

# 植物根际优良促生菌(PGPR)筛选及其接种剂 部分替代化肥对玉米生长影响研究

荣良燕<sup>1,2</sup>,姚拓<sup>1,2,3</sup>,黄高宝<sup>4</sup>,柴强<sup>4</sup>,  
刘青海<sup>1</sup>,韩华雯<sup>1</sup>,卢虎<sup>1</sup>

(1.甘肃农业大学草业学院,甘肃兰州 730070; 2.草业生态系统教育部重点实验室,甘肃兰州 730070;  
3.中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃兰州 730070; 4.甘肃农业大学农学院,甘肃兰州 73007)

**摘要:**通过测定植物根际促生菌株固氮酶活性、溶磷量、分泌植物生长素、对病原菌的拮抗作用及菌株生长速度,筛选出了 5 株具有较好促生特性的优良菌株。利用筛选的优良菌株研制复合接种剂,并于 2009 年和 2010 年进行田试,测定其部分替代化肥对玉米生长的影响。结果表明:利用筛选的优良促生菌研制的复合微生物接种剂符合《微生物肥料》NY227-94 标准。施用接种剂替代 20%~30% 的化肥,玉米株高、地上植物量、穗长、穗粗、单位面积穗数、穗粒数和经济产量等均有提高。研制的微生物接种剂(菌肥+80%化肥),2010 年大田推广使用,玉米增产 9.86%,减少化肥投入、增产收入及直接经济效益分别为 620.1 元·hm<sup>-2</sup>、2 291.4 元·hm<sup>-2</sup>和 2 851.5 元·hm<sup>-2</sup>。

**关键词:**促生菌(PGPR);接种剂;玉米;植物量;经济产量

**中图分类号:** S144 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2013)02-0059-07

## Screening of plant growth promoting rhizobacteria strains and effects of inoculant on growth of maize by replacing part of chemical fertilizers

RONG Liang-yan<sup>1,2</sup>, YAO Tuo<sup>1,2,3</sup>, HUANG Gao-bao<sup>4</sup>, CHAI Qiang<sup>4</sup>, LIU Qing-hai<sup>1</sup>, HAN Hua-wen<sup>1</sup>, LU Hu<sup>1</sup>

(1. Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou, Gansu 730070, China;

3. Sino-U. S. Centers for Sustainable Development of Grassland and Animal Husbandry, Lanzhou, Gansu 730070, China;

4. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** Five potential plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains were screened based on their properties of phosphate dissolving, nitrogenase activity, 3-indoleacetic acid (IAA) secreting, antagonism of pathogens and growth rate, and the rhizosphere inoculant was produced by mixing these strains. A field experiment was conducted in 2009 and 2020 to investigate the effects of the inoculant on growth of maize by replacing part of chemical fertilizers. The results showed that the quality of the composite microbial inoculant complied with the standard of Microbiological Fertilizer of China (NY227-94). By applying the inoculant to replace 20%~30% of chemical fertilizers, the plant height, above-ground biomass, ear length, ear diameter, ear number per unit area, grain number per ear and economic yield of maize were all raised. In the demonstrative fields in 2010, the inoculant treatment (inoculant + 80% fertilizer) could increase maize yield by 9.86%, reduce cost by 620.1 yuan·hm<sup>-2</sup>, increase income by 2 291.4 yuan·hm<sup>-2</sup>, and increase direct economic benefit by 2 851.5 yuan·hm<sup>-2</sup>.

**Keywords:** plant growth promoting rhizobacteria (PGPR); inoculant; maize; biomass; economic yield

农作系统中,由于各种自然和人为因素(尤指不合理施用化肥及灌溉)影响,导致土壤质量及其可持续性下降(甚至丧失其理化特性和生物学特征,即土

地退化)已成为困扰农业生产的重要因素之一<sup>[1]</sup>。土壤微生物是土壤有机复合体的重要生物组成部分,在有机物质分解、转化过程中起主导作用。同

收稿日期:2012-10-31

基金项目:国家科技支撑计划(2007BAD89B17,2012BAD14B10);国家自然科学基金(30960265)

作者简介:荣良燕(1983—),女,甘肃兰州人,在读博士生,研究方向为草地生物多样性。

通信作者:姚拓(1968—),男,教授,博士生导师,研究方向为草业科学及生物多样性。E-mail:yaotuo@gsau.edu.cn。

时,各类土壤微生物具有很强的生物化学活性,从而能动地影响生态系统能量流动和物质循环过程,在土壤肥力评价和生物净化等方面发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。近年来,国内外研究表明,植物根际存在着促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR),这类菌大多数可以固定空气中的氮气,一些菌还兼具溶解土壤中不能被植物直接吸收利用的磷素、分泌植物生长调节物质(如 IAA 和 GA 等)、促进植物根系生长和矿物质吸收、增强植物抗病性等功能<sup>[3-8]</sup>。利用从不同环境、不同植物群落根际分离、筛选的优良促生菌研制的接种剂(或生物菌肥)不仅具有肥效作用,同时可活化土壤,调节土壤生物化学过程,改善土壤团粒结构,提高土壤有机质含量和改良盐碱地。此外,还可以减少生产和使用农药、化肥带来的环境和食品污染及非再生能源消耗。因此,土壤微生物资源的定向利用已成为现代农业技术的热点研究领域之一。

