

不同铜制剂对番茄软腐病防治效果的影响

周 俊, 杜相革

(中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘 要:以番茄为试材,通过室内和田间对比试验,研究了竹醋液复合铜、氨基酸铜、络合铜 A 和络合铜 B 4 种不同的铜制剂对番茄软腐病的防治效果。结果表明:在室内条件下,每种铜制剂在供试浓度(1.25~20.00 mmol/L)内均对该病菌有一定的抑制作用,且抑菌效果随着浓度的升高而增强,且竹醋液复合铜的抑菌效果最好,其抑制中浓度(EC_{50} 值)为 1.50 mmol/L;当竹醋液复合铜浓度为 2.50 mmol/L 时,对温室内番茄软腐病的治疗效果达到 58.63%,而预防效果则高达 77.72%,显著高于其它铜制剂的防治效果。

关键词:竹醋液复合铜;番茄软腐病;防治

中图分类号:S 436.412.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0135-04

番茄软腐病是由胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(*Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*)引起的细菌性病害,主要危害茎和果实,番茄从生长期到果实成熟期均可发病,该病在农事操作、整枝打杈、扎蔓、害虫钻蛀和生长过程中的生理开裂等引起的伤口处易发生,严重发病田块病株率可达 40%以上,对产量和品质造成严重威胁^[1-2]。

铜制剂是比较重要的一类药剂^[3]。铜制剂具有低毒、无公害、环保和杀菌效果好等诸多优点,但是一般铜制剂仍存在着一些缺点,如高温、高湿条件下易产生药害;使用次数多会导致植物产品和土壤中铜含量的超

标;诱发螨类增殖为害等。研究人员主要致力于提高铜制剂的展着力、粘着性、渗透性和持效性,使其更易进入病原物和植物体内,以达到少量高效的目的。目前,主要的解决办法是改进其加工工艺^[4-5]。课题组的研究已经证明,植物可以直接吸收有机小分子(如氨基酸)^[6]并与铜反应生成氨基酸铜^[7]。这说明,氨基酸可以增加铜离子对植物病菌细胞膜的通透性^[8],所以铜制剂既可以增加铜素杀菌剂的效果,也可以为植物提供营养。

在农业领域竹醋液可以作为植物生长调节剂、病原物抑制剂、杀虫剂、农药增效剂、土壤处理剂等且具有良好的效果^[9]。竹醋液的组成成分相当复杂,是一种由有机酸、酚类、酮类、醇类及酯类等 200 多种组分组成的混合物。由于竹醋液具有多种化学成分,其中含有醋酸、甲醇、乙醇、苯酚等物质,所以自身就有杀菌和抑菌作用。但是除了醋酸外,其它物质含量很少,有可能是多种物质共同增效作用^[10]。在竹醋液中加入铜,使其变成

第一作者简介:周俊(1988-),男,硕士研究生,现主要从事有机蔬菜等研究工作。E-mail:zhoujun0220@gmail.com.

责任作者:杜相革(1964-),男,博士,教授,现主要从事于有机农业等研究工作。E-mail:duxge@cau.edu.cn.

收稿日期:2013-06-03

Abstract: Taking melon and pepper as materials, ecological effect of different microbial agents on rhizosphere soil microbes in facilities vegetables and their growth promotion, disease prevention were studied by dilution-plate method. The results showed that application of different microbial agents using watering roots processing could stimulate and significantly increase the populations of rhizosphere soil bacteria, fungi, actinomycetes three flora of facilities melon and pepper, with promoting plant growth, disease prevention and increasing yield effect. Especially treatment 1 was the best. Its relative control effect on facilities melon *Fusarium* wilt and pepper *Phytophthora* blight reached 88.9%~100.0%, and increasing rate was 10.2% and 16.06%, respectively; followed by treatment 2, its relative control effect on two kinds of soil born diseases reached 66.6%~77.8%, and increasing rate was 8.6% and 14.47%, respectively. Thus, application of microbial agents could improve obviously the rhizosphere soil micro-environment of facilities vegetables, decrease harmful pathogens, reduce the occurrence of soil born diseases and promote their healthy growth.

