

石 杨,吕长平,帅佳琪,等. 牡丹炭疽病菌拮抗内生细菌的分离鉴定及促生作用[J]. 江苏农业科学,2022,50(16):114-120.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.16.017

牡丹炭疽病菌拮抗内生细菌的分离鉴定及促生作用

石 杨², 吕长平^{1,3}, 帅佳琪², 毛 咪², 江莉娜²

(1. 湖南农业大学风景园林与艺术设计学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南农业大学园艺学院, 湖南长沙 410128;

3. 湖南省中亚热带优质花木繁育与利用工程技术研究中心, 湖南长沙 410128)

摘要:为获得牡丹炭疽病菌的优良拮抗菌,采用五点对峙法将 64 株来自牡丹根和茎部的内生细菌进行抑菌能力测定,筛选出最具拮抗作用的菌株,并对所选菌株进行分类鉴定,测试选定菌株的室内离体防效、促生作用和拮抗作用。结果表明,筛选出 4 株对牡丹炭疽病菌最具抑制作用的菌株,其中拮抗率最高的是菌株 FJ1.3,抑菌率为 51.39%,室内离体防效为 47.06%。经鉴定,菌株 FJ1.3 为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。拮抗菌株 FJ1.3 不具有溶磷和产 β -1,3-葡聚糖酶能力,而具有产蛋白酶、固氮、产纤维素酶和分泌 IAA 能力,菌株 FJ1.3 分泌的 IAA 达到 16.94 mg/L,可作为牡丹炭疽病的生防菌株资源。优良的牡丹内生菌具有促进植物生长的特性和抑制牡丹炭疽病菌的能力,为防治牡丹炭疽病和研发生物防治菌剂提供了基础。

关键词:牡丹炭疽病菌;内生菌;分离鉴定;室内离体防效;促生作用;拮抗作用

中图分类号:S436.8⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)16-0114-06

牡丹为芍药科(Paeoniaceae)芍药属(*Paeonia*)多年生落叶灌木,具有极高的药用、观赏、油用价值^[1]。但在长期的人工栽培中,牡丹病虫害的发生日益严重,影响了牡丹的利用价值。牡丹炭疽病为牡丹的主要病害之一。在湿热的夏季,牡丹叶片病害尤为突出^[2-3]。

目前主要使用化学药剂防治牡丹炭疽病,但在使用过程中不仅会造成环境污染,而且极容易使病原菌产生抗药性。由于微生物农药具有高效、低毒、环保及来源广等优点,使其受到研究者的广泛关注。目前用于防治的微生物主要有拮抗放线菌、拮抗真菌和拮抗细菌。植物内生菌是指在植物生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物各种组织和器官的细胞间隙或细胞内的微生物类群^[4]。相比较于其他生防菌,植物内生菌所处的环境相对稳定,不易受外界温度、紫外辐射等因素的影响,能够在植物体内长期定殖,其独特的优势使其越来越

多地应用于生防菌的研发^[5]。丁东玲等从药用牡丹内部分离得到的短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)具有拮抗金黄色葡萄球菌的作用^[6]。

本研究拟从湖南农业大学花卉基地内健康牡丹的茎和根中分离、筛选、鉴定牡丹炭疽病菌拮抗菌株,并评估其拮抗能力,同时探究其对植物的促生特性。以期为进一步研究病原菌与内生菌的互作奠定基础,为牡丹炭疽病防治提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 2019 年 12 月,于湖南农业大学花卉基地内采集生长健壮的凤丹、紫绣球、湘西粉 3 个牡丹品种的茎和根,带回实验室进行内生菌的分离。胶孢炭疽菌自行从发病的牡丹叶片中分离获得。

1.1.2 试验试剂 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基、营养(NA)培养基、R2A 培养基、 β -1,3-葡聚糖培养基^[7]、羧甲基纤维素钠(CMC)培养基^[8]、酪蛋白培养基^[9]。

PKO 培养基:10 g 葡萄糖、5.0 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、0.2 g NaCl、0.2 g KCl、0.03 g FeSO_4 、0.03 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.03 g MnSO_4 、20 g 酵母膏、20 g 琼脂、1 L 蒸馏水,pH 值为 6.8~7.0。

阿须贝氏培养基:0.2 g KH_2PO_4 、0.2 g MgSO_4 、

收稿日期:2021-10-10

基金项目:湖南省教育厅重点研究项目(编号:16A094);湖南农业大学优势特色重点学科开放基金(编号:2016YYX003);湖南省中亚热带花木繁育与利用工程技术中心建设项目(编号:201809)。

