

植物免疫剂对绿豆晕疫病的抑制作用研究

闹干朝鲁¹, 魏瑶¹, 苗丹¹, 赵健², 贺小勇³, 田晓燕³, 赵明敏^{1*} (1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 内蒙古呼和浩特 010019; 2. 内蒙古农业大学科技园办公室, 内蒙古呼和浩特 010019; 3. 内蒙古农牧业科学院植物保护研究所, 内蒙古呼和浩特 010031)

摘要 利用 2 种植物免疫剂对绿豆晕疫病的防治效果进行了研究。结果表明, 植物免疫剂 JM2 号原液和稀释液(2 倍稀释)对绿豆晕疫病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*)菌落生长的抑制率高达 100%, JM1 号植物免疫剂无抑制作用。在盆栽植株上进一步研究了 2 种植物免疫剂对绿豆晕疫病的防治作用。结果表明, 感病的绿豆植株第一次喷 JM1 和 JM2 号植物免疫剂, 第一次喷药 14 d 后的防治效果分别为 26.67% 和 39.82%; 第二次喷药 14 d 后的防治效果分别为 21.43% 和 15.35%。随着感病天数增加, 植物免疫剂 JM1 和 JM2 号的防治效果均降低。由此可见, 植物免疫剂 JM1 号和 JM2 号原液对绿豆晕疫病均具有一定的防治效果, 与其他药剂配合使用, 可在农业生产上对防治绿豆晕疫病进行推广应用。

关键词 植物免疫剂; 绿豆晕疫病; 抑制率

中图分类号 S435.32 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)23-0165-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.23.046



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Inhibition of Plant Immune Agents against Halo Blight of *Vigna radiata* L

Naoganchaolu Borjigin, WEI Yao, MIAO Dan et al (College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019)

Abstract The control effects of two plant immune agents on halo blight of *Vigna radiata* L were studied. The results showed that the plant immune agent JM2 original extract and dilution (2-fold dilution) inhibited the growth of colonies of *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* NA medium. The JM1 plant immune reagent didn't show any inhibition effect. The effects of two plant immune agents on the control of halo blight of *Vigna radiata* L were further studied on plants in soil. When the plants were sprayed by *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* on for 14 days, the control effects of JM1 and JM2 plant immune agents on halo blight of *Vigna radiata* L plants was 26.67% and 39.82% respectively. We performed the second spraying treatment with plant immunity agents, the control effects were 21.43% and 15.35%, respectively 14 days later. We found that the control effects of the plant immune agents JM1 and JM2 decreased with the time of bacteria spraying. We suggested that the plant immune agents JM1 and JM2 had certain control effects on *Vigna radiata* L. and could be used together with other agents against diseases in the field.

Key words Plant immune agent; Halo blight of *Vigna radiata* L.; Inhibition rate

绿豆(*Vigna radiata* L.)属豆科植物,在我国北方地区广泛种植,栽培历史悠久,是我国重要的食用豆类作物^[1-2],然而在生产中有许多常见病害造成绿豆大面积减产^[3]。绿豆细菌性病害是影响绿豆产量及品质的重要病害,其中绿豆晕疫病危害最为严重。由丁香假单胞杆菌菜豆致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*)引起的绿豆晕疫病^[4],主要分布在东北及西北绿豆产区。该病害主要危害叶片,也侵染豆荚和种子^[5-6]。当受到该病菌侵染后,绿豆植物叶片会呈现一些小水渍斑点,随后斑点开始干枯、坏死,逐渐变成淡黄色或者棕褐色的斑块,围绕病斑产生一个宽的黄绿色晕圈^[7]。

植物免疫剂可以有效提高植物抵抗逆境的能力,加强作物自身免疫力,具有预防病害、增加产量、改善品质等特点,此外植物免疫剂具有绿色环保,对植物、动物以及人类无害,不污染环境的优点,经过多种室内和室外试验得知,植物免疫剂对病虫害的防治效果较好,是当前国际上较为热门的研究领域。目前,在国内获得正式登记的植物免疫剂主要有壳寡糖、脱落酸、超敏蛋白、蛋白质激发子(康壮素)、枯草芽孢杆菌(益微菌)、6%寡糖-链蛋白可湿性粉剂(阿泰灵)、普绿

