

植物源农药 10% 小檗碱对草莓白粉病的预防和治疗效果

杨晓方¹, 师建华², 李映¹, 彭枢才¹, 田平芳³, 葛喜珍^{1*}

(1. 北京联合大学生物化学工程学院, 北京 100023; 2. 河北石家庄市农林科学研究院, 河北石家庄 050041; 3. 北京化工大学, 北京 100029)

摘要 [目的]探索新型小檗碱对草莓白粉病的预防和治疗作用及其田间施药剂量和方法。[方法]以 50% 醚菌酯水分散粒剂稀释 3 000 倍为阳性对照, 采用随机区组设计研究 10% 小檗碱(BBR)可湿性粉剂稀释 800、1 200 和 1 600 倍喷药 3 次, 喷药间隔 7 和 12 d 对红颜草莓白粉病的防治效果及对草莓的安全性。[结果]10% BBR 对草莓白粉病具有较好的预防和治疗作用, 且防效与醚菌酯无明显差别。对于发病严重的草莓白粉病, 喷药间隔 7 d, 稀释 800~1 200 倍防效较佳, 在相同试验条件下 BBR 的防效期较醚菌酯短。预防用药以施药间隔 12 d、稀释 1 200~1 600 倍为宜。[结论]10% BBR 可湿性粉剂对草莓安全、有效, 可作为防治草莓白粉病的天然杀菌剂。

关键词 植物源农药; 小檗碱; 草莓白粉病; 防治

中图分类号 S436 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)30-0090-03

The Prevention and Cure Effect of Botanical Fungicide 10% Berberine on Strawberry Powdery Mildew

YANG Xiao-fang¹, SHI Jian-hua², LI Ying¹, GE Xi-zhen^{1*} et al (1. College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023; 2. Shijiazhuang Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050041)

Abstract [Objective] The aim was to explore the field efficacy of berberine (BBR WP) in preventing and controlling strawberry powdery mildew, as well as fungicide application dosage and method. [Method] With 50% azoxystrobin diluted 3 000 times as positive control, the randomized block design involved treatments: 10% BBR WP diluted 800 times, 1 200 times, and 1 600 times. 10% BBR WP was sprayed for a total of three times, the time interval was 7 and 10 days, respectively. [Result] The results showed that 10% BBR WP significantly reduced the incidence of strawberry powdery mildew, and the efficacy was comparable to that of azoxystrobin. For highly infected strawberry, 10% BBR WP diluted 800-1 200 times with 7 d time interval application exhibited highest efficacy. Under identical conditions, 10% BBR WP showed shorter period of inhibition efficacy relative to azoxystrobin. For preventing strawberry powdery mildew, 10% BBR WP diluted 1 200-1 600 time with 12 d time interval application gave striking inhibition efficacy. [Conclusion] 10% BBR WP is effective, safe and can be a promising natural fungicide in management of strawberry powdery mildew.

Key words Botanical fungicide; Berberine; Strawberry powdery mildew; Prevention and cure

草莓白粉病由真菌子囊菌亚门单囊壳属的羽衣草单囊壳菌(*Sphaerotheca aphans*) 侵染所致, 是草莓的重要病害之一。该病在陆地和设施大棚均有发生, 陆地草莓发病率在 15%~30%, 低温高湿的大棚草莓白粉病的发病率高, 严重时达 50% 以上, 影响草莓的品质和产量^[1]。目前, 防治草莓白粉病主要依赖化学杀菌剂。但化学农药由于作用靶点单一, 白粉病菌易产生抗药性, 从而降低防效。生物农药、天然抗菌活性成分是目前环保农药研发的热点^[2], 前期研究首次发现小檗碱(BBR)这一传统抗细菌化合物对桃褐腐病菌有很强的抑制作用^[3], 大田试验证明 BBR 防治率在 70% 以上, 对桃果实安全、无毒^[4]。BBR 作为传统抗菌药, 不仅高效抑制桃褐腐病菌(真菌), 且能杀灭果实表面的 G⁺ 和 G⁻ 细菌^[5], 降低贮藏和运输期的总菌量, 达到理想的防病效果。近年来, 关于 BBR 抗癌、治疗 II 型糖尿病、高血压、抗心律失常等新功能的报道较多^[6], 使 BBR 的更多防病机制被发现。BBR 水溶性差, 0.5% BBR 水剂运输成本高。笔者根据 BBR 的性质制备了 10% BBR 可湿性粉剂^[7], 选择预防和治疗 2 种施药方式, 研究了 BBR 预防和治疗草莓白粉病的用量及用药间隔, 以期明确 BBR 抗草莓白粉病效果, 给草莓生产

