

花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究

张东艳^{1,3}, 刘 晔¹, 吴 越², 王国文¹, 万兵兵¹, 姜 瑛^{1*}
(1. 河南农业大学资源与环境学院, 河南 郑州, 450002; 2. 山东省土壤肥料总站, 山东 济南, 250100;
3. 西南大学资源环境学院, 重庆, 400715)

摘要:植物根际产 IAA 菌能够分泌吲哚乙酸(IAA)促进生长,提高作物产量。为从砂质潮土中的花生根际筛选高产 IAA 的根际促生菌,本研究首先从长势较好的花生根际筛选出单株菌落,对其分泌 IAA 能力进行定性和定量分析,并通过 16S rDNA 基因序列配合生理生化特征鉴定所筛选的高产 IAA 菌株,然后设置单因素试验,探究适宜菌株生长和发酵的条件,最后通过花生盆栽试验验证其促生能力。结果表明,共筛选出 5 株产 IAA 的促生菌菌株,其中菌株 HS10 的 IAA 产量最高,被鉴定为特基拉芽孢杆菌。单因素试验表明,HS10 最适培养条件是培养温度 30℃,时间 20 h,初始 pH 8,装液量 25 mL/250 mL,碳源为果糖,氮源为硝酸钾。盆栽试验表明,接菌花生植株长势明显优于对照,HS10 对花生具有良好的促生效应。

关键词:花生;根际产 IAA 菌;吲哚乙酸;砂质潮土;盆栽试验;特基拉芽孢杆菌

中图分类号:S154.39 **文献标识码:**A **文章编号:**1007 – 9084(2016)01 – 0104 – 07

Isolation and identification of IAA – producing strains from peanut rhizosphere and its promoting effects on peanut growth
ZHANG Dong – yan^{1,3}, LIU Ye¹, WU Yue², WANG Guo – wen¹, WAN Bing – bing¹, JIANG Ying^{1*}
(1. College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. Soil and Fertilizer Station of Shandong Province, Ji’nan 250100, China;
3. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract:Some plant rhizosphere bacteria can secrete indoleacetic acid (IAA) to promote the plant growth and increase crop yield. This research aimed to screen IAA – producing strains from rhizosphere of peanut in sandy soil, and to analyze their promoting effect. 5 IAA – producing strains were isolated from rhizosphere of a healthy peanut plant. Among them, strain HS10 had the highest IAA – production ability and was identified as *Bacillus tequilensis* by 16S rRNA gene sequencing combined with its physiological and biochemical test evaluation. HS10 produced maximum IAA at 24h of incubation with optimum conditions as 30℃, pH8, fluid volume 25 mL/250 mL, fructose and potassium nitrate as carbon source and nitrogen source respectively. Pot experiment demonstrated that HS10 significantly promoted plant growth and root system of peanut compared to the control.

Key words:Peanuts; Rhizosphere IAA – producing strains; Indoleacetic acid; Sandy chao soil; Pot experiment; *Bacillus tequilensis*

现代农业大量使用农药和化肥来提高农作物产量,不仅增加了成本,也对环境造成了极大的危害,这促使了更多的科学工作者积极探索应用微生物来替代或部分替代农药和化肥的增产效应。植物根际促生菌^[1](plant growth – promoting rhizobacteria, PG-PR)具有固氮、溶磷、溶铁、产生植物激素,以及提高植物抗逆性等多种促生效应。由于植物根系存在大量的根分泌物(糖类、氨基酸、激素和维生素等),所以根际的微生物资源非常丰富^[2,3],有利于我们从中筛选根际促生菌来提高作物产量,改善产品品质,

同时增强作物的抗逆性。

PGPR 中的产激素菌可以分泌植物生长所需的植物激素促进其营养生长和生殖生长。吲哚乙酸 (IAA) 是植物激素的一种, 对植物最明显的作用是促进细胞生长, 使细胞的体积和重量增加, 还具有促进细胞分裂和分化, 调节生根等生理功能^[4]。

