

腐霉利对木霉菌控制草莓灰霉病防治效果的影响

袁水霞¹ 张佳佳¹ 冯纪年^{2*}

(¹河南农业职业学院, 河南郑州 451450; ²西北农林科技大学植物保护学院, 植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西杨凌 712100)

摘要: 生防菌木霉与灰霉病菌具有较强的拮抗作用, 本试验通过盆栽试验和大田试验, 研究单独施用木霉菌、化学杀菌剂腐霉利以及二者以不同比例混合配制对草莓灰霉病的防治效果, 探究化学杀菌剂腐霉利对生防菌防效的影响。结果表明: 盆栽试验中, 单独施用木霉菌对灰霉病的防效为 81.40%, 当木霉菌与腐霉利以质量比 8:1 混配时, 防效高达 88.32%, 二者以其他比例混配的防效在 65%~80% 之间, 均高于单独施用腐霉利。木霉菌与腐霉利以 8:1 或 3:1 的质量比混配, 对灰霉病的田间防治效果较好, 在 80% 左右, 且对草莓安全、无药害。以一定比例添加化学杀菌剂腐霉利可提高生防菌木霉防效的稳定性, 并且可延缓病原菌对化学杀菌剂抗药性的产生。

关键词: 草莓灰霉病; 杀菌剂; 腐霉利; 木霉菌; 病情指数; 防治效果

草莓 (*Fragaria ananassa* Duch) 是多年生草本植物, 具有生产周期短、经济效益高、采摘期长、适于设施栽培等特点, 近年来种植面积不断扩大 (王玉坤等, 2003)。灰霉病 (*Botrytis cinerea*) 是草莓的常见病害, 主要为害叶片、果实和花蕾等, 造成叶片腐烂、枯死, 果实脱落等症状, 传播迅

袁水霞, 女, 硕士, 讲师, 主要从事作物病虫害防治方面的教学及科研工作, E-mail: yuanshuixia@126.com

* 通讯作者 (Corresponding author): 冯纪年, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事昆虫学研究, E-mail: jinianf@nwauaf.edu.cn

收稿日期: 2018-04-03; 接受日期: 2018-08-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31472022)

速, 危害严重, 一般可使草莓减产 10%~20%, 严重时减产 50% 以上 (王凌宇等, 2015; 曹婷婷等, 2016)。灰霉病病原菌为灰葡萄孢菌, 属半知菌亚门葡萄孢菌属, 具有遗传变异大、繁殖速率快和适应性强等特点 (孟飞等, 2006), 并且其侵染方式多样化, 寄主多样化, 可以利用菌丝体、分生孢子或者菌核在土壤或病残体上越冬或越夏, 这些特点均为灰霉病的防治带来困难 (邱莉萍等, 2018)。

由于尚未发现对灰霉病有高抗性的草莓品种, 草莓灰霉病防治主要以化学杀菌剂为主。在生产中常用的杀菌剂包括多菌灵、腐霉利、乙霉威、百菌清、戊唑醇和嘧菌环胺等 (肖长坤等, 2012; 王

Abstract: In order to screen a simple, rapid and effective method for inoculation of tomato bacterial canker, this paper compared the effects of 4 different inoculation methods including top leaf shearing, needle penetrating, root soaking and bacterial-soil mixing methods on tomato canker occurrence degree. The results showed that top leaf shearing was the best inoculation method. Its incidence rate was 100%, and disease index was over 90. This method is simple to operate, applicable for evaluating the pathogenicity of bacterial and fungicide control effect to tomato bacterial canker. Through pot experiment in greenhouse, this paper compared the control effects of 23 microbial agents for tomato bacteria canker and screened 3 safe and highly efficient microbial agents, naming bacillus IVF 018, bacillus IVF 021 and bacillus IVF020. Their control effects were all over 98%.

