

首届全国中青年植物保护 科技工作者学术讨论会

论 文 集

中 国 植 物 保 护 学 会 合 编
中 国 农 业 科 学 院 教 育 委 员 会



中国科学技术出版社

送良物

初色 1993.4.11

首届全国中青年植物保护科技工作者学术讨论会论文集

中国植物保护学会 合编
中国农业科学院教育委员会

中国科学技术出版社

S4-53
5642

编委会组成人员 (按姓氏笔划为序)

主编: 黄可训

编委: 李庆基 陈万义 宋华都 杨奇华

郭予元 贾佩华 黄大昉 黄可训

(京) 新登字175号

首届全国中青年植物保护科技工作者学术讨论会论文集

中国植物保护学会 合编

中国农业科学院教育委员会

中国科学技术出版社出版 (北京海淀区白石桥路32号)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

星城印刷厂印刷

*

开本: 787×1092毫米 1/16印张: 32.5 插页: 1 字数: 82.80千字

1991年12月第1版 1991年12月第1次印刷

印数: 1—2000册 定价: 15.00元

ISBN7-5046-0583-2/S.78

前 言

本书系中国植物保护学会和中国农业科学院教育委员会于1990年11月1日~6日在河南郑州市联合召开的首届全国中青年植保科技工作者学术讨论会上获奖论文和优秀论文的论文集。这些论文均是广大中青年植保科技工作者通过刻苦钻研,并以富于创造性的见解撰写的近期科研成果,是经省、市、自治区学会及有关单位认真推荐评选,并按学报水平要求进行审定的。

为了更进一步地广泛交流,促进科技进步,调动中青年植保科技工作者的积极性,推动学术活动的开展,经中国植保学会常务理事会研究决定,由理事长黄可训任主编成立编委会编辑出版。

需要说明的是,尚有部分论文由于在本书编辑过程中已被有关刊物录用,或作者未能提交全文故未编入。已编入的论文中,个别虽在撰写上可能尚有不足之处,但内容仍较充实,不同程度上反映了有参考价值的信息和经验。

这次为了将学术讨论会的论文及时汇编成集交付出版,限于时间的仓促可能会有疏漏不当之处,但这毕竟是一个良好的开端,符合广大中青年植保科技工作者的愿望。相信今后再经一段时间的努力,将能汇编出内容更为丰富的高水平学术论文集,以体现我国植保科技事业的繁荣与发展。本书的出版得到中国科技出版社的大力支持,谨此致谢。

1991年6月

目 录

荧光假单胞菌对小麦全蚀病的抑制作用及其在小麦上定殖和转移的初步研究

研究	彭于发等(1)
茄子黄萎病综合防治研究	张锦秀等(8)
药剂拌种防治小麦白秆病试验研究	陈占全等(13)
芝麻病毒病的研究	杨书军 (18)
辣椒白绢病菌菌核存活、萌发与病害发生及土壤条件的关系	燕嗣皇等(27)
向日葵细菌性茎腐病的初步研究——品种抗病性差异及其过氧化物同功酶的关系	高 洁等(32)
大麦和条纹病菌相互作用的初步研究	曹远林等(38)
温州蜜柑船形叶病因研究初报	周常勇等(45)
黑龙江大豆灰斑病发生规律探讨及病菌生理小种研究	马淑梅等(49)
细菌性条斑病和白叶枯病对水稻产量的影响	范仰东等(60)
平凉地区小麦条锈病预测预报方法的探讨	蒲崇建等(65)
穗颈稻瘟病流行因素研究	高俊全 (70)
小麦赤霉病分段预报初步研究及其应用	冯成玉等(77)
小麦白粉病菌侵染机率及其预测模型的研究	王海燕 (84)
植物病原真菌对杀菌剂抗性选择模型初探	叶正荷 (91)
水稻纹枯病管理模型——阈值管理模型	范坤成等(95)
Hm毒素对玉米单倍体胚性细胞抗病性和超微结构的影响	刘国胜等(102)
串珠镰刀菌对棉花枯萎病的交互保护作用研究	张慧杰等(108)
油菜芜菁花叶病毒CR ₂ 株系的提纯及其特性	方小平等(113)
柑桔碎叶病毒的生物鉴定和纯化	何新华等(119)
棉花枯萎病菌电泳鉴定探索	刘宝康等(125)
苹果无病毒苗木快速繁育研究	李保华等(131)
分泌抗马铃薯环腐病棒杆菌单克隆抗体杂交瘤细胞系的建立	高德香等(137)
宁夏部分地区腐霉菌种的分离鉴定	蒋继志 (145)
1986~1989年我国小麦叶锈菌生理小种及其毒性研究	陈万权等(152)
禾谷镰刀菌毒素对小麦愈伤组织的影响	陆 鸣等(158)
吉林省白粉菌初志	时 杰等(163)
✓ 番茄青枯菌胞外多糖(EPS)基因克隆及其与致病性关系研究	康耀卫等(173)
假单胞属Pseudomonas的食酸假单胞种群(acidovorans)的遗传性研究	胡方平 (178)
湖北省水稻白叶枯致病型鉴别及当家品种抗性反应	成国英等(185)
诱发农作物霜冻的冰核细菌冰核活性研究	朱 红等(191)
新疆两种豆科作物病毒病的鉴定	董 平等(198)
大豆孢囊线虫(Heterodera glyines) 7号小种的鉴定及其分布	张东生等(207)

