甘肃定西地区党参根腐病病原鉴定与防治研究

孙新荣[1#]， 仲彩萍[1#]， 张西梅[2]， 陈爱昌[3*]，
胡小平[4]， 孙卫冬[5]， 漆文选[1]

（1. 甘肃省定西市渭源县农业技术推广中心，定西 748200；2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所，北京 100193；3. 甘肃省定西市植保植检站，定西 743000；4. 西北农林科技大学植物保护学院，杨凌 712100；5. 先正达（中国）投资有限公司，上海 200120）

摘要 自2013年起，甘肃定西地区种植的党参出现了严重的死苗、烂根现象，为明确该病害的病原菌并确定适宜的防治药剂，在多年种植党参的田块进行调查、采样和防治试验研究。根据大田调查结果和发病症状分析，发现该病害可分为急性青枯型和慢性黄腐型；采用常规组织分离法对病原菌进行了分离和纯化，依据柯赫氏法则进行致病性确认，并通过形态学和分子生物学方法对病原菌进行了鉴定。结果表明：引起党参急性青枯型根腐病的病原菌为尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*；慢性黄腐型根腐病的病原菌为锐顶镰刀菌 *Fusarium acuminatum*。室内药剂毒力测定表明，25 g/L咯菌腈悬浮种衣剂、6.25%精甲·咯菌腈悬浮种衣剂、18%噻灵·咯·精甲悬浮种衣剂对两种病原的抑制效果均较好，EC_{50}均低于1.0 mg/L；大田防治试验表明，18%噻灵·咯·精甲悬浮种衣剂200倍液、300倍液、600倍液对根腐病防效分别为81.78%、70.22%、64.03%。

关键词 党参； 根腐病； 病原鉴定； 药剂防治

中图分类号： S435.675 **文献标识码：** B **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2019351

Identification and control of the root rot pathogen of *Codonopsis pilosula* in Dingxi of Gansu province

SUN Xinrong[1#]， ZHONG Caiping[1#]， ZHANG Ximei[2]， CHEN Aichang[3*]，
HU Xiaoping[4]， SUN Weidong[5]， QI Wenxuan[1]

（1. *Agricultural Technology Extension Center of Weiyuan County*，*Dingxi*，*Gansu Province*，*Dingxi* 748200，*China*；2. *Institute of Medicinal Plant Development*，*Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College*，*Beijing* 100193，*China*；3. *Dingxi Plant Protection and Quarantine Station of Gansu Provice*，*Dingxi* 743000，*China*；4. *College of Plant Protection*，*Northwest A & F University*，*Yangling* 712100，*China*；5. *Syngenta*（*China*）*Investment Co.*，*Ltd.*，*Shanghai* 200120，*China*）

Abstract In 2013—2017，*Codonopsis pilosula* plants with wilting，dying and root rot symptoms were observed in commercial fields in Dingxi district，Gansu province. Field investigation of the disease was carried out in the fields planted with *codonopsis pilosula* for many years，and the root rot disease could be divided into acute green withered rot and chronic yellow rot based on symptom analysis and diagnosis. To identify the pathogens，symptomatic root samples were collected from diseased fields in this study. Fungi isolated and purified from tissue pieces of disease lesions were identified by morphological characterization and molecular approaches. Pathogenicity test was confirmed by Koch's postulates. The results showed that the causal agents of acute green withered rot and chronic yellow rot were *Fusarium oxysporum* and *F. acuminatum*，respectively. Toxicity test of fungicides to the two pathogens were carried out in the laboratory using mycelium growth rate method. Among the seven fungicides tested，fludioxonil 25 g/L FSC，metalaxyl-M·fludioxonil 6.25% FSC and thiabendazole·fludioxonil·metalaxyl-M 18% FSC could effectively inhibit the growth of *F. oxysporum* and *F. acuminatum*，with all EC_{50} values less

收稿日期： 2019－07－10 **修订日期：** 2019－08－30
基金项目： 甘肃省科技计划(19CX2NJ003，18CX3ZJ033)；中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-012)
* 通信作者 E-mail：aichang612@163.com
# 为并列第一作者

than 1.0 mg/L. Field trials demonstrated that the control and prevention efficacy of thiabendazole · fludioxonil · metalaxyl-M 18% FSC (200×, 300×and 600×) was 81.78%, 70.22% and 64.03%, respectively.

