

# 不同杀菌剂对茶云纹叶枯病菌的体外抑制作用和大田防治效果

董照锋,熊潇垚,陈光华  
(商洛市农产品质量安全检验检测中心,陕西 商洛 726000)

**摘要:** 为了筛选安全高效防治茶云纹叶枯病的杀菌剂,采用菌丝生长速率法和孢子萌发法分别测定武夷菌素、多抗霉素、春雷霉素、枯草芽孢杆菌、戊唑醇共5种杀菌剂对病原菌菌丝生长和分生孢子萌发的抑制作用,并基于此开展大田防治试验。结果表明,戊唑醇、枯草芽孢杆菌对菌丝生长的抑制作用较强且持久,春雷霉素对分生孢子萌发的抑制作用强,对菌丝生长也有一定的抑制效果。430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 120 h 对菌丝生长的抑制率为 98.35%,100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 200 倍 120 h 对菌丝生长的抑制率为 83.64%,6% 春雷霉素 WP 1 200 倍对菌丝生长和分生孢子萌发的抑制率分别为 40.96% 和 96.65%。430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配对菌丝生长和分生孢子萌发的抑制率分别达到 100%,100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配对分生孢子萌发的抑制率达 100%,但对菌丝生长的抑制作用较差。大田试验表明,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配、430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍的防效分别为 78.81%、77.90%、77.66%、74.69%、68.13%。生产中可采用 430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混合喷雾,或者 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用 2 个配方进行防治。有机、绿色茶园防治,建议采用 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍间隔 10~15 d 交替喷雾 1 次。

**关键词:** 茶云纹叶枯病菌; 杀菌剂; 抑菌作用; 菌丝生长; 孢子萌发; 大田防治

**中图分类号:** S482;S435.711      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2018)11-0073-07

## *In vitro* Inhibition and Field Control Effect of Different Fungicides on *Colletotrichum camelliae* Massee

DONG Zhaofeng, XIONG Xiaoyao, CHEN Guanghua  
(Shangluo Municipal Agricultural Product Quality Safety Inspection and Testing Center, Shangluo 726000, China)

**Abstract:** In order to screen safe and efficient fungicides for *Colletotrichum camelliae* Massee control, mycelium growth rate method and spore germination method were used to analyze the inhibiting effects of wuyiencin, polyoxin, kasugamycin, *Bacillus subtilis* and tebuconazole on mycelium and spore of *Colletotrichum camelliae* Massee. Based on these, field control experiments were carried on. The results showed that tebuconazole and *Bacillus subtilis* had strong and lasting effect on mycelium. Kasugamycin had strong inhibitory effect on spore, and also inhibited mycelium. The inhibition rate of mycelium by 5 000 times dilute tebuconazole could be 98.35% in a 120-hour-experiment. The inhibition rate of mycelium by 1 200 times dilute *Bacillus subtilis* was 83.64% in a 120-hour-experiment. Under the same experiment

hours, the inhibition rates of mycelium and spore by 1 200 times dilute kasugamycin were 40.96% and 96.65%. Combined 5 000 times dilute tebuconazole and 1 000 times dilute kasugamycin, the inhibition rates of mycelium and spore could achieve 100%. Combined 1 000 times dilute *Bacillus subtilis* and 1 000 times dilute kasugamycin, the inhibition rate of spore was 100%, but they only had poor effect on mycelium. Field experiments showed that the control effects of combined 5 000 times dilute tebuconazole and 1 000 times dilute kasugamycin, 5 000 times dilute tebuconazole, 1 000 times dilute kasugamycin and 1 000 times dilute *Bacillus subtilis* sprayed alternately, 1 000 times dilute kasugamycin, 1 000 times dilute *Bacillus subtilis* respectively were 78.81%, 77.90%, 77.66%, 74.69%, 68.13%. In production, it is very effective to spray with 5 000 times dilute tebuconazole and 1 000 times dilute kasugamycin combined, or alternately using 1 000 times dilute kasugamycin and 1 000 times dilute *Bacillus subtilis* to control the disease. It's suggested that 1 000 times dilute kasugamycin and 1 000 times dilute *Bacillus subtilis* should be sprayed alternately at intervals of 10—15 days in organic and green tea gardens.