作者简介:石 杨(1997—),女,湖北随州人,硕士研究生,研究方向为观赏植物种质创新及利用。E-mail:525951591@qq.com。

通信作者:吕长平,博士,副教授,研究方向为园林植物与观赏园艺。

E-mail:changpinglv@sina.com。

0.2 g NaCl、5 g CaCO₃、10 g 甘露醇、0.1 g CaSO₄、18 g 琼脂、1 L 蒸馏水。

金氏 (King) 培养基: 20 g 蛋白胨、1.5 g MgSO₄、1.15 g KH₂PO₄、15 mL C₃H₈O₃、0.1 g L-色氨酸、1 L 蒸馏水。

比色液: 1.5 mL 0.5 mol/L FeCl₃、30 mL H₂SO₄、50 mL 蒸馏水。

以上试剂均来自北京酷来博科技有限公司, 细菌提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司, DP302-02]。

1.2 试验设计

1.2.1 内生菌的分离 内生菌的分离、纯化参照了 Zhao 等的方法^[10]进行, 将平板上长出的单菌落保存于试管斜面中备用。

1.2.2 内生菌对牡丹炭疽病菌的拮抗筛选 采用五点对峙法^[11-12]测试内生细菌对炭疽病的拮抗作用。将内生细菌转接于 NA 和 R2A 液体培养基中, 28 ℃、120 r/min 振荡培养 72 h, 制备拮抗菌菌悬液, 备用。在炭疽菌菌落边缘用打孔器取带有菌丝的菌饼, 并将其接入空白 PDA 平板正中央, 同时以病原菌为中心, 距离菌饼 2.5 cm 处, 3 个点分别接入 20 μL 内生细菌菌悬液。将只接入病原菌菌饼作为空白对照, 重复 3 次, 28 ℃ 培养 7 d 左右, 待对照组的菌丝长满平板时, 用十字交叉法测量菌落直径。

内生菌拮抗病原菌抑菌率按如下公式进行计算:

抑菌率 = (对照组菌落直径 - 处理组菌落直径) / (对照组菌落直径 - 菌饼直径) × 100%。

1.2.3 拮抗菌发酵液抑菌试验 将筛选出的最具拮抗作用的拮抗菌接种于液体培养基中, 28 ℃、120 r/min 摇床培养 3 d。将菌悬液分装于离心管中, 12 000 g 离心 10 min, 上清液通过 0.22 μm 无菌过滤器。将拮抗菌株的无菌发酵上清液按 4:1 的比例倒入 65 ℃ 固体培养基中并倒平板, 将不加无菌发酵上清液作为对照; 在平板中央接种牡丹胶孢炭疽菌菌饼 (直径 6 mm), 设置 3 个重复。28 ℃ 恒温培养, 待对照病原菌长满培养皿时, 用十字交叉法测量菌落直径, 并计算无菌发酵上清液对病原菌生长的抑制率。

采用离体牡丹叶片接种: 从花卉基地的健康牡丹植株上选取长势一致的牡丹叶片。清水冲洗 1 min, 用高温消毒后的棉球蘸取 75% 的乙醇正反擦

拭牡丹叶片, 再用棉球蘸取无菌水进行擦拭, 用无菌发酵液浸泡牡丹叶片 30 min, 并用无菌水作对照, 用针刺叶片造成伤口, 并在伤口上接种牡丹炭疽病菌菌饼, 菌丝面贴近伤口, 每张叶片接种 1 个菌饼, 将处理的叶片放于准备好的保鲜盒中, 每盒 2 张叶片, 加无菌水至滤纸完全浸润, 盖上盒盖, 每个处理 10 张叶片, 28 ℃ 下保湿培养, 每天观察接种伤口情况, 并根据滤纸的保水情况增加无菌水以保证盒内湿度。待病斑不再扩大后, 观察记录。牡丹叶片面积病变比例 = (a - b) / a × 100%, 其中: a 为对照组牡丹叶片病变面积; b 为发酵上清液处理组牡丹叶片病变面积。

1.2.4 优良拮抗菌的鉴定 形态学鉴定: 将纯化后的优良内生拮抗细菌接于 NA 和 R2A 培养基, 37 ℃ 培养 3 d, 观察描述菌落形态, 18 ~ 24 h 菌龄时进行革兰氏染色并在显微镜下观察。

分子生物学鉴定: 细菌 DNA 按照细菌 DNA 快速提取试剂盒提供的方法进行提取。PCR 扩增引物选用细菌 16S rDNA 通用引物 (27F: 5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3'; 1492R: 5' - GGTACCTTGTACGACTT - 3')。PCR 产物检测委托北京擎科生物科技有限公司进行, 将所得到的 16S rDNA 序列经过校对与 BLAST 中的 GenBank 序列采用 MEGA4.0 软件以邻接法构建菌株系统发育树。

