

王 瑞,雷霖卿,查仕连,等. 3 株猕猴桃细菌性溃疡病致病菌的药剂室内毒力比较[J]. 江苏农业科学,2019,47(11):141–143.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2019.11.031

3 株猕猴桃细菌性溃疡病致病菌的药剂室内毒力比较

王 瑞¹, 雷霖卿¹, 查仕连², 沈必炎², 吴文能¹

(1. 贵阳学院食品与制药工程学院, 贵州贵阳 550003; 2. 贵州省贵阳市乌当区偏坡乡人民政府农业综合服务中心, 贵州贵阳 550018)

摘要:为了筛选猕猴桃细菌性溃疡病的有效防治药剂,采用抑菌圈法比较 28 种杀菌剂对不同猕猴桃细菌性溃疡病 3 株致病菌(PSA₁、PSA₂、PSA₃)的室内毒力,并测定药剂间复配对致病菌的联合毒力。结果表明,28 种杀菌剂中 20% 溴硝醇、20% 叶枯唑、40% 百菌清 3 种杀菌剂对 PSA₁ 的毒力效果较强,其 EC₅₀ 值分别为 32.56、43.12、44.06 mg/L,均小于对照药剂 72% 硫酸链霉素(对 PSA₁ 的毒力效果 EC₅₀ 值分别为 44.56、54.56、77.82 mg/L)的毒力效果;而 40% 百菌清对 PSA₂ 和 PSA₃ 表现出较好的毒力作用,其 EC₅₀ 值分别为 53.21、54.45 mg/L,优于对照药剂硫酸链霉素。不同比例复配药剂的室内毒力筛选发现,20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(质量比为 3 : 1)和 20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(质量比为 3 : 1)2 种复配剂对 PSA₁ 表现出较强的毒力,且为增效作用,均可作为田间猕猴桃细菌性溃疡病的有效防控药剂。

关键词:猕猴桃;溃疡病;杀菌剂;毒力测试;联合毒力

中图分类号: S482.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2019)11–0141–03

猕猴桃是猕猴桃科(Actinidiaceae)猕猴桃属(*Actinidia*)多年生藤本植物,别称毛桃、羊桃、奇异果(Kiwifruit)^[1],其实含有大量的维生素、黄体素、氨基酸和天然肌醇,素有“水果之王”的美誉;此外,猕猴桃的根具有清热解毒、活血散结、祛风利湿等功效^[2]。近年来,世界范围猕猴桃产业得到了持续发展,种植面积逐年增加,然而随着生产规模逐渐扩大,管理不科学,导致猕猴桃病害问题日益突出,其中猕猴桃细菌性溃疡病是一种严重威胁猕猴桃产业健康发展的重要病害,已成为制约猕猴桃产量的毁灭性因素,该病害的致病菌已确认为丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidia*)^[3–8],其主要危害猕猴桃树的枝干、叶片和花,枝干受害后形成黄褐色或锈红色的局部溃疡腐烂,影响养分的输送和吸收,造成树势衰弱,严重时可环绕茎秆引起树体死亡。因此,对猕猴桃溃疡病的防控进行深入研究,寻求有效的病害防控药剂和方法是猕猴桃产业健康发展的重要保障。

目前,国内外对于该病害的药剂防治主要依赖于铜制剂和农用链霉素,长期单一使用该药剂易使病原菌产生较强的抗药性,从而导致防治效果下降^[9]。采用合理的化学药剂复配使用既可以提高防效、扩大防治谱的效果,又可以有效延缓病原菌的抗药性,同时还可以降低田间病害的防控成本^[10]。针对这一目的,笔者所在课题组前期发现乙蒜素、溴硝醇、代森锰锌 3 种农药在室内毒力和田间防治中效果较好^[11–12]。为了筛选出更好的猕猴桃溃疡病致病菌防控药剂,在前期工作的基础上,本研究分别从贵州省贵阳市修文县 1

