

# 生菜菌核病生防菌筛选

金娜, 吴晓云, 李志强, 李佳蔚

北京农业职业学院园艺系, 北京

收稿日期: 2023年11月1日; 录用日期: 2023年11月28日; 发布日期: 2023年12月4日

## 摘要

文章通过室内及盆栽试验筛选出对生菜菌核病有防治效果的生防细菌。室内试验结果表明, 筛选菌株5-1、21-6、28-2、QZ-7、XMH-14、XMH-1对核盘菌的抑菌率分别为59.2%、58.6%、60.9%、62.7%、60.2%、65.2%。盆栽试验结果表明, 筛选菌株QZ-7和XMH-1菌液处理能显著降低菌核病的发病级数, 防效分别为65.9%和63.5%。由此可见, QZ-7和XMH-1菌液可在一定程度上防治生菜菌核病, 具有开发为生防制剂的潜力。

## 关键词

生防菌, 生菜菌核病, 核盘菌, 防治效果

# Screening of Biocontrol Bacteria for Lettuce Sclerotinia Disease

Na Jin, Xiaoyun Wu, Zhiqiang Li, Jiawei Li

Department of Horticulture, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing

Received: Nov. 1<sup>st</sup>, 2023; accepted: Nov. 28<sup>th</sup>, 2023; published: Dec. 4<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

In this paper, through indoor and potted experiments, biocontrol bacteria that have control effects on lettuce sclerotinia disease were screened. The indoor test results showed that the selected strains 5-1, 21-6, 28-2, QZ-7, XMH-14, and XMH-1 had antibacterial rates of 59.2%, 58.6%, 60.9%, 62.7%, 60.2%, and 65.2% against *Sclerotinia sclerotiorum*, respectively. The results of the pot experiment showed that the treatment with the selected strains QZ-7 and XMH-1 bacterial solutions significantly reduced the incidence of Sclerotinia disease, with control effects of 65.9% and 63.5%, respectively. From this, it can be seen that QZ-7 and XMH-1 bacterial solutions can to some extent prevent and control lettuce sclerotinia disease, and have the potential to be developed as biocontrol agents.

## Keywords

Biocontrol Bacteria, Lettuce Sclerotinia Disease, *Sclerotinia sclerotiorum*, Control Effects

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

生菜为菊科莴苣属的一、二年生草本植物。按照叶片形态可分为散叶生菜、皱叶生菜和结球生菜。生菜是北京地区种植面积最大的绿叶蔬菜。随着人们对生菜的消费需求扩大,种植面积逐年增加,土传植物病害日益增多,其中生菜菌核病尤为严重,对生菜的产业发展造成很大影响[1]。

生菜菌核病是一种世界性普遍发生的土传病害,又称烂盘病、白腐病,其病原菌为病原真菌核盘菌,核盘菌的寄主范围十分广泛,且其危害性较严重。该病菌寄生范围广。随着国内种植生菜面积的不断增长,菌核病在生菜产业生产和产量上的危害也日益加剧,因菌核病造成生菜地块平均发病率达到40%~60%,最高可达到90%以上,严重影响着生菜的产量和品质。我国作为传统的农业大国,农业在国民经济中占有重要作用。随着农耕模式的变革及全球温室变化的影响,植物病害日益严重[1][2]。目前植物病害防治以化学防治为主,通过喷洒杀虫剂、杀菌剂等方式进行防治。尽管化学防治效果良好,有助于农业增产,但是人们不科学使用化学农药造成人类生存的环境严重污染,并且引起病原物抗药性增强。在我国粮食安全与食品安全形势日趋严峻的今天,利用生物技术防治植物疾病已经引起了人们的普遍重视[3]。

生物防治主要是通过有益生物及其产物对植物中的有害生物进行防治,从而达到防治植物病虫害的目的,能够有效减少化肥农药的施用。生物防治是安全、环保、低成本、有效的防治生菜菌核病的方法,也是目前的发展方向和目标,因为其核盘菌的寄主范围广,菌核长期存活于土壤中,一般的农业技术措施很难达到较好的防治效果,所以利用生防菌防治菌核病是一种环境友好的防治方法[4]。生物防治近些年来已成为研究热点。利用有益和有效的微生物及这类微生物次生代谢产物来防治作物病害的方法和措施,这些有利的微生物称之为生防菌株或拮抗菌株。土壤生物因子是对菌核存活产生影响的主要因子,所以,菌核病的生物防治重点是怎样有效破坏核盘菌菌核的形成、存活及如何延迟核盘菌在植物体内的定殖。目前生防菌株研究较多的为生防细菌、生防放线菌和生防真菌等生物菌株[5]。本研究以生菜菌核病为靶标,筛选生菜菌核病生防菌,测定其抑菌效果,发掘优良生防菌株,旨在为菌核病的生物防治提供理论依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 供试菌株

