

唐琳,赵辉. 5 种杀菌剂对甜瓜枯萎病菌的拮抗效果[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):123-124.

5 种杀菌剂对甜瓜枯萎病菌的拮抗效果

唐琳¹, 赵辉²

(1. 洛阳师范学院生命科学系,河南洛阳 471000; 2. 河南省农业科学院植物保护研究所/农业部华北南部农作物有害生物综合治理重点实验室/河南省农作物病虫害防治重点实验室,河南郑州 450002)

摘要:采用牛津杯法测定了噁霉灵、多菌灵、甲基硫菌灵、三唑酮、氟硅唑等 5 种农药对甜瓜枯萎病菌的抑菌效果。结果表明,噁霉灵的抑菌效果最好,半最大效应浓度 (EC_{50}) 为 0.128 2 g/mL,噁霉灵对甜瓜枯萎病防治实际应用最小抑菌药物稀释浓度 (MIC) 为 1.25 mg/mL,实际药物稀释最小杀菌浓度 (MBC) 为 1.43 mg/mL。建议使用噁霉灵防治甜瓜枯萎病的浓度为 1.43 g/L (700 倍液)。

关键词:甜瓜枯萎病; EC_{50} ;最小抑菌浓度;最小杀菌浓度

中图分类号:S481⁺.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)09-0123-02

甜瓜枯萎病是由尖孢镰刀菌引起的维管束病害,重茬种植时该病易大面积发生。近年来随着温室、大棚等设施蔬菜的发展,多年连茬保护地枯萎病的发生日益加重,造成严重的产量损失^[1]。由于长期不合理使用化学药剂,导致病菌逐渐产生抗药性,防治效果日益降低^[2-3]。在对该病的药剂防治过程中,由于过量使用化学农药,不按照安全间隔期使用化学农药,以及违规使用高毒农药等原因,对甜瓜枯萎病的防治不仅未取得明显效果,还造成了农药残留超标^[4]。本研究比较了噁霉灵、多菌灵、甲基硫菌灵、三唑酮、氟硅唑等 5 种甜瓜枯萎病防治中常用的农药抑菌效果,计算了各农药对甜瓜枯萎病菌的半最大效应浓度 (EC_{50}),并测定了抑菌效果较好的噁霉灵的实际应用最小抑菌药物稀释浓度 (MIC) 和实际药物稀释最小杀菌浓度 (MBC),旨在为甜瓜枯萎病的化学药剂防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 分离自河南省洛阳市洛龙区甜瓜枯萎病病株。供试药剂分别为 60% 多菌灵可湿性粉剂 (黑龙江企达农药开发有限公司)、三唑酮可湿性粉剂 (江苏建农农药化工有限公司)、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 (安徽金泰农药化工有限公司)、噁霉灵 (南京博士邦化工科技有限公司)、福星氟硅唑 (美国杜邦农化有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 5 种农药对甜瓜枯萎病菌抑菌效果及毒力测定 按照文献的方法^[5-6]并加以改进,测定 5 种农药对甜瓜枯萎病菌的毒力。农药浓度梯度分别为 0.002、0.01、0.02、0.04、

0.06、0.08、0.1、0.2、0.4、0.6 g/mL,以无菌水作对照。每个处理重复 3 次,28 ℃ 培养 24 h,测量抑菌圈直径。

1.2.2 MIC 测定^[7-8] 采用含毒介质法测定 MIC。按照 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80、1:90、1:100、1:110、1:120 的比例将农药用无菌水进行梯度稀释。在无菌平皿中分别加入不同浓度农药液 2.0 mL,然后倒入 45 ℃ 左右灭菌的营养 PDA 琼脂培养基 20 mL,充分振荡混匀,冷却凝固。农药最终稀释度分别为 1:100、1:200、1:300、1:400、1:500、1:600、1:700、1:800、1:900、1:1000、1:1100、1:1200。然后分别取甜瓜枯萎病菌悬液 0.1 mL 于平板上涂布均匀,以未添加农药的培养基作对照。每个处理重复 3 次,28 ℃ 培养 24 h。甜瓜枯萎病菌不生长的最低农药浓度即为 MIC。

1.2.3 MBC 测定^[9] 将农药浓度 \geq MIC 的各培养皿继续培养 24 h,观察甜瓜枯萎病菌生长情况。以观察的平板上甜瓜枯萎病菌菌落数小于 5 个的最低样品浓度为该药物的 MBC。

1.2.4 数据处理 农药毒力计算公式如下:

