

## 生防菌 BRF-1 和 BRF-2 对大豆根腐病和产量的影响

周克琴<sup>1</sup>, 韩秉进<sup>1</sup>, 张秋英<sup>1</sup>, 刘文志<sup>3</sup>, 官学凯<sup>2</sup>, 李艳华<sup>1</sup>, 孟英<sup>4</sup>, 王光华<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所 黑土区农业生态国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 沈阳军区龙镇农副业基地, 黑龙江 五大连池 164135; 3. 黑龙江农垦科学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 4. 黑龙江省农业科学院 耕作栽培研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:** BRF-1 和 BRF-2 是中国科学院东北地理与农业生态农田分子生态学科组从大豆根际土壤筛选得到的 2 株革兰氏阳性生防细菌, 为了检测它们对田间大豆根腐病的防治效果, 2010 年在沈阳军区龙镇农副业基地对 BRF-1 和 BRF-2 进行田间试验。结果表明: 2 株生防细菌均有效地抑制了大豆根腐病的发生, 发病程度分别降低 44.4% 和 8.8%, BRF-1 菌株效果较好, 在降低大豆根腐病病情指数的同时, 能增加大豆植株花期、始粒期地上部和地下部干物重, 提高大豆产量 5.9%, 是一株很有潜力的生防菌。

**关键词:** 生防菌; 根腐病; 生育; 大豆产量

**中图分类号:** S435.651

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-9841(2012)05-0801-03

## Effect of BRF-1 and BRF-2 on Root Rot and Seed Yield in Soybean

ZHOU Ke-qin<sup>1</sup>, HAN Bing-jin<sup>1</sup>, ZHANG Qiu-ying<sup>1</sup>, LIU Wen-zhi<sup>3</sup>, GONG Xue-kai<sup>2</sup>, LI Yan-hua<sup>1</sup>, MENG Ying<sup>4</sup>, WANG Guang-hua<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081; 2. Longzhen Base of Shenyang PLA Farming and Sideline Production Administration, Wudalianchi 164135; 3. Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Jiamusi 154007; 4. Crop Tillage and Cultivation Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

**Abstract:** BRF-1 (*Paenibacillus Polymyxa*) and BRF-2 (*Bacillus subtilis*) are gram-positive bacteria obtained from soybean root rhizosphere. Dual-culture tests showed they had strong antagonism to many fungal pathogens, while they inhibited the development of plant diseases in vitro experiment. In 2010, a field trial with BRF-1 and BRF-2 was carried out in northern region of Heilongjiang Province to investigate their field performance in reducing disease incidence of soybean. Both BRF-1 and BRF-2 inhibited soybean root rot with a reduction in disease severity index by 44.4% and 8.8%, respectively. BRF-1 was a potential plant growth promoting bacteria in controlling soybean root rot, which increased above-ground dry matter and root dry matter accumulation at flowering and initial seed-filling stages, and thus enhanced seed yield by 5.9%.

**Key words:** Plant growth-promoting bacteria; *Phytophthora capsici*; Growth; Soybean yield

植物促生菌 PGPB (plant growth-promoting bacteria) 是指在一定条件下生活在土壤、根际、根表、叶际, 有利于植物生长的细菌<sup>[1]</sup>。PGPB 通常通过 2 种方式促进植物生长: ①提供植物缺失的物质直接影响植物的代谢; ②防止有害的病原微生物侵染, 间接促进植物生长, 即生物防治型促生菌<sup>[2]</sup>。某些菌株具有以上 2 种功能, 既能防病又能增产<sup>[3]</sup>。BRF-1 和 BRF-2 是中国科学院东北地理与农业生态农田分子生态学科组从大豆根际土壤筛选得到的 2 株革兰氏阳性生防细菌, 平板对峙培养表明它们对多种植物病原真菌具有拮抗作用<sup>[4-5]</sup>, 对盆栽黄瓜、番茄枯萎病具有防治效果<sup>[6]</sup>。其中 BRF-1 通过提高植物氮磷钾的吸收和分泌 IAA 促进盆栽苗期大豆植株的生长<sup>[7]</sup>。已有研究主要集中在实验室和盆栽条件下进行, 而 BRF-1 和 BRF-2 是否能够适应自然环境、有效抑制病害促进植物生长还是未知数。而且, Broadben 等<sup>[8]</sup>发现尽管实验室具有抗

