

· 中药农业 ·

博落回白绢病的病原鉴定及防治[△]游景茂¹, 王磊², 唐其³, 曾建国^{3*}

(1. 湖北省农业科学院 中药材研究所, 湖北 恩施 445000;

2. 湖南美可达生物资源股份有限公司, 湖南 长沙 410001;

3. 湖南农业大学 国家中药材生产(湖南)技术中心, 湖南 长沙 410128)

[摘要] 目的: 明确博落回根腐病致病病原, 提出合理的防治措施。方法: 运用致病菌形态学观察、致病菌内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列分析开展鉴定研究, 针对致病菌的生物学特性分析其防治策略。结果: 通过形态学和分子生物学鉴定证明病害为齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii* sacc.)导致的白绢病, 防治方法需要以生物防治为主, 最终实现白绢病安全、有效防控。结论: 通过研究证明博落回的病害为白绢病, 提出了安全有效地防治策略, 能够保证药材的品质, 保护生态环境。

[关键词] 博落回; 白绢病; 防治

Identity and the Control of Southern Blight on *Macleaya cordata*YOU Jingmao¹, WANG Lei², TANG Qi³, ZENG Jianguo^{3*}

(1. Institute of Chinese Herbal Medicine, Hubei Academy of Agricultural Science, Enshi 445000, China;

2. Micolta Biological Resource INC, Changsha 410001, China;

3. National Chinese Medicinal Herbs(Hunan) Technology Center, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify the pathogenic pathogen of root rot disease of *Macleaya cordata*, and provide the reasonable prevention and control measures. **Methods:** Using morphology observation and internal transcribed spacer (ITS) sequence analysis to identify the pathogen, and analyze the control strategy. **Results:** The pathogen was identified as *Sclerotium rolfsii* sacc. through morphology and molecular biology identification, it is necessary to control this disease with biological control as the main strategy to control southern blight effectively and safely. **Conclusion:** The results show that the pathogen was *S. rolfsii*, and provide reasonable control strategy, ensure the quality of medicinal materials, and protect the ecological environment.

[Keywords] *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br., southern blight, control

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.016

博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. 为罂粟科, 博落回属植物, 多年生草本, 主要分布在我国贵州、广西、广东、福建、江西、湖南、湖北、安徽、浙江、江苏、河南、陕西、甘肃南部等地, 少量分布在日本中部^[1]。博落回含有原阿片碱、 α -别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱等多种生物碱, 具有抗菌消炎、杀虫、抗癌等作用, 在养殖业中已作为兽药和生物农药而被广泛使用^[2]。由于博落回有效活性成分是天然物质, 使用后易降解无残留, 广泛用作饲料添加剂。然而白绢病的发生严重威胁博落回的产量及质量, 同时由于化学药剂的乱施滥

用不仅导致病原菌抗药性增加, 而且严重污染环境, 如何合理、安全、有效防控博落回白绢病成为博落回产业发展的关键环节。

1 博落回病害调查、鉴定及致病菌特性

1.1 病害调查

对湖南浏阳永安湖南农大等进行病害普查, 对病害的种类进行统计, 调查发病规模, 并收集染病植株。经调查我们可以发现, 8月份博落回根腐病达到最大值, 其中永安基地发生十分严重, 8月份发病率高达69.3%, 病情指数达到33.1%。湖南农

[△] [基金项目] 湖南省科技计划重点项目(2014SK2005, 2016SK3002); 长沙市科技局重点项目(K1308182-21)

* [通信作者] 曾建国, 教授, 研究方向: 中药资源与综合利用; Tel: (0731)84673824, E-mail: zengjianguo@hunau.edu.cn

大基地发病率 8 月份为 41.3%，病情指数为 19.2。

表 1 田间博落回根腐病调查

调查地点	不同月份平均发病率(%)				不同月份平均病情指数			
	5 月	6 月	7 月	8 月	5 月	6 月	7 月	8 月
湖南农大	13.5	22.4	9.5	41.3	12.5	16.9	18.3	19.2
浏阳永安	51.2	47.9	59.3	69.3	18.7	19.6	27.7	33.1