Key words　*Codonopsis pilosula*;　root rot;　pathogen identification;　chemical control

药材党参为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula*,素花党参 *C. pilosula* var. *modesta* 或川党参 *C. pilosula* subsp. *tangshen* 的干燥根,为常用大宗药材。甘肃省定西市是全国党参药材的主要产区,产量居全国前列,种植面积约 1.7 万 hm^2[1]。定西市渭源县 2002 年被中国农学会特产之乡组委会正式命名为"中国党参之乡",所产党参以"条直、体胖、色白、质好"而著称。目前,发展党参药材产业成为定西地区重要的扶贫途径。但随着种植面积的不断扩大,病害问题已逐渐成为影响党参产量和品质的重要因素之一。据 2013 年－2017 年调查发现,大田党参存在"急性型"和"慢性型"根腐病,"急性型"发病早(5 月)且发病率高(20%～70%),表现为茎叶急性青枯,主根维管束变色,俗称"红芯病"或"黄芯病",随着病情发展,主根软腐,须根萎缩,全株死亡;"慢性型"发病晚(7 月)且发病率低(15%～30%),表现为叶片发黄、茎基部或根部出现褐色至黑色病斑,逐渐腐烂成"半截参"。根腐病的发生造成党参严重减产,减产幅度 10%～60%,是目前最严重的病害之一。

关于党参根腐病的研究,赵纯森等[2]首次报道柱孢属真菌 *Cylindrocarpon* sp. 和尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 是引起湖北鄂西川党参"急性型"和"慢性型"根腐病的病原菌。之后,2011 年王艳等[3]认为甘肃党参"急性型"和"慢性型"根腐病为同一种病的不同症状,病原菌均为 *F. oxysporum*,然而王艳等描述的症状与"红芯病"或"黄芯病"有一定差异,因此我们认为定西地区党参不同类型根腐病的病原尚待研究。拌土、浸种、灌根等[3-6]相关防治技术存在出苗率低、操作难度大、防效差等问题。因此,本文通过系统调查党参根腐病田间发病情况及症状表现,对病原菌进行分离鉴定并筛选效果较好的防治药剂,以期为脱贫攻坚党参产业可持续发展保驾护航。

1　材料与方法

1.1　样本采集

2013 年－2017 年,每年 4 月－9 月于甘肃党参主产区定西市渭源、陇西、临洮等县党参根腐病发生严重的大田,采集病害样本,观察并记录病害相关的症状。

1.2　病原菌分离培养

采用常规组织分离法分离病原菌[7]。选取新发病参根病健交界处组织(3 mm×3 mm),先用 70% 乙醇消毒 5 s,0.1% $HgCl_2$ 表面消毒 30 s,无菌水冲洗 3～4 次,然后在无菌条件下接种于马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose ager,PDA)平板上,于 25℃恒温箱内暗培养。对获得的菌落进行单孢分离纯化,将纯化好的菌株接种于 PDA 斜面培养基上,4℃保存。

1.3　病原菌致病性测定

采用灌根接种法[7]对分离物进行致病性测定。将分离物接种于 PDA 平板上,25℃恒温箱内培养 4 d后,用无菌水冲洗孢子,配制成浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液,备用。选取健康一年生党参苗,种植于含无菌土的花盆中,出苗 20 d 后,在距芦头 4 cm 的参根部位用灭菌针刺伤表皮,立即灌根 50 mL 孢子悬浮液作为刺伤接种处理,同时设无伤接种处理,以接种相同体积的无菌水作为对照。每处理接种 3 盆,每盆种植 10 株党参。灌根后的党参置于 25℃人工气候箱培养,定期观察并记录发病情况。同时,对典型发病植株进行再分离,将分离物与初始接种体进行形态学比较。

1.4　病原菌形态学鉴定

将病原菌接种到 PDA 平板中央,在 25℃的恒温箱中暗培养,观察菌落生长速度、色泽等形态特征,并挑取菌丝体制成玻片,在显微镜下观察孢子的显微特征,并测量分生孢子大小。

1.5　病原菌分子鉴定

1.5.1　DNA 提取

将病原菌接种于铺有玻璃纸的 PDA 平板上,25℃暗培养 5 d 后收集菌丝,干燥后取 0.2 g 菌丝于研钵中,加入液氮研磨至粉状后置于无菌的 2.0 mL 离心管中,加入 800 μL 2% CTAB 溶液混匀,65℃水浴 15 min;然后加入 800 μL 酚/氯仿/异戊醇(25∶24∶1),混匀后离心 15 min(12 000 r/min),取上清液,在上清液中加入 800 μL 酚/氯仿/异戊醇(25∶24∶1),混匀后离心 15 min(12 000 r/min),取上清液,在上清液中加入 350 μL 冰异丙醇,混匀后于 4℃条件下静置 30 min,在 4℃条件下离心 15 min(12 000 r/min),弃上清液,用 75%乙醇洗涤沉淀 2 次,再用无水乙醇洗