生性的微生物很多, 但是只有 4% 能在土壤中发挥作用, 成为生防菌。本研究目的是检测这 2 个菌株对田间大豆根腐病防控和生物学效应的影响, 以期降低农药和无机肥的使用, 达到保护环境和促进农业可持续发展的目标。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验设计

试验设在沈阳军区龙镇农副业基地, 该基地位于黑龙江省五大连池市境内, 北纬 48°21', 东经 126°45', 海拔 324.7 m, 无霜期 110 d 左右, 有效积温 1 900 ~ 2 000℃, 降雨量 450 ~ 500 mm 左右, 属于第五积温带, 土壤类型为草甸黑钙土。植物材料选用龙镇当地主栽大豆品种垦鉴 27-711。BRF-1、BRF-2 和对照布置在同一地块, 每个处理播种 6.7 × 10<sup>3</sup> m<sup>2</sup>, 3 次重复, 随机排列。

收稿日期: 2010-12-07

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-YW-N-078); 国家科技支撑计划项目 (2009BADB3B06); 中国科学院东北地理与农业生态研究所青年博士研究基金项目 (KZCX3-SW-NA3-28)。

第一作者简介: 周克琴 (1970-), 女, 博士, 副研究员, 现从事作物营养胁迫生理研究。E-mail: zhoulkq@neigaeherb.ac.cn。

菌肥 BRF-1 和 BRF-2 是由黑龙江省农垦科学院生物技术中心制成以泥炭为载体的颗粒剂。对照施用底肥二铵  $15\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ , 钾肥  $5.25\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ , 尿素  $3\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 。各处理施用菌肥  $3\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ , 无机底肥的用量相应减少  $3\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 。

## 1.2 测定项目与方法

分别测定始花期(R1, 7月8日)、始荚期(R3, 7月24日)和始粒期(R5, 8月21日)的株高、地上部干重和地下部干重( $105^{\circ}\text{C}$ 烘箱中杀青 30 min 后降温至  $70\sim 80^{\circ}\text{C}$  烘干至恒重)。每个小区取样 8 株。

大豆始花期(R1, 7月8日)进行根腐病病情指数的调查。大豆根腐病调查分级标准: 0 级, 无病斑; 1 级, 零星病斑; 2 级, 成片零星病斑; 3 级, 病斑面积占跟面积的  $1/4$ ; 4 级, 病斑占根表面积的  $1/3$ ; 5 级, 病斑面积占根表面积的  $1/2$ ; 6 级, 病斑面积超过根表面积的  $1/2$ 。发病率 = 发病株数/调查总数。病情指数 =  $100 \times \sum (\text{发病株数} \times \text{发病级数} / \text{调查总株数} \times \text{发病最高级数})$ 。每个小区调查 8 株。

表 1 BRF-1 和 BRF-2 对大豆生长的影响

Table 1 Effect of BRF-1 and BRF-2 on soybean growth

处理 Treatment	株高 Plant height/cm			地上部干重 Dry weight of shoot/g			地下部干重 Dry weight of root/g		
	R1	R3	R5	R1	R3	R5	R1	R3	R5
BRF-1	22.2a	69.8a	80.0a	1.56a	13.2a	19.55a	0.42a	2.5a	—
BRF-2	18.3b	66.2a	79.0a	1.07b	12.0a	21.30a	0.40a	2.0a	—
对照 CK	19.3b	67.2a	78.7a	1.38b	10.4b	18.46a	0.36b	1.4b	—

同列数值后的小写字母代表 0.05 水平差异显著。

Values within a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level.

