

# 玉米共生细菌生物膜形成与其根表定殖相关性分析

刘悦, 李青超, 兰英, 李子豪, 赵秀梅, 刘洋, 王立达, 张金东, 王俊强, 韩业辉

(黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:**为研究玉米共生细菌生物膜形成能力与根表定殖能力的相关性,采用梯度稀释法分离筛选玉米根表共生菌株,酶标仪测定与结晶紫染色法检测细菌生物膜的形成能力,平板菌落计数检测细菌在玉米根部的定殖量。从玉米根表分离获得270株细菌,芽孢杆菌属为优势属。结晶紫染色结果发现,生物膜形成能力强的细菌会有更明显的显色反应,细菌生物膜吸光度数值在0.065~2.533;将分离菌株按生物膜形成能力强弱分为A~E组,不同生物膜形成能力组的菌株数量与形成能力呈反比,选取的5株蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)的生物膜形成能力与其在植物根表的定殖能力显著相关,并且生物膜形成能力越强的菌株定殖能力越强。综上,玉米共生细菌生物膜的形成与其在根表的定殖能力呈正相关性。

**关键词:**玉米;生物膜;定殖;根表;相关性

中图分类号:S182;Q939.96

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2025)06-0108-08

## Correlation Analysis of Biofilm Formation and its Root Surface Colonization in Maize Symbiotic Bacteria

LIU Yue, LI Qingchao, LAN Ying, LI Zihao, ZHAO Xiumei, LIU Yang, WANG Lida, ZHANG Jindong, WANG Junqiang, HAN Yehui

(Qiqihar Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** To study the correlation between biofilm formation ability and root surface colonization ability of maize symbiotic bacteria, the following experiments were conducted: Firstly, the strains were isolated using the gradient dilution method; secondly, the bacterial biofilm formation ability was determined by microplate reader and crystal violet staining method; thirdly, the bacterial colonization amount on maize roots was detected by plate colony counting method. A total of 270 bacterial strains were isolated from the maize root surface. The crystal violet staining results showed that bacteria with strong biofilm formation ability exhibited a more obvious color reaction, and the absorbance values of bacterial biofilms ranged from 0.065 to 2.533. The isolated strains were divided into five groups(A to E) according to the strength of their biofilm formation ability, and the biofilm formation ability of the bacteria was inversely proportional to the number of bacterial strains. The biofilm formation ability of the five selected *Bacillus cereus* strains was significantly correlated with their colonization ability on maize root surfaces, and the stronger the biofilm formation ability, the stronger the colonization ability of the strains. In summary, the formation of biofilms by maize symbiotic bacteria is positively correlated with their colonization ability on the root surface.

**Key words:** Maize; Biofilm; Colonization; Root surface; Correlation

植物与微生物之间是相互作用的,植物根际

是直接受土壤微生物影响的土壤狭窄区域。根际含有许多细菌和其他微生物,这些细菌和其他微生物以脱落的植物细胞及由根释放的蛋白质和糖为食,同时细菌也会对植物发挥有益作用,并在植物根系分泌物诱导下定殖于植物根系,从而促进植物生长,防治植物病害<sup>[1-3]</sup>。Song等<sup>[4]</sup>通过盆栽试验和高通量测序技术,研究了3株植物促生根细菌(PGPR)对玉米植株生物量的影响,发现3

收稿日期:2025-04-25

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZKYF2024-1-C008);齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LNYGG-2024003);黑龙江省农业科技创新跨越工程农业特色产业科技创新支撑项目(CX23TS23)

作者简介:刘悦(1995-),女,助理研究员,硕士,从事植物保护研究。

株 PGPR 菌株均对玉米具有促生长特性。Bjelic 等<sup>[5]</sup>研究固氮菌、枯草芽孢杆菌和荧光假单胞菌单独或混合作用接种玉米,使玉米根际微生物数量显著增加,同时细菌的接种也增加了玉米幼苗的株高和鲜重。

细菌生物膜是指由附着于生物或者非生物实体表面的细菌细胞和包裹着细菌的水合性基质所组成的结构性细菌群落<sup>[6]</sup>。细菌生物膜的形成包括细菌与其所附着载体表面或载体本身的相互作用及细菌与细菌之间的相互作用,这种作用会决定并影响成熟生物膜的结构、功能和组成<sup>[7]</sup>。稳定的定殖于寄主植物是植物促生根细菌发挥良好作用的前提,在对玉米共生细菌的研究中,玉米共生细菌在根表定殖的能力随着其形成生物膜能力的增强而增强,在其他草本植物中亦有类似现象出现<sup>[8]</sup>。Ambarita 等<sup>[9]</sup>从盐和酸胁迫土壤中分离鉴定了 9 个形成生物膜的根磷酸盐细菌,这些细菌能通过产生吡啶乙酸促进玉米生长。Puri 等<sup>[10]</sup>研究发现,多粘类芽孢杆菌 P2b-2R 能通过形成生物膜牢固定殖于玉米根际和根组织,接种菌株 P2b-2R 对玉米幼苗有显著促进生长作用。本研究通过对玉米共生细菌生物膜形成能力进行检测,筛选生物膜形成能力差异显著的菌株,鉴定其分类学地位,评价上述菌株在玉米根表定殖的能力,确定其生物膜形成能力与根表定殖能力之间的相关性。上述研究结果将为阐明玉米共生细菌在玉米根表定殖的机制奠定理论基础,为有益微生物制剂的开发提供理论指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 培养基

