

研究报告



解钾促生菌的筛选鉴定及对东北黑土区玉米的促生效应

陈腊¹ 李可可¹ 米国华² 胡栋³ 隋新华^{*1} 陈文新¹

1 中国农业大学生物学院 北京 100193

2 中国农业大学资源与环境学院 北京 100193

3 河北省农林科学院遗传生理研究所 河北 石家庄 050051

摘要:【背景】东北地区作为全国玉米的主产区，土壤缺钾严重限制了玉米的高产。解钾促生菌可活化土壤中难溶的钾，提高土壤钾的有效性，进而促进植物生长。【目的】从中国东北黑土区的玉米根际土壤中筛选鉴定高效解钾菌，研究其在缺钾条件下对玉米生长的促生效果，为开发适应当地环境的微生物钾肥提供优良的菌种资源。【方法】采用选择性培养基从玉米根际土中筛选解钾菌；采用 16S rRNA 基因测序方法鉴定菌株的分类地位；采用生理生化特征鉴定培养基测定其生态适应性(耐酸碱、耐盐、耐干旱及耐农药)；2 年的田间接种试验验证解钾菌在缺钾条件下对玉米的促生效果。【结果】筛选出 3 株高效解钾促生菌 MZ4、KM1 和 KM2，经鉴定 MZ4 和 KM2 属于芽孢杆菌属，KM1 属于短小芽孢杆菌属；3 株菌可耐受强干旱、强碱、不同浓度的吡虫啉和啉菌酯，并耐受一定程度的酸和盐；田间试验结果表明，与缺钾区不接种解钾菌相比，接种 MZ4、KM1 和 KM2 增加了拔节期、吐丝期玉米的株高、地上生物量、叶面积指数和叶绿素，接种 MZ4 和 KM2 显著增加了玉米产量，可增产 9.65%–11.50%。【结论】鉴定出适合东北黑土区的高效解钾微生物，为该区域微生物钾肥研发及微生物解钾机理研究提供了优良菌种资源。

关键词：解钾菌，东北地区，玉米，缺钾，促生作用

Screening and identification of potassium-solubilizing bacteria and their promoting effects on maize in black soil of Northeast China

CHEN La¹ LI Keke¹ MI Guohua² HU Dong³ SUI Xinhua^{*1} CHEN Wenxin¹

1 College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

3 Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050051, China

Abstract: [Background] In Northeast China, a major maize (*Zea mays* L.) production region, maize yield

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (U19A2035); National Key Research and Development Program of China (2017YFD0201801)

***Corresponding author:** Tel: 86-10-62734009; E-mail: suixh@cau.edu.cn

Received: 18-09-2020; **Accepted:** 27-11-2020; **Published online:** 04-03-2021

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(U19A2035); 国家重点研发计划(2017YFD0201801)

***通信作者:** Tel: 010-62734009; E-mail: suixh@cau.edu.cn

收稿日期: 2020-09-18; **接受日期:** 2020-11-27; **网络首发日期:** 2021-03-04

is limited severely by insufficient soil potassium supply. Potassium-solubilizing bacteria can mobilize insoluble soil potassium, improve soil potassium availability, and promote maize growth. **[Objective]** To identify efficient potassium-solubilizing bacteria from maize rhizosphere in black soil, verify their growth-promoting effects under potassium-deficient field condition, so as to provide elite bacteria resource for producing microbial potassium fertilizers adapted to the local environment. **[Methods]** The bacteria isolated from maize rhizosphere were screened on potassium-solubilizing medium. The taxonomy of the selected potassium-solubilizing bacteria was identified by 16S rRNA gene sequencing. The ecological adaptability (acid and alkali resistance, salt resistance, drought tolerance and pesticide resistance) of the selected bacteria were determined by culturing them on diverse physiological and biochemical mediums. A two-year field inoculation experiment was conducted to verify their effects on maize growth and yield under the condition of potassium deficiency. **[Results]** Three efficient potassium-solubilizing bacteria, MZ4, KM1 and KM2, were selected. MZ4 and KM2 were identified as *Bacillus* sp., and KM1 was identified as *Brevibacillus* sp.. All the three strains can tolerate drought stress, acid and alkali stress, pesticide (imidacloprid), fungicide (azoxystrobin), and salt stress to a certain degree. In the field without potassium application, the inoculation of MZ4, KM1 and KM2 increased plant height, shoot biomass, leaf area index and chlorophyll content of maize at the jointing and flowering stages. Inoculation with MZ4 and KM2 significantly promoted grain yield by 9.65%–11.50%. **[Conclusion]** The efficient potassium-solubilizing bacteria which adapt to the black soil in Northeast China were identified. These bacteria can be used as elite germplasm resource for producing microbial potassium fertilizer and analyzing the mechanism underlying efficient potassium solubilization by microorganism.

Keywords: potassium-solubilizing bacteria, Northeast China, maize, potassium deficiency, growth-promoting effect

钾是作物生长发育所必需的三大元素之一, 具有多种生理功能, 如促进植物光合作用、提高作物抗逆能力、促进作物生长等^[1]。土壤中钾的含量十分丰富, 但植物可直接吸收利用的钾仅占 10%, 其余 90% 以上为矿质钾, 矿质钾需要经过一系列复杂的转化过程才可以供作物利用^[2-3]。农田中钾的不足会限制作物增产和品质提高^[4-6], 因此需要为作物补充足够的钾肥。我国钾矿资源稀少, 50%–70% 的钾肥都依赖进口, 这增加了作物种植成本^[7]。研究表明土壤中存在一类植物根际促生菌——解钾菌(又称硅酸盐细菌), 其可以提高土壤中矿质钾的转化率, 将土壤中难溶性的钾转化为植物可吸收利用的钾, 在减少钾肥投入的前提下稳定作物产量^[8-12]。因此, 高效解钾菌的筛选与应用对于我国农业的可持续发展尤为重要。

