

引用格式:

曾晴, 叶思思, 谢世莹, 陈姿伊, 叶百慧, 杨国, 郭天荣, 莫亿伟. 嵊州桃形李褐腐病病原菌的鉴定和防治药剂的筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(3): 321–328.

ZENG Q, YE S S, XIE S Y, CHEN Z Y, YE B H, YANG G, GUO T R, MO Y W. Identification of the brown rot pathogen from Shengzhou nane fruit and screening of highly effective fungicide[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(3): 321–328.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



嵊州桃形李褐腐病病原菌的鉴定和防治药剂的筛选

曾晴, 叶思思, 谢世莹, 陈姿伊, 叶百慧, 杨国, 郭天荣, 莫亿伟*

(绍兴文理学院生命与环境科学学院, 浙江 绍兴 312000)

摘 要: 从感染褐腐病的嵊州桃形李果实中分离得到 1 株病原菌 TXLHFJ-2, 利用内转录间隔区(ITS)、延伸因子(TEF-1 α)基因、 β -微管蛋白基因序列比对和形态学进行鉴定, 发现该菌株为美澳型核果褐腐菌(*Monilinia fructicola*), 该菌株最适生长温度为 22.5 °C。在 PDA 培养基上, 加入 6 种杀菌剂(戊唑醇、甲基硫菌灵、异菌脲、苯醚甲环唑、啉酰菌胺和代森锌)进行室内防效试验, 发现 5.0 mg/L 戊唑醇、5.0 mg/L 甲基硫菌灵、5.0 mg/L 异菌脲、25.0 mg/L 苯醚甲环唑、90.0 mg/L 啉酰菌胺、100.0 mg/L 代森锌均可完全抑制褐腐菌生长, 经杀菌剂处理后, 再用健那绿 B 和线粒体红色荧光探针染色发现, 经杀菌剂处理的菌丝的绿色和红色荧光强度均显著低于对照组的; 再经碘化丙啶(PI)染色发现, 杀菌剂处理后的菌丝红色荧光强度均比对照组的强, 说明 6 种杀菌剂处理均可使褐腐病病原菌的细胞膜完整性受损, 降低线粒体膜电位形成, 从而抑制菌落生长。甲基硫菌灵、戊唑醇和苯醚甲环唑对病原菌表现出良好的田间防效, 分别为 81.63%、80.49%和 79.98%, 但三者无显著差异, 基于农药管理办法, 建议使用苯醚甲环唑防控桃形李果实褐腐病。

关 键 词: 嵊州桃形李; 褐腐菌; 杀菌剂; 抑菌机制; 苯醚甲环唑

中图分类号: S436.62

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2023)03–0321–08

Identification of the brown rot pathogen from Shengzhou nane fruit and screening of highly effective fungicide

ZENG Qing, YE Sisi, XIE Shiyang, CHEN Ziyi, YE Baihui, YANG Guo, GUO Tianrong, MO Yiwei*

(School of Life and Environmental Sciences, Shaoxing University, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

Abstract: The fungal pathogen(TXLHFJ-2) causing brown rot fruit of Shengzhou nane was isolated and purified by tissue isolation method from the diseased fruits. The pathogen was identified as *Monilinia fructicola* by morphological characteristics and polygenic joint sequence analysis including fragment of nuclear ribosomal internal transcribed spacer region(ITS), translation elongation factor-1(TEF-1 α) and β -tubulin. Further observation revealed the optimum temperature for *Monilinia fructicola* growth was 22.5 °C. Six fungicides added to PDA medium respectively were screened indoors to evaluate the control effect on *Monilinia fructicola*, and the results showed that 5.0 mg/L tebuconazole, 5.0 mg/L thiophanate methyl, 5.0 mg/L iprodione, 25.0 mg/L difenoconazole, 90.0 mg/L boscalid and 100.0 mg/L zineb could completely inhibit the mycelia growth. In order to clarify the antifungal mechanism, Janus green B, Mito-Tracker Red CMXRos and Propidium bromide(PI) solution were used to stain mycelia after fungicides treatments. The results showed that compared to the control, fluorescence intensity in mycelia stained by Janus green B,

收稿日期: 2022–11–22

修回日期: 2023–04–08

基金项目: 浙江省科学技术厅浙江省自然科学基金委基础公益研究计划项目(LGN22C150002、LGN20C150004)

作者简介: 曾晴(1998—), 女, 河南南阳人, 硕士研究生, 主要从事果树病害微生物学研究, 415049862@qq.com; *通信作者, 莫亿伟, 博士, 教授, 主要从事果树病害生理研究, ywmo@163.com

Mito-Tracker Red CMXRos was obviously weaker, while red fluorescence intensity stained by PI was stronger in fungicide treated group. The above results showed that six fungicides could destroy the cell membrane integrity of *Monilinia fructicola*, and reduce the formation of mitochondrial membrane potential, thereby inhibit the pathogen growth. Field experiment indicated that thiophanate methyl, tebuconazole, and difenoconazole showed excellent antifungal efficacy, with 81.63%, 80.49%, and 79.98%, respectively. However, based on pesticide management measures of China, difenoconazole was recommended as the suitable fungicide for controlling *Monilinia fructicola* causing brown rot in Shenzhou nane fruits in practice.

