

◆ 药效与应用 ◆

苹果炭疽叶枯菌毒素钝化药剂的筛选

于鑫^{1,2}, 刘志扬^{1,2}, 刘焕星^{1,2}, 张清明^{1,2}, 练森^{1,2}, 李保华^{1,2}, 李平亮^{1,2*}

(1. 青岛农业大学植物医学学院, 山东青岛 266109; 2. 山东省高校植物病虫害绿色防控工程研究中心, 山东青岛 266109)

摘要:以炭疽叶枯病菌(*Glomerella cingulata*)的粗毒素以及嘎啦苹果叶片为生测材料,测定了28种物质对炭疽叶枯病菌粗毒素活性的钝化效果,初步筛选了可用于该病害防治的毒素钝化药剂。结果显示:25℃条件下复硝酚钠和丙酸钠均可有效钝化粗毒素对叶片的致病活性,但温度增至30℃时只有复硝酚钠的效果较好;喷施100 mg/L的复硝酚钠水溶液对苹果炭疽叶枯病具有一定的保护和治疗效果,但复硝酚钠本身对病菌菌丝生长和孢子萌发均无抑制作用,因此,推测复硝酚钠是一种可通过钝化病菌毒素防治苹果炭疽叶枯病的药剂。

关键词:苹果炭疽叶枯病;炭疽叶枯病菌;毒素钝化剂;复硝酚钠

中图分类号:S 436 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2023.06.012

Screening of the Deactivation Agents of *Glomerella cingulata* Toxin

YU Xin^{1,2}, LIU Zhiyang^{1,2}, LIU Huanxing^{1,2}, ZHANG Qingming^{1,2}, LIAN Sen^{1,2}, LI Baohua^{1,2}, LI Pinliang^{1,2*}

(1. College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Shandong Engineering Research Center for Environment-Friendly Agricultural Pest Management, Qingdao 266109, China)

Abstract: In this study, the *Glomerella cingulata* crude toxin and Gala apple leaves were used as the experiment materials, and the deactivation effects of 28 substances on *Glomerella cingulata* toxin were investigated. The results showed that, both sodium propionate and sodium nitrophenolate effectively deactivated the activity of crude toxin on apple leaves under 25℃, but only sodium nitrophenolate still performed well when the temperature increased to 30℃; the spray of 100 mg/L sodium nitrophenolate showed a control efficacy against apple *Glomerella* leaf spot, however, sodium nitrosol had no inhibition effect on the mycelium growth and spore germination. Therefore, it was speculated that sodium nitrophenolate was an agent which could control this disease by deactivating the pathogen toxin.

Key words: apple *Glomerella* leaf spot; *Glomerella cingulata*; toxin deactivation agent; sodium nitrophenolate

苹果炭疽叶枯病(apple *Glomerella* leaf spot)是由炭疽叶枯病菌(*Glomerella cingulata*)侵染引起,可快速引起叶片大范围发黄、干枯与非正常落叶,果实出现褐色坏死斑,严重降低了嘎啦、金冠等苹果品种的产量和质量^[1-2]。苹果炭疽叶枯病的潜育期很短,果树染病后,尚无真正的特效药剂阻止病害的蔓延,目前防治手段主要是发病前(雨季前)连续进行保护性施药,药剂主要有吡唑醚菌酯、戊唑醇、

甲基硫菌灵、代森锰锌、波尔多液等^[3-4]。然而,为持续防控苹果炭疽叶枯病,每个生育周期需要喷施药剂最多达15次,由此带来的苹果膳食风险和环境污染问题难以忽视。鉴于此,目前对其防控新技术的需求较为迫切。

在病原真菌入侵寄主植物的过程中,可产生细胞壁降解酶、毒素、激素等物质,破坏植物的组织结构,干扰植物的代谢过程,降低植物的免疫能力。其

收稿日期:2023-02-20

基金项目:山东省自然科学基金青年项目(ZR2020QC137);国家自然科学基金青年项目(32102253);国家现代苹果产业技术体系项目(CARS-27);青岛农业大学研究生创新计划项目(QNYCX21046)

作者简介:于鑫(1998—),男,山东潍坊人,硕士,主要从事农药毒理学研究。E-mail:635529076@qq.com

通信作者:李平亮(1986—),男,河南新乡人,博士,副教授,主要从事农药毒理学研究。E-mail:lipingliang_2010@126.com

中,毒素被认为是与病程关系密切、诱发植物病害的重要致病因子^[5-6]。因此,对苹果炭疽叶枯病的防治,应充分重视致病毒素这一重要因子,推进以病菌毒素为靶标的药剂的相关研究。钝化、抑制或中和植物病原真菌毒素,干扰植物病原菌与寄主之间的联系,可为病害的高质量防控提供新的思路和途径,但目前尚未有采用毒素钝化方式防治苹果炭疽叶枯病的相关研究报道。

