

doi:10.11937/bfyy.20171508

# 解淀粉芽孢杆菌与九种农药的相容性及对苹果斑点落叶病田间防效的评价

赵云福<sup>1</sup>, 邱东晓<sup>1</sup>, 周丽梅<sup>1</sup>, 王佳宁<sup>2</sup>

(1. 烟台市农业技术推广中心, 山东 烟台 264001; 2. 青岛农业大学 农学与植物保护学院, 山东 青岛 266109)

**摘 要:**以解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 为研究对象, 将其与苹果园常用 9 种杀菌剂进行了相容性试验, 并分析了田间防治苹果斑点落叶病的效果。结果表明: 在最高田间推荐剂量下多菌灵、醚菌酯、腐霉利均可促进解淀粉芽孢杆菌的生长; 异菌脲、甲基硫菌灵、代森锰锌、多抗霉素轻微抑制其生长; 苯醚甲环唑和戊唑醇强烈抑制其生长。田间药效试验结果表明,  $1 \times 10^7$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 菌悬液与 70% 代森锰锌 WP 500 倍液、60% 醚菌酯 WDG 4 000 倍液、80% 多菌灵 WP 800 倍液、50% 异菌脲 WP 1 250 倍液交替施用可有效控制苹果斑点落叶病的危害, 秋梢停止抽生后防效达 71.78% 以上, 对苹果树安全, 提供了一条防治苹果斑点落叶病减量控害的有效手段。

**关键词:**斑点落叶病; 解淀粉芽孢杆菌; 相容性; 药效评价

**中图分类号:** S 436.611.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2017)23-0073-05

苹果斑点落叶病 (*Alternaria mali* Roberts) 是我国苹果生产中的重要病害, 严重影响树势和产量, 一般有春梢、秋梢抽生期 2 个发病高峰, 周年防治需 7 次以上。现主要通过施用代森锰锌、异菌脲、苯醚甲环唑、醚菌酯、多菌灵等农药进行防治<sup>[1-2]</sup>, 但化学农药的频繁使用导致农药残留增加、环境污染加剧、病原菌抗药性加快<sup>[3-4]</sup>、果品品质下降, 因此亟需寻找一条绿色安全、有效减量的新手段来防治苹果斑点落叶病。KATAN 等<sup>[5]</sup>认为用化学农药弱化病原菌后利于生防微生物的定殖, 微生物菌剂与化学农药联合施用, 可降低化学杀菌剂用量、减少环境污染、延缓病菌抗药性, 实现对病害的持续兼治<sup>[6-8]</sup>, 但研究表明, 二者的协同作用不是简单的效果叠加, 化学农药中的助剂都可能对生防微生物产生利或不利的影

响<sup>[9-11]</sup>。目前登记为防治苹果斑点落叶病的农药产品有 500 余种 (截至 2017 年 1 月), 而活体微生物杀菌剂产品仍为空白。解淀粉芽孢杆菌属于芽孢杆菌属, 其菌体及代谢产物可抑制病原菌的生长, 是一类很有潜力的生防菌资源, 近年来对解淀粉芽孢杆菌的研究越来越多<sup>[12-14]</sup>, 甚至在稻瘟病上取得了产品登记<sup>[15]</sup>, 而在果树病害田间防治上, 仅见解淀粉芽孢杆菌防治苹果腐烂病、核桃腐烂病、红枣缩果病取得成功的报道<sup>[16-18]</sup>, 尚鲜见其防治苹果斑点落叶病的报道。

基于此, 将室内筛选的对多种苹果病原真菌有良好拮抗作用、抗逆性较强的解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 应用于田间, 以评价其与常规化学杀菌剂交替施用防治苹果园斑点落叶病的效果, 为苹果斑点落叶病减量控害提供了有效的防治手段。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试苹果品种为“红富士”; 防治对象为苹果

