

张献辉,李红敏,李全胜.解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 及其复配制剂对枣黑斑病的防治效果[J].江苏农业科学,2019,47(13):137-139.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.13.034

解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 及其复配制剂 对枣黑斑病的防治效果

张献辉,李红敏,李全胜

(新疆农垦科学院林园研究所,新疆石河子 832000)

摘要:为了研发控制黑斑病的生物防治方法,以平板对峙法测定解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 和枯草芽孢杆菌对枣黑斑病菌的抑制效果,并采用田间喷雾法分析这 2 种菌在不同浓度、不同时期以及与杀菌剂混施时对枣黑斑病防治效果。结果表明,解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 和枯草芽孢杆菌对枣黑斑病菌均有较强的抑制作用,抑制率分别为 77.53%、81.38%。2 种生防菌能明显降低黑斑病发生,其中以解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 菌悬液 100 倍液和多抗霉素 200 倍液混施的防治效果最好,发病率控制在 2.12%,防效高达 85.87%。

关键词:枣;病害;生物防治;解淀粉芽孢杆菌;黑斑病

中图分类号: S436.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)13-0137-03

枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)是原产中国并且独具特色的重要果树,已有七千多年的栽培历史;枣果的药用价值和营养价值都很高,是典型药食兼用的果品之一^[1]。日照长、温差大、土壤通透性好等新疆独特的自然条件特别适合枣树生长,使新疆成为枣树的主要优生区之一。随着新疆枣树产业的大力发展,截至 2016 年年底,种植面积已达 50.45 万 hm^2 ,居全国首位^[2]。红枣产业是新疆发展最快、效益最突出、惠民成效最显著的一项产业^[3]。然而自 2010 年以来,枣黑斑病在南疆垦区发生普遍,病果率可达 30% 以上。枣黑斑病危害枣果、枣叶和枣花,甚至已严重影响新疆红枣产业的健康发展^[4]。

生物农药符合环境保护、食品安全和人类健康的需要,是目前条件下化学杀菌剂的理想替代品,获得高效生防菌是生物防治的基础。解淀粉芽孢杆菌 ZJ01(生防菌 ZJ01)是由河北农业大学中国枣研究中心筛选的对枣树链格孢、毁灭茎点

霉等病原菌具有较强抑制作用的一种生防细菌,新疆农垦科学院林园研究所自 2011 年引入。芽孢杆菌属菌株通过分泌抗菌物质、营养竞争和诱导植株产生免疫反应等方式在防治植物病害中发挥着重要作用^[5-8]。本研究以生防菌 ZJ01 和枯草芽孢杆菌为试材,通过平板试验、大田试验,明确生防菌 ZJ01 对枣黑斑病的抑制作用及其防治效果,为今后大面积推广应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为河北农业大学中国枣研究中心提供的解淀粉芽孢杆菌 ZJ01(生防菌 ZJ01)。60% 唑醚·代森联水分散粒剂、25% 醚菌酯悬浮剂、3% 多抗霉素可湿性粉剂,市售;10 亿活芽孢/g 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂(保定市绿丰生化科技有限公司)。

试验地点位于新疆生产建设兵团 44 团 10 连 15 号枣园,试验时间 2017 年 5—11 月,供试品种为 9 年生骏枣,试验面积 0.15 hm^2 ,枣树株行距为 2 m × 3 m,长势良好,耕作条件一致。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基制备 以 PDA 培养基培养枣黑斑病菌和生防

收稿日期:2018-08-21

基金项目:新疆生产建设兵团科技攻关与成果转化计划(编号:2016AD030)。

作者简介:张献辉(1984—),男,河北元氏人,硕士,副研究员,主要从事果树栽培及生理研究。E-mail:zxh20088@126.com。

参考文献:

- [1] 范昭鹤. 槟榔芋高产栽培技术[J]. 农技服务, 2009, 26(2): 130-131.
- [2] 王国馨, 罗灿辉, 刘克颐. 槟榔芋软腐病的研究[J]. 湖南农学院学报, 1989, 15(2): 50-57.
- [3] 赵江涛, 赵延存, 黄开红, 等. 芋头软腐病拮抗菌的筛选及生防效果研究[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 155-159.
- [4] Toth I K, Bell K S, Holeva M C, et al. Soft rot erwiniae: from genes to genomes[J]. Molecular Plant Pathology, 2003, 4(1): 17-30.
- [5] 修建华, 姬广海, 王敏, 等. 魔芋软腐病菌分子鉴定与遗传多样性[J]. 微生物学报, 2006, 46(4): 522-525.

