

核桃细菌性黑斑病杀菌剂筛选及药效研究

譙天敏, 王 丽, 朱天辉*

(四川农业大学林学院, 温江 611130)

摘要 本文以黄单胞杆菌 *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* (Pierce Dowson) 为供试菌株, 选用不同浓度的 13 种杀菌剂进行室内毒力测定。结果表明: 有 10 种药剂对该菌有一定的抑制效果, 但只有 5 种杀菌剂能够产生明显的抑菌圈。其中, 四霉素和链霉素的抑菌效果最强, 最低抑菌浓度为 0.165、3 $\mu\text{g/mL}$, 抑菌率为 74.76%、69.23%, EC_{50} 为 12.764、35.318 $\mu\text{g/mL}$ 。其他依次为乙蒜素、中生菌素和春雷霉素。选用这 5 种杀菌剂进行盆栽防治试验, 四霉素和链霉素的平均防效达 74.60%、71.69%, 乙蒜素和中生菌素防效分别为 65.98%、58.40%, 春雷霉素防效最低为 39.38%。其结果与室内基本一致。室内试验及盆栽试验结果表明四霉素、链霉素、乙蒜素、中生菌素和春雷霉素可作为防治核桃黑斑病的杀菌剂, 其中四霉素为首选杀菌剂。

关键词 核桃; 细菌性黑斑病; 杀菌剂筛选; 防治效果

中图分类号: S 763.13 文献标识码: B DOI: 10.16688/j.zwbh.2019226

Screening of bactericides and their control effect against bacterial black spot disease of walnut

QIAO Tianmin, WANG Li, ZHU Tianhui*

(College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China)

Abstract Using *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* (Pierce Dowson) as the tested strain, indoor virulence of 13 kinds of bactericides with different concentrations were determined. The results showed that 10 kinds of bactericides had certain inhibitory effects on the bacteria, but only 5 kinds could produce obvious inhibition zones. Among these bactericides, tetracycline and streptomycin had the strongest inhibition effect, with the minimum inhibitory concentration of 0.165 and 3 $\mu\text{g/mL}$, inhibition rate of 74.76% and 69.23%, and the EC_{50} values of 12.764 and 35.318 $\mu\text{g/mL}$, respectively, followed by ethionine, zhongshengmycin and kasugamycin. Pot experiments of the five kinds of bactericides demonstrated that the average control efficacies of tetracycline and streptomycin were 74.60% and 71.69%, and those of ethionine and zhongshengmycin were 65.98% and 58.40%, respectively, while kasugamycin was the weakest with the efficacy of 39.38%. The results showed that tetracycline, streptomycin, ethionine, zhongshengmycin and kasugamycin could be used for controlling black spot of walnut, and tetracycline was the preferred bactericide.

Key words walnut; bacterial black spot; screening of bactericide; control effect

核桃 *Juglans regia* L. 又称为胡桃, 波斯核桃、普通核桃和英国核桃, 是胡桃科 Juglandaceae、胡桃属 *Juglans* 植物^[1]。核桃仁中含有丰富的脂肪、蛋白质、碳水化合物及微量元素, 具有较高的营养价值, 被称为“21 世纪的超级食品”^[2]。核桃中含有的脂肪酸、褪黑激素和抗氧化剂等具有较高的药用价

值, 能够帮助人类预防和减缓某些疾病的发生^[3-4]。我国是核桃的原产地之一, 其栽培历史悠久, 种植范围广泛, 分布于全国大部分省区, 主要集中于云南、四川、河北、山西等省。目前我国核桃种植面积、产量均占世界第一^[5]。

随着核桃种植面积的日益扩大, 核桃的病虫害也

收稿日期: 2019-05-04 修订日期: 2019-07-12

基金项目: 中国博士后科学基金(2016M602705)