Key words: Bacterial canker of tomato; Inoculation method; Microbial agent; Preventive effect

凌宇等, 2015)。灰霉病菌遗传变异较大, 长期大量单一施用某种药剂, 极易使之产生抗药性。据报道, 目前灰霉病已对多菌灵产生了严重的抗药性(朱虹等, 2006)。但是在具体的化学药剂选用上, 种植者普遍存在用药单一的问题, 使得草莓灰霉病的抗药性不断增强, 制约了草莓产业的可持续发展。

木霉菌 (*Trichoderma* spp.) 属于半知菌亚门丝孢纲丝孢目, 是一种普遍存在于土壤、植物根围、叶围及种子球茎表面的一种真菌(朱虹等, 2006)。1932年, Windling首次发现木素木霉 (*Trichoderma lignorum*) 可寄生于多种植物病原真菌, 并对利用木霉菌防治土传病害开展研究, 20世纪80年代以后木霉菌作为重要生物防治资源得到了广泛关注(孟祥东等, 2003)。随着生物技术的进步, 科学家已经从分子和代谢水平对木霉菌的生防机制进行了研究, 而且国外已经有商品化的木霉制剂问世, 如美国的哈茨木霉T22、以色列的哈茨木霉T39等。国内外许多研究人员发现木霉与灰霉病菌有着极强的拮抗作用, 哈茨木霉对黄瓜灰霉病的防治效果可达到90%, 与二甲酰亚胺类杀菌剂混合施用防治效果高达96% (Elad et al., 1992); 绿色木霉对番茄灰霉病的防治效果为74.2% (赵蕾和杨合同, 1999); 采用木霉T5菌株孢子悬浮液对草莓果实和枝叶灰霉病进行防治, 防治效果在80%以上(田连生等, 2000)。但是由于生防菌本身是活体, 受温度、湿度及光照等环境因子影响较大, 防治效果具有不稳定性。

本试验通过测定盆栽和大田试验中单独施用木霉菌、腐霉利以及二者以不同比例混合配制对草莓灰霉病的防治效果, 旨在探究化学杀菌剂对生防菌防效的影响, 为田间科学施用化学农药和生防制剂提供科学依据, 以期延缓化学杀菌剂的抗药性产生, 提高木霉防治效果的稳定性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种为红颜, 由郑州市中牟县官渡镇十里铺草莓种植基地提供。供试药剂为50%腐霉利可湿性粉剂(速克灵, 日本住友化学株式会社), 木霉菌可湿性粉剂(含孢子2亿个·g⁻¹, 山东泰诺药业有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 盆栽防效测定 2016年10月12日在河南省农业高新科技园区温室内进行盆栽试验。将配制好的基质(草炭:蛭石=1 V:1 V)放入直径为20 cm的营养钵中, 选取生长健壮、长势一致的3片真叶草莓幼苗, 每盆定植1株。待幼苗缓苗生长出2片新叶后进行药剂试验。试验共设6个处理, 各药剂配比如表1所示, 采用1 000倍稀释液喷雾施药法, 将药剂均匀喷洒于草莓叶片上。每个处理3次重复, 每个重复5株草莓幼苗, 每株喷洒药液1 mL, 以清水作为对照。待药剂自然晾干后采用孢子液喷雾法接种, 用血球计数板调配灰霉病菌孢子悬浮液, 浓度为1×10⁶个·mL⁻¹, 用微量接菌器均匀喷洒于叶表面, 每株喷1 mL。草莓幼苗接种后放入温室常规管理, 待对照幼苗发病后开始调查各处理叶片灰霉病发病情况。

表1 杀菌剂与生防菌的配比及施用剂量

处理	药剂配比(质量比)	每667 m ² 施用剂量
T1	木霉菌	木霉菌200 g
T2	木霉菌:腐霉利=8:1	木霉菌160 g、腐霉利20 g
T3	木霉菌:腐霉利=3:1	木霉菌120 g、腐霉利40 g
T4	木霉菌:腐霉利=4:3	木霉菌80 g、腐霉利60 g
T5	木霉菌:腐霉利=1:2	木霉菌40 g、腐霉利80 g
T6	腐霉利	腐霉利100 g
CK	清水	—

