

生物农药与化学农药复配对桃枝枯病菌的毒力

尤春梅¹,高汝佳¹,黄沈鑫¹,汪孝瑞¹,纪兆林^{1*},董京萍¹,童蕴慧¹,宋宏峰²,徐敬友¹ (1.扬州大学园艺与植物保护学院,江苏扬州 225009;2.江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014)

摘要 [目的]明确生物农药和化学农药复配对桃枝枯病菌的抑制效果。[方法]采用菌丝生长抑制法,测定10种生物药剂对桃枝枯病菌的毒力,将毒力强的生物农药与化学农药咪鲜胺、多菌灵和烯唑醇进行复配,探讨复配剂对桃枝枯病菌的联合毒力效果。[结果]毒力作用最强的生物农药是中生菌素,其次是中嗪霉素和梧宁霉素,其抑制中浓度(EC_{50})分别为0.041 9、0.231 4和0.655 4 $\mu\text{g/mL}$,与3种化学药剂复配,发现中嗪霉素与3种化学农药复配均达到增效作用,而中生菌素和梧宁霉素与化学农药复配大多配比具有增效作用或相加作用。[结论]生物农药与化学农药复配能增加对桃枝枯病菌的毒力。
关键词 桃枝枯病菌;生物农药;杀菌剂;毒力测定;复配
中图分类号 S436.621.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)15-152-03

Virulence of Biopesticide and Fungicide Complexes on the Pathogen of Peach Shoot Blight
YOU Chun-mei, GAO Ru-jia, HUANG Shen-xin, JI Zhao-lin* et al (College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009)

Abstract [Objective] To screen the effective biopesticides and their mixtures with fungicides against the pathogen *Phomopsis amygdali* of peach shoot blight. [Method] The virulence of 10 biopesticides against *P. amygdali* was tested in the laboratory by mycelial growth inhibition method, and then the mixtures of biopesticides with high virulence and prochloraz, carbendazim and diniconazole respectively, were detected for their laboratory toxicities. [Result] Zhongshengmycin had the strongest virulence, with EC_{50} value of 0.041 9 $\mu\text{g/mL}$, and shenqinmycin and tetramycin had better antimicrobial effects, with EC_{50} values of 0.231 4 and 0.655 4 $\mu\text{g/mL}$, respectively. When shenqinmycin was mixed with the three fungicides in different proportion, the synergistic ratio (SR) values were all greater than 1.5, having increased toxicity effect. When mixed with the three fungicides, zhongshengmycin and tetramycin had mixed ratios for additive and synergistic toxicity effects. [Conclusion] The study indicates that the biopesticides mixed with chemical fungicides can increase the toxicity to *P. amygdali*.
Key words Peach shoot blight; Biopesticides; Fungicides; Virulence; Synergism

桃枝枯病,又名缢缩性溃疡病,由桃拟茎点霉(*Phomopsis amygdali*)引起,是近几年我国南方桃产区(如江苏无锡、常州和浙江嘉兴等)新出现并发生严重的病害^[1-4]。该病曾在美国东部沿海地区发生和流行^[5-6]。该病主要侵染新梢,通常在新梢基部出现褐斑,后环状缢缩扩展,致使叶片枯黄、脱落和新枝枯死或折梢枯死,直接影响桃树生长和果实产量^[3-4]。

目前,生产上对桃枝枯病的防治以化学防治为主,缺乏生物防治。化学农药防治桃枝枯病一般采用多菌灵、甲基硫菌灵、咪鲜胺、苯醚甲环唑等杀菌剂^[7-8],如果这些杀菌剂在果园常年使用及用药量不断增加,会使病菌产生抗药性,导致的环境污染也日益严重。生物防治具有对人畜安全、环境兼容性好、病菌不易产生抗药性等优点,因而日益引起人们的关注,但是生物防治也存在田间药效慢、防效不稳定等问题。而生物与化学相结合的病虫害防治策略受到各国植物保护专家的重视,因其既能有效控制病虫害,又能降低化学农药使用量,符合我国农药减量政策。目前,利用生物性药剂及其与化学农药复配防治桃枝枯病的研究鲜见报道。鉴于此,笔者通过室内毒力测定方法对有效抑制桃枝枯病菌的生物性农药进行了筛选,并探讨了其与化学农药复配对病

