

中国生物防治学报

Chinese Journal of Biological Control

ISSN 2095-039X, CN 11-3515/S

《中国生物防治学报》网络首发论文

题目：三株生防菌对甘蓝根肿病的防治效果及促生作用研究
作者：贾瑞敏，胡礼芳，王彤彤，马青，王阳
收稿日期：2019-09-24
网络首发日期：2019-12-20
引用格式：贾瑞敏，胡礼芳，王彤彤，马青，王阳. 三株生防菌对甘蓝根肿病的防治效果及促生作用研究. 中国生物防治学报.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3515.S.20191220.1540.006.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

三株生防菌对甘蓝根肿病的防治效果及促生作用研究

贾瑞敏, 胡礼芳, 王彤彤, 马青*, 王阳*

(西北农林科技大学植保学院, 杨凌 712100)

摘要: 极长链霉菌 SL01、淡紫紫孢菌 QLP12 和非致病镰刀菌 Fo47 是具有广谱抑菌和促生作用的生防菌。为明确其对甘蓝根肿病的防效及对甘蓝的促生作用, 通过种子萌发及苗期生长试验明确了 3 株生防菌最佳育苗期的使用浓度。温室试验表明, 生防菌灌根处理可有效提高对甘蓝根肿病的防效, 菌株 Fo47 和 SL01 处理的防效可达到 90.38%, 显著高于药剂处理; 菌株 QLP12 处理的防效为 69.78%, 显著高于清水处理。田间试验中, 菌株 Fo47、QLP12 和 SL01 均能表现出较好的生防效果, 防效分别可达 66.17%、60.20% 和 51.58%, 甘蓝结球鲜重分别比对照增加了 29.13%、43.69% 和 16.5%。品质试验中, 3 株生防菌都能提高叶片还原糖含量, 菌株 Fo47 和 SL01 能降低叶片硝酸盐含量。研究表明, 3 株生防菌能促进甘蓝生长、提高叶片品质, 同时对甘蓝根肿病具有很好的防效, 为生物菌肥的开发利用提供理论依据。

关键词: 甘蓝根肿病; 生物防治; 促生作用; 品质

中图分类号: S476 文献标识码: A

Studies on Control Efficacy and Growth-Promotion Effect of Three Antagonistic Microbial Strains on Clubroot of *Brassica oleracea*

JIA Ruimin, HU Lifang, WANG Tongtong, MA Qing*, WANG Yang*

(College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: *Streptomyces longissimus* SL01, *Paecilomyces lilacinus* QLP12 and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 are biocontrol strains which have significant control efficiency on diseases and growth-promotion effect on plants. In order to clarify the control efficacy of the three strains on cabbage clubroot and its growth-promoting effect on cabbage, consistent with the seed germination test, the growth of cabbage seeding test clarified the optimum seed-treating concentration of the three strains. In the greenhouse experiment, root irrigation could effectively improve the control efficiency on cabbage clubroot, the relative control effect of Fo47 and QLP12 could reach 90.38%, which were significantly higher than that of chemical treatment, and the relative control effect of QLP12 was 69.78%, it was significantly higher than that of water treatment. In the field experiments, Fo47, QLP12 and SL01 all showed the good biocontrol efficacy, the relative control effects were 66.17%, 60.20% and 51.58%, respectively, the fresh weight of common cabbage increased by 29.13%, 43.69% and 16.5%, respectively. The quality test demonstrated that all the three strains could increase the reducing sugar content in leaves, and Fo47 and SL01 could also reduce the nitrate content in leaves. This study showed that the three biocontrol strains can not only promote cabbage growth, improve the quality of leaves, but also had good control effect on cabbage clubroot. The result provided a theoretical basis for the development and utilization of biofertilizer.

Key words: clubroot of *Brassica oleracea*; biological control; plant growth promoting; quality

收稿日期: 2019-09-24

基金项目: 陕西干旱区露地蔬菜化肥农药减施技术模式建立与示范 (2018YFD0201205-2)

作者简介: 贾瑞敏, 硕士研究生, E-mail: jiaruimin@nwsuaf.edu.cn; *通信作者, 马青, 教授, E-mail: maqing@nwsuaf.edu.cn; 王阳, 研究员, E-mail: wangyang2006@nwsuaf.edu.cn.

由芸薹根肿菌 *Plasmodiophora brassicae* Woron. 引起的十字花科蔬菜根肿病是一种世界性土传病害，现已广泛分布全世界60多个国家，该病危害植株根部，严重时引起根部腐烂乃至全株枯死，导致全球产量下降10%~15%^[1]。目前在我国每年约有320~400万公顷的十字花科作物被芸薹根肿病菌侵染，平均损失达20%~30%^[2]。芸薹根肿病菌属于原生动物界，专性寄生菌，其休眠孢子存活能力极强，可在土壤中长期存活，难以根除。

目前对根肿病的控制主要采取喷施化学农药、撒施石灰改良土壤理化性质、选择适宜抗病品种等措施^[3]。部分化学药剂防效不稳定且易造成环境污染；长期施用生石灰容易造成土壤板结和碱性化。由于根肿病菌的生理小种变异性^[4]，导致抗根肿病品种连续多年在同一个地方栽培会逐渐丧失抗性。因此寻求一种或多种能够安全、高效防治根肿病的方法，具有重要意义。

近年来，国内外已有利用有益微生物防治十字花科根肿病的报道。熊国如等^[5]从大白菜根肿病重病田的根围土壤中分离到一株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* XF-1，该生防菌在温室和大田小区试验中对根肿病都具有很好防治效果。Jäschke 等^[6]研究发现同时在拟南芥上接根肿病菌和顶孢霉菌 *Acronium alternatum*，病情指数下降 50%。王靖等^[7]从白菜根际土壤中分离到两株能抑制根肿病休眠孢子萌发的链霉菌 A316 和 A10，盆栽防效分别 73.60% 和 70.94%，大田防效可达 65.84% 和 59.59%。相对于其他植物病害，采用生物防治控制十字花科根肿病的研究起步晚且报道较少，不断从自然界丰富的微生物资源中筛选对十字花科根肿病高效的生防微生物很有必要。

