

刘泽平, 王志刚, 徐伟慧, 等. 水稻根际促生菌的筛选鉴定及促生能力分析[J]. 农业资源与环境学报, 2018, 35(2): 119-125.

LIU Ze-ping, WANG Zhi-gang, XU Wei-hui, et al. Screen, Identification and Analysis on the Growth-Promoting Ability for the Rice Growth-Promoting Rhizobacteria[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2018, 35(2): 119-125.

水稻根际促生菌的筛选鉴定及促生能力分析

刘泽平¹, 王志刚^{1,2*}, 徐伟慧¹, 陈文晶¹, 吕智航¹, 王春龙¹, 史一然¹

(1. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 农业部华南都市农业重点实验室, 广州 510640)

摘要: 植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 可分泌植物生长激素, 促进土壤养分循环, 是生物肥料重要的种质资源。本文从水稻根际土壤分离纯化根际促生菌, 进行菌株鉴定, 测定其促生能力。经过 16S rDNA 测序比对, 筛选得到解磷菌 4 株(*Bacillus pumilus* LZP02, *Bacillus aryabhattai* LZP08, *Staphylococcus epidermidis* LZP10, *Bacillus ginsengisoli* LZP05), 溶磷菌 3 株(*Bacillus megaterium* LZP03, *Bacillus oryzaecorticis* LZP04, *Bacillus ginsengisoli* LZP07), 解钾菌 3 株(*Bacillus aryabhattai* LZP01, *Bacillus subtilis* LZP06, *Bacillus licheniformis* LZP09)。养分转化能力测试结果表明, *Bacillus aryabhattai* LZP01 和 *Bacillus subtilis* LZP06 解钾能力较好; *Bacillus pumilus* LZP02 和 *Bacillus huizhouensis* LZP05 解磷能力较强; *Bacillus megaterium* LZP03 和 *Bacillus ginsengisoli* LZP07 溶磷能力较好。对养分转化能力较强的菌株进行激素分泌能力测定, 结果表明 6 种菌株均能产生生长素、赤霉素, 均具有合成铁载体的能力。综合分析菌株养分转化与激素分泌能力发现, *Bacillus megaterium* LZP03、*Bacillus huizhouensis* LZP05 和 *Bacillus subtilis* LZP06 促生能力较强, 具有较强的开发利用潜力。研究成果为水稻微生物肥料的开发与生产提供了理论和技术支持。

关键词: 根际促生菌; 水稻; 赤霉素; 吲哚乙酸; 铁载体

中图分类号: 文献标志码: A 文章编号: 2095-6819(2018)02-0119-07 doi: 10.13254/j.jare.2017.0251

Screen, Identification and Analysis on the Growth-Promoting Ability for the Rice Growth-Promoting Rhizobacteria

LIU Ze-ping¹, WANG Zhi-gang^{1,2*}, XU Wei-hui¹, CHEN Wen-jing¹, LÜ Zhi-hang¹, WANG Chun-long¹, SHI Yi-ran¹

(1. College of Life Science and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Key Laboratory of Urban Agriculture, Southern China, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) can secrete the growth hormone and promote soil nutrient cycling, thus, is an important germplasm resource of bio-fertilizer. In this study, the PGPR was isolated from the rice rhizosphere. According to 16S rDNA sequences, 10 strains were identified, including 4 organic phosphorus bacteria (*Bacillus pumilus* LZP02, *Bacillus aryabhattai* LZP08, *Staphylococcus epidermidis* LZP10, *Bacillus ginsengisoli* LZP05), 3 inorganic phosphorus bacteria (*Bacillus megaterium* LZP03, *Bacillus oryzaecorticis* LZP04, *Bacillus ginsengisoli* LZP07) and 3 potassium bacteria (*Bacillus aryabhattai* LZP01, *Bacillus subtilis* LZP06, *Bacillus licheniformis* LZP09). The results from nutrient conversion analysis showed that *Bacillus aryabhattai* LZP01 and *Bacillus subtilis* LZP06 performed better on the potassium releasing ability. *Bacillus pumilus* LZP02 and *Bacillus huizhouensis* LZP05 performed better on the function of organic phosphorus. *Bacillus megaterium* LZP03 and *Bacillus ginsengisoli* LZP07 performed better on the function of inorganic phosphorus. Further, the hormone secretion capacity was measured for these 6 strains. The results showed that all 6 strains could produce auxin and gibberellin, and had the ability to synthesize iron carrier. Moreover, the results showed that *Bacillus megaterium* LZP03, *Bacillus huizhouensis* LZP05 and *Bacillus subtilis* LZP06 had stronger ability to promote the nutrient conversion and hormone secretion. Systematically, we believe that these three strains have great potential application on microbial fertilizer.

