

文章编号:1001-1498(2004)03-0340-06

# 三种细菌制剂及其复合肥对 草坪草抗寒性效应研究

梁军, 丁明明, 贾秀贞, 吕全, 张星耀

(中国林业科学研究院森林生态与环境保护研究所, 北京 100091)

**摘要:**研究了3种细菌制剂、复合肥及其细菌制剂与复合肥的复合物对草坪草草地早熟禾生长及其抗寒性指标的效果。结果表明:3种细菌制剂及其复合制剂能大大提高草坪草的抗寒性,施用复合肥、菌剂或二者共同使用对草坪草抗寒性各指标都有不同程度的正向效果。单施菌剂的效果要优于单施复合肥的效果,而且菌种F、H在提高草坪草抗寒性的效果方面明显优于菌种E。复合肥与菌剂混合施用比单施菌剂或单施复合肥表现出了更好的综合抗寒效果。菌剂与复合肥在增强草坪草抗寒性方面对不同的指标表现出互补效应和不可替代效应同时存在。双因子的复合施用存在着一定的不完全叠加效果。具体的表现主要是:单独使用菌剂处理的草坪草电解质透出率与复合肥处理差异不明显;单独使用菌剂处理的草坪草可溶性糖含量、主根长优于复合肥处理;菌剂F、H处理的草坪草过氧化物酶活性、叶绿素含量、侧根数高于复合肥处理,但比菌剂与复合肥混合使用处理效果差。

**关键词:**细菌制剂;复合肥;抗寒性;草坪草;草地早熟禾

中图分类号:S688.4

文献标识码:A

低温影响植物的生长代谢,引起植物相关生理指标的变化。相关研究表明,抗寒性强的植物在低温逆境下,其保护酶仍能维持较高的活性水平,因而防止了因冷害产生的有毒物质如活性氧自由基的积累,减轻了由膜脂过氧化所引起的膜伤害,从而增加机体的抗寒能力<sup>[1,2]</sup>。在植物的抗寒性研究中,有报道<sup>[3~5]</sup>指出在低温下,植物电导率、可溶性糖、叶绿素含量均发生变化,并与植物的抗寒性密切相关。

随着人们对环境问题的日益重视,草坪植物已经被广泛应用于城市建设,与人们的生活密不可分。因此,草坪肥料随之具有广阔的市场前景。目前我国草坪肥料以化学肥料居多,生物肥料以进口为主,对于生物肥料应用于草坪植物的研究报道较少<sup>[5]</sup>。不仅如此,草坪草在北方建植逐渐扩大的同时,提升草坪草抗寒性是研究者和生产者普遍关心的问题。本研究将3种细菌制剂应用于草坪草,评价其对草坪草生长、抗寒性的影响,测定多项生理生化指标,试图分析3种细菌制剂提高草坪草抗寒性的机理,并为大规模应用奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

菌剂:采用实验室分离的菌株E、F、H经发酵后,以草炭等为吸附剂制成固体菌剂。

收稿日期:2003-12-15

基金项目:国家自然科学基金项目(30271084)

作者简介:梁军(1963—),男,宁夏中卫人,副研究员,博士。

草种:草地早熟禾(*Poa pratensis* L.)购于北京恒博草业技术开发中心。

复合肥:中国农科院土肥所生产, $N+P_2O_5+K_2O > 100 \text{ mg g}^{-1}$ ,活性有机质  $> 400 \text{ mg g}^{-1}$ 。

## 1.2 试验方法及设计

将苗圃地事先用  $1 \text{ mg g}^{-1}$  福尔马林浇灌,尔后用塑料膜捂盖 7 d 后,敞开塑料膜,待福尔马林完全挥发后使用。于 2001 年 10 月 10 日在北京中国林科院苗圃,建立小区,每小区面积  $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ ,每小区播种 20 g,12 月中旬取样测定。

各处理分别为处理 1:未施肥对照;处理 2:施复合肥( $30 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 3:施灭菌基质( $300 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 4:施菌剂 E( $300 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 5:施菌剂 F( $300 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 6:施菌剂 H( $300 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 7:施菌剂 E( $150 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ ) + 复合肥( $15 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 8:施菌剂 F( $150 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ ) + 复合肥( $15 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ );处理 9:施菌剂 H( $150 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ ) + 复合肥( $15 \text{ g} \cdot \text{小区}^{-1}$ ),共 9 个处理,每处理 3 次重复。

