

利用 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 研制复合微生物肥料^①

梁晓琳¹, 孙莉¹, 张娟³, 刘小玉¹, 赵买琼¹, 李荣^{1*}, 华正洪², 沈其荣¹

(1 国家有机类肥料工程技术研究中心, 农业部长江中下游植物营养与肥料重点实验室, 江苏省固体有机废弃物资源化高新技术研究重点实验室, 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; 2 江苏禾喜生物科技有限公司, 江苏泰州 225502; 3 山东省产品质量检验研究院, 济南 250100)

摘要: 针对化肥、传统有机肥和生物肥料的优缺点, 开发集化肥速效、有机肥长效和生物肥增效为一体的复合微生物肥料具有重要意义。本文鉴于 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 易在逆境中形成芽孢, 具有耐盐性好, 抗病, 广谱促生等特点, 利用其通过固态发酵研制的生物有机肥添加一定配比的无机化肥研制“全元”复合微生物肥料。同时通过粉状、颗粒复合微生物肥料存放试验和田间试验对“全元”复合微生物肥料的配方、工艺和肥效进行了初步的研究。结果表明: 粉状和颗粒复合微生物肥料储存 6 个月时, 功能菌活菌数量均超过国家标准(2×10^7 cfu/g, 干重); 田间试验结果表明, 复合微生物肥料能明显促进番茄的生长, 与等养分有机无机复合肥、化肥处理和不施肥处理相比, 在总养分 100 g/kg 施肥水平下, 番茄增产幅度分别达 8.23%、10.26% 和 37.73%; 在总养分 140 g/kg 施肥水平下, 番茄增产幅度分别达 7.36%、13.92% 和 44.77%。因此, 利用 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 能够生产粉状和颗粒状复合微生物肥料。

关键词: *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9; 有机肥; 生物有机肥; 复合微生物肥料

中图分类号: S144

一些发达国家于 20 世纪 20 年代, 我国于 20 世纪 60 年代开始进入农业现代化阶段, 采取了“高投入、高产出、高污染”的常规农业现代化发展模式^[1]。现代农业生产中, 长期大量施用化肥导致土壤理化性质变劣^[2], 有机质含量降低^[3], 土壤逐渐酸化致使有害重金属活性提高以及营养物质溶解造成养分流失^[4], 农产品品质下降, 作物减产, 生态环境污染等问题^[5]; 施用有机肥料虽然可以改善土壤结构和质地, 协调水肥气热^[6-7], 但其有效养分含量低, 肥效慢, 施用量大, 经济效益低; 生物肥料可以增进土壤肥力, 增强抗逆和抗病能力, 提高作物品质, 但其本身不含营养元素^[8-11]。针对化肥、传统有机肥和生物肥料的优缺点, 把它们有机结合开发出新型“全元”复合微生物肥料具有广阔的市场前景^[12]。

“全元”复合微生物肥料是一种“高效、安全、环保型”肥料。它以功能性生物活性菌为主体, 以作物秸秆和畜禽粪等肥料型有机质为载体, 加入微生物菌剂, 配以一定比例的无机养分, 使生物肥的增效、

促效作用与有机肥的稳效、长效作用和无机肥的速效作用相互结合, 急缓相济, 养分全面。既保证了作物生长不可缺少的营养成分, 又能够改土、促生、抗病、改善生态环境, 对生产优质农产品, 减轻环境污染有很大作用^[13-15], 而且应用广泛^[16], 从而达到种养结合和农业可持续发展的目的。本研究鉴于实验室保存的 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 易在逆境中形成芽孢, 具有耐盐性好, 抗病, 广谱促生等特点, 利用其通过固态发酵研制的生物有机肥添加一定配比的无机化肥研制“全元”复合微生物肥料; 同时, 通过粉状、颗粒复合微生物肥料存放试验和田间试验对“全元”复合微生物肥料的配方、工艺和肥效进行研究, 以期获得在生物有机肥中添加化肥研制“全元”复合微生物肥料的可行性。

1 材料与方法

1.1 供试材料

菌株: *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 为江苏省

基金项目: 江苏省科技支撑计划(农业)项目(BE2012377)、海南省应用技术研发与示范推广专项(ZDXM2014038)、国家自然科学基金项目(41101231)、淮安市科技支撑计划项目(SN201301)和国家“863”计划项目(2013AA102802)资助。

