

张斌,梁雪杰,乔俊卿,等. 29种常用杀菌剂对番茄枯萎病菌和青枯病菌的室内毒力测定[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):106-109.

# 29种常用杀菌剂对番茄枯萎病菌和青枯病菌的室内毒力测定

张斌<sup>1,2</sup>, 梁雪杰<sup>2</sup>, 乔俊卿<sup>2</sup>, 刘邰洲<sup>2</sup>, 陈志谊<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学植物保护学院, 江苏南京 210095; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014)

**摘要:**在实验室内,采用菌丝生长速率法测定了29种杀菌剂对番茄枯萎病菌的抑菌效果,采用纸碟法测定了29种杀菌剂对番茄青枯病菌的抑菌效果。结果表明,有10种杀菌剂对番茄枯萎病菌的毒力较强( $EC_{50}$ 值 $< 10$  mg/L),其中50%多菌灵可湿性粉剂对番茄枯萎病菌的毒力最强,其 $EC_{50}$ 值为0.1218 mg/L,其次依次为25%氰烯菌酯悬浮剂、10%氟硅唑微乳剂、25%啉菌唑乳油、5%己唑醇悬浮剂、10%腈菌唑乳油、75%百菌清可湿性粉剂、3%中生菌素可湿性粉剂、50%异菌脲可湿性粉剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂;有3种杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力较强,其中3%中生菌素可湿性粉剂对番茄青枯病菌毒力最强,其 $EC_{50}$ 值为3.3742 mg/L,其次依次为80%代森锰锌可湿性粉剂、2%春雷霉素水剂。

**关键词:**番茄枯萎病菌;番茄青枯病菌;杀菌剂;抑菌效果; $EC_{50}$ 值

**中图分类号:** S482.2; S436.412.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0106-04

番茄青枯病和枯萎病是番茄生产中的2种主要土传病害,具有寄主范围广、防治困难的特点,一直是国内外研究的焦点和热点<sup>[1-2]</sup>。番茄枯萎病是由番茄枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)引起的一种真菌性维管束疾病。青枯病是由*Ralstonia solanacearum*引起的一种细菌性维管束病害,广泛分布于全球热带、亚热带和温带地区,是世界性的重要病害。番茄青枯病又称细菌性枯萎病,田间发病症状与番茄枯萎病非常相似,多在番茄开花期间发生,随着坐果及果实膨大,病情逐渐加重。病原菌侵染维管束,阻塞其输送营养物质,病茎纵切面维管束变褐<sup>[3-5]</sup>。近年来,随着全国范围内设施蔬菜,如番茄、茄子、辣椒等种植面积的扩大,茄科青枯病和枯萎病已成为常见、易发、传播迅速的重要土传病害,严重影响蔬菜的

产量和品质<sup>[6-7]</sup>。

用于防治番茄枯萎病和青枯病的方法有多种,但在生产上主要以化学防治为主,为了减少果农在农田用药时的盲目性,笔者对近年来生产上应用比较多的29种高效、低毒、广谱性杀菌剂在实验室内对番茄枯萎病菌、青枯病菌进行毒力测定,以期筛选出针对此2种病菌毒力作用大、抑菌效果好而药剂本身毒性低的杀菌剂供生产使用,为生产上科学合理用药提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 病原菌 番茄枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)及青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)均由江苏省农业科学院植物保护研究所生物防治研究室提供。

1.1.2 杀菌剂 供试杀菌剂详见表1。

1.1.3 培养基<sup>[8]</sup> PDA培养基:马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂粉15 g、水1 000 mL。LB培养基:蛋白胨10 g、酵母粉5 g、NaCl 10 g、琼脂粉15 g、水1 000 mL, pH值7。

### 1.2 方法

1.2.1 杀菌剂对番茄枯萎病菌的毒力测定方法 菌饼的制

收稿日期:2013-11-26

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)1004-6]。

作者简介:张斌(1988—),男,安徽黄山人,专业硕士研究生,主要从事植物病理学及生物防治研究。E-mail: zhang840663325@163.com。

通信作者:陈志谊,研究员,主要从事植物病害生物防治研究。Tel: (025)84390230; E-mail: chzy@jaas.ac.cn。

[9]冯玉龙,阳丽,王银定,等. 草莓病害生物防治初探[J]. 河北农业大学学报,1999,22(3):59-61.

