

刘胜亮,朱舒亮,杨越,等. 红枣根际解磷菌对土壤有机酸及速效磷含量的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):130-133.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.17.033

# 红枣根际解磷菌对土壤有机酸及速效磷含量的影响

刘胜亮<sup>1,2</sup>, 朱舒亮<sup>1,2</sup>, 杨越<sup>1</sup>, 李静<sup>1</sup>, 李建贵<sup>1,2</sup>

(1. 新疆农业大学林业研究所,新疆乌鲁木齐 830052;2. 新疆农业大学新疆红枣工程技术研究中心,新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:**将解磷能力较强的菌株 P7、P13、P15、P18 进行室内培养并施入红枣根际,定期测定土壤中的活菌数和速效磷、有机酸含量,研究红枣根际施解磷菌对土壤有机酸及速效磷含量的影响。结果表明,4 种解磷菌株在施入 30 d 时能够形成良好的定殖能力,可明显提高土壤中的速效磷含量及丙酮酸、乙酸、乳酸等有机酸含量,其中,菌株 P15、P18 在大田中的溶磷效果相对较好。

**关键词:**解磷菌株;有机酸;速效磷;土壤;红枣

**中图分类号:** S154.34 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)17-0130-03

植物根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是能够在植物根际土壤中定殖,并能够促进植物生长、提高植物抗性 or 促进土壤养分循环的有益微生物<sup>[1-2]</sup>。有研究表明,植物根际促生菌可以促进土壤有机质分解、加速土壤养分循环、提高植物对土壤养分的利用效率,对农业生产意义重大<sup>[3-4]</sup>。何志刚等研究 PGPR 菌肥对马铃薯产量与肥料利用率影响时发现,增施促生菌肥能够明显提高马铃薯地下块茎对钾、氮、磷的吸收,能够明显促进马铃薯产量的提高<sup>[5]</sup>;燕红等研究发现,微生物菌株可以明显促进钾、磷的溶解<sup>[6]</sup>;吴兴等研究发现,PGPR 能够促进蚕豆植株的生长,并能明显提高蚕豆的荚果数<sup>[7]</sup>。

对解磷微生物的研究最早开始于 20 世纪 30 年代,前苏联科学家从土壤中分离得到 1 种溶磷能力较强的巨大芽孢杆菌<sup>[8]</sup>。20 世纪 50 年代,科研人员从小麦根际土壤中分离得到溶解磷酸钙能力较强的微生物<sup>[9]</sup>。目前,对解磷微生物进行研究发现,微生物在解磷时一般是通过分泌有机酸来实现的,有机酸可以通过螯合作用与  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等结合,从而达到溶解磷酸盐的效果。王同等研究发现,红壤溶磷菌 B1 主要通过分泌有机酸来溶磷<sup>[10]</sup>;石在强等研究解盐促生菌 Rs-5 时发现,Rs-5 菌株在溶磷过程中,柠檬酸、苹果酸起主要作用<sup>[11]</sup>。本试验通过对大田红枣施入解磷能力较强的 4 种菌株 P7、P13、P15、P18,对不同解磷菌进行动态观测,研究解磷菌对红枣根际土壤有机酸、速效磷含量的影响,为解磷菌在田间的开发应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验在新疆农业大学林业研究所博湖南山实验基地的红

收稿日期:2017-02-19

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360194);新疆维吾尔自治区重点研发计划(编号:2017B01002-1)。

作者简介:刘胜亮(1990—),男,山东沂水人,硕士研究生,从事微生物生态学研究。E-mail:lcu2010@163.com。

通信作者:李建贵,博士,教授,从事生态学研究。E-mail:lijiangui1971@163.com。

枣园进行,该基地位于新疆巴音郭楞蒙古自治州博斯腾湖景区,86°40′~87°25′E、41°56′~42°14′N,干燥少雨,温差及蒸发量相对大,属典型的大陆性荒漠气候。

