

香蕉枯萎病菌 4 号生理小种对香蕉根际土壤 微生物及酶活性的影响

黄永红^{1,2,3}, 吕顺⁴, 李春雨^{1,2}, 魏岳荣^{1,2}, 易干军^{1,2*}

(1.农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室, 广东 广州 510640; 2.广东省农业科学院 果树研究所, 广东 广州 510640; 3.湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 4.东莞市香蕉蔬菜研究所, 广东 东莞 523061)

摘 要: 为探明香蕉枯萎病的发病机理, 以巴西香蕉为材料, 采用盆栽试验, 研究香蕉枯萎病 4 号生理小种 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4, Foc4) 对香蕉根际土壤微生物和土壤酶活性的影响。结果表明: 接种 Foc4 对香蕉根际土壤微生物总量和细菌数量(B)影响不大, 但显著提高了真菌数量(F)及其在整个微生物中的比例, 显著降低了放线菌数量(A)及其在整个微生物中的比例; B/F 及 A/F 显著降低; 根际土壤中过氧化氢酶和转化酶活性显著升高; Foc4 侵染改变了香蕉根际土壤中微生物的数量, 导致其种群结构失衡, 这可能是导致香蕉枯萎病发生的重要因素之一; Foc4 侵染后香蕉根际土壤酶活性发生显著变化, 这可能是香蕉通过改善其根际微环境来应对病菌侵染的重要自我保护机制。

关 键 词: 香蕉; 香蕉枯萎病菌; 土壤微生物; 土壤酶活性

中图分类号: S668.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)02-0173-04

Effects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 on microorganisms and enzyme activities in the rhizosphere soil of banana

HUANG Yong-hong^{1,2,3}, LÜ Shun⁴, LI Chun-yu^{1,2}, WEI Yue-rong^{1,2}, YI Gan-jun^{1,2*}

(1.Key Laboratory of South Subtropical Fruit Biology and Genetic Resource Utilization, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510640, China; 2. Fruit Research Institute, Guangdong Academy of Agriculture Science, Guangzhou 510640, China; 3.College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 4. Dongguan Institute of Banana and Vegetable Sciences, Dongguan, Guangdong 523061, China)

Abstract: To reveal the pathogenesis of *Fusarium* wilt in banana, the effects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (Foc4) on microorganism quantities and enzyme activities in the rhizosphere soil of potted banana (*Musa* AAA *Cavendish* subgroup cv. Baxi) were studied. The results showed that Foc4 had little effects on the total amount of microorganisms and the quantity of bacteria (B). But it significantly increased the quantity and percentage of the fungi (F) in the total microorganisms, decreased those of the actinomycete (A) and reduced the values of bacteria/fungi (B/F) and actinomycete/fungi (A/F). In addition, Foc4 significantly improved the activities of catalase and invertase. The findings revealed Foc4 infection affected the quantities of rhizosphere microorganisms, thus made the population structure unbalanced, which might be one of the main factors causing *Fusarium* wilt. That the activities of soil enzyme in banana rhizosphere changed significantly might be an important self-protection mechanism by improving the resistance of the rhizospheric microenvironment to fungi infection.

Key words: banana; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; rhizosphere microorganism; soil enzyme activity

收稿日期: 2011-10-29

基金项目: 联合国商品共同基金(CFC/FIGB/15); 国家“948”项目(2008-G1, 2011-G16); 国家科技支撑计划项目(2008BAD92B06)

作者简介: 黄永红(1974—), 男, 甘肃天水人, 博士, 主要从事香蕉枯萎病生物防治研究, gstshh@126.com; *通信作者, yiganjun@vip.163.com

香蕉枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, Foc)是一种由尖孢镰刀菌古巴专化型引起的典型的土传病害。该病从根部侵入香蕉植株,进而引发病害发生^[1],被认为是最具有毁灭性的植物病害之一。20世纪中期,该病1号生理小种曾摧毁了中南美洲的香蕉产业。20世纪后期,香蕉枯萎病4号生理小种(Foc4)在短短十几年时间内对世界香蕉产业又产生了空前的威胁^[2-3]。目前还没有防治该病的有效措施。

植物根际是植物体与土壤进行物质、能量交换的场所。土壤微生物是土壤生物化学特性的重要组成部分,是评价土壤质量的重要指标之一。土壤酶是土壤新陈代谢的重要因素,它与微生物细胞一起推动着物质的转换^[4]。植物根际微生物及土壤酶活性与植物对土传病害抗性有密切的关系^[5-6]。

已有关于香蕉根际土壤中微生物多样性的研究^[7-8],但专门针对Foc侵染对香蕉根际土壤微生物和酶活性产生影响的报道较少。笔者在盆栽条件下,以高感Foc巴西香蕉(*Musa* AAA *Cavendish* subgroup cv. *Baxi*)为材料,专门针对该问题进行研究,以期揭示香蕉枯萎病可能的发病机理,也为通过合理调控香蕉根际微生态系统来减轻香蕉枯萎病发生提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

