

# 黄瓜枯萎病拮抗放线菌 S24 的分离、鉴定及 发酵条件优化

燕照玲<sup>1</sup>,孙 虎<sup>2\*</sup>,施 艳<sup>3</sup>,全 鑫<sup>4</sup>,薛保国<sup>4</sup>

(1. 河南省农业科学院 农业经济与信息研究所,河南 郑州 450002; 2. 河南省农业科学院 科研管理处,河南 郑州 450002;  
3. 河南农业大学 植物保护学院,河南 郑州 450002; 4. 河南省农业科学院 植物保护研究所,河南 郑州 450002)

**摘要:** 为了筛选黄瓜枯萎病拮抗放线菌,从蔬菜温室大棚及附近土壤中分离了 59 株菌落形态有差异的放线菌,通过平板对峙筛选试验,获得 2 株对黄瓜枯萎病菌抑菌率在 60% 以上的放线菌,分别是 S21 和 S24,其中 S24 的抑菌率达到 74%。根据形态特征、生理生化特性和分子分类测定结果,初步将 S24 鉴定为黄麻链霉菌(*Streptomyces corchorusii*)。选用 7 种常用的放线菌发酵培养基对 S24 进行发酵,7 d 后测定发现,5 号培养基发酵上清液对黄瓜枯萎病菌的抑制活性最强,抑菌率达到 59.44%,其细胞破碎液对黄瓜枯萎病菌的抑菌率为 39.76%。通过比较发现,75 mL 为放线菌 S24 的最适发酵装液量(250 mL 三角瓶)。采用正交试验优化后的培养基进行发酵,获得的上清液及细胞破碎液对黄瓜枯萎病菌的抑菌率分别达到 76.14%、52.27%,较优化前分别提高了 14.64、10.11 个百分点。

**关键词:** 黄瓜枯萎病菌;放线菌;黄麻链霉菌;拮抗作用;鉴定;发酵条件

**中图分类号:** S436.421.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)09-0088-06

## Isolation, Identification and Fermenting Condition Optimization of Antagonistic Actinomycetes S24 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium*

YAN Zhao-ling<sup>1</sup>, SUN Hu<sup>2\*</sup>, SHI Yan<sup>3</sup>, QUAN Xin<sup>4</sup>, XUE Bao-guo<sup>4</sup>

(1. Institute of Agricultural Economics and Information, Henan Academy of Agricultural Sciences,  
Zhengzhou 450002, China;

2. Scientific Research Management Office, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

3. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

4. Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** To screen antagonistic actinomycetes against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium* (*F.o.c*), fifty-nine actinomycetes showing difference in morphology were isolated from greenhouse and surrounding soils through plate cultivation, and among them two strains, S21 and S24, with the inhibition rate over 60%, were acquired. The inhibition rate of S24 to *F.o.c* reached 74%. Combined with morphological characteristics, physiological and biochemical properties and molecular determination results, S24 was preliminarily identified as *Streptomyces corchorusii*. Seven commonly used fermentation media were selected for screening, and the result showed that the supernatant of No. 5 medium after 7-day fermentation displayed strongest inhibition activity to *F.o.c* with the inhibition rate reaching 59.44%, meanwhile the inhibition rate of the debris

收稿日期:2014-02-19

基金项目:农业部“十二五”科技支撑课题(2012BAD19B04)

作者简介:燕照玲(1983-),女,河南孟州人,助理研究员,博士,主要从事植保研究和农业科技期刊编辑工作。

E-mail:yanzl83@126.com

\* 通讯作者:孙 虎(1980-),男,河南驻马店人,副研究员,博士,主要从事植物病理学研究。E-mail:clearshu167@163.com

reached 39.76%. The optimum volume of fermentation medium was 75 mL in 250 mL flask for S24. Through optimization of No. 5 medium by orthogonal design, the optimum fermentation medium composition of S24 was found, and the inhibition rates of the fermentation supernatant and debris of S24 to *F.o.c* reached 76.14% and 52.27%, increased by 14.64, 10.11 percentage points, respectively.

