

越橘镰孢果腐病菌的生物学特性测定及防治药剂初步筛选

王春伟, 王 燕*, 张曦倩, 张作刚, 王美琴, 王建明

(山西农业大学农学院, 山西太谷 030801)

摘 要: 对新发现的越橘镰孢果腐病菌 (*Fusarium acuminatum*) 的生物学特性及药剂防治进行了研究。结果表明: 病菌菌丝生长最适培养基为 PSA 培养基, 产孢最适培养基为 OA 培养基, 菌丝生长最适温度为 20 °C, 产孢最适温度为 21 °C; 菌丝生长和产孢的最佳碳源分别为麦芽糖和羧甲基纤维素钠, 最佳氮源分别为酵母粉和尿素; pH 5 ~ 6 适宜菌丝生长, pH 6 产孢最佳; 全黑暗条件有利于菌丝生长, 但全光照有利于产孢; 菌丝致死温度为 51 °C (10 min), 分生孢子致死温度为 67 °C (10 min)。病菌生长因素正交试验结果表明温度对病菌生长的影响最大。采用生长速率法测定了病菌对 21 种杀菌剂的敏感性, 结果表明: 病菌对多粘类芽孢杆菌、蜡质芽孢杆菌、咯菌腈、丙环·嘧菌酯和枯草芽孢杆菌的敏感性较高, 其 $EC_{50} < 0.5000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。防效试验结果表明, 咯菌腈和多粘类芽孢杆菌处理越橘镰孢果腐病的发病率和病斑直径均明显小于对照, 防效较好, 能有效控制该病害的发生。

关键词: 越橘; 镰孢果腐病菌; 生物学特性; 药剂敏感性; 药剂筛选

中图分类号: S 663

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 08-1589-10

Determination of Biological Characteristics and Preliminary Screening of Control Fungicides of *Fusarium acuminatum* Causing Fusarium Fruit Rot on Blueberry

WANG Chunwei, WANG Yan*, ZHANG Xiqian, ZHANG Zuogang, WANG Meiqin, and WANG Jianming
(College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: The biological characteristics and fungicide control of *Fusarium acuminatum* causing Fusarium fruit rot were studied. The results of biological characteristics showed that the optimal media for mycelium growth and spore production were PSA and OA, respectively. The optimal temperature was 20 °C for mycelium growth, and 21 °C for spore production. Maltose and CMC-Na were optimal carbon sources for mycelium growth and spore production, respectively. Yeast powder was optimal nitrogen source for mycelium growth, and urea was suitable for spore production. The optimum pH for mycelium growth was 5 to 6, and the optimal pH for spore production was 6. The full darkness was suitable for mycelium growth. Under full light condition, the pathogen could produce more abundant spores. The mycelial lethal temperature was at 51 °C for 10 min. The spore lethal temperature was at 67 °C for 10

收稿日期: 2017-05-02; 修回日期: 2017-08-03

基金项目: 山西省应用基础研究青年科技研究基金项目 (201701D221191); 山西农业大学科技创新基金项目 ((J141702044, J141702045)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yan314319@163.com)

min. The results of orthogonal test showed that temperature was the most important influence factor on colony diameter. The sensitivity of *F. acuminatum* to 21 fungicides was detected by mycelium growth rate method. The results showed that the pathogen was more sensitive to *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, fludioxonil, propiconazole · azoxystrobin and *B. subtilis* ($EC_{50} < 0.5000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). The results of control effect experiment showed that fludioxonil and *Paenibacillus polymyxa* with lower disease incidence and lesion diameter had better control effects, and could effectively control Fusarium fruit rot on blueberry.

Keywords: blueberry; *Fusarium acuminatum*; biological characteristic; fungicide sensitivity

越橘 (*Vaccinium* spp.) 又名蓝莓, 为杜鹃花科 (Ericaceae) 越橘属 (*Vaccinium*) 多年生小浆果类果树, 近年来, 随着生产面积的不断扩大, 各种新病害逐渐增多, 特别是采后果实病害的发生, 严重影响贮藏时间, 大大缩短了货架期, 从而制约越橘产业的健康持续发展。对越橘采后病害的相关报道不断出现, 在智利, Rivera 等 (2013) 报道了由 *Botrytis cinerea* 引起的采后果实灰霉病, 并对其侵染机制及发病风险进行了评估。在美国, 越橘采收后果实腐烂主要由 *Botrytis cinerea* (Mehra et al., 2013) 和 *Botrytis pseudocinerea* (Saito et al., 2014) 两种灰霉病菌以及链格孢属真菌 (Zhu & Xiao, 2015) 引起。中国贵州 (周笑犁 等, 2015)、云南 (郭晓月 等, 2015)、辽宁 (戴启东 等, 2016) 相继报道了越橘采后病害的种类, 主要致病菌为拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis*)、青霉菌属 (*Penicillium*)、枝孢霉属 (*Acremonium*)、枝孢菌属 (*Cladosporium*)、匍柄霉属 (*Stemphylium*) 以及灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) 和粉红单端孢菌 (*Trichothecium roseum*)。镰孢菌引起的越橘病害亦有相关报道, 严雪瑞等 (2015) 在江西越橘产区发现由镰孢菌引起的叶枯病, 经鉴定病原菌为亚细亚镰孢菌 (*Fusarium asiaticum*)。

