

番茄早疫病拮抗内生细菌的分离及防病作用

李永丽, 周 洲, 李 凡, 于 雪

(河南科技大学 林学院 河南 洛阳 471003)

摘 要: 利用稀释分离法, 从健康的番茄植株中分离得到 11 个细菌菌株。通过平板对峙试验筛选出对番茄早疫病菌抑菌效果最好的 Fb9 菌株, 抑菌率为 70.81%。Fb9 菌株对番茄的生长具有促进作用, 对番茄早疫病的室内盆栽防治效果为 63.7%。

关键词: 番茄; 早疫病; 拮抗; 内生细菌

中图分类号: S 436.412.1⁺4 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)01-0035-02

番茄早疫病是由半知菌亚门茄链格孢菌 (*Alternaria solani*) 引起, 在全国各地都有发生, 是番茄的主要病害之一^[1]。目前对于该病的防治主要依靠化学药剂, 然而随着环境保护意识的增强, 人们越来越重视化学农药所造成残留和环境污染问题。生物防治已经成为控制病害的重要手段, 而植物内生细菌作为植物病害生物防治的潜在资源菌具有独特的优势^[2], 并且已经显示出很好的利用前景^[3-5]。试验通过分离筛选获得对番茄早疫病具有防治效果的番茄内生细菌菌株, 并初步鉴定出该菌株对番茄的生长具有促进作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株与番茄品种 番茄早疫病菌 (*Alternaria solani*) 从田间发病番茄植株上分离得到, 由河南科技大学林学院植保系实验室保存; 供试番茄品种为“中蔬四号”。

1.1.2 培养基 细菌平板培养用 NA 培养基, 液体培养

用 NB 培养基, 真菌培养及平板对峙试验用 PDA 培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 番茄内生细菌的分离 采集健康番茄植株的根、茎、叶各 3 g, 在 75% 的酒精中浸泡 30 s, 然后用 1% 的升汞消毒 3 min, 用无菌水冲洗 5 次后, 于灭菌的研钵中研磨, 加入 5 mL 无菌水混匀, 分别取最后一次的冲洗液和研磨液 200 μ L, 涂布于 NB 培养基平板上, 在 28 $^{\circ}$ C 下培养, 逐日观察, 如最后一次冲洗液涂布的培养基中无菌落, 在研磨液涂布的培养基中长出的菌落可能是内生菌, 进行纯化培养后, 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

1.2.2 拮抗活性测定 番茄早疫病菌活化培养, 制成直径 8 mm 的菌饼放置于 PDA 培养基中心, 四周 40 mm 处分别放置 3 片 8 mm 大小含有内生细菌的滤纸片, 置于 28 $^{\circ}$ C 培养箱内培养 4~5 d, 测量抑菌圈半径并计算抑菌率。抑菌率 = $\frac{\text{对照菌落半径} - \text{处理菌落半径}}{\text{对照菌落半径}} \times 100\%$ 。

1.2.3 种子发芽试验 挑选饱满的番茄种子分别浸泡于 Fb9 菌培养液稀释 5、10、50、100、500 倍的溶液中 30 min 后, 均匀放置于铺有滤纸的培养皿中, 每个培养皿放 20 粒种子, 以清水和 NB 培养基作为对照, 3 次重复。将培养皿放置于 28 $^{\circ}$ C 恒温箱中培养 3 d 后测芽长和根长。

1.2.4 盆栽防治试验 番茄种子催芽后种植于培养钵中, 每钵 3 棵, 待其长至 4 叶时, 将番茄早疫病菌的孢子悬浮液喷雾接种其上, 然后用 4×10^8 cfu/mL Fb9 菌株

第一作者简介: 李永丽(1978-), 女, 讲师, 现主要从事植物病理学的教学与科研工作。E-mail: yonglili1978@163.com。

基金项目: 河南科技大学博士科研启动基金资助项目 (09001265); 河南科技大学 SRTF 资助项目 (2009114)。

收稿日期: 2010-10-14

value were investigated. The results showed that bagging could significantly inhibit the bending and other deformed fruit, and the unit average length and weight of bagging cucumber was 9.83% and 42.99% higher than CK for the same growth period, respectively. Furthermore, there was no essential difference of the water content and the chlorophyll content of green outer skin between the bagging cucumber and CK. However, the bagging cucumber had a better quality for a higher sugar-acid ratio, VC and soluble protein content, which was 45.80% and 16.82% higher than the controlled group. Moreover, although the bagging cucumber would increase the film material and labor costs, in addition, far more expected value and profit would emerge gradually.

