

天水地区苹果腐烂病病菌对3种杀菌剂的敏感性测定

惠娜娜^{1,2}, 李继平^{1,2}, 张大为^{1,2}, 郭建明³, 王立^{1,2}, 郑果^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 农业部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘肃 甘谷 741200; 3. 天水市果树研究所, 甘肃 天水 741002)

摘要: 采用菌丝生长速率法测定了采自天水地区的8个苹果腐烂病菌株对杀菌剂戊唑醇、噻霉酮及吡唑醚菌酯的敏感性。结果表明: 戊唑醇对供试8株苹果腐烂病菌菌丝生长的抑制效果最为明显, EC_{50} 值均小于1.0 $\mu\text{g/mL}$, 平均为0.03 917 $\mu\text{g/mL}$; 其次为吡唑醚菌酯, EC_{50} 值为0.362 9~1.0262 6 $\mu\text{g/mL}$, 平均为0.609 4 $\mu\text{g/mL}$; 噻霉酮的抑制率较低, EC_{50} 值平均为20.226 39 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词: 苹果; 苹果腐烂病病菌; 杀菌剂; 敏感性; 天水地区

中图分类号: S436.611.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)12-0064-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.12.019

甘肃是我国的苹果优势产区 and 生产大省, 具有发展苹果产业得天独厚的自然条件。全省有18个县被农业部列为全国苹果生产优势区域, 其中天水地区气候温暖, 雨量适中, 土层深厚, 适宜多种果树生长, 是甘肃省优质果品产区, 是驰名中外的花牛苹果的故乡^[1]。由苹果黑腐皮壳菌(*Valsa mali Miyabe Yamada*)侵染所致的苹果腐烂病是苹果的毁灭性病害, 被称为苹果树“癌症”, 各苹果产区均有发生。随着栽培面积的不断扩大和树龄增加, 苹果树腐烂病发生日趋严重。该病过去通常在老果园普遍发生严重, 近年来一些幼树、甚至苗木也出现了腐烂病, 常常造成死枝、死树甚至毁园, 给苹果生产造成巨大损失, 严重影响我国苹果产业的持续增长^[2]。生产上对该病害的防治主要依赖化学药剂, 常用的药剂有福美肼、腐必清等。前期调查发现, 市场上防治腐烂病的

药剂种类繁多, 鱼目混杂。我们选用新型高效低毒药剂戊唑醇、噻霉酮、吡唑醚菌酯进行室内毒力测定, 以期为天水地区苹果腐烂病防治提供支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

从甘肃省天水市果树研究所果园采集病样, 采用组织分离法^[3], 从病果果皮部病健交界处切下3 mm × 3 mm × 1 mm的小块, 放入3%次氯酸钠溶液中消毒30 s, 然后用70%酒精消毒30 s, 无菌水清洗3遍后置无菌滤纸上自然晾干, 接种于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基上。在25℃条件下培养5 d后挑取菌落边缘的菌丝进行初步纯化, 按照柯赫氏法则进行验证。将纯化后的菌株接种在PDA试管斜面中, 于4℃冰箱中保存备用。菌株编号等见表1。

收稿日期: 2018-08-22

基金项目: 甘肃省农业科学院科研条件建设及成果转化(院地科技合作)“甘肃苹果枝干性病害综合防控技术研究”(2016GAAS18); 甘肃省农业科学院科研条件建设及成果转化(科技支撑计划)“甘肃苹果园刺吸式害虫(螨)农药减量化绿色防控技术研究”(2016GAAS07); 甘肃省苹果产业科技攻关项目“苹果病虫害生物物理防控与质量追溯体系建设研究”(GPCK2013-5)。

作者简介: 惠娜娜(1981—), 女, 陕西富平人, 副研究员, 研究方向为植物病害及其综合防治。Email: huinana@gsagr.ac.cn。

通信作者: 李继平(1966—), 男, 甘肃静宁人, 研究员, 博士, 研究方向为植物病害及其综合防治。Email: gsljip@163.com。

参考文献:

- [1] 张喜平, 张耀辉, 宋建荣, 等. 甘谷县全膜覆土穴播小麦氮磷钾施肥模型研究[J]. 甘肃农业科技, 2015(2): 21-24.
- [2] 刘愈之. 小麦品种平凉44号密度与肥效试验[J]. 甘肃农业科技, 2015(2): 9-12.
- [3] 上官周平. 氮素营养对旱作小麦光合特性的调控[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(2): 9-12.
- [4] 李春俭. 土壤与植物营养研究进展[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001.
- [5] 山伦, 邓西平, 苏佩, 等. 挖掘作物抗旱节水潜力[J]. 中国农业科技导报, 2000, 2(2): 66-70.

