

群体感应淬灭活性生防菌 GXMZU-5 对香蕉细菌性软腐病的生物防治及其机制研究

覃天涵^{1,3}, 杨金新^{1,3}, 王璐¹, 段莹泽¹, 韦婧¹, 李佳惠¹, 朱英芝^{1,2,3*}, 李战彪^{2,4,5*}

1. 广西民族大学海洋与生物技术学院/广西多糖材料与改性重点实验室, 广西南宁 530008; 2. 广西作物病虫害生物学重点实验室, 广西南宁 530007; 3. 海洋生物资源开发与利用国际合作重点实验室, 广西南宁 530008; 4. 广西农业科学院植物保护研究所, 广西南宁 530007; 5. 农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室, 广西南宁 530007

摘要: 为探究具有群体感应淬灭活性的伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) GXMZU-5 生物防治的能力及其机制, 通过对香蕉果实及盆栽苗细菌性软腐病病菌 *Dickeya zeae* GR-1 的防治试验验证其生物防治效果, 通过测定生物膜含量、胞外多糖清除能力、生物膜代谢活性抑制能力及 QQ 酶同源基因 PCR 扩增验证其生物防治机制。结果表明: GXMZU-5 可有效降解酰基高丝氨酸内酯信号分子 (acyl-homoserine lactones, AHLs), 具有 AHLs 淬灭能力; 在香蕉果实上进行的生物防治试验中, GXMZU-5 的混菌处理组果实表面相较于对照组更健康, 未出现明显黑斑和软腐迹象, 香蕉果实横切和纵切结果表明, 处理组的病斑扩散面积大幅度减少; 盆栽防治试验中, 混菌处理组的香蕉假茎注射处无明显腐烂迹象, 自然株高相比病原菌组恢复了 56%, 表明 GXMZU-5 具有显著抑制病原菌发病的作用。对其生物防治机制探究表明, 混菌体系下的生物膜总含量、胞外多糖含量小于 2 种菌单独培养; MTT 法测定生物膜代谢表明, GXMZU-5 可有效地降低 GR-1 的生物膜代谢活动, 且在混菌体系内占主要优势位置。说明 GXMZU-5 可通过淬灭效应降低 GR-1 生物膜生物量及活力, 从而获得生物防治能力; 对 QQ 酶同源基因进行扩增表明, GXMZU-5 具有 *aiiA* 内酯酶基因, 可淬灭 AHLs 信号分子。本研究验证了 GXMZU-5 的生物防治能力, 并初步探究了其防治机制, 为淬灭菌防治植物细菌性病害提供一定的参考依据。

关键词: 群体感应淬灭; 伯克霍尔德菌; 香蕉细菌性软腐病; 生物防治

中图分类号: S476.1; S436.68 文献标志码: A

Biocontrol of Banana Bacterial Soft Rot by Quorum Quenching Bacterium GXMZU-5 and Its Mechanism Study

QIN Tianhan^{1,3}, YANG Jinxin^{1,3}, WANG Lu¹, DUAN Yingze¹, WEI Jing¹, LI Jiahui¹, ZHU Yingzhi^{1,2,3*}, LI Zhanbiao^{2,4,5*}

1. School of Marine and Biotechnology, Guangxi Minzu University / Guangxi Key Laboratory of Polysaccharide Materials and Modification, Nanning, Guangxi 530008, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Nanning, Guangxi 530007, China; 3. Key Laboratory of International Cooperation for Exploitation and Utilization of Marine Bio-resources, Nanning, Guangxi 530008, China; 4. Plant Protection Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China; 5. Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: In order to investigate the biocontrol ability and mechanism of *Burkholderia* GXMZU-5 with quorum

收稿日期 2025-01-01; 接受日期 2025-02-28

基金项目 广西自然科学基金项目 (No. 2023GXNSFAA026116); 广西作物病虫害生物学重点实验室项目 (No. 22-035-31-23KF04)。

作者简介 覃天涵 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物与植物互作。*通信作者 (Corresponding author): 朱英芝 (ZHU Yingzhi), E-mail: 20170020@gxmzu.edu.cn; 李战彪 (LI Zhanbiao), E-mail: lizhanbiao8410@sina.com。

quenching activity, the biocontrol effect was verified through experiments on bacterial soft rot of banana fruits and potted seedlings (*Dickeya zeae* GR-1), and the biocontrol mechanism was verified by measuring the content of biofilm, the ability to remove extracellular polysaccharides, the ability to inhibit the metabolic activity of biofilm, and PCR amplification of QQ enzyme homologous genes. The results showed that GXMZU-5 could effectively degrade acyl-homoserine lactone (AHLs) signal molecules and had AHLs quenching ability. In the biocontrol experiment on banana fruits, the surface of the mixed bacteria experimental group was healthier than that of the control group, with no obvious black spots or soft rot signs. The cross-section and longitudinal section results of banana fruits showed that the lesion area of the treatment group was significantly reduced. In the potted plant control experiment, there were no obvious signs of rot at the injection site of the mixed bacteria group, and the natural plant height recovered by 56% compared with the pathogen group, indicating that GXMZU-5 had a significant inhibitory effect on the disease caused by *Dickeya zeae* GR-1. The results for exploring of the biocontrol mechanism showed that the total content of biofilm and the content of extracellular polysaccharides in the mixed bacteria system were lower than those of the two bacteria cultured separately. The MTT method for measuring biofilm metabolism indicated that GXMZU-5 could effectively reduce the biofilm metabolic activity of *Dickeya zeae* GR-1 and occupied a dominant position in the mixed bacteria system. The exploration of the biocontrol mechanism indicated that GXMZU-5 could reduce the biomass and vitality of *Dickeya zeae* GR-1 biofilm through quenching effect, thereby obtaining biocontrol ability. The amplification of QQ enzyme homologous genes showed that GXMZU-5 had the *aiiA* lactonase gene and could quench AHLs signal molecules. This study verified the biocontrol ability of GXMZU-5 and preliminarily explored its biocontrol mechanism, providing a certain reference basis for the use of quenching bacteria to control plant bacterial diseases.

