

doi:10.11937/bfyy.20164941

## 狗牙根内生固氮菌对结缕草的促生效应

武 鑫<sup>1,2</sup>, 李凤娇<sup>1,2</sup>, 刘天增<sup>1,2</sup>, 张巨明<sup>1,2</sup>

(1. 华南农业大学 林学与风景园林学院, 广东 广州 510642; 2. 华南农业大学 草业工程技术研究中心, 广东 广州 510642)

**摘 要:**以结缕草为试材,将分离自野生狗牙根的内生固氮菌 DQ-3 活化测定活性后制成 2 种浓度菌液( $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>),再将长势相同的结缕草茎段于菌液中浸泡 4、16 h 后进行盆栽试验,采用测定成坪后植株的颜色、分蘖数、地上地下生物量及植株全氮量的方法,研究内生固氮菌对结缕草的促生效应,以探索不同草种间内生固氮菌的通用性。结果表明:菌液浓度为  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 4 h 对结缕草分蘖数促进最显著;菌液浓度为  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 16 h 对颜色的影响最大;菌液浓度为  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 16 h 对地上生物量影响最大;菌液浓度为  $1 \times 10^3$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 4 h 对地下生物量影响最大;菌液浓度为  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 16 h 对结缕草植株增加全氮量效果最好。综合看来,菌液浓度为  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup>,浸泡 16 h 的组合对结缕草促生效应最好。

**关键词:**内生固氮菌;接种;结缕草;促生作用

**中图分类号:**S 543<sup>+</sup>.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)13-0113-06

植物内生固氮菌(endophytic diazotroph)定殖于植物的特定组织或器官内,固氮作用高效且与宿主植物形成紧密的互惠共生关系<sup>[1]</sup>。内生固氮菌定殖在宿主植物体内,能避免化合态氮的抑制及土著微生物的竞争,更有利于充分发挥固氮效能,分泌的固氮产物直接供给植物吸收,不易受到外界环境条件的干扰,同时还具有分泌生长素、溶磷、增强植株抗病性抗逆境等多方面的促进植物生长的作用,更有利于充分发挥固氮效能<sup>[2-5]</sup>。

甘蔗(*Saccharum officinarum*)、水稻(*Oryza sativa*)等一些热带禾本科植物体内存在内生固氮菌,可以从生物固氮中获得一部分的氮<sup>[6]</sup>。

**第一作者简介:**武鑫(1991-),女,安徽淮南人,硕士研究生,研究方向为草坪景观与环境。E-mail:oreosunny@163.com.

**责任作者:**张巨明(1963-),男,甘肃景泰人,博士,教授,现主要从事草坪与草地生态等研究工作。E-mail:jimmzh@scau.edu.cn.

**基金项目:**广东省科技计划资助项目(2012B020302002);广东省自然科学基金资助项目(2015A030310200)。

**收稿日期:**2017-02-17

后有学者利用半固体培养基从玉米(*Zea mays*)的内生组织中分离到了可培养固氮菌<sup>[3]</sup>,至 2009 年已有研究表明类芦茎部和狗牙根叶片中存在高固氮酶活性的内生固氮菌群<sup>[7]</sup>。近年来,大量的学者已经从青香茅(*Cymbopogon caesius*)、五节芒(*Miscanthus floridulus*)、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米、白菜(*Brassica pekinensis*)、芹菜(*Apium graveolens*)、菊芋(*Helianthus tuberosus*)、甘蔗等植物中分离得到内生固氮菌,进行鉴定和特性研究<sup>[8-13]</sup>。

华南农业大学林学与风景园林学院草业科学系草坪实验室已对从野生狗牙根体内分离出的内生固氮菌进行了分离鉴定,并对其接种效应进行了研究<sup>[14]</sup>。内生固氮菌 DQ-3 经鉴定为阴沟肠杆菌,革兰氏阴性粗短杆菌。在水稻等体内产生固氮作用,能产酸产气,以蔗糖为碳源,产生乳酸和 H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>、NH<sub>3</sub> 等大量气体,有较高的固氮作用,与粪产碱菌混合培养时,固氮量急剧增加。阴沟肠杆菌广泛存在于植物体内,其最适生长温度为 30 ℃,兼性厌氧,在普通培养基上就能生长,在 SS 琼脂上生长呈白色或乳白色,不透明黏稠状。

