

DOI:10.11937/bfyy.201518007

两株促植物生长根际细菌对辣椒的促生效果及其在辣椒根际定殖能力

吕雅悠, 丁方丽, 王娟, 文才艺, 闫凤鸣, 申顺善

(河南农业大学 植物保护学院, 新型农药创制与应用河南省重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘要:以2株促植物生长根际细菌A21-4和HG28-5菌株为试材,在穴盘栽培条件下,探究了2种菌株浸种处理对辣椒出苗、生长发育和根际土壤生态的影响,以及其在辣椒根际的定殖能力。结果表明:A21-4和HG28-5浸种处理能显著提高辣椒出苗势,比对照分别提高40.54%和37.85%;同时,A21-4和HG28-5均显著促进辣椒苗期生长、叶绿素含量和根系活力,叶绿素含量各比对照增加65.49%和43.66%,根系活力各比对照提高77.91%和55.81%;此外,A21-4和HG28-5均显著提高辣椒根际土壤酶活性、有机质和速效磷的含量,尤其是A21-4的脲酶活性比对照提高66.01%,有机质含量比对照增加66.62%,HG28-5的磷酸酶活性比对照提高88.16%,速效磷含量比对照增加67.53%。另外,A21-4和HG28-5均具有良好的根际定殖能力,在皿内采用双层滤纸法测定其定殖密度,分别为 2.15×10^5 cfu/cm和 4.75×10^5 cfu/cm,在穴盘育苗期间,A21-4和HG28-5在辣椒根部定殖密度各能维持 10^5 cfu/cm和 10^6 cfu/cm左右,在根际土壤能保持 10^4 cfu/cm和 10^5 cfu/cm以上的定殖密度。

关键词:促植物生长根际细菌;促生效果;土壤酶活性;根际定殖

中图分类号:S 641.306⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0026-05

促植物生长根际细菌(plant growth promoting rhizobacteria,简称PGPR)是指自由生存在植物根围区域,对植物生长有直接或间接的促进作用,并抑制有害微生物的有益细菌统称。PGPR作为最具防病潜力与应用价值的一类生防菌,对植物具有显著的促生长作用^[1-4],对土壤中有害病原微生物与非寄生性根际有害微生物都有生防作用,可增加作物产量,在特殊的根际土壤微环境中与植物发生相互作用,促进植物吸收利用矿物质营养,改善植物根际的营养环境^[5-10],成为专家学者的研究热点。

自然界存在着很多有益微生物,尤其是在植物根际聚集着大量的促生防病微生物。该研究为了筛选能够促进植物生长的微生物资源,从河南省的不同地区采集了各种植物样品57份,分离微生物,获得507株根际细菌。根据其解磷功能和产吲哚乙酸(IAA)能力初步筛选

PGPR资源,然后进行浸种处理,筛选具有潜力的PGPR菌株。该研究在前期筛选试验中筛选出A21-4和HG28-5 2株具有潜力的PGPR菌株,进一步探讨A21-4和HG28-5的种子处理对辣椒的促生效果、对辣椒根际土壤的影响以及在辣椒根际的定殖能力,为创制新型环境友好型微生物种子处理剂提供资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

PGPR菌株A21-4和HG28-5菌株是从洋葱和小麦根部分离所得,并采用逐步提高诱导浓度的方法获得稳定的抗利福平(100 μL/mL)菌株,保存于-70℃超级冷冻冰箱。供试辣椒品种“豫艺农研19”由河南省豫科种子服务部提供,供试培养基为TSA培养基(Trypticase Soya Broth 30 g,琼脂粉15 g,蒸馏水1 000 mL)。