提供施药方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试品种。供试草莓品种为红颜。

1.1.2 供试药剂。50% 醚菌酯水分散粒剂(WG)购自巴斯夫贸易(上海)有限公司; 10% BBR 可湿性粉剂(WP)由生物质废弃物资源化利用北京市重点实验室提供, 以 BBR 为主要成分^[7]。

1.2 方法

1.2.1 田间治疗试验。选白粉病发病严重的 8~13 片叶草莓, 于 2015 年 11 月初在北京昌平大棚草莓基地进行试验。前茬作物黄瓜, 中等肥力, 砂壤土。10% BBR WP 分别稀释 800、1 200、1 500 倍, 阳性对照为 50% 醚菌酯 WG 稀释 3 000 倍, 以清水为对照。随机区组排列, 小区面积为 4 m², 各小区草莓植株长势一致, 3 次重复。采用手动喷雾器对叶片正、反面及植株均匀喷雾, 以叶面、叶背面雾滴均匀一致为宜。为探索施药间隔, 分别设 7、12 d 施药 1 次, 连续施药 3 次, 在第 3 次施药 7、12 d 后调查草莓叶片发病情况。

1.2.2 田间预防试验。于 2015 年 10 月底在河北栾城大棚草莓基地进行试验。选草莓生长初期 6~10 片叶, 未感染白粉病时进行试验, 前茬作物为番茄, 中等肥力, 砂壤土。试验设计、分组、剂量等同“1.2.1”, 于发病前第 1 次施药, 分别间隔 7、12 d 施药, 连续施药 3 次, 在第 3 次施药 7、10 d 后调查草莓发病情况。

1.2.3 调查方法。

1.2.3.1 预防和治疗试验结果调查。每小区采用对角线 5

基金项目 北京市教育委员会创新能力提升计划项目(PXM2016_014209_000024)。

作者简介 杨晓方和师建华为同等贡献作者。杨晓方(1970-), 男, 山西平遥人, 讲师, 硕士, 从事微生物代谢研究; 师建华(1966-), 女, 河北石家庄人, 高级农艺师, 从事设施蔬菜栽培和工厂化育苗研究。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事植物源农药和微生物代谢研究。

收稿日期 2016-09-14

点取样法,每点调查 3 株,每株调查全部叶片正、反面白粉病发病情况。叶片病情分级标准:0 级,叶片无病斑;1 级,叶片病斑面积占整个叶面积的 5% 以下;3 级,病斑面积占整个叶面积的 6% ~ 15%;5 级,病斑面积占整个叶面积的 16% ~ 25%;7 级,病斑面积占整个叶面积的 26% ~ 50%;9 级,病斑面积占整个叶面积的 51% 以上。依据病情分级标准计算病情指数和防治效果。

病情指数 = $\sum[(\text{各级病叶数} \times \text{相对级数}) / (\text{调查总叶数} \times \text{最高级代表值})] \times 100$

防治效果 = $(\text{空白对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{空白对照病情指数} \times 100\%$

1.2.3.2 安全性调查。观察各处理区草莓叶片是否有药斑、发黄、植株矮化、萎蔫等药害。

1.3 数据处理 应用 SPSS 23.0 软件统计处理各组药效差异,采用邓肯氏新复极差法(DMRT)比较差异显著性。

2 结果与分析

2.1 10% BBR WP 对草莓白粉病的治疗效果 由表 1、2 可知,随稀释倍数的增加,10% BBR WP 治疗效果呈下降趋势,在试验剂量范围内药剂浓度越高,治疗效果越好。10% BBR WP 稀释 800、1 200、1 600 倍,7、12 d 施药 1 次,防效分别为

