

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201911003

曹彦强, 张中峰, 蒋士宋, 等. 根际促生菌对石漠化地区造林苗木的促生效应 [J]. 广西植物, 2021, 41(5): 738–745.
CAO YQ, ZHANG ZF, JIANG SS, et al. Growth promoting effect of plant growth-promoting rhizobacteria on tree seedlings
suitable for afforestation in rocky desertified region [J]. Guihaia, 2021, 41(5): 738–745.



根际促生菌对石漠化地区造林苗木的促生效应

曹彦强¹, 张中峰^{1*}, 蒋士宋², 唐金荣³, 周龙武¹, 滕秋梅¹, 徐广平¹

(1. 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 全州县科学技术情报研究所, 广西 全州 541500; 3. 全州县枳塘镇农业技术推广站, 广西 全州 541518)

摘 要: 西南岩溶石漠化山区水土流失严重、养分贫瘠, 导致植被恢复困难。为探究固氮菌对岩溶石漠化地区造林苗木的生长促进效应, 该文以广西石漠化地区常见造林树种香樟、任豆、喜树和台湾相思苗木为材料, 利用平板稀释法从石漠化乡土植物根际土壤筛选固氮菌, 通过测定固氮酶活性及鉴定固氮菌菌种, 选择固氮酶活性较高的菌种制成复合菌剂接种到试验苗木进行盆栽试验。结果表明: 共筛选得到 6 株具有固氮能力的根际促生菌, 分别属于根瘤菌属 (*Rhizobium*)、中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*) 和黄杆菌属 (*Flavobacterium*), 其中归类为根瘤菌属的 3 株固氮菌酶活性较高。复合菌剂接种试验表明接种固氮菌对造林苗木的生长具有明显促进作用。与未接种处理相比, 接种处理苗木的株高、叶面积、生物量以及叶绿素含量均显著增长; 同时苗木的氮、磷、钾含量也有不同程度的增加。其中, 香樟、任豆、喜树和台湾相思的氮含量分别提高了 28.9%、53.1%、37.0% 和 31.6%; 香樟、台湾相思的磷含量分别增加了 25.6% 和 42.5%; 任豆、台湾相思的钾含量分别增加了 57.5% 和 49.7%。接种石漠化乡土固氮菌能够显著促进造林苗木生长和养分含量, 在石漠化植被修复中具有较好的应用前景。

关键词: 石漠化, 固氮菌, 造林苗木, 促生效应, 植被修复

中图分类号: Q948.12 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)05-0738-08

Growth promoting effect of plant growth-promoting rhizobacteria on tree seedlings suitable for afforestation in rocky desertified region

CAO Yanqiang¹, ZHANG Zhongfeng^{1*}, JIANG Shisong², TANG Jinrong³,
ZHOU Longwu¹, TENG Qiumei¹, XU Guangping¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Quanzhou County Institute of Scientific and Technological Information, Quanzhou 541500, Guangxi, China; 3. Agricultural Technology Extension Station of Jiantang Town, Quanzhou 541518, Guangxi, China)

收稿日期: 2020-08-27

基金项目: 国家自然科学基金(31960272); 广西重点研发计划(桂科 AB18126065); 广西科技攻关计划(桂科攻 1598016-12); 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室基金(19-185-7, 17-259-23); 广西植物研究所基本业务费项目(21010) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31960272); Key Science and Technology Program of Guangxi (AB18126065); Science and Technology Program of Guangxi (1598016-12); Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain (19-185-7, 17-259-23); Fundamental Research Fund of Guangxi Institute of Botany (21010)]。

作者简介: 曹彦强(1994-), 硕士, 研究实习员, 主要研究土壤肥力与生态, (E-mail) 18306038492@163.com。

* **通信作者:** 张中峰, 博士, 研究员, 主要从事恢复生态学方面的研究, (E-mail) 78228546@qq.com。

Abstract: Extensive soil erosion and vegetation degradation are common in karst rocky desertified area, and presenting a serious challenge of restoration of degraded habitats. In order to explore the promoting effect of PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) on the growth of afforestation seedlings, seedlings of *Cinnamomum camphora*, *Zenia insignis*, *Camptotheca acuminata* and *Acacia confusa* which are common in Guangxi rocky desertified region were used as experimental materials. The plate dilution method was used to screen nitrogen-fixing bacteria from rhizosphere soil of rocky desertification native plants. The strains with higher nitrogenase activities were selected and inoculated into experimental seedlings for pot experiment. The results were as follows: Six strains of nitrogen-fixing bacteria from rhizosphere soil were obtained, and the 16S rDNA sequence analysis showed that the tested strains belong to *Rhizobium*, *Sinorhizobium* and *Flavobacterium*. Among them, the nitrogenase activity of three strains of *Rhizobium* was the highest. Pot experiment showed that inoculating nitrogen fixing bacteria could promote the growth of afforestation seedlings. Plant height, leaf area, leaf dry weight and chlorophyll content increased significantly compared to control. Nitrogen content of *Cinnamomum camphora*, *Zenia insignis*, *Camptotheca acuminata* and *Acacia confusa* seedlings significantly increased by 28.9%, 53.1%, 37.0% and 31.6%, respectively. Phosphorus contents of *Cinnamomum camphora* and *Acacia confusa* was increased significantly by 25.6% and 42.5%, respectively, while the potassium contents of *Zenia insignis* and *Acacia confusa* was increased significantly by 57.5% and 49.7%, respectively. The nitrogen-fixing bacterial strains of karst rocky desertified areas in Guangxi have growth promoting effect on local tree seedlings used for afforestation. They provide a strong potential for forest restoration through seedling inoculation.