1.2 试验方法

1.2.1 PGPR菌悬液的配制 将PGPR菌株A21-4和HG28-5在TSA培养基上培养2 d后,用0.1 mol/L MgSO₄无菌溶液制成 10^8 cfu/mL浓度的菌悬液。

1.2.2 PGPR菌株处理与辣椒的培育 选取健康辣椒种子,用A21-4和HG28-5菌悬浮液(10^8 cfu/mL)浸种处理1 h后,播种至穴盘(育苗基质为郑州金世纪育苗基质

第一作者简介:吕雅悠(1990-),女,硕士研究生,研究方向为蔬菜植物病害防治。E-mail:lvyayou2010@163.com。

责任作者:申顺善(1966-),女,博士,教授,研究方向为植物病害生物防治。E-mail:shen0426@163.com。

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201303030)。

收稿日期:2015-06-17

有限公司生产的“新一代蔬菜育苗基质”),在25~28℃自然光周期的温室内培育,播种第10天和第14天调查辣椒种子出苗率,第60天调查辣椒苗期生育指标和生理指标。

1.3 项目测定

1.3.1 辣椒生育和生理指标测定 辣椒生育指标测定了辣椒株高、茎粗、叶面积、地上部鲜重、根部鲜重,生理指标测定叶绿素含量和根系活力。叶绿素含量的测定采用分光光度法,根系活力的测定采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法^[11]。

1.3.2 辣椒根际土壤酶活性的测定 辣椒根际土壤脲酶活性测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,以24 h后1 g土壤中NH₃-N的毫克数表示;磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法,以24 h后1 g土壤中释放出的酚质量表示^[12]。

1.3.3 辣椒根际土壤有机质和速效磷的测定 辣椒根际土壤有机质含量的测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法,速效磷含量的测定采用碳酸氢钠法^[13]。

1.3.4 PGPR菌株根际定殖能力测定 PGPR菌株的根际定殖能力采用皿内双层滤纸法(double layer filter paper method, DLF)、穴盘检测法。皿内双层滤纸法为:将70%的酒精表面消毒好的辣椒种子浸泡于PGPR菌液(10⁸ cfu/mL)中处理1 h后,用无菌水涮洗3次,用吸水纸吸干,然后将辣椒种子整齐放于铺有一层湿润滤纸的培养皿(直径90 mm)中,表面再盖一层湿润滤纸,置于28℃恒温箱里培养,待种子长出根后,切取根尖1 cm,磨碎之后用0.1 mol/L MgSO₄溶液稀释一定浓度,涂抹在加利福平的TSA培养基平板上,置于28℃恒温箱内培养48 h,待形成菌落,检测菌落数推算出根际定殖能力。穴盘检测法为:将PGPR菌株种子处理后按1.2.2方法播种、培育。测定根部的定殖密度,轻轻拔出辣椒根部,在流水中清洗,剪取1 g研磨后用0.1 mol/L MgSO₄溶液稀释一定浓度涂抹在加利福平的TSA培养基平板上,置于28℃恒温箱内培养48 h,待形成菌落,检测菌落数推算出在辣椒根部的定殖密度;测定根际土壤中的定

表2 2株PGPR菌株对辣椒苗期地上部生长和叶绿素含量的影响

Table 2 Effect of pepper by seed inoculation with two PGPR strains on seedling growth and chlorophyll content

处理	株高	叶面积	茎粗	地上部 Shoot		叶绿素含量
Treatment	Plant height/cm	Leaf area/cm ²	Stem diameter/mm	Fresh weight/(g·株 ⁻¹)	Dry weight/(g·株 ⁻¹)	Chlorophyll content/(mg·g ⁻¹ FW)
A21-4	20.96±0.21a*	92.24±2.99a	3.24±0.02a	3.68±0.18a*	0.51±0.05a	2.35±0.04a
HG28-5	20.04±0.22a	82.78±3.12ab	2.76±0.04b	3.67±0.21a	0.49±0.04a	2.04±0.12a
CK	16.46±0.29b	79.01±2.82b	2.81±0.04b	3.29±0.12b	0.30±0.05b	1.42±0.06b

表3 2株PGPR菌株对辣椒根部生长和根系活力的影响

Table 2 Effect of seed inoculation with two PGPR strains on root growth and activity of pepper

处理	根鲜重	根干重	根系活力
Treatment	Fresh weight/(g·株 ⁻¹)	Dry weight/(g·株 ⁻¹)	Root activity/(mg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
A21-4	0.93±0.032a	0.067±0.005a	0.153±0.001a
HG28-5	0.87±0.051ab	0.060±0.001a	0.134±0.007a
CK	0.71±0.052b	0.050±0.003b	0.086±0.008b

殖密度,将取1 g根际土壤,用0.1 mol/L MgSO₄溶液稀释一定浓度涂抹在加利福平的TSA培养基平板上,按上述同样条件培养,待形成菌落,检测其定殖密度^[14]。

1.4 数据分析

采用Excel 2003和SPSS 13.0软件进行数据分析,应用Duncan氏新复极差法(SSR法)进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 PGPR菌株对辣椒种子出苗的影响

