

楚文琢,彭双强,廖晓兰,等.铜绿假单胞菌 SU8 发酵液与乙蒜素混配对草莓灰霉病的防效[J].江苏农业科学,2017,45(6):79-83.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.019

铜绿假单胞菌 SU8 发酵液与乙蒜素混配 对草莓灰霉病的防效

楚文琢^{1,2}, 彭双强^{1,2}, 廖晓兰^{1,2,3}, 马文月¹

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 湖南长沙 410128; 2. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128;

3. 湖南省生物农药与农药制剂加工工程技术研究中心, 湖南长沙 410128)

摘要:用拮抗细菌铜绿假单胞菌 SU8 的发酵液和乙蒜素乳油进行混配以期达到有效防治草莓灰霉病的目的,分别从 SU8 发酵液与乙蒜素乳油混配的室内毒力、孢子萌发抑制率和盆栽防效试验等 3 个方面进行研究。结果表明, SU8 发酵液对草莓灰霉病菌的最小抑菌浓度(MIC)为 12.50 mg/L, EC_{50} 为 1 696.4 mg/L, 乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌的 MIC 为 6.25 mg/L, EC_{50} 为 143.4 mg/L; 当两者以质量比 1:9 混配时, 增效系数为 1.04, 表现为协同作用, 当两者分别以质量比 1:4、1:1.4、1.9:1 混配时, 增效系数分别达到了 1.53、2.33、5.41、8.41, 均表现出明显的增效作用; 在对病菌孢子萌发抑制方面, 在 12、24、36 h 内, 乙蒜素乳油的抑制率分别为 60.9%、58.4%、47.0%, 低于两者质量比 4:1、9:1 混合组配; 在盆栽试验中, 乙蒜素乳油的防病效果也比两者质量比 4:1、9:1 混合组配低。由结果可知, 与 SU8 发酵液混配, 能极显著增强乙蒜素对草莓灰霉病的防治效果。

关键词: SU8 发酵液; 乙蒜素乳油; 混配; 增效作用; 草莓灰霉病菌; 防治

中图分类号: S436.68⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0079-04

草莓灰霉病(*Botrytis cinerea*)是影响我国草莓生产的一种常见病害,其病原菌属灰葡萄孢菌,为腐生致病菌,可以侵染番茄、茄子、黄瓜、西葫芦、草莓、葡萄、苹果、菜豆等多种作物^[1-3]。该病菌感染植株后,若不能得到有效控制,一般情况下会致使草莓减产 10%~20%,严重时往往导致草莓植株叶片干枯、果实出现斑点或腐烂,甚至整株死亡,减产率高达 70%~80%^[4-5],严重影响草莓的产量与质量,造成重大经济损失。目前,农业生产上对灰霉病的防治主要依赖多菌灵、腐霉利等化学药剂^[6-9]。然而,这些化学药剂在取得较好防治效果的同时,由于灰霉病菌具有寄主范围广、繁殖速度快、遗传变异性大和适应性强的特点,极易产生抗药性,并且在化学药剂的长期使用过程中,其抗药性也不断增强^[10-18],这些特性使得化学药剂对草莓灰霉病的防治效果下降很快^[19-22]。因此,在生产过程中,为了增强对灰霉病的防治效果,往往采用增大剂量或者增加施药次数的措施,这种措施可能会导致草莓本身药剂残留量超标,最终危及人畜健康,影响我国草莓生产与出口,非常不利于我国当前绿色农业和生态农业的发展要求^[23]。尤其是我国加入世界贸易组织(WTO)后,世界对我国农副产品出口提出了更高的要求。因此,我国的草莓种植业迫切需要一些符合我国农业发展的新型途径来有效控制灰霉病的发生与蔓延。

