

DOI:10.11937/bfyy.201518031

蛋壳粉末对白菜根肿病的防治效果

张 铨 哲, 侯 思 宇, 郝 璐, 李 微

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以蛋壳粉末为试材,采用灌菌法和密封菌土法接种,测定了蛋壳粉末对白菜根肿病的防治效果。结果表明:密封菌土法接种比灌菌法接种更易发病;在室内蛋壳粉末对白菜根肿病的防治效果测定结果显示,1:5 蛋壳粉末和土壤混合处理对白菜根肿病的防效最高(64.2%)。室内蛋壳粉末盆栽测试结果显示,1:5 蛋壳粉末和土壤混合处理的 pH 值为 6.95,比对照 pH 值提高了 1.4。因此,采用具有钙离子为主成分的蛋壳粉末和土壤混合处理能有效地防治白菜根肿病。

关键词:生物防治;蛋壳粉末;白菜;根肿病

中图分类号:S 436.349 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0118-04

根肿病是由土壤专性寄生物芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae* Woronin)引起的一种主要病害。1852 年在美国首次被报告,19 世纪在苏联中北部大面积发病并造成毁灭性的灾害,现已成为十字花科蔬菜最主要的病害^[1]。影响根肿病的主要因素有土壤水分、温度、土壤理化性质、日照长度、光照强度和土壤中休眠孢子浓度等^[2]。病原菌以休眠孢子的形式长期存在于土壤中,一般存活 6~8 年^[3],十字花科根肿病的防治是很困难的。在植物病害防治过程中,化学药剂占主导地位,但

是,化学农药造成污染环境,农药残留给人类身体健康带来危害^[4]。因此,研究人员一直在寻找一种安全、有效的生物防治方法来控制根肿病菌的传播。蛋制品在食品行业中用途很广泛,而且蛋壳中含有丰富的钙资源,其营养价值很高。我国鲜蛋总产量占世界鲜蛋总量的 43%^[5],蛋壳中无机物成分是碳酸钙,还有少量磷酸钙、碳酸镁,有机物成分主要为蛋白质,也可以作为食品的钙营养螯合剂,应充分利用蛋壳变废为宝的实用价值。

土壤里施加丰富的钙质可以提高土壤的 pH 值,而且丰富的钙能够有效的控制植物病害的发生^[6]。DIXON 等^[7]认为,钙和 pH 值对寄主组织细胞内芸薹根肿菌均有影响。施加外源钙还可以缓解镉对玉米、白菜的毒害^[8]。磷、钙和镉之间存在拮抗作用^[9-10]。在不同 pH

第一作者简介:张铨哲(1970-),男,博士,教授,硕士生导师,研究方向为真菌病害的综合防治。E-mail:zhe3850@163.com.

基金项目:哈尔滨市科技攻关计划资助项目(2011AA613BN072-1)。

收稿日期:2015-05-27

[12] WANG Q C. Factors affecting rooting of microcuttings of the pear roots stock BP10030[J]. Scientia Hortic,1991,45:209-213.

[13] 李树丽. Vc 液和活性炭对中华红叶杨外植体褐变的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(26):232-233.

[14] 卜学贤. 活性碳对培养基中植物生长调节物质的吸附作用[J]. 植物生理学报,1988,14(4):401-405.

[15] 于亚军,代汉萍,李宝江. 植物激素和生长调节剂在果树组织培养中的应用[J]. 北方园艺,2002(6):68-70.

Rooting Technique of 'Lyubaoshi' Pear Tissue Culture Seedling

SUN Wenying, LIU Rongning, ZHANG Shoushi, HUANG Haifan, HE Aili, YANG Haijiao

(Department of Horticulture and Garden, Henan Vocational College of Agriculture, Zhengzhou, Henan 451450)

Abstract: Using the plantlet of 'Lyubaoshi' pear as the test material in this experiment, effect of NAA with different concentrations (0.1, 0.2, 0.3 mg/L) and IBA (0.5, 1.0, 1.5 mg/L) and culture method and AC (0%, 0.1%, 0.3%, 0.5%) for rootage were studied. The results showed that the optimal rootage culture medium was 1/2MS + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L + AC 0.3% + sucrose 30 g/L + agar 5.5 g/L. The culture method was seven days of culture with auxin, then culture without auxin.

