

# 桂植捕线菌七号抗病及促进寄主植物生长机理的探讨

## Mechanism of Gui - Zhi - CN. 7 in Antibiosis and Stimulation of Host Plant Growth

黄宁珍                      蒋冬荣                      周广泉  
Huang Ningzhen          Jiang Dongrong          Zhou Guangquan

(广西植物研究所 桂林雁山 541006)  
(Guangxi Institute of KBotany, Yanshan, Guilin, Guangxi, 541006)

**摘要** 用青枯病原 (*Pseudomonas solanaceae*)、西瓜萎蔫病原 (*Fusarium niveum*) 和软腐病原 (*Erwine* sp.) 作为指示病原物菌种,接种于葡萄糖-胨-酵母粉培养基。接种点与桂植捕线菌(CN.7)的距离分别为1.6、4.2、2.3、4.5、1.8、5.0 cm。结果表明,CN.7有抑制病原物菌生长的作用,距离越近,效果越明显,CN.7代谢产物中可能含有抗生素。为了解CN.7与土壤肥分、同工酶的关系,设置3个处理:(1)CN.7与等体积的有机肥混合,沤制25d;(2)CN.7与等体积的有机肥混合,不沤制;(3)CN.7培养基(无菌种)与等体积的有机肥混合,不沤制(对照),用烟草进行盆栽试验,结果表明,3个处理对土壤肥分的利用率和土壤肥分的可吸收态的变化均无规律可寻,表明CN.7施用后,既不能提高寄主植物对肥分的吸收率,也不能促进肥分不可利用态变成水溶态。叶片同工酶活性分析结果表明,处理(1)可提高寄主体细胞中酯酶同工酶、过氧化物同工酶的活性和酶谱带数;不同处理,过氧化氢酶同工酶和淀粉酶同工酶的活性或酶谱带数均明显变化。

**关键词** 桂植捕线菌 肉食真菌 抗菌素 土壤肥分 同工酶

**Abstract** *Pseudomonas solanaceae*, *Fusarium niveum* and *Erwine* sp., as indicating pathogenes, were inoculated in the medium of glucose-peptone yeast powder in the distances of 1.6, 4.2, 2.3, 4.5, 1.8, 5.0 cm to Gui-Zhi-CN.7 (CN.7) respectively. The results showed that CN.7 can inhibit the growth of the given pathogenes, and the more closely, the more efficient, indicating that maybe there are antibiotic in the metarbolite of CN.7. For making sure the relations of CN.7 with soil nutrient and isozymes, pot-plant trial was conducted with tobacco in three treatments (1) mixing CN.7 and cow-bung in same volume with fermenting 25 days; (2) mixing CN.7 and cow-bung in same volume without fermenting; (3) mixing CN.7 medium (no CN.7) and cow-bung in same valome without fermenting (as control). The results showed that the impacts of CN.7 on both the utilization rate of soil nutrient and the change of absorbable state of soil nutrient were not characteristic, and iudicating that CN.7 could neither raise the absorptivity of soil nutrient of host plant, nor make the change of the nutrient from un-utilizable to absorbable. The activities of isozymes from leaves were tested, and showed that treatment(1) can enhance the activities of eastase and peroxidase isozymes and increase the number of enzymes bands, while those of hydrogen peroxidase and amylase in three treatments not changed abviously.

**Key words** Gui-Zhi-CN.7, carnivorous fungus, antibiotic, soil nutrient, isozyme

我们曾先后报道过桂植捕线菌七号(CN.7)的生物学特性<sup>[1,2]</sup>及其在烟草、西瓜、罗汉果等植物上的施用效果<sup>[1,3,4,5]</sup>。在近年来的田间防效试验中,我们逐步发现该菌剂的功效是多方面的。CN.7除可捕食危害寄主根系的各种线虫,对人、畜无毒,不污染环境外,

还有兼防以根系或茎基为侵染点的某些顽固性病害的作用,如茄科的青枯病,烟草的黑胫病及西瓜的萎蔫病等。另外,采取施用前,CN.7预先与腐熟的有机肥混拌并堆沤2~3个星期后,集中施用在苗株的根围的方法,效果更为显著。例如:1994年靖西的烟草生产中,对青枯病(*Pseudomonas solanaceae* Smith)和黑胫病(*Phytophthora parasitica* Dast. var.

