

硅酸盐细菌促进玉米生长的生理机制

占新华, 蒋廷惠, 徐阳春, 谭卫华

(南京农业大学资源与环境学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 采用土培与水培试验相结合的方法研究了硅酸盐细菌促进玉米生长的生理学机制。结果表明, 硅酸盐细菌可以增加玉米的生物量和含水量; 叶片中叶绿素的含量比对照高 20% 以上。硅酸盐细菌还能提高植物体内的硝酸还原酶(NRA)和 ATPase 的活性, 促进植物对 N 素的吸收和利用。硅酸盐细菌处理可降低介质中的 pH, 从而有利于介质中养分的活化与迁移。

关键词: 硅酸盐细菌; 叶绿素含量; 硝酸还原酶活性; ATP 酶活性; 生理机制

中图分类号: S131 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672–2043(2003)06–0736–04

Physiology Mechanism of Growth – Promotion for Silicate Bacteria on Corn

ZHAN Xin-hua, JIANG Ting-hui, XU Yang-chun, TAN Wei-hua

(College of Natural Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Little has been known about physiology mechanism for the silicate bacteria capable of promotion corn growth. The present study using both soil and hydroponic cultures aimed to elucidate the promoting mechanism of silicate bacteria on plants in physiology. The results showed that silicate bacteria increased biomass and water content of corn. The chlorophyll content in corn leaf treated with silicate bacteria was 20% more than that of CK. We also found that the activity of NRA and $H^+ - ATPase$ both in corn leaf were promoted by using silicate bacteria and N uptake and utilizing in corn increased. This may be explained that silicate bacteria can decrease pH Value in the media, resulting in enhancement of activity and transport of nutrients.

Keywords: silicate bacteria; chlorophyll content; NR activity; ATPase activity; physiological mechanism

据统计我国水稻种植面积约为世界的 1/5, 但氮肥施用量却占全球水稻氮肥用量的 1/3 以上^[1], 比世界稻田平均用量高 25% ~ 35%^[2], 且近年来化肥施用量呈上升趋势, 尤其是经济发达地区。由于作物对肥料的利用率较低^[3] 和化肥本身会含带微量的污染成分如氟、重金属和三氯乙醛等^[4], 不可避免地会对环境造成压力, 产生化肥的环境污染问题, 如地下水污染、地表水体富营养化和农田温室气体排放量的增加等。另外, 大量施用化肥还会导致土壤结构的破坏和农产品品质不良等。为了减轻农业生产对环境的压力 and 生产出优质安全农产品, 迫使科研工作者积极研制和寻找新型肥料。

硅酸盐细菌具有改善作物生长环境、促进作物生长和提高农产品品质的作用, 因此其在农业上的使用

日益广泛。尽管如此, 当前硅酸盐细菌对作物生长的效应研究大多是施用效果研究, 而对其促进植物生长的机理尤其是生理学机制的研究鲜有报道^[5, 6]。本研究旨在为农产品的安全生产和硅酸盐细菌的农业利用提供理论和实践的依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与菌种培养

1.1.1 试验材料

供试植物为玉米(掖单 13 号)。供试菌种为本研究室从象草根际(代号 W)和小麦根际(代号 N2)分离筛选获得。

培养基($g \cdot L^{-1}$): 蔗糖 10, 磷酸氢二钾 0.5, 硫酸镁 0.2, 氯化钠 0.2, 碳酸钙 1.0, 硫酸铵 1.0, 酵母膏 0.5, pH7.4。

1.1.2 菌种培养

将 50 mL 液体培养基装入 250 mL 三角瓶中, 在

收稿日期: 2003–03–13

作者简介: 占新华(1972—), 男, 江西婺源人, 南京农业大学讲师, 从事植物营养与环境污染化学研究。

联系人: 蒋廷惠。E-mail: xzhzham@hotmail.com

121 ℃ 下灭菌 25 min, 冷却后, 按 2% 的量接种, 28 ℃ 振荡培养 72 h, 即得硅酸盐细菌菌液。

1.2 试验设计

水培试验: 玉米种子经消毒催芽, 长至 2 叶后, 取均匀一致的幼苗移到 10 L 周转箱中, 设对照 (CK)、施用 2‰W 和 2‰N2 菌剂 3 种处理, 各处理均重复 3 次。每日调节 pH, 每周换一次营养液, 置于温室中通气培养。

