

张金然, 缙艳霞, 孙丽鹏. 固氮螺菌 157 对玉米、向日葵的促生长作用[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(12): 116-119.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.038

固氮螺菌 157 对玉米、向日葵的促生长作用

张金然, 缙艳霞, 孙丽鹏

(呼和浩特职业学院生物化学工程学院, 内蒙古呼和浩特 010051)

摘要:利用固氮螺菌 157 (*Azospirillum* sp. 157) 菌悬液对玉米(品种哲单 37 号)、向日葵(品种科阳 7 号)进行浸种, 再结合菌悬液浇灌, 研究其对玉米、向日葵的促生长作用。试验结果表明, 通过菌悬液处理的植株, 预试验株高均有极显著提高 ($P < 0.01$), 正式试验均有显著提高 ($P < 0.05$); 预试验和正式试验的叶绿素含量, 玉米分别提高 6.36% 和 108.3%, 向日葵分别提高 5.64% 和 0.1%; 预试验、正式试验的鲜质量和干质量, 玉米分别增加 15.78%、3.35% 和 28.95%、32.18%, 向日葵分别增加 13.67%、2.95% 和 13.36%、32.76%, 其中又以地下部分增加幅度明显高于地上部分。说明 *Azospirillum* sp. 157 对玉米、向日葵具有促生长作用, 尤其是对植物根际的生长有明显促进作用。

关键词:固氮螺菌; 促生长作用; 玉米; 向日葵; 干旱胁迫

中图分类号: S513.06; S144.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0116-04

目前, 微生物肥料研究发展迅速, 其中根际促生菌是研究的热点, 很多学者致力于筛选高效 PGPR 菌株, 研制新型的微生物肥料。PGPR 菌株生活在土壤或附着于植物根际中, 不仅能够防治植物病害, 而且还具有促进植物生长、增加作物产量的作用。固氮螺菌 157 (*Azospirillum* sp. 157) 是从内蒙古自治区阿拉善沙漠的水样中分离得到的。固氮螺菌属的成员具有固氮作用, 能够增加植物根毛数量, 帮助植物吸收水分, 同时, 还具有一定的促生作用, 对农作物、牧草、树木生长有一定的促进作用。本试验探讨 *Azospirillum* sp. 157 对玉米、向日

葵的促生长作用, 旨在为开发新的微生物菌剂、肥料提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

玉米种子哲单 37 号、向日葵种子科阳 7 号。 *Azospirillum* sp. 157 分离自阿拉善沙漠的水样。A1 液体培养基 (1 000 mL): 酵母粉 2 g, K_2HPO_4 0.2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 g, TES 1 mL, pH 值 7.0~7.5。A2 固体培养基 (1 000 mL): 酵母粉 2 g, K_2HPO_4 0.2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 g, TES 1 mL, 琼脂 2 g, pH 值 7.0~7.5。栽培土质: 预试验为校园种植区采集的表面土, 过筛后于 180 °C 烘箱中烘干 4 h; 正式试验为将纯沙

收稿日期: 2013-12-19

作者简介: 张金然 (1978—), 女, 内蒙古通辽人, 硕士, 讲师, 从事微生物研究。E-mail: zjran_99@126.com。

- [5] 贺升华, 任 炜. 烤烟气象[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2001.
- [6] 云南省烟草科学研究所中国烟草育种研究(南方)中心. 云南烟草栽培学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [7] 唐远驹. 特色烟叶区域划分中的几个问题[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(2): 1-4, 9.
- [8] 周冀衡, 张建平. 构建中式卷烟优质特色烟叶原料保障体系是中国烟草在新形势下的战略选择[J]. 中国烟草学报, 2008, 14(1): 42-46.
- [9] 谈 文, 赵松义. 再论烟稻轮作制[J]. 烟草科技, 1998, 128(1): 39-40.
- [10] 杨秀春, 袁黔华, 杨通隆, 等. 烟稻连作对烟叶质量和经济效益的影响[J]. 湖南农业科学, 2012(1): 29-30, 34.
- [11] 周金仙. 不同生态条件下烟草品种产量与品质的变化[J]. 烟草科技, 2005(9): 32-35.
- [12] 李正风, 孔光辉, 张晓海, 等. 干旱胁迫对不同基因型烤烟品种旺长期光合作用的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(8): 240-244.
- [13] 陈万奎, 杨 军, 罗贞宝, 等. 贵州省黔西县不同烤烟品种生态适应性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(32): 10354, 10363.
- [14] 何结望, 毕庆文, 袁家富, 等. 湖北烟区气候与土壤生态因素分析[J]. 中国烟草科学, 2006, 27(4): 13-17.

