

# 木霉菌·芽孢杆菌混剂对水稻纹枯病的田间防治效果

邹丽文<sup>1</sup>, 李婷婷<sup>2</sup>, 付波<sup>1</sup>, 陈捷<sup>2</sup>

(1. 大连瓦房店市农业发展服务中心, 辽宁 大连 116300;

2. 上海交通大学 农业与生物学院/微生物代谢国家重点实验室/都市农业(南方)重点实验室, 上海 200240)

**摘要:** 为评价生防制剂木霉菌·芽孢杆菌混剂防治水稻纹枯病的田间药效, 本试验于2017—2018连续2年采用大田对比试验对木霉菌·芽孢杆菌混剂的防效和增产率进行研究。2017年结果表明在水稻纹枯病发生前或初期施用木霉菌·芽孢杆菌混剂2次(100 g/667 m<sup>2</sup>), 防效和增产率可达53.61%和28.9%, 超过木霉菌芽孢杆菌单一菌剂的防效和增产率(47.8%和12.5%; 32.2%和26.2%)且持效期性较好。2018年结果表明, 在水稻纹枯病发生前或发生初期施用木霉菌·芽孢杆菌混剂2次(200 g/667 m<sup>2</sup>; 300 g/667 m<sup>2</sup>), 防效和增产率分别达到68.52%和8.08%; 79.23%和12.8%, 增产显著, 且对水稻安全无药害, 值得进一步研究和推广应用。该研究结果将为减少化学农药的使用量, 提高绿色防控水稻纹枯病的水平提供技术支撑。

**关键词:** 木霉菌·芽孢杆菌混剂; 水稻纹枯病; 防治效果

**中图分类号:** S 435.111

**文献标识码:** A

## Controleffects of mixed agent of *Trichoderma*-*Bacillus* on rice sheath blight

ZOU Li-wen<sup>1</sup>, LI Ting-ting<sup>2</sup>, FU Bo<sup>1</sup>, CHEN Jie<sup>2</sup>

(1. Wafangdian Agricultural Development Service Center, Dalian 116300, China;

2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University/State Key Laboratory of Microbial Metabolism/Key Laboratory of Urban Agriculture (South), Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** To find potential bio-fungicides to control rice sheath blight and reduce the use of chemical fungicides, field trials of biocontrol agent against rice sheath blight were carried out for two consecutive years since 2017. In the first year, the mixture of *Trichoderma* and *Bacillus* strains was sprayed two times before or at the beginning stage of sheath blight occurrence (100 g/667 m<sup>2</sup>) at 10 days interval. Results suggested that control effects and yield increase rate by the mixture of *Trichoderma* and *Bacillus* strains reached 53.61% and 28.9%, better than single treatment with *Trichoderma* or *Bacillus* agent (47.8% and 12.5%; 32.2% and 26.2%). In the second year, the similar treatment (200 g/667 m<sup>2</sup>; 300 g/667 m<sup>2</sup>) resulted in 68.52% and 8.08%; 79.23% and 12.8%, respectively. This study indicated that the mixture of *Trichoderma* and *Bacillus* as a novel kind of rice sheath blight control agent performed well in field, which

收稿日期: 2019-07-02

基金项目: 国家重点研究计(2017YFD0200403; 2017YFD0201108)

作者简介: 邹丽文(1969-), 女, 高级农艺师, 研究方向: 水稻病害防治, email: 1341578103@qq.com;

李婷婷(1995-), 为本文共同第一作者, 女, 硕士生, 研究方向: 植物病害生物防治, email: Litingting2017@sjtu.edu.cn;

付波(1964-)为本文通讯作者, 男, 研究员, 研究方向: 农业病害防治, email: fobo1059@163.com

deserved further popularization and application as a new efficient and environmental biocontrol agent.

