

芽孢杆菌 ZJM-P5 与氮配施对红小豆幼苗生长和氮吸收的影响

栾换换¹, 裴红宾^{1*}, 张永清^{1,2}, 高振峰³

(1 山西师范大学 生命科学学院,山西临汾 041004;2 山西师范大学 地理科学学院,山西临汾 041004;3 山西农业大学 农学院,山西太谷 030801)

摘要:以红小豆品种‘晋红小豆 5 号’和促生芽孢杆菌 ZJM-P5 为材料,设置不同氮素用量和菌液浓度处理,采用盆栽试验,测定各菌氮处理下红小豆幼苗农艺性状、生理特性及含氮量等指标,研究促生芽孢杆菌 ZJM-P5 与氮配施对红小豆幼苗生长发育的影响,并筛选出最佳促生菌液浓度水平,为提高红小豆幼苗的养分吸收利用效率及其高产优质栽培提供理论依据。结果表明:(1)在同一菌液浓度下,红小豆苗期株高、茎粗、叶面积、地上部干重、根系干重、根表面积、根系体积、根系平均直径均随施氮量的增加呈先升高后降低的趋势,而最大根长随着施氮量增加有所下降;根系可溶性糖及 MDA 含量随施氮量增加均呈先降后升的趋势;根系 SOD、POD 活性及根系活力均随施氮量增加先升高后降低;根系可溶性蛋白含量、NR 活性和植株含氮量均随施氮量增加而增加。(2)在相同施氮量条件下,除根系可溶性糖和 MDA 含量随着菌浓度的增加先下降后升高外,其余各指标均呈先升后降的变化趋势;各指标除低氮($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)水平下在 $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 菌液浓度达到最大值外,其它氮水平均在 $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 菌液浓度达到最大值。研究发现,芽孢杆菌 ZJM-P5 与氮合理配施有利于红小豆植株的氮素吸收和生长发育,并以 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为最佳施氮(纯氮)水平, $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为最佳菌浓度,且两者组合处理的幼苗农艺性状、根系活力及保护酶活性、氮素含量均达到较高水平;过量施氮、施菌或菌氮比例不合理则会导致幼苗干物质积累及氮素提升受限,进而抑制植株正常生长。

关键词:红小豆;氮;芽孢杆菌 ZJM-P5;促生;氮素吸收

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effects of *Bacillus* ZJM-P5 and Nitrogen Application on Growth and Nitrogen Uptake of Adzuki Bean Seedlings

LUAN Huanhuan¹, PEI Hongbin^{1*}, ZHANG Yongqing^{1,2}, GAO Zhenfeng³

(1 College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China; 2 College of Geographical Sciences, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China; 3 College of Agronomy Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: We took the adzuki bean cultivar ‘Jin adzuki bean 5’ and growth promoting bacteria *Bacillus* ZJM-P5 as materials, set different nitrogen dosage and concentration of bacteria treatments, and determined agronomic characters, physiological characteristics and nitrogen content under different treatments by pot experiments at seedling stage. The effect of different *Bacillus* ZJM-P5 and nitrogen treatments on

收稿日期: 2017-05-15; 修改稿收到日期: 2017-08-09

基金项目: 国家自然科学基金(31571604);山西师范大学科技开发与应用基金(YK1502)

作者简介: 栾换换(1993—),女,在读硕士研究生,主要从事植物生理生态方面的研究工作。E-mail: hhluan@126.com

* 通信作者: 裴红宾,副教授,硕士生导师,主要从事植物生理生态方面的研究工作。E-mail: bbpei65110@163.com

growth and development of adzuki bean seedlings was analyzed, and the optimum growth promoting bacteria concentration level was screened. The aim is to improve the seedling quality and nutrient absorption and utilization efficiency of adzuki bean, and provide a theoretical basis for high yield and high quality cultivation. The results showed that: (1) under the same concentration of bacteria fluid, plant height, stem diameter, leaf area, shoot dry weight, root dry weight, root area, root volume and average root diameter initially increased and then decreased with increasing nitrogen application rate; However the max root length showed a decline; Furthermore, the contents of soluble sugar and MDA in the roots decreased firstly and then increased with the increase of nitrogen application rate, while the activities of SOD, POD in root and root activities initially increased and then decreased with increasing nitrogen rate; the soluble protein content in the root, NR activity and nitrogen uptake of plant rose with increasing nitrogen rate. (2) Under the equal amount of nitrogen fertilizer, in addition to soluble sugar and MDA contents in roots with the increase of bacteria concentration firstly decreased and then increased. The other indexes showed a trend of increasing firstly and then decreasing; All the indexes in addition to the low nitrogen level ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), the concentration of $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ bacteria solution reached the maximum value, and the other nitrogen levels reached the highest value at the concentration of $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ bacteria solution. The study found that reasonable combined application of *Bacillus* ZJM-P5 and nitrogen was beneficial to the nitrogen absorption and growth of adzuki bean, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ was the best nitrogen (pure nitrogen) level, and $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ was the best concentration of bacteria, and the agronomic characters, root activity and protective enzyme activities and nitrogen content of the seedlings treated with the combination of the two reached a higher level; Excessive application of nitrogen, bacteria, or the unreasonable proportion of bacteria and nitrogen will lead to dry matter accumulation and nitrogen limitation of seedlings, and then inhibit the normal growth of plants.