- [6] 游世奇, 曹雪梅. 槟榔芋主要病虫害的发生与防治[J]. 现代园艺, 2009(9): 37-38.
- [7] 方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 195-211.
- [8] 陈娇梅, 蔡学清, 邱思鑫, 等. 柑橘溃疡病生防细菌的分离鉴定[J]. 热带作物学报, 2014, 35(7): 1398-1403.
- [9] 龙超安. 酵母菌的分离、筛选以及对柑橘保鲜的机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005: 12-13.
- [10] 谷会, 朱世江, 詹儒林. 辣椒采后软腐病拮抗菌的分离及生防效果[J]. 热带作物学报, 2012, 33(7): 1276-1280.
- [11] 韩立荣, 张华姣, 高保卫, 等. 放线菌 11-3-1 对油菜菌核病的防治作用与菌株鉴定[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 97-102.

菌;以 NB 培养液进行生防菌的液体培养。具体方法参照方中达的植病研究方法^[9]。

1.2.2 生防菌 ZJ01 的发酵 生防菌 ZJ01 的发酵委托河北省农林科学院植物保护研究所进行,发酵后配制为 5.0×10^9 CFU/L 悬浮液,备用。

1.2.3 枣黑斑病的平皿对峙 采用平皿对峙法^[10],进行 10 亿/g 枯草芽孢杆菌及生防菌 ZJ01 对枣黑斑病的抑制分析。在超净工作台上将 PDA 培养基倒平板凝固之后备用,分别挑取新鲜培养的病原菌菌饼(直径 6 mm)放在 PDA 培养基平板一侧的中间,同时在相对一侧的中间放置同样大小的芽孢杆菌菌饼,二者相距 2 cm,以未置芽孢杆菌的病原菌平板为对照。以上每处理重复 3 次,25 ℃ 恒温培养,培养 7 d 后观察并测量抑菌圈直径大小,计算抑制率。

抑制率 = $\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$ 。

1.2.4 枣黑斑病的田间防治 设置 3 个浓度梯度,以清水为对照。每个处理为 1 个小区,每个小区重复 2 次,共 30 个小区,随机排列。试验在无阴雨条件下进行。5 月 15 日进行第 1 次喷施,间隔期 15~20 d,共 4 次。在 7 月下旬田间发病前标定调查样株,每株分中部方位中西南北 4 个方向标定 4 枝,枝龄 2 年以上,每枝定果 5 个枣吊共计 20 个枣吊,于 10 月中下旬枣果黑斑病发病盛期调查发病情况(表 1)。

发病率 = $\frac{\text{调查发病果数}}{\text{调查枣果总数}} \times 100\%$;

病情指数 = $\frac{\sum(\text{各级发病数} \times \text{各级代表值})}{(\text{调查总果数} \times \text{最高级代表值})} \times 100$;

相对防效 = $\frac{(\text{对照发病率} - \text{处理发病率})}{\text{对照发病率}} \times 100\%$ 。

表 1 枣黑斑病田间危害调查标准

危害等级	代表值	分级标准
I	1	发病较轻,较小病点
II	2	发病一般,较小病斑
III	3	发病较重,较多病斑
IV	4	发病严重,连片病斑
V	5	发病相当严重,果实溃烂

1.2.5 不同喷施时期对黑斑病田间防治效果 药剂为稀释 100 倍的生防菌 ZJ01 悬浮液,设 5 个喷施时期:(1)花期;(2)幼果期;(3)果实膨大期;(4)果实白熟期;(5)果实半红期。每个处理为 1 个小区,每个小区重复 2 次,共 10 个小区,随机排列。调查方法同“1.2.4”节。

1.2.6 生防菌 ZJ01 与低浓度化学药剂混施试验 试验处理:解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 悬浮液及 60% 唑醚·代森联、25% 醚菌酯、3% 多抗霉素 2 个较佳浓度混合即 ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 60% 唑醚·代森联 1 500 倍液、ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 60% 唑醚·代森联 2 000 倍液、ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 25% 醚菌酯 2 000 倍液、ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 25% 醚菌酯 2 500 倍液、ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 3% 多抗霉素 100 倍液、ZJ01 悬浮液 100 倍液 + 3% 多抗霉素 200 倍液 6 个处理,每个处理为 1 个小区,每个小区重复 2 次,共 12 个小区,随机排列。试验于 5 月 15 日第 1 次施药,之后每 15~20 d 施药 1 次,共施药 4 次。调查方法同“1.2.4”节。