* 通讯作者(lirong@njau.edu.cn)

作者简介: 梁晓琳(1988—), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要研究方向为有机(类)肥料研发。E-mail: liangxiaolin8866@163.com

固体废弃物资源化高技术重点实验室保存,该菌株为黄瓜根际促生拮抗功能菌株(PGPR)^[17]。腐熟牛粪、菜粕、硫酸铵、过磷酸钙、氯化钾、尿素等均由江苏省新天地生物肥料工程中心有限公司提供。

LB培养基:蛋白胨 10 g,酵母粉 5 g,NaCl 10 g,去离子水 1 000 ml,pH 6.5~7.0,琼脂 25 g;完全溶解后分装到三角瓶,115℃灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 生物有机肥的制备 用接种环将平板保存的 SQR9 菌株接种到 LB 液体培养基中,30℃,170 r/min 培养 40 h 制成接种液。称取腐熟牛粪和菜粕,以干物质比为 6:4 混合均匀,加入 5% 的菌液混匀进行固体发酵。发酵过程中每天翻堆 1 次,使固体发酵温度不超过 55℃,发酵 6~7 天后结束,风干至含水量 30% 左右,得到含有 SQR9 菌株的生物有机肥。利用 NY525-2012 提供的方法测定生物有机肥(A)中总氮、磷、钾养分含量(表 1),其含功能菌数量约为 5×10^8 cfu/g 干重^[18]。

1.2.2 粉状复合微生物肥料的复配和存放试验 生物有机肥与一定比例的硫酸铵直接混合制成粉状复合微生物肥料,共设 2 个处理:添加肥料干物质质量比 30%(标记为 A-30)和 50%(标记为 A-50)的硫酸铵为处理,不加硫酸铵的生物有机肥(A)为对照。将其用塑料袋包装,避光密封存放,分别在存放初始、1、2、3、4、6、9 个月时取样监测功能微生物数量。

1.2.3 颗粒复合微生物肥料的制备和存放试验 添加一定配比的无机化肥使复合肥总养分分别为 100 g/kg(添加硫酸铵至肥料养分含量为 100 g/kg,标记为 A(100)),140 g/kg(添加硫酸铵和过磷酸钙至肥料养分含量为 140 g/kg,标记为 A(140)),170 g/kg(添加硫酸铵、过磷酸钙和氯化钾至肥料养分为 170 g/kg,标记为 A(170)),220 g/kg(添加尿素、过磷酸钙和氯化钾至肥料养分为 220 g/kg,标记为 A(220))(表 1)。生物有机肥风干至含水量 20% 以下,用锤片式粉碎机粉碎,过 18 目筛,与粉碎的无机化肥(榨汁机粉碎)按一定配比均匀混合,利用圆盘造粒工艺造粒,分筛,颗粒在不超过 50℃ 的条件下风干使含水量低至 20% 以下。成品颗粒直径 1.2~4.75 mm,将制得的颗粒生物有机无机复合肥料 A(100)、A(140)、A(170)、A(220)和颗粒生物有机肥 A 分别用塑料袋装起来,扎口避光保存,分别在存放 0、15、45、75、105、135、180 天时取样监测功能微生物数量。

1.2.4 肥料存放过程中功能菌 SQR9 数量的测定 利用平板稀释涂布计数法测定功能菌数量,称取肥料鲜样 5 g(颗粒肥料先用研钵轻轻研碎)溶于 45 ml 无菌

表 1 生物有机肥原料和复合微生物肥料养分
Table 1 Nutrients of bio-organic fertilizer and compound microbial fertilizers

肥料编号	N(g/kg)	P ₂ O ₅ (g/kg)	K ₂ O(g/kg)	总养分(g/kg)
A	22.3	39.5	14.1	75.9
A(100)	46.4	39.5	14.1	100
A(140)	76.4	49.5	14.1	140
A(170)	76.4	59.5	34.1	170
A(220)	96.4	69.5	54.1	220

水中,振荡 30 min 保证样品充分溶解后进行梯度稀释,稀释液涂布于含多粘菌素(20 mg/L)和放线菌酮(40 mg/L)的 LB 培养基平板上,30℃ 培养箱培养 36 h 左右计数^[19]。