81.58%、79.05%、69.84% 和 73.95%、62.56% 和 56.93%。草莓白粉病严重发病时(病情指数 56.69),每 7 d 施药 1 次,10% BBR WP 稀释 800、1 200 倍与 50% 醚菌酯 WG 稀释 3 000 倍无明显区别,防效在 80% 左右;10% BBR WP 稀释 1 600 倍与对照醚菌酯比较,防效明显降低。每 12 d 施药 1 次,10% BBR WP 稀释 800 倍与醚菌酯稀释 3 000 倍无显著区别,当 10% BBR WP 稀释 1 200、1 600 倍时,其防效较低,在 62.56% 以下。

2.2 10% BBR WP 对草莓白粉病的预防效果 针对尚未感染白粉病的草莓,随稀释倍数的增加,10% BBR WP 预防效果呈下降趋势,即药剂浓度越高,预防效果越好,但防效随浓度变化不大。由表 1、2 可知,10% BBR WP 稀释 800、1 200、1 600 倍,每 7、12 d 施药 1 次,预防效果分别为 91.93%、88.88%、82.30% 和 88.39%、86.11%、81.07%。10% BBR WP 喷洒间隔为 7 d,稀释 800 或 1 200 倍防效在 88% 以上,较醚菌酯稀释 3 000 倍防治效果(86.79%)好,但未达到显著差异;当 10% BBR WP 稀释 1 600 倍时防效为 82.30%,与对照醚菌酯预防效果无显著差异。10% BBR WP 喷洒间隔 12 d,稀释 800、1 200、1 600 倍均与醚菌酯稀释 3 000 倍无显著区别,防效均在 80% 以上。

表 1 10% BBR WP 对草莓白粉病的防治效果(喷药间隔 7 d)

Table 1 The precention and control efficacy of 10% BBR WP against strawberry powdery mildew (7 d spray interval)

药剂处理 Medicament	稀释倍数 Dilution ratio	治疗试验 Therapeutic test		预防试验 Prophylactic tria	
		病情指数 Disease index	防效 Control effect//%	病情指数 Disease index	防效 Control effect//%
CK		56.69		68.74	
50% 醚菌酯 WG	3 000	10.11 a	82.16 a	9.07 abc	86.79 abd
10% BBR WP	800	10.44 a	81.58 a	5.54 ab	91.93 e
10% BBR WP	1 200	11.87 ab	79.05 a	7.64 abc	88.88 bce
10% BBR WP	1 600	17.09 b	69.84	12.17 ac	82.30 abcd

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。

Note: Different lowercases in the same column stand for significant difference at 0.05 level among treatments.

表 2 10% BBR WP 对草莓白粉病的防治效果(喷药间隔 12 d)

Table 2 The precention and control efficacy of 10% BBR WP against strawberry powdery mildew (12 d spray interval)

药剂处理 Medicament	稀释倍数 Dilution ratio	治疗试验 Therapeutic test		预防试验 Prophylactic tria	
		病情指数 Disease index	防效 Control effect//%	病情指数 Disease index	防效 Control effect//%
CK		62.70		60.33	
50% 醚菌酯 WG	3 000	10.93 a	82.56 a	7.38 a	87.75 a
10% BBR WP	800	16.33 a	73.95 a	7.01 a	88.39 a
10% BBR WP	1 200	21.67 b	62.56 b	8.38 a	86.11 a
10% BBR WP	1 600	23.33 b	56.93 b	10.80 a	81.07 a

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。

Note: Different lowercases in the same column stand for significant difference at 0.05 level among treatments.

