

番茄溃疡病病原细菌对5种药物敏感程度的研究

徐佳¹, 王燕春^{1*}, 张庆萍²

(1. 赤峰市农牧科学研究院, 内蒙古 赤峰 024031; 2. 内蒙古农牧业科学院, 内蒙古 呼和浩特 010000)

摘要:目前国内鲜有关于番茄溃疡病菌对药物敏感程度的研究报道, 本研究针对19株溃疡病菌对5种药剂的敏感性进行了测定, 结果表明, 19株菌全部对络氨铜和噻菌铜表现耐药, 73.68%的菌株对氢氧化铜表现耐药, 78.95%的菌株对0.1%溴硝醇溶液表现高度敏感, 94.74%的菌株对链霉素表现高度敏感, 说明目前使用链霉素防治番茄溃疡病的效果要远远好于铜制剂和溴硝醇; 抗药菌株的出现, 说明溃疡病菌对药剂已经产生了抗性, 对铜制剂的抗药性最强。

关键词: 番茄; Cmm; 药敏性测试

中图分类号: S436.412.1*9

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)04-0086-04

Studies on Susceptibility of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* to Five Fungicides

XU Jia¹, WANG Yanchun^{1*}, ZHANG Qingping²

(1. Chifeng Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Chifeng 024031; 2 Institute of Plant Protection, Inner Mongolia Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010000, China)

Abstract: At the present, there are rare relevant studies regarding tomato ulcer bacteria sensitivity to drugs. The susceptibility of 19 strains of ulcer bacteria to 5 kinds of drugs was determined in the study. The results showed that all 19 strains of bacteria showed tolerance to Cuaminosulfate and Thiodiazole copper, seventy three point sixty eight percent strains of bacteria showed tolerance to Copper hydroxide, seventy eight point ninty five percent of the strains was highly sensitive to 0.1% 2-Bromo-2-nitro-1, 3-propanediol, ninty four point seventy four percent of the strains was highly sensitive to streptomycin. Therefore, the effect of streptomycin was far better than the effect of copper agents and Bronopol for prevention and cure of tomato canker. The emergence of resistant strains showed that the ulcer bacteria resistance has occurred, and the strongest resistance was to copper preparation.

Key words: Tomato; *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*.; Susceptibility test

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 隶属于茄科 (Solanaceae)^[1], 是一年生草本植物, 适应性强, 营养丰富, 产量高, 是世界上广泛栽培的蔬菜作物之一, 也是我国最重要的蔬菜作物之一, 其产量和品质直接影响人们的生活和消费水平^[2]。但是番茄在生产中受到很多因素的制约, 尤其是各种病害的发生, 大大降低了番茄的产量和品质。近年来随着温室栽培番茄面积的不断扩大, 各种病虫害随之发生。目前, 我国番茄病害近 70 种^[3-4],

番茄溃疡病也在其中, 而且已成为危害番茄的主要病害之一^[5]。

番茄溃疡病是番茄生产中易发生的一种毁灭性的维管束病害, 其病原菌为密执安棒形杆菌密执安亚种 (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, 以下简称 Cmm), 是我国检疫性有害生物, 我国 1997 年将其列入《中国进境植物检疫潜在的植物危险性病、虫、杂草 (三类有害生物) 名录》^[6], 该病害也正因为具有传播距离远、防治困难等特点而逐渐被重视。国际上报道活化酯 (acibenzolar-S-methyl) 等药剂可以诱导番茄抗溃疡病^[7], 铜制剂如可杀得等保护性杀菌剂应用于生产中预防溃疡病^[8]。但目前世界范围内尚无理想的防治该病害的有效药剂, 也没有培育出商品化的抗病品种。但是目前对于番茄溃疡病病原菌

收稿日期: 2016-02-20

基金项目: 内蒙古自治区“草原英才”工程基金项目 (CN201206)

作者简介: 徐佳 (1985-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物病虫害研究。

通讯作者: 王燕春, 女, 博士, 副研究员, E-mail: ychunwang@163.com

对药剂的敏感程度的研究还未见报道,本研究对番茄溃疡病菌对5种药剂的敏感程度进行研究,旨在探讨病原细菌对常用抑菌药剂的敏感程度以及抗药性的大小,为后续番茄溃疡病防治方法的研究和生产实践提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株

