

吴 祥, 姚克兵, 吉沐祥, 等. 句容地区草莓枯萎病原菌的分离鉴定及田间防治[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(4): 764-770.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.04.009

## 句容地区草莓枯萎病原菌的分离鉴定及田间防治

吴 祥<sup>1,2</sup>, 姚克兵<sup>1</sup>, 吉沐祥<sup>1</sup>, 陈宏州<sup>1</sup>, 杨敬辉<sup>1</sup>, 李金凤<sup>1</sup>, 王莉莉<sup>1,2</sup>

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏 句容 212400; 2. 江苏省绿盾植保农药实验有限公司, 江苏 句容 212444)

**摘要:** 为了明确句容地区草莓枯萎病原菌的种类和寻找草莓枯萎病的防治方法, 2013年10-11月, 分别对句容地区草莓枯萎病菌进行了田间调查、分离培养、形态学观察描述、DNA序列分析、致病性试验和药剂田间防治试验。结果表明, 分离到381块真菌菌落, 镰刀菌属的真菌(*Fusarium*)占72.4%。通过形态特征、DNA测序和致病性试验确认草莓枯萎病原菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)。田间防治效果以250 g/L吡唑醚菌酯EC 2 000倍液最好, 灌根后30 d的防治效果为100%, 灌根后51 d的防治效果为93.11%; 其次是1%申嗪霉素SC 900倍液, 灌根后30 d的防治效果为100%, 灌根后51 d的防治效果为58.63%, 其他参试药剂1×10<sup>9</sup> CFU/g多黏芽孢杆菌(JX-13)WP 1 000倍液、1 g含1×10<sup>6</sup>个孢子的寡雄腐霉WP 7 000倍液、1 g含6×10<sup>8</sup>有效活性菌数的哈茨木霉T-22GR 500倍液等均有一定的防治效果。

**关键词:** 草莓; 枯萎病原菌; 分离鉴定; 田间防治

**中图分类号:** S668.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)04-0764-07

## Isolation and identification and field control of strawberry fusarium wilt in Jurong, Jiangsu province

WU Xiang<sup>1,2</sup>, YAO Ke-bing<sup>1</sup>, JI Mu-xiang<sup>1</sup>, CHEN Hong-zhou<sup>1</sup>, YANG Jing-hui<sup>1</sup>, LI Jin-feng<sup>1</sup>,  
WANG Li-li<sup>1,2</sup>

(1. Zhenjiang Agricultural Scientific Institute of Jiangsu Hilly Area, Jurong 212400, China; 2. Jiangsu Lüdun Plant Protection Pesticide Experimentation Co., Ltd., Jurong, 212444, China)

**Abstract:** A total of 381 fungal colonies were isolated from the strawberry fields infected with fusarium wilt in Jurong area, Jiangsu province, and cultured to identify the pathogen. *Fusarium* colonies accounted for 72.4 percent. Morphological characteristics, DNA sequencing, and pathogenicity test revealed that the pathogen was *Fusarium oxysporum* Schl. The field control effect was the strongest by 250 g/L pyraclostrobin EC 2 000-time solution, with the efficacies of 100.00% after 30-day root application and 93.11% even after 51-day root application, followed by phenazine-1-carboxylic acid SC 900-time solution with the concentration of 1%. Other fungicides such as paenibacillus polymyxa, pythium oligandrum, and trichoderma harzianum showed certain control effects on the disease as well.

**Key words:** strawberry; fusarium wilt pathogen; field investigation; isolation and identification; field control

收稿日期: 2014-12-03

基金项目: 江苏省农业科技支撑项目(BE2012378); 江苏省“六大人才高峰”项目(2013-NY-001); 镇江市农业科技支撑项目(NY2014029)

作者简介: 吴 祥(1983-), 男, 江苏泗洪人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农药研究与开发。(Tel) 13775391005; (E-mail) wux-ianghl@126.com

通讯作者: 吉沐祥, (Tel) 0511-87274221; (E-mail) jilvdun2800@163.com

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)是多年生草本植物, 因其果实色泽艳、营养高、风味浓, 而备受栽培者和消费者的青睐<sup>[1-6]</sup>。近年来, 草莓种植面积逐年

