

# 黄瓜枯萎病菌的分离纯化及药剂筛选

武玉环<sup>1</sup>, 鲁建斌<sup>2</sup>, 尉文彬<sup>3</sup>, 武亚明<sup>1</sup>, 张红杰<sup>1</sup>

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 张家口市农业信息网站, 河北 张家口 075000; 3. 张家口市农业科学院, 河北 张家口 075000)

**摘 要:**以感黄瓜枯萎病的病株为试材, 采用组织分离法对其病原菌进行分离和形态观察; 采用生长速率法, 研究测定了 12 种化学药剂对黄瓜枯萎病菌的毒力; 并通过盆栽试验测定了室内抑制效果较好的 7 种化学药剂对黄瓜枯萎病的防治效果。结果表明: 经鉴定, 感黄瓜枯萎病病菌为尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*); 抑菌效果最好的是 36% 噁霉·福美双可湿性粉剂 1 000 倍液, 抑制率为 93.92%, 其次是 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂 1 500 倍液、62.5% 精甲·咯菌腈悬浮剂 1 500 倍液和 99% 恶霉灵粉剂 3 000 倍液, 抑制率分别为 85.48%、81.20% 和 80.45%; 80% 噁霉胺水分散粒剂 1 500 倍液、99% 恶霉灵粉剂 3 000 倍液和 32.5% 苯甲·嘧菌酯悬浮剂 1 500 倍液对黄瓜枯萎病的防治效果为 79.48%~93.61%, 可作为土壤处理剂防治黄瓜枯萎病, 而且对黄瓜安全无害, 具有较好的应用前景。

**关键词:**黄瓜; 枯萎病; 分离; 药剂筛选

**中图分类号:**S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)03-0111-04

黄瓜枯萎病是黄瓜生产上的重要病害之一, 是典型的土传病害, 全国各地均有发生, 吉林、辽宁、山东、湖北、北京等省市发生尤为严重, 发病率一般在 10%~30%, 严重时可达 80%~90%, 是制约黄瓜产量和品质的重要因素。近年来, 随着张家口地区大棚蔬菜的迅速发展, 复种指数增加, 黄瓜枯萎病发生越发严重, 给黄瓜生产造成极大的损失<sup>[1-2]</sup>。

黄瓜枯萎病菌从植株根部的伤口或根尖侵入, 在维管束内生长发育, 堵塞导管, 阻碍水分和无机盐的运输, 分泌毒素引起植株萎蔫死亡, 病情发展迅速, 而且呈逐年加重趋势<sup>[3]</sup>, 因此筛选化学药剂对有效防控黄瓜枯萎病具有重要意义。该试验对张家口市黄瓜枯萎病菌进行分离纯化, 通过生长速率法测定了 12 种化学药剂对黄瓜枯萎病菌的毒力, 并测定了室内抑制效果较好的 7 种药剂的盆栽防治效果, 以期筛选出有效药剂, 为科学使用化学药剂提供理论依据, 并为有效防控黄瓜枯萎病奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试黄瓜枯萎病病株采自河北省张家口市宣化县

黄瓜温室; 供试“津优 F<sub>1</sub>”黄瓜种子由宁阳县茂盛良种繁育场生产, 市售; 供试药剂见表 1。供试介质为丹麦品氏托普泥炭, 由丹麦品氏托普(集团)公司生产, 市售。