**Key words:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium*; actinomycetes; *Streptomyces corchorusii*; antagonistic effect; identification; fermenting condition

黄瓜枯萎病又称蔓割病、萎蔫病,是由尖孢镰刀菌黄瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium* Owen, *F.o.c*) 侵染引起的一种土传病害<sup>[1]</sup>,在各国均有发生。自 20 世纪 80 年代我国发现黄瓜枯萎病以来,随着保护地黄瓜栽培面积的增加,该病的发生日趋加重,危害严重时,田间病株率达 50% 以上,现已成为黄瓜设施栽培的限制性障碍<sup>[2]</sup>。目前生产上主要依靠化学药剂对该病害进行防治,该方法对环境污染较为严重,且易使病原菌产生抗药性。而应用有益微生物防治黄瓜枯萎病对人畜安全无毒,且能保持生态平衡,更符合农业可持续发展的要求<sup>[3]</sup>。

黄瓜枯萎病的生防因子多种多样<sup>[3]</sup>,包括真菌<sup>[4-5]</sup>、细菌<sup>[6-7]</sup>、放线菌<sup>[8-9]</sup>等。在国内,放线菌作为生防因子在蔬菜、烟草、小麦、水稻等作物病害防治上已有许多报道<sup>[10-13]</sup>,将放线菌代谢物或衍生物开发成生物农药可解决生防菌在复杂土壤环境中的生繁问题,是今后病害生防研究的一个重点方向<sup>[14]</sup>。为此,本研究从河南省农业科学院园艺研究所蔬菜大棚及附近采集土壤样品,分离筛选能够拮抗黄瓜枯萎病菌的放线菌,并对其中拮抗效果最显著的菌株进行鉴定及发酵条件优化,以期防治黄瓜枯萎病生物农药的开发提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

土壤样品采自河南省农业科学院园艺研究所蔬菜大棚中的黄瓜发病土、无病土以及大棚附近土壤;黄瓜枯萎病菌由河南省农作物病虫害防治重点实验室分离保存,经鉴定为尖孢镰刀菌黄瓜专化型(*F.o.c*)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 放线菌的分离及筛选 放线菌的分离采用稀释分离法。将采集的土壤样品用灭菌水进行梯度稀释,涂布于高氏一号培养基平板上,28 °C 倒置培养 5 d,通过肉眼观察,挑取不同的单菌落进行纯化,并保存于试管 PDA 斜面上备用。

拮抗放线菌的筛选采用平板对峙法。在 9 cm PDA 平板四周距边缘 1.5 cm 处对角接种 4 株活化

3 d 的放线菌菌饼(直径 0.4 cm),培养 1 d 后,于平板中央接种活化 3 d 的黄瓜枯萎病菌(直径 0.8 cm),26 °C 明暗交替培养,以单独接种病原菌的平板作为对照,每处理重复 3 次。待对照长满平板时,记录对峙培养平板中菌落半径及抑菌带宽,并计算抑菌率,以筛选拮抗效果明显的放线菌菌株。

### 1.2.2 拮抗菌株的鉴定

1.2.2.1 形态特征及生理生化特征的测定 在高氏一号培养基平板上将拮抗放线菌菌株插片培养 5~10 d,用光学显微镜观察气生菌丝、基内菌丝、孢子丝及孢子的形态特征。拮抗菌生理生化特征的测定参考《链霉菌鉴定手册》<sup>[15]</sup>中的方法进行。

1.2.2.2 分子生物学鉴定 拮抗菌在 PDA 平板上 28 °C 培养 3 d 后,采用细菌基因组抽提试剂盒(上海生工生物技术有限公司)提取基因组 DNA。采用文献<sup>[16]</sup>报道的一对引物 A(5'-GGATGAGC-CCGCGGCCTA-3') 和 B(5'-CCAGCCCCACCT-TCGAC-3')对放线菌的 16S rDNA 片段进行 PCR 扩增,扩增产物回收纯化后送上海生工生物技术有限公司进行测序。将测序结果提交 GenBank 数据库,并进行 BLAST 分析,选择同源性高的一些序列和相关种属的代表序列在 DNAMAN 上进行多重比对,并构建系统进化树。