Key words: adzuki bean; nitrogen; *Bacillus* ZJM-P5; promoting; nitrogen uptake

红小豆(*Phaseolus angularis* Linn.)为豆科豇豆属的一年生杂粮作物,又名赤豆、小豆等。红小豆不仅具有丰富且重要的营养食用价值和药用价值,其适应性强且对土壤要求不高,在自然资源利用和地方经济发展方面,都占有非常重要的地位^[1-2]。苗期作为培育红小豆壮苗的关键时期,处于氮养分临界期,如果氮素缺乏会对壮苗培育产生较大影响,降低红小豆幼苗的抗逆性,导致产量和品质下降,Hardy 等^[3]研究表明幼苗期是红小豆氮素需求的养分临界期,此时根瘤固氮能力弱,氮素供应仍以土壤供应为主。孙文相等^[4]研究发现在大豆生长发育过程中启动氮追加氮对增加大豆鼓粒期营养器官含氮量、延缓衰老以及提高产量和种植密度具有重要作用,增施氮肥可在一定程度上提高豆科植物的产量和品质。因此,改变种植观念,苗期追施氮肥或施足底肥,培育壮苗,开发高产优质栽培技术,对红小豆高产和推动红小豆产业发展具有重要意义。

促生菌作为一类可在土壤、根际、根表、叶际以及植物体内生长的微生物,在促进植物生长发育,提高植物抗逆性、养分吸收效率、产量和品质以及减少化肥使用量等方面具有重要作用。王超等^[5]研究发现小麦生境分离的耐低温荧光假单胞菌株 1b、

YB22 和 3b JN2 菌株对小麦、黄瓜以及青菜具有良好的促生作用;张小芳等^[6]研究发现水稻幼苗经适宜浓度的 3 株芽孢杆菌属生防细菌浸种、浸芽、浇苗和包衣处理后可明显提高幼苗长势和保护酶活性;陈兴都等^[7]研究发现大豆根际氢氧化细菌对促进大豆生长发育具有重要作用。目前有关促生菌的报道已有很多,但促生菌研究多集中在非豆科作物中,而对豆科植物非根瘤促生菌的研究还相对较少,特别是促生芽孢杆菌对幼苗期红小豆生长发育及氮吸收的影响还鲜有研究。

为此本研究以‘晋红小豆 5 号’为研究材料,探讨不同促生细菌(芽孢杆菌 ZJM-P5)用量和氮素水平对红小豆幼苗期生长发育及氮吸收的影响,旨在为红小豆壮苗培育,明确幼苗期氮肥适宜用量,提高红小豆氮肥利用效率以及红小豆促生菌剂开发和利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试红小豆品种为‘晋红小豆 5 号’;供试菌株为芽孢杆菌 ZJM-P5,由山西师范大学生命科学学院实验室分离并保存;供试土壤主要养分含量为:全

氮 $0.03\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $92\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,风干后备用;试验所用培养钵为上口径 18 cm 、下口径 16 cm 、高 18 cm ;供试肥料为分析纯试剂尿素(含N 46%)、过磷酸钙(含 P_2O_5 15%)和氯化钾(含 K_2O 2%)。

1.2 实验设计

本试验于2016年5~6月在山西师范大学防雨棚中进行。试验中氮肥用量(纯氮)设置 50 、 100 和 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3个水平(分别记作N1、N2、N3),菌液浓度设置 10^6 、 10^7 、 10^8 和 $10^9\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 4个水平(分别记作A1、A2、A3、A4),组成 $12(3\times 4)$ 个处理组合,以不施用氮和菌液为对照(CK),共计13个处理,每个处理重复3次。

1.3 测定指标和方法

(1)土壤处理:每盆装土 2 kg ,所用肥料均作为底肥一次性施入,每盆分别施过磷酸钙 1.34 g 和氯化钾 0.46 g ,尿素施用量参照实验设计进行。(2)种子处理及播种:选取颗粒饱满、大小均匀且无病害的红小豆种子,经 H_2O_2 消毒 30 min 、蒸馏水冲洗3次后,参照田间栽培适时播种,每盆10粒,且所有盆土正常等量浇水以保证种子顺利出苗。(3)栽培管理:待第一对单叶完全展开时,间苗,每盆定苗5株。后期管理过程中为保持一致环境条件适时随机调换花盆摆放位置。待红小豆第1片复叶完全展开后,用 200 mL 不同浓度的芽孢杆菌ZJM-P5菌悬液进行灌根处理,继续生长 30 d 后对红小豆幼苗各项表型及生理生化指标进行测定。

1.3.1 形态指标 随机选取各处理红小豆3株,用直尺测量株高,叶面积仪测定叶面积,再将幼苗分地上部和地下部于 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 杀青 30 min , $75\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重,分别称取干物质重量。另取3株幼苗采用根系分析扫描仪进行根表面积、根系体积和根系平均直径的测定。

1.3.2 生理指标 随机选取各处理长势一致的红小豆幼苗4株,洗净后用滤纸擦干,采取根尖部分测定根系活力和根系酶活性,采取全株植物测定氮含量,采取根尖 $3\sim 5\text{ cm}$ 处根部组织部分测定其余各指标。根系活力及根系硝酸还原酶(NR)、过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)活性分别采用氯化三苯基四氮唑法^[8]、氨基苯磺酸比色法之离体法、愈创木酚比色法和核黄素法^[8]测定;根系丙二醛(MDA)、可溶性糖及可溶性蛋白质含量分别采用硫代巴比妥酸法、蒽酮比色法及考马斯亮蓝G-250染色法^[8]测定;植株氮含量采用半微量凯氏定氮法^[9]

测定。

1.4 数据处理

用Microsoft Excel 2007软件对试验数据进行处理,用SPSS 19.0软件进行统计分析,采用Duncan's法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 菌氮配施对红小豆幼苗形态指标的影响

