

不同生防菌对黄瓜根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响

尹淑丽^{1,2}, 麻耀华^{1,2}, 张丽萍^{1,2}, 张根伟^{1,2}, 黄亚丽^{1,2}, 梁然³

(1. 河北省科学院 生物研究所, 河北 石家庄 050081; 2. 河北省主要农作物病害微生物控制工程技术研究中心, 河北 石家庄 050081;

3. 鹿泉铜冶农业技术推广区域站, 河北 石家庄 050200)

摘要:采用盆栽试验的方法,于播种时穴施单一生防菌细菌 D、放线菌 317 和木霉菌,研究黄瓜不同生育时期根际土壤中微生物数量及酶活性的动态变化。结果表明:细菌 D 和放线菌 317 的施入利于细菌和放线菌数量的增加,同时有效控制土壤中真菌数量的增加;木霉菌的施入利于土壤中放线菌真菌数量的增加;3 个菌株对根际土壤中蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶都有促进的作用,在拉秧期各酶活达到最大值。拉秧期的结果表明,接种细菌 D 和放线菌 317 的处理可提高根际土壤中细菌的数量,降低真菌的数量,对放线菌数量的影响不明显;接种木霉处理可明显提高根际土壤中放线菌和真菌的数量,对细菌的数量影响不明显;3 个菌株处理细菌与真菌数量比约为对照的 1~2 倍,放线菌与真菌的数量比约为对照的 1~3 倍。细菌 D、放线菌 317 和木霉处理均可提高黄瓜根际土壤中过氧化氢酶、蔗糖酶及脲酶的活性。

关键词:生防菌;黄瓜根际;微生物数量;土壤酶活

中图分类号:S 642. 206⁺. 1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)01-0010-05

随着种植业结构的调整,日光温室和大棚面积不断增加,设施环境给蔬菜真菌病害的发生、发展提供了适宜的条件,致使其发生种类、数量及危害程度逐年增加,严重影响蔬菜的产量和品质。黄瓜枯萎病是一种严重危害黄瓜的土传性真菌病害^[1],其病原为镰孢菌属的尖

孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*,一般发病率为 20%~50%,严重时可达 80%以上。长期以来对其防治主要依赖于化学农药,施用化学农药虽有一定的效果,但对人畜健康的影响及其对生态环境的威胁日益受到社会的普遍关注,因此生物防治以其无污染、持效期长、环境兼容性好的特点在农业生产中愈来愈显得重要。

宋以星^[2]利用芽孢杆菌 B1 在苗期防治黄瓜枯萎病菌,其防效达 70.10%。滕安娜^[3]利用木霉防治黄瓜枯萎病菌,其效果显著。郭敏、王光华等^[4-5]利用 2 株生防菌防治黄瓜枯萎病,明显且具有增效作用。段春梅^[6]等施用由 3 种放线菌组成的放线菌剂可显著促进黄瓜生

第一作者简介:尹淑丽(1979-),女,硕士,助理研究员,现主要从事农作物生物防治等研究工作。E-mail: yslbaihelr@126.com。

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C110412);国家农业成果转化基金资助项目(2010GB2A200041)。

收稿日期:2011-11-03

The Agronomic and Physiological Traits in Muskmelon Varieties with Different Flesh Color

SHEN Bo¹, XIE Xiao-bo², ZHANG Yue-jian², CHEN Ying-jun¹, NI Sha¹, ZHANG Yi-fan¹

(1. College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang 310036; 2. Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310021)

Abstract: By using three species of different flesh color muskmelon 'Zheha No. 1', 'Zhewang 2025' and 'Lvmbao' as materials, the changes of the agronomic and physiological traits were measured during fruit development. The results showed that three melon varieties had same fruit diameter, but with different longitudinal diameter. Meanwhile, there were the differences in cell size and arrangement among three melon varieties. The TSS contents of 'Zheha No. 1', 'Zhewang 2025' and 'Lvmbao' were respectively 11.97%, 10.8% and 10.2%. Based a value of fruit measured in three melon varieties, 'Zheha No. 1' had early color-changed period, and long fruit coloration.