1.2.2 田间防效测定 2017年3月10日在中牟县官渡镇十里铺村进行田间试验。草莓种植密度约为7 200株·(667 m²)⁻¹, 土壤为砂壤土, 有机质含量中等。6种药剂的施用剂量及稀释倍数和盆栽试验相同, 以清水为对照, 每个处理小区面积为4 m², 各小区草莓植株长势基本一致, 随机区组排列, 3次重复。选择灰霉病自然发病的结果期草莓进行试验, 于发病中期进行第1次施药, 采用手动喷雾器对叶片及植株均匀喷雾施药, 每个处理喷施药液3 L, 连续喷洒2次, 每次间隔7 d。在第2次喷药7 d后调查叶片和果实的灰霉病发病情况。

1.2.3 调查与统计方法 叶片病情调查: 采用对角线5点取样法, 每点调查3株, 每株调查全部叶片; 病果率调查: 每个小区随机调查50个果实。调查各处理区草莓叶片是否有药斑以及发黄、植物矮化等药害现象。

盆栽试验及田间试验叶片病情分级标准: 0

级, 叶片无病斑; 1 级, 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。按照如下公式计算病情指数及防效。

$$\text{叶片病情指数} = \frac{\sum (\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值})}{\text{调查总叶数} \times 9} \times 100$$

$$\text{叶片病害防治效果} = (1 - \frac{CK_0 \times PT_1}{CK_1 \times PT_0}) \times 100\%$$

其中 CK_0 为空白对照区施药前病情指数; CK_1 为空白对照区施药后病情指数; PT_0 为药剂处理区施药前病情指数; PT_1 为药剂处理区施药后病情指数。

$$\text{病果率} = \frac{\text{病果数}}{\text{调查果数}} \times 100\%$$

$$\text{果实病害防治效果} = \frac{\text{空白对照区病果率} - \text{处理区病果率}}{\text{空白对照区病果率}} \times 100\%$$

观察各处理对草莓叶片和果实有无药害作用。药害分级标准: -, 无药害; +, 轻度药害, 不影响作物正常生长; ++, 明显药害, 可复原, 不会造成作物减产; +++, 高度药害, 影响作物正常生长, 对作物产量和品质都造成一定损失; +++, 严重药害, 作物生长受阻, 产量和质量损失严重(农业部农药检定所生测室, 2004)。

1.3 数据处理

采用 Microsoft excel 2003 软件整理数据, 并用 SPSS 17.0 软件进行防效差异分析, 采用 Duncan's 新复极差法进行统计分析, 按照 $P \leq 0.05$ 标准检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对草莓灰霉病的盆栽防治效果

由表 2 可知, 盆栽试验中, 经喷雾法微量接种病原菌孢子之后, 所有处理均发病, 各药剂处理的草莓叶片病情指数远低于清水对照。6 个处理对草莓灰霉病的盆栽防治效果有所差异。单独施用腐霉利 (T6 处理) 的防治效果最低, 为 64.13%, 施用腐霉利和木霉菌混合药剂的防治效果均有所提高, 其中木霉菌与腐霉利以 8:1 的质量比混配时 (T2 处理) 防治效果最高, 达 88.32%, 其次为单独施

用木霉菌 (T1 处理), 防效为 81.40%。

表 2 不同处理对草莓灰霉病的盆栽防治效果

处理	病情指数	防治效果
T1	3.25	81.40 ± 1.36 a
T2	2.04	88.32 ± 1.02 a
T3	3.96	77.34 ± 2.08 ab
T4	4.11	76.48 ± 1.40 ab
T5	5.67	67.56 ± 1.24 b
T6	6.27	64.13 ± 0.85 b
CK	17.48	—

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$), 下表同。

2.2 不同处理对草莓灰霉病的田间防治效果

由表 3 可知, T2 处理对草莓叶片灰霉病的田间防治效果最好, 高达 87.30%, 显著高于其他处理; 其次为 T3 和 T1 处理, 防治效果分别为 79.91% 和 79.67%。单独施用腐霉利 (T6 处理) 的防治效果最低, 显著低于 T1、T2、T3 处理。

