

研究报告

肠杆菌 FYP1101 对盐胁迫下小麦幼苗的促生效应

许芳芳¹ 袁立敏² 邵玉芳¹ 范国花¹ 周心爱¹ 郑文玲¹ 李冬梅¹ 冯福应^{1*}

(1. 内蒙古农业大学生命科学学院应用与环境微生物研究所 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 内蒙古自治区林业科学研究院 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:【背景】中国盐碱地面积大、分布广、类型丰富,主要分布在东北、西北、华北及滨海地区,近年来的研究表明通过生物治理方式接种植物根际促生菌可提高植物对盐胁迫的抗性,从而加速盐碱地治理。【目的】初步揭示肠杆菌(*Enterobacter* sp.) FYP1101 对盐胁迫下小麦幼苗的促生效应和机理,以期为该菌株的田间应用提供理论依据。【方法】基于涂布划线技术,以植酸磷培养基进行分离纯化,分别以 Ashby 培养基、无机磷培养基进行具有固氮、解无机磷能力细菌的初筛,之后对纯化所得细菌进行固氮、解植酸磷、解无机磷、产铁载体、产 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)脱氨酶、产吲哚乙酸(IAA)能力的分析;基于 16S rRNA 基因序列对 FYP1101 做初步分类鉴定;设置 3 种处理(施加含 FYP1101 的颗粒菌肥,FP;施加不含菌的空载体颗粒,NK;颗粒菌肥和空载体颗粒都不施加的空白处理,CK),采用盆栽试验分析不同处理下的盐胁迫小麦生长性状及其根际土壤理化性质变化。【结果】共分离得到 96 株菌,其中一株编号为 FYP1101 的菌株耐盐性达 8%,且具有较强的固氮能力[固氮酶活性为 2.59 nmol C₂H₄/(h·mg 蛋白)],解植酸磷能力(2.70 μg/mL)、解无机磷能力(4.29 μg/mL)、产铁载体能力(*D/d* 为 2.88)、ACC 脱氨酶活性[7.32 μmol α-丁酮酸/(h·mg 蛋白)],产 IAA 能力(24.93 mg/L);基于 16S rRNA 基因序列,将 FYP1101 鉴定为 *Enterobacter* 属的菌株;FP 相比 NK 和 CK 处理,显著提高了盐胁迫下小麦的叶绿素含量及地上和地下的生物量(提高约 19%–54%),显著增加了根长(增幅约 46%);根际土有机质和速效氮含量也显著提高,提高约 52%–98%,根际土 pH 略降低(0.12 和 0.17),盐度升高约 40%。【结论】*Enterobacter* sp. FYP1101 具有多种植物促生特性,可显著影响盐胁迫下小麦幼苗根形态的建成,提高根际土营养、降低小麦对盐的吸收,促进小麦幼苗生长,在

Foundation items: National Key Technology Research and Development Program of the Ministry of Science and Technology of China (2015BAC06B01); Program for Young Talents of Science and Technology in Universities of Inner Mongolia Autonomous Region (NJYT-14-A05); Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2015MS0035); Science and Technology Innovation Project for Graduate Students of Inner Mongolia Autonomous Region (S20161012902); Collaborative Innovation Team Project for Teachers and Students of College of Life Science of Inner Mongolia Agricultural University (SKYTDa2015019, SKYTDb2015020)

*Corresponding author: Tel: 86-471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

Received: March 07, 2017; Accepted: May 08, 2017; Published online (www.cnki.net): June 06, 2017

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAC06B01); 内蒙古自治区高等学校“青年科技英才支持计划”(NJYT-14-A05); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2015MS0035); 内蒙古自治区研究生科技创新项目(S20161012902); 内蒙古农业大学生命科学学院师生协同创新团队项目(SKYTDa2015019, SKYTDb2015020)

*通信作者: Tel: 86-471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

收稿日期: 2017-03-07; 接受日期: 2017-05-08; 网络首发日期(www.cnki.net): 2017-06-06

促进植物适应逆境胁迫方面具有良好的应用潜力。

关键词: 植物根际促生菌, 盐胁迫, 小麦幼苗, *Enterobacter*

Effect of *Enterobacter* sp. FYP1101 on wheat seedling growth under salt stress

XU Fang-Fang¹ YUAN Li-Min² SHAO Yu-Fang¹ FAN Guo-Hua¹ ZHOU Xin-Ai¹
ZHENG Wen-Ling¹ LI Dong-Mei¹ FENG Fu-Ying^{1*}

(1. Institute for Applied & Environmental Microbiology, College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

(2. Inner Mongolia Academy of Forestry Science, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China)

