

张晓冰,杨星勇,杨永柱,等.芽孢杆菌促进植物生长机制研究进展[J].江苏农业科学,2020,48(3):73-80.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.03.012

芽孢杆菌促进植物生长机制研究进展

张晓冰¹,杨星勇¹,杨永柱²,简伟¹

(1.重庆师范大学生命科学学院,重庆 401331;2.重庆市九龙坡区农业农村委员会,重庆 401331)

摘要:利用植物-微生物协作提高作物产量是当前农业研究领域的热点。植物根际促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)是一种非常重要的土壤细菌,在土壤-植物生态系统中占据重要地位。而在众多 PGPR 中,芽孢杆菌占植物根际革兰氏阳性细菌总数的 95%,是当前研究最为广泛的 PGPR 之一。结合近年来的研究结果,本文综述了芽孢杆菌几种不同促生(plant growth promoting, PGP)机制,如改善植物根际可利用的营养物质,产生植物激素,诱导植物抗性和抑制病原体等方面的最新研究进展,同时对该领域的研究发展方向进行了展望。

关键词:植物根际促生细菌;芽孢杆菌;促生机制;植物-微生物协作;产量

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)03-0073-07

人口数量的持续增加导致人类对作物的需求越来越大^[1],而传统的大规模施用化肥和农药,在增加作物产量的同时不可避免地会给生态环境带来严重的破坏^[2],这就使得利用植物-有益微生物协作提高作物产量成为当前一个研究热点^[3]。土壤微生物在土壤生态系统的各种生命活动中起着重要作用,维持着整个土壤生态系统的稳定^[4-5]。其中,在植物根部积累中能够提高土壤肥力,增强植物抗逆性,促进植物生长发育的细菌被称为植物根际促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)^[6-8]。

在众多 PGPR 中,芽孢杆菌(*Bacillus*)占植物根际革兰氏阳性细菌总数的 95%^[9],是当前研究较为广泛的 PGPR 之一,它通过促进难溶性磷溶解、微量元素吸收等方式增加植物根际营养物质的利用率^[10],以及产生植物激素供植物利用;此外,还可以通过诱导植物抗性和抑制病原菌来促进植物生长发育^[11]。

大多数土壤含有足够的植物营养素,但它们通常以不溶性形式存在,不能被植物吸收利用^[12]。芽

孢杆菌可以直接释放吲哚乙酸(IAA)、铁载体、氨等促进植物生长和发育的物质,也可以促进植物获得生长所必需的矿物质(氮、磷、钾等)以促进植物的生长^[13-14],或间接通过降低各种病原体对植物生长和发育造成的抑制作用来促进生长^[15]。本文将结合当前最新的研究对芽孢杆菌促进植物生长发育的几种机制进行论述(图 1 和表 1)。

1 直接机制

1.1 氮固定

氮是植物生长和发育中最重要的营养元素,但超过 80% 的 N_2 作为惰性气体存在于大气中不能被植物吸收和利用^[15],而生物固氮系统则可以通过固氮微生物中称之为固氮酶的复合酶系统将其还原为含氮复合物进而被植物吸收利用^[28-29]。 N_2 固定过程以固氮酶复合物为主,而它们的结构在不同的固氮细菌属中不同^[30-33]。根际细菌中的芽孢杆菌属于非共生的固氮细菌,研究发现,大部分芽孢杆菌的生物固氮是通过钼固氮酶来进行的。钼固氮酶复合物具有由 *nif DK* 和 *nif H* 基因编码的 2 种组分蛋白质。在固氮的情况下,铁蛋白结合 2 个分子以获得 $MgATP$ 并与铁钼酸结合。当 2 种蛋白质结合时,2 个分子的 $MgATP$ 被水解成 2 个分子的 $MgADP$,2 个分子的 P_i 和铁蛋白将电子传递给高铁血红素。钼铁蛋白使用这些电子将 N_2 还原为 NH_3 ^[33]。据报道,从北京植物根际提取的芽孢杆菌中同样发现了 *nif* 基因^[34]。研究还表明,*B. velezensis*

收稿日期:2019-10-18

基金项目:国家重点基础研究发展计划资助项目(编号:2014CB138701);重庆市基础科学与前沿技术研究重点项目(编号:cstc2017jcyjBX0078)。

