

陈多菲,徐 畅,刘文佳,等. 3 株水稻根际促生菌的筛选鉴定及促生作用研究[J]. 江苏农业科学,2023,51(24):196–202.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2023.24.027

3 株水稻根际促生菌的筛选鉴定及促生作用研究

陈多菲,徐 畅,刘文佳,张俐敏,莫继先

(齐齐哈尔大学生命科学与农林学院,黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要:为发掘具有优秀促生能力的东北地区水稻根际促生菌(PGPR)资源,通过选择性培养基筛选,对菌株促生特性与能力定量分析,确定目标菌株并进行鉴定,通过盆栽试验分析其促生效应。在筛选出的 5 株解磷菌、3 株解钾菌、3 株自生固氮菌中,菌株 R8 具有较强的解磷、合成铁载体、分泌赤霉素的能力;菌株 K25 具有较强的解钾、分泌吡啶乙酸能力;菌株 N2 具有较强的固氮能力。经鉴定,菌株 R8、K25、N2 分别为 *Pantoea eucalypti*、*Enterobacter sichuanensis*、*Bacillus zanthoxyli*。3 株菌株对水稻幼苗均具有显著的促生作用和定殖于水稻根际的能力。混菌促生试验发现,T3 (K25 + N2)、T4 (R8 + K25 + N2)混菌处理组在水稻幼苗的生物量积累、地上部与根系生长、根系形态结构等方面表现出较好的促生效果。混菌组对水稻幼苗的促生作用优于单菌组,具有研发制备微生物肥料的潜力。

关键词:水稻;根际促生菌;鉴定;促生特性;促生作用

中图分类号:S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2023)24–0196–07

水稻是我国三大主要粮食作物之一,在粮食生产与消费中占据主导地位,全国约有 65% 以上的国民以稻米作为口粮^[1]。2011 年以来,我国稻谷产量连续 11 年稳定在 2 亿 t 以上,种植面积稳定在 3 000 万 hm² 左右,对保障国家粮食安全和促进社会经济平稳发展发挥了巨大作用^[2]。在现代农业生产过程中,化肥和农药是提高作物产量的重要生产资料^[3]。有数据表明,1980 年以来我国在水稻种植方面的化肥使用量显著增加;化肥对农作物产量的提升作用显著,但增产趋势在逐渐减弱^[4]。在粮食生产过程中,对化肥的过度依赖及过量、盲目、不科学施用,不仅无法达到增产目的,还会降低农产品品质,造成土壤肥力下降,耕地退化,土壤板结、酸化,土壤微生物群落结构恶化以及地下水、农田环境污染等危害,不利于农业的可持续发展。2014 年,农业农村部提出“到 2020 年化肥、农药使用量零增长行动方案”的“双减”政策。微生物菌肥因其绿色、安全、高效、环保等特点,受到广泛的关注与研究^[5]。微生物菌肥是近年来发展起来的一种新

型肥料,含有大量有益活性微生物,能通过微生物的特定活动为植物提供营养,调节植物生长^[6]。微生物菌肥应用于水稻生产,不仅能提高水稻产量,还能提高土壤肥力,提升水稻品质,提高化肥有效利用率,减少环境污染等,有利于绿色农业的发展^[7]。

植物根际促生菌(PGPR)是微生物肥料中促进农作物生长发育的关键成分,也是其重要的菌种来源^[8]。PGPR 的应用被广泛认为是促进绿色农业发展的一种可行策略。PGPR 具有直接或间接促进植物生长的能力^[9]。通常由 PGPR 直接转化养分,如固氮、溶磷、解钾作用;或通过分泌代谢产物[如胞外多糖、有机酸、1–氨基环丙烷–1–羧酸(ACC)脱氢酶、吡啶乙酸、赤霉素、铁载体等]供植物吸收利用,进而影响植物应激反应^[9];或通过帮助植物抵抗细菌等病原体的侵害以及诱导植物产生系统抗性,间接促进植物生长^[8,10]。因此,筛选具有优秀促生潜力的 PGPR 并开发高效 PGPR 菌剂,已成为当前国内外研究热点之一^[11]。近年来国内外研究发现,水稻根际促生菌对促进水稻生长发育、提高水稻产量方面具有良好的正向作用。杨华等通过试验发现,筛选的水稻根际促生菌中,C7–1、20–10、L26、S11–11、GYM–bt5 对水稻的种子发芽率、根系、茎的生长以及分蘖方面具有不同程度的提升^[12]。戚秀秀等研究发现,在水稻育苗基质中添加解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) LY11,

收稿日期:2023–03–01

基金项目:黑龙江省省属高等学校基本科研业务费项目(编号:135409420)