Abstract: [Background] Saline-alkali land area in China is big, wide distributed and diversified, which is mainly distributed in northeast, northwest, north and coastal areas in China. The research in recent years has shown that the bioremediation by inoculation of PGPR can improve resistance of plants to salt stress, increasing the saline-alkali land management. [Objective] To preliminarily discover the growth promoting effect and mechanism of *Enterobacter* sp. FYP1101 on wheat seedling under salt stress, and to provide the theoretical basis for the field application of the strain. [Methods] On medium of phytate-phosphorus, using spread and streak plating technique to isolate; on Ashby medium and inorganic-phosphorus medium, the bacteria of nitrogen-fixation and inorganic-phosphorus-solubilizing were screened preliminarily, then analyzed their abilities for nitrogen-fixation, phytate-phosphorus-solubilizing, inorganic-phosphorus-solubilizing, siderophore-producing, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)-deaminase-producing and indole acetic acid (IAA)-producing; 16S rRNA gene was applied to preliminarily and taxonomically classify the strain FYP1101; plotted wheat under salt stress and conducted 3 treatments (treatment FP, adding particle microbial fertilizer containing FYP1101; treatment NK, adding null particle carrier containing no bacterial inoculant; treatment CK, neither particle microbial fertilizer nor null particle carrier added), then compared the shifts of the growth traits and physiochemical properties of rhizosphere soil of wheat seedlings under salt stress between different treatments. [Results] A total of 96 rhizospheric strains were isolated; one isolate designated by FYP1101 has salt tolerance up to 8%, and showed strong abilities of nitrogen-fixation (nitrogenase activity of 2.59 nmol C₂H₄/(h·mg protein)), phytate-phosphorus-solubilizing (2.70 µg/mL), inorganic-phosphorus-solubilizing (4.29 µg/mL), siderophore-producing (*D/d* ratio of 2.88), ACC-deaminase-activity (7.32 µmol α-butanone/(h·mg protein)) and IAA-producing (24.93 mg/L); based on 16S rRNA gene sequence, strain FYP1101 was classified into the genus of *Enterobacter*; Compared with NK and CK, the wheat inoculated by FP under salt stress showed chlorophyll content and biomass of overground and underground increased markedly (with increments of 19%–54%) and root length also increased markedly (with increments of 46%); the concentration of rhizospheric organic matter and available nitrogen were improved by about 52%–98%, whereas pH slightly decreased (0.12 and 0.17 units) and salinity increased about 40%. [Conclusion] *Enterobacter* sp. FYP1101 has many kinds of plant growth promoting traits. The strain can significantly affect the root establishment of wheat seedling under salt stress, improve the content of nutrition in rhizosphere soil, reduce the absorption of wheat for salt and promote the growth of wheat seedling. This suggests that *Enterobacter* sp. FYP1101 has a great potential in improving the adaptation of plant to stress.

Keywords: Plant growth-promoting rhizobacteria, Salt stress, Wheat seedling, *Enterobacter*

盐碱化会使土壤营养下降、良好的团粒结构遭到破坏,会对植物造成严重的渗透胁迫,严重影响植物的生长发育^[1]。而通过接种耐盐碱微生物可调节缓和胁迫危害,降低盐碱对植物的不利影响,可用于生物改良盐碱土^[1-3]。

小麦是全球主要粮食作物之一,我国的主要产区之一是河套地区,而在河套地区,盐胁迫是影响小麦生产的最重要环境因素之一^[4]。播种于盐渍土壤中的小麦常会出现出苗延迟、生长不整齐等问题^[5];盐胁迫下小麦幼苗生长发育的好坏会直接影响产量和品质^[6]。一些耐盐细菌已经被证实可促进盐胁迫下小麦的生长。例如,鞠向阳等^[7]筛选到17株细菌能够显著促进盐胁迫下小麦种子的发芽,它们分别属于不动杆菌属、芽孢杆菌属、假单胞菌属、鞘脂杆菌科、贪铜菌属、沙雷氏菌属和短小杆菌属;韩坤等^[8]研究发现4种芽孢杆菌(蜡样芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌)均能显著提高盐胁迫下小麦幼苗的干物质重和叶绿素含量,绿针假单胞菌对小麦幼苗株高、根长、鲜重、干重、叶绿素含量的提高也具有一定的作用;Upadhyay等^[9]研究表明芽孢杆菌属能提高盐胁迫下小麦根干重及发芽数;Pourbabaei等^[10]研究表明一株莫哈维芽孢杆菌能显著提高小麦根干重、芽干重及叶绿素含量。荒漠植物根际存在大量肠杆菌属(*Enterobacter*)的耐盐细菌^[11],但这些细菌是否可提高植物耐盐性、促进盐胁迫下植物的生长还有待探索。

本研究从荒漠灌木梭梭的根际土中分离筛选到一株肠杆菌 *Enterobacter* sp. FYP1101。该菌具有较强的耐盐性,具有固氮、解植酸磷、解无机磷、产铁载体、产 IAA 和 ACC 脱氨酶等多种植物促生特性;进一步接种该菌于盐胁迫下的小麦并对其进行分析,以期初步揭示其对盐胁迫下小麦的促生效应和机理,为微生物提高植物适应盐胁迫提供理论依据和实践材料。

