

淡紫拟青霉在大棚蔬菜育苗基质中的动态变化

宋晋辉¹, 刘会清¹, 李世东², 郭会婧¹

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 中国农业科学院 植物保护研究所, 北京 100193)

摘要: 将淡紫拟青霉不同菌株稀释后处理土壤后播种黄瓜, 研究不同生长天数的黄瓜苗根际土壤中菌株的生长情况, 明确不同菌株在育苗基质中的动态变化, 并筛选出适宜的土壤添加浓度。结果表明: 不同淡紫拟青霉菌株的生长速度不同, 且不同添加浓度菌株的生长趋势也不很一致, 其中 IPC-P 菌株生长速度最快, 菌落数明显多于其它 2 个菌株; IPC-P 菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^4 个/mL; XCZ 1-3 菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^5 个/mL; YES 菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^5 个/mL。

关键词: 淡紫拟青霉; IPC-P 菌株; XCZ 1-3 菌株; YES 菌株; 筛选

中图分类号: S 625.206⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)06-0161-03

植物线虫是目前农业生产中重要的植物病原物之一, 它们通常侵染植物根部, 引起作物根部乃至全株的病害, 其对植物所造成的危害程度超过细菌和病毒。据统计, 每年世界农业生产中由植物线虫造成的损失约 1 000 亿美元, 其中根结线虫造成的危害最大^[1,2]。长期以来, 生产上对植物线虫的防治主要使用高毒化学农药。但是, 长期使用高毒化学农药不仅污染环境, 对人、畜不安全; 而且易使病原菌产生抗药性, 导致防效下降甚至失败。因此目前许多化学杀线虫剂已被禁用。生物防治由于克服了化学防治的上述弊病, 且研究和实践已证明其对部分土传病害经济有效, 使得其研究成为

热点。

淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus*) 是许多重要农作物病虫的生防菌, 广泛分布于世界各地。该病菌能在土壤中习居并宿存, 具有功效高、寄主广、易培养等优点^[3]。大量研究表明, 淡紫拟青霉不仅能寄生根结线虫、孢囊线虫等多种植物病原线虫的卵, 而且在代谢过程中能产生具有杀线虫活性的物质如酶、毒素等, 抑制线虫卵的孵化, 并强烈抑杀二龄幼虫^[4,6], 从而控制作物线虫病害。利用淡紫拟青霉防治植物线虫病优于化学杀线虫剂, 具有安全、高效、持效期长等特点。目前, 国内外对淡紫拟青霉的研究主要集中于生物学特性、发酵技术、代谢物对根结线虫的毒性、分子生物学等方面^[7-10], 而关于淡紫拟青霉抗蔬菜线虫病方面的研究较少。现研究不同淡紫拟青霉菌株在大棚蔬菜育苗基质中的动态变化, 为其开发和田间应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 C、*Paecilomyces lilacinus* (IPC-P); D、

第一作者简介: 宋晋辉(1978-), 女, 河北安国人, 硕士, 讲师, 研究方向为作物栽培学与耕作学。

通讯作者: 李世东(1963-), 男, 博士, 研究员, 现主要从事土传病虫害防治研究工作。E-mail: lisd@jeda.org.cn

基金项目: 国家“863”计划资助项目(2006AA06Z357)。

收稿日期: 2011-01-12

Priliminary Research of Potions Test on Apple Canker

WANG Xin¹, LI Jian-guo¹, GUO Jun-wei¹, RUAN Barr-lu¹, HAN Chun-ni¹, LIU Qun-ying²

(1. Xianyang Vocational and Technical College, Xianyang, Shaanxi 712000; 2. Vegetable Service Station of Jingyang County, Xianyang, Shaanxi 713700)

Abstract: The experiment choosed the three potions such as the Jinlishi, Guoyoupi-fukang and Junqing to prevent the canker disease in different area, and combined with our past experiences, a suggestion was given to prevent canker disease.

Key words: apple canker; potions test; apple tree

Paceliomyces lilacinus(XSZ 1-3); Y、*Paceliomyces lilacinus*(YES), 淡紫拟青霉由中国农科院微生物所分离并惠赠 其中 IPC-P、XSZ 1-3、YES 分别代表不同菌株。

1.1.2 供试培养基 淡紫拟青霉选择性培养基: 1 000 mL 固体 PDA 培养基中加入 10 g 氯化钠, 50 mg 75% 的五氯硝基苯, 0.5 mg 50% 的多菌灵(苯来特), 2.5 mL 硫酸庆大霉素(80 万单位), 50 mg 氯霉素, pH 6.0 高压灭菌 15 min 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株培养及土样处理条件 将淡紫拟青霉菌定量的接种到液体培养基中, 28℃ 摇瓶发酵 4~5 d。检测发酵液中孢子浓度, 分别在孢子浓度为 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 个/mL 的菌液中加入添加物, 制成菌剂。将配好的菌剂分别与 2 kg 土混合, 播种黄瓜。温室黄瓜苗培养温度为 23~25℃, 湿度 80% 左右。