**表 1 供试药剂名称及厂家**

序号	药剂名称	稀释倍数/倍	厂家
1	50% 多菌灵可湿性粉剂	500	江阴市农药二厂有限公司
2	36% 噁霉·福美双可湿性粉剂	1 000	青岛泰生生物科技有限公司
3	99% 恶霉灵粉剂	3 000	吉林省延边绿洲化工有限责任公司
4	80% 噁霉胺水分散粒剂	1 500	青岛泰生生物科技有限公司
5	60% 硫磺·敌磺钠可湿性粉剂	1 000	丹东市农药总厂
6	72.2% 霜霉威盐酸盐水剂	800	拜耳作物科学(中国)有限公司
7	68% 精甲霜·锰锌水分散粒剂	800	先正达(苏州)作物保护有限公司
8	10% 苯醚甲环唑水分散粒剂	1 500	先正达(苏州)作物保护有限公司
9	64% 噁霉·锰锌可湿性粉剂	1 000	先正达(苏州)作物保护有限公司
10	32.5% 苯甲·嘧菌酯悬浮剂	1 500	先正达(苏州)作物保护有限公司
11	62.5% 精甲·咯菌腈悬浮剂	1 500	先正达(苏州)作物保护有限公司
12	25% 咯菌腈悬浮种衣剂	1 500	先正达(苏州)作物保护有限公司

### 1.2 试验方法

**1.2.1 黄瓜枯萎病菌的分离与鉴定** 采用组织分离法分离病原菌。将材料的病健交界处剪成 4 mm 左右的小块, 在 75% 酒精中浸渍 30 s 后, 移入 0.1% 升汞中处理约 2 min, 然后用无菌水清洗 3 次, 移至已备好的 PSA 培养基上, 置于 25~30℃ 恒温培养箱中。培养 5 d 后, 在光学显微镜下观察病原菌的形态特征进行鉴定<sup>[4]</sup>, 并进行显微照相。

**1.2.2 室内药剂筛选** 采用生长速率法测定供试 12 种化学药剂的抑菌效果。将 PDA 培养基加热溶化, 待其

**第一作者简介:**武玉环(1981-), 女, 河北衡水人, 硕士, 讲师, 研究方向为植物病理学。

**基金项目:**张家口市科技攻关资助项目(12110034C-3)。

**收稿日期:**2013-10-25

冷却至 45℃ 左右加入供试药剂,制成含药平板。待含药平板冷却后,在超净工作台内用打孔器( $d=0.5\text{ cm}$ )接种同龄黄瓜枯萎病菌菌块,置于 25~30℃ 恒温培养箱内培养。7 d 后,用十字交叉法测量菌落直径,计算抑菌率。每个处理 5 次重复。抑制率( $\%$ )=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径 $\times 100\%$ 。

1.2.3 盆栽试验 黄瓜枯萎病菌在 PDA 培养基上培养 5 d 后,将其配制成  $1\times 10^6$  个/mL 分生孢子悬浮液,备用。采用药剂拌土的方法,将供试药剂与供试介质按照质量浓度配制不同浓度的药土,以不拌药剂为空白对照(CK)。共设 7 个处理,处理 1:10% 苯醚甲环唑水分散粒剂 1 500 倍液;处理 2:64% 噁霜·锰锌可湿性粉剂 1 000 倍液;处理 3:32.5% 苯甲·嘧菌酯悬浮剂 1 500 倍液;处理 4:62.5% 精甲·咯菌腈悬浮剂 1 500 倍液;处理 5:36% 噁霉·福美双可湿性粉剂 1 000 倍液;处理 6:99% 恶霉灵粉剂 3 000 倍液;处理 7:80% 嘧霉胺水分散粒剂 1 500 倍液,每个处理 30 次重复。挑选饱满的黄瓜种子,经 0.1% 升汞表面消毒 3 min,用无菌水清洗 3 次后,置于铺有双层纱布的无菌培养皿内,在 25℃ 黑暗恒温培养箱内催芽。待黄瓜种子胚根长至 1 cm 左右时,加入  $1\times 10^6$  个/mL 分生孢子悬浮液中浸泡 20 min,取出播于盛有药土的塑料花盆中(20 cm $\times$ 18 cm),在温室

中培养,温度为 16~25℃。待空白对照充分发病后,依据分级标准(表 2)进行病情调查,并计算病情指数和防治效果。病情指数= $\Sigma$ (各级病叶数 $\times$ 相对级数的代表值)/(调查总叶数 $\times 4$ ) $\times 100\%$ ,防治效果( $\%$ )=(对照平均病情指数-处理平均病情指数)/对照平均病情指数 $\times 100\%$ 。