1 材料与方法

1.1 梭梭根际土的采集与处理

利用五点法于2015年10月在内蒙古乌拉特梭

梭-蒙古野驴国家自然保护区内采集梭梭根际土,混合均匀,放置于无菌塑料袋中,常温运回实验室备用;根际土采集时先将根部大块土壤抖落,然后用无菌刷将附着在根表面的土壤刷下。

1.2 供试小麦

供试小麦品种永良4号是河套地区主要栽培品种,由内蒙古农业科学院王小兵研究员惠赠。

1.3 主要试剂和仪器及培养基

DL2000 DNA Marker、SYBR Green I 荧光染料,北京全式金生物技术有限公司;常规化学试剂均为国产分析纯,国药集团化学试剂有限公司。PCR仪,德国 Biometra 公司;全自动高温高压灭菌锅,日本 Tomy Kogyo 公司;生物安全柜,苏州安泰空气技术有限公司;恒温光照培养箱,上海精宏实验设备有限公司。

Ashby 培养基(g/L):磷酸二氢钾 0.20、碳酸钙 5.00、硫酸镁 0.20、葡萄糖 10.00、NaCl 0.20、CaSO₄ 0.10、琼脂粉 20.00, pH 8.30。

无机磷培养基(g/L):葡萄糖 10.00、硫酸铵 0.50、氯化钠 10.00、氯化钾 0.30、硫酸镁 0.30、磷酸钙 10.00、硫酸亚铁 0.03、硫酸锰 0.03、琼脂粉 20.00, pH 7.00–7.50。

植酸磷培养基:将2 mL 植酸溶于400 mL 去离子水中,6.00 g 醋酸钙溶于100 mL 去离子水中,缓慢搅拌混匀,将混合液加热至沸腾并不断搅拌,混合液冷却至室温后于4℃过夜,再加入无机磷培养基其他成分定容至1 000 mL, pH 8.00–8.50。

1.4 *Enterobacter* sp. FYP1101 的分离和鉴定

采用传统涂布划线方法,以植酸磷培养基分离培养解植酸磷细菌;获得纯培养物后,通用引物 27F 和 1492R 扩增 16S rRNA 基因^[12],并基于 EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) 分析同源性和确定分类地位;利用两对引物 FGPH19/polR 与 polF/AQER,以巢式 PCR 扩增固氮基因 *nifH*^[13-14];以 BLASTn 寻找一致性高的序列(构建 16S rRNA 基因系统树时选一致性高的模式种序列)作为系统发育分析的参比序列;然后用

MEGA 6.0 软件中的 Muscle 模块基于 Kimura_2 模型以默认参数进行多重序列比对, 用 Neighbor-Joining 法构建系统发育进化树, 分析发育地位, 重复验证数为 1 000^[11]。测序所得的 16S rRNA 基因序列和固氮基因 *nifH* 基因序列均已提交 GenBank, 登录号分别为 KY684230 和 KY710740。

1.5 *Enterobacter* sp. FYP1101 的基本生长性状和促生特性分析

参考 Tang 等^[15]以 R2A 培养基对菌株的生长温度、pH 和盐度等基本生长性状进行分析。

参考杨鸿儒等^[11]对菌株固氮能力、解植酸磷能力、解无机磷能力及产铁载体能力进行分析; 参考 Penrose 等^[16]对菌株 ACC 脱氨酶活性进行分析; 参考 Glickmann 等^[17]对菌株产 IAA 能力进行分析。

1.6 FYP1101 颗粒菌肥的制作

参照本实验室所申请的国家发明专利^[18], 采用秸秆屑、木屑、黏土等以一定比例混合, 接种相应菌株, 压制成颗粒型菌肥。制作含 FYP1101 菌株的颗粒菌肥(3.2×10^8 CFU/g 颗粒菌肥), 不加任何菌制作空载体(空颗粒)。

1.7 小麦种植和盐胁迫处理

小麦盆栽和盐胁迫处理: 设 3 种处理和 5 个重复, 即不施加空载体和颗粒菌肥、施加空载体、施加含 FYP1101 的颗粒菌肥, 3 种处理分别以 CK、NK 和 FP 表示, 空载体和颗粒菌肥施加量均为 3.43 g/盆; 在黑色塑料盆(直径和高度均为 21 cm)中装入土至距盆高 5 cm 处, 施加空载体和颗粒菌肥的处理在盆中央加入相应重量空载体或颗粒菌肥, 均覆土 1 cm; 在盆中央, 每盆分别播种 20 粒饱满的小麦种子, 覆土 2 cm; 每个处理播种 5 盆, 置于温室培养(温度 25 °C, 光/暗周期 14 h/10 h); 每隔 7 d 浇一次 100 mmol/L 的 NaCl 溶液, 每次 50 mL; 出苗后, 继续培养 30 d, 期间适当浇灌晾晒除氯的自来水(叶片出现萎蔫时, 浇灌 300 mL/盆)。