1.2.5 促生能力测定 IAA (吲哚乙酸) 分泌能力的测定参照 Patten 等的方法^[13]; 溶磷能力测定参照许进娇等的方法^[14]; 固氮能力测定参照崔月贞等的方法^[15]。

1.2.6 拮抗细菌代谢分泌物测定 β-1,3-葡聚糖酶活性测定: 将筛选的优良拮抗菌接种于 β-1,3-葡聚糖培养基中, 每株拮抗菌 3 次重复, 28 ℃ 培养 3 d。测定透明圈直径与菌落的直径, 并计算其比值 (H 值)。纤维素酶活性测定参照张平等的方法^[9]。蛋白酶活性测定: 将拮抗菌接种于酪蛋白培养基中, 每株拮抗菌重复 3 次, 28 ℃ 条件下培养 3 d。然后测定透明圈与菌落直径, 并计算其比值 (H 值)。

1.2.7 数据分析 试验数据采用 Excle 及 SPASS 3.0 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 牡丹炭疽病菌拮抗菌的筛选

将分离出的细菌与牡丹炭疽病菌进行对峙培

养,共筛选出拮抗细菌 9 株(表 1)。其中菌株 FJ1.3、ZJ1.5、XG1.4、ZJ1.4 的抑菌效果最好,生长抑制率分别为 51.39%、48.15%、41.67%、36.11%。因此选用 FJ1.3、ZJ1.5、XG1.4、ZJ1.4 菌株为牡丹炭疽病菌拮抗优势内生菌株。

表 1 不同内生菌菌株对病原菌的抑制效果

内生细菌	抑菌率(%)
XJ1.5	5.56±0.00e
FG1.6	9.26±0.93e
XG1.5	12.96±2.45de
ZG3.1	24.07±3.70cd
FG1.9	25.00±0.00cd
ZJ1.4	36.11±4.24bc
XG1.4	41.67±4.81ab
ZJ1.5	48.15±4.04ab
FJ1.3	51.39±1.39a

注:不同的小写字母表示不同处理间在 0.05 水平上差异显著,下同。

2.2 拮抗内生菌对病原菌的抑制

本试验通过菌丝抑制法,测定最具拮抗作用的 4 株拮抗菌无菌发酵液对病原菌的抑制作用。结果表明(表 2),菌株 FJ1.3 的无菌发酵液对病原菌最具抑制作用,抑制率为 35.13%,其次是菌株 ZJ1.4,抑制率为 34.54%。

优良拮抗菌株对牡丹炭疽病菌的离体防效试验(表 3)结果表明,菌株 FJ1.3 病斑显著小于清水

对照。接种 5 d 后,菌株 FJ1.3 对牡丹炭疽病的防效达到 47.06%。其次为菌株 ZJ1.4,防效为 22.48%。

表 2 拮抗菌发酵液对病原菌的抑制效果

菌株	抑制率(%)
FJ1.3	35.13±2.70a
ZJ1.4	34.54±3.96ab
ZJ1.5	27.92±3.33ab
XG1.4	19.31±5.04b

表 3 拮抗菌对牡丹炭疽病的防治效果

菌株	病斑直径(mm)	防效(%)
CK	8.54±0.55a	—
ZJ1.5	6.73±0.21b	19.75
XG1.4	6.70±0.19b	20.38
ZJ1.4	6.65±0.33b	22.48
FJ1.3	5.75±0.34b	47.06

2.3 拮抗菌株的鉴定

2.3.1 形态学鉴定 4 株优良拮抗菌在 37℃培养 3 d 后,4 株菌株菌落形状不规则,菌落不透明,菌株 FJ1.3、ZJ1.5 表面湿润无光泽,菌株 ZJ1.4、XG1.4 表面湿润有光泽,扁平,菌株 ZJ1.5 颜色为浅黄色,其余菌株均为白色(表 4)。革兰氏染色后,经显微镜观察发现,4 株菌株都为革兰氏阳性菌。4 株拮抗菌都符合芽孢杆菌属(*Bacillus*)特征。

表 4 株优良拮抗菌的形态特征

编号	形状	颜色	透明度	湿润度	突起	光泽	边缘
FJ1.3	不规则	白色	不透明	湿润	扁平	无光泽	波纹状
ZJ1.5	不规则	浅黄色	不透明	湿润	扁平	无光泽	波纹状
ZJ1.4	不规则	白色	不透明	湿润	扁平	有光泽	圆形
XG1.4	不规则	白色	不透明	湿润	扁平	有光泽	圆形

