

柑橘黑点病菌种群对代森锰锌的敏感性评价 及其替代药剂的筛选

刘欣¹ 王明爽¹ 梅秀凤¹ 姜丽英² 韩国兴³ 李红叶^{1*}

(1. 浙江大学生物技术研究所, 杭州 310058; 2. 衢州市农业局, 浙江 衢州 324000;

3. 杭州新安植保有限公司, 杭州 310000)

摘要: 为明确柑橘黑点病菌种群对代森锰锌的敏感性, 采用孢子萌发法测定来源于黄岩、衢州、梅州和南丰 4 个生产果园种群和 1 野生种群, 共 221 个柑橘黑点病菌菌株对代森锰锌的敏感性; 并在离体、温室和果园条件下, 评价百菌清和克菌丹等药剂的抑菌活性和防治效果。结果显示, 南丰种群和衢州种群对代森锰锌的 EC_{50} 分别为 1.11、1.01 $\mu\text{g/mL}$, 显著高于野生种群 0.90 $\mu\text{g/mL}$, 但最不敏感菌株抗性水平仅为 1.8, 小于 5; 百菌清和克菌丹对孢子萌发抑制效果显著优于代森锰锌, 温室防效与代森锰锌相当; 苯醚甲环唑抑制孢子萌发效果显著低于代森锰锌、百菌清和克菌丹, 但抑制菌丝生长的效果显著较好。代森锰锌与苯醚甲环唑以质量比 4:1 混合对抑制菌丝生长有增效作用, 与矿物油以 1:1 250 及 1:6 250 混合对抑制病菌孢子萌发有增效作用。结果表明我国柑橘黑点病菌种群仍对代森锰锌敏感, 代森锰锌仍为有效防治药剂; 添加适量苯醚甲环唑或矿物油有提升代森锰锌防效的潜力。

关键词: 柑橘黑点病; 代森锰锌; 敏感性评价; 化学防治

Sensitivity evaluation of *Diaporthe citri* populations to mancozeb and screening of alternative fungicides for citrus melanose control

Liu Xin¹ Wang Mingshuang¹ Mei Xiufeng¹ Jiang Liying² Han Guoxing³ Li Hongye^{1*}

(1. Institute of Biotechnology of Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China; 2. Agricultural Bureau of Quzhou City, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China; 3. Hangzhou Xin'an Plant Protection Company Limited, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China)

Abstract: To investigate whether *Diaporthe citri* populations are still sensitive to mancozeb, and to screen more efficient fungicides for citrus melanose control, the sensitivity of 221 *D. citri* isolates of four commercial orchard populations and one wild population to mancozeb were tested by using the method of inhibition of conidial germination. The antifungal activities and control effect of the fungicides chlorothalonil and captan were assessed under in vitro, greenhouse, and field conditions. The results showed that the average EC_{50} values of Nanfeng or Quzhou population were 1.11 and 1.01 $\mu\text{g/mL}$, respectively, which was significantly higher than that of the wild population with an EC_{50} of 0.90 $\mu\text{g/mL}$. However, the resistance factor of the least sensitive isolate in this research was 1.8, less than 5. Chlorothalonil or captan had a better effect than mancozeb in inhibiting the conidial germination of *D. citri*. When applied as protectants before the inoculation, chlorothalonil, captan and mancozeb showed similar control effects against melanose. Though difenoconazole showed lower inhibitory effect against the

conidial germination of *D. citri*, it had a higher inhibitory effect on mycelial growth than mancozeb, chlorothalonil and captan. When mancozeb and difenoconazole were mixed at the mass ratio of 4:1, their synergistic effect on mycelial growth was exhibited in vitro. Mineral oil could increase the activity of mancozeb and synergistic effect against conidial germination was exhibited when mancozeb and mineral oil were mixed with the mass ratio of 1:1 250 or 1:6 250. Taken together, the populations of *D. citri* in China are still sensitive to mancozeb and mancozeb remains to be an efficient fungicide for melanose control. Adding a moderate amount of difenoconazole or mineral oil into mancozeb may further promote its control effect against citrus melanose.

Key words: citrus melanoses; mancozeb; sensitivity evaluation; chemical control

柑橘黑点病也称砂皮病,由柑橘间座壳菌 *Diaporthe citri* 引起,危害果实、新叶、新梢,引起黑色或红褐色突起的小点或斑块,严重降低果实外观品质,已成为影响中国柑橘效益的一大障碍(姜丽英等, 2012;陈国庆等, 2014)。柑橘黑点病菌是一种弱寄生菌,病菌生活史的大部分都在枯枝等死亡植物组织上完成。枯枝上的病菌一年四季均可产生分生孢子(偶尔也产生子囊孢子)。当温、湿度条件适宜时,孢子萌发侵染果园幼叶、新梢和果实,诱导寄主产生植保素(6,7-二氧甲基香豆素),抑制或杀死入侵的菌丝体,受侵染的表皮细胞褐化坏死,周围细胞分裂增生,从而形成凸起的小病斑(Bushong & Timmer, 2000; Mondalet al., 2004)。已知橘、柑、柚、柠檬、葡萄柚等均对柑橘黑点病敏感(Udayanga et al., 2014),果实自坐果到成熟前也均易感病,病害发生与果实生长期的降雨关系尤为密切,适温多雨有利病害的发生(Agostini et al., 2003)。

冬季或早春萌芽前结合树体修剪,剪除枯枝和病虫枝,集中烧毁,减少病菌的侵染来源是防治柑橘黑点病的重要措施。但由于种种原因,很难达到彻底清除枯枝、控制病害的目的。而喷施保护性杀菌剂,抑制落在果实表面的病菌孢子萌发侵入,成为防治柑橘黑点病必要的措施(Bushong & Timmer, 2000; Mondal et al., 2007),其中,二硫代氨基甲酸酯类药剂代森锰锌(mancozeb)是防治柑橘黑点病的最佳药剂(黄振东等, 2009;陈国庆等, 2010;曾炳隆等, 2010)。然而,最近江西南丰等一些橘区发现代森锰锌防治柑橘黑点病的效果有所下降,陈国庆等(2014)也认为该病害防治难度增大,可能与病菌对代森锰锌产生抗药性有关。尽管国际杀菌剂抗性行动委员会的网站资料显示,代森锰锌属多作用位点类杀菌剂,抗性风险低,但也曾有报道称经多年施用代森锰锌,山东、山西等省田间番茄叶霉病菌 *Fulvia fulva* 对该药已产生了中等抗性(王美琴等, 2005),

