



研究报告

一株西瓜枯萎病生防菌的鉴定与田间防效

王亚娇 栗秋生 纪莉景 肖颖 孔令晓*

河北省农林科学院植物保护研究所 河北省有害生物综合防治工程技术研究中心 农业农村部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室 河北 保定 071000

摘要:【背景】西瓜枯萎病是由尖孢镰孢菌西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)引起的土传病害,是西瓜最为严重的病害之一。利用拮抗微生物抑制病原菌繁殖,降低其危害程度,已成为西瓜枯萎病防控领域的研究热点。【目的】筛选对西瓜枯萎病病原菌具有拮抗作用的菌株,并探究其抑菌作用,为有效防控西瓜枯萎病提供生防资源。【方法】从西瓜的根围土中分离细菌,采取平板对峙及温室生测的方法筛选生防菌,通过形态学及 *gyrB* 基因序列同源性分析对生防菌株进行鉴定;采用鉴别性培养基测定生防菌的拮抗因子(纤维素酶、蛋白酶、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶);测定生防菌发酵液对西瓜枯萎病菌孢子萌发及菌丝生长的影响;于田间条件下检测该菌株防治西瓜枯萎病的效应。【结果】筛选到了一株对西瓜枯萎病具有防治效果的拮抗菌株 SFJ11,经鉴定该菌株为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。该菌株可以分泌蛋白酶和纤维素酶,其 20% 的发酵液几乎能完全抑制西瓜枯萎病菌菌丝的生长,对孢子萌发的抑制率为 95%,田间防治效果最高可达 78%。【结论】菌株 SFJ11 对西瓜枯萎病具有较强的生防效果,有潜在的应用价值。

关键词: 西瓜枯萎病, 生防菌, 解淀粉芽孢杆菌, 拮抗因子, 生物防治

Identification and field control effect of an antagonistic bacterium against watermelon *Fusarium* wilt

WANG Yajiao LI Qiusheng JI Lijing XIAO Ying KONG Lingxiao*

Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Integrated Pest Management Center of Hebei Province; Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northern Region of North China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Baoding, Hebei 071000, China

Abstract: [Background] Watermelon *Fusarium* wilt is a soil-borne disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, and one of the most serious diseases in watermelon production. Identification of antagonistic microorganisms is necessary to develop biocontrol agents. [Objective] To isolate and identify effective biocontrol strains against watermelon *Fusarium* wilt, and investigate the inhibitory effect, ultimately provide candidates for developing biocontrol agents. [Methods] We isolated bacteria from the rhizosphere soil of watermelon. Antagonistic bacteria were screened by plate confrontation and greenhouse bioassay method. Morphological observation and *gyrB* gene sequence homology analysis were performed

Foundation item: Basic Scientific Research of Operating Expenses of Hebei Province (2018120301)

*Corresponding author: Tel: 86-312-5915196; E-mail: konglingxiao163@163.com

Received: 13-09-2020; Accepted: 19-10-2020; Published online: 24-12-2020

基金项目: 河北省财政基本科研业务费(2018120301)

*通信作者: Tel: 0312-5915196; E-mail: konglingxiao163@163.com

收稿日期: 2020-09-13; 接受日期: 2020-10-19; 网络首发日期: 2020-12-24

to characterize the strains isolated. The antagonistic factors (cellulase, protease, chitinase, β -1,3-glucanase) of antagonistic bacteria were determined by differential medium, and the effects of antagonistic bacteria fermentation liquid on the spore germination and hypha growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* were determined. Finally, the control effect of antagonistic bacteria on watermelon *Fusarium* wilt was determined in the field. **[Results]** An antagonistic strain SFJ11 against watermelon wilt was selected by means of plate confrontation and greenhouse assay. The strain was identified as *Bacillus amylolyticus* by morphological identification and homology analysis of *gyrB* gene sequence which could secrete protease and cellulase. The 20% fermentation broth of antagonistic bacterium SFJ11 could almost completely inhibit the growth of mycelia, and inhibit the germination of 95.44% of spores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. The control effect of SFJ11 on watermelon *Fusarium* wilt was 78% in field experiment. **[Conclusion]** Strain SFJ11 had a notably biological control effect on watermelon *Fusarium* wilt, and it would be a potential biocontrol agent.

