

3 种芽孢杆菌对辣椒的促生作用

尹向田¹, 纪绍兰², 杨阳¹ (1. 山东省葡萄研究院, 山东济南 250100; 2. 山东省郯城县农业局, 山东郯城 276100)

摘要 [目的] 研究不同类型芽孢杆菌对辣椒的促生作用。[方法] 将辣椒种子分别浸泡于 3 种芽孢杆菌菌悬液中, 记录种子发芽率及根、芽长度, 研究各菌株对辣椒种子萌发的影响; 采用浸种和灌根 2 种方式, 测定幼苗株高、根长、鲜重指标, 研究各菌株对辣椒幼苗的促生作用。[结果] 3 种芽孢杆菌均能促进辣椒种子萌发及幼苗生长。种子萌发试验中, 稀释 10 倍的 GS09 菌株菌悬液效果最为显著, 相比对照, 种子发芽率、发芽势、根长、芽长分别增加了 22.74%、15.39%、31.54%、23.33%; 幼苗生长试验中, 灌根方式优于浸种方式, GS09 菌株 100 倍稀释液下株高、根长、鲜重相比对照分别增加了 68.07%、55.56%、65.63%。GS10 的促生效果仅次于 GS09, GS01 促生效果较弱。[结论] 该研究可为挖掘新型根际促生菌株以及辣椒的绿色生产提供理论依据。

关键词 芽孢杆菌; 种子萌发; 辣椒幼苗; 促生作用

中图分类号 S641.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)01-0055-03

Effect of Three *Bacillus* Strains on Growth-promoting of Pepper

YIN Xiang-tian¹, JI Shao-lan², YANG Yang¹ (1. Shandong Academy of Grape, Jinan, Shandong 250100; 2. Tancheng County Agricultural Bureau of Shandong Province, Tancheng, Shandong 276100)

Abstract [Objective] To explore the effect of different types of *Bacillus* strains on the growth-promoting of pepper. [Method] After soaking seeds with three kinds of *Bacillus* strains, the effect of various strains on pepper seed germination was studied by recording the seed germination rate, root and bud length. Seed soaking and watering root were used to study the growth-promoting effect of pepper seedlings, the plant height, root length and plant weight were determined. [Result] The results showed that three kinds of *Bacillus* strains can promote seed germination and seedling growth of pepper. In the seed germination test, the growth-promoting effect of GS09 with the bacteria liquid diluted ten times was the most significant. Compared with the control, seed germination rate, germination potential, root and bud length under the treatment increased by 22.74%, 15.39%, 31.54% and 23.33% respectively. The way of watering root was better than seed soaking in the pepper seedlings test, the plant height, root length and fresh weight of seedling increased by 68.07%, 55.56% and 65.63% respectively. The growth-promoting effect of GS10 was the second, and the effect of GS01 was the most weak. [Conclusion] This study can provide theoretical basis for excavating new type of plant growth-promoting rhizobacteria and green production of pepper.

Key words *Bacillus*; Seed germination; Pepper seedling; Growth-promoting effect

辣椒生产中, 化肥在提高土壤肥力、提高产量中发挥了举足轻重的作用, 然而化学肥料过量施用给自然环境带来了不良影响和严重危害。因此, 寻求安全、优质、高效的有益肥料资源具有重要意义。芽孢杆菌以其易存活、繁殖能力强、便于生产等特点被各个领域广泛研究和利用^[1-3]。在植物根际细菌中, 芽孢杆菌对促进植物生长也发挥着重要的作用。芽孢杆菌可通过自身合成多种不同的生长激素促进植物生长, 且在极低浓度下就可产生明显的生理效应^[4-6]。

