

# 不同浓度枯草芽孢杆菌水剂对黄瓜枯萎病的防治效果

刘东 洪峰 蒲子婧 苗笛 马柏壮 张艳菊\*

(东北农业大学农学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

**摘要:** 采用田间试验方法, 研究不同浓度枯草芽孢杆菌水剂 (AS) 对黄瓜枯萎病的田间防治效果及对黄瓜生长和产量的影响。两年试验结果表明,  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜枯萎病的防治效果最好, 分别为 81.8% 和 77.5%, 明显高于  $5.0 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 和  $3.1 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 的防治效果, 但与 50% 多菌灵可湿性粉剂 (WP) 处理无显著差异; 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜生长无不良影响且具有一定的增产效果, 与清水处理相比, 2008 年和 2009 年  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 处理的增产率分别为 5.8% 和 10.0%。

**关键词:** 枯草芽孢杆菌; 枯萎病; 防治效果

中图分类号: S436.421.1<sup>3</sup> 文献标识码: A 文章编号: 1000-6346 (2012) 12-0063-04

## Effect of Different Concentration *Bacillus subtilis* Aqua on Controlling and Preventing Cucumber Fusarium Wilt

LIU Dong, HONG Feng, PU Zi-jing, MIAO Di, MA Bai-zhuang, ZHANG Yan-ju\*

(College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

**Abstract:** To evaluate the control effect of *Bacillus subtilis* aqua ( $2.5 \times 10^{12}$  cfu · L<sup>-1</sup> *Bacillus subtilis*) against cucumber Fusarium wilt, and to know its influence on cucumber growth and production, we carried out plot test in fields from 2008 to 2009. The results indicated that the control efficiencies of  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> were 81.8% and 77.5%, respectively, which were significant higher than  $5.0 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> and  $3.1 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup>, but there was no significant difference as 50% carbendazim (WP) treatment. Besides, *B. subtilis* aqua was safe to cucumber and has certain effect on its yield increasing. Compared with other treatments,  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> AS treatment has the best effect on increasing production. The yield increase rates in 2008 and 2009 was 5.8% and 10.0%, respectively.

**Key words:** *Bacillus subtilis*; Fusarium wilt; Control effect

黄瓜枯萎病 (Cucumber Fusarium wilt) 是由尖孢镰孢菌黄瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumarinum*) 侵染引起的一种土传病害, 在露地和保护地的各茬黄瓜上均可发生, 给农业生产造成了重大损失。枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 可以产生脂肽类和肽类等多种抗菌物质,

收稿日期: 2011-11-07; 接受日期: 2012-02-01

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (11551058), 哈尔滨市科技创新人才研究专项 (2012RFLXN007)

作者简介: 刘东, 女, 硕士研究生, 主要从事黄瓜枯萎病方面的研究, E-mail: dongdongwaiting@yahoo.cn

\* 通讯作者 (Corresponding author): 张艳菊, 女, 教授, 硕士生导师, 主要从事植物病原生物学方面的研究, E-mail: yanjuzhang@yahoo.com.cn

在植物病害的生物防治中表现出了良好的作用效果,并逐渐发展为可以替换化学药剂使用的重要生物制剂(Shoda, 2000)。早在1879年,枯草芽孢杆菌就作为一种菌肥被应用于农业生产(Kilian et al., 2000)。在黄瓜病害的防治上,枯草芽孢杆菌 MBI600 在英国的 MicroBio Group Ltd. 和日本的 Idemitsu Kosan Co. Ltd. 等获得注册登记,并进行产业化生产,用于防治枯萎病、根腐病等根部病害和灰霉病、白粉病等叶部病害;国内近年来也报道了许多对黄瓜枯萎病具有明显防治效果的枯草芽孢杆菌菌株,如 B03(赵达等, 2007)、3512A(李伟等, 2008)、B29(李晶等, 2009)、B504(苗则彦等, 2009)和 B579(Chen et al., 2010)等。但是枯草芽孢杆菌作为向特定生态系统引入的拮抗微生物,要在土壤中定殖并发挥作用,必须能够适应当地的土壤环境(祁秋之等, 2009)。因此在实际应用中,应结合当地特定的环境条件,考察枯草芽孢杆菌的田间防治效果。本试验探讨了枯草芽孢杆菌水剂(AS)不同菌体含量对黄瓜枯萎病的防治效果,并与常用化学药剂进行比较,明确枯草芽孢杆菌对黄瓜枯萎病的田间防效,为农业生产上使用枯草芽孢杆菌 AS 防治黄瓜枯萎病提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试药剂为  $2.5 \times 10^{12}$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS(德国 ABiTEP 股份有限公司); 50%多菌灵可湿性粉剂(WP)(山东省淄博奥发农药化工有限公司)。