[10]徐淑华,蒋继志,姚克文,等. 两株拮抗细菌对草莓根腐病菌的抑制作用[J]. 河北农业大学学报,2005,28(3):81-83,97.

[11]甄文超,曹克强,代丽,等. 利用药用植物源土壤添加物控制草莓再植病害的研究[J]. 中国农业科学,2005,38(4):730-735.

[12]赵秀娟,徐文桥,张凤巧,等. 土壤拮抗微生物对几种草莓病原菌的拮抗作用测试[J]. 中国农业科技导报,2007,9(2):77-81.

[13]宋志伟,陈世昌,王小琳,等. 复合微生物制剂对重茬草莓生长及产量品质的影响研究[J]. 土壤通报,2006,37(3):560-562.

[14]Vosátka M, Gryndler M, Prikryl Z. Effect of the rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry [J]. Agronomie, 1992, 12(10):859-863.

[15]Vosátka M, Gryndler M, Jansa J, et al. Post vitro mycorrhization and bacterization of micropropagated strawberry, potato and azalea [J]. Acta Hort, 2000, 530:313-324.

[16]Porras M, Barrau C, Romero F. Effects of soil solarization and *Trichoderma* on strawberry production [J]. Crop Protection, 2007, 26(5):782-787.

[17]新农药介绍[J]. 农药科学与管理,2007,28(5):60.

表1 供试杀菌剂有效成分及生产厂家

药剂通用名称	生产厂家
15% 络氨铜水剂	陕西先农生物科技有限公司
72% 硫酸链霉素可湿性粉剂	重庆丰化科技有限公司
50% 多菌灵可湿性粉剂	上海沪联生物药业有限公司
75% 百菌清可湿性粉剂	广东中迅农业科技股份有限公司
65% 代森锌可湿性粉剂	广东省惠州市中迅化工有限公司
50% 福美双可湿性粉剂	惠州市中迅化工有限公司
10% 腈菌唑乳油	一凡生物科技集团有限公司
15% 三唑酮可湿性粉剂	镇江建苏农药化工有限公司
40% 啉霉胺悬浮剂	广东中迅农科股份有限公司
60% 啉菌酯水分散粒剂	北京华戎生物激素厂
70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂	江苏省江阴市福达农化有限公司
15% 恶霉灵水剂	天津京津农药有限公司
5% 己唑醇悬浮剂	南京保丰农药有限公司
10% 烯酰吗啉水乳剂	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
25% 啉菌唑乳油	沈阳科创化学品有限公司
50% 啉菌胺水分散粒剂	德国巴斯夫欧洲公司
80% 代森锰锌可湿性粉剂	利民化工股份有限公司
3% 中生菌素可湿性粉剂	福建凯立生物制品有限公司
50% 异菌脲可湿性粉剂	东莞市瑞德丰生物科技有限公司
53.8% 氢氧化铜水分散粒剂	郑州志信农化有限公司
2% 春雷霉素水剂	北兴化学工业株式会社
50% 腐霉利可湿性粉剂	日本住友化学株式会社
40% 三乙磷酸铝可湿性粉剂	福建新农大正生物工程有限公司
10% 氟硅唑微乳剂	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
5% 氨基寡糖素水剂	海南正业中农高利股份有限公司
2 亿活孢子/g 木霉菌可湿性粉剂	北京中农志鹏生物科技有限公司
2.5% 灭菌唑悬浮种衣剂	巴斯夫欧洲公司
70% 丙森锌可湿性粉剂	拜耳作物科学公司
25% 氰烯菌酯悬浮剂	江苏省农药研究所股份有限公司

备:将保存在试管斜面上的供试菌株转接于 PDA 平板上, 28 °C 恒温培养箱中培养 3 d, 用直径 5 mm 的打孔器切取菌落外缘制备成菌饼, 备用。

菌丝生长速率测定方法<sup>[9-10]</sup>:将 29 种杀菌剂分别制成含 10、5、1、0.1、0.01 mg/L 的 PDA 培养基平板, 设置不加药剂为对照, 每个浓度重复 3 次。在无菌条件下, 将菌饼置于含药培养基中央, 然后置于 28 °C 培养箱中培养 72 h 后, 观察供试菌株在各杀菌剂不同质量浓度下的生长情况, 用十字交叉法测定菌落直径, 以平均数代表菌落大小, 计算相对抑制率。应用 Excel 软件处理系统求出各单剂毒力回归方程、EC<sub>50</sub> 值及相关系数<sup>[11]</sup>。