作者简介:陈多菲(1995—),男,黑龙江齐齐哈尔人,硕士研究生,主要从事环境微生物研究。E-mail:997974297@qq.com。

通信作者:莫继先,博士,副教授,主要从事环境微生物研究。E-mail:mojixian8208@sina.com。

对水稻幼苗地上部生物量、根系活力、氮磷钾养分吸收的提升效果显著,并促进秧苗生长,提高其代谢活性^[13]。还有研究表明,菌株组合的应用效果优于单一菌株。Sun 等通过田间试验发现,胶冻样芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)与黑曲霉(*Aspergillus niger*)联合施用,对改善土壤微生物数量与结构、土壤酶活性、植物总养分含量及水稻产量有显著效果,且优于单独施用^[14]。自 2000 年我国开始微生物菌肥登记以来,登记数量逐年增加,尤其在 2015—2018 年,登记产品数量快速攀升^[15]。但目前适用于东北地区的水稻生长特性、土壤性质的微生物菌肥数量和水稻根际促生菌的相关研究报道较少。本研究从黑龙江省齐齐哈尔市水稻根际土壤中筛选出多株水稻根际促生菌,对其养分转化能力、植物激素分泌能力进行定量测定,并对优良菌株进行种属鉴定,对单一菌株与复合菌株在水稻幼苗和根系发挥的促生效应进行探究,旨在为适宜当地水稻施用的微生物肥料开发和应用提供理论基础与技术支持。

1 材料与方法

水稻根际土壤采样于黑龙江省齐齐哈尔市的一处稻田(47°21'16" N, 123°55' 6" E),种植水稻品种为垦稻 19。本试验采用的水稻品种为绥稻 616,水稻育苗基质为市售(氮、磷、钾含量 $\geq 2\%$,有机物总量 $\geq 28\%$)。

1.1 培养基配方

LB 培养基(1 L):含酵母浸膏粉 5.0 g、NaCl 10.0 g、蛋白胨 10.0 g, pH 值为 7.0。PKO 无机磷培养基(1 L):含葡萄糖 10.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g、NaCl 0.3 g、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 2.0 g、KCl 0.3 g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.036 g, pH 值为 7.0。亚历山大罗夫培养基(1 L):含蔗糖 5.0 g、 Na_2HPO_4 2.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 CaCO_3 0.1 g、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.005 g、钾长石粉 1.0 g, pH 值为 7.0。无氮培养基(1 L):含甘露醇 10.0 g、 KH_2PO_4 0.2 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005 g、NaCl 0.2 g、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g、 CaCO_3 5.0 g, pH 值为 7.2。MKB 培养基(1 L):含酪蛋白氨基酸 5.0 g、甘油 15.0 mL、 K_2HPO_4 2.5 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, pH 值为 7.0。

固体培养基为 1 L 液体培养基加琼脂 20.0 g。

1.2 试验方法

1.2.1 PGPR 的筛选 将水稻根系上的大块土壤

抖落,无菌水涮下根表附着土壤,离心后取 1 g,与 9 mL 无菌水在装有玻璃珠的锥形瓶中配制土壤悬液,30 ℃、140 r/min 振荡 2 h。梯度稀释至 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 浓度,分别吸取 0.1 mL 涂布在 PKO 无机磷培养基平板(解磷菌筛选)、亚历山大罗夫培养基平板(解钾菌筛选)。30 ℃ 培养箱内培养 5 d。根据解磷圈、解钾圈大小,筛选优势菌株,进行分离纯化多代后,保藏备用。采用富集纯化法^[16]分离高效固氮菌株。取 10 g 离心后的根际土壤加入 90 mL 液体无氮培养基中,30 ℃、140 r/min 培养 5 d,取 1% 培养物,接种到 100 mL 液体无氮培养基中进一步培养,之后每 2 d 转接 1 次。重复转接 4 次后,梯度稀释并涂布在固体无氮培养基平板上筛选、纯化菌株后,保藏备用。

1.2.2 促生特性能力测定 采用钼锑抗比色法^[17]测定菌株解磷能力;采用火焰原子分光光度计法^[18]测定菌株解钾能力;采用碳氮分析仪测定菌株固氮能力;采用浓硫酸反应法^[19]测定菌株分泌赤霉素能力;采用 Salkowski 比色液比色法^[20]测定菌株分泌吲哚乙酸能力;采用 CAS 检测液检测法^[21]测定菌株铁载体合成能力。每组均设 3 次重复。

1.2.3 菌种鉴定 菌株形态学鉴定与生理生化试验方法参考《常见细菌系统鉴定手册》^[22]进行操作。16S rDNA 测序工作由上海生工生物工程公司进行,采用通用引物 27F(5' - AGAGTTTGATCCTGG CTCAG - 3')和 1492R(5' - GGTACCTTGTTACGAC TT - 3')进行 PCR 扩增。将测序结果于 EzBioCloud 数据库中进行同源性比对,使用 MEGA 7.0 软件及 Neighbor - Joining 法构建菌株系统进化树。将测得序列批量上传至 GenBank 获得菌株登录号。