解钾菌的应用能改善作物钾素营养缺乏并促进作物的生长。如吴俊林等^[13]从河南省驻马店市泌阳县烟草种植区土壤中筛选分离出一株高效解钾

菌, 发现其可以促进土壤中难溶钾的溶解, 并对烟草植株的生长有显著促进作用; 李凤汀等^[14]分离到一株高效硅酸盐细菌 HM8841, 发现其在缺钾土壤中对各种农作物均表现出较好的增产效果; 南京农业大学微生物系分离筛选出一株硅酸盐细菌 NBT 菌株, 发现其可以改善作物钾素营养, 并使棉花产量比对照增加 9.05%^[15-16]; Badr 等^[17]分离筛选到 6 株硅酸盐细菌, 发现接种其中一株高效解钾菌株 SBS 后可显著提高高粱的干重。玉米对钾素的需求量较大, 但在玉米的传统种植中, 人们往往重视氮、磷肥而忽略钾肥的投入, 导致土壤钾素亏缺严重^[18]。东北是我国重要玉米种植区, 对于保障国家粮食安全具有重要地位, 此地区也普遍存在缺钾情况^[2], 严重限制了玉米的生产^[19-20]。然而目前针对此地区玉米解钾菌的筛选与应用效果的研究较为缺乏。

本研究针对东北地区土壤及气候特点, 从玉米根际土中分离筛选高效解钾菌, 分析它们的分类地位和对生态环境的适应性, 并通过 2 年田间接种试

验,重点研究其在缺钾土壤中对玉米的促生潜力。

1 材料与方 法

1.1 培养基、主要试剂和仪器

LB 培养基参照文献[21]配制;解钾(钾长石粉)培养基参照文献[22]配制;耐酸碱(pH 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0)、耐盐(NaCl 浓度:1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%)和耐干旱[聚乙二醇 PEG 6000 浓度:0%、10% (轻度干旱)、20% (中度干旱)、30% (重度干旱)]培养基参照文献[23]配制;耐农药(乙草胺、吡虫啉、啉菌酯)培养基参照文献[24]配制。

钾长石粉,北京酷来搏科技有限公司。微生物恒温培养箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;PCR 仪, Bio-Rad 公司;全温振荡培养箱,太仓市豪诚实验仪器制造有限公司。

1.2 玉米根际解钾菌的分离和筛选

从吉林省梨树县三棵树村玉米试验田中选择 10 株长势较好的植株,采集根际土,混匀。按照梯度稀释法分离纯化不同形态菌株^[21],而后将纯化的单菌株分别接种于解钾培养基,28 °C 恒温培养 3 d,根据菌落四周有无透明圈和可溶性指数大小筛选高效解钾菌(可溶性指数=水解圈直径 D /菌落直径 d)^[22]。

1.3 菌株的生态适应性测定

将筛选出的高效解钾菌分别接种至生态适应性检测培养基中,包括耐酸碱、耐盐、耐干旱和耐农药培养基,28 °C 恒温培养 3 d,观察菌株的生长状况。

1.4 菌株的 16S rRNA 基因序列测定和系统发育树构建

按照细菌基因组提取试剂盒(TIANamp Bacteria DNA Kit)说明书提取供试菌株的总基因组 DNA,采用 16S rRNA 基因通用引物对 27F/1492R 进行 PCR 扩增^[25],将 PCR 产物送擎科生物科技(上海)有限公司进行测序。得到的基因序列提交至 GenBank,并在 NCBI (National Center for Biotechnology Information)网站上进行 BLAST 序列比对分析,使用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树^[26]。

1.5 田间接种试验

1.5.1 试验设计

试验地设在吉林省四平市梨树县三棵树村(43°35'N, 124°11'E),土壤类型为黑土。土壤基本理化性质为:有机质 20.3 g/kg,全氮 1.25 g/kg,速效磷 78.5 mg/kg,速效钾 138 mg/kg, pH 5.6, EC 13.1 mS/m。试验于 2018 年和 2019 年进行,设置了常规施肥和缺钾 2 个区。缺钾区不施钾肥,氮、磷肥施用量分别为 240 kg-N/hm²、85 kg-P₂O₅/hm²;常规施肥区钾肥施用量为 67.5 kg-K₂O/hm²,氮、磷肥施用量与缺钾区一致。2018 年和 2019 年各小区的处理相同(定位实验)。氮、磷、钾肥料分别为尿素、过磷酸钙和氯化钾,均在玉米播种前一次性施入。试验处理具体为:缺钾区不接种处理为对照 CK1;常规施肥区不接种处理 CK2;缺钾区接种筛选分离到的高效解钾菌处理,每个处理 3 个重复。每小区区长 4 m、宽 4.2 m。供试玉米品种为郑单 958,种子未包衣,播种密度为 70 000 株/hm²。2018 年和 2019 年的玉米生育期降雨情况见图 1。

1.5.2 接种方法

将供试菌株接种于含色氨酸 80 mg/L 的 LB 液体培养基中,28 °C、180 r/min 振荡培养至菌悬液浓度为 1×10¹⁰–1×10¹¹ CFU/mL。将菌悬液均匀喷洒于种子表面,阴干后播种。

1.5.3 玉米生物学指标的测定

分别在玉米拔节期(出苗后 50 d)、吐丝期(出苗后 75 d)测定玉米的株高、地上生物量、绿叶面积和叶绿素含量。具体为:在每个小区内随机取生长状况一致的 4 棵植株,按照陈腊等方法测定玉米株高、地上生物量和叶绿素含量(Soil and Plant Analyzer Development, SPAD)^[24];按照于玲玲等方法测定叶面积指数(Leaf Area Index, LAI)^[27]。