对于毒素钝化药剂的研究目前已取得一些进展:①代森锰锌、硫酸锌、麦芽糖等可钝化玉米大斑病菌毒素^[7];②钼酸钠、柠檬酸、L-脯氨酸、L-色氨酸等化合物可以钝化烟草赤星病菌毒素^[8-9];③硫酸铜、硫酸锰、烟酸等可钝化瓜类枯萎病菌毒素^[10];④高锰酸钾、碳酸钠可钝化番茄灰霉病菌毒素^[11]。蒲丽冰^[12]采用毒素钝化剂($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{EDTA} \cdot \text{Na}_2$)处理栽种香蕉苗的土壤,结果显示土壤中香蕉枯萎病菌毒素含量明显降低,病情指数也显著低于对照。史祥鹏等^[13]以嘎啦叶片为材料,采用针刺接种法对苹果炭疽叶枯病菌产生毒素条件进行了研究,结果表明:①改良的Richard液体培养基中产生的毒素活性最高。②粗毒素多数成分易溶于水相,极性较强。③乙醇或甲醇沉淀处理后,上清液对叶片具有毒害作用,而接种沉淀未产生明显症状,表明毒素属于小分子化合物。④添加外源物质可改变苹果炭疽叶枯病的发病进程。因苹果炭疽叶枯病菌侵染引起的快速落叶与叶片中乙烯的过量产生有关,乙烯生物合成抑制剂氨基乙氧基乙烯甘氨酸的特定剂量处理可明显减少病菌侵染引起的叶片脱落^[14]。

基于已有的研究成果,本文以炭疽叶枯病菌粗毒素和嘎啦苹果叶片为生测材料,选取9种植物生长调节剂(或植物激素)和19种盐作为候选毒素钝化药剂,通过毒素单独处理、毒素-钝化剂混合处理叶片的方式,筛选出可用于钝化炭疽叶枯病菌毒素的药剂,并探讨了钝化剂的病害防治效果,研究成果可为病菌毒素靶标药剂的开发提供参考。

1 试验材料

(1) 供试菌株:病菌菌株分离自青岛农业大学胶州基地自建苹果园发病的嘎啦苹果叶片,经单孢分离、纯化后,鉴定为炭疽叶枯病菌,菌株编号为WT 030206。

(2) 生测材料:健康嘎啦叶片取自青岛农业大学自建苹果园,叶片摘取后立即进行生测试验。

(3) 候选的钝化药剂:9种植物生长调节剂(吲

哚丁酸、吲哚乙酸、噻苯隆、 α -萘乙酸、芸苔素内酯、2,4-D、6-BA、赤霉素、复硝酚钠),19种盐(碳酸氢钠、柠檬酸钠、丙酸钠、氯化铁、硫酸亚铁、钼酸钠、柠檬酸、硝酸钠、硫酸锌、高锰酸钾、碘化钾、硫酸铜、硫酸钙、硫酸锰、氯化镁、碳酸钠、氯化钠、柠檬酸铁、苯甲酸钠),均为分析纯试剂或农药原药,分别购自国药集团化学试剂有限公司、上海麦克林生化科技股份有限公司、上海源叶生物科技有限公司、北京索莱宝科技有限公司等。将28种物质分别配制成质量浓度为5 000 mg/L的水溶液,水溶性差的植物生长调节剂先用少量甲醇溶解再溶于水,必要时滴加表面活性剂吐温80,但甲醇和吐温80体积占比需小于0.5%。

2 试验方法及讨论

2.1 粗毒素的制备方法

粗毒素的制备是钝化剂筛选试验的前提。本文以Richard病菌培养液作为粗毒素的来源,经纱布过滤、高速离心、液液萃取(乙酸乙酯、正丁醇溶剂)与浓缩后,对叶片的致病活性进行测定。结果发现两种溶剂浓缩后的溶液活性远低于发酵滤液本身,猜测是提取过程中未能将一些致病物质提取完全,失去了部分重要的致病物质,或改变了关键成分的化学性质,因而难以采用该方法提取粗毒素。

理论上病菌培养液直接使用活性最高,但培养液含有病菌菌丝与孢子,无法分辨症状是病菌侵染导致还是毒素物质诱发。进一步地,经高速离心(4℃,12 000 r/min,20 min)、微生物过滤器(0.22 μm 微孔滤膜)过滤两步处理后进行显微观察,结果显示滤液中不含病菌的菌丝、孢子;将滤液涂抹于PDA(马铃薯葡萄糖琼脂)培养基,培养5 d后未发现生长的病菌,因此认为该处理手段可以排除病菌对粗毒素活性的干扰。考虑制备过程的简易性、滤液的活性及其干扰因素,最终采用培养10 d的Richard病菌培养液滤液作为粗毒素。

