



盐碱胁迫下不同木霉菌肥对大豆幼苗氮代谢的影响

王娜^{1,2}, 谢强¹, 陈井生³, 付健⁴

(1. 无锡商业职业技术学院 旅游烹饪学院, 江苏 无锡 214153; 2. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 重庆三峡学院 生物与食品工程学院, 重庆 404000; 4. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163000)

摘要: 盐碱胁迫对大豆植株生长发育以及氮素吸收等造成不利影响, 进而严重影响大豆的产量, 而外源施用木霉菌肥是缓解盐碱对大豆胁迫效应的一种有效途径。因此为明确木霉菌对盐碱胁迫下大豆幼苗氮代谢影响机制, 本研究选用耐盐碱品种合丰 50 (HF50), 盐碱敏感品种垦丰 16 (KF16) 为试材, 采用苏打盐碱土进行盆栽培养, 按照每升土 1×10^9 孢子 $\cdot L^{-1}$ 浇入 200 mL 哈茨木霉、棘孢木霉及木霉菌混合菌液, 测定大豆幼苗叶绿体 ATP 合成及氮代谢等生理生化指标。结果显示: 盐碱胁迫显著增加大豆幼苗体内 NH_4^+ 含量, 导致氨毒害, 而施用不同木霉菌肥后显著降低了 KF16 和 HF50 大豆叶片 NH_4^+ 含量, 降幅分别为 38.31%、41.56%、63.62% (KF16) 和 20.55%、25.58%、55.62% (HF50)。施用木霉菌剂后大豆叶片 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性较对照处理显著提高 36.15%~65.22% (KF16)、28.51%~62.47% (HF50) 和 23.09%~62.58% (KF16)、14.37%~44.10% (HF50), 进而促进叶片光合速率, 为大豆幼苗氮代谢提供了更多原料和能量, 从而提高了大豆氮代谢活性。结果说明不同木霉菌处理能够有效缓解盐碱胁迫对大豆造成的损害, 从而促进大豆生长。

关键词: 大豆; 木霉菌; 盐碱土壤; 氮代谢

Effects of Different *Trichoderma* Fertilizers on Nitrogen Metabolism of Soybean Seedlings under Saline-alkali Stress

WANG Na^{1,2}, XIE Qiang¹, CHEN Jingsheng³, FU Jian⁴

(1. School of Tourism & Culinary Arts, Wuxi Vocational Institute of Commerce, Wuxi 214153, China; 2. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 3. College of Biology and Food Engineering Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China; 4. College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163000, China)

Abstract: Salt and alkali stress has adverse effects on soybean plant growth and nitrogen absorption, which seriously affects soybean yield. Exogenous application of *Trichoderma* fertilizer is an effective way to alleviate the effect of salt and alkali stress on soybean. Therefore, in order to clarify the effect mechanism of *Trichoderma* on nitrogen metabolism of soybean seedlings under saline-alkali stress. In this experiment, the saline-tolerant cultivar Hefeng 50 (HF50) and saline-alkali sensitive cultivar Kenfeng 16 (KF16) were selected as test materials. Pot culture was carried out in saline-alkali soil, and 200 mL of spores of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* and the *Trichoderma* mixture, 1×10^9 spores $\cdot L^{-1}$ per liter of soil were poured into the soil. Chloroplast ATP ase synthesis, nitrogen metabolism and other physiological and biochemical indexes of soybean seedlings were determined. The results showed that, salt and alkali stress significantly increased NH_4^+ content in soybean seedlings, resulting in ammonia toxicity, while application of different *trichoderma* fertilizers significantly decreased NH_4^+ content in KF16 and HF50 soybean leaves. The decreases were 38.31%, 41.56%, 63.62% (KF16) and 20.55%, 25.58%, 55.62% (HF50), respectively. Compared with the control treatment, the activities of Ca^{2+} -ATPase and Mg^{2+} -ATPase in soybean leaves were significantly increased by 36.15%-65.22% (KF16), 28.51%-62.47% (HF50), 23.09%-62.58% (KF16), and 14.37%-44.10% (HF50), and then promoted the photosynthetic rate of leaves to provide more raw materials and energy for the nitrogen metabolism of soybean seedlings, and then improved the nitrogen metabolic activity of soybean. In conclusion, the different *Trichoderma* treatments could effectively alleviate the damage caused by saline-alkali stress on soybean and promote its growth.