2.3 对草莓的安全性 与对照和施用醚菌酯的植株相比,10% BBR WP 预防和治疗的草莓植株长势好,叶片颜色深绿,未发现叶片畸形、萎蔫、矮化和发黄等药害,说明 10% BBR WP 在试验浓度范围内不会对草莓的生长发育产生不良影响,10% BBR WP 对草莓是安全的。

3 结论与讨论

该研究表明,10% BBR WP 对草莓白粉病具有较强的预

防和治疗作用,且防效与醚菌酯无明显差别。低温高湿是白粉病大暴发的主要原因之一^[1],2015 年 10 月底至 11 月试验期间河北石家庄、北京地区多为低温、阴雨、雪天或雾霾天,大棚内湿度大,白粉病迅速蔓延,空白对照区白粉病发病迅速,发病率高达 68.74%。该研究设计喷药间隔 7、12 d,治疗组结果表明喷药间隔 7 d 时 10% BBR WP 稀释 1 200 倍能与醚菌酯保持相对一致的防效;当喷药间隔在 12 d 时,10%

BBR WP 稀释 800 倍能与咪菌酯防效有明显区别,故对于发病严重的草莓白粉病喷药间隔以 7 d 为宜,喷药间隔超过 12 d,白粉病发病率迅速增加,与咪菌酯比较,出现防效降低的趋势,说明在相同条件下 BBR 的防效期较咪菌酯短。植物源农药的特点之一是在环境中易降解,半衰期短^[8-9],推测这可能是导致 BBR 防效期比化学农药咪菌酯短的原因之一,其他原因有待于进一步研究。

预防治疗,即温度、湿度适合草莓白粉病发病,但尚未出现症状时用药。该研究表明,间隔 7 d 喷施 10% BBR WP 稀释 800、1 200 倍的预防效果较咪菌酯好,当 10% BBR WP 稀释 1 600 倍防效与咪菌酯相同;间隔 12 d 喷施 10% BBR WP 稀释 800、1 200、1 600 倍,其防治效果与咪菌酯无明显区别,且在试验浓度范围内,防治效果无明显差别。因此,预防用药,10% BBR WP 施药间隔在 12 d 左右,以稀释 1 200 ~ 1 600 倍为宜。该研究结果说明对于草莓白粉病,BBR 预防用药效率高于治疗用药。生物农药能增强多数作物的抗性,如黄瓜、烟草等^[10]。黄柏提取物能提高褐腐病菌感染桃的过氧化物酶、苯丙氨酸脱氨酶、几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶等防御酶活性,BBR 为黄柏的主要成分之一,推测 BBR 防治草莓白粉病与其提高寄主防御能力有关^[11]。

目前,白粉病的防治主要使用咪菌酯、腈菌唑、四氟醚唑、氟硅唑等化学农药^[12]。长期施用单一杀菌剂,导致病菌对其产生抗药性,防治效果下降。BBR 是异喹啉生物碱,存在于小檗科等 4 科 10 属植物中,其杀菌性和安全性已得到反复验证^[13]。BBR 对西瓜白粉病菌^[14]、桃褐腐病菌^[4]、茼蒿霜霉病菌、番茄早疫病、西瓜枯萎菌、苹果落叶斑菌、葡萄柄孢菌等表现出较强的抑制效果^[15],说明 BBR 作为农用杀菌剂抗菌谱较广,同时其工业化提取工艺成熟,价格低廉,高效、安全,因此,BBR 作为防治草莓白粉病的天然杀菌剂具有

