



不吸水链霉菌公主岭变种诱导大豆抗病性与根际土壤微环境的变化

杜茜¹, 初佳芮^{1,2}, 郭永霞³, 张正坤¹, 张金花¹, 彭辉⁴, 陈光², 李启云¹

(1. 吉林省农业科学院 吉林省农业微生物重点实验室/农业部东北作物有害生物综合治理重点实验室, 吉林 长春 130033; 2. 吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118; 3. 集安市头道镇农业技术推广站, 吉林 集安 134200; 4. 吉林市农业科学院, 吉林 吉林 132101)

摘要:不吸水链霉菌公主岭变种(农抗“769”)是一株来源于土壤中对多种植物病原真菌具有较强拮抗作用的农用链霉菌,为明确农抗“769”对大豆抗疫霉根腐病的免疫诱抗作用及对大豆生长土壤微环境的影响,对盆栽种植不同大豆品种植株进行下胚轴创伤接种,鉴定大豆幼苗对疫霉根腐病的抗性,接种7 d后测定幼苗叶片PAL、PPO、MDA、SOD、CAT、POD、GLU的活性及Chl的含量。小区试验采取随机区组设计,在大豆播种后以农抗“769”菌液浇灌,采用稀释平板法测定不同生育期土壤中可培养细菌、真菌、放线菌菌群数量,并测定土壤中过氧化氢酶、碱性磷酸酶、脲酶和蔗糖酶等生物酶的活性。试验结果表明:农抗“769”菌液浇灌后不同品种的大豆幼苗在抵御疫霉根腐病侵染时发病率均有不同程度的降低。4个品种在农抗“769”诱导下抗性顺序为:Williams 82 > 沈农9号 > 九农21 > Jack,分别比对照提高74.74%、68.82%、14.32%和8.30%。农抗“769”诱导可增强大豆幼苗的诱导抗性,且在病原菌侵入时具有更强的系统抗性。在病原菌与农抗“769”的双重诱导下,PAL、PPO、SOD、CAT、GLU表达量分别比对照提高95.22%、34.55%、9.46%、73.01%和10.71%,Chl的含量比对照高18.19%;MDA比对照降低了33.47%,POD活性比对照降低0.69%,差异不显著。农抗“769”菌液浇灌对根际土壤微生物群落结构优化及土壤酶活性升高具有促进作用。农抗“769”菌液浇灌后大豆植株根际土壤中可培养细菌、放线菌菌群数量增加,真菌菌群数量降低,根际土壤中蔗糖酶、脲酶和磷酸酶活性与对照相比最高分别提高342.59%、73.98%和150.27%,过氧化氢酶活性变化不显著。农抗“769”诱导可提升大豆对疫霉根腐病的抗性,并对其生长的土壤微环境的改良具有积极的作用。

关键词:不吸水链霉菌公主岭变种(农抗“769”);大豆;疫霉根腐病;诱导抗性;微生物种群;土壤酶活

Changes of Soybean Disease Resistance and the Rhizosphere Micro-environment Induced by *Streptomyces gongzhulingensis* n. var

DU Qian¹, CHU Jia-rui^{1,2}, GUO Yong-xia³, ZHANG Zheng-kun¹, ZHANG Jin-hua¹, PENG Hui⁴, CHEN Guang², LI Qi-yun¹

(1. Key laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northeast Ministry of Agriculture, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Jilin Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Changchun 130033, China; 2. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 3. Ji'an Tou-dao Town Agricultural Technology Extension Station, Ji'an 134200, China; 4. Jilin City Academy of Agricultural Sciences, Jilin 132101, China)

Abstract: *Streptomyces gongzhulingensis* n. var strain 769 is a soil bacterium which had strong anti-bacterial activity against many important plant pathogenic fungi. This experiment aimed to explore the resistance against *Phytophthora* root and stem rot (PRR) and the effects of soil micro-environment during soybean planting induced by *S. gongzhulingensis* n. var. The soybean seeds were watered with *S. gongzhulingensis* n. var solutions and the seedlings were evaluated by the hypocotyl inoculation method with minor modifications in the pot trials. We identified the resistance of soybean seedlings to PRR and investigated the change of physiological characteristics such as PAL, PPO, MDA, SOD, CAT, POD, GLU and Chl in leaves 7 d after inoculation. And we studied the effects of *S. gongzhulingensis* n. var solutions on microbial biomass such as bacteria, fungi, actinomycetes and activities of soil enzymes such as urease, sucrase, phosphatase, catalase in rhizosphere of soybean through planting in the field. The results showed that the mortality rate of infected soybean seedlings of different cultivars was decreased with watered by *S. gongzhulingensis* n. var solutions in greenhouse situations. Compared to CK, the cultivars of Williams 82, Shennong 9, Jiunong 21 and Jack were increased by 74.74%, 68.82%, 14.32%, 8.30%, respectively. *S. gongzhulingensis* n. var can increased the induced resistance of soybean seedlings against PRR. And the induced resistance turned stronger when the seedlings infected by *Phytophthora sojae*. Compared to the CK, under *S. gongzhulingensis* n. var solutions and the pathogen provoked together, the activities and contents of PAL, PPO, SOD, CAT, GLU, Chl were increased by 74.74%, 68.82%, 14.32%, 8.30%, respectively. The MDA content decreased 33.47%. PAL, POD activities decreased by 0.69%, the difference between provoked and CK was non-significant. Watering with *S. gongzhulingensis* n. var could improve the soil microbe community structures. The quantities of bacteria and actinomycetes were increased and fungi number in

收稿日期:2019-06-21

基金项目:国家重点研发计划(2017YFD0200608);吉林省农业科技创新工程重大项目(CXGC2017ZD006);国家重点研发计划(2017YFD0201104)。

第一作者简介:杜茜(1979-),女,博士,副研究员,主要从事农业微生物与植物分子生物学研究。E-mail: dqzjk@163.com。

通讯作者:李启云(1974-),男,博士,研究员,主要从事农业微生物研究。E-mail: qyli@cjaas.com。

陈光(1961-),女,博士,教授,主要从事酶与发酵产品的开发和应用研究。E-mail: chg61@163.com。

rhizosphere soil decreased. Watering with *S. gongzhulingensis* n. var could significantly increase the activities of sucrose, urease and phosphatase in rhizosphere soil by 342.59%, 73.98% and 150.27%, respectively. And the activities of catalase had no significant difference among the treatments in this study. Application of *S. gongzhulingensis* n. var to soybean has significant potential for improvement of soybean resistance to *P. soja* and soil micro-ecological environment.

Keywords: *S. gongzhulingensis* n. var; Soybean(*Glycine max*); *Phytophthora* root and stem rot(PRR); Induced resistance; Microbial communities; Soil enzyme activity

大豆疫霉根腐病是世界范围内危害大豆生产的毁灭性土传病害,其发生对大豆产量、品质及大豆的安全生产构成极大的潜在威胁^[1],有效防控大豆疫霉根腐病具有重要的意义。植物应对病原菌侵染,表现出与品种相关的抗病性及生理反应的差异^[2-3],目前,已经鉴定的大豆根腐病菌的生理小种至少有55个之多^[4],使用抗病品种是防治大豆疫霉根腐病最有效的方法。但是由于大豆疫霉根腐病菌自身变异性高且毒力结构较为复杂,抗性品种的抗性有效期只有8~15年^[5-6]。

植物根际是植物与外界环境交流的主要场所,生防菌剂的引入在诱导植物抗病相关酶发挥作用的同时,其产生的一些代谢产物随着植物根系分泌物一起分泌到土壤中,可引起植物根际土壤微环境的变化^[7]。不吸水链霉菌公主岭变种(*Streptomyces ahygrosopicus gongzhulingensis* n. var. *Ruan et zhang* 1974),即农抗“769”是一株对病原真菌具有广谱抑菌作用的生防链霉菌,其代谢产物公主岭霉素是一种自然生物合成的混合制剂。研发之初,农抗“769”及公主岭霉素主要应用于玉米、高粱、小麦等作物土传病害的防治。近年研究表明农抗“769”可诱导植株体内抗病相关防御酶活性的变化,提高植株的抗病性,并对植物具有促进生长和提升产量品质的作用,已有研究表明,农抗“769”可提升水稻、百日草等植物的抗病性^[8-10],且农抗“769”施用可促进大豆生长和产量、品质的提升^[11]。目前,未见有将农抗“769”应用于大豆病害防治的相关报道。

