



刘悦,李青超,兰英,等.植物根际促生菌的筛选、定殖分析及对玉米生长的影响[J].黑龙江农业科学,2023(3):73-78.

# 植物根际促生菌的筛选、定殖分析及对玉米生长的影响

刘悦<sup>1</sup>,李青超<sup>1</sup>,兰英<sup>1</sup>,赵秀梅<sup>1</sup>,刘洋<sup>1</sup>,王立达<sup>1</sup>,王连霞<sup>1</sup>,陈玉秀<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 齐齐哈尔分院,黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省齐齐哈尔市自新种业有限责任公司,黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:**为促进植物促生菌剂的开发与应用,分离玉米根系促生菌株,并以玉米促生细菌(壳聚糖酶产生菌 YM0137)为研究对象,阐明菌株 YM0137 在玉米根系的定殖,并测定菌株 YM0137 对玉米产量的影响。通过局部梯度溶液稀释技术分离纯化菌株;玉米植株接种细菌采用灌根接种法,筛选检测显著促进玉米生长与发育的菌种;利用 16S rRNA 基因序列的解析以及生理生化反应,判断菌种 YM0137 的生物学分类地位;通过菌落测定法并结合扫描电镜,确定菌株 YM0137 在玉米根表的定殖量;采用酶标仪检测离体条件下菌株 YM0137 的生长曲线;采用碱裂解法提取细菌质粒;并将菌肥 YM0137 施用于田间进行实收测产。筛选出对玉米促生效果显著的菌株 YM0137,与对照相比,菌株 YM0137 处理的玉米幼苗株高增加了 18.5%;经系统发育与生理生化分析,菌株 YM0137 为壳聚糖酶产生菌(*Mitsuaria* sp.);菌株 YM0137 可通过产生的微菌落定殖在玉米根表上,且在玉米根表的定殖量呈现逐渐上升的趋势;同时研究发现菌株 YM0137 存在内生质粒;测产结果表明菌肥 YM0137 替代 25% 化肥与常规施肥在玉米产量上没有显著差异,但与不施化肥相比,能显著提高玉米产量,可减少化肥施用。

**关键词:**玉米;植物根际促生菌;定殖;产量

植物根际促生菌(Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR)是能够对植物促生、防病的一类存在植物根部及根际土壤的细菌。PGPR 一方面可以使植物生长良好;另一方面还具有生物固氮、解磷等作用。汪钱龙等<sup>[1]</sup>研究发现解淀粉芽孢杆菌 C3 通过产生吲哚乙酸(IAA)来促进玉米的生长。另有研究通过筛选重金属固定植物的促生细菌,从而有效阻控 Cd 和 Pb 等重金属对小麦的影响,并显著增加小麦根和地上部干重<sup>[2]</sup>。同时,PGPR 也能通过抑制病原菌的生长来提高植物的健康程度。梁建根等<sup>[3]</sup>从黄瓜根围筛选出的三株 PGPR 菌株,对黄瓜萎蔫病的防效明显。此外,非生物胁迫是农业生产的主要制约因素。在逆境条件下,植物生长受到多种因素的影响,如激素和营养失衡、离子毒性、生理紊乱等,PGPR 菌株可以通过调节营养和激素平衡来提高植物抗

逆境的能力<sup>[4]</sup>。有研究表明从盐碱地筛选出的 *Achromobacter* sp. KY5104 菌株,可通过多种作用机制来缓解番茄盐胁迫并促进番茄的生长<sup>[5]</sup>。史煦涵等<sup>[6]</sup>研究发现,PGPR 菌株可以通过产生乙烯来增强植物抵御非生物胁迫。

PGPR 菌株对植物发挥其作用的前提是能够在寄主植物上有效定殖。有研究从水稻根部分离得到一株植物促生细菌 *Klebsiella pneumoniae* NG14,其能有效定殖于水稻根部并促进水稻的生长<sup>[7]</sup>。Noumavo 等<sup>[8]</sup>研究表明,荧光假单胞菌能有效定殖玉米根部,并促进玉米种子萌发和幼苗生长。另外,细菌的生长能力也是影响其定殖于植物根部的重要因素<sup>[9]</sup>。