1.2 致病菌形态鉴定及分子生物学鉴定

该病病症主要为在植物根部形成白色匍匐菌丝，菌丝高度纠结缠绕，可以形成白色颗粒状物，气生菌丝浓密，6~8 月份在博落回茎基部可见颗粒状菌核，初期白色，后期黄褐色或黑色。经过形态观察、ITS(内部转录间隔区)扩增，对该菌进行鉴定发现该菌生长速度为 1.5 cm·d⁻¹，菌丝初期白色，一周后形成菌核，菌核初期白色，后期为褐色，直径为 0.1~0.5 cm。证明该菌害为齐整小核菌 *Sclerotium rolfsii* sacc.。菌落形态及其内部转录间隔区系统发育树结果如下：

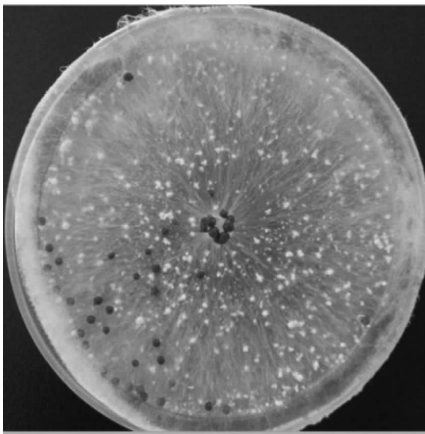


图 1 白绢病菌 B1 菌落形态

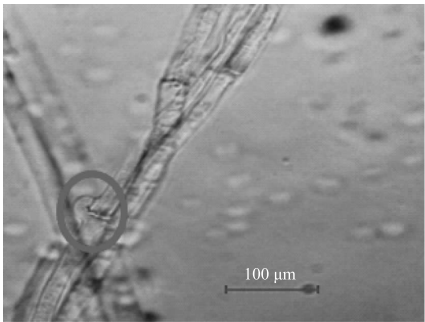


图 2 白绢病菌 B1 锁状联合

1.3 寄主范围

该致病菌无性态为齐整小核菌 *Sclerotium rolfsii* sacc.，有性态为罗氏阿太菌 *Athelia rolfsii* (Curiz) Tu& · 1430 ·

Kimbrough。通过收集前人相关报道可知，1891 年美国首次报道番茄感染白绢病菌，从此世界各地白绢病被陆续报道。白绢病菌寄主范围很广，涉及 100 多个科，近 500 种植物，广泛分布于粮食、蔬菜、花卉、中药材国外科研人员报道该病菌可以侵染甜叶菊大豆、胡桃、藏红花、玉簪、马铃薯、棉花等^[3-9]。在国内研究中，许多研究人员同样报道白绢病可以侵染多种植物，金苹收集国内文献证明白绢病菌可以侵染番茄、茄子、辣椒、大葱、豇豆、大豆、南瓜、西瓜、烟草、魔芋、大叶黄杨、桑蝴蝶兰、草莓、板栗、石榴等。该病害对中药材危害极大，现已报道被白绢病菌侵染的中药材有乌头、杭白菊、马蹄金、苍术、黄姜、鱼腥草、乌头、黄连、草乌、天麻、太子参、金线莲、玄参等^[10-23]。本研究证明，白绢病可以侵染博落回，进一步扩大了白绢病菌的寄主范围。

1.4 白绢病菌致病机理

其致病机理主要包含草酸、细胞壁降解酶类，二者协同作用，实现侵染。草酸是白绢病菌重要的致病因素，其作为非转化性毒素直接对植物组织产生毒害作用，笔者试验证明博落回白绢病菌通过在 PDB 中摇培 96 h 后 pH 值仅为 2.8，说明白绢病菌在生长过程中释放大量的酸性物质。白绢病菌还可以产生 β-1，露糖苷酶和甘露聚糖酶，时寄主发病。也有研究表明，白绢病菌几乎不产木聚糖酶和纤维素酶，但可产半纤维素酶、醋酸酯酶、α-阿拉伯糖酶和 α-半乳糖酶等酶类。笔者显色反应证明博落回白绢病菌可以产生淀粉酶、纤维素酶、果胶酶和蛋白酶。前人研究证明，白绢病菌分泌草酸，破坏寄主细胞膜，增加膜透性，大量的小分子物质及 K、Ca 等离子泄露出来，为菌丝侵染提供营养物质基础，菌丝继续分泌纤维素酶、果胶酶、蛋白酶等，使胞间隙离解，释放出大量的糖分物质，使细胞快速匮乏死亡。

2 白绢病防治策略

2.1 抗病育种

抗病育种是防治白绢病重要方法。世界各国科研人员利用抗病基因鉴定、原生质体筛选、组织培养等方法进行抗白绢病菌筛选，发现花生、大豆有显著的抗性分化^[24]。Punja 试验表明转几丁质酶基因黄瓜与胡萝卜对白绢菌有很强的抗性^[25]。这些前人研究为博落回白绢病抗病育种提供新思路，可以利用分子育种方法降低白绢病造成的损失。

