

VA 菌根菌与重氮营养醋杆菌双接种对超甜玉米生长的影响

蔡宣梅, 张秋芳, 郑伟文

(福建省农业科学院生物技术中心, 福建 福州 350003)

摘要: 采用盆栽试验研究 VA 菌根菌 (Gm)、重氮营养醋杆菌 *Pal₅* 菌株单接种及双接种对超甜玉米生长、磷营养和菌根侵染率的影响, 结果表明, Gm 单接种可显著提高玉米菌根侵染率, *Pal₅*+Gm 双接种可极显著提高玉米菌根侵染率; 无论 Gm、*Pal₅* 单接种或 *Pal₅*+Gm 双接种均能改善植株磷素营养, 促进玉米生长, 生物产量和单果重增加; 双接种在提高菌根侵染率、促进植株生长方面表现出一定的正交互效应; 生物产量喇叭口期为 *Pal₅*+Gm > *Pal₅* > Gm > CK, 采收期为 *Pal₅*+Gm > Gm > *Pal₅* > CK。

关键词: VA 菌根菌; 重氮营养醋杆菌; 接种; 超甜玉米

中图分类号: S 154.381

文献标识码: A

Effect of VA mycorrhizal fungi and *Acetobacter diazotrophicus* on the growth of super sweet corn

CAI Xuan-mei, ZHANG Qiu-fang, ZHENG Wei-weng

(Biotechnology Center, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: Pot experiment was carried out to study the effects of dual inoculation of a species of VA mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and the species of *Acetobacter diazotrophicus* (*Pal₅*) on growth, phosphorus uptake and mycorrhizal infection rate of super sweet corn. The results showed that mycorrhizal infection of single inoculation (Gm) has been improved, but the effect of double inoculation of *Pal₅*+Gm was more than that of the single inoculants Gm. So both the single or double inoculation could change the uptake of phosphorus, promote the growth of corn, and increase the biomass and the fruit weight. The double inoculation had positive reciprocal effects on the mycorrhizal infection and the plant growth. The biomass order was *Pal₅*+Gm > *Pal₅* > Gm > CK in the prophase, but that changed as *Pal₅*+Gm > Gm > *Pal₅* > CK in the latter stage.

Key words: VA mycorrhizal fungi; *Acetobacter diazotrophicus*; Inoculation; Super sweet corn

VA 菌根是一种菌根真菌与植物根系的共生体, 能促进植株对土壤中矿质磷的吸收。菌根菌对植物生育的促进作用, 近年来逐渐受到人们的关注。重氮营养醋杆菌 (*Acetobacter diazotrophicus*) 也称作固氮醋杆菌^[1~4], 是 20 世纪 80 年代末从巴西和乌拉圭等地甘蔗中分离出来的、具有固氮功能的植物内生细菌^[5]。该菌主要存在甘蔗、甘薯及甜高粱等含糖量较高的作物体内, 在还原糖含量 10% 左右的植株中生长最好。近年来国内外对 VA 菌根菌与根瘤菌、固氮菌或其它有益微生物, 如某些放线菌、假单胞杆菌的双接种进行了很多研究, 普遍认为能带来明显的增产效果^[6~8], 但 VA 菌根菌与重氮营

养醋杆菌双接种的研究国内外未见报道。本文通过 VA 菌根菌与重氮营养醋杆菌双接种对超甜玉米生长效应影响的研究, 以探讨 VA 菌根菌与重氮营养醋杆菌双接种在生产上应用的可能性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试作物为超甜玉米超甜单 10 号; 供试 VA 菌根菌为漏斗孢球囊霉菌 (*Glomus mosseae*, 简称 Gm, 取自本中心植物与微生物相互作用实验室), 预先经三叶草盆栽繁殖, 用含有足够真菌孢子、根外菌丝、被感染植物根段的根际土壤混合物作为菌根菌菌

收稿日期: 2003-06-15 初稿; 2003-12-02 修改稿

作者简介: 蔡宣梅 (1969-), 女, 助理研究员, 主要从事生物技术应用与植物营养方面的研究。

通信作者: 郑伟文 (1943-), 男, 研究员, 主要从事微生物分子生物学研究 (E-mail: Bcfaas 01@yahoo.com.cn)。

基金项目: 福建省科技厅中-瑞合作项目 (99I9)。

剂;供试重氮营养醋杆菌为 Pal₅ 菌株(由郑伟文研究员从瑞典斯德哥尔摩大学引进),将活化后的 Pal₅ 接入 DYGS 培养液中,于 28℃ 摇床上培养 24 h,离心,移液,并用 5% 蔗糖稀释 10 倍,做为菌剂备用。DYGS 培养基组成(单位: g · L⁻¹): dextrose 2.0、peptone 1.5、yeast extract 2.0、K₂HPO₄ 0.5、MgSO₄ · 7H₂O 0.5、L-glutamic acid 1.5, pH 值为 6~6.5^[9]。

