植物营养与肥料学报 2012,18(2):451 -458
Plant Nutrition and Fertilizer Science

# 不同抗性烤烟品种根际微生物数量及多样性差异研究

王 戈[1],杨焕文[1*],赵正雄[1],李佛琳[1],易建华[2]
(1 云南农业大学烟草学院,云南昆明 650201;2 云南省进出口检验检疫局,云南昆明 650000)

**摘要:** 以不同烤烟品种云 85(高抗)、K326(中抗)、净叶黄(中感)和红花大金元(高感)为材料,通过平板菌落计数法和 Biolog 方法比较了不同烤烟品种不同生育时期以及接种黑胫病菌后根际可培养微生物数量及群落功能多样性差异。结果表明,不同品种根际细菌数量随生育进程先增加后减少,真菌刚好相反,且细菌和真菌趋势拐点均出现在现蕾期,放线菌变化不大;团棵期和旺长期细菌和放线菌数量与品种抗性正相关,真菌数量与品种抗性呈负相关。人工接种黑胫病菌条件下,抗病品种根际环境刺激了细菌生长,而相对抑制感病品种细菌生长,不同品种均促进了根际真菌和放线菌生长,且真菌数量与品种抗性呈负相关。Biolog 功能多样性分析表明,不同品种碳源总体利用能力及功能多样性存在一定差异,团棵期和旺长期抗病品种 AWCD 值、Shannon 指数和 Mclntosh 指数大于感病品种;接种降低了感病品种碳源总体利用能力及功能多样性。以上结果说明,不同品种微生物数量及群落多样性受生长发育和品种抗性影响,且抗性差异主要表现在烤烟现蕾以前;与黑胫病互作后根际微生物数量及群落多样性存在明显差异,且与品种抗性密切相关。

**关键词:** 烤烟;黑胫病;抗性品种;根际微生物;功能多样性;Biolog
**中图分类号:** S154.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1008 -505X(2012)02 -0451 -08

# Microbe quantity and functional diversity in rhizospheres of different cultivars of flue-cured tobacco

WANG Ge[1], YANG Huan-wen[1*], ZHAO Zheng-xiong[1], LI Fu-lin[1], YI Jian-hua[2]
(*1 College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;*
*2 Entry-exit Inspection Quarantine Bureau, Kunming 650000, China*)

**Abstract:** Black shank (*Phytophora parasitica* var. *nicotiana*) is considered to be the most serious disease which can damage all tobacco cultivars and lead to enormous economic loss in Yunnan tobacco area. Four different resistance cultivars, Yun85 (high resistance, R), K326 (middle resistance, MR), Jingyehuang (middle susceptibility, MS) and Hongda (high susceptibility, S) were selected as experiment materials to study difference of the quantity and diversity of rhizosphere microorganism at different stages and after inoculation by the method of plate culture count and the Biolog method. The purpose of this study was to build good foundation for further studying resistance mechanism of tobacco black shank. The results show that bacterial numbers of different cultivars are first increased and then decreased with the growing process, while fungal numbers are reverse. Meanwhile, the trend inflexions of bacteria and fungi are all happened at the flower budding stage, and that of actinomyces is relatively stable. There are positive correlations between rhizosphere microorganism counts of bacteria and actinomyces and cultivar resistance, and a negative correlation between fungal number and cultivar resistance at the rosette stage and the rapid growing stage. In addition, growth of bacteria is stimulated in rhizosphere environment of the resistance cultivars, while the growth is relatively restrained in the susceptible cultivars. And growths of fungi and actinomyces are promoted in all experiment materials. The analysis results of the Biolog method show that there are some differences in total utilization ability of carbon source and functional diversity in different growth stages of

**收稿日期:** 2011 -07 -23　　**接受日期:** 2011 -12 -29
**基金项目:** 中国烟草总公司重大科技专项及云南省烟草公司项目(09YN022)
**作者简介:** 王戈(1982—),男,云南沾益人,博士研究生,主要从事烟草生理生化研究。E-mail: wangge302@126.com
*通讯作者 E-mail: mryanghuanwen@126.com

different cultivars, and the average well color development (AWCD), Shannon index and Mclntosh index of the resistance cultivars are more than that of the susceptible cultivars in different growth stages of different cultivars. At the same time, AWCD values and functional diversity of the susceptible cultivars are decreased after inoculating *phytophora parasitica* var. *nicotiana*. These results explain that rhizosphere microorganism counts of different resistance cultivars are influenced by its growth and development, and the difference of resistance is mainly showed before the flower budding stage of flue-cured tobacco. At the same time there are significant differences after the inoculation, and the difference and cultivar resistance is closely related.

