

不同植物促生菌处理对黄瓜种子萌发的影响

吕鑫, 王宇慧, 刘全兰* (青岛科技大学海洋科学与生物工程学院, 山东青岛 266042)

摘要 以3个黄瓜品种(“511”“518”“519”)为试材,分析了3组植物促生菌(组合一、组合二、单一菌三)对黄瓜种子萌发的影响。结果表明,植物促生菌处理后黄瓜种子的萌发率显著提升。组合二对“511”“518”品种的种子萌发率优于其他组合,分别提升12.5和8.5个百分点;组合一对“519”品种的种子萌发率优于其他组合,提升了1.67个百分点。

关键词 植物促生菌;组合菌;黄瓜;种子萌发

中图分类号 S642.2;S144 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)21-0059-02

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.21.0016



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Different Plant Growth-promoting Bacteria on Seed Germination of Cucumber

LÜ Xin, WANG Yu-hui, LIU Quan-lan (College of Marine Science and Biological Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042)

Abstract In this study, three cucumber cultivars (‘511’ ‘518’ ‘519’) were chosen as test materials. The effects of three groups of plant growth promoting bacteria (combination bacteria 1, combination bacteria 2, single strains 3) on cucumber seed germination were analyzed. The results showed that the germination rate of cucumber seeds was significantly increased after plant growth-promoting bacteria treatment. The germination rates of ‘511’ ‘518’ treated by combination bacteria 2 were higher than other groups, increased by 12.5 and 8.5 percentage, respectively. The germination rate of ‘519’ treated by combination bacteria 1 were higher than other groups, increased by 1.67 percentage.

Key words Plant growth-promoting bacteria; Combination of bacteria; Cucumber; Seed germination

在农业上,几百年前就有植物接种有益微生物的记录。随着科学的发展,这些有益微生物被称为植物促生菌,即PGPB(plant growth promoting bacteria),它们被界定为在一定条件下有利于植物生长的自由生活在土壤、根际、根表、叶际的细菌^[1]。植物促生菌促进植物生长是以微生物的代谢潜力为基础,代谢产物包含能够产生直接促进植物生长的植物激素^[2],或者通过产生抗生素、诱导系统抗性、分泌溶菌酶等生物防控手段,减少各种病原菌对植物生长和发育的抑制效应等方式间接促进植物生长^[3]。植物促生菌多以合成微生物群落的方式作为一种植物生长调节剂,更好地适应植物、土壤、病害等生物和非生物因素,它们在代谢上分工协作,催化更为复杂的反应以促进植物生长^[4-5]。目前,已鉴定出多种植物促生菌菌株,其中主要种类包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)。该研究挑选了在农业生产领域被广泛应用的固氮菌如芽孢杆菌、根瘤菌和乳酸菌如戊糖片球菌、植物乳杆菌等菌株,可以显著提升种子的萌发率,并提高农作物的产量^[6]。

“十四五”规划明确指出,要围绕种业振兴重点任务,聚焦资源保护、育种创新、测试评价和良种繁育四大环节。在蔬菜、花卉和一些大田作物中,种子预处理是一种有用且被推荐的做法,这有助于保护种质资源,提高种子发芽率、幼苗活力和产量^[7-9]。随着生活质量的提高,食品安全问题受到人们广泛的关注,绿色无公害蔬菜生产成为蔬菜栽培技术推广的重要部分,培育绿色无公害种苗也成为蔬菜栽培中的重

要技术。采用植物促生菌处理植物种子是一种被倡导的种苗培育措施。植物促生菌可在种苗和其栽培土壤中定殖,调节植物生长,增强植物抗性,抑制病原菌生长,培育绿色无公害抗病种苗。

黄瓜(*Cucumis sativus*)又称胡瓜、青瓜,是葫芦科黄瓜属草本植物,在我国多地区广泛种植^[10]。黄瓜种子在种植过程中经常面临发芽率低、长势不一致等问题。笔者采用植物促生菌合成的微生物群落处理黄瓜种子以提高种子萌发率,旨在筛选出对黄瓜种子萌发生长最具有促进作用的微生物群落组合,以助力黄瓜育苗的生产需要^[11-12]。