### 1.2.3 拮抗菌株基础发酵培养基及装液量的选择

选择表 1 中所列的 7 种常用放线菌发酵培养基,于 28 °C、200 r/min 摇床中对筛选的拮抗菌株进行摇瓶发酵培养,均采用 250 mL 的三角瓶,每瓶装液量 100 mL。分别于发酵 3、5、7、9 d 后,将发酵液以 10 000 r/min 离心 20 min,制备发酵上清液及细胞破碎液(采用与上清液等体积、pH 值 6.8 的 Tris-HCl 悬浮细胞,超声波破碎仪进行破碎),分别与 PDA 培养基按 1:9 的比例制成含药平板,接入已活化的黄瓜枯萎病菌菌饼(直径 0.4 cm),以 PDA 培养基平板为对照,测定拮抗菌发酵上清液及细胞破碎液对黄瓜枯萎病菌的抑制效果,重复 3 次。选用最适的基础发酵培养基,设装液量 50 mL、75 mL 和 100 mL 3 个处理,重复 3 次,测定发酵上清液及细胞破碎液的抑菌率,进一步选择最适的装液量。

表 1 放线菌不同发酵培养基组分

培养基编号	培养基组分
1	大豆粉 20 g、蛋白胨 2 g、葡萄糖 20 g、淀粉 5 g、酵母膏 5 g、CaCO <sub>3</sub> 4 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0
2	淀粉 20 g、KNO <sub>3</sub> 1 g、K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.66 g、MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5 g、NaCl 0.5 g、FeSO <sub>4</sub> 0.01 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.2
3	小米 10 g、葡萄糖 20 g、蛋白胨 3.0 g、CaCO <sub>3</sub> 2.0 g、NaCl 2.5 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0
4	大豆粉 20 g、蛋白胨 2 g、葡萄糖 20 g、淀粉 5 g、酵母膏 2 g、NaCl 4 g、K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.5 g、MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5 g、CaCO <sub>3</sub> 2 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.8
5	淀粉 10 g、葡萄糖 16 g、大豆粉 16 g、CaCO <sub>3</sub> 4 g、K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.6 g、MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0
6	蛋白胨 10 g、蔗糖 30 g、K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5 g、FeSO <sub>4</sub> 0.01 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0
7	蔗糖 45 g、大豆粉 25 g、NaCl 1 g、K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.2 g、KNO <sub>3</sub> 0.2 g、Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1 g、Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 0.05 g、CaCO <sub>3</sub> 3 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0

1.2.4 拮抗菌株发酵培养基的优化 根据基础发酵培养基及装液量的选择结果,对培养基成分进一步采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表设计四因素三水平正交试验,通过测定拮抗菌株发酵上清液及细胞破碎液的拮抗效果,选出最佳的培养基成分配比,并测定发酵产物的拮抗效果进行验证。每个处理重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 放线菌的分离及筛选结果

从 3 份来源不同的土壤样品中共分离到 59 株菌落形态有差异的放线菌,编号分别为 S1~S59。通过平板对峙筛选试验,获得 2 株(S21 和 S24)对黄瓜枯萎病菌抑菌率在 60% 以上的放线菌,占供试菌株的 3.4%。其中,菌株 S24 的抑菌效果更明显,抑菌带宽达到 12 mm,抑菌率达到 74%。因此,选择 S24 菌株作为进一步研究的对象。

### 2.2 S24 菌株鉴定结果

2.2.1 形态特征及生理生化特性 S24 菌株在高氏一号培养基上生长良好,具有典型的链霉菌属特征,菌落致密,不易挑取,黄褐色,不透明。通过光学显微镜观察菌丝和孢子丝的形态(图 1),基内菌丝细长,无分隔无断裂,气生菌丝有分支,成熟后发育成孢子丝,孢子丝直、柔曲,末端弯曲成钩状或 1~3 圈