- [15] 晋 艳, 杨宇虹, 段玉琪, 等. 烤烟轮作、连作对烟叶产量质量的影响[J]. 西南农业学报, 2004, 17(z1): 267-271.
- [16] 喻奇伟, 翟 欣, 彭隆基, 等. 烤烟新品系毕纳 1 号烟叶质量评价与分析[J]. 种子科技, 2011, 29(10): 26-29.
- [17] 周 黎, 李宏光, 付亚丽. 烤烟膜下小苗栽培优势及主要技术分析[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(3): 42-43, 60.
- [18] 罗会斌, 龙鹏臻, 马 键, 等. 烤烟井窖式小苗移栽技术研究与应用[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(8): 101-107.
- [19] 郭晓惠, 贺方云, 张纪利, 等. 不同施肥方式对烤烟香气成分的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(4): 99-100.
- [20] 敬海霞, 解昌盛, 向永光, 等. 翻压绿肥对烤烟常规化学成分及致香成分的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(2): 104-108.
- [21] 樊立辉, 郑 华, 袁 玲. 施用发酵油枯对烟草品质与产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(7): 3419-3420.
- [22] 高福宏, 孙兴权, 陈月舞, 等. 不同肥源农家肥施用时间对烤烟生长及产质量的影响[J]. 云南农业大学学报, 2012, 27(5): 727-732.
- [23] 邹芳芸, 李建伟, 党先碧. 烟草农艺性状、经济性状及化学性状对不同营养调控措施的响应[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(8): 96-99.
- [24] 张 伟. 育苗方式和基质配方对烟草幼苗素质及生理特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(7): 100-103.

与纯土按照 1:1 的比例混匀制成干沙土,将其与蛭石粉分别放入 180 ℃ 烘箱中烘干 4 h,然后将它们按照 1:1 的比例混合,分装入塑料花盆中。

1.2 方法

1.2.1 *Azospirillum* sp. 157 活化培养与种子液制备 将 *Azospirillum* sp. 157 菌株划线接种于 A2 平板上,在 28 ℃ 光照培养箱内培养 36 h。挑取活化后的菌株 5 环,接入装有 200 mL 液体培养基的三角瓶中,28 ℃、200 r/min 振荡培养 48 h,然后离心,倒去上清液,最后用无菌水配成浓度为 10^9 CFU/mL 的菌悬液,备用。

1.2.2 作物种子的催芽处理、种植与培养

1.2.2.1 预试验 挑选大小一致的向日葵、玉米种子各 180 粒,用无菌水清洗 3 次;将挑好的种子分为 2 组,每组 90 粒,一组用无菌水浸泡,另一组用对数期的菌液浸泡,放置于 28 ℃ 的光照培养箱中;浸泡 10 h 左右的向日葵发芽率较高^[1],这时取出向日葵种子置于湿润的纱布上进行催芽;玉米种子浸泡 24 h 后取出^[2],采用同样方法进行催芽处理。种子露白点后取出,按组放入装好土的杯子中,每杯 2 粒,清水浸种和菌液浸种的分别种植,浇水后放入 28 ℃ 光照培养箱中培养;出苗后,搬至实验室窗台,定苗至 35 棵,定期浇等量的自来水,并定期测定株高。待长至 2 叶 1 心时,进行干旱胁迫处理,浇水量只能维持植物生长,以植物中午萎蔫、早晚舒展为度。