* 通信作者 E-mail: zhuth1227@126.com

日愈频发^[6-7]。核桃黑斑病作为核桃生产中的主要病害之一,为害核桃叶片、枝条和果实,严重影响核桃产量。核桃黑斑病病原菌为核桃黄单胞杆菌 *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* (Pierce Dowson),属黄极毛杆菌属,是专性寄生核桃属的病原细菌^[8-9]。该病菌能够侵染多种核桃,不同品种、类型、树龄、树势的植株发病程度均不相同。一般来讲,健壮树种低于病弱树,中幼龄树低于老树,有虫害发生的植株或地区发病较严重^[10]。树冠稠密茂盛,通风透光性差,定植密度过大的园区发病严重。核桃黑斑病的发生及发病程度与温度湿度关系密切,高温高湿是该病发生的首要条件,在多雨年份发病早并且严重。核桃细菌性黑斑病主要危害核桃果实、叶片、嫩梢、芽及枝条^[11-12]。叶片受害,首先在叶脉处出现近圆形或多角形小黑斑,严重时病斑扩展,外围有水渍状晕圈,少数病叶出现穿孔,提早脱落。幼果受害后,在果面上出现黑褐色小斑点,无明显边缘,以后逐渐扩大成近圆形或不规则形、漆黑色病斑并下陷,外围有水渍状晕圈。果实由外向内腐烂,常称之为“核桃黑”^[13-14]。核桃黑斑病的发生严重影响了核桃的生长和产量。为减少核桃细菌性黑斑病对核桃生长、生产的危害,需找到抑菌有效浓度最低的药剂进行防治,以控制该病害的发生及流行,减少核桃产量损失,提高核桃质量。本试验采用含毒介质法和抑菌圈法对几种抗生素类及常用化学药剂进行室内药剂筛选,并将室内筛选出的药剂进行盆栽药效试验,得到了一批对核桃细菌性黑斑病杀菌效果较好的药剂,为今后核桃黑斑病的防治提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

供试菌株,核桃黄单胞杆菌 *X. campestris* pv. *juglandis* (Pierce Dowson),由四川农业大学林木病理实验室分离并保存。

1.2 培养基

核桃黄单胞杆菌活化及发酵培养采用 NA 培养基^[9]。

1.3 供试杀菌剂

本研究共选用 13 种杀菌剂,剂型和来源见表 1。

表 1 供试杀菌剂

Table 1 Bactericides for test

药剂名称 Bactericide	生产厂家 Manufacturer
50%多菌灵可湿性粉剂 carbendazim 50% WP	江苏蓝丰生物化工股份有限公司
75%百菌清可湿性粉剂 chlorothalonil 75% WP	先正达作物有限公司
70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 thiophanate methyl 70% WP	江苏龙灯化学有限公司
80%代森锌可湿性粉剂 zineb 80% WP	天津市施普乐农药技术发展有限公司
12%中生菌素可湿性粉剂 zhongshengmycin 12% WP	福建凯立生物制品有限公司
80%波尔多液可湿性粉剂 bordeaux mixture 80% WP	通州正大农药化工有限公司
80%代森锰锌可湿性粉剂 mancozeb 80% WP	四川国光农化股份有限公司
72%硫酸链霉素可湿性粉剂 streptomycin sulfate 72% WP	四川成都普惠生物工程有限公司
链霉素可湿性粉剂 streptomycin WP	润田生物科技有限公司
80%乙蒜素乳油 ethylicin 80% EC	河南科邦化工有限公司
2%春雷霉素水剂 kasugamycin 2% AS	华北制药集团爱诺有限公司
0.3%四霉素水剂 tetramycin 0.3% AS	辽宁微科生物工程股份有限公司
8%宁南霉素水剂 ningnanmycin 8% AS	德强生物股份有限公司

1.4 不同药剂最低抑菌浓度测定

采用含毒介质法^[15]。将供试的农药配制成浓度为 50 mg/mL 的液体药剂,供试的医学用途抗生素配制为 10 mg/mL 的溶液。待灭菌的营养琼脂培养基温度降至 55℃左右时,向含有 100 mL 营养琼脂培养基的三角瓶中加入按照浓度换算的一定体积药液,稀释成 6 种不同浓度的含药培养基,划线接种黄单胞杆菌,每处理重复 3 次。以未加药剂的培养基接种病原菌作空白对照。接菌平板置于 30℃恒温培养箱中培养 24 h,观察菌落生长情况。未能辨别出接菌点或有接菌点但干缩的,为菌落生长受抑制,用“—”表示,接菌点能够生长并保持湿润,无论菌落直径大小都表示菌落可以生长,用“+”表示。

记录每种药剂在每个浓度下菌落的生长情况,将菌落刚刚能生长的药剂浓度标记为 C_+ ,菌落不能生长的最低药剂浓度标记为 C_- ,根据公式 $C' = (C_+ + C_-) / 2$,计算每次试验中的最低抑菌浓度 C' ,通过 3 次重复试验结果计算最低抑菌浓度的平均值 $C = (C1' + C2' + C3') / 3$ 。

