

彩色豆马勃发酵液和菌丝体提取液对 几种植物的化感作用

林捷¹, 曾任森², 石木标¹, 梁子恒¹, 陈湛¹

(1 华南农业大学 食品学院, 广东 广州510642; 2 华南农业大学 热带亚热带生态研究所, 广东 广州510642)

摘要: 彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)的发酵液在6.25%、16.67%的体积分数下对稗草(*Echinochloa crusgalli*)、水稻(*Oryza sativa*)和萝卜(*Raphanus sativus*)等高等植物的幼苗生长有显著的促进作用,在6.25%体积分数下对油菜(*Brassica campestris*)的幼苗生长有促进作用;彩色豆马勃菌丝体的乙醇提取液在15.00、7.50和3.75 mg/mL等质量浓度下对稗草、萝卜和油菜均有明显的抑制作用;在15.00 mg/mL质量浓度下对水稻幼苗的生长有抑制作用,但在7.50和3.75 mg/mL质量浓度下对水稻幼苗的生长有促进作用。

关键词: 彩色豆马勃; 化感作用; 发酵液; 菌丝体

中图分类号: Q948.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)03-0050-03

彩色豆马勃[*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch]是一种非常重要的菌根真菌,属于担子菌亚门硬皮马勃科(Sclerodermataceae)豆马勃属,能与70多种不同的针叶、阔叶树种形成外生菌根^[1]。某些生长着大量彩色豆马勃子实体的桉树林下很少有杂草生长^[2],但也有某些生长有大量彩色豆马勃子实体的桉树林下会出现杂草茂密的情况。有研究表明彩色豆马勃子实体的水、乙醇和丙酮提取液对稗草和水稻幼苗生长有极显著的抑制作用,丙酮提取液对狼尾草和油菜幼苗生长有抑制作用^[3],若可以大量获得彩色豆马勃子实体中所含的有效物质,则有希望开发出新型的天然除草剂。担子菌的子实体是由真菌的营养菌丝和生殖菌丝缠结而成的,那么,菌丝中是否也含有与子实体相同的化感物质呢?彩色豆马勃菌丝体的提取液对杂草的化感作用鲜见报道。本研究对彩色豆马勃进行液体发酵,取其发酵液和菌丝体提取物分别对稗草、萝卜、油菜和水稻进行了化感作用的研究。

1 材料与方法

1.1 菌种

用组织分离法从华南农业大学长岗山尾叶桉林下的彩色豆马勃子实体中分离获得。

1.2 植物材料

受体植物稗草(*Echinochloa crusgalli*)、萝卜

(*Raphanus sativus*)、水稻(*Oryza sativa*)、油菜(*Brassica campestris*)的种子由华南农业大学农学院提供。

1.3 培养基

1.3.1 马铃薯葡萄糖培养基 马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂18 g,水1 000 mL。

1.3.2 发酵培养基 葡萄糖21.000 g, NaCl 0.028 g, CaCl₂ 0.050 g, MgSO₄·7H₂O 0.164 g, (NH₄)₂HPO₄ 0.138 g, 柠檬酸铵0.083 g, KH₂PO₄ 0.500 g, EDTA·Fe 0.020 g, V_{B1} 100 μg, 尾叶桉根水提物2.500 g, PTO 0.500 g, 蒸馏水1 000 mL。

1.4 试验方法

1.4.1 发酵工艺 初始pH 5.375,每个三角瓶(250 mL)装培养基145.5 mL,接种量69 g/L,转速170 r/min,25℃培养,当发酵液中还原糖降为5.0 g/L时,升温到31℃,发酵液中还原糖为1.0~2.0 g/L时停止发酵。

1.4.2 生物测定和统计方法 采用“小杯法”测定物质的生物活性^[4]。

1.4.3 发酵液中还原糖的测定 采用斐林试剂置换法^[5]。

1.4.4 彩色豆马勃发酵液的制备 彩色豆马勃按1.4.1发酵后,过滤,滤液与蒸馏水按体积比1:0、1:5、1:15、1:45稀释后,即分别获得φ为100%、16.67%、6.25%、2.17%的发酵液。

1.4.5 彩色豆马勃菌丝体提取液的制备 彩色豆马

收稿日期:2002-05-27

作者简介:林捷(1966—),女,高级实验师。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770136);广东省自然科学基金资助项目(960426)

勃在液体发酵结束后, 过滤, 菌丝体用蒸馏水洗涤后 80℃烘干, φ 为 95%乙醇提取 2 d, 用旋转蒸发仪去除乙醇, 所得提取物用蒸馏水按比例稀释为 15.00、7.50 和 3.75 mg/mL 3 个质量浓度。