通植物免疫蛋白粉剂、3%极细链格孢激活蛋白可湿性粉剂等^[8-9]。其中,阿泰灵对小麦纹枯病、白粉病和叶锈病的防治效果达 29.3%~64.9%^[10]。

JM1 号和 JM2 号植物免疫剂是笔者所在实验室自主研发的一种新型绿色植物免疫剂,室内试验证实其对多种病原真菌具有抑制作用。笔者通过皿内试验研究 2 种植物免疫剂对绿豆晕疫病病菌的抑制作用,同时,采用盆栽试验研究 2 种植物免疫剂对绿豆晕疫病病菌的防治效果,旨在为生产上防治绿豆晕疫病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试细菌为绿豆晕疫病菌(内蒙古农牧业科学院植物保护研究所提供)。供试植物免疫剂为 JM1 号和 JM2 号植物免疫剂,由笔者所在实验室自主研发。供试绿豆植株由内蒙古自治区农牧业科学院植物保护研究所提供。

1.2 绿豆晕疫病的菌液浓度筛选 将绿豆晕疫病病菌活化接种到 NA 培养基上,长出菌落后用 200 μ L 枪头挑菌落的单克隆在 50 mL 离心管中于 28 $^{\circ}$ C 摇床 24 h。菌液稀释 1 000、5 000、10 000 倍,采用平板涂布法将细菌涂布到 NA 培养基上,筛选长出约 1 000 菌落的浓度,用于皿内抑菌试验。

1.3 植物免疫剂对绿豆晕疫病的抑菌活性测定 采用生长速率法,对绿豆晕疫病病菌进行抑菌活性测定。将供试植物免疫剂(JM1 号和 JM2 号)原液和稀释液(2 倍稀释和 10 倍稀释)与 NA 培养基混合。待 NA 培养基融化,冷却至约

基金项目 内蒙古农业大学高层次人才引进科研启动项目(NDGCC-2016-23)。

作者简介 闹干朝鲁(1972—),男,内蒙古通辽人,实验师,博士,从事植物病害综合防治研究。*通信作者,教授,博士,博士生导师,从事植物病毒学的教学和科研工作。

收稿日期 2021-04-02

40 ℃时,按照 1:3 的比例(植物免疫剂:NA 培养基=1:3)混合均匀,配制成含植物免疫剂的培养基。倒入直径 90 mm 的培养皿中,待培养皿中的培养基冷却为固体时,取稀释备用的菌悬液($10^6 \sim 10^7$ CFU/mL) 100 μ L 至培养皿中,用涂布器将菌液涂抹均匀。以加入无菌水的培养基为对照,每个处理设置 3 个重复。温箱中培养 24 h。当平板表面长出肉眼可见的菌落时,记录各处理的菌落数,计算平均值。按以下公式计算植物免疫剂对菌落数形成的抑制效果。

$$\text{抑菌率} = \frac{(\text{对照菌落数} - \text{处理菌落数})}{\text{对照菌落数}} \times 100\%$$

1.4 植物免疫剂防治绿豆晕疫病的盆栽试验 将绿豆种于 10 cm×10 cm 的钵钵中,每钵 1 株,置于温室精细管。待长至 4 叶期进行接种试验。将提前培养好的绿豆晕疫病菌菌液喷在绿豆叶片上,用棉球摩擦,待其发病(7 d)后,调查病情指数。然后将植物免疫剂原液喷在发病的绿豆叶片上,7 d 后调查病情指数;并在第 7 天时第 2 次喷植物免疫剂,14 d 后再调查一次病情指数和防治效果。