**Key words**: flue-cured tobacco; black shank; resistance cultivar; rhizosphere microorganism; functional diversity; Biolog

烟草黑胫病菌(*Phytophora parasitica* var. *nicotiana*)是一种可危害所有栽培烟草的毁灭性土传病害,破坏力极强且蔓延较快,大田侵染后常造成烟株整株死亡,该病在我国各产烟省份均有不同程度发生,云南烟区是黑胫病的多发区,每年因黑胫病造成的经济损失巨大[1]。土传病害的发生与根际微生物群落结构密切相关,以往对水稻[2]、小麦[3]、棉花[4-5]、大豆[6]、黄瓜[7]、番茄[8]和西瓜[9]等作物根际微生物与土传病害发生关系的研究表明,不同植物种类根际微生物群落结构存在差异且与品种抗性有一定内在联系。同时也有研究表明,植物土传病害的发生是根际土壤微生物相互作用的结果,根际环境生物多样性是影响土传病害的重要因素,根际微生物群落结构越丰富,多样性越高,病原菌越难存活[10-12]。而从根际微生物角度研究烤烟根际微生物与土传病害关系方面鲜见报道,因此,本研究采用不同抗感黑胫病烤烟品种,以根际可培养微生物数量及多样性为切入点,通过平板菌落计数和Biolog方法[13-14]研究了不同抗性品种在不同生育时期根际可培养微生物数量及多样性差异,以及人工接种黑胫病后各品种根际可培养微生物数量变化和多样性差异,以期找到烤烟根际微生物数量和多样性差异与烤烟品种抗性的关系,为进一步深入研究烤烟黑胫病抗性机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试烤烟品种:云85(R),为高抗黑胫病烤烟品种;K326(MR),为中抗黑胫病烤烟品种;净叶黄(MS),为中感黑胫病烤烟品种;红花大金元(S),为高感黑胫病烤烟品种。

供试病原菌为烤烟黑胫病菌,菌株由云南农业大学烟草学院赵正雄教授惠赠,菌株经PDA斜面活化后,转入适于黑胫病菌生长的燕麦培养基(OA,1000 mL培养基中含燕麦片30.0 g,琼脂20.0 g)进行纯培养,27℃黑暗培养10 d后备用。

### 1.2 试验设计

试验采用温棚土壤盆栽,土壤来源于云南农业大学后山农场未种植过茄科作物地块的耕层土壤。土壤经自然风干过筛,每盆装土20 kg。每株烤烟施纯氮7.0 g,采用烤烟专用肥($N:P_2O_5:K_2O=12:12:24$)一次性基施。

采用常规烤烟漂浮育苗,种子表面消毒、浸种和催芽后播于育苗盘上,苗龄60 d后进行移栽,每个品种种植60株,其中用于测定不同生育期微生物数量的各20株(R、MR、MS和S),接种处理各20株(R、MR、MS和S),接种处理对照各20株(R-CK、MR-CK、MS-CK和S-CK),完全随机摆放,每隔20 d变换一次位置。移栽后于团棵期、旺长期、现蕾期和成熟期,按品种采用抖动法采集根际土壤,每品种3次重复,测定根际土壤可培养微生物数量及功能多样性分析。

于团棵期采用浇根法接种黑胫病菌,病原菌经致病力检测为强致病菌株,接种浓度为$1\times10^7$ cfu/mL,每株接种10 mL菌液,对照接种10 mL蒸馏水。于接种前,接种后第2、4、6、8 d采集各品种根际土样,每品种3次重复,分别按品种采用抖动法[15]采集根际土壤,测定根际土壤微生物数量;采用接种后第8 d土样进行功能多样性分析。

### 1.3 样品测定方法

1.3.1 根际可培养微生物数量测定 将根际土混匀,加入无菌水制成不同浓度梯度的悬浮液[16]。采用涂布方法进行微生物培养,细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,37℃培养2~3 d,真菌和放线菌培养基分别采用马丁氏和高氏1号培养基,分别于28℃培养3~5 d,采用平板菌落计数法计数[17]。

1.3.2 根际土壤微生物功能多样性分析 采用Biolog ECO板研究不同烤烟品种根际土壤微生物多

样性,操作步骤参照姚槐应等[18]的方法。微生物对碳源的利用采用培养 72 h 时 Biolog ECO 微平板每孔颜色平均变化率(average well color development, AWCD)描述,应用 Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数计算土壤微生物碳源利用的多样性[13-14]。

### 1.4　数据处理和统计方法

数据采用 SPSS13.0 统计分析软件对数据进行方差分析(one-way ANOVA),再利用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

## 2　结果分析

### 2.1　不同抗性品种不同生育时期根际可培养微生物变化

不同抗性品种根际可培养细菌数量随生育进程呈先增加后减少(图 1),至现蕾期达到最大,之后稍有下降,但依然高于团棵期。不同抗性品种在不同生育时期也表现出一定差异,团棵期和旺长期 R 和 MR 根际可培养细菌数量均极显著大于 MS 和 S,各品种现蕾期和成熟期没有明显差异。以上说明烤烟根际环境促进了细菌生长,不同抗性品种根际可培养细菌数量存在差异且在团棵期和旺长期较为明显。