**第一作者简介:** 赵云福 (1980-), 男, 硕士, 农艺师, 现主要从事农药管理与登记试验等研究工作。E-mail: zaiya-oliusan@163.com.

**基金项目:** 烟台市科技发展计划资助项目 (2013NC058)。

**收稿日期:** 2017-07-10

斑点落叶病 (*Alternaria mali* Roberts)。

供试样品:解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 由青岛农业大学真菌学实验室分离提供,现保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏编号:No. 11768。80%多菌灵 WP(河北冠龙农化有限公司)、60%醚菌酯 WDG(陕西汤普森生物科技有限公司)、50%异菌脲 WP(河北冠龙农化有限公司)、70%甲基硫菌灵 WP(江苏蓝丰生物化工股份有限公司)、50%腐霉利 WP(陕西上格之路生物科学有限公司)、30%醚菌酯 WP(京博农化科技股份有限公司)、43%戊唑醇 SC(西安近代科技实业有限公司)、10%多抗霉素 WP(绩溪农华生物科技有限公司)、70%代森锰锌 WP(利民化工股份有限公司)、37%苯醚甲环唑 WEG(上海沪联生物药业股份有限公司)。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 药剂相容性试验

菌液制备:将解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 划线接种于 LB 平板上,置于培养箱 28℃ 恒温培养 2 d;将培养好的菌苔接种到 LB 液体培养基中,30℃ 摇床振荡培养 24 h 得到种子液。将种子液按 1.5%的比例(体积比)接种到大量发酵培养基中(配方为玉米粉 2.0%、胰蛋白胨 1.0%、酵母提取物 1.0%、磷酸氢二钾 0.5%),pH 6.5,培养温度 28℃,培养 84 h 后得到发酵液。将发酵液在 4℃,10 000 r·min<sup>-1</sup>下离心 20 min,沉淀加无菌水清洗再离心,得菌悬液备用。

将 9 种供试农药稀释后与 LB 液体培养基混合,配制成终浓度为各农药最高田间推荐剂量(表 1),倒 LB 平板,以不加药剂的 LB 平板为对照。将上述备用菌液稀释至 1×10<sup>3</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>,取 70 μL 均匀涂布平板,重复 4 次,将平板置于 30℃ 条件下恒温培养 2 d 后,观察菌落数量及大小。

### 1.2.2 试验设计

试验于 2016 年在牟平区武宁镇苹果园进行,树龄 13 年,株行距 3 m×4 m,壤土,有机质含量 1.2%左右,灌溉条件便利,地面少量杂草覆盖,往年苹果斑点落叶病均发生。药剂喷施试验设 8 个处理(表 2),每小区喷 2 棵苹果树,4 次重复,随机区组排列,周围设保护行。试验于 2016 年 5 月

20 日首次喷药,以后按雨日及间隔时间 15 d 左右喷药一次,共喷药 8 次。采用 3WBD-16 型背负式电动喷雾器,工作压力 0.2~0.4 MPa,圆锥雾喷头,全树均匀喷雾。每棵树按东、南、西、北、中 5 个方位随机调查新梢抽生旺盛的 5 个当年生枝条上的全部叶片,记载总叶数,各级病叶数,以病情指数计算防治效果。叶片病情分级标准:0 级,无病斑;1 级,病斑面积占整个叶面积的 10%以下;3 级,病斑面积占整个叶面积的 11%~25%;5 级,病斑面积占整个叶面积的 26%~40%;7 级,病斑面积占整个叶面积的 41%~65%;9 级,病斑面积占整个叶面积的 65%以上。病情指数=Σ(各级病叶×相对级数值)/(调查总叶×9)×100;防治效果(%)=(1-空白对照药前病指×药剂处理药后病指)/(空白对照药后病指×药剂处理药前病指)×100。第一次施药前调查发病基数,秋梢停止抽生后调查防治效果,共调查 2 次。

