

## 两株生防菌对西瓜枯萎病的防效及其促生作用

刘倩如,沈婷婷,张琇,齐玉玺,田兴国,禹凤霞,杨国平\*

北方民族大学生物科学与工程学院,宁夏特殊生境微生物资源开发与利用重点实验室,宁夏 银川 750021

**摘要:** 为验证尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)BMD-1的致病特性,探索解淀粉芽孢杆菌B6和假单胞菌WF19对感染BMD-1的西瓜植株的生防和促生效果,本研究首先采用接种法验证枯萎病原菌BMD-1的致病能力,并通过盆栽试验测定西瓜植株氮代谢、抗氧化酶活性以及丙二醛和木质素的含量。结果表明,BMD-1侵染5-7 d后,幼苗根部褐化且生长发育受到抑制,对西瓜植株具有致病性。添加菌株B6、WF19及其复合菌BW后,西瓜植株地上、地下干重和鲜重显著提高,其中B6处理地上地下鲜重分别提高35.79%和51.85%,WF19分别提高28.41%和123.46%,同时降低了植株MDA和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的含量,提高氮代谢酶NR、GDH、GS和抗氧化酶POD、PPO、PAL的活性,其中以B6的综合效果最佳。综上所述,菌株B6和WF19可以通过调节氮代谢、抗氧化酶活性以及脂质过氧化等促进西瓜植株的生长发育,提高西瓜植株对枯萎病的抗性。

**关键词:** 枯萎病; 生防菌; 生防效果

中图法分类号: S436.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2025)05-0801-09

## Control Efficacy and Growth Promotion of Two Biocontrol Bacteria Against Fusarium Wilt of Watermelon

LIU Qian-ru, SHEN Ting-ting, ZHANG Xiu, QI Yu-xi, TIAN Xing-guo, YU Feng-xia, YANG Guo-ping\*

College of Biological Science and Engineering/North Minzu University, Ningxia Key Laboratory for the Development and Application of Microbial Resources in Extreme Environments, Yinchuan 750021, China

**Abstract:** To verify the pathogenic characteristics of *Fusarium oxysporum* BMD-1 and explore the biocontrol and growth promotion effects of *Bacillus amylolifacium* B6 and *Pseudomonas* WF19 on watermelon plants infected with BMD-1, this study first tests the pathogenic ability of BMD-1 pathogen by inoculation method, and measures the nitrogen metabolism, antioxidant enzyme activities, malondialdehyde and lignin contents of watermelon plants by pot experiment. The results show that 5-7 days after BMD-1 infection, the seedling roots turn brown and their growth and development are inhibited, indicating that BMD-1 is pathogenic to watermelon plants. The dry weight and fresh weight of watermelon plants above and below ground significantly increase by the addition of strain B6, WF19 and their composite strain BW. The fresh weight above and below ground increase by 35.79% and 51.85% respectively in B6 treatment, and by 28.41% and 123.46% respectively in WF19 treatment. Meanwhile, the contents of MDA and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  in the plants decrease, and the activities of nitrogen metabolism enzymes NR, GDH, GS and antioxidant enzymes POD, PPO, PAL improve. Among these, B6 exhibits the best overall effect. In summary, strains B6 and WF19 can promote the growth and development of watermelon plants by regulating nitrogen metabolism, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation to improve watermelon resistance to fusarium wilt.

**Keywords:** Fusarium wilt; biocontrol bacterium; biocontrol effect

西瓜 (*Citrullus lanatus*) 为葫芦科 (Cucurbitaceae), 一年生蔓生藤本植物, 是宁夏中卫市环香山地区的经济支柱产业, 当地农民在干旱的坡地上覆盖一层砂石颗粒, 在砂石下的土层种植西瓜, 产出的西瓜富含硒元素, 因而得名

“晒砂瓜”, 这种种植方式是该地区农民在极端干旱的条件下创造出的旱作种植模式<sup>[1,2]</sup>。但是在多年甚至数十年以上连作种植过程中, 由于单一的管理和种植方式, 土壤微生物长期处于相同的微生态环境, 其生长繁殖受到定向影响, 致使土

收稿日期: 2024-12-09

修回日期: 2025-08-25

基金项目: 宁夏自然科学基金重点项目(2022AAC02048); 国家自然科学基金项目(32060424); 宁夏重点研发计划(2023BCF01014); 宁夏回族自治区领军人才计划(2022GKLRX06)

第1作者简介: 刘倩如(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物生态学。E-mail: Lucyq711@outlook.com

\*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: yang\_guoping@126.com

壤微生物多样性和微生物活力降低、土壤微生物结构失衡,造成地力下降,枯萎病大面积发生,严重影响了硒砂瓜产业的可持续发展和食品安全<sup>[3,4]</sup>。

西瓜枯萎病是一种由半知菌类尖孢镰孢霉西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, FON)寄生引起的真菌性土传病害<sup>[5]</sup>。致病菌从植株根部伤口或者根毛顶端的细胞间隙侵入寄主管壁细胞并在其内生长,干扰植株代谢,导致植株中毒死亡<sup>[6]</sup>。该病在西瓜整个生长发育期均可发生,是限制西瓜产业发展的主要因素之一。由于病原菌在土壤中有较高的隐蔽性且几乎没有针对性的特效农药,目前针对西瓜枯萎病,传统化学防控效果有限,大量使用还会造成环境污染<sup>[7]</sup>,而生物防治因其安全有效性,在农业生产中得到广泛应用。生防菌可以通过驱动元素循环、调节土壤微生物群落结构、保持土壤肥力以及促进植物生长,直接或间接缓解病害<sup>[8,9]</sup>。科研工作者从土壤中分离筛选出一些功能性微生物菌株,通过实验证实可有效防治 FON<sup>[10]</sup>。在田间条件下,使用假单胞菌(*Pseudomonas*)控制了高达 79% 的香蕉镰刀枯萎病,通过木霉菌(*Trichoderma*)控制了约 70% 的香蕉镰刀枯萎病<sup>[11]</sup>。王亚娇等<sup>[12]</sup>筛选出一株解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)能够促进西瓜的出苗率及株高,对西瓜枯萎病具有明显的防治效果。然而,不同地域由于气候和土壤环境差异,病原菌的特性也存在差异,造成生防菌的生防效果有所不同,宁夏硒砂瓜种植方式独特,且区域气候干燥少雨,缺水严重,有关生防菌株对硒砂瓜产区西瓜枯萎病病原菌的防治效果鲜有报道。