1 材料与方法

1.1 试验材料 选自由山东鲁寿种业有限公司提供且在当地广泛种植的黄瓜种子。供试植物促生菌分别为苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、戊糖片球菌(*pentosaceus*)、肠杆菌(*Enterobacter soli*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、根瘤菌(*Rhizobium*)。以上供试菌株由青岛科技大学刘全兰老师课题组提供。这些菌株形成3种合成微生物群落的组合,组合一包括苏云金芽孢杆菌、戊糖片球菌、肠杆菌,组合二包括植物乳杆菌、戊糖片球菌、肠杆菌,单一菌三只有根瘤菌。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液的制备。将苏云金芽孢杆菌、肠杆菌、根瘤菌分别接种在YMA液体培养基上,戊糖片球菌、植物乳杆菌分别接种在MRS液体培养基上35℃振荡培养12h后,以8000 r/min离心8 min后,倒掉上清液并收集菌体,用无菌水将菌体稀释至 $OD_{600} = 2.5 \times 10^8$ CFU/mL,再用无菌水稀释10倍。将稀释后的菌悬液以相同比例混合成组合一、组合二和单一菌三。

1.2.2 种子催芽处理。挑选籽粒饱满的“511”“518”“519”3

基金项目 财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系资助(CARS-22)。

作者简介 吕鑫(1997—),男,山东青岛人,硕士研究生,研究方向:植物-微生物互作。*通信作者,副教授,硕士生导师,从事微生物生态发酵与植物性状调控和蛋白质加工研究。

收稿日期 2021-11-13

个品种黄瓜种子各 480 粒并分成 4 份分别放入培养皿中。将每个品种的黄瓜分别用稀释后的组合一、组合二、单一菌三在培养皿中浸泡 40 min, 空白用清水浸泡。浸泡完成后用纱布包裹并放回培养皿中, 纱布保持表面湿润。最后将培养皿统一放入托盘内。用薄膜将托盘封闭保湿后, 放入组培箱内, 28 ℃ 黑暗条件下催芽 24 h。

1.2.3 种子移栽。在育苗穴盘内铺上一层营养土, 24 h 后将初步萌发的黄瓜种子从培养皿中取出, 不同处理的黄瓜芽分别撒在育苗穴盘的营养土上, 再铺上一层营养土使种子被营养土覆盖, 浇适量的水, 使营养土湿润。每个穴盘种植 40 粒黄瓜种子, 重复 3 次, 每天记录种子发芽数量并计算其发芽率。

发芽率 = 发芽种子数 / 供试种子数 × 100%

1.3 数据分析 利用 SPSS 26 软件对试验数据进行单因素方差分析、显著检验并用 Origin 2018 作图。

2 结果与分析

2.1 植物促生菌对“511”萌发的影响 从图 1 可以看出, 黄瓜种子种植 3 d 后普遍萌发, 其中组合二和单一菌三处理过的黄瓜种子萌发率一直比空白高。组合二、单一菌三处理组的黄瓜种子在 5 d 后萌发率接近平稳; 组合一的黄瓜种子一直处于持续增长状态。萌发率最高的为组合二处理, 最终萌发率为 96.67%; 其次是单一菌三, 为 91.67%; 组合一为 90.83%; 空白为 84.17%。萌发率组合二比空白提高了 12.5 个百分点, 效果最显著。

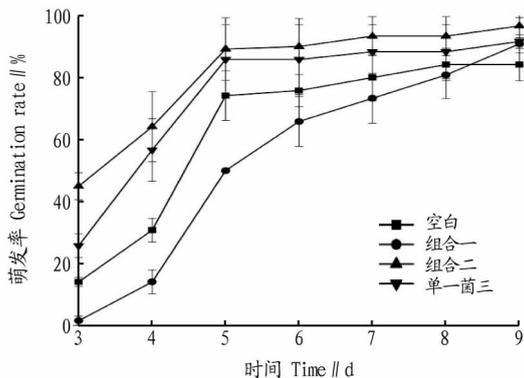


图 1 “511” 黄瓜品种萌发率

Fig. 1 Germination rate of cucumber cultivar '511'