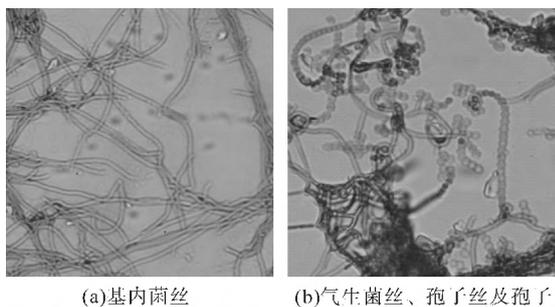


图 1 S24 菌株的显微特征

螺旋形,孢子椭圆形、圆形。生理生化试验表明,S24 菌株能使明胶溶解液化、牛奶酪化,可以水解淀粉,弱分解纤维素,能利用蔗糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、葡萄糖、棉籽糖、果糖等广谱碳源。

2.2.2 16S rDNA 序列分析 通过 PCR 扩增 S24 菌株的 16S rDNA 片段,测序后得到了 1 247 bp 的序列(GenBank 登录号:KF805043)。将该序列在 NCBI 网站上进行 BLAST 分析,发现同源性较高的菌株均来自链霉菌属(*Streptomyces*),其中与黄麻链霉菌(*Streptomyces corchorusii*) NBRC 13032 菌株(GenBank 登录号:NR\_041098)的同源性在 99% 以上。采用 DNAMAN 软件分析该序列与 GenBank 中已知放线菌 16S rDNA 序列的系统进化关系(图 2),结果表明,S24 菌株与黄麻链霉菌处于一个分支,而后与链霉菌属的其他各种菌明显聚为一大类。结合形态特征、生理生化特性和分子分类特征,初步将 S24 鉴定为黄麻链霉菌。

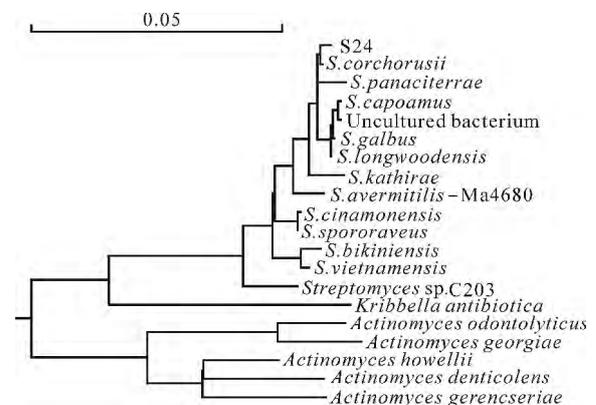


图 2 基于 16S rDNA 序列构建的放线菌系统进化树

### 2.3 基础发酵培养基及装液量选择结果

由表 2 可见,采用 7 种放线菌发酵培养基对 S24 菌株发酵后,发酵上清液及细胞破碎液对黄瓜枯萎病菌均有一定的抑制作用。大部分培养

基发酵上清液的拮抗活性以发酵 7 d 最佳,之后表现下降趋势,而细胞破碎液的拮抗活性也在发酵 7 d 时较高,进一步延长发酵时间拮抗活性变化不大。综合发酵上清液及细胞破碎液的拮抗效果,S24 菌株采用 5 号培养基发酵最佳,发酵 7 d 的上清液对黄瓜枯萎病菌的抑制活性最强,抑菌率达到 59.44%,其细胞破碎液对黄瓜枯萎

病菌的抑菌率也达到 39.76%。故随后的试验中,以 5 号培养基为基础培养基对 S24 菌株发酵 7 d,筛选最适的装液量。不同装液量试验抑菌率测定结果表明,250 mL 容积的三角瓶中装入培养基 75 mL 为放线菌 S24 的最适发酵装液量,此时发酵上清液及细胞破碎液的抑菌率分别达到 61.50%和 42.16%。

