

植物根围促生细菌(PGPR)对黄瓜生长及生理生化特性的影响

梁建根^{1,2}, 张炳欣¹, 喻景权³, 陈振宇¹

(1. 浙江大学 植物保护系, 浙江 杭州 310029; 2. 浙江省农业科学院 植物保护与微生物研究所, 浙江 杭州 310021;
3. 浙江大学 园艺系, 浙江 杭州 310029)

摘 要: 为了解植物生长促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜生长及品质的作用机制, 采用种子催芽、温室盆栽与生理生化的方法, 研究了其对黄瓜生长及生理代谢的影响。结果表明, CH1 与 CH2 对黄瓜种子萌发、根与植株的生长有显著促进作用, 根部与叶部中超氧阴离子产生速率、 H_2O_2 和丙二醛(MDA) 含量显著减少, 与品质相关的叶绿素、蛋白质、可溶性糖和 V_c 含量显著增加。

关 键 词: 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.); 植物促生细菌; 活性氧; 生理活动

中图分类号: S476 **文献标识码:** A

LIANG Jian-gen^{1,2}, ZHANG Bing-xin¹, YU Jing-quan³, CHEN Zhen-yu¹ (1. Department of Plant Protection, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 3. Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Effects of plant-growth promoting rhizobacteria on growth and physiological activities of cucumber. Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2007, 33(2): 202-206

Abstract: In order to explore the functionary mechanism of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) CH1 and CH2 to cucumber growth and quality, the seed germinating, greenhouse pot planting and physiological and biochemical methods was employed to study the effects of CH1 and CH2 on growth and physiological metabolism of cucumber. Results showed that PGPR CH1 and CH2 obviously promoted germinating of cucumber seeds, root and plant growth, as well as the superoxide anion-producing rate, contents of H_2O_2 and MDA in roots and leaves of cucumber were considerably decreased after treatment with CH1 and CH2, contents of chlorophyll, protein, soluble sugar and V_c which are related with cucumber quality were magnificently increased.

Key words: cucumber (*Cucumis sativus* L.); plant-growth promoting rhizobacteria; active oxygen; physiological activities

随着社会生产力的发展,人们对生活质量的
要求愈来愈高,对无污染、无公害绿色食品的要

求日益提高,生物防治已成为继农业、化学防治
之后又一重要的防治方法^[1]。植物根围促生细菌

收稿日期: 2005-04-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30230250)。

作者简介: 梁建根(1972—)男,山西介休人,博士,助理研究员,主要从事蔬菜病害生物防治及生物制药方面的研究。Tel: 0571-86404070; E-mail: ljg422@126.com.

(plant-growth promoting rhizobacteria, PGPR)作为最具防病潜力与应用价值的一类生防菌,不仅能够促进植物生长,增加作物的产量,还能提高防病能力.因而成为许多学者研究的热点对象.然而,植物促生细菌对黄瓜生长及其生理生化特性的影响迄今报道不多.本试验研究了两株植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜植株生长、超氧阴离子产生速率、 H_2O_2 和丙二醛(MDA)以及与品质相关的叶绿素、蛋白质、可溶性糖与 V_C 含量的影响,以探讨植物促生细菌影响植株生长的生理机制,并为植物促生细菌的开发与利用提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

1.1.1 供试品种 黄瓜品种为新泰密刺,购自原浙江农业大学种子子公司.

1.1.2 供试菌株 植物促生细菌 CH1 和 CH2 分离自多年种植黄瓜的蔬菜地,通过室内盆栽和大田试验证明对黄瓜苗有明显促生作用,用常规方法并结合 16S rDNA 序列同源性比较^[2], CH1 鉴定为短芽孢杆菌(*Brevibacillus brevis*), CH2 鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*).

1.1.3 CH1 细菌悬浮液的制备 参照文献[3]的方法.将 CH1 移植到 YPG(酵母膏 5 g,葡萄糖 5 g,胰蛋白胨 5 g,氯化钠 1 g,最后定溶于 1000 mL 水中)液体培养基中,25℃下振荡培养 40 h.细菌悬浮液使用前用平板稀释法测定其浓度为 3×10^9 cfu·mL⁻¹.