在糖类发酵中,乳糖、蔗糖、山梨醇、棉子糖、鼠李糖、蜜二糖均阳性,不能产生黄色色素。鸟氨酸脱羧酶试验、精氨酸双水解酶试验呈阳性,赖氨酸脱羧酶试验、吡啶试验呈阴性<sup>[20-21]</sup>。然而,目前尚鲜见从一种植物分离得到的内生固氮菌接种到另一种植物中的促生效果的研究。该研究将从野生狗牙根体内分离出的内生固氮菌活化后,选取综合促生特性较好的内生固氮菌 DQ-3 (*Enterobacter cloacae*) 定殖到结缕草中。采用不同浓度、不同浸泡时间的菌液处理结缕草匍匐茎,观测其颜色、地上地下生长量、分蘖数和植株全氮量,分析比较内生固氮菌 DQ-3 对结缕草的促生效果,探索不同草种间内生固氮菌的通用性,为研制草坪草固氮菌剂配方,进而为减少草坪养护中的氮肥投入提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

将保存于华南农业大学林学与风景园林学院草业科学系草坪实验室的内生固氮菌 DQ-3 活化,该内生固氮菌分离自野生狗牙根植株,测定其固氮酶活性、产酸产碱能力等性能,保证菌液的活性<sup>[15-19]</sup>,备用。

植物材料选用‘兰引Ⅲ号’结缕草 (*Zoysia japonica* cv. ‘Lanyin No. Ⅲ’)。取华南农业大学莘园草坪基地春季萌发的‘兰引Ⅲ号’结缕草匍匐茎,将其洗净,在实验室超净工作台环境下表面灭菌并切断,每条匍匐茎上含 3~4 个茎节,约长 5 cm。

Ashby 培养基:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 g · L<sup>-1</sup>;  $\text{CaCO}_3$  5 g · L<sup>-1</sup>;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g · L<sup>-1</sup>; 甘露醇 10 g · L<sup>-1</sup>; NaCl 0.2 g · L<sup>-1</sup>; 琼脂 18 g · L<sup>-1</sup>;  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 g · L<sup>-1</sup>; pH 7.0。LB 培养基: 蛋白胨 10 g · L<sup>-1</sup>; 酵母膏 5 g · L<sup>-1</sup>; NaCl 10 g · L<sup>-1</sup>; 琼脂 18 g · L<sup>-1</sup>; pH 7.0。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 内生固氮菌的活化

取自 Ashby(缺氮)固体培养基上分离得到的 DQ-3 内生细菌菌株,用平板划线法回接于 Ashby 培养基上 5 次,以能在 Ashby 培养基上正常生长的菌株为备选菌株;参照田宏等<sup>[22]</sup>的方法将其分别先后放于 Ashby 培养基和 LB 培养基上进行活

化作为备用。

#### 1.2.2 试验处理

采用菌液浸泡法,将‘兰引Ⅲ号’结缕草匍匐茎浸泡于狗牙根内生固氮菌 DQ-3 菌液中。试验设计  $1 \times 10^3$  cfu · mL<sup>-1</sup> 和  $1 \times 10^6$  cfu · mL<sup>-1</sup> 2 种不同菌液浓度(分别用 A3、A6 表示),4 h 和 16 h 2 种不同浸泡时间,共 4 个处理,每处理 3 次重复,以不浸泡菌液为对照。基质采用 85% 砂和 15% 泥炭土混合而成,将以上处理过的草茎按 15 枝 · 盆<sup>-1</sup> 的密度均匀扦插至上口直径 20 cm、高 18 cm 的塑料花盆中。覆 1 cm 的中细砂,镇压。试验开始后,30 d 按 2 g · m<sup>-2</sup> 用量施尿素一次。根据蒸散量每天浇水一次。每 15 d 修剪一次,修剪高度为 4~5 cm。人工拔除杂草。

