

紫色土植物促生菌筛选及其复合菌剂对生姜种苗的促生效应

申 鸿^{1, 4} 吴 波² 李洪海^{3, 4} 刘奕清^{3*} 吴兴文⁵ 杨星勇^{6*}

(¹西南大学资源环境学院, 重庆 400715; ²农业部沼气科学研究所, 四川成都 610041; ³重庆文理学院特色植物产业协同创新中心, 重庆 402160; ⁴重庆天沛生姜研究院有限公司, 重庆市生姜资源利用工程技术研究中心, 重庆 402160; ⁵重庆市梁平区经济作物技术推广站, 重庆 405200; ⁶重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331)

摘 要: 从轮作蔬菜紫色土中筛选出 3 株不同的植物促生菌 (PGPB) 菌株, 分别为具自生固氮能力的解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens* GN03)、具溶磷作用的短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus* RP01) 和具解钾作用的环状芽孢杆菌 (*Bacillus circulans* JK02), 将 3 种菌株配制成复合菌剂进行生姜种苗盆栽试验。结果表明, 接种牛粪-拌施复合菌剂处理总体表现最优, 与牛粪-拌施市售生物菌肥处理相比, 根际细菌自生固氮菌、溶磷菌和解钾菌数量显著增高了 1 674.1%、8 709.1% 和 225.2%; 土壤速效磷、速效钾含量显著提高了 87.5% 和 23.0%; 姜苗分蘖数、叶面积和地上部、地下部干质量分别提高了 40.0%、45.9% 和 28.6%、25.0%。应用适宜的 PGPB 复合菌剂对紫色土微生态环境和生姜种苗的生长有较好的促进效应。

关键词: 生姜; 种苗; 紫色土; 植物促生菌; 菌种筛选; 盆栽试验; 促生效应

生姜 (*Zingiber officinale* Roscoe) 是药食两用蔬菜和保健功能食品, 有数千年的栽培历史, 也是国家“十三五”现代农业特色蔬菜产业技术体系重要蔬菜之一。生姜多采用无性繁殖留种, 导致姜种感染病原菌, 极易引发姜瘟病等。无菌组培种姜 (苗) 是降低姜瘟病发生的有效途径之一, 如何提高生姜无菌组培种苗驯化移栽的成活率和种苗质量, 则是生姜组培种苗规模化生产的关键 (刘奕清等, 2010a)。

植物促生菌 (plant growth promoting bacteria, PGPB) 能够提高植株对矿质营养的吸收和利用, 抑制病原微生物的繁殖。近年来植物促生菌在水稻、小麦、玉米、大豆等大田作物 (吴皓琼等, 2011; 邓振山等, 2012; 高君君等, 2012), 以及马铃薯、番茄、辣椒、甘蓝、黄瓜、樱桃、冬枣和猕猴桃等果蔬上已有大量应用研究 (林启美等, 2002; Han & Lee, 2006; 吕德国等, 2008; 刘方春等, 2012, 2013; Islam et al., 2013; 田婧等, 2016; Shen et al., 2016), 但有关 PGPB 在促进生姜组培种苗生长效应等方面的研究鲜见报道。

本试验在前期生姜组培种苗移栽基质筛选及肥水调控研究基础上 (刘奕清等, 2010b), 通过筛选出具竞争优势的紫色土土著 PGPB, 进而制成复合菌剂, 并开展不同菌剂对生姜种苗生长效应的研究, 以期对生姜种苗规模化种植应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤 PGPB 的分离、纯化和菌种鉴定

2013 年 9 月从西南大学国家紫色土肥力与肥

申鸿, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 专业方向: 农业微生物学, E-mail: shenhong@swu.edu.cn

* 通讯作者 (Corresponding authors): 刘奕清, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 专业方向: 园艺作物育种栽培, E-mail: liung906@163.com; 杨星勇, 博士, 教授, 博士生导师, 专业方向: 农业生物技术, E-mail: yangxy94@swu.edu.cn