由表 4 可知, 6 个处理对草莓灰霉病病果的防治效果在 65%~85% 之间, 防治效果较高的为 T2 和 T3 处理, 分别为 83.87% 和 82.18%, 显著高于其他处理, 防治效果最低的为 T6 处理, 仅为 67.30%。

与喷施清水的对照相比, 6 个处理的草莓叶片、果实未出现药斑以及发黄的症状, 植株未出现矮化等药害症状 (表 3、4)。因此本试验设置的杀菌剂浓度对草莓安全, 无药害作用。

表 3 不同处理对草莓叶片灰霉病的田间防治效果

处理	施药前病情指数	施药后病情指数	防治效果	药害
T1	1.47	1.80	79.67 ± 0.58 b	-
T2	2.21	1.69	87.30 ± 1.02 a	-
T3	1.95	2.36	79.91 ± 0.81 b	-
T4	1.46	2.32	73.62 ± 2.23 bc	-
T5	2.01	2.83	74.63 ± 1.43 bc	-
T6	1.32	2.46	69.06 ± 1.30 c	-
CK	1.62	9.76	—	-

注: “-”表示无药害, 下表同。

表 4 不同处理对草莓果实灰霉病的田间防治效果

处理	施药前病果率/%	施药后病果率/%	防治效果	药害
T1	1.36	1.56	73.85 ± 1.44 b	-
T2	1.81	1.28	83.87 ± 0.82 a	-
T3	2.47	1.93	82.18 ± 1.25 a	-
T4	1.54	1.89	72.02 ± 1.39 b	-
T5	2.12	2.72	70.75 ± 0.76 b	-
T6	1.75	2.51	67.30 ± 0.61 b	-
CK	1.94	8.51	—	-

3 结论与讨论

本试验结果表明, 6个处理在盆栽试验或大田应用中, 均能有效防止草莓灰霉病在叶片及果实上的发展, 并且对草莓生长无药害作用。单独施用木霉菌的盆栽防效为81.40%, 田间防效在80%左右, 当木霉菌与腐霉利以质量比8:1或3:1混配时, 田间对灰霉病的防治效果有所提高, 其中木霉菌与腐霉利以8:1混配时对叶片灰霉病的防治效果可达87.30%。二者以其他比例混配时, 相比于单独施用木霉菌的防效有所下降, 但仍高于单独施用腐霉利。故在生产中以8:1的质量比混合施用木霉菌与腐霉利这两种药剂, 可以提高生防菌防效的稳定性, 同时延缓因单独施用化学杀菌剂而使病原菌产生的抗药性。

由于灰霉病极易对化学药剂产生抗药性, 国内外许多科学家将目光转向自然界中有益微生物及其代谢产物, 经研究发现自然界中多种真菌(如木霉和酵母菌)、细菌(如芽孢杆菌、假单胞菌)和链霉菌及其产物(白肽霉素、变构霉素以及鱼时霉素等)对草莓灰霉病有较好的防治效果(童蕴慧等, 2003)。一些生制剂如芽孢杆菌、木霉菌、丁香假单胞菌、嗜油酵母菌等(田连生等, 2000; 王凌宇等, 2015; 楚文琢等, 2017), 已经在生产中推广和应用。本试验中所选用的木霉菌对灰葡萄孢菌具有一定的拮抗作用和重寄生作用: 由于木霉菌菌丝在灰葡萄孢菌菌丝上重寄生, 营养竞争, 致使灰葡萄孢菌菌丝失活, 并逐渐停止生长, 最终彻底解体、死亡(田连生等, 2000)。由于生防菌的防效受环境影响较大, 本试验将木霉菌与腐霉利以不同比例混合施用, 对果实灰霉病的防治效果在65%~85%之间, 均高于单独施用腐霉利的防效; 当木霉菌与腐霉利以质量比8:1和3:1混配时, 防治效果在80%以上, 高于单独施用木霉菌的防效。可见以一定比例添加化学药剂腐霉利, 可以提高木霉菌的防治效果, 为今后生防菌和化学药剂的混配提供了科学依据。