本研究验证了一株从宁夏中卫环香山西瓜种植区分离出的枯萎病病原菌 BMD-1<sup>[13]</sup>的致病性;以前期分离筛选的解淀粉芽孢杆菌 B6 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、油菜假单胞菌 WF19 (*Pseudomonas brassicacearum*) 为生防菌株<sup>[14]</sup>,探究接种生防菌剂对西瓜植株生长指标、氮代谢能力、抗氧化酶活性以及丙二醛和木质素含量的影响,以期为宁夏硒砂瓜产业的健康可持续发展提供菌种资源和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试西瓜品种:金城 5 号,购自武威新金城种业有限公司。

供试生防菌株:解淀粉芽孢杆菌 B6,油菜假单胞菌 WF19。为本课题组前期从宁夏中卫环香山产区硒砂瓜根际土壤中筛选分离。将两菌株分别接种于灭菌的 LB 液体培养基中,30 °C,180 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 18 h,无菌水稀释至 1×10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> 备用。

供试病原菌株:BMD-1,由本实验室从宁夏中卫环香山产区硒砂瓜残植体分离纯化,经分子生物学鉴定为尖孢镰孢菌西瓜专化型。将该菌株接种于灭菌的 LB 液体培养基中,30 °C,180 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 18 h,以无菌水稀释至 1×10<sup>7</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> 备用。

### 1.2 主要试剂及仪器

铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)含量测定试剂盒、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量测定试剂盒、一氧化氮(NO)含量测定试剂盒、谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase, GS)活性测定试剂盒、谷氨酸脱氢酶(Glutamate dehydrogenase, GDH)活性测定试剂盒、硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)活性测定试剂盒、过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性测定试剂盒、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量测定试剂盒、多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)活性测定试剂盒、苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性测定试剂盒、木质素含量测定试剂盒,苏州科铭生物技术有限公司。

光照培养箱,上海锦玖仪器设备有限公司;分光光度计,日本岛津公司;根系分析仪,四川瑞进特科技有限公司。

### 1.3 BMD-1 致病性鉴定

1.3.1 接种病原菌 BMD-1 对西瓜植株的影响  
取大小均一、颗粒饱满无破损的健康金城 5 号西瓜种子经 45 °C 热处理 30 min,75% 乙醇浸泡 15 s,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 30 s 后,无菌水冲洗 6 次,28 °C 暗培养 2 d。取长势均一的露白幼苗,解剖刀轻轻划痕根部制造伤口模拟土壤环境,每盆摆放 4 株,设置 3 组重复,无菌培养。CK0(无伤

口),CK1(有伤口):幼苗根部均匀加入 100  $\mu\text{L}$  生理盐水,无病原菌;F1-F4:取  $1 \times 10^7$   $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$  的病原菌孢子悬液 100  $\mu\text{L}$  均匀滴至幼苗根茎处,F1和F2无伤口,F3和F4为有伤口。光照培养箱生长 7-9 d,每 24 h 观察记录生长情况。此外,取 6、12、24、48、96、120 h 的西瓜根组织进行 WGA 染色,观察 FON 菌丝侵染状况。

**1.3.2 WGA 染色** WGA 染色委托武汉塞维尔生物科技有限公司,将取样的西瓜植株根组织浸泡在卡诺固定液中固定样本,之后将根组织转入 10% KOH 溶液中,用封口膜将管口封严,85  $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h 后用 PBS 洗涤 4-5 次,接着向装有根组织的离心管中加入 WGA 染色液,真空抽滤泵抽滤 4 次,每次 5 min,期间在常压下间隔 5 min,最后将根组织用 PBS 洗涤 2-3 次,抗荧光淬灭封片剂封片,于 4  $^{\circ}\text{C}$  避光保存,荧光显微镜或者共聚焦显微镜拍照。真菌菌丝呈绿色荧光,植物组织细胞壁呈红色荧光。

## 1.4 菌株 B6、WF19 以及复合菌 BW 对感染 BMD-1 的西瓜植株的影响

**1.4.1 试验设计** 试验设置 4 个处理:病原菌 FON 对照 (FON)、B6+FON 处理 (B6)、WF19+FON 处理 (WF19) 和复合菌 BW+FON 处理 (BW) (将培养好的 B6 和 WF19 菌液以  $V_{\text{B6}}:V_{\text{WF19}}=2:1$  的比例混合)。将西瓜种子消毒后在育苗盘上育苗。于西瓜长至两叶一心后,选取长势一致的幼苗,按照国际通用的幼苗浸根法,在 FON 菌液 ( $1 \times 10^7$   $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和生防菌菌液 ( $1 \times 10^8$   $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 中浸根 30 min,移栽至无菌基质中,每盆 1 株,设置 10 个重复。各处理施肥、浇水等管理措施一致。取接种后 28 d 的西瓜根尖组织进行 WGA 染色,并且测定植株根系组织的氮代谢和抗氧化酶活性等指标。

