

邢卫峰,于侦云,陈刘军,等. 生物肥料“宁盾”对甜瓜枯萎病的防治效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):78-81.

# 生物肥料“宁盾”对甜瓜枯萎病的防治效果

邢卫峰<sup>1</sup>, 于侦云<sup>2</sup>, 陈刘军<sup>2,3</sup>, 李 波<sup>2</sup>, 李咏梅<sup>2</sup>, 王大成<sup>2</sup>, 郭坚华<sup>2</sup>

(1. 江苏省东海县现代农业园区管委会, 江苏东海 222300; 2. 南京农业大学植物保护学院/江苏省生物源农药工程中心/农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室, 江苏南京 210095; 3. 无锡本元生物科技有限公司, 江苏无锡 214092)

**摘要:**通过田间试验发现,生物肥料“宁盾”能够有效防治甜瓜枯萎病,提高甜瓜的出苗率,促进甜瓜的生长,并显著提高甜瓜的产量和果实品质。在甜瓜连作田中,“宁盾”处理组枯萎病严重度显著低于对照组,生防效果高达 81.55%。育苗 10 d 后,“宁盾”处理组出苗率较对照组高 20.66%~61.54%。在甜瓜“新景甜 1 号”移栽 25 d 后,“宁盾”处理组甜瓜的株高、茎粗、最大叶面积分别增加 57.50%、8.18%、47.16%,处理组增产达 21.02%;甜瓜“圣姑”移栽到大田 45 d 后,与对照组比较,“宁盾”处理组甜瓜株高、茎粗分别增加 14.88%、15.15%,增产率高达 57.61%。另外,“宁盾”处理组果实的硬度、可溶性固形物、可溶性糖含量均显著高于对照组,因此“宁盾”对甜瓜的品质具有明显的改善作用。

**关键词:**生物防治;枯萎病;甜瓜;促生长作用;生物肥料

**中图分类号:** S436.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0078-03

甜瓜(*Cucumis melon*)别名香瓜,市场需求量大,随着栽培技术的不断发展,为了满足反季节甜瓜的市场需求,保护地栽培甜瓜应运而生,但多年连续栽培极易产生连作障碍。连作障碍是甜瓜生产中常见的难题之一,连作障碍产生的原因主要是土传病菌积累、植物自毒作用、土壤盐渍化和酸化等<sup>[1]</sup>。连作障碍会导致作物产量和品质的下降,然而由于连作障碍产生的因素非常复杂,生产上尚缺乏一套行之有效的解决方案或途径。甜瓜连作田中通常伴随枯萎病的发生。温玲连续统计了 5 年甜瓜连作田枯萎病的发病情况,5 年后甜瓜枯萎病发病率达 90%,造成了重大的经济损失<sup>[2]</sup>。生产上常用的克服连作障碍的技术有轮作和间套作<sup>[3]</sup>、选用抗病品种或嫁接<sup>[4-5]</sup>、无土栽培、合理的土壤管理和生物防治<sup>[6-8]</sup>等。其中较为有效可行的方法是选育抗病品种或嫁接和生物防治,但选育抗病品种费时费力,和嫁接一样都会导致甜瓜口感和品质下降<sup>[9]</sup>,实际应用受到一定限制;因此生物防治成为目前国内外学者的研究热点,并将逐步成为农作物病虫害防治的重要手段之一。

生物肥料“宁盾”由南京农业大学生物源农药研发实验室研制,主要成分是 2 种芽孢杆菌和沙雷氏菌。通过前期研究发现,其对番茄青枯病、辣椒疫病、番茄根结线虫病等土传病害均有较好的防治效果<sup>[10-11]</sup>。“宁盾”通过有效地提高土壤中生物多样性,提高植物根围土壤速效氮磷钾的含量,对土壤肥力和结构具有良好的改善作用。本研究通过田间试验,初次评价了生物肥料“宁盾”防治甜瓜枯萎病的效果、对甜瓜的促生作用和对果实品质的提高效应,为甜瓜生产实践过程中克服连作障碍、提高综合效益提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌剂、甜瓜品种和试验田概况

