

小麦根际促生菌的筛选与促生作用研究

刘秀花, 梁峰 (商丘师范学院生物系, 河南商丘 476000)

摘要 通过室内盆栽试验,从小麦根际分离出 9 株有促生作用的芽孢杆菌。其中 B5 具有较好的促生作用,通过细胞形态和生理生化指标测定,确认其属于蜡状芽孢杆菌。

关键词 小麦;芽孢杆菌;根际微生物

中图分类号 S512.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)20-5300-02

Screening and Identification of Plant Growth-promoting Rhizobacteria of Wheat

LIU Xiu-hua et al (Department of Biology, Shangqiu Normal College, Shangqiu, Henan 476000)

Abstract Nine strains of *Bacillus* were separated from the wheat roots, which distinctly showed the effect on the plant growth promoting. One of these strains (B5), having the best promoting effect, was determined in cell shape, physiological characteristic and chemical reaction and it belonged to *Bacillus cereus*.

Key words Wheat; *Bacillus*; Rhizosphere; Microorganism

根际是指生物和物理特性受到根影响的紧密环绕植物根的区域。根际周围存在着大量的微生物,以细菌为主,大多数对植物是中性的,少量是有害菌或有益菌。对那些能直接或间接促进植物生长的有益菌称为根际促生菌(PGPR),其中报道最多的是假单胞菌^[1],芽孢杆菌的促生作用也有少量报道。由于芽孢杆菌能产生芽孢,具有独特的抗逆特点,已经越来越多的受到研究者的关注。笔者在芽孢杆菌有益菌的筛选的基础上,研究了小麦根际有益芽孢杆菌存在的数量和促生作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤样品。分别从河南省的淇县、舞阳县、鹤壁市、长葛市、灵宝县和新安县等地的麦田中取样。在小麦分蘖期,将整株小麦带土挖出,抖落根部土壤,装入无菌纸袋,带回实验室,备用。

1.1.2 分离培养基。牛肉膏蛋白胨培养基(%)^[2]:牛肉膏为 0.5 g,蛋白胨为 1.0 g,水为 100 ml,NaCl 为 0.5 g,pH 值为 7.2。

1.1.3 鉴定用培养基。参照文献[3]的方法配制。

1.1.4 供试麦种。偃展 4110,为早熟品种,由商丘市种子公司提供。

1.1.5 营养液。Hoagland 营养液^[4]。

1.2 方法

1.2.1 菌种的分离与纯化。将小麦根部剪成 1 cm 根段,用清水冲洗 5 min,80℃恒温水浴 10 min,冷却后,点种在牛肉膏蛋白胨平板上。37℃培养 2 d,挑取根段周围的菌落进行平板划线。培养 24 h,挑取纯化菌落,用孔雀绿染色法^[5]镜检确认是否产生芽孢,选取产芽孢的菌种,备用。

1.2.2 菌悬液的制备。取培养 18 h 的斜面菌种,加入适量的无菌生理盐水,采用血球计数板镜检计数,菌悬液的浓度调整到 5×10^8 个/ml 备用。

1.2.3 麦种及处理。首先用饱和的氯化钠溶液选种,选出饱满完整的麦种。用浓度为 10% 的双氧水表面消毒 5 min,用蒸馏水漂洗 4~5 次^[6]。设 1 个对照,用无菌水处理,其他用菌

悬液处理,处理时间为 24 h。

1.2.4 播种与测量。选用口径为 12 cm 的塑料盆,盆底部放双层滤纸,加入消毒的河砂,高度为距盆面 1.5 cm。每盆均匀播种 10 粒种子,播种深度为 1 cm,3 个重复。待出苗后留 5 株长势接近的幼苗。适时添加无菌水,每隔 5 d 每盆加 5 ml Hoagland 营养液。保证适当的水分和养分供应,在出芽后每 5 d 观测记录 1 次,测定株高,待成苗后称鲜重,测根长。

1.2.5 菌种鉴定。参照文献[3]对获得的细菌进行形态学特征鉴定和生理生化指标测定。主要检测方法有革兰氏染色,细菌大小测量,过氧化氢酶的测定,需氧性试验,乙酰甲基甲醇试验,从碳水化合物产酸试验,柠檬酸盐利用试验,酪素水解试验,淀粉水解试验,酪氨酸水解试验,苯丙氨酸脱氨试验,卵磷脂酶的测定,硝酸盐还原试验,在 pH 值为 5.7 的葡萄糖培养基中生长试验,生长温度测定,对溶菌酶抗性试验,耐盐性试验。

2 结果与分析

2.1 根际细菌对小麦的促生作用 菌种分离纯化后,共获得 68 株产芽孢细菌,经过接种试验,发现有 9 株对小麦有促生作用,占分离纯化细菌的 13.2%。有促生作用的分别是编号为 B5、B8、B12、B21、B32、33、B47、B50 和 B61 的菌株。