Keywords: quorum quenching; *Burkholderia*; banana bacterial soft rot; biological control

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.06.019

群体感应 (quorum sensing, QS) 是一种微生物间进行通信的机制, 细菌通过自发产生并释放信号分子到环境中^[1], 种群随后根据信号分子的浓度来调控诸如生物发光、生物膜形成、酶的产生等生理活动^[2]。QS 信号分子有很多种类, 如酰基高丝氨酸内酯 (acyl-homoserine lactones, AHLs)^[3]、顺式-11-甲基-2-十二烯酸 (diffusible signaling factor, DSF)^[4]、烷基喹啉分子 (alkyl-quinolones, AQ)^[5]等, 经研究发现, 部分植物病原菌也通过利用群体感应完成侵染活动, 例如胡萝卜软腐果胶杆菌 (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, Pcc) 通过感知 AHLs, 调控产生多聚半乳糖醛酸酶和果胶酸盐裂解酶, 从而破坏植物细胞壁完成侵染^[6], 野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Xcc) 依赖 DSF 调控各种胞外多糖的产生及各类致病因子的产生^[7]。

细菌性病害是植物主要病害之一, 常引起巨大的经济损失^[8], 目前主要通过化学农药和微生物源农药进行防治, 但过度使用农药可导致病原菌产生耐药性^[9-11]。群体感应淬灭 (quorum quenching, QQ) 是切断微生物种群间交流的一种机制, 通过形成信号分子类似物竞争性地与受体结合^[12]; 或形成可特异性降解信号分子的酶^[13]等形式切断病原微生物的群体交流, 使病原菌的毒力因子表达水平下降从而达到生物防治的效果^[14]。

KALIA 等^[15]研究发现二酮哌嗪 (diketopiperazine, DKP) 作为一种竞争类似物, 可通过竞争与 AHLs 受体结合, 从而引起群体感应水平下降并减弱病原菌致病能力。ZHANG 等^[16]发现 *Acinetobacter* sp. 对 Pcc 具有明显的防治效果, GC-MS 分析表明该菌可有效降解 AHLs, 从而干扰细菌的群体感应系统, 有效抑制病原菌的致病性。

香蕉细菌性软腐病是我国香蕉主要病害之一, 病原为 *Dickeya zeae*, 主要引起香蕉叶片枯黄, 球茎或球茎与假茎交界处出现黑褐色斑点, 随后迅速扩散至整株植株, 并开始腐烂, 直至植株死亡^[17], 我国香蕉每年均遭受细菌性软腐病的大面积侵害, 且侵害范围不断扩大, 导致严重的经济损失。本研究以香蕉细菌性软腐病菌为防治对象, 探究一株具有群体感应淬灭活性的伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) GXMZU-5 对香蕉细菌性软腐病的生物防治效果, 以期防治香蕉细菌性软腐病提供一种新型防治方式, 也为伯克霍尔德菌 GXMZU-5 在植物细菌性病害防治中的合理应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 AHLs 指示菌紫色杆菌 CV026、伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*) GXMZU-5、大肠杆

菌 (*Escherichia coli*) 均由本课题组保存, *Dickeya zeae* GR-1 (GR-1) 由广西农业科学院付岗老师课题组馈赠。

1.1.2 供试药剂 N-酰基高丝氨酸内酯信号分子 (acyl-homoserine lactones, AHLs) CHL-6、5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素 (5-DTAF) 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.1.3 植物材料 香蕉购自广西海吉星农产品国际物流水果批发市场, 香蕉幼苗 (威廉斯品种) 采自广西农业科学院。

1.1.4 供试培养基与仪器 LB (Luria-Bertani) 培养基、NB (nutrinet broth) 培养基、TSB (trypticase soy broth) 培养基均购自青岛海博生物科技有限公司。MSM (minimal salt medium) 基础盐培养基: 硫酸铵 2 g, 七水合硫酸镁 0.2 g, 二水合氯化钙 0.01 g, 七水合硫酸亚铁 0.001 g, 十二水合磷酸氢二钠 1.5 g, 磷酸二氢钾 1.5 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 6.8。T100-PCR 仪为美国伯乐公司生产, 正置荧光显微镜 BX51TRF 为奥林巴斯公司产品, Eproch 酶标仪为美国伯腾公司生产, 其余均为常规试剂。

