



生防芽孢杆菌 8-32 对盆栽大豆土壤酶系和微生物区系的影响

杨可欣, 王欢, 刘雪娇, 时向哲, 贾田惠, 高同国

(河北农业大学 生命科学院, 河北 保定 071000)

摘要: 前期研究中筛选到一株对大豆根腐病病原菌—尖孢镰刀菌具有较强拮抗作用的菌株 *Bacillus subtilis* 8-32, 其生防效果达 32.08%。本试验采用盆栽法, 研究接种不同浓度枯草芽孢杆菌 8-32 (*Bacillus subtilis* 8-32) 后, 土壤酶系和微生物区系的变化情况。结果表明: 使用枯草芽孢杆菌 8-32 后土壤脲酶活性增加了 16.9%~66.7%, 蛋白酶活性增加了 88.8%~131.0%, 酸性磷酸酶活性增加了 20.6%~51.8%, 碱性磷酸酶活性增加了 7.5%~14.6%, 根际土壤中细菌数量增加 8.5%~72.5%, 对土壤中真菌数量抑制率最高达 37.2%, 放线菌数量也有明显增加。说明菌株 8-32 对由尖孢镰刀菌引起的大豆根腐病有显著的防治效果, 具有进一步应用的潜力。

关键词: 大豆根腐病; 生物防治; *Bacillus subtilis*; 土壤酶系; 微生物区系

Effect of *Bacillus Subtilis* 8-32 on Soil Enzymes and Microflora of Potted Soybean

YANG Ke-xin, WANG Huan, LIU Xue-jiao, SHI Xiang-zhe, JIA Tian-hui, GAO Tong-guo

(College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: In previous study, a strain *Bacillus subtilis* 8-32, which had strong antagonistic ability against to *Fusarium oxysporum* was screened, its biocontrol effect reached to 32.08%. In this experiment, further study was carried out by pot experiments. We studied the changing of soil enzyme system and microflora after inoculated different concentration of *Bacillus subtilis* 8-32. The results showed that: *Bacillus subtilis* 8-32 increased the activity of soil urease by 16.9%–66.7%, protease activity increased by 88.8%–131.0%, acid phosphatase activity increased by 20.6%–51.8%, alkaline phosphatase activity increased by 7.5%–14.6% and bacteria in soil increased by 8.5%–72.5%, the quantity of soil fungi inhibition rate reached to 37.2%, the number of actinomycetes increased obviously. It indicated that strain 8-32 has significant control effect on soybean root rot caused by *Fusarium oxysporum*, and has potential for further application.

Keywords: Soybean root rot; Biocontrol; *Bacillus subtilis*; Soil enzymes; Microflora

根腐病是大豆的主要病害之一, 在中国主要发生在黄淮和黑龙江产区, 发病时一般减产 10%~30%, 重病地减产 60%, 甚至绝收^[1]。引起根腐病的病原菌主要有尖孢镰刀菌、茄腐镰刀菌、立枯丝核菌、终极腐霉菌等真菌, 其中尖孢镰刀菌是大豆根腐病的优势致病菌^[2-5]。目前根腐病的防治还主要依靠化学试剂, 致使病原菌抗性增加、毒性和环境污染问题日益突出, 成为制约农业可持续发展的主要障碍^[6]。生防微生物具有环境兼容性好、无毒无害的优点, 是化学药剂的理想替代品^[7]。大豆根腐病的生物防治已成为全世界研究的热点之一, 而芽孢杆菌是目前生防细菌中研究较多的一类, 其能产生多种抗菌素和酶, 具有广谱抗菌活性和极强的抗逆能力^[8], 被认为是理想的生防细菌。其中枯草

芽孢杆菌因其抑菌谱广且对多种植物病害具较好防效而引起植保研究者的广泛关注^[9]。如美国 Gustafson 公司和 Microbio Ltd 公司分别用枯草芽孢杆菌 GB03 和 MBI600 开发的杀菌剂 Kodiak 和 Subtilex, 根部施用或拌种可防治豆类根部病害; Taensa 公司用解淀粉枯草芽孢杆菌变种 (*B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* FZB24) 开发出的植被促长剂 TaegroTM, 施用可防治由镰刀菌和丝核菌引起的根腐病^[10]; 俄罗斯全俄植保所开发的枯草芽孢杆菌可湿性粉剂 Alifine-B, 可用于防治多种作物真菌病害^[11]。中国开发成功并投入生产的枯草芽孢杆菌商品制剂百抗、根腐消等对大豆根腐病均有一定的防效^[12]。目前, 中国大豆根腐病的防治研究虽然已取得了一定进展, 但仍存在一些问题, 如: 虽然生防

