

研究报告

西葫芦根腐病菌拮抗细菌的防病促生作用

孙广正¹ 姚拓^{1*} 侯栋² 陈龙¹ 岳宏忠²

(1. 甘肃农业大学草业学院 草业生态系统教育部重点实验室 甘肃省草业工程实验室
中-美草地畜牧业可持续发展研究中心 甘肃 兰州 730070)
(2. 甘肃省农业科学院蔬菜研究所 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】获取促生的同时可抑制尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的拮抗菌并明确其防治效果。【方法】平板对峙生长法测定前期分离的19株促生菌对尖孢镰刀菌的抑制作用，温室条件下接种微生物菌剂对西葫芦根腐病的防治作用；田间条件下接种复合菌剂代替部分化肥对西葫芦生长的影响。【结果】可有效拮抗尖孢镰刀菌的菌株有9株，其中，菌株FX2的抑菌活性较好，抑制率达到66.80%。在温室盆栽中，接种微生物菌剂(LHS11+FX2)对西葫芦根腐病抑制率达到57.14%。在田间试验中，微生物菌剂配施化肥对西葫芦的生物量和根系形态影响显著，以85%化肥+复合菌剂处理效果较优，其对西葫芦成熟期的产量显著提高27.13%。【结论】复合菌剂(LHS11+FX2)对西葫芦根腐病具有较好的防治作用；85%化肥+复合菌剂对西葫芦的促生作用明显，在一定程度上节约了化肥投入成本，提高了增产效益。

关键词:植物根际促生菌，西葫芦，尖孢镰刀菌，微生物菌剂，生物防治，促生作用

Biocontrol potential of antagonistic bacteria strains against *Fusarium oxysporum* and their growth-promoting effects on zucchini

SUN Guang-Zheng¹ YAO Tuo^{1*} HOU Dong² CHEN Long¹ YUE Hong-Zhong²

(1. College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou, Gansu 730070, China)

(2. Vegetable Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: [Objective] In order to assess potential of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for protecting zucchini plants against *Fusarium oxysporum*, antifungal properties and growth-promoting effects of PGPR were evaluated. **[Methods]** 19 strains that acquired from preliminary studies were used to antagonize *F. oxysporum* *in vitro* based on panel confrontation. Control efficiency of microbial inoculant was measured on zucchini root rot at greenhouse experiments. Growth-promoting effect of compound inoculant instead of some chemical fertilizer

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31660688); Public Welfare Industry (Agriculture) Special Funds for Scientific Research (No. 201303112)

*Corresponding author: Tel: 86-931-7631227; E-mail: yaotuo@gbau.edu.cn

Received: July 27, 2016; Accepted: October 17, 2016; Published online (www.cnki.net): November 03, 2016

基金项目：国家自然科学基金项目(No. 31660688)；公益性行业(农业)科研专项经费项目(No. 201303112)

*通讯作者：Tel : 86-931-7631227 ; E-mail : yaotuo@gbau.edu.cn

收稿日期：2016-07-27；接受日期：2016-10-17；优先数字出版日期(www.cnki.net)：2016-11-03

was determined at field tests. [Results] There were 9 strains efficiently antagonized *F. oxysporum*. Among these strains, the inhibition rate of strain FX2 could rise up to 66.80%. In greenhouse experiments, the inhibition rate of microbial inoculant (LHS11+FX2) reached 57.14%. In field experiments, microbial inoculant with different proportional chemical fertilizer had growth-promoting effect on biomass and root morphology, and the yield of 85% chemical fertilizer + compound inoculant significantly increased 27.13%. [Conclusion] The compound inoculant (LHS11+FX2) has excellent control efficiency to zucchini root rot. The growth-promoting effect of 85% chemical fertilizer + compound inoculant is obvious on the growth of zucchini, and it largely saves fertilizer costs and improves production efficiency.

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria, Zucchini, *Fusarium oxysporum*, Microbial inoculant, Biocontrol, Growth-promoting effect

西葫芦 *Cucurbita pepo* L.是一种营养丰富、栽培面积广、经济效益仅次于黄瓜的主要商品蔬菜。

因西葫芦有诸多优点，其种植面积日益增大，成为我国西北和山西省北部等地主要的保护地栽培蔬菜。冬春茬西葫芦栽培生育期长，在定植前需要施有机肥，通常用过磷酸钙、硫酸钾、磷酸二铵或者三元复合肥^[1]。然而，随着化肥的大量施用，不仅污染环境，而且影响人的身体健康。同时，由于连年重茬种植、管理不当、防治不力等原因，已造成西葫芦根腐病、病毒病、白粉病、叶枯病和灰霉病愈发严重。其中，西葫芦根腐病尤为严重。尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 是引起该病害的病原之一^[2-3]，可使发病率达到 6.2%–18.3%，严重地块的发病率高达 70%–90%，成为影响和制约西葫芦种植与发展的重要病害^[4]。长期以来，西葫芦根腐病的防治主要依赖化学药剂，但是化学药剂的使用易使病原菌产生抗药性，这样既不能达到防治目的，又容易造成环境污染。