1.2 试验方法

玉米种子播种前在超净工作台上用 75% 酒精浸 30 s,用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min,再用无菌水洗 4 遍,在 28℃ 下催芽,至胚根长出后播在蛭石和珍珠岩混合的基质中进行育苗,选取苗龄 10 d、大小一致的植株定植于 210 mm × 250 mm 的白色塑料钵中,每盆装风干的水稻土 10 kg(土壤质地为轻壤土,碱解氮、速效磷、速效钾含量分别为 210 mg · kg⁻¹、91 mg · kg⁻¹、81.76 mg · kg⁻¹,有机质为 28 g · kg⁻¹,pH 值为 5.22),设 4 个处理,每处理 15 盆,每盆 1 株,采取完全随机排列。菌剂用量和接种处理为:处理 1,每盆 10 ml Pal₅ 菌液和 60 g 灭过菌的 Gm 菌剂(Pal₅);处理 2,每盆 60 g Gm 菌剂和 10 ml Pal₅ 菌液(Pal₅+Gm);处理 3,每盆 60 g Gm 菌剂和 10 ml 灭过菌的 Pal₅ 菌液(Gm);对照(CK),每盆 60 g 灭过菌的 Gm 菌剂和 10 ml 灭过菌的 Pal₅ 菌液。施用方法是在定植时将 Gm 菌剂与盆中土壤拌匀,Pal₅ 菌液浇灌在根际周围。6 月 12 日移栽,分别于拔节期(7 月 4 日)、抽雄期(7 月 27 日)测量玉米株高及叶片大小等生长情况,在喇叭口期、采收期考查植株生物量及对 N、P 的吸收量,喇叭口期测定了叶片叶绿素含量,结果经生物学统计分析。采收期测定菌根侵染率。

1.3 取样与测定方法

VA 菌根侵染率按 Phillips & Hayman 方法镜检。将根系取出洗净后,每处理至少随机取 100 段根,计算菌根侵染率。菌根侵染率(%) = (侵染 VA 菌的根段数/取样根段数) × 100。

植株含磷量测定用钒钼黄比色法,含氮量测定用凯氏定氮法。每处理随机取 5 株,将每株的倒 5 叶和根分别烘干,剪细,分别测定,测定后取 5 株平均值。

叶绿素含量测定用 Arnon 方法^[10]。每处理随机取 5 株,将每株的倒 5 叶剪细,称重时随机取样,测定后取 5 株平均值。

2 结果与分析

2.1 不同接种处理对菌根侵染率的影响

据采收期测定,3 种接种处理菌根侵染率均显著或极显著高于 CK。其中,Gm+Pal₅ 双接种菌根侵染率极显著高于单接种的 2 个处理,显示出 Pal₅ 与 Gm 双接种对菌根侵染率有正交互效应,说明 Pal₅ 对 VA 菌根的侵染具有促进作用(表 1)。

表 1 采收期不同接种处理对菌根侵染率的影响
Table 1 Effect of inoculation treatments on mycorrhizal infection rate of super sweet corn in harvest

处理	菌根侵染率 (%)
CK	17.72 d D
Pal ₅	20.36 c CD
Pal ₅ +Gm	63.18 a A
Gm	44.87 b B

注:SSR 法检验,不同小写英文字母表示差异达 5% 显著水平,大写英文字母表示差异达 1% 显著水平(下同)。

2.2 不同接种处理对玉米植株生长的影响

从接种 22 d 后的玉米株高测定结果显示,Gm 单接种或 Pal₅+Gm 双接种对植株生长具有一定的促进作用,株高均显著高于对照,而 Pal₅ 单接种株高与对照相差不大。接种 45 d 后,只有 Pal₅+Gm 双接种的处理 2 植株显著高于对照,Pal₅ 或 Gm 单接种处理的株高与对照相比没有显著差异。可见,VA 菌根菌对玉米前期生长有一定的促进作用,后期其促生长作用明显削弱,而 Pal₅ 与 Gm 双接种至抽雄期对株高的生长仍有明显的促进作用,显示出一定的正交互效应。从植株叶片数来看,双接种与单接种均有一定的促进作用,其效果大小为 Pal₅+Gm > Pal₅ > Gm。双接种的植株叶面积增大更明显,以倒 5 叶为例,接种 22 d 后叶面积为 395.5 cm²、对照为 370.9 cm²,比增 6.6%;接种 45 d 后叶面积为 562.6 cm²、对照为 506.0 cm²,比增 11.2%(表 2)。

