

不同抗生素对葡萄霜霉病的防效研究

李 雯^{1,2}, 冉隆贤¹, 李会平¹

(1. 河北农业大学 林学院, 河北 保定 071000; 2. 河北省秦皇岛市抚宁区职业技术教育中心, 河北 秦皇岛 066300)

摘 要:以“巨峰”葡萄叶片为试材, 葡萄霜霉病菌为研究对象, 研究了常用抗生素 2% 武夷菌素 300 倍液、2% 春雷霉素 200 倍液、3% 多抗霉素 1 000 倍液、20% 井冈霉素 1 000 倍液 4 种抗生素对葡萄霜霉病菌的预防及治疗作用。结果表明: 武夷菌素、春雷霉素、多抗霉素 3 种抗生素对葡萄霜霉病的预防效果分别为 85.97%、57.89% 和 70.18%, 井冈霉素无明显预防效果, 春雷霉素对葡萄霜霉病菌有治疗作用, 脂溶性渗透剂对春雷霉素治疗葡萄霜霉病有一定的增效作用。

关键词:葡萄霜霉病; 抗生素; 脂溶性渗透剂; 预防; 治疗

中图分类号:S 436.631.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)09-0125-05

葡萄霜霉病是一种世界性的危害最严重的葡萄病害之一, 近年来, 随着葡萄栽培面积的扩大, 葡萄霜霉病常导致葡萄减产和果实品质降低, 该病已成为制约我国葡萄产业的主要因素^[1-2]。目前, 国内外对该病的防治主要在抗病育种、农业防治、化学防治和生物防治等方面^[3-4]。

农用抗生素是微生物代谢过程中产生的、在低浓度下就能抑制或杀死农作物病、虫、草害, 或调节作物生长发育的化学物质^[5-6]。应用抗生素防治植物病害, 不仅可以解决由于大量喷用化学药剂所带来的果实药物残留、环境污染等问题, 还可以解决在农药施用过程中, 病菌产生抗药性等问题。农用抗生素最早起源于美国、英国、日本等国, 其用医用抗生素如链霉素(streptomycin)、土霉素(oxytetracycline)、灰黄霉素(griseofulvin)等来防治植物病害。我国对农用抗生素的研究较晚, 直到 20 世纪 70 年代才取得重大进展, 相继开发成功了井冈霉素、公主岭霉素、农抗 120、武夷菌素、春雷霉素等抗真菌农用抗生素。随着人类环境保护意识的增强, 各主要发达国家政府均陆续公开了禁用化学农药名单并制定了抗生素类生物农药的发展规划^[7-8]。

现以葡萄霜霉病菌为研究对象, 研究生产中常用抗生素对葡萄霜霉病的预防及治疗作用, 以期为葡萄霜霉病的生物防治提供理论参考和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试药剂 试验用抗生素为生产中常用抗生素, 自河北省保定市农资市场购买, 采用推荐浓度进行试验。50% 烯酰吗啉可湿性粉剂自河北省保定市农资市场购买, 采用田间常用浓度 1 000 倍液进行试验。脂溶性渗透剂柔脂通由河北农业大学森林保护教研室提供。

表 1 供试抗生素种类

Table 1		Types of tested antibiotics		
药品名称	有效成分含量/%	剂型	推荐浓度/倍	生产厂家
武夷菌素	2	水剂	300	山东潍坊万胜生物农药有限公司
春雷霉素	2	液剂	200	北兴化学工业株式会社
多抗霉素	3	水剂	1 000	绩溪农华生物科技有限公司
井冈霉素	20	水溶性粉剂	1 000	浙江省桐庐汇丰生物化工有限公司

1.1.2 供试材料 以葡萄品种“巨峰”叶片为试材, 采集自河北农业大学标本园。

1.2 试验方法

1.2.1 葡萄霜霉病菌孢子囊悬浮液制备 从“巨峰”葡萄上采集感染葡萄霜霉病的新鲜病叶, 带回实验室后, 用清水洗净, 叶柄用脱脂棉包扎后置于铺有纱布的培养皿中, 于 20℃ 的培养箱中保湿培养 2 d, 促进孢子囊产生, 用毛笔将孢子囊刷至无菌水中, 单层镜头纸过滤去杂质, 配成浓度为 1.7×10^6 个/mL 孢子囊悬浮液备用^[9-10]。

1.2.2 不同抗生素对葡萄霜霉病的预防试验 选取大小一致、叶位相同的健康葡萄叶片用于各试验。采用半叶喷雾法进行, 先用保鲜膜遮挡叶片的左半片, 用配制好的抗生素溶液均匀喷雾于叶片右侧, 自然晾干后, 同样方法在左半片叶片喷洒无菌水作为对照。另取一片

第一作者简介:李雯(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为葡萄霜霉病。E-mail:306430171@qq.com.

