

案例三 防治瓜类蔓枯病的化学药剂室内毒力测定

贺字典 高玉峰

一、案例材料

瓜类蔓枯病自 1891 年在法国发现以来, 现几乎遍布世界各地, 如荷兰、瑞典、美国、加拿大、印度等。瓜类蔓枯病在美国北卡是仅次于根结线虫的第二大病害, 是欧洲温室黄瓜最严重的病害之一。在国内, 蔓枯病的发生越来越严重, 特别是西甜瓜和哈密瓜产区。新疆、甘肃、上海、浙江、江苏等地均有蔓枯病的报道。

瓜类蔓枯病(又称黑腐病)是由真菌(*Didymella bryoniae*)引起的一种病害, 危害多种葫芦科作物, 如黄瓜、西瓜、甜瓜等。病原菌可以通过气孔、伤口等侵染植株, 引起叶斑、茎癌、果腐等, 严重影响瓜类作物中后期的产量, 轻者减产 20%~30%, 严重时导致绝产。由于单剂农药对蔓枯病的防治效果不显著, 农药复配则是防治蔓枯病最经济有效的方法, 大幅度降低化学杀菌剂用量和残留量。在杀菌剂的复配过程中, 有时某种杀菌剂的杀菌活性可能会受到其它成分的影响, 因此, 混用时要先测定杀菌剂与其它农药(包括杀虫剂、杀菌剂和除草剂之间的复合作用。因此, 本实验主要研究福福锌与噁酮锰锌按不同比例复配后对瓜类蔓枯病的防治效果。

二、案例分析

(一) 蔓枯病菌株

HGC 黄瓜蔓枯菌瓜类球腔菌 (*Mycosphaerella melonis*)、XGWH 西瓜蔓枯病菌瓜类球腔菌 (*Mycosphaerella melonis*)、HGH 甜瓜蔓枯病菌瓜类球腔菌 (*Mycosphaerella melonis*), 由本科研组提供。

(二) 杀菌剂

68.75%噁酮锰锌水分散粒剂(美国杜邦公司)

80%福·福锌可湿性粉剂(河北冠龙农化有限公司)

(三) 含药培养基的制备

先将马铃薯洗净去皮, 再称取 200 g 马铃薯切成小块, 加水煮烂(煮沸 20~30 min, 能被玻璃棒戳破即可), 用八层纱布过滤, 加热, 再加入 17 g 琼脂, 继续加热搅拌混匀, 待琼脂溶解完后, 加入葡萄糖, 搅拌均匀, 稍冷却后再补足水分至 1000 毫升, 分装试管或者锥形瓶, 加塞、包扎, 121 °C 灭菌 30 min 左右后取出试管摆斜面或者摇匀, 冷却后贮存备用。待 PDA 冷却到 45~55 °C 时, 将 2 种杀菌剂的母液按设计的不同比例分别加入到培养基中, 将灭菌好的配培养基加入 1 ml 药液, 摇晃均匀, 冷却至 45~55 °C 后, 倒入培养皿中平放冷却凝固后备用。接菌: 取打孔器(1 cm)进行充分灭菌, 从原始菌种中取直径为 1 cm 的菌饼, 倒置在培养皿中, 使菌丝与培养基充分接触。用封口膜将培养皿进行密封。放在 25 °C 的培养箱中进行培养并观察。每 48 h 进行观察并记录菌落直径。(整个操作过程在无菌操作台上进行)

(四) 杀菌剂单剂对蔓枯菌的毒力测定

采用生长速率法测定蔓枯病菌对杀菌剂的毒力。用直径 1 cm 的打孔器从培养 3 d 的新鲜蔓枯病菌的菌落边缘打取菌丝块, 菌丝面向下接种于含不同浓度农药的平板上, 25 °C 恒温箱内培养每 2 d 后, 量取菌落直径, 计算抑菌率。以不含药剂的纯培养为对照, 4 次重复。

(五) 药剂复配后对蔓枯菌的毒力测定

80%福福锌可湿性粉剂与 68.75%噁酮锰锌水分散粒剂的配置比例分别为 1:0 (单剂对照), 3:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:3, 0:1 (单剂对照)。