Key words: muskmelon; flesh color; agronomy; physiological traits

长发育,并使黄瓜产生诱导抗性。陈雪丽^[7]、王茹^[8]等研究表明,植物对土传病害的抗性与根际土壤微生物关系密切。而土壤中微生物类群与土壤酶的活性密切相关^[9-12],土壤酶作为土壤质量的生物活性指标一直是土壤酶学研究的重点,并逐渐成为土壤微生物生态效应研究的重要方向和领域^[13],其活性的大小可以较敏感地反映土壤中生化反应的方向和强度。目前虽已在这方面开展了大量的工作,但就不同种单一生防菌株对根际土壤中微生物数量及酶活的影响差异尚未见报道。

该研究利用试验室筛选到的拮抗土传真菌病害生防效果明显的3株不同菌株,探讨其施入后对黄瓜根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响及动态变化,为复合微生物制剂的研制提供理论依据和前期基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种“津春2号”黄瓜。供试生防菌株:木霉菌、细菌D、放线菌317,每种菌采用适宜的方法单独培养,收集相应的芽孢及孢子,播种时每穴加入菌液(孢子含量达 10^9 cfu/mL)30 mL,对照处理加入等量水。

1.2 试验方法

供试土壤为多茬黄瓜连作土壤,加入适量蛭石(20%),混匀后以相同的量(4.5 kg)装入统一大小的花盆中。于6月8日种植。处理1:接种D细菌,处理2:接种317放线菌,处理3:接种木霉,处理4:清水对照,分别在黄瓜的苗期6月25日、花期7月15日、瓜期8月4日、拉秧期8月24日,4个不同时期取黄瓜的根际土壤。

1.3 项目测定

1.3.1 土壤根际微生物数量的测定 称取10 g采集的新鲜根际土样放入90 mL无菌水中,在摇床上以200 r/min的转速震荡30 min将不同处理样品液倍比稀释涂布平板,(30 ± 1)°C培养2~4 d后,记录可培养真菌、放线菌、细菌的数量。

1.3.2 土壤酶活 将根际土壤自然荫干后,研磨过80目的筛子后,测定土壤中脲酶、过氧化氢酶和蔗糖酶。土壤脲酶活性用靛酚蓝比色法测定,以24 h内1 g土产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 数(mg)表示;过氧化氢酶活性用高锰酸钾滴定法测定,以1 g土消耗0.1 mol/L KMnO_4 数(mL)表示;蔗糖酶活性用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,以24 h内1 g土产生的葡萄糖数(mg)表示。

1.3.3 微生物统计 测定土壤细菌、放线菌、真菌、尖孢镰刀菌数量,微生物计数采用传统的方法,细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌采用改良高氏1号培养基,真菌采用PDA培养基。

1.3.4 接种增率(Δ) 表示生防菌接入引起的细菌、真菌、放线菌数量的增长率,计算公式如下:

$\Delta/\% = [(X - CK)/CK] \times 100\%$ (式中X指接种处理微生物数量,CK指对照处理微生物的数量);

$\Delta E\% = [(X - CK)/CK] \times 100\%$ (式中X指接种处理根际土壤的酶活,CK指对照处理根际土壤的酶活)。

2 结果与分析

2.1 黄瓜不同生育时期不同处理根际土壤中微生物数量的动态变化

2.1.1 根际细菌数量的动态变化 由图1可知,不同处理与对照根际土壤中细菌数量的变化趋势相同,苗期至瓜期细菌的数量呈现不断上升的趋势,在拉秧期数量有所下降,降到整个生育期的最低点。与对照相比,木霉菌处理在花期、结果期根际土壤中细菌的数量与对照相当,在苗期和拉秧期低于对照;细菌D和放线菌317处理于各生育时期根际土壤中细菌的数量均高于对照处理。可见不同种单一菌的施入对根际土壤中细菌数量的影响是不同的。细菌D和放线菌317的加入利于土壤中细菌数量的繁殖和稳定,自苗期开始数量逐渐增多,到拉秧期有所下降,可能与黄瓜生育后期根际的分泌物成分以及土壤中物质成分有关。

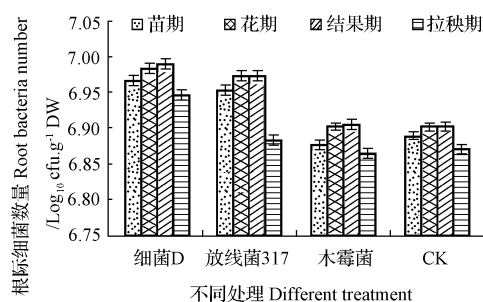


图1 不同生育时期根际细菌数量

Fig. 1 The number of bacterium in different growing stages cucumber rhizosphere soil

