

## 根际促生菌 S1 菌株的分离鉴定及促生效果

吕朝阳, 王威, 杨森冷, 施李鸣, 张维, 张克诚, 葛蓓亭\* (中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

**摘要** [目的] 筛选出更多新型、高效的植物根际促生菌, 研发绿色环保的微生物肥料及植物生长调节剂。[方法] 从广西北海互花米草根际采集土壤样品, 采用稀释平板法分离土壤样品中的微生物。通过检测菌株分泌 IAA 和溶磷的能力, 从分离的产物中筛选出解磷能力强及 IAA 高产菌株, 并制备菌株发酵液对番茄种子和幼苗分别进行浸种和灌根, 培养到适宜时间后测定种子和幼苗的各生长指标。[结果] 发酵液浓度为  $1 \times 10^4$  CFU/mL 时能够显著促进番茄种子萌发和幼苗生长。经 16S rRNA 及生理生化鉴定, 该菌株为阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*)。[结论] 筛选出 1 株具有溶磷、分泌生长素性能的根际优良促生菌株——阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*), 该菌株对番茄种子的萌发及幼苗的生长有显著的促进作用。

**关键词** 植物根际促生菌; 阴沟肠杆菌; 微生物肥料; 番茄

中图分类号 S154.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)20-0081-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.20.021



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Isolation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria S1 and Determination of Its Effect on Growth Promotion

LÜ Zhao-yang, WANG Wei, YANG Miao-ling et al (Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193)

**Abstract** [Objective] In order to screen out more new and efficient plant rhizosphere growth-promoting bacteria, and to develop green and environmental friendly microbial fertilizer and plant growth regulator. [Method] Soil samples were collected from the rhizosphere of *Spartina alterniflora* in Beihai, Guangxi. Microorganisms were isolated by dilution plate method. By detecting the ability of the strains to secrete IAA and solubilizing phosphorus, the strains with strong phosphorus solubilizing ability and high IAA yield were selected from these strains, and then the strain fermentation broth was prepared to soak and irrigate tomato seeds and seedlings. After the cultivation to the appropriate time, the growth indexes of the seeds and seedlings were measured. [Result] The results showed that when the concentration of the fermentation broth was  $1 \times 10^4$  CFU/mL, it could significantly promote tomato seed germination and seedling growth. The strain was identified as *Enterobacter cloacae* by 16S rRNA. [Conclusion] A strain of *Enterobacter cloacae*, an excellent rhizosphere growth-promoting strain with the properties of dissolving phosphorus and secreting auxin, was screened out. The strain had a significant promoting effect on the germination of tomato seeds and seedling growth.

**Key words** Plant growth promoting rhizobacteria; *Enterobacter cloacae*; Microbial fertilizer; Tomato

根际土壤是土壤中各种物质和养分从无机环境进入植物的重要媒介, 它受植物根系分泌物、微生物与土壤之间的相互作用<sup>[1]</sup>, 根际土壤微生物作为土壤-植被生态系统中最活跃和具有决定性影响的组分之一, 不仅能够参与并调节植物在生长发育中的各个环节<sup>[2-3]</sup>, 还在土壤的能量流动、养分循环及有机物质转化中发挥着重要作用。其中, 根际促生菌 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) 是指自由生活在植物体内, 附生于根系或根际土壤中一类对病原菌有生防作用, 能够促进植物吸收矿物质等无机物, 并产生有利于植物生长的化合物的有益菌, 这类土壤益生菌通常也具有生物固氮、产生植物激素和抗生素等能力<sup>[4-6]</sup>。PGPR 由于对植物病害具有显著防效, 并能够促进作物的生长发育及增加产量而受到研究者的关注, 成为根际微生物研究的热点。引入外来微生物定植到根际能够直接影响根际微生物的数量和结构, 或者通过调控植物的代谢和根分泌物组分而间接影响植物根际微生物结构, 进而影响植物的生长发育、抵抗病原微生物的能力等<sup>[7-10]</sup>。

互花米草 (*Spartina alterniflora*), 禾本科米草属多年生植物, 其茎秆粗壮且根部发达, 能够深扎于土壤中以促进泥沙

的快速沉降和淤积, 因此被许多国家地区引进<sup>[11]</sup>。但互花米草的过度扩散对生态系统造成严重影响, 已成为生物入侵研究的焦点之一<sup>[12]</sup>。研究发现, 互花米草能够改变土壤微生物群落, 提高根际微生物的丰富度<sup>[13-15]</sup>。因此, 在互花米草根际土壤中更有可能筛选出更多种类的根际促生菌, 为研发新型绿色微生物肥料和生长调节剂奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 土壤样品。** 试验土样采集于广西北海互花米草根际土壤, 拨去表层约 5 cm 厚的土壤, 用小铲采集根际土壤并将其装入无菌采样袋中, 标注好采样时间和地点, 带回实验室置于冰箱中  $-4$  °C 保存备用。

**1.1.2 番茄品种。** 试验所用番茄品种为改良毛粉 802, 购自山东安信种苗股份有限公司。

**1.1.3 培养基。** 生长素产生菌筛选培养基: R2A (M1); 菌株溶磷能力筛选培养基: 蒙金娜无机磷培养基 (M2); 微生物分离培养基: LB 固体培养基 (M3); 菌株产 IAA 能力筛选培养基: Salkowski 比色液 (M4)。培养基的配制成分与含量见表 1<sup>[14]</sup>。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 根际微生物的分离与筛选。**