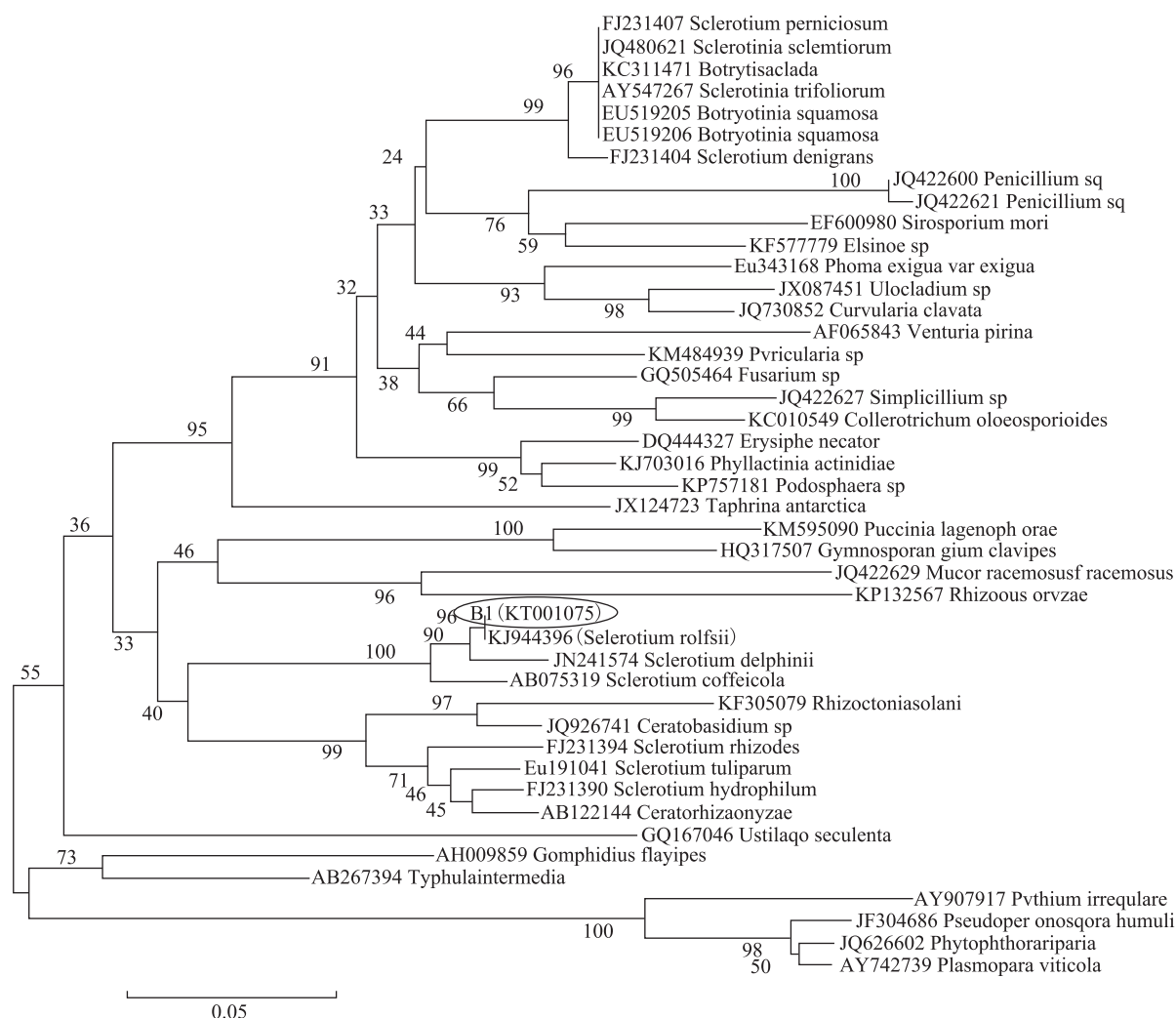


图3 基于白绢病菌 B1 菌株 ITS 序列 NJ 法构建系统发育树

2.2 化学防治

化学药剂防治白绢病具有操作简单,防治效率高的优点,前人针对白绢病开展了广泛的化学药剂研究,苯菌灵(benomyl)和百菌清(chlorothalonil)可以很好地防治花生白绢病^[26]。Punja 曾报道碳酸氢铵和五氯硝基苯混合使用,可以很好地防治胡萝卜白绢病^[27]。毕璋友对四种化学药剂进行筛选,得出代森锰锌毒力最强,防治效果最优^[28]。马琳研究证明 40% 氟硅唑 1000 倍液的防治效果最佳,对黄连白绢病防效为 96.6%^[29]。梁君通过室内和田间试验验证苯甲·嘧菌酯 3000 倍液对白绢病菌菌丝生长抑制率达 100%^[30]。王静报道 70% 代森锰锌可湿性粉剂对烟草白绢病菌菌丝生长和菌核萌发的抑制效果较好^[31]。陈将赞证明 99% 恶霉灵 4000 倍处理对向日葵白绢病防治效果最佳,具有保护与治疗作用,可在生产上推广应用^[32]。刘琼英得出 3 次药后 14 d,

50% 啶酰菌胺水分散粒剂、250 g·L⁻¹吡唑醚菌酯乳油和 430 g·L⁻¹戊唑醇悬浮剂对茉莉花白绢病的病指防效分别为 88.28%、87.65% 和 83.10%^[33]。前人研究结果证明三唑类杀菌剂在室内和田间对白绢病有较好的防治效果,因此博落回白绢病防治中可以用三唑类杀菌剂。

2.3 生物防治

生物防治是指利用有益微生物杀灭或降低病原生物的数量以控制植物病害发生、发展的措施。生物防治具有专一性强、绿色环保、无伤天敌的优点,所以利用有益生物防治白绢病一直是的研究热点。哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* 是生物防治白绢病中重要的一种微生物,Upadhyay 利用哈茨木霉作为生防菌,甜菜白绢病的防效达到 76%,而且可以促进叶片生长^[34]。Elad 曾报道哈茨木霉可以寄生于白绢病菌菌核,在菌核表面形成大量孢子,同时导致

