

设施栽培下香石竹不同植株状态根际 土壤微生物类群变化分析^①

孙世中¹, 官会林^{1*}, 张云峰², 洪丽芳³, 郭云周³, 游春梅¹

(1 云南师范大学能源与环境科学学院, 昆明 650092; 2 云南师范大学生命科学学院, 昆明 650092;

3 云南省农业科学研究院农业资源与环境研究所, 昆明 650205)

摘要: 研究了云南香石竹不同生产基地的健康植株、始发病植株及枯死病植株的根际土壤微生物类群及其比值关系。结果表明: 香石竹从健康向发病至枯死的变化过程, 根际土壤细菌随着植株病害的加重而降低, 而真菌、放线菌的变化则随着植株病害的加重而增加; 根际土壤细菌与真菌比值 (B/F)、细菌与放线菌比值 (B/A) 及好氧性细菌与厌氧性细菌的比值 (Ae/An), 可以作为评价香石竹栽培土壤健康状况及病害防治预报的参考指标。若 B/F 及 B/A 比值小于健康土壤数值, 或 Ae/An 比值大于健康土壤数值, 则预警该区域香石竹种植土壤存在发病的危险性。

关键词: 香石竹; 植株状态; 土壤微生物; 类群比值

中图分类号: S147.2

香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L.), 又名康乃馨 (Carnation), 属石竹科石竹属的多年生草本植物, 为世界四大切花之一, 在国际花卉市场中占有重要地位。随着设施种植年限的延长, 栽培土壤障碍因素日益突出, 香石竹土传枯萎病害严重, 昆明地区一般发病率为 10%~30%, 重者达 70%~80%^[1], 是目前化学方法难以控制的主要病害, 成为制约花卉产业持续发展及出口创汇的重要屏障。土壤微生物是影响土壤生态过程的一个重要因素^[2-3]。土壤中大量的细菌、放线菌、真菌等, 一方面通过土壤调节功能促进植物生长^[4-5], 另一方面又通过生态位的竞争, 抑制和制约病原菌的生长而控制土传病害的发生与发展^[6]。近年来, 把土壤微生物学特性作为评价土壤健康的生物指标方面研究已引起重视^[7], 但从土壤微生物类群比例方面来表征土壤健康状况的研究鲜见报道。因此, 研究不同生态区域土壤微生物菌群结构及其比例关系, 对土壤微生态重建及其病害土壤生物修复具有重要的指导作用。

本文针对云南香石竹集中种植区的不同土壤状况, 研究探讨了香石竹不同植株状态下的根际土壤微生物类群及其比值参数与枯萎病害的关联性, 为指导

区域香石竹土传病害土壤生物修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究样品于 2009 年 4 月 24 日至 26 日采集于云南香石竹集中种植的江川、呈贡及晋宁安江基地, 这 3 个区域香石竹种植面积占云南香石竹种植的 80% 以上。其中江川种植区海拔 1 587 m, 年均温 19.5℃, 土壤类型为水稻黏性土壤; 呈贡种植区海拔 1 890 m, 年均温 15℃, 土壤类型为滇池湖滨带的湖积沙壤土; 晋宁安江种植区海拔 1 900 m, 年均温 14.7℃, 土壤类型为滇池湖滨带的冲积和湖积砂壤土。

1.2 土壤样品采集与采集标准

每个区域分别按健康植株、枯萎病始发期植株及枯萎病致死期植株之分, 分别多点采集根系附着土 (根际土壤) 综合分析样品, 每个分析样品采样点 15~20 株根际土壤, 样品编号后分别装入无菌自封塑料袋于 4℃ 冰箱保存备用。其采集标准如下:

健康植株土壤: 选择植株生长健壮、叶色正常无病斑、周围无病株的健康植株根际土壤。

枯萎始发期土壤: 选择植株叶色出现轻度萎焉或

^①基金项目: 国家自然科学基金项目 (40861019) 与国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2009ZX07102-004) 资助。

* 通讯作者 (ghl0871@yahoo.com.cn)

作者简介: 孙世中 (1968—), 男, 云南会泽人, 硕士, 讲师, 主要从事农业生物环境方向的研究。E-mail: toshizhong.sun@gmail.com

叶色退淡转黄的植株根际土壤。

枯萎致死期土壤：选择植株已枯死的植株根际土壤。

1.3 样品测定方法

土壤微生物的分离与计数方法采用稀释平板法^[8]；其中好氧性细菌采用 1% 葡萄糖的牛肉膏蛋白胨培养基；厌氧性细菌用高泽（Gay3e）有机氮培养基，焦性没食子酸吸氧法；真菌计数用马丁氏（Martin）培养基；放线菌用改良高氏（Gause）1号培养基。

1.4 数据处理

数据处理采用 SPSS Statistics 17 和 Excel 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同植株状态根际土壤微生物量变分析

