

3株放线菌对甜瓜幼苗的促生与抗性诱导作用

赵娟^a, 杜军志^b, 薛泉宏^c, 段春梅^c, 王玲娜^a, 申光辉^a, 陈秦^c, 薛磊^a

(西北农林科技大学 a. 生命科学学院, b. 园艺学院, c. 资源环境学院, 陕西杨凌 712100)

[摘要] 【目的】研究3株生防放线菌Act1、Act11和Act12对甜瓜枯萎菌(TF)和西瓜枯萎菌的拮抗性,及其对甜瓜幼苗的促生作用和叶片多酚氧化酶(PPO)活性的诱导作用,为防治西甜瓜枯萎病提供高效生防放线菌。【方法】通过琼脂块法和无菌发酵滤液试验,研究了3株放线菌对TF和西瓜枯萎菌的拮抗性及其无菌发酵滤液对甜瓜种子胚轴、胚根生长的影响;通过盆栽试验,研究了3株放线菌对甜瓜幼苗叶绿素相对含量、甜瓜根系质量和根系活力的影响以及对甜瓜叶片PPO活性的诱导作用。【结果】①供试放线菌对TF和西瓜枯萎菌的拮抗圈直径均超过17 mm,其无菌发酵滤液对TF和西瓜枯萎菌的抑菌率为2.65%~65.27%,且能促进甜瓜胚轴、胚根生长,提高甜瓜种子活力。②放线菌Act1、Act11和Act12以1.5 g/kg的接种量与TF混接,甜瓜幼苗叶绿素相对含量较单接TF分别增加了17.57%、13.54%和11.59%,差异显著($P<0.05$);放线菌Act11以1.5 g/kg接种量与TF混接,甜瓜幼苗根系质量较单接TF处理增加了53.33%;放线菌Act1和Act12以2.0 g/kg接种量与TF混接,甜瓜幼苗根系活力较单接TF分别增加了416.67%和166.67%,差异达极显著水平($P<0.01$)。③放线菌Act11、Act12以1.5 g/kg接种量与TF混接,甜瓜幼苗叶片PPO活性较单接TF分别增加了45.06%、50.20%。【结论】3株生防放线菌对TF和西瓜枯萎菌均具有较强的拮抗性,在一定接种量下,对甜瓜幼苗具有促生和提高诱导抗性的作用,此作用在放线菌与TF混接时表现更为明显。

[关键词] 放线菌; 促生作用; 诱导抗性; 甜瓜; 枯萎病

[中图分类号] S436.42

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)02-0109-08

The growth-promoting effect and resistance induction of 3 antagonistic actinomycetes on *Cucumis melo* L.

ZHAO Juan^a, DU Jun-zhi^b, XUE Quan-hong^c, DUAN Chun-mei^c, WANG Ling-na^a, SHEN Guang-hui^a, CHEN Qin^c, XUE Lei^a

(a. College of Life Science, b. College of Horticulture, c. College of Resources Environment,

Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】In this research, the effects of 3 actinomycetes on the plant growth and the induced PPO activity of *Cucumis melo* L. were investigated in order to acquire effective Fusarium wilt biocontrol actinomycetes. 【Method】The antagonism and seed growth-promoting effect were evaluated by both agar block and axenic fermentation extract experiments. The effects of the 3 antagonistic strains on the chlorophyll relative content, root weight and root activity of *Cucumis melo* L. seedling and their induced resistance to *Cucumis melo* L. were assessed by pot culture experiments. 【Result】①The 3 tested strains had obvious antagonism to *Fusarium equiseti* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, with the diameters of inhibitory zones all exceeding 17 mm. The inhibitory rates of 3 axenic fermentation extracts on *Fusarium* sp. were from 2.65%~65.27%. The fermentation extracts also showed growth promoting effect on *Cucumis melo*

* [收稿日期] 2009-07-31

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30630054); 阎良甜瓜基地甜瓜连作障碍微生物修复技术示范推广专项

[作者简介] 赵娟(1985—),女,陕西临潼人,在读硕士,主要从事微生物资源利用研究。E-mail: zhaojuan850309@yahoo.com.cn

[通信作者] 薛泉宏(1957—),男,陕西白水人,教授,主要从事微生物生态与资源利用研究。E-mail: xuequanhong@nwsuaf.edu.cn

L. seed; ② The chlorophyll relative content increased obviously by 17.57%, 13.54% and 11.59% ($P < 0.05$) when the 3 tested strains with their concentrations reaching 1.5 g/kg were inoculated with *Fusarium equiseti*; The weight of the roots obviously increased by 53.33% after the inoculation of Act11 at the concentration of 1.5 g/kg with *Fusarium equiseti*; The root activity increased obviously by 416.67%, 166.67% ($P < 0.01$) after the inoculation of Act1, Act12 separately with *Fusarium equiseti* when their concentrations reached 2.0 g/kg; ③ The PPO activity increased significantly by 45.06%, 50.20% when Act11, Act12 were inoculated separately with *Fusarium equiseti* when the biocontrol agents were at the concentration of 1.5 g/kg. 【Conclusion】 The results indicated that the 3 actinomyce strains had obvious antagonism effects on *Fusarium equiseti* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; The 3 strains also showed positive effects on the growth and induced resistance of *Cucumis melo* L. These effects were more obvious when the 3 strains were inoculated with *Fusarium equiseti*.