Key words: rocky desertification, nitrogen-fixing bacteria, afforestation seedlings, growth promotion, vegetation restoration

我国西南岩溶石漠化地区生态环境十分脆弱, 由于受到土壤层薄、干旱、养分缺乏等环境因子的限制, 当地植被抗逆性差, 生长缓慢, 造林成活率低, 易退化难修复, 严重制约石漠化地区生态恢复与可持续发展(彭晚霞等, 2008; 王克林等, 2019)。石漠化地区土壤富钙偏碱性, 矿质营养元素常以难溶态形式存在, 植物无法直接吸收利用。如何活化石漠化土壤中难溶态养分、提高土壤肥力并维持其功能稳定性已成为生态学家普遍关注的问题(曹建华等, 2008; 王克林等, 2008)。植物根际促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)能够定殖于植物根际和根表, 具有溶磷、固氮、解钾等活化土壤养分功能, 直接或间接促进植物生长(Ahmad et al., 2008)。此类微生物对植物的促生功能与石漠化土壤限制因子具有较好的耦合性, 如果能够将根际促生菌的优良品质应用到石漠化植被修复中, 对于加快石漠化生态治理具有重要意义。

近年来, 国内学者开展了较多关于根际促生菌, 特别是具有固氮能力的菌种进行林木接种方面的研究。黄宝灵等(2005)筛选得到的固氮菌接种到造林苗木后促进了植株生长, 幼树叶片叶绿素含量增加。王劲松等(2010)利用分离筛选的固氮菌

接种桉树造林试验, 促进了桉树株高和地径的增加, 提高了桉树的抗逆性。邓雷等(2014)利用根际促生菌复合肥接种杉木幼苗, 显著促进了苗木生长。韩晓阳等(2014)在山东茶园土壤中分离出固氮菌株并接种茶树, 促进了茶树根、茎、叶的干重以及氮含量显著增长。在喀斯特石漠化生境中, 吕成群等(2008)也发现固氮根瘤菌能促进台湾相思林植被更新、植株生物量和根系生长。这些研究揭示了根际促生菌对植物的优良促生效果。然而, 目前有关根际促生菌在石漠化地区造林应用中的研究仍然较少, 石漠化地区造林成活率低的问题一直未得到较好的解决(赵其国和黄国勤, 2014)。微生物对各种环境的变化有较强的敏感性, 导致一些商品微生物肥或菌剂在盆栽试验时效果显著, 但在田间试验时效果不太理想。同时外来微生物对野外生境适应性差, 无法与土著菌种竞争, 导致菌剂生态功能降低。为解决石漠化地区植被恢复困难的现状, 充分利用根际微生物资源优势, 减少化肥等农用化学品的投入, 有必要对石漠化地区本土根际促生菌及其在造林过程中发挥的作用进行研究。基于此, 本研究从广西岩溶石漠化地区分离筛选乡土根际促生菌, 并挑选出优良菌株制成复合菌剂后开

展盆栽试验,寻找可作为研发微生物肥料的潜在功能菌株,为加快广西石漠化地区植被恢复和生态治理提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 样品采集

植物根际土壤(分别为火龙果、青冈栎、茶条木、蒜头果、降香黄檀和芦竹根际土)采集自平果县果化镇石漠化治理示范区,土壤样品装入无菌袋中运回实验室,筛出碎石等杂物后在 4℃ 冰箱暂存,用于后续筛选固氮菌株。

1.2 固氮菌株的分离与固氮酶活性测定

称取 10 g 土壤样品,放置盛有 100 mL 无菌水的三角瓶中,振荡 10 min (28℃、170 r·min⁻¹),得到根际土壤悬浮液。采用梯度稀释法(赵斌和何绍江,2002),得到不同稀释度的土悬液,涂布在固氮培养基上进行菌株的分离,并采用平板划线法(赵斌和何绍江,2002)纯化菌株。菌株固氮酶的活性采用乙炔还原法进行测定(Piromy et al., 2011)。

1.3 16S rDNA 基因系统发育分析

将筛选的菌株 DNA 利用通用引物 27F/1492R 进行基于 16S rDNA 的基因扩增,PCR 反应体系为 25 μL,其中模板 DNA 1 μL,引物各 1 μL,2×ES Taq MasterMix 12.5 μL,超纯水 9.5 μL。PCR 反应程序:94℃ 预变性 2 min,94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环。PCR 产物纯化后交由上海生工生物工程股份有限公司进行测序,将测序结果在 NCBI (National Center for Biotechnology information) 中进行同源序列比较分析。

1.4 盆栽试验

试验在广西植物研究所温室大棚中进行,供试植物为 4 种石漠化地区造林苗木幼苗:香樟 (*Cinnamomum camphora*)、任豆 (*Zenia insignis*)、喜树 (*Camptotheca acuminata*) 以及台湾相思 (*Acacia confusa*)。供试土壤采集自平果县果化镇石漠化治理示范区,为碳酸岩发育土壤,基本理化性质如下:有机质 7.35 g·kg⁻¹,全氮 1.8 g·kg⁻¹,全磷 0.60 g·kg⁻¹,全钾 6.2 g·kg⁻¹,碱解氮 72 mg·kg⁻¹,速效磷 4.9 mg·kg⁻¹,速效钾 47.8 mg·kg⁻¹。