植物根际促生菌 (Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)是一类定植于植物根际，通过提高养分的有效性和促进植物对养分的吸收等方式达到促生目的，还具有防病潜力与应用价值的一类生防菌，因而成为许多学者研究的对象。杨娜等^[5]发现菌株 a4 对尖孢镰刀菌菊专化型的抑制率达到 71%；在盆栽试验中，对照植株根际土壤的尖孢镰刀菌数量为施用 a4 菌剂处理的 6.5 倍。梁银等^[6]发现放线菌 CT205 菌剂对黄瓜枯萎病 *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* 防治效果达 51.85%，对黄瓜也有促

生作用；放线菌 CT205 菌液和有机肥配施防治效果达 81.85%。

目前，PGPR 制剂在西葫芦上的应用鲜有报道。鉴于此，本研究利用前期研究得到的 19 种 PGPR 菌株，分别测定其对尖孢镰刀菌菌丝生长的影响；用优良拮抗菌株制成微生物菌剂，通过温室盆栽研究其对西葫芦根腐病的防治作用；在田间利用微生物菌剂代替部分化肥，研究其对西葫芦生物量、根系形态和产量的影响，得到较好的肥料配比；旨在为西葫芦根腐病防治以及作物生长提供优良菌种资源和基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于甘肃省农业科学研究院，东经 103°41'，北纬 36°5'，海拔为 1 600 m，属中温带大陆性气候。南北群山环抱，气候干燥，日照充足，年温差和日温差均较大。春季转瞬即逝，冷暖变化大；夏季短促，气温较高，但无酷暑；秋季短促，降温快；冬季漫长且较寒冷，雨雪少。年平均降水量 360 mm 左右，年平均气温 10 °C 左右，全年日照时数平均 2 446 h，无霜期 180 d 以上。

1.2 材料

供试 PGPR 菌：JM170、JM92、LX191、G、JX59、LX22、LX81、LHS11、LM4-3、4N4、P2-1、PGRS-3、XX1、XX2、XX5、XX6、FX1、FX2 和 F1-4，分离自小麦、玉米、苜蓿和三叶草等多种植物根际，具有良好的固氮、溶磷及分泌植物激素特性^[7](表 1)，由甘肃农业大学草业学院草地微生物实验室提供。

表 1 供试菌株
Table 1 Strains for testing

菌株代号 Strain No.	宿主植物 Host plant	固氮酶活性 (C ₂ H ₄ nmol/(mL·h))	溶磷量 P solubilization capacity (mg/L)	分泌生长素 IAA secreting ability (mg/L)
<i>Pseudomonas</i> sp. JM92	苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	75.34	132.60	47.25
<i>Azotobacter</i> sp. LX191	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	—	200.02	54.36
<i>Azospirillum brasilense</i> G	小麦 <i>T. aestivum</i>	180.90	—	—
<i>Bacillus</i> sp. JX59	小麦 <i>T. aestivum</i>	—	109.30	—
<i>Bacillus</i> sp. LX81	小麦 <i>T. aestivum</i>	102.34	105.60	—
4N4*	玉米 <i>Zea mays</i>	178.94	178.25	17.80
P2-1*	玉米 <i>Z. mays</i>	95.10	193.67	16.84
JM170*	苜蓿 <i>M. sativa</i>	43.80	123.20	4.34
<i>B. pumilus</i> LX22	小麦 <i>T. aestivum</i>	—	152.69	—
<i>B. subtilis</i> LHS11	红三叶 <i>Trifolium pratense</i>	220.36	204.74	29.56
<i>B. pumilus</i> LM4-3	苜蓿 <i>M. sativa</i>	246.46	—	13.91
PGRS-3*	高原早熟禾 <i>Poa alpigena</i>	—	—	39.25
<i>B. cereus</i> XX1	苜蓿 <i>M. sativa</i>	44.28	35.70	—
XX2*	苜蓿 <i>M. sativa</i>	12.21	11.80	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i> XX5	苜蓿 <i>M. sativa</i>	—	—	10.01
<i>B. simplex</i> XX6	苜蓿 <i>M. sativa</i>	34.33	—	—
FX1*	苜蓿 <i>M. sativa</i>	7.14	—	—
<i>B. subtilis</i> FX2	苜蓿 <i>M. sativa</i>	110.45	75.22	15.30
<i>B. pumilus</i> F1-4	苜蓿 <i>M. sativa</i>	10.06	3.79	—

注 : * : 待鉴定 ; — : 促生特性微弱 ; 下同。

Note: *: Not identified; -: Weak growth promoting properties; The same below.

供试病原真菌 : 尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 由甘肃农业大学草业学院草地微生物实验室提供。

培养基 : LB (Luria Bertani) 固体培养基用于分离和保存根际细菌 , LB 液体培养基用于发酵根际细菌^[8]。 PDA (Potato dextrose agar) 培养基用于真菌培养和平板对峙培养^[8]。

植物材料 : 西葫芦种子(陇葫一号)由甘肃省农业科学院蔬菜研究所提供 , 发芽率 100%。

药剂 : 25% 多菌灵(Carbendazim)购自甘肃省农科院植保所新农药开发中心。

主要仪器 : NanoDrop ND-1000 分光光度计 , Thermo Scientific 公司 ; LA2400 Scanner , Epson Expression 1000XL , Epson (China) 公司。

