

文章编号: 1003-8701(2002)S1-0041-03

水稻病害生防细菌的筛选及其生物活性测定

王继春, 任金平, 韩润亭, 郭晓莉

(吉林省农科院植物保护研究所, 吉林 公主岭 136100)

摘 要:从健康水稻植株体表筛选对稻瘟病等水稻主要病害有益的生防细菌, 在室内分离到对稻瘟病等病菌菌丝具有很强抑制能力的细菌菌落 27 株, 经室外试验测定, 有 9 个细菌菌落对稻瘟病、纹枯病等具有一定的防治作用。其中, G-05 的防治效果最佳, 叶瘟、穗颈瘟防效分别为 50.8% 和 44.7%, 纹枯病的防效达到 46.1%, 是一个非常有应用前景的菌株。

关键词:稻瘟病; 水稻病害; 拮抗菌; 筛选; 防治效果

中图分类号:S476; S435.111.41

文献标识码:A

稻瘟病是吉林省水稻生产中影响产量的主要病害。该病每年在全省不同地方都不同程度地发生。目前, 预防稻瘟病发生及危害除了选用抗稻瘟病品种外, 主要是施用化学农药进行防治, 既污染环境, 又影响稻米质量。随着人们生活水平和质量的提高, 对绿色、优质稻米的需求量日益增加, 生物农药的研究应用, 将成为化学药剂的最理想替代品。当前, 从自然界中筛选以防治稻瘟病等的有益生防菌, 是一个热门课题。我们从 1996 年开始, 对以稻瘟病为主的水稻病害进行了拮抗菌分离、筛选、生物学测定等多方面研究, 现已获得具有显著防治效果的真菌和细菌等多种大量菌株。本试验着重对以稻瘟病为主的水稻病害有益细菌进行筛选和研究。

1 材料和方法

1.1 拮抗细菌的分离

从吉林省稻瘟病重发病地块健康植株上取样, 剪取 $2\text{ m} \times 2\text{ m}$ 大小, 经 75% 酒精表面消毒、无菌水漂洗后, 放置于 NA 培养基上, 在 28°C 下培养 24 h, 从有细菌菌落长出的取样附近挑取菌落, 经纯化后, 分别做低温保存和扩繁处理。供试的病原菌主要为水稻稻瘟病 (*Magnaporthe grisea* Cav)、水稻纹枯病 (*Rhizocotinia solani*)、水稻恶苗病 (*Fusarium moniliforme*) 等。致病菌株均由本实验室分离获得。

1.2 室内拮抗作用测定

所有细菌经过双培养法测定拮抗活性, 具体方法参见参考文献[1]。细菌扩繁采用肉汁胨培养液, 在 28°C 恒温箱中的振荡器上, 以 100 r/min 速度培养 24 h, 然后用纸碟沾取细菌液, 分别放置于已培养 48 h 的稻瘟病病菌、纹枯病病菌等的平板培养基上, 平板培养基中心放置病原菌菌落, 距菌落 3 cm 处以相同角度放置纸碟, 每个培养皿中放置 3 张携带不同细菌的纸碟, 重复 3 次。在 28°C 恒温箱中培养 48 h 后测定每一纸碟周围抑菌带宽度(mm)。

1.3 拮抗菌对稻瘟病孢子、纹枯病菌核萌发抑制测定

选取平板抑制效果较为显著的细菌(浓度 $3.0 \times 10^8\text{ CFU/mL}$)与携带稻瘟病菌的高粱粒混合, 洗脱孢子(孢子浓度为 3.0×10^4 孢子/mL)于细菌液中(弃除高粱粒), 在 28°C 恒温箱中培养 24 h, 观察稻瘟病孢子萌发的情况。纹枯病菌核处理采用文献[1]方法进行。同时, 用 40% 富士一号作防治稻瘟病、井冈霉素作防治纹枯病的对照处理, 同时设清水对照。40% 的富士一号使用浓度为 1 000 倍液, 井冈霉素使用浓度为 500 倍液。

1.4 室外拮抗菌处理对叶瘟、穗颈瘟及纹枯病的防效

在试验地水泥池内,每个处理栽植 10 个水稻品种,每个品种栽植 7 穴,确保每个处理的每个品种秋季出穗在 100 穗以上,每个处理重复两次。选用室内表现抑菌带较宽的细菌菌株用于室外防治稻瘟病和纹枯病的处理,以富士一号、井岗霉素、清水对照处理。在水稻分蘖初期,将人工扩繁的纹枯病病原物插入稻株近水面上部的叶鞘,作诱发纹枯病病源。在水稻分蘖盛期将细菌悬浮液进行水稻叶面喷雾处理,悬浮液浓度为 $3.0\times 10^8\text{CFU/mL}$,12 h 后人工接种稻瘟病菌,其浓度为 5.0×10^4 孢子/mL,棚布遮荫保湿 7 d;孕穗期按照以上同样方法处理,菌液浓度基本同上。对照处理同上。水稻孕穗期调查对叶瘟防效,黄熟期调查对穗颈瘟和纹枯病防效。

1.5 理想菌株种群测定

采用 MicroLog™ System, Release 4.0 对室内外共同表现优良菌株进行种群测定。

2 结果与分析

2.1 拮抗细菌室内筛选结果

经分离纯化,共收集到对稻瘟病菌丝有显著抑制效果的细菌菌株 27 株。对稻瘟病菌丝抑菌带宽度在 10~15 mm 的有 15 株,抑菌带宽度在 15.1~20 mm 的有 9 株,抑菌带宽度在 20 mm 以上的有 3 株;21 个菌株可同时有效地抑制恶苗病病菌菌丝生长;9 个菌株可以同时有效抑制纹枯病病菌菌丝生长。

