荧光假单胞菌 Pf.X16L2 与丛枝状 菌根真菌 Glomus mosseae 在 小麦根圈内的相互关系*

龙伟文** 王平*** 冯新梅 李阜棣

(华中农业大学农业微生物农业部重点实验室,武汉 430070)

摘 要 运用发光酶基因标记及其发光强度检测、SDH酶活染色等技术,在根盒一土壤微宇宙及塑料盒栽系统中,研究了发光酶基因(luxAB)标记的荧光假单孢菌菌株 Pf. X16L2 与丛枝状菌根真菌摩西球孢囊霉 Glomus mosseae 两者在小麦根圈的相互关系。Gl. mosseae 对 Pf. X16L2 的种群密度和生理活性都有着抑制作用,因而能降低小麦根圈对 Pf. X16L2 的富集作用,而 Pf. X16L2 在一定程度上能提高 Gl. mosseae 的菌根感染率,但会降低菌丝中琥珀酸脱氢酶(SDH)活性。两者可共同促进小麦中后期的生长。

关键词 荧光假单胞菌 Pf. X1612,丛枝状菌根真菌 Glomus mosseae,小麦根圈,相互关系,根圈效应

中图分类号 Q938.11

当今,化学肥料和农药在农业生产中的广泛应用所造成的环境影响愈来愈受到人们的关注。研究和生产出能部分替代化学肥料及农药的生物产品已成为这一领域的重要发展方向。作物根圈促生细菌(Plant growth-promoting rhizobacteria,简称 PGPR)和丛枝状菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi,简称 AMF)以其促生和防病的双重潜力为开发利用二元或多元生物肥料及农药提供了理论上的可能[1~3],因而这二类微生物在作物根圈相互关系的研究近年来已成为微生物生态学领域的一个热点。

荧光假单胞菌 (Pseudomonas fluorescens)中的许多菌株属于 PGPR,它们与 AMF 在作物根圈的相互关系已得到了一些初步的研究^[4,5]。但受研究手段的限制,这些研究大多只简单地研究了 AMF 对荧光假单胞菌种群数量及荧光假单胞菌对 AMF 菌根感染率的影响。本文采用先进的发光酶基因 (lux) 和抗性基因双重标记 Pf. X16,利用荧光光度检测仪检测 Pf. X16L2 的发光强度研究了 Gl. mosseae 在时间和空间 (包括纵向和横向)上对根圈内 Pf. X16L2 种群密度和发光强度的影响。同时,综合利用曲利苯兰 (TB)染色与琥珀酸脱氢酶 (SDH)染色法探讨了 Pf. X16L2 对 Gl. mosseae 菌根感染率及生理活性的影响。

^{*} 本项目得到国家自然科学基金(项目编号: 39570028)和国际科学基金资助(项目编号: C2362-1)

^{**} 华中农业大学微生物理系一九九九届硕士毕业生,现在美国 Scranton大学医学与分子生物学研究所深造 *** 通讯作者

收稿日期: 1999-03-21; 收到修改稿日期: 1999-11-22

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 供试菌株 *Pf. X*16*L*2: 携带有 Tn5-luxAB标记基因的荧光假单胞菌 *Pf. X*16, 为本室分离并标记^[6]; AMF: *Glomus mosseae*, 为本室分离^[7]
- 1.1.2 培养基与抗生素 KB培养基(含卡那霉素和链霉素,使用时加人,此时培养基温度必须在 50℃以下)、1/2牛肉膏蛋白胨培养基、高氏 1 号培养基、马丁-孟加拉红培养基、阿须贝培养基。卡那霉素和链霉素的使用浓度均为 100 ug/ml培养基。
- 1.1.3 供试土壤 黄棕壤,取自华农试验农场,其基本的农化性状为:有机质含量 0.128g/kg;碱解 N 74.85mg/kg;速效 P 6.65mg/kg;速效 K 79.34mg/kg; pH 值 7.42,测定方法见文献^[8]。
- 1.1.4 染色方法 TB (Trypan Blue)染色法、琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase)活染色法,见文献 $\mathbb{R}^{[9^{\sim 11}]}$ 。无论是检测菌根感染率还是 SDH 酶活,每次取样时,都是从每一样品中随机选取 30 条已染色的 根段进行检测,然后取其平均值。