1.3 PGPR 菌株对尖孢镰刀菌的抑制作用

按荣良燕等^[8]的方法 , 采用平板对峙法测定供

试菌株与病原真菌的拮抗作用。将保存在 PDA 斜面上的病原真菌接种到 PDA 平板上 25 °C 培养 5~7 d。细菌接种在 LB 液体培养基中 , 25 °C、150 r/min 培养 24 h , 细菌菌液浓度达到 10⁶ CFU/mL 备用。再将真菌与细菌同时接种在 PDA 平板上 , 平板中心接种真菌 , 菌饼直径为 6 mm , 距中心 1.7 cm 处等距离接种 4 种相同的细菌(用加液枪将菌液垂直滴在培养基上) ; 以只接菌饼的平板为空白对照。每种组合 3 个重复 , 试验重复 3 次。 25 °C 培养 , 根据真菌的生长情况 , 在适宜天数测量真菌距细菌近端的半径。

抑制率 = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径] × 100%。

1.4 微生物菌剂温室盆栽防治效果测定

1.4.1 微生物菌剂制作 : 将泥炭、木炭和花土干燥

粉碎，过筛(0.15 mm)，按一定比例混合(正在申报专利)，调pH值至6.5~7.0，将其在 1×10^5 Pa连续灭菌1~2 h后分装成500 g小袋，分别接种各处理菌株悬浮液50 mL(10^8 CFU/mL)，将菌液与载体充分混匀后置于28 °C培养7~10 d，然后常温保存备用。

1.4.2 试验设计：按照梁凤臣等^[9]的方法处理西葫芦种子。共设计5种处理，将尖孢镰刀菌接种于PDA液体培养基中，25 °C、150 r/min振荡培养6 d，然后按照每 0.015 m^3 土接种250 mL液体病原菌(孢子浓度为 10^6 CFU/mL，菌丝干重为1.2 g)的比例混匀。将接菌的土放入大小一致的花盆中(高15.3 cm，上口直径26 cm，底面直径12 cm)，浇水之后，在上面覆盖0.5 cm潮湿的灭菌土。接入病原菌3 d后，在每个花盆中种入5颗拌有微生物菌剂的种子(提前用微生物菌剂拌种，种子表面被微生物菌剂均匀包裹)，再放1.5 cm厚灭菌土，浇水。试验设置5个处理：A：单一菌剂LHS11；B：单一菌剂FX2；C：复合菌剂LHS11+FX2；D：25%多菌灵(阳性对照)；E：LB无菌液体培养基(阴性对照)。每处理3个重复。

1.4.3 微生物菌剂对西葫芦根腐病的防效测定：植株生长5周后，观察记载西葫芦根腐病的病情指数和发病株数，再计算发病率及防治效果。病情指数分级标准：0级，根部无病斑，或施药后病斑愈合；1级，根部变色，病斑面积占根部茎秆周长的1%~25%，或中午正常光照不萎蔫；3级，根部变色，病斑面积占根部茎秆周长的26%~50%，或中午正常光照叶片只有顶部4~5片叶萎蔫；5级，根部变色，病斑面积占根部茎秆周长的51%~75%，或中午正常光照只有下部4~5片老叶不萎蔫；7级，根部变色，病斑面积占根部茎秆周长的75%以上，或中午正常光照叶片全部萎蔫，但早晚叶片仍能恢复^[4]。

$$\text{发病率} = \frac{\text{病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\% ;$$

$$\text{防治效果} = \frac{[(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数}]}{\times 100\%}.$$

1.5 微生物菌剂对西葫芦生长影响测定

1.5.1 微生物菌剂制作：将6株PGPR菌株G、LHS11、FX2、LM4-3、JM170和PGRS-3分别接种于LB液体培养基中，28 °C、150 r/min培养72 h。待菌株充分生长后，利用分光光度计测定各菌株悬浮液 A_{660} 值，用无菌水调其 $A_{660}\geq 0.5$ (即菌株悬浮液 10^8 CFU/mL)，并将调好的各菌株悬浮液按特定体积比(正在申报专利)混合后备用；称取载体250 g， 1×10^5 Pa、25 min连续灭菌两次。将灭菌后的载体置于无菌操作台上冷却后，倒入食品专用袋中；在无菌条件下，将无菌水与载体材料充分混匀，使载体材料湿润、松散而不粘结，混合均匀后补加上述备用的混合菌液约80~100 mL，继续混合搅拌均匀，用自动封口机封口。将制作好的复合菌剂置于28 °C培养7~10 d，备用。

1.5.2 小区设计：播种前将种子用复合菌剂拌种，置于阴凉、避光处0.5 h(使促生菌充分粘附在种子表面)后即可播种。复合菌剂用量为1.5 g/m²。试验设置9个处理：A：100%化肥；B：85%化肥+复合菌剂；C：85%化肥；D：70%化肥+复合菌剂；E：70%化肥；F：55%化肥+复合菌剂；G：55%化肥；H：复合菌剂；I：无肥对照。每个处理3个重复，共计27个小区，采用随机区组的方法进行小区设计，每个小区长4.7 m，宽1.3 m(0.7 m垄和0.6 m沟)。化肥施用量：全量化肥磷酸二胺使用量为0.03 kg/m²，其余各处理分别按比例减少化肥施用量以复合菌剂代之。

1.5.3 测定指标及方法：在西葫芦盛花期和成熟期分别测定西葫芦地上鲜重和地下鲜重，在80 °C放置24 h后，分别称量其地上干重和地下干重；在成熟期持续测产1个月；利用根系扫描仪(LA2400 Scanner, Epson Expression 1000XL)测定根表面积、根体积及根直径。