中国葡萄根围线虫种类及其分布	王寿华等(212)
昆虫病原斯氏线虫属一新种及其研究	沈长朋 (220)
福建省根结线虫种类鉴定和两个新种描述	张绍升 (232)
多种病虫复合为害小麦产量损失研究	李社平等(241)
黄淮海麦区主要昆虫群落动态研究	何连生等(251)
棉田生态系统害虫优化管理研究	柏立新等(259)
苹果全爪螨经济受害水平(EIL)的研究	秦玉川等(265)
应用标准虫态吸食量研究褐飞虱的为害损失	黄方能等(271)
山楂叶螨自然种群特定年龄生命表的初步研究	夏云龙等(277)
甘蔗扁飞虱种群动态的模糊聚类分析	陈景成 (288)
菜蛾越冬与迁飞问题的研究	马春森等(294)
烟草潜叶蛾幼虫空间分布型及垂直分布研究应用	杜予州 (301)
✓ 新疆天然草地叶甲的初步研究	张茂新等(307)
应用模糊综合评制法预报第二代稻纵卷叶螟发蛾主峰	封光华等(313)
桔全爪螨预测预报研究	岳碧松等(318)
粘虫测报专家系统(AWFES)	程登发等(324)
中华稻蝗产卵选择性与防治研究	张永华等(332)
✓ 烟蛀茎蛾生物学特性及发生规律研究	简富明 (337)
伊、洛、汝河流域麦蚜发生规律及综合防治技术研究	吕金刚等(346)
甘蓝夜蛾发生规律及防治研究	罗进仓等(351)
莎车县棉田害虫的发生特点及防治	马 盾 (357)
粟品种对粟芒蝇抗性鉴定技术及抗性机理研究	张忠民等(361)
棉花它感素对棉铃虫幼虫取食及生长发育的影响	王琛柱等(366)
高粱对第一代亚洲玉米螟抗性机制的研究	李建平等(373)
应用伪钝绥螨防治苹果全爪螨初报	吴元善等(381)
水稻品种贮藏期对玉米象抗性的聚类分析	刘桂林等(385)
豆田寄生性昆虫种群及优势种主要生物学特性的研究	曲耀训等(390)
利用深绿拟青霉及其代谢产物防治害虫的研究	张青文等(397)
棉田油菜诱集天敌带铲除适期探讨	魏枢阁 (404)
双色泉蝇生物学及其滞育的研究	薛芳森等(409)
棉铃虫幼虫头部感觉器细微结构及其功能	陈 宏 (415)
补充营养对粘虫飞翔效应的研究	曹雅忠等(422)
白背飞虱酯酶同工酶多态性研究	刘 波 (428)
龙眼主要病虫害的综合防治	姜鼎煌等(434)
苹果园病虫综合治理的生态效果	窦连登等(438)
谷茎跳甲为害与产量损失的关系及防治指标研究	李雪琴等(445)
几种农药对拟菊酯杀虫剂光化学降解影响的研究	岳永德等(450)
棉蚜的化学生态学——寄主植物对棉蚜乙酰胆碱酯酶性质的影响	高希武等(456)
苦楝油中的杀螨活性成分研究	潘明欣 (462)
黄瓜和葡萄霜霉病菌对甲霜胺抗性的初步研究	王文桥 (470)

稀禾定及其主要活性代谢产物在油菜中的残留动态研究·····	陈玮瑄等(477)
杀螨剂对桔全爪螨的三种毒力测定方法比较* ·····	张纯青等(484)
移栽稻田扁秆蔗草损失率系统测定及经济阈值模型的研究·····	陈 磊等(489)
薄蒴草田间发生规律与化学防除研究·····	邱学林等(495)
四川省农田害鼠种类及分布调查·····	刘 玉 (503)
加强植物检疫软科学研究, 提高植物检疫工作的社会效益·····	贺淑岚 (510)

荧光假单胞菌对小麦全蚀病的抑制作用 及其在小麦上定殖和转移的初步研究^①

彭于发 张中鸽 黄大昉 陈彩层

(中国农业科学院植物保护研究所)

提要 荧光假单胞菌CN12菌株对小麦全蚀病菌有较强抑菌作用和防病增产效果。经转座子Tn5诱变获得5100个接合子,其中丧失抑菌作用的诱变株22个,抑菌作用增强的诱变株7个。所有诱变株的抑菌作用与防病效果密切相关,其中抑菌作用增强的D93诱变株田间试验中防病增产作用高而稳定,平均增产率较原亲本菌株CN12提高1.2倍。此外,还应用Tn5分子标记等手段研究揭示荧光假单胞菌具有在小麦植株体内定殖和上下转移的特性。这一发现对于高效菌株选育、防治技术改进以及细菌遗传改造等方面可能具有重要意义。