表 2 黄瓜枯萎病分级标准

病级/级	症状
0	植株健康,无症状
1	茎叶出现轻微症状
2	植株轻度萎蔫,茎出现坏死斑,叶片黄化
3	植株中度萎蔫,叶片下垂黄化
4	植株严重萎蔫,倒伏枯死

## 2 结果与分析

### 2.1 黄瓜枯萎病菌的分离和形态观察

利用组织分离法获得病原菌纯培养物,25℃ 下,在 PDA 培养基上,菌落生长均匀,粉色,菌丝绒毛状;小型分生孢子无色,单胞,长椭圆形;大型分生孢子无色,镰刀形,多为 3 个隔膜(图 1)。根据分离纯化病原菌的菌丝形态、大型分生孢子和小型分生孢子的形态特征及回接试验的症状等进行鉴定,该病原菌为尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)。

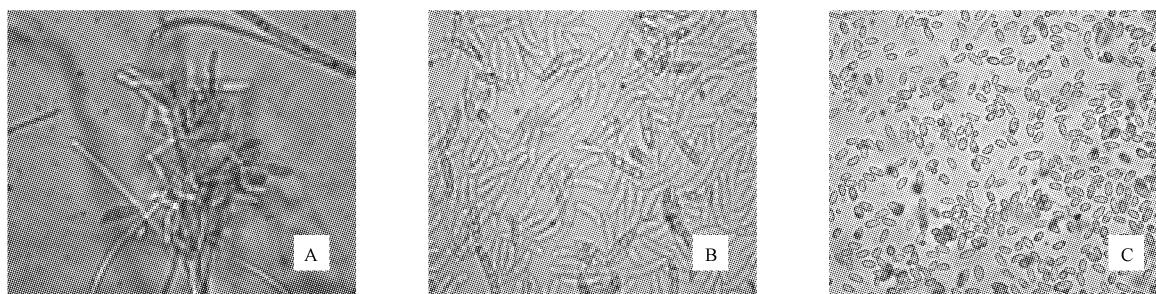


图 1 黄瓜枯萎病菌的形态特征

注:A:分生孢子梗;B:大型分生孢子;C:小型分生孢子。

### 2.2 供试药剂对黄瓜枯萎病菌的抑制效果

由图 2 可知,供试药剂对黄瓜枯萎病菌的抑制效果不同。抑制效果最好的药剂是 36% 噁霉·福美双可湿性粉剂 1 000 倍液,抑制率为 93.92%;其次是 10% 苯醚

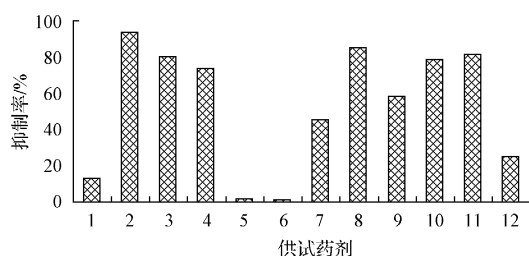


图 2 供试药剂对黄瓜枯萎病菌的抑制率

甲环唑水分散粒剂 1 500 倍液、62.5% 精甲·咯菌腈悬浮剂 1 500 倍液和 99% 恶霉灵粉剂 3 000 倍液,抑制率均在 80% 以上,分别为 85.48%、81.20% 和 80.45%;抑制效果最差的是 72.2% 霜霉威盐酸盐 800 倍液,抑制率为 1.09%;其次是 60% 硫磺·敌磺钠可湿性粉剂 1 000 倍液,抑制率为 1.72%。

### 2.3 7 种化学药剂对黄瓜枯萎病的盆栽防治

从表 3 可以看出,采用药剂拌土的方式,施用供试药剂对黄瓜枯萎病均有一定的防治效果,除 80% 嘧霉胺水分散粒剂和 99% 恶霉灵粉剂 2 个处理的病情指数差异不显著外,其它处理的病情指数均有显著差异。施用 80% 嘧霉胺水分散粒剂 1 500 倍液的防治效果最高,达 93.61%,其次是 99% 恶霉灵粉剂 3 000 倍液和 32.5% 苯