白绢病菌菌核腐烂、匱竭,还可以降低白绢病菌纤维素酶的产量^[35-37]。Mukherjee 报道木霉可以用来防治蔬菜白绢病^[38]。Khattabi 将氮肥和哈茨木霉合理搭配后可以很好地防治白绢病^[39]。丁彩平试验证明木霉 *Trichoderma* sp. Fg 菌株与对韭菜白绢病的防治效果分别为 96.54%^[40]。冯俊清用对峙实验筛选得到木霉 13 号菌株对辣椒白绢病菌有十分好的抑制效果,而且其能耐热、耐酸性菌,环境温度达到 50℃ 时也能生长,在中性或偏酸性环境下,木霉生长速度极快^[41]。魏林用抗脂菌唑标记的木霉 TUV-13 的分生孢子制剂对鱼腥草进行种茎浸泡和土壤处理,结果表明,两种处理均可促进鱼腥草种茎提早发芽、发根,并提高植株生物量。种茎浸泡处理对芽根萌发、地上部分生长的促进效果较好,两种方法对白绢病的田间防效均可达 70% 以上,其中土壤处理两年后,对白绢病的防效为 68.2%。木霉回收试验结果表明,TUV-13 菌株可在土壤中较好地定殖,2 年后其种群数量为 2.31×10^5 cfu·g⁻¹,是土著木霉菌数量的 289 倍^[42]。笔者从 2014—2016 年在田间调查中已经发现有部分白绢病菌菌核被木霉寄生,现在已经开展木霉防治博落回根腐病相关研究。

2.4 农业防治

2.4.1 合理选址 白绢病菌菌丝及菌核在酸性土壤中生长旺盛,所以尽量选择石灰质土壤,同时注意土壤的 PH 值,如果 pH 低于 7,可以在播种之前用草木灰 50 kg,雨前撒施,同时施用农家肥。病菌好气性强,喜通气好的土壤,所以黏性强的土壤可以抑制病菌的发生,同时深埋菌核土壤能够显著降低其萌发率。

2.4.2 及时清除病残枝条 对于已经发病的植株,可以采取拔出染病植株,然后在染病土周围撒生石灰,白绢病菌可以产生草酸,撒施生石灰可以一定程度上减缓病原菌的蔓延。采收后,及时清洁田园,把枯枝老叶集中后,装入化粪池腐熟,或者进行焚烧。

