文献著录格式：丁钱华. 微生物菌剂对小麦抗病能力的影响[J]. 浙江农业科学，2022，63（）：0-0.

DOI：10.16178/j.issn.0528-9017.20220572

微生物菌剂对小麦抗病能力的影响[[1]](#footnote-1)

丁钱华

（杭州萧山丁家庄农机专业合作社，浙江 杭州 311256）

摘 要：秸秆还田作为新耕作方式能够显著保留土壤肥力。但是，有研究报道指出，秸秆还田会富集土壤病原体，增加土壤病害的发生率。本研究在小麦生长过程中分别单独和复合施用3种芽孢杆菌，以评估其对小麦抗病能力的影响。研究结果表明，微生物菌剂能够引起小麦免疫基因的表达，从而增强小麦抗病性、达到可观的病害防治效果。单独施用胶冻样芽孢杆菌（39.7%~50.9%）对小麦病情的防治效果优于单独施用枯草芽孢杆菌（17.9%~24.8%）和巨大芽孢杆菌（7.5%~18.2%）。并且，复合施用微生物菌剂能够进一步优化防治效果，3种菌剂表现出明显的协同作用。本研究结果为微生物菌剂用于秸秆还田后小麦土传病害的防治提供了关键的理论基础，为落实国家化肥农药减施增效政策提供了重要的借鉴。

关键词：小麦栽培；微生物菌剂；绿色生产；产量；品质

中图分类号：S512.1+1 文献标志码：A 文章编号：000000

由真菌、细菌、病毒、线虫和原生动物等各种植物病原微生物引起的农作物病害会严重影响全球范围内的农业生产，同时导致粮食产量与粮食安全的大幅下降。约20%~40%的农作物产量损失是由病原微生物感染引起的[1]。减少农作物病害发生的防治措施目前主要有一系列农药的使用以及抗性作物的研发等，但是这两者都存在一定的局限性。过度使用合成农药会对环境和其他非靶标生物产生不良影响，扰乱生态系统功能，降低农业生产的可持续性[2]。2022年1月，中央五部门联合印发《农业农村污染治理攻坚战行动方案（2021—2025年）》，强调要深入实施化肥农药减量增效行动。抗性作物虽然具有很强的抗病能力，但是往往产量方面不如普通作物，需要考虑产量与抗病性的平衡[3]。因此，亟需一种更加稳定、可靠以及环境友好型的农作物病害防治措施。利用微生物进行农作物病害的防治是一种创新的方法，不仅能够直接对植物病原体产生拮抗作用，更能够全面提高农作物的抗病能力[4]。生物防治的定义是利用有益微生物减少病原微生物对农作物的负面影响以及提升农作物免疫能力[5]。

小麦（*Triticum aestivum* L.）作为世界三大谷物之一，供给着世界三分之一的人口，是世界范围内重要的粮食作物之一。随着世界人口持续不断的增长，人们对小麦产量的提升也提出更高的要求。但是，小麦生产过程中非常容易遭受根腐病、全蚀病以及纹枯病等土壤病害的侵害，导致产量受损，进而影响粮食供给[6]。秸秆还田本身是一种能够维持田间养分平衡的新耕作方式，近几年来被广泛推广。但是，目前越来越多的研究证据表明，秸秆还田会显著地提升土壤中植物病原菌的富集，增加小麦的病害风险[7]。为降低秸秆还田后小麦土传病害的发生，全面提高小麦抗病能力，同时又积极响应落实国家相关农药减量政策，本研究从生物防治角度，重点研究了多种微生物菌剂复合施用对小麦抗病能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验在杭州市萧山区的小麦试验田中进行，试验田总面积2.1 hm2，有2 a秸秆还田历史，肥力较好，未施用过杀菌剂以及微生物菌剂。供试小麦品种为扬麦20号。试验使用的3种微生物菌剂均为颗粒剂，主要成分分别为枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis* B1514）、胶冻样芽孢杆菌（*Bacillus mucilaginous*）以及巨大芽孢杆菌（*Bacillus megaterium*）。对照药剂为3%苯醚甲环唑悬浮种衣剂，购于河南浩迪农业科技有限公司。