玉米(*Zea mays* L.)是世界上分布最广泛的粮食作物之一,种植面积仅次于小麦和水稻。为了满足玉米生产所需的氮素、磷素等营养物质,获得高产稳产,施用化肥是解决这一问题的主要途径。然而在经济欠发达且贫瘠的西部地区,大量使用化肥不但助推了农业生产成本的提高和环境及食品污染,同时也随着化肥施用量的增加,出现了肥效下降、利用率降低等现象。因此,探寻其它肥料来源以部分替代化肥已迫在眉睫。为此,本研究在前期工作基础上,进一步筛选优良促生菌,研制“环境友好”型促生、防病复合根际接种剂,测定用其部分替代化肥后对作物生长的影响,为微生物肥源部分替代化肥以减少购买性投入量,实现定向利用微生物资源提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

供试材料为前期研究<sup>[9-12]</sup>从甘肃省中部干旱地区种植的主要作物(小麦、玉米等)及牧草(紫花苜蓿、红三叶等)根际分离获得的 10 株促生菌 *Azotobacter* sp. Lx191、*Pseudomonas* sp. Jm92、LM4-3、LH12-3、LHS11、*Bacillus* sp. 170、LS1-1、LS1-2、LS3 和 LM4-3。

### 1.2 优良促生菌筛选

测定供试菌株固氮酶活性、溶磷量、分泌植物生长素、对病原菌拮抗性<sup>[10-12]</sup>及培养特性等指标,筛选优良菌株,为研制植物根际复合接种剂提供菌种。

#### 1.2.1 固氮酶活性测试

利用 NFM(nitrogen free

medium)培养基和 LB(Luria-Bertani)培养基,按文献<sup>[11]</sup>的方法,将供试菌株分别接种于盛有 5 mL 半固体 NFM 培养基的血清瓶中(每菌株 5 个重复),结合气相色谱仪(Trace GC2000, Italy),利用乙炔还原法(acetylene reduction assay, ARA)确定菌株是否有固氮酶活性<sup>[11]</sup>,按下式计算固氮酶活性。

$$N = \frac{hx \times C \times V}{hs \times 24.9 \times t}$$

其中,  $hx$  为样品峰值;  $hs$  为标准  $C_2H_4$  峰值;  $C$  为标准  $C_2H_4$  浓度( $nmol \cdot mL^{-1}$ );  $V$  为培养容器体积( $mL$ );  $t$  为样品培养时间( $h$ );  $N$  为产生的  $C_2H_4$  浓度( $nmol \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$ )。

1.2.2 溶磷性测试 选用 Pikovaskaia's<sup>[12]</sup>,将供试菌株点接种于盛有 Pikovaskaia's 培养基的培养皿中,每皿 4 个重复,每一菌株 4 皿,置于 28℃ 下培养 10 d。观察接种菌株周围有无透明圈形成及其直径大小,以判断该菌株有无溶磷性<sup>[12]</sup>。制备上述形成透明圈菌株的悬浮液( $1 \times 10^8$  个  $\cdot mL^{-1}$ )。取 1 mL 菌株悬浮液接种于 50 mL 液体培养基中(每一菌株 5 个重复),置于轨道摇床上( $28^\circ C, 160 r \cdot min^{-1}$ )培养 10 d 之后在 4℃ 下离心( $10\,000 r \cdot min^{-1}$ ) 15 min,取上清液用钼酸铵比色法测定有效磷(P)的含量<sup>[12]</sup>。对照除不接种菌株外与处理相同。

1.2.3 分泌植物生长素(IAA)性能测定 选用 CCM(combined carbon medium)液体培养基<sup>[12]</sup>。将 1 mL 供试菌株的悬浮液( $1 \times 10^8$  个  $\cdot mL^{-1}$ )接种于盛有 50 mL CCM 液体培养基的三角瓶中(每一菌株 5 个重复),置于摇床上( $28^\circ C$ )培养 12 d。菌株培养液经低温离心后,取其上清液置于冰冻干燥仪中浓缩,并用  $1 mol \cdot L^{-1}$  HCl 调 pH 值至 2.8。用乙酸乙酯提取 IAA( $V_{\text{菌株培养液}}:V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:3$ )。提取液在低温下蒸发至干燥,再用 1.5 mL 100% 乙醇溶解后盛在 2 mL 离心管中。对照除不接种菌株外与处理相同。同时配制  $50 \mu g \cdot mL^{-1}$  的 IAA 标准液。利用高效液相色谱仪(HPLC)按文献<sup>[12]</sup>的方法和步骤测定 IAA 含量。

1.2.4 促生菌对病原真菌拮抗作用测定 将上述筛选出的优良菌株,采用平板对峙法测定其与病原真菌的拮抗作用。将保存在 PDA 斜面上的病原真菌接种到 PDA 平板上,25℃ 培养 5~7 d。细菌接种在 LB 液体培养基中, $150 r \cdot min^{-1}$ ,培养 48 h,细菌菌液浓度  $10^6 \mu g \cdot mL^{-1}$  备用。再将真菌与细菌同时接种在 PDA 平板上,平板中心接种真菌,菌饼直径为 6 mm;距中心 1.7~1.8 cm 处接种细菌,采用滴下法(即用移液枪,将菌液垂直滴加在培养基平面上),每