河南省的砂质潮土上广泛种植花生, 但是这类土壤养分含量低, 保肥性能差, 作物后期易脱肥早衰, 严重影响花生的产量和质量。虽然养分不足, 但砂质潮土通透性强, 通气良好, 适于微生物生活, 微生物活动可以促进有机质分解, 加快有机质矿化。将 PGPR 运用到砂质潮土, 可充分发挥土壤的生产力。PGPR 的研究在国际上已成为一个热门话题, 国外对 PGPR 菌研究较多在几种禾本科植物上, 国内在水稻^[5]、小麦^[6]、玉米^[7]、棉花^[8]、大豆^[9]、烟草^[10]等作物上已有一些报道, 但在花生上所作的研究较少。本文从花生根际砂质潮土中筛选能分泌 IAA 的花生 PGPR, 并加以鉴定, 研究不同培养条件下菌体的生长及产 IAA 情况, 获得该促生菌生长及分泌 IAA 的最适条件, 最后通过室内花生盆栽试验验证其促生效应, 为该菌株在实际农业生产中的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤样品来源及前期处理 土样采自郑州市农业部华北小麦玉米轮作营养与施肥科学观测试验站长势良好的花生根际。土壤取样深度为 0~20 cm, 鲜土采集后, 剔除石块、根茬等残体, 然后过 2mm 筛备用。土壤基本性状如下: 有机碳 1.91 g/kg, 全磷 0.29 g/kg, 速效磷 3.44 mg/kg, 全钾 19.56 g/kg, 速效钾 20.42 mg/kg, pH 7.39。

1.1.2 培养基 LB 培养基: 蛋白胨 10g, 酵母提取物 5g, 氯化钠 10g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0~7.2; 无机盐培养基: 硫酸铵 2.0g, 磷酸二氢钠 0.5g, 磷酸氢二钾 0.5g, 七水硫酸镁 0.2g, 二水氯化钙 0.1g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。以上培养基配制时均用蒸馏水定容至 1 000 mL, 121℃ 灭菌 30min, 需要用固体培养基时, 在此配方基础上加 20g 琼脂。

1.2 分泌 IAA 的细菌筛选及测定

1.2.1 分泌 IAA 细菌的定性判定 称取 10g 土壤样品置于盛 90mL 灭菌水的 250mL 三角瓶中, 在摇床中, 30℃, 150r/min 振荡 20min, 静置 10min, 得到土壤菌悬浮液。该土壤菌悬浮液梯度稀释后涂于 LB 固体培养基, 将平板倒置, 于 30℃ 恒温箱中培养

24h 后, 挑取不同形态的菌落, 经平板纯化后, 4℃ 保存在 LB 斜面待用^[11]。

将分离纯化后的细菌接种于含有 L-色氨酸 (100mg/L) 的 LB 液体培养基, 每一菌株 3 个重复, 摇床培养 (30℃, 180r/min) 1d 后, 取 50μL 菌悬液滴于白色陶瓷板上, 同时加入等体积的 Salkowski 比色液 (50mL 35% HClO₄ + 1mL 0.5mol/L FeCl₃), 并以加入 50μL 未接菌的 LB 液体培养基与等体积比色液的混合溶液为对照。将白色陶瓷板于室温避光放置 30min 后观察, 颜色变粉红者为阳性, 表示能够分泌 IAA, 颜色越深表示分泌的强度越大, 不变色为阴性, 表示不能分泌 IAA。

1.2.2 分泌 IAA 的定量测定 对初筛获得的具有分泌 IAA 能力的细菌进行定量测定, 培养条件同上。首先用分光光度法测定菌悬液的 OD₆₀₀ 值, 然后将菌悬液以 10 000r/min 离心 10min, 取上清液, 加入等体积 Salkowski 比色液, 避光静置 30min, 测定其 OD₅₃₀ 值。对照标准曲线计算单位体积发酵液中 IAA 的含量。标准曲线的绘制采用分析纯的 IAA 梯度稀释制备。

IAA 标准曲线配置: 精确称取 32.8mg 的 IAA 于 100mL 容量瓶中, 用甲醇定容 (该溶液含 IAA 328mg/L)。再用甲醇依次稀释 1 倍, 连续进行 4 次, 配成 5 份浓度依次相差 1 倍的标准溶液, 比色时也是等量的标准溶液加等量的比色液。

