

# H-13 木霉对水稻硝酸还原酶及氮、磷、钾的影响\*

黄有凯 罗 曼\*\* 蒋立科 李江霞

(安徽农业大学生命科学学院 合肥 230036)

**摘要:** 采用离子束对哈茨木霉进行注入并筛选出 H-13 菌株, 该菌株发酵液含有对水稻生长有显著促进作用的物质; 经对喷施该菌株发酵液后的水稻硝酸还原酶 (NR) 活力及其 N、P 和 K 含量的测定, 发现该菌株发酵液促进水稻生长与提高 NR 活力、增强对 N、P 和 K 的吸收有关。

**关键词:** H-13 木霉菌株, 硝酸还原酶活力, 氮、磷、钾含量

**中图分类号:** Q93      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0253-2654 (2003) 06-0013-04

## THE EFFECT OF *TRICHODERMA HARZIAIARUM* ON THE RICE NITRATE REDUCTASE ACTIVITY AND N, P, K CONTENT

HUANG You-Kai LUO Man JIANG Li-Ke LI Jiang-Xia

(College of life sciences Anhui Agriculture University, Hefei 230036)

**Abstract:** The mutagenic H-13 strain which was injected by ionic beam and screened from *Trichoderma harziaiarum*, can promote the growth of rice remarkably. In the experiment, we use zymolytic liquid of H-13 strain sprinkle on the seedling of rice, and determine nitrate reductase activity and N, P, K content. The results suggest that the effect of promoting plant growth of the strain has a relation to the enhance of nitrate reductase activity and the increase of N, P and K absorption.

**Key words:** H-13 *Trichoderma strain*, Nitrate reductase activity, N P K content

长期过量使用化肥易造成土壤肥力下降、作物品质变劣、环境被污染已成为人们的共识。因此开发无毒无害、对环境无污染、有利于培养土壤肥力的新型的微生物肥料的呼声越来越高。在这个领域里, 木霉 (*Trichoderma* sp.) 被认为是最有前途的微生物<sup>[1]</sup>。木霉属半知菌类丛梗孢目丛梗孢科 (Gloiosporae) 真菌。关于它生物学价值的研

\* 安徽省科技厅农业重点项目 (No. 1999-084)

\*\* 联系人 Tel: 0551-2822298, E-mail: Xiong Lu@USTC. edu. cn

收稿日期: 2003-01-02, 修回日期: 2003-04-15

究,人们主要集中在生物防治,或对其它病原微生物的重寄生作用及其有效成份的研究,而对植物生长的影响却报道甚少。通过对喷施 H-13 木霉菌株发酵液的水稻硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活力以及水稻 N、P 和 K 含量的测定,发现木霉对水稻生长的促进作用可能与提高 NR 活力以及增强对土壤中 N、P、K 的吸收有关。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 试验菌株及培养基:**试验菌株为 H-13,系课题组对哈茨木霉进行离子注入并筛选出突变株。培养基为 PDA。

**1.1.2 试验作物:**皖梗 48,由安徽省农业科学院提供。

**1.1.3 材料的准备:**将 H-13 木霉孢子接种于 PDA 液体培养基,80 r/min 摇床培养 7d,单层纱布过滤,发酵液设五个浓度梯度:原液及将原液分别稀释为 10、20、50 及 100 倍。将催芽后的水稻种子播种于 40cm×60cm 的盆中,以中等肥力的土壤为基质,两周后喷施该木霉发酵液。喷施量为 100mL/m<sup>2</sup>,重复 3 次,水作对照。3d 后测硝酸还原酶活力,3 周后测 N、P、K 含量。

### 1.2 方法

**1.2.1 硝酸还原酶活力的测定:**采样选择在晴天上午 8~9 点钟;取 1.0g 水稻叶片剪碎,置于 5mL 离心管中,加入 1mL KNO<sup>3</sup>,13,000 r/min 离心 5min,然后在 30℃下水浴保温 30min,再加入 2mL 磺胺试剂及 2mL α-萘胺试剂,30℃水浴再保温 30min,在 520nm 波长测定光密度。根据光密度及标准曲线计算酶活<sup>[2]</sup>。酶活单位:μg [NaNO<sub>2</sub>] / g [鲜重] · h。