生物防治具有低污染、低残留、低成本的特点,正逐渐成为灰霉病控制中一条重要有效的途径^[24-25]。近几十年来,国内外专家进行了大量研究,筛选出具有抑制灰霉病菌的拮抗细菌,发现当前常见的灰霉病拮抗菌株主要为木霉、酵母菌、芽孢杆菌、铜绿假单胞菌和放线菌等^[26-29]。然而,大量报道也表明,单一的生物防治因菌株具有极大的变异性而导致防治效果不稳定。研究也发现,将拮抗细菌与化学药剂混配对延缓病原菌的抗药性、提高药剂对病原菌的防治效果有一定的作用。例如,周荣金等将不同的拮抗细菌混配能有效提高对灰霉病的防效,对灰霉病的防治具有显著增效作用^[30];张红娟等从核桃上分离得到的 2 株内生菌 HT3 与 HT5 分别与速克灵药剂混配能有效增强对灰霉病菌的抑制作用^[31]。但目前利用拮抗细菌发酵液和植物源杀菌剂混配来防治草莓灰霉病的报道罕见。笔者所在实验室从鸭稻共养田中分离出 1 株对水稻纹枯病菌(*Rhizoctoria solani*)、稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)等多种真菌具有较强拮抗效果的铜绿假单胞菌 SU8,研究发现其发酵液乙酸乙酯提取物也有同样的抑菌效果^[32]。此外,有研究表明,大蒜提取物对草莓灰霉病菌有较好的抑制效果,并且农业生产中以大蒜提取物为原料合成的仿生农药——乙蒜素乳油对包括草莓灰霉病在内的多种病害均具有显著防治效果^[33-34]。基于此,本研究拟用乙蒜素乳油和 SU8 发酵液混配来开展试验,以期拓宽对该病的防治途径,为防治草莓灰霉病提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为由湖南农业大学植物保护学院植物病理学实

收稿日期:2016-08-25

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201303025)。

作者简介:楚文琢(1987—),男,湖南长沙人,硕士研究生,主要从事植物病害防治研究。E-mail:81334212@qq.com。

通信作者:廖晓兰,博士,硕士生导师,主要从事植物病原鉴定和病害防治研究。E-mail:liao Xiaolan88@yahoo.com.cn。

实验室筛选分离的 SU8 拮抗细菌和草莓灰霉病菌。供试药剂为 80% 乙蒜素乳油(北京中农佳瑞有限公司)。试验植株为易感灰霉病品种丰香。

供试培养基:(1) PDA 培养基,200 g 马铃薯、15 g 葡萄糖、17 g 琼脂,pH 值自然;(2) 马铃薯葡萄糖培养液:除不加琼脂外,其余同 PDA 培养基;(3) NA 培养基:10 g 牛肉浸膏、10 g 蛋白胨、5 g 氯化钠、17 g 琼脂,pH 值为 7.0~7.2;(4) NB 培养液:除不加琼脂外,其余同 NA 培养基。上述培养基均加水定容至 1 L,于 1.01×10^6 Pa、121 ℃ 灭菌 20 min,备用。

1.2 试验方法

1.2.1 拮抗菌 SU8 发酵液的制备 将拮抗菌 SU8 在 NA 培养基上活化后,用接种环取 1 环于 10 mL 无菌水中搅拌均匀,做成菌体悬浮液。取 NB 培养液与 10% 上述 SU8 菌体悬浮液于摇瓶中,在磁力搅拌机上,28 ℃、220 r/min 振荡连续培养 120 h,得到 SU8 发酵液。

取适量发酵液,用旋转蒸发器于 100 r/min、60 ℃ 恒温条件下浓缩至原来体积的 1/10。再将 10 倍浓缩液在 4 ℃、10 000 r/min 条件下离心 20 min,取上层液体,得到 SU8 发酵液粗滤液。用细菌过滤器(0.22 μm)逐步过滤除菌后的无菌发酵液,即为 SU8 发酵液(浓度视为 1 g/mL,以下简称 SU8 发酵液),置于 4 ℃,保存备用。

1.2.2 拮抗效果与拮抗活性的测定 (1) SU8 菌对草莓灰霉病菌的拮抗效果。试验采用对峙培养法:在无菌工作台上,用融化的 PDA 培养基制作成直径为 7 cm 的 PDA 平板。用 SU8 菌体悬浮液将灭过菌的滤纸片(直径为 0.5 cm)润湿,置于 PDA 平板的一侧。同时,在 PDA 平板的另一侧对称性地放置 1 个直径为 0.5 cm 的草莓灰霉病菌菌饼,25 ℃ 培养箱中连续培养 72 h。观察草莓灰霉病菌菌落生长情况并测定抑菌带宽度,每个处理 3 次重复。

