



撕裂蜡孔菌活化土壤氮磷及其对豆科作物生长的影响

宁诗琪, 隋宗明, 袁玲, 杨红军*

西南大学资源环境学院, 重庆 400715

宁诗琪, 隋宗明, 袁玲, 杨红军. 撕裂蜡孔菌活化土壤氮磷及其对豆科作物生长的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 3047-3058.

NING Shiqi, SUI Zongming, YUAN Ling, YANG Hongjun. *Ceriporia lacerata* mobilizes soil nitrogen and phosphorus to promote the growth of leguminous crops[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 3047-3058.

摘要:【目的】利用微生物活化土壤中的原本无效养分种植豆科作物, 有益于土地资源的长期可持续利用。【方法】利用自主分离的白腐真菌撕裂蜡孔菌新株(*Ceriporia lacerata*) HG2011, 通过培养和田间微区试验, 研究 *C. lacerata* 的分泌作用、土壤氮磷活化以及对绿豆和光叶紫花苕养分吸收、生长和产量的影响。【结果】*C. lacerata* 能分泌纤维素酶、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶、蛋白酶、磷酸酶和铁载体, 溶解 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 在土壤表面, *C. lacerata* 形成菌落, 其菌丝伸入土壤, 降低土壤 pH, 提高有效氮磷含量, 进而增强蛋白酶和磷酸酶活性; 接种 *C. lacerata* 改善了土壤氮磷供应能力, 增强根系活力, 促进根系生长、根瘤形成和发育, 提高作物养分积累量, 增加绿豆籽粒产量和苕子生物量。【结论】*C. lacerata* 能在土壤中定殖, 活化土壤氮磷, 提高肥料利用率, 促进绿豆和苕子生长。*C. lacerata* 以木屑、秸秆和谷壳等农林有机废弃物为基质, 容易培养, 菌剂生产成本低廉。本研究为活化土壤养分, 促进绿豆和苕子等豆科作物生长, 保育耕地提供了新策略。

关键词: 撕裂蜡孔菌; 土壤; 氮; 磷; 豆科作物

资助项目: 重庆市科委社会民生类重点研发项目(cstc2018jscx-mszdX0011)

This work was supported by the Chongqing Science and Technology Commission Social Livelihood Key Research and Development Project (cstc2018jscx-mszdX0011).

*Corresponding author. E-mail: meilirensheg@swu.edu.cn

Received: 2024-02-02; Accepted: 2024-04-28; Published online: 2024-05-06

Ceriporia lacerata mobilizes soil nitrogen and phosphorus to promote the growth of leguminous crops

NING Shiqi, SUI Zongming, YUAN Ling, YANG Hongjun*

College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: [Objective] To use microorganisms to mobilize unavailable nutrients in soil for the utilization by leguminous crops and the sustainable and long-term utilization of soil resources. **[Methods]** Microbial culture and micro-plot experiments were carried out with *Ceriporia lacerata* HG2011, a new isolate of white-rot fungus, to investigate the fungal secretion, soil nitrogen (N) and phosphorus (P) mobilization, and influences on the nutrient uptake, growth, and yields of *Vigna radiata* and *Vicia villosa*. **[Results]** *C. lacerata* released cellulase, chitinase, β -1,3-glucanase, protease, phosphatase, and siderophore, and dissolved $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ in pure culture. After being inoculated on the soil surface, this fungus formed colonies, with some mycelia extending into the soil, which decrease soil pH but increase the content of NH_4^+ -N, alkali-hydrolyzed N, water-soluble P and Olsen P, and the activities of protease and phosphatase. In general, *C. lacerata* inoculation improved soil N and P supplies, enhanced root activity, and promoted root growth, nodule formation and development, thus increasing the nutrient uptake, grain yield of *V. radiata*, and biomass of *V. villosa*. **[Conclusion]** *C. lacerata* dwelling in soil mobilized soil N and P to increase fertilizer use efficiency and promote crop growth. *C. lacerata* can be cultured with sawdust, straw, husk and other organic agricultural and forestry wastes, with low production costs. This study provides a new strategy for mobilizing soil nutrients, promoting the growth of leguminous crops such as *V. radiata* and *V. villosa*, and benefiting the conservation and sustainable use of cultivated lands.

Keywords: *Ceriporia lacerata*; soil; nitrogen; phosphorus; leguminous crops

氮是植物生长过程中需求量最大的必需营养元素，然而，农业土壤中普遍存在氮素缺乏的现象^[1]。此外，土壤中的有机氮占据了总氮含量的 90%以上，其经微生物转化成铵态氮和硝态氮而被作物吸收利用^[2]。磷肥施入土壤之后被迅速固定，导致利用率一般不超过 30%^[3]。在农业生产中，长期大量施用磷肥造成了一系列环境、资源和土壤问题，如水体富营养化、磷矿资源耗竭、土壤磷积累等。据报道，全球高品位磷矿将在未来 50 年内消耗殆尽，但农业土壤中积累的平均全磷量高达(1 006±115) kg/hm²，可

满足作物 350 年的需求^[4]。因此，利用微生物活化土壤中的难溶性磷日益受到人们的重视。

种植豆科作物增加土壤氮素，有利于保持土地资源的长期可持续利用。在种植豆科作物时，利用微生物活化土壤中的磷，可改善磷素供应，促进生长，以磷增氮^[5-6]。微生物活化土壤磷的机制主要是分泌磷酸酶、氢离子和有机酸矿化有机磷和溶解无机磷^[7]，这些微生物包括细菌[如产碱菌属(*Alcaligenes*)、无色杆菌属(*Achromobacter*)、产气杆菌(*Aerobacter aerogenes*)、寡孢马杜拉放线菌(*Actinomadura oligospora*)]和

真菌[如泡盛曲霉(*Aspergillus awamori*)、尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)、细交链孢霉(*Alternaria teneius*)、指状青霉(*Penicillium digitatum*)、顶头孢霉(*Cephalosporium* sp.)], 其中, 真菌生物量大, 分泌的酶类、质子和有机酸较多, 活化土壤磷的能力也较强, 但它们多为植物病原真菌^[8-9], 亟待寻找效果好、兼具矿化土壤氮素的非病原真菌。