广阔的应用前景,但其作用机制仍有待于深入研究。

参考文献

- [1] 张建军,刘红,李霞.不同有机肥配施对大棚草莓品质及土传病害发生率的影响[J].安徽农业大学学报,2013,40(1):65-69.
- [2] ZHANG Y Y,ZENG L Z,YANG J L,et al.6-Benzylaminopurine inhibits growth of *Monilinia fructicola* and induces defense-related mechanism in peach fruit[J].Food Chem,2015,187:210-217.
- [3] HOU D Y,YAN C Q,LIU H X,et al.Berberine as a natural compound inhibits the development of brown rot fungus *Monilinia fructicola*[J].Crop protection,2010,29(9):979-984.
- [4] 葛喜珍,李可意,刘学尧,等.小檗碱复方对桃褐腐病的田间防效和安全性评价[J].安徽农业科学,2015,43(10):124-125.
- [5] DOMADIA P N,BHUNIA A,SIVARAMAN J,et al.Berberine targets assembly of *Escherichia coli* cell division protein FtsZ[J].Biochemistry,2008,47(10):3225-3234.
- [6] YAO J,KONG W J,JIANG J D.Learning from berberine:Treating chronic diseases through multiple targets[J].Sci China (Life Sci),2015,58(9):854-859.
- [7] 葛喜珍,张思路,李可意,等.一种防治果蔬褐腐病、蚜虫的可湿性粉剂及其制备方法:CN103975962A[P].2014-08-13.
- [8] YANG X J,YANG L J,ZENG F S,et al.Distribution of baseline sensitivities to natural product physson among isolates of *Sphaerotheca fuliginea* and *Pseudoperonospora cubensis*[J].Plant disease,2008,92(10):1451-1455.
- [9] 张兴,马志卿,冯俊涛,等.植物源农药研究进展[J].中国生物防治学报,2015,31(5):685-698.
- [10] SCHNEIDER S,ULLRICH W R.Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers[J].Physiol Mol Plant Pathol,1994,45(4):291-304.
- [11] FENG X Y,WANG B G,LI W S,et al.Preharvest application of Phellodendron Bark extracts controls brown rot and maintains quality of peach-shaped peach[J].Horts Cience,2008,43(6):1857-1863.
- [12] 张焕春,尹国香,刘学卿,等.保护地南瓜白粉病的发生及综合防治技术研究[J].安徽农业科学,2014,42(2):431-443.
- [13] WANG Y.Comprehensive study in the inhibitory effect of berberine on gene transcription,including TATA box[J].PLoS One,2011,6:23495.
- [14] 张珍,周小军,陈礼威,等.0.5%小檗碱水剂对大棚西瓜白粉病的防治效果[J].长江蔬菜,2011(1):48.
- [15] 阮元,任伟,申进文,等.盐酸小檗碱对植物病原真菌抑制作用及其抑菌的生理指标分析[J].河南农业大学学报,2014,48(2):194-198.
- [16] SHIMIZU Y,IMAOKA M,YANO S,et al.Sensitive enzymatic method for the quantification of theanine,a principal umami component of commercial tea beverages[J].Food Sci Technol Res,2013,19(5):909-913.
- [17] 马雪沈,邹鹏飞,王荡强,等.纸层析-分光光度法检测茶氨酸[J].植物生理学报,2012,48(4):413-417.
- [18] 龚雨顺,黄建安,崔湘兴,等.离子对色谱法测定茶叶中的茶氨酸[J].茶叶科学,2008,28(2):89-92.
- [19] 刘小力,李想.茶叶中茶氨酸含量的测定方法研究[J].食品科学,2009,30(14):281-284.
- [20] 张佳,王川杰,阮建云.GC-MS及GC测定茶叶中主要游离氨基酸的方法研究[J].茶叶科学,2010,30(16):445-452.
- [21] 赵颀,阙斐,周晓红,等.柱后补偿液相色谱与电雾式检测器结合测定茶氨酸含量[J].食品工业科技,2013,34(1):317-318.
- [22] 李银花,刘仲华,黄建安.手性衍生-高效液相色谱法拆分和定量测定茶氨酸对映体[J].色谱,2007,25(5):719-722.

(上接第 71 页)

- [4] RANA A,SINGH H P,GULATI A.Concurrent analysis of theanine,caffeine,and catechins using hydrophobic selective C_{12} stationary phase[J].J Liquid Chromatogr Relat Technol,2015,38(6):709-715.
- [5] HARA Y.Green tea:Health benefits and applications[M].New York:Food Science and Technology,Marcel Dekker,Inc.,2001.
- [6] SONG H J,KIM Y D,JEONG M J,et al.Rapid selection of theanine-rich green tea (*Camellia sinensis* L.) trees and metabolites profiling by fourier transform near-infrared (FT-IR) spectroscopy[J].Plant Biotechnol Rep,2015,9(2):55-65.
- [7] HANCU G,SIMON B,RUSU A,et al.Principles of micellar electrokinetic capillary chromatography applied in pharmaceutical analysis[J].Adv Pharm Bull,2013,3(1):1-8.
- [8] 张峻萍,方从兵,宛晓春,等.茶叶中茶氨酸的胶束电动毛细管电泳定量方法初步研究[J].茶叶通报,2006,28(3):108-110.