1.2 方法

1.2.1 群体感应淬灭能力验证 取菌株 GXMZU-5、CV026 于液体 LB 培养基中活化, 在 30 ℃、200 r/min 条件下培养 24 h, 培养结束后以此为种子液, 按 10% 接种量将 GXMZU-5 接种至 1 mL MSM 培养基中, 并添加 10 μL 的 CHL-6 为唯一碳源。CV026 接种至 LB 培养基中, 在 30 ℃、200 r/min 条件下培养 24 h, 培养结束后取 1 mL CV026 均匀涂布于 LB 平板, 晾干后取无菌 2.5 cm 圆形模具制作圆饼, 再使用无菌 200 μL 枪头倒扣在圆饼中央挖洞。取发酵 GXMZU-5 MSM 培养液, 利用 0.22 μm 过滤器进行除菌过滤, 取滤液进行点样。设立空白 MSM 培养液+CHL-6, 以及大肠杆菌+CHL-6 为对照, 每组均点样 10 μL, 在 30 ℃ 条件下培养 24 h, 观察平板内 CV026 菌株产生的紫色色素情况。

1.2.2 GXMZU-5 与 *Dickeya zeae* GR-1 平板对峙试验 菌株 GXMZU-5 和 GR-1 在 NB 平板上进行活化, 然后分别挑取单菌落接种至 NB 培养基中, 在 30 ℃、200 r/min 条件下培养 24 h, 调节其 OD₆₀₀ 值至 1.0。然后将 GR-1 均匀涂布于整个平板, 待其晾干后, 于平板中央放置牛津杯, 并向牛津杯中加入 200 μL GXMZU-5 菌液, 观察平

板上的拮抗情况。

1.2.3 GXMZU-5 对 GR-1 的生物防治试验 将培养 24 h 的 GXMZU-5 和 GR-1 菌液的 OD₆₀₀ 调节至 1.0, 然后选取健康、表皮无瑕疵且状态一致的香蕉果实, 使用 1 mL 无菌注射器穿透果肉表皮进行注射, 试验组注射 1 mL GXMZU-5+病原菌 (1:1 等体积混合) 混合液, 对照注射 1 mL 空白培养液、病原菌, 每个处理设 3 次重复。于 28 ℃ 保湿培养 3 d, 观察果实发病情况。

1.2.4 GXMZU-5 对 GR-1 的盆栽试验 将培养 24 h 的 GXMZU-5、GR-1 菌液的 OD₆₀₀ 调节至 1.0, 选取长势一致的健康香蕉苗, 使用无菌注射器于假茎处进行注射, 试验组注射 1 mL GXMZU-5+病原菌 (1:1 等体积混合) 混合液, 对照注射 1 mL 无菌培养液、病原菌, 每个处理设 3 次重复, 接种后的香蕉苗于网室内自然条件下培养。持续 10 d 观察植株发病情况, 并在 10 d 后测量植株的自然株高。

1.2.5 PCR 扩增 GXMZU-5 QQ 酶同源基因 参考 KHALID 等^[18]的方法, 合成 AHLs 内脂酶 (*aiiA*) 基因的扩增引物, 引物序列为 F (5'-3'): GATGGCCTGGAGAATGAC; R (5'-3'): GCGTGTAGGGTATGAGCC, 扩增片段大小为 257 bp。扩增条件: 95 ℃ 预变性 5 min, 95 ℃ 变性 30 s, 59.9 ℃ 退火 40 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 30 次循环, 然后在 72 ℃ 下延伸 10 min。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳验证条带是否存在, 同时判断 PCR 产物大小。

1.2.6 结晶紫法测定 GXMZU-5 与 GR-1 混菌体系生物膜总含量 将 GR-1 与 GXMZU-5 设置单独、混菌培养, 接种至 5 mL 5% NB 培养基中, 于 30 ℃ 下培养 5 d, 结束后弃培养基, 加入无菌水清洗 2 遍后风干 15 min, 风干后滴加甲醇固定 10 min, 风干, 后向管内加入 0.1% 结晶紫染色 20 min, 然后用无菌水漂洗, 风干 10 min, 加入 33% 冰醋酸没过管壁溶解, 于 96 孔板孔中加入 200 μL 溶解液, 测定其 OD₅₉₅, 以 OD₅₉₅ 表示生物膜含量。每组设置 3 个重复。

1.2.7 混菌体系的胞外多糖含量测定 取培养 24 h 的菌液作为种子液, 按 1% 接种量将 GXMZU-5、GR-1 接种至无菌 NB 培养基中, 设置单一菌接种对照组、1:1 混菌试验组, 于 30 ℃ 下培养 30 h, 培养结束后在 5000 r/min 条件下离心 20 min, 收集上清液, 加入 3 倍无水乙醇于 4 ℃

过夜, 收集胞外多糖 (EPS), 收集结束后在 8000 r/min 条件下离心 10 min, 弃上清液后, 置于烘箱中完全烘干后称重, 设置 3 次重复。

1.2.8 MTT 法测定混菌体系的生物膜活性 参照齐龙升等^[19]的方法, 取培养 24 h 的菌液调整至对数期, 然后按 10% 接种量接种至无菌 5% NB 培养基中, 充分混匀后转接至 96 孔板内, 设置 GXMZU-5、GR-1 单一培养组以及 1:1 混菌试验组, 每孔 200 μ L。将 96 孔板置于 25 $^{\circ}$ C 下培养, 分别于培养 1、2、3、4、5 d 后去除孔内悬浮细胞, 用无菌磷酸缓冲液洗涤生物被膜 2 次, 清除孔内的浮游菌体, 随后采用 MTT 方法进行染色, 利用酶标仪测定其 OD₅₉₅, 设置 3 次重复。