1.2.2.2 正式试验 分别用蒸馏水和菌悬液浸泡挑选好的种子,每组 15 粒,将浸泡好的种子放入无水培养皿中,盖上湿润的纱布进行催芽处理。种子露白点后取出种植入花盆中,1 cm 深,每盆 1 粒,清水浸泡的种子浇 50 mL 蒸馏水,菌悬液浸泡的种子浇 50 mL 菌悬液,然后再分别浇 100 mL 蒸馏水,将植物放在实验室内室温下培养。从培养开始就严格控制土壤水分含量,仍以中午萎蔫、早晚舒展为度。

1.2.3 测定指标及方法 预试验和正式试验测定的指标和方法相同。

1.2.3.1 叶绿素含量的测定 采用混合液浸提法(效果要优于研磨法)^[3];用打孔器分别打取向日葵和玉米相同大小的叶片,切成细丝后放入装有 25 mL 浸提液(体积比为 2:1 的无水乙醇-丙酮混合液)的比色试管中,同时提取 2 组植物的叶绿素^[4-5];然后将管内溶液轻轻倒入比色杯中,用分光光度计分别于 663 nm 和 645 nm 处测定吸光度,按照 Arnon 方法及其修正公式计算叶绿素含量^[5-6]。

1.2.3.2 株高的测量 定期用尺子测量植株的高度(由根部到叶尖处)。

1.2.3.3 鲜质量和干质量的测量 地上部和地下部鲜质量用电子天平直接称量;干质量用烘干法测定:在 105 ℃ 杀青 15 min,60 ℃ 烘干至恒质量后称质量。

2 结果与分析

2.1 *Azospirillum* sp. 157 生长曲线

由图 1 可知,*Azospirillum* sp. 157 在 20 h 左右进入对数期,46 h 左右进入稳定期。接近稳定期时段的对数期菌体活性较高且数量较多,该菌体在 40 h 左右活性较高,因此用此时期的菌体制成菌悬液来浇灌植物效果较好。

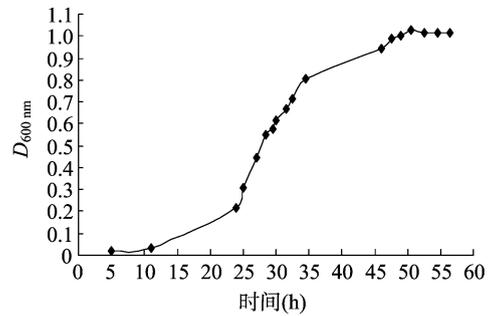


图1 *Azospirillum* sp. 157 生长曲线

2.2 株高

株高是农作物高产的重要因素,虽然不是构成产量的直接因素,却是保证农作物高产、稳产、优质的基本前提,是检测农作物生长发育状况的重要指标。如表 1、表 2 所示,经过 *Azospirillum* sp. 157 菌液处理以后,玉米、向日葵株高均明显大于清水处理。预试验中,玉米、向日葵的株高分别提高 5.06%、18.70%;正式试验,经过 *Azospirillum* sp. 157 菌液处理以后,玉米第 5 真叶、第 6 真叶期株高分别比清水对照高 9.84%、31.56%,向日葵株高比清水对照高 4.19%;预试验均达极显著差异,正式试验均达显著差异。说明 *Azospirillum* sp. 157 菌株能有效增加玉米、向日葵的株高。

表 1 预试验不同处理下玉米、向日葵株高

株号	株高(cm)			
	玉米清水	玉米菌液	向日葵清水	向日葵菌液
1	32.8	37.4	32.6	34.0
2	32.6	33.0	28.6	33.7
3	30.6	30.2	27.6	33.6
4	30.0	30.2	27.2	32.0
5	29.8	30.0	26.6	31.4
6	28.6	30.0	26.6	31.0
7	28.2	29.4	26.4	30.8
8	27.6	28.8	26.4	30.8
9	27.4	28.8	25.2	30.7
10	27.0	28.0	25.2	30.6
11	27.0	27.8	25.0	30.4
12	27.0	27.4	24.6	30.2
13	26.2	27.4	24.6	30.2
14	26.2	27.4	24.6	29.2
15	26.0	27.0	24.4	28.8
16	25.4	27.0	24.4	28.4
17	25.2	26.8	24.2	28.4
18	25.2	26.4	24.2	28.2
19	24.8	26.4	24.2	28.2
20	24.4	26.4	24.0	28.2
21	24.0	26.0	23.6	28.2
22	23.8	26.0	23.6	28.0
23	23.2	24.8	23.2	27.8
24	23.0	24.0	22.8	27.6
25	23.0	24.0	22.4	27.5
26	22.2	23.6	22.2	27.2
27	21.6	22.6	21.4	26.2
28	21.4	21.8	21.0	26.2
29	19.0	21.4	21.0	26.0
30	18.6	20.0	20.8	23.2
平均	25.7	27.0	24.6	29.2
增加率		5.06% **		18.70% **

