

生防菌 FO 47 和 FO 47B10 的应用研究^{*}

杨 猛¹, 宗兆锋¹, 郭小芳¹, 姚 静², Claude A labouvette³

(1 西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100;

2 中国科学院 土壤研究所, 江苏 南京 210008;

3 Biochemistry, Cellular Biology and Ecology of Plant Microorganism Interactions,
NRA-CM SE, 17 rue Sully-BP 86510-F 21065 Dijon Cedex, France)

[摘 要] 测定了非致病性镰刀菌 FO 47 和 FO 47B10 对小麦、玉米等 8 种作物的安全性和定殖能力, 以及对黄瓜和西瓜生长发育的影响及对黄瓜霜霉病的生物防治效果。结果表明, FO 47 和 FO 47B10 对作物是安全的, 并能定殖在作物体内; 提前在土壤中接种 FO 47 和 FO 47B10 能提高黄瓜和西瓜植株的抗逆性, 促进其生长发育, 促生效应与其分泌的赤霉素量呈正相关关系; FO 47 和 FO 47B10 对黄瓜霜霉病有明显的防治效果。

[关键词] FO 47; FO 47B10; 生物防治; 黄瓜霜霉病; 生防菌

[中图分类号] S476⁺. 8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)05-0057-04

非致病性尖镰孢菌 FO 47 和 FO 47B10 是法国 NRA Dijon 研究中心 A labouvette 博士研究筛选, 并已成功应用的生防菌, 可以有效防治由尖镰孢菌引起的多种植物枯萎病^[1]。A labouvette 博士来访时将这 2 种生防菌馈赠于本实验室。本研究在对其进行安全性测定的基础上, 以黄瓜和西瓜为材料, 接种生防菌 FO 47 和 FO 47B10, 进一步探讨其对植物生长发育的影响及对黄瓜霜霉病的防治效果, 以便为该菌的大田应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 FO 47 和 FO 47B10 对作物的安全性测定

菌株 FO 47 和 FO 47B10 由法国 NRA Dijon 研究中心 A labouvette 博士提供, 在本实验室常规保存。将扩大繁殖的 FO 47 和 FO 47B10 分别定量接种于土壤中, 然后种植小麦、玉米、棉花、番茄、西瓜、黄瓜、辣椒、大豆 8 种作物, 以不接菌为对照, 跟踪观察作物的生长状况与发病情况。

1.2 FO 47 和 FO 47B10 在作物体内定殖能力测定

将 FO 47 和 FO 47B10 分别接种于土壤中, 种植小麦、玉米、棉花、番茄、西瓜、黄瓜、辣椒、大豆 8 种作物, 7 d 后从作物茎组织顶端和基部分别截取 5 mm 组织, 经表面消毒后置于 Komada 选择性培养

基^[2]上, 25℃下培养 7 d, 然后观察并计算其在不同作物组织中的定殖率。

1.3 FO 47 和 FO 47B10 对西瓜和黄瓜生长发育的影响

将 FO 47 和 FO 47B10 用麦粒沙扩大培养后进行土壤接种, 使其在土壤中的浓度为 10^7 /g, 随后装土、制钵, 播种黄瓜(津春三号)或西瓜(郑杂五号)种子, 按常规方法栽培管理, 定期测定植株生长发育情况, 以成苗率、株高、茎粗、叶绿素含量、根长、单株鲜重等为指标进行记载。

1.4 FO 47 和 FO 47B10 分泌赤霉素的能力

对菌株 FO 47 和 FO 47B10 分别进行振荡液培, 培养液经离心、过滤处理^[3]后, 在紫外可见分光光度计上测定赤霉素含量^[4]。

1.5 FO 47 和 FO 47B10 对黄瓜霜霉病的防治效果

待黄瓜苗(津春三号)长至 4~5 叶时, 采集自然发病的黄瓜霜霉病病叶, 带回室内以流水冲洗干净后保湿 24 h, 再以无菌水洗脱孢子囊制成孢子悬浮液, 在傍晚时喷雾接种黄瓜叶片, 7 d 后记载发病程度, 按下述 5 级分级标准记载病情, 并计算病情指数及防病效果。0 级, 无病; 1 级, 单位面积(9 cm^2)中少于 2 个病斑; 2 级, 单位面积中 2~4 个病斑; 3 级, 单位面积中 5~9 个病斑; 4 级, 单位面积中 10 个以上

^{*} [收稿日期] 2004-07-22

[基金项目] 农业部农业结构调整重大技术研究专项(2002-08-03A); 教育部“春晖计划”启动项目(2002-317)