生物肥料“宁盾”是由南京农业大学生物源农药研发实验室研制、南京农大生物源农药创制有限公司开发的微生物肥产品[登记证号为微生物肥(2013)准字(1096)号],水剂,其中有效活菌含量  $>10^8$  CFU/mL。

供试甜瓜品种为圣姑,购自农友种苗(中国)有限公司;新景甜 1 号,由黑龙江省景丰良种开发有限公司育成。

甜瓜圣姑试验安排在江苏省东海县白塔埠镇前营村甜瓜连作田进行,面积 0.28 hm<sup>2</sup>;试验田连续 5 年种植甜瓜,甜瓜枯萎病发生严重。甜瓜新景甜 1 号试验安排在江苏省东海县白塔埠镇前营村甜瓜非连作田进行,面积 0.28 hm<sup>2</sup>。

### 1.2 试验设计

本试验共设 2 个处理:处理组为生物肥料“宁盾”120 L/hm<sup>2</sup>;对照组为清水对照。每处理设 3 小区重复,每个小区面积为 223.5 m<sup>2</sup>,各处理随机区组排列。小区之间以保护行隔离,试验田按常规管理。甜瓜移栽到田间大棚时,用浓度  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的“宁盾”浇灌根部,“宁盾”使用量为 120 L/hm<sup>2</sup>。

### 1.3 调查内容与方法

**1.3.1 出苗率统计** 随机选择颗粒饱满程度一致、健康的甜瓜种子,分组装入小烧杯中,编号,种子表面用 3% 次氯酸钠溶液消毒 10 min,用无菌水冲洗 3 次,分别以“宁盾”菌液或清水浸种 5 min;之后分别置于无菌纱布上,28 ℃ 催芽 24 h,其间适量补水,将催芽的种子放于苗床中,10 d 后统计每个品种各处理组种子的出苗情况,计算出苗率:出苗率 = 出苗的种子数/供检测的种子数  $\times 100\%$ 。

**1.3.2 促生作用调查** 在调查甜瓜生长指标时,每小区取 24 株甜瓜植株测量株高、茎粗、叶片数和最大叶面积。

**1.3.3 品质检测方法** 硬度和可溶性固形物的检测方法参见 Miccolis 等的方法<sup>[12]</sup>;可溶性糖的测定采用李合生等的蒽

收稿日期:2013-12-23

作者简介:邢卫峰(1968—),男,江苏东海人,高级农艺师,主要从事植物病害生物防治研究。E-mail:dhxxwf@163.com。

通信作者:郭坚华,博士,教授,博士生导师,主要从事农作物病害绿色防控。Tel:(025)84395312;E-mail:jhguo@njau.edu.cn。

酮比色法<sup>[13]</sup>；可溶性蛋白测定采用考马斯亮蓝比色法<sup>[13]</sup>；维生素 C 测定采用 2,6-二氯酚酚滴定法<sup>[13]</sup>。

1.3.4 生物防效统计 用 5 点取样法,调查统计病株数,并计算病情指数和防治效果。病害的严重度分级标准<sup>[14]</sup>如下:0 级,全株无病,外部无症状;1 级,全株叶片总数的 25% 以下叶片发病,或茎内维管束 25% 以下变褐色;2 级,全株叶片总数的 26% ~ 50% 叶片发病,或茎内维管束 26% ~ 50% 变褐色;3 级,全株叶片总数的 51% ~ 75% 叶片发病,或茎内维管束 51% ~ 75% 变褐,部分叶片萎焉;4 级,全株叶片总数的 76% ~ 100% 叶片发病,或茎内维管束 75% ~ 100% 变褐,或整株因病萎焉枯死。病害严重度和生防效果的计算公式如下:

病害严重度 = [ Σ (发病植株数 × 病级数) / (总植株数 ×

最高病级数) ] × 100% ;