收稿日期: 2018-04-29

基金项目: 河北农业大学教改项目 (2015JM04); 河北农业大学大学生创新创业训练计划 (2018156); 河北省教育厅拔尖人才项目 (BJ2016029); 河北自然科学基金青年项目 (C2015204031); 河北省教育厅课题“生物技术”品牌特色专业建设研究项目 (2012GJJG054); 教育部、河北省教育厅“生物技术”专业综合改革试点项目 (201202)。

第一作者简介: 杨可欣 (1998-), 女, 学士, 主要从事植物真菌病害研究。E-mail: 1679831908@qq.com。

通讯作者: 高同国 (1984-), 男, 博士, 讲师, 主要从事植物真菌病害生物防治研究。E-mail: gtgrxf@163.com。

菌对病原菌有很好的防治效果,但因受到外界条件(土壤物理条件和生物条件等)的影响,生防菌的防治效果并不稳定,这使生防菌剂的使用受到了限制。因此需要进一步开发大豆根腐病生防菌剂,进一步促进中国大豆根腐病的防治。

本实验室在前期工作中,以大豆根腐病病原菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)为指示菌,采用平板对峙法从实验室保存的 237 株芽孢杆菌中筛选得到一株具有较强拮抗能力的菌株枯草芽孢杆菌 8-32,其生防效果达 32.08%。其产生的抗菌物质具有一定的耐热、耐碱(pH11.0)、对蛋白酶不敏感等特性。并且枯草芽孢杆菌 8-32 可以促进大豆植株幼苗的生长,使株高增加 7.7%~15.8%,叶绿素含量提高 7.8%~12.9%,大豆 POD 活性增加 11.6%~63.8%^[13-15]。本试验采用盆栽方法对其生防效果进行验证,研究该拮抗菌对盆栽大豆根际土壤酶系(脲酶、蛋白酶、磷酸酶)和微生物区系的影响,以期开发大豆根腐病生防菌剂奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种:尖孢镰刀菌菌株,由中国科学院东北地理与生态研究所王光华教授提供;枯草芽孢杆菌 8-32,由河北农业大学生命科学学院实验室筛选并保藏。

试剂:试验中所用试剂均为分析纯,采购于天津市凯通化学试剂有限公司、天津市科密欧化学试剂有限公司等。

仪器:722E 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);H2500R 冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);PHS-3C 精密 pH 计(上海雷磁仪器厂);精密电子天平;电热恒温水浴锅;烘箱;10 目标准筛等。

1.2 试验设计

采集农田土,风干后过 10 目筛,每盆(直径 13 cm×高 12 cm)装土 1 kg。浇透水晾 2 d 后,将表面消毒后的大豆用尖孢镰刀菌菌液进行拌种,每盆保苗 3 株,每组处理 60 盆。待大豆幼苗长出第 4 片真叶时,处理 1、处理 2 和对照组分别加入含 1×10^6 CFU·mL⁻¹拮抗菌和含 1×10^8 CFU·mL⁻¹拮抗菌以及含有无菌水的液体 1 mL(用刀片在每株大豆主根际 1 cm 的地方划伤根部,以破坏大豆根系)。待大豆生长到第 7 天、第 14 天和第 21 天用四分法进行根际土壤取样,用于测定土壤脲酶、蛋白酶、磷酸酶

的活性和细菌、真菌、放线菌数量以及土壤微生物碳含量。

1.3 方法

1.3.1 微生物菌剂制备

(1)病原菌孢子悬液制备。挑取直径约为 0.6 cm 的尖孢镰刀菌指示菌菌块,接种于 PDA 平板中央,28℃培养 5 d。取 5 mL 无菌水倒入病原菌活化平板并用接种针刮取孢子制成孢子悬液。用血细胞计数板记录孢子悬液的孢子数,并将孢子悬液稀释至 1×10^5 CFU·mL⁻¹。

(2)枯草芽孢杆菌 8-32 菌剂制备。将 4℃保存的细菌接种在 NA 培养基平板上活化,37℃培养 24 h 后取出一环接种于 NB 培养基中,置于摇床中以 37℃ 160 r·min⁻¹培养 48 h 制成发酵液待用。将发酵液进行离心,弃去上清,用少量无菌水将其悬浮。使处理 1 中拮抗菌枯草芽孢杆菌 8-32 的最终含量约为 1×10^6 CFU·mL⁻¹,处理 2 中拮抗菌最终含量约为 1×10^8 CFU·mL⁻¹,对照组以无菌水代替拮抗菌菌液。