西北农林科技大学蔬菜病害与生物防治实验室前期从土壤中分离到 2 株具有较强广谱抑菌活性的极长链霉菌 *Streptomyces longissimus* SL01 和淡紫紫孢菌 *Paecilomyces lilacinus* QLP12^[8,9]，戴蓬博等^[10]研究发现极长链霉菌 SL01 对苹果溃疡病的田间防效高达 90.3%，张菁等^[11]研究发现淡紫紫孢菌 QLP12 对番茄灰霉病的防效可达 50.20%。由法国 NRA Dijon 研究中心研究筛选、并成功应用的非致病镰刀菌 *Fusarium oxysporum* Fo47 可以有效防治由尖镰孢菌引起的多种植物枯萎病^[12,13]，杨猛^[14]将菌株 Fo47 制成粉剂（ 10^7 cfu/g）进行土壤处理，研究发现该菌株对黄瓜白粉病和黄瓜霜霉病均有一定的防治效果，其中对黄瓜白粉病的防效高达 84%。然而这 3 株菌用于甘蓝根肿病的生物防治效果尚不清楚，已有研究表明，生防菌的防病促生效果与其使用方式和浓度存在相关性^[15]，基于此，本试验探究了不同浓度的 3 株生防菌对甘蓝种子的萌发、苗期生长、成熟期生长和甘蓝根肿病的防效的影响，并测定了最佳施用浓度下生防菌对结球甘蓝叶片品质的影响，以期为 3 株生防菌应用于甘蓝根肿病的防治提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

甘蓝品种为不抗根肿病的豪圆品种（上海兴绿蔬菜种苗研究所）；科佳（10% 氰霜唑）悬浮剂（生产单位：日本石原产业株式会社）；极长链霉菌 *S. longissimus* SL01 和淡紫紫孢菌 *P. lilacinus* QLP12 由西北农林科技大学植物保护学院蔬菜病害与生物防治实验室保存，非致病镰刀菌 *F. oxysporum* Fo47 由法国 NRA Dijon 研究中心提供。

1.2 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）培养基：马铃薯（去皮切块）200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 15 g，蒸馏水 1000

mL。

高氏一号培养基：可溶性淀粉 20 g，硝酸钾 1 g，七水合硫酸镁 0.5 g，氯化钠 0.5 g，三水合磷酸氢二钾 0.5 g，七水合硫酸亚铁 0.01 g，琼脂 20 g，蒸馏水 1000 mL，pH 7.2~7.4。

Luria-Bertani (LB) 培养基：酵母提取物 5 g，胰蛋白胨 10 g，氯化钠 10 g，琼脂 15 g，蒸馏水 1000 mL，pH 7.0。

1.3 生防菌液及生防菌粉制备

生防菌发酵液制备：将生长5~7 d的淡紫紫孢菌QLP12和非致病镰刀菌Fo47接种于PDB培养基中，极长链霉菌SL01接种于高氏一号培养基中，按每100 mL培养液5个菌饼为接种量，装液量为100 mL/250 mL，28 °C、160 r/min振荡培养5 d，调整浓度为 10^8 CFU/mL。参照刘继红等^[16]的方法，分别制备生防菌SL01、QLP12和Fo47菌粉，浓度均为 10^8 CFU/g。

1.4 生防菌对甘蓝种子萌发及苗期生长的影响

将供试菌粉分别与无菌基质按 1:10、1:20、1:40、1:80 和 1:160 的质量比混合均匀（生防菌菌粉浓度分别为 1.00×10^7 、 5.00×10^6 、 2.50×10^6 、 1.25×10^6 和 6.25×10^5 CFU/g），分装到穴盘中，每个穴孔放入 3 粒甘蓝种子，以不加生防菌的灭菌基质为空白对照，每个处理 3 次重复。播种后观察甘蓝种子出苗情况，并于播后第 7 d 计算种子出苗率，播种后第 35 d，测定甘蓝鲜重、干重、根重、茎粗和株高。

1.5 温室防治效果测定

1.5.1 土样采集 按照五点取样法，采集太白县塘口村根肿病发病均一田块的土壤，每个采样点取甘蓝根部土壤（距土表 5 cm~30 cm 土层）存放于采样袋中，保湿备用。采用杨佩文等^[17]方法检测土壤中根肿病休眠孢子数量（ 2×10^8 CFU/g），将灭菌基质与根肿病病土按照体积比 1:1 混合均匀后装入营养钵（10 cm×10 cm）中备用。

1.5.2 防效测定 试验在西北农林科技大学植物保护学院温室进行，在 1.4 试验结果的基础上，开展了 3 株生防菌不同灌根浓度对甘蓝根肿病的防效试验。3 株生防菌分别取最佳菌粉浓度按照 1.4 中的方法进行穴盘育苗（菌株 Fo47 和 SL01 处理组中的菌粉浓度为 1.25×10^6 CFU/g、菌株 QLP12 处理中菌粉浓度为 2.5×10^6 CFU/g），培养 35 d 后移栽至 1.5.1 中的营养钵中，每钵移栽 1 株，分别在移栽时、移栽后 7 d 和 14 d 进行灌根处理，每次灌根量为 50 mL。3 株生防菌分别设置 5 个处理：以 3 个灌根浓度（ 1.00×10^7 、 2.00×10^6 和 1.00×10^6 CFU/mL）为处理组，科佳（有效成分为 20% 氰霜唑，稀释 600 倍液）为阳性对照组，无菌水为阴性对照。每个处理 10 钵，3 次重复。移栽 40 d 后调查根肿病发病情况并计算相对防效，温室病级判断标准及统计方法参照刘邈洲等^[18]方法。

1.6 大田试验

1.6.1 试验设计 试验于 2018 年 3 月至 2018 年 10 月在陕西省宝鸡市太白县塘口村试验田（海拔 1800 m）进行，前茬作物为白菜，一年一茬。采用杨佩文等^[17]方法检测土壤中根肿病休眠孢子含量，为 1×10^{10} CFU/g。试验地冬前深翻，基肥施氮磷钾 100 kg/667m²，整平地面。

