

中微量元素复合菌剂制备及其对燕麦发芽和幼苗生长的影响

付卫刚,姚拓*,张银翠,李青璞,周泽

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】研究中微量元素混合物添加对复合促生菌剂的效果及影响。【方法】将不同浓度中微量元素混合物添加至复合促生菌剂,研究对菌剂的影响并筛选不同中微量元素混合物的最佳添加量,同时通过发芽试验研究菌剂对燕麦种子萌发和幼苗生长的影响。【结果】促生菌剂添加微量元素混合物 T2,T3,T4 在添加量分别为 2.0‰,1.5‰,0.5‰,中微量元素混合物 M1 添加量在 1.0‰ 时效果最好,其有效活菌数在 $3.73 \times 10^8 \sim 4.70 \times 10^8$ cfu/mL, pH 值介于 8.31~8.45。发芽试验表明,复合促生菌剂原液对燕麦种子的发芽具有显著抑制作用,添加微量元素混合物后均可缓解该抑制作用,相较于原液发芽率最高可提升 52.78%;稀释一定浓度后可显著提高种子发芽率、发芽势、发芽指数及活力指数,其中菌剂 W3 在稀释 100 倍后发芽率最高,为 72.50%,较 CK 提升了 61.11%。【结论】促生菌剂可促进燕麦幼苗根长、苗长增加,提高地上地下生物量(鲜重和干重),其中添加微量元素混合物 T2 的菌剂 W2 在稀释 100 倍时对地下生物量(鲜重和干重)促进效果最好,添加微量元素混合物 T3 的菌剂 W3 在稀释 100 倍时对地上生物量(鲜重和干重)促进效果最好。

关键词:复合促生菌剂;中微量元素混合物;燕麦;促生

中图分类号:S512 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)04-0154-10

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2024.04.017



近年来,随着化肥的过量使用,大量氮、磷、钾和重金属在土壤中富集,造成了土壤污染和生态平衡破坏等一系列问题,严重威胁着我国农产品质量安全和农业生态环境安全^[1-2]。随着对土壤研究的深入,施用微生物肥料成为替代和改良土壤生态的新方法^[3]。植物根际促生菌作为微生物肥料的主要成分,其性能是决定微生物肥料肥力的关键^[4-5]。随着微生物肥料产业的稳定发展和生产规模的不断壮大,复合促生菌剂的应用得到极大推广,但在实际中的应用仍难以像

化肥农药一样普遍化、规模化和成熟化^[6],主要原因是田间效果不稳定^[7],发挥肥效所需时间长^[8-10],难以大量替代化肥,实现化肥的减施增效^[11-12]。因此提升复合菌剂促生能力,增强菌剂短期施用效果是当前需要解决的主要问题^[13]。

中微量元素作为生物生长和发育必不可少的物质,主要参与微生物和植物的生长及相关酶的合成与催化^[14-15],不同的中微量元素对促生菌及植物的影响不同。有研究发现,适宜的中微量元素对微生物的生长和功能有促进作用^[16],如 Cu^{2+} 可以促进芽孢杆菌的增殖^[17], Fe^{2+} 的含量可影响土壤中固氮菌数量及固氮量^[18], B 元素可促进 IAA 合成,且有利于它在植物组织内的扩散和运输^[19]。此外,林文辉^[20]研究发现,在微生物肥料中添加 Ca、Mg 等中微量元素,可显著提升微生物肥料的肥效。肖茹雪^[21]研究发现,微量元素 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 复配后对多粘类芽孢杆菌具有

收稿日期:2022-11-17;**修回日期:**2023-03-28

基金资助:国家牧草产业技术体系(CARS-34);国家燕麦荞麦产业体系(CARS-8)

作者简介:付卫刚(1997-),男,甘肃陇西人,硕士研究生。

Email:2397722599@qq.com

*通信作者。E-mail:yaotuo@gsau.edu.cn

较好的增殖及生防作用。当前,对中、微量元素与促生菌的研究主要以单一元素无机盐形式作为基础培养基成分参与促生菌生长或菌剂的研制^[22],或二者配施使用,而将中、微量元素混合物作为外源物质添加的研究较少,对促生菌剂的影响报道也较少,有待进一步研究。

燕麦(*Avena sativa*)是禾本科一年生草本植物,可粮饲兼用,具有单产大、营养价值高、适口性好等优点^[23],在我国种植面积较为广泛^[24]。幼苗期是植物生长发育过程中极易受外部因素影响的时期,植物在幼苗期的表现对农艺性状及产量具有决定性作用^[25],因此保证燕麦幼苗的养分和高效生长是决定燕麦后期生长的基础。本研究利用课题组提供的复合促生菌剂,通过添加不同中、微量元素混合物,探究不同混合物添加对促生菌剂的影响,同时研究中、微量元素混合物处理后的菌剂对燕麦种子萌发及幼苗生长的影响,以期为实际应用中选择中、微量元素种类和浓度

提供科学指导,同时为解决复合促生菌剂前期使用效果不明显,发挥肥效所需时间长提供解决思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 供试菌株由甘肃农业大学草业学院草地应用微生物实验室提供,分别为CY1蕈状芽孢杆菌(*Bacillus mycoides*),CY3枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),CM1产黄假单胞菌(*Pseudomonas synxantha*)。