2015 年 9 月, 作者首次在吉林省长春地区发现越橘采后果实腐烂病, 发病部位出现略凹陷水浸状病斑, 后期病部腐烂, 其上着生大量白色至粉色菌丝, 鉴定该病害的病原菌为锐顶镰刀菌 *Fusarium acuminatum* (Wang et al., 2016), 因其在果实上发病, 且出现腐烂症状, 故将该病害定名为越橘镰孢菌果腐病。该病害由作者发现, 其生物学特性及防治方面的研究尚未见报道。因此, 自 2016 年 10 月起, 对越橘镰孢果腐病菌的生物学特性进行了系统研究, 测定了该病菌对 21 种杀菌剂的敏感性, 并初步筛选了防治药剂, 为进一步研究该病害的发生规律及在生产上合理有效防控该病害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试病原菌

越橘镰孢果腐病菌 (*Fusarium acuminatum*) 由作者在吉林农业大学植物病理实验室分离、鉴定并保存。将保存的菌株转接于 pH 7.0 的 PDA 平板培养基上培养 5 ~ 7 d 用于试验。

1.2 病原菌的生物学特性观测

1.2.1 培养基对菌丝生长和孢子产孢量的影响试验

供试培养基为 PDA、PSA、PCA、MEA、OA、Richard、Crapek、CYA、SNA、PMA、CMA、V8 汁培养基、改良沙氏培养基 (方中达, 1998; Leslie & Summerell, 2006)。将病菌菌饼 (直径 8 mm)

移至上述培养基平板中间, 25 ℃培养 7 d 后, 采用十字交叉法测量菌落直径。之后在含有病原菌的培养皿中加入 10 mL 无菌水并充分混合, 制成病原菌的孢子悬液。采用血球计数板法测定产孢量(方中达, 1998)。

1.2.2 温度对菌丝生长和产孢的影响试验

将病菌菌饼(直径 8 mm)移至 PDA 平板中央, 分别于 4、10、15、20、21、22、23、25、30、35 和 40 ℃共 11 个温度梯度条件下培养, 每个处理设 3 次重复。培养 7 d 后测量菌落直径和产孢量。

1.2.3 pH 对菌丝生长和产孢的影响试验

将 PDA 培养基灭菌后用 0.1 mol · L⁻¹ HCl 和 0.1 mol · L⁻¹ NaOH 调节 pH 分别为 4、5、6、7、8、9 和 10 共 7 个处理, 每个处理设 3 次重复。将病菌菌饼(直径 8 mm)移至 PDA 平板中央, 于 20 ℃培养 7 d 后测量菌落直径和产孢量。

1.2.4 碳源和氮源对菌丝生长和产孢的影响试验

碳源: 以不含蔗糖的 Crapek 培养基为基础培养基, 分别用等质量碳素的山梨醇、羧甲基纤维素钠、木糖、蔗糖、甘油、乳糖、葡萄糖、淀粉、甘露醇、麦芽糖、D-果糖代替蔗糖作为唯一碳源。

氮源: 以不含硝酸钠的 Crapek 培养基为基础培养基, 分别用等质量氮素的尿素、L-胱氨酸、蛋氨酸、酵母粉、氯化铵、天门冬酰胺、硫酸铵、脯氨酸、硝酸钠、甘氨酸、硝酸铵、L-苯丙氨酸代替硝酸钠作为唯一氮源。

配置不同的培养基, 将病菌菌饼(直径 8 mm)移至培养基平板中央, 于 20 ℃培养 7 d 后测量菌落直径和产孢量。

1.2.5 光照对菌丝生长和产孢的影响试验

将病菌菌饼(直径 8 mm)移入 pH 为 6 的 PDA 平板上, 分别置于 24 h 全光照, 12 h 光照与 12 h 黑暗交替, 24 h 全黑暗条件下, 于 20 ℃培养 7 d 后, 测定菌落直径和产孢量。

1.2.6 病菌菌丝和分生孢子致死温度的测定

在无菌条件下将 10 个病菌菌饼(直径 8 mm)装入试管中, 置于 40、45、50、55、60 和 65 ℃共 6 个温度处理恒温处理 10 min(预热 1 min), 立即冷水冷却降温。随机取 5 个菌饼, 置于 PDA 平板中于 20 ℃培养 3 d。根据菌饼上菌丝生长与否, 确定菌丝致死温度范围。然后以 1 ℃为梯度确定准确的致死温度。

将培养 7 d 的病菌加入无菌水制成菌悬液, 将菌液移入无菌离心管中, 分别置于 40、45、50、55、60、65 和 70 ℃恒温处理 10 min(预热 1 min), 立即冷水冷却降温, 然后涂板, 培养 3 d, 根据病菌生长与否确定致死温度范围。然后将新鲜的病菌制成孢子悬浮液, 采用孢子萌发法, 以 1 ℃为梯度确定准确的致死温度。每个处理 3 次重复, 置 25 ℃温箱中 24 h 后观察孢子的萌发情况, 每次观察 400 个孢子。

1.2.7 病菌生长条件的正交试验设计

在上述试验基础上, 以 Crapek 培养基为基础培养基, 考察碳源、氮源、温度、pH 对病菌生长的影响。以菌落生长直径为评测指标, 选取适合菌丝生长的碳源和氮源, 在温度、pH 以及光照等因素中选择主要影响因素进行正交组合试验。

1.3 药剂敏感性测定

供试药剂共 21 种。分别为 30%噁霉灵 AS(潍坊天达植保有限公司)、18.7%丙环·嘧菌酯 SC、25%嘧菌酯 SC、50%咯菌腈 WP 和 50%嘧菌环胺 WG[先正达(中国)投资有限公司]、80%烯酰吗啉 WG(陕西标正作物科学有限公司)、30%氟菌唑 WP(浙江禾益农化有限公司)、30%精甲·噁