(2) SU8 发酵液和乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌的拮抗活性测定。取草莓灰霉病菌菌饼(直径为 0.5 cm)接种于 PDA 平板的中央,25 ℃ 下培养 24 h 后在新长出的菌丝两侧对称打孔(直径为 0.5 cm)。挑出孔内基质后,在其中的 1 个孔内加入适量的 SU8 发酵液(浓度为 1 g/mL),在对称的另 1 个孔内加入等量的无菌水作对照。乙蒜素乳油(无菌水稀释 100 倍,浓度视为 1 g/mL,下同)作相同的处理。25 ℃ 培养 72 h 后,观察草莓灰霉病菌菌落生长情况并测定抑菌带宽度,每个处理 3 次重复。

1.2.3 室内毒力测定 (1) 最小抑菌浓度(MIC)测定。参照黄彰新菌丝生长速率法^[35]进行 MIC 测定并稍作修改。其具体操作如下:在无菌工作台上,用无菌水分别将 SU8 发酵液和乙蒜素乳油配制成 1 000.0、750.0、500.0、250.0、125.0、62.5 mg/L 的 6 种不同浓度,4 ℃ 下保存备用。在 9.0 mL 热培养基中,分别加入 1.0 mL 不同浓度的 2 种物质,以加 1 mL 水为对照,摇匀制成平板;接种同时活化的灰霉病菌菌饼(直径 0.5 cm),使带菌丝的一面贴在培养基表面,置于 25 ℃ 的培养箱中恒温培养。待对照菌丝长至培养皿的 2/3 面积时,用十字相乘法测定菌落直径,每个处理 3 次重复。以不长菌处理药剂的最低浓度为最小抑菌浓度。

(2) 菌丝生长抑制率的测定。在最小抑菌浓度的基础上,分别取相应浓度的 SU8 发酵液与乙蒜素乳油以质量比

1:9、1:4、1:1、4:1、9:1 进行混配,每个混合组配配制 5 种不同的梯度浓度,置于 4 ℃ 保存备用。参照菌丝生长速率法计算药剂的菌丝生长抑制率,每个处理 3 次重复。通过公式计算药剂对菌丝生长的抑制率,并采用 Wadley 的增效比率法^[36]计算 2 种物质的毒力回归方程和混合组配的增效系数,相应公式:

$$\text{相对抑制率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

$$\text{混剂的理论 EC}(\text{th})_{50} = \frac{a+b}{(a/A \text{ 的 EC}_{50} + b/B \text{ 的 EC}_{50})}$$

$$\text{增效系数}(SR) = \frac{\text{混剂的 EC}(\text{th})_{50}}{\text{混剂的 EC}_{50}}$$

式中:菌落生长直径为测量直径减去 0.5 cm 的菌饼直径,cm; A 为 SU8 发酵液;B 为 80% 乙蒜素乳油;a、b 分别为 SU8 发酵液、80% 乙蒜素乳油在混合组配物质总质量中的比例,%。

根据增效系数(SR)进行联合作用综合评价。当 $0.5 < SR < 1.5$ 时,说明 2 种物质混配具有协同作用;当 $SR \leq 0.5$ 时,说明 2 种物质混配表现出拮抗作用;当 $SR \geq 1.5$ 时,说明 2 种物质混配有增效作用。

1.2.4 孢子萌发抑制活性的测定 采用孢子萌发法^[37]测定孢子萌发抑制活性。在无菌条件下,分别配制浓度为 500 mg/L 乙蒜素乳油、浓度为 2 000 mg/L SU8 发酵液,再取适量 SU8 发酵液和乙蒜素乳油按质量比 4:1、9:1 进行混配,得到混合组配,置于 4 ℃ 保存备用。将病原菌培养 8 d,待其产孢后,加无菌水 5 mL,在培养基表面用接种针轻轻摩擦,使病原菌孢子悬浮于水中,将培养基块和菌丝体用纱布过滤,制成 2 万个/mL 的孢子悬浮液。分别取各药剂与孢子悬浮液等体积充分混合,以无菌水作空白对照滴加在洁净的凹玻片上。在 25 ℃ 恒温条件下培养,分别培养 12、24、36 h 后,在 40 倍物镜下镜检孢子萌发情况(以孢子芽管的长度超过孢子直径的 50% 视为已萌发孢子),检查各个处理孢子萌发情况,并计算萌发率和抑制率,每个处理重复 3 次,相应公式:

$$\text{孢子萌发率} = \text{孢子萌发数} / \text{总孢子数} \times 100\%$$

$$\text{孢子萌发抑制率} = (\text{CK 孢子萌发数} - \text{药剂处理孢子萌发数}) / \text{对照孢子萌发数} \times 100\%$$

