



高崇,赵伟,孙立娟,等. 延边烟草猝倒病病原菌鉴定及药剂防治[J]. 黑龙江农业科学,2022(7):61-64,65.

延边烟草猝倒病病原菌鉴定及药剂防治

高崇¹,赵伟²,孙立娟¹,安承荣¹,李荣生²,张大志³,吴国贺¹

(1. 延边州农业科学院烟草研究所,吉林龙井 133400; 2. 吉林省烟草公司长春市公司,吉林长春 130000; 3. 吉林省烟草公司延边州公司,吉林延吉 136200)

摘要:为明确延边地区烟草猝倒病病原菌种类并开展科学的药剂防控,依据培养性状及形态特征对病原菌进行鉴定,采用菌丝生长速率法测定 15 种杀菌剂对病原菌的毒力,并开展 25% 噁菌酯 SC 防效试验。结果表明,引起延边烟草猝倒病的病原菌为瓜果腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*);25% 噁菌酯 SC 毒力最高, $EC_{50} \leq 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其 1 000 倍液平均防效达 84.00%,与对照药剂处理差异显著。因此,25% 噁菌酯 SC 可以作为烟草猝倒病的防治药剂或轮换药剂。

关键词:延边;烟草猝倒病;瓜果腐霉菌;病原鉴定

延边州地处吉林省东部,种植烟草历史悠久,生产的烟叶深受卷烟企业喜爱。烟草猝倒病是该地区烟草母床期的主要病害^[1-2]。随着集约化、工厂化等先进育苗技术的广泛应用,极大减轻了病害的发生,但若遇低温多雨天气或由于苗床排灌不畅引发湿度过大时,仍可造成较大危害。据报道,该病害病原为腐霉属(*Pythium*)真菌,主要由真菌瓜果腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*)、德巴利腐霉(*P. debaryanum*)、终极腐霉(*P. ultimum*)引起,此外还有畸雌腐霉(*P. irregulare*)、群结腐霉(*P. myriotylum*)和德地腐霉(*P. deliense*)等^[3]。王家和^[4]从云南省 11 个烟区 286 份根茎病害(土壤)样品中分离、鉴定了 35 个菌株,其中瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)为优势种群,对烟草致病性最强;陈志敏等^[5]采用诱捕法从烟田土壤中分离到 1 株腐霉(*Pythium* spp.),形态特征和培养性状鉴定表明该菌株为瓜果腐霉(*P. aphanidermatum*)。目前,鲜见延边烟草猝倒病相关报道,本研究对其进行病原菌种类鉴定,并开展室内药剂毒力测定,以期对病害的有效防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病原菌鉴定

1.1.1 供试病原菌收集、分离与纯化 供试病残

体采自吉林省延边州农业科学院烟草研究所温室苗圃,2020 年 3 月 29 日采用常规组织分离方法获得纯培养菌株。

1.1.2 病原菌致病性测定 将纯化菌株接种在 9 cm 的 PDA 平板上,25℃ 培养 2 d 后用灭菌打孔器沿菌落边缘打取 5 mm 的菌饼,将菌饼放置烟草幼苗茎基部,保湿培养 5 d 后观察其发病情况;另取 5 mm 空白 PDA 培养基接种作对照。

1.1.3 病原菌培养性状及形态学观察 将菌株重新接种于 PDA 培养基上,25℃ 条件下培养,逐日观察培养基上菌落特征、颜色变化及菌丝的疏密程度。在光学显微镜下,观察菌丝形态、颜色、有无分隔,产孢结构及孢子形状和大小等^[6]。