Keywords: watermelon *Fusarium* wilt, antagonistic bacteria, *Bacillus amyloliquefaciens*, antagonistic factor, biological control

西瓜枯萎病(Watermelon *Fusarium* wilt)是西瓜的最主要病害之一,其病原菌为尖孢镰孢西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*),经根毛或根部伤口侵入,在维管束导管内繁殖并扩散,产生毒素破坏细胞,堵塞导管影响水分的运输,从而导致植株萎蔫,对西瓜生产造成严重损失,已成为限制西瓜生产的主要因素之一^[1]。近年来,由于单一种植模式土壤带菌的逐年累积和传统化学防治效果受到抗药性的削弱,使得西瓜枯萎病的防治效果越来越困难,发病严重年份可高达 80%以上,甚至绝收^[2]。

目前西瓜枯萎病的主要防治方法有抗病育种、嫁接、土壤消毒、化学防治和生物防治等^[3],但是由于抗病育种所需要的时间比较长,西瓜枯萎病菌分化类型较多,进行多位点抗性育种的难度较大^[4]。20 世纪 80 年代日本选育出抗尖孢镰孢南瓜专化型的南瓜品种‘Ren-shi’作为砧木能够有效地防治西瓜枯萎病,但嫁接的人工成本高,而且砧木会影响西瓜品质^[5];土壤熏蒸能够有效地杀死土壤中的病原菌,但是对人畜毒性高,容易破坏土壤的微生态环境;目前常用的化学药剂有多菌灵、咪鲜胺、恶霉灵等具有见效快、防效高的优点,但也存在对环境污染大、易产生抗性、对人畜不安全等缺点^[6];生物防治是筛选拮抗微生物并利用拮抗微生物抑制病原菌的增殖,从而达到防治的目的。生物

农药具有药效明显、污染程度低等优点,符合可持续发展农业的发展要求,是该病害防治的方向^[7-8]。孙洪宝等研究发现,链霉菌 A02 在温室盆栽条件下对西瓜枯萎病防治效果可达 68.23%,同时其可通过提高净光合速率和植物内源激素含量,提高西瓜对枯萎病的抗性^[9];李丹等筛选了 2 株解淀粉芽孢杆菌 TR2 和 CE,它们在水培管培条件下对西瓜枯萎病的生防效果最高分别可达 60%和 63.6%^[10];张丽荣等筛选到了一株对西瓜枯萎病菌具有抑制作用的木霉菌,其抑菌率可达 83.29%,其产生的挥发性和非挥发性代谢物对病原菌的抑菌率分别为 59.83%和 90.60%^[11]。虽然目前已经筛选到了一些西瓜枯萎病的生防菌,但是这些生防菌在田间的防效研究较少,而且防效稳定性较差,因此需要筛选出防效更好、更稳定的生防菌株,为西瓜枯萎病的生物防治打下基础。

本研究通过平板对峙和温室生测实验从西瓜田间根围土壤样品中分离生防菌,通过形态学及分子生物学手段进行鉴定,并检测其拮抗因子,以期西瓜枯萎病的生物防治提供菌种资源和理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

西瓜枯萎病病原菌尖孢镰孢西瓜专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* F0-7 由本实验室

保存。根围土壤采自河北、河南、山东、福建等地的西瓜田中。“Z”字取样,西瓜植株连根拔起,抖掉携带的大块土,用无菌毛刷刷下根围的土装入密封袋,冰上运回实验室,4℃保存。西瓜种子为京域二号,与当地农资市场购买。

培养基:NA培养基,PDA培养基,LB培养基。培养基配制见参考文献[10]。

基因组DNA提取试剂盒、2×Taq PCR Master Mix聚合酶,天根生化科技(北京)有限公司;80%多菌灵可湿性粉剂,山东海尔三利生物化工有限公司。PCR仪,Applied Biosystems公司;电泳仪、凝胶成像系统,Bio-Rad公司;恒温培养箱,上海博讯生物有限公司;显微镜,奥林巴斯公司。

1.2 生防菌的筛选

1.2.1 生防菌的分离和纯化

采集河北、河南、山东和福建等地田间西瓜枯萎病株根围土壤,称取10g土壤样品与100mL无菌水混合,置于磁力搅拌器上,振荡24h,静止15min,作为 10^{-1} 的土壤悬浮液,并以 10^{-3} 、 10^{-4} 和 10^{-5} 稀释上清液;然后各取100μL上清液涂布于NA培养基平板上,28℃恒温培养1–2d,挑取不同形态的细菌菌落划线纯化,–20℃冰箱保存。

1.2.2 拮抗细菌的室内初步筛选

以尖孢镰孢西瓜专化型作为指示菌株,采用平板对峙法,对纯化保存分离菌株的拮抗能力进行测定。将活化后的西瓜枯萎病病原菌打成6mm菌饼置于PDA培养基的中央,在与指示菌饼相隔4cm的圆周上等距离点接4次拮抗菌,3次重复,25℃下培养,5d后测量抑菌带的宽度^[9]。

1.2.3 西瓜枯萎病的盆栽防效试验

将分离的生防菌分别用LB培养基进行扩繁,并稀释为 10^9 CFU/mL的菌悬液,用于后续盆栽防效试验。

盆栽防效试验于河北农林科学院植物保护研究所温室中进行,温度控制在28–35℃,自然光照。将西瓜种子用75%的酒精表面消毒5min,无菌水清洗3次。将种子种于盛有拌菌土的一次性塑