1.2试验设计

试验共设置3个微生物菌剂单独施用组、1个微生物菌剂复合施用组、1个药剂对照组以及1个未添加任何菌剂及药剂的空白对照组（表1），每个处理设置3个重复，每个重复试验田面积为225 m2（15 m×15 m）。小麦于2020年9月26日播种，2021年6月20日成熟收获，然后进行室内考种。药剂对照组采用拌种方法处理小麦种子，药剂与种子质量的比例为1:40，拌种、风干后播种（现拌现用）。其他处理组与对照组种子均用清水做相同处理。4组微生物菌剂施用组均拌入底肥中，采用沟施方法进行，有效活菌数量≥10 亿·mL-1。其中，微生物复合施用组为3种微生物菌剂1:1:1混合。小麦种植期间采用统一的肥水管理方案：施用底肥纯氮120 kg·hm-2，P2O5 112.5 kg·hm-2、K2O 11.2 kg·hm-2。

表1 试验处理设计

|  |  |
| --- | --- |
| 组别 | 处理 |
| CK | 未添加任何菌剂及药剂的空白对照组 |
| Dif | 3%苯醚甲环唑悬浮种衣剂处理种子 |
| B1 | 枯草芽孢杆菌单独施用 |
| B2 | 胶冻样芽孢杆菌单独施用 |
| B3 | 巨大芽孢杆菌单独施用 |
| Bmix | 微生物菌剂复合施用 |

1.3 小麦生长指标与产量测定

小麦在成熟收获后根据室内考种结果统计各生长指标。对照组与处理组每个重复各取10株，测定株高、次生根数、有效穗数、穗粒数以及千粒重。有效穗数为单株剔除5粒以下小穗的麦穗数量；穗粒数为单株随机从根部选取20个分蘖，剔除小穗后记录的穗粒数；千粒重为1 000粒穗粒重量。根据这3项指标计算理论产量：理论产量=（有效穗数×穗粒数×千粒重）/106×0.85。

1.4 小麦病害调查

在小麦成熟期以5级分类法分别统计小麦根腐病、全蚀病以及纹枯病的病害情况。并分别计算病害指数和防治效果：病害指数=∑（各级病株率×相对级数值）/（调查总株数×发病最高病级）；防治效果=（空白对照组病情指数-处理组病情指数）/空白对照组病情指数×100%。

1.5 小麦植物抗病基因表达量测定

称取0.2 g小麦成熟期根部样品，用1 000 μL RNA保护液研磨、提取RNA。氯仿200 μL，振荡器上振荡15~30 s，冰上放置5 min后4 ℃ 12 000 r·min-1离心15 min，取最上层200 μL到新离心管。加入200 μL异丙醇，上下颠倒温和混匀，冰上放置10 min后4 ℃ 12 000 r·min-1离心10 min，去上清。加入1 mL 75%的乙醇洗涤，4 ℃ 8 000 r·min-1离心3 min，去上清，重复两次。RNA沉淀晾干后加入20 μL超纯水溶解，使用诺唯赞反转录试剂盒反转录成cDNA。使用不同引物（表2）进行qRT-PCR试验。

表2 基因引物序列

|  |  |
| --- | --- |
| 引物名称 | 引物序列（5′-3′） |
| *ACTIN*-F | CTCTCCCGCTATGTATGTCGC |
| *ACTIN*-R | GAAACCCTCGTAGATTGGCA |
| *PR*1-F | GTGCCAAAGTGAGGTGTAACAA |
| *PR*1-R | CGTGTATGCATGATCACATC |
| *PR*2-F | CTTAGCCTACCACCAATGTTG |
| *PR*2-F | TCCCGTAGCATACTCCGATTTG |
| *PDF*1.2-F | CTTATCTTCGCTGATCTTGT |
| *PDF*1.2-R | CGTAACAGATACACTTGTGTGC |
| *ERF*1-F | ACCGCTCCGTGAAGTTAGAATG |
| *ERF*1-R | ATCCTAATCTTTCACCAAGTCCAC |
| *WRKY*29-F | ACCCTTTCTCCACACAAACG |
| *WRKY*29-R | TGGGTTTCTGCCCGTATTTA |