近十年来,粮食、经济作物的土传病害发生十分普遍,为害逐年加重,已成为作物稳产高产的重要限制因素^[1]。小麦全蚀病(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* Walker)就是其中一种典型的毁灭性根部病害,既没有抗病品种,又缺乏经济有效的化学药剂,急待研究新的有效防治方法^[2]。

70年代以来,现代生物科学的发展促进了生物防治基础与应用研究的不断深入,利用有益微生物防治土传病害已成为一个十分活跃、并开始显示良好应用前景的研究领域^[3]。在各类有益微生物中,荧光假单胞菌(主要是*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*等)因其同植物密切的联系,对根围环境高度的适应性,独特的防病增产作用,以及便于用现代分子生物技术进行遗传操作等,引起了研究者极大的兴趣。近年来,美、英、澳、荷等国在土传病菌生物学研究的基础上,致力于荧光假单胞菌防治小麦全蚀病、棉苗立枯病等多种重要病害和在马铃薯、甜菜上增产增糖的探索^[4]。同时也十分重视此益菌的生化 and 分子遗传机理研究,部分抗生素、噬铁素(siderophores)的分离鉴定及有关基因克隆和遗传分析已有初步进展^[4-6]。但对有关生态学方面的复杂关系仍缺乏透彻了解,如何获得高效菌剂用于生产也有待进一步研究。

国内在植物益菌的研究和应用方面做了大量工作,已经获得一些积极的成果,但对荧光假单胞菌还缺乏系统和有效的工作。本试验在大量分离作物根围细菌的基础上,采用转座子Tn5基因插入诱变方法,对荧光假单胞菌对小麦全蚀病的抑制作用及其在小麦上定殖和转移的特性进行了初步研究。结果如下。

① 本项研究由国家计委资助。宁夏农业科学院李效禹先生、宁夏农业技术推广总站王兴邦先生等参加部分田间试验,特此致谢。

一、材料与方法

(一) 微生物菌种及其生长条件

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) S17-r 由美国威斯康辛大学 Ellingboe 教授惠赠, 用 LB 培养基在 37°C 下培养^[6]。荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) CN12 菌株为本室分离, 用 KB 或 NBY 培养基在 28°C 下培养^[2]。小麦全蚀病菌 Ggt-C2 为本室分离, 用 PDA 培养基在 25°C 下培养^[2]。必要时在培养基中加入抗生素 ($\mu\text{g/ml}$): 氨苄青霉素 (Ap), 200; 氯霉素 (Cm), 100; 卡那霉素 (Km), 25; 利福平 (Rif), 100。

(二) 转座子诱变与 Tn5 突变体分离

以含自杀质粒 PSUP^{2021} 的大肠杆菌为转座子 Tn5 供体, 荧光假单胞菌 CN12 为受体。用平板接合转移方法^[2,6]将 Tn5 引入荧光假单胞菌基因组内, 22°C 交配 2 小时。菌体经系列稀释后转移到含 Rif 和 Km 的选择性培养基上筛选转移接合子 (Transconjugants), 同时分别取等量供体和受体细胞测验自发突变率, 重复 5 次。接合子经单孢分离纯化后在 NBY 培养基上进行抗生素耐性测验, 其中兼抗 Km 和 Rif, 但对 Ap 和 Cm 敏感的接合子视为 Tn5 突变体。

(三) 离体抗生作用测验

参照文献 [2, 6], 将细菌和全蚀病菌转入 PDA 培养皿, 置 25°C 培养 5~8 天后测抑菌圈大小。

(四) 防病增产效果测验

温室试验方法见文献^[2]。将全蚀病菌燕麦培养物以 0.1% (W:W) 的比例混入灭菌土中。小麦种子 (品种: 宁春 4 号) 表面灭菌后在浓度为 10^7cfu/ml 的荧光假单胞菌悬浮液中浸泡 30 分钟 (对照用无菌水浸泡)。每盆播种 8 粒, 1 周后定苗 6 株。每处理 5 盆。温室条件为 12~25°C, 自然光照。

田间试验在宁夏永宁县二块自然发病田 (春小麦) 进行。1988 年和 1989 年发病均匀。每小区用细菌菌液 10ml, 加水稀释 50 倍混匀后浸种 1 小时, 晾干后播种。在 3 叶期用 10ml 菌液兑水适量进行一次叶面喷雾。

(五) 定殖和转移试验

根部或叶部定殖试验: 样品流水冲洗后用无菌水清洗 3 次, 剪成小段, 于 0.1M MgSO_4 溶液中研磨后适当稀释, 取 100 μl 转入含 Km 和 Rif 的选择性 KB 培养基, 2~3 天后计数。重复 5 次。

体内定殖和转移试验: 样品用自来水反复冲洗至看不见土壤为止, 再用 0.4% AgNO_3 表面灭菌 3~5 分钟, 无菌水清洗 5 次。其余同定殖试验, 重复 5 次。