[作者简介] 杨 猛(1978-), 男, 山东临沂人, 在读硕士, 主要从事植物病害生物防治研究。

[通讯作者] 宗兆锋(1956-), 男, 陕西泾阳人, 教授, 主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: zfzong@cnipm.com

病斑或叶片死亡。

病情指数/% = $\frac{\sum (\text{各级病叶数} \times \text{各级代表数值})}{\text{叶片总数} \times \text{最高代表级值}} \times 100\%$;

防病效果/% = $\frac{\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 FO 47 和 FO 47B 10 对几种主要作物的安全性

跟踪观察发现,在接有生防菌 FO 47 和

FO 47B 10 的 8 种作物的整个生育期内,未见到发病植株,而且作物的生长状况与对照作物无明显差异。表明 FO 47 和 FO 47B 10 应用于小麦、玉米、棉花、番茄、西瓜、黄瓜、辣椒、大豆 8 种作物是安全的。

2.2 FO 47 和 FO 47B 10 在作物组织中的定殖能力

由表 1 可以看出,FO 47 和 FO 47B 10 能够不同程度地定殖于供试的 8 种作物体内,对大豆的定殖力最强,对小麦和玉米的定殖能力最弱;在同一作物中,FO 47B 10 在组织中的定殖能力普遍高于 FO 47。

表 1 FO 47 和 FO 47B 10 在几种主要作物组织中的定殖率

Table 1 Colony rate of FO 47 and FO 47B 10 in some plants tissue %

菌株 Strains	棉花 Cotton	番茄 Tomato	辣椒 Pepper	西瓜 Watermelon	黄瓜 Cucumber	玉米 Corn	大豆 Soybean	小麦 Wheat
FO 47	30	20	20	40	40	10	80	10
FO 47B 10	40	30	30	40	50	10	100	10

2.3 FO 47 和 FO 47B 10 对西瓜和黄瓜生长发育的影响

2.3.1 对西瓜的影响 在西瓜育苗期间,由于气温持续偏低,幼苗普遍发生冻害,从表 2 可以看出,经 2 种生防菌处理的成苗率显著高于对照,且 FO 47B 10 处理的显著高于 FO 47,说明 FO 47 和 FO 47B 10 能增加西瓜幼苗的抗逆性,从而增加了幼苗的成活率。表 2 结果还表明,用 FO 47 和 FO 47B 10

菌株处理的西瓜蔓长、单株鲜重、根长、叶绿素含量均显著高于对照,幼苗长势健壮,叶色浓绿,根系发达;其中 FO 47B 10 的单株鲜重和根长显著高于 FO 47。从图 1 也可以看出,西瓜茎粗随着株龄的增加而增加,但 2 株生防菌处理的茎粗均大于对照,且菌株 FO 47B 10 处理的茎粗增幅大于 FO 47。可见,FO 47 和 FO 47B 10 对西瓜的生长发育均有显著的促进作用,且 FO 47B 10 的作用效果优于 FO 47。

表 2 FO 47 和 FO 47B 10 对西瓜植株生长发育的影响

Table 2 Effect of FO 47 and FO 47B 10 on the growth of watermelon plant

处理 Treatments	成苗率/% Seeding survival rate	蔓长/cm Bine length	单株鲜重/g Single plant fresh weight	根长/cm Root length	叶绿素含量/ (mg · g ⁻¹) Chlorophyll content
FO 47B 10	81.0 a	97.2 a	59.8 a	25.4 a	1.90 a
FO 47	76.2 b	87.8 a	50.4 b	22.3 b	1.74 ab
CK	58.3 c	54.0 b	28.7 c	15.9 c	1.64 b

注:叶绿素含量在株龄 85 d 时测定,其余指标在株龄 75 d 时测定;同列数据后标不同小写字母者表示在 5% 水平上差异显著,下同。

Note: Chlorophyll content tested in plant age of 85 d, and others tested in plant age of 75 d; The data in the same column with different small letters indicated the difference in level 5%, the following table is the same

