

李宛泽,郭月霞,王忠武.玉米茎腐病生防菌的筛选鉴定及最佳培养条件研究[J].江苏农业科学,2016,44(3):148-149.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.039

玉米茎腐病生防菌的筛选鉴定及最佳培养条件研究

李宛泽,郭月霞,王忠武

(吉林农业科技学院,吉林吉林 132001)

摘要:以禾谷镰刀菌为指示菌测定生物活性,分离自土壤的 7 个细菌菌株对玉米茎腐病禾谷镰刀菌具有较强的抑菌活性,其抑菌率在 46.9%~81.3%。采用生防菌菌悬液,于发病初期对茎基部喷雾,生防菌 G3 田间防效达 78.3%,后对生防效果最好的 G3 菌株进行培养条件优化。结果表明,最优培养条件为:培养基 pH 值为 8,光照条件为光暗交替,最适合温度为 25℃。

关键词:玉米茎腐病;筛选;生防菌;培养条件

中图分类号: S435.131.4⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)03-0148-02

玉米茎腐病又称玉米茎基腐病、玉米青枯病等,是世界玉米产区普遍发生的一种土传病害。严重者玉米叶片全部黄枯,根坏死,果穗下垂,茎基髓部中空,极易折倒。发病率一般在 10%~20%,严重时可达 75%。通过化学药剂防治可以控制种传或土传病菌引起的苗期病害,但是对人体健康和生态环境造成很大的危害。随着人们健康和环保意识的增强,探索和研制高效的、对人体和生态环境无害的生防制剂引起国内外学者的普遍重视。应用生物防治手段防治玉米病害的研究日益受到重视。本试验对该病的生物防治技术进行了初步研究,通过对病株根际土壤样品的筛选获得有效控制玉米茎腐病的生防菌株。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验玉米品种为感病品种黄早 4,试验对照化学药剂为 20% 福·克可湿性粉剂。

1.2 供试病原菌

玉米茎腐病禾谷类镰刀菌,由吉林农业科技学院病理实验室提供。

1.3 生防细菌的分离

采自吉林市郊区以往茎腐病发病农田的根际土样 52 份,用 NA 培养基稀释分离,共分离菌株 107 株,将分离到的菌株编号保存。

1.4 生防菌抑菌效果测定

将 PDA 培养基培养好的供试生防菌,挑 1 环用无菌水稀释至 10^8 倍,取 2 mL 和 25 mL 的 NA 培养基混匀,倒入无菌培养皿中制成带毒培养基平板,培养基凝固后,在每个平板中接入 1 个供试菌菌饼(直径为 7 mm),使菌饼带菌丝的一面贴在培养基表面,以水与 PDA 培养基混合的平板为对照,每个处理 3 次重复,25℃ 下培养 4~7 d 后,用十字交叉法测定供

试菌生长直径,计算抑制率直径。

1.5 生防菌株田间防效小区试验

成株期伤茎根埋法接种,结合自然发病方法,对筛选到的 7 株生防菌菌株进行田间防效试验。每小区 5 行,每行 17 株玉米,9 个处理(包括 7 株生防菌,对照药剂,清水对照),每个处理 4 次重复。各生防菌用无菌水配制成 10^8 CFU/mL 的菌悬液,于发病初期对茎基部喷雾,每个小区 5 L 菌悬液。对照化学药剂使用剂量按照商品说明书剂量使用。

1.6 调查方法

8 月中旬和 9 月初对各小区进行调查,每小区逐株调查,计算防治效果:

防治效果 = [(对照田发病株数 - 防治田发病株数) / 对照田发病株数] × 100%。

1.7 发酵及培养条件的优化

1.7.1 不同碳、氮源对生防菌液抑菌活性的影响 分别以蔗糖、麦芽糖、乳糖、淀粉代替葡萄糖;再分别以硝酸钠、硝酸铵、氯化铵、尿素代替谷氨酸。按照“1.4”节的方法测定,重复 3 次,确定最佳碳源和氮源。

1.7.2 不同培养条件对生防菌液抑菌活性的影响 在其他培养条件一致的条件下,用 0.1% NaOH 溶液和 0.1% HCl 溶液配制 pH 值为 4、5、6、7、8、9 的培养皿,共 6 个处理,3 次重复,后按照“1.4”节的方法测定,确定最佳培养 pH 值。在其他培养条件一致的条件下,将培养皿分别置于 5、10、15、20、25、30、35℃ 的恒温生化培养箱,共 7 个处理,3 次重复,按照“1.4”节的方法测定,确定最佳培养温度。在其他培养条件一致的条件下,将生防菌分别置于全光照、全黑暗、光暗交替条件下于恒温生化培养箱中,共 3 个处理,3 次重复,后按照“1.4”节的方法测定,确定最佳光照培养条件。

