

王志春, 孙星星. 防治番茄土传病害拮抗微生物的筛选与应用效果[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 86–88.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.021

防治番茄土传病害拮抗微生物的筛选与应用效果

王志春¹, 孙星星²

(1. 江苏省盐城市新洋农业试验站, 江苏盐城 224049; 2. 江苏沿海地区农业科学研究所, 江苏盐城 224002)

摘要:从番茄根际土壤中共分离出 73 株细菌, 其中 7 株细菌对番茄枯萎病病菌表现出抑菌活性, 4 株对番茄根腐病病菌表现出抑菌活性, 其中 YD11 菌株对番茄枯萎病病菌的抑菌活性最高, 抑制率达到 82.4%。同时, YD11 菌株对枯萎病及根腐病的田间防效较好, 分别为 58.8%、52.2%。研究发现, 当基质配方中酱渣、草炭、蛭石的质量比为 5:1:1 时, 与拮抗菌株 YD11 稀释液混合对番茄枯萎病和根腐病的防治效果最好, 防治效果分别为 80.7%、73.9%, 推荐在农业生产上使用。

关键词:番茄; 枯萎病; 根腐病; 拮抗菌株

中图分类号: S436.412.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)03-0086-02

植物土传病害^[1-2]是发生在植物根部或茎部以土壤为媒介进行传播的病害的统称, 包括根腐病、枯萎病、猝倒病、立枯病、疫病、黄萎病等。土传病害已经成为严重制约我国设施果蔬业发展的主要因素, 这类病害的病原物生活史一部分或大部分存在于土壤中, 在条件适宜时病原物萌发并侵染植物根部或茎部导致植物发生病害。

江苏省沿海地区设施蔬菜种植面积大, 其中以茄果类、叶菜类种植为主, 由于种植高度集约化、复种指数高、品种单一等原因给土传病害病原菌提供了赖以生存的场所, 造成土传病害发生不断加重。造成土传病害的主要原因通常有 3 个方面^[3]。首先是作物连作, 相应的病原菌得以连续繁殖, 在土壤中大量积累, 形成病土, 茄科蔬菜连作, 疫病、枯萎病等发生较严重; 其次是施肥不当, 偏施氮肥可以刺激土传病害病原菌中的镰刀菌、轮枝菌和丝核菌生长, 从而加重土传病害的发生; 再次是线虫侵害, 土壤中的线虫侵害根系, 可以造成伤口, 有利于病原菌侵染, 线虫与真菌性病害往往同时发生, 如棉花枯萎病与土壤线虫密不可分, 在美国棉花枯萎病被称为“枯萎-线虫”复合病害。

本研究以江苏省沿海地区番茄枯萎病与根腐病为例, 筛选对设施土壤中常见病原菌具有较强抑制作用的拮抗微生物, 并研究它与农业废弃物的混用配方, 以期减少化学农药的使用, 保护土壤并实现农业的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

盆栽基质: 酱渣, 由江苏省盐城市光明酱油厂提供; 草炭、蛭石, 均为市售。供试作物: 番茄品种为金鹏 1 号, 购自西安

金鹏种苗有限公司。

PDA 培养基: 200 g 马铃薯, 20 g 葡萄糖, 15~20 g 琼脂, 1 000 mL 超纯水。NA 培养基: 10.0 g 蛋白胨, 3.0 g 牛肉粉, 5.0 g 氯化钠, 15.0 g 琼脂, pH 值为 7.3±0.1。

1.2 试验方法

1.2.1 拮抗菌株的分离 于江苏省盐城市射阳县(SY)、亭湖区(TH)、盐都区(YD)采集发生番茄土传病害的土壤, 采用稀释法分离细菌。将分离得到的产物置于 PDA 培养基上, 于 28℃ 恒温培养箱中培养 48 h, 挑取单菌落纯化。拮抗细菌的分离、纯化和培养均在 NA 培养基中进行。