2.1.2 放线菌数量的动态变化 由图2可知,细菌D和放线菌317处理与对照的变化趋势基本相同,在花期根际土壤中放线菌的数量最多,在拉秧期降到整体生育期的最低值。木霉菌处理,根际土壤中放线菌的数量在苗期最低,随后随生育期的延长放线菌的数量有所增加在拉秧期达到生育期中的最高值。与对照相比,木霉处理在花期和瓜期放线菌的数量与对照相当,拉秧期数量明显高于对照;细菌D和放线菌317处理于花期土壤中放线菌的数量达到最高值,其他生育时期与对照差异不明显。可见土壤中施入木霉后对放线菌的生长有促进作用,并且随生育时期的延长放线菌的数量呈现逐渐增长的趋势。

2.1.3 根际真菌数量的动态变化 由图3可知,细菌D和放线菌317处理根际土壤中真菌数量的变化趋势相同,不同生育时期根际土壤中真菌数量明显低于对照;

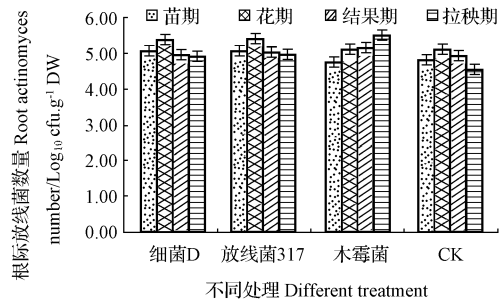


图2 不同生育时期根际放线菌数量

Fig. 2 The number of actinomycetes in different growing stages cucumber rhizosphere soil

在花期和结果期土壤中的真菌数量有增加的趋势,但到拉秧期可以明显的控制土壤中真菌的数量,可能跟土壤中细菌和放线菌的繁殖定植的过程有关。木霉菌处理根际土壤中真菌的数量随生育时期的延长而呈现增长的趋势,在拉秧期根际土壤中真菌的数量达到整个生育期的最高值,但稍低于对照。可见,土壤中施入木霉菌后由于其在土壤中的定植,使得土壤中真菌的数量呈现上升的趋势;对照在黄瓜的生育后期由于土壤中微生物种群结构的变化使得土壤中真菌的数量迅速增长,可能为土传病害生育后期发生严重的原因。

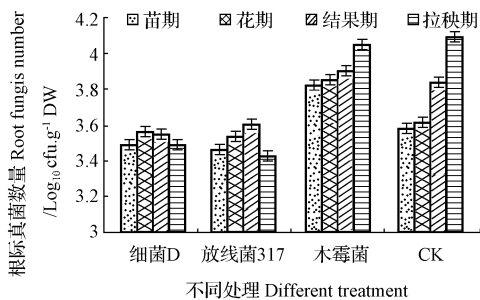


图3 不同生育时期根际真菌数量

Fig. 3 The number of fungi in different growing stages cucumber rhizosphere soil

2.2 黄瓜不同生育时期根际土壤酶活的动态变化

2.2.1 过氧化氢酶活性的动态变化 由图4可见,3个不同处理整个生育期根际土壤中过氧化氢酶活性的变化趋势与对照相同,苗期最低,随着生育时期的延长,活性不断增大,在拉秧期根际土壤中过氧化氢酶的活性最高。但不同生育时期与对照相比,过氧化氢酶的活性差异不明显。

2.2.2 脲酶活性的动态变化 由图5可知,3个处理根际土壤脲酶的变化趋势相同,在花期根际土壤脲酶的活性最低,拉秧期根际土壤脲酶的活性最高;对照在苗期根际土壤脲酶的活性最大,在黄瓜花期根际土壤脲酶的活性值最低。3个处理于结果期开始,酶活性明显高于