本研究所用溃疡菌菌株均采自赤峰市不同旗县区乡镇的番茄溃疡病菌样品,经分离、纯化、形态学鉴定、致病性试验验证及特异引物对PCR检测,确定为溃疡菌的菌株。研究所用的19个菌株编号如下:TCF12032804、TWNT13091405、TCZ13051501、TCZ13061301、TCZ12103001、TKTJ14062501、TDP14042602、TDP14042601、TKTJ14072302、TYB12061302、TDP14022502、TWNT13091403、TDP13091401、TAQ13061401、TNM13060301-2、TWNT13091404、TDP13091402、TCF13061901和TYB12061301。

1.1.2 供试药剂

本试验所用药剂为以下5种:链霉素600倍溶液、噻菌铜300倍溶液、0.5%氢氧化铜溶液、0.5%络氨铜溶液和0.1%溴硝醇溶液。

1.2 试验方法

1.2.1 药敏纸片的制备

药敏纸片选用质量较好的滤纸,用打孔器制成6 mm直径的圆纸片,每100片分装在一个干净的10 mL带盖离心管内,121℃高压蒸汽灭菌30 min,再经60~100℃烘干。每一离心管分别加入一定浓度的抗菌药剂2 mL,使纸片均匀地浸吸药液,置冰箱内浸泡30~60 min后备用。

1.2.2 接种

被检菌液制备好后吸取200 μ L接种于523培养基上,用灭菌玻璃涂布器均匀涂布,加盖后放置片刻,待菌液稍干,用镊子将药敏纸片平放在平板上,并轻压使其紧贴于平板表面,药敏纸片一旦接触平板不要移动。直径9 cm平皿贴纸片6张,每个药剂重复2板,于28℃下培养48 h。

1.2.3 结果判定

测量抑菌圈直径(包括药敏纸片直径),按其大小报告敏感、中度敏感或耐药。国内药敏试验结果判定标准参照NCCLS(美国临床和实验室标准协会)的标准,多以直径小于10 mm为耐药,10~15 mm为中度敏感,大于15 mm为高度敏感。

2 结果与分析

由表1可以看出,不同菌株对同一药剂的敏

表1 不同药剂对19株菌抑菌圈大小的方差分析

标本编号	0.5% 络氨铜	0.1% 溴硝醇	链霉素 600倍液	0.5% 氢氧化铜	噻菌铜 300倍液
TCF12032804	6.000 0 Bbc	17.750 0 Def	21.415 0 EFGfg	6.835 0 Dd	6.250 0 Aab
TWNT13091405	6.000 0 Bbc	6.000 0 Eg	29.875 0 BCbc	6.335 0 Dd	6.000 0 Ab
TCZ13051501	6.335 0 Bbc	17.420 0 Def	25.500 0 CDEde	6.165 0 Dd	6.335 0 Aab
TCZ13061301	6.420 0 Bbc	6.000 0 Eg	20.500 0 FGfg	8.580 0 Cc	6.000 0 Ab
TCZ12103001	9.750 0 Aa	17.415 0 Def	15.335 0 Hlh	6.085 0 Dd	6.000 0 Ab
TKTJ14062501	6.000 0 Bbc	16.085 0 Def	18.875 0 GHg	6.750 0 Dd	6.250 0 Aab
TDP14042602	6.335 0 Bbc	14.125 0 Df	19.170 0 FGHg	6.665 0 Dd	6.000 0 Ab
TDP14042601	6.085 0 Bbc	19.830 0 De	23.915 0 DEFef	6.165 0 Dd	6.000 0 Ab
TKTJ14072302	6.000 0 Bbc	15.915 0 Def	21.835 0 EFGfg	6.000 0 Dd	6.000 0 Aa
TYB12061302	6.085 0 Bbc	29.080 0 BCd	19.250 0 FGHg	6.000 0 Dd	6.000 0 Aa
TDP14022502	6.915 0 Bb	30.500 0 BCed	30.250 0 BCbc	10.330 0 Bb	6.335 0 Aa
TWNT13091403	6.000 0 Bbc	36.580 0 Bab	26.915 0 CDcde	6.000 0 Dd	6.415 0 Aa
TDP13091401	6.335 0 Bbc	6.000 0 Eg	34.915 0 Aa	6.250 0 Dd	6.250 0 Aab
TAQ13061401	6.335 0 Bbc	39.920 0 Aa	27.835 0 BCDed	6.000 0 Dd	6.000 0 Ab
TNM13060301-2	6.165 0 Bbc	34.750 0 ABbc	15.125 0 Hlh	10.040 0 Bb	6.335 0 Aab
TWNT13091404	5.085 0 Bc	30.500 0 BCed	18.875 0 GHg	10.875 0 ABb	6.000 0 Ab
TDP13091402	6.000 0 Bbc	30.500 0 BCed	32.000 0 ABab	11.915 0 Aa	6.000 0 Ab
TCF13061901	5.665 0 Bbc	38.830 0 Aab	12.290 0 Ih	6.000 0 Dd	3.585 0 Bc
TYB12061301	6.000 0 Bbc	26.705 0 Cd	15.335 0 Hlh	10.085 0 Bb	6.000 0 Ab

