



娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗的促生作用

谢玉琴, 马丹丹, 杨 树, 李 培, 徐秉良, 薛应钰

(甘肃农业大学 植物保护学院/甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘 要 娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*) ZZ-9 菌株(专利保存号: CGMCC No. 15245)是一株稳定性较强、对多种真菌病害病菌具有很好抑制效果的生防菌株。为了明确其对小麦的促生作用,通过室内盆栽试验研究不同稀释倍数的生防菌 ZZ-9 发酵液对小麦幼苗生长的影响,测定 ZZ-9 菌液灌根处理后小麦体内丙二醛(MDA)、叶绿素质量浓度和多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化。结果表明:生防菌 ZZ-9 不同剂量的发酵液对小麦幼苗均有一定的促生作用,其中以发酵液原液促生效果最明显,第 2 次灌根处理 10 d 后,小麦幼苗株高和根长增幅最大,分别为 43.60% ($P < 0.05$) 和 49.80% ($P < 0.05$);PPO 和 PAL 活性显著增强,增幅分别为 106.67% ($P < 0.05$) 和 58.70% ($P < 0.05$);叶绿素质量浓度较对照增加 56.53% ($P < 0.05$);MDA 质量摩尔浓度较对照降低了 53.62% ($P < 0.05$)。可见,娄彻氏链霉菌生防菌株 ZZ-9 对小麦幼苗生长具有明显的促生作用,有望为新型多功能生物制剂的开发提供优良的菌种资源。

关键词 娄彻氏链霉菌;小麦;促生作用

中图分类号 Q939.95;S476

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2019)08-1335-09

小麦(*Triticum aestivum*)是世界四大粮食作物之一,为人类提供约 20% 蛋白质和 21% 食物热量^[1]。中国是全球最大的小麦生产国和消费国,其持续发展为保障国内粮食安全和社会稳定做出了重要贡献^[2]。2016 年,中国小麦播种面积、总产量和单产分别为 $2.42 \times 10^7 \text{ hm}^2$ 、 $1.29 \times 10^8 \text{ t}$ 和 $5.3 \times 10^3 \text{ kg/hm}^2$ ^[3]。预计到 2050 年,为了满足快速增长人口的需求,全球小麦产量仍需翻一番^[4]。面对全球天气干旱和耕地面积缩减的突出问题,要实现产量翻番这一目标,提高单产是唯一途径^[5]。长期以来,化肥的大量使用成为仅次于育种技术的保障粮食增产的重要措施之一,造成土壤板结、环境污染和品质下降等问题^[6]。因此,寻求新的增产途径是目前小麦生产中亟待解决的热点问题。

放线菌种类繁多,能产生多种生物活性物质,这些活性物质不仅可以有效控制有害微生物的发展,对植物生长也有一定的促进作用^[7-9]。近年来,在利用放线菌发酵液浇灌防病方面的研究报道较多,研究利用放线菌及其代谢产物对玉

米^[10]、番茄^[11]、辣椒^[12]、黄瓜^[13]等多种作物的促生作用在国内外也有较多报道。有关促生菌对小麦促生作用的研究有:常慧萍等^[14]研究发现,菌株 HP1218 浸种小麦种子,能显著促进小麦的生根和生长;刘拴成等^[15]从玉米植株的根围土壤中筛选出 1 株解磷作用较强的芽孢杆菌 CY18,可使小麦鲜质量、株高和根长增长;刘敏君^[16]研究结果表明,木霉和青霉菌剂 1:1 与土壤比例为 1:15 时,对小麦的促生效果最显著,在贫瘠土壤中也能明显使小麦株高、叶绿素等增加;马军妮^[17]在 2016 年研究发现,密旋链霉菌(Act12)及娄彻氏链霉菌(D74)2 株放线菌的菌粉,包衣小麦种子可显著影响小麦的生物学、光合生理及生化代谢,刺激小麦根系发育,促进小麦生长;刘玉涛^[18]在 2 株链霉菌对小麦的促生机理的研究报道中指出,娄彻氏链霉菌 D74 和密旋链霉菌 Act12 可促进小麦幼苗生长,其链霉菌剂用于种子包衣后,对小麦的生理生化特性及产量提高均有明显影响;常慧萍等^[19]用 HN1202、HP1218 和 HK1216 菌液对小麦种子进行浸种处理,发现其

收稿日期:2019-03-05 修回日期:2019-04-09

基金项目:甘肃省高等学校科研项目(2017A-028);甘肃省自然科学基金(145RJZA095)。

第一作者:谢玉琴,女,在读研究生,研究方向为植物病害生物防治。E-mail:1346760179@qq.com

通信作者:薛应钰,男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为植物病害综合治理。E-mail:xueyy@gsau.edu.cn

对小麦幼苗根长有明显的促生作用等。众多研究报告指出,促生菌对小麦的生长代谢等均有明显的促进作用。

娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)ZZ-9 菌株(专利保存号:CGMCC No. 15245)是甘肃农业大学植物病害生物防治实验室分离保存的一株具有自主知识产权的生防菌株。前期研究表明,该菌株对苹果树腐烂病菌(*Cytospora* sp.)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)等 15 种植物病原真菌均具有较好的抑制作用^[20],然而,作为一株优良的生防菌株,是否具有促生作用还未证实。研究该菌的促生作用,对于进一步开发其多功能生防制剂以及扩大其应用范围具有重要的意义。因此,本研究以娄彻氏链霉菌(*S. rochei*)ZZ-9 菌株为试材,以小麦为靶标,测定其发酵液对小麦株高、根长、酶活性、叶绿素质量浓度和丙二醛质量摩尔浓度的影响,明确其促生作用,以期为新型生物制剂的开发利用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)菌株 ZZ-9,由甘肃农业大学植物病害生物防治实验室提供。