(本文责编: 陈珩)

表 1 供试菌株

| 菌株编号 | 寄主品种 | 分离时间 |
|-----------|------|------------|
| FL-19 | 富士 | 2018 年 4 月 |
| FL-15 | 元帅 | 2018 年 4 月 |
| FL-16 | 元帅 | 2018 年 4 月 |
| PGFL-3 | 花牛 | 2017 年 4 月 |
| TSFL-9 | 花牛 | 2017 年 4 月 |
| PGFL-1 | 富士 | 2018 年 4 月 |
| PGFL-2 | 富士 | 2018 年 4 月 |
| FL(ZG)-17 | 元帅 | 2018 年 4 月 |

供试药剂: 98%戊唑醇原药, 青岛瀚生生物科技股份有限公司生产; 97.5%吡唑醚菌酯原药, 青岛瀚生生物科技股份有限公司生产; 95%噻霉酮原药, 江苏辉丰农化股份有限公司生产。

1.2 室内毒力测定方法

1.2.1 药液配制 将戊唑醇、吡唑醚菌酯、噻霉酮原药溶于二甲基亚砷中, 配成 10 000 $\mu\text{g/mL}$ 的母液, 于冰箱(4 $^{\circ}\text{C}$)中贮存备用。

1.2.2 含药培养基的配制 在预实验的基础上, 根据培养基的用量, 用移液枪吸取一定量的药剂母液, 将其加入溶化并冷却至 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右的 PDA 培养基中, 充分摇匀后等量倒入直径为 9 cm 的培养皿中, 配制成含系列浓度药剂的培养基。重复 4 次, 以加入等量二甲基亚砷溶液处理为空白对照。

1.2.3 苹果腐烂病病菌对供试药剂的敏感性测定

采用生长速率法。先将苹果腐烂病菌在 PDA 培养基上活化 5 d, 用直径为 4.0 mm 的打孔器从菌落边缘打取菌饼, 分别移接到含有戊唑醇、吡唑醚菌酯、噻霉酮 5 个梯度浓度(吡唑醚菌酯 0.10、0.50、2.50、12.50、62.50 $\mu\text{g/mL}$; 异菌脲 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 $\mu\text{g/mL}$; 戊唑醇 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 $\mu\text{g/mL}$; 噻霉酮 0.80、1.60、3.20、6.40、12.80 $\mu\text{g/mL}$)的 PDA 平板上, 置 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱暗培养。

连续培养 4 d 后, 用游标卡尺测定菌落径向线性生长量, 求平均值, 再减去 4.0 mm 菌饼直径, 即菌落增长直径。测量每次重复的实验结果, 计算每处理对病原菌菌丝增长的抑制率。通过菌丝生长抑制概率值和药剂浓度对数值之间的线性回归分析, 计算各药剂对菌株的有效抑制中浓度(EC_{50})值。