2.1.1 地上部形态指标 红小豆幼苗在氮肥和芽孢杆菌ZJM-P5双因素作用下,地上部各形态指标均比对照显著增加($P<0.05$),且在处理间差异显著,并均在N2A2处理下达到最大值(表1)。在相同氮水平下,红小豆幼苗的株高、茎粗、叶面积及地上部干重均随菌液浓度增加呈先升高后降低的趋势,且4项指标在不同氮素水平下的增加幅度和达到最大值的菌液浓度不同。其中,在N1水平下,株高、茎粗、叶面积及地上部干重在A3施菌处理达到最高值,同对照相比增幅分别为47.55%、31.43%、54.10%和45.19%;在N2和N3条件下,株高、茎粗、叶面积及地上部干重均以A2施菌处理为最佳,其在N2水平下分别比对照增加93.58%、92.20%、92.40%和71.80%,在N3条件下分别增加58.54%、74.72%、78.03%和61.07%;在各施氮水平下,A4施菌处理的上述指标增幅最低,表现较差,已属过量施菌。同时,在相同施菌处理下,红小豆上述指标均随施氮量的增加也呈先升后降的趋势,并均在N2水平下达到最大值,其次为N3水平,N1水平最低,但各施氮水平都显著高于对照。以上结果说明施氮水平对促生细菌ZJM-P5与红小豆相互作用具有一定影响,并且中氮(N2)环境更有利于芽孢杆菌ZJM-P5发挥其对红小豆幼苗的促生作用,对幼苗期培育壮苗具有重要意义。

2.1.2 根系形态指标 红小豆幼苗在氮肥和芽孢杆菌ZJM-P5双因素共同作用下,其根系各形态指标也均比对照显著增加($P<0.05$),且在处理间差异显著,根系表面积、体积和平均直径均在N2A2处理下达到最大值,而最大根长和根系干重分别在N1A3和N2A3处理下达到最大值(表2)。

首先,红小豆幼苗根系表面积、体积及平均直径对菌氮配施表现出一致的响应趋势。在相同菌液浓度下,各指标均随施氮量的增加呈先增加后减少的单峰曲线变化,且均在N2水平下表现最好,各菌液浓度水平下3种氮素处理间存在显著差异。随施氮量增加,接菌处理对于红小豆幼苗的促生作用趋于

表1 不同菌氮配施处理下红小豆幼苗地上部植株生长的变化

Table 1 The shoot growth of adzuki bean seedlings under different nitrogen and bacteria treatments

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	叶面积 Leaf area/cm ²	地上部干重 Shoot dry weight/mg
CK	8.83±0.75h	2.01±0.13g	4.87±0.26i	215.0±18.67h
N1A1	11.04±1.15g	2.34±0.19ef	6.49±0.61gh	271.8±17.54fg
N1A2	12.47±0.93efg	2.42±0.16def	6.98±0.58fgh	284.0±13.35efg
N1A3	13.03±0.90ef	2.64±0.22cde	7.51±0.48defg	312.2±21.98cde
N1A4	10.97±0.95g	2.30±0.18f	6.36±0.52h	254.0±23.51g
N2A1	16.00±0.99ab	2.86±0.19bc	8.27±0.52bcd	337.0±25.40abc
N2A2	17.10±1.15a	3.19±0.14a	9.37±0.68a	369.4±27.90a
N2A3	14.87±1.00bcd	3.04±0.18ab	9.01±0.75ab	357.0±23.80ab
N2A4	13.23±1.04de	2.78±0.16bc	8.12±0.62bcde	328.4±25.11bcd
N3A1	14.10±1.05cde	2.69±0.18cd	7.93±0.50cdef	295.3±21.48def
N3A2	15.43±1.02abc	2.83±0.14bc	8.67±0.64abc	346.3±22.61abc
N3A3	12.73±1.01efg	2.72±0.12bcd	7.23±0.61efgh	314.8±23.17cde
N3A4	11.23±1.04fg	2.58±0.21cdef	6.59±0.51gh	268.9±15.85fg

注:CK. 不加菌和氮肥;芽孢杆菌 ZJM-P5 浓度:A1. 10^6 cfu · mL⁻¹; A2. 10^7 cfu · mL⁻¹; A3. 10^8 cfu · mL⁻¹; A4. 10^9 cfu · mL⁻¹。氮肥用量:N1. 50 mg · kg⁻¹; N2. 100 mg · kg⁻¹; N3. 200 mg · kg⁻¹。表内数据为平均值士标准差,同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异 ($P<0.05$);下同

Note: CK. Without bacteria and nitrogen fertilizer. *Bacillus* ZJM-P5 concentration: A1. 10^6 cfu · mL⁻¹; A2. 10^7 cfu · mL⁻¹; A3. 10^8 cfu · mL⁻¹; A4. 10^9 cfu · mL⁻¹. Nitrogen fertilizer: N1. 50 mg · kg⁻¹; N2. 100 mg · kg⁻¹; N3. 200 mg · kg⁻¹. The values in the table are given as mean±SD. Different letters within the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same as below

表2 不同菌氮配施处理下红小豆幼苗根系生长的变化

Table 2 The development of root system of adzuki bean seedlings under different nitrogen and bacteria treatments