供试品种为华北型黄瓜津优 12 号。

### 1.2 试验方法

2008、2009 年分别在黑龙江省双城市双城镇和哈尔滨市香坊区幸福乡光明村黄瓜大棚进行试验。两块试验地均为黄瓜重茬地,前一年黄瓜枯萎病发病较重。双城镇土壤类型为碳酸盐草甸黑钙土,土壤有机质含量  $26.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pH 值 6.3, 2008 年 2 月 26 日播种, 4 月 10 日定植;光明村土壤类型为草甸黑土,土壤有机质含量  $32.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pH 值 6.1, 2009 年 3 月 1 日播种, 4 月 13 日定植。定植时浇透水,定植后适当控水促进根系发育,定植后大棚内管理按常规进行。

1.2.1 试验设计 试验共设 5 个处理,即:①  $3.1 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS(稀释 800 倍液);②  $5.0 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS(稀释 500 倍液);③  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS(稀释 300 倍液);④  $833 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  50%多菌灵 WP(稀释 600 倍液);⑤ 清水对照。

试验期间共施药 3 次。浸种时第 1 次施药:将胚根长 0.5 cm 的黄瓜种子浸入不同处理药剂中 10 min,沥干后分别播种。移栽前调查各处理的株高、叶片数及根数,对黄瓜生长的安全性进行检查。移栽时和始花期各灌根 1 次,每株 100 mL。采用大区对比法,每区面积  $80 \text{ m}^2$ , 4 次重复。每处理对角线 5 点取样,每点固定 2 株,分别记录单瓜质量、每株果实数及 10 株产量。

1.2.2 药效调查 移栽后 30、45、60 d 调查黄瓜枯萎病发病情况,按照柏敏战和郑贵彬(1997)的枯萎病病情分级标准统计各级病株数,计算病株率、病情指数及防治效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜枯萎病的田间防治效果

2008、2009 年分别在双城市双城镇和哈尔滨市香坊区幸福乡光明村进行枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜枯萎病的防效试验。从病害发生情况看,由于土壤含菌量、栽培条件等差异导致田间枯萎病病情严重程度存在差异,其中 2009 年在哈尔滨市香坊区幸福乡光明村大棚内枯萎病的发生明显比 2008 年双城市双城镇的严重,但田间的发病趋势大致相同。黄瓜浸种后到移栽时各处理均未发病,移栽后 30 d 发病较轻,30~45 d 病情发展迅速,45~60 d 病情发展缓慢渐趋稳定。

从图 1 可以看出, 2008 年和 2009 年移栽后 45~60 d 枯草芽孢杆菌 AS 各处理及 50%多菌灵 WP 的枯萎病病情指数均明显低于清水对照。

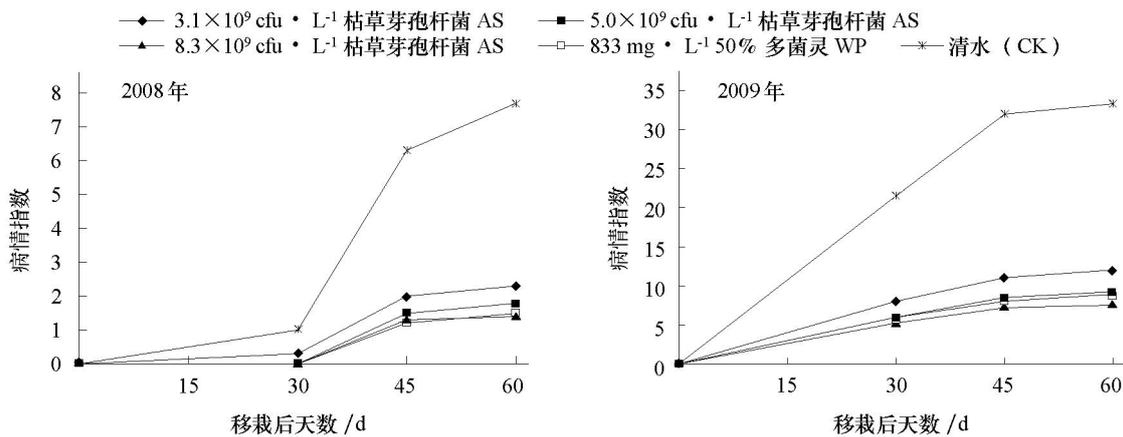


图 1 2008、2009 年黄瓜枯萎病田间发病情况

从移栽后 60 d 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜枯萎病的田间防效可以看出 (表 1), 3 个不同菌体含量的处理对黄瓜枯萎病的防治效果在 64.0%~81.8% 之间。其中  $8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$  枯草芽孢杆菌 AS 的防治效果最好, 与 50%多菌灵 WP 的防效相当。