二、结 果

(一) 转座子 Tn5 诱变和突变体筛选

将 PSUP^{2021} 质粒上的转座子 Tn5 转移到荧光假单胞菌 CN12 的基因组内, 获得兼抗 Km 和 Rif 的接合子 5100 个 (表 1)。以受体细胞计算, Tn5 的转移频率为 1.2×10^{-7} ; 而同时进行的自发突变测验中, S17-r 产生 Rif 抗性和 CN12 产生 Km 抗性的自发突变率均低于 10^{-10} 。此外, 所有接合子在菌落形态、颜色和生长温度等方面均与 CN12 基本一致。随机抽取 1200 个

接合子进行Ap和Cm抗性测验,结果没有一个能够生长,而S17-1生长正常。由于Tn5只含Km抗性基因,而对Ap和Cm的抗性均由P^{SUP2021}质粒编码,说明只有Tn5转移到CN12的基因组内。综合上述三种结果,所有接合子都可视为荧光假单胞菌CN12的Tn5插入突变体^[2,6]。

荧光假单胞菌CN12菌株衍生突变体的类型和数量^①

表 1

	分离物总数	Ab ⁻	Ab ⁺⁺
Tn5诱变	5100	22(0.43%)	7(0.14)
自发突变	2500	0	0

① Ab⁻, 对全蚀病菌抗生作用丧失; Ab⁺⁺, 对全蚀病菌抗生作用比CN12提高1~1.5倍。

对5100个Tn5突变体在PDA培养基上对全蚀病菌的离体抗生作用(抑制病菌生长)进行测验,有7个突变体(占0.14%)的抗生作用明显增强,所产生抑菌圈的大小为亲本菌CN12的2~2.5倍;有22个突变体(占0.43%)的抗生作用明显减弱甚至完全丧失。进一步研究表明,抗生作用增强的7个突变体都能在基本培养基MaS^[9]上正常生长,在KB培养基上产生荧光色素的能力也没有发现明显变化。而22个丧失抗生作用的突变体中有5个不能在MaS培养基上生长(为营养缺陷型)。因此,除这5个营养缺陷型外,其余突变体均为抗生作用发生变化的Tn5诱变菌株。

(二) 抗生作用与防病效果的关系

1. 温室苗期全蚀病防治效果 对抗生作用增强或丧失的Tn5诱变菌株在温室进行小麦苗期全蚀病防治试验。反复试验证实,荧光假单胞菌自然菌株CN12有一定的防病效果;丧失抗生作用的诱变菌株,其防病效果也基本丧失;抗生作用增强的诱变菌株,其防病效果也显著增强。仅将1987~1988年试验结果整理为表2。由此看出:(1)与只接病菌的对照比较,CN12菌株对小麦全蚀病防治效果显著。(2)丧失抗生作用的3个菌株,对全蚀病的防治效果也基本丧失。以株高、鲜重和发病级别为指标,3个菌株之间略有差别,但差异不显著,与只接病菌的对照之间差异也不显著。(3)抗生作用增强的3个菌株对全蚀病的防治效果比自然菌株CN12有显著提高,表现为株高和鲜重显著增加,而发病级别显著降低。在这3种指标上均呈显著差异,且3个抗生作用增强的菌株中以D93菌株防病效果最好,而D97和D98两菌株

荧光假单胞菌CN12及其Tn5诱变菌株对小麦全蚀病的温室防治效果比较

表 2

Ggt	细菌	株高(mm)	鲜重(mg/株)	病级(0~5)
+	—	188 C	923 E	3.82 A
+	<5	189 C	922 E	3.68 A
+	<11	191 C	925 E	3.7 A
+	<16	191 C	939 E	3.63 A
+	CN12	224 B	1166 D	3.11 B
+	D98	263 A	1427 C	2.35 C
+	D97	265 A	1419 C	2.42 C
+	D93	268 A	1478 A	2.0 D
—	—	276 A	1445 B	0 E

注:统计分析用Duncan's新复极差测验,相同字母示差异不显著(P=0.05)。表中<5、<11和<16为丧失抗生作用的Tn5诱变菌株,D98、D97和D93为抗生作用增强的Tn5诱变菌株。试验设5次重复。全蚀病的0~5级分级标准见文献[7],其中0为无病,5级植株近死亡。

之间差异不显著。

2. 田间防病增产效果 1989年在宁夏春麦区用抗生作用和温室防病效果均比自然菌株CN12有明显提高的Tn5诱变菌株D93与CN12菌株进行防治全蚀病的田间小区试验。试验结果(表3)表明:与自然发病对照区相比,CN12处理区防治效果为38.6%,增产12.3%;D93处理区防治效果为66.7%,增产27.2%。说明D93比CN12对全蚀病的防治效果和平均增产率均有显著提高。

荧光假单胞菌CN12及其Tn5诱变菌株D93对小麦全蚀病的
田间防治效果 (1989, 宁夏)