广西、广东等省芒果炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 对该药也产生高度抗性,且抗性菌株出现频率均高于 50%(蒲金基等, 2014)。持续高浓度代森锰锌处理能使酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 对其适应能力显著提高(Casalone et al., 2010)。此外,代森锰锌长期大量使用的潜在危害也不容忽视,有研究也指出长期接触代森锰锌有诱发癌症及慢性神经损伤(如帕金森症)的风险(Belpoggi et al., 2002; Zhou et al., 2004)。作为一个保护性杀菌剂,代森锰锌无内吸活性,持效期较短,药效易随果实膨大而降低也是一大缺陷(Timmer et al., 1996)。因此,评价我国柑橘黑点病菌种群对代森锰锌的敏感性现状和筛选出代森锰锌替代药剂十分必要。

百菌清(chlorothalonil)和克菌丹(captan)均属于保护性杀菌剂,分别用于柑橘疮痂病菌 *Elsinoë fawcettii* 和树脂病的防治(中国农药信息网)。咯菌腈(fludioxonil)属苯吡咯类杀菌剂,通过抑制葡萄糖磷酸化有关的信号传递途径来抑制菌丝生长,具有高效广谱、持效期长等优点,也是全球为数不多获得美国环保局“低风险”认证的产品之一(Zhang, 2007)。啶酰菌胺(boscalid)是新型烟酰胺类杀菌剂,抑制线粒体呼吸链中琥珀酸辅酶Q还原酶,对孢子的萌发有很强的抑制能力(李良孔等, 2011)。苯醚甲环唑(difenoconazole)属 14- α -脱甲基酶抑制剂类杀菌剂,具内吸活性,对柑橘黑点病菌的菌丝生长具有很强的抑制效果(陈国庆等, 2010)。此外,黄振东等(2011)研究表明代森锰锌溶液中添加适量的矿物油可提高防治效果,而其增效机制并不明确。本研究一方面确定我国柑橘黑点病菌种群对代森锰锌的敏感性,以明确用该药剂继续防治该病害的价值;另一方面评价保护性杀菌剂百菌清和克菌丹等,以及代森锰锌、百菌清和克菌丹分别与苯醚甲环唑混配药剂对病菌的离体抑制效果或田间防治效果,旨在筛选出代森锰锌的替代药剂。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株及植株: 2015年9月至11月, 自广东省梅州市11个柚子园、浙江省衢州市11个椪柑园、浙江省台州市黄岩区12个温州蜜柑或本地早园、江西省抚州市南丰县10个南丰蜜橘园, 以及浙江省衢州市5个村庄农户门前屋后从未施药的观赏柚子树上共采集有典型柑橘黑点病症状的果实或叶片样品622份。果园取样为顺行式取样, 1树取1果或1叶, 采用组织分离法分离, 待获得培养物产孢后再进行单孢纯化, 考虑到菌株间的独立性, 同1份样品(1株树)的菌株只保留1个, 共计获得221株单孢菌株。以从未用过药柚树上获得的种群为野生种群, 4地生产果园均有代森锰锌使用历史, 作为生产果园种群。从梅州、黄岩、衢州和南丰4种群中分别随机选取3株, 共12株病菌用于7种药剂室内毒力测定; 随机选取来源于衢州椪柑果实的菌株QZF7-3-1用于药剂混配的室内联合毒力测定及温室接种试验。温室接种试验所用柑橘品种为椪柑 *Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan, 3年生, 盆栽。试验前对温室内盆栽椪柑进行重修剪, 施1次尿素, 促使新梢萌发, 选用新叶进行试验。

供试药剂: 80%代森锰锌(mancozeb)可湿性粉剂, 陶氏益农农业科技(中国)有限公司; 98.5%百菌清(chlorothalonil)原药, 江阴苏利化学股份有限公司; 75%百菌清WP、60%吡唑醚菌酯·代森联(5%吡唑醚菌酯, 55%代森联, pyraclostrobin-metiram)水分散粒剂, 先正达(苏州)作物保护有限公司; 98%啉酰菌胺(boscalid)原药, 江苏省南通嘉禾化工有限公司; 50%啉酰菌胺WDG、42.4%唑醚·氟酰胺(21.2%吡唑醚菌酯, 21.2%氟唑菌酰胺, pyraclostrobin-fluopyram)悬浮剂, 巴斯夫(中国)有限公司; 99.5%咯菌腈(fludioxonil)原药, 江苏常州裕隆化工有限公司; 50%咯菌腈WP, 瑞士先正达作物保护有限公司; 99.15%克菌丹(captan)标准品, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 50%克菌丹(captan)可湿性粉剂, 江苏龙灯化学有限公司; 95.2%苯醚甲环唑(difenoconazole)原药, 上海生农生化有限公司; 99%矿物油乳油, 韩国SK化工集团; 70%丙森锌(propineb)可湿性粉剂, 50%氟吡菌酰胺(fluopyram)悬浮剂和42.8%氟菌·肟菌酯(21.4%氟吡菌酰胺+21.4%肟菌酯, fluopyram-trifloxystrobin)悬浮剂, 拜耳作物科学(中国)有限公司; 33.5%喹啉铜(oxine-copper)悬浮

剂, 浙江海正化工股份有限公司。

培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基: 马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂15 g、水1 000 mL, 用于菌株培养及菌丝生长抑制试验。水琼脂(water agar, WA)培养基: 琼脂15 g、无菌水1 000 mL, 用于病菌孢子萌发抑制试验。

试剂及仪器: 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO), 美国Sigma公司。Spra-tool微型喷雾器, 美国伊豪公司; 农用背负式喷雾器, 浙江深邦园艺用品有限公司; SPX恒温生化培养箱, 宁波江南仪器厂; Leica DM5000光学显微镜, 德国徕卡显微镜公司。