1.6 数据分析

采用SPSS 16.0软件中的Duncan氏新复极差法对所有数据进行单因素分析。

2 结果与分析

2.1 优良拮抗细菌筛选

培养 4 d 后, 14 株菌表现出抑菌活性。其中, LHS11 和 FX2 的抑菌活性较好, 与其他拮抗菌相比, 抑菌能力显著($P<0.05$), 但两者之间差异不显著($P>0.05$)。随着培养时间的增加, 9 株拮抗菌对病原菌的抑制率提高, 其余菌株失去抑菌活性。培养 9 d 后, 各拮抗菌对尖孢镰刀菌的抑制率均达到 60%以上(表 2)。其中, FX2 抑制效果较明显, 受抑制的尖孢镰刀菌菌丝分布范围较小, 抑制率达到 66.80%。培养 11 d

后, 对照菌落菌丝在半径为 45 mm 的平板上长满。

2.2 微生物菌剂对西葫芦根腐病防治效果

5 种处理发病的先后顺序为: E (阴性对照)>B (单一菌剂 FX2)>A (单一菌剂 LHS11)>D (25%多菌灵)>C (复合菌剂 LHS11+FX2)。种植 40 d 后, 处理 E 的发病率达到 93.33%, 处理 C 的发病率降到 40.00%, 明显低于处理 E; 不同处理的防治效果为: C (复合菌剂 LHS11+FX2)>D (25%多菌灵)>A (单一菌剂 LHS11)>B (单一菌剂 FX2), 其中处理 C 的防治效果较好, 达到 57.14%(表 3)。

表 2 PGPR 对尖孢镰刀菌的拮抗作用
Table 2 Inhibition of PGPR strains against *F. oxysporum*

菌株代号 Strain No.	4 d			9 d		
	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)	处理菌落半径 Treatment colony radius (mm)	对照菌落半径 Control colony radius (mm)	抑制率 Inhibition rate (%)
JM170	14.17±0.06b		18.27±3.47d	—		—
JM92	—		—	—		—
LX191	—		—	—		—
G	—		—	—		—
JX59	15.17±0.02a		12.50±0.96e	—		—
LX22	15.17±0.02a		12.50±0.96e	—		—
LX81	15.50±0.03a		10.58±1.67e	—		—
LHS11	10.67±0.17d		38.46±0.96a	13.83±0.17cd		65.98±0.41ab
LM4-3	12.67±0.17c		26.92±0.96c	14.67±0.44b		63.93±1.08c
4N4	—	17.33±0.33	—	—	40.67±0.33	—
P2-1	15.00±0.03a		13.46±1.66e	—		—
PGRS-3	—		—	—		—
XX1	12.17±0.44c		29.81±2.54bc	13.67±0.17d		66.39±0.41a
XX2	12.00±0.29c		30.77±1.67bc	15.67±0.17a		61.47±0.41d
XX5	13.83±0.02b		20.19±0.96d	14.50±0.03bc		64.34±0.71bc
XX6	12.67±0.03c		26.92±1.92c	14.83±0.07b		63.53±1.64c
FX1	12.50±0.29c		27.88±1.67bc	14.67±0.17b		63.93±0.41c
FX2	10.67±0.33d		38.46±1.92a	13.50±0.58d		66.80±1.42a
F1-4	11.83±0.17c		31.73±0.96b	15.17±0.33ab		62.70±0.82cd

注: 表中数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示处理间差异显著(Duncan's test, $P<0.05$); —: 抑制率小于 10%; 下同。

Note: Values in the table are $\bar{x} \pm s$; Different lowercase letters within the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's test; —: Inhibition less than 10%; The same below.

表 3 不同处理对西葫芦根腐病的防治效果
Table 3 Control efficiency of different treatments to root rot of summer squash

处理 Treatment	发病率 Incidence (%)	防治效果 Control efficiency (%)
A	60.00±0.00b	35.71±0.00b
B	66.67±6.67b	28.57±7.14b
C	40.00±0.00c	57.14±0.00a
D	53.33±6.67bc	42.86±7.14b
E	93.33±6.67a	—

2.3 复合肥对田间西葫芦生长的影响

2.3.1 复合肥对西葫芦生物量的影响: 由表 4 可知, 在盛花期中, A 和 B 地上鲜重和干重与对照相比均差异显著($P<0.05$), B 的鲜重和干重达到 1 890.67 g 和 135.00 g。在成熟期中, A 和 B 干重与

对照相比差异显著($P<0.05$), B 的干重达到 237.67 g。由表 5 可知, 在盛花期中, B 的地下鲜重和干重达到 21.10 g 和 2.83 g。在成熟期中, B 的鲜重和干重与对照相比差异显著($P<0.05$), 分别达到 29.70 g 和 3.60 g。

2.3.2 复合肥对根系形态影响: 复合肥 B 处理后根系发达, 主根较长, 侧根较多且细。对照 I 的主根较短, 须根不发达(图 1)。在盛花期中, B 的总根长、根直径和根体积与对照相比均差异显著($P<0.05$)。分别达到 1 149.52 cm、1.21 mm 和 7.49 cm³(表 6)。在成熟期中, B 和 D 的总根长与对照相比差异显著($P<0.05$)。B 的总根长、根表面积、根直径和根体积分别达到 1 302.66 cm、28.50 cm²、1.34 mm 和 8.40 cm³。

表 4 不同施肥处理对西葫芦各生育期地上生物量影响

Table 4 Effects of different fertilization treatments to aboveground biomass on the growth period