1.2.4 菌株生长曲线测定 将保藏的菌株分别接种于 50 mL 的 LB 液体培养基,30 ℃、140 r/min 振荡培养 16 h 活化后,转接至 100 mL 的 LB 液体培养基中,同条件下培养 24 h,每隔 2 h 测定吸光度($D_{600\text{nm}}$),绘制各株菌生长曲线。

1.2.5 浸种促生试验 用 3.5% 次氯酸钠溶液将水稻种子消毒 5 min,再用 75% 乙醇消毒 5 min,无菌水洗净。分别用无菌水、3 种供试菌株菌悬液($D_{600\text{nm}} = 0.5$)浸种 24 h。将水稻种子转至无菌且铺有双层滤纸的培养皿中,每皿放 20 粒种子,每组设 3 次重复。在 30 ℃、湿度 60% 的气候箱中培养,7 d 后测量水稻种子胚根长、芽长、苗鲜质量及苗干质量^[23]。

1.2.6 定殖试验 将水稻种子消毒(方法同“1.2.5”节)后,28 ℃浸泡 2 d,每 12 h 换水 1 次。用纱布包裹种子,28 ℃催芽 24 h,中间用无菌水冲洗 1 次。挑取萌发程度相近的种子,无菌操作转移至已灭菌装有石英砂、20 mL 1/4MS 营养液的大试管中,每管转入 3 株幼苗,28 ℃恒温培养箱培养 7 d 后,加入 $D_{600\text{ nm}}=0.5$ 的各菌株菌悬液 5 mL,同条件继续培养 7 d,期间定期浇灌等量 1/4MS 营养液。7 d 后将水稻苗取出,抖净石英砂,称取 0.1 g 水稻根,加入含 10 mL 无菌水的锥形瓶,140 r/min 涡旋振荡 30 min 后,梯度稀释涂布于 LB 平板,30 ℃培养 2 d 后计数,每组 3 次重复^[24]。

1.2.7 水稻幼苗盆栽促生试验 试验共设 8 个处理组,分别为:CK(无菌水)、R8、K25、N2、T1(R8 + K25,1:1)、T2(R8 + N2,1:1)、T3(K25 + N2,1:1)、T4(R8 + K25 + N2,1:1:1)。将催芽后萌发程度相近的水稻种子均匀播种后,将 50 mL 菌悬液($D_{600\text{ nm}}=0.5$)均匀喷洒于土壤表面。覆土 0.2 cm 并喷洒无菌水至基质含水量达到饱和状态。每个处理重复 5 次。在相同室温环境条件下,各处理随机摆放,并定时随机调整摆放位置,定期补充等量水分。21 d 后采样,测定水稻幼苗株高、茎粗、全株干质量、根干质量、根系总长、根总表面积、根总体积、根平均直径、根尖数。根系相关指标使用根系分析仪(Scan Maker i800 plus)及根系分析软件

(Scan Wizard EZ)测定并分析。

1.2.8 数据处理 用 SPSS 26 软件进行单因素方差分析,各试验组间数据差异用 Duncan's 法进行检验($\alpha=0.05$)。采用 Origin 2021 绘图。

2 结果与分析

2.1 PGPR 促生特性能力测定

从水稻根际土壤中初步筛选出 80 株根际促生菌,其中 5 株具有溶解无机磷能力、3 株具有解钾能力、3 株具有固氮能力。对其促生特性能力进行测定,结果见表 1。其中解磷能力最强的菌株为 R8,7 d 发酵液中有有效磷含量为 33.94 $\mu\text{g/mL}$ (磷标准曲线: $y=1.5306x-0.0584,r^2=0.9919$)。解钾能力最强的菌株为 K25,7 d 发酵液中 K^+ 含量为 2.62 $\mu\text{g/mL}$ 。固氮能力最强的菌株为 N2,7 d 发酵液中 N 元素含量为 3.05 $\mu\text{g/mL}$ 。在后续促生特性能力测定中发现,5 株菌株具有产吡啶乙酸的能力,其中能力最强的菌株为 K25,2 d 发酵液中吡啶乙酸浓度达到 93.87 $\mu\text{g/mL}$ (吡啶乙酸标准曲线: $y=0.0005x+0.0054,r^2=0.9909$);9 株菌株具有合成铁载体的能力,其中能力最强的菌株为 R8,2 d 发酵液中铁载体活性为 56.97%;2 株菌株具有分泌赤霉素的能力,其中能力最强的菌株为 R8,2 d 发酵液中赤霉素浓度为 8.13 $\mu\text{g/mL}$ (赤霉素标准曲线: $y=0.0605x+0.0300,r^2=0.9905$)。

