

抗感枯萎病西瓜根际微生物比较研究

雷娟利 寿伟松 董文其 徐志豪*

(浙江省农业科学院蔬菜研究所 杭州 310021)

摘要: 本文通过传统微生物培养方法,研究了在土培和基质培条件下,抗感枯萎病西瓜不同生育期根际和非根际微生物数量的变化。结果表明,微生物数量在根际显著高于在非根际微生物,且随西瓜生长发育的阶段不同而变化,苗期根际微生物数量最少,以后随西瓜生长发育,根际微生物数量不断增加,至生长旺盛的开花结果期,微生物数量达到最高,在西瓜生长发育后期,根际微生物数量又有所回落。西瓜抗枯萎病性与根际细菌的数量具有相关性,在生长发育各个阶段,无论是土培还是基质培,均表现为抗病材料的根际细菌数量高于感病材料的根际细菌数量。根际真菌与放线菌数量与西瓜的抗感枯萎病性没有相关性。非根际微生物数量在整个生育期变化幅度较小。非根际细菌数量在土培条件下几乎保持在同一水平,在基质培条件下迅速增加,至生长后期有所回落。非根际真菌与放线菌数量在土培和基质培条件下均于生长后期达到最高。

关键词: 西瓜, 枯萎病抗性, 根际微生物, 微生物培养

Comparison of Rhizosphere Microorganisms Between Fusarium Wilt Resistant and Susceptible Watermelon

LEI Juan-Li SHOU Wei-Song DONG Wen-Qi XU Zhi-Hao*

(Institute of Vegetable, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

Abstract: In this paper, the number of rhizosphere and non-rhizosphere microbial organisms of fusarium wilt resistant and susceptible watermelon under soil culture and soilless substrate culture was studied by traditional culture methods. The results showed that, the number of rhizosphere microorganisms was significantly higher than non-rhizosphere, and the number was changed with the stage of watermelon grow, the number was the lowest in seedling stage and increased with the watermelon grow, and achieved highest at the flowering and fruiting stage, decreased with the watermelon ageing. The fusarium wilt resistant of watermelon was correspondence with number of rhizosphere bacteria; the number of rhizosphere bacteria of resistant watermelon was higher than that of susceptible watermelon in each stage under soil culture and soilless culture. The fusarium wilt resistant of watermelon is no correspondence with number of rhizosphere fungi and actinomycete. The number of non-rhizosphere microbial organisms was changed in a small range in the whole growing stage. The non-rhizosphere bacteria have no significant change in the whole stage under soil culture and increased quickly under soilless substrate culture and decreased at the later stage. The non-rhizosphere fungi and actinomycete reached highest at the later stage under soil culture or soilless sub-

strate culture.

Keywords: Watermelon, *Fusarium* resistant, Rhizosphere microbial, Microbial culture

西瓜枯萎病是一种分布较广、危害严重、防治困难的典型土传病害,西瓜枯萎病病原菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*)可在土壤中存活多年,自身也会不断变异而产生新种群,目前还没有十分有效的防治方法来控制该病的危害。根际微生物与植物生长有着密切的关系,对植物生长具有十分重要的作用。一方面微生物群落在土壤生态系统中对营养元素循环、有机物质的形成和分解、土壤肥力的保持和提高、生态环境改善、植物生长发育的调节、作物病虫害防治等方面有着极其重要的作用^[1,2]。另一方面微生物也会对植物生长产生不利的影响,如植物病原物的侵害,某些微生物的代谢产物抑制植物的生长等。根际微生物群落结构与土传病害的发生有一定的内在联系,植物土传病害的发生在一定程度上是根际土壤微生物群体相互作用的结果,土壤环境中的生物多样性是影响土传病害发生的重要因素^[3]。Yoshitaka 等研究发现,在抑病土中番茄根际微生物的多样性要远高于在诱病土中番茄根际微生物的多样性^[4]。采用抗病品种及抗病砧木进行嫁接栽培的方法在生产上已有应用^[5,6]。但是,目前国内外尚未见有关抗、感枯萎病西瓜根际微生物群落结构差异的研究报道。本文采用培养方法,对抗感枯萎病西瓜材料在土壤和基质培条件下根际和非根际微生物群落进行了比较研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