处理 Treatment	盛花期 Full-blossom period		成熟期 Mature period	
	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)
A	1 883.67±128.00a	134.33±8.76a	2 478.33±79.55a	210.67±18.05ab
B	1 890.67±214.00a	135.00±18.73a	2 297.33±63.56a	237.67±25.83a
C	1 275.00±274.00ab	106.00±17.47ab	2 136.67±195.31a	187.00±3.21abc
D	1 332.00±175.00ab	105.33±11.26ab	2 214.67±168.83a	162.67±16.29bc
E	911.33±191.43b	100.67±19.92ab	1 882.00±198.84a	138.00±9.29bc
F	1 339.67±125.00ab	104.67±8.25ab	2 054.67±114.17a	155.00±32.53bc
G	1 025.33±99.00b	89.00±17.90ab	2 082.67±344.14a	163.67±36.92bc
H	1 065.00±182.00b	88.00±12.01ab	2 251.00±492.00a	166.67±17.40bc
I	943.67±269.00b	76.00±23.64b	1 898.00±144.03a	135.67±12.17c

表 5 不同施肥处理对西葫芦各生育期地下生物量影响

Table 5 Effects of different fertilization treatments to underground biomass on the growth period

处理 Treatment	盛花期 Full-blossom period		成熟期 Mature period	
	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)
A	16.94±0.66abc	2.15±0.11abc	28.37±0.17a	3.20±0.16ab
B	21.10±1.44a	2.83±0.05a	29.70±0.34a	3.60±0.18a
C	15.12±1.34bc	1.95±0.15bc	24.84±2.81ab	2.82±0.08ab
D	17.47±3.13abc	2.22±0.54abc	26.71±0.94ab	3.36±0.30ab
E	13.72±1.35c	1.76±0.12c	25.46±2.26ab	3.12±0.36ab
F	19.71±1.52ab	2.65±0.15ab	24.69±4.51ab	2.89±0.57ab
G	13.75±2.42c	1.75±0.35c	20.56±4.69ab	2.59±0.50ab
H	16.04±1.73abc	2.18±0.25abc	21.58±0.81ab	2.24±0.42b
I	12.40±0.54c	1.61±0.08c	18.31±3.53b	2.39±0.27b

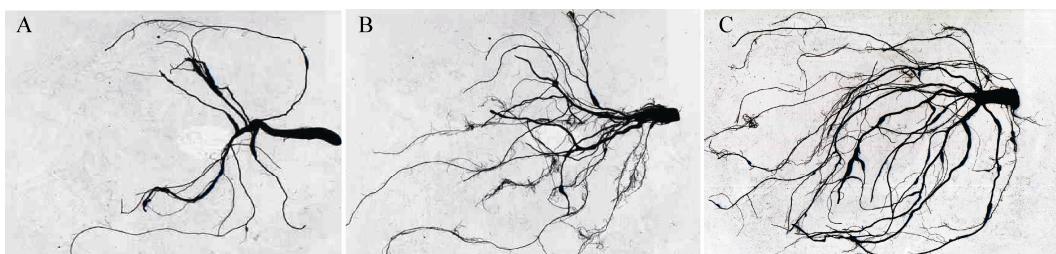


图 1 不同施肥处理对西葫芦根系外观形态影响(部分)

Figure 1 Effects of different fertilization treatments to root morphology on zucchini (part)

注: A: 100%化肥; B: 85%化肥+微生物接种剂; C: 对照。

Note: A: 100% Chemical fertilizer; B: 85% Chemical fertilizer + Microbial inoculant; C: Control.

表 6 不同施肥处理对西葫芦根系形态指标影响

Table 6 Effects of different fertilization treatments to root morphology on zucchini

处理 Treatment	盛花期 Full-blossom period				成熟期 Mature period			
	总根长 Root length (cm)	根表面积 Root surface area (cm ²)	根直径 Root diameter (mm)	根体积 Volume (cm ³)	总根长 Root length (cm)	根表面积 Root surface area (cm ²)	根直径 Root diameter (mm)	根体积 Volume (cm ³)
		Root length (cm)	Root diameter (mm)	Volume (cm ³)		Root surface area (cm ²)	Root diameter (mm)	Volume (cm ³)
A	1 037.31±24.20ab	28.25±0.93ab	1.01±0.08ab	6.66±0.35a	942.65±31.72bc	27.48±0.16abc	1.21±0.09ab	7.49±0.55ab
B	1 149.52±62.89a	29.66±0.66a	1.21±0.10a	7.49±0.21a	1 302.66±144.65a	28.50±0.66a	1.34±0.16a	8.40±0.24a
C	978.67±31.87bcd	22.45±1.29ab	0.94±0.04ab	3.84±0.30b	878.75±61.39bc	26.61±0.35bcd	1.05±0.13abc	5.72±0.92bc
D	1 030.40±21.54ab	27.69±0.21abc	0.77±0.12b	5.13±0.42b	964.89±54.59b	28.00±0.26ab	0.94±0.15abc	5.63±0.46bc
E	1 031.77±19.51ab	28.24±0.60abc	0.70±0.14b	4.33±0.82b	927.61±84.29bc	27.46±0.58abc	0.83±0.19bc	5.80±0.94bc
F	1 001.21±66.49abc	27.29±0.63abc	0.99±0.13ab	6.62±0.25a	948.92±66.73bc	27.49±0.26abc	0.98±0.13abc	6.39±1.22abc
G	912.58±58.52bcd	26.61±1.16bc	1.00±0.17ab	4.44±0.54b	785.34±77.69bc	26.02±0.48cd	1.04±0.14abc	5.69±0.69bc
H	840.93±16.21d	25.24±0.32c	0.66±0.05b	4.81±0.12b	817.00±101.43bc	27.53±0.38abc	0.74±0.09c	6.50±0.27abc
I	858.89±66.73cd	27.45±0.88d	0.70±0.05b	4.20±0.21b	686.97±44.43c	25.62±0.86d	0.70±0.10c	4.27±0.55c