1.5.4 玉米产量及产量构成测定

在成熟期,每个小区选择未取样的 2 行玉米收获全部玉米穗,计算 14%含水率的籽粒产量;记录总穗数,换算成单位面积穗数。同时测定穗粒数和百粒干重^[28]。

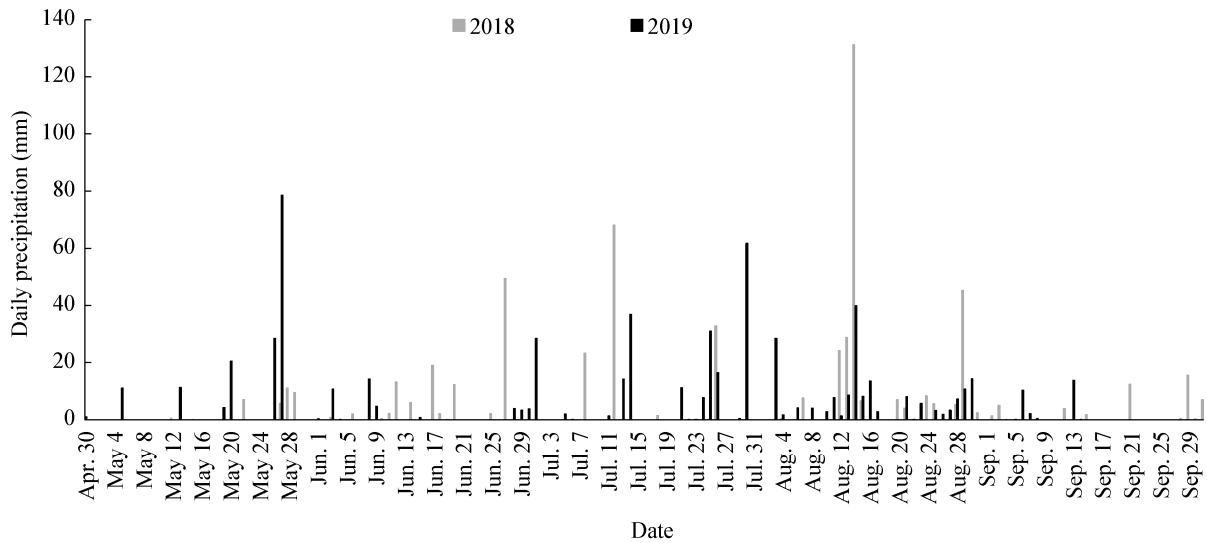


图 1 2018–2019 年间试验地玉米生育期内日降水量数据

Figure 1 Daily precipitation during maize growth period in the experimental field in 2018 and 2019

1.6 数据处理及分析

数据处理采用 Microsoft Excel 2019, 用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析(多重比较采用 Duncan 检验, $\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 菌株的解钾能力

从玉米根际中初步分离出 76 株形态不同的菌株, 通过逐一测定它们的解钾能力筛选出 3 株解钾能力较强的菌株, 如图 2 所示, 分别命名为 MZ4、

KM1 和 KM2。3 株菌在解钾培养基上培养 3 d 后的可溶性指数如表 1 所示, 其中菌株 KM2 的可溶性指数最大, 为 3.27; 其次为 KM1 和 MZ4, 可溶性指数分别为 2.93 和 2.31。

2.2 菌株的生态适应性

耐酸碱和耐干旱测定结果如表 2 所示, 3 株菌均可在 pH 5.0 和 pH 10.0 及 PEG 浓度为 30% 的培养基中正常生长, 表明供试菌株均有比较强的耐酸碱性以及耐重度干旱能力。此外, KM2 还可以在 pH 为 4.0 的培养基中生长, 显示了更强的耐酸能力。

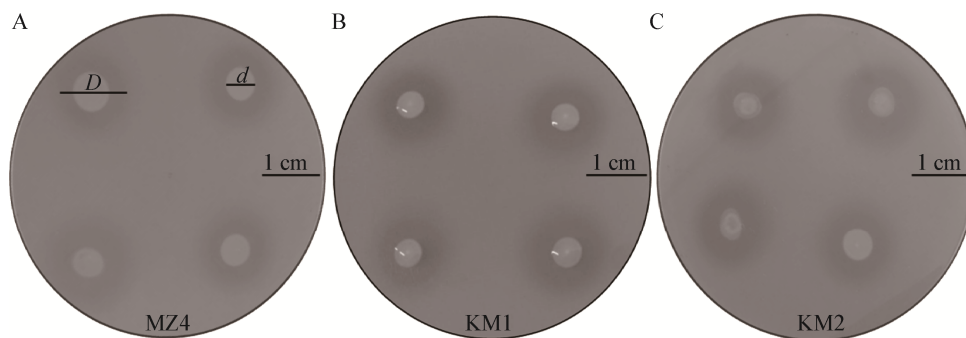


图 2 筛选出的解钾菌在解钾培养基上的生长表现

Figure 2 Growth of the selected potassium-solubilizing bacteria on potassium-solubilizing medium

注: A: 菌株 MZ4; B: 菌株 KM1; C: 菌株 KM2。D: 水解圈直径; d: 菌落直径

Note: A: Strain MZ4; B: Strain KM1; C: Strain KM2. D: Hydrolytic circle diameter; d: Colony diameter

表 1 培养 3 d 后菌株在解钾培养基上的可溶性指数

Table 1 Solubility index of the strains cultured on the potassium-solubilizing medium for three days

菌株编号 Strain No.	菌落直径 Colony diameter (<i>d</i> , cm)	水解圈直径 Hydrolytic circle diameter (<i>D</i> , cm)	可溶性指数 <i>D/d</i>
MZ4	0.54±0.01	1.25±0.03	2.31±0.04
KM1	0.27±0.02	0.79±0.02	2.93±0.15
KM2	0.33±0.02	1.08±0.03	3.27±0.13

注: 数据为平均数±标准误差($n=3$)

Note: Data were the means±standard error ($n=3$)

表 2 不同酸碱度及不同 PEG 浓度下 3 株菌的生长状况

Table 2 Growth status of the 3 strains on the mediums with different pH gradients and PEG concentrations

菌株编号 Strain No.	pH							PEG 浓度 PEG concentration (%)			
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	0	10	20	30
MZ4	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
KM1	-	+	++	+++	+++	++	+	+++	++	++	+
KM2	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+

注: +: 菌株能够生长, +越多表示菌株生长越旺盛; -: 菌株不能生长; 下同

Note: +: Strains can grow, more + meant growth better; -: Strains cannot grow; The same below