Keywords: root promoting bacteria; rice; gibberellin; indole acetic acid; iron carrier

收稿日期: 2017-10-16 录用日期: 2017-12-11

基金项目: 齐齐哈尔市科学技术计划项目(SFGG-201576); 农业部华南都市农业重点实验室开放课题(003)

作者简介: 刘泽平(1993—), 硕士研究生, 从事环境微生物研究。E-mail: 552012533@qq.com

* 通信作者: 王志刚 E-mail: wzg198030@sina.com

水稻是我国单产最高、种植面积最大、总产最多的粮食作物,全国约有 60%左右的人口以稻米为主要食物^[1]。水稻在我国粮食生产中占有非常重要的地位,与国计民生密切相关^[2]。我国农业生产过程主要依赖化学肥料,但是随着化肥的过量使用,农作物品质下降、环境污染、土壤质量恶化等问题日趋严重^[3],严重影响我国农业的可持续发展。随着科技进步,肥料的发展已趋于规范化、环保化、高效化和多功能一体化^[4],新型微生物肥料的产生标志着肥料产业进入了一个新的里程^[5]。微生物肥料是指一类含有活的微生物并在使用中能获得特定肥料效应,从而增加植物产量或提高品质的生物制剂,其中最主要的微生物为根际促生菌^[6]。

植物根际促生菌(PGPR)是生活在土壤或附生于植物根系,促进植物营养吸收与生长,并能够抑制有害生物的有益微生物^[7-8]。PGPR 是微生物肥料重要的种质资源,在生态环境保护、绿色有机食品生产以及农业可持续发展中发挥着重要作用^[9]。根际促生菌的种类及其功能较多,其中主要种类包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)等,能合成生长素、赤霉素等促进植物细胞生长、分裂和分化、调节生根等对植物生长发育有直接作用功能的物质,还可改变土壤中钾、磷等元素的形态,使之有效化而利于植物吸收^[10]。研究发现能产生吲哚乙酸(IAA)、含铁细胞等物质的菌株,接种于植物并种植后,植物的根长、根鲜重、茎鲜重、根干重、茎干重、叶片数、总生物量均有不同程度的增加^[11]。近几年我国关于微生物肥料的研究呈现出增长趋势^[12],但是北方土壤中根际促生菌的研究较少。本研究从黑龙江省水稻根系土壤中筛选和鉴定了水稻根系促生菌,研究其植物激素分泌和养分活化能力^[13],为水稻专化型微生物肥料开发利用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 水稻根际土壤采集

于黑龙江省二九零农场(47°35'23.85" N, 131°56'24.01" E)水稻种植区,选取一片全部为黑土水稻田,此水稻田种植的水稻品种为龙粳 46。在 1 hm² 范围内,随机选取 10 个点,每个点选取 10 株水稻,采用抖土法收集根系表面 1~2 mm 处的土壤约 10 g,共计约 100 g 土壤,于 4 °C 冷藏保存待用。

1.2 培养基配方

LB 培养基(1 L):琼脂 20 g,酵母 5 g,NaCl 8 g,蛋

白胨 10 g,pH 7.0;液体培养基不加琼脂。

PKO 无机培养基(1 L):葡萄糖 10.0 g,MgSO₄·7H₂O 0.3 g,(NH₄)₂SO₄ 0.5 g,NaCl 0.3 g,Ca₃(PO₄)₂ 2.0 g,KCl 0.3 g,MnSO₄·H₂O 0.03 g,FeSO₄·7H₂O 0.036 g,琼脂 20 g;液体培养基不加琼脂。

蒙金娜有机培养基(1 L):葡萄糖 10.0 g,(NH₄)₂SO₄ 0.5 g,MgSO₄·7H₂O 0.3 g,NaCl 0.3 g,KCl 0.3 g,FeSO₄·7H₂O 0.03 g,MnSO₄·H₂O 0.03 g,卵磷脂 0.2 g,CaCO₃ 1.0 g,酵母粉 0.5 g,琼脂 20.0 g;液体培养基不加琼脂。

亚历山大罗夫培养基(1 L):蔗糖 5.0 g,Na₂HPO₄ 2.0 g,MgSO₄·7H₂O 0.5 g,CaCO₃ 0.1 g,FeCl₃·6H₂O 0.005 g,钾长石粉 1.0 g,琼脂 20.0 g,液体培养基不加琼脂。

MKB 培养基(1 L):酪蛋白氨基酸 5.0 g,甘油 15.0 mL,K₂HPO₄ 2.5 g,MgSO₄·7H₂O 0.2 g,琼脂 20.0 g,pH 7.0;液体培养基不加琼脂。

