

植物根际促生菌对 3 种土传真菌病害病原的抑制作用

孙广正^{1,2} 姚拓^{1,2*} 刘婷^{1,2} 卢虎^{1,2}

(1. 甘肃农业大学 草业学院 甘肃 兰州 730070)

(2. 草业生态系统教育部重点实验室 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】获取促生同时可防治 3 种土传真菌病害(*Fusarium oxysporum*、*Sclerotinia sclerotiorum* 和 *Rhizoctonia solani*)的生防菌, 并明确其抑菌效果。【方法】利用前期研究获得的 17 株促生菌, 采用平板对峙法测定其对病原真菌的拮抗作用及对菌丝生长的抑制作用。【结果】可有效拮抗立枯丝核菌的生防菌有 6 株, 其中促生菌株 FX2 和 LM4-3 的抑制率达 73.82%; 拮抗尖孢镰刀菌的生防菌有 7 株, 其中 FX2 的抑制率达到 66.81%; 拮抗油菜菌核病菌的生防菌有 4 株, 其中菌株 LHS11 的抑制率高达 85.71%。菌株 LHS11 和 JM170 通过次生代谢物抑制病原真菌。所有的生防菌对病原菌的菌丝生长均有一定的抑制作用。【结论】筛选得到对 3 种真菌病害病原具有较好生防作用的菌株 LHS11 和 FX2。

关键词: 土传病害, 植物根围促生细菌, 生物防治

Antagonism of plant growth promoting rhizobacteria on three soil-borne fungous pathogen

SUN Guang-Zheng^{1,2} YAO Tuo^{1,2*} LIU Ting^{1,2} LU Hu^{1,2}

(1. Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

(2. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: [Objective] Selecting biocontrol agents for preventing three kinds of soil-borne diseases (*Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*), promoting plant growth and clarifying their inhibitory efficiency as well. [Methods] Seventeen plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains, acquired from preliminary studies, were used to test antagonism on pathogenic fungi by panel confrontation method and to measure the inhibition of mycelial growth by the PGPR strains. [Results] There were six strains efficiently antagonized *Rhizoctonia solani*. Among the six strains, the inhibition rate FX2 and LM4-3 was higher which could rise up to 73.82%. Seven strains efficiently antagonized *Fusarium oxysporum*, the inhibition rate of FX2 reached 66.81%. Four strains efficiently antagonized *Sclerotinia sclerotiorum*, the inhibition rate of strain LHS11 reached 85.71%. The strains of JM170 and LHS11 could prevent disease by secondary metabolites. All strains had a certain impact on mycelial growth of pathogenic fungi. [Conclusion] Strains LHS11 and FX2

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31360584); 现代农业产业技术体系项目(No. CARS-08-C); 公益性行业(农业)科研专项经费(No. 201303112)

*通讯作者: ✉: yaotuo@gsau.edu.cn

收稿日期: 2014-07-02; 接受日期: 2014-08-28; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-09-11

that were screened had better biocontrol effects on three soil-borne fungous pathogen.

Keywords: Soil-borne disease, Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), Biocontrol

土传病害是指生活在土壤中的病原体在条件适宜时从作物根部或茎基部侵害作物而引发的病害。引起土传病害的病原物种类很多(真菌、细菌、线虫等),其中,真菌中的尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)是广泛分布于世界各类作物种植区的土壤习居菌,不但侵染范围广,引起多种植物病害,而且在土壤中的腐生竞争能力强,存活时间长,因此被认为是最具破坏力的土传植物病原物之一^[1]。此外,油菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)是一种世界性油菜病害。该病在我国油菜产区均有发生,常年发病率多在10%–40%之间,严重时可达70%,是影响我国油菜产量和品质的第一大病害^[2]。近年来随着保护地种植面积逐年扩大,由于连年重茬种植、管理不当、防治不力等原因,我国农林园艺作物的病情发生了显著变化,其重要特点之一是各类土传病害的发生日益猖獗,造成农林产品产量和品质大幅下降。

