



蔡红丹,王碧盈,肖翠红,等.解磷、溶磷菌对水稻种子萌发的影响[J].黑龙江农业科学,2019(7):42-45.

解磷、溶磷菌对水稻种子萌发的影响

蔡红丹,王碧盈,肖翠红,刘振华,刘昕旸,孙冬梅

(黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院,黑龙江 大庆 163319)

摘要:为明确解磷、溶磷菌对水稻种子萌发的影响,以龙粳 22 号水稻种子,解磷菌 P_1 、 P_2 ,溶磷菌 P_3 、 P_4 为材料,通过将不同菌株的发酵液随机组合,制成不同混合菌剂。采用培养皿滤纸培养法,每次喷洒 2 mL 的不同菌剂,以清水作为对照,通过测定培养 2~3 d 及 5~6 d 的各组水稻种子芽长和根长的变化,研究不同解磷、溶磷菌株及不同菌株之间混合对水稻种子萌发的影响。结果表明:不同单菌制备的菌剂中解磷菌 P_2 和溶磷菌 P_4 对芽的促生长效果最佳,解磷菌 P_2 对根的促生长效果最佳;不同混合菌剂中 P_2P_4 对芽的促生长效果最佳, P_1P_3 对根的促生长效果最佳。

关键词:解磷菌;溶磷菌;水稻;种子萌发

在土壤中,微生物在磷的循环中起着十分重要的作用,一方面它可以通过生物固定作用,固定一部分有效磷,而这部分被固定的磷随着微生物的死亡可重新释放出来,转变为植物可利用的磷;

另一方面,由于微生物的活动,土壤有机质或动植物残体中的磷转化成有效磷,供植物吸收利用。经过国内外长期的实验研究表明,解磷菌或溶磷菌(phosphate-solubilizing microorganisms)是一种对自然土壤里存在的和附着在植物根际上能使难溶性、不溶性的磷转化成容易被植物所吸收和利用的可溶性磷的微生物。在农业生态系统中,溶磷菌是土壤中一类不可或缺的微生物。1962 年 Kobus 在报道中提出,土壤的物理结构、有机物质含量的多少、土壤肥力的强弱及类型、耕作的方

收稿日期:2019-01-17

基金项目:黑龙江农垦总局项目(HNK135-02-06-04);大庆市指导项目(zd-2017-63)。

第一作者简介:蔡红丹(1991-),女,在读硕士,从事微生物学研究。E-mail:393077995@qq.com。

通讯作者:孙冬梅(1970-),博士,教授,从事应用微生物研究。E-mail:sdmlzw@126.com。

参考文献:

- [1] 黄秀曼,杜钢军,孙婷,等.过山蕨总黄酮对肝损伤的保护作用[J].中草药,2012(12):2458-2463.
- [2] 梁大连,程艳玲,董世波,等.过山蕨总黄酮对大鼠血栓闭塞性脉管炎的改善作用[J].现代药物与临床,2011,26(6):481-484.
- [3] 刘迎辉,戚笑笑,李红,等.过山蕨总黄酮抗肺癌作用及其对

赖氨酸氧化酶抑制活性[J].中草药,2014,45(24):3573-3578.

- [4] 杨鑫宝,刘建勋,杨秀伟.过山蕨化学成分及药理活性研究进展[J].中国现代中药,2012(5):18-22.
- [5] 金水虎.观赏蕨类的引种驯化和商品化繁殖技术研究[D].杭州:浙江大学,2003.

Study on Tissue Culture Technology of *Camptosorus sibiricus* Rupr.

GUAN Li-xia, BAI Yu-xuan, LI Yang, PU Dong-xiang

(Liaoning Agricultural Vocation-technical College, Yingkou 115009, China)

Abstract: In order to establish the technical system of transplanting plant seedlings in *Camptosorus sibiricus* Rupr., this experiment carried out an in-depth study on tissue culture with its fertile leaves and GGB method. The results showed that *Camptosorus sibiricus* Rupr. spores form the best medium for GGB was $1/2MS + \text{agar } 6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{BA } 0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AC } 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; Proliferation of GGB best medium was $1/2MS + \text{agar } 6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{BA } 0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AC } 0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; GGB form young sporophyte complete plant the best medium was $1/2MS + \text{agar } 6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA } 0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AC } 0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; and after 28 days of transplanting of test tube seedlings, the survival rate was more than 98%.