**1.2.1.1 菌株的富集和分离。** 取 2 g 土壤样品加入 18 mL 无菌水, 在摇床上振荡培养 1 h 后静置 10 min, 使形成的土壤悬浮液分层。取 2 mL 上清液于 LB 液体培养基中, 在摇床上振

**基金项目** 广西科技重大专项(桂科 AA18242026)。

**作者简介** 吕朝阳 (1998—), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 研究方向: 植物病害生物防治。\* 通信作者, 副研究员, 从事生物杀菌剂产品创制及生物防治应用技术研究。

**收稿日期** 2021-08-18; **修回日期** 2021-12-24

荡 24 h 进行富集培养。取 1 mL 富集后的菌株悬浮液,用无菌水将悬浮液浓度调节至  $1 \times 10^{-2}$  CFU/mL,之后采用梯度稀释法将浓度稀释至  $1 \times 10^{-7}$  CFU/mL,分别吸取各梯度土壤悬

浮液 200  $\mu$ L,依次滴加至 ACC 筛选平板上,用无菌涂布棒均匀涂布至干燥,每个处理设置 3 个重复。将完成涂布分离的平板倒置培养在 34  $^{\circ}$ C 的培养箱中 2~3 d。

表 1 培养基及其组分

Table 1 Culture medium and its components

编号 No.	培养基 Medium	成分含量 Composition
M <sub>1</sub>	生长素产菌筛选培养基	胰蛋白胨 0.50 g, 丙酮酸 0.30 g, 酵母粉 0.50 g, 酪蛋白氨基酸 0.50 g, 磷酸氢二钾 0.30 g, 七水硫酸镁 0.05 g, 葡萄糖 2.00 g, 可溶性淀粉 0.50 g
M <sub>2</sub>	菌株溶磷能力筛选培养基	氯化钠 0.030%, 氯化钾 0.030%, 磷酸钙 1.000%, 七水硫酸镁 0.030%, 硫酸铵 0.050%, 四水硫酸锰 0.003%, 七水硫酸亚铁 0.003%, 葡萄糖 1.000%
M <sub>3</sub>	微生物分离培养基	酵母粉 5 g, 氯化钠 10 g, 胰蛋白胨 10 g, 琼脂 15 g
M <sub>4</sub>	菌株产 IAA 能力筛选培养基	35% 次氯酸 50 mL, 0.5 mol/L 氯化铁 1 mL

**1.2.1.2 菌株的筛选。**观察菌落生长情况,依据菌落的生物特征、气生菌丝等特点筛去重复菌株。将筛选的单菌落挑取至含色氨酸的 R2A 液体培养基中,置于 30  $^{\circ}$ C 200 r/min 摇床上振荡培养 24 h。

(1) 细菌溶磷能力的筛选。振荡培养后分别吸取 1  $\mu$ L 孢子悬浮液,点接在蒙金娜无机磷平板中央,于 34  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中倒置培养 24 h。观察菌落周围是否出现溶磷圈,溶磷圈越大,则该菌株溶磷效果越强。

(2) 细菌产 IAA(吲哚乙酸)能力的筛选。将待测菌株在含有色氨酸的液体 LB 培养基中培养 7 d 后,取上清液离心 10 min,将离心后的上清液与 Salkowski 比色液在 96 孔板上 1:1 混合进行显色反应,将 96 孔板置于 38  $^{\circ}$ C 条件下避光保温 40 min,观察颜色变化,颜色越深说明该菌株产 IAA 的能力越强。

将筛选出的既有产 IAA 能力又有溶磷效果的菌株,采用平板划线法进行纯化,并保存在甘油中,放置在 -20  $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

**1.2.2 菌株生理生化鉴定。**采用平板划线法将菌株 S1 在 LB 培养基上培养出单菌落,观察菌落颜色、形态及菌体的形态,并采用细菌微量生化鉴定管对菌株 S1 进行生理生化鉴定试验。

**1.2.3 菌株分子水平鉴定。**

**1.2.3.1 总 DNA 提取及 PCR 扩增。**使用细菌全基因组 DNA 提取试剂盒及细菌通用引物提取 S1 菌株的总 DNA。

**1.2.3.2 PCR 产物检测、纯化与测序。**用移液枪取 5  $\mu$ L 扩增后的 PCR 产物与 1  $\mu$ L 6 $\times$ Loading buffer 混匀,加样于凝胶样孔中进行电泳。约 30 min 后,将电泳好的凝胶取出放置在紫外透射仪下进行检测,在约 1 300 bp 处看到 1 条亮带,说明扩增成功。将扩增后的序列送至擎科科技有限公司测序。

将测序得到的结果输入 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,选取相似度最高的一些种属并下载其 16S rRNA 基因序列,利用这些序列在 MEGA 7.0 软件中构建系统发育树。

**1.2.4 菌株发酵液的制备及计数。**将菌株接种在 LB 固体培养基上,在 28  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中倒置培养,培养 1 d 后,接种于 LB 液体培养基中,28  $^{\circ}$ C 220 r/min 振荡培养 1 d,然后在离心机中 28  $^{\circ}$ C 6 000 r/min 离心 6 min,得到的上清液即为细菌发