Keywords: 'Lyubaoshi' pear; tissue culture seedling; rootage

条件下,施用不同的钙化合物均对病害有一定影响^[11]。PALM等^[12]认为,钙离子起到强化寄主的表皮细胞壁的作用,以免受其它物质的侵染。钙不仅能减少根毛的侵染,而且在根毛侵染过程中,钙能抑制芸薹根肿菌休眠孢子囊的分化以及开裂的根肿。病原菌适合生存在潮湿环境中,施加石灰能改善土壤酸碱度,当根肿菌遇到细微的石灰颗粒与土壤充分混合物时,可降低病害发生,但施石灰会导致土壤板结^[13]。然而蛋壳中钙离子能够提高土壤 pH 值,降低病原菌休眠孢子活性,抑制白菜根肿病的发生^[14]。因此,该研究采用蛋壳粉拟防治白菜根肿病,既环保又合理利用资源,为防治白菜根肿病提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌源:2013 年 10 月中旬,于黑龙江省哈尔滨市阿城区采集新鲜的白菜根肿病组织,冲洗根肿组织分装于塑料袋中,−20℃冰箱内保存。

供试白菜品种:“北京新三号”由北京京研益农科技发展中心提供。

供试土壤:酸性土(pH 5.69)。

供试药剂和生物制剂:50%氟啶胺 WP (Fluazinam) 和 50%氟啶胺 SC (Fluazinam) 由东部韩农提供;蛋壳粉末。

1.2 试验方法

1.2.1 蛋壳粉末对大白菜根肿病的防治效果 2013 年 3 月 25 日将大白菜种子播种于育苗穴盘中,4 月 1 日间苗,每穴留 1 株。采用杨佩文等^[15]的方法制备接种液,李妍^[16]的方法接种,5 月 10 日移苗并接种。为了测定室内蛋壳粉末和氟啶胺杀菌剂对白菜根肿病的防治效果,该试验设置 7 个处理,3 次重复,共 20 钵,每钵 100 g 土壤,采取随机排列。A 处理为蛋壳粉末和土壤按 1:5 混合;B 处理为蛋壳粉末和土壤按 1:10 混合;C 处理为蛋壳粉末和土壤按 1:15 混合;D 处理为蛋壳粉末和土壤按 1:20 混合;E 处理为蛋壳粉末和土壤按 1:25 混合;F 处理为 100 倍有效质量浓度为 2.5 μg/mL 的 50%氟啶胺 WP;G 处理为 100 倍有效质量浓度为 2.5 μL/mL 的 50%氟啶胺 SC;以清水为对照(CK)。

1.2.2 不同接种方法对大白菜根肿病的防治效果 该试验采用密封菌土法和灌菌法,设置处理与盆栽试验相同,但接种方法不同。密封菌土法:于 5 月 10 日,将等量接种液拌于少量灭菌土中密封,密封菌土法处理将相同的菌液灌入 16 kg 土壤中,提前闷种 48 h,2 d 后将白菜苗直接移栽到菌土中。灌菌法:于 5 月 10 日,将等量接种液直接灌到移栽后的白菜苗的根部,每钵 40 mL 菌悬液。于 5 月 20 日,分别对不同的接种处理进行第 2 次接种,每钵沿茎基部灌 40 mL 菌悬液。10 d 后进行第 3 次

灌药,与第 2 次灌药方式相同。调查病害:第 3 次灌药 20 d 后进行调查病害。将每处理的 20 株白菜全部拔出,用清水冲洗根部,依据尚慧等^[17]白菜根肿病的分级标准对发病情况作出评价,计算发病率,病情指数和防治效果。

