

# 三十七种生物农药对西瓜细菌性果斑病菌的室内抑菌效果测定

王 雪, 王秀华, 刘晓畅, 解林昊, 杨丽娜, 高 洁

(吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

**摘 要:**以 37 种生物药剂和西瓜细菌性果斑病菌为试材,采用抑菌圈法研究 37 种生物药剂对西瓜细菌性果斑病菌的抑菌效果。结果表明:80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)、80%乙蒜素 EC(汉翔)、3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP、0.15%四霉素 AS 4 种药剂对西瓜细菌性果斑病菌室内抑菌效果较好。该研究筛选出了对西瓜细菌性果斑病具有一定防效的生防药剂,对西瓜细菌性果斑病的科学防治具有指导意义。

**关键词:**西瓜;细菌性果斑病;生物农药;室内药剂筛选

**中图分类号:**S 436.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)19-0111-03

西瓜细菌性果斑病,又称西瓜细菌性果腐病(bacterial fruit blotch of cucurbits,简称 BFB),其病原菌为燕麦嗜酸菌西瓜亚种(*Acidovorax citrulli*,简称 Ac)<sup>[1]</sup>,是世界性的检疫性病害。西瓜苗期和成株期均可发病,可侵染植株叶部和果实,在我国新疆、山东、福建、海南、甘肃、吉林等多省均有不同程度的发生和危害<sup>[2-5]</sup>,是西瓜生产上的毁灭性病害之一。目前,对于瓜类细菌性果斑病种子处理的药剂主要仍是传统的农用硫酸链霉素和铜制剂<sup>[6-8]</sup>,药剂种类比较单一,而利用生物农药防治植物病害是目前发展的方向之一,为了进一步开发出有效的生防药剂,解决药剂种类单一的局面,该研究进行了 37 种

生物农药对西瓜细菌性果斑病菌室内抑菌效果测定试验,以期筛选出防治西瓜细菌性果斑病种子处理的有效药剂,为该病害的防治提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株:西瓜细菌性果斑病菌菌株 ZG678,由吉林农业大学植物病害综合治理实验室提供。

供试药剂:供试生物农药共 37 种(表 1),对照药剂 72%农用硫酸链霉素 SPX(华北制药集团制剂有限公司)。

供试西瓜品种:“京甜超大 182”为感病品种,由北京金硕园农业贸易发展有限公司提供。

### 1.2 试验方法

参照赵斌等<sup>[9]</sup>的抑菌圈法,略有改动。配制  $10^8$  cfu/mL BFB 菌悬液,将温度降到 40℃左右的 NA 培养基与菌悬液(10:1)混合均匀,制成混菌平板。根据所选药剂浓度的使用范围,各选择 4 个浓度配制药液。

**第一作者简介:**王雪(1981-),女,博士,副教授,现主要从事植物病害综合治理等研究工作。E-mail:wangxue813@126.com.

**责任作者:**高洁(1964-),女,博士,教授,现主要从事植物病原细菌学及植物病害综合治理等研究工作。E-mail:jiegao115@126.com.

**基金项目:**农业部公益性行业(农业)科研专项资助项目(201003066)。

**收稿日期:**2015-06-10

PLACE. The plant expression vector pCambia0390-ProMYB12-GUS was constructed and transformed into Agrobacterium GV3101. Through Agrobacterium-mediated transformation, the constructed binary vector was introduced into wild type Micro-Tom (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) tomato fruits, leaves and flowers in order to study the expression properties of this cloned promoter. The results showed that the cloned fragment was 1 290 bp long. Database searching showed that this fragment contained the essential elements such as TATA-box and CAAT-box, besides, there were several elements that responded to abiotic stress and hormones as well as many light responsive elements. Moreover, silico analysis of this isolated promoter sequence revealed the presence of some tissue specific cis-elements. Histochemical staining showed that GUS gene was highly expressed in the transgenic tomato flowers and around the tomato seeds which indicated the tissue specific characterization of the cloned promoter.