目前, 用于草莓灰霉病化学防治的杀菌剂按照其化学结构主要有二甲酰亚胺类、苯并咪唑类、N-苯基氨基甲酸酯类、吡啶酰胺类、苯氨基嘧啶类、取代苯类、咪唑类和吡咯类杀菌剂等(肖长坤等,

2012; 王凌宇等, 2015)。其中腐霉利为二甲酰亚胺类杀菌剂, 是一种广谱性杀菌剂, 于20世纪70年代问世, 直至今日已有30 a以上的用药历史, 其杀菌机制主要是自由基介导的细胞毒假说, 通过抑制孢子的萌发、菌丝生长来防治病原菌(祝明亮等, 2006)。本试验中, 单独施用腐霉利对灰霉病的田间防治效果在60%~70%之间, 相比于其他处理防效较低, 可能是因为长时间连续施用, 致使灰霉病病原菌对该药剂有一定的抗性。木霉菌与腐霉利二者混合施用的防治效果高于单独施用腐霉利, 防治灰霉病作用机制的不同, 可能是防治效果提高的重要原因, 对于这两种药剂混配的防治效果持效性和速效性还需进一步研究。

参考文献

- 曹婷婷, 高吉良, 陆丹, 吴燕君, 洪文英. 2016. 草莓灰霉病发病规律及综合防治技术研究进展. 浙江农业科学, 57(12): 2045-2047.
- 楚文琢, 彭双强, 廖晓兰, 马文月. 2017. 铜绿假单胞菌SU8发酵液与乙蒜素混配对草莓灰霉病的防效. 江苏农业科学, 45(6): 79-83.
- 孟飞, 徐福寿, 张莉丽. 2006. 几种杀菌剂防治草莓灰霉病的效果. 安徽农业科学, 34(18): 4658, 4677.
- 孟祥东, 傅俊范, 严雪瑞, 滕学灵. 2003. 灰霉病菌(*Botrytiscinerea*)生物防治研究进展. 沈阳农业大学学报, 34(6): 472-475.
- 农业部农药检定所生测室. 2004. 农药田间药效试验准则(二): 杀菌剂防治草莓灰霉病. 北京: 中国标准出版社.
- 邱莉萍, 杨肖芳, 江景勇, 周晓肖, 李伟龙. 2018. 5种杀菌剂防治草莓灰霉病的效果. 浙江农业科学, 59(3): 496-497.
- 田连生, 王伟华, 石万龙, 李书生, 史延茂, 崔慧霄. 2000. 利用木霉防治大棚草莓灰霉病. 植物保护, 26(2): 47-48.
- 童蕴慧, 纪兆林, 徐敬友, 陈夕军. 2003. 灰霉病生物防治研究进展. 中国生物防治, 19(3): 131-135.
- 王凌宇, 廖晓兰, 张亚. 2015. 草莓灰霉病的防治研究进展. 湖南农业科学, (6): 142-144.
- 王玉坤, 张放, 祝庭耀. 2003. 国内草莓生产现状与发展趋势. 北方园艺, (6): 6-7.
- 肖长坤, 高菲, 夏冰, 郑书恒, 张涛, 穆常青. 2012. 设施栽培草莓灰霉病发生规律及其综合防治. 中国植保导刊, 32(9): 24-26.
- 赵蕾, 杨合同. 1999. 蔬菜灰霉病生防菌的筛选与防效试验初报. 应用与环境生物学报, 5(1): 85-88.
- 朱虹, 刘俊龙, 李婧梅, 李增智, 樊美珍. 2006. 木霉菌的生防效果与菌株生物学及生化指标的相关性. 中国森林病虫, 25(2): 1-3.
- 祝明亮, 罗义勇, 李梅云, 杨金奎, 张克勤. 2006. 植物病原真菌

- 对内吸性杀菌剂的抗药性研究进展. 烟草农业科学, 2 (4): 324-329.
- Elad Y, Yunis H, Katan T. 1992. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Isreal. Plant Pathology, 41 : 41-46.