注:同列大写字母不同表示在0.01水平上差异显著,小写字母不同表示在0.05水平上差异显著

感程度不同,同一菌株对不同药剂的敏感程度也不相同。

①从0.5%络氨铜溶液的抑菌结果来看,形成的抑菌圈直径都小于10 mm,所有菌株表现为耐药;药剂对菌株TCZ12103001形成的抑菌圈直径最大,为9.750 0 mm,与其他菌株的抑菌圈直径差异极显著;药剂对TDP14022502的抑菌圈直径与其他菌株(除TCZ12103001之外)之间呈显著差异;药剂对TWNT13091404的抑菌圈直径最小,与其他菌株之间差异显著(除TCZ12103001之外)。

②从0.1%溴硝醇溶液的抑菌结果来看,药剂对菌株TWNT13091405、TDP13091401和TCZ13061301的抑菌圈直径最小,均为6.000 0 mm,表现为耐药,且3个菌株之间差异不显著,但与其他菌株之间差异达到极显著水平;除耐药的3个菌株外,只有菌株TDP14042602对0.1%溴硝醇溶液表现为中度敏感,其余菌株对0.1%溴硝醇溶液均表现高度敏感;药剂对菌株TAQ13061401和TCF13061901的抑菌圈直径达到39.920 0 mm和38.830 0 mm,与其他菌株间差异达到极显著水平,但这两个菌株间差异不显著。

③从链霉素600倍溶液的抑菌效果来看,药剂对菌株TDP13091401的抑菌效果最好,抑菌圈直径达到34.915 0 mm,除菌株TDP13091402外,与其他菌株间差异达到极显著水平;对菌株TCF13061901的抑菌圈直径为12.290 0 mm,说明菌株对药剂表现为中度敏感,其余菌株呈现的抑菌圈直径均大于15 mm,表现为对药剂高度敏感。

④从0.5%氢氧化铜溶液的抑菌效果来看,菌株TDP14022502、TNM13060301-2、TWNT13091404、TDP13091402和TYB12061301呈现的抑菌圈直径分别为10.330 0 mm、10.040 0 mm、10.875 0 mm、11.915 0 mm和10.085 0 mm,对药剂表现为中度敏感,其余菌株呈现的抑菌圈直径均小于10 mm,表现耐药;药剂对菌株TDP13091402的抑菌圈直径为11.915 0 mm,与其他菌株之间差异极显著。

⑤从噻菌铜300倍液的抑菌效果来看,所有菌株呈现的抑菌圈直径均小于10 mm,因此,所有菌株对噻菌铜300倍溶液均表现耐药;菌株TCF13061901呈现的抑菌圈直径最小,为3.585 0 mm,与其他菌株间差异达到极显著水平。

3 结论与讨论

研究表明,19株菌全部对络氨铜和噻菌铜表现耐药,73.68%的菌株对氢氧化铜表现耐

药,可见番茄溃疡病病原菌对常用的铜制剂都已经产生了一定的抗药性;78.95%的菌株对0.1%溴硝醇溶液表现高度敏感,可见使用溴硝醇防治番茄溃疡病的效果较好,但是仍然有3株菌对溴硝醇溶液表现耐药,说明溴硝醇虽然有很好的抑菌效果,但是抗药菌株的出现使得该药剂的防治效果不容乐观;94.74%的菌株对链霉素表现高度敏感,只有一株菌表现中度敏感,说明目前使用链霉素防治番茄溃疡病的效果要远远好于铜制剂和溴硝醇。