0.1×TSA(Tryptic Soy Agar)培养基:1.5 g/L 胰蛋白胨,0.5 g/L 大豆蛋白胨,0.5 g/L 氯化钠,15 g/L 琼脂混匀,121 °C 高压灭菌 20 min。

LB (Luria bertani): 10 g/L 胰蛋白胨, 10 g/L NaCl, 5 g/L 酵母提取物。

Msgg 培养基: 0.1 mol/L Pot.phosphate buffer 50 mL、1 mol/L MOPS(pH=7) 100 mL、5 mmol/L FeCl<sub>3</sub> 10 mL、200 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 10 mL、10 mmol/L MnCl<sub>2</sub> 5 mL、10 mmol/L ZnCl<sub>2</sub> 0.1 mL、2 mmol/L thiamine 1 mL、10 mg/mL Tryptophan 5 mL、10 mg/mL Phenylalanine 5 mL、10 mg/mL Threonine 5 mL、20% glycerol 25 mL、20% glutamate 25 mL、1 mol/L CaCl<sub>2</sub> 700 μL、758.2 mL dH<sub>2</sub>O。

MS(Murashige and Skoog)培养基:4.74 g/L ms, 6 g/L 琼脂,121 °C 高压灭菌 20 min。

以上培养基所用药品均采购自北京奥博星生物技术有限责任公司。

#### 1.1.2 供试细菌菌株

实验所用菌株分离自黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院试验地采集的玉米根系样本。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细菌样本的分离与纯化

(1)取样:取玉米的侧根,将与侧根疏松结合的土壤抖落,将根系样品及其他样品装于标本袋中,并置于便携式冰箱里,用于微生物的分离。

(2)微生物的分离:对玉米根系样品称重后,使用盛装有 1×PBS 缓冲液与无菌石英砂的研钵将该根系样品研碎,梯度稀释研磨液至 10<sup>-9</sup>,吸取合适的 3 个梯度的稀释液 100 μL 涂平板,每个稀释梯度涂细菌分离平板 3 块。细菌 30 °C 培养 7 d,期间每天记录菌落数,培养结束后,挑取单菌落纯化,将细菌菌落接种于液体培养基中培养,菌体保存于 17% 的甘油中,并置于 -80 °C 保存。

#### 1.2.2 细菌生物膜形成能力的鉴定

将分离出的细菌菌株在 0.1TSA 培养基中活化,30 °C 培养 2 d,挑取单菌落,TSB 液体培养基中摇菌 12 h。将培养好的菌液以 96 孔板在 OD<sub>600</sub> 时调节细菌菌液吸光度=1。将 96 孔板中每孔加入 Mmsg 液体培养基 200 μL 和调节好的菌液 2 μL,并以未加菌液的空白 Mmsg 液体培养基为阴性对照,封口膜封好,30 °C 培养箱培养 3 d,取出后将每一孔的菌液与培养基吸出,清水冲洗每孔 3 次。冲洗后每孔加入结晶紫染色液 200 μL 进行染色 30 min。染色后吸去染液,清水冲洗 3 次,晾干后每孔加入 10% 乙酸洗染液,持续 30 min。将 96 孔板放入酶标仪中,在 OD<sub>570</sub> 时测吸光度值。实验重复 3 次。

#### 1.2.3 细菌运动性检测

将选择的细菌分别在不同的 LB 培养基中进行接种。将菌液以紫外分光光度计调节吸光度值为 0.3。在 0.2LB 培养基中将菌液 2 μL 打入培养基底部,使其自行运动,9 h 后测量细菌运动的直径,进行细菌 swimming 的运动性记录;在 0.7LB 培养基中将菌液 2 μL 打入培养基底部,使其自行运动,29 h 后测量细菌运动的直径,进行细菌 swarming 的运动性记录。

#### 1.2.4 细菌的生物学分类鉴定

将分离的细菌进行 DNA 粗提取,参照文献 [14] 以引物 27F(5' -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-

3')和1 492R(5' -GGTTACCTT GTTACGACTT-3')扩增其16S rRNA基因,送往公司进行测序,在NCBI上序列比对后,确定菌株的生物学分类。

### 1.2.5 细菌在玉米根表的定殖分析

(1)玉米组培种植:玉米种子用75%乙醇处理3 min,5%(v/v)次氯酸钠处理3 min,用无菌蒸馏水冲洗3~5次。在表面灭菌之后,将8个玉米粒胚向上放置在装有7 mL无菌水的培养皿中,吸取培养皿中250  $\mu$ L液体至TSA培养基中查污染。然后在30  $^{\circ}$ C在黑暗的房间中孵育,每隔24 h在超净台中换1次水,利用TSA培养基查污染,使种子保持湿润、无污染,萌发40~45 h。最后,将幼苗转移到用0.6%琼脂固化的无蔗糖MS培养基上,并在植物生长室(24  $^{\circ}$ C,光照16 h)中进一步培养。