涤1次，晾干后加入50 μL超纯水充分溶解[8]。利用Nanodrop 2000检测合格后，于−20℃下保存备用。

1.5.2 病原菌ITS序列、翻译延伸因子基因(*tef*-1α)基因扩增及测序

采用真菌rDNA-ITS序列的通用引物ITS1(5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3′)和ITS4(5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3′)[9]扩增核糖体内转录间隔区(rDNA-ITS)序列，采用文献报道的引物EF1(5′-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3′)和EF2(5′-GGARGTACCAGTSATCATGTT -3′)扩增*tef*-1α基因[8]。扩增体系25 μL：10 μmol/L上、下游引物各0.5 μL，10×Trans *Taq*®-T Buffer 2.5 μL，2.5 mmol/L dNTPs 2 μL，Trans *Taq*®-T DNA polymerase 0.25 μL，50 ng/μL模板DNA 1 μL，ddH_2O 18.25 μL。反应程序：94℃预变性5 min；94℃变性30 s，55℃退火30 s，72℃延伸1 min，共35个循环；72℃延伸10 min，4℃保存备用。PCR产物送英潍捷基(上海)贸易有限公司进行测序。

1.5.3 数据分析

将测序结果进行BLAST比对分析。从GenBank下载镰刀菌属*Fusarium*代表种序列，将序列信息导入MEGA 6.0采用Clustal W方法进行序列比对，通过最大似然法(maximum likelihood tree，ML树)构建系统发育树，同时利用bootstrap(10 000次重复)检验各分支的置信度。

1.6 药剂防治试验

1.6.1 室内毒力测定

供试药剂共7种，分别为18%噻灵·咯·精甲悬浮种衣剂(FSC)，6.25%精甲·咯菌腈悬浮种衣剂(FSC)，25 g/L咯菌腈悬浮种衣剂(FSC)，先正达南通作物保护有限公司；70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(WP)，成都邦农化学有限公司；50%多菌灵可湿性粉剂(WP)，四川国光农化股份有限公司；80%乙蒜素乳油(EC)，河南科邦化工有限公司；60%噁霉灵·乙酸水剂(AS)，山西省长治市三宝化工厂。采用梯度稀释法配成不同稀释倍数。根据预试验结果，选择各药剂适当的5个稀释倍数，将药剂稀释倍数换算为相应的浓度(表1、表2)。将7种试验药剂分别配制成所需稀释倍数的10倍，取1 mL注入经消毒灭菌的培养皿中，随后加入9 mL冷却至约50℃的PDA培养基，摇匀后制成含药培养基平板，以不加药剂为对照。

采用生长速率法进行室内药效比较。用灭菌打孔器(6 mm)在培养4 d的菌落边缘打取菌丝块，接种于含药PDA平板中央，每处理3次重复，接种后置于25℃恒温箱中培养，5 d后采用十字交叉法测量菌落直径，并计算相对抑菌率。

抑菌率＝(对照菌落直径－药剂处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

采用DPS软件计算各药剂的毒力回归方程斜率、F检验及抑制中浓度(EC_{50})。

1.6.2 田间药效试验

试验地位于甘肃渭源新寨镇党参主产区，前茬党参。选择室内药效较好的药剂，每种药剂设计3级浓度，每级浓度重复3次，每个重复小区面积20 m^2，以清水为空白对照。所有小区均随机排列并配施70%噻虫嗪以防治地下害虫。3月21日栽植，选择健壮无病党参苗，栽植行距33 cm，株距10 cm，边栽植边采用电动喷雾器装药均匀喷雾栽植沟和党参苗。于9月20日调查发病情况，记录发病率和病情指数，按以下标准对党参根腐病严重度进行分级。0级：不发病；1级：地上茎叶1/2以下萎蔫，根部维管束1/2以下出现发黄，目测根部外观正常，或地上茎叶1/2以下枯黄，茎叶基部和根部出现1～3个病斑；3级：地上茎叶1/2(含1/2)以上萎蔫，根部维管束1/2(含1/2)以上发黄至发红，目测根部外观根毛萎缩，或地上茎叶1/2(含1/2)以上枯黄，茎叶基部和根部出现3个以上病斑并开始腐烂；5级：地上茎叶全部青枯，根部维管束全部发黄至发红，而且根部出现软腐，或地上茎叶全部枯黄，根部腐烂形成半截参；7级：地上茎叶枯死，根部全部腐烂致缺苗断垄。根据分级标准计算各药剂的防效，并采用DPS软件进行方差分析。