病情指数 = $[\sum(\text{各级病株数} \times \text{代表值}) / \text{调查总株数} \times \text{最高级代表值}] \times 100$, 相对防治效果 = $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 植物免疫剂对绿豆晕疫病菌的抑制作用 从表 1 可以看出, JM2 号植物免疫剂原液和稀释 2 倍后对绿豆晕疫病菌

的抑制率均为 100%, 稀释 10 倍的 JM2 号植物免疫剂对绿豆晕疫病菌的抑制率小于 0; JM1 号植物免疫剂无论是原液还是稀释 2 倍、10 倍后对绿豆晕疫病菌的抑制率均小于 0。

3 种处理培养皿上菌落的形态变化见图 1, JM1 号植物免疫剂的各处理都对绿豆晕疫病菌无抑制作用; JM2 号植物免疫剂原液和稀释 2 倍后的培养皿上均无菌落, 完全抑制了绿豆晕疫病菌的菌落生长; 稀释 10 倍后 JM2 号植物免疫剂的培养皿上有菌落出现, 表示稀释 10 倍后 JM2 号植物免疫剂对绿豆晕疫病菌失去了抑制作用。

表 1 植物免疫剂对绿豆晕疫病菌的抑制作用

Table 1 Inhibition of plant immune agent on mung bean phytophthora

浓度 Concentration	免疫剂 Immune agent	平均菌落数 Average colony number//CFU/皿	抑制率 Inhibition rate//%
原液 Stock solution	CK	396.00±49.81 A	—
	JM1	451.00±42.60 A	-0.14
稀释 2 倍 Diluted 2 times	JM2	0±0 B	100.00
	CK	107.00±8.15 B	—
稀释 10 倍 Diluted 10 times	JM1	268.00±47.27 A	-1.50
	JM2	0±0 B	100.00
	CK	164.00±33.99 A	—
	JM1	338.00±68.73 A	-1.06
	JM2	281.00±53.82 A	-0.71

注: 同列不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.01$)

Note: Different capital letters in the same column indicated significant difference at 0.01 level

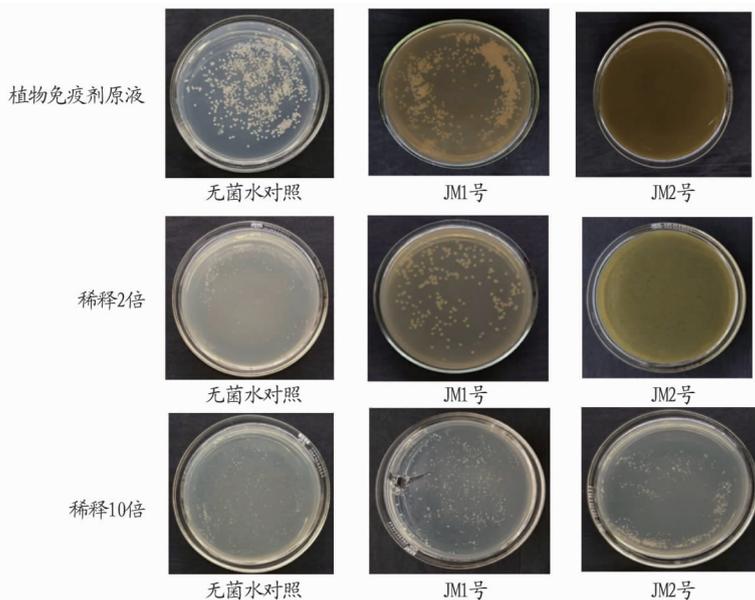


图 1 植物免疫剂对绿豆晕疫病菌的抑制作用

Fig. 1 Inhibition effect of plant immune agent on mung bean phytophthora

2.2 植物免疫剂对绿豆晕疫病的防治效果 由表 2 可知, 植物免疫剂对绿豆晕疫病有一定的防治作用, 不同处理的植物免疫剂对该病的防治效果不同。与对照相比, JM1 号植物免疫剂防治效果较差, 2 次喷药的防治效果分别为 26.67% 和 21.43%。JM2 号植物免疫剂的防治效果分别 39.82% 和 15.35%。