1.2 方法

- 1.2.1 梯度稀释平板计算法 参见文献^[12]。检测 Pf. X16L2 的种群密度时,在每个平板内加入 5% 的 癸醛 5μ l入暗室检测发光菌落数,最后换算出样品的种群密度(cfu/g根土)。
- 1.2.2 根土样品中 Pf. X16L2 发光强度的测定 取 0.25g 样品于含有 2.5ml 0.1% MgSO₄ 7H₂O 的无菌 PA 瓶中,充分摇匀。从中取 0.5ml 溶液于检测管中,加入 0.5μl浓度为 10% 的癸醛,摇匀上机 (机器型号及名称为: Monolight 2001, Analytical Luminescence Laboratory, INC. San. Diego, California) 5min 后开始读数,待数据稳定后计录结果,表示单位: RLU/g sample (RLU: Relative Light Unit)。
- 1.2.3 AMF 菌根感染率及 SDH 酶活的测定 参见文献^[9~11]。

1.3 无菌根盒-土壤微宇宙试验的设置

1.3.1 根盒的安装 按有效容积 = 长 × 宽 × 内距 = $20cm \times 20cm \times 2.5cm$,将 2 块 5mm 厚之无色透明有机玻璃用螺丝固定,其中一块可自由拆卸。根盒内均匀的贴上下端联结有过滤嘴的塑料管 2 根,便于水分管理,具体结构见图 1。

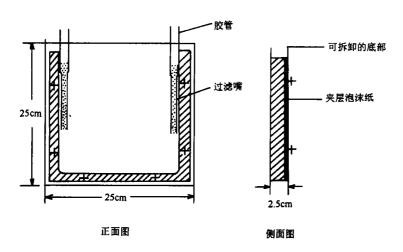


图1 根盒结构

Fig.1 Structure of rhizobox

- 1.3.2 处理的设置 共设四个处理: 不接菌, CK; 单接 Gl. mosseae (Gm); 单接荧光假单孢菌 Pf. X16L2 (Pf); Gl. mosseae 和 Pf. X16L2 双接种 (Pf + Gm)。将装配好之根盒浸入新配制的 5% 次氯酸钠溶液中 15min, 取出后倒置, 沥干水分, 再用无菌水洗涤 3 次, 倒置于超净工作台上吹干, 紫外线照射灭菌 1h。
- 1.3.3 装土 将已调节好水分含量,并经间歇湿热灭菌(126℃,1小时2次)取自田间的土壤装人根盒, 每根盒装700g 土。对于 Gm 和 Pf + Gm 处理,在距开口端6cm 处,先均匀的撒一层 Gl. mosseae 孢子土, 接种量为24g 孢子土/根盒(孢子的含量约为37个/克孢子土),用无菌水将孢子土湿润后继续装土至开口端2cm。
- 1.3.4 接种物 Pf. X16L2 的制备和播种 采用摇床培养→离心收集菌体→1%羧甲基纤维素—磷酸钠 缓冲液混合→拌种, 置摇床上以 150r/min振荡 30min→用灭过菌的镊子将种子播人装好土的根盒土表, 等距离排列,每个根盒内播三颗且在种子上盖一层厚约 1cm 的无菌碎土,接种量为8×10⁸cfu/seed. 不接菌之麦种则混入没有接菌的 1% 羧甲基纤维素—磷酸钠缓冲液中。将根盒的一面朝下,倾斜 45°安放于木箱内,置 22℃的自控光照培养室内培养,室内光照强度为 3568Lux,光照时间为 16h/d,相对湿度为 70%。
- 1.3.5 管理 控制好土壤水分是本实验的关键所在,浇水方式是采用静脉注射器。将悬吊于根盒上方的盐水瓶中的无菌水滴灌插至根盒底部的胶管。浇水量前 40 天为 70ml/(根盒•2天),40 天以后100ml/(根盒•2天),不补加外源养分。
- 1.3.6 取样 从麦芽露出土表 30 天后,取第一次样,以后每隔 10 天取 1 次,共 5 次。每个根盒内整个根系分为 3 段,上:茎基部 \rightarrow 5cm处;中:5cm \rightarrow 11cm处;下:其余部分。取样时,各处理均按上、中、下三部分分别取样。为避免交叉污染,先取对照,再取处理 Gm,最后取处理 Pf 和 Pf + Gm,从下往上采样,样品为根系及粘附根上的根圈土壤。

