

木霉菌 TC 对辣椒疫病的防治效果

胡 琼, 张海松

(杭州万向职业技术学院, 浙江 杭州 310023)

摘 要:通过对峙培养等方法分离筛选出对辣椒疫霉菌有效拮抗的木霉菌株,进行了辣椒疫病的盆栽防病试验。结果表明:木霉(*Trichoderma* spp.) TC 株系对辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)引起的辣椒疫病有良好的防治效果。对峙培养和木霉菌挥发性代谢物质抑菌活性测定试验中对辣椒疫霉菌都有非常好的抑制作用,抑制率分别可达到 75%和 70%。盆栽试验结果表明,先浇灌接种孢子悬浮液后 60 d 接种辣椒疫霉,对疫病的防治效果可达 73.7%。将木霉 TC 与 15%甲霜灵 1 000 倍协同作用防治辣椒疫病时,可达 82.5%,防效比单独使用木霉或甲霜灵要好。二者表现出较好的协同防治作用。

关键词:辣椒疫病;木霉菌;生物防治;协同作用

中图分类号:S 436.418.1⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)03-0147-03

辣椒疫病是由辣椒疫霉菌引起的一种世界性、毁灭性土传病害,其可危害辣椒幼苗、成株期的茎、叶及果实,造成幼苗猝倒,茎秆枯死,果实腐烂,严重的可导致绝产,也可侵染番茄、茄子、黄瓜、西瓜、南瓜等作物(图 1)。自 1918 年该病在美国被发现后,现已遍及世界,在中国浙江、湖北、上海等十几个省市自治区的辣椒种植区均有发生。且该病的发生有逐年加重的趋势,一旦发生将会给农业带来巨大的损失^[1-2]。

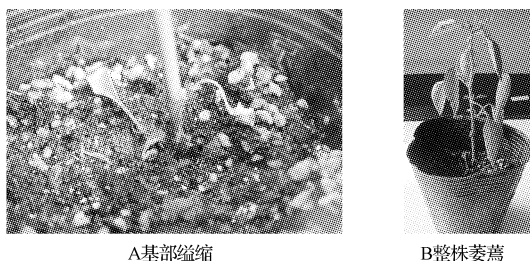


图 1 辣椒疫病在盆栽条件下的发病症状

化学防治至今仍是预防和治理植物病害的主要措施,如甲霜灵属等,但容易使病原菌产生抗药性,因而极有必要开展辣椒疫病的生物防治。木霉是一种对许多土传真菌有很强拮抗作用的真菌,目前已广泛地用于土传病害的生物防治^[3]。该研究通过对峙培养等方法分离筛选出对辣椒疫霉菌有效拮抗的木霉菌株,进行了辣椒疫病的盆栽防病试验。

第一作者简介:胡琼(1977-),女,浙江舟山人,博士,讲师,现主要从事植物保护领域与生物化学和分子生物学研究工作。E-mail: hangzhouhq@yahoo.com.cn.

基金项目:杭州市科技局计划资助项目(20080632B19)。

收稿日期:2011-11-07

1 材料与方法

1.1 试验材料

木霉菌株 TC、TY、NF9 由浙江大学农业与生物技术系张敬泽老师赠送,辣椒疫霉自杭州蔬菜研究所辣椒大棚的发病株周围病土中分离、纯化。二者均在杭州万向职业技术学院实验室的 PDA 培养基上保存。

1.2 试验方法

1.2.1 培养物的制备 木霉培养物:将米糠:粳米以 4:6 的比例混合均匀后加水到用手抓紧可以成团而指缝间无水滴下便可。装入培养袋中,121℃灭菌 20 min,冷却后无菌接种各种木霉菌块,放于 26℃、10/14 h 的光暗比下生长。一般培养 13~15 d 绿色木霉孢子层爬满整个袋子就可用于田间拮抗性试验。用无菌水洗脱后,田间试验备用。病原菌培养物:将 PDA 上活化后的病原菌菌块均匀接种在已放湿滤纸的辣椒上,用湿透的纱布盖起来,放于 26℃、10/14 h 的培养箱培养,5 d 后辣椒上长出白色霉层,用无菌水洗脱后,田间试验备用。

1.2.2 木霉拮抗菌株的筛选 采用平板对峙培养法测量各木霉菌株对病原菌的抑制率^[4]。以单独接种疫霉菌为对照,于接种后第 4 天测量 2 个接种点连线上疫霉菌的菌落半径,计算抑菌率;当 2 个菌落接触后,挑取交接部位菌丝在显微镜下观察木霉菌与疫霉菌的相互作用;参照参考文献^[2]的方法对木霉菌挥发性代谢物质抑菌活性进行测定,在接种后第 4 天测量疫霉菌的菌落直径,计算抑菌率。选出病原菌生长抑制最强的菌株,将筛选出的菌株用于防治试验^[5]。

