

芽孢杆菌对黄瓜霜霉病的防治效果研究

李 星, 张 汀, 杨文香, 董 立, 刘大群

(河北农业大学植物保护学院, 保定 071001)

摘要: 经黄瓜霜霉病孢子囊萌发抑制试验明确, 芽孢杆菌菌株 Z-X-3、Z-X-10 对黄瓜霜霉病菌有较强拮抗作用。离体叶片法和温室防病试验表明, 两菌株对黄瓜霜霉病有较好的防治效果, 相对保护效果分别达 46.42%、41.55%; 治疗效果分别达 46.30%、44.44%, 高于农药克霜氰的 31.81%、37.03%。

关键词: 有害生物生物防治; 黄瓜霜霉病; 芽孢杆菌

中图分类号: S 436.421.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-1542(2003)04-0025-03

Studies on the effect of *Bacillus* on downy mildew of cucumber LI Xing, ZHANG Ding, YANG Wen-xiang, DONG Li, LIU Da-qun (College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Two strains, Z-X-3 and Z-X-10, of *Bacillus* with strong antagonistic activity against *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov were selected by using an apore-germination method. The control effects of Z-X-3, Z-X-10 strains on downy mildew of cucumber were tested on detached-leaves and in greenhouse. The relative immunisation efficiencies of Z-X-3 and Z-X-10 were 46.42% and 41.55%, and the control effects were 46.30% and 44.44%, respectively. They were higher than those of chemical fungicide cymoxanil and mancozeb with 31.81% and 37.03%, respectively.

Key words: pest biocontrol; *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov; *Bacillus*

黄瓜霜霉病 [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov.] 是保护地黄瓜上的一种毁灭性病害, 俗称跑马干。近年来, 随着保护地黄瓜种植面积的不扩大, 黄瓜霜霉病的危害也逐年加重。种植抗病品种是防治病害的有效、安全的方法, 但至今仍无理想的抗病品种。当前防治该病害仍以化学农药为主, 然而大量施用化学农药不仅加大病原菌的选择压力, 而且污染环境, 危害人类。因此采用生物防治控制该病危害日益受到关注。本研究试图从芽孢杆菌中筛选出对黄瓜霜霉病有较好防治效果的生防菌菌株。

1 材料和方法

1.1 材料

供试菌种芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 (河北农业大学植物病理系生物防治室分离保存), 黄瓜霜霉病采自保定河北农业大学南大园; 供试黄瓜品种为长春密刺 (中种集团承德长城种子有限公司); 供试培养基^[3]分别为 PD 培养液, PDA 培养基; 供试农药 72% 克霜氰 (霜脲·锰锌) 超微可湿性粉剂 (山东潍坊市瑞星农药有限公司生产)。

1.2 方法

1.2.1 芽孢杆菌发酵液培养 将芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 分别移入 PDA 平面, 加入 50 μ L 无菌水, 用曲玻棒涂匀, 在黑暗 30℃ 下培养 48 h。用 9 mm 打孔器在上述 PDA 平板上打一菌片, 并转入 10 mL 无菌水中。冲掉菌体, 搅匀, 梯度稀释 1×10^6 倍。从各浓度中吸取 50 μ L 加入 PDA 平板上, 用曲玻棒涂匀, 在黑暗 30℃ 下培养 24 h^[4], 计数并计算初始菌量。1 mL 细菌量 = 平板上菌落数 $\times$ 稀释倍数 / 平板上加菌液的量 (mL)。配成 1×10^5 cfu/mL 菌悬液, 取 1 mL 菌悬液加入 200 mL PD 培养液中, 30℃、150 r/min 摇床培养 38 h, 将菌悬液在 10 000 r/min 的条件下离心 10 min, 取上清液, 在 4℃ 条件下保存备用。

1.2.2 霜霉病孢子囊悬浮液的制备 傍晚采集病叶, 在 20℃ 下保湿 48 h, 待叶背长出黑色霉层后, 用毛笔沾蒸馏水刷取孢子囊转入无菌水中。将孢子囊在 100 倍镜下稀释成每视野 20~30 个孢子囊悬浮液^[5]。