增大,品种不断更新,频繁地调种、引种以及连作,导致草莓枯萎病蔓延。再加上草莓灰霉病、白粉病、“v”型褐斑病、蛇眼病、炭疽病、红中柱根腐病、根结线虫病、病毒病和革腐病<sup>[7-14]</sup>等不断发生且日益严重,给种植户带来较大经济损失。

据报道,引起枯萎病的病原物主要有细菌性病原(如玉米细菌性枯萎病菌)和真菌性病原(如瓜类枯萎病菌)两大类<sup>[15]</sup>。目前,研究较多的是镰刀菌属病原菌<sup>[16]</sup>,其中尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)<sup>[17]</sup>和尖孢镰刀菌草莓专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*)是主要病原菌。枯萎病主要分布在美国、日本、澳大利亚和中国<sup>[18]</sup>,从苗期到收获期的整个栽培过程中都会发生。目前生产上对该病害仍以化学防治为主,常用恶霉灵、多菌灵和甲基托布津、代森锰锌等杀菌剂灌根防治,因连续多年使用这些药剂,防治效果逐年降低,甚至达到无法控制的程度<sup>[19]</sup>。

句容地区种植草莓时间较早,发展规模和产业化开发水平在中国乃至东南亚享有较高知名度。近几年随着草莓品种更新和产业升级加快,红颊草莓因大果率高、丰产性好、耐贮运、甜度高、香味浓等特点,深受栽培者与消费者欢迎,已经成为句容地区大棚草莓主导品种,但苗期极易感炭疽病、枯萎病,移栽后枯萎病、炭疽病为害仍然严重,往往会造成毁灭性死苗,对农民种植红颊草莓的积极性造成很大的打击,给红颊草莓品种的推广和农户致富带来较大阻力<sup>[20]</sup>。

目前国内外对草莓枯萎病的研究报道有:手塚信夫<sup>[21]</sup>利用从草莓植株体内分离的非致病性镰刀菌对草莓枯萎病进行了生防试验,证明在健康植株上接种非致病性镰刀菌可有效地防止草莓枯萎病发生。牧野孝宏<sup>[22]</sup>用非致病性尖孢镰刀菌菌液浸草莓根,草莓未发生枯萎病。De Rodríguez等<sup>[23]</sup>发现佛头菊(*Flourensia*)浸提液对镰刀菌有较好的防治效果。曾富春等<sup>[24]</sup>对草莓枯萎病病原菌的生物学特性进行了研究。杨焕青等<sup>[19]</sup>对采自山东省烟台市草莓枯萎病菌株进行了生物学特性以及7种化学杀菌剂对草莓枯萎病菌的抑制作用研究。陈桂平等<sup>[25]</sup>2007–2008年对汕头市草莓枯萎病田间发病情况进行调查和田间化学药剂防治试验,结果表明,该病在草莓定植后21 d开始发病,田间发病常出现2个明显的高峰:一个高峰出现在第1次喷施“九二〇”7 d后,另一个高峰出现在11月底覆盖薄膜之后7 d左右。化学药剂处理后,初期发病率均较低,随

着时间的推移,发病率越来越高,不同药剂之间差异不明显。于红梅等<sup>[26-27]</sup>应用PCR技术,结合形态学手段,对从江苏省农业科学院草莓生产基地采集的草莓枯萎病病原菌进行分离鉴定,并进行生物学特性研究,并采用生长速率法进行了4种化学杀菌剂对草莓枯萎病病原菌室内毒力的测定,结果表明,4种参试杀菌剂对草莓枯萎病病原菌的抑制效果随着杀菌剂浓度增大抑制效果增强,百菌清抑制效果较好,而乙嘧酚、噻菌铜、二氰蒽醌3种杀菌剂抑制效果相差不大。贾冬梅<sup>[28]</sup>用自然高温土壤灭菌法对棚栽草莓枯萎病有较好防治效果。由于生防菌在土壤中定殖受诸多因素影响,制剂商业化困难,因此在生产中很少使用<sup>[29]</sup>。

本研究对江苏省句容市草莓枯萎病进行了调查,对分离到的病原菌进行形态和分子鉴定以及致病性试验,选用6种生物或低毒化学药剂对草莓枯萎病进行了田间防治试验,为该病害的防治提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 病害调查

2013年10月23日至2013年11月1日,对句容市天王镇、二圣乡、白兔镇3地的98个大棚(随机选择)进行草莓枯萎病发生情况进行调查,观察病害症状,并拍照。同时采集具有典型枯萎病症状的标本带回实验室作为试验材料。

