

保护地蔬菜茎基腐病拮抗真菌的筛选及防病效果研究

任爱芝, 赵培宝

(山东聊城大学 植物保护系 山东 聊城 252059)

摘要: 从聊城地区部分县、市保护地蔬菜田采集 18 个土壤标本, 分离得到 5 种拮抗真菌, 据魏景超和文成敬等的分类方法进行鉴定。经鉴定属于长枝木霉(*Trichoderma Longibrachia-tum*)、橘绿木霉(*T. Citrinoviride*)、康氏木霉(*T. Koningii*)、哈慈木霉(*T. Harzianum*)和绿色木霉(*T. Viride*)。这些拮抗真菌对瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)、瓜类腐皮镰孢菌(*Fusarium Solani*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)有较好的拮抗作用, 在人工接种条件下, 对上述病原菌引起的病害均有一定的防效。

关键词: 蔬菜茎基腐病; 拮抗真菌; 生物防治

中图分类号: S 432.4⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0231-03

目前设施蔬菜栽培中因重茬连作, 使土壤中病原菌逐年积累, 再加上过量施用化肥农药, 恶化了土壤微生态环境, 容易积水板结, 导致蔬菜茎基腐病的发生日趋严重, 轻者植株黄化、生长不良, 引起早衰, 重则整株枯萎死亡, 造成严重减产。引起蔬菜茎基腐病的病原菌比较复杂, 长期以来因盲目用药, 抗性逐年增加, 不利于无公害蔬菜的可持续发展。而病害生物防治, 具有无污染、不诱导抗性、防效持久等特点, 是今后植物病害控制的主要方向, 也是综合治理的一个重要环节。为此, 分离鉴定病原菌, 掌握发病规律, 筛选拮抗菌, 开发利用微生物资源, 寻找生防途径是当务之急。

1 材料与方法

1.1 供试植物病原菌

瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)、瓜类腐皮镰孢菌(*Fusarium Solani*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)分别为从温室西葫芦、黄瓜、番茄病株分离纯化, 经接种培养得到的病原菌。

1.2 土壤标样采集和拮抗真菌的分离

每一作物类型地块取 5 点, 每点挖 10 cm×10 cm×15 cm 土壤, 混合后取 500 g, 晾干后粉碎, 过 100 目筛。每一样本称取 1 g 加灭菌水 100 mL, 剧烈振荡 10 min, 稀释 10³, 取 1 mL 加入含有 0.01 mg/mL 链霉素的 PDA 培养基中, 摇匀, 在 28~30℃下培养 3~5 d, 挑取不同类型的真菌菌落, 纯化待测。

第一作者简介: 任爱芝(1970-), 女, 山东莘县人, 硕士, 副教授, 主要从事植物病理学教学及保护地蔬菜病害无公害防治技术研究及推广工作。E-mail: rra666@126.com。

基金项目: 聊城大学青年科研基金资助项目(X051054)。

收稿日期: 2008-03-02

1.3 拮抗菌的分类鉴定

在经消毒的载玻片中央滴加 1~2 滴 PDA 培养基, 然后加盖玻片, 将分离得到的真菌菌株接到玻片边缘培养基上, 置于消毒的培养皿内 28~30℃下培养。待菌丝长到盖玻片周围后, 每隔 12 h 于显微镜下观察菌丝、分生孢子梗及分生孢子的形态和颜色。据魏景超和文成敬等的分类方法进行鉴定。

1.4 拮抗作用测定

对植物病原菌的拮抗作用的测定用对峙法, 每一处理 4 个重复。不同拮抗菌对同一病原的拮抗作用的数据用 Duncan 氏的方法分析, $P=0.05$ 相同字母者为差异不显著。