Key words: microbial agents; facilities vegetables; rhizosphere soil microbes; ecological effect; growth promotion; disease prevention

竹醋复合铜后,可在植物上施用。由于竹醋液含有有机酸类、酮类和醇类物质,是良好的增溶剂、助溶剂和渗透剂,能使有效成分溶解,并有效地渗透、扩散到处理对象中,以提高药效^[11]。

纳米农药具有使用浓度低、杀虫防病广谱、病虫害不易产生抗性、对人畜低毒、农药残留少、对环境污染小等诸多优点^[12]。

因此该试验选择竹醋液复合铜、氨基酸铜和2种纳米铜制剂(络合铜A和络合铜B),对番茄软腐病的防治进行了研究和探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄“泰科宝石”F1种子购于中国农业科学院中农新泰科农业技术有限公司;番茄软腐病菌由中国农业大学种子健康中心提供。

培养基:LB培养基。竹醋液:浙江省遂昌县文照竹炭责任有限公司生产(密度1.006 g/mL, pH 2.62, 醋酸含量4.54%);硫酸铜:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;竹醋液复合铜:该实验室制备。

仪器:JA5003电子天平;YX-260型灭菌锅;20070603超净工作台;DHP-78L电热恒温培养箱;TP-213电子天平(1/1000)。

1.2 试验方法

1.2.1 琼脂扩散法测定抑菌活性 在培养基40℃左右时,将10 mL浓度为 10^8 CFU/mL的菌悬液与10 mL琼脂含量2%的LB培养基一起倒入直径为90 mm的培养皿中,摇匀,冷却,凝固,再用直径为5.0 mm的打孔器在培养基上打孔,每皿3个孔,然后再分别将50 μ L硫酸铜溶液、氨基酸铜、竹醋液复合铜、络合铜A、络合铜B、氨基酸溶液和竹醋液滴入孔中,每种药剂分别设置5个浓度梯度,分别是:50、100、200、400、800倍,即铜的含量分别为:20.00、10.00、5.00、2.50、1.25 mmol/L,设无菌水为对照。再置于28℃培养箱中培养,24 h后测量抑菌圈的大小并记录^[13-14]。

1.2.2 液体培养法测定抑制中浓度(EC_{50}) 接菌液浓度为 10^3 CFU/mL的新鲜菌悬液0.1 mL于10 mL的LB液体培养液(50 mL无菌三角瓶)中,于27.5℃条件下振荡培养(200 r/min)12 h后,在600 nm条件下测定OD值。配制含各种药剂5个梯度浓度(100、200、400、800、1 600倍)的LB液体培养液10 mL于50 mL无菌三角瓶中,再分别将接菌液浓度为 10^3 CFU/mL的新鲜菌悬液0.1 mL接入,于27.5℃条件下振荡培养(200 r/min)12 h后,在600 nm条件下测定OD值。抑制率(%)=(对照的A值-处理的A值)/对照的A值 $\times 100\%$;对照的A值=12 h对照的

A值-0 h对照的A值;处理的A值=12 h处理的A值-0 h处理的A值。

根据上述公式用Excel求出毒力回归方程并计算出 EC_{50} ^[14-15]。

1.2.3 不同铜制剂对番茄软腐病的防治效果试验

治疗试验:试验于2012年2月至2012年4月在北京市房山区横桥基地大棚进行。日光温室占地面积约600 m²,内设小工作间、人行过道。番茄2月11日育苗,3月15日移栽,3月28日整枝打杈后接种番茄软腐病菌,待番茄软腐病开始发病后,即3月30日喷施药剂,试验处理如下:2.50 mmol/L的竹醋液复合铜、硫酸铜、络合铜A、络合铜B、氨基酸铜分别记为A1、A2、A3、A4、A5;1.25 mmol/L的竹醋液复合铜、硫酸铜、络合铜A、络合铜B、氨基酸铜分别记为B1、B2、B3、B4、B5;以喷清水为对照(CK),每个处理24株,3次重复。预防试验:试验于2012年2月至2012年4月在北京市房山区横桥基地大棚进行。日光温室占地面积约600 m²,内设小工作间、人行过道。番茄2月25日育苗,3月31日移栽,4月13日上午整枝打杈,之后直接喷施药剂,然后在接种番茄软腐病菌,试验处理如下:2.50 mmol/L竹醋液复合铜(A);2.5 mmol/L硫酸铜(B);竹醋液400倍液(C);以喷清水为对照(CK),每个处理24株,3个重复。