个贵长猕猴桃果园、贵州省贵阳市乌当区偏坡乡 2 个红阳猕猴桃果园猕猴桃植株患处分离、纯化获得 3 株丁香假单胞杆菌菌株,同时筛选了 28 种抗菌剂单剂对 3 株致病菌的室内毒力,并筛选了不同比例复配药剂的室内毒力,为猕猴桃种植业中溃疡病的综合防控提供长效、高效药剂基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 参照文献[13–14]的方法,于 2016 年 3—4 月分别从修文县谷堡乡 1 个贵长猕猴桃果园、贵阳市乌当区偏坡乡 2 个红阳猕猴桃果园采集感病植株染病部位,于贵阳学院食品与制药工程学院实验室采用稀释划线法,分离纯化得到溃疡病发病部位细菌,经菌落 PCR、美国国立生物技术信息中心(NCBI)基因库 Blast 比对,获得高同源性序列,分别与 *Pseudomonas* sp. J3、1C9、*Pseudomonas* sp. SR64、*Pseudomonas* sp. WXBSY5 同源性达 99%,3 株菌种属于均丁香假单胞杆菌属,分别命名为 PSA₁、PSA₂、PSA₃。

1.1.2 供试药剂 20% 溴硝醇可湿性粉剂(丹东市农药总厂);20% 叶枯唑粉剂(山东拜耳化工有限公司);80% 多菌灵粉剂(英国邦农达农用化学品有限公司);40% 己唑醇悬浮剂(西安北农华农作物保护有限公司);75% 抑霉唑硫酸盐制剂、50% 克菌丹粉剂(安道麦马克西姆有限公司);3% 甲霜·噁霉灵水剂(天津市绿亨化工有限公司);50% 异菌脲粉剂[富美实(中国)投资有限公司];20% 噁菌铜悬浮剂(浙江龙湾化工有限公司);50% 氯溴异氰尿酸粉剂(南京南农农药科技发展有限公司);60% 唑醚·代森联散粒剂、60% 唑醚·代森联散粒剂(青岛奥迪斯生物科技有限公司);75% 三环唑粉剂(上海锐联化工有限公司);12.5% 四氟醚唑水乳剂、70% 甲基硫菌灵粉剂、41% 甲硫戊唑醇悬浮剂(江苏龙灯化学有限公司);80% 代森锰锌粉剂(美国陶氏益农公司);50% 咪鲜

收稿日期:2018–02–12

基金项目:贵州省科学技术基金(编号:黔科合 LH 字[2014]7166 号)。

作者简介:王 瑞(1979—),男,天津人,博士,教授,主要从事植物调控化学与生物学研究。Tel:(0851)85407613;E-mail:wangrui060729@126.com。

胺盐锰可湿性粉剂(江苏省苏州富美实植物保护剂有限公司);37% 苯醚甲环唑散粒剂(山东海讯生物化学有限公司);80% 烯酰吗啉散粒剂(江西禾益化工股份有限公司);70% 氟环唑散粒剂、430 g/L 戊唑醇悬浮剂、60% 嘧菌酯散粒剂(北京华戎生物激素厂);50% 硫磺·多菌灵粉剂(江苏蓝丰生物化工股份有限公司);26% 嘧胺·乙霉威散粒剂(青岛瀚生生物科技股份有限公司);40% 百菌清悬浮(日本横滨工厂);5% 烯效唑粉剂(江苏剑牌农化股份有限公司);3% 噻霉酮粉剂(陕西西大华特科技实业有限公司);对照药剂为 72% 硫酸链霉素(四川长征普惠生物工程有限公司)。

1.1.3 供试培养基 营养琼脂(NA)培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g,NaCl 5.0 g,琼脂 18.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL,调 pH 值为 6.8~7.0,121 ℃ 湿热灭菌 20 min 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 药剂处理 首先将 28 种药剂配制成为 1 000 mg/L 的药液进行初筛,对于毒力较好的单剂和复配制剂均设置 1 000.00、500.00、250.00、125.00、62.50、31.25 mg/L 6 个浓度梯度(以有效成分计),每个浓度设 3 个平行,另设清水为空白对照,农用链霉素为阳性对照。