**Key words:** *Colletotrichum camelliae* Massee; Fungicides; Inhibition; Mycelium growth; Spore germination; Field prevention and control

茶云纹叶枯病(病原 *Colletotrichum camelliae* Massee)是茶树主要叶部病害之一,在全世界各产茶区都有发生,属于一种高温高湿性病害<sup>[1]</sup>。它主要危害老叶和成叶,嫩叶、枝梢、芽叶与果实偶尔也会受害<sup>[2]</sup>。我国各大茶区均有茶云纹叶枯病的发生,近年来其已经成为茶园主要病害之一,严重影响了茶叶产量和品质,制约了茶产业的健康发展。国内关于茶云纹叶枯病药剂防治的研究较多。胡淑霞等<sup>[3]</sup>研究结果显示,多抗霉素在稀释 500 倍时对茶云纹叶枯病的抑菌效果为 47%。苏经迁等<sup>[4]</sup>研究发现,长枝木霉 CSN-18 和曲霉 CSN-3 混合培养原液的乙酸乙酯萃取液对茶云纹叶枯病菌菌丝的抑制率为 71.51%。王志坤等<sup>[5]</sup>研究表明,1% 武夷菌素水剂 600 倍田间防效达到 71.33%。李正英等<sup>[6]</sup>试验表明,50% 和瑞 1 000 倍和 10% 世高 1 000 倍对茶云纹叶枯病防效分别为 94.32% 和 92.28%。陈晶等<sup>[7]</sup>研究表明,氧苦内酯和武夷菌素对茶树云纹叶枯病病原菌丝生长的抑制率分别为 79.78% 和 75.90%,半数效应质量浓度( $EC_{50}$ )分别为 3.12 mg/L 和 19.22 mg/L。朱蔚<sup>[8]</sup>试验发现,当柑橘皮乙醇提取物的石油醚部位质量浓度在 0.8 mg/mL 时,提取物对茶云纹叶枯病病原菌抑制率高达 80.9%, $EC_{50}$  值为 0.163 8 mg/mL;当二氯甲烷部位的质量浓度为 1.12 mg/mL 时,提取物对茶云纹叶枯病病原菌的抑制率则为 60.6%, $EC_{50}$  值为 0.764 3 mg/mL。通过分析发现,有些农药防效较低,有些农药并未大量生产销售,有些仅是一种农药研制开发的方向。为了筛选安全、高效、环保的防治药剂,以有效控制茶云纹叶枯病危害并满足人们对茶叶安全和品质的高要求,选取生物农药、微生物源农药和化学农药三大类共 5 种药剂对茶云纹叶枯病病原菌进

行室内抑制试验与大田防治试验,以期茶云纹叶枯病在实际生产中的防治提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试药剂

2% 武夷菌素水剂(AS):山东潍坊万胜生物农药有限公司;3% 多抗霉素水剂:安徽绩溪农华生物科技有限公司;6% 春雷霉素可湿性粉剂(WP):山东利邦农化有限公司;100 亿个/g 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂:黑龙江德强生物股份有限公司;430 g/L 戊唑醇悬浮剂(SC):西安鼎盛生物化工有限公司。试验期间供试药剂均在有效期内。

### 1.2 供试菌株

2016 年 10 月 23 日,在商南县试马镇郭家垭村坪地茶园的云纹叶枯病重发田块中,采集具有典型症状的新鲜病叶,经实验室分离鉴定确认得到茶云纹叶枯病病原菌后,接种到马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)试管斜面培养基并置于 4℃ 保存。