从图 1 可以看出,除 B12 比对照稍低外,各菌株的株高与对照相比都有不同程度的提高,其中 B5 较为突出,株高比对照提高了 17.2%。

从图 2 可以看出,各处理对小麦幼苗鲜重的影响不同。

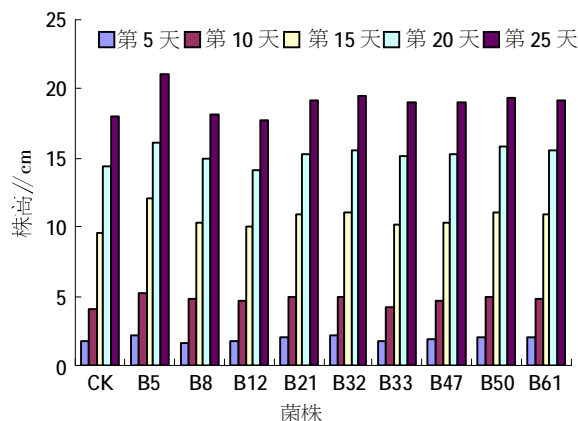


图 1 不同菌株对小麦株高的影响

基金项目 河南省自然科学基金资助项目(项目编号:0511030200)。

作者简介 刘秀花(1963-),女,河南新乡人,副教授,从事农业微生物学研究。

收稿日期 2006-06-13

B5 的促生效果比较明显,与对照相比提高了 21%。且从小麦生长状况也可以看出,B5 叶色葱绿、叶型厚实,与对照形成较明显的差异。

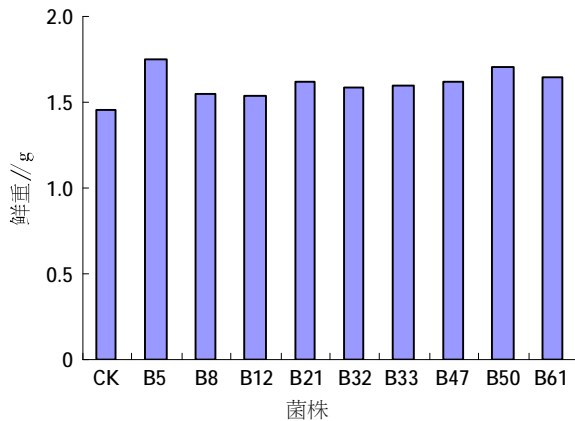


图 2 不同菌株对小麦鲜重的影响

从测量的小麦的根长分析(图 3),B5 比对照提高了 20.5%。通过制片和显微镜观察比较,发现 B5 根表微生物的分布量明显高于对照。

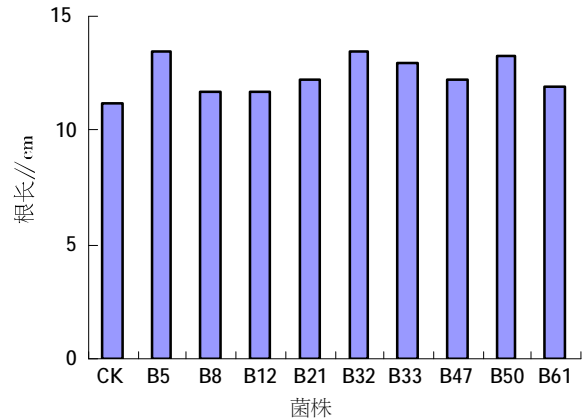


图 3 不同菌株对小麦根长的影响

2.2 菌种鉴定 9 株小麦促生菌的鉴定进行结果见表 1。获得的 4 种芽孢杆菌分别是:蕈状芽孢杆菌(B32),蜡状芽孢杆菌(B5 和 B50),枯草芽孢杆菌(B8 和 B12),巨大芽孢杆菌(B21、B33、B47 和 B61)。

表 1 9 株芽孢杆菌的生理生化特征

菌种	革兰氏染色	菌体宽 > 1 μm	过氧化氢酶	厌氧生长	VP 反应	VP 反应 pH 值	D-葡萄糖产酸	L-阿拉伯糖产酸	D-木糖产酸	D-甘露醇产酸	柠檬酸盐利用	水解酪素	水解淀粉	酪氨酸分解
B5	+	+	+	+	-	5.0	+	-	-	-	+	+	+	+
B8	+	-	+	-	+	6.3	+	+	+	+	+	+	+	-
B12	+	-	+	-	+	6.3	+	+	+	+	+	+	+	-
B21	+	+	+	+	-	5.8	+	-	-	+	+	+	+	-
B32	+	+	+	+	+	6.5	+	-	-	-	+	+	+	+
B33	+	+	+	-	-	6.1	+	+	-	+	+	+	+	-
B47	+	+	+	-	-	5.6	+	+	-	+	+	+	+	+
B50	+	+	+	+	+	5.1	+	-	-	-	+	+	+	+
B61	+	+	+	+	+	5.8	+	-	-	+	+	+	+	+