1.1.4 黄瓜植株的准备 种子消毒后,在 CH1 与 CH2 的菌液中浸泡 30 min 后,播种于装有 2 次高压灭菌的肥沃菜园土基质的塑料钵中,钵高 25 cm,钵底、钵口直径分别为 15 cm 和 20 cm,种子处理 1 周后,再用同等浓度的菌液灌根处理,每钵 30 mL,待子叶完全展开后,进行各项生理指标的测定.

1.2 实验方法

1.2.1 种子萌发促芽测定 植物促生细菌 CH1 和 CH2 在 YPG 培养基上培养 24 h,用无菌水和灭菌棉签将细菌菌苔刮下,配制成浓度为

为 10^9 cfu·mL⁻¹ 的细菌悬浮液,种子消毒后,在已制备好的细菌悬浮液中浸泡 30 min 后,置于培养皿湿润的滤纸上,每皿 25 颗种子,每个处理 3 个重复,对照用无菌水处理,然后将平皿置于 25℃生化培养箱培养.观察生防菌株对出芽萌发和生长的影响并记录结果.

1.2.2 生长测定 参照文献[4]的方法,并略做修改.种子用 CH1 与 CH2 处理后(方法同 1.2.1),播种于经 2 次高压灭菌的菜园土塑料钵中,每钵 8 粒,5 个重复,置于光照培养箱中培养,观察出苗、生长情况,出苗后 2 周取材,比较植株高度、鲜重、干重、根长和子叶大小.

1.2.3 生理指标测定 待各处理的黄瓜幼苗子叶完全展开后,分别取其根部与叶部组织测定超氧阴离子产生速率^[5]、 H_2O_2 含量^[6]、丙二醛(MDA)含量^[7]、叶片叶绿素含量^[8]、蛋白质含量^[9]、可溶性糖含量^[10]、 V_C 含量^[11],所有测定均重复 3 次,并进行方差分析与 Duncan 氏显著性测验.

2 结果与分析

2.1 促芽生长平皿试验

黄瓜种子经植物促生细菌 CH1 与 CH2 处理后保湿培养 72 h,均对种子萌发、根与下胚轴生长有促进作用.种子经 CH1 与 CH2 处理后发芽率分别为 96.0% 和 93.3%,与对照 72.7% 相比差异达显著水平.由图 1 可知,处理后的黄瓜种子芽长均大于对照,呈显著性差异,处理 CH1 和 CH2 差异也达显著水平.此外,经

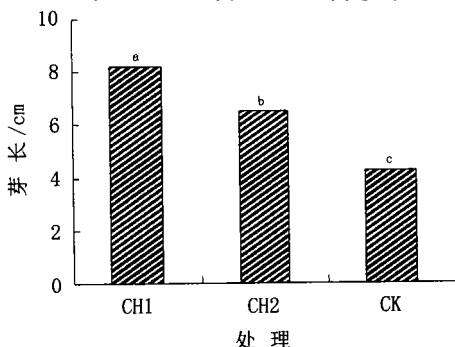


图1 植物根围促生细菌对黄瓜种子发芽的影响

Fig. 1 Effect of plant growth-promoting rhizobacteria CH1 and CH2 on germinating of cucumber seeds

CH1 与 CH2 处理的黄瓜种子,芽生长粗壮,根毛比较多,这有利于水分与营养的吸收,为幼苗生长奠定了基础.由以上结果可初步认为 CH1 与 CH2 具有潜在的促生活性,但要真正用于农业生产,需要室内盆栽及大田试验作进一步研究.

2.2 植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜生长的影响

促芽生长平皿试验后,对植物促生细菌 CH1 与 CH2 经 3 次盆栽测定,可以看出 CH1

与 CH2 对黄瓜生长有明显促进作用(表 1).这 2 株促生细菌不仅提高了黄瓜种子的出苗率,使出苗时间不同程度地提前,出苗后同期平均株高均比对照高,这与前面促进下胚轴伸长的结果相一致,而且处理后幼苗茁壮,子叶宽厚,真叶出现的时间比对照早 2~3 d,出苗 2 周后的鲜重和干重比对照大为提高,且达显著水平.可认为 CH1 与 CH2 是植物促生细菌.由于盆栽的容积和其中土壤养分的影响,所以实际的促生效果还需进一步作田间试验.