### 1.3 项目测定

采用 9 分制对草坪颜色进行打分<sup>[23]</sup>,分别于 7、21、35 d 定期观测记录草坪绿色程度。用单位面积的枝条数衡量草坪分蘖数,于 7、21、35 d 定期测定。植株全氮量于清盆时采用凯氏定氮法<sup>[24]</sup>测定。同时在清盆时收集植株洗净,分别将地上和地下部分在 80 °C 烘干 6 h 后称干质量记录地上和地下生物量。

### 1.4 数据分析

试验数据均以平均值表示,采用 Excel 2010 软件进行数据分析;采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行多重比较,平均数的多重比较采用邓肯氏新复极差检验法。

## 2 结果与分析

### 2.1 草坪颜色

由表 1 可知,4 h 时不同菌液浓度对结缕草颜色的影响不显著( $P > 0.05$ ),A6 对颜色促进效果比 A3 好。16 h 时不同菌液浓度在结缕草生长初期的影响显著( $P < 0.05$ ),在结缕草生长中后期影响不显著( $P > 0.05$ ),A6 在结缕草生长的各个时期均可使草坪保持良好颜色。A6 浸泡 16 h 时各时期结缕草颜色均为最高分,因此 A6 浓度浸泡 16 h 对结缕草颜色促进最好。

### 2.2 分蘖数

由表 2 可以看出,结缕草生长初期,A6 浸泡

4 h 和 A3 浸泡 16 h 显著促进结缕草分蘖( $P<0.05$ )。生长中后期,2 种浓度浸泡 4 h 对结缕草分蘖数的影响没有显著差异( $P>0.05$ ),但均高于对照,其中 A3 浸泡 16 h 时结缕草分蘖数显著高于对照;A3 浸泡 16 h 显著优于 A6 浸泡 16 h

的分蘖数。除 A6 浸泡 16 h 外,2 种浓度在浸泡不同时间后结缕草的分蘖均显著高于对照( $P<0.05$ )。整个生长时期,A6 浸泡 4 h 后的结缕草分蘖数均保持最高,因此 A6 浸泡 4 h 对结缕草分蘖数促进效果最好。

表 1 不同菌液浓度对结缕草颜色的影响

Table 1 Effects of different bacterial liquid concentrations on turf color of *Zoysia japonica* Steud

分

菌液处理 Bacteria liquid	处理时间 Treatment time					
	4 h			16 h		
	7 d	21 d	35 d	7 d	21 d	35 d
A3	7.33±0.17a	7.33±0.17a	7.00±0.29a	7.83±0.16b	7.17±0.17a	7.17±0.44a
A6	7.50±0.29a	7.50±0.29a	7.83±0.44a	8.50±0.00a	7.67±0.17a	7.50±0.29a
对照(CK)	7.00±0.00a	7.17±0.17a	7.33±0.44a	7.00±0.00c	7.17±0.17a	7.33±0.44a

注:“±”后的小数是平均数的标准误(S.E.)。同列不同小写字母者表示差异显著(Duncan 法,  $\alpha=0.05$ )。下同。  
Note: Data are presented as mean±S.E.; different lowercase letters within the same column show significant difference at 0.05 level. The same below.