### 1.2 试验材料

选择树龄相同、株形和产量相对一致的 6 年生灰枣作为试验材料。供试解磷细菌 P7(*Bacillus* sp.)、P13(*Acinetobacter* sp.)、P15(*Acinetobacter* sp.)、P18(*Enterobacter* sp.)由新疆农业大学林业研究所微生物实验室提供,采用高温灭菌处理的牛肉膏蛋白胨培养基进行培养,配方为:牛肉膏 3.0 g、蛋白胨 10.0 g、NaCl 5.0 g、琼脂 18.0 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 值为 7.0~7.2。

### 1.3 试验处理

1.3.1 菌株扩繁 无菌环境中,将经过分离鉴定、解磷能力较强的菌株 P7、P13、P15、P18 进行复苏活化,无抗平板上划线,温育 24 h;超净工作台上挑选典型单菌落进行扩繁。

1.3.2 田间试验 2016 年 4 月 25 日,将 4 种单菌株进行甲派利福霉素(利福平)标记,得到耐利福平的突变菌株;将突变菌株分别进行培养,结合使用基肥,将培养菌株施入到红枣根际,同时在施用基肥的基础上以分别施入菌剂培养基、清水为对照,共计 6 个处理(处理 1:菌剂 P7+基肥;处理 2:菌剂 P13+基肥;处理 3:菌剂 P15+基肥;处理 4:菌剂 P18+基肥;处理 5:菌剂培养基+基肥;处理 6:清水+基肥),接种后 1、15、30、45、60、90、120 d 对其进行动态回收观测。基肥施用量为 10 kg/株,试验组菌剂用量为原菌剂 200 mL 稀释 5 倍,每株施用 1 000 mL 稀释液;菌剂培养基对照用量为原菌剂培养基 200 mL 稀释 5 倍,每株施用 1 000 mL 稀释液;清水对照每株施用 1 000 mL 清水。采用穴施法施入,在枣树正东方向距离红枣树 10 cm 位置挖 1 个长、宽、深分别为 50、30、30 cm 的施肥坑。每小区 4 株,重复 3 次,随机排列,单灌单排。

1.3.3 土壤样品的采集 分别在处理前(0 d)、接种处理后 1、30、60、90、120 d,在原施肥坑采集土壤样品 200~300 g/株,将同一小区 4 株树的土壤样品充分混匀,按照四分法分 2 次取检测土样 200~300 g。

### 1.4 测定内容与方法

1.4.1 土壤活菌数 无菌环境下取根际鲜土壤 10 g,置于装

有 90 mL 无菌水的三角瓶中,28 ℃ 恒温振荡 30 min,使微生物细胞充分分散,即得到  $10^{-1}$  稀释液;取 0.5 mL 稀释液与 4.5 mL 无菌水混匀,依次稀释得到  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$  的稀释液;将一系列稀释液涂布在含有 300  $\mu\text{g/mL}$  利福平和 300  $\mu\text{g/mL}$  卡那霉素的牛肉膏蛋白胨平板上,28 ℃ 培养 2 d,进行计数。

1.4.2 土壤速效磷和有机酸含量 速效磷含量采用钼蓝比色法测定;土壤 pH 值采用酸度计法测定;有机酸含量采用高效液相色谱法测定<sup>[12-13]</sup>。

### 1.5 数据分析

采用 SPSS 19.0、Excel 2003 软件对试验数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同解磷菌处理对土壤活菌数的影响

由表 1 可知,菌株 P13、P15、P18 施入的菌落数约在  $10^8$  CFU/g,而菌株 P7 的菌落数相对较多,达到  $10^9$  CFU/g;接种后 15 d,各菌株存活的菌落数有明显下降,在  $4.44 \times 10^7 \sim 5.98 \times 10^7$  CFU/g 之间,存活率为接种后 1 d 时的 5% ~ 10%;接种后 30 d,各菌株的菌落数仍然有明显下降,在  $1.18 \times 10^7 \sim 2.31 \times 10^7$  CFU/g 之间,菌株 P7 的活菌数相对较多,达到  $2.31 \times 10^7$  CFU/g;接种后 45 ~ 120 d,各菌株菌落数变化不大,基本稳定在  $10^7$  CFU/g 左右。由此可见,4 种解磷菌株在接种后 30 d 时开始适应土壤环境,并形成定殖能力。

