

鲁海菊,李丽莎,谢欣悦,等.木霉 P3.9 菌株对枇杷根际土著细菌数量的影响[J].江苏农业科学,2020,48(11):89-92.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.11.017

木霉 P3.9 菌株对枇杷根际土著细菌数量的影响

鲁海菊,李丽莎,谢欣悦,沈云玫,王 栋

(红河学院生命科学与技术学院,云南蒙自 661199)

摘要:以枇杷内生木霉 P3.9 菌株为供试菌株,用稀释涂布平板法与种群密度法,检测木霉 P3.9 菌株对枇杷根际土著细菌数量的影响。结果表明,在 5~25 d 期间,以 5 d 为周期处理组细菌数量前 10 d 呈减增变化,后 10 d 细菌数量持续减少。对照组细菌数量前 5 d 减少,10~15 d 期间保持稳定,后 5 d 增加。木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 20~80 d 期间,处理组细菌数量变化趋势与对照组完全一致,其中在 20~50 d 期间,处理组细菌数量波动幅度大于对照组。80~90 d 期间,处理组细菌数量变化趋势与对照组相反。将木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 3 个月内,处理组细菌数量明显高于对照,木霉 P3.9 菌株可促使枇杷根际土壤细菌数量增加。

关键词:枇杷;木霉;根际土著细菌;根际土壤;细菌数量

中图分类号: S436.67⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)11-0089-03

枇杷(*Eriobotrya japonica*)为常绿小乔木,可药食两用^[1-2],是云南蒙自地方特色水果之一。由于枇杷种植面积不断扩大,病害日趋严重^[3]。据文献记载,蒙自枇杷有 5 种常见病害,分别为圆斑病、灰斑病、角斑病、炭疽病、根腐病^[4],其中根腐病作为土传病害最为严重,具体表现为叶片变黄脱落,茎干呈褐色,基部腐烂,严重时整株死亡,发病率超过 40%,严重阻碍了枇杷产业的可持续发展。曾尝试用农业防治和化学药剂防治手段控制此病害,但其效果不理想。因此,生物防治成为防治枇杷根腐病的有效方法之一。木霉(*Trichoderma* spp.)在植物土传病害防治中已占 90% 以上,可用于防治植物叶部和根部病害^[5],抑制多种植物病原真菌^[6],曾与化学农药混配有效控制猕猴桃软腐病^[7]。鲁海菊等分离出 1 株源自枇杷主干的木霉 P3.9 菌株,发现该菌株抗菌谱广^[8]、对根际土壤真菌^[9]及枇杷内生真菌^[10]有抑制作用,且其发酵工艺简单^[11],对枇杷植株有促生作用,能定殖于枇杷根际土壤及其植株各个器官^[12],开发利用前景广阔。

研究发现,在甜瓜^[13]、黄瓜^[14-15]、苜蓿^[16]、草坪^[17]、辣椒^[18]根际中引入木霉会引起细菌数量在

一定时间内增加或减少,同时木霉对土壤微生态有调节作用甚至能与植物共生。土著细菌作为土著微生物成员之一,直接关系到植株生长,陈立华指出木霉能使土著细菌数量增加,病原菌数量减少^[19]。为探明木霉 P3.9 菌株对枇杷根际土著细菌数量有无类似的影响,本研究用稀释涂布平板法^[20]测定木霉 P3.9 菌株对枇杷土著真菌数量的影响,以期为其防治枇杷根腐病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 内生木霉(*Trichoderma atroviride*) P3.9 菌株分离自枇杷主干韧皮部,保存于红河学院生命科学与技术学院植物病理学标本室。

1.1.2 供试培养基 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:200 g 马铃薯,20 g 葡萄糖,20 g 琼脂,1 000 mL 自来水,pH 值自然。

营养琼脂(NA)培养基:3 g 牛肉膏,10 g 蛋白胨,20 g 琼脂,1 000 mL 蒸馏水,pH 值自然。

上述培养基配好后均在 121 ℃ 高压灭菌 30 min。材料均购自农贸市场及试剂公司,试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 木霉菌悬液接种根际土壤的方法 将试管斜面保存的 P3.9 菌株移入 PDA 平板上活化,待菌落长满培养皿后,用打孔器取 5 mm 的菌饼,接入