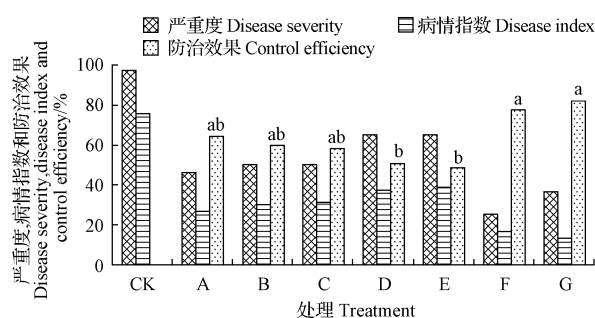
1.2.3 蛋壳粉末对大白菜根肿病防病机制(对 pH 值的影响) 将根肿菌接入各处理后,用酸度计测出土壤 pH 值,每处理重复 3 次,为定植时的土壤 pH 值;调查时,拔出病株,用酸度计测出土壤 pH 值,每处理重复 3 次,为调查时的土壤 pH 值。分析各处理 pH 值在不同时期的变化。

1.2.4 不同 pH 值对休眠孢子萌发的影响 将“北京新三号”白菜种子于 28℃下催芽 2 d 后,在 24℃恒温箱中,用 Hoagland 营养液培养,7 d 后搜集根分泌物溶液。休眠孢子悬浮液的制备则参照肖崇刚等^[18]的方法进行。用根分泌物溶液将高浓度的孢子悬浮液调至孢子浓度为 1×10^7 个/mL,用 1 mol/L KOH 和 8% HNO₃ 调节 pH 值为 2.5、3.5、4.5、5.5、6.0、6.3、7.3、8.3、9.3 等 9 个处理(pH 值用 pH 计测定),置于 24℃黑暗培养箱中,5 d 后进行镜检。镜检的根肿孢子用地衣红染色,在 20×10 倍显微镜下随机检查(至少 200 个孢子),每处理重复 3 次,并计算孢子萌发率。

2 结果与分析

2.1 灌菌法对白菜根肿病的防治效果测定

从图 1 可以看出,有效质量浓度为 2.5 μL/mL 的 50%氟啶胺 SC(G)与有效质量浓度为 2.5 μg/mL 的 50%氟啶胺 WP(F)的病情指数分别为 13.4%和 16.9%,比其它处理低,而防治效果分别为 82.1%和 77.6%,与 1:20 蛋壳粉末和土壤混合(D)和 1:25 蛋壳粉末和土壤混合(E)的防治效果在 $P=0.05$ 的水平上



注:图中字母表示 $P=0.05$ 水平上显著差异。下同。

Note: The letters within a column show significant differences among the treatments. The same below.

图 1 在灌菌法接种下杀菌剂和蛋壳粉末对白菜根肿病的防治效果

Fig. 1 Control efficiency of fungicides and eggshell to Chinese cabbage clubroot by irrigation bacteria inoculation method

存在显著性差异,1:5 蛋壳粉末和土壤混合(A)、1:10 蛋壳粉末和土壤混合(B)、1:15 蛋壳粉末和土壤混合(C)、1:20 蛋壳粉末和土壤混合(D)、1:25 蛋壳粉末和土壤混合(E)的防治效果在 $P=0.05$ 的水平之间无显著性差异。

