



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106613557 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201710040394.7

(22)申请日 2017.01.20

(83)生物保藏信息

CCTCC NO: M 2015690 2015.11.23

(71)申请人 青岛蔚蓝生物集团有限公司

地址 266061 山东省青岛市崂山区苗岭路
29号山东高速大厦12A07

申请人 青岛和协生物科技有限公司

(72)发明人 陈琳 张晓弟 宗睿 刘鲁民

(51)Int.Cl.

A01G 13/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种植物白绢病的微生物防治方法

(57)摘要

本发明涉及功能微生物应用技术领域,具体提供了一种植物白绢病的微生物防治方法。所述方法是通过在土壤中和/或在植物根部和/或在植物全株施用拜莱青霉菌液,实现对白绢病的有效防治。所述拜莱青霉VLD-11(*Penicillium bilaiaji* VLD-11),已于2015年11月23日保藏于中国武汉 武汉大学的中国典型培养物保藏中心,保藏编号为CCTCC NO:M2015690。

1. 一种植物白绢病的防治方法,其特征在于,所述的方法是通过在土壤中和/或在植物根部和/或在植物全株施用拜莱青霉菌液实现的。

2. 如权利要求1所述的防治方法,其特征在于,所述的方法包括:

(1) 在植物播种或栽植前,按40-60mL/m²的用量将拜莱青霉菌液均匀喷洒在土壤上,将表层10-20cm厚的土壤进行有效混匀;

(2) 按100-500mL/株的用量将拜莱青霉菌液灌施于植物根部,15-30天后再按相同用量灌施一遍,连用3-5次;

(3) 按50-100mL/m²的用量将拜莱青霉菌液均匀喷洒在植物全株和土壤中,5-10天后再按相同用量喷洒一遍;连用3-5次。

3. 如权利要求1或2所述的防治方法,其特征在于,所述的拜莱青霉的保藏编号为CCTCC NO:M2015690。

4. 如权利要求1或2所述的防治方法,其特征在于,所述的拜莱青霉菌液中孢子含量不低于10⁶CFU/mL。

5. 如权利要求1或2所述的防治方法,其特征在于,所述的植物为胡萝卜、花生和茉莉中的任意一种。

6. 如权利要求1或2所述的防治方法,其特征在于,所述的拜莱青霉菌液的制备方法,具体为:先将拜莱青霉接种到PDA固体培养基上,30℃培养3-4天至孢子成熟,将长好的孢子用适量无菌生理盐水洗下,转接入马铃薯液体培养基中,充分混合均匀,于30℃培养4-6天,即得拜莱青霉菌液。

一种植物白绢病的微生物防治方法

技术领域

[0001] 本发明属于微生物应用技术领域,具体涉及一种植物白绢病的微生物防治方法。

背景技术

[0002] 白绢病(*Sclerotium rolfsii*)又称菌核性根腐病和菌核性苗枯病,是一种在热带、亚热带地区普遍发生的植物病害。自1891年美国佛罗里达州首次报道了番茄白绢病(南方枯萎病)以来,关于各种植物白绢病的研究报道一直是植物病害研究中的热点问题。

[0003] 白绢病病菌能为害多种植物,但感病植物的症状基本相似。病害主要发生在幼苗近地面的根茎部。初发生时,病部的皮层变褐,逐渐向四周发展。在病斑上产生白色绢丝状的菌丝,菌丝体多呈辐射状扩展,蔓延至附近的土表上。植株发病后,茎基部及根部皮层腐烂,水分和养分的输送被阻断,叶片变黄凋萎,全株枯死。枯死根茎仅剩下木质纤维组织,似“乱麻”状,极易从土中拔出。在土壤较干燥的条件下,病部呈灰白色干朽状,有时可见白色霉层;潮湿时,病部布满白色菌丝体,甚至周围地表也覆盖一层菌丝体,并形成油菜籽状菌核。

[0004] 白绢病病原的无性阶段是半知菌亚门的孢目(*Mycelia Sterilia*)小菌核菌属(*Sclerotium* Tode ex Fr.)齐整小菌核菌(*Sclerotium rolfsii* Sacc.),该菌是腐生性很强的土壤习居菌。病原的有性阶段属于担子菌亚门、伏革菌属的白绢伏革菌[*Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi.]。该病自然条件下很少出现,只在湿热环境中,偶见病斑边缘产生担子和担孢子。