**Key words:** Biocontrol agents; *Trichoderma-Bacillus* mixed agents; rice sheath blight;

由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)侵染引起的水稻纹枯病是水稻产区的主要病害之一。该病害可引起植物倒伏,干燥缺水,进而导致米粒不饱满,使得水稻产量减产 10%~30%,严重时可达 50%<sup>[1]</sup>。目前,由于缺乏高抗品种,水稻纹枯病主要依靠化学防治,常用药剂有井冈霉素、唑类杀菌剂(如戊唑醇、己唑醇、烯唑醇、三环唑等)以及井冈霉素与唑类杀菌剂的复配制剂等<sup>[2-3]</sup>。但是,化学药物对环境污染性较大,病原菌抗药性问题日益突出,寻找替代品种并减少化学农药的使用,采用生物制剂解决水稻纹枯病问题,已成为当务之急。目前关于水稻纹枯病生物防治研究和应用中涉及到的生防微生物主要有各种芽孢杆菌、木霉菌、假单胞菌和放线菌等<sup>[1]</sup>。

木霉菌(*Trichoderma* spp.)和芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)都是国际上作为生物防治应用最为普遍的生防微生物。木霉菌主要通过其营养竞争、重寄生、诱导抗性、产生抗菌代谢物等功能来保护植物免受多种病原菌的侵染<sup>[4-5]</sup>,且对人畜无毒,具有重要的生防价值。陈立华等发现棘孢木霉菌 T12 的代谢物能够显著降低立枯丝核菌单位质量菌丝产生的纤维素酶和果胶酶活力,表明棘孢木霉菌代谢物能够显著降低立枯丝核菌的侵染能力<sup>[6]</sup>。李松鹏等发现哈茨木霉菌 3S1-13 和 4S2-46 的发酵液对水稻纹枯病的防治效果优于孢子液,离体叶片接种分析表明:二者的液体发酵液对纹枯病的防效都可达到 75%以上<sup>[7]</sup>。

芽孢杆菌是一类在自然界广泛分布的革兰氏阳性细菌,其对人畜无毒无害,且能分泌抗菌物质,抑制病原菌的生长,同时诱导作物产生抗病性,是一种较理想的生防微生物<sup>[8]</sup>。周全胜等研究发现坚强芽孢杆菌(*Bacillus firmis*)可湿性粉剂对水稻纹枯病具有较好的防治效果<sup>[9]</sup>。彭卫福等发现枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)NJ-18 对于水稻纹枯病菌的防治特别有效,与井冈霉素进行混合用以防治水稻纹枯病效果更佳<sup>[10]</sup>。

然而上述生防菌制剂在实际生产应用中均出现了防效不理想,稳定性不高,并且易受环境因素影响的限制,因此还不能得到广泛地应用。本研究在

2017 年和 2018 年,使用生防菌木霉菌、芽孢杆菌以及木霉·芽孢混剂进行了田间药效试验,以期验证其对水稻纹枯病的防治效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地基本情况

辽宁省大连瓦房店市三台乡东兰旗村。供试品种为当地主栽水稻品种港优 3 号。该地块于 6 月初插秧,抛秧。整个生育期共喷施杀菌剂 2 次,第 1 次施药在水稻纹枯病发生前期或初发期(2017 年在 7 月 11 日,2018 年在 7 月 17 日),10 d 后第 2 次施药。

### 1.2 供试药剂

25%木霉·芽孢混剂 WP、20%木霉菌 WP、30%芽孢杆菌 WP,上海交通大学农业与生物学院提供。16%井冈·羟烯腺 SP(16%井冈霉素+0.0004%羟烯腺嘌呤),浙江惠光生化有限公司生产。16%井·酮·三环唑 WP(2.0%井冈霉素含量+6.0%三唑酮含量+8.0%三环唑含量),安徽嘉联生物科技有限公司生产。

### 1.3 试验设计与方法

#### 1.3.1 2017 年试验设计

试验设 5 个处理,3 次重复,共 15 个小区,随机区组设计,每个小区面积 200 m<sup>2</sup>,试验用地共计 3 000 m<sup>2</sup>。