(六) 数据统计

抑菌率(%) = $\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100$

(七) 结果与分析

1、杀菌剂复配后对西瓜蔓枯菌的抑菌作用

表 1 杀菌剂复配后对西瓜蔓枯病菌的毒力回归方程

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	$EC_{50}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
福: 噁=1:0	$y = 1.0868x + 3.6865$	0.9859	1.028
福: 噁=3:1	$y = 0.2701x + 3.7382$	0.9921	1.114
福: 噁=3:2	$y = 1.4824x + 2.3509$	0.9504	1.042
福: 噁=1:1	$y = -1.3721x + 10.003$	0.9995	1.088
福: 噁=2:3	$y = 0.1529x + 1.0582$	0.9853	1.811
福: 噁=1:3	$y = 0.8474x + 3.4224$	0.9892	1.257
福: 噁=0:1	$y = 3.3631x - 0.9491$	0.9746	1.042

从表 1 中可以看出, 杀菌剂不同比例的配比对西瓜蔓枯菌的增效作用是不同的。可以看出单剂的福福锌和噁铜锰锌对西瓜蔓枯菌的抑菌作用特别低甚至具有拮抗作用, 抑菌率分别为 46.5%和 43.83%。而复配后有明显的增效作用, 其中作用最显著的是福福锌和噁铜锰锌的比例为 2:3, 其抑菌率为 89.55%、 EC_{50} 为 $1.811\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。同种药剂不同比例的复配后可以达到防治多种病害的目的, 既经济又有效。

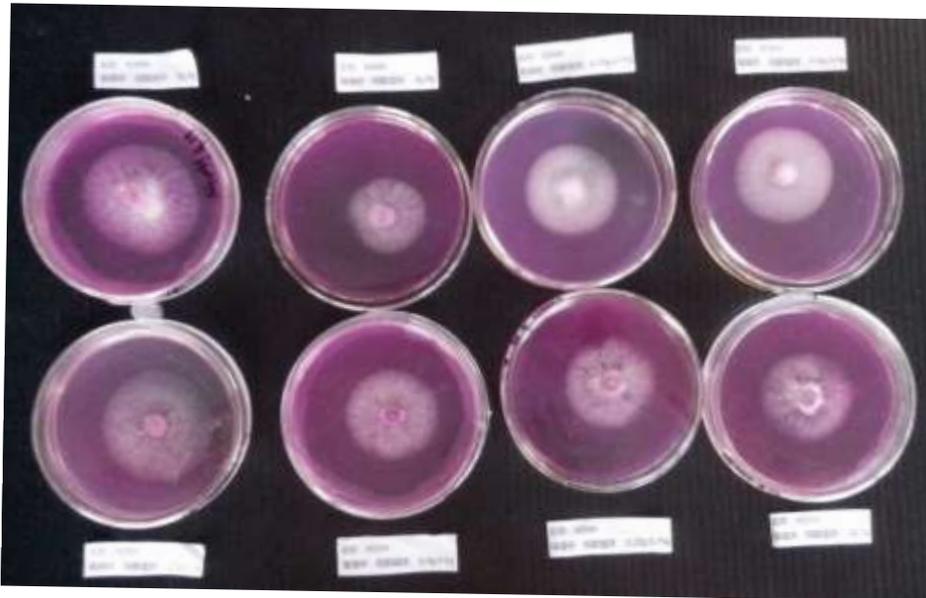


图 1 福福锌和噁铜锰锌不同比例对西瓜蔓枯菌的抑菌作用

2.2 两种药剂不同比例对黄瓜蔓枯菌的增效作用

表 2 杀菌剂复配后对黄瓜蔓枯菌的毒力回归方程

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	$EC_{50}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
福: 噁=1:0	$Y = 2.3077x + 1.2297$	0.9962	1.041
福: 噁=3:1	$Y = 3.2282x - 1.5765$	0.8818	1.048
福: 噁=3:2	$Y = 1.5801x + 1.624$	0.9289	1.051
福: 噁=1:1	$Y = 0.5484x + 2.9531$	0.9679	1.089
福: 噁=2:3	$Y = 0.0736x + 3.3954$	0.9913	1.652
福: 噁=1:3	$Y = 0.9645x + 3.8665$	0.9922	1.027
福: 噁=0:1	$y = 2.1306x + 0.7393$	0.9551	1.047

从图表 2 中可以看出, 杀菌剂不同比例的配比对黄瓜蔓枯菌的增效作用是不同的。可以看出单剂的福福锌和噁铜锰锌对黄瓜蔓枯菌的抑菌作用特别低甚至具有拮抗作用, 抑菌率分别为 37.04%和 40.83%。而复配后有明显的增效作用, 其中作用最显著的是福福锌和噁铜锰锌的比例为 2:3, 其抑菌率为 82.22%、 EC_{50} 为 $1.652\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。同种药剂不同比例的复配后可以达到防治多种病害的目的, 既经济又有效。

