

# 柠条根际产铁载体促生菌的 分离鉴定及其促生特性

周 波, 代金霞

(宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

**摘 要:**以柠条根际土壤为试材,采用 CAS(铬天青 S)选择性培养基分离筛选具有产铁载体功能的根际促生菌株,通过 16S rDNA 序列分析进行菌株鉴定,并测定菌株解磷、固氮、产 IAA(吲哚乙酸)和 ACC(1-氨基环丙烷-1-羧酸)脱氨酶等促生活性,通过盆栽试验分析验证菌株 Fe11 对柠条幼苗生长的影响。结果表明:共分离出 14 株产铁载体根际促生菌,其中 6 株菌具备较强的产铁载体能力。所有菌株的 16S rDNA 序列同源性与假单胞菌达到 99%~100%,假单胞菌属细菌是柠条根际产铁载体的优势菌群。多数菌株兼具 2 种以上促生活性,菌株 Fe9、Fe11 和 Fe13 表现出多种促生潜能。回接试验证实,接种菌株 Fe11 使柠条幼苗的株高、根长、叶片数、鲜质量和干质量分别增长 17.25%、6.68%、17.75%、42.51% 和 20.67%,表明菌株 Fe11 对柠条的生长具有良好的促进效果。

**关键词:**柠条;铁载体;植物根际促生菌;促生效果

**中图分类号:**Q 939.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)21-0122-08

根际(rhizosphere)是植物-土壤-微生物之间进行物质循环、能量交换、信号传递等相互作用所形成的独特的微生态环境<sup>[1]</sup>。在植物生长过程中产生的根系分泌物会使得植物根际土壤中的有机质含量高于非根际土壤,在影响土壤肥力的同时为一些植物根际微生物的生长繁殖提供了碳源和能源,使得植物根际微生物的种类和数量发生改变<sup>[2]</sup>。与此同时,根际微生物在生长繁殖过程中会通过分泌植物生长调节激素、提高土壤营养物质和矿质养分的有效含量、抑制一些植物病原菌

的生长繁殖来直接或间接促进植物的生长<sup>[3-6]</sup>。这些能够在植物根际定殖并能促进植物生长的微生物被称之为植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)<sup>[7]</sup>。产铁载体根际促生菌是其中一类能够在低铁条件下合成并分泌对  $\text{Fe}^{3+}$  具有高亲和力的铁载体(Siderophore, 又称嗜铁素)的 PGPR<sup>[8]</sup>,能够将铁载体分泌到土壤中与难溶性铁形成铁载体-Fe 螯合物来改变铁的难溶性,使其由不可溶变为可溶,增加土壤中铁的生物有效性,在满足微生物生长需要的同时也能够被植物作为铁源直接吸收利用,从而影响植物的铁营养状况<sup>[9-10]</sup>。同时,产铁载体 PGPR 可与一些植物病原菌竞争铁元素从而抑制其生长而促进植物根系的抗病能力<sup>[11]</sup>。因此,产铁载体根际促生菌在促进植物生长和生物防治中具有积极的作用。

柠条(*Caragana* spp.)为豆科锦鸡儿属落叶大灌木植物栽培种的统称,因其具有很强的抗旱、耐热、抗寒、耐盐碱、耐贫瘠以及不怕沙埋等耐逆性特点,是我国西北地区荒漠、半荒漠、干旱草原

**第一作者简介:**周波(1988-),男,硕士研究生,研究方向为微生物技术与工程。E-mail:zhoubo2015@163.com

**责任作者:**代金霞(1973-),女,博士,教授,现主要从事环境微生物多样性及微生物资源开发与利用等研究工作。E-mail:daijx05@163.com

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31760027);宁夏自然科学基金资助项目(NZ1601);宁夏大学研究生创新资助项目(GIP201612)。

**收稿日期:**2017-04-13

地带及黄土丘陵沟壑地区防风固沙、水土保持和改善小气候等方面的主要建群树种<sup>[12]</sup>。对于沙漠化严重和土壤贫瘠的宁夏荒漠地区来说,开发利用柠条的生态效应对该地区生态环境的治理和保护有着重要的促进意义。该研究拟从宁夏荒漠草原的柠条根际土壤中分离具有产铁载体功能的 PGPR,通过对菌株的促生特性进行综合分析,阐明柠条产铁载体 PGPR 的多样性和生态学功能,筛选具有高效促生活性的菌株并进行功能验证。这一研究不仅有助于发掘新的微生物种质资源,为荒漠植物微生物菌肥和菌剂的开发提供菌种资源,而且对探索特殊生境中根际微生物-宿主植物的协同作用机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究地概况

