

猕猴桃溃疡病防治药剂室内筛选及田间防效

崔永亮, 郑晓琴*, 袁敏, 吴帆, 郑小华, 李利军, 庄启国, 王丽华, 钟润昕, 罗丹

(四川省自然资源科学研究院/中国-新西兰猕猴桃联合实验室, 四川成都 610015)

摘要 [目的] 筛选能有效防治猕猴桃溃疡病的化学药剂。[方法] 通过室内抑菌试验筛选出抑菌效果较好的药剂, 并进行毒力测定; 通过注干试验探究所筛选药剂对猕猴桃溃疡病的田间防治效果。[结果] 从 13 种药剂中筛选出 4 种抑菌效果较好的药剂, 其中盐酸土霉素抑菌效果最好, EC_{50} 为 $1\ 956\ \mu\text{g}/\text{mL}$; 田间防治效果最佳的配方是 1.000% 盐酸土霉素 + 0.005% 吲哚乙酸 + 0.500% NH_3NO_3 + 0.500% KNO_3 + 0.200% KH_2PO_4 , 猕猴桃溃疡病病斑愈合率达 72.3%。[结论] 树干钻孔注射 1.000% 盐酸土霉素防治猕猴桃溃疡病效果较好。

关键词 猕猴桃溃疡病; 化学药剂; 筛选; 防治效果

中图分类号 S436.634.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)36-0177-02

Indoor Screening and Filed Control Effect of Bactericides against Kiwifruit Canker

CUI Yong-liang*, ZHENG Xiao-qin*, YUAN Min et al (Sichuan Academy of Natural Resource and Sciences, China-New Zealand Kiwifruit Joint Laboratory, Chengdu, Sichuan 610015)

Abstract [Objective] The aim was to screen the chemical bactericides which control PSA (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*) effectively. [Method] Indoor inhibition test was used in chemical bactericides screening, and the toxicity of bactericides screened were tested. The control efficacy in field was tested by injecting trunks trials. [Result] Four bactericides with better inhibitory effect were screened out from 13 chemicals, oxytetracycline hydrochloride soluble power was the best, EC_{50} of which was $1\ 956\ \mu\text{g}/\text{mL}$. The formula with 1.000% oxytetracycline hydrochloride soluble power + 0.005% heteroauxin + 0.500% NH_3NO_3 + 0.500% KNO_3 + 0.200% KH_2PO_4 against PSA was the best, and the spot healing rate against kiwifruit canker was 72.3%. [Conclusion] The kiwifruit canker could be controlled effectively by trunk injecting 1.000% Oxytetracycline hydrochloride soluble power.

Key words Kiwifruit canker; Chemical bactericides; Screen; Control effect

猕猴桃香味浓郁, 风味独特, 营养丰富。我国是猕猴桃原产国, 具有丰富的猕猴桃种质资源, 产业发展前景广阔。1980 年, 猕猴桃细菌性溃疡病首次在美国加利福尼亚州和日本静冈县发生^[1], 随后迅速在全球蔓延, 目前意大利、新西兰和智利等猕猴桃主产国以及中国陕西、四川等主产区均有发生, 造成了严重的经济损失, 成为制约猕猴桃产业健康发展的重要因素^[2]。国内外学者对猕猴桃溃疡病的发生流行规律^[3-4]、病原菌鉴定检测及侵染机制^[5-7]、防治方法措施^[8-10]等进行了大量研究, 以减轻猕猴桃溃疡病的发病程度、减缓病害流行扩散, 最终解决猕猴桃溃疡病问题。

近几年四川省猕猴桃溃疡病发生面积逐年扩大, 患病果园平均发病率达 23.15%, 严重的达 30%~40%, 甚至出现毁园现象^[11]。笔者进行了猕猴桃溃疡病防治药剂室内筛选和田间防效试验, 以期对猕猴桃溃疡病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种。猕猴桃溃疡病原菌(PSA, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*)由四川省自然资源科学研究院提供。

1.1.2 供试培养基。牛肉膏蛋白胨(NA)培养基^[12]: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, 琼脂 7 g, 酵母膏 1 g, 蔗糖 10 g, 氯化钠 5 g, 加水 1 000 mL 溶解后煮沸, 调节 pH 至 7.0~7.2, 121 °C 湿热

灭菌 30 min。

1.1.3 供试药剂。选择主要用于细菌性病害防治的农药及抗生素制剂, 部分已应用于猕猴桃溃疡病的防治^[13], 使用浓度为作物上推荐浓度, 药剂名称及剂型见表 1。