1.5 不同药剂毒力测定

采用抑菌圈法^[16]。将 1.4 筛选出来的药剂配制成 5 个浓度梯度(最低浓度要高于该药剂的最低抑菌浓度)。挑取两环活化 24 h 的 *X. campestris* pv. *juglandis* 菌落于 100 mL NB 液体培养基中,于 30℃,180 r/min 条件下振荡培养 24 h 后用血球计数板将菌悬液浓度调节到约 3×10^8 cfu/mL,待灭菌的 NA 琼脂培养基温度降至 55℃左右时,迅速将 10 mL 配制好的菌悬液倒入培养基混合均匀,再将含菌培养基快速倒入多个灭菌的培养皿中备用。待培养基凝固,用直径为 8 mm 的打孔器在培养基上按 3 个不同的方向等距离打孔,向孔中分别注入相同浓度 100 μ L 的药液,每处理重复 3 次,以注入无菌水的作为空白对照。每种药剂按此方法做 6 个浓度梯度。将平板置于 30℃恒温培养箱中培养 48~60 h,用十字交叉法测量抑菌圈直径,计算不同浓度的药剂产生的抑菌圈平均值,建立药剂的毒力回归方程,计算各药剂 EC₅₀,以 EC₅₀ 来衡量药剂对病原菌的毒力强弱^[17]。

抑菌率=(处理组抑菌圈直径-对照组抑菌圈直径)/处理组抑菌圈直径 $\times 100\%$ ^[18]。

1.6 盆栽防效试验

盆栽试验的核桃苗品种为‘香玲’,树龄 2 年。选择长势相同的核桃盆栽苗,以针刺法接种核桃黄单胞杆菌,待其感病后进行防效试验^[19]。选用室内筛选出的抑菌效果最好的 5 种杀菌剂对感染黑斑病的核桃苗进行防治。利用微型喷雾器对每株核桃叶片进行正反面喷雾,使着药均匀。每种药剂设 3 个浓度,每个浓度处理 5 株核桃苗,重复 3 次,设置清水为空白对照,各处理组分隔培养以避免交叉影响。接种后保湿 48 h。施药时间在 5 月中旬到 6 月中旬,每隔 7 d 喷 1 次,共喷 3 次。于每次喷药前 1 d 和喷药后的第 7 天调查核桃黑斑病的发病程度、记

录每片叶子的病情等级,计算病情指数和防治效果^[20]。确定盆栽试验中防治效果最好的杀菌剂。病级分为 0~V 级,代表值为 0~5,分别代表病斑面积占叶片面积 0%(未发病)、10%以下、10%~20%、21%~50%、51%~80%、80%以上。

病情指数=[Σ (各级病叶数 $\times$ 该级代表值)/调查总叶数 $\times$ 最高级代表值] $\times 100$;

防治效果=1-(药剂处理区施药后病情指数 $\times$ 对照区施药前病情指数)/(对照区施药后病情指数 $\times$ 药剂处理区施药前病情指数) $\times 100\%$ 。

1.7 数据统计与分析

试验数据采用 SPSS 20 和 Excel 2010 进行统计和分析,比较各处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同药剂最低抑菌浓度测定结果

本试验共选用了 13 种药剂,其中 50%多菌灵 WP、75%百菌清 WP、70%甲基硫菌灵 WP 对 *X. campestris* pv. *juglandis* 完全没有抑制作用,另外 10 种药剂对其有较好的抑制作用且抑制效果有很大的差异(表 2)。0.3%四霉素 AS 对黄单胞杆菌的抑制作用最强,其最低抑菌有效浓度为 0.165 μ g/mL。链霉素 WP 的抑制作用也非常明显,其最低抑菌有效浓度为 3 μ g/mL。其次是 80%乙蒜素 EC 和 12%中生菌素 WP,它们的最低抑菌有效浓度分别为 7.5 μ g/mL 和 9 μ g/mL。2%春雷霉素 AS 和 72%硫酸链霉素 WP 对黄单胞杆菌也有较强的抑菌效果,其最低抑菌有效浓度分别为 125 μ g/mL 和 288 μ g/mL。80%代森锌、80%波尔多液 WP 和 8%宁南霉素 AS 都具有一定的抑菌效果。80%代森锰锌 WP 的抑菌效果最差,其最低抑菌有效浓度为 1 320 μ g/mL,因而不适宜生产应用。

表 2 10 种药剂对 *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* 的抑制效果¹⁾
Table 2 Inhibition effects of 10 bactericides to *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*

供试药剂 Bactericide	供试浓度/ μ g $\cdot$ mL ⁻¹ Concentration						最小抑菌浓度/ μ g $\cdot$ mL ⁻¹ MIC	抑菌位次 Rank of inhibition effect
	I	II	III	IV	V	VI		
0.3%四霉素 AS tetramycin 0.3% AS	0.1	0.15 a	0.18 b	0.2	0.24	0.3	0.165	1
链霉素 WP streptomycin WP	2 a	4 b	8	15	20	30	3	2
80%乙蒜素 EC ethylicin 80% EC	3	5 a	10 b	20	50	100	7.5	3
12%中生菌素 WP zhongshengmycin 12% WP	3.6	6 a	12 b	18	24	36	9	4
2%春雷霉素 AS kasugamycin 2% AS	50	80	100 a	150 b	200	250	125	5
72%硫酸链霉素 WP streptomycin sulfate 72% WP	72	216 a	360 b	576	720	864	288	6