番茄软腐病病情调查:每个小区用5点取样法取5点,每点2株,治疗试验分别于4月3、7、11、15日调查记录;预防试验分别于4月18、22、26、30日取样调查记录。番茄软腐病分级标准^[16]:0级:全株无病;1级:茎部病斑不超过茎围的1/2;3级:茎部病斑超过茎围的1/2,但未环绕茎围;5级:茎部病斑环绕茎围;7级:病斑完全腐烂;9级:病茎枝叶萎缩;计算病情指数和防治效果,病情指数= \sum (各级病株数 \times 相对级数值 $\times 100$)/(调查总株数 $\times 9$);防治效果(%)=[(CK病情指数-pt1病情指数) $\times 100$]/CK病情指数。

2 结果与分析

2.1 几种铜制剂对番茄软腐病菌的抑菌效果

从表1可以看出,供试药剂各个浓度(1.25~20.00 mmol/L)均对该病菌有一定的抑制作用,且随着浓度的增高抑制作用增强。在0.05水平上,相同浓度情况下,竹醋液复合铜处理均与其它处理差异显著,抑菌效果明显;高浓度情况下,络合铜B抑菌效果>络合铜A抑菌效果>硫酸铜抑菌效果>氨基酸铜的抑菌效果,但随着药剂浓度的降低,这4种药剂的抑菌效果差异性逐渐减小,直至无差异性;较高浓度(20.00 mmol/L和10.00 mmol/L)的竹醋液的抑菌效果虽低于竹醋液复合铜,但高于其它供试药剂,而低浓度的竹醋液的抑菌效果相对较差。

表 1 不同铜制剂处理下番茄软腐病菌的抑菌效果

Table 1 The inhibition effect of different copper treatments on

Pectobacterium carotovora subsp. *carotovora* mm

处理	铜浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$				
	20.00	10.00	5.00	2.50	1.25
竹醋液复合铜	8.90a	8.37b	7.46f	6.43i	5.60jk
硫酸铜	8.00de	7.17gh	6.47i	5.73j	5.23l
竹醋液	8.20bc	7.30fg	6.43i	5.50k	5.17l
氨基酸铜	7.87e	7.10h	6.37i	5.57jk	5.13l
络合铜 A	8.03cde	7.23gh	6.50i	5.67jk	5.27l
络合铜 B	8.17cd	7.23gh	6.53i	5.73j	5.20l
氨基酸	—	—	—	—	—
CK	—	—	—	—	—

注:不同小写字母代表 0.05 水平下处理之间差异显著,下同。

2.2 几种铜制剂处理下番茄软腐病菌的抑制中浓度(EC_{50})

从表 2 可以看出,竹醋液复合铜对番茄软腐病菌的 EC_{50} 最低,为 1.50 mmol/L,抑菌效果最好;而硫酸铜、氨基酸铜、络合铜 A、络合铜 B 4 种制剂对番茄软腐病菌的 EC_{50} 基本相同,抑菌效果次之;竹醋液的 EC_{50} 最高,抑菌效果最弱。

表 2 不同铜制剂处理下番茄软腐病菌的抑制中浓度(EC_{50})Table 2 EC_{50} of *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora* under different copper treatments

药剂名称	毒力回归方程	相关系数(R^2)	$\text{EC}_{50}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
竹醋液复合铜	$y=0.1207x+0.3193$	0.9649	1.50
硫酸铜	$y=0.1260x+0.2396$	0.9793	2.07
竹醋液	$y=0.1022x+0.1082$	0.9690	3.83
氨基酸铜	$y=0.1220x+0.2479$	0.9711	2.07
络合铜 A	$y=0.1265x+0.2484$	0.9806	1.99
络合铜 B	$y=0.1261x+0.2500$	0.9789	1.98

2.3 不同铜制剂对番茄软腐病的防治效果

从表 3 可以看出,药剂浓度越高,防治效果越好;在 0.05 水平上,2.50 mmol/L 竹醋液复合铜和 1.25 mmol/L 竹醋液复合铜与相同浓度下其它处理的效果均存在显著差异。其中,2.50 mmol/L 竹醋液复合铜对于番茄软腐病的防治效果最好,达到 58.63%。

表 3 番茄软腐病病情指数及铜制剂对其的防治效果

Table 3 The efficiency of disease indexes of bacterial soft rot of tomato and the therapeutic among different copper treatments