Key words: actinomyce; growth-promoting effect; induced resistance; *Cucumis melo* L.; *Fusarium* wilt

西甜瓜枯萎病是引起瓜类作物连作障碍的一种主要土传病害,严重时可导致减产甚至绝收。化学农药对西甜瓜枯萎病的防治效果欠佳,且具有污染环境、破坏微生态和产生抗药性等负面影响,因此研制新的生物防治菌剂是西甜瓜土传病害防治中亟待解决的问题。目前,国内外关于瓜类枯萎病生物防治的研究主要集中在西瓜^[1-3]和黄瓜^[4-5]上,在甜瓜上仅见个别报道,且主要是利用生防真菌和细菌进行生物防治。Ashrafizadeh 等^[6]研究了 5 株木霉菌对甜瓜枯萎病的生防作用,发现粘绿木霉 DAR74290 能够在体外完全抑制枯萎菌的生长。王瑞菊等^[7]从土壤中分离并筛选出 4 株对甜瓜枯萎病有稳定拮抗作用的生防细菌,其中芽孢杆菌 Y1 对枯萎病的防治效果达 75.32%。潘争艳等^[8]筛选出 2 株对黄瓜枯萎病和番茄灰霉病具有良好抑菌作用的放线菌Ⅲ-61 和 A-21,其无菌发酵滤液 4 倍稀释液对黄瓜枯萎病的温室盆栽防效分别为 65.15% 和 60.61%。隋丽等^[9]研究发现,放线菌 769 的发酵液能够抑制水稻过氧化氢酶活性,提高过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶活性,表明该菌株对水稻具有诱导抗性。目前,尚未见有关放线菌活菌制剂防治甜瓜枯萎病及其促生作用的研究报道。本试验采用皿内试验和盆栽试验相结合的方法,研究了 3 株生防放线菌固态发酵制剂对甜瓜枯萎病的防病促生作用及对甜瓜多酚氧化酶(PPO)活性的诱导作用,以期为克服由枯萎病引起的甜瓜连作障碍提供高效生防放线菌。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌株 甜瓜枯萎菌(*Fusarium equiseti*, TF)分离自新疆伽师县伽师甜瓜发病植株,通过

形态特征观察和 ITS 序列分析鉴定为木贼镰刀菌(*Fusarium equiseti*);西瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*),由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室提供。

供试放线菌为西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室采用皿内拮抗和生物试验,从分离自青藏高原的 5 000 余株拮抗性放线菌中,筛选得到的广谱性拮抗放线菌,编号为 Act1、Act11 和 Act12,经 16S rDNA 序列分析鉴定,其分别为加州链霉菌(*Streptomyces californicus*)、肉质链霉菌(*Streptomyces carnosus*)和密螺旋链霉菌(*Streptomyces pactum*)。盆栽试验生防菌剂由 Act1、Act11 和 Act12 3 种放线菌经固态发酵得到,放线菌含量分别为 4.2×10^9 , 4.5×10^{10} 及 2.6×10^{11} CFU/g。

1.1.2 培养基^[10] PDA 培养基,病原菌活化、培养用;高氏 1 号培养基,放线菌活化、拮抗性琼脂块制备用;高氏 1 号液体培养基,放线菌发酵液制备用。
1.1.3 供试甜瓜 供试甜瓜品种“玉满堂”由陕西杨凌千普公司提供。

1.2 方 法

1.2.1 生防放线菌无菌发酵滤液的制备 用竹签挑取适量用高氏 1 号斜面活化好的 3 株生防放线菌,分别接种到装有 100 mL 高氏 1 号液体培养基的 300 mL 三角瓶中,28 °C、150 r/min 摆床振荡培养 8 d。发酵液经真空抽滤后,用 0.45 μm 灭菌微孔滤膜过滤除菌,得无菌发酵滤液。

1.2.2 生防放线菌对枯萎菌的皿内拮抗作用 将制备好的 TF 和西瓜枯萎菌悬液均匀涂布于 PDA 平板上,用直径 7 mm 打孔器切取已培养好的放线菌琼脂块,置 PDA 平板上,28 °C 培养 3 d,十字交叉法测量拮抗圈直径,观察抑制程度。

1.2.3 生防放线菌无菌发酵滤液对枯萎菌的抑制作用 将无菌发酵滤液与冷却至50℃左右的PDA培养基按体积比1:5混合倒入平板,以高氏1号培养基无菌滤液为对照,用7 mm打孔器分别切取培养好的TF和西瓜枯萎菌菌饼,放在培养基平板中央,每个处理设3个重复,28℃培养,分别于48,72,96 h时,用十字交叉法测量菌落直径(mm),结果取平均值,并计算相应的抑菌率:

$$\text{抑菌率} = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / \text{对照菌落直径} \times 100\%.$$