1.3 促生菌筛选与鉴定

1.3.1 菌株筛选

称取根系土壤 1 g,无菌条件下于三角瓶中配制土壤悬液,在 25 °C 温度下 140 r·min⁻¹ 振荡培养 30 min 得到土壤悬液。通过浓度梯度稀释,得到 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ 浓度的悬液,分别吸取 0.1 mL 悬液平板涂布在 PKO 无机培养基(溶磷菌筛选)、蒙金娜有机培养基(解磷菌筛选)、亚历山大罗夫培养基(解钾菌筛选),每个处理 3 次重复,存放于 28 °C 恒温箱内培养 5 d。根据解磷圈、解钾圈和溶磷圈大小,在筛选培养基中分别挑取优势菌株,进行纯化和多次传代,每个菌株设置 3 个平行。将挑选的菌株分别接种于 LB 液体培养基中,在 30 °C 温度下 140 r·min⁻¹ 振荡培养过夜,吸取 1 mL 菌液于 2 mL 离心管中,4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 倒去上清保留沉淀,于 -80 °C 冷藏备用。

1.3.2 菌株鉴定

针对挑选出的优势菌株进行 16S rDNA 测序,序列由上海美吉公司进行测定。菌株测序结果于 NCBI 中 Blast 比对,鉴定菌株。使用 MEGA 5.0 软件构建系统进化树,对其遗传性质进行分析。

1.4 菌株养分转化能力性测定

1.4.1 解磷菌和溶磷菌功能性测定

将 2 μg·mL⁻¹ 的磷标准液梯度稀释至含磷量为 0.00、0.04、0.08、0.24、0.40、0.80、1.20 μg·mL⁻¹ 制作标准曲线。在室温下加入钼锑抗显色剂,显色 20 min,测定其吸光值并制作标准曲线。测定标准曲线为 $y =$

0.173 3x-0.116 6, 相关系数 $R^2=0.990\ 7$ 。

将保存的溶磷菌株挑取少许沉淀接种于 LB 液体培养基中, 在 30℃ 温度下 $140\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养过夜, 使菌液吸光值 $\text{OD}_{600}=1$, 吸取 1 mL 菌液于液体 PKO 培养基; 解磷菌株挑取少许沉淀接种于 LB 液体培养基中, 在 30℃ 温度下 $140\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养过夜, 使菌液吸光值 $\text{OD}_{600}=1$, 吸取 1 mL 菌液于液体蒙金娜培养基, 30℃ 温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养箱培养。每 24 h 取 5 mL 菌液离心上清定容至 25 mL 后加入显色剂, 每组 3 个平行, 通过钼锑抗比色法测定菌株的溶磷与解磷能力^[14]。

1.4.2 解钾菌功能性测定

将保存的解钾菌株挑取少许沉淀接种于 LB 液体培养基中, 在 30℃ 温度下 $140\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养过夜, 使菌液吸光值 $\text{OD}_{600}=1$, 吸取 1 mL 菌液于亚历山大罗夫液体培养基中, 30℃ 温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养, 每 24 h 取样离心后利用火焰原子吸收光谱仪测定上清液中钾离子的浓度, 每组 3 个平行, 并绘制曲线^[15]。

1.5 菌株的植物促生激素测定

1.5.1 IAA 分泌量测定

标准曲线采用分析纯 IAA 进行制备, 将 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 IAA 标准液梯度稀释为 0、25、50、75、100、125、150、175 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度, 采用 Salkowski 显色法测定吸光值(OD_{540})。得到标准曲线为 $y=0.013\ 2x+0.011\ 1$, 相关系数 $R^2=0.999$ 。

将保存的菌株挑取少许沉淀接种于 LB 液体培养基中, 在 30℃ 的温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养 24 h 制作种子液, 按 1% 的接种量将种子液分别接入含有 $200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 色氨酸的液体 PKO 无机培养基、蒙金娜有机培养基、亚历山大罗夫培养基中, 于 30℃ 温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养, 每 24 h 采用 Salkowski 显色法测量 IAA 分泌量, 每组 3 个平行^[16]。

1.5.2 铁载体能力测定

对菌株进行铁载体活性测定, 将保存的菌株挑取少许沉淀接种于 LB 液体培养基中, 在 30℃ 温度下 $140\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养过夜, 使菌液吸光值 $\text{OD}_{600}=1$, 吸取 1 mL 菌液于 MKB 液体培养基中, 在 30℃ 的温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养 48 h, 离心取 3 mL 上清液。将上清液与 CAS 检测液各 3 mL 均匀混合, 每组 3 个平行, 反应 1 h, 于 630 nm 处测定吸光值(As)。对照组为不接菌 MKB 液体培养基, 测定方法同上(Ar)。铁载体含量测定根据公式: 铁载体活性单位(%)=(Ar-