1.1.2 供试植物 供试燕麦品种陇燕3号(Longyan No. 3)由甘肃农业大学草业学院提供。

1.1.3 供试培养基 LB液体培养基(g/L):蛋白胨 10 g,酵母粉 5 g,氯化钠 10 g,pH值 7.0,121℃灭菌 30 min。

1.1.4 供试中微量元素组分 供试中微量元素混合物成分及含量见(表1)。

表 1 供试中微量元素成分含量
Table 1 Contents of trace elements in the test

类别	编号	主要成分及含量/(g·100 mL ⁻¹)	参考文献
微量元素混合物	T2	腐殖酸(4.00),柠檬酸(1.50),ZnSO ₄ ·7H ₂ O(2.40),H ₃ BO ₃ (0.40),MnSO ₄ ·H ₂ O(1.20),CuSO ₄ (0.20),FeSO ₄ ·7H ₂ O(0.20),KOH(0.80)	[26]
	T3	黄腐酸(6.00),Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O(4.00),ZnSO ₄ ·7H ₂ O(3.00),MgSO ₄ (3.00),MnSO ₄ ·H ₂ O(2.00),CuSO ₄ (1.00),(NH ₄) ₂ MoO ₄ (1.00)	[27]
	T4	柠檬酸(2.4),表面活性剂(十二烷基苯磺酸钠:脂肪醇聚氧乙烯醚的质量比为1:1)(0.03),ZnSO ₄ ·7H ₂ O(3.50),FeSO ₄ ·7H ₂ O(3.50),MnSO ₄ ·H ₂ O(3.20),CuSO ₄ (3.20),(NH ₄) ₂ MoO ₄ (0.20),Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O(3.50),KOH(1.40)	[28]
	M1	山梨糖醇(0.60),Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O(6.40),Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O(0.80),H ₃ BO ₃ (0.40),KOH(0.25)	[29]

注:“()”内数字表示各成分含量。

1.2 试验设计

1.2.1 复合菌剂配方及制备方法 将供试菌株CY1、CY3、CM1斜面活化后,用接种环分别挑取菌体接种于装有50 mL LB液体摇瓶中,放置于180 r/min、28℃恒温摇床振荡培养48 h作为种子液备用。将上述种子液按一定比例混合(正在申报专利),即得复合促生菌剂(F)。

1.2.2 中微量元素混合物最佳添加量筛选 将中微量元素按照相应的配方(表1)各配制100 mL浓缩液(母液)待用。将不同浓度的中、微量元素混合物(浓度梯度设置见表2)^[20-21,30],添加至含100 mL LB液体

培养基的150 mL摇瓶中,添加等体积LB液体培养基作为对照,各摇瓶中添加复合菌剂1 mL,放置于180 r/min、28℃恒温摇床振荡培养,48 h后测定其 $D_{600\text{ nm}}$ 值。选择 $D_{600\text{ nm}}$ 值最高的浓度处理作为最佳添加量。

1.2.3 中微量元素复合菌剂制备及其对燕麦萌发及幼苗促生效果测定 将微量元素混合物T2、T3、T4,中量元素混合物M1以筛选后的最佳添加量添加至LB液体培养基中,接入菌剂种子液,混合均匀后置于180 r/min、28℃恒温摇床振荡培养48 h,即得含不同中微量元素混合物复合促生菌剂(编号为Z1、W2、W3、W4)。

表2 中、微量元素混合物添加浓度梯度设置

Table 2 Medium and trace element mixture add concentration gradient setting

类型	编号	浓度梯度
微量元素混合物	T2	
	T3	0.5‰、1.0‰、1.5‰、2.0‰、2.5‰
	T4	
中量元素混合物	M1	0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%

以不同菌剂F、Z1、W2、W3、W4为处理,每种菌剂设置3个处理浓度,即原液、稀释10倍、稀释100倍,以清水为对照(各处理及成分见表3)。选用颗粒饱满且大小一致的燕麦种子,用2%的次氯酸钠消毒5 min,无菌水清洗3~5次,均匀放置于铺有两张滤纸的培养皿(120 mm 直径),每皿40粒。各培养皿中添加5 mL不同菌液,对照添加等量清水,添加后将培养皿置于25℃,光/暗=12 h/12 h,光照强度200 μmol/(m²·s)光照培养箱进行发芽实验,培养周期内每天添加等量的清水。从种子播种后每24小时记录1次,以种子露白作为发芽标准,记录种子发芽数,共观察记录10 d。

表3 燕麦发芽试验中复合菌剂处理方式

Table 3 The treatment method of compound bacterial agent in oat germination test

菌剂种类	处理编号	添加方式
对照	CK	清水
	F0	F原液
	F1	F稀释10倍
菌剂F	F2	F稀释100倍
	W2-0	W2原液
	W2-1	W2稀释10倍
菌剂W2	W2-2	W2稀释100倍
	W3-0	W3原液
	W3-1	W3稀释10倍
菌剂W3	W3-2	W3稀释100倍
	W4-0	W4原液
	W4-1	W4稀释10倍
菌剂W4	W4-2	W4稀释100倍
	Z1-0	Z1原液
	Z1-1	Z1稀释10倍
菌剂Z1	Z1-2	Z1稀释100倍

注:F为复合菌剂;W2、W3、W4、Z1分别为添加微量元素混合物T2、T3、T4及中量元素混合物M1的复合菌剂。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 菌剂有效活菌数及pH测定 有效活菌数测定参考国家标准GB 20287—2006《农用微生物菌剂》^[31],每个处理3次重复,pH测定采用酸度计(TU—1901,北京)测量。

1.3.2 燕麦发芽及幼苗指标测定 在培养第5天计算发芽势,第10天测定发芽率、发芽指数、活力指数^[31]。在培养的第10天随机选取5株用直尺测定株高、根长,用电子天平分别称量鲜重和干重,恒温干燥箱中105℃杀青,30 min后转为80℃烘干至恒重称量。按下列公式计算种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数。

发芽势=萌发第5天时总的种子发芽数/供试种子数×100%

发芽率=萌发第10天时种子的发芽总数/供试种子数×100%

发芽指数 $G_i = \sum (G_t/D_t)$

式中:G_t为第t天的种子发芽数;D_t为相应发芽天数。

活力指数 $VI = G_i \times S_x$ (S_x为根平均长度)

1.4 数据处理及分析

用Microsoft Excel 2019进行原始数据整理,SPSS 26.0进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 中微量元素混合物最佳添加浓度筛选

中微量元素作为微生物生长的必需物质,主要为微生物提供酶合成的前体和催化剂。微量元素混合物T2、T3和T4分别在添加量为2.0‰、1.5‰、0.5‰时菌株生长较好(图1-A)。中量元素混合物M1在添加量1.0%时对菌株的生长最优(图1-B)。