1995-03-16 收稿。

*nicotianae* (Breda de Hean) Tucker) (以黑胫病为主)的综合防效高达 92.7%；德保以青枯病为主的防效达到 80.0%，且施用菌剂后，烟草整齐，生长旺盛，叶色深绿，根系发达，抗旱能力增强，同时还提高抗其它病害的能力。对多年连作的瓜田萎蔫病的防效提高到 90% (邕宁五塘)，且瓜农一致反映，施用菌剂后瓜苗生长旺盛，茎秆粗壮，伸蔓快，叶色深绿，叶片厚，花多蕾大，座果率高，瓜的大小一般要比对照田的大 2/3，商品率达到 90%，甜度也有所增加。为此，我们进行了抗病，促生长机理探讨。

### 1 兼防以根系或茎基为侵染点的顽固性病害的机理试验

降低土壤中线虫的虫口密度，无疑是可以减少寄主根系的伤口数量，这对预防细菌病害是有作用的，然而对真菌侵染的病害来说，伤口却不是必需的，因此我们测定了 CN.7 代谢产物对病原物菌的反映。

测定的方法是，采用通用的葡萄糖—胍—酵母粉测定抗生素培养基<sup>[6]</sup>，在与测定物 (CN.7) 菌落的不同距离接种病原物，观察病原物菌落的形状与生长状况。试验中指示病原物菌种为：青枯病菌 (*Pseudomonas solanaceum*)，西瓜萎蔫病原 (*Fusarium nivium*) 和软腐病原 (灵香草点蜡烛病原之一) (*Erwinie* sp.) 试验结果如表 1。

由表 1 可知，CN.7 菌株对病原菌有抑制生长的作用，距离越近，抑制其生长的效果越明显；这可能

是在 CN.7 的代谢产物中含有抗生素，因而抑制其邻近病原物的生长。病原生长被抑制的形式，主要表现在菌落直径变小或面向测定物方向的菌落的生长受阻而凹入呈月牙形。

### 2 CN.7 促生长的机理研究

为了阐明 CN.7 施用后，既可明显的促进寄主植物的生长量，又可显著地改进品质 (提高西瓜的含糖量，增加开花座果率等) 的机理，特从土壤肥分的利用率和酶效应方面。进行了分析研究。

试验的指示植物为烟草。具体试验方法是：盆栽烟草，每盆 2 株，重复 5 次，盆土由 8 份火土、2 份猪粪配制而成，每盆接入活线虫 100 条，分 3 个处理：(1) CN.7 与等体积的有机肥混合并经沤制 25 d，每株根围加入 7.5 g 腐熟后的菌肥；(2) 每株根围加入不经沤制的菌肥 7.5 g；(3) 仅把 CN.7 的培养基 (无菌种) 与等体积有机肥混合，不经沤制，每株根围依旧加入 7.5 g (作为对照)。定植后 27 d，进行生长量统计，结果见表 2。待烟株显示出明显差异后，取各处理根围附近的土壤及各处理的植株叶片进行土壤肥分分析及有关酶的同工酶活性分析。

#### 2.1 土壤肥分分析

为减少取样的人为误差，每个处理取 3 份土样，分别测其速效钾、磷、铵态氮、硝态氮、硼等，结果见表 3。

表 1 CN.7 抑制病原菌生长的统计

Table 1 Statistics of restraint growth of pathogene on culture medium

病原 Pathogene	病原菌落距 CN.7 的距离及其直径 Distance between colonies of pathogene and CN.7, colony size of pathogene (cm)				对照病原菌落直径 Colony size of pathogene in control (cm)	病原菌落形状 Shape of pathogene colony
	距离 Distance	菌落直径 Colony size	距离 Distance	菌落直径 Colony size		
	青枯病原 <i>Pseudomonas solanaceum</i>	1.6	0.4	4.2		
西瓜萎蔫病原 <i>Fusarium nivium</i>	2.3	1.4	4.5	1.7	2.0	圆形 Circular
软腐病原 (灵香草 点蜡烛病原之一) <i>Erwinie</i> sp.	1.8	0.8	5.0	1.0	1.0	面向 CN <sub>7</sub> 凹入的月牙形 Bow bending to CN.7 colony