目前,对土传病害的防治仍以化学药剂防治为主,化学防治虽在一定程度上可缓解病害的发生,但大量使用化学药剂会造成农药残留物超标,不仅危害人类身体健康,还会引起环境污染,破坏生态平衡。而生物防治是利用有益生物或其代谢产物来抑制或消灭有害生物的一种方法,具有无毒、无害、无污染和不易产生抗药性等优点。植物根围促生细菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)作为最具防病潜力与应用价值的一类生防菌,不仅能够促进植物生长,增加作物的产量,还能提高防病能力。如孙正祥等^[3]从香蕉根际土壤分离的枯草芽胞杆菌S-1对香蕉枯萎病菌4号小种的相对抑制率达76%;荣良燕等^[4]研究发现PGPR菌LHS11对黄瓜枯萎病菌和西瓜枯萎病菌的抑制率高达80%以上;李文英等^[5]研究发现在接种香蕉枯萎病原菌的处理中,施用PGPR菌剂的香蕉叶片病情指数比只接种病原菌的降低12.5–31.3,防控效果达到

18.8%–46.9%。大量的研究事实证明PGPR菌处理植物后能达到促进生长与病害防治的目的^[6–8]。符合现代农业可持续发展战略理念的生物防治方法已成为土传病害防治的首选措施。本研究利用前期研究得到的17种PGPR菌株,分别测定其对3种病原菌菌丝生长等的影响,旨在为植物土传病害防治的研究提供菌种资源和基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

PGPR菌: JM170、JM92、LX191、G、JX59、LX22、LX81、LHS11、LM4-3、4N4、P2-1、PGRS-3、XX1、XX2、FX1、FX2和F1-4,分离自小麦、玉米、苜蓿和三叶草等多种植物根际,具有良好的固氮、溶磷及分泌植物激素特性(表1),由甘肃农业大学草业学院草地微生物实验室提供。

1.2 供试病原真菌

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)由甘肃农业大学草业学院草地微生物实验室提供。油菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)分别由甘肃农业大学草业学院薛丽老师及马晖玲老师提供。

1.3 培养基

LB^[15](Luria bertani)固体培养基用于分离和保存根际细菌, LB液体培养基用于发酵根际细菌。PDA^[4](Potato dextrose agar)培养基用于真菌培养和平板对峙培养。

1.4 优良生防菌初筛

按荣良燕等^[4]的方法,采用平板对峙法测定所有供试菌株与病原真菌的拮抗作用。将保存在PDA斜面上的病原真菌接种到PDA平板上,25℃培养5–7 d。细菌接种在LB液体培养基中,25℃、150 r/min培养24 h,细菌菌液浓度10⁶ mg/L备用。再将真菌与细菌同时接种在PDA平板上,平板中心接种真菌,菌饼直径为6 mm,距中心

表 1 供试菌株
Table 1 Strains for testing

菌株 Strains	宿主植物 Host plant	促生特性 Function	固氮酶活性 Nitrogenase activity (C ₂ H ₄ nmol/(mL·h))	溶磷量 P-solubilization capacity (mg/L)	分泌生长素 Secreting IAA (mg/L)
<i>Bacillus</i> sp. JM170 ^[8]	<i>Medicago sativa</i>	P solubilization	58.97	178.20	4.34
<i>Pseudomonas</i> sp. JM92 ^[8]	<i>Medicago sativa</i>	P solubilization	75.34	132.60	47.25
<i>Azotobacter</i> sp. LX191 ^[8]	<i>Triticum aestivum</i>	P solubilization	—	200.02	54.36
<i>Azospirillum brasilense</i> G ^[9]	<i>Triticum aestivum</i>	N fixation	180.90	—	—
<i>Bacillus</i> sp. JX59 ^[10]	<i>Triticum aestivum</i>	P solubilization	—	109.30	—
<i>Bacillus</i> sp. LX22 ^[10]	<i>Triticum aestivum</i>	P solubilization	—	202.00	—
<i>Bacillus</i> sp. LX81 ^[11]	<i>Triticum aestivum</i>	P solubilization	102.34	105.60	—
LHS11* ^[12]	<i>Trifolium pratense</i>	P solubilization	497.70	103.50	10.56
LM4-3* ^[12]	<i>Medicago sativa</i>	N fixation	510.20	—	13.91
4N4* ^[13]	<i>Zea mays</i>	N fixation	178.94	178.25	17.80
P2-1* ^[13]	<i>Zea mays</i>	P solubilization	95.10	193.67	16.84
PGRS-3* ^[14]	<i>Poa alpigena</i>	Secreting IAA	—	—	40.87