1.2.3 孢子囊萌发抑制率测定 各取黄瓜霜霉病孢子囊悬浮液 1 mL 分别加入到 1 mL 稀释 10、5、2.5 倍的 2 种芽孢杆菌发酵液中, 设 72% 克霜氰 8 000 倍液、清水为对照, 6h 后在 100 倍镜下检查孢

子囊总数及未萌发孢子囊数。

1.2.4 离体叶片抑菌测定 (1)保护作用 取大小一致的具柄黄瓜健叶用无菌水冲洗晾干,定量喷雾稀释 5 倍的芽孢杆菌发酵液。经 24℃、30 min 晾干后,用喉头喷雾器在叶背接种黄瓜霜霉病菌孢子囊悬浮液,用脱脂棉包叶柄基部并滴加适量无菌水,在黑暗、光照交替条件下,20℃ 培养 4 d 后调查病情,计算病情指数及效果^[5]。设克霜氰 800 倍液、清水为对照;(2)治疗作用 取大小相同的具柄健叶经无菌水冲洗晾干后,用喉头喷雾器在叶背接种黄瓜霜霉病菌孢子囊悬浮液,待湿展后置于大皿内,用脱脂棉包叶柄基部并滴加无菌水。24℃、30 min 后喷施芽孢杆菌发酵液,在黑暗、光照交替 20℃ 下加盖培养 4 d 后调查病情指数及治疗效果^[5]。病情分级标准参照云兴福等的分级标准^[6]。设克霜氰 800 倍液、清水为对照。

1.2.5 温室防病试验 (1)保护作用 在黄瓜幼苗破心期(小苗子叶长足,刚显露真叶时)喷施第 1 次芽孢杆菌发酵液。在第 1 真叶期(叶宽 5 cm)喷施第 2 次发酵液。浓度设发酵液 20、10、5 倍稀释液,以叶片布匀药液为度。15 d 后接种黄瓜霜霉病菌孢子囊悬浮液,发病后记录病情指数、保护效果。设克霜氰 800 倍液、清水为对照;(2)治疗作用 傍晚用喷雾器将黄瓜霜霉病菌孢子囊悬浮液对植株进行全株喷雾接种,保湿 16 h,在显症时喷施芽孢杆菌发酵液 20、10、5 倍稀释液,6 d 后再喷 1 次^[7],共喷 3 次,记录病情指数、治疗效果。克霜氰 800 倍液、清水为对照。

表 1 不同浓度的芽孢杆菌发酵液对黄瓜霜霉病菌孢子囊萌发率的影响¹⁾ %

药剂	稀释浓度(倍)	萌发率	抑制率
Z-X-3	10	54 1	27 75
	5	41 1	41 20
	2 5	34 4	50 79
Z-X-10	10	52 2	25 32
	5	43 3	38 05
	2.5	39 7	43 20
72%克霜氰 GP	800	44 6	36 19
清水	—	69.9	—

1) 6 h 后观察结果。抑制率=(处理未萌发率-对照萌发率)/(100-对照未萌发率)×100%。

2 结果与分析

2.1 孢子囊萌发抑制试验

由于 1 可以看出芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 发酵液对黄瓜霜霉孢子囊萌发抑制活性很高,且随着芽孢杆菌发酵液浓度的增加萌发抑制率增高。

2.2 离体叶片法抑制黄瓜霜霉病菌试验

由表 2 可见,芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 5 倍发酵液对黄瓜霜霉病菌的保护效果均达到 66.7%,优于克霜氰 800 倍液的保护效果 44.4%,并且具有一定的治疗作用。Z-X-3 5 倍发酵液对黄瓜霜霉病菌的治疗效果高于 Z-X-10 5 倍发酵液及克霜氰 800 倍液的防效果 44.4%。