1.2.5 盆栽防效试验 试验于 2015 年 5 月中旬—7 月上旬草莓育苗期间,从草莓种植区大棚内移取适量的泥土,经无菌处理后,盛装在口径为 40 cm、高为 25 cm 的花盆中至盆高的 2/3。选取生长状况较一致的 1 年生丰香草莓 3 叶期幼苗数株均匀移植于花盆中,2 盆之间的间距为 10 cm,其他同常规管理。待其成活后,将草莓灰霉病菌发酵液制成 2 000 万 CFU/mL,每株 2 mL,均匀喷施于草莓叶面。在人工气候箱(温度 25 ℃、相应湿度 90%)中培养 3~4 d,待草莓植株完全发病后调查病情指数。分别喷施“1.2.4”节所配制的各药剂,以无菌水作空白对照(CK)。每处理 20 株,连续施药 2 次,第 1 次施药与第 2 次施药间隔 7 d。喷药后 7 d 分别观察记录草莓植株发病情况。

参照农业部农药检定所编写的《农药田间药效试验准则》对病害进行分级,并计算病情指数和防治效果。病情分级标准:0 级,无病斑;1 级,病斑面积占整个叶面积 5% 及以下;3 级,病斑面积占整个叶面积 6%~10%;5 级,病斑面积

占整个叶面积 11% ~ 20%; 7 级, 病斑面积占整个叶面积 21% ~ 50%; 9 级, 病斑面积占整个叶面积 50% 以上。相应公式:

病叶率 = 调查病叶数 / 调查总叶数 × 100% ;

病情指数 = [∑ (各级病叶数 × 相对级数值) / (调查病叶数 × 最高级数值)] × 100 ;

防治效果 = (对照区病情指数 - 处理区病情指数) / 对照区病情指数 × 100% 。

1.2.6 数据处理 采用 Excel、DPS 软件进行数据处理, 用新复极差法进行差异显著性分析($\alpha=0.05$, $\alpha=0.01$)。

2 结果与分析

2.1 拮抗活性的测定

2.1.1 SU8 菌对草莓灰霉病菌的拮抗效果 对峙培养法测得 SU8 菌对草莓灰霉病菌的抑菌带宽为 3.26 cm。该结果表明 SU8 菌对草莓灰霉病菌具有较强的拮抗效果, 与张亚等的研究结果^[32]一致。

2.1.2 SU8 发酵液和乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌的拮抗效果 由表 1 可知, SU8 发酵液和乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌均具有抑制作用。

表 2 SU8 发酵液和乙蒜素乳油不同质量比混合组配对草莓灰霉病菌的联合毒力

处理	A : B	毒力回归方程	相关系数 <i>r</i>	EC ₅₀ (mg/L)	EC(th) ₅₀ (mg/L)	增效系数 SR
A		$y=0.824\ 1x+2.338\ 6$	0.937 6	1 696.4		
B		$y=0.917\ 7x+3.020\ 9$	0.995 1	143.4		
A + B	1 : 9	$y=1.278\ 1x+2.213\ 7$	0.998 8	151.4	157.7	1.04
A + B	1 : 4	$y=1.479\ 0x+1.956\ 6$	0.961 5	114.2	174.7	1.53
A + B	1 : 1	$y=1.333\ 7x+2.258\ 7$	0.991 3	113.6	264.7	2.33
A + B	4 : 1	$y=1.434\ 8x+2.137\ 4$	0.956 9	98.9	535.0	5.41
A + B	9 : 1	$y=1.394\ 4x+2.232\ 1$	0.959 1	96.6	812.4	8.41

注: A 代表 10 倍 SU8 发酵浓缩滤液; B 代表乙蒜素乳油 100 倍稀释液; “A + B” 代表 10 倍 SU8 发酵浓缩滤液和乙蒜素乳油 100 倍稀释液混配; “A : B” 代表 10 倍 SU8 发酵浓缩滤液和乙蒜素乳油 100 倍稀释液的质量比。下表同。