病情指数＝100×∑(各级病株数×各级代表值)/(总株数×最高病级代表值)；

防效＝(对照区病情指数－处理区病情指数)/对照区病情指数×100%。

2 结果与分析

2.1 田间发病情况及症状表现

通过田间大量的系统调查、采集和辨别，初步将党参根腐病归为如下两种：1)急性青枯型：发病初期，植株地上茎和叶片下垂、出现急性萎蔫，但叶色仍为绿色、不脱落(图1a)，参根外观正常，剖开主根，部分或整个维管束变为黄色至红褐色，形成纵向的变色条带(图1c)。随着病情进一步发展，地上茎

和叶片青枯,须根萎缩,主根出现软腐,不久全株死亡,造成明显缺苗断垄(图 1b)。该病发病较早(5 月初),5—6 月份为发病高峰期,发病率 20%～70%。从地上显症到全株死亡所需时间较短,约 6 d。2)慢性黄腐型:发病初期,地上茎叶发黄(图 1d),茎基部或根部出现褐色至黑色不同大小病斑(图 1e)。随着病情进一步发展,地上叶随着病斑腐烂由下而上逐渐变黄,以致枯死,根上病斑扩展开始腐烂,一般自下向上逐渐腐烂,但维管束正常(图 1f)。发病较晚则会形成"半截参",半截参上须根发达(图 1f),来年春天可继续发芽出苗,但会继续腐烂死亡。该病发病较晚,7 月开始发病,7—8 月份为发病高峰期,发病率 15%～30%。

a~c: 急性青枯型根腐病症状; d~f: 慢性黄腐型根腐病症状
a-c: Symptoms of acute green withered rot in the field; d-f: Symptoms of chronic yellow rot in the field

图 1　党参根腐病田间症状

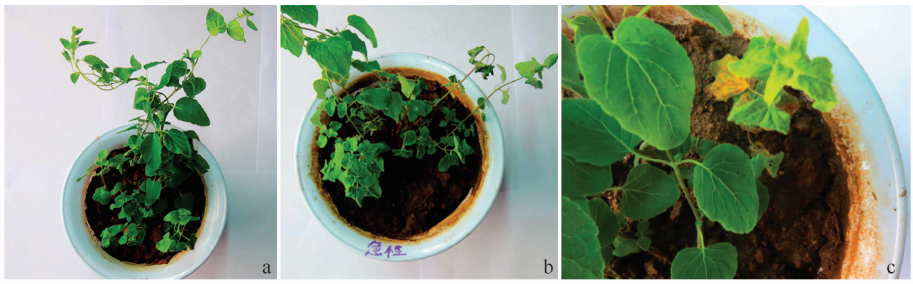
Fig. 1　The symptoms of *Codonopsis pilosula* root rot in the field

2.2　病原分离结果

采集的 130 份病样中,126 份(96.9%)病样分离到真菌。共获得 126 株真菌,根据培养性状初步归为 DXDS001、DXDS002、DXDS003、DXDS004 四类。其中,DXDS001 包含 53 株,占 42.06%;DXDS002 包含 64 株,占 50.79%;DXDS003 包含 6 株,占 4.76%;DXDS004 包含 3 株,占 2.36%。

2.3　致病性测定

从每类分离物中选取 1 株代表菌株,用于致病性测定。结果显示,只有接种 DXDS001 和 DXDS002 的植株表现出典型的根腐病症状,其他均未发病。刺伤和无伤接种 DXDS002 后第 2 天均显急性青枯型症状(图 2b),刺伤接种后第 2 天全部发病,无伤接种后第 4 天全部发病;刺伤接种 DXDS001 后第 6 天开始出现慢性黄腐型症状(图 2c),第 8 天全部发病,无伤接种后第 10 天出现发病症状。



a: 对照(清水); b: 接种DXDS002的党参苗; c: 接种DXDS001的党参苗
a: CK (water); b: *Codonopsis pilosula* seedlings inoculated with DXDS002; c: *Codonopsis pilosula* seedlings inoculated with DXDS001

图 2　病原菌接种党参盆栽苗后的症状

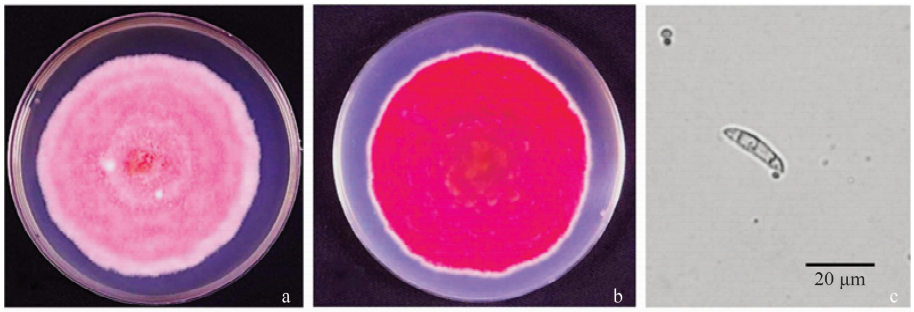
Fig. 2　Symptoms on *Codonopsis pilosula* seedlings after inoculation