种组合3个重复。25℃培养6 d,测量真菌距细菌远端和近端的半径,计算抑菌率<sup>[13]</sup>。

1.3 复合接种剂制作及质量检测

1.3.1 复合接种剂制作 将上述1.2筛选出的各优良促生菌分别接种于LB(Luria-Bertani)液体培养基中,于28℃、125 r·min<sup>-1</sup>培养48 h。待菌株充分生长后,利用紫外分光光度计测定各菌株悬浮液OD(Optical density)值,用无菌水调其OD值为0.5,并将各菌株悬浮液按一定的体积比混合,待混合菌株充分生长后再盛于装有150 mL LB液体培养基的三角瓶内,于28℃、125 r·min<sup>-1</sup>培养2~3 d。测发酵菌液OD值,当OD值大于0.5(波长660 nm)时,用灭菌量筒将菌液注入灭菌玻璃瓶中常温密封保存。并定期对接种剂有效活菌数、是否污染和菌种特性变化等进行检测。

1.3.2 接种剂质量检测 采用稀释平板法,将保存在室温的接种剂分别在30、60、90、120、150、180、360 d各测定一次有效活菌数;采用肉眼直接观察法和显微镜观察法,检查制作的接种剂保存一段时间后是否有霉变(如青霉、曲霉污染)、是否有异味产生和变色等。

1.4 复合接种剂对作物生长影响测定

2009年和2010年,以玉米为研究对象,以当地常用施肥量为基准,在此基础上减少化肥用量20%、30%,代之以本研究研制的复合接种剂,测定其替代部分化肥对玉米生长和产量的影响。

1.4.1 试验区自然概况 试验设在甘肃省武威市农业科学研究所试验基地。该基地位于河西走廊东端,平均海拔1 506 m,年平均降水量156 mm、年蒸发量2 400 mm,年均温7.2℃,全年无霜期156 d,年日照时数2 945 h,土壤为荒漠灌淤土,有机质含量12.52 g·kg<sup>-1</sup>、全氮含量0.68 g·kg<sup>-1</sup>、全磷含量1.41 g·kg<sup>-1</sup>。

1.4.2 试验材料 玉米种子:武科二号(甘肃省武威市农科所万廷文研究员提供);化肥:市售尿素(刘家峡),磷二铵(美国嘉吉);地膜宽度:1.4 m;菌剂:本研究制作接种剂。

1.4.3 试验设计 试验设3个处理,即:①对照(CK,当地常用化肥施用量,100%化肥);②处理A(菌剂+70%化肥);③处理B(菌肥+80%化肥);每处理3个重复,共9个小区(随机排列),每个小区面积28 m<sup>2</sup>。播种量为79.5 kg·hm<sup>-2</sup>,条播,株距和行距均为30 cm。

1.4.4 复合接种剂及化肥使用方法 播种前将种

子(最好不要用农药包衣)用菌剂拌种,置于荫凉、避光处2 h(使细菌充分附着在种子表面)后可播种。接种剂用量为1 000 ml拌20 kg玉米种子。对照处理的种子用无菌水拌种。

化肥施肥量:对照(100%化肥)用量为尿素600 kg·hm<sup>-2</sup>和磷二铵495 kg·hm<sup>-2</sup>,其余各处理分别按比例减少化肥施用量。其中尿素基、追肥(大喇叭口期和开花期)量比为3:7(基肥:大喇叭口期追肥:开花期追肥=3:6:1)。

1.4.5 测定指标 用常规法测定不同时期玉米株高、地上植物量,成熟期穗长、穗粗、单位面积穗数、穗粒数、百粒重和经济产量等。经济产量取样方法为每小区面积一半,待玉米穗完全风干至恒重后,剥离籽粒进行测量,计算平均值。

2 结果与分析

2.1 优良促生菌株筛选

通过测定供试菌株的溶磷量、固氮酶活性、分泌植物生长激素量、对病原菌的拮抗作用及菌株生长速度,筛选出了5株具有较好促生特性的优良菌株(表1)。如菌株Jm 92具有固氮、溶磷菌和分泌植物生长素特性;菌株Lx 191对黄瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*)有较好的抑制效果,兼具溶磷菌和分泌植物生长素特性;LHS11对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)和西瓜尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum* f. *niveum*)有较好的抑制效果(抑菌率可达到80%以上,见另文<sup>[13]</sup>),兼具固氮、溶磷菌和分泌植物生长素特性,5株菌株生长速度均较快。

2.2 接种剂及其质量

经各菌株间拮抗反应测定,5株优良菌株彼此间不发生拮抗反应,可将其按照一定的比例混合培养并制作物根际复合接种剂(已申报国内发明专利,申请号:200910135681.1),其部分质量检测结果见表2。