相对抑制率计算公式如下:

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

1.2.2 杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力测定方法 菌液的制备:将番茄青枯病菌在 LB 斜面上活化, 移入 50 mL LB 培养液中, 在 28 °C 下振荡 (150 r/min) 培养过夜。用无菌水将番茄青枯病菌菌液稀释至浓度约为 10<sup>6</sup> CFU/mL, 备用。

纸碟测定方法参照文献[12-15]:将 29 种杀菌剂分别制成浓度为 1000、100、10、1 mg/L, 吸取 20 μL 在 LB 平板中央, 每处理重复 3 皿。设清水对照。用上述番茄青枯病菌稀释液 (10<sup>6</sup> CFU/mL) 喷雾后, 28 °C 培养过夜, 调查抑菌圈直径, 计算相对抑制率。应用 Excel 软件处理系统求出各单剂

毒力回归方程、EC<sub>50</sub> 值及相关系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 杀菌剂对番茄枯萎病菌的毒力测定

采用菌丝生长速率法测定了 29 种杀菌剂对番茄枯萎病菌的抑菌效果。结果表明, 29 种杀菌剂对番茄枯萎病菌的毒力结果存在明显差异。有 10 种杀菌剂能有效抑制番茄枯萎病菌菌丝生长 (表 2), EC<sub>50</sub> 值在 0.121 8 ~ 5.273 5 mg/L 范围内; 2.5% 灭菌唑对番茄枯萎病菌菌丝生长的抑制作用较差, EC<sub>50</sub> 值为 10.251 1 mg/L; 其余 18 种杀菌剂对番茄枯萎病菌

