

淡紫拟青霉在大豆根际的定殖及对根际微生物的影响

孙漫红 刘杏忠

(中国农业科学院生物防治研究所 北京 100081)

摘要 温室实验证明淡紫拟青霉 M-14 菌株发酵液对大豆种子包衣, 无菌土中种植 1 周后有 1/10 的生防菌能够在大豆根际定殖, 其中内根际(根表与根内)可检测到菌剂包衣量的 1/1000。第 2 周时内根际菌量提高 10 倍以上, 4 周后有所下降。2% NaClO 表面消毒后, 检测出植物根内也有少量淡紫拟青霉存在。大豆胞囊线虫感病土中, 该菌 3 周后开始大量增殖。病土中引入菌剂, 1 周后根际其它各种微生物数量略有减少, 真菌、细菌、放线菌分别减少 16%、27% 和 27%, 4 周时均达到平衡, 与对照一致。

关键词 淡紫拟青霉, 根际, 定殖

分类号 Q93-3

淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus*) 是根结线虫、胞囊线虫等植物寄生线虫体内一种重要的寄生菌, 近一二十年来已显示出较大的生防潜力^[1~4]。但一种新的微生物被引入土壤时, 往往会受到土壤抑菌作用^[5]及菌株本身与植物根部亲和能力的影响, 这也是以往应用生防菌

防治植物寄生线虫防效不稳定^[6~8]的重要原因。能否在植物根际定殖已成为筛选、评定土传病害生防菌的一个重要指标。Cabanilas 等人^[9]研

本研究为国家“九五”攻关项目

1997-08-07 收稿

究发现,淡紫拟青霉在离体番茄根的细胞表皮及皮层细胞内部都可以生长。我们以大豆胞囊线虫雌虫体内分离的淡紫拟青霉 M-14 菌株为基础,制成大豆胞囊线虫生防菌剂,经多年试验,取得良好效果^[10]。本研究通过温室盆栽试验,考察其与大豆根部的亲和能力及对大豆根际其它微生物的影响。

1 材料与方法

1.1 菌种

淡紫拟青霉 M-14 菌株,本实验室 1990 年分离自黑龙江孟家岗大豆田胞囊线虫雌虫体内。

1.2 大豆

垦丰 4 号。

1.3 M-14 菌剂在大豆根际的定殖

1.3.1 真菌制剂的制备: 28℃ 下, M-14 菌株液体摇瓶发酵 4~5d, 检测发酵液中孢子浓度为 1×10^8 个 / ml。加入复合添加物, 制成菌剂。

1.3.2 选择性培养基的制备: 参照文献 [11, 12]。

1.3.3 将大豆种子用 2% NaClO 消毒 3min, 无菌水冲洗, 晾干, 加入 1% (V / W) 菌液包衣, 阴干后在灭菌土及大豆胞囊线虫感病土中播种。另留出 20 粒种子, 加无菌水震荡, 洗脱菌剂, PDA 平板上测定洗涤液菌剂浓度, 即种子上菌剂包衣量。

1.3.4 播种后 7d、14d、21d、28d 取大豆根, 分别经以下处理: (a) 保留与根紧密结合的根际土, (b) 自来水、无菌水反复冲洗, 除去根际土, (c) 洗去根上的土, 加 2% NaClO 消毒 3min, 再用无菌水冲洗。将经过不同处理的大豆根剪成 0.5mm 左右的小段, 于研钵中研磨成浆状, 稀释后涂布到淡紫拟青霉选择性培养基上, 26~28℃ 下培养 7~10d, 测定菌株在大豆外根际、内根际(根表及根内)和根内的定殖量。

1.4 菌剂处理后大豆根际微生物的变化

1.4.1 病土中微生物数量的测定: 土样风干, 过 40 目筛, 加无菌水制成悬液, 分别在牛肉汁蛋白胨、马丁氏、高氏 1 号培养基上涂布培养, 记录各种微生物数量。