酵液。

用梯度稀释法将细菌发酵液浓度依次调节至  $1 \times 10^{-9}$  CFU/mL,每个浓度吸取 100  $\mu$ L 细菌发酵液,依次滴加在 LB 固体培养基皿上均匀涂布,用无菌涂布棒均匀涂布至干燥,每处理设置 3 个重复。将完成涂布分离的平板倒置在 28  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 1 d,找出在培养皿上长出 10~100 菌落数的处理,计数并求平均值。

**1.2.5 菌株对番茄种子萌发的影响。**用无菌水将番茄种子洗净并浸泡 4 h,控干水分后,用 0.4% 高锰酸钾浸泡 10 min,之后用无菌水冲洗 3~5 次,用无菌滤纸吸干种子表面水分。取 5 个 50 mL 无菌离心管,每个离心管放入 50 粒处理后的番茄种子,将已过滤的浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/mL 菌株发酵液按 10、100、500、1 000、2 000 倍稀释后分别得到浓度为  $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $2 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^3$  CFU/mL 的发酵液,以添加相同体积、稀释倍数相同的 LB 液体培养基和无菌水浸泡作为对照组,每处理重复 3 次。将各处理放置在 25  $^{\circ}$ C、相对湿度为 90% 的光照培养箱中,设置光照为 12 h/d。为确保种子湿润,每天定期喷少量无菌水。以发芽试验当天记作 0 d,8 d 后统计发芽势,10 d 后计算发芽率,利用公式计算发芽指数和活力指数<sup>[16]</sup>。

发芽率 = 前 10 d 发芽的种子数 / 供试种子总数  $\times 100\%$

发芽势 = 前 8 d 发芽的种子数 / 供试种子总数  $\times 100\%$

$$\text{发芽指数 } G_1 = \sum \frac{G_i}{D_i}$$

式中, $G_i$  为发芽试验终期每日发芽数; $D_i$  为发芽日数。

$$\text{活力指数 } V = G_p \times G_l$$

式中, $G_p$  为幼苗的生长势,该试验以幼苗平均根质量计。

**1.2.6 菌株对盆栽番茄幼苗生长的影响。**将番茄种子催芽后播种于装有营养基质的盆中,每盆 1 株,待番茄苗长出 2 片真叶时,将发酵好的浓度为  $1 \times 10^4$ 、 $2 \times 10^4$  CFU/mL 的菌液和浓度为  $1 \times 10^4$ 、 $2 \times 10^4$  CFU/mL 的 LB 液体培养基每株 10 mL 缓慢灌入番茄苗根部;将 10 mL 清水注入番茄苗根部土壤中作为空白对照,每处理 20 株苗,每处理设置 3 个平行试验,处理完毕后放置在 30  $^{\circ}$ C 温室中培养。每隔 7 d 各处理再分别进行一次灌根处理,累计灌根 5 次后取样,小心清洗根部土壤,统计株高、根长和鲜重。测量完毕后将番茄幼苗

置于 60 °C 烘箱中,烘干水分后测量干重。

**1.3 数据处理** 采用 MEGA 7.0 软件和邻接法(Neighboring-Joining, NJ)构建系统发育树;采用 SPSS 24.0(IBM, Armonk, NY, USA)统计软件对番茄农艺指标进行单因素方差分析和 LSD 多重比较。

## 2 结果与分析

**2.1 互花米草根际土壤细菌菌株分离结果** 通过前期初筛并纯化获得了 10 株细菌菌株(表 2)。测量各细菌菌株在蒙娜无机磷固体培养基中溶磷圈直径,发现 Gx-I7 菌株的溶磷圈直径最大,为 3.35 cm,其次为 Gx-I1,为 3.24 cm。利用 IAA 标准曲线基于各菌株发生显色反应后的 OD<sub>530</sub> 值计算得到 IAA 浓度,结果表明,菌株-Gx-I1 和 Gx-I5 IAA 浓度相对较高,IAA 浓度分别为 7.20 和 6.81 μg/mL。综合溶磷及分泌 IAA 能力 2 个指标,选取溶磷及产 IAA 能力均较强的菌株 Gx-I1 进行深入研究,并将其命名为菌株 S1。

表 2 互花米草根际土壤细菌溶磷及产 IAA 能力筛选

Table 2 Screening of bacterial strain with phosphorus solubilization and IAA production capacity from rhizosphere soil of *Spartina alterniflora*

菌株 Strain	溶磷圈直径 Soluble phosphorus circle//cm	IAA 浓度 IAA concentration μg/mL
Gx-I1	3.24±0.89	7.20±1.02
Gx-I2	0.98±0.12	5.77±0.98
Gx-I3	1.32±0.24	3.33±0.59
Gx-I4	0.21±0.05	5.73±0.84
Gx-I5	1.35±0.32	6.81±1.21
Gx-I6	2.16±0.52	4.90±0.88
Gx-I7	3.35±0.89	4.57±0.83
Gx-I8	0.32±0.08	6.24±1.23
Gx-I9	0.11±0.08	5.77±1.09
Gx-I10	0.31±0.11	5.64±0.98