鉴于公主岭霉素的广谱抗性及大豆疫霉根腐病的病害传播特性,本研究探讨农抗“769”用于大豆疫霉根腐病防治的可行性。本研究考察了不同大豆品种经农抗“769”诱导后对疫霉根腐病抗性的变化,分析大豆对农抗“769”免疫诱抗响应的潜力,并在大田生产环境下初步探索农抗“769”对大豆根际土壤微环境的影响,以明确利用农抗“769”的广谱杀菌作用和免疫诱抗特性缓解和防治大豆疫霉根腐病为害的可能性,为农抗“769”应用于大豆疫霉根腐病的生物防治提供试验数据支持和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为九农21、Jack、沈农9号和Williams 82,由吉林省农业科学院保存。

供试生防菌株为农抗“769”,由吉林省农业科学院生物农药实验室保存,培养基成份及含量参考张红丹等^[12]。

供试病原菌为大豆疫霉根腐病病原菌1号生理小种,由吉林省农业科学院植物保护研究所保存。

1.2 试验设计

在吉林省农科院公主岭院区安普温室内进行温室盆栽试验。选取Williams 82、Jack、九农21、沈农9号4个品种的饱满籽粒播种于小钵中,播种后每隔1d以 10^4 cfu·mL⁻¹的农抗“769”菌液浇灌,每钵浇灌50 mL,以清水浇灌作为对照。每个品种保苗30钵,每钵保苗1株,5次重复,至幼苗长至第一片真叶展开时选取健康及长势一致的幼苗,采用下胚轴创伤接种法接种大豆疫霉根腐病的病原菌菌块,对照接种培养基块,调察不同处理大豆幼苗的死亡率。

以Jack为试验材料,播种后设4个处理:(A)以清水浇灌,幼苗不接种病原菌;(B)浇灌 10^4 cfu·mL⁻¹农抗“769”菌液,幼苗不接种病原菌;(C)以清水浇灌,幼苗接种大豆疫霉根腐病的病原菌;(D)浇灌 10^4 cfu·mL⁻¹农抗“769”菌液,幼苗接种大豆疫霉根腐病的病原菌。在接种7d且病原菌成功侵染并表现病症时采集叶片,-80℃保存,以备测定幼苗抗病生理物质含量和活性的变化。幼苗叶片采集采取混合法,在幼苗最幼嫩真叶中间的小叶上取样,每5株混合为1个样品,5次重复。

田间试验在吉林省农科院长春院区进行,试验小区为新开垦。小区种植面积20 m²,每个处理设3次重复。以Williams 82和沈农9号为试验材料,在大豆生长季,播种后适时以 10^4 cfu·mL⁻¹的农抗“769”菌液浇灌,以清水浇灌做为对照。采用五点取样法,分别于播种前、播种后每次浇灌前和浇灌后5~10d(视天气情况)及大豆收获后采集土样。播种前采集深度为10~20 cm土壤。播种后采用抖落法^[13],采集根际土壤,铲去0~5 cm表层土壤,带土挖出植株。将采集的土壤样品分为两份,一份带回实验室置于阴凉通风处自然干燥至恒重,研磨过2 mm筛,过筛后保存于-80℃冰箱中备土壤理化性质的测定。另外一份装入已消毒过的密封塑料袋,带入实验室,用于微生物数量分析。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 大豆幼苗对疫霉根腐病抗性的测定 采用

下胚轴创伤接种法^[14-15],在幼苗接种 7 d 后,调查大豆幼苗的死亡率,考察农抗“769”诱导后大豆幼苗对疫霉根腐病抗性的变化。

1.3.2 大豆幼苗叶片防御酶活性测定 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定采用苯丙氨酸紫外吸收法^[16];多酚氧化酶(PPO)活性的测定采用邻苯二酚-紫外吸收法^[16];过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[16];超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑自氧化法^[17];过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用钼酸铵法^[18];丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[19];叶绿素(Chl)含量的测定采用分光光度法^[20];β-1,3-葡聚糖酶(GLU)活性的测定采用还原糖测定法^[21]。

1.3.3 土壤微生物菌群变化量的测定 土壤微生物种群数量测定采用稀释平板法。称取 1 g 大豆根际土壤样品,分别制备 10⁻³(真菌)、10⁻⁴(细菌和放线菌)土壤菌悬液,每处理设 5 次重复。取该稀释液 200 μL 分别涂布于牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(细菌)、马丁培养基+孟加拉红+硫酸链霉素(真菌)和改良高氏 1 号培养基+重铬酸钾(放线菌)上^[22],恒温培养(细菌为 37 ℃,真菌、放线菌为 28 ℃),记录菌落数,以无菌水作为对照。为消除地块间初始菌量的差异而引起的误差,本研究采用土壤微生物菌群数量的变化量表示,各变化量均为当月数值减去播种前数值。记录不同时期各菌群数量的变化量。

1.3.4 大豆根际土壤酶活性的测定 土壤酶活性的测定参照关松荫等^[23-24]的方法。其中土壤脲酶的测定采用苯酚-次氯酸钠比色法;土壤碱性磷酸酶活性的测定采用磷酸苯二钠比色法;土壤蔗糖酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法;土壤过氧化氢酶活性的测定采用高锰酸钾滴定法。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 处理数据并制图,采用 DPS v 7.05 进行单因素方差分析和多重比较(Duncan’s)。

2 结果与分析

2.1 农抗“769”对大豆幼苗疫霉根腐病抗性的影响

农抗“769”能诱导增强大豆幼苗对疫霉根腐病的抗病性,但存在品种间差异(表 1)。农抗“769”菌液浇灌后的大豆幼苗,在接种大豆疫霉根腐病菌后其死亡率均有不同程度的降低,4 个品种对农抗“769”的诱抗敏感性依次为:沈农 9 号>Williams82>九农 21>Jack。Williams 82 与沈农 9 号的死亡率降低幅度较大,分别比对照降低 74.74% 和 68.82%;Jack 对农抗“769”的诱导反应最不敏感,死亡率与对照相比仅降低了 8.30%。

表 1 农抗 769 对大豆抗疫霉根腐病的诱抗效果

Table 1 The resistance induced effect of the *S. gongzhulingensis* n. var fermentation against phytophthora root and stem rot (%)

大豆品种	处理	死亡率	死亡率改变幅度
Soybean cultivar	Treatment	Mortality rate	Rate of change
九农 21	菌液浇灌	72.13 ± 3.16 b	14.32
Junong 21	清水浇灌	84.19 ± 0.53 a	
Jack	菌液浇灌	52.39 ± 1.45 a	8.30
	清水浇灌	54.63 ± 2.81 a	
Williams 82	菌液浇灌	8.08 ± 0.41 b	74.74
	清水浇灌	31.96 ± 0.51 a	
沈农 9 号	菌液浇灌	10.95 ± 1.68 b	68.82
Shennong 9	清水浇灌	35.11 ± 3.21 a	

不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Different lowercase indicate significant difference (P<0.05) between treatment.