1.2 方法

1.2.1 病菌孢子萌发对代森锰锌的敏感性评价

将代森锰锌药剂溶于无菌水, 配制成1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的母液, 再将母液配制成浓度分别为0.3、0.6、1.0、1.4、1.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的含药WA平板, 空白对照为加等量无菌水的WA平板。取新鲜的分生孢子溶于无菌水中, 配制浓度为 10^5 个/mL的孢子悬浮液, 取100 μL 均匀涂布于含药WA平板上。26℃黑暗条件下倒置培养14 h后在光学显微镜下记录萌发孢子数及观察孢子总数。以芽管长度超过孢子宽度视为萌发, 每菌株每个浓度重复2次, 每个重复观察孢子总数不低于200个。孢子萌发抑制率=(对照孢子萌发率-处理孢子萌发率)/对照孢子萌发率 $\times 100\%$ 。采用直线插值法(Alexander et al., 1999; Li et al., 2015), 计算代森锰锌对每个菌株孢子萌发的有效抑制中浓度 EC_{50} 。

$$\log_{10}(EC_{50}) = \log_{10}(x_1) + \frac{50\% - y_1}{y_2 - y_1} \times (\log_{10}(x_2) - \log_{10}(x_1)),$$

其中 x_1 和 x_2 是孢子萌发抑制率最接近50%的2个杀菌剂浓度, y_1 和 y_2 是对应的抑制率, y_1 低于50%且 y_2 高于50%。

对各种菌株 EC_{50} 值进行正态性检验。将野生种群的 EC_{50} 均值(满足正态分布情况下)作为柑橘黑点病菌对代森锰锌的敏感性基线。抗性水平=菌株 EC_{50} /敏感基线。抗性分级标准: 抗性水平<5为敏感; 5 $\leq$ 抗性水平<20为低抗; 20 $\leq$ 抗性水平<100为中抗; 抗性水平 ≥ 100 为高抗(王美琴等, 2005)。

1.2.2 药剂对柑橘黑点病菌的室内毒力测定

孢子萌发抑制测定: 将代森锰锌制剂溶于无菌水, 其它5种供试药剂原药溶于DMSO配成母液。根据预试验结果设定5~7个浓度, 将母液稀释后, 配成含药WA平板, 其中代森锰锌设定浓度为0.25、0.35、0.5、0.7、1.0、1.4、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 百菌清浓度为0.025、0.035、0.05、0.07、0.10、0.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 克菌丹浓

度为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 $\mu\text{g/mL}$ ；啉酰菌胺浓度为 8、16、32、64、128 $\mu\text{g/mL}$ ；苯醚甲环唑和咯菌腈浓度为 5、10、20、40、80、160 $\mu\text{g/mL}$ ；矿物油按相应浓度，直接加入培养基，混匀后制成平板，浓度为 500、1 000、2 000、5 000、10 000、20 000 $\mu\text{g/mL}$ 。代森锰锌和矿物油的空白对照加等量无菌水，其它药剂对照加等量 DMSO。每个菌株每个浓度重复 3 次，按 1.2.1 方法在系列浓度的含药平板上测定孢子萌发抑制率。

菌丝生长抑制测定：将代森锰锌制剂溶于无菌水，其它 5 种供试药剂原药溶于 DMSO 配成母液。根据预试验结果设定 5~6 个浓度，将母液稀释后配成含药 PDA 平板，其中代森锰锌、百菌清和克菌丹浓度依次为 2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ ；啉酰菌胺浓度为 2、4、8、16、32、64 $\mu\text{g/mL}$ ；苯醚甲环唑浓度为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 $\mu\text{g/mL}$ ；咯菌腈浓度为 0.01、0.04、0.16、0.32、1.28、5.12 $\mu\text{g/mL}$ ；矿物油按相应浓度，直接加入培养基，混匀后制成平板，浓度为 100、200、500、1 000、2 000、5 000 $\mu\text{g/mL}$ 。用直径为 5 mm 的打孔器在 26℃ 培养 7 d 的菌落边缘打菌饼，接种到上述系列浓度的含药平板中央，26℃ 黑暗倒置培养 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径，每个菌株每个浓度重复 3 次。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 - 5 mm) × 100%。采用 SPSS 19.0 软件 probit 模块计算各药剂对病菌孢子萌发和菌丝生长的 EC_{50} 值。

药剂混配的联合毒力测定：采用菌丝生长速率法和孢子萌发法测定代森锰锌和矿物油按质量比 1:10、1:50、1:250、1:1 250、1:6 250 混合时的联合毒力。参照上述各单剂浓度梯度，测定各单剂毒力，并将各单剂母液按上述有效成分质量比，分别与 PDA 或 WA 混合，制成平板，按上述方法分别测定各混合比例抑制菌丝生长和孢子萌发的 EC_{50} 值。采用菌丝生长速率法测定苯醚甲环唑分别和代森锰锌、百菌清、克菌丹以质量比 1:1、1:4、1:16、1:64 混配的联合毒力，按上述方法测定各混合比例抑制菌丝生长的 EC_{50} 值。根据单剂抑制孢子萌发的测定结果，将苯醚甲环唑与代森锰锌混配质量比设置为 1:1、4:1、16:1、64:1，苯醚甲环唑与百菌清混配质量比设置为 1:1、8:1、64:1、256:1、512:1，苯醚甲环唑与克菌丹混配质量比设置为 1:1、8:1、64:1、256:1，按上述方法测定各比例混合药剂抑制孢子萌发的 EC_{50} 值。采用 Wadley 法 (Levy et al., 1986) 评价药剂混配的联合毒力。以测得的 EC_{50} 值作为 EC_{50} 观测值，分别按

照以下公式计算 EC_{50} 理论值和增效系数 S_R 。

$$EC_{50}(th) = \frac{a+b}{\frac{a}{EC_{50}(A)} + \frac{b}{EC_{50}(B)}}; S_R = \frac{EC_{50}(th)}{EC_{50}(ob)},$$