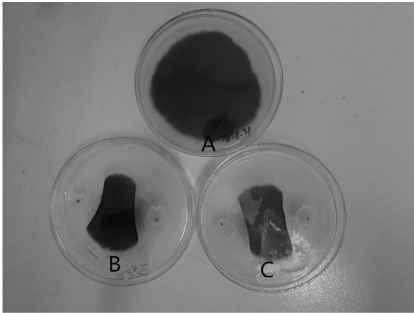
1.3 数据分析

利用 DPS 7.05 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生防菌剂对病原菌的抑制作用

通过平板对峙法测定了生防菌 ZJ01 和枯草芽孢杆菌对枣黑斑病原(链格孢菌)的抑制作用(图 1)。结果表明,生防菌 ZJ01 和枯草芽孢杆菌均有较强的抑制作用,抑制率分别为 77.53%、81.38%。



A—对照;B—生防菌 ZJ01;C—枯草芽孢杆菌

图 1 生防菌 ZJ01 及枯草芽孢杆菌对链格孢菌的抑制作用

2.2 生防菌 ZJ01 不同剂量对枣黑斑病的田间防效

生防菌 ZJ01 菌悬液 100 倍液、不同浓度的化学药剂的防效均超过 70%,表明生防菌 ZJ01 对黑斑病有较强的防治效果。生防菌 ZJ01 相比枯草芽孢杆菌对枣黑斑病的整体防治效果较好,3% 多抗霉素 200 倍液对枣黑斑病的防治效果最好,发病率控制在 2.92%,病情指数为 1.67,防效高达 80.53%,效果稍好于 3% 多抗霉素 100 倍液的效果,与其余各处理差异显著(表 2)。

表 2 不同剂型剂量对枣黑斑病防治效果对比分析

药剂	稀释倍数	病情指数	发病率 (%)	相对防效 (%)
枯草芽孢杆菌	200	5.00	7.50	50.0d
	250	5.63	8.75	41.67e
	300	6.04	9.38	37.47e
ZJ01 菌悬液	50	4.58	7.50	50.0d
	100	2.29	4.38	70.80b
	200	2.71	5.00	66.67bc
60% 唑醚·代森联	1 000	3.13	5.16	65.60bc
	1 500	2.40	3.85	74.33ab
	2 000	3.13	4.45	70.33b
25% 醚菌酯	2 000	3.88	5.75	61.67c
	2 500	3.23	5.23	65.13bc
	3 000	3.76	6.18	58.80c
3% 多抗霉素	100	1.87	3.13	79.13a
	200	1.67	2.92	80.53a
	300	2.29	3.87	74.2ab
清水		10.63	15.00	

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。表 3、表 4 同。

2.3 生防菌 ZJ01 不同喷施时期对黑斑病的防治效果

通过田间喷施试验发现,不同喷施时期对黑斑病防治效果差异显著,在果实膨大期喷施菌剂对黑斑病防效最好,为 58.33%,发病率和病情指数也比较低,分别为 6.25%、3.44,在果树花期和幼果期喷施菌剂对黑斑病均有一些效果,好于

果实白熟期以后喷施(表 3)。

2.4 生防菌 ZJ01 与低浓度药剂混施对黑斑病的田间防治效果

表 3 不同时期喷施药剂对枣黑斑病防治效果对比分析

喷药时期	病情指数	发病率(%)	相对防效(%)
对照	10.63	15.0	
花期	3.91	7.50	50.00ab
幼果期	3.75	8.10	46.00b
果实膨大期	3.44	6.25	58.33a
果实白熟期	5.63	10.00	33.33c
果实半红期	6.56	11.88	20.80d

表 4 ZJ01 与低浓度化学药剂混施对黑斑病防治效果对比分析

药剂	稀释倍数	病情指数	发病率(%)	相对防效(%)
ZJ01 菌悬液 + 60% 唑醚 · 代森联	100 + 1 500	2.26	3.39	77.40b
ZJ01 菌悬液 + 60% 唑醚 · 代森联	100 + 2 000	2.43	3.93	73.80bc
ZJ01 菌悬液 + 25% 醚菌酯	100 + 2 000	3.64	5.45	63.67c
ZJ01 菌悬液 + 25% 醚菌酯	100 + 2 500	3.05	4.88	67.47c
ZJ01 菌悬液 + 3% 多抗霉素	100 + 100	1.64	2.73	81.80ab
ZJ01 菌悬液 + 3% 多抗霉素	100 + 200	1.23	2.12	85.87a
清水		10.63	15.00	