Keywords: *Camptosorus sibiricus* Rupr.; fertile leaves; tissue culture

式与耕种的措施等这些因素均会影响溶磷菌在土壤中的数量和类型^[1]。赵小蓉等^[2]研究发现,根际土壤中溶磷菌的数量比土体中的溶磷菌数量多,表明土壤中存在着强烈的根际效应。溶磷微生物在土壤中的数量不仅与加入土壤中的磷源种类有关,还与土壤的类型有着密切的联系,到目前为止,溶磷菌中很多活性较强的菌分布在作物根际的不同部位^[3]。

土壤中种类繁多且数目庞大的微生物对土壤肥力的形成起着至关重要的作用,氮、磷和钾都是作物生长和发育必不可少的大量元素,而微生物的作用就是对土壤中的氮、磷和钾等主要养分的转化和供给。溶磷菌和硅酸盐细菌(又称钾细菌)可以将土壤中固定态磷和固定态钾分解,并转化成为农作物可直接吸收和利用的有效磷及有效钾,与此同时分泌出很多种可以促进植物生长的促生长活性物质^[4]。

目前,在生物学和农学等领域,研究学者已经发现了多种结构复杂的,且具有溶磷能力的微生物。部分研究表明,将此类微生物划分为能分解有机磷和能分解无机磷的两种微生物,而其主要是根据溶磷微生物的分解底物不同来归类的,但是这种分类方法对溶磷微生物还存在一定难度,如链霉菌属(*Streptomyces* sp.)既能溶解有机磷,又可以溶解无机磷^[5]。

在我国,解磷微生物肥料的应用已经有很多年^[6],但发展速度缓慢,应用也不广泛。本研究主要利用实验室现有的解磷、溶磷菌株发酵液处理水稻种子,通过测定水稻种子萌发的根长与芽长,明确解磷溶磷菌对水稻发芽的作用,为菌株及其混合菌株进一步应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 解磷菌 P₁、P₂,溶磷菌 P₃、P₄,黑龙江八一农垦大学生物技术系微生物实验室保存。

1.1.2 水稻品种 龙粳 22,由黑龙江八一农垦大学农学院水稻研究室提供。

1.2 方法

1.2.1 培养基配置 牛肉膏蛋白胨培养基:5 g 牛肉膏,5 g 蛋白胨,10 g 氯化钠,15~20 g 琼脂,pH 7.0~7.2,水 1 L。溶化后分装灭菌(121 ℃,20 min)。

1.2.2 菌株培养与菌剂准备 将不同菌种的菌株从保藏状态恢复到室温状态,在无菌条件下,挑选部分菌落划线接种到新的培养基中培养,从而得到生长良好的单菌落。在无菌条件下,挑取平板上单菌落到 50 mL 液体培养基中,28 ℃,100 r·min⁻¹,24 h 摇床培养,然后利用 24 h 的菌液为菌种扩大培养,接种量均为 1%,将每种均扩大为 500 mL。

配制 11 个不同复合菌剂,处理 1:P₁、P₂等比例复配;处理 2:P₁、P₃等比例复配;处理 3:P₁、P₄等比例复配;处理 4:P₂、P₃等比例复配;处理 5:P₂、P₄等比例复配;处理 6:P₃、P₄等比例复配;处理 7:P₁、P₂、P₃等比例复配;处理 8:P₁、P₂、P₄等比例复配;处理 9:P₁、P₃、P₄等比例复配;处理 10:P₂、P₃、P₄等比例复配;处理 11:P₁、P₂、P₃、P₄等比例复配。

1.2.3 水稻种子萌发处理方法 选取质地均匀的龙粳 22 水稻种子,通过自来水浸泡 24 h,每隔 4 h 换水 1 次。每个处理选取 100 粒露白一致的种子,分别摆放于培养皿中的滤纸上,喷洒 2 mL 不同处理的菌剂,每个处理 6 次重复,以清水为对照,培养皿盖上的滤纸喷洒相同处理的菌剂保湿,将培养皿置于 25 ℃温箱中培养。

1.2.4 发芽试验检测方法 挑选每个处理的 3 次重复,通过 MICROTEK(MRS-9600TFU2L)电子扫描仪和其配套的测量软件扫描测量记录培养 2~3 d 种子的芽长和根长,其余 3 次重复用于测量培养 5~6 d 种子的芽长和根长。

