河南农业科学,2020,49(6):59-63
Journal of Henan Agricultural Sciences
doi:10.15933/j.cnki.1004-3268.2020.06.008

5株解钾菌解钾能力和抗旱效应的比较

冯晓英,周桂雄,吴庆珊,方 正,王玉倩,牛晓娟,翁庆北
(贵州师范大学 生命科学学院,贵州 贵阳 550001)

摘要:为筛选适用于制备干旱地区生物菌肥的解钾菌,以钾长石粉作为唯一钾源,研究5株解钾菌(LG1、LG8、WG33、WG36和WG40)的解钾能力,将5株解钾菌的发酵液接种到玉米幼苗,模拟干旱,研究其对玉米幼苗抗旱性的影响。结果表明,5株菌株都具有一定的解钾能力,大小顺序为WG33>LG1>WG40>WG36>LG8,WG33的解钾能力最强,经过发酵培养后其上清液中可溶性钾含量达到7.73 mg/L。接种5株解钾菌后,进行干旱处理,玉米幼苗株高增幅均大于对照,丙二醛含量降低、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性提高,说明5种解钾菌均可提高玉米幼苗的抗旱性。
关键词:解钾菌;解钾能力;玉米;生长;抗旱效应
中图分类号:S154.36 **文献标志码**:A **文章编号**:1004-3268(2020)06-0059-05

Comparison of Potassium Solubilization Ability and Drought Resistance of Five Potassium-Solubilizing Bacteria

FENG Xiaoying, ZHOU Guixiong, WU Qingshan, FANG Zheng, WANG Yuqian, NIU Xiaojuan, WENG Qingbei
(School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

Abstract: In order to screen potassium-solubilizing bacteria suitable for the preparation of biological fertilizers in arid regions, potassium feldspar powder was used as the sole potassium source, the potassium-solubilizing ability of five bacteria strains (LG1, LG8, WG33, WG36 and WG40) was explored, and an experiment was conducted under simulated drought condition to explore the effects of inoculating fermentation broth on the drought resistance of maize seedlings. Results showed that, all the five strains had potassium-solubilizing ability, sequenced as WG33>LG1>WG40>WG36>LG8, WG33 ranked the first, and the soluble potassium content in the fermentation supernatant reached 7.73 mg/L. Under drought condition, inoculating five potassium-solubilizing bacteria enhanced the plant height of maize seedlings, decreased the MDA content and increased POD, SOD activities, indicating that the five potassium-solubilizing bacteria strains can improve the drought resistance of maize seedlings.
Key words: Potassium-solubilizing bacteria; Potassium-solubilizing ability; Maize; Growth; Drought resistance

钾是植物生长发育所必需的营养元素,含量占干物质质量的0.3%~5.0%,是40多种酶的辅助因子,能促进植物进行光合作用,维持细胞膨压,增强植物的抗逆性[1-2]。植物生长所需的钾元素主要靠根系从土壤吸收。土壤中钾以无效、缓效和有效3种形态存在,其中,无效态钾存在于矿物(岩石),如钾长石和云母中,释放比较缓慢,大部分土壤中能被植物直接吸收利用的有效态钾很少,再加上长期种植高产作物和使用大量配施比例不合理的肥料使土壤中的速效钾减少,土壤表现出缺钾症状[3]。硅酸

收稿日期:2019-11-05
基金项目:贵州省重大科技专项计划([2016]3002);贵州省微生物-植物互作及代谢调控科技创新人才团队/黔科合平台人才项目([2019]5617);贵州省优秀青年科技人才/黔科合平台人才项目([2019]5655)
作者简介:冯晓英(1975-),女,贵州印江人,副教授,博士,主要从事植物营养与环境研究。E-mail:fengxy1975@163.com
通信作者:翁庆北(1975-),女,贵州绥阳人,教授,博士,主要从事资源微生物研究。E-mail:648912965@qq.com

盐细菌又称解钾菌,是从土壤中分离出来的可分化硅铝酸盐和磷灰石类矿物的细菌,能作为微生物肥料。解钾菌能分解钾长石、磷灰石等不溶硅铝酸盐的无机矿物质,施用解钾菌可以将土壤中难溶性的钾溶解出来,增加土壤中钾元素的来源[4-5]。另外,施入解钾菌还可以活化作物根际土壤微生态环境,提高酶活性,促进作物生长发育,达到提高产量、改善品质的效果[6-8]。