2.3.3 复合肥对西葫芦产量影响: 由表 7 可知, B 的瓜条数与对照相比差异显著($P<0.05$) , 达到 102 个。其他处理的瓜条数之间差异不显著($P>0.05$)。B 的总产量较大, 达到 60.08 kg, 增产 27.13%。A、B 和 D 的总产量均与对照差异显著($P<0.05$)。所有处理的单瓜质量间差异不显著($P>0.05$), 单瓜质量在 0.58–0.64 kg 之间。

3 讨论

3.1 PGPR 菌株对尖孢镰刀菌拮抗作用

Kloepper 等^[10]认为, PGPR 对植物生长的促进作用主要是通过抑制植物病原菌, 尤其是一类靠代谢作用而非寄生来影响植物的根围微生物, 与生长

刺激物质(如激素和生长因子)产生及对营养的促进吸收等因素似乎关系不大。使用微生物制剂可有效防治植物病害。分离筛选高效拮抗菌是开发防制剂的关键, 而充分发挥拮抗菌株抑菌或杀菌效果, 首先需在相应的微生态环境中成为优势种群。陈潺等^[11]研究发现侧孢短芽孢杆菌 *Brevibacillus laterosporus* 菌株 AMCC100017 对尖孢镰刀菌的抑制率达到 34.32%。本研究中 9 株 PGPR 对尖孢镰刀菌的拮抗作用较好, 其中, FX2 抑制效果较明显, 受抑制的尖孢镰刀菌菌丝分布范围较小, 抑制率达到 66.80%。9 种供试拮抗菌发酵液对尖孢镰刀菌的抑制作用较弱。但是, 菌株 LHS11、XX1 和 XX2

表 7 不同施肥处理对西葫芦产量影响

Table 7 Effects of different fertilization treatments to yield on zucchini

处理 Treatment	瓜条数(个) The number of zucchini	总产量 Total yield (kg)	单瓜质量 Single fruit quality (kg)	产量增加率 Output growth rate (%)
A	94.67±4.48ab	57.77±1.65ab	0.61±0.00a	22.08±2.72ab
B	102.00±4.04a	60.08±0.60a	0.59±0.02a	27.13±3.90a
C	94.00±7.94ab	54.90±5.54abc	0.58±0.01a	15.51±8.90abc
D	92.00±4.93ab	56.33±1.42ab	0.61±0.02a	19.09±2.95abc
E	87.00±3.79ab	53.87±1.28abc	0.62±0.02a	13.88±2.88abcd
F	83.67±1.33b	51.68±1.78abc	0.62±0.01a	9.23±3.37bcd
G	81.33±1.20b	52.33±1.64abc	0.64±0.03a	10.69±4.40bcd
H	85.00±3.79b	49.80±3.69bc	0.59±0.02a	5.08±6.62cd
I	81.67±7.22b	47.37±1.75c	0.59±0.03a	—

使病原菌菌丝扭曲、肿胀，随着时间的延长，菌丝细胞壁溶解出现断裂；菌株 FX2 和 FX1 使菌丝扭曲缠绕，局部变形。说明这些菌株是通过营养竞争和空间位点竞争、诱导系统抗性等其他方式抑制病原菌菌丝的生长，具体的拮抗机理有待进一步研究。

3.2 微生物菌剂对西葫芦根腐病的防治作用

国内外利用 PGPR 制剂防治西葫芦根腐病鲜有报道。但是有关尖孢镰刀菌引起其他农作物病害的防治较多，王小慧等^[12]利用对西瓜专化型尖孢镰刀菌拮抗效果较好的菌株 Cy5 和 CR38 与已腐熟的有机肥制成生物肥 BIO5 和 BIO38，其对西瓜枯萎病的防治率分别达到 75% 和 25%。朱森林等^[13]发现解淀粉芽孢杆菌 *B. amyloliquefaciens* 菌株 BEB33 菌剂使香蕉枯萎病的发病率与病情指数分别降至 40% 和 14.76%，其防效为 73.51%。本研究观察西葫芦的发病情况，发现健康土接种病原菌菌液使西葫芦根腐病的发病率达到 93.33%，使用微生物菌剂 (LHS11+FX2) 使西葫芦根腐病的发病率降到 40%，表明微生物菌剂对西葫芦根腐病起到一定的防治作用。结果与 Roberti 等^[14]的研究相似（防治率 59.5%）。利用生防菌与有机肥复配制成生物有机肥，既可以提高土壤肥力，又可以调节土壤微生物区系，减少病原菌数量^[6]。因此，有待在大田试验中