As)/Ar $\times 100$ 进行计算铁载体产量^[17]。

1.5.3 赤霉素分泌量测定

将分析纯赤霉素溶于体积分数为 70% 的乙醇中, 配制成 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的赤霉素标准液, 梯度稀释为 0、10、20、30、40、50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度, 取各浓度的赤霉素溶液 0.5 mL 与 4.5 mL 98% 硫酸混匀后定容至 20 mL 测定吸光值(412 nm), 制作标准曲线, 经测定得到赤霉素标准曲线方程 $y=0.021\ 9+0.000\ 2$, $R^2=0.999$ 。

将保存的菌株挑取少许沉淀接种于 LB 培养基中, 30℃ 温度下 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养 24 h 制作种子液, 按 1% 的接种量将种子液分别转接 PKO 无机培养基、蒙金娜有机培养基、亚历山大罗夫培养基中, 30℃ 温度下振荡培养, 每 24 h 离心取 0.5 mL 上清测定菌株赤霉素浓度, 以确定各菌株最大赤霉素分泌量, 每组 3 个平行^[18]。

1.6 数据处理

应用 SPSS 20.0 软件对数据进行方差分析, 并用 Duncan 新复极差法比较不同处理间各种指标之间的差异; 相关数据统计分析和制图采用 SigmaPlot 12.5 软件进行。

2 结果与分析

2.1 促生菌的筛选与鉴定

提取筛选得到菌株的 DNA, 进行 16S rDNA 基因测序, 菌株序列由上海美吉公司进行测定, 并将测序结果在 NCBI 数据库中进行 Blast 比对, 结果表明, 解磷菌有 *Bacillus pumilus* (LZP02)、*Bacillus aryabhattai* (LZP08)、*Staphylococcus epidermidis* (LZP10)、*Bacillus ginsengisoli* (LZP05); 溶磷菌有 *Bacillus megaterium* (LZP03)、*Bacillus oryzaecorticis* (LZP04)、*Bacillus ginsengisoli* (LZP07); 解钾菌有 *Bacillus aryabhattai* (LZP01)、*Bacillus subtilis* (LZP06)、*Bacillus licheniformis* (LZP09)。如图 1 可见, 各菌株的 16S rDNA 的基因序列构建系统进化树中, 各菌株的分子鉴定结果经进化树比对可靠性较高且大部分菌株的亲缘关系比较接近^[19]。鉴定的菌株中, 只有 LZP10 属于 *Staphylococcus* sp., 其他 9 个菌株均属于 *Bacillus* sp.。

2.2 菌株养分转化能力测定

由于菌株 *Staphylococcus epidermidis* LZP10 对人体有致病性, 所以不进行研究。测定功能性的解磷菌有 *Bacillus pumilus* LZP02、*Bacillus aryabhattai* LZP08、*Bacillus huizhouensis* LZP05, 溶磷菌有 *Bacillus oryzaecorticis* LZP04、*Bacillus ginsengisoli* LZP07、*Bacillus*