菌丝抑制生长率 = [(对照菌落生长直径 - 处理菌落生长直径) / 对照菌落生长直径] \times 100。

2 结果与分析

3 种杀菌剂对苹果腐烂病病菌菌丝生长的抑制效果见表 2。其中戊唑醇对供试 8 株苹果腐烂病病

表 2 3 种杀菌剂对苹果腐烂病菌的抑制作用

| 药剂名称 | 菌株编号 | 回归方程 | EC_{50} /($\mu\text{g/mL}$) | 相关系数 |
|-------|---------|----------------------------|---|----------|
| 戊唑醇 | PGFL-1 | $y=7.727\ 04+0.771\ 19x$ | 0.000 29 | 0.880 32 |
| | PGFL-2 | $y=6.742\ 61+1.814\ 38x$ | 0.109 54 | 0.990 73 |
| | PGFL-3 | $y=16.680\ 05+0.718\ 6x$ | 0.077 19 | 0.964 95 |
| | TSFL-9 | $y=6.166\ 72+0.533\ 87x$ | 0.006 53 | 0.826 57 |
| | FLZG-15 | $y=16.438\ 95+10.547\ 73x$ | 0.082 32 | 0.955 37 |
| | FLZG-16 | $y=6.481\ 5+0.718\ 6x$ | 0.008 68 | 0.949 28 |
| | FLZG-17 | $y=6.423\ 48+0.445\ 22x$ | 0.000 63 | 0.880 16 |
| | FL-19 | $y=6.561\ 46+1.006\ 98x$ | 0.028 14 | 0.983 9 |
| 噻霉酮 | PGFL-1 | $y=2.415\ 13+2.785\ 23x$ | 8.473 55 | 0.988 86 |
| | PGFL-2 | $y=3.349\ 7+1.544\ 48x$ | 11.708 77 | 0.986 43 |
| | PGFL-3 | $y=2.970\ 68+1.111\ 68x$ | 66.904 12 | 0.996 73 |
| | TSFL-9 | $y=3.144\ 48+1.606\ 48x$ | 14.289 61 | 0.978 2 |
| | FLZG-15 | $y=2.183\ 69+2.610\ 94x$ | 11.985 54 | 0.991 25 |
| | FLZG-16 | $y=3.608\ 22+1.267\ 97x$ | 12.521 21 | 0.919 4 |
| | FLZG-17 | $y=2.912\ 87+2.040\ 95x$ | 10.534 82 | 0.980 35 |
| | FL-19 | $y=2.717\ 82+1.624\ 65x$ | 25.393 51 | 0.988 79 |
| 吡唑醚菌酯 | PGFL-1 | $y=5.364\ 86+2.432\ 07x$ | 0.707 91 | 0.996 85 |
| | PGFL-2 | $y=5.609\ 89+2.391\ 9x$ | 0.555 93 | 0.998 39 |
| | PGFL-3 | $y=5.393\ 41+3.087\ 46x$ | 0.745 72 | 0.998 18 |
| | TSFL-9 | $y=5.722\ 37+2.204\ 57x$ | 0.470 25 | 0.998 12 |
| | FLZG-15 | $y=5.647\ 7+1.431\ 32x$ | 0.362 90 | 0.996 64 |
| | FLZG-16 | $y=4.985\ 1+1.296\ 11x$ | 1.026 26 | 0.978 94 |
| | FLZG-17 | $y=5.687\ 82+1.958\ 71x$ | 0.445 49 | 0.993 78 |
| | FL-19 | $y=5.587\ 53+2.343\ 67x$ | 0.561 45 | 0.999 95 |

表 3 3 种杀菌剂对苹果腐烂病菌的 EC_{50} 值

| 菌株 | 寄主品种 | 戊唑醇 | 噻霉酮 | 吡唑醚菌酯 |
|---------|------|----------|-----------|----------|
| PGFL-1 | 富士 | 0.000 29 | 8.473 55 | 0.707 91 |
| PGFL-2 | 富士 | 0.109 54 | 11.708 77 | 0.555 93 |
| PGFL-3 | 花牛 | 0.077 19 | 66.904 12 | 0.745 72 |
| TSFL-9 | 花牛 | 0.006 53 | 14.289 61 | 0.470 25 |
| FLZG-15 | 元帅 | 0.082 32 | 11.985 54 | 0.362 90 |
| FLZG-16 | 元帅 | 0.008 68 | 12.521 21 | 1.026 26 |
| FLZG-17 | 元帅 | 0.000 63 | 10.534 82 | 0.445 49 |
| FL-19 | 富士 | 0.028 14 | 25.393 51 | 0.561 45 |
| 平均 | | 0.039 17 | 20.226 39 | 0.609 40 |