从重庆缙云山国家级自然保护区分离获得一株新的白腐真菌, 名为撕裂蜡孔菌(*Ceriporia lacerata*) HG2011, 属担子菌门伞菌纲多孔菌目耙齿菌科^[10]。白腐真菌主要分布于热带和亚热带森林, 通过分解木质素、纤维素、蛋白质和含磷有机物获得碳、氮、磷^[11-13]。在分解木质素的过程中, 白腐真菌还分泌氢离子, 软化木质素表面; 释放草酸络合 Mn^{3+} , 提高锰过氧化物酶活性^[14]。据此推测, 某些白腐真菌可能矿化土壤有机氮磷, 溶解无机磷, 改善植物氮磷营养。通过盆栽与田间试验表明, *C. lacerata* HG2011 能促进油菜、黄瓜、小麦和茄子等多种非豆科作物生长, 并提高了产量, 增幅介于 13.87%–22.39%^[15-18], 但对豆科作物的有关研究甚少。为此, 我们选取了西南地区广泛种植的夏季豆科作物绿豆(*Vigna radiata*)和冬季豆科绿肥光叶紫花苕(*Vicia villosa* Roth., 以下简称苕子)为对象, 通过微生物培养和田间微区试验探究 *C. lacerata* 的分泌作用, 对土壤氮磷活化, 以及对绿豆和苕子生长的影响, 为增加土壤氮素, 减施磷肥, 保育耕地提供新策略。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试菌株: *C. lacerata* HG2011 分离自重庆缙云山国家级自然保护区(29°48'N, 106°25'E; NCBI 登录号为 MT675050), 保藏于中国普通微

生物菌种保藏管理中心(保藏号: 14215)。取保藏菌种, 接种于 PDA 培养基中央, 25 °C 暗培养 6 d。将 20–25 个直径(ϕ)约为 6 mm 的菌块, 接种于盛有灭菌基质(水:谷壳:玉米粉=70:30:2)的食用菌栽培袋中(38 cm×60 cm×6 cm), 常温(22–27 °C)培养至菌丝完全长满基质(约 30–35 d), 制备出 *C. lacerata* 固体菌剂(2.0×10^7 CFU/g)。

供试作物: 绿豆(*Vigna radiata*; 品种: 毛绿豆一号)和苕子(*Vicia villosa* Roth.; 品种: 光叶紫花苕), 均购自北碚区筑农农资经营部。

供试土壤: 重庆市西南大学农场的紫色土, 复种玉米, 冬植叶类蔬菜。土壤 pH 7.28, 有机质、全氮、全磷和全钾含量分别为 13.50、1.00、0.77 和 19.04 g/kg; 碱解氮、有效磷、有效钾、铵态氮和硝态氮含量依次为 59.13、13.46、142.80、4.17 和 1.67 mg/kg。采集 0–20 cm 耕作层, 拣去杂物, 风干备用。

1.2 *C. lacerata* 分泌特性

取 *C. lacerata* 菌块(ϕ 约为 6 mm, 下同), 分别接种于含脱脂奶粉、卵磷脂、刚果红-CMC、几丁质、茯苓粉、CAS 和 $Ca_3(PO_4)_2$ 的固体培养基中央, 25 °C 暗培养 4–6 d, 重复 6 次, 观察相应酶类和铁载体的分泌状况, 以及对无机磷的溶解作用^[19-22]。

蛋白酶检测培养基(g/L): 脱脂奶粉 15.0, 琼脂 20.0, pH 6.8。蒙金娜有机磷培养基(g/L): 卵磷脂 2.0, $CaCO_3$ 5.0, $MnSO_4$ 1.0, 葡萄糖 10.0, 琼脂 20.0, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, KCl 0.3, NaCl 0.3, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03, pH 7.0–7.5。纤维素酶检测培养基(g/L): $(NH_4)_2SO_4$ 2.0, NaCl 0.5, CMCC-Na 2.0, K_2HPO_4 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5, 琼脂 20.0, 调节 pH 7.2。几丁质酶检测培养基(g/L): 蛋白胨 2.0, 葡萄糖 1.0, 胶体几丁质 5.0, KH_2PO_4 0.3, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

0.5, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.917, 琼脂 20.0 g, pH 7.0。 β -1,3-葡聚糖酶检测培养基(g/L): 茯苓粉 2.0, 酵母提取物 1.0, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 3.0, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005, 琼脂 20.0, 苯胺蓝 0.06 (倒平板前加入), pH 7.0–7.5。铁载体检测培养基(g/L): 酸水解酪素 3.0, 蔗糖 2.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001, $CaCl_2$ 0.001, 琼脂 20.0, pH 自然。倒平板前加入 5%的无菌 CAS 染液 [CAS 染液 (g/L): 铬天青 0.6, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 2.427, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.59, HDTMA 1.46, $NaCl$ 0.125, NH_4Cl 0.25, $FeCl_3$ 0.016, KH_2PO_4 0.075], 摇匀。Pikovaskaia 无机磷培养基(g/L): 葡萄糖 10.0, $Ca_3(PO_4)_2$ 10.0, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1, $NaCl$ 0.2, KCl 0.2, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002, $MnSO_4$ 0.002, 酵母粉 0.5, 琼脂 20.0, pH 7.5。

1.3 *C. lacerata* 活化土壤氮磷

磨细风干土壤, 过 2 mm 筛。称取 20 g 于培养皿中($\phi=9$ cm), 加无离子水至最大田间持水量的(70±2)%, 121 °C 灭菌 30 min, 冷却。取活化后的 *C. lacerata* 接种于土壤表面, 25 °C 暗培养 20 d, 不接种为对照, 重复 4 次。

培养结束后, 用十字交叉法测定菌落直径; 常规分析土壤 pH; 用靛酚蓝比色法测定土壤 NH_4^+ -N, 用碱解扩散法测定土壤碱解氮; 钼蓝比色法测定土壤水溶性磷(蒸馏水:土壤=20:1, 25 °C、150 r/min, 提取 30 min)和 Olsen 磷(0.5 mol/L Na_2CO_3 :土壤=20:1, 25 °C、150 r/min 振荡 30 min 提取); 醋酸铵浸提-火焰分光光度法测定土壤有效钾含量^[23]; Folin 显色法和磷酸苯二钠比色法分别测定土壤蛋白酶和磷酸酶活性^[24]。