供试菌株由中国农业大学植物病原线虫实验室提供,包括5-1、17-1、21-1、21-4、21-6、28-2、33-3、53-1、104-1-3、QZ-7、MH032-003、X27-7、XMH-14、X27-7、X24-2-1、XMH-1、XMH-H、MHO58-060-04、MH01-04-10、MH061-63-03、MH-01-04-10、MH-04-017、MH-05-10-03。

供试生菜菌核病致病菌核盘菌分离自北京农业职业学院绿色科技园温室生菜根际土壤。

## 2.2. 供试培养基

细菌菌株用 LB 培养基进行培养。LB 液体培养基：胰化蛋白胨 10 g，酵母提取物 5 g，NaCl 10 g，蒸馏水 1000 ml。LB 固体培养基：胰化蛋白胨 10 g，酵母提取物 5 g，NaCl 10 g，琼脂粉 20 g，蒸馏水 1000 ml。

核盘菌用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)进行培养(北京陆桥技术股份有限公司)。

## 2.3. 供试生菜品种

生菜品种为大橡生 2 号，京研益农(北京)种业股份有限公司。

## 2.4. 拮抗菌的筛选

将保存在斜面培养基上的细菌菌株用 LB 固体平板划线分离获得单菌落菌株。将各单个菌落分别移入装有 5 ml LB 液体培养的 15 ml 离心管中，180 r/min、30℃振荡培养 12 h [2]。

将直径为 5 mm 的菌核菌饼接种至 PDA 培养基中心，同时在距平板中心 2 cm 处用直径 7 mm 打孔器对称打 4 个孔，4 个孔中分别加入 100 μL 待测细菌菌液，以 LB 液体培养液为对照。28℃恒温培养 3 d，测量核盘菌的菌落直径，并计算细菌菌株的抑菌率[2] [6]。抑菌率计算公式如公式(1)所示。

$$\text{抑菌率}(\%) = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / \text{对照菌落直径} \times 100\% \quad (1)$$

## 2.5. 盆栽防效实验

选取生产上常用生菜品种大橡生 2 号用于菌核病盆栽预防效果实验。将细菌菌液分别稀释 5、10 和 20 倍用喷壶喷在 6 叶龄生菜苗叶片上，设清水空白对照。喷施 3 天后，每株 3 个叶片上分别接种直径为 5 mm 的核盘菌菌饼。每处理 10 株生菜苗。5 d 后测量病斑大小。试验重复 3 次。按照菌核病分级方法和公式(2)、(3)调查发病情况和计算防效。菌核病分级标准：0 级为无病斑；1 级有少量小病斑；2 级病斑大小为 0.5 cm~2 cm；3 级病斑大小为 2 cm~4 cm；4 级病斑大小为 >4 cm 或叶片大部分或全部腐烂[2]。

$$\text{病情指数} = \sum(\text{各级病叶数} \times \text{相对级数}) / (\text{总叶数} \times \text{最高级数}) \times 100 \quad (2)$$

$$\text{防效}(\%) = (\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\% \quad (3)$$

## 2.6. 数据统计与分析

试验数据用 Excel 进行数据统计与作图，利用 DPS 7.05 统计软件进行方差分析，并采用 Tukey 多重比较法( $P < 0.05$ )进行差异显著性检验。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 生防菌对核盘菌的

通过将细菌与核盘菌平板对峙培养，从供试菌株中筛选到 6 株对核盘菌有抑菌效果的菌株。抑菌效果分析表明，与核盘菌对峙培养 3 d 后，菌株 5-1、21-6、28-2、QZ-7、XMH-14、XMH-1 对菌核菌的抑菌率分别为 59.2%、58.6%、60.9%、62.7%、60.2%、65.2% (表 1)。