制备滤液需经过3个步骤:纱布过滤、高速离心和0.22 μm 微孔滤膜过滤。即将炭疽叶枯病菌接种于PDA培养基后,在25℃和黑暗条件下培养至菌落直径达培养皿直径的3/4(约3 d)。借助打孔器(直径5 mm)在菌落边缘取菌饼10个,接种于含有改良Richard液体培养基的三角瓶,以空白培养液加入空白PDA培养基菌块作为对照。将接入菌饼的三角瓶放置于摇床,在温度为25℃、转速150 r/min、无光照的条件下培养10 d。用4层纱布过滤培养液中的菌丝球,滤

液在4℃、12 000 r/min条件下离心20 min。取上清液分别采用微生物过滤器(0.22 μm微孔滤膜)过滤,以滤液作为病菌的粗毒素,装入玻璃容器,置于4℃冰箱保存。

2.2 钝化剂的筛选方法及结果

2.2.1 筛选方法

采用离体叶片-针刺处理法筛选病菌毒素的钝化剂。选取无伤痕的健康嘎啦苹果叶片,先用酒精擦拭消毒,之后在叶脉两侧用大头针造伤形成针眼。造伤后迅速将2片滤纸片(直径3 mm)贴至造伤口处,使针眼处于中心位置。接着使用移液枪在滤

纸片上缓慢滴加20 μL的粗毒素溶液。叶片转移至含水保湿的培养盒,并放置于温度为25℃的培养箱,进行黑暗培养。等待毒素处理12 h后,同样借助移液枪将候选钝化药剂溶液20 μL缓慢滴加至滤纸片。待毒素显症后(3 d)观察并拍照,用刻度尺量取病斑直径(cm),每个处理设置3个重复。根据文献报道^[10-12]以及植物激素的作用特点,钝化药剂质量浓度设置为:植物激素类物质为10和100 mg/L,盐类物质为200和1 000 mg/L。采用添加钝化剂前后毒素处理病斑直径的抑制率来表示钝化药剂的效果:

$$\text{病斑抑制率}/\% = \frac{\text{毒素处理病斑直径}(\text{cm}) \pm \text{毒素\&钝化剂混合处理病斑直径}(\text{cm})}{\text{毒素处理病斑直径}(\text{cm})} \times 100 \quad (1)$$

2.2.2 筛选结果

28种候选药剂进行钝化剂筛选后,各药剂对毒素病斑的抑制率如表1所示。由表1可见:①各植物生长调节剂具有一定的毒素钝化活性,除吲哚丁酸、吲哚乙酸外,一般均为较高质量浓度(100 mg/L)钝化剂的病斑抑制率较高;②多数盐也具有一定的毒素钝化活性,能够抑制毒素造成的病斑,仅苯甲

酸钠可增加病斑直径;③相比较而言,复硝酸钠和丙酸钠在植物生长调节剂、盐两个类别中的表现较为优异,低质量浓度(10 mg/L)和高质量浓度(100 mg/L)处理均可显著钝化毒素活性,较高质量浓度时的抑制率分别为77.6%和88.7%。因此,复硝酸钠、丙酸钠可作为最优钝化剂的候选。两种药剂对粗毒素钝化效果的代表性照片见图1。

表 1 28 种候选药剂对炭疽叶枯菌粗毒素病斑的抑制率

候选药剂	质量浓度/ (mg/L)	病斑直径平均值/cm		抑制率/%	候选药剂	质量浓度/ (mg/L)	病斑直径平均值/cm		抑制率/%
		毒素对照	毒素+钝化剂				毒素对照	毒素+钝化剂	
吲哚丁酸	10	0.66	0.23	65.0	丙酸钠	200	0.75	0.23	69.3
	100		0.43	35.0		1 000		0.08	88.7
吲哚乙酸	10	0.65	0.26	60.0	氯化铁	200	0.70	0.33	53.3
	100		0.46	30.0		1 000		0.42	40.0
噻苯隆	10	0.70	0.47	33.3	硫酸亚铁	200	0.65	0.55	15.4
	100		0.33	53.3		1 000		0.45	30.8
2,4-D	10	0.70	0.37	46.7	钼酸钠	200	0.66	0.46	30.8
	100		0.33	53.3		1 000		0.41	38.5
α-萘乙酸	10	0.70	0.65	6.7	柠檬酸	200	0.65	0.45	30.8
	100		0.28	60.0		1 000		0.40	38.5
6-BA	10	0.68	0.61	10.0	硝酸钠	200	0.65	0.60	7.7
	100		0.34	50.0		1 000		0.55	15.4
赤霉素	10	0.63	0.44	30.0	硫酸锌	200	0.65	0.45	30.8
	100		0.32	50.0		1 000		0.25	61.5
芸苔素内酯	10	0.70	0.61	13.3	高锰酸钾	200	0.67	0.36	46.2
	100		0.23	66.7		1 000		0.46	30.8
复硝酸钠	10	0.67	0.17	74.6	碘化钾	200	0.65	0.55	15.4
	100		0.15	77.6		1 000		0.40	38.5
碳酸氢钠	200	0.65	0.39	40.0	硫酸铜	200	0.63	0.46	27.3
	1 000		0.20	70.0		1 000		0.17	72.7
柠檬酸钠	200	0.68	0.48	30.0	硫酸钙	200	0.65	0.41	36.4
	1 000		0.20	70.0		1 000		0.35	45.5

