

文章编号: 1003-8701(2005)05-0054-03

光合细菌的生物学特性及其应用效果的研究

吴海燕¹, 孙淑荣¹, 单崇华², 徐凤双², 刘春光¹, 范作伟¹

(1. 吉林省农业科学院农业环境与资源研究中心, 吉林 公主岭 136100; 2. 公主岭市种子公司)

摘要:通过对从吉林省公主岭市屠宰场、部队造纸厂下水污泥、机场泡子和大榆树稻田土中分离的 4 株光合细菌的生物学特性的鉴定,明确了光合细菌在光照条件下分别显现桔红、桔黄、紫和深紫等颜色;细胞形态分别为短杆、杆状;菌落特征为圆形、凸起、边缘整齐、湿润光滑、不透明;革兰氏染色、淀粉水解和硝酸盐还原等都为阴性。按其分类学地位,归属于红色假单胞菌属(*Rhodospirillum* spp)。在菌种分离、培养鉴定的基础上,于 2000 年进行了光合细菌在大豆上的应用效果田间试验。结果表明,使用光合细菌可以使大豆植株高大健壮、根系发达、光合作用增强。产量水平以 10 倍稀释液拌种和 40 倍液喷施效果最佳,分别比基质对照和清水对照增产 20.32%和 31.7%。

关键词:光合细菌;生物学特性;红色假单胞菌属;应用效果

中图分类号:Q939.112.06

文献标识码:A

1 材料与方法

1.1 菌种的分离与培养

取样:样品取自公主岭市屠宰场、部队造纸厂下水污泥、机场泡子污泥和大榆树稻田土。

光合细菌的增殖培养和分离方法:光合细菌是一种兼性嫌气细菌,需要深层培养或在真空干燥器内达到嫌气或半嫌气状态,一般将污泥放入培养液中先富集再分离。具体方法:将采集的污泥装入 25 mL 试管中,加入培养液充满至刻度,盖上胶塞,在光照条件下(40 W 灯泡)保持在 28℃左右培养。待培养液出现红色后,取培养液做成不同量级的稀释液涂平板,将培养皿倒置于真空干燥器内,并以焦性没食子酸碱液吸收 O₂,20℃培养两周左右在平板上长出菌落。从带颜色的菌落挑取细菌置于显微镜下观察,细胞运动相当活泼,并多呈旋转运动的单细胞菌落。移至固体斜面,在相同条件下培养,待生成色素后停止培养。纯化分离后的菌种置于冰箱保存备用。

细胞形态、培养特征及生理生化特性鉴定方法依据《细菌常规鉴定方法》进行鉴定。

1.2 田间试验

试验地基本情况:试验地设在公主岭市刘房子镇铁南,土壤为黑土,前茬为玉米,地势平坦,肥力一致。

供试作物及耕作栽培管理:供试作物为大豆品种吉林 37。5 月 4 日播种(等距点播),田间管理铲趟各两次,9 月 26 日收获。

试验处理:试验设 3 个处理,分别为 10 倍、15 倍和 20 倍稀释液拌种加 40 倍液喷施,每个处理都以稀释相同倍数的基质和清水为对照,小区面积 40 m²,共 36 个小区,随机区组排列,4 次重复。生育期进行常规调查,收获后小区测产。

2 结果与分析

2.1 细胞形态及培养特征

好气、无光照条件下培养 48 h 的细胞个体形态见表 1。

收稿日期:2005-01-08

作者简介:吴海燕(1968-),女,吉林省公主岭人,硕士,主要从事土壤微生物研究。

表 1 细胞形态

菌株	601	n ₃	屠宰场菌株	稻田 II	稻田 I	造纸厂菌株
形态	杆状	杆状	杆状	杆状	杆状	短杆
大小(μm)	1.67×0.82	2.16×1.66	1.21×0.60	2.22×1.32	2.76×2.00	1.04×0.64

注:601、n₃菌株从上海植生所引进,作为鉴定对照菌种,下表同。

在固体平板上,厌气光照培养 7 d 生长的菌落特征见表 2。

表 2 平板培养菌落特征

菌株	屠宰场菌株	稻田 I	稻田 II	造纸厂菌株	601	n ₃
形状	圆形、凸起	圆形、偏平	圆形、凸起	圆形、凸起	圆形、凸起	圆形、凸起
直径(mm)	0.5~1.0	0.5~1.5	0.3~1.0	0.5~2.0	0.5~1.5	0.5~1.5
边缘	整齐	整齐	整齐	较整齐	整齐	整齐
颜色	桔红	桔黄	桔黄	深紫	紫色	紫色
表面特征	湿润光滑	湿润光滑	湿润光滑	湿润光滑	湿润光滑	湿润光滑
透明度	不透明	不透明	不透明	不透明	不透明	不透明