1.3 植物促生菌的生理生化及 16S rDNA 分子学鉴定

1.3.1 菌株生理生化测定 好氧性试验、过氧化氢酶的测定、淀粉水解试验、甲基红试验 (M. R 试验)、乙酰甲基甲醇试验 (VP 试验)、明胶水解试验、硝酸盐还原试验、柠檬酸盐利用试验的方法均参照《常见细菌系统鉴定手册》和《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版) 进行形态和生理生化鉴定^[12,13]。

1.3.2 菌株分子学鉴定 将菌株用 LB 液体培养液培养至对数生长期, 离心收集菌体, 用 SDS CTAB 法^[14]提取总基因组 DNA, 采用 16S rDNA 通用引物 27f (5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3') 和 1492r (5' - GGTTACCTTGTTACGACTT - 3')^[15] 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5min; 94℃ 变性 30s, 52℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 10min, 共 30 个循环。取 PCR 产物在 0.7% 的琼脂糖凝胶上进行电泳。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后回收纯化测序 (北京美亿美生物技术有限公司), 根据获得的 16S rDNA 序列在 GenBank 中 Blast 搜索同源序列, 通过 MEGA 5.0 软件, 以邻接法 (Neighbour - Joining) 建

立系统进化树。

1.4 不同培养条件对菌株生长及产 IAA 的影响

1.4.1 培养时间 将 50mL pH 值为 7 的 LB 培养基(含有 100mg/L L-色氨酸,下同)装于 250mL 的三角瓶中,按 1% (V/V)接种量接种菌株后,置于摇床培养(30℃ 恒温,180r/min),分别在 10、15、20、32、44、56h 动态取样,用分光光度法测定菌株的生长情况(OD₆₀₀)和 IAA 含量(OD₅₃₀),每个处理设置 3 个重复。

1.4.2 培养温度 设置培养温度分别为 20、25、28、30、35、40℃,培养 24h 后测定菌株的生长情况和 IAA 的含量,其他培养条件同上。

1.4.3 初始 pH 设置初始 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10,培养 24h 后测定菌株的生长情况和 IAA 的含量,其他培养条件同上。

1.4.4 通气量 设置 25、50、75、100、150mL 的培养液装于 250mL 的三角瓶中,培养 24h 后测定菌株的生长情况和 IAA 的含量,其他培养条件同上。

1.4.5 碳源 在含有 L-色氨酸的无机盐培养基中分别加入 1% (m/V)的碳源,碳源包括葡萄糖、木糖、蔗糖、果糖、甘露醇、乳糖、麦芽糖,培养 24h 后测定菌株的生长情况和 IAA 的含量,其他培养条件同上。

1.4.6 氮源 在含有 L-色氨酸的无机盐培养基(不包括硫酸铵)中分别加入 0.1% (m/V)的氮源,氮源包括硝酸钾、硫酸铵、硝酸铵、酵母粉、谷氨酸、尿素、蛋白胨,培养 24h 后测定菌株的生长情况和 IAA 的含量,其他培养条件同上。

1.5 花生促生效果盆栽试验

采集自然条件下砂质潮土 0~20cm 土层的新鲜土壤,过 2mm 筛,每盆装土 700g,种植花生,调节含水量至田间持水量的 60% (此状态下适宜植物生长,且土壤生物最为活跃)^[16],30d 后采样,用根系扫描仪(LA1600 + scanner, Canada)扫描获得根系图像后,用根系分析软件(Winrhizo2003b, Canada)进行相关根系指标分析。用 HPLC 法^[17]测定土壤 IAA 含量,并测定土壤矿质氮、速效磷、速效钾含量,植株鲜重,干重,株高,SPAD 值及全氮全磷全钾^[18]。

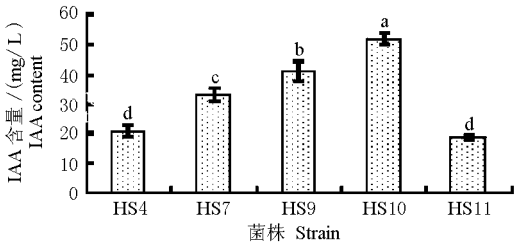
花生种子处理:将豫花 8 号花生种子用 20% 双氧水表面消毒 20min,无菌水冲洗多次,催芽 2d,选取发芽一致的种子,每盆中种植两棵,待长势稳定后定苗一棵。

