

DOI: 10.5846/stxb201303070373

赵建, 黄建国, 袁玲, 时安东, 杜如万, 刑小军. 寡雄腐霉发酵液对番茄生长的影响及对灰霉病的防治作用. 生态学报, 2014, 34(23): 7093-7100.

作者. Influence of the fermentation broth of *Pythium oligandrum* on the growth and botrytis control of tomato seedlings. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(23): 7093-7100.

寡雄腐霉发酵液对番茄生长的影响及 对灰霉病的防治作用

赵 建¹, 黄建国^{1,*}, 袁 玲¹, 时安东¹, 杜如万², 刑小军²

(1. 西南大学资源环境学院, 重庆 400716; 2. 四川省凉山州烟草公司, 西昌 615000)

摘要: 为了研发对番茄灰霉病高效、稳定、安全的生物农药, 试验利用自主分离获得的寡雄腐霉菌株制备发酵液, 采用盆栽试验研究寡雄腐霉发酵液对番茄生长的影响和对灰霉病的防治效果及机制, 并在大田生产中验证其生防效果。结果表明, 盆栽试验中, 寡雄腐霉发酵液促进健康番茄植株生长, 植株总生物量和根系生物量分别增加 9.5% 和 15.4%, 提高了植株叶绿素含量、根系活力及氮、磷、钾吸收量, 并使带病番茄植株的发病率和病情指数分别降低 57.2% 和 60.3%, 相对防治效果达 60.3%, 施用寡雄腐霉发酵液对番茄叶片细胞膜具有保护性, 降低丙二醛含量, 提高病原性相关酶——超氧化物歧化酶、多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶活性。后续田间试验中寡雄腐霉发酵液对番茄灰霉病的防治效果达 71.2%。说明寡雄腐霉发酵液能有效防治番茄灰霉病, 还具有促进番茄生长的作用, 并且可诱导番茄植株对病原菌的防御作用, 应用前景广泛。

关键词: 寡雄腐霉; 番茄; 生长; 灰霉病

Influence of the fermentation broth of *Pythium oligandrum* on the growth and botrytis control of tomato seedlings

ZHAO Jian¹, HUANG Jianguo^{1,*}, YUAN Ling¹, SHI Andong¹, DU Ruwan², XING Xiaojun²

1 College of Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China

2 Sichuan Tobacco Corporation Liangshanzhou Branch, Xichang 615000, China

Abstract: Grey mold (*Botrytis cinerea* Pers.) is a pathogenic fungus of tomato botrytis, which occurs seriously in continuous cropping soil and causes heavily economic losses in tomato production. Farmers have to grow tomato annually in the same soil since lack of soil resources in China. Chemicals such as carbendazim, thiophanate-methyl and benlate have been used to control tomato botrytis for decades and a large amount of these chemicals have thus remained in both tomato fruits and soils, which is harmful to both human being and the environment. On the other hand, the pathogenic *Botrytis cinerea* has also developed resistance to these chemicals. As a result, an increasing attention has been paid to develop safe, effective, and stable bio-agents to control tomato botrytis in recent years. Studies have reported that *Pythium oligandrum* could inhibit or kill plant pathogenic fungi, including *Botrytis cinerea*, *Phytophthora nicotiana* and *Pythium aphanidermatum*. The oospores of *P. oligandrum* have been hence used to control black shank disease of tobacco, grey mold of tomato, and root rot of cucumber. However, the bio-control effect of the oospore agent is unstable and unsatisfactory because their germination and hyphal growth are significantly influenced by temperature, humidity, sun light, soil types, rainfall, and agricultural measurements. To address the importance of metabolites produced by *P. oligandrum* in bio-

基金项目: 国家 973 重大基础研究项目 (2013CB127405); 四川省凉山州烟草公司科技攻关项目 (2012-12); 云南省烟草公司科技项目 (2013YN11); 国家烟草专卖 (11020130216)

收稿日期: 2013-03-07; **网络出版日期:** 2014-03-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huang99@swu.edu.cn

controlling of plant fungal diseases, in both greenhouse and field experiments we tested the hypothesis that *P. oligandrum* fermentation broth could influence the growth and botrytis control of tomato. For the greenhouse pot experiment, four treatments had been examined: plants inoculated or not inoculated with pathogen plus culture solution or plus fermentation broth. Meanwhile, tomato seedlings were respectively sprayed with water (control), fermentation broth or culture solution, before the occurrence of botrytis in the field. In the greenhouse pot experiment, the fermentation broth promoted the growth of tomato seedlings and total plant biomass production by 9.5% and root biomass by 15.4% compared to the control (pathogen inoculation plus culture solution). Chlorophyll concentrations in the leaves, root activities, and nutrient absorption (nitrogen, phosphorus, and potassium) in the field seedlings were also increased by spraying the fermentation broth. Meanwhile, the disease incidence was reduced by 57.2% and disease index by 60.3% with the fermentation broth supply under pathogen inoculation, leading to 60.3% of the relative control efficacy. Further results showed that the fermentation broth could protect the cell membrane of leaves against the pathogen damage, since less malondialdehyde, one of the oxidative products of cell lipids, was detected. In addition, the fermentation broth stimulated enzyme activities related to plant disease resistance such as superoxide dismutase, polyphenol oxidase, and phenylalanine ammonia-lyase in the leaves of tomato seedlings. The relative control efficacy of the fermentation broth reached 71.2% in the field tomato seedlings. In summary, the fermentation broth of *P. oligandrum* have multiple functions, including the induction of the resistance to grey mold, the decrease in botrytis occurrence, and the promotion of plant growth, which are different from other bio-control agents that can control diseases only. Our research showed the potential of the metabolites produced by *P. oligandrum* as an effective, stable and safe bio-control agent. Further investigations are needed to clarify the effectiveness of metabolites from *P. oligandrum* in disease control.