2018 年 5 月 6 日进行小拱棚穴盘育苗，6 月 13 日定植，并于定植时、定植后第 7 d 和定植后第 14 d 进行灌根处理，每次灌根量为 100 mL/株。试验设置 17 个处理：3 株生防菌 Fo47、SL01 和 QLP12 分别设置 5 个灌根浓度（ 5.00×10^7 、 2.50×10^7 、 1.25×10^7 、 6.25×10^6 和 3.13×10^6 CUF/mL）作为处理组，科佳（有效成分为 20% 氰霜唑，稀释 600 倍液稀释）作为阳性对照，清水作为阴性对照。每个处理 30 株，

小区面积为 12 m²，行间距 50 cm，株距 35 cm，随机区组设计，设置 3 次重复。小区间设置隔离带 1 m，防止小区间水气流通，试验地四周设置保护行，田间进行常规管理。

1.6.2 试验测定指标与方法 试验于 2018 年 9 月 7 日进行甘蓝采收。收获前，每个小区逐株调查甘蓝根肿病发病情况并计算相对防效，田间病级判断标准及统计方法参照吴道军等^[19]方法。

采用跳跃式取样方法，各行从田边进行，每隔 3 株取一株，每个处理取 6 株，3 次重复，对甘蓝茎粗、株高和结球鲜重进行调查。甘蓝品质测定选取新鲜甘蓝叶片，硝酸盐含量采用水杨酸消化比色法^[20]测定，维生素 C 含量采用紫外分光光度法^[21]测定，总氨基酸含量采用茚三酮比色法^[22]测定，还原糖含量采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[23]测定，每个处理 3 次重复。

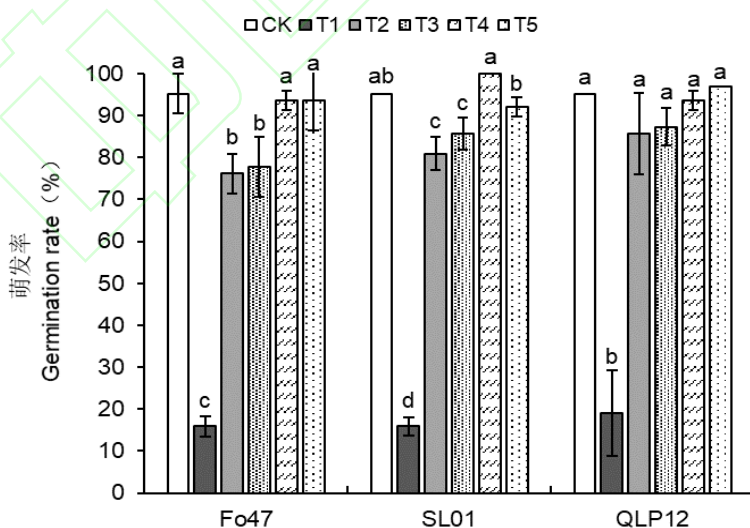
1.7 数据统计与分析

应用 Excel 软件进行数据的整理，采用 SPSS 17.0 进行数据分析，样品与对照组之间用单因素方差分析中的邓肯氏新复极差 (Duncan's) 检验对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生防菌对甘蓝种子萌发的影响

播种后第 7 d，对照组中甘蓝种子萌发率均在 95% 以上。在菌株 Fo47 和 SL01 处理组中，菌粉施用浓度为 $2.5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ CFU/g 时，萌发率均显著低于对照组；施用浓度为 $6.25 \times 10^5 \sim 1.25 \times 10^6$ CFU/g 时，菌株 Fo47 处理与对照无显著差异，菌株 SL01 处理与对照差异不显著。在 QLP12 处理组中，菌粉施用浓度为 1×10^7 CFU/g 时，萌发率显著低于对照组；施用浓度为 $2.5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ CFU/g 时，种子萌发率与对照无显著差异。结果表明，在研究浓度范围内 ($6.25 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ CFU/g)，菌株 Fo47、SL01 和 QLP12 施用较高浓度菌粉时对甘蓝种子萌发具有抑制作用，施用较低浓度菌粉时对甘蓝种子萌发率无显著影响 (图 1)。



注：T1~T5 分别代表施用 3 株生防菌的菌粉浓度 (T1: 1.00×10^7 CFU/g; T2: 5.00×10^6 CFU/g; T3: 2.50×10^6 CFU/g; T4: 1.25×10^6 CFU/g; T5: 6.25×10^5 CFU/g); 图中正负误差表示标准差大小，不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验同一株生防菌不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: T1~T5 respectively represented the concentration of three antagonistic microbial strains fermentation powder (T1: 1.00×10^7 CFU/g; T2: 5.00×10^6 CFU/g; T3: 2.50×10^6 CFU/g; T4: 1.25×10^6 CFU/g; T5: 6.25×10^5 CFU/g); Values in the chart were mean \pm SD, Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same strain at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

图 1 3 株生防菌对甘蓝种子萌发的影响

Fig. 1 Effect of three antagonistic microbial strains on germination of cabbage seeds

2.2 生防菌对甘蓝苗期生长的影响

播种 35 d 后, 分别对菌株 Fo47、SL01 和 QLP12 处理的甘蓝幼苗生长指标进行调查结果显示, 菌粉浓度为 1.00×10^7 CFU/g 时, 菌株 SL01 对甘蓝苗期鲜重、根重和株高表现出显著的抑制作用, 菌株 QLP12 对其鲜重和株高表现出显著的抑制作用。3 株菌施用浓度为 $1.25 \times 10^6 \sim 5.00 \times 10^6$ CFU/g 时, 对甘蓝表现出促生作用。结合 2.1 中的种子萌发试验结果可知, 在甘蓝育苗期, 当菌株 Fo47 和 SL01 菌粉施用浓度为 1.25×10^6 CFU/g、菌株 QLP12 菌粉施用浓度为 2.5×10^6 CFU/g 时, 不仅对甘蓝种子萌发无影响, 还能促进甘蓝苗期生长 (表 1~3)。