**1.4.2 菌株 B6 和 WF19 及其复合菌 BW 在西瓜根表的定殖情况** 将菌株 B6 和 WF19 在添加了 1、5、10、50、100 和 200  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  利福平的 TSA 平板上诱导培养,获得具有抗利福平标记的 B6 和 WF19 菌株。于西瓜长至两叶一心后,选取长势一致的幼苗,按照国际通用的幼苗浸根法,在生防菌液 ( $1 \times 10^8$   $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 中浸根 30 min,移栽至无菌基质中,每盆 1 株。分别于处理后 4、7、13、16 和 19 d 取各处理的根表土壤溶 10 mL 无菌水

中,超声波振荡 1 h,梯度稀释至  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  和  $10^{-5}$ ,取 100  $\mu\text{L}$  不同浓度菌悬液涂布于含 200  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  利福平的 TSA 培养基上,每处理 3 次重复,培养 24-48 h,计算解淀粉芽孢杆菌 B6 和油菜假单胞菌 WF19 及复合菌剂在西瓜根表的定殖情况。

**1.4.3 西瓜植株生物量测定** 将西瓜植株地上枝叶部分和地下部分分开并清洗干净,用分析天平测量单株鲜重后置于烘箱,105  $^{\circ}\text{C}$  杀青 30 min 后 75  $^{\circ}\text{C}$  烘至恒重,分析天平测量单株干重。

**1.4.4 西瓜植株根组织氮代谢指标测定** 铵态氮 ( $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ) 含量测定采用靛酚蓝比色法;硝态氮 ( $\text{NO}_3^--\text{N}$ ) 含量测定采用联氨铜还原比色法;一氧化氮 ( $\text{NO}$ ) 含量测定采用分光光度法;谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性测定采用分光光度法;谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性测定采用分光光度法;硝酸还原酶 (NR) 活性测定采用分光光度法。

**1.4.5 西瓜植株根组织抗氧化酶活性及脂质过氧化物指标测定** 过氧化物酶 (POD) 活性测定采用紫外吸收法;多酚氧化酶 (PPO) 活性测定采用邻苯二酚法;苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性测定采用 L-苯丙氨酸法;丙二醛 (MDA) 含量测定采用硫代巴比妥酸法;木质素含量测定采用分光光度法。

## 1.5 数据分析

采用 Excel 2010 软件整理数据,SPSS 24.0 软件进行显著性差异分析,使用 Prism 10.0 软件绘图, $P < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 BMD-1 致病性验证

**2.1.1 接种 BMD-1 对西瓜植株的影响** 如图 1 所示,西瓜植株培养 5-7 d 后,无菌对照组 CK0 和 CK1 的西瓜植株长势均一,生长发育状况良好。而接种了病原菌 BMD-1 的 F1、F2、F3 和 F4 处理组,西瓜植株的生长受到抑制,具体表现为植株矮小、根部褐化,茎部出现腐烂现象。说明 BMD-1 对西瓜植株具有致病性,并且植株有无伤口都能够被病原菌侵染。

**2.1.2 BMD-1 在西瓜根部的定殖动态** 通过 WGA 染色进一步明确 BMD-1 在西瓜植株根际的定殖状态。结果表明,接种 6 h 后,部分孢子附

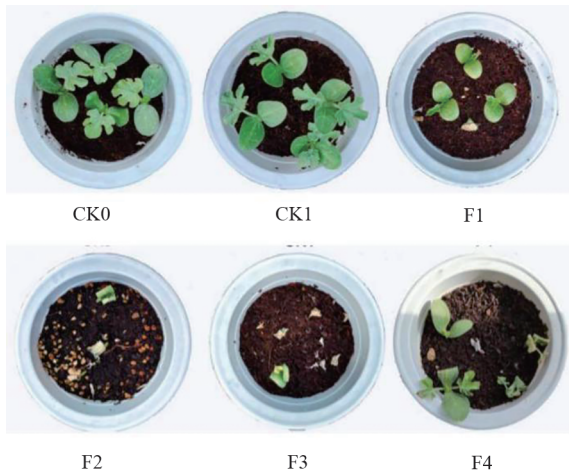


图1 接种BMD-1对西瓜植株的影响  
Fig. 1 Effect of inoculation with BMD-1 on watermelon plants

注:CK0:幼苗无伤口无菌对照组;CK1:幼苗有伤口无菌对照组;F1、F2:幼苗无伤口有菌处理组;F3、F4:幼苗有伤口有菌处理组。

Note: CK0: sterile control group with unwounded seedlings; CK1: sterile control group with wounded seedlings; F1, F2: bacterial treatment groups with unwounded seedlings; F3, F4: bacterial treatment groups with wounded seedlings.

着于根表面并开始萌发,由芽管逐渐长成菌丝(图2A);接种后第12 h,菌丝在表皮上生长蔓延,部分开始进入细胞间隙(图2B);且有大量菌丝缠绕在植株根部表面,呈现较强的荧光(图2C);第48 h,菌丝穿过皮层细胞到达维管束(图2D,E,F);接种后第120 h,FON菌丝已完全定殖于西瓜根部,围绕细胞生长的菌丝形成密集的类型网状结构(图2G)。

### 2.2 菌株 B6、WF19 以及复合菌 BW 在西瓜根表的定殖能力

如图3所示,对菌株B6、WF19和复合菌BW在植物根表的定殖情况进行评估可知,几种处理

的菌株定殖能力均在第7 d达到峰值,随后表现出下降趋势,16 d后逐渐平稳,其中菌株B6在西瓜根部的定殖优于WF19和BW处理。

### 2.3 接种菌株 B6、WF19 以及复合菌 BW 对 BMD-1 侵染能力的影响

通过WGA染色结果可知,培养28 d后,FON处理中的菌丝穿过皮层细胞,完全侵染维管束,围绕细胞生长的菌丝形成密集的类型网状结构;相同时间,接种菌株B6、WF19以及复合菌BW的处理,FON菌丝仅在表皮上生长蔓延,只有部分进入细胞间隙,其中以添加B6的植株被侵染的程度最低(图4)。说明接种菌株B6、WF19以及复合菌BW可以缓解病原菌BMD-1对西瓜植株的侵染程度。

