

宋爽,刘宇,许峰,等. 二氧化氯消毒剂对食用菌细菌性褐斑病原菌的防治效果[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):114-115.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.038

二氧化氯消毒剂对食用菌细菌性褐斑病原菌的防治效果

宋爽^{1,2}, 刘宇^{1,2}, 许峰^{1,2}, 王守现^{1,2}, 王兰青^{1,2}, 黄晨阳³

(1. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所/北京市食用菌工程技术研究中心, 北京 100097;

2. 农业部都市农业(北方)重点实验室, 北京 100097; 3. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

摘要:通过摇瓶抑菌试验,研究了二氧化氯消毒剂稀释液对食用菌细菌性褐斑病原菌托拉斯假单胞杆菌(*Pseudomonas tolaasii*)的防治效果。试验结果表明,15 000 mg/L 二氧化氯消毒剂 40 000 倍液对 3 株托拉斯假单胞杆菌的抑制率均在 95% 以上,对平菇、金针菇、双孢蘑菇、香菇、杏鲍菇等食用菌菌丝生长无影响。

关键词:二氧化氯消毒剂;褐斑病;托拉斯假单胞杆菌;抑菌试验;食用菌

中图分类号:S436.46⁺1

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2015)07-0114-02

细菌性褐斑病是一类在食用菌生产上普遍发生且危害严重的病害,在平菇、双孢蘑菇、香菇、杏鲍菇、金针菇等多种食用菌上时常发生,尤其对平菇和双孢蘑菇危害最为严重,发生率可以达到 80% 以上^[1]。食用菌感染该病害后菌盖表面出现黄褐色或深褐色的斑点,子实体失去食用价值,对食用菌生产造成严重损失^[2]。细菌性褐斑病的病原菌是托拉斯假单胞杆菌(*Pseudomonas tolaasii*),由其产生的托拉斯毒素作用于食用菌,使子实体产生病斑^[3]。

目前生产上用于防治细菌性褐斑病的化学药剂主要有漂白粉、农用链霉素等,但在实际防治过程中,效果不是十分理想。二氧化氯消毒剂是一种广谱消毒剂,对细菌、真菌、病毒等病原微生物有很高的杀灭作用^[4]。由于二氧化氯消毒剂具有高效低毒低残留的特点,在食用菌生产上常用来对接种室、培养室、出菇房进行空间熏蒸消毒,也用于出菇房喷雾,用来防治食用菌杂菌和病害。本试验开展二氧化氯消毒剂稀释液对食用菌细菌性褐斑病原菌托拉斯假单胞杆菌的抑制效果研究,为食用菌细菌性褐斑病防治提供科学依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试药剂 二氧化氯消毒剂由北京必洁仕环保新技术开发有限责任公司生产。

1.1.2 供试菌株和食用菌 试验中的 3 种供试托拉斯假单胞杆菌菌株:菌株 JCM21583 购自日本菌保中心;菌株 JZB2120021、JZB2120022 于 2013 年 10 月分离自糙皮侧耳的

子实体,根据细菌形态特征、培养性状、16S rDNA、*gyrB*、*rpoB* 基因序列分析,鉴定为托拉斯假单胞杆菌。平菇双抗黑平、金针菇白金一号、双孢蘑菇 As2796、香菇承德 L18、杏鲍菇 13 号由本课题组保藏。

1.1.3 培养基 LB 培养基:含 10 g 胰蛋白胨、5 g 酵母提取物、10 g 氯化钠,加蒸馏水定容至 1 000 mL,用于托拉斯假单胞杆菌的培养。综合 PDA 培养基:含 200 g 马铃薯、20 g 葡萄糖、20 g 琼脂、3 g KH₂PO₄、1.5 g MgSO₄、5 g 蛋白胨、10 mg 维生素 B₁,加蒸馏水定容至 1 000 mL,用于食用菌菌丝培养。

1.2 试验方法

1.2.1 摇瓶抑菌试验 细菌培养:在 50 mL 三角瓶中装入 10 mL 液体 LB 培养基,分别接入 100 μL *D*_{660 nm} 值为 0.8 的 3 种托拉斯假单胞杆菌菌液。