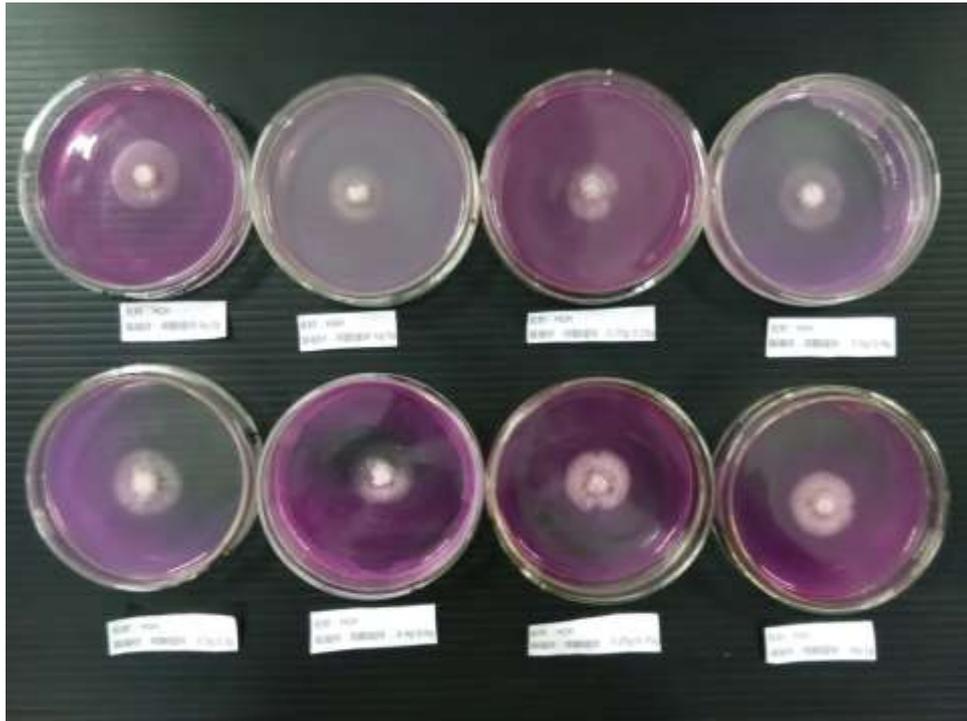


图 2 福福锌和噁铜锰锌不同比例对黄瓜蔓枯菌的抑菌作用

2.3 两种药剂不同比例对甜瓜蔓枯菌的抑菌作用

表 3 杀菌剂复配后对甜瓜蔓枯菌的毒力回归方程

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	$EC_{50}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
福: 噁=1:0	$y = 2.5167x + 0.1796$	0.9884	1.032
福: 噁=3:1	$y = 1.2421x + 3.0756$	0.9706	1.051
福: 噁=3:2	$y = 0.675x + 4.0779$	0.9731	1.045
福: 噁=1:1	$y = 0.7149x + 1.8706$	0.9231	1.106
福: 噁=2:3	$y = 0.1695x + 3.3954$	0.9913	1.244
福: 噁=1:3	$y = 1.6511x + 0.4421$	0.9921	1.158
福: 噁=0:1	$y = 2.0967x + 0.4304$	0.9322	1.036

从图表 3 中可以看出, 杀菌剂不同比例的配比对甜瓜蔓枯菌的增效作用是不同的。可以看出单剂的福福锌和噁铜锰锌对甜瓜蔓枯菌的抑菌作用特别低甚至具有拮抗作用, 抑菌率分别为 33.33%和 42.24%。而复配后有明显的增效作用, 其中作用最显著的是福福锌和噁铜锰锌的比例为 2:3, 其抑菌率为 81.18%、 EC_{50} 为 $1.244 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, EC_{90} 为 $2.141 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。同种药剂不同比例的复配后可以达到防治多种病害的目的, 既经济又有效。