接菌处理:将菌株 HS10 接种于 LB 液体培养基,30℃,180r/min 摇床培养,培养菌长至对数生长期,然后将菌悬液 10 000r/min 离心 10min,再用无菌水重悬,同样操作离心 3 次,接种量为 10⁸CFU/g,设 6 个重复。对照处理:土壤喷洒等量不含菌液的无菌水作为对照,设 6 个重复。

2 结果与分析

2.1 分泌 IAA 细菌的筛选及鉴定

2.1.1 分泌 IAA 细菌菌株的筛选 经过平板稀释法共分离出 12 株菌株,经过产 IAA 的定性筛选,共有 5 株产 IAA,分别命名为 HS4、HS7、HS9、HS10、HS11。定量测定结果显示 HS10 菌株分泌 IAA 最多,与筛选出的其他菌株差异显著(P<0.05),24h 时分泌 IAA 达到 52.03mg/L(图 1),后经 8 次传代,产 IAA 特性稳定。



注:不同小写字母表示不同菌株间产 IAA 能力在 p<0.05 水平上差异显著
Note: Significant differences (p<0.05) are indicated by different lowercase letters

图 1 5 株菌株的 IAA 产生量
Fig. 1 IAA secretion of the 5 strains of rhizobacteria

2.1.2 HS10 的生理生化特性 经平板划线、革兰氏染色,观察菌株培养特征及形态特征,HS10 菌落呈不规则杆状排列,略带黄色,不透明,表面光滑,粘稠状,边缘光滑,中间向上突起,产芽孢。图 2 为菌株 HS10 的菌落图,生理生化指标见表 1。



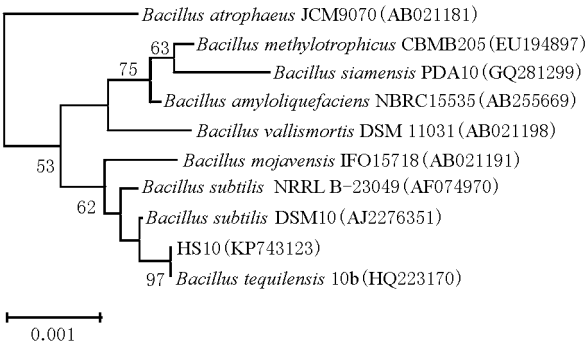
图 2 菌株 HS10 的菌落图
Fig. 2 Colony of strain HS10

表 1 HS10 菌株的生理生化特性
Table 1 Physiological characteristics of strain HS10

项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
革兰氏染色 Gram stain	+	淀粉水解 Starch hydrolysis	+
好氧性试验 Aerobic test	兼性厌氧 Amphimicrobian	明胶液化 Glutin hydrolyzation	+
接触酶试验 Catalase test	+	硝酸盐还原 Nitratereduced nitrite	+
甲基红 (M. R) 反应 Methylred reaction	-	柠檬酸盐利用 Utilization of citrate	+
V - P 试验 V - P test	+		

注: + 表示阳性反应, - 表示阴性反应
Note: + :positive reaction; - :negative reaction

2.1.3 HS10 菌株 16S rDNA 分子学鉴定 根据 16S rDNA 的测序结果和 GenBank 中已登录的核苷酸序列进行同源性比较,发现菌株 HS10 与 *Bacillus tequilensis* 10b (HQ223107) 同源性为 97%, 并采用 MEGA5.0 软件 NJ 方法构建 HS10 的 16S rDNA 系统发育树(图 3)。目前,细菌学家普遍认为,当 16S rDNA 序列同源性高于 97% 时,就可以认为是属内的同种^[19]。结合生理生化特征结果,菌株 HS10 鉴定为特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*),将其序列上传至 NCBI,获得登录号为 KP743123。



注:标尺代表每 1 000 个核苷中有 1 个核苷替代
Note:The bar represents 1 nucleotide substitutes per 1 000 nucleotidesin 16S rDNA sequences

图 3 基于 HS10 和相关菌株的 16S rDNA 序列采用邻接法建立的系统发育树
Fig.3 Established phylogenetic tree by neighbor - joining method, based on 16S rDNA sequences of HS10 and the related strains