1.1.2 供试种子 小麦种子‘西农 979’,购自南阳兴农种业有限公司。

1.1.3 供试培养基 高氏一号培养基:可溶性淀粉 20.0 g,硝酸钾 1.0 g,磷酸氢二钾 0.5 g,氯化钠 0.5 g,硫酸镁 0.5 g,硫酸亚铁 0.01 g,琼脂 18 g,蒸馏水 1 000 mL。

高氏一号液体培养基:可溶性淀粉 20.0 g,硝酸钾 1.0 g,磷酸氢二钾 0.5 g,氯化钠 0.5 g,硫酸镁 0.5 g,硫酸亚铁 0.01 g,蒸馏水 1 000 mL。

小米浸汁培养基:小米 10 g,葡萄糖 10 g,碳酸钙 2 g,氯化钠 2.5 g,蛋白胨 3 g,蒸馏水 1 000 mL。

1.2 方法

1.2.1 娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液的制备 ZZ-9 菌株的活化培养:将 ZZ-9 菌株接种于高氏一号平板上,于 28 ℃ 培养 7 d。

种子液的制备:将活化好的 ZZ-9 菌株用打孔器打成菌柄,转接到装有 60 mL 高氏一号液体培养基的 150 mL 三角瓶中,每瓶接 6 个菌饼($d=6$ mm),置于 28 ℃、180 r/min 的摇床内,振荡培养 72 h,制成种子液。

发酵液的制备:将制好的种子液,按 10% 的接种量,接入到装有 80 mL 小米培养基的 150 mL 三角瓶中,置于 28 ℃、180 r/min 的摇床振荡培养 4 d 后,既得发酵液^[21]。

1.2.2 娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗的促生作用 选取大小均一、颗粒饱满的小麦种子,放在培养皿中,加入少量水,对小麦种子进行催芽处理(隔 8 h 换一次水)。至露白后,将发芽的小麦种子常规播种于盛有基质土(80% 细碎泥炭、20% 蛭石)的盆钵中(每盆种 10 颗种子,下文出现的“播种”方法与此相同),然后进行灌根处理,用注射器将摇好的发酵液,以原液、50 倍稀释、100 倍稀释、150 倍稀释、200 倍稀释的不同剂量,分别于播种后 0、10、20 d 注入土中,以注入等量的水为对照(CK),在每处灌根处理后 10、20、30 d(也就是播种后 10、20、30 d),分别测量株高和根长,并测定叶绿素质量浓度和丙二醛的质量摩尔浓度及苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶的酶活性^[22]。试验设 3 次重复。

1.2.3 幼苗形态指标测定 随机从各处理中抽取 20 株小麦幼苗,洗净吸干水分后,用直尺测定幼苗株高和根系长度。

1.2.4 物质含量和酶活性的测定 取各处理小麦幼苗第 6~8 片叶。用分光光度计测定小麦叶片的叶绿素质量浓度、丙二醛(MDA)质量摩尔浓度和酶活性(苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶)。MDA 质量摩尔浓度的测定:采用紫外分光光度法^[23-24];叶绿素质量浓度测定:采用无水乙醇提取法^[25-26];苯丙氨酸解氨酶活力测定:采用苯丙氨酸比色法^[27-28];多酚氧化酶活力测定:采用邻苯二酚法^[29]。

1.3 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2007 对试验数据进行处理,使用 SPSS 19.0 中 Tukey s-b 法进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗形态指标的影响

2.1.1 小麦幼苗根长 由表 1 可知,不同剂量的 ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗根长均有显著的促生作用。其中,ZZ-9 菌株发酵液原液对小麦幼苗根长的促生作用明显高于 CK,其促生作用显著强于不同稀释倍数的发酵液。随着 ZZ-9 菌株发

醇液剂量的减小,其对小麦幼苗根长的促生作用逐渐减弱(图 1)。

不同时间段浇灌 ZZ-9 菌株发酵液,对小麦幼苗根长有显著的促生作用。播种 10 d 后浇灌 ZZ-9 菌株发酵液(即播种后 20 d),对小麦幼苗根长的促生作用明显强于 CK,而播种后灌根(即播种

后 10 d)的促生作用,明显强于播种 20 d 后灌根(即播种后 30 d)的促生作用。

综上可知,在小麦幼苗播种 10 d 后,用 ZZ-9 菌株发酵液原液对小麦幼苗进行灌根,处理 10 d,即小麦播种后 20 d,对小麦幼苗根长的促生作用明显强于其他处理,可达 49.8%($P<0.05$)。

表 1 不同剂量娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗根长
Table 1 Root length of wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation filtrate