作者简介:张晓冰(1995—),男,河南洛阳人,硕士研究生,主要从事植物病理学研究。E-mail:875611034@qq.com。

通信作者:简伟,博士,讲师,主要从事植物生物技术研究。E-mail:Sjianwei7956@163.com。

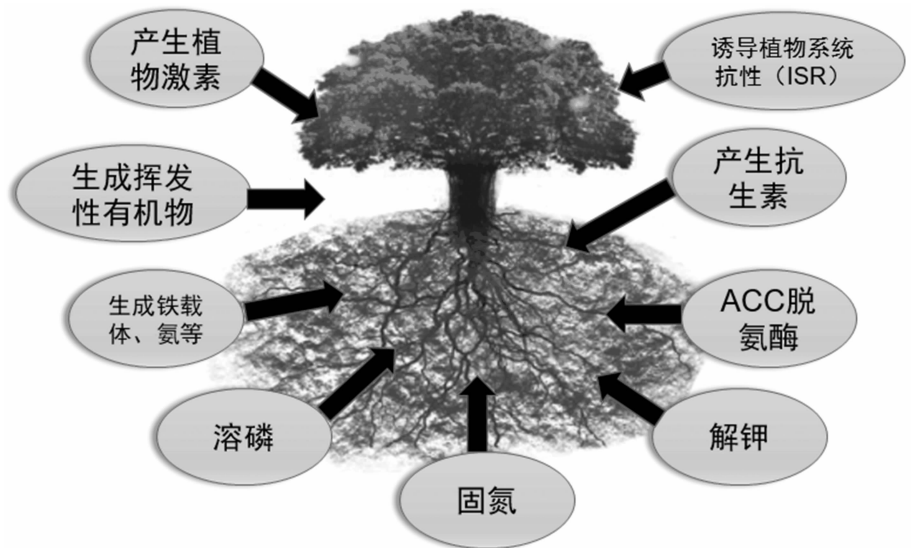


图1 芽孢杆菌促进植物生长的机制

表 1 芽孢杆菌释放的促进生长的物质

芽孢杆菌名称	促进植物生长的物质	参考文献
<i>Bacillus flexus</i> (MF 589717)	IAA、赤霉素 (GA)、1 - 氨基环丙烷 - 1 - 羧酸酯 (ACC)、氨 (NH ₃)	[16]
<i>Bacillus cereus</i> M4	IAA	[17]
<i>Bacillus</i> sp. (12D6)	IAA、水杨酸 (SA)	[18]
<i>Bacillus cereus</i> strain	IAA、NH ₃ 、氰化氢 (HCN)、胞外多糖 (EPS)	[19]
<i>Bacillus siamensis</i> (PM13) (PM15)	IAA、EPS、ACC	[20]
<i>Bacillus methylotrophicus</i> (PM19)		
<i>Bacillus</i> sp. XZM	EPS、IAA、铁载体 (siderosphere)	[21]
<i>Bacillus</i> , <i>Paenibacillus</i> , <i>Lysinibacillus</i> sp.	IAA、溶磷 (phosphate solubilization)、siderosphere、NH ₃	[22]
<i>Bacillus</i> sp. KUJM2	siderosphere	[23]
<i>Bacillus endophyticus</i> J13	IAA	[24]
<i>Bacillus tequilensis</i> J12	GA、EPS	[24]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp.	IAA、phosphate solubilization、siderosphere、NH ₃	[25]
<i>Bacillus</i> sp. SR - 2 - 1 and SR - 2 - 1/1	IAA、phosphate solubilization、ACC	[26]
<i>Bacillus licheniformis</i> B642	IAA、phosphate solubilization、siderosphere、NH ₃ 、EPS	[27]

菌株对大豆具有促进和结瘤作用^[28]。*B. pumilus* S1r1 和 *B. subtilis* UPMB10 具有固定 N₂ 的能力^[35]。此外,许多研究也陆续报道了各种芽孢杆菌(包括 *B. subtilis*、*B. pumilus*、*B. cereus*、*B. circulans*、*B. megaterium*、*B. licheniformis* 等)均含有固氮酶^[36]。近年来的一些研究表明,当芽孢杆菌和其他根际细菌共同接种时,植物中的氮营养成分增加。例如,当与芽孢杆菌和根瘤菌共同接种时,刺激植物生长,结瘤和 N₂ 固定的能力更强^[37]。

1.2 磷酸盐溶解

磷是除氮以外对植物生长发育最重要的营养元素,通常在土壤中以有机和无机形式存在^[38]。虽然磷在土壤中含丰富,但大部分是不溶性的,而植物只能吸收一小部分可溶性磷^[7]。据报道,芽孢

杆菌是一种非常重要的磷酸盐溶解细菌 (phosphate solubilizing bacteria, PSB),能够为植物提供可直接吸收的有效磷^[39]。由芽孢杆菌合成释放的低分子量有机酸可促进无机磷在土壤中的溶解。有机酸的羟基和羧基螯合磷酸盐结合的阳离子并最终将磷酸盐转化为可溶形式^[40]。不同于无机磷的转化,有机磷的矿化是通过合成不同的磷酸酶来催化磷酸盐的水解来实现的,而这 2 种溶磷方式可在同一细菌菌株中共存^[8]。据报道,芽孢杆菌根际细菌的有机酸已被鉴定和定量,它们在磷酸盐溶解过程中的作用也得到了证实^[41]。例如 *B. circulans*、*B. coagulans*、*B. subtilis*、*B. sircalmous*、*B. thuringiensis*、*B. megaterium* 和 *B. sircalmous* 均被认为是一些最有效的磷增溶剂^[15,42]。研究表明,用苏云金芽孢杆