**1.2.2 N 含量的测定:**(1)测定材料的制备:将所处理的各组水稻苗整株烘干,各取 0.3g,剪碎,用 10mL 浓硫酸、数滴 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在电炉上消煮致样品全部溶解、并变为无色时,用蒸馏水定容至 100mL。(2)N 含量的测定:将消煮液稀释 25 倍后,奈氏试剂显色,于波长 425nm 处测吸光度,从标准曲线上查出 N (NH<sub>4</sub>-N) 比色溶液浓度<sup>[3]</sup>。

**1.2.3 P 含量的测定:**采用钒钼黄比色法<sup>[3]</sup>,用偏钒酸、钼酸试剂显色,于 450nm 波长比色从标准曲线上查出 P 的浓度。

**1.2.4 K 含量的测定:**消煮液稀释 5 倍后,用火焰分光光度计测 K 含量,用标准液调节量程为 0~20mg/L<sup>[3]</sup>。

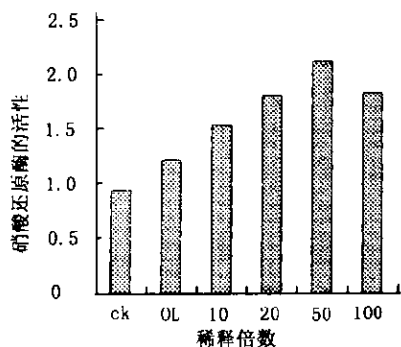


图1 不同浓度的发酵液对水稻硝酸还原酶的影响

## 2 结果与分析

### 2.1 硝酸还原酶活力的变化

硝酸还原酶活力变化测定见图1。不同浓度的发酵液都能使水稻幼苗硝酸还原酶活力增加,其中 50 倍稀释液对硝酸还原酶活力的影响最显著,此时活力为 2.2 个单位,比对照 0.93 高出 1 倍以上。由此图还可以看出高浓度发酵液对酶活的影响不明显,说明在高浓度条件下,酶活与浓度存在着负相关性。

## 2.2 氮含量的变化

试验组含氮量变化(图2)与“2.1”结果类似,不仅表明不同浓度的发酵液对N含量影响很大,在50倍稀释发酵液的作用下其含氮量为1.5%,而对照为0.86%,这说明氮的含量与硝酸还原酶活力存在着很强的相关性。