续表 2 Table 2(Continued)

供试药剂 Bactericide	供试浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Concentration						最小抑菌浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ MIC	抑菌位次 Rank of inhibition effect
	I	II	III	IV	V	VI		
80%代森锌 WP zineb 80% WP	320	480 a	640 b	800	960	1 200	560	7
80%波尔多液 WP bordeaux mixture 80% WP	240	400	560	640 a	800 b	960	720	8
8%宁南霉素 AS ningnanmycin 8% AS	400	600	800 a	1 000 b	1 200	1 500	900	9
80%代森锰锌 WP mancozeb 80% WP	800	960	1 200 a	1 440 b	1 600	2 000	1 320	10

1) a 表示菌落刚能生长的药剂浓度 C_+ ; b 表示菌落不能生长的最低浓度 C_- 。
a: C_+ indicates the concentration of the bactericide under which colony can grow; b: C_- indicates the lowest concentration of the bactericide that colony cannot grow.

2.2 不同药剂毒力测定结果

试验结果显示,有 5 种药剂出现明显的抑菌圈。其中 0.3%四霉素 AS 抑菌圈清晰度和透明度最高,且随着药剂浓度的增加其直径也逐渐增大,表明抑菌效果也随之加强。浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,抑菌圈直径为 18 mm,抑菌率为 55.56%;当浓度增加到 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,抑菌圈直径为 31.7 mm,其抑菌率高达 74.76%。链霉素 WP 和 80%乙蒜素 EC 的抑菌圈清晰度和透明度较高,抑菌圈直径较大,抑菌效果也较为明显,抑菌率分别达 69.23%、66.25%。2%春雷霉素 AS 和 12%中生菌素 WP 抑菌圈清晰度和透明度一般,抑菌圈直径相对较低,抑菌效果也相对较差。其他 5 种药剂,72%硫酸链霉素 WP、8%宁南霉素 AS、80%波尔多液 WP、80%代森锌 WP、80%代森锰锌 WP 均未出现抑菌圈。

试验结果表明本次抑菌效果试验所得数据误差较小。这 5 种药剂在不同程度上抑制了核桃黑斑病原菌的正常生长。0.3%四霉素 AS、链霉素 WP 对核桃黑斑病的抑菌效果最好, EC_{50} 最小,分别为 12.764 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 35.318 $\mu\text{g}/\text{mL}$;其次是 80%乙蒜素 EC 和 12%中生菌素 WP,其 EC_{50} 分别 296.483 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 350.752 $\mu\text{g}/\text{mL}$;2%春雷霉素 AS 的抑菌效果最差,其 EC_{50} 为 1 399.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 3)。以上计算所得的 EC_{50} 与通过测量抑菌斑直径所得的各药剂抑菌程度大致相同。试验数据分析中,斜率 b 表示敏感度,卡方值表示理论抑菌率与实际抑菌率的偏差程度,卡方值越大表示实际偏离理论的程度越大。由表 3 可见,5 种农药卡方值均较小,实际抑菌率与理论抑菌率偏差小,5 种农药试验所得 P 值均大于 0.05,说明数据可信。

表 3 5 种杀菌剂对 *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* 的毒力测定
Table 3 Virulence of five bactericides to *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*

农药名称 Bactericide	$EC_{50}/$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	b 士标准误 b $\pm$ standard error	卡方值 Chi-square value	P
0.3%四霉素 AS tetramycin 0.3% AS	12.764	0.505 $\pm$ 0.151	0.082	0.999
链霉素 WP streptomycin WP	35.318	0.321 $\pm$ 0.135	0.043	1
80%乙蒜素 EC ethylclicin 80% EC	296.483	0.679 $\pm$ 0.133	0.625	0.957
12%中生菌素 WP zhongshengmycin 12% WP	350.752	1.243 $\pm$ 0.430	0.108	0.999
2%春雷霉素 AS kasugamycin 2% AS	1 399.590	2.146 $\pm$ 0.307	2.521	0.641

2.3 盆栽试验结果

根据室内毒力试验筛选出了 5 种防效良好的药剂进行盆栽药效试验,结果(表 4)表明,经过不同浓度配比后的 5 种药剂施用后病情指数均表现下降趋势,与对照相比变化趋势显著。供试药剂防效随稀释倍数增加而降低,随施药次数增加而增加。第 1 次施药后,0.3%四霉素 AS 500 倍液和链霉素 WP 1 000 倍防效最好,分别达 66.28%、65.97%,随着稀释倍

