

张 婷,游小英. 产铁载体的根际促生菌鉴定及其对月季生长和养分吸收的影响[J]. 江苏农业科学,2024,52(4):174-181.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.026

# 产铁载体的根际促生菌鉴定及其对月季生长和养分吸收的影响

张 婷,游小英

(上海农林职业技术学院风景园林技术系,上海 201699)

**摘要:**以月季蓝丝带根际土为试材,采用铬天青 S(CAS)琼脂平板测定法对根际促生菌进行分离,利用平板划线法对菌株进行分离提纯,分析不同分离菌株的促生效果和铁吸收能力,并探索铁载体物质对月季矿质元素吸收的影响。结果表明,通过 CAS 琼脂培养基共获得 3 株分离株(SP1、SP2、SP3),16S rRNA 分子鉴定显示,SP1、SP2、SP3 均属于假单胞菌属(*Pseudomonas*),分别为铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、喜昆虫假单胞菌(*P. entomophila*)、恶臭假单胞菌(*P. putida*)。其中,SP3 促生效果、铁含量较佳,铁载体活性可达 87.20%。此外,SP3 可分泌嗜铁素将不溶性  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  转化为可溶性铁,提高根系及地上部铁含量,且显著影响月季幼苗对其他元素(K、P、Ca、Mg、Zn、Mn)的吸收。综上,从月季根际分离得到的 1 株恶臭假单胞菌(SP3)具有较佳的产铁载体活性,可促进植株生长、铁含量及矿质养分吸收,或可作为开发高效菌肥的潜在资源。

**关键词:**假单胞菌;产铁载体;月季;地上部;根系生长;养分吸收;嗜铁素

**中图分类号:**S685.120.6;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0174-08

铁(Fe)是植物生长必需的矿物质营养素,在细胞呼吸作用、光合作用及催化金属蛋白等主要代谢过程中发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。铁是地壳中的第四大矿质元素,但在土壤(尤其是中性和碱性土壤)中主要以不溶性的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  及氢氧化物的形式存在而难以被植物有效利用<sup>[2]</sup>。铁缺乏时,植物由于叶绿素合成受到抑制,容易出现失绿现象,从而阻碍叶片的光合作用进程。严重缺铁时,植物生长发育矮小,产量及植物免疫性能降低<sup>[3]</sup>。补充铁元素已成为农作物、园艺作物生产中不可或缺的重要措施之一。月季(*Rosa chinensis*)为蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rosa*)多年生植物,月季花香浓郁、花型洋溢、色泽高雅,可作为植物源香水和精油的重要来源植物之一,兼具观赏价值和工业价值,已被广泛应用于园林、食品、化妆品等多个领域<sup>[4]</sup>。然而种植的月季土壤多为碱性,这使得月季可用铁元素缺乏,反过来会影响月季的开花品质和绽放周期,从而降低

栽培效益<sup>[5]</sup>。

针对性施肥是农林业生产环节中弥补土壤养分不足的必要措施<sup>[6]</sup>。以往的农林业生产中以施用化肥为主,近 10 年来,微生物菌肥的应用效果显著,已成为发展高质量农业的优选肥料类型之一<sup>[7]</sup>。根际促生菌(PGPR)是微生物菌肥主要的功能性组成成分,可通过溶解磷酸盐、嗜盐、固氮和分泌铁载体增加土壤有效养分,提高植物对养分的利用率及品质<sup>[8]</sup>。PGPR 还可合成并释放多种激素类物质,如吲哚乙酸(IAA)、赤霉素、乙烯以及其他挥发性有机化合物<sup>[9]</sup>。黄靖等的研究表明,解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)可分泌铁载体、植酸、IAA 和玉米素等,从而提高金线莲地上部干质量,促进皂苷和黄酮(槲皮素、山柰酚、异鼠李素)的累积量<sup>[10]</sup>;李文祥等研究发现,来自金水仙根际的芽孢杆菌属(*Bacillus*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)的菌株均可分泌氨基环丙烷羧酸脱氨酶,激活切花月季抗氧化系统、降低乙烯释放速率<sup>[11]</sup>。此外,PGPR 还可诱导增强植物免疫系统,从而提高植物对病毒、真菌性病原菌及对非胁迫的抵抗力。

PGPR 通过多种机制促进植物对铁的吸收,在植物的铁吸收中亦发挥着非常重要的作用。铁载体是微生物在低铁条件下分泌的低分子量有机物

收稿日期:2023-09-14

基金项目:上海市现代农业产业技术体系项目(编号:KY2-0000-21-05)。

作者简介:张 婷(1987—),女,江苏丹阳人,硕士,讲师,主要从事园林植物栽培养护研究工作。E-mail:tingz280026@163.com。

通信作者:游小英,硕士,副教授,主要从事园林植物培育研究工作。  
E-mail:xyyoush@163.com。

质,铁载体可螯合  $\text{Fe}^{3+}$  并向微生物提供铁营养<sup>[12]</sup>。研究表明,产铁载体的细菌可以产生不同结构的铁载体,促进缺铁环境下的植物生长<sup>[13]</sup>。例如,埃希菌属(*Escherichia*)产生肠菌素(enterobactin)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)产生杆菌烯(bacillibactin)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)产生嗜铁素(pyoverdine)<sup>[14]</sup>,其中假单胞菌属是研究较多的菌群之一。研究表明,施用 3 种假单胞菌菌株(*Pseudomonas* sp. 1T、*Pseudomonas* sp. 2S 和 *Pseudomonas* sp. C7R12)的铁载体物质时,铁载体可与铁的螯合物( $\text{Fe-pvds}$ )促进豌豆的铁累积量<sup>[15]</sup>。上述研究为产铁载体 PGPR 的应用提供了一定的理论依据。然而根际微生物群组成由宿主特殊的招募机制所决定<sup>[16]</sup>,来自同一宿主的 PGPR 或能更好地定殖于同一宿主根际。因此,本研究基于从铁高效利用型月季根际分离产铁载体菌株,探索菌株对碱性土壤中月季的促生效应,本研究结果可为产铁载体型微生物应用于园林栽培提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 土壤样品采集及产铁载体菌株的分离与筛选

