

# 生防菌 R13 对水稻纹枯病病原菌的抑制作用

于艳敏<sup>1</sup>, 赵北平<sup>1</sup>, 高洪儒<sup>1</sup>, 武洪涛<sup>1</sup>, 于 森<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 五常水稻研究所, 黑龙江 五常 150229; 2. 辽宁省微生物科学研究院, 辽宁 朝阳 122000)

**摘要:**测定了生防菌 R13 对水稻纹枯病病原菌的抑菌率、菌丝的抑制作用以及对菌核萌发与形成的影响。结果表明:生防菌 R13 对水稻纹枯病病原菌具有一定的抑制作用, 抑菌率为 67.8%, 可以导致正常的纹枯病菌丝体发生扭曲、变形、原生质外溢, 经生防菌 R13 处理后的菌丝萌发指数为 34.6, 并且明显延迟了菌核的形成时间。

**关键词:**生防菌 R13; 水稻纹枯病; 抑制作用

**中图分类号:**S435.111.04<sup>+</sup>2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2010)01-0003-02

水稻纹枯病是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的水稻真菌性病害, 与稻瘟病、白叶枯病称为水稻三大病害, 该病引起水稻结实率下降, 千粒重降低, 一般受害轻者减产 5%~10%, 重者可达 50%~70%, 甚至绝产。黑龙江省由最初的零星发病到现在已发展成为生产上的主要病害, 造成的产量损失仅次于稻瘟病, 且发病面积逐年扩大, 危害日趋严重<sup>[1]</sup>, 由此造成的产量损失和经济损失难以衡量, 因此, 如何有效防治水稻纹枯病已成为迫在眉睫的问题。

目前我国水稻纹枯病的防治以井冈霉素和一些化学药剂为主, 但长期单一使用井冈霉素防治水稻纹枯病易导致 *R. solani* 产生抗药性<sup>[2]</sup>, 而化学药剂存在毒性、残留和污染环境等缺点, 这些问题引起国内外有关专家的高度关注, 因此, 有必要考虑防治纹枯病的新策略。目前国外对水稻纹枯病的生物防治研究已取得比较大的进展, 研究表明, 枯草芽孢杆菌 B2916(*Bacillus subtilis*)、芽孢杆菌属 A30、R2, 以及青霉属(*Penicillium* spp.) 的 Z88、木霉属(*Trichoderma* spp.)、农抗 120 放线菌(*actinomycetes*) 等对水稻纹枯病菌均有一定的拮抗防治作用<sup>[3]</sup>。

采用分离于水稻病株的纹枯病拮抗菌 R13, 对水稻纹枯病菌的抑菌率、菌丝生长的抑制作用以及对菌核萌发与形成等影响进行试验研究, 以期对水稻纹枯病的生物防治提供一定参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

生防菌 R13 分离于水稻病株, 经鉴定为芽孢杆

菌属。水稻纹枯病菌分离于水稻纹枯病菌核。PDA 培养基: 马铃薯 200.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 水 1 000 mL, pH 自然。肉汁蛋白胨培养基: 牛肉膏 3.0 g, 蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g, 琼脂 20.0 g, 水 1 000 mL, pH7.0~7.2。各培养基均 121℃, 30 min 灭菌。5%井冈霉素粉剂(江苏绿丰生物药业有限公司), 配成浓度 50.0 μg·mL<sup>-1</sup>。

### 1.2 方 法

1.2.1 抑菌率测定 把直径为 5 mm 的纹枯病病原菌丝块分别在拮抗菌 R13 菌液(浓度约为 10<sup>8</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>, 下同)和井冈霉素中处理 30 s, 于 PDA 平板上 28℃培养 72 h, 每个处理重复 3 次, 无菌水对照, 测量菌落直径, 计算抑菌率。抑菌率=(对照菌丝直径-处理菌丝直径)/对照菌丝直径×100%。

1.2.2 对水稻纹枯病病原菌丝的抑制作用 用灭菌的 PDA 培养基滴于无菌的载玻片上, 使之成一层薄层, 采用对峙法分别接种少量 R13 和水稻纹枯病病原菌于薄层上, 以只接 R13 和只接病原菌为对照, 3 次重复, 待两者交接后, 滴加乳酸石炭酸棉蓝染色, 盖上盖玻片, 光学显微镜下观察。

