

拮抗细菌菌株B5423和Pf7-14对稻瘟病的防治及其在稻株上的种群动态

李湘民¹, Mew, T. W.²

(¹江西省农业科学院植物保护研究所, 江西, 南昌330200; ²国际水稻研究所昆虫植病系, 菲律宾)

摘要: 本文首先测定了离体条件下6个拮抗细菌菌株对水稻稻瘟病菌、纹枯病菌、恶苗病菌和白叶枯病菌的抑制作用, 然后在温室条件下测定了上述6个菌株对水稻稻瘟病的防治效果, 并以菌株B5423和Pf7-14为代表, 测定了两种菌株在稻株上的种群动态。结果表明, 上述6个菌株对水稻主要病原菌有着不同程度的抑制作用; 菌株B5423对水稻稻瘟病的防效最好, 其7、14d的防效分别为56.23%和49.25%, 显著地高于其它5个菌株; 在相同的浓度下, Pf7-14(对抗生素萘啶酮酸具有天然的抗性)在稻株上的定殖能力比B5423-R(B5423的利福平抗性的突变体)强, 如应用7d, Pf7-14群体数量为 3.98×10^3 cfu/g, 而B5423为 1×10^2 cfu/g; 在应用后21d, Pf7-14群体数量仍为 31.6 cfu/g, 而B5423-R群体数量下降到检测不到的水平。

关键词: 拮抗细菌菌株; 水稻稻瘟病; 防治; 种群动态

中图分类号: S471.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-8581 (2003) 04-

水稻稻瘟病 (*Magnaporthe grisea*) 是我国南北稻区危害最严重的水稻病害之一, 每年都有不同程度的发生, 流行年份, 重病地区一般减产10%~20%, 重的达40%~50%, 局部田块甚至颗粒无收。90年代以来, 我国稻瘟病的年发面积均在380万hm²以上, 年损失稻谷达数亿公斤。除种植抗瘟品种外, 在生产上我国目前主要是应用化学农药来防治稻瘟病。从20世纪80年代起, 国内外对应用拮抗细菌生物防治稻瘟病进行了广泛的研究, 筛选到了一批有潜在价值的菌株。本文报道的是温室条件下6个拮抗细菌对稻瘟病的防治效果及其B5423和Pf7-14在稻株上的种群动态。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试菌株为*Bacillus subtilis* B5423和B77, *Bacillus cereus* B95、B4313和B4010, *Pseudomonas fluorescens* Pf7-14。测试病原为水稻稻瘟病菌*Magnaporthe grisea*水稻纹枯病菌*Rhizoctonia solani*, 水稻恶苗病菌*Fusarium moniliforme*, 水稻白叶枯病菌*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*。

1.2 离体条件下供试拮抗细菌菌株对病原菌的拮抗作用

所有供试拮抗细菌菌株和水稻白叶枯病菌在NA斜面上培养, 其余测试病原菌在PDA斜面上培养, 拮抗作用测定的具体方法参见文献[1]。

1.3 稻苗的培养和拮抗细菌菌株孢子悬浮液的制备及喷雾

将60粒水稻种子(品种为IR72)播种在10cmx40cmx50cm的塑料盘中, 试验设3个重复, 共21个塑料盘。6个菌株在NA斜面上活化24h后, 各加入9mL的无菌水, 并用灭菌的长木签搅匀。各自吸入1mL的菌悬浮液于装有250ml PPM液体培养基的三角瓶中, 然后将这些三角瓶30℃下在振荡器中(速度为150 r/min)振荡培养培养16 h后, 将浓度约为 1×10^8 cfu/mL的不同菌株的孢子悬浮液均匀地喷雾在3~4叶期的稻苗叶上(每塑料盘喷20mL)。

作者简介: 李湘民(1963-), 男, 江西省南丰县人, 博士, 研究员, 主要从事水稻病害及其生物防治研究, E-mail: lxm@mxm@sina.com。

1.4 稻瘟病菌接种体的制备及接种

将大麦粒作培养基, 制备稻瘟病菌接种体, 方法参见文献[2]。

在抗细菌菌株孢子悬浮液喷雾12h后, 在室内(温度26~28℃)采用多菌株混合接种, 每毫升孢子量20~30万个。用电动喷雾器喷雾, 直至全部叶片布满水珠为止。然后, 将接种后的塑料盘放入湿度箱内保湿2天。以后放入温室培养, 并每天喷水雾以保持高湿度。

