

青稞根际优良联合固氮菌的筛选及鉴定

何建清,张格杰,赵伟进,王孝先

(西藏农牧学院生物技术中心,西藏 林芝 860000)

摘要:为筛选获得对青稞具有促生性能的联合固氮菌,从西藏不同地区青稞根际采集土壤样品,以 Ashby 无氮培养基进行菌株分离,利用凯氏定氮法测定分离物的固氮量,通过培养皿纸上萌发法测定其对青稞种子萌发和幼苗生长的影响,根据菌株形态、理化特性和 16SrDNA 序列分析进行固氮菌株的鉴定。结果表明:从西藏高寒地区青稞根际分离获得的 72 株联合固氮菌,和 CK 相比,氮增量为 $0.30\sim 26.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其中有 10 个菌株的固氮量较高,氮增量为 $17.01\sim 26.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。种子萌发和幼苗生长试验表明:10 株菌中 6 株菌的综合促生效果较好,即菌株 20-2、22-5、23-3、26-1、35-2 和 39-5。和 CK 相比,种子萌发率提高了 $-7.14\%\sim 25.00\%$,茎粗提高了 $1.53\%\sim 13.74\%$,株高提高了 $-9.52\%\sim 7.60\%$,根长提高了 $9.41\%\sim 38.09\%$,须根数提高了 $-11.26\%\sim 12.57\%$,鲜重提高了 $-4.97\%\sim 57.73\%$ 。经过多相分类鉴定,这 6 株菌分属于根瘤菌属、类芽孢杆菌属、无色杆菌属和假单胞菌属。

关键词:联合固氮菌;筛选;促生效应;鉴定;青稞

中图分类号:S182;S512.3 **文献标志码:**A

Screening and identification of superior associative nitrogen fixing bacteria in rhizosphere of *Hordeum vulgare*

HE Jian-qing, ZHANG Ge-jie, ZHAO Wei-jing, WANG Xiao-xian

(Biotechnology Center of Tibet Agriculture and Animal Husbandry College, Linzhi, Tibet 860000, China)

Abstract: In order to screen the combined nitrogen-fixing bacteria, which can promote barley growth, soil samples were collected from the rhizosphere of barley in different regions of Tibet. The strains were isolated on Ashby nitrogen-free medium. The fixed nitrogen content of the isolates was determined by Kjeldahl method. The germination of barley seeds and seedlings were determined by the method of culture dish paper germination. According to the strain morphology, physical and chemical characteristics, and 16S rDNA sequence analysis, nitrogen-fixing strains were identified. The results showed that 72 strains of associative nitrogen-fixing bacteria were isolated from barley rhizosphere in Tibet. The fixed nitrogen amount was between $0.30\sim 26.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, of which 10 strains had higher nitrogen-fixing amount. Compared with CK, the fixed nitrogen amount increased by $17.01\sim 26.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The results of seed germination and seedling growth test showed that 6 of the 10 strains had better comprehensive promoting effect, namely strains 20-2, 22-5, 23-3, 26-1, 35-2 and 39-5. Compared with CK, seed germination rate increased by $-7.14\%\sim 25.00\%$, stem diameter increased by $1.53\%\sim 13.74\%$, plant height increased by $-9.52\%\sim 7.60\%$, root length increased by $9.41\%\sim 38.09\%$, fibrous root number increased by $-11.26\%\sim 12.57\%$, fresh weight increased by $-4.97\%\sim 57.73\%$. The six strains belonged to *Rhizobium*, *Bacillus*, *Achromobacter* and *Pseudomonas*.