2.2 添加中微量元素混合物对菌剂的影响

将筛选后的最佳浓度中微量元素混合物添加至

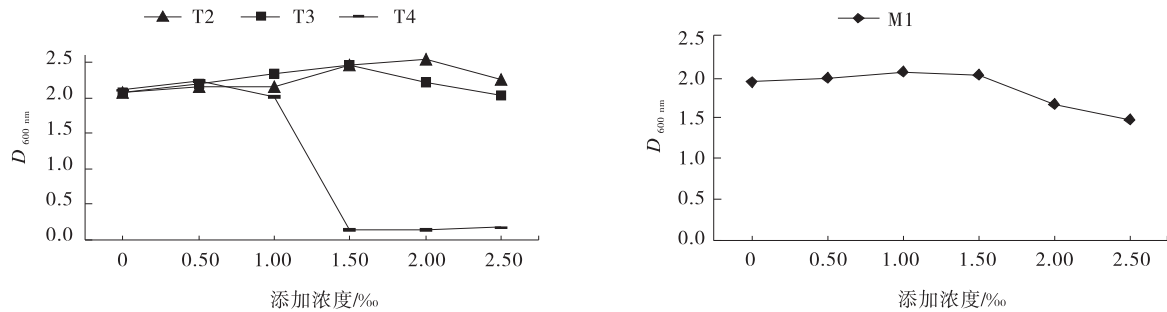


图1 不同中、微量元素混合物最佳添加量筛选

Fig. 1 Screening the optimum addition amount of different mixtures of medium and trace elements

注:A图为微量元素混合物筛选,B图为中量元素混合物筛选。

菌剂后,菌株的生长曲线为0~4 h处于生长延滞期,生长速度缓慢。在4~12 h均为对数增长期,此后培养至60 h,菌剂W4处于平稳生长期;菌剂F、W2、W3、Z1培养至44 h处于平稳生长期,之后进入衰退期。

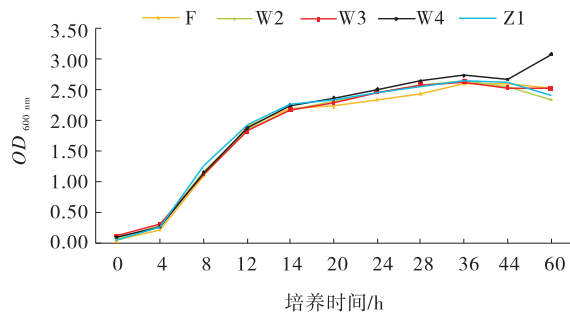


图2 添加中微量元素混合物后菌剂中菌株的生长曲线

Fig. 2 The growth curve of the strain in the bacterial agent after adding the mixture of medium and trace elements

添加中微量元素混合物后各菌剂有效活菌数差异不显著($P>0.05$),且各菌剂的pH均为碱性,其中与F相比,菌剂Z1的pH升高显著($P<0.05$)(表4)。

2.3 复合菌剂添加中微量元素混合物对燕麦萌发的影响

菌剂F、W2、W3和Z1分别在稀释10倍、10倍、100倍和10倍处理下燕麦种子发芽率显著增加($P<0.05$)。与F相比,添加中微量元素混合物后的菌剂Z1、W2、W4随稀释梯度增大,发芽率表现为先升高后降低的趋势,而菌剂W3呈现持续上升趋势,其在稀释100倍后发芽率最高,为72.50%,较F提升了11.54%(表5)。

由表5可知,与CK相比,未稀释菌液对燕麦种子发芽势抑制作用显著($P<0.05$)。在F、W2、W3和Z1分别在稀释10倍、10倍、100倍和10倍处理下燕麦种子发芽势显著增加($P<0.05$),其中,W3在稀释100

表4 中微量元素混合物添加对复合促生菌剂有效活菌数及pH的影响

Table 4 Effects of medium and trace element mixtures on effective viable count and pH of compound growth promoting agent

编号	有效活菌数/ ($\times 10^8$ cfu/mL)	pH
F	4.70 ± 2.31^a	8.32 ± 0.05^b
W2	3.75 ± 3.18^a	8.31 ± 0.04^b
W3	3.73 ± 1.45^a	8.31 ± 0.03^b
W4	4.70 ± 2.52^a	8.34 ± 0.01^b
Z1	4.30 ± 5.03^a	8.45 ± 0.02^a

注:图中同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);F为菌剂原液,下表同。

倍后效果最好,发芽势可达72.50%。与F相比,W3稀释10倍和100倍,Z1稀释10倍对燕麦种子发芽势具有提升作用,其余处理则降低了燕麦种子发芽势($P>0.05$)。

从表5还可以看出,与CK相比,未稀释菌液对燕麦种子发芽指数具有显著抑制作用($P<0.05$),F、W2、W3和Z1分别在稀释10倍、10倍、100倍和10倍处理下可显著增加燕麦种子发芽指数($P<0.05$),其中,菌剂W3处理效果最好,发芽指数可达40.19%。与F相比,未经稀释时,W2、W3、W4对燕麦发芽指数具有促进作用,较F相比分别增加了31.86%、34.77%、29.61%,Z1则降低了发芽指数($P>0.05$);当稀释10倍和100倍后,W3均对发芽指数具有促进作用,其余各处理间差异不显著。

由表5可知,与F相比,稀释10倍后,菌剂添加微量元素混合物对燕麦种子活力具有抑制作用,其中菌剂W2抑制作用显著($P<0.05$),添加中量元素

混合物则表现为促进作用,但差异不显著;稀释 100 中 W4、Z1 抑制作用显著($P<0.05$),W3 则表现为促
倍后,W2、W4、Z1 对燕麦种子活力存在抑制作用,其 进作用。

表 5 不同菌剂对燕麦发芽的影响
Table 5 Effect of different bacterial agents on the germination of oat

