

亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌腐霉的抑制作用

徐文凤^{1,2},顾志光^{1,2},任士伟^{1,2},胡红涛¹,胡兆平^{1,2},范玲超^{1,2}

(1.金正大生态工程集团股份有限公司,山东临沂276700;2.养分资源高效开发与综合利用国家重点实验室,山东临沂276700)

摘要:由腐霉菌(*Pythium myriotylum*)引起的生姜茎基腐病是目前危害生姜生产的主要病害,为实现生姜茎基腐病的绿色防治,通过亚磷酸二氢钾的室内毒力测定,观察亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病原菌的抑制作用;采用菌丝生长速率法,测定亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病原菌腐霉以及立枯丝核菌等7种病原菌的抑菌效果。结果表明:亚磷酸二氢钾对小麦纹枯病菌、立枯丝核菌、白菜叶斑病菌、生姜茎基腐病原菌菌丝生长抑制效果较显著,其中亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病原菌菌丝生长抑制效果最好,其次是白菜叶斑病菌,4 g·L⁻¹时抑菌率达84.4%,EC₅₀=0.6326 g·L⁻¹。

关键词:生姜茎基腐病;腐霉;亚磷酸二氢钾;抑菌作用

生姜茎基腐病是由腐霉菌(*Pythium myriotylum*)侵染引起的一种土传病害,是生姜生产主要病害之一。近年,生姜茎基腐病在国内部分生姜栽培区普遍发生,并有发展蔓延的趋势。一般发病率30%~80%,严重时部分地块绝产^[1-5]。发病初期表现为茎基部变黑、腐烂,而地上茎叶仍为绿色,随后老叶变黄萎蔫。盛发期,基部变黑2~3 d后,茎基部完全腐烂,从老姜处齐断,病株

死亡,从2005年开始陆续在山东莱芜、安丘、莱阳等生姜种植区发生,并逐渐上升为主要病害^[6]。

目前国内外对该病害多采用化学农药进行防治^[7-8],由于该病原菌主要存在于土壤,药剂防治很难从根本上防治该病害,而且很可能因药剂用量大带来环境污染及残留问题;而利用根际有益微生物防治该病害虽具有独特优势,但往往在田间试验时防治效果不佳。

有研究认为,亚磷酸盐防病机理为干扰和抑制病菌菌丝生长及产孢,直接保护寄主和间接加速植物体内酚化物或其它抗病物质的产生和积累;亚磷酸对鳄梨根腐病、菠萝心腐病等多种病原真菌具有良好的拮抗防治^[9-10],且亚磷酸在根部被土壤微生物代谢成磷酸,成为作物主要肥料之一,被作物吸收利用。此外,防病用的亚磷酸盐用量少,对环境不会造成污染,应用亚磷酸盐防治植

收稿日期:2018-03-02

基金项目:经济作物专用PGPR微生物肥料创制与产业化示范山东省重大科技专项(新兴产业)资助项目(2015ZDXX0502B02)。

第一作者简介:徐文凤(1985-),女,硕士,工程师,从事农用微生物防治植物病害研究。E-mail:xuwenfeng@kingenta.com。

通讯作者:范玲超(1974-),男,学士,高级工程师,从事微生物肥料研制及应用研究。E-mail:fanlingchao@kingenta.com。

Field Efficacy Experiment of 43% Cyazofamid·Chlorothalonil to Prevent Rice Seedling Blight

ZHAO Bin

(Plant Protection Station of Heilongjiang Province, Harbin 150090, China)

Abstract: Rice seedling blight is one of the main diseases of rice seedlings. In order to clarify the most suitable dose and safety of 43% cyazofamid·chlorothalonil in preventing and controlling rice seedling blight, rice variety Baidao 8 was used as a experimental material to conduct a field efficacy experiment using randomized block design. The results showed that 43% cyazofamid·chlorothalonil was safe to rice seedlings and could promote the growth of plant height. The best control effect against rice seedling blight at the dosage of 0.5 mL·m⁻² was 89.5%, and it could improve the quality of rice seedlings.