料杯中(底土110g/杯,含西瓜枯萎病菌孢子悬浮液 5×10^5 个孢子/g的中层菌土45g/杯,表层覆土35g/杯),5颗/杯,生防菌采用灌根处理,每杯灌入30mL稀释10倍的生防菌液,每个处理5个重复,并以清水处理为对照。待对照发病后调查西瓜出苗率、株高及病株率,并计算生防菌的防治效果。防治效果(%)=(对照病株率–处理病株率)/对照病株率 $\times 100$ 。

1.3 生防菌的鉴定

1.3.1 形态学鉴定

将生防菌活化后分别接种于NA斜面、NA平板及NB培养液中,于28℃下培养3d后观察培养性状,同时利用革兰氏染色法确定该菌的细胞壁类型^[12]。

1.3.2 分子学鉴定

采用传统的CTAB法提取生防菌的基因组DNA,利用*gyrB*的特异性引物*gyrB* F (5'-GAAGTCATCATGACCGTTCTGCATGCCGGTGGAAAGTTCG-3')和*gyrB* R (5'-GCAGGGTACGGATGTGCAGCCATCTACGTCAGCGTCAGTCAT-3')进行PCR扩增。PCR反应体系(50μL):模板DNA2μL,上、下游引物(10μmol/L)各2μL,2×PCR Master Mix 25μL,无菌水19μL。PCR反应条件:94℃3min;94℃30s,58℃30s,72℃45s,35个循环;72℃10min^[12]。PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将菌株序列在NCBI网站上进行同源性比较,调取其中与之相似性较高的序列,利用软件ClustalW进行多重匹配排列分析,并构建UPGMA树(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Means)分析进化关系。

1.4 生防菌拮抗因子胞外水解酶活力测定

测定与拮抗作用相关的4种胞外水解酶——几丁质酶^[13]、纤维素酶^[14]、β-1,3-葡聚糖酶和蛋白酶^[15]的活性。取浓度为 10^9 CFU/mL的生防菌菌液2μL接种于4种选择性培养基平板,28℃恒温培养5d,检测胞外酶活性。

1.5 生防菌发酵滤液对西瓜枯萎病菌的抑制作用

向 50 ℃ 左右的 PDA 培养基中加入生防菌的发酵滤液, 制成含滤液浓度为 20%、10%和 5%的 PDA 平板, 以不加发酵滤液(0%)的 PDA 为对照, 将直径为 6 mm 西瓜枯萎病病原菌菌饼分别接种于上述制备的 PDA 平板正中央, 25 ℃ 静置恒温培养 5 d, 观察并记录其菌落直径和菌丝形态。

1.6 生防菌对西瓜枯萎病的田间防治效果

将筛选的生防菌分别用 LB 培养基进行扩繁, 制成浓度为 10⁹ CFU/mL 的生防制剂。生防菌的田间防治试验于 2019 年 3-7 月份在河北省保定市清苑县西瓜枯萎病常发地块及河北省农林科学院植物保护研究所的试验田中进行。伸蔓期采用根部喷雾的方法喷施生防菌制剂, 以清水处理为空白对照, 以 80%多菌灵喷雾(2 000×)处理为化学药剂对照, 同时检测了生防制剂与多菌灵混施的防效。待对照发病后调查枯萎病的病株率及病级, 计算生防菌的防治效果。

西瓜幼苗期枯萎病分级标准: 0 级为茎内维管束正常, 外部无症状; 1 级为茎内维管束 25%以下变色; 3 级为茎内维管束 25%-50%变色; 5 级为茎内维管束 51%-75%变色; 7 级为茎内维管束 75%以上变色, 部分叶片萎蔫; 9 级为整株枯死^[16]。
病情指数=Σ(各级病株数×该病级值)/(调查总株数×最高级值)×100;
相对防效(%)=(对照组病情指数-处理组病情指数)/对照组病情指数×100。

2 结果与分析

2.1 生防菌的筛选

2.1.1 生防菌的初筛

对采集的土壤样品中的细菌进行分离和纯化, 共得到 196 株拮抗细菌。室内平板拮抗实验结果显示, 对指示菌株尖孢镰孢 F0-7 具有一定抑制作用的菌株共有 120 株。其中抑菌带在 1-2 mm 的菌株为 2 株, 抑菌带为 2-4 mm 的菌株共 58 株, 抑菌带为 4-6 mm 的菌株共 49 株, 抑菌带为 6-8 mm

的菌株共 8 株, 抑菌带为 8-10 mm 的菌株共 3 株。

2.1.2 温室生物学测定复筛

选取抑菌带大于 4 mm 的 60 个拮抗菌进行温室盆栽防治试验。通过综合考虑它们对西瓜出苗率、平均株高和对西瓜枯萎病的抑制率等因素, 最终筛选出 10 株细菌。10 株细菌处理后能使西瓜植株出苗齐整、植株生长健壮, 同时又能够有效抑制西瓜枯萎病害的发生。实验结果见表 1, 其中, 菌株 SFJ11 的综合表现最好, 其抑菌半径为 8 mm; 出苗率为 95%, 比对照增加 18.75%; 平均株高为 9.17 cm, 比对照增加 8.33%; 对西瓜枯萎病的防治效果为 67.86%。同时从表 1 可以看出, 生防菌的防治效果和抑菌半径并不成正相关性。

