

蜡状芽孢杆菌 TS-02 防治草莓白粉病研究

陈冲, 王程亮, 张潞生* (中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要 在室外条件下进行了蜡状芽孢杆菌 TS-02 防治草莓白粉病的药效试验, 并在室内条件下探讨了其防病机理。结果表明: 蜡状芽孢杆菌 TS-02 可以防治草莓白粉病, 活菌数大于 3×10^7 CFU/ml 可达到理想的效果。抑制作用是活菌和菌分泌的抑菌物质共同作用的结果, 其中活菌的作用更强; 蜡状芽孢杆菌可抑制白粉病菌的定殖, 从而达到防治草莓白粉病的效果。

关键词 蜡状芽孢杆菌; 草莓; 白粉病

中图分类号 S668 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)11-03298-01

草莓白粉病在大棚设施栽培中普遍发生且危害逐年加重, 直接影响草莓的品质、产量和食用安全。高效、无公害生物制剂的开发和使用是当前动植物防病的趋势, 蜡状芽孢杆菌在动植物防病上的多种功效, 随着研究的深入已越来越被人们所认知和接受, 在生产中得以广泛应用。笔者对蜡状芽孢杆菌 TS-02 防治草莓白粉病的效果进行了研究, 以期对 TS-02 的进一步开发和利用奠定基础。

1 材料与方法

蜡状芽孢杆菌 TS-02 菌株由中国农业科学院畜牧研究所实验室自主分离提供。

试验在中国农业大学科学园塑料大棚中进行, 土质为壤土。供试草莓品种为丰香。草莓植株长势一致, 草莓白粉病自然发病。

1.1 菌液制备 从斜面培养基上挑取蜡状芽孢杆菌单菌落接种于盛有 100 ml 牛肉膏蛋白胨培养基的三角瓶中, 培养 6 h, 制成种子培养液。再各取 5 ml 种子培养液接种于 10 个盛有 500 ml 牛肉膏蛋白胨培养基的三角瓶中, 进行 24 h 扩大培养, 制成菌体发酵液。采用平板菌落计数法计数, 活菌数为 3×10^9 。取 5 瓶菌体发酵液, 8 000 r/min 离心 5 min, 得到无菌滤液和活菌体, 活菌体用无菌水配制成含菌数 3×10^9 的活菌体液。

1.2 田间试验

1.2.1 不同浓度的菌体发酵液对草莓白粉病的防效。 设 4 个浓度处理: 菌体发酵液 (3×10^9 CFU); 菌体发酵液稀释 10 倍 (3×10^8 CFU); 菌体发酵液稀释 100 倍 (3×10^7 CFU); 菌体发酵液稀释 1 000 倍 (3×10^6 CFU)。每处理草莓植株 10 株, 30 片复叶, 3 次重复, 处理小区随机排列。设无菌水和三唑酮 1 500 倍液处理为空白对照。

1.2.2 活菌体液和无菌滤液对草莓白粉病的防效。 试验设 3 个处理: 菌体发酵液 (菌数为 3×10^9)、活菌体液 (菌数为 3×10^9) 和无菌滤液。稀释倍数同 1.2.1。

1.2.3 喷施和调查方法。 在草莓白粉病发病初期, 用小型喷雾器进行第 1 次喷施, 试验期间共喷施 2 次, 喷施间隔期为 10 d。处理前进行病情指数基数的调查, 分别于第 1 次喷施后 5、7 d, 第 2 次喷药后 5 d 进行病情指数的调查。每株选取有代表性的 3 片复叶挂牌, 调查病情指数, 计算防治效果。试验结果采用肯氏新复极差检验法 (DMRT) 进行统计分析。

1.2.4 病情分级。 0 级, 无白粉病菌; 1 级, 白粉病菌面积占

整个叶面积 5% 以下; 3 级, 白粉病菌面积占整个叶面积 6%~15%; 5 级, 白粉病菌面积占整个叶面积 16%~25%; 7 级, 白粉病菌面积占整个叶面积 26%~50%; 9 级, 白粉病菌面积占整个叶面积 50% 以上。

1.3 室内菌体定殖试验 采取无病离体叶片, 用打孔器打成直径为 1 cm 的叶盘, 采用喷雾法接种白粉病菌。叶背朝上放在培养皿中, 培养介质为少许的无菌水。在温度 20℃、光照强度 3 000 lx (16 h/d)、相对湿度 80% 的条件下培养, 3 d 后调查病情。在无病叶盘上喷菌体发酵液 (菌数为 3×10^9), 3 d 后用喷雾法再接种白粉病菌, 分别于 3、5 d 后调查病叶感染率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度蜡状芽孢杆菌 TS-02 菌体发酵液对草莓白粉病的防效 由表 1 可见, 蜡状芽孢杆菌 TS-02 对草莓白粉病的防效虽然没有化学药剂三唑酮 1 500 倍液高, 但在 0.05 和 0.01 水平上都存在着显著差异。菌体发酵液各个浓度与空白对照相比都有一定的抑制效果, 防效最高可达 50.23%, 说明 TS-02 是有开发前途的生防菌株。菌体发酵液各个浓度处理随着施用次数的增加, 相应防效都有所提高, 但稀释 1 000 倍 (3×10^6 CFU) 处理的防效明显低于其他处理, 存在显著差异, 其他浓度处理 (3×10^9 、 3×10^8 和 3×10^7 CFU) 间防效无显著差异。由此可见, 菌体发酵液中活菌的浓度必须达到一定量值时 (3×10^7 CFU/ml) 才有防治效果。

