

生物有机肥对香蕉植株生长和香蕉枯萎病防治的研究

何欣, 郝文雅, 杨兴明, 沈其荣, 黄启为*

(南京农业大学江苏省固体有机废弃物资源化利用高技术研究重点实验室, 江苏南京 210095)

摘要: 通过盆栽试验,研究了生物有机肥(BIO)对香蕉植株生长和香蕉枯萎病防治效果的影响。结果表明,1)香蕉植株移栽45 d后,施用BIO的处理香蕉植株地上部鲜重、干重、株高和假茎围分别比对照增加了31.9%~93.8%、5.9%~43.1%、43.9%~62.9%和12.3%~18.5%。2)香蕉苗移栽25 d时,施用BIO的香蕉植株根尖几丁质酶活性提高了2.64~12.88个酶活单位,显著高于对照;营养钵育苗施用BIO的处理,香蕉植株根尖 β -1,3-葡聚糖酶活性显著地高于营养钵育苗未施BIO的处理,是其酶活的5.22~7.22倍。施用BIO的处理香蕉植株根尖和茎基部中胼胝质含量分别只有对照的59.7%~77.9%和47.6%~68.9%,显著低于对照处理。3)营养钵育苗施用BIO的处理,根际的细菌数量和放线菌数量分别比对照增加了1.56~1.76倍和1.11~1.55倍,而根际真菌数量却减少了19.2%~52.2%,根际尖孢镰刀菌的数量也大大减少。4)营养钵育苗施用BIO的处理,到香蕉植株移栽45 d时,香蕉植株枯萎病的病情指数未超过2.4,比对照降低47.8%~56.5%。上述结果表明,采用营养钵育苗和移栽时都施用BIO的方法种植香蕉,能显著地促进香蕉植株生长,有效地降低香蕉枯萎病的发病指数。

关键词: 生物有机肥; 枯萎病; 香蕉

中图分类号: S141; S668.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-505X(2010)04-0978-08

Effects of bioorganic fertilization on growth and controlling fusarium-wilt disease of banana

HE Xin, HAO Wen-ya, YANG Xing-ming, SHEN Qi-rong, HUANG Qi-wei*

(Jiangsu Key Laboratory Solid Organic Waste Utilization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Banana fusarium-wilt disease is one of the most important soil-borne diseases which severely inhibit the development of banana production industries both in China and in the world. Biocontrols of the banana fusarium-wilt disease are proved economical and environmentally friendly. A pot experiment was carried out to investigate effects of a new bioorganic fertilizer(BIO) on banana plant growth and the suppression on the disease. The results are as follows: 1)45 days after transplantation of banana seedlings, fresh weight, dry weight, plant height and stem girth of the plants in the treatments of BIO fertilization are increased by 31.9%~93.8%, 5.9%~43.1%, 43.9%~62.9% and 12.3%~18.5%, respectively compared with the control. 2)When wilt disease just occurs, chitinase activities in the treatments of BIO fertilization are 2.64~12.88 units higher than that of the control; β -1,3-glucanase activities in the treatments of nursery applications of BIO are increased by 5.22 or 7.22 times than that without nursery application of BIO; and the concentrations of callose in root tips and stem bases of the treatments of BIO fertilization are decreased by 59.7%~77.9% and 47.6%~68.9%, respectively as compared with the control. 3) In contrast to the control, numbers of bacteria and actinomycetes in rhizosphere of the treatment of BIOs + BIOts

收稿日期: 2009-11-02 接受日期: 2010-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(40871126); 国家科技部“973”项目(2007CB109304); 国家科技部支撑计划(2006BAD10B09); 农业部农业公益性行业科研专项(200803031); 农业部“948”项目(2006-C62)资助。

作者简介: 何欣(1984—),女,陕西榆林人,硕士研究生,主要从事植物营养与病害研究。E-mail: 2007103121@njau.edu.cn

* 通讯作者 E-mail: qwhuang@njau.edu.cn

are increased by 1.56–1.76 times and 1.34–1.50 times, respectively, while numbers of fungi and pathogen are decreased by 19.2%–29.6% and 38.0%–63.9%, respectively. 4) Compared to the control, the banana fusarium-wilt disease indices of BIOns + BIOts are below 2.4, which are reduced by 47.8%–56.5%. These results suggest that the way of BIO application both in nursery pots and in transplanted soils can effectively overcome the occurrence of fusarium wilt disease of banana.

Key words: microbial organic fertilizer; fusarium-wilt disease; banana

香蕉 (*Musa paradisiacea* var. *sapientum*) 是我国南方亚热带地区重要的经济作物,近年来对香蕉果实的需求量大幅增加,使得香蕉种植规模日益扩大,导致香蕉连作障碍大面积爆发,其中最严重的连作病害之一就是香蕉枯萎病^[1]。香蕉枯萎病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) 又名香蕉巴拿马病、黄叶病,是由古巴尖孢镰刀菌侵染而引起维管束坏死的一种毁灭性香蕉真菌病害和典型的土传病害,属国际检疫对象。该病在广东、海南等香蕉产区都有分布,发病的香蕉园病株率为 10%–40%,严重的达 90% 以上,导致蕉园荒弃。因此,加强香蕉枯萎病的防治研究迫在眉睫^[2]。