### 1.3 试验方法

1.3.1 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用测定 试验分为 6 个处理,每种杀菌剂所使用的浓度按照使用说明推荐用量确定。A:2% 武夷菌素 AS 500 倍;B:3% 多抗霉素 AS 500 倍;C:6% 春雷霉素 WP 600 倍;D:100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 600 倍;E:430 g/L 戊唑醇 SC 3 000 倍;F:无菌水对照(CK)。每个处理 4 个重复。采用菌丝生长速率法<sup>[9-10]</sup>测定 5 种杀菌剂对菌丝生长的抑制活性。含杀菌剂培养基制备:操作在无菌 P2 微生物实验室内进行,将杀菌剂用灭菌水稀释至试验设计倍数的 10 倍,分别盛装在 100 mL 灭菌广口瓶内并标记处理编号。取 5 mL 稀释好的杀菌剂注入 150 mL

灭菌烧杯中,加入经高压蒸气灭菌并冷却到 50 ℃ 左右的 PDA 培养基 45 mL,充分混合均匀后,取 10 mL 注入 9 cm 灭菌培养皿中制成含杀菌剂的 PDA 培养基平板(为防止培养基过快冷凝,确保每个培养皿中所含杀菌剂培养基足量,在实际操作时每个处理一次性多配制 10 mL),以含等量无菌水的培养基作为空白对照。接种:将病原菌接于 PDA 培养基,置于 25 ℃、湿度 90% 条件下培养 5 d 进行菌种活化,在菌落周边生长旺盛、一致处用打孔器制作直径 6 mm 的菌饼,取 1 块菌丝面朝上植入含杀菌剂的 PDA 培养基中心。置于 25 ℃、湿度 90% 条件下培养,分别于 48、72、96、120 h 用十字交叉法测量菌落直径,计算菌丝生长抑制率。用 SPSS 17.0 软件进行方差分析和多重比较(LSD 法)。

菌丝生长抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌饼直径) × 100%。

1.3.2 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌分生孢子萌发的抑制作用测定 采用孢子萌发法<sup>[11-12]</sup>测定 5 种杀菌剂对分生孢子萌发的抑制作用。试验分为 6 个处理,同 1.3.1。分生孢子悬浮液制备:选取培养 7~10 d 已产孢的 PDA 平板,在无菌条件下加入 10 mL 无菌水,用一次性接种铲轻刮菌落表面,在口径 7 cm 灭菌小漏斗上放入 2 层擦镜纸,将分生孢子悬浮液过滤到已灭菌的 50 mL 锥形瓶内,并加灭菌棉塞。于载玻片上滴 1~2 滴分生孢子悬浮液,加盖玻片后,在显微镜下观察统计分生孢子数量,将分生孢子浓度调节至每个视野 80~100 个为宜。含杀菌剂培养基制备及分生孢子接种:分生孢子采用水琼脂培养法<sup>[13]</sup>,取 2 mL 稀释好的杀菌剂注入 50 mL 灭菌烧杯中,再加入经过高压蒸气灭菌并冷却到 50 ℃ 左右的无菌水琼脂培养基 18 mL,充分混合均匀后,取 10 mL 注入 9 cm 灭菌培养皿中,制成含杀菌剂的水琼脂培养基平板,以含等量无菌水的培养基作为空白对照。在每个培养皿背面用记号笔画 3 个小圆圈提前标记分生孢子悬浮液的滴入位置以便观察,在每个小圆圈内滴入 1 滴分生孢子悬浮液,即为 3 次重复。将各处理培养皿置于 25 ℃、湿度 90% 条件下培养,当对照组分生孢子 80%~90% 萌发时,先将各处理培养皿置于 4 ℃ 冰箱中,再逐一观察并计算分生孢子萌发率。