稀释倍数 Dilution multiple	10 d		20 d		30 d	
	根长/cm Root length	增幅/% Increase rate	根长/cm Root length	增幅/% Increase rate	根长/cm Root length	增幅/% Increase rate
对照 CK	10.67±0.68 b	—	10.87±0.62 c	—	15.89±1.20 a	—
原液 Undiluted	14.24±1.21 a	33.40	16.29±1.22 a	49.80	17.27±1.79 a	8.70
50	12.21±0.95 b	14.40	13.45±0.64 b	23.70	17.21±1.16 a	8.40
100	11.88±0.64 b	11.20	12.94±1.03 bc	19.00	16.60±0.94 a	4.40
150	11.73±0.75 b	9.80	12.62±0.71 bc	16.10	16.28±0.84 a	2.50
200	11.70±1.42 b	9.60	12.54±1.26 bc	15.30	16.11±1.10 a	1.80

注:数据为“平均数±标准差”。同列数据后不同小写字母表示经 Duncan’s 新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。
Note:The data are “mean ± standard deviation”. Different lowercase letters after the same column data showed significant difference at the level of $P<0.05$ by Duncan’s new complex difference method. The same below.



图 1 不同剂量娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗根长

Fig. 1 Root length of wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation filtrate

2.1.2 小麦幼苗株高 由表 2 可以看出,ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗的株高有显著的促生作用。用不同剂量的 ZZ-9 菌株发酵液在小麦幼苗播种一定时间后灌根,较对照而言,ZZ-9 菌株发酵液原液对小麦幼苗的株高促生作用最明显。同根长一样,其促生作用的强弱随发酵液剂量的减

小而减弱(图 2)。
用同一剂量的 ZZ-9 菌株发酵液在小麦幼苗播种后 0、10、20 d 分别进行灌根处理,于处理 10 d 后(即小麦播种 10、20、30 d 后)分别测定小麦幼苗的株高,在小麦幼苗播种 20 d 后,ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗株高的促生作用明显强于其他处理。

综上可知,在小麦幼苗播种 10 d 后,用 ZZ-9 菌株发酵液原液对小麦幼苗进行灌根处理,其对小麦幼苗株高的促生作用明显强于其他处理,可达 43.6%($P<0.05$)。

2.2 娄氏链霉菌菌株 ZZ-9 发酵液对小麦幼苗 MDA、叶绿素和酶活性的影响

2.2.1 小麦幼苗 MDA 质量摩尔浓度 由图 3 可知,用 ZZ-9 菌株发酵液处理过的小麦,MDA 质量摩尔浓度明显低于 CK。在播种一定时间后,用不同剂量的发酵液处理小麦幼苗,其剂量越小,MDA 质量摩尔浓度降低越不明显。小麦幼苗播种 0 d 时,经发酵液处理,10 d 后测得 MDA 较 CK 降低了 29.20%~43.80%,其中,发酵液原液处理后,小麦 MDA 质量摩尔浓度明显降低,较对照降低了 43.8%($P<0.05$)。小麦幼苗播种 10 d 时,经发酵液处理,10 d 后(即小麦播种 20 d 后)测得 MDA 质量摩尔浓度较 CK 降低了

表 2 不同剂量娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗株高
Table 2 Plant height of wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation filtrate

稀释倍数 Dilution multiple	10 d		20 d		30 d	
	株高/cm Plant height	增幅/% Increase rate	株高/cm Plant height	增幅/% Increase rate	株高/cm Plant height	增幅/% Increase rate
CK	20.35±0.36 a	—	20.03±1.53 c	—	25.79±1.76 b	—
原液 Undiluted	25.47±2.41 a	25.20	28.75±1.71 a	43.60	35.58±1.67 a	37.90
50	22.95±1.29 a	12.80	27.32±1.26 ab	36.40	33.31±1.64 a	29.10
100	21.45±1.50 a	5.40	26.35±1.61 ab	31.60	32.39±1.55 a	25.60
150	21.31±2.84 a	4.70	24.22±2.00 b	20.90	32.03±1.64 a	24.20
200	21.27±1.90 a	4.50	23.42±1.84 bc	16.90	27.81±2.04 b	7.80

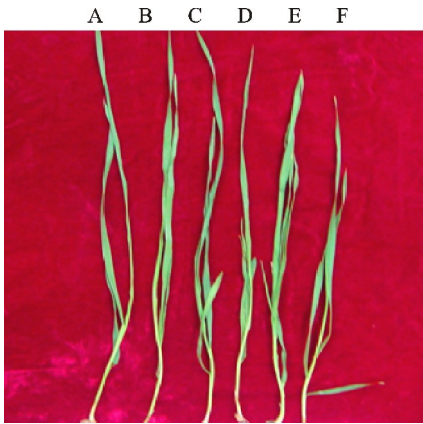


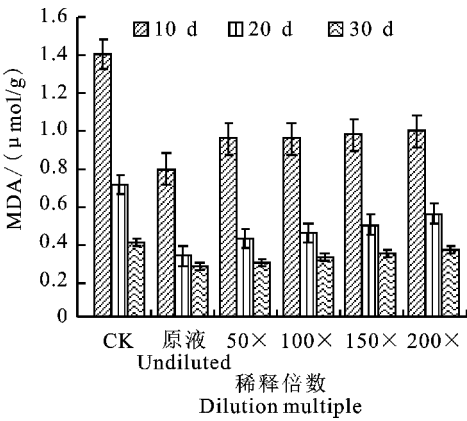
图 2 不同剂量娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗株高

Fig. 2 Plant height of wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation filtrate