## 2.2 菌株 S1 的鉴定

**2.2.1 形态及生理生化特征。** 菌株 S1 在 LB 培养基上的菌落呈乳白色,圆形,表面光滑、湿润,革兰氏染色结果为阴性,菌体形态为杆状。细菌微量生化鉴定检测结果表明(表 3),菌株 S1 对尿素、枸橼酸盐、动力、鸟氨酸、棉子糖、山梨醇、葡萄糖盐、产气试验呈阳性,对甲基红、靛基质、硫化氢、苯丙氨酸、侧金盏花醇、赖氨酸、木糖、革兰氏染色均为阴性。

**2.2.2 分子生物学鉴定。** 将细菌 S1 的 16S rRNA 片段扩增后长度约 1 300 bp(图 1)。扩增后的片段测序后将序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 检索和比较,得到相近种属的 16S rRNA 序列,利用这些序列构建系统发育树(图 2)。结果表明,该分离菌株与阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)同属于一个分支,亲缘关系较近,同源性达到 99%,结合生理生化鉴定将该菌株暂定为阴沟肠杆菌。

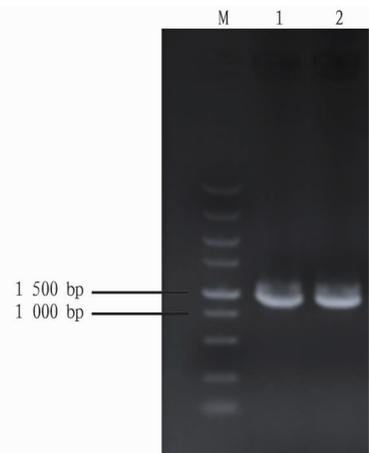
**2.3 菌株 S1 对室内番茄种子萌发的影响** 番茄种子萌发的测定结果见表 4。表 4 表明,菌株发酵液浸泡处理组中,1×10<sup>4</sup> CFU/mL 的发酵液能够显著促进种子萌发,发芽率为 72.20%,发芽势为 72.22%,发芽指数为 26.23,活力指数为

95.48,相比于 CK 分别提高了 88.36%、106.34%、159.19%、113.46%。发酵培养基浸泡处理组中,2×10<sup>4</sup>、5×10<sup>3</sup> CFU/mL 的发酵培养基对种子萌发有促进作用,其中 5×10<sup>3</sup> CFU/mL 发酵培养基效果最好,相比于 CK 组发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数分别提高了 41.93%、52.37%、69.47%、6.44%。以上分析表明,发酵培养基和菌株发酵液在一定浓度下均能促进种子萌发,其中 1×10<sup>4</sup> CFU/mL 菌株发酵液促进种子萌发的效果最佳。

表 3 互花米草根际土壤分离的细菌菌株 S1 的生理生化特征

Table 3 Physiological and biochemical characteristics of bacterial strain S1 isolated from rhizosphere soil of *Spartina alterniflora*

序号 No.	测定项目 Index	生理生化反应 Physiological and biochemical characteristic
1	尿素 Urea	+
2	枸橼酸盐 Citrate	+
3	动力 Power	+
4	鸟氨酸 Ornithine	+
5	棉子糖 Raffinose	+
6	山梨醇 Sorbitol	+
7	葡萄糖盐 D-Glucosamine hydrochloride	+
8	产气 Aerogenesis	+
9	甲基红 Methyl red	-
10	靛基质 Indole	-
11	硫化氢 Hydrogen sulfide	-
12	苯丙氨酸 Phenylalanine	-
13	侧金盏花醇 Adonitol	-
14	赖氨酸 Lysine	-
15	木糖 Xylose	-
16	革兰氏染色 Gram's stain	-



注:M.DL 5000 DNA 梯带;1~2.细菌扩增片段;目的条带约 1 300 bp

Note:M.DL 5000 DNA ladder;1-2.Amplification fragment of bacterial stain;The target band is about 1 300 bp

图 1 细菌菌株 S1 16S rRNA 基因片段的扩增

Fig.1 Amplification of 16S rRNA gene fragment of bacterial strain S1

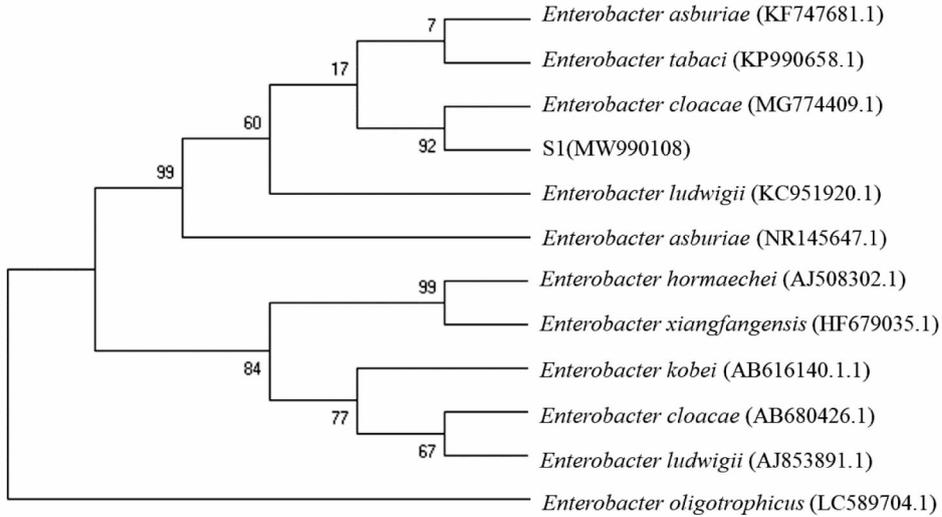


图2 菌株 S1 及相关细菌 16S rRNA 序列的系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree based of 16S rRNA sequences of strain S1 and related bacteria