霉灵 AS 和 30%丙环唑 EC(浙江禾本农药化学有限公司)、250 g · L⁻¹吡唑醚菌酯 WG 和 30%醚菌 · 啉酰菌 SC[德国巴斯夫(中国)有限公司]、50%多菌灵 WP 和 50%乙霉 · 多菌灵 WP(江苏蓝丰生物化工股份有限公司)、30%醚菌酯 WG(山东京博农化有限公司)、25%氰烯菌酯 EC(江苏省农药研究所有限公司)、2 × 10⁸ · g⁻¹木霉菌 WG(云南星耀生物制品有限公司)、300 × 10⁸ · g⁻¹蜡质芽孢杆菌 WP(山东京青农业科技有限公司)、1 000 × 10⁸ · g⁻¹枯草芽孢杆菌 WP(武汉天惠生物工程有限公司)、3 × 10⁸ CFU · g⁻¹哈茨木霉 WP(美国拜沃股份有限公司)、10 × 10⁸ CFU · g⁻¹多粘类芽孢杆菌 WP(浙江省桐庐汇丰生物科技有限公司)、40%氟硅唑 EC(上海杜邦农化有限公司)。

采用菌丝生长速率法测定病菌对不同杀菌剂的敏感性(慕立义, 1994)。

1.4 杀菌剂对镰孢菌果腐病的防效试验

参照桃(林丽等, 2003)和番茄(习柳和田世平, 2005)采后贮藏期病害防治的研究方法, 略有改动。从超市购买成熟、健康的越橘果实, 用 2%的 NaClO 溶液浸泡 2 min, 无菌水冲洗、晾干。用接种针在果实上刺约 3 mm(深) × 2 mm(宽)的伤口, 伤口晾干后分别接种以下处理液: (1)多粘类芽孢杆菌(10⁸ CFU · mL⁻¹)、(2)蜡质芽孢杆菌(10⁸ CFU · mL⁻¹)、(3)枯草芽孢杆菌(10⁸ CFU · mL⁻¹)、(4)咯菌腈(100 μg · mL⁻¹)。各种处理液的接种量均为 20 μL, 以无菌水作为对照。4 h 后均以针刺伤口接种法接种镰孢果腐病菌孢子悬浮液(10⁵个孢子 · mL⁻¹) 10 μL, 果实晾干后贮藏于 20 °C, 并保持 95%左右的相对湿度。72, 96 h 后分别统计病害发病率及病斑直径。以上各处理均为 10 个果实, 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 病原菌的生物学特性

2.1.1 培养基对菌丝生长和产孢的影响

病菌在供试 13 种培养基上均能生长(表 1)。在 PSA 上菌丝生长最快, 其次为 Richard、PMA 和 Crapek 培养基, 在 MEA 和改良沙氏培养基上生长最慢; 病菌在 OA 培养基上产孢量最好, 达到 13.0 × 10⁶ · mL⁻¹, 在 PMA 培养基上产孢量最低。

2.1.2 温度对菌丝生长和产孢的影响

温度对菌丝生长和产孢量影响较大, 病菌在 4 ~ 40 °C 均能生长, 但 15 ~ 20 °C 利于生长, 在 20 °C 菌丝生长最快, 菌落直径为 71.50 mm, 40 °C 生长最慢; 4 ~ 35 °C 范围内均能产孢, 21 °C 时产孢量最大, 为 4.83 × 10⁶ · mL⁻¹, 40 °C 不产孢(表 2)。

2.1.3 pH 对菌丝生长和产孢的影响

病菌菌丝在 pH 4 ~ 10 范围内均能生长, 在 pH 5 ~ 6 时, 菌落生长速度较快, 为该菌菌丝生长的最适 pH(表 3)。

表 1 培养基对菌丝生长和产孢的影响

Table 1 Effect of culture media on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

培养基 Culture media	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/(× 10 ⁶ · mL ⁻¹) Spore production
V8	49.17 ± 1.47 g	3.17 ± 1.15 efg
PCA	64.17 ± 3.43 de	3.00 ± 1.73 efg
Crapek	72.83 ± 1.72 b	2.83 ± 0.58 fg
PSA	79.00 ± 0.89 a	6.33 ± 0.76 c
PMA	74.17 ± 2.93 b	1.50 ± 0.50 g
SNA	61.17 ± 2.56 f	4.33 ± 1.89 cdef
Richard	75.17 ± 2.32 b	4.83 ± 0.58 cdef
改良沙氏培养基 Improved Savary-gilliard medium	35.67 ± 2.80 i	9.33 ± 1.15 b
CMA	67.67 ± 4.13 c	5.00 ± 1.00 cde
CYA	62.17 ± 1.72 ef	4.00 ± 0.87 def
PDA	45.33 ± 1.86 h	4.67 ± 0.29 cdef
MEA	34.67 ± 2.88 i	6.00 ± 1.32 cd
OA	66.00 ± 0.89 cd	13.00 ± 1.32 a

在 pH 4 ~ 8 范围内均能产孢, pH 6 时产孢量达 $2.33 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, pH 9 ~ 10 时不产孢 (表 3)。

表 2 温度对菌丝生长和产孢量的影响
Table 2 Effect of temperature on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