相对抑制率 = (对照组菌落直径 - 处理组菌落直径) / (对照组菌落直径 - 菌饼直径) \times 100%^[10]。

采用 DPS 统计软件和 Excel 软件,以相对抑菌率为纵坐标,将药剂浓度换算成浓度对数 (x),求得线性回归方程 $y = a + bx$ 和 r 值;并根据毒力公式^[11]计算各种农药的 EC_{50} ;采用新复极差法^[11-12]比较不同浓度下各药剂抑菌活性的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 抑菌活性的差异性分析

由表 1 可见,噁霉灵在大部分浓度 (除 0.002、0.01 g/mL) 下的抑菌效果显著优于其他供试药剂。多菌灵和甲基硫菌灵的抑菌效果较差,最高抑菌率分别只有 34.09%、31.52%,当浓度达到 0.4 g/mL 后,抑菌率不再显著提高;三唑酮、氟硅唑的抑菌效果最差。

2.2 5 种农药对甜瓜枯萎病菌的毒力

5 种农药毒力公式及 EC_{50} 见表 2。5 种农药中,噁霉灵的 EC_{50} 最小,为 0.128 2 g/mL;而氟硅唑的 EC_{50} 最大,为 97.207 7 g/mL。

收稿日期:2013-03-03

基金项目:河南省基础研究计划 (编号:122300410051);洛阳师范学院青年科研基金 (编号:2011-QNJ-004)。

作者简介:唐琳 (1981—),女,天津人,博士研究生,讲师,主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: tanglin869@163.com。

通信作者:赵辉,博士,助研,主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: zhaohui_0078@126.com。

表 1 5 种农药对甜瓜枯萎病菌的平均抑菌率

浓度 (g/mL)	平均抑菌率(%)					
	噁霉灵	多菌灵	甲基 硫菌灵	三唑酮	氟硅唑	对照
0.002	0.00bB	5.42aA	4.49aA	1.06bB	0.00aA	0.00aA
0.01	4.39cB	9.71aA	8.25bA	2.55dC	0.00aA	0.00aA
0.02	19.09aA	13.00bB	18.20aA	4.87cC	0.00aA	0.00aA
0.04	35.98aA	16.42cC	18.41bB	5.26dD	0.00aA	0.00aA
0.06	49.78aA	19.57bB	20.00bB	7.81cC	0.00aA	0.00aA
0.08	57.50aA	21.98bB	21.59bB	8.95cC	0.00aA	0.00aA
0.1	61.71aA	23.30cC	26.16bB	10.79dD	0.00aA	0.00aA
0.2	60.53aA	27.05cB	28.88bB	12.86dC	0.00aA	0.00aA
0.4	53.82aA	30.93bB	31.52bB	16.85cC	4.76bB	0.00aA
0.6	63.78aA	34.09bB	31.28cB	18.13dC	11.73cC	0.00aA

注:同列数据后不同大写、小写字母分别表示差异极显著、显著。

表 2 供试药剂毒力公式及 EC₅₀

药剂	毒力公式	r	EC ₅₀ (g/mL)
噁霉灵	$y = 6.7124 + 1.9196x$	0.8707	0.1282
多菌灵	$y = 4.7264 + 0.4946x$	0.9972	3.5730
甲基硫菌灵	$y = 4.7647 + 0.5092x$	0.9642	2.8986
三唑酮	$y = 4.2714 + 0.5831x$	0.9936	17.7634
氟硅唑	$y = 2.3635 + 1.3264x$	0.6585	97.2077

因此,初步推测 5 种农药对甜瓜枯萎病的毒力由大到小依次为:噁霉灵、甲基硫菌灵、多菌灵、三唑酮、氟硅唑。

2.3 噁霉灵对甜瓜枯萎病菌的 MIC、MBC

由表 3 可见,噁霉灵的 MIC 为 1:800,即 1.25 mg/mL。将甜瓜枯萎病菌置于农药浓度≥MIC 的各培养皿继续培养 24 h,发现药物实际稀释度为 1:700 时无菌生长,即 MBC 为 1.43 mg/L。