2.3.2 分子生物学鉴定 将 4 株优良炭疽病菌拮抗菌进行测序后,登录 NCBI 数据库,通过 BLAST 对测序结果进行比对分析,并构建系统发育树。结合系统发育分析结果(图 1),菌株 FJ1.3 最相似菌株为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),相似性为 99.50%。菌株 ZJ1.5 最相似菌株为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),其相似性为 99.50%。菌株 ZJ1.4 最相似菌株为特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*),相似性为 99.60%。菌株 XG1.4 最相似菌株为嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alcalophilus*),相似性为 96.33%。

2.4 拮抗菌促生潜能的测定

所筛选出的 4 株菌株在与比色液结合后呈现出不同深度的红色,表明 4 株菌株均具备分泌 IAA 的能力,颜色越深,分泌 IAA 能力越强。菌株 ZJ1.5 分泌 IAA 能力最强,IAA 浓度高达 17.02 mg/L,菌株 FJ1.3 分泌 IAA 能力次之,为 16.94 mg/L(表 5)。筛选出的 4 株拮抗细菌在无氮培养基中能正常生长,故都具有固氮能力(图 2)。4 株拮抗细菌在 PKO 培养基上生长无明显溶磷圈,表明其不具备溶磷能力(图 3)。

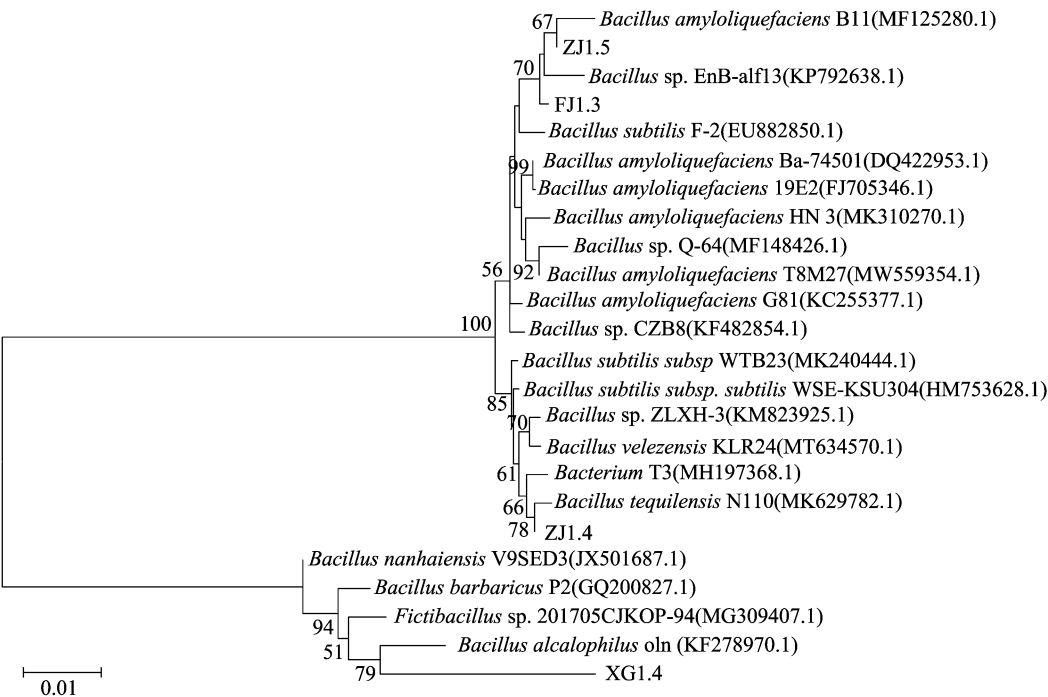


图1 各类群代表菌株 16S rRNA 基因序列系统发育树

表 5 拮抗细菌分泌 IAA 能力测定

内生细菌	IAA 浓度 (mg/L)
XG1.4	3.66 ± 0.22b
ZJ1.4	15.80 ± 0.18a
FJ1.3	16.94 ± 0.78a
ZJ1.5	17.02 ± 0.00a

2.5 拮抗细菌代谢分泌物的测定

拮抗细菌 ZJ1.5、FJ1.3、ZJ1.4、XG1.4 生长过程中都具有产蛋白酶的能力(图 4),酶产量最高的为菌株 ZJ1.5,其透明圈直径与菌落直径的比值达

到 5.67(表 6)。在 CMC 培养基上,3 株菌株 ZJ1.5、ZJ1.4、FJ1.3 均能生长出菌落,并使菌落周围的刚果红颜色消失而形成透明圈(图 5),其中酶产量最高的为菌株 FJ1.3,其透明圈直径与菌落直径的比值达到 22.50(表 7)。在 β -1,3-葡聚糖培养基上,4 株菌株均不能使培养基中的蓝色消失,表明 4 株菌株均不能产生 β -1,3-葡聚糖酶(图 6)。