表 1 CH1 与 CH2 对黄瓜生长影响

Table 1 Effects of plant-growth promoting rhizobacteria CH1 and CH2 on the growth of cucumber seedlings

处 理	出苗时间/ d	出苗率/ %	株高/ mm	鲜 重/ (g·15 株 ⁻¹)	干 重/ (mg·株 ⁻¹)	根长/ mm	子叶大小/ mm ² (长轴 ×短轴)
CH1	4	99 a	103 a	23.91 a	145.36 a	81 a	35 ×18 = 630 a
CH2	5	93 b	96 b	19.45 b	127.68 b	76 b	32 ×17 = 544 b
CK	7	86 c	82 c	15.48 c	86.47 c	58 c	30 ×11 = 330 c

注:采用新复极差测验,同一列数值后不同字母表示差异显著($P < 0.05$).

2.3 植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜幼苗组织中叶绿素、蛋白质、可溶性糖和 V_C 含量的影响

植物促生细菌 CH1 与 CH2 处理黄瓜后,与黄瓜品质相关的生理指标测定结果见表 2. CH1 与 CH2 处理显著地提高了黄瓜根部与叶部蛋白质、可溶性糖和 V_C 含量以及叶部叶绿

素含量($P < 0.05$),同时还可以看出,经 CH1 处理的黄瓜幼苗组织中蛋白质、可溶性糖、V_C 和叶绿素含量都显著高于 CH2 处理.以上结果说明,植物促生细菌可能是通过不同程度地提高蛋白质、可溶性糖、V_C 和叶绿素含量,从而间接影响黄瓜的生长与品质.

表 2 植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜幼苗组织中叶绿素、蛋白质、可溶性糖和 V_C 含量的影响

Table 2 Effects of plant-growth promoting rhizobacteria CH1 and CH2 on the contents of chlorophyll, protein, soluble sugar and V_C in cucumber seedlings

处理	根 部			叶 部			
	蛋白质含量	可溶性糖含量	V _C 含量	叶绿素含量	蛋白质含量	可溶性糖含量	V _C 含量
CH1	1.20 a	25.17 a	10.52 a	924.01 a	0.45 a	27.68 a	15.23 a
CH2	0.74 b	11.26 b	6.40 b	549.85 b	0.32 b	16.24 b	9.52 b
CK	0.45 c	9.92 c	5.21 c	324.02 c	0.29 c	13.25 c	6.58 c

注:采用新复极差测验,同一列数值后不同字母表示差异显著($P < 0.05$).

2.4 植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜幼苗组织中超氧阴离子产生速率、H₂O₂ 和丙二醛(MDA)含量的影响

图 2 表明,经 CH1 与 CH2 处理后,黄瓜根部与叶部中超氧阴离子产生速率均比对照极显著降低,处理间 CH1 低于 CH2,呈显著水平.根部与叶部的 H₂O₂ 和丙二醛(MDA)含量均显著低于对照,处理间 CH1 明显低于 CH2,呈显著水

平.这说明植物促生细菌 CH1 与 CH2 可能是通过降低黄瓜组织内活性氧的含量来减少脂质过氧化产物 MDA 含量的积累,消除 MDA 对黄瓜组织的伤害,增强黄瓜的抗逆性与适应性.