责任作者:李会平(1974-), 女, 博士, 教授, 现主要从事植物病害防治等研究工作。E-mail:805737255@qq.com.

基金项目:国家公益性行业科研专项资助项目(201203035)。

收稿日期:2015-12-23

叶片全部喷洒无菌水,以避免药剂的内吸性对试验结果的影响。每处理3个重复,每个重复3个叶片,将叶柄用湿润的脱脂棉包好,待叶片完全晾干后,放入培养皿中保湿。将配制好的葡萄霜霉病菌孢子囊悬浮液采用点接的方法接种于经抗生素处理的葡萄叶片上,每片叶子上接40个点,每点接种5 μL ,放入培养箱中于20℃,光暗交替(12 h光照和12 h黑暗)条件下培养,7 d后观察发病率,即发病点数占总点数的百分率。计算预防效果。预防效果(%)=(对照发病率-处理发病率)/对照发病率 $\times 100$ 。

1.2.3 不同抗生素对葡萄霜霉病的治疗试验 选取大小一致、叶位相同、发病程度相当的叶片,将孢子囊和孢囊梗冲洗干净,吸水纸吸干叶片上残留的水分,叶柄用脱脂棉包好后置于铺有纱布的培养皿中,每处理设置3个重复,每个重复3个叶片。分别将配制好的抗生素均匀喷雾于洗净孢子囊和孢囊梗的感病叶片背面,以液滴不从叶片表面滑落为宜,待叶片上的药液自然干燥后,将处理好的葡萄叶片放入培养箱中,于20℃,光暗交替(12 h光照和12 h黑暗)条件下培养3 d后,观察发病情况。试验共设6个处理:武夷菌素300倍液、春雷霉素200倍液、多抗霉素1000倍液、井冈霉素1000倍液、烯酰吗啉1000倍液,喷清水作对照。

1.2.4 脂溶性渗透剂对春雷霉素的增效作用 室内试验:将脂溶性渗透剂柔脂通与春雷霉素混合后,对发病离体葡萄叶片进行处理,试验共设3个处理:春雷霉素200倍液、春雷霉素200倍液+脂溶性渗透剂800倍液、清水处理作为对照,处理和观察方法同1.2.3。田间试验:该试验在田间共设3个处理,春雷霉素200倍液+脂溶性渗透剂800倍液、80%烯酰吗啉水分散粒剂1000倍液、不喷药作为对照,每组处理15株葡萄树,每株葡萄树选取20片叶子进行调查。在8月6日葡萄霜霉发病初期,统计最初病情指数。采用电动喷雾器全株均匀喷药,全株喷洒均匀,以叶片稍有药液滴下为宜,3 d后调查病情指数和计算防治效果。葡萄霜霉病病情指数分级标准:0级,无病斑;1级,病斑面积占整个叶片面积的25%以下;2级,病斑面积占整个叶片面积的25%~50%;3级,病斑面积占整个叶片面积的51%~75%;4级,病斑面积占整个叶片面积的76%以上。计算各处理防治效果。病情指数= \sum (各级病叶数 \times 各级代表值)/(调查总叶数 \times 最高级代表值) $\times 100$;相对防治效果(%)=[(对照3 d后病情指数-对照初始病情指数)-(对照3 d后病情指数-处理初始病情指数)]/(对照3 d后病情指数-对照初始病情指数) $\times 100$ 。

1.3 数据分析

采用DPS软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同抗生素对葡萄霜霉病的预防效果

由表2可知,健康葡萄叶片喷洒武夷菌素、春雷霉素、多抗霉素接种病菌7 d后,发病率分别为13.33%、40.00%、28.33%,均小于对照的发病率,防治效果分别为85.97%、57.89%和70.18%。表明武夷菌素、春雷霉素、多抗霉素对霜霉病菌有一定的预防作用。该试验采用半叶法进行,发现各种抗生素处理叶片的对照半叶区与清水处理叶片之间发病率不同,具有不同程度的差异,其中武夷菌素处理叶片的对照区发病率为35.00%,与清水对照存在显著差异性,说明武夷菌素对葡萄叶片具有更为明显的内吸性。