耐盐能力测定结果如表 3 所示, MZ4、KM1、KM2 最强可耐盐分别为 7%、4%、5% NaCl。3 株菌展示了不同程度的耐盐能力, 具体为 MZ4>KM2>KM1。

表 4 显示了供试菌株对 3 种常用农药的耐受能力, 3 株菌在含有除草剂乙草胺的培养基中均不能生长, 而 MZ4 在含有不同浓度的杀虫剂吡虫啉和杀菌剂啶菌酯培养基中均可以生长; KM1 和 KM2 分别在推荐使用量的最小稀释倍数的吡虫啉(稀

释 4 000 倍)和啶菌酯(稀释 800 倍)的培养基上不能生长外, 在其他稀释倍数下均可正常生长。说明 3 株菌均不耐受乙草胺, 而对吡虫啉和啶菌酯都有一定的耐受性, MZ4 菌株的耐药性最强。

2.3 菌种鉴定

将测序获得的供试菌株的 16S rRNA 基因序列进行 BLAST 比对, 根据比对结果, 下载同源性最近的菌株(98%–100%)和 2 株外源菌株的序列, 和测试菌株一起采用邻接法构建系统发育树, 如图 3 所

表 3 不同 NaCl 浓度下 3 株菌的生长状况

Table 3 Growth status of the 3 strains on the mediums with different NaCl concentrations

菌株编号 Strain No.	氯化钠浓度 NaCl concentration (%)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
MZ4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
KM1	+++	+++	++	++	+	-	-	-
KM2	+++	+++	++	++	+	+	-	-

表 4 3 株菌在 3 种农药不同稀释倍数下的生长状况

Table 4 Growth status of the 3 strains on the mediums containing either herbicide, pesticide or fungicide

菌株编号 Strain No.	乙草胺 Acetochlor				吡虫啉 Imidacloprid				啶菌酯 Azoxystrobin			
	200	400	550	750	4 000	6 500	9 500	12 000	800	1 000	1 200	1 500
MZ4	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
KM1	-	-	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++
KM2	-	-	-	-	+	+	++	++	-	+	++	++

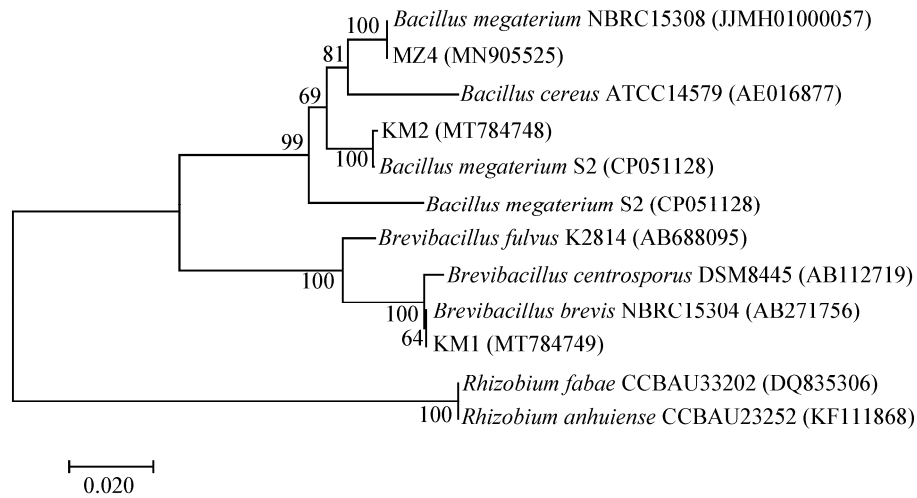


图3 待测菌株和参比菌株基于16S rRNA基因序列的系统发育树

Figure 3 The neighbor-joining phylogenetic tree based on the 16S rRNA gene sequences of the tested strains and their closely related reference strains

注: 括号中序号为 GenBank 的登录号; 基于 1 000 次重复的 $\geq 50\%$ 的 Bootstrap 值标记于分支点处; 标尺 0.020 表示 2%的核苷酸差异
 Note: GenBank accession numbers are indicated in parentheses; Bootstrap values $\geq 50\%$ are indicated on branches; The scale bar indicates 2% nucleotide substitution

示。MZ4 和 KM2 分别与 *Bacillus megaterium* NBRC 15308 和 *Bacillus megaterium* S2 的序列相似性最高, 分别为 100%和 99.9%, 属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*); KM1 与 *Brevibacillus brevis* NBRC15304 序列相似性为 99.8%, 属于短小芽孢杆菌属 (*Brevibacillus*)。

2.4 接种解钾菌对玉米生长的影响

2018年的玉米生长情况如表5所示。在拔节期, 与不接种 CK1 处理相比, 缺钾区玉米接种 MZ4 和 KM2 后其株高、地上生物量和叶面积指数显著提高 ($P<0.05$), 而且与常规施肥区不接种处理 CK2 无显著差异 ($P>0.05$)。此外, 接种 KM2 还显著提高了玉米的叶绿素含量 ($P<0.05$) 并与 CK2 水平一致。总体而言, 与 CK1 相比, 接种 3 株菌后拔节期株高、地上生物量、叶面积指数和叶绿素含量分别提高了 1.84%–3.07%、8.36%–18.81%、2.32%–15.83% 和 0%–2.61%。在吐丝期, 这几个指标分别提高 0.86%–1.72%、2.86%–8.00%、1.27%–3.99% 和 0.97%–2.72%。其中 KM2 接种处理促生效果最好, 对玉米各项生长指标提高的幅度最大, MZ4 次之。常规施肥区不接种处理 CK2 的玉米生长均显著高