### 1.2 病原菌的分离及纯化

将草莓根上的泥土洗净,取病健交界处的组织,在超净台上用0.1%升汞进行表面灭菌(2~3 min),然后用灭菌水洗3次,每次1 min,再用灭菌过的镊子将分离组织转移到PDA平板培养基上,共81皿,每皿5块,置于PRX-250A型智能人工气候箱内培养[相对湿度70%,黑暗,(25±2)℃]。培养第5 d检查、记录分离到的菌落数量和菌落形态,统计真菌和细菌的出现频率,并进行编号。用挑针挑取菌落边缘的幼嫩菌丝进行纯化培养,4℃保存<sup>[30]</sup>。

### 1.3 病原菌的鉴定

1.3.1 形态观察 草莓枯萎病菌属于半知菌亚门、丝孢纲、镰刀菌属的真菌,观察分生孢子梗和分生孢子的形态和产生情况,可采用载玻片培养法<sup>[31]</sup>培养2~3 d,在德国蔡斯Imager A1型光学显微镜下观察分生孢子梗和分生孢子形态,拍照,测量分生孢子

梗和分生孢子大小( $n=30$ )。根据病原菌的形态特点、培养性状,结合相关资料进行病原菌鉴定<sup>[32-35]</sup>

### 1.3.2 分子鉴定

1.3.2.1 提取 DNA 步骤如下:(1)真菌纯化培养后收集菌体轻微离心,将菌丝收集在微管(Microtube)底部;(2)使用 Pipette Tip 尖端按压菌体 10 次左右,进行物理破碎;(3)加入 400  $\mu\text{l}$  的提取液 1 [Tris-HCl 100 mmol/L (pH8.0), EDTA 50 mmol/L (pH8.0), NaCl 500 mmol/L], WH-861 旋涡混合器(江苏金坛华龙实验仪器厂生产)剧烈振荡 5 s (3 000 r/min);(4)轻微离心,加入 80  $\mu\text{l}$  的提取液 2 (20% SDS),产生白色沉淀,剧烈振荡 5 s 后,溶液呈白浊状态;(5)轻微离心,加入 150  $\mu\text{l}$  的 5 mol/L KAc,剧烈振荡 5 s;(6)轻微离心 2 s,于 50  $^{\circ}\text{C}$  温浴 15 min;(7)12 000 r/min 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 15 min;(8)取上层水相移至新的 1.5 ml 微管中;(9)添加等量的异丙醇(浓度 $\geq 99.7\%$ ),轻柔混匀;(10)12 000 r/min 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 10 min;(11)弃上清液,加入 1 ml 70% 乙醇,清洗沉淀;(12)12 000 r/min 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 3 min;(13)弃上清液,沉淀干燥,加入适量 TE Buffer (约 20  $\mu\text{l}$ )溶解沉。

1.3.2.2 PCR 扩增 采用通用引物 ITS1 (5'-TCCG-TAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTT ATTGATATGC-3') 扩增整个 ITS 序列。PCR 体系如下:10 $\times$ Buffer 3  $\mu\text{l}$ , Primer F/R (10 pmol/L) 各 1  $\mu\text{l}$ , dNTP 1  $\mu\text{l}$ , 聚合酶 1  $\mu\text{l}$ , PCR 产物 0.5~1.0  $\mu\text{l}$ , 超纯水 30  $\mu\text{l}$ 。PCR 反应过程为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 58  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 30 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  反应后延伸 3 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  暂时保存。PCR 扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳进行回收纯化,引物合成由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。

1.3.2.3 测序反应 在 0.2 ml 离心管中配置如下体系:超纯水 5  $\mu\text{l}$ , Primer (3.2 pmol/L 单引物) 1  $\mu\text{l}$ , Template 0.3~0.5  $\mu\text{l}$ , BDT3.1 1  $\mu\text{l}$ , PCR 反应过程为:96  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 96  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 50  $^{\circ}\text{C}$  退火 5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  延伸 3 min, 35 个循环; 60  $^{\circ}\text{C}$  反应后延伸 3 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  暂时保存。清洗沉淀并上机反应,测序仪采用 ABI 3730XL。测序结果通过 NCBI 的 Blast 检索系统进行序列同源性比对。ITS 序列的测序工作由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。