温度/℃ Temperature	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) Spore production
4	28.33 ± 3.27 e	1.00 ± 0.50 ef
10	37.17 ± 1.17 d	1.50 ± 0.50 de
15	65.67 ± 4.27 b	2.00 ± 0.50 cd
20	71.50 ± 3.94 a	2.17 ± 0.76 cd
21	46.33 ± 2.07 c	4.83 ± 0.29 a
22	46.83 ± 0.75 c	3.17 ± 0.58 b
23	44.67 ± 1.37 c	2.00 ± 0.50 cd
25	38.83 ± 1.72 d	2.67 ± 0.58 bc
30	36.67 ± 0.82 d	1.83 ± 0.76 cde
35	46.50 ± 1.87 c	0.17 ± 0.29 fg
40	6.00 ± 0.00 f	0 g

表 3 pH 对菌丝生长和产孢量的影响
Table 3 Effect of pH on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

pH	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) Spore production
4	42.50 ± 1.64 e	0.67 ± 0.29 c
5	79.00 ± 2.83 a	1.50 ± 0.50 b
6	77.67 ± 1.51 a	2.33 ± 0.25 a
7	70.83 ± 1.47 b	1.83 ± 0.28 ab
8	66.33 ± 4.03 c	0.83 ± 0.26 c
9	55.00 ± 2.83 d	0 d
10	29.83 ± 1.72 f	0 d

2.1.4 碳源和氮源对菌丝生长和产孢的影响

病菌可利用多种碳源, 在含有麦芽糖的培养基上菌丝生长最好, 菌落直径达到 79.50 mm; 在含有羧甲基纤维素钠的培养基上产孢最好, 产孢量达到 $20.17 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, 在以甘露醇和甘油为碳源的培养基上产孢量最低 (表 4)。

病菌在以酵母粉为氮源的培养上菌丝生长最好, 菌落直径达到 82.17 mm, 在含有尿素的培养基上产孢最好, 产孢量达到 $9.17 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, 且与其他处理相比差异显著 (表 5)。

表 4 碳源对菌落生长和产孢的影响
Table 4 Effect of carbon sources on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

碳源 Carbon source	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) Spore production
山梨醇 Sorbitol	59.00 ± 4.29 cd	4.50 ± 0.50 bc
羧甲基纤维素钠 CMC-Na	46.17 ± 2.48 g	20.17 ± 0.29 a
木糖 Xylose	63.5 ± 5.47 c	4.00 ± 0.50 cd
蔗糖 Sucrose	62.17 ± 5.42 c	5.50 ± 0.50 b
甘油 Glycerol	52.67 ± 4.13 ef	2.67 ± 0.76 e
乳糖 Lactose	71.67 ± 3.44 b	3.83 ± 0.29 cd
葡萄糖 Dextrose	72.00 ± 1.79 b	3.67 ± 0.76 cde
淀粉 Starch	49.67 ± 2.16 fg	5.33 ± 0.58 b
甘露醇 Mannitol	55.50 ± 3.32 de	2.55 ± 0.58 e
麦芽糖 Maltose	79.50 ± 3.21 a	5.50 ± 0.50 b
D-果糖 D-fructose	53.00 ± 6.33 ef	3.33 ± 0.76 de

表 5 氮源对菌落生长和产孢的影响
Table 5 Effect of nitrogen sources on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

氮源 Nitrogen source	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) Spore production
尿素 Urea	49.00 ± 4.10 d	9.17 ± 0.29 a
胱氨酸 Cystine	62.00 ± 3.74 c	2.83 ± 0.76 cd
蛋氨酸 Methionine	29.83 ± 2.99 e	1.50 ± 0.50 efg
酵母粉 Yeast powder	82.17 ± 2.86 a	1.00 ± 0.50 g
氯化铵 Ammonium chloride	26.50 ± 2.17 e	1.83 ± 0.29 ef
天门冬酰胺 Asparagine	46.83 ± 5.53 d	1.82 ± 0.26 ef
硫酸铵 Ammonium sulfate	18.50 ± 2.43 f	1.33 ± 0.29 fg
脯氨酸 Proline	75.50 ± 5.36 ab	5.83 ± 0.58 b
硝酸钠 Sodium nitrate	55.00 ± 9.21 c	2.17 ± 0.76 de
甘氨酸 Glycine	71.67 ± 8.02 b	2.83 ± 0.76 cd
硝酸铵 Ammonia nitrate	34.50 ± 3.51 e	3.00 ± 0.50 c
苯丙氨酸 Phenylalanine	44.17 ± 9.11 d	1.67 ± 0.76 efg

2.1.5 光照对菌丝生长和产孢的影响

全黑暗更有利于菌丝生长, 菌落直径为 66.00 mm, 不同光照对产孢无显著影响 (表 6)。

表 6 光照对菌落生长和产孢的影响
Table 6 Effect of light on colony diameter and spore production of *Fusarium acuminatum*

处理 Treatment	菌落直径/mm Colony diameter	产孢量/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$) Spore production
全黑暗 Full darkness	66.00 \pm 1.26 a	1.83 \pm 0.76 a
光暗交替 Alternation of light and darkness	55.67 \pm 2.58 b	2.17 \pm 0.58 a
全光照 Full illumination	56.00 \pm 2.61 b	3.00 \pm 0.50 a

2.1.6 病菌致死温度

经 $\geq 51\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理后, 病菌菌丝均未生长, 确定菌丝致死温度为 $51\text{ }^{\circ}\text{C}$ (10 min); 经 $\geq 67\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度处理后, 孢子均不萌发, 确定孢子致死温度为 $67\text{ }^{\circ}\text{C}$ (10 min)。