研究地位于宁夏灵武白芨滩国家级自然保护区(东经 38°5′5.4″,北纬 106°44′13.2″)。该保护区是我国典型的荒漠类型自然保护区,区内集中分布有干旱沙地、荒漠草原和流动沙丘等荒漠类型生态系统,海拔 1 249 m,年均气温为 6.7~8.8℃,年均降水量 255.2 mm,年均蒸发量为 2 862.2 mm,土壤类型为灰钙土和风沙土,气候为中温带干旱气候,是典型大陆性气候,常年干旱少雨且蒸发量大富水性差,植被类型以沙生植物为主,其中分布有全国最大的柠条灌木林地 1.7 万 hm<sup>2</sup>。

### 1.2 试验方法

于 2015 年 6—7 月,采用五点取样法采集柠条根际土壤,装入灭菌的封口袋置于冰盒中,带回实验室用于菌株分离。

#### 1.2.1 柠条根际产铁载体促生菌的分离筛选

用无菌称量纸称取柠条根际土 10 g,加入盛有 90 mL 灭菌水的三角瓶中,充分震荡 20 min,制成 1:10 浓度的土壤悬浮液。梯度稀释后各取 150  $\mu$ L 涂布到 CAS 检测平板培养基上,28℃培养 3 d。挑选 CAS 检测平板上产生橙黄色晕圈的单个菌落并多次划线纯化。通过测量菌落直径(d)和菌落加晕圈的直径(D),计算可溶性指数 D/d<sup>[11]</sup>。

将纯化的菌株接种于 30 mL 的 MKB 液体培养基中,28℃180 r·min<sup>-1</sup>振荡培养 48 h,然后

将菌液移入离心管中,7 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取 2 mL 上清液加 2 mL CAS 检测液充分摇匀,静置 1 h 后在波长 680 nm 处测定吸光值(A),以去离子水 2 mL 加等体积的 CAS 检测液充分混匀,同法测定吸光值即为参比值(A<sub>r</sub>),以 A/A<sub>r</sub> 作为菌株产铁载体的定量指标,比值越小,反映铁载体的产量越大<sup>[13]</sup>。

#### 1.2.2 菌株 16S rDNA 序列测定及分子鉴定

将菌株接种于 LB 培养液中 28℃200 r·min<sup>-1</sup>培养 48 h 后,8 000 r·min<sup>-1</sup>离心 2 min,弃去上清收集菌体,吸取 4  $\mu$ L 菌体加入 20  $\mu$ L 无菌水重悬,煮沸 3~5 min,8 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10~20 s,以上清液为 PCR 模板。采用通用引物对 27F(5′-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3′)、1492R(5′-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3′)扩增菌株的 16S rDNA 序列。PCR 产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测合格后,委托上海生工生物工程技术服务有限公司进行测序。测序结果在 GenBank 中通过 blast 同源性搜索获得菌株的系统发育地位。

#### 1.2.3 菌株的其它促生特性测定

菌株接种于 LB 培养液中,28℃150 r·min<sup>-1</sup>培养 48 h,取 5  $\mu$ L 菌液分别垂直点接于待测指标平板,28℃培养用于促生特性测定。菌株解磷能力测定:采用有机磷(大豆卵磷脂)和无机磷(Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>)固体培养基溶磷圈法测定菌株的溶磷能力,即测定菌落溶磷透明圈直径(D)与菌落直径(d)的比值衡量各菌株的溶磷能力。培养 10 d 后测量并计算比值。比值越大,溶磷能力越强,比值越小,溶磷能力越弱,比值为 1 时表示菌落无溶磷能力<sup>[14]</sup>。

固氮能力测定:将菌株接到 Nfb 无氮培养基和阿须贝培养基上,在 2 种培养基中连续转接 5 次都能正常生长的菌株则视为具有固氮活性<sup>[15]</sup>。产 ACC 脱氨酶活性测定:将菌株接到 ADF 培养基上,连续转接 5 次,能以 ACC 为唯一氮源生长的菌株为 ACC 脱氨酶阳性菌株<sup>[16]</sup>。

菌株分泌 IAA 活性测定:采用比色法测定菌株分泌生长素(IAA)的能力。将菌株接种于含有 L-色氨酸(100 mg·L<sup>-1</sup>)的 LB 培养液中,28℃150 r·min<sup>-1</sup>培养 48 h,吸取 50  $\mu$ L 菌悬液滴于 96 孔板上,加入等体积的 Salkowski 比色液混

