

桑黑枯型疫病防治药剂的筛选

孙景汉¹, 蔡国祥^{2*} (1.江苏省铜山县林业局, 江苏铜山 221116; 2.盐城生物工程高等学校, 江苏盐城 224051)

摘要 [目的] 筛选出抑制桑黑枯型疫病的理想药剂。[方法] 以常规药剂 100 mg/kg 链霉素作对照, 通过室内试验和大田小区防治试验测定不同浓度药剂的抑菌效果。[结果] 室内试验结果表明, 各种药剂对桑黑枯型疫病均有一定的抑制作用, 但以盐酸环丙沙星最为经济有效, 其次是盐酸恩诺沙星、诺氟沙星、链霉素和头孢塞喹。室外药剂防治效果与室内试验结果基本一致, 其中链霉素和诺氟沙星的防治效果接近。使用药剂的经济有效浓度为 100 mg/kg, 最低有效浓度为 12.5 mg/kg, 药剂间复配未见有增效作用。[结论] 盐酸环丙沙星是对桑黑枯型疫病有较好抑制作用的经济有效的抗菌素。

关键词 桑树; 黑枯型疫病; 抗菌素; 防治

中图分类号 S481.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)11-04559-02

Screening Experiment of Antibiotics on Controlling Mulberry Black-blight

SUN Jing-han et al (Tongshan Forest Bureau, Jiangsu Province, Tongshan, Jiangsu 224051)

Abstract [Objective] The objective of the study was to screen the ideal antibiotics for controlling mulberry black-blight. [Method] With a common antibiotic, 100 mg/kg Streptomycin, as CK, the inhibitory effects of several antibiotics with different concn. were determined in room experiment and field control test. [Result] The result of room experiment showed that all the tested antibiotics had somewhat inhibitory effects on the mulberry black-blight, in which, the antibiotic with most economic and effect was Ciprofloxacin hydrochloride, followed by Enrofloxacin hydrochloride, Norflorxacin, Streptomycin and Ceftiofur hydrochloride. The result of field control test was similar to that of room experiment, in which, the control effect of Norflorxacin was close to that of Streptomycin. In practical application, the optimal concn. and the lowest effective concn. of the antibiotics were at 100 mg/kg and 12.5 mg/kg, resp. None synergism effects were found in any combinations between antibiotics. [Conclusion] Ciprofloxacin hydrochloride had better inhibitory effects on the mulberry black-blight, which was the economically effective antibiotic on this disease.

Key words Mulberry; Black-blight; Antibiotic; Control

防治桑黑枯型疫病的传统方法是以化学防治为主, 其他农业防治方法为辅^[1-2]。20 多年来, 随着环境条件的变化, 病原菌的抗药性已发生改变^[3-4], 原有的防治药剂已无法有效控制该病的危害和蔓延。2006 年夏秋季节, 该病在江苏省盐城市的蚕桑重点乡镇富安及特庸暴发为害, 给当地蚕农造成严重的经济损失。因此, 筛选出低防治成本、高抑菌效价的药剂, 对于遏制桑黑枯型疫病的危害、促进蚕桑生产具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料 盐酸恩诺沙星, 兽用, 浙江朗博药业有限公司生产; 盐酸环丙沙星, 医用, 广州白云山制药总厂生产; 诺氟沙星, 医用, 成都锦华药业有限公司生产。以上药剂均为市售。磺胺-6-甲氧、链霉素、头孢塞喹、盐酸土霉素、氟苯尼考、唑乙醇, 均为江苏省盐城市兽医站提供的临床兽医用药。

在江苏省盐城市射阳县特庸乡红旗村 8 组的桑黑枯型疫病严重发病田块采集症状典型的病叶作样品, 带回实验室进行病原的分离培养。选择远离发病区的桑树作为证明病原致病性的人工接种材料。细菌培养基参照文献[1]的方法制备, 取 6.8 kg 细菌培养基, 30 min 湿热高压灭菌后, 分装在二重皿中待用。

1.2 方法

1.2.1 病原的分离。取感病症状典型的叶片, 用刀片切取病组织 1~2 mm² 若干块, 用无菌水清洗表面后, 在 70% 酒精中浸湿 2~3 min, 投入 0.1% 升汞水中浸泡 2 min, 再投入无菌水中浸泡 1 min, 滤去药液, 放入无菌水中浸泡 5 min, 让病