表 2 不同处理的生长量统计

Table 2 Statistics of growth increment of different treatments

处 理 Treatment	平均株高 Average height of plants (cm)	平均每株叶数 Average number of leaves per plant	平均单叶面积 Average area of per plant (cm <sup>2</sup> )	死苗率 Rate of dead plants (%)
CN. 7+肥, 沤制 25 天 Mixing CN. 7 and cow-bung, fermented 25 days	14.2	5.3	201.1	0
CN. 7+肥, 不经沤制 Mixing CN. 7 and cow-bung, not fermented	6.4	4.6	14.8	0
对照 Control	2.9	3.5	87.8	10

表 3 不同处理土壤肥分的分析结果

Table 3 Analysis results of soil nutrients of different treatment

处 理 Treatment	每 100 克土壤中 In 100 gram of soil				水溶性硼 Boron dissolving in water (ppm)
	钾 K (mg)	磷 P (mg)	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg)	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>+</sup> -N (mg)	
CN. 7+肥, 沤制 25 天 Mixing CN. 7 and cow-bung, fermented 25 days	148.3	177.5	2.204	13.60	0.09
CN. 7+肥, 不以沤制 Mixing CN. 7 and cow-bung, not fermented	139.2	146.3	1.895	16.10	0.29
对照 Control	173.3	186.3	2.051	13.66	0.12

表 3 的统计数据表明:不论是从土壤肥分的利用率,还是从施用菌剂对土壤肥分的可吸收态的变化来看,不同处理对土壤肥分的影响均无规律可寻,显然 CN. 7 施用后,其代谢过程,既不能提高寄主植物对肥分的吸收率,也不能促进肥分不可利用态变成水溶态,说明该菌剂促进寄主植物的生长量,与土壤中的肥分不存在任何相关关系。

2.2 酶效应的测定

把不同处理的指示植物叶片,经过处理后,采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法,分别进行酯酶、过氧化物酶、过氧化氢酶及淀粉酶等同工酶的活性分析。分析结果其模式图分别见图 1、2、3、4,各酶带的 R<sub>f</sub> (R<sub>f</sub>=分离胶中酶带迁移的距离/前沿指示剂迁移距离)见表 4。

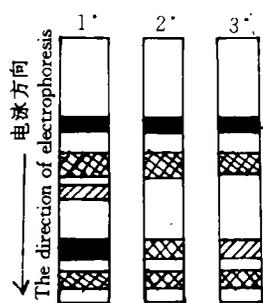


图 1 酯酶同工酶模式图

Fig. 1 Idiograph of esterase isozymes

1\*: CN. 7+肥, 沤制 25 天 Mixing CN. 7 and cow-bung fermented 25days; 2\*: CN. 7+肥, 不经沤制 Mixing CN. 7 and cow-bung, not fermented; 3\*: 对照 Control.

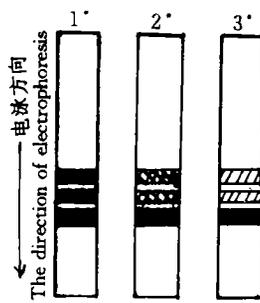


图 2 过氧化物酶同工酶模式图

Fig. 2 Idiograph of peroxidase isozymes

(图例 1\*、2\*、3\* 同图 1)

从图 1、2、3、4、及表 4 可知,在 3 个处理中,只有施用 CN. 7 与腐熟有机肥混合并经过沤制的菌

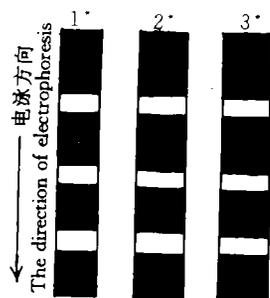


图3 过氧氢酶同工酶模式图

Fig. 3 Idiograph of hydrogen peroxidase isozymes

(图例 1\*、2\*、3\* 同图 1)

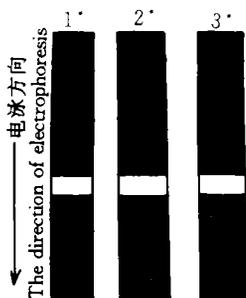


图4 淀粉酶同工酶模式图

Fig. 4 Idiograph of amylase isozymes

(图例 1\*、2\*、3\* 同图 1)

剂的处理才具有酯酶同工酶的第三条酶带 ( $R_f = 0.58$ ), 其它两个处理均缺少这一酶带; 第四条酶带 ( $R_f = 0.81$ ) 从对照 → 不经沤制 → 经过沤制, 颜色逐渐变深, 说明活性逐渐加强。

