

# 杨树内生解淀粉芽孢杆菌生物膜特征与生防活性

刘振宇<sup>1</sup>, 曹阳<sup>1</sup>, 邓德法<sup>1</sup>, 于占翠<sup>1</sup>, 尹向田<sup>1</sup>, 范素素<sup>1</sup>, 徐亮<sup>1</sup>, 胥丽娜<sup>1</sup>

(山东农业大学植物保护学院, 山东泰安, 271018)

生物防治是具有重要影响和极具发展潜力的有害生物控制策略与技术,而生防机制的探讨一直是生物防治的重要内容,也是迄今远远未被阐释清楚的重要问题。自然界中,细菌以生物膜(biofilm)形式存在,而不是以浮游(planktonic)状态存在,它们生活史中的大部分是在生物膜的状态下完成。生物膜状态下的细菌,具有显著不同于浮游态细菌的特征,而浮游状态细菌的特征,则丢失了其原本的自然属性。因此,在生物膜格局下开展生防细菌研究,能够发现其在自然界中最原本的生防特性,揭示其本质的生防机制,所以对生防细菌生防机制的探讨具有极为重要科学意义。

解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) PEBA20 是我们实验室获得的具有优秀生防活性的杨树内生细菌。我们针对解淀粉芽孢杆菌生物膜特征及其与抗菌活性的相关性,开展了系列研究工作。主要结果有:

**1、明确了解淀粉芽孢杆菌野生株生物膜表型特征,发现不同的生物膜表型与抗菌活性存在明显相关性:**分析了解淀粉芽孢杆菌 PEBA20 野生株在固-气界面和液-气界面的生物膜表型特征,获得了其生物膜表型的时间发展规律,确定了生物膜表型发展的时间节点。生物膜表型的复杂程度与生防活性明显相关,存在抗菌活性并随着生物膜表型的单一化和简单化而降低的非线性相关特征。

**2、发现了解淀粉芽孢杆菌的表型异质性现象,存在生态适应机制:**PEBA20 在适应环境过程中产生明显的生物膜表型多态性现象,表现出典型动态变异规律。生物膜表型表现为“典型野生型”、“缓慢改变期渐变型”、“过渡期混合型”、“后期迥异型”的静态表现和动态过程;在动态变异速率上表现为“稳定期”、“急剧增长”、“平衡”、“骤然降低”、“持续稳定”的大致规律。暗示了生态适应与进化的博弈特征。

**3、分析了生物膜形成相关结构基因与表达调控基因的基本特征:**重点分析了跟生物膜结构密切相关的基因“tasA”“sipW”“yqxM”,以及全局调控基因“spo0A”和生物膜形成正调控因子“DegU”,克隆了调控细菌运动性的基因“sfp”;分析了基因的基本生物信息学特征。

**4、成功构建了 *SinR* 和 *DegU* 基因突变体，对突变株表型进行了鉴定。**以解淀粉芽孢杆菌野生株为出发株，采用同源重组策略，经同源前臂后臂克隆、获得打靶载体，电转化等，构建了 *SinR* 和 *DegU* 突变株，发现 *DegU* 和 *SinR* 基因影响了细菌生物膜表型，并与解淀粉芽孢杆菌的抗菌活性明显相关。

\*本研究得到国家自然科学基金(30972367)的资助。