1.2.2 番茄枯萎病孢子悬浮液制备方法 将尖孢镰刀菌番茄专化型[*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder et Hansen]菌株接种于固体 PDA 培养基平板上, 于 28℃ 恒温培养箱中培养。待菌丝长满培养基表面后用打孔器将其制成直径为 6 mm 的菌块。将菌块接种于 250 mL 装有液体 PDA 培养基的三角瓶中, 而后置于 28℃、120 r/min 的摇床中培养, 待培养基悬液长出明显菌丝并变为深红色时, 将培养基悬浮液用灭菌纱布过滤, 收集病原菌孢子悬浮液。孢子悬浮液用无菌水重悬后适当稀释, 用血球计数板统计孢子浓度, 将孢子悬浮液的浓度调至 1×10⁶ CFU/mL 备用。番茄根腐病病菌孢子悬浮液的制备方法同上。

1.2.3 拮抗菌株筛选方法 采用抑制菌丝生长法筛选拮抗菌。用接种环挑取 1 环 PDA 培养基上的菌株, 用无菌水稀释 10⁷ 倍, 取 2 mL 10⁷ 倍稀释液与 23 mL NA 培养基混合倒平板。在每个平板中心接种 1 个 6 mm 的菌块, 菌块带菌丝一面靠在培养基表面, 于 28℃ 恒温培养箱培养 7 d, 十字交叉法测定菌丝的直径。每个处理重复 4 次, 以无菌水与 NA 培养基混合作为对照。

1.2.4 拮抗菌株田间小区试验 接种方法采用灌根并结合自然发病方法。选取室内筛选出的抑菌能力较强的菌株, 每个处理 4 次重复, 小区面积为 30 m²。在番茄 6~7 片真叶时开始移栽, 移栽时采用孢子悬浮液灌根法接种番茄枯萎病病菌和根腐病病菌。移栽 10 d 后, 采用灌根法施用 50 mL 拮抗菌株 10⁷ 倍稀释液, 隔 10 d 再施用 1 次, 以清水处理作为对

收稿日期: 2016-10-29

基金项目: 苏北科技专项(富民强县)(编号: BN2016146)。

作者简介: 王志春(1972—), 男, 江苏盐城人, 副研究员, 主要从事资源环境研究。E-mail: wzczyzh@126.com。

通信作者: 孙星星, 硕士, 助理研究员, 主要从事天敌生态防治以及植物保护研究。E-mail: 13921865625@163.com。

照。处理 10 d 后调查田间发病率及防治效果。发病率 = 调查发病株数/调查总株数 × 100% ; 防效 = [(对照区发病株数 - 处理区发病株数) / 对照区发病株数] × 100% 。

1.2.5 拮抗菌株与基质混合对枯萎病、根腐病的抑制试验
本试验共设 5 个处理,处理 A:草炭、蛭石质量比为 1 : 1 ;处理 B:草炭、蛭石质量比为 1 : 1 + 拮抗菌株稀释液;处理 C:酱渣、草炭、蛭石比为 1 : 1 : 1 + 拮抗菌株稀释液;处理 D:酱渣、草炭、蛭石质量比为 5 : 1 : 1 + 拮抗菌株稀释液;处理 E:酱渣、草炭、蛭石质量比为 10 : 1 : 1 + 拮抗菌株稀释液。将上述基质按比例混合后装入花盆中,用拮抗菌株稀释液将基质浇透,将番茄幼苗(6 ~ 7 片真叶)移入盆内,每盆 1 株,3 d 后采用灌根法接种番茄枯萎病病菌和根腐病病菌。15 d 后检查发病株数及防治效果。