## 2.2 不同生防菌对大豆根腐病的防治效果

菌株 BRF-1 和 BRF-2 均显著抑制了田间大豆根腐病的发生, 降低了发病程度。施用 BRF-1 和 BRF-2 的植株病情指数分别为 21.4%、35.4%, 比对照降低了 44.4% 和 8.1%, 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

表 2 BRF-1 和 BRF-2 对大豆根腐病的影响

Table 2 Effects of BRF-1 and BRF-2 on soybean root rot

处理 Treatment	病情指数 Disease index	发病率 Incidence/%	防效 Control effect/%
BRF-1	21.4c	80.6a	44.4a
BRF-2	35.4b	71.0b	8.1b
对照 CK	38.5a	86.0a	—

同列数值后的小写字母代表 0.05 水平差异显著。

Values within a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level.

成熟时, 每小区取  $4\text{ m}^2$  测产。同时每小区取 10 株考种, 测定株高、节数、底荚高、荚数和百粒重。

## 1.3 数据分析

应用 SPSS 8.0 软件对所有数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生育期大豆生物量的差异

施用不同菌肥的大豆干物质积累明显不同, 干物质积累速率在不同时期的变化明显(表 1)。始花期 BRF-1 处理的大豆株高、地上部干重和地下部干重分别增加 15%、13% 和 17%, 植株干重增加 14%; BRF-2 处理的地下部干重增加 10%, 但对株高和地上部干重无显著影响。至始粒期, 与对照相比, BRF-1 处理植株的地上部干重、地下部干重和植株干重分别增加 27%、79% 和 33%; BRF-2 处理植株的地上部干重、地下部干重和植株干重分别增加 15%、43% 和 19%。BRF-1 和 BRF-2 对始粒期株高、鼓粒期株高和地上部干重均无显著影响(表 1)。

防效提高。施用 BRF-2 的大豆植株根腐病的发病率由 86.0% 降低到 71.0%, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 尽管 BRF-1 处理的发病率比对照降低了 5.4%, 但无显著差异。

### 2.3 不同生防菌对大豆农艺和产量性状的影响

2 个生防菌对收获期植株高度没有影响, 但 BRF-1 和 BRF-2 处理的植株节数分别增加了 13% 和 8.5%, 相对于对照都达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。BRF-1 和 BRF-2 对结荚部位没有影响, 但减少秕荚和一粒荚数, 增加二粒荚和三粒荚数。BRF-1 处理使二、三粒荚分别增加 36% 和 60%; BRF-2 处理使二、三、四粒荚分别增加 8%、42% 和 37%。BRF-1 和 BRF-2 处理分别使百粒重显著增加 8.8% 和 7.6%。BRF-1 处理使产量提高 5.9%, BRF-2 对产量无影响(表 3)。

表 3 BRF-1 和 BRF-2 对大豆单株产量及其构成要素的影响

Table 3 Effects of BRF-1 and BRF-2 on yield and yield components of soybean

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	节数 Number of node	底荚高 Bottom pod height/cm	瘪粒数 Empty-seed pod	1 粒荚数 One-seed pod No.	2 粒荚数 Two-seed pod No.	3 粒荚数 Three-seed pod No.	4 粒荚数 Four-seed pod No.	单株荚数 Total pod No.	百粒重 100-seed weight/g	产量 Yield /kg·hm <sup>-2</sup>
BRF-1	85.1a	15.9a	20.7	0.3b	1.8b	6.8a	10.1a	1.6b	18.7a	18.6a	2835a
BRF-2	85.0a	15.3a	19.4	0.4b	2.1b	5.4b	9.0a	2.2a	18.7a	18.4a	2628b
对照 CK	85.0a	14.1b	20.9	0.6a	3.5a	5.0b	6.3b	1.6b	16.4b	17.1b	2676b

同列数值后的小写字母代表 0.05 水平差异显著。  
Values within a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level.