于缺钾区不接种 CK1 ($P<0.05$), 说明缺钾显著抑制了玉米的正常生长。

2019年拔节期玉米田间生长状况如图4所示, 与缺钾区不接种对照 CK1 相比, 常规施肥区不接种 CK2 处理的玉米最为高壮, 其次为缺钾区接种 MZ4 和 KM2 处理, 接种 KM1 的促生作用较弱。具体生长测定指标如表6所示。与不接种对照 CK1 相比, 接种 3 株菌对玉米生长均有积极的促生效果, 尤其接种 MZ4 和 KM2 显著提高了拔节期玉米株高、拔节期和吐丝期的地上生物量。此外, 接种 KM2 还可显著提高吐丝期玉米叶绿素含量 ($P<0.05$), 以上性状均与常规施肥区不接种处理 CK2 无显著差异 ($P>0.05$)。接种 KM1 显著提高了吐丝期玉米地上生物量 ($P<0.05$)。总体而言, 与 CK1 相比, 接种 3 株菌后拔节期株高、地上生物量、叶面积指数和叶绿素分别提高了 6.24%–7.83%、10.82%–21.27%、8.16%–11.56% 和 0.58%–4.25%; 吐丝期以上指标分别提高了 1.54%–2.32%、8.79%–16.06%、1.62%–4.14% 和 1.15%–4.01%。接种 KM2 对玉米生长的促生效果最好, 接种 MZ4 次之, 这一结果与 2018 年的结果一致, 表明接种菌株的效果比较稳定。

表 5 2018 年接种解钾菌对玉米拔节期和吐丝期玉米生长的影响

Table 5 Effects of the inoculation with the potassium-solubilizing bacteria on plant growth traits at the jointing and flowering stage in 2018

处理 Treatment	拔节期 Jointing stage				吐丝期 Flowering stage			
	株高 Plant height (cm)	地上生物量 Shoot biomass (g)	叶面积指数 LAI	叶绿素 SPAD	株高 Plant height (cm)	地上生物量 Shoot biomass (g)	叶面积指数 LAI	叶绿素 SPAD
MZ4	167±1ab	38.6±1.6ab	2.93±0.09a	51.1±0.3ab	235±1ab	113.0±3.3ab	5.63±0.09ab	52.2±0.6b
KM1	166±1bc	36.3±1.6bc	2.65±0.08b	49.9±0.5b	234±2ab	108.0±4.3b	5.58±0.11ab	52.0±0.4b
KM2	168±1ab	39.8±1.3ab	3.00±0.11a	51.2±0.4a	236±1ab	113.4±2.4ab	5.73±0.09ab	52.9±0.6ab
CK1	163±1c	33.5±1.2c	2.59±0.12b	49.9±0.3b	232±1b	105.0±3.8b	5.51±0.10b	51.5±0.4b
CK2	170±1a	42.8±1.8a	3.10±0.06a	51.9±0.5a	237±1a	120.8±2.8a	5.85±0.06a	54.3±0.7a

注：不同字母表示不同处理间数值差异显著($P<0.05$)；加粗字体表示显著高于未接种对照 CK1 ($P<0.05$)；下同

Note: Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level between treatments; Bold fonts represent significantly higher than the non-inoculation control CK1 ($P<0.05$); The same below

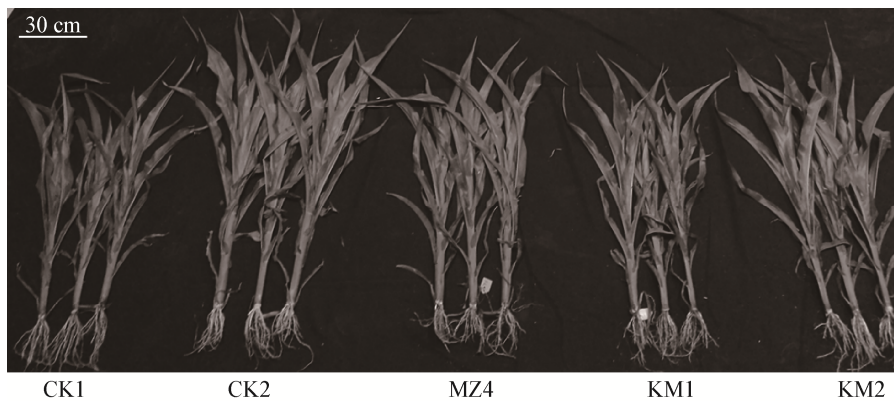


图 4 2019 年接种处理对拔节期玉米生长状况的影响

Figure 4 Effect of different bacteria on maize growth at the jointing stage in 2019

表 6 2019 年接种解钾菌对玉米拔节期和吐丝期玉米生长的影响

Table 6 Effects of bacteria inoculation on plant growth traits at the jointing and flowering stage in 2019

处理 Treatment	拔节期 Jointing stage				吐丝期 Flowering stage			
	株高 Plant height (cm)	地上生物量 Shoot biomass (g)	叶面积指数 LAI	叶绿素 SPAD	株高 Plant height (cm)	地上生物量 Shoot biomass (g)	叶面积指数 LAI	叶绿素 SPAD
MZ4	116±2a	31.3±1.9a	1.63±0.09a	52.2±0.6a	264±4a	110.9±4.2ab	5.73±0.10ab	53.5±0.5bc
KM1	114±3a	29.7±1.8ab	1.59±0.05a	52.1±0.7a	263±2a	107.7±3.8b	5.65±0.11ab	53.0±0.3bc
KM2	116±2a	32.5±0.8a	1.64±0.06a	54.0±0.6a	265±2a	114.9±3.0ab	5.79±0.08ab	54.5±0.7ab
CK1	107±3b	26.8±1.5b	1.47±0.08a	51.8±0.8a	259±3a	99.0±3.1c	5.56±0.06b	52.4±0.5c
CK2	118±2a	33.6±1.6a	1.65±0.05a	53.0±0.9a	266±2a	117.1±3.4a	5.88±0.08a	55.6±0.5a

2.5 接种解钾菌对玉米产量和产量构成的影响

玉米产量及产量构成的测定结果如表 7 所示。与不接种 CK1 相比，接种 MZ4 和 KM2 在 2018 年和 2019 年均显著提高了玉米籽粒产量($P<0.05$)，而且与常规施肥区 CK2 的产量无差异($P>0.05$)，接种

MZ4 和 KM2 在 2018 年产量提高幅度均为 9.65%，2019 年分别为 10.62% 和 11.50%。接种 KM1 对产量也有一定提高，在 2018 年和 2019 年产量分别增加了 6.14% 和 3.54%。