1.2.9 混菌状态的生物膜形成分析 参照齐龙升等^[19]的方法进行制片, 并利用正置荧光显微镜观察, 在 6 孔细胞培养板板内放置无菌盖玻片 (14 mm $\times$ 14 mm), 然后将过夜培养的 2 种菌液稀释至其 OD₆₀₀ 为 0.5, 每孔加入 2 mL 菌液, 混菌组按 1:1 进行混合, 置于 30 $^{\circ}$ C 下培养 48 h。吸去孔中悬浮菌液, 用无菌生理盐水冲洗玻片 3 次, 避光条件下用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 用无菌磷酸缓冲液冲洗 3 次, 然后向玻片滴加 5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素 (5-DTAF) 直至没过玻片, 避光下孵育 2 h, 然后用无菌磷酸缓冲液重复冲洗玻片, 用锡纸将玻片包裹, 防止玻片受光线照射, 于正置荧光显微镜下观察玻片。

2 结果与分析

2.1 群体感应淬灭能力验证

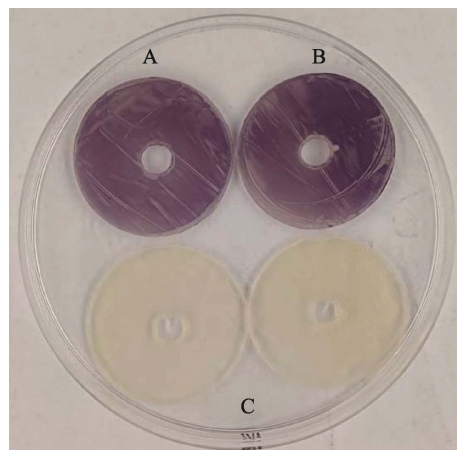
CV026 是一株人工突变菌株, 主要用途为检测环境内是否存在 AHLs 分子, CV026 自身不能产生 AHLs, 但当检测到外源的 AHLs 时会启动相关基因产生紫色色素。本研究中, 经添加外源 CHL-6 与 GXMZU-5 培养 24 h 后, 菌板无紫色色素产生, 对照则出现明显的紫色, 结果表明, GXMZU-5 具有降解 AHLs 的能力 (图 1)。

2.2 GXMZU-5 与 GR-1 平板对峙试验

经 24 h 培养后, GXMZU-5 与 GR-1 混合培养后无明显抑菌圈, 证明 GXMZU-5 不是通过拮抗作用对 GR-1 产生抑制作用, 可以用于群体感应淬灭的后续研究 (图 2)。

2.3 GXMZU-5 对 GR-1 的生物防治试验

香蕉经保湿培养后, 混菌处理的病斑面积比病原菌单一处理的大幅度减少 (图 3A)。沿注射



A: MSM+CHL-6; B: *E. coli* +CHL-6; C: GXMZU-5+CHL-6.

图 1 CV026 验证菌株利用 CHL-6 的能力试验

Fig. 1 Ability of strain CV026 to utilize CHL-6



图 2 GXMZU-5 与 GR-1 平板对峙结果

Fig. 2 Result of confrontation between GXMZU-5 and GR-1

处横切后, 淬灭菌本身未引起香蕉产生腐烂症状, 而混菌处理后可明显减少果肉腐烂面积 (图 3B)。将果肉沿注射处纵切后, 混菌处理后发病扩散面积显著减弱 (图 3C)。结果表明, GXMZU-5 对 GR-1 有较好的生物防治作用。

2.4 GXMZU-5 对 GR-1 的盆栽试验

香蕉盆栽经持续浇水后, 对叶片状态、假茎注射处进行观察, 病原菌对照组出现叶片明显发黄变黑、植株较矮, 且注射处有明显腐烂黑斑症状 (图 4); 混菌处理的发病症状明显减弱, 且自然株高高于病原菌单一处理 (图 5); 假茎注射处无明显黑斑 (图 6)。与 2.3 生物防治试验结果吻合, 表明 GXMZU-5 对 GR-1 在盆栽试验中也呈现一定的生物防治效果。