甲·噁菌酯悬浮剂 1 500 倍液,防治效果分别为 89.27% 和 79.48%,因此以上 3 种药剂均可作为土壤处理剂防治黄瓜枯萎病,而且在整个试验过程中,未见各处理药剂对黄瓜产生药害。

表 3 7 种化学药剂防治黄瓜枯萎病盆栽药效试验

处理	病情指数/%	防治效果/%
1	32.10e	62.15
2	66.74c	21.30
3	17.40f	79.48
4	74.44b	12.22
5	46.66d	44.98
6	9.10g	89.27
7	5.42g	93.61
CK	84.80a	

### 3 结论与讨论

#### 3.1 黄瓜枯萎病的病原鉴定

该试验通过对张家口市温室黄瓜的观察发现,初期病株叶片从下向上逐渐萎蔫,类似缺水状,中午尤为明显,早晚尚能恢复,经数日后整株叶片枯萎下垂,茎蔓基部缢缩纵裂,在潮湿环境下,病部表面产生白色或粉红色霉层,将病茎纵切剖视,维管束变褐,与典型的黄瓜枯萎病症状相同。通过对病原菌的分离纯化培养以及形态观察,参照陆家云<sup>[4]</sup>对黄瓜枯萎病菌的形态描述,确定分离的病原物为尖镰孢菌(*F. oxysporum*),这与阮华芳等<sup>[5]</sup>和陈霞等<sup>[6]</sup>的研究结果一致。经回接试验证实,该病原菌是引起张家口市黄瓜枯萎病的病原。

#### 3.2 防治黄瓜枯萎病的药剂筛选

黄瓜枯萎病是典型的土传病害,防治困难。近年来,已有相关报道建议选育抗病品种、嫁接技术、堆肥、生物熏蒸、生防菌株以及植物提取液抑制黄瓜枯萎病菌<sup>[7-14]</sup>,但一旦大规模严重发病,仍缺乏有效的防治药剂。为此,该试验对张家口市黄瓜枯萎病菌进行了分离纯化,并筛选获得了有效的防治药剂。供试药剂对黄瓜枯萎病菌均表现出一定的抑制效果,但不同药剂间抑菌效果不同。经室内测定,36%噁霉·福美双可湿性粉剂 1 000 倍液对黄瓜枯萎病菌表现出较强的抑制作用,抑制率为 93.92%。其次抑制效果较好的是 10%苯醚甲环唑水分散粒剂 1 500 倍液、62.5%精甲·咯菌腈悬浮剂 1 500 倍液和 99%恶霉灵粉剂 3 000 倍液,抑制率均在 80%以上。盆栽试验测定 80%噁霉胺水分散粒剂 1 500 倍液、99%恶霉灵粉剂 3 000 倍液和 32.5%苯甲·噁菌酯悬浮剂 1 500 倍液对黄瓜枯萎病的防治效果在 79.48%~93.61%,可作为土壤处理剂防治黄瓜枯萎病。有些药剂的室内测定抑制效果和盆栽试验防治效果结果表现不一致,这可能与环境条件、土壤

有关,有待于进一步研究。

化学防治方法是防控植物病害的重要措施之一,具有举足轻重的地位。筛选有效的化学药剂可为防治黄瓜枯萎病奠定理论基础,为制定长效防治措施提供支撑。噁霉胺对黄瓜枯萎病表现出较好的防治效果与段广荣等<sup>[15]</sup>研究结果一致。99%恶霉灵粉剂 3 000 倍对黄瓜枯萎病的防效为 89.27%,与陈炳旭等<sup>[16]</sup>的研究结果一致。而肖敏等<sup>[17]</sup>研究发现,用 96%恶霉灵可湿性粉剂 800 倍液灌根防治黄瓜枯萎病,每株浇灌药液 0.5 kg,每隔 7 d 浇灌 1 次,连续浇灌 3 次,第 3 次施药后 15 d,防治效果为 75.79%,比该试验防效低 13.48%,这可能与施药方法不同有关,有待于进一步研究。另外,建议实际生产中防治黄瓜枯萎病时采取轮换使用的原则,延缓产生抗药性,从而长期有效地控制黄瓜枯萎病的发生为害。