3 结论与讨论

3.1 内生细菌的促生作用

由于植株内部环境条件不易受改变,容易定

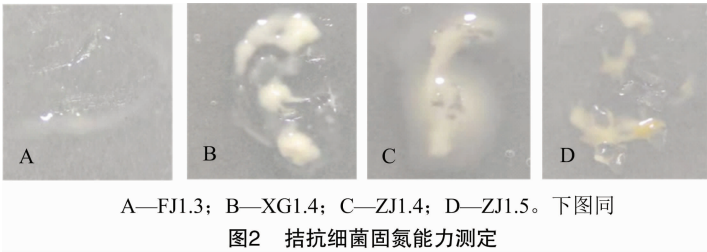


图2 拮抗细菌固氮能力测定

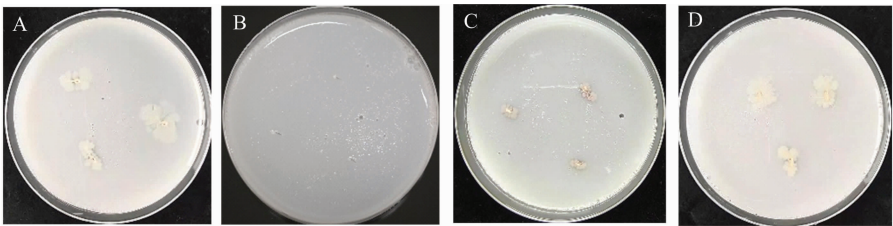


图3 拮抗细菌解磷能力测定

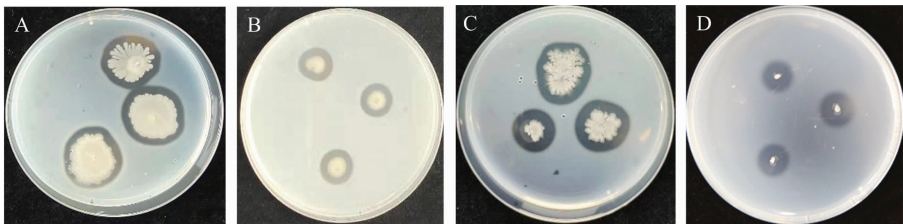


图4 拮抗菌株产蛋白酶的测试结果

表 6 拮抗菌株产蛋白酶的测定结果

内生细菌	透明圈直径 (mm)	菌落直径 (mm)	H 值
ZJ1.5	11.33	2.00	5.67 ± 0.44a
ZJ1.4	11.00	12.67	1.39 ± 0.81b
XG1.4	7.00	7.67	0.91 ± 0.11b
FJ1.3	7.33	18.67	0.40 ± 0.04b

殖,不易受到外界环境因素的影响,漫长的进化选择使植株体内的组分相对固定。Gaiero 等研究发现,植株内生和根际微生物可以通过溶磷、固氮、分泌 IAA 等方式直接影响植物的新陈代谢,从而对植株的生长发育产生影响^[16]。目前研究者从多种植物体内都分离出对植株具有促生作用的内生细菌,如黄瓜内生菌枯草芽孢杆菌可通过固氮和产铁载

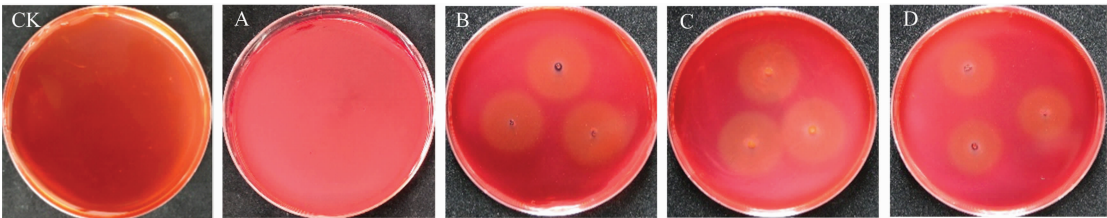


图5 拮抗菌株产纤维素的测试结果

表 7 拮抗菌株产纤维素的测定结果

内生细菌	透明圈直径 (mm)	菌落直径 (mm)	H 值
FJ1.3	23.00	1.00	22.50 ± 2.12a
ZJ1.5	19.67	2.00	12.38 ± 4.83a
ZJ1.4	22.00	2.00	9.72 ± 1.12a