2 结果与分析

2.1 微生物菌剂对小麦生长的影响

从表3可以看出，与对照相比，微生物菌剂能够显著提高小麦的株高和次生根数，其中，复合微生物菌剂表现最佳。单一施用组中，胶冻样芽孢杆菌施用后小麦株高和次生根数的增加量相比于其他两个菌剂更大。药剂对照组也能够显著提升小麦株高，但是会减少次生根数量。

表3 微生物菌剂对小麦生长指标的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 处理 | 株高/cm | 次生根数 |
| CK | 12.7 e | 20.2 d |
| Dif | 22.9 a | 18.5 e |
| B1 | 18.5 c | 25.1 b |
| B2 | 19.2 c | 29.4 a |
| B3 | 15.7 d | 23.9 c |
| Bmix | 19.9 b | 30.7 a |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

注：同列数据后无相同小写字母的表示组间存在显著差异（*P*<0.05）。表4~5同。

2.2 微生物菌剂对小麦产量的影响

从表4可以看出，与对照相比，微生物菌剂能够显著提高小麦的产量，其中，复合微生物菌剂表现最佳，增产率达到59.4%。单一施用组中，胶冻样芽孢杆菌的施用对小麦产量的增加相比于其他两个菌剂更大。药剂对照组也能够显著提升小麦产量，这可能与其杀菌效果有关，能够抑制小麦病害发生从而达到产量提升的目标。

表4 微生物菌剂对小麦产量的影响

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 处理 | 有效穗数/(万·hm-2) | 穗粒数 | 千粒重/g | 产量/(kg·hm-2) | 增产率/% |
| CK | 560 e | 33.6 c | 38.4 c | 6 141.5 e | 0 |
| Dif | 690 a | 38.5 a | 43.6 a | 9 845.0 a | 60.3 a |
| B1 | 620 d | 35.6 ab | 41.2 b | 7 729.6 c | 25.9 c |
| B2 | 630 c | 36.4 a | 42.5 ab | 8 284.2 b | 34.9 b |
| B3 | 590 e | 33.9 c | 39.1 bc | 6 647.3 d | 8.2 d |
| Bmix | 660 b | 38.7 a | 45.1 a | 9 791.5 a | 59.4 a |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

2.3 微生物菌剂对小麦病情的影响

从表5可以看出，与对照相比，微生物菌剂能够显著降低小麦多种病害，其中，复合微生物菌剂表现最佳，对根腐病、全蚀病和纹枯病的防治效果分别达到68.9%、69.8%和63.4%。单一施用组中，胶冻样芽孢杆菌的施用对小麦土传病害防治效果相比于其他2个菌剂更佳。药剂对照组相比于微生物菌剂防治效果更加，复合微生物菌剂能够与其具有相近的效果。

表5 微生物菌剂对小麦病情的影响

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 处理 | 根腐病 | 全蚀病 | 纹枯病 |
| 病害指数 | 防治效果(%) | 病害指数 | 防治效果(%) | 病害指数 | 防治效果(%) |
| CK | 21.9±1.7a | / | 10.6±1.2a | / | 31.4±5.6a | / |
| Dif | 5.6±0.6e | 74.4±0.2a | 0.9±0.0e | 91.5±0.0a | 10.7±2.5c | 65.9±1.2a |
| B1 | 16.7±0.9c | 23.7±0.3d | 8.7±0.3b | 17.9±0.1d | 23.6±3.6b | 24.8±1.3c |
| B2 | 13.2±0.7d | 39.7±0.2c | 5.2±0.6c | 50.9±0.3c | 18.7±2.7 | 40.4±1.6b |
| B3 | 19.8±0.8b | 9.6±0.4e | 9.8±1.1a | 7.5±0.5e | 25.7±5.6b | 18.2±2.7d |
| Bmix | 6.8±0.2e | 68.9±0.1b | 3.2±0.5d | 69.8±0.2b | 11.5±2.4c | 63.4±1.1a |