2.5 PCR 扩增 GXMZU-5 QQ 酶同源基因

内脂酶是群体感应淬灭环节中一类重要的酶

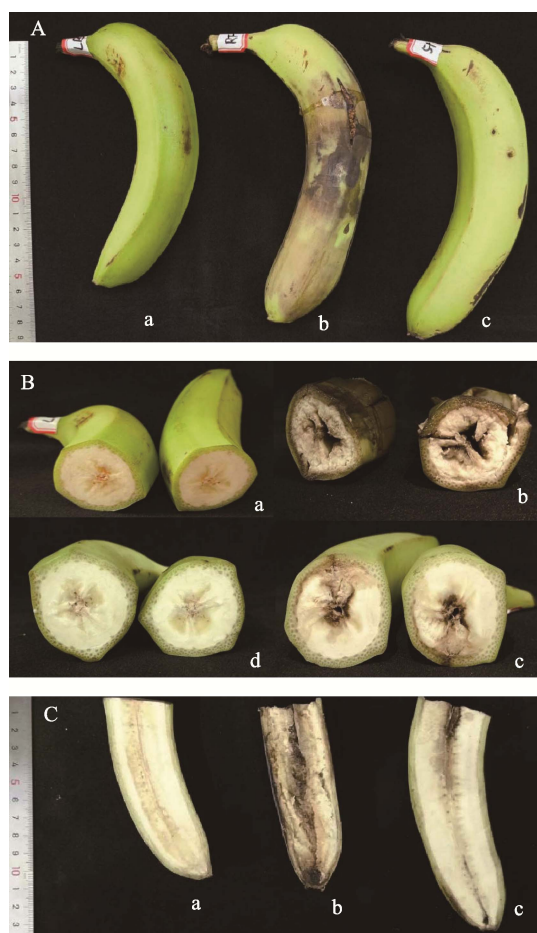
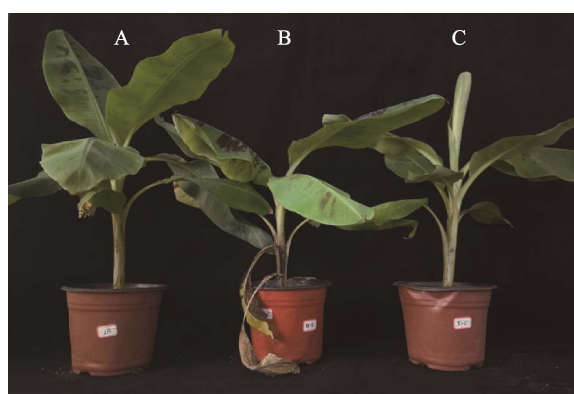


图 3 GXMZU-5 对 GR-1 的生防效果
Fig. 3 Biological control of GR-1 by GXMZU-5



A: LB; B: GR-1; C: GXMZU-5+GR-1.

图 4 GXMZU-5 对 GR-1 的盆栽试验

Fig. 4 Pot experiment of GR-1 by GXMZU-5

类, 本研究选定 *aiiA* 酶基因作为研究目标, 结果表明, 在 257 bp 左右出现明显且单一条带(图 7), 将单一条带进行切胶回收并送至奥克生物科技有

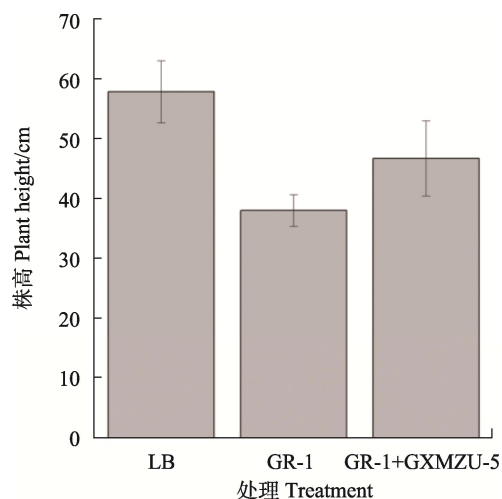


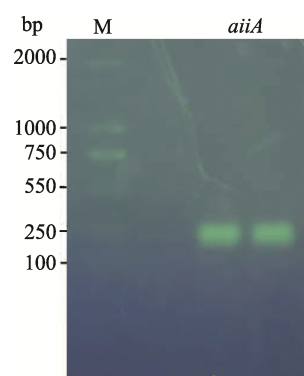
图 5 GXMZU-5 对 GR-1 盆栽试验的株高
Fig. 5 Plant height of GR-1 in pot experiment by GXMZU-5



A: LB; B: GR-1; C: GXMZU-5+GR-1.

图 6 GXMZU-5 对 GR-1 的盆栽试验假茎注射处
Fig. 6 GXMZU-5 injection site of GR-1 in pot experiment

限公司进行测序, 将测序结果与 NCBI 进行比对后, 发现与 *aiiA* 基因高度近似, 证实 GXMZU-5 代谢产物中至少包含内脂酶, 可以有效阻止病原菌的群体感应进程。



M: DL2000 DNA marker.

图 7 GXMZU-5 *aiiA* 基因扩增电泳图

Fig. 7 Electrophoresis image of GXMZU-5 *aiiA* gene amplification

2.6 结晶紫法测定 GXMZU-5 与 GR-1 混菌体系生物膜总含量

生物膜是微生物的一种天然屏障, 通过生物

膜的形式，病原菌可以在生物膜内更为稳定地增殖并提高抗逆性从而更有利地侵染植物，生物膜的生成受群体感应的调控。本研究将 GXMZU-5 与 GR-1 单独、混合培养 5 d 后，用结晶紫法对对照、混菌组的生物膜含量进行提取并测定其 OD₅₉₅，结果表明，混菌组的生物膜含量较两菌单独培养组低（图 8），表明 GXMZU-5 不仅具有清除病原菌生物膜的能力，还会降低其自身生物膜的产生水平。