1.5 室内防治效果测定

将黄瓜、西葫芦和番茄的种子在孢子浓度为 10⁷ 个/mL 的拮抗菌中浸泡 30 min(CK 和农药处理的泡清水), 然后播于装有无菌土的花盘中, 淋 20 mL/盘的拮抗菌孢子液(CK 和农药处理的淋清水), 播种 15 d 后, 每隔 10 d 接种病原菌 1 次, 共接 2 次。用病菌孢子悬浮液喷洒幼苗茎基部, 接种量为 2 mL 菌液/株, 孢子浓度为 10⁷ 个/mL, 接种后的第 3 天, 农药处理的用 50% 腐霉利 WP(日本住友化学株式会社产品)1 000 倍稀释液按 2 mL/株的量淋根; 4 次重复, 每一重复 10 株作物。第 2 次接种后 5 d, 每天观察植株发病情况, 接种后的第 14 天, 检查根茎部发病情况。

茎基腐病分级标准为: 0 级: 健株; 1 级: 茎基部或根部出现较小的病斑, 大小约 3 mm×5 mm; 2 级: 1/3~1/2 茎基部或根部坏死; 3 级: 病斑围绕主茎, 根系大部分死亡; 4 级: 植株枯死。数据经反正弦角度代换 $P=0.05$, 相同字母者为差异不显著。

2 结果与分析

2.1 拮抗真菌的筛选结果

2005~2006 年从聊城东昌府区、冠县等温室黄瓜、茄子、番茄、辣椒、西葫芦 5 种作物的地块采集土样及蘑菇培养料共 18 份, 分离得 5 个对供试的 3 种植物病原菌有拮抗作用的真菌菌株, 经鉴定分属于哈茨木霉的有长枝木霉 (*Trichoderma Longibrachiatum*) T₁、橘绿木霉 (*T. Citrinoviride*) T₂、康氏木霉 (*T. Koningii*) T₃、哈慈木霉 (*T. Harzianum*) T₄ 和绿色木霉 (*T. Viride*) T₅。

2.2 拮抗菌对 3 种病原菌生长的抑制作用

表 1 拮抗菌对病原菌的抑制作用

拮抗菌株	立枯丝核菌(R 值)	瓜类腐皮镰孢菌(R 值)	瓜果腐霉(R 值)
T ₁	0.5075 b	0.6402 bc	9.825 b
T ₂	0.4469 b	0.6580 b	9.375 b
T ₃	0.3473 c	0.5151 d	14.15 a
T ₄	0.3151 c	0.6763 b	9.025 b
T ₅	0.2770 a	0.5827 a	9.825 b
CK	1 a	1 a	0 c

注 R 值= 病原菌向拮抗菌方向生长的长度/对照病原菌生长的半径; 同一列数字具有相同小写字母表示 0.05 水平上差异不显著。

每一种类的拮抗菌取一菌株, 分别测定它对供试的 3 种病原菌生长的抑制作用, 结果见表 1, 5 种拮抗菌对供试的病原菌都有强烈的抑菌作用。立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 的抑菌 R 值在 0.2770~0.5075 之间。培养 2 d 后, 拮抗菌把病原菌包围, 3 d 后, 拮抗菌长满整个培养皿, 看不到病原菌丝, 7 d 后, CK 中的病原菌产生菌核, 而有拮抗菌的生长缓慢, 不产菌核; 对瓜类腐皮镰孢菌 (*Fusarium Solani*) 的抑菌 R 值在 0.5151~0.6763 之间, 病菌与拮抗菌相遇后停止生长。培养 3 d 后, 拮抗菌将病菌包围, 7 d 后拮抗菌长满培养皿; 对瓜果腐霉 (*Pythium aphanidermatum*) 抑菌直径在 9.025~14.15 之间, 培养 2 d 后可见透明的抑菌圈, 5 d 后拮抗菌长满整个培养皿。