原细菌充分溢出, 用接种环蘸取带菌混浊液在平板培养基上采用划线法接种, 28 ℃ 恒温箱中培养, 取典型菌落进一步划线分离培养。

1.2.2 病原的人工接种。取无病桑树, 用大头针划破顶梢嫩茎和叶片, 用一次性消毒棉球蘸取典型菌落, 在伤口上涂抹, 套上塑料袋保湿 16 h。

1.2.3 抑菌试验。取各种供试药剂, 分别配制成 10.00%、1.00%、0.10%、0.01% 的溶液, 用打孔机打制直径 0.5 cm 的纸碟若干, 分别在不同种类、不同浓度的药液中浸泡数分钟, 然后取出放在灭菌滤纸上, 吸去多余的药液, 再放在鉴定的平板上, 纸碟放完后, 倒转培养皿, 放入 28 ℃ 的恒温箱中培养 24 h, 用直尺量取抑菌圈直径大小, 以估算抑菌效价。分别设常规药剂链霉素对照及空白对照。

1.2.4 药剂防治小区试验。选室内试验效果较好的药剂, 配成 100 mg/kg 浓度, 摘除病叶后喷施, 以喷湿为度, 每处理重复 5 次, 设空白对照及链霉素常规对照。病叶分级标准及病情指数计算方法参照参考文献[2]。调查数据中有关百分数资料, 均经过反正弦转换后进行统计分析。

1.2.5 最低有效浓度测定。以常规药剂 100 mg/kg 链霉素作对照, 2 次重复, 测定不同浓度抗菌素的抑菌效价。参照文献[5]并结合试验目的, 以高于常规药剂抑菌效价者为有效处理。

2 结果与分析

2.1 病原的分离 经过分离培养, 共获得 12 个纯种菌株, 菌落外观形态均为圆形、乳白至淡黄色、半透明、中间凸起、边缘较整齐、表面湿润、有荧光。革兰氏染色反应为阴性。油镜下观察, 菌体为短杆状, 具 1~10 根单极生鞭毛, 无芽孢, 无荚膜。与文献[6]描述的桑黑枯型疫病病原[Pseudomonas mori (Boyer et Lamb) Stevens]生物学特性一致。

作者简介 孙景汉(1963-), 男, 江苏铜山人, 农艺师, 从事蚕桑技术推广工作。* 通讯作者, 副教授, E-mail: cgx64@sina.com.cn。

鸣谢 江苏省盐城市畜牧兽医站陈志凌研究员对该试验给予了悉心指导, 谨此致谢。

收稿日期 2007-02-18

2.2 病原的人工接种 将分离得到的 12 个菌株分别人工接种到无病桑树上,保湿 16 h 后,逐日观察发病情况,只有

5 号和 9 号菌株接种后表现典型症状(表 1)。

2.3 抑菌效果 取有致病能力的 5 号和 9 号菌株进一步

表 1 人工接种后不同时间的症状观察
Table 1 Symptom observation at different time after artificial inoculation

菌株编号 Strain No.	接种后时间 Time after inoculation//h					评价 Evaluation
	16	40	64	88	112	
5、9 号 No. 5 and 9	淡黄色小点 Light yellow spot	变色点增多 Color changing spot increased	黄褐色多角型病斑 Yellow brown polygonal diseased spots	病斑连片,叶穿孔 Continuous diseased spots, leaf perforation	叶片腐烂 Rotted leaf	症状典型 Typical symptom
其他 Others	淡黄色小点 Light yellow spot	嫩梢上见变色小点 Color changing spot in young shoot	顶芽轻微畸形 Light deformity in apical bud	几乎正常 Almost normal	正常,仅划伤处有变色斑点 Normal, color changing spot only in scratch	症状不典型 Not typical symptom

注:人工接种时间为 2006 年 9 月上旬,旬平均气温约为 26 ℃。

Note: The date of artificial inoculation is early September, 2006. Ten-day average temperature is about 26℃.