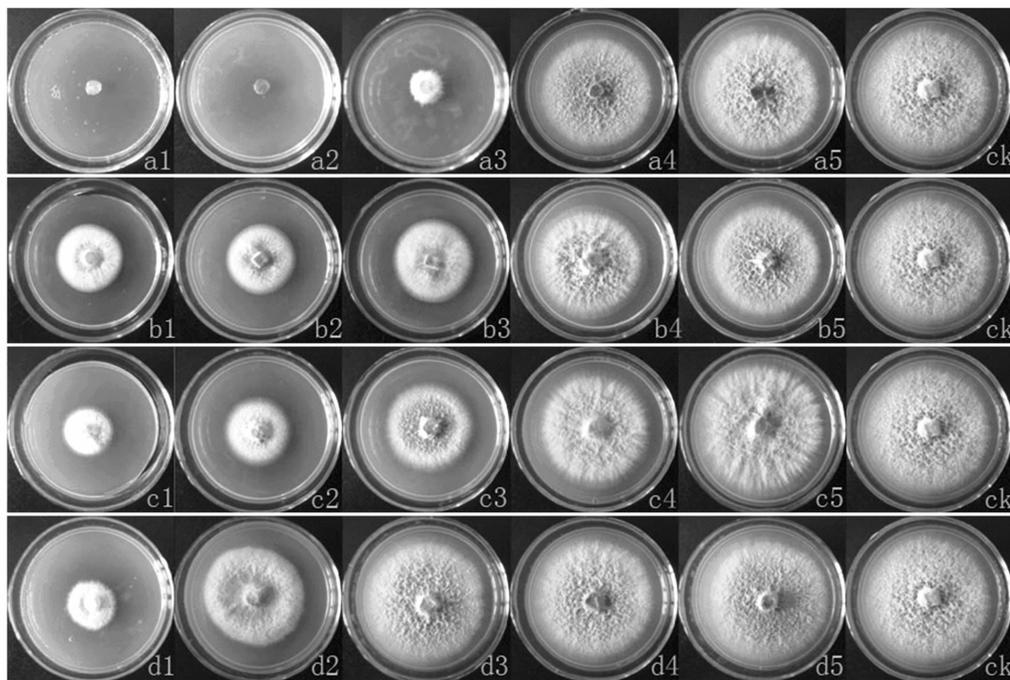
表2 10种杀菌剂对番茄枯萎病菌室内毒力测定结果

药剂名称	毒力回归方程	相关系数 (r)	EC <sub>50</sub> (mg/L)
50% 多菌灵	$y = 1.884 5x + 6.723 3$	0.907 4	0.121 8
25% 氰烯菌酯	$y = 0.879 4x + 5.800 7$	0.890 8	0.122 9
10% 氟硅唑	$y = 0.969 0x + 5.422 9$	0.991 3	0.336 1
25% 啉菌唑	$y = 1.058 8x + 5.342 7$	0.981 9	0.474 6
5% 己唑醇	$y = 0.477 5x + 4.844 4$	0.994 8	2.116 9
10% 腈菌唑	$y = 0.661 1x + 4.762 1$	0.992 0	2.290 1
75% 百菌清	$y = 0.395 2x + 4.854 0$	0.981 7	2.341 2
3% 中生菌素	$y = 0.865 1x + 4.576 6$	0.978 9	3.086 2
50% 异菌脲	$y = 1.152 4x + 4.271 7$	0.963 2	4.285 3
70% 甲基硫菌灵	$y = 1.592 9x + 3.849 7$	0.885 0	5.273 5

菌丝生长基本没有抑制作用,  $EC_{50}$  值均大于 50 mg/L, 这 18 种杀菌剂为 15% 络氨铜、72% 硫酸链霉素、65% 代森锌、50% 福美双、15% 三唑酮、40% 嘧霉胺、60% 嘧菌酯、15% 恶霉灵、10% 烯酰吗啉、70% 丙森锌、80% 代森锰锌、53.8% 氢氧化铜、

2% 春雷霉素、50% 腐霉利、40% 三乙磷酸铝、5% 氨基寡糖素、(2 亿活孢子/g) 木霉菌和 50% 啉酰菌胺。

图 1 显示了 50% 多菌灵、75% 百菌清、10% 腈菌唑、70% 甲基硫菌灵对番茄枯萎病菌的毒力作用。



a1~a5 表示浓度梯度依次为 10、5、1、0.1、0.01 mg/L 的 50% 多菌灵; b1~b5 表示浓度梯度依次为 10、5、1、0.1、0.01 mg/L 的 75% 百菌清; c1~c5 表示浓度梯度依次为 10、5、1、0.1、0.01 mg/L 的 10% 腈菌唑; d1~d5 表示浓度梯度依次为 10、5、1、0.1、0.01 mg/L 的 70% 甲基硫菌灵。

图 1 不同杀菌剂对番茄枯萎病菌的毒力作用

## 2.2 杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力测定

采用纸碟法测定了 29 种杀菌剂对番茄青枯病菌的抑菌效果。结果表明, 有 3 种杀菌剂对番茄青枯病菌有较强的毒力, 其  $EC_{50}$  值均小于 10 mg/L (表 3、图 2), 其中 3% 中生菌素的毒力最强,  $EC_{50}$  值为 3.374 2 mg/L。其余 26 种杀菌剂对番茄青枯病菌不表现毒力。

表 3 3 种杀菌剂对番茄青枯病菌的室内毒力测定结果

药剂名称	毒力回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	$EC_{50}$ (mg/L)
3% 中生菌素	$y = 7.10x + 1.25$	0.968 2	3.374 2
80% 代森锰锌	$y = 5.58x + 0.83$	0.975 6	5.588 7
2% 春雷霉素	$y = 4.11x + 1.21$	0.941 9	8.358 7

