

山桐子根腐病优势拮抗菌株的筛选、鉴定及其生长特性研究

王小梅¹, 王礼², 苏云宁¹, 吴跃开^{2*}, 杨再华^{1,2,3*}

(1 贵州大学林学院, 贵州贵阳 550025; 2 贵州省林业科学研究院, 西南喀斯特山地生物多样性保护国家林业和草原局重点实验室, 贵州贵阳 550005; 3 贵州草海湿地生态系统国家定位观测研究站, 贵州威宁 553100)

摘要:【目的】山桐子根腐病是由腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*)引起的植物病害。该病主要危害山桐子根部, 感染后整个植株叶片发黄萎蔫、根部变黑, 最终全株枯死, 严重影响和制约着山桐子产业的发展。因此本研究旨在从未发生过山桐子根腐病的根际土壤中筛选出对根腐病病原菌腐皮镰刀菌(*F. solani*)拮抗效果较好的菌株, 掌握其生长特性及拮抗机理, 从而为山桐子根腐病的生物防治提供科学依据。【方法】对从未感染过山桐子根腐病的植株根际土壤进行多次采样, 使用稀释涂布平板法分离出土壤样品中的微生物, 利用平板对峙法初筛、复筛, 筛选得到对山桐子根腐病具有拮抗作用的菌株, 并对该拮抗菌株进行形态学鉴定、生理生化鉴定、分子生物学鉴定, 同时采用菌丝生长速率法测定了拮抗菌株的广谱性。采用比浊法对菌株生长曲线、温度、pH、转速、接种量等生长特性进行研究, 探究出菌株的最适生长环境。利用不同成分培养基对代谢产物进行检测, 以及利用平板扣培养法对挥发性代谢产物对病原菌的抑制作用进行检测, 初步对拮抗菌株的拮抗机理做了探究。【结果】从 80 个土壤样本中筛选得到 56 株具有拮抗作用的菌株, 通过平板对峙法筛选得到优势菌株 CSZLT-1 和 LBWAB-5, 对山桐子根腐病病原菌腐皮镰刀菌(*F. solani*)的抑制效果最好, 抑制率分别为 63.24%和 69.73%。并通过形态学、生理生化、16S rDNA 序列分析进行鉴定, 将菌株 CSZLT-1 鉴定为唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia gladioli*), 菌株 LBWAB-5 鉴定为吡咯伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia pyrrocinia*)。对拮抗菌株的广谱性试验结果表明菌株 CSZLT-1 和 LBWAB-5 对 6 种病原真菌均具有抑制效果。菌株 CSZLT-1 生长曲线测定结果表明, 该菌迟缓期为 0~8 h, 生长对数期为 8~40 h, 40 h 后进入稳定期; 最适生长温度为 25℃、最适生长 pH=5、最适生长转速 200r/min、最佳接种量为 0.5%。菌株 LBWAB-5 生长曲线测定结果表明该菌株迟缓期为 0~4 h, 生长对数期为 4~32 h, 32 h 后进入稳定期; 最适生长温度 25℃、最适生长 pH=6、最适生长转速 180r/min、最佳接种量为 0.5%。拮抗菌株的生防机理探究试验结果表明菌株 CSZLT-1 可产生蛋白酶、嗜铁素和解有机磷的能力, 不产几丁质和纤维素酶; 菌株 LBWAB-5 可产生蛋白酶和嗜铁素, 不产几丁质和纤维素酶, 不具备解有机磷的能力; 挥发性代谢产物对病原菌的生长无抑制作用。【结论】本研究得到两株对山桐子根腐病病原菌-腐皮镰刀菌(*F. solani*)具有良好拮抗作用的菌株 CSZLT-1 和 LBWAB-5, 通过研究掌握其生长特性及拮抗机理, 为山桐子根腐病的生物防治提供生防材料和理论参考。