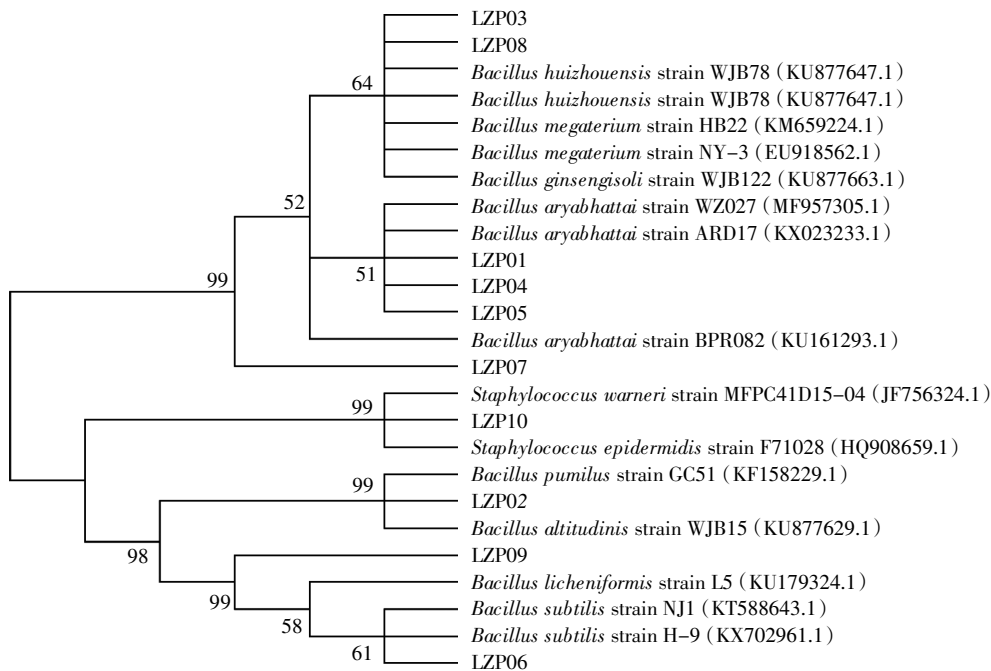


图 1 菌株进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of strains

megaterium LZP03, 解钾菌有 *Bacillus subtilis* LZP06、*Bacillus aryabhattai* LZP01、*Bacillus licheniformis* LZP09。由图 2A 可知, *Bacillus aryabhattai* LZP08 号菌株培养 24 h 时培养基磷含量达最高值, 此时磷含量 $31.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 *Bacillus pumilus* LZP02 与 *Bacillus huizhouensis* LZP05 号菌株在 72 h 时培养基磷含量达最高值, 此时磷含量分别为 $32.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $35.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由图 2B 可知, 3 株菌均在 168 h 时达到最大溶磷量, *Bacillus megaterium* LZP03 号菌株最大溶磷量为 $311.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, *Bacillus ginsengisoli* LZP07 号菌株最大溶磷量为 $293.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, *Bacillus oryzae* LZP04 号菌株最大溶磷量为 $286.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由图 2C 可知, *Bacillus subtilis* LZP06 号菌株钾离子含量为 $1.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, *Bacillus aryabhattai* LZP01 号菌株钾离子含量为 $1.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, *Bacillus licheniformis* LZP09 号菌株钾离子含量为 $0.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 3 株菌都具有较好的解钾能力。根据菌株功能性测定结果, 挑选出转化能力较好的 *Bacillus aryabhattai* LZP01、*Bacillus pumilus* LZP02、*Bacillus megaterium* LZP03、*Bacillus huizhouensis* LZP05、*Bacillus subtilis* LZP06、*Bacillus ginsengisoli* LZP07 6 株进行分泌植物激素能力测定。

2.3 菌株分泌植物激素能力测定

由图 3A 可知, 根系促生菌普遍具有分泌 IAA 的能力, 其中 *Bacillus subtilis* LZP06 分泌量最高为

$92.26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而 *Bacillus aryabhattai* LZP01、*Bacillus megaterium* LZP03 和 *Bacillus ginsengisoli* LZP07 也具有较高的 IAA 分泌量, 分别为 77.87 、 $55.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $53.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 且经过多次传代产 IAA 特性稳定。

将菌株接种于筛选培养基后测定赤霉素分泌量, 由图 3B 可知, 赤霉素分泌量最高的为 *Bacillus subtilis* LZP06 号菌株, 其分泌量为 $24.91 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其余菌株分泌量在 $10.75 \sim 17.46 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

通过铁载体活性测定发现(图 3C), *Bacillus aryabhattai* LZP01 铁载体活性为 39.2%, *Bacillus pumilus* LZP02 铁载体活性为 25.59%, *Bacillus megaterium* LZP03 铁载体活性为 47.22%, *Bacillus huizhouensis* LZP05 铁载体活性为 64.44%, *Bacillus subtilis* LZP06 铁载体活性为 51.75%, *Bacillus ginsengisoli* LZP07 铁载体活性为 50.91%。其中铁载体活性最高的菌株为 *Bacillus huizhouensis* LZP05。

3 讨论

水稻是我国主要的粮食作物, 并且是我国种植面积最大的农作物, 随着水稻种植面积的不断加大, 化肥农药等污染越来越严重^[20], 从而导致土壤中养分不足、植株生长发育缓慢等现象^[21]。本实验从黑龙江水稻根际土壤处筛选得到解磷菌 4 株, 溶磷菌 3 株, 解钾菌 3 株, 经过 16S rDNA 测序比对, 鉴定大部分菌株