21.74%~53.62%，发酵液原液使小麦 MDA 质量摩尔浓度明显降低，较对照降低了 53.62% ($P<0.05$)。小麦幼苗播种 20 d 后，经发酵液处理，10 d 后(即小麦播种 30 d 后)测得 MDA 质量摩尔浓度较 CK 降低了 10.26%~33.33%，发酵液原液处理后，小麦叶片 MDA 质量摩尔浓度明显降低，较 CK 降低了 33.33% ($P<0.05$)。

综上所述，小麦幼苗播种 0 d 后，用发酵液原液对小麦幼苗进行灌根处理，10 d 后测得小麦 MDA 质量摩尔浓度较对照明显降低，即本处理最有利于增加小麦幼苗抗性。

2.2.2 小麦幼苗叶绿素质量浓度 由表 3 可知，用 ZZ-9 菌株发酵液处理小麦幼苗后，可使小麦叶片叶绿素质量浓度明显升高。小麦幼苗播种 0 d 后，经 ZZ-9 菌株发酵液处理 10 d，测得小麦叶片叶绿素质量浓度较 CK 增加了 12.6%~



不同小写字母表示经 Duncan's 新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著，下同 The different lowercase letters in the figure show significant difference at the level of $P<0.05$ by Duncan's new complex difference method, the same below

图 3 不同剂量娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗 MDA 质量摩尔浓度

Fig. 3 MDA molality in wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation filtrate

88.75%，其中，发酵液原液使小麦叶片叶绿素质量浓度明显增加，增幅为 88.75% ($P<0.05$)。小麦幼苗播种 10 d 后，经 ZZ-9 菌株发酵液处理 10 d，测得的小麦叶片叶绿素质量浓度较 CK 增加了 1.8%~56.53%，其中，发酵液原液处理后的小麦叶片叶绿素质量浓度明显增加，增幅为 56.53% ($P<0.05$)。小麦幼苗播种 20 d 后，经 ZZ-9 菌株发酵液处理 10 d，测得小麦叶片叶绿素质量浓度较 CK 增加了 0.27~47.7%，发酵液 50 倍稀释液使小麦叶片叶绿素质量浓度明显增加，增幅为 47.7% ($P<0.05$)，发酵液 200 倍稀释液对小麦叶片叶绿素质量浓度的影响不明显。

因此，在小麦幼苗播种 10 d 后，用 ZZ-9 菌株

发酵液原液对小麦幼苗进行灌根处理 10 d, 小麦幼苗叶片的叶绿素质量浓度明显增加, 有利于促

进小麦幼苗的光合作用及小麦体内物质能量的产生与积累。

表 3 不同剂量的娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗叶绿素质量浓度

Table 3 Chlorophyll mass concentration of wheat seedlings treated with different concentrations of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 strain fermentation broth

稀释倍数 Dilution multiple	10 d		20 d		30 d	
	叶绿素质量浓度/ (mg/L) Chlorophyll mass concentration	增幅/% Increase rate	叶绿素质量浓度/ (mg/L) Chlorophyll mass concentration	增幅/% Increase rate	叶绿素质量浓度/ (mg/L) Chlorophyll mass concentration	增幅/% Increase rate
CK	8.89±0.04 f	—	11.11±0.01 f	—	12.34±0.01 f	—
原液 Undiluted	16.78±0.01 a	88.75	17.39±0.03 a	56.53	17.76±0.01 b	43.90
50	15.68±0.04 b	76.40	14.96±0.04 b	34.70	18.23±0.01 a	47.70
100	14.23±0.09 c	60.10	14.51±0.01 c	30.60	16.83±0.01 c	36.40
150	12.82±0.24 d	44.30	12.02±0.01 d	8.20	13.05±0.0 e	5.80
200	10.00±0.08 e	12.60	11.31±0.01 e	1.80	15.67±0.0 d	0.27

2.2.3 小麦幼苗多酚氧化酶(PPO)活性 由图 4 可知, 娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液灌根后, 小麦幼苗叶片 PPO 活性明显增加。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 0 d 后的小麦幼苗进行灌根处理, 10 d 后测得其 PPO 活性较 CK 增加了 2.52%~84.16%, 其中, 发酵液原液处理后小麦叶片 PPO 活性明显增加, 增幅为 84.16% ($P<0.05$)。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 10 d 后的小麦幼苗进行灌根处理, 10 d 后, 测得 PPO 活性较 CK 增加了 14.26%~106.67%, 其中, 发酵液原液处理后小麦叶片 PPO 活性明显增加, 增幅为 106.67% ($P<0.05$)。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 20 d 后的小麦幼苗进行灌根处理, 10 d 后, 测得 PPO 活性较 CK 增加了 1.96%~35.64%, 其中, 发酵液原液对 PPO 活性明显增加, 增幅为 35.64% ($P<0.05$)。

综上所述, 用不同浓度的 ZZ-9 菌株发酵液处理小麦幼苗后, 其对小麦叶片 PPO 活性的影响不同, 表现为: ZZ-9 菌株发酵液原液处理后小麦叶片 PPO 活性明显增加, 随着 ZZ-9 菌株发酵液剂量的减小, 小麦叶片 PPO 活性增幅也减小, 稀释 200 倍以后, 对小麦叶片 PPO 活性的影响不明显。因此, 在小麦幼苗播种 0 d 之后, 用 ZZ-9 菌株发酵液原液灌根处理小麦幼苗, 小麦叶片 PPO 活性明显增加, 有利于小麦幼苗抗病性的提高。