(2)接种细菌:将筛选的细菌活化并于液体LB培养基中摇培菌株,待菌液OD<sub>600</sub>达到1.0(10<sup>8</sup> CFU/mL<sup>-1</sup>),以1 $\times$ PBS稀释1 000倍制成菌悬液。使幼苗的根系浸泡于菌悬浮液中1 h后,将组培苗转移至0.6%琼脂固化的无蔗糖MS培养基上培养。

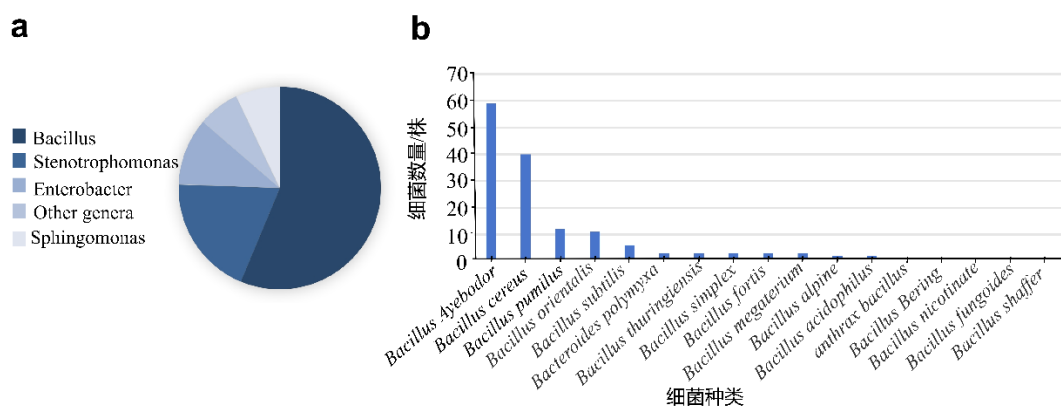
(3)定殖量分析:接种后第0天和第7天,切取根至离心管中,并加入1 mL1 $\times$ PBS,设置5组重复。超声振荡1 min,再漩涡振荡器振荡1 min,重复3次(共6 min),震荡结束后冰浴1 min。在96孔

板每孔加入180  $\mu$ L的1 $\times$ PBS,在96孔板A1孔中加入20  $\mu$ L震荡后的植物根部菌液,在A2中加入20  $\mu$ L A1中的混合液,以此类推,最后在A8中加入20  $\mu$ L A7中的混合液,由此得到稀释10<sup>-1</sup>~10<sup>-8</sup>倍的菌液。取10  $\mu$ L的植物根部梯度稀释菌液滴到0.1TSA平板上,放入细菌培养箱中。记录所切取的根重,24~48 h后进行菌落平板计数。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米根表共生细菌的分离与分类学鉴定

从玉米根表样品中分离细菌分离物,并对分离出的细菌进行DNA提取,PCR扩增16S rRNA基因序列,获得长度为1 300 bp左右的PCR产物,测序后,将所得序列提交至NCBI数据库。结果显示,共分离获得细菌分离物270株,其中,芽孢杆菌属为优势属,数量为152株,占比56.29%;其次为寡养单胞菌属细菌52株,肠杆菌属细菌29株,假单胞菌属细菌18株,其他各属细菌共计19株(种类有克雷伯氏菌属、葡萄球菌属、节杆菌属、溶杆菌属、金黄杆菌属、鞘氨醇杆菌属等)(图1a)。在芽孢杆菌属细菌中,以阿耶波多氏芽孢杆菌数量为最多,共有59株,其次为蜡样芽孢杆菌,共40株。两种细菌合计占芽孢杆菌数量的65.13%(图1b)。



注:a:不同属细菌的分类及数量;b:分离出细菌中芽孢杆菌属的细菌种类及其数量。

Note: a, classification and quantity of bacteria of different genera; b, bacterial species and quantity of *Bacillus* species isolated from bacteria.