表 1 菌株接种后不同时期红枣根际土壤的菌落数

菌株	活菌数( $\times 10^7$ CFU/g)						
	1 d	15 d	30 d	45 d	60 d	90 d	120 d
P7	105.67 $\pm$ 7.51a	5.76 $\pm$ 0.66a	2.31 $\pm$ 0.20a	1.25 $\pm$ 0.06b	1.05 $\pm$ 0.09ab	1.90 $\pm$ 0.34a	1.16 $\pm$ 0.04a
P13	83.67 $\pm$ 7.37b	4.44 $\pm$ 0.80a	1.65 $\pm$ 0.35ab	1.12 $\pm$ 0.25b	0.99 $\pm$ 0.22b	1.11 $\pm$ 0.44a	1.04 $\pm$ 0.14a
P15	69.33 $\pm$ 4.51b	5.18 $\pm$ 0.35a	1.18 $\pm$ 0.30b	1.22 $\pm$ 0.33b	1.42 $\pm$ 0.10a	1.19 $\pm$ 0.32a	1.21 $\pm$ 0.14a
P18	77.67 $\pm$ 9.45b	5.98 $\pm$ 0.86a	1.38 $\pm$ 0.35b	2.43 $\pm$ 0.23a	1.15 $\pm$ 0.16ab	2.28 $\pm$ 0.74a	1.27 $\pm$ 0.34a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。表 2 至表 4 同。

### 2.2 不同解磷菌处理对土壤 pH 值的影响

由图 1 可知,与施菌前相比,接种后 1 d 各处理的 pH 值都有明显下降,可能是由于施加菌液和水的原因导致;接种后 30 d 时 pH 值与接种后 1 d 相比有明显上升,但仍低于未接种的时候;接种后 30 ~ 120 d,各处理土壤的 pH 值呈逐渐降低趋势,施加菌株的 4 个处理其 pH 值明显低于对照仅接种菌剂培养基或清水。

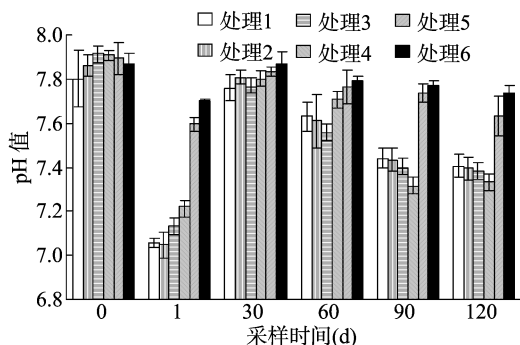


图1 不同解磷菌处理对红枣根际土壤 pH 值的影响

### 2.3 不同解磷菌处理对土壤速效磷含量的影响

由图 2 可知,接种后 1 d,接种菌株及菌剂培养基的红枣根际土壤速效磷含量较接种前有明显上升;与接种后 1 d 相比,接种后 30 d 接种菌株 P13、菌剂培养基的红枣根际土壤速效磷含量有所下降,其他处理均有所上升,其中接种菌株 P15 的土壤速效磷含量增加幅度相对最大,达 59.76%;接种后 60 d,各处理土壤的速效磷含量均超过 30 mg/kg,但与接种后 30 d 相比多呈下降趋势;接种后 90 d,接种菌株 P13、P15、P18 的土壤速效磷含量较接种后 60 d 有明显增长;接种后 120 d,接种菌株 P13、P15、P18 的土壤速效磷含量有较明显的增加,其中以接种菌株 P15 优势最为明显,而接种菌株 P7 及对照的土壤速效磷含量增长幅度相对较小;与对照仅接种菌剂培养