数的增加两种药剂的防效也相应降低,差异较为显著;80%乙蒜素 EC 和 12%中生菌素 WP 的防效相对较差,防效分别为 61.26%、56.81%;2%春雷霉素 AS 防效最差,为 41.99%。第 2 次施药后,0.3%四霉素 AS 500 倍液防效最好,为 75.91%,其他 4 种药剂的防效分别为 72.53%、66.82%、58.66%、39.68%。第 3 次施药后,0.3%四霉素 AS 500 倍液防效可达 81.61%,其他 4 种药剂的防效为 76.57%、69.87%、

59.73%、36.47%。从平均防效来看,0.3%四霉素 AS 500 倍液防治效果最好,平均防效为 74.6%。链霉素 WP 1 000 倍液防治效果次之,平均防效为 71.69%。2%春雷霉素 AS 防治效果最差,平均防效最高仅为 39.38%。总的来讲,0.3%四霉素 AS 和链霉素 WP 各个浓度的防治效果优于其他药剂。0.3%四霉素 AS 是防治核桃黑斑病的高效化学药剂。该结果与室内药剂筛选试验结果一致。

表 4 盆栽药效试验结果¹⁾
Table 4 Control effect of the bactericides in pot experiment

药剂 Bactericide	药剂浓度(倍液) Concentration of bactericide (fold)	防治前病情指数 Disease index before treatment	第 1 次施药后 After the 1st application	
			病指 Disease index	防效/% Control efficacy
0.3%四霉素 AS tetramycin 0.3% AS	500	(24.83±0.43)a	(23.48±0.91)a	(66.28±0.76)a
	1 000	(22.34±0.75)b	(22.43±0.63)a	(64.18±1.17)b
	1 500	(22.05±1.78)b	(24.22±1.29)a	(60.77±0.49)c
链霉素 WP streptomycin WP	1 000	(23.77±0.18)a	(22.66±0.76)b	(65.97±1.99)a
	1 500	(22.34±0.43)b	(22.95±0.38)ab	(63.36±0.97)a
	2 000	(20.57±0.43)c	(23.85±0.09)a	(58.62±1.67)b
80%乙蒜素 EC ethylicin 80% EC	500	(21.98±0.22)a	(23.86±0.44)b	(61.26±1.52)a
	1 000	(21.11±0.42)b	(24.85±0.24)a	(58.00±1.41)ab
	1 500	(20.92±0.34)b	(25.22±0.59)a	(56.94±2.87)b
12%中生菌素 WP zhongshengmycin 12% WP	1 000	(24.82±1.62)a	(30.02±2.17)a	(56.81±2.65)a
	1 500	(23.00±1.03)a	(30.91±1.52)a	(52.06±1.69)b
	2 000	(22.95±0.96)a	(32.07±0.82)a	(50.12±1.94)b
2%春雷霉素 AS kasugamycin 2% AS	100	(19.61±1.33)a	(31.70±1.21)a	(41.99±7.39)a
	200	(18.82±1.09)a	(30.44±0.58)a	(42.19±3.38)a
	400	(19.29±0.51)a	(31.60±0.59)a	(41.55±1.95)a
清水 CK		20.54	57.57	

药剂 Bactericide	第 2 次施药后 After the 2nd application		第 3 次施药后 After the 3rd application		平均防效/% Average control efficacy
	病指 Disease index	防效/% Control efficacy	病指 Disease index	防效/% Control efficacy	
0.3%四霉素 AS tetramycin 0.3% AS	(20.53±0.49)a	(75.91±0.70)a	(17.90±0.26)b	(81.61±0.38)a	(74.60±7.75)a
	(21.78±1.01)a	(71.60±1.10)b	(19.65±0.62)b	(77.55±0.48)b	(71.11±6.70)a
	(24.52±1.36)a	(67.55±1.19)c	(25.13±1.80)a	(70.90±0.56)c	(66.41±5.16)a
链霉素 WP streptomycin WP	(22.40±0.35)b	(72.53±1.10)a	(21.83±0.17)b	(76.57±0.30)a	(71.69±5.35)a
	(22.93±0.85)b	(70.09±1.46)a	(22.19±1.02)b	(74.66±0.60)b	(69.37±5.68)a
	(24.64±0.46)a	(65.07±1.96)b	(25.15±0.25)a	(68.79±1.26)c	(64.16±5.15)a
80%乙蒜素 EC ethylicin 80% EC	(25.02±0.66)b	(66.82±1.85)a	(25.96±0.53)c	(69.87±0.21)a	(65.98±4.37)a
	(26.17±0.31)b	(63.87±1.01)ab	(27.45±0.49)b	(66.83±0.21)b	(62.90±4.49)a
	(28.07±0.90)a	(62.27±2.56)b	(32.73±0.79)a	(60.06±1.78)c	(59.71±2.75)a
12%中生菌素 WP zhongshengmycin 12% WP	(35.18±1.12)b	(58.66±0.78)a	(39.07±0.56)c	(59.73±2.35)a	(58.40±1.48)a
	(36.12±0.99)b	(54.22±1.83)b	(40.83±0.28)b	(54.66±1.57)b	(53.65±1.39)b
	(38.57±0.55)a	(50.96±3.14)b	(42.41±0.41)a	(52.80±1.90)b	(51.29±1.37)b
2%春雷霉素 AS kasugamycin 2% AS	(40.49±0.63)b	(39.68±4.10)a	(48.66±1.26)b	(36.47±5.53)a	(39.38±2.77)a
	(41.60±0.67)b	(35.44±4.51)a	(48.85±0.26)b	(33.60±4.54)a	(37.08±4.52)a
	(43.09±0.66)a	(34.94±0.14)a	(50.71±0.47)a	(32.91±1.53)a	(36.47±4.52)a
清水 CK	70.51		80.49		

