

6 种杀菌剂对苹果斑点落叶病的保护和 治疗作用时限研究

杜晓蕾,刘 欣,胡同乐*,王亚南,王树桐,曹克强*
(河北农业大学 植物保护学院,河北 保定 071001)

摘要: 为了解决当前苹果斑点落叶病防治中难以把握恰当用药时机及用药间隔问题,采用离体叶片接种法测定 6 种杀菌剂对苹果斑点落叶病的保护作用持效期及治疗作用时限。结果表明,多抗霉素、代森锰锌、异菌脲和戊唑醇的保护作用持效期较长,可达 7 d 以上;双胍三辛烷基苯磺酸盐的持效期为 3~7 d;苯醚甲环唑的防病效果较差,持效期较短,仅能维持 1~3 d。降雨对杀菌剂保护作用持效期有一定的影响,施用杀菌剂后短时间内降雨,防效会有所下降,施药与降雨间隔时间越短,对防效的影响越大。在治疗试验中,接种后 24 h 施药,多抗霉素、异菌脲、戊唑醇和双胍三辛烷基苯磺酸盐对苹果斑点落叶病的治疗效果较好,而苯醚甲环唑效果不佳;接种后 48 h 施药,5 种药剂的治疗效果均显著降低。因此,对于苹果斑点落叶病的防治应以保护为主,建议在降雨前 2~3 d 喷施多抗霉素、代森锰锌、异菌脲或戊唑醇进行防治。

关键词: 杀菌剂;苹果斑点落叶病;离体叶片;保护作用;持效期

中图分类号: S436.611.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)11-0089-05

Duration of Protective Effect and Curative Effect of Six Fungicides against Apple *Alternaria* Blotch

DU Xiaolei, LIU Xin, HU Tongle*, WANG Ya'nan, WANG Shutong, CAO Keqiang*
(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Apple *Alternaria* blotch is one of the most important diseases in apple production. It is difficult to clarify the appropriate timing and the interval of fungicide application to control apple *Alternaria* blotch. The protective effect duration and treatment timing of six fungicides against apple *Alternaria* blotch were investigated *in vitro*. The results showed that polyoxins, mancozeb, iprodione and tebuconazole had long protective effect, with effective duration above 7 days. The protective effect of iminoctadine tris lasted for 3 to 7 days. The protective effect duration of difenoconazole against apple *Alternaria* blotch was very short, and only lasted for 1 to 3 days. Rainfall could influence protective effect of fungicides. The short interval between spraying and raining would cause a decline in control effect. The shorter time interval, the larger impact of control efficiency it had. When the fungicides were applied 24 h after inoculation, polyoxins, iprodione, tebuconazole and iminoctadine tris showed better curative effect against apple *Alternaria* blotch, but difenoconazole showed poor effect. When they were applied 48 h after inoculation, the curative effects of the five fungicides were all significantly declined. Therefore, the prevention and treatment of apple *Alternaria* blotch should give priority to protection. To prevent the disease in the field, we recommend using polyoxins, mancozeb, iprodione or tebuconazole 2—3 days before rain.

收稿日期:2015-04-10
基金项目:国家苹果产业技术体系项目(CARS-28)
作者简介:杜晓蕾(1991-),女,山东菏泽人,在读硕士研究生,研究方向:天然产物农药。E-mail:green0225@163.com
* 通讯作者:胡同乐(1973-),男,河北安新人,教授,博士,主要从事植物病害流行与综合防治研究。
E-mail:tonglemail@126.com
曹克强(1963-),男,河北容城人,教授,博士,主要从事植物病害流行与综合防治研究。
E-mail:ckq@hebau.edu.cn

Key words: fungicide; apple *Alternaria* blotch; *in vitro* leaf; protective effect; duration