2.3 室内防治效果

室内用盆栽的方法测定拮抗菌对供试的病原菌引起的植物病害的防治效果 见表 2。

筛选出的拮抗菌对 3 种植物病原菌都有一定的防治效果, 其中以防治番茄茎基腐病 (*Rhizoctonia solani*) 效果最好, 均达到 60% 以上, 对西葫芦茎基腐病 (*Pythium aphanidermatum*) 的防治效果差些。在这 5 种拮抗菌中, 康氏木霉 (*T. Koningii*) 防治黄瓜茎基腐病

(*Fusarium Solani*) 的效果达 94.59%。这 5 种拮抗菌对西葫芦茎基腐病 (*Pythium aphanidermatum*) 的防效略低于药剂。

表 2 拮抗真菌对 3 种植物基腐病的防治效果

处理	番茄茎基腐病		西葫芦茎基腐病		黄瓜茎基腐病	
	病指	防效/%	病指	防效/%	病指	防效/%
T ₁	26.92	65.35b	40.00	46.30a	37.50	46.88c
T ₂	19.24	75.23a	65.00	12.65b	40.00	43.34c
T ₃	15.19	80.45a	38.00	48.89a	4.20	94.59a
T ₄	26.92	65.35b	41.40	44.36a	16.80	76.20b
T ₅	16.45	77.21a	36.55	50.90a	27.60	75.07b
CK	77.67	-	74.40	-	70.60	-
50%腐霉利 WP	51.50	33.69c	35.55	52.21a	39.51	44.03c

3 讨论与结论

试验筛选出的长枝木霉 (*Trichoderma Longibrachiatum*)、橘绿木霉 (*T. Citrinoviride*)、康氏木霉 (*T. Koningii*)、哈慈木霉 (*T. Harzianum*) 和绿色木霉 (*T. Viride*), 对瓜果腐霉 (*Pythium aphanidermatum*)、瓜类腐皮镰孢菌 (*Fusarium Solani*)、立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 均有较强的拮抗作用。在人工接种下, 已鉴定的 5 种拮抗菌对上述 3 种病害也有一定的防效。生防菌对植物土传病害的防治效果不但与其拮抗活性有关, 还与能否适应农田生态环境 迅速形成优势种群有密切关系。木霉菌的抑菌作用包含有多种机制, 一般认为有竞争作用, 产生抗菌素及重寄生作用。在试验中, 观察到康氏木霉对立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 的抑制作用除营养竞争外, 还产生拮抗线 (分泌出抗生素类物质), 用显微镜观察靠近拮抗线的病原菌, 发现菌丝变形, 细胞质浓缩, 说明康氏木霉对立枯丝核菌生长的抑制作用至少包括营养竞争和分泌出抗生素两种机制。另外, 观察到康氏木霉对瓜类腐皮镰孢菌 (*Fusarium Solani*) 的抑制作用不产生拮抗线, 菌丝不发生变形现象, 说明同一拮抗真菌对不同的病原菌生长的抑制机制有所差异。

参考文献

[1] 吉加兵. 西瓜枯萎病理学研究简况及防治途径展望[J]. 植物保护, 1995, 21(2): 34-36.
[2] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 493-500.
[3] 文成敬, 陶家凤, 陈文瑞. 中国西南地区木霉属分类研究[J]. 真菌学报, 1993, 12(2): 118-130.
[4] 张中义, 冷怀琼, 张志铭. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988: 384-385.

Screening of Antagonistic Fungi Against Root-stem Rotten Disease of Vegetables and Effects of Control Diseases in Green House

REN Ai-zhi, ZHAO Pei-bao

(Plant Protection Department, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059, China)

加工番茄细菌性斑点病的综合防治

曾沂辉

(新疆石河子蔬菜研究所, 新疆 石河子 832000)

中图分类号: S 436.412.2⁺9 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2008)07-0233-01

番茄细菌性斑点病主要发生在低温潮湿地区的普通番茄上, 当条件成熟时, 加工番茄也会发生。一旦感染, 其发病速度远比普通番茄快。2007 年新疆和内蒙古两大加工番茄主产区由于遭遇罕见的低温雨季影响, 大面积发病, 再加上其它病害的联合发生, 造成 2007 年我国加工番茄严重减产, 其中以内蒙受灾最重, 产量损失一半以上。