生防效果 = [ (对照病害严重度 - 处理病害严重度) / 对照病害严重度 ] × 100% 。

1.3.5 数据统计分析 生长指标以及品质的相关数据分析通过软件 DPS 7.05 完成。

2 结果与分析

2.1 生物肥料“宁盾”对甜瓜出苗的影响

10 d 后统计每个品种各处理组种子的出苗情况,结果显示,宁盾处理组甜瓜圣姑、新景甜 1 号出苗率较对照组出苗率分别提高 61.54%、20.66% (表 1),表明生物肥料“宁盾”有利于甜瓜种子的萌发和幼苗的生长(图 1)。

表 1 生物肥料“宁盾”对甜瓜出苗率的影响

品种	处理	出苗率(%)				出苗率增加量(%)
		I	II	III	平均值 ± 标准差	
圣姑	宁盾	48.33	47.67	46.67	47.56 ± 0.84a	61.54
	空白对照	28.33	28.67	31.33	29.44 ± 1.64b	
新景甜 1 号	宁盾	86.25	85.5	88.25	86.67 ± 1.42a	20.66
	空白对照	74.00	71.25	70.25	71.83 ± 1.94b	

注:不同小写字母者表示在 α=0.05 水平上差异显著。“圣姑”每个处理 3 个重复,每个重复调查 300 粒种子;“新景甜 1 号”每个处理 3 个重复,每个重复调查 400 粒种子。



图1 “宁盾”对甜瓜新景甜1号(左)和圣姑(右)的促生长作用

2.2 生物肥料“宁盾”对甜瓜生长和产量的影响

甜瓜新景甜 1 号移栽到大田 25 d 后,统计各项生长指标,与对照组比较,“宁盾”处理组甜瓜株高、茎粗、最大叶面

积均有显著增加,增加量分别为 57.50%、8.18%、47.16%,但叶片数并没有显著差异;增产量是 21.02% (表 2)。

表 2 “宁盾”对甜瓜新景甜 1 号的促生长作用

处理	株高 (cm)	茎粗 (mm)	叶片数 (张)	最大叶面积 (cm <sup>2</sup> )	产量 (kg/hm <sup>2</sup> )
宁盾	43.03 ± 1.81a	6.61 ± 0.97a	14.32 ± 0.34a	177.48 ± 6.98a	51 095.00 ± 1 704.49a
空白对照	27.32 ± 1.42b	6.11 ± 1.08b	13.23 ± 0.45a	120.60 ± 5.22b	42 220.00 ± 2 129.38b

注:同列不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。

甜瓜圣姑移栽到大田 45 d 后,统计各项生长指标,与对照组比较,“宁盾”处理组甜瓜株高、茎粗均有显著增加,增加量分别为 14.88%、15.15%,增产量可达 57.61% (表 3)。

表 3 “宁盾”对甜瓜圣姑的促生长作用

处理	株高 (m)	茎粗 (cm)	产量 (kg/hm <sup>2</sup> )
宁盾	1.93 ± 0.12a	1.52 ± 0.10a	60 185.00 ± 1 441.43a
空白对照	1.68 ± 0.09b	1.32 ± 0.13b	38 185.00 ± 1 358.83b

注:同列不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。

“宁盾”处理后,甜瓜幼苗的株高增加,茎粗增大,叶面积增加,表明“宁盾”处理组的甜瓜苗更加健壮,从而有助于提高产量。“宁盾”对甜瓜 2 个品种的生长均有良好的促进效果。

2.3 生物肥料“宁盾”对甜瓜枯萎病的防治效果

由表 4 可见,移栽 60 d 后,“宁盾”处理组甜瓜圣姑的病害严重度为 8.33%,而对照组的病害严重度为 45.14%,“宁盾”对甜瓜枯萎病的生防效果达 81.55%,防病效果十分显著(图 2)。

2.4 生物肥料“宁盾”对甜瓜品质的影响

在采收期的盛果期 5 点取样,检测甜瓜果实的硬度及总可溶性固形物、可溶性糖、可溶性蛋白、维生素 C 的含量。由

表 4 生物肥料“宁盾”对甜瓜圣姑枯萎病的防治效果

处理	病害严重度(%)				生防效果 (%)
	I	II	III	平均值±标准差	
宁盾	9.38	8.33	7.29	8.33±0.60a	81.55
空白对照	43.75	43.75	47.92	45.14±1.39b	