分生孢子萌发率 = (分生孢子萌发数量 / 观察分生孢子数量) × 100%,

分生孢子萌发抑制率 = (对照分生孢子萌发率 - 处理分生孢子萌发率) / 对照分生孢子萌发率 × 100%。

1.3.3 杀菌剂不同浓度处理的抑菌效果测定 根据 1.3.1、1.3.2 筛选出抑菌效果较好的杀菌剂,进

行浓度梯度试验,测定不同浓度杀菌剂的生物活性。试验方法同上。

1.3.4 杀菌剂联合作用效果测定 根据 1.3.1、1.3.2、1.3.3 筛选出抑菌效果较好的杀菌剂和使用浓度进行组合,测定杀菌剂联合使用的抑菌作用。试验方法同上。

1.3.5 大田防治试验 试验在商南县试马镇红庙村 6 年生丰产茶园开展,根据杀菌剂抑菌试验结果,设 6 个处理,a:6% 春雷霉素 WP 1 000 倍;b:100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍;c:430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍;d:430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配;e:6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用;f:清水对照(CK)。每个处理 4 个重复,随机区组设计,小区面积 48 m<sup>2</sup>。喷药器械采用背负式手动喷雾器,共进行 2 次喷药防治,第 1 次防治时间为 2017 年 8 月 16 日,第 2 次防治时间为 8 月 26 日。喷施药量为 900 kg/hm<sup>2</sup>,喷施重点为中、上部新生枝叶。调查方法:每个小区于中间 2 畦茶树,按 5 点取样法,每点选 10 个当年新生茶枝,并用编织绳框定标记(每个小区至少有 1 点新生枝条上有已发病的叶片),于防治前、第 1 次防治后 10 d 及第 2 次防治后 10、20 d 调查各小区编织绳框定标记的各点病情。调查每个新生枝条上所有的叶片,记载各枝总叶数、病叶数、严重度,其中茶云纹叶枯病严重度分级标准为:0 级,无病斑;1 级,病斑占叶面积 ≤ 1/4;2 级,1/4 < 病斑占叶面积 ≤ 1/2;3 级,1/2 < 病斑占叶面积 ≤ 3/4;4 级,病斑占叶面积 > 3/4。最后分别统计各小区调查总叶数、病叶数、病叶率、平均严重度及病情指数。

病情指数 =  $\Sigma$  (各病级叶片数 × 该病级数) / (调查总叶片数 × 最高病级值) × 100,

病指减退率 = (施药前病指 - 施药后病指) / 施药前病指 × 100%,

校正防效 = (处理区病指减退率 - 对照区病指减退率) / (1 - 对照区病指减退率) × 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌菌丝的抑制作用

表 1、图 1 表明,5 种杀菌剂对菌丝生长的抑制效果差异较大,其中戊唑醇抑制效果最好且抑制作用持久,120 h 抑制率达 100%,其次是枯草芽孢杆菌,抑制效果随着时间延长呈逐渐上升趋势,120 h 抑制率达 86.57%,春雷霉素、多抗霉素、武夷菌素

120 h 抑制率分别为 53.57%、24.54%、11.11%。120 h 时戊唑醇、枯草芽孢杆菌、春雷霉素处理菌落春雷霉素在 72 h 时抑制效果达到最好,为 61.09%。直径均与对照差异极显著。

表 1 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用

处理	48 h		72 h		96 h		120 h	
	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%
A	23.4A	10.31	33.9B	15.20	47.6B	13.87	59.6B	11.11
B	20.5B	25.26	31.3B	23.10	42.3C	24.85	51.5C	24.54
C	15.3C	52.06	18.8C	61.09	28.1D	54.24	34.0D	53.57
D	11.5D	71.65	12.7D	79.64	13.3E	84.89	14.1E	86.57
E	6.0E	100	6.0E	100	6.0F	100	6.0F	100
F(CK)	25.4A		38.9A		54.3A		66.3A	