1.4 塑料盒栽培系统的试验设置

设三个处理: (1) CK。 只接种 Pf. X16L2 但不种作物; (2) Pf. 接种 Pf. X16L2,并栽种小麦; (3) Pf + Gm。接种 Pf. X16L2 与 Gl. mosseae 且栽种小麦。将有效容积 = 长 × 宽 × 高 = (40 × 15 × 15) cm 的白色塑料盒洗净,灭菌(灭菌方法同根盒之灭菌方法)。将采自田间不经灭菌的土壤与准备好的 Pf. X16L2 菌悬液(用无菌磷酸钠缓冲液配成)充分拌匀,接菌量为 6.81 × 10 cfu/g土。然后将土装人无菌的白色塑料盒中至开口端 2cm 处,湿润土壤,含水量约为 20%。对于处理 Pf + Gm,在距塑料盒上端 6cm 处,将 80g Gl. mosseae 孢子土均匀撒在盒的中央区,然后用水将其充分湿润。最后播种,每盒 8 颗,均匀的播在栽培盒的中央区,置自然光照和温度下培养,搞好水分管理,不补加外源养分。出苗后第 45 天和第 80 天时各取样一次供测定,先取 CK,再取其他 2 个处理。从每一处理中分别采取根圈土壤根系混合样品 (Rhizosphere root-soil)和本体土壤样品(Bukl soil),如处理 Pf,两样品分别被标定为 PfR 和 PfB。

1.5 统计分析

多个平均值之间的比较采用 SSR 测验法(新复极差测验)进行显著性差异检测。

2 结 果

2.1 无菌根盒--土壤微宇宙中 Gl. mosseae 和 Pf. X16L2 在小麦根圈的相互关系

2.1.1 *Gl. mosseae* 对 *Pf. X*16*L*2 的影响 采取分段和分期多次取样的方法,检测不同处理条件下小麦根圈中 *Pf. X*16*L*2 的发光强度和定植密度在时间和空间(径向,即沿根的伸长方向)上的变化情况,其结果见图 2 及表 1。

由图 2 可看出,除第 30 天时下部根段样品和第 60 天时中部根段样品外,其它时期无

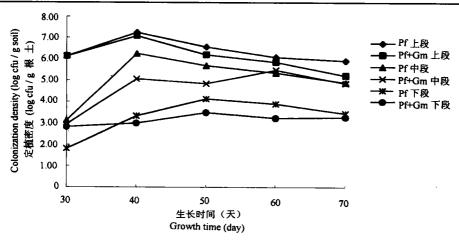


图2 根盒—土壤微宇宙中Pf. X16L2在小麦根圈的定殖动态

Fig.2 Colonization dynamics of *Pf. X*16*L*2 in the wheat rhizosphere in rhizobox-soil microcosms

表1 根盒—土壤微宇宙中各根段内Pf. X16L2的发光强度(logRLU/克根土)¹⁾

Table 1 Luminescence intensity of Pf. X16L2 on different root segments in rhizobox-soil microcosms (logRLU/g root-soil)