产量构成因素中，2018 年和 2019 年的穗数和

表 7 接种解钾菌对玉米产量和产量构成的影响

Table 7 Effects of bacteria inoculation on grain yield and yield components

年份 Year	处理 Treatment	穗数 Ear numbers ($\times 10^4/\text{hm}^2$)	穗粒数 Grain numbers per ear	百粒干重 Hundred-grain weight (g)	籽粒产量 Grain yield ($\times 10^3 \text{ kg}/\text{hm}^2$)
2018	MZ4	6.83±0.08a	518±16a	32.3±0.4ab	12.5±0.2a
	KM1	6.67±0.22a	510±15a	32.3±0.3ab	12.1±0.4ab
	KM2	6.92±0.08a	526±17a	32.6±0.4a	12.5±0.4a
	CK1	6.50±0.14a	507±19a	30.8±0.5b	11.4±0.6b
	CK2	6.83±0.08a	536±13a	32.8±0.6a	12.8±0.2a
2019	MZ4	636±0.16A	517±21A	33.3±0.5AB	12.5±0.1A
	KM1	654±0.12A	511±22A	32.9±0.6BC	11.7±0B
	KM2	630±0.11A	521±17A	34.4±0.3AB	12.6±0.2A
	CK1	642±0.16A	505±21A	30.9±1.3C	11.3±0B
	CK2	648±0.19A	523±2A	35.3±0.2A	12.9±0.2A

注: 不同小写和大写字母分别表示在 2018 年和 2019 年不同处理间数值差异显著($P<0.05$); 加粗字体表示显著高于未接种对照 CK1 ($P<0.05$)

Note: Different lowercase and uppercase letters in the same column meant significant difference at 0.05 level between treatments in the year 2018 and 2019, respectively; Bold fonts represent significantly higher than the non-inoculation control CK1 ($P<0.05$)

穗粒数在 5 个处理间均无显著差异($P>0.05$), 但与 CK1 处理相比, 接种菌株处理在 2 年间对穗粒数均有积极的促生效果, 在 2018 年和 2019 年分别增加了 0.59%–3.75%和 1.19%–3.17%。对于百粒干重, 与 CK1 相比, 2018 年接种 KM2、2019 年接种 MZ4 和 KM2 均对百粒干重有显著促生效果($P>0.05$)。在 2018 年和 2019 年接种 3 株菌后百粒干重分别提高了 4.87%–5.84%和 6.47%–11.33%。与常规施肥 CK2 相比, 2 年间不施钾肥 CK1 均造成了玉米的显著减产以及百粒干重的显著下降($P<0.05$), 其中, 在 2018 年和 2019 年产量分别减少 10.94%和 12.40%, 百粒干重分别降低 6.10%和 12.46%。

3 讨论与结论

近年来, 农民偏重施氮磷肥, 轻视钾肥的作用, 缺钾日益成为作物增产的限制因子^[18-20]。越来越多的研究表明, 土壤中的解钾促生菌可以活化土壤中难溶的钾, 提高土壤钾的有效性, 进而促进植物生长, 达到提高作物产量和品质的目的^[29], 这为解决农田缺钾提供了有效措施, 并有利于环境友好型农业可持续发展^[12]。我国针对玉米解钾菌有一定的研究, 如崔文艳等发现在盆栽条件下接种具有解钾功

能的解淀粉芽孢杆菌 B9601-Y2, 可提高土壤中的有效钾含量 17.24%, 提高玉米植株钾含量 68.45%, 同时能促进玉米的生长^[30]; 梁盛年发现在广东省肇庆市沙壤土中减施一半钾肥(112 kg-KCl/hm²)条件下接种解钾菌剂玉米产量明显提高, 提高幅度为 17%, 株高和干重均高于不减施钾肥(224 kg-KCl/hm²)的处理^[10]; 施振云发现在上海市崇明县夹沙黄泥土中(速效钾含量低的中低产田)施用解钾菌剂能够显著改善玉米的生物学性状, 提高玉米抗病能力并能够显著增产, 增产率可达 8.4%^[31]。这些研究说明应用高效的解钾菌可以改善缺钾对玉米生长和产量的影响。

生物菌肥效果的发挥普遍受非生物因素的影响, 如受气候、土壤类型、盐碱和农药等诸多因素制约^[31-33], 因此, 筛选具有广泛生态适应性的高效菌株是其在田间发挥效果的前提条件。本研究通过生态适应性研究发现, 3 株菌对干旱、碱性条件均有很强的耐性, 而且均对农业中常用农药吡虫啉和啉菌酯不敏感, 对盐和酸性条件也有一定的耐性, 综合评价可知 MZ4 和 KM2 的适应性更强, 广泛的生态适应性为其在田间应用中功能的发挥提供了保障。2018 年和 2019 年的田间试验结果表

明, 不施钾肥造成的土壤缺钾确实造成了玉米产量的损失(平均减产 11.67%), 而接种适应性强的高效解钾菌均对拔节期和吐丝期各项玉米指标以及成熟期产量有积极的促生效果, 尤其是接种 MZ4 和 KM2 后均显著促进了玉米生长和玉米籽粒产量增加, 增产幅度 9.65%–11.50%, 而且与常规施肥不接种处理无显著差异, 这可能与这 2 株菌具有更强的适应性有关。KM1 的解钾能力介于菌株 MZ4 和 KM2 之间, 但其适应性最弱, 可能影响了其促生效果的发挥。本研究为提高东北黑土区矿质钾的利用率提供了宝贵的菌种资源。此外, 我们的研究还发现 MZ4 具有产 IAA 和产铁载体功能, 并且在减施 50%氮肥的条件下对玉米生长也有很好的促生效果, 产量比不接种的对照提高了 15.07%^[24], 说明 MZ4 具有广泛的促生功能, 值得深入研究和开发利用。