其中： A 、 B 为混配的 2 种药剂； a 、 b 为 2 种药剂配比； $EC_{50}(A)$ 、 $EC_{50}(B)$ 为 A 、 B 单剂 EC_{50} 值； $EC_{50}(th)$ 为 EC_{50} 理论值； $EC_{50}(ob)$ 为 EC_{50} 观测值。当 $S_R \geq 1.5$ 时，呈增效作用； $S_R \leq 0.5$ 时，呈拮抗作用； $0.5 < S_R < 1.5$ 时，无增效和拮抗作用，呈现加和作用。

1.2.3 接菌条件下的药效对比试验

在浙江大学紫金港校区的温室中进行试验，温室温度为 15~30℃，相对湿度约为 60%。共设置 6 个药剂处理，分别为 80% 代森锰锌 WP 600 倍液、75% 百菌清 WP 1 000 倍液、50% 克菌丹 WP 600 倍液、50% 咯菌腈 WP 5 000 倍液、50% 啉酰菌胺 WDG 800 倍和 99% 矿物油 EC 200 倍，以清水处理为对照。选择叶龄、大小一致的 3 张叶片为 1 个处理，每处理 3 次重复，用微型喷雾器在叶片正面喷施试验药剂 1 mL。喷药 24 h 后，再用微型喷雾器将 1 mL 10^5 个/mL 分生孢子悬浮液均匀喷洒在测试叶片上，套上保鲜袋，保湿 24 h。15 d 后按病害分级标准调查叶片发病情况，整个试验重复 2 次。叶片的病害分级标准参考黄振东等 (2011)，0 级，叶上无病斑；1 级，病斑占叶面面积的 5% 以下；3 级，病斑占叶面面积的 5%~10%；5 级，病斑占叶面面积的 10%~25%；7 级，病斑占叶面面积的 25%~50%；9 级，病斑占叶面面积的 50% 以上。根据公式计算病情指数及相对防治效果。病情指数 = $100 \times \Sigma$ (各级病叶数 × 各级代表值) / (调查总叶片数 × 最高级代表值)；相对防治效果 = (对照病情指数 - 处理病情指数) / 对照病情指数 × 100%。

1.2.4 田间药剂对比试验

在衢州市柯城区华墅乡后王坂村吕杨根柑橘园进行试验，品种为椪柑，树龄 20 年。共设置 10 个处理，分别为多作用位点类杀菌剂：80% 代森锰锌 WP 600 倍、50% 克菌丹 WP 600 倍、70% 丙森锌 WP 600 倍、60% 代森联·吡唑醚菌酯 WDG 750 倍、75% 百菌清 WP 1 000 倍、33.5% 啉酰菌胺 SC 750 倍，以及 SDHI 类杀菌剂及其复配剂：50% 氟吡菌酰胺 SC 2 000 倍、42.8% 氟菌·肟菌酯 SC 3 000 倍、42.4% 唑醚·氟酰胺 SC 2 000 倍，以清水为对照。采用随机区组设计，设 3 个区组，每个区组 10 个小区，每个小区 3 株树，每个区组的各小区随机排列，且试验地周围设保护行。采用喷雾施药方式，药剂分别于 2015 年 5 月 13 日、5 月 31 日、6 月 20 日、7 月 10 日喷施，共 4 次，

果实采收前(11月23日)调查防治效果。每棵树分别于东、南、西、北每个方位各随机调查15个果实的病害情况,计算病情指数和相对防治效果。果实病害的分级标准、病情指数和相对防治效果计算方法同1.2.3。

1.3 数据分析

应用SPSS 19.0统计软件对试验数据进行处理分析,应用该软件描述统计模块进行Shapiro-Wilk法(W法)正态性检验,并用Duncan氏新复极差法检验对各种群 EC_{50} 值、病菌对各药剂 EC_{50} 值及温室和田间防效数据进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 柑橘黑点病菌种群对代森锰锌的敏感性评价

梅州、黄岩、衢州、南丰4地的生产果园病菌种群对代森锰锌的 EC_{50} 值范围分别为0.54~1.17、0.54~1.59、0.52~1.49和0.58~1.52 $\mu\text{g/mL}$,其平均 EC_{50} 值

分别为0.82、0.91、1.01和1.11 $\mu\text{g/mL}$ 。野生群体的 EC_{50} 均值范围为0.46~1.19 $\mu\text{g/mL}$,平均为0.90 $\mu\text{g/mL}$ (表1)。不同来源种群的 EC_{50} 值存在显著差异,南丰种群对代森锰锌最不敏感,其 EC_{50} 均值显著高于其它3地种群和野生种群;其次是衢州种群,其 EC_{50} 均值显著低于南丰种群,但显著高于梅州、黄岩和野生种群;梅州、黄岩和野生种群最敏感,三者之间的差异不显著。然而,种群间 EC_{50} 差异的绝对值较小,最敏感的梅州种群和最不敏感南丰种群间的 EC_{50} 均值仅差0.29 $\mu\text{g/mL}$ (表1)。经W法正态分布检验,未施药野生种群分生孢子萌发 EC_{50} 值呈连续性正态分布,0.90 $\mu\text{g/mL}$ 可作为柑橘黑点病对代森锰锌分生孢子萌发的敏感基线。而在田间随机取样分离病菌菌株中,分生孢子萌发 EC_{50} 最大值为1.59 $\mu\text{g/mL}$ (来自黄岩),抗性水平 $=1.8<5$ 。由此可见,本试验未监测到抗性菌株,表明我国田间柑橘黑点病菌对代森锰锌仍处于敏感状态。

表1 柑橘黑点病菌种群分生孢子萌发对代森锰锌的敏感性评价

Table 1 Sensitivity of the conidial germination of *Diaporthe citri* populations to mancozeb

病菌种群 <i>Diaporthe citri</i> population	菌株数 Number of isolates	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			Shapiro-Wilk 正态性 检验 Normality test	
		最小值 Maximum	最大值 Minimum	均值±标准差 Mean ±SD	<i>W</i>	<i>P</i>
梅州种群 Meizhou population	26	0.54	1.17	0.82±0.18 c	0.96	0.41
黄岩种群 Huangyan population	41	0.54	1.59	0.91±0.25 c	0.91	<0.01
衢州种群 Quzhou population	60	0.52	1.49	1.01±0.21 b	0.95	0.02
南丰种群 Nanfeng population	43	0.58	1.52	1.11±0.23 a	0.97	0.33
未施药野生种群 Wild population (CK)	51	0.46	1.19	0.90±0.15 c	0.97	0.28