巴西香蕉取自广东省农业科学院果树研究所组培中心,其苗高约10 cm,5~6叶。香蕉枯萎病菌4号生理小种(Foc4)由农业部南亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室保存。泥炭土购自广州市花鸟市场。

1.2 试验设计

试验于2010年10—11月在广东东莞洪梅农技站塑料网室中进行。

将Foc4在马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)液体培养基中150 r/min振荡培养过夜,离心收集孢子。将孢子用PDA液体培养基稀释至 1×10^6 cfu/mL,备用。

于底部无洞的小花盆(9 cm × 12 cm)中装入约300 g灭菌泥炭土,每盆定植1株香蕉苗。缓苗1周后,将5 mL Foc4菌液于植株根部进行接菌处理;

以5 mL PDA培养基按同样方式处理的香蕉苗为对照。处理和对照各20株,置于网室中培养。分别于处理后1、3、6、10周后取样。各处理分别随机取5盆带回实验室用于检测根际土壤微生物数量及土壤酶活性。

1.3 根际土壤微生物的测定

参照文献[4],采用稀释平板计数法测定香蕉根际土壤中细菌、真菌及放线菌的数量。细菌、真菌、放线菌分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏培养基和高氏1号培养基进行稀释分离。

1.4 土壤酶活性的测定

各项土壤酶活性指标均参照文献[4]中的方法进行测定。过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法进行测定,以1 g土样在反应1 h后消耗0.1 mol/L KMnO_4 溶液的体积来表示,1 U = 1 mL/g。多酚氧化酶活性用邻苯三酚比色法进行测定,以反应1 h后1 g土壤中产生的红紫醌精质量来表示,1 U = 1 $\mu\text{g/g}$ 。酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法进行测定,以1 g土样在37 °C条件下反应1 h后形成的酚的质量来表示,1 U = 1 $\mu\text{g/g}$ 。转化酶和纤维素酶活性采用菲林试剂法进行测定,以反应24 h后1 g土样消耗0.1 mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的体积来表示,1 U = 1 mL/g。脲酶活性采用苯酚钠一次氯酸钠比色法进行测定,以1 g土样在37 °C条件下反应1 h后水解生成 NH_4^+-N 的质量来表示,1 U = 1 $\mu\text{g/g}$ 。

1.5 统计分析

用Excel 2003对原始数据进行处理;用SAS8.0软件进行方差分析;用LSD方法进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 Foc4对香蕉根际微生物数量的影响

由表1可见:处理后1、3周,Foc4处理的微生物总量分别比对照降低了20.0%和2.3%,而在处理后6、10周,Foc4处理的微生物总量分别比对照增加了19.1%和19.4%;处理后1、3周,Foc4处理的细菌数量分别比对照降低了20.8%和9.6%,而在处理后6、10周,Foc4处理的细菌数量分别比对照增加了16.3%和16.6%;微生物总量和细菌数量都在处理后6周达到最高值。在处理1、3、6、10

周, Foc4 处理的真菌数量分别比对照增加了 43.1%、61.2%、1 475.3%、65.2%, 放线菌数量分别比对照降低了 32.6%、29.3%、37.8%, 48.8%。在整个试验期间, 微生物总量、细菌数量和真菌数量分别比对照平均增加了 6.7%、3.8%和 151.2%, 而放线菌

数量比对照平均降低了 35.3%。在处理后 1、3、6 周, 微生物总量和细菌数量与对照的差异均不显著, 但在处理后 10 周达到显著水平; 真菌数量和放线菌数量在处理后 1、3、6、10 周均与对照差异显著。

表 1 各处理香蕉根际土壤微生物的数量

Table 1 Amount of microorganisms in the rhizosphere soil of banana under various treatments

处理	微生物总量/($\times 10^6$ cfu/g)	细菌数量/($\times 10^6$ cfu/g)	真菌数量/($\times 10^4$ cfu/g)	放线菌数量/($\times 10^4$ cfu/g)
CK ₁	10.5 \pm 0.5	10.1 \pm 0.5	(17.0 \pm 0.0)b	(18.8 \pm 1.4)a
T ₁	8.4 \pm 0.9	8.0 \pm 0.9	(24.3 \pm 3.3)a	(12.3 \pm 1.1)b
CK ₂	7.8 \pm 0.2	7.0 \pm 0.2	(80.6 \pm 6.2)b	(1.9 \pm 0.1)a
T ₂	7.6 \pm 0.7	6.3 \pm 0.8	(130.6 \pm 5.7)a	(1.4 \pm 0.3)b
CK ₃	21.5 \pm 2.0	21.3 \pm 2.0	(9.7 \pm 1.3)b	(2.7 \pm 0.1)a
T ₃	25.6 \pm 0.2	24.8 \pm 0.7	(153.3 \pm 5.8)a	(1.7 \pm 0.2)b
CK ₄	(6.7 \pm 0.2)b	(6.2 \pm 0.2)b	(44.0 \pm 2.8)b	(4.1 \pm 0.3)a
T ₄	(8.0 \pm 0.2)a	(7.3 \pm 0.2)a	(72.6 \pm 9.7)a	(2.1 \pm 0.3)b