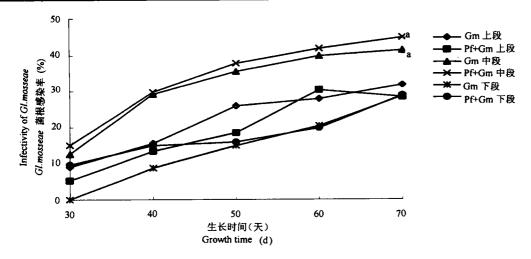
生长天数		Pf		Pf+Gm				
Growth days	Ŀ	中	下	E	中	下		
(d)	Upper	Medium	Lower	Upper	Medium	Lower		
30	4.95	4.16	3.71	5,24	4.00	3.67		
40	4.99	4.72	3.78	5,25	4.30	3.51		
50	4.41	4.22	3.58	4.47	4.21	3.56		
60	4.51	4.13	3.75	4.51	3.66	3.18		
70	3.83	3.71	3.11	4.11	3.52	3.13		

1) 表中数据已扣除CK(就单接种 P. X1612而言)和单接种 G. mosseae (就双接种 P. X1612+Gl. mosseae而言)。 论是根段上部还是根段下部、中部,单接种 Pf 中 Pf. X1612 的定植密度都比双接种 Pf + Gm 的要高。这说明 Gl. mosseae 对 Pf. X1612 存在着抑制作用。在整个试验时间内, Pf. X1612 在 2 种处理的中、上部根段中的定植密度都是在 40 天时达到最高值, 然后逐渐下降; 而在下部根段范围内的定植密度在 50 天时才达到最高值。

与定植密度的变化情况相似,单接种处理 Pf 的根圈中、下部, Pf. X16L2 的发光强度比双接种 Pf + Gm 的高,各根段发光强度的变化动态基本上与其定植密度的变化动态相一致。

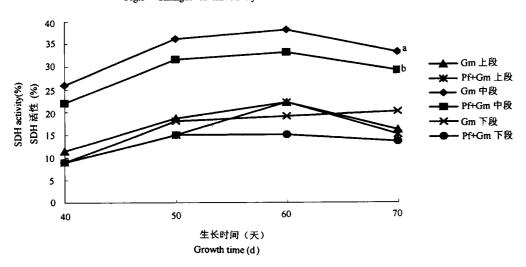
2.1.2 *Pf. X*16*L*2 对 *Gl. mosseae* 的影响 采取分段取样的方式检测了不同时期各小麦根段的菌根感染率和菌丝中琥珀酸脱氢酶(SDH)活性,结果见图 3、图 4。

对图 3、4 中数据进行显著性差异分析可知: 总的来说, 双接种处理 Pf + Gm 的菌根感染率要高于单接种处理 Gm 的, 但没有达到显著性差异。同一处理中, 上、中、下不同根段的菌根感染率也存在显著或极显著差异。中部根段感染率最高, 下部根段感染率最低。在同一供试时期, 不同处理间相同部位根段的菌根感染率如 Gm 上和 Pf + Gm 上没有显著



图中标以相同字母"a"表示两者之间不存在显著差异性(α=0.05) 图3 小麦根系菌根感染率的动态变化

Fig.3 Changes of infectivity of Gl. mosseae in wheat root



图中标以不同字母 "a" "b"表示它们之间存在着显著差异 (α=0.05) 图4 Gl. mosseae菌丝中SDH活性的动态变化

Fig.4 Changes of SDH activity in Gl. mosseae hyphae

差异。处理 Gm 中的菌丝 SDH 活性显著高于处理 Pf + Gm 的 (就整个根系而言),反映出 荧光假单胞菌 Pf. X16L2 对 Gl. mosseae 的生理活性有着较大的负面影响。而且同一处理 不同根段中菌丝的 SDH 活性也存在显著差异,其顺序为中部根段 > 上部根段 > 下部根段。不同处理相同部位根段的 SDH 活性除了 Gm 上和 Pf + Gm 上之间存在显著差异外,其余的都没有显著差异。