1.4 *C. lacerata* 对作物结瘤、养分吸收和生长的影响

试验于 2022 年 4 月至 2023 年 9 月在西南大学盆栽场网室中进行, 绿豆种植 2 季, 苕子

种植一季。当地位于北亚热带, 属太平洋季风性湿润气候, 夏季炎热多雨, 多年平均气温 18.2 °C (8.2–28.2 °C), 降雨量 1 156 mm, 日照 1 014 h。取风干土壤, 混合均匀, 装入长×宽×深=2.0 m×1.0 m×1.5 m 水泥池。微生物在活化土壤养分方面与土壤肥力密切相关, 因此在不施肥和正常施肥条件下进行试验, 设置: (1) 对照 (CK, 即不施肥和不接菌); (2) 不施肥+接种 *C. lacerata* (CL); (3) 常规施肥 (CF); (4) 常规施肥+接种 *C. lacerata* (CF+CL), 每种设置条件重复 3 次。施肥量同当地大田生产, 绿豆播种前分别窝施 N 45.00 kg/hm²、 P_2O_5 67.50 kg/hm²、 K_2O 67.50 kg/hm², 由复合肥(15-15-15)、过磷酸钙和硫酸钾提供; 苕子条施 60 kg/hm² P_2O_5 , 由过磷酸钙提供; 施肥后施用 *C. lacerata* 固体菌剂(1 400 kg/hm²), 再播种绿豆(20 kg/hm²)和苕子(60 kg/hm²)。

在 2 种作物的初花期, 每小区随机挖取 5 株绿豆和 10 株苕子, 记录单株根瘤数和瘤重, 测根长并用 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC)法测定根系活力^[25]。分次收获成熟的绿豆豆荚, 脱粒、晾干, 称取籽粒质量; 在苕子收获季节, 全部收割地上部, 称取鲜重; 合计各次收获的绿豆籽粒产量和苕子生物量, 并常规分析植株氮、磷、钾含量^[23]。在完成全部收获后, 用 1.3 中的分析方法测定土壤有效养分和酶活性。

1.5 数据处理

在本研究中, 绿豆的试验数据为两年的平均值。利用 SPSS 22.0 进行统计分析, 采用 Microsoft Excel 2019 和 Origin 2022 作图。*C. lacerata* 活化土壤养分的有关数据采用两独立样本的 *t* 检验; 其余试验数据采用双因素方差分析, Duncan 法多重比较; 相关系数的计算采用 Pearson 法。显著性水平为 $P \leq 0.01$ 或 $P \leq 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 *C. lacerata* 的分泌作用和溶解无机磷

如图 1 所示, 将 *C. lacerata* 接种于各检测培养基表面, 培养 4–6 d 后, 菌落周围均出现了半透明、透明或彩色晕圈, 说明 *C. lacerata* 能分泌蛋白酶、磷酸酶、纤维素酶、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶和铁载体。在 Pikovaskaia 无机磷培养基上, 菌落周围也出现了透明圈, 说明培养基中的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 发生了溶解。

2.2 *C. lacerata* 活化土壤养分

由图 2 可见, 将 *C. lacerata* 接种于土壤表面, 经 15 d 的培养后, 菌落平均直径达到 3.45 cm, 20 d 左右菌落覆盖整个土壤表面, 可观察到部分菌丝伸入土壤。与对照土壤相比, 接种 *C. lacerata* 使土壤 pH 从 6.97 降低至 6.37; 相反, 碱解氮、 NH_4^+ -N、水溶性磷和

Olsen 磷含量则依次增加 14.46%、15.31%、12.52%和 11.19%, 磷酸酶和蛋白酶活性从 CK 的均未检测出分别提高到 $5.59 \mu\text{g pNP}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 和 $23.88 \mu\text{g Cs}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (表 1)。

2.3 田间试验土壤有效养分

由表 2 可见, 在 2 种作物收获之后, 土壤有效钾在各处理之间均无显著差异, 变化于 $186.3\text{--}189.5 \text{ mg/kg}$ (种植苕子) 和 $250.1\text{--}269.4 \text{ mg/kg}$ (种植绿豆)。在种植绿豆的土壤中, 碱解氮各处理之间也无显著差异, 变化于 $59.13\text{--}65.05 \text{ mg/kg}$; 在种植苕子的土壤中, 施肥提高土壤碱解氮含量。在种植绿豆和苕子的土壤中, 接种 *C. lacerata* 均增加了土壤铵态氮含量。无论施肥与否, 在接种 *C. lacerata* 的土壤中, 水溶性磷含量显著增加(不施肥的绿豆土壤除外, 其增幅未达显著水平), 土壤 Olsen 磷也表现出类似的变化趋势。