表 1 11 株水稻根际促生菌的促生特性能力分析

菌株	解磷量 ($\mu\text{g/mL}$)	解钾量 ($\mu\text{g/mL}$)	固氮量 ($\mu\text{g/mL}$)	吡啶乙酸浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	铁载体活性 (%)	赤霉素浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
R8	33.94 \pm 0.89a			79.87 \pm 4.16b	56.97 \pm 0.84a	8.13 \pm 0.33a
R9	33.40 \pm 0.06ab			67.87 \pm 3.06c	43.00 \pm 1.94c	7.85 \pm 0.38a
R12	30.40 \pm 0.10d				53.15 \pm 0.10b	
R24	33.14 \pm 0.11b			43.20 \pm 5.29d	40.12 \pm 0.74d	
R28	31.58 \pm 0.03c			40.53 \pm 5.77d	32.06 \pm 1.15f	
K3		2.27 \pm 0.17b			29.76 \pm 1.79g	
K8		0.70 \pm 0.04c				
K25		2.62 \pm 0.01a		93.87 \pm 2.31a	37.45 \pm 0.73e	
N2			3.05 \pm 0.18a		31.46 \pm 0.48fg	
N3			1.68 \pm 0.08b			
N16			1.08 \pm 0.13c		51.94 \pm 0.37b	

注:同列数据后不同小写字母表示不同组别间差异显著($P<0.05$)。

2.2 确定目标菌株

从各菌株促生特性能力强弱以及功能多样性的角度综合分析,菌株 R8 具有最强的解磷和合成

铁载体能力,且具有产吡啶乙酸、赤霉素能力;菌株 K25 具有最强的解钾能力、最强的产吡啶乙酸能力且可以合成铁载体;菌株 N2 有最强的固氮能力且

具有合成铁载体的能力。所以选取此 3 株 PGPR 为目标菌株,并进行菌间交叉划线拮抗试验,结果为各菌株间相互不拮抗(图 1)。



图1 菌间拮抗试验

2.3 菌种鉴定

生理生化试验结果如表 2 所示。通过对菌落形

态的观察,菌株 R8 为黄色圆形不透明菌落,表面光滑湿润,边缘整齐。菌株 K25 为白色圆形不透明菌落,表面光滑干燥,边缘整齐。菌株 N2 为乳白色圆形不透明菌落且具有黏性,表面光滑湿润,边缘整齐。通过对 3 株菌株的基因序列分别进行比对,构建系统进化树(图 2、图 3、图 4)。结果表明,菌株 R8、K25、N2 分别与 *Pantoea eucalypti* LMG24198、*Enterobacter sichuanensis* WCHECI1597、*Bacillus zanthoxyli* 1433 处于同一分支,序列相似性分别为 99.63%、99.30%、99.65%。综上,3 株菌株分别属于泛菌属、肠杆菌属、芽孢杆菌属,最终鉴定为桉树泛菌、四川肠杆菌、花椒芽孢杆菌。3 株菌株的序列上传 GenBank 获得的登录号分别为 OQ410706、OQ410707、OQ410708。

表 2 3 株水稻根际促生菌生理生化试验测定

菌株	革兰氏染色	淀粉水解试验	蔗糖发酵试验	葡萄糖发酵试验	乳糖发酵试验	吲哚试验	甲基红试验	伏-谱试验	柠檬酸盐试验	接触酶试验
R8	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
K25	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+
N2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

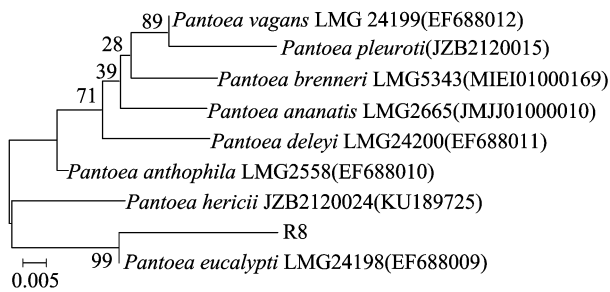


图2 菌株 R8 的系统进化树

2.4 菌株生长曲线测定

由图 5 可知,菌株 R8、K25、N2 的发育迟缓期持

续时间不同,菌株 R8、N2 相同,为 0 ~ 4 h;菌株 K25 发育迟缓期极短。菌株进入对数生长期后,迅速生长繁殖。菌株 R8、K25、N2 分别在 16、16、22 h 达到最高浓度,之后进入稳定期。

2.5 浸种促生试验

由图 6 - A、图 6 - B 可知,浸种促生 7 d 后,CK 组水稻幼苗芽长为 4.15 cm,与 CK 组相比,菌株 R8、K25、N2 菌悬液处理的水稻芽长分别提高 25.06%、38.07%、55.66%;CK 组水稻幼苗胚根长为 6.98 cm,与 CK 组相比,菌株 R8、K25、N2 菌悬液