进一步验证筛选到的优良生防菌与有机肥混合使用的防治效果。

3.3 复合肥对西葫芦的促生作用

有机肥与化肥配施不但可以提高作物产量、改善农作物品质，而且是保证作物稳产和推动农业可持续发展的重要方式^[15]。本研究利用具有促生特性和生防效果的 PGPR 菌株制成复合菌剂，在选取的 6 株菌中，菌株 G 和 FX2 有固氮作用，PGRS-3 能够分泌生长素，LHS11、JM170 和 LX22 具有溶磷作用，并且菌株 LHS11、FX2、JM170 和 LX22 对尖孢镰刀菌、油菜菌核病菌、立枯丝核菌、番茄早疫病菌、黄瓜枯萎病菌和麦根腐平脐蠕孢具有较好的抑菌活性^[7,16]，所以在这些菌株之间无拮抗的前提下，制成的复合菌剂既可以促使植物根系吸收可利用的营养元素，也可以对病虫害起到防治作用^[17]。韩华雯等^[18]研究发现用 3 株溶磷菌和 1 株根瘤菌制成的微生物菌剂+半量磷肥对苜蓿的促生效果较好，苜蓿株高、叶绿素含量、叶茎比、干鲜比及产量较对照显著增加。本研究发现在盛花期和成熟期中，85% 化肥+复合菌剂处理的地上干重、地下鲜重和干重均较大。由此可见，利用 85% 化肥+复合菌剂代替全量化肥既可以减少化肥的使用量，还可以利用微生物菌剂提高植株对营养物质的吸收。

不同氮素水平对植株根系的形态及生理特性影响显著，并且随着施氮水平的增加而升高，根长、根质量、根体积、侧根数、根系活力等均增加，根系各项指标与籽粒产量之间呈正相关^[19]。向秀媛等^[20]研究发现有机、无机肥配施较单施化肥可有效提高水稻的株高、有效穗数，结实率和千粒质量，从而提高水稻的子粒产量。本研究测定不同施肥处理对西葫芦根系形态的影响，85%化肥+复合菌剂处理的总根长、根表面积、根直径和根体积在所有处理中均较大。与无肥对照相比，85%化肥+复合菌剂处理的瓜条数差异显著且较大，并且总产量较大，增产27.13%。结果同王琴等^[21]研究相似，60%化肥氮钾+40%紫云英氮钾处理后水稻产量提高28.7%。但是，微生物菌剂的作用较化肥滞后却具有长效性，通常在植物生长后期的促生效果比较明显，作用更优于全量化肥处理。张久东等^[22]发现第一年随着绿肥量的增加小麦产量下降，但是土壤肥力增加，第二年小麦产量明显增加。因此有待在该试验地持续开展微生物菌剂代替部分化肥的研究，以证实微生物菌剂作用的持久性。