4 个根际土壤样品于 2022 年 5 月均采集自上海辰山植物园月季园(37°07'49"N,121°18'31"E)蓝丝带月季根际土壤。避开施肥点,以月季地面主茎为中心、半径 20 cm、深度 30 cm,用铲子挖出整个根部,轻轻摇动除去根系最外部的土壤,该土壤自然风干以用于后续盆栽基质用土。采用消毒刷子收集根表 0.1 cm 附着的根际土壤,放入无菌密封袋中,带回实验室并保存于 4℃ 冰箱中。

称取约 5.0 g 根际土壤至无菌三角瓶中,并加入 45 mL 无菌蒸馏水,于 28℃ 恒温摇床振荡(120 r/min) 15 min,采用无菌蒸馏水稀释土壤悬浮液,吸取稀释液 100  $\mu\text{L}$  涂在铬天青 S(CAS)检测培养基上,并将平板在 28℃ 恒温培养箱中培养 24 h。当细菌产生铁载体时固体培养基上出现黄橙色晕圈,晕圈的大小(以直径计)反映铁载体的产生性能;挑取 3 环较大的黄橙色晕圈,分别标注为 SP1、SP2、SP3;在 LB 培养基上进行 3 次划线、纯化、分离以获得菌株的纯培养物,并对获得的菌株纯培养物进行分子鉴定。

### 1.2 铁载体物质与 IAA 物质定量分析

菌株铁载体定量分析参照葛森森等的方法<sup>[17]</sup>:取等体积的菌株培养上清液、蒸馏水,与 CAS 检测

液混匀,避光静置反应 45 min,在 680 nm 处每隔 6 h 检测细菌-CAS 检测液、蒸馏水-CAS 检测液的吸光度  $D_1$ 、 $D_2$ ,通过  $D_1/D_2$  分析菌株铁载体产生能力, $D_1/D_2 < 0.8$  则产铁载体能力较高。采用铁载体活性单位(SU)表示菌株铁载体的产量, $SU = [(D_2 - D_1)/D_2] \times 100\%$ 。

### 1.3 产铁载体菌株的分子鉴定

采用细菌基因组提取试剂盒(D3350-01,北京天根生化科技公司)提取菌株总 DNA,16S rRNA 基因扩增引物:27F,5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';1492R,5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3',对 3 株待测菌株进行扩增。聚合酶链式反应(PCR)反应体系为 25  $\mu\text{L}$ :天根 Taq PCR 混合物 12.5  $\mu\text{L}$ ,正、反向引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )各 1.0  $\mu\text{L}$ ,模板 DNA 2.0  $\mu\text{L}$ ,采用双蒸水(ddH<sub>2</sub>O)补足至 25  $\mu\text{L}$ 。热循环参数如下:95℃ 预变性 3 min;98℃ 变性 15 s,62℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s,30 个循环;72℃ 8 min。将 16S rRNA 基因 PCR 产物纯化后进行测序分析,基于 NCBI(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)与 GenBank 中的序列对测序结果进行 BLAST 检索以确定相似序列。该工作委托生工生物工程(上海)科技有限公司完成。

### 1.4 铁载体物质的分离与提纯

根据 Hoegy 等描述的嗜铁素特性<sup>[18]</sup>判断是否存在嗜铁素:上清液呈黄绿色,在紫外光下发出荧光,并且在 400 nm 处有吸收峰,则上清液中存在嗜铁素。收集琥珀酸液体培养基的 SP3 上清液,在紫外光下观察荧光现象并通过紫外分光光度计(UV-2550,Shimadzu, Kyoto, Japan)测量吸收光谱。铁载体物质的提取步骤根据 Trapet 等所述方法<sup>[19]</sup>进行,将上清液送至生工生物工程(上海)科技有限公司进行铁载体物质的纯化,得到该铁载体(Pds)的冻干粉用于后续试验。

### 1.5 盆栽土培试验

用 0.8% 次氯酸钠对月季种子进行表面消毒 5 min,用流动无菌水进行洗涤,将种子放置于无菌蛭石中培养,培养至幼苗 4 叶期。设置接种不同促生菌处理(SP1、SP2 和 SP3),以不施菌为对照(CK),各处理重复 5 次,共 20 盆。

将幼苗移植到装有 1 kg 灭菌土壤的塑料盆中。该土壤为月季根系包裹土壤,其理化性质如下:pH 值 7.94,碱解氮含量 55.68 mg/kg,有效磷含量 25.86 mg/kg,速效钾含量 55.01 mg/kg,DTPA 提取

有效铁(DTPA-Fe)含量 3.27 mg/kg。接菌处理接种 10 mL 相应菌株的悬浮液,三者有效活菌数均约为  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL,CK 则施入同体积的无菌水。试验期间,植物光周期为 14 h/10 h,温度为 28 °C/22 °C,空气湿度为 75% ~ 90%,光照度为 1 000 ~ 1 400  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,盆栽周期 30 d。