表 4 S1 菌株发酵液对番茄种子萌发的影响

Table 4 Effects of fermentation broth of bacteria on germination of tomato seeds

处理 Treatments	浓度 Concentration//CFU/mL	发芽率 Germination rate//%	发芽势 Germination potential//%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index
菌株发酵液浸泡 Soak in bacterial fermentation broth	$1 \times 10^6$	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g
	$1 \times 10^5$	18.90±1.25 f	16.67±2.06 f	4.12±2.06 f	6.67±0.51 fg
	$2 \times 10^4$	22.20±1.95 ef	21.11±3.01 f	7.12±3.00 de	18.51±2.02 de
	$1 \times 10^4$	72.20±11.90 a	72.22±10.55 a	26.23±10.53 a	95.48±12.55 a
	$5 \times 10^3$	26.67±3.32 ef	26.67±2.89 e	7.12±2.89 de	22.93±3.00 d
发酵培养基浸泡 Soak in fermentation medium	$1 \times 10^6$	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g	0.00±0.00 g
	$1 \times 10^5$	22.22±3.30 ef	21.11±1.43 ef	4.94±1.42 ef	12.15±2.02 ef
	$2 \times 10^4$	44.40±6.06 c	43.33±3.01 c	12.09±3.01 c	25.63±3.01 d
	$1 \times 10^4$	30.00±6.68 de	28.89±3.04 de	7.75±3.04 d	62.00±7.77 b
	$5 \times 10^3$	54.40±9.62 b	53.33±4.20 b	17.15±4.20 b	47.61±7.01 c
清水浸泡 Soak in sterile water medium(CK)	0	38.33±7.71 cd	35.00±3.05 d	10.12±3.05 c	44.73±4.05 c

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )Note: The different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments( $P < 0.05$ )

2.4 菌株 S1 对盆栽番茄幼苗生长的影响 发酵液对室内番茄幼苗生长的影响见图 3。番茄各生长指标的测量结果(表 5)表明,经菌株发酵液和发酵培养基处理过的菌株,其根长、株高、鲜质量、干质量均高于 CK。说明 2 种处理均可

以促进番茄幼苗的生长,试验数据显示,S1 菌株发酵液浓度为  $1 \times 10^4$  CFU/mL 时,对番茄的促生作用最为显著,与 CK 相比,根长、株高、鲜质量和干质量分别增加了 63.79%、74.66%、155.17% 和 150.00%。

表 5 菌株发酵液对番茄生长的影响

Table 5 Effect of fermentation broth of bacteria on tomato growth

处理 Treatments	浓度 Concentration//CFU/mL	根长 Root length//cm	株高 Plant height//cm	鲜质量 Fresh weight//g	干质量 Dry weight//g
菌株发酵液浸泡 Soak in bacterial fermentation broth	$2 \times 10^4$	8.01±1.32 b	6.43±0.82 b	0.37±0.07 b	0.03±0.01 b
发酵培养基浸泡 Soak in fermentation medium	$1 \times 10^4$	8.91±1.54 a	8.89±1.21 a	0.74±0.09 a	0.05±0.01 a
清水浸泡 Soak in sterile water medium(CK)	$2 \times 10^4$	6.73±1.40 c	5.76±0.86 c	0.38±0.10 b	0.03±0.01 b
	$1 \times 10^4$	7.21±1.72 c	6.64±1.12 b	0.42±0.09 b	0.03±0.01 b
	0	5.44±0.92 d	5.09±0.79 d	0.29±0.06 c	0.02±0.01 c

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )Note: The different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

PGPR 可通过多种作用机制促进作物的生长发育并提高产量,如改善植物根际的营养环境,增强植物的固氮能力;通过分泌各种植物激素、维生素或氨基酸等促进植物生长;

产生抗生素和胞外溶解酶等抑制病原菌的生长,减轻对植物的危害<sup>[17-19]</sup>。利用 PGPR 制成微生物肥料可缓解因化肥的过度使用而造成的环境污染问题<sup>[20]</sup>,特别是近年来农业部提出化肥零增长的要求,使得农业上对绿色高效的微生物肥

