

多菌灵对豇豆枯萎病病原菌抑菌效果及包衣后对种子生活力的影响

于海龙, 古瑜, 韩启厚, 夏俊峰, 周彦辉, 王钦

(天津科润蔬菜研究所, 天津 300384)

摘要:以“丰豇一号”豇豆为试材,研究了不同浓度多菌灵对豇豆枯萎病的抑制效果。结果表明:多菌灵抑制豇豆枯萎病的最佳浓度为 400 mg/L。应用该浓度对豇豆种子进行包衣后,对豇豆种子的出苗率和成苗率、苗期长势影响较小,较耐储藏,可以在豇豆种子包衣生产中的应用。

关键词:豇豆枯萎病;包衣;种子生活力

中图分类号:S 436.43 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0113-03

豇豆枯萎病是半知菌亚门真菌尖孢镰刀菌嗜导管专化型 *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *tracheiphilum* (E. F. Smith) Snyd. et Hans 引起的一种典型土传病害。近年来在一些豇豆主要种植区,由于多年的重茬种植,

豇豆枯萎病逐渐成为豇豆上发病最重、危害最大、防治最困难的病害之一,严重影响豇豆的种植效益^[1-2]。

种子包衣技术目前已经广泛应用于粮食种子和蔬菜种子的加工处理。据文献报道,在普通包衣剂中加入杀菌剂,可以通过包衣剂在土壤中的缓慢释放,杀死种子本身携带的和周围土壤中存在的病原菌,或部分药剂被植株根系吸收,传导到植株地上部,杀死侵入的病害,促进植株生长^[3-4]。因此,尤其对土传病害防治效果明显。

第一作者简介:于海龙(1980-),男,硕士,助理研究员,现主要从事菜豆及豇豆的新品种选育及繁育等研究工作。

收稿日期:2013-01-31

参考文献

- [1] 周素静. 平菇菌株病毒脱除技术研究[D]. 郑州:河南农业大学, 2009.
- [2] 邱立友, 戚元成, 李彦鹏, 等. dsRNA 技术在食用菌病毒研究中的应用[J]. 菌物学报, 2007(26):140-148.
- [3] 张朝辉, 刘映森, 戚元成, 等. 食用菌病毒脱毒方法的比较[J]. 病毒学报, 2010, 30(2):249-254.
- [4] 李贺, 代红艳, 张志宏, 等. 草莓植株中病毒 dsRNA 的分离和鉴定[J]. 中国农业科学, 2006, 39(1):145-152.

- [5] Yu H J, Lim D B, Lee H S. Characterization of a novel single-strand RNA mycovirus in *Pleurotus ostreatus*[J]. Virology, 2003, 314:9-15.
- [6] Won S L, Ji H J, Rae D J. Complete nucleotide sequence and genome organization dsRNA partitivirus infecting *Pleurotus ostreatus* virus[J]. Virus Research, 2005, 108:111-119.
- [7] Qiu L Y, Li Y P, Liu Y M. Particle and naked RNA mycoviruses industrially cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* in China[J]. Fungal Biology, 2010, 114:507-513.

Extraction and Elimination of Virus of dsRNA from *Pleurotus ostreatus*

FU Yue-yue, YANG Hong-yi

(College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Taking *Pleurotus ostreatus* as material, the special dsRNAs of virus were extracted from *Pleurotus ostreatus* with modified SDS method, and elimination of virus in *Pleurotus ostreatus* was performed with reagent-mycelial tip-cutting and high temperature-mycelial tip-cutting methods. The results showed that the dsRNA was the same as one in foreign studies. The virus could be effectively eliminated with reagent-mycelial tip-cutting method, and the methods, including of ribavirin-mycelial tip-cutting, cycloheximide-mycelial tip-cutting, ribavirin and moroxydine hydrochloride-mycelial tip-cutting, could reduce the quantity of dsRNA of virus. The system of extraction of dsRNA was developed using tissues of *Pleurotus ostreatus* as material. In addition, the technique could effectively detect virus in *Pleurotus ostreatus*.