### 1.6 盆栽沙培试验

基于盆栽土培的试验结果,将促生最佳、铁含量最高的菌株提纯铁载体物质,进行相应的水培试验。设置不施铁(NFe)、施用可溶性乙二胺四乙酸铁钠(AFe)、施用难溶性氢氧化铁(Ife)及难溶性氢氧化铁结合施用铁载体物质(Ife + Pds),各处理重复 5 次,共 20 盆,施铁处理中的施用浓度皆为 4.6 mmol/L。将幼苗移植到装有 2 kg 灭菌沙的盆中,按上述处理将相应铁化合物配制为改良的 Hoagland 营养液,每 2 d 施用 10 mL,沙培培养周期 14 d。

### 1.7 盆栽测定指标分析

1.7.1 根系形状参数测定 土壤培养第 30 天,将盆栽器具剖开,将月季地上部、根系分开,根系采用流动蒸馏水小心冲洗,用吸水纸吸干根表水分。根系性状相关参数测定采用 EPSON V800 扫描仪对根系进行扫描,WinRHizo Basic 2013C 软件(Regent Instruments Inc, Canada)分析;采用 ImageJ 软件(ImageJ 1.48u, Rasband)测定根毛长度。

1.7.2 地上部生长参数、SPAD 值及矿质养分含量测定 采用叶绿素计(SPAD-502m, Konica Minolta, Japan)测定新叶的叶绿素含量(以 SPAD 值)。将根和地上部分开,105 °C 杀青 30 min, 65 °C 烘干,记录干物质质量。再将样品粉碎处理,过 0.25 mm 筛,以测定矿质养分含量。基于 M6 微波消解系统(上海屹尧仪器科技发展有限公司)采用  $\text{HNO}_3$  消解,并使用电感耦合等离子体原子发射光谱仪(iCAP 7000, Thermo Scientific, USA)测定 P、K、Ca、Mg、S、Cu、Mn、Zn、B 及 Fe 含量。

1.7.3 根尖染色观察 采用上海远慕生物科技有限公司生产的普鲁士蓝铁染色试剂盒(Perls stain, 伊红法)对月季根系进行  $\text{Fe}^{3+}$  染色:采用黄血盐( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )与盐酸(HCl)按 1:1 体积比配制为 Perls 溶液,剪取月季幼嫩根尖,放置于 Perls 溶液中染色 45 min,染色结束先采用去离子水小心冲洗,吸水纸吸干根尖水分,接着采用 10 mmol/L 叠氮化钠( $\text{NaN}_3$ )和 0.3% 甲醇混合液(按体积比 5:1)缓

慢冲洗 1 min,吸水纸吸干根表溶液。最后采用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲盐水(pH 值 7.4)冲洗 1 min,吸水纸再次吸干根表溶液,用体视镜(SMZ-168,上海朗善光学仪器有限公司)观察根尖。

### 1.8 数据处理与统计分析

采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析与 Duncan's 多重比较检验平均值间的显著性( $\alpha = 0.05$ )。采用 Origin 2020 软件完成图形绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 产铁载体根际促生菌的分子鉴定

由图 1 可知,从月季根际分离得到 3 株产铁载体菌株,分别标注为 SP1、SP2、SP3。基于 NCBI 数据库进行 Blast 比对,采用邻接法构建 16S rRNA 系统进化树,结果显示,SP1、SP2、SP3 分别与铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*) D1-3(序列号 MN922571)、喜昆虫假单胞菌(*P. entomophila*) KLP01(序列号 MW250866)、恶臭假单胞菌(*P. putida*) PR32537(序列号 KR349258)在同一分支上;Blast 同源性比对相似性分别达 99.86%、99.93%、99.79%。因此确定 SP1、SP2 及 SP3 均隶属假单胞属(*Pseudomonas*),分别为铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、喜昆虫假单胞菌(*P. entomophila*)及恶臭假单胞菌(*P. putida*)。

### 2.2 根际促生菌的产铁载体能力分析

由图 2-a 可知,SP1、SP2、SP3 分离株在 CAS 琼脂培养基上的菌落周围均呈现黄橙色晕圈。晕圈大小表明 SP1、SP2、SP3 菌株均具有较强的铁载体产生能力,且 3 株菌株的铁载体生产趋势基本一致,即 72 h 的培养时间内,3 株菌株的铁载体活性单位(SU)均呈逐渐增加趋势。其中,0~24 h 铁载体生产最为迅速,24~48 h 相对缓慢,48 h 之后 SU 趋于平缓(图 2-b)。但 SP1、SP2、SP3 的铁载体生产能力存在一定差异,培养 6 h 时,各菌株 SU 表现为  $\text{SP2} < \text{SP1} < \text{SP3}$ ,此后则表现为  $\text{SP1} < \text{SP2} < \text{SP3}$ ;在培养 48 h 后,SP3 铁载体活性单位均值为 87.20%,而 SP2、SP1 仅分别为 65.28%、73.79%。

### 2.3 产铁载体根际促生菌的促生效应分析

由表 1 可知,SP1、SP2、SP3 菌株对月季地上部、根系生长参数及铁含量产生了显著影响。与不施菌处理(CK)相比,施菌处理(SP1、SP2、SP3)在在地上部干质量、根系干质量、株高、根系表面积、根系总长度、根系体积、地上部铁含量、根系铁含量等方面