菌处理花生幼苗,能够改善土壤中难溶性磷酸盐化合物的溶解,提高可溶性磷的浓度,提高作物产量^[43]。此外,在缺磷的土壤中接种巨大芽孢杆菌后,辣椒和黄瓜对磷的吸收和利用均增加,并且它们的生长指标均有不同程度的提升^[44]。在 2019 年的一项研究中定量了在鹰嘴豆根部分离的 *B. subtilis* 和 *B. pumilus* 磷的增溶能力范围为 78 ~ 87.64 mg^[45]。

1.3 钾溶解

钾是植物生长所必需的营养元素之一。土壤中的钾可分为水溶性钾和矿物钾,而植物只能吸收水溶性钾,但水溶性钾只占土壤总钾含量的 0.1% ~ 2%^[46]。因此,有必要利用土壤中的解钾微生物向缺钾土壤中的植物提供钾。解钾微生物 (potassium-solubilizing microorganism) 是指能够在土壤或纯培养条件下,将含钾矿物如长石、云母等不能被作物吸收利用的矿物态钾分解产生水溶性钾的微生物。其中 *B. circulans*、*B. mucilaginosus* 和 *B. licheniformis* 是被广泛报道的钾细菌。解钾的基本原理是钾细菌能够破坏钾长石的晶格结构,从而释放其中的钾,为作物提供营养;其中,钾细菌产生有机酸和氨基酸的酸溶作用以及有机酸、氨基酸及荚膜多糖的络合作用是钾长石晶格结构破坏的主要原因。在晶格结构的破坏过程中,荚膜多糖又扮演着重要的角色,它可以与土壤中存在的大量二氧化硅 (SiO_2) 发生络合,导致土壤中 SiO_2 浓度降低,打破矿质结晶过程中暂时的动态平衡,促进矿物质降解,从而释放出被晶格所包围的 Si 和 K 等金属离子^[47]。辣椒和黄瓜根际的许多芽孢杆菌属均被证明参与钾溶解^[48]。此外研究表明,应用钾细菌作为生物肥料,能够有效提高土壤水溶性钾含量。目前,有关钾细菌溶钾机制的研究仍然相对较少,因此,仍需要深入研究。

1.4 生成激素

芽孢杆菌可以分泌植物激素,如吲哚-3-乙酸、细胞分裂素 (CTK) 和赤霉素等,它们能够直接影响植物生长发育^[49]。研究表明,芽孢杆菌分泌的 IAA 能够改变植物 IAA 的内源库,进而影响植物生长、发育、胁迫应答等过程^[8,50]。此外,IAA 能够在一定程度上增加根的表面积和长度,为植物吸收更多的土壤养分提供保障。据报道,*B. subtilis*、*B. thuringiensis*、*B. megaterium* 和 *B. weihenstephanensis* SM3 均具有产生 IAA 的能力^[15,51]。此外,研究者对

芽孢杆菌产生 IAA 能力的量化结果表明,*B. subtilis* AU-2 和 *Bacillus pumilus* AU-4 IAA 的产量为 20 ~ 35.34 $\mu\text{g/mL}$ 。对拟南芥植株接种芽孢杆菌能够显著提升植株 IAA、CTK 和 GA 的含量,并且植株的含水量、鲜质量和干质量均显著增加,有效地降低了压力对植物的不利影响^[52]。以上研究表明,芽孢杆菌可以通过直接生成植物激素来促进植物的生长发育。

1.5 生成铁载体和氨

铁是植物维持正常生命活动所必需的微量矿物质元素,它主要在好氧环境中以 Fe^{3+} 的形式存在,并且易于形成不溶性的氢氧化物和羟基氧化物,这是植物和微生物相对难以接触和利用铁的原因^[53]。细菌通常通过分泌被称为铁载体的低分子量铁螯合剂来获得铁。铁载体通常是水溶性的,具有较高的铁络合结合常数,可分为细胞外铁载体和细胞内铁载体^[54]。在细菌中,细菌膜上铁载体复合物中的铁 (Fe^{3+}) 被还原成 (Fe^{2+}), Fe^{2+} 通过连接内膜和外膜的门控机制进一步从铁载体释放到细胞中,在该过程中,铁载体可能被破坏或回收^[53,55]。因此,铁限制的情况下,铁载体可以用作增加铁的有效溶剂^[56]。铁载体不仅与铁有关,而且与其他环境相关的重金属 (如铝、铬、铜、钙、镉、铅和锌) 和放射性核素 (包括铀和钍) 可形成稳定的络合物^[57],而这将增加可溶性金属的浓度^[53]。细菌分泌的分泌物有助于增加植物对有益金属营养素的摄入,限制病原体获取铁营养^[58]。植物通过不同的机制吸收细菌铁载体中的铁,例如铁的螯合和释放,铁载体-铁复合物的直接摄取,或通过配体交换反应^[59]。因此,铁载体对促进植物生长和减缓病原胁迫具有重要作用。此外,微生物产生的氨也可以直接或间接地帮助植物。土壤中氨的积累可导致土壤 pH 值增加,破坏微生物群落平衡,抑制了许多真菌孢子的萌发,从而直接或间接地促进植物生长^[45]。大量研究表明,芽孢杆菌具有分泌铁载体和氨的能力。*B. subtilis* PSB 能够促进不溶性锌和铅的溶解,并且其对铬具有高度抗性,具有还原高价铬的能力。此外无论是否存在铬,*B. subtilis* PSB 都可以产生铁载体和氨^[6]。类似的,研究发现芽孢杆菌可以通过减少铬污染土壤的毒性作用来刺激植物生长,表现为将六价铬还原为三价铬,从而有效降低铬对植物的损害,显著提高植物的新鲜生物量^[60]。此外,一些研究表明,真菌和细菌可以复合大量的金属阳离子,