## 2.2 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜生长的安全性

黄瓜苗期株高、叶片数和根数 3 项指标的调查结果显示 (表 2), 尽管经过不同处理的黄瓜植株的生长情况表现出一定的差异, 但  $8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.0 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $3.1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$  枯草芽孢杆菌 AS 处理以及 50%多菌灵 WP 处理与清水对照相比均表现生长正常, 说明枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜生长安全, 无不良影响。

表 1 黄瓜移栽后 60 d 枯草芽孢杆菌 AS 对枯萎病的田间防治效果

年份	处理	枯萎病		防治效 果/%
		株率/%	情指数	
2008	$3.1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	3.2 b	2.3 b	70.1 c
	$5.0 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	2.6 c	1.8 c	76.6 b
	$8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	1.9 d	1.4 c	81.8 a
	833 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ 50%多菌灵 WP	2.1 d	1.5 c	80.5 a
	清水 (CK)	10.3 a	7.7 a	—
2009	$3.1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	15.0 b	12.0 b	64.0 c
	$5.0 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	12.5 c	9.2 c	72.5 b
	$8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	9.0 d	7.5 d	77.5 a
	833 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ 50%多菌灵 WP	9.3 d	8.9 c	73.4 b
	清水 (CK)	35.0 a	33.3 a	—

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $\alpha=0.05$ ); 下表同。

表 2 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜生长的安全性及产量的影响

年份	处理	株高/cm	叶片数/叶	根数/条	产量/g	比 CK $\pm$ %	安全性调查
2008	$3.1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	25.8 $\pm$ 0.7 ab	3.5 $\pm$ 0.3 a	31.5 $\pm$ 1.7 ab	6 609.5 $\pm$ 2.4 c	2.1	生长正常
	$5.0 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	26.0 $\pm$ 1.0 ab	3.5 $\pm$ 0.3 a	34.0 $\pm$ 2.1 a	6 752.0 $\pm$ 7.8 b	4.3	生长正常
	$8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	26.5 $\pm$ 0.5 a	3.6 $\pm$ 0.4 a	33.5 $\pm$ 1.4 a	6 849.1 $\pm$ 4.9 a	5.8	生长正常
	833 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ 50%多菌灵 WP	26.5 $\pm$ 0.6 a	3.7 $\pm$ 0.5 a	29.5 $\pm$ 0.6 bc	6 505.9 $\pm$ 3.3 d	0.5	生长正常
	清水 (CK)	25.0 $\pm$ 0.9 b	3.4 $\pm$ 0.4 a	27.5 $\pm$ 2.2 c	6 473.6 $\pm$ 3.5 e	—	生长正常
2009	$3.1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	27.5 $\pm$ 0.5 a	3.7 $\pm$ 0.4 a	32.0 $\pm$ 1.2 ab	5 696.4 $\pm$ 2.0 c	8.0	生长正常
	$5.0 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	27.6 $\pm$ 0.7 a	3.9 $\pm$ 0.3 a	32.0 $\pm$ 2.1 a	5 743.8 $\pm$ 3.5 b	8.9	生长正常
	$8.3 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{L}^{-1}$ 枯草芽孢杆菌 AS	27.8 $\pm$ 0.5 a	4.3 $\pm$ 0.5 a	33.0 $\pm$ 1.0 a	5 801.8 $\pm$ 5.5 a	10.0	生长正常
	833 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ 50%多菌灵 WP	27.5 $\pm$ 0.3 a	4.0 $\pm$ 0.5 a	29.5 $\pm$ 0.5 bc	5 432.6 $\pm$ 2.3 d	3.0	生长正常
	清水 (CK)	27.3 $\pm$ 1.0 a	4.0 $\pm$ 0.3 a	28.8 $\pm$ 2.0 c	5 274.4 $\pm$ 2.0 e	—	生长正常