表中数据为平均数±标准差,同列不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. The different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2 杀菌剂及混配组合对病菌的室内毒力比较

2.2.1 七种杀菌剂的室内毒力比较

孢子萌发抑制试验结果表明,百菌清抑制孢子萌发效果最好,其 EC_{50} 均值为0.06 $\mu\text{g/mL}$,其次为克菌丹和代森锰锌,其 EC_{50} 值分别为0.21、0.98 $\mu\text{g/mL}$ 。啶酰菌胺、咯菌腈和苯醚甲环唑对柑橘黑点病菌的抑制效果均较差,其 EC_{50} 均值均大于50 $\mu\text{g/mL}$ (表2),而单纯矿物油的抑制效果最差,20 000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下,病菌孢子萌发率仍超过70%。百菌清、克菌丹和代森锰锌对病菌菌丝生长抑制效果较差, EC_{50} 值均大于10 $\mu\text{g/mL}$,三者之间差异不显著,咯菌腈和苯醚甲环唑对菌丝生长抑制效果均较好,其 EC_{50} 值分别为0.06、0.29 $\mu\text{g/mL}$,而啶酰菌胺对菌丝生长的抑制效果较差,其 EC_{50} 值12.42 $\mu\text{g/mL}$ (表2)。

2.2.2 代森锰锌与矿物油混配的联合毒力

代森锰锌与矿物油以质量比1:10、1:50、1:250

混合时,对抑制孢子萌发及菌丝生长均无拮抗作用(S_R 介于0.5~1.5之间),代森锰锌与矿物油以质量比1:1 250、1:6 250混合时,对孢子萌发抑制呈增效作用($S_R>1.5$,表3)。

2.2.3 苯醚甲环唑与代森锰锌等混配的联合毒力

代森锰锌、苯醚甲环唑、百菌清和克菌丹单剂抑制孢子萌发的 EC_{50} 值(对照值)分别为1.33、51.42、0.07和0.21 mg/L 。在设定的质量混配条件下,苯醚甲环唑对代森锰锌、百菌清和克菌丹的混配剂对病菌的孢子萌发抑制仅表现加和作用。与代森锰锌、百菌清和克菌丹混配时,苯醚甲环唑单剂 EC_{50} 值(对照值)分别为0.32、0.25、0.28 mg/L ,这3种药剂单剂抑制菌丝生长的 EC_{50} 值分别为35.2、15.21和26.70 mg/L 。苯醚甲环唑与代森锰锌或克菌丹以质量比为1:4混合时对抑制菌丝生长有增效作用, S_R 分别为1.53和1.76,而以其它质量比混配时对菌丝生长的抑制只

表现加和作用。而苯醚甲环唑与百菌清混配,对菌丝生长的抑制也只表现加和作用(表4)。

表2 七种杀菌剂对柑橘黑点病菌的室内毒力

Table 2 Toxicity of seven fungicides to *Diaporthe citri* in vitro

药剂 Fungicide	EC ₅₀ (μg/mL)	
	分生孢子萌发 Conidial germination	菌丝生长 Mycelial growth
百菌清 Chlorothalonil	0.06±0.01 e	15.35±2.40 b
克菌丹 Captan	0.21±0.03 d	22.64±6.68 b
代森锰锌 Mancozeb	0.98±0.30 c	22.87±11.64 b
苯醚甲环唑 Difenoconazole	50.81±9.28 b	0.29±0.01 c
啶酰菌胺 Boscalid	58.65±6.76 b	12.42±3.65 b
咯菌腈 Fludioxonil	67.09±10.05 b	0.06±0.02 d
矿物油(绿颖) Mineral oil (Enspray)	>20 000 a	1 575.31±240.32 a

表中数据为平均数±标准差,同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. The different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

表3 代森锰锌混合矿物油对孢子萌发和病菌菌丝生长的联合毒力

Table 3 Combined inhibitory effect of mancozeb-mineral oil mixtures against conidial germination and mycelial growth of *Diaporthe citri*

药剂 Fungicide	质量比 Mass ratio	分生孢子萌发 Conidial germination			菌丝生长 Mycelial growth		
		EC ₅₀ (μg/mL)		增效系数 Synergistic ratio S_R	EC ₅₀ (μg/mL)		增效系数 Synergistic ratio S_R
		理论 Theory	实测 Test		理论 Theory	实测 Test	
代森锰锌 Mancozeb (M)	—	—	1.35	—	—	29.56	—
矿物油 Mineral oil (O)	—	—	>20 000	—	—	1 675.00	—
M:O	1:10	14.84	13.03	1.14	276.38	302.11	0.91
M:O	1:50	68.62	60.63	1.13	800.88	1 027.09	0.78
M:O	1:250	333.23	271.14	1.23	1 370.96	1 653.41	0.83
M:O	1:1 250	1 557.44	755.92	2.06	1 603.64	1 903.63	0.84
M:O	1:6 250	5 935.02	3 324.36	1.79	—	—	—

矿物油 20 000 μg/mL 浓度下,病菌分生孢子萌发率>70%。Under the concentration of mineral oil at 20 000 μg/mL, the ratio of conidial germination is over 70%.