营养液配方 (mmol · L⁻¹): N (NH₄NO₃, NH₄H₂PO₄, NH₄Cl, Ca(NO₃)₂, 其中 NO₃⁻ - N/NH₄⁺ - N = 13: 7) 10, P (NH₄H₂PO₄) 1. 0, K (KCl) 3. 6, Ca (Ca (NO₃)₂ · 4H₂O) 2. 0, Mg (MgSO₄ · 7H₂O) 1. 7, Fe (EDTA - Fe) 0. 07, Zn (ZnSO₄ · 7H₂O) 4. 0 × 10⁻⁴, Cu、B、Mo、Mn 阿农氏配方, pH 调至 5. 5。

土培试验: 设对照 (CK)、施用 W 和 N2 菌剂 3 种处理, 每处理 3 次重复, 共 9 盆。每盆装黄潮土 3 kg, 肥料的用量为 N: P₂O₅: K₂O = 0. 15: 0. 10: 0. 15 (g · kg⁻¹ 土)。将肥料用 100 mL 水溶解, 然后拌入土壤中。每盆播入已催芽的玉米种子 15 粒。每日称重补水, 使土壤含水量保持在 25% 左右。

1.3 分析方法

叶绿素含量采用 SPAD - 502 型叶绿素仪测定。营养液中 NH₄⁺ - N 及全 N 用 AA Ⅲ 型流动分析仪测定。硝酸还原酶 (NRA) 活力的测定: 取倒二叶和幼嫩的根 0. 5 ~ 1. 0 g, 切成 1 cm 小段, 放入 25 mL 的小烧杯中, 加入反应液 (0. 01 mol · L⁻¹ Tris - HCl 缓冲液, 内含 KNO₃ 200 mmol · L⁻¹, pH 7. 5) 10 mL 置于真空干燥器中, 抽真空 1 min, 反复几次, 至材料充分软化沉入烧杯底部为止。然后在 32 ℃ 下培养 2 h 后取出, 加入 0. 1 mol · L⁻¹ HCl 2 mL 终止反应。吸 2 mL 上清液, 加 3 mL 水, 再加 3 mL 1% 的磺胺, 1 mL 0. 02% 的 α - 萘胺, 摇匀, 显色 30 min 后在 540 nm 波长处比色^[7]。

根系 ATPase 活力的测定: 取根尖 3. 00 g, 加入 6 mL 匀浆液 (0. 25 mol · L⁻¹ 蔗糖, 3 mmol · L⁻¹ EDTA, 2. 5 mmol · L⁻¹ 二硫苏糖醇, 25 mmol · L⁻¹ Tris - H₂SO₄, pH 8. 0), 加 0. 5 g 石英砂, 在冰浴上研磨匀浆, 4 ℃ 8 000 r · min⁻¹ 下离心 10 min, 取上清液作为 ATPase 粗提液, 然后于 37 ℃ 水浴中反应, 反应体系如下: 30 mmol · L⁻¹ MgSO₄ 0. 20 mL, 30 mmol · L⁻¹ ATP 0. 20 mL, 300 mmol · L⁻¹ Tris - H₂SO₄ 0. 20 mL, 300 mmol · L⁻¹ KCl 0. 20 mL, 粗酶液 0. 50 mL, 水 0. 70 mL (终体积为 2 mL)。反应 30 min 后, 加 10 mol · L⁻¹

高氯酸 0. 5 mL 终止反应, 3000 r · min⁻¹ 离心 15 min, 吸上清液 1 mL 左右, 加入 1 mL 钒钼酸铵, 加水至 5 mL 摇匀, 显色 15 min 后, 460 nm 波长比色测 P^[8]。

水分含量采用烘干法。pH 用 Bekerman pH 计测。

2 结果与分析

2.1 硅酸盐细菌对玉米植株生物量和体内水分含量的影响

水培和土培试验中, 接种 W 和 N2 两种硅酸盐菌株都能增加玉米苗期的单株干重 (表 1), 表明硅酸盐细菌能促进玉米的生长, 且与对照之间达到 5% 显著性差异, 但两种硅酸盐细菌处理之间差异不显著。

表 1 硅酸盐细菌处理对玉米生物量及含水量的影响
Table 1 Effect of silicate bacteria on water content in corn

处理	生物量 / g (干重) · 株 ⁻¹			含水量 / %		
	CK	W	N2	CK	W	N2
水培	0. 765b	0. 921a	0. 986a	89. 2b	93. 5a	92. 7a
土培	0. 296b	0. 394a	0. 424a	85. 1b	88. 2a	88. 4a