目前,香蕉枯萎病的防治除了使用无病组培苗和抗病品种能起到一定的防治效果外,其它措施(如化学防治和农业防治措施)都不能达到理想的防治效果^[3–4]。生物防治作为综合防治香蕉枯萎病的措施之一,对生态平衡和可持续农业的发展具有特别重要的意义。生物防治香蕉枯萎病的研究虽然有一些报道,但仍处于起步阶段,且研究工作主要集中于香蕉枯萎病拮抗菌的筛选及平板生防试验上,有关生物有机肥对香蕉枯萎病的防治效果报道甚少。本试验是为了检验自主研发的环境友好型新型肥料—BIO 生物有机肥在连作土上防治香蕉枯萎病的效果,也为微生物有机肥料的研制和香蕉枯萎病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

香蕉品种为巴西香牙蕉(低抗香蕉枯萎病品种),由海南热带作物学院提供。

供试肥料南京农业大学江苏省固体有机废弃物资源化利用高技术重点实验室研制的生物有机肥(BIO)。该肥料由氨基酸有机肥料和猪粪堆肥按一定比例混合而成。氨基酸有机肥是以菜粕为原料,经本实验室自行筛选的高效分泌蛋白酶的微生物分解而制成的氨基酸有机肥料,含有机质 44.2%、氨基酸 8.0%、N 4.4%、P₂O₅ 3.5%、K₂O

0.67%、水分 28.5%;猪粪堆肥含有机质 53.4%、N 3.6%、P₂O₅ 4.7%、K₂O 1.1%、水分 28.5%。

所用微生物拮抗菌为本实验室筛选的高效广谱拮抗细菌和拮抗真菌组成的复合微生物。拮抗细菌为多粘芽孢杆菌(SQR21[#], *Paenibacillus polymixa*),拮抗真菌为绿色木霉 T37 (*Trichoderma viride*),两株拮抗菌均对香蕉尖孢镰刀菌专化型等有较强的拮抗作用。

香蕉枯萎病病原菌由本实验室自行筛选,属尖孢镰刀菌古巴专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*),由分子鉴定为香蕉枯萎病 4 号生理小种。

模拟香蕉连作土壤为红壤,其基本性状为: pH 5.0,有机质含量为 7.9 g/kg,速效 N 97.0 mg/kg,速效 P 26.0 mg/kg,速效 K 36.0 mg/kg。红壤中事先接种香蕉枯萎病病原菌孢子悬液,使土壤中香蕉枯萎病病原菌孢子浓度达到 10⁵ cfu/g 土的发病浓度。

1.2 试验设计

盆栽试验于 2008 年 9 月 2 日至 10 月 18 日在南京农业大学江苏省固体有机废弃物资源化利用高技术重点实验室的温室内进行。试验设: 1) CKns + CKts, 营养钵和移栽大盆均未施 BIO; 2) BIOns + CKts, 营养钵施用 BIO (BIOns) + 大盆钵未施 BIO (CKts); 3) CKns + BIOts, 营养钵未施 BIO (CKns) + 移栽大盆施用 BIO (BIOts); 4) BIOns + BIOts, 营养钵施用 BIO (BIOns) + 移栽大盆施用 BIO (BIOts) 4 个处理。

营养钵装土 0.5 kg/钵,每处理重复 20 次;移栽用大盆每盆装土 10 kg,每处理重复 5 次。BIO 用量为营养钵育苗时按土重的 2% 施用,移栽土壤按土重的 0.5% 施用。各处理育苗和移栽后养分数量保持一致。当营养钵中香蕉幼苗长出 3 至 4 片真叶时,将生长一致的幼苗连同营养钵中土壤一起移栽至大盆钵土壤中,每盆定植 1 棵。常规水肥管理,观察并记录发病情况。香蕉苗移栽后 25 d 植株开始发病,到第 45 d 处理 1 植株严重发病时结束试验。

1.3 测定项目与方法

香蕉地上部干物质重: 香蕉植株收获时将地

上部和地下部剪开,地上部于 105℃ 下杀青 15 min 后 70℃ 烘至恒重,称重。地下部则用于根际土壤微生物(细菌、放线菌、真菌及病原菌)数量的测定。

病情指数(DSI)的统计:从香蕉植株出现第一株病株开始,每天调查发病情况,进行病情指数统计。病情分级:0 级为无症状;1 级整株无变黄叶片;2 级为 1~2 个叶片萎蔫;3 级为全株 1/3~1/2 叶片萎蔫;4 级为全株 1/2~3/4 叶片萎蔫;5 级为全株 3/4 以上叶片萎蔫或死亡。

$$DSI = \frac{\sum (\text{病害的级别} \times \text{该级别的植株数})}{\text{供试植株数}}$$

酶活性的测定:待香蕉植株枯萎病开始发病时(移栽后 25 d),将香蕉地上部和根系分别剪开,地上部茎基 1 cm 处切取 1 cm 厚的茎基,去表皮留取中间部分备用;根系先用自来水将泥土冲掉,再用去离子水清洗一遍,之后剪取香蕉植株根尖 2 cm,用于几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶和胍胍质含量的测定。几丁质酶活性、 β -1,3-葡聚糖酶活性参照史益敏^[5]的方法测定。

