

DOI:10.11937/bfyy.201624031

AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜枯萎病的防效

姜海燕

(青岛农业大学 学生工作部, 山东 青岛 266109)

摘 要:以西瓜为试材,采用接种法研究了 AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜植株生长的影响及西瓜枯萎病的防治效果。结果表明:单独接种枯草芽孢杆菌或 AM 真菌都可以促进西瓜植株的生长发育,且对西瓜枯萎病有较好的防治效果;摩西球囊霉和枯草芽孢杆菌双接种对植株生长发育最有利,植株干、鲜质量及叶片数均不同程度大于其它处理,此组合对西瓜枯萎病防治效果最好,防效为 82.1%。

关键词:西瓜;AM 真菌;枯草芽孢杆菌;西瓜枯萎菌;防效

中图分类号:S 436.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)24-0124-04

西瓜(*Citrullus lanatus*)是我国的重要瓜类,2014 年我国西瓜种植面积为 185.23 万 hm^2 ,居世界首位,总产量 7 484.3 万 $\text{t}^{[1]}$ 。随着设施栽培西瓜的面积不断增加,连作障碍尤其是西瓜枯萎病日益严重^[2]。西瓜枯萎病是一种对西瓜生产具有毁灭性打击的土传真菌病害,其病原菌为尖孢镰刀菌西瓜专化型真菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM)真菌在提高植物抗病性方面具有积极作用。研究表明,AM 真菌能有效提高西瓜对枯萎病的抗性^[3],减轻西瓜连作障碍^[4],提高西瓜产量,改善品质^[5]。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是一种重要的植物根围生长促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR),生产工艺简单、价格低廉、保质期长、可以长时间发生作用,是一种无污染的绿色防病微生物^[6]。

关于单独接种 AM 真菌或 PGPR 提高植物抗病性的研究已有很多报道,随着研究的深入,人们发现 AM 真菌和 PGPR 双接种比单接种有更大的效益^[7-9],由于 AM 真菌和 PGPR 种类繁多,二者之间的相互影响机制尚不清楚。该研究以西瓜为试材,采用接种法研究接种 AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜生长及枯萎病的影响,以期为其在防治西瓜抗枯萎病上的应用提供理论依据。

作者简介:姜海燕(1971-),女,山东莱阳人,本科,副研究馆员,现主要从事科研及教育管理等工作。E-mail: haiyan@qau.edu.cn.

基金项目:山东省现代农业产业技术体系资助项目(SDAI-05-09)。

收稿日期:2016-10-08

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种“京欣 4 号”由京研益农(北京)科技有限公司提供,将西瓜种子用 75%酒精消毒后,清水浸种 8 h,于 30 °C 下催芽,出芽后播种。

AM 真菌菌剂为青岛农业大学的菌根生物技术研究所提供的摩西球囊霉(*Glomus mosseae*,以下简称 Gm)和地地球囊霉(*Glomus versiforme*,以下简称 Gv),菌种是经三叶草在灭菌沙土中扩繁 4~5 个月后的菌根化根段、土壤中的菌丝体和根围土壤组成的接种混合物,每 100 g 菌剂约含 600 个真菌孢子。

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*,以下简称 B),参照文献方法^[10],把菌株转移到牛肉膏蛋白胨液体培养基上,28 °C 下震荡培养 30 h,细菌悬浮液均稀释至浓度为 $3 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*,以下简称 F),参照文献方法^[10],将尖孢镰刀菌转移至阿姆斯特壮(Armstrong)培养基上,30 °C 下震荡培养 30 h,真菌悬浮液稀释至浓度为 $3 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2 试验方法

试验于 2014 年 4 月 1 日至 5 月 26 日在青岛农业大学日光温室进行,所用土壤为校内田园土与草炭、蛭石混合,其中土:草炭:蛭石=2:2:1(体积比)。基质用高压灭菌锅 121 °C 灭菌 1 h,灭菌后装入用酒精消毒的 16 cm×22 cm 花盆中。试验设不接种的对照(CK)和 11 个处理,分别为 B、F、B+F、Gv、Gv+B、Gv+F、Gv+B+F、Gm、Gm+B、Gm+F、Gm+B+F,随机排列,每个处理 3 次重复。种子发芽后播种,播种前将 5 000 接种势单位(IPU)AM 真菌接种物加入花盆^[11],对照则加入等量

的灭菌混合接种物和接种物滤液,每盆 3 粒。昼温 27~30 ℃、夜温 16~18 ℃,出苗后每盆间苗后留 1 株苗。2014 年 5 月 10 日处理盆分别按设计接种枯草芽孢杆菌和尖孢镰刀菌悬浮液各 5 mL,其它常规管理。