2.1.7 病菌生长条件的正交试验结果

选择对病菌菌丝生长影响较大的因素——碳源 (A)、氮源 (B)、温度 (C) 及 pH (D) 进行病菌生长条件的 4 因素 3 水平正交试验。以菌落生长直径为评测指标, 考察碳源、氮源、温度和 pH 等 4 个因素对病菌生长的影响, 将病菌按表 7 中的生长条件于全黑暗条件下培养 7 d 后, 测量各处理的菌落直径。极差为各因素不同条件下评测指标最大值与最小值之差, 极差越大, 表明相应条件对评测指标的影响越大, 以此可判断因素的主次。以极差大小表示不同条件对菌落生长的影响程度, 表明温度对菌落生长影响最大, 氮源对菌落生长的影响最小。各因素的主次顺序依次为 $C > D > A > B$ 。K 值为各因素的不同条件下评测指标的平均值, 可根据 K 值大小判断各因素的最优水平, 由表 7 中 K 值比较可知, 预测病菌菌落生长的最优条件为 A1B1C2D2, 即: 碳源为麦芽糖, 氮源为酵母粉, 温度 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 6。表 7 中菌落直径最大的处理组合 A1B2C2D2 与之最为接近。

表 7 正交试验结果
Table 7 The results of orthogonal test

试验号 No.	因素 Factor				菌落直径/mm Colony diameter
	A 碳源 Carbon source	B 氮源 Nitrogen source	C 温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	D pH	
1	麦芽糖 Maltose (1)	酵母粉 Yeast powder (1)	15 (1)	5 (1)	54.00 d
2	麦芽糖 Maltose (1)	脯氨酸 Proline (2)	20 (2)	6 (2)	81.00 a
3	麦芽糖 Maltose (1)	甘氨酸 Glycine (3)	25 (3)	7 (3)	71.33 b
4	葡萄糖 Dextrose (2)	酵母粉 Yeast powder (1)	20 (2)	7 (3)	75.67 ab
5	葡萄糖 Dextrose (2)	脯氨酸 Proline (2)	25 (3)	5 (1)	57.67 cd
6	葡萄糖 Dextrose (2)	甘氨酸 Glycine (3)	15 (1)	6 (2)	55.67 d
7	乳糖 Lactose (3)	酵母粉 Yeast powder (1)	25 (3)	6 (2)	73.67 b
8	乳糖 Lactose (3)	脯氨酸 Proline (2)	15 (1)	7 (3)	45.67 e
9	乳糖 Lactose (3)	甘氨酸 Glycine (3)	20 (2)	5 (1)	62.00 c
K1	68.78	67.78	51.78	57.89	
K2	63.00	61.44	72.89	70.11	
K3	60.44	63.00	67.56	51.67	
R	8.33	6.33	21.11	18.44	

2.2 病菌对药剂的敏感性

由表 8 可知, 病菌对多粘类芽孢杆菌的敏感性最高, 其抑菌中浓度 (EC_{50}) 为 $0.0496\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、其次为蜡质芽孢杆菌、咯菌腈、丙环·啉菌酯和枯草芽孢杆菌, 其抑菌中浓度 (EC_{50}) $< 0.5000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对乙霉·多菌灵、啉菌环胺、醚菌·啉酰菌和精甲·啉霉灵的敏感性较差, 对哈茨木霉菌不敏感。

表 8 病菌对 21 种药剂的敏感性
Table 8 Sensitivity of *Fusarium acuminatum* to 21 fungicides

药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient <i>r</i>	抑菌中浓度/ (mg · L ⁻¹) EC ₅₀
多粘类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus polymyxa</i>	$y = 0.3545x + 7.5894$	0.9692	0.0496
蜡质芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	$y = 0.2037x + 6.4627$	0.9848	0.0660
咯菌腈 Fludioxonil	$y = 0.2048x + 6.4027$	0.9901	0.1415
丙环·嘧菌酯 Propiconazole · azoxystrobin	$y = 0.3863x + 7.5164$	0.9921	0.3061
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	$y = 0.4200x + 7.7020$	0.9760	0.3687
氟烯菌酯 Phenamacril	$y = 0.4457x + 7.7900$	0.9953	0.5498
氟菌唑 Triflumizole	$y = 0.3622x + 7.2559$	0.9901	0.5911
氟硅唑 Flusilazole	$y = 0.3607x + 7.2340$	0.9907	0.6405
烯酰吗啉 Dimethomorph	$y = 0.4049x + 7.4873$	0.9368	0.7195
丙环唑 Propiconazole	$y = 0.5491x + 8.2823$	0.9065	1.0529
嘧菌酯 Azoxystrobin	$y = 0.2570x + 6.5053$	0.9121	1.3893
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	$y = 0.4087x + 7.3547$	0.9622	1.7321
木霉菌 <i>Trichoderma</i> sp.	$y = 0.4330x + 7.3502$	0.9730	3.7350
多菌灵 Carbendazim	$y = 0.5172x + 7.7442$	0.9380	4.9445
噁霉灵 Hymexazol	$y = 0.4192x + 7.2219$	0.9777	5.0080
醚菌酯 Kresoxim-methyl	$y = 0.3462x + 6.8111$	0.9513	5.8699
乙霉·多菌灵 Diethofencarb · carbendazim	$y = 0.5615x + 7.7899$	0.9872	10.7484
嘧菌环胺 Cyprodinil	$y = 0.4723x + 7.3199$	0.9431	12.2484
醚菌·啉酰菌 Kresoxim-methyl · boscalid	$y = 0.5136x + 7.5040$	0.9508	13.3233
精甲·噁霉灵 Metalaxyl-m · hymexazol	$y = 0.3143x + 6.5215$	0.9936	14.4239
哈茨木霉菌 <i>Trichoderma harzianum</i>	$y = 0.4578x + 7.1116$	0.9982	24.4065