草坪草叶的抗寒性决定了冷季型草坪草绿色期的长短,本文借鉴了在农作物和牧草资源鉴定上广泛采用的生理生化指标<sup>[6,7]</sup>,分别测定草坪草电解质透出率、可溶性糖含量、过氧化物酶含量、叶绿素含量等,来比较不同处理对草坪草抗寒性的影响。同时测定株高、主根长、侧根数指标。结果用 SPSS10.0 软件<sup>[8]</sup>进行方差分析,并用 Duncan 法进行多重比较。

## 1.3 测定方法

### 1.3.1 生理生化指标

1.3.1.1 电解质透出率测定 上午 9 点随机取样,用剪刀剪取草坪草叶。准确称取草叶  $0.1 \text{ g}$  置于干燥洁净硬质三角瓶,再加入  $10 \text{ mL}$  重蒸水浸没,用真空泵抽放气 3 次,抽气时间每次  $3 \text{ min}$ 。抽气后放在摇床上振荡  $2 \text{ h}$ ,摇床温度  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 。静置后用 DDS-11A 型电导仪(上海雷磁有限公司)测第 1 次电导率(A),读数后置沸水浴  $10 \text{ min}$ ,测第 2 次电导率(B)。电解质透出率 =  $A/B$ 。

1.3.1.2 可溶性糖含量测定 称取  $1 \text{ g}$  左右新鲜草叶,于研钵研磨,并加入少许乙醚,研至均匀的浆状物,倒入烧杯,用  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  热水洗涤研钵,洗液并入烧杯,再加  $30 \text{ mL}$  蒸馏水,  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴加热  $30 \text{ min}$ 。冷却后逐滴加入饱和醋酸铅溶液至不形成白色沉淀为止。将混合物连同残渣一并洗入  $100 \text{ mL}$  容量瓶,摇荡。用漏斗过滤到三角瓶中,瓶中放  $0.4 \text{ g}$  草酸钠粉末,以除去过量的醋酸铅,再过滤,滤液即为可溶性糖提取液。吸取  $1 \text{ mL}$  提取液放入试管,加入  $5 \text{ mL}$  蒽酮溶液,沸水浴煮  $10 \text{ min}$ ,冷却后  $620 \text{ nm}$  比色。

1.3.1.3 过氧化物酶活性测定 称取  $1 \text{ g}$  草叶,放入研钵,加入  $5 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  tris-HCl 缓冲液(pH 值 8.5),研成匀浆,  $4000 \text{ r min}^{-1}$  离心  $15 \text{ min}$ ,倾出上清液,贮于  $0 \sim 5 \text{ }^\circ\text{C}$  备用。取酶液  $1 \text{ mL}$  加入  $3 \text{ mL}$  反应混合液( $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  磷酸缓冲液(pH 值 6.0)  $50 \text{ mL}$ ,过氧化氢  $0.028 \text{ mL}$ ,愈创木酚  $0.019 \text{ mL}$ ),立即开启秒表计时,并将其置于比色杯。另一只比色杯加入  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  磷酸缓冲液,校对调零,于  $470 \text{ nm}$  下测量反应  $5 \text{ min}$  的光密度。以每分钟光密度变化值表示酶活性大小,即以  $D_{470} \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  表示。

1.3.1.4 叶绿素含量测定 称取  $1 \text{ g}$  草叶,剪碎后置于研钵,加蒸馏水  $5 \text{ mL}$ ,碳酸钙少许,研磨至匀浆,用蒸馏水定容到  $10 \text{ mL}$ ,然后吸取  $2.5 \text{ mL}$ ,置于大试管,加入丙酮  $10 \text{ mL}$ ,静置过滤。取比色杯注入上述叶绿素丙酮溶液,另以  $0.8 \text{ g g}^{-1}$  丙酮作空白对照,于  $663 \text{ nm}$  和  $645 \text{ nm}$  波长下读取光密度。叶绿素 A 含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  鲜质量) =  $C_A \times (12.5/1000) \times (10/2.5) \times (1/0.5) =$

0.1  $C_A$ ; 叶绿素 B 含量 ( $\text{mg g}^{-1}$  鲜质量) = 0.1  $C_B$ ; 叶绿素总含量 ( $\text{mg g}^{-1}$  鲜质量) = 0.1  $C_T$ 。  $C_A = 12.7 D_{663} - 2.69 D_{645}$ ;  $C_B = 22.9 D_{645} - 4.68 D_{663}$ ;  $C_T = C_A + C_B = 20.2 D_{663} + 8.02 D_{645}$ 。