2.2 植物促生菌对“518”萌发的影响 从图 2 可以看出, 植物促生菌对“518”品种的黄瓜种子萌发率随时间而不同。3 d 时, 空白萌发率最高; 4 d 时, 组合一的萌发率超过空白; 6 d 后组合二超过空白; 8 d 后, 单一菌三处理超过空白; 最终 3 个处理组的萌发率都比空白高。空白、组合一、单一菌三的黄瓜种子在 5 d 后萌发率接近平稳, 组合二在 6 d 后萌发率接近平稳。萌发率最高的为组合二, 最终萌发率为 89.17%; 其次是组合一, 为 88.33%; 单一菌三为 84.17%; 空白为 81.67%。组合二萌发率比空白显著提升 7.5 个百分点。

2.3 植物促生菌对“519”萌发的影响 从图 3 可以看出, 最终萌发率最高的为组合一, 萌发率为 86.67%; 其次是组合二, 为 85.83%; 空白为 85.00%; 单一菌三为 84.17%。对

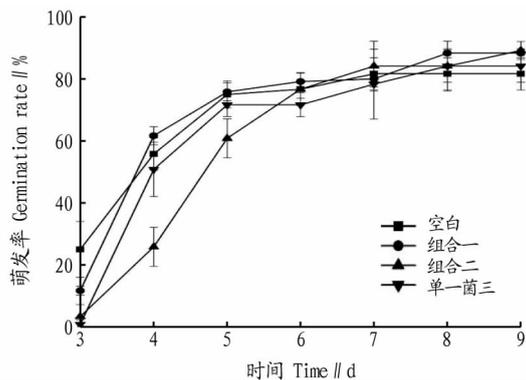


图 2 “518” 黄瓜品种萌发率

Fig. 2 Germination rate of cucumber cultivar '518'

“519” 黄瓜品种萌发率提升最高的为组合一, 萌发率比空白提升 1.67 个百分点, 提升效果不显著。“519” 品种用菌液处理后, 组合一和组合二的黄瓜种子萌发率比空白稍高, 单一菌三的萌发率比空白低, 总体来看萌发率未显著提升 ($P > 0.05$), 这 3 个处理对“519” 品种的萌发率没有明显的提升作用。

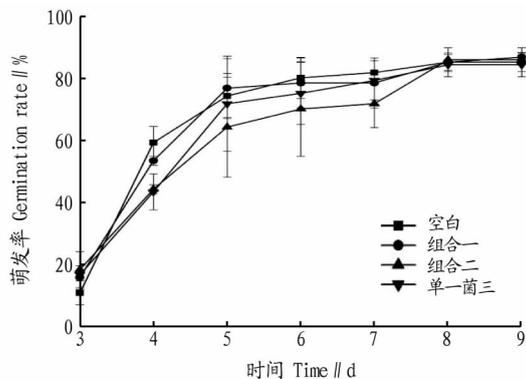


图 3 “519” 黄瓜品种萌发率

Fig. 3 Germination rate of cucumber cultivar '519'

3 结论与讨论

目前对植物促生菌的研究集中在促进植物生长和抑制或减轻某些植物病害对植物生长发育和产量的不良影响上, 对提高种子萌发率的研究相对较少。该研究通过构建合成微生物群落探究了不同组合处理对黄瓜种子萌发的影响。确定了不同黄瓜品种种子萌发所需的最优植物促生菌不同, 组合二对“511”和“518”黄瓜品种种子萌发率的提升最大, 分别提升 12.5 和 7.5 个百分点, 组合一对“519”品种黄瓜种子萌发的提升率高于其他 2 种组合, 为 1.67 个百分点。

种子发芽是黄瓜生长的第一步, 而提高发芽率是培育良好性状植株的基础, 直接关系到黄瓜的产量。该研究发现, 组合一和组合二对黄瓜种子萌发的提升最大, 可能是因为这 2 种组合中都含有固氮菌和乳酸菌。目前, 固氮菌是研究最深入的植物促生菌。曹毅等^[13]发现用固氮菌菌剂浸种对刺黄瓜种子出苗率有明显的提高。乳酸菌是一种广泛分布的细菌, 占据不同的生态位, 也被称为对人体健康有益的微生物。Limanska 等^[14]研究发现, 乳酸菌可以释放活性物质来

(下转第 107 页)