而具有这种特性的 *Bacillus weihenstephanensis* SM3 可以通过共享金属负载来降低金属的植物毒性作用,因为它具有生物吸附和生物积累能力^[51]。

1.6 1-氨基环丙烷-1-羧酸酯(ACC)脱氨酶

尽管乙烯在植物的生长和发育中起着重要作用,但当乙烯浓度过高时,可能对植物有害,因为高浓度的乙烯会引起落叶和其他导致植物性能下降的细胞过程^[7,61]。在胁迫条件下,植物内源乙烯水平显著增加,从而抑制植物的生长。研究表明,1-氨基环丙烷-1-羧酸酯(ACC)脱氨酶可以通过降低乙烯水平来减少干旱胁迫损伤,促进植物生长和发育^[62]。此外,ACC 脱氨酶可以缓解病原微生物(病毒、细菌和真菌等)以及重金属、辐射、昆虫捕食、高盐浓度、极端温度、高光强度等对植物的胁迫。芽孢杆菌 ACC 脱氨酶能够分解 ACC 产生 2-氧代丁酸酯和 NH_3 ,从而降低乙烯含量^[63]。据报道,当植物接种具有 ACC 脱氨酶活性的芽孢杆菌后,植株根长和地上部分显著增长,并且对 N、P、K 等各种营养素的吸收能力也明显增加^[62-64]。研究表明,*B. subtilis* AU-2 和 *B. pumilus* AU-4 均具有 ACC 脱氨酶活性,并且它们对 ACC 的降解能力为 $600 \sim 1\,700 \text{ nmol } \alpha\text{-KA}/(\text{mg Pr} \cdot \text{h})$ ^[45]。据报道,油菜在接种 DUC1、DUC2 和 DUC3 这 3 种环状芽孢杆菌后,其根显著伸长,进一步研究发现,这 3 种芽孢杆菌均具有 ACC 脱氨酶活性^[7]。以上研究表明,具有 ACC 脱氨酶活性的芽孢杆菌可以有效促进植物的生长。

2 间接机制

2.1 诱导植物的系统抗性

一些根际细菌与植物根的相互作用可激发植物对一些致病细菌、真菌和病毒的抗性,这种现象称为诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)^[65]。ISR 包括植物内的茉莉酸和乙烯信号传导,而它们将刺激宿主植物对多种植物病原体的防御反应^[66]。研究表明,芽孢杆菌可诱导植物对各种细菌和真菌病原体产生广谱抗性^[67]。从英国阿里格尔地区(Aligarh)附近的根际土壤和植物结节中共分离出 72 种细菌分离物,其中,芽孢杆菌被证明对 *Aspergillus*、*Fusarium* 和 *Rhizoctonia* 的一种或多种真菌具有广谱抗性^[68]。在生长室条件,对 AP69 (*Bacillus altitudinis*)、AP197 (*B. velezensis*)、AP199 (*B. velezensis*) 和 AP298 (*B. velezensis*) 4 个

PGPR 系的试验结果表明,它们对 *Xanthomonas campestris* 和 *Rhizoctonia solani* 均具有显著拮抗作用。进一步分析发现,这 4 种 PGPR 系及其混合物对多种植物病害具有生物防治作用,并能促进植物生长^[69]。研究表明,不同芽孢杆菌引起的 ISR 可以抵抗不同的病原体^[70]。值得一提的是,即使在胁迫条件下,接种芽孢杆菌的植物体内的 ISR 也高于非胁迫条件下的植物,从而使植物得到保护^[12]。

2.2 产生抗生素

细菌可以分泌对其他微生物代谢有害的化合物。研究表明,属于革兰氏阳性细菌的多黏芽孢杆菌能够促进植物生长,并产生各种抗生素^[71]。从韩国大麦根部分离的 *P. polymyxa* E681 对大麦、黄瓜、辣椒、芝麻和拟南芥均具有显著的生长促进作用,并且可以产生抗菌化合物以保护植物免受病原真菌、卵菌和细菌的侵害。进一步分析发现,至少有 6 个抗生素生物合成基因簇,其中多黏菌素(*pmx*)被认为在抗革兰氏阴性耐药细菌方面具有卓越作用^[72]。据报道,*B. subtilis* 能够产生多种抗生素,包括枯草杆菌蛋白酶、杆菌素、分枝杆菌素和羊毛硫抗生素,它们对革兰氏阳性菌均具有很强的抗性^[73-75]。*B. thuringiensis* (*Bt*)是当前农业和医药领域中应对不同类型害虫最成功的微生物杀虫剂。*Bt* 毒素基因能够增强转基因作物对害虫的抗性,同时对线虫、蚜虫、螨虫以及真菌等病原体的毒性具有拮抗作用^[76]。