处理 A(A1、A2、A3)为木霉菌 WP 100 g/667 m<sup>2</sup>;处理 B(B1、B2、B3)为木霉·芽孢混剂 WP 100 g/667 m<sup>2</sup>;处理 C(C1、C2、C3)为芽孢杆菌 WP 100 g/667 m<sup>2</sup>;处理 D(D1、D2、D3)为 16%井冈·羟烯腺 SP 100 g/667 m<sup>2</sup>;处理 E(E1、E2、E3)为清水对照,水 30 kg/667 m<sup>2</sup>。

#### 1.3.2 2018 年试验设计

根据 2017 年的田间试验,确定木霉·芽孢混剂 WP 200 g/667 m<sup>2</sup>、300 g/667 m<sup>2</sup> 剂量作为试验用药剂量。

试验设 4 个处理,4 次重复,共 16 个小区,随机区组设计,每个小区面积 250 m<sup>2</sup>,试验用地共计 4 000 m<sup>2</sup>。

处理 A (A1、A2、A3、A4)为木霉·芽孢混剂 WP 200 g/667 m<sup>2</sup>;处理 B (B1、B2、B3、B4)为木霉·芽孢混剂 WP 300 g/667 m<sup>2</sup>;处理 C (C1、C2、C3、C4)为 16%井冈·酮·三环唑 WP 175 g/667 m<sup>2</sup>;处理 D (D1、D2、D3、D4)为清水对照。

### 1.3.3 施药方法

2017 年第 1 次施药在水稻纹枯病初发期(2017 年在 7 月 11 日);2018 年第 1 次施药在水稻纹枯病发病前期(2018 年在 7 月 17 日)。

10 d 后第 2 次施药,使用背负式电动喷雾器喷药。

## 1.4 调查方法

### 1.4.1 调查时间

2017 年于第 2 次施药后 10 d(2017 年 8 月 1 日)和第 2 次施药后 60 d(采收前 10 d、2017 年 9 月 21 日)调查 2 次。

2018 年于第 2 次施药后 10 d(2018 年 8 月 6 日)调查 1 次。因为田间发生稻瘟病,于 8 月 10 日全田喷施杀菌剂 30%戊唑醇·多菌灵 SE 75 mL/667 m<sup>2</sup>,会影响调查结果,所以没有进行第 2 次调查。

### 1.4.2 调查项目和方法

#### 1.4.2.1 调查各处理药剂的防治效果

每个处理 5 点取样,每点 1 m<sup>2</sup>,调查病穴数和病株数和病株严重度,分别计算病株率和病情指数,以处理区与对照区的病情指数计算防治效果。按 0~9 级分级标准,进行病株严重度分级。

纹枯病分级标准:0 级:全株无病;1 级:第 4 片叶及其以下各叶鞘、叶片发病(以剑叶为第 1 片叶);3 级:第 3 片叶及其以下各叶鞘、叶片发病;5 级:第 2 片叶及其以下各叶鞘、叶片发病;7 级:剑叶叶片及其以下各叶鞘、叶片发病;9 级:全株发病,提早枯死。

计算病株率和病情指数,并以处理区与对照区的病情指数计算防治效果,对防治效果采用邓肯氏新复极差法(SSR)/SPSS 统计软件进行差异显著性分析。

病株率 = 发病株数 / 调查总株数 × 100%。

病情指数 =  $\sum[(\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值}) / 9 \times \text{调查总株数}] \times 100$ 。

防效 =  $[(\text{对照区病情指数}) - \text{处理区病情指数}] / \text{对照区病情指数} \times 100\%$ 。

#### 1.4.2.2 水稻产量测定

试验田于采收前(2017 年 10 月 1 日采收、2018

年 10 月 8 日采收),每个处理对角线 5 点取样,每点取 21 穴(1 m<sup>2</sup>),每个处理取 105 穴(5 m<sup>2</sup>)。在室外晾晒,于 10 月下旬测产。测量粳米产量、千粒重、含水量。计算增产率,并对增产率采用邓肯氏新复极差法(SSR)/SPSS 统计软件进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试药剂对水稻的安全性