1.2.2 取土样及淡紫拟青霉菌的检测方法 分别取未播种的土壤及出苗后 10、20、30 d(相当于 1 个月)的根际土各 2 g(根际土的取样方法: 从育苗盘各方位随机取苗, 至少 5 株, 小心拔取整棵苗, 然后轻轻抖落根上的大部分土, 留取紧贴根上的土 2~3 g), 其中 1 g 加入到 99 mL 无菌水中, 室温振荡 30 min, 制成 10^{-2} 稀释液, 然后吸取 1 mL 10^{-2} 悬浮液转移到 9 mL 无菌水中, 吹吸几次, 制成 10^{-3} 稀释液; 最后再吸取 1 mL 10^{-3} 悬浮液转移到 9 mL 无菌水中, 吹吸几次, 制成 10^{-4} 稀释液。分别取不同稀释度的菌悬液 0.1 mL 采用稀释涂布法涂布到选择性培养基上, 28℃ 倒置培养 2~3 d, 计不同稀释梯度的菌落数, 以 30~100 个菌落的稀释梯度做数据统计。另外 1 g, 测烘干前后重量的变化, 菌含量以扣除水分的干土中菌含量为准, 3 次重复。

2 结果与分析

图 1~3 为淡紫拟青霉不同菌株在黄瓜根际土中的生长情况, 其中不同菌株的生长速度不同, 且不同稀释浓度菌株的生长趋势也不一致。

由图 1 可看出, 添加浓度为 1×10^4 个/mL 的 IPC-P 菌株(C-2)在黄瓜出苗 30 d 内生长量变化较平稳; 浓度为 1×10^5 个/mL 的 IPC-P 菌株(C-3)的生长量随处理时间的延长而呈逐渐上升趋势(由 4.7 逐步升至 5.1); 添加浓度为 1×10^6 个/mL 的 IPC-P 菌株(C-4)处理土壤后, 黄瓜出苗后 20 d 以内菌株的生长量随处理时间的延长而加快(由 4.9 升至 5.4), 之后略有下降。

由图 2 可看出, 添加浓度为 1×10^4 个/mL(D-2)和 1×10^5 个/mL(D-3)的 XSZ 1-3 菌株生长量在黄瓜出苗 10 d 内变化较平稳, 之后随时间延长略有下降, 其中 D-2 菌株由 4.8 降至 4.7, D-3 菌株由 4.9 降至 4.7。 1×10^6

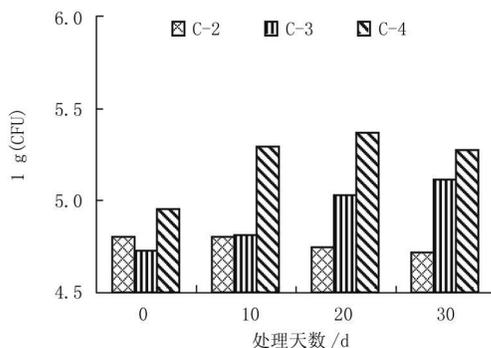


图 1 淡紫拟青霉 IPC-P 菌株在黄瓜根际的生长情况
个/mL 浓度(D-4)菌株 D 处理土壤后, 在出苗后 10 d 菌株生长量升高且达到最高峰(5.1), 10 d 后随时间延长而呈现下降的趋势(由 5.1 降至 4.9)。

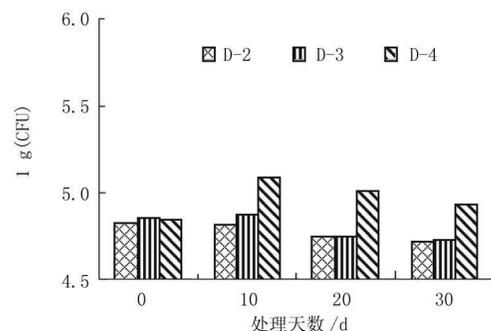


图 2 淡紫拟青霉 XSZ 1-3 菌株在黄瓜根际的生长情况

由图 3 可看出, 1×10^4 个/mL(Y-2)的 YES 菌株处理土壤后, 其生长速度于出苗后 10 d 达到最高峰, 之后生长速度有所下降。 1×10^5 个/mL(Y-3)的 YES 菌株处理土壤后, 从播种到出苗后 10 d 菌株生长量几乎没有变化, 之后略有上升; 1×10^6 个/mL(Y-4)的 YES 菌株处理土壤后, 于出苗后 20 d 降至最低值, 之后上升。

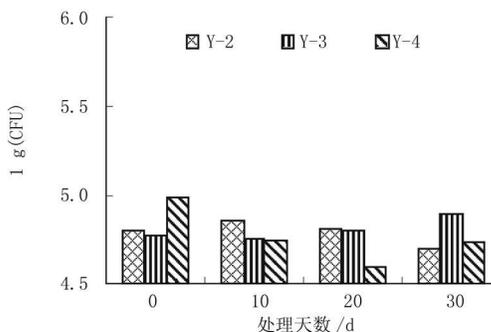


图 3 淡紫拟青霉 YES 菌株在黄瓜根际的生长情况

3 结论与讨论

利用微生物防治植物寄生线虫等土传病害, 其防效能否稳定、持久, 一个重要原因取决于它在植物根部的定殖能力。该试验结果表明, 不同淡紫拟青霉菌株的生长速度不同, 且不同添加浓度菌株的生长趋势也不很一致。其中 IPC-P 菌株生长速度最快, 菌落数明显多于其