为模拟野外自然状态下的接种环境,试验土壤不进行灭菌,以未接种处理作为对照。

将筛选纯化的菌株接种至 LB 液体培养基中,摇床培养(30℃、180 r·min⁻¹)至对数期。用注射器进行灌根接种,每 15 d 接种 1 次,使得接种最终浓度达到 10⁶ CFU·g⁻¹,以接种等量无菌水为对照处理。苗木接种 90 d 后分别测定植株叶绿素、地上地下生物量、养分含量。

1.5 测定方法

用钢卷尺测定植株株高;叶面积仪(LI-3000A)测定叶片面积;植株于 105℃ 杀青 10 min 后,80℃ 烘干至恒重后测定干重(地上部、根系);采用便携式叶绿素测定仪 SPAD-502 测定叶绿素相对值;采用 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮法、钼钒黄比色法、火焰光度法测定植株氮、磷、钾含量(鲍士旦,2000)。

1.6 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 13 对数据进行统计分析;利用 Origin 8.5 软件作图,Mega 5.0 绘制系统发育树。

2 结果与分析

2.1 广西石漠化地区根际土壤固氮菌筛选及其固氮酶活性

从石漠化乡土植物根际土壤样品中共分离纯化得到具有固氮能力的菌株 6 株,分别标记为 GN-LZ、GN-JXHT、GN-STG-1、GN-STG-2、GN-QGL 和 GN-CTM。部分菌株在培养基中的生长情况如图 1 所示。通过 16S rDNA 基因序列分析,结果表明分离得到的石漠化地区固氮菌株共分为三类,其中:GN-LZ、GN-JXHT 和 GN-STG-1 属于根瘤菌属 (*Rhizobium*);GN-STG-2 和 GN-QGL 属于中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*);GN-CTM 属于黄杆菌属 (*Flavobacterium*) (图 2)。

固氮酶活性测定如表 1 所示,各菌株固氮酶活性差异较大,C₂H₄ 的产生量介于 159.1~405.4 nmol·mL⁻¹·h⁻¹ 之间。GN-LZ、GN-JXHT 和 GN-STG-1 的固氮酶活性高于另外 3 株,分别为 368.8、354.8 以及 405.4 nmol·mL⁻¹·h⁻¹,测序结果表明这 3 株固氮菌属于根瘤菌属 (*Rhizobium*)。