表 1 不同浓度蜡状芽孢杆菌 TS-02 菌体发酵液对草莓白粉病的防效 %

处理	草莓白粉病的防效 %					
	第 1 次药后 5 d		第 1 次药后 7 d		第 2 次药后 5 d	
	病指	防效	病指	防效	病指	防效
菌体发酵液 (3×10^9 CFU)	17.23	42.25	16.45	45.56	15.32	50.23 Aa
菌体发酵液 (3×10^8 CFU)	16.25	40.32	14.25	44.56	14.56	49.65 Aa
菌体发酵液 (3×10^7 CFU)	17.63	41.56	15.36	42.89	14.32	47.98 Aa
菌体发酵液 (3×10^6 CFU)	16.36	25.69	20.25	24.56	21.32	26.89 Bb
三唑酮 1 500 倍液	10.98	66.56	10.56	67.56	11.36	67.36 Cc
对照	27.56		28.89		35.65	

注: 表中不同大小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著。下表同。

2.2 菌体发酵液、活菌体液和无菌滤液对草莓白粉病的防效 (表 2) 与对照相比, 菌体发酵液、活菌体液和无菌滤液对草莓白粉病都有一定的抑制作用, 3 种处理随着施药次数的增加, 防效逐渐升高, 这与 2.1 结果相似。第 2 次药后 5 d, 菌体发酵液的防效最好, 达 48.98%; 无菌滤液的防效 (下转第 3300 页)

作者简介 陈冲 (1980-), 男, 山西晋中人, 硕士研究生, 研究方向: 有益微生物功效与分子鉴别。* 通讯作者。

收稿日期 2007-01-27

(上接第 3298 页)

最差,为 24.63%;活菌体液防效居中,为 34.89%。3 种处理间在 0.05 和 0.01 水平上都存在着显著差异。

表 2 菌体发酵液、活菌体液和无菌滤液对草莓白粉病的防效 %

处理	第 1 次药后 5 d		第 1 次药后 7 d		第 2 次药后 5 d	
	病指	防效	病指	防效	病指	防效
菌体发酵液	17.65	44.56	16.26	45.96	14.56	48.98 A a
活菌体液	19.96	30.21	18.32	32.56	14.32	34.89 B b
无菌滤液	21.25	24.26	19.63	25.36	13.56	24.63 C c
对照	27.36		29.52		33.32	

2.3 定殖试验结果 接种蜡状芽孢杆菌活菌体液的叶盘在 3、5 d 后的白粉病菌感染率为 0,而对照叶片 3 d 后白粉病的感染率已达到 100%。可见,活菌体前期预先处理的叶片,可以减少白粉病菌的定殖,从而减少白粉病的发生和进一步的蔓延。因此,利用蜡状芽孢杆菌活菌治疗白粉病应以预防为主,在发病前或发病初期喷施蜡状芽孢杆菌,可取得更好的治疗效果。

3 讨论

1921 年 Hartely 利用真菌防治猝倒病,开创了利用有益

微生物防治植物病害的先河,经过 80 多年的发展,有益微生物的筛选方法逐渐规范,防治效果和防治机理的研究逐渐增多。该试验结果说明,蜡状芽孢杆菌 TS-02 是草莓白粉病的拮抗菌株,其防效源自活菌对白粉病的抑制作用,以及菌分泌物中抑菌物质对白粉病菌的抑制作用,但其内在的抑菌机理和适用范围还有待进一步研究。喷施蜡状芽孢杆菌后的植株叶色浓绿,病斑较少,对草莓的生长和结果无影响。该研究采用的蜡状芽孢杆菌为单一菌剂,混合菌剂的功效研究有待进一步开展,以便形成多种无公害生物制剂用于对草莓等作物的病害防治。

参考文献

- [1] 陈啸寅,吉沐祥,韩艳丽,等.草莓白粉病药剂防治试验[J].江苏农业科学,2003(5):65-66.
- [2] 李红霞,马志强.几种杀菌剂对草莓白粉病的防效研究[J].农药学报,2003,5(3):50-54.
- [3] 汪建国,沈水土,柯汉云,等.世高防治草莓白粉病试验[J].浙江农业科学,2002(3):141-142.
- [4] 叶琪明,黄顺敏.多抗灵防治草莓白粉病的田间试验[J].中国生物防治,2001,17(2):封3.
- [5] 农业部农药检定所.农药田间药效试验准则(二)[M].北京:中国标准出版社,2004.