- [2] PARK I, KIM W J, YEO S M, et al. The complete chloroplast genome sequences of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and *Fritillaria cirrhosa* D. Don, and comparative analysis with other *Fritillaria* species [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 1-15.
- [3] SUN J, SUN R, LIU H B, et al. Complete chloroplast genome sequencing of ten wild *Fragaria* species in China provides evidence for phylogenetic evolution of *Fragaria* [J]. *Genomics*, 2021, 113(3): 1170-1179.
- [4] FRUMKIN I, LAJOIE M J, GREGG C J, et al. Codon usage of highly expressed genes affects proteome-wide translation efficiency [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(21): E4940-E4949.
- [5] LONG S Y, YAO H P, WU Q, et al. Analysis of compositional bias and codon usage pattern of the coding sequence in Banna virus genome [J]. *Virus Res*, 2018, 258: 68-72.
- [6] WANG H J, MENG T, WEI W Q. Analysis of synonymous codon usage bias in helicase gene from *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. *Genes Genomics*, 2018, 40(7): 767-780.
- [7] HASSAN S, MAHALINGAM V, KUMAR V. Synonymous codon usage analysis of thirty two mycobacteriophage genomes [J]. *Adv Bioinformatics*, 2009, 2009: 1-12.
- [8] YI S K, LI Y H, WANG W M. Selection shapes the patterns of codon usage in three closely related species of genus *Misgurnus* [J]. *Genomics*, 2018, 110(2): 134-142.
- [9] HUANG X, XU J, CHEN L, et al. Analysis of transcriptome data reveals multifactor constraint on codon usage in *Taenia multiceps* [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 1-13.
- [10] 谷勇, 潘学正. 瓦氏葛藤造林技术 [J]. 云南林业科技, 1999, 28(1): 80-83.
- [11] 谷勇, 邹恒芳, 孙汝林, 等. 马鹿花受冻害与恢复能力的研究 [J]. 林业科学研究, 2001, 14(3): 328-331.
- [12] 张建云, 安银岭, 李正红, 等. 马鹿花化学成分研究初探 [J]. 林产化学与工业, 2001, 21(2): 67-70.
- [13] 张晓娟, 周海纯. 葛根化学成分, 现代药理及临床应用研究进展 [J]. 中医药信息, 2017, 34(1): 124-126.
- [14] 尚明照, 刘方, 华金平, 等. 陆地棉叶绿体基因组密码子使用偏性的分析 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(2): 245-253.
- [15] WRIGHT F. The 'effective number of codons' used in a gene [J]. *Gene*, 1990, 87(1): 23-29.
- [16] TANG D F, WEI F, CAI Z Q, et al. Analysis of codon usage bias and evolution in the chloroplast genome of *Mesona chinensis* Benth [J]. *Dev Genes Evol*, 2021, 231(1/2): 1-9.
- [17] SUEOKA N. Near homogeneity of PR2-bias fingerprints in the human genome and their implications in phylogenetic analyses [J]. *J Mol Evol*, 2001, 53(4/5): 469-476.
- [18] ZHANG H, LI J, WANG R X, et al. Comparative analysis of expansin gene codon usage patterns among eight plant species [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2019, 37(4): 910-917.
- [19] WEI L, HE J, JIA X, et al. Analysis of codon usage bias of mitochondrial genome in *Bombyx mori* and its relation to evolution [J]. *BMC Evol Biol*, 2014, 14: 1-12.
- [20] TROTTA E. Selection on codon bias in yeast: A transcriptional hypothesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(20): 9382-9395.
- [21] MACHADO H E, LAWRIE D S, PETROV D A. Pervasive strong selection at the level of codon usage bias in *Drosophila melanogaster* [J]. *Genetics*, 2020, 214(2): 511-528.
- [22] CHU D, WEI L. Characterizing the heat response of *Arabidopsis thaliana* from the perspective of codon usage bias and translational regulation [J]. *J Plant Physiol*, 2019, 240: 1-9.
- [23] GUAN D L, MA L B, KHAN M S, et al. Analysis of codon usage patterns in *Hirudinaria manillensis* reveals a preference for GC-ending codons caused by dominant selection constraints [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 1-14.
- [24] INGVARSSON P K. Gene expression and protein length influence codon usage and rates of sequence evolution in *Populus tremula* [J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(3): 836-844.
- [25] XU C, CAI X N, CHEN Q Z, et al. Factors affecting synonymous codon usage bias in chloroplast genome of *Oncidium Gower Ramsey* [J]. *Evol Bioinform Online*, 2011, 7: 271-278.
- [26] 马孟莉, 张薇, 孟衡玲, 等. 豆蔻属药用植物叶绿体基因组密码子偏性分析 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3661-3670.
- [27] NIE L P, CUI Y X, CHEN X L, et al. Complete chloroplast genome sequence of the medicinal plant *Arctium lappa* [J]. *Genome*, 2020, 63(1): 53-60.
- [28] 王晓双, 王雁青, 李仕洪, 等. 化香属植物叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(16): 5352-5362.
- [29] DUAN H R, ZHANG Q, WANG C M, et al. Analysis of codon usage patterns of the chloroplast genome in *Delphinium grandiflorum* L. reveals a preference for AT-ending codons as a result of major selection constraints [J]. *PeerJ*, 2021, 9: 1-20.
- [30] 王媛媛, 杨美青. 蒙古韭叶绿体基因组密码子使用偏好性分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(4): 1084-1092.