1.2.4 生防放线菌无菌发酵滤液对甜瓜种子胚轴、胚根生长的影响 挑选饱满的甜瓜种子,用清水冲洗3次后放入培养皿中,每皿20粒,分别用无菌水(对照)和3株生防放线菌无菌发酵滤液0(原液),10,50和100倍稀释液于28℃遮光浸种24 h。弃去浸液,清水冲洗种子,放入装有无菌水浸润滤纸的培养皿中,28℃恒温培养48 h后统计发芽数,培养96 h后测量胚轴、胚根长度,求平均值。采用以下公式计算甜瓜种子简明活力指数^[11]和胚轴、胚根长度增幅。

$$\text{简明活力指数} = \text{发芽率}(\%) \times \text{胚根长度}(mm),$$

$$\text{胚轴/胚根长度增幅} = \frac{L_t - L_{ck}}{L_{ck}} \times 100\%.$$

式中: L_t 为处理胚轴、胚根长度(mm), L_{ck} 为对照胚轴、胚根长度(mm)。

1.2.5 生防放线菌对甜瓜幼苗的促生作用及叶片PPO活性的诱导作用 盆钵土的准备:取大田耕层土,去除石子和草根后过1 cm筛,添加有机肥(15 g/kg)、尿素(0.25 g/kg)、磷肥(0.50 g/kg)后充分混匀,每盆装土1.3 kg。

TF孢子的制备:将PDA平板上培养好的TF孢子用10 mL无菌水洗下,血球计数板计数。将孢

子悬液与适量泥炭粉混匀,使泥炭粉中病原菌孢子含量为 10^6 CFU/g。取适量含有病原菌孢子的泥炭粉与盆钵土混匀,使盆钵土中有效TF孢子含量为 10^2 CFU/g。

盆栽试验设以下处理:空白对照、生防放线菌单接、TF单接、生防放线菌与TF混接,生防放线菌单接或与TF混接,生防放线菌接种量均设1.0,1.5,2.0 g/kg 3个梯度,TF接种量为 10^2 CFU/g。

甜瓜播种后按生产常规进行水肥管理,于2~3片真叶期,采用Chlorophyll meter SPAD-502型叶绿素仪检测顶数第2片真叶叶绿素相对含量;于4~5片真叶期,统计甜瓜幼苗根系质量,测定甜瓜根系活力^[12]及叶片PPO活性^[13]。按下式分别计算单接处理和混接处理各项指标的增幅。

$$\Delta CK = (\text{生防放线菌单接处理} - \text{空白对照}) / \text{空白对照} \times 100\%,$$

$$\Delta TF = (\text{生防放线菌与TF混接处理} - \text{TF单接处理}) / \text{TF单接处理} \times 100\%.$$

式中: ΔCK 为生防放线菌单接各项指标较空白对照的增幅, ΔTF 为生防放线菌与TF混接各项指标较TF单接的增幅。

1.2.6 数据处理 试验结果均用“平均值±标准差”表示,所有数据均采用SAS软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生防放线菌对枯萎菌的皿内拮抗作用

由表1可知,3株生防放线菌对TF和西瓜枯萎菌的皿内拮抗圈直径均大于17 mm,其中放线菌Act11对TF的拮抗效果最好,拮抗圈直径达到24.33 mm;Act1对西瓜枯萎菌的拮抗效果最好,拮抗圈直径达到18.67 mm。放线菌Act11和Act12产生的拮抗圈透明度较Act1高。

表1 3株生防放线菌对TF和西瓜枯萎菌的皿内拮抗作用

Table 1 The inhibitory effect of 3 antagonistic actinomycetes on *Fusarium* sp. in petri dish

生防放线菌 Biocontrol actinomycete	TF		西瓜枯萎菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	
	拮抗圈直径/mm Diameter	抑制程度 Inhibitory degree	拮抗圈直径/mm Diameter	抑制程度 Inhibitory degree
Act1	18.17±0.62	+	18.67±1.03	+
Act11	24.33±0.85	++	17.10±0.29	++
Act12	20.50±1.22	++	18.43±0.90	++

注:++、+分别表示拮抗圈完全透明、半透明。

Note: ++, + indicate complete transparent, semi transparent respectively.

2.2 生防放线菌无菌发酵滤液对枯萎菌的抑菌作用

从表2可以看出,Act1、Act11和Act12对TF

菌丝生长均有较强的抑制作用,且以培养72 h的抑菌率最高,分别为47.38%,65.27%和63.99%;对西瓜枯萎菌也有较强的抑制作用,Act12在培养72

h时对西瓜枯萎菌的抑菌率最高,为35.77%;3株生防放线菌对TF和西瓜枯萎菌的抑菌率与对照相

比差异均达极显著水平($P<0.01$)。

表2 3株生防放线菌无菌发酵滤液对TF和西瓜枯萎菌的抑菌率

Table 2 The inhibitory rates of axenic fermentation extracts of 3 antagonistic actinomycetes to *Fusarium* sp. %

生防放线菌 Bioccontrol actinomyce	TF			西瓜枯萎菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
CK	0 C	0 C	0 C	0 B	0 C	0 C
Act1	46.33±3.18 B	47.38±0.32 B	38.68±3.51 B	2.65±7.43 B	6.32±2.99 B	6.57±2.22 B
Act11	60.65±1.24 A	65.27±2.47 A	60.32±3.51 A	34.23±6.08 A	33.98±3.03 A	30.35±0.96 A
Act12	61.70±3.07 A	63.99±1.20 A	60.32±3.51 A	30.20±1.43 A	35.77±1.35 A	30.35±0.96 A

注:同列数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。表5,6同。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.01$). The same as table 5,6.