胍胍质的测定:采用 Kohle 等^[6]方法提取胍胍质。取 0.500 mg 的植物样品用 10 mL 水润洗后浸于 10 mL 的乙醇中至少 2 min 以移除可溶性荧光物质。将干燥后的根转入玻璃匀浆器内,加入 7.5 mL 1 mol/L 的 NaOH 进行破碎。悬浮物 80℃ 培养 15 min 以溶解胍胍质,然后离心(15 min, 10000 × g)。取上清液 200 μ L 于 5 mL 的离心管中,依次加入 800 μ L 苯胺蓝(0.1%)、200 μ L HCl 1 mol/L 和 1800 μ L 甘氨酸/NaOH 缓冲液(1 mol/L, pH 9.5),50℃ 反应 20 min,取出在室温中放置 30 min 后于荧光分光光度计上测定荧光强度。

土壤微生物数量(细菌、放线菌、真菌及病原菌)的测定:1)根际土壤抖落所有粘在香蕉植株根

系上的土壤后,将根称重,按每 10 g 根加 90 mL 无菌水的比例放入事先装有玻璃珠的三角瓶中,再将三角瓶放置在摇床上 170 r/min 震荡 20 min,洗脱在无菌水中的土壤即为根际土壤;2)移栽土壤将移栽用大盆土壤充分混匀后,取 500 g 混合样,放入 4℃ 冰箱中待用。

微生物数量采用稀释平板法计数,将土样稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 等不同稀释度的土壤溶液。用无菌吸管分别由不同稀释度的土壤溶液中各吸取 0.1 mL 放入准备好的培养基平板,涂布均匀,于 28℃ 培养箱培养。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌采用高氏 1 号培养基,真菌采用马丁氏培养基,病原菌(尖孢镰刀菌)计数采用 Komada H 的选择性培养基^[7]。

试验数据用 Excel 2003 和 SPSS 13.0 统计分析软件进行统计和显著性水平检验。

2 结果分析

2.1 对香蕉植株生长的影响

施用 BIO 能够促进香蕉植株的生长,显著增加香蕉植株地上部生物量和株高(表 1)。植株收获时,与 CKns + CKts 比较,施用 BIO 处理的香蕉植株地上部鲜重增加了 31.9%~93.8%,干重增加了 5.9%~43.1%,株高增加了 43.9%~62.9%,假茎粗增加了 12.3%~18.5%。施用 BIO 的 3 处理中,与 CKns + CKts 比较,营养钵育苗施用 BIO 能显著增加香蕉植株的地上部生物量,其中香蕉植株地上部鲜重增加了 38.7%~46.8%,干重增加了 31.2%~35.1%。株高和茎围虽有所增加,但差异不显著。所有处理中,BIOns + BIOts 处理的香蕉植株无论是地上部鲜重和干重还是株高和茎围均达到最大。

表 1 不同处理对香蕉植株生长的影响(移栽后 45 d)

Table1 Effects of different treatments on growth of banana plants(45 days after transplanting)

处理 Treatment	地上部生物量 Shoot biomass(g/plant)		株高 Plant height (cm)	茎围 Stem girth (cm)
	鲜重 Fresh wt	干重 Dry wt		
CKns + CKts	288.0 $\pm$ 58.4 c	72.7 $\pm$ 7.08 b	56.3 $\pm$ 8.39 b	14.6 $\pm$ 0.51 b
BIOns + CKts	527.0 $\pm$ 38.2 a	101.0 $\pm$ 5.42 a	85.0 $\pm$ 5.57 a	17.1 $\pm$ 1.15 a
CKns + BIOts	380.0 $\pm$ 49.2 b	77.0 $\pm$ 5.84 b	81.0 $\pm$ 7.55 a	16.4 $\pm$ 0.57 ab
BIOns + BIOts	558.0 $\pm$ 17.6 a	104.0 $\pm$ 8.72 a	91.7 $\pm$ 7.51 a	17.3 $\pm$ 1.40 a

注(Note): 同列数据后不同字母表示差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant at 5% level.

2.2 对香蕉枯萎病病情指数的影响

从不同处理对香蕉枯萎病病情指数的影响(图1)看出,香蕉苗移栽 25 d 后,CKns + CKts 处理的香蕉植株开始发病,随着时间推移香蕉植株发病日趋严重,到香蕉苗移栽 45 d 时,该处理植株已严重发病,病情指数(4.6)已接近 5 级。CKns + BIOts 处理的香蕉植株发病症状仅次于 CKns + CKts,收获时病情指数达到 4 级。BIOns + CKts 处理和 BIOns + BIOts 处理在香蕉苗移栽 35~40 d 时,香蕉植株枯萎病发病症状才表现出来,收获时其病情指数也远低于 CKns + CKts 处理和 CKns + BIOts 处理,BIOns + CKts 处理和 BIOns + BIOts 处理的病情指数分别为 2.4 和 2.0,比 CKns + CKts 处理分别降低了 47.8% 和 56.5%。

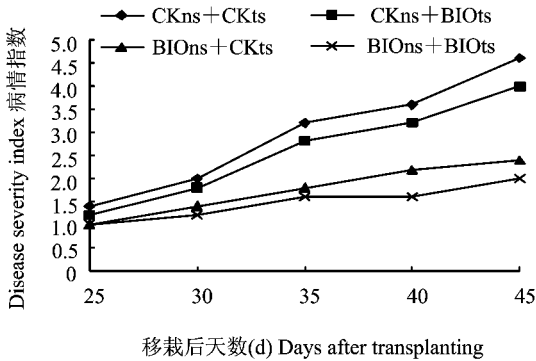


图1 不同处理下香蕉枯萎病发病指数的变化
Fig.1 Effects of different treatments on the disease severity index of the banana wilt disease