药剂处理:在 LB 培养基中接入添加不同浓度的二氧化氯消毒剂稀释液的托拉斯假单胞杆菌菌液。二氧化氯消毒剂利用 0.22 μm 无菌滤膜过滤后,用无菌水进行各浓度稀释,设置稀释 2 500、5 000、10 000、20 000、40 000、80 000、160 000 和 320 000 倍液 8 种浓度处理,每个浓度设 3 次重复,每个重复设 4 瓶。空白对照加入等量无菌水。

抑菌结果测定:各浓度处理在 160 r/min、25 ℃ 摇床中振荡培养 12 h 后,利用分光光度计测定细菌菌体密度值,测定条件为:1 倍光强、660 nm 波长。

1.2.2 二氧化氯消毒剂对食用菌菌丝生长的影响 药剂处理:PDA 培养基冷却后加入二氧化氯消毒剂 40 000 倍液,充分混匀后倒平皿,空白对照加入等量无菌水倒平皿。

食用菌菌丝培养:在添加二氧化氯消毒剂稀释液的 PDA 培养基平皿上培养各品种食用菌。利用打孔器将供试各菌株定量接种在 PDA 培养基平皿的中心点,置于 25 ℃ 恒温培养箱中培养,记录菌丝生长状况。每个食用菌品种设 3 次重复,每个重复设 3 皿。

1.3 数据分析

采用 Duncan's 新复极差法分析不同浓度二氧化氯消毒剂处理对 3 种病原菌防治效果和对食用菌菌丝生长影响的差

收稿日期:2014-08-11

基金项目:食用菌生产质量安全控制关键技术研究(编号:2013BAD16B03);国家食用菌产业技术体系(编号:CARS-24)。

作者简介:宋爽(1987—),女,硕士,河北省保定人,研究实习员,主要从事食用菌病虫害防控的研究。E-mail:songshuang1025@163.com。

通信作者:刘宇,研究员,主要从事食用菌育种及栽培研究。

E-mail:ly6828@sina.com。

异显著性。

2 结果与分析

2.1 摇瓶抑菌试验

摇瓶抑菌试验结果(表1)表明,二氧化氯消毒剂对食用菌褐斑病病原菌托拉斯假单胞杆菌有明显的抑制作用。在较低稀释倍数下(≤40 000 倍),二氧化氯消毒剂对供试的3种托拉斯假单胞杆菌的抑制率均在95%以上;稀释倍数为80 000 倍时,抑制率均在90%以上。对菌株JZB2120021来说,2 500~80 000 倍稀释液间的抑制率差异不显著,而与16 000、32 000 倍液的抑制率差异达到极显著水平;对菌株JZB2120022来说,2 500~40 000 倍稀释液间的抑制率差异不显著,而与80 000、16 000 和32 000 倍液的抑制率差异均达到极显著水平;二氧化氯消毒剂对菌株JCM21583的抑制效果最好,2 500~40 000 倍液对其完全抑制。综合以上试验数据,使用40 000~80 000 倍的二氧化氯消毒剂稀释液可以有效地抑制细菌性褐斑病病原菌,抑制率在90%以上。

表 1 不同稀释倍数二氧化氯消毒剂对托拉斯假单胞杆菌的抑制效果

二氧化氯消毒剂 稀释倍数	托拉斯假单胞杆菌抑制率(%)		
	JZB2120021	JZB2120022	JCM21583
2 500	99.19aA	99.66aA	100.00aA
5 000	98.05abA	98.69abA	100.00aA
10 000	97.54abA	98.41abA	100.00aA
20 000	97.31abA	98.19abA	100.00aA
40 000	95.30abA	97.62bA	100.00aA
80 000	91.79bA	94.58cB	97.84bB
160 000	70.31cB	75.83dC	87.62cC
320 000	31.16dC	43.74eD	56.29dD

