

植物土传病害微生物农药的研究开发进展

葛红莲¹⁾ 赵红六²⁾ 郭坚华³⁾ ⁽¹⁾ 周口师范学院生物系, 河南周口 466000; ⁽²⁾ 周口师范学院化学系; ⁽³⁾ 南京农业大学植保学院植病系)

摘要 阐述了国内外防治植物土传病害的微生物农药的开发及其应用情况, 并探讨了其防病机理; 讨论了微生物农药开发存在的问题及发展方向。

关键词 土传病害; 微生物农药; 生物防治

中图分类号 S432; S476 **文献标识码** A **文章编号** 0517 - 6611(2004)01 - 0153 - 03

植物土传病害是一类重要的植物病害, 引起土传病害的土传病原物种类很多(包括真菌、细菌、线虫、病毒), 它们通常侵染植物根部, 引起作物根部乃至全株的病害, 造成重大的经济损失。在防治方面, 化学防治和抗病品种目前只对少数土传病害有效, 对大多数病害防效甚微, 且使用化学农药还会造成农药残留, 环境污染; 同时化学农药的长期使用, 使得病原菌对其产生抗药性, 因而导致防效下降甚至失败。生物防治由于克服了化学防治的上述弊病, 且研究和实践已证明其对部分土传病害经济有效, 因而成为防治土传病害研究的热点, 越来越受到人们的重视。

早在 20 世纪初就有人开始研究土传病害的防治。1921 年 C Hartley 采用十几种常见土壤腐生真菌和细菌来防治树苗的根腐病。20 世纪 30 年代, 人们发现种过绿肥的马铃薯疮痂病田中存在较多抑制该病原菌的拮抗性放线菌。20 世纪 40、50 年代开发利用放线菌及它们所产生的抗生素, 吸引了众多的科研工作者关注和参与。20 世纪 60 年代开始, 人们逐渐转向寻找其他拮抗性微生物和生物技术研究^[1], 有许多关于土传病害生物防治的报道, 且开发出多种生物农药。生物农药的开发主要集中在美国和澳大利亚。包括我国在内的大多数国家均极少有防治植物土传病害的无公害农药注册。在过去的 10 年中, 生物防治农药的研究开发有很大的发展。目前, 国外有 80 多种微生物农药用于防治大田和温室土传病害^[2]。生防农药的开发主要集中在真菌和细菌两大类。

1 生防真菌

具有生防能力的真菌包括腐生性真菌和寄生性真菌。1931 年 Sanfors 和 Broadfoot 首次报道可以直接利用腐生真菌防治植物土壤病害。在新伐松树桩上接种大隔孢伏革菌(*Peniophora gigantea*) 对有隔担子菌(*Heterobasidion annosum*) 进行生物防治, 这一方法在英国曾被广泛应用, 该生物农药已在澳大利亚、美国、日本等国销售和使用多年^[3]。迄今为止, 已经开发为生防农药的真菌有: 小盾壳霉(*Coniothyrium minitans*)、粘帚霉属(*Glodadium*)、木

霉属(*Trichoderma*)、链霉菌(*Streptomyces* spp.)、无致病力尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*) 等^[4]。

小盾壳霉(*Coniothyrium minitans*) 也是一种真菌寄生生物。有关该菌研究得较多, 在温室和大田试验中, 小盾壳霉对莴苣萎蔫病有很好的防治作用。在德国它是唯一被注册的生物防治农药, 被制成可湿性颗粒在市场销售, 商品名为 ContansWG^[2]。在英国小盾壳霉也被广泛的应用于防治莴苣的土传病害上。小盾壳霉能在大麦、蛭石—麦麸糠、小米、燕麦、泥炭—麦麸和小麦等固体培养基上生长并且已经用于莴苣的温室试验。其致病机理是^[2]: 小盾壳霉能寄生于病原菌菌丝上, 对菌核有破坏作用, 能破坏油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*) 和小菌核病菌(*S. minor*) 的菌核。在防治莴苣萎蔫病的温室和大田试验中, 它的防效比绿粘木霉要高的多, 能杀死 80% 以上的菌核。在瑞士和匈牙利小盾壳霉被定名为 Koni, 已经被注册和商品化, 每年销售量达到 30 t, 但是在美国 and 绝大多数欧洲国家还没有注册^[5]。