1.3.2 生长指标 不同处理随机取 10 株草坪草, 测量株高、主根长和侧根数等指标。

## 2 结果与分析

### 2.1 三种细菌制剂对草坪草电解质透出率的影响

电解质透出率是反应植物细胞在受到不良环境胁迫下细胞膜破坏程度的生理指标。电导率大小与组织受寒害的程度呈正相关。如表 1 所示, 在室外 12 月中旬的低温条件下, 菌株 E、F、H 与复合肥混合使用的电解质透出率低于其它处理, 其中以菌株 H 与复合肥混合使用 (处理 9) 电解质透出率最低, 仅为 0.06%, 说明该处理草坪草细胞膜损伤程度较轻, 抗寒性较强; 菌株 F 与复合肥混合使用效果其次, 经方差分析可以看出, 未施肥对照 (处理 1) 与灭菌基质处理 (处理 3) 后草坪草电解质透出率分别为 0.44% 和 0.43%, 二者差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 说明灭菌基质对草坪草抗寒性影响不大; 未施肥对照与灭菌基质处理后与菌剂 E、F、N 处理效果差异明显, 证明 3 菌株在制成菌剂后对草坪草抗寒性作用明显。目前, 菌剂的应用多是与复合肥混合使用, 本研究也证明菌剂与复合肥联合应用对草坪草电解质透出率影响, 即对草坪草细胞膜透性影响显著, 促进了草坪草的抗寒能力。

表 1 不同处理对草坪草电解质透出率、可溶性糖、过氧化物酶含量的影响

处理	处理 1	处理 2	处理 3	处理 4	处理 5	处理 6	处理 7	处理 8	处理 9
电解质透出率/ %	0.44d	0.22c	0.43d	0.31c	0.27c	0.24c	0.23c	0.11a	0.06a
可溶性糖含量/ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	0.002 96h	0.003 39f	0.003 2g	0.003 47e	0.003 79d	0.004 08d	0.004 51c	0.006 77a	0.006 08b
过氧化物酶活性/ ( $D_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ )	0.006 1e	0.008 3 bc	0.006 5e	0.007 8d	0.008 6 bc	0.009 1c	0.009 1c	0.011 9a	0.010 7b

注: 表内数值后的英文字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

### 2.2 三种细菌制剂对草坪草可溶性糖含量的影响

可溶性糖含量越高, 植物组织的细胞液浓度也越高, 草坪草的抗寒能力也越强<sup>[10]</sup>。此指标可用于评价不同处理草坪草的抗寒性。在 12 月低温下, 菌株 E、F、H 与复合肥混合施用的草坪草可溶性糖含量高于其它处理, 其中以菌株 F 与复合肥混合应用 (处理 8) 效果最佳, 其可溶性糖含量达  $0.006 77 \mu\text{g mL}^{-1}$ , 是未施肥对照 (处理 1) 的 2.3 倍, 复合肥处理 (处理 2) 的 1.7 倍, 菌剂 F 处理 (处理 5) 的 1.65 倍, 经方差分析可看出, 不同处理对草坪草可溶性糖含量影响差异显著 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 三种细菌制剂对草坪草过氧化物酶活性的影响

过氧化物酶是植物体内有效的保护酶之一, 其功能主要是清除潜在的有毒物质。遇到低温逆境时, 这种清除机制就会受阻, 导致体内活性氧积累, 造成对膜的伤害和生物大分子破坏, 使 DNA 产生损伤, 影响蛋白质合成与稳定, 进而造成代谢功能失效和细胞死亡。不同处理对草坪草过氧化物酶活性的影响差异显著 ( $P < 0.05$ )。在 12 月低温下, 菌剂 E、F、H 与复合肥混合应用的草坪草过氧化物酶活性均高于其它处理, 其中以菌剂 F 与复合肥混合施用 (处理 8) 效果最佳, 过氧化物酶活性达到  $0.011 9 D_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ , 是施菌剂 F 处理 (处理 5) 的 1.37