Keywords: soybean; *Trichoderma*; saline-alkaline soil; nitrogen metabolism

土壤盐碱化是全世界共同面对的严重问题之一, 相关统计表明, 目前全球约有超过 8×10^9 hm^2 盐碱土壤, 并逐年递增, 随着人们大量使用化肥, 土壤盐碱化程度不断加剧给农业生产带来非常大的经济损失^[1]。作物生长的各个阶段都会受到土壤盐

碱化的胁迫, 从而抑制作物生长, 导致产量降低^[2]。松嫩平原是苏打盐碱农田土壤集中发生地区^[3]。大豆是我国重要的油料作物之一, 大豆属于中度盐碱敏感作物, 盐碱胁迫对大豆的种植面积和产量已经产生了严重的威胁, 因此如何提高作物的耐盐碱

收稿日期: 2023-06-01

基金项目: 2023 年江苏省高等教育教学改革研究项目; 无锡商业职业技术学院 2023 年度校级项目 (KJXJ234); 中国博士后科学基金 (2020M670930); 黑龙江省教育科学“十四五”规划 2022 年度重点课题 (ZJB1422213)。

第一作者: 王娜 (1979—), 女, 博士, 副教授, 主要从事微生物制剂开发与应用研究。E-mail: 82295654@qq.com。

性,是保证国家粮食安全的重大课题。

盐碱胁迫对植物的光合作用影响尤为明显,能够显著降低光合速率,产生光抑制现象,最终导致植物减产甚至死亡^[4]。盐碱胁迫会导致植物对 NH_4^+ 、 NO_3^- 的吸收受到抑制,从而影响植物体内的氮素积累,相比之下, NO_3^- 受盐碱胁迫的影响更为显著^[5]。目前已有研究结果表明,盐碱胁迫对植物体内叶绿体的希尔(Hill)反应活力及 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATP酶活性的影响更为明显,导致植物体内ATP含量减少^[6],因此逆境胁迫条件下叶绿体 Ca^{2+} -ATP和 Mg^{2+} -ATP酶活性变化对植物正常生长至关重要。大豆可将环境中的硝态氮经硝酸还原酶和亚硝酸还原酶依次还原为亚硝态氮与氨态氮^[7],氨态氮再经过谷氨酰胺合成酶催化与谷氨酸形成谷氨酰胺,谷氨酰胺在谷氨酸合成酶催化下与 α -酮戊二酸结合生成谷氨酸,进而被植株吸收利用^[8]。谷氨酸作为硝态氮同化的最终产物,用来合成生命活动所需的含氮有机化合物,是氮代谢的关键物质^[8]。植物光合作用与植物氮代谢关系十分密切,氮代谢需要植物光合作用提供碳源和能量,而光合作用又需要氮代谢提供酶蛋白和光合色素,因而光合同化与氮同化在植物细胞内是同步进行的^[4]。相关研究表明,盐碱胁迫使植物体内的 NO_3^- 含量下降,同时使植物的光合作用下降,与光合作用有关的生理指标也相应下降^[9]。

木霉菌作为重要的促生真菌,目前已经在全世界范围内被广泛应用,表现出良好的抗逆和促生效果。木霉菌进入土壤以后,能够在植物根系快速定殖,并通过其生防机制调节植物对非生物胁迫的抵抗^[10-11]。对于大豆的生长发育过程而言,氮代谢是其体内最基本的代谢过程之一,决定着大豆的生长发育状态,并影响其产量与品质^[8]。目前,木霉菌在促进植物种子萌发、提高生物量和养分吸收等方面具有非常好的作用效果^[12]。木霉菌能够有效活化土壤中不能被完全吸收利用的矿质元素,提高土壤中酶活性,最终促进更多的矿质元素被植物吸收利用^[13]。相关研究表明,施用木霉菌能够缓解盐碱土壤胁迫造成的玉米幼苗叶绿体及类囊体膜光损伤及氮代谢障碍,从而促进幼苗生长^[4,14]。目前,黑龙江省苏打盐碱土壤面积较大,且成分复杂,因此如何改善盐碱土壤,促进养分转化,进而提高作物产量,是目前盐碱土壤资源高效利用的重要难题,关于外源施用不同木霉菌对苏打盐碱土胁迫下促进大豆幼苗光合作用特性及氮代谢的机制尚鲜见报道。本研究分析盐碱胁迫土壤胁迫下木霉菌对大

豆幼苗光合速率、Hill反应活力及ATPase活性的调控效应,及其对大豆幼苗体内主要含氮化合物含量和代谢关键酶活性的影响,以期探讨在盐碱胁迫下木霉菌对大豆幼苗光合特性及氮代谢循环的促进作用,缓解盐碱损伤的作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用品种为实验室前期筛选出的耐盐碱型品种合丰50(HF50)和盐碱敏感型品种垦丰16(KF16)。