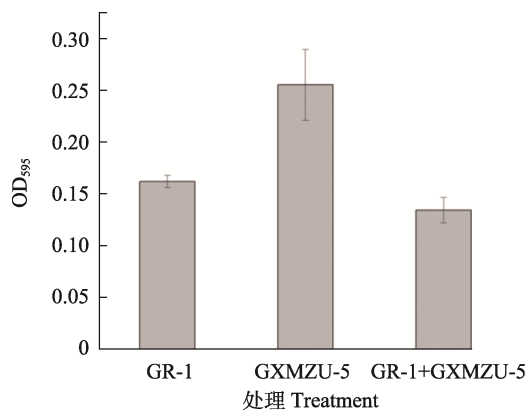


图 8 混菌体系的生物膜含量
Fig. 8 Biofilm content in mixed bacteria system

2.7 混菌体系的胞外多糖含量

胞外多糖是生物膜组成的重要物质，为印证 2.6 中清除生物膜的结论，通过三倍醇沉法获得胞外多糖进行称重，GXMZU-5 单独处理的胞外多糖含量为 0.0034 g，GR-1 单独处理的胞外多糖含量为 0.0016 g，混菌处理的的胞外多糖含量为 0.0018 g，总体低于两菌单独产量之和。证实在混菌体系下胞外多糖的产生量总体下降。此结论与 2.6 中生物膜总含量减少的结果一致，证明 GXMZU-5 对 GR-1 胞外多糖的产生有抑制作用。

2.8 MTT 法测定混菌体系的生物膜活性

为反映混菌体系下 2 种菌的优势种群及其活

性，本研究通过使用 96 孔板进行 MTT 染色。结果显示在 5% NB 培养基中，GXMZU-5 在培养 1 d 时活性最好，其 OD₅₉₅ 值为 1.436，其生物膜代谢活性较高，混菌体系的 OD₅₉₅ 值几乎接近单独培养，而 GR-1 的代谢活性极低，其 OD₅₉₅ 仅为 0.143，表明 GXMZU-5 在混菌初期为优势菌群；培养 2 d 时，GXMZU-5 的生物膜代谢能力下降，但其活性仍高于 GR-1；培养 3~4 d 时，GXMZU-5 的生物膜代谢活性进一步降低，推测此时 GXMZU-5 的生物膜代谢暂时到达饱和，呈下降趋势，但与混菌组 OD₅₉₅ 值相差不大，仍然处于代谢优势状态；培养 5 d 时，GXMZU-5 的生物膜代谢重新开始，始终高于 GR-1 的生物膜代谢活性，而混菌组的生物膜代谢活性与第 4 天的相近，第 4 天的 OD₅₉₅ 值为 1.017，第 5 天的 OD₅₉₅ 值为 1.0275，而 GR-1 的生物膜代谢活性持续增加（图 9），证实 GXMZU-5 具有显著的抑制生物膜代谢的能力，符合 2.6 中生物膜清除、2.7 中胞外多糖代谢的结论。

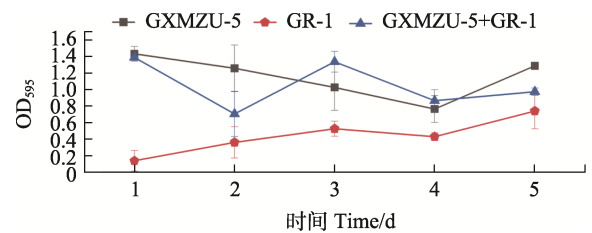
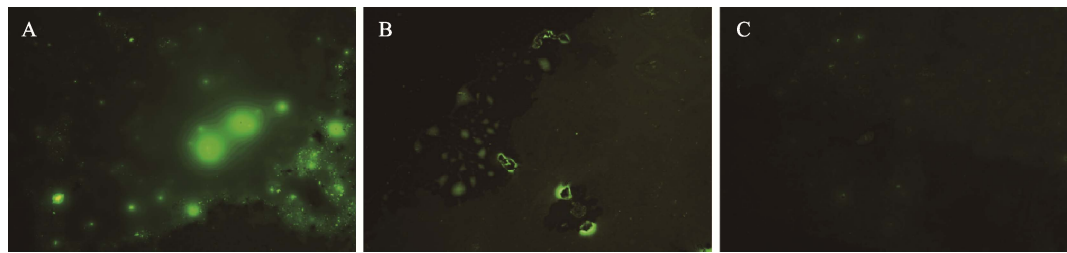


图 9 MTT 法测定混菌体系的生物膜活性
Fig. 9 Activity of biofilm in mixed bacteria system determined by MTT method

2.9 混菌状态的生物膜形成分析

使用正置荧光显微镜观察 GXMZU-5 与 GR-1 在混合培养下的生物膜形成情况，由图 10 可以看出，GXMZU-5 与 GR-1 单独培养时，均有明显、大片的荧光，能观察到大量的生物膜生成。而在混菌状态下，产生的荧光强度、生物膜面积均比单独培养时明显减少，进一步验证 GXMZU-5 对



A: GXMZU-5; B: GR-1; C: GXMZU-5+GR-1.
图 10 荧光显微镜生物膜观察
Fig. 10 Fluorescence microscopy biofilm observation