据国家苹果产业技术体系的统计资料,目前我国苹果栽培面积已达 222 万 hm²,年产量达 3 370 万 t。在苹果的高产优质栽培中,病害是制约苹果产业发展的重要因子^[1]。据《中国果树病虫害志》^[2]记载,我国的苹果病害有 117 种,近年来又陆续出现一些新的病害,如炭疽叶枯病、套袋果实的黑点病等。目前,苹果上危害较为严重的病害包括腐烂病、轮纹病、早期落叶病、套袋果实黑点病、病毒病等^[1]。其中,早期落叶病在我国大部分苹果产区均有发生,在某些地区严重发生,直接影响苹果的产量和品质,造成严重的经济损失。

苹果斑点落叶病(apple *Alternaria* blotch)又称褐纹病,是一种重要的早期落叶病,其是由苹果链格孢(*Alternaria mali* Roberts)侵染而引起的一种世界性分布气传病害,危害苹果叶片、新梢和果实,严重影响苹果的生产^[3-4]。目前,生产上对苹果斑点落叶病的防治以化学防治为主,在防治中主要存在药剂使用混乱、药效评价缺乏和抗性产生等问题。为了控制该病害,同时提高化学防治效果、减少用药次数,急需明确杀菌剂对苹果斑点落叶病的保护作用持效期及治疗作用时限,以达到在防治苹果斑点落叶病的关键时期,准确把握用药时机,防止病害流

行。为此,通过室内人工接种的方法,测定了 6 种杀菌剂防治苹果斑点落叶病的保护作用持效期及治疗作用时限,旨在为生产上有效防治苹果斑点落叶病提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试苹果品种

供试苹果品种藤牧一号,为苹果斑点落叶病感病品种,由河北农业大学植物病害流行与综合防控研究室试验基地提供。

1.2 病原菌分离、培养和孢子悬浮液的配制

选择上年采集的苹果斑点落叶病病叶,按照组织分离法^[5]分离得到苹果斑点落叶病病原菌,置于 25 ℃培养箱中进行培养。接种前将无菌水加入培养 10 d 左右的带菌培养基平板上,用涂布器将培养基表面的孢子刮下,并用纱布过滤即得孢子悬浮液,将其浓度调整为 1 × 10⁵ 个/mL 用于接种。

1.3 供试药剂

根据药剂的有效成分种类,选择 6 种目前常用的防治苹果斑点落叶病的药剂,其详细信息如表 1 所示。

表 1 供试药剂信息

药剂名称	生产厂家	推荐使用有效成分质量浓度
		/(mg/L)
10% 多抗霉素 WP	日本科研制药株式会社	100
80% 代森锰锌 WP	陶氏益农农业科技(中国)有限公司	1 333
40% 双胍三辛烷基苯磺酸盐 WP	日本曹达株式会社	500
45% 异菌脲 SC	江苏龙灯化学有限公司	450
80% 戊唑醇 WP	淄博新农基农药化工有限公司	100
25% 苯醚甲环唑 ME	烟台博瑞特生物科技有限公司	16.7

1.4 试验方法

1.4.1 杀菌剂对苹果斑点落叶病保护作用持效期的测定 采用离体叶片法。选择相同叶龄、大小一致的苹果幼嫩叶片,连同叶柄剪下,无菌水冲洗,于接种前 7、3、1 d 将供试药剂分别均匀喷施于苹果叶片上,同时设清水对照(CK)。将叶片置于 1% 水琼脂平板内,28 ℃保湿培养。达到处理时间后,将配制好的斑点落叶病菌孢子悬浮液均匀喷施于苹果叶片上进行接种,每个处理 12 片叶作为 4 次重复。于接种后 5 d 调查病害发生情况。叶部病级分级标准^[6]:0 级,无病斑;1 级,病斑面积占整个叶面积的 10% 及以下;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 66% 及以上。按下列公式计算各处理的病情指数及防治效果。病情指数 = \sum (各级病叶数 × 相对级数值)/(调查总叶数 × 最高病级值) × 100;防治效果 = (对照病情指数 - 处理病情指数)/对照病情指数 × 100%。