处理	病情指数				防治效果/%
	4月3日	4月7日	4月11日	4月15日	
CK	18.52	26.67	43.70	61.48	—
A1	8.15	11.85	16.30	24.44	58.63a
A2	9.63	13.86	22.80	32.01	47.95b
A3	9.51	13.63	22.75	31.90	48.40b
A4	9.57	13.70	22.65	31.98	48.28b
A5	9.60	13.65	22.75	31.95	48.24b
B1	10.74	14.44	23.70	41.11	41.69c
B2	12.02	17.36	28.40	39.89	35.03d
B3	12.14	17.56	27.90	39.84	34.99d
B4	12.10	17.40	28.20	39.80	35.04d
B5	11.95	17.18	28.14	39.67	35.53d

2.4 不同铜制剂对番茄软腐病的预防效果

从表 4 可以看出,2.50 mmol/L 竹醋液复合铜对番茄软腐病的预防效果最好,高达 77.72%,而且比相同浓度下纯的竹醋液和纯硫酸铜处理对软腐病的预防效果好。

表 4 番茄软腐病病情指数和不同制剂对其的预防效果

Table 4 Disease indexes of bacterial soft rot of tomato and the preventative efficiency of different copper treatments

处理	病情指数				预防效果/%
	4月18日	4月22日	4月26日	4月30日	
CK	17.78	28.89	42.96	61.48	—
A	3.70	6.30	9.63	14.81	77.72a
B	9.63	15.56	25.16	36.67	43.44b
C	10.74	17.04	27.41	40.00	37.94c

3 结论与讨论

供试 5 种药剂在试验浓度范围内(1.25~20.00 mmol/L)均对番茄软腐病菌起到抑制作用,且随着浓度的增高抑制作用增强。在 0.05 水平上,相同浓度竹醋液复合铜的处理效果显著优于其它供试试剂;竹醋液复合铜对番茄软腐病菌的 EC_{50} 最低,为 1.50 mmol/L,抑菌效果最好;番茄软腐病发病后,喷施 2.50 mmol/L 竹醋液复合铜,对番茄软腐病的治疗效果可达 58.63%;而在番茄整枝打杈后立即喷施 2.50 mmol/L 竹醋液复合铜,对番茄软腐病的预防效果可达 77.72%。

通过室内抑菌效果试验可以看出,竹醋液复合铜、硫酸铜、竹醋液、氨基酸铜、络合铜 A、络合铜 B 各个供试浓度(1.25~20.00 mmol/L)均对该病菌有一定的抑制作用,且随着浓度的增高抑制作用增强。竹醋液复合铜的抑菌效果最好,抑菌效果显著,且明显高于相同浓度下单一硫酸铜和竹醋液的抑菌效果,竹醋液和硫酸铜复合之后体现出明显的增效作用;单一的竹醋液 EC_{50} 为 3.83 mmol/L,单一的铜制剂 EC_{50} 为 2.07 mmol/L,而竹醋液复合铜的 EC_{50} 为 1.50 mmol/L,竹醋液铜复合制剂对软腐病的防治效果增强,推测其可能的原理是竹醋液 pH 值较低,不利于病原菌的生长繁殖,铜的吸收能力增强,也不排除有新的物质产生,有待进一步深入研究。

田间治疗试验显示,相同浓度下竹醋液复合铜对番茄软腐病的治疗效果显著高于硫酸铜、竹醋液、氨基酸铜、络合铜 A 和络合铜 B,其主要原因可能是竹醋液含有的有机酸类、酮类和醇类等物质更加有助于铜渗透、扩散到番茄的茎秆中,对番茄软腐病菌起到更好的毒杀作用,而其它铜制剂则不具备上述优点。

竹醋液复合铜对番茄软腐病不仅具有较好的治疗效果且预防效果更是突出,高达 77.72%。这是因为,首先竹醋液复合铜对番茄软腐病菌的生长繁殖具有较好的抑制作用,其次由于竹醋液复合铜呈酸性,提前喷施

之后使得番茄植株呈现出酸性微环境,而植物对欧文氏菌侵染的早期反应的 pH 值需大于 8.2^[17],这在一定程度上阻碍了病原菌对植物的入侵;最后竹醋液复合铜可能对番茄软腐病菌侵入番茄后致病过程中所分泌的胞外致病酶,包括果胶酶(多聚半乳糖醛酸酶和果胶酸盐裂解酶)、纤维素酶和蛋白酶的活性有着较大的抑制作用^[18-22]。