处理 Treatment	根表面积 Root area/cm ²	根系体积 Root volume/mL	根系平均直径 Root average diameter/mm	最大根长 Maximum length of root/cm	根系干重 Root dry weight/mg
CK	16.44±0.89h	1.42±0.09i	0.46±0.04h	14.17±1.29i	34.0±3.06h
N1A1	22.21±1.44cdef	1.84±0.12efg	0.58±0.04cde	26.07±1.56abc	53.8±3.41g
N1A2	23.11±1.54cd	1.99±0.13de	0.63±0.04bc	27.20±1.08ab	61.3±4.57def
N1A3	25.95±1.46ab	2.16±0.10bcd	0.66±0.03ab	27.86±1.11a	55.8±3.52fg
N1A4	21.39±1.25defg	1.74±0.13fgh	0.57±0.04cde	25.43±1.60bcd	52.3±2.84g
N2A1	26.78±1.32a	2.26±0.15abc	0.66±0.06ab	23.23±1.19de	66.8±4.72abcd
N2A2	28.02±1.18a	2.37±0.11a	0.71±0.01a	26.90±1.35abc	71.6±3.35ab
N2A3	26.97±1.38a	2.32±0.10ab	0.67±0.04ab	24.73±1.40cd	73.9±4.97a
N2A4	24.08±1.12bc	2.09±0.11cd	0.64±0.04bc	21.20±1.21efg	63.4±4.59cde
N3A1	19.88±1.84fg	1.69±0.12fgh	0.55±0.02ef	20.87±1.12fg	62.3±4.39def
N3A2	22.57±1.73cde	1.88±0.08ef	0.61±0.03bcd	22.47±1.32ef	69.9±4.65abc
N3A3	20.56±1.36efg	1.65±0.13fg	0.54±0.04g	19.80±1.08gh	65.6±4.43bcd
N3A4	19.47±1.07g	1.62±0.13h	0.53±0.04g	18.23±1.22h	57.3±3.49efg

明显,最佳菌液浓度表现出降低的趋势。可能由于低氮环境(N1)红小豆幼苗根表面积、根体积等较小,芽孢杆菌在根际的活动对根系影响较小,故接菌浓度需达到较高水平(A3)才能获得最佳效果;而施

氮量增多能够为芽孢杆菌提供更多营养,使其生命活动更加旺盛,从而菌氮两者获得更多相互作用的机会,所以其促生作用表现明显,菌浓度在较低水平(A2)时便达到最佳效果。

其次,各菌氮处理的红小豆幼苗最大根长均显著大于CK,但增加幅度不同。在相同施氮条件下,随着施菌量的增加,最大根长呈抛物线变化趋势,而在各氮水平下达到峰值的施菌量不同,N1A3、N2A2和N3A3分别为各氮水平最大值;在同等施菌条件下,与CK相比,最大根长在N1水平下增幅明显高于N2、N3水平,且在N1A3处理下达到最大值(27.86 cm);此外,各施氮处理中,最大根长增幅均以A4水平下最低,施菌量总体表现为低水平促进高水平抑制。

另外,在氮肥施用量相同时,A2和A3处理下红小豆根系干重均显著高于A4处理,N1A3为N1A4的1.17倍,N2A2为N2A4的1.16倍,N3A2为N3A4的1.22倍。在施菌量相同时,各施氮量对红小豆幼苗根系干重均有显著促进作用,但不同施氮水平下红小豆根系干重增幅不同,并以中氮水平(N2)下增幅最大;可见,在含氮量较低环境中,适度增加施菌量对于促进红小豆地下生物量增加的效果较好;在一定菌、氮供应水平下,菌氮存在协同促进效应,但菌氮供应水平过高,则呈阻遏效应,不利于红小豆的生长。

2.2 菌氮配施对红小豆幼苗根系SOD、POD活性及MDA含量的影响

在氮肥和芽孢杆菌ZJM-P5共同作用下,红小豆幼苗根系SOD、POD活性均显著高于对照,而其MDA含量比对照显著降低($P<0.05$),且根系SOD、

POD活性均在N2A2处理下达到最大值,而MDA含量则在N2A2处理下达到最小值(表3)。

首先,SOD是生物体内清除自由基的关键酶,能够催化植物细胞内超氧阴离子发生歧化反应,可有效防止其对生物体的损害^[10]。在同等施氮量下,红小豆幼苗根系SOD活性随菌液浓度的增加呈先升后降的趋势,A2和A3施菌处理下的SOD活性总体水平高于A1和A4施菌处理,且N1水平下SOD活性在施菌量为A3时达到最大值,为CK的1.51倍,而N2和N3水平下均在施菌量为A2时达到最大值,分别为CK的1.61倍和1.37倍。各氮水平在施菌量为A4时SOD活性水平最低,施菌量整体表现为低水平促进高水平抑制。在相同施菌处理下,红小豆幼苗根系SOD活性在不同氮水平下变化较为一致,均随着施氮量的增加呈先升高后降低的趋势。在高氮(N3)、低氮(N1)条件下SOD活性整体明显低于中氮(N2)水平处理。表明在适宜菌氮水平下,红小豆幼苗根系的SOD活性能保持较高水平,可减轻脂膜过氧化、维持细胞膜完整的优势,促进植株得到更好的生长。

其次,POD是植物体内抗氧化保护酶系统的重要酶,催化线粒体或胞浆中H₂O₂形成O₂和H₂O,有效阻止H₂O₂的积累,限制潜在的氧伤害^[11]。红小豆幼苗根系POD活性对不同菌氮组合处理的响应表现出与SOD活性相似的变化规律,在相同氮水平下,随着施菌量的增加,根系POD活性呈先升后

表3 不同菌氮配施处理下红小豆幼苗根系生理指标的变化

Table 3 The physiological indexes of root system of adzuki bean seedlings under different nitrogen and bacteria treatments