Effect of Procymidone on Controlling Strawberry *Botrytis Cinerea* by *Trichoderma*

YUAN Shui-xia¹, ZHANG Jia-jia¹, FENG Ji-nian^{2*}

(¹*Henan Vocational College of Agriculture, Zhengzhou 451450, Henan, China*; ²*Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management, Ministry of Education, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China*)

Abstract: Considering biocontrol fungus *Trichoderma* and *Botrytis cinerea* had strong antagonistic action, pot experiment and field experiment were conducted to compare the control effect of *Trichoderma*, procymidone, and their mixture on strawberry gray mold. The results showed that in pot experiment, the control effect of *Trichoderma* on *Botrytis cinerea* by single application was 81.40%. When the ratio of *Trichoderma* and procymidone was 8 : 1, the control efficiency was as high as 88.32%. The control effect ranged between 65%-80%, when *Trichoderma* mixed with procymidone by other ratio, which was still higher than that by applying fungicides alone. In fields, when *Trichoderma* and procymidone were mixed by the ratio of 8 : 1 or 3 : 1, the control efficiency was about 80%, which was safe for strawberry without any phytotoxicity. The stability of control effect of *Trichoderma* could be improved by adding certain proportion of procymidone, and the drug-fast generation of pathogenic bacteria to chemical fungicides could be delayed.

Key words: Strawberry *Botrytis cinerea*; Fungicide; Procymidone; *Trichoderma*; Disease index; Control efficacy

· 信息 ·

山东科学规划灾后重建 将推动受损蔬菜大棚升级换代

山东省副省长于国安在 2018 年 8 月 29 日山东省政府新闻办举行的新闻发布会上说, 充分考虑遭受洪灾地区的实际情况, 对损坏的房屋、蔬菜大棚、生产设施等恢复重建工作进行统一规划安排, 统筹推进拆除、加固、重建等工作; 对蔬菜大棚以及农业畜牧生产设施重建, 加强指导, 提高建设标准, 合理规划布局, 运用新技术推动升级换代, 提高设施农业综合生产能力 and 防灾减灾能力。

据 8 月 28 日山东省政府新闻发布会的信息: “据 8 月 27 日农情调度, 此次台风(温比亚)共造成全省 23 万个大棚不同程度受损, 蔬菜受灾面积 12.5 万 hm² (187.5 万亩)、成灾面积 7.74 万 hm² (116.1 万亩)、绝收面积 3.03 万 hm² (45.4 万亩)。主要集中在潍坊、济宁、菏泽 3 市。其中, 潍坊蔬菜受灾 6.86 万 hm² (102.9 万亩), 成灾 3.95 万 hm² (59.3 万亩), 绝收 1.85 万 hm² (27.7 万亩), 22 万个大棚受损。特别是大棚蔬菜主产区寿光, 弥河两岸部分村庄被淹, 大棚灌水, 受灾比较严重。”

另外, 灾情发生以后, 各保险公司启动应急机制, 调集人员赶赴灾区一线开展查勘、定损和理赔工作。为保证及时受理群众保险报案, 各保险公司大量增加报案受理人工坐席数量, 确保 24 小时受理报案。

截至 29 日上午 8:00, 山东省财产保险共接到报案 82 710 件, 其中车险报案 24 817 件, 农业保险报案 19 692 件, 家庭财产保险报案 13 749 件, 企业财产保险报案 808 件, 人身险报案 22 件。全省保险公司已赔付金额 3 121.47 万元, 其中农业保险赔付 42 万元, 车险赔付 2 107.67 万元, 家庭财产保险赔付 75.35 万元, 企业财产保险赔付 494.73 万元, 人身险赔付 262.76 万元。

(中国日报网)