2.3 对香蕉植株根尖几丁质酶活性的影响

当对照处理(CKns + CKts)的香蕉植株枯萎病开始发病时,BIOns + CKts、CKns + BIOts 和 BIOns + BIOts 处理根尖(2 cm)几丁质酶活性比对照提高了 8.00、2.64 和 12.88 个酶活单位,其中 BIOns + CKts 和 BIOns + BIOts 处理的几丁质酶活性显著高于 CKns + BIOts,分别提高了 3.13% 和 5.98% (图2)。可见,施用 BIO 可以提高香蕉植株根尖几丁质酶活性,营养钵育苗施用 BIO 能显著提高香蕉植株根尖几丁质酶活性;尤以营养钵育苗和移栽时都施用 BIO 提高香蕉植株根尖几丁质酶活性的效果最好。

2.4 对香蕉植株根尖 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

当对照(CKns + CKts)处理的香蕉植株枯萎病开始发病时,BIOns + CKts 和 BIOns + BIOts 处理根尖(2 cm)的 β -1,3-葡聚糖酶活性显著地高于 CKns + CKts 处理和 CKns + BIOts 处理。BIOns +

CKts 和 BIOns + BIOts 处理的 β -1,3-葡聚糖酶活性分别是对照处理的 7.22 和 6.11 倍,是 CKns + BIOts 处理的 6.17 和 5.22 倍(图3)。

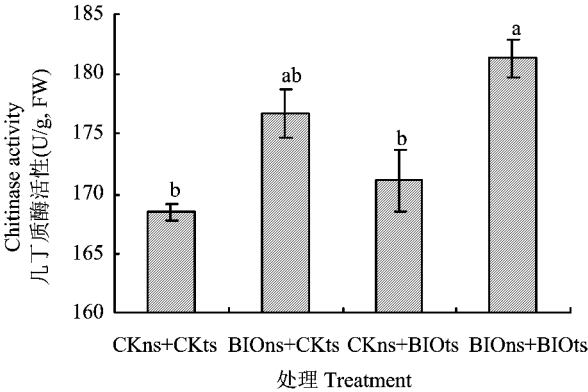


图2 不同处理对香蕉根尖几丁质酶活的影响
Fig.2 Effects of different treatments on chitinase activity of banana root tips

[注 (Note): 方柱上不同字母表示差异达 5% 显著水平
Different letters above the bars mean significant at 5% level.]

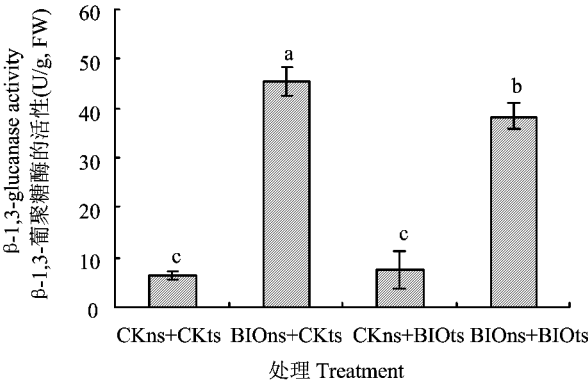


图3 不同处理对香蕉植株根尖 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响
Fig.3 Effects of different treatments on β -1,3-glucanase activity of banana root tips

[注 (Note): 方柱上不同字母表示差异达 5% 显著水平
Different letters above the bars mean significant at 5% level.]

2.5 对香蕉根尖和茎基部胼胝质含量的影响

当对照处理(CKns + CKts)的香蕉植株枯萎病开始发病时,各处理根尖(2 cm)胼胝质含量是茎基部(1 cm)含量的 1.59~2.02 倍,两者差异显著。施用 BIO 的处理,香蕉植株根尖中胼胝质含量为 152.1~198.6 μ g/g,FW,显著低于对照处理 254.9 μ g/g,FW; 营养钵育苗施用 BIO 的处理,香蕉植株根尖中胼胝质含量最低,显著低于对照处理和 CKns + BIOts 处理; 营养钵育苗和移栽时都施用 BIO 的处理,香蕉植株根尖中胼胝质含量与只在营养钵

苗施用 BIO 的处理没有差异(图 4)。

施用 BIO 的处理,香蕉植株茎基部胼胝质含量为对照处理的 47.6%~68.9%,显著低于对照处理;营养钵育苗施用 BIO 的处理,香蕉植株茎基部中胼胝质含量最低,显著低于对照和 CKns + BIOts 处理;营养钵育苗和移栽时都施用 BIO 的处理,香蕉植株茎基部中胼胝质含量与只在营养钵育苗施用 BIO 的处理没有差异。

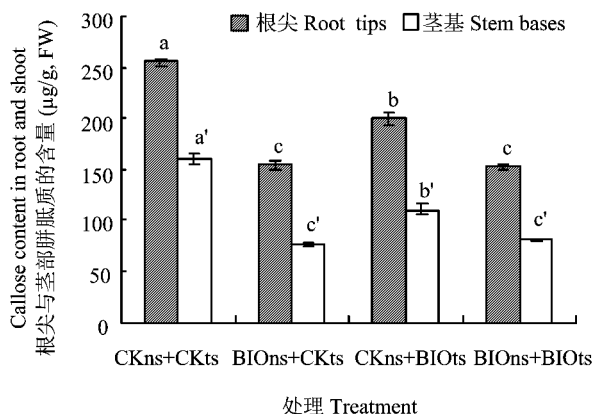


图 4 不同处理对香蕉根尖和茎部胼胝质含量的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on callose contents in root tips and shoots of banana

[注 (Note): 方柱上不同字母表示差异达 5% 显著水平

Different letters above the bars mean significant at 5% level.]