2.2.4 小麦幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性

由图 5 可知, 经娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液灌根处理小麦幼苗后, 小麦幼苗叶片 PAL 活性明显增强。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 0 d 后的小麦

幼苗进行灌根处理 10 d, 测得 PAL 活性较 CK 增强了 5.61%~32.30%, 其中, 发酵液原液处理使 PAL 活性明显增强, 增幅为 32.30% ($P<0.05$)。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 10 d 后的小麦幼苗进行灌根处理 10 d, 测得 PAL 活性较 CK 增强了 16.19%~58.70%, 其中, 发酵液原液使 PAL 活性明显增强, 增幅为 58.70% ($P<0.05$)。用 ZZ-9 菌株发酵液对播种 20 d 后的小麦幼苗进行灌根处理 10 d, 测得 PAL 活性较 CK 增强了 5.5%~18.4%, 其中, 发酵液原液对 PAL 活性明显增强, 增幅为 18.4% ($P<0.05$)。然而, 用稀释 200 倍的 ZZ-9 菌株发酵液处理不同播种时间以后的小麦叶片, 小麦叶片 PAL 活性增幅不明显。

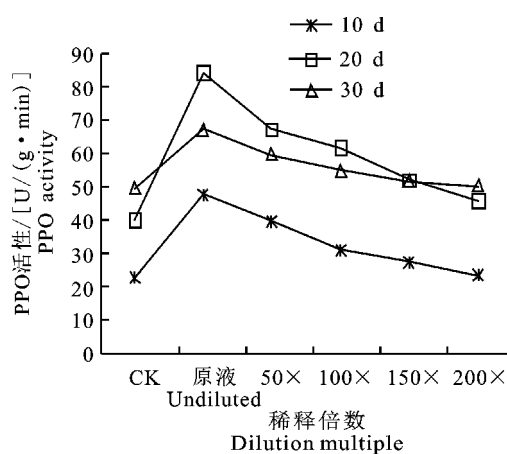


图 4 不同剂量娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗 PPO 活性

Fig. 4 PPO activity of wheat seedlings treated with fermentation broth of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 at different concentrations

因此,在小麦幼苗播种 0 d 后,用 ZZ-9 菌株发酵液对其进行灌根处理 10 d,其 PAL 活性明显增强,该处理有利于提高小麦抗病性。

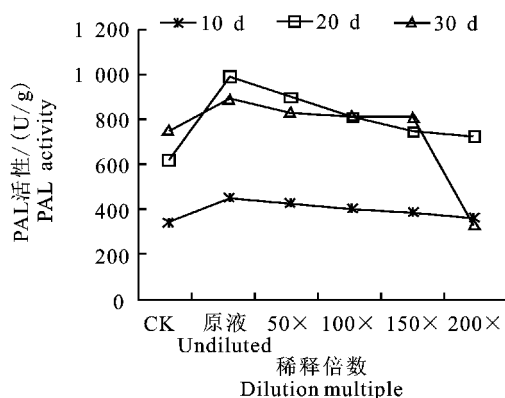


图 5 不同剂量娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液处理后的小麦幼苗 PAL 活性

Fig. 5 PAL activity of wheat seedlings treated with fermentation broth of *Streptomyces loucheri* ZZ-9 at different concentrations

3 结论与讨论

近年来,利用微生物研发各种微生物菌剂用于植物防病及促生的研究已逐年增加,关于根际促生菌、生防放线菌的研究已成为当前研究的热点。娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株是一株生防放线菌,此前关于其研究还较少。目前,关于娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株的研究表明,该菌对 15 种植物病原真菌均有抑制作用,其次生代谢产物能适应高温、强酸碱等多种环境,有较好的稳定性^[20],因而为后期生物菌制剂及促生作用的研究奠定基础。但是,有关于该菌在植物促生作用上的研究还未见报道。

本试验以娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株为试材,以非宿主小麦为靶标,通过室内试验,测定了娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液对小麦幼苗的促生作用。结果表明,用娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液原液对小麦幼苗进行灌根处理,对小麦幼苗株高、根长均有明显的促进作用,株高和根长增幅分别为 43.6% ($P < 0.05$) 和 49.8% ($P < 0.05$),此结果与李堆淑^[30]在不同浓度的 A4 发酵液对小麦幼苗根长及株高影响研究的结果相一致,而本试验结果对小苗幼苗根长及株高的促进作用更明显。通过测定小麦幼苗同一叶位叶片的 MDA、叶绿素和酶活性,可以得出,用 ZZ-9 菌株发酵液处理过

