

油菜菌核病生物防治研究进展

唐智慧¹, 黄军², 周鑫钰^{1,3}, 何超^{1,3}, 朱宏建^{1,3*}

(1. 湖南农业大学生物安全科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南微生物研究所, 湖南长沙 410128; 3. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

摘要 从利用生防细菌(根际促生菌、植物内生细菌、海洋细菌和土壤细菌)、生防放线菌、生防真菌及其他生防因子(植物提取产物、转基因植物)等方面对油菜菌核病的生物防治研究进行了综述。

关键词 油菜菌核病; 生物防治; 代谢产物; 发酵液

中图分类号 S435.654 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)07-02913-03

油菜菌核病在各个油菜生产地区均可发生, 发病率多在 10%~40%, 严重时高达 70%^[1]。油菜菌核病的防治是否成功关系到我国整个油菜产业的发展。目前主要是采用化学防治, 但其对环境将造成很大影响, 还会带来其他一些问题。生物防治可保护生态环境, 保证农业的可持续发展, 已受到社会的广泛关注。笔者对近年来油菜菌核病的生物防治研究进行了综述, 以期有效控制油菜菌核病提供参考。

1 利用生防细菌防治油菜菌核病

1.1 利用根际促生菌防治油菜菌核病 植物根际促生细菌^[2](Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR)是当前研究的热点之一。PGPR 能通过多种方式促进植物生长, 同时分泌抗病物质抑制土壤中植物病原菌的繁殖, 控制植物病害发生, 有些 PGPR 的刺激代谢物还能够诱导植物产生系统抗性, 从而提高植物整体的抗病能力^[3], 在生物防治方面扮演着重要角色。王慧捷等^[4]从农作物根际分离到 1 株对油菜菌核病有较强抑制作用的生防细菌——桔黄假单胞菌, 通过显微镜观察菌丝发现该菌株能够使油菜菌核病菌菌丝体断裂、扭曲、畸形等, 从而抑制油菜菌核病菌菌丝的生长。另外, 通过研究菌株发酵液的性质发现该菌株产生的拮抗物质耐酸、耐碱, 但不耐高温。王婷等^[5]从常年油菜菌核病较轻的油菜根围土中分离到 1 株草酸分解菌 U-1 用于防治油菜菌核病, 取得良好的防治效果。晏立英等^[6]报道从油菜叶围和根际土中分离得到 1 株对油菜菌核病菌菌丝的生长具有明显抑制作用的菌株 Y1, 其在温室盆栽试验和田间小区试验中防治油菜菌核病的效果高达 92%。孙启利等^[7]从地衣芽孢杆菌 W10 的发酵液中经硫酸铵沉淀和透析而提取的 W10 抗菌蛋白对油菜菌核病菌有明显的抑制作用, 当浓度为 100 μg/ml 时对油菜菌核病菌菌丝生长的抑制率在 90% 以上, 且经处理后的菌丝不能产生菌核; 另外, 当用发酵液处理菌核时, 发现菌核的萌发推迟, 且能明显抑制子囊孢子萌发和芽管伸长。显微镜观察经发酵液处理后的菌丝出现形

态异常甚至断裂、细胞膜透性改变、电解质渗漏而电导率增加的现象; 盆栽试验结果表明, 抗菌蛋白对油菜菌核病有明显的防治效果, 当蛋白浓度为 3 000 μg/ml 时对油菜菌核病的防治效果为 71.8%, 与 1 000 μg/ml 的腐霉利或多菌灵的防效相当。王平等^[8]报道从油菜根际土壤中分离得到的荧光假单胞菌株 P13 对油菜菌核病菌有较强的抑制作用, 且能促进油菜的生长。另外, P13 分泌的铁载体对油菜菌核病菌有明显的抑制作用, 当铁载体分泌减少时对油菜菌核病菌的抑制作用会减小。