再分离物分别与 DXDS002 和 DXDS001 形态学特征一致,符合柯赫氏法则,说明 DXDS002 为急

性青枯型根腐病病原菌，DXDS001 为慢性黄腐型根腐病病原菌。

2.4 病原菌形态特征

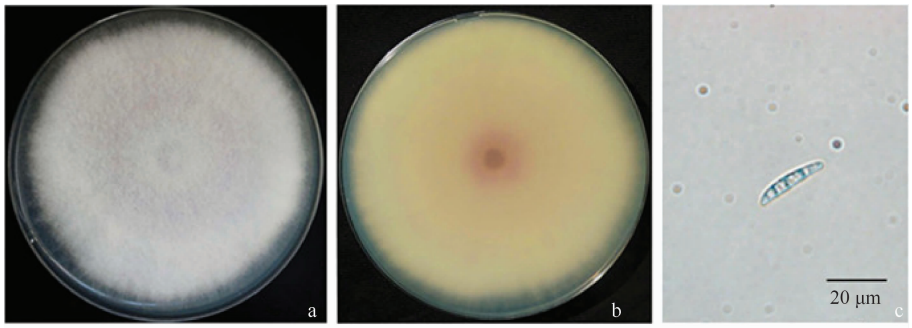
在 PDA 培养基平板上暗培养 5 d 后，DXDS001 菌落圆形粉红色，四周菌丝白色，棉絮状致密，底部紫红色(图 3)；产生大量的小型分生孢子和少量的大型分生孢子，其中小型分生孢子为卵圆形至长椭圆形，肾型，无隔膜或具 1 个隔膜，大小为(4.7～13.5)μm×(1.6～2.5)μm；大型分生孢子镰刀状，两端尖，一般具有 2～5 个隔膜，大小为(13.5～30)μm×(2.5～4.9)μm。DXDS002 菌落圆形白色，菌落底部中心部位培养物紫色，菌丝絮状致密(图 4)；产生大量的小型分生孢子和少量的大型分生孢子，其中小型分生孢子为卵圆形或肾形，无隔膜或具 1 个隔膜，大小为(3.9～15.0)μm×(1.5～4.5)μm；大型分生孢子镰刀状，两端尖，一般具有 3～5 个隔膜，大小为(18.5～35.6)μm×(3.0～5.5)μm。根据病原菌的形态特征，依据 Booth 的镰刀菌属分类系统[10]，病原菌 DXDS001、DXDS002 初步鉴定为锐顶镰刀菌 *F. acuminatum* 和尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*。



a、b: *F. acuminatum*的菌落特征(a正面, b反面); c: 大型分生孢子
a, b: The colony of *F. acuminatum* (a: Upper surface; b: Lower surface); c: Macroconidia of *F. acuminatum*

图 3 *Fusarium acuminatum* 的培养性状与显微特征

Fig. 3 Colony appearance and microscopic features of *Fusarium acuminatum*



a、b: *F. oxysporum*的菌落特征 (a正面, b反面); c: 大型分生孢子
a, b: The colony of *F. oxysporum* (a: Upper surface; b: Lower surface); c: Macroconidia of *F. oxysporum*