2.2 农抗“769”对大豆幼苗抗病防御酶及活性物质的影响

2.2.1 叶片中苯丙烷类代谢关键酶活性的变化 大豆幼苗叶片中 PAL 的表达,依赖于病原菌的入侵。在不接种病原菌的情况下,农抗“769”的诱导对幼苗叶片中的 PAL 活性未见显著影响,但在有病原菌侵入时,大豆幼苗由于前期受到农抗“769”的诱导,其活性较对照有显著差异(P<0.05),同等条件下活性比对照提高 95.22%。而同为苯丙烷类代谢途径的关键酶,PPO 活性的变化却与 PAL 有所不同。农抗“769”和植物病原菌均可诱导该酶活性的提升,病原菌入侵引发的过敏反应使大豆幼苗叶片中 PPO 活性较对照提高了 18.59%,农抗“769”菌液浇灌后大豆幼苗叶片中 PPO 活性比对照提高了 11.22%;但在农抗“769”与大豆疫霉根腐病菌的共同作用下,大豆幼苗叶片中 PPO 活性较病原菌接种对照提高 34.55%(图 1)。

2.2.2 叶片中植物氧化酶及相关活性物质活性和含量的变化 在没有病原菌侵染时,B 处理中以农抗“769”菌液浇灌打破了大豆幼苗体内活性氧的产生与清除之间的平衡,与 A 处理相比大豆幼苗叶片中 MDA、SOD、CAT 和 POD 分别提高了 17.24%、316.96%、1251.3% 和 21.17%;叶片中 MDA 含量的增高说明细胞膜结构受到胁迫,SOD、CAT 及 POD 活性升高,尤其是 SOD 和 CAT 的大幅度升高,及时清除了活性氧自由基、酚类物质及其氧化产物对大豆幼苗的伤害。病原菌的入侵也会打破大豆幼苗体内原有的平衡,发病时 MDA 比侵染前含量降低,而 SOD、CAT 活性较未受侵染的幼苗酶活力显著增强,POD 活性变化不显著。D 处理与 C 处理相比,SOD 和 CAT 分别提高 9.46% 和 73.01%,MDA 含量降低 33.47%,POD 活性降低 0.69%,差异不显著(图 2)。病原菌侵染条件下,大豆幼苗由于农抗“769”的诱导而对逆境具有更强的抵抗潜力。

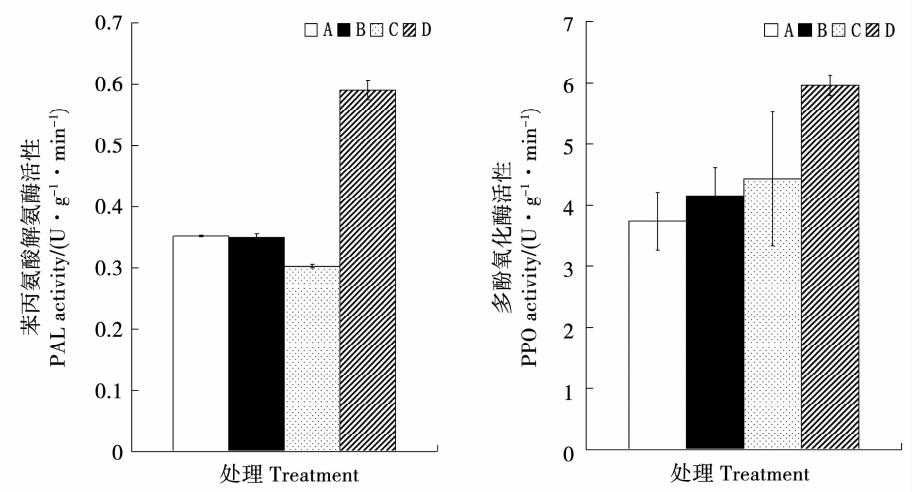


图 1 农抗“769”对大豆幼苗叶片苯丙烷类代谢关键酶活性的影响

Fig. 1 The effects of the *S. gongzhulingensis* n. var fermentation production on activities of phenylpropanoid metabolism's key enzymes in soybean seedling leaves

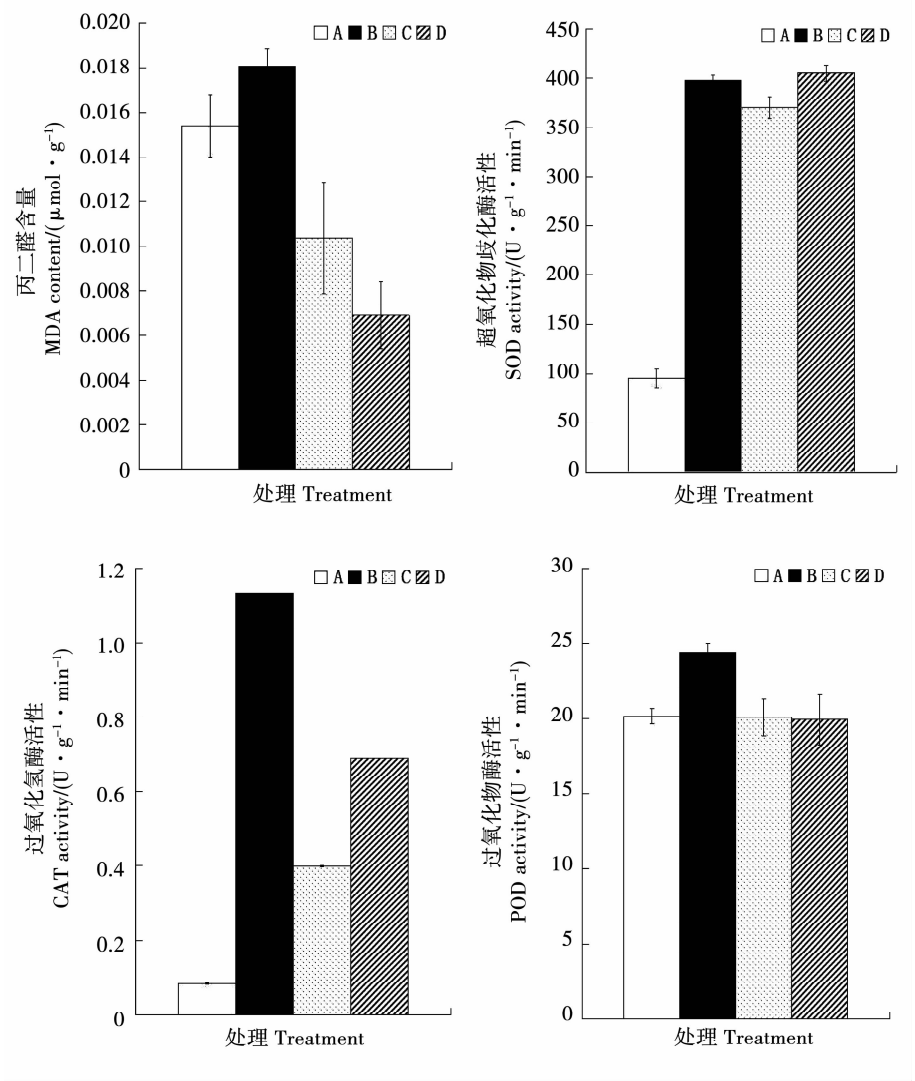


图 2 不同处理对大豆幼苗叶片 MDA 含量及主要植物氧化酶活性的影响

Fig. 2 The effects of different treatments on the MDA and plants oxidase activities in the soybean seedling leaves

2.2.3 叶片中 PR 蛋白酶活性和叶绿素含量的变化 大豆幼苗叶片中 GLU 活性及 Chl 含量的提高与植物病原菌的入侵有关。在无病原菌侵染时,农抗“769”诱导下叶片中 GLU 活性及 Chl 含量与对照相比无显著差异;有病原菌侵染时,清水浇灌和农抗“769”菌液浇灌的幼苗叶片中 GLU 活性和 Chl 含

量均比病原菌侵染前有大幅度增强,农抗“769”菌液浇灌的幼苗提升幅度更大,与清水浇灌相比,GLU 的活性提高 10.71%,Chl 的含量提高 18.19% (图 3)。上述研究表明,在农抗“769”与病原菌双重作用下,大豆幼苗由于农抗“769”的诱导而对逆境具有更强的抵抗能力。

