

唐蕊,张雪辉,徐立实. 生防菌 XM-10 培养基的优化[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):215-217.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.058

生防菌 XM-10 培养基的优化

唐蕊,张雪辉,徐立实

(邢台学院化学工程与生物技术学院,河北邢台 054001)

摘要:针对从土壤中筛选出的抑菌谱较广的生防菌 XM-10 进行了培养基的优化研究,旨在为其应用于现代农业进行生物防治药剂的开发生产奠定基础。采用单因素和正交试验相结合的方法,主要对培养基中的碳源、氮源和初始 pH 值进行了优化。结果表明:在供试的材料中,培养生防菌 XM-10 的最佳碳源是全麦粉,最佳氮源是大豆粉,最佳初始 pH 值是 8.5,即其最优的培养基配方是全麦粉 30 g、大豆粉 11 g、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.5 g、 $MgSO_4$ 0.5 g、 $FeSO_4$ 0.01 g、NaCl 0.5 g、水 1 000 mL,初始 pH 值 8.5。

关键词:生防菌;培养基;正交试验;碳源;氮源

中图分类号:S476.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)06-0215-02

随着人们环保意识的加强,对生态环境的保护日益重视,现代农业成为当今农业发展的主流,对农产品质量提出了更高的要求,由于植物病害的生物防治具有安全、无残留、无污染等优点,已成为重要的防治手段。而其中利用生防菌对植物病害进行生物防治研究是当前的一大热点,并且一些抑菌效果显著的生防菌已经开发应用于农业生产。如美国用于防治大豆、麦类、棉花等作物多种病害的有 4 株枯草芽孢杆菌获得环保局商品化或有限商品化生产应用许可^[1];德国开发了用于防治苜蓿的核盘菌核病的商品制剂 ContansWG^[2];意大利研制了用于防治镰刀菌属病害的 Biofox C^[2];澳大利亚开发了用于防治麦类和胡萝卜等作物土传病害的枯草芽孢杆菌 A-13^[3];南京农业大学研发了用来防治小麦纹枯病的“麦丰宁”^[4]和用于防治白菜软腐病的“菜丰宁”^[5],中国农业大学和云南农业大学合作研发了对小麦、白菜、烟草等作物的土传病害均有良好防治效果的“百抗”^[6]等。本试验针对从土壤中筛选出的抑菌谱较广的生防菌 XM-10 进行了培养基的优化研究^[7],旨在为其应用于现代农业进行生物防治药剂的开发生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

生防菌 XM-10(邢台学院微生物实验室分离保存)。

1.2 方法

1.2.1 碳源的筛选 以高氏 1 号液体培养基为基础,分别以 15、20、25、30 g/L 不同的单一碳源(葡萄糖、蔗糖、玉米粉和全麦粉^[8])和混合碳源^[9](葡萄糖+玉米粉、葡萄糖+全麦粉,其中葡萄糖含量设置为 2 g/L)代替高氏一号液体培养基中的碳源(20 g/L 可溶性淀粉),其他成分不变,设 3 个重复,

在相同培养条件下,摇瓶发酵培养 5 d 后,测定菌体干质量。

1.2.2 氮源的筛选 以最佳碳源为基础,以硫酸铵、硝酸钠、大豆粉和蛋白胨^[8-9]代替高氏一号液体培养基中的氮源(硝酸钾 1.0 g/L),浓度如表 1,其他成分不变,设 3 个重复,在相同培养条件下,摇瓶发酵培养 5 d 后,测定菌体干质量。

表 1 不同氮源梯度设置

水平	梯度(g/L)			
	硫酸铵	硝酸钠	蛋白胨	大豆粉
1	0.5	0.5	3.0	3.0
2	1.0	1.0	5.0	5.0
3	1.5	1.5	7.0	7.0
4	2.0	2.0	9.0	9.0

1.2.3 初始 pH 值 采用高氏一号液体培养基,在其他培养条件不变的情况下,将培养液初始 pH 值分别调至 3.0、5.0、7.0、9.0、11.0,设 3 个重复,摇瓶发酵培养 5 d 后,测定菌体干质量。

1.2.4 正交试验 根据单因素试验结果选取碳源、氮源、pH 值 3 因素设置 3 个水平(表 2),选择正交表 $L_9(3^4)$,进行液体菌种培养基优化试验。摇瓶发酵培养 5 d 后,测定菌体干质量。