基或清水相比,接种菌株 P7 的土壤速效磷含量增加没有表现出明显的优势,接种菌株 P13 的土壤速效磷含量在接种 90 d 后增加优势明显,接种菌株 P15 的土壤速效磷含量在接种 30 d 后增加优势明显,而接种菌株 P18 的处理,其土壤速效磷含量从一接种开始整体呈增加趋势,接种后 120 d 时增幅相对最大。因此,接种菌株 P15、P18 的处理解磷效果相对最好,可提高土壤速效磷的含量。

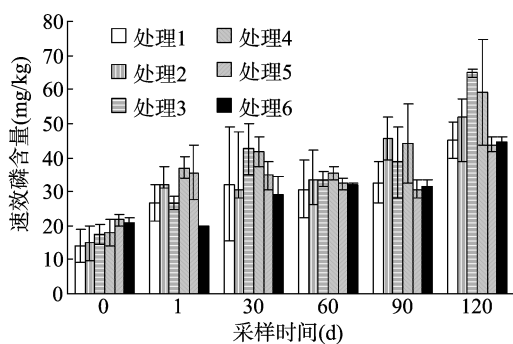


图2 不同解磷菌处理对红枣根际土壤速效磷含量的影响

### 2.4 不同解磷菌处理对土壤有机酸含量的影响

2.4.1 丙酮酸 由表 2 可见,接种前及接种后 1 d 各处理土壤均未检测到丙酮酸;接种后 30 d,各处理土壤均检测到丙酮酸,且这一时期丙酮酸含量相对较高,其中,接种菌株 P13、P18 的红枣根际土壤丙酮酸含量超过 1.9 mg/kg;接种后 60 d,除接种菌株 P15 的根际土壤丙酮酸含量有小幅上升外,其他处理的丙酮酸出现不同程度的下降,其中接种菌株 P7 的土壤丙酮酸含量下降最为明显,而仅接种菌剂培养基、清水的对照处理未检测到丙酮酸;接种后 90 d,接种菌株 P13、P15、P18 的根际土壤丙酮酸含量有明显下降,而其他处理较接种后 60 d 有所上升;接种后 120 d,接种菌株 P13、P15 和清水的根际土壤丙酮酸含量较接种后 90 d 略有增加,其他处理则有

小幅下降;整体来看,与对照相比,施加解磷菌的土壤其丙酮酸含量有明显提高。

表 2 不同解磷菌处理对红枣根际土壤丙酮酸含量的影响

处理	丙酮酸含量 (mg/kg)					
	0 d	1 d	30 d	60 d	90 d	120 d
菌株 P7	0.000	0.000	1.246a	0.589b	0.973a	0.746a
菌株 P13	0.000	0.000	1.982a	1.791a	0.333ab	0.811a
菌株 P15	0.000	0.000	1.406a	1.457a	0.443ab	0.656a
菌株 P18	0.000	0.000	1.959a	1.378a	0.659ab	0.568ab
菌剂培养基	0.000	0.000	1.185a	0.000c	0.309ab	0.183b
清水	0.000	0.000	0.858a	0.000c	0.045b	0.385ab

2.4.2 乳酸 由表 3 可见,接种后 1 d 与接种前相比,除接种清水的红枣根际土壤乳酸含量未发生变化外,其他处理乳酸含量均有明显增加;接种后 30 d,各处理根际土壤乳酸含量均有不同程度增加,其中接种解磷菌的土壤乳酸含量增加较为明显,接种菌株 P13 的土壤乳酸含量相对最高,达 12.398 mg/kg;接种后 60 d,红枣根际乳酸含量出现明显下降,接种菌株 P15、P18 及菌剂培养基、清水的土壤未检测到乳酸存在;接种后 90 d,除接种清水的土壤未检测到乳酸外,其他各处理均检测到乳酸存在,其中接种菌株 P7、菌剂培养基的土壤乳酸含量相对较高,在 5 mg/kg 以上;接种后 120 d,菌株 P7、P18 及菌剂培养基的土壤乳酸含量有所下降外,其他处理乳酸含量有不同程度的增加,其中接种菌株 P13 的土壤乳酸含量增加较为明显;整体来看,与接种清水相比,接种菌株可明显提高土壤的乳酸含量。