### 1.4 致病性测定

在室温条件下,用分离得到的菌株制成的孢子

悬浮液(在显微镜 10 $\times$ 10 倍镜下,孢子浓度以视野中含有 50~100 个孢子为宜)涂抹接种健康草莓的根部,以蒸馏水为对照,重复 3 次,每次 10 株,接种后保湿 24 h,每 7 d 观察 1 次。按照柯赫法则进行验证,以确认所分离的真菌是否为致病菌。

### 1.5 试验药剂

1.5.1 田间试验药剂 1 $\times 10^9$  CFU/g 多黏芽孢杆菌(JX-13)WP(江苏省绿盾植保农药实验有限公司生产);1% 申嗪霉素 SC(上海农乐生物制品有限公司生产);1 g 含 $6\times 10^8$  有效活性菌数的哈茨木霉 T-22GR(荷兰科伯特公司生产);1 $\times 10^{11}$  CFU/g 枯草芽孢杆菌(DJ-6)WP(江苏省绿盾植保农药实验有限公司加工生产);1 g 含 $1\times 10^6$  个孢子的寡雄腐霉 WP(捷克生物制剂有限公司生产);250 g/L 吡唑醚菌酯 EC(巴斯夫欧洲公司生产)。

1.5.2 田间试验设计 试验设在句容市石狮镇农户郭平章草莓大棚中(2012 年枯萎病发生严重田块),2013 年夏季高温闷棚处理 61 d。草莓品种为红颊,2013 年 9 月 8 日定植,定植时灌根 1 次,每株药液量均为 200 ml,7 d 后灌根 1 次,共防治 2 次。用清水灌根作为对照。

药剂浓度与处理方法:(1)1 $\times 10^{11}$  CFU/g 枯草芽孢杆菌(DJ-6)WP 1000 倍液;(2)1 $\times 10^9$  CFU/g 多黏芽孢杆菌(JX-13)WP 1000 倍液;(3)1 g 含 $1\times 10^6$  个孢子的寡雄腐霉 WP 7 000 倍液;(4)1% 申嗪霉素 SC 900 倍液;(5)1 g 含 $6\times 10^8$  有效活性菌数的哈茨木霉 T-22GR 500 倍液;(6)250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 2000 倍液;(7)空白对照为清水。每处理 3 次重复,每小区 50  $\text{m}^2$ ,田间随机区组排列。

## 2 结果与分析

### 2.1 草莓枯萎病的田间症状

草莓枯萎病主要危害根部,从开花至收获期均可发生,发病初期草莓植株的心、叶变为黄绿色或黄色,有的蜷缩呈波状产生畸形叶,病株叶片失去光泽,植株生长衰弱,在三出复叶中往往有 1~2 片小叶畸形或者变小、硬化,且多发生在植株的一侧。老叶呈紫红色萎蔫,叶片枯黄,最后全株枯死(图 1)。受害植株的根冠部、叶柄、果梗维管束都变成褐色或黑褐色。草莓枯萎病可导致草莓结果减少,果实无法正常生长膨大,品质降低,甚至全株枯死<sup>[19]</sup>。