匀,置于室温避光放置 30 min 后观察,颜色变红者为能够分泌 IAA 的阳性菌株。将初步筛选的阳性菌株的菌悬液  $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心后加入等体积 Salkowski 比色液,避光静置 30 min,以未接菌 LB 液体培养基上清液与等体积 Salkowski 比色液的混合溶液为对照测定其  $\text{OD}_{530}$ ,计算发酵液中 IAA 浓度。

#### 1.2.4 菌株 Fe11 对柠条幼苗生长的影响

采集柠条 3 m 以外的非根际土壤经碾碎混匀,风干后过 2 mm 筛,蛭石按照 3:1 比例(V/V)配制为供试土壤。花盆规格为  $10\text{ cm}\times 15\text{ cm}$ ,每盆加 500 g 土壤。根据菌株促生特性的综合分析,选择促生特性强的菌株 Fe11 作为供试菌株,接于 LB 培养基,在  $28\text{ }^{\circ}\text{C}\ 150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  培养 24 h 离心去上清,菌体加无菌水悬浮,制成  $\text{OD}_{600}$  为  $1.00\pm 0.05$  的菌悬液。

将消毒好的柠条种子在菌剂中浸泡 2 h 后萌发处理 3 d,以无菌水浸种处理为对照。挑选发芽势一致的柠条苗均匀播种于装有供试土壤的花盆中,每盆 5 株,共 20 盆,置于人工气候箱中培养。试验组在盆栽第 1、5、10 天分别用 50 mL 菌悬液均匀浇灌于幼苗根部保持菌浓度,对照组浇灌相同体积的无菌水,定期补充水分保持土壤含水量。60 d 后将植株连根取出,测量株高、根长、叶片数,鲜质量和干质量。

### 1.3 项目测定

产铁载体菌株的分离筛选用 CAS(Chrome azurols,铬天青)检测平板,产铁载体能力定量测定采用 MKB 无铁培养基,溶磷活性测定采用有

蒙金娜和 PKO 培养基,固氮活性测定采用阿须贝和 Nfb 无氮培养基,ACC 脱氨酶活性测定采用 ADF 培养基,菌株活化采用 LB 培养基。

### 1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 产铁载体根际促生菌的分离及其产铁载体能力测定

根据产铁载体菌株的菌落周围能够在 CAS 检测平板上产生橙黄色晕圈的特性(图 1),从柠条根际土壤中初筛获得产铁载体促生菌株 14 株,编号为 Fe1~Fe14,其铁载体可溶性指数为  $1.18\sim 1.83$ 。定量分析结果表明,多数菌株具备较强的产铁载体能力,其中 6 株菌 A/Ar 小于 0.2,分泌铁载体能力较强(表 1)。比较铁载体可溶性指数 D/d 和定量指标 A/Ar(表 1)发现二者所反映出的菌株分泌铁载体的能力并不一致,如菌株 Fe14 的 D/d 为 1.76,较多数菌株大,而 A/Ar 为 0.435,其产铁载体能力与其它菌株相比最弱。可能是菌株的生长特性、在固体和液体 2 种培养条件的差异以及菌株分泌铁载体的时间不同造成的。如有些菌株生长慢菌落较小,却能在相对较短的时间内产生较多铁载体。因此根据晕圈直径和可溶性指数等指标进行铁载体能力的测定存在一定的局限性。测定菌株分泌铁载体的能力主要以定量为主。