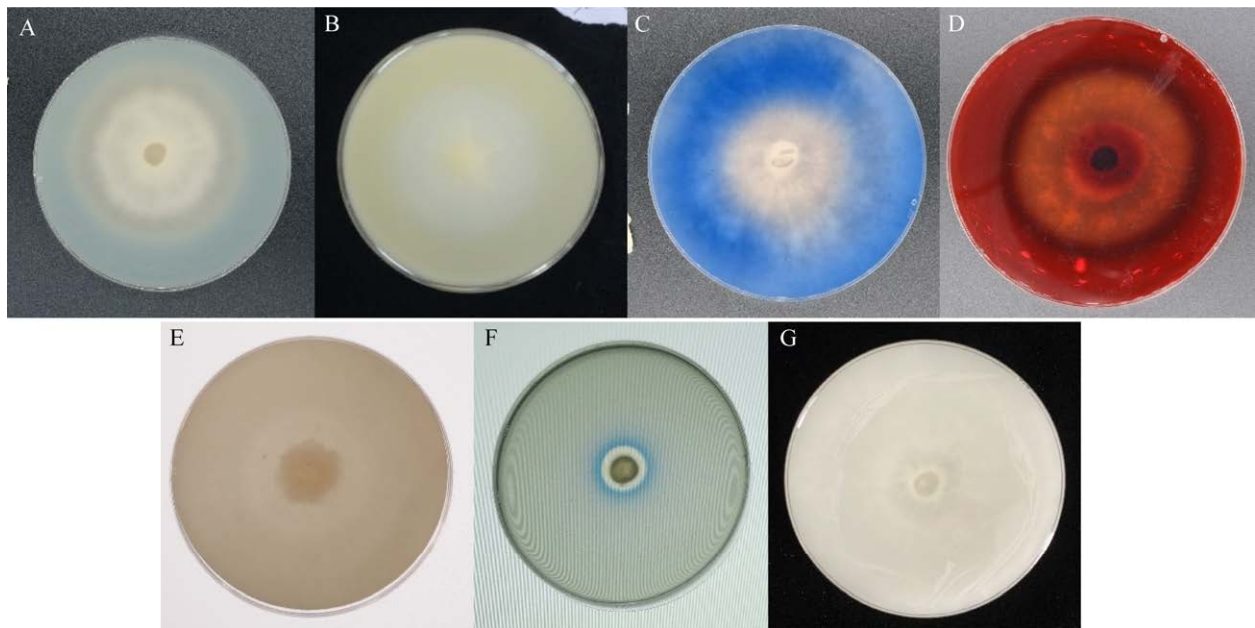


图 1 *Ceriporia lacerata* HG2011 分泌蛋白酶(A)、磷酸酶(B)、 β -1,3-葡聚糖酶(C)、纤维素酶(D)、几丁质酶(E)、铁载体(F)和溶解无机磷(G)

Figure 1 Production of extracellular protease (A), phosphatase (B), β -1,3-glucanase (C), cellulose (D), chitinase (E), siderophores (F), as well as solubilization of inorganic P (G) by *Ceriporia lacerata* HG2011.

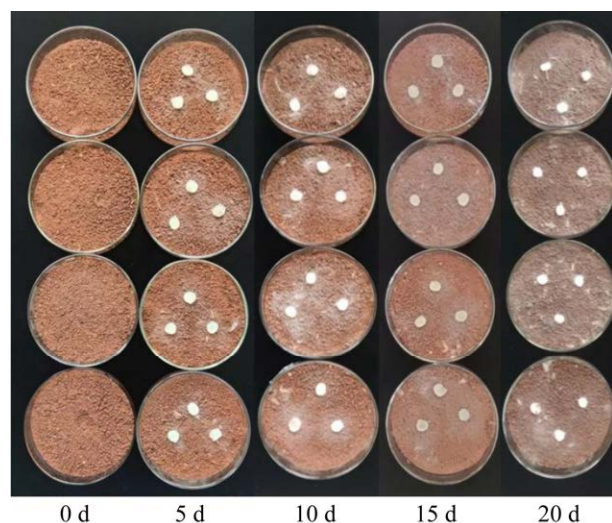


图 2 培养期间 *Ceriporia lacerata* HG2011 在土壤表面生长情况

Figure 2 Growth of *Ceriporia lacerata* HG2011 on the soil surface during incubation period.

2.4 *C. lacerata* 对作物养分吸收的影响

除施肥提高绿豆和接种 *C. lacerata* 增加苕子植株含磷量之外, 施肥和接种 *C. lacerata* 对 2 种供试作物的氮、磷、钾含量均无显著影响 (表 3)。苕子接种 *C. lacerata* 之后, 氮、磷、钾的积累量提高了 20.76%–41.08% (不施肥的氮

钾积累除外, 其增幅未达显著水平); 在不施肥的土壤中, *C. lacerata* 显著增加绿豆植株吸钾量, 在其余接菌的处理中, 氮、磷、钾积累量的增幅未达显著水平。

2.5 作物结瘤性状和产量

由表 4 可见, 除绿豆最大根长和不接种 *C. lacerata* 的苕子根系活力之外, 施肥显著促进 2 种供试作物的根系伸长, 增强根系活力, 增加根瘤数量, 提高根瘤鲜重。接种 *C. lacerata* 促进根系伸长 (在施肥条件下, 苕子最大根长的增幅未达显著水平; 但根系活力显著增加), 提高根瘤鲜重 (在不施肥条件下, 苕子的根瘤鲜重的增幅未达显著水平)。此外, 最大根长、根系活力、根瘤数量和根瘤质量之间呈显著或极显著正相关 ($r=0.659^*-0.899^{**}$, $n=12$); 根系活力、根瘤数量和根瘤质量之间也呈显著或极显著正相关 ($r=0.675^*-0.873^{**}$, $n=12$) (表 5)。

如图 3 所示, 施肥分别提高绿豆籽粒产量 9.08%–37.42% (不接种的增幅未达显著水平) 和苕子生物量 8.11%–19.01%。在不施肥条件下, 接种 *C. lacerata* 使绿豆籽粒产量提高 18.25%,

表 1 接种 *Ceriporia lacerata* HG2011 后土壤有效养分含量及酶活性

Table 1 Available nutrients and enzyme activities in the soil with and without *Ceriporia lacerata* HG2011 inoculation

处理 Treatments	pH	碱解氮 NaOH-hydrolyzed N (mg/kg)	铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/kg)	水溶性磷 $\text{H}_2\text{O-soluble}$ P (mg/kg)	有效磷 Olsen P (mg/kg)	有效钾 Available K (mg/kg)	磷酸酶 Phosphatase ($\mu\text{g pNP}/(\text{g}\cdot\text{h})$)	蛋白酶 Protease ($\mu\text{g Cs}/(\text{g}\cdot\text{d})$)
对照 CK Without inoculation	6.97±0.04	164.06±7.32	27.18±0.64	15.42±0.89	39.58±1.79	204.30±4.08	–	–
接种 CL With inoculation	6.37±0.01	187.78±10.73	31.34±0.31	17.35±0.40	44.01±1.34	220.2±1.72	5.59±0.46	23.88±1.79
显著水平 Significant levels	*	*	*	*	*	*	*	*

The data in the table were statistically analyzed using an independent couple sample *t*-test. – indicates that no enzyme activity is detected in the each column; * indicates significant difference ($P\leq 0.05$).