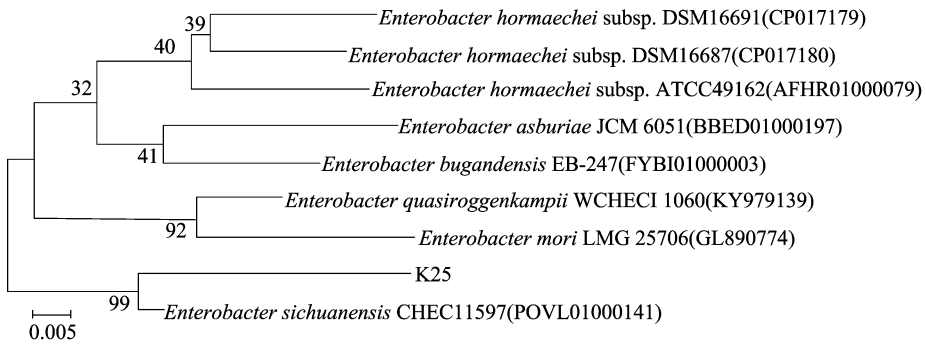


图3 菌株 K25 的系统进化树

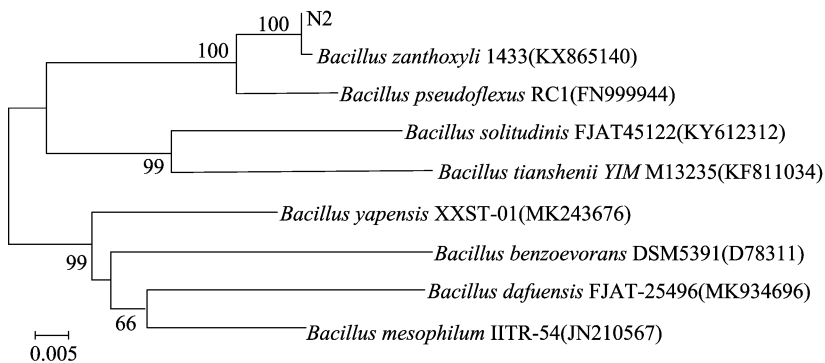


图4 菌株 N2 的系统进化树

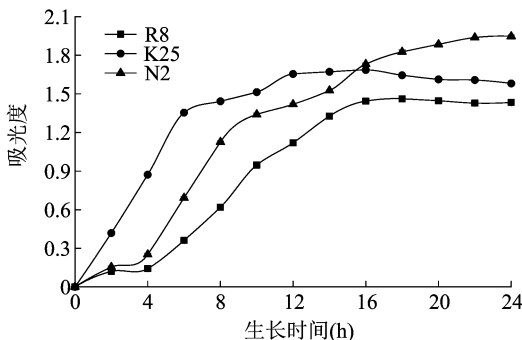


图5 3 株菌株的生长曲线

处理的水稻胚根长分别提高 15.19%、30.37%、47.42%；CK 组水稻幼苗鲜质量为 88.79 mg，与 CK 组相比，菌株 R8、K25、N2 菌悬液处理的水稻幼苗鲜质量分别提高 13.27%、21.88%、46.93%；CK 组水稻幼苗干质量为 19.29 mg，与 CK 组相比，菌株 R8、K25、N2 菌悬液处理的水稻幼苗干质量分别提高 30.38%、37.38%、49.82%。3 株菌株的菌悬液对水稻幼苗均具有显著的促进生长发育作用。

2.6 定殖试验

在 MS 营养液试管苗定殖试验中,3 株 PGPR 在

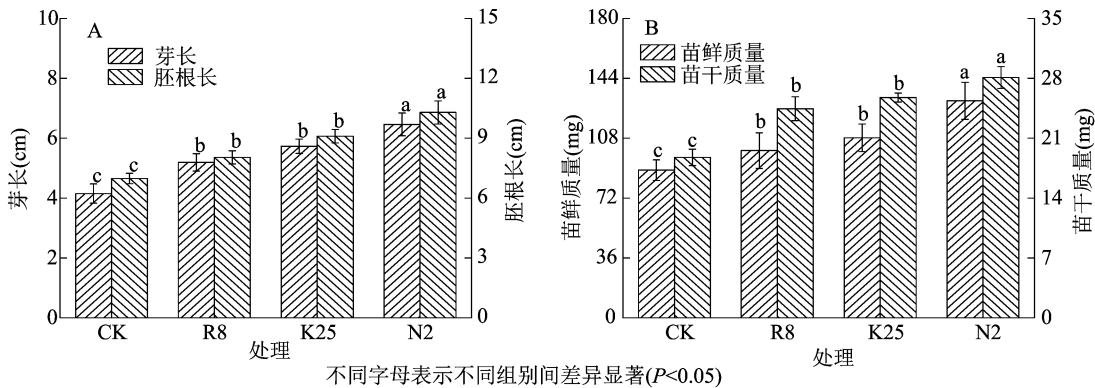


图6 不同菌株菌悬液浸种对水稻幼苗的影响

水稻根际均具有较好的定殖能力且差异显著(图7)。菌株 K25 定殖能力最强,达到了 2.04×10^6 CFU/g。菌株 R8 定殖能力为 1.10×10^6 CFU/g。菌株 N2 定殖能力显著低于菌株 R8、K25,为 7.09×10^5 CFU/g。