2.2 密封菌土法对白菜根肿病的防治效果测定

由图 2 可知,有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{L/mL}$ 的 50% 氟啶胺 SC(G)和有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{L/mL}$ 的 50% 氟啶胺 WP(F)的发病率和病情指数比其它 6 个处理低,而防治效果比其它处理高。有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{L/mL}$ 的 50% 氟啶胺 SC(G)的病情指数为 20.8%,防治效果为 79.2%,在 $P=0.05$ 的水平上比其它处理要好。有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{g/mL}$ 的 50% 氟啶胺 WP(F)的防治效果为 72.6%,在 $P=0.05$ 的水平上比 1:20 蛋壳粉末和土壤混合(D)和 1:25 蛋壳粉末和土壤混合(E)的处理效果好。1:5 蛋壳粉末和土壤混合(A)、1:10 蛋壳粉末和土壤混合(B)、1:15 蛋壳粉末和土壤混合(C)、1:20 蛋壳粉末和土壤混合(D)、1:25 蛋壳粉末和土壤混合(E)的防治效果在 $P=0.05$ 的水平之间无显著性差异。

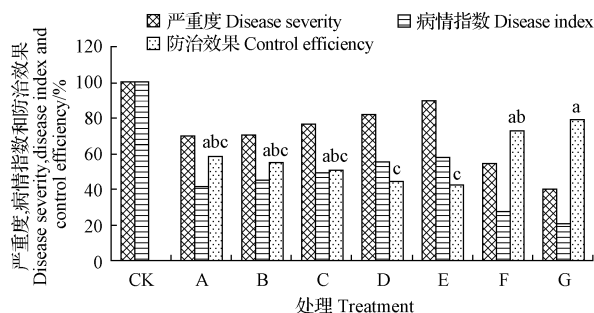


图 2 在密封菌土法接种下杀菌剂和蛋壳粉末对白菜根肿病的防治效果

Fig. 2 Control efficiency of fungicides and eggshell to Chinese cabbage clubroot by sealing bacteria soil inoculation method

2.3 在盆栽试验中密封菌土法和灌菌法对白菜根肿病的防治效果差异显著性分析

由表 1 可知,有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{L/mL}$ 的 50% 氟啶胺 SC(G)的防治效果高于其它处理;1:5 蛋壳粉末和土壤混合(A)、1:10 蛋壳粉末和土壤混合(B)、1:15 蛋壳粉末和土壤混合(C)、1:20 蛋壳粉末和土壤混合(D)、1:25 蛋壳粉末和土壤混合(E)的防治效果无显著差异。密封菌土法试验,有效质量浓度为 $2.5 \mu\text{g/mL}$ 的 50% 氟啶胺 WP(F)与蛋壳粉末处理无显著差异。以上结果显示,杀菌剂的处理效果明显高于蛋壳粉末处理的效果。灌菌法处理防治效果要好于密封菌土法。

表 1 比较密封菌土法和灌菌法盆栽试验的防治效果

Table 1 Comparison of control efficiency of the experiments by sealing bacteria soil inoculation and irrigation bacteria inoculation method *in vivo*

处理 Treatment	防治效果 Control efficiency/% 密封菌土法	灌菌法
G	79.2a	82.1a
F	72.6ab	77.6a
A	58.5abc	64.2ab
B	54.7abc	59.8ab
C	50.8bc	58.2ab
D	44.4c	50.5b
E	42.3c	48.4b

2.4 蛋壳粉末对土壤 pH 值的影响

由图 3 可知,定植时,1:5 蛋壳粉末和土壤混合处理(A)比对照 pH 提高了 0.81;在鸡蛋壳粉末各处理中,1:15 蛋壳粉末和土壤混合处理(C)较明显提高土壤 pH 值,提高了 0.20。调查时,1:5 蛋壳粉末和土壤混合处理(A)比对照 pH 提高了 1.4;1:15 蛋壳粉末和土壤混合处理(C)较明显提高土壤 pH 值,提高了 0.35。蛋壳粉末处理的 pH 值比未经蛋壳粉末处理的数值高。说明蛋壳粉末处理可以提高土壤 pH 值,氟啶胺对根肿病控制效果好,但对提高 pH 值效果不是很明显。