1.8 小麦生长性状及根际土壤理化性质分析

小麦出苗生长 30 d 后, 观察测定小麦形态、出苗率、株高、根长和干重等生长性状指标。分别采集 3 种处理的根际土, 测定其中有机质、速效氮和速效磷含量以及 pH 和盐度大小。根际土采集方法同 1.1, 速效氮等理化性质测试参考李振高等^[19]。

1.9 数据统计分析

数据的统计分析使用 Excel 进行, 方法为单因素方差分析(One-Way ANOVA)和显著极差法(SD), 极显著差异水平 0.01 用大写字母表示, 显著差异水平 0.05 用小写字母表示。

2 结果与分析

2.1 *Enterobacter* sp. FYP1101 的分离和鉴定

采集了荒漠灌木梭梭的根际土壤, 通过在植酸磷培养基上涂布划线, 分离纯化得到 96 株分离物。然后将它们接种于固氮和无机磷培养基(解磷培养基)上观察生长情况。其中一株编号为 FYP1101 的细菌在固氮和解无机磷培养基上生长较迅速, 对其进行了基于 16S rRNA 基因序列的初步分类鉴定。

测序所得 FYP1101 菌株部分 16S rRNA 基因序列长度为 1 409 bp。该序列经 Ez-Taxon 分析表明, 此株细菌的 16S rRNA 基因序列与现有模式菌株路德维希希肠杆菌(*Enterobacter ludwigii*) EN-119^T 的相似性最高, 为 99.72%。系统发育分析结果(图 1)也表明, FYP1101 与 *Enterobacter ludwigii* EN-119^T 菌株亲缘关系最近, 且其在进化树上处于 *Enterobacter* 属模式种进化支之间, 表明该菌株属于 *Enterobacter* 属。

测序所得 FYP1101 菌株 *nifH* 基因片段长度为 286 bp, 与草螺菌属(*Herbaspirillum*)固氮基因 *nifH* 相似度最高, 达到 89%, 表明该菌可能有固氮功能。系统发育分析结果(图 2)表明, FYP1101 的 *nifH* 基因与 *Herbaspirillum seropedicae* DX 35^T 和 *Herbaspirillum* sp. REICA 064^T 菌株亲缘关系最近。

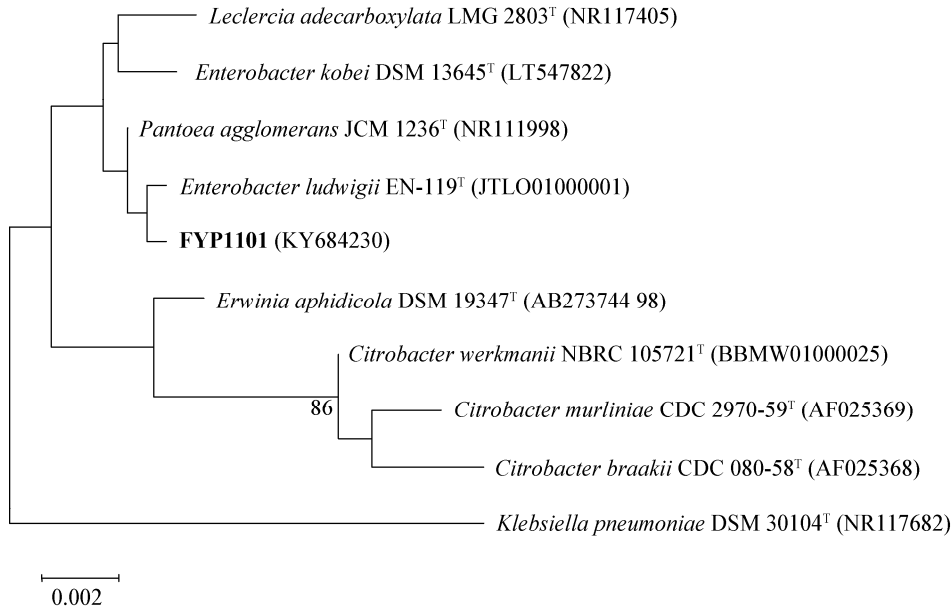


图 1 FYP1101 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育进化树

Figure 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene of FYP1101

注：括号中的序号代表序列 GenBank 登录号；分支点处仅显示大于 70% 的节点值(1 000 次重复抽样的百分比)；0.002 标尺代表序列间分歧度。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Bootstrap values higher than 70% are shown at branching points (expressed as percentages of 1 000 replications); Bar 0.002 represents sequence divergence.