(续表 1)

候选药剂	质量浓度/ (mg/L)	病斑直径平均值/cm		抑制率/%	候选药剂	质量浓度/ (mg/L)	病斑直径平均值/cm		抑制率/%
		毒素对照	毒素+钝化剂				毒素对照	毒素+钝化剂	
硫酸锰	200		0.40	38.5	氯化钠	200		0.35	46.2
	1 000	0.65	0.25	61.5		1 000	0.65	0.55	15.4
氯化镁	200		0.39	36.4	柠檬酸铁	200		0.47	27.3
	1 000	0.62	0.54	13.6		1 000	0.65	0.53	18.2
碳酸钠	200		0.41	36.4	苯甲酸钠	200		0.59	9.1
	1 000	0.64	0.38	40.9		1 000	0.65	0.77	-18.2

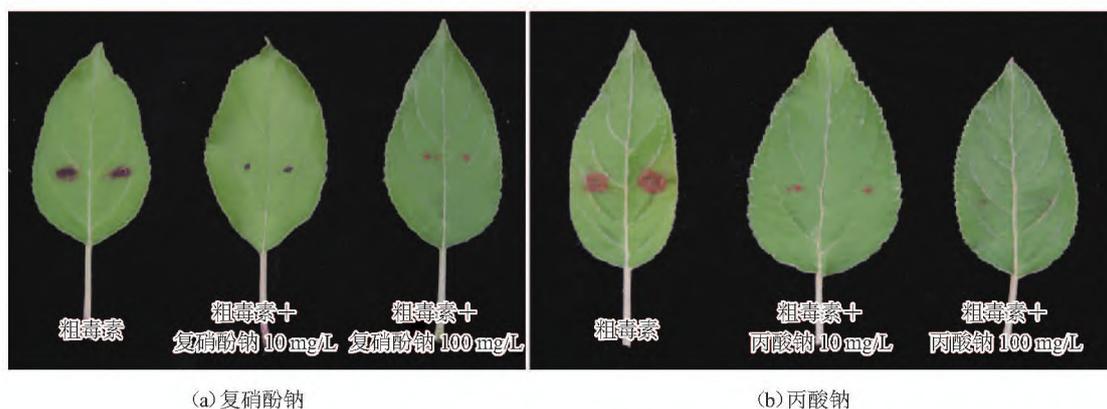


图 1 复硝酚钠和丙酸钠对炭疽叶枯病菌粗毒素的钝化效果

根据赵光耀等^[7]的研究,药剂对植物病原菌毒素钝化的主要机理是通过中和、抵消病菌毒素造成的毒性效应,而起到对植物的解毒、恢复作用,但对复硝酚钠和丙酸钠钝化作用的研究还缺乏相应的报道,只能根据其特点进行推测:①两种药剂从化学结构上看均无较强的氧化、还原和络合等作用,因而直接作用于毒素分子结构的可能性不大;②作为5-硝基愈创木酚钠、邻硝基苯酚钠、对硝基苯酚钠混合而成的植物生长调节剂,复硝酚钠具有很强的植物渗透和细胞赋活作用^[8],因而其钝化作用可能来自其对毒素-植物互作过程的干扰,使毒素无法产生正常的致病效应;③丙酸钠是一种可用作食品防腐剂、分子结构简单的盐,目前还未有其与植物互作的相关报道,钝化的机理尚无法推测。

由于苹果炭疽叶枯病在6—9月均可能流行,而该期间温度变化较大,可能影响钝化药剂的适用性。采用离体叶片-针刺处理法测定质量浓度分别为100和1 000 mg/L时,不同温度(15、25、30和35℃)复硝酚钠、丙酸钠的钝化效果,见图2。由图2可知:①15℃条件下两种物质的钝化效果无明显区别,叶片均没有产生坏死斑;②在25、30和35℃条件下,复硝酚钠对粗毒素的钝化作用强于丙酸钠,猜测可能是毒素活性随着温度的升高而增强,造成两种物质