收稿日期:2019-06-30

基金项目:国家自然科学基金(编号:31660147);云南省应用基础研究计划(编号:2016FB066);红河学院应用型科学研究重点项目(编号:XJY15Z06)。

作者简介:鲁海菊(1978—),女,云南大理人,博士,教授,主要从事植物病理学研究。E-mail:luhaiju2011@126.com。

PDA 平板中央。共培养 5 皿,置温度为 28 ℃ 条件下培养 5 ~7 d;待菌落长满培养皿后,收集所有培养物至粉碎机,并加入适量无菌水,充分打匀,制成菌悬液,调整孢子液浓度至 1×10^6 CFU/mL 备用。将枇杷嫁接苗种植于营养袋(23 cm \times 18 cm)中,苗龄为 1 年时做接种试验。用上述木霉孢子悬浮液灌根 500 mL/株,灌根等量清水作为对照,设 10 次重复,常规肥水管理。

1.2.2 枇杷根际土壤细菌菌悬液的制备 在灌根木霉孢子悬浮液 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 d 时,用高为 0.5 m,钻头直径为 38 mm 的取样不锈钢环刀土钻;处理和对照枇杷苗分别随机取 5 株,每株用 5 点取样法,采集深度为 5 ~20 cm 的根际土样,用四分法充分混匀土样备用。处理和对照各称 1 g 根际土样置于装有 99 mL 无菌水的三角瓶中,在振荡仪器上以 200 r/min 振荡 20 min,配制成 10^{-1} 悬液,静置 2 min,用无菌微量移液器吸取 1 mL,加入到 9 mL 无菌水中即为 10^{-2} 稀释液,如此重复,可依次制成 10^{-3} ~ 10^{-8} 的稀释液。

1.2.3 枇杷根际细菌测定 取 100 μ L 10^{-8} 土壤稀释悬浮液,采用倾注法加入平板培养基中,设 5 次重复。于 28 ℃ 恒温培养箱中培养,3 ~5 d 后计数平皿上的细菌菌落,计算根际细菌种群密度。

依照以上方法统计施入木霉孢子悬浮液 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 d 时,根际细菌的数量变化情况,计算菌落数,计算公式为种群密度(CFU/g) = 每个培养皿中菌落平均值 \times 稀释倍数 $\times 10 \times$ 水分系数。

1.2.4 数据统计 所得数据用 Excel 进行汇总,采用平均值计算与作图,所有试验数据均采用 SPSS 19.0 统计软件 Duncan's 多重比较法进行统计分析,计算处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5 ~40 d 细菌数量变化

由表 1 可知,木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5 ~40 d 期间,处理组细菌数量前 5 d 减少,其他时间以 15 d 为周期呈循环增减变化,前 5 d 增加,后 10 d 减少。对照组细菌数量前 5 d 减少,10 ~15 d 数量保持稳定,15 ~35 d 期间以 10 d 为周期呈循环增减变化,35 ~40 d 期间细菌数量减少。处理组细

表 1 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5 ~40 d 对细菌数量的影响

施入时间 (d)	种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)	对照种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)
5	9.80dD	9.04aA
10	9.03eE	7.48dD
15	11.41aA	7.48dD
20	10.10bB	8.58bB
25	7.89fF	6.66eE
30	9.88cC	7.81cC
35	1.38gG	1.32fF
40	0.98hH	0.87gG

注:不同大、小写字母分别表示不同时间处理间在 0.01、0.05 水平上差异显著,下表同。

菌数量明显高于对照组。

2.2 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 40 ~65 d 细菌数量变化

由表 2 可知,木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 40 ~65 d 期间,处理组细菌数量变化规律与对照组一致。前 10 d 细菌数量先增后减,之后 10 d 增加,最后 5 d 减少。除 45 d 时处理组较其他时期呈现略微的升高外,细菌数量变化趋势相同。处理组细菌数量明显高于对照组。