**Keywords:** apple; MYB12; promoter; tomato; GUS

表 1 供试药剂

编号	药剂名称	生产厂家
1	2%武夷菌素 AS	山东潍坊万胜生物农药有限公司
2	8%宁南霉素 AS	德强生物股份有限公司
3	8%宁南霉素 AS	山东省寿光市农化研究所
4	2%宁南霉素 AS	黑龙江省强生生化技术开发有限公司
5	0.15%四霉素 AS	辽宁微科生物工程有限公司
6	40%申嗪霉素 SE	河北天一化工有限公司
7	6%噻呋霉素 AS	大连奥德植保药业有限公司
8	3%中生菌素 WP	福建省福州凯立生物制品有限公司
9	10%多抗霉素 WP	广州统联住商农资有限公司
10	20%井冈霉素 SP	重庆中邦药业有限公司
11	10%多杀霉素 WG	北京华戎生物激素厂
12	88%水合霉素 SP	成都普惠生物工程有限公司
13	80%乙蒜素 EC	河南省南阳卧龙农药厂
14	80%乙蒜素 EC(汉翔)	浙江平湖农药厂
15	80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)	北京爱威达生物科技有限公司
16	4%啉啉核苷类抗菌素 AS	深圳诺普信农业股份有限公司
17	3%啉啉核苷类抗菌素 WP	河北博嘉农业有限公司
18	0.5%大霉素甲醚 AS	内蒙古清源保生物科技有限公司
19	80 亿个/mL 地衣芽孢杆菌 AS	安阳市国丰农药有限责任公司
20	200 亿个/g 地衣芽孢杆菌 WP	厦门多多生物科技有限公司
21	100 亿个/g 巨大芽孢杆菌 WP	厦门多多生物科技有限公司
22	120 亿 cfu/g 土壤益生菌 WP	厦门多多生物科技有限公司
23	0.1 亿 cfu/g 多粘类芽孢杆菌 FG	浙江省桐庐汇丰生物化工有限公司
24	10 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP	江苏利农植物保护研究所
25	1 000 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP	德强生物股份有限公司
26	5 亿个/g 淡紫拟青霉 GR	德强生物股份有限公司
27	3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP	常州兰陵制药有限公司
28	3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 WPG	南京海利化工有限公司
29	2.5 亿个/g 厚孢轮枝菌 MG	云南陆良酶制剂有限责任公司
30	2 亿个/g 木霉菌 WG	云南星耀生物制品有限公司
31	3 亿 cfu/g 哈次木霉 WP	美国拜沃股份有限公司
32	2 亿个/mL 微生物菌剂 WP(细菌)	北京康禾生物技术有限公司
33	2 亿个/mL 微生物菌剂 WP(真菌)	北京康禾生物技术有限公司
34	5 亿个/g 淡紫拟青霉 GR	德强生物股份有限公司
35	10 <sup>6</sup> 个/g 寡雄腐霉 WP	捷克生物制剂有限公司
36	0.5%香菇多糖 AS	黑龙江绥化农药有限公司
37	0.5%几丁聚糖 AS	成都特普科技发展有限公司

将直径为 7 mm 的灭菌滤纸片置于直径为 9 cm 的含菌平板培养基中,每皿 3 片,分别取上述药剂不同浓度的药液 10  $\mu$ L 滴于纸碟上,每个处理 3 次重复,以无菌水为对照。28℃下培养 48 h 后,采用十字交叉法测量抑菌圈直径(mm)。