体的作用来促进黄瓜种子萌发和幼苗的生长^[17];野大豆内生细菌普罗威登斯菌属 (*Providencia*) 具有溶磷能力,溶磷量为 46 mg/L,且具有产 IAA 能力,达到 19.97 mg/L,1-氨基环丙烷-1-羧基(ACC)脱氨酶活性达到 8.59 μmol/(mg·h),菌株处理小麦 10 d 后,促生效果最显著,株高、根长、叶干质量与根干质量分别增加58.46%、81.89%、54.87%、29.9%^[18]。

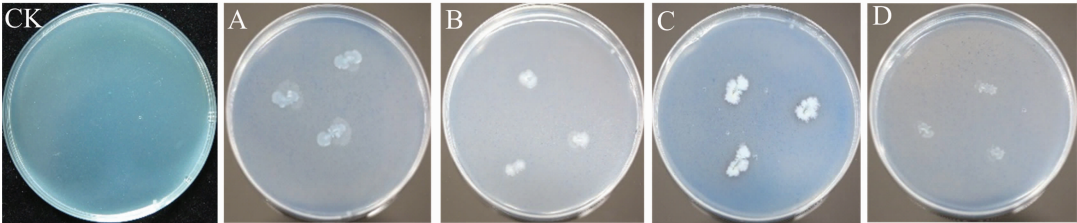


图6 拮抗菌株产β-1,3-葡聚糖酶的测试结果

本试验筛选的优良菌株都可产生 IAA 和固氮能力,但都不具有溶磷能力。在本试验的研究中发现菌株分泌 IAA 的量存在差异。本试验菌株 ZJ1.5 最相似菌株为解淀粉芽孢杆菌,产生 IAA 量最高,达 17.02 mg/L,其次为菌株 FJ1.3,其最相似菌株为枯草芽孢杆菌,产 IAA 量为 16.94 mg/L,但两者之间产 IAA 量差异不显著。从野大豆中分离出的内生细菌

假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)产 IAA 为 19.97 μg/mL,对水稻幼苗具有明显的促进作用^[19]。这些研究与本试验结果基本一致,表明宿主植物内定殖了大量产生 IAA 的内生菌资源^[20]。刘丽辉等从南方野水稻中分离出的内生细菌织片草螺菌 (*Herbaspirillum seropedicae*)产 IAA 能力高达 29.97 mg/L,固氮酶活性高达 494.14 nmol/mL^[21],有力地支持了本研究

结果。

3.2 内生细菌的拮抗作用

植物与微生物关系紧密,通过构建根际微生物区系,植物根部分泌的代谢物可驱使植物生长和发生防御反应,而细菌基因组特性决定了其对宿主的适应性^[22]。近年来,利用植物内生菌来抑制植物病原微生物进行生物防治的研究在国内外已展开^[12,23-25],这些研究为牡丹炭疽病的生物防治提供了新的思路和借鉴。本研究从牡丹的根和茎中分离出了 64 株内生细菌,经过筛选测试,牡丹内生菌菌株 FJ1.3、ZJ1.4、ZJ1.5、XG1.4 对牡丹炭疽病菌具有较强的拮抗作用。抑菌率在 36% 以上,其中 FJ1.3 的抑菌率达到 51.39%。无菌发酵液试验中抑菌率最高的菌株为 FJ1.3,达到 35.13%,其次是菌株 ZJ1.4,抑菌率为 34.54%。在离体叶片防效试验中防治效果最佳的菌株为 FJ1.3,防效为 47.06%。牡丹内生菌接种处理牡丹炭疽病菌,出现抑制炭疽病菌菌丝生长的现象,可能原因是内生菌与病原菌对峙过程中产生了化感物质及胞外代谢产物^[26],如解毒酶、水解酶类等。陈思宇等的研究支持这个解释,水稻纹枯病菌拮抗细菌通过产生蛋白酶和嗜铁素对水稻纹枯病菌产生抑制作用^[27]。本试验初步探究了拮抗牡丹炭疽病菌的内生细菌的代谢分泌物。4 株优良拮抗细菌都具有分泌蛋白酶和纤维素酶的能力,而不具有分泌 $\beta-1,3$ -葡聚糖酶的能力。Kamensky 等研究支持了这一结论,发现蛋白酶能够对菌核病和灰霉病产生抑制作用^[28]。Singh 等研究发现,类芽孢杆菌产生 $\beta-1,3$ -葡聚糖酶,可破坏枯萎病病原菌的细胞壁,导致菌丝自溶、断裂^[29]。本研究仅对内生菌代谢分泌物进行初步探索,对内生菌代谢酶活性还需进一步探索。

参考文献:

- [1] 贾文庆,徐小博,刘会超,等. 牡丹‘乌龙捧盛’组培苗生根及生根解剖学研究[J]. 林业科学研究,2013,26(4):516-520.
- [2] 宣俊好,张元博,蒙城功,等. 洛阳地区牡丹 3 种主要叶部病害病原菌的分离与鉴定[J]. 植物保护,2017,43(6):91-96.
- [3] 廖伟超,刘全信,苏百童,等. 牡丹红斑病、炭疽病及病毒病的发生与防治[J]. 农技服务,2012,29(6):708-709.
- [4] Jia M, Chen L, Xin H L, et al. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7:906.
- [5] Dinesh K M. Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems [M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2011:61-69.
- [6] 丁东玲,邢晴晴,王 雪,等. 药用牡丹拮抗内生细菌的筛选鉴定及优化培养[J]. 中药材,2018,41(9):2084-2088.
- [7] 黄晓丽. 毛壳菌(*Chaetomium* spp.)生防菌株的筛选及其生物防治机制研究[D]. 雅安:四川农业大学,2009.
- [8] 高珍娜,吕文静,谢 航,等. 纤维素降解菌的筛选与诱变育种[J]. 福州大学学报(自然科学版),2010,38(3):450-455.
- [9] 张 平,李朝阳,赵清泉,等. 生防细菌对油茶炭疽病原菌的抑制作用[J]. 北京林业大学学报,2020,42(10):107-116.
- [10] Zhao L F, Xu Y J, Lai X H, et al. Screening and characterization of endophytic *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from medicinal plant *Lonicera japonica* for use as potential plant growth promoters [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2015, 46(4):977-989.
- [11] 樊苗苗,陈肖学,张 詠,等. 樟叶越橘叶内生真菌的抑菌活性研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学),2018,38(2):141-147.
- [12] 陈建英,陈肖学,罗旭璐,等. 香竹箬栽培型古茶树内生真菌对植物病原真菌的拮抗活性[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2020,35(3):422-429.
- [13] Patten C L, Glick B R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(8):3795-3801.
- [14] 许进娇,宋 萍,封 磊,等. 雷公藤内生细菌的促生作用及其对雷公藤甲素生成的影响[J]. 应用生态学报,2014,25(6):1681-1687.
- [15] 崔月贞,杨小利,杨成德,等. 拮抗马铃薯晚疫病病菌的高寒草地牧草内生细菌的鉴定及其生物功能测定[J]. 植物保护学报,2016,43(5):789-795.
- [16] Gaiero J R, McCall C A, Tompon K A, et al. Inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion [J]. American Journal of Botany, 2013, 100(9):1738-1750.
- [17] 钱 鑫,谭志琼,邢梦玉,等. 黄瓜菊苣假单胞菌叶斑病内生拮抗细菌的鉴定及促生作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2022,48(1):54-59.
- [18] 赵晓妍,曹 越,董荫萌,等. 一株野生大豆内生细菌 YDX14 菌株的分离、鉴定及促生效应研究[J]. 大豆科学,2021,40(2):224-231.
- [19] 朱梦卓,孙洋洋,赵晓妍,等. 野大豆内生假单胞菌 YDX26 的鉴定及促生抗逆特性[J]. 微生物学通报,2021,48(11):4100-4110.
- [20] 李慧颖,申乃坤,吴家法,等. 广西北部湾入侵植物互花米草内生可培养细菌多样性及促生防病活性分析[J]. 南方农业学报,2021,52(4):1012-1021.
- [21] 刘丽辉,蒋慧敏,区宇程,等. 南方野生稻内生细菌的分离鉴定及促生作用[J]. 应用与环境生物学报,2020,26(5):1051-1058.
- [22] Hu L F, Robert C A M, Cadot S, et al. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota [J]. Nature Communications, 2018, 9(1):2738.
- [23] 严 冬,曾为林,陈肖学,等. 樟叶越橘嫩枝内生真菌的植物病原菌拮抗活性[J]. 中南林业科技大学学报,2021,41(3):64-71.
- [24] 胡丽杰,闫思远,李嘉泓,等. 枸杞内生真菌对胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的拮抗作用及生防潜力[J]. 植物保护,2020,46(1):125-133.