自身及 GR-1 的生物膜产生具有一定影响。

3 讨论

香蕉是我国重要的热带水果之一,深受大众喜爱。广西是我国香蕉主要种植区,其地表温度高、高温多雨的环境易生产优质果,但相应地也促进各类病原菌发病。近年来,由 *Dickeya zeae* 导致的香蕉细菌性软腐病使广西香蕉产量大幅下降,且发病面积逐年扩大,亟需寻找一种高效、绿色可持续发展的防治方式。研究发现,部分化学药剂可有效防治香蕉细菌性软腐病,如王铜和噻菌铜在防治香蕉细菌性软腐病方面表现出较好效果^[20],但过度使用化学农药易导致土壤结构遭受破坏。已有针对 *Dickeya zeae* 导致的香蕉细菌性软腐病开展了一定的防治研究,如番华彩等^[21]通过筛选,将春雷霉素等药剂应用于田间,防治效果达到 90.1%,在多种作物上表现出显著的防治效果。周佳暖等^[22]针对 *Dickeya zeae* 导致的香蕉细菌性软腐病致病机理进行了详细探究,表明致病性主要与胞外多糖、细胞壁降解酶等密切相关。群体感应淬灭作为一种新型防治方法,其毒性和危险性相对较低,但针对 *Dickeya zeae* 的群体感应淬灭研究极少。因此,本研究筛选到一株具有强淬灭 AHLs 信号分子能力的菌株 GXMZU-5,在香蕉软腐病防治中取得明显的生物防治效果,为使用群体感应淬灭菌应用于香蕉细菌性软腐病的防治提供了一定的思路与研究基础。

本研究证实 GXMZU-5 对采用 AHLs 信号分子的病原细菌具有显著的群体感应淬灭效应,并对由 AHLs 调控的生物膜相关的内容进行了研究。结果表明,GXMZU-5 可有效抑制 *Dickeya zeae* GR-1 的生物膜形成,此外胞外多糖的产量也大幅度下降。在混菌体系中,GXMZU-5 的细胞活性占主导地位,表明该菌可能通过影响 *Dickeya zeae* GR-1 的生物膜代谢进程导致病原菌在自然环境中抗逆性减弱进而导致毒力下降。目前针对 *Dickeya zeae* 的研究,还发现其具有一种控制菌体发挥毒力的新型信号通路 Vfm^[23]。本研究已证实 GXMZU-5 可有效降解群体感应信号分子 AHLs,并在防治试验中证实 GXMZU-5 可有效防治香蕉细菌性软腐病,但 GXMZU-5 对 *Dickeya zeae* 的 Vfm 信号分子是否具有淬灭作用的研究还在进行中,已有学者研究表明淬灭菌可能同时具备淬灭多种信号分子的能力,如陈少华等^[24]发现了一株

溶蛋白芽孢杆菌具有同时淬灭 DSF、AHLs 两种信号分子的能力。因此,推测 GXMZU-5 也可能通过同时淬灭多种信号分子,总体降低病原菌的毒力,从而达到有效防治香蕉细菌性软腐病的作用。今后将对 GXMZU-5 的生物防治机理进行深入探究,或对其淬灭信号分子的通路进一步拓宽探索,以期为群体感应淬灭应用于生物防治提供新的思路。

参考文献

- [1] 刘鹏,张月娟,赵廷昌.细菌群体感应系统的研究进展[J].中国农学通报,2007(6):467-472.
LIU P, ZHANG Y J, ZHAO T C. Research progress in bacterial quorum sensing systems[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007(6): 467-472. (in Chinese)
- [2] 程古月,郝海红,戴梦红,刘振利,袁宗辉.病原菌的群体感应及其抑制剂的研究进展[J].科学通报,2012,57(21):1964-1977.
CHENG G Y, HAO H H, DAI M H, LIU Z L, YUAN Z H. Quorum sensing of pathogenic bacteria and quorum-sensing inhibitors[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(21): 1964-1977. (in Chinese)
- [3] 张炼辉.微生物群体感应系统的研究进展[J].华南农业大学学报,2019,40(5):50-58.
ZHANG L H. Research progress of microbial quorum sensing systems[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(5): 50-58. (in Chinese)
- [4] 王立燕,刘永生.细菌群体感应种类及其信号分子的研究进展[J].中国预防兽医学报,2015,37(4):318-320.
WANG L Y, LIU Y S. Research progress of bacterial quorum sensing species and their signaling molecules[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2015, 37(4): 318-320. (in Chinese)
- [5] 郭冰怡,董燕红.细菌群体感应抑制剂研究进展[J].农药学报,2018,20(4):408-424.
GUO B Y, DONG Y H. Research progress on inhibitors toward quorum sensing system[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(4): 408-424. (in Chinese)
- [6] 王岩,于雅萌,张静静,张晓华.海洋微生物群体感应与群体感应淬灭的开发利用[J].生物资源,2017,39(6):413-422.
WANG Y, YU Y M, ZHANG J J, ZHANG X H. Exploitation and application of quorum sensing and quorum quenching in marine microorganisms[J]. Biotic Resources, 2017, 39(6): 413-422. (in Chinese)
- [7] 周莲,王杏雨,何亚文.植物病原黄单胞菌 DSF 信号依赖的群体感应机制及调控网络[J].中国农业科学,2013,46(14):2910-2922.
ZHOU L, WANG X Y, HE Y W. DSF signal-dependent

