

两株植物内生菌促生和诱导辣椒植株 对南方根结线虫抗性的比较分析

杨亚茹, 茆少星, 闫淑珍, 陆长梅

(南师师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)

[摘要] 本文以两株产 ACC 脱氨酶的内生菌蜡状芽孢杆菌 SZ5 和荧光假单胞菌 DLJ1 为材料, 探讨其在辣椒促生和预防线虫病害方面的作用。结果显示, 虽然两菌剂处理不能促进种子萌发, 但对幼苗生长有短暂时促进作用; 促生作用消失后, 植株体内次生代谢物质含量和抗氧化酶活性仍高于对照, DLJ1 组高于 SZ5 组。挑战接种南方根结线虫后, 接菌组植物体内的 POD 等酶活性以及总黄酮等物质含量的提高幅度高于对照。菌剂处理降低了植株染病率和染病程度, 提高了辣椒产量和品质; 萌发期一次处理效果优于后期的多次处理, DLJ1 的处理效果优于 SZ5。总之, DLJ1 在辣椒种子萌发期一次接菌就可以有效促进辣椒生长, 提高植株对南方根结线虫的抗性, 提高辣椒产量。该作用可能与萌发期菌株的有效定植、生长期的抗氧化能力的维持与高效反应, 以及有效降低乙烯产量有关。

[关键词] 植物内生菌, 辣椒, 南方根结线虫, 促生, 抗性, 产量

[中图分类号] S43 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2019)04-0077-08

Comparative Analysis of Growth Promotion and Resistance Induction of Pepper Plants to *Meloidogyne incognita* by Two Endophytes

Yang Yaru, Mao Shaoxing, Yan Shuzhen, Lu Changmei

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: *Meloidogyne incognita* is the most common soil borne disease of pepper. Two endophytes, SZ5 (*Bacillus cereus*) and DLJ1 (*Pseudomonas fluorescens* biovar I), which can produce ACC deaminase, were used as materials to study their effects on the growth and resistance of pepper plants to *M. incognita*. Results showed that although the two endophytes could not promote seed germination, they could promote seedling growth for a short time. After the short-term effect disappeared, the contents of secondary metabolites and the activities of antioxidant enzymes of plants in test groups were still higher than those in the control, and those in the DLJ1 group were higher than those in the SZ5 group. After challenge inoculation with *M. incognita*, the activities of POD etc. and the contents of total flavonoids in the test plants were higher than those in the control. Treatment with DLJ1 or SZ5 reduced the infection rate and degree of *M. incognita* in plants, increased the yield and quality of pepper fruits. The effects of once inoculation at germination stage were better than those of multiple inoculations at transplantation and later, those of DLJ1 inoculation was better than those of SZ5 inoculation. In a word, once DLJ1 inoculation at germination stage can effectively promote the growth of pepper plants, increase its resistance to *M. incognita* and increase the yield and quality of its fruits. These effects may be related to the effective colonization of strains at germination, the maintenance of antioxidant capacity and efficient response of plants to stress, as well as the effective reduction of ethylene production in plants at growth stage.

Key words: endophyte, *Capsicum annuum*, *Meloidogyne incognita*, growth promotion, resistance, yield

一年生的茄科 (Solanaceae) 植物辣椒 (*Capsicum annuum*), 是一种世界广布性蔬菜。南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 病则是辣椒最常见、也是危害最大的土传病害^[1]。目前防治南方根结线虫一般有农业、物理、化学和生物防治等 4 类方法。由于存在农业防治方法效率低、物理防治费用高、化学防治环境

收稿日期: 2019-09-12.

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK2012848).

通讯联系人: 陆长梅, 副教授, 研究方向: 植物资源与保护. E-mail: 08134@njnu.edu.cn

污染、以及生物防治专一性强、稳定性差等原因,生产上对南方根结线虫的防治效果一直不理想. 如何提高辣椒对南方根结线虫的抗性、提高辣椒产量,是亟待解决的问题.

诱导防御被认为是植物自身保护的新途径,是当前国际生物防治学和逆境生物学的热点内容^[2-3]. 这一方法主要是通过诱导植物本身潜在的免疫力来增强抗逆能力,减少化学药品的使用,从而实现农业的可持续发展. 一系列研究表明,植物内生菌定植于植物体内,除了能产生植物激素、提供植物生长所需要的营养物质、促进植物生长外,还可以参与和诱导植物的防御功能,提高植物对逆境的抗性. 因此,寻找既具有可以促进生长,又可以促进植物免疫能力提高的内生菌,最终以微生物菌剂、菌肥等形式应用于农业生产是现在生防的发展趋势之一^[3-6].