由表1可以看出,A21-4和HG28-5浸种处理均明显促进了辣椒种子出苗。播种第10天时A21-4和HG28-5浸种处理的辣椒出苗势达到69.33%和68.00%,而清水处理的对照出苗势仅为49.33%,2株PGPR菌株的浸种处理均显著提高辣椒出苗整齐度,其出苗势分别比对照提高40.54%和37.85%,而播种第14天时对辣椒出苗率没有显著差异,2株PGPR菌株浸种处理和清水对照处理均达到80%以上。

表1 2株PGPR菌株种子处理对辣椒种子出苗势和出苗率的影响

Table 1 Effect of pepper by seed inoculation with two PGPR strains on seed emergence potential and germination rate

处理	出苗势	出苗率
Treatment	Emergence potential/%	Germination rate/%
A21-4	69.33±2.10b	84.00±2.10a
HG28-5	68.00±2.50b	82.33±4.20a
CK	49.33±4.17a	81.25±4.31a

注:表中同列数据后不同小写字母表示差异显著($\alpha=0.05$),下同。

Note: The different lowercase letters after values show significant difference at $P<0.05$, the same below.

2.2 PGPR菌株对辣椒苗期生长的影响

由表2可以看出,2株PGPR菌株A21-4和HG28-5的浸种处理均显著促进苗期辣椒株高、茎粗和鲜重,显著增加叶面积和叶绿素含量,叶绿素含量各比对照增加65.49%和43.66%。同时,2株PGPR菌株的浸种处理均显著促进辣椒根系发育,显著提高根部鲜重和根系活力,根系活力各比对照提高77.91%和55.81%(表3)。

2.3 PGPR 菌株对辣椒根际土壤酶活性的影响

由图 1 可以看出,2 株 PGPR 菌株显著提高辣椒根际土壤脲酶和磷酸酶活性。其中 A21-4 菌株对辣椒根际脲酶活性的提高效果更为显著,其脲酶活性为

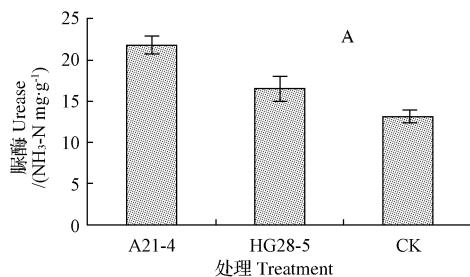


图 1 2 株 PGPR 菌株对辣椒根际土壤脲酶(A)和磷酸酶(B)活性的影响

Fig. 1 Effect of soil of pepper by 2 PGPR strains on urease (A) and phosphatase (B) activity of rhizosphere

2.4 PGPR 菌株对辣椒根际土壤有机质和速效磷含量的影响

由图 2 可知,2 株 PGPR 菌株的浸种处理均显著提高辣椒根际土壤有机质和速效磷的含量。其中 A21-4

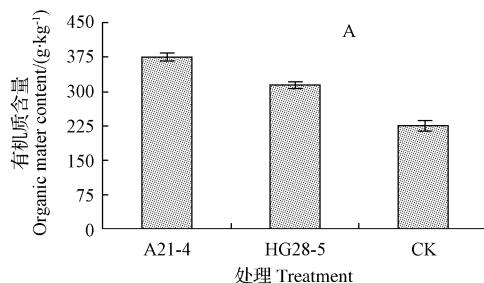


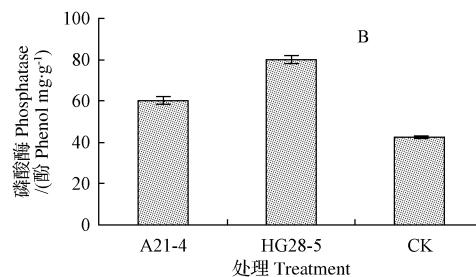
图 2 2 株 PGPR 菌株对辣椒根际土壤有机质(A)和速效磷(B)含量的影响

Fig. 2 Effect of soil of pepper by 2 PGPR strains on organic matter (A) and available phosphorus (B) activity of rhizosphere

