

蓝江林, 陈燕萍, 肖荣凤, 等. 整合微生物组菌剂对西瓜种子萌发和幼苗生长的影响及其对枯萎病的防治效果 [J]. 福建农业科技, 2023, 54(6): 28-33.



整合微生物组菌剂对西瓜种子萌发和幼苗生长的影响及其对枯萎病的防治效果

蓝江林, 陈燕萍, 肖荣凤, 许丽宁, 刘波, 郑雪芳

(福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福建 福州 350003)

摘要: 整合微生物组菌剂(简称整合菌剂)是以使用1年左右的微生物发酵床养猪垫料为基材生产的土壤修复剂,含有多个功能微生物组。通过采用滤纸萌发法,研究整合菌剂不同浸提液浓度对西瓜种子萌发的影响,结果表明:整合菌剂的浸提液对西瓜种子的萌发有明显抑制作用。添加量为5%,发芽率为53.33%,发芽指数(7.02)和种子活力指数(241.05)均显著低于两组对照($P<0.05$);胚根的生长(34.54 mm)与两组对照(34.56 mm和30.20 mm)无显著差异($P<0.05$)。随着添加量的增加,发芽率、胚根长、发芽指数、种子活力指数均呈下降趋势。通过盆栽试验,研究整合菌剂不同比例添加量对西瓜植株生长及枯萎病害的防治效果,结果表明:整合菌剂添加量10%,根长和株高较旧基质分别提高了40.82%和45.34%,促长效果最为显著($P<0.05$),对西瓜枯萎病防治效果达66.67%;整合添加量大于20%,根长和株高较旧基质分别降低了10.21%和3.97%,抑制作用显著($P<0.05$)。综合试验结果,建议整合菌剂可在西瓜定植时根部施用,添加量控制在10%以下,并结合防病药剂等其他措施才能达到对枯萎病的理想防效。

关键词: 整合微生物组菌剂;西瓜;种子萌发;枯萎病

中图分类号: S 651 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2301(2023)06-0028-06
DOI: 10.13651/j.cnki.fjnykj.2023.06.004

Effects of the Integrated Microbiome Agent on the Seed Germination and Seedling Growth of Watermelon and Its Control Effect Against Fusarium Wilt

LAN Jiang-lin, CHEN Yan-ping, XIAO Rong-feng, XU Li-ning, LIU Bo, ZHENG Xue-fang
(Institute of Agricultural Biological Resources, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: The integrated microbiome microbial agent (referred to as integrated microbial agent) was a soil remediation agent produced by using the pig litter of microbial fermentation bed for raising pigs for about one year as the base material, which contained multiple functional microbiomes. The effects of different concentrations of the integrated microbial agent extract on the germination of watermelon seeds were studied by using the filter paper germination method. The results showed that: the extract solution of the integrated microbial agent had significant inhibitory effect on the germination of watermelon seeds. When the addition amount was 5%, the germination rate was 53.33%, the germination index (7.02) and seed vigor index (241.05) were significantly lower than those of the two control groups ($P<0.05$). There was no significant difference in the radicle growth (34.54 mm) between the two control groups (34.56 mm and 0.20 mm) ($P<0.05$). With the increase of the addition amount, the germination rate, radicle length, germination index and seed vigor index showed a downward trend. Through the pot experiment, the control

收稿日期: 2023-05-11

作者简介: 蓝江林, 女, 1972年生, 博士, 研究员, 主要从事农业微生物研究。

基金项目: 福建省科技计划公益类项目(2020R1034007); 福建省人民政府、中国农业科学院“5511”协同创新工程(XTCXGC2021019)。

effects of different proportions of addition amount of the integrated microbial agents on the plant growth of watermelon and wilt disease were studied. The results showed that: when the addition amount of integrated microbial agent was 10%, the root length and plant height were increased by 40.82% and 45.34%, respectively, compared with the old substrate, and the growth promotion effect was the most significant ($P < 0.05$), and the control effect on watermelon fusarium wilt was 66.67%. When the addition amount of integrated microbial agent was more than 20%, the root length and plant height decreased by 10.21% and 3.97%, respectively, compared with the old substrate, and the inhibitory effect was significant ($P < 0.05$). According to the results of the experiment, it was suggested that the integrated microbial agent could be applied to the roots of watermelon during the planting process, and the addition amount should be controlled below 10%. Then, the ideal control effect on fusarium wilt could be achieved by combining with other measures such as the disease control agents.