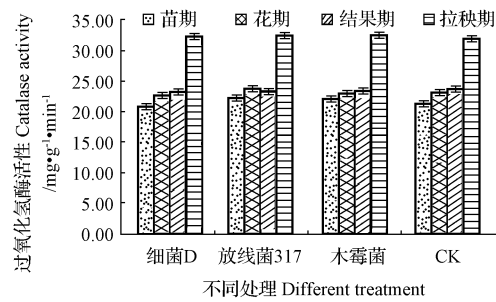


图4 对不同生育时期根际土壤过氧化氢酶的影响

Fig. 4 Catalase activity in different growing stages cucumber rhizosphere soil

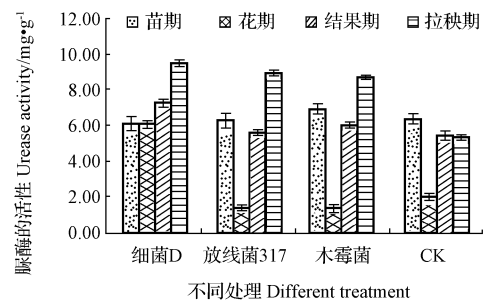


图5 对不同生育时期根际土壤脲酶活性的影响

Fig. 5 Urease activity in different growing stages cucumber rhizosphere soil

对照,其中拉秧期达到整个生育期的最高。

2.2.3 蔗糖酶活性的动态变化 由图6可知,随生育时期的延长根际土壤蔗糖酶的活性不断增大,在苗期土壤蔗糖酶的活性最小,在拉秧期土壤蔗糖酶的活性最大。3个处理不同生育时期土壤蔗糖酶的活性均高于对照对应时期根际土壤蔗糖酶的活性。

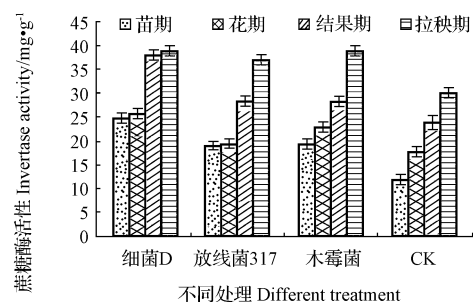


图6 不同生育时期根际土壤蔗糖酶活性

Fig. 6 Invertase activity in different growing stages cucumber rhizosphere soil

2.3 拉秧期不同生防菌处理对根际土壤微生物数量的影响

由表1可知,接种D细菌后与对照相比根际土壤中细菌和放线菌的数量有所增加,分别增加14.82%和5.87%,真菌的数量减少;细菌、放线菌与真菌数量比均

明显增加,约为对照的 2 倍和 3 倍。接种放线菌 317 后与对照相比根际土壤中细菌和放线菌的数量同样有所增加,分别为 0.73%和 9.45%,真菌的数量明显减少;细菌、放线菌与真菌数量比均明显增加约为对照的 2~3 倍。接种木霉菌后与对照相比放线菌的数量明显增加,为 20.58%,真菌和细菌的数量有所减少;细菌、放线菌与真菌数量比与对照相比均有所增加,增加约为对照的 1 倍。

可见,施入生防菌后黄瓜根际土壤中细菌和放线菌的数量增加,真菌的数量下降,细菌、放线菌与真菌的数量比均增加,表明生防菌的施入可使黄瓜根际土壤微生物区系向有利于作物生长的细菌型转变。

表 1 拉秧期根际土壤微生物数量

Table 1 The number of microbial number in the late harvest stage rhizosphere soil

处理 Treatments	细菌 Bacteria		真菌 Fungi		放线菌 Actinomycete		细菌/ 真菌	细菌/ 放线菌	放线菌/ 真菌
	/×10 ⁷	/△I%	/×10 ⁴	/△I%	/×10 ⁵	/△I%	Bacteria/fungi	Bacteria/actinomycete	Actinomycete/fungi
细菌 D	0.88a	14.82	0.31c	-54.71	2.82c	5.87	2.87	31.39	91.44
放线菌 317	0.78b	0.73	0.28d	-58.15	2.91b	9.45	2.73	26.64	102.30
木霉菌	0.76b	-1.20	0.56b	-17.65	3.21a	20.58	1.36	23.72	57.27
CK	0.77b		0.68a		2.66d		1.13	28.95	39.12

注:表中 a,b 是在 0.5 水平差异显著。

Note: a, b means significant difference at 0.5 level.

