

土壤微生物产生的植物生长调节物质

李春俭 张福锁

(北京农业大学植物营养系, 北京 100094)

MICROBIAL PRODUCTION OF PLANT GROWTH REGULATORS

Li Chun-jian Zhang Fu-suo

(Department of Plant Nutrition, Beijing Agricultural University, Beijing 100094)

概 况

为了满足日益增长的人口对粮食的需求,许多国家包括前苏联、新西兰、澳大利亚、比利时、荷兰、印度和美国等都采用将一些特殊的微生物制剂接种到土壤中的技术以达到提高作物产量的目的。其中前苏联是最早开展这项工作的国家。1937年,以“固氮菌剂”(以后又改名为“固氮细菌”)作为商品名称的固氮菌制剂在全苏联推广,主要用于土壤和种子处理。后来,苏联微生物学家又介绍了一种含有 *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* 的“磷细菌”制剂,认为它可以提高土壤中磷的利用率。目前,以不同商品名称命名的含有不同微生物的各种制剂在世界上许多国家不断上市,并被大量生产实际证明具有促进植物生长的效果^[8]。据报道,常作为土壤接种剂的微生物包括有根瘤菌属、固氮菌属、固氮螺菌属,以及节杆菌属、杆菌属、芽胞杆菌属、分枝杆菌属、假单胞菌属和菌根真菌等^[9]。

一般认为,接种根瘤菌、固氮菌和固氮螺菌等微生物之所以能够促进植物的生长,主要是由于这些微生物可以固氮。但经过进一步的研究发现,只是固氮菌才能通过氮的固定作用来增加作物的产量。而在多数情况下,在接种了这些细菌之后,植物组织以及土壤中的氮水平并未增加。因而在土壤中接种微生物对植物生长的促进作用可能有其它的作用机制,如在根际中产生植物生长调节物质(PGRs)等。试验证明,即使在土壤中氮充足的情况下,接种这些微生物仍可以使作物的产量增加^[8]。Barea 和 Brown^[11]观察到,在接种了雀稗固氮菌之后,包括雀稗(*Paspalum notatum*)植物在内的几种植物的生长状况都有所改善,但并未发现有增加固氮的趋势。此外,在大量施用氮肥的大田中接种褐球固氮菌仍可以使玉米的产量增加 16%,这很可能是由于细菌产生的 PGRs 作用的结果^[22]。大量的研究表明,在植物根际中,可以产生 PGRs 的微生物群落的数量很大。在从不同植物的根际中分离出来的 50 种微生物中,分别有 86、58 和 90% 的微生物可产生生长素、赤霉素或激动素类物质^[12]。从欧洲赤松根际中分离得到的 55% 的细菌和 86% 的真菌可以产生赤霉素及其类似物^[24]。玉米根际也含有大量的可以合成乙烯的微生物^[3]。

由此可见,接种根瘤菌、固氮菌和固氮螺菌等微生物之所以能够促进植物的生长,是由于它们

能够产生 PGRs, 并能为植物所利用的缘故。

土壤中接种微生物以及加入合成激素的前体物质

虽然一些研究证明, 根际加入微生物制剂后可以明显增加作物的产量, 但在接种之后植物的生长表现却不尽一致, 甚至在多数情况下这种促进作用缺乏可重复性^[9]。为了消除这些相互矛盾的现象并提高实验的可重复性, 美国加州大学 Frankenberger 博士所在的实验室进行了接种微生物-激素合成前体相互作用的研究工作, 即在向土壤中接种微生物制剂的同时, 再加入一定量的某种激素的前体物质, 或只加入激素的前体物质。通过加入的微生物或者土壤中固有的微生物将有用的前体转化为相应的植物激素, 再经植物根系的吸收和利用, 对植物的生长产生影响。合适的前体物质及其可利用性是影响微生物分泌 PGRs 的重要因素之一。实验证明, 在有前体物质存在的情况下接种微生物比只接种微生物更为有效。同样, 同时接种微生物并加入激素的前体物质也比单独使用前体物的效果要好。加入前体物质确有明显促进植物生长的效应, 并使土壤中的 PGRs 产量有所提高^[8,9]。

生长素(IAA)