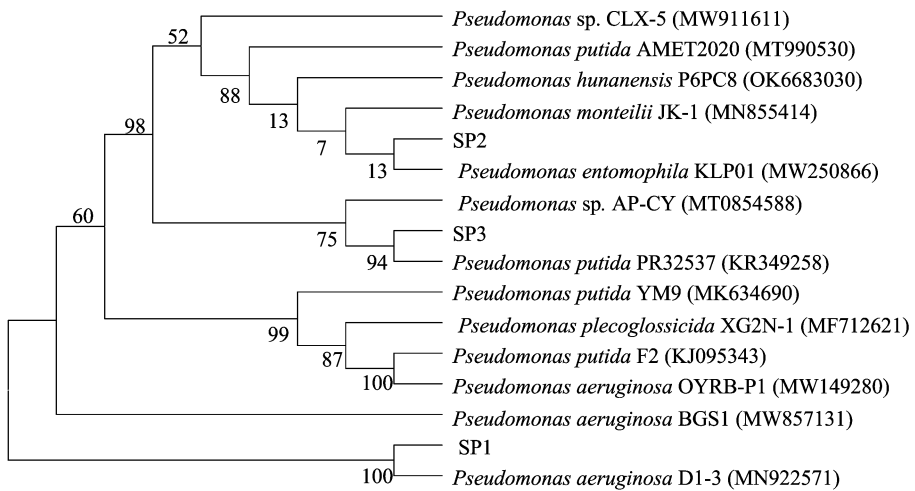


图1 基于 16S rRNA 产铁载体根际促生菌的系统进化分析

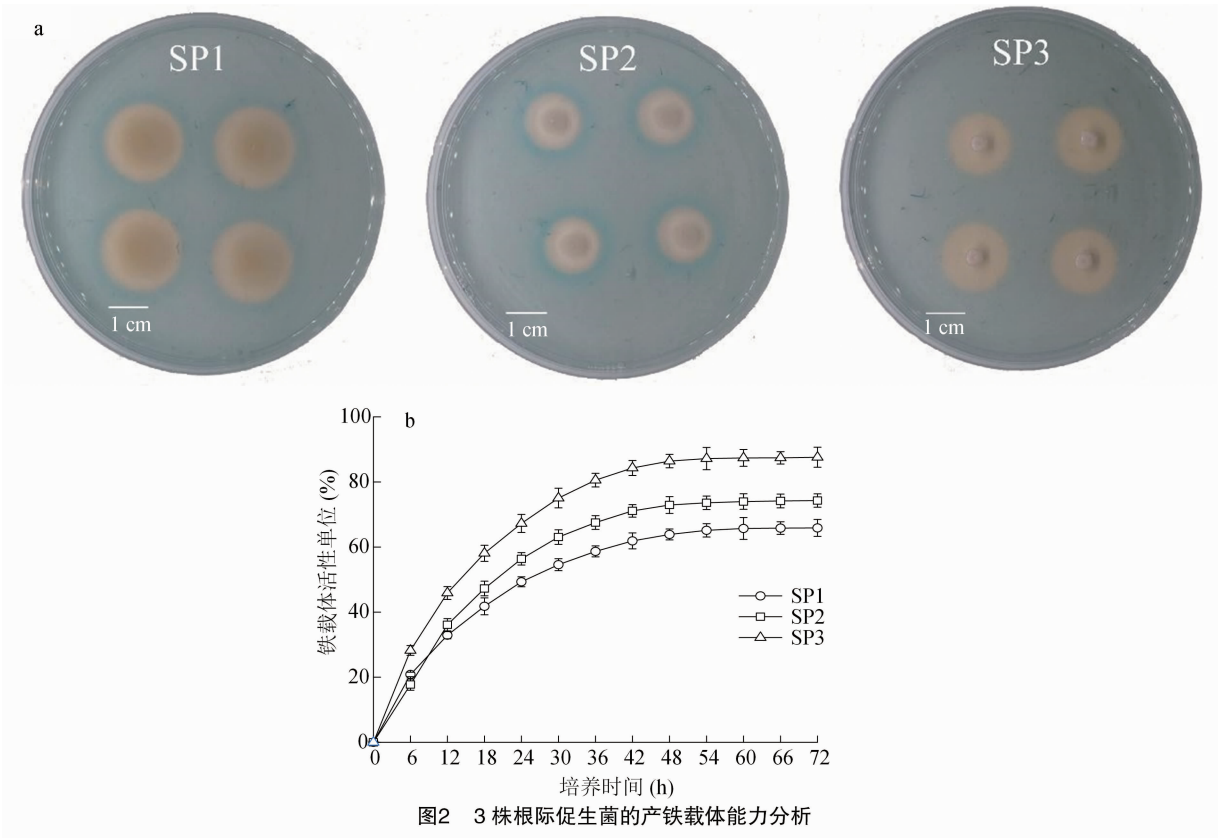


图2 3 株根际促生菌的产铁载体能力分析

表 1 产铁载体根际促生菌对月季生长及铁累积的影响

处理	地上部干质量 (g)	根系干质量 (g)	株高 (cm)	根系表面积 (cm <sup>2</sup> )	根系总长度 (cm)	根系体积 (cm <sup>3</sup> )	地上部铁含量 (μg/g)	根系铁含量 (μg/g)
CK	0.24 ± 0.02b	0.17 ± 0.01b	11.23 ± 0.41c	12.63 ± 1.02b	113.75 ± 5.74b	0.13 ± 0.01b	63.28 ± 4.18c	509.37 ± 56.76b
SP1	0.31 ± 0.02a	0.18 ± 0.02b	11.57 ± 0.95c	13.85 ± 0.46b	115.41 ± 2.16b	0.12 ± 0.01b	66.69 ± 3.62c	528.63 ± 33.39b
SP2	0.26 ± 0.01b	0.19 ± 0.01b	15.66 ± 0.72a	15.47 ± 1.37b	116.86 ± 6.19b	0.10 ± 0.01b	84.26 ± 5.01b	594.34 ± 50.52b
SP3	0.28 ± 0.02ab	0.24 ± 0.01a	13.83 ± 1.03b	17.92 ± 0.92a	154.73 ± 4.98a	0.17 ± 0.01a	116.96 ± 3.92a	958.77 ± 46.63a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