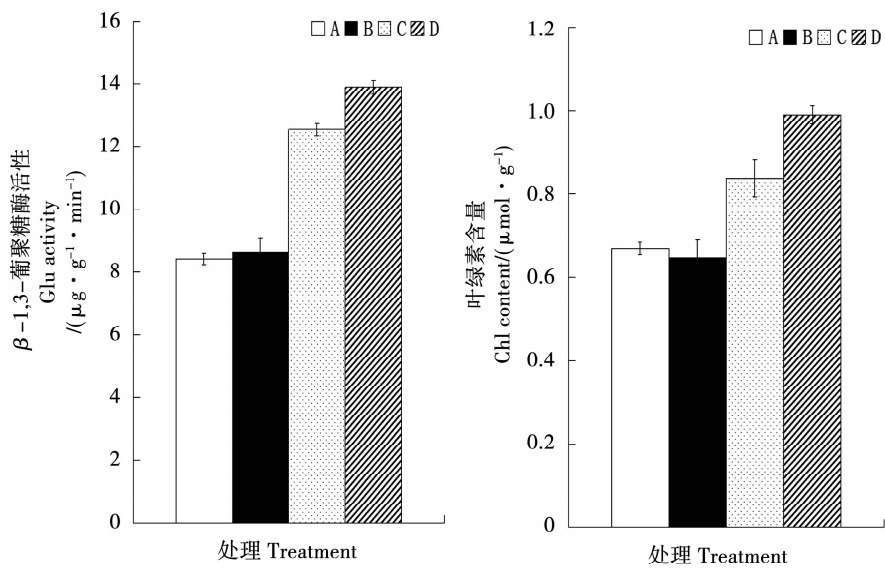


图 3 农抗 769 对大豆幼苗叶片 Glu 活性和 Chl 含量的影响
Fig. 3 The effects of the *S. gongzhulingensis* n. var fermentation production on Glu and Chl in soybean seedling leaves

2.3 农抗“769”对大豆根际土壤环境的影响

2.3.1 对大豆根际土壤微生物菌群的影响及季节变化规律 在特定的生长环境下,植物根系分泌的营养适合于特定微生物的繁殖,从而导致微生物种群及数量的变化。农抗“769”菌液以浇灌的方式施入大豆田中,在大豆的整个生育期,农抗“769”浇灌的地块与清水对照相比,Williams82 和沈农 9 号两个大豆品种生长土壤中微生物菌群整体变化趋势相似(图 4)。

(1)细菌:播种后,与对照相比,农抗“769”菌液浇灌的地块,其可培养细菌的数量升高的更为显著,在大豆生长旺盛期,其数量是对照的 1 倍以上,最多时达到 28 倍,且在大豆的整个生育期内均高于播种前,其变化趋势呈现不稳定的波动上升状态,这种动态的变化与农抗“769”的介入密切相关。在农抗“769”施入的 7 d 内,农抗“769”在土壤中与原有土著菌群之间对于底物、氧气等相互竞争而导致大豆根系土壤中可培养细菌的数量呈现上升的趋势。9 月中旬后,大豆进入收获期,由于停止了农抗“769”的介入且气温逐渐降低,土壤中可培养细菌菌群数量逐渐下降(图 4 A)。

(2)放线菌:土壤中可培养放线菌的数量在大豆的整个生育期呈现出在波动中稳步上升的态势。随着大豆的生长,土壤中放线菌菌群数量均呈波浪状升高,其数量的上升与农抗“769”的施入有直接的关系,每次的菌液浇灌,均会导致放线菌数量一定幅度地上升,虽与对照变化趋势一致,但数量上却有明显的差异,以 Williams 82 为例,第一次浇灌的一个月后(6 月 4 日样品)土壤中放线菌的数量较对照提高 92.50%,土壤中放线菌含量最高时(10 月 16 日样品)较对照提高 54.58%(图 4B)。

(3)真菌:大豆根系土壤中可培养真菌的数量,播种后呈现波动升降的趋势,且其峰期与细菌数量的谷期相对应。但农抗“769”浇灌的地块儿,播种后真菌数量逐渐下降,在 7 月中上旬真菌的数量达到最低值,后逐渐上升且在 8 月中旬达到峰值。8 月中旬后,伴随着农抗“769”菌液的浇灌,根系土壤中真菌数量阶段性下降,但其时效未达到一个月,在下次浇灌前真菌数量仍旧回到峰值,但其数量始终保持在一个稳定的范围内(图 4C)。

大豆田以农抗“769”浇灌后,土壤中细菌和放线菌的数量显著增加,而真菌数量的增长速度极显著下降,提高了土壤微生物的整体活性。

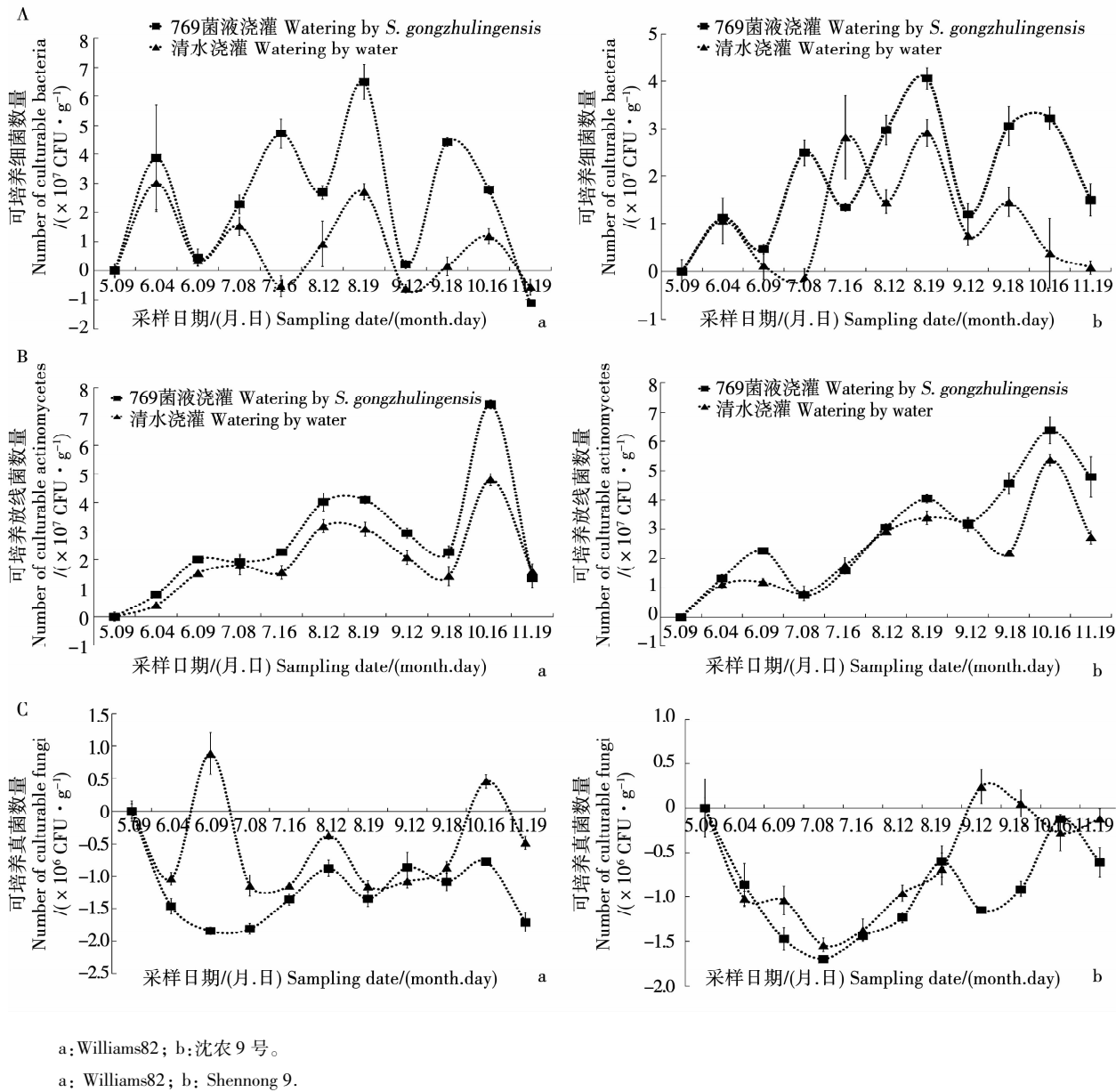


图 4 农抗 769 对土壤中可培养菌群数量的影响

Fig. 4 Effects of the *S. gongzhulingensis* n. var fermentation production on the visible number of bacterial colonies