## 3 结论与讨论

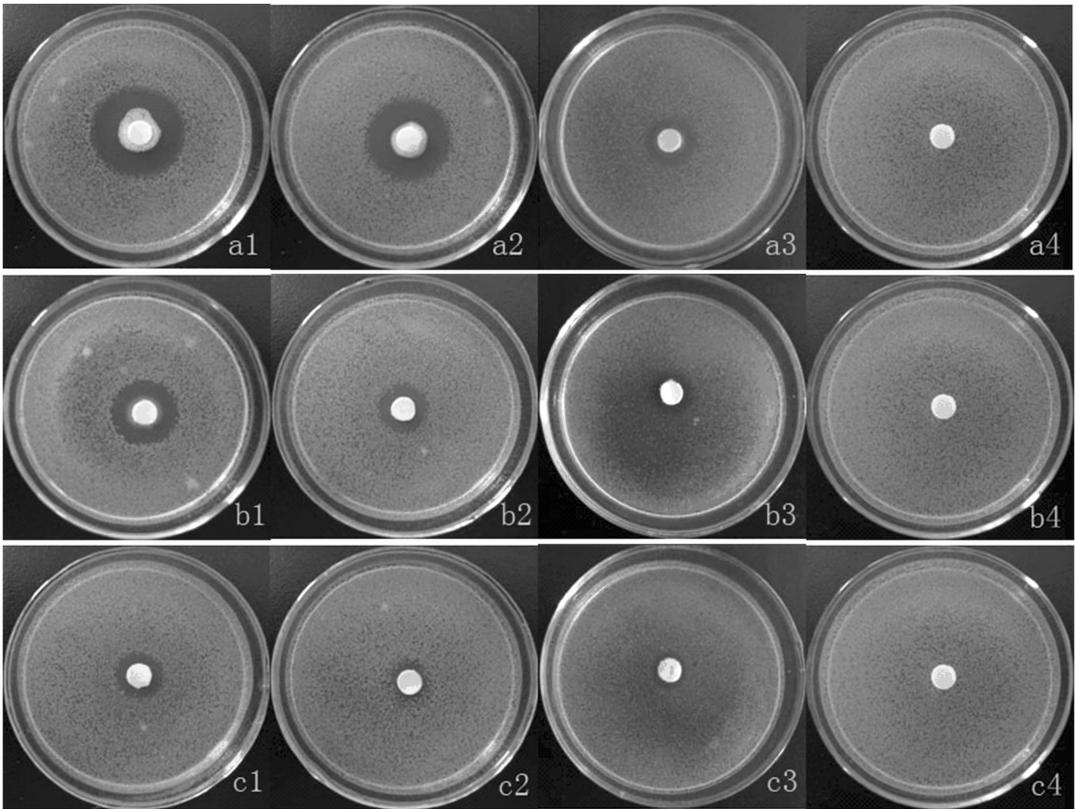
番茄具有较高的营养价值, 深受广大消费者的喜爱。番茄是江苏省重要的蔬菜品种, 年种植面积达到 5.33 万  $hm^2$ , 其中 70% 以上为设施栽培。近年来, 番茄的价格保持稳定并呈现上升趋势, 番茄市场价格一般为 4~5 元/kg, 最高市场价达到 20 元/kg, 番茄种植效益优势十分明显。番茄已成为江苏省发展现代高效农业的优选作物, 番茄产业的发展对促进江苏省“农业增效、农民增收”发挥着重要的作用。

随着设施番茄连续种植年代的增加, 由枯萎病菌、青枯病菌引起的土传病害连作障碍日趋严重, 已成为设施番茄安全生产的主要瓶颈。目前生产上防治番茄枯萎病、青枯病主要

依靠化学农药, 但防治效果并不理想。我们通过实地调查和研究分析发现, 主要有以下原因: (1) 农户不了解病菌侵染时期, 不能做到适时用药。番茄枯萎病和青枯病是系统性病害, 病原菌长期存活在土壤的病残体上, 在番茄苗期定植时, 从根部的伤口侵入, 存活在番茄组织的木质部和韧皮部内, 大量繁殖后导致番茄植株失水死亡。防治番茄枯萎病和青枯病必须在苗期定植时用药, 一旦错过防治适期, 病原菌侵入番茄植株体内, 使用药剂也不会有防治效果。(2) 农户不了解药剂的杀菌范围, 不能做到对症下药。农户认为杀菌剂能够包治百病, 手边有什么药剂就用什么药剂。我们从 7 个示范基地收集了 29 种药剂, 试验结果表明, 只有 10 种杀菌剂对番茄枯萎病菌生长有抑制作用, 3 种杀菌剂能有效抑制番茄青枯病菌繁殖, 大部分杀菌剂可能对番茄的其他病害有防控效果, 但是对枯萎病和青枯病基本没有防治作用。表明要有效地防控番茄枯萎病和青枯病, 必须适时用药和对症下药。

由于试验条件和时间的限制, 我们对 29 种化学药剂只进行了室内抑菌活性测定。化学药剂室内抑菌活性和田间防治效果有较大的相关性, 但田间病害的发生和流行是多种因素综合影响的结果, 化学药剂田间实际防治效果还得依赖多点重复的田间试验结果来确定, 本试验结果只是为田间病害防治选药提供参考。