Key words: cucumber; bagging; fruit; quality; economic value

培养液喷雾,以清水处理作对照,每处理3盆,3次重复。接种后7d调查番茄的发病情况,病情分级采取5级标准。

2 结果与分析

2.1 内生细菌 Fb9 的筛选

从健康番茄的根、茎、叶中共分离出11株内生细菌,其中从叶片中分离的Fb9抑菌活性最强,抑菌率达70.81%,见图1。

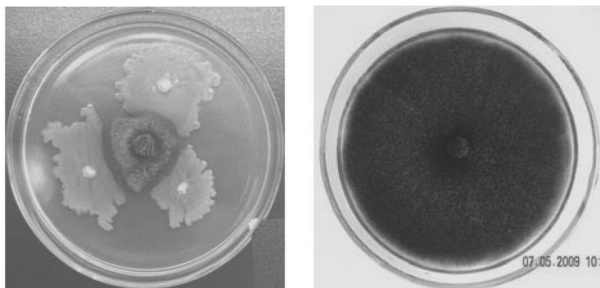


图1 内生菌 Fb9 菌株对番茄早疫病菌拮抗作用(右为对照)

2.2 Fb9 对番茄种子发芽的影响

由图2、3可见,经内生菌Fb9菌株处理的番茄种子发芽率、根长和芽长均高于清水对照,其中以Fb9菌株稀释100倍的效果最好,发芽率、根长和芽长比清水对照分别增长12.44%、21.66%和16.87%。而作为对照的NB培养基对番茄种子的发芽率、根和芽生长的影响反而不如清水对照。

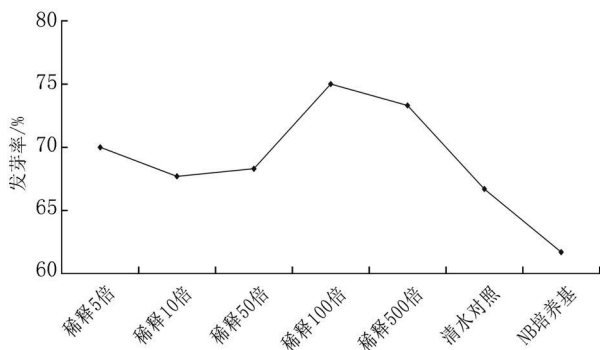


图2 Fb9 对番茄种子发芽率的影响

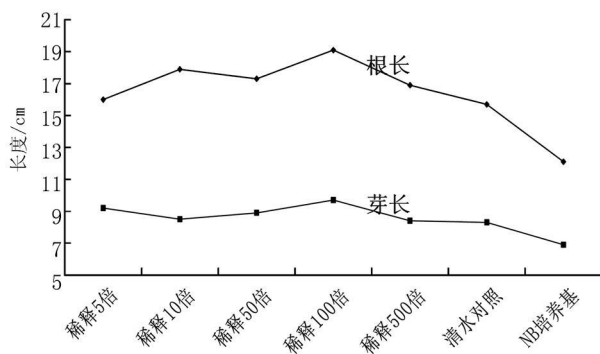


图3 Fb9 对番茄根长、芽长的影响

2.3 盆栽防治效果

试验结果表明,接种番茄早疫病菌后,接种Fb9菌株的番茄植株比用清水处理的发病率下降41.3个百分点,病情指数降低21.3,防治效果为63.7%。

3 结论与讨论

有研究表明,植物内生细菌在与宿主植物协同进化的过程中,形成了稳定的生态关系。内生细菌不但可以产生生长调节物质促进植物生长,而且通过自身产生或诱导宿主产生一些抗菌的物质^[6],或通过植物病原菌竞争生态位和营养物质对植物病害起到防治作用。

该试验从健康的番茄植株中获得11个菌株,并筛选出对番茄早疫病菌具有良好拮抗效果的Fb9菌株。通过番茄种子发芽试验和室内盆栽试验证实Fb9菌株具有较好的防病和促生作用,对番茄早疫病的防治效果达到63.7%。

参考文献

- [1] 董金泉. 农业植物病理学(北方本)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [2] 孔庆科, 丁爱云. 内生细菌作为生防因子的研究进展[J]. 山东农业大学学报, 2001, 32(2): 256-260.
- [3] 王美琴, 陈俊美, 薛丽, 等. 番茄内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 山西农业科学, 2007, 35(2): 55-58.
- [4] 任璐, 韩巨才, 刘慧平, 等. 植物内生细菌yc8对番茄早疫病菌抑菌作用研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2008, 28(1): 34-36.
- [5] 张立新, 刘慧平, 韩巨才, 等. 番茄内生真菌的分离和拮抗生防菌的筛选[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2005, 25(1): 33-34.
- [6] 吴芳婷, 陈代杰, 钱秀萍. 植物内生菌生物活性物质研究的新进展[J]. 中国抗生素杂志, 2004, 29(30): 184-192.

Isolation of Antagonistic Activities of Endophytic Bacteria Fb9 to *Alternaria Solani* and Its Efficiency in Suppression of Tomato Early Blight

LI Yong-li, ZHOU Zhou, LI Fan, YU Xue

(Forestry College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract: Eleven endophytic bacterial strains were isolated from healthy tomatoes with conventional isolation method. Strain Fb9 of them showed best antifungal effect against *Alternaria solani*. The test proved that it was able to promote growth of tomato plants. The results from the pot experiment indicated that strain Fb9 had control efficiency of 63.7% on tomato early blight.

Key words: tomato; *Alternaria solani*; antagonistic activity; endophytic bacteria