2.1.3 Pf.X16L2 与 Gl. mosseae 对小麦的促生效应 由表 2 结果可知,相比于 CK 和 Pf 处理,接种 Gl. mosseae 对小麦的生长有显著促进作用。单接种 Pf.X16L2 对小麦的株高无明显影响,甚至低于对照,但该处理小麦的地上部重量比 CK 的大,且总分蘖数比 CK 的也

表2 接种Pf. X16L2和Gl. mosseae对小麦生长的影响

Table 2	Effects	of	inoculation	of	Pf.	X16L2	and	Gl.	mosseae	on	wheat	growth
---------	---------	----	-------------	----	-----	-------	-----	-----	---------	----	-------	--------

处理	处理 小麦植株高度 Plant height (cm)						地上部鲜重 Fresh shoot weight (g)				
Treatment	30(d)	40(d)	50(d)	60(d)	70(d)	30(d)	40(d)	50(d)	60(d)	70(d)	
CK	27.1c	28.8b	32.5c	38.6dC	49.6D	2.679	3.540	7.920	10.560	15.420	
Gm	28.6a	31.0a	35.3a	42.0bB	53.4B	2.748	3.780	9.280	12.750	17.760	
Pf	26.7c	28.8b	31.9c	39.1cC	49.1C	2.736	4.200	8.880	11.340	15.480	
Pf+Gm	27.5b	29.0b	34.0b	44.8aA	56.2A	2.739	3.300	8.940	14.340	18.690	

注: (1)小麦植株高度为3棵小麦的平均值,地上部重量为3株小麦的总重; (2)表中同栏内标以不同小写字母的为差异显著 $(\alpha=0.05)$,标以不同大写字母的为差异极显著 $(\alpha=0.01)$

多。在小麦生长前期, Pf + Gm 双接种对其促生作用不明显, 但在 40 天后, 其促生作用表现显著, 与 CK 及 Pf 相比, 均达到了显著性差异。

2.2 塑料盒栽培系统中小麦对 Pf. X16L2 及土著微生物种群的根圈效应

通过检测 Pf. X16L2 及一些土著微生物在小麦根圈及本体土壤中的定植密度

计算出根土比。小麦根圈对各检测菌的根圈效应见表 3。由表 3 可见,小麦根圈对 Pf. X16L2、芽胞杆菌、真菌、好气性细菌、自生固 N菌的数量都表现出促进效应,其中对真菌的促进作用尤为稳定而显著。在第 40 天检测时,小麦根圈对 Pf. X16L2 的根圈效应不显著,但在第 70 天时,其根土比超过了 5。在不栽小麦的处理 CK 中,各微生物种群的数量变化很小。在第 70 天时,处理 Pf + Gm 与处理 Pf 相比,除好气性细菌总数的根土比大于处理 Pf 的外,其余各检测菌的根土比皆小于处理 Pf 的,表现出抑制性的菌根根圈效应。

表3 小麦的根圈效应(根土比)及菌根感染率

Table 3 Rhizosphere effects of wheat (R/S) and infectivity of Gl. mosseae

	处理							菌根感染率
生长天数			芽胞杆菌	放线菌	霉菌	好气性细菌	自生固氮菌	Mycorrhiza
Growth Days	Treatment	Pf. X16L2	Bacillus	Actinomyces	Fungi	Aerobacteria	Free-living	infectivity
(d)							Azotobacter	(%)
	CK	1:1	0.85:1	1.11:1	0.71-1	1,11:1	0.73:1	0
40	Pf	1.82:1	1.18:1	0.61:1	5.66:1	2.86:1	8.33:1	0
	Pf+Gm	1.31:1	1.82:1	2:1	6.33:1	3.60:1	2.00:1	28
	CK	1.11:1	0.88:1	1.13:1	0.66:1	3.26:1	0.57:1	0
70	Pf	5.80:1	4.34:1	0.72:1	6.25:1	4.55:1	4.87:1	0
	Pf+Gm	5.40:1	4.20:1	0.63:1	5.00:1	6.57:1	2.35:1	52