1.2.5 “全元”复合微生物造粒肥料田间试验 试验地点:江苏省南京市江宁区 205 县道横溪镇横溪街道,南京市蔬菜花卉科学研究所科技园内试验大棚。土壤基本性状:黄壤土,有机质:42.65 g/kg,全氮 3.27 g/kg,全磷 3.58 g/kg,速效磷 31.5 mg/kg,速效钾 719 mg/kg,pH 6.33。

试验作物为番茄(世纪红冠),每个处理 3 个小区,每个小区长 8 m,宽 2.5 m,面积 20 m²,每小区施用 4 kg(干重)“全元”复合微生物肥料,常规管理。共设 7 个肥料处理:处理 1(CK):不施肥;处理 2(CK₁):单独施用化肥(与 A(100)养分复合肥等养分);处理 3(BOF₁) 施用 A(100)复合微生物肥料;处理 4(AOF₁):施用灭活后的 A(100)复合微生物肥料;处理 5(CK₂):单独施用化肥(与 A(140)养分复合肥等养分);处理 6(BOF₂) 施用 A(140)复合微生物肥料;处理 7(AOF₂):施用灭活后的 A(140)复合微生物肥料。

1.2.6 果实品质测定 利用蒽酮法测定可溶性糖^[20],碱滴定法测定有机酸含量^[21](糖酸比 = 可溶性糖含量/有机酸含量),紫外快速测定法测 Vc 含量^[22]。

1.2.7 数据分析 采用 Excel 2007 和 SPSS 18.0 软件进行数据统计分析,使用最小显著差异法(least significant difference, LSD)检验进行多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 粉状“全元”复合微生物肥料存放试验

如图 1 所示,储存 6 个月时,各肥料中 SQR9 活菌数均满足国家标准。其中,未添加硫酸铵的生物有机肥 A 菌株死亡率为 32.06%,肥料 A-30 死亡率为 38.29%,肥料 A-50 死亡率为 50.26%,可知由于硫酸铵的加入导致的菌株死亡率:肥料 A-30 为 6.23%,肥料 A-50 为 18.2%。粉状复合微生物肥料储存 9 个月时,肥料 A、A-30 和 A-50 菌株死亡率都较高。说明硫

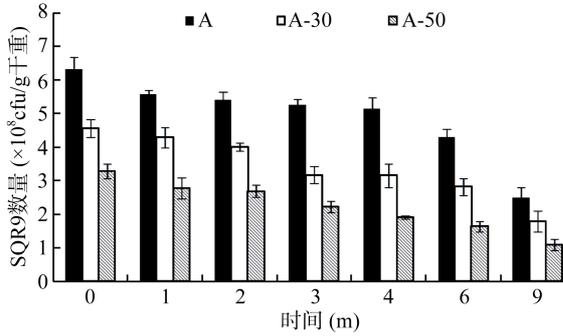


图 1 粉状复合微生物肥料储存期内菌株 SQR9 活菌数量的变化

Fig. 1 Variations of strain SQR9 number in powdery compound microbial fertilizers during the storage

酸铵对肥料中功能菌株 SQR9 的存活有影响,并随着硫酸铵用量的增加杀伤力增强。但是肥料存放 6 个月内硫酸铵对菌株的影响不大,可初步判定利用 SQR9 发酵的生物有机肥和无机化肥直接混合生产生物有机无机“全元”粉状复合微生物肥料的工艺是可行的。

2.2 颗粒“全元”复合微生物肥料存放试验

如图 2 所示,存放期内,各微生物肥料中的活性功能菌数量均在减少。6 个月时,各微生物肥料肥功能菌活菌数均超过 $S \times 10^7$ cfu/g 干重。其中,肥料 A 和 A(100)活性功能菌减少最为显著,在 45 ~ 105 天期间功能菌株死亡率骤增,大量死亡。同时肥料 A(220)在储存 15 天时菌株死亡率最高,近 30%,但随后菌株死亡率增长平缓,在储存 6 个月时菌株死亡

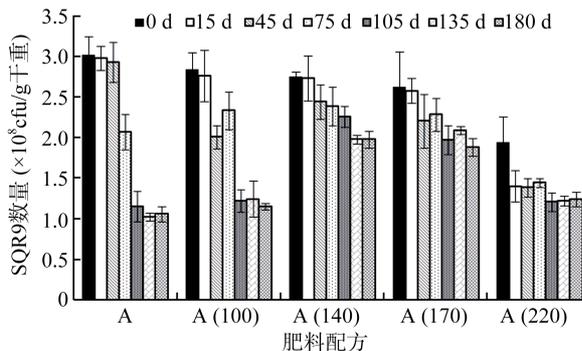


图 2 颗粒复合微生物肥料储存期内菌株 SQR9 活菌数量的变化

Fig. 2 Variations of strain SQR9 number in granular compound microbial fertilizers during the storage