从表 1 看出：3 个不同区域内，土壤微生物类群数量及其种群结构均表现出明显的差异性，但也表现出共同的变化趋势，即香石竹从健康→始发→枯死的变化过程中，土壤 3 大类群微生物总数及细菌数量随着植株病害的加重而降低，而土壤真菌及放线菌的变化则与之相反，并随着植株病害的加重呈增高趋势。土壤真菌数量的增加或许是病害发生的主要因素，已有研究报道了真菌中立枯丝核菌和尖孢镰刀菌是香石竹立枯病和枯萎病的主要病原菌^[1,9]。另一方面，真菌中的毛霉、木霉、青霉、根霉等，能够产生复杂的水解酶系^[10]，对植物韧皮组织产生破坏作用，导致地下块根部位易腐烂，而香石竹枯萎病害也主要是由根腐

引发。其次，放线菌的数量变化也可能是导致香石竹发病的一个诱因，由于极大多数放线菌会产生抗生素，对细菌影响较大，使细菌中好氧性生长或厌氧性生长的敏感菌被杀死，造成比例值的变化，对香石竹正常生长产生一定的影响。

土壤的生态条件及土壤类型决定着土壤微生物的组成、数量、分布及生化活性^[11-12]，以健康植株土壤微生物的各项指标为参比，始发病株和枯死株土壤表现出（表 1）：在江川区，土壤 3 大类群微生物总数分别增加 9.4×10^6 、 17.2×10^6 cfu/g 干土，并且健康与枯死株间的变化差异达到极显著水平（ $p < 0.01$ ），土壤细菌数分别增加 9.3×10^6 、 13.2×10^6 cfu/g 干土；而土壤真菌数则分别减少 5.5×10^4 、 10.2×10^4 cfu/g 干土，并且健康与枯死株间的变化差异达到极显著水平（ $p < 0.01$ ）；土壤放线菌分别减少 0.3×10^4 、 2.4×10^4 cfu/g 干土。在呈贡区，土壤 3 大类群微生物总数分别增加 9.0×10^6 、 14.0×10^6 cfu/g 干土；土壤细菌数分别增加 12.1×10^6 、 13.7×10^6 cfu/g 干土；土壤真菌数分别减少 4.9×10^4 、 10.2×10^4 cfu/g 干土，健康与枯死株间的变化差异达到极显著水平（ $p < 0.01$ ）；土壤放线菌分别减少 2.4×10^4 、 3.7×10^4 cfu/g 干土。在晋宁安江区，土壤 3 大类群微生物总数分别增加 9.0×10^6 、 10.8×10^6 cfu/g 干土；土壤细菌数分别增加 9.3×10^6 、 11.1×10^6 cfu/g 干土；土壤真菌数分别减少 0.9×10^4 、 6.1×10^4 cfu/g 干土；土壤放线菌分别减少 0.3×10^4 、 1.4×10^4 cfu/g 干土。

表 1 不同植株状态根际土壤微生物量变检验

Table 1 Carnation rhizosphere microbial taxa under three states

样区	植株 状态	微生物总数 ($\times 10^6$ cfu/g 干土)	细菌 ($\times 10^6$ cfu/g 干土)			真菌 ($\times 10^4$ cfu/g 干土)	放线菌 ($\times 10^4$ cfu/g 干土)
			总数	好氧	厌氧		
江川	健康	80.2 $\pm$ 13.3 aA	73.2 $\pm$ 13.9 aA	52.9 $\pm$ 12.34 aA	20.3 $\pm$ 3.6 aA	12.6 $\pm$ 4.9 bB	10.9 $\pm$ 3.2 aA
	始发	70.8 $\pm$ 8.3 bA	64.0 $\pm$ 7.6 aA	52.3 $\pm$ 8.2 aA	11.7 $\pm$ 2.9 bB	18.1 $\pm$ 6.3 aA	11.3 $\pm$ 5.8 aA
	枯死	63.0 $\pm$ 13.2 cB	60.1 $\pm$ 12.6 aA	51.5 $\pm$ 10.7 aA	8.6 $\pm$ 3.9 cC	22.7 $\pm$ 8.4aA	13.4 $\pm$ 4.1 aA
呈贡	健康	70.3 $\pm$ 16.4 aA	68.5 $\pm$ 16.6 aA	50.2 $\pm$ 13.1 aA	18.4 $\pm$ 3.6 aA	15.5 $\pm$ 5.0 bB	11.2 $\pm$ 1.9 aA
	始发	61.3 $\pm$ 10.1 aA	56.4 $\pm$ 11.8 aA	45.5 $\pm$ 12.1aA	10.9 $\pm$ 3.1bB	20.4 $\pm$ 4.6 aA	13.6 $\pm$ 4.7 aA
	枯死	56.4 $\pm$ 11.9 aA	53.8 $\pm$ 12.1 aA	46.0 $\pm$ 10.3aA	7.9 $\pm$ 2.5 cC	25.7 $\pm$ 8.0 aA	14.9 $\pm$ 5.8 aA
安江	健康	64.7 $\pm$ 15.0 aA	63.0 $\pm$ 14.3 aA	48.1 $\pm$ 11.3 aA	14.9 $\pm$ 4.6 aA	16.2 $\pm$ 5.9 aB	11.8 $\pm$ 2.0 aA
	始发	55.7 $\pm$ 13.8 aA	53.7 $\pm$ 14.0 aA	43.9 $\pm$ 12.1 aA	9.8 $\pm$ 2.4bB	17.1 $\pm$ 4.8 aA	12.2 $\pm$ 3.4 aA
	枯死	53.9 $\pm$ 11.4 aA	51.9 $\pm$ 11.4 aA	44.3 $\pm$ 10.4 aA	7.6 $\pm$ 1.7 cC	22.3 $\pm$ 6.3 aA	13.2 $\pm$ 3.8 aA