1.2 利用植物内生细菌防治油菜菌核病 植物内生菌易在植物组织内定殖, 能够更加持续稳定地发挥作用, 被认为是重要的生防菌来源^[9]。现已从许多植物中分离到具有生防作用的内生菌^[10-15]。张翼等^[16]从柑橘枝条中分离 1 株对油菜菌核病菌有较强抑制作用的内生菌——枯草芽孢杆菌 YS45, 接种离体叶片试验结果表明, YS45 菌株发酵液对油菜菌核病的防效可达 70% 以上, 与五氯硝基苯防效相当, 田间接种试验结果表明, 对油菜菌核病的防效达到 50% 以上。另外, 通过高效液相色谱及质谱分析发现发酵液中对油菜菌核病菌有抑制作用的物质为一组 Fengycin 同系物, 包括 Fengycins A、Fengycins B 和一种稀少 Fengycin 类型化合物。江木兰等^[17]从油菜体内分离出对油菜菌核病菌有抑制作用的内生菌 BY-2, 其抑制直径可达 3.1 cm; 另外, 利用显微镜观察发现经过处理后的菌丝出现细胞浓缩变短、细胞壁破裂、原生质外溢的现象, 能很好地抑制油菜菌核病菌菌丝的生长与发育, 且能抑制菌核的萌发。油菜离体叶片接种试验结果表明, BY-2 发酵液对油菜菌核病的防治效果高达 100%。刘慧芹等^[18]发现油菜内生菌 YC8 发酵液对油菜菌核病菌的抑制率达到 80%。

1.3 利用海洋细菌防治油菜菌核病 海洋表面积占地球表面积的 70%, 在海洋中拥有丰富的资源。目前从陆地上找到一些对植物病原菌有拮抗作用的新型天然产物已很困难, 因此, 科学家们致力于对海洋的研究, 尤其是海洋中的微生物, 希望能从中找到一些具有新型结构的抗菌化合物^[19]。由于海洋环境具有高盐、高压、低营养、低温、低光照等特性, 从而赋予海洋微生物种类的多样性和代谢方式的特异性^[20-21]。林建朋等^[22]从海水中分离了 1 021 株海洋细菌, 其中 12 株铜绿假单胞菌对油菜菌核病菌的抑制效果显著, 抑菌圈直径平均在 20 mm 以上, 对其产活性物质合成基因进行分子检测, 结果表明,

基金项目 国家公益性行业(农业)科研专项(201103016); 湖南省高校科技创新平台建设(12K062); 湖南省科技厅一般项目(2010FJ3124)。

作者简介 唐智慧(1978-), 男, 湖南常德人, 在读硕士, 研究方向: 植物生物防治。* 通讯作者, 讲师, 博士, 从事植物生物防治研究, E-mail: hongjian62@163.com。

收稿日期 2013-03-07

菌株 1A06832 和 SH-46 扩增获得 2,4-二乙酰基间苯三酚合成基因的目的片段;菌株 1A04311、1A05429 和 1A01321 扩增获得吩嗪合成基因的目的片段;菌株 1A06832、1A00318 和 SH-46 扩增获得藤黄绿脓菌素合成基因的目的片段;而硝吡咯菌素合成基因片段未获得。王淑芳等^[23]报道海洋假单胞菌 GY-1 菌株对油菜菌核病菌的抑菌直径达到 18 mm,通过分析其活性物质发现为一种蛋白,分子量为 70.9 kD。

1.4 利用土壤细菌防治油菜菌核病 土壤中有丰富的微生物资源,到目前为止,人们所利用的仅是其中很少一部分,还有很多资源需要去开发与利用。章四平^[24]从油菜田土壤中分离筛选获得对油菜菌核病菌有抑制活性的细菌 NJ-18,抑菌圈直径达到 24.50 mm。杨水英等^[25]报道细菌 CHB101 分泌的几丁质酶使油菜菌核病菌菌丝出现细胞壁溃解、细胞质凝聚成颗粒状并外渗、侧面产生圆形小孢子等变化,菌丝生长困难。谢永丽等^[26]报道自青海年宝玉泽及玛多高寒草甸根围土壤分离的 2 株拮抗菌株 GL18 和 MD1 的抑菌圈平均直径为 10~15 mm,表现出较强的拮抗活性,离体接种试验结果表明,2 株菌对油菜菌核病菌的侵染具有较好防效。

2 利用生防放线菌防治油菜菌核病

放线菌是一类重要的微生物资源,其代谢产物已被广泛应用于医学、农业和工业领域,在农药研究领域放线菌所产生的抗生素已成为新农药研发的主体之一^[27-28]。韩立荣等^[29]报道放线菌 11-3-1 对油菜菌核病菌具有明显抑制作用,抑菌带可达 19.67 mm,菌株发酵原液对油菜菌核病的室内防效达 96.91%,显著优于药剂腐霉利的防效;通过显微镜观察发现该菌株可使油菜菌核病菌菌丝体畸形扭曲和原生质浓缩外渗等。冯俊涛等^[30]报道放线菌 HJ1-2 菌株的发酵液对油菜菌核病菌的抑制率为 100%,且该菌株的发酵液对热、酸和紫外线均较稳定,具有一定的开发价值。朱正兵等^[31]从土壤中筛选出 4 株对油菜菌核病菌有较强拮抗作用的放线菌菌株,其中最高抑制率可达 85.7%,且能抑制油菜菌核病菌菌核的形成,油菜菌核病菌经处理后 11 d 对菌核形成的抑制率达 97.3%;韩立荣等^[32]报道菌株 GSA22-4、GSA26-2、HVA25-3、HVA36-4 和 AXW4-1 可完全抑制菌核的萌发;盆栽试验结果表明,放线菌株 X1-8 的防治效果达 91.7%,表现出较好的生防效果。