玉米是主要的粮食作物,为保证玉米的生长需求,通常使用化肥来保持土壤肥力<sup>[10]</sup>。另外在对玉米病虫害防治方面,目前主要通过农业防治及化学药剂的方法来防治病害,但在病害有加重趋势时,农业防治方法的效果甚微。另外化学药剂被过度使用,也加剧了环境的负担。本研究从玉米植株的根部筛选出对玉米促生效果显著的菌株 YM0137,对菌株 YM0137 的生长情况及其在玉米根部的定殖动态进行了分析,并将菌株

收稿日期:2022-08-29

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZKYF-2023-1-B012,CZKYF2021-2-C016);齐齐哈尔市科学技术计划重点项目(ZDGG-202207);中国科学院战略性先导科技专项子课题(XDA28130504)。

第一作者:刘悦(1995—),女,硕士,研究实习员,从事植物保护研究。E-mail:2563522180@qq.com。

YM0137 施用于田间进行实收测产,取得的研究结果将为玉米促生根际细菌生物制剂的开发与应用提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 培养基 TSA(Tryptone soya agar)平板:15 g·L<sup>-1</sup>胰蛋白胨,5 g·L<sup>-1</sup>大豆蛋白胨,5 g·L<sup>-1</sup>NaCl,15 g·L<sup>-1</sup>琼脂。LB(Luria bertani):10 g·L<sup>-1</sup>胰蛋白胨,10 g·L<sup>-1</sup>NaCl,5 g·L<sup>-1</sup>酵母提取物。MS(Murashige and Skoog):4.74 g·L<sup>-1</sup>MS,调节pH到5.7,6 g·L<sup>-1</sup>琼脂。

1.1.2 供试菌株 菌株 YM0137:分离自玉米根部细菌。

### 1.2 菌株的分离、纯化及保存

1.2.1 土壤与玉米根系取样 选取黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院科研试验基地园区中的玉米植株,距离玉米2~4 cm土壤取4 g用于外周土壤样品;根系样品取自玉米侧根;侧根上的土壤用于根际样品。

1.2.2 玉米土壤样品细菌的分离与纯化 将根际土壤样品、根系样品、外周土壤样品梯度稀释后涂 TSA 平板,试验重复5次,置于37℃培养,纯化后保存在60%甘油中<sup>[11]</sup>。

### 1.3 玉米促生细菌的筛选

分离的菌株稀释成菌悬液(1×10<sup>5</sup>CFU·mL<sup>-1</sup>)。试验组玉米根部浇灌6 mL菌悬液,对照组玉米根部浇灌6 mL生理盐水,处理后20 d调查玉米幼苗的生理指标,重复5次。

### 1.4 菌株 YM0137 的基因序列及生理生化分析

提取菌株 YM0137 的基因组,采用通用引物27F和1492R扩增16S rRNA基因,系统发育进化树的构建用MEGA5.0软件。生理生化试验参考文献[12]。

### 1.5 菌株 YM0137 的生长曲线测定

将LB液体培养基放至96孔板中(每孔200 μL),菌株 YM0137 在LB液体培养基培养12 h后,取2 μL菌悬液加至96孔板中,酶标仪转速100 r·min<sup>-1</sup>,30℃培养,监测25 h内菌株 YM0137 的生长情况,重复3次。

### 1.6 菌株 YM0137 在玉米根表的定殖检测

1.6.1 玉米组培苗的培养及菌株 YM0137 的接种 玉米种子在表面灭菌之后,使种子保持湿润、无污染,萌发40~45 h。使菌株 YM0137 在LB

中生长直至OD<sub>600</sub>为1.0,并在使用前用1×PBS稀释1000倍。将萌发后幼苗的根浸泡在细菌悬浮液(1×10<sup>8</sup>CFU·mL<sup>-1</sup>)中1 h。然后,将接种后的玉米幼苗转接到MS培养基上继续培养。