2.4 微生物菌剂对小麦免疫基因表达的影响

为观察微生物菌剂对小麦免疫力的影响，利用qRT-PCR技术分析了5个关键免疫基因的表达量（图1）。所有微生物菌剂施用组都能够上调多个小麦免疫基因的表达。单一微生物菌剂处理中，巨大芽孢杆菌促进免疫表达的能力均显著小于枯草芽孢杆菌和胶冻样芽孢杆菌。枯草芽孢杆菌在对*PDF*1.2、*WRKY*29基因表达的上调作用高于其他两种菌剂单独施用，而胶冻样芽孢杆菌对*PR*1、*PR*2基因表达的上调作用在单独微生物菌剂施用组中最大。相比于单独施用微生物菌剂，复合微生物菌剂对小麦免疫能力的提升更大。*PR*1、*PR*2、*PDF*1.2、*ERF*1、*WRKY*29基因在复合微生物菌剂处理组中表达量分别为空白对照组的3.4、2.8、1.5、3.9、5.8倍。与微生物菌剂处理不同，药剂对照组中部分小麦免疫基因相比于空白对照组显著下调，包括*PR*1（下调40.4%）和*WRKY*29（下调49.7%）。



同一基因不同柱子上无相同小写字母表示处理间具有显著差异（*P*<0.05）

图1 微生物菌剂对小麦免疫基因表达的影响

3 小结与讨论

小麦土传病害，包括本试验中重点考虑的根腐病、全蚀病以及纹枯病是造成小麦产量降低的重要原因。近年来，由于秸秆还田新耕作方式的推广，反而增加了土壤中有害病原体的丰度，造成小麦土传病害发病率的不断提升[7]。本试验中使用的试验田具有秸秆还田史，其中，空白对照组小麦根腐病、全蚀病以及纹枯病病情严重，进一步证实了秸秆还田对土传病害的不利影响。

化学药剂的施用，主要是杀菌剂，如本试验药剂对照组中施用的苯醚甲环唑，会产生一系列不利后果。比如本试验结果表明，杀菌剂的施用虽然由于其更直接的杀菌作用促进小麦病害的防治以及产量的提升，但是并不能提升小麦的免疫能力。相反，杀菌剂的施用会降低小麦根部生长以及部分免疫功能，不利于后代的生长。除此之外，化学药剂的施用会在环境中产生药物残留，造成环境污染，也会引起病原体的耐药性，不利于防治工作的持续开展[8]。

本试验结果表明，微生物菌剂均能够显著提升小麦株高和次生根数，这两个生长指标分别对应了地上部分和地下部分的生长情况。此外，微生物菌剂能够显著提升小麦的产量。先前已有诸多研究表明，有益微生物菌剂的施用能够促进植物的生长与产量。王剑等[9]研究表明，在有机肥施用过程中配施解淀粉芽孢杆菌能够显著提升大棚草莓的成活率及产量，并能够有效改良土壤。侯栋等[10]在辣椒生长过程中，利用功能型混合微生物菌剂配施化肥的方式成功达到了化肥减量增效的目标。李文略等[11]研究结果也表明，微生物菌肥不仅能够提高绿芦笋产量，还能进一步提升其品质，主要表现在可溶性蛋白和可溶性糖含量的增加。

利用微生物菌剂进行植物病害防治的研究已有较多报道，尤其是芽孢杆菌。王丽丽等[12]从黄瓜枯萎病高发地区的健康土壤中分离得到了芽孢杆菌菌株15，室内和室外试验结果一致地表明该菌株能够显著抑制甜瓜根腐病与西瓜枯萎病。常娜等[13]以枯草芽孢杆菌和胶冻样芽孢杆菌为试验菌株，验证了其对不同地区小麦纹枯病、根腐病以及全蚀病的抑制作用，指出微生物菌剂对病原菌的拮抗作用和对小麦营养吸收的促进作用可能是缓解小麦病情的主要原因。