率远远低于肥料 A 和 A(100),同时高于肥料 A(140)和 A(170)。肥料 A(140)和 A(170)中功能活菌数量变化趋势比较类似,功能菌株死亡率在储存过程中一直比较接近,均呈现平稳增加的趋势。

2.3 颗粒复合微生物肥料田间试验

2.3.1 不同处理对番茄生物学性状和产量结构的影响 在施用养分总量 100 g/kg 条件下,不同处理对番茄生物学性状和产量结构的影响如表 2 所示。在株高上,BOF₁ 处理优于其他处理,具有显著性差异 ($P < 0.05$); AOF₁ 和 CK₁ 处理无显著性差异,但都显著优于 CK 处理。在茎粗上,BOF₁ 和 AOF₁ 处理没有显著性差异,BOF₁ 处理与 CK₁、CK 处理均存在显著性差异 ($P < 0.05$); AOF₁ 处理与 CK₁ 处理无显著性差异,与 CK 处理差异性显著。对倒三叶的叶绿素 SPAD 值进行分析发现,所有处理间均没有显著性差异。在 Vc 含量上,各处理间均无显著性差异。对果实糖酸比进行分析发现,BOF₁ 和 AOF₁ 处理与 CK₁、CK 处理均没有显著性差异,而 CK₁ 与 CK 处理存在显著性差异 ($P < 0.05$)。同时,平均单果重与理论亩产的结果均是 BOF₁ > AOF₁ > CK₁ > CK。由此,“全元”复合微生物肥料(BOF₁ 处理)可以显著提高作物的生物学性状与产量结构,同时显著高于其他处理。

在施用养分总量 140 g/kg 条件下,不同处理对番茄生物学性状和产量结构的影响如表 3 所示。在株高上,BOF₂ > AOF₂ > CK₂ > CK, 处理间均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。在茎粗上,BOF₂、AOF₂ 和 CK₂ 处理之间都没有显著性差异,但均与 CK 处理存在显著性差异 ($P < 0.05$)。对倒三叶的叶绿素 SPAD 值进行分析发现,所有处理间均没有显著性差异。在 Vc 含量上,BOF₂ 处理优于 CK₂ 和 CK 处理,存在显著性差异 ($P < 0.05$),与 AOF₂ 处理差异不显著; AOF₂ 与 CK 处理存在显著性差异,与 CK₂ 处理差异不显著; CK₂ 和 CK 处理无显著性差异。对果实糖酸比进行分析发现,BOF₂ 和 CK₂ 处理有显著性差异 ($P < 0.05$),其他处理间差异不显著。同时,平均单果重与理论亩产的结果均是 BOF₂ > AOF₂ > CK₂ > CK。由此,“全元”复合微生物肥料(BOF₂ 处理)可以显著提高作物的生物学性状与产量结构,同时显著高于其他处理。

表 2 施用总养分 100 g/kg 复合微生物肥料对番茄生物学性状和产量结构的影响

Table 2 Effects of the compound microbial fertilizers containing 100 g/kg nutrients on tomato biological traits and yields

处理	株高(cm)	茎粗(mm)	SPAD	Vc(mg/100g)	糖酸比	单果重(g)	产量(kg/小区)
CK	90.83 ± 3.06 c	11.44 ± 0.26 c	45.12 ± 1.97 a	7.37 ± 1.52 a	35.07 ± 9.39 a	111.33	110.8 ± 2.10 d
CK ₁	97.00 ± 0.89 b	11.97 ± 0.58 b	45.83 ± 1.07 a	7.77 ± 1.53 a	25.39 ± 3.65 b	118.29	138.4 ± 2.10 c
AOF ₁	95.83 ± 0.75 b	12.81 ± 0.56 ab	46.70 ± 1.34 a	9.13 ± 0.55 a	31.21 ± 0.54 ab	129.74	141.0 ± 3.02 b
BOF ₁	101.00 ± 1.26 a	13.06 ± 0.43 a	47.40 ± 2.27 a	8.54 ± 0.52 a	30.16 ± 7.57 ab	131.63	152.6 ± 3.75 a