表 2 不同培养基发酵产物对黄瓜枯萎病菌的抑菌率

培养基编号	发酵上清液				细胞破碎液			
	3 d	5 d	7 d	9 d	3 d	5 d	7 d	9 d
1	5.23	38.78	38.78	27.03	8.42	22.18	23.85	24.38
2	6.10	24.24	39.77	46.63	9.22	23.47	32.17	39.22
3	11.92	35.87	48.20	32.56	10.35	28.66	35.34	23.48
4	8.72	1.20	12.79	6.98	7.23	19.25	28.96	31.03
5	13.37	43.31	59.44	53.49	9.76	30.05	39.76	41.25
6	21.51	0	0	0	12.36	21.33	22.55	21.08
7	13.08	35.58	31.80	29.77	11.06	19.85	23.75	25.65

2.4 S24 菌株发酵培养基的优化结果

2.4.1 发酵培养基的组成配比优化 根据 2.3 中结果,设计了四因素三水平正交试验(表 3),对 5 号发酵培养基中大豆粉(A)、葡萄糖(B)、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(C)、CaCO<sub>3</sub>(D)的添加量进一步优化。结果表明,对 S24 发酵上清液生物活性影响最大的因素是大豆粉,并且随着大豆粉比例的提高,生物活性逐渐增强,其他成分影响大小依次为葡萄糖、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、CaCO<sub>3</sub>,S24 发酵上清液生物活性

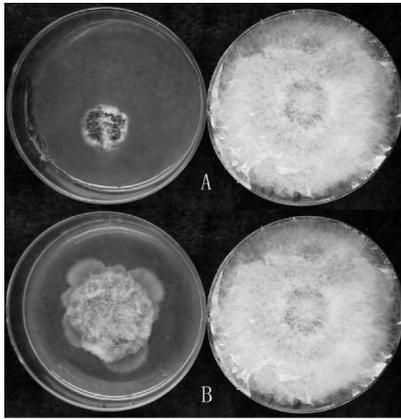
达到最大的培养基成分组合是 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>;对 S24 发酵细胞破碎液生物活性影响最大的因素是 CaCO<sub>3</sub>,其他成分影响大小依次为大豆粉、葡萄糖、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O,S24 发酵细胞破碎液生物活性达到最大的培养基成分组合是 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>(表 3)。不同组成培养基发酵上清液的抑菌率都高于细胞破碎液,综合二者活性测定结果,并考虑到成本,认为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub> 组合为促进 S24 生物活性物质产生的最佳培养基配比。

表 3 S24 菌株发酵培养基的组成配比优化结果

试验编号	添加量/(g/L)				发酵上清液 抑菌率/%	细胞破碎液 抑菌率/%
	大豆粉(A)	葡萄糖(B)	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O(C)	CaCO <sub>3</sub> (D)		
1	10	30	0.75	5.00	69	29
2	20	10	0.50	7.50	64	39
3	30	20	0.25	2.50	72	51
4	10	20	0.50	2.50	60	40
5	20	30	0.25	5.00	72	32
6	30	10	0.75	7.50	76	41
7	10	20	0.75	7.50	58	37
8	20	10	0.25	5.00	72	33
9	30	30	0.50	2.50	76	45
k <sub>1</sub>	62.33	70.67	72.00	69.33		
k <sub>2</sub>	69.33	63.33	66.67	71.00		
k <sub>3</sub>	74.67	72.33	67.67	66.00		
R	12.34	9.00	5.33	5.00		
k <sub>1</sub> '	35.33	37.67	42.67	45.33		
k <sub>2</sub> '	34.67	42.67	41.33	31.33		
k <sub>3</sub> '	45.67	35.33	35.67	39.00		
R'	11.00	7.34	7.00	14.00		