表 1

供试菌株产铁载体能力

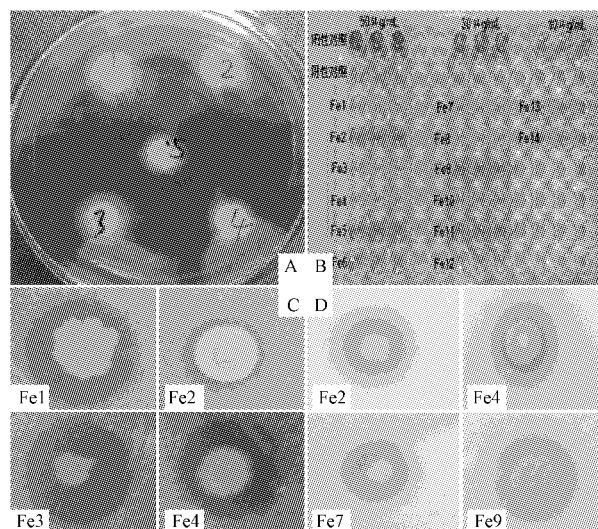
Table 1

Ability of siderophore producing by the strains

菌株 Strains	D/d	A/Ar	铁载体活性 Siderophore activity	菌株 Strains	D/d	A/Ar	铁载体活性 Siderophore activity
Fe1	$1.67\pm 0.035bc$	$0.284\pm 0.001bc$	+++++	Fe8	$1.49\pm 0.130de$	$0.161\pm 0.007gh$	+++++
Fe2	$1.52\pm 0.035de$	$0.186\pm 0.015fgh$	+++++	Fe9	$1.23\pm 0.034fg$	$0.148\pm 0.017h$	+++++
Fe3	$1.57\pm 0.053cd$	$0.167\pm 0.015gh$	+++++	Fe10	$1.18\pm 0.002g$	$0.259\pm 0.083cd$	+++++
Fe4	$1.83\pm 0.023a$	$0.299\pm 0.012b$	+++++	Fe11	$1.45\pm 0.046e$	$0.145\pm 0.010h$	+++++
Fe5	$1.33\pm 0.016f$	$0.259\pm 0.063cd$	+++++	Fe12	$1.21\pm 0.023g$	$0.196\pm 0.022efg$	+++++
Fe6	$1.25\pm 0.003fg$	$0.227\pm 0.020de$	+++++	Fe13	$1.24\pm 0.023fg$	$0.221\pm 0.008def$	+++++
Fe7	$1.68\pm 0.046bc$	$0.243\pm 0.033d$	+++++	Fe14	$1.76\pm 0.145ab$	$0.435\pm 0.017a$	++++

注:不同小写字母表示差异显著  $P<0.05$ ,下同。A/Ar.  $0\sim 0.2$  +++++;  $0.2\sim 0.4$  +++++;  $0.4\sim 0.6$  +++++。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences at  $P<0.05$ . The same below. A/Ar.  $0\sim 0.2$  +++++;  $0.2\sim 0.4$  +++++;  $0.4\sim 0.6$  +++++.



注:A.产铁载体,B.分泌 IAA,C.解有机磷,D.解无机磷。

Note: A. Detection results of siderophore producing; B. Detection results of IAA secretion; C. Ability to dissolve organic phosphorus; D. Ability to dissolve inorganic phosphorus.

图 1 菌株的促生特性

Fig. 1 Tested promoting related characteristics of selected strains

## 2.2 菌株的分子鉴定结果

根据对菌株的菌落和菌体形态观察,选择 Fe2、Fe3、Fe4、Fe8、Fe11、Fe13、Fe14 等 7 个菌株进行分子鉴定。各菌株 16S rRNA 基因序列分析表明,所选菌株分别与假单胞菌属的 *Pseudomonas* sp.、*Pseudomonas frederiksbergensis*、*Pseudomonas rhizosphaerae* 等细菌序列同源性在 99.00% 以上,因此初步认为筛选的产铁载体菌株均为假单胞菌。各菌株 16S rDNA 序列提交到 GenBank,获得登录号为 KX758041~KX758047(图 2)。

## 2.3 菌株促生特性测定结果

通过菌株的解磷、固氮、产 IAA 等促生能力进行测定,结果表明多数菌株除能分泌铁载体外,还具备 2 种以上的促生能力(表 2)。其中有 10 株能够溶解有机磷,5 株能溶解无机磷,6 株菌表现出固氮活性,8 株具备 ACC 脱氨酶活性,5 株可分泌 IAA。菌株 Fe9、Fe11 和 Fe13 同时具备 4 种促生特性,表明这几个菌株具备很强的促生潜能。而菌株 Fe3 和 Fe5 解有机磷和分泌 IAA 的能力分别最强,但却不具备其它活性。