参 考 文 献

- [1] Li BH, Zheng SH, Qu GH, et al. Efficient cultivation of zucchini of Zibo area in winter and spring the sunlight greenhouse[J]. China Vegetables, 2008(5): 50-51 (in Chinese)
李炳华, 郑淑华, 曲国华, 等. 淄博地区日光温室冬春茬西葫芦高效栽培[J]. 中国蔬菜, 2008(5): 50-51
- [2] Jamiolkowska A, Sawicki K. Biodiversity of fungi colonising aboveground parts of zucchini (*Cucurbita pepo* L. var. *giromontina*)[J]. Folia Horticulturae, 2011, 23(1): 29-35
- [3] Guo S, Zhang ZG, Wang JM, et al. Identification of root rot pathogen in summer squash[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2007(6): 7-10 (in Chinese)
郭尚, 张作刚, 王建明, 等. 西葫芦根腐病病原的鉴定[J]. 中国瓜菜, 2007(6): 7-10
- [4] Guo S, Zhang ZG. Occurrence regularity of root rot disease in summer squash[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2007, 35(6): 90-93 (in Chinese)
郭尚, 张作刚. 大棚温室西葫芦根腐病发生规律研究[J]. 山西农业科学, 2007, 35(6): 90-93
- [5] Yang N, Shen QR, Xu YC. Isolation and biological control of an antagonistic bacteria against medicinal chrysanthemum fusarium wilt[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(3): 731-736 (in Chinese)
杨娜, 沈其荣, 徐阳春. 一株抗药用白菊枯萎病生防菌的分离与生防效应研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 731-736
- [6] Liang Y, Zhang GY, Wang C, et al. Identification and biocontrol effect of a strain of actinomycete antagonistic to wilt disease of cucumber[J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(4): 174-181 (in Chinese)
梁银, 张谷月, 王辰, 等. 一株拮抗放线菌的鉴定及其对黄瓜枯萎病的生防效应研究[J]. 土壤学报, 2013, 50(4): 174-181
- [7] Sun GZ, Yao T, Zhao GQ, et al. An assessment of the level of control of two fungal pathogens by various plant growth promoting rhizobacteria[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(8): 154-163 (in Chinese)
孙广正, 姚拓, 赵桂琴, 等. 植物根际促生菌对两种真菌病害病原的抑制作用及其鉴定[J]. 草业学报, 2016, 25(8): 154-163
- [8] Rong LY, Yao T, Zhao GQ, et al. Screening of siderophore-producing PGPR bacteria and their antagonism against the pathogens[J]. Plant Protection, 2011, 37(1): 59-64 (in Chinese)
荣良燕, 姚拓, 赵桂琴, 等. 产铁载体PGPR菌筛选及其对病原菌的拮抗作用[J]. 植物保护, 2011, 37(1): 59-64
- [9] Liang FC, Zhang LL, Li Y, et al. Effect of wood vinegar on seed viability and seedling growth of summer squash[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(16): 51-55 (in Chinese)
梁凤臣, 张丽丽, 李艳, 等. 木醋液浸种对西葫芦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2016, 32(16): 51-55
- [10] Kloepper JW, Leong J, Teintze M, et al. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Nature, 1980, 286(5776): 885-886
- [11] Chen C, Chen SF, Wang JY, et al. Isolation, identification and the biocontrol potential of a strain of *Brevibacillus laterosporus*[J]. Microbiology China, 2014, 41(11): 2275-2282 (in Chinese)
陈潺, 陈升富, 王建宇, 等. 侧孢短芽孢杆菌AMCC 100017的分离鉴定及其生防潜力[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2275-2282
- [12] Wang XH, Zhang GY, Li R, et al. Control of watermelon fusarium wilt by using antagonist-enhanced biological organic fertilizers[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2013, 19(1): 223-231 (in Chinese)
王小慧, 张国漪, 李蕊, 等. 拮抗菌强化的生物有机肥对西瓜枯萎病的防治作用[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(1): 223-231
- [13] Zhu SL, Liu XB, Cai JM, et al. Isolation of endophytic bacterial BEB33 and its bio-control evaluation against banana Fusarium Wilt[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(6): 1177-1182 (in Chinese)
朱森林, 刘先宝, 蔡吉苗, 等. 内生细菌BEB33的分离、鉴定及对香蕉枯萎病的生防作用评价[J]. 热带作物学报, 2014, 35(6): 1177-1182
- [14] Roberti R, Veronesi A, Flamigni F. Evaluation of microbial products for the control of zucchini foot and root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1[J]. Phytopathologia Mediterranea, 2012, 51(2): 317-331
- [15] Si DX, Lü FT, Dai BG, et al. Effect of eco-organic fertilizer application on yield, quality and economic return of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in solar greenhouse[J]. Northern Horticulture, 2016(1): 147-152 (in Chinese)
司东霞, 吕福堂, 戴保国, 等. 生态有机肥对日光温室西葫芦产量、品质及经济效益的影响[J]. 北方园艺, 2016(1): 147-152
- [16] Sun GZ, Yao T, Liu T, et al. Antagonism of plant growth promoting rhizobacteria on three soil-borne fungous pathogen[J]. Microbiology China, 2014, 41(11): 2293-2300 (in Chinese)
孙广正, 姚拓, 刘婷, 等. 植物根际促生菌对3种土传真菌病害病原的抑制作用[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2293-2300
- [17] García-Gutiérrez L, Romero D, Zeriouh H, et al. Isolation and

- selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon[J]. Plant and Soil, 2012, 358(1/2): 201-212
- [18] Han HW, Sun LN, Yao T, et al. Effects of bio-fertilizers with different PGPR strain combinations on yield and quality of alfalfa[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 104-112 (in Chinese)
韩华雯, 孙丽娜, 姚拓, 等. 不同促生菌株组合对紫花苜蓿产量和品质的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 104-112
- [19] Yang M, Chen LR, Wang JY, et al. Effect of nitrogen on root growth and yield formation of rape[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(4): 66-69 (in Chinese)
杨明, 陈历儒, 王继明, 等. 氮素对油菜根系生长和产量形成的影响[J]. 西北农业学报, 2010, 19(4): 66-69
- [20] Xiang XY, Liu Q, Rong XM, et al. Effects of different combined application of organic manures and inorganic fertilizer on yield and N use efficiency of double-rice[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2014, 40(1): 72-77 (in Chinese)
- [21] Wang Q, Zhang LX, Lü YH, et al. Effects of application of Chinese milk vetch and fertilizer on rice yield and soil nutrient content[J]. Pratacultural Science, 2012, 29(1): 92-96 (in Chinese)
王琴, 张丽霞, 吕玉虎, 等. 紫云英与化肥配施对水稻产量和土壤养分含量的影响[J]. 草业科学, 2012, 29(1): 92-96
- [22] Zhang JD, Bao XG, Hu ZQ, et al. Effect of combined application of green manure and chemical fertilizer on wheat yield and soil fertility[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2012, 29(6): 125-129 (in Chinese)
张久东, 包兴国, 胡志桥, 等. 绿肥与化肥配施对小麦产量和土壤肥力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 29(6): 125-129

(上接 p.1064)

征稿简则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要：1) 建议使用第一人称，以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的；2) 建议用主动语态，被动语态表达拖拉模糊，尽量不用，这样可以避免长句，以求简单清晰；3) 建议使用过去时态，要求语法正确，句子通顺；4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致，但可比中文摘要更详尽，写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语，除非是人人皆知的，如：DNA, ATP 等；6) 在英文摘要中，不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词：应明确、具体，一些模糊、笼统的词语最好不用，如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文，请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本)，申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章，请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章，所有形式的(即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议，敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工，但如涉及内容的大量改动，将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性，因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果，由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件，一般在收稿 2 月之内通过 E-mail 说明原因，作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后，作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充，然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿，待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单，稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准，对稿件采取择优登的原则。

5 发表费及稿费

论文一经录用，将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址：北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel : 010-64807511 ; E-mail : tongbao@im.ac.cn ; 网址 : <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>