注:因素 A、B、C、D 的 1、2、3 水平(g/L)分别为 10、20、30,10、20、30,0.25、0.50、0.75,2.50、5.00、7.50; k<sub>1</sub>、k<sub>2</sub>、k<sub>3</sub> 及 R 分别表示发酵上清液在各因素 1、2、3 水平下抑菌率的平均值及极差,k<sub>1</sub>'、k<sub>2</sub>'、k<sub>3</sub>'及 R'分别表示细胞破碎液在各因素 1、2、3 水平下抑菌率的平均值及极差。

2.4.2 优化后培养基发酵产物的拮抗活性 按照优化后的组成配制培养基,对 S24 进行发酵,7 d 后对获得的发酵上清液及细胞破碎液进行拮抗活性测定(图 3),结果表明,含发酵上清液的 PDA 平板中,黄瓜枯萎病菌菌落直径为 21 mm,抑菌率达到 76.14%;含细胞破碎液的 PDA 平板中,菌落直径为 42 mm,抑菌率达到 52.27%,分别较优化前提高了 14.64、10.11 个百分点。



A. 上清液; B. 细胞破碎液; 右图分别为对照

图 3 S24 菌株在优化后培养基中发酵产物的拮抗活性测定结果

### 3 结论与讨论

本研究采用平板对峙法筛选对黄瓜枯萎病有拮抗作用的生防放线菌,获得 2 株对黄瓜枯萎病菌抑菌率在 60% 以上的菌株,其中 S24 的抑菌效果更明显,抑菌率达到 74%。通过形态观察、生理生化特性研究和分子生物学鉴定,表明 S24 可能属于黄麻链霉菌(*Streptomyces corchorusii*)。为了提高 S24 发酵产物的拮抗活性,对其发酵条件进行了优化。结果表明,7 种供试培养基中,5 号培养基(淀粉 10 g,葡萄糖 16 g,大豆粉 16 g,CaCO<sub>3</sub> 4 g,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.6 g,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 值 7.0)的发酵效果最好,发酵 7 d 后的上清液对黄瓜枯萎病菌的抑制活性最强,抑菌率达到 59.44%,同时其细胞破碎液对黄瓜枯萎病菌的抑菌率为 39.76%。采用 5 号培养基对 S24 进行发酵,250 mL 三角瓶中装液量 75 mL 最为合适,发酵上清液和细胞破碎液的抑菌率分别为 61.50% 和 42.16%。采用正交试验进一步对 5 号发酵培养基的配方进行优化,结果表明,大豆粉、葡萄糖、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、CaCO<sub>3</sub> 的添加量以 30、10、0.25、2.50 g/L 的配比最佳。采用优化后的培养基进行发酵,获得的 S24 上清液及细胞破碎液对黄瓜枯萎

病菌的抑菌率分别达到 76.14%、52.27%,较优化前分别提高了 14.64、10.11 个百分点。

放线菌是自然界中分布最广泛的微生物类群之一,作为植物病害的生防菌株具有巨大的潜能。近几十年来,人们已经陆续发现了由放线菌产生的莫比霉素、南昌霉素和阿维菌素等高活性杀菌抗生素。链霉菌属的很多成员对植物病原菌都有拮抗作用,应用黄麻链霉菌防治菜豆枯萎病<sup>[17]</sup>、番茄枯萎病<sup>[18]</sup>、水稻纹枯病<sup>[19]</sup>、烟草青枯病<sup>[20]</sup>已有相关报道,本研究发现其对黄瓜枯萎病也具有很好的防治效果,有良好的应用前景,值得深入研究与开发。本研究中,筛选生防菌株及其发酵条件进行优化只是开发生物农药产品的一个开端,还有待对其毒理学、田间防效以及发酵工艺进行深入试验和研究。