2.7 水稻幼苗盆栽促生试验

施加单一菌株与复合菌株的菌悬液 21 d 后,不同处理组对水稻各项生长指标的影响如图 8 所示。与 CK 组相比,7 组施加 PGPR 菌悬液的处理均显著提高水稻幼苗的株高,提高幅度为 19.04% ~ 46.67%，其中 T4 处理效果最佳(图 8 - A)。R8、

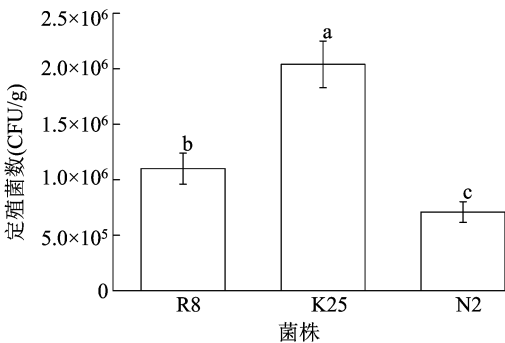
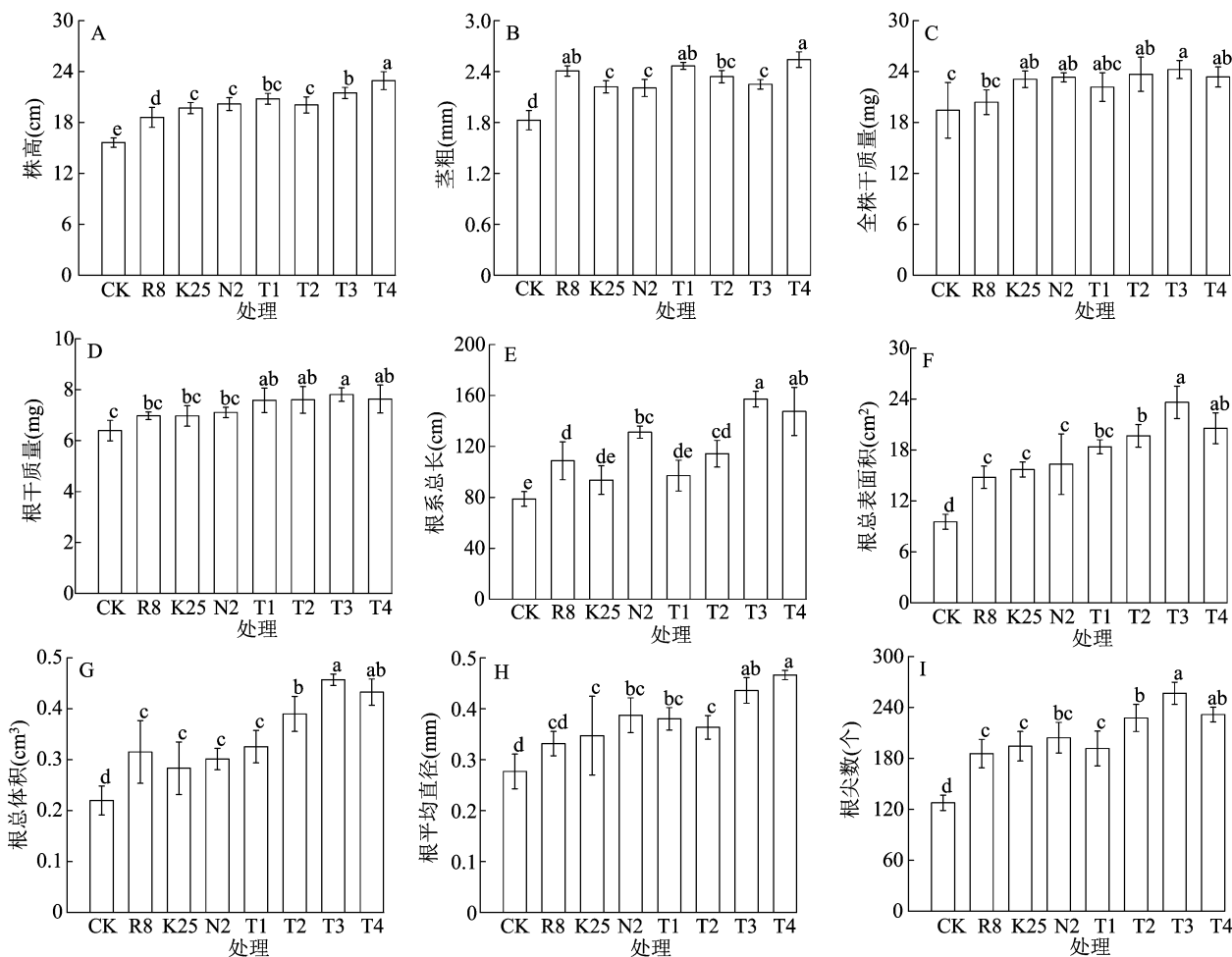