参考文献

- [1] 王冬生,匡开源,李琳一,等.设施栽培番茄软腐病的鉴别、发生和防治研究[J].上海农业学报,2006,22(2):5-8.
- [2] 丁爱云,郑继法,金绪德,等.番茄细菌性病害及其防治(续)[J].中国农村科技,1998(11):13-14.
- [3] 陈亮,张力群,刘君丽,等.植物细菌性病害与化学防治[C].第六届中国植物病害化学防治学术研讨会论文集,2008:10-15.
- [4] 赵晓阳.铜素杀菌剂研究进展[J].蔬菜,1996(6):4-6.
- [5] 黄振东,陈道茂,严得胜.铜素杀菌剂的进展[J].浙江柑桔,2001,18(3):42-43.
- [6] 王文颖,刘俊英.植物吸收利用有机氮营养研究进展[J].应用生态学报,2009,20(5):1223-1228.
- [7] 李德广,杜相革.甘氨酸螯合铜的合成及表征研究[J].安徽农业科学,2009,37(5):1897-1898.
- [8] 康湛莹,韩文瑞,刘英丽,等.混合氨基酸铜络合物杀菌作用的研究[J].哈尔滨电工学院学报,1996,19(2):275-278.
- [9] 方楷,杨光耀,杨清培.竹醋液应用研究进展[J].林业科技开发,2007,21(6):1-4.
- [10] 阿部正范.竹炭の用途开发试验[J].日本科学技术文献速报,

98114363.

- [11] 张文标,李文珠,张宏,等.竹炭和竹醋液的工业利用[M].北京:中国林业出版社,2006.
- [12] 江兰,郑飞,冷鹏飞,等.纳米农药的研究进展[J].广东农业科学,2010(5):97-100.
- [13] 李端,周立刚,王敬国,等.苦豆子提取物对黄瓜和番茄病原菌的抑制作用(英文)[J].西北植物学报,2006,26(3):558-563.
- [14] 崔彦,王树桐,曹露,等.几种中草药提取物对黄瓜细菌性角斑病菌的抑制作用[J].中国农学通报,2008,24(5):308-312.
- [15] 张大明.黄姜粗提物对植物病原真菌及细菌抑制效果的初步研究[D].武汉:华中农业大学,2005.
- [16] 国家质量技术监督局.GB/T 17980.123-2004,农药田间药效试验准则(二)[M].北京:中国标准出版社,2000.
- [17] Byers J T, Lucas C, Salmond G P C, et al. Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum-sensing signaling molecule[J]. Bacteriol, 2002, 184:1163-1171.
- [18] 王健,乐超银,郭政宏,等.魔芋软腐病致病机理及其生物防治[J].安徽农业科学,2009,37(30):14746-14748.
- [19] Palva T K, Holmström K O, Heino P, et al. Induction of plant defense response by exoenzymes of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1993, 6(2):190-196.
- [20] Perombelon M C M. Potato diseases caused by soft rot erwinias an overview of pathogenesis[J]. Plant Pathol, 2002, 51:1-12.
- [21] 林建城,王志鹏,杨文杰,等.几种效应物对黑曲霉果胶酶活力的影响[J].云南师范大学学报,2006,26(6):48-51.
- [22] 程旺开.金属离子对纤维素酶活性影响的研究[J].安徽农学通报,2011,17(5):27-28,30.

Controlling Efficiency of Different Types of Copper Compounds Against *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*

ZHOU Jun, DU Xiang-ge

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract: Taking tomato as material, the inhibition effect of bamboo vinegar reunited copper, compound amino acid cheated copper, cheated copper A and cheated copper B on bacterial soft rot of tomato were studied indoors and in the greenhouse. The results showed that the inhibition were strengthened with the increase of the concentrations by all copper treatments above, and the bacteriostasis of bamboo vinegar reunited copper was the best, with EC₅₀ value 1.50 mmol/L. Therapeutic efficiency of bamboo vinegar reunited copper was 58.63% on bacterial soft rot of tomato in the greenhouse at the concentration of 2.50 mmol/L, which was significantly higher than the other copper preparations, while its preventative efficiency was up to 77.72%.

Key words: bamboo vinegar reunited copper; *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*; control