2.3 生防放线菌无菌发酵滤液对甜瓜种子胚轴、胚根生长和简明活力指数的影响

从表3可以看出,不同稀释倍数下,用Act1无菌发酵滤液处理甜瓜种子,其胚轴、胚根长度和根系简明活力指数分别较对照增加了3.98%~15.48%,8.81%~14.15%和4.58%~10.32%;用Act11无菌发酵滤液的10,50和100倍稀释液处理

甜瓜种子,其胚轴长度较对照增加了11.60%~29.55%,胚根增加了9.18%~17.22%;Act12无菌发酵滤液原液及10和50倍稀释液均能有效地促进甜瓜胚轴、胚根的生长,提高根系简明活力指数,其中10倍稀释液处理的甜瓜胚轴、胚根长度较对照增加明显,增幅分别为18.87%和18.05%。

表3 3株生防放线菌无菌发酵滤液对甜瓜种子胚轴、胚根生长和简明活力指数的影响

Table 3 The effects of 3 axenic fermentation extract dilutions on the growth and simple vigour index of *Cucumis melo* L. seeds

生防放线菌 Bioccontrol actinomyce	稀释倍数 Dilution times	胚轴 Hypocotyl		胚根 Radicle		简明活力指数 Simple vigour index	
		长度/mm Length	增幅/% ΔCK	长度/mm Length	增幅/% ΔCK	数值 Value	增幅/% ΔCK
CK	—	42.18±3.05 bcd	—	70.88±6.62 cd	—	70.88±6.62 cd	—
Act1	0	45.21±0.76 bcd	7.17	80.91±0.72 a	14.15	78.20±3.52 a	10.32
	10	48.71±5.61 abc	15.48	78.90±7.06 ab	11.31	74.13±12.88 abc	4.58
	50	43.86±1.68 bcd	3.98	78.04±6.81 abc	10.10	78.04±6.81 a	10.10
	100	47.30±2.58 abcd	12.13	77.13±6.82 abc	8.81	77.13±6.82 a	8.81
Act11	0	38.98±6.84 d	-7.61	65.52±2.19 d	-7.56	63.40±4.66 f	-10.56
	10	47.08±0.83 abcd	11.60	77.68±7.08 abc	9.58	69.20±1.40 de	-2.37
	50	54.65±2.84 a	29.55	83.09±6.74 a	17.22	77.86±10.41 a	9.85
	100	48.15±6.41 abc	14.14	77.39±8.49 abc	9.18	74.95±11.71 abc	5.74
Act12	0	45.47±1.42 bcd	7.78	76.93±1.89 abc	8.54	76.93±1.89 a	8.54
	10	50.14±1.87 ab	18.87	83.68±10.07 a	18.05	72.17±6.49 bcd	1.82
	50	45.30±4.41 bcd	7.39	78.35±3.39 abc	10.54	75.73±4.91 ab	6.84
	100	40.19±4.26 cd	-4.74	73.15±1.22 bc	3.20	65.83±1.10 ef	-7.12

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。表4同。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$). The same as table 4.

2.4 生防放线菌对甜瓜幼苗的促生作用

2.4.1 对甜瓜幼苗叶绿素相对含量的影响 3株生防放线菌不同接种量处理的甜瓜幼苗叶绿素相对含量见表4。由表4可知,3株生防放线菌以不同接种量与TF混接,均能提高甜瓜幼苗叶绿素相对含量。在接种量为1.5 g/kg时,放线菌Act1和Act11单接处理甜瓜幼苗叶绿素相对含量分别较对照增加了4.69%和3.25%;与TF混接处理叶绿素相对含

量分别较单接TF增加了17.57%和13.54%($P<0.05$),且在3个接种量处理中增幅最大。生防放线菌Act12以1.0 g/kg接种量单接时,甜瓜幼苗叶绿素相对含量较对照增加了1.72%;以2.0 g/kg接种量与TF混接时,甜瓜幼苗叶绿素相对含量较单接TF增加了11.82%,差异达显著水平($P<0.05$)。说明,接种适宜量的生防放线菌,特别是与TF混接能够有效增加甜瓜幼苗的叶绿素相对含量。

表4 3株生防放线菌不同接种量处理的甜瓜幼苗叶绿素相对含量

Table 4 Chlorophyll relative content of *Cucumis melo* L. after different treatments of 3 biocontrol actinomycetes inoculum