1.4.2 大豆种子用 2% NaClO 消毒, 分别采用无

菌滤液 (M-14 发酵液粗滤后经 0.2μm 无菌滤膜过滤) 浸种、菌剂包衣, 阴干后在病土中种植。取大豆根际土, 1 周、4 周时测定其中微生物数量的变化。

各试验重复 3 次。

2 结果

2.1 菌剂包衣量

M-14 菌剂 CFU: 1.2×10^8 孢子 / ml, 大豆种子菌剂包衣量: 2.4×10^6 孢子 / 粒种子。

2.2 M-14 菌剂在大豆根际的定殖

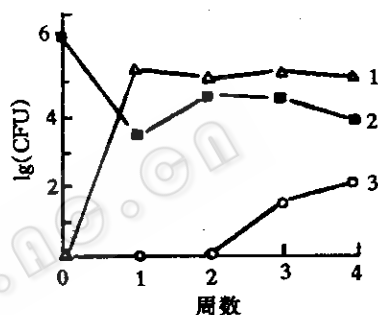


图1 无菌土中M-14菌株在大豆根际的定殖

1. 外根际, 2. 根表, 3. 根内

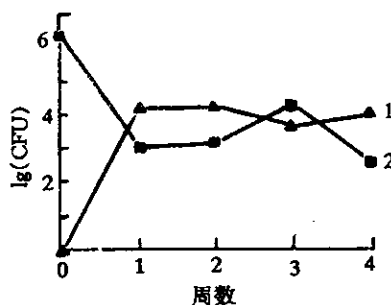


图2 感病土中M-14菌株在大豆根际的定殖

1. 外根际, 2. 根表

淡紫拟青霉可以在大豆根际定殖。M-14 菌液对大豆种子包衣, 灭菌土中种植 1 周后有 1 / 10 的菌在大豆根际定殖, 其中内根际可检测到菌剂包衣量的 1 / 1000, 且在主根、侧根上均发现有其生长。第 2 周时内根际带菌量提高 10 倍以上, 4 周后有所下降。2% NaClO 表面消毒后, 检测出植物根内也有少量淡紫拟青霉存在。大豆胞囊线虫感病土中, 第 3 周时该菌开始大量增殖。8 周后对无菌土进行检测, 发现根际仍

有一定数量的淡紫拟青霉。

2.3 菌剂包衣后大豆根际微生物变化

表1 大豆根际微生物变化

		CK	发酵滤液	M-14菌剂
真菌	0	3.3×10^5	3.3×10^5	3.3×10^5
	1周	1.8×10^5	—	1.5×10^5
	4周	1.4×10^5	1.5×10^5	1.5×10^5
细菌	0	9.3×10^6	9.3×10^6	9.3×10^6
	1周	1.0×10^7	—	7.4×10^6
	4周	1.2×10^7	1.0×10^7	1.1×10^7
放线菌	0	5.5×10^6	5.5×10^6	5.5×10^6
	1周	3.8×10^6	—	2.7×10^6
	4周	3.9×10^6	3.6×10^6	3.7×10^6

包衣处理的大豆种植1周后,根际其它各种微生物数量有所降低,真菌、细菌、放线菌分别减少16%、27%和27%,4周时均达到平衡,与对照一致。

3 讨论

利用微生物防治植物寄生线虫等土传病害,其防效能否稳定、持久,一个重要原因在于它在植物根部的定殖能力。温室栽培实验证明淡紫拟青霉与大豆根部具有一定的亲和能力,可以在外根际、根表,以至根内定殖,并可长期存活、繁殖,为淡紫拟青霉应用提供了理论基础。