注: 同列不同小写字母者表示在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著。每个处理组 3 个重复, 每个重复随机调查 24 株苗。

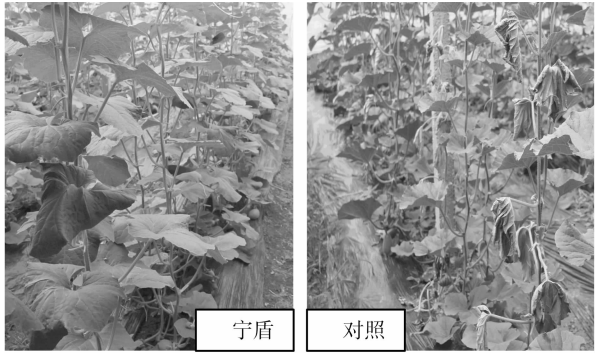


图2 “宁盾”对甜瓜圣姑枯萎病的防治效果

表 5 可见,“宁盾”处理后,圣姑成熟果实的硬度、总可溶性固形物、可溶性糖含量显著高于对照组。果实的硬度与采收贮藏和运输密切相关,成熟果实的硬度高,有利于果实的贮藏和运输。可溶性蛋白、维生素 C 含量均高于对照组。而可溶性糖、可溶性蛋白、维生素 C 与甜瓜的口感和营养品质相关,表明“宁盾”处理后能够明显提高甜瓜果实的品质和风味。除此之外,“宁盾”处理后甜瓜果实更耐贮藏和运输,在实际生产中有重要意义。

表 5 生物肥料“宁盾”对甜瓜圣姑品质的影响

处理	硬度 (Pa)	可溶性固 形物(%)	可溶性糖 (%)	可溶性蛋白 (mg/g)	维生素 C (mg/g)
宁盾	92.9a	13.44a	31.26a	1.19a	3.07a
空白对照	82.1b	9.60b	28.22b	1.06a	2.91a

注: 同列不同小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著。

3 结论与讨论

生物菌剂“宁盾”是新研发的一种复合菌剂,具有防治多种土传病害、促进植物生长、改善果实品质的效果,在实际生产应用中有很大的防病促生长潜力。本试验田连作障碍的主要产生原因是甜瓜枯萎病的发生,试验结果显示,生物源农药“宁盾”能够有效防治枯萎病,防效高达 81.55%。生物源农药“宁盾”的主效成分是芽孢杆菌,关于芽孢杆菌的防病机理已经有了较深入的探讨。曾有研究发现,*Bacillus* sp. AR156 可以同时激发水杨酸介导的信号通路和 JA/ET 介导的信号通路,诱导植物产生 ISR 从而抵抗病原物的侵害<sup>[15]</sup>;除此之外,陈云等对 *Bacillus subtilis* 防病机理做了进一步研究,发现 *Bacillus subtilis* 可以通过在番茄根围形成稳定的生物膜,增强对番茄青枯病的防治效果,同时发现 *Bacillus subtilis* 对多种病原物有较强的拮抗作用<sup>[16]</sup>。

“宁盾”不仅有良好的防治枯萎病的能力,试验结果还显示,“宁盾”处理组甜瓜的出苗率较对照组提高了 21.66% ~

61.65%,且显著促进了甜瓜的生长,株高、茎粗和叶面积均有不同程度的增加。其他报道显示,PGPR 能够改变根构型,抑制主根的生长,促进侧根的生长,根围促生菌能够显著增加根重,增强植物从土壤中吸收养分的能力<sup>[17]</sup>;伯霍尔德杆菌属 *PsJN* 接种拟南芥野生型 Col-0 显著增加了拟南芥叶面积,但没有显著增加叶片数<sup>[18]</sup>。前期研究发现,“宁盾”的单菌成分能够产生 IAA、嗜铁素、产生 VOCs,且具有解磷的作用,能够体外降解有机磷和无机磷。而据有关报道,许多根围促生菌能够产生 IAA,可以直接或间接促进植物幼苗的生长和提高其产量<sup>[19]</sup>。次生代谢产物嗜铁素竞争其他菌类的铁离子,抑制有害微生物的生长。大多数根围促生菌具有解磷固氮作用,分解土壤中难以利用的有机磷或无机磷成为可利用的磷,以利于植物营养吸收。最近 Meldau 等报道芽孢杆菌 B55 产生的挥发性物质 DMDS(二甲基二硫)直接参与硫代谢促进烟草的生长<sup>[20]</sup>。而这些特性确保给作物提供充足的营养,从而提高作物的产量和品质。