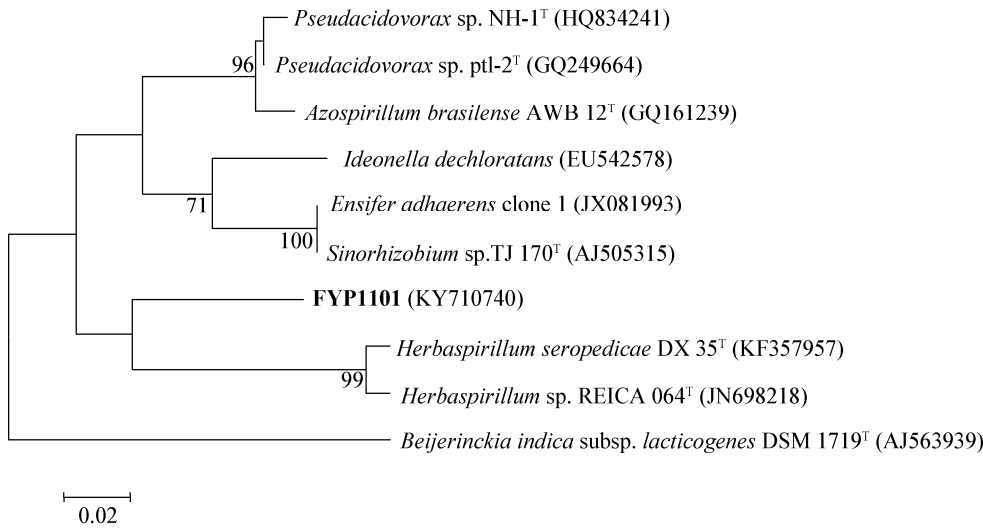


图 2 FYP1101 基于 nifH 基因的系统发育进化树

Figure 2 Phylogenetic tree based on *nifH* gene of FYP1101

注：括号中的序号代表序列 GenBank 登录号；分支点处仅显示大于 70% 的节点值(1 000 次重复抽样的百分比)；0.02 标尺代表序列间分歧度。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Bootstrap values higher than 70% are shown at branching points (expressed as percentages of 1 000 replications); Bar: 0.02 represents sequence divergence.

2.2 *Enterobacter* sp. FYP1101 的基本生长性状和促生特性

对 *Enterobacter* sp. FYP1101 的基本生长性状和促生特性进行分析, 结果表明, FYP1101 的生长温度范围为 4–45 °C (适宜生长温度为 35 °C)、pH 为 4.00–10.00 (适宜生长 pH 6.60), 盐度(NaCl) 为 0–8% (适宜生长盐度为 2%), 说明该菌株有较强的耐盐性, 为耐盐菌且适应范围较宽。其促生特性分析表明, 该菌具有较强的固氮能力[固氮酶活性为 2.59 nmol C₂H₄/(h·mg 蛋白)]、解植酸磷能力(2.70 μg/mL)、解无机磷能力(4.29 μg/mL, 其 pH 由 7.19 降为 4.68)、产铁载体能力(橙色晕圈直径与菌落直径比值 D/d 为 2.88)、ACC 脱氨酶活性[7.32 μmol α-丁酮酸/(h·mg 蛋白)], 同时该菌具有较强的产 IAA 能力, 菌液中 IAA 浓度可达 24.93 mg/L。可见, FYP1101 是具有多种促生特性的菌株。

2.3 *Enterobacter* sp. FYP1101 对盐胁迫小麦生长性状的影响

盐胁迫下小麦幼苗生长 30 d, 株高约 20 cm 时, 对比观察和测定了地上和地下生物量、株高、根长

和叶绿素含量。结果(图 3, 表 1)表明, CK (不施加空载体和颗粒菌肥的处理)与 NK (施加空载体的处理)对盐胁迫下小麦幼苗生长的影响无显著差异; FP 与 CK 和 NK 相比, 株高无显著差异, 地上生物量提高 19%和 38%, 地下生物量提高 54%和 50%, 根长均增长约 46%, 叶绿素含量提高约 52%和 54%; 其中, 除地上干重存在显著差异水平为 0.05 外, 其它均达到了 0.01 极显著差异水平; 另外, 同样播种 20 粒小麦种子, FP 处理比 CK 和 NK 的出苗株数略多, 将生物量折算成单株干重(即以总生物量除以相应株数, 数据未列出)后与整体生物量的变化规律接近。可见, FYP1101 菌株可显著影响盐胁迫下小麦形态, 尤其是根形态的建成。

2.4 *Enterobacter* sp. FYP1101 对盐胁迫小麦根际土理化性质的影响

根际土与植物根部接触紧密, 直接影响植物抗逆性和营养吸收等, 与植物生产性能关系密切。对比了 3 种处理对盐胁迫下小麦幼苗根际土有机质、速效氮、速效磷、pH 和盐度的影响, 表 2 结果表明: 所有处理下的 pH 差异很小(0–0.17); CK 和 NK 的盐度几乎完全相同, FP 的每克干土比 CK 和 NK