表 2 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 40 ~65 d 对细菌数量的影响

施入时间 (d)	种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)	对照种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)
40	0.98bB	0.87bB
45	2.29aA	1.35aA
50	0.65eE	0.37eE
55	0.74dD	0.68dD
60	0.90cC	0.78cC
65	0.14fF	0.10fF

2.3 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 65 ~90 d 细菌数量变化

由表 3 可知,木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 65 ~90 d 期间,前 15 d 处理组与对照组细菌数量变化一致,呈增减增的变化趋势。后 10 d 处理组细菌数量呈先增后减的变化趋势,对照组细菌数量呈先减后增的变化趋势。处理组细菌数量明显高于对照组。

2.4 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5 ~90 d 细菌数量变化

由图 1 可知,木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤

表 3 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 65 ~ 90 d
对细菌数量的影响

施入时间 (d)	种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)	对照种群密度 ($\times 10^9$ CFU/g)
65	0.14d	0.10d
70	0.22b	0.20a
75	0.13d	0.12c
80	0.21b	0.16b
85	0.24a	0.06e
90	0.18c	0.12c

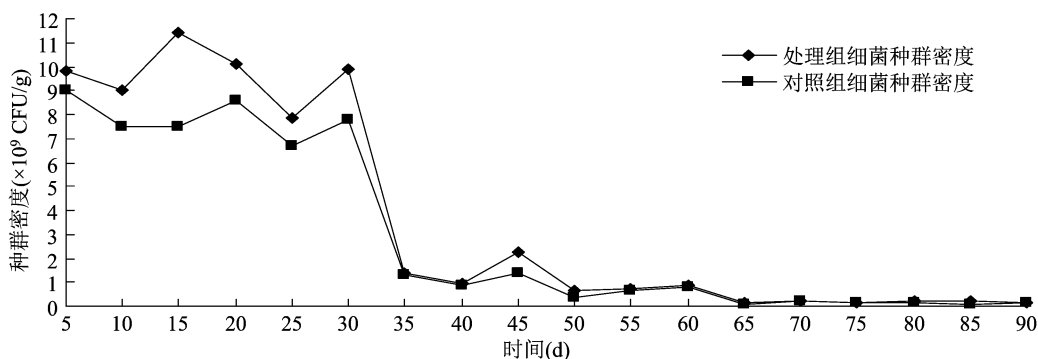


图1 木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5~90 d 细菌数量变化

3 结论与讨论

木霉 P3.9 菌株施入枇杷根际土壤 5 ~ 90 d 期间,能促进枇杷根际细菌数量增加,在 15 d 达到最大值,为 1.14×10^{10} CFU/g。本研究结果与尹丹韩等报道的结果^[14,17,21-22]一致。尹淑丽等报道,黄瓜根围接种木霉对细菌的数量影响不明显^[23]。尹丹韩研究证明,黄瓜根围细菌的数量群落变化不受接种木霉菌剂影响^[24]。本研究结果与之不一致。王秋君研究发现,土壤肥力高,细菌和真菌数量多^[25]。吴凡等也提出,肥沃土壤根际细菌、放线菌的数量多^[26]。说明土壤细菌种群的数量和结构与土壤肥力呈正相关。木霉 P3.9 菌株能导致枇杷根际细菌数量增加,增强土壤肥力,发挥促进枇杷生长的功能^[12],另外,此木霉菌株抗菌谱广^[8]。说明木霉 P3.9 菌株具有药肥两用的功能,应用前景广阔,应进一步开发。

参考文献:

- [1] 李大庆,夏忠敏,杨再学,等. 余庆县枇杷病虫发生种类及危害情况调查研究[J]. 现代农业科技,2014(13):116-117.
- [2] 许丽群. 枇杷栽培管理技术[J]. 北京农业,2013(33):171-172.
- [3] 胡忠荣. 抓住“一带一路”的发展机遇促进云南高原特色优势水