用平板培养基扩大培养,将制作好的不同浓度的各种供试药剂抑菌纸碟放在培养基上,28 ℃恒温箱中培养 24 h 后,调查抑菌圈直径大小,结果见表 2。由表 2 可见,各种浓度的供试药剂均有一定的抑菌作用,总体趋势是药剂浓度愈高,抑菌圈直径愈大,抑菌作用愈强。以浓度 0.01% 药剂的抑菌效果比较经济。不同种类药剂的抑菌效果依次为盐酸恩诺沙星>盐酸环丙沙星>诺氟沙星>链霉素>唑乙醇>磺胺-6-甲氧>头孢塞呋。现行防治方法中使用的药剂,如盐酸土霉素的抑菌效价太低,不足盐酸恩诺沙星的 40%,而链霉素的抑菌效价可达到盐酸恩诺沙星的 70%,还具有一定的抑菌作用。盐酸环丙沙星的抑菌效价接近盐酸恩诺沙星,市场价格也相差无几。但盐酸恩诺沙星因副作用较强,在畜牧及水产上已属限制使用的抗菌素,故从安全有效的角度出发,应首选盐酸环丙沙星,其次为盐酸恩诺沙星,再次为诺氟沙星和链霉素。

2.4 药剂防治试验 为了解药剂的大田防治效果,笔者进行了小区防治试验,结果见表 3。从表 3 可以看出,室外药剂防治效果与室内试验结果基本一致。防治效果依次为盐酸恩诺沙星>盐酸环丙沙星>诺氟沙星>链霉素,其中链霉素和诺氟沙星的防治效果接近。从桑树生长情况看,没有药害的发生;从叶片喂蚕情况看,均没有发现蚕中毒现象。

表 2 桑黑枯型疫病病原的药敏试验结果
Table 2 Drug sensitive test result of pathogeny of mulberry black-blight disease

药剂 Medicament name	浓度 Concentration//%			
	10.00	1.00	0.10	0.01
磺胺-6-甲氧 Sulfamonomethoxine	1.75	1.60	1.30	1.10
头孢塞呋 Cefotiofur	1.45	1.30	1.30	0.95
盐酸土霉素 Oxytetracycline Hydrochloride	1.40	1.25	1.10	0.70
氟苯尼考 Flofenicol	2.25*	1.30	1.10	0.90
唑乙醇 Olaquinox	2.25*	1.75	1.60	1.15
盐酸恩诺沙星 Enrofloxacin hydrochloride	2.80**	2.80**	1.90*	1.75*
盐酸环丙沙星 Ciprofloxacin hydrochloride	2.75**	2.20**	2.00*	1.70*
诺氟沙星 Norfloxacin	2.60*	2.35*	1.75*	1.50
链霉素(常规对照) Streptomycin (routine control group)	1.70	1.35	1.30	1.25
空白对照 Blank control	0	0	0	0

注:表中数据为抑菌圈直径大小,单位为 cm。试验统计方法为 t 测验,下表同。**表示与常规对照区差异极显著,*表示与常规对照区差异显著。

Note: Data in the table were the diameter of bacteriostatic ring with cm being its unit. Test statistical method was t-test. The same as follows. ** means extreme significant differences compared with routine control group; * means significant differences compared with routine control group.

表 3 小区药剂防治试验结果
Table 3 Result of medicament control plot experiment

药剂名称 Medicament name	浓度 Concentration//mg/kg	叶片被害率 Damage rate of leaves//%	病情指数 Disease index	桑树生长情况 Growth status of mulberry	桑叶喂蚕情况 Status of silkworm fed by mulberry leaves
盐酸恩诺沙星 Enrofloxacin hydrochloride	100	2.37**	1.44**	正常,无药害发生 Normal, no occurrence of medicine injury	正常,无中毒情况发生 Normal, no occurrence of poisoning
盐酸环丙沙星 Ciprofloxacin hydrochloride	100	3.02**	1.55**	正常,无药害发生 Normal, no occurrence of medicine injury	正常,无中毒情况发生 Normal, no occurrence of poisoning
诺氟沙星 Norfloxacin	100	3.87*	1.98*	正常,无药害发生 Normal, no occurrence of medicine injury	正常,无中毒情况发生 Normal, no occurrence of poisoning
链霉素 Streptomycin	200	4.01*	2.03*	正常,无药害发生 Normal, no occurrence of medicine injury	正常,无中毒情况发生 Normal, no occurrence of poisoning
空白对照 Blank control		12.45	5.22	正常 Normal	正常 Normal

注:**为与空白对照区差异极显著,*为与空白对照区差异显著。

Note: ** means extreme significant differences compared with blank control; * means significant differences compared with blank control.