蜡状芽孢杆菌 SZ5(*Bacillus cereus*)和荧光假单胞菌 DLJ1(*Pseudomonas fluorescens biovar I*)是在筛选产物 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1- α minocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶微生物时,分别从柿子和辣椒的成熟果实中分离获得的两株植物内生菌. 前期实验表明,DLJ1 还可以产生铁载体(文章待发),体外没有直接抑杀南方根结线虫的能力;SZ5 不产生铁载体,能够抑杀于减毒植物黄萎病,具有较弱的体外直接触杀南方根结线虫能力^[6]. SZ5 也能在辣椒体内定植^[7]. 在把这两菌株应用于农业生产前,还需要解决以下几个问题:它们能否促进辣椒植株生长? 能否促进植株对南方根结线虫的抗性? 何时接种对植物生长和抗性提高最有利?

通常在应对土传病害时,微生物菌剂接种方式有两种:一种是在移栽时的沾根接种,另一种是在定植于土壤后的灌根接种. 由于 DLJ1 和 SZ5 菌株均能产生 ACC 脱氨酶,而有研究显示,种子萌发时植物根系会分泌乙烯前体 ACC 到根际^[8]. 研究还发现含 ACC 脱氨酶的微生物多半具有促生作用^[9-10]. 植物是否在利用根系分泌的 ACC 吸引产 ACC 脱氨酶微生物向根系定向移动,进而促进微生物在植物体根系内外建群? 如果存在这样的关系,理论上萌发期接菌将更有利于产 ACC 脱氨酶微生物的定植与建群. 但是,付思娅等的研究显示,菌剂在植物体内的定植量随时间的变化会呈现先上升后下降的趋势^[11]. 这意味着随着定植时间的延长,植物体内定植的目标微生物数量会逐渐下降. 那么在农业生产实践中,究竟在萌发期接种合适,还是后期的多次接种更有利于微生物作用的发挥?

鉴于此,本文以 SZ5 和 DLJ1 两株菌为实验材料,分别在种子萌发期、幼苗移栽期以及后期,通过浸种、沾根和土壤灌根等方式接种菌剂,探讨这两株菌剂处理能否促进辣椒种子萌发和幼苗生长? 能否在挑战接种南方根结线虫后降低线虫染病率、提高辣椒产量? 哪一种生效效果更好? 何时接种效果最佳?

1 材料与方法

1.1 材料

辣椒(*Capsicum annuum* Linn)种子,品种为韩育特大牛角椒,购自江苏省农业科学院种子站. 植物内生菌蜡状芽孢杆菌 SZ5(*Bacillus cereus*)(分离自成熟柿子)和荧光假单胞菌(生物型 I)(*Pseudomonas fluorescens biovar I*)DLJ1(分离自辣椒果实)由南京师范大学微生物工程研究中心筛选获得. 南方根结线虫 MIJS3(*Meloidogyne incongnita* Chitwood),由南京农业大学植保学院李红梅老师馈赠. 发发得泥炭育苗块(加拿大 Jiffy 公司,直径 3cm)与全营养型速溶肥(花多多 1 号,美国 Scotts 公司)均直接市场购得.

1.2 处理方法

实验在 2016 年于南京师范大学植物园内进行. 具体安排详见表 1.

表 1 实验进程安排
Table 1 Experiment arrangement

处理	萌发	移栽		接菌							接线虫	
		1	2	1	2	3	4	5	6	7	1	2
日期	4.26	5.4	5.22	4.26	5.22	6.11	6.30	7.15	7.30	8.15	6.12	7.6
时间/d	0*	8	26	0	26	46	65	80	96	112	47	71
测量	生长与生理	生理		产量 1		产量 2	产量 3+形态		产量 4	产量 5	线虫调查	
日期	5.4	7.29		7.24		8.5	8.16		9.3	9.16	9.19	
时间/d	8	95		89		102	113		131	144	147	

注: * 以实验开始第 1 d 为第 0 d 开始计算.

1.2.1 菌悬液制备

参照刘维红等的方法^[12],将两菌株活化、培养、收集、洗涤、沉淀等后,再用无菌水重悬沉淀至 OD 600 值(0.5±0.02),得浓度相当于 10⁸ cfu/mL 的菌悬液.

1.2.2 种子萌发、接菌与挑战接种南方根结线虫

按常规方法进行种子洗涤与 30 ℃ 浸种 12 h 后,再置于事先用 5 mL 无菌水或菌悬液浸润的滤纸培养皿上、30 ℃ 16 h/20 ℃ 8 h 暗中萌发.待种子萌发 8 d 后,在每组中选取长势一致的辣椒幼苗移栽到发发得泥炭育苗块上,定期浇水,每周浇灌一次 0.1% 的全营养速溶肥,待长到 4 到 6 叶期(17 d)将幼苗移栽到南师大植物园中.