收稿日期: 2018-01-17; 接受日期: 2018-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41573104), 重庆市基础与前沿重点项目 (cstc2017cyjBX0078), 重庆市现代特色效益农业调味品产业技术体系创新团队项目 (2017-7), 重庆市社会与民生专项 (cstc2017shms-kjfp0253), 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室开放基金项目 (2016002)

料效应监测基地 (30° 26' N, 106° 26' E) 的长期轮作蔬菜〔普通白菜(小白菜)—莴苣—辣椒—大豆〕土壤中, 选择 3 块 1 m × 1 m 范围土壤, 按 5 点采样法收集 10 ~ 20 cm 土层土壤, 混合均匀后分装, 于 4 °C 保存供菌种分离。

PGPB 的分离、纯化采用稀释平板法, 其中自生固氮菌、溶磷菌和解钾菌的筛选分别采用阿须贝无氮培养基、PKO 无机磷培养基和解钾菌选择培养基 (Shen et al., 2016)。挑取生长速度快或周围有透明圈的菌株, 使用划线法于选择培养基分离纯化, 直至纯培养后转接至 LB 斜面培养, -80 °C 保存菌种。

采用凯氏定氮法测定固氮菌固氮能力 (Akhter et al., 2012), 采用钼锑抗比色法测定溶磷菌溶磷能力 (Perez et al., 2007), 采用火焰分光光度计法测定解钾菌解钾能力 (易浪波等, 2012)。菌株的形态学及生理生化鉴定参照《常见细菌系统鉴定手册》(东秀珠和蔡妙英, 2001), 以通用引物 27F、1492R 扩增各菌株 16S rDNA, PCR 扩增产物 (1 300 ~ 1 500 bp) 送上海英潍捷基贸易有限公司测序。所得结果在 NCBI 上进行 BLAST 比对, 最后使用 MEGA 6.06 软件的 Neighbor-joining 法构建系统发育树, 进行分子生物学鉴定。

1.2 复合菌剂对生姜种苗的盆栽试验

1.2.1 试验材料 试验于 2015 年 4 月在西南大学资源环境学院盆栽场进行。选择株高 4 ~ 5 cm、根系完整、叶色正常、生长健壮的生姜组培种苗为供试植物 (由重庆市特色植物种苗工程技术研究中心组培实验室提供); 以紫色土为供试土壤, 基本理化性质: pH=5.5, 有机质含量 $8.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $0.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷 $0.54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全钾 $16.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 碱解氮 $43.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有效磷 $11.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾 $65.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 以生产中普遍应用的牛粪做底肥 (采自重庆市北碚区良种牛繁育中心), 基本理化性质: 含水量 58.9%, 全碳 40.12%, 全氮 1.34%, 全磷 $13.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全钾 $8.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 碳氮比 32.11。

1.2.2 试验设计 设无牛粪—单施复合菌剂处理 (T1)、牛粪—拌施复合菌剂处理 (T2), 以牛粪底肥育苗 (CK1) 和牛粪—拌施市售生物菌肥 (CK2) 为对照, 共 4 个处理。其中 T1 为 PGPB 菌悬液与供试土壤混合成接种剂; T2 为 PGPB 菌悬液与牛粪

混合成接种剂, PGPB 菌悬液为 3 菌株按 1 : 1 : 1 菌数比例混合, 装盆前与牛粪/土壤混合成接种剂 (每克牛粪/土约含 $3 \times 10^5 \text{ cfu}$); CK2 为市售生物菌肥宝禄 1 号 (POLUMA-1, 重庆宝禄满农业发展有限公司), 装盆前与牛粪混合成接种剂 (每克牛粪约含 $1 \times 10^8 \text{ cfu}$)。

