

红花根腐病病原菌鉴定及药剂敏感性研究

翟亚娟^{1,2}, 白庆荣¹, 高洁¹, 范红艳¹, 孙占军²

(1. 吉林农业大学, 吉林 长春 130118; 2. 辽源市农业科学院, 吉林 辽源 136200)

摘要: 为了有效防治红花根腐病, 对吉林农业大学生物反应器研究中心药用植物基地的红花根腐病病原菌进行分离鉴定及 10 种防治药剂筛选研究。结果表明: 经组织分离和纯化后获得 6 个有致病性的菌株, 并且均为茄病镰刀菌。茄病镰刀菌对农利灵、施保功、甲基托布津、氟硅唑、苯醚甲环唑的敏感性较高, $EC_{50} < 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对多菌灵、速克灵、代森锰锌的敏感性次之, $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} < EC_{50} < 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对扑海因和咪鲜胺的敏感性较差。

关键词: 红花根腐病; 茄病镰刀菌; 敏感性

中图分类号: S435.672

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2013)08-0059-03

红花(*Carthamus tinctorius* L.) 属菊科一年生草本药用植物, 原产埃及, 我国东北三省以及新疆、河南、四川、浙江等大部分地区均有栽培。红花以花入药, 苦、辛、性温, 有活血通经、祛瘀止痛的功效^[1]。红花根腐病是危害红花根部的主要病害, 分布较广, 红花各产区均有发生, 发病初期基部叶片萎缩, 逐渐向上发展, 严重时在 3~4 d 表现全株枯萎^[2]。病株基部和主根变成黑褐色, 主根的维管束变褐色或茎皮纵裂, 直至基部皮层腐烂, 植株死亡。干枯时病部出现粉红色霉层^[3]。随着红花栽培面积的迅速发展, 根腐病日趋严重, 造成严重减产, 给红花生产带来了巨大的损失^[4]。为此, 对吉林农大学生物反应器研究中心药用植物基地对红花根腐病发生危害情况进行调查发现, 根腐病发病率达 40%~50%, 该试验对其病原菌进行了分离、纯化和鉴定, 分离到的菌株均为茄病镰刀菌 [*Fusarium sloani* (Mart.) App. et Wr.], 并对其进行了室内药剂筛选, 以期为该病害的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 红花根腐病, 由吉林农业大学生物反应器研究中心药用植物基地提供; 供试菌株为茄病镰刀菌 (*Fusarium sloani*), 由红花根腐病株分离纯化所得。

1.1.2 供试药剂 95% 甲基托布津原药 (浙江禾本农药化工有限公司), 97% 咪鲜胺原药 (江苏辉丰农化股份有限公司), 10% 世高水分散粒剂 (先正达投资有限公司), 50% 施保功可湿性粉剂 (拜耳作物科学公司), 50% 速克灵可湿性粉剂 (日本住友化学工业株式会社), 50% 多菌灵可湿性粉剂 (山东荣邦化工有限公司), 70% 代森锰锌可湿性粉剂 (利民化工有限责任公司), 50% 农利灵分散粒剂 (德国巴斯夫股份有限公司), 50% 扑海因可湿性粉剂 (拜耳作物科学公司), 40 g·L⁻¹ 福星乳油 (美国杜邦公司)。

1.1.3 培养基 PDA 培养基 (马铃薯葡萄糖培养基): 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15~20 g、水 1 000 mL。

1.2 方法

试验于 2012 年 6 月在吉林农业大学生物反应器研究中心实验室进行。

1.2.1 病原菌的分离与鉴定 (1) 病原菌分离和纯化。红花根腐病病株采自吉林农业大学生物反应器研究中心药用植物基地, 于室内 PDA 平板进行常规组织分离^[5], 25℃ 下纯化培养。(2) 致病性测定。将分离纯化的菌种采用伤根法接种健康红花植株, 以清水为对照, 接种后保湿 24 h, 逐日观察症状表现。(3) 病原菌的形态观察与鉴定。对接发病的菌种, 观察病菌在培养基平板上的菌落形态、生长情况、颜色以及孢子形状和大小。

1.2.2 室内药剂筛选 采用菌丝生长速率法^[6], 比较供试菌株在不同含毒平板上培养时的受抑制程度。将配置好的 PDA 培养基定量 9 mL 置于 50 mL 小三角瓶中, 每个处理使用一瓶, 高压湿热灭菌。将病菌于试验前 72 h, 置 PDA 平板培养基上活化扩繁, 在 25℃ 下恒温培养, 至长满平板,

收稿日期: 2013-03-19

第一作者简介: 翟亚娟 (1978-), 女, 吉林省镇赉县人, 硕士, 农艺师, 从事植物保护研究。E-mail: zhaiyajuan2004@126.com。