1 发病规律

加工番茄细菌性斑点病的病原物为丁香假单胞细菌番茄致病变种, 病菌可在种子、植株残体和土壤中越冬。春后在潮湿冷凉的环境下开始繁殖生长, 靠水流接触传播。若遇长时间低温多雨季节, 繁殖速度加快。加工番茄发棵期或初花期由于气温较低, 枝叶茂盛, 通风透气性不良, 此时若遇雨季则大量发病。

2 发病症状

加工番茄地上部分均可感染。发病初期, 叶片出现不规则小黑点, 约 2~6 mm 大小, 斑点周围常带有黄色晕圈。发病加重时, 可为害到叶柄、茎秆、花和果实。叶柄和茎发病时, 初起小黑点, 逐渐连成片(病斑边缘不规则)。花期发病时, 则会影响到花和果实, 花染病时萼片出现小黑点, 逐渐连成片后干枯。果实染病时出现隆起小斑点, 当果实转色时, 斑点周围仍保持较长时间绿色。全株发病后生长缓慢, 发病后期, 整块地连片发生, 植株干枯。

3 引发病害

作者简介: 曾沂辉(1974), 男, 本科, 农艺师, 主要从事加工番茄新品种选育及技术服务工作。E-mail: dzenghu@sina.com.
收稿日期: 2008-02-24

加工番茄严重发病时, 往往不只是一个病害, 而是两个或几个病害同时发生或前后跟随。感染细菌性斑点病以后, 植株抵抗力差, 随着气温升高, 若不及时防治, 容易感染疮痂病、早疫病、晚疫病、病毒病等病害。发病后的植株容易早衰, 提前结束采收期。

4 综合防治

4.1 轮作倒茬

严重感染过细菌性斑点病的地块, 第 2 年最好不要种植加工番茄。

4.2 人为降低发病条件

肥力好的地块尽量稀植, 加大行距, 开沟要深。雨水多的地方, 雨季来临前最好不要浇水, 每次浇水后或下雨后要及时排水。四周有山或高秆作物或通风不良的地块不宜种植加工番茄。在相同条件下, 滴灌比沟灌发病轻, 喷灌最易发病, 所以有条件的地方尽量采用滴灌。下雨多的地方前期少浇水或不浇水以防止枝叶过于茂盛。每次浇水要适量, 切忌过多。沟灌地一定要整平, 否则浇水时水从垄上漫延, 甚至淹没植株, 给病菌繁殖生长创造了条件。

4.3 药剂防治

播种前, 种子用 55℃温水浸种 30 min, 再用 0.1%~0.2%高锰酸钾溶液浸泡 1 h, 取出冲洗后再催芽。发病初期选用 1:1:200 波尔多液、农用链霉素、可杀得、氧氯化铜等喷施(用量参照药物说明), 间隔 7~10 d 喷 1 次。药物之间最好不要混配, 与其它农药混配时也要慎重。若遇雨季, 雨过天晴后要及时喷施。药剂防治时要宜早不宜迟, 要以防为主, 无病先防。不但可以提高效果, 而且可以防止大量用药带来的农药残留。

Abstract: Eighteen soil samples were collected from a part of counties in Liaocheng, after isolation and purification, strains were obtained. Five species aggregates were identified according to the axonomic system revised by Wei Jing-chao and Wen Chen-jing. They were *T. Longibrachiatum*, *T. Citrinoviride*, *T. Koningii*, *T. Harzianum*, *T. Viride*. These species showed high antagonistic effects against *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium Solani*, *Rhizoctonia solani*. They were used as a biocontrol agent against root-stem rotten disease of vegetable in the green-house experiment and they showed good effects of control.

Key words: Root-stem rotten disease; Antagonistic Fungi; Biological control