#### 参考文献

- [1] 董金皋. 农业植物病理学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2007.
- [2] 顾明洁. 几种杀菌剂对黄瓜枯萎病菌的联合毒力[J]. 西北农业学报,2008,17(1):98-101.
- [3] 李春芝. 瓜类枯萎病药剂防治研究[J]. 现代农业科技,2010(2):185,189.
- [4] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [5] 阮华芳,蒙美莲. 黄瓜枯萎病原镰刀菌的鉴定[J]. 内蒙古农牧学院学报,1987,8(2):139-144.
- [6] 陈霞,刘东,张艳菊,等. 黄瓜枯萎病病原镰孢菌的分离与鉴定[J]. 东北农业大学学报,2010,41(7):37-44.
- [7] 程智慧,宋莉,孟焕文. 大蒜鳞茎粗提物对黄瓜枯萎病的抑菌作用和防病效果[J]. 西北农林科技大学学报,2008,36(5):113-118.
- [8] 刘金秀,马正,申屠旭萍,等. 黄瓜枯萎病拮抗放线菌筛选及其生防作用鉴定[J]. 园艺学报,2012,39(6):1123-1130.
- [9] 马丽娟,周宝利,张淑红,等. 蛇床子提取物对黄瓜枯萎病菌抑制效果的研究[J]. 植物保护,2008,34(4):36-39.
- [10] 赵飞龙,董海龙,仲嘉伟,等. 三种植物提取物对黄瓜枯萎病菌的离体抑菌活性测定[J]. 山西农业科学,2009,37(2):50-52.
- [11] 苗则彦,赵奎华,刘长远,等. 内生细菌 B504 的鉴定及对黄瓜枯萎病的生防作用[J]. 植物保护,2009,35(6):73-77.
- [12] 郎剑锋,刘鸣韬,田雪亮,等. 六种植物源活性物质对黄瓜枯萎病菌的抑菌作用[J]. 湖北农业科学,2009,48(12):3030-3032.
- [13] 赵帅,田长彦,史应武,等. 黄瓜枯萎病生防菌 HD-087 产抗菌物质条件的优化及抑菌作用初探[J]. 微生物学通报,2013,40(5):802-811.
- [14] 周红梅,毛爱军,张丽蓉,等. 黄瓜枯萎病接种方法及抗性遗传的研究[J]. 华北农学报,2010,25(4):186-190.
- [15] 段广荣,石延霞,谢学文,等. 黄瓜枯萎病防治药剂的离体和活体筛选[J]. 中国蔬菜,2010(12):60-65.
- [16] 陈炳旭,黄汉杰. 30%恶霉灵水剂防治瓜类病害的药效试验[J]. 农药,1998,37(7):38-39.
- [17] 肖敏,吉训聪,陈昶. 3%恶霉灵·甲霜灵水剂防治黄瓜枯萎病[J]. 植物保护,2005,31(5):87-88.