选用 2 L 塑料花盆, 每盆装土 1.5 kg, 按接种量 5% 计, 每盆混施入各处理接种剂 (或牛粪) 80 g。3 d 后移栽生姜组培苗, 每盆 2 株, 每处理 4 次重复, 随机区组排列。每天定量浇水, 使土壤持水量为 15% ~ 20%。试验周期为 90 d。

1.2.3 植株农艺性状测定 试验结束时分别测定姜苗株高、叶片数、最大叶片叶面积、分蘖数等农艺性状和地上部、地下部鲜质量, 于 105 °C 杀青 10 min 后, 80 °C 烘干至恒重, 测定植株地上部、地下部干质量。

1.2.4 土壤理化性质测定和微生物数量分析 试验结束时, 采用抖根法收集根际土, 4 °C 保存, 其中 10 g 用于微生物数量测定, 余土风干后用于土壤理化性质分析。采用稀释平板计数法测定土壤中自生固氮菌、溶磷菌、解钾菌等细菌数目 (中国科学院南京土壤研究所微生物室, 1985); 分别采用酸度计法、铬酸钾容量法、凯氏定氮法、钼蓝比色法、火焰光度法测定土壤 pH 值、有机质、全氮、全磷、全钾、碱解氮、有效磷、速效钾含量 (杨剑虹等, 2008)。

1.2.5 种苗生理生化指标测定 采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮开氏定氮法、钒钼黄比色法、火焰光度法测定植株氮、磷、钾含量 (杨剑虹等, 2008)。

1.3 数据处理

应用 Microsoft Excel 2007 软件制作图表, 使用 SPSS 18.0 软件进行 AVONA 单因素方差统计分析以及 Duncan 多重比较分析 ($P \leq 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 土壤 PGPB 形态及生理生化特征

通过选择培养基的筛选, 共分离获得 6 株自生固氮 (GN) 菌、6 株溶磷 (RP) 菌和 5 株解钾 (JK) 菌。本试验选取自生固氮菌 GN03、溶磷菌 RP01 和解钾菌 JK02, 作为 PGPB 候选菌株开展研究。

从图 1-A、B 和表 1 可以看出, 自生固氮菌

GN03 在阿须贝无氮培养基上的菌落形态为白色半透明状, 光滑湿润, 圆形微隆起, 边缘整齐。革兰氏阳性菌, 芽孢呈椭圆形、中生, 荚膜肥厚。培养 1~2 d, 菌落直径 2~3 mm; 培养 3~5 d, 菌落直径 6~8 mm。

从图 1-C、D 和表 1 可以看出, 溶磷菌 RP01 在溶磷菌选择培养基上能形成明显的溶磷圈, 菌落形态湿润透明, 难以挑起, 边缘整齐。革兰氏阳性菌, 芽孢呈椭圆形、中生, 荚膜肥厚。培养 1~2 d, 菌落直径 2~3 mm; 培养 3~5 d, 菌落直径

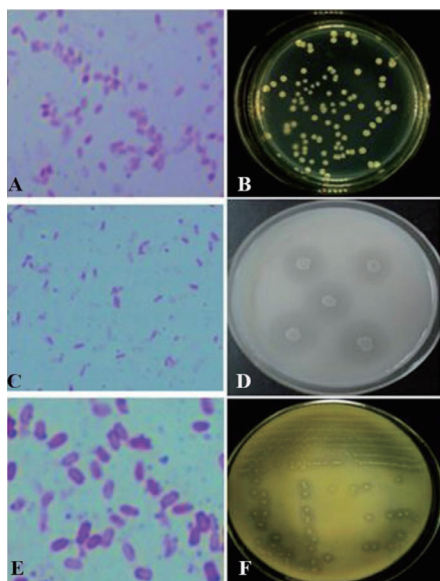


图 1 菌株染色结果及菌落形态

A, GN03 菌株染色 (100×16); B, GN03 菌落形态 [阿须贝无氮培养基, (28±2)℃]; C, RP01 菌株染色 (100×16); D, RP01 菌落形态 [PKO 无机磷培养基, (28±2)℃]; E, JK02 菌株染色 (100×16); F, JK02 菌落形态 [解钾菌选择培养基, (28±2)℃]。彩色图版见中国蔬菜网站: www.cnveg.org。