2.3 杀菌剂对镰孢菌果腐病的防效

不同杀菌剂对镰孢菌果腐病均有一定防治效果，杀菌剂处理后的防治效果见表 9。处理 72 和 96 h，清水对照的发病率分别为 76.67%和 93.33%，咯菌腈的防效最好，其发病率明显低于对照，分别为 36.67%和 66.67%。其次为多粘类芽孢杆菌，发病率分别为 46.67%和 73.33%。不同药剂处理之间病斑直径有差异。处理 72 和 96 h，清水对照的病斑直径分别为 5.30 和 8.73 mm，咯菌腈分别为 1.10 和 2.37 mm，防效最好，其次为多粘类芽孢杆菌，分别为 1.93 和 3.27 mm，而蜡质芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌有一定防效，处理 96 h，其病斑直径分别为 3.97 和 6.60 mm。

表 9 处理 72 和 96 h 不同药剂对越橘果实发病率和病斑直径的影响
Table 9 Effect of different fungicides on disease incidence and lesion diameter of blueberry fruits after 72 and 96 hours

处理 Treatment	时间/h Hours after treatment	发病率/% Disease incidence	病斑直径/mm Lesion diameter
对照 Control	72	76.67 ± 5.00 abc	5.30 ± 0.62 bc
	96	93.33 ± 2.50 a	8.73 ± 0.95 a
多粘类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus polymyxa</i>	72	46.67 ± 3.00 de	1.93 ± 0.65 fg
	96	73.33 ± 5.77 bc	3.27 ± 0.31 def
蜡质芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	72	66.67 ± 4.00 bcd	3.53 ± 0.21 de
	96	83.33 ± 2.50 ab	3.97 ± 0.71 cd
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	72	60.00 ± 5.77 cd	3.60 ± 0.62 de
	96	86.67 ± 2.77 ab	6.60 ± 0.53 b
咯菌腈 Fludioxonil	72	36.67 ± 10.00 e	1.10 ± 0.10 g
	96	66.67 ± 5.77 bcd	2.37 ± 0.25 efg

3 讨论

由锐顶镰刀菌 (*Fusarium acuminatum*) 引起的越橘枝枯病, 在阿根廷已有报道 (Wright et al., 2014), 然而在果实上发病, 引起果实腐烂, 国内外尚属首次报道。调查发现, 该病害的危害率在 5%~10% (Wang et al., 2016), 随着病原菌的繁殖侵染, 该病害必将会有传播蔓延的趋势。因此, 对该病害的生物学特性及药剂防治进行研究, 了解病原菌生长的适合环境, 明确病原菌敏感的药剂种类, 提出适当的防治措施, 对于生产上及时有效防治病害, 具有十分重要的意义。

对越橘镰孢果腐病菌 (*Fusarium acuminatum*) 的生物学特性进行研究, 发现病菌在 4~40 °C 均能生长, 在 20 °C 菌丝生长最快, 4~35 °C 范围内均能产孢, 21 °C 时产孢量最大, 这与同为锐顶镰刀菌的枸杞根腐病菌 (陈伶俐, 2015) 和马铃薯干腐病菌 (王丽丽 等, 2016) 的最适生长温度相似。而越橘果实在 22 °C 放置 2~4 d 即大量腐烂 (王芳 等, 2011), 这可能是温度条件适宜病菌生长和产孢造成的。果实的适宜贮藏温度为 0~5 °C, 而在 4 °C 时病菌仍能生长, 也可产孢, 越橘可持续发病造成危害。病菌在各种不同成分的培养基上均可生长, 能利用各种不同的碳源和氮源, 且均能产孢, 说明病菌生长对营养成分的要求并不严格。病菌菌丝在 pH 4~10 范围内均能生长, 在 pH 4~8 范围内均能产孢, 不同光照处理对产孢无显著影响, 但全黑暗条件更有利于菌丝生长。病菌孢子的致死温度为 67 °C (10 min), 菌丝致死温度为 50 °C (10 min), 而枸杞根腐病菌 (陈伶俐, 2015) 的菌丝致死温度为 51 °C, 与之相似。进一步采用正交试验法, 分析各因素对病菌生长的影响, 其中温度对病菌生长的影响最大, 其次为 pH。因此在越橘贮藏过程中应注意调控温度变化, 以控制病害。

采用生长速率法测定了越橘镰孢果腐病菌 (*Fusarium acuminatum*) 对 21 种杀菌剂的敏感性, 发现其对多粘类芽孢杆菌、蜡质芽孢杆菌、咯菌腈、丙环·嘧菌酯和枯草芽孢杆菌等对病菌敏感性较高, 为该病害的有效防治提供备选药剂。目前采用化学药剂仍然是防治果蔬采后病害的主要途径, 由此不仅引起病原菌抗药性的产生, 而且容易导致农药残留超标, 影响食品安全 (Holmes & Eckert, 1999; 习柳和田世平, 2005)。因此, 本研究在病菌药剂敏感性测定的基础上, 选用敏感性高的多粘类芽孢杆菌、蜡质芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌 3 种生物制剂以及化学药剂咯菌腈进行防效试验, 结果表明咯菌腈和多粘类芽孢杆菌处理的越橘镰孢菌果腐病的发病率和病斑直径均明显小于对照, 防效较好, 可在生产中应用。