菌的毒力效果,旨在为桃枝枯病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株。桃枝枯病菌为实验室保存菌株 ZN32。试验前于 PDA 平板上活化。

1.1.2 供试药剂。选择10种生物农药进行室内毒力测定,其中包括微生物源农药8种:2%武夷霉素水剂(山东省潍坊万胜生物农药有限公司),2%宁南霉素水剂(黑龙江强尔生化技术开发有限公司),10%多抗霉素可湿性粉剂(住商农资广州有限公司),2%春雷霉素水剂(广东省江门市植保有限公司),0.3%梧宁霉素水剂(辽宁微克生物工程有限公司),3%中生菌素可湿性粉剂(广东省深圳诺普信农化股份有限公司),1%申嗪霉素悬浮剂(上海农乐生物物品股份有限公司),10%井冈霉素水剂(福建凯立生物制品有限公司);植物源农药2种:0.5%小檗碱水剂(浙江华京生物科技开发有限公司),1%蛇床子素水乳剂(江苏省科农化有限责任公司)。与生物农药复配的化学农药有96%咪鲜胺原药(江苏辉丰农化有限公司),98%多菌灵原药(江苏省太仓市农药厂有限公司),92%烯唑醇原药(江苏建农农药化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 单剂的毒力测定。在无菌条件下,将供试药剂溶解后以灭菌水适当稀释,配制成 1×10^4 mg/L母液。将各药剂用无菌水稀释配制成不同浓度的含药PDA平板。病菌在PDA上25℃培养5d后,用打孔器在菌落边缘打直径6mm的菌饼,用接种针移至含药PDA平板中央。每处理4次重复,另设不含药PDA为对照。移菌后将PDA平板置于25℃

基金项目 扬州大学大学生创新创业训练计划项目(x2015652);江苏省无锡市农业科技支撑项目(CLEO1N1410);江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(14)2015,CX(15)1020];现代农业产业技术体系建设专项(CARS-31-2-02)。
作者简介 尤春梅(1995-),女,江苏盐城人,本科生,专业:植物保护。*通讯作者,副教授,博士,从事植物病害防治及分子植物病理学研究。
收稿日期 2016-04-20

下培养,5 d 后测量菌落直径,并减去接菌饼直径 6 mm,获得菌落增长直径。计算出各药剂浓度的菌丝生长抑制率[菌丝生长抑制率=(对照菌落增长直径-处理菌落增长直径)/对照菌落增长直径×100%]。对药剂浓度对数(横坐标)及对应的菌丝生长抑制率几率值(纵坐标)进行回归分析,求出毒力回归方程: $y = a + bx$,并计算出药剂的 EC_{50} 和相关系数。

1.2.2 复配药剂的毒力测定。选用对桃枝枯病菌抑菌作用强的生物农药(以 A 表示)分别和化学农药咪鲜胺、多菌灵、烯唑醇(以 B 表示)按有效成分 1:1、1:3 和 3:1 比例进行两两复配,制成混剂。移接桃枝枯病菌菌饼(直径 6 mm)分别至含不同浓度配比混剂的 PDA 平板中央,每处理 3 次重复。25 ℃ 培养 5 d 后测量菌落直径,计算各配比混剂对病菌菌丝生长的抑制率。按药剂浓度对数-菌丝生长抑制率几率值建立菌株不同配比混剂的毒力回归方程,计算 EC_{50} 。根据 Wadley 法评价 A 与 B 混合后的联合毒力作用,计算 SR (增效比)^[9]。

$$EC_{50(th)} = (a + b) / [a / EC_{(A)50} + b / EC_{(B)50}]$$
$$SR = EC_{50(th)} / EC_{50(ab)}$$

式中, a 、 b 分别为单剂在混剂中的比例; $EC_{(A)50}$ 、 $EC_{(B)50}$ 分别为 a 、 b 单剂的 EC_{50} 实测值; $EC_{50(th)}$ 为混剂的 EC_{50} 理论值; $EC_{50(ab)}$ 为混剂的 EC_{50} 实测值; SR 表示 a 、 b 单剂混合后的相互作用,当 $SR < 0.5$ 时为拮抗作用,当 $SR = 0.5 \sim 1.5$ 时为相加作用,当 $SR > 1.5$ 时为增效作用。