整体上较高,其变幅范围分别为 8.33% ~ 29.17%、5.88% ~ 41.18%、3.03% ~ 39.45%、9.66% ~ 41.88%、1.46% ~ 36.03%、-23.08% ~ 30.77%、5.39% ~ 84.83%、3.78% ~ 88.23%。其中,地上部干质量、株高分别以 SP1、SP2 存在极大值外,其他生长指标及铁含量均以 SP3 最高,且任一指标中,SP3 皆显著大于 CK,表明 SP3 最有利于月季植物的生长发育及铁吸收。

2.4 SP3 培养上清液中铁载体物质检验

为了表征 SP3 产生的铁载体,将 SP3 接种在缺

铁培养基中,培养结束后,SP3 上清液在自然光下呈黄绿色,CK 上清液透明无色(图 3 - a);在紫外光照射下 SP3 上清液具有荧光效应,而 CK 上清液无明显现象(图 3 - b),同时 SP3 上清液的紫外吸收光谱在 400 nm 处显示出明显的吸收峰(图 3 - c),表明 SP3 发酵上清液存在一定含量的嗜铁素物质。此外,将 SP3 分离株接种到含有难溶性铁的培养基中,发现上清液中有效铁含量显著增加(图 3 - d),表明 SP3 分泌的嗜铁素具有将难溶性铁转化为有效铁的良好功能作用。

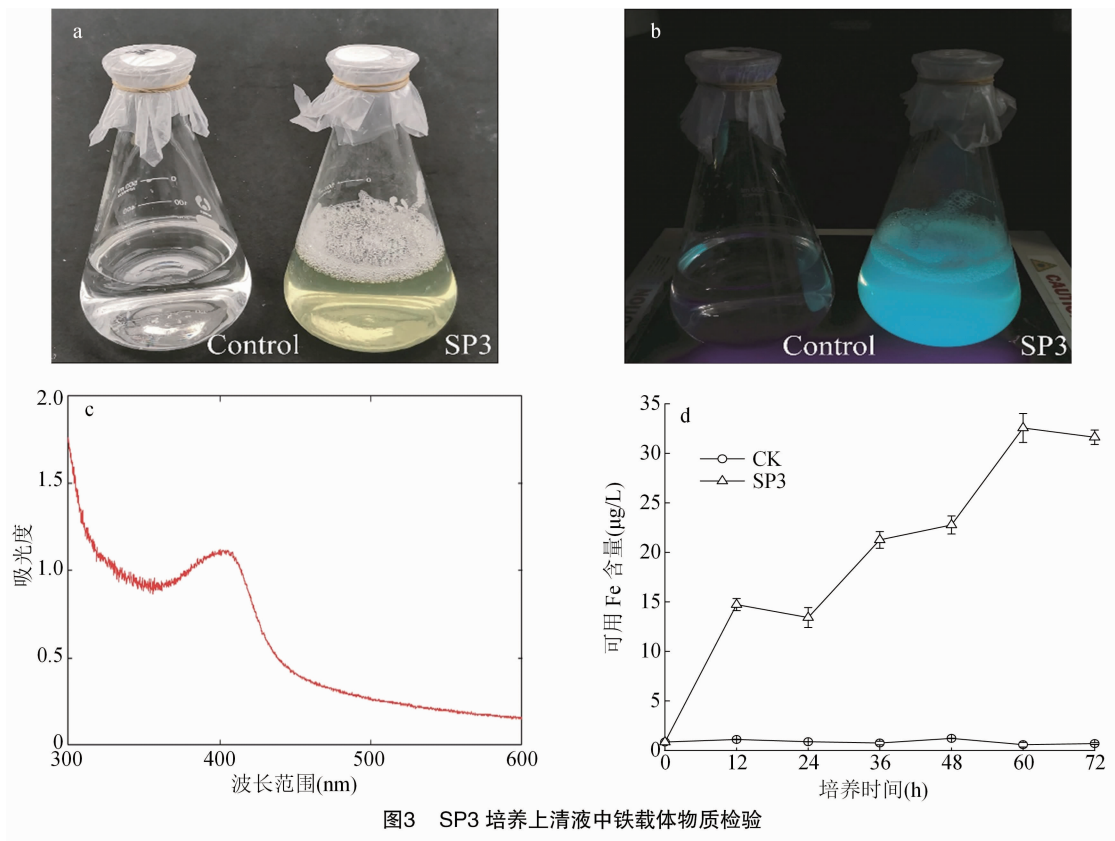


图3 SP3 培养上清液中铁载体物质检验

2.5 SP3 嗜铁素对沙培月季铁含量及根尖铁染色观察

由图 4 - a 可知,在月季植株地上部铁含量从高到低表现为 NFe 处理 < IFe 处理 < AFe 处理 < IFe + Fds 处理,其中与 IFe + Fds 处理相比,NFe、IFe、AFe 处理分别降低 14.36%、37.45%、41.89%;IFe + Fds 处理与 AFe 处理、NFe 处理与 IFe 处理间均无显著差异。在根系中,以 AFe 处理铁含量最高,达 1 129.47 μg/g,其他处理较其显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 62.04% ~ 81.24%;其次为 IFe + Fds 处理,IFe、NFe 处理较其分别显著降低 42.71%、50.59%。对幼嫩根尖的 Perls 染色显示,IFe + Fds 处理的根尖染色明