它2个菌株。有些菌株如浓度为 1×10^6 个/mL的YES菌株处理土壤后,菌株的生长速度下降,且下降幅度很大。已有研究表明,土壤对真菌存在抑菌作用,而且不同土壤间抑菌作用存在差异。孙漫红等^[11-12]研究了大豆胞囊线虫自然衰退土对4种食线虫真菌的抑菌作用,证明土壤抑菌作用普遍存在,但不同土壤、不同菌株间差异很大。但如果菌株添加浓度过高,会造成土壤微生物污染,抑制或蚕食土壤中的其它微生物,可能引发其它病害;如果添加浓度过低,则起不到防病促生的作用,因此浓度的选择至关重要。试验结果表明,IPC-P菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^4 个/mL;XCZ 1-3菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^5 个/mL;YES菌株添加到土壤中的适宜浓度为 1×10^5 个/mL。

试验中淡紫拟青霉不同菌株生长量降低的原因可能受土壤中的某些因素如理化性质、营养元素含量、土壤中其它微生物的种类等影响;再有淡紫拟青霉的最适宜生长温度为 28°C ,而黄瓜生长温度为 $23 \sim 25^\circ\text{C}$,这也可能是造成淡紫拟青霉生长量降低的一个原因,这还有待进一步试验研究。淡紫拟青霉菌株的筛选仅是防治蔬菜线虫病的基础工作,也是关键步骤。只有选择生长性状好的菌株进行病害防治,才能达到安全、高效、持效长期等效果。

参考文献

- [1] 崔林开,胡艳红,郭岩.蔬菜根结线虫生物防治的研究进展[J].安徽农业科学,2006,34(22):5907-5908.
- [2] 赵培静,任文彬,缪承社,等.淡紫拟青霉研究进展[C]//第二届全国农业环境科学学术研讨会论文集,2007.
- [3] 李芳,刘波,肖荣凤,等.淡紫拟青霉NH-PL-03菌株对甘薯茎线虫的毒力效应[J].中国农学通报,2005,21(3):255-258.
- [4] Cayrol J.C. Nematocidal toxins of fungus[J]. Revue Horti-cole, 1989, 29, 53-57.
- [5] 孙漫红,刘杏忠,晋治波.淡紫拟青霉对大豆胞囊线虫卵及二龄幼虫的影响[J].植物保护学报,2002,29(1):57-61.
- [6] 孙漫红,刘杏忠.淡紫拟青霉发酵滤液对大豆胞囊线虫趋化性的影响[J].植物病理学报,2004,34(4):376-379.
- [7] 赵培静,任文彬,缪承社,等.淡紫拟青霉研究进展与展望[J].安徽农业科学,2007,35(30):9672-9674.
- [8] Park J O, Hargreaves J R Mcconville E J, et al. Production of leucino-statins and nematocidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus*(Thom) Samson[J]. Letters in Applied Microbiology, 2004, 38:271-276.
- [9] 张延新,刘开启,夏振远,等.淡紫拟青霉诱变菌株的RAPD分析[J].中国生物防治,2005,21(2):109-112.
- [10] Atkins S D, Clark I M, Pande S, et al. The use of real time PCR and species-specific for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus* [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 51:257-264.
- [11] 孙漫红,刘杏忠.淡紫拟青霉在大豆根际的定殖及对根际微生物的影响[J].微生物学通报,1998,25(3):133-136.
- [12] 孙漫红,刘杏忠,唐霖.土壤抑制作用对食线虫真菌及其制剂的影响[J].菌物系统,1997,16(2):149-154.

Dynamic Changes of *Paecilomyces lilacinus* Strain in Nursery Medium of Greenhouse Vegetable

SONG Jir-hui¹, LIU Hui-qing¹, LI Shi-dong², GUO Hui-jing¹

(1. Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences Beijing 100193)

Abstract: In this study, different strains of *Paecilomyces lilacinus* diluted soil, then sowing cucumber seed. Studied the dynamic changes of *Paecilomyces lilacinus* strain in the cucumbe rhizosphere soil of different days in order to filter out the appropriate concentration of different strains in the soil. The results showed that IPC-P strains were selected to the soil wa more appropriate for the concentration of 1×10^4 Unit/mL; XCZ 1-3 strain added to the soil w as more appropriate for the concentration from 1×10^5 Unit/mL; YES strains added to soil more appropriate for the concentration of 1×10^6 Unit/mL.

Key words: *Paecilomyces lilacinus*; strain of *Paecilomyces lilacinus* IPC-P; strain of *Paecilomyces lilacinus* XCZ 1-3; strain of *Paecilomyces lilacinus* YES; filter