1) 表中数据仅限同一农药不同浓度间比较,小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。
Comparisons are made between different concentrations of the same bactericide. Lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($P<0.05$).

3 结论与讨论

核桃细菌性黑斑病是核桃树的主要病害之一,对核桃的生长和生产有巨大的影响。由于其危害较严重,因此其防治技术一直备受关注,但研究主要集中在病害发生后的防治措施、及田间药效试验,关于室内药剂毒力测定的文献极少。因此,本文首先进行了关于核桃细菌性黑斑病菌室内药剂筛选的试

验,从而确定出抑菌效果显著的药剂。然后,根据室内筛选结果进行盆栽防治试验,筛选出能够有效防治核桃黑斑病的杀菌剂。

本研究选用了链霉素 WP、0.3% 四霉素 AS、80% 乙蒜素 EC、80% 波尔多液 WP 等 13 种药剂,采用含毒介质法中的最低抑菌浓度法,测定各杀菌剂对核桃细菌性黑斑病菌的最低抑菌浓度。结果显示,50% 多菌灵 WP、75% 百菌清 WP、70% 甲基硫菌灵 WP 对 *X. campestris* pv. *juglandis* 完全没有抑制作用,原因可能是这些药剂多针对真菌有效,因而难以起到抑制病原细菌的效果。另外 10 种药剂对其有很好的抑制作用,并且对 *X. campestris* pv. *juglandis* 所表现出来的抑制效果有很大的差异。0.3% 四霉素 AS、链霉素 WP、80% 乙蒜素 EC 和 12% 中生菌素 WP 的抑菌效果最强,其最低抑菌浓度分别为 0.165、3.7、5.9 $\mu\text{g/mL}$ 。

毒力回归方程中的 EC_{50} 的大小可以反映出杀菌剂抑菌效果的优劣, EC_{50} 越低,该杀菌剂的抑菌作用就越强,对病原菌生长抑制效果越佳。本研究中,0.3% 四霉素 AS、链霉素 WP、80% 乙蒜素 EC、12% 中生菌素 WP 和 2% 春雷霉素 AS 能够产生较为明显的抑菌圈,另外 5 种药剂并未出现抑菌圈。其中,0.3% 四霉素 AS 抑菌圈最明显,透明度和清晰度也最高,其抑菌率达 74.763%, EC_{50} 最小,对供试病原菌的抑制作用优于其他药剂。一般而言,药剂浓度与防治效果正相关,而与各药剂的病情指数负相关,可见,使用不同浓度药剂进行防治可以直接表现其防治效果优劣。将室内筛选出的 5 种药效较好的杀菌剂配成不同浓度分别作用于盆栽试验。结果表明:0.3% 四霉素 AS 防治效果最好,第 3 次施药后防效达 81.61%,室内毒力试验与盆栽试验结果表明,0.3% 四霉素 AS 是防治核桃细菌性黑斑病的理想药剂。该结果同刘宝生等^[21]研究几种生物药剂对核桃黑斑病的田间防效试验结果相同。

四霉素是一种高效、低毒的微生物源农药,对靶标作物安全,对环境影响小,是一种新型的杀菌剂。四霉素制剂含有 4 种活性组分,分别是 A1、A2、B 和 C。A1 和 A2 组分为大环内酯类四烯抗生素,B 组分为肽类抗生素,C 组分为含氮杂环芳香族抗生素茴香霉素。其中四烯大环内酯抗生素在细菌性病害