表 2 不同处理对香蕉根际土壤和移栽土壤微生物数量的影响

Table 2 Total numbers of microorganism in rhizosphere and bulk soil in different treatments

处理 Treatment	细菌 Bacteria ($\times 10^8$ cfu/g, DS)		放线菌 Actinomycete ($\times 10^5$ cfu/g, DS)		真菌 Fungi ($\times 10^4$ cfu/g, DS)		尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i> ($\times 10^3$ cfu/g, DS)	
	根际	土体	根际	土体	根际	土体	根际	土体
	Rhizosphere	Bulk soil	Rhizosphere	Bulk soil	Rhizosphere	Bulk soil	Rhizosphere	Bulk soil
CKns + CKts	13.15 $\pm$ 0.05 c	1.07 $\pm$ 0.21 c	3.05 $\pm$ 0.05 b	1.73 $\pm$ 0.45 b	3.30 $\pm$ 0.20 a	1.53 $\pm$ 0.50 a	31.00 $\pm$ 1.00 a	4.33 $\pm$ 1.35 ab
BIOns + CKts	22.10 $\pm$ 0.65 a	6.00 $\pm$ 0.50 b	4.07 $\pm$ 0.75 a	2.90 $\pm$ 0.10 a	2.20 $\pm$ 0.10 c	1.63 $\pm$ 0.35 a	10.67 $\pm$ 3.79 c	5.23 $\pm$ 1.50 ab
CKns + BIOts	19.50 $\pm$ 0.50 b	1.95 $\pm$ 0.05 b	3.60 $\pm$ 0.60 ab	1.10 $\pm$ 0.10 c	2.63 $\pm$ 0.06 b	1.63 $\pm$ 0.12 a	23.00 $\pm$ 1.00 b	6.67 $\pm$ 1.53 a
BIOns + BIOts	21.80 $\pm$ 1.41 a	7.00 $\pm$ 1.00 a	4.33 $\pm$ 0.31 a	2.85 $\pm$ 0.15 a	2.65 $\pm$ 0.05 b	1.33 $\pm$ 0.06 b	15.33 $\pm$ 4.51 c	4.00 $\pm$ 1.00 b

注 (Note): 不同字母表示差异达 5% 显著水平 Different letters means significant at 5% level; DS—干土 Dry soil

3 讨论

3.1 BIO 对香蕉植株生长与病情指数的影响

本研究表明:在香蕉连作土壤中施用 BIO,可以促进香蕉植株的生长,无论是在营养钵育苗还是在大田中施用,均对香蕉植株的生长有良好的促进作用。其中,营养钵育苗施用 BIO 的处理各项指标显著地高于对照处理。凌宁等^[8]对西瓜的研究也表明,施用 BIO 能显著促进西瓜植株的生长,增加

2.6 对香蕉根际土壤和移栽土壤微生物群落结构的影响

当对照处理 (CKns + CKts) 的香蕉植株枯萎病严重发病收获香蕉植株时,不同处理对香蕉根际土壤和移栽土壤微生物群落结构的影响不同。从表 2 看出,与 CKns + CKts 比较, BIOns + CKts 和 BIOns + BIOts 处理的根际土壤细菌数量分别增加了 1.64~1.72 倍和 1.56~1.76 倍,放线菌数量分别增加了 1.11~1.55 倍和 1.34~1.50 倍,真菌数量分别减少了 47.6%~52.2% 和 19.2%~29.6%,香蕉枯萎病病原菌 (尖孢镰刀菌) 数量分别下降了 54.8%~77.0% 和 38.0%~63.9%,处理间差异显著。其中, BIOns + BIOts 处理的土体土壤细菌和放线菌数量分别增加了 6.25~6.98 倍和 1.38~2.10 倍,真菌减少了 23.3%~31.5%,两者之间差异显著。

施用 BIO 对根际土壤微生物数量的影响远高于对土体土壤的影响,特别是细菌数量两者相差一个数量级。施用 BIO 的处理,根际土壤中细菌数量显著增加,真菌和尖孢镰刀菌数量显著减少。而土体土壤中只有细菌数量显著增加,尖孢镰刀菌数量无明显下降趋势,其它微生物数量则依施用 BIO 的不同处理表现不一,其中 BIOns + BIOts 处理的真菌和尖孢镰刀菌数量最低。

其产量。

病情指数是根据一定数目的植株或植株器官各病级核计其发病株 (器官) 数所得平均发病程度的数值,是植物抗病/耐病的反映,病情指数越大,植物受病害侵染的程度越大,发病越严重。凌宁等^[8]的研究表明,拮抗微生物与适合其生长的有机质 (优质有机肥) 结合施入土壤,这能使拮抗菌存活时间更长,更易在土壤中形成优势种群,以致西瓜植株根系表面形成了有效的“生物防御层”;移栽到大田