注: *: 待鉴定; —: 促生特性微弱. 其余菌株促生特性尚未发表.

Note: *: Not identified; —: Poor growth promoting properties. Other strains have not been published.

1.7 cm 处等距离接种 4 种不同的细菌(用加液枪将菌液垂直滴在培养基上), 每种组合 3 个重复。25 °C 培养, 根据真菌的生长情况, 在适宜天数测量真菌距细菌近端的半径。

抑制率=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径]×100%

1.5 优良生防菌复筛

挑选抑菌圈较大、被抑制病菌边缘平齐且拮抗作用持久的生防菌进行复筛。方法同 1.4。距平板中心 1.7 cm 处四点接种同一种细菌, 每种组合 3 个重复。

1.6 生防菌发酵液的抑菌作用

1.6.1 发酵液的制备: 按陈太春等^[16]的方法。将筛选得到的优良生防菌, 接种至含 100 mL LB 液体培养基的摇瓶中, 于 28 °C、150 r/min 摇床培养 24 h, 移至 150 mL 离心管中, 12 000 r/min 离心 20 min, 先用无菌滤纸过滤, 再用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌得无菌发酵液。将收集的发酵液 4 °C

存放备用。

1.6.2 生防菌发酵液对病原菌的抑制: 在无菌条件下, 将无菌发酵液与冷却至 40 °C 左右的 PDA 培养基按 1:9 的比例混匀, 并制成含无菌发酵液的平板培养基, 以不含发酵液(加同样比例的无菌水) PDA 平板为空白对照。每个处理设 3 个重复, 试验重复 2 次。在平板中央放入直径 6 mm 的病原菌菌饼, 25 °C 恒温培养, 从第 3 天开始观察生长情况, 在对照菌落长满平板时, 采用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长抑制率, 得到生防效果好的菌株。

1.7 生防菌对病原菌菌丝生长的影响

在显微镜下(40×)观察靠近生防菌的抑菌圈边缘菌丝生长情况, 以正常生长的病原菌边缘菌丝为对照, 在显微镜下观察生防菌对病原菌菌丝形态的影响。

1.8 数据分析

采用 SPSS 16.0 软件中的 Duncan 氏新复极差法对所有数据进行单因素分析。

2 结果与分析

2.1 优良生防菌筛选

2.1.1 生防菌与立枯丝核菌拮抗:通过平板对峙法测定,供试菌株中有 8 株对立枯丝核菌有拮抗作用,其抑制率大于50%。通过复筛,发现其中 6 株的拮抗作用较好,抑制率大于 60% (表 2)。立枯丝核菌较其他病原菌生长较快,培养 4 d 后,对照菌落在半径为 45 mm 的平板上基本长满,各生防菌对立枯丝核菌的抑制率均达到 60%以上。其中 LM4-3 和 FX2 的抑菌效果最明显,抑制率均达到 73.82%,处理菌落半径和抑制率呈负相关,与其他 4 株生防菌相比,抑菌能力极显著,但两者之间差异不显著。