1.5 病害调查

接种后10天调查一次, 分级标准参见文献[2]。

1.6 拮抗细菌菌株B5423和Pf7-14的标记菌株

以菌株B5423和Pf7-14为代表, 测定一个G⁺菌和一个G⁻菌在稻株上的种群动态。为测定B5423在稻株上的种群动态, 选择利福平(Rifampicin)作为抗药性的遗传标记。从445个利福平抗性的突变体中, 经离体拮抗作用及生长速率的测定, 筛选到标记菌株B5423-R, 该突变体在生长速率和抑制纹枯病的能力与野生型菌株B5423是一致的。同时发现, 菌株Pf7-14对抗生素萘啶酮酸(nalidixic acid, Nal)具有天然的抗性, 能在其高达500μg/mL的浓度中正常生长。为确保活力和遗传纯一性, 两菌株的转接次数不超过3次。

1.7 标记菌株B5423-R和Pf7-14孢子悬浮液的制备

方法参照1.5。

1.8 温室条件下B5423-R和Pf7-14在稻株上种群数量的测定

1.8.1 B5423-R和Pf7-14的喷雾

使用前, 将两菌株的孢子悬浮液浓度调节到大约为 1×10^8 cfu/mL, 在水稻3~4叶期分别均匀地喷雾在稻苗叶上(每塑料盘喷20mL)。

1.8.2 B5423-R和Pf7-14的回收

采用平板系列稀释法, 方法参见文献[1]。

2 结果

2.1 6个拮抗细菌菌株对水稻主要病原菌的抑制作用

表1显示, 测试的6个拮抗细菌菌株对水稻4种病原菌表现了不同程度的抑制作用, 如菌株B5423对4种病原菌均表现了强烈的抑制作用, 而菌株Pf7-14对水稻白叶枯病菌的抑制作用较弱。

表1. 6个拮抗细菌菌株对水稻主要病原菌的抑制作用

■热门文章

■最新更新

Table 1. The inhibitory effect of 6 bacteria strains on rice pathogens
病原菌 Pathogens 拮抗细菌菌株 Antagonistic bacteria strains

	B5423	B77	B95	B4010	B4313	Pf7-14
水稻纹枯病菌	+++	+++	+++	+++	+++	+++
水稻恶苗病菌	+++	++	++	++	++	++
水稻稻瘟病菌	+++	+++	++	++	++	++
稻白叶枯病菌	+++	++	++	++	++	++

注: -=没有抑菌带; +=抑菌带明显, 不超过4mm; +++=抑菌带大于8mm。

2.2 6个拮抗细菌菌株对水稻稻瘟病的防治效果

从表2可知, 不同菌株对稻瘟病的防治效果差异较大, 以菌株B5423的防治效果最好, 其7、14d的防效分别为56.23%和49.25%, 显著地高于其它5个菌株, 菌株Pf7-14的防效居中, 而菌株B95的防效较差。

2.3 B5423-R和Pf7-14在稻株上的种群动态

从图1可知, 在应用后最初的2h, B5423-R和Pf7-14在稻株上的种群数量是相等的, 两者均为

表2. 6个拮抗细菌菌株对水稻稻瘟病的防治效果

Table 2. Control efficacy of 6 bacteria strains against rice blast

细菌菌株 Strains	调查时间 Investigation date			
	药后7天 7 days after spraying	药后14天 14 days after spraying		
病情指数 Indexes	防治效果 effects	病情指数 indexes	防治效果 effects	
B5423	10.25 56.23c	15.31 49.25c		
B77	13.47 42.48b	18.89 37.39b		
Pf7-14	14.25 39.15b	19.92 33.97b		
B4010	15.47 33.95a	23.44 22.31a		
B4313	16.28 30.49a	24.56 18.59a		
B95 CK	17.24 23.42	26.39a 25.38	30.17	15.88a

注: 数据是3个重复的平均值; 同一列相同的字母表示经新复极差检验(P=0.05)平均数没有显著性差异。

3.16x10⁵cfu/g,但B5423-R下降较快, 如在应用后7d, 其群体数量为1x10²cfu/g,而Pf7-14为3.98x10³cfu/g; 在应用后21d, B5423-R群体数量下降到检测不到的水平, 而Pf7-14群体数量仍为31.6cfu/g。