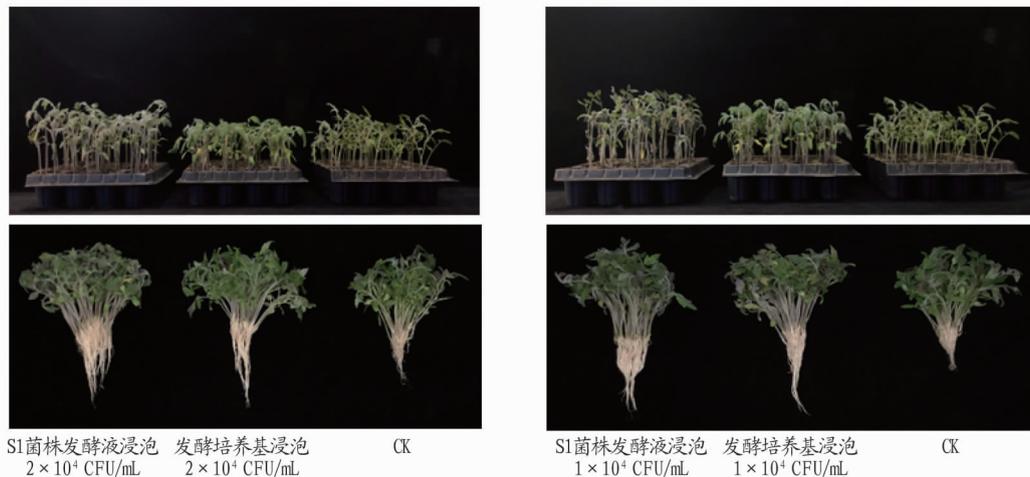


图3 S1发酵液对温室条件下番茄生长的影响

Fig.3 Effect of S1 fermentation broth on tomato growth under greenhouse conditions

料的需求更为迫切。因此,利用 PGPR 研发出新型环保的微生物肥料和植物生长调节剂对农业的发展具有重要意义。该研究从广西北海互花米草根际土壤中分离获得 1 株具有溶磷及分泌 IAA 能力的菌株阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*),其发酵液在  $1 \times 10^4$  CFU/mL 时能够显著促进番茄种子萌发和幼苗生长。研究表明,IAA 可调控植物的生长发育过程,特别是对植物次生根的发育具有明显促进作用。因此,若接种的根际促生菌能够产生大量 IAA,则能诱导植物产生大量的次生根,从而建立起植物幼苗根系的稳定发育系统,使幼苗能够健康快速生长<sup>[21-22]</sup>。具有溶磷功能的细菌可分泌有机酸与部分金属离子螯合,将土壤中难溶性磷转化为可溶性磷,供植物吸收,促进植物生长<sup>[23]</sup>。该研究发现的植物促生菌为阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*),隶属肠杆菌属,目前已报道的植物根际促生菌大多属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*),此外,还包括黄杆菌属 (*Xanthomonas*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、伯克霍氏菌属 (*Burkholderia*)、弗兰克氏菌属 (*Frankia*)、固氮菌属 (*Rhizobium*) 等<sup>[24]</sup>,现阶段国内外鲜见将阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 作为植物根际促生菌的相关报道。综上所述,该研究发现的阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 具有良好的生防应用前景,可丰富植物促生菌的种类,以期为开发研制新的微生物源植物生长剂及微生物肥料提供原材料。

#### 4 结论

通过平板初筛、盆栽试验及 16S rRNA 分子鉴定技术筛选出 1 株根际优良促生菌株阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*),兼具溶磷、分泌生长素性能,该菌株对番茄种子的萌发及幼苗的生长有显著的促进作用。

#### 参考文献

[1] 杨俊誉,魏世杰,苏代发,等.温室中患白粉病与健康草莓植株根际原核生物群落的比较研究[J].西南农业学报,2020,33(1):85-91.  
 [2] ZHONG W H, GU T, WANG W, et al. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity [J]. Plant and soil, 2010, 326(1/2): 511-522.  
 [3] 高欢欢.极端干旱区几种典型多年生植物根际微生物群落特征研究[D].北京:中国科学院大学,2017.

[4] 韩文星,姚拓,梁启鹏,等.PGPR 菌肥对燕麦根系性状影响的研究[J].草原与草坪,2008(4):1-4.  
 [5] 李永斌,李云龙,美国华,等.植物根际促生菌的筛选、鉴定及其对小麦的减肥增产效果[J].农业生物技术学报,2020,28(8):1471-1476.  
 [6] BHATTACHARYA P N, JHA D K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture [J]. World journal of microbiology and biotechnology, 2012, 28(4): 1327-1350.  
 [7] 周文杰,吕德国,杨丹丹,等.根际优势细菌对甜樱桃幼树光合及根系活力的影响[J].吉林农业大学学报,2015,37(5):555-561,567.  
 [8] MENDES R, GARBEVA P, RAAIJMAKERS J M. The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms [J]. FEMS microbiology reviews, 2013, 37(5): 634-663.  
 [9] GABY J C, BUCKLEY D H. A global census of nitrogenase diversity [J]. Environmental microbiology, 2011, 13(7): 1790-1799.  
 [10] LIU J, JUNG J H, LIU Y H. Antimicrobial compounds from marine invertebrates-derived microorganisms [J]. Current medicinal chemistry, 2016, 23(25): 2892-2905.  
 [11] WEISHAR L L, TEAL J M, HINKLE R. Designing large-scale wetland restoration for Delaware Bay [J]. Ecological engineering, 2005, 25(3): 231-239.  
 [12] 李丽凤,刘文爱,陶艳成,等.广西北山口红树林保护区互花米草扩散动态及其驱动力[J].生态学报,2021,41(17):6814-6824.  
 [13] HE C Q, WANG X X, WANG D Y, et al. Impact of *Spartina alterniflora* invasion on soil bacterial community and associated greenhouse gas emission in the Jiuduansha wetland of China [J]. Applied soil ecology, 2021, 168: 1-9.  
 [14] MA Z J, GAN X J, CAI Y T, et al. Effects of exotic *Spartina alterniflora* on the habitat patch associations of breeding saltmarsh birds at Chongming Dongtan in the Yangtze River estuary, China [J]. Biological invasions, 2011, 13(7): 1673-1686.  
 [15] 章振亚,丁陈利,肖明.崇明东滩湿地不同潮汐带入侵植物互花米草根际细菌的多样性[J].生态学报,2012,32(21):6636-6646.  
 [16] 王威, THINZAR T, 张亚, 等.一株烟草肠杆菌 (*Enterobacter tabaci*) S4 菌株的鉴定及其效果测定[J].农业资源与环境学报,2020,37(3):407-412.  
 [17] ZOU C S, LI Z F, YU D Q. *Bacillus megaterium* strain XTBC34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran [J]. Journal of microbiology, 2010, 48(4): 460-466.  
 [18] ZHANG Y, WANG X J, CHEN S Y, et al. A *Bacillus methylotrophicus* isolated from the cucumber rhizosphere degrades ferulic acid in soil and affects antioxidant and rhizosphere enzyme activities [J]. Plant and soil, 2015, 392(1/2): 309-321.  
 [19] MYO E M, GE B B, MA J J, et al. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth [J]. BMC microbiology, 2019, 19(1): 1-14.  
 [20] 郑雪玲.植物根际促生细菌的分离筛选与应用[D].南阳:南阳师范学院,2020.