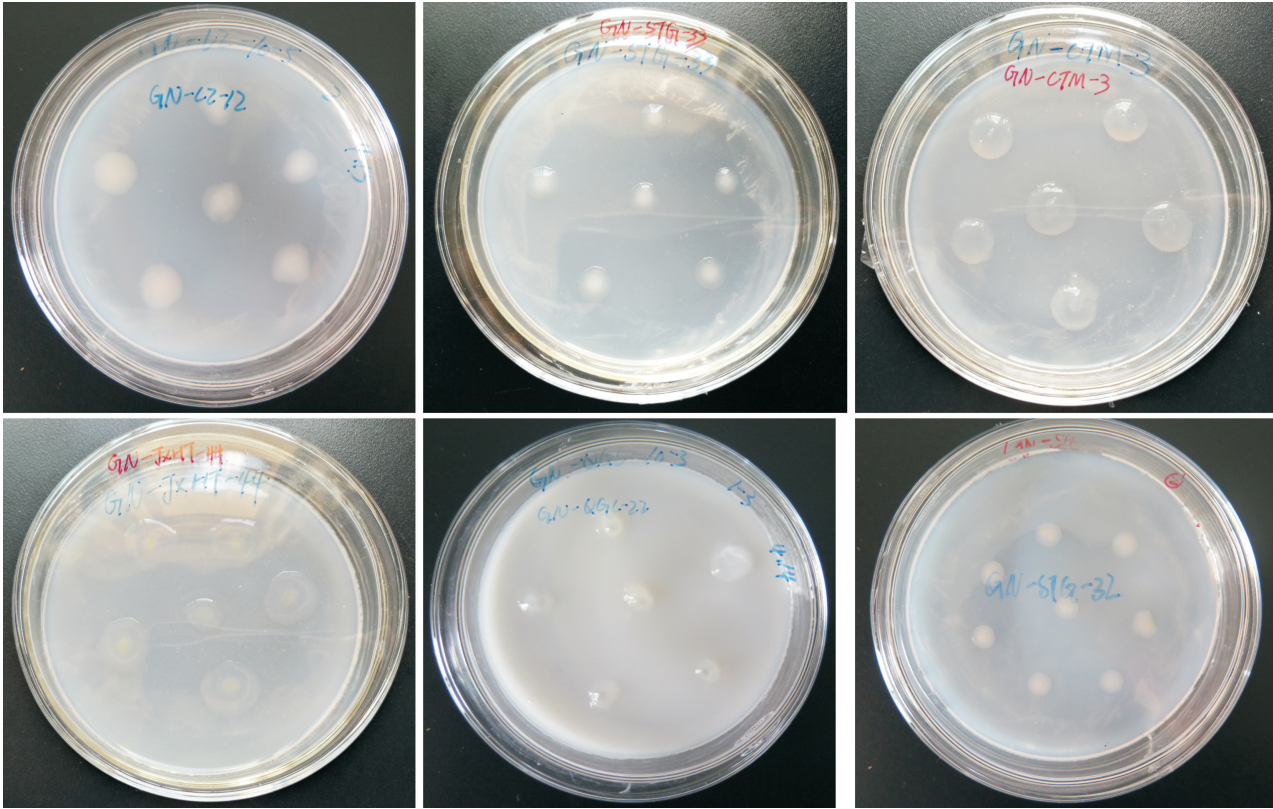


图 1 菌株在培养基上的生长情况
Fig. 1 Growth of strains on culture medium

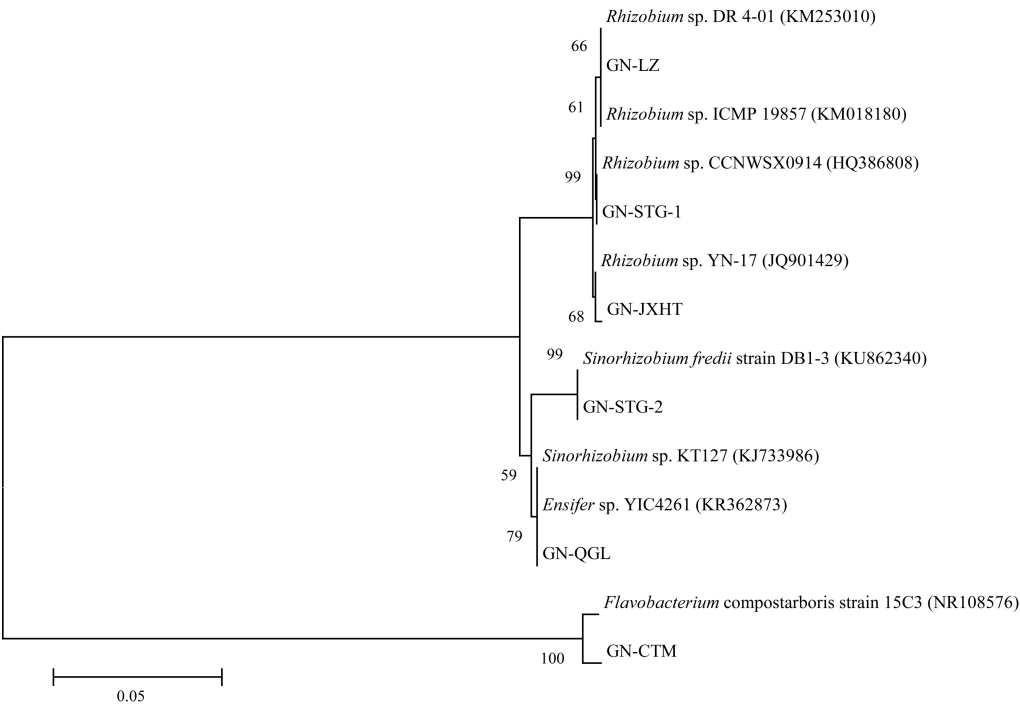


图 2 菌株的鉴定分类
Fig. 2 Identification and classification of strains

表 1 石漠化地区植物根际土壤固氮菌的固氮酶活性
Table 1 Nitrogenase activities of strains in rhizosphere soil in rocky desertification area

菌株编号 Strain No.	属 Genus	固氮酶活性 Nitrogenase activity (nmol C ₂ H ₄ · mL ⁻¹ · h ⁻¹)
GN-LZ	根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	368.8
GN-JXHT	根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	354.8
GN-STG-1	根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	405.4
GN-STG-2	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	229.1
GN-CTM	黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	159.1
GN-QGL	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	284.9

2.2 接种固氮菌对造林苗木生长的影响

通过筛选出上述固氮酶活性较高的菌株 (GN-LZ、GN-JXHT 和 GN-STG-1) 制成混合菌剂, 接种到香樟、任豆、喜树和台湾相思这 4 种主要的石漠化地区造林苗木幼苗, 进一步探究其对植物的促生效应。香樟、任豆、喜树和台湾相思接菌处理下株高均显著高于对照处理(图 3), 平均株高相比于不接菌对照处理分别增加了 1.8、2.2、2.1、3.8 cm。试验所用四种造林苗木在接菌处理下叶面积显著高于对照处理, 平均叶面积比对照增长 25.6% ~ 34.2%, 其中香樟增长量最高, 达到了 6.1 cm²。

与对照处理相比, 接种固氮菌处理的造林苗木干重有显著增加(图 4), 其中香樟、任豆、喜树和台湾相思幼苗的地上部干重分别增加 32.9%、18.8%、18.5%、35.1%, 根系干重分别增加 44.9%、47.5%、46.0% 和 49.7%。

2.3 接种固氮菌对造林苗木叶绿素含量及养分吸收的影响

接菌与对照处理下 4 种石漠化地区主要造林苗木幼苗的叶片叶绿素含量如图 5 所示。4 种苗木中, 与对照处理相比, 接菌处理下香樟、任豆、喜树和台湾相思的叶绿素含量分别增加了 21.9%、10.0%、25.6% 和 16.9%, 固氮菌的接种均显著提高了这 4 种造林苗木叶片叶绿素的含量。