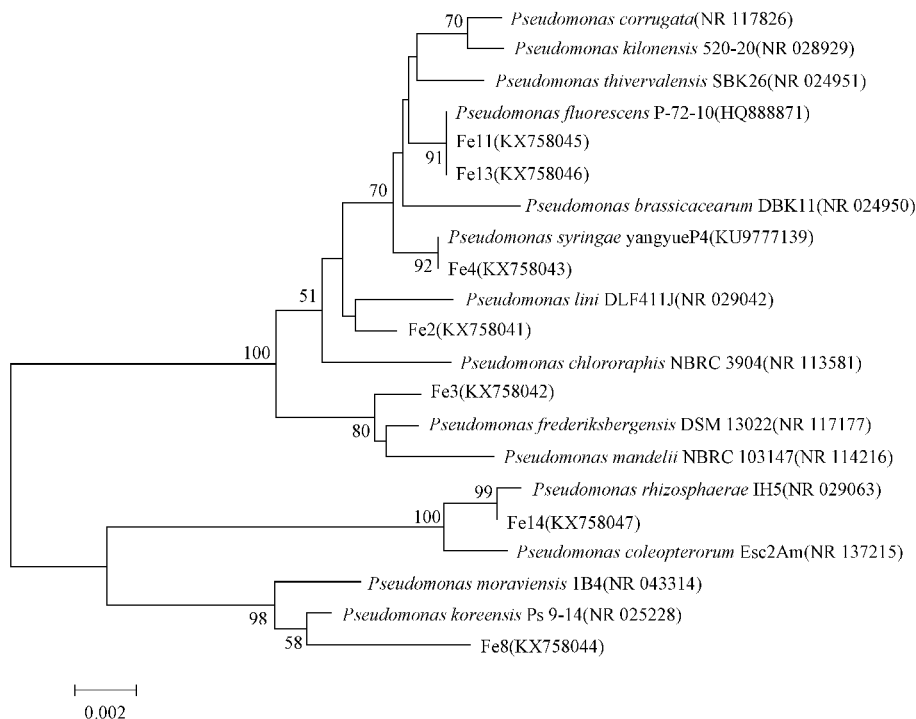


图 2 柠条产铁载体 PGPR 的 16S rRNA 基因系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on the 16S rRNA sequences

表 2 产铁载体菌株的其它促生特性

Table 2 Plant growth promoting characteristics of the siderophore-producing rhizobacteria

菌株 Strains	IAA 合成 IAA synthesis /(mg · L <sup>-1</sup> )	解有机磷 Organic phosphous dissolving(D/d)	解无机磷 Inorganic phosphous dissolving(D/d)	固氮活性 Nitrogen fixation	ACC 脱氨酶活性 ACC deaminase secretion
Fe1	—	1.42±0.069bc	—	—	+
Fe2	3.76±0.285b	1.32±0.010c	1.31±0.011ab	—	—
Fe3	—	1.78±0.160a	—	—	—
Fe4	—	1.32±0.141c	1.35±0.106a	—	+
Fe5	8.25±0.074a	—	—	—	—
Fe6	1.60±0.106d	—	—	+	+
Fe7	—	1.58±0.238b	1.36±0.148a	—	—
Fe8	—	1.24±0.038c	—	—	—
Fe9	7.91±0.085a	—	1.34±0.052a	+	+
Fe10	—	—	—	+	+
Fe11	3.36±0.185c	1.28±0.085c	—	+	+
Fe12	—	1.30±0.167c	—	+	+
Fe13	—	1.26±0.029c	1.22±0.117b	+	+
Fe14	—	1.44±0.188bc	—	—	—

注: + 表示菌株具有相应活性, — 表示菌株没有相应的活性。  
Note: + indicates that the strain has the corresponding activity, — indicates that the strain has no corresponding activity.

2.4 Fe11 菌株对柠条幼苗生长的促生效果验证

根据菌株产铁载体能力和各促生特性, 选择菌株 Fe11 进行促生效果验证。接种的幼苗在盆栽培养 60 d 后测定相关生物量, 结果幼苗株高、根长、叶片数、鲜质量和干质量分别增长了

17.25%、6.68%、17.75%、42.51%、20.67%(表 3), 显示菌株 Fe11 对柠条幼苗具有明显的促生效果(图 3)。与对照相比, 接种幼苗的根长增长不显著, 其它生物量的处理与对照差异显著。

表 3 菌株 Fe11 促进柠条幼苗生长的生物量

Table 3 Biomass of *Caragana* spp. seedlings inoculating with strain Fe11

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	根长 Root length/cm	叶片数 Leaf number	鲜质量 Fresh weight/g	干质量 Dry weight/g
CK	27.86±3.365a	11.33±1.529a	77.13±14.328a	0.35±0.043a	0.12±0.036a
Fe11	32.67±2.547b	12.08±1.127a	90.81±15.069b	0.50±0.080b	0.14±0.030b
增长率 Increase/%	17.25	6.68	17.75	42.51	20.67

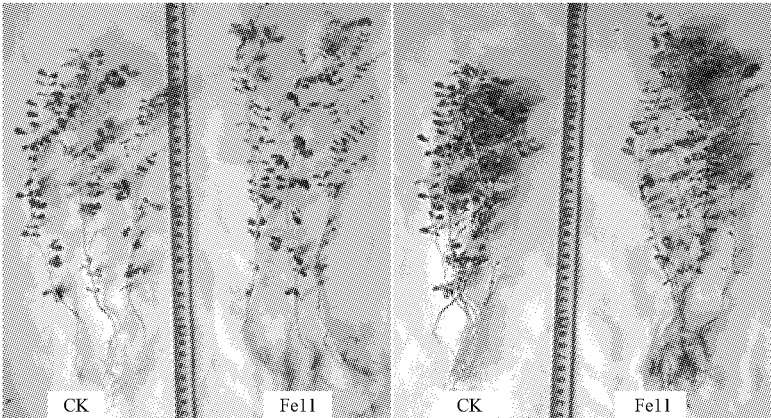


图 3 菌株 Fe11 对柠条幼苗的促生作用

Fig. 3 Plant-growth promoting effect on *Caragana* seedlings inoculation with strain Fe11