不同抗性品种根际可培养真菌数量团棵期最大,旺长期急剧下降,现蕾期最小,成熟期稍有增加(图 1)。团棵期和旺长期 R 和 MR 品种根际真菌数量均极显著小于 MS 和 S,其余各时期真菌数量没有显著差异。说明烤烟根际环境不利于土壤真菌生长,且抗性差异主要表现在团棵期和旺长期。

不同抗性品种根际可培养放线菌数量随生育进程变化不大,成熟期稍有增加(图 1),各生育期均无显著差异。除成熟期外,其余各时期均表现为 R 和 MR 放线菌数量大于 MS 和 S。其中,整个生育期 MS 放线菌数量均大于 S,R 在团棵期和旺长期放线菌数量大于 MR,而现蕾期和成熟期刚好相反。说明烤烟根际环境对可培养放线菌数量影响不大,数量较为稳定。

### 2.2　不同抗性烤烟品种根际微生物功能多样性差异

由表 1 知,整体上各品种随生育进程 AWCD 值均呈缓慢增加趋势,现蕾期后增幅较小,其中 R 和 MR 品种在团棵期和旺长期均显著大于 MS 和 S,且整个生育期 R 均显著高于其他品种。功能多样性 Shannon 指数随生育进程均呈先增加后减小趋势,其中 MS 旺长期最大,其他品种现蕾期最大;除成熟期外 R 和 MR 品种 Shannon 指数均大于 MS 和 S,且 R 品种整个生育期 Shannon 指数均显著高于其他品种。Simpson 指数随生育进程呈波动变化且无明显规律。McIntosh 指数随生育进程均呈先增后减趋势,其中旺长期 R 和 MR 品种 McIntosh 指数大于 MS 和 S。从 AWCD 值和多样性指数可以看出,不同品种根际微生物对碳源总体利用能力及功能多样性存在一定差异;在烤烟生育前期(团棵期和旺长期),

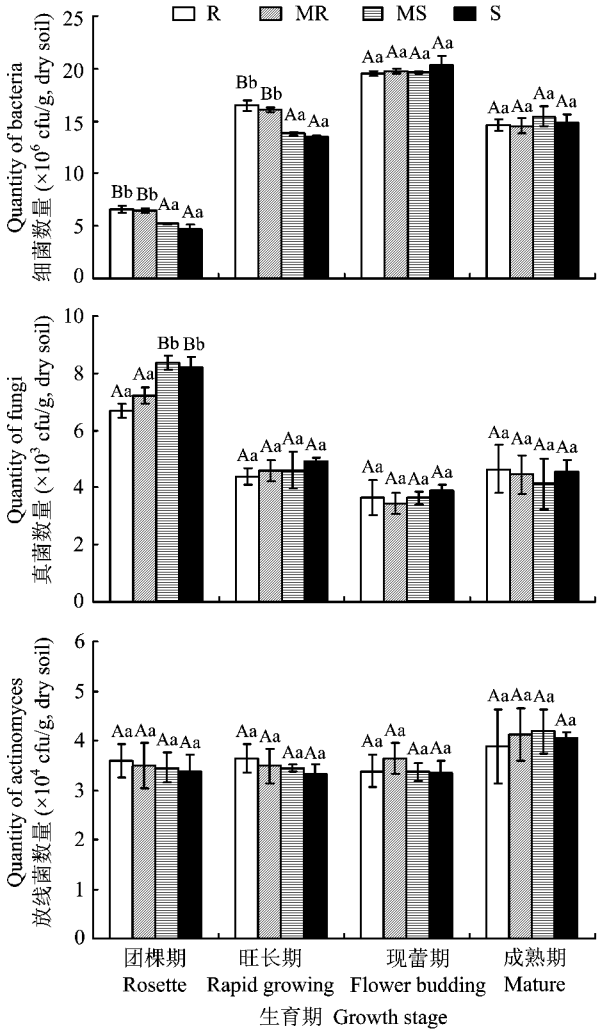


**图 1　不同抗性品种不同生育时期根际可培养微生物数量差异**

**Fig. 1　Quantity variance of culturable microbe in rhizosphere of different resistant cultivars at different growth stages**

[注(Note):R—高抗 High resistance; MR—中抗 Middle resistance; MS—中感 Middle susceptibility; S—高感 High susceptibility. 柱上不同小、大写字母分别表示相同生育期不同品种间在 0.05 和 0.01 水平差异显著 Different small and capital letters above the bars indicate significant differences at the 5% and 1% levels between different cultivars at the same growth stage, respectively]