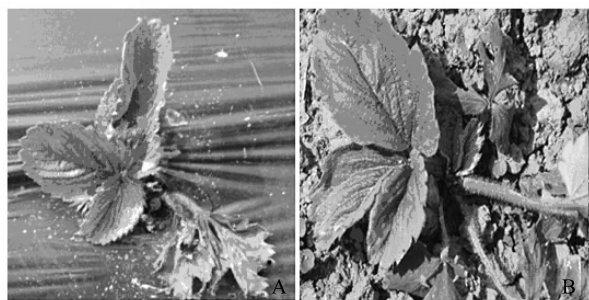


图1 草莓枯萎病田间症状

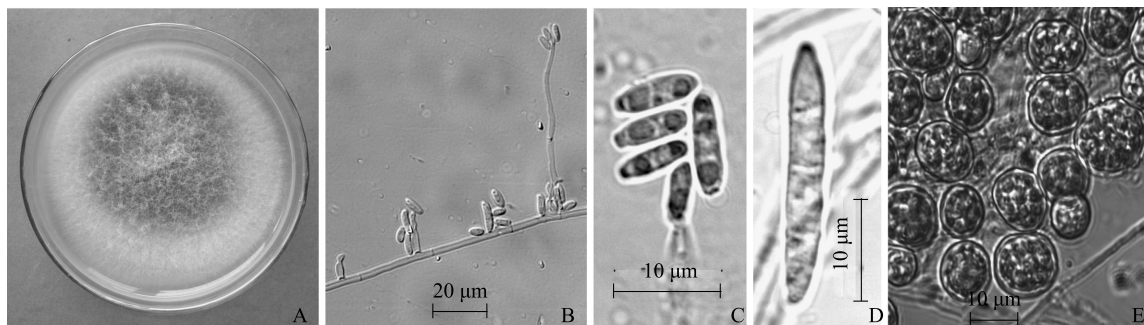
Fig.1 Field symptom of strawberry fusarium wilt

## 2.2 病原菌分离与鉴定

**2.2.1 分离结果** 本研究共分离 405 块草莓枯萎病植株根部组织,其中从 381 块草莓枯萎病植株根部组织中分离到真菌,占被分离草莓枯萎病植株根部组织总量的 94.1%;分离到镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的草莓枯萎病植株根部组织 276 块,占分离到真菌的 72.4%,分离到绿木霉(*Trichoderma viride* Pers. ex Fr.)的草莓枯萎病植株根部组织 41 块,占分离到真菌的 10.8%,分离到球黑孢菌(*Nigrospora sphaerica*

Mason)的草莓枯萎病植株根部组织 7 块,占分离到真菌的 1.8%;分离到其他真菌的草莓枯萎病植株根部组织 57 块,占分离到真菌的 15.0%;分离到细菌的草莓枯萎病植株根部组织 24 块,占被分离草莓枯萎病植株根部组织总量的 5.9%。

**2.2.2 形态学特征** 尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.),在  $(25\pm 2)^\circ\text{C}$  的 PDA 培养基上(相对湿度 70%,黑暗),菌落初为白色,渐变为灰色和淡紫色(图 2 A),平均日生长量为 27 mm,气生菌丝绒毛状,灰色。在人工培养过程中未出现有性世代。分生孢子梗单生(图 2 B),直立,无色,大小  $(6.3\sim 63.8)\mu\text{m}\times(1.9\sim 2.8)\mu\text{m}$ ,小型分生孢子在分生孢子梗顶端形成假头状,无色,大多数为单细胞,椭圆形、圆柱形,少量弯曲(图 2 C),大小  $(4.7\sim 12.6)\mu\text{m}\times(2.7\sim 4.2)\mu\text{m}$ ;大型分生孢子梭形,稍弯曲,两端尖,多为 3 个分隔(图 2 D),大小  $(21.0\sim 40.4)\mu\text{m}\times(3.2\sim 5.8)\mu\text{m}$ ,少数为 4~5 个分隔,大小  $(33.2\sim 56.3)\mu\text{m}\times(3.7\sim 6.3)\mu\text{m}$ ;厚垣孢子多,中生,厚壁(图 2 E),大小  $(9.0\sim 17.6)\mu\text{m}\times(8.2\sim 15.8)\mu\text{m}$ 。



A:菌落;B:分生孢子梗;C:小分生孢子;D:大分生孢子;E:厚垣孢子。

图2 尖孢镰刀菌的形态学特征

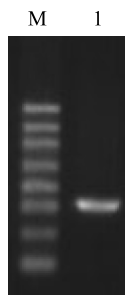
Fig.2 Morphological characteristics of *Fusarium oxysporum*

**2.2.3 分子鉴定** 提取尖孢镰刀菌菌丝 DNA,用 ITS1 和 ITS4 的通用引物进行 PCR 扩增,得到长度为 546 bp 的特异性 DNA 片段,扩增 ITS 区全序列(图 3)。对扩增片段进行测序,用 NCBI 的 Blast 在 GenBank 中搜寻相似序列。结果与 GenBank 中登陆号为 EF495230.1(包括 18 S 核糖体 RNA 基因的部分序列,内转录间隔区 1,5.8 S 核糖体 RNA 基因全序列,内转录间隔区 2 全序列和 28 S 核糖体 RNA 基因部分

序列)的同源性为 100%,因此,确定草莓上分离到的菌株为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)。

## 2.3 病原菌的致病性

草莓植株接种 22 d 后,全部发病,45 d 后全部枯死,症状与田间发病相同,对照不发病(图 4)。将接种后发病的植株进行再次分离,分离到了同样的病菌,符合柯赫氏法则。由此证明分离到的病原菌为草莓枯萎病病原菌。