Keywords: associative nitrogen-fixing bacteria; screening; growth promoting effect; identification; *Hordeum vulgare*

青稞(*Hordeum vulgare* Linn. var. *nudum* Hook. f.)起源于西藏,是藏族人民的主粮^[1]。青稞富含多

种氨基酸、维生素等营养成分,集保健和营养于一身。近年来,随着消费观念的转变,青稞这种天然

绿色谷物越来越受大众青睐^[2]。2010年西藏青稞种植面积19.74万~21.3万 hm^2 ,总产量61.2万~63.6万t,占整个粮食总播面积的66.9%和总产的64.7%,其栽培措施受到了广泛的关注。提高青稞产量的关键肥料为氮肥^[3]。然而,50%以上氮肥由于挥发作用、脱氮作用和淋失,造成严重的能源浪费和环境问题^[4]。为避免造成环境污染,施用生物菌肥是首选^[5]。

联合固氮是自由生活的固氮菌定殖于植物根表、近根土壤或部分侵入植物根皮层组织或维管中形成的特殊固氮作用^[6]。研究表明,联合固氮菌广泛存在于非豆科植物的根际、根表和根皮层中^[7]。联合固氮菌除了能为宿主提供氮素以外,还同时具有溶磷、分泌生长素、增强植株抗病性、抗逆境等多方面的促进植物生长的作用^[8]。用这类菌研制的生物肥料具有成本低、持续效果好、增产稳定、非再生能源消耗少及对环境、食品安全等特点。同时,可以改善土壤结构,提高土壤有机质含量,改良盐碱地,保障农牧业的可持续发展^[9]。近年来,人们对非豆科植物与根系联合的特殊固氮菌展开了广泛研究。禾本科作物是对氮肥最具依赖性的作物,利用联合固氮细菌在禾本科植物根部的固氮作用,在一定程度上可减少化学肥料的使用。至今报道具联合固氮能力的禾本科植物至少有40属100种^[10],前人对水稻、小麦、玉米、燕麦、高粱和甘蔗等禾本科植物根际联合固氮菌的促生效应进行了较深入研究。张堃等^[11]从燕麦和盐碱地小麦根际筛选的优良联合固氮菌对青稞主根长度(乳熟期)、地下生物量(完熟期)、粗蛋白含量(抽穗期、灌浆期和乳熟期)、子粒产量均有显著的促进作用。但不同生境和植物,固氮菌的种类和特性不同,因此,从特定生境和植物根际分离获得高效固氮菌株以研制适合不同生境和植物的专用生物菌肥具有重要的意义。西藏青稞主产区90%以上为干旱和半干旱地,土壤保水、保肥能力差,化肥利用率很低。因此,充分发挥青稞地生态系统中联合固氮菌的固氮促生潜力,对提高西藏青稞的生产能力,保护和改善青稞的生态环境,促进西藏青稞产业的可持续发展具有重要的经济和社会意义。本研究旨在从西藏不同地区青稞根际分离筛选具有促生作用的联合固氮菌,为利用生物固氮在青稞生产上实现节肥减耗、加强青稞生态系统的良性循环提供科学基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 根际土样的采集 于2018年4—6月采集西藏林芝、米林、朗县、山南、拉萨、日喀则等地青稞的根系土壤25份,采集根际土样时先去除表层的落叶及枯草,将整个植株带根系小心挖出,轻轻抖落根系上的大块土壤,用刮刀轻轻刮下黏附于根系表面约2 mm土壤,分别将采集到的根际土样装入无菌纸袋,并在袋上标注,带回实验室立即处理。

1.1.2 培养基 本文所用的Ashby无氮培养基和LB培养基参考相关文献^[12]配制。

1.1.3 青稞种子 本文所用的青稞种子为隆子县六棱黑青稞。

1.2 方法

1.2.1 根际联合固氮菌株的分离 采用稀释平板分离法。称取附着于青稞根上的土10 g放入90 mL无菌水中,28℃恒温、超声器超声10 min分散微生物细胞,静置10 min,即得 10^{-1} 稀释液,各取100 μL 涂在Ashby平板上,在28℃培养5~7 d至长出单菌落。用接种环挑取不同单菌落,在Ashby平板上划线纯化3次得到单一菌落。将纯化后的单菌落接种于LB平板上,4℃存放,备用;另取纯化的单菌落接种于LB液体培养至对数生长期,取一定量的菌液与甘油混合,-80℃冰箱长期保存。