Keywords: cyazofamid; chlorothalonil; rice seedling blight; control effect

物病害,可减少农药的用量,维系生态平衡,确保农业可持续发展^[11]。本研究利用亚磷酸二氢钾进行防治生姜茎基腐病,并对其抑菌效果、抑菌机理及其广谱性进行了初步分析,为进一步开展生姜茎基腐病的防治提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 培养基 PDA 培养基:去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 L,培养基在 121 °C,高压蒸汽灭菌 20 min。

1.1.2 供试菌株 以生姜茎基腐病菌(*Pythium myriotylum*)为指示菌,利用常规组织分离法,分离于生姜发病块茎;立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、白菜叶斑病菌(*Alternaria alternata*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia zeae*)等用于抑菌谱测定,所用供试病原菌菌株均由养分资源高效开发与综合利用国家重点实验室保存。

1.1.3 供试药剂 亚磷酸二氢钾,分析纯。

1.2 方法

1.2.1 亚磷酸二氢钾对生姜病原菌毒力测定(室内) 首先将病原菌菌株在 PDA 平板上培养 2 d,用无菌打孔器打取直径 5 mm 的菌饼备用;然后取供试亚磷酸二氢钾,计算有效成分含量,用系列质量浓度稀释法制备 0.67、1、2、4 g·L⁻¹,带毒 PDA 培养基,即在 PDA 培养基中加入称量好的亚磷酸二氢钾,然后进行高压灭菌,备用;每个浓

度处理设置 3 个重复,对照为纯 PDA 培养基,共 5 个处理。

将带毒培养基制备平板,待培养基凝固后接种生姜茎基腐病原菌菌饼,封口 28 °C 恒温培养 2 d。利用十字交叉法测量菌落直径,每个质量浓度重复 3 次,抑菌率按以下公式计算^[12]:

$$\text{抑制率}(\%) = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / \text{对照菌落直径} \times 100$$

用 DPS v7.05 软件进行数据分析,并求得亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌的抑制回归方程 $y = a + bx$ 和抑制中浓度 (EC_{50}) 及相关系数 (r)^[13]。

1.2.2 亚磷酸二氢钾抑菌活性及毒力测定 以立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、白菜叶斑病菌(*Alternaria alternata*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia zeae*)6 种病原真菌为供试菌,采用 1.2.1 所述方法进行抑菌活性测定,每处理 3 次重复。

1.2.3 数据分析 采用 Excel 2007 进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌的抑制效果

由表 1 可知,不同质量浓度的亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌菌丝生长均有不同程度的抑制作用,其抑制率随着质量浓度的增加而增加,当质量浓度为 4 g·L⁻¹ 时,抑菌率最高,达到 84.4%。

表 1 亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌菌丝生长抑制情况

Table 1 The effect of KH_2PO_3 on mycelial growth of ginger stem rot

处理 Treatments	KH_2PO_3 浓度/ (g·L ⁻¹) KH_2PO_3 Concentration	浓度对数值 logarithm	菌落平均直径/cm Average diameter of colonies	抑制率/% Inhibition rate	几率值 Probability value
CK	0	0	9.00	-	-
1	4	0.60206	1.40	84.4	6.01
2	2	0.30103	1.93	78.5	5.79
3	1	0	3.60	60.0	5.25
4	0.67	-0.17393	4.50	50.0	5.00

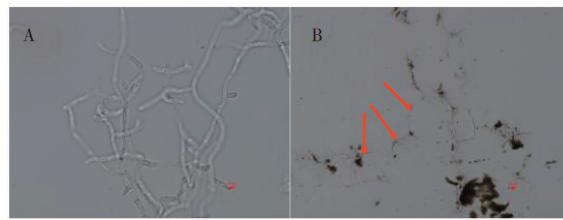
以浓度对数为横坐标,抑制率几率值为纵坐标,对亚磷酸二氢钾毒力进行线性回归,得抑制回归方程为: $y = 1.3467x + 5.2679$ ($r^2 = 0.9704$)。

利用抑制回归方程进行亚磷酸二氢钾 EC_{50}

计算,具体为:令 $y = 5$,得 $x = -0.1989$ 故 $EC_{50} = 10^{-0.1989} = 0.6326 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

由图 1 可看出,与对照相比利用亚磷酸二氢钾处理后的腐霉菌菌丝裂解消亡,看不出正常菌

丝的形态,可以说说明一定浓度的亚磷酸二氢钾可以引起腐霉菌的死亡。



A:腐霉菌正常菌丝形态;
B:处理后的菌丝形态(红色箭头表示菌丝畸形消解)
A:Normal mycelium morphology of *Pythium*;
B:Mycelial morphology after treatment (Red arrows indicate mycelial malformation resolution.)