Key words: *Pleurotus ostreatus*; dsRNA; elimination of virus

该研究筛选了多菌灵抑制豇豆枯萎病的最佳浓度,确定了最佳浓度杀菌剂应用到种子包衣中对豇豆种子生活力和耐储藏性的影响,为豇豆的生产和种植服务。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试豇豆种子品种为天津科润蔬菜研究所选育的“丰豇一号”豇豆。

多菌灵:50%可湿性粉剂。包衣剂处理:多菌灵可湿性粉剂与不含杀菌效果的包衣剂配成 400 mg/L 浓度的种子包衣剂。按照 1:30 药种比包衣豇豆种子。包衣剂对照:亮盾(先正达公司生产的种子包衣剂)有效成分:25 g/L 咯菌腈+37.5 g/L 精甲霜灵。按照 1:250 药种比包衣豇豆种子。

病原菌来自天津科润蔬菜研究所试验田豇豆枯萎病发病植株,经天津农业科学院植物保护研究所分离、纯化和培养获得。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌致病性鉴定 将豇豆枯萎病病原菌配置成 5×10^7 个孢子/mL 的孢子悬浮液 300 mL^[5],均匀喷洒到 1 L 基质中,混合均匀。采用基质营养钵育苗,每个处理播种 26 钵,每钵播种 2 粒,2 次重复。播种时先在直径为 11 cm 的营养钵中装入 2/3 高度的高温灭菌基质,然后播入种子,覆盖 1 cm 厚的接菌基质^[6]。播种后保持相对湿度 90% 以上,温度为 27~28℃。播种后第 25 天调查发病情况。下胚轴变成褐色计为枯萎病发病植株。

1.2.2 多菌灵室内抑菌试验 利用生长速率法对病原菌生长进行室内测定,筛选最佳杀菌剂浓度。将多菌灵配制成 25、50、100、200、400 mg/L 5 个浓度梯度的药液。在灭菌的 49 mL PDA 培养基内加入 1 mL 药液,充分摇匀,分装到 3 个直径为 9 cm 的培养皿中,冷却凝固,配制成含有杀菌剂的培养基。将直径为 4 mm 的豇豆枯萎病菌丝块放在含药培养基中央,每皿 1 块,3 次重复,在 27℃ 培养箱内培养 7 d,测量菌落直径,分析差异显著性,并计算抑制率^[7-8]。抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/处理菌落直径×100%。

1.2.3 杀菌剂包衣后种子生活力调查 2011 年 8 月在天津科润蔬菜研究所院内,将包衣处理的豇豆种子和对照(未经过包衣处理的裸种)露地播种,处理和对照种在一个畦中,各种 1 行,每行播种 15 穴,每穴播种 3 粒种子,3 次重复。播种后第 17 天调查出苗率,苗的叶片长度、宽度和茎粗。

1.2.4 人工老化处理后种子生活力调查 将包衣处理的种子和未包衣的裸种对照分别用网纱袋包好,放在种子干燥器中。为保障空气湿度,在干燥器隔板下盛水,盖紧盖后将干燥器放置在 40℃ 的恒温箱中,基本保持干燥器内湿度为 100%,进行人工种子老化处理,老化时间

为 72 h^[9-10]。2011 年 9 月将老化处理后的种子温室播种,每个处理播种 15 穴,每穴播种 3 粒,3 次重复。播种后第 17 天调查出苗数和成苗率。

1.3 数据分析

试验数据采用 Excel 和 DPS 数据处理系统软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 病原菌致病性鉴定

为了验证从病株中分离的病原菌是否具有侵染性,该试验设计了土壤接菌试验。由表 1 可知,接菌基质处理中枯萎病发病率是 79%,表明分离出的病原菌具有很强的致病性,可以用于进一步研究使用。无菌土对照幼苗发病原因,估计可能是由于种子带菌造成。