1.2.2 菌株固氮能力的测定 采用微量凯氏定氮法测定菌株的固氮量^[13]。菌株活化后在Ashby无氮液体培养基上生长,每个菌株取1 mL菌液加入装有50 mL Ashby无氮液体培养基的三角瓶中,置于28℃,180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床上培养10 d,Ashby无氮培养液作为对照。培养结束后,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心30 min,上清液利用微量凯氏定氮法测定各处理的氮含量。含氮量根据以下公式进行计算:

$$\text{氮含量}(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = [(V_1 - V_2) \times 14 \times 1000] / V$$

式中, V_1 为样品滴定时用去的标准盐酸溶液体积(mL); V_2 为空白滴定时用去的标准盐酸溶液体积(mL);14为每毫摩尔氮的毫克数; V 为菌株取液量(mL)。

1.2.3 固氮菌浸种 选择固定氮量较强菌株进行种子萌发和幼苗生长试验。在30℃条件下,将固氮菌株振荡培养7 d备用。选取千粒重为40~50 g,外观丰满的同一批青稞种子。首先用75%乙醇消毒20 s,然后用10% NaClO浸泡10 min,浸泡后立即用无菌水冲洗4~6遍。将消毒的青稞种子分别浸入菌液中,25℃吸附1 h,于无菌操作台上风干后,转置

于垫有润湿滤纸的无菌培养皿内,每皿 50 粒,25℃ 黑暗培养 7 d。以不接菌的培养液做对照。培养结束后,根据文献^[14]计算发芽率、发芽势、发芽指数。用直尺量取各幼苗茎粗、株高、根长,计数侧根数。

1.2.4 固氮菌株生理生化和细胞形态特征测定

按照东秀珠方法^[15],对筛选的联合固氮菌株进行生理生化特性分析,菌体特征包括革兰氏染色、芽孢染色和菌体大小等指标的测定。

1.2.5 16S rDNA 序列测定与系统学分析 培养固氮菌,提取细胞总 DNA 作为基因扩增模板。利用细菌 16S 通用引物 27f: 5'-AGAGTTTGATCTGGCT-CAG-3', 1492r: 5-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3' 扩增细菌的 16S rRNA 基因^[16]。PCR 扩增产物进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物回收和纯化直接送测序公司测序,序列拼接及相似性分析使用系统进化分析采用软件 MEGA5.1 邻接法构建系统发育树。基因比对通过美国国家生物技术信息中心 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 在线完成。

2 结果与分析

2.1 菌种分离与纯化结果

采用无氮 Ashby 平板表面涂抹法进行联合固氮菌的分离,每份样品 3 个重复,28℃ 恒温培养 5~7 d,挑选菌落光滑、大且粘稠的菌株接种到 LB 平板上进行纯化,结果表明,从 25 份青稞根须样品中经反复分离纯化出 72 株联合固氮菌。

2.2 菌株固氮能力的测定

利用微量凯氏定氮法测定固氮菌株的固定氮量,发现菌株间的固氮能力存在显著差异。和 CK 相比,72 株菌的氮增量为 0.33~26.07 mg·L⁻¹。其中 10 个菌株表现较强的固氮能力(表 1),培养 7 d 氮增量为 17.01~26.07 mg·L⁻¹。菌株 24-2 的固氮量最高,氮增量为 26.07 mg·L⁻¹,其次为菌株 23-3,氮

表 1 部分联合固氮菌株的氮增量

Table 1 Nitrogen increment of some associative nitrogen-fixing bacteria

供试菌株 Isolated strain	氮增量/(mg·L ⁻¹) Nitrogen increment	供试菌株 Isolated strain	氮增量/(mg·L ⁻¹) Nitrogen increment
20-2	17.12±0.16d	24-2	26.07±0.06a
21-1	21.58±0.40c	26-1	17.01±0.01d
22-5	17.26±0.37d	35-2	21.44±0.17c
23-2	17.11±0.15d	39-5	17.13±0.18d
23-3	23.05±0.05b	40-4	21.51±0.07c

注:不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$),下同。

Note: Different lowercase letters mean significant difference between treatments ($P<0.05$), the same below.