表2 不同抗生素药剂对葡萄霜霉病的预防效果

Table 2 Preventive effect of antibiotic on *P. viticola*

抗生素 Antibiotic	发病率 Disease rate/ %	预防效果 Preventive effect/ %	差异显著性 5% Significance of difference	1% Significance of difference
武夷菌素 CK	35.00		cde	BCDE
武夷菌素处理	13.33	85.97	e	E
春雷霉素 CK	80.00		ab	ABC
春雷霉素处理	40.00	57.89	bcde	BCDE
多抗霉素 CK	73.33		abc	ABC
多抗霉素处理	28.33	70.18	de	CDE
井冈霉素 CK	93.33		a	A
井冈霉素处理	86.67	8.77	a	AB
CK	95.00		a	A

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference at 0.05 level; different capital letters indicated highly significant difference at 0.01 level.

2.2 不同抗生素对葡萄霜霉病的治疗效果

从图1可以看出,在喷药3 d后叶片上孢子囊的形成率明显小于不喷药对照区孢子囊的形成率,春雷霉素对葡萄霜霉病菌有一定的治疗效果,并与喷烯酰吗啉的孢子囊形成率相近。其它药剂处理后,叶片上的孢子囊形成率与对照无明显差别,表明其它3种抗生素对葡萄霜霉病无明显治疗效果。

2.3 脂溶性渗透剂对春雷霉素的增效作用

脂溶性渗透剂能快速溶脂溶蜡、促进药剂有效成分在短时间内渗透到生物体内,增加药效。将春雷霉素与脂溶性渗透剂柔脂通混合,喷洒在离体的发病葡萄叶片上,测定脂溶性渗透剂对春雷霉素的增效作用。由图2可知,喷药3 d后,对照重新形成的霜霉层,几乎布满整片叶子,而喷洒加了脂溶性渗透剂的春雷霉素所形成的霜霉层明显少于对照,与喷洒烯酰吗啉的处理相似。表明脂溶性渗透剂以其良好的渗透性对春雷霉素表现出了较好的增效作用。通过室内的葡萄霜霉病预防和治疗试验,筛选出春雷霉素200倍液+脂溶性渗透剂800倍液对葡萄霜霉有一定的治疗效果。将春雷霉素200

倍液+脂溶性渗透剂 800 倍液施用于田间,测定其在田间的治疗效果。由表 3 可知,各处理组病情指数均有一定增长,但增长速度明显不同,不喷药的对照处理,在喷药 3 d 后病情指数增长了 27.06,1 000 倍液烯酰吗啉和春雷霉素 200 倍液+脂溶性渗透剂 800 倍液处理组病情

指数增长率明显低于对照组,相对防效分别为 67.63% 和 60.90%,没有明显差异。表明春雷霉素 200 倍液+脂溶性渗透剂 800 倍液对葡萄霜霉病有一定的治疗效果,与生产中主要使用的化学农药烯酰吗啉相当,可以作为葡萄霜霉病防治中的备选药剂。

