

沤肥浸渍液对3种黄瓜病害的防治作用*

乔雄梧 马利平 高芬 武英鹏 郝变青

(山西省农科院植物保护研究所 太原 030031)

摘要 从1992年开始连续8年研究马、牛和猪厩肥沤制并浸泡提取物对黄瓜病害的防治作用。盆栽试验表明,沤肥浸渍液对黄瓜霜霉病、黄瓜枯萎病、黄瓜白粉病具有良好的防治效果,对黄瓜霜霉病的防治效果可达46.5%-67.3%,对黄瓜枯萎病的防治效果可达72.1%-92.5%,对黄瓜白粉病的防治效果可达72.3%-79.7%。对沤肥浸渍液的防病机理的研究表明,微生物代谢产物对病原菌孢子的抑制作用、沤肥中微生物对病原菌的拮抗作用和沤肥诱导的生理生化和组织形态方面的抗病性起着重要的作用。

关键词 沤肥; 浸渍液; 黄瓜霜霉病; 黄瓜枯萎病; 黄瓜白粉病; 作用机理

中图法分类号 S141.4 ; S436.421

USING COMPOST EXTRACTS TO CONTROL 3 CUCUMBER DISEASES

QIAO Xiongwu , MA Liping , GAO Fen , WU Yingpeng & HAO Bianqing

(Institute of Plant Protection , Shanxi Academy of Agricultural Sciences , Taiyuan 030031)

Abstract Compost extracts made from livestock manure have shown certain prophylactic effects on cucumber wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*), cucumber powdery mildew [*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht) Poll] and cucumber downy mildew [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rost]. The relative efficacy of the compost extracts made from horse, cow and pig manure was 72.1-92.5% to cucumber wilt, 72.3-79.7% to cucumber powdery mildew and 46.5-67.3% to cucumber downy mildew in pot tests, respectively. The Effects of the compost extracts on cucumber diseases could be a complex of biotic and abiotic factors. These factors acted in various degrees under different conditions of the combination of pathogens, compost extracts with different resources and hosts. The possible mechanisms concerned were also studied in this paper.

Keywords compost; extract; *Pseudoperonospora cubensis*; *Fusarium oxysporum* f. sp *cucumerinum*; *Sphaerotheca fuliginea*; mechanism

沤肥可有效减轻植物病害,特别是土传真菌病害的现象引起人们对沤肥在植物保护中应用的注意和研究^[1~4]。本文作者从1992年开始连续8年对家畜厩肥沤肥浸渍液对多种植物病原菌及植物病害的防治作用及其可能的作用机理进行研究,现将对几种黄瓜病害的防治研究结果整理如下。

1 材料和方法

1.1 沤肥浸渍液的制取

将约5kg新鲜马、牛、猪厩肥分别与肥沃土壤按1:1的重量比例混合,放入50L塑料桶内,再加相当混合物3倍量的自来水,搅拌均匀盖好,置温室内沤制,将沤制半年的沤肥在使用前7d加自来水浸泡,水量为沤肥体积的3倍,7d后用双层沙布过滤,滤液备用。

1.2 盆栽黄瓜的育苗

选用感病品种长春密刺;将籽粒饱满的种子用40℃温水浸泡30min,再用凉水浸泡14h,置28℃温箱催芽,待胚根长到0.5cm长时种植在φ20cm的花盆或搪瓷盘内并置温室培养,在长出3片真叶时进行实验处理。

1.3 泗肥处理、接菌处理及防治效果统计

1.3.1 防治黄瓜霜霉病试验 试验共设4个处理,即马、牛、猪粪泗肥浸渍液和清水对照(CK),每处理重复3次;每重复黄瓜苗10株,种在5个φ20 cm的花盆内,即每盆2株。用家用手动喷雾器将泗肥浸渍液均匀喷在黄瓜叶片上,为了克服表面张力,在每100 mL泗肥浸渍液中加0.1 g洗衣粉(pH在7~8之间)。将田间采回的黄瓜霜霉病叶保湿48 h,用蒸馏水冲洗并制成孢子囊悬浮液,浓度为 10×10 倍显微镜下每视野5~8个孢子囊,用手动喷雾器均匀喷在黄瓜叶正面,保湿24 h,温室条件培养,7 d后症状明显记载发病情况。为了准确估价各种泗肥的作用改分级记载法为逐株逐叶逐斑记数法记载发病情况,最后以每叶平均病斑数做比较。灭活泗肥浸渍液对黄瓜霜霉病的抑制试验:方法同上,但泗肥浸渍液先在100℃下灭菌2 h之后再处理植株。