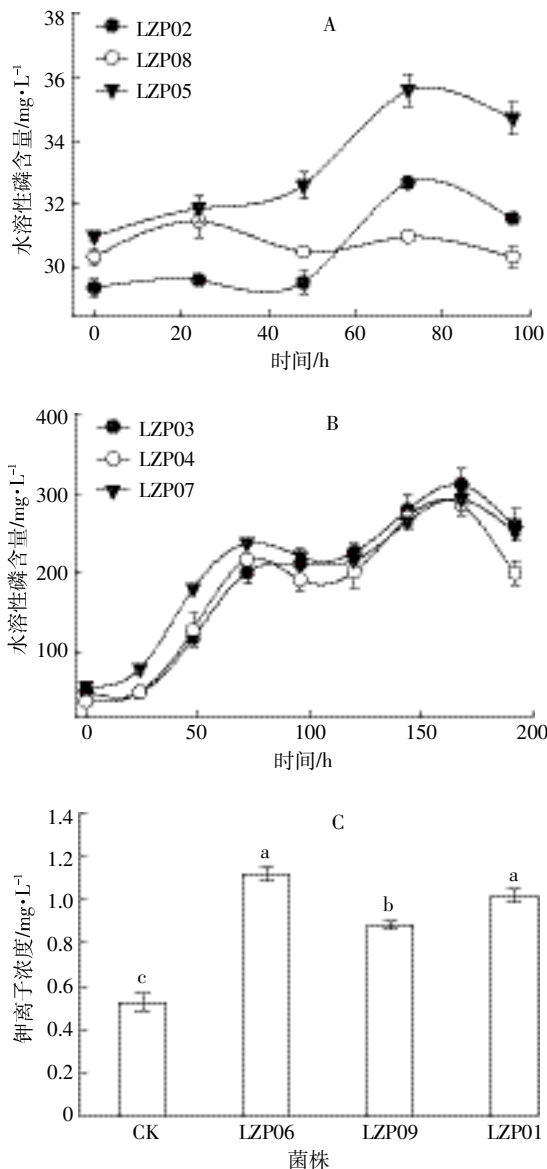


图 2 菌株功能性测定

Figure 2 Functional determination of the strains

为芽孢杆菌属。芽孢杆菌具有代谢快、繁殖快和生长能力强等特点,最快 4 h 增殖 10 万倍,并且体积比一般病原菌分子大 4 倍数,相比之下占据空间优势,抑制病原菌生长^[2]。芽孢杆菌的促生机制主要有提高植物根际养分的可利用性、产生植物激素类物质,还可以通过抑制病原物和诱导抗性来间接地促进植物生长^[23]。该菌属菌株在生物固氮、降解重金属和环境污染

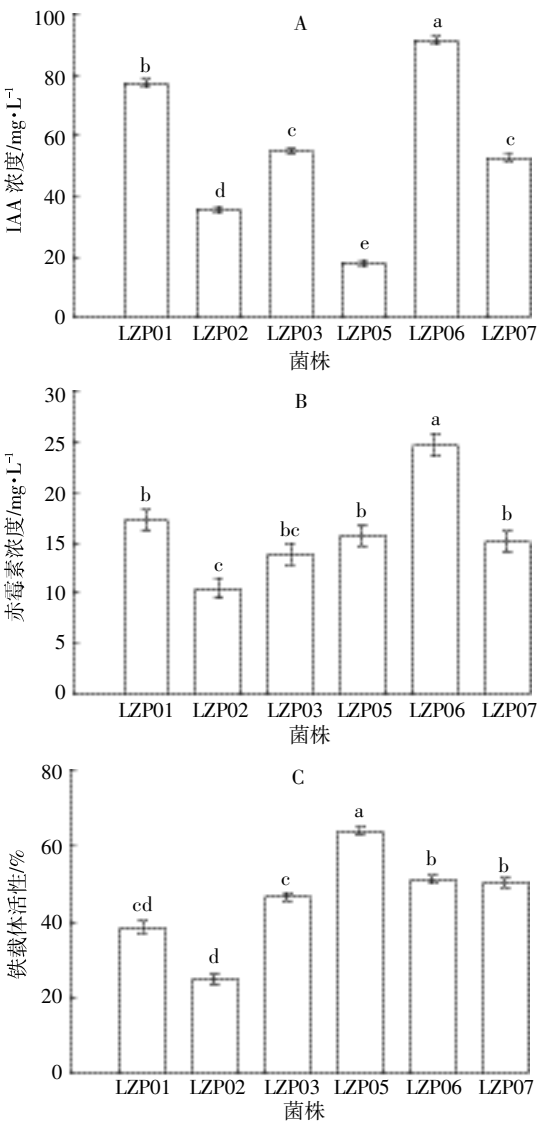


图 3 菌株分泌激素测定

Figure 3 Determination of hormone secretion of the strains

物等许多方面都有应用,具有多种生物学功能^[24]。

研究发现微生物也能够产生生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸和乙烯等植物激素,它们对于植物的生长是必需的^[25]。低浓度的生长素有促进器官伸长的作用,还能促进 RNA 和蛋白质的合成,促进细胞的分裂与分化。赤霉素最显著的效应是促进植物茎伸长,也可促进禾本科植物叶的伸长和促进果实发育和单性结实。微生物可以分泌铁载体,促进植物光合作用、呼吸作用、物质和能量的代谢。对筛选菌株进行激