处理		发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	活力指数
CK		45.00±0.04 ^c	41.17±0.04 ^d	21.22±3.08 ^e	79.77±11.58 ^f
F	F0	15.83±0.04 ^d	15.83±0.04 ^e	6.09±1.39 ^f	—
	F1	67.50±0.08 ^a	65.00±0.07 ^{ab}	35.60±3.69 ^{abc}	378.44±39.32 ^{abc}
	F2	65.00±0.03 ^{ab}	63.33±0.04 ^{abc}	33.73±1.44 ^{abcd}	428.41±18.35 ^a
W2	W2-0	23.33±0.05 ^d	20.83±0.04 ^e	8.03±1.30 ^f	—
	W2-1	60.83±0.04 ^{abc}	60.00±0.03 ^{abc}	35.11±0.59 ^{abc}	304.75±5.13 ^d
	W2-2	63.33±0.05 ^{ab}	63.33±0.05 ^{abc}	34.24±2.20 ^{abcd}	379.39±24.33 ^{abc}
W3	W3-0	21.67±0.04 ^d	18.33±0.02 ^e	8.20±1.66 ^f	—
	W3-1	69.17±0.03 ^a	67.50±0.04 ^{ab}	36.55±1.88 ^{ab}	356.33±18.30 ^{bcd}
	W3-2	72.50±0.01 ^a	72.50±0.01 ^a	40.19±0.89 ^a	431.27±9.53 ^a
W4	W4-0	15.00±0.03 ^d	15.00±0.08 ^e	7.89±4.63 ^f	—
	W4-1	56.67±0.05 ^{abc}	53.33±0.05 ^{bcd}	29.12±2.60 ^{bcd}	320.86±28.67 ^{cd}
	W4-2	50.83±0.04 ^{bc}	48.33±0.03 ^{cd}	27.94±1.75 ^{cde}	304.53±19.04 ^d
Z1	Z1-0	10.83±0.08 ^d	10.00±0.08 ^e	5.42±4.37 ^f	—
	Z1-1	69.17±0.04 ^a	66.67±0.04 ^{ab}	37.20±2.21 ^{ab}	423.37±25.10 ^{ab}
	Z1-2	56.67±0.02 ^{abc}	55.83±0.03 ^{bcd}	26.34±2.95 ^{cde}	187.56±21.01 ^e

注:表中“—”表示无数据。

2.4 复合菌剂添加中微量元素混合物对燕麦幼苗的影响

2.4.1 复合菌剂添加中微量元素混合物对燕麦幼苗根长和苗长的影响 由图 3 可知,菌剂 F、W2、W3、W4、Z1 分别在稀释 100、100、100、10、10 倍时根长最长,分别为 12.70、11.08、10.73、11.02 和 11.38 cm,较 CK 分别增加了 237.77%、194.68%、185.37%、193.09% 和 202.66%。与 CK 相比,添加菌剂对燕麦幼苗根长促进作用显著($P<0.05$)。与 F 相比,添加菌剂 W2 和 W3 对燕麦幼苗根长促生长能力无明显影响,而菌剂 W4 和 Z1 在稀释 10 倍后对幼苗根长促生作用增强,在稀释 100 倍后效果,其中 Z1 在稀释 100 倍后对根长的促生显著降低($P<0.05$)。

由图 4 可知,与 CK 相比,菌剂 F、W2、W3 和 W4 均在稀释 10 倍时可促进燕麦苗长($P>0.05$),菌剂 Z1 则抑制燕麦苗长,但差异不显著;稀释 100 倍后,W3 对

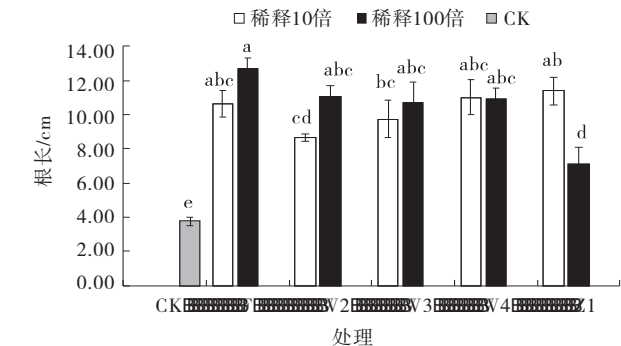


图 3 菌剂对燕麦根长的影响
Fig. 3 Effect of microbial agent on root length of oat
注:图中小写字母表示不同处理差异显著($P<0.05$);CK 为清水对照,F 为菌剂原液,W2、W3、W4、Z1 分别为添加组分 T2、T3、T4、M1 后的菌剂。

燕麦苗长表现为促生作用,但差异不显著,其余处理都表现为抑制作用,但差异不显著。与 F 相比,菌剂 W2、W3、Z1 稀释 10 倍后对燕麦苗长促进作用影响较小,差异不显著。稀释 100 倍后,菌剂 W2、W4、Z1 呈

现抑制作用,但 W3 表现为促进作用,较 F 可提升苗长 6.49%,且稀释倍数间的差异较小。

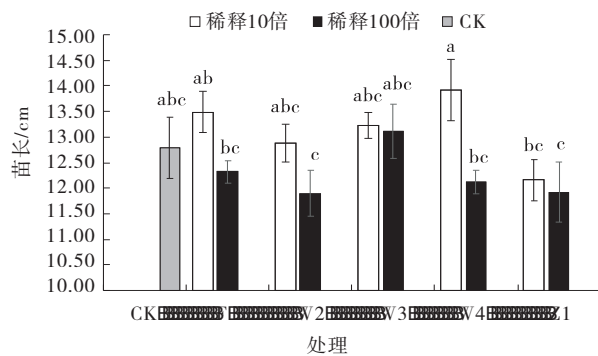


图 4 菌剂对燕麦苗长的影响

Fig. 4 Effect of microbial agent on Oat seedling growth

2.4.2 复合菌剂对燕麦幼苗生物量的影响 由图 5 可知,与 CK 相比,菌剂 F、W2、W3、W4 和 Z1 分别在稀释 10、100、10、10、100 时对燕麦幼苗地上鲜重提升效果较好,分别较 CK 增加了 49.05%、22.17%、36.91%、45.58%、31.42%。与 CK 相比,稀释 10 倍后,菌剂 F、W3、W4 可显著提高燕麦幼苗地上鲜重 ($P < 0.05$);稀释 100 倍后,各处理间差异不显著。与 F 相比,稀释 10 倍后,菌剂 W2、W3、W4 和 Z1 对燕麦幼苗地上鲜重增加效果减弱,其中 W2 和 Z1 减弱显著 ($P < 0.05$),稀释 100 倍后,菌剂 W2、W3 和 Z1 均可显著提升幼苗地上鲜重 ($P < 0.05$),其中 W3 效果最好,较 F 可提升 33.26%。

