

文章编号: 1003-8701(2015)03-0065-04

微生物源杀菌剂对黄瓜白粉病的防治作用

孙 卉, 闫海洋, 金荣德*

(吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要: 为了探索微生物源杀菌剂对黄瓜白粉病的防治作用, 以化学制剂及清水处理为对照, 配制一种微生物源几丁质酶为主成分的制剂对黄瓜白粉病进行防治, 分别对黄瓜的白粉病发病率、根系活力, 以及一系列生物性状和品质进行测定。通过显微镜观察发现, 该制剂可通过破坏孢子细胞壁来抑制白粉病病原菌的繁殖。植物试验结果显示, 微生物制剂处理白粉病发病率仅为 8.77%, 防效高达 89.32%, 远高于对照。微生物制剂处理增产 15.7%, 总氨基酸含量等品质指标和根系活力明显高于对照组。研究表明该制剂可以有效抑制黄瓜白粉病的发生, 同时有促进植物生长的良好作用, 具有潜在的应用价值。

关键词: 微生物制剂; 黄瓜白粉病; 微生物源杀菌剂

中图分类号: S436.421.1*2

文献标识码: A

DOI: 10.16423/j.cnki.1003-8701.2015.03.017

Control Efficacy of Cucumber Powdery Mildew with Microbial Source Fungicide

SUN Hui, YAN Hai-yang, JIN Rong-de*

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to explore the prevention and cure function of microbial source fungicide to cucumber powdery mildew, chemicals and water treatment were used as control, a preparation of chitinase microbial sources as main component was made to prevent and control cucumber powdery mildew. Incidence of powdery mildew of cucumber, root activity, and a series of biological properties and quality were determined. Through a microscope, it was found that the preparation could inhibit fungus reproduction by destruction of powdery mildew pathogen spores cell walls. The plant test showed that incidence of powdery mildew was 8.77% in microbial preparation treatment. The control effect was 89.32%, which was far higher than controls. The yield increased by 15.7%. Quality index such as total amino acid content and root vigor were significantly higher than the control. The research showed that the preparation could effectively reduce the incidence of powdery mildew of cucumber and promote plant growth at the same time. The preparation has potential application value.

Key words: Microbial preparation; Cucumber powdery mildew; Microbial source fungicide

黄瓜白粉病 (*Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea*) 是我国黄瓜生产面临的三大病害之一^[1], 同时也是世界范围内一种主要的黄瓜叶部病害^[2-3]。该病害由单丝壳白粉菌 (*Sphaerotheca*

fuliginea) 侵染引起, 发病时主要侵害黄瓜叶片部位, 致使光合作用受到影响^[4], 其次也能作用于茎和叶柄处。由于该病害从幼苗期到成株期都能侵染黄瓜植株, 并且具有流行性强、发病率高、潜育期短和再侵染频繁的特点^[5], 可以导致黄瓜减产并影响果实品质, 已严重影响了黄瓜的农业生产。据统计, 该病害导致的黄瓜减产一般年份约在 10%, 而流行年份更是高达 30% 左右^[6]。

当前, 化学防治是应对黄瓜白粉病的主要手段, 但化学药剂的大量使用易使病原菌产生抗药性, 包括苯氧基喹啉类、有机磷类、苯丙咪唑类等^[7-8]。

收稿日期: 2014-12-10

基金项目: 吉林省科技厅重点项目 (20120203); 吉林省财政厅重大项目 (2011-Z16)

作者简介: 孙 卉 (1987-), 女, 研究实习员, 硕士, 主要从事微生物代谢产物在农业生产中的应用研究。

通讯作者: 金荣德, 男, 副研究员, 博士, E-mail: m18744330503@163.com

这主要是因为多数内湿性杀菌剂作用单一且长期施用。另外,化学农药的大量施用也会伴随农药残留、破坏土壤等食品安全问题及生态环境问题的发生。研制开发无毒(低毒)高效、利用环境保护的微生物制剂用以替代或减少化学农药的使用已成为一个研究的热点领域^[9]。现阶段研究已证实多种微生物,如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、哈茨木霉菌(*Trichoderma harzianum*) T39、蜡蚧轮枝菌(*Verticillium lecanii*)等^[10-21]对黄瓜白粉病都能起到防治作用。