3 讨论

有报道表明:由于植物丛枝状菌根真菌在根圈内与 PGPR 共同竞争营养和生态位,并

有可能产生一些对 PGPR 有抑制性的次生代谢产物,而且丛枝状菌根的形成所引起的菌根根圈效应,有可能使得对 PGPR 有拮抗性的细菌大量增加,这些都有可能是造成 PGPR 定植密度降低的原因^[13,14],本项研究也发现在各种不同的栽培系统中, Gl. mosseae 对 Pf. X16L2 的定殖密度和生理活性都起着抑制的作用,证实了上述报道的结果。

带有发光酶基因标记的荧光假单胞菌的发光强度反映了它所产生的发光酶浓度及其活性的大小,它不仅受其活菌数(种群密度)的影响,还与其细胞活性有很大关系,因而可依此来判定该菌群生理活性的高低。本实验通过采用发光强度检测方法,更加全面地反映了 Gl. mosseae 对 Pf.X1612 定殖密度与生理活性的影响。

Bionciotto 等^[15]及本人的另一研究表明,丛枝状菌根真菌能借自己的延伸、扩散来带动根圈细菌在土壤中的扩散和转移。但是为什么根盒—土壤微宇宙系统中处理 Pf 中、下部的 Pf. X16L2 的定殖密度反而比处理 Pf + Gm 中、下部的要高?其可能的原因是,Gl. mosseae 对 Pf. X16L2 生理活性的负面影响反而强于其转运作用。

双接种处理 Pf + Gm 中、下部的菌根感染率高于处理 Gm 的,而 SDH 活性却低于后者,且达到了显著性差异,这一方面说明 Pf. X16L2 对 Gl. mosseae 的生理活性有负面影响,同时也从一定程度上证明了菌根感染率反映的是整个菌丝的多少,而不管其生理活性如何,而 SDH 活性则反映了活性菌丝的多少,如第 5 次取样时,虽然 Gl. mosseae 的 SDH 活性低于前 2 次,但菌根感染率比前 2 次的高,其原因可能是因为此时的菌根真菌菌丝的生理活性已降低。在显微镜下也观察到此时菌丝上孢子的数目明显多于前二次的,这也说明菌根的发育已进入后期。

双接种处理 Pf + Gm 在前期 (50d 以前)对小麦植株的促生作用不明显,甚至低于单接种处理 Gm。但在 50d 之后,其协同促生作用开始表现,这可能是由于此时 Pf. X16L2 和 Gl. mosseae 都已在小麦根部成功定殖,且达到了较高的定殖水平,相互之间的竞争或抑制作用已趋于平衡,其对作物的促生作用,此时都能较好的发挥出来,因而能共同促进小麦的生长。

在塑料盒栽系统中,处理 Pf + Gm 与处理 Pf 相比,除好气性细菌总数的根土比大于处理 Pf 外,其余各检测菌的根土比皆小于处理 Pf,其原因是 Gl. mosseae 在小麦根系的成功定殖所引起的菌根根际效应,它对 Pf. X16L2、自生固 N 菌、霉菌的定殖密度和生理活性起着抑制作用,而可能对土著性的其它好气性细菌起着促进作用。第二次取样时,除放线菌以外的其它各检测菌的根土比都有了较大的影响,其可能的原因是:此时小麦正处于旺盛生长期,根系分泌物大量增加, Pf. X16L2 等其它细菌和 Gl. mosseae 已经在根圈内稳定的定殖下来,它们之间先前的拮抗作用已趋于平衡,因而 Pf. X16L2 等其它细菌能得以大量繁殖、增加。

综上所述,本研究采用一些先进的检测技术,比较全面的研究了 Gl. mosseae 与 Pf. X16I2 在小麦根圈内的相互关系,为今后进一步从细胞和分子水平上对两者间相互作用作更深入的研究打下了基础。