菌种	苯丙氨酸脱氨	卵磷脂酶	NO ₃ 产生 NO ₂	pH 值 6.8 生长	pH 值 5.7 生长	NaCl 2% 生长	NaCl 5% 生长	NaCl 7% 生长	30 °C 生长	40 °C 生长	50 °C 生长	55 °C 生长	65 °C 生长	溶菌酶肉汤生长
B5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
B8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B12	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
B21	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B32	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
B33	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B47	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B50	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
B61	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: +为阳性,-为阴性。

3 结论与讨论

根际微生物与作物根系存在共生关系,与作物根系的生长发育、营养物质的吸收、病害控制等关系密切,通过调整作物根际有益微生物数量从而实现农作物的稳产、高产及安全优质已受到人们的广泛关注^[6]。

从处于分蘖阶段的小麦根际分离的细菌中,约有 20% 能产生促进植物生长的物质,它们包括吲哚类、赤霉素类、激动素类等生物刺激素和多种维生素物质。Klopper 等从春小麦的根际土壤中分离出了 Bacillus 属的 7 个菌株,分别将它们回接到原小麦品种上,发现有 6 个菌株促进了小麦的生长,而接种到另外 2 个小麦品种上却没有这种反应^[7]。这表明 PGPR 对同一作物的不同品种保持了不同的亲和性。

PGPR 也可以通过抑制有害微生物而促进植物生长,产生抗菌物质是抑制有害微生物的一种方式,这些物质还会对植物产生刺激作用。铁载体是微生物产生的一种特殊的能与铁结合的有机化合物,它能溶解 3 价铁并将其转运入

细胞。铁载体的主要基因是异羟肟酸的衍生物,它能牢固地与 3 价铁结合。PGPR 能产生较多的铁载体,因此,在与不能产生铁载体或产生铁载体较少的有害微生物竞争铁素时占有优势,使它们得不到铁素而受抑制,从而改善植物的营养。在铁素贫乏的土壤中这种效果更为明显^[8]。

根系可以向环境中释放大量的有机化合物,因此根表面的微生物种群密度和种类明显高于非根际土壤。Bennet 等认为小麦根际固氮菌数量的决定性因素是根分泌物的特定组成成分,而不是根分泌物的量^[9]。Prikryl Z 等发现小麦根际微生物可以转化小麦根分泌物中糖等有机化合物,刺激根分泌物的分泌^[10]。

该试验共获得 9 株对小麦有促生作用的芽孢杆菌,不同菌种、同一菌种不同菌株对小麦的促生作用各不相同,这说明根际微生物的促生作用具有一定的专一性,这给学者们在研制微生物菌肥上提出了一个重要课题。该试验中获

(下转第 5308 页)

(上接第 5301 页)

得的 B5 菌株具有较明显的促生作用,但对它的作用机理及其对不同小麦品种的适应性还需进一步的研究。

参考文献

- [1] 陈晓斌,张炳欣.植物根围促生菌(PGPR)作用机制的研究进展[J].微生物学杂志,2000,3(20):38-44.
- [2] 钱存柔.微生物学实验教程[M].北京:北京大学出版社,1999:205.
- [3] 宋大新,范长胜,徐德强,等.微生物实验技术教程[M].上海:复旦大学出版社,1993:12.
- [4] 韦三立.花卉无土栽培[M].北京:中国林业出版社,2000:61-69.
- [5] 徐幼平.阴沟肠杆菌 B8 发酵液对植物的促生作用和 IAA 分析[J].浙江大学学报,2001,27(3):281-282.

- [6] 占新华,蒋延惠,徐阳春,等.微生物制剂促进植物生长机理的研究进展[J].植物应用与肥料学报,1999(5):97-105.
- [7] KLOEPPER J W,SCHROTH M N.Plant growth -promoting rhizobacteria and plant growth undergrotobiotic conditions [J].Phytopathology,1981,71(6):642-644.
- [8] SCHIPPERS B,CHANWAY L M.Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices [J].Appl Environ Microbiol,1987(25):339-358.
- [9] BENNETT R J,BREEN C M.Aluminum toxicity:Towardsan understanding of how plant root react to the physical environment [J].Dev Plant Soil Sci,1981(50):103-116.
- [10] PRIKRY L Z. Root exudates of plant[J].Plant Soil,1980(57):69-83.