### 3 讨论

在环境中铁元素的含量虽然较高,但由于地球的富氧环境使得土壤中的铁大都以溶解度极低的氧化物形式存在,这使得大部分土壤中可被植物吸收利用、有效的铁含量较低。合成和利用铁载体吸收铁营养是土壤微生物在低铁的限制性环境下进化而来的一种最为重要的铁吸收机制。产铁载体 PGPR 能有效增加土壤中铁的生物有效性来满足自身需求,同时又能改善植物的铁营养状况。同时研究发现产铁载体菌株可与一些病原微生物竞争铁素营养而抑制其生长,间接表现出对植物生长的促进作用。在现代绿色农业生产中,研究和利用产铁载体根际促生菌对于改善土壤中铁元素的有效性和对病原微生物的防治方面均具有积极地作用。体外促生能力是衡量微生物菌株促生活性的重要指标,对于促生菌的筛选主要通过测定其是否具有相应的促生活性来实现,利用 CAS 检测法筛选相较其它筛选方法促生菌株具有迅速、灵敏、准确等优点。

目前报道的能产生铁载体的微生物很多,几乎在所有的好氧和兼性厌氧微生物种群中,除了乳酸菌等少数例外,其它都可以合成铁载体<sup>[17]</sup>。朱彭玲等<sup>[18]</sup>对棉花根际土壤中产铁载体产生菌的遗传多样性进行了研究,发现其产铁载体菌株分别属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)等,其中以假单胞菌属为主,占总供试菌的 54%。韩丽珍等<sup>[19]</sup>从茶树根际土壤中分离筛选的产铁载体根际促生菌有假单胞菌属、束丝氏菌属(*Tsukamurella*)等。该研究从柠条根际土壤中利用 CAS 检测平板分离筛出 14 株产铁载体的优势菌株,经鉴定发现均属于假单胞菌属,再次证实假单胞菌是植物根际较为常见的 PGPR,同时也表明柠条根际产铁载体的优势菌株较为单一,且多为假单胞菌,这可能是由于采样区贫瘠的土质、长期的干旱条件和柠条独特的根际微生态环境而产生的结果。

该研究以分泌铁载体为主要促生指标分离获得荒漠地区柠条根际产铁载体优势菌株的基础上,进一步对菌株的其它促生特性进行了测定分析,表明大多数的促生菌株均具有多重促生特性。

谭石勇等<sup>[20]</sup>从苧麻根和根围土壤中筛选出的 13 株 PGPR 同时具有溶磷和解钾能力,其中的 4 株菌还同时具备产铁载体、产 IAA 和产氨能力。王小兵等<sup>[21]</sup>从滩涂植物根际土壤中获得 4 株 PGPR 同时具有分泌 ACC 脱氢酶、产吲哚乙酸和产铁载体活性。该研究筛选获得的 14 株 PGPR 除具备较强的分泌铁载体能力外,多数兼具 2 种以上促生特性,表现出促生活性的多样性。在植物促生菌的促生效应研究中,促生菌株的实际应用效果是检验其能否发挥促生作用的重要指标。该研究挑选具分泌铁载体能力较强且具有多种特性的高效促生菌株 Fe11 进行盆栽试验,结果显示与对照相比该菌株对柠条幼苗的株高、叶片数、鲜质量、干质量的生长具有显著的促进效果,可以作为微生物菌剂开发的潜在菌种。盆栽试验显示 Fe11 对柠条幼苗根长的促进效果并不显著,这可能与柠条根系发达且主根发育强盛的生物特性有关。