铜制剂、代森锰锌、琥胶肥酸铜(DT)和农用链霉素等药剂应用于生产中可以预防番茄溃疡病^[9-12],但还没有防治番茄溃疡病的特效药剂^[13],田间防治Cmm的最常用的药剂就是各种铜制剂,虽然长期施用含铜的杀细菌剂有可能会导病原细菌产生抗药性,但目前还没有关于Cmm对铜制剂产生抗性的报道。但是本研究结果显示针对5种药剂均出现了抗药菌株,说明该病原菌已经对药剂产生了一定的抗药性,尤其是铜制剂,所有菌株均表现出了非常强的抗药性。从3种铜制剂在不同菌株上呈现的抑菌圈直径的大小来看,多数菌株对噻菌铜的抗性最强,其次是络氨铜,对氢氧化铜的抗性稍弱。可见药剂防治番茄溃疡病已经远远不够,选育抗病品种和规范栽培管理对于番茄溃疡病的防治也非常重要。前人研究表明,定植前苗床用40%福尔马林30 mL加3~4 L水消毒,用塑料膜盖5 d,揭开后过15 d再定植幼苗,并采取高垄栽培,对番茄溃疡病有一定的防效^[14]。可见防治番茄溃疡病的方法不能单纯局限于化学防治,应该注重化学防治、选育抗病品种和规范栽培管理三方面相结合的综合防治技术。

参考文献:

- [1] 赵凌侠,李景富.番茄起源、传播及分类的回顾[J].作物品种资源,1999(3):29-31.
- [2] 刘以前,沈火林,石正强.番茄果实生长发育过程中糖的代谢[J].华北农学报,200,21(3):51-56.
- [3] 赵凯,孔德英.番茄主要病害的识别与无公害防治[J].植物医生,2005,18(3):13-14.
- [4] 李戌清,郑积荣,吕晓菡,等.我国番茄灰叶斑病研究进展[J].中国植保导刊,2015,35(3):24-27.
- [5] 冷鹏,唐洪杰,钟建峰,等.番茄溃疡病的发生与防治技术[J].浙江农业科学,2011(2):386-387.
- [6] 罗来鑫,赵廷昌,李健强,等.番茄细菌性溃疡病研究进展[J].中国农业科学,2004,37(8):1144-1150.
- [7] Werner N A, Fulbright D W, Podolsky R. Limiting populations and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on

- seedling tomatoes in the greenhouse[J]. Plant Disease, 2002, 86 (5): 535-542.
- [8] Gleason M L, Gitalfis R D, Ricker M D. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America[J]. Plant Disease, 1993, 77(11): 1069-1076.
- [9] 胡 俊,塔 娜,胡宁宝,等.内蒙古西部地区番茄溃疡病发生特点及防治对策[J].内蒙古农业科技,1998(增刊): 147-148.
- [10] 李 春,金 潜,李国英,等.新疆番茄溃疡病的发生及其病原菌鉴定[J].新疆农业科学,1995(5):221-224.
- [11] 李 春,金 潜,李国英.番茄溃疡病在我区的发生及防治对策[J].新疆农垦科技,1996(4):15.
- [12] 耿福利.番茄溃疡病的发生与综合防治[J].蔬菜,1999 (12):25.
- [13] 罗来鑫,李健强,Hasan BOLKAN.番茄细菌性溃疡病苗期接种新方法的研究[J].植物病理学报,2005,35(2):123-128.
- [14] 李明远.北京地区番茄溃疡病的发生[J].中国蔬菜,2009(13): 18-19.

(责任编辑:范杰英)

欢迎订阅2017年《大豆科学》

全国中文核心期刊 中国科技核心期刊 中国农业核心期刊

中国科学引文数据库来源期刊 RCCSE中国学术核心期刊

CA化学文摘(美)收录期刊 JST日本科学技术振兴机构数据库(日)收录期刊

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者,大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。主要刊登有关大豆遗传育种、品种资源、生理生态、耕作栽培、植物保护、营养肥料、生物技术、食品加工、药用功能及工业用途等方面的学术论文、科研报告、研究简报、国内外研究述评、学术活动简讯和新品种介绍等。

《大豆科学》为双月刊,逢单月20日出刊,刊号:ISSN 1000-9841 CN 23-1227/S,广告经营许可证号:2301030000004,邮发代号:14-95。国内每期定价:20.00元,全年120.00元,国外每期定价:20.00美元(含邮资),全年120.00美元,国外代号:Q5587。全国各地邮局均可订阅,也可向编辑部直接订购。

地 址:哈尔滨市南岗区学府路368号《大豆科学》编辑部(邮编:150086)

电 话:0451-86668735 网 址:www.haasep.cn E-mail: ddkxbjb@126.com