表 3 不同解磷菌处理对红枣根际土壤乳酸含量的影响

处理	乳酸含量 (mg/kg)					
	0 d	1 d	30 d	60 d	90 d	120 d
菌株 P7	0.000b	1.330a	4.063a	1.023a	5.674a	3.696ab
菌株 P13	0.000b	1.065a	12.398a	0.627b	1.995a	4.397a
菌株 P15	0.413b	1.277a	9.415a	0.000c	2.200a	3.491ab
菌株 P18	0.431b	0.986a	8.550a	0.000c	2.643a	2.019ab
菌剂培养基	1.146a	1.264a	1.785a	0.000c	5.217a	1.363ab
清水	0.008b	0.008b	0.760a	0.000c	0.000a	0.440b

2.4.3 乙酸 由表 4 可见,接种前各处理土壤均未检测到乙酸存在;接种后 1 d,除接种菌株 P7、P15 的土壤检测到少量乙酸外,其他处理土壤均未检测到乙酸存在;接种后 30 d,各处理土壤的乙酸含量有明显增加,其中接种菌株 P15 的土壤乙酸含量增加最为明显,达到 1.552 mg/kg;接种后 60 d,对照处理的土壤乙酸含量较接种后 30 d 有所下降,而接种解磷菌株的 4 个处理其土壤乙酸含量保持相对稳定或有明显增加;接种后 90 d,接种菌株 P7 的红枣根际土壤乙酸含量有明显增加,乙酸含量相对最高,为 11.025 mg/kg,而接种菌株 P15、P18 及清水的土壤未检测到乙酸存在;接种后 120 d,接种菌株 P7 的土壤乙酸含量相对较高,为 0.966 mg/kg,对照处理的土壤乙酸含量明显低于接种解磷菌株的。

2.5 速效磷含量与土壤有机酸含量的相关性分析

统计分析结果表明,红枣根际土壤丙酮酸、乳酸、乙酸 3 种有机酸含量与土壤速效磷含量的相关系数分别为 0.338、0.318、0.061,均呈正相关,其中,丙酮酸含量与土壤速效磷含量呈显著性相关( $P < 0.05$ )。

表 4 不同解磷菌处理对红枣根际土壤乙酸含量的影响

处理	乙酸含量 (mg/kg)					
	0 d	1 d	30 d	60 d	90 d	120 d
菌株 P7	0.000	0.236a	0.473bc	5.814a	11.025a	0.966a
菌株 P13	0.000	0.000c	1.552a	1.470bc	0.855b	0.874a
菌株 P15	0.000	0.105b	1.200a	3.086b	0.000b	0.662ab
菌株 P18	0.000	0.000c	1.005ab	3.024b	0.000b	0.605ab
菌剂培养基	0.000	0.000c	0.544bc	0.092c	0.156b	0.202b
清水	0.000	0.000c	0.279c	0.000c	0.000b	0.167b

3 结论与讨论

土壤低分子量有机酸的产生与土壤微生物数量和活性密切相关<sup>[14]</sup>,土壤微生物的生理活动能够合成有机酸,其次生代谢产物影响着植物根系的有机酸含量<sup>[15]</sup>。本试验在红枣根际土壤施加 4 种解磷菌,在红枣根际土壤中形成良好的定殖能力,对红枣根际土壤有机酸的产生有一定影响,与接种菌剂培养基、清水相比,接种菌株的红枣根际土壤速效磷和丙酮酸、乙酸、乳酸等有机酸含量有不同程度增加,这与王同等的研究结论<sup>[10]</sup>相吻合。试验结果表明,接种菌株 P15、P18 的溶磷效果相对较好,接种菌株 P7 有利于提高土壤乙酸含量,接种菌株 P13 有利于土壤丙酮酸和乳酸的提升,这说明微生物溶磷过程中有机酸是一种重要因子,但不是唯一因素<sup>[16]</sup>,这可能与不同种类有机酸所含功能基数目及螯合能力不同有关,从而具有不同的活化能力<sup>[17]</sup>。

