

文章编号: 1003-8701(2015)05-0093-04

防控番茄灰叶斑病的化学药剂和生防菌株研究

国淑梅¹, 牛贞福¹, 王绍敏¹, 马海艳²

(1. 山东农业工程学院, 济南 250100; 2. 滕州市植保植检站, 山东 枣庄 277599)

摘要:采用生长速度法测定了番茄灰叶斑病原菌在不同温度、光照下的萌发生长情况和常用化学药剂的防治效果,采用对峙实验筛选了防控番茄灰叶斑病的生防菌株。结果表明:番茄灰叶斑病菌最佳的生长温度为30℃左右,光照对其影响不显著;A药剂抑制效果最好,在20℃、25℃抑菌率达100%;30℃在A1浓度下菌丝第四天萌发,在A2浓度下第三天萌发。匍枝根霉、黑根霉和拟康氏木霉对番茄灰叶斑病原菌的抑菌率都在80%以上,其中匍枝根霉的抑菌率达87.68%;拟康氏木霉对峙病原菌时病原菌落萎缩、交界处病原菌丝消解。

关键词:番茄;灰叶斑病原菌;化学药剂;生防菌

中图分类号: S436.412.1

文献标识码: A

Studies on Biocontrol Strains and Chemical Fungicides for Preventiing and Controlling of Tomato Gray Leaf Spot

GUO Shu-mei¹, NIU Zhen-fu¹, WANG Shao-min¹, MA Hai-yan²

(1. Shandong Agricultural Engineering College, Jinan 250100; 2. Tengzhou Plant Protection and Inspection Station, Zaozhuang 277599, China)

Abstract: Germination and growth of tomato gray leaf spot pathogen and control effect of common chemical fungicides was determined in different temperature and light by growth rate method. Biocontrol strains were screened by confrontation test. The results showed that the optimal growth temperature of tomato gray leaf spot was 30℃ and the light did not significantly affect its growth. Fungicide A was best and the inhibition rate reached 100% at 20℃ and 25℃. The pathogen germination needed 4d with A1 concentration and 3d with A2 concentration at 30℃. The inhibition rate of *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus nigricans* and *Trichoderma pseudokoningii* against tomato gray leaf spot pathogen was more than 80% and *Rhizopus stolonifer* reached 87.68%. Pathogen colony atrophied and mycelium digested at the junction of pathogen when dealing with *Trichoderma pseudokoningii*.

Key words: Tomato; Gray leaf spot pathogen; Fungicides; Biocontrol strains

番茄是我国设施栽培的主要蔬菜之一,近年来随着国外硬果型番茄品种的引进,灰叶斑病的发生和为害也越来越严重。灰叶斑病原菌为半知菌类葡萄孢属葡萄孢霉(*Stemphylium solani* Weber)^[1],该病菌主要为害叶片,严重时会造成大量落叶,影响果实产量和品质,一般可减产20%~80%^[2]。

现有文献对番茄灰叶斑病菌的生长适温、光照等条件的研究大多仅限于文字描述,而对其定

量流行学的研究较少;在防控方面化学药剂防治的研究较多,而生物防治的研究仍处于空白阶段。为确定其主要流行学因素和最佳防控方案,本文进行了相关研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病原菌

灰叶斑病原菌:番茄灰叶斑病原菌来源于枣庄市市中区西王庄乡横沟村番茄种植基地,种植品种为美丽娜,采自发病植株的病叶,经山东农业工程学院农业微生物实验室进行分离、纯化、鉴定、培养,培养基为PDA。

收稿日期:2015-04-11

基金项目:山东省高等学校科技计划项目(J12LF51)

作者简介:国淑梅(1975-),女,讲师,硕士,从事植物病理的教学与科研工作。

1.1.2 化学药剂

75%百菌清可湿性粉剂(广东中迅农科股份有限公司),70%代森锰锌可湿性粉剂(山东天成农药有限公司),20%噻菌铜悬浮剂(浙江龙湾化工有限公司),10%苯醚甲环唑水分散粒剂(绩溪农华生物科技有限公司),70%甲基托布津可湿性粉剂(江苏龙灯化学有限公司),25%嘧菌酯悬浮剂(先正达)。