1.1.4 施药工具。大树输液袋由四川国光农化股份有限公司生产; TSR 1080 手持式充电电钻。

表 1 防治药剂的品种、剂型及使用浓度

Table 1 The types of chemicals, dosage form and its using concentration

序号 No.	药剂名称 Chemicals name	剂型 Dosage form	药液浓度 Liquid concentration $\mu\text{g}/\text{mL}$
1	中生菌素	SL	125.0
2	青霉素钠	SL	200.0
3	72% 农用硫酸链霉素	SP	500.0
4	嘧啶核苷类	WP	250.0
5	50% 春雷王铜	WP	1 000.0
6	盐酸土霉素	WP	490.0
7	阿莫西林	WP	62.5
8	80% 代森锌	WP	5 000.0
9	叶枯唑	WP	200.0
10	春雷霉素	WP	100.0
11	溴菌腈	WDG	300.0
12	噻唑锌	WDG	200.0
13	代森锌	SC	200.0

1.2 试验地概况 田间防效试验在四川都江堰胥家镇猕猴桃产业园进行。试验地海拔 690 m, 气候类型属中亚热带湿润气候, 年均气温 15.2 °C, 年均降水量 1 225.4 mm, 年日照时数 1 024.4 h, 平均相对湿度 81%, 年均无霜期 280 d。供

基金项目 四川省省级公益性科研院所基本科研业务费项目(2012年); 科技支撑计划项目(2013JZ0003)。

作者简介 崔永亮(1981-), 男, 河南获嘉人, 副研究员, 从事园艺植物的病原鉴定、病害流行及防控研究。* 通讯作者, 副研究员, 从事园艺植物的育种、栽培及病虫害防控研究。

收稿日期 2016-11-08

试品种为红阳猕猴桃,树龄6年,溃疡病发病较严重。

1.3 方法

1.3.1 室内药剂筛选试验。

1.3.1.1 菌悬液的制备。取猕猴桃溃疡病发病枝条,洗净,乙醇消毒,取适量患病褐色组织,于少量无菌水中捣碎,静置5 min。蘸取菌液在NA培养基上划线,28℃培养48 h,挑取小圆形、稍隆起、白色稀汤状且有光泽菌落,于NA培养基上培养。纯化3次后,挑取单一菌落于3.0 mL无菌水中,制成猕猴桃溃疡病病原菌悬液。

1.3.1.2 药剂的筛选。采用牛津杯法^[14]。取等量猕猴桃溃疡病病原菌悬液制备一批带菌NA培养基,在带菌培养基中放入牛津杯,分别向牛津杯中加入0.2 mL配制或推荐使用浓度的各药剂溶液(悬浮液),以无菌水为对照。培养基于4℃保存15 min以便药剂渗透,再转入28℃培养箱中培养48 h。测定各处理抑菌圈大小,并结合透明度选出效果较好的药剂。透明度标准:“+”表示抑菌圈仅与周围菌群有颜色差别,不透明,边界不明显;“++”表示能明显看出抑菌圈与菌群的边界,抑菌圈内菌色很淡;“+++”表示抑菌圈的颜色基本接近NA培养基的透明原色;“++++”表示抑菌圈完全透明,完全抑制了圈内病菌的生长。采用以下公式计

算菌落生长抑制率^[14]:

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径})}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$$

式中,菌落直径为培养皿直径与抑菌圈直径之差。

1.3.1.3 药剂毒力的测定。根据抑菌圈大小测算药剂毒力。以药剂浓度(mg/kg)的对数值为自变量,抑菌生长率的几率值为因变量,建立毒力回归方程,求出各药剂的EC₅₀,比较药剂毒力。

1.3.2 田间防效试验。采用注干方法进行猕猴桃溃疡病田间防治试验。选取室内抑菌效果最好的药剂,配制不同处理浓度,设8个处理(表2),3次重复,每小区6株猕猴桃溃疡病病株,随机区组排列。试验前调查并标记每株树上所有病斑,以病斑表皮下产生青色愈伤组织且病斑以上枝条不枯死作为愈合病斑^[13],注干结束3个月后调查病斑愈合率,计算田间防治效果。

$$\text{病斑愈合率} = \frac{\text{防治后病斑愈合数}}{\text{防治前病斑总数}} \times 100\%$$

$$\text{防治效果} = \frac{\text{处理区病斑愈合率} - \text{对照区病斑愈合率}}{1 - \text{对照区病斑愈合率}} \times 100\%$$

表2 田间试验用的配方药剂及其他组分的比例

Table 2 The formula and its components in field injection trial

处理编号 Treat No.	配方中各组分含量 Formula composition // %						蒸馏水 Distilled water mL
	硫酸链霉素 Streptomycin sulfate	盐酸土霉素 Oxytetracycline hydrochloride	吲哚乙酸 Indoleacetic acid	硝酸钾 Potassium nitrate	硝酸铵 Ammonium nitrate	磷酸二氢钾 Potassium dihydrogen phosphate	
CK	—	—	—	—	—	—	500
T ₁	—	0.100	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₂	—	0.500	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₃	—	1.000	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₄	—	2.000	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₅	—	5.000	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₆	—	10.000	0.005	0.500	0.500	0.200	500
T ₇	0.125	—	0.005	0.500	0.500	0.200	500

