

富贵竹内生细菌群落的生物效应研究*

袁红旭 周立赖 周锦兰 郑向华 许良珠

(湛江海洋大学农学系 湛江 524088)

摘要 试验研究结果表明富贵竹中广泛存在具有多种生物效应的内生细菌群落。从4个品种富贵竹茎叶中分离出64个内生细菌,以烟草过敏性反应和半叶接种法测定其内生细菌中有22个菌株具有潜在致病性;采用抑菌圈法测定其内生细菌中有25个菌株对6个病原真菌具不同拮抗作用,其中分别有16个、5个、4个菌株对1种、2种和3种病原真菌有拮抗作用。有16个菌株可刺激水稻或绿豆生长,具有刺激生长作用的混合菌株还可促进富贵竹生根。

关键词 内生细菌 致病性 生物效应 富贵竹

Biological effect of endophytic bacteria in Fortunate Bamboo. YUAN Hong-Xu, ZHOU Li-Lai, ZHOU Jin-Lan, ZHENG Xiang-Hua, XU Liang-Zhu (Department of Agronomy, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524088), *CJEA*, 2005, 13(1):95~97

Abstract The experiments show that there are many endophytic bacteria with different biological effects in Fortunate Bamboo. 64 strains of endophytic bacteria are isolated from the symptom free leaves and stems of 4 varieties of Fortunate Bamboo. There are 22 strains having pathogenicity when tested by the methods of tobacco-sensitive-reaction and half-leave-inoculation. Being tested in plate, 16 strains have anti-fungal effect on one plant pathogen fungi (PPF), 5 strains have anti-fungal effect on 2 PPF and 4 strains have anti-fungal effect on 3 PPF. The total number of anti-fungal strains is 25. 16 strains can stimulate the growth of rice or green bean. Mixed stimulating-growth strains also can stimulate Fortunate Bamboo to produce roots.

Key words Endophytic bacterium, Pathogenicity, Biological effect, Fortunate Bamboo

植物内生细菌与寄主植物在长期共同进化过程中形成密切关系,是植物微生物生态系统的主要成员。近年来一些内生细菌被用作增产菌来调节作物生长发育,促进了内生细菌在种群动态变化及其与寄主互作关系等方面的研究^[1~5]。富贵竹有很强抗逆性和耐贫瘠性,可能与其体内特有的微生物生态系统有关。本试验研究了富贵竹内生细菌群落的生物效应,为建立有利于富贵竹生长的内生细菌微生态环境提供理论依据。

1 试验材料与方法

供试4个富贵竹品种为“大叶富贵竹”、“广州绿叶富贵竹”、“缅甸富贵竹”和“小叶富贵竹”。采集大田生长势良好健康的富贵竹根、茎和叶,表面消毒后研磨成匀浆,取一定量稀释后匀浆与牛肉膏蛋白冻培养基混合于28℃黑暗培养,挑取单菌落分离并纯化后获得富贵竹内生细菌。采用烟草过敏性反应和半叶接种法测定富贵竹内生细菌(潜在)致病性,半叶接种法测定致病性方法即用剪刀沾取浓度为1亿cfu/mL菌悬液,选取富贵竹中部叶片剪掉半叶,每处理3个重复,以无菌水为对照(CK)。剪叶后置28℃、12h/d光照保湿培养14d,半叶的坏死斑宽度 ≥ 20 mm时则该菌具有潜在致病性。采用对峙培养法测定富贵竹内生细菌对植物病原真菌的拮抗作用,以抑菌圈宽度为指标测定内生细菌对植物病原真菌的拮抗作用,所测试病原菌为水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、辣椒白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、辣椒炭疽病菌(*Colletotrichum capsici*)、富贵竹根腐菌(*Fusarium oxysporum*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)和辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*)。水稻和绿豆种子先经表面消毒后用清水浸泡12h,再用1亿cfu/mL菌悬液浸种24h,将种子播入杯底铺有滤纸的150mL容量塑料杯中,每处理10粒种子,3个重复,以灭菌水浸种为对照(CK),置27℃、12h/d光照培养10d,测定其发芽率、幼苗苗高及鲜物质量,并对结果进行方差分