许多微生物都可以在培养条件下或者在土壤中活跃地参与生长素的合成。从土壤中分离出来的有机体, 包括细菌、真菌、酵母、放线菌和水藻等都具有合成生长素和类生长素物质的能力^[9], 并且许多微生物可以合成一种以上的生长素。从各种作物的根际和根表分离的微生物具有比从土壤中分离的微生物更强地产生 IAA 的能力。由于土壤中微生物合成 IAA 的能力与土壤的营养状况以及有机物质的含量有关, 所以土壤中生长素的产生仅在植物根际或者底物及微生物富集的部位较为活跃。在根际环境中, IAA 的含量比在非根际环境中高 3 倍^[27]。玉米根际土壤中生长素类似物的含量也比非根际土壤中的含量高, 特别是在幼苗的萌发阶段^[34]。

有关微生物产生的生长素对植物生长和发育作用的研究相对较少。但有研究证明, 真菌和细菌引起的一些植物异常症状可能是由于这些微生物产生的生长素作用的结果^[13]。虽然从根际土壤中分离出来的微生物比非根际微生物有更强的产生 IAA 的能力, 但只有当这些生长素不被其它微生物分解, 并且能够被植物根系吸收时, 才有可能影响植物的生长^[4], 而植物同微生物的共生关系(如与菌根真菌)就提供了一种植物吸收外源 IAA 的直接途径^[17]。

用 IAA 和 GA₃ 处理番茄幼苗对植物生长的作用类似于用褐球固氮菌的培养液处理的结果^[43]。用根瘤菌、固氮菌和假单胞菌培养的无细胞上清液对植物生长的作用类似于将生长素、赤霉素和激动素结合使用的效果^[10]。用生长素—赤霉素—激动素制剂处理 *Pennisetum americanum* L. 使根形态发生的变化类似于向土壤中接种固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)后所产生的效应^[39]。Frankenberger 和 Poth^[20]直接证明了由接种的色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)将 IAA 的合成前体色氨酸(TRP)转化成 IAA 对黄杉(*Douglas fir*)生长的影响。实验前, 他们已经证明了这种真菌在纯培养条件下由 L-TRP 合成生长素的能力。实验中他们测定了土壤中加入的 TRP 对植物株高、茎直径、根、茎重量及根/冠比的影响。发现在无 TRP 存在的情况下, 接种和不接种真菌对植物的生长均无影响。但在加入 TRP 溶液之后, 特别是加入低浓度的 TRP(10^{-8} ~ 10^{-6} M; 0.34

~34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 土壤)后,接种真菌对植物的生长有明显的促进作用。说明这是由生长素引起的生理效应,而不是由于矿质营养的作用。其中变化最显著的是根的伸长。对根进行研究后发现,这种真菌菌丝的作用是很明显的,但它只有在供应了 TRP 之后才能够起作用。另一研究证明,向土壤中加入 L-TRP 可以增加萝卜的产量,最适处理时间在幼苗萌发阶段,浓度为 3.0 mgL^{-1} TRP/kg 土壤,并且使用一次就明显有效。而叶面施用 L-TRP 无效果。由于向土壤中加入 L-TRP 和生长素对植物生长有类似的影响,而且实验中又无养分亏缺现象,因而推测可能是由于土壤中微生物将 L-TRP 转化为生长素促进了植物的生长^[21]。此外,向土壤中施用 L-TRP 也能明显增加西瓜和甜瓜的产量^[19]。

赤霉素(GAs)

赤霉素最早就是从一种名叫藤仓赤霉(*Gibberella fujikuroi*)的真菌中分离得到的。在 84 种已知的 GA₁ 中,有 26 种已经从藤仓赤霉中鉴定得到^[37],其中包括 GA₃,这是一种活性很高的赤霉素,但一般不存于植物体中。在高等植物中,GA₁ 的合成前体是甲瓦尼龙酸,而藤仓赤霉合成 GAs 的底物可能是甲瓦尼龙酸、蔗糖、乙酸和 3-甲基丁烯酸等物质^[9]。Rossi 等^[34]报道,在玉米根际土壤中发现的 GA 类似物的数量大于非根际土壤,特别是在幼苗的萌发阶段。从欧洲赤松根际中分离出来的 55% 的细菌和 80% 的真菌都具有产生 GAs 及其类似物的能力^[24]。

微生物产生的 GA₃ 也可以影响植物的生长。正是由于发现了水稻在感染能够产生 GA 的细菌而表现出异常伸长生长的现象后,才发现了赤霉素。一定浓度的 GA₃ 对番茄植株生长的效应类似于将褐球固氮菌接种到土壤中的作用^[14]。Tien 等^[39]证明,用生长素—赤霉素—激动素处理对珍珠稗植株产生的形态学效应与在土壤中接种 *Azospirillum brasilense* 后的效果类似。由于在一些微生物培养液中测到了 GA 的类似物活性,特别是那些用于接种的微生物,所以使人们相信,GA₁ 同其它的微生物代谢物一起可以影响植物的生长和发育^[9]。