2.2 生防菌的鉴定

2.2.1 形态学鉴定

菌株 SFJ11 经革兰氏染色验证为阳性菌。芽孢形态椭圆至柱状, 位于菌体中部(图 1A)。NA 平板培养时, 初期菌落乳白色, 略呈圆形, 边缘不齐整, 表面湿润, 有较大褶皱; 中期菌落凸起, 脓状; 后期淡黄色, 边缘不齐整, 表面干燥, 有大褶皱(图 1B)。

表 1 拮抗菌株的抑菌作用、防效及对西瓜的促生长作用

Table 1 Inhibition and control effect of antagonistic strain and the promoting effect on the growth of watermelon

菌株 Strains	抑菌半径 Inhibition zone (mm)	防效 Control effect (%)	出苗率 Emergence (%)	平均株高 Height (cm)
SFJ11	8.00±0.01	67.86a	95.0ab	9.17e
SFJ17	5.00±0.01	50.00b	93.7ab	8.43g
SFJ16	4.00±0.01	48.57c	95.0ab	12.00a
SFJ12	5.00±0.01	45.87c	90.0ab	10.40b
SFJ13	4.00±0.01	35.72d	95.0ab	10.25c
SFJ18	8.00±0.01	29.29e	100.0b	8.70f
SFJ1	6.00±0.01	27.78e	95.0ab	9.25e
SFJ3	8.00±0.01	27.78e	95.0ab	8.67f
SFJ15	4.00±0.01	25.57f	90.0ab	9.68d
SFJ30	7.00±0.01	22.86g	95.0ab	9.20e
CK			80.0a	8.45g

注: 同列数据后的不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同
Note: The different letter means significant difference (P<0.05). The same below

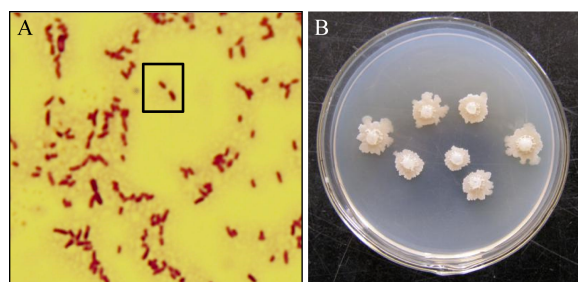


图 1 生防菌 SFJ11 的形态

Figure 1 Morphology of biocontrol agent SFJ11

注: A: 革兰氏染色; B: 单菌落

Note: A: Gram stain; B: Single colony

2.2.2 分子生物学鉴定

提取生防菌株 SFJ11 的基因组 DNA, 经 *gyrB* 特异性引物扩增获取目的片段, 将该序列提交 GenBank, 获得登录号为 MW199838。在 NCBI 网站用 BLAST 进行同源检测, 发现与其亲缘关系相近的菌为解淀粉芽胞杆菌。从菌株 SFJ11 和参考菌株的系统发育(图 2)上分析, 也可以看出 SFJ11 和解淀粉芽胞杆菌构成一个分支。因此, 综合形态学和分子生物学鉴定结果, 可以判断菌株 SFJ11 为解淀粉芽胞杆菌。

2.3 生防菌拮抗因子胞外酶水解活性

通过选择性培养基检测了生防菌胞外酶的活性, 胞外酶活性与培养基上产生的透明圈大小呈正相关。检测结果显示(图 3), 生防菌 SFJ11 在蛋白酶和纤维素酶选择性培养基上能够产生较大的降解圈(图 3A, 3B), 在 β -1,3-葡聚糖酶选择培养基上产生较小的降解圈(图 3C), 在几丁质选择性培养基上则不能产生降解圈(图 3D), 说明 SFJ11 能产生活性较高的蛋白酶和纤维素酶, 产生活性较低的 β -1,3-葡聚糖酶, 不能产生几丁质酶。

2.4 生防菌发酵滤液对西瓜枯萎病菌生长的抑制作用

实验结果(表 2)显示: SFJ11 的发酵上清液对西瓜枯萎病菌的抑制作用较强, 而且随着浓度的增大抑制作用也逐渐变强; 浓度为 5% 和 10% 时抑制率分别为 62.61% 和 88.15%, 浓度为 20% 时的抑制率可达到 90% 以上。同时, 在 400 \times 倍显微镜下观察各浓度上清液对菌丝形态的影响发现(图 4): SFJ11 上清液各个浓度下均能使菌丝发生弯曲变形、末端消解或不规则膨大, 不能产生正常分枝;