Keywords: Shengzhou nane; *Monilinia fructicola*; fungicide; antifungal mechanism; difenoconazole

浙江嵊州桃形李(*Prunus salicina* var. *taoxingli*)果实采收期恰逢当地高温多雨天气,果实极易裂果,裂果后易被真菌侵染,造成果实腐烂和大量落果。由于桃形李大都在山地种植,难用大棚或套袋进行避雨栽培,一旦有果实被病原菌感染,必须靠人工摘除病果,费时费力;因此,加强桃形李果实采前病害的防治尤为重要。已报道的桃形李病害真菌有扩展青霉(*Penicillium expansum*)、丝衣霉菌(*Byssosclamyces nivea*)和橘青霉(*Penicillium citrinum*)^[1-2]。根据多年在桃形李产地的调查,每年6月初,桃形李果实成熟前都有褐腐病发生。基于褐腐病病原菌种类较多,常见的有美澳型核果褐腐菌(*Monilinia fructicola*)、核果褐腐菌(*M. laxa*)和仁果褐腐菌(*M. fructigena*)等^[3],为明确浙江嵊州桃形李果实褐腐病的主要病原菌,笔者采集嵊州桃形李果园典型褐腐病果实分离致病菌,采用形态学和分子生物学相结合的方法鉴定病原菌,以室内防效和田间防效相结合方式筛选出有效防治药剂,以期对嵊州桃形李果实褐腐病的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

2021年7月,在浙江省嵊州市金庭镇桃形李果园采集出现典型褐腐病害的9成熟的桃形李果实,用无菌袋包装后低温保存,并于当天带回实验室备用。

6种杀菌剂:43%戊唑醇悬浮剂,江苏丰登作物保护股份有限公司出品;70%甲基硫菌灵可湿性粉剂,山东百农思达生物科技有限公司出品;50%异菌脲可湿性粉剂,山东潍坊润丰化工股份有限公司出品;10%苯醚甲环唑,山东百农思达生物科技有限公司出品;50%啶酰菌胺,美国杜邦公司出品;65%代森锌,上海源叶生物科技有限公司出品。

1.2 方法

1.2.1 桃形李褐腐病病原菌的鉴定和致病性检测

参照洪小雨等^[4]的方法分离病原菌:剪取桃形李褐腐病果实病健交界处果肉,用75%乙醇表面消毒2 min,再经0.1% NaClO消毒5 min,用无菌水漂洗2次,置于PDA培养基上,20℃培养直至产生孢子。单孢子纯化后,在光学显微镜下观察病原菌的菌落、菌丝以及孢子形态。采用真菌基因组DNA提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)提取病原菌基因组DNA。参照王友升等^[5]的方法,以基因组DNA为模板扩增真菌28S rDNA的ITS区域(ITS1、5.8S、ITS2);参照牛程旦等^[6]的方法,扩增TEF-1 α 基因和 β -tubulin基因。扩增产物经1.2%琼脂糖凝胶电泳检测后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将序列在GenBank内用BLAST进行同源性比较,用邻接法(MEGA 6.0X)构建系统发育进化树。

选取10个表面无病虫害的嵊州桃形李果实,表面消毒后用无菌接种针在果实赤道部位刺伤,每个伤口接种10.0 μ L病原菌的孢子悬浮液(10^5 个/mL),以无菌水为对照,在25℃、相对湿度为85%培养箱中黑暗培养,待果实出现典型病斑后,再分离病原菌,并与原病原菌进行比较。

1.2.2 桃形李褐腐病病原菌最佳培养温度的确定

将纯化后的褐腐菌在PDA培养基上15~35℃黑暗培养1~4 d,每天测量菌落大小,确定其最佳培养温度。

1.2.3 杀菌剂的室内抑菌效果的测定

参照莫亿伟等^[2]的方法,在对不同杀菌剂浓度筛选结果基础上,分别在PDA培养基中加入杀菌剂,使戊唑醇、甲基硫菌灵和异菌脲的最终质量浓

度为 1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0 mg/L, 苯醚甲环唑的最终质量浓度为 5.0、10.0、15.0、20.0 和 25.0 mg/L, 啶酰菌胺的最终质量浓度为 10.0、30.0、50.0、70.0 和 90.0 mg/L, 代森锌的最终质量浓度为 20.0、40.0、60.0、80.0、100.0 mg/L, 以不加杀菌剂的 PDA 培养基为对照, 接入 $15\ \mu\text{L}$ 浓度为 $1 \times 10^5\ \text{cfu/mL}$ 的悬浮孢子液, 每个培养皿接 4 个点, 每个处理 5 次重复。20 °C 黑暗培养 1~4 d。每天用十字交叉法测量菌落的直径, 比较不同杀菌剂对菌落生长的影响。