1.3.2 土壤酶系变化分析

(1)脲酶活性测定

脲酶测定采用比色法,称取 5 g 风干土样置于 50 mL 三角瓶中,加 2 mL 甲苯,混匀。静置 15 min 后加入 10 mL 10% 尿素、20 mL 柠檬酸盐缓冲液(pH6.7),震荡混匀。37℃恒温培养 24 h。培养结束后迅速过滤,取滤液 3 mL 加到 50 mL 容量瓶中定容至 20 mL。加入 4 mL 苯酚钠溶液(62.5% 苯酚和 27% 氢氧化钠等量混合)和 3 mL 次氯酸钠(活性氯的浓度为 0.9%)溶液。20 min 后定容,立即测 A_{578 nm}。根据吸光度与氮的标准曲线计算土壤样品中氮浓度,土壤脲酶活性以 24 h 后 1 g 土壤样品中氨基氮的微克数表示。

(2)蛋白酶活性测定

蛋白酶活性测定采用茚三酮比色法。称取 4 g 风干土样置于 50 mL 三角瓶中,加入 20 mL 1% 酪素、1 mL 甲苯,震荡后封口,30℃恒温培养 24 h。培养结束,加入 2 mL 0.05 mol·L⁻¹ 硫酸溶液和 12 mL 20% 硫酸钠溶液以沉淀蛋白质。6 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液 2 mL,测 A_{500 nm}。根据吸光度与甘氨酸标准曲线计算土样中氨基氮含量,土壤蛋白酶活性以 24 h 后 1 g 土样甘氨酸的微克数表示。

(3)磷酸酶活性测定

称取 5 g 风干土样置于 50 mL 三角瓶中,加入 2 mL 甲苯,轻摇 15 min 后加入 10 mL 磷酸苯二钠溶

液和 10 mL 对应的缓冲液(酸性磷酸酶:pH5.0 的醋酸盐缓冲液;碱性磷酸酶:pH10.0 的硼酸盐缓冲液),充分震荡摇匀,37℃ 恒温培养 24 h。过滤,取 3 mL 滤液于 50 mL 容量瓶,加入 20 mL 蒸馏水和 0.25 mL 对应的缓冲液,再加入 0.5 mL 2% 的 4-氨基安替吡啉和 0.5 mL 8% 的铁氰化钾,定容至 50 mL。15 min 后测 $A_{570\text{ nm}}$ 。根据吸光度与酚的标准曲线,计算土样中酚浓度。土壤磷酸酶活性以 24 h 后每 1 g 风干土壤中所释放的酚的毫克数表示。

1.3.3 土壤微生物区系分析

(1)微生物数量测定

取相当于烘干土重 10 g 的湿土迅速放入内装 90 mL 带玻璃珠的无菌水瓶中,制成 $10^{-3} \sim 10^{-7}$ 土壤稀释液。细菌的培养采用牛肉膏蛋白胨培养基;真菌的培养采用 PDA 培养基;放线菌的培养采用高氏一号培养基;每种稀释度 3 次重复,接种后于 28℃ 恒温倒置培养,观察菌落并记数。计算每 g 土壤中微生物数量,菌落数(CFU) · g⁻¹ 干土 = 每个皿菌落平均值 × 稀释倍数/干土重量。

(2)微生物量碳的测定

土壤微生物量碳的测定采用氯仿熏蒸浸提法^[16]。称取相当于烘干土重 20 g 湿土放入 100 mL 烧杯中,连同盛有 6 mL 左右无酒精氯仿的烧杯一起放入真空干燥器(底部加入少量水和 1 mol · L⁻¹ NaOH)内,抽真空,使氯仿沸腾,持续 2 min,关闭阀门,将真空干燥剂置于 25℃ 培养箱中保持 24 h。取出氯仿,再用真空泵反复抽气,直到土壤中闻不到氯仿味。按照 1:4 比例加入 0.5 mol · L⁻¹ K₂SO₄ 溶液,震荡 30 min(25℃,200 r · min⁻¹)后迅速用中速滤纸过滤,滤液立即测定或放入 -15℃ 下保存。再熏蒸开始的时候,另取等量的土样,用上述方法以 0.5 mol · L⁻¹ K₂SO₄ 溶液浸提,同时做空白。吸取 10 mL 浸提液于 150 mL 消煮管,加入 10 mL 0.018 mol · L⁻¹ K₂Cr₂O₇ - H₂SO₄ 溶液,摇匀后置于 (175 ± 1)℃ 的磷酸浴中煮沸 10 min,冷却后转移三角瓶中,加一滴邻啡罗啉指示剂,用 0.05 mol · L⁻¹ FeSO₄ 溶液滴定,溶液滴定过程中当溶液由黄色经绿色突变至棕红色为止。