Key Words: *Pythium oligandrum*; tomato seedlings; growth; tomato grey mold

随着我国城市规模的不断扩张,菜地资源日益减少,蔬菜连作现象十分普遍,病害发生严重。番茄灰霉病是由灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* Pers. 侵染引起的真菌病害,发病面积大、危害严重,番茄产量损失可达 30% 以上^[1-2]。目前,生产中缺乏高抗灰霉病的番茄品种^[3],病害防治一直依赖化学药剂,但长期连续施用导致灰葡萄孢容易产生抗药性,常用的多菌灵、甲基硫菌灵、苯菌灵等苯并咪唑类等农药的防治效果已显著降低。此外,大量使用化学农药不仅影响番茄果实的安全性,危害人体健康,而且还造成严重的环境问题^[4-5]。所以,研制高效、稳定、安全的生物农药,防治番茄灰霉病很有必要。

寡雄腐霉 (*Pythium oligandrum*) 属卵菌门 (*Heterokontophyta*), 腐霉科 (*Pythiaceae*), 腐霉属 (*Pythium*), 能有效抑制灰葡萄孢 *Botrytis cinerea*、瓜果腐霉 *Pythium aphanidermatum* 和黑胫病菌 *Phytophthora nicotiana* 等多种植物病原真菌的生长繁殖^[6]。研究表明,寡雄腐霉抑菌的主要机理是寄生、抗生和竞争等作用^[7],田间单独接种寡雄腐霉还能诱导植物抗病性^[8],促进植物生理代谢和刺激生长^[9]。目前,欧美发达国家已制备出对人畜无毒安

全,无环境残留的寡雄腐霉孢子制剂,用于蔬果的生产与保鲜^[10-11]。但是,在大田应用孢子活菌剂时,生防效果依赖于孢子的萌发和菌丝生长繁殖,常受温度、湿度、光照 (尤其是紫外线强度)、降雨、土壤、农艺 (施肥、耕作、化学农药) 等多种自然或人为因素的影响,故防病效果不佳,稳定性差^[12]。

研究发现,寡雄腐霉能产生寡雄蛋白和抗菌物质等多种次生代谢物^[6]。因此,直接利用寡雄腐霉的次生代谢产物可避免人为和环境因素对活菌生长繁殖和分泌次生代谢产物的影响,既可提高防病效果,又能克服微生物活体菌剂效果不稳定的常见缺陷。为此,本研究利用自主分离获得的寡雄腐霉优良菌株,制备发酵液,研究该发酵液对番茄植株生长的影响和对灰霉病的防治作用,并在大田生产中进行生防效果验证,旨在为研发防效好而稳定的番茄灰霉病生防制剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄品种为佳粉 15 号;番茄灰霉病菌由西

南大学植物保护学院提供;寡雄腐霉发酵菌株 *P. oligandrum* CQ2010(*Po* CQ2010)从种植番茄的土壤中自主分离获得,保存于西南大学资源环境学院微生物实验室。取 60 g 玉米粉,80 ℃ 水浴 2 h,过滤,滤液加 15 g 葡萄糖,定容至 1 L,pH 值调至 6.0,1000 mL 三角瓶装液量 500 mL,灭菌得玉米汁培养液,然后接种寡雄腐霉菌株,摇床培养 7 d,(30±1) ℃、150 r/min,用 200 μm 的滤膜真空抽滤制备寡雄腐霉发酵液,-4 ℃ 冰箱保存备用。预备试验中,寡雄腐霉发酵液对番茄灰霉病菌丝生长的抑制率达 78.6%,对灰霉病菌的孢子萌发的抑制率达 51.2%。

1.2 试验设置

盆栽试验于 2011 年 3 月 2 日至 7 月 10 日在西南大学温室盆栽场进行。在番茄生长季节,采集重庆市典型、具有代表性的灰棕紫泥紫色土耕作层(0—20 cm)。土壤基本理化性质:质地中壤,pH 值 7.1,有机质 10.79 g/kg,全氮 0.78 g/kg,全磷 0.42 g/kg,全钾 20.54 g/kg,碱解氮 28.34 mg/kg,有效磷 10.91 mg/kg,有效钾 153.2 mg/kg。将拣去石砾和植株残体等杂物的土壤晾干,高压蒸汽灭菌后备用。播种前每盆装土 2.5 kg,以硝酸铵、过磷酸钙和硫酸钾作基肥,每千克土壤分别施入氮 200 mg、磷 100 mg、钾 200 mg。