表 1 9 种供试杀菌剂的田间推荐剂量(倍数)及试验倍数

农药通用名	含量与剂型	标签田间推荐剂量/倍	试验倍数/倍
多菌灵	80%WP	800~1 200	800
醚菌酯	30%WP	2 000~3 000	2 000
腐霉利	50%WP	1 500~2 000	1 500
异菌脲	50%WP	1 250~1 500	1 250
甲基硫菌灵	70%WP	1 000~1 200	1 000
多抗霉素	10%WP	1 000~1 500	1 000
苯醚甲环唑	37%WEG	5 500~7 500	5 500
代森锰锌	70%WP	500~700	500
戊唑醇	43%SC	5 000~7 000	5 000

表 2 解淀粉芽孢杆菌与化学农药交替施用

处理	施药次数							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	B	B	B	B	B	B	B	B
2	代	B	B	多	多	B	B	醚
3	异	异	B	B	醚	醚	B	多
4	B	代	B	代	B	异	B	异
5	代	异	B	B	醚	B	醚	多
6	多	B	B	醚	醚	B	B	多
7	代	多	醚	多	代	醚	多	醚
8	CK	CK	CK	CK	CK	CK	CK	CK

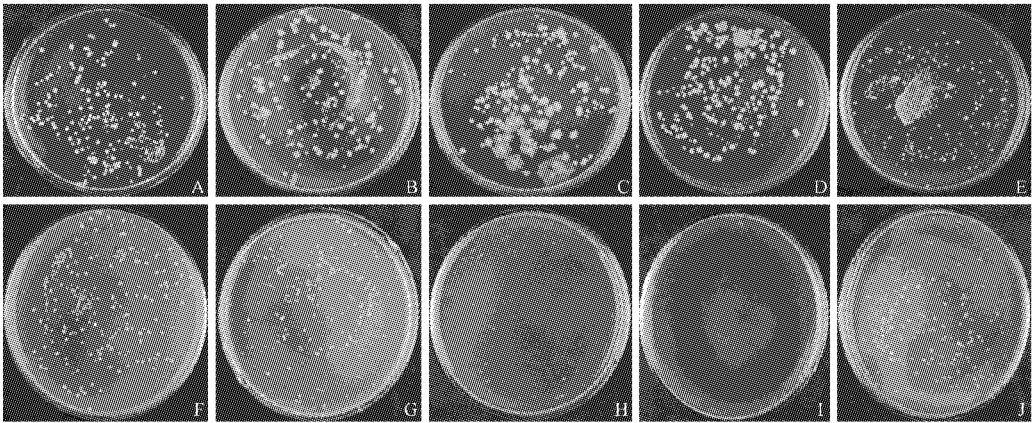
注:“B”为解淀粉芽孢杆菌 HMQUAU140045 菌悬液,1×10<sup>7</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>;“代”为 70%代森锰锌 WP 500 倍液;“多”为 80%多菌灵 WP 800 倍液;“醚”为 60%醚菌酯 WDG 4 000 倍液;“异”为 50%异菌脲 WP 1 250 倍液;CK 为空白对照。

2 结果与分析

2.1 解淀粉芽孢杆菌 HMQAU140045 与苹果园 9 种常用农药的相容性

由图 1、表 3 可知,在供试药剂最高田间推荐剂量下,菌株 HMQAU140045 均可生长,但菌落数量有所不同。处理 2 d 后,多菌灵、醚菌酯、腐霉利处理相比 CK 菌落数更多,菌落扩展范围

更大;异菌脲、甲基硫菌灵、代森锰锌、多抗霉素处理 2 d 时在菌落数量上与 CK 无明显差异,但菌落比 CK 略小。戊唑醇、苯醚甲环唑对菌株 HMQAU140045 抑制作用较强,但不完全抑制其生长,戊唑醇的抑制作用相对于苯醚甲环唑更强。总体上,菌株 HMQAU140045 与多数试验药剂有一定相容性,但是对三唑类杀菌剂戊唑醇、苯醚甲环唑较敏感。