液体培养特征。将接菌后的培养液置于光照下 28℃培养 1 周左右,可形成大量菌体。肉眼可见其附着于瓶壁或沉集于容器的底部,并伴有很浓的色素。随菌株不同,形成的颜色各异。如屠宰场分离的菌种由高粱红到桔红;稻田土分离的菌种由紫色变为桔黄;601、n₃和造纸厂分离的菌种由红黄色到紫色。测试结果表明,不同菌株由于各自所含光合色素成分不同,因而反映出的颜色也各异。

2.2 生理生化特性

主要鉴定结果见表 3。

表 3 光合细菌的生理生化鉴定结果

项目	屠宰场菌株	稻田菌 I	稻田菌 II	601	n ₃	造纸厂菌株
革兰氏染色	-	-	-	-	-	-
H ₂ S 的产生	-	-	+	+	+	-
吲哚形成	-	-	-	+	-	-
硝酸盐还原	-	-	-	-	-	-
淀粉水解	-	-	-	-	-	-
明胶液化	-	-	-	-	-	-

2.3 大豆生育性状调查结果

8 月 1 日对每一处理随机取样 10 株进行其生育性状调查,结果见表 4。

表 4 光合细菌液对大豆生育性状的影响

处理	株高 (cm)	茎粗 (cm)	结荚数 (个/株)	植株鲜重 (g/株)	植株鲜重增加率(%)			
					处理与对应的对照比		各个处理之间比	
					基质对照	清水对照	P ₇ 与 P ₄	P ₇ 与 P ₁ P ₄ 与 P ₁
1 P ₁ 拌种 10 倍+喷施	76.43	0.670	19.5	127.50	5.94	7.32		
P ₂ 基质对照	76.10	0.616	18.7	120.35				
P ₃ 清水对照	74.57	0.579	16.8	118.80				
2 P ₄ 拌种 15 倍+喷施	76.33	0.684	20.0	143.75	2.04	4.84		12.75
P ₃ 基质对照	75.14	0.612	18.0	140.87				
P ₄ 清水对照	75.01	0.599	17.5	137.12				
3 P ₇ 拌种 20 倍+喷施	77.77	0.709	21.6	171.25	1.42	5.21	19.13	34.31
P ₄ 基质对照	76.57	0.688	20.3	168.85				
P ₄ 清水对照	75.44	0.612	20.0	162.77				

注:以上数字为 4 次(每一重复 10 株)重复的平均数。

结果表明,大豆拌种与喷施光合细菌菌液对其生长发育的影响较基质对照与清水对照都十分明显。其中处理 1(10 倍稀释菌液)株高平均比基质对照增加 0.33 cm,比清水对照增加 1.86 cm;茎粗平均比基质对照增加 0.054 cm,比清水对照增加 0.091 cm;每株结荚数平均比基质对照增加 0.8 个,比清水对照增加 2.7 个;每株植株鲜重平均比基质对照增加 5.94%,比清水对照增加 7.32%。处理 2(15 倍稀释菌液)株高平均比基质对照增加 1.19 cm,比清水对照增加 1.32 cm;茎粗平均比基质对照增加 0.072 cm,比清水对照增加 0.085 cm;每株结荚数平均比基质对照多 2.0 个,比清水对照多 2.5 个;每

株植株鲜重平均比基质对照增加 2.04%，比清水对照增加 4.84%。处理 3(20 倍稀释菌液)平均株高比基质对照增加 1.20 cm，比清水对照增加 2.33 cm；茎粗平均比基质对照增加 0.021 cm，比清水对照增加 0.097 cm；每株结荚数平均比基质对照增加 1.3 个，比清水对照增加 1.6 个；每株植株鲜重平均比基质对照增加 1.42%，比清水对照增加 5.21%。各处理之间每株植株鲜重增加率比较，处理 2(P₄)和处理 3(P₇)比处理 1(P₁)平均分别增加 12.75%和 34.31%，处理 3(P₇)比处理 2(P₄)平均增加 19.13%。