在对辣椒具有促生作用的芽孢杆菌研究中, 已报道的主要有枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、多粘类芽孢杆菌、短小芽孢杆菌等^[7-10], 而对甲基营养型芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌少有报道。多粘类芽孢杆菌 GS01、解淀粉芽孢杆菌 GS09、甲基营养型芽孢杆菌 GS10 是从辣椒根际土壤中分离得到的极具生防潜力的菌株, 笔者就上述 3 种芽孢杆菌对辣椒种子萌发及幼苗生长的影响进行了初步研究, 发现甲基营养型芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌对辣椒具有促生作用, 为挖掘新型根际促生菌株提供新资源, 并为辣椒的绿色生产提供参考。

1 材料与与方法

1.1 供试植物与菌株

1.1.1 供试植物。牛角椒种子, 购自北京市农林科学院。

1.1.2 供试菌株。多粘类芽孢杆菌 GS01、解淀粉芽孢杆菌 GS09、甲基营养型芽孢杆菌 GS10 由山东省葡萄研究院良种

与栽培研究室分离保存。

1.2 方法

1.2.1 芽孢杆菌菌悬液的制备。挑取菌株单菌落于 NB 培养基中, 28 °C、160 r/min 培养 24 h, 培养液 10 000 r/min 离心 10 min, 所得菌体用无菌水清洗 3 次, 再用无菌水将菌体重悬并调节浓度至 1×10^7 CFU/mL, 将 1×10^7 CFU/mL 菌悬液用无菌水分别稀释得到 10 倍、100 倍菌悬液。

1.2.2 辣椒种子的萌发试验。挑选大小、饱满程度一致的辣椒种子, 用 5% 的次氯酸钠溶液消毒 5 min, 经无菌水漂洗后, 分别置于各稀释倍数的芽孢杆菌菌悬液中浸种, 以无菌水作对照 (CK), 室温条件下浸种 4 h。将处理过的种子置于铺有灭菌滤纸的灭菌培养皿中, 加入无菌水保湿, 每皿放置 50 粒种子, 每个处理重复 3 次, 25 °C 的光照培养箱培养, 以胚根突破种皮作为种子发芽的标准, 每天定时记录种子萌发数。第 6 天结束时计算各组平均发芽率、发芽势、发芽指数, 10 d 时测定鲜重, 记录平均芽长及根长。

发芽率 = 发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$

发芽势 = 规定天数内发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$

发芽指数 = $\sum (G_t / D_t)$

式中, G_t 为处理后第 t 天的发芽率; D_t 为不同的发芽试验天数。

1.2.3 辣椒幼苗的生长试验。采用浸种及灌根 2 种芽孢杆菌菌悬液施用方式。浸种方式是将辣椒种子浸于不同稀释倍数的芽孢杆菌菌悬液中 4 h, 然后播入盛有灭菌土的 100 mm \times 100 mm 穴盘中。灌根方式为不经过浸种处理, 直

基金项目 山东省农业科学院青年基金项目 (2016YQN35)。

作者简介 尹向田 (1985—), 女, 山东济南人, 农艺师, 硕士, 从事植物病害的生物防治研究。

收稿日期 2016-10-10

接播入穴盘中,出苗后,每盆保留3株,待长出4片真叶时,每盆灌根接种不同稀释倍数的芽孢杆菌菌悬液6 mL。以无菌水处理作对照,每处理重复5次,30 d后将辣椒苗拔出,测量平均株高、根长,并测定鲜重。

1.3 数据分析 数据分析由 Excel 和 DPS 7.05 版软件完成,其中显著性分析采用 Duncan's 新复极差法。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌对辣椒种子萌发的影响 种子处理后第3天,对照组日发芽数达到最高峰,以该天为基准统计发芽势。由表1可知,辣椒种子经3种芽孢杆菌不同浓度菌悬液处理后第6天,相比对照,发芽率明显提高。其中,GS09