处理 Treatment	SOD活性 SOD activity (U·g ⁻¹)	POD活性 POD activity (U·g ⁻¹ ·min)	MDA含量 MDA content (nmol·g ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	可溶性糖含量 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)
CK	218.61±11.18h	679.76±31.49i	13.58±0.64a	4.37±0.39f	2.67±0.05a
N1A1	304.54±13.22cd	787.23±35.12defg	8.19±0.53d	5.92±0.30de	2.35±0.15cde
N1A2	310.22±15.60bcd	829.92±32.68bede	7.45±0.56def	6.33±0.32d	2.29±0.18bcd
N1A3	329.28±12.34ab	834.83±25.39bcd	6.82±0.18fg	6.44±0.49d	2.09±0.18bc
N1A4	278.50±14.42ef	767.78±25.43fgh	9.31±0.47c	5.67±0.16e	2.39±0.17b
N2A1	334.46±13.27ab	839.82±28.57abc	6.99±0.43efg	8.07±0.18c	1.47±0.13gh
N2A2	350.98±15.17a	885.48±25.24a	6.06±0.63h	9.18±0.41ab	1.32±0.17h
N2A3	326.30±11.85bc	866.56±21.95ab	6.42±0.32gh	9.02±0.17ab	1.45±0.18gh
N2A4	322.75±13.16bc	814.81±27.03cdef	7.78±0.27de	7.96±0.25c	1.71±0.17fg
N3A1	287.20±13.53de	781.45±24.35efgh	9.04±0.46c	8.84±0.20b	1.69±0.19fg
N3A2	298.59±10.92de	800.76±24.09cdef	7.96±0.33d	9.45±0.38a	1.62±0.17g
N3A3	260.13±11.83fg	748.23±20.67gh	10.40±0.55b	9.29±0.32ab	1.92±0.14ef
N3A4	251.02±13.81g	732.43±26.59h	10.72±0.39b	8.23±0.21c	2.03±0.18de

降的抛物线变化趋势。同时在相同施菌水平下,随施氮量的增加呈先增后降的趋势,且在 N2 施氮处理下,POD 活性显著高于其他氮水平。N2A2 处理的红小豆幼苗 POD 活性最高,比 CK 高 30.26%,添加适宜浓度促生菌可提高红小豆幼苗 POD 活性,更好地促进植物生长。

另外,MDA 含量高低反映了植物细胞膜质过氧化程度,在同一施菌水平下,随着氮浓度的增加,MDA 含量的变化趋势为先降后增,与低氮(N1)、高氮(N2)水平相比,正常供氮水平下 MDA 含量较低,对红小豆幼苗毒害作用最小。当施氮量相同时,MDA 含量随菌浓度增加呈先降后升的趋势,在菌浓度为 A1 和 A4 时,MDA 含量升至较高水平,对红小豆幼苗毒害较大。菌浓度为 A2 和 A3 时 MDA 含量降至较低水平,N1A3、N2A2、N2A3 分别比 CK 降低了 49.80%、55.38% 和 41.36%。在中氮低菌(N2A2)水平,红小豆 SOD、POD 保护酶活性达到较高水平,有效缓解了 MDA 含量的积累,使得红小豆受到 MDA 的伤害最小。

2.3 菌氮配施对红小豆幼苗根系可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响

红小豆幼苗在氮肥和芽孢杆菌 ZJM-P5 双因素共同作用下,根系可溶性蛋白比对照显著增加($P < 0.05$),而根系可溶性糖含量比对照显著减少($P < 0.05$),且根系可溶性蛋白含量在 N3A2 处理下达到最大值,而根系可溶性糖含量则在 N2A2 处理下达到最小值(表 3)。

可溶性蛋白和可溶性糖均为植物体内重要的渗透调节物质。首先,不同菌氮组合处理对红小豆幼苗根系可溶性蛋白质含量的影响表现为:在相同氮水平下,可溶性蛋白含量随菌浓度增加呈先升后降的趋势,N1 水平下在菌浓度为 A3 时含量最高,且 N2 和 N3 水平下在菌浓度为 A2 时达到最大值,N1A3、N2A2 和 N2A3 处理的幼苗根系可溶性蛋白含量分别为 CK 的 1.47 倍、2.10 倍和 2.16 倍。而在相同施菌条件下,可溶性蛋白含量随着施氮量的增加逐渐升高,在 N3 水平下达到最大值,且显著高于 N1 水平。氮素水平显著影响可溶性蛋白含量的增加,在高氮水平时,根系细胞维持较高的可溶性蛋白含量,增强其保护性。

其次,在相同氮水平下,根系可溶性糖含量随菌浓度增加表现为先降低后升高的趋势,菌浓度为 A2、A3 时含量较低,菌浓度为 A4 达到最大值。在相同施菌水平下,红小豆幼苗根系中可溶性糖含量

随施氮量的增加呈先下降后上升的趋势。在 A2 菌浓度水平下,N2 施氮处理比 N1 施氮处理降低 41.62%,之后开始上升,N3 施氮处理比 N2 施氮处理增加 22.42%;而在 A3 菌浓度水平下,N2 比 N1 水平降低 33.08%,N3 比 N2 水平相应的增加幅度为 32.64%。此外,红小豆在低、高氮水平下可溶性糖含量急剧增加,说明其根系细胞内的可溶性糖含量急剧积累,维持细胞渗透势,膜系统受到的破坏程度较小,减少了胁迫带来的危害。