5 ~ 20 d 期间,以 5 d 为周期处理组细菌数量前 10 d 呈减增变化,15 ~ 25 d 细菌数量持续减少。对照组细菌数量前 5 d 减少,10 ~ 15 d 期间保持稳定,15 ~ 20 d 增加。处理组细菌数量波动幅度大于对照组。在 20 ~ 80 d 期间,处理组细菌数量变化趋势与对照组基本一致,其中,在 20 ~ 50 d 期间,处理组细菌数量波动幅度大于对照组。在 80 ~ 90 d 期间,处理组细菌数量变化趋势与对照组相反。3 个月内处理组细菌数量明显高于对照组。

果产业发展[C]//云南省科学技术协会,中共普洱市委、普洱市人民政府. 第七届云南省科协学术年会论文集——专题二:绿色经济产业发展,2017:6.

- [4] 鲁海菊,卢宁强,杨 梅,等. 从枇杷根际土壤真菌中筛选抗其根腐病菌的菌株[J]. 西南农业学报,2014,27(5):1961-1964.
- [5] 张树武,徐秉良,薛应钰,等. 长枝木霉 T6 菌株对黄瓜南方根结线虫的防治及其根际定殖作用[J]. 应用生态学报,2016,27(1):250-254.
- [6] 杨万荣,邢 丹,蓬桂华,等. 木霉菌生物防治辣椒疫病的研究进展[J]. 现代农业科技,2015(19):127-129.
- [7] 胡容平,石 军,林立金,等. 四川猕猴桃软腐病防治初步研究[J]. 西南农业学报,2017,30(2):366-370.
- [8] 鲁海菊,张建春,纪敬香,等. 枇杷内生木霉 P3.9 菌株抗菌谱研究[J]. 北方园艺,2014(24):103-107.
- [9] 沈云玫,张建春,李 河,等. 枇杷根际土壤真菌对生防木霉菌株 P3.9 的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):106-108.
- [10] 鲁海菊,张建春,沈云玫,等. 枇杷内生真菌对 P3.9 生防木霉菌株的抑菌作用[J]. 湖北农业科学,2014,53(11):2547-2550.
- [11] 鲁海菊,王 波,潘柳君,等. 深绿木霉 P3.9 生防菌株固体发酵条件优化筛选[J]. 北方园艺,2014(14):119-123.
- [12] 鲁海菊,沈云玫,陶宏征,等. 内生木霉 P3.9 菌株的多功能性及其枇杷根腐病的盆栽防效[J]. 西北农业学报,2017,26(11):1681-1688.
- [13] 郁雪平,朱伟杰,高观朋,等. 生防木霉菌 Th2 和 T4 对甜瓜根围土壤微生态的影响[J]. 植物保护学报,2009,36(6):522-528.
- [14] 尹丹韩,高观朋,夏 飞,等. 生防菌哈茨木霉 T4 对黄瓜根围土

李君君,戴玲玲,顾安乐,等. 30% 毒死蜱微胶囊悬浮剂的制备[J]. 江苏农业科学,2020,48(11):92-95.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.11.018

30% 毒死蜱微胶囊悬浮剂的制备

李君君¹, 戴玲玲¹, 顾安乐², 毕亚玲³

(1. 安徽科技学院资源与环境学院, 安徽凤阳 233100; 2. 安徽瑞诚福田农业科技有限公司, 安徽合肥 230031;

3. 安徽科技学院农学院, 安徽凤阳 233100)

摘要:为探究制备毒死蜱微胶囊悬浮剂的工艺条件,采用脲醛树脂法制备毒死蜱微胶囊悬浮剂,对其主要性能参数进行表征。结果表明,在室温条件下,以脲醛树脂为囊壁材料,二甲苯为溶剂,水为连续相,制备毒死蜱微胶囊悬浮剂。该方法制得微胶囊悬浮剂为球形,平均粒径为 2.10~5.60 μm,平均收率为 47.73%,载药量为 28.3%,包封率为 67.54%。说明该方法较适用于毒死蜱微胶囊悬浮剂的制备。