2 结果与分析

2.1 彩色豆马勃发酵液对植物幼苗生长的影响

由图 1 可见, 彩色豆马勃发酵液对水稻、稗草、油菜和萝卜幼苗的生长有明显的促进作用, 其作用随着发酵液浓度的增大而加强, 对水稻根的促进作

用不明显。发酵液的体积分数分别为 2.17%、6.25%、16.67% 时, 对水稻苗的促进分别为 24.0%、52.5%、68.3%。 φ 为 16.67% 的发酵液对稗草的苗高和根长促进分别为 50.87% 和 43.3%。 φ 为 16.67% 的发酵液对萝卜苗和根的促进作用分别为 71.3% 和 68.8%。 φ 为 6.25% 发酵液对油菜苗和根的促进作用分别为 44.5% 和 41.5%。发酵液原液对植物幼苗的生长有抑制作用, 可能是因为发酵液中渗透压过高, 抑制了植物的生长。

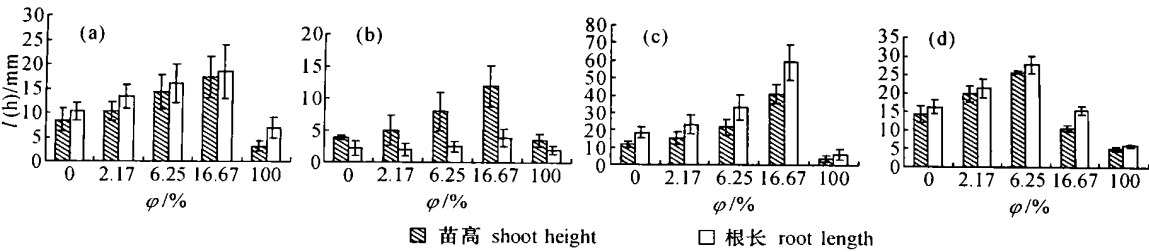


图 1 彩色豆马勃发酵液对稗草(a)、水稻(b)、萝卜(c)和油菜(d)幼苗生长的影响

Fig. 1 Effects of fermented broth of *Pisolithus tinctorius* on the seedling growth of *Echinochloa crusgalli*(a), *Oryza sativa*(b), *Raphanus sativus*(c) and *Brassica campestris*(d)

2.2 彩色豆马勃菌丝体提取液对植物幼苗生长的影响

由图 2 可见, 彩色豆马勃菌丝体乙醇提取液对稗草幼苗生长有明显的抑制作用, 甚至延缓其种子发芽。质量浓度为 15.00 mg/mL 的提取液对稗草的苗高和根长抑制分别为 82.9% 和 55.6%。提取液质量浓度为 15.00 mg/mL, 能加快水稻种子发芽, 但发芽后种子停止生长; 质量浓度为 7.50 和 3.75 mg/mL 时, 种子发芽的时间与对照(以蒸馏水为提取液)一

样, 但幼苗的生长速度比对照快。

彩色豆马勃菌丝体乙醇提取液对萝卜和油菜种子的发芽及幼苗的生长有明显的抑制作用。质量浓度为 15.00 和 7.50 mg/mL 的提取液抑制萝卜种子发芽, 质量浓度为 15.00 mg/mL 时油菜种子完全不能发芽; 低浓度时种子发芽迟缓, 且幼苗生长缓慢; 质量浓度为 3.75 mg/mL 时对萝卜苗和根的抑制分别为 92.9% 和 90.9%, 对油菜苗和根的抑制分别为 77.4% 和 82.0%。

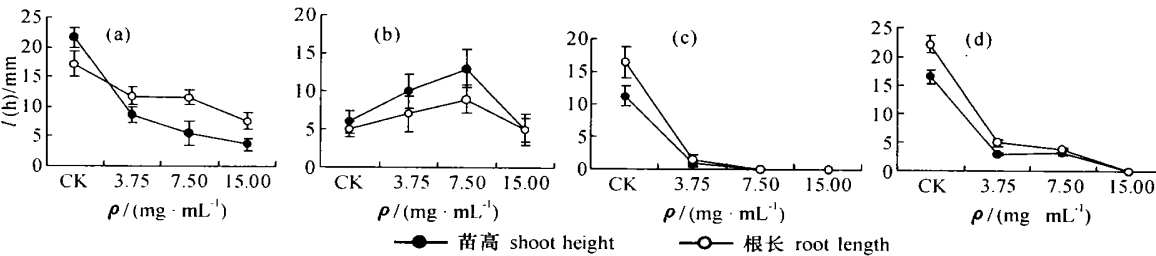


图 2 彩色豆马勃菌丝体乙醇提取液对稗草(a)、水稻(b)、萝卜(c)和油菜(d)幼苗生长的影响

Fig. 2 Effects of ethanol extracts of *Pisolithus tinctorius* fermented mycelia on the seedling growth of *Echinochloa crusgalli*(a), *Oryza sativa*(b), *Raphanus sativus*(c) and *Brassica campestris*(d)