注:以上数据均为 4 次重复平均值,同列不同字母表示 0.01 水平差异显著。

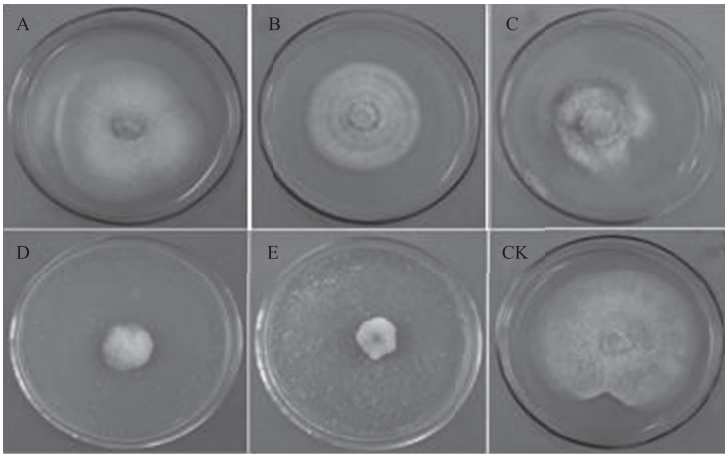


图 1 120 h 时 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制效果

2.2 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌分生孢子的抑制作用

表 2 表明,培养 8 h 对照组分生孢子萌发率达到 81.25%,春雷霉素抑制效果最好,抑制率达

100%,多抗霉素抑制率为 60.30%,枯草芽孢杆菌、戊唑醇、武夷菌素抑制率分别为 34.84%、17.55%、1.71%。春雷霉素与多抗霉素抑制效果明显,两处理的分生孢子萌发率与对照差异极显著。

表 2 5 种杀菌剂对茶云纹叶枯病菌分生孢子萌发的抑制作用

处理	观察分生孢子总数/个	萌发的分生孢子数/个	被抑制萌发的分生孢子数/个	萌发率/%	抑制率/%
A	139	111	28	79.86A	1.71
B	93	30	63	32.26D	60.30
C	91	0	91	0E	100
D	119	63	56	52.94C	34.84
E	103	69	34	66.99B	17.55
F(CK)	128	104	24	81.25A	

注:表中数据均为 3 次重复平均值,同列不同字母表示 0.01 水平差异显著。

2.3 不同浓度春雷霉素、戊唑醇、枯草芽孢杆菌的抑菌效果

2.3.1 不同浓度春雷霉素对茶云纹叶枯病菌菌丝和分生孢子的抑制作用 表 3 表明,不同浓度春雷霉素对菌丝生长的抑制效果差异不大。其中稀释 400 倍抑制效果相对较好,72 h 抑制率最高,为 61.90%,120 h 抑制率为 59.28%。120 h 时春雷霉

素稀释 1 200 倍、1 000 倍、800 倍、600 倍、400 倍对菌落直径的影响差异不显著。表 4 表明,不同浓度春雷霉素对分生孢子萌发的抑制效果差异不大,其中春雷霉素稀释 400 倍、600 倍、800 倍、1 000 倍抑制率均为 100%,稀释 1 200 倍抑制率为 96.65%。不同浓度春雷霉素之间对分生孢子萌发的影响差异不显著。

表 3 不同浓度春雷霉素对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用

处理	48 h		72 h		96 h		120 h	
	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%
400 倍	11.8BCbc	52.85	14.8Bb	61.90	18.8Bc	59.11	22.9Bb	59.28
600 倍	11.9BCbc	52.03	15.0Bb	61.04	20.3Bb	54.31	25.3Bb	53.49
800 倍	10.3Cc	65.04	15.4Bb	59.31	19.9Bb	55.59	26.3Bb	51.08
1 000 倍	13.3Bb	40.65	18.3Bb	46.75	23.1Bb	45.37	28.8Bb	45.06
1 200 倍	12.5BCb	47.15	19.4Bb	41.99	24.4Bb	41.21	30.5Bb	40.96
CK	18.3Aa		29.1Aa		37.3Aa		47.5Aa	