倍,是未施肥对照(处理1)的1.95倍,复合肥处理(处理2)的1.43倍。表明菌剂与复合肥混合施用处理可明显促进草坪草过氧化物酶活性,从而增强草坪草的抗寒性。

#### 2.4 三种细菌制剂对草坪草叶绿素含量的影响

草坪草叶绿素含量的多少对光合速率有直接影响,一定程度上说明植物体营养状况和光合作用能力的强弱;另一方面草坪草叶绿素含量也影响草坪绿色期的长短,进而影响草坪的景观价值。从表2看出,经菌剂与复合肥混合施用处理的草坪草叶绿素含量较其它处理高,其中菌剂H与复合肥混合施用处理(处理9)叶绿素总量及叶绿素A、B含量均最高,叶绿素总量达到 $0.02871\text{ mg g}^{-1}$ ,是菌剂H处理(处理6)的1.22倍,灭菌基质处理(处理3)的3.13倍;经方差分析菌株E与复合肥混合施用(处理7)同菌株F与复合肥混合施用处理(处理8)的草坪草叶绿素B含量差异不显著( $P > 0.05$ )。

表2 不同处理对草坪草叶绿素含量的影响

处理	处理1	处理2	处理3	处理4	处理5	处理6	处理7	处理8	处理9
叶绿素A含量/ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0.00468g	0.00764e	0.00598f	0.00603f	0.01443d	0.0147d	0.01536c	0.01721b	0.0185a
叶绿素B含量/ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0.00253f	0.00185e	0.00318d	0.00321d	0.00863c	0.00879c	0.00975b	0.00982b	0.0102a
叶绿素总量/ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0.00721f	0.00949e	0.00916e	0.00924e	0.02306d	0.02349d	0.02511c	0.02703b	0.02871a

#### 2.5 三种细菌制剂对草坪草生长量的影响

由表3可知,不同处理对草坪草生长量的影响差异显著性是不同的( $P < 0.05$ )。从株高指标来看,以菌剂F与复合肥混合施用(处理8)对草坪草株高生长作用最明显,比仅施菌剂F处理(处理5)增加24.6%,比复合肥处理(处理2)增加22.5%,比未施肥对照(处理1)增加30.7%,其次为菌剂H与复合肥混合施用处理(处理9)和菌剂E与复合肥混合施用处理(处理7),这两种处理间差异不明显( $P > 0.05$ )。

从主根长指标来看,以菌剂H与复合肥混合施用处理(处理9)效果最佳,菌剂F与复合肥混合施用(处理8)效果次之。但两者差异不明显( $P > 0.05$ )。

从侧根数指标来看,以菌剂H与复合肥混合施用处理效果最佳(处理9)。菌剂E、菌剂F与复合肥混合施用处理效果其次,二者差异不显著( $P > 0.05$ )。

菌剂处理较未施肥对照各指标也有明显提高。与复合肥处理比较,菌剂E、H处理的草坪草株高差异不显著( $P > 0.05$ );除处理4的侧根数外,菌剂E、F、H处理(处理4,5,6)的草坪草主根长和侧根数均高于复合肥处理(处理2)。与灭菌基质处理(处理3)相比,菌剂E、F、H处理的草坪草生长指标明显提高,其中,菌剂F处理(处理5)平均株高高0.9cm,主根长平均增加2.09cm,侧根数平均增加1条。可以看出菌株在制成菌剂后对草坪草生长有明显的促进作用。

表3 不同处理对草坪草生长量的影响

项目	处理1	处理2	处理3	处理4	处理5	处理6	处理7	处理8	处理9
株高/cm	6.65e	7.44d	6.94e	7.58d	7.84c	7.24d	9.26b	9.60a	9.15b
主根长/cm	0.75e	1.32d	0.82e	2.24c	2.91b	2.66c	3.13b	3.29a	3.60a
侧根数/条	1.80e	3.00d	2.60d	2.70d	3.60c	3.80c	4.80b	4.90b	6.50a

## 2.6 生理生化指标与生长指标相关分析

通过对原始数据进行相关分析表明,草坪草株高与电解质透出率、可溶性糖含量、过氧化物酶含量、叶绿素总量之间存在显著的线性相关关系。株高与电解质透出率呈负相关,相关系数为 $-0.828$ ;株高与可溶性糖含量、过氧化物酶含量、叶绿素总量呈正相关,相关系数分别为 $0.902$ 、 $0.878$ 、 $0.806$ 。说明细胞膜透性、可溶性糖含量、过氧化物酶活性、叶绿素含量的变化与草坪草生长存在着一定的相关关系。