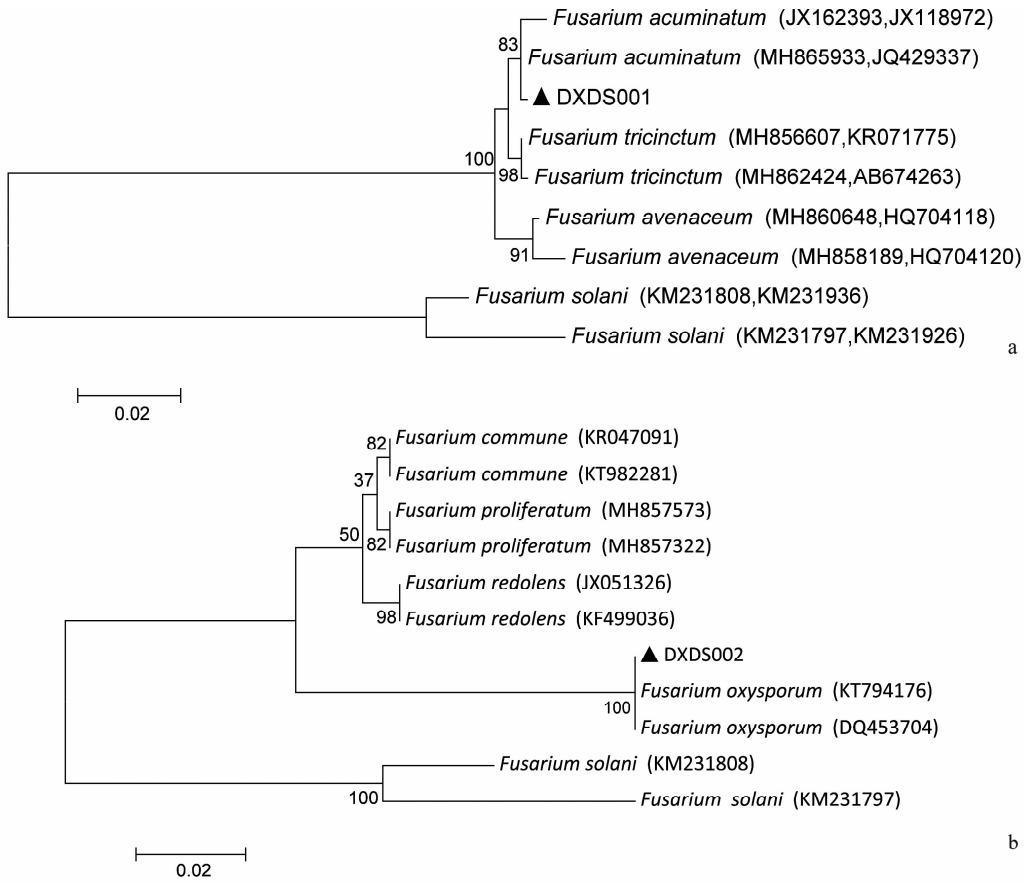
图 4 *Fusarium oxysporum* 的培养性状与显微特征

Fig. 4 Colony appearance and microscopic features of *Fusarium oxysporum*

2.5 病原菌分子鉴定

病原菌 DXDS001 的 ITS、*tef*-1α 基因序列与 GenBank 的序列进行 BLAST 比对后，利用 MEGA 6.0 转换为 meg 格式并采用 Clustal W 方法进行序列比对，将 ITS 和 *tef*-1α 序列拼接后建立 ML 树，发现菌株 DXDS001 的序列与 *F. acuminatum* CBS 131774 和 *F. acuminatum* CBS 131258 处于同一分支，bootstrap 支持率为 100%(图 5a)，结合形态学特征进一步将 DXDS001 鉴定为锐顶镰刀菌 *F. acuminatum*。

病原菌 DXDS002 的 ITS 序列与 GenBank 的序列进行 BLAST 比对后，利用 MEGA 6.0 转换为 meg 格式并采用 Clustal W 方法进行序列比对，建立 ML，发现菌株 DXDS002 的 ITS 序列与 *F. oxysporum* CBS 140424、*F. oxysporum* CBS 129.24 处于同一分支，bootstrap 支持率为 100%(图 5b)，结合形态学特征进一步将 DXDS002 鉴定为尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*。



a: 基于ITS和*tef-1α*基因结合建立*F. acuminatum*的系统发育树, 参考菌株序列号从左至右依次为ITS、*tef-1α*; b: 基于ITS序列建立*F. oxysporum*的系统发育树

a: Phylogenetic tree of *F. acuminatum* based on the analysis of combined ITS and *tef*-1α gene sequences, GenBank accession numbers of the reference strains were ITS and *tef-1α gene*; b: Phylogenetic tree of *F. oxysporum* based on the analysis of ITS sequences

图 5　病原菌系统发育分析

Fig. 5　Phylogenetic analysis of *Fusarium acuminatum* and *F. oxysporum*

2.6　药剂防治结果

2.6.1　室内毒力测定

7 种药剂对 *F. acuminatum* 室内毒力测定结果(表 1～表 2)表明,25 g/L 咯菌腈 FSC、6.25%精甲·咯菌腈 FSC、18%噻灵·咯·精甲 FSC 有较好的抑菌效果,EC_{50}分别为 0.08、0.21、0.99 mg/L;7 种药剂对 *F. oxysporum* 室内毒力测定结果表明,25 g/L咯菌腈 FSC、6.25%精甲·咯菌腈 FSC、18%噻灵·咯·精甲 FSC 有较好的抑菌效果,EC_{50}分别为 0.13、0.27、0.64 mg/L。