表 2 生防菌 XM-10 培养基优化正交试验因素与水平

水平	碳源(全麦粉) (g/L)	氮源(大豆粉) (g/L)	pH 值
1	25	7	7.5
2	30	9	8.0
3	35	11	8.5

2 结果与分析

2.1 碳源的筛选

在不同的碳源条件下,生防菌 XM-10 的生长状况不同。由图 1 可见,生防菌 XM-10 在蔗糖中生长量最低,而在全麦粉中,在不同浓度下,其菌体生长量水平均高于其他几种碳源,由此可知全麦粉对生防菌 XM-10 生长最有利。由于全麦粉在图 1 中菌体干质量呈增长趋势,为找出其最高点,增设 35、40 g/L 这 2 个梯度重复试验,结果见图 2。从图 2 可以得

收稿日期:2015-05-08

基金项目:河北省高等学校科学技术研究青年基金(编号:QN2014323)。

作者简介:唐蕊(1976—),女,河北秦皇岛人,硕士,教授,从事微生物教学与研究工作。E-mail:xtxytr@126.com。

知生防菌 XM-10 在全麦粉添加量为 30 g/L 时,菌体生长量最大,为 19.104 mg/mL,故 30 g/L 为全麦粉添加量的最佳值。

2.2 氮源的筛选

在不同的氮源条件下,生防菌 XM-10 的生长状况差异显著。由图 3 可知,生防菌 XM-10 在硫酸铵和硝酸钠中生长量较低,且曲线比较平缓,在蛋白胨和大豆粉中,随着浓度 3~7 g/L 时其生长量呈直线增长,7~9 g/L 时增长趋势不明

显,但在各浓度下,在大豆粉中的菌体生长量均高于蛋白胨,由此可知在上述几种氮源中,大豆粉对生防菌 XM-10 生长最有利。由于随着大豆粉浓度增大菌体干质量呈增长趋势,为找出其最高点,增设 11、13 g/L 重复试验,结果见图 4。从图 4 可以得知在大豆粉添加量为 7~9 g/L 时,菌体生长量有一定的增幅,而由 9 g/L 增至 11 g/L 和 13 g/L 时,菌体生长量基本持平,甚至呈现略微下降趋势,故得出 9 g/L 为大豆粉添加量的最佳值。

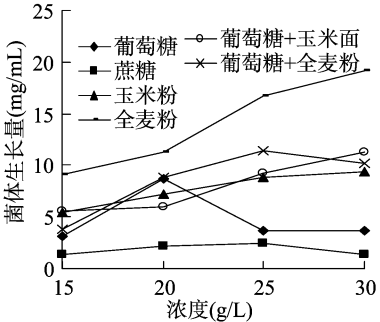


图1 不同碳源对XM-10生长量的影响

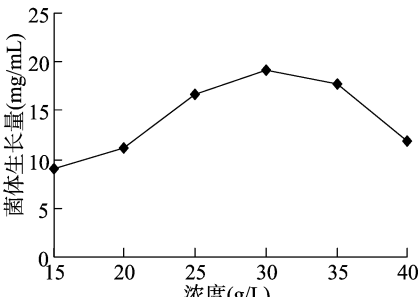


图2 全麦粉作为碳源对生防菌XM-10生长量的影响

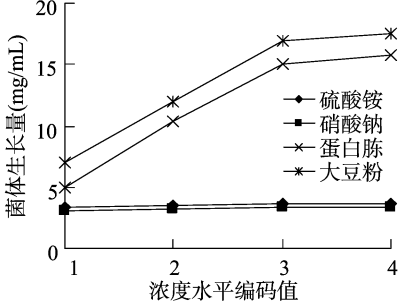


图3 不同氮源对生防菌XM-10生长量的影响

2.3 初始 pH 值

在不同初始 pH 值条件下培养 5 d 后,测量各组菌体干质量。由图 5 可知,当 pH 值为 3.0~9.0 时菌体生长量呈上升趋势,当 pH 值为 9.0~11.0 时菌体生长量呈下降趋势,pH

值 9.0 为最大值。在此基础上,设置 7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5 几种 pH 值(图 6),当 pH 值为 8.0 时菌体生长量为最大,故其培养基初始 pH 值最佳为 8.0。

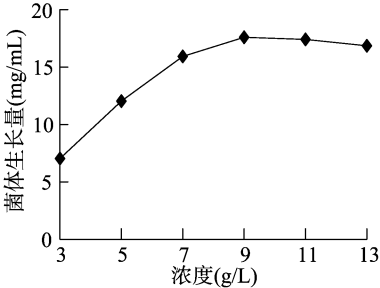


图4 大豆粉作为氮源对生防菌XM-10生长量的影响

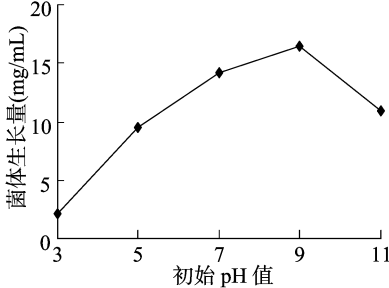


图5 初始pH值对生防菌XM-10生长量的影响(一)