的钝化效果变弱。由此可见,复硝酚钠的钝化效果相对稳定。此外,复硝酚钠是常见的植物生长调节剂,已在农业上广泛使用,且价格便宜,更适于田间实际应用。因此,最终以复硝酚钠作为最优的炭疽叶枯病菌毒素钝化药剂。



图 2 不同温度条件下复硝酚钠和丙酸钠对炭疽叶枯病菌粗毒素的钝化作用

2.3 钝化药剂的病害防效测定

选取健康无病的嘎啦苹果果树,将之移到果园温室隔离并单独接菌,防止病菌传染至其他果树。选取长有6~10片健康无病斑叶片的枝条若干,分成两部分,一部分进行保护作用的药效试验,一部分进行治疗作用的药效试验,挂牌标记。用作混配的杀菌剂选用山东康乔生物科技有限公司提供的25%吡唑醚菌酯悬浮剂,用蒸馏水配制成溶液。

保护性施药:先用小型喷壶喷洒10 mg/L的复硝酚钠水溶液、100 mg/L的复硝酚钠水溶液、100 mg/L复硝酚钠和100 mg/L的吡唑醚菌酯混合水溶液,至叶片液体成滴流下为止;12 h后,喷洒浓度为 1.0×10^5 CFU/mL的炭疽叶枯病菌孢子悬浮液,至叶片液体成滴流下为止。用塑料袋包裹枝条,保湿培养以利

发病,3 d后观察。随机选择6个叶片进行病斑数的统计和拍照。

治疗性施药:先用小型喷壶喷洒浓度为 1.0×10^5 CFU/mL的炭疽叶枯病菌孢子悬浮液,至叶片液体成滴流下为止,用塑料袋包裹枝条;12 h后取下塑料袋,分别喷施10 mg/L的复硝酚钠水溶液、100 mg/L的复硝酚钠水溶液、100 mg/L复硝酚钠和100 mg/L吡唑醚菌酯混合水溶液,至叶片液体成滴流下为止。用塑料袋重新包裹枝条,3 d后观察。随机选择6个叶片进行病斑数的统计和拍照。

以上药效试验,以仅喷洒蒸馏水的枝条作为空白对照,以仅喷洒炭疽叶枯病菌孢子悬浮液的枝条作为发病对照,每组处理均设置3个重复。药剂的防效计算公式为

$$\text{防效}/\% = \frac{\text{发病对照组叶片上病斑数} - \text{药剂施用组叶片上病斑数}}{\text{发病对照组叶片上病斑数}} \times 100 \quad (2)$$

2.4 钝化剂对病菌生长的影响测定

2.4.1 菌丝生长速率法

将供试的炭疽叶枯病菌菌株接种于PDA平板上,25℃恒温培养5 d作为菌源。用无菌水将复硝酚钠配制成系列浓度,混入融化的PDA培养基,使培养基中复硝酚钠质量浓度分别为3.125、6.25、12.5、25、50和100 mg/L,快速摇匀,将其倒入直径为6 cm的培养皿,每个质量浓度设置3个重复皿。待PDA凝固后,用5 mm打孔器在菌落边缘打取菌饼,并接种PDA培养基,以加无菌水的PDA培养基为对照组。将培养基置于无光照的25℃培养箱中培养5 d,采用十字交叉法测量各处理组菌落的直径。

2.4.2 孢子萌发法

在超净工作台内,将复硝酚钠溶液加入10 mL融化的水琼脂培养基,使其质量浓度分别为3.125、6.25、12.5、25、50和100 mg/L,以不加药剂的处理作为对照。将培养基倒于直径为70 mm的培养皿,待其凝固后,用移液枪吸取70 μ L炭疽叶枯病菌孢子悬浮液(浓度为 3×10^6 CFU/mL)在培养皿上均匀涂布,每组设置3个重复。25℃黑暗条件下培养4 h后,在显微镜下观察,芽管长于孢子囊直径则视为萌发。每个培养皿随机选取显微镜下的5个视野,进行观察、计数,并计算各处理组的孢子萌发率:

$$\text{孢子萌发率}/\% = \frac{\text{孢子萌发数}}{\text{孢子总数}} \times 100 \quad (3)$$

2.5 钝化剂的安全性

为了验证钝化药剂施用的安全性,配制5 L质量

浓度为100 mg/L的复硝酚钠水溶液,在无风的下午,借助小型电动喷雾器,对3棵长势相近的健康嘎啦苹果树进行喷洒,至液体成滴流下时止。以喷洒纯水的3棵邻近果树作为对照。用隔板和塑料袋隔离包括对照组在内的其他果树。施药后第3天、第7天和第14天分别观察果树的长势以及枝条、叶片的状态,以确定该浓度的药剂喷施是否引起果树药害。