2 结果与分析

2.1 猕猴桃溃疡病防治药剂初筛结果 由表3可知,所有供试药剂中,盐酸土霉素、中生菌素、阿莫西林、青霉素钠的

表3 不同药剂对猕猴桃溃疡病病原菌的抑制作用

Table 3 The inhibition effect of different bactericides against PSA

序号 No.	供试药剂 Chemicals	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter // mm	透明度 Transparency
1	中生菌素	41	++++
2	青霉素钠	45	+++
3	72%农用硫酸链霉素	35	+++
4	嘧啶核苷类	37	+++
5	50%春雷王铜	24	++
6	盐酸土霉素	48	++++
7	阿莫西林	40	++++
8	80%代森锌	28	++
9	叶枯唑	27	++
10	春雷霉素	28	+++
11	溴菌腈	39	+++
12	噻唑锌	21	++
13	代森锌	30	++

抑菌圈直径均在40 mm以上,抑制效果明显。综合考虑抑菌圈直径和透明度,初步筛选出盐酸土霉素、中生菌素进行毒力试验。硫酸链霉素是目前防治溃疡病普遍使用的药剂,所以以农用硫酸链霉素作为毒力测定的对照药剂。

2.2 药剂对猕猴桃溃疡病病原菌的毒力 由表4可知,硫酸链霉素的EC₅₀为3 952 μg/mL,试验初步筛选出的2种药剂盐酸土霉素和中生菌素对猕猴桃溃疡病病原菌的毒力都高于硫酸链霉素,且盐酸土霉素毒力远高于中生菌素,其EC₅₀分别为1 956和3 240 μg/mL。

通过室内初筛,从13种药剂中选出4种对猕猴桃溃疡病病原菌具有较强抑制作用的药剂,其中盐酸土霉素毒力最强、抑菌效果最好。因此,选用盐酸土霉素配合适当的植物生长调节剂和营养成分进行田间防效试验。

2.3 药剂对猕猴桃溃疡病的田间防治效果 田间试验中,不同药剂配方注干施用后,对猕猴桃溃疡病均有一定的防治效果(表5)。不同浓度盐酸土霉素对于猕猴桃溃疡病的防

来发展的新方向。近几年,古城智慧城市的建设应继续进行。“智慧城市”的运行将极大地提升城市功能和品位,给人们的生产生活带来深刻的变化。平遥人和游客都能够从“智慧城市”搭建的智慧平台中享受“智慧生活”,点亮“智能未来”^[5]。

4.6 防止过度商业化,寻求合理方式与现代文明恰当兼容 过度商业化是如今许多历史文化景区共同面临的一大难题,同样作为历史文化名城的平遥古城在其建设发展过程中也要着重防止过度商业化而导致对古城传统文化底蕴的破坏。同时,在现代文明介入的时候,要努力寻求一个合理的度,在不破坏古城原本文明的同时,恰当合理地适应现代文明的方式方法,不断推动古城文化的活化与进步,促进平

(上接第 178 页)

遥古城的建设与发展^[6]。

效均高于硫酸链霉素,其中 T_4 处理(2% 盐酸土霉素)防治效果最高,平均防效为 79.66%,但 2% 以上的盐酸土霉素处理会造成猕猴桃叶片萎蔫,新叶展开不足,这可能是由于药剂浓度过高造成的药害反应。综上所述,1% 的盐酸土霉素配合植物生长调节剂和营养元素制成的注干剂对猕猴桃溃疡病的防治效果最好,优于目前普遍使用的药剂硫酸链霉素。

表 4 药剂对猕猴桃溃疡病原菌的毒力

Table 4 The toxicity of bactericides against PSA

药剂处理 Treatments	回归方程 $y = a + bx$ Regression equation		相关系数(r) Correlation coefficient	EC ₅₀ μg/mL
	a	b		
硫酸链霉素	0.556 0	1.362 8	0.965 2	3 952
中生菌素	3.102 8	0.612 2	0.977 8	3 240
盐酸土霉素	0.442 6	1.380 7	0.993 8	1 956

表 5 不同药剂配方对猕猴桃溃疡病的防治效果

Table 5 The control effect of different chemicals formula against PSA in the field