素分泌能力分析结果表明,检测的 6 种菌株均能产生生长素、赤霉素,均具有合成铁载体的能力。根据研究发现微生物肥料中含有活的微生物,并且在使用中能获得特定肥料效应来增加植物产量或提高品质^[26],在营养元素的转化、促进作物生长、拮抗土传病害和生态系统的平衡等方面起着重要的作用。通过对本试验结果与国内外研究现状比较,解磷菌中 *Bacillus pumilus* LZP02 和 *Bacillus huizhouensis* LZP05 解磷能力较强,并且在生长素与铁载体分泌量上普遍高于其他促生菌^[27];溶磷菌中 *Bacillus megaterium* LZP03、*Bacillus ginsengisoli* LZP07 溶磷能力和激素分泌能力较其他试验菌株具有明显的优势^[28];解钾菌中 *Bacillus aryabhattai* LZP01 和 *Bacillus subtilis* LZP06 解钾能力较好^[29]。说明筛选的菌株可以显著提升土壤中有有效钾、有效磷的积累,促进水稻生长^[30]。综上所述,将芽孢杆菌用于微生物菌肥的研发,既可以有效促进植物生长,提高农作物产量;还可以减轻化肥农药对土壤的损伤,保护环境。本研究结果必将对水稻微生物肥料开发利用产生推动作用,在农业生产实践中产生经济效益、社会效益和生态效益。

4 结论

本试验研究结果表明,黑龙江水稻根际土壤中根际促生菌主要为芽孢杆菌属菌株,这类菌株具有较好生物学活性与功能,具有很好的研究价值。综合分析试验结果发现,*Bacillus megaterium* LZP03、*Bacillus huizhouensis* LZP05 和 *Bacillus subtilis* LZP06 有较好的溶磷、解磷、解钾效果,且具有较强分泌生长素、赤霉素、铁载体能力,说明这 3 个菌株具有较强植物促生能力,具有巨大的开发利用潜力。研究成果将为水稻微生物肥料的开发与生产提供了理论和技术支持。

参考文献:

- [1] 王景晨. 论我国的水稻发展及对策[J]. 信阳农林学院学报, 2000(3): 1-4.
WANG Jing-chen. On development and countermeasure of rice in China[J]. *Journal of Xinyang Agricultural College*, 2000(3): 1-4. (in Chinese)
- [2] 高祥照, 马常宝, 陈守伦. 我国农业发展与化肥使用趋势分析[J]. 化肥工业, 2003, 30(3): 3-5.
GAO Xiang-zhao, MA Chang-bao, CHEN Shou-lun. Agriculture development and fertilizer use tendency of China[J]. *Chemical Fertilizer Industry*, 2003, 30(3): 3-5. (in Chinese)
- [3] Ji S H, Gururani M A, Chun S C. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 83-98.
- [4] Cong P, Ouyang Z, Hou R, et al. Effects of application of microbial fertilizer on aggregation and aggregate-associated carbon in saline soils[J]. *Soil & Tillage Research*, 2017, 168: 33-41.
- [5] Liu X, Hu G, He H, et al. Linking microbial immobilization of fertilizer nitrogen to in situ, turnover of soil microbial residues in an agro-ecosystem[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2016, 229: 40-47.
- [6] 孟瑶, 徐凤花, 孟庆有, 等. 中国微生物肥料研究及应用进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(6): 276-283.
MENG Yao, XU Feng-hua, MENG Qing-you, et al. Current application status and prospect of microbiological fertilizer in China[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(6): 276-283. (in Chinese)
- [7] Nico M, Ribaud C M, Gori J I, et al. Uptake of phosphate and promotion of vegetative growth in glucose-exuding rice plants (*Oryza sativa*) inoculated with plant growth-promoting bacteria[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61(5): 190-195.
- [8] Vurukonda S S K P, Vardharajula S, Shrivastava M, et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria[J]. *Microbiological Research*, 2016, 184: 13.
- [9] 赵青云, 赵秋芳, 王辉, 等. 根际促生菌 *Bacillus subtilis* Y-IV1 在香草兰上的应用效果研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(2): 535-540.
ZHAO Qing-yun, ZHAO Qiu-fang, WANG Hui, et al. Beneficial effects of plant growth promoter rhizobacteria on vanilla (*Vanilla planifolia* Ames.) growth[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, 21(2): 535-540. (in Chinese)
- [10] Sreevidya M, Gopalakrishnan S, Kudapa H, et al. Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47(1): 85-95.
- [11] 王艺, 丁贵杰. 外生菌根对马尾松幼苗生长、生理特征和养分的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2013, 37(2): 97-102.
WANG Yi, DING Gui-jie. Effects of ectomycorrhizal on growth, physiological characteristics and nutrition in *Pinus massoniana* seedlings[J]. *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition)*, 2013, 37(2): 97-102. (in Chinese)
- [12] Tamreihao K, Ningthoujam D S, Nimaichand S, et al. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant[J]. *Microbiological Research*, 2016, 192: 260.
- [13] Siripornadulsil S, Siripornadulsil W. Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: Potential microbial bioremediation[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2013, 94(1): 94-103.
- [14] 蒋宝贵, 赵斌. 解磷解钾共生固氮菌的分离筛选及鉴定[J]. 华中农业大学学报(自然科学版), 2005, 24(1): 43-48.
JIANG Bao-gui, ZHAO Bin. Screening and identification of the bacterium which have high efficiency on resolving phosphorus and potassium and in nitrogen fixation[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University(Natural Science Edition)*, 2005, 24(1): 43-48. (in Chinese)
- [15] Deepa C K, Dastager S G, Pandey A. Plant growth-promoting activity