2.4 拉秧期不同处理对根际土壤酶活性的影响

由表 2 可知,与对照相比细菌 D 处理可以使蔗糖酶的活性提高 14.65%,过氧化氢酶的活性提高 2.34%,脲酶的活性提高 78.61%;放线菌 317 处理可以使蔗糖酶的活性提高 8.98%,过氧化氢酶的活性提高 2.69%,脲酶的活性提高 67.11%;木霉菌处理可使蔗糖酶的活性提高 10.77%,过氧化氢酶的活性提高 2.69%,脲酶的活性提高 62.39%;可见单独施入某一种菌可以在一定程度上提高根际土壤酶的活性,其中对蔗糖酶和脲酶的影响比较大,对过氧化氢酶的影响不大,可能与土壤中微生物菌群结构及数量的变化有关。

表 2 拉秧期根际土壤酶活

Table 2 The enzyme activity in the late harvest stage rhizosphere soil

处理 Treatment	蔗糖酶 Invertase activity		过氧化氢酶 Catalase activity/		脲酶 Vrease activity	
	/mg·g ⁻¹	/△E%	mg·g ⁻¹ ·min ⁻¹	/△E%	/mg·g ⁻¹	/△E%
细菌 D	39.06a	14.65	32.34b	2.34	9.52a	78.61
放线菌 317	37.13c	8.98	32.45a	2.69	8.91a	67.11
木霉菌	37.74b	10.77	32.45a	2.69	8.66a	62.39
CK	34.07d		31.60d		5.33d	

3 讨论

黄瓜种植时分别穴施单一生防菌株细菌 D、放线菌 317 和木霉,不同生育时期动态变化结果表明,细菌 D 和放线菌 317 的施入利于细菌和放线菌数量的增加,同时有效控制土壤中真菌数量的增加;木霉菌的施入利于土壤中放线菌数量的增加,利于真菌数量的增加(可能因为木霉在土壤中的大量繁殖)。对照处理自苗期开始土壤中的真菌数量不断的累积,在拉秧期飞跃式增长,此时期细菌和放线菌的数量减少,这可能就是土壤真菌病害在生育后期容易爆发的原因。拉秧期结果表明,细菌 D 和放线菌 317 处理可提高根际土壤中细菌的数量;降低真菌的数量;对放线菌数量的影响不明显。木霉菌处理可明显提高根际土壤放线菌和真菌的数量,对细菌的数量影响不明显。3 种处理细菌与真菌数量比和放线菌与真菌数量比与对照相比均有所增加。

土壤酶作为土壤的组成部分,其活性大小可较敏感地反映土壤中生化反应的方向和强度。土壤脲酶活性与土壤的微生物数量、有机质含量等密切相关。土壤过氧化氢酶活性与土壤呼吸强度和土壤微生物活动相关,是重要的土壤微生态环境指示因子^[15-16],能有效防止过氧化氢的毒害。蔗糖酶不仅能够表征土壤生物学活性强度,也可以作为评价土壤熟化程度和土壤肥力水平的一个指标。黄瓜种植时分别穴施单一生防菌株细菌 D、放线菌 317 和木霉,不同生育时期的动态变化表明,3 个处理对根际土壤中蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶都有促进的作用,在拉秧期各酶活达到最大值,但不同酶活的变化趋势不同;拉秧期结果表明,3 个处理对蔗糖酶和脲酶的影响较大,对过氧化氢酶的影响较小。可能与土壤中微生物数量及种类和土壤中物质成分有关。

设施蔬菜的连作使土壤中有毒有害物质逐渐积累,导致微生物种群数量及结构发生变化,使有益微生物数量降低^[13],病原微生物数量增加^[14],导致土传病害严重。

可见单一生防菌株的施入不仅可以影响根际土壤中微生物的数量,而且可以改变土壤的微生物种群结构,可使黄瓜根际土壤微生物区系向有利于作物生长的细菌型转变,以减少真菌病害发生的可能。同时提高根际土壤的酶活性,从而可改善土壤的结构,增强土壤的肥力,利于土壤的健康发展。但对于其中的机理需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Qin Y, Jin X N, Park H D. Comparison of antioxidant activities in black soybean preparation fermented with various microorganisms [J]. Agricultural Sciences in China, 2010,9(7):1065-1071.
- [2] 宋以星,杨蕊,杨运华,等.芽孢杆菌 B1 对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用[J].河南科技学院学报,2011,39(3):38-41.
- [3] 滕安娜.生防木霉拮抗黄瓜枯萎病菌的初步研究[J].农业科技,2010(1):159-163.

