

含 PGPR 菌株 LZ-8 生物育苗基质的研制与促生效应研究^①

文春燕^{1,2}, 高琦¹, 张杨¹, 李荣^{1,2*}, 沈其荣¹

(1 国家有机类肥料工程技术研究中心, 江苏省固体有机废弃物资源化高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 南京农业大学淮安研究院, 江苏淮安 223005)

摘要: 根际促生细菌(PGPR)与普通育苗基质联合形成生物育苗基质, 能够有效促进 PGPR 菌株的根际定殖, 从而增强菌株促生效应的发挥。本研究以辣椒和番茄两种经济作物为供试材料, 采用拌土的方式向基质中添加 PGPR 菌株 LZ-8 发酵液形成生物育苗基质, 研究了该生物基质对这两种作物苗期的促生效果及种苗移栽后大田产量的增加情况。结果表明: 含 PGPR 菌株的生物育苗基质对辣椒和番茄苗期均具有显著的促生效果, 其中苗期辣椒和番茄的株高、茎粗、叶面积、鲜重和干重分别比对照高出 22%、15.9%、33.6%、21.84%、31.25% 和 26.8%、29.4%、62%、72.7%、83.3%; 生物基质所育种苗移栽至大田后显著增加了辣椒和番茄的产量, 分别比对照增产 22% 和 11%。

关键词: PGPR 菌株; 生物基质; 促生作用; 辣椒; 番茄

中图分类号: S144

植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是一类能够高密度定殖在植物根际的微生物, 兼有抑制根际病原微生物和促进植物生长的作用^[1]。PGPR 不仅可以分泌植物促生物质(如植物激素、维生素、氨基酸及其他活性有机小分子衍生物等)^[2], 还可以改善植物根际的营养环境。此外, PGPR 还具有控制植物病害, 降解土壤污染物的作用^[3]。作为一类重要的土壤有益微生物, 越来越受到土壤微生物、植物病理、微生物生态等领域专家的重视, 也是现今生态农业的一个热点, 已有多种 PGPR 菌株被用于农业、林业生产、环境修复中^[4]。

随着设施农业的发展, 工厂化育苗越来越受到重视, 加速了固体栽培基质的开发研究^[5]。基质是幼苗生存的场所, 也是幼苗所需水分、养分、温度等的介质^[6]。育苗过程中, 植物同时通过根系分泌能被土壤微生物识别的信号分子启动微生物与植物根系的对话, 诱导微生物产生一些信号来启动微生物在根部的定殖^[7]。如果能够将特定的根际促生功能微生物在育苗时保活添加到基质中, 研制成活性生物育苗基质, 预计能够育出根际带有大量活性功能微生物的优质种苗, 从而最大限度发挥该类微生物的促生作用, 从

而提高该类作物在大田种植中的产量。本研究以辣椒和番茄为供试作物, 通过比较具促生能力辣椒根际促生细菌所研制育苗生物基质的育苗效果及种苗移植后的田间产量, 以期利用根际有益细菌研发育苗生物基质提供技术和理论支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 供试作物品种、普通育苗基质及 PGPR 菌株
供试辣椒品种为红巨椒, 由安徽省宿州市金泰种苗研究所提供; 番茄品种为红粉佳人, 由寿光南澳绿亨农业有限公司提供。无土栽培基质由江苏淮安柴米河基质肥料有限公司提供, 其基本性质: 总氮 13.4 g/kg, 有机质 227.8 g/kg, 水分 ≤ 500 g/kg, pH 6.96, EC 1.94 mS/cm。供试 PGPR 菌株: 短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) LZ-8, 为本实验室分离保存的具有防控辣椒疫病和促进辣椒生长的根际促生菌^[8]。

1.2 生物育苗基质的制备

将拮抗菌 LZ-8 接种到 PDA 液体培养基中, 30℃、170 r/min 培养 36 h, 获得功能菌数量大于 10^9 CFU/ml 的发酵液。菌液离心去除上清, 菌体重悬于无菌水后, 以 3% 比例(体积质量比, 干重, 下同)与所提供的普

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2013AA102802)、淮安市科技支撑计划项目(SN201301)、国家大学生创业训练项目(201410307089)、南京市科技计划项目(201505041)、苏北专项(BN2015082)、南京农业大学 SRT 项目(1413C10)和江苏省“青蓝工程”项目资助。