通讯作者: 白庆荣 (1975-), 女, 吉林省德惠县人, 博士, 副教授, 从事植物保护研究。E-mail: bbbqqrrr@163.com。

待试验用。

将这 10 种药剂的单剂分别配成 6 种浓度: 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 $1 \times 10^8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,取配制好的药液 1 mL,待加热融化定量的小三角瓶培养基冷却到 $50 \sim 55^\circ\text{C}$ 时,分别加入到各个培养基中,然后倒平板。利用菌丝生长速率法^[6],在 PDA 平板培养基中活化扩繁的菌丝体长满平板后,用直径 8 mm 的打孔器均匀制成直径 8 mm 的菌丝块,用消毒的镊子夹取菌丝块,再将其分别加入到含有农药的 PDA 平板培养基中,以不加药剂为对照,每个浓度 3 次重复。在 25°C 恒温下培养 48 h 后,采用十字交叉法测量菌落直径,记录数据。查机率值与死亡率(抑制率)换算表,求得毒力回归方程,计算出各药剂对病原菌的 EC_{50} ,比较不同药剂的毒力及抑菌作用。

抑菌率(%)=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/(对照组菌落直径-菌碟原始直径) $\times 100$

将 10 种杀菌剂的不同浓度对病菌的抑制率转换成的机率值为变量 Y,每个浓度值的对数值作为自变量 X,利用最小二乘法建立 10 种杀菌剂对茄病镰刀菌的毒力回归方程 $y=a+bx$,求出 EC_{50} 值,该值越小,表明病菌对该药剂敏感性越好。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离与鉴定结果

2.1.1 病原菌分离纯化 在 PDA 培养基上,经

表 1 各种药剂对茄病镰刀菌的毒力回归方程及抑制中浓度(EC_{50})

Table 1 Virulence regression equation and EC_{50} of different fungicides on *Fusarium solani*

药剂名称 Fungicides	毒力回归方程 Equation index	相关系数 Interfix coefficient	EC_{50} / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
农利灵 Ronilon	$y=6.3388-0.0668 x$	0.8528	0.0019
施保功 Sporgon	$y=8.1969-0.1604 x$	0.9770	0.0022
甲基托布津 Thiophanate-methyl	$y=7.7570-0.1735 x$	0.8924	0.1253
氟硅唑 Flusilazole	$y=9.1294-0.2161 x$	0.8939	0.1372
苯醚甲环唑 Difenoconazole	$y=7.5998-0.1781 x$	0.9617	0.4605
多菌灵 Carbendazim	$y=6.3097-0.1003x$	0.8201	2.1219
速克灵 Procymidone	$y=6.4900-0.1174 x$	0.9595	3.0738
代森锰锌 Mancozeb	$y=7.2442-0.1812 x$	0.8488	4.1674
扑海因 Iprodione	$y=6.0402-0.0996 x$	0.8371	29.2528
咪鲜胺 Prochloraz	$y=5.8941-0.1031 x$	0.8678	171.3387

3 结论

研究从采自吉林农业大学生物反应器研究中心药用植物基地种植的红花根腐病株上分离到 6

过多次的分离纯化后,得到 6 个菌株。

2.1.2 致病性测定 通过伤口接种后,分离纯化的红花根腐病的 6 个菌株对健康的红花均有致病力,发病株均表现为典型的枯萎症状,从接种发病的红花上又分离得到与原来分离物相同的菌株。

2.1.3 病原菌的形态观察与鉴定 病原菌有大小两型分生孢子。小型分生孢子为单细胞卵圆形,无隔膜,大小为 $(0.6 \sim 1.8) \mu\text{m} \times (0.38 \sim 0.6) \mu\text{m}$ 。大型分生孢子镰刀型,两端较钝,顶端稍弯,多为 2~3 个隔膜,大小为 $(1.8 \sim 4.4) \mu\text{m} \times (0.6 \sim 0.8) \mu\text{m}$ 。根据其形态特征与《真菌鉴定手册》^[7]中描述的 *Fusarium solani* 一致。结果证明药用植物基地的红花根腐病致病菌为茄病镰刀菌。

在 PDA 平板上培养 2~3 d 后,病原菌丝均为白色,绒状。菌落突起呈稀绒状,平铺,可产生色素,为淡粉紫色。

2.2 茄病镰刀菌对 10 种药剂的敏感性

试验测定了病菌对甲基托布津、咪鲜胺、福美双等 10 种杀菌剂的敏感性,建立了每种药剂对病菌的毒力回归方程。从表 1 中可以看出,各药剂毒力回归方程相关系数均大于 0.811 4。在 10 种杀菌剂中,病菌对农利灵、施保功、甲基托布津、氟硅唑、苯醚甲环唑的敏感性较高, $\text{EC}_{50} < 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;病菌对多菌灵、速克灵、代森锰锌的敏感性次之, $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} < \text{EC}_{50} < 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,病菌对扑海因和咪鲜胺的敏感性较差。