表 1 不同浓度 Fo47 菌粉对甘蓝幼苗的促生作用

Table 1 Effect of different concentrations of Fo47 fermentation powder on promoting growth of cabbage seedlings

处理 Treatment (CFU/g)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	根重 Root weight (g)	茎粗 Stem diameter (cm)	株高 Height (cm)
CK	1.98±0.05 c	0.23±0.04 c	0.20±0.02 d	0.21±0.02 c	3.37±0.03 c
1.00×10^7	1.86±0.42 c	0.20±0.04 c	0.21±0.01 d	0.21±0.01 c	3.20±0.08 c
5.00×10^6	3.13±0.16 a	0.49±0.07 a	0.34±0.02 a	0.34±0.01 a	4.70±0.45 a
2.50×10^6	2.92±0.42 a	0.47±0.08 a	0.28±0.03 b	0.32±0.02 a	4.20±0.22 b
1.25×10^6	2.39±0.37 b	0.37±0.14 b	0.25±0.07 c	0.28±0.02 b	3.57±0.00 c
6.25×10^5	1.78±0.08 c	0.34±0.04 b	0.23±0.02 c	0.25±0.00 b	3.38±0.06 c

注: 表中数据为平均数±标准差, 同列不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

The same below.

表 2 不同浓度 SL01 菌粉对甘蓝幼苗的促生作用

Table 2 Effect of different concentrations of SL01 fermentation powder on promoting growth of cabbage seedlings

处理 Treatment (CFU/g)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	根重 Root weight (g)	茎粗 Stem diameter (cm)	株高 Height (cm)
CK	1.98±0.05 c	0.23±0.04 c	0.20±0.02 c	0.21±0.02 c	3.37±0.03 a
1.00×10^7	0.99±0.06 d	0.17±0.07 c	0.08±0.02 d	0.20±0.08 c	2.63±0.12 b
5.00×10^6	1.97±0.21 c	0.30±0.05 b	0.16±0.04 c	0.23±0.02 bc	3.33±0.17 a
2.50×10^6	2.97±0.21 a	0.49±0.05 a	0.31±0.02 a	0.32±0.02 a	3.23±0.21 a
1.25×10^6	2.73±0.02 b	0.36±0.01 b	0.27±0.02 b	0.32±0.22 a	2.88±0.25 b
6.25×10^5	2.00±0.15 bc	0.34±0.04 b	0.29±0.02 b	0.30±0.00 ab	2.80±0.08 b

表 3 不同浓度 QLP12 菌粉对甘蓝幼苗的促生作用

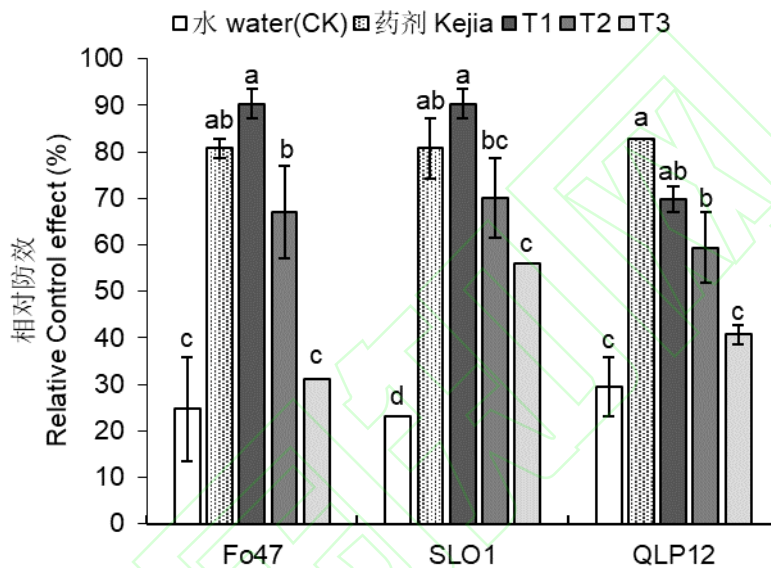
Table 3 Effect of different concentrations of QLP12 fermentation powder on promoting growth of cabbage seedlings

处理 Treatment (CFU/g)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	根重 Root weight (g)	茎粗 Stem diameter (cm)	株高 Height (cm)
CK	1.98±0.05 b	0.23±0.04 b	0.20±0.02 c	0.21±0.02 c	3.37±0.03 c
1.00×10^7	1.61±0.12 c	0.23±0.03 b	0.19±0.01 c	0.22±0.01 bc	2.87±0.10 d
5.00×10^6	2.06±0.10 a	0.29±0.08 a	0.25±0.01 a	0.26±0.01 a	5.10±0.08 a
2.50×10^6	2.04±0.43 b	0.28±0.01 a	0.24±0.04 ab	0.24±0.01 ab	4.40±0.28 a

1.25×10^6	2.01 ± 0.26 b	0.24 ± 0.02 a	0.22 ± 0.06 b	0.21 ± 0.00 c	3.73 ± 0.05 b
6.25×10^5	1.99 ± 0.06 b	0.23 ± 0.01 b	0.20 ± 0.02 c	0.20 ± 0.00 c	3.43 ± 0.17 bc

2.3 生防菌温室防效测定

移栽后第 40 d 调查病害结果显示, 菌株 Fo47 和 QLP12 灌根浓度为 $2 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ CFU/mL、菌株 SL01 灌根浓度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ CFU/mL 时, 相对防效均显著高于清水对照, 其中灌根浓度为 1×10^7 CFU/mL 时表现最佳, Fo47 和 SL01 的相对防效可达到 90.38%, 显著高于药剂处理 (80.77%), QLP12 菌株防效为 69.78%, 仅次于药剂对照且显著高于清水对照 (29.48%)。试验结果表明, 在甘蓝育苗时用生防菌菌粉拌土处理, 移栽后进行生防菌发酵液灌根处理 (1×10^7 CFU/mL) 对甘蓝苗期根肿病具有较好的防治效果 (图 2)。