注:同列(行)数据后面的不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。表2同。

2.2 二氧化氯消毒剂对食用菌菌丝生长的影响

在摇瓶抑菌试验的基础上,选取了二氧化氯消毒剂40 000 倍液添加到PDA培养基中,研究该剂量消毒剂对食用菌菌丝生长的影响。从表2可以看出,二氧化氯消毒剂40 000 倍液对5种食用菌菌丝生长没有产生影响。用Duncan's 新复极差法对试验结果进行分析,消毒剂添加组与对照组的菌丝生长速度差异在0.05、0.01水平上均不显著。

3 结论与 讨论

褐斑病在全国各食用菌主产区均有发生,以春秋季节最为严重,且病害一旦发生就会大面积感染,不易防治。除化学防治之外,还有其他防治方法。赵肖静等利用褐斑病弱致病力菌株筛选得到一株抗病效果好的平菇诱抗菌株,诱导抗病效果为66.73%^[5];Fermor等分离了多株托拉斯假单胞杆菌

表 2 二氧化氯消毒剂对食用菌菌丝生长的影响

食用菌品种	菌丝生长速度平均值(mm/d)	
	40 000 倍液	对照(无菌水)
平菇	11.50aA	11.17aA
双孢蘑菇	6.92aA	6.76aA
金针菇	12.46aA	11.82aA
香菇	7.26aA	7.21aA
杏鲍菇	8.40aA	8.11aA

的拮抗细菌,这些细菌可降低褐斑病的危害程度^[6]。

二氧化氯消毒剂作为一种新型环保型消毒剂,在对食用菌接种场地和出菇房的消毒上具有很好的效果。近几年,一些学者也对二氧化氯消毒剂抑制食用菌竞争性杂菌和病害方面进行了研究。黄金宝等发现必洁仕二氧化氯消毒剂对食用菌杂菌如毛霉菌、木霉菌与链孢霉菌等有非常理想的防治效果,并且用该消毒剂拌料,对平菇菌丝体萌发与生长有很好的促进作用^[7-8];张涛涛等在平菇发生褐斑病后用二氧化氯消毒剂4 000 倍液进行喷雾,可有效地控制褐斑病的蔓延^[9]。本研究明确了二氧化氯消毒剂对褐斑病病原菌托拉斯假单胞杆菌最低抑制浓度,40 000~80 000 倍液即可有效地抑制褐斑病病原菌,抑制率在90%以上,为食用菌生产的安全用药提供了据支持。

参考文献:

[1]张瑞颖,胡丹丹,左雪梅,等.平菇和双孢蘑菇细菌性褐斑病研究进展[J].植物保护学报,2007,34(5):549-554.

[2]孙婕,肖扬,边银丙.平菇褐斑病和软腐病发生规律初步调查[J].中国食用菌,2011,30(4):66,68.

[3]Raine P B, Brodey C L, Johnstone K. Identification of a gene cluster encoding three high - molecular - weight proteins, which is required for synthesis of tolaasin by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii* [J]. Molecular Microbiology, 1993, 8(4):643-652.

[4]刘南,熊鸿燕.二氧化氯消毒研究进展[J].重庆医学,2005,34(3):449-451.

[5]赵肖静,石延霞,谢学文,等.平菇细菌性褐斑病诱抗菌株筛选及诱抗效果[J].食用菌学报,2013,20(1):96-100.

[6]Fermor T R, Lynch J M. Bacterial blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*: screening, isolation and characterization of bacteria antagonistic to the pathogen (*Pseudomonas tolaasii*) [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1988, 65(3):179-187.

[7]黄金宝,林秀敏,陈文良,等.必洁仕牌复方消毒剂防治杂菌的效果试验[J].食用菌,2006,28(2):49-51.

[8]黄金宝,陈文良,张涛涛,等.必洁仕牌消毒剂对食用菌及杂菌生长的影响[J].中国食用菌,2008,27(5):49-51.

[9]张涛涛,董丹,刘伟成,等.必洁仕牌消毒剂防治平菇黄斑病药效试验[J].中国食用菌,2011,30(1):70-71.