## 2.3 P含量的变化

不同浓度的发酵液对P吸收影响不大,只是在20倍稀释浓度下,对P的含量略有增加。

## 2.4 K含量的变化

发酵液促进水稻对K的吸收要比P显著,并在50倍稀释浓度时出现最大的吸收峰,此时测定K含量为1.32%,比对照组的0.76%高出将近1倍。

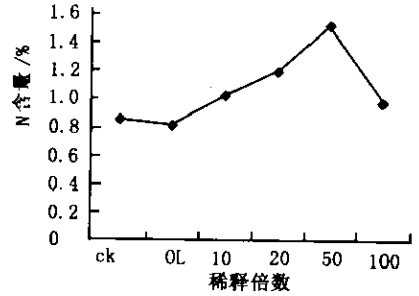


图2 不同浓度的发酵液对水稻N含量的影响

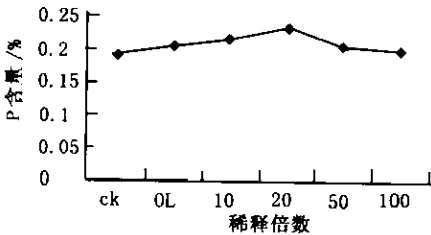


图3 不同浓度的发酵液对水稻P含量的影响

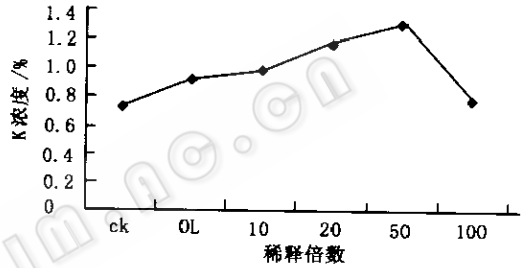


图4 不同浓度的发酵液对水稻K含量的影响

## 3 讨论

植物在生长发育的过程中,由根系从土壤中吸收大量氮素的主要形态是 $\text{NO}_3^-$ ,吸收的 $\text{NO}_3^-$ 参与代谢作用以前,必须还原成 $\text{NH}_3$ (或 $\text{NH}_4^+$ ),然后由 $\text{NH}_3$ 与碳骨架结合形成各种含氮化合物。植物体内NR活性越强, $\text{NO}_3^-$ 的转化速率越高,植物组织中低浓度的 $\text{NO}_3^-$ ,有利于根系从土壤中吸收更多的 $\text{NO}_3^-$ -N;相反,如果NR活性较弱, $\text{NO}_3^-$ 在植物体内大量积累,一方面会抑制植物对 $\text{NO}_3^-$ -N的进一步吸收,另一方面,又会影响氨基酸、蛋白质及其它含氮化合物的合成。有资料表明<sup>[4]</sup>,植物还原硝酸盐的能力与收获物的蛋白质含量间呈正相关。因此,NR活性通常被看作是诊断作物氮素营养状态和鉴定作物品质一项重要指标。本实验结果表明,H-13木霉菌株能够促进植物生长可能是通过提高NR活力来促进对氮的吸收与利用,从而达到促进生长的目的。

近年来,对于微生物是否能增强土壤中磷素营养的供应,改善植物磷素营养问题也进行了较多的研究。Ikram等<sup>[5]</sup>报道了促植物生长根瘤菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)可引起土壤中的磷发生较大的变化;De Brito<sup>[6]</sup>发现PGPR可以溶解难溶性磷;Baya等<sup>[7]</sup>研究了根际细菌产生的维生素与磷酸氢钙的溶解之间关系,发现核黄素(VB2)、生物素、泛酸与溶解难溶性磷有关。梁绍芬等<sup>[8]</sup>研究发现ACC系列的4种菌株也可以提高磷吸收的有效性。有学者认为,微生物产生的有机酸可作为螯合剂,

从而促使难溶的 FE-P、AL-P、CA-P 的释放;还有人认为是微生物产生的植物激素的作用,植物激素促进了植物根系的生长,增大了植物根系与土壤的接触面积,迫使土壤中的磷进一步释放,以保持磷在土壤中的化学平衡。很早以来就发现硅酸盐细菌可以促进矿物态钾的释放,现在推测这可能是由于微生物产生的有机酸的作用。有关微生物促使土壤中磷、钾释放的机制还不清楚。从本实验的结果来看,H-13 木霉菌株除可以促进植物对 N 的吸收外,还可以显著地促进植物对 K 的吸收,但对 P 吸收的效果不及 K 的明显。

综上所述,从对氮、磷、钾在植物体内含量的角度,研究木霉对植物生长促进作用的机制,可能大有可为。

### 参考文献

- [1] 徐 同. 真菌学报, 1996, 15 (2): 143 ~ 148.
- [2] 张宪政, 陈凤芹, 王荣富. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学出版社, 1998.
- [3] 安徽农业大学农业化学教研室. 土壤农化分析方法. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [4] 韩晓日. 土壤学报, 1998, 35 (3): 421 ~ 417.
- [5] Kram K, Sudin N. J. Natural Rubber Research, 1994, 9 (1): 48 ~ 55.
- [6] Rito D E, Alvarez G A. Applied and Environ. Microbial, 1995, 61 (1): 194 ~ 199.
- [7] Baya A M, Boetjling R S, Ramos-Correnzana A. Soil Biochem, 1981, 13: 527 ~ 531.
- [8] 梁绍芬, 姜瑞波. 微生物肥料的生产应用及其发展. 北京: 中国农业科技出版社, 1996, 61 ~ 65.