显深于 IFe 和 NFe 处理,且 IFe + Fds 处理与 AFe 处理更为接近(图 4 - b),这表明添加嗜铁素显著增加了月季根系对铁的吸收与累积。

2.6 SP3 嗜铁素对沙培月季矿质养分含量的影响

由图 5 可知,来自 SP3 菌株的嗜铁素物质对大量元素 (K、P)、中量元素 (Ca、Mg、S) 及微量元素 (Cu、Mn、Zn、B) 生产了一定影响。其中,K、P、Mn 含量以 IFe + Fds 处理最高,其他处理较其降低 19.66% ~ 25.24%、20.98% ~ 31.81%、36.74% ~ 69.68%;Ca、Mg 含量以 NFe 处理最高,其他处理较其分别降低 0.76% ~ 20.48%、6.30% ~ 27.14%;S 含量以 AFe 处理最高,IFe + Fds、IFe、NFe 处理较其



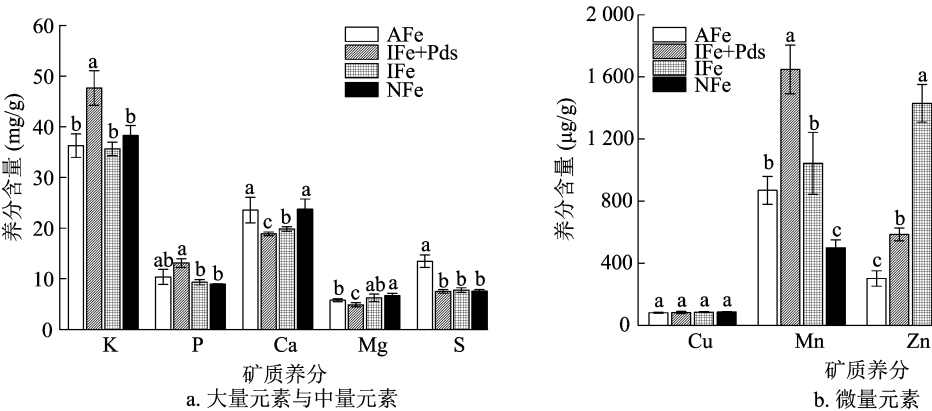
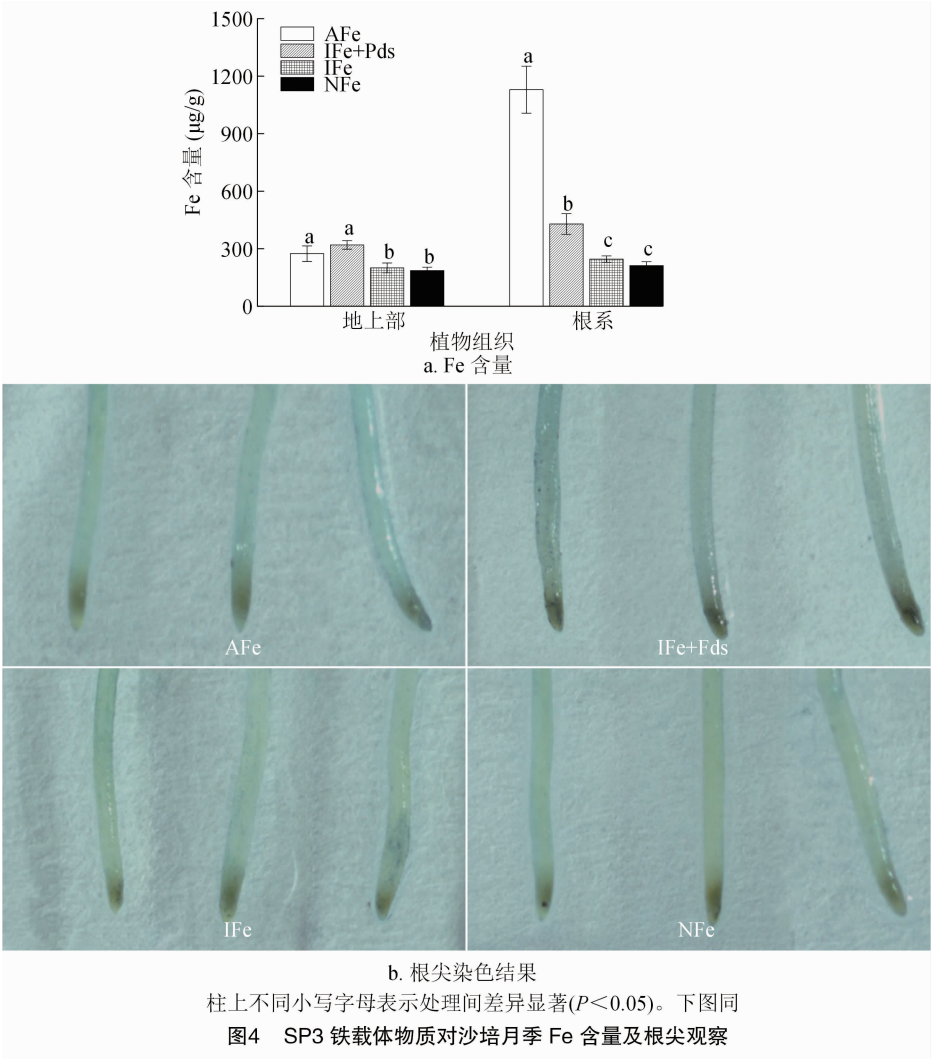


图5 SP3 铁载体物质对沙培月季矿质养分含量的影响

分别显著降低 44.21%、42.35%、43.61%；Zn 含量以 IFe 处理最高，AFe、IFe + Fds、NFe 处理较其分别降低 78.90%、59.04%、3.09%；而在 Cu、B 含量中，各处理从高到低依次为 AFe < IFe + Fds < IFe <