3 利用生防真菌防治油菜菌核病

目前已发现 45 种真菌能对核盘菌产生拮抗作用^[33],其中粘帚霉、木霉、盾壳霉、曲霉对核盘菌具有较强的生物防治潜能。郑露等^[34]通过喷盾壳霉分生孢子液进行田间试验,结果表明,盾壳霉随着浓度的增加对油菜菌核病的防治效果越好,表现出较好的生防效果。傅盈盈等^[35]报道酿酒酵母对油菜菌核病有较好的抑制作用,其作用机制可能是与酵母发酵产生的乙醇有关,为生物防治提供了一类新的可供选择的生防菌。尹亚丽等^[36]报道从紫花苜蓿植株中分离获得 22 种真菌,其中无孢菌丝体、射孢孢和丝蕈霉对油菜菌核病菌具有拮抗作用,抑制直径分别为 4.80、26.80、28.90 mm。

吴通礼^[37]报道盾壳霉对油菜菌核病有较好的防效,且对油菜有增产效果。刘淑娟等^[38]通过用菌株作诱饵分离到粘帚霉、木霉等 171 个菌株,筛选出生防潜能较好的菌株 Tk1 和 Th2,经离体叶片测定表明 Tk1 和 Th2 对油菜菌核病的防治效果分别达 90.16% 和 89.11%。

4 其他生防因子防治油菜菌核病

4.1 植物提取产物防治油菜菌核病 植物在生态系统中占有重要地位,也是次生代谢物质的主要来源。植物产生的次生代谢物质在现代农业生产中已得到极大开发和广泛应用,尤其是具有活性的代谢物质。以活性代谢物质或以其为先导化合物开发天然产物源生物农药已有许多例子^[39-40]。一些植物的提取物对一些植物病害也有较好的抑制作用,且对环境无破坏作用。刘峰等^[41]报道,合欢叶提取物随着浓度的提高对油菜菌核病菌菌丝生长及菌核形成的抑制作用越强;显微镜观察发现经过提取物处理后的菌丝出现形态异常甚至断裂现象,且培养液电导率增加。周兵等^[42]报道青箱根氯仿提取物在质量浓度大于 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时能显著抑制油菜菌核病菌菌丝的生长。曾东方等^[43]通过提取大蒜素进行体外抑制试验,发现用水浸法提取的大蒜素当浓度为 20 mg/ml 时对油菜菌核病菌的抑制率为 94.3%;用乙醇提取法提取的大蒜素当浓度为 20 mg/ml 时对油菜菌核病菌的抑制率为 93.7%,表现出较好的抑制作用。周兵等^[44]提取碎米莎草根总生物碱,当生物碱质量浓度在 100~400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对油菜菌核病菌菌丝生长产生明显的抑制作用。

4.2 利用转基因植物防治油菜菌核病 利用转基因技术将抗油菜菌核病的基因导入油菜染色体上得到抗油菜菌核病的转基因植物。戴富明等^[45]利用农杆菌将内切几丁质酶基因导入拟南芥哥伦比亚生态型的野生型植株中,接种油菜菌核病菌试验结果表明,几丁质酶基因可明显提高拟南芥对油菜菌核病菌的抗性。

5 结语

目前,环境污染和农药残留问题日益加重,病原菌的抗、耐药性增强问题也日益突出,因此,需要采用一种新型的防治方式防治病原菌,而生物防治能很好地解决上述问题,应用前景十分广阔。但目前对油菜菌核病的生物防治研究还处于基础阶段,大规模的生产尚未形成,还需对其进行进一步研究,以尽快普及对油菜菌核病的生物防治,保证农业的可持续发展。