菌的菌丝生长抑制作用最好, EC_{50} 值为 0.000 29 ~ 0.109 54 $\mu\text{g/mL}$, 均低于 1.00 $\mu\text{g/mL}$, 相关系数均在 0.8 以上。不同菌株间的敏感性差异显著, 戊唑醇对菌株 PGFL-1 抑制活性最高, EC_{50} 值为 0.000 29 $\mu\text{g/mL}$; 对菌株 PGFL-2 抑制活性最低, EC_{50} 值为 0.109 54 $\mu\text{g/mL}$, 两者之间相差 377 倍。其次为吡唑醚菌酯, 其对供试苹果腐烂病菌菌丝的生长抑制作用显著, 其 EC_{50} 值为 0.362 90 ~ 1.026 26 $\mu\text{g/mL}$, 相关系数均在 0.97 以上, 不同菌株间的敏感性差异较小, 表现相对稳定。噻霉酮对苹果腐烂病菌的菌丝生长有一定的抑制作用, EC_{50} 为 8.473 55 ~ 66.904 12 $\mu\text{g/mL}$, 相关系数在 0.91 以上, 不同菌株间的敏感性差异明显。噻霉酮对菌株 PGFL-1 的抑制活性较好, EC_{50} 值为 8.473 55 $\mu\text{g/mL}$; 对菌株 PGFL-3 的抑制活性较差, EC_{50} 值高达 66.904 14 $\mu\text{g/mL}$ 。从表 3 可知, 同一菌株对不同杀菌剂的敏感性均表现出明显差异, 但从总体来看, 3 种杀菌剂的抑制活性由高到低为戊唑醇、吡唑醚菌酯、噻霉酮。

3 小结与讨论

试验结果表明, 戊唑醇对天水地区苹果腐烂病菌的抑制作用最强, 其 EC_{50} 均低于 1.0 $\mu\text{g/mL}$, 平均 EC_{50} 值为 0.039 17 $\mu\text{g/mL}$; 其次为吡唑醚菌酯, 平均 EC_{50} 值为 0.609 40 $\mu\text{g/mL}$; 噻霉酮对苹果腐烂病菌的抑制作用较弱。该结果仅为室内毒力测定的结果, 田间防效有待于验证。

戊唑醇一种三唑类杀菌剂, 具有高效、内吸、广谱等特点, 为目前颇具开发应用潜力的药剂, 对苹果主要病害有较好的防治效果。王磊等^[4]研究表明, 戊唑醇对苹果腐烂病菌菌丝生长抑制作用明显, 优于其他药剂。吡唑醚菌酯是一种新

型、高效、低毒的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 对作物具有保护作用、治疗作用、内吸传导性和耐雨水冲刷性能, 持效期较长, 应用范围较广, 也是防治苹果病害的主要推荐药剂。周建波等^[5]等研究发现, 室内毒力测定吡唑醚菌酯对苹果腐烂病菌生长抑制作用强。噻霉酮属于有机杂环类化合物, 具有高效、广谱、低毒、绿色环保等优良特性, 是防治多种细菌、真菌性病害的杀菌剂。马永强等^[6]研究表明, 戊唑醇、吡唑醚菌酯对苹果腐烂病菌菌丝生长有一定的抑制作用。我们推荐选用戊唑醇、吡唑醚菌酯等药剂对甘肃天水果区的苹果腐烂病进行化学防治, 同时注意药剂的交替和混配使用。

参考文献:

- [1] 马丽荣, 李红霞, 张国和. 天水市苹果出口基地现状及发展对策[J]. 甘肃农业科技, 2015(11): 70-73.
- [2] WANG X, ZANG R, YIN Z, et al. Delimiting cryptic pathogen species causing apple *Valsa* canker with multilocus data[J]. Ecology and Evolution, 2014, 4(8): 1369-1380.
- [3] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [4] 王磊, 郜佐鹏, 黄丽丽, 等. 防治苹果树腐烂病杀菌剂的室内筛选[J]. 植物病理学报, 2009, 39(5): 549-554.
- [5] 周建波, 殷辉, 秦楠, 等. 不同药剂对山西省苹果树腐烂病优势种群的室内毒力及田间防效测定[J]. 山西农业科学, 2015, 43(9): 1169-1171; 1206.
- [6] 马永强, 李继平, 王立, 等. 5 种杀菌剂对苹果树腐烂病菌的抑制作用[J]. 甘肃农业科技, 2012(6): 20-22.

(本文责编: 陈珩)