生防菌株同其它根际微生物竞争能力的强弱是其存活、定殖的关键。淡紫拟青霉是一类土壤真菌,能产生一种肽类抗生素^[13,14]。我们通过测定证明淡紫拟青霉对土壤中其它真菌、细菌、放线菌均有一定的抑制作用,其抗性随时间而减弱。另外,菌剂的配制和施用方法对其定殖也有一定影响。我们将淡紫拟青霉制成复合菌剂,采用种子包衣技术,使生防菌能够优先利用基质及大豆根分泌物中的各种营养,为其早期的大量增殖、快速生长提供了条件。前人研究表明^[15],植物根部可被微生物利用的位点一般只占到整个根表面积的8~20%,生防菌早于病原菌(物)同植物种子接触,并随着根的生长而向下延伸,从而优先占据植物生态位点,并

定殖下来,减少其它有害菌的位点竞争。除此之外土壤的理化性质、寄主植物的类型、土壤中其它微生物的种类及密度等因素都会影响到生防菌的定殖能力。我们在生防菌剂的实际应用中都需要加以考虑。

参 考 文 献

- [1] Davide R G. Integrated pest management for tropical root and tuber crops: Proceedings of the global status of and prospects for integrated pest management of root and tuber crops in the Tropics, 1987 at Ibadan, Nigeria, 1990, 156~163.
- [2] Gomes C R M D, Cayrol J C. Revue de Nematologie, 1991, 14(4):629~634.
- [3] atala P. Annual Review of Phytopathology, 1986, 24: 453~489.
- [4] Zaki F A. Nematologia Mediterranea, 1994, 22(1): 45~47.
- [5] 孙漫红,刘杏忠,唐霖. 菌物系统(原真菌学报),1997, 16(2): 149~154.
- [6] Hewlett T E, Dickson D W, Mitchell D J, Kannwischer M M E. Journal of Nematology, 1988, 20: 578~584.
- [7] Rodriguez K R, Morgan J G, Godoy G, Gintis B O. Nematropica, 1984, 14:155~170.
- [8] Yuen P M, Karim S A, Shokri O A. Proceedings of the 3rd international conference on plant protection in the tropics, Genting Highlands, Malaysia, 20~23 March 1990, 1992, Vol. 6:38~41.
- [9] Cabanillas E, Barker K R, Daykin M E. Journal of Nematology, 1988, 20(3):362~365.
- [10] 刘杏忠,张新德等. 植物病理学研究进展,北京:中国农业科技出版社,1995, 313~317.
- [11] Mitchell D J, Kannwischer M M E, Dickson D W. Journal of Nematology, 1987, 19(2):255~256.
- [12] Surling G R. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. C. A. B Interationa, 1991, 282.
- [13] Isogai A, Suzuki A, Higashikawa S, Kuyama S, Tamura S. Agricultural and Biological Chemistry, 1980, 44:3029~3031.
- [14] Isogai A, Suzuki A, Higashikawa S, Kuyama S, Tamura S. Agricultural and Biological Chemistry, 1981, 45:1023~1024.
- [15] 北京农业大学植保系植物生态病理教研室编译. 植物根际生态学与植病生物防治进展,北京:中国人民大学出版社,1991,517.

COLONIZATION OF *PAECILOMYCES LILACINUS* ON SOYBEAN ROOT AND ITS EFFECT ON RHIZOSPHERE MICRO-ORGANISMS

Sun Manhong Liu Xingzhong

(Institute of Biological Control, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract The results showed that *Paecilomyces lilacinus* could colonize in soybean rhizosphere, when it was used as a seed-coat. The number of propagules observed in endorhizosphere in sterilized soils was 1/1000 of the coated fungi at the 1st week. It increased over 10-fold in the 2nd week, and began to decrease after 4 weeks planting. The fungus could also endoparasitize a few in soybean root. In the soils which were sensitive to soybean cyst nematode, The strain multiplied greatly in the 3rd week. The various micro-organisms in soybean rhizosphere were influenced by *P. lilacinus* when it was introduced in natural soils. The numbers of fungi, bacteria and actinomyces reduced by 16%, 27% and 27% respectively in the 1st week. But after a longer period (4 weeks), all the microbes were as same as the control group.

Key words *Paecilomyces lilacinus*, Rhizosphere, Colonization