本研究首先对前期从金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)分离得到的 5 株内生菌进行解钾能力测试,然后分别将 5 株内生菌的发酵液接种到玉米幼苗,并模拟干旱,在不同干旱处理时期,测定玉米株高、叶片中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)含量,并与清水处理进行比较,旨在探索接种内生菌对提高玉米抗旱性的作用及其生理机制,以期为适合干旱地区的生物肥开发提供依据。

1 材料和方法

1.1 解钾菌解钾能力的测定

1.1.1 菌种的来源 解钾菌 LG1、LG8、WG33、WG36、WG40 均为贵州师范大学生命科学学院从金钗石斛中分离得到的内生细菌[9]。

1.1.2 培养基 LB 培养基:蛋白胨 10.0 g、酵母膏 5.0 g、NaCl 10.0 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 值 7.0。

筛选培养基:NaH_2PO_4 2.0 g、$FeCl_3$ 0.05 g、$MgSO_4·7H_2O$ 0.2 g、葡萄糖 10.0 g、$CaCO_3$ 0.1 g、钾长石粉 1.00 g(去离子水 5 次清洗)、琼脂 20.00 g、去离子水 1 000 mL,pH 值 7.0~7.5。

解钾活性培养基:$CaCO_3$ 0.50 g、葡萄糖 20.00 g、Na_2HPO_4 2.00 g、NaCl 0.10 g、$MgSO_4·7H_2O$ 0.50 g、$(NH_4)_2SO_4$ 1.00 g、酵母膏 0.50 g,pH 值 7.2~7.5,加蒸馏水至 1 000 mL。

1.1.3 菌种活化 将保存的解钾菌接种到 LB 培养基,37 ℃、160 r/min 摇床振荡培养过夜。

1.1.4 解钾能力测试 取解钾活性培养基 100 mL 装于含有 1 g 钾长石粉的 250 mL 三角瓶中,接入菌种,28 ℃、160 r/min 摇床培养 7 d;取培养液 1 000 r/min 离心 10 min,去粗渣;取去粗渣培养液 10 mL,8 000 r/min 离心 10 min;采用火焰分光光度计法测定上清液中可溶性钾含量。每组 3 个平行,对照(CK)组不加菌。

1.2 解钾菌对玉米的抗旱效应测试

试验设置 6 个处理,处理 1 至处理 5 分别用解钾菌 LG1、LG8、WG33、WG36、WG40 发酵液浇灌,处理 6 作为对照(CK)用清水浇灌,每个处理重复 3 次。

将长势一致的三叶期玉米苗,移栽于装有相同质量土壤的盆内,每盆栽 5 株,移栽当天用含有解钾菌的发酵液或相同体积的蒸馏水(对照)浇透,之后停止浇水,模拟干旱。

在停止浇灌后的第 0、7、14、21、28 天,测定玉米幼苗的株高(用皮尺测定),采集玉米叶用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量、用氮蓝四唑(NBT)法测定 SOD 活性和用愈创木酚法测定 POD 活性。

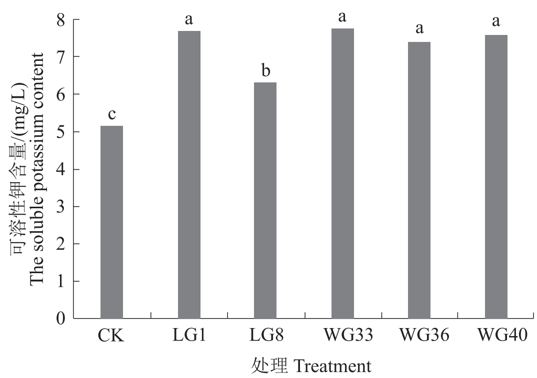
1.3 数据处理

使用 Excel、SPSS 软件对试验结果进行统计和分析。

2 结果与分析

2.1 解钾菌的解钾能力比较

将菌种分别接种到以钾长石粉作为唯一钾源的解钾活性培养基中,培养 7 d 后分别测定发酵上清液中可溶性钾含量。结果表明(图 1),这 5 株菌均表现出了一定的解钾能力,能够分解钾长石粉,释放出可溶性钾供植物吸收利用。未接菌的对照上清液可溶性钾含量为 5.18 mg/L,可能为高温灭菌过程中少数不溶性磷、钾被溶解,以及难溶性磷、钾难以被充分洗涤所致。接种解钾菌后,发酵上清液中可溶性钾含量显著高于对照,含量为 6.34~7.73 mg/L,菌株 LG1、WG33、WG36 和 WG40 的解钾能力较强,发酵上清液可溶性钾含量较对照增加了 43.05%~49.22%,LG8 的可溶性钾含量略低,但较对照也增加了 22.39%。5 种解钾菌的解钾能力大小顺序为 WG33>LG1>WG40>WG36>LG8。