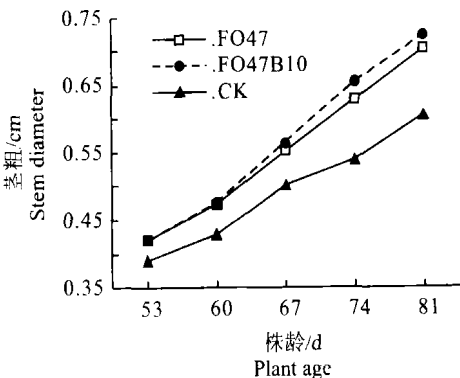


图 1 FO 47 和 FO 47B 10 对西瓜茎粗的影响

Fig 1 Effect of FO 47 and FO 47B 10 on the stem diameter of watermelon

2.3.2 对黄瓜的影响 用 FO 47B 10 处理的黄瓜座瓜期为 05-14,用 FO 47 处理的座瓜期为 05-17,对照的座瓜期为 05-18。从图 2 可以看出,黄瓜的茎粗随株龄的增加而增加,但 2 株生防菌处理的茎粗均大于对照,且菌株 FO 47B 10 处理的茎粗增幅大于 FO 47。从图 3 可以看出,黄瓜的株高也随株龄的增加而增加,株龄 40 d 之前,2 株生防菌处理的株高和对照差异不显著;株龄 40 d 之后,菌株 FO 47B 10 处理的株高增幅大于 FO 47 处理和对照,而菌株 FO 47 处理的株高增幅与对照相差不大。从表 3 可以看出,用 FO 47B 10 处理的黄瓜成苗率、地上部鲜重、根长、叶绿素含量和单株产量均显著高于对照,幼苗生长健壮,叶片光合作用强,根系发达。FO 47 除对地上

部鲜重、根长和叶绿素含量的促进作用明显高于对照外, 其余指标与对照相差明显。除叶绿素含量外, FO 47B 10 在其他指标上明显优于 FO 47。试验结果表明, FO 47B 10 对黄瓜的生长发育有促进作用, FO 47 与对照相差不大。

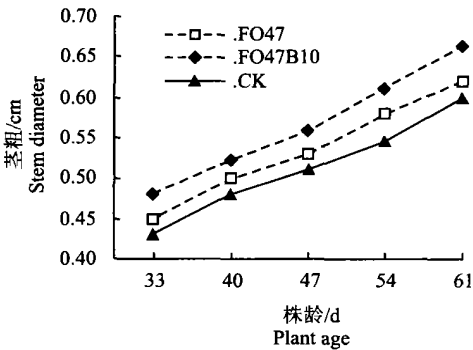


图 2 FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜茎粗的影响
Fig 2 Effect of FO 47 and FO 47B 10 on the stem diameter of cucumber

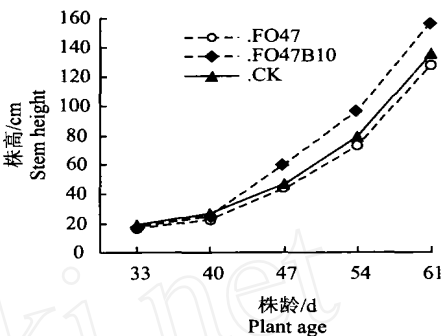


图 3 FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜株高的影响
Fig 3 Effect of FO 47 and FO 47B 10 on the stem length of cucumber

表 3 FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜生长发育的影响

Table 3 Effect of FO 47 and FO 47B 10 on the growth of cucumber

处理 T reatments	成苗率/% Seeding survival rate	座瓜期/d Fruit set date	单株地上部鲜重/g Overground fresh weight of single plant	根长/cm Root length	叶绿素含量/ (mg · g ⁻¹) Chlorophyll content	单株产量/g Single plant yield
FO 47B 10	96.7 a	45	57.2 a	23.9 a	3.77 a	275.8 a
FO 47	92.0 b	48	38.9 b	20.1 b	3.72 a	246.0 b
CK	93.4 b	49	29.7 c	16.9 c	3.35 b	249.0 b

注: 叶绿素含量在株龄 65 d 时测定, 单株产量在株龄 65~ 80 d 时测定, 其余指标在株龄 40 d 时测定。
Note: Chlorophyll content tested in plant age of 65 d, single plant yield in plant age of 65- 80 d, and others in plant age of 40 d

2.4 FO 47 和 FO 47B 10 分泌赤霉素的能力

对 2 个菌株液培后培养液中赤霉素含量的测定结果表明, 2 种菌株培养液中赤霉素含量均很高, 其中 FO 47 的赤霉素含量为 182.25 mg/L, FO 47B 10 的为 230.5 mg/L, 二者差异显著。FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜和西瓜的促生效应与其分泌的赤霉素量呈正相关。

2.5 FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜霜霉病的防治效果

由表 4 可以看出, 2 种生防菌对黄瓜霜霉病的防治效果较为明显。在发病初期, FO 47 和 FO 47B 10 的防效分别达到了 64.0% 和 61.8%; 15 d 后再次调查发现, 这 2 种生防菌的防治效果有所降低, 但 FO 47B 10 的防效降幅较 FO 47 小, 说明 FO 47B 10 的防效相对 FO 47 更为稳定。