增量为 23.05 mg·L⁻¹,位于第三的是菌株 21-1、35-2 和 40-4,氮增量分别为 21.58、21.44 mg·L⁻¹ 和 21.51 mg·L⁻¹,其余菌株的氮增量均在 17 mg·L⁻¹ 以上。

2.3 联合固氮菌对青稞种子萌发和幼苗的影响

2.3.1 联合固氮菌对青稞种子萌发的影响 选择表 1 中 10 株菌进行种子萌发试验(表 2),结果表明:各供试固氮菌株对青稞种子发芽率影响不同,和 CK 相比,10 株菌的发芽率增加幅度为-7.14%~25.00%。大多数菌株(如 20-2、24-2、26-1、35-2 和 40-4 等)对青稞种子萌发有明显促进作用,其中菌株 20-2 的效果最好,萌发率达 87.50%,较 CK 提高了 25.00%,其次是菌株 26-1 和 40-4,萌发率均为 85.00%,和 CK 相比,发芽率提高了 21.43%。发芽势、发芽指数和发芽率趋势一致。

2.3.2 联合固氮菌对青稞幼苗生长的影响 接种固氮菌对青稞幼苗生长影响测定结果(表 3)表明:供试菌株对青稞茎粗均有促进作用,且差异显著($P<0.05$)。效果最好的是菌株 23-2,和 CK 相比,茎粗增加了 18.32%;大部分菌株(21-1、23-2、23-3、

表 2 联合固氮菌浸种对青稞种子萌发的影响

Table 2 Effects of soaking seeds with associative nitrogen-fixing bacteria on seed germination of *Hordeum vulgare*

菌株 Strain	发芽率/% Germination rate	发芽势/% Germination potential	发芽指数 Germination index
20-2	87.50±0.08a	75.00±0.01ab	17.90±0.73a
21-1	65.00±0.05d	62.50±0.07b	14.84±1.41c
24-2	82.50±0.02abc	70.00±0.01ab	16.54±0.29b
22-5	77.50±0.17 abcd	75.00±0.02ab	16.57±2.62b
23-2	72.50±0.25 abcd	65.00±0.00bc	16.17±0.67b
23-3	67.50±0.17cd	60.00±0.01c	13.90±2.47c
26-1	85.00±0.05ab	82.50±0.02a	17.55±0.88a
35-2	80.00±0.10abcd	60.00±0.00c	16.10±1.03b
39-5	65.00±0.00d	60.00±0.05c	14.59±0.41c
40-4	85.00±0.05ab	72.50±0.02ab	16.57±0.32b
CK	70.00±0.00bcd	65.00±0.00bc	14.68±0.24c

表 3 联合固氮菌浸种对青稞幼苗生长的影响

Table 3 Effects of soaking seeds with associative nitrogen-fixing bacteria on growth of *Hordeum vulgare* seedlings

菌株 Strain	茎粗/mm Stem diameter	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	须根数 Number of fibrous roots
20-2	1.45±0.04cd	10.83±0.11e	7.44±0.20g	6.00±0.17a
21-1	1.53±0.04ab	12.38±0.21b	9.06±0.09c	5.43±0.15a
24-2	1.46±0.04cd	11.48±0.12c	8.66±0.23d	5.57±0.06b
22-5	1.43±0.03d	11.26±0.23cd	7.99±0.21f	4.73±0.12bc
23-2	1.55±0.03a	12.13±0.32b	10.37±0.31a	6.00±0.1bcd
23-3	1.49±0.02bc	12.35±0.33b	9.11±0.10bc	5.40±0.1bcde
26-1	1.46±0.04cd	10.89±0.19de	8.38±0.14de	5.5±0.17bcde
35-2	1.41±0.02de	12.26±0.12b	8.49±0.09d	5.63±0.15cde
39-5	1.33±0.03fg	12.88±0.39a	9.39±0.25b	5.53±0.12de
40-4	1.37±0.04ef	10.72±0.11e	6.81±0.07h	5.33±0.06e
CK	1.31±0.03g	11.97±0.21b	6.80±0.14h	5.33±0.15e