有效活菌数及菌剂是否被杂菌污染是表征接种剂质量的重要指标。表2表明,本研究制作的接种剂储存于室温下,在测定的时间段内有效活菌数呈下降趋势,但在210 d内有效活菌数均在10<sup>8</sup> cfu·g<sup>-1</sup>以上,且无污染,符合《微生物肥料》NY227-94标准,其中45 d后的有效活菌数最多,菌种特性稳定。240 d后,其有效活菌数迅速下降至0.81×10<sup>8</sup> cfu·g<sup>-1</sup>,且伴有杂菌污染和霉变现象。建议该接种剂生产后,最好在七个月内使用,确保其效果的发挥。

表 1 优良菌株的主要特性

Table 1 Characteristics of tested PGPR strains

| 菌株编号<br>Strain<br>code          | 菌株来源<br>Strain<br>origin            | 生长速度<br>Growth<br>rate | 固氮酶活性<br>Nitrogenase activity<br>/(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmol·ml <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> ) | 溶磷量<br>Phosphate dissolving<br>capacity<br>/(mg·L <sup>-1</sup> ) | 分泌生长素<br>IAA secreting<br>ability<br>/(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 抑制病原菌<br>Antagonized<br>pathogen                                            |
|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| * LM4-3                         | 紫花苜蓿 Alfalfa                        | +++                    | —                                                                                                         | 235.3                                                             | 17.24                                                        | —                                                                           |
| * LHI2-3                        | 红三叶 Red clover                      | +++                    | —                                                                                                         | 272.2                                                             | —                                                            | —                                                                           |
| <i>Azotobacter</i> sp.<br>Lx191 | 小麦、玉米、紫花苜蓿<br>Wheat, maize, alfalfa | +++                    | —                                                                                                         | 200.2                                                             | 1.98                                                         | <i>Fusarium oxysporium</i><br>f. sp. <i>cucumerinum</i>                     |
| <i>Pseudomonas</i> sp.<br>Jm92  | 小麦、玉米、紫花苜蓿<br>Wheat, maize, alfalfa | +++                    | 75.34                                                                                                     | 132.6                                                             | 3.72                                                         | —                                                                           |
| * LHS11                         | 红三叶、玉米<br>Red clover, maize         | +++                    | 239.32                                                                                                    | 58.42                                                             | 0.86                                                         | <i>Rhizoctonia solani</i><br><i>Fusarium oxysporium</i><br>f. <i>niveum</i> |

注：\* 待鉴定。NOTE：\* Unidentified strain.

表 2 根际接种剂质量检查

Table 2 Quality check of rhizosphere inoculant

| 储存天数<br>Storage<br>period | 有效活菌数<br>Number of effective<br>bacteria/(10 <sup>8</sup> cfu·g <sup>-1</sup> ) | 污染情况<br>Contamination |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 30d                       | 17.3                                                                            | —                     |
| 45d                       | 25.6                                                                            | —                     |
| 60d                       | 15.0                                                                            | —                     |
| 75d                       | 10.0                                                                            | —                     |
| 90d                       | 7.50                                                                            | —                     |
| 120d                      | 7.44                                                                            | —                     |
| 150d                      | 5.32                                                                            | —                     |
| 180d                      | 4.51                                                                            | —                     |
| 210d                      | 3.16                                                                            | —                     |
| 240d                      | 0.81                                                                            | +                     |

注：“+”表示污染，“-”表示无污染。  
Note：“+” Contaminated；“-” Uncontaminated.

表 3 微生物接种剂对玉米各物候期株高的影响/cm

Table 3 Effect of inoculant on plant height of maize in different growth stages

| 处理<br>Treatment | 拔节期 Jointing |       | 抽穗期 Heading |        | 开花期 Anthesis |        | 灌浆期 Filling |        | 成熟期 Maturity |        |
|-----------------|--------------|-------|-------------|--------|--------------|--------|-------------|--------|--------------|--------|
|                 | 2009         | 2010  | 2009        | 2010   | 2009         | 2010   | 2009        | 2010   | 2009         | 2010   |
| A               | 59.7a        | 70.3b | 139.9a      | 168.4a | 195.9a       | 213.4b | 214.8a      | 221.9b | 215.7a       | 235.5b |
| B               | 56.4a        | 75.6a | 146.1a      | 172.0a | 196.9a       | 235.9a | 225.7a      | 236.9a | 225.8a       | 248.2a |
| CK              | 56.6a        | 64.9b | 141.3a      | 159.3b | 202.7a       | 224.6b | 217.3a      | 214.2b | 218.8a       | 222.5b |

注：处理 A：菌剂 + 70% 化肥；处理 B：菌剂 + 80% 化肥；CK：当地常用化肥施用量，100% 化肥。同列相同小写字母表示差异不显著，不同字母表示差异达 5% 显著水平。下表同。

Note：Treatment A：Inoculant + 70% fertilizer；Treatment B：Inoculant + 80% fertilizer；CK：Normal fertilizer application (100% fertilizer). Different small letters in same columns denote significant difference at  $P = 0.05$ . Hereinafter the same.