2.5 PGPR 菌株在辣椒根际的定殖密度

由表 4 可以看出,2 株 PGPR 菌株 A21-4 和 HG28-5 在辣椒根际均具有良好的定殖能力。在皿内采用 DLF 法测定其定殖能力结果,A21-4 和 HG28-5 在辣椒发芽根上的定殖密度分别为 2.15×10^5 cfu/cm 和 4.75×10^5 cfu/cm。由图 3 可知,播种后在辣椒育苗期间,在辣椒根部和根际土壤中均保持一定的定殖密度,播种第 30 天时,A21-4 和 HG28-5 在辣椒根部的定殖密度各达到 10^5 cfu/g 和 10^6 cfu/g 以上,然后趋于稍微减少,但一直保持比较稳定的定殖密度(图 3A),在辣椒根际土壤的定

殖密度也趋于慢慢减少,但播种第 60 天时,A21-4 和 HG28-5 的定殖密度仍分别能达到 10^4 cfu/g 和 10^5 cfu/g 以上(图 3B)。



对有机质含量的提高效果更为显著,其有机质含量为 375.4 g/kg,比对照增加 66.62%(图 2A),HG28-5 对辣椒根际速效磷含量的提高效果更为显著,其速效磷含量为 51.6 g/kg,比对照增加 67.53%(图 2B)。

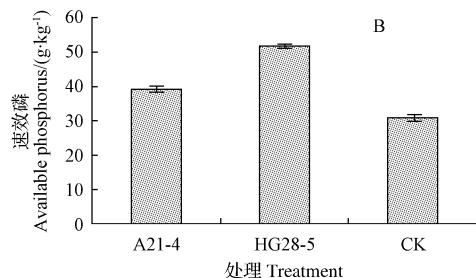


表 4 在皿内双层滤纸法测定 2 株 PGPR 菌株在辣椒根系定殖能力结果

Table 4 Root colonization ability of two PGPR strains on the root segment of pepper analyzed by double layered filter paper method

PGPR 菌株 PGPR strains	定殖密度 Colonization density/($\times 10^5$ cfu · cm ⁻¹ 根)	
	A21-4	HG28-5
A21-4	2.15 ± 0.01	
HG28-5		4.75 ± 0.01

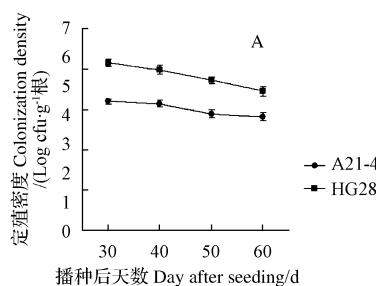


图 3 在辣椒育苗期间 2 株 PGPR 菌株在辣椒根部(A)和根际土壤(B)的定殖密度

Fig. 3 The root colonization density of 2 PGPR strains on the root (A) and rhizosphere soil(B) of pepper in seedling plug experiment

3 讨论

植物根际存在着很多对植物具有促生防病作用的优质高效的PGPR菌株。该研究筛选出的A21-4和HG28-5是分别从洋葱和小麦根际分离获得的对辣椒疫病、立枯病等多种植物病害具有防病效果的生防菌。通过该研究又确认了这2株生防菌不仅具有防病效果,而且还具有促进植物生长,调节土壤生态环境的功能,是具有潜力的PGPR菌株。一般认为,PGPR菌株能够调节土壤生态环境,促进植物吸收利用矿物质营养,可有效抑制土壤中有害生物,还可产生多种生物活性物质,从而表现出促进植物生长、提高作物产量、控制植物病害等多种生物学功能^[15]。该研究中A21-4和HG28-5菌株均显著提高辣椒发芽整齐度,同时显著促进辣椒苗期生长发育,增加叶绿素含量,提高辣椒根系活力,显示其研究的重要性。

植物根际是植物与外界环境交流的主要场所,土壤酶活性反映土壤养分的转化能力及总生物活性,是评价土壤肥力的重要指标,土壤脲酶是氮素转化的重要酶类,直接参与含N化合物的转化,促进氮素循环;土壤磷酸酶是一类催化有机磷化合物矿化的水解酶,与土壤中有机磷的分解转化及其有效性有密切相关。土壤速效养分是可被植物直接吸收利用的土壤养分,代表了土壤养分的供应强度^[16-18],与土壤酶活性具有密切相关。该研究中A21-4和HG28-5均显示提高辣椒根际土壤脲酶和磷酸酶的活性,同时增加速效磷和有机质的含量。这与2株PGPR菌株促进辣椒生长有密切相关,其具体的促生机制有待于进一步研究。