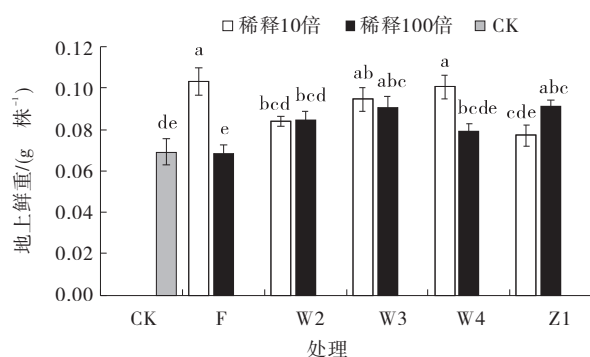


图 5 菌剂对燕麦幼苗地上鲜重的影响

Fig. 5 Effects of microbial agents on aboveground fresh weight of oat seedlings

由图 6 可以看出,与 CK 相比,稀释 10 倍后,菌剂 F、W2、W4 和 Z1 促进作用显著 ($P < 0.05$);稀释 100 倍后,菌剂 F、W2、W3、W4 和 Z1 地下鲜重较 CK 分别增加了 29.43%、53.16%、41.43%、40.91% 和 12.36%,其中 W2、W3 和 W4 促进效果显著 ($P <$

0.05)。与 F 相比,菌剂 W2、W3 和 W4 稀释 100 倍后,均可提升燕麦幼苗的地下鲜重,分别提升了 18.33%、9.27% 和 8.87%,且同一菌剂不同稀释梯度间相比,添加中、微量元素混合物后可降低稀释倍数之间的差异。

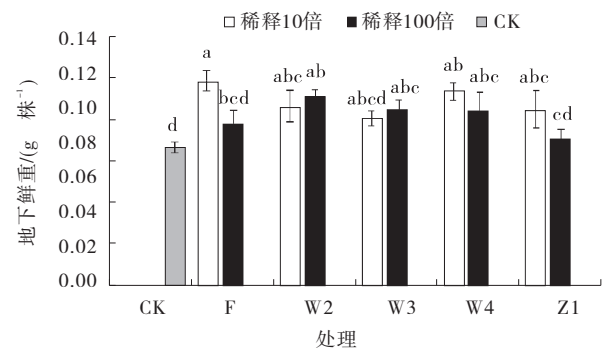


图 6 菌剂对燕麦幼苗地下鲜重的影响

Fig. 6 Effect of bacterioides on underground fresh weight of oat seedlings

由图 7 可知,与 CK 相比,稀释 10 倍后,菌剂 F、W2、W3、W4 和 Z1 使燕麦幼苗地上干重分别增加了 19.12%、4.39%、16.93%、12.23% 和 4.08%,且菌剂 F 促进作用显著 ($P < 0.05$);稀释 100 倍后,菌剂 F 和 W4 地上干重降低,菌剂 W2、W3、Z1 地上干重有所增加,但差异不显著。与 F 相比,稀释 10 倍后菌剂 W2、W3、W4 和 Z1 对燕麦地上干重无显著促进作用,稀释 100 倍后,处理 W2、W3、Z1 对燕麦苗期地上干重显著促进作用 ($P < 0.05$),且同一菌剂不同稀释梯度间相比,添加中微量元素混合物后可降低稀释倍数之间的差异。

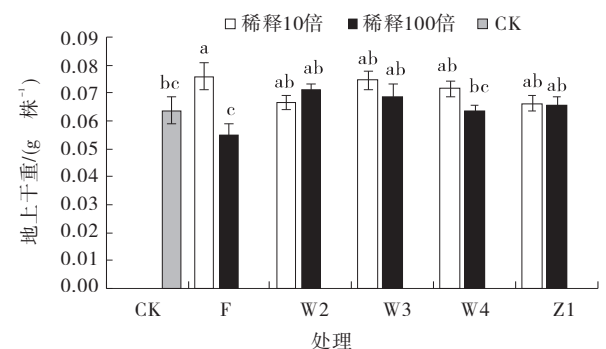


图 7 菌剂对燕麦幼苗地上干重的影响

Fig. 7 The effect of microbial agents on the aboveground dry weight of oat seedlings

由图 8 可知,与 CK 相比,稀释 10 倍后,各菌剂均可增加地下干重,但差异不显著,稀释 100 倍后,菌剂 W2 促进作用显著 ($P < 0.05$),较 CK 增加了 24.57%。