表 1 PGPB 生理生化特征鉴定

特征	GN03	RP01	JK02
接触酶试验	+	+	+
氧化酶试验	-	-	+
M-R 试验	+	-	+
V-P 试验	+	+	-
淀粉水解	+	-	+
硝酸还原酶	+	-	+
D-葡萄糖产酸	+	+	+
D-木糖产酸	+	+	+
葡萄糖产气	-	-	-
明胶液化	+	+	+
吡啉试验	-	-	-
柠檬酸盐利用	-	+	+
苯丙氨酸脱氨酶	-	-	-

注: “+”表示反应为阳性, “-”表示反应为阴性。

5~6 mm。

从图 1-E、F 和表 1 可以看出, 解钾菌 JK02 在解钾菌选择培养基上形成解钾圈, 菌落形态为湿润凸起, 呈乳白色, 边缘整齐。革兰氏阳性菌, 芽孢呈椭圆形、中生或次端生, 荚膜肥厚。培养 1~2 d, 菌落直径 1~2 mm; 培养 3~5 d, 菌落直径 5~7 mm。

2.2 土壤 PGPB 的 16S rDNA 系统发育分析与鉴定

对 GN03、RP01、JK02 菌株进行基于 16S rDNA 系统发育分析, 结果表明: GN03 与多株解淀粉芽孢杆菌属菌株相似度达到 99% 以上, RP01 与多株短小芽孢杆菌属菌株相似度达到 99% 以上, JK02 与多株芽孢杆菌属菌株相似度达到 98% 以上 (图 2)。结合形态学、生理生化和 16S rDNA 鉴定结果, 试验筛选的自生固氮菌鉴定为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens* spp.), 将其命名为 *B. amyloliquefaciens* GN03; 溶磷菌鉴定为短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus* spp.), 将其命名为 *B. pumilus* RP01; 解钾菌鉴定为环状芽孢杆菌 (*Bacillus circulans* spp.), 将其命名为 *B. circulans* JK02。这 3 个菌株的 16S rDNA 序列已提交 GenBank, 登录号分别为 KU922934、KU922935 和 KU922936。

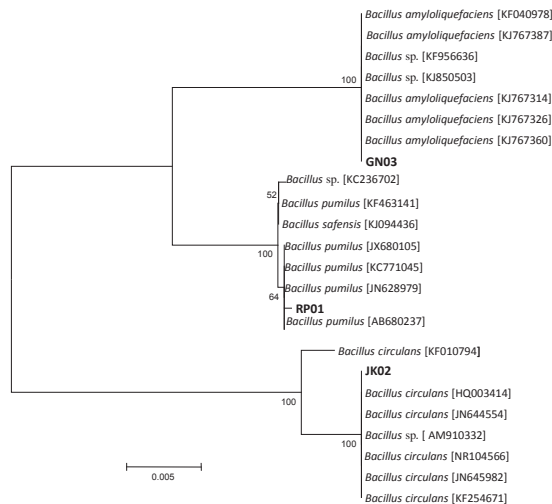


图 2 GN03、RP01、JK02 菌株的 16S rDNA 系统发育树

2.3 接种复合菌剂处理对生姜种苗根际土壤微生物数量的影响

盆栽试验结果表明 (表 2), 各处理生姜种苗根际土壤微生物数量存在显著差异, 土壤细菌总数排序为: T1 > T2 > CK2 > CK1。其中, 单施牛粪 (CK1) 和牛粪-拌施市售生物菌肥 (CK2) 2 个