1.2.4 杀菌剂对褐腐病原菌的菌丝细胞完整性结构与功能影响的检测

参照 KONG 等^[7]的方法, 分别挑取在含有 2.5 mg/L 戊唑醇、2.5 mg/L 甲基硫菌灵、2.5 mg/L 异菌脲、15.0 mg/L 苯醚甲环唑、50.0 mg/L 啶酰菌胺和 60.0 mg/L 代森锌的培养基上生长 4 d 后菌落边缘的菌丝, 分别用 1.0% 健那绿 B、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 线粒体红色荧光探针(MitoTracker Red CMXRos)和 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 碘化丙啶(PI)染色 15 min, 倒去染料后再用无菌水清洗 3 次, 洗掉菌丝表面荧光染料, 在荧光显微镜下观察菌丝染色结果。

1.2.5 杀菌剂对桃形李褐腐病田间防效的检测

选择生长一致的 12 年生桃形李果树, 共 42 株, 分成 7 组, 根据杀菌剂推荐剂量, 分别喷施 43% 戊唑醇 3000 倍液、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 1300 倍液、

50% 异菌脲可湿性粉剂 1500 倍液、10% 苯醚甲环唑 3000 倍液、50% 啶酰菌胺 1250 倍液、65% 代森锌 500 倍液, 对照组果树喷施清水, 分别于 6 月 15 日和 6 月 20 日全树喷施。在果实成熟期, 采收全树及树冠范围内的落果, 统计病果率。

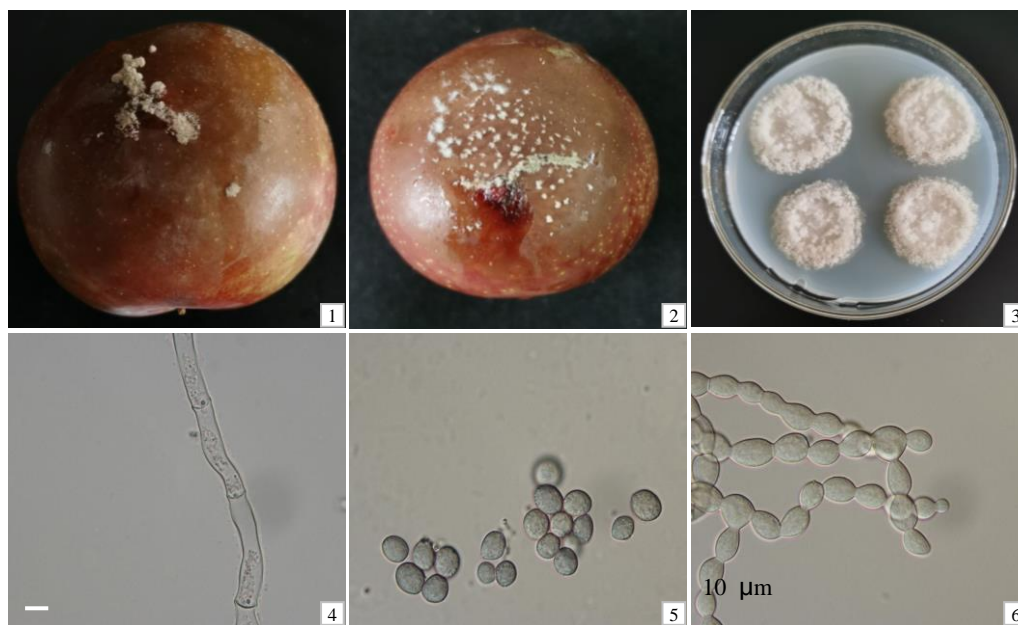
1.3 数据分析

试验数据用 SPSS 24.0 软件进行方差分析, 选用 Duncan 法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 桃形李褐腐病致病菌的鉴定结果

嵊州桃形李褐腐病果实表面出现灰白色病斑(图 1-1)。经分离纯化后的菌落孢子再接种至健康的桃形李果实上, 4 d 后所有果实全部发病, 而且病斑形状与自然发病相似(图 1-2)。在病斑处再次分离病原菌, 发现与原来的菌株形态相一致, 表明分离到的菌株为致病菌。纯化后的褐腐菌在 PDA 培养基上培养, 生长初期呈灰白色, 之后菌丝颜色逐渐加深变成灰黄色。菌落为圆形, 呈同心轮纹状(图 1-3), 菌丝有隔膜(图 1-4)。褐腐菌可形成柠檬形或卵圆形的分生孢子(图 1-5), 并能形成念珠状分生孢子链(图 1-6), 孢子内含较多的无色颗粒物。孢子长约 12.5 μm , 宽约 8.3 μm 。病原菌 DNA 用 ITS 引物



1 自然病害果实; 2 回接菌种果实; 3 菌落形态; 4 菌丝; 5 孢子; 6 分生孢子链。

图 1 嵊州桃形李果实的褐腐病症状和病原菌形态

Fig.1 The morphology of infected Shengzhou nane fruit and the pathogenic fungal colonies