2.3 不同接种处理对玉米生物量的影响

试验结果表明,不同接种处理均对玉米的生物量有促进作用,总生物量喇叭口期 Pal₅+Gm > Pal₅ > Gm > CK,采收期 Pal₅+Gm > Gm > Pal₅ > CK。可见,Pal₅ 对玉米生物量的影响主要表现在营养生长期,而 Gm 的作用相对长久。地上部生物量的变化特点与之相似。从地下部鲜重看,VA 菌根对玉米根

系的生长有很强的促进效应,尤其在生育后期。单果重以 Gm 接种和 Gm+Pal₅ 双接种最好, Pal₅ 接种次之,三者均高于对照,增产 34.5%~37.7% (表 3)。

表 2 不同接种处理对玉米植株生长的影响

Table 2 Effect of inoculation treatments on plant growth of super sweet corn

处理	株高(cm)		叶片数(片)		倒 5 叶叶长(cm)		倒 5 叶叶宽(cm)	
	拔节期	抽雄期	拔节期	抽雄期	拔节期	抽雄期	拔节期	抽雄期
CK	81.167b	124.240b	8.583	14.200	64.417	65.880	5.758	7.680
Pal ₅	81.757b	127.180b	9.286	14.900	65.064	67.950	5.779	7.370
Pal ₅ +Gm	85.200a	132.290a	9.154	15.200	67.923	70.330	5.823	8.000
Gm	85.129a	125.636b	8.750	14.727	69.079	69.145	5.707	7.818

注:拔节期为 7 月 4 日,抽雄期为 7 月 27 日。

表 3 不同接种处理对玉米生物量的影响

Table 3 Effect of inoculation treatments on fresh weight of super sweet corn

处理	总生物量(g·株 ⁻¹)		地上部鲜重(g)		地下部鲜重(g)		冠根比		采收期单果重(g)
	喇叭口期	采收期	喇叭口期	采收期	喇叭口期	采收期	喇叭口期	采收期	
CK	274.00	356.30	206.67	241.60	67.33	114.70	3.07	2.11	49.60
Pal ₅	293.33	410.48	225.30	294.98	68.00	115.50	3.31	2.55	66.70
Pal ₅ +Gm	319.67	431.07	231.67	310.40	88.00	120.67	2.63	2.57	68.20
Gm	283.33	429.80	208.33	302.90	75.00	126.90	2.78	2.39	68.30

注:喇叭口期为 7 月 19 日,采收期为 8 月 20 日(表 5 同此)。

2.4 不同接种处理对玉米叶片叶绿素含量的影响

在玉米喇叭口期测定各处理叶片叶绿素含量的结果显示,不论是总叶绿素还是叶绿素 a 或叶绿素 b,均是以接种 Gm 的最高, Pal₅+Gm 双接种的与对照相近,接种 Pal₅ 的反而低于对照。其原因可能是 Gm 的解磷作用增加植株对磷的吸收,而磷在一定程度上促进叶绿素的合成。由于接种处理后植株叶片生长量均明显增大,尽管 Pal₅ 单接种的叶片叶绿素含量略低于 CK,但 3 个处理的叶片叶绿素总量均比 CK 为高 (表 4)。

表 4 不同接种处理叶片叶绿素含量比较

Table 4 Effect of inoculation treatments on content of chlorophyll in super sweet corn

处理	叶绿素 (mg·g ⁻¹)	叶绿素 a (mg·g ⁻¹)	叶绿素 b (mg·g ⁻¹)
	喇叭口期	喇叭口期	喇叭口期
CK	2.944	2.269	0.675
Pal ₅	2.862	2.204	0.597
Pal ₅ +Gm	2.948	2.288	0.673
Gm	3.226	2.517	0.709

2.5 不同接种处理对植株氮、磷含量的影响

从表 4 看出,在玉米喇叭口期,3 个接种处理的叶片含磷量均不同程度高于对照,尤以 Pal₅+Gm 双接种的效果最好,而采收期只有双接种的处理叶片保持较高的含磷量,其余 2 个处理的叶片含磷量大为下降,甚至低于对照。从根部含磷量来看,接种 Gm 和 Pal₅ 均增加了玉米根系磷的吸收量,根部总磷量为 Gm>Pal₅+Gm>Pal₅>CK。

表 5 不同接种处理对植株不同部位磷含量的影响

Table 5 Effect of inoculation treatments on phosphorus content of super sweet corn