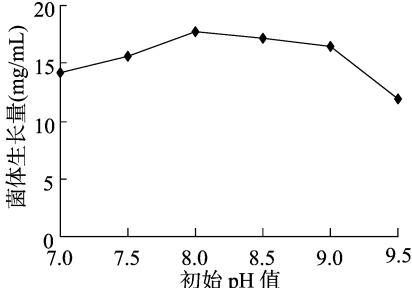


图6 初始pH值对生防菌XM-10生长量的影响(二)

2.4 正交试验

根据正交表 $L_9(3^4)$,将表中各因素水平的试验结果进行处理分析(表 3),通过计算极差的方法确定最佳发酵培养基的配方。极差越大,该因子对试验结果的影响越大,从而可以按极差的大小来决定因子的主次顺序。由表 3 的极差分析可看出,本试验配方因子的主次顺序是全麦粉(碳源) > 大豆粉(氮源) > 初始 pH 值。通过 k 值对比可知,全麦粉(碳源)的 k_2 水平最佳,为 30 g/L,大豆粉(氮源)的 k_3 水平最佳,为 11.0 g/L,培养基初始 pH 值的 k_3 水平最佳,为 8.5。故依据上述正交试验结果得出的最佳配方为全麦粉 30 g/L、大豆粉 11.0 g/L、初始 pH 值为 8.5。

3 讨论

生防菌既可在植物和其根际定植生长,形成生物屏障,保护作物免受病原菌侵害,亦可修复土壤生物多样性,成为当今研究和开发的热点^[10]。同时应用生防菌的活体制剂,会避免由于单一大量使用抗生素造成的诸如破坏自然界微生物的平

表 3 生防菌 XM-10 培养基优化正交试验结果				
序号	全麦粉 (碳源)	大豆粉 (氮源)	初始 pH 值	干质量 (g)
1	1	1	1	0.462 5
2	2	2	2	0.570 7
3	3	3	3	0.590 8
4	1	2	3	0.501 6
5	2	3	1	0.557 3
6	3	1	2	0.515 3
7	1	3	2	0.539 5
8	2	1	3	0.543 4
9	3	2	1	0.551 8
k_1	0.501 2	0.507 0	0.515 6	
k_2	0.557 1	0.541 3	0.543 4	
k_3	0.552 6	0.562 5	0.547 1	
R	0.055 9	0.055 5	0.031 5	

衡、造成自然选择压力等弊端,应用前景较为广阔。通过培养原料的选择和培养基质的优化,改进发酵生产技术,可以有效降低生产成本,提高生物活体制剂的生产效率,使其具有更加

秦红杰, 张志勇, 刘海琴, 等. 凤眼莲天敌——地老虎[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 217–219.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.059

凤眼莲天敌——地老虎

秦红杰, 张志勇, 刘海琴, 王 岩, 张迎颖, 闻学政, 严少华

(江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏南京 210014)

摘要:在阐述凤眼莲入侵史、危害及常见防治措施, 分析当前引入外来物种水葫芦象甲 (*Neochetina eichhorniae*) 作为天敌利弊及潜在风险的基础上, 初步探讨了国内新发现、可啃食凤眼莲的地老虎的取食特点, 较详尽剖析利用地老虎作为天敌控制凤眼莲的应用前景及目前存在的问题, 为今后国内对凤眼莲的生物防治提供一定的理论基础与实践参考。

关键词:凤眼莲; 生物防治; 天敌; 地老虎; 水葫芦象甲

中图分类号: S476.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0217-03

凤眼莲 (*Eichhornia crassipes*) 别称水葫芦, 雨久花科多年生单子叶水生草本植物^[1], 根生于淤泥中^[2], 原产于南美洲亚马逊河流域, 具有超强的适应和无性繁殖能力^[3]。截至 2010 年, 凤眼莲已入侵包括欧洲、亚洲、非洲及北美在内的至少 62 个国家^[4]。据报道, 凤眼莲植株在适宜条件下每 5 d 可增加 1 倍^[5]。Herfjord 等研究表明, 凤眼莲可在一个生长季度由几株繁殖至近 200 万株, 并覆盖约 10 000 m² 的水面^[6], 正是这种爆炸式的扩繁速度, 凤眼莲被列入“世界十大害草”之一, 排名第 8^[7], 中国国家环保局 2003 年把它列为首批最危险的 16 种外来入侵物种之一。凤眼莲一旦入侵新的水域, 会以惊人的速度扩繁, 并大量堆积于水体表面而阻碍航运、灌溉及渔业^[1], 妨碍休闲及娱乐活动等^[8], 对入侵地区的生态