细胞分裂素

Nieto 和 Frankenberger^[30]列出了具有合成细胞分裂素能力的 18 种细菌和 20 种真菌。大多数可以产生细胞分裂素的微生物,特别是可以固氮的细菌,也可以合成生长素或者赤霉素,或者二者均有。这样,当把这些微生物作为接种物接种到土壤中时,就会具有双重的好处:植物既可以利用微生物固定的氮,又可以利用微生物产生的植物激素^[9]。

Nieto 和 Frankenberger^[28]测试了三种固氮菌和两种假单胞菌在培养过程中产生细胞分裂素的能力,并使用了含有嘌呤环的不同化合物及类异戊二烯化合物,检查它们作为细菌合成细胞分裂素底物的可能性。其中腺嘌呤(ADE)和异戊烯基乙醇(IA)可以在所有测试的细菌培养滤液中促进细胞分裂素的合成,而褐球固氮菌产生细胞分裂素的能力最强。同时他们又用不同浓度的 ADE(单独或者与 IA 共同施用)处理土壤,并接种了褐球固氮菌,测定土壤中的细胞分裂素含量^[29]。在处理之后测到了土壤中的玉米素和玉米素核苷,其中浓度为 1.35×10^{-4} g ADE/g 土壤的处理,无论是单独施用或者与 IA、与褐球固氮菌共同施用,在 5 天后的处理过程中都可以使土壤中的细胞分裂素达到最高水平。这说明,无论是褐球固氮菌或是土壤中固有

的微生物都具有产生玉米素和玉米素核苷的能力。

最近另一研究在玉米根际土壤中测到了相当于 $5.50\mu\text{g/g}$ 的异戊烯基腺嘌呤^[34]。虽然在幼苗萌发过程中所测到的土壤中生长素和赤霉素的含量较高,但在花期所测到的含量最高的激素为细胞分裂素类似物。在向土壤中施用不同浓度的 ADE 和 IA,并接种了可以产生细胞分裂素的褐球固氮菌之后,观察对萝卜和玉米植株生长的作用时发现,一定浓度的 ADE 和 IA 以及同时接种褐球固氮菌可以最大程度地促进植物的生长,包括增加根和茎组织的干重、叶面积及叶绿素含量等。这种处理对植物生长的促进作用大于仅施用细胞分裂素的合成前体(ADE 或 IA)或仅仅接种褐球固氮菌的作用。因而推测,这可能是由于植物根际微生物产生的细胞分裂素作用的结果,而不是植物直接利用了 ADE 和 IA^[31,32]的原因。已知外源使用的细胞分裂素可以促进细胞分裂、根系发育及根毛的形成、根的伸长、叶片增大、叶绿素形成、花的形成、果实发育、抑制衰老及刺激蛋白质、DNA 和 RNA 合成等^[40]。

乙 烯

与其它激素相比较,对微生物产生乙烯的研究较多。因为乙烯比较容易检测。测定结果表明,乙烯是土壤气体中的常见组分。在某些条件下,它可以达到足以影响植物生长和发育的程度^[35]。在埃及,对从染病的植物根系中分离得到的 80 种真菌进行了检查,发现其中 31% 的真菌所产生的乙烯浓度在 0.4 至 $380\mu\text{g/g}$ 之间^[18]。在玉米的根际也富含含有可以由蛋氨酸(MET)产生乙烯的微生物,其中以真菌为主^[3]。此外,在真核和原核生物中,产生乙烯的现象很普遍^[16]。Arshad 和 Frankenberger^[9]列出了可以产生乙烯的 50 种真菌和 18 种不同的细菌。

至于哪一类土壤微生物产生的乙烯量最大尚有不同看法。Lynch^[26]认为,乙烯主要是由真菌产生的,因为它们一般构成了微生物的土壤生物量的最大部分,并且是土壤中可利用底物的最重要的使用者。而 Cook 和 Smith^[15]则认为,乙烯主要由细菌产生,因为在有利于真菌生长的低水势环境条件下不会产生乙烯。一般认为,可以作为碳源或者作为可能的竞争性酶底物的有机物的性质控制着产生乙烯的异养型微生物的种类^[5,6]。

