

香蕉枯萎病拮抗细菌对4种土传植物病原真菌的抑制作用

游春平, 肖爱萍, 甄俊杰, 傅志岸 (仲恺农业技术学院植保系, 广东广州510225)

摘要 测定了从果园土壤中分离的4株香蕉枯萎病拮抗细菌对粉蕉根腐病菌(*Pythium* sp.)、辣椒白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、节瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *binincasae*)的抑菌效果以及对香蕉枯萎病的防治效果。结果表明,3种拮抗细菌bio-B3、bio-d4和bio-P对4种病菌的生长具有显著的抑制作用,产生明显的抑菌带,拮抗细菌bio-d5对辣椒白绢病菌不产生抑菌带,但对其他3种病菌均产生明显的抑菌带;4种拮抗菌株对节瓜枯萎病菌和香蕉枯萎病菌孢子萌发具有显著的抑制作用,其发酵原液对病菌孢子萌发的抑制率较高,抑制率为76.4%~100%,随着稀释倍数的增加,其抑制效果逐渐降低;拮抗细菌bio-B3、bio-d4、bio-d5发酵液100、200和300倍稀释液对香蕉枯萎病的防治效果为53.3%~80.2%,它们之间无显著性差异,但显著大于bio-P和恶霉灵的防治效果。

关键词 拮抗细菌;土传植物病原真菌;香蕉枯萎病菌;防治效果

中图分类号 Q936 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4328-02

Effect of Antagonistic Bacteria Inhibiting *Fusarium oxysporum* on Four Soil-born Plant Pathogens

YOU Chun ping et al (Department of Plant Protection, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou, Guangdong 510225)

Abstract Four antagonistic strains isolated from the soil of orchards were tested in their inhibitive activity and controlling efficacy on *Pythium* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *binincasae* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. The results showed that three antagonistic bacterial strains (bio-d4, bio-B3 and bio-p) were of significant inhibition against four plant pathogenic fungi, forming apparent inhibitive zones, and the antagonistic strain bio-d5 was not of inhibition against *Sclerotium rolfsii*, but was of inhibition against other plant pathogens. And four antagonistic strains were of significant inhibition against spores germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *binincasae* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, and the inhibitive effect was gradually reduced with the increasing of diluted fold of fermentation solution of antagonistic bacteria. The control efficacy of 100, 200 and 300-fold diluted fermentation solution of antagonistic strains bio-d4, bio-d5 and bio-B3 were between 53.3% and 80.2%, being significantly stronger than the efficacies of antagonistic strain bio-p and chemical hymexazol.

Key words Antagonistic bacterium; Soil-born plant pathogenic fungi; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; Control efficacy

香蕉枯萎病是一种毁灭性病害,是靠土壤和苗木传播的真菌性病害,通过灌溉水流动和染病吸芽繁殖材料传播。虽然该病已经受到国内外的关注,但是到目前为止,对该病的防治方面仍不容乐观。例如目前推广的抗病品种^[1,2](如台蕉1号2号、GCTCV-215-1等),农艺性状不佳(如产量低、植株太高),品质较差。采用土壤清洁措施均无效果^[1];生长期使用杀菌剂药液灌蔸法,防治效果也不理想^[3-5],而且长期使用化学农药容易引起抗药性,影响生态环境,对香蕉的品质、生产、出口等方面也不利。因此无公害控制病害已成为植保工作者的目标,而利用生物防治香蕉枯萎病已成为各国的研究热点。国外研究者分离获得的链霉菌^[6]、荧光假单胞菌^[7,8]、枯草芽孢杆菌^[9]、绿脓杆菌^[10]对香蕉枯萎病菌具有明显的抑制作用;Perez-Vicente等^[11]研究报告,抗病品种的种植与生防菌的施用相结合,对香蕉枯萎病的防效达95%以上;说明生物防治香蕉枯萎病是完全可行的。我国从事香蕉枯萎病生物防治的研究刚刚起步,2003年,曹理想^[12]等从香蕉组织内分离到几株内生菌对该病有不同程度的抑制作用,但抑制效果不理想。本课题组从果园土壤中分离到几株对香蕉枯萎病菌有极其显著抑制作用的拮抗细菌,并对这些拮抗细菌抑制香蕉枯萎病菌的作用进行了测定,为开发香蕉枯萎病的生防制剂打下基础。

为了拓宽香蕉枯萎病生防菌的作用范围,该研究选择了粉蕉根腐病菌(*Pythium* sp.)、辣椒白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)和节瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *binincasae*)3种常见的土传植物病原真菌作为试验对象,测定香蕉枯萎病生防菌对它们的抑制作用,为进一步研究它对粉蕉根腐病、辣椒

白绢病和节瓜枯萎病的防治效果试验提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌。香蕉枯萎病拮抗细菌菌株:bio-B3、bio-d4、bio-d5和bio-P,由实验室提供;病原菌:粉蕉根腐病菌、辣椒白绢病菌、节瓜枯萎菌和香蕉枯萎病菌生理小种1号(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race one)均由实验室提供。