表 1 豇豆枯萎病在接菌基质和无菌基质中的发病率

处理	发病率/%		
	重复 1	重复 2	平均值
接种基质处理	83	75	79
灭菌基质对照	2	13	7.5

2.2 不同浓度多菌灵对豇豆枯萎病的抑制效果

由表 2 可知,25 mg/L 杀菌剂含量的培养基中菌落直径是 2.83 cm,对照菌落直径是 7.17 cm,差异显著,25 mg/L 的杀菌剂浓度培养基对枯萎病菌的抑制率达到 61%。结果表明,随着培养基中杀菌剂含量的增加对豇豆枯萎病的抑制率提高,其中以 400 mg/L 效果最好,抑制率达到 88%。

表 2 多菌灵对豇豆枯萎病第 7 天抑菌效果

浓度/mg·L ⁻¹	菌落直径均值/cm	抑制率/%
对照	7.17aA	0
25	2.83bB	61
50	2.60bB	64
100	2.27bcB	68
200	1.67bcB	77
400	0.87cB	88

注:小写字母和大写字母分别表示 5% 和 1% 水平差异显著,下同。

2.3 杀菌剂包衣对豇豆苗期影响

由表 3 可知,多菌灵和亮盾包衣豇豆种子播种第 17 天成苗率均较对照低,但差异不显著,多菌灵的出苗率与对照的成苗率最接近,亮盾包衣种子较对照出苗率下降较多。多菌灵包衣的苗茎明显比对照苗的茎粗,叶片长度和宽度没有显著变化,多菌灵包衣处理豇豆种子是否促进豇豆幼苗生长,需要进一步试验。亮盾包衣的豇豆苗叶片长度和茎粗明显低于对照,表明亮盾杀菌包衣

表 3 多菌灵和亮盾包衣豇豆后与

裸种在播种后第 17 天成苗率及苗期长势

处理	平均成苗率/%	茎粗/cm	叶片长/cm	叶片宽/cm
裸种(对照)	87.25aA	0.24ab	5.63a	3.72a
多菌灵包衣	84.34aA	0.26a	5.64a	3.69a
亮盾包衣对照	77.32aA	0.21b	4.84b	3.25a

剂对豇豆种子幼苗生长有抑制作用,不适合应用在豇豆种子包衣。

2.4 杀菌剂包衣豇豆人工老化处理

为了探索杀菌剂包衣对豇豆种子储藏的影响,试验进行了人工老化处理,即创造高温高湿环境,模拟长时间储藏的情况。由表4可以看出,经过人工老化处理后,包衣的豇豆种子较对照出苗率和成苗率均有所降低,多菌灵包衣的豇豆种子出苗率和成苗率分别为88.33%和86.33%,均在天津市种子质量标准(85%)允许范围之内。亮盾包衣后的种子出苗率和成苗率降低的幅度较大,明显低于标准。表明亮盾包衣的豇豆种子不耐储藏,而400 mg/L多菌灵包衣的豇豆种子经过长时间储藏,对种子的生活力影响不大,可正常出苗。

表4 包衣种子经过老化处理后
出苗率和成苗率的变化

处理	平均出苗率/%	平均成苗率/%
裸种未经过老化处理(对照)	95.33aA	95.00aA
400 mg/L多菌灵包衣后老化处理	88.33aA	86.33aA
亮盾包衣后老化处理	62.00aA	23.67aA

由包衣种子老化处理前后成苗率的对比(表5)可知,裸种和多菌灵包衣的种子,经过老化处理后种子成苗率增加,表明老化处理可促进种子萌发,提高成苗率。亮盾包衣豇豆种子经过人工老化后,成苗率明显降低,表明亮盾包衣剂在高温高湿条件下加速种子老化,降低了种子生活力。

表5 包衣种子老化处理前后成苗率对比

处理	平均成苗率/%
裸种未经过老化处理/老化处理	87.25/95.00↑
多菌灵包衣后未经过老化处理/老化处理	84.34/86.33↑
亮盾包衣后未经过老化处理/老化处理	77.32/23.67↓