图7 不同菌株在水稻根际定殖数量的差异

T1、T4 处理对茎粗提高幅度较大,对比 CK 处理增幅分别达 31.75%、35.04%、39.05% (图 8 - B)。

在水稻幼苗干物质积累方面,添加 PGPR 的处理组对比 CK 组提高效果显著(图 8 - C、图 8 - D),T3、T4 处理显著增加全株干物质积累量,增幅分别为 24.71%、20.19%;T1、T2、T3、T4 处理对根系干物质的积累量增幅为 18.60% ~ 22.09%,其中 T3 处理增幅最高。在植物根系结构方面,由图 8 - E、图 8 - F、图 8 - G、图 8 - H、图 8 - I 可知,对比 CK 处理,各处理在根系总长、根平均直径、根总体积、根总表面积、根尖数方面均有不同程度的提高,分别

增加 18.19% ~ 99.64%、19.74% ~ 68.35%、28.78% ~ 107.73%、54.89% ~ 147.52%、45.43% ~ 101.04%。T3 处理在根系总长、根总体积、根总表面积、根尖数方面优于其他处理,T4 处理在根平均直径方面优于其他处理。上述结果表明,筛选的 3 株水稻根际促生菌可以有效促进水稻幼苗的生长发育、改善水稻根系结构及促进植株干物质的积累。综合分析,复合菌株处理组 T3、T4 对水稻幼苗总体促生效果优于其他单菌株与复合菌株。



不同字母表示不同组别间差异显著($P < 0.05$)。T1: R8+K25, T2: R8+N2, T3: K25+N2, T4: R8+K25+N2

图8 不同处理组菌悬液对水稻幼苗生长指标的影响

3 讨论与结论

本研究筛选出 5 株解磷菌、3 株解钾菌、3 株自生固氮菌,并对其植物激素类物质分泌、养分转化能力进行测定分析。最终确定 3 株促生能力优良且互不拮抗的目标 PGPR,经鉴定分别为 *Pantoea eucalypti* R8、*Enterobacter sichuanensis* K25、*Bacillus zanthoxyli* N2。在浸种促生试验中,3 株 PGPR 均表

现出对水稻胚根长、胚芽长、苗鲜质量、苗干质量的显著提高效果。PGPR 的定殖同样是其发挥促生作用的关键因素,PGPR 需高效定殖于植物根际,竞争根系分泌物中的营养物质,发挥其正向作用,对植物产生有益影响^[25]。本研究通过定殖试验,证明 3 株 PGPR 均具有定殖于水稻根际的能力。在后续促生试验中,单一菌株与复合菌株制备的菌悬液均显示出不同程度的促生作用,T3、T4 组复合菌株在促

进水稻生长发育、改善根系结构、提高干物质积累方面表现出优于其他处理的效果。其原因可能是, PGPR 间的协同作用多维度地促进根系生长, 进而提高植株对土壤中水分和养料的吸收与利用, 促进植株的生长发育及干物质的积累^[26]。周静等研究发现, 4 株 PGPR 菌液等比例混合, 对辣椒幼苗株高、茎粗、鲜质量、叶绿素含量具有显著提高作用^[27]。大多数由单一菌株制备的菌剂, 其促生功能较为单一, 无法满足农作物生长过程中的多种需求。由多菌种制备、具有多种功能的复合型菌剂已逐渐成为微生物菌剂研究及应用的一种趋势^[28]。韩梅等研究发现, 互不拮抗的根瘤菌 S-2、溶磷菌 P-3、硅酸盐细菌 K-5 混合培养后的溶磷效果优于三者之和, S-2、P-3 混合培养时的解钾能力优于单一菌株^[29]。综上表明, 复合菌剂中不同菌株间可能发生协同作用, 所带来的促生效果要优于单一菌株所制备的菌剂。本研究筛选出的 PGPR 复合菌株组合 T3、T4 对水稻具有良好的促生效果, 具有研发制备微生物肥料的潜力。但由于本试验是在实验室稳定条件下进行的, PGPR 的促生特性能否在田间土壤复杂的生态条件以及诸多生物与非生物因素影响下稳定发挥促生作用, 仍须进一步验证。在制备复合菌剂时, 各菌株的配比以及复合菌剂应用中载体及剂型的选择上, 仍须进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵 凌, 赵春芳, 周丽慧, 等. 中国水稻生产现状与发展趋势[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 105-107.
- [2] 徐春春, 纪 龙, 李凤博, 等. 当前我国水稻产业发展形势与战略对策[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 21-27.
- [3] 杨晓明. 化肥农药减量使用中存在问题与措施探究[J]. 南方农业, 2021, 15(5): 208-209.
- [4] 韩天富, 马常宝, 黄 晶, 等. 基于 Meta 分析中国水稻产量对施肥的响应特征[J]. 中国农业科学, 2019, 52(11): 1918-1929.
- [5] 袁雅文. 有益微生物作用机理及微生物菌肥的应用前景[J]. 杂交水稻, 2022, 37(4): 7-14.
- [6] 郭志刚, 李文芳, 马宗恒, 等. 生物菌肥和钾肥配施对苹果钾素吸收及果实品质的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(3): 113-121.
- [7] 于深州. 微生物菌肥对水稻产量的影响试验[J]. 北方水稻, 2017, 47(2): 38-39.
- [8] 万水霞, 王 静, 李 帆, 等. 玉米根际高效溶磷菌的筛选、鉴定及促生效应研究[J]. 生物技术通报, 2020, 36(5): 98-103.
- [9] Sun L, Cheng L, Ma Y H, et al. Exopolysaccharides from *Pantoea alhagi* NX-11 specifically improve its root colonization and rice salt resistance[J]. International Journal of Biological Macromolecules,