## 3 结论

3种细菌制剂及其复合制剂能大大提高草坪草的抗寒性,施用复合肥、菌剂或二者共同使用对草坪草抗寒性各指标都有不同程度的正向效果。总体上讲,单施菌剂的效果要好于单施复合肥的效果,而且菌种F、H在提高草坪草抗寒性的效果方面明显优于菌种E。复合肥与菌剂混合施用表现出了更好的综合抗寒效果,对增强草坪草的抗寒性效果明显优于对照及单施菌剂或单施复合肥。

菌剂与复合肥在增强草坪草抗寒性方面对不同的指标表现出互补效应和不可替代效应同时存在,但复合制剂的效果明显高于单项因子的效果,而且双因子的复合施用存在着一定不完全叠加效果。具体的表现主要是:单独使用菌剂处理的草坪草电解质透出率与复合肥处理差异不明显;单独使用菌剂处理的草坪草可溶性糖含量、主根长优于复合肥处理;菌剂F、H处理的草坪草过氧化物酶活性、叶绿素含量、侧根数高于复合肥处理,但比菌剂与复合肥混合使用处理效果差。

## 参考文献:

- [1] 李晶,阎秀峰,祖元刚. 低温下红松幼苗活性氧的产生及保护酶的变化[J]. 植物学报, 2002, 42(2): 148~152
- [2] 彭永康,郝泗城,王振英. 低温处理对豌豆幼苗生长和 POD、COD、ATPase 同工酶的关系[J]. 华北农学报, 1994, 9(2): 76~80
- [3] 武惠肖,吉艳芝,何海龙,等. 落叶松几个抗寒指标研究[J]. 河北林果研究, 2000, 15(2): 105~109
- [4] 艾希珍,于贤昌,王绍辉,等. 低温胁迫下黄瓜嫁接苗与自根苗某些物质含量变化[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 26~28
- [5] 雷生春,解洪业. EM 菌液在草坪建植、蔬菜种植、环境卫生和养猪业中应用效果观测[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2001, 31(6): 18
- [6] 籍越,孔德政,杨芳绒,等. 不同品种草坪草抗寒性的初步研究[J]. 河南科学, 2000, 18(4): 413~414
- [7] 徐清,刘茂春,徐昌杰. 草坪草生理生化研究进展[J]. 中国草地, 1998(4): 56~60
- [8] 三味工作室. 世界优秀统计软件 SPSS10.0 for windows 实用基础教程[M]. 北京:北京希望电子出版社, 2001
- [9] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社, 1999
- [10] 王代军,温洋. 温度胁迫下几种冷季型草坪草抗性机制的研究[J]. 草业学报, 1998, 7(1): 75~79

## Study on the Effect of Three Species of Bacteria Fertilizer on Cold Resistance of Turfgrass

LIANG Jun , DING Ming-ming , JIA Xiuzhen , LU Quan , ZHANG Xing-yao

(Research Institute of Forest Ecology ,Environment and Protection ,CAF ,Beijing 100091 ,China)

**Abstract:** Three bacteria fertilizer (E, F, H), chemical fertilizer and the compound of bacteria fertilizer and chemical fertilizer were separately applied on *Poa pratensis* to inspect their effects to the growth and the cold resistance of turfgrass. The results indicated that bacteria fertilizer and the compound of bacteria fertilizer and chemical fertilizer could both improve cold resistance of turfgrass greatly. The applying of each kind of three fertilizers induced a different degree of positive effect. The effect induced by bacteria fertilizer was better than that of chemical fertilizer and the effect induced by bacteria F and H was better than that of bacteria E. Applying both bacteria fertilizer and chemical fertilizer showed a better effect on general cold resistance than that of applying bacteria fertilizer or chemical fertilizer solely. Study on applying bacteria fertilizer and chemical fertilizer showed a concurrence of the complementarity effect and the unreplacement effect to different indexes on cold resistance enhancement. The applying of both bacteria fertilizer and chemical fertilizer revealed a certain extent of incomplete adding status. The details included: The difference of electrolyte leakage of turfgrass was un-significance between treating with bacteria fertilizer and treating with chemical fertilizer. But a better growing of taproot and a more contents of soluble sugar was showed in treating with bacteria fertilizer than treating with chemical fertilizer. The activity of peroxidase (POD), the contents of chlorophyll, and amount of fibre of turfgrass were higher in treat bacteria F and H than that of treating with chemical fertilizer, but the effect of treating with bacteria F and H was poor than that of treating with the mixture of bacteria fertilizer and chemical fertilizer.

**Key words:** bacteria fertilizer; chemical fertilizer; cold resistance; turfgrass; *Poa pratensis*