品种加权关联度表现为御用马车>光谱>安吉拉>大游行>白藤柯斯特>橘红火焰>蓝月亮>花仙>嫦娥奔月>溪水;南昌地区则是红墙>安吉拉>御用马车>黄龙>红色伊甸园>读书台>蓝月亮>光谱。该试验中加权关联度表现为红色龙沙宝石>西方大地>橘红火焰>藤宝贝>御用马车>大游行>安吉拉>藤彩虹>花魂>夏令营>伊蕾莎斯特>光谱>海格瑞>黄金庆典>詹姆斯高威>澳洲黄金>欢笑格鲁吉亚>我的心,因日照市与临沂市毗邻,气候相近,且选取的性状指标基本一致,因此上述结果与临沂市引进的相同品种御用马车、光谱、安吉拉、大游行、橘红火焰的排序有相似之处,但由于不同地区管理水平不同、不同指标的权重系数设置有所差异,导致结果也不同。与南昌地区相比,相同品种的排序也不一致,进一步说明了同一品种在不同地区表现的性状不同。

藤本月季因其花色丰富、花期长、适应性强,根据不同的设计目的,运用不同的花色可营造出不同的景观效果。针对该试验引种的不同色系的分析,红色系红色龙沙宝石、橘红火焰、御用马车和粉色系大游行、安吉拉排名较为靠前,黄色系的黄金庆典和澳洲黄金均排名靠后,粉色系的欢笑格鲁吉亚和我的心则排在最后,大花复色系的花魂强于光谱,应用时可结合不同需求进行合理选择。目前,藤本月季在日照地区城市绿化中应用较少,根据该试验结果,引种的 18 个品种中,比较接近理想品种且适宜栽植应用的品种为红色龙沙宝石、西方大地、橘红火焰、藤宝贝、御用马车等,作为沿海城市,藤本月季在滨海盐化土壤的耐盐性及其他抗逆性表现仍