2. 3. 2 链霉菌 769 施用对大豆田土壤酶活性的影响 由图 5 可知农抗“769”菌液浇灌,可使大豆根系土壤酶系活性增强,其中碱性磷酸酶、土壤脲酶和蔗糖酶活性分别提高了 17. 83% ~ 150. 27%、5. 25% ~ 73. 98% 和 8. 14% ~ 342. 59%, 但各酶的变化趋势略有不同。

(1)碱性磷酸酶:适当浓度的农抗“769”菌液浇灌,可促进大豆生长全生育期土壤中碱性磷酸酶活性的上升,且明显较清水对照的土壤中碱性磷酸酶活性高。浇灌农抗“769”菌液的根系土壤中碱性磷酸酶活性变化量随着的大豆的生长呈逐渐上升的趋势。农抗“769”菌液的介入可大幅提高根系土壤

中碱性磷酸酶活性,土壤中较高含量的碱性磷酸酶,可提高大豆对磷元素的利用率,促进大豆营养吸收与生长,促进大豆的生长(图 5A)。

(2)脲酶:浇灌农抗“769”菌液的地块儿,土壤中脲酶的活性明显高于清水对照,但二者变化趋势相同,即随着大豆的生长,土壤中脲酶的活性逐渐升高,并在 8 月中下旬(大豆开花结荚期)活性达到峰值,随后土壤中脲酶的活性逐步下降并趋于平稳。在大豆的生育期适当的施用农抗“769”可促进土壤中氮素的分解和利用,保持土壤中氮素含量的恒定,进而促进大豆幼苗对氮元素的固定和吸收(图 5B)。

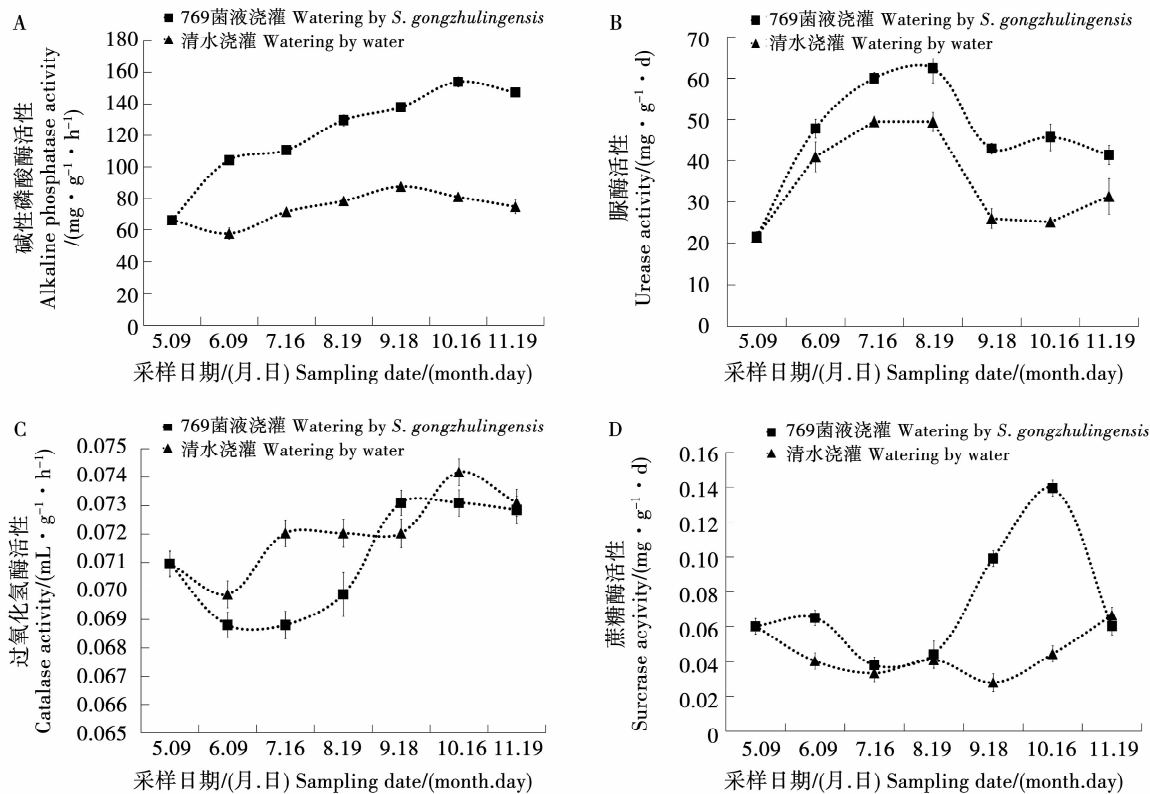


图5 农抗 769 对大豆土壤酶活性变化的影响 (Williams 82)

Fig.5 Effects of the *S. gongzhulingensis* n. var on the soil enzyme activity of the soybean (Williams 82)

(3) 过氧化氢酶: 本研究中, 种植大豆的地块儿为新开垦地块儿, 土壤贫瘠, 故在大豆生长的全生育期, 过氧化氢酶的活性水平极低, 酶活力最高时仅为 0.074 mL · g⁻¹ · h⁻¹, 农抗“769”的介入与对照之间无明显的差异。在大豆生长的过程中, 仅 9 月份的酶活力大于对照, 其余均较对照低, 在整个生育期内, 播种后的前两个月内酶活力呈下降趋势, 而后酶活力逐渐上升且在收获后高于播种前, 推测在大豆生长的前期, 由于大豆生长的需要, 消耗了土壤中的过氧化氢酶, 而后期由于大豆与土壤的相互影响及土壤中微生物数量和结构的变化, 引起了土壤中过氧化氢酶活力的升高, 表明土壤中有机质含量上升, 土壤肥力提高 (图 5C)。

(4) 蔗糖酶: 农抗“769”菌液的浇灌提高了大豆根系土壤中蔗糖酶的活性, 在大豆的整个生育期内, 根系土壤中蔗糖酶的活性均高于对照, 在大豆生长的后期影响最为显著, 在 9 月和 10 月的两次采样中, 酶活性比对照分别提高了 255.22% 和 214.56% (图 5D)。从大豆生长旺盛期开始土壤中蔗糖酶的活性越来越高直至大豆收获后。土壤中蔗糖酶活性的提高有利于提高土壤肥力, 浇灌农抗“769”菌液可提高土壤中蔗糖酶活性, 从而提高土壤肥力, 促进大豆生长。

农抗“769”的介入改善了大豆根际土壤微环

境, 促进了土壤有益菌的繁殖, 提高了土壤酶系活性, 进而促进土壤养分循环和矿化, 提高了土壤自我调节的能力。农抗“769”通过参与土壤有机质的分解和养分循环, 对植物生长及农田生态系统过程产生了直接或间接的有益影响。

3 讨论

3.1 大豆幼苗疫霉根腐病抗性

疫霉根腐病是大豆生产中最严重的病害之一, “以菌防病”的生物防治方式由于其特殊而复杂的作用机制, 被认为最具有发展潜力的防治方法之一。农抗“769”的施用可有效提高大豆幼苗对疫霉根腐病的抗性, 相对于对照, 经农抗“769”诱导后大豆幼苗表现出对疫霉根腐病菌侵染的明显抗性。