T₁、T₂、T₃、T₄ 分别表示接种 Foc4 后 1、3、6、10 周的处理, 下同。

2.2 Foc4 对香蕉根际微生物种群结构的影响

由表 2 可见: 处理后 1、3、6、10 周, Foc4 处理微生物中细菌的比例分别比对照降低了 1.2%、7.9%、5.5%和 2.3%; 微生物中真菌的比例分别比对

照增加了 83.4%、68.6%、1 097.9%、38.4%; 微生物中放线菌的比例分别比对照增加了 17.9%、26.8%、48.6%和 57.1%; 微生物中细菌、真菌、放线菌的比例均与对照差异显著(处理后 1 周细菌除外)。

表 2 各处理香蕉根际土壤中微生物的种群结构

Table 2 The population structure of microorganisms in the rhizosphere soil of banana under various treatments

处理	细菌比例(B)/%	真菌比例(F)/%	放线菌比例(A)/%	B/F	A/F($\times 10^{-2}$)
CK ₁	96.6 \pm 0.5	(1.6 \pm 0.1)b	(18.0 \pm 0.7)a	(59.4 \pm 2.8)a	(110.6 \pm 11.6)a
T ₁	95.4 \pm 0.7	(3.0 \pm 0.4)a	(14.8 \pm 0.4)b	(33.0 \pm 4.2)b	(51.9 \pm 4.2)b
CK ₂	(89.4 \pm 0.6)a	(10.4 \pm 0.6)b	(2.5 \pm 0.1)a	(8.7 \pm 0.5)a	(2.4 \pm 1.1)a
T ₂	(82.3 \pm 2.4)b	(17.5 \pm 2.4)a	(1.8 \pm 0.1)b	(4.9 \pm 0.8)b	(1.1 \pm 0.1)b
CK ₃	(99.4 \pm 0.1)a	(0.5 \pm 0.0)b	(1.3 \pm 0.1)a	(219 \pm 21.6)a	(28.1 \pm 4.3)a
T ₃	(93.9 \pm 0.8)b	(6.0 \pm 0.7)a	(0.7 \pm 0.1)b	(16.2 \pm 2.1)b	(1.1 \pm 0.0)b
CK ₄	(92.8 \pm 0.4)a	(6.6 \pm 0.4)b	(6.2 \pm 0.2)a	(14.3 \pm 1.1)a	(9.6 \pm 0.7)a
T ₄	(90.7 \pm 0.3)b	(9.1 \pm 0.3)a	(2.7 \pm 0.1)b	(10.0 \pm 0.4)b	(2.9 \pm 0.0)b

由表 2 可见: Foc4 处理对细菌和真菌数量之比(B/F)及放线菌和真菌数量之比(A/F)都有显著影响。处理后 1、3、6、10 周, Foc4 处理的 B/F 分别比对照降低了 44.5%、43.3%、92.6%、29.9%, A/F 分别比对照降低了 53.0%、56.1%、96.0%、69.3%。

在整个试验期间, 细菌比例和放线菌比例分别比对照平均降低了 4.2%和 28.8%, 而真菌比例比对照增加了 86.5%; B/F 和 A/F 分别比对照平均降低了 78.7%和 62.1%, 说明 Foc4 侵染打破了香蕉根际微生物种群的平衡。

2.3 Foc4 对香蕉根际土壤酶活性的影响

表 3 结果表明, 处理后 1、3、6、10 周, Foc4 处理的过氧化氢酶活性分别比对照增加了 18.9%、24.9%、9.1%和 17.7%, 4 个处理时期均与对照差异显著。多酚氧化酶活性在处理 1 周比对照降低了 8.9%, 而在处理后 3、6、10 周分别比对照增加了 43.4%、6.3%、和 0.5%。处理后 1、3、6、10 周, 酸性磷酸酶活性分别比对照降低了 9.2%、16.9%、19.8%和 28.9%; 转化酶活性分别比对照增加了

18.0%、15.5%、11.7%和21.0%，在4个处理时期均与对照差异显著。脲酶活性在处理后1、3、10周分别比对照增加了150.6%、3.6%和30.9%，而在处理后6周比对照降低了10.1%。纤维素酶活性在