关键词:毒死蜱;微胶囊;脲醛树脂;载药量;包封率

中图分类号: S482.3⁺3

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2020)11-0092-04

农药在日常生活中起着非常重要的作用,它能保证粮食的产量与品质,为人类解决生存问题。而农药原药不能直接使用,必须加工配制成各种类型制剂^[1]。现在对农药制剂的要求越来越高,传统农药制剂因为光解、水解、生物降解等原因导致利用率降低,已无法满足生产生活需要,这就要求科学家研究农药新剂型。相比于传统农药剂型,悬浮剂

具有粒径小、渗透力强、无粉尘、污染小、药效高、成本低等特点,是一种应用很广泛的剂型^[2-3]。微胶囊悬浮剂(chlorpyrifos microcapsule suspending agent,简称 CS)是指将有效成分包在囊壁材料中的微粒,其直径通常为几微米至几百微米,其芯材可以是液体、固体或液固混合物^[4]。该剂型是一种低毒物理缓释剂的新型农药,也是农药剂型研究的热点之一^[5]。

毒死蜱是一种低残留并有中等毒性的有机磷农药,具有触杀、胃毒以及一定的熏蒸作用,也是世界上应用较多的杀虫剂品种^[6-7]。同时,毒死蜱是光敏感农药,光解异常强烈^[8]。毒死蜱主要有乳油、粒剂、微乳剂等剂型。传统剂型解决了毒死蜱在应用中的困难,但还存在着一定的缺点,如乳油储运及使用不安全,传统剂型用途受到限制以及稳

收稿日期:2019-06-25

基金项目:安徽省教育厅自然科学重点项目(编号:KJ2017A511); 2019 年度高校优秀青年人才支持计划(编号:gxq2019060); 安徽科技学院植物保护重点学科经费(编号:AKZDXK2015C04); 安徽科技学院稳定人才项目(编号:NXWD201604)。

作者简介:李君君(1993—),女,安徽蒙城人,硕士研究生,主要从事除草剂毒理及应用技术研究。E-mail:2659503556@qq.com。

通信作者:毕亚玲,博士,副教授,主要从事除草剂毒理及应用技术研究。Tel:(0550)6733037;E-mail:byl-211@163.com。

壤细菌群落的影响[J]. 中国农业科学,2012,45(2):246-254.

[15]李世贵. 两种木霉菌对黄瓜枯萎病菌生防作用及根际土壤微生物影响研究[D]. 北京:中国农业科学院,2010.

[16]尹婷. 深绿木霉 T2 对微生物种群数量的影响及抗药菌株的筛选[D]. 兰州:甘肃农业大学,2012.

[17]古丽君,徐秉良,梁巧兰,等. 生防木霉对草坪土壤微生物区系的影响及定殖能力研究[J]. 草业学报,2013,22(3):321-326.

[18]燕嗣皇,吴石平,陆德清,等. 木霉菌生防菌对根际微生物的影响与互作[J]. 西南农业学报,2005,18(1):40-46.

[19]陈立华. 哈兹木霉及其微生物有机肥对黄瓜土传枯萎病的生物防治及其机理[D]. 南京:南京农业大学,2011.

[20]沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育

出版社,1999:49-95.

[21]朱双杰,董丽丽. 哈茨木霉 T23 和 3 种土壤有益细菌的相互作用对白菜生长的影响[J]. 淮北煤炭师范学院学报(自然科学版),2008,29(2):44-48.

[22]刘登望. 拌种剂对花生产量、品质及根际土壤微生物的影响[D]. 长沙:湖南农业大学,2010.

[23]尹淑丽,麻耀华,张丽萍,等. 不同生防菌对黄瓜根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. 北方园艺,2012(1):10-14.

[24]尹丹韩. 生防菌 *P. fluorescens* 2P24、CPF10、*T. harzianum* T4 对黄瓜根围土壤细菌群落的影响[D]. 上海:华东理工大学,2011.

[25]王秋君. 稻麦轮作系统中施用有机无机复混肥对作物生长及土壤肥力的影响[D]. 南京:南京农业大学,2012.

[26]吴凡,李传荣,崔萍,等. 不同肥力条件下的桑树根际微生物种群分析[J]. 生态学报,2008,28(6):2674-2681.