另外,统计分析结果表明,红枣根际土壤丙酮酸、乳酸、乙酸 3 种有机酸含量与土壤速效磷含量均呈正相关,说明这 3 种有机酸可促进土壤速效磷含量的提升,但相关系数相对较小,究竟是何因子起关键作用还需要作进一步的研究探讨。

参考文献:

[1] Brown M E. Seed and root bacterization[J]. Annual Review of Phytopathology,1974,12(1):181-197.  
[2] 秦韵婷,李建贵,郭艺鹏,等. PGPR 对灰枣土壤养分及微生物数量影响的主成分分析[J]. 经济林研究,2015(3):39-43.  
[3] 金彩霞,朱雯雯,李明亮,等. 作物根际土壤有机酸含量动态变化研究[J]. 干旱区资源与环境,2013,27(11):86-91.  
[4] 黄晓东,季尚宁,Bernard G,等. 滑铁卢大学植物促生菌技术的研究与开发[J]. 现代化农业,2002(10):19-21.  
[5] 何志刚,王秀娟,董 环,等. PGPR 菌肥对马铃薯产量与肥料利用率影响的初步研究[J]. 中国土壤与肥料,2013(2):100-103.  
[6] 燕 红,于彩莲,包 鑫,等. 高效解磷兼解钾活性菌株分离筛选的初步研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2016,37(1):81-85,90.  
[7] 吴兴兴,吴毅歆,赵正龙,等. 4 个 PGPR 菌株拌种对干旱条件下蚕豆生长及产量的影响[J]. 干旱区研究,2012,29(2):203-207.  
[8] 李剑峰,师尚礼,张淑卿. 解磷微生物肥料研究进展[J]. 仲恺农业工程学院学报,2010,23(1):63-67.  
[9] 梁绍芬,姜瑞波. 解磷微生物肥料的作用和应用[J]. 中国土壤与肥料,1994(2):46-48.  
[10] 王 同,孔令雅,焦加国,等. 红壤溶磷菌的筛选及溶磷机制[J]. 土壤学报,2014(2):373-380.

马雪梅,吴朝峰. 干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量及荧光特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):133-136.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.17.034

# 干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量及荧光特性的影响

马雪梅, 吴朝峰

(河南安阳工学院,河南安阳 455000)

**摘要:**以金丰一号、大毛花、密银花 3 个金银花品种为试验材料,研究干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量和荧光特性的影响。结果表明,干旱胁迫下,金银花叶片叶绿素含量下降,基础荧光( $F_0$ )显著升高,最大荧光( $F_m$ )、PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PS II 潜在光化学效率( $F_v/F_0$ )显著下降,干旱胁迫使金银花叶片 PS II 反应中心受到伤害;抑制 PS II 反应中心电子传递(ETR)降低,导致非光化学猝灭系数( $q_N$ )升高、光化学猝灭系数( $q_P$ )显著下降;金丰一号 PS II 反应中心对胁迫耐性相对较强,叶片光化学效率较高。

**关键词:**金银花;干旱胁迫;叶绿素;荧光特性;光化学效率

**中图分类号:** S567.7<sup>+</sup>90.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)17-0133-04

金银花为忍冬科植物忍冬(*Lonicera japonica*)的干燥花蕾,是我国常用中药材,具有抗菌、抗病毒、清热解毒、保肝利胆之功效,主要分布在我国山东、河南、河北、湖北等省。河南省金银花大多种植于丘陵地区或山区,水分短缺成为影响金银花生长发育及产量、品质的主要因素之一。

叶绿素是植物光合作用中的重要色素。在干旱胁迫下,植物叶片的片层结构会受到破坏,叶绿素发生分解而导致含量降低、叶片发黄,在一定范围内,叶绿素含量的高低会直接影响叶片的光合作用,进而影响植物抗旱性的强弱<sup>[1-2]</sup>。叶绿素荧光技术在测定叶片光合作用过程中光系统对光能的吸收、传递、转换、耗散、分配等方面具有独特的作用,是探测分析植物光合功能、研究植物光合生理与逆境胁迫关系的一个重要手段<sup>[3]</sup>。本试验通过研究干旱胁迫对河南省金银花叶片叶绿素含量变化及荧光特性的影响,了解干旱胁迫对金银花叶片光合作用的影响机制,为河南省金银花抗旱特性的鉴定、耐旱性较强品种的选择提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期:2017-02-18