1.2.3 木霉菌室内防治时间的试验 从无菌土中移取 30 d 左右的辣椒苗,将其移到装有灭菌土的花盆(18 cm×24 cm)中,缓苗 20 d。将上述方法制备的辣椒疫霉和木霉

TC 制成孢子悬浮液,孢子含量分别为 10^5 和 10^7 个/mL,各 50 mL,采用灌根接种法,将配制好的木霉分生孢子悬浮液和疫霉游动孢子悬浮液均匀接种于辣椒苗根部营养土中。5 个处理:A. 接种疫霉菌 45 d 后接种 TC;B. 接种 TC 45 d 后接种疫霉菌;C. 接种 TC 60 d 后接种疫霉菌;D. 二者同时接;E. 等体积清水与疫霉菌游动孢子悬浮液混合液。接种后首先放于 20°C 下黑暗处理 2 d,然后在 26°C 、相对湿度 80%左右的条件下进行室内培养。15 d 后观察各处理辣椒苗的发病情况,计算发病率及防治效果。每处理 20 株苗,3 次重复,每个数据为 3 次重复的平均值。

1.2.4 木霉菌室内与甲霜灵协同效果的试验 张海良等^[6]报道,虽然辣椒疫霉易对甲霜灵产生抗药性,但该农药还是防治辣椒疫病的主要农药,且可考虑与其它农药混用或交替使用,对该病的防治效果还是很明显。该研究中每盆灭菌土接种 50 mL TC 10^7 个/mL,1 周后移苗,缓苗 2 周后做如下处理:a. 以 1 : 1 000 稀释 15%甲霜灵 10 mL 同时接种疫霉 50 mL;b. 只接种疫霉 50 mL;c. 不接种 TC,但同时接种甲霜灵(1 : 1 000)10 mL 和疫霉 50 mL;d. 以不接种 TC 或甲霜灵只接种疫霉 50 mL 为对照。15、30 d 后观察各处理辣椒苗的发病情况,计算发病率及防治效果。每处理 40 株苗,3 次重复,每个数据为 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 木霉菌对烟草疫霉菌的拮抗作用

由对峙培养现象可见,2 d 后各木霉菌对辣椒疫霉菌形成明显的黄绿色抑制圈(图 2)。当二者交界后,疫霉菌停止生长,而各木霉菌则越过抑制圈继续生长,至最后覆盖疫霉菌菌落,在整个培养皿上产生大量绿色分生孢子。显微镜观察发现,木霉菌丝通过重寄生等方式逐渐侵入到辣椒疫霉菌上,而后者则出现菌丝先缢缩然后断裂直至消解的现象。对峙培养与木霉菌挥发性代谢物质抑菌活性测定结果显示,TC、TY、NF9 3 种菌株中,TC 木霉的抑制作用略强于供试的其它 2 种木霉,抑制率达到了 76%、70%;而另外 2 种的抑制率均达到 73%、65%(表 1)。该结果表明,3 种木霉菌对辣椒疫霉均有一定的抑制作用。在后续的防治试验中选择 TC 作为拮抗菌,就其对辣椒疫病的抗性进行盆栽试验研究。

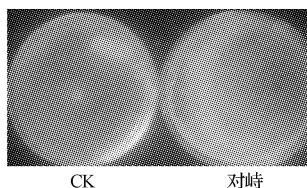


图 2 木霉菌 TC 与辣椒疫霉对峙培养 2 d 后,对病菌的抑制作用及抑菌圈

表 1 木霉菌对辣椒疫霉的抑制作用

方法	对峙培养			挥发性物质抑菌活性		
	TC	TY	NF9	TC	TY	NF9
对照菌落半径/mm	45	45	45	43	43	43
处理菌落半径/mm	11	12	12	13	15	14
抑制率/%	76	73	73	70	65	66

2.2 盆栽防治试验

2.2.1 防治时间确定的试验 由表 2 可知,先接种疫霉再接种木霉(A)的发病率最接近对照(E),为 65%,其防效最低为 31.6%。而先接种木霉 60 d 后再接种疫霉(C)则防治效果最为理想,发病率和防效分别为 25%和 73.7%。说明在防治时间上,越早施用木霉,其防治效果越明显。

表 2 木霉 TC 不同接种时间处理对辣椒疫霉的防治效果

处理	A	B	C	D	E
总株数/株	20	20	20	20	20
发病率/%	65	30	25	50	95
防效/%	31.6	68.4	73.7	47.4	—

2.2.2 与甲霜灵协同防治效果的试验 由表 3 可知,用 15%甲霜灵可湿性粉剂稀释 1 000 倍后与木霉 TC 协同防治辣椒疫病,30 d 后辣椒苗发病率为 18%左右,防效可达 80%左右。其效果要好于单独用木霉防治辣椒疫病(防效为 70%左右)和单独用甲霜灵防治辣椒疫病(防效为 75%左右)。说明二者对辣椒疫病的防治有一定的协同作用。