注: T1~T3 分别代表 3 株生防菌发酵液浓度 (T1: 1×10^7 CFU/mL; T2: 2×10^6 CFU/mL; T3: 1×10^6 CFU/mL), 图中正负误差表示标准差大小, 不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验同一株生防菌不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

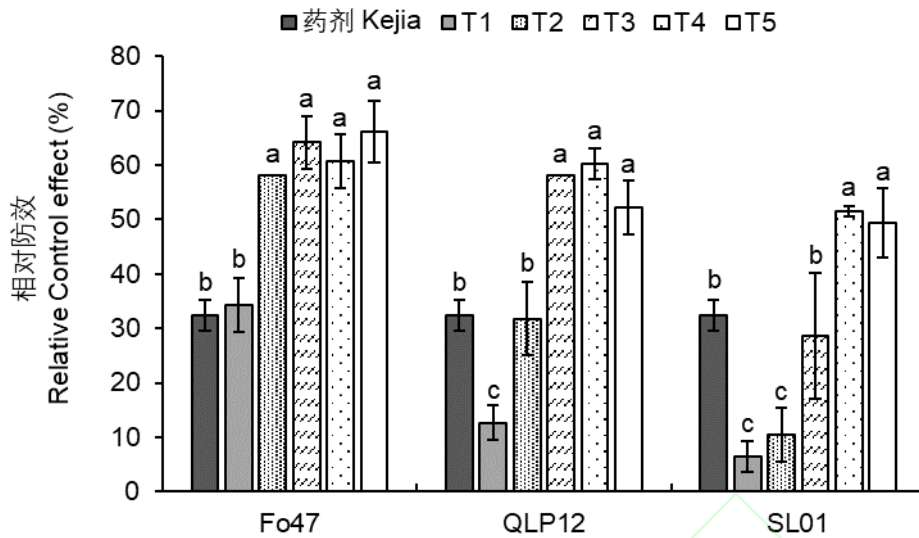
Note: T1~T3 respectively represented the concentration of three antagonistic microbial strains fermentation (1×10^7 CFU/mL; T2: 2×10^6 CFU/mL; T3: 1×10^6 CFU/mL); Values in the chart were mean \pm SD, Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same strain at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

图 2 3 株生防菌对甘蓝根肿病的温室防治效果

Fig. 2 Greenhouse control efficacy of three antagonistic microbial strains on cabbage clubroot

2.4 生防菌对甘蓝根肿病的田间防治效果

当菌株 Fo47 灌根浓度为 $3.13 \times 10^6 \sim 1.25 \times 10^7$ CFU/mL 时, 相对防效均大于 60%, 其中灌根浓度为 3.13×10^6 CFU/mL 时, 防效可达 66.17%; 菌株 QLP12 和 SL01 灌根浓度为 6.25×10^6 CFU/mL 时, 防效最佳, 分别为 60.20%、51.58%, 3 株生防菌的最佳防效均显著高于药剂处理 (图 3)。



注：T1~T5 分别代表 3 株生防菌发酵液浓度 (T1: 5.00×10^7 CFU/mL; T2: 2.50×10^7 CFU/mL; T3: 1.25×10^7 CFU/mL; T4: 6.25×10^6 CFU/mL; T5: 3.13×10^6 CFU/mL)。图中正负误差表示标准差大小, 不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验同一株生防菌不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: T1—T5 respectively represented the concentration of three antagonistic microbial strains fermentation (T1: 5.00×10^7 CFU/mL; T2: 2.50×10^7 CFU/mL; T3: 1.25×10^7 CFU/mL; T4: 6.25×10^6 CFU/mL; T5: 3.13×10^6 CFU/mL); Values in the chart were mean \pm SD, Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same strain at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

图 3 3 株生防菌对甘蓝根肿病的田间防治效果

Fig. 3 Field control efficacy of three antagonistic microbial strains on cabbage clubroot

2.5 生防菌对甘蓝的促生作用

3 株生防菌对甘蓝的促生作用存在较大差异, 菌株 Fo47 与 SL01 处理组中 6.25×10^6 CFU/mL 浓度相比其他浓度都具有较强的促生作用, 与对照相比, 菌株 Fo47 处理组的茎粗增加了 6.36%, 株高增加了 9.10%, 鲜重增加了 29.13% (表 4); 菌株 SL01 在该浓度下甘蓝茎粗比对照增加了 30.00%, 结球鲜重增加了 16.50% (表 5)。菌株 QLP12 灌根浓度为 1.25×10^7 CFU/mL 时能显著提高甘蓝结球鲜重, 比对照增加了 43.69%, 茎粗比对照增加了 18.18% (表 6)。结果表明, 菌株 Fo47 可以通过提高甘蓝茎粗、株高和结球鲜重从而促进甘蓝生长; 菌株 QLP12 和 SL01 能够提高甘蓝茎粗和结球鲜重促进甘蓝生长。

表 4 不同浓度生防菌株 Fo47 发酵液对甘蓝的促生作用

Table 4 Effects of different culture filtrate's concentrations of strain Fo47 on promoting growth of cabbage

处理	浓度	茎粗	增长率	株高	增长率	结球鲜重	增长率
Treatment	Concentration	Stem diameter	Increase rate	Height	Increase rate	Fresh weight	Increase rate
	(CFU/mL)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(kg)	(%)
水 Water (CK)	-	1.10 \pm 0.10 a	-	40.33 \pm 2.72 abc	-	1.03 \pm 0.18 a	-
科佳 Kejia	稀释 600 倍	1.30 \pm 0.26 a	18.18	38.67 \pm 2.40 abc	-4.12	1.18 \pm 0.14 a	14.56
Fo47	5.00×10^7	1.03 \pm 0.15 a	-6.36	34.33 \pm 3.33 c	-14.88	1.01 \pm 0.01 a	-1.94
	2.50×10^7	1.10 \pm 0.06 a	0.00	36.33 \pm 2.90 bc	-9.92	1.11 \pm 0.07 a	7.77
	1.25×10^7	1.13 \pm 0.17 a	2.73	37.00 \pm 0.88 bc	-8.26	1.21 \pm 0.08 a	17.48
	6.25×10^6	1.17 \pm 0.20 a	6.36	44.00 \pm 2.18 a	9.10	1.33 \pm 0.05 a	29.13
	3.13×10^6	1.10 \pm 0.23 a	0.00	42.00 \pm 0.88 ab	4.14	1.15 \pm 0.04 a	11.65

注：表中数据为平均数 \pm 标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Data were mean \pm SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

The same below.