表2 正式试验不同处理下玉米、向日葵株高

叶龄期	处理	株高(cm)						菌液处理增加率(%)
		第1株	第2株	第3株	第4株	第5株	平均	
第5真叶	玉米清水	60.6	54.8	54.6	53.0	41.0	51.64	
	玉米菌液	60.6	60.6	57.0	56.0	50.0	56.72	9.84*
第6真叶	玉米清水	44.0	42.0	41.6	36.2	24.4	37.64	
	玉米菌液	60.6	57.0	56.6	38.4	35.0	49.52	31.56*
	向日葵清水	60.0	57.0	52.0	47.0	46.4	52.48	
	向日葵菌液	60.0	58.5	58.4	53.2	53.0	54.68	4.19*

2.3 叶绿素

叶绿素含量高低在一定程度上反映了植物光合作用强度的大小。表3、表4分别是预试验、正式试验各植株在663、645 nm下测得的吸光度,表5、表6是根据Arnon方法及其修正公式计算得出的叶绿素含量。与对照相比,菌液处理后植物叶片叶绿素含量大多有所提高,说明该菌株能够增加玉米、向日葵植株的叶绿素含量。

表3 预试验各植物叶片叶绿素D值

处理	吸光度	
	$D_{663\text{ nm}}$	$D_{645\text{ nm}}$
玉米清水	0.459	0.165
玉米菌液	0.492	0.174
向日葵清水	0.677	0.247
向日葵菌液	0.715	0.261

表4 正式试验各植物叶片叶绿素D值

处理	吸光度	
	$D_{663\text{ nm}}$	$D_{645\text{ nm}}$
玉米清水	1.523	0.581
玉米菌液	1.703	0.662
向日葵清水	2.096	0.907
向日葵菌液	2.098	0.908

表5 预试验各植物叶绿素含量

处理	叶绿素a含量(mg/L)	叶绿素b含量(mg/L)	叶绿素总含量(mg/L)	单位面积含量(mg/dm ²)
玉米清水	5.385	1.548	6.933	88.431
玉米菌液	5.780	1.594	7.374	94.056
向日葵清水	7.933	2.366	10.299	131.365
向日葵菌液	8.378	2.502	10.299	138.775

表6 正式试验各植物叶绿素含量

处理	叶绿素a含量(mg/g)	叶绿素b含量(mg/g)	叶绿素总含量(mg/g)
玉米清水	0.790	0.273	1.063
玉米菌液	0.882	0.318	1.200
向日葵清水	0.731	0.330	1.061
向日葵菌液	0.732	0.331	1.063

2.4 鲜质量、干质量

植株的鲜质量、干质量在一定程度上反映了植株生长状况。由表7、表8可知,与对照相比,经菌株处理后,玉米、向日葵的鲜质量、干质量均比对照增加,说明该菌株能够有效增加玉米、向日葵植株的鲜质量、干质量。

2.5 其他指标

与对照相比,经菌株处理过的植株出苗状况较好,用菌液浸泡过种子的玉米出苗8棵,而清水浸泡种子的玉米在相同

表7 预试验各组植物鲜质量、干质量

作物	处理	鲜质量(g)			鲜质量增加率(%)			干质量(g)		干质量增加率(%)	
		整株	地上部分	地下部分	整株	地上部分	地下部分	地上部分	地下部分	地上部分	地下部分
玉米	清水	98.92	68.22	31.17				10.19	9.57		
	菌液	114.53	74.71	37.40	15.78	9.52	19.99	10.49	9.90	2.94	3.45
向日葵	清水	100.25	89.19	15.98				12.19	3.74		
	菌液	113.95	95.90	19.58	13.67	7.52	22.53	12.42	3.97	1.89	6.15