2.2 拮抗细菌室内对稻瘟病孢子、纹枯病菌核萌发抑制效果及室外对稻瘟病、纹枯病防治效果

调查经拮抗细菌处理的稻瘟病菌孢子、纹枯病菌核萌发情况。所选用的菌株在筛选之初注重兼防稻瘟病和纹枯病病原菌,尽管在实际应用中对两种病害防治效果表现不一,但表现都有一定效果。表 1、表 2 列出已经做出菌系鉴定的 4 个菌株防治效果。根据水稻孕穗期叶瘟调查及黄熟期穗颈瘟调查结果,G-05 防治效果最为突出,防效分别为 50.8%和 44.7%;其次为 LH-06,防效分别为 47.4%和 36.6%。黄熟期调查纹枯病防效,防治效果最为理想的是 G-05 菌株,防效达 46.1%;LS-22 效果次之,但效果远不及 G-05。同对照药剂比较,尽管 G-05 防治效果不及富士一号和井岗霉素,但作为生物制剂而言,效果已经很显著了。G-05 菌株对稻瘟病和纹枯病均为具有明显防效的理想菌株,是一个很有希望的菌株。

表 1 拮抗细菌在室内外对稻瘟病的防治效果

菌 株	抑菌带宽度(mm)	孢子萌发率(%)	叶瘟防效(%)	穗颈瘟防效(%)
G-05	21.0	76.4	50.8	44.7
LS-22	17.5	82.8	22.0	21.3
LH-06	16.2	77.6	47.4	36.6
LS-105	19.4	88.1	9.6	16.8
富士一号	—	92.2	76.8	70.1
清水	—	96.4	—	—

注:防效(%)=(清水对照发病指数-处理发病指数)/清水对照发病指数×100%,下表同。

表 2 拮抗细菌在室内外对纹枯病的防治效果

菌 株	抑菌带宽度(mm)	菌核萌发率(%)	室外防效(%)
G-05	12.8	81.3	46.1
LS-22	18.6	95.9	25.0
LH-06	20.4	91.4	19.7
LS-105	18.1	82.8	14.3
井岗霉素	—	90.4	74.3
清水	—	98.1	—

2.3 理想菌株测定结果

采用 MicroLog™ System, Release 4.0 对室内外防治效果较理想的菌株进行种群测定, 菌株 G-05、LS-105 属于假单胞杆菌 (*Pseudomonas* spp), LS-22、LH-06 属于芽胞杆菌 (*Bacillus* spp)。

3 讨 论

研究结果表明, 水稻植株体表存在许多有益微生物。从病害发生的实际情况考虑, 直接从植株体表筛选微生物更有利于提高筛选效率, 利于推广应用。而对玉米、稗草等体表存在的有益菌株也应列为筛选行列。

试验中未对拮抗菌株在植株上的存活期及施用的最佳浓度进行测定, 只是取一个通常数值来应用, 这些重要数据有待以后有针对性的测取。

在室内外拮抗性测定中, 室内拮抗性表现突出的菌株, 与室外表现效果并不一致, 甚至出现相反的情况。对于防治两种或两种以上的病害, 情况更为复杂。为此, 对拮抗菌的筛选应注意室内外结合进行筛选, 对单一病害防治效果突出的菌株应做特殊处理。

总之, 随着人们对健康及环保认识逐渐加深, 开发、利用有益微生物进行病害防治, 从而减少污染, 提高食品质量, 是今后发展的方向和目标。广泛筛选病原拮抗微生物, 尽早开发应用于农业生产, 减少化学农药的使用, 是今后发展的重要方向。

参考文献:

- [1] 陆 凡, 等. 水稻恶苗病拮抗细菌的筛选及其生物活性测定[J]. 江苏农业科学, 1998, 14(3): 149—153.
- [2] MicroLog™ System, Release 4.0, Data Base GN and GP, Biololgy, Inc. 3938, USA.
- [3] 程明渊, 王继春, 等. 复合木霉菌对水稻立枯病的防治研究[J]. 吉林农业科学, 1998, 4: 50—53.
- [4] 易图永, 等. 水稻纹枯病生防细菌的筛选[J]. 湖南农业大学学报, 26(4): 116—118.
- [5] Samuel S. et al. Biological control of blast disease of rice with antagonistic bacteria and its mediation by a pseudomonas antibiotic Ann. Phytopath. SOC. Japan, 1992, 58(3).

Selection of Biological Control Agents Against Rice Diseases and Determination of Their Biological Activity

WANG Ji-chun, REN Jin-ping, HAN Run-ting, GUO Xiao-li

(Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: To isolate biocontrol bacteria from healthy rice plants, which belong to different areas in Jilin province, and studying on biological activity against the pathogen of rice diseases such as rice blast (*Magnaporthe grisea*) and rice sheath blight (*Rhizoctonia solani*). Twenty-seven isolates produced inhibitory effect against *M. grisea* in the laboratory. And nine isolates were against both *P. oryzae* and *R. solani*. Among 4 tested isolates, G-05 was the best one against *M. grisea* and *R. solani*, which produced 50.8% and 44.7% control effect respectively to leaf blast and neck blast, and produced 46.1% control effect to rice sheath blight. G-05 was a good potential microbial control agent.

Key words: Rice blast (*Magnaporthe grisea*); Rice disease; Biological control agents; Screening; Control effect