1.3 项目测定

1.3.1 生长指标的测定 2014 年 5 月 26 日,收获西瓜苗,测定各项生长指标。

1.3.2 AM 真菌侵染率的测定 采用酸性品红染色法^[12],在 Olympus 显微镜下观察记录 AM 真菌侵染率:菌根侵染率= $\Sigma(0\% \times \text{根段数} + 10\% \times \text{根段数} + 20\% \times \text{根段数} + \dots + 100\% \times \text{根段数}) / \text{观察总根段数}$ 。

1.3.3 根际土壤 PGPR 数量的测定 取接种枯草芽孢杆菌的 6 个处理(B、B+F、Gv+B、Gv+B+F、Gm+B、Gm+B+F),3 次重复的 18 份土样各 10 g,在超净工作台内将土样倒入 18 个带有无菌水的小锥形瓶中,摇 20 min 后,把各土样分梯度稀释,把 1×10^{-5} 和 1×10^{-6} 浓度的土样接种于牛肉膏蛋白胨培养基上,每个浓度重复 3 次,即 18 土样 \times 2 个浓度 \times 3 次重复,共计 108 个平板,于 30 ℃培养箱中培养 1 d 后观察计数。

1.3.4 植株病情指数的测定 西瓜枯萎病成株期病情分级标准如下:0 级,生长正常;1 级,叶片或茎蔓由下而

上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/4 或 1/4 以下;2 级,叶片或茎蔓由下而上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/4~1/2,茎蔓上有琥珀色胶状物;3 级,叶片或茎蔓由下而上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/2 以上,茎蔓上有琥珀色胶状物,节间变短,下部病茎表面产生白色或粉红色霉层;4 级,全株萎蔫死亡。病情指数= $\Sigma(\text{级数} \times \text{该级数发病株数}) / (\text{总调查株数} \times \text{最高级数}) \times 100$,发病率(%)=发病株数/调查株数 $\times 100$,枯萎病防治效果(%)=(CK 的病情指数-接种处理病情指数)/对照病情指数 $\times 100$ 。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理,采用 DPS 7.05 软件对数据进行 LSD 显著性分析。

2 结果与分析

2.1 AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜生长的影响

由表 1 可知,定植 2 个月,无论接种枯萎病与否,接种 AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜的生长发育有明显的促进作用。Gv 对根长的促进作用显著($P < 0.05$),说明 Gv 能有效提高西瓜地下部的生长发育能力。Gm+B 处理地上部干、鲜质量及叶片数均不同程度地高于其它处理。

表 1

AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜生长量的影响

Table 1

Effect of AM fungi and *Bacillus subtilis* on seedlings growth of watermelon

处理 Treatment	地上部鲜质量 Fresh weight/g	地上部干质量 Dry weight/g	茎粗 Stem diameter/mm	根长 Root length/mm	叶片数 Leaves of per plant
对照 CK	25.5de	3.25ef	4.0fg	16.7ef	10.0de
B	34.4abc	5.10abcd	4.9de	19.6bcde	14.5ab
F	14.3f	2.40f	3.61g	14.7g	8.5e
B+F	30.7bcd	4.40de	4.5ef	17.4def	12.0cd
Gm	29.9cd	4.90abcd	5.5cd	18.2cde	12.5bc
Gm+F	27.8de	4.80cd	4.1fg	16.8def	11.0cd
Gm+B	40.1a	6.50a	6.3ab	21.0bc	16.5a
Gm+B+F	30.4bcd	6.40ab	5.8bc	19.6bcd	12.0cd
Gv	31.7bcd	4.90bcd	5.5bcd	24.0a	12.0cd
Gv+F	27.9de	3.90de	5.1cde	17.7def	11.0cd
Gv+B	38.9a	6.30abc	6.7a	22.2ab	14.5ab
Gv+B+F	36.8ab	5.00abcd	5.5cd	19.0cde	14.5ab

注:同列数字后不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters in columns mean significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 AM 真菌的侵染效果

由图 1 可知,在温室栽培条件下,Gv、Gm 2 种 AM 真菌均能有效侵染西瓜根系,但 Gm 对西瓜根系的侵染能力更强,表明其更容易侵染西瓜根系。接种 Gm+B、Gv+B 组合菌剂处理的 AM 真菌侵染率分别显著高于单接种 Gm、Gv 的处理,接种 Gm+B 处理的 AM 真菌侵染率显著高于其它处理。接种 F 的处理 AM 真菌的侵染率分别显著低于相对应的不接种 F 的各处理。