图 1 亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病菌菌丝的抑制作用

Fig. 1 The inhibitory effect of KH_2PO_3
on hyphae of ginger rhizome rot

2.2 亚磷酸二氢钾对不同病原菌病菌菌丝生长的抑制效果

亚磷酸二氢钾在试验质量浓度下,对不同病原菌菌丝的生长均具有不同程度的抑制作用,其抑制率随质量浓度的增加而增加;结果表明,亚磷

酸二氢钾对小麦纹枯病菌、立枯丝核菌、白菜叶斑病菌抑制效果较显著,当质量浓度达到 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对白菜叶斑病菌抑制率为 92.63%,其次是对小麦纹枯病菌的抑制率 69.81%;但亚磷酸二氢钾对番茄灰霉病菌和黄瓜枯萎病菌抑制效果较差,当质量浓度达到 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抑菌率也只有 35.08% 和 29.00%。

2.3 亚磷酸二氢钾对不同病原菌病菌 EC_{50} 值比较

由表 3 可知,亚磷酸二氢钾对不同病原菌的 EC_{50} 值存在差异,表明亚磷酸二氢钾对各病原菌的抑菌效果存在一定的差异;但对 6 种不同类型病原菌都具有抑制活性,又说明具有一定的广谱抑菌效果。其中对白菜叶斑病菌抑制效果最好,毒力最强, EC_{50} 值最小,为 $1.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;其次是对小麦纹枯病菌的抑制, EC_{50} 值为 $1.59 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;对黄瓜枯萎病菌抑制效果最差,毒力最小, EC_{50} 值最大,为 $7.42 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 亚磷酸二氢钾对不同病原菌菌丝抑制生长情况

Table 2 The inhibition of KH_2PO_3 on mycelia growth of different pathogens

质量浓度/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Concentration	抑菌率/% The inhibition rate					
	油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	小麦纹枯病菌 <i>R. zeae</i>	番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	白菜叶斑病菌 <i>A. alternata</i>	黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>
CK 0	—	—	—	—	—	—
4	54.74	69.81	35.08	92.63	29.00	67.70
2	26.32	62.96	1.38	64.98	16.70	59.90
1	21.40	42.04	0.28	40.55	10.00	36.20
0.67	17.54	21.48	3.31	38.71	2.00	25.30

表 3 亚磷酸二氢钾对不同病原菌抑制测定结果

Table 3 The inhibition results of KH_2PO_3 against different pathogens

菌株 Strains	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	斜率 Slope	EC_{50} 值/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) EC_{50} value
油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	$y = 2.080x + 4.482$	0.9925	2.080	1.77
小麦纹枯病菌 <i>R. zeae</i>	$y = 1.627x + 4.674$	0.9496	1.627	1.59
番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	$y = 3.928x + 2.041$	0.9555	3.928	5.67
白菜叶斑病菌 <i>A. alternata</i>	$y = 2.280x + 4.910$	0.9649	2.280	1.10
黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	$y = 1.764x + 3.464$	0.9503	1.764	7.42
立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	$y = 1.500x + 4.648$	0.9872	1.500	1.72

3 结论与讨论

20 世纪 70 年代,发现亚磷酸盐对卵菌纲(一些疫霉属、腐霉属种类)非常高效;1994-1998 年在美国俄勒冈州、德克萨斯州、加利福尼亚州、爱达荷州、佛罗里达州和肯塔基州的大学、研究院和

农技服务等将亚磷酸盐作为肥料在多种作物上进行了大量试验,此后北美和欧洲一些国家将其作为肥料进行登记;2000 年后亚磷酸盐作为肥料的市场销售逐年上升,全球目前只有英国、法国等少数国家能够生产高品质片状亚磷酸盐^[14]。

亚磷酸的防病机制作物施用亚磷酸后被叶片、根部吸收,运送至植株体内,等植物病菌入侵时,刺激植株产生植物防御素。研究证明,亚磷酸在植株体内下移性良好,但上移性不佳,对贮藏期病害无防治效果,以防治叶片或果实病害为佳。亚磷酸在根部可被土壤微生物代谢成磷酸,成为植株主要肥料之一,但实验显示亚磷酸并不能直接取代磷酸成为肥料,但可与磷酸一起施用,促进植物生长效果更佳^[15]。

通过室内抑菌测定结果表明,亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病原菌腐霉菌丝生长具有明显的抑制作用,抑制率达84.4%,并且能够使腐霉菌菌丝消解死亡;对小麦纹枯病菌、立枯丝核菌、白菜叶斑病菌抑制效果较显著,当质量浓度达到4 g·L⁻¹时,对白菜叶斑病菌抑制率为92.63%,其次是对小麦纹枯病菌的抑制率69.81%;但亚磷酸二氢钾对番茄灰霉病菌和黄瓜枯萎病菌抑制效果较差,当质量浓度达到4 g·L⁻¹时,抑菌率也只有35.08%和29.00%。此外,EC₅₀值越小,表明亚磷酸二氢钾对病原菌的抑菌效果越好。综合分析亚磷酸二氢钾对各病原菌的抑菌回归方程得出对生姜茎基腐病原菌腐霉的抑制效果最好 EC₅₀=0.632 6 g·L⁻¹。