表 2 作物收获时土壤有效养分含量

Table 2 Available nutrients in the soil at crop harvest

作物 Crops	处理 Treatments	碱解氮 NaOH-hydrolyzed N (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	水溶性磷 Water soluble P (mg/kg)	有效磷 Olsen P (mg/kg)	有效钾 Available K (mg/kg)
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	对照 CK	59.14±3.39a	3.33±0.86c	7.78±0.35c	13.46±1.61b	251.6±10.50a
	<i>C. lacerata</i> (CL)	59.13±3.39a	3.97±0.34bc	8.86±0.80c	17.27±1.95b	250.1±10.58a
	常规施肥 CF	65.05±2.56a	4.79±0.46ab	11.83±1.10b	32.94±2.29a	269.4±16.17a
	常规施肥+ <i>C. lacerata</i> CF+CL	64.31±3.85a	5.71±0.77a	15.04±2.07a	35.21±2.13a	261.1±3.01a
苕子 <i>Vicia villosa</i>	对照 CK	128.5±3.73b	6.05±0.38c	3.47±0.37d	23.75±3.33c	186.3±13.85a
	<i>C. lacerata</i> (CL)	127.5±2.57b	8.98±0.59a	8.01±1.28c	40.78±6.62b	186.6±6.75a
	常规施肥 CF	147.3±7.31a	7.21±0.51b	14.33±2.33b	62.23±4.92a	189.2±15.07a
	常规施肥+ <i>C. lacerata</i> CF+CL	143.8±2.57a	7.74±0.02b	18.09±2.40a	71.55±10.37a	189.5±9.47a

The data in the table are statistically analyzed using two-way variance and multiple comparisons are performed using Duncan's test. For each crop, the data in each column followed by different small letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

表 3 植株养分含量与积累量

Table 3 Crop nutrient content and accumulation

作物 Crops	处理 Treatments	含量 Contents (%)			吸收量 Uptake (kg/hm ²)		
		N	P	K	N	P	K
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	对照(CK)	1.60±0.20a	2.34±0.32c	0.38±0.05a	119.85±28.66b	174.22±39.31bc	27.60±2.13c
	<i>C. lacerata</i> (CL)	1.42±0.34a	2.50±0.46bc	0.41±0.04a	127.54±13.1ab	225.91±56.24abc	36.65±3.80b
	常规施肥(CF)	1.44±0.11a	2.76±0.03a	0.39±0.02a	143.56±30.58ab	273.44±46.83ab	38.56±4.91ab
	常规施肥+ <i>C. lacerate</i> (CF+CL)	1.46±0.33a	2.63±0.44ab	0.36±0.03a	173.09±16.95a	315.89±77.84a	43.15±7.66a
苕子 <i>Vicia villosa</i>	对照 (CK)	2.61±0.33a	0.32±0.02b	1.69±0.12a	103.17±9.54b	12.71±1.01c	67.04±3.98b
	<i>C. lacerata</i> (CL)	3.08±0.06a	0.43±0.04a	1.75±0.10a	119.24±5.12b	16.71±1.29b	67.73±3.88b
	常规施肥(CF)	2.85±0.39a	0.36±0.03b	1.68±0.05a	124.61±15.07b	16.04±0.92b	73.70±3.23b
	常规施肥+ <i>C. lacerate</i> (CF+CL)	2.81±0.01a	0.42±0.02a	1.72±0.06a	150.48±14.77a	22.63±1.57a	92.33±9.97a

The data in the table are statistically analyzed using two-way variance and multiple comparisons are performed using Duncan's test. For each crop, the data in each column followed by different small letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

表 4 作物结瘤性状

Table 4 Crop nodulation characters

作物 Crops	处理 Treatments	最大根长 Maximum root length (cm)	根系活力 Root vigor (mg TTC/(g·h))	根瘤数量 Nodule numbers	根瘤鲜重 Nodule fresh weight (g/plant)
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	对照(CK)	21.02±1.15c	61.70±2.53b	46±5c	0.53±0.02c
	<i>C. lacerate</i> (CL)	23.39±1.33ab	63.83±3.38b	53±1bc	0.69±0.03ab
	常规施肥(CF)	22.25±0.90bc	73.72±2.57a	59±6b	0.65±0.04b
	常规施肥+ <i>C. lacerata</i> (CF+CL)	24.59±0.31a	77.15±1.01a	62±4a	0.71±0.04a
苕子 <i>Vicia villosa</i>	对照(CK)	14.73±0.53c	20.17±1.73b	72±5b	0.66±0.07c
	<i>C. lacerata</i> (CL)	16.88±0.73b	20.02±3.84b	79±4b	0.72±0.09c
	常规施肥(CF)	18.87±0.40a	21.75±3.31b	96±6a	0.86±0.02b
	常规施肥+ <i>C. lacerata</i> (CF+CL)	19.91±1.69a	33.32±6.95a	97±5a	0.97±0.02a

The data in the table are statistically analyzed using two-way variance and multiple comparisons are performed using Duncan's test. For each crop, the data in each column followed by different small letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

表 5 作物结瘤与根系性状的相关性

Table 5 Correlations between of crop nodulation and root characters

作物 Crops	处理 Treatments	最大根长 Maximum root length	根系活力 Root vigor	根瘤数量 Nodule number	根瘤鲜重 Nodule fresh weight
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	最大根长 Maximum root length	1.000	0.669*	0.899**	0.737**
	根系活力 Root vigor		1.000	0.675*	0.873**
	根瘤数 Nodule number			1.000	0.803**
	根瘤重 Nodule fresh weight				1.000
苕子 <i>Vicia villosa</i>	最大根长 Maximum root length	1.000	0.659*	0.845**	0.820**
	根系活力 Root vigor		1.000	0.682*	0.714**
	根瘤数 Nodule number			1.000	0.865**
	根瘤重 Nodule fresh weight				1.000

Pearson's method is used to calculate correlation coefficients ($n=12$; * $P\leq 0.05$; ** $P\leq 0.01$).