为了更加安全有效地防治黄瓜白粉病,本研究尝试了一种源于微生物源几丁质酶的制剂用于黄瓜白粉病的防治,设置化学制剂及清水处理为对照,分别对黄瓜的生物性状、根系活力及与品质相关的一些指标进行测量,验证该微生物制剂对黄瓜白粉病的防治效果。以期为研究开发具有实用价值的新型微生物制剂提供材料。

1 材料与方 法

1.1 微生物的筛选及制剂的制备

用于分离筛选分解几丁质微生物的土壤采自浙江省舟山市周边富含蟹壳废弃物的海岸线土壤。称取采集土壤 1 g,在含有 100 mL 生理盐水的三角瓶中 30℃ 恒温条件下震荡 30 min,制成样品悬浮液,采用梯度稀释法进行稀释后均匀涂布于几丁质细菌基础培养基上,培养 3 d。挑取周边有明显菌落透明圈的单菌落,进行划线纯化菌株。

1.2 几丁质细菌培养基组成

几丁质培养基(g/L): 胶体几丁质 5; Na₂HPO₄ 2; KH₂PO₄ 1%; NaCl 0.5; NH₄Cl 1; MgSO₄·7H₂O 0.5; CaCl₂·2H₂O 0.5; KNO₃ 0.5; 酵母浸粉 0.1; 琼脂 20。

1.3 几丁质酶制剂的制备

为了得到几丁质酶,微生物在液态几丁质培养基发酵 96 h 后发酵液经 4000 r/min 离心 15 min,收集上清液,于上清液中缓慢加入(NH₄)₂SO₄,使溶液中(NH₄)₂SO₄饱和度达到 20%, 4℃ 静置过夜后 10 000 r/min 冷冻离心,去除杂蛋白。在清液中继续加入(NH₄)₂SO₄,使其饱和度达到 75%, 4℃ 静置过夜后 10 000 r/min 冷冻离心,将沉淀溶于蒸馏水,置于透析袋中,对 0.02 mol/L pH8.0 的磷酸缓冲液透析 24 h。将提取的酶、吐温 80 以及农业用乳化剂按适当比例混合后制备。

1.4 制剂对白粉病病原菌的抑制效果观察

在白粉病发病后用毛笔将分生孢子刷于盛有制剂浓度为 0, 500, 1000, 2000 mL/L 的烧杯中静

置 2 h 后利用显微镜观察孢子表面。发病叶片于乙醇-乙酸(V:V=3:1)混合液中固定脱色至透明后,甲基蓝/乳酸/甘油/蒸馏水(W:V:V:V=1:1:1:1)混合液染色 24 h。光学显微镜下观察病原菌在叶面的孢子萌发、附着胞形成、菌丝伸长、吸器发育以及分生孢子形成情况。

1.5 盆栽实验

供试土壤采自公主岭市范家屯镇农田土,土壤经自然风干、锤碎、过 5 mm 筛,该土壤含有有机质 3.23%, 碱解氮 115.5 mg/kg, 有效磷 277.8 mg/kg, 速效钾 510 mg/kg。制剂处理区将几丁质制剂原液稀释 500 倍而成,化学制剂处理选用百菌清,对照为清水处理,重复 3 次,随机区组排列。按 50 kg/667m² 复合肥(N-P₂O₅-K₂O=15%-15%-15%) 做基肥, 30 kg/667 m² 尿素(含 N 量 46%) 分 3 次作为追肥施用。各处理于黄瓜白粉病接种以前喷施 100 mL, 对照取等量清水叶面喷施 1 次。白粉病发病以后每 5 d 喷施 1 次,共喷施 3 次。在晴天的早上 9~11 时或下午 4~6 时,均匀喷洒于叶片正反两面,达到叶表湿润。病虫害防治及其他管理同大田。