粘帚霉属(*Glodadium*) 中用于防治土传病害的有绿粘帚霉(*G. virens*)、粉红粘帚霉(*G. roseum*)、链孢粘帚霉(*G. catenulatum*) 等^[6,7]。目前仅绿粘帚霉(*G. virens*) 和链孢粘帚霉(*G. catenulatum*) 被开发为生防农药。

绿粘帚霉广泛分布于世界各地, 1980 年 USDA - ARS 的植物病害生物防治实验室从马里兰的土壤中分离到 1 株绿粘帚霉, 已经投入生产, 该菌对终极腐霉(*Pythium ultimum*) 和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) 都有防治作用^[8]。这一真菌能产生 2 种真菌素, 即绿粘帚毒素和胶毒毒素^[7,8]。最近该产品已经被商业化生产^[2]。

链孢粘帚霉(*G. catenulatum*) 菌株 J1446 分离于 Finnish 的田间土壤, 在温室和大田的试验中发现它对腐霉、菌核菌引起的猝倒病、种腐病、根腐病和萎蔫病都有很好的抑制作用, 被制成可湿性粉剂应用于土壤、植物的根和叶。在观赏性植物的温室试验中, 它能抑制腐霉和丝核菌引起的猝倒病。在许多大田和温室试验中, 链孢粘帚霉和 Propamcarb 或 tolclofos 杀菌剂的效果一样, 并且已被商业化生产^[9]。

在应用真菌防治土传病害的研究中, 研究和应用最多的是木霉属(*Trichoderma*)。它对多种病原物都有抑制作

作者简介: 葛红莲(1976 -), 女, 河南省扶沟县人, 硕士, 讲师, 从事土传病害生物防治的研究。

收稿日期: 2003-10-08

用,是 1 类理想的防治土传病害的生防菌。用于防治土传病害的木霉除哈茨木霉 (*T. harzianum*) 外,尚有康宁木霉 (*T. koningii*)、木素木霉 (*T. lignorum*)、具钩木霉 (*T. hamatum*)、长柄木霉 (*T. gliodii*) 和多孢木霉 (*T. polysporum*) 等^[7]。1932 年 Wenindling 发现在离体条件下木素木霉 (*T. lignorum*) 和立枯丝核菌 (*R. solani*) 同时培养时,木素木霉的菌丝缠绕着立枯丝核菌,使其菌丝原生质凝结、细胞液泡消失及菌丝解体^[10],他建议用这种真菌寄生物来控制一定的病原真菌。此后人们做了大量的研究。哈茨木霉 (*T. harzianum*) T-22 菌株是由哈茨木霉 T-95 和从哥伦比亚土壤根围分离的定殖能力强的哈茨木霉菌株经细胞融合而获得的^[11~13]。哈茨木霉 T-22 能抑制引起天竺、长春花属病害的立枯丝核病菌和腐霉的生长,且已用于温室和大田的生防试验中,具有明显的防效^[14]。哈茨木霉 T-22 能降低番茄的根腐病和枯萎病的发病率^[15]。用哈茨木霉处理种子,灌溉温室土壤,或者制成颗粒沟施,哈茨木霉都能定殖在根系的所有部位并且能维持很长一段时间。T-22 作为颗粒或悬浊液被生物工厂 (Geneva, NY) 商业化生产。哈茨木霉具有多种防病机制^[2],包括寄生,产生几丁质酶、 β -1,3 葡聚糖酶和 β -1,4 葡聚糖酶、抗生素,营养竞争,诱导抗性和在侵染过程中使病原菌失活。1999 年该生防农药销售额超过 3 百万美元,是北美第 1 个比较成功的生防药剂^[2]。哈茨木霉的另外一些菌株也被商业化生产,包括 T-35 或 Trichodex、Binab 和 Supresivit^[2]。