2.3 孢子萌发活性抑制测定

表 3 结果表明, 随着时间的增加, 病菌孢子萌发率逐渐提高, 但不同药剂对病菌孢子萌发的影响不同。在 12、24、36 h 内, 病菌孢子在单一的 SU8 发酵液中萌发率最高, 分别为 60.5%、82.1%、88.5%, 均高于其他药剂处理, 而以 SU8 发酵液与乙蒜素乳油按质量比 9 : 1 混合组配最低, 其萌发率分别为 8.5%、13.6%、21.8%。比较它们的孢子萌发抑制率可知, 在不同的时间段内以单一的 SU8 发酵液处理对孢子萌发的抑制率最低, 但当 SU8 发酵液与乙蒜素乳油以质量比 4 : 1、9 : 1 混配后, 2 种混合组配对孢子萌发的抑制率均明显高于前 2 者, 其中又以质量比 9 : 1 的混合组配最高(表 3)。

表 3 不同药剂对病菌孢子萌发的影响

药剂	A : B	孢子萌发率(%)			孢子萌发抑制率(%)		
		12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h
A		60.5	82.1	88.5	7.5Dd	7.2Dd	4.1Dd
B		25.6	36.8	48.9	60.9Cc	58.4Cc	47.0Cc
A + B	4 : 1	14.8	22.5	38.3	77.4Bb	74.6Bb	58.5Bb
A + B	9 : 1	8.5	13.6	21.8	87.0Aa	84.6Aa	76.4Aa
(CK)		65.4	88.5	92.3			

表 1 打孔法测定不同物质对草莓灰霉病菌的抑制作用

抑菌物质	抑菌带宽度(cm)			
	重复 1	重复 2	重复 3	平均值
SU8 发酵液	1.58	1.59	1.60	1.59Bb
乙蒜素乳油	3.31	3.32	3.34	3.32Aa

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。表 3、表 4 同。

2.2 室内毒力测定

利用菌丝生长速率法进行 SU8 发酵液与乙蒜素乳油混配的室内毒力测定。结果表明, SU8 发酵液与乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌的最小抑菌浓度分别为 12.50、6.25 mg/L。由表 2 可知, SU8 发酵液对草莓灰霉病菌的 EC₅₀ 为 1 696.4 mg/L, 乙蒜素乳油对草莓灰霉病菌的 EC₅₀ 为 143.4 mg/L, 2 种物质以质量比为 1 : 9、1 : 4、1 : 1、4 : 1、9 : 1 混合组配的 EC₅₀ 分别为 151.4、114.2、113.6、98.9、96.6 mg/L, 其增效系数分别为 1.04、1.53、2.33、5.41、8.41。

根据增效系数的联合评价标准可知, 2 种物质以质量比 9 : 1 混合组配为协同作用; 2 种物质以质量比 1 : 4、1 : 1、4 : 1、9 : 1 混合组配为增效作用, 且以质量比为 9 : 1、4 : 1 的混合组配增效作用较为明显。

2.4 盆栽防效试验

由表 4 可知, 2 次施药, 单一乙蒜素乳油防病效果分别为 54.7%、47.1%, 单一 SU8 发酵液防病效果分别为 8.2%、6.4%, 但均低于同浓度乙蒜素乳油和 SU8 发酵液 2 者质量比 4 : 1、9 : 1 混合组配的防病效果, 且差异极显著。

表 4 盆栽防效试验

处理	A : B	第 1 次施药		第 2 次施药	
		平均病指	防治效果(%)	平均病指	防治效果(%)
A		78.2	8.2Dd	92.2	6.4Dd
B		38.6	54.7Cc	52.1	47.1Cc
A + B	4 : 1	20.3	76.2Bb	28.5	71.1Bb
A + B	9 : 1	16.8	80.3Aa	22.6	77.1Aa
(CK)		85.2		98.5	

3 结论与讨论

3.1 结论

本研究再一次明确了拮抗细菌 SU8 的发酵液对草莓灰霉病菌具有较强的抑制效果, 且混配的各项试验结果均表明,

乙蒜素乳油与SU8发酵液以质量比4:1,9:1混配对草莓灰霉病的防治效果比其单一药剂要好,且以2者质量比9:1混配效果最好。这一结果明确了与SU8发酵液混配,能显著增强乙蒜素乳油对草莓灰霉病的防治效果,并有力论证了铜绿假单胞菌株SU8成为生物农药的可能性,明确了拮抗菌在农业生产病害防治中的重要地位,也表明混配是防治草莓灰霉病的有效途径,为今后防治草莓灰霉病提供了新思路,值得更广泛地研究与推广。尤其是本研究利用2种对环境无污染的生物物质混配,在取得较好防治效果的同时,又明确了2种物质的具体混配比例,为今后剂型的研发与推广提供了试验数据。