35-2、39-5)对青稞株高生长有明显的促进作用,最高者达 12.88 cm,比对照增加了 7.60%;供试菌株均可促进青稞根长生长,最高者达 10.37 cm,比对照增加了 52.50%;菌株中除 22-5 和 40-4 外,均可促进须根数的增加。

2.4 联合固氮菌对青稞幼苗生物量的影响

由表 4 可知,与 CK 相比,菌株 20-2、21-1、22-5、23-3、26-1、35-2 可显著增加青稞的鲜重和根重,分别较 CK 增加 20.44% 和 37.89%、8.56% 和 14.54%、57.73% 和 74.90%、110.50% 和 137.44%、39.78% 和 59.91%、22.93% 和 44.93%;菌株 21-1、22-5、23-3、26-1 和 40-4 能显著增加芽的重量,与 CK 相比,分别增加了 1.50%、34.59%、67.67%、11.28% 和 15.04%。与 CK 相比,只有菌株 23-3 能显著增加青稞幼苗干重。

2.5 固氮菌株的形态及生理生化特征

综合表 1、2、3、4 结果,选取 6 株综合性能较好的固氮菌进行形态观察和生理生化特征测试(表

5),测试结果表明,6 个菌株均为杆状细菌,除菌株 22-5 为芽孢细菌和革兰氏阳性菌(G⁺)外,其余 5 株菌均为不产芽孢,革兰氏阴性菌(G⁻)。理化特性试验结果表明,6 株菌对接触酶反应、V-P 试验、D-葡萄糖产酸反应和 D-甘露醇反应结果均为阳性;氧化酶反应、明胶液化、产 H₂S 和淀粉水解反应均为阴性;牛奶胨化和硝酸还原酶只有菌株 20-2 反应阳性。

2.6 固氮菌株的 16S rDNA 基因 PCR 扩增及系统发育分析

获得 6 株菌的 16S rDNA 序列,片段大小均位于 1 500 bp 左右。在 NCBI 数据库中搜索与其具有较高相似性的参比菌株,构建系统发育图谱(图 1)。结合细菌的生理生化特征(见表 5),确定本研究分离筛选出的固氮菌为:菌株 35-2 和 39-5 属于根瘤菌属 *Rhizobium*、菌株 22-5 属于类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*、菌株 23-3 属于无色杆菌属 *Achromobacter*、菌株 20-2 和 26-1 属于假单胞菌属 *Pseudomonas*。

表 4 联合固氮菌对青稞幼苗生物量的影响/(g · 10 株⁻¹)

Table 4 Effects of associative nitrogen-fixing bacteria on seedling biomass of *Hordeum vulgare*/(g · 10plant⁻¹)

菌株 Strain	鲜重 Fresh weight	根鲜重 Root fresh weight	芽鲜重 Shoot fresh weight	干重 Dry weight	根干重 Root dry weight	芽干重 Shoot dry weight
20-2	4.36±0.05e	3.13±0.04	1.25±0.01f	0.86±0.05b	0.51±0.01d	0.40±0.01b
21-1	3.93±0.05f	2.60±0.01	1.35±0.04e	0.53±0.01g	0.51±0.01d	0.19±0.01g
24-2	3.35±0.06i	2.45±0.01	0.98±0.04h	0.44±0.01h	0.31±0.01f	0.13±0.00h
22-5	5.71±0.01b	3.97±0.04	1.79±0.04b	0.73±0.04d	0.56±0.01b	0.19±0.02g
23-2	2.95±0.01k	2.10±0.01	0.84±0.04i	0.38±0.01i	0.19±0.00g	0.18±0.00g
23-3	7.62±0.01a	5.39±0.01	2.23±0.01a	1.27±0.03a	0.68±0.01a	0.62±0.01a
26-1	5.06±0.02c	3.63±0.02	1.48±0.02d	0.81±0.01c	0.55±0.00b	0.25±0.01f
35-2	4.45±0.02d	3.29±0.01	1.19±0.01g	0.66±0.01e	0.38±0.01e	0.30±0.01e
39-5	3.44±0.03h	2.23±0.01	1.23±0.04fg	0.61±0.01f	0.30±0.01f	0.32±0.01d
40-4	3.15±0.01j	1.66±0.03	1.53±0.04c	0.85±0.01bc	0.54±0.01c	0.32±0.00d
CK	3.62±0.03g	2.27±0.04	1.33±0.03e	0.87±0.02b	0.52±0.01d	0.36±0.00c