的防治过程中有着至关重要的作用^[22]。同时,四霉素能够通过诱导苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的活性来增加植物的抗病性^[23-24]。因此,在核桃黑斑病防治试验中,四霉素表现出的防效最强。链霉素是一种氨基糖苷类抗生素,是一种微生物源杀细菌剂,对多数农作物病原菌具有毒杀作用,另外还可以通过内吸作用进入植物体内,经过植物的维管系统到达各个部位,对病原菌产生杀伤作用。本次试验结果显示,链霉素能够有效防治核桃细菌性黑斑病,同王瀚等^[25]对核桃黑斑病抑菌活性测定试验结果吻合。乙蒜素是一种植物仿生农药,对细菌性病害有较好防效^[26],本试验结果表明,80% 乙蒜素 EC 对核桃细菌性黑斑病的防治效果较为显著,同罗小妹^[27]的田间试验结果基本一致。中生菌素是一种广谱保护性杀菌剂,具有触杀、渗透作用。中生菌素对细菌性病害及部分真菌性病害具有很高的活性。本结果显示 12% 中生菌素 WP 对核桃细菌性黑斑病的防治效果一般,同刘宝生等^[21]的田间防效试验结果有一定的差异。2% 春雷霉素 AS 对核桃黑斑病防治作用不明显。

通过试验结果分析,0.3% 四霉素 AS 可作为防治核桃细菌性黑斑病的首选药剂,在今后的田间试验可以优先使用,并根据田间的实际生产需要来确定最佳浓度、喷施次数以及喷施时间。相关研究表明,若长期对林木病害使用同一种药剂,病原菌可能会对其产生耐药性,因此有必要科学合理地使用杀菌剂。防治时可选择 0.3% 四霉素 AS、链霉素 WP、80% 乙蒜素 EC 和 12% 中生菌素 WP 交替轮换使用。还可以使用相关药剂的复配药品制剂,以减缓抗药性的产生,提高防治效果。当然,除了药剂防治外,选育和栽培抗病品种、确定合理栽植密度、病枝修剪和清除菌源等措施对核桃细菌性黑斑病的防控也是非常必要的。

参考文献

- [1] 李国和. 核桃种质资源研究[D]. 雅安:四川农业大学,2007.
- [2] 李敏,刘媛,孙翠,等. 核桃营养价值研究进展[J]. 中国粮油学报,2009,24(6):166-170.
- [3] RUSSEL J, REITER L C, TAN Dunxian. Melatonin in walnuts: Influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood [J]. Nutrition, 2005,21(9): 920-924.

性[J]. 植物保护, 2019, 45(6): 80-83.

[8] 林玉英, 金涛, 马光昌, 等. 15 种杀虫剂对草地贪夜蛾卵的毒力测定[J]. 植物保护, 2020, 46(1): 82-86.

[9] 赵胜园, 孙小旭, 张浩文, 等. 常用化学杀虫剂对草地贪夜蛾防效的室内测定[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 10-14.

[10] 鲁艳辉, 田俊策, 郑许松, 等. 二十六种杀虫剂对不同龄期草地贪夜蛾幼虫的室内毒力[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(12): 2049-2056.

[11] 陈沛, 弓惠芬, 王瑞, 等. 灭幼脉类及昆虫保幼激素类似物对玉米螟卵的生物活性[J]. 植物保护学报, 1982, 9(1): 35-40.

[12] 姚永生, 李春芳, 周永锋. 虱螨脲对棉铃虫的生物活性及应用研究[J]. 江西棉花, 2009, 31(2): 18-21.

[13] MOHAMMAD M, HABIB A, AZIZ S G, et al. Effectiveness of indoxacarb and hexaflumuron on eggs, larvae and adults of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2010, 53(12): 1424-1428.

[14] 洪珊珊, 贾变桃, 李琴, 等. 6 种杀虫剂对小菜蛾不同虫态室内活性研究[J]. 现代农药, 2014, 13(5): 43-47.

[15] 于欣, 武海斌, 张坤鹏, 等. 19 种杀虫剂对桃小食心虫卵的毒力测定[J]. 山东农业科学, 2012, 44(5): 96-98.

[16] 何佳春, 李波, 谢茂成, 等. 新烟碱类及其他稻田杀虫剂对褐飞虱的室内药效评价[J]. 中国水稻科学, 2019, 33(5): 467-478.

[17] TYSOWSKY M, GALLO T. Ovicidal activity of ambush™, a synthetic pyrethroid insecticide, on corn earworm, fall armyworm, and cabbage looper [J]. Florida Entomologist, 1977, 60(4): 287-290.