处理的土壤细菌总数仅为 $(1 \sim 20) \times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ，均处于较低水平。而接种 PGPB 复合菌剂的 2 个处理 (T1 和 T2) 的根际微生物数量显著提升：与 CK2 相比，T2 处理的根际细菌总数、固氮菌、溶磷菌和解钾菌数量分别提高了 212.2%、1 674.1%、8 709.1% 和 225.2%。

2.4 接种复合菌剂处理对生姜种苗根际土壤氮、磷、钾含量的影响

与单施牛粪 (CK1) 和单施复合菌剂 (T1) 处理相比，牛粪-拌施市售生物菌肥处理 (CK2) 和牛粪-拌施复合菌剂处理 (T2) 提高了生姜种苗根际土壤中全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷含量 (表 3)。其中 T2 处理的土壤速效磷、速效钾含量分别较 CK2 显著提高了 87.5% 和 23.0%。

2.5 接种复合菌剂处理对生姜种苗生长的影响

从表 4 可以看出，各处理生姜种苗的株高、叶

片数、叶面积、地下部和地上部干质量等指标差异明显，姜苗总体生长势表现为：T2 > T1 > CK2 > CK1 (图 3)。牛粪-拌施复合菌剂处理 (T2) 能显著改善生姜植株种苗的生长，姜苗分蘖数、叶面积和地上部、地下部干质量，分别较 CK2 提高了 40.0%、45.9% 和 28.6%、25.0%。单施复合菌剂处理 (T1) 的植株生长状况虽略优于 CK1，但其姜苗分蘖数最少。

表 2 不同复合菌剂处理对生姜种苗根际微生物数量的影响

处理	细菌总数 $\times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	固氮菌 $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	溶磷菌 $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	解钾菌 $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$
CK1	1.21 ± 2.45 d	9.67 ± 2.22 c	0.67 ± 1.15 c	7.25 ± 2.90 d
T1	111.23 ± 26.24 a	46.35 ± 10.63 a	8.05 ± 2.31 b	97.33 ± 12.71 a
CK2	19.91 ± 2.45 c	1.89 ± 0.82 d	0.33 ± 0.58 c	22.18 ± 9.21 c
T2	62.16 ± 21.07 b	33.53 ± 3.01 ab	29.07 ± 1.38 a	72.13 ± 6.08 b

注：表中同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$)；下表同。

表 3 不同复合菌剂处理对姜苗根际土壤有机质、氮、磷、钾含量的影响

处理	有机质/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全氮/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全磷/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全钾/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	碱解氮/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	速效磷/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
CK1	6.60 ± 0.33 a	0.61 ± 0.05 b	0.22 ± 0.01 c	18.53 ± 1.40 a	39.65 ± 0.01 b	3.61 ± 0.17 c	70.07 ± 2.78 c
T1	6.32 ± 0.12 a	0.61 ± 0.07 b	0.21 ± 0.03 c	13.64 ± 1.15 b	28.44 ± 2.33 c	5.06 ± 0.24 b	77.89 ± 1.68 b
CK2	6.40 ± 0.26 a	0.69 ± 0.08 ab	0.33 ± 0.01 b	18.70 ± 0.70 a	56.14 ± 1.15 a	3.77 ± 0.10 c	69.80 ± 1.96 c
T2	6.92 ± 0.69 a	0.77 ± 0.05 a	0.38 ± 0.02 a	18.90 ± 2.13 a	39.67 ± 0.98 b	7.07 ± 0.11 a	85.83 ± 3.97 a