研究表明,芽孢杆菌 CBSAL02 菌株能够显著降低 *Meloidogyne javanica* 和 *Ditylenchus* spp. 的活性,表明它可以有效地控制病害^[77]。此外,研究还表明,每个芽孢杆菌抗生素家族均具有特异的抗菌活性^[73]。以上结果表明,芽孢杆菌能够通过产生抗生素来帮助植物对抗病害,从而促进植物的生长。

2.3 产生挥发性有机化合物

根际细菌释放的挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs)可促进植物生长、抵御真菌病原体,是细菌刺激植物生长的重要机制之一。VOCs 通常是低分子量的,包括醇、醛、酮、烃、酸和萜烯等物质,它们在常温常压下易于蒸发和扩散,可以通过大气、多孔土壤和液体从产生部位转移,使其成为理想的信息化学物质,能够介导种间相互作用^[78]。VOCs 能够赋予植物对干旱和重金属等非生物胁迫的系统耐受性^[79]。研究表明,VOCs 通过 ISR 与植物防御机制密切相关^[80]。*B. amyloliquefaciens*

IN937a 能够通过其排放的 VOCs 刺激 ISR 的发生。从 IN937a 的 VOCs 和衍生物中,研究者分离到一种昆虫性信息素的组分(3-戊醇)。进一步分析发现,3-戊醇处理能够显著降低由柑橘溃疡病菌和黄瓜花叶病毒引起的病害^[81]。类似的,研究者发现,芽孢杆菌 *Bacillus* JC03 菌株产生的 VOCs 能显著促进拟南芥和番茄的生物量积累^[82]。

3 展望

芽孢杆菌通过不同机制(包括营养物的溶解和激素生成,产生各种可用于管理植物病虫害的化合物等)促进植物生长,是一种高效的、环境友好的重要农业措施。随着人们对可持续农业、环境保护和粮食安全的日益重视,开发有益的土壤微生物群成为当前农业研究领域的焦点。

虽然有关芽孢杆菌促生方面的研究已取得一定进展,但是在某些方面仍需加强:(1)尽管有关芽孢杆菌一些促生机制在分子层面的研究已经取得了一定的成果,但是仍然不够全面,因此,通过基因工程技术对其促生机制展开全面深入的研究将有助于更加详尽准确地阐明其促生机制;(2)当前有关芽孢杆菌的研究结果大多是在稳定可控条件下表现良好,而在自然条件下表现却不尽人意。因此,如何实现细菌在不同环境条件下稳定表现也是亟待解决的问题之一;(3)一些在体外表现出良好 PGP 活性的芽孢杆菌在体内试验中却不能表现出显著的生防效果,这就需要针对不同芽孢杆菌菌株的功能和适用性进行更多研究,从而为其在不同的农业生态条件下的应用奠定基础;(4)值得一提的是,使用不同 PGPR 结合的混合菌剂接种植物,可以获得更好的促生效果,因此,阐明其中机制可为今后制备更加高效的促生菌肥提供支持。相信随着研究的不断深入,作为一种非常重要的 PGPR,芽孢杆菌将在未来可持续农业发展过程中扮演越来越重要的角色。

参考文献:

[1] Aloo B N, Makumba B A, Mbega E R. The potential of bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability[J]. Microbiological Research, 2019, 219: 26-39.

[2] Yu Y L, Chu X Q, Pang G H, et al. Effects of repeated applications of fungicide carbendazim on its persistence and microbial community in soil[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(2): 179-185.

[3] Naqqash T, Hameed S, Imran A, et al. Differential response of potato toward inoculation with taxonomically diverse plant growth promoting rhizobacteria[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7(583): 144.

[4] Chandler D, Davidson G, Grant W P, et al. Microbial biopesticides for integrated crop management; an assessment of environmental and regulatory sustainability[J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(5): 0-283.

[5] Ahemad M, Khan M S. Toxicity assessment of herbicides quizalafop-p-ethyl and clodinafop towards *Rhizobium* pea symbiosis[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 82(6): 761-766.

[6] Khan M S, Zaidi A, Wani P A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2007, 27(1): 29-43.

[7] Bhattacharyya P N, Jha D K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2012, 28(4): 1327-1350.

[8] Glick B R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications[J]. Scientifica, 2012: 1-15.

[9] Prashar P, Kapoor N, Sachdeva S. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2014, 13(1): 63-77.

[10] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959.

[11] Zhou C, Guo J, Zhu L, et al. *Paenibacillus polymyxa* BFKC01 enhances plant iron absorption via improved root systems and activated iron acquisition mechanisms[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 105(8): 162-173.