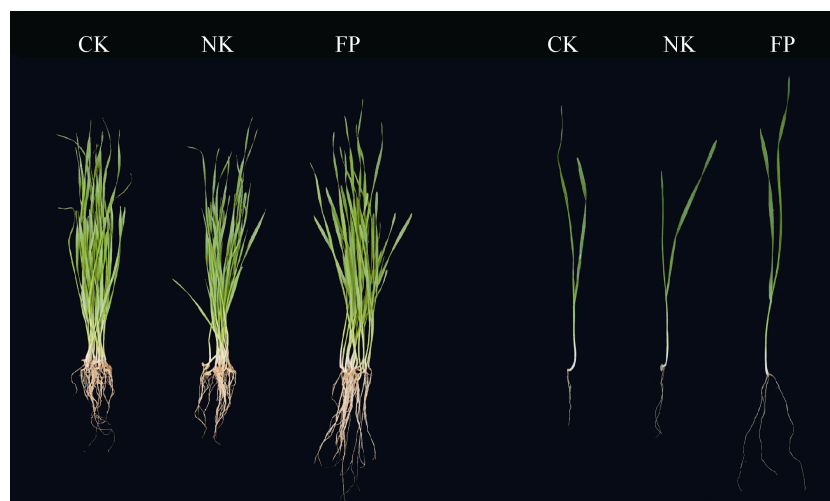


图 3 盐胁迫下小麦植株形态

Figure 3 Plant morphology of wheat under salt stress

注: CK、NK 和 FP 分别代表不施加空载体或颗粒菌肥的空白处理、施加空载体及施加含 FYP1101 的颗粒菌肥。

Note: CK, NK and FP represent the treatments adding neither null-carrier nor microbial fertilizer particle, null-carrier and particle fertilizer contained FYP1101.

表 1 盐胁迫小麦生长性状

Table 1 Growth parameters of wheat under salt stress

处理 Treatments	株数 Number of plants	生物量 Biomass (dry weight, g/plant)		株高 Plant height (cm)	根长 Root length (cm)	叶绿素含量 Chl content (mg/g dry leaf)
		地上	地下			
		Aboveground	Underground			
CK	16.4±2.4 ^a	0.25±0.03 ^b	0.05±0.00 ^B	23.41±1.80 ^a	7.61±1.00 ^B	1.96±0.03 ^B
NK	16.6±2.1 ^a	0.22±0.02 ^b	0.05±0.00 ^B	20.19±2.82 ^b	7.60±1.13 ^B	1.93±0.0 ^B
FP	18.6±0.8 ^a	0.30±0.02 ^a	0.07±0.01 ^A	21.89±1.20 ^{ab}	11.09±0.71 ^A	2.99±0.11 ^A

注: CK、NK 和 FP 分别代表不施加空载体或颗粒菌肥的空白处理、施加空载体和施加含 FYP1101 的颗粒菌肥的处理; 上标 A 和 a 大小写字母分别代表 0.01 和 0.05 差异显著性水平。

Note: CK, NK and FP represent the treatments adding neither null-carrier nor microbial fertilizer particle, null-carrier and particle fertilizer contained FYP1101, respectively; Upper and lower letters in the superscript of A and a indicate significant difference levels of 0.01 and 0.05, respectively.

表 2 盐胁迫小麦根际土壤理化性质

Table 2 Physiochemical properties of rhizospheric soil of wheat under salt stress

处理 Treatments	速效氮 Available nitrogen (mg/kg dry soil)	速效磷 Available phosphorus (mg/kg dry soil)	有机质 Organic matter (g/kg dry soil)	pH	盐度 Salinity (mg/g dry soil)
CK	43.40±2.96 ^B	32.30±2.30 ^A	14.69±0.09 ^C	8.91±0.03 ^a	1.50±0.02 ^a
NK	40.83±1.92 ^B	16.89±0.42 ^C	19.06±2.06 ^B	8.86±0.02 ^{ab}	1.51±0.04 ^{ab}
FP	71.87±0.88 ^A	27.25±1.53 ^B	29.12±1.34 ^A	8.74±0.01 ^b	2.11±0.02 ^b

注: CK、NK 和 FP 分别代表不施加空载体或颗粒菌肥的空白处理、施加空载体和施加含 FYP1101 的颗粒菌肥的处理; 上标 A 和 a 大小写字母分别代表 0.01 和 0.05 差异显著性水平。

Note: CK, NK and FP represent the treatments adding neither null-carrier nor microbial fertilizer particle, null-carrier and particle fertilizer contained FYP1101, respectively; Upper and lower letters in the superscript of A and a indicate significant difference levels of 0.01 and 0.05, respectively.