- in newly isolated *Bacillus thio-parus* (NH-0902) from Western Ghat Forest, India[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2010, 26(12):2277-2283.
- [16] 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.
ZHANG Dong-yan, LIU Ye, WU Yue, et al. Isolation and identification of IAA-producing strains from peanut rhizosphere and its promoting effects on peanut growth[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2016, 38(1):104-110. (in Chinese)
- [17] 孙 磊, 邵 红, 刘 琳, 等. 可产生铁载体的春兰根内生细菌多样性[J]. 微生物学报, 2011, 51(2):189-195.
SUN Lei, SHAO Hong, LIU Lin, et al. Diversity of siderophore-producing endophytic bacteria of *Cymbidium goeringii* roots[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(2):189-195. (in Chinese)
- [18] Jha C K, Patel B, Saraf M. Stimulation of the growth of *Jatropha curcas* by the plant growth promoting bacterium *Enterobacter cancerogenus* MSA2[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2012, 28(3):891.
- [19] Vandamme P, Pot B, Gillis M, et al. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics[J]. *Microbiological Reviews*, 1996, 60(2):407.
- [20] 张 霞, 唐文华, 张力群. 枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用[J]. 作物学报, 2007, 33(2):236-241.
ZHANG Xia, TANG Wen-hua, ZHANG Li-qun. Biological control of plant diseases and plant growth promotion by *Bacillus subtilis* B931[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(2):236-241. (in Chinese)
- [21] 王志刚, 胡云龙, 徐伟慧, 等. 鞘氨醇单胞菌菌株 CL01 的分离鉴定及其对连作西瓜的促生效应[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(10):1360-1367.
WANG Zhi-gang, HU Yun-long, XU Wei-hui, et al. Isolation and identification of *Sphingomonas* sp. CL01 and its promoting effects on watermelon (*Citrullus lanatus*) in continuous cropping soil[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, 23(10):1360-1367. (in Chinese)
- [22] Chinheya C C, Yobo K S, Laing M D. Biological control of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica*, (Chitwood) using *Bacillus* isolates, on soybean[J]. *Biological Control*, 2017, 109.
- [23] 郑国华, 王金昌, 王小红. 植物根际细菌的促生机制[J]. 江西科学, 2012, 30(4):454-458.
ZHENG Guo-hua, WANG Jin-chang, WANG Xiao-hong. The development of research on high efficiency phosphate solubilizing bacteria[J]. *Jiangxi Science*, 2012, 30(4):454-458. (in Chinese)
- [24] Etesami H, Alikhani H A, Hosseini H M. Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents[J]. *Method-sx*, 2015, 2:72-78.
- [25] Thilagar G, Bagyaraj D J, Rao M S. Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 198:27-35.
- [26] Shigenaga A M, Argueso C T. No hormone to rule them all: Interactions of plant hormones during the responses of plants to pathogens[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2016, 56:174.
- [27] Kakar K U, Duan Y P, Nawaz Z, et al. A novel rhizobacterium Bk7 for biological control of brown sheath rot of rice caused by *Pseudomonas fuscovaginae*, and its mode of action[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 138(4):819-834.
- [28] Ahmad F, Ahmad I, Khan M S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities[J]. *Microbiological Research*, 2008, 163(2):173.
- [29] 麻瑞阳, 张爱民, 惠小双, 等. 高效解磷解钾菌 NX-11 菌株的分离筛选、鉴定及最佳培养条件的确定[J]. 华北农学报, 2013, 28(2):202-208.
MA Rui-yang, ZHANG Ai-min, HUI Xiao-shuang, et al. Screening, identification and sporulation conditions optimization of NX-11 strain having the ability of solubilizing phosphorus and potassium[J]. *Acta Agricul-turae Boreali-Sinica*, 2013, 28(2):202-208. (in Chinese)
- [30] Hu J, Wei Z, Weidner S, et al. Probiotic *Pseudomonas* communities enhance plant growth and nutrient assimilation via diversity-mediated ecosystem functioning[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 113:122-129.