# 甜瓜枯萎病的病原鉴定及药剂筛选研究

何玉会<sup>1</sup>, 白庆荣<sup>2</sup>, 杜佳朋<sup>3</sup>, 商圣平<sup>2</sup>, 瞿小杰<sup>1</sup>

(1. 长春科技学院, 吉林 长春 130600; 2. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 3. 上饶师范学院, 江西 上饶 334001)

**摘要:**以采自吉林鲁家镇、四家子镇、乐山镇 3 地的甜瓜枯萎病病株为试材, 采用组织分离法对其病原菌进行分离; 同时进行病菌形态学鉴定和 ITS 序列测定; 并采用生长速率法研究比较了 21 种杀菌剂单剂及 3 种混配剂对该病原菌的毒力作用。结果表明: 该试验共获得 7 个具有致病性的菌株, 表明该病菌为尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*); 室内药剂筛选出了 4 种抑菌效果较好的杀菌剂, 即 450 g/L 咪鲜胺 EC、50% 多菌灵 WP、400 g/L 氟硅唑 EC、30% 氟菌唑 WP; 混配剂 30% 氟菌唑 WP 和 50% 多菌灵 WP 按 2:1 配比毒力作用最强, 其次为 30% 甲霜灵 WP 和 50% 多菌灵 WP 按 2:1 配比。

**关键词:**甜瓜枯萎病; 病原菌; 杀菌剂; 增效作用

**中图分类号:**S 652 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)03-0114-04

甜瓜枯萎病俗称死秧、死藤、萎蔫病等。病菌从根部伤口或根毛顶端细胞间侵入, 通过导管, 从病茎扩展到果梗, 到达果实, 致使种子带菌, 严重时引起瓜秧枯萎

死亡<sup>[1]</sup>。近年来, 瓜类枯萎病的危害逐年加重, 全国各地均有发生<sup>[2]</sup>, 已成为当前甜瓜生产的限制因素<sup>[3]</sup>。目前, 对该病害的控制仍以化学防治为主<sup>[4]</sup>, 但化学药剂的长期使用易导致病菌产生抗药性, 防效并不理想。该研究通过对采自吉林鲁家镇、四家子镇、乐山镇 3 地的甜瓜枯萎病病株进行病原菌分离、鉴定, 同时测定了病菌对 21 种杀菌剂的敏感性, 并对病菌敏感性较高的化学药剂进行不同比例的配比, 旨在寻找防治该病害的高效药剂, 为甜瓜枯萎病的防治提供理论依据。

**第一作者简介:**何玉会(1978-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为园林园艺植物的栽培与养护。E-mail: 419684709@qq.com.

**责任作者:**白庆荣(1975-), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为植物病害综合治理。

**收稿日期:**2013-10-30

## Isolation and Fungicide Screening of Cucumber *Fusarium* Wilt

WU Yu-huan<sup>1</sup>, LU Jian-bin<sup>2</sup>, YU Wen-bin<sup>3</sup>, WU Ya-ming<sup>1</sup>, ZHANG Hong-jie<sup>1</sup>

(1. Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000; 2. Agricultural Information Websites of Zhangjiakou, Zhangjiakou, Hebei 075000; 3. Zhangjiakou Academy of Agricultural Sciences, Zhangjiakou, Hebei 075000)

**Abstract:** Taking cucumber disease plants of *fusarium* wilt as material, the pathogen was isolated through tissue isolation and pathogen morphological observation of cucumber was done, and toxicity tests of twelve fungicides to *Fusarium oxysporum* were carried out using inhibiting growth rate in laboratory, and the effect of seven different kinds of chemical agents on control cucumber *fusarium* wilt was investigated by potted plant trial. The results showed that the isolate was identified as *Fusarium oxysporum*. The effect of 36% evil mildew · thiram WP 1 000 times liquid was the best with control effect of 93.92%, followed by 10% difenoconazole WG 1 500 times liquid, 62.5% fine fludioxonil FS 1 500 times liquid and 99% hymexazol powder 3 000 times liquid with control effect 85.48%, 81.20% and 80.45% respectively. 80% pyrimethanil WDG, 99% hymexazol powder and 32.5% benzoyl · azoxystrobin SC were good fungicides for control cucumber *fusarium* wilt, and the control effect was between 79.48%~93.61%. These fungicides could be used as a soil treatment agent on cucumber *fusarium* wilt, and they were safe to cucumber, so they should be widely exploited and extended in the future.

**Key words:** cucumber; *Fusarium* wilt; isolation; fungicide screening