1.2 药剂毒力测定

1.2.1 供试药剂 供试药剂均为市售,详细信息见表 1。

1.2.2 测定项目及方法 采用生长速率法测定 15 种不同药剂对病原菌的抑制率^[7]。将上述药剂分别配制成质量浓度为 1×10^3 , 1×10^2 , 1×10^1 , 1×10^0 , 1×10^{-1} 和 $1 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含药平板,3 次重复。用内径为 5 mm 的打孔器在预先培养 48 h 的菌落边缘打菌饼,放入含药平板中央,以不加药剂的平板接菌饼为对照,置于 25℃ 恒温箱中培养。培养 24 h 后,用十字交叉法测量菌落直径,记录数据。查机率值与抑菌率换算表,用最小二乘法建立毒力回归方程 $Y = A + BX$ 。当 $Y = 5.00$,求 X 值得负对数即为 EC_{50} 值, EC_{50} 值越小,说明抑菌效果越好。

抑制率(%) = (对照组菌落直径 - 处理组菌落直径) / (对照组菌落直径 - 菌饼直径) × 100

收稿日期:2022-03-25

基金项目:中国烟草总公司吉林省公司项目“吉林省烟草有害生物调查研究”(2010J83 号)。

第一作者:高崇(1981—),男,硕士,副研究员,从事烟草有害生物综合治理研究。E-mail:421067814@qq.com。

通信作者:吴国贺(1972—),男,学士,研究员,从事烟草育种植保研究。E-mail:379500255@qq.com。

表 1 供试药剂

序号	药剂有效成分	剂型	生产商
1	40%苯醚甲环唑	SC 悬浮剂	美国斯特贝尔作物保护(西安)有限公司
2	40%咯霉胺	SC 悬浮剂	福建新农大正生物工程有限公司
3	30%吡唑醚菌酯	SC 悬浮剂	美国斯特贝尔作物保护(西安)有限公司
4	25%啉菌酯	SC 悬浮剂	南通泰禾化工有限公司
5	25%乙啶酚磺酸酯	ME 微乳剂	美国斯特贝尔作物保护(西安)有限公司
6	25%己唑醇	SC 悬浮剂	深圳诺普信农化股份有限公司
7	10%多抗霉素	WP 可湿性粉剂	德国奥利恩作物保护有限公司
8	50%啉酰菌胺	WG 水分散粒剂	德国奥利恩作物保护有限公司
9	50%戊唑·咪鲜胺	EW 水乳剂	美国斯特贝尔作物保护(西安)有限公司
10	80%烯酰吗啉	WG 水分散粒剂	德国奥利恩作物保护有限公司
11	50%醚菌酯	WG 水分散粒剂	北京中农弘露科技发展有限公司
12	70%甲基硫菌灵	WP 可湿性粉剂	东莞市瑞德丰生物科技有限公司
13	75%百菌清	WP 可湿性粉剂	深圳诺普信农化股份有限公司
14	42.8%氟菌·肟菌酯	SC 悬浮剂	美国斯特贝尔作物保护(西安)有限公司
15	50%福美双	WP 可湿性粉剂	山西科力科技有限公司

1.3 25%啉菌酯 SC 防效试验

采用室内抑菌效果较好的 25% 啉菌酯 SC 1 000 倍液开展小区防效试验,以喷施无菌水为空白 CK,以恶霉灵 3 000 倍液为药剂 CK。

苗床为 50 cm×25 cm 规格育苗盘,育苗基质采用往年常发生烟草猝倒病的床土,小区面积为 16.67 cm,随机排列,每小区播种量为 100 粒种子。用无菌水喷淋洗透待播种苗床,之后进行播种,其上铺盖白色地膜保温保湿,其他苗期管理同常规生产用苗,3 次重复。从苗床发病开始进行处理区和空白 CK 区发病率初期调查,之后用 1 000 倍液 25% 啉菌酯 SC 喷施处理区,每间隔 7 d 喷施 1 次,连续喷施 2 次,最后 1 次喷施结束后 3 d 进行发病率终期调查,计算防效。

防效(%)=[1-(处理小区终期发病率-处理小区初始发病率)]/(空白对照小区终期发病率-空白对照小区初期发病率)×100

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 统计整理数据,采用 SPSS 22.0 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 病原菌鉴定