表 4 不同复合菌剂处理对生姜种苗农艺性状的影响

处理	株高/cm	分蘖数/个·株 ⁻¹	叶片数/个·盆 ⁻¹	叶面积/ $\text{cm}^2 \cdot \text{株}^{-1}$	地上部干质量/ $\text{g} \cdot \text{盆}^{-1}$	地下部干质量/ $\text{g} \cdot \text{盆}^{-1}$
CK1	14.8 ± 0.76 b	5 ± 0.00 b	12 ± 0.58 c	5.15 ± 0.95 c	0.28 ± 0.08 c	0.08 ± 0.06 c
T1	18.2 ± 1.44 a	4 ± 0.17 c	23 ± 3.18 b	7.45 ± 0.66 b	0.60 ± 0.03 b	0.34 ± 0.01 b
CK2	15.2 ± 2.04 b	5 ± 0.57 b	35 ± 0.58 a	8.45 ± 0.48 b	0.73 ± 0.18 ab	0.36 ± 0.08 ab
T2	18.7 ± 1.15 a	7 ± 1.00 a	36 ± 2.08 a	12.33 ± 1.82 a	0.91 ± 0.09 a	0.48 ± 0.07 a



图 3 植物促生菌对生姜幼苗农艺性状的影响 (盆栽 90 d)

表 5 不同复合菌剂处理对姜苗氮、磷、钾含量的影响

处理	地上部			地下部		
	N	P	K	N	P	K
CK1	0.08 ± 0.02 b	0.76 ± 0.03 b	1.23 ± 0.05 c	0.07 ± 0.05 b	0.75 ± 0.05 b	1.44 ± 0.02 c
T1	0.08 ± 0.04 b	0.88 ± 0.03 b	1.33 ± 0.04 b	0.08 ± 0.05 b	0.77 ± 0.02 b	1.52 ± 0.05 b
CK2	0.12 ± 0.03 ab	1.16 ± 0.04 ab	1.35 ± 0.03 b	0.10 ± 0.02 ab	0.78 ± 0.05 b	1.61 ± 0.03 ab
T2	0.14 ± 0.02 a	1.21 ± 0.05 a	1.65 ± 0.05 a	0.13 ± 0.07 a	0.91 ± 0.04 a	1.68 ± 0.02 a

2.6 接种复合菌剂处理对生姜种苗氮、磷、钾含量的影响

从表 5 可以看出,与生姜植株生长状况一致,牛粪-拌施复合菌剂处理(T2)的植株地下部和地上部 N、P、K 含量均高于其他处理,其中姜苗地上部钾、地下部氮、磷含量较 CK2 分别提高了 22.2%、30.0% 和 16.7%。

3 结论与讨论

设施菜田土壤极易出现微生物多样性下降、病原菌增多和寄生线虫为害等土壤微生物学障碍问题(田永强等,2013)。与土著微生物种群相比,微生物肥料中的外源性 PGPB 可能没有竞争优势,导致其定殖能力低下、遗传性状不稳定(杜晓燕等,2008),因此微生物肥料的有效性长期处于研究热点。

本试验分别筛选、鉴定获得紫色土土著 PGPB 自生固氮菌(*Bacillus amyloliquefaciens* GN03)、溶磷菌(*Bacillus pumilus* RP01)和解钾菌(*Bacillus circulans* JK02)。将这 3 个菌株按 1:1:1 菌数与牛粪基质混合制成复合菌剂,研究复合菌剂对生姜种苗的促生效应。盆栽试验结果表明,与接种牛粪-拌施市售生物菌肥相比,牛粪-拌施复合菌剂处理的根际细菌总数、固氮菌、溶磷菌和解钾菌数量分别提高了 212.2%、1 674.1%、8 709.1% 和 225.2%,表明试验筛选的 GN03、RP01 和 JK02 不仅具紫色土生态适应能力,更较普通市售微生物肥料具有强烈的土著微生态环境竞争优势,因此能显著促进植物根际促生菌的增殖。这与刘方春等(2013)接种 PGPR 对冬枣根际土壤微生态环境的研究结果一致。此外,土壤速效磷、速效钾含量分别显著提高了 87.5% 和 23.0%,表明筛选并使用适宜的土著根际促生菌能促进难溶态磷素等养分的供应,改善土壤养分状况,这与冬枣(刘方春等,2013)、猕猴桃(Shen et al. 2016)等根际土壤微环境特征的研究结果一致。本试验中,姜苗地上部钾、地下部氮、磷养分含量分别提高了 22.2%、30.0% 和 16.7%,与辣椒(Han & Lee, 2006)、黄瓜(Han & Lee, 2006)、甜菜(Shi et al., 2011)以及猕猴桃(Shen et al., 2016)上的研究结果一致,表明接种适宜的 PGPB 能提高姜苗养分含量,显著改善种苗