2.4.3 合理施肥 富含腐殖质肥沃的土壤中微生物多样性强,可以显著抑制病原菌的蔓延,N 肥对菌丝生长无明显影响,P 肥对白绢病菌有一定的抑制作用,K 肥一定程度上可以促进菌丝生长,所以注意测土配方,在 4 月上旬,温度回升时要注意肥料之间的配合。

2.4.4 合理轮作 有条件的田块应水旱轮作,通过浸泡菌核,一方面可以降低田间酚酸类化合物,另

一方面有利于拮抗微生物的传播,方便其侵染和寄生菌核。同时轮作的作物应充分考虑其是否为白绢病菌的寄主,在旱旱轮作中,前茬作物为玉米的田块,白绢病危害程度相对于白菜、红薯、马铃薯、萝卜等显著较轻。

3 讨论

白绢病是一种寄主范围广,毁灭性的真菌病害,对于其防治,必须建立在充分研究和熟悉的基础上才能实现很好的防治。因为针对博落回白绢病,我们必须开展该病原菌的侵染循环、生活史、致病力分化、多样性以及发病因素等研究,充分利用田间自然生态、微生物多样性去抑制白绢病的发生。笔者前期实验证明三唑类杀菌剂能很好地防治博落回白绢病,应加快推进农药登记工作。今后应该加强对于高效、低残留,有选择性农药的开发和筛选,大力推广科学的施药方法,在对土传病害的化学防治上,观念应该要有所转变,人们应该把农药看成是对土壤微生物种群结构的调节手段,而非单纯性的灭生手段,另外,也要走出谈农药而色变的误区,不要对化学农药一概否定。另外笔者已经筛选得到有较好防效的芽孢杆菌和木霉,现在正开展拮抗、寄生机理、剂型、定殖规律等研究,以期利用多种防控手段解决白绢病对博落回的危害。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第三十二卷[M]. 北京:科学出版社,1999:78-79.
- [2] 郭小清,康莉平,聂建超,等. 博落回的药理作用及其在动物保健中的应用[J]. 中国动物保健,2005(5):24-25.
- [3] Akem C N, Dashiell K E. First report of southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* on soybeans in Nigeria[J]. Plant Disease,1991,75(5).
- [4] Belisario A, Corazza L. First report of *Sclerotium rolfsii* on *Juglans* in Europe[J]. Plant Disease, 1996, 80(7): 824-824.
- [5] Kamalakannan A, Valluvaparasian V, Chitra K. First report of root rot of stevia caused by *Sclerotium rolfsii* in India[J]. Plant Pathology,2007,56(2):350-350.
- [6] Kalha C S, Gupta V, Gupta D, et al. First report of sclerotial rot of saffron caused by *Sclerotium rolfsii* in India[J]. Plant Disease,2007,91(9):1203-1203.
- [7] Kwon J H, Chi T T P, Kim J. First Report of Stem Rot on *Hosta plantaginea* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea[J]. Plant Pathology Journal,2010,26(3):297-297.