注：表中相同区域间同列不同小写字母表示在 $p < 0.05$ 水平下差异显著，同列不同大写字母表示在 $p < 0.01$ 水平下差异显著。

因此, 香石竹枯萎病害的发生发展与根际土壤微生物类群数量的改变, 特别是与土壤真菌的消涨具有密切的关联作用。并且不同植株状态的根际土壤微生物类群数量具有不同程度的差异性, 而这种种群变化的差异实际就是土壤中致病菌与其他非致病菌的消涨所造成, 或者是致病菌群大于某个临界点所引发的病害。

2.2 不同植株状态根际土壤微生物类群结构分析

根际土壤微生物类群数量的消减变化, 受土壤水、热、气及肥力差异的影响制约^[13-15], 所以种群数量变化的差异性在一定程度上反映了与植株发病情况的关联性, 但尚不能表征土壤质量的健康状况, 为此采用种群比值或比例数值的变化来分析揭示土壤微生物类群变化与土壤质量变化的内在联系。

从表 2 看出: 在 3 个采样区内, 香石竹从健康→

始发→枯死的变化过程, 土壤细菌与真菌比值 (B/F) 及土壤细菌与放线菌比值 (B/A) 随着植株病害的加重而降低, 而土壤中好氧性细菌与厌氧性细菌的比值 (Ae/An) 在增加。以健康植株土壤的 B/F、B/A 及 Ae/An 比值作为评价土壤质量健康与否的临界值参数指标, 从表 2 可得: 若 B/F 与 B/A 比值分别小于 582 和 668, 或 Ae/An 比值大于 2.6, 则预警江川区域香石竹种植土壤存在发病的危险性; 同样, 若 B/F 与 B/A 比值分别小于 442 和 661, 或 Ae/An 比值大于 2.73, 则预警呈贡区域香石竹种植土壤存在发病的危险性; 若 B/F 与 B/A 比值分别小于 389 和 533, 或 Ae/An 比值大于 3.22, 则预警晋宁安江区域香石竹种植土壤存在发病的危险性。因此, 在香石竹设施栽培环境下, 可以用 B/F、B/A 及 Ae/An 比值作为评价种植土壤质量健康状况及病害测控预报的参数指标。

表 2 不同植株状态根际土壤微生物类群比值分析
Table 2 Carnation rhizosphere microbial taxon ratios under three states

样区	植株状态	B/F 比值	B/A 比值	Ae/An 比值	F : A : B 比例
江川	健康	582	668	2.60	1 : 0.87 : 582
	始发	354	568	4.47	1 : 0.62 : 354
	枯死	264	449	6.03	1 : 0.59 : 264
呈贡	健康	442	611	2.73	1 : 0.72 : 442
	始发	276	414	4.17	1 : 0.67 : 276
	枯死	209	361	5.84	1 : 0.58 : 209
安江	健康	389	533	3.22	1 : 0.73 : 389
	始发	314	442	4.46	1 : 0.71 : 314
	枯死	233	392	5.81	1 : 0.59 : 234

注: B 表示细菌 (Bacteria) 数, F 表示真菌 (Fungi) 数, A 表示放线菌 (Actinomycetes) 数, An 表示厌氧性细菌 (Anaerobes) 数, Ae 表示好氧性细菌 (Aerobes) 数。

3 结论

(1) 香石竹植株从健康→始发→枯死的变化过程中, 根际土壤细菌数量随着植株病害的加重而降低, 而土壤真菌及放线菌的变化则随着植株病害的加重呈增加趋势; 土壤细菌与真菌比值 (B/F) 及土壤细菌与放线菌比值 (B/A) 随着植株病害的加重而降低, 而土壤好氧性细菌与厌氧性细菌的比值 (Ae/An) 则随着植株病害的加重呈增加趋势。