2 结果与分析

2.1 不同单剂对桃枝枯病病菌的毒力 由表 1 可知,毒力

最强的生物农药是 中生菌素, EC_{50} 为 0.041 9 μg/mL;其次是 申喹霉素、梧宁霉素和 春雷霉素, EC_{50} 分别为 0.231 4、0.655 4 和 2.254 5 μg/mL。而 宁南霉素、小檗碱和 井冈霉素等 抑菌作用较差, EC_{50} 均值超过 100 μg/mL,特别是 井冈霉素的 EC_{50} 达 14 742.038 3 μg/mL(表 1)。因此,可选用 中生菌素、申喹霉素和梧宁霉素与化学农药进行复配。

表 1 不同生物农药对桃枝枯病菌的毒力

生物农药 Biopesticides	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient (r^2)	EC_{50} μg/mL
中生菌素 Zhongshengmycin	$y = 0.248\ 0x + 0.841\ 7$	0.842 1	0.041 9
申喹霉素 Shenqinmycin	$y = 0.460\ 5x + 0.792\ 7$	0.889 9	0.231 4
梧宁霉素 Tetramycin	$y = 0.717\ 1x + 0.631\ 6$	0.995 3	0.655 4
春雷霉素 Kasugamycin	$y = 0.545\ 8x + 0.307\ 3$	0.893 4	2.254 5
蛇床子素 Osthole	$y = 0.407\ 8x + 0.031\ 2$	0.982 4	14.108 5
多抗霉素 Polyoxin	$y = 0.771\ 0x - 0.646\ 4$	0.947 5	30.681 7
武夷霉素 Astromicin	$y = 0.453\ 3x - 0.320\ 0$	0.963 2	64.410 5
宁南霉素 Ningnanmycin	$y = 0.890\ 5x - 1.311\ 6$	0.950 8	108.233 8
小檗碱 Berberine	$y = 0.903\ 7x - 1.669\ 2$	1	251.393 5
井冈霉素 Validamycin	$y = 0.370\ 2x - 1.043\ 2$	0.862 0	14 742.038 3

2.2 复配药剂对桃枝枯病菌的毒力 由表 2 可知,中生菌素与咪鲜胺在 1:1 和 1:3 配比的 SR 值均大于 1.5,表现为增效作用,在配比为 3:1 时表现为相加作用;中生菌素与多菌灵的 3 种配比的 SR 值均大于 1.5,均表现为增效作用;中生菌素与烯唑醇在 1:1 复配时表现为增效作用,1:3 和 3:1 比例复配时 SR 值分别为 1.05 和 0.83,均表现为相加作用。

表 2 中生菌素与化学药剂不同配比对桃枝枯病菌的联合毒力

药剂 Fungicides	配比 Ratio	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(r^2) Correlation coefficient	$EC_{50(th)}$ μg/mL	$EC_{50(ab)}$ μg/mL	SR
中生菌素 Zhongshengmycin		$y = 0.248\ 0x + 0.841\ 7$	0.842 1		0.041 9	
咪鲜胺 Prochloraz		$y = 0.511\ 6x + 1.692\ 3$	0.909 9		0.004 7	
多菌灵 Carben-dazim		$y = 0.963\ 1x + 2.002\ 3$	0.925 7		0.027 6	
烯唑醇 Diniconazole		$y = 0.465\ 9x + 1.021\ 0$	0.949 7		0.076 2	
中生菌素-咪鲜胺	1:1	$y = 0.407\ 6x + 1.501\ 6$	0.915 8	0.008 5	0.003 5	2.43
Zhongshengmycin-prochloraz	1:3	$y = 0.341\ 8x + 1.438\ 3$	0.977 2	0.006 0	0.001 8	3.33
	3:1	$y = 0.296\ 6x + 1.340\ 8$	0.987 7	0.014 1	0.012 8	1.10
中生菌素-多菌灵	1:1	$y = 0.206\ 1x + 1.109\ 6$	0.729 8	0.033 3	0.005 1	6.53
Zhongshengmycin-carben-dazim	1:3	$y = 0.317\ 6x + 1.197\ 3$	0.631 3	0.030 2	0.006 5	4.65
	3:1	$y = 0.306\ 6x + 1.117\ 8$	0.674 7	0.037 1	0.006 2	5.98
中生菌素-烯唑醇	1:1	$y = 0.292\ 0x + 1.135\ 9$	0.961 1	0.054 1	0.006 6	8.20
Zhongshengmycin-diniconazole	1:3	$y = 0.350\ 0x + 1.192\ 0$	0.844 6	0.063 3	0.060 5	1.05
	3:1	$y = 0.375\ 0x + 1.208\ 4$	0.838 4	0.047 2	0.057 0	0.83