土壤荒漠化是西北地区普遍存在的一项严峻的环境问题,其对生态环境和农业生产都具有严重的影响。治理和改善土壤荒漠化是目前一项十分重要的课题,植被恢复是治理荒漠化的首要工作,通过人工种植固沙植物可达到防风固沙、保持水土和改良土壤,以及提高土壤肥力的积极作用。同时,在流动沙丘在向固定沙丘演变的过程中,土壤微生物也具有十分重要的作用,尤其是植物根际微生物,自由生活在土壤或附生于植物根际,其数量、活性和群落结构及其变化,通过影响植物对水分、养分的吸收或产生抗生素、铁载体等方式来促进植物生长,可增加植物对恶劣环境的抵抗能力<sup>[22]</sup>。有研究发现接种土著植物的促生菌株有利于荒漠地区主要植被的恢复,在促进荒漠草原植被恢复和改善生态环境方面具有重要作用<sup>[23]</sup>。因此,在一些自然保护区内人工种植景观植物或植保植物时,利用微生物菌剂代替化肥为植物提供营养对于环境保护具有积极的作用,白芨滩国家级自然保护区主要是以防风固沙造林、保护生态环境为主的生态环境保护区,其主要固沙植物为柠条人工种植林,该研究的土壤材料来源于白芨滩国家级自然保护区柠条林地,通过对柠条产铁载体 PGPR 的分离和促生特性研究,有助于发掘新的微生物种质资源,为荒漠植物微生物菌肥

和菌剂的开发和沙化土壤微生物改良剂的研究提供潜在菌种资源,以及为柠条根际促生菌的研究和柠条促生菌剂的研发提供理论基础,对柠条等固沙植物在防风固沙、保持水土等环境保护方面具有积极的促进作用。柠条具有较强的耐逆性,在极端干旱、土壤贫瘠的沙化土壤中仍长势良好,其广泛的适应性和极强的抗逆性是否与其自身根际促生菌的分布和特性有关,以及它们的交互作用机制有待于进一步的深入研究。

### 参考文献

- [1] BUTLER J L, WILLIAMS M A, BOTTOMLEY P J, et al. Microbial community dynamics associated with rhizosphere carbon flow[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69: 6793-6800.
- [2] 艾超, 孙静文, 王秀斌, 等. 植物根际沉积与土壤微生物关系研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(5): 1343-1351.
- [3] 张东艳, 刘晔, 吴越, 等. 花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. *中国油料作物学报*, 2016, 38(1): 104-110.
- [4] ZHANG L Z, FAN J J, NI W, et al. Isolation of phosphate solubilizing fungus (*Aspergillus niger*) from *Caragana* rhizosphere and its potential for phosphate solubilization [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(24): 7571-7578.
- [5] ELENA L C, VINCENZA A. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40: 74-84.
- [6] 张晖, 宋圆圆, 吕顺, 等. 香蕉根际促生菌的抑菌活性及对作物生长的促进作用[J]. *华南农业大学学报*, 2015, 36(3): 65-70.
- [7] PIROMYOU P, BURANABANYAT B, TANTASAWAT, et al. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand[J]. *European Journal Soil Biology*, 2011, 47(1): 44-54.
- [8] PAYNE S M. Detection, isolation, and characterization of siderophores[J]. *Methods Enzymol*, 1994, 235: 329-344.
- [9] 金崇伟, 俞雪辉, 郑绍建. 微生物在植物铁营养中的潜在作用[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(5): 688-695.
- [10] 梅新兰, 闪安琪, 蒋益, 等. 适应玉米的溶磷细菌筛选及其对玉米生长的影响[J]. *土壤学报*, 2016, 53(2): 502-509.
- [11] 荣良燕, 姚拓, 赵桂琴, 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.
- [12] 关林婧, 马成仓. 21 世纪锦鸡儿属植物研究进展[J]. *草地学报*, 2014, 22(4): 697-705.
- [13] 赵翔, 谢志雄, 陈绍兴, 等. 适合高产铁载体细菌筛选、检测体系的改进与探析[J]. *微生物学通报*, 2006, 33(6): 95-98.
- [14] 杨艳华, 李俊州, 臧睿, 等. 茶树根际土壤解磷细菌的筛选及解磷活性分析[J]. *河南农业科学*, 2014, 43(9): 60-65.
- [15] 滕松山, 刘艳萍, 赵蕾. 具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的分离、鉴定及其生物学特性[J]. *微生物学报*, 2010, 50(11): 1503-1509.
- [16] PENROSE D M, GLICK B R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Plant Physiology*, 2003, 118: 10-15.
- [17] 孙红启. 铁载体和铁离子对细菌生长过程的影响[D]. 济南: 山东大学, 2008.
- [18] 朱彭玲, 杜秉海, 丁延芹, 等. 新疆棉花根际土壤铁载体产生菌的遗传多样性及系统发育研究[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(5): 1568-1574.
- [19] 韩丽珍, 邓兆辉, 朱春艳, 等. 茶树根际促生菌的筛选与促生特性的研究[J]. *山地农业生物学报*, 2016, 35(1): 51-56.
- [20] 谭石勇, 易永健, 汪洪鹰, 等. 苕麻促生菌的筛选、鉴定及其促生效应[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(3): 525-533.
- [21] 王小兵, 叶赛克, 汪晓丽, 等. 江苏沿海滩涂植物根际促生菌的筛选[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学)*, 2016, 37(2): 81-86.
- [22] 赵燕娜, 廖超英, 李晓明. 毛乌素沙地 4 种固沙植物根际与非根际土壤生物学特性[J]. *干旱区研究*, 2015, 32(4): 680-686.
- [23] REQUENA N, PEREZ-SOLIS E, AZCÓN-AGUILAR C, et al. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(2): 495-498.

