

筛选放线菌活性产物防治烟草黑胫病的初步研究

Screening of the active metabolites of actinomycetes for control tobacco black shank

曾 莉¹ 朱孟沼² 刘树芳¹ 李家瑞^{1*} 文孟良²

(1. 云南省农业科学院农业环境资源研究所, 昆明 650205; 2. 云南省
生物资源保护与利用重点实验室, 昆明 650091)

ZENG Li¹ ZHU Meng-zhao² LIU Shu-fang¹ LI Jia-rui^{1*} WEN Meng-liang²

(1. Institute of Agriculture Environment and Resource, Yunnan Academy of Agricultural Sciences,
Kunming 650205, China; 2. Laboratory for Conservation and Utilization
of Bio-resources, Yunnan University, Kunming 650091, China)

微生物农药作为生物农药的一个分支, 大部分具有低毒、低残留、对非靶标生物及环境安全、靶标生物不易产生抗药性的优点, 符合人类的需求及当今和未来农药开发的要求。烟草黑胫病目前在全国大部分烟草种植区均有发生。长期以来, 对于该病的控制主要依靠化学农药来进行防治, 而长期施用化学农药所带来的问题愈来愈令人担忧。为发掘和利用云南省丰富的放线菌资源, 作者开展了225份放线菌发酵液提取物对烟草黑胫病的防治效果筛选研究。

1 材料与方法

1.1 菌种及放线菌发酵液提取物

烟草黑胫病菌 *Phytophthora nicotiana* Breda de Hann, 从烟草病株上分离并用 V₈ 汁培养基和燕麦培养基培养, 25℃ 保存备用。

225 份放线菌发酵液提取物由云南省生物资源保护与利用重点实验室发酵制备。

1.2 烟草黑胫病发酵液提取物抑菌活性及防治效果的筛选

抑菌活性测定: 用生长速率法^[1]。将直径 5 mm 的烟草黑胫病菌菌丝块接种于已带发酵液提取物的 V₈ 汁培养基中, 菌丝块沿培养皿周缘放置, 每皿放置 4 块, 每处理 3 次重复。置于 28℃ 培养箱中, 黑暗培养 7 天后, 以 mm 为单位十字交叉测量菌落直径, 减去菌饼的直径, 取平均值。计算各处理平板上

的生长速率, 并以空白对照培养基平板上的生长速率比较, 分析各发酵液提取物对黑胫病菌的抑菌效果。

抑菌百分率(%) = [(对照组菌落直径 - 处理组菌落直径) / 对照组菌落直径] × 100

温室盆栽烟苗防治效果筛选测定: 将在 V₈ 汁培养基上培养 10 天的菌种连同培养基一起切碎, 与蛭石充分混匀, 装入纸杯内, 移栽 4~5 叶期的烟苗, 每杯 2 株, 再加入上述发酵液提取物, 5 mL/杯, 每处理 3 次重复, 然后置于 28℃ 培养箱中保湿培养。设空白对照处理, 加灭菌水; 设对照药剂: 53% 雷多米尔锰锌水分散粒剂[先正达(中国)投资有限公司上海分公司]1 000 倍液; 72.2% 普力克水剂(拜耳作物科学公司)1 000 倍液。接种培养 5 天后, 检查烟苗发病情况, 计算病情指数及相对防治效果。

防治烟草黑胫病的离体叶片与温室烟苗筛选试验模型的比较: 离体叶片的防效筛选^[2]: 剪取长势均匀一致的叶片, 喷施上述各种发酵液提取物, 晾干后, 置于铺有湿纱布的塑料盘内, 用 0.5 cm 的菌饼针刺创伤接种 8 块/叶, 然后放置于保温保湿接种箱内。每处理 3 片叶, 设清水为空白对照。计算病情指数和防治效果。

分级标准: 0 级: 无症状; 1 级: 病斑直径 0.1~1.0 cm; 3 级: 病斑直径 1.1~2.0 cm 以下; 5 级: 病

基金项目: 云南省自然科学基金重点项目(2004c0002z)资助

作者简介: 曾莉, 女, 1964 年生, 副研究员, 主要从事植物病理学研究工作, email: zenli@mail.china.com

* 通讯作者 (Author for correspondence), email: ppiyaas@public.km.yn.cn

收稿日期: 2005-10-17

斑直径 2.1~3.0 cm;7 级;病斑直径 3.0 cm 以上。

按照离体叶片和盆栽烟苗法,利用防治烟草黑胫病的常用药剂 53% 雷多米尔锰锌水分散粒剂配制为 1060.00、530.00、353.33、265.00 和 212.00 mg/L 的浓度;72.2% 普力克水剂配制为 1444.00、722.00、481.03、361.00 和 288.80 mg/L 的浓度,进行防治效果测定试验。每试验 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 放线菌发酵液提取物抑菌活性

对 225 份放线菌发酵液提取物进行了菌丝生长抑制试验。结果表明,对烟草黑胫病菌菌丝生长抑制率为 70% 以上的发酵液提取物有 28 份,占总筛选发酵液提取物的 12.44%,抑制率最高达 94.12%;菌丝生长抑制率为 50%~70% 的发酵液提取物有 7 份;其余 137 份发酵液提取物的菌丝生长抑制率为 50% 以下。

2.2 放线菌发酵液提取物对烟草黑胫病的温室防效

温室盆栽烟苗接菌后,经放线菌发酵液提取物处理,在 28℃ 下保湿培养 5 天后,调查烟苗发病情况,计算防治效果。结果显示,菌丝生长抑制率在 70% 以上的 28 份放线菌发酵液提取物中,对盆栽烟苗黑胫病防治效果最高达 76.47%。其中,防治效果在 40% 以上的有 19 份,占 67.85%;防治效果在 60% 以上的有 9 份,占 32.14%;比对照药剂 72.2% 普力克 1000 倍处理防治效果高的有 6 份。但未发现有防治效果超过对照药剂 53% 雷多米尔锰锌可湿性粉剂 1000 倍处理的发酵液提取物。

2.3 离体叶片与温室烟苗筛选法对烟草黑胫病防治效果比较

试验结果表明,在离体叶片上表现较好防治效果的发酵液提取物,在盆栽烟苗上也表现出较好的防治效果。分析了两种药剂和 9 份发酵液提取物在离体叶片和盆栽烟苗上对黑胫病防治效果间的相关性,其相关系数分别达 0.96、0.97 和 0.51,表明有显著的相关性。

3 讨论

菌丝生长速率和防治效果表明,放线菌发酵液提取物中存在对黑胫病具有较高活性的物质,从放线菌发酵液提取物中开发抗烟草黑胫病的生物农药很有可能。试验表明,菌丝生长抑制活性较高的产物在温室植株上也表现出较高的防治效果,但存在菌丝生长抑制活性高,防治效果不一定较高的情况。说明活性物质筛选的影响因素较多,室内筛选必须与温室防治效果测定相结合,最终还需进行田间验证。

用离体叶片和盆栽烟苗开展了药剂和放线菌发酵液提取物对烟草黑胫病防治效果比较试验,无论是已商品化的杀菌剂,还是放线菌的发酵液提取物,两种试验结果基本一致。这就证明离体叶片法在一定程度上可以简便、有效地筛选出对烟草黑胫病有防治效果的活性物质。

参 考 文 献(References)

- 1 郑小波. 疫霉菌及其研究技术. 北京:中国农业出版社,1997
- 2 Wills W H. A comparison of black shank resistance of tobacco measured in inoculated whole plants and excised leaf tissue. *Tobacco Science*, 1971, 4:47-50