的小麦幼苗,小麦幼苗叶片 PPO 活性和 PAL 活性明显增加,增幅分别为 106.67% ($P < 0.05$) 和 58.70% ($P < 0.05$),MDA 质量摩尔浓度明显降低,较对照降低了 53.62% ($P < 0.05$),小麦叶片叶绿素质量浓度明显升高,较 CK 增加 56.53% ($P < 0.05$)。植物在抵御病原微生物的侵染过程中,抗性相关酶发挥了重要作用,酚类代谢系统中的一些酶和病原相关蛋白家族 PPO,可以通过催化木质素及醌类化合物,形成保护性屏蔽,使细胞免受病菌的侵害,也可以通过形成醌类物质直接发挥抗病作用;而诱导酶 PAL 活性与植物抗病性呈正相关, PAL 活性越大,则植物抗病性越强^[31]。本研究中,小麦幼苗叶片 PPO 活性和 PAL 活性明显增加,此研究结果与马军妮^[17]用 D74 和 Act12 菌剂共同处理小麦幼苗后对 PPO 活性和 PAL 活性的研究结果相一致,且本试验中对其诱导酶活性的影响较明显,增幅更大。因而,本试验结果可说明,娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液,有显著提高小麦幼苗抗性的作用。此外,MDA 质量摩尔浓度可以反映植物细胞膜脂过氧化程度,反映生物体衰老和遭受逆境伤害的程度^[32],MDA 质量摩尔浓度高,则植物细胞膜脂过氧化程度高,细胞膜受到的伤害严重。本试验中 MDA 质量摩尔浓度明显降低,此结果与田小曼等^[33]在 2 株生防菌 FO47、153 对小麦生长发育研究中的结果相一致,但本试验中,MDA 质量浓度降低更明显,说明经娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液浇灌的小麦幼苗,明显降低了细胞膜脂过氧化程度,减缓了对细胞膜的损伤,提高了小麦幼苗抗逆境生长的能力。叶绿素是高等植物和其他所有能进行光合作用的生物体含有的一类绿色色素,叶绿素的多少直接影响植物光合作用的强弱及植物体内物质能量的产生与积累^[34]。本试验中小麦幼苗叶片的叶绿素质量浓度较 CK 明显增加,此研究结果与峥嵘^[35]在 5406 放线菌对小麦幼苗叶绿素含量影响的研究结果相一致,且本试验菌株娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液浇灌的小麦幼苗,其叶绿素质量浓度增加明显,有利于促进小麦幼苗的光合作用及小麦幼苗体内物质能量的产生与积累,进而减少小麦在幼苗阶段的损失,为后期壮苗、健苗及高产奠定基础。

综上所述,用娄氏链霉菌 ZZ-9 菌株发酵液原液处理播种 0 d 后的小麦幼苗,其促生作用明显,是一株值得深究的生防菌。综合对该菌已有

的研究可推断,ZZ-9 菌株是通过抑制根际病原菌及根际 DRMO 菌来表现其对植物的促生作用的。但本试验仅对娄彻氏链霉菌 ZZ-9 菌株在室内条件下进行了为期 1 个月的短期试验,对小麦后期生长及对产量的影响尚未明确,对于在生产过程中的具体影响还需进一步研究。

参考文献 Reference:

- [1] 王延鹏,程 曦,高彩霞,等. 利用基因组编辑技术创制抗白粉病小麦[J]. 遗传,2014,36(8):848-848.
WANG Y P, CHENG X, GAO C X, *et al.* Wheat resistant to powdery mildew was created by genome editing technique [J]. *Heredity*, 2014, 36(8): 848-848.
- [2] 叶志标. 中国小麦空间格局演变及其驱动因素贡献份额研究[D]. 北京:中国农业科学院,2017.
YE ZH B. Studies on the evolution of spatial pattern and the contribution share of the driving factors of wheat in China [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [3] 王成雨,代兴龙,石玉华,等. 花后小麦叶面积指数与光合和产量关系的研究[J]. 植物营养与肥料学报,2012,18(1): 27-34.
WANG CH Y, DAI X L, SHI Y H, *et al.* Studies on the relationship between leaf area index and photosynthesis and yield of post-anthesis wheat [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2012, 18 (1): 27-34.
- [4] 李明爽. 最新研究报告:到 2050 年,全球水产养殖产量需翻倍[J]. 中国水产,2014(7):32-32.
LI M SH. The latest study: by 2050, global aquaculture production needs to double [J]. *China Fisheries*, 2014 (7): 32-32.
- [5] 方修琦,王 媛,朱晓禧. 气候变暖的适应行为与黑龙江省夏季低温冷害的变化[J]. 地理研究,2005,24(5):664-672.
FANG X Q, WANG Y, ZHU X X. Adaptation behavior of climate warming and changes of low temperature and cold injury in summer in Heilongjiang province [J]. *Geographical Research*, 2005, 24(5): 664-672.
- [6] 李宇轩. 中国化肥产业政策对粮食生产的影响研究[D]. 北京:中国农业大学,2014.
LI Y X. Study on the impact of China's fertilizer industry policy on grain production [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [7] 杨 静,廖美德. 放线菌资源及其应用[J]. 世界农药,2014, 36(1):22-26.
YANG J, LIAO M D. Actinomycetes and its application [J]. *World Pesticides*, 2014, 36(1): 22-26.
- [8] 黄园勇,周光明,尹国通,等. 植物根际放线菌分离方法初探及根皮苷降解活性分析[J]. 南方农业学报,2013,44(1): 54-58.
HUANG Y Y, ZHOU G M, YIN G T, *et al.* Isolation of rhizosphere actinomycetes and analysis of the biodegradation activity of rhizosphere actinomycetes [J]. *Chinese Journal of Southern Agriculture*, 2013, 44(1): 54-58.
- [9] 林昇强,余凤玉,牛晓庆,等. 棕榈科植物 3 种病原菌的土壤拮抗放线菌筛选[J]. 中国南方果树,2013,42(1):77-78.
LIN SH Q, YU F Y, NIU X Q, *et al.* Screening of soil antagonistic actinomycetes from three pathogens of palmiaceae [J]. *South China Fruits*, 2013, 42(1): 77-78.
- [10] 马军妮,刘玉涛,李玉龙,等. 两株链霉菌对玉米的促生增产作用及机理[J]. 应用生态学报,2017,28(1):315-326.
MA J N, LIU Y T, LI Y L, *et al.* Effects of two Streptomyces on growth and yield of maize [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(1): 315-326.
- [11] 梁新冉,李乃荟,周新刚,等. 番茄根内促生放线菌的分离鉴定及其促生效果[J]. 微生物学通报,2018,45(6):1314-1322.
LIANG X R, LI N Y, ZHOU X G, *et al.* Isolation and identification of actinomycetes in tomato roots and their promoting effects [J]. *Microbiology China*, 2018, 45(6): 1314-1322.
- [12] 梁军锋. 辣椒疫病生防菌的防病促生效应、作用机制及应用研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2006.
LIANG J F. Studies on the propagation effect, mechanism and application of *Phytophthora capsicum* [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2006.
- [13] 暴增海,马桂珍,王淑芳,等. 海洋放线菌 BM-2 菌株对黄瓜的促生作用和诱导抗性研究[J]. 作物杂志,2013(5): 94-98.
BAO Z H, MA G ZH, WANG SH F, *et al.* Study on the growth promotion and induced resistance of *Marine Actinomycete* BM-2 strain to cucumber [J]. *Crops*, 2013(5): 94-98.
- [14] 常慧萍,夏铁骑,付瑞敏,等. 小麦根际解磷细菌的筛选鉴定及其促生效果[J]. 江苏农业科学,2018(14):270-273.
CHANG H P, XIA T Q, FU R M, *et al.* Screening and identification of phosphorus releasing bacteria in *Rhizosphere* of wheat and its growth promoting effect [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018 (14): 270-273.
- [15] 刘拴成,张翠英,何月秋. 潜在促生菌株的筛选及其在小麦上的应用效果[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):43-48.
LIU SH CH, ZHANG C Y, HE Y Q. Screening of potential growth promoting strains and its application in wheat [J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2018; 46(1): 43-48.
- [16] 刘敏君. 木霉 H18-1-1 菌株和解磷青霉 QM-6 菌株对小麦防病及促生效果分析[D]. 山东泰安:山东农业大学,2018.
LIU M J. Analysis of the effect of *Trichoderma* strain H18-1-1 and *Penicillium* QM-6 on wheat disease prevention and growth promotion [D]. Tai'an Shandong: Shandong Agricultural University, 2018.
- [17] 马军妮. 放线菌对玉米小麦的促生抗旱作用及机理研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2016.
MA J N. Studies on the effect and mechanism of actinomycetes on maize wheat growth and drought resistance [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2016.