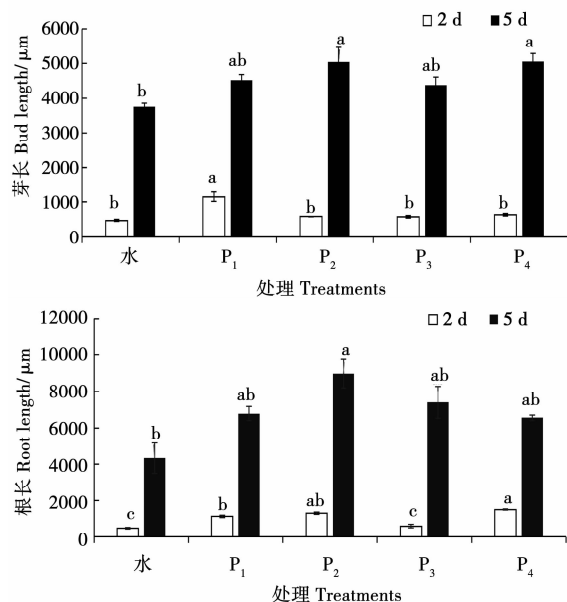
1.2.5 数据分析 使用 SPSS Statistics 19.0 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同单独菌株处理对种子萌发的影响

由图 1 可知,参试的解磷菌和溶磷菌对水稻

种子的芽和根的生长都有一定促进作用,与对照组清水相比,存在着明显生长差异,2 d 芽长解磷菌 P_1 有显著促进作用,5 d 芽长解磷菌 P_2 和溶磷菌 P_4 有显著促进作用;2 d 根长 P_1 、 P_2 和 P_4 对根具有显著的促进作用,5 d 根长解磷菌 P_2 对根具有显著的促进作用。



不同小写字母表示种子处理在同一天数下差异显著性($P < 0.05$),下同。

Different lowercase letters indicate significant difference in seed treatment on the same day, the same below.

图 1 单菌处理对种子 2 d 和 5 d 芽长和根长的影响

Fig. 1 Effect of single bacteria treatment on bud and root length of seeds in 2 and 5 days

2.2 不同菌株混合处理对种子萌发的影响

由图 2 可知,不同复合菌剂对水稻芽的生长均有促进作用,与对照组相比,2 d 芽长的 P_1P_3 、 $P_1P_2P_3P_4$ 组显著优于对照组,其它组复合菌剂均差异不显著;5 d 芽长所有组均好于对照组。复合菌剂 $P_1P_2P_4$ 对水稻种子的根生长无论是 2 d 还是 5 d 均有抑制作用,与对照组比差异不显著,与其他处理组相比差异显著;复合菌剂 P_2P_3 与对照组相比对 2 d 根长有显著促进作用,但 5 d 时水稻根长受到抑制,其他复合菌剂对水稻种子根部生长都有一定的促进作用,但组间差异较大;复合菌剂 P_1P_3 、 P_2P_4 、 $P_1P_2P_3$ 在水稻种子生长的整个过

程中对根的影响较大,5 d 根长与对照组比较差异显著;复合菌剂 P_1P_2 前期对水稻种子根的生长影响较小,中后期有明显的促进作用。

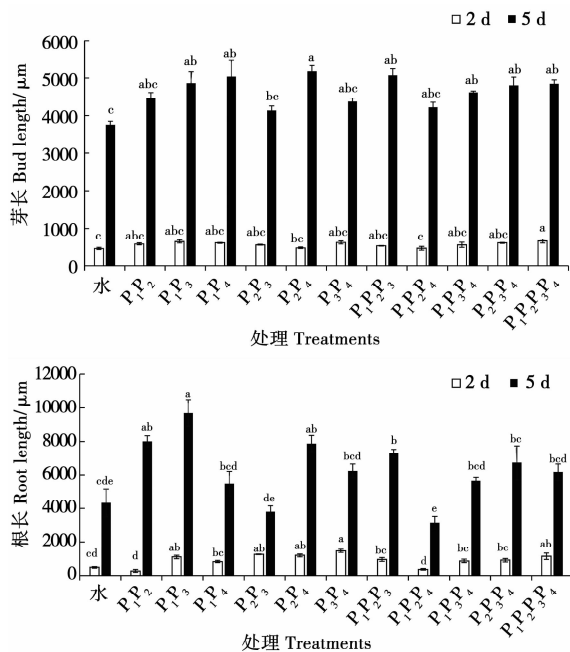


图 2 复合菌剂处理对种子 2 d 和 5 d 芽长和根长的影响

Fig. 2 Effects of mixed bacteria treatment on bud length and root length of seed in 2 and 5 days