1.6.2 菌株 YM0137 在玉米根表定殖量及定殖位点的检测 接种后0,5,10和15 d,切取根至离心管中,并加入1 mL 1×PBS。超声振荡1 min再用漩涡振荡器振荡1 min,重复3次,震荡结束后冰浴1 min。在96孔板每孔加入180 μL的1×PBS,在96孔板A1孔中加入20 μL震荡后的植物根部菌液,在A2中加入20 μL A1中的混合液,在A3中加入20 μL A2中的混合液,在A8中加入20 μL A7中的混合液,由此得到稀释1×10<sup>-1</sup>~1×10<sup>-8</sup>的菌液。取10 μL的植物根部梯度稀释菌液滴到0.1 TSA平板上,放入细菌培养箱中。记录所切取的根质量,24~48 h后,进行菌落平板计数。为使数据更直观对菌落数取对数值,即lg CFU·g<sup>-1</sup>。重复5次。

采用扫描电镜观察接种7 d后菌株 YM0137 在玉米幼苗根表的定殖情况。

### 1.7 菌株 YM0137 内生质粒的提取

将菌株 YM0137 液体LB过夜摇培后,采用碱裂解法提取质粒,方法详见文献[13],重复3次。

### 1.8 菌肥 YM0137 对玉米产量的影响

菌肥 YM0137 的制作参考文献[14]。试验设3个处理,A:正常施肥,50 kg·(667 m<sup>2</sup>)<sup>-1</sup>的农大复合肥;B:75%化肥+菌肥;C:不施化肥。每个处理重复4次,共12个小区,每个小区面积为55 m<sup>2</sup>(5.5 m×10.0 m)。

测定指标:成熟期玉米穗数、穗重、粒重、穗长、穗粗、行粒数、含水量及百粒重。

### 1.9 数据分析

采用GraphPad Prism(6.0)及SPSS 20.0软件对试验数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 根系共生细菌 YM0137 对玉米生长的影响

从采集于试验田的样品中共分离得到细菌116株。其中,根系分离细菌所占比重最多,为38%,根际分离细菌占34%,土壤分离细菌占28%(图1)。对苗期玉米的生长促进效果的检测结果表明,编号YM0137的细菌菌株对苗期玉米有显著的促生作用,经菌株 YM0137 处理的玉米幼苗株高比对照组增加了18.5%(图2)。

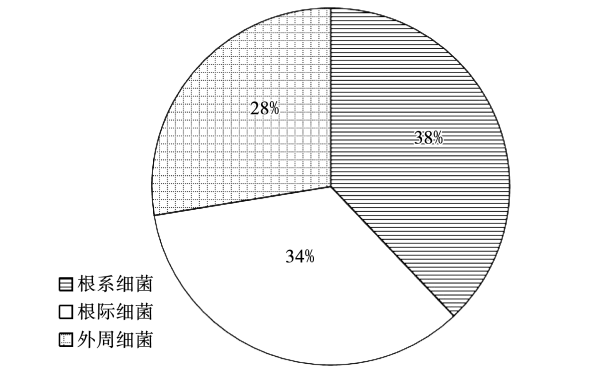


图 1 玉米根系共生细菌的分布

2.2 菌株 YM0137 的鉴定

2.2.1 菌株 YM0137 的 16S rRNA 基因序列系统发育分析 以菌株 YM0137 的基因组为模板，采用细菌 16S rRNA 通用引物对菌株 YM0137 进行 PCR 扩增，电泳结果显示 PCR 产物为 1 400 bp