瓜类蔓枯病是(*Didymella bryoniae*)引起的, 当前生产中药剂使用比较单一, 很容易使病原菌产生抗药性。选用了 2 种新型杀菌剂进行了对该病原菌的抑菌率的测定, 抑菌效果最好的是由研究组配制的不同比例, 该药剂不仅对病原菌有较好的抵制效果, 同时相比较供试其它药剂具有较长的持效期。室内药剂筛选试验同时表明, 福福锌、噁铜锰锌不同比例的药剂对瓜类蔓枯病菌丝均有较强的抑制作用, 但药剂在不同比例对瓜类蔓枯病菌的抑制率变化幅度呈现较大的不同, 这可能与各药剂比例对病原菌的作用机理存在差异有关。

从试验结果看供试的瓜类蔓枯病病原菌致病病株的抗药性尚处在较敏感阶段。在药剂不同比例的筛选的前期, 该病菌菌株对供试的所有药剂均表现出高度的敏感性, 因此, 为防治病原菌抗药性的产生, 交互使用并选用生物类农药或对环境友好的化学农药应该是目前瓜类蔓枯病田间有效防治的主要策略。

近几年瓜类蔓枯病在我国有流行的趋势, 今后研究的重点应包含以下几个方面:继续重视病原菌生理生化的研究;深入探索寄主对蔓枯病病原菌的抗性机制;建立稳定高效的抗蔓枯病鉴定方法和评

价体系，系统鉴定和筛选抗蔓枯病的瓜类蔬菜种质资源;充分利用已筛选出的抗、感材料，进一步明确蔓枯病抗性遗传规律，尤其是在西瓜、黄瓜上更需要加强；加强与瓜类蔓枯病相关的分子生物学研究，筛选与抗病基因紧密连锁的分子标记，实现抗病基因的精细定位及克隆;利用传统育种和分子标记辅助选择育种相结合的方法，提高选育效率，创制抗蔓枯病且综合性状优良的育种材料，培育抗病新品种。

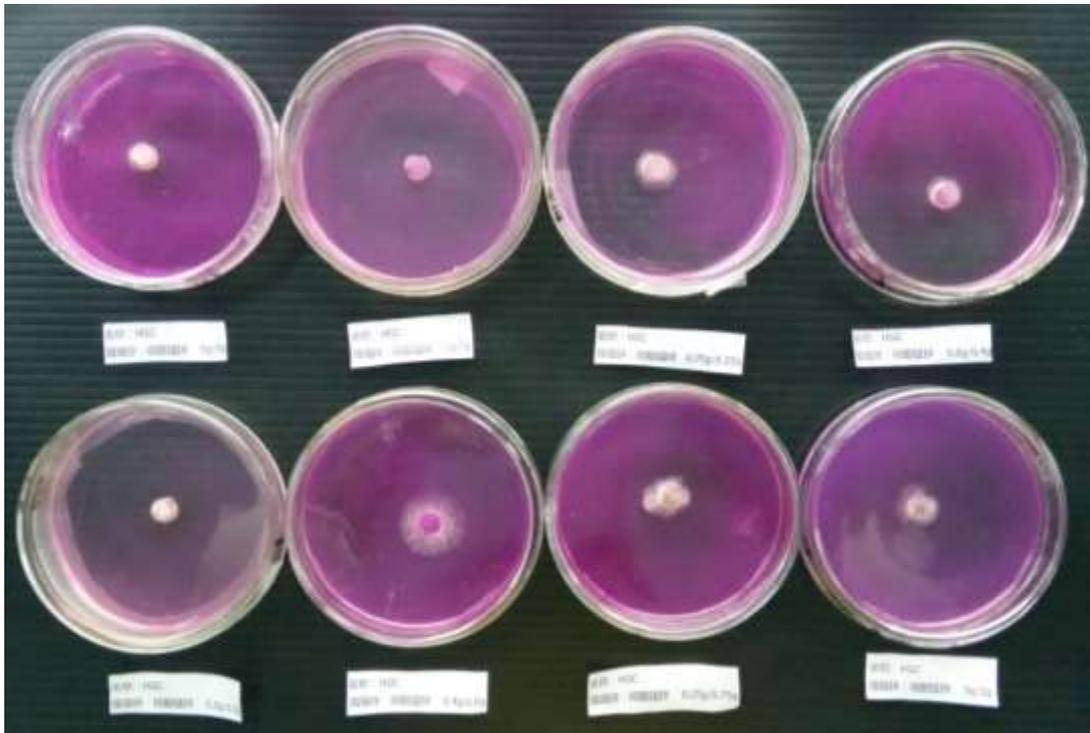


图3 福福锌和噁铜锰锌不同比例对甜瓜蔓枯菌的抑菌作用

【问题】

- 1、杀菌剂复配原则是什么？
- 2、如何判断两种或三种杀菌剂可以复配？

三、补充材料

(一) 症状

瓜类蔓枯病主要为害主蔓和侧蔓，有时也为害叶柄、叶片。叶片受害初期在叶缘出现黄褐色“V”字型病斑，具不明显轮纹，后整个叶片枯死。叶柄受害初期出现黄褐色椭圆型至条型病斑，后病部逐渐缢缩，病部以上枝叶枯死。