注:表中数据均为 4 次重复平均值,同列不同大、小字母分别表示 0.01、0.05 水平差异显著,表 5—7 同。

表 4 不同浓度春雷霉素对茶云纹叶枯病菌分生孢子萌发的抑制作用

处理	观察分生孢子总数/个	萌发的分生孢子数/个	被抑制萌发的分生孢子数/个	萌发率/%	抑制率/%
400 倍	84	0	84	0Bb	100
600 倍	141	0	141	0Bb	100
800 倍	109	0	109	0Bb	100
1 000 倍	107	0	107	0Bb	100
1 200 倍	103	3	100	2.89Bb	96.65
CK	218	188	30	86.36Aa	

注:表中数据均为 3 次重复平均值,同列不同大、小字母分别表示 0.01、0.05 水平差异显著。

2.3.2 不同浓度戊唑醇对茶云纹叶枯病菌菌丝和分生孢子的抑制作用 表 5 表明,不同浓度戊唑醇对菌丝生长的抑制效果明显、作用持久,120 h 时戊唑醇稀释 3 000 倍、3 500 倍、4 000 倍、4 500 倍抑制率均为 100%,稀释 5 000 倍抑制率为 98.35%。5 个供试浓度对菌落直径的影响差异不显著。此外,各浓度处理对分生孢子萌发的抑制作用不明显,抑制率为 0.75%~9.60%。

表 5 不同浓度戊唑醇对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用

处理	48 h		72 h		96 h		120 h	
	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%
3 000 倍	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100
3 500 倍	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100
4 000 倍	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100
4 500 倍	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.0Bb	100
5 000 倍	6.0Bb	100	6.0Bb	100	6.5Bb	98.88	7.0Bb	98.35
CK	20.5Aa		35.1Aa		50.6Aa		66.5Aa	

2.3.3 不同浓度枯草芽孢杆菌对茶云纹叶枯病菌菌丝和分生孢子的抑制作用 表 6 表明,不同浓度枯草芽孢杆菌对菌丝生长的抑制作用较好,120 h 时枯草芽孢杆菌稀释 300 倍、600 倍、900 倍、1 200 倍、1 500 倍对菌丝生长的抑制率分别为 86.54%、84.89%、83.85%、83.64%、81.57%。随着时间延

长,不同浓度枯草芽孢杆菌的抑制率均呈递增趋势,在 120 h 达到最大。此时,枯草芽孢杆菌稀释 300 倍与 1 500 倍对菌落直径的影响差异极显著,其他浓度之间影响差异不显著。此外,各浓度处理对分生孢子萌发的抑制效果较差,抑制率为 7.31%~31.15%。

表 6 不同浓度枯草芽孢杆菌对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用

处理	48 h		72 h		96 h		120 h	
	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%
300 倍	10.6Cc	71.43	11.4Dd	79.62	11.6Dd	84.86	12.5Cc	86.54
600 倍	10.9Cc	69.57	11.4Dd	79.62	12.8CDed	81.62	13.3BCc	84.89
900 倍	11.0Cc	68.94	12.1CDed	76.98	12.9CDed	81.35	13.8BCbc	83.85
1 200 倍	11.6BCbc	65.22	12.9BCbc	73.96	13.8BCbc	78.92	13.9BCbc	83.64
1 500 倍	12.6Bb	59.00	13.5Bb	71.70	14.8Bb	76.22	14.9Bb	81.57
CK	22.1Aa		32.5Aa		43.0Aa		54.3Aa	

2.4 杀菌剂的联合抑菌效果

根据 5 种杀菌剂对菌丝生长和分生孢子萌发的抑制作用结果,选择 430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配对菌丝生长和分生孢子萌发进行抑制作用测定。表 7、表 8 表明,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春