不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)

Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments(P<0.05)

图 1 解钾菌发酵上清液中可溶性钾的含量

Fig. 1 The soluble potassium content in the fermentation supernatant of potassium-solubilizing bacteria

2.2　模拟干旱条件下解钾菌对玉米幼苗株高的影响

在模拟干旱条件下,研究 5 株解钾菌(LG1、LG8、WG33、WG36 和 WG40)对玉米幼苗株高的影响。从表 1 可以看出,干旱条件下未接种解钾菌的玉米幼苗生长非常缓慢,第 28 天时株高仅增长了 0.34 cm,而接种了解钾菌后,株高均明显增加,株高增加量为 2.47~4.46 cm,其中,接种解钾菌 WG36 的玉米幼苗,第 28 天时株高达 13.56 cm,增加量(4.46 cm)是对照玉米幼苗增加量的 13.12 倍。

表 1　模拟干旱条件下不同解钾菌对玉米幼苗株高的影响

Tab. 1　Effects of different potassium-solubilizing bacteria on the plant height of maize seedling under simulated drought condition

cm

处理 Treatment	干旱处理时间/d Drought condition time					增长量 Amount of growth
	0	7	14	21	28	
CK	8.70	8.81	9.00	9.03	9.04	0.34
LG1	9.70	10.80	11.03	11.64	12.26	2.56
LG8	9.30	10.20	11.50	12.27	12.87	3.57
WG33	7.80	8.70	9.70	10.34	11.28	3.48
WG36	9.10	11.50	12.50	13.02	13.56	4.46
WG40	8.75	9.30	10.08	10.91	11.22	2.47

2.3　模拟干旱条件下解钾菌对玉米抗旱指标的影响

2.3.1　玉米幼苗内 MDA 含量　植物器官在衰老或逆境胁迫时,会发生膜脂过氧化作用,MDA 是终产物之一,其含量越高,植物的抗逆性越弱[10]。从图 2 可知,在模拟干旱条件下玉米幼苗内 MDA 含量随着干旱处理时间增加而增加。对照的玉米幼苗内 MDA 含量在干旱处理 28 d 时达到了 48.10 μmol/g。而接种了解钾菌的玉米幼苗内 MDA 含量虽然也随着干旱处理时间的增加而增加,但与对照相比,其 MDA 含量均明显低很多。尤其是接种解钾菌 WG40 的玉米幼苗,其 MDA 含量在 28 d 时为 33.11 μmol/g,比对照低 14.99 μmol/g,这表明玉米幼苗的抗旱性得到了增强。

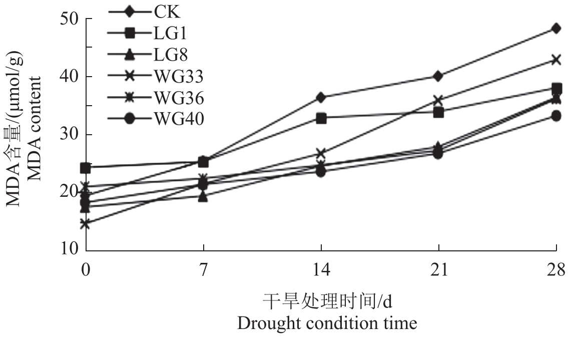


图 2　模拟干旱条件下不同解钾菌对玉米幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 2　The effects of different potassium-solubilizing bacteria on MDA content of maize seedling under simulated drought condition