## Isolation and Identification of Siderophore-producing Rhizobacteria From Rhizosphere Soil of *Caragana* spp. and Its Growth-promoting Effects

ZHOU Bo, DAI Jinxia

(School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

**Abstract:** Rhizobacteria of producing siderophore were isolated from rhizosphere soil of *Caragana* spp. grown in desert grassland with CAS (chrome azurol S) medium. The diversity of the strains were analysed based on the 16S rDNA sequences. The ability of phosphate dissolving, nitrogen fixation, indoleacetic acid (IAA) and ACC deaminase production were evaluated. The effect on promoting

doi:10.11937/bfyy.20164927

## 基于组合赋权的 Dtopsis 法在土壤肥力评价中的应用

杨禹伟<sup>1</sup>, 陈 华<sup>1</sup>, 杨 宇<sup>2</sup>, 姜 波<sup>1</sup>, 左惠文<sup>1</sup>, 刘晓坤<sup>1</sup>

(1. 新疆大学 电气工程学院, 新疆 乌鲁木齐 830047; 2. 石河子大学 经济与管理学院, 新疆 石河子 832003)

**摘 要:**以新疆加工番茄某主产区试验田的 15 个土壤样本为试材, 利用层次分析法 (Analytic hierarchy process, AHP) 和熵权法分别得到主、客观权重, 再运用博弈论思想将权重组合, 进而采用组合权重赋权的 Dtopsis (Dynamic technique for order preference by similarity to ideal solution) 法对试验区不同地块土壤肥力进行评价。结果表明: 得到 15 个样本直观的优劣排序结果, 符合生产实际, 为精准施肥及作物种植规划提供指导。

**关键词:** 博弈论; 层次分析法; 熵权法; Dtopsis 法; 土壤肥力评价

**中图分类号:** S 158 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)21-0129-05

新疆地处西北, 大部分地区土壤属于沙土或灰漠土, 属于典型的大陆性干旱气候, 非常适合加

工番茄的生长。加工番茄产业作为新疆“红色”支柱产业<sup>[1]</sup>已具规模, 但是传统粗放种植管理模式一定程度上阻碍了产业的健康持续发展, 随着当今全球精准农业的发展, 精准施肥可以有效提高种植效益, 减少浪费, 而土壤肥力的评定是精准施肥的前提。因此, 建立合理科学的土壤评价体系对新疆加工番茄产业具有重要意义。

目前, 国内外学者对土壤肥力进行了较为广泛的研究<sup>[2-11]</sup>, 各类评价体系的差异主要集中在以下 2 个方面: 一是评价指标的权重确定方法, 分

**第一作者简介:** 杨禹伟 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为智能控制系统研究与应用。E-mail: yangyuweigod@163.com.

**责任作者:** 陈华 (1964-), 女, 本科, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为智能控制系统研究与应用。E-mail: xj-chenhua@163.com.

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (61064005)。

**收稿日期:** 2017-05-10

growth of *Caragana* spp. seedlings were tested by inoculating experiment with strain Fe11. The results showed that total of 14 strains of siderophore-producing were isolated from rhizosphere soil of *Caragana* spp., and 6 of them had strong ability to produce siderophore. The 16S rDNA sequences of all strains had 99%—100% similarity with that of *Pseudomonas*, which was dominant siderophore-producing rhizobacteria of *Caragana* spp. Most of the strains had more than two kinds of growth-promoting characteristics. Among them, strains Fe9, Fe11 and Fe13 showed a diverse growth-promoting potential. The results of inoculation experiment demonstrated that strain Fe11 had obvious growth-promoting effect on *Caragana* spp. seedlings. The plant height, root length, leaf number, fresh weight and dry weight were increased by 17.25%, 6.68%, 17.75%, 42.51% and 20.67%, respectively.

**Keywords:** *Caragana* spp.; siderophore; plant growth-promoting rhizobacteria; growth-promoting effects