3 结论与讨论

目前,生产上用于防治枣黑斑病的药剂主要包括唑醚 · 代森联、多抗霉素、醚菌酯、多菌灵、代森锰锌等杀菌剂。随着人们对于食品安全的关注,病害抗药性的产生,化学药剂对环境的污染日益严重,枣树果实病害防治新方法成为研究热点,其中以采用拮抗菌、中草药、以及药剂与拮抗菌结合的方式为主^[11-13]。与用中草药防治果树病害相比,生防菌株制作过程简单,且价格低廉,易获得而更受青睐。齐爱勇等^[14]、申红妙等^[15]以芽孢杆菌为试材测试了标记菌株的稳定性及其对葡萄霜霉病菌的抑制作用,本研究发现芽孢杆菌对链格孢菌有较强的抑制作用说明了芽孢杆菌抑菌具有广谱性。王军等用枯草芽孢杆菌菌株 XL12 发酵液对冬枣黑斑病进行了田间小区防治试验,结果表明防治效果达到 80% 以上,明显高于化学药剂的防治效果^[16],本研究中相对防效低于该研究中的防效可能与新疆南疆地区特殊干燥的气候条件有关,有待进一步研究。薛梦林等研究得出成团泛菌 B501 和梅奇酵母新种 (*M. zizyphicola* XY201) 的生防效力通过改良剂氯化钙得以提高,而且与低浓度化学杀菌剂扑海因或施保克的组合使用也是一种有效的方法^[17]。本研究以生防菌 ZJ01 悬浮液与低浓度化学药剂多抗霉素混施对枣黑斑病进行了田间防治,发现在枣花期到果实膨大期适当选用低浓度高效的化学杀菌剂,同时配合 ZJ01 生防制剂可以起到非常好的防治黑斑病的效果。

参考文献:

[1] 刘孟军,王玖瑞,刘平,等. 中国枣生产与科研成就及前沿进展[J]. 园艺学报,2015,42(9):1683-1698.
[2] 新疆维吾尔自治区统计年鉴[M]. 乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2017:180-181.
[3] 周丽,杨伟志,王长柱,等. 新疆红枣优生区研究[J]. 果树学报,2015,32(3):453-459.
[4] 张献辉,郭玉,陈奇凌,等. 枣黑斑病发生及防治研究现状[J]. 新疆农垦科技,2017,40(1):31-33.

田间试验表明,生防菌 ZJ01 与低浓度化学药剂混施可提高化学药剂防治效果(表 4)。生防菌 ZJ01 菌悬液与 3% 多抗霉素对黑斑病防治效果均优于各个药剂单施,其中生防菌 ZJ01 100 倍液与 3% 多抗霉素 200 倍液混施防效最好,为 85.87%;生防菌 ZJ01 与 60% 唑醚 · 代森联混施对黑斑病防治效果均优于各个药剂单施,其中生防菌 ZJ01 100 倍液与 60% 唑醚 · 代森联 1 500 倍液混施防效较好;生防菌 ZJ01 菌悬液与 25% 醚菌酯混施效果优于 25% 醚菌酯单施,低于生防菌 ZJ01 菌悬液 100 倍液单施。

[5] Arrebola E, Jacobs R, Korsten L. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010,108(2):386-95.
[6] Sutyak K E, Wirawan R E, Aroutcheva A A, et al. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilisin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008,104(4):1067-74.
[7] 黄金堂. 大麦白粉病抗性的遗传分析[J]. 麦类作物学报,2011,31(1):35-40.
[8] Xu H M, Rong Y J, Zhao M Xin, et al. Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014,98(1):127-136.
[9] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998:203-205.
[10] 程敏,徐秋芳. 解淀粉芽孢杆菌植物亚种 CGMCC 11640 对山核桃干腐病菌的抑制机制[J]. 浙江农林大学学报,2017,34(2):326-331
[11] 张应焰,尹彩萍. 15 种中药提取物对几种植物病原菌抑菌活性的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2005(增刊1):175-177.
[12] 马荣,刘晓琳,梁英梅,等. 枣果黑斑病发生相关因素分析及田间药效试验[J]. 中国农学通报,2015,31(16):182-189.
[13] 池振江,孙洁,李进,等. 4 种生物农药对新疆枣果黑斑病的室内及田间药效试验[J]. 农药,2014,53(7):515-517.
[14] 齐爱勇,赵绪生,刘大群. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究现状[J]. 中国农学通报,2011,27(12):277-280.
[15] 申红妙,李正楠,贾招闪,等. 内生枯草芽孢杆菌 J14 在葡萄叶上的定殖及其对葡萄霜霉病的防治[J]. 应用生态学报,2016,27(12):4022-4028.
[16] 王军,陈爱香,辛玉成. 枯草芽孢杆菌 XL12 发酵液蛋白对冬枣黑斑病原的抑制效果[J]. 贵州农业科学,2011,39(2):114-116.
[17] 薛梦林,张力群,张继澍,等. 拮抗菌 B501 的鉴定及其对采后冬枣黑斑病的抑制效果[J]. 中国生物防治,2008(2):122-127.