Key words: Integrated microbiome microbial agent; Watermelon; Seed germination; Fusarium wilt

微生物组 (microbiome) 是指一个特定环境或者生态系统中全部微生物及其遗传信息, 包括其细胞群体和数量、全部遗传物质 (基因组), 以及微生物与其环境和宿主的相互作用^[1]。土壤微生物组是土壤中所有微生物及其栖息环境的总称, 在土壤有机质、氮素和磷素等元素循环中起着至关重要的作用, 可作为土壤健康的关键性评价指标^[2-3]。研究表明, 施用有机肥、微生物菌剂等能够增加土壤微生物多样性, 改良土壤理化性状, 提高土壤肥力肥效, 改善作物品质, 提高作物产量等^[4-8]。此外, 通过生物技术人工构建的高效稳定的合成微生物组研究也已广泛开展, 并在生物能源、化工产品、生物医药以及农业等多个领域应用且取得一定的成效^[9-11]。

本课题组以微生物组研究为出发点, 结合微生物发酵养猪垫料在农业生产中的应用效果, 提出整合微生物组菌剂 (the Integrated Microbiome Agent; IMA) 的概念, 并以微生物发酵养猪垫料为基材, 与企业共同研发了整合微生物组菌剂 (简称“整合菌剂”) 中试产品, 产品活菌数平均值达 $2.06 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$, 含有元素降解、病害抑制、毒素分解等多个功能微生物组 (NCBI 登入号: SRP144025), 能够很好地修复土壤连作障碍问题, 抑制土传病害^[12]。试验表明^[12-13], 整合菌剂对不同作物的影响亦有不同, 如产品浸提液对绿豆发芽无影响, 但能明显促进绿豆根的生长, 提高活力指数。当整合菌剂添加量为 40% 时, 对番茄苗的促长效果最好, 植株的株高、茎粗和根长均显著高于对照组, 对番茄青枯病的防治效果均大于 65%, 添加量为 100% 时防治效果最佳, 可达到 77.37%。但除此外, 整合菌剂对于其他作物生长的影响, 目前尚不明确。因此, 为进一步明晰整合菌剂的应用

范围, 深入研究对其他作物生长特性的影响, 本研究测定了整合菌剂浸提液对西瓜种子萌发的影响, 进而测定了整合菌剂不同比例添加量对西瓜苗的促长作用以及对枯萎病的防治效果, 筛选出适宜西瓜种植的整合菌剂添加量, 综合分析整合菌剂作为一种土壤改良剂在西瓜生产中应用的可行性, 为其推广应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黑美人西瓜种子和幼苗由福建省农业科学院农业生物资源研究所提供, 栽培基质 (以下简称“新基质”) 由厦门市江平生物基质技术股份有限公司生产。供试西瓜枯萎病原菌尖孢镰刀菌 FJAT-30265 菌株由福建省农业科学院农业生物资源研究所菌种库保存。整合微生物组菌剂 (以下简称“整合菌剂”): 中试产品, 由福建省农业科学院和厦门市江平生物基质技术股份有限公司共同研发, 有效活菌数 $\geq 3.0 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2 整合菌剂浸提液的制备

称取整合菌剂 200 g, 用无菌水慢慢浇灌至吸水达饱和, 静置 24 h, 用 4 层纱布包裹, 挤压过滤, 获得浸提液; 前期预备试验表明, 用含 30% 浸提液的无菌水 (用无菌水慢慢浇灌整合菌剂至吸水达饱和, 静置 24 h, 用 4 层纱布包裹, 挤压过滤, 获得浸提液。这个为原液, 配制其他含量的则按比稀释。如 10 mL 中, 浸提液 3 mL, 无菌水 7 mL, 即为含 30% 浸提液的无菌水) 浸种, 对种子萌发抑制效果显著, 因此本试验用无菌水将浸提液梯度稀释至 100%、25%、20%、15%、10%、5% 浓度, 4℃ 保存备用。