从试验结果来看, 生产使用对番茄枯萎病菌和青枯病菌有较强抑制作用的化学药剂并不多。长期使用 1 种或几种相同作用靶标的药剂, 会导致当地病原菌产生严重的抗药性。



a1~a4表示浓度梯度依次为1 000、100、10、1 mg/L的3%中生菌素；b1~b4表示浓度梯度依次为1 000、100、10、1 mg/L的80%代森锰锌；c1~c4表示浓度梯度依次为1 000、100、10、1 mg/L的2%春雷霉素。

图2 不同杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力作用

解决病原菌抗药性的有效途径,可以采用替代药剂(生防菌剂)以及与不同作用靶标的其他药剂混用或复配等。本实验室通过以番茄枯萎病菌和青枯病菌为指示菌,分离和筛选了对这2种病原菌有拮抗作用的生防菌 B1619 和 PST-394,开展了生防菌对植物病原菌的作用机理研究。据报道,生防菌对病原菌的作用机理与化学药剂显著不同,两者混配具有叠加或增效作用。陈志谊等报道,戊唑醇和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) B-916 协同作用,对抑制蚕豆枯萎病菌菌丝生长和防治蚕豆枯萎病均具有显著的增效作用<sup>[16]</sup>。Zhou 等用噬菌体环肽与拮抗菌 *Pseudomonas syringae* 混配能显著提高对苹果青霉病的防效<sup>[17]</sup>。因此,将生防菌剂和化学杀菌剂进行混配,提高对番茄枯萎病、青枯病的防治效果,减少化学药剂的使用,是具有广泛应用前景的防控技术。

#### 参考文献:

- [1]肖 焱,洪艳云,易图永,等. 番茄青枯病生物防治研究进展[J]. 植物保护,2007,33(2):15-20.
- [2]徐艳辉,李 焱,许向阳. 番茄枯萎病的研究进展[J]. 东北农业大学学报,2008,39(11):128-134.
- [3]罗伟林,曾敬富,王 萍,等. 番茄青枯病的诊断与综合防控[J]. 现代农业科技,2010(6):179.
- [4]吴微微. 兴城地区棚室蔬菜土传病害综合防治技术[J]. 中国农村小康科技,2009(12):60-61.
- [5]邢 娟,李志邈,杨悦俭,等. 番茄青枯病病菌生化型测定及其3种抗病性鉴定方法的比较[J]. 浙江农业科学,2009(1):141-143.
- [6]刘邗洲,陈志谊,梁雪杰,等. 番茄枯萎病和青枯病拮抗细菌的筛选、评价与鉴定[J]. 中国生物防治学报,2012,28(1):101-108.
- [7]乔俊卿,陈志谊,刘邗洲,等. 茄科作物青枯病研究进展[J]. 植物病理学报,2013,43(1):1-10.
- [8]方中达. 植物研究方法[M]. 北京:农业出版社,1979:46-47.
- [9]付余波,钱国良,胡白石,等. 21种杀菌剂对梨炭疽病菌、轮纹病菌、黑斑病菌的室内毒力测定[J]. 江苏农业科学,2011,39(2):178-180.
- [10]慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1994:41-42.
- [11]唐启义,冯明光. 实用统计分析及其DPS数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [12]慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1994.
- [13]张泽涛. 农药药液配制用表[M]. 北京:石油化学工业出版社,1978.
- [14]龙友华,罗德勇. 3%中生菌素可湿性粉剂防治番茄青枯病的效果初探[J]. 中国蔬菜,2009(6):63-66.
- [15]任建国,王俊丽,岳美云. 21种杀菌剂对番茄疮痂病菌的毒力测定[J]. 中国蔬菜,2011(4):56-60.
- [16]陈志谊,任海英,刘永锋,等. 戊唑醇和枯草芽孢杆菌协同作用防治蚕豆枯萎病及增效机理初探[J]. 农药学报,2002,4(4):40-44.
- [17]Zhou T, Northover J, Schneider K E, et al. Interactions between *Pseudomonas syringae* MA-4 and cyprodinil in the control of blue mild and gray mold of apples[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2002,24(2):154-161.