2.4 菌氮配施对红小豆幼苗根系活力、硝酸还原酶活性和氮素积累的影响

2.4.1 根系活力 植物根系是活跃的吸收器官和合成器官,其活力水平直接影响地上部的生长和营养状况及产量水平。在氮肥和芽孢杆菌 ZJM-P5 共同作用下,红小豆幼苗根系活力显著高于对照($P < 0.05$),并在 N2A2 处理下达到最大值(图 1)。在相同氮素水平下,红小豆幼苗根系活力随菌浓度增加呈先升后降的趋势,N1 水平在菌浓度为 A3 时根系活力值最大,N2 和 N3 水平均在菌浓度 A2 时达到最大值,N1A3、N2A2 和 N3A2 相比 CK 根系活力值增幅分别为 42.20%、99.15% 和 80.69%,该促生菌对红小豆生长作用表现为低浓度促进高浓度抑制。在相同菌浓度水平下,根系活力随氮水平增多呈先升后降的趋势,N2 水平>N3 水平>N1 水平。适宜菌氮水平可提高红小豆根系活力,促进生长。

2.4.2 NR 活性 硝酸还原酶(NR)是植物氮素同化的关键酶,也是一种诱导酶,与作物氮肥的吸收和利用有关。红小豆幼苗在氮肥和芽孢杆菌 ZJM-P5 双因素共同作用下,NR 活性显著高于对照($P < 0.05$),并在 N3A2 处理下达到最大值(图 2)。在同一氮素水平下,NR 活性随施菌量的增加呈先升后

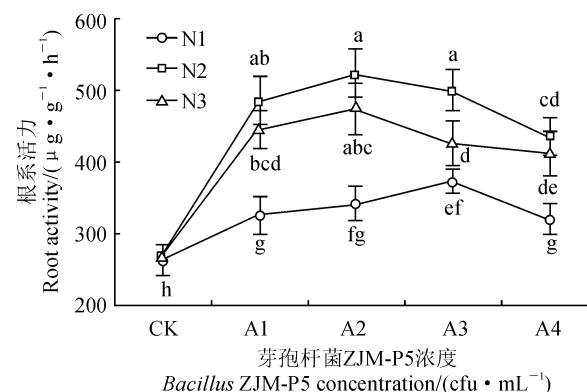


图 1 不同菌氮配施处理下红小豆幼苗根系活力的变化

Fig. 1 The root activity of adzuki bean seedlings under different nitrogen and bacteria treatments

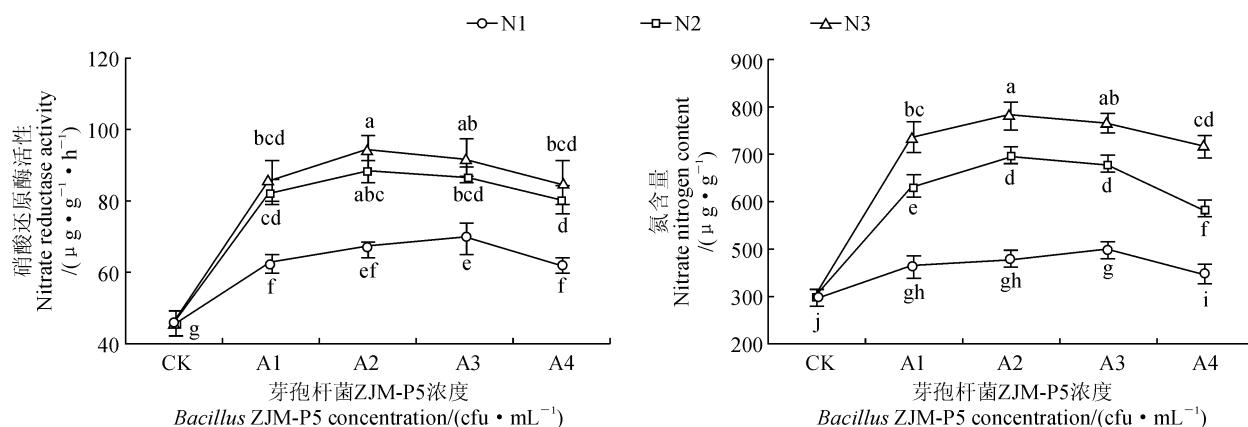


图 2 不同菌氮配施处理下红小豆幼苗根系硝酸还原酶(NR)活性和植株氮含量的变化
Fig. 2 The nitrate reductase activity in root and nitrogen content of adzuki bean seedlings under different nitrogen and bacteria treatments

降的趋势,除N1水平下在A3菌浓度处达到峰值外,N2和N3水平下均在A2菌浓度处达到最大值,且各氮水平下均在A4菌浓度处达到最低值。在相同菌浓度水平下, NR活性随着氮水平的增加呈上升趋势,在N3水平时NR活性值最大,N3比N2水平的增幅小于N2比N1水平的增幅,在植株生长基质中,氮素过高对植株NR活性上升有一定的限制作用,添加适宜浓度促生芽孢杆菌可以促进NR活性的提升。

2.4.3 氮素积累量 在氮肥和芽孢杆菌ZJM-P5共同作用下,红小豆幼苗氮素积累量显著高于对照($P<0.05$),并在N3A2处理下达到最大值(图2)。红小豆幼苗的氮素积累量对各菌氮组合处理的响应与NR活性表现出相一致的趋势。在同一氮素水平下,氮素积累量随着施菌量的增加呈先升后降的趋势,各氮水平下在不同菌浓度处达到最高氮素积累量,N1A3、N2A2和N3A2分别为CK的1.39倍、2.14倍和2.46倍。在相同菌浓度水平下,氮素积累量随氮水平增加而增加,在N3水平时氮素积累量达到最大值,N3比N2水平的增幅小于N2比N1水平的增幅。红小豆幼苗氮素积累量与施氮量以及芽孢杆菌用量有密切的关联,在适宜菌氮供应水平下,菌氮存在协同促进效应,但菌氮供应水平过高,则呈阻遏效应,氮素积累量的提升受限。