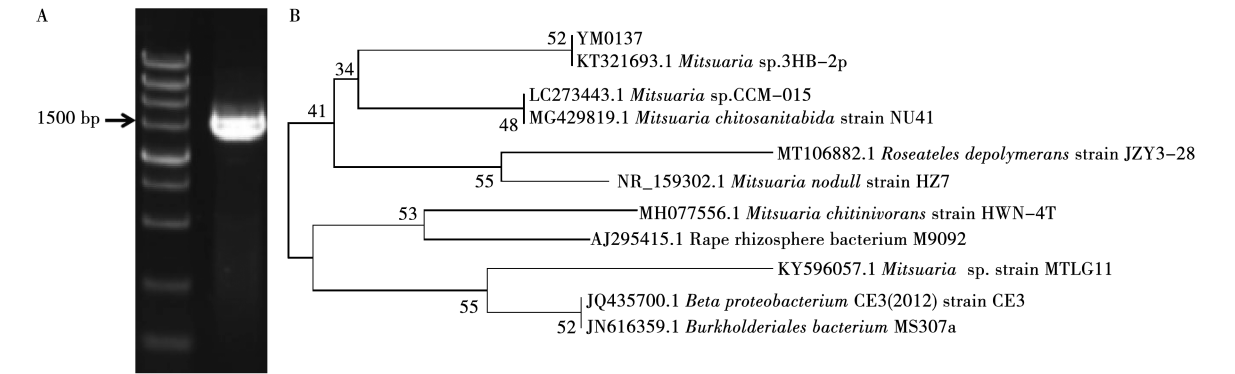


图 3 菌株 YM0137 的 16S rRNA PCR 扩增电泳结果(A)及系统发育进化树(B)

2.2.2 菌株 YM0137 的生理生化性状分析 对菌株 YM0137 的生理生化试验结果表明，菌株 YM0137 的 H<sub>2</sub>S 产生、过氧化氢酶、硝酸还原试验结果均为阳性，O-F 测试试验结果显示为氧化型，V-P 试验、吲哚及脲酶产生试验结果为阴性，可以利用葡萄糖，不能利用 D-果糖(表 1)。根据以上结果将菌株 YM0137 归属于 *Mitsuaria* sp.。

2.3 菌株 YM0137 的生长曲线及其在玉米根表的定殖分析

2.3.1 菌株 YM0137 的生长曲线测定 细菌的生长情况是其能否在寄主植物上定殖并大量繁殖的关键。本研究采用酶标仪检测了菌株 YM0137 在离体条件下，25 h 内的生长曲线，结果表明，菌株 YM0137 在 0~4.5 h 期间处于生长迟缓期，细胞数目没有明显变化，OD<sub>600</sub> 值的对数在 0.85 左右；在 5~9 h 期间，处于对数生长期，细胞分裂繁

左右(图 3A)。测序后结果显示，该序列与壳聚糖酶产生菌(*Mitsuaria* sp.) 3HB-2p 的 16S rRNA 基因序列同源性最高，达到 99% 以上。系统发育树结果表明，菌株 YM0137 与 *Mitsuaria* sp. 3HB-2p 的亲缘关系最近(图 3B)。

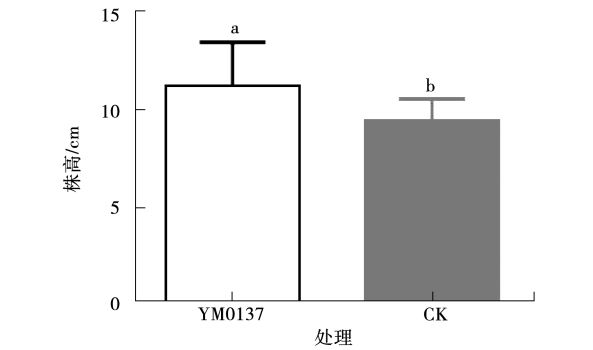


图 2 菌株 YM0137 对玉米幼苗株高的促进作用  
注:不同小写字母表示处理间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

殖增长速度较快，OD<sub>600</sub> 值的对数最高，在 0.7 左右；9~25 h 期间，处于稳定期，细胞数目达到动态平衡，OD<sub>600</sub> 值的对数维持在 0.7 左右(图 4)。

表 1 菌株 YM0137 的生理生化性状

测试指标	结果
生长最高温度	37 ℃
O-F 测试	O
V-P 测试	—
过氧化氢酶	+
吲哚形成	—
硝酸还原	+
H <sub>2</sub> S 产生	+
脲酶产生	—
葡萄糖	+
D-果糖	—