### 2.4 接种菌株 B6、WF19 以及复合菌 BW 对西瓜生长发育的影响

如图5所示,从外形表现和根系生长情况来看,不同处理组的盆栽西瓜在出苗28 d后表现出明显差异,感染病原菌的植株呈现出枝叶枯萎、矮小凋亡、根系发育不良的状态,而添加生防菌的植株叶片轻微枯黄、长势良好且根系发达,生长发育优于对照组,表现出对枯萎病病原菌的良好生防效果,其中B6处理组效果最佳,与其他处理组间存在明显差异。

如图6A,B所示,与FON处理相比,接种菌株B6、WF19和复合菌BW后,西瓜植株的生物量均有显著的升高,B6、WF19和BW的地上鲜重分别显著增加35.79%、28.41和7.38%( $P < 0.05$ );地上干重显著增加34.15%、51.22和9.76%( $P < 0.05$ );地下鲜重显著增加51.85%、123.46%和64.19%( $P < 0.05$ );地下干重显著增加12.72%、26.01%和13.87%( $P < 0.05$ )。

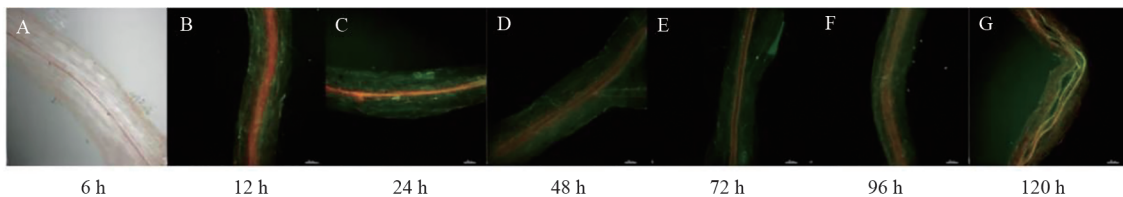


图2 BMD-1在西瓜根部的定殖动态

Fig. 2 Colonization dynamics of BMD-1 in the root of watermelon

### 2.5 接种菌株 B6、WF19 和复合菌 BW 对西瓜根组织氮代谢的影响

接种菌株B6、WF19和复合菌BW28 d后,取

植株的根部组织测定氮代谢相关的指标: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和NO的含量及GS、GDH和NR的活性。

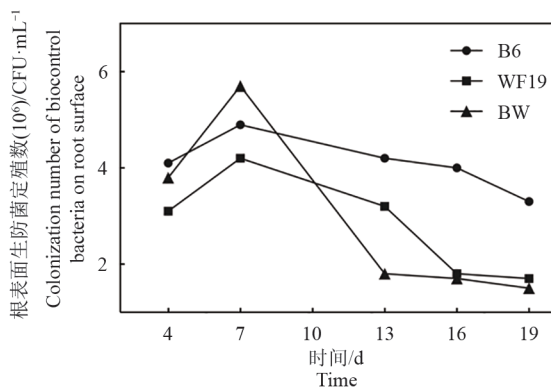


图 3 菌株 B6、WF19 和复合菌剂 BW 在西瓜根表定殖情况

Fig. 3 Colonization of strains B6, WF19 and composite bacterial agent BW on the root surface of watermelon

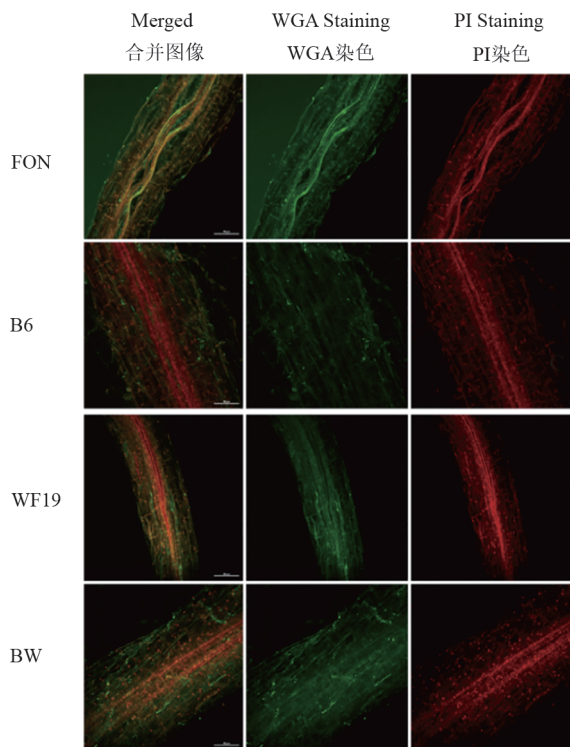


图 4 菌株 B6、WF19 和复合菌剂 BW 对 BMD-1 侵染能力的影响

Fig. 4 Strains B6, WF19 and composite bacteria agent BW on BMD-1 infection ability

如图 7A 所示,相较于 FON, B6、WF19 和 BW 的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量显著降低,分别降低了 11.94%、7.8% 和 9.14% ( $P<0.05$ );相反, B6、WF19 和 BW 的  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  含量显著增加 53.29%、18.53% 和 28.96% ( $P<0.05$ ) (图 7B); B6 的 NO 含量显著增加 94.12% ( $P<0.05$ ) (图 7C); 同时, B6、WF19 和 BW 的氮代谢酶 GS 活性分别显著上调 234.56%、65.67% 和 117.55% ( $P<0.05$ ) (图 7D);