移栽时,取部分萌发期未接菌组植物,再分别以无菌水、SZ5 菌悬液、DLJ1 菌悬液伤根浸菌 5 min 后,再与其他幼苗一同移栽到田间.移栽后,再按表 1 中所示时间,在移栽期接种组的植株根部周围 2 cm ~ 3 cm 的土壤中均匀挖 2 个深 3 cm~5 cm 左右的小孔,每孔灌加 2.5 mL 浓度为 10⁸ CFU/mL 的相应菌悬液,共接种 5 次.

参照孟莎莎的方法分离番茄根部根结线虫卵块,26 ℃ 培养,孵化得二龄幼虫^[13].参照彭双的方法在植物移栽后的第 21 d 和 45 d 时,每株每次接种二龄幼虫 250 条^[14].

1.3 测量方法

1.3.1 萌发测量与计算

种子萌发以伸出胚根长度大于种子本身的长度为统一标准.种子开始萌发后,每日统计种子的发芽数至不再有种子发芽为止(8 d).萌发 8 d 后每皿随机选取 10 粒已萌发的种子,测量胚根长、胚轴长和鲜重,并计算发芽率、发芽势和发芽指数^[15].

1.3.2 植物长势测定

在移栽前和移栽缓苗后,分别随机测量不同处理组 10 棵幼苗的株高与茎粗.

1.3.3 抗氧化相关指标测定

超氧阴离子(O₂⁻)的测定参照刘彤彤等的方法^[16];过氧化氢酶(CAT)活性的测定用 Cakmak 等的方法^[17];苯丙氨酸裂解酶活性测定按照刘太国等的方法^[18];多酚氧化酶活性测定参照朱宏波等的方法^[19];总黄酮含量测定参照王静的方法^[20];总酚含量测定参照滕冰和吴宗璞的方法^[21].

1.3.4 果实相关指标测定

在 5 个时期(具体见表 1),每个处理组随机取 10 株辣椒,采摘果实并计算产量.并在 8 月 16 日对采摘的果实随机取 10 个测量单果直径、果长以及单果重.

1.3.5 病情指标测定

在实验末期,每组随机拔取 5 株辣椒,将根系用流水冲洗干净,调查并计算根结指数和病情指数.根结等级采用 Garabedian 和 van Grundy 的分级标准^[22]和白春明等的抗性指标^[23].

病情指数 = \sum (各级病株数×各级代表值)/(调查总株数×最高代表值)×100.

表 2 辣椒抗根结线虫评价分级标准

Table 2 Evaluation standards of *C. annuum* resistance to *M. incognita*

根结等级	症状表现	抗性指标
0 级	所有根系上都没有根结,无侵染	免疫(I):病情指数=0
1 级	1%~20%的根系上有根结	高抗(HR):0<病情指数≤20.0
2 级	21%~40%的根系上有根结	中抗(MR):20.0<病情指数≤40.0
3 级	41%~60%的根系上有根结	抗病(R):40.0<病情指数≤60.0
4 级	61%~80%的根系上有根结	感病(S):60.0<病情指数≤80.0
5 级	81%~100%的根系上有根结	高感(T):病情指数>80.0

1.4 数据统计

实验结果以平均值表示,实验数据的处理和相关分析用 Microsoft Excel 2010、GraphPad Prism 5 和 SPSS 18.0 软件完成.图表中不同小写字母表示不同处理间有显著性差异($P<0.05$).

2 结果分析与讨论

2.1 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对种子萌发的影响

表 3 展示了辣椒种子分别经 SZ5 和 DLJ1 菌悬液浸种后,各组种子萌发和幼苗生长状况的比较结果.虽然 SZ5 菌悬液处理对辣椒种子的萌发速度和质量均没有显著影响,DLJ1 菌悬液处理还将辣椒种子萌发率降低了 32%;但是 SZ5 和 DLJ1 处理均显著促进了萌发苗鲜重的增加和胚根的伸长.两菌剂处理组间的促生效应没有显著差异.

表 3 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对辣椒种子萌发的影响
Table 3 Effects of DLJ1 and SZ5 treatments on the germination of *C. annuum* seeds

处理	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	鲜重/g/株	胚根长/mm	胚轴长/mm
CK	93.33 ^{bc}	76.67 ^{ab}	6.89 ^b	0.0407 ^a	65.17 ^a	21.78 ^a
SZ5	98.33 ^c	91.67 ^b	7.57 ^b	0.0444 ^{bc}	77.10 ^d	22.20 ^a
DLJ1	66.67 ^a	55 ^a	4.38 ^a	0.0420 ^{ab}	75.87 ^d	22.08 ^a

注:发芽势是实验第 7 d 的结果,发芽率、发芽指数和生长指标是第 8 d 的结果.