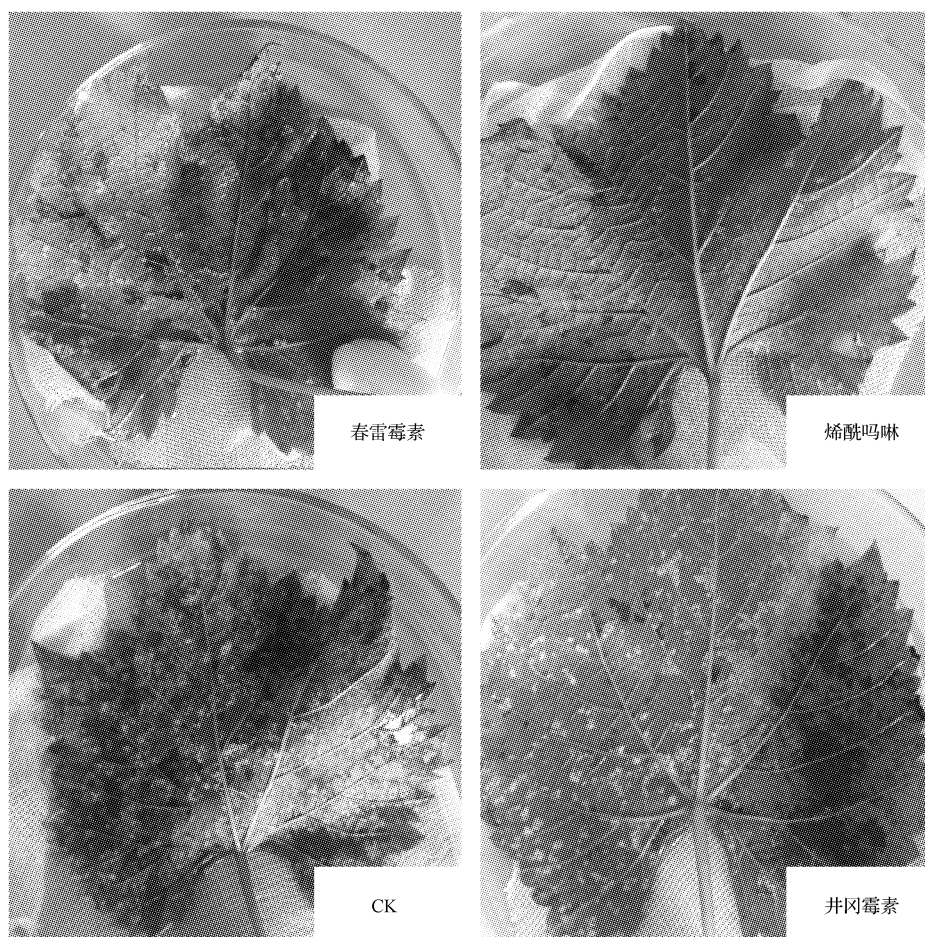


图 1 不同抗生素对葡萄霜霉病的治疗效果

Fig. 1 Treatment effect of antibiotic on *P. viticola*

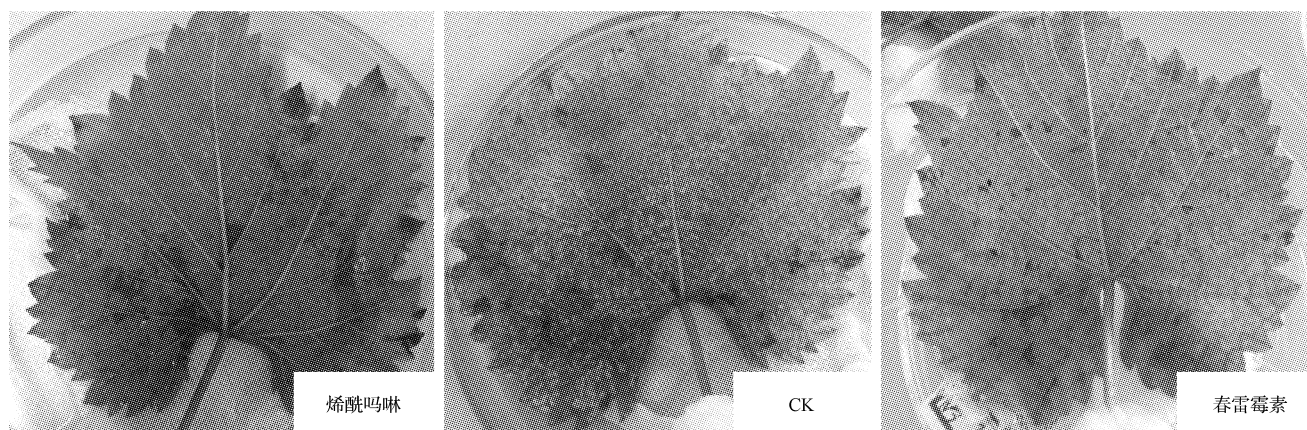


图 2 春雷霉素 (含渗透剂)对葡萄霜霉病的治疗效果

Fig. 2 Treatment effect of kasugamycin(contain penetrant)on *P. viticola*

表 3

春雷霉素加脂溶性渗透剂对葡萄霜霉病田间防效

Table 3

Control effect of kasugamycin with penetrant against *P. viticola* in the field

处理 Treatment	处理前病情指数 Disease index before treatment	喷药后 3 d Spraying 3 days later	
		病情指数 Disease index	相对防效 Control efficacy/%
烯酰吗啉 1 000 倍液	6.25	15.01	67.63
春雷霉素 200 倍液+脂溶性渗透剂 800 倍液	13.44	24.24	60.90
CK	16.09	43.15	—