2.1.2 生防菌与尖孢镰刀菌拮抗:通过平板对峙法

测定,供试菌株中有 10 株对尖孢镰刀菌有拮抗作用,其抑制率大于50%。通过复筛,发现其中 7 株的拮抗作用较好(表 3)。尖孢镰刀菌较立枯丝核菌生长缓慢。在培养 4 d 后, LHS11 和 FX2 的抑菌活性较好,与其他 5 株生防菌相比,抑菌能力极显著,但两者之间差异不显著。随着培养时间的增加 7 株生防菌对病原菌的抑制率均明显提高。在培养 9 d 后,各生防菌对尖孢镰刀菌的抑制率均达到 60%以上。FX2 抑制效果最明显,受抑制的尖孢镰刀菌菌丝分布范围较小(图 1B),抑制率达到 66.81%,较 XX2 和 F1-4 差异极显著。XX2 抑制率最小,较其他 6 株菌差异极显著。在培养 11 d 后,对照菌落在半径为 45 mm 的平板上长满。

表 2 生防菌对立枯丝核菌的拮抗作用
Table 2 Inhibition of bio-control strains against *Rhizoctonia solani*

生防菌代号 Bio-control strain No.	4 d		
	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)
JM170	13.67±0.17Aab	42.67±0.44	67.97±0.39BCbc
LHS11	13.00±0.29Ab		69.53±0.68Bb
LM4-3	11.17±0.17Bc		73.83±0.39Aa
LX22	14.33±0.44Aa		66.41±1.03Cc
XX2	13.17±0.33Ab		69.14±0.78BCb
FX2	11.17±0.17Bc		73.83±0.39Aa

注:表中数据为平均值±标准差。同列不同小写字母表示处理间差异显著(Duncan's test, $P<0.05$),不同大写字母表示处理间差异极显著($P<0.01$)。下同。

Note: Values in the table are mean \pm s. Different little letters within the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's test, and capital letters at $P<0.01$ level. The same below.

表 3 生防菌对尖孢镰刀菌的拮抗作用
Table 3 Inhibition of bio-control strains against *Fusarium oxysporum*

生防菌代号 Bio-control strain No.	4 d			9 d		
	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)
LHS11	10.67±0.17Bb	17.33±0.33	38.46±0.96Aa	13.83±0.17Bbc	40.67±0.33	65.98±0.41ABab
LM4-3	12.67±0.17Aa		26.92±0.96Bb	14.67±0.44ABabc		63.93±1.08ABCbc
XX1	12.17±0.44Aa		29.81±2.54Bb	13.67±0.17Bbc		66.39±0.41ABab
XX2	12.00±0.29Aa		30.77±1.67Bb	15.67±0.17Aa		61.47±0.41Cc
FX1	12.50±0.29Aa		27.88±1.67Bb	14.67±0.17ABabc		63.93±0.41ABCbc
FX2	10.67±0.33Bb		38.46±1.92Aa	13.50±0.58Bc		66.80±1.42Aa
F1-4	11.83±0.17Aa		31.73±0.96ABb	15.17±0.33ABa		62.70±0.82BCc

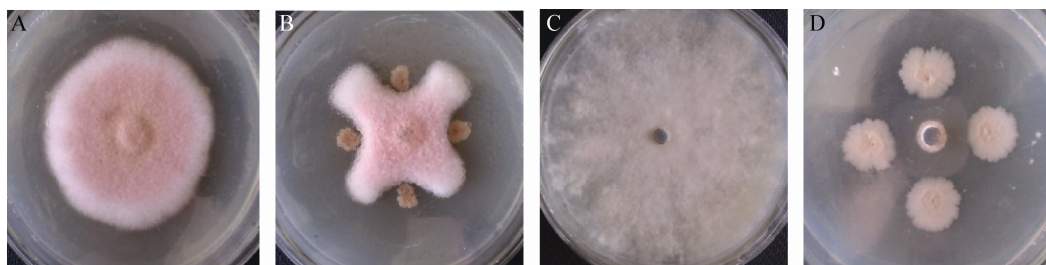


图 1 生防菌与土传病害病原平板对峙(部分)

Figure 1 The panel confrontation of bio-control strains and soil-borne fungal pathogen (part)

注: A: 尖孢镰刀菌, 对照; B: 尖孢镰刀菌, 菌株 FX2 处理; C: 油菜菌核病菌, 对照; D: 油菜菌核病菌, 菌株 LHS11 处理。
Note: A: *Fusarium oxysporum*, CK; B: *Fusarium oxysporum*, strain FX2 treatment; C: *Sclerotinia sclerotiorum*, CK; D: *Sclerotinia sclerotiorum*, strain LHS11 treatment.