- [4] 郭敏,刘春燕,陈靠山.拟康氏木霉对蔬菜病原真菌的拮抗作用及对番茄灰霉病的防效的初步研究[J].安徽农学通报,2008,14(21):156-15.
- [5] 王光华,周克琴,张秋英,等.拮抗细菌 BRF-1 对几种植物病原真菌的抗生效果[J].中国生物防治,2003,19(2):73-77.
- [6] 段春梅,薛泉宏,赵娟,等.放线菌剂对黄瓜幼苗生长及叶片 PPO 活性的影响[J].西北农业学报,2010,19(9):48-54.
- [7] 陈雪丽,王光华,金剑,等.两株芽孢杆菌对黄瓜和番茄根际土壤微生物群落结构影响[J].生态学杂志,2008,27(11):1895-1900.
- [8] 王茹华,周宝利,张启发,等.嫁接对茄子根际微生物种群数量的影响[J].园艺学报,2005,32(1):124-126.
- [9] Glenn J K, Gold M H. Purification and characterization of an extracellular Mn(II)-dependent peroxidase from the lignin-degrading basidiomycetes, *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Arch Biochem Biophys, 1985, 242: 329-341.
- [10] Maguson M, Craford D L. Comparison of extracellular peroxidase and esterase-deficient mutants of *Streptomyces viridosporus* T7A [J]. Applied Environmental Microbiology, 1992, 58: 1070-1072.
- [11] Dari K, Bechet M, Blondeau R. Isolation of soil streptomyces strains capable of degrading humic acids and analysis of their peroxidase activity[J]. FEMS Microbiol. Ecol, 1995, 16: 115-122.
- [12] Simoes D C M, McNeil D, Kristiansen B, et al. Purification and partial characterization of a 1.57 kDa therm ostable esterase from *Bacillus stearothermophilus* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1997, 147: 151-156.
- [13] Naseby D C, Pascual J A, Lynch J M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities[J]. Appl. Microbiol, 2000, 88: 161-169.
- [14] Ye S F, Bowman D, Shi W. Soil microbial community structure and diversity in a turfgrass chronosequence : Land-use change versus turfgrass management[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 34: 209-218.
- [15] 马云华,王秀峰,魏岷,等.黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J].应用生态学报,2005,16(11):2149-2153.
- [16] Woese C R. Bacterial evolution[J]. Microbiol. Rev. , 1987, 51: 221-271.

(该文作者还有周竟,崔冠慧,段普凡,工作单位同第一作者。)

Effects of Different Biocontrol Agents on Soil Microbial Number and Enzyme Activity in the Cucumber Rhizosphere

YIN Shu-li^{1,2}, MA Yao-hua^{1,2}, ZHANG Li-ping^{1,2}, ZHANG Gen-wei^{1,2}, HUANG Ya-li^{1,2}, LIANG Ran³,
ZHOU Jing^{1,2}, CUI Guan-hui^{1,2}, DUAN Pu-fan^{1,2}

(1. Hebei Academy of Sciences Institute of Biology, Shijiazhuang, Hebei 050081; 2. Main Crops Disease of Microbial Control Engineering Technology Research Center in Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050081; 3. Luquan Tongye Regional Station of Agricultural Technology Extension, Shijiazhuang, Hebei 050200)

Abstract: Pot experiments were carried out to investigate effect of single biocontrol agents (bacteria D, actinomycetes 317, fungi) on soil microbial number and enzyme activity in the different growing stages cucumber rhizosphere. The treatment of bacteria D and actinomycetes 317 could raise the number of bacteria and actinomycetes, decrease the number of fungi; the treatment of fungi could raise the number of actinomycetes and fungi; three agents could raise the activity of Catalase, invertase, urease, the activity was the biggest in the wane period. The results in the wane period showed that the treatments of inoculating D bacteria and 317 actinomycetes could increase the number of bacteria and decrease the number of fungi, but could not effect apparently the number of actinomycetes; the treatment of inoculating *Trichoderma* could increase the number of actinomycetes and fungi, but could not effect apparently the number of bacteria; compared with the control, three treatments of the ratios of bacteria and fungi raised 1~2 times, the ratios of actinomycetes and fungi were increased apparently. Three different treatments could increase Catalase, invertase, urease activity of cucumber rhizosphere soil.

Key words: biocontrol agents; cucumber rhizosphere; soil microbial number; enzyme activity