3.2 防御酶及活性物质

当植物受到病原物侵染时, 自我保护的生理反应是通过酶催化进行复杂的新陈代谢来实现的, 酶在植物抗病过程中的作用很重^[25]。PAL、PPO、SOD、CAT、POD、GLU 等是植物体内重要的防御酶, 其功能包括参与活性氧清除, 酚类、木质素和植保素等抗病相关物质的合成, 破坏病原菌细胞壁等, 使植物产生对病原菌的抵抗能力^[26-30]。另外, 逆境条件下植物叶绿素 (Chl) 含量的变化对其光合特性的调整起着重要作用, 是评价植物抗逆性的重要生

理指标之一^[31]。农抗“769”激发植物的防卫反应是一个复杂的生理生化过程,与植物病原菌的诱导有所不同。在农抗“769”的诱导下,大豆幼苗叶片抗病酶及活性物质的表达发生了变化,与对照相比表现出不同的变化趋势。已有研究表明,生防菌 TB2 和赤腐病菌共同诱导甘蔗叶片中 PPO、POD、SOD、PAL、CAT 等 5 种防御酶活性具有协同增效作用^[32]。本研究中,农抗“769”单因素介入,植物氧化酶类对农抗“769”的诱导响应明显,其中 SOD 和 CAT 酶活性变化尤为明显。农抗“769”与病原菌入侵协同诱导,各酶活性变化的幅度较单因素诱导变化的幅度大,其中 PAL、PPO、SOD、GLU、Chl 等生理活性物质也表现出协同增效的作用,表明在应对病原菌的入侵时,农抗“769”诱导后可更有效的保护幼苗免受病原菌的侵染。本研究中,作为植物体抗氧化酶系统中重要保护酶的 POD、CAT 及生物活性物质 MDA,在病原菌与农抗“769”共同作用下,其表达量水平下降,这与其所行使的生物功能有关,亦是其抗性提升的表现。SOD、POD 及 CAT 主要作用是使活性氧维持在正常水平而防止其对细胞膜的毒害^[33]。SOD 将氧自由基歧化为过氧化氢(H_2O_2)和氧气(O_2),植物体内 H_2O_2 可作为扩散的信号或作为在水杨酸(SA)介导的系统获得性抗性(SAR)信号转导过程中的第二信使,诱导邻近细胞或邻近组织防卫机制的启动^[34],而当 H_2O_2 积累量超过阈值,POD 和 CAT 清除 H_2O_2 ,三者相互协作,从而解除氧自由基所造成的氧化胁迫,同时降低或消除活性氧对膜脂的攻击能力,减少 MDA 的积累从而保护和修复膜结构^[35]。虽然 SOD、POD 及 CAT 三者的协同作用可有效地清除细胞中多余的活性氧和超氧物阴离子自由基,但 3 种酶在不同的植物以及植物受逆境胁迫的不同时期所起的作用不同,植物体中高水平的 CAT 活性是植物抗氧化胁迫所必需的,而低水平的 CAT 活性却又是诱导 SAR 发生的必要条件^[34,36-37]。本研究中,在农抗“769”诱导的大豆抗氧化反应中,病原菌侵染前农抗“769”诱导叶片中 SOD 酶活性升高,以消除由此产生的活性氧和自由基,叶片中的 POD 和 CAT 也相应的升高,使由此产生的多余 H_2O_2 维持平衡状态,这与链霉菌 JD211 诱导的水稻叶片中防御酶活性变化一致^[38]。在农抗“769”诱导和大豆疫霉根腐病菌入侵时,SOD 和 CAT 的共同作用建立了活性氧自由基清除的新平衡,由于病原菌入侵植株启动 SAR 抗病途径,病原菌入侵时 CAT 酶活性显著低于农抗“769”诱导时的活性。MDA 作为膜脂过氧化作用的最终产物,其

含量是膜脂过氧化程度的一个重要指标^[39-40]。植物体细胞内活性氧和自由基在细胞内积累量的增加会加速膜质过氧化和膜蛋白间的聚合,损伤膜系统,植物通过可溶性蛋白的积累来保护细胞膜表面,其表现就是细胞中 MDA 含量的增加^[41]。本研究中农抗“769”浇灌后叶片中 MDA 含量增加说明农抗“769”的诱导改变了细胞内外渗透压的平衡。韩庆典等^[42]研究表明,小麦在受到小麦白粉病菌的侵染后,高感品种叶片质膜受损伤程度较严重、膜脂过氧化程度较大,感病品种幼苗叶片中 MDA 含量增加幅度远远大于抗病品种。本研究中,受病原菌侵染后经农抗“769”诱导的植株叶片中 MDA 的含量明显低于对照,表明农抗“769”诱导后大豆幼苗对大豆疫霉根腐病菌的抵抗能力加强,农抗“769”的施用可降低大豆在逆境中被伤害的程度。

3.3 根际土壤环境

植物根际是植物与外界环境交流的主要场所,植物根际土壤微生物、土壤酶活性、土壤理化性质与寄主植物生长有密切相关^[43]。土壤微生物区系和土壤酶的活性,能直接反应土壤健康状况,是反映土壤质量、肥力的重要生物学指标^[44-45]。农抗“769”对土壤主要微生物类群具有改善作用,并能提高土壤中多种生物酶的活性,改善土壤环境。施用农抗“769”菌液后,与对照相比土壤中细菌和放线菌数量增加,真菌数量下降。土壤中细菌数量增加,可促进土壤中有机的分解与腐殖质的合成,为大豆生长提供所需养分^[46]。引起大豆病害的病原菌大多数为真菌,且大豆在苗期易感病,浇灌农抗“769”后土壤中真菌数量降低表明其对病原真菌的抑制作用较强,可有效控制大豆真菌病害的发生。放线菌具有分解土壤中的有机质,增加土壤中的含氮量,增加土壤肥力,产生抗生物质的能力,土壤中放线菌数量增加,可促进植株生长,提高植株抗病性。故以适当浓度的农抗“769”菌液浇灌具有提高土壤肥力,促进大豆生长,提高大豆抗病性的作用。农抗“769”菌液通过促进细菌和放线菌的生长同时抑制真菌生长来改变土壤微生物区系,与光和细菌菌剂对土壤微生物区系的影响相似^[44]。另外,农抗“769”本身为生防放线菌,土壤中放线菌数量的上升除了原土著放线菌数量的变化外,可能也与农抗“769”在土壤中的宿存和定殖有关,农抗“769”是否能在田间定殖、宿存及宿存量的变化需要做进一步的研究。本研究只对 3 个群落的微生物进行调查,而自然环境中的微生物仅 0.01% ~ 1% 是可以培养的,大部分处于不可培养状态^[47],是本

研究的一个限制性因素,后续的研究中将采用如 DGGE、基因克隆文库、宏基因组等手段进一步研究农抗“769”介入对农田土壤细菌群落多样性的影响。农抗“769”菌液浇灌后土壤中蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶活性升高,过氧化氢酶活性降低,表明农抗“769”的引入有利于增加土壤微生物多样性,优化土壤酶系组成,继而促进使土壤微生态环境得到改善,这与前人的研究结果相似^[7, 48]。在本研究中,土壤中蔗糖酶和过氧化氢酶的活力较低,可能与试验地自身的环境有关,本研究所在的地块儿为存放过建设垃圾的弃耕地,土壤呈粘性,有机质含量低。

生产中,在大豆疫霉根腐病的常发地块,可以通过土壤拌菌或浇灌菌液的方法控制田间病原菌的宿存量,并发挥农抗“769”的免疫诱抗活性诱导提升出土幼苗的抗病性,实施预防为主、防控结合的策略,通过增强植株的抗病性,实现有效防控大豆疫霉根腐病的目的。同时,农抗“769”的介入在一定程度上可改善大豆生长的土壤质量,提高土壤肥力,有利于农业的可持续生产。

4 结 论

本研究结果表明:大豆播种后,以农抗“769”菌液浇灌可以提升大豆幼苗在抵御疫霉根腐病感染时的抗性,但不同大豆品种间存在一定差异。农抗“769”可有效地诱导大豆对疫霉根腐病的系统获得抗性。农抗“769”菌液浇灌可以改变大豆赖以生长的土壤环境,促使大豆根际土壤中可培养细菌、放线菌菌群数量增加,真菌菌群数量降低,根际土壤中脲酶、磷酸酶、蔗糖酶活性提高,过氧化氢酶活性变化不显著。

参考文献

[1] 刘世名,李魏,戴良英. 大豆疫霉根腐病抗性研究进展[J]. 大豆科学, 2016, 35(2):320-329. (Liu S M, Li W, Dai L Y. Progresses in research on the resistance of soybean to phytophthora root rot caused by *phytophthora sojae* [J]. Soybean Science, 2016, 35(2):320-329.)