1.2 试验设计

用10%次氯酸钠溶液进行表面消毒种子10 min后播种于宽12 cm、高11 cm的塑料盆中,盆栽土壤为苏打盐碱土,试验设置浓度 1×10^9 孢子 $\cdot\text{L}^{-1}$ 的哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)及哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液3种处理,每个处理浇200 mL菌液,以施用等量无菌水作为对照处理(Con),共6次重复。于大豆V3期进行取样和相关指标测定,盆栽土壤pH8.30,全氮 $1.04 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全磷 $101.76 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,碱解氮 $101.76 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $5.61 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $78.32 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有机质 $15.12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 光合速率 利用Li-6400XTR光合仪(Li-COR Inc, USA)测定大豆V3期叶片(倒三功能叶)光合速率,于9:00—11:00进行测量,光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)由光合仪直接导出,每个处理重复测量5次^[15]。

1.3.2 细胞膜透性 电解质渗率可以表征植物膜透性,采用电导率仪测定叶片的电导率。

1.3.3 Hill反应活性 称取采集的大豆幼苗叶片样品0.5 g加入叶绿体液,研磨后离心后制得叶绿体悬浮液,参照Fu等^[4]的方法,取1 mL叶绿体悬浮液,在600 nm处测定光密度变化,以2,6-D光还原活力表示Hill反应活力。

1.3.4 叶绿体 Ca^{2+} -ATP、 Mg^{2+} -ATP酶活性 参照Fu等^[4]的方法测定大豆幼苗叶片 Ca^{2+} -ATPase和 Mg^{2+} -ATPase活性。

1.3.5 氮代谢指标 参照Fu等^[4]的方法对大豆幼苗叶片 NO_3^- 、 NH_4^+ 含量、硝酸还原酶(NR)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合成酶(GOGAT)、谷草转氨酶(GOT)及谷丙转氨酶(GPT)的活性进行测定。以上指标均重复测定5次。

1.4 数据分析

通过 SPSS 21.0 进行方差分析,采用 Duncan 检验法进行差异显著性分析,取 5 次重复数据的平均值。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫下不同木霉菌对大豆叶片光合特性的影响

如表 1 所示,盐碱胁迫显著降低了不同品种大豆叶片的光合参数。而外源施用不同木霉菌处理

缓解了盐碱胁迫对叶片光系统的伤害,显著提高了幼苗叶片的光合参数,各处理下 KF16 和 HF50 大豆品种的光合速率较对照处理分别提高了 24.30%、26.32%、58.10% 和 11.97%、14.99%、55.71%,此外,气孔导度和蒸腾速率也有不同程度的改善,分别较对照处理增加 10.00%~44.44% 和 12.50%~29.51%,而胞间 CO₂ 浓度则降低 7.40%~23.80%。结果表明,不同木霉菌处理均能缓解盐碱对幼苗生长的胁迫效应,且不同基因型品种表现不同,对 KF16 的作用效果好于 HF50。

表 1 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片光合特征的影响

Table 1 Effects of different <i>Trichoderma</i> on the photosynthetic properties in the leaves of soybean seedlings grown in saline-alkaline soil								
处理 Treatment	光合速率		气孔导度		胞间 CO ₂ 浓度		蒸腾速率	
	Photosynthetic rate/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		Stomatal conductance/ ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		Intercellular CO ₂ concentration/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)		Transpiration rate/ ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	
	KF16	HF50	KF16	HF50	KF16	HF50	KF16	HF50
Con	6.42±0.04 c	7.27±0.03 c	0.036±0.00 c	0.040±0.00 c	332.15±5.36 a	301.55±5.78 a	0.61±0.01 c	0.64±0.01 c
TH	7.98±0.12 b	8.14±0.08 b	0.040±0.00 b	0.044±0.00 b	293.06±3.69 b	279.23±3.49 b	0.71±0.01 b	0.72±0.00 b
TA	8.11±0.08 b	8.36±0.11 b	0.046±0.00 b	0.049±0.00 b	289.42±3.77 b	283.73±2.71 b	0.74±0.01 b	0.75±0.01 b
TH + TA	10.15±0.15 a	11.32±0.07 a	0.052±0.00 a	0.054±0.00 a	253.09±7.21 c	246.82±5.65 c	0.79±0.00 a	0.82±0.01 a

注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。不同小写字母表示不同处理之间的差异显著($P<0.05$),下同。

Note: KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively. Different lowercase letters in the table indicate the significant differences ($P<0.05$) between the different treatments, and the numerical value was the mean value of five repeats (\pm SE), the same below.