表 2 离体叶片法测定芽孢杆菌发酵液对黄瓜霜霉病的防治效果¹⁾

试验内容	药剂	稀释浓度(倍)	病情指数	防治效果(%)
保护作用	Z-X-3	5	0 25	66 67
	Z-X-10	5	0 25	66 67
	72%克霜氰 GP	800	0 42	44 44
	清水	—	0 75	—
治疗作用	Z-X-3	5	0 25	66 67
	Z-X-10	5	0 42	44 44
	72%克霜氰 GP	800	0 42	44.44
	清水	—	0 75	—

1) 病情指数=Σ(病级叶数×该级代表值)/调查总叶数×发病最高级(4);防治效果=(对照病级指数-处理病级指数)/对照病级指数×100%。

表 3 不同浓度的芽孢杆菌发酵液防治温室黄瓜霜霉病效果

试验内容	药剂	稀释浓度(倍)	病情指数	防治效果(%)
保护作用	Z-X-3	20	0 52	39 12
		10	0 48 ¹⁾	43 98
		5	0 46 ¹⁾	46 42
	Z-X-10	20	0 54	36 67
		10	0 52	39 12
		5	0 50 ²⁾	41 55
治疗作用	72%克霜氰 GP	800	0 58	31 81
	清水	—	0 86	—
	Z-X-3	20	0 57	31 49
		10	0 55	35 19
		5	0 45 ¹⁾	46 30
	Z-X-10	20	0 59	29 63
		10	0 56	33 34
		5	0 46 ²⁾	44 44
	72%克霜氰 GP	800	0 53	37 03
	清水	—	0 84	—

1) 为差异极显著; 2) 为差异显著。

2.3 温室防病试验

由表 3 看出,不同浓度芽孢杆菌发酵液喷施黄瓜后对黄瓜霜霉病均有明显的保护作用,当发酵液稀释 5 倍时,Z-X-3、Z-X-10 的防病效果最明显,分别达 46.42% 和 41.55%,优于克霜氰 800 倍液的防效

31.81%。治疗效果也比较明显,Z-X-3、Z-X-10 菌株的 5 倍发酵液对黄瓜霜霉病治疗效果分别达 46.30% 和 44.44%, 优于克霜氰 800 倍液的 37.03% 治疗效果。

3 结果与讨论

(1) 本试验通过黄瓜霜霉病孢子囊萌发抑制试验, 明确芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 对黄瓜霜霉病菌萌发有良好的抑制作用。离体叶片法及温室防病试验的结果表明这两菌株对黄瓜霜霉病有较好的治疗和保护作用, 且防效超过农药克霜氰, 很有希望成为减缓温室和大田黄瓜霜霉病危害的有效生防菌株。

(2) 试验虽已明确芽孢杆菌 Z-X-3、Z-X-10 对黄瓜霜霉病菌有良好的抑制作用, 但其作用机理还需探讨, 其保护及治疗效果也应在大田中进一步

验证, 同时还应优化其发酵条件、降低成本并加强生物农药剂型开发, 促进其产业化进程。

参考文献:

- [1] 鲁素云 植物病害生物防治学[M] 北京·北京农业大学出版社, 1993.
- [2] 何礼远 细菌在植物病害上应用的研究进展[J] 生物防治通报, 1985, 1(3): 28~31.
- [3] 陈云芳 芽孢杆菌 B21 及其发酵液对番茄灰霉生长的影响[D] 河北农业大学, 2001
- [4] 余桂容, 张敏, 叶华智, 等 小麦赤霉病的生物防治研究[J] 四川农业大学学报, 1998, 16(3): 314~315.
- [5] 曹鹏翔, 姚健民, 毕克辉, 等 甲霜麟防治黄瓜霜霉病研究[J] 辽宁农业科学, 1991, (2): 44~46.
- [6] 兴云福, 韩立志, 崔世茂 用病原制剂诱导黄瓜霜霉病抗性的研究[J] 内蒙古农牧学院学报, 1993, 14(4): 78~83
- [7] 袁美丽 黄瓜霜霉病的品种抗病性观察及药剂防治[J] 吉林农业大学学报, 1981, (4): 8~9