表 3 噁霉灵的 MIC 测定结果

药物稀释比例	病菌生长情况		
	重复 1	重复 2	重复 3
1:10	-	-	-
1:20	-	-	-
1:30	-	-	-
1:40	-	-	-
1:50	-	-	-
1:60	-	-	-
1:70	-	-	-
1:80	-	-	-
1:90	+	+	-
1:100	+	-	-
1:110	++	+	+
1:120	++	++	++
对照	+++	+++	+++

注:“-”为不长菌,“+”为少量菌生长,“++”为较多菌生长,“+++”为很多菌生长。

3 结论与讨论

本研究表明,噁霉灵对甜瓜枯萎病菌的抑菌效果最好,

多菌灵、甲基硫菌灵抑菌效果较差,三唑酮、氟硅唑抑菌效果最差。噁霉灵对甜瓜枯萎病菌的 EC₅₀ 为 0.128 2 g/mL, MIC 为 1.25 mg/mL, MBC 为 1.43 mg/mL。噁霉灵作为一种新型内吸性土壤真菌杀菌剂、种子消毒剂、植物生长调节剂,对土壤病原真菌等有强烈杀灭作用^[13]。目前已有噁霉灵用于生产上防治瓜类枯萎病的报道^[14-15]。杨长城等研究发现,噁霉灵对孢子萌发的抑制作用强于菌丝生长,噁霉灵可显著刺激甜瓜生长,噁霉灵与多菌灵具有协同增效作用^[16],这与本研究结果相近。根据本研究结果,建议采用噁霉灵防治甜瓜枯萎病,建议施用浓度为 700 倍液即 1.43 g/L。另有研究报道多菌灵对西瓜枯萎病菌具有较高毒力^[17],这与本研究结果有所差异,因此多菌灵的防效还须进一步研究。另外本研究只对 5 种单一杀菌剂的抑菌效果进行探讨,杀菌剂的混合使用对甜瓜枯萎病菌的抑菌效果还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 刘志恒. 瓜类枯萎病[J]. 新农业,2002(5):42-43.
[2] 李慧明,赵康,赵胜荣,等. 蔬菜病虫害诊断与防治实用手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,2012.
[3] 于天祥,张明方. 西瓜枯萎病研究进展[J]. 中国西瓜甜瓜,2004(1):17-19.
[4] 李梅花,张浩. 保护地茄果类蔬菜病虫害无公害防治技术[J]. 河南农业,2008(7):15-16.
[5] 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006.
[6] 刘冬梅,李理,杨晓泉,等. 用牛津杯法测定益生菌的抑菌活力[J]. 食品研究与开发,2006(3):110-111.
[7] 刘胜贵,许方美,张兰兰,等. 植物提取物体外抑菌试验的方法研究[J]. 怀化学院学报,2006,25(2):65-67.
[8] 熊素英,岳田利. 石榴皮提取物抑菌作用研究[J]. 食品工业,2007(5):18-20.
[9] 李平,赵成. 金银花水提物及醇提物体外抗菌实验[J]. 中国当代医药,2010,17(17):36-37.
[10] 王会芳,王三勇,芮凯,等. 不同杀菌剂对红麻炭疽病菌的室内毒力测定[J]. 中国麻业科学,2010(5):258-260.
[11] 刘昌孝,孙瑞元. 药物评价实验设计与统计学基础[M]. 北京:军事医学科学出版社,1999.
[12] 邓凯,苏丽芳,张日俊. 细菌素 Subticin112 对金黄色葡萄球菌 CVCC1885 的体内外抑菌活性[J]. 中国农业科学,2011,44(13):2830-2837.
[13] 江镇海. 低毒高效杀菌剂噁霉灵市场前景广阔[J]. 农药市场信息,2010(10):16.
[14] 陆致平,项继忠,吴雄飞,等. 噁霉灵防治西瓜枯萎病试验研究[J]. 现代农药,2002,1(3):44.
[15] 陈炳旭,黄汉杰. 30% 噁霉灵水剂防治瓜类病害的药效试验[J]. 农药,1998(7):35-39.
[16] 杨长城,庄敬华,高增贵,等. 噁霉灵与多菌灵对甜瓜枯萎病的防治效果[J]. 北方园艺,2010(7):151-153.
[17] 赵杰,唐赵莲,周超英,等. 5 种杀菌剂对西瓜和黄瓜枯萎病菌的毒力测定[J]. 中国园艺文摘,2012(8):38-39.