2 结果与分析

2.1 室内抑菌能力的测定结果

从江苏省盐城市射阳县 (SY)、亭湖区 (TH)、盐都区 (YD) 发生番茄土传病害的根际土壤中共分离到 7 株细菌,其中,7 株菌株对番茄枯萎病病菌表现出抑菌活性(表 1),4 株菌株对番茄根腐病病菌表现出抑菌活性(表 2)。由表 1、表 2 可知,YD11 菌株对番茄枯萎病病菌的抑菌活性最高,抑制率高达 82.4%,TH2、TH14 菌株次之,抑制率分别为 73.4%、72.4%。TH2 菌株对番茄根腐病病菌的抑制能力最好,抑制率为 76.5%,其次为 YD11 菌株,抑制率为 73.3%。综上所述,YD11 菌株对番茄枯萎病病菌和根腐病病菌均表现出较好的抑制能力。

表 1 7 株菌株对番茄枯萎病抑菌活性测定

菌株编号	菌丝直径(mm)					抑制率 (%)
	重复 1	重复 2	重复 3	重复 4	平均值	
SY4	15.4	12.1	11.9	14.8	13.6	59.3
SY19	11.5	10.9	8.7	9.4	10.1	69.6
YD11	6.1	7.5	4.3	5.6	5.9	82.4
TH6	15.4	8.3	7.4	9.2	10.1	69.7
TH2	11.3	11.6	5.4	7.1	8.9	73.4
TH14	7.7	6.5	12.1	10.5	9.2	72.4
TH22	13.3	12.9	15.8	14.6	14.2	57.5
对照	33.5	33.2	31.9	34.4	33.3	

表 2 4 种菌株对番茄根腐病抑菌活性测定

菌株编号	菌丝直径(mm)					抑制率 (%)
	重复 1	重复 2	重复 3	重复 4	平均值	
SY4	17.2	13.1	15.6	14.3	15.1	56.4
YD11	11.3	9.4	8.5	7.7	9.2	73.3
TH2	8.6	5.4	7.3	7.2	8.1	76.5
TH22	12.3	11.1	13.7	10.2	11.8	65.7
对照	35.6	32.1	34.9	35.2	34.5	

2.2 拮抗菌株对番茄枯萎病、根腐病的田间防效

由表 3 可知,处理 10 d 后,YD11 菌株对番茄枯萎病及根腐病的田间防效较好,分别为 58.8%、52.2% ; TH2 菌株对番茄根腐病的防效次之,达到 52.0% ,但对番茄枯萎病的防效仅为 39.2% ; TH6 菌株对番茄枯萎病的防效为 47.2% ,但对番茄根腐病的防效仅为 37.3% 。综上所述,YD11 菌株对番

表 3 拮抗菌株对番茄枯萎病、根腐病的田间防效

拮抗菌株	番茄枯萎病		番茄根腐病	
	发病率 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	防治效果 (%)
YD11	22.4	58.8aA	25.4	52.2aA
TH2	33.1	39.2cB	25.5	52.0aA
TH6	28.7	47.2bC	33.3	37.3bB
对照	54.4		53.1	

注:数据后不同大写、小写字母分别表示与对照相比在 0.01、0.05 水平上差异显著。下表同。

茄枯萎病及根腐病的防治效果较为突出。

2.3 拮抗菌株 YD11 与基质混合对枯萎病和根腐病抑制试验

通过室内筛选及田间药效试验确定 YD11 菌株对番茄枯萎病及根腐病的防治效果较好,将 YD11 菌株与不同基质混合后,由表 4 可知,基质配方中酱渣、草炭、蛭石的质量比为 5 : 1 : 1 时,与拮抗菌株 YD11 稀释液混合对番茄枯萎病和根腐病的防治效果最好,其对番茄枯萎病的防治效果极显著高于其他处理($P < 0.01$) ; 处理 D 与处理 E 对番茄根腐病的防治效果无显著性差异,但极显著高于其他($P < 0.01$)。不含酱渣的基质配方混合拮抗菌株稀释液对番茄枯萎病与根腐病防治效果最差,分别仅为 34.0%、21.8% 。