1.3.2 防治黄瓜枯萎病试验 设马、牛、猪粪泗肥浸渍液及清水(CK)4个处理,每处理重复3次;每重复黄瓜苗10株,即每盆2株。待第3片真叶完全展开时,用泗肥浸渍液及清水灌根,每盆灌400 mL,每周1次,共灌3次。第3次处理后7 d,人工接菌黄瓜枯萎病菌:每盆用300 mL病菌悬浮液灌根(孢子及菌丝段在200倍显微镜下为15(20个个体)。接菌后10 d症状明显时,记载发病率及严重度。

1.3.3 防治黄瓜白粉病试验 设4个处理,即马、牛、猪粪泗肥浸渍液、清水对照四个处理,每处理重复3次。黄瓜先催芽,待芽长至0.5 cm左右时,种植在盛有灭菌土的搪瓷盘内(45 cm×35 cm×5 cm),每盘种30粒。待子叶全部展开,显露1-2片真叶时用泗肥浸渍液进行喷雾处理,每盘约500 mL,之后每隔7 d喷1次,总共喷3次。当喷第1次后,将全部瓷盘置于田间,令其自然感染白粉病,第3次喷施后14 d,即症状明显时进行病情调查,记载发病率、严重度。

1.4 泗肥浸渍液对黄瓜枯萎病原菌的抑制作用

1.4.1 泗肥浸渍液对黄瓜枯萎病菌孢子萌发率的抑制观察 使用自然温度下放置1年后的上述马、牛、猪粪泗肥浸渍液。采用悬滴培养法,将黄瓜枯萎病菌用无菌水(CK)和马、牛、猪粪泗肥浸渍液原液(100%)和80%、50%及10%稀释液制成孢子悬浮液(200倍显微镜下,每视野约120个孢子),然后各滴1滴于盖玻片上,倒置于凹玻片上,28℃温箱中培养4 h,显微镜观察孢子萌发率及形态变化情况。每处理重复3次。

1.4.2 泗肥微生物对黄瓜枯萎病原菌的生长抑制 从泗肥浸渍液中分离到细菌共223株,采用对峙培养法,将待测菌株划线在PDA平皿中间,培养24 h后,在距划线两侧2 cm处点接黄瓜枯萎病原菌,然后置28℃下培养,7 d、14 d后分别记录抑菌带及病原真菌生长半径,计算抑制率。

1.5 过氧化氢酶活性、叶绿素含量及叶片形态变化

每处理10株,分别种植在5个花盆内,待长至3~4片真叶时,喷施泗肥浸渍液,每处理400 mL。之后2 d、4 d、6 d、8 d、10 d分别采样,用碘量法测定过氧化氢酶活性^[5];据叶绿素对可见光的吸收光谱,利用分光光度计测定其[D(652 nm)],然后计算叶绿素含量^[5]。

分别剪取不同处理植株相同叶位的叶片,去叶柄和叶尖,然后剪成0.5 cm见方的小块,置于水合氯醛透明液中固定透明,待叶绿素完全退去后,镜检叶毛数;观察细胞壁的变化及叶脉的生长情况。叶毛计数,共取5块,即5次重复,每重复观察10个视野并计数。

2 结果

2.1 泗肥浸渍液防病效果

2.1.1 泗肥浸渍液喷雾对黄瓜霜霉病的效果 泗制半年以上的马粪(HM)、牛粪(CM)浸渍液对黄瓜霜霉病有较好的抑制作用,平均抑制率分别为67.3%和66.1%;猪粪(PM)浸渍液对霜霉病也有一定抑制作用,但效果稍差,平均抑制率为46.5%(表1)。HM经高温灭活后对黄瓜霜霉病有较好的抑制效果,抑制效果为82.3%,比非灭活处理提高21.8%。与此相反,CM、PM经高温灭活后,对黄瓜霜霉病的抑制效果分别下降18.5%和29.1%。