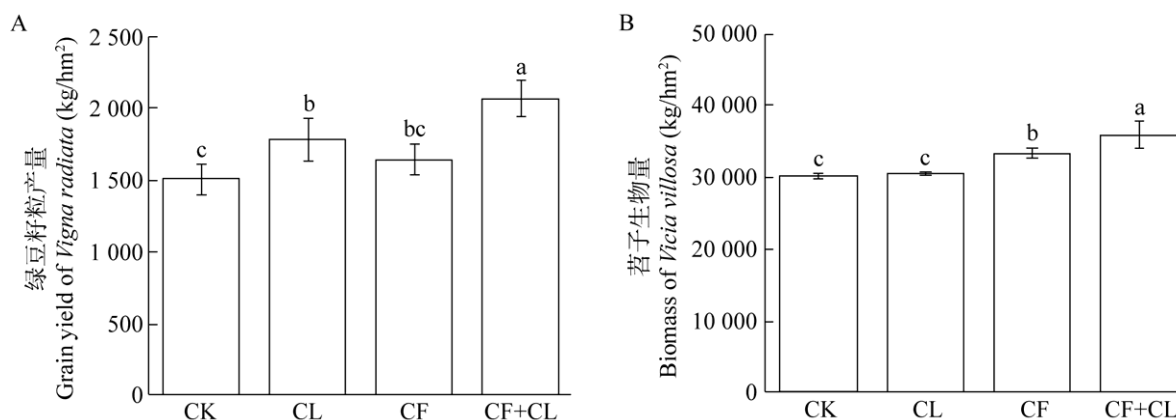
图 3 *Ceriporia lacerata* HG2011 对作物产量和生物量的影响

Figure 3 Effect of *Ceriporia lacerata* HG2011 on crop grain yield and biomass. Two-factor ANOVA and Duncan's method were used for multiple comparison of data in the figure, and different letters indicated significant differences, $P\leq 0.05$. CK: Control, no fertilization and no bacteria; CL: Inoculation with *C. lacerata*; CF: Fertilization; CF+CL: Fertilization+inoculation with *C. lacerata*.

但苕子生物量的增幅未达显著水平；在施肥条件下，接种 *C. lacerata* 使绿豆籽粒产量和苕子生物量分别提高了 25.98% 和 10.08%。

3 讨论

3.1 *C. lacerata* 对土壤氮磷的活化作用

在土壤中，蛋白质主要与大分子碳水化合物和矿物结合，其含量超过有机氮的 60%，经蛋白酶水解形成氨基酸，再经微生物氨化和硝

化形成能被植物吸收利用的 NH_4^+ 和 NO_3^- [26]。在蛋白质水解过程中，蛋白质到达活化状态所需的活化能较高，是蛋白质转化成 NH_4^+ 的限速反应，因此蛋白酶的催化作用至关重要 [27]。土壤中的有机磷主要包括植素、磷脂和核酸等，磷酸酶直接和间接参与它们的脱磷作用，是有机磷转化成无机磷的关键酶 [28]。*C. lacerata* 能分泌蛋白酶和磷酸酶，有益于蛋白质和有机磷矿化。*C. lacerata* 分泌的纤维素酶、几丁质酶、 β -1,3-葡

聚糖酶能水解相应的碳水化合物, 意味着其具有利用碳源的多样性, 有益于在土壤中生长繁殖, 从而发挥有益作用。此外, *C. lacerata* 所分泌的铁载体可络合 FePO_4 中的 Fe^{3+} , 从而释放无机磷。

将 *C. lacerata* 接种于土壤表面, 菌丝生长形成菌落, 可观察到菌丝伸入土壤, 证明供试真菌能在土壤中定殖。与此同时, 土壤 pH 降低, 蛋白酶和磷酸酶活性增强, 铵态氮、碱解氮、水溶性磷和 Olsen 磷增加, 加之在 Pikovaskaia 培养基上 *C. lacerata* 能溶解其中的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 推测供试真菌能分泌质子和有机酸, 活化土壤无机磷; 释放磷酸酶, 活化土壤有机磷; 产生胞外蛋白酶, 提高土壤有效氮含量。需要说明的是, 很多有益微生物在培养时表现良好, 但田间表现通常不佳^[29], 很有必要继续探究对植物营养和生长的影响。

3.2 *C. lacerata* 对作物营养、结瘤和生长的影响

供试土壤地处北亚热带, 气温高, 降雨多, 淋溶强, 肥力低, 土壤养分缺乏通常是作物生长的限制因子。在本研究中, 施肥提高了绿豆籽粒产量和苕子生物量, 说明在类似土壤上种植这些豆科植物时, 施用少量肥料是必要的。在施肥条件下, 接种 *C. lacerata* 能提高苕子的氮、磷、钾积累量, 绿豆的养分积累量也有增加趋势; 在不施肥的土壤中, 施用 *C. lacerata* 的总体表现较差。说明施肥消除了土壤缺乏养分的限制, *C. lacerata* 更好地发挥了有益作用, 包括活化土壤养分, 减少了肥料养分的固定(尤其是磷), 提高肥料利用率, 改善作物营养, 促进生长的作用等, 施肥配合接种能相得益彰。研究报道, 在不同施磷量的田间条件下, 接种假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)、曲霉(*Aspergillus* spp.)或青霉(*Penicillium* spp.)能不同程度地提

高作物的产量^[30-32]。值得注意的是, 在接种 *C. lacerata* 的土壤中, 水溶性磷提高, 苕子体内的磷积累量增加, 说明供试真菌促进了土壤磷活化和该作物对磷的吸收。此外, 在作物收获之后, 土壤有效养分的高低反映了作物吸收和土壤养分供应之间的平衡关系^[33]。本研究中 *C. lacerata* 提高苕子的氮钾积累量, 意味着增加了土壤氮钾供应或生物固氮。

总体而言, 接种 *C. lacerata* 促进了作物根系伸长, 提高了根系脱氢酶活性, 增加了结瘤数和根瘤鲜重。根系增长有益于根瘤菌接触根系, 增加感染位点。此外, *C. lacerata* 还能分泌生长素^[34], 松弛根毛细胞壁, 有益于根瘤菌感染根系形成侵染线^[35], 形成根瘤。因此, 最大根长和单株瘤数呈显著正相关。根系活力反映根系中脱氢酶的活性, 是根系能量和物质代谢, 以及碳水化合物储量与供应的综合反映^[36], 活性越强意味着提供的碳水化合物愈多, 促进根瘤的形成和发育^[37], 因此根系脱氢酶活力与单株瘤重呈显著正相关。据报道, 在较大的根瘤中, 固氮组织如豆血红蛋白和固氮酶所占的比例较高, 生物固氮能力也较强^[38]。¹⁵N 同位素自然丰度法分析也表明, 施用 *C. lacerata* 后, 蚕豆根瘤增大, 固氮酶活性增强, 固氮量增加^[13]。此外, 根瘤固氮是高耗能的生物学过程, 酶固定 1 mol 的氮需要至少 16 mol ATP 和大量 NADPH^[39-40], 根系脱氢酶活性强, 提供的 ATP 和 NADPH 更多, 促进生物固氮。