抗病材料为“Calhoun Gray(卡红)”,感病材料为“sugar baby”。

1.2 田间试验

田间实验于 2006 年下半年在浙江省农科设施园艺工程中心试验基地进行。抗病材料和感病材料分别播种于装有炭化稻壳的育苗盘中,待子叶展开后移植于 10 cm × 10 cm 的营养钵中,幼苗长至 3~4 片真叶时进行移栽。抗感材料分别移栽于土壤和基质中各 50 株,基质成分为砻糠灰、腐熟木屑、腐熟猪粪和复合肥等。

1.3 取样方法

移栽后分别于 9 月 5 日、9 月 20 日、10 月 13 日和 11 月 2 日 4 次取样,分别取根际土壤(基质)和

非根际土壤(基质)。根际土壤(基质)的取样方法为,将根系挖出,抖落大土块(基质),收集附着在根系上的土壤(基质)作为根际土壤(基质)。每 6 株西瓜根际土壤(基质)混合为 1 个小样,每个处理取 3 个平行样,分别装入保鲜袋中供测试用;非根际土壤(基质)的取样方法为,土壤表层以下 5 cm~15 cm 去除根系后土壤(基质)作为非根际土壤(基质),6 个不同点土壤基质混合为 1 个小样,每处理 3 个平行样,分别装入保鲜袋中供测试用。

1.4 微生物的培养

细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌培养采用马丁-孟加拉红培养基,放线菌培养采用高氏培养基^[7]。

2 结果与分析

2.1 抗感枯萎病西瓜不同生育期根际与非根际细菌比较

从图 1 可见,在苗期 9 月 5 日第 1 次取样时,在土培和基质培条件下,抗感西瓜根际细菌数量都处于较低的水平,且没有显著差异。而在 9 月 20 日和 10 月 13 日第 2 第 3 次取样时,则抗病西瓜根际细菌数量显著高于感病西瓜。这时西瓜生长处于生长旺盛的成蔓期和开花结果期。根际细菌数量逐渐增加,第 3 次取样时达到最大水平。而在 11 月 2 日第 4 次取样时,根际细菌的数量则有所降低。土培条件下,抗感根际数量差异不显著,而基质培条件下,抗病西瓜根际细菌数量仍高于感病西瓜。

对比图 1 和图 2 可以看出,根际细菌数量显著大于非根际细菌数量。由图 2 可见,土培条件下,抗感西瓜非根际细菌数量差异不显著,整个生育期 4 次取样之间数量变化也不大。在基质培条件下,除 10~13 日的取样外,抗感西瓜非根际细菌数量差异也不显著,但 4 次取样之间数量还是有变化的,随植物的长大,非根际细菌的数量逐渐增加,开花结果期第 3 次取样时达最高,第 4 次取样细菌数量又有所回落,这时西瓜生长处于衰老时期。在基质培条件下,西瓜根系较土培条件发达,在生长旺盛期,根系布满整个基质,因而根系分泌物对非根际的影响要大于土培条件,细菌的数量也随之增加。

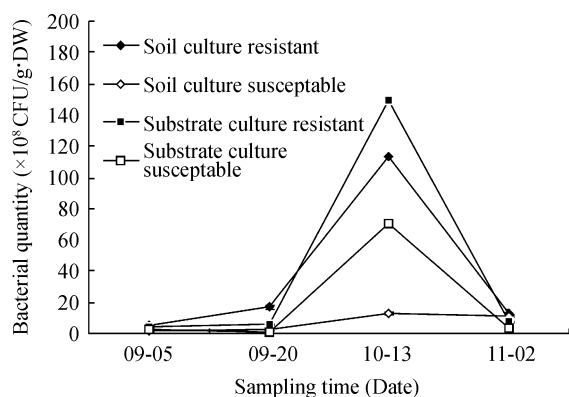


图1 不同生育期抗感枯萎病西瓜根际细菌数量的比较
Fig. 1 Comparison of rhizosphere bacteria quantity between Fusarium wilt resistant and susceptible watermelon

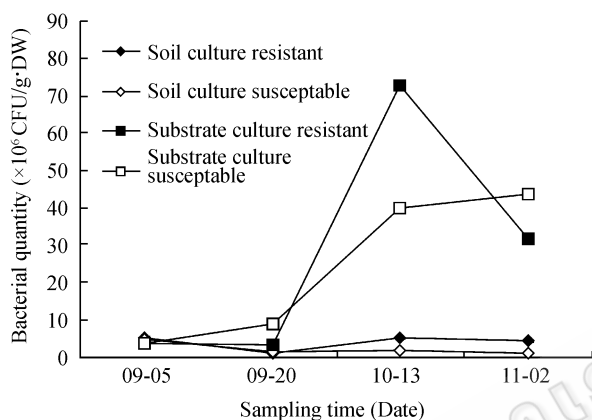


图2 不同生育期抗感枯萎病西瓜非根际细菌数量的比较
Fig. 2 Comparison of bulk bacteria quantity between Fusarium wilt resistant and susceptible watermelon