2.1.2 泗肥浸渍液灌根对黄瓜枯萎病的防治结果 用泗肥浸渍液灌根3次后,黄瓜叶片浓绿,叶片多而大,发病率明显降低,防效最高的PM达92.5%,HM、CM也达到72.1%和72.8%,而CK的植株生长势弱,叶片浅绿且薄,枯死率增多(表2)。

表1 泗肥浸渍液对黄瓜霜霉病的抑制效果

Tabel 1 Efficacy of compost extracts against cucumber downy mildew

处理 Treatment	调查 Leaves tested	总斑 数病 Total lesions	每叶平均病斑 (N_e) Means of lesions per leaf			E/%			
			R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3	E_{ar}
HM	119	455	0.9	12.5	3.1	81.0	61.8	59.2	67.3
CK	136	2182	4.5	32.6	7.5	-	-	-	
CM	121	733	0.8	22.0	3.1	86.4	32.6	79.3	66.1
CK	119	2143	6.0	32.6	7.5	-	-	-	
PM	384	1191	0.3	21.3	2.5	70.9	34.7	66.3	57.3
CK	266	2202	1.2	32.6	7.5	-	-	-	

* HM: 马粪浸渍液(Horse manure); CM: 牛粪浸渍液(Cow manure); PM: 猪粪浸渍液(Pig manure); R: 重复(Repeat); E/%: 防效(Efficacy) 以下同(The same below)

表2 泗肥浸渍液灌根对黄瓜枯萎病发病率的影响

Tabel 2 Efficacy of compost extracts against cucumber fusarium wilt by root zone drenching

处理 Treatment	发病率 Incidence (I/%)			I_{ar}	E/%
	R 1	R 2	R 3		
HM	0.0	25.0	22.2	15.7	72.1
CM	0.0	33.3	12.5	15.3	72.8
PM	0.0	0.0	12.5	4.2	92.5
CK	40.0	71.4	57.1	56.2	-

10%稀释液中 HM、CM、PM 的抑制率分别为 16.7%、4.7%、42.3% (见表 4).

2.2.2 对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用

经对从泗肥中分离到的 223 个菌株的拮抗试验, 与 CK 比较, 黄瓜枯萎病菌菌落半径缩小. 显微观察, 拮抗微生物对黄瓜枯萎病菌的菌丝伸长有一定的抑制作用, 表现为程度不同的缩短. 抑制效果达 50% 以上的菌

株有 25 个. 盆栽试验有效菌株 12 株, 其中 3 个从 HM 中分离, 5 个从 PM 中分离, 3 个从 CM 中分离.

表4 泗肥浸渍液对黄瓜枯萎病菌孢子萌发的抑制效果

Table 4 Inhibitory effects of compost extracts on germination of spores of cucumber fusarium wilt

处理 Treatment	原液(100%) Dilution		原液(100%) Dilution		原液(100%) Dilution		原液(100%) Dilution	
	萌发率 % Germ. rate	抑制率 % Inhibitory rate						
HM	7.6	89.4	32.5	54.8	47.3	34.2	59.9	16.7
CM	1.1	98.6	45.9	36.2	63.5	11.7	68.5	4.7
PM	7.0	90.3	11.9	83.4	37.7	47.6	41.5	42.3
CK	71.9	-						

2.2.3 泗肥浸渍液处理后黄瓜植株过氧化氢酶活性变化

处理后, HM 处理后 2 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} = 155.6 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$; CM 处理后 6 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} = 141.2 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$; PM 处理后 8 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} = 148.5 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (表 5), 均显著高于 CK.