表 4 高效价抗菌素最低有效抑菌浓度及复配效果测定中抑菌圈直径比较
Table 4 Comparison of minimum inhibition concentration of high-titer bacteriophage and bacteriostatic ring diameter in synergistic effects detection

药剂名称 Medicament name	药剂浓度 Medicament concentration//mg/kg					
	100	50	25	12.5	6.25	3.125
盐酸恩诺沙星 Enrofloxacin hydrochloride	2.60	2.30	2.20	1.60	1.20	1.10
盐酸环丙沙星 Ciprofloxacin hydrochloride	2.00	1.80	1.80	1.60	1.20	1.10
盐酸环丙沙星与恩诺沙星 1:1 复配 Mixed enrofloxacin hydrochloride and ciprofloxacin hydrochloride (1:1)	2.00	1.80	1.80	1.70	1.10	1.00
链霉素对照 Streptomycin control	1.40					

表 2 用多元线性回归方程预报 D10 后期水稻纹枯病发生程度
Table 2 Prediction of rice sheath blight of later period D10 with the multi-dimensional liner regression equation

年份 Year a	9 月上旬 D10 平均病指真实值 Actual value of average disease index of D10 in early September	9 月上旬 D10 平均病指预测值 Predictive value of average disease index of D10 in early September	残差 e_i Residual error e_i	标准残差 e_i Standard residual error e_i
2000	1.18	1.064 1	0.115 9	0.207 6
2001	8.86	9.599 8	-0.739 8	-1.325 1
2002	5.59	5.513 7	0.076 3	0.136 7
2003	17.20	17.559 7	-0.359 7	-0.644 2
2004	14.21	14.041 9	0.168 1	0.301 1
2005	16.32	16.173 7	0.146 3	0.262 0
2006	8.50	8.125 5	0.374 5	0.670 8
2007	23.40	23.177 9	0.222 1	0.397 8

表 3 顺序残差 \hat{e}_i 与 u_i 的相关性分析
Table 3 Correlation analysis of smooth residual \hat{e}_i and u_i

年份 Year // a	顺序残差 \hat{e}_i Smooth residual	u_i	$\Phi(u_i)$
2000	-0.739 8	-1.44	0.075 758
2001	-0.359 7	-0.85	0.196 970
2002	0.076 3	-0.47	0.318 182
2003	0.115 9	-0.15	0.439 394
2004	0.146 3	0.15	0.560 606
2005	0.168 1	0.47	0.681 818
2006	0.222 1	0.85	0.803 030
2007	0.374 5	1.44	0.924 242

发生在冠层内,有利于发病。因此认为,水稻纹枯病属喜高温高湿的气候性病害,田间郁蔽对发病有利。通过栽培措施降低水层,调节作物水肥养分,构建培育合理群体结构(通风透光、田间湿度低),从而缓解个体发育与群体发育、稻田生理生态需水与节水控湿抑病的矛盾,可以使水稻前期早生快发,中期封行迟,后期茎秆健壮,下部老叶迟衰,抗逆力强,实现抑病优质高产的目标。普及三两栽培法(双株寄插移栽宽行窄窝),高中肥田实行宽窄行(双株寄插移栽大小行窄窝),冬水田推行垄畦栽培,合理密植。施足基肥,早施追肥,氮磷钾结合,增施硅肥,防止过施偏施氮肥。浅水分蘖,苗足露田,晒田促根,旺田、肥田、泥田、冷水田重晒,瘦田、沙田轻晒,浅水养胎,湿润长穗,适时断水,防止早衰,杜绝深水灌溉,串灌。然而水稻是需水作物,浅水降低发病部位抑病是有限度的,所以培育健壮合理群体降湿抑病尤为重要。

虽然水稻纹枯病是同质性病害,各时期感染危害的器官(叶和叶鞘等)相同,各时期发病都影响产量,但是后期水稻纹枯病发生程度代表最终发生程度,具有累加效应,能反

(上接第 4560 页)

2.5 高抑菌效价抗菌素的最低有效浓度及药剂复配后的抑菌效价 不同浓度高效价抗菌素有效浓度及复配测试结果见表 4。参考有关资料^[9]并结合试验目的,确定盐酸环丙沙星和盐酸恩诺沙星的最低有效抑菌浓度均为 12.5 mg/kg,将两者复配使用,在该试验范围内,未见有明显的增效作用。