3 讨论

促生细菌作为一类对植物生长发育具有明显促进作用的微生物,在促进植物根系生长发育、壮苗培育、降低化肥用量以及提高产量和植物抗逆性等方面

面具有重要作用,成为国内外研究热点。郭飞等^[12]研究发现接种促生菌对马尾松苗木单株总生物量增加3.38%~5.77%,对其壮苗培育具有促生作用,Marschner H.等^[13]发现促生芽孢杆菌可促进植物根系生长、谢永丽等^[14]发现菌株BS11、BS12可促进水稻幼苗生长、程园园等^[15]研究发现促生芽孢杆菌可促进苜蓿幼苗生长、康贻军等^[16]对豇豆(*Vigna sesquipedalis*)的研究表明,接种两种促生菌后豇豆株高分别比对照提高14.39%和10.40%;茎叶干物重分别比对照增加19.69%和17.71%;童蕴慧等^[17]的研究表明菌株W3可提高植物根系POD和SOD酶活力,增强植物抗逆性,刘佳莉等^[18]利用从盐碱土壤中分离出的促生菌株A-2和A-4处理燕麦种子,可有效促进燕麦生长并提高燕麦的盐碱抗性。

促生菌的应用效果除了与施用区气候特点、土壤状况有关,还受到包括菌种来源、菌剂组成、施用量等因素的影响,目前促生菌不同施用量在不同养分条件下对植物促生作用效果研究较少,为明确不同浓度促生芽孢杆菌ZJM-P5在红小豆幼苗期壮苗培育过程的作用效果和不同氮肥水平对其作用效果的影响,本研究对氮肥和促生菌双因素作用下的红小豆幼苗各项形态和生理生化指标进行了测定,结果表明同对照相比:施菌后无论在高氮还是低氮环境中均可促进红小豆幼苗生长,但在低氮水平下菌液浓度为 $10^8\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对根系生长及抗逆性提高效果较为显著;在中、高氮水平下,菌液浓度为 $10^7\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对红小豆地上、地下促生以及抗逆性提高都具有较好效果,说明芽孢杆菌ZJM-P5在

红小豆幼苗期壮苗培育具有明显效果,但在菌液使用浓度上存在一定差异,表明促生菌对作物的促生作用有一个最佳剂量问题。造成这些异同的原因可能和菌株特性、植物种类以及生长环境有关。本研究结果还表明氮素水平和促生菌特性发挥具有一定的关联性,说明在使用促生菌以及相关菌肥来提高作物产量、品质以及壮苗培育时还需注意氮素水平的影响。

促生菌对根系生长可以起到良好的促进作用,主要表现在根长、生物量、根表面积及根体积等形态学变化上。一般认为,根系活力能反映根系吸收能力的强弱,其强弱直接影响植株对营养物质的吸收,进而影响地上部的生长发育。冯莉等^[19]研究证实,利用荧光假单胞菌处理烟草根系,其根系活力显著提高。本研究各处理均可提高红小豆幼苗根系活力,以处理 N2A2 效果最佳。根系活力提高说明根系发达,最大根长及根质量增加,这与上述根系形态的变化相一致。根系形态特征与植物利用土壤养分的效率密切相关^[20],多数研究证实,施氮量显著影

响植物生长发育,如正常供氮水平下红小豆根长、根表面积与根体积比低氮及高氮条件下显著提高^[21]。本研究通过添加促生菌后,各氮条件下红小豆根长、根表面积与根体积增大,可能是促生菌剂能增加根系分枝强度^[22]。由于多数促生菌都可分泌生长素,而生长素诱导可刺激侧根的产生,因此,也可能与某些植物激素的调控有关。

综上所述,通过研究芽孢杆菌 ZJM-P5 和氮肥双因素对红小豆幼苗生长发育的影响,发现菌株 ZJM-P5 在红小豆栽培过程中具有降低氮肥投入的作用,且在幼苗期根瘤菌无法发挥固氮作用时,对红小豆培育壮苗具有较好促进作用。在低氮($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)水平下, $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为最佳菌浓度,中氮($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、高氮($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)水平下 $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为最佳菌浓度,氮素水平同施菌浓度以及菌株促生作用发挥之间存在一定的关联性。本研究可为红小豆高产栽培提供理论参考,但有关芽孢杆菌的促生机制、氮肥利用效率、微生物菌肥研制以及大田应用效果还需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 赵建京,范志红,周威. 红小豆保健功能研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(3): 46-50.
- ZHAO J J, FAN Z H, ZHOU W. Research progress on health functions of adzuki bean[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2009, 11(3): 46-50.
- [2] 张永清,刘凤兰,贾蕊,等. $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 浸种对盐碱胁迫下红小豆幼苗生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(4): 12-18.
- ZHANG Y Q, LIU F L, JIA R, et al. Effect of seed soaking in $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ solution on growth and antioxidant enzyme activity of adzuki bean seedlings under saline alkali stress[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2009, 25(4): 12-18.
- [3] 成河智明,竹崎力. 红小豆基础生理与应用技术[M]. 北京:农业出版社, 1990: 407-489.
- [4] 孙文相,张明聪,刘元英,等. 启动氮加追氮对不同密度大豆氮素吸收的影响[J]. 大豆科学, 2013, 32(4): 506-511.
- SUN W X, ZHANG M C, LIU Y Y, et al. Effects of starter-N plus top-dressing N on nitrogen absorption of soybean plants under different densities[J]. *Soybean Science*, 2013, 32(4): 506-511.
- [5] 王超,李宏伟,谢越盛,等. 耐低温荧光假单胞菌筛选体系建立及其植物促生作用评价[J]. 微生物学通报, 2016, 43(12): 2 644-2 656.
- WANG C, LI H W, XIE Y S, et al. Construction of screening system for cold tolerant *Pseudomonas fluorescens* for plant growth-promotion[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(12): 2 644-2 656.
- [6] 张小芳,艾瑛,魏兰芳,等. 生防细菌对水稻的促生性及诱导抗性研究[J]. 生物技术进展, 2017, 7(1): 43-51.
- ZHANG X F, AI Y, WEI L F, et al. Studies on promoting ability and induced resistance of biocontrol bacteriain rice[J]. *Current Biotechnology*, 2017, 7(1): 43-51.
- [7] 陈兴都,王卫卫,付博,等. 大豆根际土壤中氢氧化细菌促生效应研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(1): 136-140.
- CHEN X D, WANG W W, FU B, et al. Growth promoting effect of hydrogen-oxidizing bacteriain soybean rhizosphere [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(1): 136-140.
- [8] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2006: 59-219.
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析(第2版)[M]. 北京:中国农业出版社, 1986: 213-216.
- [10] 窦俊辉,喻树迅,范丽丽,等. SOD与植物胁迫抗性[J]. 分子植物育种, 2010, 8(2): 359-364.
- DOU J H, YU S X, FAN S L, et al. SOD and plant stress