表 5 6 株筛选菌株的理化特性

Table 5 Physiological and biochemical characteristics of screened strains

	20-2	22-5	23-3	26-1	35-2	39-5
菌体形状 Morphology	杆状 Rod					
菌体大小 Strain size/μm	1.0×(3.0-4.0)	1.0×(2.5-5.0)	1.0×(2.0-5.0)	1.0×(2.0-4.0)	0.9×(1.2-4.0)	0.8×(1.3-3.0)
革兰氏染色 Gram stain	G ⁻	G ⁺	G ⁻	G ⁻	G ⁻	G ⁻
芽孢 Spore forming	—	+	—	—	—	—
接触酶 Catalase test	+	+	+	+	+	+
氧化酶 Oxidase	—	—	—	—	—	—
V-P 试验 V-P test	+	+	+	-	+	+
D-葡萄糖产酸 D-glucose acid yield	+	+	+	+	+	+
D-甘露醇 D-mannitol	+	+	+	+	+	+
明胶液化 Starch hydrolysis	—	—	—	—	—	—
产 H ₂ S H ₂ S production	—	—	—	—	—	—
牛奶胨化 Milk peptone	+	—	—	—	—	—
硝酸还原酶 Nitrate reductase	+	—	—	—	—	—
淀粉水解 Starch hydrolysis	-	-	-	-	-	-

注:“+”表示生化反应或革兰氏染色为阳性;“-”表示生化反应或革兰氏染色为阴性。

Note: “+” denotes positive biochemical reaction (or gram stain); “-” denotes negative biochemical reaction (or gram stain).