盐含量高约 0.6 mg; CK、NK 和 FP 处理下每千克干土中有机质含量分别为 14.69、19.06 和 29.12 g, 差异达到了极显著水平($P<0.01$); CK、NK 和 FP 处理下每千克干土中速效磷含量分别为 32.30、16.89 和 27.25 g, 差异达到了极显著水平($P<0.01$); CK 和 NK 每千克干土中的速效氮水平相近, 分别为 43.40 g 和 40.83 g, 显著低于 FP 处理的 71.87 g, 差异达到了极显著水平($P<0.01$)。

3 讨论

Enterobacter 属的许多菌种都具有促进植物生长的作用, 是一类常见的植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)^[20], 耐盐的 PGPR 还可降低盐胁迫对植物的毒害, 提高作物生产性能^[21]。以传统涂布划线方法分离荒漠植物沙冬

青等的根际土壤, 在所得到的 PGPR 中优势类群是 *Enterobacter* spp. 且多具有耐盐特性^[11]。我们从另外一种荒漠灌木梭梭根际土壤中分离 PGPR 时也得到了多株该属的菌, 其中 *Enterobacter* sp. FYP1101 有较高的耐盐性(0–8%)并表现出良好的固氮、解植酸磷、解无机磷、产 IAA、产铁载体和产 ACC 脱氨酶等植物促生特性。除此之外, 其它的一些同属菌株如 *Enterobacter* sp. MDSR9^[22] 还表现出了产 HCN、溶钾和锌等促生特性。这些结果表明, *Enterobacter* spp. 是具有良好应用潜力的 PGPR 菌种。

本研究中将 *Enterobacter* sp. FYP1101 施加到持续盐胁迫下的小麦后, 极显著地改变了小麦的形态建成, 尤其是显著提高了根长和地上地下生物量, 降低了盐胁迫的不利影响。自然条件下, 通过分泌只有微生物可合成的 ACC 脱氨酶降解乙烯合成前

体来调控乙烯浓度, 是 PGPR 促进逆境如盐胁迫下植物生长的重要机制^[23]。而具有 ACC 脱氨酶活性的 *Enterobacter* sp. SBP-6^[24]也明显提高了盐胁迫下小麦的生长性状(株高、根长、地上地下生物量等)。Islam 等^[25]认为 PGPR 促进植物耐盐碱机理与其可提高土壤肥力等有关。*Enterobacter* sp. FYP1101 显著提高了盐胁迫下小麦根际土中有机质和速效氮的含量(最大程度分别提高了 98%和 76%), 但速效磷相比空白对照却降低了 16%。这表明除具有 ACC 脱氨酶活性外, FYP1101 通过提高土壤中有机质和速效氮营养水平可能是其降低盐胁迫对小麦不利影响的原因之一。然而载体主成分(秸秆)降解和其它微生物大量繁殖可能是速效磷有所降低的原因之一, 在施加应用中应考虑适当补充外源磷素。另外, SBP-6^[24]制成液体制剂多次施加于灭菌的土壤中, 排除了土壤中土著微生物的干扰。但本研究中的 FYP1101 菌株是被包裹在主要由秸秆制成的颗粒载体后, 一次性施加到未灭菌的土壤中, 试验方式更近于田间实践, 预示其在大田试验或实践应用中也可能获得良好效果。一些 PGPR 降低盐胁迫的机理之一是阻止 Na^+ 吸收而增加 K^+ 吸收^[19]。FYP1101 的施加也使得盐胁迫下小麦根际土中的盐度增加, 这可能与 FYP1101 降低盐胁迫下小麦 Na^+ 吸收有关。*Enterobacter* 与其它 PGPR 共接种于小麦后, 比单一接种任何一种 PGPR 对小麦生长性状和生产性能的促进都更加显著^[26]。这提示我们, 虽然本研究表明了 FYP1101 可降低盐胁迫对小麦幼苗的不利影响, 对促进小麦生长有较好的应用潜力, 但其对盐胁迫下小麦整个生长周期的生长、产量和品质的影响及其机理等方面还有待更进一步的研究。

4 结论

Enterobacter sp. FYP1101 具有多种植物促生特性, 可影响盐胁迫下小麦幼苗形态的建成, 提高小麦根际土中有机质和速效氮的含量, 降低小麦对盐的吸收, 促进小麦幼苗生长, 在促进植物适应逆境