1.1.3 生防菌

匍枝根霉(*Rhizopus stolonifer*),木霉(*Trichoderma viride*),拟康氏木霉(*Trichoderma pseudokoningii*),哈茨木霉 I (*Trichoderma harzianum* I),哈茨木霉 II (*Trichoderma harzianum* II),黑根霉(*Rhizopus nigricans*),以上菌株均来自山东大学生命科学学院。

1.2 方法

1.2.1 温度、光照对病原菌生长的影响

将活化5~6 d的病原菌菌落边缘的菌饼(用Φ6 mm打孔器)接种至PDA培养基上,然后将其分别置于5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、28℃、30℃、33℃、35℃的光照培养箱中,分别无光培养(24 h黑暗)和有光培养(12 h、15 000 lx连续光照,12 h连续黑暗),每天测量病原菌菌丝长度;3次重复。

1.2.2 化学药剂的筛选

(1)选取目前生产中番茄灰叶斑病防治常用的药剂,制作4种含A、B、C、D药剂的PDA平板,每种平板包含2种药剂浓度,即A药剂(A1:75%百菌清可湿性粉剂400倍液+70%代森锰锌可湿

性粉剂300倍液,A2:75%百菌清可湿性粉剂800倍液+70%代森锰锌可湿性粉剂600倍液)、B药剂(B1:20%噻菌铜悬浮剂250倍液,B2:20%噻菌铜悬浮剂500倍液)、C药剂(C1:10%苯醚甲环唑水分散粒剂750倍液+70%甲基托布津可湿性粉剂300倍液,C2:10%苯醚甲环唑水分散粒剂1500倍液+70%甲基托布津可湿性粉剂600倍液)、D药剂(D1:25%嘧菌酯悬浮剂750倍液,D2:25%嘧菌酯悬浮剂1500倍液)^[3]。(2)将活化5~6 d的病原菌菌落边缘的菌饼(用Φ6 mm打孔器)接种至含有以上药液倍数的PDA培养基上,放于20℃、25℃、30℃培养箱中,分别同上进行无光培养和有光培养,每天测量病原菌菌丝长度;3次重复。

1.2.3 生防菌的筛选

采用平板对峙的方法,将6株生防菌的菌饼(Φ6 mm)用灭菌后的接种环接种到PDA培养基的一侧,将灰叶斑病菌菌饼(Φ6 mm)接种到PDA培养基的另一侧,25℃恒温培养,测量其抑菌率和拮抗级数^[4],并挑取生防菌和病原菌菌落交界处的病原菌菌丝在光学显微镜下观察病原菌菌丝的变化。

2 结果与分析

2.1 温度、光照对病原菌生长的影响

番茄灰叶斑病原菌在不同温度、光照条件下的生长见表1。

表1 温度、光照对番茄灰叶斑病原菌生长的影响

温度(℃)	光照条件	菌丝长度(mm)									
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d
5	有光	-	-	-	萌发	11.70	14.52	16.78	17.52	20.87	22.52
	无光	-	-	-	-	萌发	13.22	15.90	17.95	19.97	20.86
10	有光	-	-	-	萌发	12.31	14.95	17.50	20.00	22.96	25.65
	无光	-	-	萌发	11.87	13.45	13.84	16.58	18.19	22.09	24.96
15	有光	萌发	9.29	14.94	21.28	26.73	33.16	38.51	44.46	47.44	51.62
	无光	-	萌发	萌发	12.82	16.24	24.77	29.59	33.36	36.14	39.43
20	有光	萌发	10.53	18.38	26.96	33.57	40.25	47.36	54.34	60.37	64.99
	无光	萌发	11.61	16.05	26.47	33.17	41.68	45.31	51.96	55.07	60.82
25	有光	72.77	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	无光	56.72	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	有光	68.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	无光	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	有光	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	无光	57.87	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	有光	萌发	11.99	18.43	22.56	34.00	29.04	33.50	34.76	36.54	37.29
	无光	萌发	11.87	17.25	21.66	25.05	27.21	28.92	29.27	29.32	31.04
35	有光	-	-	-	-	萌发	11.21	13.76	14.53	16.24	16.87
	无光	-	-	-	-	-	萌发	10.21	11.32	13.24	14.65