表1 不同抗性品种根际微生物AWCD值和多样性指数的差异(72 h)

Table 1 Differences of AWCD value and diversity indexes of rhizosphere microbial community

| 多样性指标 Diversity index | 品种 Cultivar | 团棵期 Rosette stage | 旺长期 Rapid growing stage | 现蕾期 Flower budding stage | 成熟期 Mature stage |
|---|---|---|---|---|---|
| AWCD值 AWCD value | R | 0.248 c | 0.342 b | 0.422 b | 0.428 b |
| | MR | 0.223 b | 0.301 b | 0.342 a | 0.341 a |
| | MS | 0.178 a | 0.248 a | 0.331 a | 0.340 a |
| | S | 0.197 a | 0.240 a | 0.353 a | 0.368 a |
| Shannon指数 Shannon index | R | 1.053 b | 1.259 b | 1.612 c | 1.365 b |
| | MR | 0.853 a | 0.924 a | 1.045 b | 0.830 a |
| | MS | 0.842 a | 0.908 a | 0.798 a | 0.893 a |
| | S | 0.782 a | 0.826 a | 1.029 b | 0.938 a |
| Simpson指数 Simpson index | R | 23.199 a | 31.668 c | 26.304 a | 31.748 a |
| | MR | 25.508 a | 26.494 b | 40.109 b | 43.086 b |
| | MS | 24.480 a | 30.042 c | 39.675 b | 30.249 a |
| | S | 22.894 a | 15.952 a | 25.160 a | 44.368 b |
| McIntosh指数 McIntosh index | R | 3.242 a | 5.388 c | 4.349 a | 4.370 b |
| | MR | 3.228 a | 6.313 d | 5.374 b | 4.353 b |
| | MS | 3.259 a | 4.344 b | 4.305 a | 3.500 a |
| | S | 3.189 a | 3.313 a | 4.398 a | 3.411 a |

注(Note):表中数据为3次重复的平均值 Data are means of three replicates; 不同小写字母表示相同指标不同品种间在0.05水平有显著差异 Different small letters indicate significant differences between different cultivars for the same index at the 5% level.

AWCD值、Shannon和McIntosh指数与品种抗性存在较好相关性,即抗病品种土壤微生物活性及多样性高于感病品种。

### 2.3 不同抗性品种接种后根际可培养微生物差异

接种黑胫病后,R和MR品种根际可培养细菌数量迅速上升,并一直保持较高水平,且在0～8 d内均明显高于对照及MS和S品种(图2)。接种后MS和S品种在0～8 d内均小于对照,其中S接种后根际细菌出现大幅下降,第2 d最低,之后迅速增加至接种前水平,且第4 d后变化不大,MS接种后0～8 d内细菌数量变化不大。说明接种处理能刺激抗病品种根际环境可培养细菌数量的生长,而相对抑制了感病品种根际细菌的生长。

接种黑胫病后各品种根际真菌数量较各对照均出现不同程度增加(图3),且均为S>MS>MR>R。接种后S真菌数量迅速增加且一直保持较高水平,MS在0～4 d内变化不大,但第6 d出现一个高峰且保持较高水平,R在0～8 d内没有明显的增长高峰且较为平稳,MR在0～2 d内变化不大,但第4 d出现一个高峰但之后迅速降低并保持稳定。说明接种后烤烟根际环境促进了可培养真菌数量的增加,且品种抗性与根际真菌数量负相关。

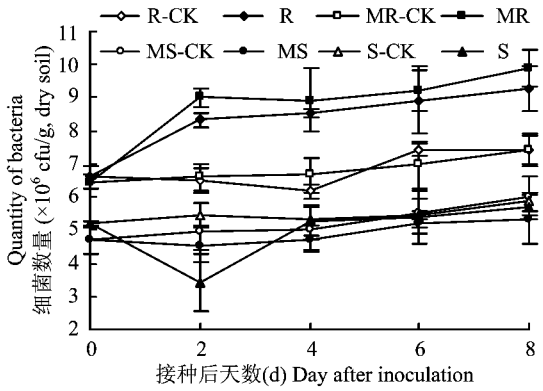


图2 不同抗性品种接种后根际可培养细菌数量变化

Fig.2 Dynamics of culturable bacteria quantity in rhizospheres of different resistant cultivars after inoculation