3 结果与讨论

3.1 复硝酚钠对病害防治效果

将复硝酚钠应用于苹果炭疽叶枯病的防治中,测定其保护、治疗性施药的防效。根据病斑统计结果:①保护性施药3 d后,发病对照组病斑数分别为 14.6 ± 2.7 ,复硝酚钠10 mg/L组、复硝酚钠100 mg/L组、复硝酚钠100 mg/L+吡唑醚菌酯100 mg/L组的病斑数分别为 5.2 ± 1.8 、0和0,三者的防效分别为 $(64.2 \pm 11.7)\%$ 、100%和100%;②治疗性施药3 d后,发病对照组病斑数分别为 16.5 ± 4.5 ,复硝酚钠10 mg/L组、复硝酚钠100 mg/L组、复硝酚钠100 mg/L+吡唑醚菌酯100 mg/L组的病斑数分别为 4.0 ± 2.4 、 0.3 ± 0.5 和 0.2 ± 0.4 ,三者的防效分别为 $(76.5 \pm 13.9)\%$ 、 $(98.0 \pm 3.0)\%$ 和 $(99.0 \pm 2.4)\%$ 。以上结果表明:①质量浓度为10 mg/L的复硝酚钠水溶液具有一定的保护和治疗效果,但不能完全抑制病害的发生;②质量浓度增加至100 mg/L时,保护和治疗防效均接近100%,防效相对理想;③100 mg/L的复硝酚钠水溶液加入质量浓度为100 mg/L的吡唑醚

菌酯,防效保持在100%左右,显示两者可以混用。三者处理防效的照片见图3。由于本文采用炭疽叶枯病菌孢子悬浮液喷洒,在理想环境条件下控制叶片发病,与田间病害发病过程可能有所区别,所以复硝酚钠在果园中的实际防效需要进一步验证。

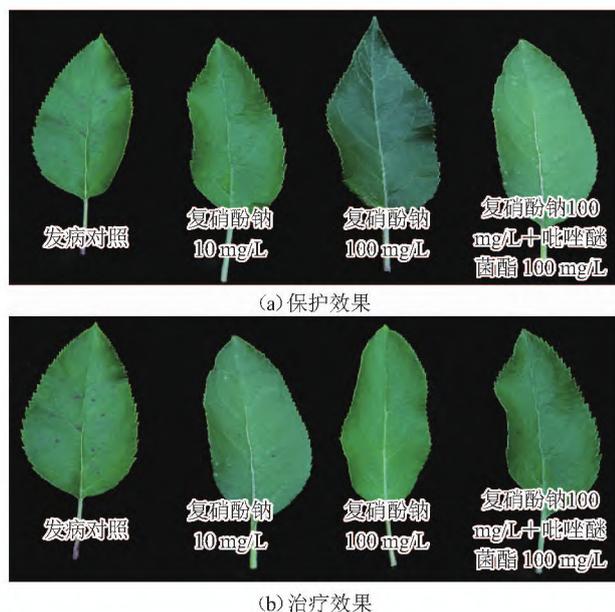


图3 各质量浓度复硝酚钠喷施对苹果炭疽叶枯病的保护和治疗效果

由于复硝酚钠主要作用于病菌毒素,无法抑制病菌本身,故在实际病害防治中复硝酚钠适宜于与杀菌剂混用,分别负责钝化毒素和抑制病菌繁殖,协同保护苹果叶片。可以认为,预防或治疗苹果炭疽叶枯病可使用质量浓度为100 mg/L的复硝酚钠,而加入质量浓度为100 mg/L的杀菌剂吡唑醚菌酯时防效更有保证。植物生长调节剂因其对作物的诱导抗逆能力,常用来辅助防控植物病害,如芒果采收前喷施复硝酚钠可以有效降低炭疽病和蒂腐病的发生^[9]。因此,本文筛选的复硝酚钠在苹果炭疽叶枯病的防治方面具有一定的理论基础、实际应用潜力与可拓展价值。

3.2 复硝酚钠对病菌生长发育的影响

鉴于复硝酚钠有可能直接对炭疽叶枯病菌发生作用,故无法确定其是否通过钝化毒素的方式防治苹果炭疽叶枯病。对此,本文研究了复硝酚钠对炭疽叶枯病菌菌丝生长和孢子萌发的影响,结果见表2。由表2可知,与对照组相比,复硝酚钠各个质量浓度对炭疽叶枯病菌菌丝的生长和孢子萌发均无显著抑制作用,甚至低质量浓度条件下还能轻微促进病菌的孢子萌发。由此可知,复硝酚钠对病菌本