雷霉素 WP 1 000 倍混配对菌丝生长和分生孢子萌发的抑制效果都很明显,抑制率均达到 100%,且抑制作用持久。100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配对菌丝生长抑制作用较差(38.60%),混配降低了枯草芽孢杆菌对菌丝生长的抑制作用,但对分生孢子萌发的抑制作用依然很好,抑制率达到 100%。

表 7 组合杀菌剂对茶云纹叶枯病菌菌丝生长的抑制作用

组合处理	48 h		72 h		96 h		120 h	
	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%	菌落直径/ mm	菌丝生长 抑制率/%
430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000倍混配	6.00Cc	100	6.00Cc	100	6.00Cc	100	6.00Cc	100
100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 + 6% 春雷霉 素 WP 1 000 倍混配	14.80Bb	40.54	23.30Bb	39.08	32.30Bb	38.69	41.00Bb	38.60
CK	20.80Aa		34.40Aa		48.90Aa		63.00Aa	

表 8 组合杀菌剂对茶云纹叶枯病菌分生孢子萌发的抑制作用

组合处理	观察分生孢 子总数/个	萌发的分生 孢子数/个	被抑制萌发的 分生孢子数/个	萌发率/%	抑制率/%
430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000倍混配	154	0	154	0	100
100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配	128	0	128	0	100
CK	218	176	42	80.73	

2.5 大田防治试验结果

大田试验结果表明(表 9),5 个药剂处理对茶云纹叶枯病都有较好的防治效果。第 1 次防治后 10 d 调查发现,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍防效最好,达到 77.23%,其他 4 种药剂处理的防效在 61.15%~69.90%。第 2 次防治后 10 d 调查发现,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍防效为 80.20%,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 4 个药剂处理的防效分别为 74.87%、73.55%、70.94%、66.12%。第 2 次防治后 20 d 调查,430 g/L

戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配防效最好,达到 78.81%,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍 4 个药剂处理的防效分别为 77.90%、77.66%、74.69%、68.13%。第 2 次防治后 20 d,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍 + 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配、430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用 3 个药剂处理的防效差异不显著,而与 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍处理差异显著。

表 9 不同处理对茶云纹叶枯病的大田防治效果

处理	施药前 病指	第 1 次防治后 10 d		第 2 次防治后 10 d		第 2 次防治后 20 d	
		病指	校正防效/%	病指	校正防效/%	病指	校正防效/%
a	0.49	1.43	66.78c	1.91	70.94c	2.42	74.69b
b	0.46	1.57	61.15d	2.09	66.12d	2.86	68.13c
c	0.61	1.22	77.23a	1.62	80.20a	2.63	77.90a
d	0.45	1.19	69.90b	1.52	74.87b	1.86	78.81a
e	0.53	1.50	67.57bc	1.88	73.55b	2.31	77.66a
f(CK)	0.51	4.48		6.84		9.95	

注:表中数据为 4 次重复均值,不同字母表示 0.05 水平差异显著。

### 3 结论与讨论

茶云纹叶枯病原菌抑制试验结果表明,戊唑醇、枯草芽孢杆菌对菌丝抑制作用较强且持久,春雷霉素对分生孢子抑制效果最好,对菌丝也有一定的抑制效果。120 h 时戊唑醇稀释 3 000 倍、3 500 倍、4 000 倍、4 500 倍对菌丝生长的抑制率均为 100%, 稀释 5 000 倍对菌丝生长的抑制率为 98.35%, 5 个供试浓度对菌丝生长的抑制效果差异不显著。120 h 时枯草芽孢杆菌稀释 300 倍、600 倍、900 倍、1 200 倍、1 500 倍对菌丝生长的抑制率分别为 86.54%、84.89%、83.85%、83.64%、81.57%, 稀释 300 倍与 1 500 倍抑制率差异极显著,其他浓度之间抑制率差异不显著。春雷霉素稀释 400 倍、600 倍、800 倍、1 000 倍对分生孢子萌发的抑制率均为 100%, 稀释 1 200 倍时抑制效果为 96.65%, 不同浓度之间的抑制效果差异不显著。大田防治试验结果表明,430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍+6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配、430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用、6% 春雷霉素 WP 1 000 倍、100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍的防效分别为 78.81%、77.90%、77.66%、74.69%、68.13%。根据病原菌抑制试验和大田防治试验结果,结合防治效果、成本和安全性综合分析认为,生产中可采用 430 g/L 戊唑醇 SC 5 000 倍+6% 春雷霉素 WP 1 000 倍混配,或者 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍交替使用 2 个配方防治茶云纹叶枯病。特别是有机、绿色茶园,建议采用 6% 春雷霉素 WP 1 000 倍与 100 亿个/g 枯草芽孢杆菌 WP 1 000 倍,间隔 10~15 d 交替喷雾 1 次。