Ogana 采用无致病力的尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 预选接种红薯可以防治其引起的萎蔫病^[16]。Cland Alabourvette 的实验室已经对从法国的镰刀菌抑病土壤中获得无致病力尖孢镰刀菌菌株 FO-47 作了 25 年的研究,发现它能有效地防治康乃馨、番茄的萎蔫病和番茄的根腐病^[17~19]。其作用机制包括对碳素化合物的竞争^[20]、直接和病原菌的竞争^[21]和诱导抗性^[22~23]。在德国该生防菌已经商业化生产用于控制土传病害。

2 生防细菌

用于防治土传病害的拮抗性细菌,常见的有以下属^[24]:游动放线菌 (*Actinoplanes*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)、产碱菌属 (*Alcaligenes*)、无定形孢囊菌属 (*Amorphosporium*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、哈夫尼菌属 (*Hafnia*)、小单孢菌属 (*Micromonospora*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、巴斯德氏芽菌属 (*Pasteuria*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、链霉菌属 (*Streptomyces*) 和黄单胞菌属 (*Xanthomonas*)。已开发为生防农药的生防细菌有芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)、链霉菌属 (*Streptomyces*) 及假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 等^[2]。

利用细菌防治植物土传病害,最著名的当属土壤放线杆菌 (*Agrobacterium radiobacter*) K-84 菌系。它可有效地防治根瘤土壤杆菌 (*A. tumefaciens*) 引起的桃、樱桃、葡萄、玫瑰等植物的根癌病,并且已在澳大利亚、美国、加拿大等 9 个国家推广应用^[25,26]。使用方法一般用高浓度菌悬液处理种子、根或插条。在澳大利亚其防效达 100%。K84 的成功应用被誉为植物生防史上的一个里程碑。

链霉菌 (*Streptomyces* spp.) 能产生多种抗生素,据统计自然界 70% 以上的抗生素都是由它产生。从泥炭藓中分离获得的灰绿链霉菌 K61 (*S. griseoviridis*),在温室试验中对康乃馨枯萎病有抑制作用,可降低病原菌的扩展,提高康乃馨的产量;在进一步的温室试验中,它对瓜果腐霉 (*Pythium. aphanidermatum*) 有很强的抑制作用^[27,28]。目前,该菌在欧洲和美国已经商品化,1994 年注册,命名为 Mycostop。

芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.) 仅次于假单胞菌,作为生防细菌被广泛的研究和商业化。如枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 已被商业化生产,命名为 Kodiak,被 Gustafson, Inc. 用于棉花、土豆种子处理和沟施,1994 年 200 万 hm^2 以上土地使用该生防菌^[29],2001 年 Gustafson 将解淀粉枯草芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌混合制成混合生防药剂,称为 Bio Yield。芽孢杆菌不仅对病害有防治作用,也能促进作物的生长^[30]。在德国解淀粉枯草芽孢杆菌变种 FZB24 (*B. subtilis* var. *amploliquefaciens*) 作为植物促长剂被商业化生产,2000 年 2 月取得了 EPA 的注册,用于控制温室和大田植物的不同真菌病害^[2]。在美国枯草芽孢杆菌被用于控制黄瓜和番茄上的瓜果腐霉和烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae*),它不仅对病害有防治作用,也能促进作物的生长^[30]。