大量文献显示,种子萌发伴随大量乙烯产生^[8,24]. ACC 脱氨酶可以裂解乙烯前体 ACC,减少乙烯生成^[25]. 前期检测结果显示,DLJ1 所产的 ACC 脱氨酶活性是 SZ5 的 4 倍,可能是由于 DLJ1 产生了高活性 ACC 脱氨酶,降低了辣椒种子乙烯产生量,进而抑制了种子萌发;而 SZ5 由于所产的 ACC 脱氨酶活性较低,因而抑制作用较低.

乙烯对幼苗生长具有促进矮化、加粗和弯钩形成的三重效应^[8]. 这一效应虽然有利于幼苗出土,但在出土后如果幼苗依然大量产生乙烯,则会对幼苗生长产生抑制作用. 种子萌发后,ACC 脱氨酶的存在可以降低幼苗体内的乙烯前体 ACC 含量,降低乙烯产量,缓解乙烯对幼苗生长的抑制,从而表现为对幼苗生长的促进作用. DLJ1 的 ACC 脱氨酶活性高于 SZ5,但其 8d 时的促生效应并不显著高于 SZ5(表 3),DLJ1 的高 ACC 脱氨酶活性对植株还会产生什么影响?

2.2 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对辣椒植株生长与代谢的影响

在幼苗移栽到泥炭块中 18 d 后,SZ5 组幼苗的株高和茎粗逐渐与对照相当,而 DLJ1 处理组幼苗则逐渐高于其他各组(表 4);在幼苗移栽到田间 20 d 后,无论是仅在萌发期接菌一次的 SZ5-0 和 DLJ1-0 组,还是在移栽期接菌一次的 SZ5-1 和 DLJ1-1 组,组间植株长势差异均不显著(表 4). 由此可见,两菌剂处理对幼苗生长的促进仅能保持一段时间,DLJ1 的促生作用出现及消失都较晚;移栽期接菌对植物的促生效应相对较弱.

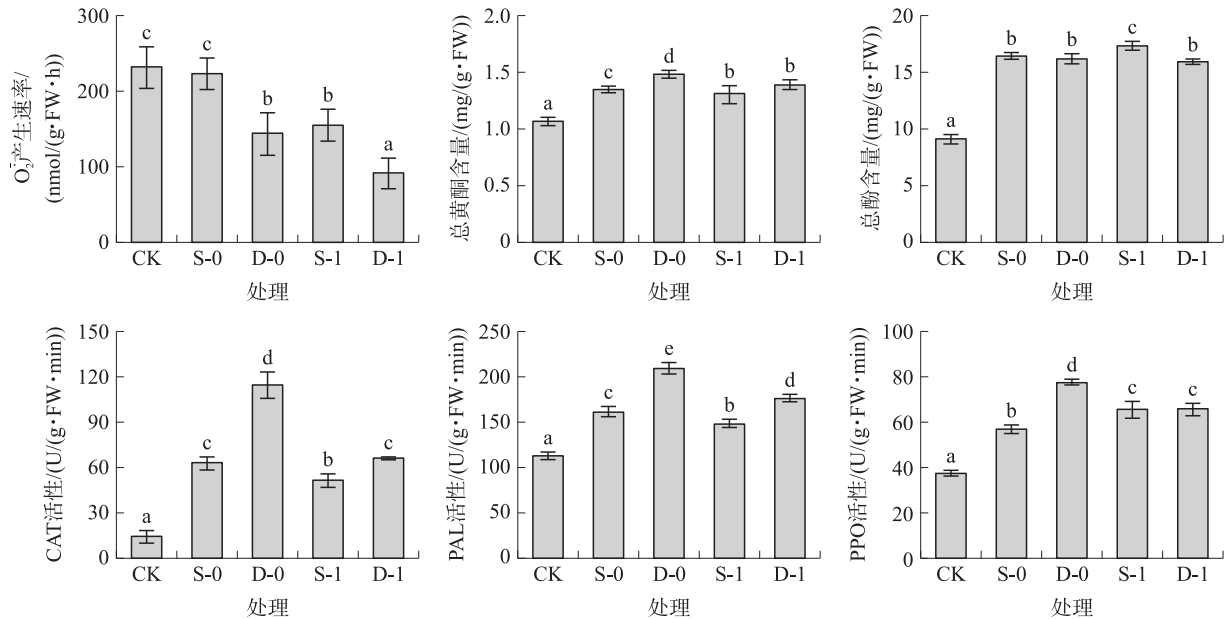
表 4 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对辣椒幼苗生长的影响
Table 4 Effects of DLJ1 and SZ5 inoculants on the growth of *C. annuum* seedlings