解钾菌促进玉米生长和提高产量的机理尚需要深入研究。本研究通过分析玉米产量构成因素, 发现 2018 年和 2019 年的试验中接种解钾菌促进玉米产量的提高, 均是通过增加百粒干重和穗粒数进而增加籽粒产量, 这与王明友等^[34]研究一致。此外, 2019 年的接种效果要优于 2018 年, 这可能是基于菌剂的累积效应, 经过 2018 年的接种, 菌株已在土壤中定殖, 也可能由于 2019 年在玉米苗期的降雨量大于 2018 年, 这为解钾菌的生长繁殖创造了有利条件。此外, 接种后对土壤微生态的影响、对土壤有效钾含量的影响以及对玉米植株和籽粒中钾含量的影响等还需要进行深入研究, 这将有利于深入了解解钾菌的促生机制。

总之, 本研究从东北黑土区筛选出 3 株适应性较强的玉米根际高效解钾菌, 在不施钾肥的条件下, 对玉米生长及产量均表现出积极的促生效果, 尤其是 MZ4 和 KM2, 这 2 株菌能够在一定程度上缓解缺钾对玉米生长的限制, 具有发展为微生物钾肥的潜力。

REFERENCES

- [1] Wang Y, Wu WH. Regulation of potassium transport and signaling in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2017, 39: 123-128
- [2] Du Q, Zhao XH, Wang HJ, Li YJ, Wang XG, Yu HQ. Effects of soil potassium deficiency on accumulation and distribution of dry matter and nutrients in maize[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2017, 48(3): 257-264 (in Chinese)
杜琪, 赵新华, 王华杰, 李艳杰, 王晓光, 于海秋. 低钾胁迫对玉米干物质和养分积累与分配的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2017, 48(3): 257-264
- [3] Hafsi C, Debez A, Abdely C. Potassium deficiency in plants: effects and signaling cascades[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014, 36(5): 1055-1070
- [4] Wang XF, Zhang K, Wang LC, Zhang GG, Xie JG. Manage and control potash fertilizer scientifically and realize the high and stable yield for maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2004, 12(3): 92-95,99 (in Chinese)
王秀芳, 张宽, 王立春, 张国刚, 谢佳贵. 科学管理与调控钾肥, 实现玉米高产稳产[J]. *玉米科学*, 2004, 12(3): 92-95,99
- [5] Wang XL, Yu HQ, Liu N, Yi B, Cao MJ. Physiological characteristics of delaying leaf senescence in maize inbred lines tolerant to potassium deficiency[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(9): 1672-1679 (in Chinese)
王晓磊, 于海秋, 刘宁, 依兵, 曹敏建. 耐低钾玉米自交系延缓叶片衰老的生理特性[J]. *作物学报*, 2012, 38(9): 1672-1679
- [6] Sun HR, Liu JY, Zhao YQ, Zeng H, Yuan DS. Study on the abundance-deficiency index of soil available K and appropriate potassium application rates for corn in China[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2017(5): 29-37 (in Chinese)
孙洪仁, 刘江扬, 赵雅晴, 曾红, 原大山. 中国玉米土壤速效钾丰缺指标与适宜施钾量研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2017(5): 29-37
- [7] Sun AW, Zhang WF, Du F, Gao LW, Zhang FS, Chen XP. China's development strategy on potash resources and fertilizer[J]. *Modern Chemical Industry*, 2009, 29(9): 10-14,16 (in Chinese)
孙爱文, 张卫峰, 杜芬, 高利伟, 张福锁, 陈新平. 中国钾资源及钾肥发展战略[J]. *现代化工*, 2009, 29(9): 10-14,16
- [8] Jiang XJ, Huang ZX, Peng SD, Yang XM. Research status and prospect on silicate bacteria[J]. *World Agriculture*, 1998(5): 28-31 (in Chinese)
蒋先军, 黄昭贤, 彭盛德, 杨雪梅. 硅酸盐细菌的研究现