表 1　药剂对锐顶镰刀菌的抑制效果

Table 1　Inhibitory effect of fungicides on *Fusarium acuminatum*

药剂 Fungicide	浓度/mg·L^{-1} Concentration	毒力回归方程斜率(b±SE) Slope of the regression equation	EC_{50} (95%置信限)/mg·L^{-1} EC_{50}(95% confidence interval)	*F*
18%噻灵·咯·精甲 FSC thiabendazole·fludioxonil·metalaxyl-M 18% FSC	1.80,1.20,0.90,0.72,0.60	4.06±0.46	0.99 (0.91～1.08)	76.26
6.25%精甲·咯菌腈 FSC metalaxyl-M·fludioxonil 6.25% FSC	0.31,0.25,0.21,0.18,0.16	3.59±0.75	0.21 (0.19～0.24)	22.82
25 g/L 咯菌腈 FSC fludioxonil 25 g/L FSC	0.13,0.10,0.08,0.07,0.06	3.18±0.78	0.08(0.07～0.10)	16.40

续表 1 Table 1(Continued)

药剂 Fungicide	浓度/mg·L^{-1} Concentration	毒力回归方程斜率(b±SE) Slope of the regression equation	EC_{50} (95%置信限)/mg·L^{-1} EC_{50}(95% confidence interval)	F
70%甲基硫菌灵 WP thiophanate-methyl 70% WP	14.00,7.00,4.67,3.50,2.80	2.17±0.38	5.63(4.62～6.85)	32.39
50%多菌灵 WP carbendazim 50% WP	10.00,5.00,3.34,2.50,2.00	3.41±0.43	4.57(3.94～5.30)	62.02
80%乙蒜素 EC ethylicin 80% EC	400.00,200.00,133.34,100.00,80.00	1.94±0.30	123.92(102.83～149.34)	40.73
60%噁霉灵·乙酸 AS hymexazol·indoleacetic acid 60% AS	6 000,2 000,1 200,857.14,666.67	1.19±0.16	2 267.68 (1 804.20～2 850.22)	56.04

表 2 药剂对尖孢镰刀菌的抑制效果

Table 2 Inhibitory effect of fungicides on *Fusarium oxysporum*

药剂 Fungicide	浓度/mg·L^{-1} Concentration	毒力回归方程斜率(b±SE) Slope of the regression equation	EC_{50} (95%置信限)/mg·L^{-1} EC_{50}(95% confidence interval)	F
18%噻灵·咯·精甲 FSC thiabendazole·fludioxonil·metalaxyl-M 18% FSC	0.90,0.72,0.60,0.51,0.45	5.29±0.74	0.64 (0.59～0.68)	51.21
6.25%精甲·咯菌腈 FSC metalaxyl-M·fludioxonil 6.25% FSC	0.63,0.42,0.31,0.25,0.21	2.03±0.29	0.27 (0.24～0.31)	48.36
25 g/L 咯菌腈 FSC fludioxonil 25 g/L FSC	0.25,0.17,0.13,0.10,0.08	2.82±0.50	0.13 (0.12～0.15)	31.28
70%甲基硫菌灵 WP thiophanate-methyl 70% WP	3.50,2.80,2.33,2.00,1.75	5.02±0.64	2.47 (2.32～2.63)	61.77
50%多菌灵 WP carbendazim 50% WP	5.00,3.34,2.50,2.00,1.67	2.02±0.53	2.23 (1.79～2.79)	14.45
80%乙蒜素 EC ethylicin 80% EC	66.66,50.00,40.00,33.34,28.57	2.36±0.43	42.38 (38.10～47.13)	30.45
60%噁霉灵·乙酸 AS hymexazol·indoleacetic acid 60% AS	6 000,2 000,1 200,857.14,666.67	1.45±0.36	3 341.76 (1 965.72～5 681.05)	16.66

2.6.2 田间药效防治试验

通过室内毒力测定选择 EC_{50} 较低的 18%噻灵·咯·精甲 FSC 和 70%甲基硫菌灵 WP,进行党参根腐病田间防效试验。小区试验表明,在供试的 2 种药剂中,18%噻灵·咯·精甲 FSC 防治效果最好,200 倍液、300 倍液、600 倍液防效均在 60%以上。70%甲基硫菌灵 WP 200 倍液防效为 54.81%,600 倍液防效仅为 15.70%(表 3)。

表 3 2 种药剂对党参根腐病田间防治效果[1)]

Table 3 Field control efficacy of fungicides on root rot of *Codonopsis pilosula*

药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio	病情指数 Disease index	防效/% Control efficacy
18%噻灵·咯·精甲 FSC thiabendazole·fludioxonil·metalaxyl-M 18% FSC	200	9.76	81.78 a
	300	15.95	70.22 ab
	600	19.27	64.03 bc
70%甲基硫菌灵 WP thiophanate-methyl 70% WP	200	24.21	54.81 c
	300	30.33	43.38 d
	600	45.16	15.70 e
CK	—	53.57	—

1) 表中同列数字后不同字母表示差异显著($P \leqslant 0.05$)。
The different letters in the same column indicate a significant difference ($P \leqslant 0.05$).