2.2.4 叶绿素测定结果

用泗肥浸渍液处理黄瓜叶片, 叶绿素含量发生了明显的变化, 处理后叶片厚实浓绿, CK 组叶片浅绿叶片较薄. 经测定, 用 HM、PM 处理后, 叶绿素含量分别为 23.1% 和 24.2%, 而 CK 仅 18.1%. 经 t 测验在 0.05 水平达到显著差异. CM 也较对照叶绿素含量增高, 但幅度不大, 与 CK 比较在 0.05 水平上, 差异不显著.

2.1.3 泗肥浸渍液喷雾对黄瓜白粉病的防治结果

HM、PM、CM 与 CK 比较防效分别为 72.3%、71.7% 和 72.9%, 而且泗肥浸渍液处理的植株叶色浓绿, 白粉斑少而且小 (表 3).

2.2 泗肥浸渍液的防病机理

2.2.1 对黄瓜枯萎病菌孢子萌发抑制 悬浮培养 4 h

后, 无菌水中孢子萌发率为 71.9%, 芽管长度是孢子直径的 3 倍以上. CM 原液中, 孢子萌发率为 1.1%, HM、PM 原液中萌发率分别为 7.6% 和 7.0%. 各处理中, 有个别孢子畸形, 在细胞分隔处缢缩, PM、CM 原液中多数孢子溶解. 与清水比较, HM、CM、PM 对黄瓜枯萎病菌孢子萌发抑制率分别为 89.4%、98.6% 和 90.3%. 随着泗肥浸渍液稀释度的增加, 孢子萌发抑制率逐渐减小, 在

表3 泗肥浸渍液对黄瓜白粉病的防治效果

Tabel 3 Efficacy of compost extracts against cucumber powdery mildew

处理 Treatment	N	R 1		R 2		R 3		$I_{d,ar}$	E/%
		N_i	I_d	N_i	I_d	N_i	I_d		
HM	30	11	3.70	13	4.27	12	4.35	4.07	72.3
CM	30	8	2.97	12	4.17	6	1.80	2.98	79.7
PM	30	16	4.31	13	3.21	16	4.46	3.99	72.9
CK	30	28	14.29	25	14.22	30	15.60	14.70	--

* Id: disease index (病指)

处理后, HM 处理后 2 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} =$

$155.6 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$; CM 处理后 6 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} = 141.2 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$; PM 处理后 8 d 过氧化氢酶活性 $A_{max} = 148.5 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (表 5), 均显著高于 CK.

表5 过氧化氢酶活性测定结果($\Delta/\text{mg g}^{-1}\text{min}^{-1}$)

Table 5 Assay of peroxidase activity of cucumber plant

处理 Treatment	t/d	R 1	R 2	R 3	Δ_{av}
HM	2	160.7	161.3	144.8	155.6
	4	26.9	51.2	59.3	45.8
	6	83.5	59.3	63.3	68.7
	8	-	10.6	10.6	10.6
	10	植株枯黄,无法取样 Wilting, no sampling			
CM	2	10.5	13.6	8.4	10.8
	4	103.7	99.2	90.3	97.8
	6	140.5	142.7	140.5	141.2
	8	89.5	107.6	95.2	97.4
	10	125.9	121.5	110.6	119.4
PM	2	72.7	50.4	49.4	57.5
	4	67.4	70.0	64.7	67.4
	6	106.1	96.6	95.6	99.4
	8	163.4	142.0	139.9	148.5
	10	105.1	40.8	34.3	60.1
CK	2	19.1	7.9	9.0	12.0
	4	51.5	33.4	37.6	40.9
	6	23.7	32.0	29.3	28.3
	8	植株枯黄,无法取样 Wilting, no sampling			
	10	植株枯黄,无法取样 Wilting, no sampling			