经过 2017 年和 2018 年 2 年的观察,试验药剂对试验田水稻生长无不良影响,未见药害症状,对周边环境也未见不良影响。

### 2.2 对水稻纹枯病的防治效果

#### 2.2.1 2017 年生防菌对防治水稻纹枯病防治效果

2017 年于第 2 次施药后 10 d(2017 年 8 月 1 日)和第 2 次施药后 60 d(采收前 10 d、2017 年 9 月 21 日)调查 2 次各处理对水稻纹枯病的发病情况,计算病情指数和防治效果,并对防治效果进行差异显著性分析(表 1)。

施药后第 10 天防治效果表明(表 1),木霉菌 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 和木霉·芽孢混剂 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 对水稻纹枯病的防效分别为 47.78% 和 53.62%,均有较好的防治效果,与当地常用药剂 16%井冈·羟烯腺 SP 100 g/667 m<sup>2</sup> 防治效果相当,差异不显著。芽孢杆菌防效次之。

施药后第 60 天(采收前 10 d)防治效果表明(表 1),木霉菌 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 和木霉·芽孢混剂 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 对水稻纹枯病有很好的防治效果,防效分别为 53.03% 和 54.95%,与芽孢杆菌 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 处理和当地常用药剂 16%井冈·羟烯腺 SP 100 g/667 m<sup>2</sup> 处理相比,差异显著。可见木霉菌 WP、木霉·芽孢混剂 WP 对水稻纹枯病的长期防治效果很优异,值得进一步试验和示范。

#### 2.2.2 2018 年生防菌木霉·芽孢混剂防治水稻纹枯病防治效果

施药后第 10 天防治效果表明(表 2),木霉·芽孢混剂 WP 对水稻纹枯病有较好的防治效果,在发病前用药,木霉·芽孢混剂 WP 200、300 g/667 m<sup>2</sup> 防效分别为 68.52% 和 79.23%,其中木霉·芽孢混剂 WP 300 g/667 m<sup>2</sup> 处理对水稻纹枯病的防治效果与当地防治水稻纹枯病的特效药剂—16%井冈·酮·三环唑 WP 175 g/667 m<sup>2</sup> 处理防治效果差异不显著。

表 1 2017 年木霉·芽孢混剂对水稻纹枯病的防治效果及测产结果

Tab. 1 Control effects of *Trichoderma-Bacillus* mixed agents on rice sheath blight and rice yield in 2017

供试药剂 Test agents	制剂用量/ (g/667 m <sup>2</sup> ) Dosage	药前病指 Disease index before application of agent	第 2 次施药 后 10 d 病指 Disease index 10 days after second time application of agent	防效/% Control effect	药后 60 d 病指 Disease index 60 days after application of agent	防效/% Control effect	平均产量/ (kg/667 m <sup>2</sup> ) Yield	增产率/% Increase rate
木霉菌 WP	100	0.48	4.24	47.78 Aa	26.85	53.03 Aa	637.50	12.52 Bb
木霉·芽孢 混剂 WP	100	1.04	4.38	53.61 Aa	26.48	54.95 Aa	730.67	28.94 Aa
芽孢杆菌 WP	100	0.89	5.77	32.22 Bb	34.04	41.3 Bb	714.50	26.15 Aa
16%井冈·羟 烯腺 WP	150	0.93	4.74	47.08 Aa	42.48	26.42 Cc	580.00	2.45 Cc
空白对照	—	0.67	7.87	—	57.14	—	567.84	—

注:表中数据均为 3 次重复的平均值;同列数据后大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ),不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Note: The data in the table are the average of 3 replicates. Different low-case and uppercase letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

