

3 种微生物菌剂对番茄灰霉病的防治效果

乔 岩¹,董 杰¹,岳 瑾¹,杨建国¹,郭喜红¹,尹 哲¹,王品舒¹,李宝聚^{2*}

(1.北京市植物保护站,北京 100029; 2.中国农业科学院 蔬菜花卉研究所,北京 100029)

摘要: 为筛选防治番茄灰霉病的有效药剂,采用枯草芽孢杆菌 WP(孢子含量 100 亿个/g)、寡雄腐霉 WP(孢子含量 100 万个/g)和哈茨木霉 T-22(孢子含量 6 亿个/g) 3 种微生物菌剂进行灰霉病菌和番茄灰霉病的药效试验。平板抑制试验结果表明,枯草芽孢杆菌 WP 150 倍液对灰霉菌的抑制率可达 100%,效果显著优于化学药剂 50%腐霉利 WP,寡雄腐霉 WP 500 倍液和哈茨木霉 T-22 300 倍液对灰霉菌的抑制率分别达 86.76%和 76.96%。活体盆栽试验结果表明,3 种微生物菌剂对番茄灰霉病兼有预防和治疗作用,最高用量预防效果为 75.62%~84.44%,治疗效果为 68.75%~78.06%,预防效果优于治疗效果。

关键词: 番茄灰霉病; 微生物菌剂; 防治效果; 保护作用; 治疗作用

中图分类号: S436.412.1⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)05-0111-04

Control Effect of Three Microbial Agents on Tomato Gray Mould

QIAO Yan¹, DONG Jie¹, YUE Jin¹, YANG Jian-guo¹, GUO Xi-hong¹, YIN Zhe¹,
WANG Pin-shu¹, LI Bao-ju^{2*}

(1. Beijing Plant Protection Station, Beijing 100029, China; 2. Institute of Vegetables and Flowers,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100029, China)

Abstract: To screen efficient fungicides for controlling tomato gray mould, three microbial agents were chosen to study their control effects on *Botrytis cinerea* and tomato gray mould, which included 10 billion spores/g *Bacillus subtilis* WP, 1 million spores/g *Pythium oligandrum* WP and 0.6 billion spores/g *Trichoderma harzianum* T-22. The PDA plate inhibition test showed that the inhibition rate of *Bacillus subtilis* diluted 150 times was 100% on *Botrytis cinerea*, which was significantly better than the chemical agent, 50% procymidone WP. The inhibition rates of *Pythium oligandrum* diluted 500 times and *Trichoderma harzianum* T-22 diluted 300 times were 86.76% and 76.96%, respectively. The pot tests showed that three microbial agents exhibited both preventive effect and therapeutic effect against tomato gray mould. The preventive effect was 75.62%—84.44% and the therapeutic effect was 68.75%—78.06% by the highest dose, so the preventive effect of microbial agents was better than their therapeutic effect against tomato gray mould.

Key words: tomato gray mould; microbial agents; control effect; protective effect; therapeutic effect

番茄灰霉病是由半知菌亚门灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的保护地栽培番茄上的重要病害,可危害番茄的茎、叶、花和果实,影响番茄的产量和品质。近年来,保护地番茄种植面积不断扩大,为灰霉病菌在保护地土壤中大量累积及侵染植株提供了有利的小环境,特别是冬春季节棚室中低温、高湿的气候条件,更

利于灰霉病的发生,通常造成番茄减产 20%~30%,严重时可达 60%以上^[1-3]。由于目前尚未发现灰霉病的抗源,抗病育种难以实施,国内对于该病的防治主要依靠化学防治,但化学药剂的大量应用常导致农药残留、环境污染严重^[4-7]。此外,灰霉病菌具有繁殖快、遗传变异大和适应性强的特点,在连续使用同一种药剂后

收稿日期:2014-01-18

基金项目:北京市农业局科技新星计划项目(20120306)

作者简介:乔 岩(1982-),女,山东泰安人,农艺师,博士,主要从事蔬菜病害防治研究。E-mail:qy0914@126.com

* 通讯作者:李宝聚(1967-),男,黑龙江饶河人,研究员,博士生导师,主要从事蔬菜病害综合治理、杀菌剂应用技术与蔬菜产品安全生产技术研究。E-mail:libaoju@caas.cn

极易产生抗药性^[8-10]。

近年来,人们通过大量筛选和利用抗灰霉病的有益微生物及其代谢产物,使微生物防治日益成为控制灰霉病的一条重要而有效的生物防治途径。国内外已有许多将芽孢杆菌、木霉菌和酵母菌等应用于番茄灰霉病生物防治的研究报道^[11]。利用微生物菌剂防治病害,具有无污染、避免抗药性产生和保护环境等优点。为此,研究 3 种微生物菌剂对番茄灰霉病的防治效果,旨在为番茄灰霉病的田间防治提供理论依据和技术指导。

1 材料和方法

1.1 供试药剂

包括枯草芽孢杆菌 WP(孢子含量 100 亿个/g,佳木斯兴宇生物科技公司生产)、寡雄腐霉 WP(孢子含量 100 万个/g,捷克生物有限公司生产)、哈茨木霉 T-22(孢子含量 6 亿个/g,荷兰科伯特有限公司生产)、50%腐霉利 WP(江西禾益化工有限公司生产)。