- [8] Daami M, Jabnoun-Khiareddine H, Ayed F. First Report of *Sclerotium rolfsii* Causing Atypical Soft Rot on Potato Tubers in Tunisia[J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2014, 23(4):421-428.
- [9] Mahadevakumar S, Tejaswini G S, Shilpa N. First report of *Sclerotium rolfsii* associated with boll rot of cotton in India[J]. Plant Disease, 2015, 100(1):214.
- [10] 金革. 白绢病的研究[J]. 农业灾害研究, 2011, 1(1):14-22.
- [11] 李代永, 孙英. 乌头白绢病的研究[J]. 植物保护学报, 1981(4):259-264.
- [12] 王建伟, 吕中平, 单德芳, 等. 杭白菊白绢病的研究[J]. 浙江农林大学学报, 1989(3):81-87.
- [13] 严巍, 倪桂菊, 陈培昶, 等. 马蹄金白绢病的防治研究[J]. 中国森林病虫, 1999(1):26-27.
- [14] 黄俊斌, 赵雪坤, 李建洪, 等. 苍术白绢病发生规律与防治方法的初步研究[J]. 湖北农业科学, 2003(3):70-71.
- [15] 吴大椿, 罗会权, 肖能武, 等. 黄姜白绢病的发生及防治方法[J]. 湖北植保, 2004(3):11-12.
- [16] 唐莉, 吴锡明, 马曲, 等. 鱼腥草白绢病发生发展规律及防治方法研究[J]. 中草药, 2005, 36(12):1872-1875.
- [17] 陈军, 吴雪芬, 陈立人. 黄芩白绢病发生规律与防治方法[J]. 广西植保, 2006, 19(1):54-55.
- [18] 马琳, 银福军, 曾伟, 等. 黄连白绢病生物学特性及防治药剂的筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34):16905-16908.
- [19] 余昌俊, 王绍柏. 天麻白绢病无公害综合防控技术研究, 湖北农业科学[J]. 2010, 49(7):1619-1621.
- [20] 陈桂华. 太子参白绢病药剂防治效果试验[J]. 内蒙古农业科技, 2010(2):54-54.
- [21] 赵云青, 黄颖桢, 陈菁瑛, 等. 金线莲白绢病病原菌分离及分子鉴定[J]. 福建农业学报, 2013, 28(4):357-360.
- [22] 陈婧, 桑维钧. 道真玄参白绢病病原鉴定及杀菌剂毒力测定[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(20):5020-5021.
- [23] 李小霞, 肖仲久, 李黛, 等. 草乌白绢病菌生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2010, 37(8):128-130.
- [24] Ansuya J, John W K, Brennemana T B. Identification of genes differentially expressed during early interactions between the stem rot fungus (*Sclerotium rolfsii*) and peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars with increasing disease resistance levels[J]. Microbiological Research, 2015(84):1-12.
- [25] Punja Z K, Raharjo S H T. Response of transgenic cucumber and carrot plants expressing different chitinase enzymes to inoculation with fungal pathogens[J]. Plant Disease, 1996, 80(9):999-1005.
- [26] Backman P A, Rodriguezkabana R, Williams J C. The effect of peanut leafspot fungicides on the nontarget pathogen, *Sclerotium rolfsii* [J]. Phytopathology, 1975, 65(7):773-776.
- [27] Punja Z K, Carter J D, Campbell G M, et al. Effects of calcium and nitrogen fertilizers, fungicides, and tillage practices on incidence of *Sclerotium rolfsii* on processing carrots[J]. Plant Disease, 1986, 70(9):819-824.
- [28] 毕璋友, 檀根甲, 丁克坚. 马蹄金白绢病发生规律及化学防治技术的研究[J]. 2008, 17(4):124-131.
- [29] 马琳, 银福军, 曾伟, 等. 黄连白绢病生物学特性及防治药剂的筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34):16905-16908.
- [30] 梁君, 张科立, 张珂莹. 铁皮石斛白绢病防治药剂筛选试验[J]. 浙江农业科学, 2010, 38(15):839-842.
- [31] 王静, 赵杰, 钱玉梅, 等. 山东烟草白绢病病原鉴定及室内防治药剂筛选[J]. 中国烟草科学, 2013, 34(4):55.
- [32] 陈将赞, 丁灵伟, 杨廉伟, 戴以太. 向日葵白绢病防治药剂筛选试验[J]. 浙江农业科学, 2013(1):59-62.
- [33] 刘琼英, 杨子威, 杨志刚, 等. 8种杀菌剂对茉莉花白绢病的田间防效[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(8):68-70.
- [34] Upadhyay J P, Mukhopadhyay A N. Biological control of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* in sugarbeet[J]. Tropical Pest Management, 1986, 32(3):215-220.
- [35] Elad Y, Chet I, Katan J. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*[J]. Phytopathology, 1980, 70(2):119-121.
- [36] Elad Y, Chet I, Boyle P, et al. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy[J]. Phytopathology, 1983, 73(1):85-88.
- [37] Elad Y, Barak R, Chet I. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *trichoderma harzianum*[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1984, 16(4):381-386.
- [38] Mukherjee P K, Raghu K. *Trichoderma* sp. as a microbial suppressive agent of *Sclerotium rolfsii* on vegetables [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1997, 13(5):497-499.
- [39] Khattabi N, Ezzahiri B, Louali L, et al. Effect of nitrogen fertilizers and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii*[J]. Agronomie, 2004, 24(5):281-288.
- [40] 丁彩平, 陆少峰, 黄思良. 木霉 *Fg* 菌株防治韭菜白绢病研究[J]. 广西农业生物科学, 2006, 25(2):142-144.
- [41] 冯俊清, 李媛媛, 杨扬, 等. 木霉的分离和对辣椒白绢病致病菌的抑制效果研究[J]. 湖南农业科学, 2010(15):83-85.
- [42] 魏林, 梁志怀, 陈玉荣, 等. *Trichoderma harzianum* TUV-13 对鱼腥草白绢病的防治及其促生长作用[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(3):381-386.

(收稿日期 2017-02-21)