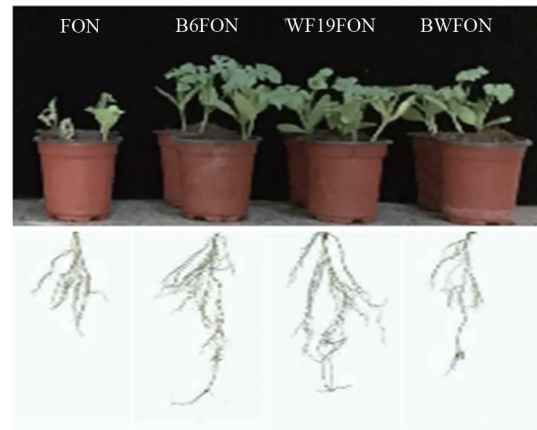


图 5 接种菌株 B6、WF19 和复合菌 BW 对西瓜植株生长发育和根系的影响

Fig. 5 Inoculated with strains B6, WF19 and composite bacteria BW on growth and root system of watermelon plants

B6 和 BW 的 GHD 和 NR 的活性菌显著上调,其中 GHD 分别上调 208.2% 和 185.96% ( $P<0.05$ ) (图 7E); NR 分别上调 101.39% 和 72.94% ( $P<0.05$ ) (图 7F)。

### 2.6 接种菌株 B6、WF19 和复合菌 BW 对西瓜根组织丙二醛、木质素含量和抗氧化酶活性的影响

如图 8A 所示,相较于 FON, B6、WF19 和 BW 处理组的 MDA 含量显著降低,分别降低了 37.69%、15.81% 和 16.76% ( $P<0.05$ ); 相反, B6、WF19 和 BW 处理组的木质素 (Lignin) 含量分别增加 38.89%、11.11% 和 27.78% ( $P<0.05$ ) (图 8B); PPO 活性分别上调 127.16%、81.07% 和 101.54% ( $P<0.05$ ) (图 8D); PAL 活性分别上调 350.05%、285.54% 和 322.77% ( $P<0.05$ ) (图 8E); 同时, B6 和 BW 处理组的 POD 活性分别上调 12.64% 和 10.34% ( $P<0.05$ ) (图 8C)。

## 3 讨论

FON 是一种对西瓜种植产业破坏性较强的病原菌<sup>[15]</sup>,通过根毛伸长部位附近的伤口或开口穿透植物组织,最终穿透维管组织并产生微分生孢子,微分生孢子被释放到木质部中,开始在西瓜的植物维管组织中定殖<sup>[16]</sup>。西瓜植株染病后,子叶发黄、植株失水呈萎蔫状态、茎基部逐渐褐变腐烂,生长发育受阻,植株矮小凋落直至枯萎死亡<sup>[17]</sup>。本研究前期从宁夏中卫环香山晒砂瓜产区

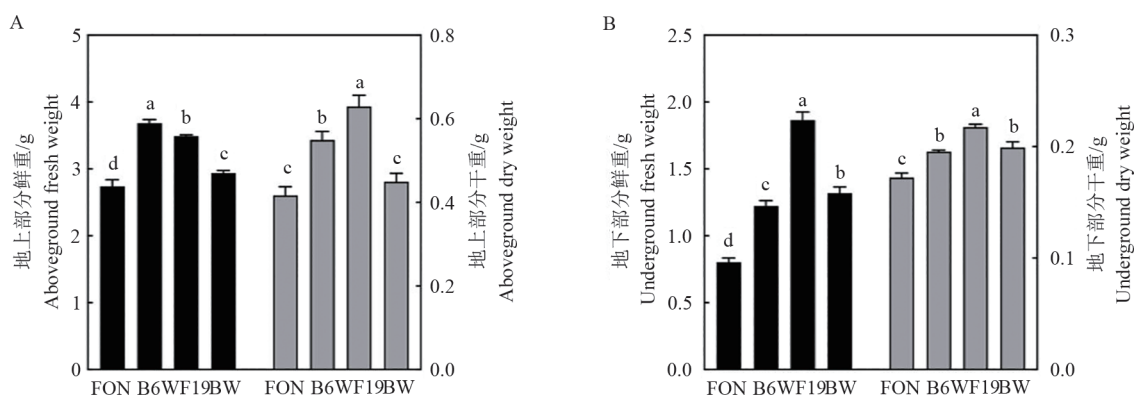


图6 接种菌株 B6、WF19 和复合菌 BW 对西瓜植株生物量的影响

Fig. 6 Inoculation with strains B6 and WF19 and composite bacteria BW on watermelon plant biomass

注：(A:地上部分鲜、干重；B:地下部分鲜、干重)图中误差线表示标准偏差。小写字母表示不同处理间差异(显著  $P < 0.05$ )。下同。

Note: (A: Fresh and dry weights of aboveground parts; B: Fresh and dry weights of underground parts)The error line in the figure refers to the standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level among different treatments. The same below.