土壤有机 C 量(mg · kg⁻¹) = 0.012/4 × 10⁶ × M × (V₀ - V) × f/W

式中:M 代表 FeSO₄ 溶液的浓度(mol · L⁻¹);V₀ 代表滴定空白所消耗的 FeSO₄ 的体积(mL);V 代表滴定土壤样品所消耗的 FeSO₄ 溶液的体积(mL);

f 代表稀释倍数;W 代表烘干土重(g);0.012 代表碳的毫摩尔质量(g);10⁶ 换算系数。

土壤生物量碳(mg · kg⁻¹) = 2.64 × Ec

式中:Ec 熏蒸与不熏蒸土壤中有有机碳的差值;2.64 为校正系数。

1.4 数据分析

采用 Excel 2016 和 SPSS 19.0 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 土壤酶系变化分析

2.1.1 脲酶活性 土壤脲酶是土壤中能催化尿素水解的专一性水解酶,可以将尿素转变成氨以供给植物生长的需要,枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤脲酶活性的影响如图 1 所示,随着时间增加,土壤脲酶活性呈现先降低再升高的趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 提高了土壤脲酶的活性。在第 7 天土壤脲酶活性最高,处理 1、处理 2 分别较对照组高 17.7% 和 66.3%;在第 14 天时处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 34.4% 和 146.9%;第 21 天处理 1、处理 2 较对照组高 7.3% 和 29.4%。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以明显提高土壤脲酶的活性。

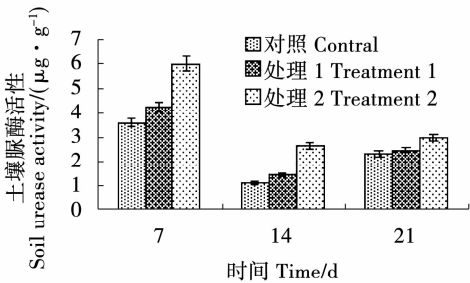


图 1 8-32 对土壤脲酶活性的影响

Fig. 1 Effect of 8-32 on soil urease activity

2.1.2 蛋白酶活性 土壤蛋白酶可以转化土壤中氨基酸、蛋白质及其他含氮有机化合物,水解产物是高等植物氮源之一。本试验枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤蛋白酶活性的影响如图 2 所示,随着时间增加,处理组土壤蛋白酶活性呈现先降低再升高的趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 提高了土壤蛋白酶的活性。在第 7 天土壤蛋白酶活性最高,处理 1、处理 2 分别较对照组高 107.0% 和 213.0%;在第 14 天处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 8.3% 和 19.6%;第 21 天处理 1、处理 2 较对照组高 217.7% 和 219.2%。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以明显提高土壤蛋白酶的活性。

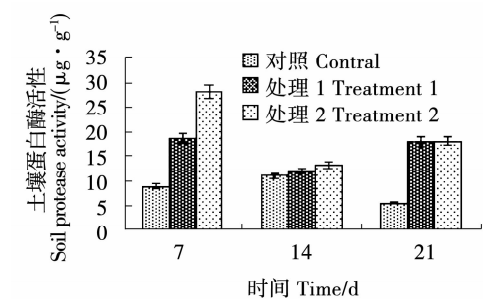


图2 8-32 对土壤蛋白酶活性的影响

Fig. 2 Effects of 8-32 on soil protease activity

2.1.3 磷酸酶活性 磷酸酶可以分为两类:酸性磷酸酶和碱性磷酸酶。土壤酸性磷酸酶可以分解土壤环境中的有机磷底物释放出可供植物直接吸收利用的 Pi。本试验中枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤酸性磷酸酶活性的影响见图 3 - A。随着时间增加,土壤酸性磷酸酶活性呈现降低的趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 提高了土壤酸性磷酸酶活性。第 7 天,酸性磷酸酶活性最高,处理 1、处理 2 分别较对照组高 19.8% 和 35.1%;第 14 天酸性磷酸酶活性较上周取样的酶活明显降低,处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 1.8% 和 35.7%;第 21 天处理 1、处理 2 较对照组高 73.5% 和 163.0%。3 次取样每次土壤酸性磷酸酶活性都比上次有所降低,表明酸性磷酸酶活性在大豆根腐病发病初期变化较明显。枯草芽孢杆菌 8-32 可以明显提高土壤酸性磷酸酶的活性。