2.3.2 对地上植物量的影响 植物量高低可反映植物群落光合产物积累大小,是生产力的度量也是群落功能的体现。施用研制的微生物接种剂替代部分化肥对玉米地上植物量影响测定结果见图 1。

从图 1 可以看出,2009 年,拔节期和开花期各

2.3 接种剂对玉米生长的影响

2.3.1 对株高的影响 株高是植物的形态指标,植株高大,有利于形成较高的植物产量。2009、2010 年在研究区施用微生物接种剂,同时减少化肥施用量,测定接菌剂对玉米株高的影响,结果见表 3。

从表 3 可以看出,2009 年,用微生物接种剂替代部分化肥的处理(处理 A、B)与全量化肥处理(CK)相比,不同物候期,玉米株高虽有差异,但差异不显著( $P \geq 0.05$ )。2010 年的结果与 2009 年相似,但 2010 年处理 B(菌肥甲 + 80% 化肥)拔节期和抽穗期株高与对照差异显著,开花期、灌浆期及成熟期均与处理 A 及对照差异显著( $P \leq 0.05$ )。处理 B 拔节期、抽穗期、开花期、灌浆期和成熟期株高比 CK 分别增加了 16.5%、8.0%、5.0%、10.6% 和 11.5%。

处理地上植物量差异不显著,成熟期处理 B 低于对照;2010 年,不同物候期各处理地上植物量均高于对照,而处理 B 玉米地上植物量明显高于其他处理。即处理 B 可以代替 20% 化肥,同时还可起到增产效果,处理 B 效果好于处理 A 效果。

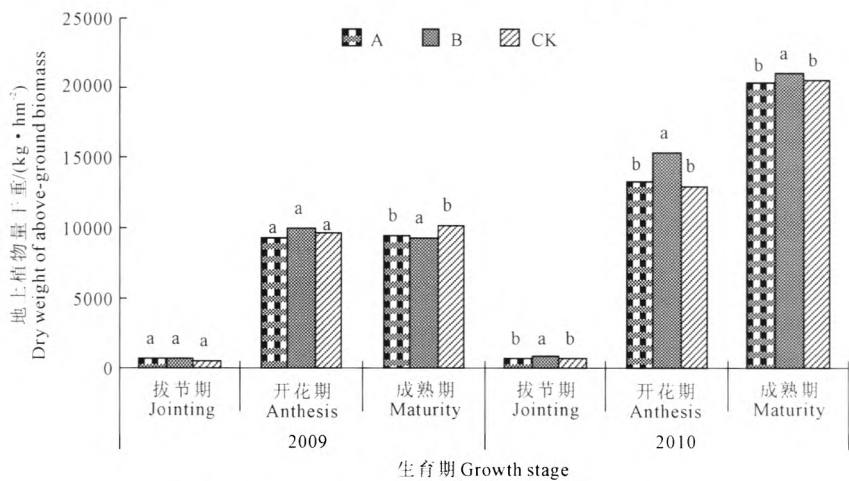


图 1 微生物接种剂对玉米地上植物量的影响

Fig.1 Effect of inoculant on above-ground biomass of maize in different growth stages

2.3.3 对玉米成熟期各指标的影响 对成熟期玉米单位面积穗数、穗长、穗粗、每穗籽粒数和百粒重等指标测定表明,2009 年,接种剂替代 20% ~ 30% 的化肥对上述指标影响很小。各处理间单位面积穗数、穗粗和穗粒数差异不显著;处理 B 的穗长与对照差异显著,与处理 A 差异不显著(表 4)。2010 年,各处理间穗长、百粒重和穗粗差异不显著;处理 B

的单位面积穗数与对照差异显著,与处理 A 差异不显著;处理 B 的穗粒数与处理 A 差异不显著,但与对照差异显著(表 4)。相比较,2010 年的效果较 2009 年好。从玉米的单位面积穗数、穗长、穗粗、每穗籽粒数和百粒重等指标看,施用微生物接种剂可替代 20% ~ 30% 的化肥。

表 4 微生物接种剂对玉米产量构成因素的影响

Table 4 Effect of inoculant on yield components of maize

| 处理<br>Treatment | 穗数 Ear number/667m <sup>2</sup> |       | 穗长 Ear length/cm |       | 穗粗 Ear diameter/cm |       | 穗粒数 Grains per ear |      | 百粒重 100-grain weight/g |        |
|-----------------|---------------------------------|-------|------------------|-------|--------------------|-------|--------------------|------|------------------------|--------|
|                 | 2009                            | 2010  | 2009             | 2010  | 2009               | 2010  | 2009               | 2010 | 2009                   | 2010   |
| A               | 5397a                           | 6908a | 17.6a            | 17.9a | 4.39a              | 5.39a | 566a               | 657a | 32.91b                 | 32.13a |
| B               | 5439a                           | 7146a | 18.3a            | 21.2a | 4.67a              | 5.66a | 570a               | 676a | 33.43a                 | 35.78a |
| CK              | 5320a                           | 6670b | 16.7b            | 19.8a | 4.43a              | 5.48a | 554a               | 622b | 32.69b                 | 34.47a |

玉米经济产量是衡量玉米产量的最重要参数。玉米收获后经风干剥离玉米籽粒测定其经济产量表明,处理 B 在 2009 年和 2010 年经济产量分别达到了 13 662.26 kg·hm<sup>-2</sup> 和 18 262.65 kg·hm<sup>-2</sup>(图 2),与对照相比经济产量提高了 8.2% 和 6.6%。处理 B 效果最佳。显著性分析表明,2009 年处理 A 与对照差异不显著,处理 B 与处理 A、对照差异显著;2010 年的结果与 2009 年相似。说明减少 30% 化肥,代之以微生物接种剂,玉米产量不降低。处理 B 与对照相比经济产量还提高了 6.6% ~ 8.2%。