- [18] 刘玉涛. 两株链霉菌对小麦玉米的促生增产作用及机理研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- LIU Y T. Effects of two streptomycetes on growth and yield of wheat and maize [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2017.
- [19] 常慧萍, 邢文会, 夏铁骑, 等. 根际促生细菌的筛选及其对小麦幼苗的促生作用[J]. 河南农业科学, 2016, 45(12): 52-57.
- CHANG H P, XNG W H, XIA T Q, *et al.* Screening of *Rhizosphere* promoting bacteria and its promoting effect on wheat seedling [J]. *Henan Agricultural Sciences*, 2016, 45(12): 52-57.
- [20] 范万泽, 薛应钰, 张树武, 等. 拮抗放线菌 ZZ-9 菌株发酵液的抑菌谱及稳定性测定[J]. 西北农业学报, 2017, 26(3): 463-470.
- FAN W Z, XUE Y Y, ZHANG SH W, *et al.* Antimicrobial spectrum and stability determination of the fermentation broth of antagonistic actinomycetes ZZ-9 strain [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2017, 26(3): 463-470.
- [21] 金鑫, 杨秀芬, 邱德文, 等. 提高蛋白激酶子产量的培养基及发酵条件的优化[J]. 微生物学杂志, 2009, 29(2): 6-11.
- JIN X, YANG X F, QIU D W, *et al.* Optimization of medium and fermentation conditions for increasing the yield of protein elicitor [J]. *Journal of Microbiology*, 2009, 29(2): 6-11.
- [22] 李堆淑, 何念武, 冀玉良. 干旱胁迫下灰色链霉菌对桔梗幼苗根际土壤酶活性、养分及微生物的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(6): 173-180.
- LI D SH, HE N W, JI Y L. Effects of *Streptomyces gravis* on enzyme activities, nutrients and microorganisms in *Rhizosphere* soil of *Platycodon grandiflorum* seedlings under drought stress [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2017, 35(6): 173-180.
- [23] 王敏, 那冬晨, 姬虎太, 等. 快速小量提取小麦叶片 DNA 的一种简易方法[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(35): 34-35.
- WANG M, NA D CH, JI H T, *et al.* A simple method for extracting DNA from wheat leaves in small quantity [J]. *Anhui Agricultural Science*, 2009, 37(35): 34-35.
- [24] AN X X, LI Z, ZHANG Y W, *et al.* Method for preparing linezolid crystalline form I; China, CN2012/087735 [P]. 2014-07-03
- [25] 王敏, 那冬晨, 姬虎太, 等. 快速小量提取小麦叶片 DNA 的一种简易方法[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(35): 34-35.
- WANG M, NA D CH, JI H T, *et al.* A simple method for extracting DNA from wheat leaves in small quantity [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(35): 34-35.
- [26] 王瑜. 植物内部因素对光合作用的影响[J]. 中外企业家, 2013(12Z): 198-198.
- WANG Y. Effects of plant internal factors on photosynthesis [J]. *Chinese and Foreign Entrepreneur*, 2013(12Z): 198-198.
- [27] COX M B, CAIMS M J, GANDHI K S, *et al.* Micro RNAs miR-17 and miR-20a Inhibit T cell activation genes and are under-expressed in MS whole blood[J]. *Plos One*, 2010, 5(8): e12132.
- [28] 范腾, 董海洲, 王兆升. 胡萝卜中过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶特性及抑制条件的研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(7): 22-28.
- FAN T, DONG H ZH, WANG ZH SH. Studies on the characteristics and inhibitory conditions of peroxidase and phenylalanine ammonia lyase in carrot [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2011, 11(7): 22-28.
- [29] 肖利丽. 巨大口蘑和双孢蘑菇酪氨酸酶的分离纯化及性质研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2011.
- XIAO L L. Isolation, purification and characterization of Tyrosinase from *Tricholoma magnus* and *Agaricus bisporus* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2011.
- [30] 李堆淑. 生防放线菌的筛选及其发酵液对小麦萌发的影响[J]. 种子, 2012, 31(11): 18-22.
- LI D SH. Screening of *Actionmycetes* and effect of its fermentation on seed germination of wheat [J]. *Seed*, 2012, 31(11): 18-22.
- [31] 曾永三, 王振中. 苯丙氨酸解氨酶在植物抗病反应中的作用[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1999(3): 56-65.
- ZENG Y S, WANG ZH ZH. The role of phenylalanine ammonia-lyase in plant disease resistance [J]. *Journal of Journal of Zhongkai University of Agricultural and Technology*, 1999(3): 56-65.
- [32] 史福胜, 黑占才, 安永尉. 不同海拔地区牦牛组织线粒体丙二醛含量的测定[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(10): 23-24.
- SHI F SH, HEI ZH C, AN Y W. Determination of MDA content in mitochondria of Yak at different altitude [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2008, 44(10): 23-24.
- [33] 田小曼, 刘继红, 王阳, 等. 两株生防菌对小麦的影响[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(9): 1120-1126.
- TIAN X M, LIU J H, WANG Y, *et al.* Effect of two bio-control agents on wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(9): 1120-1126.
- [34] 刘秀香. 松嫩平原两种生境芦苇叶片光合色素的时空动态[D]. 吉林吉林: 东北师范大学, 2013.
- LIU X X. Temporal and spatial dynamics of photosynthetic pigments in reed leaves of two habitats in Songnen Plain [D]. Jilin Jilin: Northeast Normal University, 2013.
- [35] 峥嵘. 5406 放线菌对小麦幼苗的影响[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2006(2): 150-152.
- ZHENG R. The Effect of 5406 Actinomycetes on the wheat seedling [J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2006(2): 150-152.