需进行进一步研究。

## 参考文献

- [1] 王雪.天津市藤本月季品种调查及常见品种栽培适应性初步研究[D].天津:天津农学院,2017.
  - [2] 徐晓艳,李文彬.藤本月季生物学特性及抗逆性研究进展[J].现代农业科技,2019(22):82-84.
  - [3] 曾凡景,李亚齐,胡春,等.藤本月季概况及其在城市绿化中的应用[J].广东农业科学,2013,40(4):33-35.
  - [4] 汉梅兰,杨永花,朱亚灵.适宜兰州地区栽植的优良藤本月季品种[J].中国园艺文摘,2012,28(8):123-124,137.
  - [5] 周丹燕.八个藤本月季品种在上海地区的栽培性状比较[J].农业科技(现代园林),2015,12(10):794-798.
  - [6] 邓聚龙.灰色系统基本方法[M].武汉:华中理工大学出版社,1987:17-30.
  - [7] 麻冰冰.我国工业化与信息化水平测定及互动关系研究[D].广州:暨南大学,2005.
  - [8] 陈俊愉,陈吉笙.百分制记分评选法——拟定并掌握柑桔株选标准的一个新途径[J].华中农学院学报,1956(1):84-99.
  - [9] 孙霞凤.现代月季品种综合评价体系的初步研究[D].北京:北京林业大学,2009.
  - [10] 张亚玲,崔绪玲,郭亚君,等.西安市藤本月季引种驯化优选研究[J].陕西林业科技,2016(5):26-29.
  - [11] 管帮富,彭华,彭火辉,等.南昌地区引种大花及藤本月季品种的评估鉴定[J].江西农业学报,2013,25(12):19-26,31.
  - [12] 张仪东,王玲玲,王杰.临沂市引种藤本月季品种综合评价[J].陕西农业科学,2020,66(2):90-92.
  - [13] 钟志明,张洲洲,成升魁.西藏地区不同年代春青稞品种的灰色关联度评价[J].农业系统科学与综合研究,2009,25(1):100-104.
  - [14] 周启龙,多吉顿珠,益西央宗.拉萨地区 16 个燕麦引进品种的灰色关联度评价[J].草地学报,2020,28(2):389-396.
  - [15] 陈晋瑞,张磊磊,杜珊珊,等.应用加权改进的灰色关联度分析法进行新疆花生引种筛选[J].农学学报,2020,10(5):42-47.
  - [16] 顾帆,郑绍宇,沈鸿明,等.基于灰色关联度分析评价紫薇品种花部观赏性状[J].江苏农业科学,2019,47(24):93-100.
- (上接第 85 页)
- [21] 刘佳莉,方芳,史煦涵,等.2 株盐碱地燕麦根际促生菌的筛选及其促生作用研究[J].草业学报,2013,22(2):132-139.
  - [22] 高亚敏,姚拓,李海云,等.高寒草甸嵩草、珠芽蓼根际优良植物根际促生菌的分离筛选及促生特性研究[J].草业学报,2019,28(11):114-123.
  - [23] 万水霞,王静,李帆,等.玉米根际高效溶磷菌的筛选、鉴定及促生效应研究[J].生物技术通报,2020,36(5):98-103.
  - [24] 韩笑.根际促生菌的筛选及其促进水稻在盐碱胁迫下生长的作用[D].哈尔滨:东北林业大学,2019.
- (上接第 91 页)
- [6] LIU F S, LIN D M, LIN H, et al. Physiological and photosynthetic responses of Giant Juncao (*Pennisetum giganteum*) to drought stress[J]. Fresenius environmental bulletin, 2017, 26(6):3868-3871.
  - [7] 汤小朋,熊康宁,张凯,等.巨菌草饲用价值研究现状及其对贵州喀斯特石漠化治理的启示[J].中国野生植物资源,2020,39(1):47-50,72.
  - [8] 王靖宇,张淑艳,商博,等.巨菌草生长和抗性生理特性对土壤水分的响应[J].延边大学农学学报,2020,42(1):58-62.
  - [9] 李玉帅,赵晓登,陈腾达.巨菌草在生态修复治理中的应用[J].农村科学实验,2020(4):63-64.
  - [10] 马三保.陕北风沙寒冷地区巨菌草栽培关键技术研究[J].中国水土保持,2019(12):71-73.
  - [11] 林占熹,苏德伟,林辉,等.黄河菌草生态安全屏障建设的研究与应用[J].福建农林大学学报(自然科学版),2019,48(6):803-812.
  - [12] 朱岷,张义智,焦阳.柠条在库车勒的适应性分析[J].草业科学,2008,25(8):148-149.
  - [13] PATE J S, FROEND R H, BOWEN B J, et al. Seedling growth and storage characteristics of seeder and resprouter species of Mediterranean-type ecosystems of S.W. Australia[J]. Annals of botany, 1990, 65(6):585-601.
  - [14] 耿文诚,铁云华,邵学芬,等.刈割对白三叶种子田植被高度生长的影响(简报)[J].草业学报,2007,16(6):146-149.
  - [15] BOWEN B J, PATE J S. The significance of root starch in post-fire shoot recovery of the resprouter *Sirtlingia laifolia* R.Br. (Proteaceae) [J]. Annals of botany, 1993, 72(1):7-16.
  - [16] VAN DER HEYDEN F, STOCK W D. Regrowth of a semiarid shrub following simulated browsing: The role of reserve carbon [J]. Functional ecology, 1996, 10:647-653.
  - [17] CANADELL J, LÓPEZ-SORIA L. Lignotuber reserves support regrowth following clipping of two Mediterranean shrubs [J]. Functional ecology, 1998, 12(1):31-38.
  - [18] 方向文,王万鹏,何小琴,等.扰动环境中不同刈割方式对柠条营养生长补偿的影响[J].植物生态学报,2006,30(5):810-816.
  - [19] 朱珏,张彬,谭支良,等.刈割对牧草生物量和品质影响的研究进展[J].草业科学,2009,26(2):80-85.
  - [20] FANG X W, LI J H, XIONG Y C, et al. Responses of *Caragana korshinskii* Kom. to clear shoot removal: Mechanisms underlying regrowth [J]. Ecological research, 2008, 23(5):863-871.
  - [21] FANG X W, WANG X Z, LI H, et al. Responses of *Caragana korshinskii* to different aboveground partial shoot removal: Combining defence and tolerance strategies [J]. Annals botany, 2006, 98(1):203-211.
  - [22] 崔秀萍,刘果厚.浑善达克沙地黄柳更新特点与规律研究[J].中国沙漠,2012,32(1):60-64.
  - [23] 郑士光,贾黎明,庞琪伟,等.平茬对柠条林地根系数量和分布的影响[J].北京林业大学学报,2010,32(3):64-69.
  - [24] 白茹梦,李钢铁,张红军.平茬对北方地区巨菌草生长的影响研究[J].绿色科技,2021,23(4):140-142,146.