2.1.3 生防菌与油菜菌核病菌拮抗: 通过平板对峙法测定, 供试菌株中有 5 株对油菜菌核病菌有拮抗作用, 其抑制率大于 60%。通过复筛, 发现其中 4 株的拮抗作用较好(表 4)。在培养 3 d 后, LHS11 和 FX2 的抑菌活性较好, 与其他生防菌相比, 抑菌能力极显著, 但两者之间差异不显著。在培养 7 d 后, 对照菌落在半径为 45 mm 的平板上基本长满。FX2 的抑制率与 3 d 时相比下降。其他 3 株生防菌随着时间的延长, 抑制率均提高。LHS11 的抑制效果最明显, 抑制率高达 85.71%, 被抑制的菌丝几乎不生长(图 1D), 生防菌的生长范围扩大。JX170 的抑菌活性较弱, 菌丝可以绕过生防菌长满全皿。4 株生防菌之间抑制率差异极显著。

2.2 生防菌发酵液对病原菌的抑制

2.2.1 生防菌发酵液与立枯丝核菌拮抗: 第 4 天,

在加入发酵液的平板上, 立枯丝核菌菌丝长满全皿, 6 种供试生防菌发酵液对立枯丝核菌无抑制作用, 抑制率均为 0。说明生防菌对立枯丝核菌的抑制机理不是利用次生代谢物起作用。

2.2.2 生防菌发酵液与尖孢镰刀菌拮抗: 第 10 天, 在加入发酵液的平板上, 尖孢镰刀菌菌丝长满全皿, 7 种供试生防菌发酵液对尖孢镰刀菌无抑制作用, 抑制率均为 0。说明生防菌对尖孢镰刀菌的抑制机理不是利用次生代谢物起作用。

2.2.3 生防菌发酵液与油菜菌核病菌拮抗: 第 3 天, 4 种供试生防菌中, LHS11 和 JM170 的发酵液对油菜菌核病菌有抑制作用, 抑制率分别为 60.55%和 46.79%(表 5)。FX2 和 LX22 的发酵液对油菜菌核病菌无抑制作用。第 7 天, 油菜菌核病菌在半径为 45 mm 的平板上基本长满, LHS11 和 JM170 的发酵液对油菜菌核病菌表现出明显的抑

表 4 生防菌对油菜菌核病菌的拮抗作用
Table 4 Inhibition of bio-control strains against *Sclerotinia sclerotiorum*

生防菌代号 Bio-control strain No.	3 d			7 d		
	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)
LHS11	4.33±0.17Cc	26.67±0.33	83.75±0.62Ab	6.00±0Dd	42.00±0.00	85.71±0Aa
FX2	3.17±0.17Cd		88.13±0.62Aa	7.50±0.29Cc		82.14±0.69Bb
JM170	10.83±0.60Aa		59.41±0.61Cd	13.67±0.17Aa		67.46±0.40Dd
LX22	8.33±0.17Bb		66.25±1.87Bc	10.33±0.33Bb		75.40±0.40Cc

表 5 生防菌发酵液与油菜菌核病菌拮抗及抑制率
Table 5 Antagonism and inhibition rate of fermentation solution of bio-control strains against *Sclerotinia sclerotiorum*

生防菌代号 Bio-control strain No.	3 d			7 d		
	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)
LHS11	14.33±0.33		60.55	16.67±0.88		61.09
FX2	33.67±0.33		—	42.83±0.17		—
JM170	19.33±1.45	36.33±0.67	46.79	20.33±0.33	42.83±0.44	52.53
LX22	35.50±0.29		—	43.00±0.00		—

注：—：抑制率小于 10%。

Note: —: Inhibition less than 10%.