注: 水培、土培 30 d 后取样。

水和植物的生命活动是紧密联系的, 水参与有机物的合成与分解代谢。由于水的高比热和高汽化热, 因此含水丰富可以抗温度胁迫。水培、土培试验中, N₂ 和 W 处理的玉米植株体内水分含量均比 CK 高; 硅酸盐细菌促进玉米吸收水分的原因是由于其促进了根系的生长。W 和 N₂ 处理与 CK 相比差异显著 (P > P_{0. 05}), W 和 N₂ 处理间差异不显著。这反映出硅酸盐细菌对植物生理机能的调节作用, 能增强植物抗旱及抗温度胁迫的能力。水培的水分含量高于土培 (表 1), 因为水培营养介质是营养液, 而土培营养介质是土壤 (含水量 25%)。

2.2 硅酸盐细菌对植物叶片中叶绿素含量的影响

N₂ 和 W 两种硅酸盐菌株处理的土培玉米叶片中叶绿素含量高于 CK (表 2), 其增加率分别为 28. 87% 和 21. 46%, 与 CK 相比均达到 5% 水平的显著性差异, 但 W 和 N₂ 处理间差异不显著。这说明 W 和 N₂ 这两种硅酸盐细菌有助于叶片中叶绿素的形成。水培结果与土培的结果一致, 也为 N₂ > W > CK (表 2), 这与史清亮 (1995) 报道的 PBS 微生物制剂促进叶片叶绿素形成的结果一致^[9]。从叶绿素增长率来看, 水培处理的玉米高于土培处理。究其原因 Fe 是叶绿素生物合成过程中的活化剂。土壤中 Fe 的含量较丰富, 这样就缩小了 W、N₂ 处理与 CK 间的差异。

而在水培条件下, 由于营养液中 P 的浓度高, 容易与 Fe 形成沉淀, 从而出现缺 Fe 症状, N2、W 处理由于其菌剂成分中含有有机酸 (本研究室结果, 未发表), 对 Fe 起配合作用, 提高了 Fe 的有效性, 可以缓解缺 Fe 胁迫, 甚至矫正缺 Fe。另外, 硅酸盐细菌可以提高 $H^+ - ATPase$ 的活性, 促进植物根系分泌 H^+ , 减少了高磷对缺 Fe 的诱导, 而 N2 处理提高 $H^+ - ATPase$ 活性的能力强于 W (见表 3), 故而 N2 纠正缺铁的效果优于 W。本研究的结果显示 (照片结果, 未发表资料): N2 处理的玉米植株叶色浓绿, W 处理次之, 而 CK 最差, 叶片黄白, 加大了硅酸盐细菌处理与 CK 之间的差异, 从而使增长率增大。另外, 叶绿素含量的高低与植物的矿质营养条件和水分条件有关^[10]。N、Mg 是组成叶绿素的元素, 而 Fe、Mn、Cu、Zn 则是叶绿素生物合成过程中某些酶的活化剂。W、N2 可以促进植物对 N 素的吸收, 提高 N 素的利用率 (见表 4), 而分泌的 H^+ 和有机酸可以活化土壤中的 Mg、Fe、Mn、Cu、Zn 等, 并促进植株对这些元素的吸收和利用, 从而促进叶绿素的合成。叶绿素含量的增加可增强光合作用, 合成更多的碳水化合物, 从而促进作物的生长和产量的提高。

表 2 硅酸盐细菌对玉米叶片中叶绿素含量的影响				
Table 2 Effect of silicate bacteria on chlorophyll in corn leaf				
处理	土培		水培	
	平均值 $\pm$ SD	增加率/%	平均值 $\pm$ SD	增加率/%
CK	23.9 ^a b	—	10.7 c	—
W	29.0a	21.5	23.8b	122
N2	30.8a	28.87	30.2a	182

注: 数据为 SPAD 值 (荧光强度)。

2.3 硅酸盐细菌对植物硝酸还原酶和 ATPase 活性的影响

硅酸盐细菌处理后, 植株体内的硝酸还原酶 (NRA) 和 ATPase 的活性变化见表 3。由表 3 可见叶片与根部硝酸还原酶活性趋势一致, 都是 $W > N2 > CK$ 。这表明硅酸盐细菌处理可促进叶片和根部 NRA 活性的提高, 但根部 NRA 高于叶片。由此可推知玉米对 $NO_3^- - N$ 的还原主要在根部。W 处理根部 $NRA > N2$ 处理是由于 W 菌液中细胞分裂素 (CTK) 含量 ($131\text{ nmol} \cdot L^{-1}$) 高于 N2 ($126\text{ nmol} \cdot L^{-1}$), 而 W 菌液吡啶乙酸 (IAA) 的含量 ($91\text{ nmol} \cdot L^{-1}$) 却低于 N2 处理 ($158\text{ nmol} \cdot L^{-1}$)。IAA 对硝酸还原酶活性起抑制作用, 而 CTK 则提高硝酸还原酶的活性^[11、12]。此外, 硅酸盐细菌处理促进根系的生长^[13], 其对 $NO_3^- - N$ 的吸