2.1.1 致病性测定 当幼苗长出两片子叶后,进行病原菌接种。由图 1 可知,接种 5 d 后,幼苗倒

伏,茎基部缢缩变细,呈褐色水渍状软腐,子叶仍为绿色,在病苗周围可见密生一层白色絮状菌丝。

2.1.2 病原菌形态鉴定 在 PDA 培养基上菌落呈圆形,菌丝白色、絮状,不产生色素,气生菌丝发达(图 2A)。400 倍显微镜下观察病原菌菌丝发达、无色透明、无分隔,病原菌菌丝显微形态孢子囊顶生或间生,呈条状或有瓣状分枝;卵孢子球形,表面光滑,壁厚,有明显的液泡(图 2B);藏卵器顶生,球形,雄器有柄,顶生或间生(图 2C)。

依据致病性测定、形态特征及培养性状鉴定得出,该病原菌为瓜果腐霉菌[*Pythium aphanidermatum*(Edson) Fritzpatrick]^[6]。

2.2 药剂毒力测定

各处理药剂对瓜果腐霉菌(*P. aphanidermatum*)的毒力测定结果表明,在 15 种测试药剂中,25%啉菌酯 SC 对瓜果腐霉的毒力最高,其 EC₅₀≤0.01 mg·L⁻¹;50%啉酰菌胺 WG、42.8%氟菌·肟菌酯 SC、50%福美双 WP、50%醚菌酯 WG、30%吡唑醚菌酯 SC、75%百菌清 WP、80%烯酰吗啉 WG、40%咯霉胺 SC、25%乙啶酚磺酸酯 ME、40%苯醚甲环唑 SC 对瓜果腐霉毒力次之,其 EC₅₀为 1.179 5~8.629 8 mg·L⁻¹;25%己唑醇 SC、50%戊唑·咪鲜胺 EW、70%甲基硫菌灵 WP、10%多抗霉素 WP 对瓜果腐霉毒力较差,其 EC₅₀为 55.308 1~704.262 7 mg·L⁻¹(表 2)。