表 2 不同菌液浓度对结缕草分蘖数的影响

Table 2 Effects of different bacterial liquid concentrations on tillers number of *Zoysia japonica* Steud

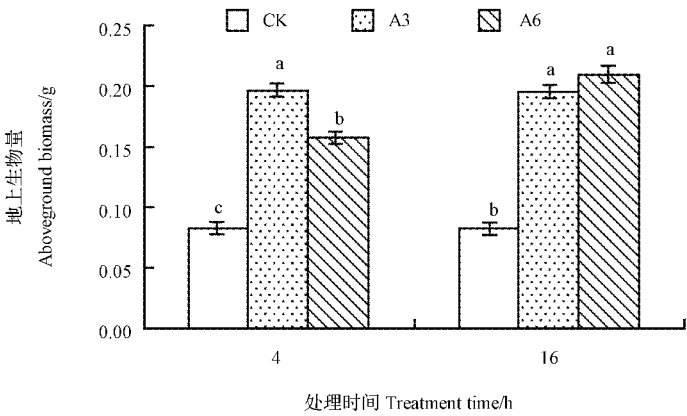
枝·m<sup>-2</sup>

菌液处理 Bacteria liquid	处理时间 Treatment time					
	4 h			16 h		
	7 d	21 d	35 d	7 d	21 d	35 d
A3	2.33±0.33b	7.67±0.33a	36.00±4.36a	3.33±0.88a	10.00±0.58a	34.33±1.86a
A6	4.67±0.67a	9.67±0.67a	37.00±3.51a	1.33±0.33bc	4.67±0.33bc	18.33±6.96bc
对照 CK	0.33±0.33c	2.67±0.88b	13.33±3.67b	0.33±0.33c	2.67±0.88c	13.33±3.67c

2.3 生物量

图 1 表明,A3 浸泡 4 h 的地上生物量显著高于 A6 和对照( $P<0.05$ ),A6 浸泡 16 h 的地上生物量与 A3 无显著差异( $P>0.05$ ),但显著高于对

照( $P>0.05$ )。2 种浓度的菌液浸泡均对结缕草地上生物量有显著促进。A6 浸泡 16 h 时结缕草地上生物量最大,因此 A6 浸泡 16 h 对结缕草地上生物量促进效果最好。



注:不同小写字母表示同一测定时间不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。  
Note: Different lowercase letters show significant difference at 0.05 level. The same below.

图 1 不同菌液浓度对结缕草地上生物量的影响

Fig. 1 Effects of different bacterial liquid concentrations on aboveground biomass of *Zoysia japonica* Steud

由图2可知,2种浓度浸泡4 h时对结缕草地下生物量的影响无显著差异( $P>0.05$ ),但显著优于对照( $P<0.05$ ),浸泡16 h时对结缕草地下

生物量无显著差异( $P>0.05$ ),但表现优于对照。A3浸泡4 h时结缕草地下生物量最大,因此A3浸泡4 h时对结缕草地下生物量的促进效果最好。

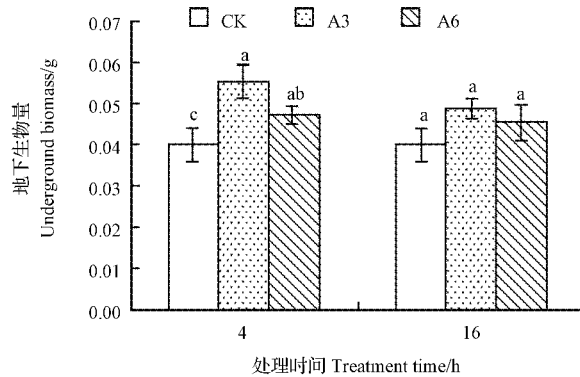


图2 不同菌液浓度对结缕草地下生物量的影响

Fig. 2 Effects of different bacterial liquid concentrations on underground biomass of *Zoysia japonica* Steud

## 2.4 植株全氮量

从图3可以看出,A6浓度浸泡4 h的结缕草植株全氮量显著高于A3浓度浸泡及对照( $P<0.05$ ),而2种浓度浸泡16 h对结缕草植株全氮

量的影响无显著差异( $P>0.05$ )。不同菌液浓度浸泡后均对结缕草植株全氮量有促进效果,其中A6浸泡16 h时植株全氮量最大,因此A6浓度浸泡16 h对结缕草植株全氮量的促进效果最好。