3.2 讨论

生物防治具有低毒、低残留、易降解的特点,并且与环境相容,正逐渐成为生产无公害农产品时防治病害的首选^[38]。因此,生物农药的研发倍受关注,开发新型生物农药防治草莓灰霉病已成为当前农药研究与开发领域的热点之一。拮抗细菌铜绿假单胞菌SU8发酵液和乙蒜素乳油混配防治草莓灰霉病属于生物防治的范畴,原材料既安全且易得,符合现代农业环保、健康、持续发展的时代要求,值得研究和开发。

大量研究表明,多种植物的活性提取物或微生物菌株的代谢产物可以达到抗灰霉病菌的目的,但大多着重于活性物对灰霉病菌的毒力测定,而对这些活性物质的具体成分确定研究较少。今后应加强活性成分的分离鉴定,探讨活性成分的分子结构与构效关系的研究,以期探索出能合成植物源杀菌剂的先导化合物,并研发科学合理的生物剂型,最终应用于农业生产中。本研究明确了SU8发酵液对草莓灰霉病菌的生长有较强的抑制效果,尤其与乙蒜素乳油混配更能提高其抑菌效果。彭双强等也先后报道了SU8菌株对水稻纹枯病菌、草莓灰霉病菌等多种菌株具有较强的拮抗效果,并且分别采用乙酸乙酯、二氯甲烷和石油醚等溶剂提取SU8的抑菌活性物质,经检测确定了SU8抑菌类物质为吩嗪类物质^[39-41]。吩嗪类物质是一种广泛存在于假单胞菌代谢产物中的抑制真菌的抗生素,与众多报道的假单胞生防菌的抑菌活性物质基本相同,故菌株SU8具有作为生防菌的潜力。

在微生物环境中,菌株的拮抗现象屡见不鲜。然而拮抗菌的代谢产物未必对同种微生物有抑制效果。研究发现铜绿假单胞菌SU8发酵液滤液对草莓灰霉病菌具有较强的拮抗效果。本研究利用乙蒜素乳油、SU8发酵液及两者不同质量比的混合组配防治草莓灰霉病。室内毒力试验结果表明,混合组配中以质量比为4:1,9:1的增效效果最为明显,选取2种混合组配开展孢子萌发抑制试验,并进行盆栽防治试验。试验结果均表明,乙蒜素乳油与SU8发酵液混配对草莓灰霉病的防治效果比单一药剂好。这一结果表明,混配是一条有效防治草莓灰霉病的途径,也明确了乙蒜素乳油与SU8发酵液2种生物物质的混配比例,但其增效机制、作用方式与剂型开发还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 李科孝,谢宏伟. 大棚韭菜灰霉病的发生规律与防治[J]. 植物保护,2001,27(2):46.
- [2] 张建人,陆宏. 南方草莓灰霉病的发生与综合防治[J]. 植物

保护,1991,17(4):6-7.