参考文献

- [1] 周乐聪. 油菜菌核病流行与防治的研究概况[J]. 中国油料, 1994(51): 101-108.
- [2] 胡江春, 薛德林, 马成新, 等. 植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景[J]. 应用生态学报, 2004(10): 1963-1966.
- [3] WALSH U F, MORRISSEY J P, O'GARA F. Pseudomonas for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2001, 12(3): 289-295.
- [4] 王慧捷, 宋璟, 朱玉兵, 等. 1 株拮抗植物病原真菌的细菌筛选及其抑菌机理的初步研究[J]. 微生物杂志, 2010(2): 7-13.
- [5] 王婷, 王金生. 草酸分解细菌 U-1 的鉴定及其分解草酸的生物学测定[J]. 微生物杂志, 2007(6): 45-47.
- [6] 晏立英, 周乐聪, 谈宇俊, 等. 油菜菌核病拮抗细菌的筛选和高效菌株的鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2005(2): 55-57.
- [7] 孙启利, 陈夕军, 童蕴慧, 等. 地衣芽孢杆菌 W10 抗菌蛋白对油菜菌核

- 病菌的抑制作用及防病效果[J]. 扬州大学学报, 2007(3): 82-86.
- [8] 王平, 李慧, 邱译萱, 等. 荧光假单胞菌株 P13 分泌铁载体抑制油菜菌核病菌[J]. 上海师范大学学报, 2010(2): 200-203.
- [9] KLOPPER J W, BEAUCHAMP C J. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1992, 38: 1219-1232.
- [10] DUIJFF B J, GIANINAZZI-PEARSONAND V, LEMANCEAU P. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r[J]. New Phytologist, 1997, 135: 325-334.
- [11] M'PIGA P, BÉLANGER R R, PAULITZ T C, et al. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-licopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1997, 50: 301-320.
- [12] SHARMA V K, NOWAK J. Enhancement of *Verticillium* wilt resistance in tomato transplants by *in vitro* co-culture of seedlings with a plant growth promoting rhizobacterium (*Pseudomonas* sp. strain PsJN)[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1998, 44: 528-536.
- [13] STURZ A V, MATHESON B G. Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers[J]. Plant Soil, 1996, 184: 265-271.
- [14] STURZ A V, CHRISTIE B R, MATHESON B G. Association of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1998, 44: 162-167.
- [15] JIANG M L, ZHAO R, WANG G P. Identification and purification of anti-*Sclerotinia sclerotiorum* substance from endobacterium BY-2 in oilseed rape (in Chinese)[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2006, 28(4): 453-456.
- [16] 张翼, 白晨, 冉国华, 等. 柑橘内生细菌 YS45 的鉴定、抗菌物质分析及其对油菜菌核病的防治作用[J]. 植物病理学报, 2009(6): 638-645.
- [17] 江木兰, 赵瑞, 胡小加, 等. 油菜内生防菌 BY-2 在油菜体内的定殖与对油菜菌核病的防治作用[J]. 植物病理学报, 2007(2): 192-196.
- [18] 刘慧芹, 邢赜, 王丽, 等. 油菜内生细菌 Yc8 生防作用的初步研究[J]. 北方园艺, 2010(9): 169-171.
- [19] 骆祝华, 黄翔玲, 刘文华, 等. 海洋微生物抗菌活性的初步研究[J]. 中国海洋药物, 2005(2): 26-31.
- [20] 田黎, 陈杰, 何运转, 等. 农用抗生素的新资源——海洋微生物[J]. 中国生物防治, 2003(3): 121-124.
- [21] 李艳华, 张利平. 海洋微生物资源的开发与利用[J]. 微生物学通报, 2003(3): 113-114.
- [22] 林建朋, 邵宗泽, 陈莉, 等. 拮抗油菜菌核病的海洋细菌筛选及其活性物质的分子检测[J]. 化学与生物工程, 2011(7): 21-25.
- [23] 王淑芳, 暴增海, 马桂珍, 等. 海洋假单胞菌 GY-1 菌株的抗菌作用及其胞外抗菌蛋白的分离纯化[J]. 食品科学, 2012(21): 221-225.
- [24] 章四平, 匡静, 王建新, 等. 生防菌株 NJ-18 的鉴定及其对几种植物病原真菌的拮抗作用研究[J]. 中国农学通报, 2009(3): 213-217.