1.4.2 杀菌剂对苹果斑点落叶病治疗作用时限的测定 采用离体叶片法。选择相同叶龄、大小一致的苹果幼嫩叶片,连同叶柄剪下,无菌水冲洗后,将配制好的斑点落叶病菌孢子悬浮液均匀喷施于苹果叶片上进行接种。将叶片置于 1% 水琼脂平板内,28 ℃保湿培养。分别于接种后不同时间(12、24、

48、72 h)将供试药剂(5 种,不含保护药剂代森锰锌)均匀喷施于苹果叶片上,同时设清水对照(CK)。每个处理 12 片叶作为 4 次重复。于接种后 5 d 进行病情调查,计算各处理的病情指数及防治效果。

1.4.3 降雨对药剂保护作用持效期的影响测定
设雨淋(在接种前 1 h 对叶片喷水)、避雨 2 种处理方式,雨量为中雨量(日降雨量 20 mm)。分别于接种前 7 d、3 d、1 d、0 d 在叶片上喷施药剂,同时设清水对照(CK)。每个处理 1 个新梢(5~10 片叶),设 3 次重复。接种当天取回叶片,在室内将斑点落叶病菌孢子悬液接种于叶片上。将叶片置于 1% 水琼脂平板内,28 ℃ 保湿培养。于接种后 5 d 进行病情调查,计算各处理的病情指数及防治效果。

2 结果与分析

2.1 杀菌剂对苹果斑点落叶病的保护作用持效期
试验结果(表 2)表明,多抗霉素、代森锰锌和异菌脲有较好的保护作用,喷药后 1 d 接种苹果斑点落

叶病菌的防效分别为 91.86%、89.53% 和 88.39%,喷药后 3 d 接种苹果斑点落叶病菌的防效分别达到 82.14%、80.95% 和 80.95%,喷药后 7 d 接种的防效也在 55% 以上;双胍三辛烷基苯磺酸盐和戊唑醇喷药后 1 d 防效较高,分别为 87.21% 和 80.23%,喷药后 3 d 接种的防效分别为 73.81% 和 77.38%,喷药后 7 d 接种的防效在 50% 左右;苯醚甲环唑持效期较短,防效较差,喷药后 1 d 接种防效为 60.47%,喷药后 3 d 接种的防效仅为 48.81%,喷药后 7 d 接种的防效下降至 29.54%,基本失去保护效果。喷药后 3 d 接种病菌,除保护性药剂代森锰锌外其余 5 种药剂的防效与喷药后 1 d 接种差异不显著,而喷药后 7 d 接种病菌,各药剂的防效与喷药后 1 d 接种差异均达显著水平。本研究将防效达到 50% 以上的持续时间定为药剂保护作用的持效期(和治疗作用的时限),因此,多抗霉素、代森锰锌、异菌脲和戊唑醇 4 种药剂的保护作用持效期可达 7 d 以上,双胍三辛烷基苯磺酸盐的持效期在 3~7 d,苯醚甲环唑的持效期仅为 1~3 d。

表 2 施药后不同时间接种苹果斑点落叶病菌药剂对叶片的保护效果

药剂	施药后 1 d 接种		施药后 3 d 接种		施药后 7 d 接种	
	病情指数	防效/%	病情指数	防效/%	病情指数	防效/%
10% 多抗霉素 WP	6.48	91.86a	13.89	82.14a	33.33	59.09b
80% 代森锰锌 WP	8.33	89.53a	14.81	80.95b	35.19	56.83c
45% 异菌脲 SC	9.26	88.39a	14.81	80.95a	36.11	55.68b
40% 双胍三辛烷基苯磺酸盐 WP	10.19	87.21a	20.37	73.81a	42.59	47.73b
80% 戊唑醇 WP	15.74	80.23a	17.59	77.38a	38.89	52.27b
25% 苯醚甲环唑 ME	31.48	60.47a	39.81	48.81a	57.41	29.54b
CK	79.63		77.78		81.48	