处理	移栽至泥炭块后 ¹		处理	移栽至田间后 ²	
	株高/mm	茎粗/mm		株高/mm	茎粗/mm
CK	53.23 ^a	1.68 ^a	CK	177.84 ^{ab}	4.45 ^a
SZ5-0	51.59 ^a	1.53 ^a	SZ5-0 ³	187.13 ^b	4.52 ^a
			SZ5-1 ⁴	16.2.34 ^a	4.30 ^a
DLJ1-0	61.40 ^b	1.85 ^b	DLJ1-0 ³	185.62 ^b	4.66 ^a
			DLJ1-1 ⁴	182.81 ^b	4.65 ^a

注:1:萌发 25 d,移栽至育苗块第 18 d 时的结果;2:萌发 46 d,移栽田间 20 d 时的结果;3:SZ5-0 与 DLJ1-0 为仅在萌发期接菌 1 次;4:SZ5-1 与 DLJ1-1 为仅在移栽期接菌 1 次.下同.

在对植物表型的促生效应消失后,检测植物体内的抗氧化相关代谢变化发现,除 SZ5-0 组的 O₂⁻含量与对照相当外,其余 3 组的 O₂⁻产生速率均显著低于对照,各组的抗氧化物质(总黄酮和总酚)含量和抗氧化相关酶(过氧化氢酶 CAT、苯丙氨酸解氨酶 PAL 和多酚氧化酶 PPO)活性均显著高于对照(图 1). 这提示,虽然菌剂对植物表型的促生效应已经消失,植物体内抗氧化物质含量和抗氧化酶活性的提高效应仍继续维持. 植株抗氧化能力的提高导致植株体内以 O₂⁻为代表的活性氧被大量清除,氧化胁迫程度降低,植物的抗性提高^[26-27]. 接菌较晚的 SZ5-1 和 DLJ1-1 组的 3 种抗氧化相关酶活性均低于相应的萌发期接菌组,总黄酮和多酚类物质含量也不高于萌发期接菌组;与 SZ5 处理组相比,DLJ1 处理组的 3 种酶活性以及总

黄酮和多酚类物质含量较高,DLJ1-0 组最高. 这提示,DLJ1 菌剂处理,尤其是萌发期的 DLJ1 菌剂处理,可以更好地促进和维持植株的高抗氧化能力,进而可能在提高植物抗性上起着一定作用.



源于萌发 46 d、移栽田间 20 d 时的结果. S-1=SZ5-0;S-1=SZ5-1;D-0=DLJ1-0;D-1=DLJ1-1.

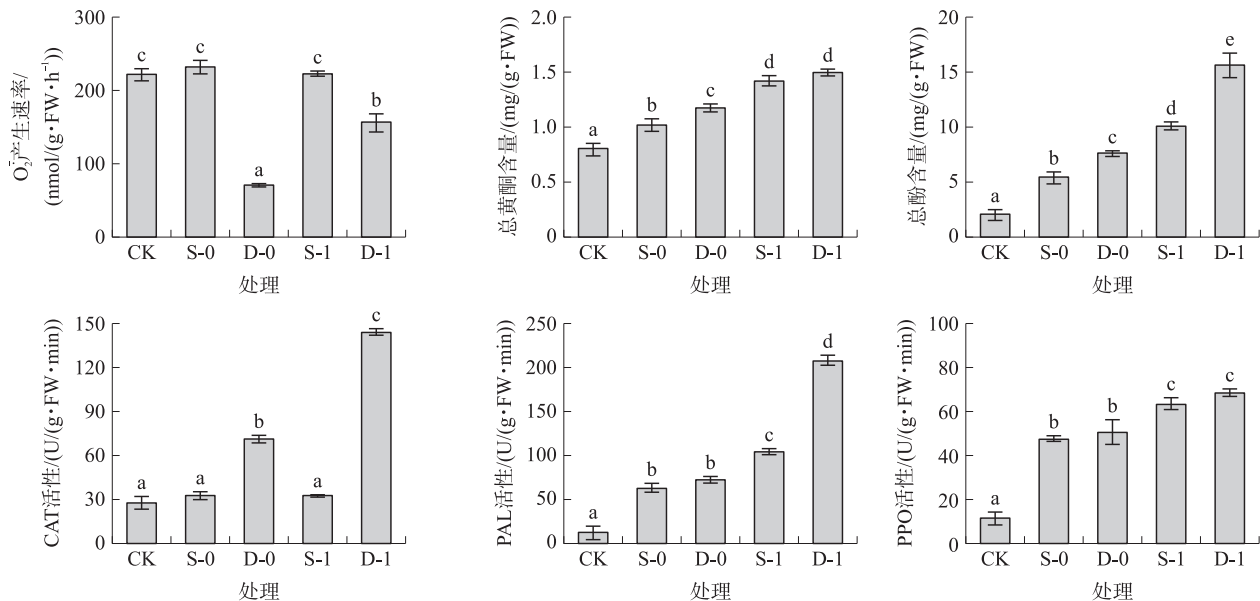
图 1 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对辣椒幼苗叶片氧化胁迫和抗氧化能力的影响 (mean±sd)