瓜白粉病的发生、发展,对黄瓜霜霉病的相对防效可达46.5%~67.3%,对黄瓜枯萎病的相对防效可达72.1%~92.5%,对黄瓜白粉病的相对防效可达72.3%~79.7%,有希望成为有机合成杀菌剂的替代物。作者对小麦^[6,7]、番茄、苹果病理系统等的作用进行了研究,得出类似的结果。国外也有大量研究(如 Sassenhein *et al*, 1993; Traenckner, 1991; Ketteler *et al*, 1991; Grossn Spangeberg, 1991; Ketteler *et al*, 1992; Budde *et al*, 1990; Stindt, 1990; Samerski *et al*, 1990; Witterscheidt *et al*, 1990; Malathrakis *et al*, 1993)几乎涉及所有农作物病害并有相关沤肥杀菌剂上市^[8]。有关沤肥液的防病机理研究也得到广泛的重视^[9~12]。大量研究表明,沤肥液的防病机能可因寄主、病原、沤肥浸渍液来源和感病时间的不同而异,这虽能解释不同来源的沤肥浸渍液对不同病害防治效果的差异,但其确切的对应关系有待进一步研究。

参考文献

- 1 Hadar Y, Mandelbaum R. Suppression of *Pythium* damping-off in compost containing horticultural substrates. In: Proceedings of the second international symposium :Peat in agriculture and Horticulture . Rehovot, Israel. 1983. 379~382
- 2 Shen D. Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes in China. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 1997, **62**:237~245
- 3 Lumsden RD, Millner PD, Lewis JA. Suppression of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* with composted sewage sludge. *Plant Disease*. 1986, **70**(3):197~201
- 4 Weltzien HC, Ketterer N, Samerski C, Budde K, Medhin G. Studies on the effects of compost extracts on plant health. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 1987, **39**(2):25~28
- 5 西北农业大学生理生化教研组. 植物生理学实验指导. 西安:陕西科学技术出版社. 1980
- 6 Gao F(高芬), Ma LP(马利平), Wu YP(武英鹏), Qiao XW(乔雄梧). Efficacy of compost extracts on wheat powdery mildew. *Chinese Journal of Biological Control*(中国生物防治). 1997, **13**(3):144~145
- 7 Ma LP(马利平), Gao F(高芬), Wu YP(武英鹏), Qiao XW(乔雄梧). Inhibitory effects of compost extracts on *Puccinia recondita* var. *tritici*. *Sientia Agricultura Sinica*(中国农业科学). 1995, **28**(5):96
- 8 USEPA. Innovative use of compost: Disease control for plants and animals. <HTTP://www.epa.gov:80/epaoswer/non-hw/compost-disease.pdf>. 1997
- 9 Ma LP(马利平), Gao F(高芬), Wu YP(武英鹏), Qiao XW(乔雄梧). The inhibitory effects of compost extracts on cucumber downy mildew and the possible mechanism. *ACTA Phytophylacica Sinica*(植物保护学报). 1995, **23**(1):56~60
- 10 Kai H, Ueda T, Sakaguchi M. Antimicrobial activity of bark-compost extracts. *Soil Biol. Biochem.* 1990, **22**(7):983~986
- 11 Liu QY(刘庆元), Zhang S(张穗), Li JL(李久禄). The resistance mechanism of cucumber varieties to downy mildew. *Acta Agri Boreali-Sinica*(华北农学报). 1993, **8**(1):70~75
- 12 Dong JG(董金皋), Huang WF(黄梧芳). The morphological structures and disease-resistance in plant. *Acta Phytopathologica Sinica*(植物病理学报). 1995, **25**(1):1~3

2.2.5 泗肥浸渍液处理后黄瓜形态结构变化观察结果

用 HM、CM、PM 喷施处理后,叶毛明显增多,显微观察(100倍)10个视野计数, HM、CM、PM 处理与 CK 比较叶毛明显增多(表 6)。

表6 泗肥浸渍液处理黄瓜叶片后叶毛数变化

Table 6 Changing of leaf hair after compost extract treatment

处理 Treatment	N				
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5
HM	92	72	105	95	92
CM	85	84	130	93	70
PM	139	90	91	111	120
CK	34	43	73	74	45
					53.8

观察发现,用沤肥浸渍液处理后叶脉和叶细胞壁有增厚的趋势,尤其 PM 处理,在叶毛下的细胞壁明显比 CK 叶片加厚。

3 讨论

经过用沤肥浸渍液对三种黄瓜病害的防治试验证明,沤肥浸渍液可有效抑制黄瓜枯萎病、黄瓜霜霉病和黄