3讨论

Bacillus spp.是一类受到广泛重视的拮抗细菌, 其显著特点是芽孢对干燥、热、紫外线及有机溶剂的抗性, 然而, 在相同的浓度下, 菌株*Pseudomonas fluorescens* Pf7-14在稻株上的定殖能力比*Bacillus subtilis* B5423更强, 这很可能与菌株Pf7-14的强抗逆性有关, 如该菌株对多种抗生素如萘啶酮酸、利福平和新生霉素具有天然的抗性, 能在各自高达500 µg/mL的浓度中正常生长。

作为生物防治制剂, 拮抗细菌菌株在植株体表的有效定殖是一个重要的性状, 虽然Pf7-14在稻株上的定殖能力比B5423更强, 但其对稻瘟病的防治效果却低于B5423, 这表明两类拮抗细菌菌株有着抑制稻瘟病菌的不同机理。

图1. B5423-R和 Pf7-14在稻株上的种群动态。垂直巴代表标准离差。

Figure 1. The population dynamics of strains B5423-R and Pf7-14. The vertical bars indicate standard deviation.

在测试的6个拮抗细菌菌株中, B5423对稻瘟病的防治效果最好, 然而, 作为生防制剂, 其防治效果仍有待提高, 们打算通过遗传改良的方法来提高该菌株对稻瘟病的防治效果。

参考文献:

- [1]李湘民.拮抗细菌的生态学及其对水稻纹枯病的抑制作用[D].南京:南京农业大学, 2002. [2]孙漱沉等, 水稻稻瘟病及其防治[M], 上海科学技术出版社, 1986. [3] 陈志谊.拮抗细菌B-916防治水稻纹枯作用机制的研究[D].南京:南京农业大学, 1998. [4]陈晓斌.PGPR在黄瓜根围的分子生态学及其作用机制的研究[D].杭州:浙江大学, 2000. [5]孙国昌, 杜新法, 陶荣祥 孙漱沉, 水稻稻瘟病防治策略和21世纪研究展望[J]植物病理学报, 1998, 28(4): 289-292. [6] Kim D S, Weller I M, Cook R J. Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92R12 and *Pseudomonas fluorescens* 2-79RN10 in the rhizosphere of wheat [J]. *Phytopathology*, 1997, (87): 559-564.

Biocontrol of Rice Blast with Antagonistic Bacteria Strains B5423 and Pf7-14 and Their Population Dynamics on Rice Plants
Li Xiangmin¹, Mew, T. W.²

(¹Plant Protection Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang China,330200; ²International Rice Research Institute, Los Banos Philippines.)

Abstract: In the paper the authors first measured the inhibitory effect of 6 antagonistic bacteria strains (5 *Bacillus* spp, and *Pseudomonas* sp.) on *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium moniliforme*, and *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* *in vitro*, then conducted the experiments on controlling rice blast with the above 6 strains and monitoring the population dynamics of *Bacillus subtilis* B5423-R, the marking strain of B5423 (the mutant of rifampicin-resistance) and *Pseudomonas fluorescens* Pf7-14 on rice plants under greenhouse conditions. The result showed that, the above 6 bacteria strains inhibited the rice pathogens to a different degrees; of 6 strains, the efficacies of B5423 suppressing rice blast was best, those of 7, 14 days were 56.23%, 49.25%, significantly higher any other strains; and the colonization ability of strain Pf7-14 is stronger than B5423 at the same introduced concentration, for example, the population size of Pf7-14 was 31.6 cfu/g while that of B5423 dropped to an unable-detected level on the 21st days after their spraying.

Key words: antagonistic bacteria strains; *Magnaporthe grisea*; efficacy; Population dynamics

■相关链接

- [中国森林病虫害防治现状与展望](#)
- [江苏省农作物病害发生防治概况](#)
- [植物抗病相关基因研究进展](#)
- [利用RGA-PCR方法进行水稻抗瘟基因分子标记](#)
- [水稻品种抗瘟遗传多样性研究](#)
- [小麦赤霉病Gibberella zeae抗多菌灵种群动态变化](#)
- [A major gene for resistance to carbendazim in field isolates of Gibberella zeae from China](#)
- [玉蜀黍赤霉的营养亲和性及其对多菌灵的抗性在菌丝融合过程中的遗传学研究](#)

江苏省植物
病理学会

Copyright ? 2003, 江苏省植物病理学会. All rights reserved.

南京 钟灵街50号

联系电话: 025-4390383

电子邮件: xhzjx@ipp.jaas.ac.cn