参考 文献

1. Costacurta A, Vanderleyden J. Synthesis of phytohormones by plant associated bacteria. Critical Reviews in

- Microbiology, 1995, 21:1~18
- Dianiel J, O'Sullivan, Fergal O'Gara. Traits of Fluorescent Pseudomonas spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiological Reviews, 1992, 56(4):662~676
- 3. Schonbeck F, Dehne H S. Damage to mycorrhizal and non-mycorrhizal cotton seedling by *Thielriopsis basicola*. Plants Disease Reporter, 1997, 61:266~267
- Paulitz T C. Linderman R G. Interactions between fluorescent pseudomonads and VA mycorrhizal fungil. New Phytol, 1989, 113:37~45
- 5. Bethlenfalvay G J, Andrade G, Azcon-Aguilar C. Plant and soil responses to mycorrhizal fungil and rhizobacteria in modulated or nitrate fertilized peas (*Pisum sativuin L.*). Biol. Fertil. Soils, 1997, 24:164~168
- 6. 王平, 胡正嘉, 李阜棣. 小麦根圈荧光假单胞菌 (Pseudomonas fluorescens)的发光酶基因标记. 华中农业大学学报, 1997, 16(3): 220~225
- 7. 王平,胡正嘉. 棉花 VA 菌根真菌的分离鉴定. 华中农业大学学报,1989,8(1):36~44
- 8. 南京农业大学主编、土壤农化分析、第二版、北京:农业出版社,1992
- Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, Dexheimer J. Enzymatic studies on the metabolism of Veisculararbuscular mycorrhiza.
 ultrastructural location of acid and alkaline phosphatase activity in onion roots infected by Glomus mosseae (Nicol. & Gred.). New Phytol, 1979, 82:127~132
- Mcgee P A, Smith S E. Activity of succinate dehydrogenase in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after enzyme digestion from roots of Allium porrum. Mycol. Res., 1990, 94(3):305~308
- 11. Vierheilig H, Ocampo J A. Relationship between SDH-activity and VA mycorrhizal infection. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1989, 29:439~4
- 12. 李阜棣,喻子牛,何绍江等. 农业微生物学实验技术. 中国农业出版社,1996,32~34
- 13. Linderman R G. Mycorrhizal interaction with the rhizosphere microflora: The mycorrhizosphere effect. Phytopathology, 1988, 78(3): 366~370
- Peter Marschner, David Crowley E. Root colonization of mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (Capsicum annuum) by Pseudomonas fluorescens 2-79RL. New Phytol., 1996, 134:115~122
- 15. Bianciotto V, Minerdi D, Perotto S. Celluar interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. Protoplasma, 1996, 193:123~131

INTERACTIONS BETWEEN PSEUDOMONAS FLUORESCENS X16L2 AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (AMF) GLOMUS MOSSEAE IN THE WHEAT RHIZOSPHERE

Long Wei-wen Wang Ping Feng Xin-mei Li Fu-di (Department of Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Summary

The interactions between *Pseudomonas fluorescens X*16*L*2 and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) *Glomus mosseae* in the rhizosphere of wheat planted in the rhizobox and plastic box are studied by techniques of luminescent enzyme gene marker system, detecting of luminescence intensity and Succinate Dehydrogenase dyeing. Because there is an inhibitory effect of *Glomus mosseae* on population density and physiological activity of *Pf. X*16*L*2, the mycorrhizosphere effect on *Pf. X*16*L*2 are lowered. *Pf. X*16*L*2 can promote the mycorrhizal infective ratio of *Gl. mosseae* on wheat roots but drops the Succinate Dehydrogenase activity of AMF mycelia. They can promote the growth of wheat during the middle and later growth stages.

Key words pseudomonas fluorescens Pf. X16L2, Arbuscular Mycorrhizal Fungi Gl. mosseae, Wheat rhizosphere, Interactions, Rhizosphere effects