后,能有效抑制(或抵抗)病原菌侵染,降低西瓜枯萎病的发病指数。本研究表明,在香蕉连作土壤中施用 BIO,可以延迟香蕉植株的发病时间,显著降低香蕉植株的发病程度。BIOs + CKts 和 BIOs + BIOts 处理的病情指数比对照分别下降了 47.8% 和 56.5%,这可能是由于 BIO 中所含的高效拮抗细菌(多粘芽孢杆菌 SQR21, *Paenibacillus polymixa*)和拮抗真菌(绿色木霉 *Trichoderma viride*)在香蕉根际定殖后,保护香蕉根系免受病原菌侵入,对病原菌起到了较好的抑制作用,在推迟香蕉植株发病时间的同时,显著降低了香蕉植株的发病指数。

3.2 BIO 对香蕉根系几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

在病原菌侵染植物细胞的过程中,寄主细胞会被诱导产生一些病程相关蛋白以增强寄主植物对病菌的抗性,几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶是在真菌病原菌侵染寄主的致病过程中起着特殊作用的两种酶^[9]。一般而言,几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性越高,植株抵抗真菌病原菌侵染寄主的能力和其他逆境的能力越强。Beras 和 Purkayastha^[10]对水稻纹枯病的研究发现,当给水稻喷施一种系统性杀菌剂 iprobenfos 后,水稻体内的 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性均升高,且病害严重度明显减轻;Hu 等^[11]以不同抗锈性的小麦品种为试验材料,对它们在叶锈菌(*Puccinia recondite* f. sp. *Tritici*)侵染后的 β -1,3-葡聚糖酶进行了细胞化学研究看出,抗病品种中该酶的活性显著高于感病品种,有效的抵御了病原菌对小麦的侵染。

植物 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的产生需要通过外界环境的诱导。有研究表明,用乙烯处理豆类叶片后,叶片中的 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性急剧上升(最高为对照的 50 倍),它们共同诱导豌豆强烈抑制许多致病真菌如 *F. solani* f. sp. *pisi* 的生长^[9]。在植物体中,特别是植物根尖等幼嫩部分,几丁酶活性和 β -1,3-葡聚糖酶活性很低,而被诱导后,此酶活性可以迅速提高^[9]。Yedidia 等^[12-13]将哈茨木霉 T203 接种到黄瓜的根部,观察到在哈茨木霉菌 T203 穿过黄瓜根部的外皮层时,植株的几丁质酶的活性升高,这表明 T203 诱导植物产生了抗性;徐韶等^[14]用内生枯草芽孢杆菌 B6 菌株处理甜瓜幼苗后,甜瓜根部防御反应相关酶系 β -1,3-葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶和过氧化物酶等的活性有不同程度的增强,这种变化比在单独接种甜瓜枯萎病菌之后更加明显。本研究表明,施用 BIO

可以显著提高香蕉植株根尖几丁质酶活性与 β -1,3-葡聚糖酶活性。这可能是香蕉育苗时施用 BIO,两株高效拮抗菌(多粘芽孢杆菌 SQR21[#]和绿色木霉 *Trichoderma viride*)在诱导香蕉根系产生防御病原菌的系统抗性比未施用 BIO 的香蕉植株强的缘故,从而起到抵御病原菌侵染的作用,降低香蕉植株的发病率,这与徐韶^[14]等人的研究结果相似。

3.3 BIO 对香蕉根系和茎基胼胝质含量的影响

胼胝质是一种以 β -1,3-键结合的葡聚糖,在植物的筛管代谢、配子体发育等生命活动中发挥着重要的调节作用,其合成、分解直接关系植物正常的生长代谢过程^[15]。当植物受到外界不良环境条件影响或强烈刺激,如机械损伤、高温等时,筛管内胼胝质会立即反馈调控筛管的正常生理过程。胼胝质的沉积变化与植物的抗性有关,在不良的条件下抗性强的植物胼胝质形成的少且晚^[16-17]。也有研究表明,在植物-病原菌互作中,病菌侵染点寄主细胞中胼胝质的迅速沉积是植物抗病性的一个普遍特征,这一点在植物与细菌、真菌、线虫、病毒等不同类型的病原菌互作中都已得到证实^[18]。植物体内胼胝质含量高低能反映其自身抵抗病原菌侵染的能力,胼胝质含量越高,抵抗外界病原菌侵染的能力越强,养分和水分进入植物体阻力越大,植物萎焉死亡的几率越高,这是大多数植物的应急反应^[8]。

Trillas 等^[19]认为,镰刀菌侵染康乃馨后可以引起其体内胼胝质的积累。于洋等^[20]将黄瓜炭疽病菌诱导后,在侵染位点周围细胞壁中产生大量胼胝质,这些胼胝质堵塞了筛管和细胞间胞间连丝的缝隙,在封锁营养物质的同时也加固了细胞壁,加强了寄主的抗病性,并进一步阻断褐斑病菌的侵入和扩展。夏启中^[21]报道,胼胝质在病原物入侵后在细胞壁中积累,造成细胞壁的加厚或形成乳头状突起,它围绕在感染部位可以阻碍病原物的扩散作用。胼胝质的积累封锁了胞间连丝的空隙,限制了病原物的进一步侵入和传播,同时也抑制了细胞内水分与营养物的流动^[22]。本研究结果表明,胼胝质在植物体内的积累首先由根尖开始,各处理根尖中的胼胝质含量为茎基部的 1.59~2.02 倍,未施 BIO 的处理香蕉植株易受枯萎病病原菌侵染,无论是其根尖还是茎基中胼胝质的含量都显著高于其他施用 BIO 的处理。这可能是未施 BIO 的香蕉根系缺乏有益拮抗菌株的生物保护墙,使得香蕉枯萎病病原菌极易入侵香蕉根系,进一步产生大量的胼胝质积累在香蕉根系以及茎基,从而导致香蕉植株水分和养分