综合 2009 年和 2010 年两年的试验结果,从玉米株高、地上植物量、穗长、穗粗、单位面积穗数、穗粒数、百粒数和经济产量等各项指标分析,施用微生物接种剂可替代 20% ~ 30% 的化肥,而且产量稳定,处理 B 同时可以实现增产 6.6% ~ 8.2%。

2.3.4 微生物接种剂大田推广效果 2010 年 4—10 月,研制的微生物接种剂交由甘肃省武威市农业

科学研究所进行了大田推广(按处理 B),结果表明,施用接种剂不但可以节约 20% 的化肥,同时可使小麦增产 17.89%,玉米增产 9.86%(表 5)。

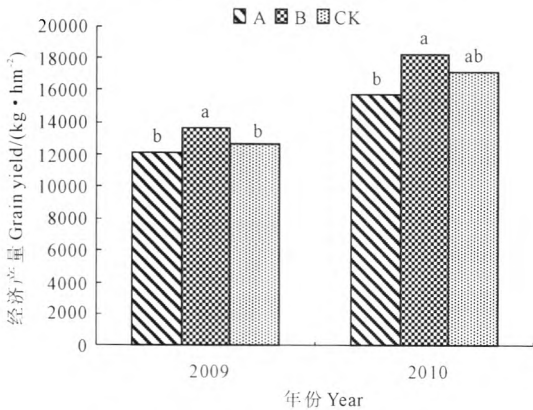


图 2 微生物接种剂对玉米经济产量的影响(2009 和 2010 年)

Fig.2 Effect of inoculant on grain yield of maize

表 5 微生物接种剂大田推广效果/(kg·hm<sup>-2</sup>)

Table 5 Effect of inoculant in demonstrative fields

| 处理<br>Treatment                         | 小麦<br>Wheat<br>/(kg·hm <sup>-2</sup> ) | 增产<br>Increase<br>/% | 玉米<br>Maize<br>/(kg·hm <sup>-2</sup> ) | 增产<br>Increase<br>/% |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------|----------------------------------------|----------------------|
| 微生物接种剂(处理 B)<br>Inoculant (Treatment B) | 7254                                   | 17.89                | 13443                                  | 9.86                 |
| 对照 Control                              | 6153                                   | —                    | 12237                                  | —                    |

注:数据由武威市农业科学研究所提供。

Note: The data are from Wuwei Institute of Agricultural Sciences.

表 6 玉米施用微生物接种剂直接经济效益概算

Table 6 Economic benefit of inoculant application for maize

| 减少化肥收益<br>Benefit of fertilizer reduction                     |                                          |                                                     |                                             | 增产收入<br>Income of yield increase                |                                          |                                                      | 种子包<br>衣费<br>Cost of<br>seed coating | 微生物<br>接种剂<br>Inoculant<br>cost | 合计<br>Total               |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| 减少量<br>Amount<br>/(kg·hm <sup>-2</sup> )                      | 价格<br>Price<br>/(yuan·kg <sup>-1</sup> ) | 节约开支<br>Cost reduction<br>/(yuan·hm <sup>-2</sup> ) | 小计<br>Subtotal<br>/(yuan·hm <sup>-2</sup> ) | 增产<br>Yield increase<br>/(kg·hm <sup>-2</sup> ) | 价格<br>Price<br>/(yuan·kg <sup>-1</sup> ) | 增产收入<br>Income increase<br>/(yuan·hm <sup>-2</sup> ) | /(yuan·hm <sup>-2</sup> )            | /(yuan·hm <sup>-2</sup> )       | /(yuan·hm <sup>-2</sup> ) |
| 磷二铵<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub><br>99 | 3.90                                     | 386.1                                               | 620.1                                       | 1206                                            | 1.90                                     | 2291.4                                               | 20.0                                 | - 80.0                          | 2851.5                    |
| 尿素<br>CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub><br>120                | 1.95                                     | 234.0                                               |                                             |                                                 |                                          |                                                      |                                      |                                 |                           |

注:(1) 化肥价格为当地平均购买价(磷二铵 50 kg,195 元;尿素 40 kg,78 元);(2) 使用菌剂的种子不需要包衣;(3) 微生物接种剂 1 000 ml 拌种 20 kg 玉米种子,每 1 000 ml 菌肥 20 元;(4) 增产:按武威市农业科学研究所提供数据,玉米价格按当地收购价计算。

Note: (1) The price of fertilizers: (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 195 yuan·50kg<sup>-1</sup>; CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>: 78 yuan·40kg<sup>-1</sup>. (2) The seeds with inoculant do not need to be coated. (3) 1 000 ml inoculant can be used for 20 kg seeds of maize, with a cost of 20yuan. (4) The yield data are from Wuwei Institute of Agricultural Sciences, and the price of maize is based on the local markets.