本试验结果也揭示了化学药剂与微生物菌剂缓解小麦病害的不同机制。化学药剂主要依赖于对病原体的直接消杀作用，从而达到防治病害的作用。而微生物菌剂则能够促进小麦免疫应答，从而增强小麦对病原体的抵抗能力。先前研究也有类似报道，在康乃馨根中接种荧光假单胞菌WCS417r，显著增强了康乃馨对尖孢镰刀菌的抗性，并增强了病原菌感染部位植物抗菌素的积累[14]。为蒺藜苜蓿接种丛枝菌根真菌增加了其对黄单胞菌的抗性[15]。Pieterse等[16]在2014年的开创性研究中发现，有些病原菌与有益菌没有直接联系，表明植物抗病是通过植物调节的免疫应答引起的。有益微生物相关分子是常见的免疫激发子，如几丁质、鞭毛蛋白和脂多糖，它们可以被植物模式识别受体感知从而激发相应的免疫反应。有些微生物能够分泌植物激素（如生长素与细胞分裂素）而被植物激素信号识别。

本试验结果还表明，不同微生物菌剂对小麦抗病性的影响程度不同，3种不同假单胞菌菌剂单独施用时，胶冻样芽孢杆菌对小麦病情的防治效果最佳。将不同的微生物菌剂进行复合施用，能够达到协同的效果，从而最优化小麦病害防治效果。Raupach等[17]研究中也有类似结果报道，由短小芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和乳酸杆菌组成的有益菌群能够产生协同效应，增强了黄瓜对病原体的抗性。

参考文献：[1] SAVARY S, FICKE A, AUBERTOT J N, et al. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security[J]. Food Security, 2012, 4(4): 519-537.[2] AKTAR W, SENGUPTA D, CHOWDHURY A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards[J]. Interdisciplinary Toxicology, 2009, 2(1): 1-12.[3] SYED AB RAHMAN S F, SINGH E, PIETERSE C M J, et al. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens[J]. Plant Science, 2018, 267: 102-111.[4] BENEDUZI A, AMBROSINI A, PASSAGLIA L M P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents[J]. Genetics and Molecular Biology, 2012, 35(4 (suppl)): 1044-1051.[5] ALABOUVETTE C, OLIVAIN C, STEINBERG C. Biological control of plant diseases: the European situation[J]. European Journal of Plant Pathology, 2006, 114(3): 329-341.[6] 张妍. 小麦常见病害症状及防治方法[J]. 现代农村科技, 2022(4): 33.

[7] 王瑛, 郭梅燕, 郭书磊, 等. 玉米收割机机械化作业对后茬小麦生长的影响[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(2): 273-276.

[8] 秦立新. 农田土壤中的农药残留对农产品安全的影响研究进展[J]. 农业开发与装备, 2021(11): 111-112.

[9] 王剑, 连瑛, 王笑, 等. 有机肥配施微生物菌剂对草莓生长和土壤肥力的影响[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(11): 2197-2200.

[10] 侯栋, 蒯佳琳, 岳宏忠, 等. 利用功能型混合微生物菌剂替代部分化肥对日光温室辣椒生长及品质的影响[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(9): 1736-1739.

[11] 李文略, 熊晖, 陈常理, 等. 微生物菌肥对绿芦笋丰岛1号产量和品质的影响[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(2): 212-214, 247.

[12] 王丽丽, 朱诗君, 金树权. 菌株15对甜瓜根腐病和西瓜枯萎病的防效[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(1): 116-118.

[13] 常娜, 张雪娇, 马璐璐, 等. 微生物菌剂对小麦生长及土传病害预防效果的影响[J]. 作物杂志, 2017(1): 155-160.

[14] VAN PEER R. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by*Pseudomonas*sp. strain WCS417r[J]. Phytopathology, 1991, 81(7): 728.[15] SMIGIELSKI L, LAUBACH E M, PESCH L, et al. Nodulation induces systemic resistance of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum* against *Erysiphe pisi* and primes for powdery mildew-triggered salicylic acid accumulation[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2019, 32(9): 1243-1255.[16] PIETERSE C M J, ZAMIOUDIS C, BERENDSEN R L, et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes[J]. Annual Review of Phytopathology, 2014, 52: 347-375.[17] RAUPACH G S, KLOEPPER J W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens[J]. Phytopathology, 1998, 88(11): 1158-1164.

英文标题：Effect of microbial agents on disease resistance in wheat

责任编辑：

1. 收稿日期：2022-05-06

基金项目：

作者简介：丁钱华（出生年份—），性别，籍贯，职称，学历，研究方向，E-mail：。 [↑](#footnote-ref-1)