3 结论与讨论

目前,杀菌剂包衣种子技术在我国农业生产上受到很大的重视,并且正得到迅速发展和应用。包衣剂中的杀菌剂品种和类型较多,但是应用到豇豆种子包衣,防治豇豆枯萎病的杀菌剂却鲜见报道。采用菌丝生长速率法,进

行杀菌剂对豇豆枯萎病室内毒力测定,结果表明多菌灵对豇豆枯萎病菌的菌丝生长有很好的抑制作用,随着杀菌剂浓度的增加抑制效果提高。将杀菌剂应用到种子包衣过程中,由于土壤条件、种子自身条件、病原菌、气候环境之间存在复杂的关系,多菌灵应用在种子包衣中防治豇豆枯萎病的效果,尚需要做进一步试验研究。

通过人工老化处理试验,检测包衣处理后的豇豆种子是否耐贮藏,表明未经过包衣处理的裸种和多菌灵包衣的种子成苗率在老化前后略有增加,亮盾包衣的豇豆种子老化处理前后成苗率下降明显。结果表明,试验中40℃的恒温,湿度100%,老化时间72 h的试验条件对不同处理的种子起到的作用不同,对于裸种和多菌灵包衣的种子以上老化条件没有起到人工老化的作用,裸种和多菌灵包衣的种子比较耐储藏,需要提高温度和增加老化处理时间,满足进一步检测种子耐老化性的要求。亮盾包衣的豇豆种子经过以上老化处理明显表现出不耐高温、高湿,不耐储藏的特点。

参考文献

- [1] 吕佩珂,苏慧兰,李明远,等.中国蔬菜病虫原色图谱[M].北京:学苑出版社,2004:149.
- [2] 张衍荣,李桂花,何自福.豇豆枯萎病抗病性鉴定技术研究[J].湖北大学学报(自然科学版),2012,34(1):100-103.
- [3] 赵磊磊,聂立水,朱清科,等.种子包衣及其在中国的应用研究[J].中国农学通报,2009,25(23):126-131.
- [4] 宋传奎,张恩慧,王平,等.甘蓝种子SP膜衣剂中杀菌剂的筛选[J].西北农业学报,2009,18(6):301-305.
- [5] 王素.菜豆枯萎病苗期接种方法和抗病性鉴定[J].中国蔬菜,1994(3):15-17.
- [6] 程智慧,张静,孟焕文.杀菌剂包衣种子对番茄苗期2种病害的防治效果[J].华中农业大学学报,2006,27(4):460-463.
- [7] 李娜,刘丽,曹克强.几种化学杀菌剂对苹果轮纹病的药效评价[J].果树学报,2009,26(6):855-859.
- [8] 卫月勇.五种杀菌剂对西瓜枯萎病的抑菌效果实验[J].上海蔬菜,2009(3):88.
- [9] 郑晓鹰,任祝三.测定种子活力方法之探讨[J].种子,1982(4):31-34.
- [10] 宋传奎,张恩慧,王平,等.甘蓝种子SP膜衣剂中杀菌剂的筛选[J].西北农业学报,2009,18(6):301-305.

Antimicrobial Effects of Carbendazim on Cowpea Wilt and Influence of Seed Vitality After Coating with Carbendazim

YU Hai-long, GU Yu, HAN Qi-hou, XIA Jun-feng, ZHOU Yan-hui, WANG Qin
(Tianjin Kernal Vegetable Research Institute, Tianjin 300384)

Abstract: Taking 'Fengjiang No. 1' as the test material, the control effect of different concentrations of carbendazim on cowpea wilt was investigated. The results showed that the best concentration of carbendazim was 400 mg/L. The seed coating agent with carbendazim at 400 mg/L had little influence on germination rate, planting percent, growth potential and tolerant storage. So this concentration could be used in cowpea seed coating in the future.

Key words: cowpea wilt; coating; seed vitality