表 4 YD11 拮抗菌株与基质混合对枯萎病和根腐病抑制试验

拮抗菌株	番茄枯萎病		番茄根腐病	
	发病率 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	防治效果 (%)
处理 A	59.2		51.3	
处理 B	39.1	34.0cD	40.1	21.8cC
处理 C	28.2	52.4bC	33.2	35.3bB
处理 D	11.4	80.7aA	13.4	73.9aA
处理 E	12.6	78.7bB	14.3	72.1aA

3 结论与讨论

当前设施蔬菜土传病害的防治主要依赖化学药剂(阿维菌素、噻唑磷等),长期使用化学药剂导致病株菌的抗性迅速上升,同时对环境造成较大的压力。有研究表明,作物发生土传病害的关键因素是土壤微生物区系的改变,即有益细菌优势群落严重降低,而引起病害的真菌群落明显增加^[4]。目前,报道对设施蔬菜造成危害的土传病害病原菌主要有疫病病菌(*Phytophthora cactorum*)、根腐病病菌(*Fusarium solani*)、黑斑病病菌(*Alternaria panax*)、菌核病病菌(*Seclerotinia* sp.)、软腐欧文氏菌(*Erwinnia carotovora*)、立枯丝核病菌(*Rhizoctonia solani*)、腐霉病病菌(*Pythum* sp.) ,不同地区由于栽培管理方式之间的差异,土传病害优势种群有一定的差异,江苏省沿海地区设施蔬菜上主要以枯萎病、黄萎病、青枯病、疫病发生为主,对当地蔬菜品质与产量造成严重的危害^[5]。据报道,对土传病害作用显著的微生物主要有枯草芽孢杆菌、放射形土壤杆菌、淀粉液化芽孢杆菌、铜绿假单胞菌、荧光假单胞菌等。

关于基质中添加农用废弃物的报道^[6-7]已有很多,包括醋糟、菌糠发酵物、鸡粪、猪粪等,但关于酱渣的报道不多,本

李再园,马跃坤,王福莲,等. 施氮水平对水稻抵御白背飞虱能力的影响机制[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):88-91.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.022

施氮水平对水稻抵御白背飞虱能力的影响机制

李再园, 马跃坤, 王福莲, 田小海

(长江大学昆虫研究所/湖北省主要粮食作物协同创新中心,湖北荆州 434025)

摘要:以 TN1 水稻为材料,氮肥为底肥,设置 6 种不同施氮水平(0、50、150、200、250、350 kg/hm²),研究不同施氮水平下水稻对白背飞虱的忌避性及其与水稻叶绿素含量[土壤、作物分析仪器开发(soil and plant analyzer development,简称 SPAD),以下叶绿素含量简称 SPAD 值]、主茎含水量、地上部干物质量的相关性。结果表明,对白背飞虱的忌避性以未施氮(0 kg/hm²)水稻最强,高施氮量(200、250、350 kg/hm²)水稻较弱,中低氮量(150、50 kg/hm²)水稻的忌避性随着白背飞虱选择定居时间延长而增强,低施氮量水稻增强至与未施氮水稻无差异。水稻 SPAD 值、主茎含水量和地上部干物质量均以未施氮水稻最低,中低氮量(150、50 kg/hm²)水稻次之,高施氮量(200、250、350 kg/hm²)水稻较高。与对照相比,随着施氮量的增加,水稻 SPAD 值、主茎含水量和地上部干物质量有上升趋势,且均与不同施氮水平水稻忌避性呈负相关。本研究结果为选择抗性或耐性品种、田间合理控制氮肥用量、构建白背飞虱长效调控技术提供决策依据。

关键词:施氮量;水稻;白背飞虱;抵御机制;叶绿素;含水量;忌避性

中图分类号:S435.112⁺.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)03-0088-04

白背飞虱是目前影响我国水稻稳产、高产的主要虫害之一,其成虫、若虫直接刺吸稻株的韧皮部汁液,造成水稻生长缓慢,分蘖延迟,瘪粒增加;为害严重时,造成稻株枯死,呈“虱烧”状^[1]。同时白背飞虱在取食过程中可传播其他病害和病毒,如水稻南方黑条矮缩病、水稻齿矮病、云南烟草丛枝症等^[2-3]。氮肥在水稻产量和品质形成中起着关键作用,氮肥的过量施用被确认为是诱发某些飞虱(褐飞虱)种群暴发的关键因素之一。施氮肥后,水稻体内叶绿素^[4]、游离氨基酸^[5]、可溶性糖^[6]、含水量^[7]、地上部干物质^[8]等的含量提高,促进昆虫对其选择性,并对昆虫种群数量产生影响。