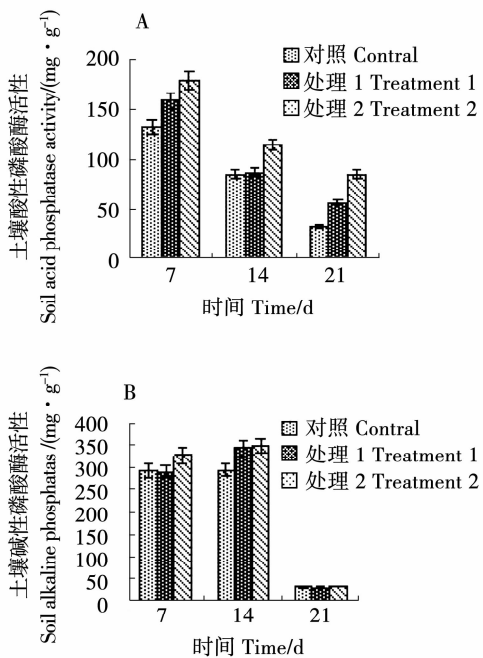


图3 8-32 对土壤酸性磷酸酶活性 (A) 和碱性磷酸酶活性 (B) 的影响

Fig. 3 Effects of 8-32 on soil acid phosphatase activity (A) and soil alkaline phosphatase activity (B)

碱性磷酸酶活性可以用来作为评价土壤肥力的综合指标。本试验中枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤碱性磷酸酶活性的影响见图 3 - B。结果显示:随着时间增加,土壤碱性磷酸酶活性呈现先升高再降低的趋势,碱性磷酸酶活性在前两次取样时较高,在最后一次取样时活性最低,可能是由于大豆生长的环境更加趋向于酸性,从而碱性磷酸酶活性逐渐降低。与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 提高了土壤碱性磷酸酶活性。在第 14 天酸性磷酸酶活性最高,第 21 天活性很低。处理 1 较对照组降低了 0.9%,处理 2 较对照组增加了 11.7%;第 14 天处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 17.0% 和 18.7%,变化较小;第 21 天时,为碱性磷酸酶活性最低点,处理 1 较对照组减少 3.0%,处理 2 较对照组增加 4.0% (图 3B)。表明枯草芽孢杆菌 8-32 对土壤碱性磷酸酶的活性影响不明显。

2.2 土壤微生物区系分析

2.2.1 细菌数量 细菌和其它土壤微生物可以一起参与腐殖质的形成和有机质的完全矿质化作用,有利于提高土壤肥力,促进植株生长发育,提高防御能力。本试验枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤中细菌数量的影响由图 4 可知,随着时间增加,土壤中细菌数量呈现先降低再升高的趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 提高了土壤中细菌数量。第 7 天土壤中细菌数量最高,处理 1、处理 2 分别较对照组高 8.6% 和 58.7%;第 14 天无论处理组还是对照组土壤中细菌数量较第 7 天数量都大幅下降,可能是由于栽培土壤环境的变化而引起的微生物数量的变化。处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 37.5% 和 217.2%;第 21 天,处理 2 根际土壤细菌数量较对照组增加了 59.4%。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以明显提高根际土壤中细菌数量。

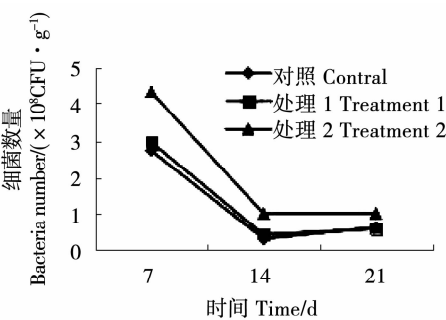


图4 8-32 对土壤细菌数量的影响

Fig. 4 The effect of 8-32 on soil bacteria number

2.2.2 真菌数量 土壤中腐霉菌、镰刀菌等真菌可以导致根腐病等多种病害。抑制土壤中致病真菌

数量可以改善大豆根腐病病症。本试验枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤中真菌数量的影响。由图 5 可知,随着时间增加,土壤中真菌数量呈现先升高再降低的趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 降低了土壤中真菌数量。在第 7 天,处理 1、处理 2 土壤根际中真菌数量分别较对照组降低 16.7% 和 26.1%;第 14 天无论处理组还是对照组土壤中真菌数量较第 7 天数量都大幅升高,可能是由于土壤中细菌数量大幅降低而导致真菌大量繁殖。与对照组相比,处理 1 和处理 2 使土壤中真菌数量分别降低 12.0% 和 18.1%;第 21 天,处理 1、处理 2 较对照组分别减少 55.6% 和 59.4%。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以有效降低土壤中真菌数量。