Yamaguehi 等认为,甜瓜果实中糖含量的高低是衡量其品质的主要依据<sup>[21]</sup>。试验结果显示,“宁盾”处理组甜瓜的含糖量显著高于对照组,提高了 10.78%;同样,其他品质指标,如可溶性蛋白、维生素 C、可溶性固形物都有一定程度的增加;因此“宁盾”对甜瓜的品质有很好的改善,克服了嫁接、选育抗病品种等方法引起的品质下降,成为克服连作障碍更为有效和可行的方法。

参考文献:

[1] 郑军辉,叶素芬,喻景权. 蔬菜作物连作障碍产生原因及生物防治[J]. 中国蔬菜,2004(3):56-58.

[2] 温玲. 甜瓜设施栽培土壤连作障碍及防治措施[J]. 北方园艺,2007(7):122

[3] 孙祥良,谢关林,金扬秀. 轮作与甜瓜类枯萎病发病的关系[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2003,29(1):65-66.

[4] Paola C. Evaluation of rootstock resistance to fusarium wilt and gummy stem blight and effect on yield and quality of a grafted 'inodorus' melon[J]. HortScience,2007,42(3):521-525.

[5] Cohen R, Horev C, Burger Y, et al. Horticultural and pathological aspects of fusarium wilt management using grafted melons[J]. HortScience,2002,37(7):1069-1073.

[6] Larkin R P, Hopkins D L, Martin F N. Suppression of fusarium wilt of watermelon by non-pathogenic fusarium oxysporum and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil[J]. Phytopathology,1996,86(8):812-819.

[7] Zhao Q Y, Shen Q R, Ran W, et al. Inoculation of soil by *Bacillus subtilis* Y-IV1 improves plant growth and colonization of the rhizosphere and interior tissues of muskmelon (*Cucumis melo* L.)[J]. Biology and Fertility of Soils,2011,47(5):507-514.

[8] Zhao Q Y, Dong C X, Yang X M, et al. Biocontrol of *Fusarium* wilt disease for *Cucumis melon* using bio-organic fertilizer[J]. Applied Soil Ecology,2011,47:67-75.

[9] 李利兰,罗庆熙. 嫁接对甜瓜品质影响的研究进展[J]. 长江蔬菜,2011(12):4-7.

[10] Wei L H, Xue Q Y, Wei B Q, et al. Screening of antagonistic bacterial strains against *Meloidogyne incognita* using protease activity[J]. Biocontrol Science and Technology,2010,20(7):739-750.

周玉慧,陈尚钊,范国荣,等. 柠檬醛衍生物对植物病原菌的抑制活性[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):81-83.

# 柠檬醛衍生物对植物病原菌的抑制活性

周玉慧,陈尚钊,范国荣,王宗德,侯晓林

(江西农业大学/江西省竹子种质资源与利用重点实验室,江西南昌 330045)

**摘要:**采用菌丝生长速率法,研究紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、甲基紫罗兰酮、异甲基紫罗兰酮、鸢尾酮、柠檬腈 6 种柠檬醛衍生物对辣椒疫病菌、枇杷炭疽病菌、水稻纹枯病菌、茼蒿菌核病菌 4 种常见植物病原菌的抑制效果。结果表明:6 种化合物对 4 种植物病原菌的生长均表现出一定的抑制作用,而且随着浓度的升高,抑制作用也增强;通过本试验从 6 种化合物中依次筛选出对茼蒿菌核病菌、水稻纹枯病菌、枇杷炭疽病菌、辣椒疫病菌的抑制作用最强的分别是柠檬腈、紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、柠檬腈,其  $EC_{50}$  依次分别为 8.83、14.02、15.77、9.46  $\mu\text{g/mL}$ 。