(2) 香石竹枯萎病害的发生及发病程度, 不仅与土壤真菌的消涨具有密切的关联作用, 还与根际土壤微生物类群比例具有密切的关联性, 因而可以用微生物类群间的比值来评价香石竹种植土壤质量健康状况及病害程度。

(3) 在香石竹不同种植区, 若根际土壤微生物的

B/F 与 B/A 比值小于健康数值, 或 Ae/An 比值大于健康数值, 则预警该区域香石竹种植土壤存在发病的危险性; 不同区域因土壤肥力及环境因素差异的影响, 所获得的比值参数也不同。因此, 针对不同区域香石竹根际土壤的 B/F、B/A 及 Ae/An 的比值参数, 可作为评价香石竹设施栽培土壤健康状况及病害防治测控预报的参考指标, 研究也为香石竹病害土壤生物修复提供指导。

参考文献:

- [1] 王国良, 任善于, 应兴德. 香石竹萎蔫病原的初步研究. 植物病理学报, 1998, 28(1): 61-65
- [2] Noah F, Joshua PS, Patricia AH. Variations in microbial community composition through twosoil depth profiles. Soil Biol.

- Biochem., 2003, 35(1): 167-176
- [3] 唐玉姝, 魏朝富, 颜廷梅, 杨林章, 慈恩. 土壤质量生物学指标研究进展. 土壤, 2007, 39(2): 157-163
- [4] Benitez MS, McSpadden G. Linking sequence to function in soil bacteria: Sequence-directed isolation of novel bacteria contributing to soilborne plant disease suppression. Appl. Environ. Microbiol., 2009, 75: 915-924
- [5] Thies JE. Soil microbial community analysis using terminal restriction fragment length polymorphisms. Soil Sci., 2007, 71: 579-591
- [6] 胡亚林, 汪思龙, 颜绍廬. 影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展. 土壤通报, 2006, 37(1): 170-175
- [7] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用. 生物多样性, 2007, 15(2): 162-1171.
- [8] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法. 北京: 科学出版社, 2008: 90-196
- [9] 李艳琼, 杨根华, 孔宝华, 陈海如, 杨洋川. 云南香石竹立枯病病原的鉴定及致病性研究. 植物病理学报, 2008, 38(2): 199-202
- [10] 罗文富, 喻盛甫, 贺承福, 李忠义, 王朝梁, 崔秀明. 三七根腐病病原及复合侵染的研究. 植物病理学报, 1997, 27(1): 85-91
- [11] 吴晓晨, 李忠佩, 张桃林, 车玉萍. 长期施肥对红壤性水稻土壤微生物生物量与活性的影响. 土壤, 2009, 41(4): 594-599
- [12] 汪娟, 蔡立群, 毕冬梅, 王新建, 张仁陟. 保护性耕作对麦-豆轮作土壤有机碳全氮及微生物量碳氮的影响. 农业环境科学学报, 2009, 28(7): 1 516-1 521
- [13] 孔滨, 孙波, 郑宪清, 陈小云, 隋跃宇, 王帘里, 李云. 不同水热条件下玉米单作系统中红壤微生物群落的代谢特征. 农业环境科学学报, 2009, 28(1): 119-124
- [14] 官会林, 陈昱君, 刘士清. 三七种植土壤微生物类群动态与根腐病的关系. 西南农业大学学报, 2006, 28(5): 706-709
- [15] 孙传伯, 官会林, 毕云青, 云周, 刘士清, 廖梓良. 设施栽培下香石竹根际微生物类群结构及数量消长. 农机化研究, 2008(10): 180-183

Dynamic Analysis of Carnation Rhizosphere Microbial Taxa Under Three States in Facility Cultivation

SUN Shi-zhong¹, GUAN Hui-lin¹, ZHANG Yun-feng², HONG Li-fang³, GUO Yun-zhou³, YOU Chun-mei¹

(1 College of Energy and Environment Science, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China;

2 College of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China;

3 Institute of Agricultural Resources and Environment, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

Abstract: Carnation rhizosphere microbial taxa and their ratios were conducted under the healthy, incident and dead states from facility cultivation base. The results showed that from healthy to incident and to dead states the total bacteria decreased while the total fungi and the total actinomycetes increased; The ratio of bacteria and fungi (B/F), ratio of bacteria and actinomycetes (B/A) and ratio of aerobes and anaerobes (Ae/An) could be used as the health index for carnation cultivation, disease prevention and control prediction; If rhizosphere B/F and B/A were lower than, or Ae/An higher than those of healthy carnation, the risk of wilt disease would occur to carnation.

Key words: Carnation, Healthy states of plant, Soil microbes, Taxa ratio