注: 同列数据后不同字母表示在处理间差异在 $P < 0.05$ 水平显著,下同。

表 3 施用总养分 140 g/kg 复合微生物肥料对番茄生物学性状和产量结构的影响
Table 3 Effects of the compound microbial fertilizers containing 140 g/kg nutrients on tomato biological traits and yields

处理	株高(cm)	茎粗(mm)	SPAD	Vc(mg/100g)	糖酸比	单果重(g)	产量(kg/小区)
CK	90.83 ± 3.06 d	11.44 ± 0.26 b	45.12 ± 1.97 a	7.37 ± 1.52 c	33.73 ± 9.39 ab	111.33	110.8 ± 2.10 d
CK ₂	100.00 ± 3.41 c	12.50 ± 0.38 a	46.02 ± 1.93 a	8.71 ± 1.87 bc	25.17 ± 3.65 b	121.60	140.8 ± 2.82 c
AOF ₂	106.00 ± 2.90 b	12.67 ± 0.30 a	45.77 ± 2.44 a	9.80 ± 0.93 ab	33.14 ± 8.21 ab	136.61	149.4 ± 4.20 b
BOF ₂	108.67 ± 2.07 a	12.46 ± 0.18 a	45.82 ± 2.05 a	10.40 ± 1.00 a	37.12 ± 7.81 a	138.13	160.4 ± 2.51 a

2.3.2 不同处理对番茄产量的影响 在施用养分总量 100 g/kg 条件下,不同处理对产量的影响见表 4。由表 4 可知,BOF₁ 处理比 CK 处理增产 20 910.45 kg/hm², 增产幅度达 37.73%; AOF₁ 处理比 CK 处理增产 15 107.55 kg/hm², 增产幅度达 27.26%, CK₁ 处理比 CK 处理增产 13 806.90 kg/hm², 增产幅度达 24.91%。同时, BOF₁ 处理比 CK₁ 处理增产 7 103.55 kg/hm², 增产幅度达到 10.26%; AOF₁ 处理比 CK₁ 处理增产 1 300.65 kg/hm², 增产幅度达 1.88%; BOF₁ 处理比 AOF₁ 处理增产 5 802.90 kg/hm², 增产幅度达 8.23%。

在施用养分总量 140 g/kg 条件下,不同处理对产量的影响见表 5。BOF₂ 处理比 CK 处理增产 24 812.40 kg/hm², 增产幅度达 44.77%; AOF₂ 处理比 CK 处理增产 19 309.65 kg/hm², 增产幅度达 34.84%, CK₂ 处理比 CK 处理增产 15 007.50 kg/hm², 增产幅度达 27.08%。同时, BOF₂ 处理比 CK₂ 处理增产 9 804.90 kg/hm², 增产幅度达到 13.92%; AOF₂ 处理比 CK₂ 处理增产 4 302.15 kg/hm², 增产幅度达 6.11% ;BOF₂ 处理比 AOF₂ 处理增产 5 502.75 kg/hm², 增产幅度达 7.36%。

表 4 施用总养分 100 g/kg 复合微生物肥料对番茄产量的影响
Table 4 Effects of the compound microbial fertilizers containing 100 g/kg nutrients on tomato yields

处理	小区产量(kg/m ²)				折合产量 (kg/hm ²)	与 CK 比		与 CK ₁ 比		与 AOF ₁ 比	
	重复 I	重复 II	重复 III	平均		增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)	增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)	增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)
CK	5.54	5.43	5.64	5.54	55 427.70	-	-	-	-	-	-
CK ₁	6.92	6.81	7.02	6.92	69 234.60	13 806.90	24.91	-	-	-	-
AOF ₁	7.19	6.89	7.07	7.05	70 535.25	15 107.55	27.26	1 300.65	1.88	-	-
BOF ₁	7.8	7.43	7.67	7.63	76 338.15	20 910.45	37.73	7 103.55	10.26	5 802.90	8.23

表 5 施用总养分 140 g/kg 复合微生物肥料对番茄产量的影响
Table 5 Effects of the compound microbial fertilizers containing 140 g/kg nutrients on tomato yields