- resistance[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2010, **8**(2): 359-364.
- [11] 王丽燕. NaCl 处理对野大豆生理生化特性的影响[J]. 大豆科学, 2008, **27**(6): 1 067-1 071.
- WANG L Y. Effects of NaCl stress on physiological and biochemical characters of glycine soja [J]. *Soybean Science*, 2008, **27**(6): 1 067-1 071.
- [12] 郭飞, 蒋雪刚, 黄宝灵, 等. 促生菌接种马尾松育苗试验[J]. 广西林业科学, 2013, **42**(1): 71-76.
- GUO F, JIANG X G, HUANG B L, et al. Inoculation of growth-promoting rhizobacteria on seedlings of *Pinus massoniana*[J]. *Guangxi Forestry Science*, 2013, **42**(1): 71-76.
- [13] MARSCHNER H, DELL B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis[J]. *Plant and Soil*, 1994, **159**(1): 89-102.
- [14] 谢永丽, RENATO, D'OVIDIO, 等. 几株解纤维素生防芽孢杆菌的分子鉴定及其抗逆促生特性分析[J]. 微生物学通报, 2017, **44**(2): 348-357.
- XIE Y L, RENATO, D'OVIDIO. Molecular identification of cellulose-degrading bio-control *Bacillus* strains and their stress-resistance and growth-promoting characteristics [J]. *Microbiology China*, 2017, **44**(2): 348-357.
- [15] 程园园. 苜蓿根际芽孢杆菌的分离鉴定及特性分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2015.
- [16] 康贻军, 沈敏, 王欢莉, 等. 两株 PGPR 对豇豆苗期生长及土著细菌群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, **31**(8): 1 537-1 543.
- KANG Y J, SHEN M, WANG H L, et al. Effects of two plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on yardlong bean early seedlings growth and indigenous soil bacterial community[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, **31**(8): 1 537-1 543.
- [17] 童蕴慧, 郭桂萍, 徐敬友, 等. 拮抗细菌诱导番茄植株抗灰霉病机理研究[J]. 植物病理学报, 2004, **34**(6): 507-511.
- TONG Y H, GUO G P, XU J Y, et al. Mechanisms of resistance to gray mould in tomato plant induced by antagonistic bacteria[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2004, **34**(6): 507-511.
- [18] 刘佳莉, 方芳, 史煦涵, 等. 2 株盐碱地燕麦根际促生菌的筛选及其促生作用研究[J]. 草业学报, 2013, **22**(2): 132-139.
- LIU J L, FANG F, SHI X H. Isolation and characterization of PGPR from the rhizosphere of the *avena sativa* in saline-alkali soil [J]. *Acta Pratacult Sin* 2013, **22**(2): 132-139.
- [19] 冯莉, 张玲华, 田兴山. 荧光假单胞菌对烟草根际微生物种群数量及根系活力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(b10): 537-539.
- FENG L, ZHANG L H, TIAN X S. Effects of pseudomonas flurosecens on rhizosphere microorganisms and root activity of tobacco[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, **26**(b10): 537-539.
- [20] 杨建昌. 水稻根系形态生理与产量、品质形成及养分吸收利用的关系[J]. 中国农业科学, 2011, **44**(1): 36-46.
- YANG J C. Relationships of rice root morphology and physiology with the formation of grain yield and quality and the nutrient absorption and utilization [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, **44**(1): 36-46.
- [21] 李鑫, 张永清, 王大勇, 等. 水氮耦合对红小豆根系生理生态及产量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, **23**(12): 1511-1519.
- LI X, ZHANG Y Q, WANG D Y, et al. Effects of coupling water and nitrogen on root physio-ecological indices and yield of adzuki bean [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, **23**(12): 1 511-1 519.
- [22] 王宁, 秦艳. AM 真菌对宿主植物三叶鬼针草根系形态的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, **40**(1): 13-14.
- WANG N, QIN Y. Effects of AM fungus on root morphology of host plant *Bidens pilosa* L. [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2012, **40**(1): 13-14.

(编辑:裴阿卫)