3 讨 论

由植物促生细菌 CH1 与 CH2 促芽生长平

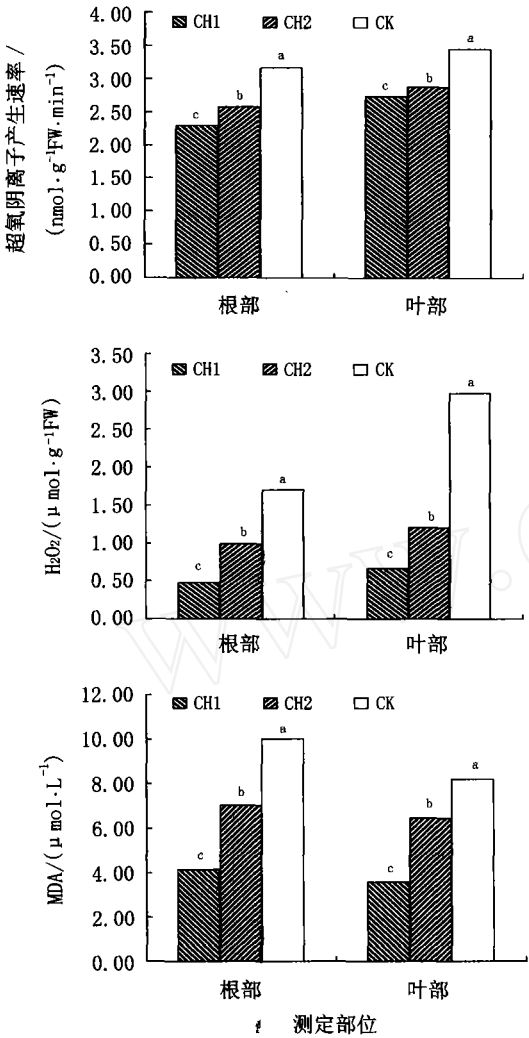


图 2 植物促生细菌 CH1 与 CH2 对黄瓜幼苗组织中超氧阴离子产生速率、H₂O₂ 和丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 2 Effects of plant-growth promoting rhizobacteria CH1 and CH2 on producing rate of superoxide anion and contents of H₂O₂ and MDA from cucumber seedlings

皿试验(图 1)和对黄瓜生长的影响研究(表 1)可以看出,CH1 与 CH2 都显著地发挥了其促生作用,但促生的机理尚需研究.植物根围促生细菌(PGPR)作为一种植物有益菌,其促生长的机理十分复杂.概括起来有 2 种情况:一是通过释放含钾矿物中的钾、硅等元素以及通过产生的植物激素等生理活性物质来促进作物生长,提高作物产量,改善作物品质^[12].二是产生代谢物质或竞争作用来抑制或阻挠根区病原物

的发展,间接促进植物的生长.迄今为止,许多研究已证明在植物生长发育过程中,根际或共生的微生物可产生植物激素直接地促进植物生长^[13];有人报道,大多数 PGPR 是通过减少有害微生物群体间接促进植物生长^[14];而有的研究认为是 PGPR 通过诱导植物生理代谢发生变化直接促进植物生长^[15],笔者认为 PGPR 以何种方式发挥促生作用,是由其本身的特性决定,同时,环境因子的影响也很重要.某一株 PGPR 可能只有一种作用方式,而另一株可能是几种方式综合的结果.当然,如果 PGPR 对许多病原物具有良好的控制作用和兼顾植物促生长作用,抗逆性好,无污染等优点,那最为理想.本试验选用的 2 株 PGPR 是以何种方式起促生作用,有待进一步深入研究.

叶绿素主要存在于植物的叶片中,绝大多数叶绿素在光反应中吸收光能并将光能转变成电能,所以,叶片中叶绿素含量多少与光反应有很大关系.植株叶片叶绿素含量增加,使光反应加强,提高植物的光合速率,加快碳水化合物的合成以满足植物加快生长的需要^[16].所以说植物体内叶绿素含量的高低直接影响光合作用的强弱,对植物的生长起决定性作用.从测定结果(表 2)可以看出,PGPR CH1 与 CH2 都显著地提高了叶片叶绿素的含量,从而间接地促进了黄瓜的生长.此外,植物组织中蛋白质、可溶性糖与 V_C 含量通过提高细胞质的浓度,降低质膜的透性,提高细胞渗透调节能力,提高细胞结构和功能完整性,保证细胞正常生理活动与功能的进行,为细胞抵御不良外界环境提供良好的生理基础,从而增强植物抵御逆境的能力^[17].从表 2 测定结果可以看出,PGPR CH1 与 CH2 都显著地提高了蛋白质、可溶性糖与 V_C 含量,从而为黄瓜生长提供了良好的生理基础,进而可以提高黄瓜的产量与品质.由于试验条件限制,植物促生细菌 CH1 与 CH2 对促进黄瓜生长的研究尚不全面,许多与植物生长相关的生理指标还没有测定,如:蒸腾速率、光合速率、无机离子吸收、纤维素酶活性、根系脱氢酶活性、RuBP 羧化酶活性、生长素含量等还需进一步研究.