M:DL3000; 1:尖孢镰刀菌。

图3 ITS 1 和 ITS 4 区域的 PCR 扩增产物电泳图

Fig. 3 PCR of ITS 1 and ITS 4 of *Fusarium oxysporum*



上图中不接种对照为草莓根浸蘸无菌水;下图中接种处理为草莓根浸蘸尖孢镰刀菌孢子液。

图4 草莓枯萎病菌的致病性

Fig. 4 Pathogenicity of strawberry fusarium wilt pathogen

## 2.4 田间防治效果

田间试验第1次调查(施药后30 d)结果表明,250 g/L吡唑醚菌酯 EC 2 000 倍液、1% 申嗪霉素 SC 900倍液防治效果均为 100%,两者均极显著好于其他参试药剂处理; $1 \times 10^9$  CFU/g多黏芽孢杆菌(JX-13)WP1000 倍液、1 g 含 $1 \times 10^6$ 个孢子的寡雄腐霉 WP 7 000倍液、1 g 含 $6 \times 10^8$ 有效活性菌数的哈茨木霉 T-22GR 500 倍液的防治效果均为 82.61%,极显著好于 $1 \times 10^{11}$  CFU/g 枯草芽孢杆菌(DJ-6)WP 1 000倍液的防治效果(表1)。

第2次调查(施药后51 d)结果表明,250 g/L吡唑醚菌酯 EC 2 000 倍液的防治效果为 93.11%,极显著好于其他参试药剂的防治效果; $1 \times 10^9$  CFU/g多黏芽孢杆菌(JX-13)WP 1 000 倍液、1 g 含 $1 \times 10^6$ 个孢子的寡雄腐霉 WP 7 000 倍液、1% 申嗪霉素 SC 900倍液的防治效果均为 58.63%,显著好于 $1 \times 10^{11}$  CFU/g枯草芽孢杆菌(DJ-6)WP 1 000 倍液的防治效果和1 g 含 $6 \times 10^8$ 有效活性菌数的哈茨木霉 T-22 GR 500 倍液的防治效果。

## 3 讨论

本研究共分离 405 块草莓枯萎病植株根部组织,得到 381 株真菌,全部为半知菌亚门的真菌,其中镰刀菌属的真菌(*Fusarium*)占真菌种类的 72.4%。通过形态特征观察和DNA测序结果分析

表1 6种药剂对草莓枯萎病田间防治效果调查表

Table 1 The field control effects of 6 fungicides on strawberry fusarium wilt

处 理	施药后 30 d 第 1 次调查		施药后 51 d 第 2 次调查	
	发病率(%)	防治效果(%)	发病率(%)	防治效果(%)
$1 \times 10^{11}$ CFU/g 枯草芽孢杆菌(DJ-6)WP 1 000 倍液	1.88	47.84Cc	8.13	55.16BCc
$1 \times 10^9$ CFU/g 多黏芽孢杆菌(JX-13)WP 1 000 倍液	1.25	82.61Bb	7.50	58.63Bb
1 g 含 $1 \times 10^6$ 个孢子的寡雄腐霉 WP 7 000 倍液	1.25	82.61Bb	7.50	58.63Bb
1 g 含 $6 \times 10^8$ 有效活性菌数的哈茨木霉 T-22 GR 500 倍液	1.25	82.61Bb	8.75	51.74Cd
1% 申嗪霉素 SC 900 倍液	0	100Aa	7.50	58.63Bb
250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 2 000 倍液	0	100Aa	1.25	93.11Aa
对照(CK)	7.19	—	18.13	—

同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )。

确认草莓枯萎病病原菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl.)。致病性试验结果证明,草莓植株接种 22 d 后全部发病,症状与田间发病相同,再次

分离得到了同样的病原菌,符合柯赫氏法则。6 种农药对草莓枯萎病田间防治效果试验结果显示,250 g/L吡唑醚菌酯 EC 2 000 倍液防治效果最佳,1% 申

噻霉素 SC 900 倍液的防治效果次之。 $1 \times 10^9$  CFU/g 多黏芽孢杆菌(JX-13) WP 1 000 倍液、1 g 含  $1 \times 10^6$  个孢子的寡雄腐霉 WP 7 000 倍液等均有一定防治效果。