**关键词:**紫罗兰酮;柠檬醛衍生物;植物病原菌;抑菌活性

**中图分类号:**S482.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)03-0081-03

我国是一个农业大国,化学农药成为必不可少的农业生产资料<sup>[1]</sup>。传统化学抗菌剂在维护人类和动植物的健康与安全、保障农作物高产与稳产方面发挥了巨大作用,然而容易导致环境污染、生态平衡破坏、杀伤天敌、人畜中毒等问题<sup>[2-4]</sup>。因而,寻求和开发对人类健康和生态环境安全的新型抗菌剂是新农药开发的趋势<sup>[5-6]</sup>。天然产的柠檬醛主要存

在于山苍子油、柠檬精油等植物精油中<sup>[7]</sup>。长期以来,柠檬醛被广泛应用于食品、香水、牙膏、化妆品等行业。因此,笔者选取 6 种柠檬醛衍生物,对常见的植物病原真菌进行生物活性测定,旨在为开发高效、安全和低廉的天然杀菌剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试样品及来源

供试样品包括紫罗兰酮 94.53%、 $\beta$ -紫罗兰酮 95.68%、甲基紫罗兰酮 94.41%、异甲基紫罗兰酮 90.66%、鸢尾酮 97.94%、柠檬腈 98.49%,均是笔者所在实验室的研究人员以天然柠檬醛为原料通过化学修饰手段而合成的。

### 1.2 供试菌种及来源

辣椒疫病菌(*Phytophthora capsici*)、枇杷炭疽病菌(*Coleletotrichum gloeosporioides*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、

biology,2013,15(3):848-864.

[17] López-Bucio J, Campos-Cuevas J C, Hernández-Calderón E, et al. *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin- and ethylene-independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(2): 207-217.

[18] Poupin M J, Timmermann T, Vega A, et al. Effects of the plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN throughout the life cycle of *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69435.

[19] Tsavelkova E A, Cherdynseva T A, Klimova S Y, et al. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin [J]. *Archives of Microbiology*, 2007, 188(6): 655-664.

[20] Meldau D G, Meldau S, Hoang L H, et al. Dimethyl disulfide produced by the naturally associated *Bacterium bacillus* sp. B55 promotes growth by enhancing sulfur nutrition nicotiana attenuate [J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(7): 2731-2747.

[21] Yamaguchi M, Hughes D M. Quality of cantaloupe muskmelons: variability and attributes [J]. *Scientia Horticulturae*, 1977, 6(1): 59-70.

收稿日期:2013-07-17

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360163);江西省自然科学基金(编号:20114BAB204004);江西省教育厅科学技术研究项目(编号:GJJ11401)。

作者简介:周玉慧(1989—),女,江西上饶人,硕士研究生,从事林产化工的研究。E-mail:864447637@qq.com。

通信作者:陈尚钊,博士,副教授,从事林产资源加工研究,Tel:(0791)83828029;E-mail:csxing@126.com。

[11] Jiang Z Q, Guo Y H, Li S M, et al. Evaluation of biocontrol efficiencies of different *Bacillus* preparations and different field application methods against *Phytophthora blight* of bell pepper [J]. *Biological Control*, 2006, 36(2): 216-223.

[12] Miccolis V, Saltveit M E. Influence of storage period and temperature on the postharvest characteristics of six melon (*Cucumis melo* L., Inodorus Group) cultivars [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 1995(5): 211-219.

[13] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京:高等教育出版社,2000.

[14] 李瑞琴. 甜瓜枯萎病病原学及防治技术研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学,2004:13-16.

[15] Niu D D, Liu H X, Jiang C H, et al. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* by simultaneously activating salicylate- and jasmonate/ethylene-dependent signaling pathways [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, 24(5): 533-542.

[16] Chen Y, Yan F, Chai Y R, et al. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation [J]. *Environmental Micro-*