注:同行数据后不同字母表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著(Duncan's 新复极差法),下同。

2.2 杀菌剂对苹果斑点落叶病的治理作用时限
测试结果(表 3)表明,接种后 12 h 施药,多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑对苹果叶片的治理效果分别达 91.30%、85.87%、81.52%、69.57% 和 50.00%;接种后 24 h 施药,多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑对苹果叶片的治理效果分别为 80.85%、76.60%、69.15%、64.89% 和 41.49%,与接

种后 12 h 施药治疗效果差异不显著;在接种后 48 h 施药,多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑对苹果叶片的治理效果分别下降到 44.12%、30.39%、32.35%、20.59% 和 15.69%,治疗效果显著降低;接种后 72 h 施药,5 种药剂对苹果叶片的治理效果分别降至 36.73%、20.41%、26.53%、15.31% 和 5.10%,基本失去治疗效果。多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、

表 3 苹果斑点落叶病菌接种后不同时间施药对叶片的治理效果

药剂	接种后 12 h 施药		接种后 24 h 施药		接种后 48 h 施药		接种后 72 h 施药	
	病情指数	防效/%	病情指数	防效/%	病情指数	防效/%	病情指数	防效/%
10% 多抗霉素 WP	7.41	91.30a	16.67	80.85a	52.78	44.12b	57.41	36.73b
45% 异菌脲 SC	12.04	85.87a	20.37	76.60a	65.74	30.39b	66.67	26.53b
40% 双胍三辛烷基苯磺酸盐 WP	15.74	81.52a	26.85	69.15a	63.89	32.35b	72.22	20.41b
80% 戊唑醇 WP	25.93	69.57a	30.56	64.89a	75.00	20.59b	76.85	15.31b
25% 苯醚甲环唑 ME	42.59	50.00a	50.93	41.49a	79.63	15.69b	86.11	5.10b
CK	85.19		87.04		94.44		90.74	

戊唑醇在接种后 24 h 施药,防效高于 50%,说明这些药剂的治疗作用时限在 24 h 以上;苯醚甲环唑在接种后 12 h 施药,防效达到 50%,说明该药剂的治疗作用时限在 12 h 内。

2.3 降雨对药剂保护作用持效期的影响

从表 4 可以看出,喷药后 1 d 避雨条件下接种,多抗霉素、代森锰锌、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑的防效均较高,分别达到 98.42%、92.12%、96.85%、93.69%、95.27% 和 92.12%;于喷药后 1 d 模拟雨水冲刷叶片,多抗霉素、代森锰锌、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑的防效分别下降至 84.24%、74.78%、84.24%、79.51%、76.36% 和 71.63%,与避雨相比防效显著降低。在喷药后 3 d 避雨条件下接种,多抗霉素、代森锰锌的防效分别为 93.69%、84.24%;而喷药后 3 d 模拟雨水冲刷叶片,多抗霉

素、代森锰锌的防效分别下降至 74.78%、65.32%,与避雨相比,防效差异达到显著性水平;异菌脲和双胍三辛烷基苯磺酸盐的防效分别由避雨条件下的 88.96% 和 71.63% 下降至 81.09% 和 66.90%,戊唑醇和苯醚甲环唑在避雨与降雨条件下的防效均为 81.09% 和 73.21%,这 4 种药剂的防效无显著性变化。在喷药后 7 d 避雨条件下接种,多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑的防效分别为 59.02%、47.99%、40.11%、52.72% 和 47.99%;喷药后 7 d 模拟雨水冲刷叶片,多抗霉素、异菌脲、双胍三辛烷基苯磺酸盐、戊唑醇和苯醚甲环唑的防效分别为 60.59%、44.84%、32.23%、47.99% 和 35.38%,与避雨相比,防效变化不显著;而代森锰锌的防效则由避雨时的 52.72% 下降至 38.53%,防效显著降低。