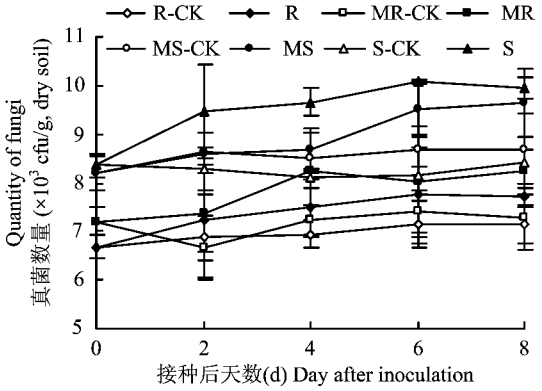


**图 3　不同抗性品种接种后根际可培养真菌数量变化**

**Fig. 3　Dynamics of culturable fungal quantity in rhizospheres of different resistant cultivars after inoculation**

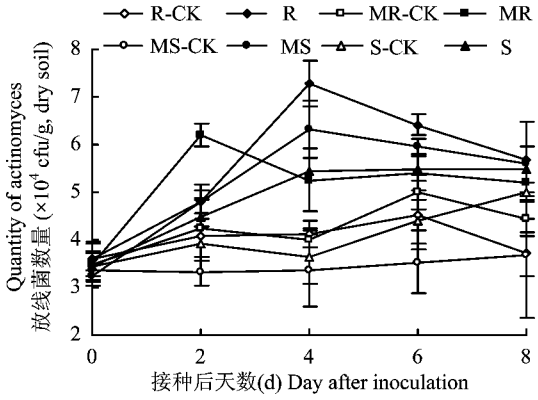


**图 4　不同抗性品种接种后根际可培养放线菌数量变化**

**Fig. 4　Dynamics of culturable actinomycetes quantity in rhizospheres of different resistant cultivars after inoculation**

接种黑胫病菌后各品种根际放线菌在 0～8 d 内均明显高于对照(图 4)，且第 4 d 后均表现为 R > MS > S > MR。接种后 R、MS 和 S 根际可培养放线菌在 0～4 d 内迅速增加，且在第 4 d 天达到高峰，之后又持续下降，MR 在第 2 d 即出现增长高峰，之后迅速下降，第 4 d 后保持稳定但低于其他品种。以上说明接种处理刺激了根际放线菌数量的增加，但放线菌数量和品种抗性无明显相关性。

## 2.4　接种后不同抗性烤烟品种根际微生物功能多样性差异

由表 2 可见，相比各品种对照，接种 8 d 后 R 品种 AWCD 值显著高于其他品种及对照，而其他品种均显著低于各对照，且 R 和 MR 品种 AWCD 值显著高于 MS 和 S。接种后各品种 Shannon 指数均在一定程度上低于各对照，其中 R 和 MR 显著高于 MS 和 S。接种后各品种 Simpson 指数与对照差异不显著，但 R 品种有增加趋势。接种后 MR 品种 McIntosh 指数明显低于对照，R 和 S 品种与对照相比有降低趋势。从 AWCD 值和多样性指数可以看出，接种黑胫病 8 d 后不同品种根际微生物对碳源总体利用能力及功能多样性存在一定差异，接种处理降低了感病品种碳源总体利用能力及功能多样性。

**表 2　接种后第 8 d 不同品种根际微生物 AWCD 值和多样性指数的差异 (72 h)**

**Table 2　Differences of AWCD and diversity indexes of rhizosphere microbial community after inoculating *Phytophora parasitica* var. *nicotiana***

| 品种 Cultivar | AWCD 值 AWCD value | Shannon 指数 Shannon index | Simpson 指数 Simpson index | McIntosh 指数 McIntosh index |
|---|---|---|---|---|
| R | 0.253 e | 1.091 b | 25.742 b | 3.395 b |
| R-CK | 0.237 d | 1.115 b | 25.436 b | 3.427 b |
| MR | 0.205 c | 1.001 b | 27.044 c | 3.655 d |
| MR-CK | 0.230 d | 1.045 b | 27.932 c | 3.600 cd |
| MS | 0.171 a | 0.887 a | 24.525 ab | 3.184 a |
| MS-CK | 0.188 b | 1.087 b | 24.892 ab | 3.501 bc |
| S | 0.165 a | 0.777 a | 23.748 a | 3.443 b |
| S-CK | 0.193 bc | 0.875 a | 23.968 a | 3.465 b |

注(Note)：表中数据为 3 次重复的平均值 Datas are means of three replicates；不同小写字母表示相同指标不同品种间在 0.05 水平有显著差异 Different small letters indicate significant differences between different cultivars for the same index at the 5% level.