与F相比,菌剂W2、W3、W4和Z1在稀释10倍后对幼苗地下干重无显著差异,在稀释100倍后W2、W3表现为促进作用,分别较F提升了7.52%和1.91%。

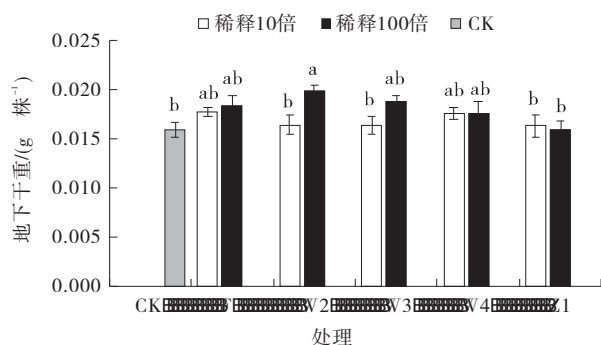


图8 菌剂对燕麦幼苗地下干重的影响

Fig. 8 Effects of microbial agents on underground dry weight of oat seedlings

3 讨论

3.1 添加中微量元素混合物对菌剂的影响

中微量元素作为生物生长的必需物质,对于微生物和植物的生长具有十分重要的意义。不同种类的中微量元素对微生物的影响不同,同一种中微量元素对不同微生物的影响也不同^[21]。本试验表明,将中微量元素混合物作为外源物质添加至复合促生菌剂,其中添加T2、T3和M1使得菌剂活菌数略有降低,T4无影响。其原因可能有以下几点:1)不同中微量元素混合物处理浓度下,含有不同浓度的 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 等金属离子可能对复合菌剂中菌株的生长存在微弱抑制作用,导致有效活菌数略有降低,这与纪明山^[33]、周明^[17]、何云晓等^[34]研究结果一致;2)中微量元素之间复配的比例影响菌株的活性。张凯等^[35]研究发现,低浓度的 Zn^{2+} 和 Se^{4+} 复配对纳豆芽孢杆菌的增值效果劣于单一元素,本研究中利用中微量元素混合物进行试验,其中混合物由多种中微量元素按照不同比例复配而成,因此可能对菌株的增殖有一定的抑制作用。其具体原因有待进一步研究。

对菌剂生长特性研究发现,添加中微量元素混合物后菌剂中菌株延滞期均为0~4 h,W2、W3和Z1在12~44 h为生长稳定期,之后进入衰退期,而W4在44 h后OD值又有所上升,其可能原因为添加T4混合物培养至稳定期后,菌剂中芽孢杆菌开始大量产生孢子,从而导致OD值升高^[36],其具体原因有待进一步验证。此外,菌剂的pH值介于8.31~8.45,均呈碱性,

表明该菌剂中的菌株对pH具有良好的耐受性,可用于酸性土壤的改良。

3.2 复合菌剂添加中微量元素混合物对燕麦种子萌发及幼苗的影响

植物根际促生细菌在促进植物生长与改善植物发育不良等方面具有重要作用^[37-38]。复合促生菌剂作为一种活菌制剂,目前在世界范围内应用广泛,具有良好的市场前景^[39]。多数研究发现,微生物菌剂对植物的发芽及苗期生长有一定的促进作用^[40]。在本研究中,不同浓度和不同处理的复合促生菌剂对燕麦种子萌发影响不同,其中菌剂原液对燕麦发芽具有显著抑制作用,经微量元素混合物处理后可降低菌剂原液对燕麦发芽的抑制作用,而经中量元素混合物处理后的菌剂则会加深抑制作用。其主要原因可能是菌剂原液浓度较高,不利于种子吸水膨胀,因此难以完成种子发芽的前期准备^[41],而经过微量元素混合物T2、T3、T4处理后,菌剂含有了一定浓度的微量元素混合物,其不仅仅能为种子的发芽提供必需的营养物质^[42],同时,适量的微量元素还可促进种子的新陈代谢^[43-44],从而缓解高浓度菌剂的抑制,促进燕麦种子的发芽。相反,相较于微量元素混合物添加量,中量元素混合物M1添加量较高,导致菌剂Z1中含有的 Ca^{2+} 等金属离子含量较高,高浓度菌剂与较高浓度的中量元素混合物对种子产生了双重抑制^[45-46],从而不利于燕麦种子的发芽。

各菌剂稀释一定倍数后均可促进燕麦种子发芽,提高种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数,与汤丽斯^[47]、李青梅^[48]等研究结果一致,而经过不同中、微量元素混合物处理后的菌剂对种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数表现为不同的促进作用,其中菌剂W3在稀释100倍浓度下发芽率最高,为72.50%,较CK提升了61.11%,较F效果增强,其主要原因可能为:不同中、微量元素混合物中含有不同浓度和种类的 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 MoO_4^{2-} 、 $B_4O_7^{2-}$ 、 Mg^{2+} 等元素,不同元素种类和浓度复配对种子萌发影响不同^[42],而W3中含有的元素种类和浓度较其他几种混合物相比更适合燕麦种子发芽^[49]。

对燕麦幼苗生长研究发现,添加复合促生菌剂对燕麦幼苗根长存在显著促进作用,对地上生物量(鲜重和干重)、地下生物量(鲜重和干重)均有一定的促

进作用,与赵冬青^[50]、孙秀秀等^[51]在苜蓿、黄瓜苗期的研究结果一致。其中添加微量元素混合物后的菌剂 W2 和 W3,较菌剂 F 对燕麦幼苗地上生物量(鲜重和干重)、地下生物量(鲜重和干重)在稀释 100 倍时的促生效果好,其原因可能是(1)添加微量元素混合物后的菌剂不仅仅发挥菌剂的促生作用,同时微量元素混合物可为燕麦提供一定的营养物质^[52],如黄腐酸、腐殖酸提供有机质, Fe^{2+} 、 MoO_4^{2-} 、 $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 等提供矿质营养, Zn^{2+} 促进色氨酸合成^[53],间接导致 IAA 含量的增加等。(2)添加微量元素混合物后对促生菌株促生功能产生影响,如 W2、W3 在稀释 100 倍时含有的 B 元素促进菌株分泌 IAA 增多^[54],含有的 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 促进菌株生物膜的形成^[55-56],有利于菌株定殖,从而促进燕麦苗期的生长,其具体原因还需进一步探究。

4 结论

中、微量元素混合物 M1、T2、T3、T4 在添加量分别为 1.0%、2.0‰、1.5‰、0.5‰ 时对复合菌剂效果最好,添加后对菌剂有效活菌数无明显影响,且菌剂的 pH 为碱性,其含有的菌株在 12~44 h 处于生长稳定期。添加菌剂原液对燕麦种子萌发具有显著抑制作用,经过微量元素混合物处理后的菌剂 W2、W3、W4 可降低菌剂原液的抑制作用,且经过不同稀释处理后,均可促进燕麦种子萌发。