* 通讯作者(lirong@njau.edu.cn)

作者简介: 文春燕(1995—), 女, 江西赣州人, 本科, 主要研究方向为有机(类)肥料研发。E-mail: 1078158827@qq.com

通蔬菜育苗基质直接混合均匀。

1.3 含功能菌生物基质苗盘育苗效果研究

辣椒和番茄苗盘育苗试验分别设两个处理：对照处理(CK)，育苗基质中不添加外源功能菌；LZ-8 处理，育苗基质中添加 3% 功能菌 LZ-8 发酵液，每个处理 50 个重复。育苗步骤如下：基质置于孔径大小相同的育苗盘中，不同处理调至相同含水量。辣椒和番茄种子分别用 60℃ 温水浸泡搅拌至室温，取沉淀种子，5% 次氯酸钠消毒处理 3 min，无菌水清洗 3 ~ 4 次后于 30℃ 培养箱中遮光催芽至露白后埋入基质中，各处理每天同等浇水量保持湿度。20 天后取样测定两种种苗的株高、茎粗、叶面积、鲜重和干重。

1.4 田间试验

田间试验于 2014 年 8 月 28 日—10 月 15 日在江苏淮安柴米河基质肥料有限公司连栋大棚内进行。选取长势均一的本研究所育苗移栽，试验设两个处理：对照处理(CK)，基质中不添加功能菌 L-28；LZ-8 处理，基质中添加 3% 功能菌发酵液。化肥用量按当地常规用量施用，试验每个处理设 4 次重复，随机区组设计。每个小区面积为 3 m × 1 m，小区生物有机肥

施用量为 13.0 kg，小区复合肥 N：P：K=15：15：15 施用量为 375 g。生物有机肥及化肥于耕层混合均匀。每个小区移栽作物株数为 20 株，移栽后常规水肥管理。在作物移栽 30 天时测定作物生长量，60 天时开始计算作物产量。

1.5 测定方法

采用叶面积测定仪测量叶面积；取样后，取植株地上部，称取植株鲜重；将称完鲜重后的植株于 105℃ 下杀青 15 min 后，70℃ 下烘至恒重，称重即得植株干重。植株移栽 60 天时开始计数各处理辣椒和番茄的产量。

2 结果与分析

2.1 含功能菌生物基质对辣椒和番茄苗盘期生长的影响

育苗 20 天后，辣椒艺性状如表 1 所示，添加了功能菌的生物育苗基质(LZ-8 处理)所育辣椒种苗的株高、茎粗、叶面积、鲜重和干重均显著高于 CK，分别增加了 22%、15.9%、33.6%、21.84% 和 31.25%。表明育苗过程中，生物育苗基质中的功能菌 *Bacillus pumilus* LZ-8 发挥了促生作用。

表 1 含功能菌生物基质对辣椒和番茄苗盘期生长的影响

作物	处理	株高(cm)	茎粗(mm)	叶面积(cm ²)	鲜重(g)	干重(g)
辣椒	CK	13.08 ± 0.387	1.76 ± 0.046	12.96 ± 1.679	0.87 ± 0.11	0.08 ± 0.012
	LZ-8	15.96 ± 0.902*	2.04 ± 0.135*	17.32 ± 2.185*	1.06 ± 0.14*	0.105 ± 0.007*
番茄	CK	17.56 ± 0.754	2.52 ± 0.150	12.36 ± 2.986	0.88 ± 0.106	0.06 ± 0.092
	LZ-8	22.27 ± 2.964*	3.26 ± 0.444*	20.02 ± 2.638*	1.52 ± 0.226*	0.11 ± 0.014*

注：* 表示同一作物同列数据在 $P < 0.05$ 水平差异显著；下同。

由表 1 可知，育苗 20 天后，相比于 CK，LZ-8 处理显著促进了番茄苗期的生长，在株高、茎粗、叶面积、鲜重和干重方面，分别显著增加了 26.8%、29.4%、62%、72.7% 和 83.3%。研究结果进一步确认功能菌在基质中有效发挥了促进所育作物苗期的生长。