## 2.3 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜产量的影响

两年大区试验结果表明, 枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜产量有一定的增产作用, 不同菌体含量处

理的增产率存在显著差异,其中菌体含量为  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup>的枯草芽孢杆菌 AS 处理后产量最高,2008 年比清水对照增产 5.8%,2009 年比清水对照增产 10.0%,亦与 50%多菌灵 WP 处理差异显著(表 2)。

### 3 结论与讨论

两年的试验结果表明,枯草芽孢杆菌 AS 对黄瓜枯萎病具有明显防治效果,对黄瓜生长无不良影响,可以用于黄瓜枯萎病的防治。其中  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 的防治效果和增产作用均表现最好且稳定。2008、2009 年  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 对枯萎病的防治效果分别为 81.8%和 77.5%,增产率分别为 5.8%和 10.0%,明显高于  $5.0 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 和  $3.1 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 处理,因此在大面积推广的实际应用中,推荐使用  $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 处理。在本试验中, $8.3 \times 10^9$  cfu · L<sup>-1</sup> 枯草芽孢杆菌 AS 的防治效果与传统农业生产中经常使用的 50%多菌灵 WP 相比无显著差异,其作为一种生防制剂,对人畜安全,对环境无毒害作用,其安全性明显优于化学药剂。此外,枯草芽孢杆菌还具有一定的增产作用。

国内外已对枯草芽孢杆菌的拮抗作用多有报道。尽管有研究关注枯草芽孢杆菌的防病机制和抗菌作用物质(高芬等,2004;李晶等,2008),目前的实际应用中仍多试图以拮抗活菌施入病菌生存的环境角度加以利用,但是活菌应用容易受到环境条件影响,致使防治效果丧失或延迟,用于大面积推广存在一定风险,施用前需综合考虑当地病害微生态系统的环境,以充分发挥其防效(殷晓敏等,2008)。本试验通过大区试验,对大面积推广应用枯草芽孢杆菌 AS 防治黄瓜枯萎病做了良好的示范,可以指导当地农业生产。

#### 参考文献

- 柏敏战,郑贵彬. 1997. 番茄枯萎抗病性室内鉴定方法研究. 植物病理学报, 27(1): 59-63.
- 高芬,马利平,乔雄梧,郝常青. 2004. 抗黄瓜枯萎病的芽孢杆菌 BC98-I 抗真菌物质的初步分离研究. 石河子大学学报:自然科学版, 22(s): 88-90.
- 李晶,杨谦,赵丽华,王玉霞. 2008. 生防枯草芽孢杆菌 B29 菌株抗菌物质的初步研究. 中国生物工程杂志, 28(2): 59-65.
- 李晶,杨谦,张淑梅,王玉霞,赵晓宇. 2009. 枯草芽孢杆菌 B29 菌株防治黄瓜枯萎病的田间效果及安全性评价初报. 中国蔬菜, (2): 30-33.
- 李伟,胡江春,王书锦. 2008. 海洋细菌 3512A 对黄瓜枯萎病的防治及促进植株生长的效应. 沈阳农业大学学报, 39(2): 182-185.
- 苗则彦,赵奎华,刘长远,梁春浩,王辉,吕国忠. 2009. 内生细菌 B504 的鉴定及对黄瓜枯萎病的生防作用. 植物保护, 35(6): 73-77.
- 祁之秋,李兴海,王英姿,魏松红,谷祖敏. 2009. 黄瓜枯萎病拮抗芽孢杆菌 B67 在土壤及黄瓜根际的定殖. 中国蔬菜, (8): 63-66.
- 殷晓敏,陈弟,郑服丛. 2008. 尖镰孢枯萎病生物防治研究进展. 广西农业科学, 39(2): 172-178.
- 赵达,刘伟成,裘季燕,刘霆,傅俊范. 2007. 枯草芽孢杆菌 B03 对植物病原真菌的抑制作用. 安徽农业科学, 35(15): 4554-4555.
- Chen F, Wang M, Zheng Y, Luo J M, Yang X R, Wang X L. 2010. Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579. *World J Microbiol Biotechnol*, 26: 675-684.
- Kilian M, Steiner U, Krebs B, Junge H, Schmiedeknecht G, Hain R. 2000. FZB24 (r) *Bacillus subtilis* mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, 1: 72-93.
- Shoda M. 2000. *Bacterial* control of plant disease. *Journal of bioscience and bioengineering*, 89(6): 515-521.