PCR扩增得到序列大小为550 bp, 经BLAST比对后发现与美澳核果褐腐病菌*Monilinia fructicola*相似度为99.0%, 与核果链核盘菌(*Monilinia laxa*)同源性为87%。基于ITS序列与GenBank中相关序列构建系统发育树, 发现该菌株与*Monilinia fructicola*(MH299422.1)、*Monilinia fructicola*(MK566181.1)、

Monilinia fructicola(MT026997.1)聚于同一分支(图2); 进一步用*TEF-1 α* 和 β -tublin的序列构建系统发育树(图3、图4), 结果该菌株与*Monilinia fructicola*聚为一支, 确定该菌株为美澳型核果褐腐菌*Monilinia fructicola*, 命名为TXLHFJ-2。

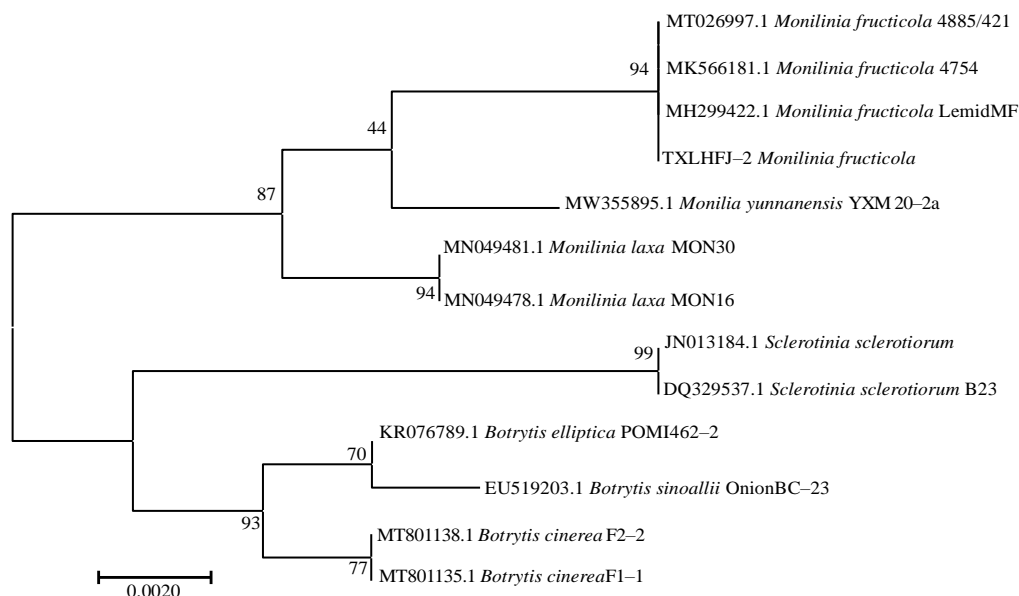


图2 基于ITS基因序列构建的系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree based on ITS sequences

