decrease in chlorophyll content during senescence in leaves of stay green and quick-leaf-senescence inbred line of maize[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, **45**(23): 4 794-4 800.

[31] 杨小燕. 樱花容器苗在基质配比及氮素梯度下生长生理的响应[D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.

[32] 黄 方, 吕世凡, 吕成群, 等. 益生菌对巨尾桉人工林采伐剩余物生物量及养分归还的影响[J]. 西南农业学报, 2017, **30**(5): 1 200-1 204.

HUANG F, LÜ S F, LÜ C Q, *et al.* Effect of inoculated probiotics on felling of biomass and nutrient returned of *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* artificial forest [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, **30**(5): 1 200-1 204.

[33] LOUZADA RODRIGUES T, MARTINS DA COSTA E, ALMEIDA RIBEIRO P R, *et al.* Diversity and biotechnological potential of rhizobia isolated from Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) nodules collected at a semiarid region[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2021, **85**(5): 1 663-1 678.

[34] DE SOUZA MOREIRA F M, DE CARVALHO T S, SIQUEIRA J O. Effect of fertilizers, lime, and inoculation with rhizobia and mycorrhizal fungi on the growth of four leguminous tree species in a low-fertility soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, **46**(8): 771-779.

[35] JESUS E C, LEITE R A, BASTOS R A, *et al.* Co-inoculation of *Bradyrhizobium* stimulates the symbiosis efficiency of *Rhizobium* with common bean[J]. *Plant and Soil*, 2018, **425**(1): 201-215.

[36] MAKINO A. Photosynthesis, grain yield, and nitrogen utilization in rice and wheat[J]. *Plant Physiology*, 2011, **155**(1): 125-129.

[37] YAO X Y, LAN Y H, LIAO L N, *et al.* Effects of nitrogen supply rate on photosynthesis, nitrogen uptake and growth of seedlings in a *Eucalyptus*/*Dalbergia odorifera* intercropping system[J]. *Plant Biology*, 2022, **24**(1): 192-204.

[38] PENG S B, BISWAS J C, LADHA J K, *et al.* Influence of rhizobial inoculation on photosynthesis and grain yield of rice [J]. *Agronomy Journal*, 2002, **94**(4): 925-929.

[39] 任 涵, 黄宝灵, 康 凯, 等. 生物炭和益生菌对桉树幼苗生物量及其林下土壤微生物活性的影响[J]. 南方农业学报, 2019, **50**(8): 1785-1791.

REN H, HUANG B L, KANG K, *et al.* The impact of bio-char and probiotics on eucalyptus seedlings biomass and soil microbial activity under the forest[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, **50**(8): 1 785-1 791.

[40] PAULA R R, BOUILLET J P, TRIVELIN P C O, *et al.* Evidence of short-term belowground transfer of nitrogen from *Acacia mangium* to *Eucalyptus grandis* trees in a tropical planted forest[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **91**: 99-108.

[41] 韩素芬. 我国豆科树种结瘤情况的补充资料[J]. 南京林业大学学报, 1995, **19**(4): 89-92.

HAN S F. A nodulation survey of tree legumes in China[J]. *Journal of Nanjing Forestry University*, 1995, **19**(4): 89-92.

[42] 王 娇, 关 欣, 张伟东, 等. 杉木幼苗生物量分配格局对氮添加的响应[J]. 植物生态学报, 2021, **45**(11): 1 231-1 240.

WANG J, GUAN X, ZHANG W D, *et al.* Responses of biomass allocation patterns to nitrogen addition of *Cunninghamia lanceolata* seedlings[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2021, **45**(11): 1 231-1 240.

[43] LI W B, ZHANG H X, HUANG G Z, *et al.* Effects of nitrogen enrichment on tree carbon allocation: A global synthesis[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2020, **29**(3): 573-589.

[44] KOBE R K, IYER M, WALTERS M B. Optimal partitioning theory revisited: Nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen[J]. *Ecology*, 2010, **91**(1): 166-179.

[45] 吴 茜, 丁 佳, 闫 慧, 等. 模拟降水变化和土壤施氮对浙江古田山5个树种幼苗生长和生物量的影响[J]. 植物生态学报, 2011, **35**(3): 256-267.

WU Q, DING J, YAN H, *et al.* Effects of simulated precipitation and nitrogen addition on seedling growth and biomass in five tree species in Gutian Mountain, Zhejiang Province, China[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, **35**(3): 256-267.

(编辑:裴阿卫)