每盆移栽株高 10 cm 左右的番茄幼苗 2 株,常规栽培 20 d。选择 60 盆长势一致的番茄植株进行试验处理,每组 30 盆,一组接种灰霉病菌,用 B.C 表示;另一组不接种灰霉病菌(对照),用 CK 表示。在多云无风的天气条件下:①每组各取 15 盆,喷施高温灭菌的培养液,以叶面上附有细密液滴但不流淌为宜,简称“培养液”,用 A 表示;②另 15 盆用寡雄腐霉发酵液喷施,简称“发酵液”,用 B 表示。喷施 24 h 后,对 B.C 组采用毛笔涂抹法接种灰霉病菌(孢子浓度约为 1×10^5 个 CFU/mL),保湿 48 h^[13]。由此形成整 4 个处理:①接病菌+培养液(B.C+A);②接病菌+发酵液(B.C+B);③不接病菌+培养液(CK+A);④不接病菌+发酵液(CK+B)。按盆栽试验的常规方法,浇水、除草等管理番茄幼苗。

田间试验于 2012 年 3 月 12 日至 7 月 10 日在重庆市北碚区璧山县番茄种植基地日光温室中进行,以具有代表性的灰棕紫泥为供试土壤,田间种植当地的主栽番茄品种(约 2000 株),研究了寡雄腐霉发

酵液对灰霉病的防治作用。试验设置 3 种处理:①寡雄腐霉发酵液(T1);②化学农药腐霉利(T2);③清水(CK),施药间隔期 30 d(3 月至 7 月),施药量 800 L/hm²,每处理重复 3 次,每个处理小区面积 38.95 m²约 200 株,随机区组排列,并常规管理大田番茄植株。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 寡雄腐霉发酵液对番茄植株生长的影响

盆栽试验处理后 35 d,收获番茄植株。先称取生物量,再随机选 10 个成熟功能型叶片,用打孔器取样,丙酮提取-分光光度法测定叶绿素含量^[14],并选取新鲜须根,用 TTC 法测定根系活力^[14]。然后,将植株 105 ℃ 杀青后(80±2) ℃ 烘干,常规分析氮、磷、钾含量^[15]。

1.3.2 寡雄腐霉发酵液对番茄灰霉病的防治效果

盆栽试验中,处理后第 10 天调查、统计番茄植株发病率和病情指数;大田试验中,调查各个小区最后一次施药 10 d 后灰霉病引起的病果率,计算防治效果。番茄灰霉病的分级标准及药效计算方法按照《农药田间药效试验准则》进行^[16]。

1.3.3 番茄叶片病理指标测定

盆栽试验处理后第 1、4、7、10、13 天,分别随机选取 5 个成熟功能型叶片,用打孔器取样,电导法测定细胞膜透性^[17],硫代巴比妥氨酸法测定丙二醛含量^[18]。并在第 10 天采集样叶,称取 0.5 g,加石英砂和 PBS 溶液(pH 值 7.8)冰浴匀浆,4 ℃、10 000 r/min 离心,收集上清液。测定超氧化物歧化酶活性(SOD)和苯丙氨酸解氨酶活性(PAL)^[19];多酚氧化酶活性(PPO)^[20]。

1.3.4 数据处理

试验数据用 DPS v6.50 统计软件处理,并采用 LSD 法检测处理间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 寡雄腐霉发酵液对番茄植株生长的影响

2.1.1 生物量

图 1 可见,盆栽试验中,在不接种病菌的条件下,施用寡雄腐霉发酵液显著促进番茄植株生长,总生物量提高了 9.5%。其中,地上部生物量分别为 34.29 g/株(对照)、36.64 g/株(发酵液),提高了 6.9%;根系生物量分别为 15.05 g/株(对照)、

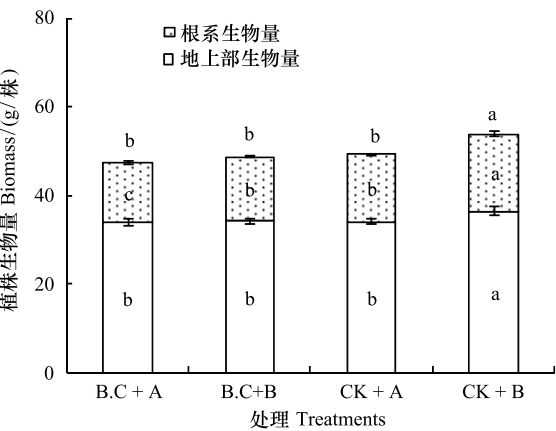


图1 番茄植株生物量

Fig.1 The biomass of tomato seedlings

B.C:接病菌;CK:不接病菌;A:培养液;B:发酵液,以下同;有不同小写字母表示经LSD检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著