表8 正式试验各组植物鲜质量、干质量

作物	处理	鲜质量(g)			鲜质量增加率(%)			干质量(g)		干质量增加率(%)	
		整株	地上部分	地下部分	整株	地上部分	地下部分	地上部分	地下部分	地上部分	地下部分
玉米	清水	19.45	17.85	1.60				1.54	1.35		
	菌液	25.08	23.09	1.99	28.95	29.36	24.38	2.08	1.74	25.07	28.89
向日葵	清水	13.47	13.04	0.43				0.86	0.30		
	菌液	15.27	14.62	0.65	13.36	12.12	51.16	1.05	0.49	22.09	63.33

条件下只出苗5棵,且幼苗叶片相对较小。清水浸泡种子的玉米叶片发黄,由叶片边缘向里蔓延,用菌液浸泡过种子的玉米叶片情况较好。如图2所示,清水处理的玉米植株的黄叶现象比用菌液浸泡过种子的玉米植株严重。在幼苗期玉米叶片边缘开始发黄且叶片出现黄条斑。叶片是植物制造有机养

料的主要器官,叶面积的大小与植株光合作用息息相关。如图3、图4所示,与对照相比,用菌液浸泡过种子的玉米植株的叶片较宽且长。后期试验结束后,用菌液浸泡过种子的玉米植株均长至第7真叶,对照基本长至第6真叶且叶片较窄较窄。



图2 正式试验不同处理下玉米叶片发黄情况



图5 正式试验不同处理下的玉米茎

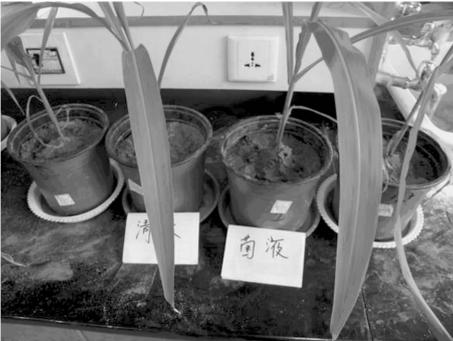


图3 正式试验不同处理下玉米叶片大小



图6 后期试验不同处理下的向日葵根系



图4 正式试验不同处理下玉米长势



图7 后期试验不同处理下的玉米根系

茎粗在很大程度上反映秧苗同化产物的积累状况及秧苗生长发育程度,因此,茎粗可作为判断秧苗质量的依据。如图5所示,与对照相比,用菌液浸泡过种子的玉米植株的茎比较粗且较硬。农作物的根系越多,植株抗旱能力越强,吸收水分及矿物质能力也越强。与对照相比,用菌液浸泡过种子的玉米及向日葵植株的根系明显发达,根毛长且多,不易断(图6、图7)。

4 结论

本研究表明,用菌液浸泡过种子的植株生理状态要好于清水处理,与对照相比,用菌液浸泡过种子的植株株高、叶绿素含量、各部分鲜质量及干质量均有所增加。由此得出结论:*Azospirillum* sp. 157对玉米、向日葵具有促生作用,尤其是对植物根际生长有明显的促进作用。

参考文献:

- [1]李保卫,冯伟. 向日葵浸种与发芽关系的研究[J]. 内蒙古农业科技,2008(6):40-42.
- [2]何丹,林承勇,王秀全,等. 玉米苗期抗旱性鉴定研究[J]. 绵阳经济技术高等专科学校学报,1999,16(3):20-23.
- [3]李得孝,郭月霞,员海燕,等. 玉米叶绿素含量测定方法研究[J]. 中国农学通报,2005,21(6):153-155.
- [4]舒展,张晓素,陈娟,等. 叶绿素含量测定的简化[J]. 植物生理学通讯,2010,46(4):399-402.
- [5]崔勤,李新丽,翟淑芝. 小麦叶片叶绿素含量测定的分光光度计法[J]. 安徽农业科学,2006,34(10):2063.
- [6]苏正淑,张宪政. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J]. 植物生理学通讯,1989(5):77-78.