本研究在室内开展大量杀菌剂抑菌试验的基础上,筛选出戊唑醇、春雷霉素、枯草芽孢杆菌 3 种不同类型的高效杀菌剂后,开展防治茶云纹叶枯病的大田试验,获得了有效的防治方案。本试验对茶云纹叶枯病防治的研究比较系统,对指导该病防治有重要现实意义,特别是前人关于使用枯草芽孢杆菌和戊唑醇防治该病的研究极少。试验结果显示,武夷菌素和多抗霉素对茶云纹叶枯病原菌的抑制作用较差,与早期王志坤等<sup>[5]</sup>、胡淑霞等<sup>[3]</sup>研究结果

差异较大,推测其原因可能与试验方法、环境条件、培养时长等因素有关,同时也可能与病原菌本身的抗药性有关。在试验过程中还发现,枯草芽孢杆菌和多抗霉素对茶云纹叶枯病菌分生孢子有致畸作用,畸形率分别达到 19.08% 和 16.13%, 主要表现为孢子芽管显著缩短,部分孢子芽管畸形、局部膨大,萌发明显受阻。培养 24 h 和 48 h 观察发现,畸形芽管可以继续生长,但生长速度明显缓慢,至于能否侵染茶树有待深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 韩必新. 茶云纹叶枯病的发生规律及防治[J]. 农业灾害研究, 2015, 5(6): 1-3, 6.
- [2] 夏声广, 熊兴平. 茶树病虫害防治原色生态图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [3] 胡淑霞, 何炜, 陈小峰. 多抗霉素对四种茶树病害抑制作用的实验研究[J]. 福建茶叶, 2004(3): 2-3.
- [4] 苏经迁, 王国红, 杨民和. 茶树内生真菌混合培养增强对植物病原真菌的拮抗作用[J]. 菌物学报, 2010, 29(5): 753-759.
- [5] 王志坤, 谭万忠, 张克诚, 等. 茶树云纹叶枯病原鉴定及其生物学特性研究[J]. 河南农业科学, 2008, 37(4): 67-69, 82.
- [6] 李正英, 姚永松. 茶云纹叶枯病的发生与药剂防治试验[J]. 茶叶科学技术, 2011(2): 31-32.
- [7] 陈晶, 魏朝霞, 唐嘉义. 3 种生物农药对 4 种茶树病害的室内抑菌试验[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2012, 27(3): 453-456.
- [8] 朱蔚. 柑橘皮乙醇提取物的分离鉴定及其对茶云纹叶枯病原菌的抑制作用[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013: 1-30.
- [9] 王鸣华, 沈慧敏, 周小毛. 植物化学保护实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 2014: 113-115.
- [10] 张亮, 袁争, 朱薇, 等. 4 种植物提取物对茶炭疽病菌的体外抑制作用[J]. 植物保护, 2012, 38(4): 137-140.
- [11] 韩小强, 杨德松. 农药学试验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2016: 58-60.
- [12] 张铨哲, 冉隆贤, 李永刚, 等. 植物病理学研究技术[M]. 北京: 北京大学出版社, 2015: 147-148.
- [13] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.