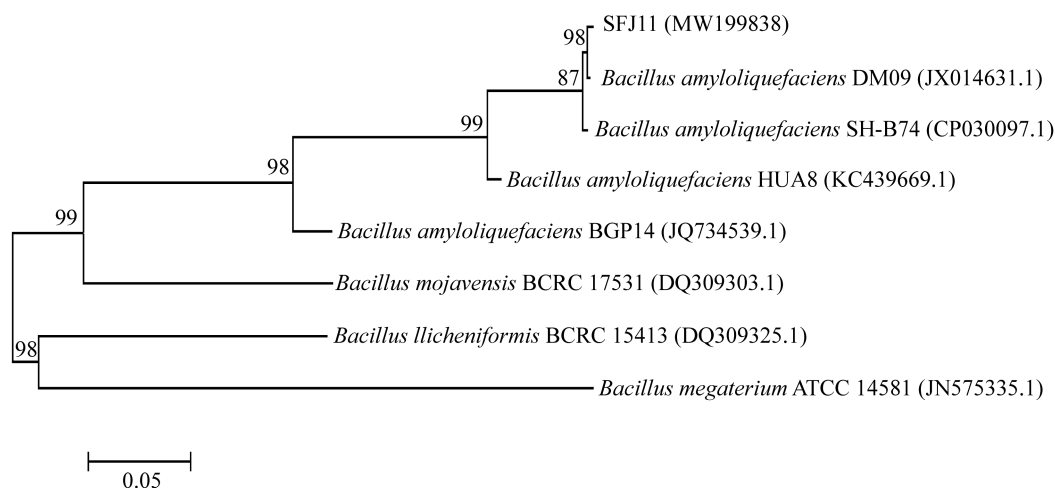


图 2 菌株 SFJ11 的 *gyrB* 基因系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of strain SFJ11 *gyrB* gene

注: 括号内的数字为 GenBank 登录号; 进化树节点的数值表示 Bootstrap 值; 比例尺为 5% 的序列差异

Note: Number in parenthesis represented GenBank accession number; Number at nodes present bootstrap percentages (based on 1 000 sampling); Bar 0.05 represents sequence divergence

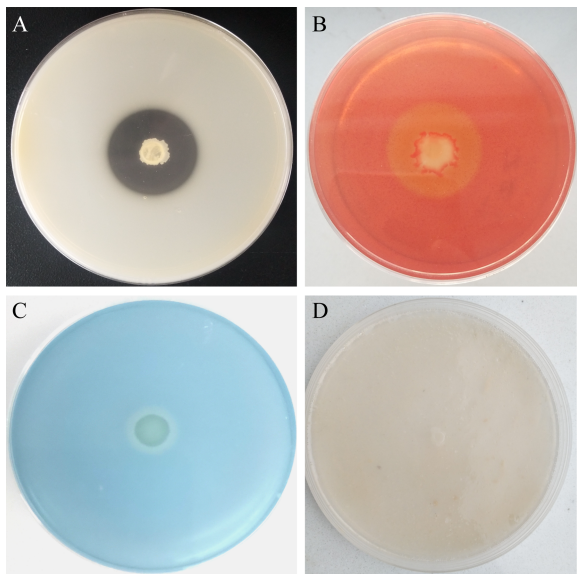


图3 生防菌 SFJ11 拮抗因子的检测
Figure 3 Detection of antagonistic factors of strain SFJ11
注: A: 蛋白酶; B: 纤维素酶; C: β-1,3-葡聚糖酶; D: 几丁质酶
Note: A: Protease; B: Cellulase; C: β-1,3-glucanase; D: Chitinase

表 2 生防菌 SFJ11 滤液对西瓜枯萎病菌生长的抑制作用
Table 2 Inhibitory effect of SFJ11 fermentation filtrate on the growth of *Fusarium oxysporum*

SFJ11 滤液浓度 Concentration of SFJ11 filtrate (%)	菌落直径 Colony diameter (cm)	生长抑制率 Growth inhibition ratio (%)
0 (CK)	5.48±0.41a	
5	2.05±0.13b	62.61c
10	0.65±0.06c	88.15b
20	0.25±0.06d	95.44a

从 5%浓度开始菌丝末端产生消解和膨大现象, 浓度为 10%时消解和膨大的现象更为严重, 浓度为 20%时几乎完全抑制菌丝生长。

2.5 生防菌对西瓜枯萎病的田间防治效果

检测分离到的生防菌 SFJ11 在田间对西瓜枯萎病的防治作用, 结果(表 3)表明生防菌 SFJ11 对西瓜枯萎病有显著的防治作用, 喷施第 25 天时防效为 77.51%, 化学对照药剂 80%多菌灵的防治效