表 3 硅酸盐细菌对玉米体内 NRA, ATPaseA 活性的影响			
Table 3 Effect of silicate bacteria on activity of NRA and ATPase in corn			
项目	CK	W	N2
NRA (叶片)	1.85c	4.84a	3.18b
NRA (根)	3.43c	11.37a	5.14b
ATPase (根)	5.72b	11.15a	12.91a
水培液 pH	6.11a	5.27b	4.24c

注: $NRA/\mu g\ NO_3^- \cdot g^{-1}FW \cdot h^{-1}$; $ATPaseA/\mu gP \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$ 。

收能力也相应增强。

玉米根系 ATPase 的活性则以 $N2 > W > Ck$, 说明硅酸盐细菌处理能提高玉米根部 $H^+ - ATPase$ 活性。N2 处理 ATPase 活性较 W 处理高, 可能是由于其菌液成分中 IAA 含量高, 脱落酸 (ABA, $N2\ 1030\ \mu mol \cdot L^{-1}$, $W\ 1911\ \mu mol \cdot L^{-1}$) 含量低的缘故。IAA 可激活 $H^+ - ATPase$, CTK 也可激活 $H^+ - ATPase$, A-BA 则抑制 $H^+ - ATPase$ 的活性^[14]。 $H^+ - ATPase$ 与植物根系泌 H^+ 密切相关。ATPase 是细胞质膜上的一种嵌入蛋白, 通过水解释放出能量, 并把 H^+ 由膜内泵出膜外。ATPase 活性越高, 根系泌 H^+ 量也会增加, 从而使根际 pH 降低。虽然硅酸盐细菌处理后 NRA 也高, 但 ATPase 活性远大于 NRA 活性, 因此综合效果表现出营养介质 pH 下降。从化学平衡的角度分析, 根部 $NO_3^- - N$ 还原会释放出 OH^- , 并排到体外, $H^+ - ATPase$ 水解 ATP 产生 H^+ 泵出细胞外, 两者互相中和, 使得 ATPase 与 NRA 活性相互促进。另外, 质膜 ATP 酶水解 ATP 建立的质子驱动力, 促进膜上 NO_3^- 的专性载体 - 透过酶 NO_3^- 从膜外运入膜内。介质 pH 取决于两者的综合效应。IAA 激活 $H^+ - ATPase$, 泵出 H^+ , 使细胞壁环境酸化, 于是使对酸不稳定的键 (H 键或共价键) 断裂, 或可使适宜于酸性环境的水解酶活性增加, 把固体形式的多糖转变为水溶性形式的糖, 因此, 细胞壁纤维素结构间交联点破裂, 联系松弛, 细胞壁可塑性增加, 从而使细胞伸长, 促进植物根系生长^[10]。ATPase 活性的提高也有助于改善植物的矿质营养^[14、15]。

2.4 硅酸盐细菌对植物 N 素吸收的影响

在 $NO_3^- - N$ 同化过程中, NRA 是第 1 个酶, 对于大多数植物来说, 它是限速酶, 控制 N 素同化的速率^[10、16]。硅酸盐细菌处理可提高玉米中 NRA 活性, 促进 N 素的同化, 从而促进玉米根系对 $NO_3^- - N$ 的吸收, 改善植物体内 N 素营养, 促进植物生长。表 4 是硅酸盐细菌菌液处理 24 h 后, 玉米吸收营养液中 N 的

表 4 硅酸盐细菌对玉米 N 素吸收的影响 (× 10⁻⁵ g · 盆⁻¹)

Table 4 Influence of silicate bacteria on N uptake by corn

(unit: × 10⁻⁵ g · pot⁻¹)

项目	CK	W	N2
NH ₄ ⁺ - N	0. 26c	0. 77b	1. 76a
NO ₃ ⁻ - N	1. 42c	4. 80b	6. 93a
总 N	1. 67c	5. 56b	8. 68a
水培液 pH	6. 11a	5. 27b	4. 24c