2.2 不同培养条件对菌株 HS10 生长和产 IAA 的影响

2.2.1 培养时间 由图 4A 可以看出,培养时间 10 至 15h 期间,菌体迅速生长,此为菌株生长的对数期,15h 后进入生长的稳定期,稳定一段时间后,菌体数量逐渐减少,进入衰退期。IAA 含量自 10h 起不断增多,并于 20h 左右达到最大值,然后 IAA 含量逐渐减少。由此表明,IAA 主要积累于菌体生长的稳定期后期,这是由于 IAA 是细菌的次生代谢产物,而菌体在进入稳定期后会产生大量的次生代谢产物。20h 后 IAA 的含量急剧减少,到 32h 之后呈缓慢减少的趋势。这是因为在菌体生长稳定期之

后,随着细菌对营养物质的不断消耗再加上各养分比例失调,导致细菌繁殖速度变慢,同时积累的大量有害次级代谢产物,使细胞死亡数也明显增多,最终致使细菌生理代谢活动逐渐变慢并趋于停滞状态,不再产生 IAA;同时在这段时期会产生降解游离 IAA 的酶,如氧化酶和过氧化物酶等酶类^[20]。

2.2.2 培养温度 由图 4B 可知,菌株生长量和 IAA 产量两者变化趋势相一致,均为先增加再减少,并于 30℃ 左右达到最大值。表明菌体的最适生长温度也是其产 IAA 的最适温度。随着温度的继续升高,两者均减少,主要由于高温抑制了菌体的生长,同时使代谢作用减缓。

2.2.3 pH 值 由图 4C 可以看出,pH 为 4 和 10 时,HS10 菌株几乎不生长并且不产 IAA,这和李引^[21]等的结果相一致,与张振^[22]等在偏碱性条件下依然能良好生长且稳定分泌不一致。pH 5 ~ 9 菌株生长量相对稳定,在这段范围内 IAA 分泌量逐渐增加,并于 pH8 左右达到最大,随后又急剧下降。由此可得,HS10 菌株积累 IAA 的最适初始 pH 为 8,和其他 pH 处理相比有着显著差异(P < 0.05),这和连翠飞等^[23]筛选的产 IAA 菌株最适 pH 为 8 的结果一致,但和李引等最适 pH 为 5 ~ 6 的结果不同,其原因一方面由于筛选出的菌株种属不同,另一方面可能与取自的土壤 pH 不同有关。本试验得出的最适 pH 为 8 与菌株原来生活的土壤 pH 为 7.39 相一致。

2.2.4 通气量 由图 4D 可以看出,当 250mL 三角瓶装液量为 25mL 时,通气量最大,HS10 菌体的生长量及 IAA 的产生量均达到最大值,随着装液量的增多,菌体的生长量及 IAA 的产生量均逐渐下降,说明氧含量的减少,使菌体生长和代谢减缓。在此范围内,菌体生长量和 IAA 产生量变化一致,且变化幅度不大。因此菌株 HS10 生长及产 IAA 的最佳装液量为 25mL。结合生理生化鉴定结果 HS10 为兼性厌氧,产生这种结果的原因可能是随着氧气含量的减少,菌体生长量越来越少,代谢逐渐减弱,导致菌株分泌 IAA 的量也减少。