过氧化物酶的第 1 条酶带 ( $R_f = 0.56$ ) 和第 2 条酶带 ( $R_f = 0.63$ ), 其色泽也是按对照 → 不经沤制 → 经过沤制的次序, 依次变深; 说明经过沤制的过氧化物酶同工酶的活性最强。

过氧化氢酶及淀粉酶同工酶, 不论是活性或谱带数, 均无明显变化。

酯酶同工酶在光合作用中是糖的合成酶, 它控制光合环多个反应, 其活性增强, 光合环运转加快, 光合效率提高, 从而使得植株生长旺盛, 糖的合成和积累增多<sup>[8]</sup>。这可能就是西瓜等植物施用 CN. 7 后, 产量和含糖量提高的原因。

过氧化物酶同工酶的活性与生长发育的关系, 一些学者在不同植物上, 出于不同的目的, 得出一些不尽相同的结论<sup>[8,9]</sup>。欧毅等<sup>[10]</sup>认为, 过氧化物酶具有吲哚乙酸 (IAA) 氧化酶的某些效应, 一方面表现出抑制树木生长的效应, 另一方面又使植物表现出叶质

表 4 酯酶、过氧化物酶、过氧化氢酶和淀粉酶的  $R_f$  值

Table 4  $R_f$  values of esterase, peroxidase, hydrogen peroxidase and amylase

同工酶 Isozyme	处理 Treatment	酶带的 $R_f$ 值 $R_f$ values of enzyme bands				
		1	2	3	4	5
酯酶 Esterase	1*	0.35	0.48	0.58	0.81 <sup>+++</sup>	0.94
	2*	0.35	0.48	—	0.81 <sup>++</sup>	0.94
	3*	0.35	0.48	—	0.81 <sup>+</sup>	0.94
过氧化物酶 Peroxidase	1*	0.56 <sup>+++</sup>	0.63 <sup>+++</sup>	0.68	—	—
	2*	0.56 <sup>++</sup>	0.63 <sup>++</sup>	0.68	—	—
	3*	0.56 <sup>+</sup>	0.63 <sup>+</sup>	0.68	—	—
过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase	1*	0.29	0.54	0.81	—	—
	2*	0.29	0.54	0.81	—	—
	3*	0.29	0.54	0.81	—	—
淀粉酶 Amylase	1*	0.57	—	—	—	—
	2*	0.57	—	—	—	—
	3*	0.57	—	—	—	—

1\*: CN. 7+肥, 沤制 25 天 Mixing CN. 7 and cow-bung, fermented 25 days; 2\*: CN. 7+肥, 不经沤制 Mixing CN. 7 and cow-bung, not fermented; 3\*: 对照 Control.

+++; 酶带染色最深 Enzyme band dyed deepest; ++; 酶带染色次之 Enzyme band dyed deep; +; 酶带染色最浅 Enzyme band dyed lightly.

好。功能强、经济效益高的特点。这一结果与我们的研究结果虽不尽相同，但却有相似之处，即施用了CN.7后，可在不到一个月的短短时间内，烟株的株高、叶片数以及单叶面积都明显增大，同时叶片体细胞内过氧化物酶同工酶活性增强。显然并非单一地体现该酶氧化IAA的效应。因此，我们认为，过氧化物酶是一个与IAA有关的多功能酶，在某一特定条件下，某一功能占优势或者多个功能复合作用，就产生相应的效果。尤其在酯酶和过氧化物酶的共同作用下，植物一方面表现出植株茁壮，叶片增多，单叶面积增大；另一方面植株增高、生长迅速等。最终结果是提高农作物的经济产量。