个有致病性的菌株,经过致病性测定和病菌形态学鉴定,将该病菌鉴定为半知菌类茄病镰刀菌(*Fusarium solani*),此病在吉林省的发生未见

报道。

病菌对 10 种杀菌剂的敏感性测定结果表明,病菌对农利灵、施保功、甲基托布津、氟硅唑、苯醚甲环唑的敏感性较高, $EC_{50} < 1 \mu g \cdot mL^{-1}$;病菌对多菌灵、速克灵、代森锰锌的敏感性次之, $1 \mu g \cdot mL^{-1} < EC_{50} < 10 \mu g \cdot mL^{-1}$;对扑海因和咪鲜胺的敏感性较差。

该试验为室内测定结果,各药剂的田间防效还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 张钰,傅俊范,周如军,等.红花黑斑病菌的分离与鉴定[J].

沈阳农业大学学报,2008(2):63-65.

[2] 孔琼,袁盛勇,王云月,等.香荚兰根腐病原茄类镰刀菌的生物学特性[J].山地农业生物学报,2006(6):506-509.

[3] 陆家云.植物病原真菌学[M].北京:中国农业出版社,2001:44.

[4] 董金皋.农业植物病理学[M].北京:中国农业出版社,2001:214-215.

[5] 杨信东.植物病理学基础研究方法[M].长春:吉林农业大学,2006:13.

[6] 方中达.植病研究法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998:64.

[7] 陈鸿逵,王拱辰.浙江镰刀菌志[M].杭州:浙江科学技术出版社,1992:34.

Pathogen Identification and Susceptibility to Fungicides on Safflower Root Rot

ZHAI Ya-juan^{1,2}, BAI Qing-rong¹, GAO Jie¹, FAN Hong-yan¹, SUN Zhan-jun²

(1. Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Liaoyuan Municipal Academy of Agricultural Sciences, Liaoyuan, Jilin 136200)

Abstract: In order to prevent and control safflower root rot effectively, safflower root rot pathogen in bioreactor research center medicinal plant base of Jilin Agricultural University was isolated and identified, at the same time 10 kinds of fungicides were studied. The results showed that six pathogenic strains were obtained through tissue separation and purification, and they were all *Fusarium sloani*. The sensitivity of fungicides were determined by growth rate method, the results showed that the pathogen was the most sensitive to Ronilan, Sporgon, Thiophanate-methyl, Flusilazole and Difenoconazole, ($EC_{50} < 1 \mu g \cdot mL^{-1}$), followed by Carbendazim, Procyimdone and Mancozeb ($1 \mu g \cdot mL^{-1} < EC_{50} < 10 \mu g \cdot mL^{-1}$), while it was less resistant to Iprodione and Prochloraz.

Key words: safflower root rot; *Fusarium sloani*; sensitivity

《黑龙江农业科学》理事会

理事长单位

黑龙江省农业科学院 省农委副主任
省农科院党组书记、院长

副理事长单位

中储粮北方农业开发有限公司 董事长
黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所

黑龙江省农业科学院五常水稻研究所	所长	潘国君
黑龙江省农业科学院克山分院	所长	张广柱
黑龙江省农业科学院黑河分院	院长	邵立刚
黑龙江省农业科学院绥化分院	院长	魏新民
黑龙江农业经济职业学院	院长	陈维元
黑龙江省农垦总局	局长	孙绍年
黑龙江省农业科学院水稻研究所	副局长	徐学阳
勃利县广视种业有限公司	总经理	邓宗环
黑龙江丰丰种业有限公司	总经理	刘显辉
黑龙江农业经济职业学院	副院长	张季中

代表

韩贵清

代表

李录增

潘国君

张广柱

邵立刚

魏新民

陈维元

孙绍年

徐学阳

代表

邓宗环

刘显辉

张季中

内蒙古丰垦种业有限公司

理事单位

黑龙江生物科技职业学院
宁安县农业委员会
农垦科研育种中心哈尔滨研究所
黑龙江农业职业学院
黑龙江畜牧兽医职业学院
鹤岗市农业科学研究所
伊春市农业技术推广中心
甘南县向日葵研究所
萝北县农业科学研究所
齐齐哈尔市自新种业有限公司
黑龙江省农垦科学院水稻研究所
黑龙江八一农垦大学植物科技学院
绥化市北林区农业技术推广中心
黑龙江省齐齐哈尔农业机械化学学校

董事长

徐万陶

代表

院长 李承林
主任 陈庆军
所长 姚希勤
院长 李东阳
院长 包艳明
所长 姜洪伟
主任 郑春江
所长 孙为民
所长 张海军
总经理 陈自新
所长 解保胜
院长 于立河
主任 张树春
校长助理 张北成