- 状及展望[J]. 世界农业, 1998(5): 28-31
- [9] Ren LL, Li YX, Chen Y. Research progress on silicate bacteria potassium releasing[J]. Experiment Science and Technology, 2015, 13(2): 209-211 (in Chinese)
任丽丽, 李玉玺, 陈阳. 硅酸盐细菌解钾作用研究进展[J]. 实验科学与技术, 2015, 13(2): 209-211
- [10] Liang SN. Application study of silicate bacteria preparation in maize production[J]. Journal of Maize Sciences, 2006, 14(2): 75-77 (in Chinese)
梁盛年. 硅酸盐菌剂在玉米生产上的应用[J]. 玉米科学, 2006, 14(2): 75-77
- [11] Kloepper JW, Schroth MN. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes[A]//Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria[C]. Tours: Gilbert-Clarey, 1978, 2: 879-882
- [12] Zhang CS, Kong FY. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 82: 18-25
- [13] Wu JL, Zhang ZY, Li X, Li WH, Bi LL, Feng GS, Wang HB, Zhou Q, Hao HH, Liu JF, et al. Screening and identification of an efficient potassium-solubilizing bacteria and its effect on the uptake of potassium and phosphorus in tobacco[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(5): 276-280 (in Chinese)
吴俊林, 张正杨, 李翔, 栗卫华, 毕乐乐, 冯国胜, 王红保, 周权, 郝浩浩, 刘建丰, 等. 一株高效解钾菌的筛选鉴定及其对烟草吸收钾磷的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(5): 276-280
- [14] Li FT, Hao ZR, Yang ZY, Zhang CL. Studies on ability of silicate bacteria HM8841 strain dissolving potassium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1997, 37(1): 79-81 (in Chinese)
李凤汀, 郝正然, 杨则媛, 张春莉. 硅酸盐细菌 HM8841 菌株解钾作用的研究[J]. 微生物学报, 1997, 37(1): 79-81
- [15] Yin YX, Li DM. Study on the characteristics and function of a potassium bacterium[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1995, 18(S1): 62-67 (in Chinese)
殷永娟, 李冬梅. 一株钾细菌性状与功能的研究[J]. 南京农业大学学报, 1995, 18(S1): 62-67
- [16] Sheng XF, Huang WY, Yin YX. Effects of application of silicate bacterium fertilizer and its potassium release[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2000, 23(1): 43-46 (in Chinese)
盛下放, 黄为一, 殷永娟. 硅酸盐菌剂的应用效果及其解钾作用的初步研究[J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(1): 43-46
- [17] Badr MA, Shafei AM, El-Deen SHS. The dissolution of K and P-bearing minerals by silicate dissolving bacteria and their effect on sorghum growth[J]. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2006, 2(1): 5-11
- [18] Xia L. Physiological function of potassium and cause analysis of potassium deficiency in soil[J]. Modern Agriculture, 2016(2): 42-43 (in Chinese)
夏乐. 钾素生理作用及土壤缺钾原因分析[J]. 现代农业, 2016(2): 42-43
- [19] Liu HL, Chen YH, Duan YL, Xu H. The advance of soil potassium[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2002, 25(S1): 66-68 (in Chinese)
刘会玲, 陈亚恒, 段毅力, 许峰. 土壤钾素研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(S1): 66-68
- [20] Fang CX, Mu GL, Tang HP, Wang Y. Effect of different potassium fertilizer on maize yield and growth characters[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012(5): 72,75 (in Chinese)
房春兴, 穆桂兰, 唐怀坡, 王寅. 不同钾肥对玉米产量及生育性状的影响[J]. 现代农业科技, 2012(5): 72,75
- [21] Wan BB, Liu Y, Wu Y, Zhang DY, Wang GW, Jiang Y. Screening and identification of maize growth-promoting rhizobacteria and its promoting effects on maize[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(8): 169-176 (in Chinese)
万兵兵, 刘晔, 吴越, 张东艳, 王国文, 姜瑛. 一株玉米根际多功能促生菌的筛选鉴定及效应研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(8): 169-176
- [22] Liu XL, Liu YZ, Guo T, Lv L, Xu QQ, Yin CH, Li HM, Yan H. Isolation, identification and high-efficiency cultivation of potassium-releasing bacteria[J]. Journal of University of Science and Technology Beijing, 2013, 35(4): 551-557 (in Chinese)
刘晓璐, 刘永智, 郭涛, 吕乐, 许倩倩, 尹春华, 李慧梅, 闫海. 解钾细菌的筛选、鉴定以及高效培养[J]. 北京科技大学学报, 2013, 35(4): 551-557
- [23] Wang JS, Wang J, Wu JJ, Liu QL, Zhang X, Wang HL. Screening the resistance resources of *Rhizobium japonicum* based on GGE-biplot[J]. Soybean Science, 2017, 36(6): 894-899 (in Chinese)
王金生, 王君, 吴俊江, 刘庆莉, 张鑫, 王红蕾. 基于 GGE-biplot 的大豆根瘤菌抗逆性资源筛选[J]. 大豆科学, 2017, 36(6): 894-899
- [24] Chen L, Mi GH, Li KK, Shao H, Hu D, Yang JP, Sui XH, Chen WX. Effects of multifunctional plant rhizosphere promoting bacteria on maize growth in black soil areas in Northeast China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(8): 2759-2766 (in Chinese)
陈腊, 米国华, 李可可, 邵慧, 胡栋, 杨俊鹏, 隋新华, 陈文新. 多功能植物根际促生菌对东北黑土区玉米的促生效应[J]. 应用生态学报, 2020, 31(8): 2759-2766
- [25] Lane DJ. Nucleic acid techniques in bacterial

- systematics[A]//Stackebrandt E and Goodfellow M eds. 16S/23S rRNA Sequencing[M]. Chichester: John Wiley and Sons, 1991: 115-175
- [26] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874
- [27] Yu LL, Guo Q, Zhao GY. The effects of conservation tillage on maize yield and water use efficiency in North China[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2017, 38(3): 19-23 (in Chinese)
于玲玲, 郭强, 赵贵元. 保护性耕作对华北地区玉米产量及水分利用效率的影响[J]. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版*, 2017, 38(3): 19-23
- [28] Chen YL. Mechanisms for the coordination of high yield and high nitrogen remobilization efficiency in maize[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2015 (in Chinese)
陈延玲. 协调玉米高产与氮高效转运的机制[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015
- [29] Diep CN. Phosphate and potassium solubilizing bacteria from weathered materials of denatured rock mountain, Ha Tien, Kien Giang province, Vietnam[J]. *American Journal of Life Sciences*, 2013, 1(3): 88
- [30] Cui WY, He PJ, Yang LJ, He PF, He PB, Wu YX, Li XY, He YQ. Phosphorus-and potassium-dissolving and nitrogen-fixing capabilities and growth-promotion effect of B9601-Y2 on maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2019, 27(3): 155-160,168 (in Chinese)
崔文艳, 何朋杰, 杨丽娟, 何鹏飞, 何鹏搏, 吴毅歆, 李兴玉, 何月秋. B9601-Y2 溶磷解钾固氮能力及促玉米生长效果研究[J]. *玉米科学*, 2019, 27(3): 155-160,168
- [31] Shi ZY. The effect of silicate bacteria on increasing maize yield[J]. *Soils and Fertilizers*, 1997(3): 38-40 (in Chinese)
施振云. 硅酸盐菌剂对提高玉米产量的效应[J]. *土壤肥料*, 1997(3): 38-40
- [32] Yu Y. Relationships between soil microbial diversity and soil physicochemical properties along the primary succession of Yellow River Delta[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2012 (in Chinese)
余悦. 黄河三角洲原生演替中土壤微生物多样性及其与土壤理化性质关系[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2012
- [33] Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moëgne-Loccoz Y, Muller D, Legendre L, Wisniewski-Dyé F, Prigent-Combaret C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 356
- [34] Wang MY, Li GZ, Chen HM. Effect of application of microbiological inoculum on increase yield of wheat and corn[J]. *Soils and Fertilizers*, 2001(3): 44-47 (in Chinese)
王明友, 李光忠, 陈洪美. 小麦、玉米施用微生物接种剂增产效应初报[J]. *土壤肥料*, 2001(3): 44-47