3 结论与讨论

该研究用 4 种抗生素进行葡萄霜霉病菌离体叶片的预防和治疗试验,结果表明,武夷菌素、春雷霉素、多抗霉素 3 种抗生素对葡萄霜霉病的预防效果分别为 85.97%、57.89%和 70.18%,井冈霉素无显著抑菌效果;在室内对已发病的葡萄叶片,分别喷洒 4 种抗生素,3 d 后观察孢子囊的形成情况,结果表明,春雷霉素对葡萄霜霉病有一定的治疗作用。在春雷霉素中加入脂溶性渗透剂柔脂通,分别进行室内离体叶片的治疗试验和田间防治试验,结果表明,脂溶性渗透剂 800 倍液+春雷霉素 200 倍液对葡萄霜霉病有更好的治疗作用。

不同抗生素对葡萄霜霉病的预防试验中,虽然选取大小相同、叶位相同的健康葡萄叶片,但由于株与株之间亦存在差异,为了减小叶片之间的差异性,在试验中采用半叶法的方法,并通过设单独对照,来消除因不同药剂的内吸性差异造成的试验误差^[11-15]。农用抗生素杀菌剂具有内吸性强的特点,可被植物吸收并在体内运输,但其本身无杀菌作用,主要是对植物病原菌有抑制作用。这与该试验数据相吻合,其中武夷菌素、春雷霉素、多抗霉素 3 种抗生素对葡萄霜霉具有一定的预防作用,而在治疗试验中,只有春雷霉素对葡萄霜霉病有一定的防治作用。

在对离体葡萄叶片的治疗试验中,由于每片叶片之间的差异、发病情况的不同,很难统一初始的发病数据,在李冠林等^[16]研究表明,经对完整的叶部病害正投影图像进行处理,利用 K-means 聚类算法自动准确地将叶片区域和发病区域分别分割出来,通过像素统计的方法提取叶片和发病区域的面积特征,从而精确地计算出发病区域所占叶片总面积的百分比。并根据分级标准给出病害严重度级别。而在该试验中,则需通过新长出的白色霜霉状物确定治疗效果,在使用该方法时,影响因素

较多,并不能精准的确定发病级数,需要对该方法进行进一步修正处理。

参考文献

- [1] 史娟.宁夏贺兰山东麓酿酒和鲜食葡萄对霜霉病的抗性及其抗性机理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2004.
- [2] 高扬,杨丽芳,张晓玉,等.中国葡萄产业的现状、趋势与发展建议[J].河北果树,2007(2):1-2.
- [3] 丁贵云.葡萄霜霉病防治方法[J].现代农业,2012(9):15-16.
- [4] 卢燕林,赵金萍,李建华,等.葡萄霜霉病防治探讨[J].山西农业科学,2011,39(10):1107-1108.
- [5] 余凤玉,李振华,曾会才.抗真菌农用抗生素的研究进展[J].热带农业科学,2005,25(2):60-65.
- [6] 邱德文.生物农药研究进展与未来展望[J].植物保护,2013,39(5):81-89.
- [7] 朱昌雄,宋渊.我国农用抗生素的现状与发展趋势探讨[J].中国农业科技导报,2006,8(6):17-19.
- [8] 张宁波.农用抗生素研究进展[J].湖北农业科学,2006,45(6):830-833.
- [9] 杜兴兰,李正楠,姬惜珠,等.葡萄生轴霜霉菌孢子囊的长期保存[J].菌物学报,2008,27(6):908-914.
- [10] 李雯,冉隆贤,李会平.葡萄霜霉病菌孢子囊形成及离体萌发的适宜条件研究[J].北方园艺,2014(22):108-110.
- [11] 高国赋,魏宝阳,黄颖.农用抗生素生产菌株的筛选[J].湖南农业科学,2009(7):5-7.
- [12] 任兴超.农用抗生素类型及在现代农业生产中的应用[J].安徽农业科学,2014,42(17):5465-5466.
- [13] 侯慧,徐汉虹,林壁润,等.防治植物病害的农用抗生素的研究及应用[J].河南农业科学,2003(11):28-31.
- [14] SELIM S Z, ISMAIL M A. K-means-type algorithm; a generalized convergence theorem and characterization of local optimality[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1984, 6(1):81-87.
- [15] 崔华威,杨艳丽,黎敬涛,等.一种基于 photoshop 的叶片相对病斑面积快速测定方法[J].安徽农业科学,2009,37(22):10760-10762.
- [16] 李冠林,马占鸿,王海光.基于图像处理的葡萄霜霉病单叶严重度自动分级方法[J].中国农业大学学报,2011,16(6):88-93.