(上接第 60 页)

促进种子萌发。该研究创新性地将固氮菌与乳酸菌构建合成微生物菌落,并应用于黄瓜种子萌发,使黄瓜种子的萌发率得到了较大的提升。

种子萌发是一个复杂的过程,用植物促生菌处理黄瓜种子,对其萌发率进行综合评价,对后续的黄瓜生产具有重要意义,也为植物促生菌的开发利用提供了新思路。植物促生菌与植物之间的互作关系复杂,植物促生菌与植物内部的酶活性和激素之间如何互作来调控种子萌发的分子机制,还有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] BASHAN Y, DE-BASHAN L E. BACTERIA/plant growth-promoting [M]//HILLEL D. Encyclopedia of soils in the environment. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2005: 103-115.
- [2] SINGH N, SINGH D. Effect of plant growth promoting bacteria on seed germination, seedling vigor and growth *Lagenaria siceraria* (Molina) standl [J]. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 2020, 9(8): 1161-1168.
- [3] MATSUMOTO H, FAN X Y, WANG Y, et al. Bacterial seed endophyte shapes disease resistance in rice [J]. *Nature plants*, 2021, 7(1): 60-72.
- [4] HADAR Y, HARMAN G E, TAYLOR A G, et al. Effects of pregermination of pea and cucumber seeds and of seed treatment with *Enterobacter cloacae* on rots caused by *Pythium* spp. [J]. *Phytopathology*, 1983, 73(9): 1322-1325.
- [5] 卢玉君, 王孝先, 赵伟进, 等. 砂生槐根瘤内生菌对青稞种子萌发及幼苗的促生作用 [J]. 广西植物, 2021, 41(2): 206-215.
- [6] 麦靖雯, 黎瑞君, 张巨明. 植物根际促生菌研究综述 [J]. 现代农业科技, 2018(12): 179-180, 183.
- [7] TODD-BOCKARIE A H, DURYE A M L. Seed pretreatment methods to improve germination of the multipurpose West African forest species *Dialium guineense* [J]. *Forest ecology and management*, 1993, 57(1/2/3/4): 257-273.
- [8] TOKLU F, BALOCH F S, KARAKTÖY T, et al. Effects of different priming applications on seed germination and some agromorphological characteristics of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Turkish journal of agriculture and forestry*, 2015, 39(6): 1005-1013.
- [9] 李琳琳, 张会玲, 宋宇静. 几种常见的种子处理方法 [J]. 新农民, 2019(1): 33.
- [10] 张蕊, 田叶韩, 李超, 等. 球毛壳菌 ND35 对黄瓜种子萌发和胚根生长的影响 [J]. 北方园艺, 2020(23): 1-9.
- [11] 陈沫先, 韦中, 田亮, 等. 合成微生物群落的构建与应用 [J]. 科学通报, 2021, 66(3): 273-283.
- [12] 曲泽鹏, 陈沫先, 曹朝辉, 等. 合成微生物群落研究进展 [J]. 合成生物学, 2020, 1(6): 621-634.
- [13] 曹毅, 丘明祺, 温海洋, 等. 耐氮固氮菌对刺黄瓜生长、产量及品质的影响 [J]. 湖北农业科学, 2004, 43(1): 73-75.
- [14] LIMANSKA N, IVANYTSIA T, BASIUL O, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings [J]. *Acta physiologiae plantarum*, 2013, 35(5): 1587-1595.