Growth Promotion Effect of *Streptomyces rochei* Strain ZZ-9 on Wheat Seedlings

XIE Yuqin, MA Dandan, YANG Shu, LI Pei, XU Bingliang and XUE Yingyu

(College of Plant Protection, Gansu Agricultural University/Biocontrol Engineering Laboratory
of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract *Streptomyces rochei* strain ZZ-9 (Patent Preservation Number: CGMCC No. 15245) is a biological strain with strong stability and good inhibitory effect on various fungal diseases. In order to determine growth-promoting effect of ZZ-9 on wheat, different dilution ratios of ZZ-9 fermentation liquid were irrigated the root of wheat seedlings grown in pot experiments, and the changes of malonaldehyde (MDA), chlorophyll mass concentration and activity of polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in wheat were determined after the treatment of ZZ-9 mycelium. The results showed that ZZ-9 fermentation liquid with different dilutions had certain stimulating effects on wheat seedlings. Among them, the undiluted fermentation liquid had the most obvious effect. At the 10 d after the second irrigating root treatment, the increase of plant height and root length of wheat seedlings were the largest, by 43.60% ($P < 0.05$) and 49.80% ($P < 0.05$), respectively; the activity of PPO and PAL increased significantly, by 106.67% ($P < 0.05$) and 58.70% ($P < 0.05$), respectively; compared with the control, chlorophyll mass concentration increased by 56.53% ($P < 0.05$), but MDA mass concentration decreased by 53.62% ($P < 0.05$). These results confirmed that the *Streptomyces rochei* strain ZZ-9 has obvious effect on the growth of wheat seedlings, and ZZ-9 strain is expected to be an excellent bacterial resources for the development of new multifunctional biological preparations.

Key words Actinomycete; Wheat; Promoting effect

Received 2019-03-05

Returned 2019-04-09

Foundation item Scientific Research Projects of Institutions of Higher Education in Gansu Province (No. 2017A-028); Gansu Natural Science Foundation (No. 145RJZA095).

First author XIE Yuqin, female, master student. Research area: comprehensive management of plant diseases. E-mail 1346760179@qq.com

Corresponding author XUE Yingyu, male, Ph. D., associate professor, master supervisor. Research area: comprehensive management of plant diseases. E-mail: xueyy@gsau.edu.cn

(责任编辑: 成 敏 Responsible editor: CHENG Min)