1.3 整合菌剂浸提液对西瓜种子萌发的影响

采用滤纸萌发法。选饱满、无病虫害西瓜种

子，55℃温开水漂洗，捞出沥干，用梯度稀释的浸提液浸种8 h。新基质浸提液为阳性对照，无菌水浸种为阴性对照。浸种结束后转移直径9 cm培养皿内的滤纸上（上下两层），每培养皿30粒，每个处理3个重复，同时每天以对应浓度的浸提液为营养液进行补水。将培养皿置于27℃恒温人工气候箱，光照16 h、黑暗8 h，跟踪观察种子萌发情况。当种子露白边时，开始每天记录种子发芽数，直到无新增发芽数，检测并统计发芽率、根长、发芽指数和活力指数。

发芽率(%) = (指定天数的发芽种子数/供试种子数) × 100;

发芽指数(GI) = $\sum (Gt/Dt)$, Gt为第t d的种子发芽数, Dt为相应发芽天数;

活力指数(VI) = 发芽指数 × 胚根长(cm)。

1.4 整合菌剂对西瓜幼苗生长的影响

前期预试验表明，含30%整合菌剂的栽培基质（整合菌剂与栽培基质按比例混合，整合菌剂为3 kg，栽培基质为7 kg，即为含30%整合菌剂的栽培基质）对西瓜苗生长的抑制效果显著，因此本试验将整合菌剂按0、5%、10%、15%、20%、25%的比例分别添加到已种植过一茬西瓜的栽培基质（以下简称“旧基质”）中，分装于盆钵中，进行西瓜苗盆栽种植，新基质为对照。花盆选用15 cm × 25 cm规格，每盆施用栽培基质3.0 kg，待西瓜幼苗长出3叶1心时，选取大小和长势均较为一致的幼苗进行盆栽定植。每盆定植1株，每组处理种植30株，缓苗5 d。待缓苗结束后，置人工气候室培养，温度为(30±1)℃，相对湿度80%。培养15 d时，测量植株的根系长度和株高。

1.5 整合菌剂对西瓜枯萎病的防治效果

将西瓜枯萎病原菌FJAT-30265菌株用马铃薯葡萄糖培养基(PDA)扩大培养6 d后，过滤除菌丝并配置成浓度为 1.0×10^6 CFU · mL⁻¹的孢子悬浮液，置于4℃冰箱备用。

按已筛选出的整合微生物组菌剂最佳添加量10%，添加到旧基质中进行西瓜盆栽种植，开展病害防治效果测定。设以下5个处理组进行试验：处理组1：旧基质添加10%整合菌剂，同时浇灌接种枯萎病原菌FJAT-30265；处理组2：旧基质添加10%整合菌剂，定植7 d后伤根接种枯萎病原菌FJAT-30265；处理组3：旧基质添加10%整合菌剂，定植7 d后伤根浇灌清水；CK1：旧基质，定植7 d后伤根接种枯萎病原菌FJAT-30265，作为阳性对照；CK2：旧基质，定植7 d后伤根浇灌清水，作为阴性对照。每组处理30株，统一进行栽培管理，接菌后定期观察西瓜植株的生长和发病情况，统计其发病率，计算防治效果，以各处理组不再出现新病株后的第7 d结束观察。

防治效果(%) = [阳性对照组(CK1)发病率 - 处理组发病率] / 阳性对照组(CK1)发病率 × 100

1.6 数据统计与分析

数据采用Microsoft Excel 2007、DPS7.05统计软件分析，采用单因素方差分析(Tukey法)比较不同数量间的差异(P<0.05)，用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 整合菌剂对西瓜种子萌发的影响

表1 整合微生物组菌剂对西瓜种子萌发的影响

Table 1 Effect of the integrated microbial agents on the seed germination of watermelon