2.2 生物基质所育辣椒苗的田间促生效果

进一步利用田间试验，比较生物基质和普通育苗基质所育辣椒种苗移栽后的田间生长效应，结果如表 2 所示。生物基质(LZ-8 处理)所育辣椒苗移栽后，田间植株株高显著高于普通育苗基质(CK)所育辣椒种苗，增加了 8%；茎粗方面二者无显著性差异，但 LZ-8 处理辣椒苗移栽后的茎粗值要高于 CK 处理。待作物成熟时，摘取果实记产量，LZ-8 处理产量相比 CK 显著增产了 22%，表明生物基质在苗期形成的优质种苗移栽后，能够有效提高作物产量。

表 2 含功能菌生物基质所育辣椒和番茄苗移栽大田后的生长情况

作物	处理	株高(cm)	茎粗(mm)	产量(kg/hm ²)
辣椒	CK	29.01 ± 2.42	5.78 ± 0.23	22 830 ± 1 964.3
	LZ-8	31.34 ± 2.00*	6.27 ± 0.53	27 763.5 ± 2 811.0*
番茄	CK	38.5 ± 2.28	7.23 ± 0.31	14 551.5 ± 1 183.0
	LZ-8	50.63 ± 1.69*	8.27 ± 0.34*	16 179 ± 1 855.5

由表 2 可知，20 天后，生物基质(LZ-8 处理)所育番茄植株株高和茎粗显著高于普通育苗基质(CK)，分别显著增加了 31.5% 和 14.4%。生物基质所育种苗的产量高于普通育苗基质所育种苗，增产 11%。综合辣椒和番茄结果表明，生物基质有效促进了辣椒和番茄植株苗期和大田移植后的植株长势，促进了植株田间的产量。

3 结论与讨论

本研究以实验室分离保存具有促生和拮抗功能

的菌株 LZ-8, 直接保活添加至普通育苗基质中, 研制活性生物基质。结果表明, 生物基质能够显著促进辣椒和番茄植株苗盘期的生长, 主要表现在株高、茎粗、叶面积、地上部鲜重和干重的增加。推断是由于生物育苗基质中含有大量的根际促生菌 *Bacillus pumilus* LZ-8。现有的文献在植物根际促生菌的促生效果方面已有大量报道, 如段秀梅等^[9]、高君君等^[10]、Zemrany 等^[11]、Cassán 等^[12]和 EI-Tarabily 等^[13]的研究。同时已有大量文献进一步研究 PGPR 类微生物的促生机理^[14-20]。但目前大量 PGPR 促生效果的研究均致力于移栽后的植株, 本研究开拓性的在普通育苗基质中添加 PGPR, 预计能够进一步发挥 PGPR 的促生效果。

田间试验结果表明, 生物基质所育辣椒和番茄种苗移栽后, 无论是生长指标还是果实产量, 均显著高于对照, 推测主要由于苗期根际促生菌的促生作用及其有效的根际定殖。有研究表明, 移栽后作物产量的提高与苗期相应作物生长量有一定的关系, 一般而言苗期作物生长量与移栽后作物产量成正比^[21-23]。另外, 不同植物能够通过根系分泌大量物质吸引功能微生物的定殖及发挥促生作用^[24], 因此, 推测苗期功能菌的定殖, 同样是促进田间作物产量的重要原因之一。

综上所述, 本研究对根际促生菌在穴盘育苗中的促生作用进行了初步探讨, 预计研究结果能够为含 PGPR 蔬菜育苗基质的开发提供理论支撑, 同时为 PGPR 产品的开发提供新思路。

参考文献:

- [1] 陈晓斌, 张炳欣. 植物根围促生细菌(PGPR)作用机制的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(1): 38-41
- [2] 荣良燕, 姚拓, 马文彬, 等. 岷山红三叶根际优良促生菌对其宿主生长和品质的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(5): 231-240
- [3] 丁琳琳, 刘五星, 孙剑英, 等. 产 ACC 脱氨酶植物根际促生菌的筛选及其对修复植物高羊茅生长的影响[J]. 土壤, 2013, 45(2): 271-276
- [4] 梁建根, 施跃峰, 竺利红. 植物根围促生细菌作用机制的研究[J]. 现代农业科技, 2008, 17: 133-135
- [5] 李海燕. 有机型无土栽培基质配方研制及其对番茄的生长效应研究[D]. 山东: 山东农业大学, 2012
- [6] 闫杰, 罗庆熙, 韩丽萍. 工厂化育苗基质研究进展[J]. 中国蔬菜, 2006(2): 34-37
- [7] Liu Y P, Zhang N, Qiu M H, et al. Enhanced rhizosphere colonization of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by pathogen infection[J]. FEMS Microbiology Letters, 2014, 353: 49-56
- [8] 梅新兰, 赵青云, 谭石勇, 等. 辣椒疫病拮抗菌株筛选、鉴定及其防效[J]. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2652-2658
- [9] 段秀梅, 高晓蓉, 吕军, 等. 两株土壤分离菌的解磷能力及对玉米的促生作用[J]. 中国土壤与肥料, 2010(2): 79-85
- [10] 高君君, 康贻军, 程浩, 等. PGPR 对水稻塑盘旱育秧苗素质的影响[J]. 土壤, 2012, 44(1): 126-132
- [11] Zemrany H E, Czarnes S, Hallett P D, et al. Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1[J]. Plant and Soil, 2007, 291(1/2): 109-118
- [12] Cassán F, Perrig D, Sgroy V, et al. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn(*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.)[J]. European Journal of Soil Biology, 2009, 45(1): 28-35
- [13] EI-Tarabily K A. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing *Streptomyces actinomycetes* [J]. Plant and Soil, 2008, 308(1/2): 161-174
- [14] Guo J H, Qi H Y, Guo Y H, et al. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria [J]. Biol Control, 2004, 29(1): 66-72
- [15] Glick BR. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1995, 41(2): 109-117
- [16] Kloepper J W, Lifshitz R, Zablotowicz R M. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity [J]. Trends in Biotechnology, 1999, 37: 439-444
- [17] 黄晓东, 季尚宁, Bernard Glick. 植物促生菌及其促生机理[J]. 现代化农业, 2002, 7: 13-15
- [18] 胡江春, 薛德林. 植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景[J]. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1 963-1 966
- [19] 康贻军, 程浩, 梅丽娟, 等. 植物根际促生菌作用机制研究进展[J]. 应用生态学报, 2010, 21 (1): 232-238
- [20] 胡小加, 江木兰, 张银波. 巨大芽孢杆菌在油菜根部定殖和促生作用的研究[J]. 土壤学报, 2004, 41(6): 945-948
- [21] 张慧, 杨兴明, 冉炜, 等. 土传棉花黄萎病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2008, 45(6): 1095-1101
- [22] 江欢欢, 程凯, 杨兴明, 等. 辣椒青枯病拮抗菌的筛选及其生物防治效应[J]. 土壤学报, 2010, 47(6): 1225-1230
- [23] 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
- [24] 陈龙池, 廖利平, 汪思龙, 等. 根系分泌物生态学研究[J]. 生态学杂志, 2002, 21(6): 57-62

Development of Biological Matrix Produced by PGPR Strain LZ-8 and Analysis for Its Growth Promoting Effect

WEN Chunyan^{1,2}, GAO Qi¹, ZHANG Yang¹, LI Rong^{1,2*}, SHEN Qirong¹

(1 National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, 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 Huaian Academy of Nanjing Agricultural University, Huaian, Jiangsu 223005)

Abstract: Combining plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) with common seedling substrate to create biological matrix could enhance the root colonization ability of the strain and subsequently improve the promoting ability of the PGPR strain for plant growth. In this study, effects of novel biological matrix produced by PGPR strain *Bacillus pumilus* LZ-8 on the nursery growth and field yield of two economic crops, pepper and tomato, were investigated. Results showed that application of novel biological matrix significantly increased the plant height, stem diameter, leaf area, and the fresh and dry weights by 22%, 15.9%, 33.6%, 21.84% and 31.25%, respectively, for pepper, and by 226.8%, 29.4%, 62%, 72.7% and 83.3%, respectively, for tomato, compared to the control with common seedling substrate. After being transported to the field, the treatment with seedlings grown in the biological matrix showed significant increases in the yields of pepper and tomato by 23% and 11%, compared to the control with seedlings grown in the common seedling substrate.

Key words: PGPR strain; Biological matrix; Growth promoting effect; Pepper; Tomato