近年来,由于PGPR具有较强的根际定殖能力和独特的微生态学功能,已成为生防微生物资源的重要来源和研究热点。生防菌和PGPR菌株能够在植物根际生存并大量繁殖保持一定的定殖密度是其稳定发挥作用的前提。引入的生防微生物在植物根际定殖能力的强弱和稳定性是决定其效果的关键^[14,19-20]。该研究中A21-4和HG28-5均在辣椒根际具有良好的定殖能力,在辣椒根部和根际土壤中保持一定的定殖密度,能使其发挥其促生作用,表现出其应用前景。

2株具有潜力的PGPR菌株A21-4和HG28-5对辣椒根际土壤酶活性、土壤速效营养和土壤微生物的具体影响以及其相关性有待于进一步研究。

参考文献

- [1] ABBASI M K,SHARIF S,KAZMI M,et al. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth,yield and nutrient uptake of plant[J]. Plant Biosystems,2011,145(1):159-168.
- [2] 荣良燕,姚拓,赵佳琴,等.产铁载体PGPR菌筛选及其对病原菌的拮抗作用[J].植物保护,2011,37(1):59-64.
- [3] BROWN M E. Seed and root bacterization[J]. Annual Review of Phytopathology,1974,12(1):181-197.
- [4] KREY T,CAUS M,BAUM C,et al. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and organic fertilization on P nutrition of *Zea mays* L. and *Brassica napus* L[J]. J Plant Nutr Soil Sci,2011,174(4):602-613.
- [5] 陈春.植物根围促生细菌的研究进展及在林业上的应用[J].山西林业科技,2010,39(2):33-35.
- [6] 戴梅,徐丽娟,武侠,等.PGPR对番茄南方根结线虫病的影响[J].中国生物防治,2009,25(2):181-184.
- [7] 何志刚,王秀娟,董环,等.PGPR菌肥对马铃薯产量与肥料利用率影响的初步研究[J].中国土壤与肥料,2013(2):100-103.
- [8] 胡江春,薛德林,马成新,等.植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景[J].应用生态学报,2004,15(10):1963-1966.
- [9] 梁建根,张炳欣,喻景权,等.植物根围促生细菌(PGPR)对黄瓜生长及生理生化特性的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2007,33(2):202-206.
- [10] 王君,马海林,丁延芹,等.4株根际促生菌对核桃生长及生理特性的影响[J].山东农业科学,2014,46(4):77-79.
- [11] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2005:59-71.
- [12] 关松荫.土壤酶及其研究方法[M].北京:中国农业出版社,1986:274-339.
- [13] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,2000:127-137.
- [14] SHEN S S,CHOI O H,PARK S H,et al. Root colonizing and biocontrol competency of *Serratia plymuthica* A21-4 against phytophthora blight of pepper[J]. The Plant Pathology Journal,2005,21(1):64-67.
- [15] KLOEPPEPER J W,LEONG J,TEINTZC M,et al. Udomota siderophores: A mechanism explaining disease suppressive soils[J]. Microbiol,1980(4):317-320.
- [16] 章秋艳,李刚,杨志国,等.转基因大豆种植对根际土壤酶活性和养分的影响[J].中国油料作物学报,2014,36(3):409-413.
- [17] 梁运江,依艳丽,许广波,等.水肥处理对辣椒保护地土壤速效氮、磷的影响[J].土壤通报,2009,40(5):1111-1114.
- [18] 陈志芳,刘金福,吴则焰.不同海拔土壤理化性质与酶活性研究[J].河北北方学院学报(自然科学版),2014,30(1):38-42.
- [19] WELLER D M. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria[J]. Ann Rev Phytopathol,1998,26:397-407.
- [20] 连玲丽,谢荔岩,陈锦明,等.生防菌EN5的定殖能力及其对根际土壤微生物类群的影响[J].植物保护,2011,37(2):31-35.