2.3.2　玉米幼苗内 SOD 活性　SOD 是生物体内清除自由基的首要物质,干旱条件下,植物体内 SOD 活性越高,其抗旱能力越强[11]。从图 3 可知,随着干旱处理时间的增加,SOD 活性表现为先增加后降低。干旱处理 14 d 后,对照玉米幼苗内 SOD 活性急剧降低,而接种了解钾菌的玉米幼苗内 SOD 活性则会增加,并在 21 d 左右再次达到一个高峰。从图中可以看出,接种了 WG36 的玉米幼苗内 SOD 活性在 21 d 时最高,为 381 U/g。在干旱处理 28 d 时,对照玉米幼苗内 SOD 活性为 143 U/g,而接种解钾菌的玉米幼苗内 SOD 活性均明显高于对照。

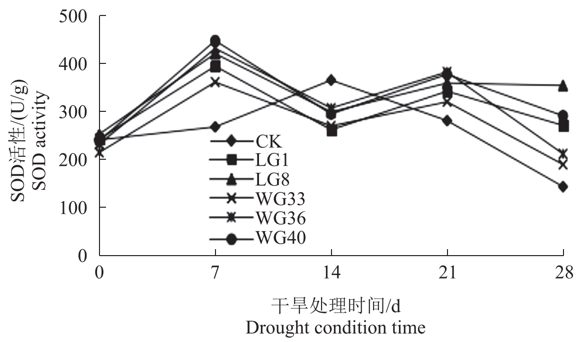


图 3　模拟干旱条件下不同解钾菌对玉米幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 3　The effects of different potassium-solubilizing bacteria on SOD activity of maize seedling under simulated drought condition

2.3.3　玉米幼苗内 POD 活性　POD 酶广泛存在于植物体中,与呼吸作用、光合作用等都有关系。在干旱条件下,POD 活性越高,说明植物耐旱的能力越强[12]。图 4 所示的是模拟干旱条件下,接种了不同解钾菌后的玉米幼苗内 POD 活性的变化情况。从图 4 可以看出,随着干旱处理时间的延长,POD 活性呈现先升高后下降的趋势。在干旱处理 14 d 时达最高,并且接种解钾菌的玉米幼苗内 POD 活性均高于对照。在干旱处理的第 28 天,对照玉米幼苗内

POD 活性为 37 U/(g·min),而接种解钾菌 WG40、WG36、WG33 的玉米幼苗内 POD 活性较对照均有所增加,其中,接种 WG40 的玉米幼苗内 POD 活性较对照增加了 18.92%。

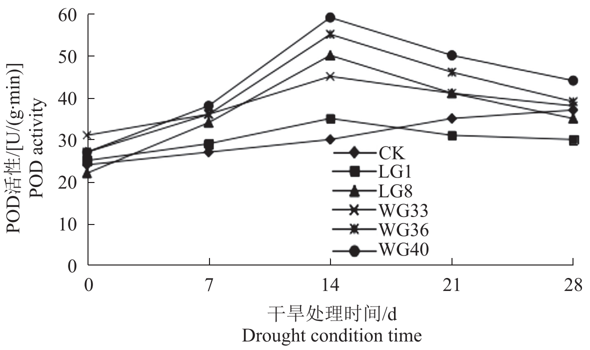


图 4 模拟干旱条件下不同解钾菌对玉米幼苗 POD 活性的影响

Fig. 4 The effects of different potassium-solubilizing bacteria on POD activity of maize seedling under simulated drought condition

3 结论与讨论

解钾菌能够将存在于土壤矿物中的无效态钾解离活化,提高土壤钾的有效性,进而促进植物生长、达到提高作物产量和品质的目的。万兵兵等[13]研究表明,接种解钾菌和解磷菌,可以提高烤烟土壤有效磷、有效钾的含量。张礼等[14]研究表明,细茎石斛内生菌具有解钾能力,能增加植物对钾的吸收,促进石斛的生长。马娜等[15]研究表明,解钾菌可以促进土壤养分转化,提高马铃薯产量,改善其品质。在本研究中,用钾长石为唯一钾源的培养基,培养 5 种解钾菌,结果显示,上清液中可溶性钾含量均明显高于对照,说明 5 种解钾菌都可以解离活化钾长石中的矿物钾。