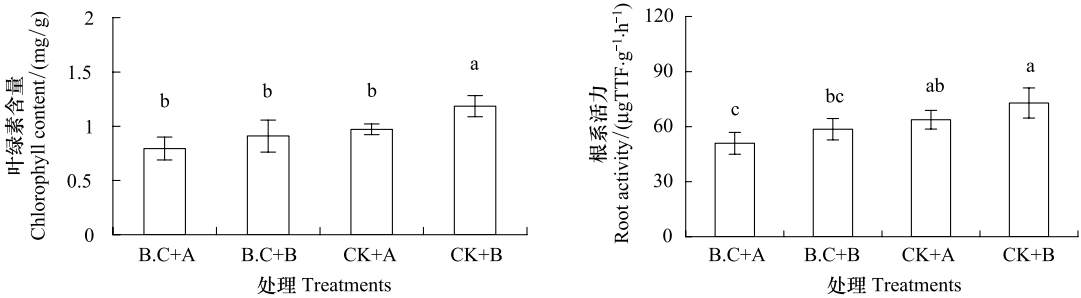


图2 番茄叶片叶绿素含量与根系活力

Fig.2 The chlorophyll content and root activity of tomato seedlings

表1 不同试验处理对番茄植株的养分含量与吸收量的影响

Table 1 Influence of experimental treatments on the nutrient concentration and absorption by tomato seedlings

处理 Treatments	含量 Concentration/%			吸收量 Absorption/(g/plant)		
	N	P	K	N	P	K
B.C + A	1.87±0.02 ab	0.52±0.04 a	4.77±0.05 a	8.44±0.17 b	2.36±0.22 a	21.51±0.42 b
B.C + B	1.95±0.07 a	0.49±0.01 a	4.41±0.47 a	9.05±0.21 a	2.29±0.07 ab	20.49±2.09 b
CK + A	1.78±0.07 bc	0.44±0.02 b	4.48±0.02 a	8.33±0.30 b	2.04±0.14 b	21.02±0.38 b
CK + B	1.76±0.05 c	0.45±0.01 b	4.65±0.10 a	9.00±0.08 a	2.29±0.12 a	23.87±1.18 a

表中N、P、K分别表示植株的氮素、磷素和钾素养分。B.C:接病菌;CK:不接病菌;A:培养液;B:发酵液;表中数据为平均值±标准差;同列数据后不同小写字母表示经LSD检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著

2.2 寡雄腐霉发酵液对番茄灰霉病的防治效果

从表2可知,盆栽试验中,在不接种病菌的处理中,番茄植株未发生灰霉病。在接种病菌的处理中,施用培养液的发病率和病情指数分别为75.7%和43.3;施用寡雄腐霉发酵液的发病率和病情指数分

17.37 g/株(发酵液),提高了15.4%。

2.1.2 叶绿素含量和根系活力

从图2中可以看出,盆栽试验中,在不接种病菌的条件下,施用发酵液的处理叶绿素含量最高为1.18 mg/g,比施用培养液的处理显著提高了21.6%,根系活力比施用培养液的处理也提高了14.4%。但是,在接种病菌的条件下,施用发酵液对叶绿素含量和根系活力没有显著影响。

2.1.3 植株养分含量与吸收量

由表1可知,盆栽试验中,在不接种病菌的条件下,施用寡雄腐霉发酵液促进番茄植株吸收养分,氮、磷、钾吸收量分别增加了8.0%,12.3%,13.6%;在接种病菌的条件下,施用发酵液显著提高番茄植株吸收氮素,但对磷、钾吸收量无显著影响。

别为32.4%和17.2,发病率和病情指数分别降低了57.2%和60.3%,相对防治效果达到60.3%。大田试验中,施用寡雄腐霉发酵液的发病率和病情指数分别为29.8%和11.3,发病率和病情指数分别降低了59.0%和71.2%,相对防治效果达到71.2%。

表 2 寡雄腐霉发酵液对番茄灰霉病的防治效果

盆栽试验 Pot experiments				大田试验 Field experiments			
处理 Treatments	发病率/% Disease incidence	病情指数 Disease index	防效/% Control efficacy	处理 Treatments	发病率/% Disease incidence	病情指数 Disease index	防效/% Control efficacy
B.C + A	75.7 c	43.3 c	—	T1	29.8 b	11.3 b	71.2
B.C + B	32.4 b	17.2 b	60.3	T2	23.6 b	9.7 b	75.3
CK + A	0 a	0 a	—	CK	72.7 a	39.2 a	—
CK + B	0 a	0 a	—				

B,C:接病菌,CK:不接病菌,A:培养液,B:发酵液;T1:发酵液,T2:化学农药,CK:清水

2.3 寡雄腐霉发酵液对番茄植株病理指标的影响

2.3.1 细胞膜透性和丙二醛含量

图 3 可见,盆栽试验中,接种病菌显著提高番茄叶片细胞膜透性,且随时间的延长而增加,其平均值分别为 31.0%(接种后第 4 天)、40.2%(接种后第 7 天)、47.0%(接种后第 10 天)、53.4%(接种后第 13 天),但是,在不接种病原菌的处理中,叶片细胞膜透性无显著变化。值得注意的是,接种病菌后,施用发酵液显著降低叶片细胞膜透性,分别比培养液降低