制作用，说明 LHS11 和 JM170 的次生代谢物对油菜菌核病菌的抑制起到关键作用，抑制率分别达到 61.09% 和 52.53%。FX2 和 LX22 的发酵液对油菜菌核病菌无抑制作用。

2.3 生防菌对病原菌菌丝生长影响

2.3.1 生防菌对立枯丝核菌菌丝生长抑制作用：挑取立枯丝核菌菌丝在显微镜下观察，生防菌 FX2、XX2、LHS11 和 LM4-3 使立枯丝核菌的菌丝肿胀、弯曲，其中菌株 FX2 使立枯丝核菌的菌丝分枝大量增加(图 2A)。菌株 LX22 使立枯丝核菌菌丝内陷，原生质浓缩，细胞内含物质减少。有的细胞中甚至看不到细胞质，仅剩细胞壁。菌株 JM170 处理的立枯丝核菌菌丝畸形，细胞壁局部变薄。对照呈均匀丝状，直角分枝(图 2B)。

2.3.2 生防菌对尖孢镰刀菌菌丝生长抑制作用：挑

取尖孢镰刀菌菌丝在显微镜下观察，生防菌 F1-4 使尖孢镰刀菌菌丝断裂，内容物释放。菌株 LHS11、XX1 和 XX2 使菌丝扭曲、肿胀，随着时间的延长，菌丝细胞壁溶解出现断裂(图 2C)。菌株 LM4-3 使菌丝的原生质浓缩并溢出，大多数菌丝仅见细胞壁，少数菌丝细胞中可见原生质，但是细胞质稀少且聚集，出现大量的空胞。菌株 FX2 和 FX1 使菌丝扭曲缠绕，局部变形。对照纤细，均匀细长，表面光滑，菌丝内物质均匀一致(图 2D)。

2.3.3 生防菌对油菜菌核病菌菌丝生长抑制作用：挑取油菜菌核病菌菌丝在显微镜下观察，生防菌 LX22、JM170、FX2 和 LHS11 使菌丝发生不同程度的扭曲、变形。菌株 LHS11 使菌丝的部分原生质释放，最终导致病原菌的细胞壁破裂，菌丝断裂，病原菌消亡。对照呈均匀丝状，表面光滑。



图 2 生防菌对立枯丝核菌和尖孢镰刀菌菌丝生长的影响(部分)

Figure 2 Effect of bio-control strains on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* (part)

注：A—D 为光镜照片，放大倍数为 40×。A：立枯丝核菌，菌株 FX2 处理，菌丝分枝增多；B：立枯丝核菌，对照，菌丝正常；C：尖孢镰刀菌，菌株 LHS11 处理，菌丝弯曲、肿胀、分枝增多；D：尖孢镰刀菌，对照，菌丝正常。

Note: A—D are micrographs made by optical microscope at a magnification of 40×. A: *Rhizoctonia solani*, strain FX2 treatment, mycelium branches increase; B: *Rhizoctonia solani*, CK, normal mycelium; C: *Fusarium oxysporum*, strain LHS11 treatment, the bending, swelling mycelium, increase branches; D: *Fusarium oxysporum*, CK, normal mycelium.

3 讨论

生物防治可以有效地解决植物病害问题,还可以避免对环境造成污染,以及对人畜造成伤害。近百年来人们关于土传病害生物防治的研究表明,能在根际生长的微生物才是理想的生防因子。通过引入有益生防微生物,改善作物根际土壤微生物种群结构和数量已经成为防治土传病害的主要途径之一。筛选高效、抑菌谱广的生防菌成为国内学者研究的重点。葛慈斌等^[17]研究发现生防菌 JK-2 不仅对枯萎病菌有较强的抑制作用,对大丽轮枝菌、苦瓜炭疽病菌、桃褐腐病菌等植物病原真菌及番茄青枯雷尔氏菌的抑制作用也较强,表现了该菌株的抑菌广谱性。马志远等^[18]研究发现菌株 M-07C2F 对烟草赤星病菌、烟草黑胫病菌、小麦赤霉病菌、棉花枯萎病菌和水稻纹枯病菌均有不同程度的抑制效果。本试验研究发现生防菌 LHS11 和 FX2 具有广谱性,对 3 种病原菌均有很高的抑制作用。其中,菌株 FX2 对立枯丝核菌的抑制率高达 73.82%,显著好于噁霉灵 1 000 倍液的防治效果(35.83%)^[19],对尖孢镰刀菌的抑制率达到 66.80%,效果较好于灰黄霉素的抑制作用^[20]。菌株 LHS11 对油菜菌核病菌的抑制率高达 85.71%,与 1 000 倍 50%腐霉利防治效果相当^[21]。因此,对菌株 LHS11 和 FX2 的广谱性研究有待进一步开展。