1.1.2 培养基。PDA和NB按方中达所介绍的方法^[13]制备。

1.2 方法

1.2.1 拮抗细菌对香蕉枯萎病菌、粉蕉根腐病菌、辣椒白绢病菌和节瓜枯萎病菌生长的抑制作用测定。在培养皿中倒入PDA培养基15 ml,并在培育皿背面标记相距30 mm的两点;取病菌菌落边缘直径5 mm的菌丝块放在平板上的标记点处;在另一个标记点处用直径为5 mm的打孔器打一孔,然后在孔中分别注入100 μ l拮抗细菌发酵液(拮抗细菌在NB培养基中于28 $^{\circ}$ C振荡培养48 h)100和200倍稀释液,以无菌水为空白对照,平板置于26 $^{\circ}$ C培养,每处理4次重复。培养6 d后,观察平板上的抑菌现象,测量抑菌带宽度。

1.2.2 拮抗细菌对香蕉枯萎病菌和节瓜枯萎病菌孢子萌发的抑制作用测定。香蕉枯萎病菌和节瓜枯萎病菌在PDA平板上培养4 d后,用无菌水配制孢子悬浮液(约 10^6 ml),取50 μ l病菌孢子悬浮液与50 μ l上述不同稀释倍数的拮抗细菌发酵液混匀后于26 $^{\circ}$ C培养12 h。以无菌水为对照,每处理4次重复。计算拮抗细菌对香蕉枯萎病菌分生孢子的抑制率,同时观察病菌孢子芽管形态。

2 结果与分析

2.1 拮抗细菌对4种土传病害病菌的抑制作用 拮抗细菌发酵液与粉蕉根腐病菌、辣椒白绢病菌、节瓜枯萎病菌、香蕉枯萎病菌在平板上对峙培养6 d后,除拮抗细菌bio-d5对辣椒白绢病菌不产生抑菌带外,4种拮抗细菌对其他病菌均产

生明显的抑菌带(表1)。不同拮抗菌株对病菌生长的抑菌作用存在差异,拮抗菌 bio-B3 的100倍发酵稀释液对粉蕉根腐病菌和辣椒白绢病菌的抑制作用显著大于拮抗菌 bio-d4、bio-d5 和 bio-P 的抑菌作用;bio-d4、bio-B3 和 bio-P 对4种病菌生长的抑制作用显著大于 bio-d5 的抑菌作用;同株拮抗菌不同稀释倍数的发酵液产生的抑菌带宽度无显著差异。

表1 拮抗细菌与病原真菌的对峙培养结果

拮抗细菌	使用浓度 倍数	抑菌带宽度 mm			
		粉蕉根 腐病菌	辣椒白 绢病菌	节瓜枯 萎病菌	香蕉枯 萎病菌
Bio-d4	100	9.0 dC	12.3 abcAB	10.0 abcAB	8.5 cdCD
	200	9.5 dC	16.8 abAB	11.8 abcA	9.3 cdCD
	300	8.8 deC	12.5 abcAB	9.0 cdAB	11.8 abABC
Bio-d5	100	6.3 deC	0.0 dC	5.8 deB	10.3 bcBCD
	200	5.5 eC	0.0 dC	9.8 bcAB	9.0 cdCD
	300	7.3 deC	0.0 dC	6.0 deB	7.5 dD
Bio-B3	100	20.5 aA	17.8 aA	12.8 abA	13.0 aAB
	200	18.0 abAB	14.3 abAB	13.0 abA	13.5 aAB
	300	17.5 abcAB	12.8 abcAB	13.3 abA	13.3 aAB
Bio-P	100	15.3 bcB	16.8 abAB	13.3 abA	14.0 aA
	200	14.5 cB	9.5 cB	13.5 aA	13.5 aAB
	300	14.3 cB	13.0 abAB	13.5 aA	13.3 aAB
CK		0 fD	0 dC	0 fC	0 eE

注:4次试验的平均值。在同一列中不同大、小字母分别表示在0.01和0.05水平上差异显著性。下表同。

表2 拮抗细菌发酵液对节瓜枯萎病菌和香蕉枯萎病菌孢子萌发的抑制作用 %

拮抗细菌	使用浓度 倍数	节瓜枯萎病菌		香蕉枯萎病菌	
		孢子萌发率	抑制率	孢子萌发率	抑制率
Bio-d4	原液	19.0 defDEFG	76.4	14.7 deDE	81.1
	50	68.5 aAB	14.9	36.7 bcBCD	52.7
	100	74.3 aA	7.7	36.6 bcBCD	52.8
Bio-d5	原液	11.6 efEFG	85.5	3.9 eE	94.9
	50	50.2 bcBCD	37.6	51.6 bB	33.5
	100	36.5 bcdCDE	54.6	49.9 bB	35.7
Bio-B3	原液	1.2 fG	98.5	0.0 eE	100
	50	13.8 efEFG	82.8	48.0 bBC	38.1
	100	27.3 cdeCDEF	66.1	51.6 bB	33.5
Bio-P	原液	0.7 fG	99.1	0.0 eE	100
	50	35.7 bcdCDE	55.7	23.3 cdCDE	70.0
	100	42.8 bcCD	46.8	56.6 bAB	27.1
CK		80.5 aA		77.6 aA	