- [25] 杨水英, 李振轮, 青玲. 细菌 CHB101 抑制油菜菌核病菌的机理研究[J]. 作物杂志, 2007(2): 41-44.
- [26] 谢永丽, 徐志伟, 马莉贞. 两株生防芽孢杆菌的分子鉴定及拮抗活性测定[J]. 西北农业学报, 2012(8): 32-37.
- [27] TAKAHASHI Y. Exploitation of new microbial resources for bioactive compounds and discovery of new actinomycetes[J]. Actinomycetologica, 2004, 18: 54-61.
- [28] THUMAR J T, PHULIA K, SINGH S D. Isolation and partial purification of an antimicrobial agent from halotolerant alkaliphilic *Streptomyces aburaviensis* strain Kut-8[J]. World Journal Microbiology & Biotechnology, 2010, 26(11): 2081-2087.
- [29] 韩立荣, 张华蛟, 高保卫, 等. 放线菌 11-3-1 对油菜菌核病的防治作用与菌株鉴定[J]. 植物保护学报, 2012(2): 97-102.
- [30] 冯俊涛, 张锦恬, 韩立荣, 等. 放线菌 HJ1-2 菌株发酵液抑菌谱及稳定性的研究[J]. 西北农业学报, 2009(6): 280-284.
- [31] 朱正兵, 吕文静, 纪兆林. 土壤生防放线菌的分离及其对油菜菌核病菌的抑制作用[J]. 现代农业科技, 2008(12): 106-108.
- [32] 韩立荣, 孙平平, 张宁, 等. 油菜菌核病生防放线菌的分离与筛选[J]. 安徽农业科学, 2011(5): 2668-2670.
- [33] 李世东, 刘杏忠. 食菌核孢霉——一种有潜力的菌核病生防菌[J]. 中国生物防治, 2000(4): 172-182.
- [34] 郑露, 丁颜敏, 姜道宏, 等. 生防菌盾壳霉 ZS-1 菌株对油菜菌核病的田间防治效果[J]. 植物保护学报, 2012(2): 191-192.
- [35] 傅盈盈, 何小丽, 史晶澄. 酿酒酵母 INVSC1 对油菜菌核病菌抑制作用的研究[J]. 生物学杂志, 2010(1): 9-12.
- [36] 尹亚丽, 李世雄, 刘明秀, 等. 紫花苜蓿伴生菌对菌核病菌的抑制作用[J]. 植物保护学报, 2012(5): 456-460.
- [37] 吴通礼. 盾壳霉防治油菜菌核病试验初报[J]. 安徽农学通报, 2012(18): 81-83.
- [38] 刘淑娟, 文成敬. 防治油菜菌核病的木霉和粘帚霉菌株筛选及生防的初报[J]. 四川农业大学学报, 2005(1): 33-38.
- [39] 徐汉虹, 张志祥, 查友贵. 中国植物性农药开发前景[J]. 农药, 2003, 42(3): 1-10.
- [40] VYVYAN J R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals[J]. Tetrahedron, 2002, 58: 1631-1646.
- [41] 刘峰, 代光辉, 周熙荣, 等. 合欢叶提取物对油菜菌核病菌的抑制作用及其苗期防治效果[J]. 植物病理学报, 2010(5): 511-516.
- [42] 周兵, 闫小红, 蒋平. 青箱根氯仿提取物对多种植物的生物活性及抑菌作用[J]. 华中农业大学学报, 2010(2): 143-147.
- [43] 曾东方, 陈玢, 曾麟, 等. 大蒜素对三种农作物病原真菌的抑制作用[J]. 湖北农业科学, 2011(11): 2247-2249.
- [44] 周兵, 刘国伟, 闫小红. 碎米莎草根部总生物碱的化感活性及抑菌活性的研究[J]. 江西农业大学学报, 2009(1): 85-89.
- [45] 戴富明, 徐同. 农杆菌介导木霉几丁质酶基因转化拟南芥及其 T1 代对油菜菌核病抗性提高[J]. 上海交通大学学报, 2005(1): 36-40.

(上接第 2906 页)

速扩大, 其中会出现多种微生物, 侵染成功后的多种微生物之间的相互作用有待深入研究。

参考文献

- [1] SPOTTS R A, WALLIS K M, SERDANI M, et al. Methodology for determining relationships between inoculum concentration of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* and stem end decay of pear fruit[J]. Plant Disease, 2008, 92(3): 451-455.
- [2] LENNOX C L, SPOTTS R A. Timing of preharvest infection of pear fruit by

Botrytis cinerea and the relationship to postharvest decay[J]. Plant Disease, 2004, 88(5): 468-473.

- [3] 李德茂, 陈利梅. 迁西板栗贮藏过程中致腐微生物的分离鉴定研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 146-147.
- [4] 俞雅琼, 董明, 王旭东. 机械损伤对砀山酥梨采后生理生化变化的影响[J]. 保鲜与加工, 2011, 11(3): 10-15.
- [5] 田世平, 罗云波, 王贵禧. 园艺产品采后生物学基础[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 145-147.
- [6] 阙娟, 金昌海, 汪志君. 梨果实成熟衰老过程中温度对活性氧清除的影响[J]. 广州食品科技, 2004, 20(3): 41-44.