* 湛江海洋大学自然科学基金项目(0312029)资助

收稿日期:2003-12-22 改回日期:2004-02-16

析。按对水稻和绿豆的生长效应,将牛肉膏蛋白胨培养基培养的具有促生作用内生细菌(共 16 个菌株,见表 2)混合配成浓度为 1 亿 cfu/mL 促生内生细菌混合菌悬液;另将 64 个内生细菌混合配成浓度为 1 亿 cfu/mL 混合菌悬液。取 2 种菌悬液 20mL 并注入 500mL 烧杯中,扦插 5 棵“大叶富贵竹”,设 3 个重复,以无菌水为对照(CK),浸泡 48h 后取出用清水浸泡 30d(28℃,室内条件),测定富贵竹根数及根重,并对结果进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 富贵竹内生细菌的分离及其潜在致病性

富贵竹根茎叶中富含内生细菌,从 5 个品种富贵竹中分离经纯化获 64 株内生细菌,其中“大叶富贵竹”有 17 株,“广州绿叶富贵竹”25 株,“缅甸富贵竹”15 株,“小叶富贵竹”7 株。试验结果表明共有 22 个菌株有致病性,为潜在病原细菌,可能在一定条件下导致病害;半叶接种法测定有 11 个菌株导致富贵竹叶片出现坏死斑,宽度 >20mm,占总菌株的 17.2%,烟草过敏性反应结果表明有 20 个菌株可致烟草产生过敏性枯斑反应,占总菌株的 31.2%。用半叶接种法测定的 11 个致病菌株中有 9 株同时具有烟草过敏性反应。

表 1 抗植物病原真菌活性富贵竹内生细菌菌株数

Tab.1 Numbers of endophytic bacterial strains having inhibiting effect to plant pathogen fungi in Fortunate bamboo

病原菌 Pathogen	菌株数/个 NO. of strain				抗性菌株率/% Rate of inhibition strains
	抑菌圈宽度/mm Width of inhibiting ring	0~2	2~4	4	
<i>Rhizoctonia solani</i>	51	3	7	3	20.3
<i>Sclerotium rolfsii</i>	61	2	0	1	4.7
<i>Colletotrichum capsici</i>	59	0	3	2	7.8
<i>Fusarium oxysporum</i>	61	1	1	1	4.7
<i>F.o. f. sp. capsici</i>	59	2	3	0	7.8
<i>F.o. f. sp. cucumerinum</i>	53	4	5	2	17.2

2.2 富贵竹内生细菌的抗病原真菌活性

表 1 表明供试 64 株内生细菌中对 1 种或多种病原真菌具抑制作用的有 25 个菌株,占总菌株的 39.1%;对水稻纹枯病具抗性的有 13 个菌株,占总菌株的 20.3%;抗黄瓜枯萎病的有 11 个菌株,占 17.2%;抗辣椒白绢病及富贵竹根腐病的各有 3 个菌株,各占 4.7%。拮抗内生细菌多数仅对 1 种病原真菌有拮抗作用,只有少数菌株对 2 种以上真菌有拮抗作用;

其中有 5 个菌株对 2 种病菌存在拮抗作用,4 个菌株对 3 种病原真菌有拮抗作用;对 1 种病原真菌有很强拮抗作用的菌株,不一定对其他病原真菌也存在拮抗作用,即使针对同类病害的病原真菌,其拮抗作用也不同。如“G34”对黄瓜枯萎病有较强的拮抗性(其抑制圈宽度为 9mm),但对另 2 种镰刀菌却无拮抗作用。

2.3 内生细菌对植物生长的影响

表 2 内生细菌对水稻与绿豆生长的影响*

Tab.2 Effects of endophytic bacterium on the growth of rice and green bean

菌株 Strain	来源 Originate from	抗菌性 Inhibition to fungi	潜在致病性 Potential pathogenicity	水稻 Rice			绿豆 Green bean		
				发芽率/% Germinate rate	株高/mm Height	鲜物质量/mg Seedling weight	发芽率/% Germinate rate	鲜物质量/mg Seedling weight	
D3	大叶富贵竹	-	-	96.7	56.1	73	100.0	466**	
D7		-	+	90.0	62.1	87**	93.3	357	
D16		+	-	96.7	64.0**	88**	86.7	392	
G18		广州绿叶富贵竹	+	-	90.0	61.0	87**	100.0	388
G20			-	+	96.7	64.0**	84	70.0**	323**
G24			+	-	90.0	58.8	87**	93.3	351
G25	+		-	86.7**	66.4**	99**	96.7	335	
G26	+		-	96.7	63.7	87**	100.0	397	
G28	+		-	96.7	59.9	84	100.0	467**	
M52	缅甸富贵竹	-	-	100.0	64.3**	84	63.3**	318**	
M54		-	-	96.7	62.3	90**	93.3	324	
M56		-	-	96.7	62.7	88**	100.0	348	
M57		-	-	100.0	57.4	88**	90.0	433	
X61	小叶富贵竹	-	-	96.7	65.4**	78	100.0	446	
X62		-	-	100.0	66.4**	81	80.0	381	
X64		-	-	100.0	64.0*	87**	80.0	338	
CK		-	-	96.7	54.5	73	90.9	382	