处理的种子发芽率最高,其次为GS10、GS01。根据不同浓度菌悬液处理的结果可以看出,稀释10倍GS09菌悬液处理下种子发芽率和发芽势在各处理中最高,分别为96.08%、85.71%,相比对照分别提高了22.74%和15.39%;GS10中,未经稀释的菌悬液更适合种子萌发,发芽指数在各处理中最高(13.12),相比对照提高了27.75%,发芽率和发芽势相比对照提高了15.04%和11.55%;GS01中,稀释100倍菌悬液处理的发芽率仅提高了7.38%,随着浓度的增加,菌悬液对种子萌发产生了抑制作用,未稀释菌悬液处理的种子发芽率、发芽势、发芽指数分别较对照降低了4.15%、38.46%、19.77%。

表1 3种芽孢杆菌对辣椒种子萌发的影响

Table 1 Effect of three *Bacillus* strains on the germination of pepper seed

处理 Treatment	稀释倍数 Diluted times	发芽起始天数 Germination starting days//d	发芽率 Germination rate//%	发芽势 Germination potential//%	发芽指数 Germination index
CK	—	2	78.28 f	74.28 d	10.27 e
GS01	未稀释	3	75.03 g	45.71 f	8.24 h
	10	3	81.02 e	65.71 e	9.18 g
	100	2	84.06 d	65.71 e	9.86 f
GS09	未稀释	2	86.99 c	74.29 d	10.80 d
	10	2	96.08 a	85.71 a	12.98 a
	100	2	90.05 b	77.14 c	12.04 b
GS10	未稀释	2	90.05 b	82.86 b	13.12 a
	10	2	84.24 d	74.29 d	11.31 c
	100	2	84.12 d	77.14 c	11.45 c

注:同列数据后不同小写字母表示0.05水平差异显著

Note:The different lowercase letters in the same column show significant difference at 0.05 level

2.2 芽孢杆菌对辣椒种子根芽生长的影响 由表2可知,经芽孢杆菌不同浓度菌悬液处理后,种子鲜重及根、芽长度均有提高,其中对GS09生长作用显著,稀释10倍菌悬液处理的鲜重、根长、芽长在各处理中最高,相比对照分别增加了50.00%、31.54%和23.33%;GS10中,未稀释处理的种子鲜重、根长、芽长也较对照分别增加了33.33%、28.46%、22.33%,并且随着菌悬液浓度的降低,根、芽长度也有所下降;GS01菌株在不同的稀释倍数下对种子鲜重的影响没有差异,随着菌悬液浓度降低,根、芽长度也随之增加,其中对根生长作用明显,对芽生长作用不显著。

2.3 芽孢杆菌对辣椒幼苗生长的影响 由表3可知,浸种和灌根方式下,3种芽孢杆菌对苗期辣椒生长均有明显的促进作用,灌根方式较浸种方式促生效果较好。经不同浓度和不同施用方式处理的辣椒幼苗,株高、根长、鲜重均有明显提高。浸种方式下,不同菌株的促生效果由强到弱依次为GS10、GS09、GS01。3个菌株均为100倍稀释液下的促生效果最为显著,随着菌悬液浓度的增加,促生效果有所降低。GS10菌株100倍稀释液下,株高、根长、鲜重相比对照分别增加了36.14%、26.67%、40.63%。灌根方式下,不同菌株的促生效果由强到弱依次为GS09、GS10、GS01。3个菌株均为100倍稀释液效果最好,GS09菌株100倍稀释液下,株高、根长、鲜重相比对照分别增加了68.07%、55.56%、65.63%。

随着菌悬液浓度的增加,株高、根长也有所下降。

表2 3种芽孢杆菌对辣椒种子根芽生长的影响

Table 2 Effect of three *Bacillus* strains on root and bud growth of pepper seed

处理 Treatment	稀释倍数 Diluted times	鲜重 Fresh weight//g	根长 Root length//cm	芽长 Bud length//cm
CK	—	0.06 c	1.30 e	3.00 f
GS01	未稀释	0.07 bc	1.50 bcd	3.23 de
	10	0.07 bc	1.65 ab	3.13 ef
	100	0.07 bc	1.70 a	3.47 bc
GS09	未稀释	0.08 ab	1.67 ab	3.33 cd
	10	0.09 a	1.71 a	3.70 a
	100	0.07 bc	1.57 abc	3.17 def
GS10	未稀释	0.08 ab	1.67 ab	3.67 a
	10	0.08 ab	1.40 cde	3.61 ab
	100	0.08 ab	1.37 de	3.30 cde