图1 玉米根表共生细菌的分类学鉴定

Fig.1 Taxonomic identification of symbiotic bacteria in maize roots

### 2.2 玉米根表共生细菌生物膜形成能力的鉴定

对270株细菌于96孔板中进行生物膜培养,结晶紫染色法测定细菌生物膜的形成能力,以酶标仪测定的吸光度值来表示细菌生物膜形成能

力。结果显示,生物膜形成能力强的细菌所产生的生物膜会呈现更明显的显色反应,细菌生物膜吸光度数值在0.065~2.533(图2),阴性对照的吸光度数值为0。

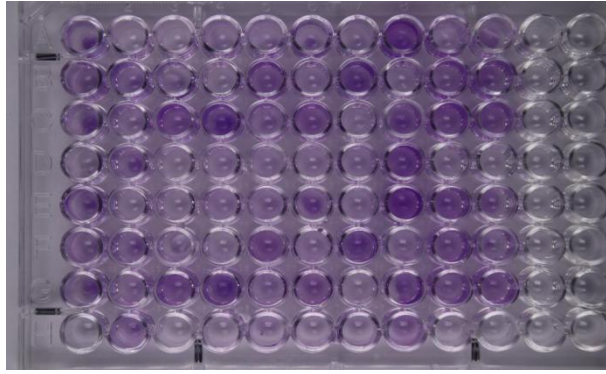
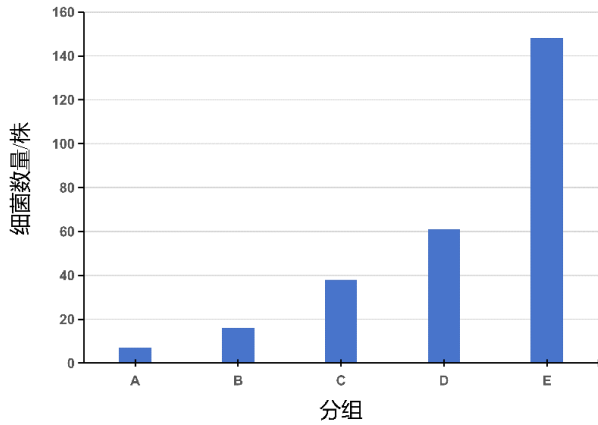


图2 结晶紫染色效果图

Fig.2 Effect diagram of crystal violet staining

### 2.3 玉米根表共生细菌生物膜形成能力分组

将分离出的细菌按照生物膜形成能力数值分为5个组分, A~E分别代表生物膜形成能力由强



注: A~E组分别代表细菌的生物膜形成能力由强到弱。

Note: A-E represent bacterial biofilm formation from strong to weak.

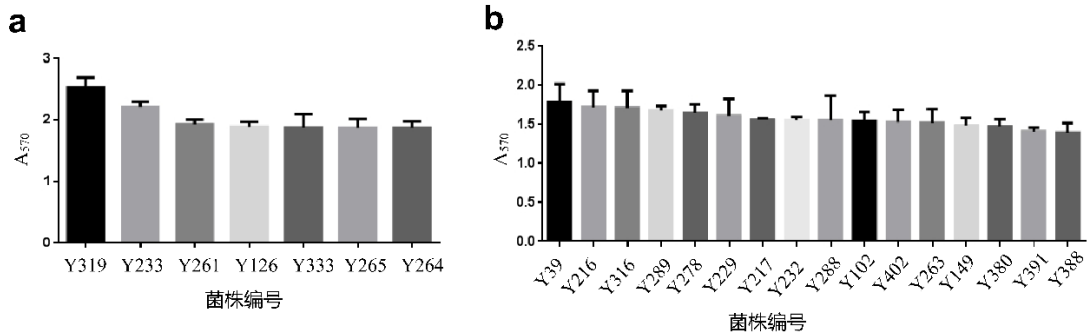
图3 生物膜形成能力对细菌分组

Fig.3 Grouping of bacteria by biofilm formation capacity

到弱。在这里分别记A组:细菌生物膜吸光度1.8以上,细菌数量为7株;B组:细菌生物膜吸光度1.35~1.80,细菌数量为16株;C组:细菌生物膜吸光度0.90~1.35,细菌数量为38株;D组:细菌生物膜吸光度0.45~0.90,细菌数量为61株;E组:细菌生物膜吸光度0~0.45,细菌数量为148株。结果表明,细菌生物膜形成能力与细菌数量成反比,即A组代表细菌生物膜形成能力最强的一部分,而这一部分所包含的细菌数量是所有组分里数量最少的,E组是生物膜形成能力最弱的,这一组所包含的细菌数量是全部组分里最多的(图3)。所筛选的细菌中,细菌生物膜形成能力,吸光度数值超过1.0的共46株,占比例为17.04%。吸光度数值超过2.0的共计2株。

### 2.4 细菌生物膜形成与细菌种群类型之间的关系

A组的细菌共计7株,其生物膜形成能力的吸光度数均值在1.80以上,其中肠杆菌属细菌4株,所占比例最大,其他细菌分别为鞘氨醇杆菌属、芽孢杆菌属和寡养单胞菌属(图4a)。B组的细菌共计16株,其中占主要地位的细菌分别为肠杆菌属细菌共5株,芽孢杆菌属细菌4株,寡养单胞菌属细菌4株,其他种属的细菌3株(图4b)。C组的细菌共计38株,其中占据主导地位的是寡养单胞菌属细菌,共计15株;其次是芽孢杆菌属细菌,共9株;肠杆菌属细菌,共计9株;其他属细菌5株。D组细菌共计61株,其中芽孢杆菌属细菌和寡养单胞菌属细菌数量相等,均为23株,其他类细菌共计15株。E组细菌共计148株其中芽孢杆菌属细菌占据主导地位,共计115株。



注: a: A组细菌及其生物膜形成能力; b: B组细菌及其生物膜形成能力。横坐标代表菌株编号,纵坐标代表OD<sub>570</sub>时的吸光度数值,即生物膜形成能力。

Note: a, group A bacteria and their biofilm formation capacity; b, group B bacteria and their biofilm formation capacity. The abscissa represents the strain number and the ordinate represents the absorbance value at OD<sub>570</sub>, the biofilm formation capacity.