- quorum sensing in plant pathogenic bacteria *Xanthomonas*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(14): 2910-2922. (in Chinese)
- [8] 曹勘程, 刘晓漫, 郭美霞, 王秋霞, 李园, 欧阳灿彬, 颜冬冬. 作物土传病害的危害及防治技术[J]. *植物保护*, 2017, 43(2): 6-16.
- CAO A C, LIU X M, GUO M X, WANG Q X, LI Y, OUYANG C B, YAN D D. Incidences of soil-borne diseases and control measures[J]. *Plant Protection*, 2017, 43(2): 6-16. (in Chinese)
- [9] 王文桥, 马志强, 张小风, 张文吉. 植物病原菌对杀菌剂抗性风险评估[J]. *农药学报*, 2001(1): 6-11.
- WANG W Q, MA Z Q, ZHANG X F, ZHANG W J. Evaluation of risk of resistance in plant pathogenous fungi to fungicides[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2001(1): 6-11. (in Chinese)
- [10] 邱德文. 我国植物病害生物防治的现状与发展策略[J]. *植物保护*, 2010, 36(4): 15-18, 35.
- QIU D W. Current status and development strategy for biological control of plant diseases in China[J]. *Plant Protection*, 2010, 36(4): 15-18, 35. (in Chinese)
- [11] 陈菲菲, 王勇, 王以光, 赫卫清. 海洋微生物来源的天然产物开发研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(2): 287-294.
- CHEN F F, WANG Y, WANG Y G, HE W Q. Advance in research and development of natural products from marine microorganisms[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2011, 17(2): 287-294. (in Chinese)
- [12] MURUGAYAH S A, GERTH M L. Engineering quorum quenching enzymes: progress and perspectives[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2019, 47(3): 793-800.
- [13] PIEWNGAM P, CHIOU J, CHATTERJEE P, OTTO M. Alternative approaches to treat bacterial infections: targeting quorum-sensing[J]. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2020, 18(6): 499-510.
- [14] RODRÍGUEZ M, TORRES M, BLANCO L, BÉJAR V, SAMPEDRO I, LLAMAS I. Plant growth-promoting activity and quorum quenching-mediated biocontrol of bacterial phytopathogens by *Pseudomonas segetis* strain P6[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 4121.
- [15] KALIA V C, PUROHIT H J. Quenching the quorum sensing system: potential antibacterial drug targets[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2011, 37(2): 121-140.
- [16] ZHANG W P, LUO Q Q, ZHANG Y Y, FAN X H, YE T, MISHRA S, BHATT P, ZHANG L H, CHEN S H. Quorum quenching in a novel *Acinetobacter* sp. XN-10 bacterial strain against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1100.
- [17] 杜婵娟, 杨迪, 付岗, 叶云峰, 潘连富, 张晋. 广西香蕉细菌性软腐病病原鉴定及生物学特性研究[J]. *植物保护*, 2019, 45(5): 148-156.
- DU C J, YANG D, FU G, YE Y F, PAN L F, ZHANG J. Identification and biological characteristics of the pathogen causing banana bacterial soft rot disease in Guangxi[J]. *Plant Protection*, 2019, 45(5): 148-156. (in Chinese)
- [18] KHALID S J, AIN Q, KHAN S J, JALIL A, SIDDIQUI M F, AHMAD T, BADSHAH M, ADNAN F. Targeting Acyl Homoserine Lactones (AHLs) by the quorum quenching bacterial strains to control biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2022, 29(3): 1673-1682.
- [19] 齐龙升, 孙博, 韩志东, 汪伦记. 不同温度单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌混合培养生物被膜的形成[J]. *农产品加工*, 2024(5): 75-78, 82.
- QI L S, SUN B, HAN Z D, WANG L J. Biofilm formation by mixed culture of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* at different temperatures[J]. *Farm Products Processing*, 2024(5): 75-78, 82. (in Chinese)
- [20] 沈会芳, 蒲小明, 杨祁云, 张景欣, 孙大元, 林壁润. 香蕉细菌性软腐病防治药剂筛选试验[J]. *广东农业科学*, 2020, 47(1): 98-104.
- SHEN H F, PU X M, YANG Q Y, ZHANG J X, SUN D Y, LIN B R. Selection of bactericides for controlling bacterial soft rot of banana[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(1): 98-104. (in Chinese)
- [21] 潘华彩, 曾莉, 李卫雁, 丁云秀, 郭志祥, 李舒, 徐胜涛, 郑泗军, 王永斌. 香蕉细菌性软腐病防控药剂筛选及田间应用效果评价[J]. *中国农学通报*, 2022, 38(31): 113-118.
- PAN H C, ZENG L, LI W Y, DING Y X, GUO Z X, LI S, XU S T, ZHENG S J, WANG Y B. Bactericides screening and field application for banana bacterial soft rot[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38(31): 113-118. (in Chinese)
- [22] 周佳暖, 姜子德, 张炼辉. 细菌性软腐病菌 *Dickeya* 致病机理的研究进展[J]. *植物病理学报*, 2015, 45(4): 337-349.
- ZHOU J N, JIANG Z D, ZHANG L H. Research progress in the pathogenic mechanism of *Dickeya* spp.[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(4): 337-349. (in Chinese)
- [23] 许佳晶. VFM 信号——一种来自 *Dickeya dadantii* 的新型群体感应信号的分离及性质探讨[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
- XU J J. Solation, properties and structural characterization of VFM, a new quorum sensing signal of *Dickeya dadantii*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [24] 陈少华, 李绮婷, 范兴辉, 叶田, 李欣, 梁梓侨. 溶蛋白芽孢杆菌在防治依赖群体感应信号分子的致病菌及病害方面的应用: 201910843482[P]. 2024-11-20.
- CHEN S H, LI Q T, FAN X H, YE T, LI X, LIANG Z Q. Application of proteolytic bacillus in the control of pathogens and diseases dependent on quorum sensing signaling molecules: 201910843482[P]. 2024-11-20. (in Chinese)