表4 苯醚甲环唑与代森锰锌、百菌清和克菌丹混配的联合毒力

Table 4 Combined inhibitory effect of the mixtures of difenoconazole with mancozeb, chlorothalonil and captan against *Diaporthe citri*

药剂 Fungicide	质量比 Mass ratio	分生孢子萌发Conidial germination			药剂 Fungicide	质量比 Mass ratio	菌丝生长Mycelial growth		
		EC ₅₀ (μg/mL)		增效系数 Synergistic ratio S_R			EC ₅₀ (μg/mL)		增效系数 Synergistic ratio S_R
		理论 Theory	实测 Test				理论 Theory	实测 Test	
D:M	1:1	2.59	2.65	0.98	D:M	1:1	0.63	0.65	0.97
D:M	4:1	6.03	6.65	0.91	D:M	1:4	1.54	1.01	1.53
D:M	16:1	15.99	21.78	0.73	D:M	1:16	4.75	3.37	1.41
D:M	64:1	32.55	56.23	0.58	D:M	1:64	13.15	10.00	1.32
D:Ch	1:1	0.14	0.13	1.08	D:Ch	1:1	0.49	0.49	1.00
D:Ch	8:1	0.62	0.59	1.05	D:Ch	1:4	1.17	1.01	1.16
D:Ch	64:1	4.19	4.25	0.99	D:Ch	1:16	3.36	2.36	1.42
D:Ch	256:1	13.34	13.13	1.02	D:Ch	1:64	7.92	6.62	1.20
D:Ch	512:1	21.16	22.82	0.93	D:Ca	1:1	0.57	0.56	1.02
D:Ca	1:1	0.42	0.43	0.98	D:Ca	1:4	1.39	0.79	1.76
D:Ca	8:1	1.83	1.98	0.92	D:Ca	1:16	4.20	3.46	1.21
D:Ca	64:1	10.82	13.31	0.81	D:Ca	1:64	11.12	9.36	1.19
D:Ca	256:1	26.38	33.03	0.80					

D: 苯醚甲环唑; M: 代森锰锌; Ch: 百菌清; Ca: 克菌丹。D: Difenoconazole; M: mancozeb; Ch: chlorothalonil; Ca: captan.

2.3 六种杀菌剂人工接菌条件下的相对防治效果

先喷药再接种的试验结果表明,在厂家推荐的浓度下,接菌前喷施百菌清、克菌丹和代森锰锌的相对防治效果均较好。2次试验的所有处理中,喷施

代森锰锌的叶片仅有1片轻微发病,相对防治效果99.37%。而百菌清和克菌丹的试验处理叶片完全不发病。相反,喷施推荐浓度的咯菌腈、啶酰菌胺和矿物油不能较好起到预防作用(表5)。

表5 六种药剂人工接菌条件下的相对防治效果

Table 5 Control effect of six fungicides against citrus melanose after inoculation

药剂 Fungicide	药剂稀释倍数 Dilution ratio of fungicide	病情指数 Disease index	相对防治效果 Relative control effect (%)
80%代森锰锌 80% mancozeb	600	0.62±0.87	99.37±0.89
50%克菌丹 50% captan	600	0.00±0.00	100.00±0.00
75%百菌清 75% cholothalonil	1 000	0.00±0.00	100.00±0.00
50%咯菌腈 50% fludioxonil	5 000	55.56±3.49	34.26±15.99
50%啶酰菌胺 50% boscalid	800	54.32±15.72	37.76±6.87
99%矿物油 99% mineral oil	200	77.16±9.60	10.24±5.21
清水 Water (CK)	—	86.42±15.71	0.00±0.00

2.4 九种杀菌剂的田间相对防治效果

田间试验结果表明,80%代森锰锌 WP 600 倍液和75%百菌清 WP 1 000 倍液相对防治效果最佳,分别为64.91%和63.20%,相对防治效果显著优于其它试验药剂。其次是丙森锌及2种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂肟菌酯和吡唑醚菌酯与SDHI类药剂氟吡菌酰胺和氟唑菌酰胺的复配剂,其相对防治效果分

别为59.27%和56.71%。而有机铜类杀菌剂33.5%喹啉铜750倍液的相对防治效果最差,仅为27.75%。离体条件下表现对分生孢子萌发具有优异抑制效果的克菌丹在本次田间试验中的相对防治效果不佳,50%克菌丹可湿性粉剂600倍液的相对防治效果仅为41.35%(表6)。

表6 九种杀菌剂对柑橘黑点病的田间相对防治效果

Table 6 Field control effect of nine fungicides against citrus melanose

药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio of fungicide	病情指数 Disease index	相对防治效果 Relative control effect (%)
80%代森锰锌 80% mancozeb	600	28.70±2.04 f	64.91±1.96 a
50%克菌丹 50% captan	600	48.50±1.75 d	41.35±1.72 c
70%丙森锌 70% propineb	600	34.50±1.91 e	58.25±2.80 b
60%代森联·吡唑醚菌酯 60% metiram·pyraclostrobin	750	46.31±1.93 d	43.97±3.38 c
75%百菌清 75% chlorothalonil	1 000	30.44±1.42 f	63.20±2.63 a
50%氟吡菌酰胺 50% fluopyram	2 000	52.50±2.10 c	36.51±2.15 d
42.8%氟吡菌酰胺·肟菌酯 42.8% fluopyram·trifloxystrobin	3 000	33.67±1.55 e	59.27±2.19 b
42.4%吡唑醚菌酯·氟唑菌酰胺 42.4% pyraclostrobin·fluxapyroxad	2 000	35.77±1.01 e	56.71±2.40 b
33.5%喹啉铜 35.5% oxine-copper	750	59.70±1.27 b	27.75±3.44 e
清水 Water (CK)	—	82.70±2.23 a	

表中数据为平均数±标准差,同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. The different letters in the same column indicate significant different at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

代森锰锌属二硫代氨基甲酸酯类农药,作为多作用位点类杀菌剂,更新到2013年为止,国际杀菌剂抗性行动委员会尚未有田间产生代森锰锌抗性菌

株的记录。本试验选取我国4个生产果园种群和1个从未用过杀菌剂的野生种群,发现虽然各种群(菌株)对代森锰锌的敏感性存在不同程度的差异,但与野生种群相比,4个生产果园种群(累计170株病菌)均未达到抗药性水平。由此认为,目前我国柑橘黑

点病菌种群对代森锰锌仍然敏感,不存在抗性问題。温室预防试验(先喷药再接种)结果表明,代森锰锌对该病害具有极佳的预防作用,田间试验也再次表明,代森锰锌是防治果实黑点病的最佳药剂。综合本研究结果,并结合以前的试验结果(黄振东等,2009;陈国庆等,2010)认为,代森锰锌依然是防治柑橘黑点病的最佳药剂。而近年来浙江、江西等省柑橘产区存在代森锰锌防治效果下降的原因并非是病菌对该药剂产生抗性,极可能是受柑橘产业效益的波动和劳动力成本的上升所带来的果园栽培管理、枯枝修剪被进一步弱化,喷药保护措施不到位,以及果实生长期雨水过多等多因素综合作用的结果(曾炳隆等,2010;陈国庆等,2014)。