图4 细菌生物膜形成能力分组

Fig.4 Group of bacterial biofilm formation capacity

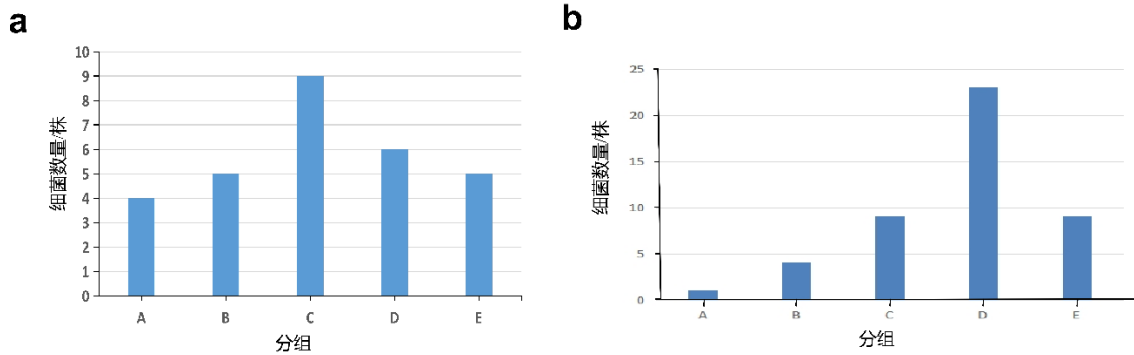
### 2.5 不同属细菌在各组分内的数量分布

对全部的肠杆菌属细菌进行分析。肠杆菌属细菌共计 29 株,其中,生物膜形成能力在 A 组最强组的共有 4 株;在 B 组次强组的共有 5 株,在 A、B 两组中,肠杆菌属细菌在该组所占的比例分别为 57.14% 和 31.25%;在 C 组的共有 9 株;在 D 组次弱组的共有 6 株;在 E 组最弱组的共 5 株(图 5a)。所分离的肠杆菌属细菌在不同生物膜形成能力组分里的数量分布差距不明显,生物膜形成能力强的细菌数量更少。

对全部寡养单胞菌属细菌进行分析。寡养单胞菌属细菌共计 52 株,其中生物膜形成能力在 A 组最强组的共有 1 株,在 B 组的共 4 株,在 C 组的共 15 株,在 D 组共 23 株,在 E 组共 9 株(图 5b)。在

A~D 组的分布上看,寡养单胞菌属的细菌也呈现生物膜形成能力较强的细菌数量较少的情况,而在 0~0.45 这一区间,寡养单胞菌属细菌的存在数量较少。

芽孢杆菌属细菌是本次研究所筛选出的全部细菌中数量最多占比例最大的细菌,共计 152 株。在 A 组,即形成能力最强组的有 1 株;B 组 4 株;C 组 9 株;D 组 23 株;E 组既形成能力最弱组的有 115 株,占 E 组细菌总量的 77.01%。芽孢杆菌属细菌在 5 个组分的分布情况呈现出生物膜形成能力强的细菌数量更少,而生物膜形成能力弱的数量相对较多,其中蜡样芽孢杆菌在 5 个组分中均有分布。



注:a:肠杆菌属细菌在不同组分内的数量情况;b:寡养单胞菌属细菌在各组中的分布。

Note: a, the quantity of *Enterobacteriaceae* bacteria in different components; b, distribution of bacteria belonging to the genus *Stenotrophomonas* across various groups.

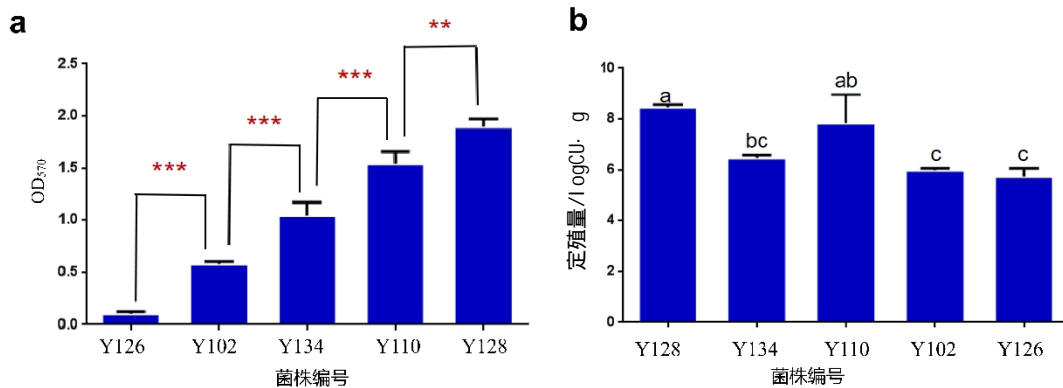
图5 不同属细菌在各组分内的数量分布

Fig.5 Distribution of bacteria from different genera within the components

### 2.6 细菌生物膜形成与根表定殖的相关性分析

在本研究所筛选的全部细菌当中,芽孢杆菌属

细菌的数量为最多,而其中的蜡样芽孢杆菌共有 40 株,在实验划分的 5 个组分中都有分布,因



注:a:蜡样芽孢杆菌的生物膜形成能力,\*代表  $P < 0.05$ ; \*\*代表  $P < 0.01$ ; \*\*\*代表  $P < 0.001$ ;

b:蜡样芽孢杆菌在玉米根表的定殖量,a、b、c 表示处理间存在显著性差异,  $P < 0.05$ 。

Note: a, biofilm forming capacity of *B. cereus*; \*,  $P < 0.05$ , \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ ; b. *B. cereus* colonization root colon, "a, b, c" indicates significant difference between treatments,  $P < 0.05$ .