[2] 耿莉娜,龙艳玲,徐宸,等. 感染赤星病后不同烟草品种叶片防御酶的变化[J]. 西南大学学报(自然科学版),2018,40(10):19-24. (Geng L N, Long Y L, Xu C, et al. Change in activities of defensive enzymes in the leaves of different tobacco varieties infected by the pathogen of tobacco brown spot[J]. Journal of Southwest University(Natural Science Edition), 2018, 40(10):19-24.)

[3] 剧虹伶,张曼,阮云泽,等. 不同品种香蕉抗枯萎病效果及抗性生理研究[J]. 植物保护,2017,43(2):82-87. (Ju H L, Zhang M, Ruan Y Z, et al. The effects and mechanisms of different ba-

nana varieties to *Fusarium* wilt disease[J]. Plant Protection, 2017, 43(2): 82-87.)

[4] Burnham K. D. Quantitative trait loci for partial resistance to *phytophthora sojae* in soybean [J]. Crop Science, 2003, 43: 1610-1617.

[5] 王伟威,魏峡,丁俊杰,等. 大豆品种(系)对不同疫霉菌生理小种的抗性研究[J]. 大豆科学, 2014, 33(4):559-562. (Wang W W, Wei L, Ding J J, et al. Resistance research of soybean cultivars(Lines) against different *phytophthora sojae* spices[J]. Soybean Science, 2014, 33(4):559-562.)

[6] 朱振东,王化波,王晓鸣,等. 中国大豆疫霉菌分布及毒力多样性研究[J]. 中国农业科学,2003,36(7):793-799. (Zhu Z D, Wang H B, Wang X M, et al. Distribution and virulence diversity of *Phytophthora sojae* in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(7):793-799.)

[7] 吕雅悠,于迪,丁方丽,等. 促植物生长根际细菌 A21-4 对田间辣椒生长及根际土壤微生态环境的影响[J]. 中国生物防治学报,2016,32(1):86-92. (Lyu Y Y, Yu D, Ding F L, et al. Effects of PGPR strain A21-4 on growth and rhizosphere soil characters of pepper in field [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2016, 32(1):86-92.)

[8] 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.)

[9] 张振鲁,隋丽,张佳诗,等. 链霉菌 769 诱导对百日草抗病性的影响[J]. 中国植保导刊, 2013, 33(12):14-17, 13. (Zhang Z L, Sui L, Zhang J S, et al. Inducing effect of *Streptomyces gongzhulingensis* 769 on systemic resistance of *Zinnia elegans* [J]. China Plant Protection, 2013, 33(12):14-17, 13.)

[10] 安俊霞,张正坤,李晓光,等. 公主岭霉素对水稻稻瘟病田间防治效果[J]. 安徽农业科学,2018,46(34):130-134. (An J X, Zhang Z K, Li X G, et al. The control effect of gongzhulingmycin on rice blast [J]. Anhui Journal of Agricultural Sciences, 2018, 46(34):130-134.)

[11] 杜茜,初佳芮,汪洋洲,等. 不吸水链霉菌公主岭新变种对大豆生长和产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(6):130-132, 161. (Du Q, Chu J R, Wang Y Z, et al. Effect of *Streptomyces ahgrosopicus gongzhulingensis* n. var. on growth and yield of soybean [J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2018, 46(6):130-132, 161.)

[12] 张红丹,杜茜,张正坤,等. 放线菌 769 抑菌谱及液体培养生长曲线的测定[J]. 中国植保导刊, 2010, 30(7):5-9. (Zhang H D, Du Q, Zhang Z K, et al. Determination of actinomycin 769 inhibitory spectrum and liquid culture growth curve [J]. China Plant Protection, 2010, 30(7):5-9.)

[13] Fujii Y, Akihiro F, Syuntaro H. Rhizosphere soil method: A new bioassay to evaluate allelopathy in the field [J]. Proceedings and Selected Papers of the Fourth World Congress on Allelopathy, 2004: 490-492.