表 3

处 理	白穗率 %	防治效果 %	实产(kg/区)	增产 %
CK	24.94	—	5.655	—
CN12	15.32	38.6	6.350	12.3
D93	8.31	66.7	7.195	27.2

注:小区面积为10m²。白穗数每小区逐行调查,产量为各小区单收单打的实产。表中为二块田6次重复的平均值。

(三) 在小麦上定殖和转移特性的研究

1. 根部定殖和向上转移 用Tn5诱变菌株D93菌液(浓度为10⁶cfu/ml)浸泡小麦种子后分期采样,根部不同部位的检测结果(图1)显示:(1)D93菌株处理小麦种子后可以在小麦根部定殖。且不同根段中的菌量以根尖段为最多,接近种子的根基部次之,根中部菌量最少。考虑到根尖段的体积最小,重量最轻,若以单位重量计算,则根尖1cm的含菌量更大。(2)根尖1cm内的含菌量在小麦出苗后5天以内急剧上升,5天以后似乎趋于稳定,大体维持在10⁴cfu/cm根段这一水平。

将D93菌液处理小麦种子后不同时期在小麦根内和叶内分离回收接种细菌的数量整理为图2。结果表明:根内和叶内都有D93菌株定殖,但根内含菌量高于叶内。此外,根内菌量始终维持在较高水平(10⁴~10⁶cfu/g根),而叶内菌量波动较大(10²~10⁵cfu/g叶)。

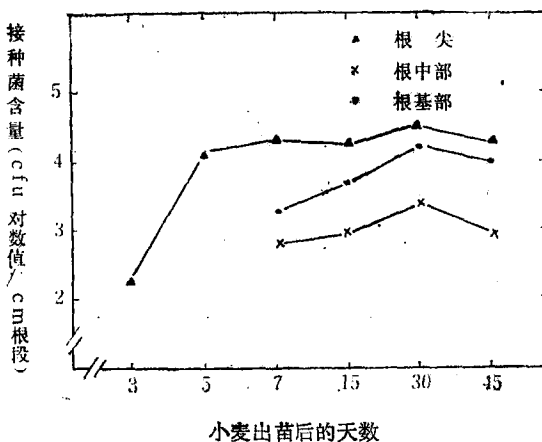


图 1 荧光假单胞菌D93菌株处理小麦种子后在小麦根部不同部位的定殖和消长情况

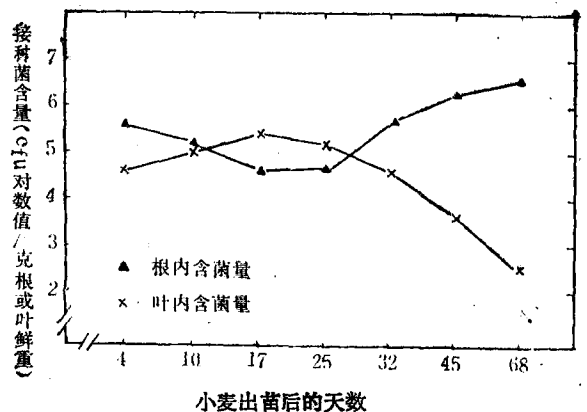


图 2 荧光假单胞菌D93菌株处理小麦种子后在小麦根内和叶内的数量变化

综合图1和图2的结果,D93菌株不仅可以在小麦根部定殖,而且可以在小麦根内定殖,并通过一定途径向上转移到小麦叶内。这一发现说明荧光假单胞菌与小麦植株有密切的联

系, 其对防治病害的意义需要进一步研究揭示。

2. 叶部定殖和向下转移 将D93菌液(浓度: 10^7 cfu/ml)喷布于小麦叶部后, 分期检测不同叶段或不同部位的接种菌含量。图3为不同叶段的分离回收结果。可以看出: 小麦不同叶段都能分离到D93菌株。与根部结果(图1)相比, D93菌株在叶部的定殖能力相对较弱, 但其种群数量比较稳定, 不同时间或不同叶段之间菌量差别不大。