接种物 Inoculation agent	接种量/(g·kg ⁻¹) Concen- tration	叶绿素 Chlorophyll		接种物 Inoculation agent	接种量/(g·kg ⁻¹) Concen- tration	叶绿素 Chlorophyll	
		相对含量 Relative content	增幅/% ΔCK			相对含量 Relative content	增幅/% ΔTF
CK	—	27.96±1.20 ab	—	TF	—	25.55±2.87 c	—
Act1	1.0	26.14±2.05 b	-6.51	TF+Act1	1.0	26.55±0.93 bc	3.91
	1.5	29.27±2.31 a	4.69		1.5	30.04±1.57 a	17.57
	2.0	27.65±0.88 ab	-1.11		2.0	28.17±1.00 abc	10.25
Act11	1.0	27.38±3.03 ab	-2.07	TF+Act11	1.0	26.51±1.92 bc	3.76
	1.5	28.87±1.01 ab	3.25		1.5	29.01±1.51 ab	13.54
	2.0	28.49±1.07 ab	1.90		2.0	28.17±2.13 abc	10.25
Act12	1.0	28.44±1.52 ab	1.72	TF+Act12	1.0	28.21±2.24 abc	10.41
	1.5	27.92±0.81 ab	-0.14		1.5	28.51±1.14 ab	11.59
	2.0	27.02±1.02 ab	-3.36		2.0	28.57±0.72 ab	11.82

2.4.2 对甜瓜幼苗根系质量和活力的影响 由表5可知,生防放线菌Act11单接时,随着接种量的增加,甜瓜根系质量较对照增加的幅度逐渐降低,分别为32.76%,6.90%和-1.72%;与TF混接时,根系质量较单接TF处理极显著增大($P<0.01$),在接种量为1.5 g/kg时,甜瓜根系质量较单接TF增加了

53.33%。生防放线菌Act12单接处理,甜瓜根系质量随着接种量的增加而增大,1.0,1.5,2.0 g/kg接种处理根系质量较对照极显著增大($P<0.01$),增幅分别为31.03%,37.93%和41.38%,与TF混接时,不同接种量处理的甜瓜根系质量增幅均为33.33%。

表5 3株生防放线菌不同接种量处理的甜瓜幼苗根系质量和活力

Table 5 Root weights and root activity of *Cucumis melo* L. after different treatments of 3 biocontrol actinomycetes inoculum

接种物 Inoculation agent	接种量/ (g·kg ⁻¹) Concentration	根系质量 Root weight		根系活力 Root activity	
		测定结果/ (g·株 ⁻¹) Measurement outcome	增幅/% Increasing range	测定结果/ (g·g ⁻¹ ·h ⁻¹) Measurement outcome	增幅/% Increasing range
CK	—	0.19±0.02 B	—	0.13±0.00 DE	—
Act1	1.0	0.14±0.01 C	-25.86	0.18±0.00 C	43.97
	1.5	0.12±0.05 C	-39.66	0.10±0.01 E	-18.93
	2.0	0.21±0.02 B	8.62	0.14±0.00 CD	13.42
Act11	1.0	0.26±0.07 A	32.76	0.13±0.00 C	5.54
	1.5	0.21±0.05 B	6.90	0.11±0.00 DE	-11.99
	2.0	0.19±0.09 B	-1.72	0.18±0.01 C	37.89
Act12	1.0	0.25±0.12 A	31.03	0.24±0.00 B	91.10
	1.5	0.27±0.07 A	37.93	0.32±0.01 A	154.87
	2.0	0.27±0.03 A	41.38	0.19±0.00 C	51.52
TF	—	0.15±0.07 D	—	0.06±0.00 D	—
TF+Act1	1.0	0.08±0.01 E	-46.67	0.17±0.00 B	183.33
	1.5	0.19±0.07 BC	26.67	0.12±0.00 CBD	100.00
	2.0	0.15±0.07 CD	0.00	0.31±0.01 A	416.67
TF+Act11	1.0	0.22±0.07 AB	46.67	0.10±0.01 CD	66.67
	1.5	0.23±0.06 A	53.33	0.14±0.00 BC	133.33
	2.0	0.21±0.04 AB	40.00	0.12±0.00 CD	100.00
TF+Act12	1.0	0.20±0.02 AB	33.33	0.11±0.00 CBD	83.33
	1.5	0.20±0.04 AB	33.33	0.14±0.00 CBD	133.33
	2.0	0.20±0.09 AB	33.33	0.16±0.01 BC	166.67

注:生防放线菌单接时的增幅是与CK相比(ΔCK),混接时的增幅是与单接TF相比(ΔTF)。

Note: The increasing ranges of biocontrol actinomycetes single inoculation represent comparing with CK(ΔCK), those of biocontrol actinomycetes inoculated with TF together represent comparing with TF single inoculation(ΔTF)。

Act1和Act11单接时,甜瓜根系活力的增减与接种量有关,Act1单接1.0 g/kg和Act11单接2.0 g/kg处理甜瓜根系活力分别较对照增加了43.97%

和37.89%;Act1和Act11单接1.5 g/kg处理甜瓜根系活力分别较对照降低了18.93%和11.99%。Act12不同接种量单接处理的根系活力均较对照增