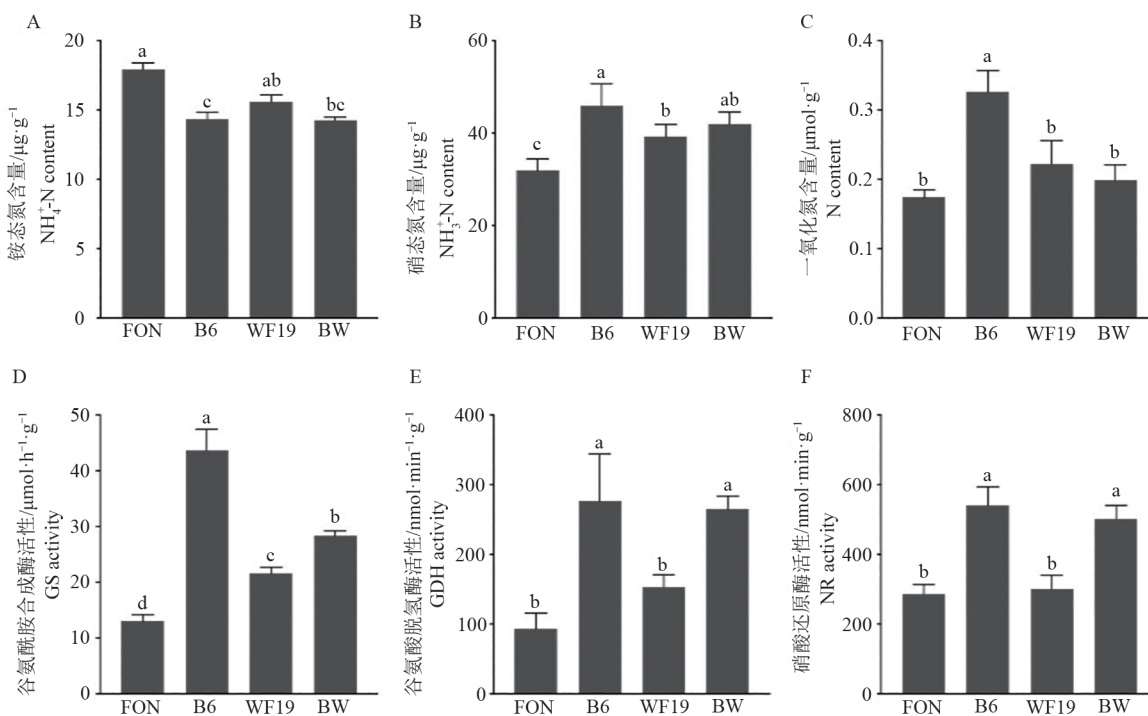


图7 接种菌株 B6、WF19 和复合菌剂 BW 对西瓜植株根系氮代谢的影响

Fig. 7 Inoculation with strains B6 and WF19 and composite bacterial BW on nitrogen metabolism in watermelon plant roots

的西瓜病植株中分离得到一株病原菌BMD-1,经分子生物学鉴定为尖孢镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*)<sup>[13]</sup>。将该菌株接种于西瓜植株,5-7 d后观察发现,幼苗根部褐化且茎部腐烂,晚期叶片枯黄植株矮小,生长发育受到严重的影响。结合WGA染色结果,接种后6-12 h,孢子由芽管逐渐长成菌丝在植株表层蔓延,部分侵入细胞间隙;接

种后48-120 h菌丝穿过皮层到达维管束最后完全定殖于西瓜根部。说明病原菌可以在短时间内侵染定殖于西瓜植株上,具有较强的致病性。

芽孢杆菌和假单胞菌具有广谱性抑菌能力,并且具有促进植物生长、诱导植株提高自身抗性等功能性优点,因而广泛应用于农作物病害的防控<sup>[18,19]</sup>。一株分离于健康西瓜根际的甲

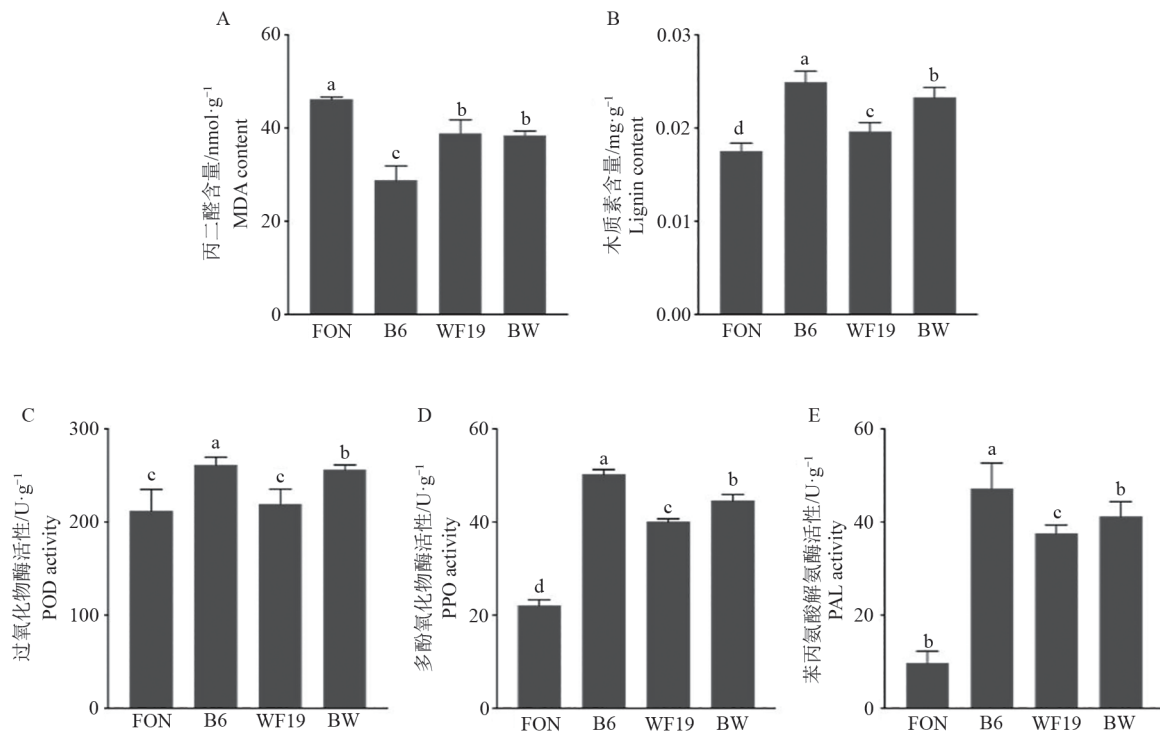


图8 接种菌株 B6、WF19 和复合菌 BW 对西瓜植株根系丙二醛、木质素含量和抗氧化酶活性的影响

Fig. 8 Inoculation with strains B6, WF19 and composite bacteria BW on malondialdehyde, lignin contents and antioxidant enzyme activities in roots of watermelon plants