表 4 降雨对药剂保护作用持效期的影响

药剂	施药后 0 d 接种		施药后 1 d 接种				施药后 3 d 接种				施药后 7 d 接种			
			避雨		降雨		避雨		降雨		避雨		降雨	
	病情	防效	病情	防效	病情	防效	病情	防效	病情	防效	病情	防效	病情	防效
	指数	/%	指数	/%	指数	/%	指数	/%	指数	/%	指数	/%	指数	/%
10% 多抗霉素 WP	0.00	100.00a	1.23	98.42a	12.35	84.24bc	4.94	93.69ab	19.75	74.78c	32.10	59.02d	30.86	60.59d
80% 代森锰锌 WP	0.00	100.00a	6.17	92.12ab	19.75	74.78cd	12.35	84.24bc	27.16	65.32d	37.04	52.72e	48.15	38.53f
45% 异菌脲 SC	1.23	98.42a	2.47	96.85a	12.35	84.24b	8.64	88.96ab	14.81	81.09b	40.74	47.99c	43.21	44.84c
40% 双胍三辛烷基苯磺酸盐 WP	2.47	96.85a	4.94	93.69a	16.05	79.51b	22.22	71.63bc	25.93	66.90c	46.91	40.11d	59.09	32.23d
80% 戊唑醇 WP	2.47	96.85a	3.70	95.27a	18.52	76.36b	14.81	81.09b	14.81	81.09b	37.04	52.72c	40.74	47.99c
25% 苯醚甲环唑 ME	6.17	92.12a	6.17	92.12a	22.22	71.63b	20.99	73.21b	20.99	73.21b	40.74	47.99c	50.62	35.38c
CK	78.33		78.33		78.33		78.33		78.33		78.33		78.33	

3 结论与讨论

本研究涉及的 6 种药剂中除代森锰锌外,其余 5 种均为内吸性杀菌剂,多抗霉素、异菌脲和戊唑醇不仅对苹果斑点落叶病有较好的内吸治疗效果,还能保护叶片不受病原菌侵染,保护作用持效期在 7 d 以上。双胍三辛烷基苯磺酸盐可用于灰霉病、白粉病、柑橘贮藏期病害等的防治,但本研究的试验结果表明其对苹果斑点落叶病的治疗与保护效果并不理想,保护作用持效期较短,且成本相对较高,不推荐用来防治该病。苯醚甲环唑对苹果斑点落叶病的治疗与保护效果也较差,保护作用持效期为 1~3 d。代森锰锌作为保护杀菌剂,在防治苹果斑点落叶病的试验中表现较好,保护作用持效期可达 7 d 以上。作为田间防治苹果斑点落叶病的主要药剂,代森锰锌可与内吸性杀菌剂交替使用,达到更好的防治效果。

降雨对药剂保护作用持效期有一定的影响,施药后 1 d 降雨与避雨相比,6 种药剂的防效变化均达到显著性水平;施药后 3 d 降雨与避雨相比,仅多抗霉素、代森锰锌的防效变化达到显著性水平,而异菌脲、戊唑醇、双胍三辛烷基苯磺酸盐和苯醚甲环唑的防效均无显著性变化;施药后 7 d 降雨与避雨相比,除代森锰锌外,其余 5 种药剂的防效变化均不显著。因此,施用药剂后短时间内降雨会导致防效下降,施药与降雨间隔时间越短,对防效的影响越大。

苹果斑点落叶病是季节性病害,其病原菌喜温好湿,在夏季高温多雨地区,该病害易大面积发生。通过研究药剂对苹果斑点落叶病的保护作用持效期和治疗作用时限,发现苹果斑点落叶病菌侵入叶片后显症较快,在病菌侵入后 24 h 内如不及时进行治疗,便难以控制该病害的发生,因此,对于苹果斑点