## 3 讨论

本试验结果证实,不同烤烟品种根际微生物存在差异,且这种差异与品种抗性密切相关。试验中可培养细菌和放线菌数量与品种抗性正相关,真菌数量也基本呈负相关关系,并且这种差异主要表现在生长前期(团棵期和旺长期)。这与烤烟黑胫病发病规律基本一致,烤烟黑胫病发病主要集中在现蕾期以前,现蕾后茎基部已木质化而不易感病[19]。团棵期和旺长期抗病品种根际环境更适宜细菌和放线菌生长而相对抑制了真菌生长,这与李洪连等的研究结果略有出入,其认为抗棉花黄萎病品种根际真菌、放线菌数量多于感病品种,而细菌无明显差异[4],这可能是作物和病害差异造成的,从以往研究结果来看,不同植物种类根际微生物数量变化规律相对独立[20-23],结果不一,但也有共识,即品种抗病性差异可以通过微生物种类、数量、分布和多样性差异体现出来,抗病性高的品种根际土壤微生物群落结构越丰富,物种越均匀,多样性越高时,表明土壤微生态系统较为稳定和平衡,有利于作物的生长和抵御病害[24-27]。本研究结果也证实了这一点,即在烤烟生长前期(主要为团棵期和旺长期)AWCD值、Shannon 和 McIntosh 指数与品种抗性存在较好相关性,抗病品种土壤微生物活性及多样性高于感病品种。雷娟利等[12]通过研究抗感枯萎病西瓜根际细菌群落多样性发现,抗病西瓜根际可培养细菌的多样性要高于感病西瓜,且细菌分布的均匀度也高于感病西瓜。李洪连等[4]对不同抗性棉花品种根际微生物研究也证实,抗病品种根际微生物要多于感病品种,区系组成也更为复杂。

业已证明,病原物侵入寄主过程中和侵入后,植物碳水化合物、氨基酸、蛋白质、脂类和核酸等物质代谢都会发生变化,这势必会引起根系分泌物的改变,也就相应影响了根际周围微生物群落结构[28-29]。人工接种黑胫病菌条件下抗病品种根际环境刺激了细菌的生长,而相对抑制了感病品种细菌生长;不同品种均促进了根际真菌和放线菌的生长,且真菌数量与品种抗性呈负相关。徐瑞富等研究了土壤微生物群落对棉花黄萎病的影响也得出相似结论[30]。烤烟黑胫病菌可能诱导了根际环境发生相应变化以应对病原物的生长和侵染,抗病品种通过刺激细菌大量生长来抑制病原物的入侵。抗感品种根际真菌和放线菌数量均出现增加,这与在玉米[31]、黄瓜[32]和人参[33]等作物上的研究结果基本一致,放线菌能产生多种抗生素类物质,它的增多有利于抑制病原物的传播和侵染。从接种黑胫病 8 d 后 AWCD 值和多样性指数也可以看出,接种处理降低了感病品种碳源总体利用能力及微生物多样性。黑胫病菌在根际环境大量繁殖,抑制了其他微生物生长和代谢,微生物群落结构趋于单一,有益菌种类减少或代谢降低,整个微生物区系从"正常生理组合"向"病理组合"转化,最终导致感病品种迅速感病。健康玉米植株根际真菌种类呈多样性,根系微群落保持正常的生理组合,感病玉米植株根际真菌区系病原菌占绝对优势,其他种真菌很少,根系微群落已转化为病理组合[31]。另外,接种后抗病品种特别是高抗品种多样性指数在一定程度上并未明显减小,还有小幅度增加趋势。这可能是因为黑胫病的入侵改变了根际微生物群落结构分布,抗病品种通过增加微生物多样性来抵御病原物入侵,但具体原因还有待进一步研究。另外,根系分泌物的差异是导致不同抗性品种抗性差异的重要原因,因此有必要对根系分泌物与根际微生物的相互关系以及根系分泌物对黑胫病的影响等方面做进一步研究。

**参 考 文 献:**

[1] 尚志强. 烟草黑胫病病原、发生规律及综合防治研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(2): 73-76.
Shang Z Q. Recent research advance on pathogen and disease occurrence of tobacco black shank and its integrated control[J]. Rev. Chin. Agric. Sci. Technol., 2007, 9(2): 73-76.

[2] Neal J L, Atkinson T G, Larson R I. Changes in the rhizosphere microflora of spring wheat induced by disomic substitution of a chromosome[J]. Can. J. Microbiol., 1970, 16(3): 153-157.

[3] 孙晓璐, 杨海莲, 陈志和, 宋未. 两个品种水稻植株根面细菌的区系组成研究[J]. 植物病理学报, 2000, 30(2): 284-285.
Sun X L, Yang H L, Chen Z H, Song W. Population components of bacteria on plant rhizoplane of two rice cultivars[J]. Acta Phytopathol. Sin., 2000, 30(2): 284-285.

[4] 李洪连, 王烨, 袁红霞, 等. 根际微生物多样性与棉花品种对黄萎病抗性的关系研究Ⅰ. 根际微生物数量与棉花品种对黄萎病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 1998, 28(4): 341-346.
Li H L, Wang Y, Yan H X *et al*. Study on the relationship between diversity of microbes in rhizosphere and resistance of cotton cultivars to *Verticillum dahliae* I. The population of microbe in cotton rhizosphere and cultivars resitance to *V. dahliae*[J]. Acta Phytopathol. Sin., 1998, 28(4): 341-346.