表 2 2018 年木霉·芽孢混剂对水稻纹枯病的防治效果及测产结果

Tab. 2 Control effects of *Trichoderma-Bacillus* mixed agents on rice sheath blight and rice yield in 2018

供试药剂 Test agents	制剂用量/ (g/667 m <sup>2</sup> ) Dosage	药前病指 Disease index before application of agent	第 2 次施药后 10 d 病指 Disease index 10 days after second time application of agent	防效/% Control effect	产量/ (kg/667 m <sup>2</sup> ) Yield	增产率/% Increase rate
木霉·芽孢 混剂 WP	200	0	3.05	68.52 Bb	526.00	8.08 ABb
	300	0	2.08	79.23 Aa	549.01	12.81 Aa
16%井·酮· 三环唑 WP	175	0	1.63	83.73 Aa	507.67	4.31 Bc
空白对照	—	0	10.01	—	486.67	—

注:表中数据均为 4 次重复的平均值;同列数据后大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ),不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Note: The data in the table are the average of 4 replicates. Different low-case and uppercase letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

### 2.3 药剂对产量的影响

2017 年增产率见表 1、2018 年增产率见表 2。

从 2 年的测产结果来看,木霉·芽孢混剂 WP 对水稻有很好的增产效果,2017 年增产率为 28.94%,2018 年增产率为 12.81%,与当地常用杀菌剂处理相比,增产效果有显著差异。

## 3 讨论

2017 年在发病初期施药,间隔 10 d,第 2 次用药。第 2 次用药后 10 d 木霉·芽孢混剂 WP 100 g/667 m<sup>2</sup> 防效为 53.61%,防效好于木霉菌或

芽孢杆菌单剂,而且在用药后 60 d 防效仍较稳定,说明生防持效性较好;2018 年在发病前施药,间隔 10 d,第 2 次用药,第 2 次用药后 10 d 木霉·芽孢混剂 WP 200 g/667 m<sup>2</sup> 防效为 68.52%,300 g/667 m<sup>2</sup> 防效达 79.23%;可见,施药时间和施药量对田间防治效果影响很大。由于水稻纹枯病主要发生在茎基部与水面接触部位,施药时喷雾器喷头要向下喷到茎基部,而且,要保证施药量才能有更好的防治效果。同时,使用生防菌时,施药时期也很重要,2018 年在发病前用药防治效果比 2017 年在发病初期用药防治效果更好,说明生防菌在植物上定殖需要时间,因此该药剂对植物病害以

预防为主,治疗为辅。所以,木霉·芽孢混剂 WP 推荐用药量在200~300 g/667 m<sup>2</sup>。施药最佳时期在发病前至发病初期。

2017年调查结果显示,木霉·芽孢混剂 WP 处理比空白对照处理分蘖数增加20.15%,增产率28.94%;2018年调查,分蘖数增加10.37%,增产率12.81%。初步分析,木霉·芽孢混剂 WP 能增产的原因是促进水稻分蘖,增加水稻分蘖数,进而增产。有研究表明,定殖在水稻植株的木霉菌数量在秧苗前期可增殖,分蘖前期达到最大值,木霉能与水稻共存,能明显的增强水稻秧苗的生长,促进地下部根系的生长发育<sup>[11]</sup>。同时,芽孢杆菌可产生植物激素、植酸酶或嗜铁素等物质促进植物对营养的吸收<sup>[12]</sup>。另外,气候条件可能也影响木霉·芽孢混剂 WP 的增产效果。2018年由于春季严重干旱,其插秧较晚,在施药后还出现了供水不及时的情况,试验田增产率明显比2017年低。