李海霞,米银法,陈双臣. 外源钙对于干旱胁迫下不同抗性牡丹 PS II 功能和光能分配的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(16):120-127.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.16.018

外源钙对于干旱胁迫下不同抗性牡丹 PS II 功能和光能分配的影响

李海霞^{1,2}, 米银法², 陈双臣²

(1. 河南财政金融学院, 河南郑州 450000; 2. 河南科技大学园艺与植物保护学院, 河南洛阳 471003)

摘要:以抗干旱能力较强的胡红和不耐干旱的乌龙捧盛牡丹品种为试材,研究干旱胁迫及复水条件下外源 CaCl_2 对 PS II 功能和光能分配的影响。结果表明,随干旱胁迫加剧,2 种牡丹 PS II 中心受到明显的光抑制,光合原初反应受损。与对照相比,外施 CaCl_2 显著降低了 2 种牡丹的叶绿素基础荧光(F_0)、光下初始荧光(F_0')和非光化学淬灭系数(q_N);而反应中心 PS II 潜在活性(F_v/F_0)、光下最大荧光(F_m')、PS II 实际光能转换效率(F_v'/F_m')、最大荧光(F_m)、光下可变荧光(F_v')和叶绿素荧光光化学猝灭系数(q_P)则显著提高。表明外施 CaCl_2 能显著提高干旱胁迫下牡丹叶片 PS II 的潜在活性,有效缓解 PS II 原初光能转化效率的受损程度,维持暗适应时较高状态的最大光化学效率,改善光合性能,缓解干旱逆境伤害。经 CaCl_2 调控后尤其是重度干旱胁迫时,胡红比不耐干旱的乌龙捧盛 F_0 增幅显著降低, F_v/F_0 、 F_v'/F_m' 等增幅显著增大, q_P 相对较高, q_N 相对较低,仍能保持相对较强的 PS II 功能,吸收光能量耗散损失较轻,维护光合反应中心免受破坏的能力更强。与对照相比,外施 CaCl_2 后 2 种牡丹叶素荧光能量分配中,非光化学能量耗散百分率(E_N)差异不显著,天线热耗散百分率(H_d)显著降低,光化学反应百分率(P_e)显著增大,表明外施 Ca^{2+} 可显著调控牡丹叶片 PS II 反应中心的能量分配比率,降低天线热耗散能量,增加反应中心的光化学反应百分率,有效保护牡丹叶片 PS II 的光合机制。喷施 CaCl_2 胁迫后期及时复水能够显著提高 2 个牡丹品种叶片的光化学效率,改善光合性能。结论可为牡丹逆境下的栽培引种、田间管理等提供理论基础和实践依据。

关键词:牡丹;外源钙;干旱胁迫;PS II 功能;光能分配

中图分类号: S685.110.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)16-0120-08

土壤干旱是限制农业可持续发展的重要环境因素,干旱常常引起植物大量缺水、正常光合生理代谢紊乱,如气孔闭合,酶活性降解,光合同化力下降,光能过剩活性氧增加,损害光合机构。但许多

研究表明,干旱胁迫时植物可启动热耗散调节途径,依靠自身生理调节机能降低过剩光能的伤害,保护光合机构。如干旱下,白及 F_0 、 q_N 增加,ETR 降低,光合机构受损^[1];甜高粱净光合速率、气孔导度和蒸腾速率降低, F_0 升高, F_m 、 F_v/F_m 、 q_P 逐渐降低,表明高粱幼苗 Φ_{PSII} 受损加重^[2];干旱时棉花净光合速率和气孔导度降低,叶绿素荧光指标荧光产量(Yield)和叶绿素荧光非光化猝灭(NPQ)比 F_v/F_m 对干旱更敏感^[3]。鼓节竹干旱胁迫时可通过降低 q_P 、 Φ_{PSII} 和增加 q_N 来降低 PS II 反应中心的开放程

收稿日期:2021-09-15

基金项目:国家自然科学基金(编号:31872157);国家重点研发计划(编号:2018YFD1000800);河南省杰出青年基金(编号:202300410152)。

作者简介:李海霞(1982—),女,河南郑州人,硕士,讲师,从事园林植物与城市生态教学研究。E-mail:lihaixia0123456789@126.com。

[25] Santos-Torres M, Romero-Perdomo F, Mendoza-Labrador J, et al. Genomic and phenotypic analysis of rock phosphate-solubilizing rhizobacteria[J]. Rhizosphere, 2021, 17: 100290.

[26] Miller K I, Qing C, Sze D M Y, et al. Culturable endophytes of medicinal plants and the genetic basis for their bioactivity[J]. Microbial Ecology, 2012, 64(2): 431-449.

[27] 陈思宇, 陈志谊, 张荣胜. 水稻纹枯病菌拮抗细菌的筛选及鉴定[J]. 植物保护学报, 2013, 40(3): 211-218.

[28] Kamensky M, Ovadis M, Chet I, et al. Soil-borne strain IC14 of *Serratia plymuthica* with multiple mechanisms of antifungal activity provides biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* diseases[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(2): 323-331.

[29] Singh P P, Shin Y C, Park C S, et al. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria[J]. Phytopathology, 1999, 89(1): 92-99.