[0005] 对于土传性病害,轮作是一条重要防治措施。合理轮作,禁止连作或与其他感病寄主轮作,与禾本科作物轮作,或者是水旱轮作,对预防该病很有作用。研究发现,花生与美洲雀稗轮作对白绢病有很好的防治作用。药农们在长期的生产实践中也认识到与玉米、红薯、油菜等作物轮作3年以上,可有效地防治白绢病。

[0006] 在药剂防治方面,柳惠庆等室内药效测定发现,退菌特、克腐特、甲醛、代森锰锌对菌核萌发有很强的抑制作用,多菌灵、甲基托布津、百菌清亦有一定效果。药剂进一步试验结果表明,50%多菌灵、75%百菌清、36%甲醛抑菌圈明显(抑制菌丝生长)。

[0007] 在生物防治方面,很多报导认为木霉菌对白绢病有良好效果。何可佳用绿色木霉防治辣椒白绢病,防效达69%~72%;防治魔芋白绢病,防效为65.1%~69.6%。另一种有用的生防真菌是绿粘帚霉,研究发现绿粘帚霉有防治蕃茄、甜椒和马铃薯、胡椒白绢病的效果。荧光假单胞菌能抑制大豆白绢病和棉、马铃薯枯萎病的发生。

[0008] 白绢病是一种普发性、毁灭性的病害,其寄主范围广,严重危害时可导致作物严重减产。由于人们对环境问题的日益关注和对绿色食品的需求,生物防治是一个很有发展前途的领域。因此,急需筛选出高效、环保、安全的生防菌,控制白绢病的发病和危害,从而取得良好的经济和社会效益。

发明内容

[0009] 本发明为解决现有技术问题,提供了一种白绢病的微生物防治方法。所述方法是通过施用拜莱青霉(*Penicillium bilaji*)抑制白绢病致病菌小核菌的繁殖,进而达到防治白绢病的效果。

[0010] 本发明一方面提供了一种植物白绢病的防治方法,是通过在土壤中和/或在植物根部和/或在植物全株施用拜莱青霉菌液实现的。

[0011] 所述植物白绢病的防治方法,包括:

(1) 在植物播种或栽植前,按40-60mL/m²的用量将拜莱青霉菌液均匀喷洒在土壤上,将表层10-20cm厚的土壤进行有效混匀;

(2) 在植物栽植后,按100-500mL/株的用量将拜莱青霉菌液灌施于植物根部,15-30天后再按相同用量灌施一遍,连用3-5次;

(3) 在白绢病发病初期,按50-100mL/m²的用量将拜莱青霉菌液均匀喷洒在植物全株和土壤中,5-10天后再按相同用量喷洒一遍;连用3-5次。

[0012] 进一步的,所述拜莱青霉优选拜莱青霉VLD-11(*Penicillium bilaji* VLD-11),筛选自山东省莱州市彭家磷矿区的土壤,已于2015年11月23日保藏于中国武汉 武汉大学的中国典型培养物保藏中心,保藏编号为CCTCC NO:M2015690。

[0013] 所述拜莱青霉菌液中孢子含量不低于10⁶CFU/mL。

[0014] 所述植物优选胡萝卜、花生和茉莉中的任意一种。

[0015] 所述拜莱青霉菌液的制备方法,具体为:先将上述拜莱青霉VLD-11接种到PDA固体培养基上,30℃培养3-4天至孢子成熟,将长好的孢子用适量无菌生理盐水洗下,转接入马铃薯液体培养基中,充分混合均匀,于30℃培养4-6天,即得拜莱青霉菌液。

[0016] 本发明提供的方法是通过施用拜莱青霉菌液实现对植物白绢病的防治。所述拜莱青霉VLD-11对翠雀小核菌和齐整小核菌的抑制率分别达到85.9%和82.6%,抑菌效果显著。所述拜莱青霉VLD-11能有效防治植物白绢病。在对胡萝卜白绢病的防治中,通过向全株和土壤喷施所述拜莱青霉100倍稀释液,可将胡萝卜白绢病的发病率降低到0.5%以下,防治效率超过88%;在对花生白绢病的防治中,先利用所述拜莱青霉对土壤进行处理,在白绢病发病初期,再对全株和土壤进行合理喷施,能有效降低花生白绢病的病情指数,50倍稀释液对花生白绢病的平均防治效率高达83.6%;在对茉莉白绢病的防治中,通过在茉莉花苗根部直接灌施所述拜莱青霉VLD-11,能有效减少后期茉莉白绢病的发病率,100倍稀释液对白绢病的防治效率高于85%,效果显著。