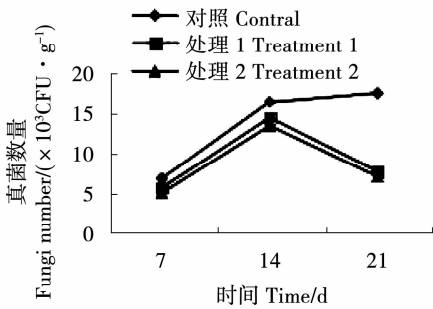


图 5 8-32 对土壤真菌数量的影响

Fig. 5 Effects of 8-32 on soil fungi number

2.2.3 放线菌数量 放线菌可以降解土壤中的各种不溶性有机物质,对有机物的矿化有着重要作用,从而参与自然界物质循环,净化环境,改良土壤^[17]。本试验枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤中放线菌数量的影响由图 6 可知,随着时间增加,处理组放线菌数量呈现升高趋势,与对照组相比,枯草芽孢杆菌 8-32 增加了土壤中放线菌数量。第 7 天,处理 1、处理 2 土壤根际中放线菌数量分别较对照组升高 20.5% 和 32.7%;第 14 天,处理组放线菌数量升高,对照组放线菌数量降低,处理 1 和处理 2 土壤放线菌数量较对照组分别升高 63.6% 和 98.8%;第 21 天,处理 1、处理 2 较对照组分别增加 26.9% 和 36.1%,且处理 2 土壤放线菌数量超过处理 1。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以使土壤中放线菌的数量有所增加。

2.2.4 微生物量碳含量 土壤微生物量碳是土壤碳素转化的重要环节,也是土壤有效碳库的重要组成部分,对土壤有效养分是一个很大的给源与库存^[18]。本试验枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病土壤微生物量碳的影响由图 7 可知,随着时间增加,土壤微生物量碳呈现先减少再增加的趋势,与对照组

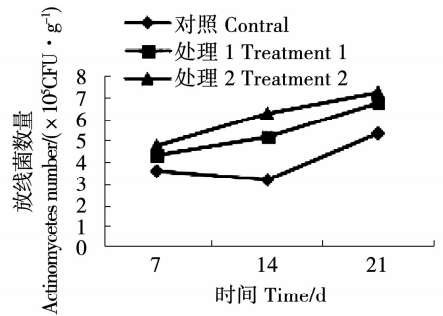


图 6 8-32 对土壤放线菌数量的影响

Fig. 6 Effect of 8-32 on soil actinomycetes number

相比,枯草芽孢杆菌 8-32 增加了土壤微生物量碳含量。第 7 天土壤微生物量碳含量最高,处理 1、处理 2 分别较对照组高 44.4% 和 111.1%;第 14 天无论处理组还是对照组土壤微生物量碳含量较第 7 天都大幅下降,可能是由于土壤中细菌数量大幅下降导致的。处理 1、处理 2 较对照组分别增加了 125.0% 和 200.0%;第 21 天,处理 1、处理 2 土壤微生物量碳含量比对照组分别增加了 57.1% 和 114.3%。表明枯草芽孢杆菌 8-32 可以提高土壤微生物量碳含量,其变化趋势符合土壤中细菌数量的变化趋势。

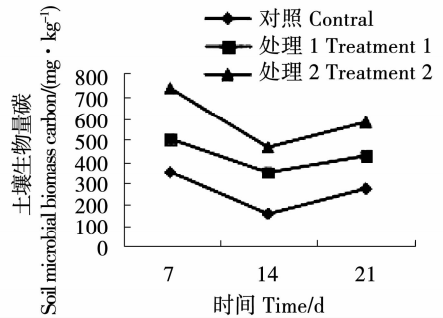


图 7 8-32 对土壤微生物量碳的影响

Fig. 7 Effects of 8-32 on soil microbial biomass carbon

3 讨论

植物的保护反应是复杂的新陈代谢的结果,其生理反应是通过酶催化活动来实现的。脲酶、蛋白酶、磷酸酶都属于水解酶类,参与土壤中各种化合物分子键的水解和裂解反应。脲酶酶促产物 - 氨是植物氮源之一;蛋白酶参与土壤中含氮化合物的转化,水解产物同样是植物的氮源之一;磷酸酶催化土壤中有机磷转化成可供植物吸收的无机磷。本试验中,各时期处理组与对照相比,整体上土壤酶活性均有不同程度的提高。可见生防菌剂的施入能有效改善根际的土壤环境,增强土壤的酶活性,进而能促进微生物大量繁殖,有利于植株对土壤中养分的吸收、增强植株自身的抗病性。