2.2 盐碱胁迫下不同木霉菌对大豆叶片相对电导率的影响

如表 1 所示,盐碱胁迫(Con)显著提高了不同大豆品种叶片的相对电导率,施用不同木霉菌后,显著缓解了盐碱胁迫对 KF16 和 HF50 大豆幼苗叶片细胞膜透性损伤($P<0.05$),叶片相对电导率分别下降了 22.74%、27.09%、40.74% 和 15.80%、19.65%、38.08%,且对 KF16 的缓解效果好于 HF50,但是 TH 和 TA 木霉菌之间差异不显著,而混合木霉菌液效果显著好于其他处理,说明不同木霉菌菌肥能够缓解盐碱胁迫对大豆幼苗叶片的损伤。

2.3 盐碱胁迫下不同木霉菌对大豆叶片希尔反应活力的影响

如表 3 所示,盐碱胁迫(Con)显著降低了 KF16 和 HF50 的希尔反应活力($P<0.05$),使 PS II 电子传递效率下降,光合磷酸化受阻,进而影响光合作用进行,HF50 在盐碱胁迫下希尔反应活力高于 KF16。在施用不同木霉菌处理后,KF16 和 HF50 的叶片希尔反应活力呈现下降趋势,分别下降了

35.49%、33.66%、53.29% 和 28.60%、30.37%、51.58%,其中木霉菌混合菌液处理效果明显,且对 KF16 的缓解效果较好。

表 2 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片相对电导率的影响

Table 2 Effects of different <i>Trichoderma</i> on relative electrolytic leakage in leaves of soybean in saline-alkaline soil			单位:%
处理 Treatment	KF16	HF50	
Con	0.46±0.01 c	0.38±0.03 c	
TH	0.34±0.02 b	0.32±0.02 b	
TA	0.32±0.01 b	0.31±0.01 b	
TH + TA	0.27±0.01 a	0.24±0.01 a	

注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。

Note: KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively.

表3 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片希尔反应活力的影响

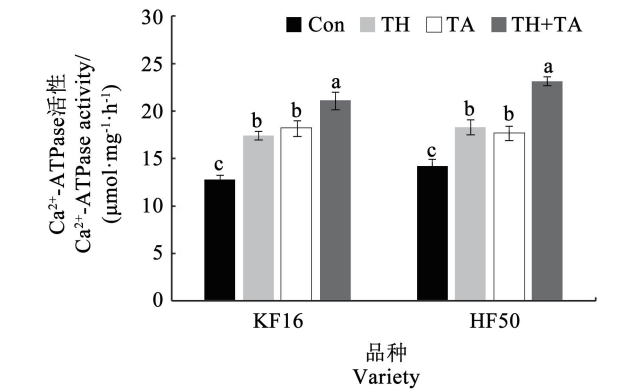
Table 3 Effects of different *Trichoderma* on the hill reaction in the leaves of soybean seedlings grown in saline-alkaline soil

单位: $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

处理 Treatment	KF16	HF50
Con	9.27 ± 0.18 c	10.14 ± 0.21 c
TH	12.56 ± 0.29 b	13.04 ± 0.37 b
TA	12.36 ± 0.54 b	13.22 ± 0.72 b
TH + TA	14.21 ± 0.27 a	15.37 ± 0.62 a

注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。

Note: KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively.



注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。

Note: KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively.

图1 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片 Ca^{2+} -ATP、 Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响

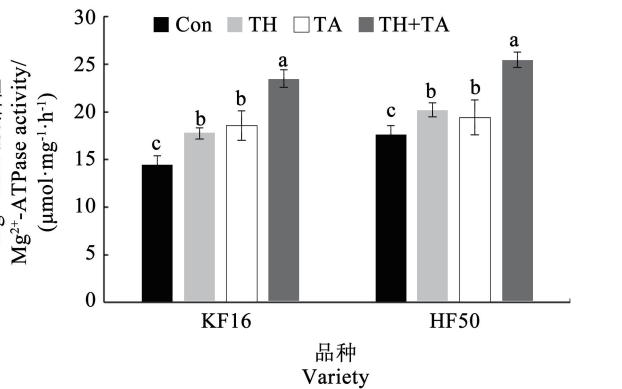
Fig. 1 Effects of different *Trichoderma* on the Ca^{2+} -ATPase and Mg^{2+} -ATPase in the leaves of soybean seedlings grown in saline-alkaline soil

2.5 木霉菌对盐碱胁迫下大豆叶片 NO_3^- 和 NH_4^+ 含量的影响

如表 3 所示,盐碱胁迫 (Con) 显著降低了 KF16 和 HF50 大豆叶片的 NO_3^- 含量 ($P < 0.05$)。与盐碱胁迫处理相比,施用不同木霉菌后能够显著提高 KF16 和 HF50 大豆叶片的 NO_3^- 含量,分别提高了 38.31%、41.56%、63.62% 和 20.55%、25.58%、55.62%。TH 和 TA 木霉菌处理下大豆叶片的 NO_3^- 含量差异不显著,而木霉菌混合菌液处理下显著高