1.2.2 测定方法 参照文献[11,15]的方法,采用抑菌圈法测定 28 种单剂、复配制剂对 3 株丁香假单胞杆菌的室内毒力。用无菌水配制含病原菌细胞 10⁶~10⁷ 个/mL 的菌悬液,每皿加入菌悬液 1.0 mL,倒入至约 10 mL、28 ℃ 的 NA 培养基,摇匀后制成平板。将直径为 6 mm 的灭菌滤纸片放入各药液内浸泡 1 h,取出,放入平皿中,以无菌水浸泡滤纸为对照(CK),农用链霉素为阳性对照,置于 28 ℃ 下培养,每个处理重复 3 次。48 h 后观察,测量抑菌圈直径,计算抑制率,并以药剂浓度为横坐标、抑制率为纵坐标作回归方程,得到各药剂对猕猴桃溃疡致病菌的抑制中浓度(EC₅₀)。

1.2.3 毒力指数及混剂共毒系数的计算 根据文献提出的方法^[16-17],选定试验中的一种农药为标准,计算出其余农药单用或混用的毒力指数(设其标准农药的毒力指数为 100,毒

力指数越大毒力越强)。

供试药剂的毒力指数 = $\frac{\text{标准药剂的 EC}_{50}}{\text{供试药剂的 EC}_{50}} \times 100\%$;

混剂共毒系数 = $\frac{\text{混剂实际毒力指数}}{\text{混剂理论毒力指数}} \times 100\%$;

混剂实力毒力指数 = $\frac{\text{标准药剂的 EC}_{50}}{\text{混剂的 EC}_{50}} \times 100\%$ 。

混剂理论毒力指数 = 各单剂的毒力指数与其在混剂中含量的积的总和,共毒系数大于 100 为增效作用,等于 100 为相加作用,小于 100 为拮抗作用。

2 结果与分析

2.1 单剂的室内毒力

通过初步活性筛选,在浓度为 1 000 mg/L 的药液浓度下,28 种供试药剂中有 16 种药剂对 PSA₁、PSA₂ 和 PSA₃ 3 株丁香假单胞杆菌致病菌表现出抑菌作用,其中包括 20% 溴硝醇、20% 叶枯唑、40% 百菌清、3% 甲霜·噁霉灵、3% 噻霉酮、50% 异菌脲、80% 代森锰锌、40% 己唑醇、50% 克菌丹、20% 噻菌铜、50% 氯溴异氰尿酸、60% 唑醚·代森联、80% 多菌灵、70% 甲基硫菌灵、5% 烯效唑、75% 三环唑;而 50% 咪鲜胺锰盐、37% 苯醚甲环唑、80% 烯酰吗啉、75% 抑霉唑硫酸盐、60% 嘧菌酯、50% 硫磺·多菌灵、26% 嘧胺·乙霉威、430 g/L 戊唑醇、12.5% 四氟醚唑、41% 甲硫戊唑醇、70% 氟环唑散粒剂、60% 唑醚·代森联 12 种抗菌剂对 PSA₁、PSA₂ 和 PSA₃ 3 株丁香假单胞杆菌致病菌均未显现出抑菌作用。由表 1 可知,20% 溴硝醇、20% 叶枯唑、40% 百菌清 3 种杀菌剂对 PSA₁ 的毒力效果较强,其 EC₅₀ 值分别为 32.56、43.12、44.06 mg/L,均小于对照药剂 72% 硫酸链霉素(其对 PSA₁ 的毒力效果 EC₅₀ 值为 44.56 mg/L);而 40% 百菌清对 PSA₂ 和 PSA₃ 表现出较好的毒力作用,其 EC₅₀ 值分别为 53.21、54.45 mg/L,优于对照药剂硫酸链霉素;其他药剂对 PSA₁、PSA₂ 和 PSA₃ 的毒力效果 EC₅₀ 值均大于对照药剂,仅表现出较弱的毒力活性。