芽孢杆菌是一类防治效果显著、生防潜力巨大的生防微生物, 尤其是能产生耐热抗逆的芽孢, 有利于菌剂的剂型加工和生产, 同时有利于在环境中存活与定殖 (齐爱勇 等, 2011)。目前已开发出多种生防芽孢杆菌制剂, 广泛用于防治多种作物上的白粉病、霜霉病、疫病、灰霉病、纹枯病、根腐病等 (陈志谊 等, 2012), 其中多粘类芽孢杆菌已被用于防治油菜黑胫病 (Beatty & Suan, 2002)、人参贮藏期腐烂病 (Jeon et al., 2003)、根结线虫病 (Khan et al., 2008)、苹果炭疽病 (Kim et al., 2016a) 等。陈雪丽等 (2008) 的研究表明多粘类芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对镰刀菌引起的黄瓜和番茄枯萎病有较好防效, 并且有明显的促生长作用。Kim 等 (2016b) 的研究表明多粘类芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌可用于防治由 *Colletotrichum gloeosporioides* 和 *C. acutatum* 引起的苹果采后炭疽病以及由 *Botryosphaeria dothidea* 引起的轮纹病。本研究中使用多粘类芽孢杆菌、蜡质芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌等生防制剂防治越橘镰刀菌果腐病, 均有一定防效, 可在生产中推广应用。

References

- Beatty P H, Suan E J. 2002. *Paenibacillus polymyxa* produces fusaricidin-type antifungal antibiotics active against *Leptosphaeria maculans*, the causative agent of blackleg disease of Canola. *Canadian Journal of Microbiology*, 48 (2): 159 – 169.
- Chen Ling-li. 2015. Biological characteristics of pathogens causing wolf berry root rot and fungicides controlling experiment [M. D. Dissertation]. Xining: Qinghai University. (in Chinese)
- 陈伶俐. 2015. 柴达木地区枸杞根腐病原菌生物学特性及药剂防治研究 [硕士论文]. 西宁: 青海大学.
- Chen Xue-li, Wang Guang-hua, Jin Jian, Lü Bao-lin. 2008. Biocontrol effect of *Paenibacillus polymyxa* BRF-1 and *Bacillus subtilis* BRF-2 on Fusarium wilt disease of cucumber and tomato. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 18 (2): 446 – 450. (in Chinese)
- 陈雪丽, 王光华, 金 剑, 吕宝林. 2008. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果. *中国农业生态学报*, 18 (2): 446 – 450.
- Chen Zhi-yi, Liu Yong-feng, Liu You-zhou, Zhang Rong-sheng. 2012. Research progress in biocontrol of *Bacillus* spp. against plant diseases. *Jiangsu Journal of Agricultural Science*, 28 (5): 999 – 1006. (in Chinese)
- 陈志谊, 刘永峰, 刘邮洲, 张荣胜. 2012. 植物病害生防芽孢杆菌研究进展. *江苏农业学报*, 28 (5): 999 – 1006.
- Dai Qi-dong, Li Guang-xu, Yang Hua, Zhang Guang-ren, Jiang Shu-cheng. 2016. Research on the pathogen and infection regularity of blueberry disease while in storage. *Journal of Fruit Science*, 33 (10): 1299 – 1306. (in Chinese)
- 戴启东, 李广旭, 杨 华, 张广仁, 姜树成. 2016. 越橘采后病害的病原鉴定及发生规律研究. *果树学报*, 33 (10): 1299 – 1306.
- Fang Zhong-da. 1998. *Plant pathology research methods*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 方中达. 1998. 植病研究方法. 北京: 中国农业出版社.
- Guo Xiao-yue, Ding Ya-di, Deng Jia. 2015. Isolation and identification of blueberry disease in postharvest. *Northern Horticulture*, (24): 104 – 108. (in Chinese)
- 郭晓月, 丁雅迪, 邓 佳. 2015. 越橘贮藏期病原真菌的分离与鉴定. *北方园艺*, (24): 104 – 108.
- Holmes G J, Eckert J W. 1999. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. *Phytopathology*, 89 (9): 716 – 721.
- Jeon Y H, Chang S P, Hwang I G, Kim Y H. 2003. Involvements of growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* in root rot of stored Korean ginseng. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13 (6): 881 – 891.
- Khan Z, Kim S G, Jeon Y H, Khan H U, Son S H, Kim Y H. 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresource Technology*, 99 (8): 3016 – 3023.
- Kim Y S, Balaraju K, Jeon Y. 2016a. Biological control of apple anthracnose by *Paenibacillus polymyxa* APEC128, an antagonistic rhizobacterium. *Plant Pathology Journal*, 32 (3): 251 – 259.
- Kim Y S, Balaraju K, Jeon Y. 2016b. Effects of rhizobacteria *Paenibacillus polymyxa* APEC136 and *Bacillus subtilis* APEC170 on biocontrol of postharvest pathogens of apple fruits. *Journal of Zhejiang University-Sci B (Biomed & Biotechnol)*, 17 (12): 931 – 940.
- Leslie J F, Summerell B A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Ames, IA: Blackwell Publishing.
- Lin Li, Tian Shi-ping, Qin Guo-zheng, Xu Yong. 2003. Biocontrol of postharvest diseases in peach fruits using two antagonistic yeasts during storage periods. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (12): 1535 – 1539. (in Chinese)
- 林 丽, 田世平, 秦国政, 徐 勇. 2003. 两种拮抗酵母菌对桃果实贮藏期间主要病害的防治效果. *中国农业科学*, 36 (12): 1535 – 1539.
- Mehra L K, MacLean D D, Savelle A T, Scherm H. 2013. Postharvest disease development on southern highbush blueberry fruit in relation to berry flesh type and harvest method. *Plant Disease*, 97 (2): 213 – 221.
- Mu Li-yi. 1994. *Plant chemical protection research methods*. Beijing: China Agriculture Press: 79 – 82. (in Chinese)
- 慕立义. 1994. 植物化学保护研究方法. 北京: 中国农业出版社: 79 – 82.
- Qi Ai-yong, Zhao Xu-sheng, Liu Da-qun. 2011. Research of biological control in plant diseases by *Bacillus* spp. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27 (12): 277 – 280. (in Chinese)
- 齐爱勇, 赵绪生, 刘大群. 2011. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究现状. *中国农学通报*, 27 (12): 277 – 280.
- Rivera S A, Zoffoli J P, Latorre B A. 2013. Infection risk and critical period for the postharvest control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on blueberry