[12] Shafi J, Tian H, Ji M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review[J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2017, 31(3): 446-459.

[13] Wani P A, Khan M S. Bacillus species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(11): 3262-3267.

[14] Kuan K B, Othman R, Rahim K A. Plant Growth - Promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0152478.

[15] Khan N, Bano A, Rahman M A, et al. Comparative physiological and metabolic analysis reveals a complex mechanism involved in drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) induced by PGPR and PGRs[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 2097.

[16] Banerjee A, Biswas J K, Pant D, et al. Enteric bacteria from the earthworm (*Metaphire posthuma*) promote plant growth and remediate toxic trace elements[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 250: 109530.

[17] Wang C, Liu Z, Huang Y, et al. Cadmium-resistant rhizobacterium *Bacillus cereus* M4 promotes the growth and reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Environmental

- Toxicology and Pharmacology, 2019, 72: 103265.
- [18] Jochum M D, McWilliams K L, Borrego E J, et al. Bioprospecting plant Growth – Promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10(9): 2106.
 - [19] Khan N, Bano A. Exopolysaccharide producing rhizobacteria and their impact on growth and drought tolerance of wheat grown under rainfed conditions[J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0222302.
 - [20] Amna, Din B U, Sarfraz S, et al. Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC – deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 183: 109466.
 - [21] Irshad S, Xie Z, Wang J, et al. Indigenous strain *Bacillus* XZM assisted phytoremediation and detoxification of arsenic in *Vallisneria denseserrulata* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 381: 120903.
 - [22] Borah A, Das R, Mazumdar R, et al. Culturable endophytic bacteria of *Camellia* species endowed with plant growth promoting characteristics [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 127(3): 825 – 844.
 - [23] Mondal M, Biswas J K, Tsang Y F, et al. A wastewater bacterium *Bacillus* sp. KUJM2 acts as an agent for remediation of potentially toxic elements and promoter of plant (*Lens culinaris*) growth[J]. *Chemosphere*, 2019, 232: 439 – 452.
 - [24] Ghosh D, Gupta A, Mohapatra S. A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought – tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic – stress mitigation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2019, 35(6): 90.
 - [25] Yang W. Components of rhizospheric bacterial communities of barley and their potential for plant growth promotion and biocontrol of *Fusarium* wilt of watermelon [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2019, 50(3): 749 – 757.
 - [26] Tahir M, Ahmad I, Shahid M, et al. Regulation of antioxidant production, ion uptake and productivity in potato (*Solanum tuberosum* L.) plant inoculated with growth promoting salt tolerant *Bacillus* strains[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 178: 33 – 42.
 - [27] Ansari F A, Ahmad I. Fluorescent pseudomonas – FAP2 and *Bacillus licheniformis* interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and photosynthetic attributes[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 4547.
 - [28] Hassan M K, Mcinroy J A, Jones J, et al. Pectin – Rich amendment enhances soybean growth promotion and nodulation mediated by *bacillus velezensis* strains[J]. *Plants (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(5): .
 - [29] Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd Allah E. *Bacillus subtilis*: A plant – growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, 26(6): 1291 – 1297.
 - [30] Castellano – Hinojosa A, Pérez – Tapia V, Bedmar E J, et al. Purple corn – associated rhizobacteria with potential for plant growth promotion[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2018, 124(5): 1254 – 1264.
 - [31] Weselowski B, Nathoo N, Eastman A W, et al. Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production[J]. *BMC Microbiology*, 2016, 16(1): 244.
 - [32] Seefeldt L C, Hoffman B M, Dean D R. Electron transfer in nitrogenase catalysis [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2012, 16(1/2): 19 – 25.
 - [33] Kim J, Rees D C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation[J]. *Biochemistry*, 1994, 33(2): 389 – 397.
 - [34] Ding Y, Wang J, Liu Y, et al. Isolation and identification of nitrogen – fixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 99(5): 1271 – 1281.
 - [35] Gouda S, Kerry R G, Das G, et al. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture [J]. *Microbiological Research*, 2018, 206: 131 – 140.
 - [36] Xie G H, Su B L, Cui Z J. Isolation and identification of N₂ – fixing strains of *Bacillus* in rice rhizosphere of the Yangtze River Valley [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1999, 38(6): 480 – 483.
 - [37] Jacqueline Gomez – Godinez L, Lizbeth Fernandez – Valverde S, Martinez Romero J C, et al. Metatranscriptomics and nitrogen fixation from the rhizoplane of maize plantlets inoculated with a group of PGPRs[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2019, 42(4): 517 – 525.
 - [38] Khan A G. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2005, 18(4): 355 – 364.
 - [39] Bjelic D, Marinkovic J, Tintor B A. Antifungal and plant growth promoting activities of indigenous rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2018, 49(1): 88 – 98.
 - [40] Bhattacharyya P, Bhattacharyya L H, Goswami M P. Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario: a review[J]. *Journal of Phytology*, 2016, 8: 26 – 41.
 - [41] Marcino M L, Soares C R F S, Oliveira S M, et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils[J]. *Plant & Soil*, 2012, 357(1/20): 289 – 307.
 - [42] Govindasamy V, Senthilkumar M, Magheshwaran V, et al. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. : Potential PGPR for sustainable agriculture [J]. *Plant Growth and Health Promoting bacteria*, 2010, 18: 333 – 364.
 - [43] Wang T, Kong L Y, Jiao J G, et al. Effects of phosphate – solubilizing bacteria B1 (*Bacillus thuringiensis*) on Peanuts in pot experiment[J]. *Soils*, 2014, 46(2): 313 – 318.
 - [44] Han H S. Supanjani, lee K D. Effect of co – inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber[J]. *Plant Soil and Environment*, 2006, 52(3): 130 – 136.