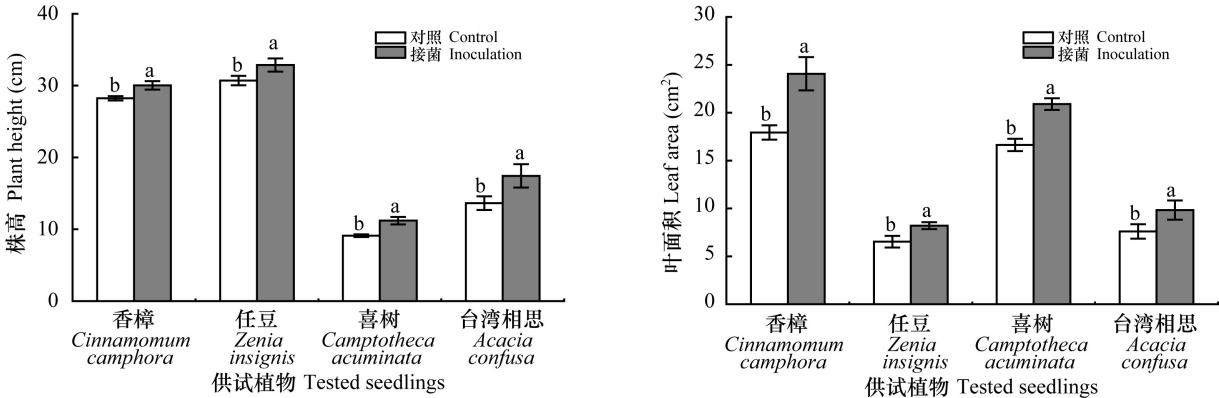
由图 6 可知, 接种固氮菌处理苗木主要营养元素氮、磷、钾含量均有所增加。4 种造林苗木中, 接

菌处理均显著提高了植株氮含量。与对照相比, 香樟、任豆、喜树和台湾相思幼苗的氮含量分别提高了 28.9%、53.1%、37.0% 和 31.6%。香樟和台湾相思接菌处理中磷含量显著高于对照处理, 相比对照分别增加了 25.6%、42.5%; 任豆和喜树接菌处理下的磷含量高于对照, 但与对照相比差异并不显著。接菌处理下香樟、任豆、喜树和台湾相思的钾含量比对照分别增加了 11.4%、57.5%、13.9% 和 49.7%, 其中任豆和台湾相思接菌处理中的钾含量显著高于对照。

3 讨论与结论

固氮微生物通过生物固氮作用将大气中的氮气转化为含氮化合物, 在一定程度上能够缓解氮缺乏对植物初级生产力的限制。这种功能需要在固氮酶的催化作用下进行, 因此固氮酶活性高低在一定程度能够反映固氮菌固氮能力的强弱。本研究从石漠化乡土植物根际土壤中筛选出 3 株高活性的固氮菌 GN-LZ、GN-JXHT 和 GN-STG-1, 并将其制成复合菌剂接种至造林苗木。固氮菌剂不仅促进了豆科树种生长和养分吸收, 同时对非豆科造林树种也有显著促生作用。有研究表明固氮菌不仅能够与豆科植物共生形成根瘤进行共生固氮, 这些细菌也可以在土壤中长期以腐生菌的状态存在(陈文新等, 2004)。固氮根瘤菌在非豆科作物中普遍存在, 并对植物的生长起着有益的促进作用(Cocking, 2003; 徐鹏霞等, 2017)。文晓萍等(2008)将 5 种根瘤菌接种到非豆科植物巨尾桉树苗, 均能显著提高桉树苗的苗高、地径及苗木生物量和叶片含氮量。在本研究中, 固氮菌剂除对豆科植物任豆和台湾相思幼苗的生长起到明显促进作用以外, 也促进了非豆科植物香樟和喜树幼苗的养分吸收与生长。

虽然根瘤菌不能与非豆科植物形成根瘤, 但可以通过在非豆科植物根圈定殖或者作为内生菌在根内定殖对非豆科植物产生促生作用(李婷等, 2013)。有研究表明, 固氮根瘤菌作为内生菌, 能够通过提高非豆科植物的氮、磷吸收(Yanni et al., 2001)、促进光合速率以及根呼吸(Chi et al., 2005)、



误差线表示标准误, $n=3$; 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。
Error bars represent standard errors, $n=3$; Different letters mean significant differences at 0.05 level. The same below.

图 3 接种固氮菌对造林苗木株高和叶面积的影响
Fig. 3 Effects of nitrogen-fixing bacteria on plant height and leaf area of afforestation seedlings

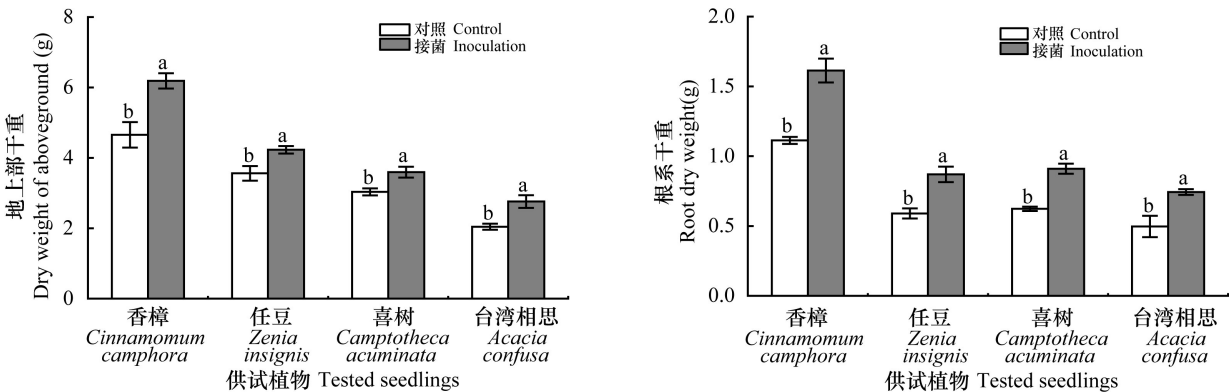


图 4 接种固氮菌对造林苗木干重的影响
Fig. 4 Effects of nitrogen-fixation bacteria on dry weight of afforestation seedlings