注:同列数据后不同小写字母表示0.05水平差异显著

Note:The different lowercase letters in the same column show significant difference at 0.05 level

3 结论与讨论

根际促生菌具有促进植物生长、增强植物抗逆性、增加作物产量的特性,其对于降低化肥用量、减少农药污染具有重要作用^[11]。试验结果表明,3种芽孢杆菌对辣椒的生长作用不同。其中,解淀粉芽孢杆菌GS09及甲基营养型芽孢杆菌GS10对辣椒的促生作用较强,多粘类芽孢杆菌GS01能够

促进辣椒种子根芽及幼苗生长,但是随着菌悬液浓度增加,种子萌发受到抑制。研究表明,植物根际促生菌可以通过合成某些对植物生长有直接作用的物质,或者通过固氮、解磷等方式改变土壤中某些元素的形态利于植物吸收来发挥作

用^[12-15]。部分根际促生菌产生的过量生长素类物质可抑制植物生长,这称为根际促生菌的负效应^[16]。在影响根际促生菌的作用因子中,除了菌株不同之外,土壤条件及农艺措施也有较大的影响^[17-18]。

表 3 3 种芽孢杆菌对辣椒幼苗生长的影响
Table 3 Effect of three *Bacillus* strains on growth of pepper seedlings

处理 Treatment	稀释倍数 Diluted times	株高 Plant height//cm		根长 Root length//cm		鲜重 Fresh weight//g	
		浸种 Seed soaking	灌根 Watering root	浸种 Seed soaking	灌根 Watering root	浸种 Seed soaking	灌根 Watering root
CK	—	6.17 g	6.17 i	4.50 f	4.50 f	0.32 a	0.32 b
GS01	未稀释	6.80 f	7.17 g	4.80 d	5.00 e	0.39 a	0.38 ab
	10	7.00 e	7.90 e	5.00 c	5.33 d	0.40 a	0.38 ab
	100	7.43 d	8.83 b	5.40 b	5.80 c	0.40 a	0.45 ab
GS09	未稀释	7.01 e	7.70 f	4.61 ef	4.67 f	0.43 a	0.48 ab
	10	7.40 d	8.30 d	4.72 de	5.17 de	0.43 a	0.51 ab
	100	7.63 c	10.37 a	4.55 ef	7.00 a	0.42 a	0.53 a
GS10	未稀释	7.70 c	6.40 h	4.83 cd	5.00 e	0.39 a	0.37 ab
	10	8.00 b	8.23 d	5.60 a	5.03 e	0.40 a	0.43 ab
	100	8.40 a	8.50 c	5.70 a	6.00 b	0.45 a	0.45 ab

注:同列数据后不同小写字母表示 0.05 水平差异显著

Note:The different lowercase letters in the same column show significant difference at 0.05 level

解淀粉芽孢杆菌和甲基营养型芽孢杆菌对植物的促生作用已经被证实^[19-20],但是尚未见其对辣椒促生作用的报道。该试验结果初步验证了解淀粉芽孢杆菌和甲基营养型芽孢杆菌对辣椒的促生作用。解淀粉芽孢杆菌 GS09 及甲基营养型芽孢杆菌 GS10 均可以作为优良的植物根际促生菌,具备潜在的应用价值。由于室内与田间的差异比较大,要将该菌株引入农业生产中,还应当将菌株真正应用到大田中,并有针对性地筛选出适合该菌株的农作物。同时应加强菌株对环境的适应性研究,从而真正实现根际促生菌增产的目的。