随着草莓种植面积的不断扩大,多种草莓病害不断发生,且有加重的趋势,主要原因是草莓种苗带菌和同一地块多年连作所致,此外,也有可能是病原菌发生变异,产生新菌株或生理小种所致。针对这些问题,有必要寻找一种较安全、有效的病害控制措施,以达到阻止病害发生,保障草莓产业的持续健康发展。

从目前对草莓枯萎病等病害的防治措施来看,种植户仍以化学药剂为主,生物农药为辅,应用化学药剂防治植物病害,虽能快速有效地达到防治目的,但长期单一使用,病原菌会产生抗药性<sup>[36]</sup>。应力求推荐符合草莓高效安全标准化生产要求的植物源和微生物源农药。生物防治在应用中对环境较安全,污染较小,成本较低,成为了目前研究和开发的热点<sup>[37]</sup>。王占武等<sup>[38]</sup>报道了连续 2 年使用拮抗菌(*B. subtilis*)在草莓根际定植防治草莓枯萎病具有很好的效果;吴加志等<sup>[39]</sup>发现肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)中的一些菌对由尖孢镰刀菌引起的枯萎病具有明显的防治效果;Porras 等<sup>[40]</sup>利用太阳能土壤消毒和木霉菌(*Trichoderma*)结合的方法,得出在太阳高温消毒后再添加生物菌剂的方法防治草莓枯萎病也具有很好的效果;陈义群等<sup>[41]</sup>研究发现优化施肥模式对控制草莓枯萎病有显著的作用。

新型低毒化学杀菌剂吡唑醚菌酯与生物药剂申噻霉素防治效果最好,多种微生物菌剂均有一定效果。我们在实际生产中应用草莓连作大棚夏季太阳能高温消毒处理,草莓定植后采用生物药剂灌根 1~2 次,能基本控制枯萎病等连作病害的发生。为进一步提高生物农药的防治效果,需对微生物菌剂间混用效果或微生物菌剂与吡唑醚菌酯、申噻霉素等混用效果做进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 马宝红,甄文超,曹克强,等. VAM 真菌对草莓促生、防草莓黄萎病效应初探[J]. 河北农业大学学报,2004,27(4):71-73.
- [2] 张运涛,张国珍. 草莓病虫害概论[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2012.
- [3] 倪玉红,赵秋荣,赵小军,等. 温度、降雨量和日照时数对草莓生长发育及炭疽病发生的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):133-134.
- [4] 赵荷娟,魏启舜,王 琳,等. 双孢蘑菇菌糠基质对架式栽培草莓生长和果实品质的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):120-121.
- [5] 丁青芝,白 薇,范婷婷,等. 草莓-胡萝卜复合果蔬汁的加工工艺及悬浮稳定性[J]. 江苏农业科学,2014,42(6):242-245.
- [6] 赵海涛,李良俊,殷朝珍,等. 水生蔬菜轮作对大棚草莓连作土壤性质的影响[J]. 江苏农业学报,2014,30(2):289-295.
- [7] 吉沐祥,李国平,杨敬辉,等. 江苏省大棚草莓生产中存在的问题与技术创新[J]. 江西农业学报,2012,24(2):58-60.
- [8] 叶琪明,李 振,包环玉,等. 草莓病害调查初报[J]. 江西果树,1998(3):29-32.
- [9] HUANG H, JEFFERS S N, LAYNE D R, et al. AFLP analysis of *Phytophthora cactorum* isolates from strawberry and other hosts[J]. Plant Disease, 2004, 88(7):714-720.
- [10] LISA H. Defying strawberry disease[J]. American Fruit Grower, 2001, 121(12):7-8.
- [11] MERTELY J C, LEGARD D E. Detection, isolation and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. from strawberry petioles[J]. Plant Disease, 2004, 88(4):407-412.
- [12] BLANCO C, SANTOS B, BARRAU C, et al. Relationship among concentrations of *Sphaerotheca macularis* conidia in the air and the incidence of powdery mildew in strawberry[J]. Plant Disease, 2004, 88(8):878-881.
- [13] 顾春波,史晓斌,姜莉莉,等. 草莓枯萎病菌对多菌灵的抗性及其抗性菌株生物学特性[J]. 植物保护学报,2010,37(3):266-271.
- [14] 于红梅,赵密珍,王 静,等. 草莓枯萎病菌的分离、鉴定及生物学特性[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):124-127.
- [15] 刘 波,朱育菁,周涵韬,等. 农作物枯萎病研究进展[J]. 厦门大学学报,2004,43(8):47-58.
- [16] 朱乾浩. 国外棉花病害防治研究进展[J]. 江西棉花,1994(3):19-22.
- [17] 殷晓敏,陈 弟,郑服丛. 尖孢镰刀枯萎病生物防治研究进展[J]. 广西农业科学,2008,39(2):172-178.
- [18] 张建树,程子林. 保护地草莓主要病害与防治[J]. 天津农林科技,1995(4):15-18.
- [19] 杨焕青,王开远,范 昆,等. 草莓枯萎病菌的生物学特性及 7 种杀菌剂对其抑制作用[J]. 植物保护学报,2008,35(2):169-174.
- [20] 吉沐祥,李国平,杨敬辉,等. 江苏省大棚草莓生产中存在的问题与技术创新[J]. 江西农业学报,2012,24(2):58-60.
- [21] 手塚信夫. 用非致病性镰刀菌防治草莓黄萎病[J]. 李士竹,胡兴平,译. 农业新技术新方法,1989,27(4):34-38.
- [22] 牧野孝宏. 草莓枯萎病的生物防治[J]. 李思义,译. 国外农学:植物保护,1993,6(1):36-37.
- [23] DE RODRÍGUEZ D J, HERNÁNDEZ-CASTILLO D, ANGULO-SÁNCHEZ J L, et al. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* spp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium*