3 结论与讨论

Beguirstain 等^[9]发现彩色豆马勃能产生较高浓度的吲哚乙酸衍生物色氨酸三甲基内盐(Hypaphorine), 这种生长激素对形成外生菌根和宿主植物

幼苗生长有促进作用。王有智等^[7]发现彩色豆马勃能产生玉米素、赤霉素、吲哚乙酸等刺激植物生长的激素, 但未发现脱落酸, 而且发酵液中激素的含量远远高于菌丝体中的含量。曾任森等^[3]发现彩色豆马勃实体的水、乙醇和丙酮提取液对稗草、水稻、狼

尾草 (*Pennisetum alopecuroides*)、马唐 (*Digitaria sanguinalis*)、萝卜和油菜幼苗生长均有抑制作用。子实体的抽提物经分离鉴定为脂溶性的豆马勃内酯、豆马勃甾醇等三萜类和麦角甾醇,以及水溶性的萜枕酸衍生物 norbadiol A 和黄酮 PT11。豆马勃内酯、norbadiol A 和 黄酮 PT11 均可显著抑制稗草幼苗根生长。本研究证明了彩色豆马勃菌丝体中含有某些能刺激或抑制植物种子发芽或幼苗生长的物质。彩色豆马勃的发酵液在 6.25%、16.67% 的体积分数下对稗草、水稻和萝卜的幼苗生长有促进作用;彩色豆马勃菌丝体的乙醇提取液对稗草、萝卜和油菜均有明显的抑制作用,但在较低的质量浓度下(7.50 和 3.75 mg/mL)对水稻幼苗生长有促进作用。

因此,彩色豆马勃子实体、发酵液和菌丝体对非宿主植物均有显著的化感作用,但对不同的植物化感作用的强弱、性质有所不同。彩色豆马勃可能产生吲哚类激素,从而刺激植物的生长;还可能含有某些在极低浓度下即可抑制植物生长的次生物质。各种物质协同作用,在不同的浓度下表现出不同的化感作用。该菌在液体发酵过程中产生多种代谢产物,这些物质中有一些渗出胞外进入到发酵液中,另一些则存在于胞内,可以用乙醇从菌丝体中抽提出来。本研究中彩色豆马勃发酵液和菌丝体对非宿主植物的化感作用与子实体对高等植物的化感作用^[3] 极其相似,彩色豆马勃在自然生长状态下产生的子实体,是

菌丝生长到一定的时期扭结分化而成,在春夏杂草丛生的时候形成,成熟后腐烂,菌内的化感物质由雨水淋溶入土壤,抑制宿主周围的杂草生长。因此,应对彩色豆马勃发酵液和菌丝体提取物进行分离纯化,鉴定其分子结构,以进一步揭示菌根菌的化感作用机理。

参考文献:

- [1] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄. 菌根研究及应用[M]. 北京:中国林业出版社,1997. 14—60.
- [2] 曾任森,骆世明,石木标,等. 彩色豆马勃子实体的化感作用及其化感物质的分离鉴定[J]. 应用生态学报,1999,10(2): 206—208.
- [3] 曾任森. 日本曲霉和彩色豆马勃对高等植物的化感作用[D]. 广州:华南农业大学农学院,2000.
- [4] 韦琦,曾任森,孔垂华,等. 胜红蓟地上部分化感作用物的分离和鉴定[J]. 植物生态学报,1997,21(4): 360—366.
- [5] 天津轻工业学院,大连轻工业学院,无锡轻工业学院,等. 工业发酵分析[M]. 北京:轻工业出版社,1979. 16—17.
- [6] BEGUIRETAIN T, COTE R, RUBINI P, et al. Hypaphorine accumulation in hyphae of the ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius*[J]. Phytochemistry, 1995, 40(4): 1 089—1 091.
- [7] 王有智,黄亦存. 四种外生菌根真菌产生植物激素的研究[J]. 微生物学通报,1997,24(2): 72—74.

Allelopathic Effects of Fermented Mycelia and Broth of *Pisolithus tinctorius* on Several Higher Plants

LIN Jie¹, ZENG Ren-sen², SHI Mu-biao¹, LIANG Zi-heng¹, CHEN Zhan¹

(1 College of Food Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Allelopathic effects of fermented broth and ethanol extracts of fermented mycelia of *Pisolithus tinctorius* were investigated. The fermented broth significantly stimulated the seedling growth of non-host plants such as barnyard-grass, rice, radish and rape at concentrations of 6.25%, 16.67% (v/v). The ethanol extracts of the mycelia significantly inhibited the seedling growth of barnyard-grass, radish and rape at concentrations of 15.00, 7.50 and 3.75 mg/mL, and inhibited the seedling growth of rice at a concentration of 15.00 mg/mL. But the ethanol extracts of *Pisolithus tinctorius* mycelia significantly stimulated the seedling growth of rice at concentrations of 7.50 and 3.75 mg/mL.

Key words: *Pisolithus tinctorius*; allelopathy; fermented broth; fermented mycelium

【责任编辑 李晓丹】