加,差异极显著($P<0.01$),且在接种量为1.5 g/kg时,增幅高达154.87%。

从表5可知,3株生防放线菌与TF混接时,甜瓜根系活力较单接TF均明显提高,其中Act1以2.0 g/kg接种量与TF混接时,甜瓜根系活力较单接TF增加了416.67%,差异达极显著水平($P<0.01$);Act11与TF混接时,1.0,1.5,2.0 g/kg接种量处理甜瓜幼苗根系活力分别较单接TF处理增加了66.67%,133.33%和100.00%;Act12与TF混接时,甜瓜根系活力随着Act12接种量的增加而增大,分别增加了83.33%,133.33%和166.67%。可以看出,接人生防菌剂,尤其是与TF混接,可以大幅度提高甜瓜幼苗的根系活力,增强根系吸收水分、养分的能力。

2.5 生防放线菌对甜瓜幼苗叶片PPO活性的影响

生防放线菌对甜瓜幼苗叶片PPO活性的影响

表6 3株生防放线菌不同接种量处理的甜瓜幼苗叶片PPO活性

Table 6 PPO activity of *Cucumis melo* L. leaves after different treatments of 3 biocontrol actinomycetes inoculum

Inoculation agent	接种量/(g·kg ⁻¹)	PPO活性/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	增幅/%
	Concentration	PPO activity	ΔCK
CK	—	276.11±0.50 D	—
	1.0	283.89±0.64 D	2.82
	1.5	322.78±0.13 ABCD	16.90
Act1	2.0	310.56±0.58 ABCD	12.47
	1.0	296.11±0.27 CD	7.24
	1.5	351.16±0.46 AB	27.16
Act11	2.0	300.56±0.14 BCD	8.85
	1.0	340.00±0.28 ABC	23.14
	1.5	317.22±0.17 ABCD	14.89
Act12	2.0	355.56±0.38 A	28.77
	TF	—	253.33±0.83 D
	1.0	310.00±0.32 C	22.53
TF+Act1	1.5	312.78±0.16 C	23.72
	2.0	323.89±0.30 C	28.06
	1.0	266.16±0.60 D	5.14
TF+Act11	1.5	366.67±0.31 AB	45.06
	2.0	318.33±0.35 C	25.69
	1.0	302.22±0.24 C	19.37
TF+Act12	1.5	380.00±0.93 A	50.20
	2.0	346.67±0.43 B	37.15

3 讨论

目前,关于黄瓜、西瓜枯萎病生物防治的研究较多,而对甜瓜枯萎病的报道较少,且生防菌主要集中在真菌^[14]、细菌^[15]以及非致病性尖孢镰刀菌^[16]上,对生防放线菌的研究很少。与细菌、真菌相比,放线菌具有产多种抗生素、孢子抗逆性强等优点,其固态发酵制剂具有运输方便、保藏时间长的特点,而且放线菌在植物体内的定殖能力较强,有利于诱导寄主产生系统抗性^[17]。因此,利用生防放线菌解决枯萎病引起的甜瓜连作障碍问题具有重要意义。

叶绿素含量直接影响植物的光合能力、干物质积累以及植物抗病性^[18]。本试验结果显示,3株生防放线菌与TF混接时,甜瓜幼苗叶绿素相对含量均高于单接TF处理,表明在土壤中存在TF时,生防菌能增强甜瓜叶片光合能力,提高其抗病性。

结果见表6。由表6可知,3株生防放线菌单接和混接处理,均明显提高了甜瓜幼苗叶片PPO活性。生防放线菌Act1和Act11单接处理在接种量为1.5 g/kg时,甜瓜幼苗叶片PPO活性较对照增幅最大,分别为16.90%和27.16%;生防放线菌Act12单接处理在接种量为2.0 g/kg时,甜瓜幼苗叶片PPO活性较对照增加了28.77%,差异达极显著水平($P<0.01$)。

Act1与TF混接处理甜瓜幼苗叶片PPO活性随着Act1接种量的增加而提高,1.0,1.5,2.0 g/kg接种量处理PPO活性分别较单接TF增加了22.53%,23.72%和28.06%。Act11、Act12与TF混接,在接种量为1.5 g/kg时,甜瓜幼苗叶片PPO活性较单接TF分别增加了45.06%和50.20%,差异极显著($P<0.01$)。这表明,生防放线菌剂可以有效地提高甜瓜幼苗叶片PPO活性及诱导抗性。

表6 3株生防放线菌不同接种量处理的甜瓜幼苗叶片PPO活性

Table 6 PPO activity of *Cucumis melo* L. leaves after different treatments of 3 biocontrol actinomycetes inoculum

根系活力决定着植物对水分、养分的吸收。本试验结果表明,3株生防菌与TF混接时,甜瓜幼苗根系活力和根系质量均较单接TF明显增加,其中生防菌Act1在接种量为2.0 g/kg时与TF混接,甜瓜幼苗根系活力增幅高达416.67%。由此可知,接种供试放线菌能促进甜瓜植株对土壤水分、养分的吸收,提高甜瓜对枯萎病等土传病害的抗性。

PPO可促进酚类物质氧化,形成咖啡酸、绿原酸等抗病物质,PPO还可将根皮苷配基氧化形成毒性更强的化合物,杀死病原菌^[19]。本试验中,3株生防放线菌以不同接种量单接或与TF混接,甜瓜幼苗叶片PPO活性均有所提高,表明接人生防菌剂对甜瓜叶片PPO活性有一定诱导作用,增强了甜瓜植株的抗病性。