注: 水培 20 d 的玉米在第 21 ~ 26 d 的吸收量。

形态及数量。

结果表明, 玉米吸收的NO₃⁻ - N、NH₄⁺ - N 和总 N 量都以硅酸盐细菌处理高于 CK, 硅酸盐菌株处理的玉米对NO₃⁻ - N、NH₄⁺ - N 和总 N 的吸收量均为 N2> W 菌株处理, 且差异显著。硅酸盐细菌处理吸收 NH₄⁺ - N 量与根外介质 pH 的关系是 pH 值低的, 吸收的NH₄⁺ - N 量较多。硅酸盐细菌处理玉米中 H⁺ - ATPase 活性高, H⁺ 泵出质膜较多, NH₄⁺ 补偿正电荷, 被动进入根内部的也较多。各处理吸收的NO₃⁻ - N 大于NH₄⁺ - N, 原因是: 营养液中NO₃⁻ - N 较多, NO₃⁻ - N: NH₄⁺ - N = 13: 7; 硅酸盐细菌处理使 NRA、ATPase 活性提高, NO₃⁻ - N 的吸收以主动吸收为主, 从而使吸收的NO₃⁻ - N 量大于NH₄⁺ - N。N2 处理对两种形态的 N 的吸收量大于 W 处理, 与 N2 处理的泌 H⁺ 量大, ATP 酶活性高有关。表中结果趋势与 Kumar 等 (1995) 报道的结果一致^[17]。玉米植株内 N 含量趋势是 CK(36. 6 g · kg⁻¹ 干重) <N2(42. 9 g · kg⁻¹) <W (45. 2 g · kg⁻¹)。

3 结论

施用硅酸盐细菌可以增加玉米体内的水分和叶片中叶绿素含量, 提高 NRA 和 H⁺ - ATPase 的活性, 促进其对 N 素的吸收, 从而可以提高玉米的 N 素利用率和促进玉米的生长。另外, 硅酸盐细菌处理的植物根系泌 H⁺ 量增加, 使介质中的 pH 降低, 有利于介

质中养分的活化和迁移。

参考文献:

[1] FAO Statistical database, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. 2001, <http://www.fao.org>.

[2] 崔玉亭, 程 序, 韩纯儒, 等. 苏南太湖流域水稻经济生态适宜施氮量研究[J]. 生态学报, 2000, 4: 659 - 662.

[3] 浙江农业大学. 作物营养与施肥[M]. 北京: 农业出版社, 1990.

[4] 王晓蓉. 环境化学[M]. 南京: 南京大学出版社, 1993.

[5] 占新华, 蒋廷惠, 徐阳春, 等. 微生物制剂促进植物生长机理的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(2): 97 - 105.

[6] 刘 健, 李 俊, 葛 诚. 微生物肥料作用机理的研究新进展[J]. 微生物学杂志, 2001, 21(1): 33 - 36.

[7] 李止正, 安林升, 刘吉泽, 等. 缺钼番茄的培养及其生理特性初步分析[J]. 植物生理学通讯, 1980, (1): 16 - 19.

[8] 王延枝, 斯海文. 植物细胞中液泡膜 H⁺ - ATPase 的初步研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1987, (1): 101 - 106.

[9] 史清亮, 贺跃武, 马玉珍. PBS 生物肥料的研制及其应用效果[A]. 全国微生物肥料专业会议论文[C]. 1995.

[10] 潘瑞炽, 董思得. 植物生理学(上册, 第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.

[11] 高夕全, 刘爱荣, 叶梅荣. 水杨酸对水稻幼苗硝酸还原酶活性和根系生长的影响[J]. 安徽农业技术师范学院学报, 2000, 14(1): 13 - 15.

[12] 赵 鹏, 陈秉初, 申屠文月. 植物生长调节剂对佛手硝酸还原酶活力的影响[J]. 浙江农业科学, 1999, 5: 244 - 246.

[13] Steven N, et al. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*[J]. *Environ Sci Technol*, 2001, 35: 3144 - 3150.

[14] Ramon Serrano. Structure and function of plasma membrane ATPase [J]. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 1989, 40: 61 - 94.

[15] 贾 毅, 王伯初, 王秀娟. 植物细胞质膜 H⁺ - ATPase 的调控[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(1): 98 - 102.

[16] 洪剑明, 黄勤妮, 邱泽生. 玉米根细胞质膜硝酸还原酶的研究[J]. 植物学报, 1995, 37(12): 927 - 933.

[17] Kumar, paroda, Dadarwal. Root growth stimulating *Azospirilla* associated with roots of sunflower, *Helianthus annuus* L[J]. *Indian J of Experimental Biology*, 1995, 33(8): 565 - 570.