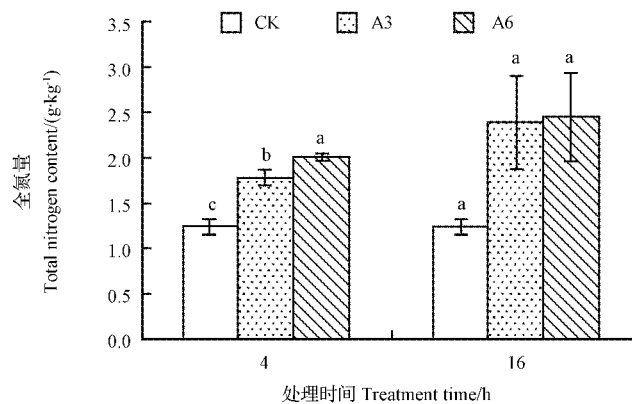


图3 不同菌液浓度对结缕草全氮量的影响

Fig. 3 Effects of different bacterial liquid concentrations on total N content of *Zoysia japonica* Steud

## 3 讨论

内生固氮菌定殖于植物内部,在植物细胞内、细胞间隙、木质部导管等进行固氮及其它促生作用。该部位不仅可满足细菌生长和固氮所需的足够的能源、低氧分压以及交换代谢产物的微环境,也避免了土壤溶液对酶活性的抑制及土著微生物的竞争,固定的营养元素可直接供给植物吸收,促进植物生长<sup>[8]</sup>。在燕麦拔节期接种固氮菌可使燕

麦株高增加0.73%~12.11%,地上部植物量增加21.45%~43.55%,地下植物量增加7.7%~76.9%,总植物量增加2.00%~45.36%<sup>[25]</sup>。该研究内生固氮菌是从狗牙根分离出来用于对结缕草促生性效果,虽然宿主植物不同,但QD-3菌液在 $1\times 10^3$ 、 $1\times 10^6$  cfu·mL<sup>-1</sup>浓度下植株全氮含量相比于不浸泡菌液时得到显著提高( $P<0.05$ ); $1\times 10^6$  cfu·mL<sup>-1</sup>浓度下的QD-3菌液浸泡4 h对结缕草分蘖促进效果最好。推测可能的原因:一是内生固氮菌的固氮作用;二是通过解磷

解钾作用,将土壤中一些难利用的磷等元素化合物转化为容易吸收的离子形式;三是通过固氮菌之间及固氮菌与环境因子的相互作用,影响根表面膜的活性,促进根系新陈代谢加强,从而促进根系吸收能力增强<sup>[26]</sup>。

草坪草颜色等形态指标可反映草坪植物的生长状况和草坪的管理水平<sup>[27]</sup>。QD-3 菌液在  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度不同浸泡时间处理下的颜色效果均优于  $1 \times 10^3$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度,说明  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度处理在促进结缕草颜色方面具有优势性。这可能与内生固氮菌在进入结缕草植株体内之后影响了植株生长代谢,可能刺激了植株体内生长素、赤霉素的产生,或者使植株体内水分、渗透压等发生改变。

草坪草的地上、地下生物量是衡量草坪生长发育状态的重要指标,决定着草坪生长速度和再生能力<sup>[24]</sup>。马天瑞等<sup>[28]</sup>结果表明,一部分苜蓿根瘤菌对燕麦的茎长、茎质量、根质量确有一定的促生作用。部分苜蓿根瘤菌(*Rhizobium meliloti*)如 L10、L15 等可以作燕麦的促生菌肥。该研究发现不同浓度 QD-3 菌液在不同浸泡时间下对结缕草地上生物量的促生作用不同,而  $1 \times 10^3$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度的菌液对结缕草地下生物量的促生效果优于  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度的菌液。该试验表明,就多数菌株而言,同一菌株对结缕草生长也不尽相同,有的对地上部促生作用明显,对地下部则不明显,有的则相反,这与紫云英根瘤菌对水稻的促生作用相似<sup>[29]</sup>。国内外大量研究结果表明,植物根际有益菌的作用机理主要是通过改善植物根圈的营养环境、产生多种生理活性物质刺激植物生长或防治根部有害微生物,但受土壤水分、pH、土壤微生物种类等因素影响<sup>[30]</sup>。