图1 甜瓜蔓枯病

(1) 茎蔓：病蔓开始在近节部呈淡黄色。油浸状斑，稍凹陷，病斑椭圆形至梭形，病部龟裂，并分泌黄褐色胶状物，干燥后呈红褐色或黑色块状。生产后期病部逐渐干枯，凹陷，呈灰白色，表面散生黑色小点，即分生孢子器及子囊壳。

(2) 叶片：叶片上病斑黑褐色，圆形或不规则形，其上有不明显的同心轮纹，叶缘病斑上有小黑点，病叶干枯呈星状破裂。

(3) 果实：果实染病，病斑圆形，初亦呈油渍状，浅褐色略下陷，后变为苍白色，斑上生有很多小黑点，同时出现不规则圆形龟裂斑，湿度大时，病斑不断扩大并腐烂。

(二) 病原形态特征

Mycosphaerella melonis 称瓜类球腔菌，属半知菌亚门真菌。分生孢子器叶面生，多为聚生，初埋生后突破表皮外露，球形至扁球形，器壁淡褐色，顶部呈乳状突起，器孔口明显；分生孢子短圆形至圆柱形，无色透明，两端较圆，正直，初为单胞，后生 1 隔膜。子囊壳细颈瓶状或球形，单生在叶正面，突出表皮，黑褐色；子囊多棍棒形，无色透明，正直或稍弯；子囊孢子无色透明，短棒状或梭形，一个分隔，上面细胞较宽，顶端较钝，下面的孢子较窄，顶端稍尖，隔膜处缢缩明显。

(三) 病原菌生理分化

采用离体叶片接种法对来自广西各地的 104 个菌株对同一品种西瓜品种（西农八号）的致病力进行测定，所得菌株都具有致病性，不同菌株间表现出致病力差异，其中强致病力菌株占 31.73%，中等致病力菌株占 57.69%，弱致病力菌株占 10.58%。104 个菌株致病力强弱与菌株采集地点没有关系，强、中、弱致病力菌株均未集中分布于同一采样地点，而是广泛分布在各个地区，表明菌株致病力强弱与菌株分布的地理位置无关，强弱菌株在所调查的地区均有分布，说明强弱菌株在长期的流行传播过程中已广泛分布。

(四) 发病条件

病菌以子囊壳、分生孢子器、菌丝体潜伏在病残组织上留在土壤中越冬，翌年产生分生孢子进行初侵染。植株染病后释放出的分生孢子借风雨传播，进行再侵染。七月中旬气温 20~25℃，潜育期 3~5 天，病斑出现 4~5 天后，病部即见产生小黑粒点。分生孢子在株间传播距离 6~8 米。甜瓜品种间抗病性差异明显：一般薄皮脆瓜类属抗病体系，发病率低，耐病力强；厚皮甜瓜较感病，尤其是厚皮网纹系统、哈密瓜类明显感病、如麻醉瓜、罗斯转、哈密瓜发病重；小暑白兰瓜、大暑白兰瓜次之，铁旦子、薄皮脆发病率最低。病菌发育适温 20~30℃，最高 35℃，最低 5℃，55℃经 10 分钟致死。据观察 5 天平均温度高于 14℃，相对湿度高于 55%，病害即可发生。气温 20~25℃病害可流行，在适宜温度范围内，湿度高发病重。5 月下旬—6 月上中旬降雨次数和降雨量作用该病发生和流行。连作易发病。此外密植田藤蔓重叠郁闭或大水漫灌的症状多属急性型，且发病重。