## 2 结果与分析

采用抑菌圈法,测定了 37 种生物型药剂对西瓜细菌性果斑病菌菌株 ZG678 的室内抑菌效果。表 2 表明,供试的 37 种生物农药中,在供试浓度下,仅有 80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)、80%乙蒜素 EC(汉翔)、80%乙蒜素 EC、3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP、0.15%四霉素 AS、6%噻呋霉素 AS、3%中生菌素 WP、0.5%大霉素甲醚 AS、80 亿个/mL 地衣芽孢杆菌 AS、2 亿个/g 木霉菌 WG 和 3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 WPG 11 种药剂对西瓜细菌性果斑病菌表现出抑制效果,其它供试药剂在供试浓度下无抑菌表现。在有抑菌效果的药剂中,以 80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)、80%乙蒜素 EC(汉翔)、3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP、0.15%四霉素 AS 4 种药剂的抑菌效果最为明显,与 72%农用硫酸链霉素 SPX 抑菌效果相当,可考虑作为种子处理药剂。

表 2 37 种药剂对西瓜细菌性果斑病菌的室内抑菌效果

编号	药剂名称	处理浓度 ( $\mu$ g $\cdot$ mL <sup>-1</sup> )	抑菌圈直 径/mm	编号	药剂名称	处理浓度 ( $\mu$ g $\cdot$ mL <sup>-1</sup> )	抑菌圈直 径/mm
		16.0	7.00			0.08	7.00
1	2%武夷菌素 AS	80.0	7.00	20	200 亿个/g 地衣芽孢杆菌 WP	0.4	7.00
		400.0	7.00			2.0	7.00
		2 000.0	7.00			10.0	7.00
		64.0	7.00			0.000 04	7.00
2	8%宁南霉素 AS(亮叶)	320.0	7.00	21	100 亿个/g 巨大芽孢杆菌 WP	0.000 2	7.00
		1 600.0	7.00			0.001	7.00
		8 000.0	7.00			0.005	7.00
		64.0	7.00			0.048	7.00
3	8%宁南霉素 AS	320.0	7.00		120 亿 cfu/g 土壤益生菌 WP	0.24	7.00
		1 600.0	7.00	22		1.2	7.00
		8 000.0	7.00			6.0	7.00
		16.0	7.00			0.1	7.00
4	2%宁南霉素 AS	80.0	7.00		0.1 亿 cfu/g 多粘类芽孢杆菌 FG	0.4	7.00
		400.0	7.00	23		2.0	7.00
		2 000.0	7.00			10.0	7.00
		1.2	7.00			0.04	7.00
5	0.15%四霉素 AS	6.0	8.17	24	10 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP	0.2	7.00
		30.0	13.25			1.0	7.00
		150.0	21.58			5	7.00
		320.0	7.00			0.004	7.00
6	40%申嗪霉素 SE	1 600.0	7.00	25	1 000 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP	0.02	7.00
		8 000.0	7.00			0.1	7.00
		40 000.0	7.00			0.5	7.00
		48.0	7.00			1.2	7.50
7	6%噻呋霉素 AS	240.0	7.00	26	3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP	6.0	20.17
		1 200.0	10.33			30.0	31.00
		6 000.0	16.00			150.0	33.92
		12.0	7.00			1.2	7.00
8	3%中生菌素 WP	60.0	7.00	27	3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 WPG	6.0	7.00
		300.0	12.00			30.0	7.00
		1 500.0	17.42			150.0	13.83
		40.0	7.00			0.8	7.00
9	10%多抗霉素 WP	200.0	7.00	28	200 亿个/g 白僵菌 WP	4.0	7.00
		1 000.0	7.00			20.0	7.00
		5 000.0	7.00			100.0	7.00
		80.0	7.00			0.001	7.00
10	20%井冈霉素 SP	400.0	7.00	29	2.5 亿个/g 厚孢轮枝菌 MG	0.005	7.00
		2 000.0	7.00			0.025	7.00
		10 000.0	7.00			0.125	7.00
		40.0	7.00			0.000 8	8.67
11	10%多杀霉素 WG	200.0	7.00	30	2 亿个/g 木霉菌 WG	0.004	7.00
		1 000.0	7.00			0.02	7.83
		5 000.0	7.00			0.1	9.42
		704.0	7.00			0.002 4	7.00
12	88%水合霉素 SP	3 520.0	7.00	31	3 亿 cfu/g 哈次木霉 WP	0.012	7.00
		17 600.0	7.00			0.06	7.00
		88 000.0	7.00			0.3	7.00
		640.0	9.67			0.000 16	7.00
13	80%乙蒜素 EC	3 200.0	12.25	32	2 亿个/mL 微生物菌剂 WP(细菌)	0.008	7.00
		16 000.0	12.33			0.04	7.00
		80 000.0	24.58			0.2	7.00
		640.0	9.58			0.000 16	7.00
14	80%乙蒜素 EC(汉翔)	3 200.0	17.67	33	2 亿个/mL 微生物菌剂 WP(真菌)	0.008	7.00
		16 000.0	24.17			0.04	7.00
		80 000.0	34.58			0.2	7.00
		640.0	7.75			0.002	7.00
15	80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)	3 200.0	13.75	34	5 亿个/g 淡紫拟青霉 GR	0.01	7.00
		16 000.0	14.17			0.05	7.00
		80 000.0	20.50			0.25	7.00