由表 3 可知,申喹霉素与咪鲜胺、多菌灵、烯唑醇不同配比的 SR 值均大于 1.5,均表现为增效作用,在配比为 3:1、3:1 和 1:1 时的增效作用最明显, SR 值分别为 4.02、2.09 和 8.19。

由表 4 可知,梧宁霉素与咪鲜胺配比为 1:3 的 SR 值为 5.73,表现为增效作用,而配比 1:1 和 3:1 的 SR 值分别为 1.35 和 1.15,表现为相加作用;梧宁霉素与多菌灵配比 1:1

为增效作用,1:3 时为相加作用,3:1 时表现为拮抗作用;梧宁霉素与烯唑醇复配除了 3:1 配比表现为相加作用外,其他 2 个配比(1:1 和 1:3)的 SR 值分别为 1.79、1.86,均为增效作用。

3 结论与讨论

室内毒力测定结果表明,10 种生物药剂对桃枝枯病菌菌丝生长都有不同程度的抑制作用。从 EC_{50} 来看,抑菌能力

表 3 申喹霉素与化学药剂不同配比对桃枝枯病菌的联合毒力

Table 3 The joint-toxicity of shenqinmycin-chemical agent ratio to peach shoot blight

药剂 Fungicides	配比 Ratio	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(r^2) Correlation coefficient	$EC_{50(th)}$ $\mu\text{g/mL}$	$EC_{50(ob)}$ $\mu\text{g/mL}$	SR
申喹霉素 Shenqinmycin		$y = 0.460\ 5x + 0.792\ 7$	0.889 9		0.231 4	
咪鲜胺 Prochloraz		$y = 0.511\ 6x + 1.692\ 3$	0.909 9		0.004 7	
多菌灵 Carbendazim		$y = 0.963\ 1x + 2.002\ 3$	0.925 7		0.027 6	
烯唑醇 Diniconazole		$y = 0.465\ 9x + 1.021\ 0$	0.949 7		0.076 2	
申喹霉素-咪鲜胺	1:1	$y = 0.225\ 0x + 1.257\ 7$	0.957 8	0.009 2	0.004 1	2.24
Shenqinmycin-prochloraz	1:3	$y = 0.220\ 0x + 1.099\ 6$	0.935 6	0.006 2	0.001 9	3.26
	3:1	$y = 0.385\ 0x + 1.409\ 2$	0.984 0	0.017 7	0.004 4	4.02
申喹霉素-多菌灵	1:1	$y = 0.411\ 2x + 1.127\ 0$	0.999 6	0.049 3	0.029 9	1.65
Shenqinmycin-carbendazim	1:3	$y = 0.409\ 7x + 1.202\ 0$	0.815 6	0.035 4	0.019 4	1.82
	3:1	$y = 0.434\ 5x + 1.111\ 7$	0.988 3	0.081 6	0.039 1	2.09
申喹霉素-烯唑醇	1:1	$y = 0.285\ 0x + 1.025\ 8$	0.899 5	0.114 6	0.014 0	8.19
Shenqinmycin-diniconazole	1:3	$y = 0.400\ 0x + 1.133\ 7$	0.996 7	0.091 6	0.026 0	3.52
	3:1	$y = 0.400\ 0x + 1.127\ 1$	0.999 2	0.153 3	0.027 1	5.66

表 4 梧宁霉素与化学药剂不同配比对桃枝枯病菌的联合毒力

Table 4 The joint-toxicity of tetramycin-chemical agent ratio to peach shoot blight