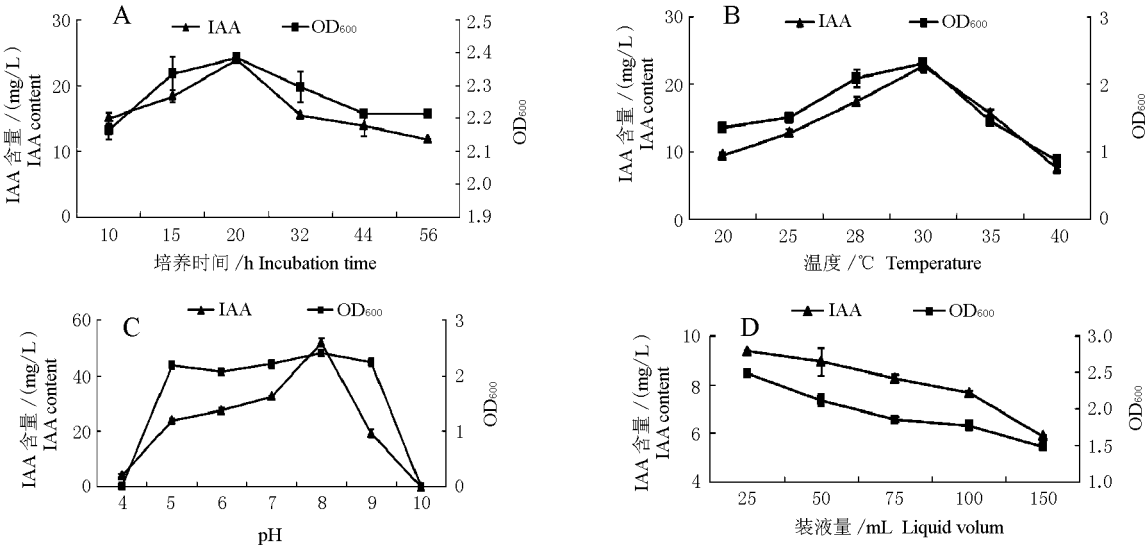


图 4 不同培养条件对 HS10 菌株生长及产 IAA 的影响
Fig. 4 Effect of incubation conditions on growth and IAA secretion of strain HS10

2.2.5 碳源 如图 5A 所示,7 种碳源促进菌体生长的顺序为:葡萄糖>蔗糖>甘露醇>果糖>麦芽糖>木糖>乳糖,当葡萄糖为碳源时,菌体生长量最大,明显多于其他碳源。乳糖为碳源时,菌体几乎不生长。对于 IAA 产生量来说,7 种碳源对 HS10 菌株分泌 IAA 的影响顺序为:果糖>麦芽糖>甘露醇>木糖>蔗糖>葡萄糖>乳糖。当果糖为碳源时,菌

株产 IAA 的活性最强,与葡萄糖、木糖、蔗糖、乳糖差异显著($P<0.05$);其次是麦芽糖、甘露醇。而当葡萄糖为碳源时,菌体生长最好,但 IAA 产量相对较低。有报道^[24]显示较高浓度的葡萄糖对菌体生长无明显影响,但过剩的葡萄糖会形成糖基酯-IAA 复合体,使 IAA 以一种无活性状态存在。由此可见,菌株 HS10 生长和产 IAA 的最适碳源为果糖。

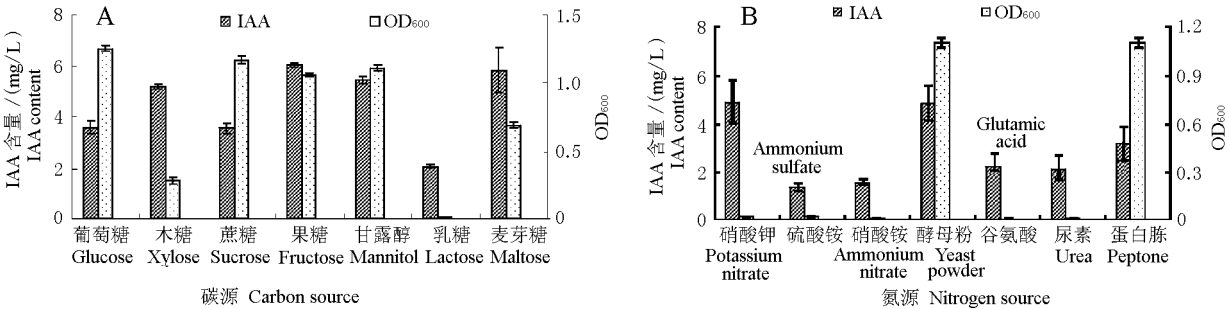


图 5 不同碳源和氮源对 HS10 菌株生长及产 IAA 的影响
Fig. 5 Effect of different carbon and nitrogen sources on growth and IAA secretion of strain HS10

2.2.6 氮源 由图 5B 可以看出,不同氮源促进菌体生长的顺序为:氮源为酵母粉、蛋白胨时,菌体生长较好,与其他氮源差异显著($P<0.05$),其余氮源菌体几乎不生长。对于 HS10 菌株分泌 IAA 量的影响来说,硝酸钾>酵母粉>蛋白胨,且当氮源为硝酸钾、酵母粉时,与其他氮源差异显著($P<0.05$),其余氮源产生的 IAA 较少。由上述可得,对于菌株 HS10 生长来说,有机氮源优于无机氮源。当硝酸钾为氮源时,其菌体生长量很少,但其产 IAA 量却最大,说明硝酸根能促进菌株产生 IAA。