1.2.3 R13 对菌核的影响 将无菌载玻片浸入融化的 PDA 琼脂中, 使附上一层琼脂, 取出放在培养皿内, 皿内加 5 mL 无菌水保湿。将大小一致的菌核分别在菌液中浸 10 s, 然后放在琼脂玻片上, 每片 3 粒, 每处理 8 片, 盖上盖玻片, 置于 30℃培养箱中培养, 24 h 后镜检菌核萌发情况。菌丝萌发指数测定: 在玻片背面距离菌核边缘 2 mm 处画一圈, 显微镜下观察, 以菌丝长出圈外者为萌发计算。萌发菌丝按以下标准分为 6 级: 0 级-萌发菌丝数为 0; 1 级-萌发菌丝数为 1~20; 2 级-萌发菌丝数为 21~50; 3 级-萌发菌丝数为 51~80; 4 级-萌发菌丝数为 81~140; 5 级-萌发菌丝数为 141 以上。

收稿日期: 2009-07-06

第一作者简介: 于艳敏(1981-), 女, 黑龙江省海林市人, 硕士, 研究实习生, 主要从事水稻育种与病害防治研究。E-mail: yanyanmin512@163.com。

萌发菌丝指数 =  $\sum(\text{各级级数} \times \text{该级菌核数}) \times 100\% / \text{调查总菌核数} \times 5$

R13 对水稻纹枯病菌核形成的影响:将同龄、直径为 5 mm 的纹枯病菌丝块置于发酵液与 PDA 混合的培养基上,置于 30℃ 培养,记录菌核形成的时间<sup>[3]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 R13 对水稻纹枯病病原菌的抑菌率

由表 1 可知,生防菌 R13 对水稻纹枯病病原菌具有一定的抑制作用,但随着时间的延长抑制作用有所下降。经拮抗菌 R13 处理的水稻纹枯病病原菌培养至 24 h 时未见菌丝生长,48 h 后菌落直径为 8.5 mm,抑菌率为 70.4%,经井冈霉素处理的菌落直径为 7.3 mm,抑菌率为 74.6%,72 h 后经拮抗菌 R13 处理的菌落直径为 18.2 mm,抑菌率为 67.8%,井冈霉素处理的菌落直径为 14.9 mm,抑菌率为 73.6%,拮抗菌 R13 对水稻纹枯病病原菌菌丝生长具有抑制作用,但抑菌率低于井冈霉素。

表 1 R13 对水稻纹枯病菌的抑菌率测定

处理	24 h		48 h		72 h	
	菌落直径 /mm	抑菌率 /%	菌落直径 /mm	抑菌率 /%	菌落直径 /mm	抑菌率 /%
R13	0.0	100	8.5	70.4	18.2	67.8
井冈霉素	0.0	100	7.3	74.6	14.9	73.6
清水对照	8.6	0	28.7	0	56.5	0

### 2.2 R13 对水稻纹枯病病原菌菌丝的抑制作用

在光学显微镜下观察可见,R13 对水稻纹枯病病原菌菌丝体具有明显的抑制作用,正常的纹枯病菌丝大小、原生质均匀,菌丝呈圆形、健壮、菌丝节间较长,而经 R13 菌株处理的菌丝体成严重的扭曲、原生质外溢,所剩菌丝体成空壳<sup>[3]</sup>,并且随着培养时间的延长,纹枯病菌丝体变形、扭曲、降解的程度增大。拮抗菌 R13 对水稻纹枯病菌的作用机制可能有多种,如 R13 可能产生如几丁质酶、纤维素酶等多种降解细胞壁的胞外酶,产生抗菌物质等代谢产物,影响立枯丝核菌的生长活动;或者通过在氧气、水分、营养、空间各方面发生竞争,限制病原菌生长,更可能是多种机制共同作用的结果<sup>[4-5]</sup>。

### 2.3 R13 对水稻纹枯病病原菌菌核萌发的影响

3 种处理的菌核都可以正常萌发,但菌丝萌发指数不同,经拮抗菌 R13 处理后菌核的菌丝萌发指数为 34.6,经井冈霉素处理的菌丝萌发指数为 30.7,未经处理的为 81.3,拮抗菌 R13 能够较好地

抑制菌核萌发过程中菌丝的生长,但作用略低于井冈霉素。此外,拮抗菌 R13 还使菌核的形成时间延迟了 11 h。

表 2 R13 对水稻纹枯病病原菌菌核的影响

处理	调查菌核数 /个	菌核萌发数 /个	菌核萌发率 /%	菌丝萌发 指数	菌核形成 时间/h
对照	24	24	100	81.3	85
井冈霉素	24	24	100	30.7	79
R13	24	24	100	34.6	96

## 3 讨论

国内外至今尚未发现水稻纹枯病的高抗品种,目前水稻纹枯病的防治以井冈霉素和一些化学药剂为主,其对控制纹枯病的蔓延与危害是相当有效的,但长期单一使用井冈霉素防治水稻纹枯病易导致 *R. solani* 产生抗药性,用药次数已从 20 年前的 2 次增加到现在的 3~5 次,用量也从以前的  $1.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$  增加到  $4.5 \sim 6.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ,化学药剂又因可能造成农药残留和环境污染受到制约,这些问题引起国内外有关专家的高度关注,因此,有必要考虑防治纹枯病的新策略,开发控制纹枯病的新药剂<sup>[6]</sup>。