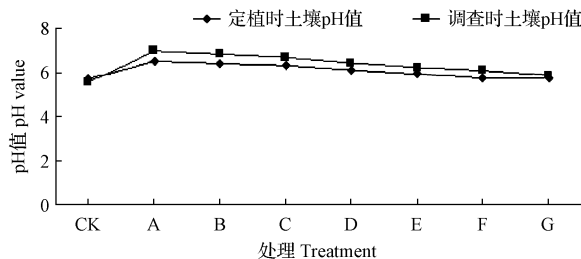


图 3 不同时期处理对土壤 pH 值的影响

Fig. 3 Effect of different periods of treatments on the pH value of soil

2.5 不同 pH 值对休眠孢子萌发的影响

休眠孢子在弱酸性溶液(pH 6.5~7.3)中萌发情况较好,当 pH 6.3 时,休眠孢子萌发率最高(59.3%),在碱性和中强酸溶液中萌发率逐渐降低,在强酸和强碱溶液中萌发率最低(图 4)。

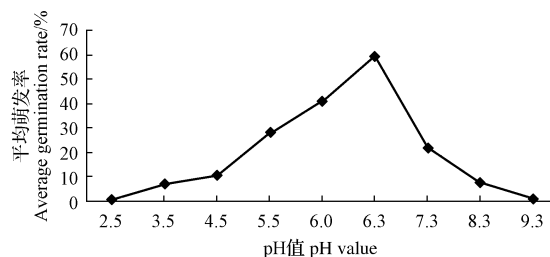


图 4 不同 pH 值对休眠孢子萌发率的影响

Fig. 4 Effect of pH value on the germination rate of the resting spore

3 讨论

密封菌土法和灌菌法测定结果显示,氟啶胺的防治效果为 72.6%,蛋壳粉末处理的最高防治效果为 64.2%,杀菌剂氟啶胺的防治效果高于蛋壳粉末的防治效果。但长期使用杀菌剂会使病原菌产生抗药性,并且对环境造成污染,对人类健康造成严重威胁。王胜等^[19]等利用蚯蚓粪作为底肥施用,对十字花科植物根肿病的防治效果为 61.4%,与蛋壳粉末防治效果基本一致。蛋壳的主要成分为碳酸钙,很多饲料的添加剂中钙质来源于蛋壳粉末,既经济环保,又降低成本合理利用资源。

不同蛋壳处理的密封菌土法防治效果低于灌菌法的防治效果,其钙的有效性可能与接种浓度有关。与对照相比,1:5 蛋壳粉末和土壤混合处理(A)pH 值提高了 1.4,这结果与 DONALD 等^[6]发表的丰富钙质施加到土壤中可以提高土壤 pH 值的理论一致。吕理乐^[20]研究表明,芸薹根肿病属于一种土传性病害,土壤 pH 值对病原菌的萌发起到很大作用,土壤 pH 值在 4.0~7.0 皆发病,土壤 pH>7.0 不发病。在该试验中,处理蛋壳粉末后土壤的 pH 值达到 6.95,该结果接近于吕理乐发表的白菜根肿病不发病的土壤 pH 值范围。休眠孢子以 pH 6.3 时休眠孢子萌发率最高,为 59.3%,土壤的 pH 值增高,可以有效地降低休眠孢子的萌发。采用生物防治方法,可以有效地降低十字花科蔬菜根肿病的发生,蛋壳粉末对大白菜根肿病的发生能够起到一定的防治作用。

参考文献

- [1] HWANG S F, STRELKOV S E, FENG J I E, et al. *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(2): 105-113.
- [2] 邓洁. 油菜根肿孢子 (*Plasmodiophora brassicae*) 免疫检测方法的初步构建[D]. 成都: 四川大学, 2006.
- [3] NIWA R, KUMEI T, NOMURA Y, et al. Increase in soil pH due to Ca-rich organic matter application causes suppression of the clubroot disease of crucifers [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(3): 778-785.