- in Chile. *Plant Disease*, 97 (8): 1069 - 1074.
- Saito S, Michailides T J, Xiao C L. 2014. First report of *Botrytis pseudocinerea* causing gray mold on blueberry in North America. *Plant Disease*, 98 (12): 1743.
- Wang Fang, Liu Hua, Chen Wen-rong, Guo Wei-dong. 2011. Effect of storage temperature on the active compounds and the antioxidant capacity of blueberry. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, 32 (2): 172 - 175. (in Chinese)
- 王 芳, 刘 华, 陈文荣, 郭卫东. 2011. 贮藏温度对越橘活性成分及抗氧化活性的影响. *宁夏大学学报 (自然科学版)*, 32 (2): 172 - 175.
- Wang Li-li, Xu Tao, Li Lin, Xiang Yang, Wei Tao, Li Ke-mei. 2016. Biological characteristics of the pathogens of the potato dry rot and fungicides selection in laboratory. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 39 (3): 222 - 226. (in Chinese)
- 王丽丽, 徐 韬, 李 琳, 相 阳, 魏 涛, 李克梅. 2016. 马铃薯干腐病病菌生物学特性及室内药剂筛选. *新疆农业大学学报*, 39 (3): 222 - 226.
- Wang Y, Wang C W, Gao J, Yang L N. 2016. First report of *Fusarium acuminatum* causing postharvest fruit rot on stored *Vaccinium corymbosum* in China. *Plant Disease*, 100 (12): 2527.
- Wright E R, Rivera M C, Campanella E R. 2014. Fusarium branch blight on highbush blueberry in Argentina. *African Journal of Biotechnology*, 13 (51): 4628 - 4634.
- Xi Liu, Tian Shi-ping. 2005. Control of postharvest diseases of tomato fruit by combining antagonistic yeast with sodium bicarbonate. *Scientia Agricultura Sinica*, 38 (5): 950 - 955. (in Chinese)
- 习 柳, 田世平. 2005. 酵母拮抗菌与碳酸氢钠配合对番茄果实采后病害的防治效果研究. *中国农业科学*, 38 (5): 950 - 955.
- Yan Xue-rui, Hu Meng-qiong, Wang Xu, Zhao Zhi-hui, Dai Han-ping, Fu Jun-fan, Li Tian-lai. 2015. Identification of Fusarium leaf blight on blueberry. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 46 (6): 667 - 671. (in Chinese)
- 严雪瑞, 胡梦琼, 王 旭, 赵志慧, 代汉萍, 傅俊范, 李天来. 2015. 越橘镰孢菌叶枯病的病原菌鉴定. *沈阳农业大学学报*, 46 (6): 667 - 671.
- Zhou Xiao-li, Wang Rui, Lei Ji-qing. 2015. Separation and biological identification of pathogenic fungi on postharvest blueberry. *Food Science and Technology*, 40 (9): 283 - 293. (in Chinese)
- 周笑犁, 王 瑞, 雷霁卿. 2015. 越橘采后病原真菌分离及其生物学鉴定. *食品科技*, 40 (9): 283 - 293.
- Zhu X Q, Xiao C L. 2015. Phylogenetic, morphological, and pathogenic characterization of *Alternaria* species associated with fruit rot of blueberry in California. *Phytopathology*, 105 (12): 1555 - 1567.

征 订

欢迎订阅 2018 年《中国果树》

《中国果树》是农业部主管、中国农业科学院果树研究所主办的技术类期刊, 是中国科技核心期刊、全国中文核心期刊。曾荣获第二届国家期刊奖提名奖、农业部优秀科技期刊奖、全国优秀农业期刊一等奖等多项奖励。主要报道我国果树科研新成果、新技术、新优品种, 交流果树生产先进经验, 普及果树科学技术知识, 提供国外果树科技信息等。双月刊, 单月 10 日出版, 每期定价 6.00 元, 全年 6 期共 36.00 元, 全国各地邮局均可订阅, 邮发代号: 8-106。也可直接汇款至编辑部订阅, 免收邮费, 如需挂号, 每期另加 3 元; 订 10 套以上挂号邮寄, 免收挂号费。

地址: 辽宁省兴城市兴海南街 98 号中国农业科学院果树研究所《中国果树》编辑部

邮编: 125100

电话: (0429) 3598131 3598276

传真: (0429) 3598132

电子信箱: zggsbjb@vip.163.com (编辑部)、zggsqgb@126.com (广告部)

网址: www.zggsj.com