参考文献

- [1] SWAIN M R, RAY R C. Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cow dung microflora [J]. Microbiological research, 2009, 164(2): 121-130.
- [2] 程远, 黄凯, 黄秀芸, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、免疫力和抗氧化功能的影响 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(6): 1503-1512.
- [3] 张艳群, 来航线, 韦小敏, 等. 生物肥料多功能芽孢杆菌的筛选及其作用机理研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(2): 489-497.
- [4] 郭芳芳, 谢镇, 卢鹏, 等. 一株多粘类芽孢杆菌的鉴定及其生防促生效果初步测定 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 489-496.
- [5] ISLAM S, AKANDA A M, PROVA A, et al. Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect of plant growth promotion and disease suppression [J]. Front Microbiol, 2016, 6: 1360.
- [6] ZHOU C, MA Z Y, ZHU L, et al. Rhizobacterial strain *Bacillus megaterium* BOFC15 induces cellular polyamine changes that improve plant growth and drought resistance [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): 976.
- [7] 张扬, 文春燕, 赵买琼, 等. 辣椒根际促生菌的分离筛选及生物育苗基质研制 [J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(6): 950-957.

- [8] 王勇, 周冬梅, 郭坚华. 蜡质芽孢杆菌 AR156 对辣椒的防病促生机理研究 [J]. 植物病理学报, 2014, 44(2): 195-203.
- [9] LAMSAL K, KIM S W, KIM Y S, et al. Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* on pepper [J]. Mycobiology, 2012, 40(4): 244-251.
- [10] JOO G J, KIM Y M, LEE I J, et al. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus* [J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(6): 487-491.
- [11] 戴梅, 王洪娟, 殷元元, 等. 从枝菌根真菌与根围促生细菌相互作用的效应与机制 [J]. 生态学报, 2008, 28(6): 2854-2860.
- [12] 荣良燕, 姚拓, 赵桂琴, 等. 产铁载体 PGPR 菌筛选及其对病原菌的拮抗作用 [J]. 植物保护, 2011, 37(1): 59-64.
- [13] HUANG X F, ZHOU D M, GUO J H, et al. *Bacillus* spp. from rainforest soil promote plant growth under limited nitrogen conditions [J]. Journal of applied microbiology, 2015, 118(3): 682-684.
- [14] 刘晓璐, 刘永智, 郭涛, 等. 解钾细菌的筛选、鉴定以及高效培养 [J]. 北京科技大学学报(自然科学版), 2013, 35(4): 551-557.
- [15] 胡元森, 吴坤, 刘娜, 等. 黄瓜不同生育期根际微生物区系变化研究 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(10): 1521-1526.
- [16] PERSELLO-CARTIEAUX F, NUSSAUME L, ROBAGLIA C, et al. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions [J]. Plant, cell and environment, 2003, 26(2): 186-199.
- [17] 连玲丽, 谢荔岩, 陈锦明, 等. 生防菌 EN5 的定殖能力及其对根际土壤微生物类群的影响 [J]. 植物保护, 2011, 37(2): 31-35.
- [18] 汪军, 潘江禹, 毛超, 等. 土壤物理因素和栽培方式对淡紫拟青霉 E7 在香蕉根际定殖和促生作用的影响 [J]. 果树学报, 2013, 30(2): 274-280.
- [19] IDRISSE E E, MAKAREWICZ O, FAROUK A, et al. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth promoting effect [J]. Microbiology, 2002, 148(Pt7): 2097-2109.
- [20] MADHAIYAN M, POONGUZHALI S, KWON S W, et al. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2010, 60(10): 2490-2495.

科技论文写作规范——题名

以最恰当、最简明的词句反映论文、报告中的最重要的特定内容,题名应避免使用不常见的缩略语、首字母缩写词、字符、代号和公式等。一般字数不超过 20 字。英文与中文应相吻合。英文题名词首字母大写,连词及冠词除外。