2.2 抗感枯萎病西瓜不同生育期根际非根际真菌比较

由图3可见,根际真菌数量在第3次取样时达较高,土培第4次取样也保持在较高的水平,而基质培第4次取样则有所回落。土培条件下,第1次与第3次取样,抗病西瓜根际真菌数量都显著高于感病西瓜。而在基质培条件下,仅第3次取样抗病西瓜根际真菌显著高于感病西瓜。另外,土培西瓜根际真菌数量显著高于基质培西瓜。

西瓜根际真菌数量明显高于非根际真菌数量(图3,图4)。土培条件下,非根际真菌数量在第1第2次取样时变化不大,第3、4次取样真菌数量有所增加。基质培条件下,前3次取样真菌数量变化都不大,第4次取样真菌数量有所增加。但无论是土培还是基质培,非根际真菌的数量都与西瓜的抗感枯萎病性没有相关性。

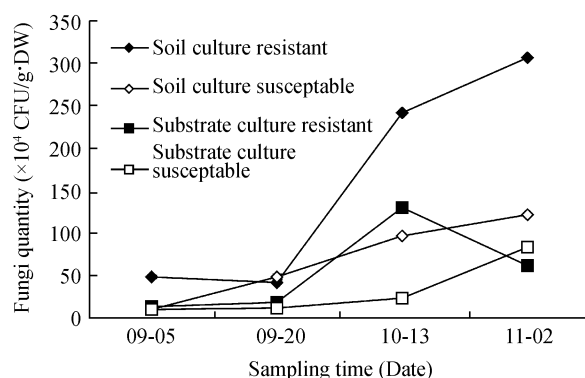


图3 不同生育期抗感枯萎病西瓜根际真菌数量的比较
Fig. 3 Comparison of rhizosphere fungi quantity between Fusarium wilt resistant and susceptible watermelon

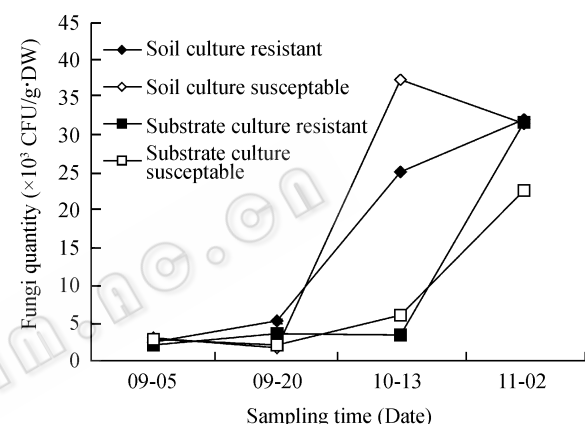


图4 不同生育期抗感枯萎病西瓜非根际真菌数量的比较
Fig. 4 Comparison of bulk fungi quantity between Fusarium wilt resistant and susceptible watermelon

2.3 抗感枯萎病西瓜不同生育期根际非根际放线菌比较

由图5可见,西瓜根际放线菌的数量在苗期第1次取样时很低,而在生长旺盛期第2第3次取样时,则数量大大增加,至最后1次取样时有所回落。抗感枯萎病西瓜根际放线菌数量在第1、第2及第4次取样时,都没有显著差异,只有第3次取样,抗病西瓜根际放线菌数量明显高于感病西瓜。另外土培西瓜根际放线菌数量要高于基质培西瓜。

比较图5和图6可见,西瓜根际放线菌数量大大高于非根际放线菌数量。土培条件下,前3次取样,放线菌数量变化不大,只有第4次取样,放线菌数量有所增加。基质培条件下,从第3次取样开始,放线菌的数量就开始增加,到第4次取样时达最高。整个西瓜生育期,抗感西瓜非根际放线菌数量在土培和基质培条件下均没有显著差异。