身的生长并无抑制作用,对病害的防治可能主要因为药剂对毒素的钝化、解毒等作用,从而降低了病菌的侵染致病能力。

表2 复硝酚钠对病菌菌落直径、孢子萌发率的影响

质量浓度/ (mg/L)	菌丝生长速率法		孢子萌发法		
	菌落直径/cm	孢子总数	萌发总数	萌发率/%	
对照组	4.15 ± 0.08	115	83	72.17	
3.125	4.15 ± 0.50	114	87	76.32	
6.25	4.10 ± 0.10	124	92	74.19	
12.5	4.20 ± 0.15	136	98	72.06	
25	4.15 ± 0.05	133	99	74.44	
50	4.10 ± 0.10	122	87	71.31	
100	4.15 ± 0.05	125	93	74.40	

注:*表示该组与对照组有显著性差异($P < 0.05$)。

3.3 复硝酚钠的施用安全性

对施药后第3天、第7天和第14天的苹果树进行了观察,结果显示:①药剂施用组果树的树干、枝条、叶,与对照组第3天未见明显差异;②第7天、第14天,药剂施用组果树的树干、枝条与对照组无明显差异,但叶片颜色更加翠绿、明亮,生长旺盛,可以认为,复硝酚钠对苹果树的生长无明显药害,且可调节、改善苹果叶片的生理状态,因此,初步认为复硝酚钠喷施对苹果树是安全的。然而,由于试验未包括复硝酚钠在苹果果实中的残留消解、膳食摄入风险等,还需进一步研究其使用的安全性。

4 结论

苹果炭疽叶枯病潜育期短、病情发展快,能快速造成大量的早期落叶,严重威胁苹果的产量和质量。苹果树染病前需要连续施用杀菌剂进行保护性施药,染病后则难以防治,因此对其防控新技术的需求较为迫切。钝化、抑制植物病原真菌毒素,干扰植物病原菌与寄主之间的联系,可为苹果炭疽叶枯病的防控提供新的途径。本文以炭疽叶枯病菌产生的粗毒素以及嘎啦苹果叶片为生测材料,测定了28种物质对其粗毒素的钝化活性。筛选结果表明,复硝酚钠对粗毒素的钝化作用较为理想,且在不同温度条件下其钝化效果相对稳定。进一步研究表明,复硝酚钠喷施对苹果炭疽叶枯病具有一定的保护和治疗防效,但药剂本身对炭疽叶枯病菌菌丝生长和孢子萌发无显著影响,对苹果树的生长无明显药害,且可调节、改善苹果叶片的生理状态。因此,推测复硝酚钠是一种可以通过钝化病菌毒素方式防治苹果炭疽叶枯病的药剂,可单独使用或辅助杀

菌剂使用。

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] 刘安泰, 张朝敏, 李紫腾, 等. 有机硅助剂在苹果炭疽叶枯病化学防控中的减药增效作用评价[J]. 植物保护, 2022, 48(1): 284-290.
- [3] 韩文启, 金磊, 牟日敏, 等. 25%吡唑醚菌酯悬浮剂对苹果炭疽叶枯病的防效研究[J]. 现代农药, 2019, 18(6): 48-50.
- [4] 姜鹤, 马杰, 孟祥龙, 等. 不同杀菌剂与波尔多液交替施用对苹果炭疽叶枯病的防治效果[J]. 中国植保导刊, 2021, 41(4): 71-73.
- [5] 王建华. 苹果树腐烂病菌致病物质的初步研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [6] 王珊珊, 卮兰春, 李潘, 等. 植物病原真菌毒素的分类、致病机制及应用前景[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(3): 94-97.
- [7] 赵光耀, 董金皋. 玉米大斑病菌毒素的钝化反应及其机理研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2000(5): 451-455.
- [8] 李梅云, 高家合, 李天飞, 等. 不同化合物对烟草赤星病菌毒素的钝化研究[J]. 生物技术, 2004(3): 57-59.
- [9] 李梅云, 高家合, 邓建华, 等. 氨基酸对烟草赤星病菌毒素毒性的

影响[J]. 烟草科技, 2005(3): 43-45.