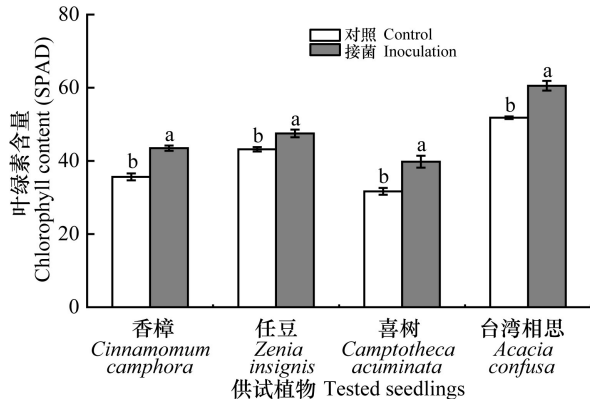


图 5 接种固氮菌对造林苗木叶片叶绿素含量的影响
Fig. 5 Effects of nitrogen-fixing bacteria on leaves chlorophyll contents of afforestation seedlings

提高植物生长激素水平 (Hussain et al., 1999) 等方式促进非豆科植物生长。植物根际促生菌分泌的有机酸和胞外酶能够将土壤中有机关氮、磷活化为有效态供植物直接吸收 (唐丹和严理, 2018), 这种生理特性对于改良石漠化土壤将非常有益。固氮根瘤菌除了能固定环境中的氮素供给植物促进生长外, 其代谢产物在生物病害防治等方面也具有显著作用 (王泽等, 2015)。某些固氮根瘤菌还对碳酸钙有较强的降解作用, 这能够加速岩溶区成土母岩风化 (王明月等, 2014), 同时能改善土壤理化性质, 降低石漠化土壤的 pH 值 (王金华等, 2014)。本试验中, 接种处理显著促进了 4 种造林苗木生长和养分吸收。这些研究表明固氮微生物

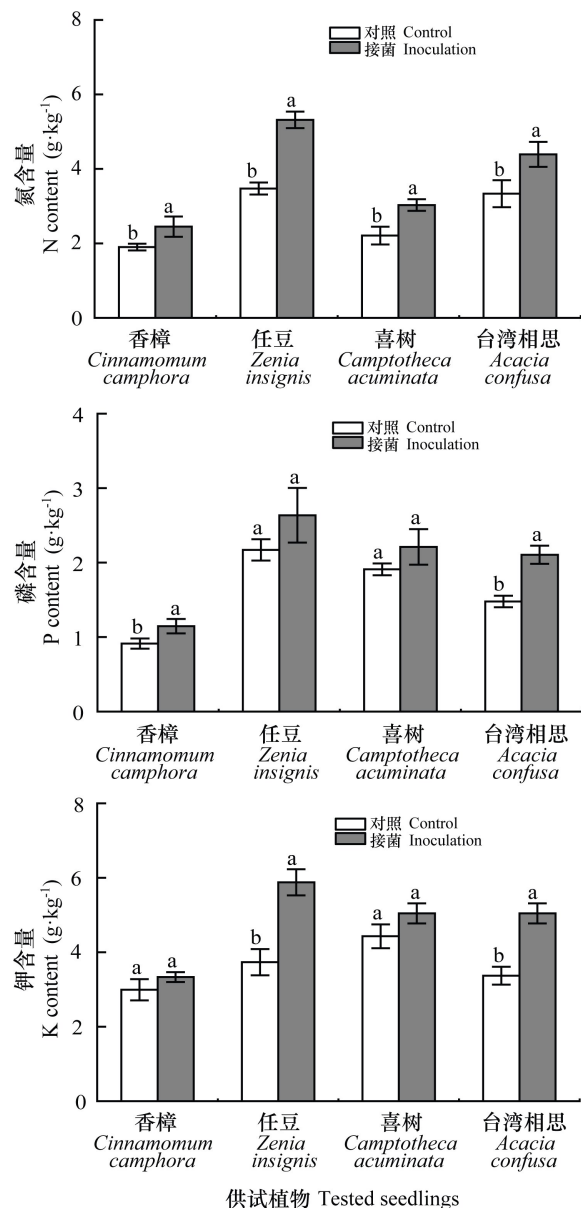


图 6 接种固氮菌对造林苗木氮、磷、钾含量的影响

Fig. 6 Effects of nitrogen-fixing bacteria on N, P, K contents in afforestation seedlings

在促进植物生长和改良石漠化土壤方面均具有较好的应用价值。

开发和利用微生物菌剂不仅可以减少化肥使用量,有效改善土壤中氮、磷、钾等元素的利用率,还可提升植物抗逆能力,进一步提高造林成活率,这将有助于我国实现可持续绿色发展(祁娟等, 2017;毛骁等,2019)。充分开发适用于当地的微生物肥料将极大改进石漠化地区生态环境(范丙