3　结论与讨论

本研究表明,党参根腐病根据症状表现划分为“急性型”、“慢性型”两种,二者的主要区别在于地上茎叶和根内维管束变化不同,致病菌也不同。致病性测定试验表明,引起急性青枯型根腐病的病原菌为 *F. oxysporum*,慢性黄腐型根腐病的病原菌为 *F. acuminatum*。该结论与王艳等[3]关于党参根腐病病原鉴定有差异。党参根腐病的病原复杂,王艳等[3]初步确定有 *F. oxysporum*,并推测多种镰刀菌均可侵染。本研究除 *F. oxysporum* 以外,还获得 *F. acuminatum*,这是 *F. acuminatum* 侵染党参的首次报道。

以往报道根腐病发病率在 15%～25%之间,“慢性型”根腐病发病较为普遍,“急性型”偶尔出现,一般 6 月中下旬出现病株,8 月为发病高峰期[3]。然而近年来“急性型”根腐病发病与流行时间明显提前至 5 月份,6 月份达到发病高峰,发病率可达到 70%,可能是由于多年重茬栽植导致“急性型”病原积累,加上气候条件影响,导致“急性型”根腐病发病率高于“慢性型”。

化学农药以其简便的使用方法和良好的短期效应优势一直是我国中药材病害防治中最常用的方法。目前,对于党参根腐病的防治,报道较多的农药有多菌灵、乙酸铜,一般整地时拌土,或栽培时用甲基硫菌灵、多菌灵浸种[3-4];发病初期用生石灰或五氯硝基苯消毒病穴[4-5],配合多菌灵、甲基硫菌灵、退菌特[4]、恶霉·甲霜灵[6]、多抗霉素等灌根。本研究选用 7 种农药,包括生产上常用农药甲基硫菌灵和多菌灵,复配农药噁霉灵·乙酸,种子处理剂咯菌腈、精甲·咯菌腈和噻灵·咯·精甲,植物源仿生杀菌剂乙蒜素,室内毒力测定表明,3 种种子处理剂效果最好。选用杀菌谱广且毒性小的噻灵·咯·精甲进行大田试验,3 种供试浓度下防效均达到 60%以上,好于生产上使用的甲基硫菌灵。噻灵·咯·精甲为噻菌灵、咯菌腈和精甲霜灵的复配制剂,对人、畜等无致畸、致癌、致突变等慢性毒性问题,可作为多菌灵、甲基硫菌灵的替代农药。

本研究在蘸根和土壤消毒处理的基础上,发明“喷沟”预防技术(即开好沟摆放党参苗后采用喷雾器装药均匀喷雾栽植沟和党参苗),解决了以往蘸根影响出苗、灌根操作难度大、叶面喷雾防效差的问题,明显提高了防治效果。除了药剂防治外,同时建议通过轮作倒茬等农业防治方法进行综合防治党参根腐病。

参考文献

[1] 李成义,刘书斌,李硕,等. 甘肃党参栽培现状调查分析[J]. 中国现代中药, 2016, 18(1):102-105.

[2] 赵纯森,李德望,卫扬斗,等. 党参根腐病病株上分离的几种病原真菌的致病性及其生物学特性—党参根腐病研究续报 I [J]. 湖北农业科学,1989,30(6):23-25.

[3] 王艳,陈秀蓉,王引权,等. 甘肃省党参病害种类调查及病原鉴定[J]. 山西农业科学,2011,39(8):866-868.

[4] 张承志. 党参根腐病及其防治[J]. 基层中药杂志, 1993, 7(4): 33.

[5] 龙合正,安勇. 浅析威宁县党参根腐病的发生及防治[J]. 山西农经, 2018(9):78.

[6] 郭兴位. 保山市龙陵县镇安镇纹党参熟地丰产栽培技术探究[J]. 农家参谋, 2018(9):58.

[7] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998.

[8] O'DONNELL K, KISTLER H C, CIGELNIK E, et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(5), 2044-2049.

[9] 申永铭,李海源,陈爱昌,等. 甘肃定西地区甘蓝枯萎病病原菌的分离鉴定[J]. 植物保护,2017, 43(4):180-184.

[10] BOOTH C. The genus *Fusarium* [M]. Kew Surry England: CMI, 1971:1-237.

(责任编辑: 杨明丽)