表 5 不同浓度生防菌株 SL01 发酵液对甘蓝的促生作用

Table 5 Effects of different culture filtrate's concentrations of strain SL01 on promoting growth of cabbage

处理	浓度	茎粗	增长率	株高	增长率	结球鲜重	增长率
Treatment	Concentration	Stem diameter	Increase rate	Height	Increase rate	Fresh weight	Increase rate
	(CFU/mL)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(kg)	(%)
水 Water (CK)	-	1.10 \pm 0.10 a	-	40.33 \pm 2.72 ab	-	1.03 \pm 0.18 a	-
科佳 Kejia	稀释 600 倍	1.30 \pm 0.26 a	18.18	38.67 \pm 2.40 ab	-4.12	1.18 \pm 0.14 a	14.56
SL01	5.00 \times 10 ⁷	1.23 \pm 0.12 a	11.82	37.67 \pm 1.67 ab	-6.60	1.02 \pm 0.05 a	-0.97
	2.50 \times 10 ⁷	1.27 \pm 0.12 a	15.45	39.00 \pm 3.21 ab	-3.30	1.09 \pm 0.05 a	5.83
	1.25 \times 10 ⁷	1.20 \pm 0.15 a	9.09	35.00 \pm 1.52 b	-13.22	1.12 \pm 0.15 a	8.74
	6.25 \times 10 ⁶	1.43 \pm 0.07 a	30.00	35.00 \pm 0.00 b	-13.22	1.20 \pm 0.04 a	16.50
	3.13 \times 10 ⁶	1.37 \pm 0.07 a	24.55	42.00 \pm 0.58 a	4.14	1.13 \pm 0.15 a	9.71

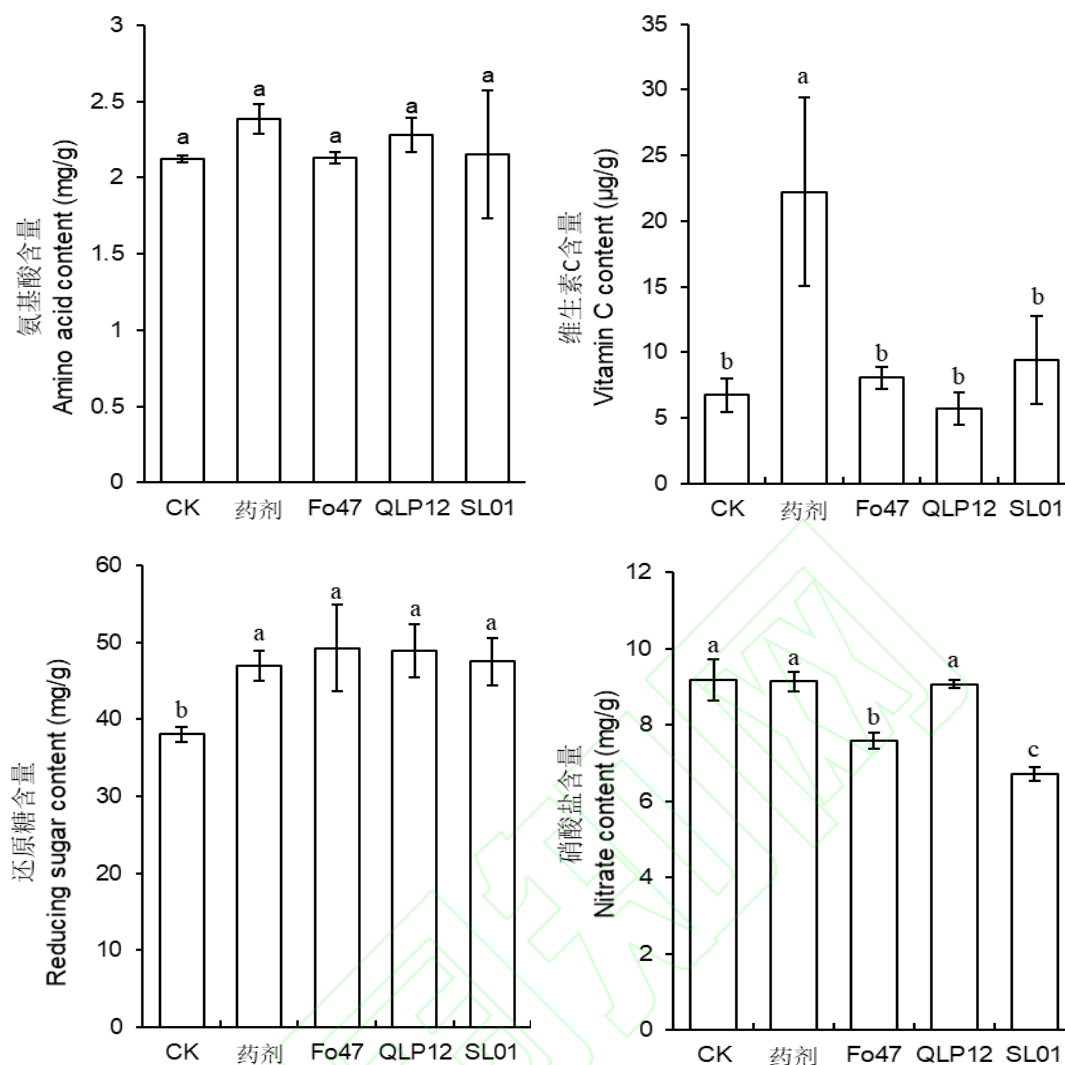
表 6 不同浓度生防菌株 QLP12 发酵液对甘蓝的促生作用

Table 6 Effects of different culture filtrate's concentrations of strain QLP12 on promoting growth of cabbage