了 24.8%(接种后第 7 天)、14.0%(接种后第 10 天)、16.6%(接种后第 13 天);若不接种病原菌,在培养液和发酵液之间,叶片细胞膜透性无显著差异。

在番茄叶片中,丙二醛含量的变化类似细胞膜透性,即接种病原菌提高叶片丙二醛含量,且随处理时间的延长而增加,施用发酵液显著降低接种病原菌叶片的丙二醛含量;相反,在不接种病原菌的处理中,叶片丙二醛含量无显著变化,施用发酵液和培养液之间无显著差异。

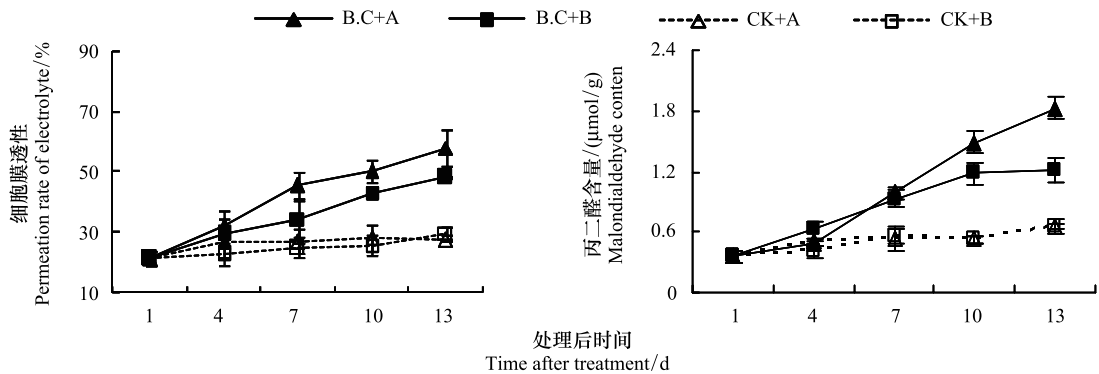


图 3 不同试验处理对番茄叶片细胞膜透性和丙二醛的影响

Fig.3 Influence of experimental treatments on cell membrane permeability and the content of MDA in leaves of tomato seedlings

2.3.2 抗病相关酶活性

由表 3 可知,盆栽试验中,接种病菌显著提高番茄叶片中的 SOD、PPO、PAL 活性,其平均值分别提高了 12.9%、84.0%、36.0%。在接种病原菌的处理

中,施用发酵液显著提高了 PPO 和 PAL 活性,分别提高了 35.8%和 41.4%,但对 SOD 无显著影响。在不接种病原菌的处理中,施用发酵液对 SOD、PPO、PAL 活性无显著影响。

表 3 不同试验处理对番茄叶片 SOD、PPO 和 PAL 活性的影响

Table 3 Influence of experimental treatments on the activities of SOD, PPO and PAL in the leaves of tomato seedlings			
处理 Treatments	超氧化物歧化酶活性/(U g ⁻¹ min ⁻¹) superoxide dismutase (SOD)	多酚氧化酶活性/(U g ⁻¹ min ⁻¹) polyphenol oxidase (PPO)	苯丙氨酸解氨酶活性/(U g ⁻¹ min ⁻¹) L-phenylalanin ammonia-lyase (PAL)
B.C+A	183.11±3.07a	263.57±21.54b	227.46±17.30b
B.C+B	177.78±5.67a	357.97±37.24a	321.57±15.96a
CK+A	162.90±5.98b	177.21±17.15c	199.28±9.54c
CK+B	156.75±1.87b	160.54±19.56c	204.55±3.24bc

3 讨论

一般而言,化学农药干扰动物代谢,不同程度地危害人畜健康,有些化学农药还能产生致病、致癌、致变等作用,逐步由使用化学农药过度到安全无毒的生物防治是植物病虫害防治的目标之一。目前,我国植物病虫害防治的主要手段仍然是化学药剂。几十年来,尽管做了大量的研究工作,但完全可以代替化学杀菌剂的生物农药还不多,研制高效、安全、无毒的新型生物农药很有必要。