处理	小区产量(kg/m ²)				折合产量 (kg/hm ²)	与 CK 比		与 CK ₂ 比		与 AOF ₂ 比	
	重复 I	重复 II	重复 III	平均		增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)	增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)	增产量 (kg/hm ²)	增产率 (%)
CK	5.54	5.43	5.64	5.54	55 427.70	-	-	-	-	-	-
CK ₂	7.19	6.91	7.02	7.04	70 435.20	15 007.50	27.08	-	-	-	-
AOF ₂	7.56	7.62	7.23	7.47	74 737.35	19 309.65	34.84	4 302.15	6.11	-	-
BOF ₂	8.14	8.03	7.89	8.02	80 240.10	24 812.40	44.77	9 804.90	13.92	5 502.75	7.36

3 结论与讨论

研制有机无机复合微生物肥料的关键在于解决无机养分对复合肥中功能微生物的杀伤问题。微生物与有机肥混合造粒,然后与无机复合肥混合,在此过程中氮磷钾肥料对微生物的杀伤作用是无法避免的,尤其是高氮对微生物杀伤更大^[23]。为了保证微生物的活菌数量,市场上的生物有机无机复合微生物肥料多采用分别造粒再混合的工艺^[24]或是利用化学高分子材料形成半透膜以求达到隔离微生物和化肥的作用^[15],这些生产工艺复杂,成本较高,且肥料施入

土壤后,微生物依然面临无机化肥的杀伤作用。因此,本研究利用生物有机肥直接与一定配比的无机化肥混合制作有机无机复合微生物肥料的工艺。解淀粉芽孢杆菌 SQR9 具有广谱促生,抗病等效果,且对 NaCl 有很高的耐受性,能产生耐热、抗逆的芽孢,有利于在恶劣的环境中生长与繁殖^[17],因此,选用该菌株为有机无机复合微生物肥料的功能菌株。

粉状复合微生物肥料存放试验中,储存 6 个月时,未添加硫酸铵的对照处理死亡率为 32.06%,处理 A-30 死亡率为 38.29%,处理 A-50 死亡率为 50.26%,表明硫酸铵的加入增加了功能菌株的死亡

率;储存 9 个月时,对照和各处理菌株死亡率都较高,同样表明了硫酸铵对 SQR9 功能菌存活有影响。但由菌株 SQR9 固态发酵而成的生物有机肥及由其制备的各种养分的颗粒复合微生物肥料储存 6 个月时,肥料中活性功能菌株均超过 5×10^7 cfu/g 干重。倪治华等^[24]也得出相似结论,无机化肥对微生物有杀伤作用,尤其是无机氮肥对其杀伤力最大。颗粒复合微生物肥料储存试验中,养分总量 220 g/kg 复合微生物肥料在储存 15 天时菌数死亡率最高,将近 30%,之后死亡率增长很平缓,6 个月时约为 35%;养分总量 140 g/kg 和 170 g/kg 的复合微生物肥料中功能活菌数量变化趋势比较相近,死亡率均呈现平稳增加的趋势,6 个月时死亡率均约为 28%。综合来看,同时添加 2 种或 2 种以上的无机化肥养分总量为 140、170、220 g/kg 的复合微生物肥料造粒后,肥料中功能菌株存活率较高,储存 6 个月时,存活率高于 55%。粉状和颗粒复合微生物肥料存放试验均表明,利用菌株 SQR9 生产的生物有机肥中添加一定配比的无机化肥直接混合生产生物有机无机“全元”复合微生物肥料的工艺是可行的。

田间试验结果表明,施用颗粒“全元”复合微生物肥料能够促进番茄的生长,显著提高其生物学形状,改善果实品质,大大提高番茄的产量,这与大量研究结果类似,均表明根际 PGPR 具有促进植物生长,提高作物产量的功能^[25-28]。同时本研究中涉及的功能菌株 SQR9 促进植物生长的效果已经被在多种作物上证明(该菌株首次被鉴定为 *Bacillus subtilis*, 目前根据全基因组的分析,已被重新归类为 *Bacillus amyloliquefaciens*)^[29-30]。生物有机无机复合微生物肥料以有机质为主要原料,加入多功能微生物菌剂,再配以一定比例的无机化肥,集有机、生物和无机“三大组分”于一体,是一种新型的微生物复合肥料。它集无机肥料的速效,有机肥料的缓效、长效和微生物菌肥的增效、促效于一体。在提供作物生长所需的全面营养的同时,还有改善土壤结构^[31-32],提高土壤肥力,增强作物的抗逆性,改善农产品品质,降低农产品中的有害物质^[33],减少化肥用量,提高化肥利用率^[34-36],降低生产成本,保护生态环境等作用,从而达到种养结合和农业可持续发展的效果。