4 结论

在培养试验中, *C. lacerata* 能分泌蛋白酶、磷酸酶、纤维素酶、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶、铁载体, 溶解无机磷, 矿化有机氮磷, 提高土壤氮磷的有效性; 在田间试验中, *C. lacerata* 促进了绿豆和苕子生长, 籽粒产量(绿豆)和生物

量(苕子)的最大增幅分别为 37.42%和 19.01%。*C. lacerata* 容易培养, 生长迅速, 利用秸秆、木屑、谷壳等多种有机物质为基质, 菌剂生产成本低廉。本项研究为促进绿豆和光叶紫花苕等豆科作物生长提供了新策略, 具有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] WANG RZ, BICHARANLOO B, HOU EQ, JIANG Y, DIJKSTRA FA. Phosphorus supply increases nitrogen transformation rates and retention in soil: a global meta-analysis[J]. *Earth's Future*, 2022, 10(3): e2021EF002479.
- [2] 高鹏, 雷星宇, 鲁耀雄, 张拓, 龙世平, 崔新卫, 彭福元. 有机氮部分替代化学氮肥对土壤有机氮组分的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2023(10): 11-18.
GAO P, LEI XY, LU YX, ZHANG T, LONG SP, CUI XW, PENG FY. Effects of partial substitution of chemical fertilizer with organic fertilizer on soil organic nitrogen and active nitrogen[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(10): 11-18 (in Chinese).
- [3] 张忠学, 孙迪, 李铁成, 齐智娟, 杜思澄, 王柏, 黄彦. 节水灌溉减施磷肥对黑土稻作产量及土壤磷利用与平衡的影响[J]. *农业工程学报*, 2022, 38(4): 67-74.
ZHANG ZX, SUN D, LI TC, QI ZJ, DU SC, WANG B, HUANG Y. Effects of water-saving irrigation and reducing phosphorus fertilizer on rice yield, phosphorus utilization and soil phosphorus balance in black soil[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2022, 38(4): 67-74 (in Chinese).
- [4] MENEZES-BLACKBURN D, GILES C, DARCH T, GEORGE TS, BLACKWELL M, STUTTER M, SHAND C, LUMSDON D, COOPER P, WENDLER R, BROWN L, ALMEIDA DS, WEARING C, ZHANG H, HAYGARTH PM. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review[J]. *Plant and Soil*, 2018, 427(1): 5-16.
- [5] MITRAN T, MEENA RS, LAL R, LAYEK J, KUMAR S, DATTA R. Role of soil phosphorus on legume production[M]//*Legumes for Soil Health and Sustainable Management*. Singapore: Springer, 2018: 487-510.
- [6] 陶冬雪, 高英志. 土壤解磷微生物促进植物磷素吸收策略研究进展[J]. *生态学报*, 2023, 43(11): 4390-4399.
- TAO DX, GAO YZ. Advances on the strategies of soil phosphate solubilizing microorganisms to promote plant phosphorus uptake[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(11): 4390-4399 (in Chinese).
- [7] ALORI ET, GLICK BR, BABALOLA OO. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 971.
- [8] ALTOMARE C, TRINGOVSKA I. Beneficial soil microorganisms, an ecological alternative for soil fertility management[M]//*Genetics, Biofuels and Local Farming Systems*. Dordrecht: Springer, 2011: 161-214.
- [9] SYED AB RAHMAN SF, SINGH E, PIETERSE CMJ, SCHENK PM. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens[J]. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, 2018, 267: 102-111.
- [10] 崔宝凯, 魏玉莲, 戴玉成. 江苏紫金山的多孔菌[J]. *菌物学报*, 2006, 25(1): 9-14.
CUI BK, WEI YL, DAI YC. Polypores from Zijin Mountain, Jiangsu Province[J]. *Mycosystema*, 2006, 25(1): 9-14 (in Chinese).
- [11] AL-HAWASH AB, AL-QURNAWI WS, ABOOD HA, HILLO NA, GHALIB HB, ZHANG XY, MA FY. *Pyrene*-degrading fungus *Ceriporia lacerata* RF-7 from contaminated soil in Iraq[J]. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 2022, 42(1): 40-48.
- [12] LIN YH, HE XB, HAN GM, TIAN QJ, HU WY. Removal of crystal violet from aqueous solution using powdered mycelial biomass of *Ceriporia lacerata* P2[J]. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 2011, 23(12): 2055-2062.
- [13] YIN J, SUI ZM, LI Y, YANG HJ, YUAN L, HUANG JG. A new function of white-rot fungi *Ceriporia lacerata* HG2011: improvement of biological nitrogen fixation of broad bean (*Vicia faba*) [J]. *Microbiological Research*, 2022, 256: 126939.
- [14] WENG CH, PENG XW, HAN YJ. Depolymerization and conversion of lignin to value-added bioproducts by microbial and enzymatic catalysis[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2021, 14(1): 84.
- [15] SONG XP, LI Y, YIN J, CHEN DM, HUANG JG. Mobilization of soil phosphorus and enhancement of canola yield and phosphorus uptake by *Ceriporia lacerata* HG2011[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2022, 68(9): 1229-1238.