Control Effect of Different Antibiotics on Grape Downy Mildew

LI Wen^{1,2}, RAN Longxian¹, LI Huiping¹

(1. College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000; 2. Vocational Education Center of Funing District, Qinhuangdao, Hebei 066300)

三角梅植株不同部位水提取液抑菌效果研究

熊 亚^{1,2}, 李 敏 杰^{1,2}

(1. 攀枝花学院 生物与化学工程学院, 四川 攀枝花 617000; 2. 攀枝花市干热河谷特色生物资源工程技术中心, 四川 攀枝花 617000)

摘 要:以三角梅植株茎、叶、花为试材,采用最低抑菌浓度试验和测定抑菌圈大小试验,研究茎、叶、花水提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果。结果表明:茎、叶、花水提取物对3种菌均有抑菌效果,通过测定它们的最低抑菌浓度(MIC)及抑菌圈大小可知,三角梅叶水提取液的抑菌效果最好,其次是茎,花的抑菌效果最差。茎、叶水提取液对大肠杆菌的抑菌效果最好,花水提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好。通过不同pH值条件下茎、叶、花水提取液抑菌效果测定,在酸性条件下,水提取液对各菌种的抑菌效果较好。该试验为进一步开发利用三角梅资源,为天然食品防腐保鲜剂的开发提供理论依据。

关键词:三角梅;水提取液;最低抑菌浓度(MIC);抑菌效果

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)09-0129-04

三角梅(*Bougainvillea spectabilis* Willd)属紫茉莉科叶子花属常绿攀援状灌木,又称为九重葛、三叶梅、毛宝巾、簕杜鹃、叶子梅、纸花、宝巾花、南美紫茉莉等。在我国主要分布于广东、云南、海南、福建等地。因其属藤本植物,植株造型可塑性强,花型独特,花色丰富且花期长,故常用于盆景或园林绿化植物^[1],具有较高的园艺及观赏价值。三角梅除具有观赏价值之外,还具有某些药用价值,印度和墨西哥人曾利用三角梅的花和叶制茶,用于治疗咳嗽、高血糖,改善月经不调等妇科疾病^[2]。

目前,三角梅的研究主要集中在繁殖扦插^[3-4]、引种栽培^[5-6]及组织培养^[7-9]方面,此外,还有分子水平上对三角梅种质资源的研究^[10-12],对其花、叶挥发性组分的研究^[13-14],对其植株中一些功能活性物质如类黄酮^[15]、色素^[16-18]、矿质元素^[19]等的提取研究也陆续有了报道。由此可见,对三角梅资源的开发利用已越来越多的受到人们的重视。关于三角梅植株各部分的抑菌性至今尚鲜

见报道,该试验对三角梅茎、叶、花3部分的抑菌效果进行测定,以期天然保鲜防腐剂的开发,最大化利用三角梅资源提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试三角梅采自攀枝花学院C区苗圃。

供试菌种大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)及枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)由攀枝花学院生物与化学工程学院微生物实验室提供。

供试培养基为牛肉膏蛋白胨培养基^[20]。

手提式压力蒸汽灭菌锅(YX-260B型,广州世洋净化设备有限公司);双人单面净化工作台(SJ-CJ-2FDQ型,苏州苏洁净化设备有限公司);双层小容量恒温摇床(TS-2102C型,匡贝实业(上海)有限公司);台式高速离心机(HI650-W型,上海赵迪生物科技有限公司);电热恒温培养干燥箱(202型,北京中兴伟业仪器有限公司);高速万能粉碎机(FV-200型,北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 三角梅茎、叶、花水提取液的制备 采集三角梅

第一作者简介:熊亚(1980-),女,硕士,副教授,研究方向为应用微生物及发酵。E-mail: xiongya1980@163.com.

收稿日期:2015-12-16

Abstract: Taking 'Kyoho' leaves as materials, grape downy mildew as research object, the preventive and control effect of 300 times of 2% Wuyiencin, 200 times of 2% Kasugamycin, and 1 000 times of 3% Polyoxin and 1 000 times of 20% Validamycin on grape downy mildew was studied. The results showed that the preventive effect of 300 times of Wuyiencin, 200 times of Kasugamycin, and 1 000 times of Polyoxin were 85.97%, 57.89% and 70.18%, respectively, with Validamycin no obvious effect. Kasugamycin agent had an obvious treatment effect on grape downy mildew. The Kasugamycin with penetrating agent had synergistic effect on grape downy mildew in indoor and field experiment.

Keywords: grape downy mildew; antibiotic; lipid-soluble penetrant; prevention; treatment