(下转第 103 页)

- 89-113.
- [10] 李亮,董春娟,尚庆茂. 内源水杨酸参与黄瓜叶片光合系统对低温胁迫的响应[J]. 园艺学报,2013,40(3):487-497.
- [11] 胡学华,蒲光兰,肖千文,等. 水分胁迫下李树叶绿素荧光动力学特性研究[J]. 中国生态农业学报,2007,15(1):75-77.
- [12] Foyer C H, Noctor G. Leaves in dark see the light[J]. Science,2000,284:5414-5416.
- [13] 杨福孙,孙爱花,王燕丹,等. 生长延缓剂对槟榔苗期叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响[J]. 中国农学通报,2009,25(2):255-257.
- [14] Stepień P, Kłbus G. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress[J]. Biologia Plantarum,2006,50(4):610-616.
- [15] 江晓东,王芸,侯连涛,等. 少免耕模式对冬小麦生育后期光合特性的影响[J]. 农业工程学报,2006,22(5):66-69.
- [16] Gilmore A M, Yamamoto H Y. Zeaxanthin formation and energy dependent fluorescence quenching in pea chloroplasts[J]. Plant Physiology,1991,96:636-643.
- [17] 郑有飞,赵泽,吴荣军,等. 臭氧胁迫对冬小麦叶绿素荧光及气体交换的影响[J]. 环境科学,2010,31(2):472-479.
- [18] Kramer D M, Johnson G, Kiirats O, et al. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes[J]. Photosynthesis Research,2004,79(2):209-218.
- [19] 梁红柱,窦德泉,冯玉龙. 热带雨林下砂仁叶片光合作用和叶绿素荧光参数在雾凉季和雨季的日变化[J]. 生态学报,2004,24(7):1421-1429.
- [20] 程建峰,陈根云,沈允钢. 植物叶片特征与光合性能的关系[J]. 中国生态农业学报,2012,20(4):466-473.
- [21] Calatayud A, Iglesias D J, Talón M, et al. Effects of 2-month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2003,41(9):839-845.

(上接第 92 页)

落叶病的防治应以保护为主。降雨对药剂持效期的影响随施药与降雨间隔时间的缩短而增强,但由于降雨是造成病菌大量侵入的关键因素,因此仍需将雨前喷药防止病原菌侵入作为防治苹果斑点落叶病的关键策略,建议在雨前 2~3 d 进行药剂防治。鉴于苹果斑点落叶病的严重危害性^[7-8],在本研究的基础上,明确用药时机并减少用药次数,对有效防治该病害、延缓病菌抗药性的产生均具有重要意义。

参考文献:

- [1] 李保华,王彩霞,董向丽. 我国苹果主要病害研究进展与病害防治中的问题[J]. 植物保护,2013,39(5):46-54.
- [2] 中国农业科学院果树研究所. 中国果树病虫志[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,1994.
- [3] Jung K H. Growth inhibition effect of pyroligneous acid on pathogenic fungus, *Alternaria mali*, the agent of *Alternaria* blotch of apple [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering,2007,12:318-322.
- [4] 胡同乐,曹克强,王树桐,等. 生长季苹果斑点落叶病流行主导因素的确定[J]. 植物病理学报,2005,35(4):374-377.
- [5] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1998.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 17980. 124—2004 农药田间药效试验准则(二)杀菌剂防治苹果斑点落叶病[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [7] Miyamoto Y, Ishii Y, Honda A, et al. Function of genes encoding acyl-CoA synthetase and enoyl-CoA hydratase for host-selective ACT-toxin biosynthesis in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata* [J]. Phytopathology, 2009,99(4):369-377.
- [8] Li Y, Zhang L Y, Zhang Z, et al. A simple sequence repeat marker linked to the susceptibility of apple to *Alternaria* blotch caused by *Alternaria alternata* apple pathotype[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2011,136(2):109-115.