和社会经济效益造成显著影响^[9]。

1 凤眼莲中国入侵史

1901 年, 凤眼莲作为花卉被引入中国台湾^[10], 20 世纪 30 年代进入中国大陆地区^[11]。20 世纪 50—70 年代, 为解决国家粮食问题, 凤眼莲作为“三水饲料”在中国大陆得到推广^[12], 后不慎逃逸进入自然生境而泛滥成灾。截至 2004 年, 凤眼莲已入侵我国南方 17 个省、市、自治区, 并导致生态破坏^[13], 被称为“水上绿魔”、水域“癌细胞”^[14-15]。

2 凤眼莲的防治措施

为应对凤眼莲的入侵, 不少国家及地区实施了相应的控制及治理措施, 主要包括物理措施、化学措施及生物措施^[1], 这 3 种防治措施各有优、缺点, 详见表 1。物理措施主要包括机械或人工打捞、水上建造控养围栏防其飘移等^[10,16]; 化学措施主要是施用 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D)、草甘膦等除草剂^[17]; 生物措施是通过生物间的相互作用来控制凤眼莲, 主要包括利用昆虫、真菌、植物化感等^[2,18-19]。丁义等认为, 协调应用物理、化学和生物措施, 可较好地控制凤眼莲。

收稿日期: 2015-05-06

基金项目: 国家“十二五”滇池水专项 (编号: 2012ZX07102-004-6、2013ZX07102005); 云南省社会发展项目 (编号: 2009CA034)。

作者简介: 秦红杰 (1984—), 男, 河南安阳人, 博士, 助理研究员, 主要从事水体生态修复研究。E-mail: hongjieqin111@126.com。

通信作者: 严少华, 研究员, 主要从事水污染治理研究。E-mail: shy-an@jaas.ac.cn。

广阔的市场前景^[11]。生防菌 XM-10 可以抑制多种植物病原菌, 具有较为广泛的抑菌谱^[7], 有希望开发成广谱的活体制剂。但需在其田间的定殖能力、抗药能力、菌种稳定性等方面做进一步的研究, 为该菌株开发为安全、有效、环境友好型的生物活体制剂打下坚实的基础。

参考文献:

- [1] 翟茹环. 枯草芽孢杆菌 G8 抗菌物质的理化性质分析及分离纯化 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.
- [2] 胡燕梅, 杨 龙. 利用微生物防治植物病害的研究进展 [J]. 中国生物防治, 2006 (增刊 1): 190–193.
- [3] Baker K F. Evolving concepts of biological control of plant pathogens [J]. Annual Review of Phytopathology, 1987, 25: 67–85.
- [4] 惠 明, 窦丽娜, 田 青, 等. 枯草芽孢杆菌的应用研究进展 [J].

安徽农业科学, 2008, 36(27): 11623–11624, 11627.

- [5] 王金生. 细菌素在植物细菌病害生防中的应用 [J]. 生物防治通报, 1985, 1(2): 36–40.
- [6] 彭灯水. 枯草芽孢杆菌 12-041 和 12-059 对玉米纹枯病生物防治的研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [7] 张雪辉, 唐 蕊, 徐立实, 等. 生防菌 XM-10 抑菌活性的测试及鉴定 [J]. 吉林农业科学, 2014, 39(4): 39–42.
- [8] 夏觅真, 蒋 颂, 罗薇薇, 等. 土壤放线菌 FX05 发酵培养基及发酵条件的优化 [J]. 微生物学杂志, 2009, 29(4): 49–52.
- [9] 陈丽红, 惠友为. 链霉菌 NW136 菌株发酵条件的研究 [J]. 陕西林业科技, 2008(1): 1–3.
- [10] 赵晓宇, 孟利强, 沙长青. 生防菌防治土传真菌病害现状及抗性物质的研究进展 [J]. 国土与自然资源研究, 2013(5): 95–96.
- [11] 姜 钰, 董怀玉, 徐秀德, 等. 放线菌在植物生防中的研究进展 [J]. 杂粮作物, 2005, 25(5): 329–331.