植物病害的出现不仅与土壤理化性质有关,还

与土壤微生物的种类和数量的改变有密切关系^[17-18]。土壤微生物区系改变是导致植物病害的主要原因之一。某些病原真菌在根际富集,打破了根际土壤微生物种群的平衡,从而导致作物病害发生。而细菌在土壤微生物中数量最多,在植物根系的微生态环境中起着重要的物质能量转化作用。放线菌分泌的抗生素可以抑制病原真菌的生长^[19],并且能够帮助分解植物残体^[20]。因此降低土壤中病原真菌数量,提高土壤中细菌和放线菌数量,是防治植物病害的有效举措。范文艳等^[21]筛选出的复合生防菌剂施用能有效降低大豆根际的镰刀菌属和丝核菌属等有害真菌数量,并显著提高了大豆根际的根瘤菌和固氮菌的比例。陈香等^[22]筛选出的海洋原芽孢杆菌 Y3F,施用后能显著降低黄瓜根际土的真菌和尖孢镰刀菌数量,增加根际细菌和放线菌数量,能有效防治黄瓜枯萎病害。本试验中枯草芽孢杆菌 8-32 可以有效调节大豆根际土壤的细菌,真菌和放线菌三大菌群的数量。研究结果表明,8-32 可以有效改善大豆根际微生态环境,降低根际真菌数量,增加细菌和放线菌所占比例。说明 8-32 对改善大豆根际微生物区系方面有良好的效果,具有较强的大豆根腐病的防治能力。

4 结 论

枯草芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病具有一定的防治效果,使用枯草芽孢杆菌 8-32 对土壤酶活性具有明显的促进作用,并且枯草芽孢杆菌 8-32 的施入有效降低了根际土壤中真菌的数量,增加了细菌和放线菌的数量,其微生物数量的变化有利于对大豆根腐病的防治。枯草芽孢杆菌 8-32 具有较强的大豆根腐病的防治能力,可进一步开发应用于实际生产,同时本研究结果为我国利用生物途径防治大豆根腐病提供了理论和实践依据。

参考文献

[1] 姜伊. 大豆根腐病主要致病菌种类及防控技术[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2014. (Jiang Y. Main pathogenic bacteria and control techniques of soybean root rot[D]. Harbin: Heilongjiang University, 2014.)

[2] 马淑梅. 黑龙江省大豆根腐病致病病原种类分布及抗病种质鉴定[J]. 中国农学通报, 2012, 28 (27): 230-235. (Ma S M. Pathogenic pathogen categories distribution and germplasm resistance identification of soybean root rot in Heilongjiang province [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28 (27): 230-235.)

[3] 成塔,董铮,李魏,等. 大豆根腐病研究进展[J]. 中国农学通

报, 2016, 32 (8): 58-62. (Cheng R, Dong Z, Li W, et al. Research progress of soybean root rot [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32 (8): 58-62.)

[4] 张丽,耿肖兵,王春玲,等. 黑龙江省大豆镰孢根腐病菌鉴定及致病力分析[J]. 植物保护, 2014, 40 (3): 165-168. (Zhang L, Geng X B, Wang C L, et al. Identification and virulence of *Fusarium* spp. causing soybean root rot in Heilongjiang province [J]. Plant Protection, 2014, 40 (3): 165-168.)

[5] 王晓艳,文景芝. 东北三省大豆根腐镰孢菌种类及其致病力分析[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33 (4): 391-395. (Wang X Y, Wen J Z. Species and pathogenicity of *Fusarium* causing soybean root rot in northeast China [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33 (4): 391-395.)

[6] 王丹秋,李焕玲,王惟萍,等. 李宝聚博士诊病手记(五十七) 枯草芽孢杆菌菌剂防治蔬菜病害应用技术研究[J]. 中国蔬菜, 2013 (5): 23-26. (Wang D Q, Li H L, Wang W P, et al. Dr. Li Baoju's record of diagnosis and treatment (fifty-seven) application of *Bacillus subtilis* inoculant to control vegetable diseases [J]. China Vegetables, 2013 (5): 23-26.)

[7] 杨洁. 微生物制剂对西瓜枯萎病的防治研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017. (Yang J. Study on the prevention and treatment of watermelon *Fusarium* wilt by microorganism preparation [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017.)

[8] 杨赞. *Paenibacillus polymyxa* SHIA-1408 产抗菌活性物质的研究[D]. 成都: 成都学院, 2017. (Yang Z. Study on antibacterial substances produced by *Paenibacillus polymyxa* SHIA-1408 [D]. Chengdu: Chengdu University, 2017.)

[9] 李晓舟. 枯草芽孢杆菌 B504 菌株形态学及生理生化性状研究[J]. 农民致富之友, 2015 (20): 75-76. (Li X Z. Morphological, physiological and biochemical characteristics of *Bacillus subtilis* strain B504 [J]. Friends of the Farmers, 2015 (20): 75-76.)