药剂 Fungicides	配比 Ratio	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(r^2) Correlation coefficient	$EC_{50(th)}$ $\mu\text{g/mL}$	$EC_{50(ob)}$ $\mu\text{g/mL}$	SR
梧宁霉素 Tetramycin		$y = 0.717\ 1x + 0.631\ 6$	0.995 3		0.655 4	
咪鲜胺 Prochloraz		$y = 0.511\ 6x + 1.692\ 3$	0.909 9		0.004 7	
多菌灵 Carbendazim		$y = 0.963\ 1x + 2.002\ 3$	0.925 7		0.027 6	
烯唑醇 Diniconazole		$y = 0.465\ 9x + 1.021\ 0$	0.949 7		0.076 2	
梧宁霉素-咪鲜胺	1:1	$y = 0.229\ 0x + 0.994\ 9$	0.941 6	0.009 3	0.006 9	1.35
Tetramycin-prochloraz	1:3	$y = 0.166\ 0x + 0.989\ 0$	0.905 3	0.006 3	0.001 1	5.73
	3:1	$y = 0.242\ 0x + 0.935\ 8$	0.996 7	0.018 4	0.015 8	1.15
梧宁霉素-多菌灵	1:1	$y = 0.324\ 5x + 1.121\ 8$	0.995 9	0.052 9	0.012 1	4.37
Tetramycin-carbendazim	1:3	$y = 0.473\ 4x + 1.248\ 5$	0.764 8	0.036 3	0.026 2	1.39
	3:1	$y = 0.865\ 4x + 1.096\ 8$	0.969 1	0.098 0	0.204 3	0.48
梧宁霉素-烯唑醇	1:1	$y = 0.350\ 0x + 0.892\ 0$	0.995 7	0.136 3	0.075 9	1.79
Tetramycin-diniconazole	1:3	$y = 0.340\ 0x + 0.935\ 7$	0.999 7	0.097 6	0.052 4	1.86
	3:1	$y = 0.275\ 0x + 0.707\ 8$	0.817 6	0.225 9	0.175 4	1.29

最强的药剂是中生菌素,其次是申喹霉素、梧宁霉素等,而小檗碱、宁南霉素、井冈霉素等抑菌作用较差。与化学药剂复配之后,申喹霉素与 3 种化学农药复配均达到增效作用;除了与咪鲜胺 3:1 及烯唑醇 1:3 和 3:1 复配配比表现为相加作用,中生菌素与 3 种化学农药的其他配比均表现为增效作用;而梧宁霉素除了与多菌灵 3:1 配比复配表现拮抗作用外,与多菌灵其他配比及与其他农药复配均表现为相加或增效作用。

该研究突破了桃枝枯病目前以化学农药为主的防治对策的局限性,利用生物农药与低毒化学农药的协同作用进行防治研究,室内毒力复配测定结果表明中生菌素、申喹霉素与梧宁霉素与咪鲜胺、多菌灵和烯唑醇等化学农药复配,均有对桃枝枯病菌有明显抑制作用的复配配比,增效比大于 1.5。可选用生物农药与化学农药 1:1 复配比进一步进行田间防病试验,以确定防病效果。另外,复配药剂的田间使用

方法和防治技术有待进一步探索。

参考文献

[1] 尹良芬,马琼瑶,陈育. 桃溃瘍病的鉴定[J]. 西南农业学报,2011, 24(5):1748-1752.

[2] DAI F M,ZENG R,LU J P. First report of twig canker on peach caused by *Phomopsis amygdale* in China[J]. Plant disease,2012,96(2):288.

[3] 纪兆林,戴慧俊,金唯新,等. 桃枝枯病病原鉴定[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2013,34(4):94-98.

[4] 方丽,熊彩珍,顾立明,等. 桃枝枯病的症状及其病原鉴定[J]. 浙江农业学报,2013,25(1):103-107.

[5] LALANCETTE N,POLK D F. Estimating yield and economic loss from constriction canker of peach[J]. Plant disease,2000,84(9):941-946.

[6] TUSET J J,PORTILLA M T. Taxonomic status of *Fusicoccum amygdali* and *Phomopsis amygdalina*[J]. Canadian journal of botany, 1989, 67: 1275-1280.

[7] 纪兆林,戴慧俊,张慧琴,等. 不同杀菌剂对桃枝枯病菌的毒力和田间防效[J]. 果树学报,2013,30(2):281-284.

[8] 金唯新,戴慧俊,纪兆林,等. 桃枝枯病花前田间化学防治效果研究[J]. 安徽农业科学,2015,43(32):122,169.

[9] 韩丽娟,顾中言,王强,等. 农药复配与复配农药[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1994:31-51.