研究发现,目前各国应用较广泛的生防菌木霉有很强的根际定殖能力,能产生多种次生代谢产物,提高叶绿素含量、促进氮和矿物元素吸收,改善植物营养;与根系微生物相互作用,抑制多种病原菌生长;诱导辣椒、马铃薯、莴苣、黄瓜、白菜、豌豆、花生、长春花和菊花等多种作物产生抗病性,具有防病促生效应^[12]。与之类似,生防菌寡雄腐霉卵孢子接种于黄瓜和胡椒根际,能改善它们的磷素营养,增加植物体内的吲哚乙酸(IAA)含量^[9],促进植物的生长。一般而言,有益微生物促进植物生长的现象常常与微生物产生生长素和相关次级代谢物的合成具有密切联系,研究发现,寡雄腐霉产生大量色胺 TNH_2 ,当寡雄腐霉在培养基中生长的时候,还有一些植物生长素前体,包括色氨酸 Trp 和吲哚乙酸 IAAld,都表明寡雄腐霉产生色胺类生长素复合物^[21]。此外,寡雄腐霉还能分泌抗菌物质^[10]、拟激子蛋白^[21]、类毒素物质色胺等^[22],它们细胞壁中的蟹壳素、葡聚糖、细胞壁蛋白等,都能保护和诱导多种蔬菜产生系统抗病性^[11],如诱导小麦、甜菜、番茄对丝核菌 *R. solani* AG2-2、番茄枯萎病(*F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*)和灰葡萄孢(*B. cinerea*)的抗性反应^[23]。研究还发现,液体培养寡雄腐霉菌丝,匀浆后也能诱导番茄对青枯菌的抗性^[24]。据报道,施用寡雄腐霉卵孢子防病效果介于 0—74.5% 之间,促进生长的作用也不甚稳定^[11],进一步提高其防效很有必要。在本试验中,利用寡雄腐霉优良菌株制备内含次生代谢产物、具有生防作用的发酵液,喷施健康和感病的番茄植株。结果表明,健康植株施用寡雄腐霉发酵液后,叶绿素含量和根系活力提高,有益于增强光合作用,增加氮、磷、钾养分吸收,促进植株生长;感病植株施用寡雄腐霉发酵液后,有效降低了番茄灰霉

病的发病率和病情指数。因此,寡雄腐霉发酵液不仅可以稳定有效的防治番茄灰霉病,还能促进番茄植株的生长,与生防菌木霉等有相同的生物学效应。

植物受到病原菌侵染时会产生大量的活性氧,多余的活性氧会影响植物的正常生理活动,膜脂过氧化形成丙二醛等过氧化产物,从而不同程度地破坏细胞膜的完整性,膜透性增加、选择透性降低、胞内电解质外渗,环境介质的电导率增加^[25]。番茄植株接种灰霉病菌后,膜透性和丙二醛含量增加,但施用发酵液降低细胞膜透性和丙二醛含量,说明寡雄腐霉发酵液中的次生代谢产物直接或间接地增强了植株抗性或减轻了灰霉病对番茄植株细胞膜等造成的伤害。

在病原菌、生防菌、植株三者相互作用过程中,生防菌可作为植物激活剂,诱导植物系统获得抗病性(ISR),与病原物诱导的植物系统获得抗性(SAR)基本类似。ISR 的作用机制主要是通过组织木质化,增强细胞机械屏障和产生植保素,它们涉及到苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)与超氧化物歧化酶(SOD)等催化的生物化学过程,对于抵抗真菌、细菌和病毒,保护植物免受疫病危害,促进作物生长,弥补损失,减轻病害程度有重要作用^[26]。在病原菌诱导防御反应研究中,有研究曾报道,番茄植株对细菌性溃疡病 *Pseudomonas syringae* 的抵抗力与 PPO 活性呈显著正相关,抗性强的品种 PPO 活性显著高于敏感品种^[27]。PAL 和 POD 的活性与串珠镰刀菌引起玉米对穗粒腐病抗性呈负相关,而与丙二醛含量的变化呈正相关^[28]。在生防菌次生代谢产物提高植物抗病能力的研究中,李颂等也研究发现,施用黑曲霉次生代谢产物,可显著提高番茄植株体内 SOD、PPO、PAL 等防御性相关酶的活性^[30];在海洋芽孢杆菌 B-9987 的无细胞滤液中,所含的活性物质对茄链格孢菌和灰葡萄孢具有良好的生防作用^[30]。在本试验中,番茄植株接种灰霉病菌后,SOD、PPO 和 PAL 活性提高,施用寡雄腐霉发酵液进一步提高了 SOD、PPO 和 PAL 活性,说明灰霉病菌能诱导番茄植株产生抗性反应,寡雄腐霉发酵液同样也能提高保护酶和防御酶的活性,促进合成抗性物质,构成保护性屏障,协同抗病,从而提高番茄植株的抗病能力,防止病原菌入侵,减轻病原菌产生的伤害作用。

总之,寡雄腐霉发酵液不仅能有效防治番茄灰霉病,而且还具有促进番茄生长的作用,显著不同于只具有防病治病作用的生防制剂,进一步开展深入研究,可望制备出高效、稳定、安全兼具防病促生的生物农药。

References:

- [1] Qiao S H, Jiang H Y, Zhang Y N, He W Z. Inhibitory effects of *Punica granatum* peel extracts on *Botrytis cinerea*. Plant Protection, 2010, 36(1): 148-150.
- [2] Li X Y, Zhao L J, Chen Z L, Mu W, Liu F. The toxicological effects of quaternary ammonium cationic surfactant to *Botrytis cinerea*. Acta Phytopylacica Sinica, 2011, 38(3): 265-270.
- [3] Ji M S, Wang J K, Wang F, Qi Z Q. Effects of humidity and temperature on *Bacillus subtilis* B36 WP in controlling the tomato gray mould. Plant Protection, 2011, 37(1): 147-149.
- [4] Latorre B A, Spadaro I, Rioja M E. Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilino-pyrimidine fungicides in table grapes in Chile. Crop Protection, 2002, 21(10): 957-961.
- [5] Yang X N, Wang M, Shen R P, Liu F. Microtiter method to test the sensitivity of *Botrytis cinerea* to fungicides. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(15): 3075-3082.
- [6] Lou B G, Zhang B X. Biocontrol and induction of defense responses by the non-pathogenic *Pythium* spp. Acta Phytopylacica Sinica, 2005, 32(1): 93-96.
- [7] Wang A Y, Lou B G, Xu T. Inhibitory effect of the secretion of *Pythium oligandrum* on plant pathogenic fungi and the control effect against tomato grey mould. Acta Phytopylacica Sinica, 2007, 34(1): 57-60.
- [8] Takenaka S, Tamagake H. Foliar spray of a cell wall protein fraction from the biocontrol agent *Pythium oligandrum* induces defence-related genes and increases resistance against *Cercospora* leaf spot in sugar beet. Journal of General Plant Pathology, 2009, 75(5): 340-348.
- [9] Brozova J. Exploitation of the mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* in plant protection. Plant Protection Science, 2002, 38(1): 29-35.
- [10] Kurzawińska H, Mazur S. The effect of Chitosan and *Pythium oligandrum* used in protection of potato tubers against late blight and soft rot. Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, 2008, 8: 117-123.
- [11] Ouyang Y N, Xia L X, Zhu L F, Yu S M, Jin Q Y. The effect of *Pythium oligandrum* used in rice for controlling the disease and promoting the growth. China Rice, 2007, (6): 48-51.
- [12] Zhu S J, Gao Z M. Advancement on the *Trichoderma* promotion to plant growth and its mechanism. Journal of Fungal Research, 2006, 4(3): 107-111.
- [13] Xie C Z, Yang Y L, Li L, Li J Y, Wang J H, Wang H M. Taxonomy of antagonistic strain B1 and control effect of tomato gray mould. Acta Phytopylacica Sinica, 2008, 35(4): 300-306.
- [14] Chen J X, Wang X F. Experimental Guide of Plant Physiology. 2nd ed. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2006.
- [15] Bao S D. Soil and Agro-Chemistry Analysis. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 263-268.
- [16] The Bioassay Room of the Ministry of Agriculture. The Criteria of pesticide on Field Efficacy Trials (2). Beijing: China Standard Press, 2000.
- [17] Yuan L, Kerim A, Zhang L Q. Effects of NaCl stress on active oxygen metabolism and membrane stability in *Pistacia Vera* seedlings. Acta Phytocologica Sinica, 2005, 29(6): 985-991.
- [18] Yin Y L, Guo Y J, Ni Y, Han L, Tang H. Changes in physiological and biochemical indexes of alfalfa leaves under procymidone stress and sclerotinia challenge. Acta Phytopylacica Sinica, 2010, 37(3): 283-284.
- [19] Qi S W, Guan C Y, Liu C L. Relationship between some enzyme activity and resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of rapeseed cultivars. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(3): 270-273.
- [20] Wang Y L, Zhao L T. A study on the *Polyphenol oxidase* activities of *Coriulus versicolor*. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 454-456.
- [21] Benhamou N, le Floch G, Vallance J, Gerbore J, Grizard D, Rey P. *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. Microbiology, 2012, 158(11): 2679-2694.
- [22] Picard K, Ponchet M, Blein J P, Rey P, Tirilly Y, Benhamou N. Oligandrin. A proteinaceous molecule produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum* induces resistance to *Phytophthora parasitica* infection in tomato plants. Plant Physiology, 2000, 124(1): 379-395.
- [23] Hideki T, Hase S, Kanayama Y, Takenaka S. Identification of a protein that interacts with LeATL6 ubiquitin-protein ligase E3 upregulated in tomato treated with elicitor-like cell wall protein of *Pythium oligandrum*. Phytopathology, 2010, 158(2): 132-136.
- [24] Hase S, Shimizu A, Nakaho K, Takenaka S, Takahashi H. Induction of transient ethylene and reduction in severity of tomato bacterial wilt by *Pythium oligandrum*. Plant Pathology, 2006, 55(4): 537-543.
- [25] Yuan Q H, Gui Z, Zhang W S. Comparison of the activities of SOD, POD and PPO within alfalfa cultivars resistant and susceptible to alfalfa common leaf. Acta Prataculturae Sinica, 2002, 11(2): 100-104.
- [26] Qi A Y, Zhao X S, Liu D Q. Research of biological control in plant diseases by *Bacillus* spp. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(12): 277-280.
- [27] Bashan Y, Okon Y, Henis Y. Peroxidase, polyphenoloxidase, and phenols in relation to resistance against *Pseudomonas syringae*