离体试验结果表明,与代森锰锌相比,保护性杀菌剂百菌清和克菌丹对病菌孢子萌发抑制效果更佳,温室预防试验也表明这2种药剂具有与代森锰锌相似的防治效果,田间防治试验进一步表明75%百菌清1000倍与80%代森锰锌600倍喷施相对防治效果无显著差异,但克菌丹的相对防治效果显著低于代森锰锌。百菌清已登记用于柑橘疮痂病的防治,克菌丹已被登记用于柑橘树脂病的防治(中国农药信息网)。这2种药剂,特别是百菌清用于柑橘黑点病防治的潜力需进一步评价。

在美国佛罗里达州,铜制剂如氢氧化铜(copper hydroxide,商品名为可杀得Kocide),甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,如啞菌酯(azoxystrobin)和吡唑醚菌酯(pyraclostrobin)被推荐用于柑橘黑点病的防治(Dewdney, 2016)。然而,在我国已有的报道显示可杀得对柑橘黑点病的防治效果不及代森锰锌(黄振东等,2009)。本试验结果也初步证明商家推荐剂量的有机铜杀菌剂啞菌铜的相对防治效果不佳,仅为27.75%,而吡唑醚菌酯和代森联、氟吡菌酰胺和肟菌酯、吡唑醚菌酯和氟吡菌酰胺的混剂的田间相对防治效果分别只有43.97%、59.27%和56.71%,均不及商家推荐剂量的代森锰锌(64.91%)。因此,甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂对柑橘黑点病的防治效果有待进一步试验确定。

矿物油是一种从石油分馏出来的特定成分,经乳化后制成的矿物源农药(张志恒和陈丽萍,2005)在生产上主要用于防治由柑橘上蚧壳虫、粉虱、蚜虫、红蜘蛛等引起的虫害及煤烟病、脂点黄斑病等病害(柯其洪,2008)。代森锰锌不仅是杀菌剂,同时对红蜘蛛也具有良好的控制效果(黄美玲等,1994),黄振东等(2011)研究指出,在配制好的代森锰锌中添

加0.25%~0.5%的矿物油能显著增加代森锰锌防治效果。增效机制可能是矿物油在果面形成一层油膜,对病菌侵入具有物理阻隔作用,并提高了代森锰锌的耐雨水冲刷性(张志恒和陈丽萍,2005)。本研究结果却发现,代森锰锌和矿物油以质量比1:1250、1:6250混合对抑制柑橘黑点病菌的孢子萌发具有增效作用。因此,代森锰锌与矿物油的混合可兼治柑橘病虫,值得在生产上推广。

啞菌酯和苯醚甲环唑的混剂也被佛罗里达州推荐用于柑橘黑点病的防治(Dewdney, 2016)。本研究发现,代森锰锌或克菌丹与苯醚甲环唑的混剂(4:1)对抑制病菌的菌丝生长有增效作用,对孢子萌发也有加和作用。果园中,病菌一旦侵入果实和新梢,即可产生病斑,而病菌在病斑形成后其扩展受到限制(Bushong & Timmer, 2000)。所以防治该病害重在保护果实免遭侵染,以抑制孢子萌发能力强的保护性杀菌剂的防治效果更有效(Mondal et al., 2007)。病菌的营养生长和繁殖在枯枝上进行,代森锰锌对菌丝生长的抑制作用欠佳,理论上在代森锰锌等保护性杀菌剂中添加具有强抑制菌丝生长作用的杀菌剂,如苯醚甲环唑等三唑类杀菌剂,一方面可预防果实被侵染,另一方面可抑制病菌在枯枝上的生长,从而提高防治效果。因此,今后拟开展代森锰锌等保护性和内吸性杀菌剂的复配剂田间防治效果评价和使用技术研究,以获得比代森锰锌更有效的柑橘黑点病防治药剂的组合。

致谢:浙江省柑桔研究所蒲占旭、梅州市农业科学院李国华、抚州市果业局李江波帮助采集试验样品,特此致谢!

参 考 文 献 (References)

- Agostini JP, Bushong PM, Bhatia A, Timmer LW. 2003. Influence of environmental factors on severity of citrus scab and melanose. *Plant Disease*, 87(9):1102-1106
- Alexander B, Browse DJ, Reading SJ, Benjamin IS. 1999. A simple and accurate mathematical method for calculation of the EC_{50} . *Journal of Pharmacological & Toxicological Methods*, 41(2/3): 55-58
- Belpoggi F, Soffritti M, Guarino M, Lambertini L, Cevolani D, Maltoni C. 2002. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of ethylene-bis-dithiocarbamate (mancozeb) in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 982(1): 123-136
- Bushong PM, Timmer LW. 2000. Evaluation of postinfection control of citrus scab and melanose with benomyl, fenbuconazole, and azoxystrobin. *Plant Disease*, 84(11): 1246-1249
- Casalone E, Bonelli E, Polsinelli M. 2010. Effects of mancozeb and other dithiocarbamate fungicides on *Saccharomyces cerevisiae*:

- the role of mitochondrial petite mutants in dithiocarbamate tolerance. *Folia Microbiologica*, 55(6): 593–597
- Chen GQ, Huang ZD, Pu ZX, Zhang XC. 2014. Major diseases and pests affecting the fruit appearance quality and their control measures. *Zhejiang Citrus*, 31(1): 24–27 (in Chinese) [陈国庆, 黄振东, 蒲占渭, 张仙春. 2014. 影响柑橘外观品质的主要病虫害及其防治. *浙江柑橘*, 31(1): 24–27]
- Chen GQ, Jiang LY, Xu FS, Li HY. 2010. In vitro and in vivo screening of fungicides for controlling citrus melanose caused by *Diaporthe citri*. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 36(4): 440–444 (in Chinese) [陈国庆, 姜丽英, 徐法三, 李红叶. 2010. 防治柑橘黑点病药剂的离体和田间筛选. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 36(4): 440–444]
- Dewdney MM. 2016. 2016 Florida citrus pest management guide: Ch. 18 melanose.//Knapp LJ. Florida citrus pest management guide. Florida, the United States: the Plant Pathology Department, UF/IFAS Extension, pp. 145–147
- Huang ML, Qiu ZS, Men YJ, Qin YM, Lin SG. 1994. Test of controlling *Panonychus citri* by mancozeb. *Guangxi Citrus*, (1): 25–27 (in Chinese) [黄美玲, 邱柱石, 门友均, 秦玉明, 林升国. 1994. 代森锰锌防治柑桔红蜘蛛试验. *广西柑桔*, (1): 25–27]
- Huang ZD, Huang QB, Pu ZX, Liang KH, Lin HF, Li HY. 2009. Chemical control tests of citrus melanose. *China Fruits*, (6): 34–37 (in Chinese) [黄振东, 黄茜斌, 蒲占渭, 梁克宏, 林荷芳, 李红叶. 2009. 柑橘黑点病药剂防治试验. *中国果树*, (6): 34–37]
- Huang ZD, Pu ZX, Hu XR, Zhang XY, Chen GQ, Li HY. 2011. Control efficiency to citrus melanose of different fungicides combinations. *Zhejiang Citrus*, 28(2): 23–24 (in Chinese) [黄振东, 蒲占渭, 胡秀荣, 张小亚, 陈国庆, 李红叶. 2011. 不同药剂组合对柑橘黑点病的防治效果. *浙江柑橘*, 28(2): 23–24]
- Ke QH. 2008. Research of SK spray oil application in controlling disease and insects damage to Guanxi-pomelo. Master Thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (in Chinese) [柯其洪. 2008. 绿颖在琯溪蜜柚病虫害防治中的应用研究. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学]
- Jiang LY, Xu FS, Huang ZD, Huang F, Chen GQ, Li HY. 2012. Occurrence and control of citrus melanose caused by *Diaporthe citri*. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 24(4): 647–653 (in Chinese) [姜丽英, 徐法三, 黄振东, 黄峰, 陈国庆, 李红叶. 2012. 柑橘黑点病的发病规律和防治. *浙江农业学报*, 24(4): 647–653]
- Levy Y, Benderly M, Cohen Y, Gisi U, Bassand D. 1986. The joint action of fungicides in mixtures: comparison of two methods for synergy calculation. *Bulletin Oepp/epo Bulletin*, 16(4): 651–657
- Li JL, Liu XY, Xie JT, Di YL, Zhu FX. 2015. A comparison of different estimation methods for fungicide EC_{50} , and EC_{95} values. *Journal of Phytopathology*, 163(4): 239–244
- Li LK, Yuan CK, Pan HY, Wang Y. 2011. Progress in research on SDHIs fungicides and its resistance. *Agrochemicals*, 50(3): 165–169 (in Chinese) [李良孔, 袁善奎, 潘洪玉, 王岩. 2011. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类(SDHIs)杀菌剂及其抗性研究进展. *农药*, 50(3): 165–169]
- Mondal SN, Agostini JP, Zhang L, Timmer LW. 2004. Factors affecting pycnidium production of *Diaporthe citri* on detached citrus twigs. *Plant Disease*, 88(4): 379–382
- Mondal SN, Vicent A, Reis RF, Timmer LW. 2007. Efficacy of pre- and postinoculation application of fungicides to expanding young citrus leaves for control of melanose, scab, and alternaria brown spot. *Plant Disease*, 91(12): 1600–1606
- Pu JJ, Yang SY, Liu XM, Hu Q, Zhang H. 2014. Drug resistance of mancozeb against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Guizhou Agricultural Sciences*, 42(12): 115–117 (in Chinese) [蒲金基, 杨石有, 刘晓妹, 胡强, 张贺. 2014. 芒果炭疽病对代森锰锌的抗药性评价. *贵州农业科学*, 42(12): 115–117]
- Timmer LW, Zitko SE, Albrigo LG. 1996. Evaluation of copper fungicides and rates of metallic copper for control of melanose on grapefruit in Florida. *Plant Disease*, 80(2): 166–169
- Udayanga D, Castlebury LA, Rossman AY, Hyde KD. 2014. Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytosporella*, *D. foeniculina* and *D. rudis*. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 32(1): 83–101
- Wang MQ, Zhao XJ, Liu HP, Han JC. 2005. Resistance detection of *Fulvia fulva* to mancozeb. *Shanxi Agricultural Sciences*, 33(4): 66–68 (in Chinese) [王美琴, 赵晓军, 刘慧平, 韩巨才. 2005. 番茄叶霉病菌对代森锰锌的抗性检测. *山西农业科学*, 33(4): 66–68]
- Zhang J. 2007. The potential of a new fungicide fludioxonil for stem-end rot and green mold control on *Florida citrus* fruit. *Postharvest Biology & Technology*, 46(3): 262–270
- Zhang ZH, Chen LP. 2005. Safety and application of mineral oil in plants pests control.//Jiang SR. Proceedings of International Symposium on Pesticide and Environmental Safety. Beijing: China Agricultural University Press, pp. 358–361 (in Chinese) [张志恒, 陈丽萍. 2005. 矿物油的安全性及其在植物病虫害防治中的应用.//江树人. 农药与环境安全国际会议论文集. 北京: 中国农业大学出版社, pp. 358–361]
- Zeng BL, Zeng ZF, Zhu XY, Peng MQ, Li YJ, Wu DZ, Cai BL. 2010. Regulation and integrated control measures of melanose on Nanfeng tangerine fruits. *Zhejiang Citrus*, 27(2): 24–26 (in Chinese) [曾炳隆, 曾知富, 朱晓云, 彭明强, 李跃进, 吴德志, 蔡柏龄. 2010. 南丰蜜橘果实黑点病发生规律与综合防治措施. *浙江柑桔*, 27(2): 24–26]
- Zhou Y, Shie FS, Piccardo P, Montine TJ, Zhang J. 2004. Proteasomal inhibition induced by manganese ethylene-bis-dithiocarbamate: relevance to Parkinson's disease. *Neuroscience*, 128(2): 281–291

(责任编辑:高 峰)