- [10] 庄敬华, 杨长成, 高增贵, 等. 瓜类枯萎病菌粗毒素的致萎作用及其钝化研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2006(2): 177-181.
- [11] 刘雪英. 番茄灰霉病病原菌毒素致病机理及其钝化的研究[D]. 淄博: 山东理工大学, 2011.
- [12] 蒲丽冰. 以病原菌毒素为靶标的香蕉枯萎病防治技术初步研究[D]. 海口: 海南大学, 2015.
- [13] 史祥鹏, 李超, 李保华, 等. 苹果叶枯炭疽病菌产毒素条件及其生物活性测定[C]//郭泽建, 吴元华. 中国植物病理学会2014年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2014: 206.
- [14] MEYER G D A, RUFATO L, SANHUEZA R M V, et al. The action of aminoethoxyvinylglycine (AVG) on apple (Maxi Gala) leaf abscission in plants infected by *Glomerella leaf spot (Colletotrichum gloeosporioides)* [J]. Acta Horticulturae, 2016, 1119: 43-48.
- [15] 谢方. 玉米种子DA-6和复硝酚钠拌种处理的田间效应研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021.
- [16] 付堯, 高兆银, 李敏, 等. 采前喷施复硝酚钠对芒果果实品质和采后发病率的影响[J]. 热带作物学报, 2019, 40(7): 1393-1398.

(责任编辑:高蕾)

(上接第45页)

非根据靶标动植物而设计的。因此,只有添加桶混助剂才能有的放矢、因地制宜地以极大的灵活性克服特定条件下影响药效的因素,最大程度地发挥有效成分的生物活性,但不同种类桶混助剂增效作用机制不同,需要根据施药具体场景有针对性的添加。

参考文献

- [1] 高德良, 宋化稳, 刘钰, 等. 10%氟啶虫酰胺水分散粒剂对桃树桃蚜田间防效研究[J]. 现代农药, 2021, 20(1): 54-57.
- [2] 郭盼盼, 张伟, 孙瑞红, 等. 15%联苯菊酯·氟啶虫酰胺悬浮剂防治桃蚜药效试验[J]. 现代农药, 2021, 20(1): 50-53.
- [3] 张春华, 张宗俭, 姚登峰, 等. 桶混助剂在玉米田除草剂减施增效中的应用[J]. 玉米科学, 2021, 29(4): 115-121.
- [4] 张宗俭, 张春华, 李小龙. 桶混助剂的研发应用与发展趋势[J]. 现代农药, 2021, 20(1): 19-25.
- [5] 钱志刚, 马恒博, 沈兰兰, 等. 农用桶混助剂对防治柑橘红蜘蛛的影响研究[J]. 农药科学与管理, 2020, 41(9): 61-64.
- [6] 王旭, 朱晨江, 张一恒, 等. 16%甲维盐·杀虫威悬浮剂稳定增效配方的研制[J]. 现代农药, 2022, 21(6): 28-35.
- [7] 丁新华, 王小武, 蒋旭东, 等. 2种增效剂对春玉米田除草剂的减量增效作用[J]. 植物保护, 2022, 48(1): 297-304.

- [8] 遇璐, 陶晓光, 马宏娟, 等. 3%双氟·唑草酮悬乳剂动态表面张力与除草活性及安全性关系[J]. 农药, 2020, 59(8): 563-566.
- [9] 王凤. 农药喷雾沉积量检测电化学传感系统研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018.
- [10] 封云涛, 郭晓君, 李娅, 等. 作物叶片表面自由能及喷雾助剂对农药药液在5种作物叶片上润湿性能的影响[J]. 农药学报, 2022, 24(6): 1466-1472.
- [11] PADDAV J F. The measurement of surface tension [M]. MATIJEVIC E. Surface and Colloid Science: Vol 1. New York: Wiley Interscience, 1969: 110-112.
- [12] 王潇楠, 齐鹏, 于聪伟, 等. 农药雾滴雾化沉积飘失研究进展[J]. 农药学报, 2022, 24(5): 1065-1079.
- [13] 朱瑛瑶, 赵振国. 界面化学基础 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1996: 205-234.
- [14] 郭晓君, 封云涛, 李娅, 等. 3种喷雾助剂对呋虫胺防治苹果黄蚜的增效作用[J]. 植物保护, 2022, 48(4): 341-345.
- [15] 左娇, 夏爱萍, 史晓利, 等. 0.136%赤·啉乙·芸苔可湿性粉剂和3%卵磷脂·维生素E悬浮剂在调控小麦生长及农药减施中的作用[J]. 世界农药, 2022, 44(10): 46-51.
- [16] 时玉娟, 于志波, 李金徽, 等. 日照市农药减量增效工作进展、问题及建议[J]. 农药科学与管理, 2022, 43(6): 5-8.

(责任编辑:高蕾)

欢迎订阅《现代农药》(双月刊) 定价:120元/年

编辑部电话:025-86581148 QQ:966491600 联系人:靳红华