处理	发芽率 (%)	胚根长 (mm)	发芽指数 GI	种子活力指数 VI
新基质	95.56±3.85 a	34.56±9.57 a	18.43±3.14 a	655.97±270.78 a
无菌水	97.78±3.85 a	30.20±7.27 ab	16.46±2.35 ab	507.89±198.68 ab
5%	53.33±0.00 ab	34.54±2.24 a	7.02±0.87 bc	241.50±24.21 abc
10%	53.33±41.63 ab	19.34±4.94 ab	7.31±8.66 bc	169.61±225.38 bc
15%	57.78±16.78 ab	21.29±3.85 ab	4.67±1.32 c	102.59±47.45 bc
20%	31.11±19.25 ab	22.18±6.19 ab	2.98±2.86 c	76.05±89.86 c
25%	28.89±16.78 b	17.02±12.76 ab	2.64±1.97 c	60.89±59.37 c
100%	46.67±11.55 b	12.73±4.52 b	1.86±0.30 c	23.26±6.69 c

注：同列不同小写字母表示差异达显著水平(P<0.05)，下同。

由表1可知,整合菌剂的浸提液对西瓜种子的萌发有明显抑制作用。添加量为5%,发芽率仅为53.33%,发芽指数(7.02)和种子活力指数(241.05)均显著低于两组对照,胚根的生长(34.54 mm)与两个对照(34.56 mm和30.20 mm)无显著差异($P < 0.05$)。随着添加量的增加,发芽率、胚根长、发芽指数、种子活力指数均呈下降趋势。综合分析,整合菌剂不适用于种子萌发处理。

2.2 整合菌剂对西瓜幼苗生长的影响

由图1可知,新基质西瓜苗长势良好,定苗15 d后,平均根长和株高分别为15.44 cm和51.10

cm,与连作旧基质相比,分别提高了146.25%和71.25%,也显著高于其他处理($P < 0.05$)。旧基质添加10%整合菌剂,根长和株高较旧基质分别提高了40.82%和45.34%,促长效果最为显著($P < 0.05$);而整合菌剂添加量大于20%时,根长和株高则较旧基质对照组分别降低了10.21%和3.97%,表现出显著的抑制作用($P < 0.05$)。说明添加适当的整合菌剂可以改善连作基质的营养状况,促进西瓜苗的生长,但添加量偏高则对西瓜苗的生长具明显的抑制作用,故选择低于10%作为整合菌剂最适添加量。

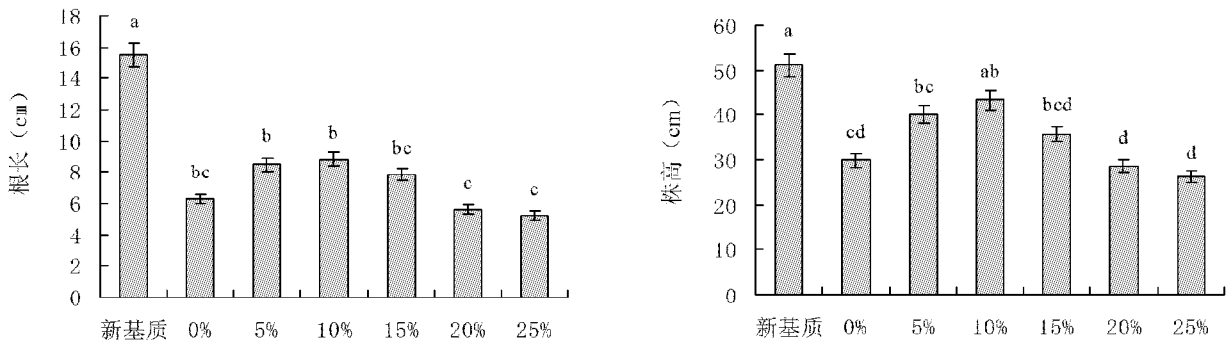


图1 整合微生物组菌剂对西瓜盆栽苗的促长影响

Fig. 1 Effect of the integrated microbial agents on the growth promotion of watermelon potted seedlings

2.3 整合菌剂对西瓜枯萎病的防治效果

由表2可知,旧基质中添加10%整合菌剂,对西瓜枯萎病具有一定的防治效果。盆栽种植40 d后,不同处理组西瓜枯萎病发病率不同,其中处理组2发病率为33.33%,显著低于对照组的100%,防治效果达66.67%;其次为处理组1,发病率为70%,防治效果达30%;说明添加10%的整合微生物组菌剂对西瓜枯萎病具有良好的防治效果,且在病原菌未感染前使用,防治效果更佳。