在盆栽试验中发现,病原菌的存在能有效增强放线菌的防病促生作用。如生防放线菌与TF共同

接入时,甜瓜根系质量、根系活力及叶片PPO活性等指标均有大幅度提高,其增幅远大于生防菌单接。梁军锋等^[20]研究表明,病原菌的存在有助于生防放线菌在辣椒根内定殖,进而增强生防菌的防病促生作用。这意味着,向特定作物的连作土壤中接入生防放线菌制剂对土壤进行连作障碍微生物修复时,土壤中原有的病原菌能够强化生防菌的防病促生作用,从而提高微生物制剂的修复效果,但其详细作用机制尚待进一步研究。

4 结论

1) 3株生防放线菌对TF和西瓜枯萎菌具有明显的皿内拮抗作用;一定稀释倍数下,生防菌无菌发酵滤液能够不同程度地促进甜瓜种子胚轴、胚根生长,提高甜瓜种子简明活力指数。

2) 3株生防放线菌与TF混接时,甜瓜幼苗叶绿素相对含量较单接TF均有所提高。一定接种量的3株生防放线菌能够提高甜瓜幼苗根系质量和根系活力;3株生防放线菌与TF混接时,甜瓜幼苗根系活力均明显高于TF单接,除个别处理外,混接处理甜瓜幼苗根系质量较TF单接亦有所提高。3株生防放线菌无论单接或与TF混接,均能提高甜瓜幼苗叶片PPO活性。

3) 3株生防放线菌均表现出良好的抗病、促生及对PPO活性的诱导作用,可用作甜瓜枯萎病高效生防放线菌。

参考文献

- [1] Tziros G T, Lagopodi A L, Tzavella K K. Reduction of Fusarium wilt in watermelon by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 and *P. fluorescens* WCS365 [J]. *Phytopathologia Mediterranea*, 2007, 46(3): 320-323.
- [2] Wu H S, Yang X N, Fan J Q, et al. Suppression of Fusarium wilt of watermelon by a bioorganic fertilizer containing combinations of antagonistic microorganisms [J]. *Bio Control*, 2009, 54(2): 287-300.
- [3] 李敏, 刘润进, 李晓林. 大田条件下丛枝菌根真菌对西瓜生长和枯萎病的影响 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 472-473.
Li M, Liu R J, Li X L. Influences of *Arbuscular mycorrhizal* fungi on growth and Fusarium wilt disease of watermelon in field [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2004, 34(5): 472-473. (in Chinese)
- [4] 王倡宪, 郝志鹏. 丛枝菌根真菌对黄瓜枯萎病的影响 [J]. 菌物学报, 2008, 27(3): 395-404.
Wang C X, Hao Z P. Effects of *Arbuscular mycorrhizal* fungi on Fusarium wilt of cucumber seedlings [J]. *Mycosistema*, 2008, 27(3): 395-404. (in Chinese)
- [5] Singh P P, Shin Y C, Park C S, et al. Biological control of Fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria [J]. *Phytopathology*, 1999, 89(1): 92-99.
- [6] Ashrafizadeh A, Etebarian H R, Zamanizadeh H R. Evaluation of *Trichoderma* isolates for biocontrol of Fusarium wilt of melon [J]. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 2005, 41(1): 11-15.
- [7] 王瑞菊, 赵奎华, 刘长远, 等. 甜瓜枯萎病土壤拮抗菌的初步筛选 [J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(2): 164-166.
Wang R J, Zhao K H, Liu C Y, et al. Screening of antagonistic bacterium for control muskmelon Fusarium wilt [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2005, 36(2): 164-166. (in Chinese)
- [8] 潘争艳, 刘伟成, 裴季燕, 等. 放线菌Ⅲ-61和A-21对蔬菜枯萎病和灰霉病的控制作用 [J]. 华北农学报, 2005, 20(4): 92-97.
Pan Z Y, Liu W C, Qiu J Y, et al. Control effect of the actinomycetes strains III-61 and A-21 to Fusarium wilt and Gray mold of vegetables [J]. *Agriculturae Boreali-Sinica*, 2005, 20(4): 92-97. (in Chinese)
- [9] 隋丽, 徐文静, 杜茜, 等. 放线菌769发酵液对水稻体内主要防御酶活性的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(4): 382-384, 389.
Sui L, Xu W J, Du Q, et al. Effect of Actinomycetes 769 fermentation products on main defense enzyme activity of rice [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2009, 31(4): 382-384, 389. (in Chinese)
- [10] 程丽娟, 薛泉宏, 来航线, 等. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 383-384.
Cheng L J, Xue Q H, Lai H X, et al. Experimental techniques of microbiology [M]. Xi'an: World Book Publishing Company, 2000: 383-384. (in Chinese)
- [11] 斯振江, 黄河, 何曙光, 等. 链霉菌FB1的发酵产物对5种豆科植物种子萌发的影响 [J]. 大豆科学, 2007, 26(3): 443-446.
Jin Z J, Huang H, He S G, et al. Effects of the fermentation production of streptomyces FB1 on germination of 5 plant seeds from leguminous [J]. *Soybean Science*, 2007, 26(3): 443-446. (in Chinese)
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 119-120.
Li H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 119-120. (in Chinese)
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 203-204.
Gao J F. Experimental technique in plant physiology [M]. Xi'an: World Book Publishing Company, 2000: 203-204. (in Chinese)
- [14] 庄敬华, 高增贵, 刘限, 等. 营养元素对木霉菌防治甜瓜枯萎病效果的影响 [J]. 植物保护学报, 2004, 31(4): 359-364.
Zhuang J H, Gao Z G, Liu X, et al. Effect of nutrition elements on biocontrol efficiency of *Trichoderma* against melon wilt [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2004, 31(4): 359-364. (in Chinese)