3 讨 论

前期的 16S rDNA 鉴定结果表明, BRF-1 是多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*)<sup>[5,7]</sup>, BRF-2 是枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)<sup>[5]</sup>。本研究结果表明, 田间条件下以 BRF-1 菌株制成的生物肥能有效抑制大豆根腐病的发生, 使发病程度降低 44.4%, 大豆产量提高 5.9%。这与 BRF-1 的分泌物中含有抗菌蛋白<sup>[9]</sup>, 而且分泌 IAA, 促进植株对氮、磷、钾的吸收和利用有关<sup>[7]</sup>。BRF-1 在抑制大豆根腐病发生的同时, 增加了大豆植株花期、始粒期地上部和地下部干物重, 为产量的形成提供了物质基础。BRF-2 也对大豆根腐病具有一定的防效, 使发病程度降低 8.8%, 这可能与枯草芽孢杆菌产生多种抗菌物质, 其中大多为低分子量的抗菌肽<sup>[10]</sup>有关。尽管 BRF-2 促进了大豆生殖生长前期的物质积累, 但对大豆产量没有影响。

田间试验的不一致性促使了混合接种试验的开展。PGPB 之间的协同作用使混合接种有较高的成功率, 在今后的生产试验中可以考虑将 BRF-1 和 BRF-2 混合使用, 在抑制根腐病的同时可以促进对氮、磷、钾等矿物营养元素的吸收, 从而提高作物产量。

参考文献

[1] Bashan Y, De-Bashan L E. Bacteria/plant growth-promoting[C]// D Hillel. In Encyclopedia of soils in the environment. Oxford UK: Elsevier, 2005, 1:103-115.

[2] Bashan Y, Holgium G. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant-growth-promoting bacteria) and PGPB[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30:1225-1228.

[3] Oberh nsli T, D fago G, Haas D. Indole-3-acetic acid (IAA) synthesis in the biocontrol strain CHAO of *Pseudomona fluorescens*: role of tryptophan side chain oxidase[J]. Journal of General Microbiology, 1991, 137:2273-2279.

[4] 王光华, 周克琴, 张秋英, 等. 拮抗细菌 BRF-1 对几种植物病原真菌的抗生效果[J]. 中国生物防治, 2003, 19(2):73-77. (Wang G H, Zhou K Q, Zhang Q Y, et al. Antagonism of bacillus strain BRF-1 against plant pathogenic fungi[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2003, 19(2):73-77.)

[5] 王光华, 金剑, 徐美娜, 等. 生防细菌 BRF-1 和 BRF-2 鉴定及生物学特征[J]. 中国生物防治, 2007, 23(1):49-54. (Wang G H, Jin J, Xu M N, et al. Identification and biological characteristics of biocontrol bacterial strains BRF-1 and BRF-2[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2007, 23(1):49-54.)

[6] 陈雪丽, 王光华, 金剑, 等. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2):446-450. (Chen X L, Wang G H, Jin J, et al. Biocontrol effect of *Paenibacillus polymyxa* BRF-1 and *Bacillus subtilis* BRF-2 on fusarium wilt disease of cucumber and tomato [J]. Chinese Journal of Eco-agriculture, 2008, 16(2):446-450.)

[7] Zhou K Q, Yamagishi M, Osaki M. *Paenibacillus* BRF-1 has bio-control ability against *Phialophora gregata* disease and promotes soybean growth[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2008, 54:870-875.

[8] Broedban T P, Baker K F, Waterworth Y. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soil[J]. Australian Journal Biological Science, 1971, 24:925-944.

[9] 陈雪丽, 郝再彬, 王光华, 等. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 抗菌蛋白的分离纯化[J]. 中国生物防治, 2007, 23(1):156-159. (Chen X L, Hao Z B, Wang G H, et al. Purification of antifungal protein from *Paenibacillus polymyxa* BRF-1[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2007, 23(1):156-159.)

[10] 姜莉莉, 陈彦闯, 辛明秀. 枯草芽孢杆菌在防治植物病害上的应用及研究进展[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(7):37-39. (Jiang L L, Chen Y C, Xin M X. Application and research advance in controlling plant fungous diseases by *Bacillus subtilis*[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2009, 15(7):37-39.)