按照本地区水稻田的一般管理,全年施用杀菌剂4~5次。2017年试验水稻田全年只施用2次供水杀菌剂(全年另施用两次杀虫剂),但采收前田间除零星发生稻曲病外,没有发生其他病害,木霉·芽孢混剂 WP 处理产量在730.67 kg/667 m<sup>2</sup>,与当年一般施药4~5次的田块产量相当。2018年试验田发生稻瘟病,于8月10日施用1次30%戊唑醇·多菌灵 SE 75 mL/667 m<sup>2</sup> 兼治稻曲病等病害,全年未施用其他杀菌剂。采收前调查田间没有重大病害发生,产量水平也很高。可见,水稻田应用木霉·芽孢混剂 WP 防治病害,可以减少杀菌剂的使用次数2~3次,减少化学农药的施用次数和使用量,对绿色防控具有十分重大的意义。目前防治水稻纹枯病的新型方法包括使用植物源农药,微生物农药,新型化学农药以及将生物农药与化学农药复配等<sup>[13]</sup>。本研究将2种微生物组合使用,提高了防效及其稳定性,说明木霉菌和芽孢杆菌有协同增效作用。从活菌数和货架期考虑,芽孢杆菌的芽孢含量高、货架期较长,而且能产生较多的抗生成分,而木霉菌竞争性和诱导抗性有明显优势,因此两者有生物学特性和功能的互补性。因此,本研究确定的木霉菌和芽孢杆菌的混合制剂有望成为水稻纹枯病防治的新型生物农药,可以部分替代化学农药或与化学药剂轮换使用。

#### 参考文献:

- [1] 俞寅达,孙姗姗,夏志辉. 水稻纹枯病生物防控研究进展[J]. 分子植物育种,2019,17(2):600-605.
- [2] 朱凤,杨荣明,吴佳文,等. 水稻纹枯病防治药剂筛选和应用技术研究[J]. 现代农药,2013,12(2):48-50,54.
- [3] 陈劲礼,李新杰,刘晓鹏,等. 丙环·啉菌酯防治水稻纹枯病效果初探[J]. 中国植保导刊,2016,36(2):63-64.
- [4] 陈捷,朱洁伟,张婷,等. 木霉菌生物防治作用机理与应用研究进展[J]. 中国生物防治学报,2011,27(2):145-151.
- [5] 梁志怀. 水稻纹枯病抗生木霉菌的筛选及其抗菌物质的研究[A]. 中国植物保护学会. 植物保护科技创新与发展——中国植物保护学会2008年学术年会论文集[C]. 中国植物保护学会,2008:6.
- [6] 陈立华,金秋,牛明,等. 棘孢木霉对水稻纹枯病原菌立枯丝核菌生物防治的研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):115-117.
- [7] 李松鹏,崔琳琳,程家森,等. 两株哈茨木霉菌株防治水稻纹枯病及促进水稻生长的潜力研究[J]. 植物病理学报,2018,48(1):98-107.
- [8] 杨华,雷平,郭照辉,等. 细菌防治水稻稻瘟病研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):99-104.
- [9] 周全胜. 25亿 CUF/g 坚强芽孢杆菌可湿性粉剂防治水稻纹枯病效果研究[J]. 现代农业科技,2018(9):141,144.
- [10] 彭卫福,吴志明,陈未,等. 拮抗多种植物病原真菌 *Streptomyces triostinicus* C2 的分离与鉴定[J]. 生物技术通报,2016,32(7):106-111.
- [11] 罗秀娟. 哈茨木霉 TUV-13 在水稻植株中定殖的时空动态及其对水稻生长影响的研究[D]. :中南大学,2010.
- [12] 张荣胜,戴秀华,刘永锋,等. 解淀粉芽孢杆菌 Lx-11 的促水稻生长作用及促生长物质分析[J]. 核农学报,2018,32(6):1230-1238.
- [13] Rajendra Persaud, AyubKhan, Wendy-Ann Isaac, et al. Plant extracts, bioagents and new generation fungicides in the control of rice sheath blight in Guyana [J]. Crop Protection,2019,5(119):30-37.