整体来看,定殖内生固氮菌后,结缕草形态性状得到明显改善。QD-3 菌液除了对结缕草地上生物量没有明显的促进作用外,其它均较对照有促进作用。在氮肥施入量为  $2 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$  基础上,内生固氮菌液浸泡方法可以促进狗牙根的生长<sup>[14]</sup>。可能影响内生固氮菌表现的一些因素包括:土壤含氮量、土壤类型、植物的营养供应、宿主(接种)植物年龄和种类、宿主(接种)植物的生长阶段和部位<sup>[31-32]</sup>。植物基因型与适合氮气固定的生态

位点之间存在复杂的相互作用,选择合适的固氮菌居住在这些生态位点和特定的环境条件很可能是刺激接种植物生物固氮作用的必要条件<sup>[33]</sup>。根际或植物内碳源和能源的限制,会引起内生固氮菌和接种植物联合以及促使植物内生固氮菌发生低水平的氮固定<sup>[29]</sup>。该研究中,使用泥炭加纯砂为栽培土壤,其营养成分、微生物组成等与原生土壤差异很大,所接种的植物内生固氮菌未必能适应这样的环境。此外,内生固氮菌与寄主植物之间建立起“和谐联合关系”是发挥其有益的生物学和生态学功能的关键。那些具备固氮、溶磷、产生生长素性能的内生固氮菌株,在回接禾草后其定殖传导性如何、能否充分发挥固氮促生效能等有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 刘天增,毛中伟,李凤娇,等. 狗牙根内生固氮菌的分离鉴定[J]. 草业科学,2014,31(7):1254-1260.
- [2] 安千里,李久蒂. 植物内生固氮菌[J]. 植物生理学通讯,1999,35(4):265-272.
- [3] MONTAÑEZ A, ABREU C, GILL P R, et al. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by <sup>15</sup>N isotope dilution and identification of associated culturable diazotrophs[J]. Biology and Fertility of Soils, 2009, 45(3):253-263.
- [4] 罗明,卢云. 植物内生固氮菌研究进展[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(1):82-88.
- [5] 许褪森. 内生固氮菌研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(12):4828-4830.
- [6] JAMES E K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis[J]. Field Crops Research, 2000, 65(2-3):197-209.
- [7] 冯宏,郭彦彪,林日强,等. 类芦和狗牙根内生固氮菌初步研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(5):465-470.
- [8] 谭志远,傅琴梅,彭桂香,等. 青香茅和五节芒内生固氮菌的分离与生理生化鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(4):643-649.
- [9] 秦宝军,罗琼,高森,等. 小麦内生固氮菌分离及其 ACC 脱氨酶测定[J]. 中国农业科学, 2011, 45(6):1066-1073.
- [10] 孙建光,罗琼,高森,等. 小麦,水稻,玉米,白菜,芹菜内生固氮菌及其系统发育[J]. 中国农业科学, 2012, 45(7):1303-1317.
- [11] 孟宪法,隆小华,康健,等. 菊芋内生固氮菌分离、鉴定及特性研究[J]. 草业学报, 2011, 20(6):157-163.
- [12] 欧阳雪庆,罗霆,杨丽涛,等. 甘蔗内生固氮菌液浸种对甘蔗生长前期氮代谢相关酶活性的影响[J]. 广西农业科学, 2010, 41(5):416-418.
- [13] 王华荣,彭桂香,张国霞,等. 糖蜜草(*Melinis minutiflora* Beauv.)内生固氮菌分离鉴定[J]. 生态学报, 2006, 26(8):2566-2571.