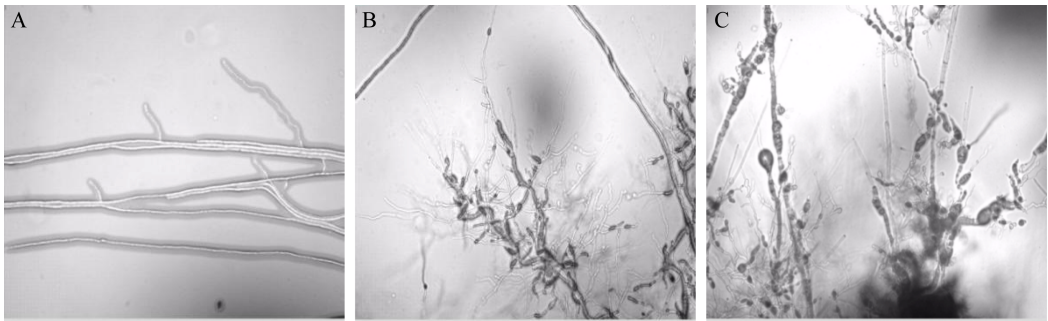


图4 生防菌 SFJ11 发酵滤液对菌丝生长的抑制作用
Figure 4 Inhibitory effect of SFJ11 fermentation filtrate on the growth of mycelia
注: A: 对照; B: 滤液浓度 5%; C: 滤液浓度 10%
Note: A: Control; B: 5% filtrate concentration; C: 10% filtrate concentration

表 3 生防菌 SFJ11 对西瓜枯萎病的田间防治作用
Table 3 Biocontrol effect of SFJ11 on watermelon *Fusarium* wilt in the field

处理 Treatment	25 d		45 d	
	病情指数 Disease index	防效 Control effect (%)	病情指数 Disease index	防效 Control effect (%)
SFJ11	10.62±1.41b	77.51b	15.95±5.41b	55.45b
多菌灵 Carbendazim	13.19±2.11b	72.07b	23.93±3.75b	41.00b
SFJ11+多菌灵 SFJ11+Carbendazim	0c	100a	4.37±1.67c	91.70a
CK	47.22±4.65a		52.65±6.55a	

果为 72.07%，两者无显著性差异；喷施第 45 天时防效降低为 55.45%，但仍然略高于多菌灵的防效；当生防菌 SFJ11 与多菌灵混施时第 25 天的防效为 100%，第 45 天的防效为 91.7%，显著高于生防菌及多菌灵药剂的防效，而且防效比较稳定。

3 讨论与结论

目前室内生防菌筛选通常将较为直观的平板拮抗实验结果作为初步筛选的依据，即选取能够产生较大抑菌圈的菌株用于进一步的温室生物学测定、次生代谢产物的测定等研究。这种方法看似合理，实则在逻辑上已经将产生拮抗圈的大小与菌株的防治能力等同，也就将拮抗作用的本质单一地认定为是拮抗菌株与病原菌二者之间的相互作用，从而忽视了生防菌-病原菌-寄主植物三者之间的微妙的动态互作关系。比如，生防菌对寄主植物的促生作用诱导寄主系统抗性^[17]，改变土壤微生物环境等^[18]。因此，平皿对峙及温室生物学测定实验因为兼顾到上述三者的相互作用，从而能更准确地检验拮抗菌的拮抗能力。本文是通过检测产生不同拮抗圈的菌株在温室生物学测定实验中的出苗率、抑菌率和植株株高 3 个指标，证实了上述结论，即拮抗菌的平板拮抗能力不能简单等同于该菌的生防能力，而温室生物学测定实验中的表现更能体现拮抗菌株通过寄主植物的促生或直接作用于病原菌对病原菌产生的抑制作用。

解淀粉芽孢杆菌被广泛应用于瓜果蔬菜病害的生物防治，如草莓炭疽病和根腐病^[19]、枣黑斑病^[20]、马铃薯茄镰孢菌干腐病^[21]和西瓜枯萎病^[10]等。生防菌在施用过程中时常受到温度、湿度、土壤 pH 值等外界因素的影响，因此防治效果不稳定。如解淀粉芽孢杆菌 CE 对西瓜枯萎病的防效随着时间的延长而逐渐降低，第 3、7、15 天的防效分别为 63.6%、17.7%和 20%。本研究筛选的生防菌 SFJ11 施用的第 25 天对西瓜枯萎病的防效为 77.51%，防效高于生防菌 CE，虽然第 45 天时防效下降至 55.45%，但仍略高于化学药剂多菌灵的

防效，同时我们研究发现，当生防菌与多菌灵混施时对西瓜枯萎病具有更高及更稳定的防治效果。因此针对单一生防菌防效不稳定问题，可以采用多种生防菌混施或生防菌与其他药剂混施的方法提高防效及稳定性。