各复合菌剂稀释至 100 倍后均可促进燕麦幼苗根长、苗长、地上地下生物量,其中添加微量元素混合物 T2、T3 后的菌剂 W2、W3 在稀释 100 倍后对燕麦的地上、地下生物量提升效果较菌剂 F 好。

参考文献:

- [1] 杨忠妍. 化肥施用过量对农作物的危害[J]. 现代农业科技, 2020, 779(21): 203—204.
- [2] 张海亮, 王智博. 西北某地区农村农药化肥污染问题的调查研究[J]. 中国集体经济, 2016, 509(33): 16—17.
- [3] 马琳. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法综述[J]. 乡村科技, 2019, 237(33): 112—113.
- [4] 孙韵雅, 陈佳, 王悦, 等. 根际促生菌促生理理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1203—1215.
- [5] 穆文强, 康慎敏, 李平兰. 根际促生菌对植物的生长促进作用及机制研究进展[J]. 生命科学, 2022, 34(2): 118—127.
- [6] 全倩倩, 祝英, 崔得领, 等. 我国微生物肥料发展现状及在蔬菜生产中的应用[J]. 中国土壤与肥料, 2022, 300(4): 259—266.
- [7] 文晓娥. 我国微生物肥料的研发及其在农业生产中的应用[J]. 新农业, 2021, 937(4): 92—93.
- [8] 徐承志, 周涛, 陈柏丽. 微生物菌剂的开发和应用现状[J]. 南方农机, 2017, 48(4): 172.
- [9] 郑茗月, 李海梅, 赵金山, 等. 微生物肥料的研究现状及发展趋势[J]. 江西农业学报, 2018, 30(11): 52—56.
- [10] 缙晶毅, 索升州, 姚丹, 等. 微生物肥料研究进展及其在农业生产中的应用[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(11): 13—17.
- [11] 岳明灿, 王志国, 陈秋实, 等. 减施化肥配施微生物菌剂对番茄产量和土壤肥力的影响[J]. 土壤, 2020, 52(1): 68—73.
- [12] 李凤霞, 赵营. 氮肥减量配施微生物菌剂对灌淤土花椰菜产量及土壤微生物的影响[J]. 水土保持研究, 2017, 24(2): 94—100.
- [13] Salme T, Julia M, Lawrence B, *et al.* Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 49.
- [14] 王瑶, 刘玉香, 安华, 等. 金属离子对粪产碱杆菌 C16 的脱氮和亚硝酸盐积累的影响[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2254—2263.
- [15] 孙嘉龙, 肖唐付, 周连碧, 等. 微生物与重金属的相互作用机理研究进展[J]. 地球与环境, 2007, 270(4): 367—374.
- [16] 张宏扬. Cu(II) 对生物硝化过程和硝化菌群结构的影响机理研究[D]. 天津: 天津大学, 2014: 4.
- [17] 周明, 王欢, 李泽阳. 猪肠源性枯草芽孢杆菌耐逆性研究[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(4): 519—522.
- [18] 肖海龙, 马源, 周会程, 等. 三江源退化高寒草原土壤微量元素与植被特征及其关系[J]. 草地学报, 2022, 30(8): 1925—1933.
- [19] 宋柏权, 裴轩瑗, 闫志山, 等. 硼素对甜菜内源激素的影响研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(6): 115—12.
- [20] 林文辉. 一种用微生物发酵物经复配生产的生物活性微量元素肥料[P]. 广东省: CN101161608B, 2011-08-17.
- [21] 肖茹雪. 4 种微量元素对多粘类芽孢杆菌 Pp-7250 增殖、活性及其在人参中定殖的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018: 2—6.
- [22] 杨晓蕾, 李建宏, 姚拓, 等. 复合促生菌剂发酵条件优化