NFe、IFe + Fds < IFe < NFe < AFe，但 2 个指标在各处理间均无显著差异。特别地，相较于 NFe 和 IFe 处理，IFe + Fds 处理下的 K、P 和 Mn 含量显著提高，而 Ca、Mg、Zn 含量显著降低。

### 3 结论与讨论

在土壤尤其是碱性土壤中,游离铁通常被氧化并沉淀成铁氧化物物质,主要以  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  的形式存在<sup>[20]</sup>。因此,碱性土壤中速效铁含量较低,从而使植物无法吸收到足够的铁离子,严重阻碍植物生长<sup>[2,21]</sup>。在应对土壤有效的养分供应时,目前的研究主要基于基因工程改良手段以培育养分利用高效型或养分耐受更佳的品种,鲜有考虑植物微生物组及植物与微生物组的相互作用<sup>[22]</sup>。此外,对生物或非生物环境变化作出反应的植物的根分泌物会发生变化,这反过来会影响根部微生物组的组成<sup>[8]</sup>,因此某些植物根际的有益细菌可能是缓解其他植物胁迫的关键因素<sup>[23]</sup>。月季是一种优良的园林植物,对缺铁具有较强的耐受性。本研究从月季根际土壤采用铬天青 S(CAS)检测培养基分离得到 3 株可产生铁载体的细菌菌株,分别命名 SP1、SP2、SP3,且 CAS 检测培养显示 SP3 产生铁载体的能力最高。采用 16S rRNA 分子鉴定显示该 3 个菌株均属于假单胞菌属(*Pseudomonas*),SP1、SP2 及 SP3 分别为铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、喜昆虫假单胞菌(*P. entomophila*)及恶臭假单胞菌(*P. putida*)。

假单胞菌属(*Pseudomonas*)分布广泛,代谢途径多样,在促进植物生长和抗病性方面发挥着重要作用<sup>[24]</sup>;此外,假单胞菌属是研究最多的促进植物铁吸收的群属之一,它可以增加植物中铁的含量,并且可以调节缺铁相关基因的表达<sup>[25]</sup>。本研究结果表明,在碱性土壤(pH 值 7.94)中接种 SP1、SP2、SP3 均具有促进地上部、根系生长和铁吸收作用。表明这 3 株假单胞菌除分泌铁载体外,还可能具有分泌其他促生激素(如 IAA)的能力。其中,SP3 可通过显著提高根表面积、根长度、根体积及铁吸收促进植物生长。这与 Liu 等的研究结论<sup>[26]</sup>基本一致,即在钙质土中,与不接种处理相比,产铁载体的伊利诺伊类芽孢杆菌(*Paenibacillus illinoisensis* YZ29)和蕈状芽孢杆菌(*B. mycoides* DZ13)可增强花生根系活性,提高叶片叶绿素和铁含量。此外,王亚楠等的研究表明,产铁载体的甲基营养型芽孢杆菌(*B. methylotrophicus* BMF04)菌株可促进黄瓜幼苗株高、茎粗、地上部、地下部生物量和须根数增加<sup>[27]</sup>。这些表明产生铁载体的细菌菌株在改善植物生长及铁营养供应方面发挥着至关重要的作用。

大量研究表明,在缺铁条件下,大多数假单胞

菌属可产生荧光铁载体物质——嗜铁素<sup>[16]</sup>,嗜铁素可以螯合铁离子与通过化学方式螯合难溶铁,从而为植物提供可用铁形态<sup>[2,15,28-29]</sup>。本研究发现,SP3 可分泌一定量的嗜铁素,并且能够将不溶性  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  转化为可溶性铁,这表明恶臭假单胞菌(SP3)中的嗜铁素具有在缺铁环境中螯合  $\text{Fe}^{3+}$  的能力。从 SP3 上清液中提取的嗜铁素添加到沙培试验中以研究其对月季幼苗的影响。结果表明,与不施铁处理(NFe)和难溶性  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (IFe)相比, $\text{Fe}(\text{OH})_3$  + 嗜铁素处理(IFe + Fds)显著提高了月季地上部和根系的铁含量。该结果与拟南芥<sup>[30]</sup>和豌豆<sup>[15]</sup>等植物进行的研究相似,表明铁载体螯合物可以被植物有效吸收利用。然而,本研究结果表明,嗜铁素在改善植物铁营养方面不如 EDTA-FeNa 处理有效,这与之前的研究结果<sup>[13,31]</sup>不一致。其原因可能是嗜铁素与形成络合物是较为缓慢的化学过程,而本研究是分开展施方式且试验周期较短,因此效果并未得到充分的体现。

在本研究中,施用从 SP3 上清液中提取的嗜铁素也影响了月季幼苗对其他元素(K、P、Ca、Mg、Zn、Mn)的吸收,其中 K、P 和 Mn 含量显著增加,而 Ca、Mg、Zn 含量显著降低。从营养角度来看,铁与其他元素之间存在一定竞争<sup>[2,32]</sup>,表明营养缺乏会影响植物体内其他元素之间的吸收平衡<sup>[15,33]</sup>。综上,本研究表明从铁高效型植物——月季根际分离得到的恶臭假单胞菌(SP3)菌株可促进月季植物的干物质累积,增加根系根长、根表面积和根体积,有效改善铁营养。此外,SP3 菌株产生嗜铁素具有铁载体功能,可有效缓解植物铁限制。