Fig. 1 Effects of DLJ1 and SZ5 inoculants on the antioxidant capacities of *C. annuum* seedlings

2.3 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对南方根结线虫胁迫下辣椒植株代谢的影响

在挑战接种南方根结线虫后(图 2),除 DLJ1-0 组外,其余各组的 O₂⁻ 产生速率均较前期(图 1)有大幅度提高,抗氧化物质含量和抗氧化酶活性也有一定程度的提高;但是 4 个接菌处理组,尤其是多次接菌的 DLJ1-6 组的抗氧化物质含量和抗氧化酶活性的提高幅度最大(与图 1 相比).

由此可见,挑战接种南方根结线虫导致植物体内的活性氧产生效率大幅度提高;各接菌处理组可以通过迅速提高抗氧化物质含量和抗氧化酶活性清除大量产生的活性氧,提高植株对南方根结线虫的抗性;虽



源于萌发 95 d、移栽田间 69 d 时的结果. S-1=SZ5-0;D-0=DLJ1-0;S-6 和 D-6 分别代表 SZ5 和 DLJ1 在移栽期和田间共接种 6 次. 下同.

图 2 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对南方根结线虫胁迫下辣椒叶片抗氧化能力的影响

Fig. 2 Effects of DLJ1 and SZ5 inoculants on the antioxidant capacities of *C. annuum* seedlings defiantly inoculated with *M. incognita*

然挑战接种后 DLJ1-0 组的抗氧化能力不是最强,但是凭借挑战接种前的最强抗氧化能力(图 1),该组的 O₂⁻ 产生速率最低(图 2)^[27].

2.4 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对南方根结线虫胁迫下辣椒果实及线虫染病率的影响

在植株生长末期,拔根分析各组根系的南方根结线虫染病状况(表 5)可见,对照组对线虫高度敏感;两菌剂的不同时间处理均能显著降低植株根系的卵块数和根结数,提高植株对南方根结线虫的抗性. 虽然在体外 DLJ1 对南方根结线虫没有直接抑杀作用,但萌发期的一次 DLJ1 处理(DLJ1-0 组)即可导致植株根系卵块数和根结数等比对照降低约 50%,植株表现为高抗;虽然 SZ5 在体外对南方根结线虫有直接抑杀作用,SZ5-0 组植株根系的卵块数和根结数仅较对照降低约 20%,植株表现为感病. 多次接菌的 DLJ1-6 组和 SZ5-6 组的植株根系在卵块数和根结数等的降低幅度方面仅分别较 DLJ1-0 组和 SZ5-0 组有微弱优势. 这不仅表明,辣椒种子萌发期一次接种 DLJ1 就可取得较好的生防效果,同时结合图 1 与图 2 结果还提示,这一生防效果可能与植株抗氧化能力的提高有关(表 4)^[3-5],而与菌剂对南方根结线虫的直接抑杀能力关系不大.

表 5 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对南方根结线虫胁迫下辣椒线虫染病率的影响

Table 5 Effects of DLJ1 and SZ5 inoculants on the nematode infection rate of *C. annuum* seedlings defiantly inoculated with *M. incognita*

菌株	卵块数/株(降低幅度/%)	根结数/株(降低幅度/%)	根结比例/%(降低幅度/%)	根结等级	病情指数	抗性
CK	181.2	235 ^e	93.3	5	100.0	高感
SZ5-0	146.25 ^d (19.31)	196.5 ^c (16.38)	79.0(15.33)	4	80.0	感病
SZ5-6	119.56 ^c (34.04)	189.25 ^c (19.47)	77.9(16.51)	4	79.0	感病
DLJ1-0	88.75 ^b (51.03)	112 ^b (52.34)	15.4(83.49)	2	16.2	高抗
DLJ1-6	66.5 ^a (63.31)	78.5 ^a (66.60)	13.0(86.07)	2	14.1	高抗

种植辣椒的最终目的是收获高质高产的果实. 表 6 显示,各组果实表型和产量指标变化与植株线虫感病状况大体相符. 感病率低的处理组的果实既长且粗,单果和单株产量也较高. 但需要注意的是,产量最高、果型最大的并不是感病率最低的 DLJ1-6 组,而是位居第二的 DLJ1-0 组. DLJ1-0 组的果实直径较对照增大 50%、单果重增加近 1 倍、总产量提高约 90%. 多次接种的 DLJ1-6 组的果型较 DLJ1-0 组略小,产量约低 8%. 感病的 SZ5-0 和 SZ5-6 组的果型比对照略大,产量较对照提高约 60%.