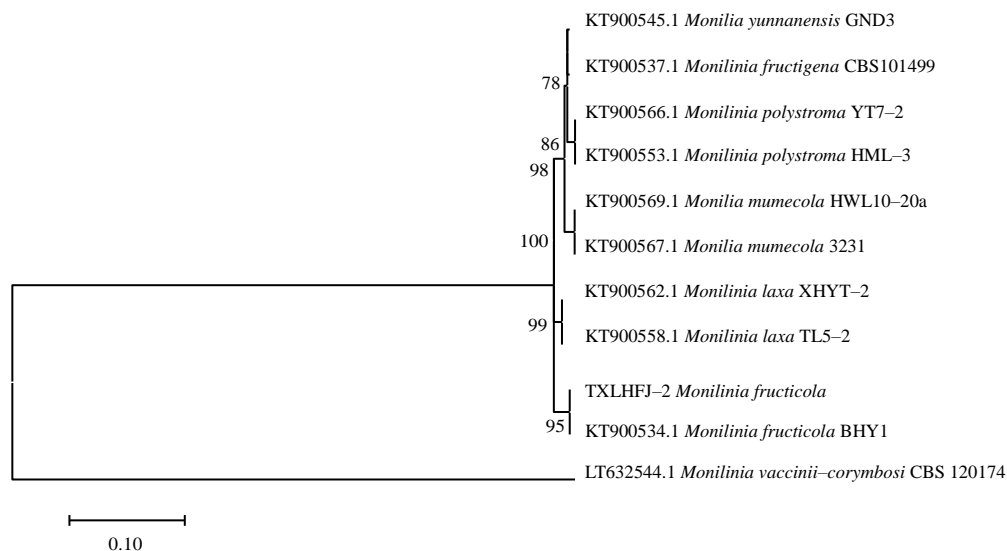


图3 基于*TEF-1 α* 基因序列构建的系统发育树
Fig.3 Phylogenetic tree based on *TEF-1 α* sequences

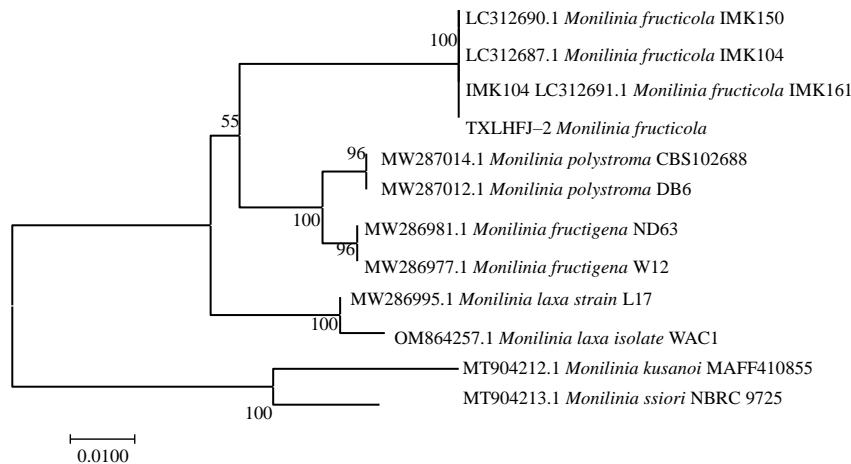


图4 基于β-tublin基因序列构建的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree based on β-tublin sequences

2.2 桃形李褐腐病原菌生长的最适温度

桃形李褐腐病原菌在不同温度下培养 4 d 的菌落直径列于表 1。结果表明,桃形李褐腐菌在 15.0~30.0 °C 时均可生长,22.5 °C 培养 4 d 后,菌落直径

最大,可达 42.45 mm,而在 20.0 °C 和 25.0 °C 培养时,菌落直径分别仅为 22.5 °C 时的 90.45% 和 82.50%,有显著差异。当温度达 35.0 °C 时,菌落停止生长,说明该菌株不耐 35.0 °C 以上的高温环境。

表 1 不同温度培养的桃形李褐腐病原菌的菌落直径

Table 1 Colony diameter of <i>Monilinia fructicola</i> TXLHFJ-2 cultured at different temperatures				
温度/°C	菌落直径/mm			
	1 d	2 d	3 d	4 d
15.0	(0.00±0.00)d	(4.54±0.58)d	(13.86±0.79)d	(21.24±1.03)d
17.5	(1.25±0.43)c	(13.25±2.16)c	(25.15±3.26)c	(33.50±2.33)c
20.0	(2.80±0.81)b	(17.10±1.32)b	(32.45±1.71)b	(38.40±1.90)b
22.5	(12.20±1.25)a	(23.50±1.97)a	(38.20±1.13)a	(42.45±1.29)a
25.0	(1.88±1.02)b	(14.56±0.73)c	(24.75±1.27)c	(35.02±0.64)c
30.0	(1.95±0.67)b	(10.89±1.09)c	(15.52±0.83)d	(22.85±0.99)d
35.0	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)e

同列数据不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 杀菌剂对桃形李褐腐病菌菌落生长的影响

6 种杀菌剂处理桃形李褐腐病菌后的菌落直径列于表 2。随着戊唑醇、甲基硫菌灵和异菌脲质量浓度加大,抑菌效果逐渐增强。1.0 mg/L 戊唑醇、甲基硫菌灵和异菌脲分别处理 4 d 后菌落直径为 6.05、5.95 和 22.55 mm,当这 3 种杀菌剂质量浓度达 5.0 mg/L 时,则完全抑制褐腐菌生长,且各处理与对照的差异显著。

随着苯醚甲环唑、啶酰菌胺和代森锌质量浓度加大,抑菌效果也在增强;10.0 mg/L 苯醚甲环唑、10.0 mg/L 啶酰菌胺和 20.0 mg/L 代森锌处理 4 d 时,菌落直径分别只有 3.32、24.23 和 31.66 mm,当这 3 种杀菌剂质量浓度分别达 25.0、90.0 和 100.0 mg/L 时,则完全抑制褐腐菌生长,且各处理与对照的差异显著。

表 2 6 种杀菌剂处理的桃形李褐腐病原菌的菌落直径

Table 2 Colony diameter of <i>Monilinia fructicola</i> TXLHFJ-2 treated with six kinds of fungicides					
杀菌剂	质量浓度/(mg L ⁻¹)	菌落直径/mm			
		1 d	2 d	3 d	4 d
戊唑醇	0.0	(4.36±0.87)a	(14.22±0.95)a	(31.62±0.83)a	(37.82±0.74)a
	1.0	(1.79±0.52)b	(3.01±0.42)b	(4.50±0.23)b	(6.05±0.75)b
	2.0	(1.43±0.41)b	(2.62±0.44)b	(3.16±0.37)b	(5.32±0.66)b

表 2(续)