- pv. tomato in tomato plants. Canadian Journal of Botany, 1987, 65(2): 366-372.
- [28] Yuan G S, Zhao M J, Zhang Z M, Shen Y O, Pan G T. Investigation on histological observation and protective enzyme activities in ear rot of maize (*Zea mays* L.) after *Fusarium moniliforme* infection. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 41(4): 385-392.
- [29] Gao W, Tian L, Zhang J M, Zhou J Y, Zheng L, Cui Z S, Li Y G. A primary study on the biocontrol mechanisms of *Bacillus marinus* B-9987 against the tomato gray mold and early blight. Plant Protection, 2010, 36(1): 55-59.
- [30] Li S, Duan Y X, Zhu X F, Chen L J, Wang Y Y, Pan L L. Effects of adding secondary metabolites of *Aspergillus niger* on resistance to tomato root-knot nematode. China Vegetables, 2011, (4): 44-49.
- 参考文献:
- [1] 乔树华, 蒋红云, 张燕宁, 何伟志. 石榴皮萃取物对番茄灰霉病菌抑制作用及防病效果. 植物保护, 2010, 36(1): 148-150.
- [2] 李祥英, 赵丽静, 陈召亮, 慕卫, 刘峰. 两种季铵盐阳离子表面活性剂对番茄灰霉病菌的毒理效应. 植物保护学报, 2011, 38(3): 265-270.
- [3] 纪明山, 王建坤, 王芳, 祈之秋. 温湿度对枯草芽胞杆菌 B36 菌株可湿性粉剂防治番茄灰霉病效果的影响. 植物保护, 2011, 37(1): 147-149.
- [5] 杨晓楠, 王猛, 申瑞平, 刘峰. 微孔板法检测番茄灰霉病菌对杀菌剂的敏感性. 中国农业科学, 2012, 45(15): 3075-3082.
- [6] 楼兵干, 张炳欣. 无致病性腐霉的生防作用和诱导防卫反应. 植物保护学报, 2005, 32(1): 93-96.
- [7] 王爱英, 楼兵干, 徐同. 寡雄腐霉分泌物对植物病原真菌的抑制作用及其对番茄灰霉病的防治效果. 植物保护学报, 2007, 34(1): 57-60.
- [11] 欧阳由男, 夏陆欣, 朱练峰, 禹盛苗, 金千瑜. 寡雄腐霉制剂“多利维生”对水稻的促长与防病增产效果. 中国稻米, 2007, (6): 48-51.
- [12] 朱双杰, 高智谋. 木霉对植物的促生作用及其机制. 菌物研究, 2006, 4(3): 107-111.
- [13] 谢晨昭, 杨毅玲, 李磊, 李金云, 王建辉, 王慧敏. 拮抗放线菌 B1 菌株鉴定及其防治番茄灰霉病的初步研究. 植物保护学报, 2008, 35(4): 300-306.
- [14] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导 (第二版). 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000: 263-268.
- [16] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则 (二). 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [17] 袁琳, 克热木·伊力, 张利权. NaCl 胁迫对阿月浑子实生苗活性氧代谢与细胞膜稳定性的影响. 植物生态学报, 2005, 29(6): 985-991.
- [18] 尹亚丽, 郭彦军, 倪郁, 韩龙, 唐华. 腐霉利与菌核病菌胁迫下紫花苜蓿理化指标的变化. 植物保护学报, 2010, 37(3): 283-284.
- [19] 齐绍武, 官春云, 刘春林. 甘蓝型油菜品系一些酶的活性与抗菌核病的关系. 作物学报, 2004, 30(3): 270-273.
- [20] 王宜磊, 赵良田. 彩绒革盖菌多酚氧化酶活性研究. 植物学报, 1999, 16(4): 454-456.
- [25] 袁庆华, 桂枝, 张文淑. 苜蓿抗感褐斑病品种内超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性的比较. 草业学报, 2002, 11(2): 100-104.
- [26] 齐爱勇, 赵绪生, 刘大群. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究现状. 中国农学通报, 2011, 27(12): 277-280.
- [28] 袁广胜, 赵茂俊, 张志明, 沈亚欧, 潘光堂. 串珠镰刀菌引起玉米穗粒腐病防御酶变化及其电镜观察. 植物病理学报, 2011, 41(4): 385-392.
- [29] 高伟, 田黎, 张久明, 周俊英, 郑立, 崔志松, 李元广. 海洋芽胞杆菌 B-9987 菌株对番茄灰霉病和早疫病的作用机制初探. 植物保护, 2010, 36(1): 55-59.
- [30] 李颂, 段玉玺, 朱晓峰, 陈立杰, 王媛媛, 潘琳琳. 黑曲霉次生代谢产物对番茄抗根结线虫病效果的影响. 中国蔬菜, 2011, (4): 44-49.