Chinese)

- [15] Suarez E F, Vargas G C, Lopez M J, et al. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* [J]. *Crop Protection*, 2007, 26(1): 46-53.
- [16] Freeman S, Zveibil A, Vintal H, et al. Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for biological control of Fusarium wilt in cucurbits [J]. *Phytopathology*, 2002, 92(2): 164-168.
- [17] 梁亚萍, 宗兆锋, 马强. 6株野生植物内生放线菌防病促生作用的初步研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(7): 131-136.
- Liang Y P, Zong Z F, Ma Q. Inhibiting and promoting effect on plants of six strains endophytic actinomycetes isolated from wild plants [J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2007, 35(7): 131-136. (in Chinese)
- [18] 顾振芳, 王卫青, 朱爱萍, 等. 黄瓜对霜霉病的抗性与叶绿素含量、气孔密度的相关性 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2004, 22(4): 381-384.
- Gu Z F, Wang W Q, Zhu A P, et al. Effects of chlorophyll content and stoma density on cucumber resistance to Downy mildew [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science*, 2004, 22(4): 381-384. (in Chinese)
- [19] 秦国政, 田世平, 刘海波, 等. 挥抗菌与病原菌处理对采后桃果实多酚氧化酶、过氧化物酶及苯丙氨酸解氨酶的诱导 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(1): 89-93.
- Qin G Z, Tian S P, Liu H B, et al. Polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammoniumlyase in postharvest peach fruits induced by inoculation with pichia membrane faciens or rhizopus stolonifer [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(1): 89-93. (in Chinese)
- [20] 梁军锋, 薛泉宏, 牛小磊, 等. 7株放线菌在辣椒根部定殖及对辣椒叶片 PAL 与 PPO 活性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(10): 2118-2123.
- Liang J F, Xue Q H, Niu X L, et al. Root colonization and effects of seven strains of actinomycetes on leaf PAL and PPO activities of capsicum [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalis Sinica*, 2005, 25(10): 2118-2123. (in Chinese)

(上接第 108 页)

- [15] Hossain M A, Jahiruddin M, Islam M R. The requirement of zinc for improvement of crop yield and mineral nutrition in the maize-mungbean-rice system [J]. *Plant Soil*, 2008, 306: 13-22.
- [16] 孙刚, 杨习文, 田霄鸿, 等. 不同玉米基因型幼苗缺锌敏感性评价 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 165-171.
- Sun G, Yang X W, Tian X H, et al. Study on susceptibility of different maize genotypes to zinc deficiency [J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2007, 35(3): 165-171. (in Chinese)
- [17] 白厚义, 肖俊璋. 试验研究及统计分析 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 1998: 46-47.
- Bai H Y, Xiao J Z. Experimental investigation and statistical analysis [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 1998: 46-47. (in Chinese)
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 268-281.
- Bao S D. Analysis of agricultural chemistry in Soil [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1999: 268-281. (in Chinese)
- [19] 高俊风. 植物生理学试验指导 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 192-195.
- Gao J F. Experimental technology of plant physiology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000: 192-195. (in Chinese)
- [20] Wang H, Jin J Y. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency [J]. *Photosynthetica*, 2005, 43(4): 591-596.
- [21] Marschner H. Mineral nutrition of higher plant [M]. 2nd Edition. London: Academic Press, 1995.
- [22] 远红杰, 陈景堂, 黄亚群, 等. 不同基因型玉米自交系锌营养敏感性差异研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(4): 471-473.
- Yuan H J, Chen J T, Huang Y Q, et al. The difference sensitivity of different inbred line of maize genotypes to zinc nutrient [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2006, 7(4): 471-473. (in Chinese)
- [23] 王人民, 杨肖娥. 水稻锌营养高效基因型筛选的农艺性状指标研究 [J]. 中国水稻科学, 2001, 15(3): 175-181.
- Wang R M, Yang X E. Agronomic characteristic index for screening Zn-efficient rice genotype [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2001, 15(3): 175-181. (in Chinese)
- [24] 陈光财, 王人民, 张永鑫, 等. 水稻锌营养高效基因型的生理特性 [J]. 中国水稻科学, 2003, 17(2): 161-165.
- Chen G C, Wang R M, Zhang Y X, et al. Physiological Characteristics of Zn-efficient rice genotype [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2003, 17(2): 161-165. (in Chinese)