在国内,植物病害生防机理已被广泛研究,孔建等^[22]研究发现枯草芽胞杆菌可使镰刀菌孢子和菌丝发生畸形,内含物外渗,从而使病菌丧失对植物的侵染能力。韩立荣等^[21]研究发现 11-3-1 菌株对油菜菌核病菌菌丝生长有明显影响,可致使油菜菌核病菌菌丝体畸形、扭曲和原生质浓缩外渗等。本试验利用光学显微镜对生防菌抑菌机理的初步研究发现,其对 3 种土传病害病原菌菌丝具有显著的致畸作用,可以使菌丝发生不同程度的膨大变形,使菌丝内容物释放,最终导致病原菌的细胞壁破裂,菌丝断裂,病原菌消亡。可能是这种畸变作用造成了病原菌菌丝失活,影响了病原菌的生长。

一些学者发现生防菌可以通过抗生素介导的抑制、诱导植物系统抗性、产生次生抗性代谢物、根部定殖等作用机制来防治植物病害^[23-25]。Bapat 和 Shah 发现 *Bacillus brevis* 制剂在防治由镰刀菌引起的豌豆枯萎病上有很好的效果,并对 *B. brevis* 分泌的抗生素进行了研究^[26]。菌株 LHS11 和 JX170 的发酵液能够很好地抑制油菜菌核病菌的生长。立枯丝核菌的 6 种生防菌和尖孢镰刀菌的 7 种生防菌都不能通过产生次生代谢物防治病原菌,可能是通过营养和空间位点竞争、溶菌作用、促进植物生长等方式实现对植物病原菌的控制。

为了进一步研究明确 PGPR 菌对植物病害的防效,还可通过盆栽试验和大田试验测定优良生防菌的防病能力。梁建根等^[27]筛选得到生防能力较好的菌株,在盆栽试验中研究发现,PGPR 菌均能促进植物的生长,也能防止病害的发生。李志新等^[28]用两种 PGPR 菌剂不同接种剂型处理油菜,发现 PGPR 菌剂能明显增加油菜的单株有效果数,还能降低油菜菌核病的发病率。因此本试验中优良生防菌的生防效果有待在盆栽试验和大田试验中进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 李瑞琴,刘星,邱慧珍,等. 发生马铃薯立枯病土壤中立枯丝核菌的荧光定量 PCR 快速检测[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 136-144.
- [2] 晏立英,周乐聪,谈宇俊,等. 油菜菌核病拮抗细菌的筛选和高效菌株的鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(2): 55-57,61.
- [3] 孙正祥,纪春艳,李云锋,等. 香蕉枯萎病拮抗细菌的分离筛选与鉴定[J]. 中国生物防治, 2008, 24(2): 143-147.
- [4] 荣良燕,姚拓,赵桂琴,等. 产铁载体 PGPR 菌筛选及其对病原菌的拮抗作用[J]. 植物保护, 2011, 37(1): 59-64.
- [5] 李文英,彭智平,杨少海,等. 植物根际促生菌对香蕉幼苗生长及抗枯萎病效应研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 234-242.
- [6] 赫荣乔. 生防促生微生物在我国农业微生物研究中的位置[J]. 微生物学通报, 2013, 40(2): 211.
- [7] 刘佳莉,方芳,史煦涵,等. 2株盐碱地燕麦根际促生菌的筛选及其促生作用研究[J]. 草业学报, 2013, 22(2):