处理	浓度	茎粗	增长率	株高	增长率	结球鲜重	增长率
Treatment	Concentration	Stem diameter	Increase rate	Height	Increase rate	Fresh weight	Increase rate
	(CFU/mL)	(cm)	(%)	(cm)	(%)	(kg)	(%)
水 Water (CK)	-	1.10 \pm 0.10 a	-	40.33 \pm 2.72 a	-	1.03 \pm 0.18 c	-
科佳 Kejia	稀释 600 倍	1.30 \pm 0.26 a	18.18	38.67 \pm 2.40 a	-4.12	1.18 \pm 0.14 bc	14.56
QLP12	5.00 \times 10 ⁷	1.37 \pm 0.08 a	24.55	36.33 \pm 3.33 a	-9.92	1.06 \pm 0.03 bc	2.91
	2.50 \times 10 ⁷	1.07 \pm 0.03 a	-2.73	35.33 \pm 2.91 a	-12.40	1.13 \pm 0.05 bc	9.71
	1.25 \times 10 ⁷	1.30 \pm 0.10 a	18.18	34.67 \pm 0.88 a	-14.03	1.48 \pm 0.12 a	43.69
	6.25 \times 10 ⁶	1.20 \pm 0.11 a	9.09	37.33 \pm 2.18 a	-7.44	1.25 \pm 0.04 b	21.36
	3.13 \times 10 ⁶	1.13 \pm 0.13 a	2.73	40.67 \pm 0.88 a	0.84	1.20 \pm 0.08 bc	16.50

2.6 生防菌对甘蓝叶片品质的影响

施用菌株 Fo47 和 SL01 后, 甘蓝叶片中的硝酸盐含量显著下降, QLP12 菌株处理后的甘蓝叶片中硝酸盐含量与对照无显著差异; 3 株生防菌处理后, 甘蓝叶片中的维生素 C 含量和氨基酸含量均无显著变化, 还原糖含量均显著增加 (如图 4)。



注：图中正负误差表示标准差大小，不同小写字母表示经 Duncan's 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Values in the chart were mean \pm SD, Different lowercase letters indicate significant difference between different at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

图 4 生防菌处理对甘蓝叶片品质的影响

Fig. 4 Effects of antagonistic microbial strains on leaf quality of cabbage

3 讨论

淡紫紫孢菌 QLP12、极长链霉菌 SL01 和非致病镰刀菌 Fo47 是极具生防潜力的菌株，不仅能促进植物生长，还能有效地防治植物病害。蓝星杰^[24]发现 QLP12 和 SL01 都能显著提高马铃薯株高和地下鲜重，进一步研究表明，QLP12 能够通过分泌生长素和铁载体促进植株叶绿素的积累，从而促进植株生长，SL01 能够通过分泌生长素和溶解有机磷表现出对植株的促生作用；杨猛等^[15]研究表明，菌株 Fo47 具有分泌赤霉素的能力，盆栽试验研究发现 Fo47 处理后的西瓜幼苗长势健壮，叶色浓绿，根系发达，单株鲜重、根长、叶绿素含量都显著高于对照。本研究结果表明，3 株菌进行最佳浓度菌粉拌土处理对甘蓝幼苗植株的鲜重、干重、株高和根重均有显著的促进作用。且在田间试验中，最佳浓度生防菌灌根处理也能提高甘蓝的结球鲜重。说明生防菌 QLP12、SL01 和 Fo47 具备促进甘蓝生长的能力。

本研究发现,不同浓度的生防菌 QLP12、SL01 和 Fo47 对甘蓝种子的萌发、苗期生长和成熟期生长及甘蓝根肿病的防效存在不同的影响效果。室内种子萌发试验和温室幼苗盆栽试验结果显示,高浓度的生防菌对甘蓝种子萌发和幼苗生长均有抑制作用,这与杨晓云等^[25]发现 B1619 发酵原液对番茄种子萌发和幼苗植株生长有抑制作用结果相似,杨婷^[26]在淡紫紫孢菌产类植物生长素功能蛋白的研究中发现,淡紫紫孢菌发酵液中的类植物生长素功能蛋白对水稻根的生长有明显调控作用,表现为高浓度抑制水稻根的生长,低浓度范围内可促进水稻根的生长。因此,在实际应用,有必要筛选出生防菌对植株的最佳施用浓度,才能更好地发挥出生防菌的生防作用。

Lahlali 和 Peng^[27]在粉红粘帚霉菌对油菜根肿病的防效试验结果中显示,育苗时只进行生防菌土壤处理,油菜根肿病的病情指数为 42.90%,而育苗时土壤处理结合移栽后灌根处理,病情指数为 4.80%。本研究盆栽试验中发育苗时进行生防菌菌粉拌土处理且移栽后进行生防菌发酵液灌根处理,对苗期甘蓝根肿病的防效显著高于不灌根处理组,说明移栽甘蓝后进行生防菌灌根处理对防治甘蓝根肿病的重要性。

已有研究表明,极长链霉菌 SL01 能够通过产生降解细胞膜或细胞壁的酶类,如蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶等发挥其抑菌作用^[28],连清贵等^[29]发现 SL01 发酵液处理能明显提高番茄植株组织内各防御酶活性,从而有效提高番茄植株的抗病性;张菁等^[30]发现 QLP12 菌株处理后的番茄其相关防御酶活性及脯氨酸含量上升,推测菌株 QLP12 能够通过诱导植物产生系统抗性而防病;Sébastien Aimé 等^[31]研究发现番茄根部接种菌株 Fo47 后,PR 蛋白相关的基因 *CHI3*、*GLUA* 和 *PR-1a* 上调表达,推测番茄植株是通过参与水杨酸途径防御番茄枯萎病。在本试验中,这 3 株生防菌对甘蓝根肿病的生防作用,一方面体现在生防菌对甘蓝植株的促生作用,另一方面推测可能是由于这 3 株生防菌能够诱导甘蓝植株产生抗病性,或通过产生降解根肿病休眠孢子细胞壁的酶、分泌某些可以抑制根肿病休眠孢子萌发的化学物质从而表现出抑菌活性,具体机制还有待继续探究。