2.3 根际土壤中枯草芽孢杆菌的定植数量

由图 2 可知,接种 Gv、Gm 2 种 AM 真菌均能显著地增加根际土壤中 PGPR 的数量,说明二者可能与枯草芽孢杆菌存在协同促进作用。而接种 F 后,根际土壤中 PGPR 的数量有一定程度的降低,说明尖孢镰刀菌和枯草芽孢杆菌之间可能存在一定的拮抗作用。在所有处理中,Gm+B 处理的根际土壤 PGPR 的数量最多,说明 Gm 可能对枯草芽孢杆菌有更强的协同作用。

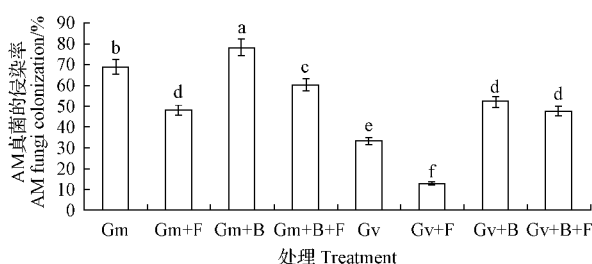


图1 枯草芽孢杆菌和枯萎病菌对AM真菌侵染率的影响

Fig. 1 Effect of *Bacillus subtilis* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* on the colonization percentage of AM fungi

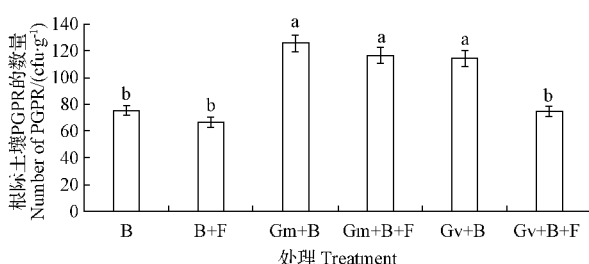


图2 AM真菌和尖孢镰刀菌对根际土壤PGPR数量的影响

Fig. 2 Effect of AM fungi and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* on number of PGPR in the rhizosphere soil

2.4 枯草芽孢杆菌和AM真菌对西瓜枯萎病的影响

由表2可知,无论单独接种B、Gm和Gv还是接种组合菌剂,均能显著降低盆栽西瓜苗枯萎病的发病率和病情指数,说明接种枯草芽孢杆菌和AM真菌能在一定程度上减轻西瓜枯萎病的发生。双接种AM真菌和枯草芽孢杆菌的处理西瓜苗枯萎病的发病率和病情指数低于接种AM真菌和枯草芽孢杆菌的处理,对枯萎病的防效高于单接种处理。其中,Gm+B+F处理的病情指数和发病率最低,分别为11.3和30.60%,对枯萎病的防效为82.1%。说明枯草芽孢杆菌加摩西球囊霉是防治枯萎病的良好菌种。

表2 AM真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜枯萎病的影响

Table 2 Effect of AM fungi and *Bacillus subtilis* on *Fusarium* wilt of watermelon

处理 Treatment	发病率 Disease incidence/%	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect/%
F	100.00a	63.3	—
B+F	66.70b	30.3	52.1
Gm+F	58.70b	33.3	47.4
Gm+B+F	30.60c	11.3	82.1
Gv+F	66.70b	41.7	34.1
Gv+B+F	31.70c	16.7	73.6

3 讨论与结论

试验结果表明,AM真菌和枯草芽孢杆菌均可促进西瓜的生长发育,培育健壮植株,增强植株的抗病能力,降低植株发病率和减弱病情指数。Gm+B组合的AM真菌侵染率和根际土壤PGPR数量都相对高于其它处理,说明此组合条件下,有益微生物之间的相互协同作用更为明显,他们的生长状态也最好。

AM真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜枯萎病有一定的防治作用,其可能的抗病机制为与尖孢镰刀菌在生存空间和营养方面存在一定的竞争作用。从而可以在植物的体内、根际和体表大量繁殖,与病原菌争夺植物体周围的营养,阻止病原菌对植物器官的侵染,进而抑制病原菌的繁殖速度;能够间接诱导植物自身存在的抗病机制,从而抵御病原菌的攻击,减少植物病株数^[13-15]。该研究表明,摩西球囊霉和枯草芽孢杆菌双接种对植株生长发育最有利,对西瓜枯萎病的防治效果最好。因此,在今后西瓜抗病措施的研究中,可以从这方面着手,达到增产和抗病的效果。