处理	叶片含磷(%)		根部含磷(%)		根部总磷(g·株 ⁻¹)	
	喇叭口期	采收期	喇叭口期	采收期	喇叭口期	采收期
CK	0.295	0.474	0.258	0.176	0.174	0.202
Pal ₅	0.387	0.459	0.289	0.239	0.196	0.276
Pal ₅ +Gm	0.404	0.553	0.231	0.256	0.203	0.309
Gm	0.323	0.412	0.357	0.292	0.268	0.371

注:叶片含磷量为倒第 5 叶的测定数据。

表6 采收期不同接种处理对植株不同部位氮含量的影响

Table 6 Effect of inoculation treatments on nitrogen content of super sweet corn in autumn

处理	叶片含氮量 (%)	根部含氮量 (%)
CK	0.332 b	0.332 c
Pal ₅	0.386 ab	0.457 b
Pal ₅ +Gm	0.450 a	0.386 bc
Gm	0.365 b	0.580 a

注:叶片含氮量为倒第5叶的测定数据。

从表6看出,在超甜玉米采收期,Pal₅+Gm 双接种的叶片含氮量显著高于对照和单接种 Gm 的处理,单接种 Pal₅ 和单接种 Gm 的叶片含氮量与对照均无显著差异;值得注意的是,植株根部含氮量却以接种 Gm 的最高,接种 Pal₅ 的次之,两者均显著高于对照,而 Pal₅+Gm 双接种的根部含氮量反而与对照无显著差异,这一点有待进一步验证。

3 小结与讨论

3.1 利用 VA 菌根菌 Gm 及重氮营养醋杆菌 Pal₅ 对超甜玉米双接种可以极显著地提高超甜玉米的菌根侵染率,其叶片氮、磷含量增加,根部磷素营养改善,从而促进玉米生长,株高增加,地上部生物量增大,单果重提高。双接种在提高菌根侵染率、促进植株生长方面表现出一定的正交互效应,这与李晓鸣^[6]研究大豆双接种的结论:“VA 菌根和根瘤菌双接种效果优于单接种”有相同的趋势。秦芳玲等^[7]在红三叶草、刘江等^[4]在烟草上的试验均观察到 VA 菌根菌与其他有益菌双接种的正交互效应。

3.2 Gm 和 Pal₅ 单接种均可以改善玉米根际氮、磷营养,提高玉米根部氮、磷含量,对促进玉米生长、

增加玉米生物产量和单果重有一定的促进作用。Pal₅ 对地上部生长的促进作用更明显,且主要表现在生长前期,后期明显削弱,而 Gm 对地下部生长的促进作用更明显,作用持续长久。

3.3 无论是单接种或双接种 Gm、Pal₅,均可以提高超甜玉米的菌根侵染率,并促进玉米对磷素的吸收,尤以双接种的效果为佳。所以,在缺磷或低磷的土壤中可以考虑推广 Gm、Pal₅ 菌双接种技术,以提高土壤中难溶性磷的利用率。

参考文献:

- [1] 宋亚娜,郑伟文. 甘薯组培苗接种固氮醋酸杆菌的初步研究 [J]. 福建农业学报, 2001, 16 (1): 49-53.
- [2] 张秋芳,郑伟文,宋铁英,等. 超甜玉米中重氮营养醋杆菌的 PCR 检测研究 [J]. 福建农业学报, 2002, 17 (3): 178-181.
- [3] 张秋芳,蔡宣梅,林智敏,等. 重氮营养醋杆菌 Pal₅ 在超甜玉米上的应用效果初报 [J]. 中国农学通报, 2002, 18 (4): 114-116.
- [4] 宋亚娜,郑伟文. 接种重氮营养醋杆菌对植物生长的影响 [J]. 江西农业大学学报 (自然科学版), 2003, 25 (4): 587-590.
- [5] Ladimir A, J. Cavalcante and Dobereiner. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane [J]. Plant and soil, 1998, 108 (23): 23-31.
- [6] 李晓鸣. VA 菌根真菌、根瘤菌双接种对大豆增产效果的影响 [J]. 生物技术, 1992, 2 (6): 38-40.
- [7] 秦芳玲,王敬国,李晓林,等. VA 菌根真菌和解磷细菌对红三叶草生长和氮磷营养的影响 [J]. 草业学报, 2000, 9 (1): 9-14.
- [8] 刘江,黄学跃,李天飞,等. VA 菌根真菌与根瘤菌和溶磷菌双接种对烟苗生长的影响 [J]. 烟草科技, 2000, 2: 43-44.
- [9] Kirchhof G, Ivo Baldani J, Veroica M R, et al. Molecular assay to identify Acetobacter diazotrophicus and detect its occurrence in plant tissues [J]. Can J Microbiol, 1998 (44): 12-19.
- [10] Aronon D J. Copper enzymes in isolated chloroplasts [J]. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris Physiol, 1949, 24: 1-5.