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(编号:15A180025)。

作者简介:马雪梅(1977—),女,河北衡水人,硕士,副教授,从事植物资源生态学与化学工程研究。E-mail: maxm2001@126.com。

通信作者:吴朝峰,硕士,副教授,从事植物生物技术研究。E-mail: wuchaofeng7811@163.com。

供试金银花品种为金丰一号、大毛花、密银花,分别来自河南省封丘县、安阳市、新密市。

### 1.2 试验处理

2014 年 3 月下旬,选择长势良好、大小基本一致的金银花扦插苗,移栽到基质相同、直径为 25 cm、深为 30 cm 的花盆内,每盆 1 株,正常管理 1 年。2015 年 7 月 27 日傍晚浇透水,次日开始分别进行轻度干旱胁迫(LS)、中度干旱胁迫(MS)、重度干旱胁迫(SS)3 种不同干旱胁迫处理,土壤相对含水量分别为田间持水量的 70%~75%、40%~45%、20%~25%,以土壤相对含水量为田间持水量的 85%~90% 为对照(CK)。每处理 5 盆,重复 3 次。采用称重法测定土壤水分含量,胁迫处理 2d 后进行常规的水分管理,保证植株生长旺盛。

### 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 叶绿素含量** 将胁迫处理 15 d 后的新鲜叶片洗净,擦干,快速剪成直径约为 5 mm 的碎片,分成 3 份;每份称取 0.2 g,放入 25 mL 具塞刻度试管中,加入 95% 乙醇溶液 10 mL,密封,置于暗处浸泡 2 d 待叶片全部变白;将色素提取液倒入 1 cm 光径的比色杯内,以 95% 乙醇溶液为空白,紫外分光光度计分别测定波长为 663、645 nm 的吸光度( $D$ 值),计算叶片叶绿素 a 含量( $C_a$ )、叶绿素 b 含量( $C_b$ )、叶绿素总含量( $C_t$ ),单位为 mg/g,计算公式分别为: $C_a = (12.70D_{663\text{ nm}} - 2.59D_{645\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ ;  $C_b = (22.90D_{645\text{ nm}} - 4.67D_{663\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ ;  $C_t = C_a + C_b = (22.20D_{645\text{ nm}} + 8.02D_{663\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ 。式中, $D_{663\text{ nm}}$ 、 $D_{645\text{ nm}}$ 分别为波长 663、645 nm 处的吸光度; $V$ 为提取液的总体积,mL; $WF$ 为

[11] 石在强,岳海涛,郑元元,等. 解盐促生菌 Rs-5 溶磷动力学及其机制[J]. 农业工程学报,2008(增刊1):24-28.

[12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[13] 李煜楠,杨再强,李平,等. 高效液相色谱法测定设施番茄土壤低分子量有机酸的色谱条件研究[J]. 土壤通报,2016,47(1):73-78.

[14] Strobel B W. Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution-a review[J]. Geoderma,2001,99(3/4):169-198.

[15] 康貽军,程洁,梅丽娟,等. 植物根际促生菌作用机制研究进展[J]. 应用生态学报,2010,21(1):232-238.

[16] Illmer P, Barbato A, Schinner F. Solubilization of hardly-soluble  $\text{AlPO}_4$  with P-solubilizing microorganisms[J]. Soil Biology & Biochemistry,1995,27(3):265-270.

[17] Kpombekou A K, Tabatabai M A. Effect of low-molecular weight organic acids on phosphorus release and phytoavailability of phosphorus in phosphate rocks added to soils[J]. Agriculture Ecosystems & Environment,2003,100(2/3):275-284.