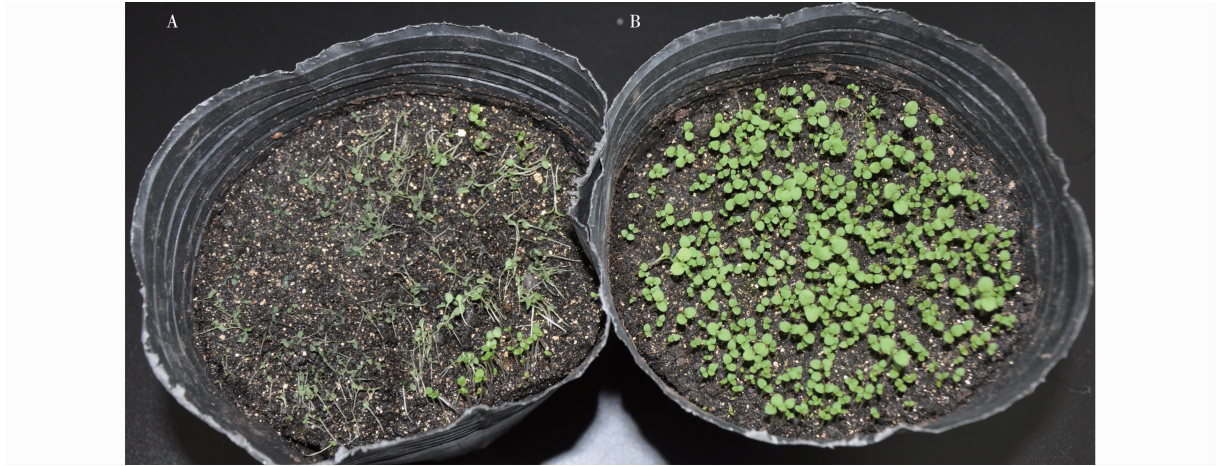


图 1 烟草幼苗接种病原菌 5 d 后发病(A)与对照(B)处理

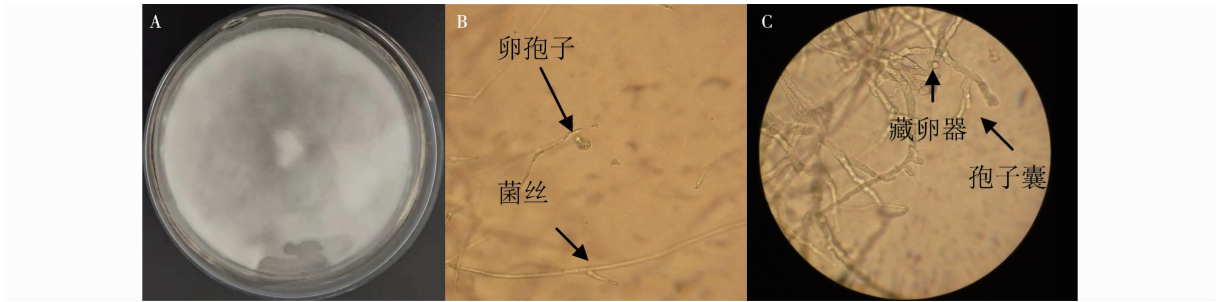


图 2 PDA 培养基上病原菌培养性状(A)与卵孢子(B)和藏卵器(C)显微形态

表 2 15 种杀菌剂对瓜果腐霉菌的毒力回归方程

杀菌剂	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)
25%啭菌酯 SC	$y=11.0086x+0.3118$	0.8388 ± 0.103	0.0043
50%啖酰菌胺 WG	$y=4.4906x+0.1436$	0.0970 ± 0.073	1.1795
42.8%氟菌·肟菌酯 SC	$y=4.3715x+0.4615$	0.3618 ± 0.125	1.3861
50%福美双 WP	$y=4.4923x+0.0145$	0.7880 ± 0.093	1.6717
50%醚菌酯 WG	$y=4.5961x+0.7545$	0.3137 ± 0.112	1.7670
30%吡唑醚菌酯 SC	$y=5.1071x+0.3161$	0.1014 ± 0.101	1.9087
75%百菌清 WP	$y=6.9904x+0.1526$	0.9838 ± 0.132	2.1640
80%烯酰吗啉 WG	$y=4.5240x+0.7839$	0.7158 ± 0.084	2.3563
40%啭霉胺 SC	$y=8.3535x+0.2613$	0.8075 ± 0.123	2.6660
25%乙啶酚磺酸酯 ME	$y=5.1815x+0.3928$	0.1504 ± 0.067	8.4391
40%苯醚甲环唑 SC	$y=4.5265x+0.6599$	0.2735 ± 0.075	8.6298
25%己唑醇 SC	$y=6.1230x+0.1146$	0.8610 ± 0.094	55.3081
50%戊唑·咪鲜胺 EW	$y=5.1346x+0.0152$	0.7584 ± 0.143	143.6518
70%甲基硫菌灵 WP	$y=5.1903x+0.0645$	0.8317 ± 0.175	523.6059
10%多抗霉素 WP	$y=5.6768x+0.0932$	0.7057 ± 0.324	704.2627

2.3 25%噁菌酯 SC 防效试验

由表 3 可知,25%噁菌酯 SC 1 000 倍液对烟草猝倒病平均防效为 84%,与对照药剂处理防效差异达极显著水平($P\leq 0.01$)。

表 3 25%噁菌酯 SC 1 000 倍液对烟草猝倒病防治效果

处理	播种量	平均发病株数	平均防效/%
25%噁菌酯 SC 1000 倍液	100	4.33	84.00±0.00 aA
恶霉灵 3000 倍液	100	13.00	60.50±2.50 cBC
空白(CK)	100	30.00	-