对养分的吸收利用。与接种牛粪-拌施市售生物菌肥相比,接种牛粪-拌施复合菌剂的生姜种苗的分蘖数、叶面积和地上部、地下部干质量分别提高了 40.0%、45.9% 和 28.6%、25.0%,表明接种土著植物促生菌不仅能显著改善生姜种苗的生长,还能够促进生姜种苗分蘖,与前人在玉米(Zahid et al., 2015)、甘蓝(Piromy et al., 2013)上的研究结果一致。

生姜种苗地下茎质量和分蘖数等生物学性状,直接影响种苗的经济价值,因此,选择适宜的植物促生菌,并结合适宜的有机质配方制成 PGPB 复合微生物菌肥,对于生姜种苗的生产具有重要作用。在后续研究中,还需进一步开展植物促生复合微生物菌肥的应用基础研究,如各菌株的商业性扩繁体系建立、商业化菌肥中各菌株投放比例、菌肥基质的优化、菌肥质量控制体系的建立等,以期实现生姜种苗扩繁制种的规模化应用,为姜农提供优质姜种。

参考文献

- 邓振山,党军龙,张海州,李军,韦革宏. 2012. 植物根际促生菌的筛选及其对玉米的促生效应. 微生物学通报, 39(7): 980-988.
- 东秀珠,蔡妙英. 2001. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社.
- 杜晓燕,张富春,张小勇. 2008. 影响微生物接种剂发挥作用的因素. 微生物学通报, 35(5): 815-819.
- 高君君,康貽军,程洁,殷士学. 2012. PGPR 对水稻塑盘旱育秧苗素质的影响. 土壤, 44(1): 126-132.
- 林启美,饶正华,孙焱鑫,姚军,刑礼军. 2002. 硅酸盐细菌的筛选及其对番茄营养的影响. 中国农业科学, 35(1): 59-62.
- 刘方春,邢尚军,马海林,杜振宇,马丙尧,陈波,杜秉海. 2012. PGPR 生物肥对甜樱桃(*Cerasus pseudocerasus*)根际土壤生物学特征的影响. 应用与环境生物学报, 18(5): 722-727.
- 刘方春,邢尚军,马海林,丁延芹,陈波,杜秉海. 2013. 根际促生细菌(PGPR)对冬枣根际土壤微生物数量及细菌多样性的影响. 林业科学, 49(8): 75-80.
- 刘奕清,陈泽雄,廖林正,黄登艳,罗文彬. 2010a. 生姜原原种标准化设施培育技术. 北方园艺, (8): 40-41.
- 刘奕清,陈泽雄,吴中军. 2010b. 生姜脱毒种苗移栽基质筛选及肥水调控研究. 北方园艺, (2): 36-37.
- 吕德国,于翠,秦嗣军,刘国成,杜国栋. 2008. 本溪山樱根部解磷细菌的定殖规律及其对植株生长发育的影响. 中国农业科学, 41(2): 508-515.