表 6 DLJ1 和 SZ5 菌剂处理对南方根结线虫胁迫下辣椒果实表型与产量的影响

Table 6 Effects of DLJ1 and SZ5 inoculants on the fruit phenotype and yield of *C. annuum* seedlings defiantly inoculated with *M. incognita*

处理	表型			产量/(g/株)(增产幅度/%)				
	单果直径/mm (增长幅度/%)	单果长/cm (增长幅度/%)	单果重/g (增长幅度/%)	7 月 24 日	8 月 5 日	8 月 16 日	9 月 3 日	总和
CK	19.45 ^a	10.11 ^a	10.1 ^a	43.58	41.3	63.0	136.7	284.58
SZ5-0	22.19 ^b (14.1)	12.50 ^d (23.6)	13.98 ^b (38.4)	112.9(159.06)	29.4(-28.81)	100.5(59.52)	233.6(70.89)	476.4(67.40)
SZ5-6	23.76 ^c (22.2)	12.06 ^c (19.3)	15.25 ^c (51.0)	69.0(58.33)	33.0(-20.10)	98.0(55.56)	266.8(95.17)	466.8(64.03)
DLJ1-0	29.26 ^c (50.4)	13.02 ^c (28.8)	20.01 ^e (98.1)	122.9(182.01)	59.5(44.07)	98.0(55.56)	260.9(90.86)	541.3(90.21)
DLJ1-6	25.20 ^d (29.6)	12.39 ^d (22.6)	16.97 ^d (68.0)	104.5(139.79)	52.0(25.91)	78.1(23.97)	261.6(91.37)	496.2(74.36)

综合分析上述实验结果,以及种子萌发期伴有 ACC 分泌峰出现^[8]、大量产 ACC 脱氨酶菌株具有生防作用^[6,10,25]等前人研究结果可以看出,没有预接菌的对照组直接接种南方根结线虫,植株体内乙烯含量急剧增加,诱发植株果胶酶和纤维素酶活性的提高,进而导致细胞壁松弛和巨型细胞的形成,促进了线虫侵染^[29];接种产 ACC 脱氨酶的菌剂后,萌发苗根系 ACC 的分泌不仅有利于微生物在植株根系的定植、建群、占据生态位,从而阻碍线虫入侵;同时定植于植物体内的内生菌还通过提高植物的抗氧化能力提高抗性,通过 ACC 脱氨酶降解 ACC、减少乙烯形成、限制线虫的根结形成和扩展,从而提高植株对线虫的抗性. 而植物体内乙烯含量的降低又进一步减轻了乙烯对植物生长的抑制,植株生长受到促进、产量得以提高^[10,25]. 产 ACC 脱氨酶活性越高的菌株(如 DLJ1),分解 ACC 的能力越强,其在萌发期的定植能力、降低植物乙烯产生的能力越强,其促生和生防能力也越强.

3 小结

(1)SZ5 和 DLJ1 内生菌萌发期处理不能促进辣椒种子萌发,但可以短时间内促进幼苗生长.

(2)在两菌剂对植物表型的促生效应消失后,植株的高抗氧化能力仍能维持,DLJ1 处理组的抗氧化能力最强.挑战接种南方根结线虫后,对照组的活性氧产生速率和抗氧化能力均有所提高,但菌剂处理组,尤其是 DLJ1 处理组的抗氧化能力提高幅度更大.

(3)萌发期一次或移栽期及后期的多次菌剂处理,都可以提高植株对南方根结线虫的抗性. DLJ1 处理的效果优于 SZ5 处理,DLJ1 多次接菌组(DLJ1-6)的效果仅略优于萌发期 1 次接菌处理组(DLJ1-0).

(4)SZ5 和 DLJ1 处理提高了植株在南方根结线虫胁迫下的辣椒果实产量、增大了果型. DLJ1 处理效果优于 SZ5 处理,DLJ1 萌发期接菌 1 次(DLJ1-0)效果优于后期的多次接菌(DLJ1-6)效果.

(5)DLJ1 和 SZ5 的促生和生防作用可能与其在萌发期更好地定植、病原菌侵袭时能更有力地减少乙烯产生、以及提高植株抗氧化能力有关.

综合考虑,DLJ1 在萌发期 1 次接菌处理,就可以显著促进辣椒幼苗生长,降低南方根结线虫感病率,提高辣椒产量.这一结果为 DLJ1 在田间的使用提供了理论基础和技术指导.