3 讨 论

土壤氮、磷素缺乏是许多国家面临的共同问题。就我国而言,74%的耕地缺磷,且土壤中 95% 以上的磷素为无效态,施入磷肥当季利用效率为 5% ~ 25%,大部分磷素与土壤中的 Ca<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Al<sup>3+</sup> 等结合形成难溶性磷酸盐<sup>[14]</sup>。因此,如何提高土壤中氮、磷素利用效率已是生产中亟待解决的问题。目前,国内外学者已从一些重要的作物如水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、甘蔗(*Saccharum officinarum*)和棉花(*Anemone vitifolia*)等作物根际筛选出大量优良促生菌株,部分菌株已用于商业化菌肥生产,在农业生产中发挥着重要作用。如 Malik 等利用分离自禾谷类作物根际的联合固氮菌 *Azospirillum brasilense* K-1、*Azospirillum brasilense* sp-7、*Azotobacter* sp K-9 接种 Kallar 草发现,上述菌株可使其根系、茎秆、生物量分别增加 10.0%、51.3%、11.5%;8.9%、23.6%、1.0% 和 9.0%、28.4%、2.5%<sup>[15]</sup>;Pishchik 等研究发现,在马铃薯(*Solanum tuberosum*)根际接种固氮菌株 *Klebsiella mobilis* CIAM880 和 CIAM853,不但可使马铃薯产量增加 1.2 ~ 1.4 倍,同时可提高马铃薯质量(增加淀粉等含

2.3.5 使用微生物接种剂直接经济效益分析 农业生产中,在不破坏农业环境的前提下,高产出和低投入是我们的目标。本研究以微生物接种剂为例(处理 B),按市场价格,分析使用微生物接种剂的直接经济效益,概算结果表明,使用本专题研制的微生物接种剂(处理 B),减少化肥投入、增产收入、合计收益分别为 620.1 元·hm<sup>-2</sup>、2 291.4 元·hm<sup>-2</sup>和 2 851.5 元·hm<sup>-2</sup>(表 6)。

量),抑制 *Erwinia carotovora* CIAM884 引起的马铃薯软腐病<sup>[16]</sup>;Hussain 等将分离自甘蔗(*Saccharum officinalis*)根际的固氮菌株(兼具分泌植物激素) *Herbaspirillum* ZM176、*Herbaspirillum* SS1、*Herbaspirillum* SS20、*Azospirillum* SR10、*Acetobacter* SR23、*Acetobacter* SR46 接种于甘蔗,测定发现:其茎秆、根重及根面积分别比对照(未接种)增加 148.6%、139.3%、125.3%、206.3%、97.9% 和 155.3%;119.96%、10.79%、36.68%、98.59%、99.07% 和 142.01%;52.9%、- 20.1%、- 11.4%、29.1%、24.7% 和 31.5%<sup>[17]</sup>;Mirz 等将分离自水稻根际的固氮菌株 *Azospirillum* N-4 接种于水稻(*Oxyza sativa*)根际,测得水稻根系增重 78.1%,茎秆增重 59.0%<sup>[18]</sup>;张堃等通过对青稞施用固氮菌接种剂发现,“半量氮肥+固氮菌肥”与全量氮肥有相近的效果,即在该地区以“联合固氮菌肥+半量氮肥”的施用方式可以节省一半氮肥(56.25 kg·hm<sup>-2</sup>)<sup>[19]</sup>;Yanni 等从水稻根际分离出联合固氮细菌(*Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*)并接种于水稻,发现可显著增加宿主植物的粗蛋白含量( $P < 0.05$ ),极显著的增加籽粒产量、籽粒粗蛋白含量和水稻收获指数( $P < 0.01$ )<sup>[20]</sup>;Biswas 等人发现在田间接种联合固氮菌后可使总产量和氮

素积累分别增加  $3.6 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$  和  $19\% \sim 28\%$ <sup>[21]</sup>。Yanni 等在田间用 1/3 氮肥用量加联合固氮(*R. trifolii*)菌肥施用于水稻,获得了与施用全量氮肥( $144 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )相当的产量,相当于节约氮肥  $96 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ <sup>[22]</sup>。Govindarajan 等将 *Burkholderia* MG43 接种于甘蔗,发现其可代替一半氮肥,可节省氮肥  $70 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ <sup>[23]</sup>。从国内外学者的研究及本研究可看出,促生菌肥在田间的应用效果存在着很大差异。其主要原因是施用区气候特点、宿主植物、促生菌种类、土壤状况和接种方式等诸多因素都可显著地影响菌肥在田间的效果。因此,如何优化各种因子,以达到最佳的田间接种效果还需要进一步的深入研究。