表 4 FO 47 和 FO 47B 10 对黄瓜霜霉病的防治效果

Table 4 Control effects of FO 47 and FO 47B 10 on *Pseudoperonospora cubensis*

菌株 Strains	调查日期 Investigate date	对照病情指数 CK disease index	处理病情指数 FO 47/FO 47B 10 disease index	防病效果/% Control effects
FO 47	06-04	18.6	6.7	64.0
	06-09	20.1	8.9	55.7
	06-14	20.8	11.2	46.2
	06-19	23.3	16.2	30.5
FO 47B 10	06-04	18.6	7.1	61.8
	06-09	20.1	8.1	59.7
	06-14	20.8	10.8	48.1
	06-19	23.3	15.1	35.2

3 结论与讨论

本研究结果表明, 非致病尖镰孢菌 FO 47 和

FO 47B 10 能够在小麦、玉米、棉花、番茄、西瓜、黄瓜、辣椒和大豆 8 种作物中定殖, 而且对这 8 种作物无致病性, 推测这 2 种生防菌在其他作物体内也能

够定殖且无致病性。FO 47 和 FO 47B 10 在西瓜和黄瓜上应用时,能够促进作物的生长发育,增加作物的抗逆性,同时这 2 种生防菌分泌赤霉素的量与其对黄瓜和西瓜的促生作用呈正相关;2 菌株对黄瓜霜霉病具有一定的防治效果,但这还需要进一步在大田进行验证。关于这 2 种生防菌在低温条件下可以增加植株的抗逆性及提高成苗率的原因,还有待于进一步研究。

目前,有关非致病镰刀菌诱导抗性机制的研究报道很多^[5~7],在分子机制上,接种非致病镰刀菌后可以很快激活多种防御性酶的活性^[8]。接种非致病生防菌 FO 47 和 FO 47B 10 为防治黄瓜霜霉病提供了一条新途径,但其作用机制是激活了植株多种防御性酶的活性,还是作用于病菌的某些部位,尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Alabouvette C, Couteaudier Y. Biological control of *Fusarium* wilt with nonpathogenic fusaria[A]. Tjamos E C, Papvizas G C, Cook R J. Biological control of Plant Disease[C]. New York: Plenum Press, 1992: 415- 426
- [2] Komada H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil[J]. Rev Plant Prot Res, 1975, 8(1): 114- 125
- [3] 宗兆锋, 杨之为, 钮绪燕. 非致病尖孢镰刀菌抗药菌株的诱导[J]. 西北农业学报, 1996, 5(1): 43- 46
- [4] 肖志壮, 杨加华, 邢红宏, 等. 赤霉素的分光光度法测定[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 1997, 10(4): 265- 268
- [5] 马平, 李社增, Huang H C, 等. 利用棉花体内非致病镰刀菌防治棉花黄萎病[J]. 中国生物防治, 2001, 17(2): 71- 74
- [6] 简桂良, 宋建军, 马存. 几种有机肥对棉花枯萎病菌抑菌土的影响[J]. 棉花学报, 1996, 8(6): 30- 36
- [7] Nicole B, Chantal G, Alain G. Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO 47 to induce resistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2002, 68: 4044- 4060
- [8] Fuchs J G, Moenne L Y, Defago G. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO 47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato[J]. Plant Disease, 1997, 81: 492- 496

Effect of biocontrol agents FO 47 & FO 47B 10 on watermelon and cucumber

YANG Meng¹, ZONG Zhao-feng¹, GUO Xiao-fang¹, YAO Jing², Claude Alabouvette³

(1 College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210008, China;

3 Biochemistry, Cellular Biology and Ecology of Plant Microorganism Interactions,

INRA-CMSE, 17 rue Sully-BP 86510-F 21065 Dijon Cedex, France)

Abstract: The effect of the nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO 47 and FO 47B 10 on the safety and colonizing ability of 8 crops including wheat and corn, growth of cucumber and watermelon and the biocontrol effect to *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber were discussed. Results showed that FO 47 and FO 47B 10 were safe and could be colonized in the crops; seeding cucumber and watermelon, inoculating FO 47 and FO 47B 10 in the soil in advance could improve the tolerance of plants; The gibberellin content produced by FO 47B 10 was higher than that of the strain FO 47. The result showed that the control efficacy of two strains against *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber was significant.

Key words: FO 47; FO 47B 10; biocontrol; *Pseudoperonospora cubensis*; biocontrol agents