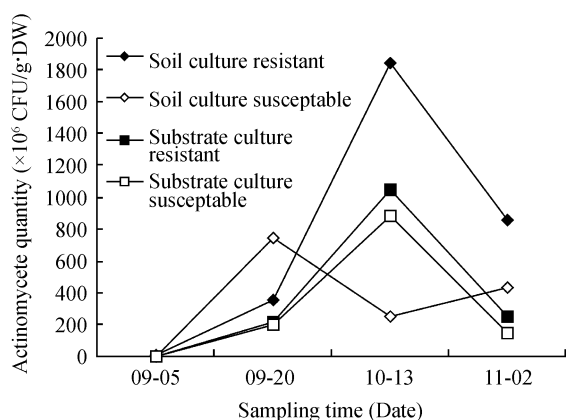


图 5 不同生育期抗感枯萎病西瓜根际放线菌数量的比较
Fig. 5 Comparison of rhizosphere actinomycete quantity between *Fusarium* wilt resistant and susceptible watermelon

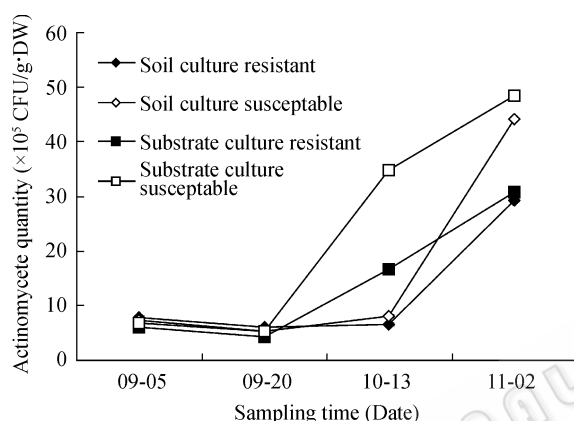


图 6 不同生育期抗感枯萎病西瓜非根际放线菌数量的比较
Fig. 6 Comparison of bulk actinomycete quantity between *Fusarium* wilt resistant and susceptible watermelon

3 讨论

由于根系分泌物的作用, 微生物的数量在根际远高于在非根际^[8]。根际微生物组成要比非根际土壤简单的多, 这与根分泌物的选择压力有关。大多数情况下, 根分泌物对根际微生物的作用是松散的、非特异性的, 主要是促进革兰氏阴性无芽孢杆菌在根际的聚集。根际微生物的变化程度依赖于其与根际的密切程度, 表现为细菌>真菌>放线菌^[9]。在本研究中我们也同样发现, 细菌与西瓜根际的密切程度要大于真菌和放线菌。表现为根际细菌的数量要比非根际细菌至少高 10^2 , 而根际真菌和放线菌仅比非根际真菌和放线菌高至少 10^1 。因此也可以说, 西瓜根系分泌物对细菌的影响程度要高于对真

菌和放线菌。在本论文中, 我们还对基质栽培与土壤栽培的西瓜根际及非根际微生物数量进行了比较研究。结果表明, 非根际细菌数量在土培条件下几乎保持在同一水平, 在基质培条件下缓慢增加, 生长旺盛期达最高, 至生长后期有所回落。而非根际真菌与放线菌数量在土培和基质培条件下均表现为缓慢增加, 于生长后期达到最高。这是因为在基质栽培条件下, 根系在生长旺盛期几乎布满整个基质, 再加上细菌生育期短, 个体相对较小, 对环境变化响应较快的原因, 因此其数量迅速增加^[10], 生长后期由于根系分泌物的减少, 非根际细菌数量随之有所下降。相比之下, 基质中非根际真菌和放线菌的数量则表现为缓慢增加。

研究发现, 连续种植 4~5 年抗病西瓜品种的田块, 对病原菌有相当的抑制能力, 相比之下, 连续种植感病西瓜品种的田块则没有这种能力^[11]。不同抗性茄子、棉花品种根分泌物与枯萎病、黄萎病关系的研究结果显示, 抗病品种根分泌物对病菌的孢子萌发、菌丝生长有一定的抑制作用, 而感病品种根分泌物则能刺激病菌生长^[12-14]。从 15 种蔬菜根际上分离出大量对立枯丝核菌有拮抗作用的微生物表明, 其中细菌最多, 放线菌次之, 真菌最少^[15]。对棉花黄萎病抗性与根际微生物的关系研究表明, 棉花对黄萎病的抗性与根际真菌和放线菌数量呈正相关, 与根际线虫数量呈负相关, 与根际细菌数量无显著相关性, 抗病品种根际微生物多于感病品种, 区系组成更为复杂^[16]。这些研究表明, 抗性品种或者通过根系分泌物直接对病原菌产生影响或者通过改变根际微生物群落结构来间接对病原菌产生影响。本研究发现, 根际细菌数量在整个生育期均与西瓜枯萎病抗性呈正相关, 而根际真菌与放线菌数量在仅在西瓜生长旺盛时期与枯萎病抗性呈正相关。因此, 在实践中, 我们可以选择生长旺盛时来研究根际微生物数量与枯萎病抗性的相关性。