图4为D93菌液喷于叶部后不同时期小麦叶内和根内接种菌的分离回收结果。很明显, 随着时间的延长, D93菌株在叶内的数量逐渐减少, 而在根内的含量逐渐增多。

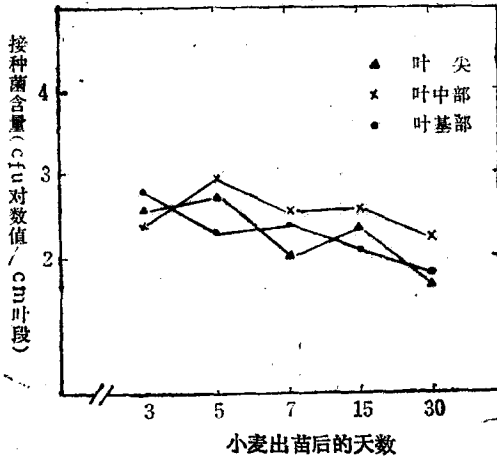


图 3 荧光假单胞菌D93菌株叶面喷布后在小麦叶部不同部位的定殖和消长情况

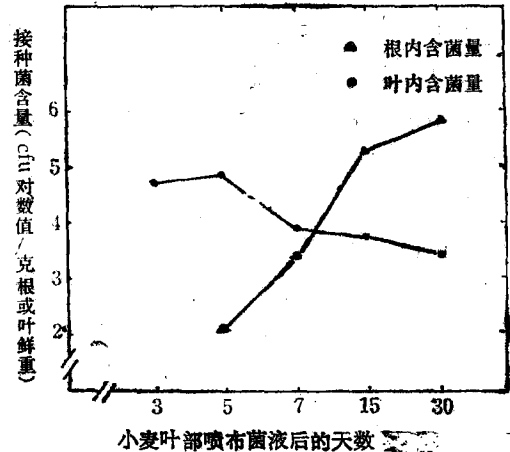


图 4 荧光假单胞菌D93菌株叶面喷布后在小麦叶内和根内的数量变化

根据图3和图4结果, 叶面喷布后, D93菌株不仅可在叶部定殖, 而且能向下转移到小麦根内, 甚至在叶面喷布菌液15天以后(图中为15天和30天)根内含菌量远大于叶内含菌量, 这一特点对于根部病害的防治可能具有重要意义。

三、讨 论

(一) 转座子诱变技术及其提高荧光假单胞菌防病效果的原因

转座子诱变是DNA操作的一项重要新技术, 国外又称为体内遗传工程 (In vivo genetic engineering)。其基本原理是通过可以自由移动的基因片断——转座子在生物体原有的基因组中某个位点随机地插入一段外源DNA, 干扰或破坏原有基因的正常表达使基因失活, 从而引起单基因位点的突变^[8]。此外, 转座子诱变还可提供一段已知的外源DNA, 并带有可供选择的抗性标记(如Tn5对Km的抗性)。作为诱变与分子标记技术在生态、生理、生化、遗传等基础和应用研究方面都具有重要价值, 过去国内在植保和植病生防领域未见应用。而国外^[8, 10, 12]在用此项技术研究荧光假单胞菌防病增产机制的工作中, 只注重寻找丧失抗生素作用和防病增产效果的突变体。本研究除此之外, 还获得提高抗生素作用和防病效果的诱变菌株。考虑到Tn5的作用主要是插入诱变, 笔者推测荧光假单胞菌中可能存在两类与抗生素作用(或防病增产)有关的基因。一类是抗生素基因, 负责产生抗生素等物质对病菌起拮抗作用; 一类是调控基因, 在抗生素等物质的生物合成中起调控作用。对抗生素基因的诱变导致抗生素作用丧失, 对调控基因的诱变就可能导致抗生素作用提高。进一步探讨明确Tn5诱变增效的遗传机理对于高效菌株

的选育具有重要意义。

(二) 对全蚀病菌的抗生素作用与防病效果的关系

荧光假单胞菌对病原菌的抗生素作用与防病效果之间的关系极其复杂, 国外^[1]研究结果时有矛盾, 可能与不同菌株、不同条件或不同研究方法有关。本文结果表明, CN12菌株对小麦全蚀病菌的抗生素作用与其防病效果有密切联系。因为对Tn5诱变菌株的研究证明, 抗生素作用丧失后其防病效果也基本丧失, 抗生素作用提高后其防病效果也显著提高。但还不能因此肯定抗生素作用与防治病害就是同一个基因。通过对有关基因的克隆及其结构与产物分析等进一步研究, 将可以明确负责抗生素作用的基因在植病生防中的意义, 而且有可能为今后开发抗多种病虫害的生物防治菌剂或向小麦进行外源抗病基因转移培育抗病品种提供目的基因。

(三) 在植物上定殖和转移的意义

关于荧光假单胞菌在植物根部的定殖, 国外已有初步研究, 认为对根的定殖是保证防病增产的重要条件^[3,4]。但由于缺乏简单有效的确证技术, 对体内定殖和转移特性很少涉及。本试验应用转座子Tn5分子标记技术, 依靠选择培养基分离检测, 对荧光假单胞菌在小麦上的体表体内定殖和转移特性进行了尝试研究。反复试验证实, D93菌株不仅具有对小麦根和叶的定殖能力, 而且具有在小麦体内定殖和转移的特性。处理种子后, 可在根内分离检测到接种菌, 也可向上转移到叶部; 叶部喷布后, 可在叶内检测到接种菌, 还能向下转移到根部。这一发现为防病机制的研究提供了一条新的线索, 对于筛选高效菌株、改进防治技术及细菌遗传改造都可能具有重要意义。

参 考 文 献

1. 彭于发, 1990. 荧光假单胞菌Tn5诱变防病增产研究初报, 中国农业科学, 23(1):88~89.
2. 彭于发、陈善铭, 1990. 荧光假单胞菌转座子诱变菌株防治小麦全蚀病的初步研究, 植物病理学报, 20(3):待发表.
3. Davison, J. 1988. Plant beneficial bacteria. Bio/Technology 6:282~286.
4. Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26:379~407.
5. Gutterson, N. et al. 1988. Genetic determinants for catabolite induction for antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* HV37a. J. Bacteriol. 170:380~385.
6. Poplawsky, A.R. et al. 1988. Genetics of antibiosis in bacterial strains suppressive to take-all. Phytopathology 78:426~432.
7. Weller, D.M., Cook, R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonade. Phytopathology 73:463~469.
8. Berg, D.E., Berg, C. M. 1983. The prokaryotic transposable element Tn5. BiolTechnology 1(7):417~435.
9. Schippers, B. et al. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Annu. Rev. Phytopathol. 25:339~358.