2.2 拮抗细菌对香蕉枯萎病菌和节瓜枯萎病菌孢子萌发的抑制作用 结果见表2。4株拮抗细菌对香蕉枯萎病的生长都具有较好的抑制作用,其发酵液对分生孢子萌发的抑制率达76%以上,对节瓜枯萎病菌孢子的抑制作用在81.1%~100%,抑制效果显著。

3 讨论

4株拮抗细菌对香蕉枯萎病的生长都具有较好的抑制作用,其发酵液对分生孢子萌发的抑制率达76%以上。而目

前国内外报道的拮抗细菌对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的抑制率较低,其中对香蕉枯萎病的抑制率为41%^[5]和60%左右^[10],对西瓜枯萎病菌的抑制率为76.47%^[13],对棉花枯萎病菌的抑制率为32%^[14]。

拮抗细菌对粉蕉根腐病菌、辣椒白绢病菌和节瓜枯萎病菌生长也有较好的抑制作用,抑菌带宽度在5.5 mm以上。生防菌发酵液原液对节瓜枯萎病菌孢子的抑制作用在81.1%~100%,抑制效果显著。这为今后进行田间防治试验提供了信息。

室外接种防治香蕉枯萎病试验显示^[14],拮抗细菌 bio-d4、bio-d5 和 bio-B3 发酵液100、200 和300倍稀释液的防治效果为53.3%~80.2%,表明这几株拮抗细菌具有潜在的应用价值。但是,这次试验没有对粉蕉根腐病菌、辣椒白绢病菌和节瓜枯萎病菌进行防治试验,为了开发这些拮抗细菌的应用价值,还必须进一步进行大田防治试验,研究它们的使用剂量和方法,并研究这些拮抗菌株对环境的适应性和定殖能力,以便为研制植物病害生防制剂打下良好基础。

参考文献

- [1] 舒肇苏. 台湾香蕉病害的防治[J]. 柑桔与亚热带果树信息,2000,16(20):43-44.
- [2] SHINCHUAN HWANG, WEN HWUNG KO. Caverdsh banana cultivars resistant to *Fusarium wilt* acquired through somadonal variation in Taiwan[J]. *Hart Disease*,2004,88(6):580-588.
- [3] 林兰稳,奚伟鹏,黄赛花. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选[J]. 生态环境,2003,12(2):182-183.
- [4] 卓国豪,黄有宝,吴运新,等. 香蕉枯萎病的防治技术[J]. 植物检疫,2003,17(5):279-280.
- [5] NEL B, MILJOEN A, STEINBERG C, et al. Evaluation of chemical substances for the management and control of *Fusarium wilt* of banana[C]// CLAUDINE HCQ, ANNE VZINA. 2nd international symposium on *Fusarium wilt* on banana in Salvador de Bahia. [2003-09-22]. WWW.iribap.org/pdf/Fusarium_wilt.pdf.
- [6] GEETHA K, VIKINESWARY S. Antagonistic effects of streptomyces *viduaceus* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*,2002,28(6):303-306.
- [7] THANDAVELU R, PAANSWAM A, DORAISWAMY S, et al. The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense on induction of defence enzymes and phenolics in banana[J]. *Bioprocess Technology*,2003,46(1):107-110.
- [8] NAUJIYAL C S, SINGH J K. Survival of the rhizosphere-competent biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* NBR2650 in the soil and phytosphere[J]. *Canadian Journal of Microbiology*,2002,48(7):588-601.
- [9] CHENCHAO YING, WANG YI-HUEH. Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29-3 by the chitinase encoded by *Bacillus circulans* chi A gene[J]. *Canadian Journal of Microbiology*,2004,51(6):451-455.
- [10] TING A S Y, MENON S, KADR S, et al. Potential role of endophytes in the biocontrol of *Fusarium wilt*[C]// CLAUDINE HCQ, ANNE VZINA. 2nd international symposium on *Fusarium wilt* on banana in Salvador de Bahia. [2003-09-22]. WWW.iribap.org/pdf/Fusarium_wilt.pdf.
- [11] PEREZ VICENTE L, BAILLE A, FONSECA J, et al. *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense in Cuba: reaction of cultivars and biocontrol method[C]// CLAUDINE HCQ, ANNE VZINA. 2nd international symposium on *Fusarium wilt* on banana in Salvador de Bahia. [2003-09-22]. WWW.iribap.org/pdf/Fusarium_wilt.pdf.
- [12] 曹理想,田新莉,周世宁. 香蕉内生真菌、放线菌类群分析[J]. 中山大学学报,2003(2):70-73.
- [13] 方中达. 植病研究法[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,1998.
- [14] 游春平,肖爱萍,傅志岸,等. 拮抗细菌对香蕉枯萎病的防治效果[J]. 仲恺农业技术学院学报,2005,18(4):16-20.