参考文献

- [1] 陈秀蓉, 南志标. 细菌多样性及其在农业生态系统中的作用. 草业科学, 2002, 19(9): 34-38.
- [2] Whipps JM. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52(special issue): 487-511.

- [3] 蔡燕飞, 廖宗文, 董 春, 等. 番茄青枯病的土壤微生物防治研究. 农业环境保护, 2002, **21**(5): 417-420.
- [4] Yoshitaka S, Masaya N, Tomoko O, *et al.* Comparison of bacterial community structures in the rhizosphere of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(9): 3996-4001.
- [5] 邵 阳, 王军荣. 西瓜抗病砧木及其嫁接育苗技术. 西北园艺, 2000, **134**(5): 60.
- [6] 胡繁荣. 不同砧木对西瓜嫁接的影响. 浙江农业科学, 2000, **3**: 135-137.
- [7] 赵 斌, 何绍江. 微生物学实验. 北京: 科学出版社, 2002.
- [8] 王茹华, 张启发, 周宝利, 等. 浅析植物根分泌物与根际微生物的相互作用关系. 土壤通报, 2007, **38**(1): 167-172.
- [9] 李 元, 杨济龙, 王勋陵, 等. 紫外辐射增加对春小麦根际土壤微生物种群数量的影响. 中国环境科学, 1999, **19**(2): 157-160.
- [10] Herndl GJ, Mueller-Niklas G, Frick J. Major role of ultra-violet-B radiation in controlling bacterioplankton growth in the surface layer of the ocean. *Nature*, 1993, **361**(6414): 717-719.
- [11] Larkin RP. Effect of successive watermelon plantings on *Fusarium oxysporum* and other microorganisms in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. *Phytopathology*, 1993, **83**(10): 1097-1104.
- [12] 周宝利, 姜 荷. 不同砧木嫁接茄子抗黄萎病特性及其与根系分泌物关系. 沈阳农业大学学报, 2001, **32**(6): 414-417.
- [13] 刘素萍, 王汝贤, 张 荣, 等. 根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响. 西北农业大学学报, 1998, **12**(6): 30-35.
- [14] 袁虹霞, 李洪连, 王 烨, 等. 棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响. 植物病理学报, 2002, **5**(2): 127-131.
- [15] 周新根, 陈 玫. 根际微生物对蔬菜苗期立枯丝核菌的生物防治作用. 植物保护学报, 1994, **21**(3): 200-214.
- [16] 李洪连, 袁虹霞, 王 烨, 等. 根际微生物多样性与棉花品种对黄萎病抗性关系研究. 根际微生物数量与棉花品种对黄萎病抗性的关系. 植物病理学报, 1998, **28**(4): 341-345.

稿件书写规范

论文中计量单位的表示方法

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定, 计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体), 不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下, 希望作者参照执行。

时间: 日用 d; 小时用 h; 分钟用 min; 秒用 s 等表示。

溶液浓度: 用 mol/L, 不用 M (克分子浓度)和 N(当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度: 用 r/min, 不用 rpm。

蒸汽压力: 用 Pa 或 kPa、MPa 表示。

光密度: 用 OD(斜体)表示。

生物大分子的分子量: 蛋白质用 D 或 kD, 核酸用 bp 或 kb 表示。

图表中数值的物理量和单位: 物理量符号采用斜体, 单位用正体并用括号括起, 例如: $t(h)$ (表示时间, 单位是小时)。带数值的计量单位: 计量单位不能省略, 跟数字之间加一空格(和%除外), 例如: $20\text{ cm} \times 0.3\text{ cm}$, 不能写成 $20 \times 0.3\text{ cm}$; $3 \sim 5$ 不可写成 $3 \sim 5$; $3\% \sim 6\%$ 不可写成 $3 \sim 6\%$ 等。