全,2017;张中峰等,2018)。微生物能否发挥其功效与其能否在根际土壤中定殖密切相关,从石漠化地区筛选菌株并应用于石漠化地区,能够提高菌株在石漠化生境中的适应性。在今后的研究中,还需进一步筛选和研究固氮菌株在石漠化生境中的定殖能力,使微生物发挥更好的生态效应。

综上所述,从广西石漠化地区植物根际土壤中筛选得到的乡土固氮根瘤菌剂在石漠化植被修复中具有较好的应用前景和开发利用潜力。本研究可为当前石漠化植被修复提供参考和技术支撑,为进一步研发微生物菌肥提供优良菌株。

致谢 感谢长江大学实习生田盼妮、李红艳在试验过程中的积极帮助。

参考文献:

- AHMAD F, AHMAD I, KHAN MS, 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth-promoting activities [J]. *Microbiol Res*, 163(2): 173-181.
- BAO SD, 2000. Soil agricultural chemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press: 14-112. [鲍士旦, 2000. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社: 14-112.]
- CAO JH, YUAN DX, TONG LQ, 2008. Features of karst ecosystem and integrating measure for rock desertification in Southwest China [J]. *Pratac Sci*, 25(9): 40-50. [曹建华, 袁道先, 童立强, 2008. 中国西南岩溶生态系统特征与石漠化综合治理对策 [J]. *草业科学*, 25(9): 40-50.]
- CHEN WX, WANG ET, CHEN WF, 2004. The relationship between the symbiotic promiscuity of rhizobia and legumes and their geographical environments [J]. *Chin Agric Sci*, 37(1): 81-86. [陈文新, 汪恩涛, 陈文峰, 2004. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系 [J]. *中国农业科学*, 37(1): 81-86.]
- CHI F, SHEN SH, CHENG HP, et al., 2005. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology [J]. *Appl Environ Microb*, 71(11): 7271-7278.
- COCKING EC, 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria [J]. *Plant Soil*, (252): 169-175.
- DENG L, LI R, LIU JA, et al., 2014. Development of *Cunninghamia lanceolata* PGPR compound microbial fertilizer and its effect of the growth of *Cunninghamia lanceolata* seedling [J]. *Hubei Agric Sci*, 53(24): 5967-5974. [邓雷, 李蓉, 刘君昂, 等, 2014. 杉木根际促生菌复合肥料研制及其对苗木生长的影响 [J]. *湖北农业科学*, 53(24): 5967-5974.]
- FAN BQ, 2017. Advances in biofertilizer research and development in China [J]. *J Plant Nutr Fert*, 23(6): 1602-1613. [范丙全, 2017. 我国生物肥料研究与应用进展 [J]. *植物营养与肥料学报*, 23(6): 1602-1613.]