参考文献:

[1] 张辉. 生物有机无机复合肥料特性、综合功能及其作用机理的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2002
 [2] 汪建飞, 邢素芝. 农田施用化肥的负效应及其防治对策[J]. 农业环境保护, 1998, 17(1): 40-43

[3] 陈士平. 中国肥料结构刍议[J]. 土壤肥料, 1984, 2: 21-24
 [4] 黄国勤, 王兴祥, 钱海燕. 施用化肥对农业生态环境的负面影响及对策[J]. 生态环境, 2004, 13(4): 656-660
 [5] Lichtenberg E, Shapiro LK. Agriculture and nitrate concentrations in Maryland community water system wells[J]. Journal of Environmental Quality, 1997, 26(1): 145-153
 [6] Zhang HM, Xu MG, Zhang F. Long-term effects of manure application on grain yield under different cropping systems and ecological conditions in China[J]. Journal of Agricultural Science, 2009, 147: 31-42
 [7] 徐阳春, 沈其荣. 有机肥和化肥长期施用对土壤及不同粒级供氮特性的影响[J]. 土壤学报, 2004, 41(1): 87-92
 [8] 曹明慧, 冉炜, 杨兴明, 沈其荣, 沈标. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2011, 48(1): 151-159
 [9] 李红丽, 郭夏丽, 李清飞, 王岩. 抑制烟草青枯病生物有机肥的研制及其生防效果研究[J]. 土壤学报, 2010, 47(4): 798-801
 [10] Wu HS, Yang XN, Fan JQ, Miao WG, Ling N, Xu YC, Huang QW, Shen R. Suppression of Fusarium wilt of watermelon by a bio-organic fertilizer containing combinations of antagonistic microorganisms [J]. BioControl, 2009, 54: 287-300
 [11] 丁传雨, 乔焕英, 沈其荣, 冉炜, 陈巍. 生物有机肥对茄子青枯病的防治及其机理探讨[J]. 中国农业科学, 2012, 45(2): 239-245
 [12] 赵其国. 土壤科学发展的战略思考[J]. 土壤, 2009, 41(5): 681-688
 [13] 孙家驹, 纪雪洋. 生物有机无机肥的研制、生产与应用[C]. 第四届全国绿色环保肥料新技术、新产品交流会, 57-64
 [14] 胡静. 有机-无机缓释复合肥与生物有机复合肥的制备及其评价[D]. 天津: 天津大学, 2006
 [15] 王法云, 赵跃进, 易卿. 有机无机生物新型三元复合肥的研制及应用[J]. 河南科学, 2009(7): 828-831
 [16] 王海滨. 生物有机无机复合肥对蔬菜产量、品质及土壤性质的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013
 [17] Cao Y, Ling N, Yang XM, Chen LH, Shen QR. *Bacillus subtilis* SQR 9 can control *Fusarium* wilt in cucumber by colonizing plant roots[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(5): 495-506
 [18] Wang BB, Yuan J, Zhang J, Shen ZZ, Zhang MX, Li R, Ruan YZ, Shen QR. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana[J]. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49: 435-446
 [19] Liu DY, Zhang RF, Wu HS, Xu DB, Tang Z, Yu GH, Xu Z, Shen QR. Changes in biochemical and microbiological parameters during the period of rapid composting of dairy manure with rice chaff[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(19): 9 040-9 049
 [20] 李晓旭, 李家政. 优化蒽酮比色法测定甜玉米中可溶性糖的含量[J]. 保鲜与加工, 2013, 13(4): 24-27
 [21] 肖志红, 刘红彦, 刘玉霞, 王飞, 张玉军. 不同山楂品种有机酸含量的检测[J]. 河南农业科学, 2006(5): 88-89