SUPPRESSION OF WHEAT TAKE-ALL BY *PSEUDOMONAS* *FLUORESCENS* AND ITS COLONIZATION AND MIGRATION IN WHEAT PLANT

Yufa PENG Zhongge Zhang Dafang HUANG Caiceng Chen

Institute of Plant Protection, Chinese Academy of

Agricultural Sciences, Beijing 100094

Transposon Tn5 mutagenesis was applied to *Pseudomonas fluorescens* CN12, which inhibits the growth of the fungal pathogen, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* on agar media (antibiosis) and suppresses the take-all disease. Of 5100 Tn5 transconjugants, seven mutants increased antibiosis and suppressiveness, and 22 mutants lost those activities. In field experiments on spring wheat in Ningxia Autonomous region, seed treatments with strain D93, a Tn5 mutant with increased antibiosis increased yield of wheat grains by 27.2% compared to no treatment control, which was significantly higher than that of treatment with the wild type strain.

In addition, by transposon Tn5 molecular tagging, it was found that *Pseudomonas fluorescens* (strain D93) was capable of plant root and leaf colonization and migration.

茄子黄萎病综合防治研究

张锦秀 邢俊 袁振五 于彦一 苏翻身 于凤艳

(内蒙古农牧学院园艺系)

摘要 研究表明,起垄栽培和叶面喷施0.3%尿素+0.3% KH_2PO_4 营养液,对茄子黄萎病均有明显的防治效果。起垄地覆盖地膜发病重,平畦地覆盖地膜发病明显减轻。中耕次数多发病重,但有增产作用。间穴双株定植无防治效果,并有明显减产作用。几种农业措施的组合处理中,以平畦栽培并覆盖地膜,定植后中耕3次并喷施2次0.3%尿素+0.3% KH_2PO_4 营养液的防治效果最好。化学防治试验表明,药剂处理苗床幼苗结合定植后早期喷洒内吸杀菌剂,是防治茄子黄萎病的经济有效的措施。其中,苗床幼苗在定植前用1000倍50%多菌灵可湿性粉剂灌注1次,定植后早期喷2次300倍50%多菌灵,有良好的防治效果和增产作用。

茄子黄萎病(*Verticillium dahliae* Kleb)是内蒙古露地和保护地茄子生产中的主要病害,已成为影响产量的主要因素。1986年包头市郊区覆膜茄子发病率92%,病情指数43.4。1989年呼和浩特市郊区茄子黄萎病发病率100%,病情指数30.0~70.0,有的地块全田枯死。这一病害严重威胁茄子生产。现将1988年和1989年我们对茄子黄萎病综合防治研究结果报道如下。

一、材料与 方法

(一) 农业防治措施

1988年选用内蒙古农牧学院蔬菜站连作3年的茄子地作试验田。供试品种巧光茄,小区面积 $3.6 \times 1.5 \text{ m}^2$,株行距 $33 \times 49.5 \text{ cm}$,小区采用间比法排列,每个处理重复3次。除双株定植每小区为80株外,其它小区定植40株,从发病开始每10天调查一次病情。

试验中将叶面施肥,覆盖地膜,起垄栽培,平畦栽培,中耕次数和双株定植等六项农业措施组合成6个处理(见表1),观察几种农业措施的不同组合对茄子黄萎病的防治效果,并从中分析几种单项农业措施对病害的作用。

表1中,叶面施肥和中耕时间均为定植后6天进行,以后每周进行一次。叶面喷施肥料为0.3%尿素+0.3% KH_2PO_4 (1:1),每亩75kg。

(二) 化学防治

1.室内叶面喷药 供试药剂为50%多菌灵WP、70%甲基托布津WP、40%白霜净胶悬剂,经室内纸碟法抑菌圈试验证明3种农药对茄子黄萎病菌(*V. dahliae* kleb)有明显抑菌效果。供试品种海红皮×玛瑙杂一代。当茄苗苗龄为3~4片真叶时从土中取出,自来水冲洗根系并伤根,而后将根系浸入茄子黄萎病菌孢子悬浮液中,孢子浓度 3.2×10^6 个/ml。浸根1小时后取出定植在高14cm,口径20cm的花盆中,每盆均匀3株。在缓苗后3天和25天,分别用上述3种药剂100倍和300倍两种浓度喷洒2次,每株25ml,每个处理20株,设清水喷洒对照20株,保湿24小时后在温室内培育,发病后每10天调查一次,观察3种药剂在两种浓度下叶面喷洒