**Table 1.** Antagonistic effect of the tested strains on *Sclerotinia sclerotiorum*

**表 1.** 供试菌株对核盘菌的拮抗效果

供试菌株	抑菌率(%)
5-1	59.2 ± 5.2 b

Continued

17-1	34.3 ± 1.7 a
21-1	5.2 ± 0.8 a
21-4	23.6 ± 2.2 a
21-6	58.6 ± 2.7 b
28-2	60.9 ± 2.2 b
33-3	39.8 ± 1.5 a
53-1	15.2 ± 1.3 a
104-1-3	23.4 ± 2.2 a
QZ-7	62.7 ± 3.3 b
MH032-003	35.2 ± 2.8 a
X27-7	18.2 ± 1.3 a
XMH-14	60.2 ± 2.4 b
X27-7	15.7 ± 1.3 a
X24-2-1	22.6 ± 2.1 a
XMH-1	65.2 ± 4.3 b
XMH-H	17.8 ± 4.3 a
MHO58-060-04	26.3 ± 1.7 a
MH01-04-10	20.5 ± 2.4 a
MH061-63-03	33.8 ± 2.9 a
MH-01-04-10	40.2 ± 3.2 a
MH-04-017	35.4 ± 2.3 a
MH-05-10-03	39.6 ± 2.1 a

注：数据为平均值 ± 标准差，不同的小写字母表示 0.05 水平上差异显著。

### 3.2. 生防菌对生菜菌核病的防治效果

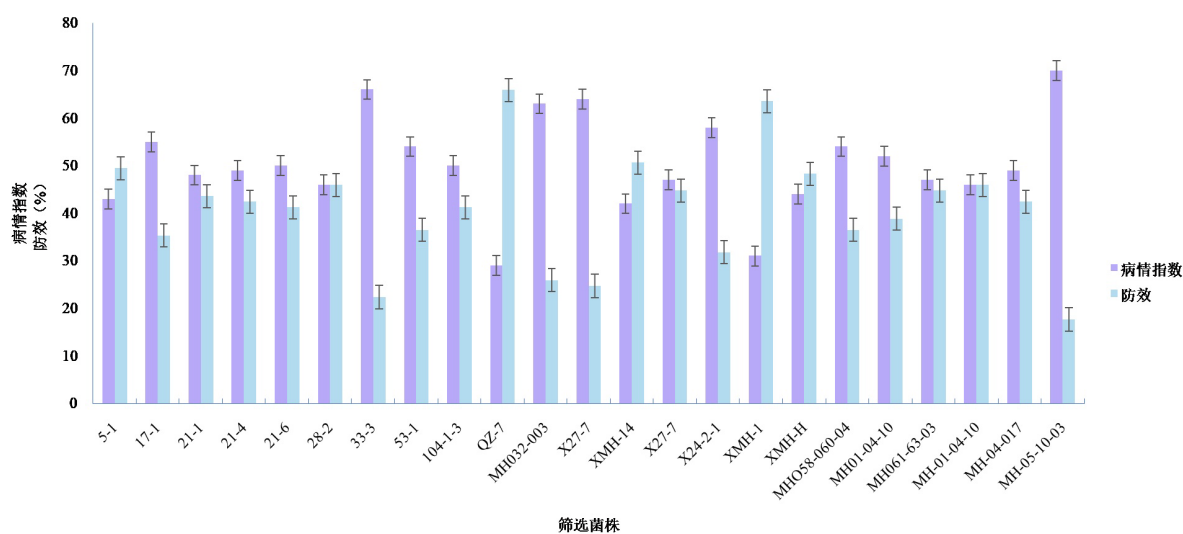


Figure 1. Control effects of tested strains on lettuce sclerotinia disease

图 1. 供试菌株对生菜菌核病的防治效果

盆栽试验中用 5-1、21-6、28-2、QZ-7、XMH-14、XMH-1 菌液对生菜进行喷雾处理。调查结果显示, QZ-7 和 XMH-1 菌液处理能显著降低菌核病的发病级数。对照的发病级数为 85, 而 QZ-7 和 XMH-1 菌液处理的发病级数仅为 29 和 31, 防效分别为 65.9% 和 63.5%, 防效显著高于对照处理(图 1,  $P < 0.05$ )。由此可见, QZ-7 和 XMH-1 菌液可在一定程度上防治生菜菌核病, 具有用于田间防治生菜菌核病的潜力。

#### 4. 结论

随着我国设施农业的不断发展和生菜种植面积不断增加, 生菜已成为我国主要种植的叶菜种类。然而, 由于设施农业中复种指数的增加, 生菜病害发生也日益加重。其中, 生菜软腐病正呈现逐年上升的趋势。该病害是生菜上普遍发生的一类对生菜产量影响较大的一类病害, 尤其是在设施农业环境中易大规模暴发, 给生菜产业带来严重的经济损失[7]。