2022, 209: 396-404.

- [10] Ngalimat M S, Hata E M, Zulperi D, et al. Plant growth - promoting bacteria as an emerging tool to manage bacterial rice pathogens[J]. Microorganisms, 2021, 9(4): 682.
- [11] 陈 苏, 简敏菲, 张 晓, 等. 东乡野生稻根际促生菌分离筛选及其促生作用的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2022(10): 222-230.
- [12] 杨 华, 胡 展, 郭照辉, 等. 水稻促生菌的筛选、鉴定及其促生效果[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2088-2099.
- [13] 戚秀秀, 魏 畅, 刘晓丹, 等. 根际促生菌应用于基质对水稻幼苗生长的影响[J]. 土壤, 2020, 52(5): 1025-1032.
- [14] Sun T, Liu Y, Wu S A, et al. Effects of background fertilization followed by co-application of two kinds of bacteria on soil nutrient content and rice yield in Northeast China[J]. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 2020, 13(2): 154-162.
- [15] 戴美松, 王月志, 蔡丹英, 等. 我国微生物菌肥登记现状及其在果树减肥增效中的应用[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(2): 241-246.
- [16] 靳海洋, 王 慧, 张燕辉, 等. 基于基因组的一株土壤固氮菌分离菌株鉴定及其促生作用[J]. 微生物学报, 2021, 61(10): 3249-3263.
- [17] 黄 涛. 玉米根际促生细菌的筛选及其促生机理初步研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020: 15-16.
- [18] 王珣珏, 黄巧云, 蔡 鹏, 等. 解钾菌解钾效率检测方法的比较[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(1): 81-85.
- [19] 王保勤, 牛吉山. 一种小麦子粒赤霉素含量测定方法的建立[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 334-337.
- [20] 朱诗苗. IAA 促生菌的分离鉴定及对烟草种子萌发与烟苗生长发育的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2019: 31-32.
- [21] 孙兰平. 芍药根际微生物多样性及具 ACC 脱氨酶活性的促生菌研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021: 36.
- [22] 东秀珠, 蔡妙英, 等. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 364-379.
- [23] 徐伟慧, 刘泽平, 符春敏, 等. 根际芽孢杆菌对水稻根系的促生效应[J]. 河南农业科学, 2018, 47(4): 59-63.
- [24] 张小兰, 韦 中, 梅新兰, 等. 一种基于根际定殖能力筛选溶磷菌的方法[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(2): 79-84.
- [25] 李 颖, 龙长梅, 蒋 标, 等. 两株 PGPR 菌株的花生定殖及对根际细菌群落结构的影响[J]. 生物技术通报, 2022, 38(9): 237-247.
- [26] 刘 玲, 冯乃杰, 郑殿峰, 等. 不同微生物菌剂对水稻幼苗形态建成和生理特性的影响[J]. 南方农业学报, 2022, 53(1): 88-95.
- [27] 周 静, 黄文茂, 秦利军, 等. 四株 PGPR 菌株混菌发酵体系的构建及促生效应评价[J]. 生物技术通报, 2021, 37(4): 116-126.
- [28] 王恒煦, 刘泽平, 徐伟慧, 等. 几种菌株对水稻的促生能力测定[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(11): 94-99.
- [29] 韩 梅, 李丽娜, 魏 冉, 等. 混合培养提高菌株解磷解钾能力的探讨[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(5): 74-77.