[14] 程艳波,马启彬,牟英辉,等. 华南大豆种质对疫霉根腐病的抗

- 性分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(12): 2296-2305. (Cheng Y B, Ma Q B, Mu Y H, et al. Analysis of resistance genes of soybean accessions from south China to phytophthora root rot[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(12): 2296-2305.)
- [15] Legrand M, Kauffmann S, Geoffroy P, et al. Biological function of pathogenesis-related proteins: Four tobacco pathogenesis-related proteins are chitinases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1987, 84(19): 6750-6754.
- [16] 麦麦提艾力·热合曼, 海利力·库尔班, 郭立华, 等. 灰霉菌激活蛋白诱导抗病相关的酶活性提高番茄抗病性[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(6): 780-786. (Mamateli R, Halil K, Guo L H, et al. Botrytis cinerea activator protein induce resistance-related enzyme activities and enhancement of disease resistance in tomato plants[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2014, 30(6): 780-786.)
- [17] 高福元, 张吉立, 刘振平. 冬季低温对4种彩叶植物SOD、POD活性影响的研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 169-173. (Gao F Y, Zhang J L, Liu Z P. Studies on effects of four species of color-leafed plants on SOD, POD activity of the cold-resistance in winter[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(5): 169-173.)
- [18] 彭建, 王丹英, 徐春梅, 等. 钼酸铵法测定水稻过氧化氢酶活性[J]. 中国农学通报, 2009, 25(16): 61-64. (Peng J, Wang D Y, Xu C M, et al. Ammonium molybdate method for detecting the activities of rice catalase[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(16): 61-64.)
- [19] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 120-241. (Gao J F. Guide for experimental principle and technique for plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 120-241.)
- [20] 李得孝, 侯万伟, 员海燕. 玉米叶片叶绿素快速浸提方法研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(11): 65-67. (Li D X, Hou W W, Yun H Y. Fast-soaking methods of chlorophyll from maize leaf[J]. Journal of Northwest Science and Technology University of Agriculcal and Forestry (Natural Science Edition), 2006, 34(11): 65-67.)
- [21] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001. (Cao J K, Jian W B, Zhao Y M. Postharvest physiological and biochemical experimental guidance for fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2001.)
- [22] 贾志红, 孙敏, 杨珍平, 等. 施肥对作物根际微生物的影响[J]. 作物学报, 2004(5): 491-495. (Jia Z H, Sun M, Yang Z P, et al. Influence of different fertilizers to crop rhizosphere microorganisms[J]. Acta Agronomica Sinica, 2004(5): 491-495.)
- [23] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 中国农业出版社, 1986: 271-319. (Guan S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 1986: 271-319.)
- [24] 于会泳, 宋晓丽, 王树声, 等. 低分子量有机酸对植烟土壤酶活性和细菌群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(24): 4936-4947. (Yu H Y, Song X L, Wang S S, et al. Effects of low molecular weight organic acids on soil enzymes activities and bacterial community structure[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(24): 4936-4947.)
- [25] 马春红, 范尉尉, 董文琦, 等. 黄萎病菌毒素粗提液对棉花抗性酶的诱导[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4314-4320. (Ma C H, Fan W W, Dong W Q, et al. Infection of the verticillium dahliae toxin filtrate inducing anti-enzyme in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(12): 4314-4320.)
- [26] 申宏波, 胡志凤, 丁俊杰, 等. Harpins 诱导苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性防治大豆疫霉根腐病研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(3): 526-528. (Shen H B, Hu Z F, Ding J J, et al. Harpins protein alleviate phytophthora megasperma by adjusting PAL enzyme activity in soybean[J]. Soybean Science, 2011, 30(3): 526-528.)
- [27] 徐鹏飞, 常敬礼, 赵福华, 等. 野生大豆接种大豆疫霉根腐病菌后多酚氧化酶(PPO)活性变化[J]. 大豆科学, 2012, 31(1): 99-102. (Xu P F, Chang J L, Zhao F H, et al. Response of polyphenol oxidase activity in Glycine soja inoculated with phytophthora sojae[J]. Soybean Science, 2012, 31(1): 99-102.)
- [28] Hao Z N, Wang L P, He Y P, et al. Expression of defense genes and activities of antioxidant enzyme in rice resistance to rice stripe virus and small brown planthopper[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49(7): 744-751.
- [29] 黄玉茜, 韩晓日, 杨劲峰, 等. 连作胁迫对花生叶片防御酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(6): 638-645. (Huang Y Q, Han X R, Yang J F, et al. Influence of continuous cropping stress on defense enzyme activity and MDA content of peanut leaves[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2013, 35(6): 638-645.)
- [30] 刘爱新, 董汉松, 梁元存, 等. 烟草几丁酶 β -1.3-葡聚糖酶的抑菌作用[J]. 微生物学通报, 1999(1): 15-17. (Liu A X, Dong H S, Liang Y C, et al. Inhibition of tobacco chitinase and β -1.3-glucanase to some pathogenic fungi[J]. Microbiology China, 1999(1): 15-17.)
- [31] 左应梅, 杨维泽, 杨天梅, 等. 干旱胁迫下4种人参属植物抗性生理指标的比较[J]. 作物杂志, 2016(3): 84-88. (Zuo Y M, Yang W Z, Yang T M, et al. Comparison of resistant physiological index among four species in the genus panax under water stress[J]. Crops, 2016(3): 84-88.)
- [32] 梁艳琼, 唐文, 吴伟怀, 等. 生防菌TB2对甘蔗叶片抗病相关酶活的诱导作用[J]. 福建农业学报, 2016, 31(6): 620-625. (Liang Y Q, Tang W, Wu W H, et al. Induction of disease-resisting enzymes in sugarcane by biocontrol bacterium, TB2[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2016, 31(6): 620-625.)
- [33] 宋培玲, 张键, 郝丽芬, 等. 不同抗性油菜品种接种黑胥病菌防御酶活性变化研究[J]. 华北农学报, 2015, 30(2): 110-115. (Song P L, Zhang J, Hao L F, et al. Changes in activities of defense enzymes in different rapeseed cultivars infected by *Leptosphaeria biglobosa* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 30(2): 110-115.)
- [34] Levine A, Terhaken R, Dixon R, et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response[J]. Cell, 1994, 79: 583-593.
- [35] 焦娟, 王秀峰, 杨凤娟, 等. 外源一氧化氮对硝酸盐胁迫下黄瓜

- 幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(12): 3009-3014. (Jiao J, Wang X F, Yang F J, et al. Effects of exogenous NO on the growth and antioxidant enzyme activities of cucumber seedlings under NO⁻³ stress [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(12): 3009-3014.)
- [36] Baker C J, Orlandi E W. Active oxygen in plant pathogenesis[J]. Annual Review of Phytopathology, 1995, 33: 299-321.
- [37] Peng M, Kuc J. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity in vitro and on tobacco leaf disks[J]. Phytopathology, 1992, 82: 696-699.
- [38] 徐志荣,傅雁辉,赵英杰,等. 链霉菌 JD211 发酵液对水稻防御稻瘟病菌诱导抗性的作用[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(6): 971-976. (Xu Z R, Fu Y H, Zhao Y J, et al. Effect of Streptomyces JD211 fermentation products on the induced resistance to Magnaporthe grisea in rice[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2017, 29(6): 971-976.)
- [39] 鲁艳,雷加强,曾凡江,等. NaCl 胁迫对大果白刺幼苗生长和抗逆生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(3): 711-717. (Lu Y, Lei J Q, Zeng F J, et al. Effects of salt stress on Nitratia roborowskii growth and physiological characteristics of stress resistance[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(3): 711-717.)
- [40] 张亚楠,王兴祥,李孝刚,等. 连作对棉花抗枯萎病生理生化特性的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(14): 4456-4464. (Zhang Y N, Wang X X, Li X G, et al. Effects of continuous cropping on physiological and biochemical resistance of cotton to Fusarium wilt [J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(14): 4456-4464.)
- [41] 樊堂群,迟玉成,谢宏峰,等. 不同抗性花生感染网斑病菌的酶活性及丙二醛含量变化[J]. 花生学报, 2009, 38(4): 31-34. (Fan T Q, Chi Y C, Xie H F, et al. Changes of MDA content and activities of some enzymes in peanut varieties with different resistance infected with P. arachidicola Marass[J]. Journal of Peanut Science, 2009, 38(4): 31-34.)
- [42] 韩庆典,胡晓君,黄坤艳,等. 小麦白粉病菌对小麦幼苗 MDA 含量及防御酶活性的影响[J]. 分子植物育种, 2016, 14(10): 2803-2811. (Han Q D, Hu X J, Huang K Y, et al. Effects in activities of defense enzymes and contents of MDA in wheat leaf infected by powdery mildew [J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(10): 2803-2811.)
- [43] 连玲丽,谢荔岩,陈锦明,等. 生防菌 EN5 的定殖能力及其对根际土壤微生物类群的影响[J]. 植物保护, 2011, 37(2): 31-35. (Lian L L, Xie L Y, Chen J M, et al. Colonization of biocontrol strain EN5 and its effects on rhizosphere soil microbial communities[J]. Plant Protection, 2011, 37(2): 31-35.)
- [44] 李兴发,黄娟,杨雅婷,等. 光合细菌菌剂对黄冠梨土壤微生物区系及果实品质的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2015, 40(6): 55-61. (Li X F, Huang J, Yang Y T, et al. Effects of inoculant of photosynthetic bacteria on soil microbial community and fruit quality of huang guan pear[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2015, 40(6): 55-61.)
- [45] 刘丹,张丽萍,史延茂,等. 生防细菌对植物根围微生态效应的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 260-265. (Liu D, Zhang L P, Shi M Y, et al. Advances on micro-ecological effects of antagonistic bacteria on rhizosphere[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(7): 260-265.)
- [46] 余贤美,侯长明,王海荣,等. 枯草芽孢杆菌 Bs-15 在枣树体内和土壤中的定殖及其对土壤微生物多样性的影响[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 497-502. (Yu X M, Hou C M, Wang H R, et al. Colonization of Bacillus subtilis Bs-15 in jujube plant and soil and its influence on the microbial diversity in the soil [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2014, 30(4): 497-502.)
- [47] 赵兰凤,张丽娟,胡伟,等. RFLP 法研究生物复混肥及香蕉枯萎病对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(3): 406-416. (Zhao L F, Zhang L J, Hu W, et al. Effects of bio-compound fertilizer on banana wilt and soil bacterial community based on analysis with RFLP[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2013, 29(3): 406-416.)
- [48] 葛红莲,张福丽,刘志华. 复合菌剂 PB12 防治黄瓜疫病效果评价以及对土壤酶活性的影响[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(2): 229-235. (Ge H L, Zhang F L, Liu Z H. Effects of compound biocontrol agent PB12 against Phytophthora blight of cucumber and on soil enzyme activities in rhizosphere[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(2): 229-235.)