参考文献

- [1] 2014年全国各地蔬菜、西瓜、甜瓜、草莓、马铃薯播种面积和产量[J]. 中国蔬菜, 2016(1): 17.
- [2] 寇清荷,梁志怀,王志伟,等. 西瓜枯萎病菌生理小种鉴定与抗病育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 2012(14): 9-17.
- [3] 李敏. AM真菌对西瓜抗枯萎病的效应及其机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [4] 赵萌,李敏,王森焱,等. AM真菌克服作物连作障碍的潜力[J]. 山东科学, 2006, 19(6): 40-44.
- [5] 李敏,王维华,刘润进,等. 大田条件下丛枝菌根菌对西瓜枯萎病的影响[J]. 植物病理学报, 2004, 34(4): 472-473.
- [6] 杨佐忠. 枯草杆菌拮抗体在植物病害生物防治中的应用[J]. 四川林业科技, 2001(9): 41-43.
- [7] 龙伟文,王平,冯新梅,等. 荧光假单胞菌 Pf X16L2 与丛枝菌根真菌 *Glomus mosseae* 在小麦根圈内的相互关系[J]. 土壤学报, 2000, 37(3): 410-417.
- [8] LIU R J, DAI M, WU X, et al. Suppression of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood) on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Mycorrhiza, 2012, 22: 289-296.
- [9] 韩亚楠,刘润进,李敏. AM真菌和PGPR菌剂组合对低温胁迫下黄瓜生长及防御酶活性的影响[J]. 中国蔬菜, 2014(7): 35-39.
- [10] 沈萍,陈向东. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [11] LIU R J, LUO X S. A new method to quantify the inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 1994, 128: 89-92.
- [12] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [13] 刘润进,王洪娟,王森焱,等. 菌根生物技术在城郊生态农业上的应用[J]. 山东科学, 2006, 19(6): 98-101.
- [14] 刘振宇,柳韶华,赵春青,等. 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)对桑炭疽病菌的抑制作用[J]. 蚕业科学, 2005, 31(4): 409-412.
- [15] 穆常青,潘玮,陆庆光,等. 枯草芽孢杆菌对稻瘟病的防治效果评价及机制初探[J]. 中国生物防治, 2006, 22(2): 158-160.

Control Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Bacillus subtilis* on *Fusarium* Wilt of Watermelon

JIANG Haiyan

(Department of Student Affairs, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: In order to explore the control effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and *Bacillus subtilis* on *Fusarium* wilt of watermelon, this study used pot experiment to study whether AM fungi and *Bacillus subtilis* took effects on watermelon plant's growth process and resistance to *Fusarium* wilt when inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON). The results showed that single inoculation of *Bacillus subtilis* or AM fungi could promote watermelon plants growth and had a good effect on resist ance injuring by FON. Dual inoculation of *Glomus mosseae* and *Bacillus subtilis* was the best combination for plant growth including plant fresh weight, dry weight and leaf number, although the difference was not significant. It was also the best combination to increase watermelon plant's resistance to FON, with control effect 82.1%.

Keywords: watermelon; AM fungi; *Bacillus subtilis*; *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; control effect

欢迎订阅 2017 年《北方园艺》

全国自然科学(中文)核心期刊
中国农业核心期刊
全国优秀农业期刊
中国北方优秀期刊
黑龙江省优秀科技期刊
美国化学文摘社(CAS)收录期刊
黑龙江省农家书屋推荐目录
2015、2016年期刊数字影响力100强

主管:黑龙江省农业科学院
主办:黑龙江省园艺学会、黑龙江省农业科学院
刊号:ISSN 1001-0009 CN 23-1247/S
广告经营许可证号:2301070000009
邮发代号:14-150 半月刊 每月 15、30 日出版
单价:15.00 元 全年:360.00 元

全国各地邮局均可订阅 或直接向编辑部汇款订阅

汇集前沿学术成果,传播先进实用技术。本刊内容丰富、栏目新颖、技术实用、信息全面。涵盖园艺学的蔬菜、果树、瓜类、花卉、植保等研究领域的新成果、新技术、新品种、新经验。竭诚欢迎全国各地科研院所人员、大专院校师生,各省、市、县、乡、镇农业技术推广人员、农民科技示范户等踊跃订阅。

现辟有试验研究、研究简报、设施园艺、栽培技术、园林花卉、生物技术、植物保护、贮藏保鲜加工、食用菌、中草药、资源与环境、新品种选育、产业论坛、专题综述、农业经纬、经验交流等栏目。

地址:黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路 368 号《北方园艺》编辑部

邮编:150086 电话:0451-86674276 信箱:bfiybjb@163.com 网址:www.haasep.cn