注:A. CK;B. 多菌灵;C. 醚菌酯;D. 腐霉利;E. 异菌脲;F. 甲基硫菌灵;G. 多抗霉素;H. 苯醚甲环唑;I. 戊唑醇;J. 代森锰锌。

图 1 解淀粉芽孢杆菌 HMQAU140045 在含农药平板 LB 上的生长状况

表 3 解淀粉芽孢杆菌 HMQAU140045 在含农药平板 LB 上的菌落数

处理	菌落数量	5%差异 显著性	处理	菌落数量	5%差异 显著性
CK	152	bcd	甲基硫菌灵	158	abc
多菌灵	155	abcd	多抗霉素	150	cd
醚菌酯	160	ab	苯醚甲环唑	88	e
腐霉利	163	a	戊唑醇	10	f
异菌脲	150	cd	代森锰锌	148	d

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

2.2 解淀粉芽孢杆菌 HMQAU140045 对苹果园斑点落叶病防治效果

由表 4 可知,秋梢停止抽生后,2、3、4、5、6 均为解淀粉芽孢杆菌菌悬液  $1 \times 10^7$  cfu  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 与各化学农药交替使用的处理,均可有效控制苹果斑点落叶病的发生扩展,防效达 71.78% 以上,处理间无显著差异;处理 7 为纯化学农药制剂,各处理与处理 7 无显著性差异,而处理 1 完全用解淀粉芽孢杆菌进行防治,防效稍低,为 64.07%,显著低于处理 2~7 对苹果斑点落叶病的防效。

表 4 苹果斑点落叶病田间防治效果

处理	药前	药后(秋梢停止抽生)		
	病情指数	病情指数	防效/%	差异显著性
1	0.58	2.36	64.07	bB
2	0.61	1.95	71.78	aA
3	0.59	1.81	73.09	aA
4	0.61	1.87	72.99	aA
5	0.62	1.90	73.18	aA
6	0.58	1.78	72.83	aA
7	0.59	1.86	72.24	aA
8	0.60	6.81	—	—

3 结论与讨论

通过农药相容性试验,初步筛选出对解淀粉芽孢杆菌 HMQAU140045 具有促生作用的多菌灵、醚菌酯、腐霉利及对其抑制作用轻微而异菌脲、甲基硫菌灵、代森锰锌、多抗霉素等苹果园常用农药。一般来说,活体微生物杀菌剂由于受环境因素影响较大,导致防效有时不稳定,只用某种微生物杀菌剂防治病害风险较大<sup>[19-20]</sup>,特别是对于为害周期长、防治次数多的病害。就苹果斑点

落叶病来说,从春梢防治期至秋梢抽生结束,解淀粉芽孢杆菌和与其相容性较好的保护性、治疗性。化学农药代森锰锌、醚菌酯、异菌脲、多菌灵等间隔 15 d 左右,多次交替施用,均可有效控制周年苹果斑点落叶病为害,比只用解淀粉芽孢杆菌防治苹果斑点落叶病防效高且稳定。其防效与常规化学农药防治斑点落叶病防效相当,并减少 3 次左右化学农药的使用次数,试验期间无恶劣气象因素,秋梢停止抽生后调查,各小区果树均生长正常,未见药害现象发生。该方法可作为苹果斑点落叶病防治绿色安全、减量控害有效手段,具有进一步开发利用的价值和潜力。