运输的堵塞,最终使得香蕉植株枯萎死亡。

3.4 BIO 对香蕉根系和土壤微生物群落结构的改善

土壤微生物在土壤养分转化与腐殖质形成过程中起着重要的作用;土壤微生物的多样性又影响土壤生态系统的结构、功能及过程,它是维持土壤生产力的重要组分^[23]。植物土传病害的生物防治在一定程度上依赖于土壤微生物的群体作用,当土壤微生物群落结构越丰富,物种越均匀,多样性越高时,对抗病原菌的综合能力增强^[24]。Richard 指出^[25],土壤中可培养细菌可能是对土壤生态系统贡献最大的类群,它们比整个微生物群体更容易遭受土壤生态系统变化的影响,可用作与污染影响有关的指示剂。胡元森^[26]等试验看出,黄瓜连作引起细菌和放线菌数量减少,其中细菌减幅较大,每茬一次都使其数量成倍递减。与细菌相比,放线菌对黄瓜连作的反应稍微滞后,重茬 3 次开始表现出减少趋势。从影响部位看,细菌和放线菌数量均在根际区有较大减幅,表明连作造成的微生物群落变化主要发生在根际部位,而细菌对黄瓜连作反应尤其敏感。本试验结果表明,营养钵育苗施用 BIO,能改善香蕉根际土壤微生物的群落结构。连作情况下,对照细菌与放线菌的大幅减少,BIOs + CKts 和 BIOs + BIOts 处理的香蕉根际细菌数量分别增加了 1.64~1.72 倍和 1.56~1.76 倍;放线菌数量分别增加了 1.11~1.55 倍和 1.34~1.50 倍;真菌数量分别减少了 47.6%~52.2% 和 19.2%~29.6%,根际尖孢镰刀菌的数量也大大减少。

有研究表明,通过单一或少数拮抗菌的加入是难以达到有效的生防效果的,其原因在于拮抗菌没有一个合适的载体加入土壤之后难以存活^[24]。而本研究将充分腐熟的有机肥和拮抗菌相结合,不仅可以保证拮抗菌在土壤中发挥作用,同时有机肥中的养分对有益微生物还起到辅助作用。张志红等^[27]的研究表明,拮抗菌在有机肥协助下形成“基质-菌群”生态系统,更有利于调节土壤微生态环境,可改变香蕉根际土壤微生物生态特征和物理化学特性,从而起到防病、抑病作用。从不同处理对香蕉根际土壤微生物群落结构(表 2)和香蕉枯萎病病情指数(图 1)影响结果看,这种微生物群落结构的改善对于防止和防治香蕉枯萎病的发生尤为重要。

综上所述,施用 BIO 生物有机肥有利于连作土壤的生态系统朝着稳定健康的方向发展,抑制土壤中病原真菌的繁殖,大大降低土壤中病原真菌的密度,克服连作土壤中的不利生物因素,降低病原真菌

对植株根系的侵染,达到防控土传病害的效果。

参 考 文 献:

- [1] 林电,颜速亮,常春荣,等. 反季节组培香蕉氮、磷、钾肥料配比/施肥时期及其效应研究[J]. 热带作物学报,2002,23(2): 36-39.
Lin D, Yan S L, Chang C R *et al.* Effects of N, K ratios and fertilizing at different stages on off-season banana[J]. Chin. J. Trop. Crops, 2002, 23(2): 36-39.
- [2] 肖爱萍,游春平,梁关平,等. 香蕉枯萎病拮抗菌的筛选及其作用机制研究[J]. 植物保护,2006,32(4): 53-56.
Xiao A P, You C P, Liang G P *et al.* Selection of the antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense and their action mechanisms[J]. Plant Prot., 2006, 32(4): 53-56.
- [3] 刘景梅,王壁生,陈霞,等. 广东香蕉枯萎病菌生理小种 RAPD 技术的建立[J]. 广东农业科学,2004,(4): 43-45.
Liu J M, Wang B S, Chen X *et al.* Establishment of RAPD technique system in *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense of Guangdong [J]. Guangdong Agric. Sci., 2004, (4): 43-45.
- [4] 林兰稳,奚伟鹏,黄赛花. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选[J]. 生态环境,2003,12(2): 182-183.
Lin L W, Xi W P, Huang S H. Selection of fungicides for controlling banana blight resulted from *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense[J]. Ecol. Environ., 2003, 12(2): 182-183.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社,2004,128-130.
The Shanghai Society for Plant Physiology, CAS. Guideline of modern experiments in plant physiology [M]. Beijing: Science Press, 2004, 128-130.
- [6] Kohle H, Jeblick W, Poten F *et al.* Chitosan-elicited callose synthesis in soybean cell as a Ca^{2+} -dependent process [J]. Plant Physiol., 1985, 77: 544-551.
- [7] Komada H. Development of selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil[J]. Rev. Plant Prot. Res., 1975, 8: 114-125.
- [8] 凌宁,王秋君,杨兴明,等. 根际施用微生物有机肥防治连作西瓜枯萎病研究[J]. 植物营养与肥料学报,2009,15(5): 1136-1141.
Ling N, Wang Q J, Yang X M *et al.* Control of *Fusarium* wilt of watermelon by nursery application of bio-organic fertilizer [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2009, 15(5): 1136-1141.
- [9] 吴洪生,尹晓明,刘东阳,等. 镰刀菌毒素对西瓜幼苗根细胞跨膜电位及叶细胞有关抗逆酶的抑制[J]. 中国农业科学,2008,41(9): 2641-2650.
Wu H S, Yin X M, Liu D Y *et al.* Inhibition of root cell transmembrane potential and leaf anti-stress enzymes of watermelon seedlings by fusaric acid [J]. Chin. Agric. Sci., 2008, 41(9): 2641-2650.
- [10] Bera S, Purkayastha R P. Multicomponent coordinated defence response of rice to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight [J]. Curr. Sci., 1999, 76(10): 1376-1384.
- [11] Hu G, Rijkenberg H J. Subcellular localization of β -1,3-glu-