2.4 盐碱胁迫下不同木霉菌对大豆叶片 Ca^{2+} -ATP、 Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响

如图 1 所示,盐碱胁迫下,两个大豆品种叶片的 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性均显著下降 ($P < 0.05$),且 KF16 下降幅度更大。较盐碱胁迫相比,外源施用不同木霉菌后,大豆品种 KF16 和 HF50 的叶片 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性均显著提高,但是单一木霉菌处理下 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性差异不显著,而木霉菌混合菌液处理下两个大豆品种的 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性显著高于其他处理,分别提高了 65.22% (KF16)、62.47% (HF50) 和 62.58% (KF16)、44.10% (HF50)。表明不同木霉菌处理下,盐碱敏感型品种对盐碱胁迫的响应更为明显。



于其他处理,KF16 的缓解效果好于 HF50。

盐碱胁迫 (Con) 显著增加了 KF16 和 HF50 大豆品种叶片的 NH_4^+ 含量,而施用不同木霉菌后,显著降低了 KF16 和 HF50 大豆叶片 NH_4^+ 含量,降幅分别为 38.31%、41.56%、63.62% (KF16) 和 20.55%、25.58%、55.62% (HF50),由此可见不同木霉菌处理对 KF16 的氨毒作用缓解效果好于 HF50,TH 和 TA 处理下差异不显著,但是木霉菌混合菌液显著高于其他处理。

表 4 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 含量的影响

Table 4 Effects of different *Trichoderma* on the content of NO₃⁻ and NH₄⁺ in the leaves of soybean seedlings grown in saline-alkaline soil

处理 Treatment	NO ₃ ⁻ 含量 NO ₃ ⁻ content		NH ₄ ⁺ 含量 NH ₄ ⁺ content	
	KF16	HF50	KF16	HF50
Con	10.62 ± 2.03 c	12.83 ± 1.31 c	39.80 ± 1.31 a	35.50 ± 1.24 a
TH	14.69 ± 1.49 b	15.47 ± 1.12 b	34.34 ± 1.40 b	32.93 ± 1.35 b
TA	15.03 ± 1.58 b	16.11 ± 1.49 b	33.91 ± 2.55 b	32.08 ± 1.52 b
TH + TA	17.37 ± 1.17 a	19.97 ± 1.56 a	25.79 ± 1.34 c	24.26 ± 1.63 c

注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。

Note:KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively.

2.6 木霉菌对盐碱胁迫下大豆叶片氮代谢关键酶活性的影响

在盐碱胁迫(Con)处理下,显著降低了 KF16 和 HF50 大豆品种叶片 NR、GS、GOGAT、GPT、GOT 酶活性($P < 0.05$),HF50 的酶活性整体高于 KF16,表明 HF50 具有较好的耐盐碱性,而 GDH 酶活性则表现为升高的趋势,这主要是由于盐碱胁迫下大量 NH₄⁺ 被激活,导致 GDH 酶活性显著提高(表 5)。不同木霉菌处理下,KF16 和 HF50 两个品种的 NR、GS、GOGAT、GPT、GOT 酶活性分别提高了 34.35%

~59.17% (KF16) 和 23.56% ~51.42% (HF50)、20.25% ~37.38% (KF16) 和 16.47% ~34.62% (HF50)、32.48% ~67.31% (KF16) 和 23.64% ~57.85% (HF50)、25.01% ~73.78% (KF16) 和 24.82% ~59.48% (HF50)、25.25% ~69.05% (KF16) 和 16.45% ~61.81% (HF50),而 GDH 则降低了 21.88% ~38.34% (KF16) 和 19.27% ~34.95% (HF50)。整体而言,木霉菌处理改善了盐碱胁迫下的氮代谢酶活性,且木霉菌混合菌液效果显著。

表 5 不同木霉菌对盐碱土大豆叶片氮代谢酶活性的影响

Table 5 Effects of different *Trichoderma* on the nitrogen metabolism enzymes in the leaves of soybean seedlings grown in saline-alkaline soil

处理 Treatment	谷氨酸脱氢酶活性 GDH activity		硝酸还原酶活性 NR activity		谷氨酰胺合成酶活性 GS activity	
	KF16	HF50	KF16	HF50	KF16	HF50
Con	49.90 ± 1.78 a	44.35 ± 1.62 a	31.24 ± 4.55 c	35.50 ± 4.98 b	6.25 ± 0.40 c	6.86 ± 0.50 c
TH	38.99 ± 1.83 b	35.81 ± 4.33 b	41.97 ± 1.01 b	43.87 ± 1.64 b	7.52 ± 0.37 b	7.99 ± 0.35 b
TA	37.72 ± 1.99 b	34.37 ± 3.17 b	43.72 ± 2.86 b	44.21 ± 1.44 b	7.84 ± 0.89 b	8.10 ± 0.20 b
TH + TA	30.77 ± 1.75 c	28.85 ± 2.43 c	49.72 ± 1.83 a	53.76 ± 1.55 a	8.59 ± 0.71 a	9.24 ± 0.31 a