3 小结与讨论

各种药剂对桑黑枯型疫病均有一定的抑制作用,但以盐酸恩诺沙星抑菌效果最好,其次是盐酸环丙沙星,再次是链霉素与诺氟沙星。从药剂使用浓度来看,以 100 mg/kg 最为经济。药剂间复配未见有增效作用。关于桑树能够承受的

应减产幅度。因此,后期水稻纹枯病发生程度可以代表水稻纹枯病发生程度。陕南水稻纹枯病主要发生在大田,晚熟 D10 水稻纹枯病划分为前中后 3 个时期,即返青期至拔节期(6 月中旬~7 月中旬)的丛株间平面扩展期,孕穗期至齐穗期(7 月中旬~8 月中旬)的株间立体扩展期,灌浆期至蜡熟期(8 月中旬~9 月上旬)的病情稳定危害期。影响后期水稻纹枯病发生程度的因素是孕穗期至齐穗期(7 月中旬~8 月中旬)的株间立体扩展期气候条件,此时根系庞大需氧量多,大量养分转移至穗部,集中于生殖生长,稻株抗病力锐减,为易感病期,也是群体最大化时期。田间密闭,加之稻田水层较深,若遇高温多雨,则发病部位及田间湿度进一步加大,极有利于后期水稻纹枯病发生,减产幅度就大。因此,在健身栽培的基础上必须搞好药剂预防,作到前期预测挑治,中期普防 1~2 次,这样才能减轻中后期危害损失。

研究表明,菌源与不同年份晚熟 D10 水稻纹枯病发生程度关系不明显,菌源是不同稻田发病轻重的决定因素之一。品种不同,生育期不一样,发病期、发病特点及影响发病的气象因子也就不一致。不同时期的气象因子对同一品种发病所起的作用大小有异。分类法指依据品种、发病期及气象因子等分类预测的方法,因此,分类法预测具有针对性、准确性的特点。该文选主栽晚熟 D10 作为代表构建方程进行预测,预测准确,预测结果可作为晚熟水稻纹枯病发生程度的重要参考依据。在实际运用中,将水稻分为早中晚 3 类,每类选 1 个主栽品种作为代表构建方程进行预测,预测结果可作为各类水稻纹枯病发生程度的重要参考依据。

参考文献

- [1] 浙江农业大学.农业植物病理学(上)[M].上海:上海科学技术出版社,1979:8-9.
- [2] 农业部农作物病虫害测报总站.农作物主要病虫害测报办法[M].北京:农业出版社,1981:1-10.
- [3] 蔡祝南,吴蔚文,高君川.水稻病虫害防治[M].北京:金盾出版社,1992:1-15.
- [4] 陈树仁.水稻病虫害草害防治图册[M].安徽:安徽科学技术出版社,1995:1-7.
- [5] 洪剑鸣,童贤明.中国水稻病害及其防治[M].上海:上海科学技术出版社,2006:62-71.
- [6] 陈运康.水稻纹枯病药剂防治技术改进研究[J].植保技术与推广,2001,21(4):11-12.
- [7] 任春梅,高必达.水稻抗纹枯病研究进展[J].植物保护,2001,27(4):32-36.
- [8] 李汉一.利用菌源消长系数和齐穗前后气候的关系预测稻曲病[J].陕西农业科学,2007(5):7-8,16.

最高浓度及对家蚕的安全性有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 苏州蚕桑专科学校.桑树病虫害防治学[M].北京:农业出版社,1984:186-187.
- [2] 田立道,李雪明.对桑种质资源进行抗桑疫病鉴定的研究[J].蚕业科学,1996,22(4):205-207.
- [3] 毛建萍,堵鹤鸣,浦冠勤,等.桑断柄型细菌性疫病的研究[J].蚕业科学,1999,25(4):203-207.
- [4] 王文兵,蒯元璋,许志刚.桑树上新发生的细菌性枝枯病原的研究[J].蚕业科学,1995,21(2):73-77.
- [5] 陈民均.美国临床实验室标准化研究所 2005 版有关药敏试验标准化更新要点[J].中华检验医学杂志,2005,28(4):449-451.
- [6] 浙江嘉兴农业学校.桑树病虫害防治学[M].北京:农业出版社,1996:231-232.