注:“+”表示阳性反应;“—”表示阴性反应。

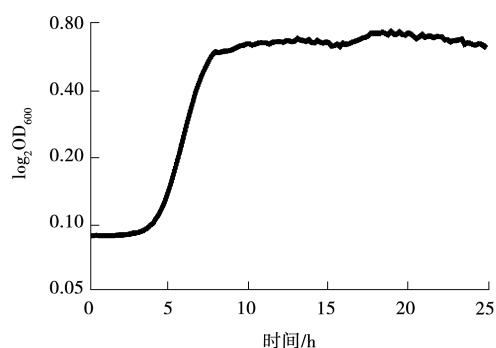
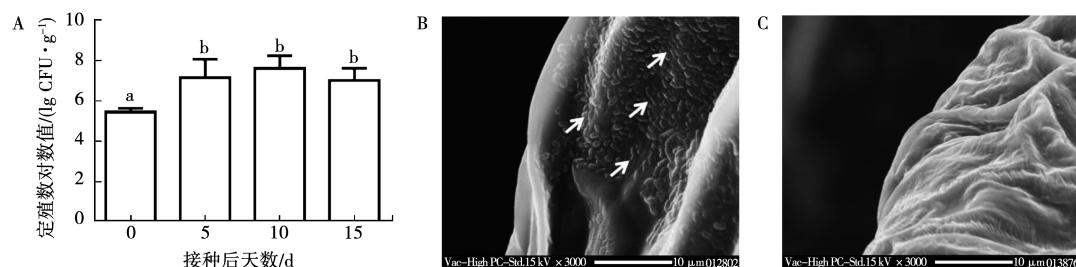


图4 菌株 YM0137 的生长曲线

### 2.3.2 菌株 YM0137 在玉米根表的定殖分析

植物促生根细菌发挥有益功能的前提是能够稳定定

殖于植物根组织。菌株 YM0137 在玉米根表定殖的结果表明(图 5A),接种后的第 0 天,菌株 YM0137 在玉米根表的定殖量为  $4.2 \times 10^5$  CFU·g<sup>-1</sup>;接种后第 5 天的定殖量升高至  $5.6 \times 10^7$  CFU·g<sup>-1</sup>;接种后第 10 天,菌株 YM0137 的定殖量达到最大,为  $9.5 \times 10^7$  CFU·g<sup>-1</sup>,为该菌株在第 0 天定殖量的 226 倍。接种后第 15 天,菌株 YM0137 的定殖量为  $1.9 \times 10^7$  CFU·g<sup>-1</sup>,略低于第 10 天的定殖量。综上,菌株 YM0137 在玉米根表上的定殖量在 15 d 内呈逐步增加的趋势。菌株 YM0137 在玉米幼苗根表的定殖用扫描电镜观测发现,菌株 YM0137 能以生物膜聚集的形式牢固地定殖于玉米根表(图 5B)。



A. 菌株 YM0137 在玉米根表定殖量的动态变化; B. 菌株 YM0137 在玉米幼苗根表的定殖,箭头所示为菌株 YM0137 形成的微菌落; C. 未接种细菌的玉米幼苗的根表(对照)。

图5 菌株 YM0137 在玉米根表的定殖

### 2.4 菌株 YM0137 的内生质粒分析

在对菌株 YM0137 的基因组深入研究时,发现菌株 YM0137 有内生质粒,通过碱裂解法对质粒进行提取,提取的质粒浓度为  $104.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,电泳检测图谱能明显观察到质粒的三条带(图 6A)。将所获得的质粒进行基因组测序,发现质粒的 GC 含量为 35.06%(图 6B),同时也对质粒中的基因功能进行预测,其中包括具有 DNA 结合转录因子活性的 MarR 家族转录调节因子,以及具有跨膜转运蛋白活性的 HlyD 家族分泌蛋白等。

### 2.5 菌肥替代部分化肥对玉米产量的影响

在收获时对成熟期玉米穗数、穗重、穗粒重、含水量等指标进行检测发现,75%化肥+菌肥处理的玉米各个指标都显著高于不施化肥的玉米指标( $P < 0.05$ );同时 75%化肥+菌肥处理与常规施肥处理相比,玉米各指标没有显著差异( $P > 0.05$ ),且含水量、穗粗指标略有提高。结果表明,菌肥 YM0137 替代 25%化肥与常规施肥在玉米产量性状上没有显著差异,但与不施化肥相比,能显著提高玉米产量,可减少化肥施用量。