具体实施方式

[0017] 本发明实施例中选用的拜莱青霉VLD-11(*Penicillium bilaji* VLD-11),筛选自山东省莱州市彭家磷矿区的土壤,已于2015年11月23日保藏于中国武汉 武汉大学的中国典型培养物保藏中心,保藏编号为CCTCC NO:M2015690。

[0018] 本发明所应用的试剂可以应用任一款市售产品,下面结合具体实施例对本发明的方法进行详细描述。

[0019] 实施例1拜莱青霉抑菌实验

1、拜莱青霉VLD-11菌液的制备:

先将上述拜莱青霉VLD-11接种到PDA固体培养基上,30℃培养3-4天至孢子成熟,将长

好的孢子用适量无菌生理盐水洗下,转接入马铃薯液体培养基中,充分混合均匀,于30℃培养4天,发酵液中孢子含量约为 10^9 CFU/mL。

[0020] 2、拜莱青霉VLD-11对小核菌的抑制作用 1、将拜莱青霉VLD-11接种至PDA培养基平板,30℃培养7d;

2、取完成步骤1的PDA培养基平板,在菌落前沿用打孔器打取直径为5mm的菌饼(生防菌饼); 3、分别将翠雀小核菌和齐整小核菌单菌落接种至PDA培养基平板,30℃培养7d; 4、取完成步骤3的PDA培养基平板,在菌落前沿用打孔器打取直径为5mm的菌饼(致病菌饼); 5、取新的PDA培养基平板,用打孔器打取直径为5mm的培养基,作为对照物。6、分组处理 (1) 试验组:取新的PDA培养基平板,在上面放置1个生防菌饼和1个致病菌饼,两个菌饼中心的直线距离为3cm,30℃培养;(2) 对照组:取新的PDA培养基平板,在上面放置1个对照物和1个致病菌饼,两者中心的直线距离为3cm,30℃培养。7、培养3天后分别测量致病菌的菌落直径,计算抑制率。

[0021] 抑制率=(对照组致病菌菌落直径-试验组致病菌菌落直径)÷对照组致病菌菌落直径×100%。

[0022] 结果显示:拜莱青霉VLD-11对翠雀小核菌和齐整小核菌的抑制率分别达到85.9%和82.6%(三次重复的平均值),说明所述拜莱青霉VLD-11对小核菌的生长繁殖具有较强的抑制作用,有望应用于白绢病的防治。

[0023] 实施例2拜莱青霉对胡萝卜白绢病的防治效果

1、实验地点:青岛平度南村镇胡萝卜发病区

2、实验方法

选取三个处理组,每个处理组3垄胡萝卜,每垄约100棵胡萝卜,处理组之间设立保护行。将上述拜莱青霉VLD-11发酵液分别加水稀释100倍、200倍、400倍。在胡萝卜发病初期,按50-100mL/m²的用量用静电喷雾器将拜莱青霉菌液对全株及土壤进行充分喷施,间隔5天再按相同用量喷施1次,共防治3次。对照组为喷施相同用量的清水。最后一次防治6天后,检查胡萝卜白绢病的治疗情况。

[0024] 3、结果分析

防治效率的计算公式=[1-(处理的病株率/对照的病株率)]×100%

结果如表1所示:

表1 拜莱青霉VLD-11对胡萝卜白绢病的防治效果

项目	病株率			防治效率			平均防治效率
	对照组	处理组 1	处理组 2	处理组 3	处理组 1	处理组 2	
100 倍稀释	0.49%	0.47%	0.46%	88.5%	88.9%	89.2%	88.9%
200 倍稀释	0.63%	0.59%	0.58%	85.2%	86.1%	86.4%	85.9%
400 倍稀释	0.97%	1.02%	1.06%	77.2%	76.0%	75.0%	76.1%

从表1的数据可以看出,在胡萝卜白绢病发病初期,通过向全株和土壤喷施拜莱青霉 VLD-11,能显著抑制白绢病的发病率,100倍发酵液稀释液可将胡萝卜白绢病的发病率降低到0.5%以下,防治效率超过88%,效果显著。