2.4 大豆测产结果

大豆成熟后(9月26日)收获,各个小区单打单收,全区测产,结果见表5。

表5 光合细菌菌液对大豆产量的影响

处 理	产量(kg/40 m ²)					产量 (kg/hm ²)	增产(%)			
	I	II	III	IV	\bar{x}		处理与对应的对照比		各个处理之间比	
							基质对照	清水对照	P ₁ 与 P ₄	P ₁ 与 P ₇ , P ₄ 与 P ₇
1 P ₁ 拌种(10倍)+喷施	14.15	12.98	13.17	13.70	13.50	3 375.0	20.32	31.71	12.50	8.0
P ₂ 基质对照	11.67	11.25	11.30	10.78	11.25	2 812.5				
P ₃ 清水对照	9.57	11.45	9.98	10.00	10.25	2 562.5				
2 P ₄ 拌种(15倍)+喷施	11.95	12.00	12.35	11.70	12.00	3 000.0	11.63	20.00		
P ₅ 基质对照	10.48	9.12	11.00	12.40	10.75	2 687.6				
P ₆ 清水对照	9.48	11.10	9.77	9.65	10.00	2 500.1				
3 P ₇ 拌种(20倍)+喷施	13.44	11.98	12.41	12.17	12.50	3 125.0	16.28	24.99		4.17
P ₈ 基质对照	11.74	9.76	11.50	10.00	10.75	2 687.6				
P ₉ 清水对照	9.78	9.10	10.12	11.00	10.00	2 500.1				

结果表明,光合细菌菌液对大豆产量的影响高于基质对照和清水对照。其中处理 1 的 P₁ 分别比对照增产 20.32%和 31.71%;处理 2 的 P₄ 分别比对照增产 11.63%和 20.00%;处理 3 的 P₇ 分别比对照增产 16.28%和 24.99%。光合细菌菌液稀释浓度不同,对大豆产量的影响也不同,P₁(10 倍)产量最高,分别比 P₄(15 倍)、P₇(20 倍)增产 12.5%和 8.00%。说明 10 倍稀释菌液效果最好。

对大豆产量进行了生物统计,方差分析结果见表 6。

方差分析结果表明,处理间差异极显著,重复间差异不显著。用 LSD 法进行多重比较,P₁ 除与 P₇ 比产量差异显著外,与其它比产量差异都达到极显著水平;P₇ 与 P₅、P₈、P₃、P₆、P₉ 比产量差异极显著,与 P₂ 比产量差异显著,与 P₄ 比产量差异不显著;P₄ 与 P₅、P₈、P₃、P₆、P₉ 比产量差异极显著,与 P₂ 比产量差异显著;P₂ 与 P₅、P₈、P₃、P₆、P₉ 比产量差异显著,其它各处理之间产量差异不显著。

表6 光合细菌菌液对大豆产量影响方差分析

Sourcer	D.FSum	OF SQ	Mean SQ	F.Ratio
Factor	8	47.22	5.90	8.81**
Rep	3	0.80	0.27	<1
Error	24	16.10	0.67	
Total	35	64.12		

LSD_{0.05}=1.19 LSD_{0.01}=1.62

3 结 论

分离与鉴定的各菌株均属兼性厌氧菌,在厌氧光照下进行光合作用,在好气暗条件下只进行呼吸作用。

厌氧光照培养培养液呈现一定颜色,随菌种不同而呈现桔黄、桔红、紫和深紫等各种色泽,而在好气、无光照条件下培养没有色素产生。

细胞形状为短杆、杆状,都具运动性。初步鉴定为红色假单胞菌属(*Rhodoseudomouas*. spp)。

田间试验结果表明,使用光合细菌菌液可以使大豆植株高大健壮、叶色浓密、根系发达、光合作用增强、结荚数增加和植株鲜重明显提高。产量结果以 10 倍稀释液拌种加 40 倍液喷施最佳,分别比基质对照和清水对照增产 20.32%和 31.71%,分别比 15 倍稀释液和 20 倍稀释液增产 12.5%和 8.00%。

参考文献:

- [1] 祝国芹,等. 高活性光合细菌的分离培养及应用[J]. 水产科学, 1994, 1: 6-10.
- [2] 中国科学院微生物学细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978.
- [3] 孙淑荣,等. 光合细菌的生物学特性与生理生化特性的研究[J]. 吉林农业科学, 1991, (4): 70-72.