[5] 李洪连, 袁红霞, 王烨, 等. 根际微生物多样性与棉花品种对黄萎病抗性的关系研究Ⅱ. 不同抗性品种根际真菌区系分析及其对棉花黄萎病菌的抑制作用[J]. 植物病理学报, 1999,

29(3): 242-246.
Li H L, Wang Y, Yan H X *et al*. Study on the relationship between diversity of microbes in rhizosphere and resistance of cotton cultivars to *Verticillum dahliae* II. The fungiflora in the rhizosphereof different cotton cultivars and its inhibition to *V. dahiae* [J]. Acta Phytopathol. Sin., 1999, 29(3): 242-246.

[6] 陈宏宇, 李晓鸣, 王敬国. 抗病性不同大豆品种根面及根际微生物区系的变化Ⅰ. 非连作大豆(正茬)根面及根际微生物区系的变化[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 804-809.
Chen H Y, Li X M, Wang J G. Change of microflora in the rhizoplane and rhizosphere of different disease resistance soybean cultivars Ⅱ. Change of microflora in the rhizoplane and rhizosphere of soybean under continuous cropping condition[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2005, 11(6): 804-809.

[7] 苗则彦, 赵奎华, 刘长远, 等. 不同抗、感枯萎病黄瓜品种不同生育时期根际微生物数量消长动态分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(1): 13-15.
Miao Z Y, Zhao K H, Liu C Y *et al*. Analysis on the population fluctuation of rhizosphere microorganism of different disease resistant cucumber varieties[J]. J. Shenyang Agric. Univ., 2004, 35(1): 13-15.

[8] 刘琼光, 杨艳. 番茄品种抗性与青枯菌和土壤微生物的关系[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2006, 19(3): 31-34.
Liu L G, Yang Y. The relationship between tomato resistance and the quantity of ralstonia solanacearum and rhizosphere microbes [J]. J. Zhongkai Agric-Tech. Univ., 2006, 19(3): 31-34.

[9] 雷娟利, 寿伟松, 董文其, 徐志豪. 抗感枯萎病西瓜根际微生物比较研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(7): 1034-1038.
Lei J L, Shou W S, Dong W Q, Xu Z H. Comparison of rhizosphere microorganisms between *Fusarium* Wilt resistant and susceptible watermelon [J]. Microbiology, 2008, 35 (7): 1034-1038.

[10] Van Veen J A, Van Overbeek L S, Van Elsas J D. Fate and activity of microorganisms introduced into soil microbiology[J]. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 1997, 61(2): 121-135.

[11] 蔡燕飞, 廖宗文, 董春, 石木标. 番茄青枯病的土壤微生态防治研究[J]. 农业环境保护, 2002, 21(5): 417-420.
Cai Y F, Liao Z W, Dong C, Shi M B. Soil microbial regulation for controlling bacterial wilt of toma[J]. Agro-Environ. Prot., 2002, 21(5): 417-420.

[12] 雷娟利, 寿伟松, 董文其, 等. 抗感枯萎病西瓜根际细菌群落多样性比较[J]. 微生物学通报, 2008, 35(12): 1905-1908
Lei J L, Shou W S, Dong W Q *et al*. Comparison of rhizosphere bacteria diversity between *fusarium* wilt resistant and susceptible watermelon[J]. Microbiology, 2008, 35(12): 1905-1908.

[13] 袁英英, 李敏清, 胡伟, 等. 生物有机肥对番茄青枯病的防效及对土壤微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1344-1350.
Han Y Y, Li M Q, Hu W *et al*. Effect of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microorganism[J]. J. Agro-Environ. Sci., 2011, 30(7): 1344-1350.

[14] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期不同施肥制度下几种土壤微生物学特征变化[J]. 植物生态学报, 2008, 32(4): 891-899.
Li J, Zhao B Q, Li X Y *et al*. Changes of soil microbial properties affected by different long-term fertilization regimes[J]. J. Plant Ecol., 2008, 32(4): 891-899.

[15] 韩希英, 宋凤斌. 干旱胁迫对玉米根际氮的有效性及其相关酶活性和细菌的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(2): 71-76.
Han X Y, Song F B. Effects of drought stress on rhizospheric available N, Enzyme activities and bacteria related to N transformation in maize[J]. Agric. Res. Arid Areas, 2007, 25(2): 71-76.

[16] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
Microorganism Group in Institute of Soil Science China Academy of Sciences. Study methods of soil microorganism[M]. Beijing: Science Press, 1985.

[17] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999.
Shen P, Fan X R, Li G W. Microbiology experiment (Third ed.)[M]. Beijing: Higher Education Press, 1999.

[18] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其试验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006. 166-169.
Yao H Y, Huang C Y. Soil microbial ecology and experimental technology[M]. Beijing: Sciences Press, 2006. 166-169.