表 2(续)

编号	药剂名称	处理浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	抑菌圈直 径/mm	编号	药剂名称	处理浓度 /( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	抑菌圈直 径/mm
16	4%噻啉核苷 类抗菌素 AS	32.0	7.00	35	10 <sup>6</sup> 个/g寡 雄腐霉 WP	400	7.00
		160.0	7.00			2 000	7.00
		800.0	7.00			10 000	7.00
		4 000.0	7.00			50 000	7.00
17	3%肽噻啉 核苷类抗 菌素 WP	12.0	7.00	36	0.5%香菇 多糖 AS	4.0	7.00
		60	7.00			20.0	7.00
		300	7.00			100.0	7.00
		1 500	7.00			500.0	7.00
18	0.5%大黄素 甲醚 AS	4.0	7.00	37	0.5%几丁 聚糖 AS	4.0	7.00
		20.0	7.00			20.0	7.00
		100.0	7.00			100.0	7.00
		500.0	10.58			500.0	7.00
19	80 亿个/ml 地衣芽孢 杆菌 AS	0.08	11.92	CK	72%农用 硫酸链霉 素 SPX	50.0	13.58
		0.4	13.00			100.0	13.58
		2.0	13.33			200.0	16.75
		10.0	13.33			300.0	19.42

注:“7.00”代表滤纸片直径。

### 3 结论与讨论

种子带菌是西瓜细菌性果斑病发生和传播的主要来源,做好带菌种子的药剂处理,是防治果斑病发生最直接有效的方法。目前,已报道的农业上防治细菌性果斑病种子处理药剂主要是农用硫酸链霉素、铜制剂<sup>[10]</sup>、 $\text{H}_2\text{SO}_4$ <sup>[11]</sup>、 $\text{HCl}$ <sup>[12]</sup>、甲醛<sup>[13-14]</sup>、过氧乙酸<sup>[15]</sup>、次氯酸钠<sup>[16]</sup>、“西亚 1 号”<sup>[17]</sup>等,而化学药剂的长期持续使用,会造成对环境的污染及抗药性的产生,因此,选择新的生物农药作为种子处理剂代替传统农药已成为发展的方向。国内外关于瓜类细菌性果斑病的生物药剂研究报道较少,武芳等<sup>[18]</sup>报道了生物农药“蔬得康”对西瓜细菌性果斑病的温室防效。该研究开展了防治西瓜细菌性果斑病室内生物农药的筛选工作,筛选出 80%乙蒜素 EC(消菌剑魔)、80%乙蒜素 EC(汉翔)、3 000 亿个/g 荧光假单胞杆菌 DP 和 0.15%四霉素 AS 4 种有效生物药剂,其中植物源生物农药 80%乙蒜素 EC 室内抑菌效果最为明显,可考虑作为西瓜细菌性果斑病种子处理药剂做进一步试验。该研究对防治瓜类细菌性果斑病种子处理的生物农药做了初步筛选,为指导田间西瓜细菌性果斑病的防治提供了参考依据。