喷施植物免疫剂后植株情况见图 2, 第一次喷施植物免疫剂的效果要好于第二次, 综合来看 JM2 号植物免疫剂防治

效果好于 JM1 号植物免疫剂。

3 讨论

该研究结果显示, 3 种植物免疫剂对绿豆晕疫病的抑制作用不同, 其中 JM1 号植物免疫剂原液对绿豆晕疫病菌菌落的生长无抑制作用。JM2 号植物免疫剂对绿豆晕疫病的抑制效果达 100%, 完全抑制了绿豆晕疫病菌的菌落生长。这可能与不同型号的植物免疫剂组分有关。

表 2 植物免疫剂对绿豆晕疫病的防治效果

Table 2 Prevention and control on mung bean phytophthora by plant immune agents

植物免疫剂原液 Plant immune agent	对照 Control	第一次喷后 7 d 7 days after the first spraying	第二次喷后 14 d 14 days after the second spraying		
	病情指数 Disease index	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect/%	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect/%
CK	54.37	54.40	—	75.00	—
JM1	53.38	39.89	26.67	58.93	21.43
JM2	53.86	32.74	39.82	63.49	15.35



图 2 喷植物免疫剂 7 和 14 d 后植株情况

Fig. 2 Planting conditions after spraying plant immune agents for 7 and 14 d

不同浓度的植物免疫剂稀释液对该病菌的抑制效果也不同,该试验将植物免疫剂稀释 2 倍以后, JM1 号对绿豆晕疫病菌无抑制效果, JM2 号植物免疫剂的抑菌率同样达 100%。当对植物免疫剂的浓度稀释 10 倍以后, 2 种植物免疫剂的抑制效果均为负值, 失去了抑制作用。这说明植物免疫剂的抑菌作用具有浓度依赖性。

在盆栽试验中, 第一次喷施植物免疫剂的效果好于第二次, 病情指数较第二次略低, 防治效果也较好。不同型号的植物免疫剂对该病的防治效果不同, 其中 JM1 号植物免疫剂防治效果较差, 与对照相比, 2 次喷施后的防治效果均有所降低。

综上所述, 植物免疫剂 JM2 号原液对绿豆晕疫病的防治效果较好, 有望在生产上对绿豆晕疫病进行安全有效的防治。该试验研究了植物免疫剂对绿豆晕疫病菌的抑制作用, 其防治机制尚未研究清楚, 需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 宗绪晓, 关建平. 食用豆类的植物学特征、营养特点及产业化[J]. 中国食物与营养, 2003(11): 31-34.
- [2] 郭永田, 张蕙杰. 中国食用豆产业发展研究[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2015.
- [3] 葛维德, 李令蕊, 薛仁凤. 种衣剂和叶面肥处理对绿豆晕疫病防治效果及生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(31): 29-30, 69.
- [4] 魏亚东. 菜豆晕疫病[J]. 天津农林科技, 1994(3): 30-31.
- [5] 杨万风, 刘艳, 刘翔, 等. 大豆携带菜豆晕疫病菌 PCR 检测技术研究[J]. 植物检疫, 2014, 28(6): 65-68.
- [6] 陈云兰, 周丽洪. 菜豆晕疫病病原菌鉴定[J]. 湖南农业科学, 2013(1): 91-93, 100.
- [7] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. Anal Chem, 1979, 51(7): 844-851.
- [8] 盛世英, 周强, 邱德文, 等. 植物免疫蛋白制剂阿泰灵诱导小麦抗病增产效果及作用机制[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(2): 213-218.
- [9] 刘祥臣, 李彦婷, 张强, 等. 植物免疫诱抗剂阿泰灵对杂交水稻两优 6326 秧苗素质及产量的影响[J]. 中国稻米, 2017, 23(6): 69-72, 75.
- [10] 苗丹, 路妍, 陈雅寒, 等. 植物免疫剂 JM1 号对马铃薯枯萎病菌的抑制作用研究[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2019, 40(3): 92-96.