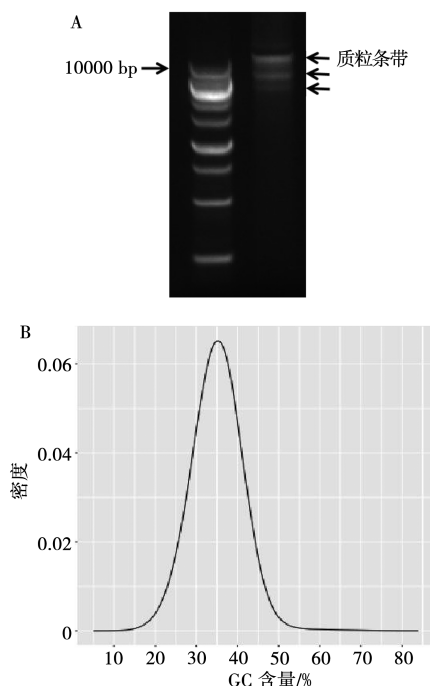


图6 菌株 YM0137 的内生质粒电泳图(A)和 GC 含量(B)



表 2 不同处理对玉米产量的影响

处理	穗数/个	穗重/kg	总穗粒重/ [kg·(3 m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> ]	穗长/cm	穗粗/cm	行粒数/个	含水量/%	百粒重/g
常规施肥	20±0.31 a	5.29±0.18 a	4.25±0.12 a	21.9±0.95 a	5.8±0.17 a	40±0.95 a	29.18±0.17 a	40.98±0.54 a
75%化肥+菌肥	19±0.30 a	5.28±0.16 a	4.17±0.09 ab	21.8±0.75 ab	5.9±0.18 a	39±0.92 a	29.26±0.15 a	40.96±0.56 a
不施化肥	15±0.29 b	3.95±0.14 b	3.75±0.11 c	19.5±0.65 c	5.6±0.14 b	36±0.83 b	27.41±0.13 b	38.23±0.48 b

注:不同小写字母表示处理间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

3 讨论

近年来,PGPR 已被广泛应用于植物保护及农林作物的增效过程中。PGPR 在农业上的应用潜力不断增加,为农业生产提供了一种有效的替代化肥、农药和其他补充剂的途径。这些根际微生物可产生大量的促生长物质,间接影响植物的整体形态。Gholami 等<sup>[15]</sup>研究发现,接种植物促生细菌 *P. putida* R-168 可增强玉米种子的发芽率和幼苗活力,使玉米穗和茎干重都显著增加。Bal 等<sup>[16]</sup>从水稻根际中分离出可高产 ACC 脱氢酶的 PGPR 菌株,经研究发现该菌株能显著改善水稻在盐胁迫条件下的生长,并促进水稻种子的萌发与根系的生长。本研究从玉米基地采样并分离到一株能显著促进玉米生长的壳聚糖酶产生菌 (*Mitsuaria* sp.) YM0137。壳聚糖及其降解产物具有很好的杀菌、抑菌等生物活性。对于壳聚糖酶产生菌株 *Mitsuaria* sp. 的研究大多集中在产酶及其发酵工艺等方面<sup>[17-18]</sup>,有关于该菌株促进农作物生长方面的研究报道较少,后续将对菌株 YM0137 的基因组进行测序,通过基因敲除等手段进一步研究菌株 YM0137 的促生相关基因。