国内防治土传病害的研究和开发近年来发展很快。在我国北京农业大学陈延熙等 (1985) 研制的增产菌已在全国 10 多个省推广使用,主要用于防治水稻稻瘟病、小麦纹枯病和油菜菌核病等,田间增产率达 10%~50%^[31]。云南农业大学和中国农业大学共同研制的微生物农药“百抗”已获得农业部登记注册,并在多个省推广使用,面积约 4 667 hm^2 。百抗的主要有效成分是枯草芽孢杆菌 B908,大田应用中对水稻纹枯病防效达 70% 以上。其抑菌机制为营养竞争、位点占领等^[32]。魏春妹、张春明等 (2000) 研制出番茄青枯病和烟草青枯病的生防制剂“青枯散”,田间试验证明该制剂对番茄青枯病、烟草青枯病有 70% 和 80% 的防治效果,并有 10% 的增产效果,表现具有发芽势高和壮苗的作用。目前,该项目已投入产业化生产前期准备阶段^[33]。

3 土传病害生防农药开发存在的问题及发展趋势

目前对土传病害的生物防治主要用单一的生防因子进行,防治病害单一,综合防病效果差,需菌量大,环境依赖性强且产品保藏期短和菌种易退化。针对土传病害分

布广、危害严重、难以防治以及化学农药的种种弊病和研制化学农药历时长、花费大的现实,应重视生物农药,且生产上对防治土传病害的生物制剂转向商业化生产的需求迫切,所以生物农药的前景十分广阔。

目前国内外植物土传病害生物防治和产品开发主要有以下发展趋势: 变单一菌剂的使用为多菌混合使用,利用不同微生物的抗病机制,延长有效期并提高防治病害的广谱性; 对现有的野生型生防细菌进行基因改造,以获得广谱高效的新型生物农药; 对关于土壤中病原物的流行和生态学进行更多的研究,使环境和操作更有利于生防微生物作用的发挥; 解决活菌制剂的保藏和生防菌种的复壮 2 大土传病害生物防治产品开发的难题,国内外多家单位正在对此进行攻关研究。