#### 参考文献:

- [1] 蒋荷,李旭,郑慧慧,等. 黄瓜种传镰刀菌种类的鉴定及其致病性研究[J]. 中国农业大学学报,2013,18(2): 86-92.
- [2] 余文英,郑宏,张绍升. 温室黄瓜枯萎病根际微生物动态变化研究[J]. 中国农学通报,2009,25(7):235-238.
- [3] 蒲子婧,张艳菊,刘东,等. 黄瓜枯萎病生物防治策略研究进展[J]. 中国蔬菜,2011(6):9-14.
- [4] 曹玉桃,姚革,文成敬,等. 木霉拮抗黄瓜枯萎病菌菌株的筛选[J]. 西南农业学报,2007,20(3):408-411.
- [5] 王倡宪,郝志鹏. 丛枝菌根真菌对黄瓜枯萎病的影响[J]. 菌物学报,2008,27(3):395-404.
- [6] 李晶,杨谦,张淑梅,等. 枯草芽孢杆菌 B29 菌株防治黄瓜枯萎病的田间效果及安全性评价初报[J]. 中国蔬菜,2009(2):30-33.
- [7] 许煜泉,唐玮宁,郑有丽,等. 筛选假单胞菌株 M18 防治大棚黄瓜枯萎病害[J]. 上海交通大学学报,1999,33(2):210-213.
- [8] 潘荣光,刘明霞. 黄瓜枯萎病菌的拮抗放线菌筛选[J]. 沈阳农业大学学报,2008,39(4):492-494.
- [9] 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.
- [10] 展丽然,张克诚,冉隆贤,等. 烟草赤星病菌拮抗放线菌的筛选与鉴定[J]. 华北农学报,2008,23(S1):230-233.
- [11] 乔宏萍,黄丽丽,王伟伟,等. 小麦全蚀病生防放线菌的分离与筛选[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33(B08):1-4.
- [12] 谢晨昭,杨毅玲,李磊,等. 拮抗放线菌 B1 菌株鉴定及其防治番茄灰霉病的初步研究[J]. 植物保护学报,2008,35(4):300-306.

(下转第 100 页)

综合表 3、表 4 的结果可知,在采用 1.8%阿维菌素乳油和 20%氯虫苯甲酰胺悬浮剂防治小菜蛾时,桶混添加 Silwet 408 有机硅助剂 5 000 倍液,可以在保证防治效果的前提下减少 20%药液喷洒量。

### 3 结论与讨论

有机硅助剂按一定比例与农药溶液混合后施用可以显著增加农药在植物表面的滞留量,延长滞留时间,提高对植物表皮的穿透能力,这对于提高药效、降低农药用量、节约成本、减少农药对环境的污染都是十分有效的。本研究结果表明,Silwet 408 与氯虫苯甲酰胺、阿维菌素桶混施用,可明显提高农药防治效果和利用率,在喷液量减少 20%的情况下,仍可取得较为理想的防治效果,同时也可节约水源和劳动力,减少农药残留和环境污染。

氯虫苯甲酰胺属于邻酰胺基苯甲酰胺类杀虫剂,通过活化鱼尼丁受体而达到杀虫目的,被认为是防治抗性小菜蛾的新型药剂<sup>[9]</sup>。尽管该药剂在我国应用时间较短,但近年的研究表明,部分地区小菜蛾田间种群已对氯虫苯甲酰胺产生了较高水平抗性,如华南地区的抗性倍数已达 606 倍<sup>[10]</sup>,华中地区也达中等水平抗性<sup>[11]</sup>。因此,设法延缓小菜蛾对氯虫苯甲酰胺抗药性的发展,是目前小菜蛾防治实践中需要重视的问题。本研究中,桶混施用 Silwet 408 有机硅助剂在保证防治效果的前提下,可以减少氯虫苯甲酰胺 20%的使用量,这将有利于延缓小菜蛾抗性的发展。

阿维菌素在我国推广应用的时间较早,随着阿维菌素及其复配制剂的大量、频繁使用,其防治效果明显下降,甚至有研究认为其已不适宜继续作为小

菜蛾防治的主要药剂<sup>[12]</sup>。本研究结果表明,桶混施用 Silwet 408 有机硅助剂可以提高阿维菌素的防治效果,从而延长这类老品种药剂在生产实践中的使用年限。