大量研究表明,钾元素可以提高植物的抗旱性[16-17],同时也有报道表明,接种解钾菌一定程度上也能增强植物的抗旱能力[18-19]。高阳等[20]研究结果表明,在干旱胁迫下,接种金钗石斛内生菌可促进玉米种子的萌发。本研究所用的 LG1、LG8、WG33、WG36、WG40 5 株解钾菌,是从金钗石斛中分离得到的内生菌,通过解钾能力测试,都具有一定的解钾能力,其中菌株 WG33 表现的解钾能力最强。将 5 种解钾菌接种到玉米幼苗,并对其进行干旱处理,结果显示,干旱处理 28 d 后,均能促进玉米幼苗株高的增加,与前人的研究结果一致[21]。接种 5 株解钾菌同时可降低玉米幼苗 MDA 的含量,在一定程度上可以降低干旱对玉米细胞膜的破坏,同时玉米幼苗 SOD、POD 活性得到一定提高,降低活性氧对玉米幼苗的伤害,提高玉米幼苗的抗旱能力。

参考文献:

[1] 魏永胜,梁宗锁.钾与提高作物抗旱性的关系[J].植物生理学通讯,2001,37(6):576-580.
WEI Y S,LIANG Z S. Relationship between potassium and drought resistance of crops[J]. Plant Physiology Communications,2001,37(6):576-580.

[2] 靳容,张爱君,史新敏,等.干旱胁迫下钾对甘薯幼苗光合特性及根系活力的影响[J].江苏农业学报,2014,30(5):992-996.
JIN R,ZHANG A J,SHI X M,*et al*. Photosynthetic characteristics and root activity of drought-stressed sweet potato exposed to potassium[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences,2014,30(5):992-996.

[3] 黎玉国,刘光金.土壤中钾的存在形态及缓效钾的测定[J].云南农业,2014 (1): 45-46.
LI Y G,LIU G J. The form of potassium in soil and the determination of slow-release potassium[J]. Yunnan Agriculture,2014 (1): 45-46.

[4] 张梦旭,杨少峰,曾凡海,等.钾细菌的解钾机制及在烟草生产上的应用[J].福建农林大学学报(自然科学版),2017,46(4):373-378.
ZHANG M X,YANG S F,ZENG F H,*et al*. Potassium-releasing mechanism of potassium solubilizing bacteria and its application on tobacco production[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition),2017,46(4):373-378.

[5] 任丽丽,李玉玺,陈阳.硅酸盐细菌解钾作用研究进展[J].实验科学与技术,2015,13(2):209-211.
REN L L,LI Y X,CHEN Y. Research progress on silicate bacteria potassium releasing[J]. Experiment Science and Technology,2015,13(2):209-211.

[6] 党雯,郜春花,张强,等.解钾菌的研究进展及其在农业生产中的应用[J].山西农业科学,2014,42(8): 921-924.
DANG W,GAO C H,ZHANG Q,*et al*. Research progress of silicate bacteria and its application in agricultural production[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences,2014,42(8):921-924.

[7] 尚海丽,毕银丽,彭苏萍,等.解钾细菌与黏土矿物协同促进玉米生长提高土壤养分有效性[J].农业工程学报,2016,32(12):129-135.
SHANG H L,BI Y L,PENG S P,*et al*. Synergistic effect of releasing potassium bacteria and clay minerals improving maize growth and soil nutrients availability[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering,2016,32(12):129-135.

[8] 刘晓倩,杜杏蓉,谭玉娇,等.增施不同配比解磷菌、解钾菌生物菌肥对烤烟生长发育和根际土壤酶活性的影响[J].云南农业大学学报(自然科学版),2019,34(5):845-851.

LIU X Q,DU X R,TAN Y J,*et al*. The effects of different ratios between phosphate-solubilizing bacteria and potassium-solubilizing bacteria fertilizers on the flue-cured tobacco growth and the enzyme activities in the rhizospheric soil[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition),2019,34(5):845-851.

[9] 吴庆珊,雷珣,雷友梅,等.金钗石斛内生细菌的组成和多样性分析[J].植物资源与环境学报,2018,27(1):79-90.
WU Q S,LEI X,LEI Y M,*et al*. Analyses on composition and diversity of endophytic bacteria in *Dendrobium nobile*[J]. Journal of Plant Resources and Environment,2018,27(1):79-90.

[10] 王娅玲,李维峰.干旱胁迫对植物生长及其生理的影响概述[J].南方农业,2015,9(6):37-39.
WANG Y L,LI W F. Review of the effects of drought stress on plant growth and physiology[J]. South China Agriculture,2015,9(6):37-39.