- 田婧, 李邵, 连青龙, 鲁少尉, 马宁, 鲍顺淑. 2016. 植物根际促生菌在蔬菜种植中的应用进展. 北方园艺, (6): 181-185.
- 田永强, 王敬国, 高丽红. 2013. 设施菜田土壤微生物学障碍研究进展. 中国蔬菜, (20): 1-9.
- 吴皓琼, 牛彦波, 殷博, 甄涛, 曹亚彬, 郭立妹. 2011. PGPR植物促生肥在大豆上应用效果研究. 生物技术, 21(3): 90-94.
- 杨剑虹, 王成林, 代亨林. 2008. 土壤农化分析与环境监测. 北京: 中国大地出版社.
- 易浪波, 彭清忠, 何齐庄, 彭清静. 2012. 高效钾长石分解菌株的筛选、鉴定及解钾活性研究. 中国微生物学杂志, 24(9): 773-776.
- 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 1985. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社.
- Akhter M S, Hossain S J, Amir-Hossain S K, Datta R K. 2012. Isolation and characterization of salinity tolerant *Azotobacter* sp. Greener J Biol Sci, 2: 43-45.
- Han H S, Lee K D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil and Environ, 52: 130-136.
- Islam M R, Sultana T, Joe M M, Yim W, Cho J C, Sa T. 2013. Nitrogen-fixing bacteria with multiple plant growth-promoting activities enhance growth of tomato and red pepper. J Basic Microbiol, 53(12): 1004-1015.
- Perez E, Sulbaran M, Ball M M, Yarzabal L A. 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region. Soil Biology and Biochemistry, 39: 2905-2914.
- Piromyong P, Noisangiam R, Uchiyama H, Tittabutr P, Boonkerd N, Teaumroong N. 2013. Indigenous microbial community structure in rhizosphere of Chinese Kale as affected by plant growth-promoting rhizobacteria inoculation. Pedosphere, 23: 577-592.
- Shen H, He X H, Liu Y Q, Chen Y, Tang J M, Guo T. 2016. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. Frontiers in Microbiology, 7: 841.
- Shi Y, Lou K, Li C. 2011. Growth promotion effects of the endophyte *Acinetobacter johnsonii* strain 3-1 on sugar beet. Symbiosis, 54(3): 159-166.
- Zahid M, Abbasi M K, Hameed S, Rahim N. 2015. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). Front Microbiol, 6: 207-216.

Screening of Plant Growth-promoting Bacteria from Purple Soil and Growth Promoting Effects of Its Complex Microbial Inoculant on Ginger Germchit

SHEN Hong^{1, 4}, WU Bo², LI Hong-hai^{3, 4}, LIU Yi-qing^{3*}, WU Xing-wen⁵, YANG Xing-yong^{6*}

(¹College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China; ²Biogas Scientific Research Institute, Ministry of Agriculture, Chengdu 610041, Sichuan, China; ³Collaborative Innovation Center of Special Plant Industry, Chongqing College of Arts and Sciences, Chongqing 402160, China; ⁴Research Center of Ginger Resource Utilization Engineering Technology of Chongqing City, Chongqing Tianpei Ginger Research Institute Limited Company, Chongqing 402160, China; ⁵Cash Crops Technical Extension Station of Liangping District, Chongqing 405200, China; ⁶College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Three PGPB (*Bacillus amyloliquefaciens* GN03, *Bacillus pumilus* RP01 and *Bacillus circulans* JK02) isolated from purple soil were mixed as a complex bacterial inoculant. A pot experiment was conducted to examine the effects of the complex inoculant on ginger germchit. The results indicated that the treatment of complex inoculant mixed with cow-dung (T2) had the best performance. Comparing the treatment of commercial bio-fertilizer (CK2), the treatment mixed with cow-dung remarkably increased the numbers of azotobacter, P-solubilizing and K-solubilizing bacteria by 1 674.1%, 8 709.1% and 225.2%, respectively. Soil available P and K of the T2 were significantly enhanced by 87.5% and 23.0%, respectively. The tillering numbers, leaf areas, dry weight of shoot and root were increased by 40.0%, 45.9%, 28.6% and 25.0% under T2, respectively. Applying appropriate PGPB complex microbial inoculant can efficiently improve the micro-ecological environment and promote the growth of ginger germchit in purple soil.

Key words: Ginger; Germchit; Purple soil; PGPB; Bacteria separation; Pot experiment; Growth promoting effect