图6 5株蜡样芽孢杆菌的生物膜形成能力与定殖能力

Fig.6 Biofilm formation and colonization capacity of five *B. cereus* strains

此,在对细菌生物膜形成与根表定殖的相关性研究时,精心选取其中5株生物膜形成能力差异显著的蜡样芽孢杆菌作为实验样本,这5株蜡样芽孢杆菌编号分别为Y102、Y110、Y126、Y128、Y134。这5株蜡样芽孢杆菌的生物膜形成能力与所分组别一样,呈现出由弱到强的趋势,其生物膜形成能力由弱到强依次排序为Y126<Y102<Y134<Y110<Y128(图6a)。

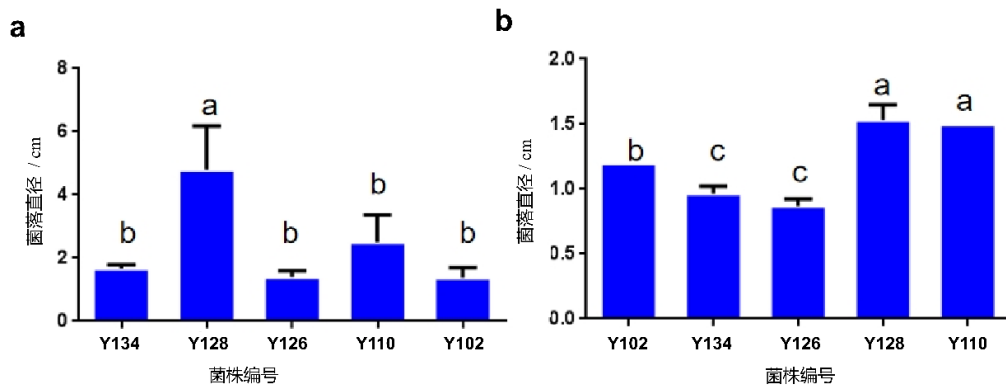
为了检测菌株在玉米根表的定殖,将5株蜡样芽孢杆菌分别接种于MS培养基中生长的玉米幼苗,于接种后的第0、7天采集根系样品,分离并培养定殖于根表的菌株,统计其定殖量(图6b)。结果表明,接种后的第0天,菌株在玉米根表的定殖量都为0,随着玉米的生长,菌株在玉米根表的定殖量逐渐增加,菌株Y128根表定殖量为最大,接种后第7天的定殖量可达到 $3 \times 10^8$  CFU/g。这5株蜡样芽孢杆菌依根表定殖能力由弱到强依次为Y126<Y102<Y134<Y110<Y128。

计算生物膜形成吸光度数值和根表定殖量数值的皮尔逊相关系数,进行相关性分析,其相关系数为0.950,显著性值为0.011,二者之间具有显著相关性。

## 2.7 细菌运动性与根表定殖的相关性分析

为验证细菌运动性与其在玉米根表定殖相关性,将筛选得到的5株蜡样芽孢杆菌分别进行swimming运动性和swarming运动性检测。将细菌接种在0.2LB培养基平板内进行细菌swimming运动性检测,结果显示,经过9 h运动后,运动能力最强的菌株为Y128,在培养基下扩散菌落直径达到6.5 cm,而运动能力最弱的菌株Y126菌落扩散直径仅有1.5 cm。其细菌运动能力由弱到强排列依次为Y126<Y102<Y134<Y110<Y128(图7a)。计算swimming运动菌落直径数值与定殖量数值的皮尔逊相关系数,结果表明,二者相关系数为0.75, $P$ 值为0.04,因此证明二者具有显著相关性。

将细菌接种在0.7LB培养基平板内进行细菌swarming运动性检测,结果显示,在29 h运动后,细菌运动能力最强的为菌株Y128,可扩散菌落直径达1.5 cm,运动能力最弱的为菌株Y126可扩散菌落直径达0.8 cm。其细菌运动能力由弱到强依次为Y126<Y134<Y102<Y110<Y128(图7b)。计算swarming运动菌落直径数值与定殖量数值的皮尔逊相关系数。结果显示,二者相关系数为0.65, $P$ 值为0.53。二者具有相关性,但不具有显著性。



注:a:蜡样芽孢杆菌的swimming运动性;b:蜡样芽孢杆菌的swarming运动性。a、b、c表示处理间存在显著性差异, $P < 0.05$ 。

Note: a, swimming motility of *B. cereus*; b, swarming motility of *B. cereus*, a, b, c indicates significant difference between treatments,  $P < 0.05$ .