- [4] 李涛, 马美湖, 蔡朝霞. 蛋壳中碳酸钙转化为有机酸钙的研究[J]. 四川食品与发酵, 2008, 44(5): 8-12.
- [5] 马美湖, 钟凯民, 袁正东, 等. 蛋与蛋制品行业 2006 年国内外技术发展综合报告[J]. 中国家禽, 2007, 28(22): 5-8.
- [6] DONALD C, PORTER I. Integrated control of clubroot [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 289-303.
- [7] DIXON G R, WEBSTER M A. Antagonistic effects of boron, calcium and pH on pathogenesis caused by *Plasmodiophora brassicae* Woronin (clubroot)-a review of recent work[J]. Crop Res (Hort Res), 1988, 28: 83-95.
- [8] 张金彪, 黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展[J]. 生态学报, 2000, 20(3): 514-523.
- [9] 陈涛. 农田生态系统镉污染与防治[J]. 生态学报, 1981, 1(4): 345-350.
- [10] 陈怀满. 土壤对镉的吸附与解吸[J]. 土壤学报, 1988, 25(3): 227-234.
- [11] FLETCHER J T, HIMS M J, ARCHER F C, et al. Effects of adding calcium and sodium salts to field soils on the incidence of clubroot[J]. Annals of Applied Biology, 1982, 100(2): 245-251.
- [12] PALM E T. Effect of mineral nutrition on the invasion and response of turnip tissue to *Plasmodiophora brassicae* Wor[J]. Contrib Boyce Thompson Inst, 1963, 22: 91-112.
- [13] RUARO L, LIMA NETO V C, RIBERO JÚNIOR P J. Influência do boro, de fontes de nitrogênio e do pH do solo no controle de hêmia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae* [J]. Trop Plant Pathol, 2009, 34: 231-238.
- [14] MYERS D F, CAMPBELL R N. Lime and the control of clubroot of cruciferous: effects of pH, calcium, magnesium, and their interactions[J]. Phytopathology, 1985, 75: 670-673.
- [15] 杨佩文, 李家瑞, 杨勤忠, 等. 十字花科蔬菜根肿病菌休眠孢子的分离与检测[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(3): 301-306.
- [16] 李妍. 大白菜根肿病病原菌检测与防治技术研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [17] 尚慧, 杨佩文, 董丽英, 等. 大白菜根肿病化学防治技术[J]. 植物保护, 2009(6): 157-159.
- [18] 肖崇刚, 郭向华. 甘蓝根肿病菌的生物学特性研究[J]. 菌物系统, 2002(21): 597-603.
- [19] 王胜, 郑仕军, 沈丽, 等. 蚯蚓粪对油菜根肿病的控制效果评价[J]. 西南农业学报, 2011, 23(6): 1910-1913.
- [20] 吕理乐. 十字花科蔬菜根肿病[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(2): 134-136.

Control Efficiency of Eggshell Powder to Chinese Cabbage Clubroot Disease

ZHANG Xuanzhe, HOU Siyu, HAO Lu, LI Wei

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking eggshell powder as material, the control efficacy of mixture composed of eggshell powder and soil on Chinese cabbage club-root was determined through sealing bacteria soil inoculation method and irrigation bacteria inoculation method. The results showed that seal-mixed inoculation was more likely disease than irrigation inoculation. The determination result of control efficacy of eggshell powder to Chinese cabbage clubroot *in vitro* showed that the best control efficacy (64.2%) was mixing treatment (1:5) composed by eggshell powder and soil. The determination results of eggshell powder to Chinese cabbage clubroot *in vitro* showed that the pH value of mixing treatment of eggshell powder and soil was 6.95, higher 1.4 than pH value of the control treatment. Therefore, the mixing treatment composed by eggshell powder including calcium ion and soil could effectively control Chinese cabbage club-root.

Keywords: biological control; eggshell powder; Chinese cabbage; cabbage root disease