- [45] Pandey S, Gupta S, Ramawat N. Unravelling the potential of microbes isolated from rhizospheric soil of chickpea (*Cicer arietinum*) as plant growth promoter[J]. 3 Biotech, 2019, 9(7): 277.
- [46] Zhang H M, Xu M G, Zhang W J, et al. Factors affecting potassium fixation in seven soils under 15 - year long - term fertilization[J]. Chinese Science Bulletin, 2009, 54(10): 1773 - 1780.
- [47] 张爱民, 李乃康, 赵钢勇, 等. 土壤中解磷、解钾微生物研究进展[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2015, 35(4): 442 - 448.
- [48] Rashid M I, Mujawar L H, Shahzad T, et al. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils[J]. Microbiological Research, 2016, 183: 26 - 41.
- [49] García F P, Menéndez E, Rivas R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry[J]. AIMS Bioengineering, 2015, 2(3): 183 - 205.
- [50] Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. Indole - 3 - acetic acid in microbial and microorganism - plant signaling [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2007, 31(4): 425 - 448.
- [51] Fonseca E S, Peixoto R S, Rosado A S, et al. Correction to: the microbiome of eucalyptus Roots under different management conditions and its potential for biological nitrogen fixation[J]. Microbial Ecology, 2018, 75(1): 183 - 191.
- [52] Ghosh D, Gupta A, Mohapatra S. Dynamics of endogenous hormone regulation in plants by phytohormone secreting rhizobacteria under water - stress[J]. Symbiosis, 2019, 77(3): 265 - 278.
- [53] Rajkumar M, Ae N, Prasad M N. Potential of siderophore - producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. Trends in Biotechnology, 2010, 28(3): 142 - 149.
- [54] Khan M S, Zaidi A, Wani P A, et al. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils[J]. Environmental Chemistry Letters, 2009, 7(1): 1 - 19.
- [55] Neilands J B. Siderophores: structure and function of microbial Iron transport compounds[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(45): 26723 - 26726.
- [56] Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, et al. Characterization of plant growth - promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. Current Microbiology, 2008, 56(4): 327 - 333.
- [57] Neubauer U, Furrer G, Kayser A, et al. Siderophores, NTA, and citrate: potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation[J]. International Journal of Phytoremediation, 2000, 2(4): 353 - 368.
- [58] Chaiham M, Chunhaleuchanon S, Lumyong S. Screening siderophore producing bacteria as potential biological control agent for fungal rice pathogens in Thailand [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2009, 25(11): 1919 - 1928.
- [59] Schmidt W. Mechanisms and regulation of reduction - based iron uptake in plants[J]. New Phytologist, 1999, 141(1): 1 - 26.
- [60] Faisal M, Hasnain S. Growth stimulatory effect of *Ochrobactrum intermedium* and *Bacillus cereus* on *Vigna radiata* plants[J]. Letters in Applied Microbiology, 2006, 43(4): 461 - 466.
- [61] Arshad M, Saleem M, Hussain S. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation[J]. Trends in Biotechnology, 2007, 25(8): 356 - 362.
- [62] Zahir Z A, Munir A, Asghar H N, et al. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions [J]. Journal of Microbiology & Biotechnology, 2008, 18(5): 958.
- [63] Saleem M, Arshad M, Hussain S, et al. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2007, 34(10): 635 - 648.
- [64] Nadeem S M, Zahir Z A, Naveed M, et al. Rhizobacteria containing ACC - deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt - affected fields [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2009, 55(11): 1302 - 1309.
- [65] Fan B, Wang C, Song X, et al. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: the gram positive model strain for plant growth promotion and Biocontrol[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9(10): 2491.
- [66] Wu L, Huang Z, Li X, et al. Stomatal closure and SA - , JA/ET - signaling pathways are essential for *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 to restrict leaf disease caused by phytophthora nicotianae in nicotiana benthamiana[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 847.
- [67] Kloepper J W, Ryu C M, Zhang S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. [J]. Phytopathology, 2004, 94(11): 1259 - 1266.
- [68] 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 - 181.
- [69] Liu K, Mcinroy J A, Hu C H, et al. Mixtures of Plant - Growth - Promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple plant diseases and Plant - Growth promotion in the presence of pathogens [J]. Plant Disease, 2018, 102(1): 67 - 72.
- [70] Tunsagool P, Leelasuphakul W, Jaresithikhunchai J, et al. Targeted transcriptional and proteomic studies explicate specific roles of *Bacillus subtilis* iturin A, fengycin, and surfactin on elicitation of defensive systems in Mandarin fruit during stress[J]. PLoS One, 2019, 14(5): e0217202.
- [71] Cheffi M, Bouket A C, Alenezi F N, et al. *Olea europaea* L. root endophyte *Bacillus velezensis* OEE1 counteracts oomycete and fungal harmful pathogens and harbours a large repertoire of secreted and volatile metabolites and beneficial functional genes [J]. Microorganisms, 2019, 7(9): 314.
- [72] Jeong H, Choi S K, Ryu C M, et al. Chronicle of a soil bacterium: *Paenibacillus polymyxa* E681 as a tiny Guardian of plant and human health[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10(3): 467.
- [73] Cawoy H, Bettiol W, Fickers P, et al. *Bacillus* - based biological control of plant diseases[J]. Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, 2011: 273 - 302.
- [74] Leclère V, Béchet M, Adam A, et al. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(8): 4577 - 4584.