IAA 的一种前体,是不可缺少的物质。因合成过程中中间体的不同,IAA 的生物合成途径可分为吲哚乙酰胺途径、吲哚丙酮酸途径、色胺途径、吲哚乙腈途径和色氨酸侧链途径 5 种,而在一种细菌中可能还存在着不止一条 IAA 合成途径,由此可以看出许多细菌的培养过程需要外加色氨酸来合成 IAA。但在实际应用中,植物根部自身可分泌少量的色氨酸,产 IAA 细菌可以利用它来合成 IAA,并且其合成的量足够满足其生长需要。

2.3 菌株 HS10 对花生的促生试验结果

上述结果均是在实验室条件下,通过外加 L-色氨酸这一物质实现的。L-色氨酸是细菌合成

根际促生菌有促进植株生长的作用,在本实验中,经接菌处理后,花生根际土壤速效磷、钾含量比

对照处理增加且差异显著 ($P < 0.05$), IAA 含量显著增加,近似是对照处理的 3 倍,与对照处理差异极显著 ($P < 0.01$) (表 2)。对花生根系的影响,接菌处理较对照处理差异极显著 ($P < 0.01$),根长、根表面积、根体积分别增加了 68.6%、66.7%、63%,根尖数增加了 2.2 倍左右(表 3)。正是由于花生根系总长度、根表面积、根体积和根尖数较对照处理都有显著增加,从而增强了根的吸收能力,使花生植株鲜

重、干重、株高、全氮、全磷、全钾较对照处理都有显著增加,其中花生植株鲜重、干重及株高较对照处理分别增加 76.2%、23.0% 和 23.0%,全氮、磷、钾含量分别增加了 22.6%、56.7% 及 20.7% (表 4)。SPAD 值较对照处理增加了 19%。综上,接菌花生植株无论是在形态上还是在养分吸收上都明显优于对照处理。

表 2 接种菌株 HS10 对土壤的影响
Table 2 Effects of strain HS10 on soil

处理 Treatment	矿质氮 Mineral N/(mg/kg)	速效磷 Available P/(mg/kg)	速效钾 Available K/(mg/kg)	IAA /(mg/kg)
CK	9.08 ± 0.85	3.16 ± 0.21	34.00 ± 3.46	0.21 ± 0.046
HS10	9.30 ± 0.55	3.72 ± 0.14 *	41.00 ± 1.73 *	0.57 ± 0.064 **

注:同一列中 * 表示有显著性差异 ($P < 0.05$), ** 表示极显著性差异 ($P < 0.01$),下同
Note: * in the same line indicates significant difference at $P < 0.05$, ** indicates significant difference at $P < 0.01$. Same as below

表 3 接种菌株 HS10 对花生根系的影响
Table 3 Effects of strain HS10 on peanut root system

处理 Treatment	根长 Root length/cm	根表面积 Surf area/cm ²	根体积 Root volume/cm ³	根尖数 Root tips
CK	931.72 ± 198.45	147.66 ± 15.68	1.84 ± 0.49	3 356.14 ± 931.59
HS10	1 570.84 ± 258.17 **	244.94 ± 41.69 **	3.04 ± 0.55 **	7 439.50 ± 1 516.27 **

表 4 接种菌株 HS10 对花生植株的影响
Table 4 Effects of strain HS10 on peanut plant

处理 Treatment	鲜重 Fresh weight/g	干重 Dry weight/g	株高 Plant height/cm	SPAD	全氮 Total N/(g/kg)	全磷 Total P/(g/kg)	全钾 Total K/(g/kg)
CK	3.44 ± 0.77	1.03 ± 0.16	18.52 ± 1.68	39.03 ± 1.63	1.86 ± 0.17	1.71 ± 0.56	6.68 ± 0.58
HS10	6.06 ± 0.56 **	1.59 ± 0.14 **	22.78 ± 0.95 *	46.38 ± 1.20 **	2.28 ± 0.11 *	2.68 ± 0.42 **	8.06 ± 1.49 *