- 132-139.
- [8] 韩华雯, 孙丽娜, 姚拓, 等. 不同促生菌株组合对紫花苜蓿产量和品质的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 104-112.
- [9] 刘青海. 六株溶磷菌与四株固氮菌互作效应及其菌剂对苜蓿促生效果研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2011.
- [10] 冯瑞章, 姚拓, 周万海, 等. 溶磷菌对燕麦生物量及植株氮、磷含量的影响[J]. 水土保持学报, 2009, 23(2): 188-192.
- [11] 韩文星, 姚拓, 席琳乔, 等. PGPR 菌肥制作及其对燕麦生长和品质影响的研究[J]. 草业学报, 2008, 17(2): 75-84.
- [12] 荣良燕, 姚拓, 刘青海, 等. 复合菌肥代替部分化肥对玉米生长的影响[J]. 草原与草坪, 2012, 32(3): 65-69.
- [13] 王国基. 玉米根际促生菌筛选及其专用菌肥对玉米生长影响研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2014.
- [14] 马文文. 禾草根际促生菌资源筛选及其数据库管理系统构建[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2014.
- [15] 李凤霞, 张德罡, 姚拓. 高寒地区燕麦根际高效 PGPR 菌培养条件研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(3): 316-320.
- [16] 陈太春, 林星华, 李晶, 等. 1株 An-ctc-y-1细菌分离物的鉴定及其对植物病原真菌的作用[J]. 西北农业学报, 2011, 20(7): 41-45.
- [17] 葛慈斌, 刘波, 蓝江林, 等. 生防菌 JK-2对尖孢镰刀菌抑制特性的研究[J]. 福建农业学报, 2009, 24(1): 29-34.
- [18] 马志远, 李金岭, 冯志珍, 等. 1株烟草赤星病拮抗芽胞杆菌的鉴定与活性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(3): 117-125.
- [19] 于冰, 申屠旭萍, 俞晓平. 丰加霉素对黄瓜立枯丝核菌的拮抗作用[J]. 中国生物防治学报, 2011, 27(3): 373-377.
- [20] 刘芸, 朱育菁, 陈清西, 等. 灰黄霉素对尖孢镰刀菌抑制作用的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(27): 282-287.
- [21] 韩立荣, 张华姣, 高保卫, 等. 放线菌11-3-1对油菜菌核病的防治作用与菌株鉴定[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 97-102.
- [22] 孔建, 赵白鸽, 王文夕. 枯草芽胞杆菌物质对镰刀菌抑制机理的镜下研究[J]. 植物病理学报, 1998, 28(4): 337-340.
- [23] Sajeli BA, Basha SA, Raghavendra G, et al. Isolation and characterization of antimicrobial cyclic dipeptides from *Pseudomonas fluorescens* and their efficacy on sorghum grain mold fungi[J]. Chemistry & Biodiversity, 2014, 11(1): 92-100.
- [24] Yang MM, Wen SS, Mavrodi DV, et al. Biological control of wheat root diseases by the CLP-producing strain *Pseudomonas fluorescens* HC1-07[J]. Phytopathology, 2014, 104(3): 248-256.
- [25] Barahona E, Navazo A, Martínez-Granero F, et al. *Pseudomonas fluorescens* F113 mutant with enhanced competitive colonization ability and improved biocontrol activity against fungal root pathogens[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5412-5419.
- [26] Bapat S, Shah AK. Biological control of fusarial wilt of pigeon pea by *Bacillus brevis*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2000, 46(2): 125-132.
- [27] 梁建根, 张炳欣, 施跃峰, 等. 植物根围促生细菌(PGPR)的分离筛选及对黄瓜土传病害的防治[J]. 中国农学通报, 2007, 23(12): 341-346.
- [28] 李志新, 邢丹英, 王晓玲, 等. PGPR 菌剂对油菜的促生作用和菌核病防治效果[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(2): 51-54.