- [16] 殷洁, 范倩, 黄建国. 撕裂蜡孔菌的新功能: 防治茄子绵疫病及促生效应[J]. 中国农业科学, 2018, 51(12): 2300-2310.
YIN J, FAN Q, HUANG JG. New functions of *Ceriporia lacerata* in *Phytophthora* blight control and growth promotion of eggplants[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(12): 2300-2310 (in Chinese).
- [17] SUI ZM, HUANG JG, YUAN L. *Ceriporia lacerata* HG2011 enhances P mobilization and wheat agronomic performance irrespective of P fertilization levels[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 133(3): 1322-1332.
- [18] 白如霞, 曾汇文, 范倩, 殷洁, 隋宗明, 袁玲. 撕裂蜡孔菌对黄瓜蔓枯病的防治作用及促生增产效果[J]. 中国农业科学, 2019, 52(15): 2604-2615.
BAI RX, ZENG HW, FAN Q, YIN J, SUI ZM, YUAN L. Effects of *Ceriporia lacerata* on gummy stem blight control, growth promotion and yield increase of cucumbers[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(15): 2604-2615 (in Chinese).
- [19] 万文结, 刘月, 薛芷筠, 张泽文, 程国军, 李晓华, 何冬兰. 纤维素降解菌 *Arthrobacter oryzae* HW-17 的纤维素降解特性及纤维素酶学性质[J]. 环境科学学报, 2017, 37(10): 3679-3686.
WAN WJ, LIU Y, XUE ZJ, ZHANG ZW, CHENG GJ, LI XH, HE DL. Cellulose degradation characteristics and cellulase properties of cellulose-decomposing bacterium *Arthrobacter oryzae* HW-17[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(10): 3679-3686 (in Chinese).
- [20] 杨翠云, 刘永定, 夏传海, 刘苏静, 周世伟. 有机磷细菌的分离鉴定及其对 MC-RR 的响应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(6): 829-834.
YANG CY, LIU YD, XIA CH, LIU SJ, ZHOU SW. The isolation and identification of organic phosphorus bacteria and its response to MC-RR[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(6): 829-834 (in Chinese).
- [21] 李世贵, 顾金刚, 姜瑞波, 牛永春. 生防木霉菌 β -1,3-葡聚糖酶活性研究[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(4): 88-91.
LI SG, GU JG, JIANG RB, NIU YC. β -1,3-glucanase activity from biocontrol *Trichoderma* strains[J]. *Journal of Microbiology*, 2010, 30(4): 88-91 (in Chinese).
- [22] 陈丹梅. 产酶溶杆菌新株 *Lysobacter enzymogenes* LE16 的促生防病作用及机理[D]. 重庆: 西南大学博士学位论文, 2020.
CHEN DM. Functions and mechanisms of the new *Lysobacter enzymogenes* strain LE16 in plant growth promoting and disease biocontrol[D]. Chongqing: Doctoral Dissertation of Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [23] 杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测[M]. 北京: 中国大地出版社, 2008.
YANG JH, WANG CL, DAI HL. Soil agrochemical analysis and environmental monitoring[M]. Beijing: China Land Press, 2008 (in Chinese).
- [24] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
GUAN SY. Soil enzyme and its research method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986 (in Chinese).
- [25] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
CAO JK, JIANG WB, ZHAO YM. Guidance on postharvest physiological and biochemical experiments of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007 (in Chinese).
- [26] HU YT, ZHENG Q, NOLL L, ZHANG SS, WANEK W. Direct measurement of the *in situ* decomposition of microbial-derived soil organic matter[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 141: 107660.
- [27] GEISSELER D, HORWATH WR, JOERGENSEN RG, LUDWIG B. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms: a review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(12): 2058-2067.
- [28] 姜一, 步凡, 张超, 陈立新. 土壤有机磷矿化研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014, 38(3): 160-166.
JIANG Y, BU F, ZHANG C, CHEN LX. Research advances on soil organic phosphorus mineralization[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2014, 38(3): 160-166 (in Chinese).
- [29] SANTOS MS, NOGUEIRA MA, HUNGRIA M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture[J]. *AMB Express*, 2019, 9(1): 205.
- [30] NIKFARJAM SG, AMINPANAH H. Effects of phosphorus fertilization and *Pseudomonas fluorescens* strain on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.)[J]. *Idesia*, 2015, 33(4): 15-21.
- [31] KAUR G, REDDY MS. Improvement of crop yield by phosphate-solubilizing *Aspergillus* species in organic farming[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2017, 63(1): 24-34.
- [32] RAM H, MALIK SS, DHALIWAL SS, KUMAR B,

- SINGH Y. Growth and productivity of wheat affected by phosphorus-solubilizing fungi and phosphorus levels[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2015, 61(3): 122-126.
- [33] 张福锁, 王激清, 张卫峰, 崔振岭, 马文奇, 陈新平, 江荣凤. 中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径[J]. *土壤学报*, 2008, 45(5): 915-924.
ZHANG FS, WANG JQ, ZHANG WF, CUI ZL, MA WQ, CHEN XP, JIANG RF. Nutrient use efficiencies of major cereal crops in China and measures for improvement[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5): 915-924 (in Chinese).
- [34] 袁玲, 殷洁, 黄建国. 一株撕裂蜡孔菌的促生作用及其应用: CN107164245B[P]. 2020-03-31.
- [35] 隋宗明, 刘海, 殷洁, 宁诗琪, 袁玲. 撕裂蜡孔菌 HG2011 对光叶紫花苜蓿结瘤固氮的影响及其潜在机制[J]. *微生物学报*, 2023, 63(9): 3546-3559.
SUI ZM, LIU H, YIN J, NING SQ, YUAN L. Effects of *Ceriporia lacerata* HG2011 on nodulation and biological nitrogen fixation of *Vicia villosa* Roth. and the underlying mechanisms[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(9): 3546-3559 (in Chinese).
- [36] 周燕, 杨习文, 周苏玫, 王言景, 杨蕊, 徐凤丹, 梅晶晶, 申冠宇, 李秋杰, 贺德先. 小麦根中 NADP-脱氢酶系统关键酶活性与根系活力和产量的关系分析[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(11): 2060-2071.
ZHOU Y, YANG XW, ZHOU SM, WANG YJ, YANG R, XU FD, MEI JJ, SHEN GY, LI QJ, HE DX. Activities of key enzymes in root NADP-dehydrogenase system and their relationships with root vigor and grain yield formation in wheat[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(11): 2060-2071 (in Chinese).
- [37] 陈成榕. 野生大豆(*Glycine soja*)根系特性的研究[J]. *福建省农科院学报*, 1992, 7(2): 53-59.
CHEN CR. Studies on the characters of root system of wild soybean (*Glycine soja*)[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 1992, 7(2): 53-59 (in Chinese).
- [38] WEISZ PR, SINCLAIR TR. A rapid non-destructive assay to quantify soybean nodule gas permeability[J]. *Plant and Soil*, 1988, 105(1): 69-78.
- [39] de LIMA ML, ORESNIK IJ, FERNANDO SM, HUNT S, SMITH R, TURPIN DH, LAYZELL DB. The relationship between nodule adenylates and the regulation of nitrogenase activity by O₂ in soybean[J]. *Physiologia Plantarum*, 1994, 91(4): 687-695.
- [40] SCHERER HW, PACYNA S, SPOTH KR, SCHULZ M. Low levels of ferredoxin, ATP and leghemoglobin contribute to limited N₂ fixation of peas (*Pisum sativum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) under S deficiency conditions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, 44(7): 909-916.