[参考文献]

- [1] PIEDRA B A, LOPEZPEREZ J A, BELLO A, et al. Screening of Cuarentino pepper (*Capsicum annuum* L.) for resistance to *Meloidogyne incognita* [J]. *Nematropica*, 2006, 36(1): 13-24.
- [2] VAN LOON L C, BAKKER P. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria [M]// PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Germany: Springer, 2005.
- [3] KLOPPER J W, RYU C, ZHANG S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. [J]. *Phytopathology*, 2004, 94(11): 1259-1266.
- [4] SIDDIQUI I A, SHAUKAT S S. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production [J]. *Journal of phytopathology*, 2004, 152(1): 48-54.
- [5] COMPANT S, DUFFY B, NOWAK J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2005, 71(9): 4951-4959.
- [6] 彭双, 闫淑珍, 陈双林. 具杀线虫活性植物内生细菌的筛选和活性产物 [J]. *微生物学报*, 2011(3): 368-376.
- [7] 云晶晶. 两株植物内生细菌诱导辣椒对南方根结线虫和辣椒疫霉抗性的机制分析 [D]. 南京: 南京师范大学, 2017.
- [8] PENROSE D M, GLICK B R. Levels of ACC and related compounds in exudates and extracts of canola seeds treated with ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria [J]. *Canadian journal of microbiology*, 2001, 47: 368-372.
- [9] 姚军朋, 姚拓, 王小利. ACC 脱氨酶的应用研究进展与评述 [J]. *生物技术*, 2010(2): 87-91.
- [10] ZAHIR Z A, GHANI U, NAVEED M, et al. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions [J]. *Archives of microbiology*, 2009, 191(5): 415-424.
- [11] 付思娅, 陈双林, 闫淑珍. 植物内生细菌在辣椒体内的定殖动态及对辣椒疫病的防治效果 [J]. *中国生物防治学报*, 2013(4): 561-568.
- [12] 刘维红, 闫淑珍, 杨启银, 等. ACC 脱氨酶活性细菌筛选及其对番茄初生苗生长的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2006(2): 80-84.
- [13] 孟莎莎, 向太和, 程慢成. 一种利用黄瓜苗繁殖根结线虫的方法 [J]. *杭州师范大学学报(自然科学版)*, 2011(1): 56-58.
- [14] 彭双, 杨茹, 闫淑珍, 等. 杀线虫植物内生细菌和根际放线菌对根结线虫的防效 [J]. *植物保护学报*, 2012(1): 63-69.
- [15] 孙林华, 杜建梅, 孙晴, 等. 金花葵种子萌发特性及萌发期抗胁迫能力分析 [J]. *种子*, 2014, 33(11): 5-9.
- [16] 刘彤彤, 蒋欣梅, 于锡宏, 等. 间歇降温对黄瓜幼苗耐冷相关指标的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(12): 195-196, 271.
- [17] CAKMAK I, MARSCHNER H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves [J]. *Plant physiology*, 1992, 98(4): 1222-1227.
- [18] 刘太国, 李永镐, 陈万权. 水杨酸对感染 TMV 烟草叶片 PAL 活性的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 33(B08): 111-114.
- [19] 朱宏波, 腾冰, 高凤兰, 等. 不同抗性大豆品种感染 SMV_1 后若干生化变化 [J]. *西北农业学报*, 2001(3): 38-40.
- [20] 王静, 睢薇, 滕冰, 等. 紫外-可见分光光度法定量测定沙棘果实中水溶性色素 [J]. *中国林副特产*, 2001(2): 2-3.
- [21] 滕冰, 吴宗璞. 大豆种粒中总多酚含量的分析方法 [J]. *大豆科学*, 1999(3): 265-268.

- [22] GARABEDIAN S, VAN GUNDY S D. Use of avermectins for the control of *Meloidogyne incognita* on tomatoes[J]. Journal of nematology, 1983, 15(4):503.
- [23] 白春明,段玉玺,陈立杰,等. 番茄品种对南方根结线虫的抗性评价[J]. 中国蔬菜, 2010(6):33-37.
- [24] 赵荣秋,杨湘虹. 乙烯在种子休眠与萌发中的调控作用[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2016(33):47-51.
- [25] HONTZEAS N, HONTZEAS C E, GLICK B R. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase[J]. Biotechnology advances, 2006, 24(4):420-426.
- [26] 李路,徐以华,梁梦琦,等. 水稻对穗枯病的抗病机理初步研究[J]. 中国水稻科学, 2017, 31(5):551-558.
- [27] LEON J, LAWTON M A, RASKIN I. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco[J]. Plant physiology, 1995, 108(4):1673-1678.
- [28] JETIYANON K, KLOEPPER J W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases[J]. Biological control, 2002, 24(3):285-291.
- [29] GOTO D B, MIYAZAWA H, MAR J C, et al. Not to be suppressed? Rethinking the host response at a root-parasite interface[J]. Plant science, 2013, 213:9-17.

[责任编辑:黄 敏]