### 参考文献

- [1] 侯琤,周增强,王丽. 多种杀菌剂对苹果斑点落叶病的田间防治效果[J]. 中国农学通报, 2015, 31(28): 151-155.
- [2] 王彦荣,胡同乐,曹克强. 5 种杀菌剂对苹果轮纹病菌的室内毒力测定及田间药效试验[J]. 中国果树, 2013(3): 20.
- [3] 吕松,王忆,张新忠,等. 苹果斑点落叶病抗病性种质评价及遗传分析[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(4): 68-74.
- [4] 刘保友,王英姿,张伟,等. 苹果斑点落叶病菌对多抗毒素的抗药性及其地理分布[J]. 中国果树, 2013(4): 49-51.
- [5] KATAN J, GINZBURG C, FREEMAN S. The weakening effect as a trigger for biological control and criteria for its evaluation[M]//Biological control of plant diseases. US: Springer, 1992: 55-61.
- [6] 赵广,郭堂勋,李其利,等. 枯草芽孢杆菌 9A 与 4 种药剂混配对芒果炭疽病防控研究[J]. 南方园艺, 2015, 26(5): 1-6.
- [7] 鹿秀云,李社增,高胜国,等. 5 种化学杀菌剂对枯草芽孢杆菌 NCD-2 菌体及芽孢的影响[J]. 植物病理学报, 2005(S1): 173-175.
- [8] 柯杨,马瑜,李勃,等. 生防枯草芽孢杆菌 A97 与化学杀菌剂的相容性研究[J]. 陕西农业科学, 2013, 59(6): 44-47.
- [9] FRAVEL D R, DEAHL K L, STOMMEL J R. Compatibility of the biocontrol fungus *Fusarium oxysporum*, strain CS-20 with selected fungicides[J]. Biological Control, 2005, 34(2): 165-169.
- [10] ANAND T, CHANDRASEKARAN A, KUTTALAM S, et al. Integrated control of fruit rot and powdery mildew of chilli using the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens*, and a chemical fungicide[J]. Biological Control, 2010, 52(1): 1-7.
- [11] 王文桥,马平,张小风,等. 生物源杀菌剂与化学药剂协调防控番茄病害[J]. 植物保护学报, 2011, 38(1): 75-80.
- [12] 杨洪凤,薛雅蓉,余向阳,等. 内生解淀粉芽孢杆菌 CC09 菌株在小麦叶部的定殖能力及其防治白粉病效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 481-488.
- [13] 关晓欢,姜华. 解淀粉芽孢杆菌研究进展[J]. 生物技术世界, 2013(1): 4-9.
- [14] 洪鹏,安国栋,胡美英,等. 解淀粉芽孢杆菌防治果蔬采后病害研究进展[J]. 中国农学通报, 2013(12): 168-173.
- [15] 欧阳静. 中国首次给解淀粉芽孢杆菌颁发“执照”[J]. 农药市场信息, 2013(19): 46.
- [16] 卫军锋. 苹果树腐烂病防治药剂筛选和新方法研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [17] 张岭,张志成. 生物农药解淀粉芽孢杆菌防控核桃树腐烂病应用[J]. 农药市场信息, 2015(21): 54-55.
- [18] 张岭. 解淀粉芽孢杆菌 B7900 防治红枣缩果病效果试验[J]. 西北园艺(果树专刊), 2016(3): 42-43.
- [19] 贾丽苑,贾雨,黄建新. 拮抗菌应用于微生物杀菌剂的研究现状及展望[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(10): 49-52.
- [20] 陈冲,刘伟,史华平,等. 微生物农药在国内果树生产中的应用现状与前景[J]. 中国农学通报, 2015(19): 35-40.