在高等植物中,L—MET 是乙烯的合成前体^[1],它也可以作为细菌^[38]和真菌^[25]产生乙烯的前体物质。但研究发现,土壤中微生物的乙烯合成途径与高等植物有所不同。用 *Acremonium falciforme* 测定其合成乙烯的能力表明,虽然 L—MET 是最佳的乙烯合成的前体物质,但 *A. falciforme* 却不能利用 SAM 和 ACC 作为底物产生乙烯,SAM 和 ACC 是植物由 L—MET 合成乙烯的中间产物。这意味着 *A. falciforme* 不能以 SAM 作为碳源。因此认为,至少在 *A. falciforme* 中,其乙烯的合成途径与高等植物中不同^[3]。最近又证明,不仅向土壤中加入 L—MET 可以增加乙烯的产量,而且使用乙硫氨酸(L—ETH)也可以提高土壤中乙烯的产量,虽然这不能排除植物根系吸收及利用这些底物合成乙烯的可能性^[7]。但他们以前的实验结果证明,向经过灭菌的土壤中加入 L—MET 不影响黄化豌豆幼苗的生长,只有在土壤未经灭菌的条件下,加入的 L—MET 才能影响植物的生长。说明这是一种微生物参与的反应^[2]。此外,也未见有植物可以利用 L—ETH 合成乙烯的报道。这意味着,土壤微生物有可能利用 L—ETH 作为前体物质合成乙烯。由植物根系分泌的氨基酸、有机酸和碳水化合物等物质都可以刺激土壤中乙烯的生物合成^[5]。这表明,植物根际是微生物合成乙烯的理想场所。因为在这里,底物水

平及微生物群落都相对较为集中。

在根附近,乙烯的浓度常会高到足以影响植物生长的程度,并可以从根部向地上部分迅速移动^[23]。在淹水的土壤中,乙烯的浓度可以达到土壤中乙烯浓度的上限^[36]。这可能是由于乙烯在水中的难溶性以及在无氧条件下,土壤微生物分解减少,从而使乙烯稳定性增加的缘故。

土壤中由微生物产生的乙烯可以影响植物的生长。10nl/L的乙烯就可以引起植物的反应。当乙烯浓度达到25nl/L时,可以阻碍果实和花的发育^[33]。Arshad和Frankenberger^[2]证明了由土壤中微生物在L—MET存在的情况下产生的乙烯对黄化豌豆幼苗产生的影响,并观察到了由乙烯引起的典型“三重反应”,即伸长生长减少,下胚轴增粗以及生长方向的改变。将幼苗暴露在乙烯气体中也表现出同样的症状。但是也有向土壤中加入乙烯的合成前体后促进植物生长的例证。在植物的幼苗期,向土壤中加入L—MET或L—ETH可以分别促进玉米和番茄植株的生长,包括增加茎高度、根、茎的重量、节间距离以及果实产量等^[7]。

应用前景

我国是一个农业大国,由于人口众多,人均耕地面积少,粮食产量普遍偏低,因而如何提高作物产量,一直是我国农业发展中的一个中心问题。

以往认为,一些土壤微生物,特别是具有固氮能力的微生物,之所以能够改善作物的生长状况,主要是由于它们提供了植物生长所必须的可利用态氮。而从上述讨论的研究结果可以看出,土壤中的微生物至少也可以通过产生植物生长调节物质来影响植物的生长。长期的生产实践和大量研究都表明,土壤中有机体产生植物生长调节物质的现象极其普遍。因此,世界上许多国家很早就已开始尝试向土壤中接种可以产生特殊植物激素的微生物,试图以此来改善植物的生长状况。近年来又开始试验向土壤中施用植物激素合成的前体物质,定向地控制某种激素在植物根际的产生和释放,来影响植物的生长,并且已经取得了一定的效果。但这项工作在我国尚未得到应有的重视。

根际是微生物合成植物生长调节物质的理想场所。植物根系在这里分泌有大量的有机物质,而微生物群落的密度也相对较高。此外,由于植物根系同微生物在这一区域紧密接触,使得作为微生物次生代谢产物的植物生长调节物质能够被植物根系直接吸收并利用。而那些最有效的微生物群落或许是那些共生的可以固定氮的微生物以及菌根真菌。它们可以穿透根的皮肤进入根内,并直接做为接种体。有报道证明,在不加入各种PGRs前体物质的情况下,这些微生物可以促进植物的生长并且提高产量^[9]。因而,使用这些微生物作为接种体,并加入合适的前体物质,有可能进一步促进植物的生长和发育。

向土壤中施用天然或者人工植物生长调节物质,一方面花费太高。另一方面,由于在土壤中的吸收,转移和降解,限制了它在农业生产中的应用。与这种一次性施用价格高昂的合成物质相比,向土壤中加入植物激素的前体物质,通过土壤中固有微生物或者接种的微生物的代谢或转换,可以向植物提供廉价的、源源不断的生长活性物质。因而,向土壤中接种微生物及施用植物激素的前体物质打开了农业生产中的一个新领域,并具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

[1] Adams, D. O. and S. F., Yang, 1979, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 170—174.