过氧化物酶同工酶的活性与寄主植物抗病性的关系，许多植物病理工作者，在不同的植物上，对多种病害，进行了多方面的研究。Staveley and Hamson<sup>[11]</sup>1967年对三叶草白粉病；Veech<sup>[12]</sup>1969年对烟草黑胫病；沈其益等<sup>[13]</sup>1976年对棉花枯萎病以及陈璋<sup>[14]</sup>1993年在水稻抗瘟病等方面，都提出感病品种或抗性低的品种，在接种后，过氧化物酶同工酶的活性显著增强或出现新的谱带；而抗病品种则无此变化。然而吕成群<sup>[15]</sup>1991年在芒果幼苗感染炭疽病，李冠<sup>[16]</sup>1993年对新疆甜瓜抗病性与酶活性关系中，则认为抗病性强的品种，过氧化物酶同工酶的活性加强，酶带增多。这些差异的出现，不仅仅是由于寄主多样，病害种类繁多以及研究手段各异，特别是取材的抗性水平的差异，无法取得抗性或感性的统一水平，于是余晓明<sup>[1]</sup>认为过氧化物酶同工酶的活性增强，仅仅是寄主植物对病原物侵染的一种反应。结合我们的试验材料及其对病害抗性的表现，尽管还不能确切地认为过氧化物酶同工酶活性的增强或酶带数的增多，是抗性增强还是减弱，但却可以认为这种表现很可能是寄主对病原物侵染的一种自卫反应。因此，应该认为在病原物入侵寄主之前，CN.7促使寄主的过氧化物酶同工酶的活性增强，从而提高了寄主的抗性水平。因此CN.7施用后，寄主植物表现出对某些病害的抗性可能是寄主植物自卫反应和菌株持续产生抗生素的综合结果。CN.7的抗病性，很可能是相对广谱的，这一点有待进一步验证。

## 参考文献

- 1 周广泉, 蒋冬荣, 封宇等. “桂植捕线菌七号”的筛选及其对植物病害和寄主植物功效的研究. 广西科学, 1994, 1 (1): 75~82.
- 2 封宇, 周广泉, 周志权. 根结线虫天敌真菌的筛选研究初报. 广西植物, 1989, 9 (1): 87~94.
- 3 蒋冬荣, 周广泉, 周志权. 根结线虫天敌真菌的筛选研究续报. 广西植物, 1990, 10 (4): 376~380.
- 4 蒋冬荣, 周广泉, 周志权. 肉食真菌的施用期对土壤线虫的防治效果. 广西科学院学报, 1993, 9 (1): 86~91.
- 5 蒋冬荣. “植植捕线菌七号”对西瓜线虫病的防治试验. 广西植保, 1994 (1): 26~27.
- 6 俞大维 编. 植物病理学和真菌学技术汇编 (1). 北京: 人民教育出版社, 1975, 171.
- 7 曹宗巽, 吴相钰合编. 植物生理学 (上). 北京: 高等教育出版社, 1979. 98~99.
- 8 吴少伯, 赵毓桔. 6-苜氨基嘌呤和脱落酸对离体叶片过氧化物酶的影响. 植物生理学通讯, 1986 (6): 21~24.
- 9 高学曾, 许金芳, 罗瑶年等. 玉米正常粒和败育粒淀粉磷酸化酶、过氧化物酶活性及同工酶比较. 植物生理学通讯, 1987 (4): 30~32.
- 10 欧毅, 毛启才, 曹照春等. 不同砧锦橙叶片过氧化物酶活性与植物生长结果的关系. 云南农业大学学报, 1994, 9 (1): 26.
- 11 Staveley J R, Hamson E W. Electrophorefi comparison of resistant and susceptible *Trifolium pratense* noninolated and inoculated with *Erysiphe polygohi*. *Phytopathology*, 1967, 57: 482~485.
- 12 Veech JA. Localization of peroxidase in infected tobacco susceptible and resistant to blank shand. *Phytopathology*, 1969, 59: 566~571.
- 13 沈其益, 阎隆飞, 李庆基等. 棉花感染枯萎病后过氧化物酶同工酶的变化. 植物学报, 1978, 20 (2): 108~113.
- 14 陈璋. 水稻抗瘟病与苯丙氨酸氨解酶及过氧化物酶活性的相关性. 植物生理学通讯, 1993, 29 (4): 275.
- 15 吕成群. 芒果幼苗感染炭疽病后过氧化物酶同工酶的变化. 热带作物学报, 1993, 35 (4): 300~303.
- 16 李冠. 瓜类刺盘诱导物对新疆甜瓜抗病相关酶活性的影响. 植物学报, 1993, 35 (4): 300~303.
- 17 余晓明, 季本仁, 段金玉. 过氧化物酶与水稻抗瘟性. 云南农业大学学报, 1991, 6 (4): 218~222.

(责任编辑: 蒋汉明、邓大玉)