2 结果与分析

2.1 基本菌种判别

7 株生防菌,革兰氏染色均为阳性,细胞呈直杆状,芽孢椭圆、卵圆、柱状、圆形,初步鉴定为芽孢杆菌属。

2.2 7 株菌株对玉米茎腐病的抑菌力比较

从土壤中分离到 107 株细菌菌株,抑菌圈培养有 7 株生

收稿日期:2015-02-07

基金项目:吉林农业科技学院青年基金(编号:jlnykj2009007)。

作者简介:李宛泽(1981—),女,硕士,讲师,主要从事农药分析及生物农药研究。E-mail:22198478@qq.com。

防菌对玉米茎腐病表现出抑制活性,这 7 株菌株对玉米茎腐病的抑菌率见表 1,菌丝直径均在 15 mm 以上,其中 G3 抑制活性最高,抑菌直径平均为 26.00 mm,抑制率达到 81.3%,G21,G45 次之,菌丝直径为 24.00 mm 和 23.00 mm 抑制率达 75.0% 和 71.8%,其余 4 株生防菌株,菌丝直径在 15.00 ~ 19.00 mm。

表 1 7 株菌株对玉米茎腐病的抑菌力比较

生防菌 编号	菌丝直径(mm)				抑制率 (%)
	重复Ⅰ	重复Ⅱ	重复Ⅲ	平均值	
G3	27	23	28	26.0	81.3
G21	24	23	24	24.0	75.0
G45	23	21	25	23.0	71.8
G27	18	20	19	19.0	59.3
G17	17	18	20	18.3	57.2
G44	14	18	19	17.0	53.1
G23	16	14	15	15.0	46.9
CK	32	32	34		

2.3 生防菌防治玉米茎腐病田间药效试验

从表 2 可以看出,7 株生防菌对玉米茎腐病均有防治效果,防效达到 21.1% ~ 78.3%。生防菌 G3 防效最高,达到 78.3%,与对照药剂的防治效果 81.11% 差异不显著,其次是 G21、G45,虽与对照药剂差异显著但防治效果也分别为 70.6% 和 62.0%,G27、G17、G44、G23 防治效果较差,防治效果在 47.1% ~ 21.1%。

表 2 生防菌株对玉米茎腐病的防治效果

处理	病情指数	防治效果 (%)	差异显著性 ($\alpha=0.05$)
对照药剂		81.1	a
G3	12.8	78.3	a
G21	16.7	70.6	b
G45	22.4	62.0	c
G27	30.9	47.6	d
G17	38.2	35.1	e
G44	41.5	29.6	e
G23	46.5	21.1	f
空白对照	58.9		

2.4 对生防菌 G3 发酵及培养条件的优化

2.4.1 不同碳、氮源对生防菌 G3 抑菌活性的影响 以 5 种不同碳源的培养基培养得到的生防菌 G3 对玉米茎腐病均有一定的抑菌活性,其中乳糖培养的抑菌效果最好,抑菌率为 83.1%,麦芽糖及淀粉培养的抑菌活性较差(表 3),因此,选

用乳糖作为碳源。以 5 种氮源的培养基培养得到的生防菌 G3 对玉米茎腐病均有一定的抑菌活性,其中氯化铵培养的抑菌效果最好,抑菌率为 85.1%,其次是硝酸钠和谷氨酸,最差为尿素,抑菌率为 47.1%(表 3),因此,选用氯化铵作为碳源。

2.4.2 培养条件的优化 对培养条件进行了优化,试验结果表明,培养基 pH 值为 8,光照条件为光暗交替,最适温度为 25 ℃,其抑菌活性最好。

表 3 不同碳、氮源对生防菌 G3 抑菌活性影响

碳源处理		氮源处理	
抑菌率(%)		抑菌率(%)	
乳糖	83.1	氯化铵	86.8
葡萄糖	81.3	硝酸铵	83.4
蔗糖	69.4	谷氨酸	83.1
麦芽糖	53.2	硝酸钠	60.9
淀粉	51.4	尿素	47.1

3 结论与讨论

近几年生物农药发展迅速,土壤中存在丰富的细菌资源,目前,生物农药仅占现有农药体系的很少一部分,还有很大的发展空间。本次试验共从茎腐病发病土壤中分离得到 107 株生防菌株,通过抑菌试验、田间药效试验筛选到 7 株对玉米茎腐病有较好防治效果的细菌菌株。其中 G3 田间药效最高,可达到 78.3%。在研究中还进行了对 G3 培养条件的优化,结果表明,最优培养条件为:培养基 pH 值为 8,光照条件为光暗交替,最适温度为 25 ℃。这些试验结果为下一步生防制剂的研究提供了基础。

参考文献:

[1]姜云,黄丽丽,陈长卿,等.一株拮抗番茄叶霉病菌的放线菌筛选、鉴定及发酵条件研究[J].微生物学报,2007,47(4):622-627.

[2]赵淑莉,任飞娥,刘金亮,等.玉米大斑病生防放线菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J].微生物学报,2012,52(10):1228-1236.

[3]范瑛阁,朱丽霞,龚明福.生防菌 H1 和 H2 对黄瓜霜霉病的防效测定[J].北方园艺,2012(17):149-150.

[4]赵帅,田长彦,史应武,等.黄瓜枯萎病生防菌 HD-087 产抗菌物质条件的优化及抑菌作用初探[J].微生物学通报,2013,40(5):802-811.

[5]刘晓妹,刘文波,范秀利.芒果细菌性黑斑病生防菌的筛选及防效测定[J].中国生物防治,2006,22(增刊1):94-97.

[6]童蕴慧,郭桂萍,徐敬友,等.拮抗细菌对番茄植株抗灰霉病的诱导[J].中国生物防治,2004,20(3):187-189.