图7 5株蜡样芽孢杆菌的运动性检测

Fig.7 Detection of motility in five *B. cereus* strains

## 3 结论与讨论

植物根系相关微生物群落对植物的生长发育至关重要,每种植物根系形成的微生物群落不同<sup>[11]</sup>。罗菲等<sup>[12]</sup>从东乡野生稻根际分离出118株细菌,其中泛菌属是优势菌属。刘泉成等<sup>[13]</sup>从玉米根系分离出1584株细菌,假单胞菌是优势菌群。本研究全部筛选的细菌中,芽孢杆菌属为优势属,其次为寡养单胞菌属和阴沟肠杆菌属细

菌,这可能与细菌对玉米根系周边的氮、磷等营养成分的利用有关。同时,嗜麦芽寡养单胞菌能有效利用葡萄糖麦芽糖等物质,这可能与玉米根表分泌的糖类物质有关。

植物-微生物相互作用的强度和持续时间显著受到附着微生物种群动态的影响,不同组织上的生物膜具有其独特的性质。陈瑶等<sup>[14]</sup>筛选出7株对草莓根腐病拮抗作用强的菌株,这7株菌的都具有较强的生物膜形成能力。本研究发现,分

离出的细菌生物膜形成能力的强弱与细菌数量分布成反比,细菌生物膜形成能力强的细菌数量更少,比例更小。但在对寡养单胞菌属细菌的生物膜形成能力进行单独分析时发现,寡养单胞菌属细菌生物膜形成能力与细菌数量并不完全成反比关系,生物膜吸光度在生物膜能力较强组数量最多,这可能存在着样本数量不足或者寡养单胞菌属细菌生物膜形成能力较强的可能。

细菌生物膜的形成在其定殖于植物根系过程中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。有研究发现,*Pseudomonas* sp. JM2-gfp 菌株可在小麦根表形成稳定的生物膜,从而定殖到小麦的根和茎、叶组织内部<sup>[16]</sup>。杨华等<sup>[17]</sup>研究发现,固氮施氏假单胞菌生物膜形成相关基因参与其在水稻根部的定殖,并在其促进水稻生长过程中发挥重要作用。Ansari 等<sup>[18]</sup>研究发现,PGPR 菌株在植物根上形成生物膜能更好地定殖于植物根部。本研究发现,实验所选取的5株蜡样芽孢杆菌的生物膜形成能力与其在玉米根部的定殖能力成正比,后续也会对其在基因表达方向进一步研究生物膜形成能力与其在植物根表定殖的相关性。另外,有研究发现,细菌在植物根系分泌物诱导下能运动到植物根部并定殖于植物<sup>[19]</sup>。庞娅楠等<sup>[20]</sup>研究发现,马铃薯的根系分泌物对细菌在马铃薯根际趋化运动成膜具有促进作用。董丽红等<sup>[21]</sup>研究发现,棉花根系分泌物可促进 *B.subtilis* NCD-2 菌株生物膜的形成。本研究发现,5株 *B.cereus* 的 swimming 运动与其在根表定殖能力显著相关,swarming 运动与其定殖能力虽不显著相关,但仍具有较强的相关性,这可能受菌株本身的遗传背景(如鞭毛合成基因簇等)的影响,后续试验将会按细菌运动能力对所分离的菌株进行分组,从而进一步研究细菌自身性状对其定殖的影响。

本研究从玉米根表分离获得270株细菌,其中,芽孢杆菌属为优势属,其次为寡养单胞菌属和阴沟肠杆菌属细菌;对270株细菌结晶紫染色法测定生物膜形成能力,发现生物膜形成能力强的细菌会有更明显的显色反应,细菌生物膜吸光度数值在0.065~2.533不等;将分离菌株按生物膜形成能力强弱分为5组,细菌生物膜形成能力与细菌数量成反比;选取其中5株生物膜形成能力差异显著的蜡样芽孢杆菌为样本。研究发现,菌株的生物膜形成能力与其在植物根表的定殖能力显著相关,并且生物膜形成能力越强的菌株定殖能力越强;5株 *B.cereus* 的运动能力与其定殖能力

也具有相关性。

#### 参考文献:

- [ 1 ] RUSSO A, POLLASTRI S, RUOCCO M, et al. Volatile organic compounds in the interaction between plants and beneficial microorganisms[J]. Journal of Plant Interactions, 2022, 17: 840-852.
- [ 2 ] YAYA K, ALVES E, SILVEIRA P R, et al. Control of blast disease caused by *Pyricularia oryzae* with *Epicoccum nigrum* and microscopic studies of their interaction with rice plants under greenhouse conditions[J]. Biological Control, 2022, 167:104840.
- [ 3 ] PARFENYUK A, KOSOVSKA N, BORODAI V, et al. Root exometabolites as an ecological factor in the interaction between cultivated plants and soil microorganisms[J]. Agroecological Journal, 2022, 17: 148-152.
- [ 4 ] SONG Q, DENG X, SONG R, et al. Three plant growth-promoting rhizobacteria regulate the soil microbial community and promote the growth of maize seedlings[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2023, 42(12): 18-23.
- [ 5 ] BJELIC D. Effect of PGPR on the early growth of maize and microbial abundance in rhizosphere[J]. Institute of Field, 2010, 63: 20-26.
- [ 6 ] DUTTA S, PODILE A R .Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone[J].Critical Reviews in Microbiology, 2010, 36(3): 232-244.
- [ 7 ] CAPPELLARI L D R, BOGINO P C, NIEVAS F. Exploring the differential impact of salt stress on root colonization adaptation mechanisms in plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Plants, 2023, 12(23):22-24.
- [ 8 ] ZHANG N, WANG D, LIU Y, et al. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation and colonization by beneficial rhizosphere-associated bacterial strains[J]. Plant & Soil, 2014, 374(1-2): 689-700.
- [ 9 ] AMBARITA D D M, MORA E, FITRIATIN B N, et al. Biochemical traits and biological assessment of indigenous biofilm-forming rhizosphosphate bacteria isolated from salinity and acidity stressed soils to enhance maize growth[J].Journal of Ecological Engineering, 2024, 25(9): 68-70.
- [ 10 ] PURI A, PADDA K P, CHANWAY C P. Can a diazotrophic endophyte originally isolated from lodgepole pine colonize an agricultural crop (corn) and promote its growth?[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2015, 89: 210-216.
- [ 11 ] MOLEFE R R, AMOO A E, BABALOLA O O. Communication between plant roots and the soil microbiome; involvement in plant growth and development[J]. Symbiosis, 2023, 90(3): 231-239.
- [ 12 ] 罗菲,汪涯,曾庆桂,等. 东乡野生稻根际可培养细菌多样性及其植物促生活性分析[J]. 生物多样性, 2011, 19(4): 476-484.  
LUO F, WANG Y, ZENG Q G, et al. Analysis of bacterial diversity and plant promotion in the rhizosphere of Dongxiang rice[J]. Biodiversity, 2011,19 (4): 476-484. (in Chinese)