*“+”表示对病原真菌有拮抗作用或有潜在致病性;“-”表示对病原真菌无拮抗作用或无潜在致病性;**表示与对照存在显著差异($\alpha=0.05$),下同。

用内生细菌处理水稻种子结果见表 2,供试菌株仅有“G18”、“G25”可降低水稻发芽率,其他 62 个菌株

对水稻萌发率无明显影响。64个菌株中有14株对水稻有显著刺激生长作用,表现为内生细菌处理的水稻苗高或鲜物质量显著增加,其中4个菌株处理的水稻株高显著增加但鲜物质量与对照无显著差异,7个菌株处理的水稻鲜物质量显著增加但苗高与对照无显著差异,仅“D16”、“G25”和“X58”菌株处理的水稻苗高和鲜物质量均显著增加。用内生细菌处理绿豆种子试验结果表明供试菌株“D6”、“G20”、“G31”和“M52”显著影响绿豆发芽,其发芽率分别为50%、70%、20%和63.3%,均显著低于对照(90.9%);而“D3”和“G28”菌株处理后绿豆幼苗鲜物质量较对照显著增加,“G31”、“M44”、“M52”和“X58”菌株处理后却显著降低绿豆幼苗鲜物质量。试验研究结果表明富贵竹内生细菌对植物促生作用因不同植物而异。对1种植物有促生作用的内生细菌,对另1种植物却无促生作用,甚至具有抑制生长作用,如菌株“M52”和具有潜在致病性菌株“G20”显著增加水稻株高,但却显著降低绿豆发芽率和鲜物质量。内生细菌对植物的刺激生长作用较复杂,内生细菌处理的植物发芽率、株高和鲜物质量变化未表现相关趋势,如菌株“G25”处理水稻后其发芽率降低,但株高和鲜物质量显著增加。多个促生菌株混合菌液能刺激富贵竹生根(见表3),主要表现为生根数量明显增加。促生混合细菌处理30d后其平均株根数和根重均显著高于对照。而64个内生细菌混合菌悬液对富贵竹生根无显著作用。

3 小结与讨论

研究结果表明富贵竹体内存在具有多种生物效应的内生细菌群落,包括对不同植物病原真菌具有拮抗作用的细菌群落和影响植物生长(具有刺激或抑制作用)的细菌群落,且广泛存在具有潜在致病性病原细菌,这类细菌在特定条件下如植株受到伤害,抗病力下降抑或当微生态平衡受到破坏,某种有害种群数量增加时可造成植物病害,表现出植物体内微生物生态系统的多样性和复杂性,而富贵竹内生细菌存在的抗病原真菌资源,可用于病害防治。作为生防制剂的内生细菌具有相对稳定且对环境友好的特点,但单一种类内生细菌防治病害的作用十分有限。植物内生微生物群落间相互竞争,相互作用,如何建立有利于植物生长的内生微生态环境是亟待研究的新课题。

参 考 文 献

- 1 孔庆科,丁爱云.内生细菌作为生防因子的研究进展.山东农业大学学报(自然科学版),2001,32(2):256~260
- 2 杨海莲,孙晓璐,宋 未等.植物根际促生细菌和内生细菌的诱导抗病性的研究进展.植物病理学报,2000,30(2):106~109
- 3 彭化贤,刘波微,陈小娟等.水稻稻瘟病拮抗细菌的筛选与防治初探.中国生物防治,2002,18(1):25~27
- 4 傅正擎,夏正俊,吴嵩民等.内生菌对棉花黄萎病菌及毒素的抑制作用和对棉花的促生作用.植物病理学报,1999,29(4):374~376
- 5 Sturz A. V., Christie B. R., Nowak J. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. Critical Review in Plant Sciences, 2000, 19(1): 1~30

表3 内生细菌混合菌剂对富贵竹生根的影响

Tab.3 Effects of mixed endophytic bacteria on the growth of root of Fortunate bamboo

处 理	平均株根数/条	平均株根重/g	平均根重/g
Treatments	Number of roots per shoot	Average weight of shoot	Average weight of root
促生菌株	33.7**	1.38**	0.041
总 菌 株	29.9	1.18	0.039
对照(CK)	25.4	1.19	0.046