胁迫方面具有良好的应用潜力。

REFERENCES

- [1] Nabti E, Schmid M, Hartmann A. Application of halotolerant bacteria to restore plant growth under salt stress[A]//Maheshwari DK, Saraf M. Halophiles: Biodiversity and Sustainable Exploitation[M]. Switzerland: Springer, 2015: 235-259
- [2] Shrivastava P, Kumar R. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 22(2): 123-131
- [3] Forni C, Duca D, Glick BR. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria[J]. Plant and Soil, 2017, 410(1/2): 335-356
- [4] Hao YY. Simulation of irrigated hydrological processes and assessment of water productivity in Inner Mongolia Hetao irrigation district[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2015 (in Chinese)
郝远远. 内蒙古河套灌区水文过程模拟与作物水分生产率评估[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015
- [5] Zhao X, Wang LQ, Zhou CJ, et al. Effects of salt stress on germination and emergence of different winter wheat genotypes[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2005, 23(4): 108-112 (in Chinese)
赵旭, 王林权, 周春菊, 等. 盐胁迫对不同基因型冬小麦发芽和出苗的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(4): 108-112
- [6] Chen CS, Xie ZX, Liu XJ. Interactive effects of drought and salt stresses on winter wheat seedlings growth and physiological characteristics of stress-resistance[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(4): 811-816 (in Chinese)
陈成升, 谢志霞, 刘小京. 旱盐互作对冬小麦幼苗生长及其抗逆生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(4): 811-816
- [7] Ju XY. Endophytic bacteria community of *Populus euphratica* oliv and the strains improving the salt tolerance of wheat[D]. Shanghai: Master's Thesis of East China University of Science and Technology, 2014 (in Chinese)
鞠向阳. 胡杨内生细菌的多样性和其中的植物耐盐促生菌[D]. 上海: 华东理工大学硕士学位论文, 2014
- [8] Han K, Tian ZY, Liu K, et al. Effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity in *Kosteletzkya pentacarpos* on wheat salt tolerance[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(2): 212-220 (in Chinese)
韩坤, 田曾元, 刘珂, 等. 具有 ACC 脱氨酶活性的海滨锦葵 (*Kosteletzkya pentacarpos*)内生细菌对小麦耐盐性的影响[J]. 植物生理学报, 2015, 51(2): 212-220
- [9] Upadhyay SK, Singh DP. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment[J]. Plant Biology, 2015, 17(1): 288-293
- [10] Pourbabeai AA, Bahmani E, Alikhani HA, et al. Promotion of wheat growth under salt stress by halotolerant bacteria containing ACC deaminase[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18(3): 855-864
- [11] Yang HR. Diversity and community structure of rhizospheric

- bacteria associated with desert shrubs in the western Ordos[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agriculture University, 2016 (in Chinese)
- 杨鸿儒. 西鄂尔多斯荒漠灌木根际细菌多样性和群落结构的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2016
- [12] Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing[A]//Stackebrandt E, Goodfellow M. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics[M]. New York: John Wiley & Sons, 1991: 115-175
- [13] Gaby JC, Buckley DH. A comprehensive evaluation of PCR primers to amplify the *nifH* gene of nitrogenase[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e42149
- [14] Langlois RJ, LaRoche J, Raab PA. Diazotrophic diversity and distribution in the tropical and subtropical Atlantic ocean[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 7910-7919
- [15] Tang K, Yuan B, Lai QL, et al. *Hymenobacter terrenus* sp. nov., isolated from biological soil crusts[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(12): 4557-4562
- [16] Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Physiologia Plantarum, 2003, 118(1): 10-15
- [17] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796
- [18] Zhang SN, Gong RH, Meng JY, et al. A microbial fertilizer particle, particle carrier and its preparation method: China, 201410451655.0[P]. 2017-02-15 (in Chinese)
- 张胜男, 龚瑞红, 孟建宇, 等. 一种微生物肥料颗粒、颗粒载体及其制备方法: 中国, 201410451655.0[P]. 2017-02-15
- [19] Li ZG, Luo YM, Teng Y. The Research Methods of Soil and Environmental Microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2008 (in Chinese)
- 李振高, 骆永明, 腾应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008
- [20] Jha CK, Aeron A, Patel BV, et al. *Enterobacter*: role in plant growth promotion[A]//Maheshwari DK. Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2011: 159-182
- [21] Shah G, Jan M, Afreen M, et al. Halophilic bacteria mediated phytoremediation of salt-affected soils cultivated with rice[J]. Journal of Geochemical Exploration, 2017, 174: 59-65
- [22] Ramesh A, Sharma SK, Sharma MP, et al. Plant growth-promoting traits in *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens* MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation[J]. Agricultural Research, 2014, 3(1): 53-66
- [23] Pande AM, Kulkarni NS, Bodhankar MG. Effect of PGPR with ACC-deaminase activity on growth performance of wheat cultivated under stress conditions[J]. International Journal of Applied Research, 2016, 2(1): 723-726
- [24] Singh RP, Jha PN. Mitigation of salt stress in wheat plant (*Triticum aestivum*) by ACC deaminase bacterium *Enterobacter* sp. SBP-6 isolated from *Sorghum bicolor*[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(5): 110
- [25] Islam F, Yasmeen T, Arif MS, et al. Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in *Vigna radiata* by up-regulating antioxidant defense and biological soil fertility[J]. Plant Growth Regulation, 2016, 80(1): 23-36
- [26] Kumar A, Maurya BR, Raghuwanshi R, et al. Co-inoculation with *Enterobacter* and rhizobacteria on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under Indo-Gangetic Plain of India[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2017. DOI: 10.1007/s00344-106-9663-5