水稻病害的生物防治已引起国内外学者的重视,生物防治是利用拮抗微生物及其代谢产物来防治水稻纹枯病的方法,是水稻病害防治的重要措施之一,它具有无毒、广谱、持效期长、不污染环境、无残留、对作物不产生药害,害虫和病菌难以产生抗药性等特点,同时还可以提高作物品质、提高植物抗病性、改善土壤环境、提高土壤肥力等多重作用,是化学农药无法比拟的。

该试验对拮抗菌 R13 抑制水稻纹枯病的作用进行了初步分析,至于 R13 的作用机制及田间应用效果有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 宋成艳,王桂玲. 黑龙江省水稻纹枯病调查与研究[J]. 中国农学通报,2001,17(1):58-59.
- [2] 何迎春,高必达. 立枯丝核菌的生物防治[J]. 中国生物防治,2000,16(1):31-34.
- [3] 郑爱萍,李平,王世全,等. 水稻纹枯病菌强拮抗菌 B34 的分离与鉴定[J]. 植物病理学报,2003,33(1):81-85.
- [4] 史凤玉,朱英波,杨文兰,等. 长枝木霉 T8 对水稻纹枯病拮抗的作用研究[J]. 中国农学通报,2005,21(2):264-265.
- [5] 宗兆锋,康振生. 植物病理学原理[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [6] 张穗,许文霞,薛银株,等. 郑州郊区水稻纹枯病对井冈霉素敏感性的初步研究[J]. 中国生物防治,1995,11(4):171-174.

(下转第 7 页)

- 研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(4): 454-457.
- [13] 李淑梅. 利用蚕豆根尖微核技术检测颍河水质污染的研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 112-114.
- [14] 胡振东. 蚕豆微核测定技术及其应用[J]. 淮北煤师院学报, 2000, 21(4): 65-68.
- [15] 王渤. 线虫 *Caenorhabditis elegans* 在甲基磺酸乙酯(EMS)中的毒性实验[J]. 中国动物检疫, 2004(12): 24-26.
- [16] 秦华明, 莫测辉. 聚丙烯酰胺微生物降解研究进展[J]. 生物学报, 2004, 28(4): 454-457.
- [17] 崔宝臣, 崔福义, 刘淑芝. UV-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 协同降解水中聚丙烯酰胺研究[J]. 工业用水与废水, 2007, 38(6): 21-24.

## Research on Chromosome Aberration of Horsebean Root Tips Induced by Oil Produced Waste Water

XU Chang-jun<sup>1</sup>, ZHOU Xue<sup>2</sup>, ZHANG Guo-fa<sup>1</sup>, YUAN Gai-xia<sup>1</sup>, SHI Dian-yi<sup>1</sup>

(1. Life Science Department of Daqing Normal College, Daqing, Heilongjiang 163712; 2. Life Science and Biotechnology College of Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319)

**Abstract:** Horsebean root tips were selected as materials to detect micronucleus causing by polymer-flooding waste water sampled from four oil production plants in Daqing city. The results showed that at certain concentration, the four samples all could incite *Vicia faba* root tip cells to produce chromosomal abnormalities such as fragments, bridge and lagging chromosomes. All these results proved that there was great genotoxicity to organisms caused by oil produced water, and therefore could not discharge it to ecological environment arbitrarily in order to avoid causing great harm.

**Key words:** oil produced waste water; polymer flooding; root tip cell; micromuclear technology

(上接第 4 页)

## Restraining Effect of Biological Controlling Strain R13 on Rice Sheath Blight

YU Yan-min<sup>1</sup>, ZHAO Bei-ping<sup>1</sup>, GAO Hong-ru<sup>1</sup>, WU Hong-tao<sup>1</sup>, YU Miao<sup>2</sup>

(1. Wuchang Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Wuchang, Heilongjiang 150229; 2. Liaoning Academy of Microbiology, Chaoyang, Liaoning 122000)

**Abstract:** Restraining ratio, mycelium inhibitory action and sclerotium sprout were determined, the results indicated that R13 possessed certain suppressing function with 67.8% restraining ratio, it could make normal *Rhizoctonia solani* mycelium distorted and bioplasm overflow, mycelium sprout index was 34.6 after treated by R13, and the forming time of sclerotium was obviously delayed.

**Key words:** biological controlling strain; rice sheath blight; inhibitory action

✱ 祝作者朋友们新年快乐 ✱