魏桢元. 环介导等温扩增技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(3): 80–85.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.03.013

环介导等温扩增技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展

魏桢元

[腾德商品检测(上海)有限公司, 上海 201114]

摘要:沙门氏菌是世界上最常见的食源性致病菌之一,全球每年沙门氏菌中毒事件居细菌性中毒事件首位。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种新型的核酸恒温扩增方法。2005 年首次报道了采用 LAMP 技术快速检测沙门氏菌的研究,在随后的十几年中, LAMP 技术不断优化完善,并广泛应用于食品沙门氏菌的现场检测。本综述阐述 LAMP 的技术原理和特点,归纳基于 LAMP 技术的不同平台在沙门氏菌快速检测中的应用,同时对 LAMP 技术假阳性率高的问题进行了探讨,并对 LAMP 技术的研究方向和研究趋势提出了几个设想。

关键词:环介导等温扩增技术;沙门氏菌;食源性致病菌;现场检测;研究进展

中图分类号:TS207.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)03-0080-06

沙门氏菌是需氧或兼性厌氧的革兰氏阴性菌,属于肠杆菌科。非伤寒沙门氏菌对人体健康的影响很大。据 WHO 食源性疾病监控计划统计,非伤寒沙门氏菌导致 9 380 万人感染,其中通过食源性导致 8 030 万人感染,每年有 15.5 万人因此而丧生^[1]。沙门氏菌感染对全球造成巨大的经济损失和负担。在 2010 年美国由沙门氏菌感染导致的医疗成本、人员工资损失、过早死亡的成本高达 27 亿美元,这并不包括相关产品召回、疾病防控以及不

可估量的相关生产厂商及农产品的商誉损失^[2]。在中国,70%~80% 细菌性食源性疾病是由沙门氏菌感染引起的,其中 90% 的食物是肉、奶、蛋等畜产品^[3]。已经鉴定出的肠炎沙门氏菌血清型超过 2 500 种,但大多数人体感染是由有限数量的血清型引起的^[4]。肠炎沙门氏菌是最常见沙门氏菌株之一,通常与鸡蛋、家禽及其产品的沙门氏菌病的爆发有关^[5]。在 2016 年全球食品致病菌测试量达到 2.8 亿份,市场价值超过 180 亿美元。其中,测试量排名第一的致病菌是沙门氏菌,占检测量的 43%^[6]。

迄今为止,细菌检测或鉴定主要基于培养的方法^[7]。沙门氏菌的传统检测方法(ISO 6579:2002

收稿日期:2019-08-27

作者简介:魏桢元(1984—),男,硕士,工程师,从事食品安全检测。

E-mail: wzyits@163.com.

[75] Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(4): 845–857.

[76] Jouzani G S, Valijanian E, Sharafi R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(7): 2691–2711.

[77] Turatto M F, Dourado F D, Zilli J E, et al. Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus* spp. using fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2017, 49(1): 54–58.

[78] del Rosario – Cappellari L, Chiappero J, Banchio E. Invisible signals from the underground: A practical method to investigate the effect of microbial volatile organic compounds emitted by rhizobacteria on plant growth [J]. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 2019, 47(4): 388–393.

[79] Farag M A, Zhang H, Ryu C M. Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(7): 1007–1018.

[80] Park H B, Lee B, Kloepper J W, et al. One shot – two pathogens blocked: exposure of *Arabidopsis* to hexadecane, a long chain volatile organic compound, confers induced resistance against both *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2013, 8(7): e24619.

[81] Choi H K, Song G C, Yi H S, et al. Field evaluation of the bacterial volatile derivative 3 – pentanol in priming for induced resistance in pepper [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, 40(8): 882–892.

[82] Lee S, Yap M, Behringer G, et al. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth [J]. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2016, 3(1): 7.