注:“-”表示病原菌丝没萌发,“+”表示菌落长满,下同

从表 1 可以看出,温度对番茄灰叶斑病原菌的生长影响最大,病原菌在 5 ~ 35℃均可生长,生长适温 20 ~ 33℃,最适 25 ~ 30℃。光照对病原菌萌发生长无显著影响,但有光条件下病原菌生长

速度总体上要快于无光条件。
2.2 化学药剂的筛选
4 种化学药剂、2 种药剂浓度对番茄灰叶斑病原菌的抑制见表 2。

表 2 化学药剂对番茄灰叶斑病原菌的影响

药剂	浓度	温度(℃)	光照条件	菌丝长度(mm)						
				1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
A	A1	20	有光	—	—	—	—	—	—	—
			无光	—	—	—	—	—	—	—
		25	有光	—	—	—	—	—	—	—
			无光	—	—	—	—	—	—	—
		30	有光	—	—	—	萌发	9.31	11.19	12.93
			无光	—	—	—	萌发	2.59	2.99	3.50
	A2	20	有光	—	—	—	—	—	—	—
			无光	—	—	—	—	—	—	—
		25	有光	—	—	—	—	—	—	—
			无光	—	—	—	—	—	—	—
		30	有光	—	—	萌发	11.12	14.70	19.21	22.22
			无光	—	—	—	—	—	—	—
B	B1	20	有光	萌发	6.44	18.31	24.76	27.90	37.29	42.94
			无光	萌发	10.97	18.37	22.22	25.77	31.22	36.45
		25	有光	萌发	12.68	20.14	30.30	35.24	43.39	48.65
			无光	—	萌发	11.49	20.06	30.36	36.52	44.28
		30	有光	萌发	13.46	21.02	27.42	32.18	38.37	42.76
			无光	萌发	7.51	16.68	21.02	26.48	35.03	40.38
	B2	20	有光	萌发	11.73	19.78	27.56	34.40	41.40	48.07
			无光	萌发	12.62	20.84	29.21	35.48	43.41	48.26
		25	有光	萌发	12.99	20.46	28.69	33.93	38.47	42.83
			无光	—	萌发	15.25	23.44	33.62	42.40	50.71
		30	有光	萌发	12.80	17.64	24.95	29.36	37.90	42.38
			无光	萌发	13.77	19.60	26.67	29.51	36.92	44.54
	C1	20	有光	—	—	—	萌发	9.57	11.06	12.85
			无光	—	—	—	萌发	4.61	5.63	10.76
		25	有光	—	萌发	7.23	12.59	14.37	15.82	16.01
			无光	—	—	—	萌发	9.44	10.02	11.04
		30	有光	萌发	3.17	9.92	11.74	13.18	15.85	17.08
			无光	—	萌发	8.99	9.74	10.79	12.08	15.25
C	C2	20	有光	—	萌发	9.29	10.21	11.73	13.61	15.41
			无光	—	—	萌发	4.65	10.27	12.29	13.27
		25	有光	—	萌发	7.87	10.92	13.69	14.70	15.72
			无光	—	—	—	萌发	9.33	10.87	12.51
		30	有光	—	萌发	5.76	12.92	14.62	18.42	21.09
			无光	—	萌发	10.20	12.42	14.39	19.15	21.42
	D1	20	有光	萌发	11.61	17.71	24.16	29.90	37.50	41.78
			无光	萌发	11.82	16.49	21.62	26.11	29.87	36.57
		25	有光	萌发	12.69	18.73	23.52	32.84	37.76	44.10
			无光	—	萌发	11.51	18.25	21.45	26.78	31.08
D	D1	30	有光	萌发	13.15	21.21	29.02	34.02	39.86	43.54

续表 2

药剂	浓度	温度(℃)	光照条件	菌丝长度(mm)						
				1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
D	D1	20	无光	萌发	12.20	14.67	19.51	23.16	27.00	34.78
	D2		有光	—	萌发	13.93	22.25	29.32	33.75	38.51
			无光	萌发	10.22	16.66	20.50	22.38	24.56	26.23
			有光	萌发	11.73	17.03	22.78	26.54	31.75	35.27
		25	无光	—	萌发	15.55	20.32	25.02	29.50	33.79
			有光	萌发	10.96	16.00	19.27	25.96	32.24	36.25
		30	有光	萌发	10.96	16.00	19.27	25.96	32.24	36.25
			无光	萌发	12.86	16.80	21.21	25.18	27.03	33.85