本研究中,同一物候期玉米株高、地上植物量 2010 年数据比 2009 年高的原因之一是 2010 年因降雨原因,采样时间较 2009 年晚约 1 周。

本研究对甘肃境内干旱、盐碱地获得的植物根际促生菌进行了层层筛选,获得了 5 株优良菌株,按照一定的比例混合培养并制作物根际复合接种剂,经两年同一地点的田间试验及大田推广表明,施用本研究研制的微生物接种剂可以减少化肥施用量  $20\% \sim 30\%$ ,同时可以实现玉米增产  $9.86\%$ 。从直接经济效益上看,使用研制的微生物接种剂(处理 B),虽可降低购买性成本(减少化肥)投入(表 6),但其效益似乎并不大。但实际上,因减少化肥施用量而使化肥在农产品中残留和污染程度降低,农产品的品质得到改善,食品的安全性和可信度提高,导致产品价格提升等间接经济效益潜力较大。此外,其社会和生态效益也很大的。如使用微生物接种剂可减少因生产、使用和运输化肥带来的环境污染和对食品安全的威胁;减少因生产化肥对非再生能源的大量消耗;减少因使用化肥等对空气、土壤及水质的污染以及对土壤理化结构、微生物区系和多样性等的破坏,对于保障农牧业可持续发展具有一定的意义。因此,利用微生物—作物共济资源可望成为研究区高效化循环农业生产的一种新模式。

#### 参考文献:

- [1] 赵其国,孙波,张桃林.土壤质量与持续环境.土壤质量的定义及评价方法[J].土壤,1997,(3):113-120.
- [2] 许光辉,郑洪元.土壤微生物分析方法手册[M].北京:农业出版社,1986.
- [3] Banchio E, Bogino P C, Zygadlo J, et al. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochem[J]. Syst. Ecol., 2008,36:766-771.
- [4] Bardas G A, Lagopodi A L, Kadoglidou K, et al. Biological control of three *Colletotrichum lindemuthianum* races using *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 and *Pseudomonas fluorescens* WCS365 [J]. Biol. Control, 2009,49:139-145.
- [5] Esitken A, Yildiz H E, Ercisli S, et al. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry[J]. Sci. Hort. - Amsterdam, 2010,124:62-66.
- [6] Kumar S, Pandey P, Maheshwari D K. Reduction in dose of chemical fertilizers and growth enhancement of sesame (*Sesamum indicum* L.) with application of rhizospheric competent *Pseudomonas aeruginosa* LES4[J]. Eur. J. Soil Biol., 2009,45:334-340.
- [7] Liu H, Wu X Q, Ren J H, et al. Isolation and identification of phosphobacteria in poplar rhizosphere from different regions of China[J]. Pedosphere, 2011,21(1):90-97.
- [8] Oliveira C A, Alves V M C, Marriel I E. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an Oxisol of the Brazilian Cerrado Biome[J]. Soil Biol. Biochem., 2009,41:1782-1787.
- [9] YAO T, YASMIN S, HAFEEZ F Y. Potential role of rhizobacteria isolated from Northwestern China for enhancing wheat and oat yield [J]. The Journal of Agricultural Science, 2008,146:49-56.
- [10] 姚拓,王刚,龙瑞军,等.兰州地区盐碱地小麦根际联合固氮菌分离及部分特性研究[J].土壤学报,2004,(3):444-448.
- [11] 姚拓,张德罡,胡自治.高寒地区燕麦根际联合固氮菌研究 I 固氮菌分离及鉴定[J].草业学报,2004,(2):106-111.
- [12] 姚拓.高寒地区燕麦根际联合固氮菌研究 II 固氮菌的溶磷性和分泌植物生长素特性测定[J].草业学报,2004,(3):85-90.
- [13] 荣良燕,姚拓,赵桂琴,等.产铁载体 PGPR 菌筛选及其对病原菌的拮抗作用[J].植物保护,2011,(1):59-64.
- [14] 赵小蓉,林启美.微生物解磷的研究进展[J].土壤肥料,2001,(3):7-11.
- [15] Malik K A, Bilal R. Survival and colonization of inoculated bacteria in kallar grass rhizosphere and quantification of  $\text{N}_2$ -fixation [C]// Skinner F A. Nitrogen Fixation with Non-legumes. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1989:301-310.
- [16] Pishchik V N, Chernyaeva I I, Kozhemaykov A P, et al. Effect of inoculation with nitrogen-fixing *Klebsiella* on potato yield [C]// Malik K A, Mirza M S, Ladha J K ed. Proceedings of the 7th international symposium on nitrogen fixation with non-legumes. The Netherlands: Kluwer Publishers, 1998:223-235.
- [17] Hussain S, Mirza M S, Malik K A. Production of phytohormones by the nitrogen fixation bacteria isolated from sugarcane [J]. Biohorizons, 1999,2(1-4):61-76.
- [18] Mirz M S, Rasul G, Mehnaz S. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice [J]. Biol Fertil Soils, 2000,31:191-204.
- [19] 张堃,姚拓,张德罡,等.高寒地区联合固氮菌肥对青稞的促生效应研究[J].植物营养与肥料学报,2010,(3):708-713.
- [20] Yanni Y G, Rizk R Y, El-Fattah F K, et al. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* with rice roots [J]. Aust J Plant Physiol, 2001,28:845-870.
- [21] Biswas J C, Ladha J K, Dazzo F B, et al. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice [J]. Agronomy J, 2000,92:880-886.
- [22] Yanni Y G, Rizk R Y, Corich V, et al. Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth [J]. Plant Soil, 1997,194:99-114.
- [23] Govindarajan M, Balandreau J, Muthukumarasamy R, et al. Improved yield of micropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis* [J]. Plant Soil, 2006,280:239-252.