- oxysporum* [J]. *Industrial Crops and Products*, 2007, 25(2): 111-116.
- [24] 曾富春, 黄云, 赵燕琴, 等. 草莓枯萎病菌的生物学特性[J]. *四川农业大学学报*, 2006, 24(2): 156-160.
- [25] 陈桂平, 杨惠文, 廖鉴湖, 等. 草莓枯萎病的发生及药剂防治试验[J]. *中国园艺文摘*, 2010(12): 37-38.
- [26] 于红梅, 赵密珍, 钱亚明, 等. 防治草莓枯萎病菌4种药剂的筛选试验[J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(6): 222-223.
- [27] 于红梅, 赵密珍, 王静, 等. 草莓枯萎病菌的分离、鉴定及生物学特性[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(11): 124-127.
- [28] 贾冬梅. 大棚草莓的主要病害及防治[J]. *河北果树*, 2000(1): 38.
- [29] 刘新月, 李凡, 陈如海, 等. 致病性尖孢镰刀菌生物防治研究进展[J]. *云南大学学报: 自然科学版*, 2008, 30(增): 89-93.
- [30] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [31] HAWKSWORTH D L. *Mycologists handbook-an introduction to the principles of taxonomy and nomenclature in the fungi and lichens* [M]. England: Commonwealth Mycological Institute, 1974.
- [32] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学出版社, 1979: 609-628.
- [33] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 436-440.
- [34] 拉依洛 A H. 镰刀菌[M]. 王云章, 译. 北京: 科学出版社, 1959.
- [35] 布斯 C. 镰刀菌属[M]. 陈其焜, 译. 北京: 农业出版社, 1988.
- [36] 杨炜华, 刘开启. 苹果轮纹病菌对多菌灵、甲基硫菌灵的抗药性测定[J]. *植物保护学报*, 2002, 29(2): 191.
- [37] 杨华, 纪明山, 李广旭. 不同发酵条件对苹果轮纹病拮抗细菌生长的影响[J]. *果树学报*, 2007, 24(6): 799-802.
- [38] 王占武, 李晓芝, 葛建国, 等. 拮抗菌 B501 在草莓根际的定植及对其他根际微生物的影响[J]. *河北农业科学*, 2002, 6(3): 15-18.
- [39] 吴加志, SHLOMO P. 植物土传、根际和内生细菌用于植物病害生物防治潜力的研究[J]. *中国微生态学杂志*, 1996, 8(3): 4-13.
- [40] PORRAS M, BARRAU C, ROMERO F. Effects of soil solarization and *Trichoderma* on strawberry production [J]. *Crop Protection*, 2007, 26: 782-787.
- [41] 陈义群, 董元华, 王辉, 等. 施肥模式对连作草莓枯萎病控制效果及土壤微生物群落特征的影响[J]. *土壤*, 2012, 44(1): 78-83.

(责任编辑: 陈海霞)