[11] 季杨,张新全,彭燕,等.干旱胁迫对鸭茅根、叶保护酶活性、渗透物质含量及膜质过氧化作用的影响[J].草业学报,2014,23(3):144-151.
JI Y,ZHANG X Q,PENG Y,*et al*. Effects of drought stress on lipid peroxidation,osmotic adjustment and activities of protective enzymes in the roots and leaves of orchardgrass[J]. Acta Prataculturae Sinica,2014,23(3):144-151.

[12] 彭亮,杨冰月,张岗,等.干旱胁迫对远志种子萌发及幼苗生长和生理特性的影响[J].西北植物学报,2018,38(4):741-749.
PENG L,YANG B Y,ZHANG G,*et al*. Seed germination and seedling growth physiological characteristics of *Polygala tenuifolia* Willd. under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2018,38(4):741-749.

[13] 万兵兵,刘晔,吴越,等.烟草根际解磷解钾菌的筛选鉴定及应用效果研究[J].河南农业科学,2016,45(9):46-51.
WAN B B,LIU Y,WU Y,*et al*. Screening,identification of phosphate- and potassium-solubilizing PGPR and its promoting effect on tobacco[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences,2016,45(9):46-51.

[14] 张礼,童文君,薛庆云,等.细茎石斛内生和根围细菌多样性及促生能力分析[J].植物资源与环境学报,2015,24(3):32-40.
ZHANG L,TONG W J,XUE Q Y,*et al*. Analyses on diversity and plant-growth-promoting ability of endophytic and rhizosphere bacteria of *Dendrobium moniliforme*[J]. Journal of Plant Resources and Environment,2015,24(3):32-40.

[15] 马娜,李嵩,孙涛,等.钾细菌对土壤养分转化强度及马铃薯品质的影响[J].中国马铃薯,2016,30(4):218-224.
MA N,LI S,SUN T,*et al*. Effects of potassium bacteria on soil nutrient transformation and potato quality[J]. Chinese Potato Journal,2016,30(4):218-224.

[16] 王昕慧,孙晓阳,李勋,等.钾素增强干旱胁迫下草地早熟禾生理耐性的机制[J].中国草地学报,2018,40(4):23-29.
WANG X H,SUN X Y,LI X,*et al*. Mechanism of potassium application for increasing physiological tolerance of kentucky bluegrass under drought stress[J]. Chinese Journal of Grassland,2018,40(4):23-29.

[17] 李静静,李炜,陈雅君,等.钾素改善干旱胁迫下早熟禾的形态及相关生长指标[J].草业科学,2016,33(7):1285-1290.
LI J J,LI W,CHEN Y J,*et al*. Potassium improves morphology and charactersistics of *Poa pratensis* under drought stress[J]. Pratacultural Science,2016,33(7):1285-1290.

[18] 刘国华,徐超,张俊.铁皮石斛优良共生菌的抗旱机理[J].林业工程学报,2015,29(2):41-44.
LIU G H,XU C,ZHANG J. The mechanism of drought resistance on mycorrhizal fungi inoculated on *Dendrobium officinale*[J]. Journal of Forestry Engineering,2015,29(2):41-44.

[19] 武利勤,顾海科,王青,等.石斛内生甲基营养芽胞杆菌的拮抗和促生作用研究[J].生物技术通报,2016,32(8):200-206.
WU L Q,GU H K,WANG Q,*et al*. Antagonistic efficacy and growth-promoting effect of *Bacillus methylotrophicusi* solated from *Dendrobium huoshanense*[J]. Biotechnology Bulletin,2016,32(8):200-206.

[20] 高阳,朱双丽,吴庆珊,等.金钗石斛 IAA 内生细菌筛选及对干旱胁迫下玉米种子萌发的影响[J].种子,2017,36(4):36-41.
GAO Y,ZHU S L,WU Q S,*et al*. Screening of IAA producing endophytic bacteria in *Dendrobium nobile* Lindl. and effect on *Zea mays* seed germination under drought Stress[J]. Seed,2017,36(4):36-41.

[21] 陈易,程永毅,郭涛,等.一株具紫色土亲和性解钾菌的筛选及促生效应[J].西南大学学报(自然科学版),2016,38(5):58-65.
CHEN Y,CHENG Y Y,GUO T,*et al*. Screening and identification of a potassium-solubilizing bacterium strain with affinity for purplish soil and its plant-promoting effects[J]. Journal of Southwest University(Natural Science Edition),2016,38(5):58-65.