- [13] 刘泉成,张茜茜,田雪亮,等.玉米根际细菌群落特征及生防菌筛选[J].中国生物防治学报,2018,34(5):8.  
LIU Q C, ZHANG Q Q, TIAN X L, et al. Community characteristics and screening in maize[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(5): 8. (in Chinese)
- [14] 陈瑶,王树雪,魏艳敏,等.草莓根腐病菌拮抗细菌的分离与筛选[J].北京农学院学报,2011(4):26.  
CHEN Y, WANG S X, WEI Y M, et al. Isolation and screening of antagonistic bacteria[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2011(4): 26. (in Chinese)
- [15] DANHOM T, FUQUA C. Biofilm formation by plant-associated bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 2007, 61(1): 401.
- [16] 高晓蓉,朱丽晖,周玉嫚.菲降解菌 *Pseudomonas* sp. JM2-gfp 细胞特性对生物膜形成能力的影响及其在植物根表的定殖[J].微生物学通报,2021,48(11):4019-4029.  
GAO X R, ZHU L H, ZHOU Y M. Effect of *Pseudomonas* sp. JM 2-gfp cell properties on biofilm formation ability and its colonization of the plant root surface[J]. Microbiology Bulletin, 2021,48 (11): 4019-4029. (in Chinese)
- [17] 杨华.固氮施氏假单胞菌的根表定殖特性和促进生长能力研究[D].北京:中国农业科学院,2020.
- [18] ANSARI F A, AHMAD. Biofilm development, plant growth promoting traits and rhizosphere colonization by *ITPseudomonas entomophila* & *FAP1*: A Promising PGPR[J]. Adv Microbiol, 2018, 8(3): 235-251.
- [19] ANSARI F A, AHMAD I, PICHTEL J. Synergistic effects of biofilm-producing PGPR strains on wheat plant colonization, growth and soil resilience under drought stress[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2023, 30(6): 127-139.
- [20] 庞娅楠,邱慧珍,成志远,等.马铃薯根系分泌物及氨基酸对萎缩芽孢杆菌 QHZ3 趋化成膜的影响[J].干旱地区农业研究,2023,41(5):236-245.  
PANG Y N, QIU H Z, CHENG Z Y, et al. Effects of potato root exudates and amino acids on the chemotactic membrane formation of *Bacillus subtilis* QHZ3[J]. Agricultural Research in Arid Regions, 2023, 41(5): 236-245. (in Chinese)
- [21] 董丽红.棉花根系分泌物对枯草芽孢杆菌 NCD-2 菌株生物膜形成的影响[D].保定:河北农业大学,2015.  
(责任编辑:穆楠)

(上接第 107 页)

- [12] 李金惠.“无废城市”建设:生态文明体制改革的新方向[J].人民论坛,2021(14):30-32.  
LI J H. Building a "Zero-waste city": a new direction for the reform of the ecological civilization system[J]. People's Tribune, 2021(14): 30-32. (in Chinese)
- [13] 宋洋,宗义湘.农药包装废弃物多元共治的协同机制与实现路径——基于河北省 3 个村莊的案例观察[J].中国农业资源与区划,2024,45(4):66-77.  
SONG Y, ZONG Y X. Synergistic mechanism and realization path of multi-governance of pesticide packaging waste—based on the case observation of three villages in Hebei Province[J]. Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning, 2024, 45(4): 66-77. (in Chinese)
- [14] 郑金武,余从权,袁锋,等.湖北宜昌市农药包装废弃物回收处置工作现状调查与对策建议[J].农药科学与管理,2020,41(2):10-14.  
ZHENG J W, YU C Q, YUAN F, et al. Investigation and countermeasures on recycling and disposal of pesticide packaging waste in Yichang City[J]. Pesticide Science and Administration, 2020, 41(2): 10-14. (in Chinese)  
(责任编辑:王昱)