1.2 供试植物和菌株

供试植物为中杂 105 番茄。番茄灰霉病菌(WFH)由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。

1.3 试验方法

1.3.1 平板抑制试验 每种微生物菌剂设 3 个剂量处理,分别为枯草芽孢杆菌 WP 150、300、500 倍液,寡雄腐霉 WP 500、1 000、2 000 倍液,哈茨木霉 T-22 300、500、1 000 倍液,另设 1 个药剂对照处理(50%腐霉利 WP 1 500 倍液)和 1 个清水对照处理。将 2 mL 各处理药液放于已灭菌的培养皿中,再将冷却到 45℃左右的 18 mL PDA 培养基倒入,充分混匀制成平板。待含药培养基凝固后,用接种针将灰霉菌菌饼(直径 5 mm)移到培养基上,使有菌丝的一面向下和培养基贴合,每皿正中央接 1 个菌饼,每个处理重复 3 次。将培养皿置于 25℃恒温培养箱中培养,当清水对照的菌落直径达到培养皿直径的 80%时,用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{清水对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{清水对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%。$$

1.3.2 预防效果测定 将已活化好的 WFH 菌株在 PDA 培养基上培养 7~8 d,用毛刷刷取孢子于蒸馏水中,双层纱布过滤,滤除菌丝,调整孢子悬浮液浓度至 1×10^5 个/mL 用于接种。将番茄种子播种于育苗钵中,待幼苗长出 5~6 片复叶时备用。处理设置同上,取各药液 10 mL 用微量喷雾器对植株叶片进行均匀喷雾。每个处理用 5 株番茄苗,重复

3 次。喷药 2 h 自然晾干后,接种灰霉菌孢子悬浮液,放入保湿棚中保湿培养 24 h。将处理过的番茄植株置于人工气候箱保湿培养,待清水对照充分发病后开始进行调查,病害分级标准参照 GB/T 17980.28—2000^[12]。0 级:无病斑;1 级:病斑面积占整个叶面积的 5%以下;3 级:病斑面积占整个叶面积的 6%~15%;5 级:病斑面积占整个叶面积的 16%~25%;7 级:病斑面积占整个叶面积的 26%~50%;9 级:病斑面积占整个叶面积的 50%以上。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相应级数的代表值})}{(\text{总叶数} \times \text{最高级数的代表值})} \times 100,$$

$$\text{防效} = \frac{(\text{清水对照平均病情指数} - \text{处理平均病情指数})}{\text{清水对照平均病情指数}} \times 100\%。$$

1.3.3 治疗效果测定 处理设置同上,将番茄幼苗先接种灰霉菌孢子悬浮液,然后放入保湿棚中保湿,12 h 后喷施各药剂,防效调查方法同上。

2 结果与分析

2.1 3 种药剂对灰霉菌的抑制效果

枯草芽孢杆菌 WP 150 倍液完全抑制了菌丝的生长,且未产生抑菌圈,抑制率为 100%(表 1)。寡雄腐霉 WP 500 倍液抑制率为 86.76%,哈茨木霉 T-22 300 倍液抑制率为 76.96%。其中,枯草芽孢杆菌 WP 150 倍液和寡雄腐霉 WP 500 倍液对灰霉菌的抑制率显著高于对照药剂 50%腐霉利 WP。随着药剂用量降低,3 种药剂抑制效果均有所下降。哈茨木霉 T-22 1 000 倍液抑制效果为 66.18%,其余药剂抑制效果均在 70%以上。

表 1 3 种药剂对番茄灰霉菌的平板抑制效果

药剂名称	稀释倍数	菌落直径/mm	抑制率/%
枯草芽孢杆菌 WP	150	0.00	100.00±0.01a
	300	0.50	98.53±1.07a
	500	0.83	97.55±1.32a
寡雄腐霉 WP	500	4.50	86.76±2.97b
	1 000	5.67	83.33±1.81c
	2 000	8.50	75.00±1.79d
哈茨木霉 T-22	300	7.83	76.96±1.07d
	500	8.67	74.51±1.13d
	1 000	11.50	66.18±0.75e
50%腐霉利 WP	1 500	6.33	81.37±0.75c
清水对照		34.00	

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$, Duncan 氏新复极差法),下同。

2.2 3 种药剂对番茄灰霉病的预防效果

测定结果(表 2)表明,在较高用量时 3 种药剂对番茄灰霉病均有较好的预防作用。其中,枯草芽孢杆菌 WP 150 倍液的防效为 75.62%,寡雄腐霉 500 倍液和哈茨木霉 T-22 300 倍液的防效均在 80%以上,与对照药剂 50%腐霉利 WP 防效差异不大。随药剂用量降低,3 种药剂的防治效果迅速下降,除枯草芽孢杆菌 WP 300 倍液和 150 倍液的防效差异不显著外,同种药剂低用量防治效果与高用量防治效果间存在显著性差异。