[10] 刘培福. 枯草芽孢杆菌 D221 发酵条件优化及对辣椒根腐病防治效果初探[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011. (Liu P F. Studies on optimization of fermentation conditions and biocontrol effects against *Fusarium solan* of *Bacillus subtilis* D221 [J]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2011.)

[11] 李晶,杨谦. 生防枯草芽孢杆菌的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008 (1): 106-111, 132. (Li J, Yang Q. Research progress on biocontrol *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008 (1): 106-111, 132.)

[12] 王佳. 大豆根腐病生防菌的鉴定及发酵条件的优化[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2010. (Wang J. Identification of biocontrol bacteria against soybean root rot and optimization of fermentation conditions [D]. Harbin: Heilongjiang University, 2012.)

[13] 高同国,李术娜,张冬冬,等. 大豆根腐病生防细菌优势菌株的筛选、鉴定及生防效果验证[J]. 大豆科学, 2015, 34 (4): 661-665. (Gao T G, Li S N, Zhang D D, et al. Screening and identification of biocontrol dominant bacterium against to soybean root rot [J]. Soybean Science, 2015, 34 (4): 661-665.)

[14] 胡云云,高同国,张冬冬,等. 大豆根腐病拮抗菌枯草芽孢杆菌 8-32 抗菌物质性质的初步研究[J]. 湖北农业科学, 2016, 55 (4): 917-920. (Hu Y Y, Gao T G, Zhang D D, et al. A prelimi-

nary study on physicochemical properties of antibacterial substances from *Bacillus subtilis* 8-32 against soybean root rot[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016,55(4):917-920.)

[15] 高同国,张冬冬,郭晓军,等. 芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病的生防效果[J]. 湖北农业科学,2015,54(18):4489-4492. (Gao T G, Zhang D D, Guo X J, et al. Biocontrol effect of *Bacillus* sp. 8-32 against soybean root rot[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015,54(18):4489-4492.)

[16] 郭振,王小利,徐虎,等. 长期施用有机肥增加黄壤稻田土壤微生物量碳氮[J]. 植物营养与肥料学报,2017,23(5):1168-1174. (Guo Z, Wang X L, Xu H, et al. A large number of long-term application of organic fertilizer can effectively increase microbial biomass carbon and nitrogen in yellow paddy soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017,23(5):1168-1174.)

[17] 马媛媛,李玉龙,来航线,等. 连作番茄根区病土对番茄生长及土壤线虫与微生物的影响[J]. 中国生态农业学报,2017, 25(5):730-739. (Ma Y Y, Li Y L, Lai H X, et al. Effect of sick rhizosphere soil under tomato continuous cropping on soil nematodes, microbes and tomato growth[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(5):730-739.)

[18] 王春燕,何念鹏,吕瑜良. 中国东部森林土壤有机碳组分的纬度格局及其影响因子[J]. 生态学报,2016,36(11):3176-3188. (Wang C Y, He N P, Lyu Y L. Latitudinal patterns and factors affecting different soil organic carbon fractions in the eastern forests of China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016,36(11):3176-3188.)

[19] 张晓燕. 内蒙古乌海地区土壤放线菌的分离及对马铃薯 3 种病原真菌的拮抗研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016. (Zhang X Y. Isolation of soil actinomycetes from Wuhai area of Inner Mongolia and their antagonistic effects on 3 pathogenic fungi of potato[D]. Hohhot: Agricultural University Of the Inner Mongol, 2016.)

[20] 詹庆,曹雅丽. 土壤中放线菌的分离与应用[J]. 现代园艺, 2017(3):24-25. (Zhan L, Cao Y L. Isolation and application of actinomycetes in soil[J]. Modern Horticulture, 2017(3):24-25.)

[21] 范文艳,陈瑾,姜述君,等. 复合生防菌群对连作大豆根际土壤可培养微生物区系的影响[J]. 中国油料作物学报,2012,34(3):286-293. (Fang W Y, Chen J, Jiang S J, et al. Effect of combined biocontrol agents on soybean rhizosphere culturable microbial flora from continuous soybean cropping soil[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2012,34(3):286-293.)

[22] 陈香,唐彤彤,孙星,等. 对黄瓜枯萎病具防效的海洋源芽孢杆菌 Y3F 的鉴定[J]. 微生物学通报,2017,44(10):2370-2379. (Chen X, Tang T T, Sun X, et al. Identification of *marine bacillus isolate* Y3F suppressing fusarium wilt of cucumber[J]. Microbiology China, 2017,44(10):2370-2379.)

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2019 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 12.00 元,全年 144.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 12.00 美元,全年 144.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010~2017 年合订本每册定价 180.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部
邮编:150086
电话:0451-86668373
投稿网址:www.haasep.cn