3 小结

本试验从花生根际土中筛选到一株分泌 IAA 的菌株 HS10,分泌 IAA 能力达到 52.03mg/L,显著优于同期筛选出的其他菌株。通过传统的细菌形态和生理生化特征以及 16S rDNA 基因序列分析,鉴定 HS10 为特基拉芽孢杆菌 (*Bacillus tequilensis*)。该菌株产 IAA 的最佳温度 30℃,最佳培养时间 20h,最佳 pH 是 8,最佳装液量为 25mL/250mL,最佳碳源为果糖,最佳氮源为硝酸钾。

花生盆栽促生试验结果显示,HS10 显著提高土壤中 IAA 含量,且对根系的生长、发育具有明显的促进作用,植株长势明显优于对照。这为产 IAA 植物促生菌 HS10 在农业上的应用提供了实验基础和理论支持。

参考文献:

[1] 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.

[2] Brock T D, Madigan M T, Martinko J M, et al. 李明春, 杨文博. Brock biology of microorganisms (11th ed) [M]. 北京:科学出版社,2009. 969.

[3] 邓振山,党军龙,张海州,等. 植物根际促生菌的筛选及其对玉米的促生效应[J]. 微生物学通报,2012,39 (7):980 – 988.

[4] 王 忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:271 – 275.

[5] 陈佛保,柏 珺,林庆祺,等. 植物根际促生菌(PGPR)对缓解水稻受土壤锌胁迫的作用[J]. 农业环境科学学报,2012,31(1):67 – 74.

[6] 张爱民,张双凤,赵钢勇,等. PGPR 芽孢杆菌 B – 1 菌株的鉴定及其应用效果[J]. 河北大学学报:自然科学版,2011,31(3):294 – 298.

[7] 刘晓东,王补全,李 伟,等. 玉米根际促生菌的筛选及其对玉米生长发育的影响[J]. 安徽农业科学, 2010,38(10):5 043 – 5 045.

[8] 刘静洋,崔松松,韩国民,等. 棉花根际细菌的生理活性和促生效果[J]. 中国土壤与肥料,2013(6):88 – 92.

[9] 薛晓阳,冯瑞华,关大伟,等. 大豆根瘤菌与促生菌复合系筛选及机理研究[J]. 大豆科学,2011,30(4):613

- 620.
- [10] 王豹祥,李富欣,张朝辉,等. 应用 PGPR 菌肥减少烤烟生产化肥的施用量[J]. 土壤学报,2011,48(4): 813-822.
- [11] 康贻军,程洁,梅丽娟,等. 植物根际促生菌的筛选及鉴定[J]. 微生物学报,2010,50(7):853-861.
- [12] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [13] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,1984.
- [14] 夏北成,Zhou J Z. 分子生物学方法在微生物生态学中的应用[J]. 中山大学学报:自然科学版,1998,37(2):97-101.
- [15] Monis P T, Steven G, Saint C P, et al. Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis[J]. Analytical Biochemistry, 2005, 340(1): 24-34.
- [16] 毛小芳,胡锋,陈小云,等. 不同土壤水分条件下华美新小杆线虫对枯草芽孢杆菌数量、活性及土壤氮素矿化的影响[J]. 应用生态学报,2007,18(2):405-410.
- [17] 胡佩,杨红,刘德辉,等. 高效液相色谱法测定蚓粪中的植物激素[J]. 分析实验室,2001,20(6):8-10.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [19] Vandamme P, Pot B, Gills M, et al. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics[J]. Microbiol Rev, 1996, 60(2): 407-438.
- [20] Datta C, Basu P S. Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan* [J]. Microbiological Research, 2000, 155(2): 123-127.
- [21] 李引,虞丽,李辉信,等. 一株花生根际促生菌的筛选鉴定及其特性研究[J]. 生态与农村环境学报, 2012, 28(4): 416-421.
- [22] 张振,李辉信,陈雄,等. 一株具有荧蒽降解能力的产吲哚乙酸菌的筛选鉴定及其特性[J]. 环境工程学报, 2014, 8(11): 5 041-5 048.
- [23] 连翠飞,李社增,晁春燕,等. 产植物激素拮抗细菌 CX-5-2 的筛选、鉴定及其特性研究[J]. 植物病理学报, 2007, 37(2): 197-203.
- [24] Patten C L, Glick B R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1996, 42(3): 207-220.

(责任编辑:王丽芳)