表 2 3 种药剂对番茄灰霉病的预防效果

药剂名称	稀释倍数	病情指数	防效/%
枯草芽孢杆菌 WP	150	19.31	75.62±2.34c
	300	19.55	75.32±1.19c
	500	32.95	58.40±2.15f
寡雄腐霉 WP	500	13.66	82.75±2.51b
	1 000	23.91	69.81±4.38e
	2 000	46.74	40.99±0.68h
哈茨木霉 T-22	300	12.33	84.44±2.19a
	500	21.56	72.78±2.15d
	1 000	35.83	54.76±1.91g
50%腐霉利 WP	1 500	12.05	84.78±1.63a
清水对照		79.20	

2.3 3 种药剂对番茄灰霉病的治疗效果

由表 3 可知,枯草芽孢杆菌 WP 150 倍液、寡雄腐霉 WP 500 倍液和哈茨木霉 T-22 300 倍液的防效分别为 68.75%、78.06%、77.54%,枯草芽孢杆菌 WP 与后 2 种药剂的防效差异显著,寡雄腐霉 WP 500 倍液和哈茨木霉 T-22 300 倍液与对照药剂 50%腐霉利 WP 的防效差异不显著。不同稀释倍数对防效的影响呈相同的变化规律,即随稀释倍数的增加,防效表现降低的趋势。

表 3 3 种药剂对番茄灰霉病的治疗效果

药剂名称	稀释倍数	病情指数	防效/%
枯草芽孢杆菌 WP	150	19.48	68.75±0.49b
	300	19.55	68.60±0.62b
	500	32.95	47.08±1.95d
寡雄腐霉 WP	500	13.66	78.06±1.78a
	1 000	23.91	61.60±1.37c
	2 000	35.94	42.28±1.20e
哈茨木霉 T-22	300	13.99	77.54±1.43a
	500	21.56	65.37±2.99bc
	1 000	33.25	46.61±1.48d
50%腐霉利 WP	1 500	12.05	80.64±1.75a
清水对照		62.27	

3 结论与讨论

本研究通过平板抑制试验测定了枯草芽孢杆菌 WP、寡雄腐霉 WP、哈茨木霉 T-22 3 种微生物菌剂对番茄灰霉菌的抑制作用,结果表明,3 种药剂均能抑制灰霉菌的生长,最高用量抑制率为 76.96%~100%。其中枯草芽孢杆菌 WP 3 个稀释倍数(150、300、500 倍)和寡雄腐霉 WP 500 倍液的抑制率均显著高于对照药剂 50%腐霉利 WP。

通过盆栽试验表明,3 种药剂对番茄灰霉病兼有明显的预防作用和治疗作用,且预防效果优于治疗效果。这与微生物菌剂的防治机制有关。芽孢杆菌及其代谢物不仅能直接抑制灰葡萄孢菌的生长和繁殖,而且能诱导番茄产生系统获得抗病性^[4,13]。张丽莉等^[14]发现,哈茨木霉可以诱导番茄植株体内的 4 种防御酶使其活性显著提高,从而增强番茄抗灰霉病的能力。寡雄腐霉能产生拟激发素寡雄蛋白,诱导番茄产生系统抗性^[15]。因此,使用 3 种微生物菌剂防治灰霉病时应以预防为主,在发病初期或之前及时用药,以提高番茄植株对病害的免疫力,从而控制或减轻病害的发生。

3 种药剂的平板抑制效果优于活体试验效果,原因可能是微生物菌剂为活菌制剂,作用易受外界干扰,如作物、病害发生时期、环境条件等,因此优化使用条件,如温、湿度等,可以提高药效。

目前防治番茄灰霉病主要依靠化学药剂,而生物药剂比较少。本研究采用活体盆栽法测定了枯草芽孢杆菌、寡雄腐霉和哈茨木霉对灰霉病的预防和治疗效果,下一步可采用田间试验进一步验证其防治效果。

参考文献:

[1] 康立娟,张小凤,王文桥,等.灰霉菌的抗药性与适合度测定[J].农药学学报,2000,2(3):39-42.

[2] 葛绍荣,牛莉娜,李铭.番茄灰霉病害及其微生物防治的研究进展[J].生物加工过程,2007,5(3):15-19.

[3] 纪军建,张小凤,王文桥,等.番茄灰霉病防治研究进展[J].中国农学通报,2012,28(31):109-113.

[4] 童蕴慧,纪兆林,徐敬友,等.灰葡萄孢拮抗细菌的种类鉴定及生长条件研究[J].扬州大学学报,2002,23(2):67-70.

[5] 王颖伟,林双立,马慧,等.保护地番茄灰霉病综合防治试验研究[J].现代农业科技,2009(22):144.

[6] 辛春艳,张丽萍,谢莉,等.内生拮抗放线菌防治番茄灰霉病的研究[J].河南农业科学,2009(2):68-70.

[7] 窦瑞木.3 株植物内生细菌对番茄灰霉病的防治效果[J].河南农业科学,2010(4):77-78.(下转第 117 页)

-

[J]. 中国生物防治, 2003, 19(3): 131-135.

- [J]. 中国生物防治, 2003, 19(3): 131-135.