六项农业措施的组合处理

表 1

组合处理 处理号	组合因子 叶面施肥 (次)	覆 膜	起 垄	中 耕 (次)	备 注
1	2	—	—	3	“+”表示 处理 “—”表示 不处理
2	3	+	+	2	
3	3	—	+	2	
4	2	+	—	3	
5	2	—	—	2	
双株定植	—	—	—	2	
对 照	—	—	—	2	

的防治效果。

2. 田间药剂防治 1989年在内蒙古农牧学院蔬菜站3年连作茄子田进行。供试品种海红皮×玛瑙杂一代。小区面积 $1.5 \times 4.5\text{m}^2$ ，每小区定植33株，小区采用间比法排列，小区间设2行保护行。

采用苗床幼苗均用1000倍多菌灵灌根，定植后用100和300倍多菌灵喷洒2次的处理；苗床幼苗均用100倍多菌灵喷洒1次，定植后用100倍和300倍多菌灵分别喷洒2次的处理；苗床幼苗均用甲基托布津100倍喷洒1次，定植后分别用100和300倍甲基托布津喷洒2次的处理以及苗床幼苗不经药剂处理，定植后用100倍多菌灵和100倍甲基托布津分别喷洒2次的处理；苗床幼苗不经药剂处理，只在定植后用1000倍多菌灵和1000倍甲基托布津分别灌根2次的处理。苗床施药时间均在定植前20天进行，定植后13天进行田间第一次施药，34天进行第二次施药。田间每亩喷药液75kg，每株灌药量0.5kg。

二、结果与分析

(一) 农业防治措施

1. 几种农业措施的组合处理的防治效果 由表2可见平畦栽培，叶面施肥2次，中耕3次(1)，起垄覆膜栽培，叶面施肥3次，中耕2次(2)起垄栽培，叶面施肥3次，中耕2次(3)，平畦覆膜，叶面施肥2次，中耕3次(4)，及平畦栽培，叶面施肥2次，中耕2次(5)等5项组合处理对茄子黄萎病均有一定的防治效果。其中，以起垄栽培，叶面施肥3次，中耕2次(3)和平畦覆膜栽培，叶面施肥2次，中耕3次(4)两项组合处理防治效果最好。平畦双株定植，中耕2次的处理对病害无明显防治效果，但产量低于对照。

2. 几种单一农业措施防治效果 将表2中可比组合处理两两相比可见覆膜，中耕次数，叶面施肥和双株定植四项农业措施的防治效果，见表3。

由表3可见，组合处理2和3相比起垄覆膜加重病害发生，由组合处理4和1相比，平畦覆膜对于病害有明显防治效果，因而覆膜对起垄栽培和平畦栽培有相反的作用。由组合处理1

几种农业措施组合处理对茄子黄萎病防治效果 (1989年8月29日)

表 2

组合 因子 处理号	叶 面 施 肥 (次)	覆膜	起垄	中 耕 (次)	发病率 (%)	病情指数	防治效果 (%)
1	2	—	—	3	32.50	23.13	24.49
2	3	+	+	2	33.75	24.06	21.45
3	3	—	+	2	18.75	13.44	56.12
4	2	+	—	3	21.25	14.38	53.05
5	2	—	—	2	28.75	19.38	36.73
双株定植	—	—	—	2	38.34	27.50	10.22
对照	—	—	—	2	45.00	30.63	—

单项农业措施对茄子黄萎病防治效果 (1988年8月29日)

表 3

项 目 可比因子	组合处理号	发病率 (%)	病情指数	防治效果 (%)
起垄覆膜	2	33.75	24.06	—
起 垄	3	18.75	13.44	44.13
平畦覆膜	4	21.25	14.38	37.83
平 畦	1	32.50	23.13	—
中耕3次	1	32.50	23.13	—
中耕2次	5	28.75	19.38	16.21
叶面施肥2次	5	28.75	19.38	36.73
叶面不施肥	对照	45.00	30.63	—
双株定植	—	38.34	27.50	10.22
平 畦	对照	45.00	30.63	—

和5相比, 中耕次数少发病轻, 但在测产时表明中耕次数多则有增产作用。由组合处理5和平畦对照相比, 叶面施肥对茄子黄萎病有明显防治作用。同穴双株定植对病害无明显防治效果, 测产表明其有减产作用。

(二) 化学防治结果

1. 室内叶面喷药防治结果 由表4可见, 第一次叶面喷药后20天和第二次喷药后28天的防治效果表明, 50%多菌灵WP 70%甲基托布津WP和40%白霜净胶悬剂, 分别以100倍和300倍两种浓度叶面喷洒, 均有较好的防治效果, 其中以100和300倍多菌灵, 300倍白霜净喷药两次的效果最好, 防治效果均达80%以上。同时在调查中可见多菌灵喷洒后, 植株高度、叶片数及开花数均比对照及其它药剂的处理植株明显增加, 因而多菌灵既有明显防治效果, 也有刺激植株生长的作用。