基营养型芽孢杆菌 (*Bacillus methylotrophicus*) 对 FON 菌丝抑制率达到 71.87%, 对西瓜枯萎病有较强的防效<sup>[20]</sup>。两株恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) WMC16-1-1 和 WMC16-2-5、一株荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) WMC16-1-1, 在实验室中显著抑制了枯萎病的病害程度, 增加了西瓜根系和茎秆的重量, 是潜在的控制枯萎病并促进西瓜生长的生防菌株<sup>[21]</sup>。本研究在感染了病原菌 BMD-1 的西瓜植株上分别接种生防菌 B6、WF19 以及两株菌的复合菌 BW, 通过定殖评估发现三个处理的生防菌在西瓜植株根部定殖良好, 其中 B6 的定殖能力优于 WF19 和 BW。结合 WGA 染色发现, 接种生防菌后可以抑制病原菌对幼苗植株的侵染, B6 处理的抑制效果最佳。另外接种生防菌的西瓜植株相较于未接种植株, 其地上地下部分鲜重和干重均有显著增加, 植株长势良好, 根系更加发达, 说明接种 B6、WF19 和复合菌 BW 可以促进西瓜植株的生长, 缓解病原菌侵染产生的不利因素。但是在本研究中, 单一菌的效果优于复合菌, 这可能是由于两株菌存在营养竞争的情况, 从定殖情况来看, 第 7 d 时,

复合菌 BW 的定殖数量是最多的, 之后呈直线下降趋势, 菌株定殖数量的减少导致其抗病效果降低。综上所述, 在染病的西瓜植株上接种生防菌 B6、WF19 和 BW 均可以提高幼苗的抗病能力, 且以 B6 的防效最优。

氮在植物和病原体相互作用中起着至关重要的作用, 氮可以通过调节植物生长和生理学、影响病原体生长和毒力以及改变根际环境来影响植物对疾病的抵抗力<sup>[22,23]</sup>。植物组织氨态氮含量可反映植物受胁迫的程度, 而硝态氮可反映出植物的氮素营养情况, 也可作为信号分子进行信号感知、转导和长距离的信号调控<sup>[24,25]</sup>。另外, 植物体内氮代谢关键酶的活性可以反映植物氮素同化、蛋白质合成的能力以及氮代谢整体水平<sup>[26]</sup>。NR 是植物  $\text{NO}_3^-$ -N 转化为  $\text{NH}_4^+$ -N 的关键酶, 而 GS 和 GDH 可以将  $\text{NH}_4^+$ -N 同化为氨基酸以提供植物的生理代谢需求<sup>[27]</sup>。本研究结果表明, B6、WF19 和复合菌 BW 的添加, 提高了西瓜植株体内  $\text{NO}_3^-$ -N 的含量, 而关键酶 NR、GS 和 GDH 活性也显著提高, 一方面提升了氮代谢的效率, 另一方面降低尖孢镰孢菌作用于西瓜植株后铵离子的积累, 消除过量铵离子对西瓜植株的

毒害作用<sup>[28]</sup>。此外,生防菌株也可增加西瓜根和叶组织中NO的含量,促进西瓜植株进行信号传导,诱导植株自身抗性的提升。

植物诱导抗病性与多种抗性酶活性有密切的联系<sup>[29,30]</sup>。细胞质膜是细胞与外界环境之间的屏障,负责细胞与外界环境的物质交换、能量传递和信息交流,而细胞质膜过氧化的主要产物MDA是衡量细胞膜受损程度的重要指标<sup>[31]</sup>。木质素是构成植物细胞壁的成分之一,可以增强细胞壁结构的刚性,提高植株对酶降解的抵抗能力,抵御病原菌对植物组织的浸染<sup>[32,33]</sup>。高长敏等<sup>[34]</sup>等发现3株生防菌通过降低MDA含量,提高POD、PPO等抗氧化酶的活性可以增强黄瓜幼苗对枯萎病的抗性。在本研究中,添加生防菌后,西瓜植株根叶的POD、PPO、PAL活性和木质素含量较对照组有所提高,MDA含量下降,说明西瓜植株抗性显著提高。