PGPR 菌株对植物发挥促生防病作用的前提是能够有效定殖。本研究发现菌株 *Mitsuaria* sp. YM0137 的定殖量随着玉米的生长呈现增加趋势。这与 Fan 等<sup>[19]</sup>研究结果基本一致,植物促生细菌 FZB42 在玉米根部的定殖量也呈先上升后趋于稳定的规律。另外,研究表明细菌自身的生长能力也会影响其在植物根部的定殖。罗兴等<sup>[20]</sup>研究发现,PGPR 在与植物互作过程中,PGPR 在植物根系分泌物的诱导下运动至植物根部,大量生长繁殖后,才能更有效地定殖于植物根部。本研究中玉米接种菌株 YM0137 后 5~9 h 内达到快速生长阶段,推测该阶段可能是菌株 YM0137 定殖的最佳时段。后续将通过 GFP 标记的方法,对菌株 YM0137 在玉米根部的定殖规律进一步研究。另外有研究发现,减量 20% 氮肥+固氮菌肥与全量氮肥的水稻产量有相近的效果。这与本研究的结

果一致,施用菌肥可以减少化肥的用量<sup>[21]</sup>。此外,细菌质粒是一种可携带遗传信息的 DNA 片段,质粒上有很多具有多种功能的基因<sup>[22]</sup>,如在生防菌 *Bacillus amyloliquefaciens* B3 的内生质粒中,RapQ 蛋白能够推迟孢子的形成<sup>[23]</sup>。在试验中发现菌株 YM0137 有内生质粒,并对质粒进行了基因组测序,推测菌株 YM0137 在玉米根部的定殖与其内生质粒中的基因功能密切相关。后续试验通过 Southern 杂交和复制元件的序列分析等方法,确定质粒的复制方式,并进一步深入分析和研究质粒中的基因功能。

4 结论

综上所述,本项研究从玉米植株的根部筛选出对玉米促生效果显著的菌株 YM0137,经对比分析,菌株 YM0137 为壳聚糖酶产生菌 (*Mitsuaria* sp.)。菌株 YM0137 在玉米根表上的定殖量在 15 d 内呈逐步增加的趋势。细菌 YM0137 在玉米根表上的定殖力,可能与自身的繁殖力以及存在的内生质粒有关。菌肥 YM0137 替代 25% 化肥,可减少化肥施用,绿色有效地提高玉米产量。本项研究将为植物促生菌剂的开发与应用奠定理论基础。

参考文献:

[1] 汪钱龙,张德智,王菊芬,等.不同植物促生细菌对玉米生长的影响及其生长素分泌能力研究[J].云南农业大学学报(自然科学版),2015,30(4):494-498.

[2] 韩辉,王晓宇,蔡红,等.重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J].环境科学,2019,40(7):3339-3346.

[3] 梁建根,张炳欣,施跃峰,等.植物根围促生细菌(PGPR)的分离筛选及对黄瓜土传病害的防治[J].中国农学通报,2007(12):341-346.

[4] NADEEM S M,AHMAD M,ZAHIR Z A,et al. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments[J]. Biotechnology Advances, 2014, 32 (2): 429-448.

[5] 郑娜,柯林峰,杨景艳,等.来源于污染土壤的植物根际促生细菌对番茄幼苗的促生与盐耐受机制[J].应用与环境生物学报,2018,24(1):47-52.