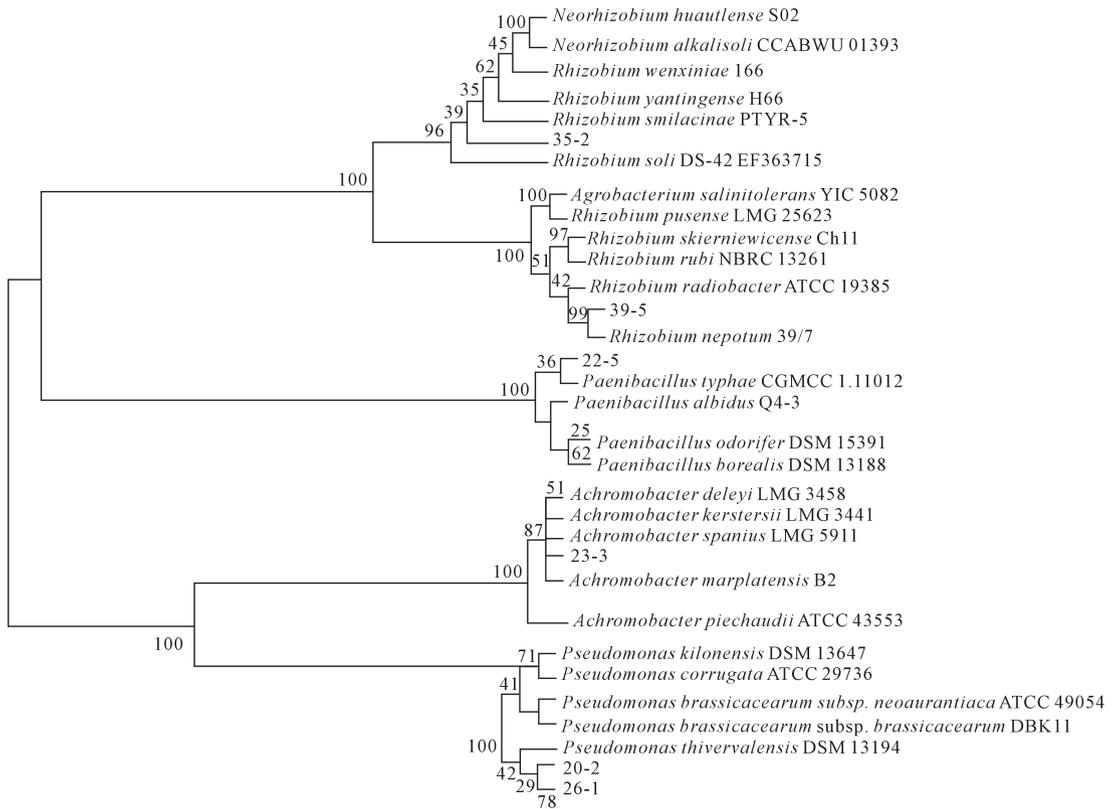


图 1 联合固氮菌的系统发育图谱

Fig.1 Dendrogram showing the phylogenetic position of the associative nitrogen-fixing bacteria

3 讨论与结论

从鉴定结果看,西藏高寒地区青稞根际固氮菌类群有根瘤菌属 *Rhizobium*、类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*、无色杆菌属 *Achromobacter* 和假单胞菌属 *Pseudomonas* 4 个属,其优势种群为根瘤菌属 *Rhizobium* 和假单胞菌属 *Pseudomonas*。相对于其他生境和植物,该地区青稞根际固氮菌的种类较为单一,这可能与植物种类及其生存环境有关,与采样时间、样品保存时间与方式及所用培养基种类等也有关^[17]。此外,本研究中从青稞根际分离到了固氮根瘤菌。研究表明,根瘤菌不但可以与豆科植物共生,而且可以在土壤中长期以腐生菌的状态存在^[18]。大量研究已经证实,根瘤菌可以作为植物根际促生菌,对禾本科等植物产生促生作用^[19]。这种促生作用的形成,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。该领域的拓展,显著扩大了根瘤菌的作用范围,对农业的可持续发展具有重要的现实意义。

在联合固氮研究中,菌株对宿主植物生长的影响及其固氮量是研究者们关注的核心问题。乙炔还原法 (ARA) 虽可通过对固氮酶活性测定来确认联合固氮作用存在与否及固氮酶活性强弱,但不能

直接而准确获得固氮量,因此,很少用于固氮量计算^[20]。目前在固氮研究中,最经典的测定技术是凯氏定氮法^[21]。本研究用凯氏定氮法筛选出了 6 株具有较好促进青稞种子萌发和幼苗生长的菌株,关于这些菌株对青稞生长的大田促生效能、生态安全性以及最佳发酵条件等有待进一步研究。

本研究从西藏高寒地区青稞根际分离获得的 72 株联合固氮菌,氮增量为 $0.30 \sim 26.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其中有 10 个菌株的氮增量达 $17.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上,尤以菌株 24-2 的氮增量最高,为 $26.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其次为菌株 23-3,氮增量为 $23.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,位于第三的是菌株 21-1、35-2 和 40-4,氮增量分别为 21.58 、 $21.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $21.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过菌株对青稞种子萌发率、茎粗、株高、根长、须根数和生物量等促生性看,菌株 20-2、22-5、23-3、26-1、35-2 和 39-5 等均表现出良好的促生效应,其中菌株 20-2 能显著提高青稞的发芽率,较 CK 提高了 25.00%,菌株 23-3 能显著增加青稞的茎粗、株高、根长、须根数和生物量,较 CK 提高了 13.74%、3.17%、33.97%、1.31% 和 110.50%,将这两株菌进行组合,有望研制出优良的青稞复合固氮菌肥。

(下转第 192 页)