4 参考文献

- 鲁素芸. 植物病害生物防治学[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993. 117.
- Paulitz T C, Belanger R R. Biological control in greenhouse systems[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2001, 39:103 - 133.
- Rishbeth T. Stump protection against fomes annosus III inoculation with *Peniophora gigantea*[J]. *Ann Appl Biol*, 1963, 52:69 - 77.
- Rattink H. Biological control of Fusarium wilt disease of carnation by a non-pathogenic isolate of *Fusarium oxysporum*[J]. *Acta Hort*, 1992, 307:37 - 42.
- McQuilken M P, Whipps J M. Production, survival and evaluation of solid substrate inocula of *Coniothyrium minitans* against *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Eur J Plant pathol*, 1995, 101:101 - 110.
- 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.
- Lumsden R D, Ridout C J, Vendemia M E, et al. Characterization of major secondary metabolites produced in soilless mix by a formulated strain of the biocontrol fungus *Gladiolus virens*[J]. *Can J Plant Pathol*, 1992, 38:1274 - 1280.
- Lumsden R D, Locke J C. Biological control of damping-off caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* with *Gladiolus virens* in soilless mix[J]. *Phytopathology*, 1989, 79:361 - 366.
- McQuilken M P, Mohammadi O. Evaluation of a commercial formulation of *Gladiolus catenulatus* (J1446) for biocontrol of damping off in bedding plants[J]. *Meded Rijksfac Landbouwwet, Univ Gent*, 1997, 62:987 - 992.
- Weinding R. Studies on a lethal principle effective the paramitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fung[J]. *Phytopathology*, 1932, 22:837 - 845.
- Ahmad J S, Baker R. Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*[J]. *Phytopathology*, 1987, 77:1982 - 1989.
- Hadar Y, Harman G E, Taylor A G. Evaluation of *Trichoderma Koningii* and *T. harzianum* from New York soil for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp[J]. *Phytopathology*, 1984, 74:106 - 110.
- Statz T E, Harman G E, Weeden N F. Protoplasts preparation and fusion in two biocontrol strains of *Trichoderma harzianum*[J]. *Mycologia*, 1988, 80:141 - 150.
- Harman G E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22[J]. *Plant Dis*, 2000, 84:377 - 393.
- Nemec S, Datnoff L E, Strandberg J. Efficacy of biocontrol agent in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus[J]. *Crop Prot*, 1996, 15:735 - 742.
- Ogana K. Biological control of fusarium wilt of sweet potato with cross-protection by nonpathogenic *Fusarium oxysporum*[J]. *Phytopathology*, 1983, 73:463 - 469.
- Postma J, Rattink H. Biological control of Fusarium wilt of carnation with a nonpathogenic isolate of *Fusarium oxysporum*[J]. *Can J Bot*, 1992, 70:1199 - 1205.
- Fuchs J G, Mbenne Loccoz J G, Defago G. Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo 47 to protect tomato against *Fusarium wilt*[J]. *Biol Control*, 1999, 14:105 - 110.
- Lemanceau P, Alabouvette C. Biological Control of Fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and nonpathogenic *Fusarium*[J]. *Crop Prot*, 1991, 13:279 - 286.
- Lemanceau P, Bakker P, De Kogel W J, et al. Antagonistic effect of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo 47 and pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59:74 - 82.
- Epavier A, Alabouvette C. Use of ELISA and GUS-transformed strains to study competition between pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* for root colonization[J]. *Biocontrol Sic Technol*, 1994, 4:35 - 47.
- Duiff B J, Puhair D, Olivain C, et al. Implication of systemic induced resistance in the suppression of *Fusarium wilt* of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS 417r and by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo 47[J]. *Eur J Plant Pathol*, 1998, 104:903 - 910.
- Fuchs J G, Mbenne Loccoz J G, Defago G. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium wilt* in tomato[J]. *Plant Dis*, 1997, 81:492 - 496.
- 李长松. 拮抗性细菌防治植物土传病害的研究进展[J]. *生物防治通报*, 1992, 8(4):168 - 172.
- Keer A. Biological control of crown gall through production of agrocin 84[J]. *Plant Disease*, 1980, 64:25 - 30.
- New P B, Kerr A. Biological control of crown gall: field observation and glasshouse experiments[J]. *J Appl Bact*, 1972, 35:279 - 287.
- Postma J, Willemsen-de KM, Rattink H, et al. Disease suppressive soilless culture systems: characterization of its microflora[J]. *Acta Hort*, 2001, 306:66 - 76.
- Lahdenpera ML. The control of *Fusarium wilt* on carnation with a *Streptomyces* preparation[J]. *Acta Hort*, 1987, 216:85 - 92.
- Backman P A, Brannen P M, Mahuffee W F. Plant response and disease control following seed inoculation with *Bacillus subtilis*[A]. Ryder M H, Stephens PM. Improving plant productivity with Rhizosphere Bacteria[C]. Adelaide, Aust: CSIRO Div Soil. 1994. 3 - 8.
- Gosch R, Junge H, Krebs B, et al. Use of *Bacillus subtilis* as a biocontrol agent. III. Influence of *Bacillus subtilis* on fungal root diseases and on yield in soilless culture. Z[J]. *Pflanzenkr, Pflanzen-schutz*, 1999, 106:568 - 580.
- 严志农. 植物微生态制剂——增产菌及应用[A]. 梅汝鸿. 植物微生物学——第一届中国微生物学术讨论会文集[C]. 北京:北京农业大学出版社, 1991. 67 - 70.
- 徐钦. 植物土传病害的克星——百抗[J]. *当代农业*, 2002, 11:34.
- 魏春妹, 张春明, 桃树玉, 等. 番茄青枯病的生防制剂的研究与应用[J]. *上海农业学报*, 2000, 16(增刊):69 - 72.

(责任编辑:金琼琼 责任校对:金琼琼)