植物在正常的代谢中,体内都会产生一定

量的活性氧自由基(ROS),但由于体内抗氧化系统的作用,使产生的ROS得以消除,从而使ROS的含量维持在非危险的水平.ROS很容易使植物细胞内发生过氧化作用或脱脂作用,而丙二醛是细胞内脂过氧化或脱脂的产物,会严重地损伤细胞的生物膜,降低膜中不饱和脂肪酸的含量,使膜的流动性降低^[18].同时,很多学者研究认为,膜脂过氧化还能影响植物的光合作用与呼吸作用.所以,MDA常被作为脂质过氧化指标,反映细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件下反应的强弱.植物促生细菌CH1与CH2处理黄瓜后,极显著地降低了组织内超氧阴离子和H₂O₂活性氧的含量,并引起脂质过氧化产物MDA含量的极显著减少,以消除活性氧对黄瓜组织的伤害,增强黄瓜的抗逆性与适应性.

References:

- [1] HE Zi-dian, GAO Yu-feng (贺字典, 高玉峰). Research development biological control germ in preventing and controlling plants disease and insects (summary) [J]. *Journal of Hebei Vocation-Technical Teachers College*(河北职业技术师范学院学报), 2003, 17(2):56-59. (in Chinese)
- [2] SHEN Ai-hua, ZHANG Bin-xin, LI Bing, *et al.* (沈爱华, 张炳欣, 李斌, 等). Identification on an antagonistic rhizobacterium X3 from rhizosphere of cucumber [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2003, 14(9):1521-1524. (in Chinese)
- [3] CHEN Zhi-yi, XU Zhi-gang, LU Fang, *et al.* (陈志谊, 许志刚, 陆芳, 等). The inducing resistance effect of antagonistic bacterium B-916 on rice plant [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*(西南农业学报), 2001, 14(2):44-48. (in Chinese)
- [4] HE Feng-mei, HE Yue-qiu, TANG Wen-hua, *et al.* (和凤美, 何月秋, 唐文华, 等). Plant growth promoting effect of biocontrol bacillus strain, B960 [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农业通报), 2002, 18(4):62-64. (in Chinese)
- [5] WANG Ai-guo, LUO Guang-hua(王爱国, 罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1990(6):55-57. (in Chinese)
- [6] LIN Zhi-fang, LI Shuang-shun, LIN Jia-zhu, *et al.* (林植芳, 李双顺, 林佳珠, 等). The change of consistency of superoxide anion and organic free radicals in senescent leaves and chloroplast [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*(植物生理学报), 1988(1):16-22. (in Chinese)
- [7] ZHU Zhu-jun, YU Jing-quan, Cerendes J, *et al.* (朱祝军, 喻景权, Cerendes J, 等). Influence of nitrogen form and light intensity on the growth and activities of protected enzymes in tobacco [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*(植物营养与肥料学报), 1998(4):379-384. (in Chinese)
- [8] 周琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995:75.
- [9] 王金胜, 郭春绒, 刘桂林, 等. 农业生物化学技术[M]. 太原: 山西科学技术出版社, 1997:156-157.
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003:195-197.
- [11] 杨惠芬. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1998:173-175.
- [12] SHENG Xia-fang(盛下放). Colonization of silicate bacterium strain NBT in wheat roots [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2003, 14(11):1914-1916. (in Chinese)
- [13] Kloppe J W, Lifshitz R, Zablotowicz R M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity [J]. *Trends in Biotechnology*, 1989, 7:39-44.
- [14] Kloepper J W. Effect of seed piece inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on population of *Erwinia caratovora* on potato roots and in daughter tubers [J]. *Phytopathology*, 1983, 73:217-219.
- [15] Vanpeer R, Niemann G J, Schippers B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt carnation by *Pseudomonas* sp. strain wcs417r [J]. *Phytopathology*, 1991, 81:728-734.
- [16] HAN Xiao-guang(韩晓光). Influence of a kind of fungal protein on the growth of cucumber [J]. *Journal of Hengshui Normal College*(衡水师专学报), 2004, 6(2):38-40. (in Chinese)
- [17] WANG Fang, LIU Peng, ZHU Jing-wen(王芳, 刘鹏, 朱靖文). Effect of Magnnesium(Mg) on contents of free praline, soluble sugar and protein in soybean leaves [J]. *Henan Agricultural Science*(河南农业科学), 2004, 6:35-38. (in Chinese)
- [18] FENG Xu-meng, LUO Shi-shi, HU Jian-wei, *et al.* (冯绪猛, 罗时石, 胡建伟, 等). Effect of pesticides on MDA and chlorophyll content of rice leaves [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*(核农学报), 2003, 17(6):481-484. (in Chinese)