#### 参考文献:

- [1] Liang G. Iron uptake, signaling, and sensing in plants[J]. Plant Communications, 2022, 3(5): 100349.
- [2] 张林琳,刘星星,祝亚昕,等. 机理 I 植物铁营养的吸收转运及信号调控机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(7): 1258 - 1272.
- [3] Ning X Y, Lin M F, Huang G H, et al. Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1190768.
- [4] 温佳幸,王超林,冯 慧,等. 月季花色研究进展[J]. 园艺学报, 2021, 48(10): 2044 - 2056.
- [5] 李晓彬,康跃虎. 滨海重度盐碱地微咸水滴灌水盐调控及月季根系生长响应研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(11): 112 - 121.
- [6] Jiao X, He G, Cui Z, et al. Agri - environment policy for grain production in China: toward sustainable intensification[J]. China

- Agricultural Economic Review, 2018, 10(1): 78–92.
- [7] 张建鹏. 化肥减量配施微生物菌肥及土壤调理剂对重茬马铃薯生长发育和土壤质量的影响[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(7): 205–212.
- [8] 周益帆, 白寅霜, 岳童, 等. 植物根际促生菌促生特性研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 644–666.
- [9] 刘晓婷, 姚拓, 马亚春, 等. 植物根际促生菌发酵液中植物激素含量的液液萃取-高效液相色谱测定法[J]. 草业科学, 2022, 39(10): 2222–2228.
- [10] 黄靖, 陈婵. 接种促生菌对金线莲生物活性成分及土壤细菌群落的影响[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(23): 184–191.
- [11] 李文祥, 张天谣, 贾颜, 等. 含 ACC 脱氢酶的根际促生菌对切花月季生长及生理的影响[J]. 山东农业科学, 2022, 54(4): 42–48.
- [12] 彭爱杰, 詹伊婧, 雷鹏, 等. 阿斯青霉菌 XK-12 产铁载体特性及其抑菌活性[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(1): 73–80.
- [13] Delaporte – Quintana P, Lovaisa N C, Rapisarda V A, et al. The plant growth promoting bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Azospirillum brasilense* contribute to the iron nutrition of strawberry plants through siderophores production [J]. Plant Growth Regulation, 2020, 91(2): 185–199.
- [14] Gu S H, Wei Z, Shao Z Y, et al. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes [J]. Nature Microbiology, 2020, 5(8): 1002–1010.
- [15] Lurthy T, Cantat C, Jeudy C, et al. Impact of bacterial siderophores on iron status and ionome in pea [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 730.
- [16] 田洁, 唐有林, 王启璋, 等. 植物根际促生菌 *Pseudomonas putida* UW4 对菊花扦插苗生长及生理特性的影响[J]. 植物生理学报, 2023, 59(1): 179–190.
- [17] 葛森森, 薄永琳, 刘宸, 等. 土壤产铁载体细菌的筛选及其对铁氧化物的活化与利用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1062–1072.
- [18] Hoegy F, Mislin G L A, Schalk I J. Pyoverdine and pyochelin measurements [M]//Pseudomonas methods and protocols. New York: Humana, 2014: 293–301.
- [19] Trapet P, Avoscan L, Klinguer A, et al. The *Pseudomonas fluorescens* siderophore pyoverdine weakens *Arabidopsis thaliana* defense in favor of growth in iron – deficient conditions [J]. Plant Physiology, 2016, 171(1): 675–693.
- [20] 刘金涛, 姚凡, 李臻园, 等. 植物铁素吸收机制研究进展[J]. 热带农业科学, 2022, 42(5): 26–33.
- [21] 张文静, 程建峰, 刘婕, 等. 植物铁素 (Fe) 营养的生理研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(36): 103–110.
- [22] Pang Z Q, Chen J A, Wang T H, et al. Linking plant secondary metabolites and plant microbiomes: a review [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 621276.
- [23] Duan Y N, Chen R, Zhang R, et al. Isolation, identification, and antibacterial mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* QSB – 6 and its effect on plant roots [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 746799.
- [24] Zhuang L B, Li Y, Wang Z S, et al. Synthetic community with six *Pseudomonas* strains screened from garlic rhizosphere microbiome promotes plant growth [J]. Microbial Biotechnology, 2021, 14(2): 488–502.
- [25] Mridha S, Kümmerli R. Coordination of siderophore gene expression among clonal cells of the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Communications Biology, 2022, 5: 545.
- [26] Liu D, Yang Q Q, Ge K, et al. Promotion of iron nutrition and growth on peanut by *Paenibacillus illinoisensis* and *Bacillus* sp. strains in calcareous soil [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2017, 48(4): 656–670.
- [27] 王亚楠, 陈莹莹, 吴玉洪, 等. 甲基营养型芽孢杆菌对黄瓜促生作用及其机理研究[J]. 北方园艺, 2020(12): 1–7.
- [28] 刘卹洲, 沈佳慧, 乔俊卿, 等. 芽孢杆菌嗜铁素研究进展[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 266–276.
- [29] 刘卹洲, 沈佳慧, 乔俊卿, 等. 芽孢杆菌嗜铁素研究进展[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 266–276.
- [30] Zhao L, Wang Y, Kong S. Effects of *Trichoderma asperellum* and its siderophores on endogenous auxin in *Arabidopsis thaliana* under iron – deficiency stress [J]. International Microbiology, 2020, 23(4): 501–509.
- [31] Jin C W, Li G X, Yu X H, et al. Plant Fe status affects the composition of siderophore – secreting microbes in the rhizosphere [J]. Annals of Botany, 2010, 105(5): 835–841.
- [32] 常竣泊, 马哲宇, 丁忠杰, 等. 植物种子铁储存、运输和再利用分子机制的研究进展[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2021, 47(4): 473–480.
- [33] Coletto I, Marín – Peña A J, Urbano – Gámez J A, et al. Interaction of ammonium nutrition with essential mineral cations [J]. Journal of Experimental Botany, 2023, 74(19): 6131–6144.