[19] 王志愿, 姜清治, 霍沁建. 烟草黑胫病的研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(21): 250-255.
Wang Z Y, Jiang Q Z, Huo P J. Progress of research on tobacco black shank[J]. Chin. Agric. Sci. Bull., 2010, 26(21): 250-255.

[20] 范玉贞. 白三叶草不同生长期根际微生物的变化[J]. 江苏农业科学, 2010, (5): 459-460.
Fan Y Z. Change of rhizosphere microorganism of difference growth stage in *Trifolum repnes* Linn. [J]. Jiangsu Agric. Sci. 2010, (5): 459-460.

[21] 张美俊, 杨武德, 李燕娥. 不同生育期转 Bt 基因棉种植对根际土壤微生物的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 197-203. Effects of Bt transgenic cottons plantingon rhizosphere soil microorganisms at different growth stages[J]. J. Plant Ecol., 2008, 32(1): 197-203.

[22] 苗果园, 贾志红, 杨珍平, 张永清. 不同作物根际微生物差异的研究[J]. 山西农业大学学报, 2004, (2): 93-96.
Miao G Y, Jia Z H, Yang Z P, Zhang Y Q. Quantity difference of rhizosphere microbe of different crops[J]. J. Shanxi. Agric. Univ., 2004, (2): 93-96.

[23] 周陈, 李许滨, 杨明开, 等. 冬小麦不同生育期土壤微生物及养分动态变化[J]. 西北农业学报, 2008, 17(3): 113-116, 128.
Zhou C, Li X B, Yang M K *et al*. Dynamic change of soil microorganisms and soil nutrition at different growing stage of winter

wheat[J]. Northwest China J. Agric. Sci., 2008, 17(3): 113-116, 128.

[24] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 102-105.
Zhu L X, Zhang J E, Liu W G. Review of studies on interaction between root exudates and rhizospheric microorganisms[J]. Eco-Environ., 2003, 12(1): 102-105.

[25] Prosser J I. Molecular and functional diversity in soil microorganisms[J]. Plant Soil, 2002, 244(1-2): 9-17.

[26] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 349-353.
Cai Y F, Liao Z W, Zhang J A *et al*. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities [J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2003, 14(3): 349-353.

[27] 李红丽, 李清飞, 郭夏丽, 等. 调节土壤微生态防治烟草青枯病[J]. 河南农业科学, 2006, (2): 57-60.
Li H L, Li Q F, Guo Y L *et al*. Adjust soil micro ecological for preventing and controlling tobacco bacterial wilt[J]. Henan Agric. Sci., 2006, (2): 57-60.

[28] Dutta B K, Isaac I. Effects of inorganic amendments (N, P and K) to soil on the rhizosphere microflora of antirrhinum plant infected with *Verticillum dahliae* Kelb[J]. Plant Soil, 1979, 52(4): 561-569.

[29] 韩雪, 吴凤芝, 潘凯. 根系分泌物与土传病害关系之研究综述[J]. 中国农学通报, 2006, 2(22): 316-318.
Han X, Wu F Z, Pan K. Review on the relation between the root exudates and soil spread disease[J]. Chin. Agric. Sci. Bull., 2006, 2(22): 316-318.

[30] 徐瑞富, 陆宁海, 李小丽, 陈翠玲. 土壤微生物群落对棉花黄萎病的影响[J]. 棉花学报, 2004, 16(6): 357-359.
Xu R F, Lu N H, Li X L, Chen C L. The influence of soil microorganism to cotton *Verticillium* wilt[J]. Cott. Sci., 2004, 16(6): 357-359.

[31] 陆宁海, 吴利民. 健康与罹病玉米根际微生物数量及真菌区系研究[J]. 玉米科学, 2007, 15(5): 136-138.
Lu N H, Wu L M. Rhizosphere microorganism quantity, fungal flora of healthy and infected corn plants by *F. oxysporum*[J]. J. Maize Sci., 2007, 15(5): 136-138.

[32] 苗则彦, 赵奎华, 刘长远, 等. 健康与罹病黄瓜根际微生物数量及真菌区系研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(3): 156-157.
Miao Z Y, Zhao K H, Liu C Y *et al*. Rhizosphere microorganism quantity and fungal flora of healthy and infected cucumber plants by *F. oxysporum* [J]. Chin. J. Eco-Agric., 2004, 12(3): 156-157.

[33] 于慧瑛, 吕国忠, 孙晓东, 赵志慧. 病健人参根际土壤真菌种类及数量的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(26): 8279-8291.
Yu H Y, Lv G Z, Sun X D, Zhao Z H. Study on the species and quantity of rhizosphere soil fungi of healthy and root rot ginseng [J]. J. Anhui Agric. Sci., 2007, 35(26): 8279-8291.