综上所述,施用最佳浓度 Fo47、QLP12 和 SL01 不仅对甘蓝具有显著的促生效果,而且能有效地防治甘蓝根肿病,还能提高甘蓝叶片品质,为今后在农业生产中开发应用生物菌肥防控甘蓝根肿病奠定基础。

致谢

感谢陕西干旱区露地蔬菜化肥农药减施技术模式建立与示范项目对本研究提供的资助;感谢法国 NRA Dijon 研究中心 Alabouvette 博士提供非致病镰刀菌 Fo47。

参考文献

- [1] Dixon G R. *Plasmodiophora brassicae* in its environment[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 212-228.
- [2] Wang J, Huang Y, Li X L, et al. Research progress in clubroot of crucifers[J]. Plant Protection Science, 2011, 37(6): 153-158.
- [3] Naiki T, Dixon G R. The effects of chemicals on developmental stages of *Plasmodiophora brassicae* (clubroot)[J]. Plant Pathology, 1987, 36(3): 316-327.
- [4] Řičařová V, Kazda J, Baranyk P, et al. Greenhouse and field experiments with winter oilseed rape cultivars resistant to *Plasmodiophora brassicae* Wor.[J]. Crop Protection, 2017, 92(2): 60-69.
- [5] 熊国如, 张翠英, 刘庆丰, 等. 枯草芽胞杆菌 XF-1 粗蛋白抑菌活性初步研究[J]. 植物保护, 2009, 35(4): 92-95.
- [6] J äschke D, Dugassa-Gobena D, Karlovsky P, et al. Suppression of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) development in *Arabidopsis thaliana* by the endophytic fungus *Acremonium alternatum*[J]. Plant Pathology, 2010, 59(1): 100-111.
- [7] 王靖, 黄云, 张艳, 等. 油菜根肿病菌拮抗微生物的筛选及其防治效果测定[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 169-174.

- [8] 宗兆锋, 郭小芳, 韩立荣, 等. 诱捕分离土壤中的生防放线菌[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(11): 19-22.
- [9] 郭小芳, 宗兆锋. 6株放线菌定殖能力测定及对苹果灰霉病控制效果[J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 116-118.
- [10] Dai P B, Zong Z F, Ma Q, *et al.* Isolation, evaluation and identification of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrol of *Valsa mali*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2018, 153(1): 119-130.
- [11] Zhang J, Chen J, Jia R M, *et al.* Suppression of plant wilt diseases by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 combined with actinomycete strains[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2018, 28(6): 562-573.
- [12] Veloso J, Alabouvette C, Olivain C, *et al.* Modes of action of the protective strain Fo47 in controlling *Verticillium* wilt of pepper[J]. *Plant Pathology*, 2016, 65(6): 997-1007.
- [13] Olivain C, Alabouvette C, Steinberg C. Production of a mixed inoculum of *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas fluorescens* C7 to control *Fusarium* diseases[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2004, 14(3): 227-238.
- [14] 杨猛, 宗兆峰, 郭小芳, 等. 生防菌 Fo47 和 Fo47B10 的应用研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(5): 57-60.
- [15] 庞亚琴, 任彩婷, 徐秋曼. 解淀粉芽孢杆菌 HM618 对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2018, 38(4): 55-59.
- [16] 刘继红, 甘良, 蓝星杰, 等. 生防菌与化肥和杀菌剂混用对棉花枯萎病的防病促生作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(7): 165-172.
- [17] 杨佩文, 李家瑞, 杨勤忠, 等. 十字花科蔬菜根肿病菌休眠孢子的分离与检测[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2002, 17(3): 301-302.
- [18] 刘卹洲, 杜艳, 乔俊卿, 等. 甘蓝根肿病生防细菌的筛选、鉴定及评价[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(4): 83-90.
- [19] 吴道军, 陈国康, 杨晓琴, 等. 4种甘蓝根肿病分级标准的应用评价[J]. 西南农业学报, 2013, 26(2): 591-594.
- [20] 李帮秀, 张贺翠, 王三根, 等. 蔬菜硝酸盐含量测定方法的改进[J]. 植物生理学报, 2014, 50(11): 1749-1752.
- [21] 郑京平. 水果、蔬菜中维生素 C 含量的测定—紫外分光光度快速测定方法探讨[J]. 光谱实验室, 2006, 23(4): 731-735.
- [22] 朱瑾, 李新霞, 陈坚. 茚三酮比色法测定蒜氨酸原料药中总氨基酸的含量[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(3): 136-138.
- [23] 崔辉梅, 石国亮, 安君和. 马铃薯还原糖含量测定方法的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19): 4821-4823.
- [24] 蓝星杰. 两种生防菌田间防病促生作用及其机理研究[D]. 西北农林科技大学, 2015.
- [25] 杨晓云, 陈志谊, 蒋盼盼, 等. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 对番茄的促生作用[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(3): 349-356.
- [26] 杨婷. 淡紫拟青霉产类植物生长素功能蛋白的研究[D]. 华南农业大学, 2016.
- [27] Lahlali R, Peng G. Suppression of clubroot by *Clonostachys rosea* via antibiosis and induced host resistance[J]. *Plant Pathology*, 2014, 63(2): 447-455.
- [28] 查顺清. 极长链霉菌 (*Streptomyces longissimus*) SL01 代谢产物及斑螫素衍生物抑菌活性的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [29] 连清贵, 甘良, 马青, 等. 番茄灰霉病菌胁迫下壮观链霉菌 SC11 对寄主的促生作用及防病机理[J]. 植物病理学报, 2016, 46(3): 401-408.
- [30] 张菁, 连清贵, 陈婧, 等. 淡紫拟青霉 QLP12 对感染灰霉病后番茄植株的促生作用及抗病相关酶活性变化[J]. 植物保护学报, 2018, 45(5): 167-174.
- [31] Sebastien A, Alabouvette C L, Steinberg C, *et al.* The endophytic strain *Fusarium oxysporum* Fo47: A good candidate for priming the defense responses in tomato roots[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(8): 918-926.