## Field Efficacy Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* Against Apple *Alternaria mali* Roberts and Its Compatibility With Nine Chemical Fungicides

ZHAO Yunfu<sup>1</sup>, QIU Dongxiao<sup>1</sup>, ZHOU Limei<sup>1</sup>, WANG Jianing<sup>2</sup>

(1. Agricultural Technology Promotion Center, Yantai, Shandong 264001; 2. College of Agronomy and Crop Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

**Abstract:** Compatibility of *Bacillus amyloliquefaciens* HMQAU140045 with nine kinds of chemical fungicides commonly used in apple orchards and its field control effects against apple leaf spot were studied. The results indicated that carbendazim, kresoxim-methyl and procymidone could promote the growth of *Bacillus amyloliquefaciens*, and iprodione, thiophanate-methyl, mancozeb and polyoxin had slight inhibitory effects, while difenoconazole and tebuconazole showed strong inhibitory effects at their maximum recommended doses. The results of field trials showed a safe and effective method

doi:10.11937/bfyy.20171242

## 核桃散粉期花粉通量时空格局与影响因素

赵明明, 陈虹, 潘存德, 杨丽, 方淼, 尚刘群

(新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆教育厅干旱区林业生态与产业技术重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘要:**以单株核桃为研究对象,通过花粉收集的方法分析了核桃雄花散粉期,花粉通量与散粉时间、传播距离、飘浮高度和气象因子的关系,以了解新疆南疆盆地核桃雄花散粉期花粉飞散时空格局及其影响因素。结果表明:新疆南疆盆地核桃雄花散粉持续时间约为1周,一日内12:00—14:00花粉通量最大;水平方向上花粉通量受风向影响,且随传播距离的增大逐渐减小;垂直方向上随高度的增加花粉通量逐渐减小;花粉通量与气温呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与风速呈显著正相关( $P<0.05$ )。花粉通量大小主要受气温和风向、风速的影响。

**关键词:**核桃;花粉通量;时空格局;影响因素

**中图分类号:**S 664.101 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)23-0077-04

核桃(*Juglans regia* L.)属胡桃科(Juglandaceae)核桃属(*Juglans*)落叶乔木<sup>[1]</sup>,又名胡桃,位列世界四大坚果树种之首<sup>[2]</sup>,其坚果种仁不仅味美,而且具有很高的营养价值<sup>[3]</sup>。新疆南疆盆地和田、喀什和阿克苏地区现已发展成为我国优质核桃的主产区。作为雌雄同株异花风媒植物,由于雌雄花花期不一致,使得核桃自花授粉坐果率很低,生产中雌先型品种必须与雄先型品种合理配置,才能有效提高其坐果率<sup>[4]</sup>,但是对核桃雄花散粉期花粉飞散的时空格局与影响因素尚鲜见报道。为此,该研究以单株核桃为研究对象,旨

在通过对其雄花散粉期花粉通量时空格局与影响因素的分析,以期加深对核桃雄花散粉期花粉飞散时空特征的认识。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试核桃样株为“新新2号”(J. regia ‘Xinxin2’),树龄15年,树高6.1 m,其四周400 m范围内均为农田,种植作物为冬小麦(*Triticum aestivum*)。距离样株正北方向约10 m处有2株树龄8年且已做去雄处理的“温185”(J. regia ‘Wen185’)核桃。样株正西方向约250 m处的垂直方向上有一条防护林带,树种为新疆杨(*Populus alba* var. *pyramidalis*),平均树高12 m,林带结构为紧密型,防护林带的另一侧为撂荒地。

**第一作者简介:**赵明明(1991-),女,硕士研究生,研究方向为植物生殖生态。E-mail:1520248246@qq.com.

**责任作者:**潘存德(1964-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为森林生态与经营。E-mail:pancunde@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31460210)。

**收稿日期:**2017-08-15

against apple *Alternaria mali* Roberts which could reduce the use of chemical fungicides by alternately using  $10^7$  cfu · mL<sup>-1</sup> suspension of *Bacillus amyloliquefaciens* HMQAU140045 and other chemical fungicides such as mancozeb 70% WP 500 times, carbendazim 80% WP 800 times, kresoxim-methyl 60% WDG 4 000 times and iprodione 50% WP 1 250 times, and the final control effects were all above 71.78% in autumn tip stage.

**Keywords:** *Alternaria mali* Roberts; *Bacillus amyloliquefaciens*; compatibility; efficacy evaluation