表 3 木霉 TC 与甲霜灵协同处理对辣椒疫霉的防治效果

处理	TC+甲霜灵+疫霉		TC+疫霉		甲霜灵+疫霉		疫霉	
	天数/d	15	30	15	30	15	30	15
总株数/株	40	40	40	40	40	40	36	36
发病数/株	6	7	10	12	9	10	24	36
发病率/%	15	17.5	25	30	22.5	25	66.7	100
防效/%	77.7	82.5	62.5	70	66.3	75	—	—

3 讨论

辣椒疫病作为一种全世界的病害,对其防治已有多方面的报道,如用臭氧来进行防治,但效果不是很理想,只能起到为其它防治方法增强效果的辅助作用^[7]。针对使用农药容易使辣椒疫霉菌产生抗性的现象,各种生物防治试验被广泛开展^[8]。

该研究中,木霉菌株 TC、TY、NF9 在对峙培养和木霉菌挥发性代谢物质抑菌活性测定试验中对辣椒疫霉菌都有非常好的抑制作用,抑制率均可达到 65%以上。而在盆栽试验中,木霉菌株 TC 又表现了非常好的防效,最高可达 74%左右。

木霉与农药协同防治蔬菜土传病害的研究最近较为热门^[9-10]。该研究中将木霉 TC 与 15%甲霜灵(1 : 1 000)协同作用防治辣椒疫病时,防效比单独使用

木霉或甲霜灵要高,说明二者的协同作用对疫病的防治有一定的效果。因此在后续的田间试验时,可以考虑减少甲霜灵的使用量和使用浓度,充分发挥二者的协同作用,尽量做到既减少农药污染又不影响防病效果。另外在该试验中未就木霉使用剂型(如孢子悬浮剂、培养物颗粒等)、施用方法(拌土、根灌、撒施等)、木霉施用的不同量等方面对防效的影响做比较。同时,由于田间试验时所受到的影响因子要远远多于无菌土盆栽条件,因此,田间的防效可能会与盆栽条件下有所改变^[11]。这也是在后续田间试验时所需要重点考虑解决的问题。

参考文献

- [1] 兰海,段光斌,胡细荒.辣椒疫霉菌研究概况[J].湖北植保,2008(1):16-17.
- [2] 张永革.辣椒疫病症状及防治方法[J].现代农村科技,2010(15):28.
- [3] 褚长彬,吴淑杭,周德平,等.木霉 T68 对植物病原菌的拮抗作用及对绿豆插条不定根发生的影响[J].农业环境科学学报,2008,27(3):1084-1089.
- [4] 李宁,文成敬,邹勇,等.两株木霉菌株对茄黄萎病的防治效果[J].中国生物防治,2006,22(4):316-318.
- [5] 陈志敏,顾钢,陈顺辉,等.木霉菌对烟草疫霉的拮抗作用[J].福建农林大学学报(自然科学版),2009,38(3):234-237.
- [6] 张海良,马辉刚,李湘民,等.辣椒疫霉菌对甲霜灵的敏感性测定[J].江西农业大学学报,2011,33(2):270-274.
- [7] 杨宇红,冯兰香,谢丙炎,等.臭氧对蔬菜病害的防治效果[J].中国蔬菜,2004(4):41-42.
- [8] 邱思鑫,何红,阮宏椿,等.内生芽孢杆菌 TB2 防治辣椒疫病效果及其机理初探[J].植物病理学报,2004,34(2):173-179.
- [9] 田连生.抗性木霉菌株的选育及其与多菌灵的协同作用[J].核农学报,2008,22(1):32-35.
- [10] 李敏,杨漾,王疏,等.哈茨木霉与多菌灵复合使用对水稻苗期立枯病的防治[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2009,35(1):65-70.
- [11] Lu Z, Tombolini R, Woo S, et al. In vivo study of *Trichoderma* - pathogen-plant interactions using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter systems[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(5):3073-3081.

Effect of Biological Control of Pepper *Phytophthora* Blight by *Trichoderma* TC

HU Qiong, ZHANG Hai-song

(Hangzhou Wanxiang Polytechnic, Hangzhou, Zhejiang 310023)

Abstract: Effectively antagonistic *Trichoderma* spp. on pepper *Phytophthora capsici* was separated by confrontation culture and disease control was experimented in pots. The results showed that pepper blight caused by *Phytophthora capsici* could be efficiently controlled by *Trichoderma* spp. TC. The suppression ratios of pepper *P. capsici* after confrontation culturing and volatile metabolites inhibitory test were all very well, which respectively reached 75% and 70%. The results of pot experiment showed the best control appeared when inoculated pepper *Phytophthora capsici* 60 d after watering with spore suspensions, which reached 73.7%. The results reached 82.5% when mixing *Trichoderma* spp. TC with 1 000 folds of *Phytophthora capsici*. Synergetic effect showed when applying the mixture, which were much better than applying either *Trichoderma* spp. TC or *Phytophthora capsici* alone.

Key words: pepper blight; *Trichoderma* spp.; biological control; synergy