处理 Treatment	谷氨酸合成酶活性 GOGAT activity		谷丙转氨酶活性 GPT activity		谷草转氨酶活性 GOT activity	
	KF16	HF50	KF16	HF50	KF16	HF50
Con	23.02 ± 0.63 c	25.35 ± 2.37 c	3.42 ± 0.19 c	3.89 ± 0.39 c	4.64 ± 0.42 c	5.23 ± 0.50 c
TH	30.50 ± 0.31 b	31.34 ± 0.33 b	4.27 ± 0.37 b	4.86 ± 0.50 b	5.81 ± 0.32 b	6.08 ± 0.35 b
TA	31.31 ± 0.57 b	32.24 ± 0.25 b	4.45 ± 0.23 b	4.72 ± 0.63 b	6.02 ± 0.71 b	6.64 ± 0.67 b
TH + TA	38.52 ± 0.29 a	40.01 ± 0.66 a	5.94 ± 0.31 a	6.21 ± 0.44 a	7.84 ± 0.54 a	8.45 ± 0.43 a

注:KF16 和 HF50 分别代表垦丰 16 和合丰 50;Con、TH、TA 和 TH + TA 分别为无木霉菌处理、哈茨木霉、棘孢木霉和哈茨木霉和棘孢木霉混合菌液。

Note: KF16 and HF50 indicate Kenfeng 16 and Hefeng 50, respectively; Con, TH, TA, and TH + TA indicate no-*Trichoderma*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and mixture *Trichoderma* treatment, respectively.

3 讨论

土壤盐碱化是目前干旱半干旱区限制农业发展的主要影响因素之一。盐碱胁迫下,植物光合机构的功能受到损伤,显著降低了植物的光合作用能力,并抑制植物的生长和发育^[9]。本研究中盐碱胁迫显著抑制 KF16 和 HF50 两个品种大豆幼苗的光合速率;施用不同木霉菌后,显著缓解盐碱胁迫引起的光合速率下降,且木霉菌混合菌液效果最好。这些结果表明木霉菌具有良好的促生作用,与许多关于菌剂提高植物生长性能和营养水平的研究结果基本一致^[16]。

目前许多研究表明,微生物菌剂处理后能够显著促进植株的生长,同时增加了光合作用基因的表达,进而提高植株光合性能^[2]。本研究中大豆幼苗在盐碱胁迫过程中叶片膜透性显著升高,造成膜脂过氧化,降低 ATP 酶活性,影响叶片生长,限制叶片光合速率,而施用不同木霉菌后降低了盐碱胁迫对 KF16 和 HF50 两个大豆品种幼苗叶片叶绿体类囊结构的破坏并提高了希尔反应活力,保证了盐碱胁迫条件下大豆叶片中叶绿体结构的完整性和叶绿体 PSII 结构的稳定性,进而缓解盐碱胁迫导致的 Ca^{2+} -ATP 和 Mg^{2+} -ATP 酶活性下降,表明外源施用不同木霉菌肥后通过缓解盐碱胁迫对玉米叶片的膜脂过氧化损伤,改善了叶片的生长状况,进而提高了光合参数性能,与前人的研究结果相似^[2,4]。本研究中外源施用木霉菌处理对不同基因型品种的缓解效果也不同,KF16 的缓解效果好于 HF50,且木霉菌混合菌液处理效果最好。

逆境胁迫下,不同氮形态和代谢酶活性能够反映植物氮代谢水平,硝酸还原酶是根系吸收 NO_3^- 还原成 NH_4^+ 的两个重要酶,其活性的高低影响着根系对 NO_3^- 的吸收和利用^[17]。相关研究表明,谷氨酰胺合成酶、谷氨酸合成酶、谷氨酸脱氢酶等参与的 GS-GOGAT 途径在不同形态氮素转化过程中具有非常重要的作用^[8]。谷草转氨酶和谷丙转氨酶能够催化氨基酸与其他底物反应,完成植物转氨过程^[18],主要用来表征植物体内氨转运和氨基酸代谢积累,其活性高低与盐碱胁迫抑制下 GS-GOGAT 途径强弱有关^[19-20]。本研究中,盐碱胁迫下,不同基因型大豆品种 NO_3^- 含量均显著下降,而 NH_4^+ 大量积累,且不同品种氮素含量变化不同,表明不同耐盐碱型品种在胁迫下体内抗性机制不同,从而导致氮