[0025] 实施例3 拜莱青霉VLD-11对花生白绢病的防治效果

1、实验地点:青岛胶南市花生种植发病区

2、实验方法:

将拜莱青霉VLD-11发酵液加水分别稀释50倍、100倍、200倍,在花生播种期,先按40-60mL/m²的用量将拜莱青霉菌液均匀喷洒在土壤上,将表层10-20cm厚的土壤进行有效混匀,然后再进行播种;在花生白绢病发病初期,按50-100mL/m²的用量用静电喷雾器将拜莱青霉菌液对全株及土壤进行充分喷施,间隔5天再按相同用量喷施1次,共喷施3次。最后一次防治6天后,检查花生白绢病的治疗情况。对照组使用清水。

[0026] 3、结果分析:

病情指数= $[\sum(\text{病级值} \times \text{该级发病株数}) / (\text{发病总株数} \times \text{最高病级值})] \times 100\%$

防治效率= $[1 - (\text{处理的病情指数} / \text{对照的病情指数})] \times 100\%$

结果如表2所示:

表2 拜莱青霉VLD-11对花生白绢病的防治效果

项目	病情指数			平均防治效率
	处理组 1	处理组 2	处理组 3	
对照组	50.3%	47.4%	48.1%	-
50 倍稀释	9.1%	7.2%	7.7%	83.6%
100 倍稀释	11.6%	12.5%	12.2%	75.1%
200 倍稀释	18.4%	17.6%	18.9%	62.4%

从表2的数据可以看出,在花生播种时,先利用本发明提供的拜莱青霉VLD-11对土壤进行处理,在白绢病发病初期,再对全株和土壤进行合理喷施,能有效降低花生白绢病的病情

指数。拜莱青霉VLD-11发酵液稀释50倍时对花生白绢病的平均防治效率高达83.6%，效果显著。

[0027] 实施例4 拜莱青霉VLD-11对茉莉白绢病的防治效果

1、实验地点：

青岛市崂山区枯桃花卉市场茉莉园。

[0028] 2、实验设置

设三个处理组，将拜莱青霉VLD-11发酵液加水分别稀释100倍、200倍、400倍。

[0029] 2016年4月初，在移栽茉莉花苗后，按300 mL/株的用量分别将拜莱青霉VLD-11稀释液直接施用到花苗的根部，20天后再施用1次，共施4次。每处理组3次重复，每个重复50株茉莉花。对照组施用清水。

[0030] 3、茉莉白绢病防治效果统计

2016年11月初，调查各处理组茉莉发病情况，计算茉莉白绢病的防治效果。

[0031] 病情分级标准：0级-未见枯黄病叶病枝；1级-染病枯黄枝叶比例占25%以下；3级-染病枯黄枝叶比例 $\geq 25\%$ ，但 $\leq 50\%$ ；5级-染病枯黄枝叶比例 $> 50\%$ ，但植株未枯死；7级-整株枯死。

[0032] 病情指数= $[\sum(\text{病级值} \times \text{该级发病株数}) / (\text{发病总株数} \times \text{最高病级值})] \times 100\%$ ；

防治效率= $[1 - (\text{处理的病情指数} / \text{对照的病情指数})] \times 100\%$ ；

结果如表3所示：

表3 拜莱青霉VLD-11对茉莉白绢病的防治效果

项目	病情指数			平均防治效率
	处理组 1	处理组 2	处理组 3	
对照组	38.3%	37.4%	38.1%	-
100 倍稀释	5.6%	5.2%	5.7%	85.5%
200 倍稀释	9.6%	9.1%	9.2%	75.5%
400 倍稀释	14.8%	14.5%	14.1%	61.9%

从表3的结果可以看出，通过在茉莉花苗根部直接灌施本发明提供的拜莱青霉VLD-11，能有效减少后期茉莉白绢病的发病率，拜莱青霉VLD-11 100倍稀释液对白绢病的防治效率高于85%，效果显著。

[0033] 除了胡萝卜，花生和茉莉之外，本发明提供的拜莱青霉VLD-11还可以对辣椒、大葱、核桃、马尾松、苹果、柑橘等植物的白绢病具有显著的防治效果，防治效率达到80%以上，应用前景广泛。