## Antibacterial Activity Evaluation of 37 Biological Pesticides *in vitro* Against *Acidovorax citrulli* on Watermelon

WANG Xue, WANG Xiuhua, LIU Xiaochang, XIE Linhao, YANG Lina, GAO Jie  
(College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** The antibacterial activity of 37 biological pesticides against *Acidovorax citrulli* (Ac) were tested by the method of bacteriostatic circle. The results showed that the growth of Ac was obviously inhibited by 4 biological pesticides including ethylin 80% EC, *Pseudomonas fluorescens*, three hundred billion/g DP and tetramycin 0.15% AS. Four effective biological pesticides were determined, which was an important directive to scientific prevention and treatment of the disease.

**Keywords:** watermelon; bacterial fruit blotch; biological pesticide; bacteriocides screening indoor

### 参考文献

- [1] WILLEMS A, GOOR M, THIELEMANS S, et al. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1992, 42(1): 107-119.
- [2] 赵廷昌, 赵洪海, 王怀松. 山东省西瓜、甜瓜发生瓜类细菌性果斑病 [J]. 植物保护, 2009, 35(5): 170-171.
- [3] 蔡学清, 黄月英, 杨建珍, 等. 福建省西瓜细菌性果斑病的病原鉴定 [J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005, 34(4): 434-437.
- [4] 胡俊, 黄俊霞, 刘双平, 等. 内蒙古哈密瓜细菌性果斑病的发生特点与防治技术 [J]. 中国植保导刊, 2006, 26(12): 19-20.
- [5] 金岩, 张俊杰, 吴燕华, 等. 西瓜细菌性果斑病的发生与病原菌鉴定 [J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(3): 263-266.
- [6] 王中武, 吴广成. 西瓜细菌性果斑病药剂防治试验 [J]. 北方园艺, 2009(1): 109-110.
- [7] 王爽, 杨礼哲, 罗丰, 等. 不同药剂处理对西甜瓜细菌性果斑病的抑菌效果初探 [J]. 热带农业科学, 2011, 31(11): 45-48.
- [8] 胡俊, 刘双平, 黄俊霞, 等. 几种药剂对哈密瓜细菌性果斑病菌的室内毒力比较 [C]//中国植物病理学会学术年会论文集, 2006.
- [9] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 118-119.
- [10] 冯建军, 陈坤杰, 金志娟. 种子引发处理对无籽西瓜幼苗生长的影响和对细菌性果斑病菌消毒的效果 [J]. 植物病理学报, 2007, 37(5): 528-534.
- [11] 张昕, 李国英, 任敏忠, 等. 哈密瓜细菌性病害种子带菌及种子处理试验 [C]//全国第二届种子病理学学术研讨会论文汇编, 2001.
- [12] 赵廷昌, 孙福在, 王建荣, 等. 药剂处理种子防治哈密瓜细菌性果斑病 [J]. 植物保护, 2003, 29(4): 50-53.
- [13] 孔祥义, 罗丰, 肖春雷, 等. 不同药剂对甜瓜细菌性果斑病(BFB)带菌种子处理的影响 [J]. 广东农业科学, 2012(5): 74-76.
- [14] 牛庆伟, 孔秋生. 不同药剂处理对西瓜细菌性果斑病带菌种子的影响 [J]. 长江蔬菜, 2012(22): 79-82.
- [15] HOPKINS D L, THOMPSON C M, HILGREN J, et al. Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon [J]. Plant Disease, 2003: 1495-1499.
- [16] RANE K K, LATIN R X. Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed [J]. Plant Disease, 1992: 509-512.
- [17] 张学军, 朱文军, 王登明. 一种新种子处理剂对瓜类细菌性果斑病的防治效果 [J]. 中国瓜菜, 2011, 24(4): 14-17.
- [18] 武芳, 李可, 王云鹏, 等. 生物农药“蔬得康”对西瓜细菌性果斑病菌的温室防效评估 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(2): 266-270.