1.6 测试项目

从白粉病发病开始统计各处理黄瓜植株发病叶片的数量,用以计算发病率和防治效果。

于盛果期取样(每个处理取样 5 根黄瓜),分析黄瓜的氨基酸、维生素 C、葡萄糖含量等指标。

每个处理选择 3 株,测量基部茎粗(在主干离地面 5 cm 部位测量)、叶片数、叶面积(每株取第 11~15 节间的功能叶,利用数码相机和 Photoshop 软件非破坏性测定叶面积)、鲜重和叶绿素含量,及时采收并计产。

同时将上述 3 株黄瓜的根系完整取出,采用甲烯蓝吸附法对其进行根系活力测定。

2 结果与分析

2.1 光学显微镜下病原孢子情况

微生物制剂的处理对白粉病病原菌孢子及发病叶面的处理效果如图 1 所示。在 500 倍稀释液处理 2 h 后病原菌的孢子子囊壳渐渐突起直至破裂,内容物被释放出来,直至子囊壳内无其他物质,子囊死亡(图 1A 为清水处理的孢子, B1-1、B1-2 为制剂处理)。清水处理对照区的叶表面上可发现吸气及分生孢子(图 1B2-1、B2-2)而制剂处理区的叶面可见清晰未破坏的植物叶脉组织。

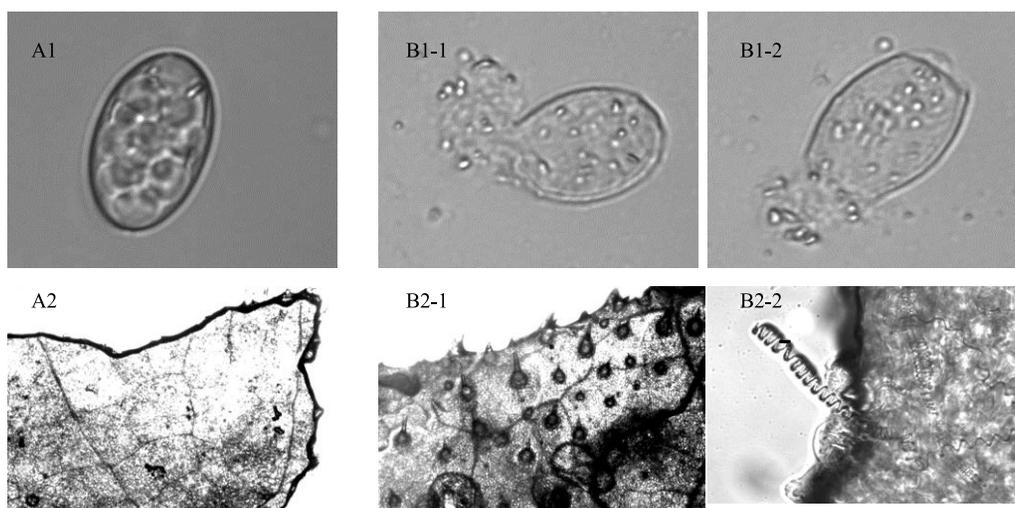


图1 微生物制剂的处理对白粉病的抑制效果

2.2 微生物制剂对黄瓜生物性状的影响

不同处理条件对黄瓜生物性状的影响见表1,与对照相比,微生物制剂处理增产了15.7%,明显高于对照组;粗度比对照组增加了11.7%,但与化学处理相比较增长不明显;在有效叶片、叶面积上微生物制剂处理与对照相比则无明显差异;

但在防病能力方面微生物处理显现出明显的优势:对照组的发病率为82%,化学处理的为33.83%,微生物制剂处理的仅为8.77%,防效高达89.32%。可见,微生物制剂对于黄瓜的产量和防病效果都有积极的作用。

表1 不同处理黄瓜地上部分性状的调查

处理	鲜重(g)	茎粗(cm)	有效叶片(个)	叶面积(cm ²)	叶绿素(SPAD)	发病率(%)	防效(%)
微生物制剂	201.22	0.86	26.50	493.00	42.40	8.77	89.32
化学处理	198.38	0.84	25.50	466.85	27.80	33.83	56.49
对照组	173.90	0.77	24.00	394.00	27.20	82.00	8.38