已有研究表明，生防菌解淀粉芽孢杆菌可以定殖在土壤、植物根际、体表或体内，通过促进植物生长激发植物产生诱导系统抗性，与病原菌竞争营养和侵染空间位点，分泌抗菌物质抑制病原菌的生长和扩展，从而抵御病原菌侵染^[22]。本研究筛选的生防菌 SFJ11 能够促进西瓜的出苗率及株高，分析其原因可能为施用该菌后改善了土壤的微生物生态环境，从而改良了植物的生长环境，或该菌在繁殖过程中产生生长素、细胞分裂素、赤霉素等物质^[19]。本研究同时发现生防菌 SFJ11 能使菌丝发生弯曲变形、末端消解或不规则膨大，这可能与分泌蛋白酶、纤维素酶和几丁质酶相关^[23]。细胞壁 10%的组成成分为蛋白质及糖蛋白构成，蛋白质包括负责细胞壁生长的酶、特定胞外酶和将多糖交联起来的结构蛋白。研究表明，当蛋白酶的浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 时可使真菌的细胞壁降解，菌丝变形^[24]； β -1,3/1,6-葡聚糖是真菌细胞壁的重要组成部分，能够被 β -1,3 葡聚糖酶所降解，从而抑制菌丝的生长^[25]。纤维素酶是多数生防菌株的重要拮抗因子，研究表明纤维素酶在生防菌 *Trichoderma viride* 抑制 *Pythium aphanidermatum* 菌丝生长中发挥重要作用^[26]。

综上，研究表明解淀粉芽孢杆菌对西瓜枯萎病具有明显的防治效果，具有一定生防潜能。后期可进一步对菌株的发酵条件进行优化并分离鉴定抑菌活性产物，同时筛选合适的剂型，增加其稳定性及货架期，为西瓜枯萎病的防治奠定一定的研究基础。

REFERENCES

- [1] Miller NF, Standish JR, Quesada-Ocampo LM. Sensitivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to prothioconazole and pydiflumetofen *in vitro* and efficacy for *Fusarium* wilt

- management in watermelon[J]. Plant Health Progress, 2020, 21(1): 13-18
- [2] Wang CX, Ji LJ, Li QS, Li CC, Kong LX. Study on screening of fungicide and control effect of *Fusarium* wilt in watermelon[J]. Northern Horticulture, 2013(13): 154-157 (in Chinese)
王翠霞, 纪莉景, 栗秋生, 李聪聪, 孔令晓. 西瓜枯萎病药剂筛选及其防效研究[J]. 北方园艺, 2013(13): 154-157
- [3] Zhang ZZ, Lv LX, Huang BQ, Lin YZ. Research progress on the controlling technique of watermelon *Fusarium* wilt[J]. China Vegetables, 2005(7): 38-40 (in Chinese)
张志忠, 吕柳新, 黄碧琦, 林义章. 西瓜枯萎病防治技术研究进展[J]. 中国蔬菜, 2005(7): 38-40
- [4] Xu WH, Zhou Y, Wu FZ. Research progress on *Fusarium* wilt of watermelon[J]. China Vegetables, 2013(8): 4-11 (in Chinese)
徐伟慧, 周岩, 吴凤芝. 西瓜枯萎病的研究进展[J]. 中国蔬菜, 2013(8): 4-11
- [5] Sakata Y, Ohara T, Sugiyama M. The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetables in Japan[J]. Acta Horticulturae, 2007, 731(731): 159-170
- [6] Everts KL, Egel DS, Langston D, Zhou XG. Chemical management of *Fusarium* wilt of watermelon[J]. Crop Protection, 2014, 66: 114-119
- [7] Li HW, Han WL, Wang MY, Luo M, Han J, Gu AX. Screening and identification of antagonistic bacteria *Bacillus pumilus* against cotton *Fusarium* wilt and biocontrol reserach[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(3): 440-448 (in Chinese)
李海薇, 韩万里, 王梦瑶, 罗明, 韩剑, 顾爱星. 棉花枯萎病拮抗短小芽孢杆菌筛选鉴定及生防研究[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(3): 440-448
- [8] Zhang T, Li XY, Yang HM, Chu M, Gao Y, Zeng J, Huo XD, Lin Q, Mathemuti OK, et al. Biocontrol effect and mechanism of four strains of antagonistic bacteria against cotton *Verticillium* wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(6): 882-889 (in Chinese)
张涛, 李雪艳, 杨红梅, 楚敏, 高雁, 曾军, 霍向东, 张涛, 林青, 欧提库尔, 等. 4 株拮抗细菌对棉花黄萎病的防治效果及机制[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(6): 882-889
- [9] Sun HB, Li MY, Wu HL, Guo SG, Zhang J, Ren Y, Zhang HY, Gong GY, Xu Y. Biocontrol and plant growth promoting effects of *Streptomyces* against *Fusarium* wilt in watermelon[J]. Science Technology and Engineering, 2020, 20(13): 5074-5079 (in Chinese)
孙洪宝, 李茂营, 吴慧玲, 郭绍贵, 张洁, 任毅, 张海英, 宫国义, 许勇. 生防菌链霉菌对西瓜枯萎病防治及幼苗生长的影响[J]. 科学技术与工程, 2020, 20(13): 5074-5079
- [10] Li D, Li RM, Qin WY, Zhou Y, Shang QX, Ren ZG, Wei YM, Zhao XY. Control effects and related biocontrol factors detection of two *Bacillus amyloliquefaciens* strains on watermelon *Fusarium* wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(5): 729-737 (in Chinese)
李丹, 李茸梅, 秦伟英, 周宇, 尚巧霞, 任争光, 魏艳敏, 赵晓燕. 两株解淀粉芽孢杆菌对西瓜枯萎病的防治作用及其相关生防因子检测[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 729-737
- [11] Zhang LR, Li P, Kang PZ, Du YN, Chen H. Screening and antagonistic mechanism analysis of *Trichoderma* spp. against *Fusarium* wilt of watermelon in gravel-mulched land[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(5): 75-78,84 (in Chinese)
张丽荣, 李鹏, 康萍芝, 杜玉宁, 陈杭. 压砂西瓜枯萎病生防木霉菌筛选及其拮抗机制研究[J]. 河南农业科学, 2018, 47(5): 75-78,84
- [12] Zhang SQ, Sun LP, Zhao TX, Xu LK, Geng XB, Li YG. Screening and application of bio-control bacterium against corn stalk rot caused by *Fusarium graminearum*[J]. Microbiology China, 2017, 44(10): 2345-2352 (in Chinese)
张思奇, 孙丽萍, 赵同雪, 徐澜坤, 耿肖兵, 李永刚. 玉米茎基腐病生防菌的筛选及应用[J]. 微生物学通报, 2017, 44(10): 2345-2352
- [13] Roberts WK, Selitrennikoff CP. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity[J]. Microbiology, 1988, 134(1): 169-176
- [14] Ghose TK. Measurement of cellulase activities[J]. Pure and Applied Chemistry, 1987, 59(2): 257-268
- [15] Wang F, Lyu S, Liu WQ, Zeng LS, Du CX, Zhou JK, Han XX, Liu JP. Screening of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and analysis of the substances associated with biological control[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2014, 36(6): 1264-1269 (in Chinese)
王芳, 吕顺, 刘文清, 曾莉莎, 杜彩嫻, 周建坤, 韩秀香, 刘建平. 香蕉枯萎病生防菌的筛选及生防物质分析[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(6): 1264-1269
- [16] Martyn RD. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* race 2: a highly aggressive race new to the United States[J]. Plant Disease, 1987, 71(3): 233-236
- [17] Jinal NH, Amaresan N. Evaluation of biocontrol *Bacillus* species on plant growth promotion and systemic-induced resistant potential against bacterial and fungal wilt-causing pathogens[J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(7): 1785-1794
- [18] Ganuza M, Pastor N, Boccolini M, Erazo J, Palacios S, Oddino C, Reynoso MM, Rovera M, Torres AM. Evaluating the impact of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 on indigenous microbial communities from field soils[J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 126(2): 608-623