注:不同大小写字母表示在 $P\leq 0.01$ 水平和 $P\leq 0.05$ 水平差异显著。

3 讨论

目前,针对烟草猝倒病的防治以药剂拌苗床土壤为基础,发病后撒施草木灰、干土或喷施化学药剂为辅助防治手段。本试验采用多种新型杀菌剂对烟草猝倒病病原菌(*Pythium aphanidermatum*)进行了室内药剂毒力测定,从中筛选出 25%噁菌酯 SC、50%啮酰菌胺 WG、42.8%氟菌·肟菌酯 SC、50%福美双 WP、50%醚菌酯 WG、30%吡唑醚菌酯 SC、75%百菌清 WP、80%烯酰吗啉 WG、40%噁霉胺 SC、25%乙噁酚磺酸酯 ME、40%苯醚甲环唑 SC 共 11 种室内毒力效果较好的药剂,其中 25%噁菌酯 SC 效果最佳,其 $EC_{50}\leq 0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。李长江等^[8]采用 58%甲霜灵锰锌、张正林等^[9]采用广枯灵、钱忠海等^[10]采用辛菌胺防治烟草猝倒病均取得了较好的防效,受地域限制,本次试验未能购买到上述药剂开展相应试验,有待后续研究中进行补充完善。

除开展 15 种药剂室内毒力测定外,对室内毒力测定效果较好的 25%噁菌酯 SC 开展小区防效试验,其平均防效为 84.00%,好于对照处理药剂平均防效(60.50%),可将研究结果引入到该病害的防控中,丰富防治药剂种类,避免长期单一施药引发病原菌抗性增强,造成生产成本提高。25%噁菌酯 SC 杀菌谱广泛,目前生产中已用于防治

黄瓜霜霉病、水稻纹枯病、辣椒疫病、番茄晚疫病、瓜类蔓枯病等病害,对子囊菌、担子菌、半知菌和卵菌纲中的绝大部分病原菌均有效果。然而,因杀菌剂防效受施药自然环境因素影响较大,在实际生产中应用该药剂防治病害时需开展小区防控试验,明确其防效及有无药害发生,进而开展大面积田间防控工作。

4 结论

依据致病性测定、形态特征及培养性状鉴定得出,引起延边州烟草猝倒病的病原菌为瓜果腐霉菌 [*Pythium aphanidermatum* (Edson) Fritzpatrick];25%噁菌酯 SC 对其室内毒力最高,其 $EC_{50}\leq 0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,1 000 倍液小区试验平均防效达 84.00%,可以作为烟草猝倒病的防治药剂或轮换药剂。

参考文献:

[1] 崔昌范,单佳杰,张贵峰,等.吉林省烟草有害生物图鉴[M].长春:吉林科学技术出版社,2016.

[2] 高崇,高玉亮,吴国贺,等.吉林省烟草有害生物种类及分布情况调查[J].黑龙江农业科学,2016(11):77-81.

[3] 朱贤朝,王彦亭,王智发,等.中国烟草病害[M].北京:中国农业出版社,2002.

[4] 王家和.云南烤烟腐霉菌种类、分布及致病性研究[J].云南农业大学学报,1997,12(2):97-102.

[5] 陈志敏,吴昊鑫,曾慧芳,等.烟田瓜果腐霉的分离鉴定及其拮抗木霉菌株的筛选[J].福建农林大学学报(自然科学版),2009,38(1):11-15.

[6] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1979.

[7] 方中达.植病研究法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998.

[8] 李长江,李士杰,李剑,等.58%甲霜灵锰锌防治烟草苗期猝倒病药效研究[J].农业与技术,1999,19(5):56-58.

[9] 张正林,黄荣茂,肖辉辉,等.广枯灵对烟草猝倒病等病害的防治研究[J].云南农业大学学报,1998,13(1):115-117.

[10] 钱忠海,李涛,段亚冰.烟草猝倒病菌对辛菌胺的敏感性及抗性初探[J].现代农药,2021,20(4):61-64.



张抒,范国权,董学志,等.马铃薯银屑病形态学鉴定及分子生物学检测[J].黑龙江农业科学,2022(7):65-69.