- [3] Sadfi-zouaoui N, Hannachi L, Andurand D, et al. Biological control of *Botrytis cinerea* on stem wounds with moderately haophilic bacteria [J]. World J of Microbiol Biotechnol, 2008, 24(12): 2871-2877.
- [4] 王春艳. 草莓灰霉病发生危害及防治研究初报[J]. 植物保护, 1997, 23(3): 32-33.
- [5] 陈治芳, 王文桥, 韩秀英, 等. 灰霉病化学防治及抗药性研究进展[J]. 河北农业科学, 2010, 14(8): 19-23.
- [6] 童蕴慧, 纪兆林, 徐敬友, 等. 灰霉病生物防治研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2003, 19(3): 131-135.
- [7] 刘波, 叶钟音. 速克灵抗性灰霉病菌菌株性质的研究[J]. 植物保护学报, 1992, 19(4): 297-302.
- [8] 周明国, 叶钟音, 杭建胜, 等. 对多菌灵具有抗性的草莓灰霉病菌菌株形成与分布研究[J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(3): 57-60.
- [9] 韩巨才, 闫秀琴, 刘慧平, 等. 灰霉病原菌对速克灵的抗性监测[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2003, 23(4): 299-302.
- [10] 李宝聚, 朱国仁, 关天舒, 等. 节能日光温室中番茄灰霉病发生规律的研究[J]. 植物保护, 2003, 29(2): 26-29.
- [11] Hou J, Gao Y N, Feng J, et al. Sensitivity of *Botrytis cinerea* to propamidine; in vitro determination of baseline sensitivity and the risk of resistance[J]. European Journal of Plant Pathology, 2010, 128(2): 261-267.
- [12] Elad Y. Reduced sensitivity of *Botrytis cinerea* to two sterol biosynthesis-inhibiting fungicides; fenetrazole and fenethanil[J]. Plant Pathology, 1992, 41(1): 47-54.
- [13] Albert M R, Ostheimer K G, Liewehr D J, et al. History of medicine [J]. Annals of Internal Medicine, 2003, 137(12): 993-1000.
- [14] Garrison F H, Blocker T M. An introduction to the history of medicine [J]. Plastic & Reconstructive Surgery, 1976, 57(4): 20-21.
- [15] Bollen G J, Scholten G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen [J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1971, 77(3): 83-90.
- [16] 周明国, 叶钟音. 植物病原菌对苯并咪唑类及相关杀菌剂的抗药性[J]. 植物保护, 1987, 13(2): 21-33.
- [17] 纪明山, 祁之秋, 王英姿, 等. 番茄灰霉病菌对啞霉胺的抗药性[J]. 植物保护学报, 2003, 30(4): 396-400.
- [18] George A, Tomas V, Olga K, et al. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups [J]. Pest Management Science, 2010, 66(9): 967-973.
- [19] 刘波, 叶钟音. 速克灵抗性灰霉病菌菌株性质的研究[J]. 植物保护学报, 1992, 19(4): 297-302.
- [20] 贾晓华. 番茄灰霉病菌和油菜菌核病菌对啞霉胺的敏感性基线及番茄灰霉病菌抗药性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.
- [21] 张红印, 马龙传, 姜松, 等. 臭氧结合拮抗酵母对草莓采后灰霉病的控制[J]. 农业工程学报, 2009, 25(5): 258-263.
- [22] 江琴琴, 周俞超, 陈小龙, 等. 产抗灰霉病菌物质的微生物筛选和鉴定[J]. 农药, 2010, 49(4): 257-259.
- [23] 张志恒, 李红叶, 吴珉, 等. 百菌清、腈菌唑和吡唑醚菌酯在草莓中的残留及其风险评估[J]. 农药学报, 2009, 11(4): 449-455.
- [24] 岳东霞, 张要武. 番茄根际促生菌——假单胞菌的生防作用[J]. 华北农学报, 2009, 24(5): 210-213.
- [25] 刘宁. 番茄灰霉病菌生防细菌BAB-1的鉴定及发酵工艺的优化[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.

杨 栋,李俊领,金晓婷,等. 几种杀虫剂对韭菜迟眼蕈蚊幼虫的室内毒力筛选及药剂混配研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):83-85.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.020

几种杀虫剂对韭菜迟眼蕈蚊幼虫的室内毒力筛选及药剂混配研究

杨 栋^{1,2}, 李俊领², 金晓婷², 纪 秀², 任立云¹, 余向阳²

(1. 广西大学农学院,广西南宁 530000; 2. 江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所,江苏南京 210014)

摘要:在室内测定 18 种杀虫剂对韭菜迟眼蕈蚊幼虫的毒力,并在此基础上进行混配增效药剂筛选。结果表明,供试药剂中,新烟碱类杀虫剂吡虫啉、噻虫嗪和啉虫脒对韭菜迟眼蕈蚊幼虫活性较高,48 h 致死中浓度(lethal concentration 50,简称 LC₅₀)分别为 5.89、6.47、18.32 mg/L。昆虫生长调节剂除虫脒也具有较高杀虫活性,主要影响昆虫化蛹和羽化。药剂混配结果表明,具有相同杀虫作用机制的啉虫脒与吡虫啉或噻虫嗪不同比例混配基本表现为相加作用,除虫脒与吡虫啉或噻虫嗪不同比例混配主要表现为增效作用,除虫脒与噻虫嗪按 1:5 混配时增效作用最明显,共毒系数为 207.36。

关键词:韭菜迟眼蕈蚊;杀虫剂;药剂混配;毒力;致死中浓度

中图分类号: S482.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0083-03

韭菜迟眼蕈蚊(*Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang)属双翅目眼蕈蚊科,幼虫别称韭蛆,主要危害韭菜、葱、蒜等百合科蔬菜,此外还危害花卉、杂草等^[1-2]。该虫是我国的特有害虫,主要分布于我国北方各省,以及江苏、四川、湖北、浙江等省份^[3]。韭菜迟眼蕈蚊幼虫群集寄主根部取食危害,造成韭菜缺苗断垄,严重时可能造成绝收^[4]。由于韭菜迟眼蕈蚊幼虫具有潜土危害的习性,加上对其发生危害规律及生物习性研究比较薄弱,预测预报及防治技术研究相对滞后,导致防治困