- [22] 郑京平. 水果、蔬菜中维生素 C 含量的测定-紫外分光光度快速测定方法探讨[J]. 光谱实验室, 2006, 23(4): 731-735
- [23] 葛诚. 微生物肥料生产及其产业化[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007
- [24] 倪治华, 薛智勇, 陆若辉. 专性微生物在不同复合造粒工艺和存放期内的存活率变化[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(3): 155-158
- [25] 王永龙, 叶华斌, 阚磊. 小麦施用生物有机无机复合肥的增产效果[J]. 江苏农业科学, 1997(2): 42-43
- [26] 管忠明, 李明成. 津大生物有机无机复合肥在水稻上的应用效果研究[J]. 垦殖与稻作, 2005(5): 41-43
- [27] 龙彬, 万强, 周艳, 罗连光. 生物有机-无机复合肥的研制及其在西瓜上的施用效果研究[J]. 湖南农业科学, 2008(5): 90-91
- [28] 韩晓玲, 张乃文, 贾敬芬. 生物有机无机复合肥对番茄产量、品质及土壤的影响[J]. 土壤肥料, 2005(3): 51-53
- [29] 袁玉娟. *Bacillus subtilis* SQR9 的黄瓜促生和枯萎病生防效果及其作用机制研究[D]. 南京农业大学, 2011
- [30] Zhang M, Li R, Cao LL, Shi JJ, Liu HJ, Huang Y, Shen QR. Algal sludge from Taihu Lake can be utilized to create novel PGPR-containing bio-organic fertilizers. *Journal of Environmental Management*, 2014, 132: 230-236
- [31] 龚伟, 颜晓元, 王景燕. 长期施肥对土壤肥力的影响[J]. 土壤, 2011, 43(3): 336-342
- [32] 李方敏, 廖宗文, 艾天成. 平衡施肥理论与肥料高效利用[J]. 磷肥与复肥, 2004, 19(5): 66-70
- [33] 张敏, 王正银. 生物有机肥料与农业可持续发展[J]. 磷肥与复肥, 2006(2): 58-59
- [34] 王家顺, 赵承, 陆引罡. 生物有机无机复合肥的养分释放特征研究[J]. 中国土壤与肥料, 2010(1): 49-52
- [35] 张辉, 李维炯, 倪永珍. 生物有机无机复合肥对土壤微生物活性的影响[J]. 农村生态环境, 2004, 20(1): 37-40
- [36] 万连步, 卢丽丽, 曹广峰. 一种生物有机无机掺混肥料的生产与应用[J]. 磷肥和复肥, 2012, 6: 60-61

Utilization of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 for Developing Compound Microbial Fertilizer

LIANG Xiao-lin¹, SUN Li¹, ZHANG Juan³, LIU Xiao-yu¹, ZHAO Mai-qiong¹,
LI Rong^{1*}, HUA Zheng-hong², SHEN Qi-rong¹

(1 National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilization in Low-Middle Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture, Jiangsu Key Laboratory of Solid Organic Waste Utilization, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Jiangsu Hexi Biotechnology Co., Ltd., Taizhou, Jiangsu 225502, China; 3 Shandong Product Quality Inspection Research Institute, Jinan 250100, China)

Abstract: For the advantage and disadvantage of chemical fertilizer, organic fertilizer and tradition bio-fertilizer, the development of compound microbial fertilizer (CMF) containing characteristics of quick-efficiency for chemical fertilizer, long-quick-efficiency for organic fertilizer and enhanced-efficiency bio-fertilizer is significant. Since *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 can easily form spores when facing adversity, tolerate salt, effectively control multiple plant diseases and promote plant growth, adding suitable amount of chemical fertilizer in bio-organic fertilizer solid-state fermented with this strain was performed to explore CMF in this study. Meanwhile, storage and field experiments of powdery and granular compound microbial fertilizers were conducted. Results showed that after storage for 6 months, the number of viable strain SQR9 both in powdery and granular CMFs were more than 2×10^7 cfu/g DW fertilizer of the national standard. Field experiments showed that the compound microbial fertilizer significantly promoted the growth of tomato. Compared with the compound fertilizer and chemical fertilizer treatments with the same level of nutrition and no fertilizer control, the treatment of CMF containing 100 g/kg nutrients increased tomato yields by 8.23%, 10.26% and 37.73%, and the treatment of CMF containing 140 g/kg nutrients increased the yields by 7.36%, 13.92% and 44.77%, respectively.

Key words: *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9; Organic fertilizer; Bio-organic fertilizer; Compound microbial fertilizer