- [19] Qiu G, Zhang XF, Li JW, Fu Z, Lu F. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* B1619 on growth of strawberry seedlings[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(4): 98-100 (in Chinese)
邱光, 张新风, 李建伟, 符泽, 陆凡. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 对草莓保苗促生效果[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 98-100
- [20] Zhang XH, Li HM, Li QS. Bio-control efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* ZJ01 against *Alternaria alternata* in Chinese jujube[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(13): 137-139 (in Chinese)
张献辉, 李红敏, 李全胜. 解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 及其复配制剂对枣黑斑病的防治效果[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(13): 137-139
- [21] Liu ZH, Hao RR, Xu YF, Yang CD, Zhang JL. Screening, identification and biocontrol effect of microbial antagonist against *Fusarium solani* causing potato dry rot[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(7): 1105-1111 (in Chinese)
刘治会, 郝蓉蓉, 许永锋, 杨成德, 张俊莲. 马铃薯茄镰孢菌干腐病生防菌株的筛选、鉴定及其防效[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(7): 1105-1111
- [22] Chen NN, Qin PW, Yin JY, Wang Y, Shi TR, Liu Y, Mo Y. Progress in research on antibacterial mechanisms of *Bacillus amylolyticus*[J]. Chinese Journal of Microecology, 2018, 30(12): 1464-1469 (in Chinese)
陈楠楠, 秦平伟, 尹珺伊, 王岩, 史同瑞, 刘宇, 莫岩. 解淀粉芽孢杆菌抗菌机制研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(12): 1464-1469
- [23] Chen G, Zhang Y, Li J, Dunphy GB, Punja ZK, Webster JM. Chitinase activity of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* species, bacterial associates of entomopathogenic nematodes[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1996, 68(2): 101-108
- [24] Pliego C, Ramos C, De Vicente A, Cazorla FM. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens[J]. Plant and Soil, 2011, 340(1/2): 505-520
- [25] Cherkupally R, Amballa H, Bhoomi NR. *In vitro* screening for enzymatic activity of *Trichoderma* species for biocontrol potential[J]. Annals of Plant Sciences, 2017, 6(11): 1784
- [26] Maheswari NU, Sirchabai TP. Effect of *Trichoderma* species on *Pythium aphanidermatum* causing rhizome rot of turmeric[J]. Biosciences Biotechnology Research Asia, 2011, 8(2): 723-728