表 1 16 种杀菌剂对 3 株丁香假单胞杆菌致病菌的室内毒力测试结果

杀菌剂	PSA ₁		PSA ₂		PSA ₃	
	1 000 mg/L(mm)	EC ₅₀ (mg/L)	1 000 mg/L(mm)	EC ₅₀ (mg/L)	1 000 mg/L(mm)	EC ₅₀ (mg/L)
20% 溴硝醇	26.8	32.56	23.2	61.68	22.9	62.01
20% 叶枯唑	25.1	43.12	21.5	70.56	23.1	83.18
40% 百菌清	24.5	44.06	23.5	53.21	26.2	54.45
80% 多菌灵	12.8	312.30	7.0	678.32	9.5	456.18
40% 己唑醇	18.6	84.51	16.8	235.54	15.8	224.55
50% 克菌丹	17.5	88.56	15.3	215.78	16.3	188.32
3% 甲霜·噁霉灵	19.0	53.11	16.5	128.12	16.1	203.15
50% 异菌脲	20.3	79.85	16.8	168.55	15.2	208.19
20% 噻菌铜	15.6	102.88	14.3	198.45	14.8	212.23
50% 氯溴异氰尿酸	13.3	165.18	11.5	312.56	11.0	345.62
60% 唑醚·代森联	12.5	208.14	11.8	512.88	12.1	458.11
75% 三环唑	7.2	619.75	8.6	456.77	8.4	518.33
70% 甲基硫菌灵	9.8	451.26	8.8	589.56	7.2	618.25
80% 代森锰锌	17.8	81.66	15.6	145.68	14.5	216.25
3% 噻霉酮	18.6	56.56	16.1	87.89	16.9	89.12
5% 烯效唑	8.7	516.82	8.9	356.16	7.4	618.99
对照药剂	24.8	44.56	23.7	54.56	21.8	77.82
CK	—	—	—	—	—	—

2.2 药剂复配的室内毒力

为了筛选出较理想的猕猴桃细菌性溃疡病防控药剂,测定 20% 溴硝醇、20% 叶枯唑和 40% 百菌清不同复配比例药剂对 PSA₁ 的联合毒力,结果见表 2。由表 2 可知,20% 溴硝醇、20% 叶枯唑和 40% 百菌清不同比例复配剂对 PSA₁ 的联合毒力存在较明显的差异,其中 20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(质量

比为 3 : 1) 和 20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(质量比为 3 : 1) 2 种复配剂对 PSA₁ 的共毒系数较大,分别为 159. 31、173. 50,表现出较好的增效作用;而 20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(质量比为 1 : 3) 和 20% 叶枯唑 + 40% 百菌清(质量比为 1 : 1) 2 种复配剂对 PSA₁ 表现出拮抗作用,其共毒系数分别为 92. 62、80. 40;其余复配剂表现出加和作用,共毒系数大约为 100。

表 2 混合菌剂对 PSA₁ 菌株毒力的测定结果

混剂种类(质量比)	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ (mg/L)	毒力指数	共毒系数
20% 溴硝醇	$y = 0.187x + 40.912$	0.98	32.56	100.00	—
20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(1 : 1)	$y = 0.345x + 32.286$	0.92	36.85	88.36	100.69
20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(1 : 3)	$y = 0.239x + 38.202$	0.95	45.18	81.56	99.91
20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(3 : 1)	$y = 0.312x + 40.125$	0.91	30.21	149.55	159.31
20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(1 : 1)	$y = 0.291x + 38.884$	0.94	34.02	88.80	102.13
20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(1 : 3)	$y = 0.308x + 32.932$	0.93	45.67	74.49	92.62
20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(3 : 1)	$y = 0.269x + 42.421$	0.96	28.16	162.18	173.50
20% 叶枯唑 + 40% 百菌清(1 : 1)	$y = 0.278x + 32.167$	0.91	46.89	60.06	80.40
20% 叶枯唑 + 40% 百菌清(1 : 3)	$y = 0.349x + 26.752$	0.95	56.11	83.57	112.47
20% 叶枯唑 + 40% 百菌清(3 : 1)	$y = 0.257x + 33.279$	0.93	67.52	83.10	110.65