从表 2 和表 1 对比可以看出,在 3 种温度和 2 种光照条件下 A、B、C、D 4 种生产上常用的药剂均对番茄灰叶斑病原菌有抑制作用,与表 1 中的 20℃、25℃、30℃ 的菌丝生长情况对比达到极显著水平。其中 A 药剂抑制效果最好,尤其是在 20℃、25℃ 下 2 种浓度的 A 药液抑菌率均达 100%;30℃ 下 A1 浓度有无光照病原菌都生长,有光照的生长速度大于无光照的,A2 浓度下有光照的生长(萌发速度快于 A1 浓度下),无光照的不萌发。其次

是 C 处理,3 个温度下病原菌都萌发生长,C2 浓度的病原菌生长速度大于 C1 浓度,2 种浓度均在 20℃ 抑菌最好,依次为 25℃、30℃;B 处理和 D 处理差异不显著。4 种药剂的 2 种浓度对病原菌的抑制无显著差异。

2.3 生防菌株的筛选

生防菌株与番茄灰叶斑病原菌的对峙情况见表 3。

表 3 6 种生防菌株对番茄灰叶斑病原菌的抑制作用

生防菌株	抑菌率(%)	拮抗级数	病原菌落	交界处病原菌丝
匍枝根霉	87.68	Ⅱ	僵持	断裂
木霉	66.21	Ⅱ ~ Ⅲ	萎缩	消解
TPM	81.41	Ⅱ	萎缩	消解
哈茨木霉 I	27.44	Ⅲ ~ Ⅳ	萎缩	消解
哈茨木霉 II	70.82	Ⅱ ~ Ⅲ	萎缩	消解
黑根霉	82.31	Ⅱ	僵持	断裂

从表 3 可以看出,6 种生防菌均对番茄灰叶斑病原菌有抑制作用,其中匍枝根霉最高,为 87.68%;黑根霉和拟康氏木霉次之,抑制率分别为 82.31%、81.41%。3 种生防菌的拮抗级数均达到 Ⅱ 级,灰叶斑病原菌对峙匍枝根霉和黑根霉时,其菌落形成僵持状态、病原菌菌丝断裂;拟康氏木霉对峙灰叶斑病原菌时,病原菌落萎缩、交界处病原菌丝消解。

3 结论与讨论

3.1 结论

根据番茄灰叶斑病在不同温度下的生长状况和化学药剂的抑制情况可以确定,番茄灰叶斑病最佳的生长温度为 30℃ 左右;病原菌在有光条件下比黑暗条件下萌发生长快,但差异不显著。

实验的 4 种化学药剂均对灰叶斑病原菌有抑

制作用,其中 A 药剂抑制效果最好,在 20℃、25℃ 抑菌率达 100%,30℃ 在 A1 浓度下第四天萌发,在 A2 浓度下第三天萌发;其次 C 药剂,抑菌效果较好。

匍枝根霉、黑根霉和拟康氏木霉对番茄灰叶斑病原菌的抑制率都在 80% 以上,其中匍枝根霉的抑菌率达 87.68%;拟康氏木霉对峙灰叶斑病原菌时病原菌菌落萎缩、交界处病原菌丝消解。

3.2 讨论

从表 2 中可以看出各种药剂在 30℃ 时对番茄灰叶斑病原菌抑制效果最差,结合表 1 可推断番茄灰叶斑病原菌生长的最适温度为 30℃,因此进行化学防控时,应同时把环境温度降至 30℃ 以下,以取得较好的防治效果。

6 种生防菌株对番茄灰叶斑病原菌的抑制效果差别较大,其中匍枝根霉、(下转第 101 页)

进,高浓度(75~100 mmol·L⁻¹)盐碱胁迫抑制,且100 mmol·L⁻¹盐碱抑制作用明显,50 mmol·L⁻¹盐碱胁迫只对根系干重的增加有促进作用,对其他指标表现为抑制。对于甜瓜幼苗根体积、叶面积以及根系和地上部干物质比值研究表明:盐碱胁迫抑制了根系体积和叶面积的增加且具有浓度和时间依赖性,同时盐碱胁迫增加了根系干物质分配比率。

参考文献:

- [1] Zhang J F, Jiang J M, Shah Q H, et al. Soil salinization and ecological remediation by planting trees in China[A]. In the international conference on mechanic automation and control engineering(MACE)[C]. 2010: 1349-1352.
- [2] 李晓燕,宋占午,董志贤.植物的盐胁迫生理[J].西北师范大学学报(自然科学版),2004,40(3):106-111.
- [3] 谢德意,王惠萍,王付欣,等.盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J].种子,2000(3):10-11.
- [4] 魏国强,朱祝军,方学智,等.NaCl胁迫对不同品种黄瓜幼苗生长、叶绿素荧光特性和活性氧代谢的影响[J].中国农业科学,2004,37(11):1754-1759.
- [5] 孟长军.盐胁迫对樱桃番茄幼苗形态指标的影响[J].吉林农业科学,2012,37(3):45-48.
- [6] 吴旭红,董雪芹.碱胁迫对甜瓜幼苗生长及光合色素含量

和抗氧化作用的影响[J].种子,2011,8(30):62-64.

- [7] 杨春武,李长有,尹红娟.小冰麦(*Triticum aestivum*-*Agropyron intermedium*)对盐胁迫和碱胁迫的生理响应[J].作物学报,2007,33(8):1255-1261.
- [8] 麻莹,曲冰冰,郭立泉.盐碱混合胁迫下抗碱盐生植物碱地肤的生长及其茎叶中溶质积累特点[J].草业学报,2007,16(4):25-33.
- [9] 盖志佳,王玉波,王志农.定量施肥对甜菜干物质积累与分配的影响[J].作物杂志,2012(1):72-75.
- [10] 许兴,李树华,惠红霞,等.NaCl胁迫对小麦幼苗生长、叶绿素含量及Na⁺、K⁺吸收的影响[J].西北植物学报,2002,22(2):278-284.
- [11] 赵可夫.植物抗盐生理[M].北京:中国科学技术出版社,1993.
- [12] 李伟.NaCl盐胁迫对番茄生长发育及蔗糖代谢的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2006.
- [13] Taleisnik E, Rodriguez A A, Bustos D, et al. Leaf expansion in grasses under salt stress[J]. Plant Physiol, 2009(166): 1123-1140.
- [14] 陈年来,马国军,张玉鑫,等.甜瓜种子萌发和幼苗生长对NaCl胁迫的响应[J].中国沙漠,2006,5(26):814-819.
- [15] 童辉,孙锦,郭世荣,等.等渗Ca(NO₃)₂和NaCl胁迫对黄瓜幼苗根系形态及活力的影响[J].南京农业大学学报,2012,35(3):37-41.

(责任编辑:王昱)

(上接第92页)

- [19] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版社,2000.
- [20] 何峰江,谢军,耿文娟,等.不同杏品种抗旱生理研究[J].现代农业科技,2012(16):86,90.
- [21] 赵习平,刘铁铮,付雅丽.杏树花期霜冻危害及其抗寒性研究进展[J].江西农业学报,2007,19(11):33-35.
- [22] Bowler C, Van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and

stress tolerance[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Molbiol, 1990(41): 187-223.

- [23] 王华,王飞,陈登文,等.低温胁迫对杏花SOD活性和膜脂过氧化的影响[J].果树科学,2000,17(3):197-201.
- [24] 王飞,陈登文,高爱琴,等.杏品种一年生休眠枝、花、幼果抗寒的相关分析[J].西北植物学报,1999,19(4):618-622.

(责任编辑:范杰英)

(上接第96页)拟康氏木霉和黑根霉的抑制作用明显高于常用的化学药剂,而且对环境友好,能否在生产上代替化学药剂有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘安敏,孙家栋,陶秀珍,等.番茄灰叶斑病的发生规律与综合防治技术[J].中国植保导刊,2004(4):23-24.

- [2] 陈随举.番茄灰叶斑病的为害症状及防治[J].现代农业科技,2011(1):29.
- [3] 李宝聚,周艳芳,赵彦杰,等.番茄灰叶斑病的发生与防治[J].中国蔬菜,2009(17):24-26.
- [4] 张丽荣,康萍芝,沈瑞清.木霉对土传病害病原真菌的拮抗作用[J].内蒙古农业科技,2007(5):48-50.

(责任编辑:范杰英)