#### 4 结论

本研究结果表明,BMD-1对西瓜植株具有致病性,在盆栽试验中,添加解淀粉芽孢杆菌B6和油菜假单胞菌WF19及二者的复合菌剂BW可以通过调节西瓜植株根系的氮代谢、抗氧化酶活性以及木质素和MDA含量,从而促进被病原菌BMD-1侵染的西瓜植株的生长和根系的发育,提高西瓜植株对病原菌BMD-1的抗性。本研究初步揭示了利用生防菌B6和WF19提高西瓜抗枯萎病能力的生理生化机理,为其实际应用提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] 冯翠娥,岳思君,简阿妮,等. 硒砂瓜连作对土壤真菌群落结构的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019,27(04): 537-544.
- [2] 朱彪,饶丽仙,陈佳. 中卫市硒砂瓜产业发展现状及对策[J]. 现代农业科技,2020,20:36-240.
- [3] Ge HA, Liang HZ, Xiao LJ, et al. Microbial assembly and association network in watermelon rhizosphere after soil fumigation for *Fusarium* wilt control[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2021, 1: 312-324.
- [4] 李锐,刘瑜,褚贵新,等. 棉花连作对北疆土壤酶活性/致病菌及拮抗菌多样性的影响[J]. 中国生态农业学报,2015,23(04): 432-440.
- [5] Martyn RD. *Fusarium* wilt of watermelon: 120 years of research[J]. Horticultural Reviews, 2014, 42(1): 349-442.
- [6] Lemmens M, Buerstmayr H, Krska R, et al. The effect of inoculation treatment and long-term application of moisture on *Fusarium* head blight symptoms and deoxynivalenol contamination in wheat grains[J]. European Journal of Plant Pathology, 2004, 110(3):299-308.
- [7] 曾青,刘四义,向吉方,等. 西瓜枯萎病抗感品种根际微生物群落特征差异及其与病害发生的关系[J]. 微生物学报,2024, 64(08):2882-2900.
- [8] Bastida F, T Hernández, Albaladejo J, et al. Phylogenetic and functional changes in the microbial community of long-term restored soils under semiarid climate[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 65:12-21.
- [9] 朱永官,彭静静,韦中,等. 土壤微生物组与土壤健康[J]. 中国科学:生命科学,2021,51(01):1-11.
- [10] Diaz C, Arroyave C, Llugany M, et al. *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control *Fusarium* wilt in *Stevia rebaudiana*[J]. Biological Control, 2021, 155:104537-104548.
- [11] Bubici G, Kaushal M, Prigigallo MI, et al. Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana[J]. Front in Microbiol, 2019, 10:616.
- [12] 王亚娇,栗秋生,纪莉景,等. 一株西瓜枯萎病生防菌的鉴定与田间防效[J]. 微生物学通报,2021,48(06): 1976-1984.
- [13] 沈婷婷. 生防菌株缓解连作西瓜枯萎病的微生物生态学初探[D]. 宁夏:北方民族大学,2022:9-10.
- [14] 沈婷婷,张琇,杨国平,等. 生防菌剂对西瓜根际土壤微生物群落和尖孢镰刀菌属的影响[J]. 西北农林科技大学,2023.51(07): 115-125.
- [15] Keinath AP, Hassell RL. Control of *Fusarium* wilt of watermelon by grafting onto bottlegourd or interspecific hybrid squash despite colonization of rootstocks by *Fusarium*[J]. Plant Disease, 2014, 98: 255-266.
- [16] Di PA, Madrid MP, Caracuel Z, et al. *Fusarium oxysporum*: Exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus[J]. Molecular Plant Pathology, 2003, 4:315-325.
- [17] Rahman MZ, Ahmad K, Bashir KA, et al. Biology, diversity, detection and management of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* causing vascular wilt disease of watermelon(*Citrullus lanatus*): A Review[J].

- Agronomy, 2021, 11:1310.
- [18] Girija G, A Manoj K. *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2005, 1(3):123-134.
- [19] 张超,赵远征,张岩,等.一株马铃薯枯萎病生防细菌 WZ10 的筛选与鉴定 [J]. *分子植物育种*, 1-16 [2024-05-27].
- [20] 余红凤,张琳,毕钰,等.一株西瓜枯萎病生防菌 *Bacillus methylotrophicus* 的筛选、鉴定及抑菌物质分析 [J]. *微生物学通报*, 2024,51(02):534-553.
- [21] Hua GKH, Wang L, Chen J, et al. Biological control of Fusarium wilt on watermelon by fluorescent pseudomonads [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2020, 30(3): 212-227.
- [22] Thalineau E, Truong HN, Berger A, et al. Cross-regulation between N metabolism and nitric oxide (NO) signaling during plant immunity [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:472.
- [23] Fagard M, Launay A, Clément G, et al. Nitrogen metabolism meets phytopathology [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(19):5643-5656.
- [24] Xu G, Fan X, Miller A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63(1): 153-182.
- [25] 刘锐涛,张颖,樊秀彩,等.一氧化氮在植物抗病反应中的作用机制 [J]. *植物生理学报*, 2020,56(04): 625-634.
- [26] 陈静,王朝云,易永健,等.短期淹水对水稻幼苗生长和根系氮代谢关键酶活性的影响 [J]. *华北农学报*, 2021,36(02):99-107.
- [27] 金雯.外源褪黑素对西瓜连作障碍的缓解效应及机理研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2019:32-33.
- [28] 王伟香,张锐敏,孙艳,等.外源褪黑素对硝酸盐胁迫条件下黄瓜幼苗抗氧化系统的影响 [J]. *园艺学报*, 2016,43(04):695-703.
- [29] 陈亮,陈年来.西瓜叶片防御酶活性与枯萎病抗性的关系 [J]. *河南农业科学*, 2019,48(01):77-83+114.
- [30] 孙溶溶,彭真,程琳,等.BTH 诱导花椰菜对菌核病的抗性研究 [J]. *植物病理学报*, 2012, 42(03): 281-289.
- [31] 计红芳,宋瑞清,杨谦.绒白乳菇发酵液提取物对杨树叶枯病菌保护酶活性、丙二醛含量及电导率的影响 [J]. *北京林业大学学报*, 2007,29(06):156-160.
- [32] 徐清,郭丽琢,刘亚辉,等.钾硅肥配施对胡麻茎秆木质素代谢及抗倒伏特性的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2022,30(09):1451-1463.
- [33] Mandal S, Mitra A. Reinforcement of cell wall in roots of *Lycopersicon esculentum* through induction of phenolic compounds and lignin by elicitors [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2008, 71(4):201-209.
- [34] 高长敏,马光恕,廉华,等.木霉菌对黄瓜幼苗生长和膜脂过氧化指标的影响及对枯萎病的防治效果 [J]. *中国生物防治学报*, 2018,034(05):762-770.