(五) 防治方法

1、选用龙甜 1 号等抗蔓枯病的品种，此外还可选用伊丽沙白、新蜜杂、巴的等早熟品种。

2、药剂处理种子，对杀灭种子上病菌，防止苗期侵染具有重要作用。浸种种子可用 40%福尔马林 150 倍液浸种 30 分钟，捞出后用清水冲洗干净再催芽播种；也可用 50%甲基硫菌灵或多菌灵可湿性粉剂浸种 30~40 分钟。用种子重量 0.2%~0.3%的 40%拌种双粉剂或 50%多菌灵可湿性粉剂拌种。种子包衣。用 0.3%~0.5%的种衣剂 9 号或 10 号进行包衣，可有效地防治立枯病，还可兼治猝倒病和炭疽病。

3、合理密植，采用搭架法栽培对改变瓜田生态条件，减少发病作用明显。此外要及时整枝、打杈，发现病株及时拔除携至田外集中深埋。

4、施用酵素菌沤制的堆肥或充分腐熟的有机肥。

5、现代化中药制剂预防：在植株缓苗期和第一穗果开花膨大期用农抗 120 抗菌素 500 倍液进行灌根，7 天左右用药 1 次，每个时期连用 2~3 次。治疗：40%多硫悬浮剂 500 倍液，或 40%氟硅唑乳油 6000 倍液、2%武夷菌素水剂 200 倍液、4%农抗 120-嘧啶核苷类抗菌素水剂 400 倍液效，重点喷洒植株中下部。每隔 8~10 天再喷 1 次，连续 2~3 次。④病害严重时，可用上述药剂使用量加倍后

涂抹病茎部。⑤有条件的地方可用 5%百菌清粉剂或 5%加瑞农粉剂 15 千克/公顷喷粉防治。对严重病株及病株周围 2~3 米内区域植株进行小区域用噁霉灵 600 倍液灌根，连灌 2 次，两次间隔 1 天。

6、在黄瓜定植缓苗后，在植株周围地面可以用 70%的代森锰锌可湿性粉剂与 80%百菌清可湿性粉剂按 1: 1 比例混合成 300~400 倍液或 30%甲霜·恶霉灵 600 倍液或 38%恶霜·嘧·铜菌酯 800 倍液喷洒地面，可以有效防治蔓枯病的发生。

四、参考文献

- [1] 王培双,董勤成.类蔓枯病重发原因及综合防治措施[J].安徽农学通报,2010, 16(14):140-142.
- [2] 张传清,张雅,朱祝军.4 种果蔬种子带菌的种类及其抗药性[J].长江蔬菜,2011(4): 64- 68.
- [3] 赵娟,薛泉宏,杜军志,等.广谱拮抗放线菌 C28 的鉴定及其对甜瓜蔓枯病的防治效果[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(9):65-71.
- [4] 李丽,宋凤鸣.西瓜和甜瓜蔓枯病的分子检测研究[D].硕士学位论文,2013.
- [5] 江蛟,陈劲枫.甜瓜蔓枯病及抗病材料鉴定研究[D].硕士学位论文,2006.
- [6] 袁培祥.西瓜蔓枯病的发病特点及防治措施[J].河南农业,2012:145.
- [7] 张守辉,张孚.黄瓜夏秋易发疫病蔓枯病及综防技术[J].吉林蔬菜,1999.
- [8] 张学军,张永兵,张羹,等.甜瓜抗蔓枯病基因 G.sb-3 的 ISSR 分子标记[J].西北植物学报,2013,23(2): 261-265
- [9] 张龔,王宣仓,李寐华,等.新疆甜瓜地方品种资源蔓枯病抗性鉴定[J].2011,48(10): 1841-1845
- [10] 张永兵.甜瓜细胞遗传学、单倍体创制及抗蔓枯病分子标记[D].南京:南京农业大学.2007.
- [11] 张永兵,王登明,张聪,等.甜瓜蔓枯病离体接种方法初步研究[J].新疆农业科产, 2009(3): 521-525.
- [12] 张永兵,陈劲枫,伊鸿平,等.甜瓜抗蔓枯病基因 G.sb-2 的 ISSR 分子标记[J].果树学报,2011,28(2):296-300.
- [13] 赵彦杰,李宝聚,石延霞,等.瓜类蔓枯病的发生与防治[J].中国蔬菜,2008(2):56-57.
- [14] 朱春林.不同栽培措施对露地种植甜瓜蔓枯病的影响[J].北方园艺,2011(21):123- 124.
- [15] 胡风云,莫贱友,郭堂勋,等.西甜瓜蔓枯病菌致病力测定与品种抗病性分析[J].南方农业学报,2012,43(10):1490-1494.