生菜菌核病是由核盘菌引起的、发生在生菜的病害。主要为害茎基部, 茎发病最初病部为褐色水渍状, 逐渐扩展至整个茎部发病, 发展后成软腐状, 引起烂帮子和叶片腐烂, 湿度高时, 在被害部位产生棉絮状白色菌丝体, 后期产生黑色鼠粪状菌核[7]。目前生产中生菜菌核病的防治主要依赖于化学防治, 但长期施用化学农药对人畜健康不友好, 且污染环境, 易产生抗药性。因此, 筛选生菜菌核病生防菌对我国生菜生产的可持续发展具有重要意义。生防菌利用有益微生物杀灭或降低病原生物数量以控制植物病害发生。通过竞争、重寄生、产生抗菌素、诱导抗性生防机制有效抑制菌核病的发生。Lee 等筛选出抑制菌核病和小菌核病菌丝生长的药物淀粉芽孢杆菌 M27, 该菌株能有效抑制生菜菌核病的发生[4] [8]。刘景坤等对几种生物源农药与化学药剂防治生菜病虫害效果进行了对比试验, 筛选出可以替代化学农药的生物源农药, 100 万孢子/g 寡雄腐霉菌可湿性粉剂可用于防治生菜菌核病, 防治效果与 40% 菌核净可湿性粉剂较为接近[9]。本研究在室内及盆栽试验中筛选对生菜菌核病有抑制作用的生防菌株。结果显示, 在室内抑菌试验中, 菌株 5-1、21-6、28-2、QZ-7、XMH-14、XMH-1 对菌核菌的抑菌率分别为 59.2%、58.6%、60.9%、62.7%、60.2%、65.2%。盆栽试验调查结果显示, QZ-7 和 XMH-1 菌液处理能显著降低菌核病的发生, 其防治效果分别为 65.9% 和 63.5%, 防效显著高于对照处理( $P < 0.05$ )。说明 QZ-7 和 XMH-1 具有开发为生防制剂在田间防治生菜菌核病的潜力。未来还将继续研究 QZ-7 和 XMH-1 菌液对生菜菌核病的田间防治效果, 以期研究开发出防治生菜菌核病的高效生防制剂。

#### 基金项目

北京农业职业学院科技创新项目(编号: XY-YF-23-01); 北京农业职业学院教学改革项目(编号: 202238); 北京农业职业学院院级项目(编号: XY-TD-22-01)。

#### 参考文献

- [1] 范双喜, 刘超杰, 韩莹琰, 等. 北京生菜产业发展现状及展望[J]. 蔬菜, 2021(z1): 12-17.
- [2] 孙旺旺, 闫丽, 陈昌龙, 等. 生菜软腐和菌核病拮抗菌贝莱斯芽孢杆菌 BPC6 鉴定与防效[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(2): 231-240. <https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.02.008>
- [3] Lee, S.Y., Weon, H.Y., Kim, W.G., Kim, J.J. and Han, J.H. (2015) Selection of *Bacillus amyloliquefaciens* M27 for Biocontrol on Lettuce Sclerotinia Rot. *The Korean Journal of Mycology*, **43**, 180-184. <https://doi.org/10.4489/KJM.2015.43.3.180>
- [4] Lee, H.-J., Kim, J.-Y., Lee, J.-G. and Hong, S.-S. (2014) Biological Control of Lettuce Sclerotinia Rot by *Bacillus subtilis* GG95. *The Korean Journal of Mycology*, **42**, 225-230. <https://doi.org/10.4489/KJM.2014.42.3.225>
- [5] Lee, S.Y., Hong, S.K., Kim, J.J., Han, J.H. and Kim, W.G. (2012) Biological Control of *Paraconiothyrium minitans* CM2 on Lettuce Sclerotinia Rot Caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *The Korean Journal of Mycology*, **40**, 271-276. <https://doi.org/10.4489/KJM.2012.40.4.271>
- [6] 金娜, 卢修亮, 刘倩, 等. 红灰链霉菌 HDZ-9-47 防治小麦全蚀病的效果[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 83-86.

- 
- [7] 卢蝶. 北京地区生菜病害调查及防治药剂筛选[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京农学院, 2019.
- [8] Pane, C., Francese, G., Raimo, F., Mennella, G. and Zaccardelli, M. (2017) Activity of Folie extracts of Cultivated Eggplants against Sclerotinia Lettuce Drop Disease and Their Phytochemical Profiles. *European Journal of Plant Pathology*, **148**, 687-697. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1126-0>
- [9] 刘景坤, 郑洁, 马全伟, 等. 生物源农药用于生菜病虫害的防效试验[J]. 中国果菜, 2019, 39(1): 28-32.