本试验结果为生产上生姜茎基腐病的防治提供了一定的理论基础,但室内平板抑菌测定结果仅说明亚磷酸二氢钾对在离体条件下的生姜茎基腐病病原菌的直接活性,由于生态环境对防效具有显著的影响,对于亚磷酸二氢钾对生姜茎基腐病的大田防效还有待于进一步进行田间试验研究。

参考文献:

[1] 刘振伟,史秀娟.生姜茎腐病的研究进展[J].中国植保导

- 刊,2008(10):12-14.
- [2] Ichitani T, Shinsu T. Pythium zingiberum causing rhizome rot of ginger plant and its distribution[J]. The Phytopathological Society of Japan, 1980, 46(4): 435-441.
- [3] Dake G N, Edson S. Association of pathogens with rhizome rot of ginger in Kerala[J]. Indian Phytopath., 1989, 42: 116-119.
- [4] 刘振伟,史秀娟.生姜茎基腐病的发生规律及病原菌的分离测定[J].山东农业科学,2008(9):73-76.
- [5] Stirling G R, Turaganivalu U, Stirlinga M, et al. Rhizome rot of ginger (*Zingiber officinale*) caused by *Pythium myriotylum* in Fiji and Australia[J]. Australasian Plant Pathology, 2009, 38(5):453-460.
- [6] 孙霞,方涛,秦燕.生姜茎基腐病病原鉴定及生物学特性研究[J].天津农业科学,2012,18(5):29-31.
- [7] 元菊丹,冯凯,曲志才.13种杀菌剂对生姜腐霉茎基腐病菌的毒力测定[J].农药,2011,50(8):619-623.
- [8] Ravindren P N, Nirmal K B. Ginger: The genus *zingiber*[M]. Washington: CRC Press, 2005: 308-316.
- [9] Rohrbach K G, Schenck S. Control of pineapple heart rot, caused by phytophthora parasitica and *P. cinnamomi*, with metalaxyl, fosetyl Al, and phosphorous acid[J]. Plant Disease, 1985, 69(4):320-323.
- [10] Pegg K G, Whiley A W, Sarahah J B, et al. Control of phytophthora root rot of avocado with phosphorus acid [J]. Australasian Plant Pathology, 1985, 14(2):25-29.
- [11] 石瑶.利用亚磷酸防治作物疫病[J].中国农村科技,2002(5):18-19.
- [12] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998: 122-152.
- [13] 唐启义,冯明光.DPS数据处理系统——试验设计、统计分析及数据挖掘[M].北京:科学出版社,2006.
- [14] 钟本和,王辛龙,张志业,等.次磷酸盐和亚磷酸盐介绍[J].无机盐工业,2015,47(9):1-4.
- [15] 楚雯瑛,段增强.亚磷酸盐作缓释磷肥对黄瓜体内养分吸收和光合特性的影响[J].植物营养与肥料学报,2013, 19(3):753-759.

Inhibitory Effect of Potassium Dihydrogen Phosphate on *Pythium* Causing Ginger Rhizome Rots

XU Wen-feng^{1,2}, GU Zhi-guang^{1,2}, REN Shi-wei^{1,2}, HU Hong-tao¹, HU Zhao-ping^{1,2}, FAN Ling-chao^{1,2}

(1. Kingenta Ecological Engineering Group Limited Company, Linyi 276700, China; 2. State Key Laboratory of Nutrition Resources Integrated Utilization, Linyi 276700, China)

Abstract: Ginger rhizome rot caused by *Pythium myriotylum* is the main disease that influence the production of ginger. In order to achieve green control of ginger rhizome stem, the inhibition effect of potassium dihydrogen phosphate on *Pythium myriotylum* was observed by the indoor toxicity using the mycelial growth rate method. The bacteriostatic effect of 7 pathogenic fungi such as *Pythium myriotylum* and *Rhizoctonia solani*, etc were also tested. The results showed that the inhibitory effect of potassium subhydrogen phosphate on the mycelium growth of *Rhizoctonia zeae*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata* and ginger rhizome rot was significant. The inhibitory effect of ginger rhizome rot was the best, followed by *Alternaria alternata*, and the inhibition efficiency was 84.4% in 4 g·L⁻¹, and the EC₅₀ was 0.632 6 g·L⁻¹.

Keywords:ginger soft rot; *Pythium*; potassium dihydrogen phosphate; inhibition effect