表2 整合微生物组菌剂对西瓜盆栽苗枯萎病的防治效果
Table 2 Control effect of the integrated microbial agents on fusarium wilt of watermelon potted seedlings

指标	处理组1	处理组2	处理组3	CK1	CK2
发病率(%)	70	33.33	0	100	0
防治效果(%)	30	66.67	100		

3 讨论

3.1 整合菌剂对西瓜种子萌发的影响

微生物菌剂是多种活性微生物混合发酵而来,含有多种有机酸、酶类物质,对植物有促生作用,适量的添加对番茄、生菜、菜心、芥菜、水稻、玉米等多种作物种子的萌发有促进作用^[14-16]。整合微生物组菌剂是一个新概念、新产品,原料为使用1年左右的发酵床养猪垫料,含有多个功能微生物组,丰富的有机质、腐殖酸、胡敏酸、富咖酸以及多种挥发性物质,前期研究表明适量添加能提高番茄种子萌发数目,缩短种子发芽时间,促进胚根生长^[17-18]。而本试验则表明,整合菌剂对西瓜种子萌发有明显的抑制作用,浸提液添加量为5%,发芽率为53.33%,发芽指数(7.02)和种子活力指数(241.05)均显著低于对照,对胚根生长无显著影响;且随着添加量增加,发芽率、胚根长、发芽指数、种子活力等均呈下降态势。因此,整合菌剂

不适用于西瓜种子萌发处理。对于其他作物种子萌发的影响,有待后续试验研究。

3.2 整合菌剂对西瓜幼苗生长的影响

微生物是整合微生物组菌剂的核心组成部分,不仅参与植物的生长与代谢,还参与各种物质的转化过程,调节物质间生理生化过程,稳定根系微生态环境。因此,对于不同作物上产生效果均有最佳的施用方法和施用浓度。本课题组前期研究表明,整合菌剂能够促进种子萌发,低浓度整合菌剂(添加量为小于60%)会促进番茄植株生长,很好的修复土壤连作障碍问题,高浓度(添加量大于80%)则抑制番茄植株生长^[12-13,18]。在本研究中,西瓜植株的生长对整合菌剂的影响更为敏感,旧基质添加10%的整合菌剂,根长和株高较旧基质分别提高了40.82%和45.34%,促长效果最为显著;而添加量达到20%,则对西瓜苗生长产生显著抑制作用。因而,在西瓜生产中,需严格控制整合菌剂的一次性施用量。对于西瓜整个生长周期中整合菌剂的使用次数,对后期植株生长影响、防病效果和增产的作用仍需进一步研究。

3.3 整合菌剂对西瓜枯萎病的防治效果

微生物菌剂可以提高作物的生长发育,培育壮苗,提高植株抗性,增加产量^[19-21]。整合菌剂含有多个功能微生物组,能够很好地修复土壤连作障碍问题,且在连作7年的番茄种植地,对番茄青枯病防效可达65%~77.37%^[18]。本试验结果表明添加10%整合菌剂,对西瓜枯萎病防效最佳可达66.67%,与徐伟慧^[22]、王夏雯^[23]等研究结果相吻合。但施用方式不同,对西瓜枯萎病防效也不同,处理组1防效仅为30%,可能由于西瓜苗定植时,整合菌剂中的功能微生物组和枯萎病菌在根系同时生长,功能微生物组竞争优势不显著,导致防效较差;处理组2对枯萎病的防效为66.67%,说明西瓜苗定植7d后,整合菌剂的功能微生物组已在西瓜根系建立了稳定的群落,竞争优势显著,接种枯萎病菌无法取得竞争优势。因此在西瓜定植时,适量施用整合菌剂,要注意与根部土壤混合均匀,确保覆盖到根系,并根据实际结合防控药剂使用等措施才能更有效地防控枯萎病的发生。

综上所述,整合菌剂不适用于西瓜种子发芽处理,10%以下低剂量添加对西瓜植株生长有一定的促长作用,且对西瓜枯萎病有较好的防效。可在西瓜定植时的根部施用,能够起到促长防病的效