3 结论与讨论

本试验以 3 株丁香假单胞杆菌属菌种 PSA₁、PSA₂ 和 PSA₃ 为对象,采用抑菌圈法对 28 种杀菌剂进行室内毒力比较,发现 20% 溴硝醇、20% 叶枯唑和 40% 百菌清对 PSA₁、PSA₂ 和 PSA₃ 3 株致病菌表现出较好的毒力作用,其中 20% 溴硝醇、20% 叶枯唑和 40% 百菌清对 PSA₁ 的毒力效果较强,其 EC₅₀ 值分别为 32.56、43.12、44.06 mg/L,均小于对照药剂 72% 硫酸链霉素。进一步的复配药剂筛选发现 20% 溴硝醇 + 20% 叶枯唑(质量比为 3 : 1) 和 20% 溴硝醇 + 40% 百菌清(质量比为 3 : 1) 2 种复配剂对 PSA₁ 表现出较好的毒力效果,且表现出明显的增效作用。本研究为后续田间防控试验提供了重要药剂,有望在田间的实际应用中替代硫酸链霉素。由于田间发病的因素较为复杂,是多因素共同作用的结果^[18],本试验仅在室内筛选得到了较理想的防治药剂,但仍需通过田间试验得以证明,最终为贵阳市修文县、乌当区乃至贵州省猕猴桃大规模种植中心区猕猴桃溃疡病的综合防治提供科学依据。

参考文献:

[1] 贾爱平,王 飞,张潮红,等. 中华猕猴桃品种间亲和性研究[J]. 园艺学报,2010,37(11):1829-1835.
[2] 吴怀恩,甄汉深,钟振国. 猕猴桃属植物的研究进展[J]. 中药材,2004,27(1):59-63.
[3] Koh Y J, Kim G H, Jung J S, et al. Outbreak of bacterial canker on Hort16A (*Actinidia chinensis* Planchon) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Korea[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2010, 38(4): 275-282.
[4] Dreo T, Pirc M, Ravnika M, et al. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, the causal agent of bacterial canker of kiwifruit in Slovenia[J]. Plant Disease, 2011, 95(95): 1311-1311.
[5] Everett K R, Taylor R K, Romberg M K, et al. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing kiwifruit bacterial

canker in New Zealand[J]. Australasian Plant Disease Notes, 2011, 6(1): 67-71.
[6] Abelleira A, López M M, Peñalver J, et al. First report of bacterial canker of kiwifruit caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Spain[J]. Plant Disease, 2011, 95(12): 1583.
[7] Liu Y, Li S J, Zhu T H, et al. Specific DNA markers for detection of bacterial canker of kiwifruit in Sichuan, China[J]. African Journal of Microbiology Research, 2012, 6(49): 7512-7519.
[8] Bastas K K, Karakaya A. First report of bacterial canker of kiwifruit caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Turkey[J]. Plant Disease, 2012, 96(3): 452.
[9] 高小宁,赵志博,黄其玲,等. 猕猴桃细菌性溃疡病研究进展[J]. 果树学报, 2012, 29(2): 262-268.
[10] 吴乾守. 两种乙蒜素复配剂防治水稻稻瘟病的田间应用研究[J]. 福建稻麦科技, 2007, 25(2): 17-18.
[11] 高蓬明,王 瑞,马立志. 猕猴桃溃疡病防治药剂的室内毒力及田间防治效果[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(4): 85-88.
[12] 王 瑞,马立志,高蓬明,等. 乙蒜素与溴硝醇、代森锰锌 2 种农药复配对丁香假单胞杆菌的联合毒力[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 71-73.
[13] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
[14] Mazzaglia A, Studholme D J, Taratufolo M C, et al. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA) isolates from recent bacterial canker of kiwifruit outbreaks belong to the same genetic lineage[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36518.
[15] 孙广宇,宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
[16] Sun Y P, Johnson E R. Analysis of joint action of insecticides against house flies[J]. Journal of Economic Entomology, 1960, 53(5): 887-892.
[17] 张瑞亭. 农药的混用与混剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 1987.
[18] 龙云川,彭 熙,李苇洁,等. 贵州猕猴桃溃疡病病菌分离鉴定及其培养特性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 114-117.