有研究表明,褐飞虱喜欢在施用氮肥的水稻植株上取食和产卵^[9]。施用氮肥较多的水稻可以承受高密度的褐飞虱,提高其种群的迁出临界密度,降低种内竞争,从而造成更重的

田间危害程度^[10]。水稻叶绿素含量与褐飞虱种群发生量呈正相关关系,其可作为监测褐飞虱种群的一项指标^[11-12]。水稻叶片含水量与其对飞虱的抵御能力呈负相关性^[13],褐飞虱虫口密度与抗性品种(协优 963)和敏感品种(TN1)叶片水势均呈正相关关系^[14]。重度水分胁迫下褐飞虱成虫(若虫)取食时间、唾液分泌时间较轻度水分胁迫下显著增加,蜜露分泌量显著减少^[15]。同时研究发现,白背飞虱种群数量随着氮肥施用量的增加而显著提高^[16]。但施氮水平对水稻抵御白背飞虱能力的影响机制尚不明确。我国是氮肥使用大国,约占世界使用量的 30%,水稻合理施用氮肥范围为 150~250 kg/hm²^[17],我国超出合理使用量的上限种植面积占播种面积的 20%,施氮量高达 350 kg/hm²,且有逐渐增长趋势^[18]。所以,本研究在不同施氮水平下,水稻对白背飞虱的忌避性差异以及这种差异与不同施氮水平水稻的叶绿素含量[土壤、作物分析仪器开发(soil and plant analyzer development 简称 SPAD),以下叶绿素含量简称 SPAD 值]、含水量和地上部干物质量等生理物质变化的相关关系,并分析施氮水平对水稻的白背飞虱抵御能力的影响机制,为提高水稻自身抵御白背飞虱的能力,选择抗性或耐性品种,合理控制氮肥用量,构建白背飞虱长效调控技术提供依据。

收稿日期:2016-09-05

基金项目:湖北省主要粮食作物协同创新中心开放基金(编号:2015MS023)。

作者简介:李再园(1993—),男,陕西渭南人,硕士研究生,研究方向为害虫综合治理。E-mail:zaiyuanli01@163.com。

通信作者:王福莲,硕士,副教授,研究方向为害虫综合治理。E-mail:wangfl_hb@163.com。

研究的结果为农业废弃物的处理提供了一条新的思路,并为防治植物土传病害提供了新的理论依据。

参考文献:

- [1] 李长松. 拮抗性细菌生物防治植物土传病害的研究进展[J]. 中国生物防治学报,1992,8(4):168-172.
- [2] 黎起秦,陈永宁. 植物土传病害拮抗真菌的筛选[J]. 西南农业学报,1999,12(3):81-84.
- [3] 王玉菊,祁红英,郭坚华. 植物土传病害的微生物防治研究进展

- [J]. 世界农业,1995(1):37-39.
- [4] 付琳. 新垦香蕉园施用生物有机肥构建防控土传枯萎病土壤微生物区系研究[D]. 南京农业大学,2016.
- [5] 梁雪杰. 番茄土传病害拮抗菌的筛选,鉴定及其防病机理初探[D]. 南京:南京农业大学,2013.
- [6] 林英. 醋糟基质对土传病害的抑制效果及其拮抗微生物的研究[D]. 镇江:江苏大学,2014.
- [7] 周巍. 菌糠发酵物对常见黄瓜土传病害防治及土壤微生物群落影响[D]. 北京:北京林业大学,2012.