果。对于整合菌剂抑制西瓜种子萌发机制、对植株生长、产量及品质的影响,以及对其他不同作物种子萌发及生长的影响等均有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 刘双江,施文元,赵国屏. 中国微生物组计划:机遇与挑战[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(3): 241-250.
- [2] 朱永官,沈仁芳,贺纪正,等. 中国土壤微生物组:进展与展望[J]. 中国农业文摘:农业工程, 2018, 3: 6-12, 38.
- [3] 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(1): 1-11.
- [4] BEI S, ZHANG Y, LI T, et al. Response of the soil microbial community to different fertilizer inputs in a wheat-maize rotation on a calcareous soil [J]. *Agric Ecosyst Environ*, 2018, 260: 58-69.
- [5] GUO Z, HAN J, LI J, et al. Effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure [J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0216006.
- [6] JIANG Y, LUAN L, HU K, et al. Trophic interactions as determinants of the arbuscular mycorrhizal fungal community with cascading plant promoting consequences [J]. *Microbiome*, 2020, 8: 142.
- [7] FAN K, DELGADO-BAQUERIZO M, GUO X, et al. Biodiversity of key-stone phylotypes determines crop production in a 4-decade fertilization experiment [J]. *ISME J*, 2021, 15(2): 9550-561.
- [8] YANG Y, WANG P, ZENG Z. Dynamics of bacterial communities in a 30-year fertilized paddy field under different organic-inorganic fertilization strategies [J]. *Agronomy*, 2019, 9(1): 14.
- [9] 徐昭勇,胡海洋,许平,等. 人工合成微生物组的构建与应用[J]. 合成生物学, 2021, 2(2): 181-193.
- [10] LIU Y X, QIN Y, BAI Y. Reductionist synthetic community approaches in root microbiome research [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 49: 97-102.
- [11] VORHOLT J A, VOGEL C, CARLSTROM C I, et al. Establishing causality: opportunities of synthetic communities for plant microbiome research [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 22(2): 142-155.
- [12] 刘波,陈倩倩,王阶平,等. 整合微生物组菌剂的提出、研发与应用[J]. 中国农业科学, 2019, 52(14): 2450-2467.
- [13] 郑雪芳,刘波,朱育菁,等. 整合微生物组菌剂对番茄种子萌发和幼苗生长的影响及其对青枯病的防治效果[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(6): 908-914.
- [14] 须文,岑聪,徐彦军. 不同基质配方对蔬菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(9): 127-131.
- [15] 侯立刚,刘会,芳田健,等. 不同菌剂浓度对低温处理下水稻种子萌发能力的影响[J]. 种子, 2021, 3: 87-90, 96.
- [16] 黄志浩,王学虎,吴广利,等. 微生物菌剂对玉米发芽及生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(21): 28-30.

- [17] 蓝江林, 刘波, 吴小彬, 等. 2种不同养猪微生物发酵床垫料使用后的异质性分析 [J]. 福建农业科技, 2022, 53 (2): 15-19.
- [18] 郑雪芳, 刘波, 朱育菁, 等. 设施番茄连作障碍土壤修复及其对青枯病害的防治效果 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34 (1): 117-123.
- [19] 丁映风, 朱红青, 姚巧敏, 等. 复合微生物菌剂对设施栽培番茄的田间应用效果 [J]. 云南农业科技, 2023, 1: 11-13, 19.
- [20] 黄书超, 侯栋, 颜建明, 等. 混合微生物菌剂对连作土壤中黄瓜幼苗生长的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2021, 56 (2): 83-89.
- [21] 杜少平, 唐超男, 马忠明, 等. 不同微生物菌剂对旱砂田西瓜生长和微生物区系的影响 [J]. 寒旱农业科学, 2022, 1 (1): 57-61.
- [22] 徐伟慧, 吕智航, 史一然, 等. 西瓜复合根际促生菌剂构建与促生效应研究 [J]. 浙江农业学报, 2018, 30 (5): 778-786.
- [23] 王夏雯, 吴绍军, 孟佳丽, 等. 2种类型微生物肥料对连作西瓜枯萎病的防治效果研究 [J]. 江西农业学报, 2019, 31 (11): 23-28.

(责任编辑: 柯文辉)