- [14] 李凤娇,毛中伟,黎瑞君,等. 杂交狗牙根内生固氮菌的接种效果[J]. 草业科学,2013,30(12):1953-1959.
- [15] 李倍金,罗明,周俊,等. 几种禾草内生固氮菌的分离及固氮活性测定[J]. 草业学报,2008,17(5):37-42.
- [16] 南志标. 内生真菌对布顿大麦草生长的影响[J]. 草业科学,1996,13(1):16-18.
- [17] 赵小蓉,林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. 土壤肥料,2001(3):1-11.
- [18] 南京农学院. 土壤农化分析[M]. 北京:农业出版社,1980.
- [19] 王坚,刁治民,徐广,等. 植物内生菌的研究概况及其应用[J]. 青海草业,2008,17(1):24-28.
- [20] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [21] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,1984.
- [22] 田宏,张德罡,姚拓,等. 禾本科草坪草固氮菌株筛选及部分特性初步研究[J]. 中国草地,2005,27(5):47-52.
- [23] 孙吉雄. 草坪学[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,2003:355-370.
- [24] 戴宏林,吴小骏. 用凯氏定氮法测定植物干样品中的氮含量[J]. 江苏农学院学报,1995,16(3):70.
- [25] 席琳乔,姚拓,张德罡. 固氮菌对燕麦不同生育期促生作用的研究[J]. 草业学报,2007,16(3):38-42.
- [26] 夏觅真,马忠友,曹媛媛,等. 棉花根际固氮菌、解磷菌及解钾菌的相互作用[J]. 中国微生态学杂志,2010(2):102-105.
- [27] 张丽梅,方萍,朱日清. 禾本科植物联合固氮研究及其应用现状展望[J]. 应用生态学报,2004,15(9):1650-1654.
- [28] 马天瑞,蓝祖庆. 苜蓿根瘤菌对燕麦促生作用的研究初报[J]. 安徽农学通报,2010,16(23):6.
- [29] 张晓霞,王平. 对水稻有促生作用的紫云英根瘤菌筛选初报[J]. 土壤肥料,2001(6):30-33.
- [30] 胡桂萍,郑雪芳,尤民生,等. 植物内生菌的研究进展[J]. 福建农业学报,2010,25(2):226-234.
- [31] BURD G I, DIXON D G, GLICK B R. Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2000, 46(3):237-245.
- [32] 汪军,黄俊生. 植物内生菌研究技术及应用研究进展[J]. 广西热带农业,2008,18(5):18.
- [33] CHANWAY C P, SHISHIDO M, NAIRN J, et al. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Forest Ecology and Management, 2000, 133(1):81-88.

## Promoting Effect of Endophytic Diazotrophs From Bermudagrass on *Zoysia japonica* Steud

WU Xin<sup>1,2</sup>, LI Fengjiao<sup>1,2</sup>, LIU Tianzeng<sup>1,2</sup>, ZHANG Juming<sup>1,2</sup>

(1. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642; 2. Engineering Research Center of Grassland Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

**Abstract:** Taking *Zoysia japonica* Steud as test materials, the endophyte diazotroph QD-3 was isolated from bermudagrass and made into two different concentration bacteria liquid ( $1 \times 10^3$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> and  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>). After soaking *Zoysia japonica* Steud stems with similar growth for 4 hours and 16 hours respectively, the potting test began. When turf established, the turf color, tillers number, aboveground biomass, underground biomass and total nitrogen were evaluated to study the promoting effect of endophytic diazotrophs on zoysia grass. In the meanwhile, the versatility between different grass species could also be explored. The results showed that soaking under the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 4 hours had the most promoted tillers number; soaking under the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 16 hours had well-influenced turf color; soaking under the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 16 hours showed the most improved aboveground biomass while soaking under the concentration of  $1 \times 10^3$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 4 hours had greater underground biomass. Soaking under the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 16 hours had the best promotion in total nitrogen of *Zoysia japonica* Steud. In conclusion, soaking under the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> for 16 hours had the best promoting effect on *Zoysia japonica* Steud.

**Keywords:** endophyte diazotroph; inoculation; *Zoysia japonica* Steud; promoting effect