3 结论与讨论

解磷、溶磷菌中大多数都具有促进作物生长、提高作物产量、抗病的能力^[7-8],通过实验及数据测量分析发现:从生物菌肥中获得的解磷菌 P_1 、解磷菌 P_2 和溶磷菌 P_3 、溶磷菌 P_4 对水稻种子萌发的影响各不相同,即单个菌种中,四种菌对水稻种子芽的生长都有促进作用,解磷菌 P_2 对水稻种子根的生长促进作用效果最佳,在实际农业应用中可以给予考虑施用;上述各菌相互混合后,各组复合菌剂对水稻种子芽和根生长的作用存在显著差异性,有的表现出促进作用,有的表现出抑制作用,这说明从生物菌肥中获得的解磷菌和溶磷菌相互混合后的复杂性,同时也是将其是否实际应用于水稻种植所要考虑的原因之一,其对水稻种子萌发的具体影响还有待进一步研究,现在用的比较广泛的分离筛选方法是特殊培养基法,然后测定溶磷、解磷量,从而确定溶磷能力的大小,但

是并不是所有的溶磷菌都能在这种培养基上生长的很好,而且在培养基中所具有的磷种类有限,会影响菌株的筛选,因此,必须研究比较适合的筛选解磷、溶磷菌和测定解磷、溶磷量的方法^[9-11]。解磷、溶磷菌对水稻种子萌发影响的研究,可有效认知生物菌肥对水稻长势、产量所产生的作用,从而合理选择水稻种植时的施用肥料。同时也可对解磷、溶磷菌自身的活动机理深入地研究,从而为两种菌肥在以后的农业生产中的广泛应用提供可靠地科学依据。

参考文献:

[1] Kobus J. The distribution of microorganisms mobilizing phosphorus in different soils[J]. Acta Microbiologia Polonica,1962,11:255-264.

[2] 赵小蓉,林启美,孙焱鑫,等. 小麦根际与非根际解磷细菌的分布[J]. 华北农学报,2001(1):111-115.

[3] 陆瑞霞,曾庆飞,王小利. 溶磷菌的解磷促生效应及其在未来农业中的应用前景[J]. 现代园艺,2014(8):230.

[4] 韩梅,李丽娜,魏冉,等. 混合培养提高菌株解磷解钾能力的探讨[J]. 微生物学杂志,2010(5): 74.

[5] 王莉晶,高晓蓉,孙嘉怡,等. 土壤解磷微生物作用机理及解磷菌肥对作物生长的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(14):5948-5950.

[6] 冯伟,杨军芳,周晓芬,等. 5 种解磷溶磷菌肥在冀西山区旱地玉米上的肥效试验[J]. 河北农业科学,2013(2):38-40.

[7] Hameeda B, Reddy Y, Harish K R. Effect of carbon substrates on rock phosphate solubilization by bacteria from composts and macrofauna [J]. Current Microbiology,2006,53(4): 298-302.

[8] 席琳乔,冯瑞章. 植物根际解磷菌的研究进展[J]. 塔里木大学学报,2006,18(4): 60.

[9] 李海云,孔维宝,达文燕,等. 土壤溶磷微生物研究进展[J]. 生物学通报,2013,48(7): 4-5.

[10] 彭静静,高辉远. 解磷菌的研究进展及展望[J]. 泰山学院学报,2016,38(6):95-99.

[11] 陈治宇,郎南军,李甜江. 解磷微生物研究进展[J]. 绿色科技,2014(10):232-234.

Effects of Phosphate-solubilizing Bacteria on Seed Germination of Rice

CAI Hong-dan, WANG Bi-ying, XIAO Cui-hong, LIU Zhen-hua, LIU Xin-yang, SUN Dong-mei
(College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to clarify the effects of phosphorus-solubilizing bacteria and phospholytic bacteria on rice seed germination. In this experiment, Longjing 22 rice seeds, phosphorus-solubilizing bacteria P₁, P₂, phospholytic bacteria P₃ and P₄ were used as materials to make different mixed microbial agents by randomly combining the fermentation broth of different strains. The effects of different phosphorus-dissolving and phosphorus-dissolving strains and the mixture of different strains on the germination of rice seeds were studied by measuring the changes of bud and root lengths of different groups of rice seeds cultured for 2-3 days and 5-6 days. The results showed that P-solubilizing bacteria P₂ and P₄ had the best growth promoting effect on buds, P-solubilizing bacteria P₂ had the best growth promoting effect on roots, P₂P₄ had the best growth promoting effect on buds and P₁P₃ had the best growth promoting effect on roots.

Keywords: phosphate solubilizing bacteria; phospholytic bacteria; rice; seed germination