[18] SEIDENGLANZ M, ROTREKL J, JANA P, et al. Ovicidal effects of thiacloprid, acetamiprid, *lambda*-cyhalothrin and *alpha*-cypermethrin on *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Chrysomelidae)eggs [J]. Plant Protection Science, 2011, 47(3): 109-114.

[19] 闫文娟, 杨帅, 谭煜婷, 等. 虫螨脲对草地贪夜蛾幼虫的室内毒力及田间防效[J/OL]. 环境昆虫学报: 1-8 [2020-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1640.q.20190712.1844.006.html>.

(责任编辑: 杨明丽)

~~~~~

(上接 263 页)

[4] LISAD, WELMA S, DU Tiling, et al. The effect of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome [J]. European Journal of Nutrition, 2007, 46(3): 155-164.

[5] 李忠新, 杨莉玲, 阿布力孜·巴斯提, 等. 中国核桃产业发展研究[J]. 中国农机化学报, 2013, 34(4): 23-28.

[6] 巨云为, 赵盼盼, 黄麟, 等. 薄壳山核桃主要病害发生规律及防控[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2015, 11(4): 31-36.

[7] 雷明山, 杨世勇, 王沛, 等. 10 种杀菌剂防治核桃黑斑病的田间药效试验[J]. 山西果树, 2015(5): 9-10.

[8] 宫永红. 核桃细菌性黑斑病研究进展[J]. 北方果树, 2012(6): 1-4.

[9] 陈善义, 陶万强, 王合, 等. 北京地区核桃黑斑病原菌的分离、致病性测定和 16S rDNA 序列分析[J]. 果树学报, 2011, 28(3): 469-473.

[10] 惠军涛, 杨峰, 杨桦. 核桃黑斑病综合防治措施[J]. 西北园艺, 2016(10): 36-37.

[11] 封立芳. 核桃黑斑病发病规律及防治方法[J]. 河北果树, 2012(5): 47-48.

[12] 高新民. 核桃细菌性黑斑病发病规律及防治技术研究[J]. 陕西林业科技, 2010(6): 61-63.

[13] 侯宇, 惠军涛, 张培利, 等. 核桃黑斑病的发生特点与防治方法[J]. 农技服务, 2011, 28(1): 40.

[14] 李海菊, 郝新科, 牛昉卿, 等. 核桃黑斑病发生与防治[J]. 农业科技与信息, 2004(10): 15.

[15] 赵友福. 植物病原细菌简明手册[M]. 北京: 农业部植物检疫试验所, 1992.

[16] 严婉荣, 肖敏, 赵志祥, 等. 辣椒细菌性叶斑病原鉴定及室内药剂筛选[J]. 植物保护, 2016, 42(5): 205-209.

[17] 刘畅, 卢宝慧, 刘小畅, 等. 刺五加黑斑病的室内药剂筛选和田间药效试验[J]. 吉林农业大学学报, 2015, 37(3): 281-286.

[18] 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: 14.

[19] 章彦俊, 尉文彬, 马全伟, 等. 四种化学药剂防治辣椒疫病盆栽药效试验[J]. 北方园艺, 2013(2): 99-100.

[20] 董贝, 王建东, 李月零, 等. 不同类型药剂对核桃黑斑病的防治效果及增产效果[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(2): 196-197.

[21] 刘宝生, 白鹏华, 冯友仁, 等. 几种生物药剂对核桃黑斑病的田间防效试验[J]. 中国果树, 2017(1): 56-57.

[22] 王丽萍, 常国彬, 孟双, 等. 四霉素防治杨树溃疡病田间应用研究[J]. 微生物杂志, 2014, 34(2): 68-70.

[23] MA Dicheng, ZHU Jiamei, JIANG Jiangong, et al. Evaluation of bioactivity and control efficacy of tetracycline against *Corynespora cassicola* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2018, 152: 106-113.

[24] GAO Yangyang, HE Lilei, LI Xiaoxu, et al. Toxicity and biochemical action of the antibiotic fungicide tetracycline on *Colletotrichum scovillei* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2018, 147: 51-58.

[25] 王瀚, 王让军, 赵淑玲, 等. 农用链霉素对核桃黑斑病伴生病原菌成团泛蓝的抑菌活性[J]. 绵阳师范学院学报, 2016, 35(5): 60-63.

[26] 刘兆良, 袁忠林, 罗兰. 8 种杀菌剂对黄瓜细菌性角斑病的防治效果[J]. 山东农业科学, 2017, 49(6): 107-111.

[27] 罗小妹. 不同药剂防治早实核桃黑斑病田间试验[J]. 山西果树, 2016(4): 9-11.

(责任编辑: 杨明丽)