难,一旦发生危害很难控制。目前我国对韭菜迟眼蕈蚊的防治仍主要依靠化学手段,有机磷类杀虫剂作为防治韭菜迟眼蕈蚊幼虫的主要药剂,具有较好的防治效果,在幼虫大量发生期频繁使用易出现抗药性及韭菜中农药残留量超标等问题,如韭菜迟眼蕈蚊对毒死蜱、辛硫磷已产生明显的抗性^[5-6]。为了更好地利用该类药剂,减缓抗性,国内对毒死蜱与辛硫磷农药混配及烟碱类和有机磷类农药混配做了相关研究^[7-8]。为筛选出有效控制韭菜迟眼蕈蚊的药剂品种,分别选择烟碱类、有机磷类、昆虫生长调节剂等药剂进行室内毒力筛选及药剂混配,以期获得防治韭菜迟眼蕈蚊的高效药剂及组合,为指导田间科学合理用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

韭菜迟眼蕈蚊为 2014 年 3 月采自江苏省徐州市丰县

收稿日期:2016-01-18

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201303027);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)3090]。

作者简介:杨 栋(1992—)男,河南信阳人,硕士研究生,研究方向为农药毒理与抗药性。E-mail:491596991@qq.com。

通信作者:余向阳,博士,研究员,主要从事农药污染评价及治理技术研究。E-mail:yu981190@hotmail.com。

[26]胡 朋,申 琳,范 蓓,等. 番茄灰霉病拮抗细菌 *Bacillus* -1 的筛选和鉴定[J]. 食品科学,2008,29(6):276-279.

[27]韩斯琴,徐 梅,白 震,等. D2-4 放线菌抗真菌病害活性成分研究[J]. 微生物学杂志,2004,24(1):8-10.

[28]谷祖敏,苏 州,刘宏伟,等. 番茄灰霉病菌拮抗放线菌的分离和筛选[J]. 辽宁农业科学,2004,39(5):1-2.

[29]徐大勇,李 峰. 番茄灰霉病拮抗内生细菌的筛选、鉴定及其活性[J]. 中国生物防治学报,2012,31(4):298-302.

[30]周荣金,袁高庆. 烟草灰霉病复合生防细菌的筛选[J]. 中国烟草学报,2015,20(6):107-112.

[31]张红娟,卢海波,赵丽娟,等. 生防菌 HT3 和 HT5 代谢产物对灰葡萄孢菌的抑菌作用[J]. 山西农业科学,2013,41(12):1372-1375.

[32]张 亚,苏 品,刘双清,等. 拮抗假单胞菌 SU8 对几种植物病原真菌的抑制作用[J]. 农药,2013,52(12):917-920.

[33]耿建峰,黑田克利,田中一久. 洋葱油和大蒜提取物对灰霉菌的

作用效果[J]. 中国蔬菜,2008(5):20-22.

[34]尹晓东,何智勇,魏松红,等. 大蒜提取液对番茄两种真菌病害的抑制作用[J]. 沈阳农业大学学报,2008,39(1):89-91.

[35]黄彰新. 植物化学保护实验指导[M]. 北京:农业出版社,1993.

[36]Wadley F M. Experimental statistics in entomology[M]. Graduate School Press, U. S. Dept of Agriculture, 1967:387.

[37]陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京:中国农业大学出版社,1990:135-165.

[38]敖礼林,况小平. 植物源杀菌剂简介[J]. 农业知识:致富与农资,2013(8):51-53.

[39]彭双强,张 亚,廖晓兰,等. 拮抗细菌发酵提取物与井冈霉素混配对水稻纹枯病的毒力研究[J]. 湖南农业科学,2015(9):20-23.

[40]张 亚,苏 品,刘双清,等. 一株假单胞菌 SU8 抑菌物质的研究初报[J]. 中国植保导刊,2014,34(6):13-18.

[41]苏 品. 稻鸭种养生态系统抑制水稻纹枯病的发生流行规律及拮抗菌 SU8 生防潜力研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2012.