2.3 微生物制剂对黄瓜品质的影响

表2为不同处理条件对黄瓜植株品质的影响,可以看出,微生物制剂处理的总氨基酸、维生素

C和葡萄糖含量均明显高于化学农药和对照处理,这说明了微生物制剂对黄瓜的品质有明显的改善作用。

表2 不同处理黄瓜氨基酸、维生素C、葡萄糖含量的测定

	微生物制剂	化学处理	对照组
总氨基酸(mg/g)	20.52	18.50	16.85
维生素C(mg/100g)	32.65	19.66	19.1
葡萄糖(%)	2.87	1.93	1.42

2.4 微生物制剂对黄瓜根系活力的影响

不同处理条件对黄瓜根系活力的影响见表3,微生物制剂处理表现出了较强的根系活力,这与不同处理地下根部性状中的根条数、根体积、根鲜重等有关。结合表1可以看出,根系活力的大小与其产量有一定的联系,根系活力越大,产量越高。

表3 不同处理条件对黄瓜根系活力的影响

处理	根系体积(mL)	总吸收面积(m ²)	有效吸收面积(m ²)	活跃吸收面积(%)
微生物制剂	9.67	14.48	8.20	56.62
化学处理	9.33	13.36	6.91	51.52
对照组	-	-	-	-

3 讨论

黄瓜白粉病发病时主要侵害黄瓜叶片部位,

致使光合作用受到影响,而光合作用的强弱直接影响植物对养分的利用效率^[22]。本实验中,在发病前对黄瓜叶片进行微生物制剂处理可以大幅度

降低叶片的发病率,从而降低了白粉病对黄瓜叶片光合作用的影响,进而提高了黄瓜对养分的利用效率。对黄瓜各项生物性状的测量数据也证明了上述结论的正确性。光学显微镜下对发病及正常叶片的观察有效证实了微生物制剂对黄瓜白粉病有良好的抑制作用。

根系活力与植物生长状态息息相关^[22],植株生长健壮则根系活力也会相应增强,对黄瓜根系活力检测的数据也证明微生物制剂处理的黄瓜植株根系更加发达,根系活力更强,与生物性状数据相对应,结果均表明微生物制剂处理的防病、促生作用明显高于化学处理和对照组。

发达的根系和强大的根系活力可以保证基本营养物质的供给,充足的光合作用可以保证更多营养物质的合成,这些都可以提高蔬菜的品质。对黄瓜果实总氨基酸、维生素C和葡萄糖含量的测定结果证明了微生物制剂处理的果实品质明显高于化学制剂处理。

目前,微生物的筛选主要集中在土壤^[23]、海洋^[24]、植物根际^[25]和植物体内^[26],本实验中使用的微生物制剂来源于甲壳素堆肥,可以使蔬菜在整个生育期间不使用任何化学合成农药,不会对蔬菜的叶片及果实造成人为的化学污染,食用更加安全。且因为提高了蔬菜养分的利用率,使其在品质上也会有所成效,提高了蔬菜品质的同时还增加了蔬菜的食品安全性。

参考文献:

- [1] 曹清河,万红建,陈劲枫. 黄瓜霜霉病抗性研究进展[J]. 中国瓜菜,2007(1):27-30.
- [2] 刘苗苗,刘宏宇,顾兴芳,等. 黄瓜白粉病抗性遗传规律及分子标记研究进展[J]. 中国蔬菜,2009(24):7-12.
- [3] Block C C, Reitsma K R. Powdery mildew resistance in the U. S. National plant germplasm system cucumber collection[J]. Hort Science, 2005, 40(2): 416-420.
- [4] 韦相贤,成儒萍. 50%醚菌酯水分散粒剂防止黄瓜白粉病药效研究[J]. 植物护理学,2010(17):175,180.
- [5] 张圣平,刘苗苗,苗 晗,等. 黄瓜白粉病抗性基因的 QTL 定位[J]. 中国农业科学,2011,44(17):3584-3593.
- [6] 范瑛阁,赵 伟,何 毅. 黄瓜白粉病生防菌的筛选及广谱性测定[J]. 北方园艺,2013(12):116-119.
- [7] 曹秀凤,刘君丽,李志念,等. 创制杀菌剂啞胺菌酯对黄瓜白粉病菌发育阶段的影响[J]. 农药,2010,49(10):717-719.
- [8] 于春雷,李素霞,张 斌,等. 四氟醚唑对黄瓜的安全性及其对黄瓜白粉病的防治效果[J]. 植物保护学报,2012,39(3):265-270.
- [9] 陈 谦,张新雄,赵 海,等. 生物有机肥中几种功能微生物的研究及应用概况[J]. 应用与环境生物学报,2010,16(2):294-300.
- [10] Cohen R, Shtienberg D. Seed treatment for the control of *Sphaerotheca fuliginea* in muskmelon seedlings[J]. Plant Pathology, 1994(43): 316-320.
- [11] Askary H, Benhamou N, Broder J. Ultra-structural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Vorticillium lecanii* on cucumber powdery mildew[J]. Phytopathology, 1997, 87(3): 358-368.
- [12] Jeger M J, Gilijamse E. The epidemiology, variability and control of the downy mildews of pearl millet and sorghum, with particular reference to Africa[J]. Plant Pathology, 1998, 47(5): 544-569.
- [13] Jarvis W R, Shaw L A, Traquair J A. Factors affecting antagonism of cucumber powdery mildew by *Stephanosaurus flocculosus* and *S. rugulosus*[J]. Mycological Research, 1989, 92(2): 162-165.
- [14] 杨文香,张 汀,刘大群. 三株链霉菌对黄瓜白粉病及黄瓜生长的影响[J]. 河北农业大学学报,2005,28(4):80-84.
- [15] 鹿秀云,李社增,马 平,等. 黄瓜白粉病拮抗细菌的筛选与鉴定及其防病机理[J]. 中国生物防治,2006(22):54-58.
- [16] Bettiol W, Garibaldi A, Migel I Q. *Bacillus subtilis* for the control powdery mildew on cucumber and zucchini squash[J]. Biogantia, 1997, 56(2): 281-287.
- [17] 李占杰. 蔬菜主要病害生防菌 CAB-1 发酵工艺的优化[D]. 保定:河北大学,2010.
- [18] 陈夕军,李 娟,孙启利,等. 水稻内生枯草芽孢杆菌 G87 抗菌蛋白的分离纯化及理化特性[J]. 微生物学报,2010,50(10):1353-1357.
- [19] 彭 兵,张树斌,贾 宇,等. 枯草芽孢杆菌菌株 A 抗菌蛋白的分离纯化及抗真菌机理[J]. 中国农业科学,2011,44(1):67-74.
- [20] 张晓云,李宝庆,郭庆港,等. 生防枯草芽孢杆菌 CAB-1 抗菌蛋白产生条件及其稳定性研究[J]. 中国农业科技导报,2011,13(2):59-64.
- [21] 张晓云,李宝庆,郭庆港,等. 枯草芽孢杆菌 CAB-1 抗菌蛋白对黄瓜白粉病的防治作用[J]. 中国生物防治学报,2012,28(3):375-380.
- [22] 徐克章,张治安. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2005.
- [23] 薛鹏琦,刘 芳,乔俊卿,等. 油菜菌核病生防芽孢杆菌的分离鉴定及其脂肽化合物分析[J]. 植物保护学报,2011,38(2):127-132.
- [24] 马桂珍,王淑芳,暴增海,等. 海洋多黏类芽孢杆菌 L1-9 菌株抗菌蛋白的分离纯化及其抗菌作用[J]. 食品科学,2010,31(17):335-339.
- [25] 冯志珍,陈太春,段军娜,等. 烟草黑胫病拮抗根际芽孢杆菌 FB-16 的筛选鉴定及其抑菌活性[J]. 植物保护学报,2012,39(3):224-230.
- [26] 何 红,蔡学清,兰成忠,等. 辣椒内生菌 BS-2 在白菜体内的定殖、促生和防炭疽病作用[J]. 植物保护学报,2004,31(4):348-352.