处理后6周比对照降低了20.9%，处理后1、3、10周分别比对照增加了13.3%、70.2%和18.5%，4个处理时期均与对照差异显著。

表3 各处理香蕉根际土壤的酶活性

Table 3 Enzyme activities in the rhizosphere soil of banana under various treatments

处理	过氧化氢酶活性/U	多酚氧化酶活性/U	酸性磷酸酶活性/U	转化酶活性/U	脲酶活性/U	纤维素酶活性/U
CK ₁	(11.6±0.4)b	720.7±76.2	1.5±0.1	(22.7±0.3)b	(8.6 ±2.6)b	(162.7±12.1)b
T ₁	(13.8±0.1)a	656.3±24.8	1.4±0.0	(27.6±0.1)a	(21.4±1.6)a	(184.3±3.5)a
CK ₂	(10.0±0.4)b	(382.6±22.3)b	(1.6±0.1)a	(19.1±0.2)b	36.7±3.0	(82.7±2.4)b
T ₂	(12.4±0.5)a	(548.3±17.6)a	(1.3±0.1)b	(22.6±0.1)a	38.2±6.7	(141.0±3.5)a
CK ₃	(13.5±0.3)b	740.8±124.2	(1.6±0.1)a	(17.2±0.3)b	61.4±4.5	(260.0±21.2)a
T ₃	(14.8±0.3)a	787.0±71.3	(1.2±0.1)b	(19.4±0.1)a	55.2±1.7	(205.7±11.0)b
CK ₄	(13.2±0.1)b	700.0±63.6	(9.3±0.6)a	(18.9±1.0)b	(32.3±3.7)b	(249.3±16.1)b
T ₄	(15.5±0.1)a	703.6±51.7	(6.7±0.2)b	(23.9±0.1)a	(42.2±4.4)a	(295.3±13.6)a

3 结论与讨论

本研究结果表明，Foc4 侵染对香蕉根际土壤微生物数量及微生物种群比例产生了明显影响，致使其种群结构失衡，也对根际土壤酶活性产生了明显的影响；接种 Foc4 后，B/F 和 A/F 分别平均下降了78.8%和62.1%。根际微生物种群结构的失衡是土壤质量下降、土传病害发生的重要原因之一^[9]。土壤中的细菌和放线菌数量减少，真菌数量增加，表明土壤发生了“真菌化”^[10]。土壤“真菌化”是土壤质量下降的重要标志^[11-12]。本试验结果表明，Foc4 侵染使香蕉根际土壤发生了严重的“真菌化”，进而降低了香蕉对枯萎病的抗性，从而引发了病害发生；Foc4 处理显著提高了香蕉根际土壤中过氧化氢酶、转化酶的活性，这可能是香蕉通过改善其根际微环境来应对病菌侵染的重要自我保护机制。

参考文献:

- [1] Lian Jie, Wang Zifeng, Cao Lixiang, et al. Artificial inoculation of banana tissue culture plantlets with indigenous endophytes originally derived from native banana plants[J]. *Biological Control*, 2009, 51: 427-434.
- [2] Ploetz R C. Panama disease, an old nemesis rears its ugly head: Part 1, the beginnings of the banana export trades[J]. *Online Plant Health Progress*, 2005, DOI: 10.1094/PHP-2005-1221-01-RV.
- [3] Hwang S C, Ko W H. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal

variation in Taiwan[J]. *Plant Disease*, 2004, 88: 581-588.

- [4] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 243-265.
- [5] 李洪连, 袁红霞, 王焯, 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: 242-246.
- [6] Klosterman S J, Atallah Z K, Vallad G E, et al. Diversity, pathogenicity, and management of verticillium species[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2009, 47: 39-62.
- [7] 欧阳娴, 阮小蕾, 吴超, 等. 香蕉轮作和连作土壤细菌主要类群[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(6): 1573-1578.
- [8] 张志红, 冯宏, 肖相政, 等. 生物肥防治香蕉枯萎病及对土壤微生物多样性的影响[J]. *果树学报*, 2010, 27(4): 575-579.
- [9] 李云鹏, 周宝利, 李之璞, 等. 嫁接茄的黄萎病抗性与其根际土壤生物学活性的关系[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(6): 831-834.
- [10] 许华, 阮维斌, 高玉葆, 等. 根结线虫接种对黄瓜植株根际土壤pH和微生物的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(5): 1041-1045.
- [11] 王茹华, 周宝利, 张启发, 等. 嫁接对茄子根际微生物种群数量的影响[J]. *园艺学报*, 2005, 32(1): 124-126.
- [12] 丁丁, 吕长平, 王继华. 百合抗尖孢镰刀菌无性系的离体筛选[J]. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2011, 37(1): 34-38.

责任编辑: 王赛群