- HAN XY, LI Z, ZHANG LX, et al., 2014. Screening, identification and inoculation effect of azotobacter from the soils of tea garden [J]. J Tea Sci, 34(5): 497–505. [韩晓阳, 李智, 张丽霞, 等, 2014. 茶园土壤高活性固氮菌的筛选鉴定及接种效果初步研究 [J]. 茶叶科学, 34(5): 497–505.]
- HUANG BL, LÜ CQ, QIN WM, et al., 2005. Forestation experiment on *Acacia crassarp* seedlings inoculated with nodule bacteria [J]. J SW For Coll, 25(4): 80–83. [黄宝灵, 吕成群, 秦武明, 等, 2005. 厚荚相思苗木接种根瘤菌的造林试验 [J]. 西南林学院学报, 25(4): 80–83.]
- HUSSAIN S, MIRZA MS, MALIK KA, 1999. Production of phytohormones by the nitrogen fixation bacteria isolated from sugarcane [J]. Biohorizons, 4: 61–76.
- LI T, HE L, LIANG QF, 2013. Progress in the study of *rhizobium* associated with non-leguminous plants [J]. J Agric Sci Tech Chin, 15(2): 97–102. [李婷, 何来, 梁泉峰, 2013. 非豆科植物的根瘤菌促生机制的研究进展 [J]. 中国农业科技导报, 15(2): 97–102.]
- LÜ CQ, LU JK, HUANG BL, et al., 2008. Biological characteristics of the rhizobia isolated from *Acacia confusa* grew in the karst environment [J]. Microbiology, 35(2): 215–219. [吕成群, 陆俊锐, 黄宝灵, 等, 2008. 喀斯特生境台湾相思根瘤菌的生物学特性研究 [J]. 微生物学通报, 35(2): 215–219.]
- MAO X, SUN BP, ZHANG JF, et al., 2019. Effect of microbial fertilizer on soil amelioration in arid mining area [J]. J Soil Water Conserv, 33(2): 203–208. [毛骁, 孙保平, 张建锋, 等, 2019. 微生物菌肥对干旱矿区土壤的改良效果 [J]. 水土保持学报, 33(2): 203–208.]
- PENG WX, WANG KL, SONG TQ, et al., 2008. Controlling and restoration models of complex degradation of vulnerable karst ecosystem [J]. Acta Ecol Sin, 28(2): 811–820. [彭晚霞, 王克林, 宋同清, 等, 2008. 喀斯特脆弱生态系统复合退化控制与重建模式 [J]. 生态学报, 28(2): 811–820.]
- PIROMYOU P, BURANABANYAT B, TANTASAWAT P, et al., 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand [J]. Eur J Soil Biol, 47(1): 44–54.
- QI J, YAO T, BAI XM, et al., 2017. Impacts on alfalfa productivity and soil fertility of partially replacing phosphate fertilizers with microbial fertilizers [J]. Acta Pratac Sin, 26(10): 118–128. [祁娟, 姚拓, 白小明, 等, 2017. 复合菌肥替代部分磷肥对苜蓿草地生产力及土壤肥力的影响 [J]. 草业学报, 26(10): 118–128.]
- TANG D, YAN L, 2018. The character of soil microorganism and regulation of biological nitrogen fixation in karst land [J]. Hubei Agric Sci, 57(22): 39–42. [唐丹, 严理, 2018. 喀斯特地区土壤微生物特征及生物固氮的调控作用 [J]. 湖北农业科学, 57(22): 39–42.]
- WANG JH, WANG MY, ZHANG WX, et al., 2014. Symbiotic effect of 4 *Trifolium pretense* and *Leguminous rhizobia* of rocky desertification area [J]. J West Chin For Sci, 43(5): 53–57. [王金华, 王明月, 张武先, 等, 2014. 石漠化地区 4 株豆科植物根瘤菌与红三叶的共生效应研究 [J]. 西部林业科学, 43(5): 53–57.]
- WANG JS, LÜ CQ, QIN LH, et al., 2010. Effect of inoculating nitrogen fixation bacteria on afforestation experiment for two *Eucalyptus* clones [J]. J Central S For Technol, 30(12): 50–55. [王劲松, 吕成群, 覃林海, 等, 2010. 两个桉树无性系接种固氮菌造林试验效果初探 [J]. 中南林业科技大学学报, 30(12): 50–55.]
- WANG KL, SU YR, ZENG FP, et al., 2008. Ecological process and vegetation restoration in karst region of Southwest China [J]. Res Agric Modern, 29(6): 641–645. [王克林, 苏以荣, 曾馥平, 等, 2008. 西南喀斯特典型生态系统土壤特征与植被适应性恢复研究 [J]. 农业现代化研究, 29(6): 641–645.]
- WANG KL, YUE YM, CHEN HS, et al., 2019. The comprehensive treatment of karst rocky desertification and its regional restoration effects [J]. Acta Ecol Sin, 39(20): 7432–7440. [王克林, 岳跃民, 陈洪松, 等, 2019. 喀斯特石漠化综合治理及其区域恢复效应 [J]. 生态学报, 39(20): 7432–7440.]
- WANG MY, LIU SX, XIONG Z, et al., 2014. Study on *Leguminous* plants rhizobia degradation of calcium carbonate and magnesium carbonate [J]. Ecol Environ Sci, 23(10): 1581–1585. [王明月, 刘绍雄, 熊智, 等, 2014. 石漠化地区豆科植物根瘤菌降解碳酸钙、镁能力研究 [J]. 生态环境学报, 23(10): 1581–1585.]
- WANG Z, XU Q, YUAN M, et al., 2015. Isolation and functional characterizations of spinach endogenous nitrogen-fixing bacteria [J]. Chin Soil Fert, 5: 116–121. [王泽, 徐齐, 袁梅, 等, 2015. 菠菜内生固氮菌的分离及其功能特性研究 [J]. 中国土壤与肥料, 5: 116–121.]
- WEN XP, HUANG BL, LÜ CQ, et al., 2008. Research for the effect of rhizobia inoculation on the *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* [J]. J NW For Univ, 23(6): 118–121. [文晓萍, 黄宝灵, 吕成群, 等, 2008. 巨尾桉接种根瘤菌试验效果初探 [J]. 西北林学院学报, 23(6): 118–121.]
- XU PX, HAN LL, HE JZ, et al., 2017. Research advance on molecular ecology of asymbiotic nitrogen fixation microbes [J]. Chin J Appl Ecol, 28(10): 3440–3450. [徐鹏霞, 韩丽丽, 贺纪正, 等, 2017. 非共生生物固氮微生物分子生态学研究进展 [J]. 应用生态学报, 28(10): 3440–3450.]
- YANNI YG, RIZK RY, ABD EL-FATTAH FK, et al., 2001. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* cv. *trifolii* with rice roots [J]. Australia J Plant Physiol, 28(9): 845–870.
- ZHANG ZF, ZHANG JC, ZHOU LW, et al., 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of afforestation seedlings in a rocky desertification area [J]. Chin J Ecol, 37(10): 62–69. [张中峰, 张金池, 周龙武, 等, 2018. 丛枝菌根真菌对石漠化地区造林苗木生长的影响 [J]. 生态学杂志, 37(10): 62–69.]
- ZHAO B, HE SJ, 2002. Microbiology experiment [M]. Beijing: Science Press: 215. [赵斌, 何绍江, 2002. 微生物学实验 [M]. 北京: 科学出版社: 215.]
- ZHAO QG, HUANG GQ, 2014. Study of ecological security in Guangxi Province [J]. Acta Ecol Sin, 34(18): 5125–5141. [赵其国, 黄国勤, 2014. 论广西生态安全 [J]. 生态学报, 34(18): 5125–5141.]