[6] 史煦涵,刘佳莉,方芳,等.含 ACC 脱氢酶的 PGPR 在植物

- 抗非生物胁迫中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(27):1-4.
- [7] 刘洋, 宋未. 植物固氮促生细菌 *Klebsiella pneumoniae* NG14 在水稻根面定殖及其生物膜形成的相关机理研究[C]//第十一届全国土壤微生物学术讨论会暨第六次全国土壤生物与生物化学学术研讨会第四届全国微生物肥料生产技术研究论文集, 2010:195.
- [8] NOUMAVO P A, KOCHONI G, DIDAGBé Y O, et al. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on maize seed germination and seedling development [J]. American Journal of Plant Sciences, 2013, 4(5):1013.
- [9] BEAUREGARD P B, CHAI Y, VLAMAKIS H, et al. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides [J]. PNAS, 2013, 110(17):1621-1630.
- [10] 丁鑫. 我国玉米产业现状及发展趋势[J]. 现代农村科技, 2017(10):15-16.
- [11] 刘悦, 詹亚光, 牛犇. 水曲柳促生蜡样芽孢杆菌 SQL0164 的分离鉴定及其根表定殖分析[J]. 中南林业科技大学学报, 2020, 40(10):61-69.
- [12] DON JB, NOEL R K, JAMES T S, et al. *Bergey's Manual*® of systematic bacteriology[M]. Springer US, 2005.
- [13] 吕正兵, 张方, 夏颖, 等. 一种适合芽孢杆菌质粒 DNA 提取的改良碱裂解法[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2002, 25(1):54-55.
- [14] 王国基, 柴强, 张玉霞, 等. 干旱区玉米专用菌肥对玉米生长特性的影响[J]. 草地学报, 2015, 23(1):173-179.
- [15] GHOLAMI A, SHAHSAVANI S, NEZARAT S. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize [J]. Engineering & Technology, 2008, 49(1):1-7.
- [16] BAL H B, NAYAK L, DAS S, et al. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress[J]. Plant & Soil, 2013, 366(1-2):93-105.
- [17] 商子涵, 贾琳, 石建存, 等. 菌酶协同发酵中药饲料添加剂的工艺优化[J]. 饲料研究, 2022, 45(4):67-70.
- [18] MARIAN M, FUJIKAWA T, SHIMIZU M. Genome analysis provides insights into the biocontrol ability of *Mitsuaria* sp. strain TWR114[J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(6):3373-3388.
- [19] FAN B, BORISS R, BLEISS W, et al. Gram positive rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 colonizes three types of plants in different patterns[J]. The Journal of Microbiology, 2013, 51:544.
- [20] 罗兴, 冯海超, 夏丽明, 等. 根际促生解淀粉芽孢杆菌 SQR9 对香蕉根系分泌物响应的转录组分析[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(1):102-110.
- [21] 鲁杰, 刘宝忠, 周传远, 等. 生物有机菌肥对水稻产量及稻米品质的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(6):146-150.
- [22] HAN S A. Plasmid rolling-circle replication: highlights of two decades of research[J]. Plasmid, 2005, 53:126-137.
- [23] 乔俊卿. *Bacillus amyloliquefaciens* B3 生防促生相关基因和内生质粒 PBSG3 的研究及高效生防工程菌的构建[D]. 南京:南京农业大学, 2010.

## Screening and Colonization Analysis of Rhizosphere Bacteria and Effects on Maize Growth

LIU Yue<sup>1</sup>, LI Qingchao<sup>1</sup>, LAN Ying<sup>1</sup>, ZHAO Xiumei<sup>1</sup>, LIU Yang<sup>1</sup>, WANG Lida<sup>1</sup>, WANG Lianxia<sup>1</sup>, CHEN Yuxiu<sup>2</sup>

(1. Qiqihar Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161006, China; 2. Heilongjiang Qiqihar Zixin Seed Industry Limited Copany, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** In order to promote the development and application of plant growth promoting rhizobacteria, promoting rhizobacteria of maize was isolated, and the bacteria of maize (*Mitsuaria* sp. YM0137) was based on the colonization of strain YM0137 in maize roots. The effect of strain YM0137 on maize yield was determined. The strains were purified by local gradient solution dilution technique, select bacteria to promote maize growth, determine the classification status of strain YM0137 by 16S rRNA gene sequence analysis and physiological and biochemical reaction, determine the colonization of strain YM0137 by colony measurement and SEM, detect the growth curve of strain YM0137, and apply the fertilizer YM0137 in the field. For strain YM0137, compared with the control, the plant height of maize seedlings treated with strain YM0137 was increased by 18.5%; After the phylogenetic and physiological and biochemical analysis, strain YM0137 was a chitosanase-producing bacterium (*Mitsuaria* sp.); Strain YM0137 could colonize on the maize root surface by the produced microcolonies, and the colonization quantity in the maize root surface showed a gradually increasing trend; At the same time, an endogenous plasmid was found in the strain YM0137; The yield test results showed that there was no significant difference between bacterial fertilizer YM0137 replacing 25% chemical fertilizer and conventional fertilizer in maize yield, but compared with no chemical fertilizer, it could significantly increase maize yield, reduce chemical fertilizer application.

**Keywords:** maize; plant growth promoting rhizobacteria; colonization; yield