Effect of Two PGPR Strains on Plant Growth Promoting and Its Root Colonization Ability in Pepper

LYU Yayou,DING Fangli,WANG Juan,WEN Caiyi,YAN Fengming,SHEN Shunshan

(College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Henan New Pesticide Discovery Key Laboratory, Zhengzhou, Henan 450002)

DOI:10.11937/bfyy.201518008

乙烯利与乙烯抑制剂对印度南瓜(*Cucurbita maxima*)性别表现的影响

杨晓霞, 屈淑平, 杨贵先, 王洋洋, 徐文龙, 崔崇士

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以印度南瓜强雌品系088-3、2013-12和强雄品系9-6为试材,通过喷施乙烯利和乙烯抑制剂(AVG和STS),探讨乙烯对印度南瓜性别表现和花发育的影响。结果表明:通过乙烯利处理,3个印度南瓜品系的单株雌花数增加,第1雌花节位提前。通过乙烯抑制剂处理,3个品系的第1雌花节位延后,单株雌花数减少。3个品种对外源乙烯的处理反应不同。强雌性材料(2013-12和088-3)对乙烯利和乙烯抑制剂处理表现为敏感,而强雄材料9-6表现为不敏感,这可能与不同品种的基因型及对乙烯和乙烯抑制剂的敏感性不同有关。另外,在乙烯利处理后,3个印度南瓜品系均出现了不同程度的败育情况和不完全雌蕊的雄花。

关键词:南瓜(*Cucurbita maxima*);性别表达;乙烯利;硫代硫酸银(STS);氨基乙氧基乙烯甘氨酸(Aminoethoxyvinylglycine, AVG)

中图分类号:S 642.106⁺.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0030-05

南瓜($2n=2x=40$)(*Cucurbita maxima*)属葫芦科(Cucurbitaceae)南瓜属(*Cucurbita*)一年生蔓生植物,是

第一作者简介:杨晓霞(1988-),女,硕士研究生,研究方向为南瓜遗传育种。E-mail:xiaofeiyang1109@163.com。

责任作者:屈淑平(1973-),女,博士,教授,硕士生导师,研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:qushuping1973@gmail.com。

基金项目:2012年高等学校博士学科点专项新教师基金资助项目(20122325120014);农业部公益性行业科技专项资助项目(201303112);哈尔滨市科技局青年科技创新人才资助项目(2013RFQXJ029)。

收稿日期:2015-05-25

重要的世界性蔬菜。南瓜的种质资源极为丰富,其栽培种主要有中国南瓜(*C. moschata*),又名倭瓜、饭瓜;印度南瓜(*C. maxima*),又名笋瓜;美洲南瓜(*C. pepo*),又名西葫芦^[1]。南瓜是雌雄同株异花植物,花属于单性花,生于主茎和侧枝的叶腋处,个别品种有少量的两性花存在^[2]。南瓜属植物的性别表现分为3个阶段,第1阶段是雄花阶段,这一阶段只产生雄花;雄花产生后,进入第2阶段,雌花和雄花交替阶段;第3阶段是进入雌花阶段,这一阶段只产生雌花。第3个阶段部分品种在特定条件下能够观察到^[3]。

葫芦科植物的性别表达受遗传、环境和激素等多种

Abstract: Two PGPR strains A21-4 and HG28-5 were used as materials, the effect of two PGPR on emergence, growth and rhizosphere soil microbial ecology of pepper, and its root colonization activity were studied adopting plug experiment. The results showed that seed inoculation with A21-4 and HG28-5 were all significantly enhanced the emergence potential, increasing rates 40.54% and 37.84%; At the same time, A21-4 and HG28-5 were all significantly promoted seedling growth, chlorophyll content and root activities. Increasing chlorophyll content rates were 65.49% and 43.66%, improving root activities 77.91% and 55.81%; Moreover, A21-4 and HG28-5 were all significantly enhanced the soil enzyme activities, and increased the organic matters and available P contents on the rhizosphere soils. Especially, inoculation with A21-4 could improve the urease activity 66.01%, and increase the organic matter content 66.62%; Inoculation with HG28-5 could improve the phosphatase activity 88.16%, increase the available P content 67.53%. In addition, A21-4 and HG28-5 were all successfully colonized on the rhizosphere soil and roots of pepper. The colonization ability were 2.15×10^5 cfu/cm and 4.75×10^5 cfu/cm in the DLF test, in the plug experiment, A21-4 and HG28-5 were persisted on root of pepper with a relative high population density which were more than 10^5 cfu/cm and 10^6 cfu/cm, persisted on the rhizosphere soils were more than 10^4 cfu/cm and 10^5 cfu/cm, respectively.

Keywords: plant growth promoting rhizobacteria; effect of growth promotion; soil enzyme activity; root colonization ability