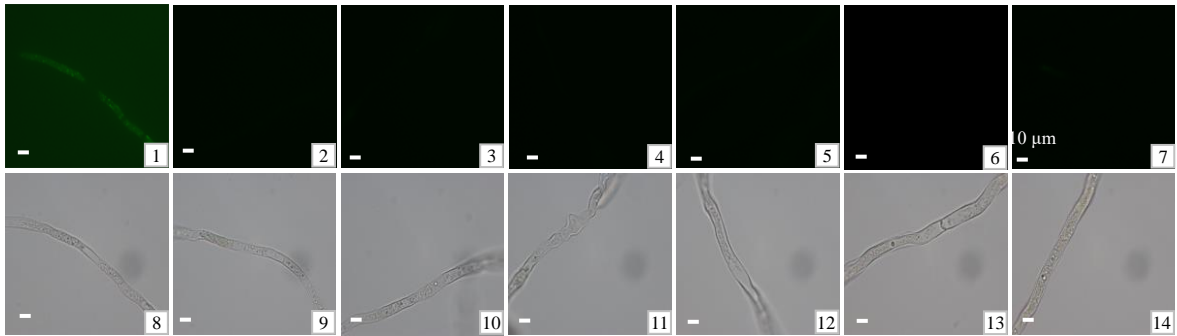
杀菌剂	质量浓度/(mg L ⁻¹)	菌落直径/mm			
		1 d	2 d	3 d	4 d
戊唑醇	3.0	(0.00±0.00)c	(1.10±0.42)c	(1.91±0.65)c	(2.04±0.59)c
	4.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)d	(1.33±0.74)c	(1.86±0.42)c
	5.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)d
甲基硫菌灵	0.0	(4.79±0.83)a	(14.74±1.02)a	(31.41±0.83)a	(37.72±0.95)a
	1.0	(1.18±0.49)b	(3.67±0.49)b	(5.01±0.85)b	(5.95±0.61)b
	2.0	(0.00±0.00)c	(2.36±0.62)c	(3.12±0.77)c	(3.99±0.55)c
	3.0	(0.00±0.00)c	(1.55±0.44)d	(1.86±0.73)d	(2.43±0.32)d
	4.0	(0.00±0.00)c	(1.28±0.38)d	(1.44±0.33)d	(1.97±0.57)d
	5.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)e
异菌脲	0.0	(4.46±0.91)a	(13.83±0.11)a	(32.05±0.84)a	(37.62±0.76)a
	1.0	(3.28±0.81)b	(10.37±0.73)b	(16.23±0.85)b	(22.55±0.97)b
	2.0	(3.24±0.72)b	(6.14±0.76)c	(10.97±0.94)c	(14.37±0.43)c
	3.0	(1.17±0.45)c	(4.86±0.94)c	(7.66±1.02)d	(9.05±0.76)d
	4.0	(0.00±0.00)d	(1.98±0.44)d	(2.74±0.91)e	(3.82±0.98)e
	5.0	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)f	(0.00±0.00)f
苯醚甲环唑	0.0	(4.66±0.71)a	(14.42±0.65)a	(31.99±0.94)a	(37.02±1.34)a
	5.0	(1.14±0.44)b	(2.04±0.24)b	(3.32±0.67)b	(3.96±0.32)b
	10.0	(0.00±0.00)c	(1.83±0.35)b	(2.61±0.51)b	(3.32±0.25)b
	15.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)c	(1.60±0.31)c	(2.92±0.31)c
	20.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)c	(1.34±0.29)c	(2.25±0.18)c
	25.0	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)c	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)d
啶酰菌胺	0.0	(4.17±0.53)a	(13.98±0.79)a	(31.56±1.02)a	(38.65±1.42)a
	10.0	(3.89±0.46)a	(10.11±0.90)b	(19.33±0.69)b	(24.23±0.49)b
	30.0	(2.87±0.71)b	(8.97±0.68)b	(13.24±0.66)c	(17.43±0.83)c
	50.0	(1.39±0.32)c	(5.52±0.83)c	(8.06±0.62)d	(12.21±0.51)d
	70.0	(0.00±0.00)d	(1.28±0.54)d	(2.92±0.51)e	(4.39±0.67)e
	90.0	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)f	(0.00±0.00)f
代森锌	0.0	(4.89±0.35)a	(13.86±0.83)a	(32.68±1.68)a	(37.68±1.23)a
	20.0	(3.83±0.71)b	(11.16±0.74)b	(25.25±0.96)b	(31.66±0.43)b
	40.0	(1.74±0.22)c	(4.59±0.72)c	(11.25±0.43)c	(23.25±0.52)c
	60.0	(0.00±0.00)d	(2.63±0.51)d	(8.39±0.73)d	(14.58±0.89)d
	80.0	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e	(2.57±0.78)e	(6.25±0.17)e
	100.0	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)f	(0.00±0.00)f

同列数据不同小写字母表示同种药剂不同处理间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 杀菌剂对桃形李褐腐病病原菌菌丝线粒体功能和细胞膜完整性的影响

经健那绿 B 染色, 对照组菌丝发出强烈的绿色荧光(图 5-1), 经戊唑醇(图 5-2)、甲基硫菌灵(图 5-3)、异菌脲(图 5-4)、苯醚甲环唑(图 5-5)、啶酰菌胺(图 5-6)和代森锌(图 5-7)处理后菌丝的绿色荧光明显减弱, 有些甚至消失。