素吸收累积发生差异,耐盐碱型品种 HF50 表现较好,而不同木霉菌处理则在一定程度上提高了 NO_3^- 含量,降低了 NH_4^+ 含量。

前人的研究结果发现盐碱胁迫下施用木霉菌剂能够促进作物叶片的氮代谢酶活性^[4]。木霉菌处理显著提高了除谷氨酸脱氢酶以外的氮代谢酶活性,而谷氨酸脱氢酶则表现出下降的趋势,其中 GS-GOGAT 途径中谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶活性均表现升高,缓解了氨毒对植株的影响,GOGAT 和 GS 的同向变化与反应产物的正反馈调节有关^[21]。本研究结果说明,盐碱胁迫下大豆幼苗叶片谷氨酸脱氢酶的活性和 NH_4^+ 含量均表现升高,主要是由于其同化 NH_4^+ 的能力有限所致,进而表明谷氨酸脱氢酶途径并不能完全消除盐碱胁迫导致的氨毒害,需要与其他氮代谢酶共同作用。进一步研究显示,与盐碱胁迫相比,施用不同木霉菌后大豆叶片谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性均显著提高,且对 KF16 的作用更显著。总体来说,施用不同木霉菌能够有效缓解盐碱胁迫导致的氮代谢酶活性降低趋势,通过协同作用共同降低胁迫导致的氨毒作用,缓解大豆幼苗体内氮代谢紊乱。

4 结论

木霉菌处理能够显著改善盐碱胁迫下大豆幼苗地上部的生长状况,同时通过与 Ca^{2+} 信号的结合,调控叶绿体内 ATP 酶活性,从而有效减轻盐碱逆境对大豆叶片光合电子传递的抑制,提高大豆幼苗光合速率,同时为大豆氮代谢提供原料和能量,显著提高了氮代谢酶活性,且对不同敏感型大豆的缓解效果不同,对 KF16 大豆品种盐碱毒害的缓解效果更为明显。综上所述,外源施用木霉菌能够有效调节 GDH、GS-GOGAT 和转氨等途径的协同作用,从而促进氮代谢酶活性对植株体内过量积累氨的同化,进而减轻氨毒害作用,最终促进植株生长。结果说明木霉菌混合菌液的作用效果更为突出,未来可以在此基础上深入开展木霉菌复合菌肥的研发及应用效果研究。

参考文献

[1] COBAN O, DEVN G B, VAN DER PLOEG M. Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands[J/OL]. Science, 2022, 375: 990 [2023-06-01]. DOI: 10. 1126/SCIENCE. ABE0725.

[2] 鹿鑫, 赵敦厚, 关法春, 等. 复合菌剂添加对盐碱地大豆生长发育及产量的影响[J]. 大豆科学, 2022, 41(5): 588-593. (LU X, ZHAO D H, GUAN F C, et al. Effects of compound bacterial agents on growth, development and yield of soybean in saline alkali soil[J]. Soybean Science, 2022, 41(5): 588-593.)

[3] 徐惠风, 金桥, 侯威, 等. 苏打盐渍土节水灌溉水稻高产栽培效益[J]. 分子植物育种, 2018, 16(15): 5141-5146. (XU H F, JIN Q, HOU W, et al. High yield cultivation benefit of rice with water saving irrigation in soda saline soil[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(15): 5141-5146.)

[4] FU J, WANG Y F, LIU Z H, et al. *Trichoderma asperellum* alleviates the effects of saline-alkaline stress on maize seedlings via the regulation of photosynthesis and nitrogen metabolism[J]. Plant Growth Regulation, 2018, 85:363-374.

[5] 杨易, 黄立华, 肖扬, 等. 苏打盐碱化稻田土壤氮素矿化和硝化特征及其影响因素[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(10): 1816-1827. (YANG Y, HUANG L H, XIAO Y, et al. Characteristics and influencing factors of soil nitrogen mineralization and nitrification in saline-sodic paddy fields[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2022, 28(10): 1816-1827.)

[6] 余贝, 武志海, 符冠富. 盐胁迫影响水稻生理特性及其调控机理研究进展[J]. 作物研究, 2023, 37(2): 189-198. (YU B, WU Z H, FU G C. Research progress on salt stress affecting rice plants growth development and its regulating mechanisms[J]. Crop Research, 2023, 37(2): 189-198.)

[7] 崔毅, 蒋尚明, 金菊良, 等. 基于水分亏缺试验的大豆旱灾损失敏感性评估[J]. 水力发电学报, 2017, 36(11): 50-61. (CUI Y, JIANG S M, JIN J L, et al. Assessment of drought loss sensitivity of soybean based on water deficit test[J]. Journal of Hydraulic Engineering, 2017, 36(11): 50-61.)