- canase in *Puccinia recondite* f. sp. *Tritici*-infected wheat leaves [J]. *Planta*, 1998, 204: 324–334.
- [12] Yedidia I, Benhamou N, Chef I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum* [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65: 1061–1070.
- [13] Yedidia I, Benhamou N, Kapulnik Y *et al.* Induction and accumulation of PR protein activity during early stages of root colonization by the microparasite *Trichoderma harzianum* strain T203 [J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 2000, 38(1): 863–873.
- [14] 徐韶, 庄敬华, 高增贵, 等. 内生细菌与木霉复合处理诱导甜瓜对枯萎病的抗性 [J]. *中国生物防治*, 2005, 21(4): 254–259.
- Xu S, Zhuang J H, Gao Z G *et al.* Induced resistance to *Fusarium oxysporum* in melon treated with combination of trichoderma virid and entophytic bacteria *Bacillus subtilis* [J]. *Chin. J. Biol. Contr.*, 2005, 21(4): 254–259.
- [15] 梁汉兴. 天麻大孢子发生时胼胝质的定位观察 [J]. *植物学报*, 1983, 25(1): 29–32.
- Liang H X. Localization of callose during the occurrence of megasporocyte in *Gastrodia elata* Blume [J]. *Acta Bot. Sin.*, 1983, 25(1): 29–32.
- [16] 李师翁. 知母雌雄配子体的发生及胼胝质动态的研究 [J]. *云南植物研究*, 1998, 20(1): 71–75.
- Li S W. Studies on the development of male and female gametophytes and callose deposit dynamics in *Anemarrhena asphodeloides* [J]. *Acta Bot. Yunnanica*, 1998, 20(1): 71–75.
- [17] 陆时万. *植物学* [M]. 北京: 高等教育出版社, 1995, 51.
- Lu S W. *Botany* [M]. Beijing: Higher Education Press, 1995, 51.
- [18] Heath M C, Skalamerna D. Cellular interaction between plants and biotrophic fungal parasites [J]. *Adv. Bot. Res.*, 1997, 24: 196–225.
- [19] Trillas M I, Cotxarrera L, Casanova E *et al.* Ultra structural changes and localization of chitin and callose in compatible and incompatible interactions between carnation callus and *Fusarium oxysporum* [J]. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2000, 56(3): 107–116.
- [20] 于洋, 石延霞, 傅俊范, 等. 亲和病原菌诱导黄瓜组织结构抗病性结构机制 [J]. *植物保护学报*, 2008, 35(1): 37–42.
- Yu Y, Shi Y X, Fu J F *et al.* Structural resistance in cucumber induced by pathogen [J]. *J. Plant Prot.*, 2008, 35(1): 37–42.
- [21] 夏启中. 植物抗病的物质代谢基础 [J]. *黄冈职业技术学院学报*, 2004, 6(3): 9.
- Xia Q Z. Metabolic basis of plant-disease resistance [J]. *J. Huanggang Poly.*, 2004, 6(3): 9.
- [22] 刁毅. 植物诱导抗病性的结构抗性机制 [J]. *攀枝花学院学报*, 2006, 23(1): 116–118.
- Diao Y. Mechanism of disease-resistance of structure in induced disease-resistance of plants [J]. *J. Panzhihua Univ.*, 2006, 23(1): 116–118.
- [23] 杨芳, 徐秋芳. 土壤微生物多样性研究进展 [J]. *浙江林业科技*, 2002, 22(6): 39–55.
- Yang F, Xu Q F. Research of soil microbial diversity [J]. *J. Zhejiang Sci. Tech.*, 2002, 22(6): 39–55.
- [24] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对蕃茄青枯病及土壤微生物多样性的研究 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(3): 349–353.
- Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E *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.
- [25] Richard J E, Morgan P, Weightman A J, Fry J C. Cultivation-dependent and independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal-contaminated soil [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69(6): 3223–3230.
- [26] 胡元森, 刘亚峰, 吴坤, 等. 黄瓜连作土壤微生物区系变化研究 [J]. *土壤通报*, 2006, 37(1): 126–129.
- Hu Y S, Liu Y F, Wu K *et al.* Variation of microbial community structure in relation to successive cucumber cropping soil [J]. *Chin. J. Soil Sci.*, 2006, 37(1): 126–129.
- [27] 张志红, 李华兴, 韦翔恩, 等. 生物肥料对香蕉枯萎病及土壤微生物的影响 [J]. *生态环境*, 2008, 17(6): 2421–2425.
- Zhang Z H, Li H X, Wei X E *et al.* Influence of biological fertilizers on banana wilt disease and microorganisms in soil [J]. *Ecol. Environ.*, 2008, 17(6): 2421–2425.