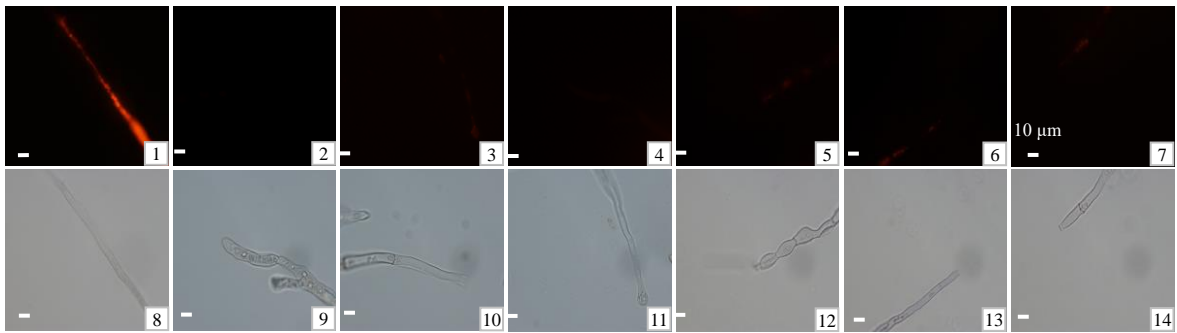
线粒体红色荧光探针染色后发现, 对照组的菌丝发出很强的红色荧光(图 6-1), 经戊唑醇(图 6-2)、甲基硫菌灵(图 6-3)、异菌脲(图 6-4)、苯醚甲环唑(图 6-5)、啶酰菌胺(图 6-6)和代森锌(图 6-7)处理后菌丝的红色荧光明显减弱, 有些甚至消失。说明 6 种杀菌剂均能破坏桃形李褐腐病菌菌丝线粒体的活性, 使菌丝线粒体膜电位形成受阻。



1~7 为荧光视野：1 对照；2 戊唑醇；3 甲基硫菌灵；4 异菌脲；5 苯醚甲环唑；6 啉酰菌胺；7 代森锌。8~14 分别为 1~7 的白光视野。

图 5 6 种杀菌剂处理桃形李褐腐病病原菌的健那绿 B 染色结果

Fig.5 Janus green B staining of *Monilinia fructicola* TXLHFJ-2 treated with six kinds of fungicides



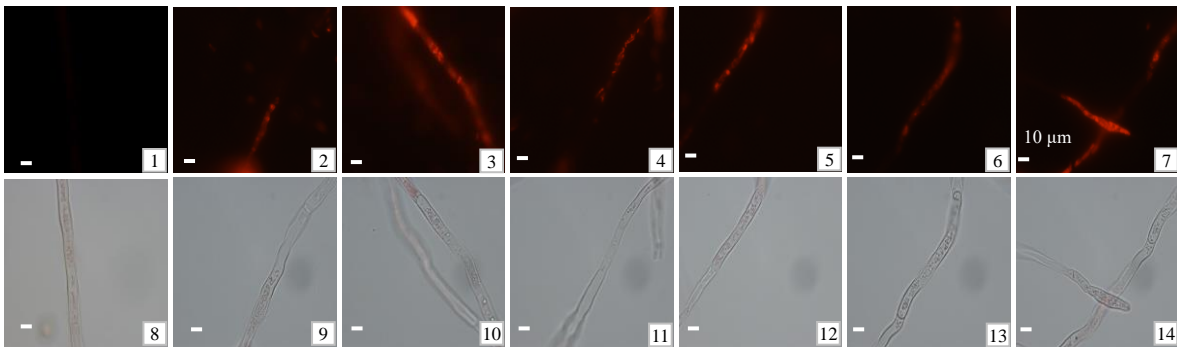
1~7 为荧光视野：1 对照；2 戊唑醇；3 甲基硫菌灵；4 异菌脲；5 苯醚甲环唑；6 啉酰菌胺；7 代森锌。8~14 分别为 1~7 的白光视野。

图 6 6 种杀菌剂处理桃形李褐腐病病原菌的 MitoTracker® Red CMXRos 染色结果

Fig. 6 MitoTracker® Red CMXRos staining of *Monilinia fructicola* TXLHFJ-2 treated with six kinds of fungicides

PI 染色后发现，对照组的菌丝没有出现红色荧光(图 7-1)，经戊唑醇(图 7-2)、甲基硫菌灵(图 7-3)、异菌脲(图 7-4)、苯醚甲环唑(图 7-5)、啉酰菌胺(图 7-6)和代森锌(图 7-7)处理后菌丝的红色荧光显著

增强。说明 6 种杀菌剂均能破坏褐腐菌菌丝细胞膜的完整性，使 PI 容易透过受损的细胞膜与细胞内 DNA 相结合。



1~7 为荧光视野：1 对照；2 戊唑醇；3 甲基硫菌灵；4 异菌脲；5 苯醚甲环唑；6 啉酰菌胺；7 代森锌。8~14 分别为 1~7 的白光视野。

图 7 6 种杀菌剂处理的桃形李褐腐病病原菌的 PI 染色结果

Fig. 7 PI staining of *Monilinia fructicola* TXLHFJ-2 treated with six kinds of fungicides