- [2] Arshad, M. and W. T. Jr. Frankenberger, 1988, *Appl. Environ. Microbiol.* , 54:2728—2732.
- [3] -1989, *Soil Biol. Biochem.* , 21:633—638.
- [4] -1990a, *Plant and Soil* , 133:1—8.
- [5] -1990b, *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 54:1026—1031.
- [6] -1990c, *Biol. Fertil. Soils*, 10:29—34.
- [7] -1990d, *Plant and Soil* , 122:219—222.
- [8] -1991, In: The rhizosphere and plant growth, D. L. Keister and P. B. Cregan (eds), Kluwer Academic Publishers, pp. 327—334.
- [9] -1993, In: Soil Microbial Ecology, F. Blaine Metting, Jr. (eds), Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 307—347.
- [10] Azon, R. et al. , 1978, *New Phytol.* , 80:359—364.
- [11] Barea, J. M. and M. E. Brown, 1974, *J. Appl. Bacteriol.* , 37:583—593.
- [12] Barea, J. M. et al. , 1976, *J. Appl. Bacteriol.* , 40:129—134.
- [13] Brian, P. W. , 1957, *Symp. Soc. Exp. Biol.* , 11:166—182.
- [14] Brown, M. E. et al. , 1968, *J. Exp. Bot.* , 19:544—552.
- [15] Cook, R. J. and A. M. Smith, 1977, *Can. J. Microbiol.* , 23:811—817.
- [16] Dasilva, E. J. et al. , 1974, *Plant Sci. Lett.* , 2:63—66.
- [17] Ek, M. et al. , 1983, *New Phytol.* , 94:401—407.
- [18] El-Sharouny, H. M. , 1984, *Mycopathology* , 85:13—15.
- [19] Frankenberger, W. T. Jr. and M. Arshad, 1991, *Hort Science.* , 26 (1):35—37.
- [20] Frankenberger, W. T. Jr. and M. Poth, 1987, *Appl. Environ. Microbiol.* , 53:2908—2913.
- [21] Frankenberger, W. T. Jr. et al. , 1990, *Plant and Soil.* , 129:235—241.
- [22] Hussain, A. et al. , 1987, *Biol. Fertil. Soils.* , 4:73—77.
- [23] Jackson, M. B. and D. J. Campbell, 1975, *New Phytol.* , 74:397—406.
- [24] Kampert, M. et al. , 1975, *Acta Microbiol. Pol.* , 7:157—166.
- [25] Lynch, J. M. , 1974, *J. Gen. Microbiol.* , 83:407—411.
- [26] Lynch, J. M. , 1983, *Plant and Soil* , 70:415—420.
- [27] Narayanaswami, R. and V. Veeruru, 1969, *Curr. Sci.* , 38:517—518.
- [28] Nieto, K. F. and W. T. Jr. Frankenberger, 1989a, *Soil Biol. Biochem.* , 21:967—972.
- [29] —1989b, *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 53:735—740.
- [30] —1990a, In: Soil Biochemistry, Vol. 6, J. M. Bollag and G. Stotzky (eds). Marcel Dekker, New York , pp. 191—248.
- [31] —1990b, *Plant and Soil* , 127: 147—156.
- [32] —1991, *Plant and Soil* , 135:213—221.
- [33] Primrose, S. B. , 1979, *J. Appl. Bacteriol.* , 46:1—25.
- [34] Rossi, W. , et al. , 1984, *Folia Microbiol.* , 29:325—329.
- [35] Smith, A. M. , 1976, *Annu. Rev. Phytopathol.* , 14: 53—73.
- [36] Smith, K. A. and R. J. Dowdell, 1974, *J. Soil Sci.* , 25: 217—230.
- [37] Sponsel, V. M. , 1987, In: Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development. P. J. Davies (ed.). Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp. 43—75.
- [38] Swanson, B. T. et al. , 1979, *Plant and Soil* , 51: 19—26.
- [39] Tien, T. M. et al. , 1979, *Appl. Environ. Microbiol.* , 37: 1016—1024.
- [40] Wareing, P. F. and I. K. J. Phillips, 1981, Growth and Differentiation in plants. 3rd Ed. , Pergamon Press, pp. 64—66.