#### 参考文献:

- [1] 黄雄英,周小毛,柏连阳.长沙地区小菜蛾对 13 种药剂的抗药性测定[J].植物保护学报,2008,34(5):146-149.
- [2] 李文萍.天津市小菜蛾田间种群抗药性现状及监测[J].天津农业科学,2010,16(4):44-45.
- [3] 吕利华,何余容,庞雄飞.十字花科蔬菜对小菜蛾实验种群的影响[J].应用生态学报,2003,14(10):1732-1734.
- [4] 逢森,袁会珠,李永平,等.活性剂 Silwet 408 提高药液在蔬菜叶片上润湿性能的研究[J].农药科学与管理,2005,26(7):22-25.
- [5] 邱占奎,袁会珠,李永平,等.加有机硅表面活性剂对低容量喷雾防治小麦蚜虫的影响[J].植物保护,2006,32(2):34-37.
- [6] 袁会珠.Silwet 系列农用喷雾助剂在蔬菜病虫害防治中的应用[J].中国农技推广,2008,24(3):47-48.
- [7] 王茂勇,张俊祥.有机硅助剂在苹果全爪螨防治中的应用[J].烟台果树,2008(4):17-18.
- [8] 贾彩建.有机硅助剂在苹果黄蚜防治中的应用[J].北方果树,2009(3):10-11.
- [9] 王静,朱九生.几种新农药对小菜蛾的毒杀活性测定[J].山西农业科学,2012,40(9):973-975.
- [10] 胡珍娣,陈焕瑜,李振宇,等.华南小菜蛾田间种群对氯虫苯甲酰胺已产生严重抗性[J].广东农业科学,2012(1):79-81.
- [11] 夏耀民,鲁艳辉,朱勋,等.华中地区小菜蛾对 9 种杀虫剂的抗药性测定[J].中国蔬菜,2013(22):75-80.
- [12] 柴伟纲,谔江华,孙梅梅,等.宁波不同蔬菜基地小菜蛾对 5 种农药的抗性研究[J].浙江农业科学,2010(2):352-354.
- [13] 左艳霞,胡正嘉.1 株抗水稻纹枯病放线菌的筛选[J].华中农业大学学报,2006,25(1):60-63.
- [14] 曾庆飞,李传浩,黄惠琴,等.根结线虫拮抗放线菌菌株 DA07118 的筛选与鉴定及其发酵条件的优化[J].中国生物防治,2009,25(3):255-259.
- [15] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组.链霉菌鉴定手册[M].北京:科学出版社,1975.
- [16] Monciardini P, Sosio M, Cavaletti L, et al. New PCR primers for the selective amplification of 16S rDNA from different groups of actinomycetes[J]. FEMS Microbiological Ecology, 2002, 42: 419-429.
- [17] El-Abyard M S, El-Sayed M A, El-Shanshoury A R, et al. Inhibitory effects of UV mutants of *Streptomyces corchorusii* and *Streptomyces spiroverticillatus* on bean and banana wilt pathogens[J]. Canadian Journal of Botany, 1993, 71: 1080-1086.
- [18] El-Raheem A, El-Shanshoury R, El-Sououd S M, et al. Effects of *Streptomyces corchorusii*, *Streptomyces mutabilis*, pendimethalin, and metribuzin on the control of bacterial and *Fusarium* wilt of tomato[J]. Canadian Journal of Botany, 1996, 74: 1016-1022.
- [19] 杨敬辉,吉沐祥,文平兰,等.黄麻链霉菌 NF0919 菌株对水稻纹枯病的生防活性[J].江苏农业学报,2012,28(6):1288-1293.
- [20] 陆铮铮,彭丽娟,丁海霞,等.烟草青枯菌拮抗放线菌的筛选及鉴定[J].中国烟草科学,2013,34(2):54-58.

(上接第 92 页)