处理编号 Treat No.	病斑愈合率 Spot healing rate//%	平均防效 Average control effect//%	植株生长情况 Growth situation
CK	3.33	—	—
T_1	59.00	58.97	正常
T_2	63.77	65.76	正常
T_3	72.33	72.10	正常
T_4	78.00	79.66	叶片萎缩
T_5	74.33	75.10	叶片萎缩
T_6	76.67	76.21	叶片萎缩
T_7	40.00	37.93	正常

3 结论与讨论

药剂防治是目前防治猕猴桃溃疡病的重要手段^[9]。该研究结合室内筛选和田间防治试验,筛选出 1 种对猕猴桃溃疡病具有一定防效的药剂——盐酸土霉素。室内筛选试验结果表明,盐酸土霉素对猕猴桃溃疡病原菌的抑制效果较强,龙友华等^[13]研究发现中生菌素在猕猴桃溃疡病防治上具有一定效果,而盐酸土霉素的抑菌效果和毒力均强于中生菌素。田间防治试验探究了适用于猕猴桃溃疡病防治的盐酸土霉素浓度,在不影响猕猴桃植株正常生长的情况下,1% 盐酸土霉素的防效最强,达 72.10%。

注干给药的优势在于药物活性成分能够迅速、充分地

参考文献

- [1] 王莉. 平遥古城旅游发展战略规划研究[D]. 西安:西安建筑科技大学, 2009.
- [2] 姜太芹,董培海. 我国历史文化名城旅游研究综述[J]. 西南石油大学学报(社会科学版), 2014(4): 106-113.
- [3] 曹素娟. 对平遥古城深层次旅游开发的研究[D]. 太原:山西财经大学, 2008.
- [4] 王静. 基于游客感知的旅游吸引力研究[D]. 北京:首都师范大学, 2012.
- [5] 徐萌蔚. 文化遗产开发和保护的思考:以平遥古城为例[J]. 经营管理者, 2016(13): 322.
- [6] 邵甬,胡力骏,赵洁,等. 人居型世界遗产保护规划探索:以平遥古城为例[J]. 城市规划学刊, 2016(5): 94-102.

与植株内部的病菌接触,不产生药剂飘移,操作简易,生效快、效果好。目前,该施药方法主要用于林业害虫的防治,如唐光辉等^[15]使用 14% 吡虫啉·敌敌畏注干剂杀除柳树上的光肩星天牛幼虫及成虫。该研究将注干给药应用于猕猴桃溃疡病的防治,有效解决了药物活性成分与猕猴桃溃疡病原接触面小、接触时间短、接触浓度低的问题,为猕猴桃溃疡病的防治提供了新途径。

该研究由于条件限制,未能进行全面的药剂筛选,具有一定的局限性,需要进一步加大药剂筛选范围,对配方进行改良,为猕猴桃溃疡病的防治提供更合理适宜的药剂和方法。

参考文献

- [1] 焦红红. 猕猴桃细菌性溃疡病防治药物的筛选[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2014.
- [2] 李黎,钟彩虹,李大卫,等. 猕猴桃细菌性溃疡病的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(5): 124-133.
- [3] 金平涛,冯华,吕岩. 猕猴桃溃疡病的发生特点和综合防治技术[J]. 植保技术与推广, 2003, 23(8): 27-28.
- [4] 秦虎强,高小宁,赵志博,等. 陕西猕猴桃细菌性溃疡病田间发生动态和规律[J]. 植物保护学报, 2013, 40(3): 225-230.
- [5] 赵利娜,胡家勇,叶振凤,等. 猕猴桃溃疡病原菌的分子鉴定和致病力测定[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(5): 604-608.
- [6] 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.
- [7] 黄其玲. 应用 GFPuv 标记技术研究猕猴桃溃疡病原菌在组织中的侵染扩展动态[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2013.
- [8] 宋晓斌,王培新,张学武,等. 猕猴桃细菌性溃疡病生物防治初步研究[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(1): 49-50.
- [9] 张锋,陈志杰,张淑莲,等. 猕猴桃溃疡病药剂防治技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(3): 71-75.
- [10] 魏海娟,刘萍,杨燕,等. 多羟基双萜醌提取物对猕猴桃溃疡病原菌的抑制作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(1): 126-130.
- [11] 胡容平,叶慧丽,夏全先,等. 四川猕猴桃溃疡病发生规律及防控对策[J]. 四川农业科技, 2016(1): 30-31.
- [12] 邵宝林,刘瑶,朱天辉,等. 猕猴桃溃疡病原菌的分子检测技术研究[J]. 植物病理学报, 2013, 43(5): 458-466.
- [13] 龙友华,夏锦书. 猕猴桃溃疡病防治药剂室内筛选及田间药效试验[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(10): 84-86.
- [14] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1991.
- [15] 唐光辉,何军,江志利,等. 14% 吡虫啉·敌敌畏注干液剂防治柳树天牛技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(1): 116-120.