2.5 杀菌剂对桃形李褐腐病的田间防效

由表 3 可知，对田间桃形李全株喷施 2 次杀菌剂后，6 种杀菌剂均表现出较好的防治效果，其中，

甲基硫菌灵、戊唑醇和苯醚甲环唑的防效较好，但 3 种药剂间的田间防效无显著差异。所有杀菌剂的防效结果与对照组均有显著差异。用药后调查发

现,经杀菌剂处理的植株均没有发生药害,说明这 6 种杀菌剂的使用剂量对树体没有危害。

表 3 6 种杀菌剂对桃形李褐腐病的田间防效

Table 3 Antifungal efficacy of six fungicides on Shengzhou nane infected by <i>Monilinia fructicola</i> in field %			
药剂	使用剂量	病果率	平均防效
戊唑醇	43%戊唑醇3000倍液	6.87±0.33	(80.49±1.12)a
甲基硫菌灵	70%甲基硫菌灵可湿性粉剂1300倍液	6.47±0.53	(81.63±0.22)a
异菌脲	50%异菌脲可湿性粉剂1500倍液	10.13±0.42	(74.24±1.45)b
苯醚甲环唑	10%苯醚甲环唑3000倍液	7.05±0.19	(79.98±0.61)a
啶酰菌胺	50%啶酰菌胺1250倍液	10.56±0.62	(70.53±0.42)c
代森锌	65%代森锌500倍液	14.02±0.51	(65.62±1.08)d
对照		35.23±1.23	

同列数据不同小写字母表示药剂处理间的差异有统计学意义(P<0.05)。

3 讨论

通过对嵊州桃形李果实褐腐病病原菌的形态特征观察、致病性测试和 ITS、TEF-1α 和 β-tubulin 序列分析,确定嵊州桃形李果实褐腐病的致病菌为美澳型核果褐腐菌(*Monilinia fructicola* TXLHFJ-2)。该菌株最适生长温度为 22.5 ℃,当培养温度达到 35.0 ℃时不再生长,这与果实褐腐病暴发于果实成熟前气候相对凉爽相吻合。

室内防效从大到小的 6 种杀菌剂依次为戊唑醇、甲基硫菌灵、异菌脲、苯醚甲环唑、啶酰菌胺和代森锌,田间防效从大到小则依次为甲基硫菌灵、戊唑醇、苯醚甲环唑、异菌脲、啶酰菌胺和代森锌,这种差异可能是田间环境比 PDA 培养基更为复杂所致。本研究结果与凡先芳等^[8]发现戊唑醇可抑制李果实采后病害结果一致。6 种杀菌剂对线粒体功能影响的研究结果表明,杀菌剂处理均可破坏褐腐病病原菌丝的细胞膜完整性,降低菌丝线粒体膜电位形成,从而抑制病原菌的生长,结果与前人在哈密瓜镰刀果腐菌(*Fusarium incarnatum*)经不同药剂处理后得到的结果^[9]相似。虽然所选用的这 6 种杀菌剂已应用于多种水果和蔬菜的病害防治,但在中国农药信息网上只登记了苯醚甲环唑在李树的使用^[10],所以建议用苯醚甲环唑对桃形李褐腐病进行防治。至于苯醚甲环唑在田间最适使用剂量、次数及最佳使用时期还需深入研究。

参考文献:

[1] 何莹蓉,林海雁,曹宗威,等. 不同处理对桃形李采后病原菌的防治效果[J]. 热带作物学报, 2017, 38(4):

734-739.

[2] 莫亿伟,林海雁,郑梦琪,等. 桃形李果实丝衣霉菌的分离、鉴定、生物学特性及其防治[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(12): 2227-2237.

[3] DE MICCOLIS ANGELINI R M, LANDI L, RAGUSEO C, et al. Tracking of diversity and evolution in the brown rot fungi *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena*, and *Monilinia laxa*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 854852.

[4] 洪小雨,李敏,弓德强,等. 豇豆贮藏期软腐病病原菌鉴定及其生物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2021, 42(4): 1099-1105.

[5] 王友升,张燕,陈玉娟. 5 株桃、李果实采后褐腐病菌鉴定、rDNA ITS 序列与碳源代谢指纹图谱分析[J]. 食品科学, 2012, 33(16): 246-250.

[6] 牛程旺,王静茹,朱小琼,等. 新疆野果林褐腐病菌的种类[J]. 菌物学报, 2016, 35(12): 1514-1525.

[7] KONG J, ZHANG Y, JU J, et al. Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes[J]. Food Chemistry, 2019, 285: 380-388.

[8] 凡先芳,张婕,姚世响,等. 1-MCP 和戊唑醇处理对青脆李果实贮藏期病害和品质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(24): 292-298.

[9] 杜莉芳,曾晴,徐晶,等. 哈密瓜镰刀果腐菌的鉴定、生物学特性和室内防治药剂的筛选[J]. 果树学报, 2022, 39(5): 855-869.

[10] 数据中心有效成分查作物[EB/OL]. 中国农药信息网. http://www.chinapesticide.org.cn/Chinese_Pesticide_Information_Network, 1999.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗 维