马铃薯银屑病形态学鉴定及分子生物学检测

张抒¹,范国权¹,董学志¹,高艳玲¹,魏琪¹,孙晶¹,刘凯²

(1. 黑龙江省农业科学院 经济作物研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;2. 黑龙江省农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为促进马铃薯银屑病的分子生物学检测,从内蒙古牙克石地区马铃薯库房中采集了疑似马铃薯银屑病的样品,进行形态学鉴定,并对马铃薯银屑病分子生物学检测方法进行了筛选。结果表明,经形态学观察,块茎样品病斑特征符合“GB/T 28093—2001 马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法”中描述的病斑特征及病原菌特征。进一步利用常规 PCR 和巢式 PCR 对疑似样品进行了检测,两种方法均可扩增出特异性目的条带。目的序列经过测序,其序列与 CBS640.85 菌株(MH861907.1)序列的相似度达到 100%。经形态学及分子生物学鉴定,可以证明在内蒙古牙克石地区马铃薯库房中采集的疑似马铃薯银屑病样品确为马铃薯银屑病,同时也证明本研究中采用的常规 PCR 和巢式 PCR 方法均可用于马铃薯银屑病的检测。

关键词:马铃薯;银屑病;PCR;巢式 PCR

马铃薯银屑病(Potato Silver Scurf),又称银色粗皮病,由茄长蠕孢菌(*Helminthosporium solani* Dur. & Mont)引起^[1],为真菌界(Fungi),有丝分裂孢子真菌(Mitosporic Fungi)的长蠕孢属,茄长蠕孢菌。在世界范围内广泛分布,是一种在马铃薯仓储期比较常见的病害,可以通过带病

土壤和种薯传播。马铃薯银屑病也曾被列入《全国农业植物检疫性有害生物分布行政区名录》。马铃薯银屑病最早在 1871 年莫斯科被报道,随后智利、加拿大、摩洛哥、印度、英国、美国等多个国家相继发现了该病害。Ryu 等^[2]2001 年在云南省昆明、楚雄、寻甸和昭通等地发现了马铃薯银屑病,并对马铃薯银屑病的培养性状和形态学特征进行了研究。据报道,2007 年河北围场也发现了马铃薯银屑病^[3]。该病害之所以被称为银屑病,是因为其损伤大部分呈银色,有时周皮外层也可呈青铜色或金色,这是由于周皮细胞色素损失,导

收稿日期:2022-04-20

基金项目:黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”专项(HNK2019CX19-06)。

第一作者:张抒(1984—),男,硕士,助理研究员,从事马铃薯病虫害检测及研究。E-mail:88075700@qq.com。

Pathogen Identification and Medicament Control of Tobacco Damping-off in Yanbian

GAO Chong¹, ZHAO Wei², SUN Li-juan¹, AN Cheng-rong¹, LI Rong-sheng², ZHANG Da-zhi³, WU Guo-he¹

(1. Tobacco Institute, Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Longjing 133400, China; 2. Changchun Branch, Jilin Tobacco Corporation Company, Changchun 130000, China; 3. Yanbian Branch, Jilin Tobacco Corporation Company, Yanji 136200, China)

Abstract: In order to clarified the species of pathogens causing tobacco damping-off in Yanbian and carried out scientific pesticide prevention and control, identification of pathogens by cultivation properties and morphological characteristics identification was carried, and toxicity of 15 fungicides to pathogen were determined by mycelium growth rate method, with controlled effect experiment of 25% azoxystrobin SC. The results showed that pathogen causing tobacco damping-off disease in Yanbian was *Pythium aphanidermatum*, 25% azoxystrobin SC had the highest toxicity, $EC_{50} \leq 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the average control effect of its 1 000-fold solution reached 84.00%, which was significantly different from that of the control treatment. Therefore, 25% azoxystrobin SC can be used as a control agent or a rotation agent for tobacco damping-off.

Keywords: Yanbian; tobacco damping-off; *Pythium cucurbitum*; pathogen identification