- 及其对青稞促生效果评价[J]. 草地学报, 2022, 30(1): 212—219.
- [23] 游茵洁, 周浩珍, 刘焱, 等. 燕麦干草、青贮燕麦与天然牧草饲喂牦牛的营养价值比较研究[J]. 草业学报, 2022, 31(8): 99—110.
- [24] 冯文豪, 佟越强, 杨亚东, 等. 全球燕麦生产时空演变规律及对中国的启示[J]. 麦类作物学报, 2022, 42(7): 902—910.
- [25] 蔺豆豆, 赵桂琴, 琚泽亮, 等. 15份燕麦材料苗期抗旱性综合评价[J]. 草业学报, 2021, 30(11): 108—121.
- [26] 夏桂平, 郑路, 黄岩, 等. 一种高效活性含腐植酸类水溶肥料及其制备方法[P]. 中国: CN103588542B, 2015-08-05.
- [27] 董浩, 朱国梁, 史桂芳, 等. 一种用于小麦种植微量元素水溶肥及其制备方法[P]. 中国: CN108892588A, 2018-11-27.
- [28] 何春云, 钟鸥, 王平飞, 等. 一种柠檬酸螯合微量元素固体水溶肥料及其制备方法[P]. 中国: CN110550983A, 2019-12-10.
- [29] 孙建宝, 赵静, 张乐森, 等. 一种中量元素水溶肥及其制备方法[P]. 中国: CN112552111A, 2021-03-26.
- [30] 李瑞芳, 徐怡, 田泱源, 等. 金属离子对枯草芽孢杆菌 BS501a 发酵液防治稻瘟病菌效果的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(1): 80—83.
- [31] 中国国家标准化管理委员会. 农用微生物菌剂 GB 20287—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [32] 中国国家标准化管理委员会. 牧草种子检验规程—发芽试验 GBT2930.4—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [33] 纪明山, 王毅婧. 地衣芽孢杆菌生防菌株 SDYT-79 发酵条件优化[J]. 沈阳农业大学学报, 2011, 42(2): 164—169.
- [34] 何云晓, 严万里, 陈晓明, 等. Cu~(2+), Fe~(3+) 对微生物生长及去除溶液中 Cr(VI) 的影响研究[J]. 安全与环境学报, 2013, 13(4): 37—41.
- [35] 张凯, 孙智杰. 富硒、锌纳豆芽孢杆菌的选育[J]. 生命科学仪器, 2007(8): 19—22.
- [36] Veening J W, Smits W K, Hamoen L W, *et al.* Single Cell analysis of Gene expression patterns of competence development and initiation of sporulation in *Bacillus subtilis* grown on Chemically defined media[J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 101(3): 531—541.
- [37] 张惠荣, 姚拓, 马亚春, 等. 不同促生菌混配对燕麦生长及品质的影响[J]. 草原与草坪, 2022, 42(1): 62—68.
- [38] 贾峥嵘, 郝佳丽, 郝艳芳, 等. 4种促生菌剂对甘薯生长及土壤肥力的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2022, 36(9): 166—172.
- [39] Baez—Rogelio Antonino, Morales—García Yolanda Elizabeth, Quintero—Hernández Verónica, *et al.* Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation[J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(1): 19—21.
- [40] 何建清, 张格杰, 赵伟进, 等. 复合微生物菌肥拌种对黑青稞生长发育及品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(8): 111—117.
- [41] 郑雪芳, 刘波, 朱育菁, 等. 整合微生物组菌剂对番茄种子萌发和幼苗生长的影响及其对青枯病的防治效果[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(6): 908—914.
- [42] 刘佳, 伊文博, 高志忠, 等. 微量元素对远志种子萌发及幼苗生理活性的影响[J]. 福建农业学报, 2021, 36(11): 1280—1287.
- [43] 王静. 微量元素拌种对春小麦生长发育及产量形成的影响[D]. 太原: 山西农业大学, 2015: 38—39.
- [44] 刘自成, 杨斌, 杨艳丽. 微量元素对小麦种子发芽状况的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(6): 1650—1652.
- [45] 黄丽容, 吴月君, 吴依琳, 等. 不同浓度钙离子对越南槐种子萌发的影响[J]. 种子, 2021, 40(4): 81—84+89.
- [46] Kołodziejek J, Patykowski J. The effect of temperature, light and calcium carbonate on seed germination and radicle growth of the polycarpic perennial *Galium cracoviense* (Rubiaceae), a narrow endemic species from southern Poland[J]. Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica, 2015, 57(1): 70—81.
- [47] 汤丽斯, 孙宗玖, 李培英, 等. 微生物菌剂对伊犁绢蒿种子发芽特征的影响[J]. 草业科学, 2020, 37(4): 612—624.
- [48] 李青梅, 陆秀君, 马里, 等. 胶质芽孢杆菌菌剂对四种蔬菜种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2017, 376(1): 10—13.
- [49] 李玉晨. 不同类型黄腐酸对土壤性质及生菜生长特征的影响研究[D]. 西安: 西安理工大学, 2021: 36—41.
- [50] 赵冬青, 姚拓, 马文彬, 等. 溶磷菌和根瘤菌混合菌剂对苜蓿苗期生长的影响[J]. 中国草地学报, 2015, 37(5): 57—61.
- [51] 孙秀秀, 晋文娟, 李衍素, 等. 两种捷克丛枝菌根真菌组合菌剂对设施黄瓜苗期生长的影响[J]. 中国蔬菜, 2016, 326(4): 34—37.
- [52] 张丽娜. 微生物菌肥和中微量元素在冀西北坝上地区罗

- 卜上的应用研究[D]. 张家口:河北北方学院, 2017: 4—6.
- [53] 熊先清. 豆类萌发过程中微量元素锌的生物强化及体外生物可利用度研究[D]. 海口:海南大学, 2016, 2016: 4—5.
- [54] 陈永岗, 康文娟, 吴芳, 等. 硼对根瘤菌胞外多糖和吡啶乙酸分泌的调控研究[J]. 草业学报, 2021, 30(5): 42—51.
- [55] Mei-Ling Zhu, Ya-Hui Wang, Yun Dai, *et al.* Effects of Different Culture Conditions on the Biofilm Formation of *Bacillus pumilus* HR10 [J]. *Current Microbiology*, 2020, 77(8): 1405—1411.
- [56] 陈凯. 铁锰离子对生物膜及其胞外聚合物的作用规律研究[D]. 昆明:昆明理工大学, 2016: 26—44.

Preparation of a medium and trace elements compound bacterial agent and its effects on oat germination and seedling growth

FU Wei-gang, YAO Tuo*, ZHANG Ying-cui, LI Qing-pu, ZHOU Ze

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract:【Objective】To investigate the effects of adding medium and trace elements to a compound growth-promoting agent and their influence on its efficacy. 【Method】Mixtures of medium and trace elements at various concentrations were added to the compound growth-promoting agent to assess their impact and determine the optimal dosage. The effects of the agent on oat seed germination and seedling growth were evaluated through germination tests. 【Result】The trace element mixtures T2, T3 and T4 were at concentrations of 2.0‰, 1.5‰ and 0.5‰, respectively, while the medium element mixture M1 was at 1.0‰. The effective viable bacterial count ranged from 3.73×10^8 to 4.70×10^8 cfu/mL, and the pH value ranged from 8.31 to 8.45. The germination test revealed that the stock solution of the compound growth promoting agent significantly inhibited oat seed germination. However, the addition of trace elements mixtures alleviated this inhibitory effect, increasing the germination rate by up to 52.78% compared to the stock solution. Dilution of the agent improved the germination rate, germination potential, germination index and vigor index of seeds. Among the treatments, the germination rate of bacterial agent W3 was the highest after 100-fold dilution, reaching 72.50%, which was 61.11% higher than the control (CK). 【Conclusion】The bacterial agent can promote oat seedling growth, increasing root length, shoot length, and improving underground biomass (both fresh and dry weight). The best results for underground biomass were achieved with T2 inoculant W2 at a 100-fold dilution, while T3 inoculant W3 at a 100-fold dilution was most effective for aboveground biomass. This study provides a theoretical basis for optimizing the early application of bacterial agents to enhance their effectiveness.

Key words: compound growth promoting agent; mixture of medium and trace elements; oats; growth promotion

(责任编辑 靳奇峰)