[8] 何瑞, 王庆燕, 樊琦, 等. 噻苯隆对大豆籽粒建成和氮代谢生理指标的影响[J]. 大豆科学, 2022, 41(6): 718-725. (HE R, WANG Q Y, FAN Q, et al. Effects of thidiazuron on soybean seeds morphogenesis and physiological indexes of nitrogen metabolism[J]. Soybean Science, 2022, 41(6): 718-725.)

[9] 边兰星, 梁丽琨, 颜坤, 等. 木霉对盐胁迫下枸杞根与叶内离子平衡和光系统 II 的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(12): 2413-2424. (BIAN L X, LIANG L K, YAN K, et al. Effects of *Trichoderma* on root and leaf ionic homeostasis and photosystem II in Chinese wolfberry under salt stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(12): 2413-2424.)

[10] 于亚楠, 邬海燕, 王盼星, 等. 木霉生物有机肥应用于滨海盐土甘蓝种植的生物效应[J]. 土壤学报, 2022, 59(4): 1112-1124. (YU Y N, WU H Y, WANG P X, et al. Biological effect of *Trichoderma*-enriched biofertilizers on cabbage cultivation in coastal saline soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(4): 1112-1124.)

[11] ZHANG F G, XU X X, WANG G L, et al. *Medicago sativa* and soil microbiome responses to *Trichoderma* as a biofertilizer in alkaline-saline soils [J]. Applied Soil Ecology, 2020, 153(3): 103573.

[12] ASHMITA T, ANSHU A, SANJEEV K, et al. *Trichoderma* primed rice straw alters structural and functional properties of sodic soil [J]. Land Degradation Development, 2022, 33(5): 698-709.

[13] LI Y, SHAO J, FU Y, et al. The volatile cedrene from *Trichoderma guizhouense* modulates *Arabidopsis* root development through auxin transport and signalling [J]. Plant, Cell Environment, 2021, 45(3): 969-984.

[14] FU J, XIAO Y, WANG Y F, et al. Saline-alkaline stress in growing maize seedlings is alleviated by *Trichoderma asperellum* through regulation of the soil environment[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 11152.

[15] 付健, 王玉凤, 张翼飞, 等. 不同木霉菌对寒地盐碱土壤玉米杂交种光合特性及活性氧代谢的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2021, 33(1): 7-14. (FU J, WANG Y F, ZHANG Y F, et al. Influence of different trichoderma on the photosynthetic parameters and active oxygen metabolism of maize hybrid grown on saline-alkaline soils in the cold region[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021, 33(1): 7-14.)

[16] MORAIS M C, MUCHA Â, FERREIRA H, et al. Comparative study of plant growth-promoting bacteria on the physiology, growth and fruit quality of strawberry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(12): 5341-5349.

[17] 于晟玥, 牛银星, 王泽平, 等. 黄腐酸添加量对低氮胁迫下小麦生长和根系形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2023, 29(2): 323-333. (YU S Y, NIU Y X, WANG Z P, et al. Effects of fulvic acid addition rate on wheat growth and root morphology under low nitrogen stress [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2023, 29(2): 323-333.)

[18] 刘建新, 刘瑞端, 刘秀丽, 等. 盐碱胁迫下外源硫化氢对裸燕麦叶片氮代谢和产量构成因素的影响[J]. 生态学杂志, 2023, 42(2): 324-332. (LIU J X, LIU R R, LIU X L, et al. Effects of exogenous hydrogen sulfide on nitrogen metabolism in leaves and yield components of naked oat under saline-alkali stress [J]. Chinese Journal of Ecology, 2023, 42(2): 324-332.)

[19] 白志刚, 张均华, 黄洁, 等. 氮肥运筹对水稻氮代谢及稻田土壤氮素迁移转化的影响[J]. 生态学杂志, 2018, 37(11): 3440-3448. (BAI Z G, ZHANG J H, HUANG J, et al. Effects of nitrogen regime on nitrogen metabolism of rice and nitrogen transformation and translocation in paddy soils [J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(11): 3440-3448.)

[20] GANGWAR S, SINGH V P. Indole acetic acid differently changes growth and nitrogen metabolism in *Pisum sativum* L. seedlings under chromium (VI) phytotoxicity: Implication of oxidative stress [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 129: 321-328.

[21] 刘方春, 马海林, 杜振宇, 等. 杨树切口处不同根序细根内源激素与氮代谢关键酶对断根的响应[J]. 生态环境学报, 2018, 27(12): 2234-2242. (LIU F C, MA H L, DU Z Y, et al. Response of endogenous hormones and key enzyme of nitrogen metabolism among different branch orders of fine root in the incision of poplar to root pruning[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2018, 27(12): 2234-2242.)